

HPA-15a 抗体保有白血病患者に対する HPA 不適合血小板輸血の臨床効果

岡山ゆかり¹⁾ 橋本 誠²⁾ 貝原 由美¹⁾ 生見 景子¹⁾ 森 雅彦¹⁾
秋篠 達也¹⁾ 北本 妙子³⁾ 糟谷 敬子³⁾ 乾 由美子⁴⁾ 岡村 篤夫⁴⁾

同種抗原となるヒト血小板抗原-15 (Human platelet antigen-15 : HPA-15) は血小板膜表面の CD109 上に発現しており、これに対する血小板抗体は血小板輸血不応 (Platelet transfusion refractoriness : PTR) や新生児血小板減少症 (Neonatal alloimmune thrombocytopenia : NAIT) の原因となり得る。しかし、本邦で広く用いられている抽出抗原を用いた Mixed passive hemagglutination 法 (MPHA 法) では、HPA-15 抗体を検出することは難しく、HLA 抗体を有する患者では更に解析が困難である。

この度我々は、急性骨髄性白血病に対する治療中に PTR となった患者血清中に、HLA 抗体と共に、Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens 法 (MAIPA 法) により HPA-15a 抗体が検出された症例を経験した。

患者はランダム血小板では輸血効果を認めなかったが、HLA 適合・HPA 不適合血小板輸血では、HLA 適合・HPA 適合血小板輸血と同等の輸血効果が認められた。本例では HPA 不適合血小板でも輸血効果が認められたが、PTR に対する HPA-15a 抗体の臨床的意義をより明確にするためには、さらなる症例の蓄積が必要である。

キーワード：血小板輸血不応、HPA-15a 抗体、MAIPA 法、HPA 不適合血小板輸血

諸 言

血小板膜表面には、ヒト血小板抗原 (Human platelet antigen : HPA) やヒト白血球抗原 (Human leukocyte antigen : HLA) などの同種抗原が存在する。輸血や妊娠によりこれらの同種抗原に対する血小板抗体が産生されると、血小板輸血不応 (Platelet transfusion refractoriness : PTR) や新生児血小板減少症 (Neonatal alloimmune thrombocytopenia : NAIT) などを発症しうるということが明らかになっている^{1)~3)}。

通常、血小板輸血実施後には、輸血効果について臨床症状および血小板数増加の程度を評価することが望ましい。血小板数増加の評価は、血小板輸血 1 時間後と 24 時間後の補正血小板増加数 (Corrected count increment : CCI) により行う。輸血 1 時間後の CCI が低値の場合には、免疫学的要因によるケースが多い。一方、非免疫学的要因による血小板減少の場合には、24 時間後の CCI が低値でも輸血 1 時間後の CCI は $7.5 \times 10^3 / \mu l$ 以上であることが多い⁴⁾。免疫学的要因による PTR は、HLA 抗体や HPA 抗体などの同種抗体が原因とな

り得るが、その多くは HLA 抗体が原因である。しかし多型性を有する HPA 抗体も時に血小板減少の原因となる。

HPA 抗原は、GPIIb/IIIa, GPIb/IX, GPIa/IIa などの血小板膜タンパクに局在しており、CD109 上には HPA-15 抗原が局在する⁵⁾。これらの抗原に対する HPA 抗体を検出するため、本邦では抽出抗原を用いた Mixed passive hemagglutination 法 (MPHA 法) によるスクリーニングがよく行われているが、抗体の種類によっては偽陰性となることがある。一方欧米では、Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens 法 (MAIPA 法) や Platelet immune-fluorescence test (PIFT) などが広く用いられている。近年では遺伝子導入細胞を用いた検査も行われるようになってきている⁵⁾。

この度我々は、急性骨髄性白血病に対する治療中に PTR となり、HLA 抗体と共に、MAIPA 法により HPA-15a 抗体が検出された症例を経験したので報告する。

1) 加古川中央市民病院臨床検査室

2) 神戸大学医学部附属地域医療活性化センター

3) 加古川中央市民病院看護部

4) 加古川中央市民病院腫瘍・血液内科

〔受付日：2018 年 12 月 4 日，受理日：2019 年 3 月 4 日〕

表1 初診時検査所見

TP	6.3 g/dl	WBC	740 / μ l
ALB	4.0 g/dl	好中球	13.0 %
A/G 比	1.7	リンパ球	81.0 %
AST	15 U/l	単球	3.0 %
ALT	15 U/l	好酸球	0.0 %
LD	181 U/l	好塩基球	0.0 %
ALP	208 U/l	血球形態	大小不同
γ GT	18 U/l	RBC	1.54×10^6 / μ l
CK	94 U/l	Hb	5.9 g/dl
ChE	297 U/l	Ht	17.5 %
AMY	63 U/l	MCV	114 fl
T-Bil	0.32 mg/dl	MCH	38.3 pg
I-Bil	0.30 mg/dl	MCHC	33.7 %
BUN	13.8 mg/dl	PLT	29×10^3 / μ l
CRE	0.50 mg/dl	Reti	1.4 %
Na	141 mmol/l		
K	4.2 mmol/l	PT 活性値	102.3 %
Cl	111 mmol/l	PT-INR	0.99
Fe	131 μ g/dl	APTT	29.4 sec
TIBC	247 μ g/dl	フィブリノゲン	288.0 mg/dl
UIBC	116 μ g/dl	FDP	<2.5 μ g/ml
CRP	0.034 mg/dl		
RF	5 IU/ml	【骨髓検査】	
C3	93 mg/dl	有核細胞数	31,000 / μ l
IgG	792 mg/dl	巨核球数	3 / μ l
IgA	284 mg/dl	骨髓像	
IgM	72 mg/dl	Blast	83.6 %
Glu	108 mg/dl	M/E 比	0.09
HbA1c	6.1 %		
抗核抗体	<40 倍	Blast 表面抗原	CD13-, CD33-, CD34+
ビタミン B12	422 pg/ml		CD41+, CD117+
葉酸	5.0 ng/ml		
フェリチン	168 ng/ml		

症 例

症例は63歳女性。2016年9月、歯科にて根管治療後に発熱、下顎腫張、左眼球結膜下出血などが出現。血液検査にて高度な汎血球減少を認めたため、当院血液内科に紹介となった。妊娠歴あり、輸血歴なし。既往歴には特記すべきことなし。血液型はO型RhD陽性で、不規則抗体は検出されなかった。初診時の検査所見を表1に示す。著明な汎血球減少の他、末梢血中には芽球が3%認められた。骨髓は低形成で、有核細胞中N/C比が高く大型で好塩基性の芽球を約8割認めた。芽球の多くはBlebを有しており、ミエロペルオキシダーゼ染色は陰性、表面抗原はCD13・CD33陰性、CD41・CD34・CD117陽性であった。これらの結果より、急性巨核芽球性白血病(FAB分類:M7)と診断。入院日より寛解導入療法(IDA+Ara-C)が開始された。

Day0より繰り返し赤血球製剤、血小板製剤の輸血が行われたが、Day11の血小板輸血後には血小板数の増加がなく、CCI24時間値が0/ μ lであったため、PTRが疑われた(表2)。Day16の血小板輸血後、CCI1時間値を測定したところ0/ μ lであったため、PTRと診

断した。そこで同日、近畿ブロック血液センターに血小板抗体の測定依頼を行い、Day18に検体を提出した。

方 法

以下の測定は、日本赤十字社近畿ブロック血液センターで実施された。

1. HLA・HPA タイピング検査

WAKFlow HLA および HPA タイピング試薬(湧永製薬)、Luminex 測定装置を用いて PCR-rSSO 法により測定した。

2. HLA 抗体検査

WAKFlow HLA 抗体クラス I(湧永製薬)、Luminex 測定装置を用いて測定した。

3. HPA 抗体検査

a. MPHA 法: 血小板抽出抗原固相 MPHA プレートを用いた anti-PLT・MPHA・スクリーン(BECKMAN COULTER)により測定。HLA 抗体と判別のため、クロロキン処理が行われた。

b. Modified Rapid MAIPA 法: Campbell らの報告(Vox Sang. 2007)に基づき測定⁶⁾。BECKMAN COUL-

表2 血小板製剤輸血効果

PLT 輸血日 (病日)	PLT 選択製剤	輸血 単位数 (単位)	血小板数 ($\times 10^3/\mu$)				CCI ($/\mu$)	
			輸血前	輸血後		1 時間値	24 時間値	
				1 時間	24 時間			
0	ランダム	10	29	—	57	—	19,490	
6	ランダム	10	22	—	40	—	12,530	
11	ランダム	10	5	—	2	—	0	
13	ランダム	10	2	—	4	—	1,390	
14	ランダム	10	4	—	1	—	0	
16	ランダム	10	1	1	1	0	0	
17	ランダム	10	1	—	1	—	0	
18	ランダム	10	1	—	—	—	—	
19	ランダム	10	1	—	2	—	700	
20	ランダム	10	2	—	1	—	0	
21	ランダム	10	1	—	1	—	0	
28	HLA 適合・HPA 不適合 (O 型, HLA: (A24, -) (B35, B54) (Cw1, Cw9), HPA: 15a/b)	10	5	55	46	34,805	28,540	
94	HLA 適合・HPA 適合	10	25	75	72	34,805	32,720	
120	HLA 適合・HPA 適合	10	6	32	21	18,100	10,440	
157	HLA 適合・HPA 適合	10	18	59	54	28,540	25,060	

CCI ($/\mu$) = 血小板増加数 ($/\mu$) \times 体表面積 (m^2) \div 輸血血小板総数 ($\times 10^{11}$)

CCI は血小板総数 2.0×10^{11} 個として推定の CCI を算出

輸血後血小板数が輸血前血小板数と同じ又は低値の場合は CCI 0/ μ と表記

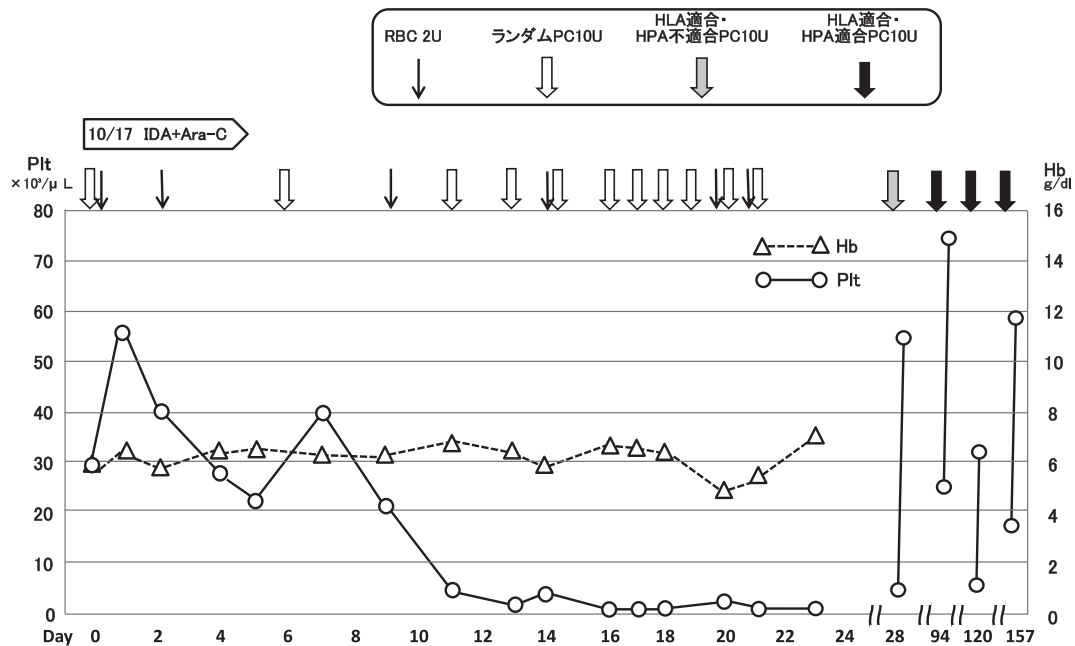


図1 臨床経過と輸血効果

TER の anti-human GPIa・GPIIb/IIIa・CD109 モノクローナル抗体 (TEA 2/16) を使用した。抗原はトランスフェクタント細胞由来 (K562) を用いた。

結果および輸血効果

広汎な蛍光ビーズに反応する HLA 抗体が検出された。患者の HLA クラス I タイピングは, (A24, -)(B7, B35)(Cw9, Cw7) であった。HPA 抗体の検出には 2

種類の検査法が用いられたが, MPHA 法では陰性, MAIPA 法では陽性であり, HPA-15a に対して抗体特異性が認められた。尚, 患者の HPA タイピングは, 1a/a, 2a/a, 3a/a, 4a/a, 5a/a, 6a/a, 7a/a, 15b/b であった。

その後の経過を, 表 2 および 図 1 に示す。Day 28 には出血症状を伴う高度の血小板減少が認められたが, HPA 適合血小板の供給が間に合わず, HLA のみ適合の血小板輸血 (O 型, HLA: (A24, -)(B35, B54) (Cw1,

Cw9), HPA:15a/b) が行われた. HLA 適合・HPA 不適合にもかかわらず, 輸血1時間後の血小板数は50,000/ μ l 増加し, CCI1時間値は34,805/ μ l であった.

HLA 適合・HPA 適合血小板輸血は, Day94, Day120, Day157の3回行われ, CCI1時間値・24時間値ともに良好な輸血効果が得られた.

考 察

現在の血小板抗体検査では, 抗体特異性や抗原発現量などの要因で, 検査法により判定結果が異なることがある. そのため, 検出感度などを考慮し, 可能であれば複数の検査を組み合わせる実施することが望ましいとされている.

HPA 抗原系は, それぞれ a 型と b 型の対立抗原が認められる. より発現頻度の高いものを a 型と定義されており, 多くの HPA 抗原において, 極端に a 型の発現頻度が高い⁷⁾. 一方, 井上らは, 日本人献血者 217 例における HPA-15a・b の遺伝子頻度に偏りはなく, a/a 23.5%, a/b 52.1%, b/b 24.4% であったと報告している⁸⁾. 言い換えれば, HPA-15 抗体が産生される可能性は, 他の HPA 抗体よりも高いことが予想されるが, 本邦での検出率は低い. その理由の一つとして, 本邦で広く用いられる HPA 抗体のスクリーニング検査は, 血小板抽出抗原をプレート上に固定した MPHA 法が用いられている点が挙げられる. この方法では, プレート上の CD109 発現量は少なく, HPA-15 抗体が検出されにくい特徴がある. また HLA 抗体が存在する場合には, クロロキン処理により HLA 抗原を除去した上で, HPA 抗体の確認が行われる. その際, HLA 抗原と同様, HPA-15 抗原もクロロキン処理による影響を受けやすく, 偽陰性となってしまうことが多い⁹⁾. HPA-15 トランスフェクタント細胞由来の抗原とそれらに対するモノクローナル抗体を用いて, HPA 抗体の検出を行う MAIPA 法の場合には, 細胞に安定して抗原が発現し, 特異抗体の検出が可能である⁵⁾. 本例においても, MPHA 法ではなく MAIPA 法で HPA-15a 抗体が検出されたことから, 今後, 確立された HPA-15 抗体検査を抗体スクリーニングに含める必要があると考えられた.

過去に PTR や NAIT の症例で HPA-15 抗体が検出されたとの報告はあるが¹⁰⁾¹¹⁾, HLA 抗体を含め複数の血小板抗体を有することが多く, その臨床的意義は明らかとなっていない. 実際, HPA-15b 抗体保有患者に対する HPA 不適合輸血が有効であった症例と無効であった症例とが報告されており, 輸血効果にばらつきが見られる⁵⁾. 本例では, HLA 適合・HPA 不適合輸血が行われたが, HLA 適合・HPA 適合輸血と同様の輸血効果が認められた.

白人で多く見られる HPA-1a 抗体による NAIT では,

しばしば脳出血などの重篤な出血症状を呈す¹²⁾. 日本人における NAIT では, HPA-4b 抗体の検出率が最も高く, 次いで HPA-3a 抗体や HPA-5b 抗体も認められている¹³⁾¹⁴⁾. 対応する血小板抗原はそれぞれ糖蛋白 GPIIIa・GPIIb・GPIa 上にあり, 通常その発現量に個人差は少ない. 一方, HPA-15 抗原が局在する血小板膜上の CD109 発現量には個人差があり, 多くの場合その発現量は少ないとされることから⁵⁾, 今回これが輸血効果に影響を与えた可能性もある. 血小板製剤における CD109 発現量に加えて, HPA-15a 抗体価の測定も, 輸血効果を判断する上で重要な情報となる. 今後も症例を積み重ね, 解析結果を蓄積することで, HPA-15a 抗体の PTR に対する臨床的意義がより明確になるものと考えられる.

結 語

この度, 急性骨髄性白血病患者に対するランダム血小板輸血後 PTR となり, HLA 抗体および HPA-15a 抗体が検出された症例を経験した. 本例では HLA 適合・HPA 不適合血小板輸血でも輸血効果が認められたが, PTR に対する HPA-15a 抗体の臨床的意義をより明確にするためには, 今後も症例の蓄積が必要である.

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: 抗体検査から血小板供給に際しご尽力いただきました兵庫県赤十字血液センター並びに近畿ブロック血液センターに深謝致します.

(本症例は, 第 65 回 日本輸血・細胞治療学会で発表しました.)

文 献

- 1) 岩本通子, 市村和子, 内田和人, 他: 抗 HPA-6b が血小板輸血不応状態に関与したと考えられる症例. 日本輸血学会誌, 49: 439—443, 2003.
- 2) 曳地理絵, 川畑絹代, 黒須由美子, 他: MPHA 法及び AHG-LCT 法にて検出不能な HLA 抗体に起因する血小板輸血不応. 日本輸血細胞治療学会誌, 62: 733—739, 2016.
- 3) 清川知子, 高 陽淑, 桑鶴知一郎, 他: 3 種類の HPA 抗体, HPA-4b, HPA-5a, HPA-15b 抗体を有した NAIT 症例. 日本輸血学会誌, 64: 597—601, 2018.
- 4) Delaflor-Weiss E, Mintz PD: The evaluation and management of platelet refractoriness and alloimmunization. *Transfus Med Rev*, 14: 180—196, 2000.
- 5) Matsushashi M, Tsuno NH, Sone S, et al: The role of alloantibodies against human platelet antigen-15 in multiply platelet transfused patients. *Transfusion*, 54: 1093—1099, 2014.

- 6) Campbell K, Rishi K, Howkins G, et al: A modified rapid monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigen assay for the detection of human platelet antigen (HPA) antibodies: a multicentre evaluation. *Vox Sang*, 93: 289—297, 2007.
- 7) Curtis BR, McFarland JG: Human platelet antigens-2013. *Vox Sang*, 106: 93—102, 2014.
- 8) 井上 進, 森田庄治, 二上由紀, 他: 日本人における Gov 血小板同種抗原の遺伝子頻度. *日本輸血学会誌*, 49: 757—760, 2003.
- 9) Matsuhashi M, Tsuno NH: Laboratory testing for the diagnosis of immune-mediated thrombocytopenia. *Ann Blood*, 3: 41, 2018.
- 10) Kelton JG, Smith JW, Horsewood P, et al: Gov^{a/b} Alloantigen System on Human Platelets. *Blood*, 75: 2172—2176, 1990.
- 11) Bordin JO, Kelton JG, Warner MN, et al: Maternal immunization to Gov system alloantigens on human platelets. *Transfusion*, 37: 823—828, 1997.
- 12) Davoren A, Curtis BR, Aster RH, et al: Human platelet antigen-specific alloantibodies implicated in 1162 cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Transfusion*, 44: 1220—1225, 2004.
- 13) 森田庄治, 井上 進, 花垣澄雄, 他: 新生児同種免疫性血小板減少症 (NAIT) の抗体分析: 1985~2005. *日本輸血学会誌*, 52: 678—683, 2006.
- 14) 飯野美穂, 井上 進, 二上由紀, 他: 本邦における新生児血小板減少症の集計調査. *日本輸血学会誌*, 56: 508—514, 2010.

CLINICAL EFFICACY OF HUMAN PLATELET ANTIGEN-MISMATCHED PLATELET TRANSFUSION IN AN ACUTE MYELOGENOUS LEUKEMIA PATIENT WITH anti-HPA-15a

Yukari Okayama¹⁾, Makoto Hashimoto²⁾, Yumi Kaibara¹⁾, Keiko Ikumi¹⁾, Masahiko Mori¹⁾, Tatsuya Akishino¹⁾, Taeko Kitamoto³⁾, Keiko Kasuya³⁾, Yumiko Inui⁴⁾ and Atsuo Okamura⁴⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Kakogawa Central City Hospital

²⁾Center of Advancement of Community Medicine, Kobe University School of Medicine

³⁾Department of Nursing, Kakogawa Central City Hospital

⁴⁾Department of Medical Oncology and Hematology, Kakogawa Central City Hospital

Abstract:

Alloantibodies against human platelet antigen-15 (HPA-15) residing on CD109 reportedly cause platelet transfusion refractoriness (PTR) and neonatal alloimmune thrombocytopenia. However, detection of anti-HPA-15 antibodies is difficult using the mixed passive hemagglutination (MPHA) test, the most popular method for detecting platelet-specific antibodies in Japan. Furthermore, concomitant expression of human leukocyte antigen (HLA) antibodies makes anti-HPA-15a detection using the MPHA test even more difficult. In this case report, we present the case of a 63-year-old woman with acute myelogenous leukemia who had HLA antibodies. She developed PTR during chemotherapy, and anti-HPA-15a positivity was identified using the monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA) assay. Transfusions of platelet preparations from random donors were not effective. However, HLA-matched and HPA-mismatched platelet transfusions were clinically effective against thrombocytopenia, similar to both HLA and HPA-matched transfusions. Further studies are needed to evaluate the clinical significance of anti-HPA-15a antibodies in PTR.

Keywords:

platelet transfusion refractoriness, anti-HPA-15a, MAIPA assay, HPA-mismatched platelet transfusion