

交通外傷による敗血症から汎血球凝集反応を呈した 1 症例

岡田 義昭 山田 攻 鈴木 雅之 内野富美子 山 麻衣子
加藤 由佳 本田 優未 池淵 研二

汎血球凝集反応 (Polyagglutination : 以下 PA) とは、細菌の酵素や血液疾患等により通常の赤血球では潜在化している抗原が露出し、そのために成人血液中に存在する IgM 型自然抗体と凝集を起こす現象である。症例は、60 歳代の女性。自動車事故による腹部打撲で入院中であつたが、入院 4 日目に外傷性小腸穿孔による腹膜炎の診断で小腸切除術を受けた。術後に敗血症による DIC (Disseminated Intravascular Coagulation) となつた。血小板輸血後に急速に貧血が増悪し、赤血球輸血のために交差適合試験を行なつたところ、主試験では凝集は認められなかったが、副試験において自己血漿以外の全ての血漿に対して W+~4+ の凝集反応が認められた。抗 T、及びレクチンとの反応から T 抗原による PA と判断した。PA は入院 5 日目に最も強く、敗血症の改善と共に凝集は弱くなった。本症例の貧血と直接ビリルビンの高値は、PA 改善後も続いたことから原因を検索したところ巨大な血腫が発見され、PA による溶血よりも血腫への出血が原因と推定された。敗血症では血球に PA が生じていることがあり、血漿を含む血液製剤の使用によって溶血が生じる可能性があるので注意を要する。

キーワード：汎血球凝集反応，敗血症，T 抗原，交差適合副試験

はじめに

汎血球凝集反応 (Polyagglutination : 以下 PA) は、潜在化している赤血球抗原が細菌の酵素や血液疾患、又は先天性の赤血球の異常等によって露出するために成人由来の血清中に存在する抗体と反応し、凝集する現象である¹⁾²⁾。このような状態で新鮮凍結血漿や血小板製剤などを使用すると生体内で溶血を生じる可能性がある³⁾⁴⁾。今回、我々は、交通外傷による外傷性小腸穿孔から敗血症に至り、血小板輸血後に急速に貧血が増悪し、交差適合試験において赤血球の PA 化が認められ、貧血の原因が PA による溶血なのか判断に苦慮した症例を経験したので報告する。

症 例

患者は、60 歳代の女性で体重は約 35kg。血液型は、A 型 RhD 陽性、不規則抗体は入院時と入院 5 日目ともに陰性であつた。自動車事故による腹部打撲で入院中であつたが、入院 4 日目に外傷性小腸穿孔による腹膜炎となり小腸切除術を受けた。術後に血小板減少、直接ビリルビン優位の高ビリルビン血症、CRP や LDH の高値が出現し、敗血症による DIC となつた。濃厚血小板製剤を 20 単位輸血したところ、9 時間後の検査においてヘモグロビンが 10.1g/dl から 6.5g/dl と急速に

貧血が進行した (表 1)。赤血球輸血のために交差適合試験を行なつたところ、生理食塩液法において主試験では凝集は認められなかったが、副試験において自己血漿以外の全ての血漿に対して凝集反応が認められた (表 2)。

方 法

交差適合試験は、通常業務に従って生理食塩液法の主試験と副試験、間接抗グロブリン法は主試験を実施した。また、汎凝集は、入院 3 日目から 10 日目までの患者血液から 3% の赤血球浮遊液を作成し、5 名の健常人 AB 型血清と反応させ、凝集の有無を解析した。汎血球凝集の原因となる抗原の解析は、入院 5 日目の赤血球を用いて行った。レクチンによる解析では、「汎赤血球凝集試験レクチン」(イムコア社)を用いて *Arachis hypogea*, *Salvia sclarea*, *Salvia horminum*, *Glycine soja* の 4 種を用いた。4 種のレクチン試薬をそれぞれ 2 滴試験管に入れ、生理食塩液で浮遊させた 4% の赤血球浮遊液を 1 滴滴下し、室温で 3 分反応後 1,000 回転/分で 1 分間遠心して凝集の有無と強さを評価した。また、モノクローナル抗体を用いた解析は、日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター埼玉製造所検査一課に依頼した。

表1 汎血球凝集発症時の検査（入院第5日目の血小板輸血9時間後）

血算		生化学検査	
WBC	15,750 / μ l	Alb	1.8 g/dl
Hb	6.5 g/dl	BUN	47 mg/dl
Ht	18 %	Cr	0.82 mg/dl
Plt	30,000 / μ l	T-Bill	26.0 mg/dl
		D-Bill	17.4 mg/dl
凝固検査		AST	185 IU/l
PT	76 %	ALT	55 IU/l
PT-INR	1.19	LDH	3,400 IU/l
APTT	57.2 sec		
FDP	24.2 μ g/ml	その他	
		尿所見	潜血 3+
		直接抗グロブリン試験	陰性
		ハプトグロビン（入院6日目）	7 mg/dl

表2 入院5日目の交差適合試験

輸血用赤血球	生理食塩液法		間接抗グロブリン試験 (PEG)
	主試験	副試験	主試験
A型赤血球1	陰性	4+	陰性
A型赤血球2	陰性	2+	陰性
A型赤血球3	陰性	W+	陰性

表3 汎血球凝集の原因となる抗原の解析

レクチンとの反応	T	Tk	Tn	Th	患者赤血球
	Arachis hypogaea	+	+	陰性	+
Salvia sclarea	陰性	陰性	+	陰性	陰性
Salvia horminum	陰性	陰性	+	陰性	陰性
Glycine soja	+	陰性	+	陰性	+

+ : 凝集あり 陰性 : 凝集なし

モノクローナル抗体との反応	抗 T	抗 Tk	抗 Tn
	患者赤血球	4+	陰性

結 果

貧血に対して赤血球輸血を行うためにA型赤血球液3検体を用いて生理食塩液法による交差適合試験を行なったところ、主試験では凝集は認められなかったが、副試験において自己血漿以外の全ての血漿に対してW+~4+の凝集反応が認められた。自己対照は陰性であった。さらに、ポリエチレングリコール(PEG)を用いた間接抗グロブリン試験では主試験の全ての赤血球に対して陰性であった(表2)。また、直接抗グロブリン試験は陰性であった(表1)。汎血球凝集の原因となった抗原は、Arachis hypogaeaとGlycine sojaに凝集が認められ、抗Tモノクローナル抗体に凝集を示した。抗Thモノクローナル抗体の検査が実施していなかったが、T抗原によるPAを強く疑った(表3)。5名のAB型血

清に対して入院5~9日目までの患者赤血球に凝集が認められた。一方、レクチンに対しては、Arachis hypogaeaは5日目、Glycine sojaは5~8日目まで3+~4+の凝集が認められた(表4)。敗血症の起炎菌は血液培養を行なったが検出できなかった。また、患者血漿に赤血球上のT抗原を顕在化させる活性があるのか検討するために入院5日目の患者血漿を正常A型血球と24時間37℃で処理し、Glycine sojaと室温で反応させたが、凝集は認められなかった。

経 過

血小板輸血後に急速に貧血が進行し、交差適合試験によってPAを発症していることが判明した。尿検査で潜血反応が3+、末梢血の塗抹標本において破碎赤血球

表4 患者赤血球と成人血清, 及び各種レクチンとの凝集

	3日	5日	8日	9日	10日	正常 A1 赤血球
正常血清との反応						
AB 型血清 1	陰性	2+	W+	W+	陰性	陰性
AB 型血清 2	陰性	4+	W+	W+	陰性	陰性
AB 型血清 3	陰性	3+	W+	W+	陰性	陰性
AB 型血清 4	陰性	2+	W+	W+	陰性	陰性
AB 型血清 5	陰性	4+	W+	W+	陰性	陰性
レクチンとの反応						
Arachis hypogea	陰性	4+	陰性	陰性	N.D.	陰性
Salvia sclarea	陰性	陰性	陰性	陰性	N.D.	陰性
Salvia horminum	陰性	陰性	陰性	陰性	N.D.	陰性
Glycine soja	陰性	4+	3+	陰性	N.D.	陰性

N.D.: Not Done

表5 血液製剤輸血と検査値の変動

入院日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
PA 化									→				
赤血球輸血(単位)					4	2	2	2	4	8	2	2	
血小板輸血(単位)					20			15					
Hb (g/dl)	13.9	nt	14.8	13.3	10.1	9.0	8.0	7.0	5.5	6.4	8.5	8.0	8.4
Plt (1,000/ μ l)	205	nt	140	59	9	25	20	25	110	109	56	49	75
LDH (U/l)	304	nt	255	281	2,297	3,857	3,513	1,788	724	764	833	665	533
T-Bil (mg/dl)	0.9	nt	1.8	1.4	14.7	29.4	32.2	33.7	29.5	27.2	13.3	11.3	11.6
D-Bil (mg/dl)	0.1	nt	0.7	0.7	9.4	25.0	28.0	29.3	26.6	25.0	12.2	9.4	nt
CRP (mg/dl)	0.1	nt	48.0	52.0	51.0	40.9	28.4	10.2	4.5	2.0	1.0	6.5	nt
FDP (μ g/ml)	nt	nt	14.7	9.2	20.4	27.5	14.0	nt	5.6	nt	3.4	nt	nt

nt: not tested

が認められた。また、直接ビリルビンが高値を示し、直接抗グロブリン試験は陰性であった。貧血の原因として、末梢血に破碎赤血球が認められたことから血栓性微小血管症 (thrombotic microangiopathy: 以下 TMA) を疑ったが、血小板輸血によって血小板数は期待した数に増加 (24 時間後の補正血小板増加数は、約 5,000/ μ l) したことから TMA は否定的だった。患者は体重が約 35kg と軽量であり、血小板製剤 20 単位 (血漿量として約 400ml) 投与後に急速に貧血になったことから製剤に含まれる PA 凝集素による溶血を考えたが、直接ビリルビンが増加していることや直接抗グロブリン試験が陰性であることなどから PA による溶血の可能性は低いと考えた。しかし、PA が生じている時に血漿を含む血液製剤の輸血は、凝集や溶血を生じさせる可能性が否定できないことから極力使用しない方針とした。その一方、治療のために新鮮凍結血漿が必要になった場合は、副試験を行い PA の凝集価が低い血漿を選択して使用することにした。PA は一過性であり、敗血症の改善と共に凝集力は低下し、PA 確認後 5 日目 (入院 10 日目) には陰性となった。貧血は、PA 改善以降も遷延するため原因を検索したところ左胸部に巨大な血腫が存在していた。入院 18 日目に血腫除去の手術を行ない術後の経過も良好のため退院となった (表 5)。

考 察

本症例では、血小板輸血施行を境にして急速に貧血が進行し、交差適合試験によって PA が生じていることが判明した。レクチンへの反応性やモノクローナル抗体を用いた解析から断定は出来ないが T 抗原による PA を強く疑った (表 3)。

PA は、細菌感染や悪性腫瘍等によって本来は潜在化している赤血球抗原が露出し、血漿中に存在する抗体と反応して凝集が生じる現象である。交差適合試験の副試験において全ての成人血清に凝集が生じることから発見されることが多い。潜在化している T 抗原、及びサブタイプの Tk 抗原、Tn 抗原、Th 抗原は複数のレクチンとの反応パターンから分類できる (表 3)¹⁾²⁾。T 抗原は、*E.coli*, *S.pneumonia* 等の細菌が有する neuraminidase によって露出され、50~70% のシアル酸が除去されると T 抗原が露出するとされている²⁾。同様に Tk 抗原は、*B.fragillis*, *C.albicans*, 等が産生する β -galactosidase によって N-acetylglucosamine が露出したものである。Tn 抗原は、血液疾患によって 3- β -D-galactosyltransferase 合成が上手く行かず潜在性の N-acetylgalactosamine が露出したものである。Th 抗原は、骨髓異形成症候群や白血病などの血液疾患によって赤血球膜の糖鎖合成の異常による場合や *S.pneumonia*

等による細菌感染によって生じる¹⁾。

本症例で強く疑われたT抗原はThomsen-Friedenreich抗原として知られ、赤血球、血小板、白血球、糸球体内皮細胞などに存在している³⁾。T抗原やサブタイプ抗原に対する抗体は、本症例ではジチオトレイトール (DTT) 処理による確認は行わなかったが多くの場合IgMと考えられ¹⁴⁾、生後2~6カ月頃までは陰性であるが、2~5歳までに成人レベルに達する⁴⁾。その類似抗原はグラム陰性腸内細菌が保有し、抗原性が高いために抗体産生が生じ、それがT抗原やサブタイプ抗原と交差すると考えられている⁵⁾。T抗原が露出した赤血球は、成人血清と凝集するが自分自身の血清とは凝集しない特徴を有している。その理由としてPA化した赤血球にPA凝集素に対する抗体が結合し、消費されるためだと推定されている。PAが起こり易い感染症は、小児では壊死性腸炎、出血性大腸炎、肺炎球菌、成人では手術創感染や消化管の感染症などであり、一過性であることが多い。PAが認められている場合、血漿を含んだ血液製剤の投与は溶血の原因となる可能性がある³⁴⁾とされている。しかし、*in vitro*でのPA活性の至適温度は4℃であり、37℃では弱い、又は全く凝集が認められないこともあり、PAによる溶血は実証されていない^{6)~8)}。本症例も最もPA活性が高かった入院5日目の血漿を用いて赤血球を処理したが、室温での凝集は確認出来なかった。小児の壊死性腸炎において、T抗原が認められたが明らかな溶血は認められなかったとの報告がある⁶⁾⁹⁾。現在のところ生体内で凝集や溶血の原因となるのか明確な回答は得られていない¹⁰⁾。一方、溶血性尿毒症症候群 (hemolytic uremic syndrome: 以下HUS) はペロ毒素関連の腸炎に続発することが多いが、HUSの5~15%は肺炎球菌感染によって生じるとされている^{11)~13)}。肺炎球菌の持つneuraminidaseによって糸球体内皮細胞のT抗原が露出されることが病因の1つとして考えられ、同時にPA化が報告されている¹¹⁾¹³⁾。特に侵襲性肺炎球菌感染症と呼ばれる症例では、約90%に直接抗グロブリン試験が陽性となる¹⁴⁾。HUSの治療では、血漿交換が行なわれることがあり、血漿に含まれる抗Tによって溶血が助長される危険性もあり注意を要する¹⁴⁾。

本症例では、総ビリルビン値が高値であったため貧血の原因としてPAによる溶血を疑った。しかし、巨大な血腫が発見され、直接ビリルビンが高値であり遷延した (表1, 5) ことから否定された。なお、直接ビリルビンの高値は、敗血症やDIC等によって肝内胆管への能動輸送が抑制されることが報告されていることから本症例も同様の機序によるものと考えた¹⁵⁾。文献的にはPAによる溶血の可能性は少ないとされているが、血漿を含む製剤の輸血では表2, 4で示したように凝集力

に個人差があり⁴⁾、凝集力の低い製剤を選択して使用することが必要かもしれない。

最近、交差適合試験の副試験が省略される傾向があり、更にPAを確認するレクチン試薬やモノクローナル抗体が市販されていないなど、解析が困難になっている。このため赤血球がPA化された患者に血漿成分を含む血液製剤が輸血されてしまうリスクが常にある。『赤血球型検査ガイドライン (改訂第2版)』では、壊死性腸炎や重症感染症を認める患児の交差適合試験の場合に主・副試験両方の施行を推奨している¹⁶⁾。敗血症患者に輸血を行なう場合、特に肺炎球菌感染が疑われる症例等では、状況により患児以外のケースでも、交差適合試験時に副試験を実施する必要があると考えられた。

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：日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター、埼玉製造所検査一課の皆様にはPAの抗原を解析していただき、深謝いたします。

文 献

- 1) Horn KD: The classification, recognition and significance of polyagglutination in transfusion medicine. *Blood Reviews*, 13: 36—44, 1999.
- 2) Springer GF, Desai PR: Extent of desialation of blood group MM, NN, and MN antigens required for reactivity with human anti-T antibody and Arachis hypogea lectin. *J Biol. Chem.*, 257: 2744—2746, 1982.
- 3) Oliver JW, Akins RS, Bibens MK, et al: Pneumococcal Induced T-activation with resultant thrombotic microangiopathy. *Clin Med Insights Pathology*, 3: 13—17, 2010.
- 4) Crookston KP, Reiner LJ, Cooper RA, et al: RBC T-activation and hemolysis; implications for pediatric transfusion management. *Transfusion*, 40: 801—812, 2000.
- 5) Springer GF, Tegtmeier H: Origin of anti-Thomsen-Friedenreich T and Tn agglutinins in man and in white Leghorn chicks. *J Haematol*, 47: 453—460, 1981.
- 6) Moh-Klaren J, Bodivit G, Jugie M, et al: Severe hemolysis after plasma transfusion in a neonate with necrotizing enterocolitis, Clostridium perfringens infection, and red blood cell T-polyagglutination. *Transfusion*, 57: 2571—2577, 2017.
- 7) 領家敬子, 糸賀真人, 福田芳美, 他: Pseudomonas aeruginosa 感染による Polyagglutination の1症例. *日本輸血・細胞治療学会雑誌*, 57 (1): 39—45, 2011.
- 8) 尾崎牧子, 松田幸子, 西山正孝, 他: Escherichia coli 敗血症に合併した Acquired B 及び Tk-polyagglutination の1例. *日本輸血学会雑誌*, 49 (1): 50—56, 2003.

- 9) Boralessa H, Modi N, Cockburn H, et al: RBC T activation and hemolysis in a neonatal intensive care population: implications for transfusion practice. *Transfusion*, 42 (11): 1428—1434, 2002.
- 10) Yamada C, Davenport RD: A case of extravascular hemolysis with Tk-activation. *Clin Case Rep*, 2 (4): 137—142, 2014.
- 11) 大滝幸哉, 秋林 建, 早川國男: 肺炎球菌性髄膜炎に随伴した T-polyagglutination の 1 症例. *感染症学会誌*, 54 (7): 353—357, 1980.
- 12) Spinale JM, Rubner RL, Kaplan BS, et al: Update on Streptococcus pneumonia associated hemolytic uremic syndrome. *Curr Opin Pediatr*, 25: 203—208, 2013.
- 13) 鈴木敏洋, 地引 利, 阿部克昭, 他: 肺炎球菌性肺炎・膿胸に伴い汎凝集反応を呈した 1 例. *小児科臨床*, 69 (3): 379—385, 2016.
- 14) 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン作成班編: 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン, 東京医学社, 東京, 2014.
- 15) 一ノ宮大雅, 寺尾嘉彰, 東島 潮, 他: 多発外傷後に著明な抱合型高ビリルビン血症を来した 2 症例についての検討. *日集中医誌*, 15: 87—92, 2008.
- 16) 奥田 誠, 竹下明裕, 安田広康, 他: 赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドライン(改訂 2 版). *日本輸血・細胞治療学会雑誌*, 62 (6): 651—663, 2016.

A POLYAGGLUTINATION FROM SEPSIS DUE TO ABDOMINAL TRAUMA BY TRAFFIC ACCIDENT

Yoshiaki Okada, Osamu Yamada, Masayuki Suzuki, Fumiko Uchino, Maiko Yama, Yuka Katoh, Yuumi Honda and Kenji Ikebuchi

Department of Transfusion Medicine and Cell Transplantation, Saitama Medical University Hospital

Abstract:

Polyagglutination (PA) is a phenomenon in which erythrocyte antigens that are latent in ordinary erythrocytes are exposed to enzymes such as those of bacterial origin, causing erythrocyte aggregations by IgM-type natural antibodies in adult serum. We encountered a case of PA in a woman in her 60s. She was hospitalized for abdominal trauma due to a traffic accident. On the 4th day of hospitalization, she underwent small bowel resection following diagnosis of peritonitis and developed disseminated intravascular coagulation (DIC) due to septicemia. After platelet transfusion, anemia rapidly worsened and the cross match test for red blood cell (RBC) transfusion was performed. No agglutination was observed in the main test but in the minor test, an aggregation reaction was observed in all plasma except autologous plasma. Examinations using anti-T antibody and lectins showed PA by T antigens. To avoid hemolysis and agglutination of blood cells by allogeneic plasma, blood products containing plasma were abstained. PA was most severe on the 5th day of hospitalization, and gradually decreased as sepsis improved. While PA does not necessarily cause hemolysis, care should be taken because PA due to *S.pneumonia* can induce hemolysis.

Keywords:

Polyagglutination, septicemia, T antigen, minor cross match test