

Rh 血液型不適合輸血によっても溶血性副作用を呈さなかった

抗 C+e+HI 抗体保有症例

菅原亜紀子¹⁾ 橘川 寿子¹⁾ 高崎 美苗¹⁾ 奥津 美穂¹⁾ 斎藤 俊一¹⁾
 川畑 絹代¹⁾ 安田 広康¹⁾ 大戸 齊¹⁾ 佐藤 善之²⁾ 横山 齊²⁾

抗 HI の影響のため抗 C+e の同定に時間を要し、対応抗原陽性の不適合同種赤血球が輸血された症例を経験した。症例は 69 歳 AB 型男性。約 1 年前に輸血歴がある。手術に際する輸血申込で不規則抗体検査を実施したが抗 HI を認め、同種抗体共存の有無を確認する前に輸血を要した。抗 HI を吸着除去した血漿で交差適合試験を実施し、適合した赤血球濃厚液 (Ir-RCC-LR) 4 単位 (2 バッグ) を輸血した。その後、低力価の抗 C+e の存在が確認されたため術後出血に対しては C (-), e (-) の製剤を輸血した。初めの製剤は C (+), e (+) であった。

抗 C+e はポリエチレングリコール—間接抗グロブリン試験 (PEG-IAT) にて輸血当日力価 2 倍、輸血後 30, 80 日目に力価 4 倍を示した。輸血後 5, 7 日目に実施した直接抗グロブリン試験 (DAT) は陰性であったが、患者血球から抗 C+e を含む汎反応性抗体が解離された。低力価のため IgG サブクラスについては評価できなかった。輸血後 4 カ月以上臨床経過を観察したが溶血性副作用の所見は認められなかった。

抗 C+e が低力価であったこと、更に出血によって初めに輸血された C (+), e (+) 血液が一部喪失したことから溶血性輸血副作用を呈さなかったと考えられた。

キーワード：抗 C+e, 抗 HI, 不適合輸血, 溶血性輸血副作用, IgG サブクラス

はじめに

抗 HI は H 抗原と I 抗原の両方を表出する赤血球と低温で反応する抗体で、A₁ 型や AB 型の血清中に検出されることが多い。抗 HI による寒冷凝集素症¹⁾のようにまれな場合を除き臨床上問題となることはないが、H 抗原の発現量が多い O 型赤血球と特に強く反応するため、不規則抗体検査時にパネル赤血球と反応し検査の妨げとなることがある²⁾。

輸血による抗原刺激によって産生された赤血球同種抗体は必ずしも溶血に関与するとは限らず、輸血された赤血球に抗体が感作しても遅発性溶血性輸血副作用 (Delayed hemolytic transfusion reaction, DHTR) を起こすのは半数以下で溶血症状を伴わない遅発性血清学的輸血副反応 (Delayed serologic transfusion reaction, DSTR) となる場合も多い^{3)~5)}。

Rh 血液型の抗体は主に輸血や妊娠によって産生される免疫抗体で溶血性輸血副作用や新生児溶血性疾患の原因となる臨床的意義の高い抗体である。そのため抗体保有者の輸血には対応抗原陰性の赤血球を選択する⁶⁾。緊急を要する場合には不規則抗体保有者にやむを得ず

対応抗原陽性赤血球を輸血する可能性もあるが、実際に不適合赤血球輸血を行った症例について詳しく検討した報告は少ない。

我々は、抗 HI 保有のために抗 C+e 同定に時間を要し、結果的に対応抗原陽性の不適合赤血球を輸血した AB 型の症例を経験した。輸血後の臨床経過を観察し、抗 C+e の臨床的意義について検討した。

症 例

症例は AB, RhD (+) の 69 歳男性。約 1 年前、胸腹部大動脈瘤に対する胸腹部大動脈置換術の際に輸血を施行された [Ir-RCC-LR 34 単位 (19 バッグ) ; 新鮮凍結血漿 (FFP-LR) 37.5 単位 (15 バッグ) ; 血小板濃厚液 (Ir-PC) 35 単位 (3 バッグ)]。この時の不規則抗体は陰性であった。術後に発症し外来治療を行っていた創部感染症が悪化したため、外科的切除 (デブリードマン) 目的に入院となった。入院翌日の手術当日朝に Ir-RCC-LR 7 単位の申込みがあったため、不規則抗体検査を実施したところ、不規則抗体検査にて抗 HI を含む冷式・温式両方の抗体が確認された。抗体同定終了前

1) 福島県立医科大学附属病院輸血・移植免疫部

2) 福島県立医科大学附属病院心臓血管外科

〔受付日：2009 年 9 月 4 日，受理日：2010 年 2 月 10 日〕

Table 1 ABO groups and Rh phenotypes of RBCs components transfused

No.	Component	ABO	Rh				
			D	C	c	E	e
1	Ir-RCC-LR2	AB	+	+	+	+	+
2	Ir-RCC-LR2	AB	+	+	0	0	+
3	Ir-RCC-LR1	AB	+	0	NT	NT	0
4	Ir-RCC-LR1	AB	+	0	NT	NT	0
5	Ir-RCC-LR2	AB	+	0	NT	NT	0
6	Ir-RCC-LR2	A	+	0	NT	NT	0

NT, not tested

に輸血を要したため、抗 HI 除去患者血漿によって交差適合試験を行い、適合を確認した Ir-RCC-LR 4 単位 (2 バッグ) を輸血した。その後抗 HI の他に抗 C+e の存在が疑われたため、術後更に要求のあった Ir-RCC-LR 6 単位 (4 バッグ) は C(-), e(-) 製剤を輸血した。後追い検査で抗 HI+C+e が同定され、術中輸血した 4 単位が C(+), e(+) であったことを確認した (Table 1)。輸血後 4 カ月以上臨床経過を観察したが、明らかな溶血所見は認めていない (Fig. 1)。

材料および方法

1. 輸血関連検査

1) 不規則抗体スクリーニング・抗体同定検査：即時遠心判定の生理食塩液法 (生食法) と自家調製 20% (w/v) ポリエチレングリコールを反応増強剤として用いたポリエチレングリコール-間接抗グロブリン試験 (PEG-IAT) を併用した。パネル赤血球試薬としてスクリーニングにサージスクリーン®とディエゴ A 血球を、同定にはリゾルブ®パネル (Ortho Clinical Diagnostics 社) を使用した。

2) 交差適合試験：生食法とオーソ エンハンズメント・ソリューション (O.A.E.S.) (Ortho Clinical Diagnostics 社) を用いた低イオン強度溶液-間接抗グロブリン試験 (LISS-IAT) を併用した。

3) 抗 HI の確認：臍帯血試薬 Biotestcell®-C (Biotest 社), アファマーゲン®A₁ 赤血球 (Ortho Clinical Diagnostics 社) と血漿を室温で 10 分間反応させた。

4) 抗 HI 除去：寒冷凝集素吸収試薬 (Immucor 社) を用いた。

5) 抗体価：輸血当日、輸血後 9, 30, 80 日目抗 C+e, 抗 e 抗体価をそれぞれ R₁R₁ (DCCee) 赤血球および rr (dcee) 赤血球にて観察した。抗体価は PEG-IAT にて検討した。

6) 直接抗グロブリン試験 (DAT)：輸血後 5, 7 日目に実施した。また、抗体解離試験はオーソ®DT 解離液 II (Ortho Clinical Diagnostics 社) を用いて行った。

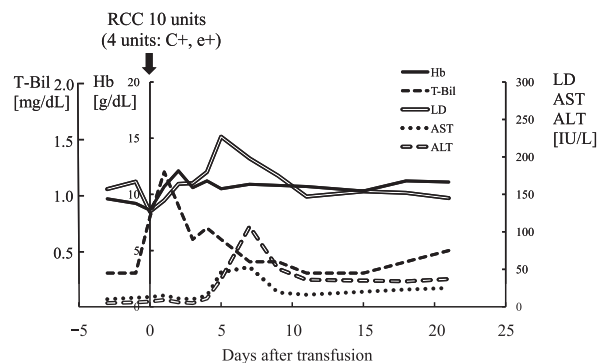


Fig. 1 Clinical course

2. IgG サブクラス検査

輸血当日の血清を用いて抗 C+e と抗 e の IgG サブクラスを検査した。

血清と R₁R₁ および rr 赤血球を PEG 存在下で 37°C, 15 分間反応させた。洗浄後、50 倍希釈 Mouse Anti-Human IgG1~4 Monoclonal Antibody (Binding Site 社) を添加して室温 30 分間反応させ、再度洗浄を行った。100 倍希釈 PE-conjugated AffiniPure F(ab')₂ Fragment Goat Anti-Mouse IgG, Fcγ Fragment Specific (Jackson Immuno Research 社) を加え室温 30 分間反応。洗浄後フローサイトメトリー (Cytomics FC500, Beckman Coulter 社) で解析した。陰性対照として感作歴のない AB 型男性血清を使用し、Median fluorescent intensity (MFI) について披検血清と陰性対照の比を算出した。MFI 比が 2.0 以上を陽性とした。

結 果

1. 輸血関連検査

患者血液型は DccEE, Jk (a+b+), Fy (a+b-), Le (a-b+), NNss, Di (a+) であった。不規則抗体スクリーニングでは生食法 (即時遠心判定) 陰性、PEG-IAT で (1+)~(3+) で凝集を認めた。抗体同定検査にて冷抗体の有無を確認するため生食法を室温 10 分間反応させたところ、全パネル赤血球で (2+), PEG-IAT では (1+)~(2+) を示した。この時の自己対照は陰性。臍帯血および A₁ 血球との反応は陰性であったため抗 HI を保有していると判断した。抗 HI 除去上清ではパネル赤血球との反応が生食法 (室温 10 分間感作) 陰性、PEG-IAT (0)~(2+) となった。可能性のある抗体として抗 C, 抗 e, 抗 Fy^b が、否定できない抗体として抗 K, 抗 Le^a が考えられた。寒冷凝集素吸収試薬では抗 HI の吸着が不十分である可能性があったため、最終的には同試薬を用いず O 型 DccEE, Fy (b-), kk, Le (a-b+) 同種血球によって抗 HI を吸着除去した上清にて抗 C+e を同定した。未処理血漿と抗 HI 吸着血漿にて輸血前に行った Ir-RCC-LR 4 単位の交差適合試験

Table 2 Major crossmatch test before and after adsorption of anti-HI

No.	Component	Before adsorption		After adsorption	
		Saline	LISS-IAT	Saline	LISS-IAT
1	AB (+) Ir-RCC-LR	0	0	0	0
2	AB (+) Ir-RCC-LR	0	w+	0	0
	Autocontrol	0	0	0	0

LISS-IAT, Indirect antiglobulin test using low ionic strength solution

Table 3 Titers of anti-C+e and anti-e, direct antiglobulin test and elution test

	Day 0	Day 5	Day 7	Day 9	Day 30	Day 80
Titer of anti-C+e*	1:2	NT	NT	1:2	1:4	1:4
Titer of anti-e#	1:1~1:2	NT	NT	(-)	1:1	1:2
Direct antiglobulin test	NT	(-)	(-)	NT	NT	NT
Elution test ^b	NT	(+)	(+)	NT	NT	NT

NT, not tested

*Reaction with R₁R₁ (DCCee) cells on PEG-IAT, Indirect antiglobulin test using polyethylene glycol

#Reaction with rr (dccee) cells on PEG-IAT

^bDichloromethane-dichloropropane

Table 4 IgG subclasses of anti-C+e and anti-e

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
anti-C+e*	1.28	1.71	1.19	1.09
anti-e#	1.26	1.15	1.09	1.05

*Reaction with R₁R₁ (DCCee) cells

#Reaction with rr (dccee) cells

Numbers represent the median fluorescence intensity ratio of samples to their negative controls.

(主試験)の結果を Table 2 に示す。未処理の血漿では No.2 の製剤と LISS-IAT で弱い凝集(w+)を認めたが、抗 HI 吸着血漿では陰性化した。No.1 は DCCee, No.2 は DCCee であった (Table 1)。

PEG-IAT による抗 C+e 抗体価は輸血日および輸血後 9 日目に 2 倍を示し、30、80 日目では 4 倍であった (Table 3)。輸血当日の抗 e 抗体価は試料不足のため実施できなかったが、30 日目 1 倍、80 日目で 2 倍を示した。DAT は 5、7 日目で陰性であったが、抗体解離試験は両日ともに陽性であった。Table 3 には示さないが、解離液はスクリーニング用パネル赤血球すべてに反応したが、R₁R₁ と rr 赤血球に対してより強く反応した。

2. IgG サブクラス検査

抗 C+e および抗 e の IgG1~4 の MFI 比はいずれも 2.0 以下であった (Table 4)。抗 C+e の IgG2 が 1.71 と比較的高い値を示した。

考 察

本邦だけでも抗 C+e による DHTR の報告^{7)~9)}がいくつもあり、抗 C+e を保有していた本症例が不適合輸血後に溶血性輸血副作用を起こす可能性は十分にあった。

しかしながら、結果的には溶血症状を呈さなかった。

Vamvakas, Pineda らの 1980~1998 年の調査⁴⁾⁵⁾によると輸血後に産生された抗 C, 抗 e による DHTR : DSTR の頻度はそれぞれ 8 例 (36%) : 14 例 (64%), 3 例 (25%) : 9 例 (75%) であり、臨床的意義が高いと言われる Rh 血液型の抗体でも溶血を起こすとは限らず、むしろ DSTR の方が多い。溶血を起こすかどうかは抗体の免疫グロブリンクラスや力価、抗原の発現量など様々な要因が関与する¹⁰⁾。

約 1 年前の手術前検査時にはいずれの不規則抗体も保有しておらず、この時の輸血による免疫刺激によって抗 C+e を産生した可能性が高い。

今回、最初に輸血された Ir-RCC-LR の No.1, No.2 はそれぞれ DCCee, DCCee であったが抗 HI 吸着血漿で実施した交差適合試験 (LISS-IAT) ではいずれも陰性となった (Table 1, 2)。ただし、未処理血漿では No.2 で弱陽性を示した。C および e ホモ接合体であった No.2 でのみ抗 C+e との不適合を弱く検出していたが、No.1 のヘテロ接合体では検出限界以下だったと推測される。抗 HI 吸着血漿で No.2 の反応が陰性化したのは吸着操作時の希釈の影響が考えられる。LISS-IAT は PEG-IAT よりも検出感度が低く¹¹⁾、PEG-IAT による不規則抗体検査にて抗 HI 吸着血漿が R₁R₁ 赤血球と (2+) の反応を示していたことから LISS-IAT ではこの抗体との不適合を検出するには不十分であったと考えられる。抗 HI や他の冷式抗体が存在する可能性を考え、その影響を防ぐ目的で交差適合試験を特異度・感度のバランスが良い現行の LISS-IAT で実施したが、PEG-IAT では不適合を検出できていた可能性がある。抗 HI が存在しても、交差適合試験では H 抗原発現量の少ない同型

(この症例については AB 型)の血液と反応させるため、通常問題とならない²⁾。そのことをふまえると未処理血漿による交差適合試験の結果を反映させるべきであったといえる。しかしながら、その時院内の在庫には AB 型で C(-), e(-) の赤血球製剤はなく、手術中の緊急輸血のためいずれにせよ不適合輸血は避けられなかったとも言える。

抗 C+e は輸血当日に 2 倍 (PEG-IAT) と低力価の抗体であった。輸血後 9 日目までは力価は変化せず、30、80 日目に 4 倍まで上昇したものの輸血後の急激な力価上昇は認めなかった。4 倍に上昇した 30 日目以降もそれに伴う溶血所見は現われていない。輸血された C(+), e(+) 血液の刺激によって抗体価が上昇した可能性は否定できないが、抗体価の上昇度や上昇の時期から二次免疫応答を起したとは判断し難い。5 日目と 7 日目の患者血球から解離された抗体は汎反応性であったが R₁R₁ 及び rr パネル赤血球により強く反応しており、残存した輸血赤血球に抗 C+e が結合していたと思われる。汎反応性の解離抗体は抗 HI とも考えられるが、DT 解離法では主に IgG 成分が解離されるため、IgM が主体と思われる抗 HI ではなく自己抗体の可能性もある。しかし、輸血前の患者血球について解離試験を実施できなかったため解離試験によってのみ検出される自己抗体を保有していたかどうかは不明である。

IgG サブクラス検査では MFI 比が 2.0 以上を示すサブクラスはなかったが、IgG2 が他に比べてわずかに高値であった。抗 C+e が低力価のため赤血球への抗体感作量が少なく、サブクラス解析を不鮮明にしたと考える。赤血球抗原に結合した IgG1 と IgG3 は補体結合性、マクロファージなどの食細胞膜上の Fc レセプターとの結合性がともに高いために血管内外の溶血に関与する²⁾ ことから、不規則抗体の溶血能の評価としてサブクラス評価や単球貪食試験を実施することは有用である。今回は低力価のためにサブクラス評価ができなかったが、本症例のような不適合輸血のフォローアップや適合血輸血の必要性をあらかじめ検討する場合 (例えば抗 J_r^a) には活用したい。

赤血球に結合する抗体量が多いほど赤血球は破壊されやすく²⁾、この症例において輸血後の溶血反応が現れなかった理由として、抗体価が低かったことが考えられる。また、術中出血は 590ml で術後も出血が続いていたことから、術中、術後の出血によって不適合赤血球の一部が失われたことも溶血が起らず抗体価軽度上昇にとどまった理由のひとつと考えられる。患者の免疫能については明らかでないが、難治性の MRSA 創部感染症を患っていたことから、免疫能が低下していた可能性もある。

基準範囲内の変動であったが、輸血後 5 日目に LD

上昇を認め溶血も疑われた (Fig. 1)、これについてはほぼ同時期に AST と ALT の上昇も認めており、手術日前後に使用開始したバンコマイシン、リンコマイシン系抗生物質による一時的な肝機能障害の影響と考えられた。

今回の様な抗 C+e の特異性を表わす抗体は、本質的には抗 C+抗 e、抗 Ce (RH7) + 抗 e または抗 C+抗 Ce+抗 e のいずれかである。結果には示していないが、本症例は R₁R₁ 赤血球と (2+), rr 赤血球と (1+) で反応し R₂R₂ (DCcEE) パネル赤血球との反応は陰性であったことから抗 Ce と抗 e と考えられた。しかし、R₂R₂ 赤血球の C 抗原量は少ないことが知られているので抗 C の存在も否定できず、抗体の鑑別には至らなかった。

抗 HI のような冷式抗体や自己抗体と共存する同種抗体の同定には吸着操作を必要とするため通常よりも時間を要する。本症例は短期間で入院・手術が決まった症例ではあったが、遑って確認すると手術日程は手術 4 日前には決定していたことがわかった。その時点で輸血の申し込みがあれば事前に不規則抗体検査を実施し、適合血を準備することができた。手術に関しては緊急時を除いて事前に輸血の申し込みをしてもらうこととしていたが、未だ臨床側の認識に差があり、徹底されていないのが現状である。輸血をする可能性のある場合は血液型と不規則抗体検査を事前に行うことで稀な血液型や臨床的に重要な不規則抗体を保有していた場合に備えるという意義を十分に理解してもらうことが必要である。臨床側の理解を深め可能な限り余裕を持って検査を行うこと、やむを得ず不規則抗体に対する不適合赤血球を輸血した場合はフォローアップをきちんと行うことが不可欠であると再確認した。

結 語

症例は抗 HI に加え抗 C+e を保有していたが、C(+), e(+) の不適合赤血球が輸血された。抗 C+e が低力価であったことに加え、術中に輸血された不適合赤血球が出血により減少したことから、輸血後の急激な抗体価上昇や溶血性副作用を呈さなかったと考えられた。

特に輸血・妊娠歴のある症例においては可能な限り事前の不規則抗体検査を実施することが不可欠で、体制づくりに加えてその目的を検査部門、臨床部門ともに十分に理解することが必要である。

文 献

- 1) 広瀬優子, 竹下昌一, 正木康史, 他: 抗 HI 抗体による寒冷凝集素症に ITP を合併した Evans 症候群の 1 例. 日本輸血学会雑誌, 45 (4): 466-470, 1999.

- 2) Mollison PL, Engelfreit CP, Contreras M: In: Klein HG, Anstee DJ, eds, *Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 11th ed, Blackwell, Oxford, 2005, 48—113.
- 3) Ness PM, Shirey RS, Thoman SK, et al: The differentiation of delayed serologic and delayed hemolytic transfusion reactions: incidence, long-term serologic findings, and clinical significance. *Transfusion*, 30 (8): 688—693, 1990.
- 4) Vamvakas EC, Pineda AA, Reisner R, et al: The differentiation of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reactions: incidence and predictors of hemolysis. *Transfusion*, 35 (1): 26—32, 1995.
- 5) Pineda AA, Vamvakas EC, Gorden LD, et al: Trends in the incidence of delayed hemolytic and delayed serologic transfusion reactions. *Transfusion*, 39 (10): 1097—1103, 1999.
- 6) 赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドライン作成委員会: 赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドライン. 日本輸血学会誌, 49 (3): 398—403, 2003.
- 7) 山口富子, 安田広康, 佐藤久美子, 他: 複数の抗体(抗C, 抗e, 抗Jk^a, 抗P₁抗体)により短期間に2回連続して発症した遅発性溶血性輸血副作用. 日本輸血学会雑誌, 43 (6): 896—900, 1997.
- 8) 石丸 健, 天満智佳, 藤原義一, 他: 一次免疫応答より惹起されたと考えられる遅発性溶血性輸血副作用の1症例. 日本輸血学会雑誌, 50 (6): 768—773, 2004.
- 9) 北澤淳一, 猪股真喜子, 鎌田千鶴, 他: 一次免疫反応により産生された抗C+e抗体による遅発性溶血性輸血副作用を呈した1例. 日本輸血学会雑誌, 51 (6): 594—600, 2005.
- 10) Petz LD, Garratty G: Mechanism of immune hemolysis. In: *Immune hemolytic anemias*, 2nd ed, Churchill Livingstone, Philadelphia, 2004, 133—166.
- 11) 佐々木正照, 山田美加子, 金子礼子, 他: 各種検査法における赤血球IgG性同種抗体の検出感度の検討. 日本輸血学会雑誌, 49 (5): 640—645, 2003.

INCOMPATIBLE RBC TRANSFUSION WITHOUT HEMOLYSIS IN A PATIENT WITH ALLO ANTI-C, -e AND -HI

Akiko Sugawara¹⁾, Hisako Kitsukawa¹⁾, Minae Takasaki¹⁾, Miho Okutsu¹⁾, Shunichi Saito¹⁾, Kinuyo Kawabata¹⁾, Hiroyasu Yasuda¹⁾, Hitoshi Ohto¹⁾, Yoshiyuki Sato²⁾ and Hitoshi Yokoyama²⁾

¹⁾Department of Blood Transfusion and Transplantation Immunology, Fukushima Medical University Hospital

²⁾Department of Cardiovascular Surgery, Fukushima Medical University Hospital

Abstract:

Antibodies against Rh antigens have been associated with clinically significant hemolytic transfusion reactions. We describe here the uneventful transfusion of C + e + red cells to a previously transfused patient with anti-C and anti-e.

A 69-year-old male with a wound infection had a history of transfusion one year prior, at which time no alloantibodies were detected. Seven units of concentrated red cells were ordered for debridement surgery. Anti-HI was identified in the patient's plasma, but he required transfusion before antibody screening was complete. Compatibility testing with anti-HI-depleted plasma allowed the release and transfusion of 4 units (2 bags) of red cells. Anti-C and -e were identified after transfusion. Subsequently, 6 units (4 bags) of C - e - red cells were transfused for postoperative hemorrhage. Although the first 4 units of red cells were C + e +, no evidence of hemolysis was observed in 4 months following transfusion.

Titers of anti-C + e increased from 1 : 2 on Day 0 to 1 : 4 on Day 30 : however, no hemolysis was observed with this increase. IgG subclasses of anti-C + e could not be identified because of the low titer. While the direct antiglobulin test was negative on Days 5 and 7, panagglutinating antibodies including anti-C + e were eluted from patient's red cells on both 2 days.

Anti-C + e titer was low and incompatible blood was partially lost due to perioperative bleeding, so it is plausible that hemolysis was not observed in this situation. Nevertheless, to reduce the likelihood of incompatible transfusion events, it is important to educate physicians about the value of early antibody screening.

Keywords:

Anti-C + e, Anti-HI, incompatible blood transfusion, hemolytic transfusion reaction, IgG subclasses