

直接抗グロブリン試験陰性の溶血時期を経て自己免疫性溶血性貧血を発症した骨髓異形成症候群

深堀 道俊¹⁾ 山口 真紀²⁾ 亀崎 豊実³⁾

骨髓異形成症候群 (MDS) と診断され輸血依存状態となっていた 59 歳の女性が、直接抗グロブリン試験 (DAT) 陰性の溶血性貧血を併発した。1 年後に DAT が陽転化した後は輸血効果が得られなくなったが、Rh と Kidd 血液型の因子指定血を選択することで輸血効果は改善した。その 4 カ月後に DAT の凝集力が増強し、再び輸血効果が減弱した。自己免疫性溶血性貧血 (AIHA) と診断し、ステロイド投与により溶血性貧血ならびに輸血効果は改善し、4 カ月後には輸血の必要はなくなった。MDS 患者において、無効造血に DAT 陰性の溶血性貧血を合併した場合には、輸血関連検査の注意深いフォローアップに加えて、DAT 陰性 AIHA も念頭に置き、高感度の赤血球結合 IgG 検出法についても積極的に行うと、早期診断と輸血量の軽減につながる可能性がある。

キーワード：直接抗グロブリン試験，自己免疫性溶血性貧血，骨髓異形成症候群

緒 言

自己免疫性溶血性貧血 (autoimmune hemolytic anemia : AIHA) は、赤血球に対して産生された自己抗体や補体の感作した赤血球が血管内や血管外で破壊されることにより貧血をきたす¹⁾。自己抗体の赤血球との至適反応温度により、温式と冷式に大別され、基礎疾患が有れば続発性、無ければ特発性に分類される。特発性温式 AIHA の治療の第一選択は副腎皮質ステロイド (PSL) であり、次いで脾摘や免疫抑制剤、抗体療法が選択される^{1)~4)}。これらの治療法の効果が現れるまでの期間、生命維持に必要なヘモグロビン濃度維持を目的に、救命的な対応として輸血療法が行われる⁴⁾。

AIHA の診断においては、貧血と黄疸を認め、直接抗グロブリン試験 (direct antiglobulin test : DAT) が陽性であれば診断は容易であるが⁵⁾、DAT の検出感度以下の赤血球結合抗体による DAT 陰性 AIHA 例も 5~10% 存在する⁵⁾。DAT 陰性 AIHA は赤血球結合 IgG 定量を行うことでその 8 割程度が診断可能であり、PSL 反応性も良好とされているが⁵⁾、一般的には診断に時間がかかり治療開始も遅くなることが多い³⁾⁶⁾。

骨髓異形成症候群 (myelodysplastic syndrome : MDS) 患者の約 10% が DAT 陽性を示すと報告されており⁷⁾、免疫系の機能障害による自己抗体の産生が想定されている⁸⁾。今回、MDS と診断された患者において、

造血不全に伴う貧血および血小板減少に対して輸血療法を選択し、輸血依存となった。その後、DAT 陰性の溶血時期を約 1 年間経過した後に、DAT が陽転化し AIHA 合併と診断された。AIHA 診断前の溶血期間も DAT 陰性 AIHA であった疑いがあり、早期診断ができていれば治療により輸血量を低減できた可能性がある。本症例における一般病院検査室で可能な対応に関する教訓について、輸血関連検査結果の推移も含めて報告する。

症 例

59 歳、女性。腎性貧血の既往があり赤血球造血刺激因子製剤 (ESA) を投与されていたが、2013 年 10 月に ESA 不応性貧血の精査目的に当院の血液腫瘍内科を受診した。骨髓検査の結果等から MDS の診断となり、外来で経過観察されていた。経過中に貧血および血小板減少の進行があり、高度の輸血依存となった。

経過および検査結果

初診時、造血障害をきたす可能性のある薬剤の内服歴はなく、検査結果 (表 1) では、赤血球と血小板の 2 系統の血球減少が認められ、MCV107.8fl と大球性貧血であった。慢性腎臓病により尿素窒素 33.9mg/dl、クレアチニン 1.42mg/dl と上昇を認めた。ビタミン B12 や葉酸の欠乏は認めず、慢性炎症を示唆する所見およ

1) 公立八女総合病院臨床検査科

2) 久留米大学病院血液腫瘍内科

3) 自治医科大学地域医療支援部門

〔受付日：2017 年 9 月 7 日，受理日：2018 年 1 月 16 日〕

表1 検査結果

血算		骨髓像	
WBC	4,500 / μ l	NCC	5.6×10^4 / μ l
Myelo.	1 %	Mak	27 / μ l
Seg.	54 %	M/E 比	0.5
Mono.	19 %	Blast	0 %
Lymph.	26 %	Promyelocyte	3 %
		Myelocyte	5 %
RBC	193×10^4 / μ l	Metamyelocyte	8 %
Hb	6.7 g/dl	Band neutrophil	5 %
Ht	20.8 %	Segmented neutrophil	5 %
PLT	7.9×10^4 / μ l	Eosinophil	1 %
MCV	107.8 fl	Basophil	0 %
MCH	34.7 pg	Proerythroblast	2 %
MCHC	32.2 %	Basophilic erythroblast	6 %
		Polychromatic erythroblast	34 %
IPF	2.6 %	Orthochromatic erythroblast	10 %
Ret	2.2 %	Lymphocyte	20 %
		Monocyte	1 %
生化学			
LD	168 U/l	AST	13 U/l
T-Bil	0.8 mg/dl	ALT	9 U/l
UN	33.9 mg/dl	Na	141 mEq/l
Cr	1.42 mg/dl	K	4.4 mEq/l
CRP	0.26 mg/dl	Cl	110 mEq/l
Fe	74 μ g/dl	TSH	6.459 μ IU/ml
Cu	126 μ g/dl	VitB12	563 pg/ml
Ferritin	111 ng/dl	Folic acid	5.3 ng/ml

び溶血所見はみられなかった。骨髓検査では有核細胞数 $5.6 \times 10^4/\mu\text{l}$ の低形成骨髓で芽球様細胞は骨髓有核細胞の 5% 以下であった。好中球系に低分葉好中球、巨核球系に微小巨核球および非分葉の巨核球、赤芽球系に多核赤芽球などの形態異常を約 10% に認め、異形成の区分としては intermediate と評価した。骨髓染色体は正常核型であり、これらの結果から MDS Probable と判断した。鉄染色で環状鉄芽球は 5% 以下であり、骨髓生検において骨髓線維化を認めたため、病型分類としては骨髓線維化を伴う MDS-MLD (MDS with multilineage dysplasia) と診断した。

初診翌日に行った輸血開始前の検査結果では、血液型：B 型 RhD 陽性。ポリエチレングリコール添加間接抗グロブリン試験 (indirect antiglobulin test : IAT) : 陰性。DAT : 多特異性試薬陰性、抗 IgG 試薬陰性、抗 C3b・C3d 試薬陰性。酸解離法による赤血球抗体解離試験 : 陰性。その他血液型は Rh 血液型 (DCCee) と Kidd 血液型 (Jk (a-b+)) であった。輸血歴・妊娠歴ともなかった。

輸血検査結果の推移 (図 1)

2013 年 12 月、DAT および IAT は陰性であったが、2014 年 12 月、DAT と IAT が陽転化し、血漿や解離液中に汎反応性の自己抗体が検出され、DAT および IAT の凝集力が W+, 解離液の抗体価が 1 倍であった。そ

の後、凝集力と抗体価は変化を認めなかったが、2015 年 5 月には血漿と解離液中に自己抗体に加えて抗 E 特異性を認め、DAT および IAT の凝集力が 2+, 解離液の抗体価が 32 倍と上昇した。AIHA 合併と診断され、PSL の投与開始後、DAT ならびに IAT は陰性化し、血漿と解離液中の自己抗体ならびに抗 E も検出されなくなった。

血液・生化学検査結果の推移 (図 2)

2014 年 1 月の生化学検査で直接ビリルビン 0.5mg/dl、LD 309U/l、ハプトグロビン 10mg/dl 以下と溶血所見を認めた。DAT 陰性時期の輸血効果は良好であったが、2014 年 12 月以後は溶血所見に加えて DAT 陽性となり、B 型 RhD 陽性のランダム輸血では輸血効果が得られなかった。このため、患者と同じ Rh 血液型 (DCCee) と Kidd 血液型 (Jk (a-b+)) の因子指定血に切り替えたところ、輸血量に変化はないものの、Hb 5.7g/dl から 6.8g/dl、総ビリルビン 1.7mg/dl から 0.8mg/dl、LD 260U/l から 147U/l と検査データの改善を認めた。その後、2015 年 5 月に抗体価が上昇してから PSL 0.5mg/kg/day による投与 12 日目までの輸血効果は不良で Hb 3~5g/dl 台で推移していた。PSL 1mg/kg/day に増量後、Hb は 3.4g/dl から 8.1g/dl に上昇した。

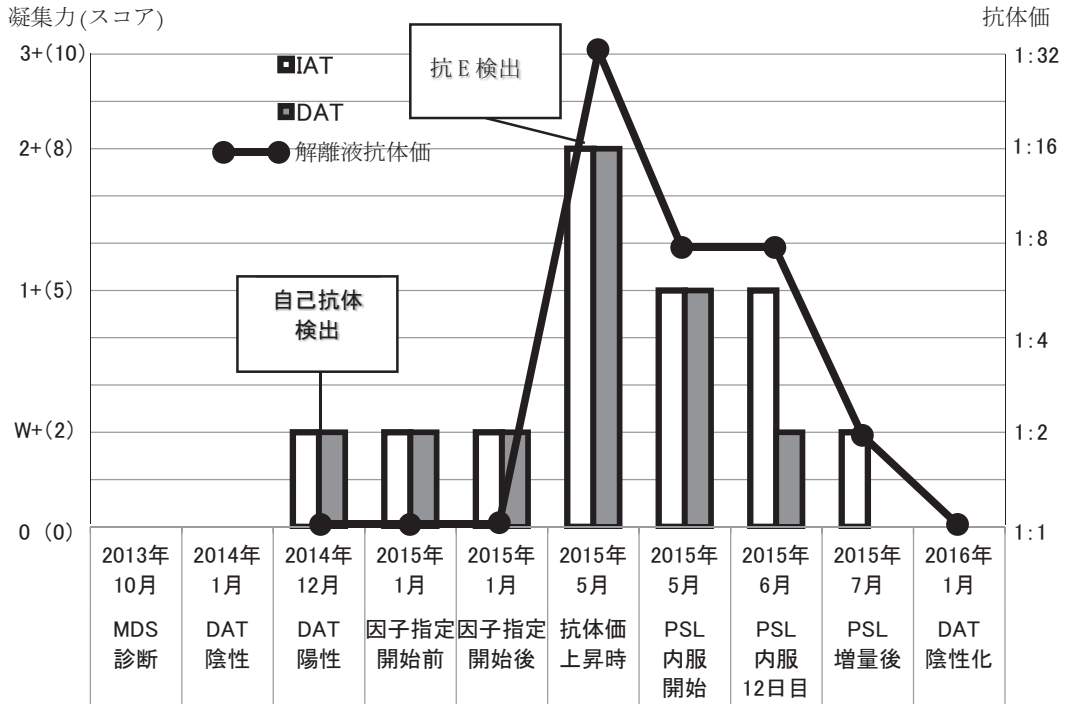


図1 輸血検査結果の推移

DAT および IAT は凝集力を示し、抗体価は赤血球抗体解離試験の抗体価を示す。

DAT : direct antiglobulin test

IAT : indirect antiglobulin test

MDS : myelodysplastic syndrome

PSL : prednisolone

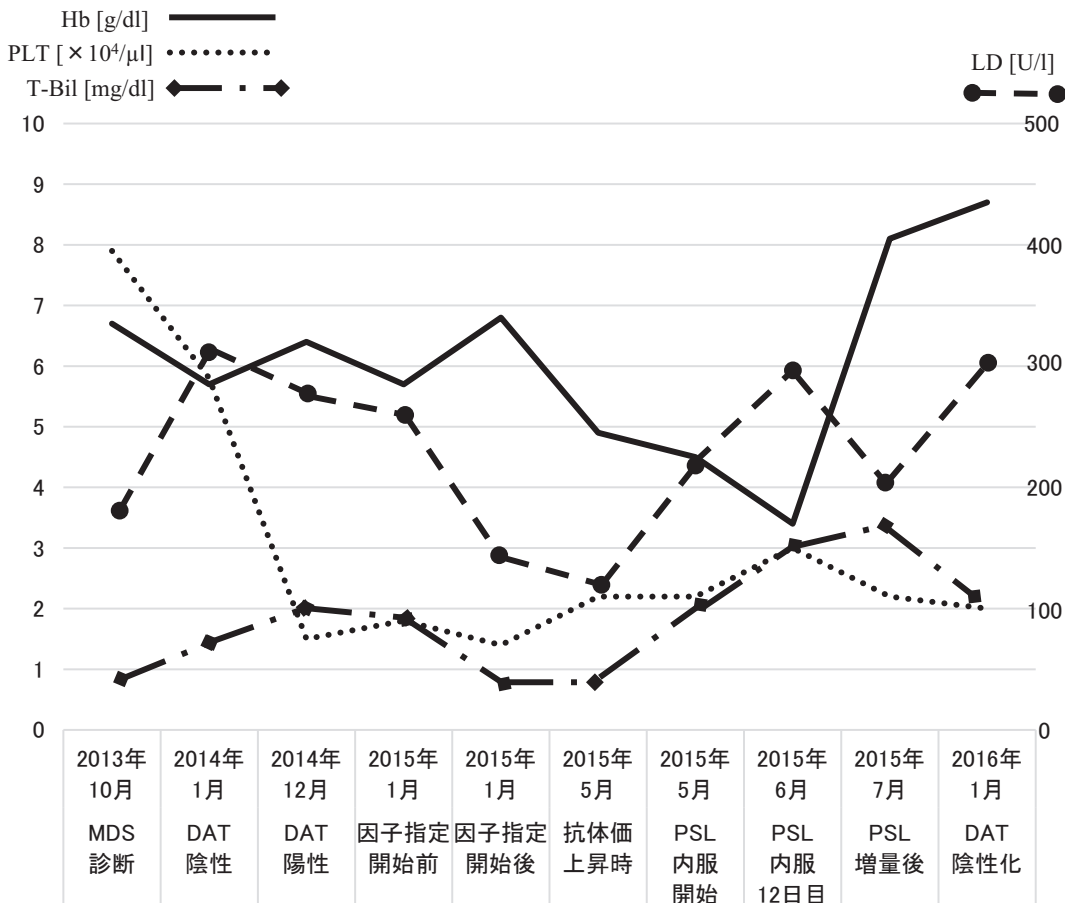


図2 血液・生化学検査結果の推移

表2 副腎皮質ステロイド (PSL) 内服量および輸血量 (RBC, PC)

		PSL	RBC	PC
2013年10月	DAT 陰性期		2単位	
11月			4単位	
12月			6単位	
2014年1月			6単位	
2月			4単位	
3月			4単位	
4月			4単位	
5月			4単位	
6月			8単位	
7月			12単位	
8月			12単位	20単位
9月		16単位	50単位	
10月		10単位	80単位	
11月		16単位	70単位	
12月	DAT 陽転化		12単位	90単位
2015年1月	因子血 投与開始		16単位	40単位
2月			16単位	50単位
3月			16単位	50単位
4月			16単位	40単位
5月		20mg/day	14単位	10単位
6月		40mg/day	18単位	
7月		30mg/day	8単位	
8月		20mg/day	4単位	
9月		15mg/day	0単位	
10月		30mg/day	6単位	
11月		25mg/day	2単位	
12月		20mg/day		

副腎皮質ステロイド (PSL) 内服量および輸血量 (RBC, PC) (表2)

PSL 内服前は、Hb 4~5g/dl を維持するために週2回赤血球輸血を実施し、血小板も適宜補充したことから、2013年10月から2015年5月までに赤血球製剤計194単位と血小板製剤計500単位を輸血した。PSL 0.5mg/kg/day 内服後も貧血の改善はみられなかったが、PSL 1mg/kg/day に増量後は週1回の赤血球輸血となり、4カ月目には赤血球輸血依存から離脱した。また血小板数は $1.5\sim 2.0\times 10^4/\mu\text{l}$ と低値で推移したが、PSL 内服前は週1回実施していた血小板輸血からも離脱した。

考 察

溶血性貧血症例の診断において免疫性溶血の証明となるDATは、定性的に赤血球結合抗体を検出する検査法であり、赤血球結合IgG量が120分子/RBC以上で検出可能とされている⁹⁾¹⁰⁾。赤血球抗体解離試験では、解離液を濃縮することで検出感度が高まることが確認されているが⁸⁾、DAT陰性AIHAで想定される赤血球結合IgG量(100分子/RBC以下¹⁰⁾)を検出することは、試験管法のみを実施している一般病院の検査室での対応は困難である。

本症例のように、MDSや慢性腎臓病による造血不全に溶血が認められた場合はAIHAの合併も念頭に置き、試験管法DATよりも感度の高いカラム凝集法DAT(赤血球結合IgG量が70分子以上⁹⁾)や高感度な酵素免疫法や放射免疫法による赤血球結合IgG定量¹⁰⁾について積極的に検討する必要がある。DAT陰性の時期にDAT陰性AIHAが診断できていれば、この間の輸血量を低減できた可能性がある。さらに、輸血がAIHA発症のリスクになるとの報告もあり¹¹⁾、DAT陰性の溶血期の輸血がDAT陽性AIHA発症に関与した可能性も考えられる。DATおよびIATが陽転化した後は輸血依存から離脱するまでの期間、試験管法DATによる治療効果の確認は臨床的に有用であった。本症例にみられた進行性の血小板減少については、AIHA診断前はMDSによる造血不全が原因と考えられたが、AIHA診断後にPSLを開始したところ、血小板数に大きな変化はみられなかったものの血小板輸血から離脱した。この経過から進行性の血小板減少の原因はImmune thrombocytopeniaの合併によるもので本症例はMDSに合併したEvans症候群であった可能性が考えられる。

AIHAの患者は一般的に免疫能が亢進して同種抗体を産生しやすいことから、輸血後に発症する遅発性溶血性貧血を回避するためにも、Rh血液型については患

者と一致する赤血球製剤を選択することが望ましいとされている¹²⁾。さらに Kidd 血液型に対して産生された同種抗体は生体内で数週間から数カ月で検出不能になりやすいことや適合率が約 25% であることを勘案し^{13)~15)}、本例では輸血前に Rh 血液型と Kidd 血液型について患者赤血球抗原検査を実施していたことは、DAT ならびに IAT 陽転化後の適合血液の選定と輸血実施に有効であった。

AIHA の治療において、薬物療法による治療効果が得られるまでの救命的な輸血は機を逸することなく行う必要がある⁴⁾。輸血検査担当者は安全かつ効果的な赤血球製剤の選択や定期的にオーダーされる不規則抗体検査・IAT・DAT 検査を行うにあたり、抗体の有無のみならず、検出された抗体の凝集強度や解離液の抗体価推移にも注意を払わなければならない。必要であれば院外の感度の高い検査法の活用も考慮し、溶血の進行や治療効果について臨床医と緊密な情報共有と連携体制を取ることが必要であると考えらる。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- Petz LD, Garratty G: The diagnosis of hemolytic anemia, Immune Hemolytic Anemias, 2nd ed, Churchill Livingstone, New York, 2004, 33—60.
- Lechner K, Jäger U: How I treat autoimmune hemolytic anemias in adults. *Blood*, 116: 1831—1838, 2010.
- Zanella A, Barcellini W: Treatment of autoimmune hemolytic anemias. *Haematologica*, 99: 1547—1554, 2014.
- 厚生科研費 難治性疾患克服研究事業 特発性造血障害に関する調査研究ホームページ：特発性造血障害疾患の診療の参照ガイド（平成 28 年度改訂版 編集：荒井俊也，黒川峰夫）自己免疫性溶血性貧血 http://zoketsushogaihan.com/file/guideline_H28/07.pdf（2017 年 7 月現在）.
- Gilliland BC: Coombs-negative immune hemolytic anemia. *Semin Hematol*, 13: 267—275, 1976.
- Kamesaki T, Toyotsuji T, Kajii E: Characterization of direct antiglobulin test-negative autoimmune hemolytic anemia: a study of 154 cases. *Am J Hematol*, 88: 93—96, 2013.
- 永井 正, 上原英輔, 齊藤桐子, 他：骨髓異形成症候群に合併したクームス陰性自己免疫性溶血性貧血. *日本輸血細胞治療学会誌*, 61: 468—473, 2015.
- Mufti GJ, Figs A, Hamblin TJ, et al: Immunological abnormalities in myelodysplastic syndromes: I. Serum immunoglobulins and autoantibodies. *Br J Haematol*, 63: 143—147, 1986.
- Garratty G: The clinical significance of red cell bound IgG and complement current application and interpretations of the direct antiglobulin test. In: Wallace ME, eds, *Technical Manual*, 14th ed, AABB, Maryland, 2002, 455—456.
- Kamesaki T, Oyamada T, Omine M, et al: Cut-off value of red-blood-cell-bound IgG for the diagnosis of Coombs-negative autoimmune hemolytic anemia. *Am J Hematol*, 84: 98—101, 2009.
- Young PP, Uzieblo A, Trulock E, et al: Autoantibody formation after alloimmunization: Are blood transfusions a risk factor for autoimmune hemolytic anemia? *Transfusion*, 44: 67—72, 2004.
- 近江俊徳, 梶井英治, 小山田隆, 他：温式自己免疫性溶血性貧血患者における赤血球結合 IgG 量の測定とその意義. *日本輸血学会雑誌*, 38: 601—606, 1992.
- 日本輸血・細胞治療学会ホームページ：赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン（改訂 2 版）<http://yuketsu.jstmct.or.jp/wp-content/uploads/2016/10/5bc721e299263f6d44e2215cbdfbfaf.pdf>（2017 年 7 月現在）.
- Mollison PL, Engelfriet CP, Contreras M: *Blood transfusion in clinical medicine*, 10th ed, Black well Science, Oxford, 1997.
- 内川 誠：Kidd 血液型. 編者 遠山 博, *輸血学*, 改訂第 3 版, 中外医学社, 東京, 2004, 309—313.

MYELODYSPLASTIC SYNDROME COMPLICATED BY DIRECT ANTIGLOBULIN TEST NEGATIVE HEMOLYSIS

*Michitaka Fukahori*¹⁾, *Maki Yamaguchi*²⁾ and *Toyomi Kamesaki*³⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Yame General Hospital

²⁾Division of Hematology and Oncology, Kurume University Hospital

³⁾Center for Community Medicine, Jichi Medical University

Abstract:

A 59-year-old woman had myelodysplastic syndrome (MDS) complicated by direct antiglobulin test (DAT)-negative hemolysis that resulted in transfusion-dependent anemia. During her clinical course, the DAT became positive, and the efficacy of transfusion diminished. Transfusion using blood units compatible with Rh and Kidd blood types led to improved efficacy of transfusion for several months, but the patient's anemia worsened with increasing DAT avidity, leading to the diagnosis of autoimmune hemolytic anemia (AIHA). Administration of prednisone improved her AIHA, and the patient no longer required blood transfusions 4 months after initiation of treatment. Patients with DAT-negative hemolysis associated with MDS should be followed by repeated serological testing. Furthermore, clinicians should consider the possibility of DAT-negative-AIHA development because prednisone is reportedly effective against this type of anemia and can reduce the need for blood transfusions.

Keywords:

direct anti-globulin test, auto-immune hemolytic anemia, myelodysplastic syndrome

©2018 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy

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