

同種骨髄移植後に非血縁者ドナー由来と考えられる HLA 抗体が産生された症例

山本 菜美¹⁾ 山岡 学¹⁾ 井上まどか¹⁾ 寺嶋由香利¹⁾ 阿部 操¹⁾
 大西 修司¹⁾ 石井 一慶¹⁾²⁾ 野村 昌作¹⁾²⁾

移植において HLA 抗体は、移植片の液性拒絶の原因や、濃厚血小板 (Platelet Concentrate : PC) の輸血効果に関与する重要な因子のひとつである。今回われわれは、骨髄バンクドナー (非血縁者) が HLA 抗体を保有し、移植後ドナー由来と思われる HLA 抗体を産生した症例を経験した。症例は、20 歳代男性で 2009 年 2 月フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病 (Ph + ALL) と診断され、初回寛解導入法にて寛解が得られた。2009 年 7 月 HLA 抗体を保有するドナーからの骨髄移植が実施された。移植 2 カ月後頃からドナーとほぼ一致する HLA-A および B 抗原に対する特異性を示す HLA 抗体が検出された。骨髄移植後の輸血は PC が中心となることから、定期的な HLA 抗体検査によるフォローアップが重要であり、HLA 抗体が検出された場合、HLA 抗体に反応しない HLA 適合 PC (PC-HLA) を選択する必要性も示唆された。

キーワード：非血縁者ドナー、HLA 抗体、HLA 適合血小板、メモリー B 細胞

はじめに

移植において HLA 抗体は、移植片の液性拒絶の原因や濃厚血小板 (Platelet Concentrate : PC) の輸血効果に関与する重要な因子のひとつである¹⁾²⁾。また同種造血幹細胞移植において、ドナーが HLA 抗体を保有している場合の影響を考慮し、移植後の PC 輸血はドナーと同等の HLA 抗体に配慮する必要性が考えられる。そのため患者と同様にドナーにおいても HLA 抗体検査を実施しておくことは重要である。当院では、同種造血幹細胞移植の際、レシピエントのみならず、ドナーについても全例に HLA 抗体検査を実施し、HLA 抗体の早期発見に努めている。今回われわれは、骨髄バンクからの非血縁者ドナーが HLA 抗体を保有し、移植 2 カ月後にドナー由来と思われる HLA 抗体を産生した症例を経験したので報告する。

症 例

患 者：29 歳男性，輸血歴あり。

既往歴：1996 年 1 月に急性骨髄性白血病 (M2) と診断され、化学療法 4 回にて寛解を維持していた。以後定期的に当院の血液腫瘍内科へ外来通院中であった。

現病歴：2009 年 2 月より発熱，耳下部腫瘍，全身倦怠感などを認め、フィラデルフィア染色体陽性急性リンパ性白血病 (Ph + ALL) を発症し、初回寛解導入療

法にて寛解が得られた。化学療法とイマチニブによる地固め 1 コース施行後、同種骨髄移植目的で当院血液腫瘍内科へ入院となり、2009 年 7 月に HLA 抗体を保有する骨髄バンクドナーからの同種骨髄移植が実施された。

入院時所見：患者は、身長 167cm，体重 53kg。血圧 119/64mmHg。Ph + ALL は寛解状態を維持しており、全身状態は良好であった。

入院時検査成績：Table 1 に入院時の検査成績を示す。血液検査で、白血球数，赤血球数，ヘモグロビン値がやや低値を示した。血小板数および止血検査に異常は見られなかった。生化学検査においても特に問題は認められなかった。遺伝子検査では Major BCR-ABL のキメラ mRNA 定量は陰性であった³⁾。Table 2 に HLA 抗原検査と輸血関連検査の結果を示す。ドナーは 42 歳女性で、HLA 抗原は 8 抗原一致であった。レシピエントは O 型，Rh(D)陽性で、不規則抗体，HLA 抗体，HPA 抗体は全て陰性を示した。ドナーは B 型，Rh(D)陽性で、不規則抗体，HPA 抗体は陰性で、HLA 抗体のみ陽性を示した。

入院後検査成績と臨床経過：2009 年 7 月に同種骨髄移植が実施され、day + 15 に生着を認めた。シクロスポリン (day + 3～) と G-CSF (day + 5～day + 16) が投与された。Day + 6 に急性心不全症状が見られたが、血

1) 関西医科大学附属枚方病院輸血・細胞療法部

2) 関西医科大学内科学第 1 講座

〔受付日：2013 年 9 月 17 日，受理日：2014 年 2 月 20 日〕

Table 1 Laboratory finding at admission

Peripheral blood		Blood chemistry			
WBC	22×10 ² /μl	NA	142 mEq/l	AST	19 U/l
RBC	362×10 ⁴ /μl	K	3.7 mEq/l	ALT	24 U/l
Hb	12.1 g/dl	CL	106 mEq/l	CHE	279 U/l
PLT	15.2×10 ⁴ /μl	BUN	10 mg/dl	T-BIL	0.8 mg/dl
Coagulation test		CRE	0.77 mg/dl	ALP	245 U/l
APTT	28.7 sec	UA	4.2 mg/dl	LAP	47 U/l
PT	119.4 %	CA	9.6 mg/dl	GGT	24 U/l
PT-INR	0.92	TP	6.5 g/dl	LD	190 U/l
Fbg	160 mg/dl	ALB	4.6 g/dl	CK	148 U/l
ATIII	113 %	A/G	2.42	CRP	0.025 mg/dl

Major BCR-ABL chimera mRNA assay: negative

Table 2-1 HLA Typing data

		Recipient		Donor	
Age		30		42	
Sex		M		F	
locus	A	2	26	2	10/26/
		02 : 06	26 : 01	n.t.	n.t.
	B	7	48	7/Null	48
		07 : 02	48 : 01	n.t.	n.t.
	Cw	7	8	7	8
		07 : 02	08 : 03	n.t.	n.t.
	DR	1	15	1	15/Null
		01 : 01	15 : 01	n.t.	n.t.

n.t. = not tested

Table 2-2 Transfusion test result

	Recipient	Donor
ABO · Rh blood type	O+	B+
Irregular Antibody screening	(-)	(-)
HLA antibody	(-)	(+)
HPA antibody	(-)	(-)

管拡張剤で速やかに改善し、以後強心剤を併用することで心症状なく経過した。また、day+6より口腔粘膜障害が発症し、day+10に口内炎 Grade3と診断された。Day+22にskin aGVHD stage 1, Day+27にskin aGVHD stage 3と診断され、skin stage 3, liver stage 0, gut stage 0でaGVHD grade IIとなり、治療対象となったため、day+27よりプレドニゾロンの投与が開始された。薬剤投与が奏功し、皮膚症状は次第に改善傾向を示した。移植後の血小板減少期にはランダムドナー由来のIr-PC-10を5回(day+10, day+12, day+14, day+17, day+19)、合計50単位が輸血され、特に副作用なく終了した。輸血効果は補正血小板増加数(Corrected count increment: CCI)で評価し、CCI_{24hr}時間値(CCI_{24hr})と48時間値(CCI_{48hr})をTable 3に示す。また、赤血球減少期(Hb8.0以下)には濃厚赤血球製剤

(Red Cell Concentrate: RCC)3単位を2回(day+11, day+25)、合計6単位が輸血された。移植後2カ月となるday+59に、HLA抗体検査を実施したところ陽性となった(Fig. 1)。

対 象

移植時の骨髄バンクドナー検体と、レシピエント検体は移植前と移植後(day+10, day+24, day+59)を対象とした。

方 法

LABScreen PRA classI (HLA抗体スクリーニング)で陽性を示した検体に関しては、LABScreen single antigenによるHLA抗体の特異性を解析し、レシピエントとドナーの比較検討を行った。

結 果

1. LABScreen PRA classI

レシピエントのHLA抗体検査は移植前、day+10, day+24の3検体について全て陰性であったが、day+59の検体では陽性となった。ドナーのHLA抗体検査は陽性を示した。

2. LABScreen single antigen

LABScreen single antigenで解析したレシピエント検体(day+59)とドナー検体の抗体特異性およびアレル別反応強度の比較解析結果をFig. 2に示す。LABScreen single antigenは、ピーズ1個ずつに既知のHLA抗原が1種類ずつコートされており、ピーズに結合したHLA抗体を二次抗体で蛍光標識し、その蛍光強度を測定し、専用の判定ソフトにより、血清に含まれるHLA抗体の有無や特異性を解析する方法である。この解析方法から得られた結果は、レシピエントとドナーがHLA-A抗原とHLA-B抗原に対して概ね一致する反応を示していることから、共に同じ特異性のHLA抗体を保有していることが確認された。HLA-C抗原に関しては、レシピエントで反応が見られず、ドナーにのみ反応が認め

Table 3 PC transfusion: Corrected count increment (CCI)

Date	PC (unit)	Pre-transfusion	Post-transfusion		CCI _{24hr} (/μl)	CCI _{48hr} (/μl)
		Plt (×10 ⁴ /μl)	24hours	48hours		
			Plt (×10 ⁴ /μl)			
Day +10	10	0.3	n.t.	1.1	/	6,346
Day +12	10	1.1	n.t.	2.7	/	12,691
Day +14	10	2.7	3.2	n.t.	3,966	/
Day +17	10	1.8	n.t.	2.8	/	7,932
Day +19	10	2.8	n.t.	4.2	/	11,105

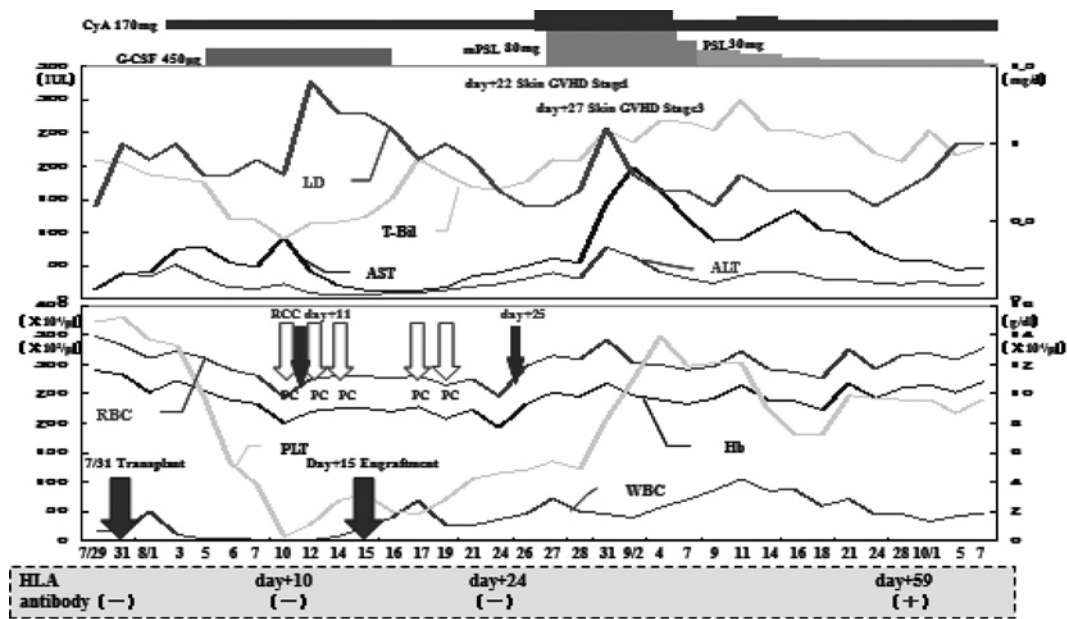


Fig. 1 Clinical course

Period of thrombocytopenia after transplantation, he was transfused PC from random donors, 10 units with 5 times (day +10, day +12, day +14, day +17, day +19), total 50 units.

Two months after the transplant, on September 28, the HLA antibody was detected in recipient blood.

られた。また、HLA-A 抗原、HLA-B 抗原に関しては、レシピエントとドナーの反応強度のピークが一致し、図のスケールからレシピエントがドナーの約 4 倍高い反応強度を示す HLA 抗体が検出されていることが示された。

考 察

造血幹細胞移植患者において、ドナーが保有する HLA 抗体の有無は、移植後の血小板減少期における血小板輸血不応²⁾の一因となり得るため、重要な因子と考えられる。HLA に関する液性免疫による慢性拒絶を防ぐことは困難であり、その制御が重要視されるようになり、HLA 抗体の検出が臨床に欠かせない検査となった⁴⁾。当院では、レシピエントの HLA 抗体検査のみならず、骨髄バンクドナーの HLA 抗体検査を院内にて実施しているが、本症例ではバンクドナーより HLA 抗体保有が確

認された。健康人ドナーが免疫抗体を保有する原因として、輸血以外では妊娠による免疫刺激が考えられる。榎本らは経産婦の HLA 抗体陽性率は全体で 9.4%、初回妊娠時では 3.5% と報告している⁵⁾。そのため骨髄バンクドナーであっても特に妊娠歴のある女性の場合は、必ず HLA 抗体検査を実施する事が重要と考えている。本症例では、移植 3 週間後の検査でも HLA 抗体は検出されなかった。この期間は、移植前から継続して投与されている強力な免疫抑制剤に加え、移植後においても患者自身免疫抑制状態であったことも重なり、抗体産生能が低下していた時期であり、抗体が検出感度以下となっていた可能性が考えられた。また、移植 2 カ月後では、免疫抑制剤 2 剤の減量に加え、患者自身の免疫力が徐々に回復したことで、抗体が産生された可能性が考えられた。検出された HLA 抗体は、HLA-A、HLA-B 抗原に対する抗体はドナーと概ね一致する特異

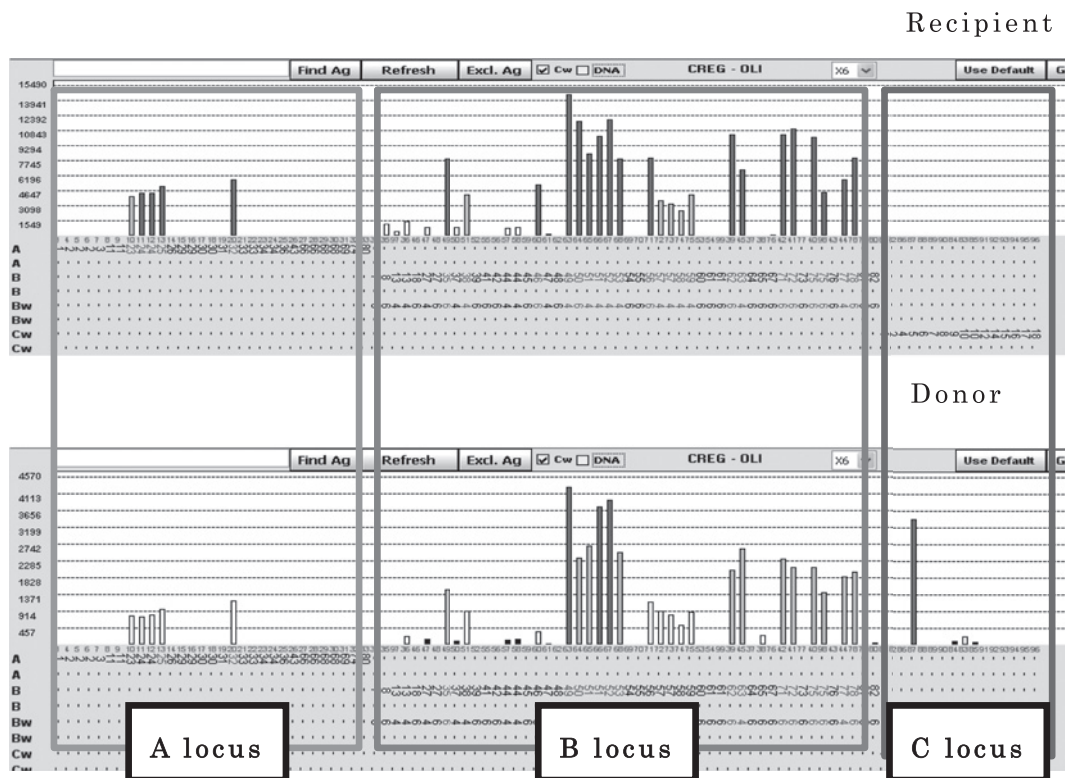


Fig. 2 Antibody specificity analysis result and comparison of reaction strength
About HLA-A antigen and HLA-B antigen, peak of the fluorescence intensity (Reaction strength) of recipient and donor are the same.

性を示した。しかし、HLA-C 抗原に対する抗体は検出されなかった。これまでは移植後にドナー由来と思われる抗体の産生が認められた症例は本邦で 6 例報告されているが^{6)~8)}、推測の域を出ずはっきりとした確認がとれていなかった。しかし本例ではドナー保有抗体と、移植後に産生された抗体の特異性が FCM 法により同一であることが証明されたと考えている。また、このことに関しては免疫担当細胞（メモリー B 細胞）が深く関与していることが示唆された。B 細胞は抗原が排除されるとマクロファージにより貪食されるが、一部の B 細胞は、メモリー B 細胞として骨髄に移動し存在している。今回、検出された HLA 抗体は特異性の解析結果からドナー由来の抗体と推測でき、ランダムドナーからの PC 輸血により、移植されたドナー骨髄中のメモリー B 細胞が感作され、形質細胞に変化した結果、レシピエントがドナーの約 4 倍高い反応強度を示す HLA 抗体を産生したと推測された。また、HLA-A、HLA-B 抗原に対する抗体が検出され、HLA-C 抗原に対する抗体が検出されなかった原因としては、血小板減少期にランダムドナー由来の PC を輸血したことで、血小板上の発現量が多い HLA-A、HLA-B 抗原に対する抗体は感作された。しかし HLA-C の抗原は発現量も少なく、さらに免疫抑制療法実施中であった事も作用して、感作されず

抗体が検出されなかったと考えられたが、今後さらに症例を重ね、検討する必要があると思われる。さらに、HLA 抗体は赤血球抗体と比較すると長期にわたり残存するものと考えられ⁶⁾、移植後の定期的な HLA 抗体検査の実施により、抗体産生の時期や抗体価の推移などをフォローアップすることも必要であると思われた。本症例では HLA 抗体が検出されていない血小板減少期にランダムドナー由来の PC を 50 単位輸血されたが、輸血ごとの CCI による効果評価は充分行われていなかった。輸血期間中は HLA 抗体が検出されなかったこともあり、特に副作用は認められず、臨床症状に影響は見られなかった。以上のことから、前感作された HLA 抗体を保有した骨髄バンクドナーでは検出感度以下となっている低力価の抗体であっても、PC 輸血による二次免疫応答で抗体価が急上昇し、血小板輸血不応の原因となる可能性があるため、血小板輸血実施後には CCI などで輸血効果を評価し、また適宜 HLA 抗体検査を実施することが必要であると思われた。また、ドナーが HLA 抗体を保有している場合、移植後の PC 輸血は、HLA 抗体の検査法や検出感度の違いを考慮し、抗体検出前からドナー保有の抗体とは反応しない PC-HLA を選択する必要性も考えられた²⁾⁹⁾。しかし、PC-HLA の供給には特定の供血者に多大な負担を課すことから、

その適応に当たっては適切かつ慎重な判断が必要である。臨床側との情報交換を密にすることと、血液センターと連携し協力体制を確立しておくことが重要である。

結 語

HLA 抗体は輸血や妊娠などの免疫刺激により産生され、女性の場合は骨髄バンクドナーであっても HLA 抗体を保有している可能性がある。造血幹細胞移植予定患者およびドナーの HLA 抗体の有無は事前に検査しておく必要がある。本症例では、移植 2 カ月後にドナーとはほぼ一致する特異性を示す HLA-A, HLA-B 抗原に対する抗体が検出された。ドナーが HLA 抗体を保有している場合、移植後の定期的な HLA 抗体検査の実施が必要であり、PC 輸血においてはドナーが保有する抗体に反応しない PC-HLA を選択する必要性もある。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

謝辞：HLA 抗体の特異性を解析して頂いた日本赤十字社近畿ブロック血液センターの高陽淑先生、福森泰雄先生に深謝致します。

文 献

- 1) Yoshihara S, Taniguchi K, Ogawa H, et al: The role of HLA antibodies in allogeneic SCT: is the 'type-and-screen' strategy necessary not only for blood type but also for HLA? Bone Marrow Transplantation, 47: 1499—1506, 2012.
- 2) Hod E, Schwartz J: Platelet transfusion refractoriness. Br J Haematol, 142: 348—360, 2008.
- 3) Melo JV: BCR-ABL gene variants. Baillieres Clin Haematol, 10: 203—222, 1997.
- 4) 佐治博夫：移植と HLA 抗体：HLA タイプ&スクリーンと移植後抗体モニタリング. 移植, 45 : 494—504, 2010.
- 5) 榎本隆行, 丸岡尚子, 花垣澄雄, 他：妊娠による血小板反応性抗体(HLA 抗体と human platelet antigens 抗体)の産生：妊娠回数及び週齢と抗体陽性率の解析. 日本輸血細胞治療学会誌, 46 : 467—473, 2000.
- 6) 万木紀美子, 芦原英司, 菱澤方勝, 他：BMT 後, ドナー由来 HLA 抗体により血小板輸血不応となった一例. 日本輸血細胞治療学会誌, 56 : 224, 2010.
- 7) Taniguchi K, Yoshihara S, Maruya E, et al: Donor-derived HLA antibody production in patients undergoing SCT from HLA antibody-positive donors. Bone Marrow Transplantation, 47: 1338—1342, 2012.
- 8) 宮崎 孔, 阪川久子, 畠山直樹, 他：BMT 後にドナー由来の HLA 抗体が血小板輸血不応を惹起したと考えられた 2 症例. 日本輸血細胞治療学会誌, 56 : 223, 2010.
- 9) 山岡 学, 大西修司, 有元美代子, 他：HLA 抗体保有患者の生体肝移植症例. 日本輸血細胞治療学会誌, 55 : 711—716, 2009.

DONOR-DERIVED ANTI-HLA ANTIBODIES WERE DETECTED IN A RECIPIENT WHO UNDERWENT ALLOGENEIC BONE MARROW TRANSPLANTATION FROM A DONOR WITH ANTI-HLA ANTIBODIES

*Mami Yamamoto*¹⁾, *Manabu Yamaoka*¹⁾, *Madoka Inoue*¹⁾, *Yukari Terashima*¹⁾, *Misao Abe*¹⁾,
*Shuji Onishi*¹⁾, *Kazuyoshi Ishii*¹⁾²⁾ and *Shosaku Nomura*¹⁾²⁾

¹⁾Blood Transfusion Unit, Kansai Medical University Hirakata Hospital

²⁾First Department of Internal Medicine, Kansai Medical University

Abstract:

Anti-HLA antibodies is one of important factors which affect humoral rejection against graft as well as efficacy of platelets transfusion in allogeneic bone marrow transplantation (alloBMT). Here, we had a patient who produced anti-HLA antibodies following alloBMT. These anti-HLA antibodies was considered to be derived from the donor registered in Japan Marrow Donor Program, who had anti-HLA antibodies. The patient was male in 20-years generation. He was diagnosed as philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia in February 2009. He achieved remission after induction chemotherapy. He underwent BMT on July 31 in the same year. Anti-HLA antibodies was detected in the patient two months after that transplantation. These antibodies exhibited the same specific reactivity against HLA-A and B antigens as donor. It is important to observe the patient by checking these antibodies periodically. Because platelets play a major role in transfusion following alloBMT. Once anti-HLA antibodies is detected in a recipient, we should choose platelets not reacting with the antibodies of donor.

Keywords:

unrelated donor, anti-HLA antibody, HLA-matched PC, memory B-cell

©2014 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy

Journal Web Site: <http://www.jstmct.or.jp/jstmct/>