

交換輸血を要した抗 D 抗体による新生児溶血性疾患の臨床経過と輸血された赤血球半減期の検討

丸橋 隆行¹⁾ 須佐 梢¹⁾ 西本奈津美¹⁾ 菅井 貴裕¹⁾ 横濱 章彦¹⁾
 定方 久延²⁾ 河野 美幸³⁾ 梶田 幸夫⁴⁾ 深石 孝夫⁵⁾ 野島 美久¹⁾

母親が抗 D 抗体を保有し胎児が Rh₀(D) 陽性の場合、胎児や新生児が重篤な溶血性疾患を発症することがある。今回我々は、3 度目の妊娠、出産である Rh₀(D) 陰性の妊婦が抗 D 抗体を保有し、出生した Rh₀(D) 陽性の児が新生児溶血性疾患を発症、交換輸血を施行した症例を経験した。妊娠初期の不規則抗体検査にて酵素法のみ陽性の抗 D 抗体であったもののその後間接抗グロブリン法も陽性化、徐々に抗体価の上昇が認められ、出産時には 2,048 倍まで上昇した。出生直後から急激なビリルビン値の上昇と Hb 値の低下を認め、交換輸血、 γ -グロブリン療法、光線療法に適応となった。交換輸血に用いた製剤は、O 型 Rh₀(D) 陰性赤血球濃厚液と AB 型 Rh₀(D) 陽性新鮮凍結血漿を院内にて混合調整した合成血である。患児はこれらの治療が奏功し軽快、退院した。Flow Cytometry による解析から、交換輸血直後、患児赤血球はほぼ O 型 Rh₀(D) 陰性赤血球に置換されていたが、日毎に患児由来の Rh₀(D) 陽性赤血球の割合が増加、86 日後では、ほとんどの O 型 Rh₀(D) 陰性赤血球は消失していた。輸血された赤血球の半減期は約 36 日であり、健常人赤血球とほぼ同等であった。

キーワード：新生児溶血性疾患、交換輸血、抗 D 抗体、赤血球半減期、赤血球寿命

はじめに

新生児溶血性疾患(Hemolytic disease of the fetus and newborn : HDFN)は母体中にある IgG 抗体が胎盤を通じて児に移行し、その抗体に対応する抗原を児が保有している場合に起こる¹⁾。貧血と黄疸を主訴とする疾患で、重症の場合、胎児浮腫のため胎内での死亡や、新生児の核黄疸の原因となる²⁾。HDFN は理論上多くの血液型で発生しうが、実際には ABO, Rh 血液型によるものがほとんどである³⁾。中でも Rh₀(D) 不適合による HDFN (D-HDFN) は临床上重要で、Rh₀(D) (-) 妊婦の正常分娩における感作成立率は初回妊娠時 2.9%、2 回目 12.3%、3 回目 21.4% との報告がある⁴⁾。今回我々は、妊娠初期より抗 D 抗体を産生した Rh₀(D) (-) の母親から出生した新生児が D-HDFN を発症した症例について、母親、患児の臨床経過及び、患児に輸血された赤血球の消失過程を追跡したので報告する。

症例及び方法

(症例)

32 歳日系ブラジル人女性。血液型は O 型 Rh₀(D) (-) (ccdee)。2 経妊 2 経産。1994 年、2003 年にブラジルにて出産。2 児とも帝王切開にて出生、黄疸もなく経過したようである。母親は出産後に注射をしたとのことであるが、詳細については不明である。今回出生した児は D-HDFN を発症し、交換輸血 (Exchange Transfusion : ET)、 γ -グロブリン療法、光線療法を実施した。治療の臨床経過は順調で生後 2 週間後に退院となったが、軽度の心房中隔欠損症の経過観察のため、約半年間外来に通院した。

(方法)

母親の抗 D 抗体価の測定は、2009 年 4 月までは Micro Typing System (バイオ・ラッド)、5 月以降は試験管法による反応増強剤無添加の間接抗グロブリン法 (ガンマクロン抗 IgG : イムコア) で行った。患児の直接抗グロブリン試験 (Direct Anti-globulin Test : DAT)

1) 群馬大学医学部附属病院輸血部

2) 群馬大学医学部附属病院産婦人科

3) 群馬大学医学部附属病院周産母子センター

4) 桐生厚生総合病院検査部

5) 桐生厚生総合病院産婦人科

〔受付日：2011 年 8 月 22 日、受理日：2012 年 4 月 2 日〕

Table 1 Serological tests of the mother.

A		2008.12		2009.2	
Papain	D(+) cells	W +	4 +		
	D(-) cells	Negative	Negative		
IAT	D(+) cells	Negative	4 +		
	D(-) cells	Negative	Negative		

B		2009.3	2009.4	2009.5	2009.6	2009.6*1
Titer of anti-D*2		×128	×1,024	×1,024	×1,024	×2,048

A. Serological reactivity between Rh₀(D)-positive RBCs and serum of the mother.

B. Change in titer of anti-D antibody before delivery.

IAT: indirect anti-globulin test.

*1 Immediately before delivery.

*2 ~ 2009.4: IAT by column agglutination technology.

2009.5 ~ : IAT by the tube method.

Table 2 Laboratory findings of the newborn at birth.

A		B	
Hb	6.4 g/dl	Anti-A	Negative
RBC	152 × 10 ⁴ /μl	Anti-B	Negative
Reticulocytes	29.8 %	Anti-D	4 +
		Rh-control	4 +
		IgG-DAT	4 +
T-Bil	8.1 mg/dl	C3b, 3d-DAT	Negative
LDH	1,235 IU/l	Specificity of antibodies detected in plasma	Anti-D
CK	279 mg/dl	Specificity of antibodies detected in elution samples	Anti-D
AST	84 IU/l		
ALT	15 IU/l		

A. Hematological and biochemical tests.

B. Transfusion-related tests.

はオーソバイオビュー抗 IgG カセット, 血液型検査はオーソバイオビュー抗 A, 抗 B, 抗 D カセット(オーソ・クリニカル・ダイアグノステックス)を用いた。また患児赤血球にて, DT 解離液 II(オーソ・クリニカル・ダイアグノステックス)を用いた解離試験を施行し, 解離液中の抗 D 抗体の有無をガンマ PeG(イムコア)を用いた間接抗グロブリン試験にて検査した。

一方, ET 後の患児赤血球中の Rh₀(D)(+)赤血球と Rh₀(D)(-)赤血球の割合を, 一次抗体として抗 D 血清(オーソ・クリニカル・ダイアグノステックス), 二次抗体として FITC-Polyclonal Rabbit Anti-Human IgG (Dako)を用いて調べた。また, 抗 D 抗体の IgG サブクラスの測定は Sheep Anti-Human IgG1~4 (Binding Site)を用い, いずれも BD FACS Canto II (FACS: ベクトン・ディッキンソン)および FACS Diva ソフトウェアにて解析した。

臨床経過

2008 年 12 月に, 他院での初回不規則抗体検査にて酵素法のみで抗 D 抗体陽性, そして 2009 年 2 月の検査からは間接抗グロブリン法も抗 D 抗体陽性となった。その後の定期的な検査より, 抗体価の上昇が認められた

ため(Table 1), 胎児輸血の可能性を考慮し, 5 月に当院産科に紹介された。FACS による解析の結果, 検出された抗 D 抗体の IgG サブクラスは IgG1 であった。出産直前には 2,048 倍まで上昇したものの, 妊娠経過中に胎児浮腫等の異常は認められず, 予定通りの 2009 年 7 月に 3,606g の女児を帝王切開にて出産した。

出生時の Apgar score は 1 分後 9 点, 5 分後 9 点。出生直後は自力にて啼泣したものの長くは続かず, 濁った羊水様ものを多量に吸引した。血中酸素飽和度 40% 台, 心拍数 190 のため酸素投与開始し, NICU へ入室し管理を始めた。10 時の検査にて, 血液型は O 型, Hemoglobin (Hb) 値 6.4g/dl, Total Bilirubin (T-Bil) 値 8.1g/dl であった。出生時の検査結果を示す(Table 2)。DAT が強陽性の影響で Rh コントロールも陽性であったが, 赤血球を EGA キット(イムコア)にて処理することにより DAT が陰性化し, それに伴い Rh コントロールも陰性化したため, Rh₀(D)(+) と判定した。

急激な T-Bil 値の上昇や, 他の検査結果も含めて D-HDFN と診断, 患児の状態から ET, γグロブリン大量療法および光線療法の適応と判断された。ET には, 間接抗グロブリン法適合の O 型 Rh₀(-)照射赤血球濃厚液 2 単位(採血後 10 日目)と AB 型 Rh₀(+) の新鮮凍

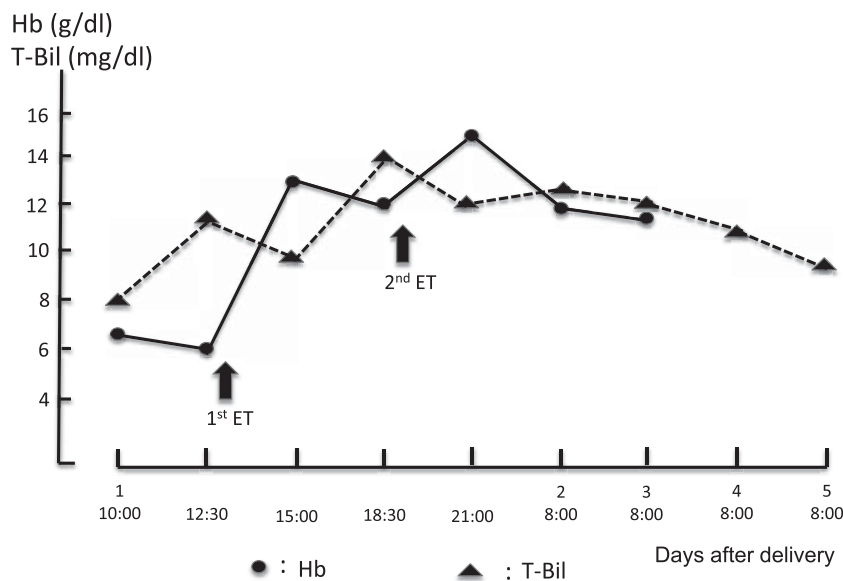


Fig. 1 Clinical course of the newborn before and after exchange transfusion. ET: exchange transfusion, Hb: hemoglobin, T-Bil: total bilirubin.

Table 3 Laboratory findings of the newborn before and after exchange transfusion.

Days after delivery	1			2	3	4	6	9	13	36	43	56	86
	Pre-ET	After 1st ET	After 2nd ET										
Titer of anti-D	×16	×4	×2	×1	×1	W+	W+	W+	0	0	0	0	0
D-antigen testing (CAT)	4+	0	0	0	0	W+mf	W+mf	1+mf	2+mf	3+mf	4+	NT	4+
DAT (CAT)	4+	W+	0	0	W+	W+	W+	W+	W+	0	0	NT	NT
Anti-D in elution samples	4+	NT	NT	NT	4+	NT	3+	NT	2+	W+	1+	W+	0
Ratio of D(+) cells (%) (FCM)	NT	7.2	2.0	2.5	9.8	15.3	19.0	22.2	21.4	49.9	59.0	78.3	93.3
Ratio of D(-) cells (%) (FCM)	NT	92.8	98.0	97.5	90.2	84.7	81.0	77.8	78.6	50.1	41.0	21.7	6.7

CAT: column agglutination technology, 0: negative, NT: not tested, mf: mixed field, ET: exchange transfusion, DAT: direct anti-globulin test, FCM: flow cytometry.

結血漿 1 単位を院内にて混合調整した合成血を使用した。12 時 40 分から約 350ml の合成血を用い 1 回目の ET を実施した。ET 後の検査では Hb 値の上昇は認められたが、T-Bil 値の上昇も認められたため、18 時 35 分より 1 回目と同じ条件の製剤にて再び作成した合成血を用い、2 回目の ET を施行した。治療は奏功し、T-Bil 値も徐々に低下した (Fig. 1)。

γ グロブリン療法は ET 翌日まで、光線療法は 5 日目まで実施し、T-Bil 値が 1.6mg/dl まで下がった 14 日目に軽快退院となった。

患児の輸血検査結果の推移

患児の出生時からの検査結果を示す (Table 3, Fig. 2)。血漿中の抗 D 抗体価は ET 前は 16 倍であったが、ET 後は急激に低下し、翌日には 1 倍、4 日目から 9 日目までは非常に弱い反応を認める程度となり、それ

以降は検出されなかった。検出された患児血清中の抗 D 抗体の IgG サブクラスも母親同様 IgG1 であった。FACS 及びカラム法での Rh₀(D) の検査より、2 回の ET 後ではほぼ全ての赤血球が輸血された Rh₀D(-) に置換されている。経過とともに徐々に患児由来の赤血球の割合が増加し、36 日目には 49.9% となった。患児赤血球が 59.0% となった 43 日目以降はカラム凝集法では部分凝集を認めず、Rh₀(D)(+) と判定されるようになった。86 日目には患児由来の赤血球が 93.3% まで増加し、輸血された Rh₀D(-) 赤血球は FACS にてわずかな集団を認める程度となった。

カラム法による DAT は ET 後、陰性~W+ と非常に弱い反応として観察された。一方、DT 解離試験では、DAT が陰性化した後でも抗 D 抗体が証明され、最終的には 56 日目までの長期間にわたり検出可能であった。

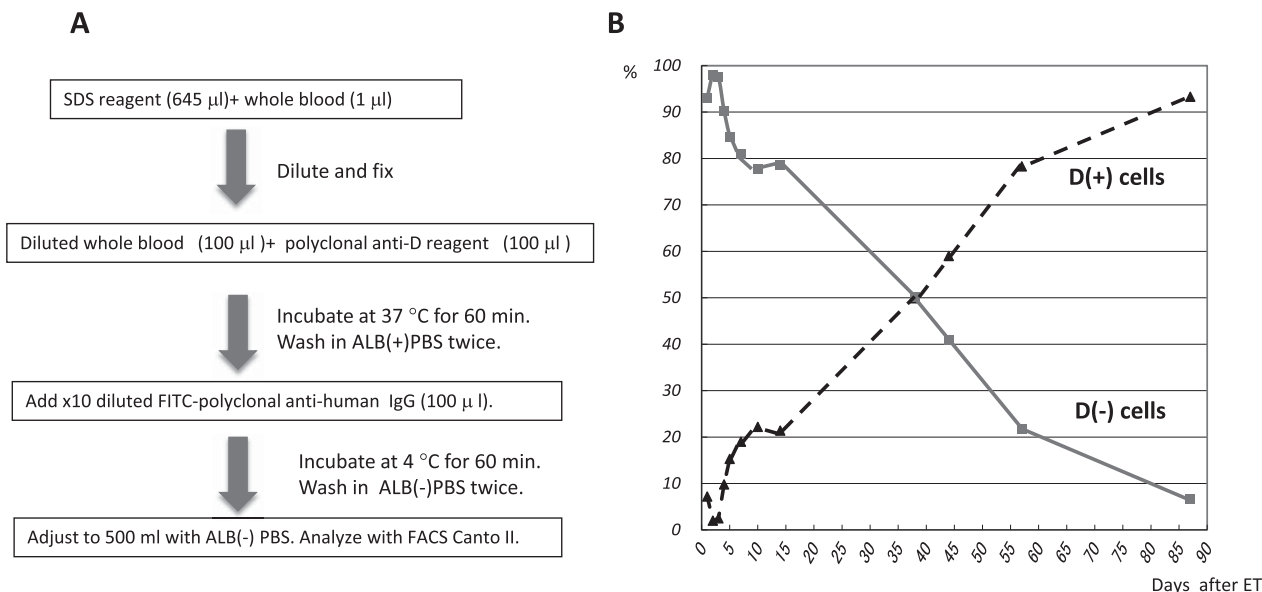


Fig. 2 Assay by flow cytometry and changes in Rh₀ (D) antigen-positive RBCs in blood of the newborn.

A. Rh₀ (D) antigen assay procedure by flow cytometry.

B. Clinical course of proportions of D (+) cells and D (-) cells in blood of the newborn after ET.

SDS: sodium dodecyl sulfate, ALB: albumin, PBS: phosphate buffered saline, ET: exchange transfusion.

考 察

Rh₀ (D) 不適合妊娠では抗 D 免疫グロブリンの投与は分娩時のみならず流早産、人工妊娠中絶、子宮外妊娠の手術の際にも投与が推奨されている⁵⁾。多くの症例で抗 D 抗体の産生予防効果は期待できるが、抗 D 免疫グロブリンを投与しても抗 D 抗体の産生を防げなかった事例もある⁶⁾。本症例の患者は、過去の出産が外国であり、記録が残っていないため投与の有無は定かではない。D-HDFN 患児において、母親血清中の抗 D 抗体価が 32 倍以上の症例では 77% で、128 倍以上では 90% 以上に ET が行われている⁴⁾。D-HDFN 発症予防のために母親の抗 D 抗体価を下げる目的で血漿交換を施行する必要があるが、適応限界は妊娠初期で 1,024 倍、分娩前の最高値で 4,096~8,192 倍と考えられている⁷⁾。本症例では、母親の抗 D 抗体価は最高 2,048 倍まで抗 D 抗体が上昇したものの、胎生中には胎児浮腫等の症状が認められず、無治療で経過観察されていた。HDFN の発症には IgG サブクラス、児赤血球抗原の数、児の脾機能などの因子により、必ずしも母体中の抗体価と相関しない場合があり、様々な要素を考慮するべきであるとされている⁸⁾⁹⁾。

IgG 抗体は IgG1 から IgG4 の 4 つのサブクラスから構成されているが、IgG1 と IgG3 は食細胞と結合して溶血を起こしうる¹⁰⁾。IgG1 は胎盤通過性に優れており、臍帯血の濃度は母親血清中を超えることもある。そして抗体依存性細胞障害の中心的役割を担い、児の貧血へ最も重要な要素の一つとなりうる¹¹⁾¹²⁾。一方、IgG3

は、IgG1 より溶血を引き起こす力が強く、単球が関与する溶血の主要な要素の一つであり、HDFN の重症度と良く相関する¹¹⁾。今回の症例では IgG1 による D-HDFN を発症し、重篤な溶血をみたが、早期の治療が功を奏して 14 日目に退院することが可能であった。

本症例では、輸血後の D 抗原・抗体検査を長期間にわたり観察することが出来た。生体内において、IgG 抗体の半減期は約 21 日と言われている¹³⁾。DT 分離試験の結果から 56 日目の赤血球より抗 D 抗体が証明されていることから、非常に微量ながら DAT 陽性赤血球が残存していた、もしくは微量に残存していた血漿中の抗 D 抗体が、新たに産生された児の赤血球と結合した可能性が示唆された。一方、輸血された Rh₀D(-) 赤血球の半減期は、FACS の結果より約 36 日であった。⁵¹Cr を利用した赤血球の半減期の測定では、健康人は 28~38 日、自己免疫性溶血性貧血では 2~25 日であり、20 日未満の場合には溶血性貧血が強く疑われるとされている¹⁴⁾。今回の症例では輸血された製剤中の赤血球が健常成人とほぼ同様な半減期であった。

結 語

妊娠中の母親が持つ、サブクラスが IgG1 の抗 D 抗体により引き起こされた HDFN について、母親の抗体価の推移及び、患児の ET 後の臨床経過と輸血された赤血球の半減期について検討した。

本症例は、母親の抗 D 抗体価が最高 2,048 倍であったものの、胎内では胎児浮腫等の所見がなく推移してい

たが、出生後、重度の貧血、T-Bil 値の急激な上昇を呈し、D-HDFN と診断された。2 回の ET を含めた積極的な治療が施行され、その後は順調に経過し 14 日目に退院となった。FCM の解析より、ET 直後の患児赤血球は、ほぼ全てが輸血された Rh₀D(-) 赤血球に置き換わっていたものの、経過と共に患児由来の赤血球の割合が増えてゆく過程を定量的に観察することが出来た。輸血された赤血球の半減期は約 36 日で、健常成人とほぼ同様であった。ET 後 86 日後では、輸血された赤血球の多くが消失していた。

文 献

- 1) 照屋 純：新生児溶血性疾患。日本輸血学会誌, 43 : 567—569, 1997.
- 2) 船戸正久：新生児溶血性疾患の病態と治療。日本輸血学会誌, 47 : 837—844, 2002.
- 3) 宮崎澄雄, 佐藤和夫, 原 寿郎：高ビリルビン血症におけるガンマーグロブリン療法。周産期医学, 25 : 983—986, 1995.
- 4) 小野雅彦, 井澤秀明, 西澤隆司, 他：最近 7 年間に於ける型不適合妊娠による Rh₀(D) 陰性婦人の抗 Rh₀(D) 抗体の産生と児の予後。日本輸血学会誌, 33 : 520—528, 1987.
- 5) 中村幸夫, 品川信良：抗 D ヒト免疫グロブリンの用法に関する再検討。日本輸血学会誌, 31 : 627—629, 1985.
- 6) 松尾裕子, 島村直子, 西村要子, 他：抗 D 免疫グロブリンの投与にもかかわらず分娩直前に抗 D 抗体を産生した Rh₀(D) (-) 経産婦の一症例。日本輸血学会誌, 35 : 96—98, 1989.
- 7) 浮田昌彦, 矢切良穂, 上田恭典：母児免疫疾患に対する血漿交換療法 (抗体除去療法)。周産期医学, 19 : 59—66, 1989.
- 8) Hadley AG: A comparison of in vitro tests for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn. Vox Sang, 74(Supple 2): 375—383, 1998.
- 9) 安田広康, 大戸 齊：ABO 以外の母児血液型不適合妊娠と新生児溶血性疾患—1990~2007 年の症例報告のまとめ—。日本輸血細胞治療学会誌, 55 : 226, 2009.
- 10) 浮田昌彦, 渡辺幸子, 山田紀子, 他：ABO 式血液型不適合における新生児赤血球の直接抗グロブリン試験陽性の意義について。—IgG サブクラスの検討—。日本輸血学会誌, 34 : 601—606, 1988.
- 11) Garner SF, Gorick BD, Lai WY, et al: Prediction of the severity of haemolytic disease of the newborn. Quantitative IgG anti-D subclass determinations explain the correlation with functional assay results. Vox Sang, 68: 169—176, 1995.
- 12) Lambin P, Debbia M, Puillandre P, et al: IgG1 and IgG3 anti-D in maternal serum and on the RBCs of infants suffering from HDN. relationship with the severity of the disease. Transfusion, 42: 1537—1546, 2002.
- 13) 窪田哲郎, 加藤亮二, 藤田清貴, 他：臨床免疫学, 第 2 版, 医歯薬出版, 東京, 2011, 28.
- 14) 内山幸信：溶血性貧血検査法 赤血球寿命測定の方法論とその解釈。日本臨床, 54 : 113—117, 1996.

CLINICAL EXAMINATION OF ERYTHROCYTE HALF-LIFE AFTER EXCHANGE TRANSFUSION IN A NEWBORN WITH HEMOLYTIC DISEASE OF THE FETUS AND NEWBORN

*Takayuki Maruhashi*¹⁾, *Kozue Susa*¹⁾, *Natsumi Nishimoto*¹⁾, *Takahiro Sugai*¹⁾, *Akihiko Yokohama*¹⁾, *Hisanobu Sadakata*²⁾, *Miyuki Kouno*³⁾, *Yukio Kajita*⁴⁾, *Takao Fukaishi*⁵⁾ and *Yoshihisa Nojima*¹⁾

¹⁾Blood Transfusion Service, Faculty of Medicine, Gunma University

²⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Faculty of Medicine, Gunma University

³⁾Maternity and Perinatal Care Center, Faculty of Medicine, Gunma University

⁴⁾Clinical Laboratory, Kiryu Kousei General Hospital

⁵⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Kiryu Kousei General Hospital

Abstract:

RhoD (+) fetuses or newborns of women with anti-D frequently show serious hemolytic disease. We report herein a RhoD(+) newborn from a RhoD(-) woman who developed hemolytic disease of the fetus and newborn and describe the time course of the ratio between RhoD(-) and RhoD(+) erythrocytes after exchange transfusion (ET). Her fetus showed no serious complications without treatment, despite markedly increased titers of anti-D in plasma up to 1:2,048 at birth. However, because total bilirubin and hemoglobin levels deteriorated immediately after birth, high-dose immunoglobulin administration, phototherapy, and ET were performed and proved successful. We administered a mixture of O-type RhoD(-) red cell concentrate and AB-type RhoD(+) fresh frozen plasma for ET. Flow cytometric analysis showed that most erythrocytes in the newborn were substituted for transfused O-type RhoD(-) red blood cells immediately after ET. The ratio of RhoD(+) erythrocytes then increased daily, in contrast to RhoD(-) erythrocytes, which disappeared by 86 days after ET. The half-life of transfused erythrocytes was approximately 36 days, suggesting that manipulated erythrocyte products show a half-life comparable to that of erythrocytes in healthy adults.

Keywords:

hemolytic disease of the fetus and newborn, exchange transfusion, anti-D, erythrocyte half-life, erythrocyte life span