

## 輸血療法中に LISS-IAT で不規則抗体が陽転化した 2 症例

阿部 操 大西 修司 北 睦実 北畑もも香 大澤 眞輝  
井上まどか 吉田由香利 山岡 学 伊藤 量基 野村 昌作

われわれは造血器疾患に対する輸血療法中に、患者と Rh 血液型が同型の赤血球製剤 (RBC-LR) を輸血したにも関わらず、不規則抗体産生もしくは再活性化された 2 症例を経験したので報告する。

症例 1 は 2013 年 3 月、RBC-LR 輸血後に酵素法で抗 E が同定された。以降の RBC-LR は E 抗原・c 抗原陰性で対応していたが、2014 年 12 月、間接抗グロブリン試験 (IAT) でも抗 E が検出された。

症例 2 は初回の不規則抗体検査で抗 E が同定され、RBC-LR は E 抗原・c 抗原陰性で対応した。抗 E は IAT で陰性化した。血小板製剤 (PC-LR) 輸血後に再度陽性となり、さらに抗 c も同定された。輸血された PC-LR に E 抗原・c 抗原陽性が含まれていた。

不規則抗体産生もしくは再活性化の原因は 1 例目は不明であった。今後も症例の蓄積により原因究明に努めたいと考えている。2 例目は、PC-LR に含まれる微量の赤血球が関与したと考えられた。今回の 2 症例を経験して、RBC-LR 輸血前後だけでなく、定期的に不規則抗体検査を実施する重要性を再認識した。

当院では臨床的意義のある不規則抗体保有患者に不規則抗体カードを発行しており、不規則抗体が陰性化した状態で患者が転院した際の輸血療法の一助になればと考えている。

キーワード：血小板輸血、混入赤血球、不規則抗体検査、不規則抗体カード

### はじめに

輸血は造血器疾患にとって重要な支持療法であるが、患者のリスクとベネフィットを考慮しつつ行われる必要がある。リスクの一つとして不規則抗体産生が挙げられる。不規則抗体とはランドスタイナーの法則に従う規則抗体に対して、ABO 血液型抗原以外の赤血球抗原に対する抗体のことであり、臨床的意義のある抗体と臨床的意義のない抗体がある。主に輸血や妊娠により非自己の赤血球抗原に感作し産生されるものであり、輸血が原因となる場合は一般的には赤血球製剤 (RBC-LR) が対象となる。

今回われわれは造血器疾患の輸血療法中に不規則抗体が同定された患者に対して、患者と Rh 血液型が同型の RBC-LR を輸血したにも関わらず、不規則抗体産生もしくは再活性化された 2 症例を経験したので報告する。

### 症例 1

70 歳代、女性。輸血歴と妊娠歴がある。2011 年 9 月、前医にて白血球像に芽球、巨大血小板などを認め骨髄異形成症候群が疑われ、精査目的にて当院に紹介

された。翌年 11 月、急性骨髄性白血病と診断された。

### 症例 2

60 歳代、女性。輸血歴は不明、妊娠歴がある。2012 年 12 月、前医で多発性骨髄腫と診断され、翌年 4 月に当院へ紹介された。

### 検査方法

全自動輸血検査装置 (オーソ社 Autovue<sup>®</sup>Innova) を用いたカラム凝集法で ABO・RhD 血液型と不規則抗体スクリーニング (SC) を実施した。検査方法は低イオン強度溶液添加間接抗グロブリン試験 (LISS-IAT)、酵素法 (フィシン法) を実施した。SC 陽性の場合、試験管法にて市販パネル赤血球 (オーソ社 リゾルブ<sup>®</sup>パネル C、リゾルブ<sup>®</sup>パネル B) を用い、反応態度に応じて生理食塩液法、ポリエチレングリコール添加間接抗グロブリン試験 (PEG-IAT)、フィシン法で同定検査を実施した。

なお、RBC-LR の赤血球抗原型は近畿ブロック血液センターへ E 抗原・c 抗原陰性製剤を依頼し、納品後に抗体試薬 (オーソ社 バイオクロン<sup>®</sup>抗 E およびバイオ

表1 輸血状況と輸血検査結果 (症例1)  
 症例1における輸血状況と輸血検査の結果を示した。血小板製剤についてはRh血液型も示した。

日付	PC 輸血 単位数	PC の Rh 血液型	RBC (E-, c-) 輸血単位数	LISS-IAT	フィシン法
2012/11/6				陰性	陰性
2012/12/13				陰性	陰性
2013/1/22				陰性	陰性
2013/3/5				陰性	陽性
2013/4/30				陰性	陽性
2013/6/4				陰性	陽性
2013/7/23				陰性	陽性
2013/8/20				陰性	陽性
2013/10/3				陰性	陽性
2013/11/14				陰性	陽性
2013/12/26				陰性	陽性
2014/1/28				陰性	陽性
2014/3/4				陰性	陽性
2014/4/8				陰性	陽性
2014/5/22				陰性	陽性
2014/7/3				陰性	陽性
2014/8/5				陰性	陽性
2014/9/2				陰性	陽性
2014/11/4				陰性	陽性
2014/12/2			2	陰性	陽性
2014/12/12			2		
2014/12/15	① 10	DCCee			
2014/12/17	② 10	DCCee			
2014/12/19	③ 10	DccEE	2	陽性*1	陽性
2014/12/25			2		
2015/1/6			2	陽性	陽性
2015/1/13	④ 10	DCCee	2	陽性	陽性
2015/1/27	⑤ 10	DCcEe	2		
2015/2/10	⑥ 10	DCcEe	4		
2015/2/24	HLA10		2	陽性	陽性
2015/3/10	HLA10		2	陽性	陽性
2015/3/26	HLA10		2	陽性	陽性

\*1 PC-LR 輸血後の採血検体で検査を実施

クローン®抗c)で確認した。また、症例2については追加検査として、凍結検体(2017/2/9, 6/22, 9/21)による抗E抗体価の変動を確認した。抗体価は試験管法にて、初回同定時(2014/1/6)と同様にPEG-IATにて実施した。指示赤血球は初回同定には市販パネル赤血球、追加検査には市販スクリーニング赤血球(オーソ社 サージスクリーン®)のR<sub>2</sub>R<sub>2</sub>(DccEE)を用いた。抗体価測定はいずれもDTT未処理のみ実施した。

### 検査結果 1 (症例 1)

血液型はA型, DCCee。2012年11月, RBC-LR輸血が開始され, 輸血前SCは陰性であり, その後も定期的にRBC-LRが輸血された。2013年3月, SCにてフィシン法陽性となり, 抗Eが同定され, 以降のRBC-LRは全てE抗原・c抗原陰性にて対応した。2014年12月, 血小板製剤(PC-LR)輸血後, 同日に採血された検体で実施したSCにおいて, LISS-IATでも陽性となり, PEG-IATにて抗Eが同定された。フィシン法で抗E

検出後, LISS-IATで検出されるまでの期間(2013年3月~2014年12月)にSCは18回実施され, 全てフィシン法のみで抗Eが検出されていた。さらに2015年2月にはHLA抗体が検出され, HLA適合血小板(PC-HLA-LR)の供給が開始された。

不規則抗体が再活性化された原因を究明するために, 抗EがLISS-IATで検出された2014年12月前後のPC-LRについて, 近畿ブロック血液センターにRh血液型の調査を依頼した。その結果, 輸血されたPC-LRにDccEE, DCcEeドナー(③⑤⑥)が含まれていた(表1)。臨床経過からRBC-LRおよびPC-LR①②③は輸血効果を認め, PC-LR④⑤⑥については不明であるが, PC-HLA-LR変更後は輸血効果が認められた。また不規則抗体再活性化による溶血性輸血反応を示す所見は認められなかった(図1)。

### 検査結果 2 (症例 2)

血液型はO型, DCCee。2014年1月, 初回SCでLISS-

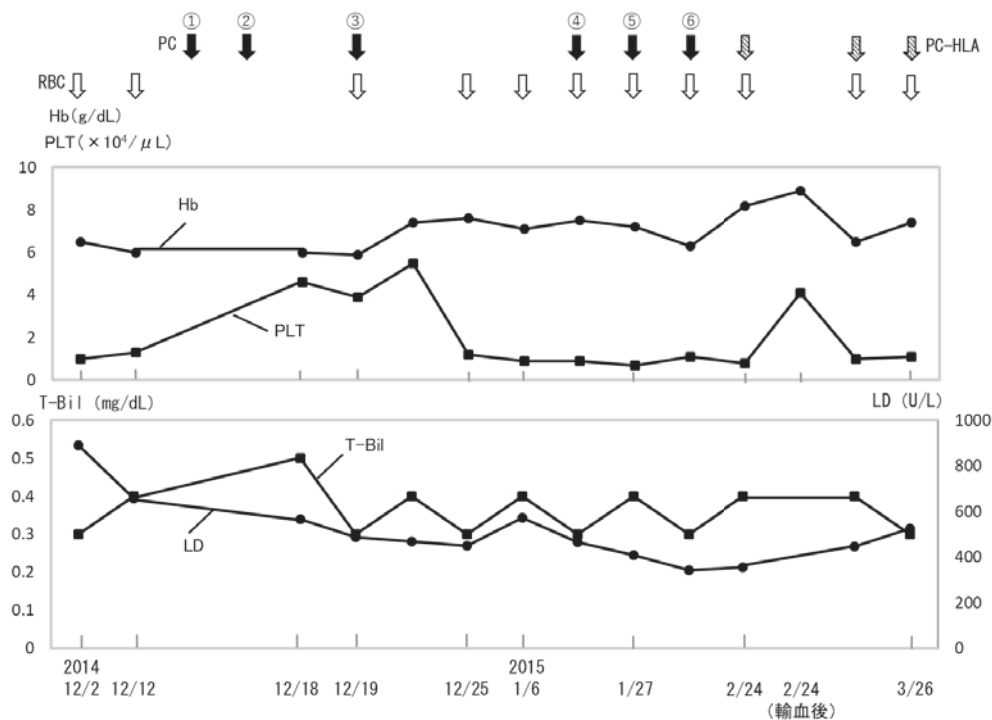


図1 臨床経過図 (症例1)

血小板輸血①②③については概ね輸血効果が認められた。④⑤⑥についての輸血効果は不明であるが、以降の血小板製剤輸血をPC-LRからPC-HLA-LRに切り替えたことで輸血効果が認められた。よって④⑤⑥についてはHLA抗体が原因であったと思われる。

IATおよびフィシン法陽性となり抗Eが同定されたが、輸血はPC-LRのみでRBC-LRは実施されなかった。2017年2月、RBC-LR輸血が開始され、E抗原・c抗原陰性にて対応した。その際のSCはLISS-IAT陰性、フィシン法陽性であった。LISS-IATは陰性であったがPEG-IATで抗Eが検出され、後に陰性化した。6月に実施されたSCで再度LISS-IAT陽性となり、抗Eだけでなく抗cも検出された。抗cは一旦陰性化した。9月に再度検出された。

抗EがLISS-IAT陰性となった2017年3月から、抗cが再度検出された9月までのPC-LRについて、Rh血液型の調査を依頼した。その結果、輸血されたPC-LRにDCcee, DccEE, DCcEeドナー(④⑤⑥⑩)が含まれていた(表2)。臨床経過を示すがRBC-LR、PC-LRともに輸血効果を認めており、PC-LR輸血が原因と思われる溶血性輸血反応を示す所見は認められなかった(図2)。抗E抗体価の測定をPEG-IATにて実施し、2014年1月の抗体価は128倍、2017年2月には1倍に低下したが、再度抗Eが検出された6月は4倍、9月は16倍と抗体価の再上昇が認められた。

## 考 察

症例1は酵素法のみ陽性の抗Eを保有しており、RBC-LR輸血はE抗原・c抗原陰性を選択していたにも関わ

らず、LISS-IATで抗Eが検出された。表1よりLISS-IATで抗Eが検出された2014/12/19から遡ると、2014/12/2にSCが実施されている。この期間中にはPC-LR①②が輸血されているが、Rh血液型から抗Eの再活性化の原因とは考えにくい。2014/12/19の採血前に、輸血されたPC-LRのRh血液型がDccEE(③)であったことから、当初PC-LRに混入した微量の赤血球により二次免疫応答が惹起され、急激にIgG型へと移行したのではないかと推察した。しかし、溶血性輸血反応は一次免疫応答では輸血後10~20日、二次免疫応答では輸血後3~14日でみられると言われている<sup>1)</sup>。文献検索も実施したが同様の症例は認められなかったことから、この期間に原因は不明であるがE抗原に感作されたことによりIgG抗体が増加し、2014/12/19に実施したSCのLISS-IATで抗Eが検出されたと考えられた。こういった症例に対しては、さまざまな角度から原因を探索する必要がある。今後も症例の蓄積が重要であると考えられた。PC-LR④⑤⑥の輸血効果は不明であったが、PC-HLA-LR変更後は輸血効果を認めたことから、不規則抗体ではなくHLA抗体が原因と考えられた。

症例2は初回の不規則抗体検査にて抗Eが同定され、RBC-LR輸血に対してE抗原・c抗原陰性を選択され、IATにて抗Eが陰性化した。にもかかわらず、再度IATにて抗Eが同定され、さらに抗cも検出された。輸血

表2 輸血状況と輸血検査結果 (症例2)

症例2における輸血状況と輸血検査の結果を示した。血小板製剤についてはRh血液型も示した。本例において、抗体産生もしくは再活性化に関与したと思われる血小板製剤のRh血液型に下線を引いた。

日付	PC 輸血 単位数	PC の Rh 血液型	RBC (E-, c-) 輸血単位数	LISS-IAT	抗体価	フィシソ法	抗体価
2014/1/6				陽性	抗 E (128 倍)	陽性	抗 E (128 倍)
2014/4/30				陽性		陽性	
2017/2/9			2	陽性*2	抗 E (1 倍)	陽性	
2017/3/2			2	陰性		陽性	
2017/3/23			2				
2017/4/4			2	陰性		陽性	
2017/4/7	① 10	DCCee					
2017/4/20	② 10	DCCee		陰性		陽性	
2017/4/25			2				
2017/5/12	③ 10	DCCee					
2017/5/19			2	陰性		陽性	
2017/5/20	④ 10	<u>DCCee</u>					
2017/5/27	⑤ 10	<u>DccEE</u>					
2017/5/29			2				
2017/6/15	⑥ 10	<u>DCCeE</u>		陰性		陽性	
2017/6/22			2	陽性	抗 E (4 倍) 抗 c (未実施)	陽性	
2017/6/23	⑦ 10	DCCee					
2017/7/6			2	陽性		陽性	
2017/7/28			2				
2017/8/3	⑧ 10	DCCee					
2017/8/9	⑨ 10	DCCee		陽性		陽性	
2017/8/24				陽性		陽性	
2017/8/31			2				
2017/9/1	⑩ 10	<u>DCCeE</u>					
2017/9/7				陽性		陽性	
2017/9/21				陽性	抗 E (16 倍) 抗 c (未実施)	陽性	

\*2 PEG-IAT で検出

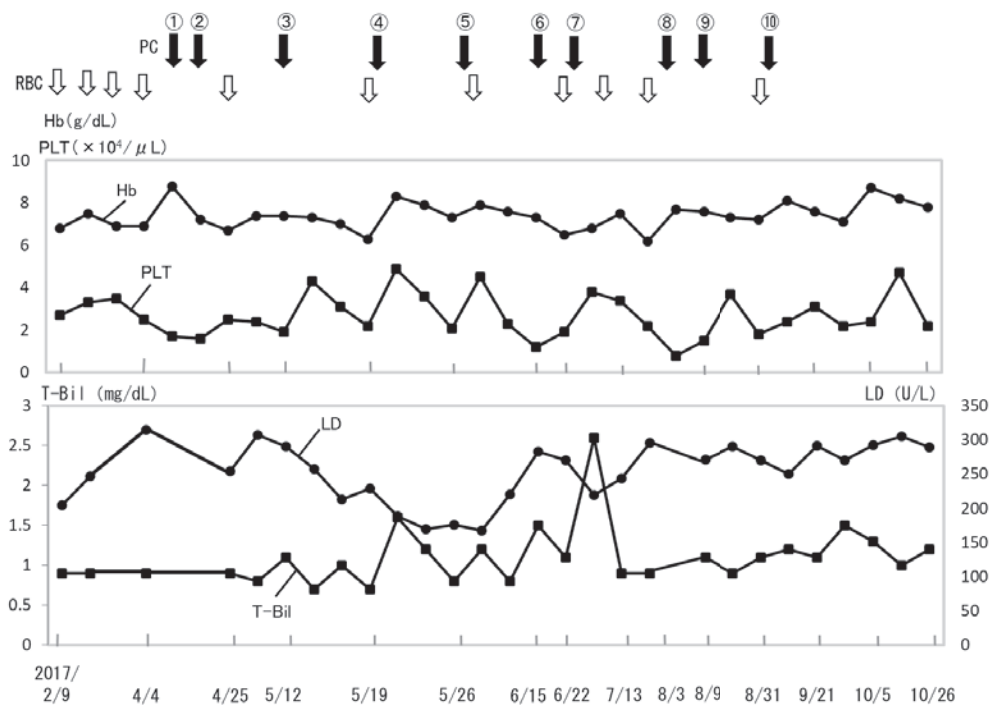


図2 臨床経過図 (症例2)

血小板輸血①から⑩について、概ね輸血効果が認められた。

された PC-LR に混入した赤血球の Rh 血液型は DCcee, DccEE, DCcEe (④⑤⑥) であった。抗 E は一旦陰性化した。E 抗原のホモ接合を含む陽性ドナーからの PC-LR 輸血が原因による二次免疫応答により、再活性化されたと考えられる。また、抗 c についても c 抗原陽性ドナーからの PC-LR 輸血が原因で、抗体が産生もしくは再活性化されたと考えられる。初回 SC は陰性であったため一次免疫応答も考えられたが、当院での検査時には検出限界以下であった可能性も考えられ、一次免疫応答もしくは二次免疫応答のどちらかは不明であった。

血小板製剤への赤血球混入は全血採血由来から調製されたものは過度に認められることもあったが、成分採血由来へと移行したことで減少している<sup>2)</sup>。生物学的製剤基準<sup>3)</sup>では、人血小板濃厚液には過度の赤血球を認めないことと記載されており、PC-LR 輸血による不規則抗体産生のリスクは非常に低いと考えられる。しかし、PC-LR 輸血後に不規則抗体が産生されたという症例も報告されている<sup>4)~7)</sup>。また、PC-LR の添付文書の副作用および感染症の項目には、『本剤の使用により、同種免疫による(中略)赤血球等に対する抗体が産生され、ショック、過敏症等の免疫学的副作用があらわれることがある。』とも記載されている<sup>8)</sup>。つまり、PC-LR 輸血による不規則抗体産生のリスクはゼロではないということである。実際、日本赤十字社では製剤の品質確認がなされており、血小板製剤は抜取試験として赤血球数測定試験が実施されており、判定基準は1バッグあたり 20,000 個/ $\mu$ l 以下とされている<sup>2)</sup>。赤血球量に換算すると 0.1ml 以下、通常は 5~20 $\mu$ l とわずかとされている<sup>9)</sup>。輸血副反応ガイドでも成分採血血小板製剤に含まれる赤血球液は 10 $\mu$ l 以下であり、RhD 不適合血小板輸血による抗 D 産生のリスクは少ないと記載されている<sup>10)</sup>。よって抗 D 以外の抗体産生のリスクはさらに低いと考えられる。しかし実際には、PC-LR 輸血後に不規則抗体が産生されたという症例が抗 D を含めて複数報告されている<sup>4)~7)</sup>。今回、同定された抗体はいずれも Rh 系の抗体であった。一般に D 抗原の免疫原性は非常に強く、次いで E 抗原・c 抗原の免疫原性が強いと言われている<sup>11)</sup>。特に日本人では E 抗原陰性者と陽性者がほぼ半数であり、E 抗原陰性者に E 抗原陽性赤血球が輸血される可能性が非常に高く、抗 E が検出されやすい。検出頻度は条件にもよるが 4~7% まで複数報告されている<sup>12)~14)</sup>。日本人において E 抗原・c 抗原ともに陰性となる頻度は約 43% であり、c 抗原陰性者に c 抗原陽性赤血球が輸血されることも多いと予想され、抗 E 保有者は抗 c にも注意が必要である<sup>15)</sup>。

2 症例ともに不規則抗体が原因と思われる溶血性輸血反応や血小板減少は認められなかった。症例 1 は定期

的な RBC-LR 輸血に伴い、不規則抗体検査も定期的を実施されており、活性化された抗 E を迅速に確認することができたと思われる。こういった事例も踏まえて電子カルテ更新時には、血小板製剤および新鮮凍結血漿のみの輸血患者においても、定期的に SC の実施を促すメッセージを表示する機能を追加した。不規則抗体保有患者への PC-LR 輸血に対して赤血球抗原の確認は実施していない。抗原確認を実施しても、症例 1 のように不規則抗体に加えて HLA 抗体も検出された場合、PC-HLA-LR 輸血が必要となりドナーが限定されることになる。そういった状況下で、赤血球抗原の確認を実施することは困難であると考えられる。

## まとめ

今回、不規則抗体保有患者に対して抗原陰性血を輸血したにも関わらず、抗体産生もしくは再活性化された 2 症例を経験した。1 例目は抗体再活性化の原因は不明であった。2 例目は PC-LR に混入した赤血球が、抗体の産生または再活性化に影響することが示唆された。特に不規則抗体保有歴のある患者への輸血は PC-LR のみであっても十分注意する必要がある。不規則抗体検査を定期的に行うことが望ましい。

また、当院では臨床的意義のある不規則抗体が同定された場合、不規則抗体カードを発行している。症例 2 のように不規則抗体が陰性化した状態で患者が転院することも考えられるため、他病院での輸血療法の一助になればと考えている。

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

- 1) 万木紀美子, 前川 平: 輸血療法とその副作用—見逃されている臨床病態. 日本医事新報, 4663: 40—46, 2013.
- 2) 秋野光明, 本間雅弘, 加藤俊明, 他: 輸血用血液製剤の外観確認. 血液事業, 36: 9—22, 2013.
- 3) 日本赤十字社, 株式会社じほう監修: 生物関連製剤ハンドブック 2004, 生物学的製剤基準, 東京, 2004.
- 4) 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.
- 5) 金 錦麗, 岡部雅一, 大宮彰子, 他: 血小板輸血により抗 E を産生した 1 症例. 日本輸血細胞治療学会誌, 62: 740—744, 2016.
- 6) 田中一人, 金子なつき, 小山内崇将, 他: RhD 陽性成分採血血小板, 新鮮凍結血漿輸血後に抗 D を検出した RhD 陰性の 1 例. 日本輸血細胞治療学会誌, 63: 619—624, 2017.

- 7) Kitazawa J, Nollet K, Morioka H, et al: Non-D Rh antibodies appearing after apheresis platelet transfusion stimulation by red cells or microparticles? *Vox Sang*, 100: 395–400, 2011.
- 8) 濃厚血小板-LR「日赤」添付文書, 2016年4月改訂(第16版), 2016.
- 9) 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.
- 10) 藤井康彦: RhD 陰性患者への血小板輸血, 編者 日本・輸血細胞治療学会 輸血副作用対応ガイド改訂版作成タスクホース委員会, 輸血副反応ガイド, 日本輸血・細胞治療学会, 東京, 2014, 88–90.
- 11) 伊藤正一: 血液型と抗体, 一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会監修. 輸血・移植検査 技術教本, 丸善出版, 東京, 2016, 9–20.
- 12) 並木芳子, 古川洋子, 山本恵美, 他: E 因子不適合輸血による抗 E 抗体出現率の検討, 第 30 回日本輸血学会抄録集, 1982, 48.
- 13) 小松文夫, 矢野節子, 岡村経一, 他: 輸血後の抗 E 抗体の出現率について. 日本輸血学会雑誌, 29: 170–174, 1983.
- 14) 轟木元友, 稲葉領一, 大河原一雄: 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.
- 15) 国分寺晃: 不規則抗体と検査法, 編者 認定輸血検査技師制度協議会カリキュラム委員会, スタンダード輸血検査テキスト, 第 3 版, 医歯薬出版, 東京, 2017, 84–93.

## DETECTION OF IRREGULAR ANTIBODIES BY LISS-IAT DURING BLOOD TRANSFUSION THERAPY: TWO CASE REPORTS

*Misao Abe, Syuji Onishi, Mutumi Kita, Momoka Kitahata, Maki Osawa, Madoka Inoue, Yukari Yoshida, Manabu Yamaoka, Tomoki Ito and Shosaku Nomura*

Division of Transfusion and Cell Therapy, Kansai Medical University

### **Abstract:**

We report two cases in which the irregular antibody Rh system was produced or reactivated despite transfusion of a red blood cell (RBC-LR) preparation of the same Rh blood type as that of the patient during blood transfusion therapy for hematologic disorders. Case 1 was negative upon testing for irregular antibodies prior to blood transfusion, and anti-E positivity was found using the enzyme method alone after RBC-LR blood transfusion. Although the patient was transfused with E- and c-negative RBC-LR, an indirect antiglobulin test after transfusion of platelet preparation (PC-LR) detected anti-E positivity. In Case 2, anti-E positivity was found in the test for irregular antibodies before blood transfusion. The patient was transfused with E- and c-negative RBC-LR. Although the patient subsequently became negative for anti-E, antibody positivity was detected again after PC-LR transfusion, whereby anti-c was also positive. Very small amounts of E- and c-positive red blood cells were present in the PC-LR. The factor responsible for the irregular antibody-producing or -activating effect was unclear in Case 1. Therefore, further investigation into the cause is needed by accumulating similar cases in the future. For Case 2, we speculate that the very small amounts of red blood cells in the PC-LR may have contributed to irregular antibody production. In addition to RBC-LR, these cases suggest that it is important to re-test patients for irregular antibodies even after PC-LR transfusion. In addition, at our hospital we provide an “irregular antibody card” to patients with clinically important antibody irregularities and encourage the sharing of patient information with other facilities.

### **Keywords:**

Platelet transfusion, Mixed red blood cells, Irregular antibody test, Irregularity-related antibody card