

冷式抗体保有患者への対応抗原陽性赤血球製剤輸血：

多施設共同研究による冷式抗体の臨床的意義の評価

友田 豊¹⁾ 東谷 孝徳²⁾ 遠藤 輝夫³⁾ 小野 智⁴⁾ 金光 靖⁵⁾
 岸野 光司⁶⁾ 国分寺 晃⁷⁾ 児玉 建⁸⁾ 竹ノ内博之⁸⁾ 寺内 純一⁹⁾
 石井 規子¹⁰⁾ 寺西 節子¹¹⁾ 西野 主真¹²⁾ 久田 正直¹³⁾ 湯本 浩史¹⁴⁾
 万木紀美子¹⁵⁾ 佐藤進一郎¹⁶⁾ 紀野 修一¹⁾ 藤井 康彦¹⁷⁾ 大戸 齊⁴⁾

〔背景と目的〕 37℃ で反応しない冷式赤血球抗体は、臨床的な意義は低いと言われているが、そのエビデンスデータは数多くはない。保有する冷式抗体と不適合な赤血球を輸血した症例に関し輸血後溶血反応を調査した。

〔対象および方法〕 全国の 15 医療機関において、冷式抗体（抗 P₁、抗 M、抗 N、抗 Le^a、抗 Le^b）を保有し、赤血球製剤が輸血された患者のうち、対応抗原陽性赤血球が輸血された症例を対象とし、溶血の有無を生化学検査値（T-Bil, LDH, AST）の変動と臨床症状で判定した。

〔結果〕 冷式抗体を保有する 115 名のうち、十分な検査データが得られなかった 60 名を除いた 55 例の患者（79 件の不適合赤血球輸血が実施）を評価した。内訳は、抗 P₁：13 件、抗 M：18 件、抗 Le^a：16 件、抗 Le^b：31 件、抗 Le^{a+b}：1 件で、各抗体との不適合赤血球量は 1 から 46 バッグであった。溶血所見はどの患者にも見い出されなかった。

〔結論〕 今回実施した多施設共同研究の結果より、冷式抗体（抗 P₁、抗 M、抗 Le^a、抗 Le^b）保有患者への対応抗原陽性赤血球輸血においては、急性溶血性輸血反応は起こらないことが示唆された。

キーワード：冷式抗体、不適合輸血、多施設共同研究、溶血性輸血反応

はじめに

日本輸血学会（当時）の赤血球型検査ガイドラインでは、冷式抗体であれば抗 P₁、抗 M、抗 N、抗 Le^a、抗 Le^bの臨床的意義は「まれ（抗 Le^bはなし）」で、輸血用

赤血球の選択は間接抗グロブリン試験による交差適合試験の反応態度によって決めると記載されている¹⁾。37℃ で反応しない冷式抗体は、生体内では抗原抗体反応が起こりにくいため、その臨床的な意義はないとされて

- 1) 旭川医科大学病院臨床検査・輸血部
- 2) 久留米大学病院臨床検査部（現 佐賀大学医学部附属病院検査部）
- 3) 札幌医科大学附属病院検査部
- 4) 福島県立医科大学附属病院輸血・移植免疫部
- 5) 近畿大学医学部附属病院輸血部
- 6) 自治医科大学附属病院輸血・細胞移植部
- 7) 兵庫医科大学病院輸血部（現 広島国際大学保健医療学部）
- 8) 宮崎大学医学部附属病院輸血・細胞治療部
- 9) 昭和大学藤が丘病院血液センター
- 10) 昭和大学横浜市北部病院臨床病理検査部
- 11) 関西医科大学附属滝井病院輸血部
- 12) 富山大学附属病院輸血・細胞治療部
- 13) 国立病院機構熊本医療センター臨床検査科（現 日本赤十字社九州ブロック血液センター）
- 14) 滋賀医科大学医学部附属病院検査部
- 15) 京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部
- 16) 日本赤十字社北海道ブロック血液センター
- 17) 山口大学医学部附属病院輸血部

〔受付日：2013 年 2 月 20 日，受理日：2013 年 6 月 27 日〕

Table 1 Judgment of hemolytic reaction

I	No hemolysis	Three biochemical values (T.Bil, LDH, AST) are within reference ranges or under upper ranges.
II	No hemolysis	One or two of the three biochemical values increase over reference upper ranges.
III	No hemolysis	Three biochemical values increase over reference upper ranges without clinical symptoms or other data including hemoglobinuria and decrease in hemoglobin.
IV	Hemolysis	Three biochemical values increase over reference upper ranges with clinical symptoms or other data including hemoglobinuria and decrease in hemoglobin.

いるが、日本人におけるエビデンスを示した論文は少ない²⁾。2006年、日本輸血・細胞治療学会は、輸血療法の安全性委員会の下に不規則抗体調査チームを組織し、冷式抗体への不適合輸血症例に関する多施設共同研究を実施した。その結果をまとめたので報告する。

対象および方法

1. 調査期間

2007年4月～2011年3月の4年間で、医療機関15施設が本研究に参加した。各医療機関での調査開始時期は、倫理委員会の承認時期等によって異なっていた。

2. 対象と方法

各医療機関は夫々の施設の倫理委員会に研究内容を申請し、承認された。

本研究における冷式抗体とは、「食塩液法もしくは酵素法では検出されるが間接抗グロブリン法(IAT)では陰性となる抗体」と定義した。多くの参加医療機関では、日常的に冷式抗体保有患者への輸血の際、適合血液を選択しておらず、通常業務の中で冷式抗体(抗P₁, 抗M, 抗N, 抗Le^a, 抗Le^b)を保有し赤血球製剤が輸血された場合に、血液バッグの保存セグメントを用いて対応抗原を調べ、抗原陽性赤血球が輸血された患者を対象とした。一部の参加医療機関では食塩液法による不規則抗体検査を実施していないため、輸血が行われた患者について後日輸血前の患者血液で食塩液法による不規則抗体検査を実施し、冷式抗体の有無を調べ抗原陽性赤血球輸血の有無を調査した。輸血後溶血の有無は担当医からの輸血副作用報告と生化学検査値(T-Bil, LDH, AST)の変動で判定した。調査対象症例は、輸血後10日間に2回以上の生化学的検査が実施できた症例とした。不適合輸血後6日目以内に2回目の不適合輸血が行われた場合は、この輸血後から検査値の変動を調査し、輸血後10日目以降の不適合輸血は、別の輸血として調査件数に加えた。

3. 溶血の判定基準

溶血の有無は輸血直前、または輸血後2日以内に実施された生化学検査(以下初回検査)の値と追跡調査期間の検査値の変化を比較し、T-Bil, LDH, ASTの3項目すべての値が上昇(微増、一過性を含む)し、か

つ1項目でも基準値範囲を超えた症例を「溶血の検討要例」とし、3項目全てで上昇が認められない場合は「溶血の可能性なし」と判定した。

4. 溶血性輸血反応の判定³⁾

「溶血の検討要例」についての最終判定は、T-Bil, LDH, AST値の変動に加えて溶血性輸血症状(発熱、血色素尿)の有無、溶血を伴う基礎疾患(溶血性貧血、寒冷凝集素症)の有無、溶血を示す病態(敗血症、溶血性尿毒症症候群)の有無、患者の輸血状況、溶血を示す検査結果(ヘモグロビン低下、血色素尿)の有無についてTable 1の基準にそって判定した。

結 果

1. 対象患者

冷式抗体陽性の総登録患者115例(総不適合輸血件数160件)のうち、早期死亡(4例)、転院(1例)、生化学検査未実施(55例)のため検査データ不十分な60症例を除いた患者55例(不適合赤血球輸血件数79件)を対象として輸血による溶血反応の有無を評価した。対象患者55例の男女比は33:22であった。22名の女性は、妊娠歴あり6例、なし4例、不明12例であった。79件の輸血については、輸血歴あり39件、なし4件、不明36件であった。輸血状況は病棟使用53件、手術使用26件、輸血理由は出血(消化管出血、腫瘍出血、外傷性出血)37件、貧血(血液疾患、腎疾患、心疾患)16件、手術(手術直後を含む)26件であった。年代別では10歳未満は2例、10歳代2例、20歳代1例、30歳代1例、40歳代4例、50歳代5例、60歳代11例、70歳代25例、80歳代3例、90歳代1例で、60、70歳代が半数以上を占めた。

2. 冷式抗体の内訳

冷式抗体保有患者と不適合赤血球輸血件数(総数と検討対象数)をTable 2に示した。検討対象不適合輸血件数79件の抗体特異性別の内訳は、抗P₁:13件、抗M:18件、抗Le^a:16件、抗Le^b:31件、抗Le^{a+b}:1件であった。抗N保有患者は、輸血の翌日に転院したため調査できなかった。また、各抗体別の不適合輸血量は1バッグから46バッグあり、6症例では経過観察途中に追加で不適合輸血がなされていた(Fig. 1)。

Table 2 Number of patients with cold-reactive antibody, and number of transfusions of antigen-positive red cells

Cold-reactive antibody	Number of patients transfused	Number of transfusion cases	Total units (bags) of transfusion
anti-P1	13	13	38 (19)
anti-M	14	18	81 (41)
anti-Le ^a	13	16	50 (25)
anti-Le ^b	14	31	165 (83)
anti-Le ^{a+b}	1	1	10 (5)
Total	55	79	344 (173)

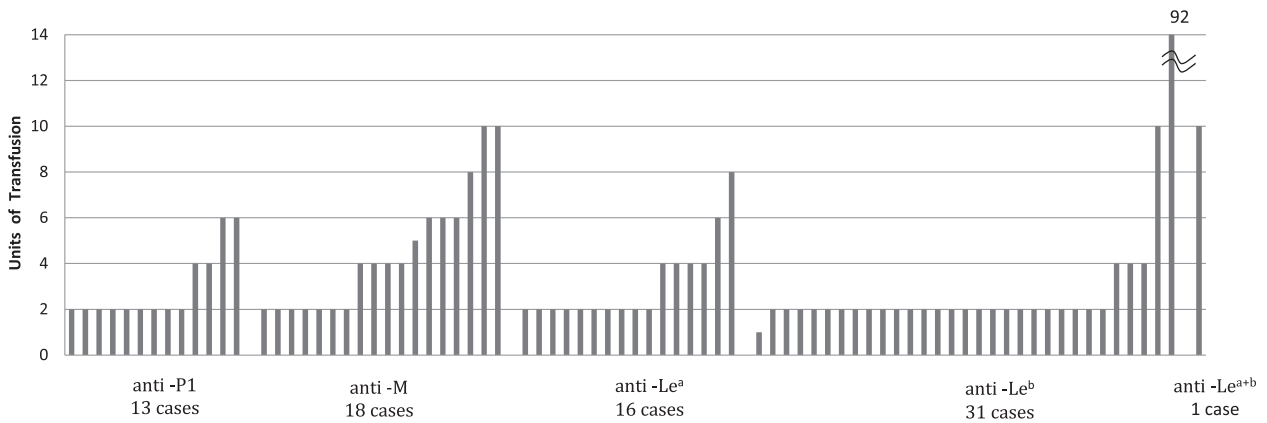


Fig. 1 Units and cases of transfusion. Bars indicate the number of units and cases of antigen-positive red cell transfusion.

Table 3 Tendency of biochemical data after transfusion of incompatible red cells

Biochemical analysis			Cases	
T-Bil	LDH	AST		
↑	↑	↑	20	67
↑	↑	→	2	
↑	→	↑	3	
↑	→	→	4	
→	↑	↑	21	
→	↑	→	5	
→	→	↑	12	
→	→	→	12	12
Total			79	79

↑ : elevated
→ : no change or decreased

3. 溶血の判定

検討対象不適合輸血件数 79 件のうち、3つの検査項目 (T-Bil, LDH, AST) のうちいずれかの値が上昇した (微増, 一過性を含む) 件数は 67 件 (67/79 : 85%) で、3項目とも値の上昇が認められない件数が 12 件 (12/79 : 15%) あった (Table 3)。3項目すべての値が上昇 (微増, 一過性を含む) した 20 件のうち、1項目

でも施設の基準値上限範囲を超えた「溶血の検討要例」は Table 4 に示す 15 件あった。しかし、輸血後に LDH の値が上昇するが、T-Bil, AST は一過性に基準値範囲内で微増後に低下していたり (8 件 : No1~8), LDH, AST の値が一過性に上昇するも T-Bil の大きな変化が見られない (4 件 : No9~12), また 3 項目が輸血前から基準値範囲を超え、輸血後さらに上昇するが T-Bil の上昇より LDH の上昇が遅くその増加量もわずかである (3 件 : No13~15) ことから何れも溶血が起きているとは判断されなかった。これらを前述の溶血性輸血反応の判定基準に従って総合判定すると、15 件とも「溶血所見あり」とは判定されなかった。また、調査を行った 79 件について、診療科からも副作用としての届け出は 1 件もなかった。

考 察

今回、我々は 15 医療機関において、冷式抗体保有患者への不適合赤血球輸血症例に関し輸血後の生化学検査値 (T-Bil, LD, AST) および臨床症状などを追跡調査した。ここでいう冷式抗体とは、「食塩液法もしくは酵素法陽性で IAT 法陰性となる抗体 (37℃ では反応しない抗体)」と定義した。検出された冷式抗体は、抗 P₁, 抗 M, 抗 N, 抗 Le^a, 抗 Le^b であり、複数の抗体を

Table 4 Characteristics of patients with cold-reactive antibody and judgment of hemolytic reaction

No.	Sex	Age (year)	Disease	Cause of transfusion	antibody	Bags (unit) of transfusion	Judgment of hemolytic reaction
1	M	8	Injury	Bleeding	Le ^b	1 (2)	II
2	F	70s	Cervical cancer	Surgery	Le ^a	1 (2)	II
3	F	60s	Colon cancer	Anemia	Le ^b	1 (2)	II
4	M	70s	Renal insufficiency	Anemia	Le ^b	1 (2)	II
5	M	8	Injury	Bleeding	Le ^b	1 (2)	II
6	M	8	Injury	Bleeding	Le ^b	1 (2)	II
7	M	70s	Myocardial infarction	Surgery	Le ^{a+b}	5 (10)	II
8	F	60s	Colon cancer	Anemia	Le ^b	1 (2)	II
9	M	70s	Pancreatic cancer	Surgery	M	3 (5)	II
10	M	70s	Gastric perforation	Surgery	P ₁	2 (4)	II
11	M	7	Acute myelogenous leukemia	Anemia	Le ^b	1 (2)	II
12	M	70s	Esophageal cancer	Surgery	M	2 (4)	II
13	M	60s	Subdural hematoma	Surgery	M	1 (2)	III
14	M	70s	Mitral regurgitation	Anemia	Le ^a	2 (4)	III
15	M	70s	Mitral regurgitation	Anemia	Le ^a	3 (6)	III

保有した患者(抗 Le^{a+b}が4名, 抗 Le^aと抗 P₁が1名, 抗 Le^bと抗 P₁が1名)もみられた。それらのうち調査可能であった検討対象患者数は55名で, 79回の不適合赤血球輸血が行われていた。同定された冷式抗体の特異性は, 抗 P₁, 抗 M, 抗 Le^a, 抗 Le^b, 抗 Le^{a+b}が, それぞれ13, 14, 13, 14, 1例で, 不適合輸血はそれぞれ13, 18, 16, 31, 1回行われていた。これらの患者に溶血性輸血反応が発生したかを T-Bil, LDH, AST 値を用いて検討した。輸血後24時間以内に生化学検査が実施された症例は26例で, 病棟輸血患者が14例, 手術患者が12例であった。そのうち病棟輸血患者で LDH の値が上昇したのは2例で, いずれも2~3単位の上昇であり軽微な急性溶血が起きているとは判断しなかった。手術患者の輸血については, 手術により検査値が一過性に変動するため輸血後24時間の生化学検査値だけでは冷式抗体による軽微な急性溶血の判断はできなかった。輸血後10日間で T-Bil, LDH, AST の3項目が上昇した症例のうち, 1項目でも施設の基準値上限を超えた15例を「溶血の検討要例」とした (Table 4)。一方, T-Bil, LDH, AST の3項目のうち, いずれかの項目に上昇が認められない症例は「溶血所見なし」と判定した。溶血の検討要例15例は, Table 1に示した判定基準にもとづき, 最終的に全例「溶血所見なし」と判定された。すなわち, 今回の多施設共同研究では, 冷式抗体保有患者への不適合輸血では溶血性輸血反応が起こらなかった。

Cronin は, 19人の抗 P₁抗体保有患者に53単位の P₁陽性赤血球輸血を行ったが, 溶血性輸血副作用は無かったと報告した⁴⁾。また, Giblett は, 具体的な抗体の種類,

溶血の判定基準について示していないが, 20年間に渡って冷式抗体を無視して100万単位の輸血を行ったが溶血性輸血副作用は無かったと報告している⁵⁾。

Shaz は, 抗 M は主に IgM 抗体であり, IgG 成分を含む場合があるが, 37°C の抗グロブリン試験で凝集反応を示さないものについては臨床的意義が無く, 抗 N についても IgM 抗体であり, 臨床的意義が無いと述べている。また, Lewis 式血液型抗原は, 血清(漿)中で赤血球から溶出し型物質となって患者の抗体を中和し, Lewis 抗体は IgM 抗体であることから溶血性疾患を起こさないとし, 抗 P₁についても IgM 抗体であり, 臨床的意義が無いと述べている⁶⁾。

Okutsu らは, 約1,300人の赤血球輸血患者を追跡し, 37°C で反応しない抗体は無視して輸血しているが, 24例に遅発性溶血性輸血反応を経験した。しかし, いずれにも冷式抗体が関与した症例はなかったと報告した⁷⁾。

AABB テクニカルマニュアル, Judd によると, 37°C で反応を示さない抗 M, 抗 N, 抗 Le^a, 抗 Le^b, 抗 P₁ は臨床的意義のない抗体として, 輸血準備において抗原陰性の赤血球を準備する必要が無いと記載している⁸⁾⁹⁾。

今回検討を行った症例の抗体は, すべて37°C の抗グロブリン試験では凝集反応を示さず, 共同研究を行った各施設では冷式抗体を保有していても適合血の選択をしていない。また, 一部の施設では食塩液法の検査を行っていないため, 患者に輸血が行われた時点では患者が冷式抗体を保有しているとは認識していなかった。従って, これらの患者には無作為に輸血用赤血球を準備し交差適合試験を行った後に輸血がおこなわれていたため, 抗 M, 抗 N, 抗 Le^a, 抗 Le^b, 抗 P₁抗体を

保有する患者に対応抗原陽性赤血球輸血が行われた。この輸血対応は、37°Cで反応しない抗体に対し抗原陰性血液を準備しないAABBテクニカルマニュアルと同じ対応であった⁸⁾。

日本臨床衛生検査技師会の精度管理調査報告では74%の施設が不規則抗体スクリーニングに酵素法を採用している¹⁰⁾。しかし、酵素法は非特異反応が多く、また冷式抗体を検出しやすいという特徴がある。その結果として原因検索に要する時間だけ輸血が遅れることとなる。大橋らは、酵素法で検出された特異抗体123例について、生理食塩液-IAT法、PEG-IAT法、column agglutination technology (CAT)-IAT法の3法を実施した結果、これらの3法陰性で酵素法のみ陽性となる抗体群は、抗体感作量が低く、単球貪食能試験(MMA)は低値であり、溶血性輸血副作用を起こす可能性は少ないと報告している¹¹⁾。石丸らは、不規則抗体検査の酵素法を廃止して高感度のIAT法を実施することで、その労力や費用をパネル血球の整備や精度管理等の安全対策に活用できるとしている¹²⁾。現在、米国や英国では不規則抗体スクリーニングに酵素法を採用することに否定的¹³⁾¹⁴⁾である。わが国でも冷式抗体検出を避ける不規則抗体検査の在り方を再検討する必要があると思われる。

結 語

今回実施した多施設共同研究では、冷式抗体(抗P₁、抗M、抗Le^a、抗Le^b)保有患者55名に対し、79件の対応抗原陽性赤血球輸血が行われたが、溶血性輸血反応を示唆する検査所見や臨床所見は認められなかった。このことは、冷式抗体(抗P₁、抗M、抗Le^a、抗Le^b)保有患者の輸血準備においては、抗原陰性血液を準備するなどの格別な配慮を必要としないという考え方を支持するものであるが、なお今後のさらなる症例の集積を待つ必要があると思われる。

文 献

- 1) 田村 眞, 小島健一, 倉田義之, 他: 赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドライン. 日本輸血学会雑誌, 49: 398—402, 2003.

- 2) 内川 誠: 編者 遠山 博, 輸血学 改訂第3版, 中外医学社, 2004, 416—417.
- 3) Hillyer CD, et al, eds: Transfusion Medicine and Hemostasis: Clinical and Laboratory Aspects, Elsevier, San Diego, CA, 2009, 56: 323—326.
- 4) Cronin CA, Pohl BA, Miller WV: Crossmatch compatible blood for patients with anti-P1. Transfusion, 18: 728—730, 1978.
- 5) Giblett ER: Blood group alloantibodies: An assessment of some laboratory practices. Transfusion, 17: 299—308, 1977.
- 6) Shaz BH, Roback JD: Transfusion Medicine and Hemostasis: Clinical and Laboratory Aspects, Elsevier, San Diego, CA, 2009, 25: 133—144.
- 7) Okutsu M, Ohto H, Yasuda H, et al: Increased detection of clinically significant antibodies and decreased incidence of delayed haemolytic transfusion reaction with the indirect antiglobulin test potentiated by polyethylene glycol compared to albumin: a Japanese study. Blood Transfus, 9: 311—319, 2011.
- 8) American Association of Blood Banks (AABB): Technical Manual (17th ed.), AABB, Bethesda, 2011, 453—455, 376—387, 411—436.
- 9) Judd WJ: How I manage cold agglutinins. Transfusion, 46: 324—326, 2006.
- 10) 日本臨床衛生検査技師会: 平成23年度日臨床臨床検査精度管理調査報告書(輸血部門), 2011, 19—28.
- 11) 大橋 恒, 石丸 健, 天満智佳, 他: 不規則抗体スクリーニングにおける酵素法の意義. 日本輸血細胞治療学会誌, 56: 709—715, 2010.
- 12) 石丸 健, 大橋 恒, 佐藤進一郎: 酵素法のみ陽性の場合. Medical Technology, 39: 1402—1404, 2011.
- 13) Issitt PD, Combs MR, Bredehoeft SJ, et al: Lack of clinical significance of “enzyme-only” red cell alloantibodies. Transfusion, 33: 284—293, 1993.
- 14) Chapman JF, Elliott C, Knowles SM, et al: Guidelines for compatibility procedure in blood transfusion laboratories. Transfus Med, 14: 59—73, 2004.

A PROSPECTIVE CLINICAL TRIAL OF HEMOLYTIC REACTION IN PATIENTS WITH POSITIVE COLD-REACTIVE ANTIBODIES FOLLOWING TRANSFUSION OF CORRESPONDING ANTIGEN

*Yutaka Tomoda*¹⁾, *Takanori Higashitani*²⁾, *Teruo Endo*³⁾, *Satoshi Ono*⁴⁾, *Yasushi Kanemitsu*⁵⁾,
*Koji Kishino*⁶⁾, *Akira Kokubunji*⁷⁾, *Ken Kodama*⁸⁾, *Hiroyuki Takenouchi*⁸⁾, *Junichi Terauchi*⁹⁾,
*Noriko Ishii*¹⁰⁾, *Setsuko Teranishi*¹¹⁾, *Kazuma Nishino*¹²⁾,
*Masatada Hisata*¹³⁾, *Hirofumi Yumoto*¹⁴⁾, *Kimiko Yurugi*¹⁵⁾, *Shinichiro Sato*¹⁶⁾,
*Shuichi Kino*¹⁾, *Yasuhiko Fujii*¹⁷⁾ and *Hitoshi Ohto*⁴⁾

¹⁾Asahikawa Medical University Hospital

²⁾Kurume University Hospital

³⁾Sapporo Medical University Hospital

⁴⁾Fukushima Medical University Hospital

⁵⁾Kinki University Hospital

⁶⁾Jichi Medical University Hospital

⁷⁾Hyogo College of Medicine Hospital

⁸⁾University of Miyazaki Hospital

⁹⁾Showa University Fujigaoka Hospital

¹⁰⁾Showa University Northern Yokohama Hospital

¹¹⁾Kansai Medical University Takii Hospital

¹²⁾Toyama University Hospital

¹³⁾National Hospital Organization Kumamoto Medical Center

¹⁴⁾Shiga University of Medical Science Hospital

¹⁵⁾Kyoto University Hospital

¹⁶⁾Hokkaido Red Cross Blood Center

¹⁷⁾Yamaguchi University Hospital

Abstract:

Background: Cold-reactive antibodies such as anti-M, anti-N, anti-P1, anti-Le^a and anti-Le^b, are usually active at cold temperature. Although these antibodies are not considered clinically significant in body temperature, few systematic studies on such cold-reactive antibodies have been reported in Asian populations. Matched (i.e., antigen-negative) red blood cells have been rarely selected and transfused to patients who have a cold-reactive antibody in Japan.

Aim: We conducted a collaborative study to clarify whether cold-reactive antibodies such as anti-M, anti-N, anti-P1, anti-Le^a and anti-Le^b can cause hemolytic transfusion reactions in patients.

Methods: From April 2007 to March 2011, screening of cold-reactive antibody in recipients who were transfused with randomly selected red blood cells was routinely tested. Antigens of transfused red blood cells were retrospectively determined. Recipients transfused with antigen-positive red blood cells against cold-reactive antibody were followed-up by measuring markers of hemolysis, particularly serum lactate dehydrogenase (LDH), alanine transaminase (ALT), and total bilirubin, to determine whether hemolytic reaction had occurred after transfusion.

Results: 55 patients with positive cold-reactive antibodies received 79 blood transfusions with antigen-positive red blood cells. Among 18 anti-M, 13 anti-P1, 16 anti-Le^a, 31 anti-Le^b and 1 anti-Le^{a+b} recipients, no patient developed clinically significant hemolysis.

Conclusion: These results support the idea that patients having cold-reactive antibodies can be transfused with antigen-positive red cells without any side effects. However, studies with more cases are needed to draw a concrete conclusion.

Keywords:

cold-reactive antibodies, transfusion with antigen-positive red cells, a collaborative study, hemolytic transfusion reactions

©2013 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy
Journal Web Site: <http://www.jstmct.or.jp/jstmct/>