

血小板輸血により抗 E を産生した 1 症例

金 錦麗¹⁾ 岡部 雅一¹⁾ 大宮 章子¹⁾ 柳川喜代子¹⁾ 古田 耕¹⁾
松原 賢弘²⁾ 青木 淳³⁾ 金森 平和³⁾

我々は、抗 f と抗 c 保有患者に対し R₁R₁ (CCDee) 赤血球輸血を行っていたにもかかわらず、抗 E を産生した症例を経験した。

血小板輸血による同種抗原感作を疑い、輸血した 10 バッグの血小板製剤の Rh-Hr 血液型を調べた。その結果、4 バッグが R₁R₂ (CcDEe) であり、この内 2 バッグは抗 E 産生前に投与されていた。我々はこの製剤中の E 抗原の感作により、抗体を産生したと考えた。

血小板製剤中にはわずかながら赤血球が混入しており、血小板輸血により抗体を産生させる可能性があることを再認識した。

キーワード：血小板輸血、混入赤血球、不規則抗体

はじめに

日本赤十字社の品質管理基準によると、濃厚血小板製剤中の混入赤血球量は 20,000 個/ μ l 以下とされている。1 バッグ当たりで考えると僅かな量であり、繰り返し輸血を受けても抗原感作されにくいと考えられている¹⁾。

しかし今回我々は、2 度の血小板輸血により抗 E を産生したと思われる症例を経験した。

患者の臨床経過と検査結果を報告する。

症 例

患 者：44 歳女性。

血液型：B 型 RhD 陽性。

既往歴：虫垂炎、潰瘍性大腸炎。

妊娠/出産歴：無し。

輸血/移植歴：無し。

経 過：2015 年 2 月に易疲労感にて近医を受診。汎血球減少にて精査を行った結果、骨髓異形成症候群と診断された。同年 6 月、同種造血幹細胞移植目的で当院に紹介された。初診時の血液データは WBC 1,600/ μ l, Hb 8.3g/dl, Plt 3.2 万/ μ l であった。その後、白血病に進行したため、9 月 4 日からシタラビン少量療法 (2 週間) が行われた。

検査方法

1. 不規則抗体スクリーニング検査

全自動機器 (オーソ社 AutoVueInnova) によるカラム凝集法 (抗 IgG カセット)。

0.8%LISS 浮遊血球を使用した間接クームス法のみ実施。

2. 同定検査

用手法、パネル血球 (オーソ社 リゾルブパネル A) を使用し、生理食塩液法、ポリエチレングリコール液を用いた間接抗グロブリン試験 (PEG-IAT) を実施。

3. DTT 処理

患者血漿 9 容に対し、0.1M DTT を 1 容加え 30 分処理を行った。陰性対象には DTT の代わりに PBS を加えた。

4. 不規則抗体の抗体価測定

用手法、スクリーニング血球 (オーソ社 サージスクリーン血球) を使用し、生理食塩液法と PEG-IAT 法を実施。

5. 赤血球製剤の因子確認

日赤から因子指定血を取り寄せ、抗血清 (オーソ社抗 E, 抗 c 血清試薬) にて抗原陰性であることを確認。

初回の血液型検査結果

血液型は B 型 RhD 陽性。不規則抗体スクリーニング

1) 神奈川県立がんセンター検査科

2) 日本赤十字社神奈川県赤十字センター学術課

3) 神奈川県立がんセンター血液内科

〔受付日：2016 年 4 月 20 日、受理日：2016 年 7 月 27 日〕

Table 1 Irregular antibody identification with an antigram (Initial examination)

Rh-hr	D	C	E	c	e	f	Test Results	
							Sal	PEG-IAT
R1wR1	+	+	0	0	+	0	0	0
R1R1	+	+	0	0	+	0	0	0
R2R2	+	0	+	+	0	0	0	0
Ror	+	0	0	+	+	+	0	2+
r'r	0	+	0	+	+	+	0	1+
r"r	0	0	+	+	+	+	0	1+
rr	0	0	0	+	+	+	0	2+
rr	0	0	0	+	+	+	0	1+
rr	0	0	0	+	+	+	0	1+
rr	0	0	0	+	+	+	0	1+
自己対照	/	/	/	/	/	/	0	0
Patient cells	+	+	0	0	+	/	/	/

初回の不規則抗体同定結果

Table 2 DTT treatment results of the antibody

	DTT	PEG-IAT
anti-f	treatment	3+
	control	1+
anti-c	treatment	2+
	control	w+
anti-E	treatment	2+
	control	2+

各不規則抗体を DTT 処理した結果

検査で陽性反応を認めた為、院内で同定を行った結果、抗 f を保有していることが判明した (Table 1)。抗 f は、1953 年に Rosenfield らによって、血友病患者の血清から発見された稀な Rh 抗体である。免疫抗体と自然抗体が報告されており、溶血性副作用の原因になるとされている²⁾。患者の抗 f を DTT 処理したが完全には失活せず、IgM と IgG が混在していると考えられた (Table 2)。これまでに妊娠歴や出産歴、輸血歴も無いことから、自然抗体であると推測した。

抗 f 保有患者への赤血球輸血は f 抗原陰性である R₁R₁もしくは R₂R₂を使用するが、患者の Rh-Hr 血液型は R₁R₁であったため R₁R₁を選択することとした。

輸血と不規則抗体の経過

来院 2 度目に初回の赤血球輸血オーダーがあり、R₁R₁の赤血球を日赤から取り寄せ、院内で E 抗原と c 抗原が陰性であることを確認した。輸血は副作用無く終了した。

しかし 2 週間後の不規則抗体スクリーニング検査で、

f 抗原陽性血球以外の血球にも凝集を認めた。院内のパネル血球はほとんどが f 抗原陽性であり同定不可能であった為、日本赤十字社に同定検査を依頼した。結果、抗 c も保有していることが判明した。過去 3 回の不規則抗体スクリーニング検査時には f 抗原陽性血球のみと反応していたが、その時に保管していた血漿を用いて、f 抗原陰性/c 抗原陽性血球との反応性 (プロメリン一段法 (用手法) と PEG-IAT 法) を確認したところ、プロメリン 1 段法のみ弱く凝集が認められた。抗 c の DTT 処理を行った結果、IgM と IgG の混在であった (Table 2)。

これらの結果から、患者は輸血前から抗 c を保有していたが抗体価が低く、通常の検査では検出できないレベルであったことがわかった。その後は抗 c の抗体価も漸増し、PEG-IAT 法でも確認できるようになった。

抗 f は抗 c や抗 e と混在している場合が多く³⁾、本症例患者も同様であった。

その後患者は治療のために入院し、赤血球輸血に加え、血小板輸血も頻回に施行した。いずれも副作用や溶血所見は見られなかった。

抗 f と抗 c は、共に 3 カ月程で陰性化した。

抗 E の産生

抗体が陰性化して 1 カ月過ぎた頃、スクリーニング検査で再び陽性反応を認めた。院内で同定の結果、抗 E であった (Table 3)。この時の直接クームス試験 (用手法で抗 IgG のみ) は陰性。念のため DT 解離を行い E 抗原陽性血球との反応を調べたが、結果は陰性であった。

抗 E は DTT 処理の結果 IgG であり、免疫抗体であっ

Table 3 Irregular antibody identification with an antigram (Anti-E production)

Rh-hr	D	C	E	c	e	f	Test Results	
							Sal	PEG-IAT
R1wR1	+	+	0	0	+	0	0	0
R1R1	+	+	0	0	+	0	0	0
R2R2	+	0	+	+	0	0	0	2+
Ror	+	0	0	+	+	+	0	0
r'r	0	+	0	+	+	+	0	0
r'r	0	0	+	+	+	+	0	1+
rr	0	0	0	+	+	+	0	0
rr	0	0	0	+	+	+	0	0
rr	0	0	0	+	+	+	0	0
rr	0	0	0	+	+	+	0	0

抗E産生時の不規則抗体同定結果

Table 4 Blood data before and after anti-E production

Data Day	WBC ×10 ³ /μl	Hb g/dl	Plt ×10 ⁴ /μl	LDH U/l	PT second	Fib mg/dl	FDP-S μg/ml	CRP mg/dl
9/14	1.3	6.8	1	665	13.7	300	<2.5	1.58
9/21	1.1	8.3	1.2	669	13.4	225	<2.5	1.44
9/28	1	7.9	0.6	509	13.2	318	<2.5	2.75
10/5	1.1	8.3	1.2	671	14.2	346	<2.5	5.57
10/13	1.3	7.9	1.6	807	14.4	370	Not Test	4.83
10/19	0.6	7.9	0.7	747	14.1	344	4.8	4.77
10/26	0.4	6.4	0.5	576	14.1	396	3.2	10.13
10/31	0.4	6.8	2.1	712	14.1	438	5.4	11.35
11/2	0.6	8.4	0.9	860	14.9	464	6.8	18.19

抗E産生前後の血液データ

た (Table 2).

赤血球輸血はすべて R₁R₁ を使用していたにも関わらず抗 E を産生したため、当初は誤って E 抗原陽性の赤血球製剤を輸血したのではないかと疑ったが、日本赤十字社に輸血した全赤血球製剤の Rh-Hr 血液型を確認してもらった結果、全て R₁R₁ で間違いなかった。

次に、血小板輸血による同種抗原感作の可能性を疑い、日本赤十字社に患者が輸血した全血小板製剤 (10 バッグ) の Rh-Hr 血液型も調べてもらった。その結果、E 抗原陽性の血小板製剤が 4 バッグあり、全て R₁R₂ であった。さらにその内の 2 バッグは抗 E 産生の 3 週間前と 2 週間前にそれぞれ投与されていたことから、この内のどちらか一方、もしくは両方の製剤が抗体産生の契機になったと考えた。これらの製剤についてわかることは Rh-Hr 血液型のみで、混入赤血球量など詳しいことはわからなかった。

産生された抗 E は、患者の輸血歴や妊娠歴、また、輸血から抗体産生までの期間を考えると、1 次免疫応答によるものと推測される⁴⁾。

これによる輸血合併症は無かった。輸血効率につい

ては患者の病態が悪く、CRP の上昇と共に Plt も漸減していた為、純粋な輸血効果をみることはできなかった (Table 4)。しかし、血小板上に Rh 系抗原は存在しないため輸血効率に影響はないと考える。

その後の輸血対応はこれまで通り、赤血球製剤は R₁R₁、血小板製剤は通常の製剤を使用した。

抗 E 産生後も R₁R₂ の血小板製剤を 2 バッグ輸血していたが、副作用や血小板数の減少などは認められなかった。

抗 E はその後 1 カ月ほどで陰性化した。

不規則抗体の抗体価測定

患者の不規則抗体の推移を調べるため、凍結保存しておいた患者の血漿を融解し、抗 f、抗 c、抗 E の抗体価を測定した (DTT 未処理)。

血球試薬は通常ヘテロ血球を用いるが、複合抗体により検査血球の確保が困難であったため、c 陽性血球と E 陽性血球はホモ接合、f 陽性血球は f 抗原陽性/c 抗原陽性血球を使用した。

抗体価は試験管法にて、生理食塩液法とクームス法

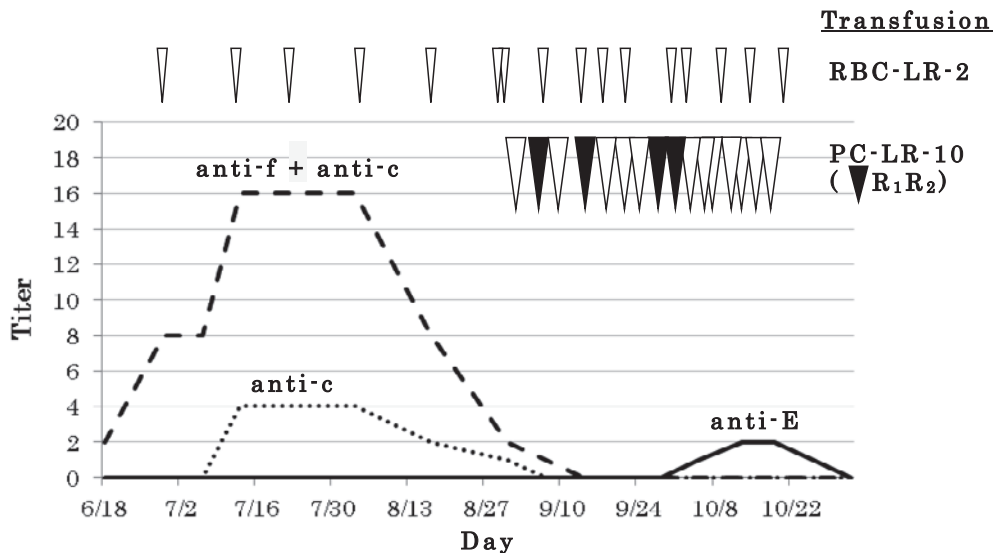


Fig. 1 Change in antibody titer in clinical course.
赤血球輸血, 血小板輸血と不規則抗体の推移

を行った。クームス法については、抗 E の力価が弱く反応増強剤無添加では検出できない可能性があったため、同定時と同じ PEG-IAT 法を採用した。

結果、すべての抗体が生理食塩水法で陰性。PEG-IAT 法では抗 f+抗 c が最も強く最高で 16 倍、抗 c は 4 倍、抗 E は 2 倍であった (Fig. 1)。

考 察

血小板輸血により不規則抗体を産生したと思われる症例を経験した。

不規則抗体は、輸血を受けたからといえ必ずしも産生されるものではない。

各血液型抗原の免疫原性はもちろん、患者の遺伝的背景や輸血回数、輸血量など様々な要因が関与している。Rh 抗原の免疫原性は D 抗原が最も強く、次いで c 抗原と E 抗原が同等である⁵⁾。輸血歴・妊娠歴のない E 抗原陰性の受血者が E 抗原陽性の血液を輸血されて抗 E を産生する確率は 3.3% といわれている⁶⁾。

今回の症例では R₁R₂ ドナー由来の血小板輸血で抗 E を産生したと考えられる。血小板製剤中の混入赤血球量は僅かであり、繰り返し輸血を受けても赤血球抗原による免疫は起こりにくいと考えられている。しかし、1 度の血小板輸血で不規則抗体を産生したという報告は過去にも多くあり⁷⁾、微量の赤血球量では免疫刺激を起こさないと断言もできない。

ま と め

今回免疫刺激を起こした製剤に関してわかる事は、ドナーの Rh-Hr 血液型のみであった。製剤中の混入赤血球量やドナーの抗原発現量等が、抗体産生にどの程

度影響を及ぼすのかはわからなかった。

実際に輸血業務に携わっていると、血小板の頻回輸血症例でも不規則抗体を産生する症例にほとんど遭遇しないことから、本症例患者が抗体を産生したのは、混入赤血球だけでなく、患者の疾患や免疫機能も影響した可能性があるのではないかと考えている。

患者が不規則抗体を保有している場合、過去の妊娠や赤血球輸血によるものばかり思ってしまうが、他の輸血製剤や疾患、治療の影響など様々な要因があるということを再認識し、今後の検査に役立てたい。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) 遠山 博, 柴田洋一, 前田平生, 他: 輸血学 改訂第 3 版, 中外医学社, 東京, 2004, 73.
- 2) Rosenfield R.E., Vogel P., Gibbel N., et al: A "new" Rh antibody, anti-f. Br. Med. J., 1: 975, 1953.
- 3) 松尾裕子, 島村直子, 西村要子, 他: 低イオン強度ポリブレン法のみで検出された抗 f 抗体. 日本輸血学会雑誌, 35: 61-65, 1989.
- 4) 柴田洋一: Technical Manual 13th Edition (日本語版), オリジナル光学, 東京, 2002, 254-255.
- 5) 遠山 博, 鈴木節子, 佐藤 誠, 他: スタンダード輸血検査テキスト, 医歯薬出版, 東京, 2004, 52.
- 6) 轟木元友, 稲葉頌一, 大河内一雄: 輸血後抗 E 抗体の出現率について. 日本輸血学会雑誌, 31: 563-564, 1985.
- 7) 吉居真由, 山口恭子, 池松陽子, 他: 血小板製剤輸血後に不規則抗体が検出された 2 症例. 日本輸血細胞治療学会誌, 57: 465-469, 2011.

- 8) 久富木庸子, 竹ノ内博之, 児玉 健, 他: 血小板輸血により抗 E 抗体を産生した一症例. 日本輸血細胞治療学会誌, 54 : 242, 2008.

A CASE WITH ANTI-E ANTIBODIES PRODUCED BY PLATELET TRANSFUSION

*Kumryo Kim*¹⁾, *Gaichi Okabe*¹⁾, *Akiko Omiya*¹⁾, *Kiyoko Yanagawa*¹⁾, *Koh Furuta*¹⁾,
*Yoshihiro Matsubara*²⁾, *Jun Aoki*³⁾ and *Heiwa Kanamori*³⁾

¹⁾Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Kanagawa Cancer Center

²⁾Pharmaceutical Information Section, Kanagawa Prefecture Red Cross Blood Center

³⁾Department of Hematology, Kanagawa Cancer Center

Abstract:

We experienced a case of anti-E. This patient has both anti-f and anti-c, despite receiving a red blood cell transfusion from apparently R₁R₁ (CCDee) donors.

This history suggests that the cause might have been alloimmunization by platelet transfusion. We examined the existence of Rh-Hr type in 10 packs of transfused PC. As a result, 4 of 10 packs showed the R₁R₂ (CcDEe) type. Further, 2 packs had been administered before the anti-E appearance.

This suggests that the E-antigen in the PC bags might have produced anti-E antibodies. There may be the possibility of antibody production by platelet transfusion with the inclusion of a few red blood cells.

Keywords:

platelet transfusion, inclusion of a few red blood cells, irregular antibody