

## 高頻度抗原 KANNO に対する同種抗体の血清学的性状と臨床的意義

川畑 絹代<sup>1)</sup> 安田 広康<sup>1)</sup> 土田 秀明<sup>2)</sup> 伊藤 正一<sup>3)</sup> 菊地 正輝<sup>3)</sup>

常山 初江<sup>4)</sup> 内川 誠<sup>4)</sup> 大戸 齊<sup>1)</sup>

抗 KANNO は 1991 年に福島医大病院で遭遇した高頻度抗原に対する抗体で、既知の抗体にはその反応性が一致するものが無かった。発端者に因み、この抗体を抗 KANNO、対応抗原を KANNO 抗原と名付けた。KANNO 抗原発見に関わった福島医大病院 2 症例と山形県および宮城県赤十字血液センターで同定した抗 KANNO 12 例、計 14 例について反応性、臨床的意義を検討した。

抗 KANNO を保有する 14 例のうち 13 例が妊娠歴のある女性であり、輸血よりも妊娠によって産生されやすい抗体であると考えられる。抗 KANNO は高力価低親和性 (HTLA) 抗体の特徴を示し、類似した反応性を持つ抗 JMII とは、AET 処理赤血球と反応する点で鑑別できる。現在まで、抗 KANNO による溶血性輸血副作用 (HTR) や胎児・新生児溶血性疾患 (HDFN) の報告はなく臨床的意義は低いと考えられるが、さらに症例を蓄積する必要がある。

キーワード：抗 KANNO、KANNO 抗原、高頻度抗原、高力価低親和性抗体

第 58 回日本輸血・細胞治療学会総会座長推薦論文

### はじめに

我々は 1991 年に、既知の抗体にはその反応性が一致するものが無い高頻度抗原に対する抗体に遭遇した。発端者に因み、この抗体を抗 KANNO、対応抗原を KANNO 抗原と名付けた。その後、抗 KANNO による症例報告は学会発表として十数例あり、抗 KANNO 保有妊婦症例については森田<sup>1)</sup>が論文報告しているが、反応性の詳細についての論文はない。KANNO 抗原発見に関わった 1 例とその後の福島医大病院 1 症例、および山形県および宮城県赤十字血液センターで同定した 12 例の抗 KANNO、計 14 例について反応性、臨床的意義を検討した。

### 症例 1 (発端者)

40 歳代女性、輸血歴無し、出産歴 2 回。B 型、D+C+c+E+e+, Jk (a+b-), Fy (a+b-), Di (a-b+), K-k+, M+N-S-s+, Le(a-b+), P1-, Jr(a+), P+P<sup>h</sup>+. 1991 年子宮筋腫摘出術のため入院し、高度の貧血 (Hb 5.5g/dl) により濃厚赤血球 (RCC) を 1 単位 (U) ずつ、5 日連続 (計 5U) 輸血した。アルブミン-

間接抗グロブリン試験 (Albumin-indirect antiglobulin test: Alb-IAT) による不規則抗体検査は輸血前、初回輸血後 4 日目、7 日目は陰性であったが、10 日目に陽性となり、同定検査において自己血球を除くパネル赤血球すべてと弱陽性の反応を示した。手術は、予想出血量が少なかったため自己血 600ml を準備して対応し、出血量 270ml、自己血 600ml を輸血して終了した (Fig. 1)。

詳細に検討したが、既知の抗体には反応性が一致するものが無く暫定的に抗 KANNO と命名した。

### 症例 2

80 歳代女性、O 型、D+C+c+E+e+, 輸血歴有り、出産歴 3 回。1999 年慢性骨髄単球性白血病の治療のため入院し、化学療法による貧血のため、RCC 1U を 2 本輸血し 4 日後さらに 2U を 1 本輸血した。ポリエチレングリコール-間接抗グロブリン試験による輸血前の不規則抗体検査は陰性であったが、初回赤血球輸血後 5 日目に陽性となり、自己赤血球を除くパネル赤血球すべてと 1+~1+<sup>s</sup> で反応した。その後、Alb-IAT による

1) 福島県立医科大学附属病院輸血・移植免疫部

2) 山形県赤十字血液センター

3) 宮城県赤十字血液センター

4) 東京都赤十字血液センター

[受付日：2011 年 5 月 6 日，受理日：2011 年 7 月 14 日]

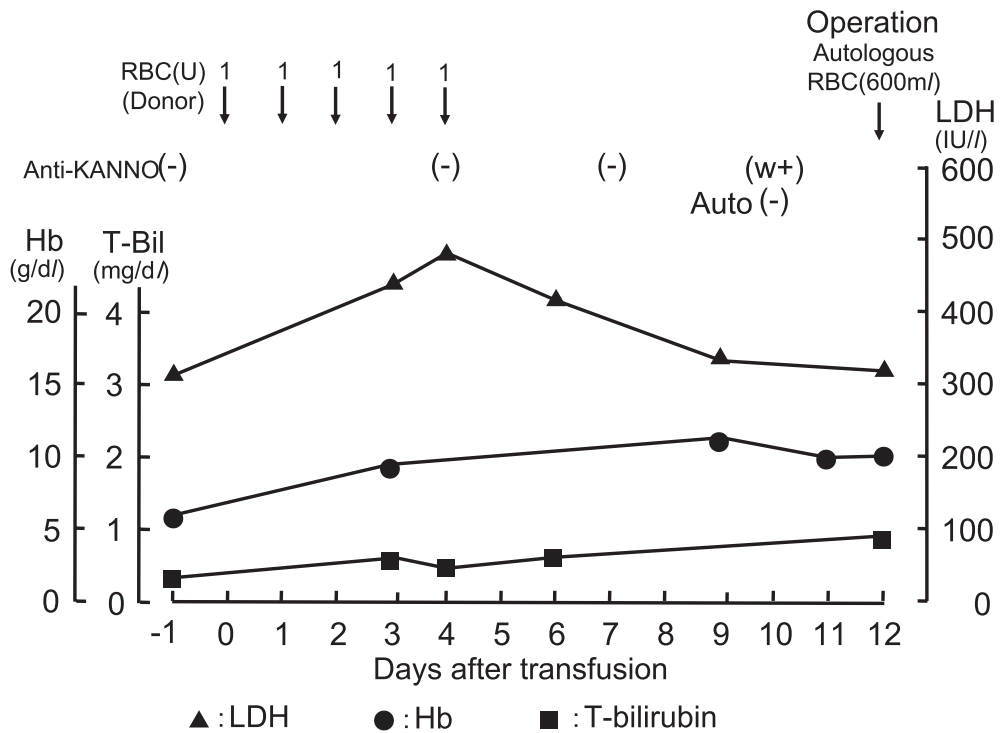


Fig. 1 Clinical course after random-RBC transfusion in Patient 1

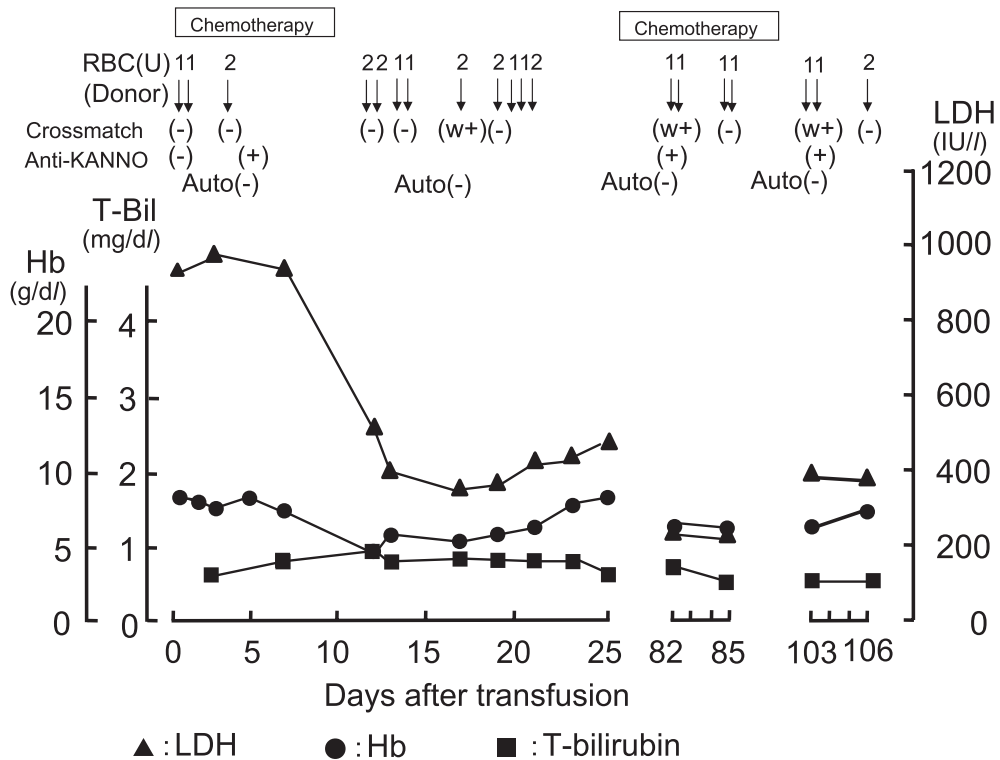


Fig. 2 Clinical course after random-RBC transfusion in Patient 2

交差適合試験で陰性～弱陽性 (w+) の RCC を計 77 U(53 本) 輸血したが, 明らかな溶血性輸血副作用 (Hemolytic transfusion reaction ; HTR) は無かった (Fig. 2).

精査した結果, この抗体は KANNO 陰性赤血球のみと反応せず, また患者赤血球も抗 KANNO 血清と反応しなかったことから, 患者血清中の抗体を抗 KANNO

Table 1 Serologic reactivity of Patient 1 and Patient 2

RBC \ Serum	Treatment			Cord cell	JMH -	Sc: -1	Yt (a-)	Other HFA - *3	KANNO -
	Enzyme *1	DTT, AET *2	Acid						
Patient 1	0	+	+	+	+	+	+	+	0
Patient 2	0	n.t.	n.t.	n.t.	+	n.t.	n.t.	n.t.	

\*1 Ficin, Trypsin,  $\alpha$ -Chymotrypsin, Pronase

\*2 DTT: Dithiothreitol, AET: 2-Aminoethylisothiouonium bromide

\*3 High-frequency antigen (HFA)-negative RBC; S-s-U-, En (a-), M<sup>k</sup>M<sup>k</sup>, p, D-- , Rh<sub>null</sub>, Lu (a-b-), In (Lu), K+k-, Kp (a+b-), Js (a+b-), Kp (a-b-), K: -14, K<sub>0</sub>, Fy (a-b-), Jk (a-b-), Di (a+b-), Wr (b-), CD99-, Do (a+b-), Gy (a-), Co (a-b+), LW (a-b-), Ch-, Rg-, Oh, Kx-, Ge: -2, -3, 4, IFC-, McC<sub>null</sub>, Yk (a-), Ok (a-), I- (adult i), Er (a-), LKE-, Vel-, Lan-, Jr (a-).

RBC \ Serum	Neutralization test				RBC \ Serum	Patient 1	Patient 2
	Serum	Colostrum *4	Saliva *5	Urine *6			
Patient 1	+	+	+	+	Anti-KANNO	+	0
Patient 2	n.t.	n.t.	n.t.	n.t.	Other antiserum *7		n.t.

\*4 I substance, \*5 H substance, \*6 Sd<sup>a</sup> substance\*7 Anti high-frequency antigen (HFA); anti-s, -U, -En<sup>a</sup>, -Pr, -Hro, -Rh29, -Lu<sup>b</sup>, -Lu3, -k, -Kp<sup>b</sup>, -Ku, -Js<sup>b</sup>, -K14, -K18, -K22, -Fy3, -Fy6, -Jk3, -Di<sup>b</sup>, -Wr<sup>b</sup>, -Yt<sup>a</sup>, -CD99, -Sc1, -Do<sup>b</sup>, -Gy<sup>a</sup>, -Co<sup>a</sup>, -LW<sup>a</sup>, -H, -Ge2, -Ge3, -Ge4, -IFC, -WES<sup>b</sup>, -UMC, -Yk<sup>a</sup>, -Kn<sup>a</sup>, -In<sup>b</sup>, -Ok<sup>a</sup>, -JMH, -I, -P, -Lan, -Jr<sup>a</sup>, -AnWj, -Sd<sup>a</sup>, -Er<sup>a</sup>, -LKE, -Vel.

+: Agglutination, 0: No agglutination, n.t.: Not tested

と同定した。

症例 1, 2 の検査結果を Table 1 に示す。症例 1 の血清は各種酵素処理赤血球いずれとも反応しなかった。また、血清はジチオスレイトール(Dithiothreitol: DTT) および 2-臭化アミノエチルイソチオウロニウム (2-Aminoethylisothiouonium bromide: AET) 処理赤血球と反応したが血清で中和されず、C3/C4 感作赤血球による反応の増強もみられなかった。血清学的特徴が既知の高頻度抗原に対する抗体と一致するものが無く、既知の高頻度抗原陰性赤血球とはすべて反応した。これらの結果より、症例 1 に検出された抗体は、新たな抗原を認識している可能性が示唆された。

症例 2 の患者血清は酵素処理赤血球と反応せず、抗 JMH が疑われたが、JMH 陰性赤血球との反応は陽性であった。精査の結果 KANNO 陰性赤血球と反応せず、患者赤血球と抗 KANNO 血清との反応も陰性であったことから、本抗体は症例 1 の保有抗体と同じ特異性をもつ同種抗体と判明した。

## 材料と方法

福島医大病院の 2 症例と、2006 年 4 月から 2010 年 3 月までに東北地区の医療機関から抗体同定の依頼を受けて、山形県および宮城県赤十字血液センターで抗 KANNO と同定された 12 例の計 14 例について調査し、抗 KANNO と反応性が類似する高頻度抗原に対する抗体との血清学的反応性を比較した。

## 結 果

### 1. 抗 KANNO 14 例の特性

抗 KANNO を保有する患者 14 名の性別は女性 13 名、男性 1 名であった。女性 13 名はすべて妊娠歴があり、抗体検出時における輸血歴については有り 4 名、無し 5 名、不明 4 名であった。男性 1 名は輸血歴があった。いずれの患者も KANNO 抗原陰性、直接抗グロブリン試験 (Direct antiglobulin test: DAT) 陰性で、検出された抗 KANNO は同種抗体であった。抗体価の中央値は 16 倍 (4~64 倍) であった (Table 2)。

### 2. 抗 KANNO の血清学的反応性

抗 KANNO と類似した反応性を示す高頻度抗原に対する抗体の血清学的反応性を Table 3 に示した。抗 KANNO は 1) 酵素処理赤血球と反応しない、2) DTT, AET 処理赤血球と反応する、3) 血清の補体成分で中和されない、4) C3/C4 感作赤血球との反応は未感作赤血球と比べて反応に差が無い、という特性により、抗 JMH, 抗 Ch/Rg, 抗 Jr<sup>a</sup> との鑑別が可能であった。

## 考 察

抗 KANNO についての症例は、我々が遭遇した 2 例の後、2001 年に宮崎ら<sup>2)</sup>が初めて症例を報告し、その後現在まで十数例の学会報告がある<sup>3)~5)</sup>。抗 KANNO は 1) 間接抗グロブリン試験でのみ反応する、2) 凝集態度は未希釈でも w+~2+ と弱い希釈しても凝集の強さに変化が少ない高力価低親和性 (High-titer low-avidity: HTLA) 抗体の反応性を示す、という点で抗 JMH, 抗 Ch/Rg, 抗 Jr<sup>a</sup> などの高頻度抗原に対する抗体と類似している。

Table 2 Clinical and laboratory findings of 14 anti-KANNO cases

Case	Age	Gender	History of transfusion	History of pregnancy	DAT	Titer of anti-KANNO
1	49	F	Yes	Yes	Negative	n.t.
2	82	F	Yes	Yes	Negative	n.t.
3	33	F	No	Yes	Negative	16
4	36	F	n.k.	Yes	Negative	16
5	31	F	No	Yes	Negative	32
6	31	F	No	Yes	Negative	8
7	76	M	Yes	—	Negative	64
8	22	F	No	Yes	Negative	16
9	55	F	Yes	Yes	Negative	4
10	22	F	n.k.	Yes	Negative	4
11	30	F	n.k.	Yes	Negative	32
12	22	F	n.k.	Yes	Negative	16
13	35	F	No	Yes	Negative	8
14	30	F	Yes	Yes	Negative	4

DAT: Direct antiglobulin test

n.k.: Not known

n.t.: Not tested

Table 3 Serologic reactivity of anti-KANNO and other HTLA antibodies

Antibody	RBC treatment with			Inhibition by serum
	Fisin, Trypsin	DTT, AET*1	C3, C4	
Anti-KANNO	0	+	=	Negative
Anti-JMH	0	0	=	Negative
Anti-Ch/Rg	0	+	↑↑	Positive
Anti-Jr <sup>a</sup>	+	+	=	Negative

\*1 DTT: Dithiothreitol, AET: 2-Aminoethylisothiuronium bromide

0: Absent reactivity, +: Reactive,

= : Equal to untreated red cells, ↑↑ : Stronger than untreated red cells

高頻度抗原に対する抗体の同定は困難であるが、効率よく同定するために、1) 酵素(トリプシン, フィシン, キモトリプシン, プロナーゼ)処理赤血球との反応, 2) DTT, AET 処理赤血球との反応, 3) 血漿(血清)による中和, 4) C3/C4 感作赤血球との反応, 5) 臍帯赤血球との反応<sup>6)7)</sup>などの血液型抗原の特性を利用したアプローチがなされている。

症例1の血清は各種酵素処理赤血球のいずれとも反応せず、対応抗原は酵素処理で活性を失う性質があった。このような性質をもつ血液型抗原はCh/Rg, Indian, JMh, Xg<sup>a</sup>, Bp<sup>a</sup> (Bishop)が知られている。Bp<sup>a</sup>は低頻度抗原であり、抗Xg<sup>a</sup>は市販の同定用パネル赤血球で同定することができる。高頻度抗原であるCh/Rg, In<sup>b</sup>, JMhに対する抗体のうち、抗Ch/RgはDTT (AET)処理赤血球と反応するが、抗In<sup>b</sup>, 抗JMhは反応しない。さらに、抗Ch/Rgは血漿(血清)で中和され、C3/C4感作赤血球で反応が増強し、臍帯赤血球と反応しない、という血清学的特徴をもっている。症例1の血清はDTT処理赤血球と反応したが、血清で中和されず、C3/C4感作赤血球による反応の増強もみられず、臍帯赤血球

とは反応したことから、血清学的特徴が既知の高頻度抗原に対する抗体と一致するものがなかった。これらの結果より、症例1に検出された抗体は、新たな抗原を認識している可能性が示唆された。

輸血の対応として、我々は症例2において抗体検出後Alb-IATによる交差適合試験で陰性~w+と反応の弱いRCCを計77U(53本)輸血したが、明らかなHTRは無かった。五十嵐ら<sup>3)</sup>など4症例で、交差適合試験陽性の赤血球を輸血した報告があるが、いずれもHTRは認められていない。

抗KANNO保有妊婦について、現在までに上杉ら<sup>4)</sup>の2症例を含み5症例報告されている。胎児・新生児溶血性疾患(Hemolytic disease of the fetus and the newborn; HDFN)の発症は1例も認められていない。樫村ら<sup>5)</sup>は、森田<sup>1)</sup>が報告した症例妊婦の保有する抗KANNOの抗体価、IgGサブクラス測定、フローサイトメトリーによる貪食試験(Flowcytometric phagocytosis assay: FCM-PCA)を実施している。抗体のサブクラスはIgG1であったが、FCM-PCAは5%前後と低値で推移し(陽性:20%以上)、抗体価も妊娠28週から

出産後35日まで16倍のまま上昇を認めず、HDFNの発症は無かったと報告している。

HTLAの反応性を示す高頻度抗原に対する抗体の多くは臨床的意義が少ないとされているが、抗Jr<sup>a</sup>による重篤なHDFNやHTRの症例や<sup>8)~10)</sup>、抗JM<sup>H</sup>によるHTRも少数ではあるが報告されている<sup>11)</sup>。Kwonら<sup>10)</sup>は輸血前の抗体価が32倍であった2名の抗Jr<sup>a</sup>保有者にJr<sup>a</sup>陽性RCCを輸血した症例について検討した。彼らは輸血前の単球貪食試験(Monocyte monolayer assay: MMA)が、3.3%(陽性:5%以上)と低値であった男性患者はHTRを起さず、MMAが24.5%と高値であった女性は急性のHTRの症状を示したことから、臨床的意義の予測にMMAが有用な手段であることを報告している。Garrattyら<sup>12)</sup>も、まれな血液型患者が保有する不規則抗体の臨床的意義を予測する上でMMAが有効であると報告している。

MMAは臨床的意義を予測する確定的な検査ではないが、臨床的意義が明らかではない抗KANNOにおいては、一つの指標として有効かもしれない。

これまで報告された抗KANNOを保有する症例はいずれも女性であった。今回対象とした14例中では13名が女性でいずれも妊娠歴があった。KANNO抗原による同種免疫感作は主に妊娠時に起こるのかもしれない。

KANNOについての抗原解析の報告は宮崎ら<sup>2)</sup>によるものだけであるが、KANNO抗原はN-glycoside型糖鎖が結合した糖蛋白であり、血小板にも発現していることが示唆されている。今後、更に詳細な抗原の解析が進み遺伝子構造まで明らかにされることが望まれる。

## 結 語

1991年に我々が遭遇した抗KANNOの反応性と臨床的意義を検討した。現在までの報告では本抗体の臨床的意義は少ないと考えられるが、さらに症例を蓄積し臨床的意義について検討する必要がある。またKANNO抗原についての詳細な抗原解析が必要である。

## 文 献

- 1) 森田恒之: 抗KANNOと胎児・新生児溶血性疾患発症の関連. 周産期, 99: 315—320, 2009.
- 2) 宮崎 孔, 石丸 健, 佐藤進一郎, 他: 新たな血液型抗原と考えられるKANNOの血清学的解析(抄録). 日本輸血学会雑誌, 47: 199, 2001.
- 3) 五十嵐寛幸, 矢部隆一, 清水 弘, 他: 抗KANNOを保有した1症例(抄録). 血液事業, 25: 338, 2002.
- 4) 上杉貴弘, 伊藤美香, 田中順一, 他: 抗KANNO抗体保有妊婦の2症例(抄録). 医学検査, 58: 731, 2009.
- 5) 櫻村 誠, 高木勝宏, 佐藤まゆみ, 他: 胎児・新生児に溶血性疾患を発症しなかった抗KANNO抗体保有妊婦症例(抄録). 日本輸血細胞治療学会誌, 56: 295, 2010.
- 6) Daniels G.: Effect of enzymes on and chemical modifications of high-frequency red cell antigens. *Immunohematology*, 8: 53—57, 1992.
- 7) Reid ME, Lomas-Francis C: *The blood group antigen Factsbook* 2nd ed, Academic Press, London, 2004, 521—524.
- 8) Kim H, Sung M-J, Choi JS, et al: Hemolytic disease of the newborn associated with anti-Jr<sup>a</sup> alloimmunization in a twin pregnancy: The first case report in Korea. *Korean J Lab Med*, 30: 511—515, 2010.
- 9) Peyrard T, Pham B-N, Arnaud L, et al: Fetal hemolytic disease of the fetus and newborn associated with anti-Jr<sup>a</sup>. *Transfusion*, 48: 1906—1911, 2008.
- 10) Kwon MY, Su L, Arndt PA, et al: Clinical significance of anti-Jr<sup>a</sup>: report of two cases and review of the literature. *Transfusion*, 44: 197—201, 2004.
- 11) Hoppe B, Pastucha L, Seltsam A, et al: Acute haemolytic transfusion reactions due to weak antibodies that in vitro did not seem to be clinically significant. *Vox Sang*, 82: 207—210, 2002.
- 12) Arndt PA, Garratty G: A retrospective analysis of the value of monocyte monolayer assay results for predicting the clinical significance of blood group alloantibodies. *Transfusion*, 44: 1273—1281, 2004.

## SEROLOGIC REACTIVITY AND CLINICAL SIGNIFICANCE OF THE HIGH FREQUENCY ANTIGEN KANNO AND ITS ANTIBODY

*Kinuyo Kawabata*<sup>1)</sup>, *Hiroyasu Yasuda*<sup>1)</sup>, *Hideaki Tsuchida*<sup>2)</sup>, *Shouichi Ito*<sup>3)</sup>, *Masateru Kikuchi*<sup>3)</sup>, *Hatsue Tsuneyama*<sup>4)</sup>, *Makoto Uchikawa*<sup>4)</sup> and *Hitoshi Ohto*<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Blood Transfusion and Transplantation Immunology, Fukushima Medical University Hospital

<sup>2)</sup>Japanese Red Cross Yamagata Blood Center

<sup>3)</sup>Japanese Red Cross Miyagi Blood Center

<sup>4)</sup>Japanese Red Cross Tokyo Blood Center

### **Abstract:**

Anti-KANNO, encountered in 1991 at Fukushima Medical University Hospital, reacted unlike any other known antibody. The antibody and its high-frequency antigen are named after the first patient. We investigated the reactivity and clinical significance of anti-KANNO in the original two patients, and 12 subsequent cases identified by Red Cross blood centers in Japan's Yamagata and Miyagi Prefectures. Among the 14 patients, 13 were females with a history of pregnancy. Anti-KANNO has the characteristics of a high-titer, low-avidity (HTLA) antibody. It reacts with red cells treated with 2-aminoethylisothiuronium bromide (AET), so it can be distinguished from anti-JMH. As yet, there are no reports of hemolytic transfusion reaction (HTR) or hemolytic disease of the fetus and the newborn (HDFN) attributed to anti-KANNO. It appears that anti-KANNO is more likely stimulated by pregnancy than by transfusion, and is of low clinical significance, except to the extent that it complicates pre-transfusion testing. Further surveillance, investigation, and reporting of anti-KANNO are warranted.

### **Keywords:**

Anti-KANNO, KANNO antigen, High-frequency red cell antigen, High-titer low-avidity (HTLA) antibody