

血小板製剤輸血後に抗 Fy^bを検出した骨髓異形成症候群の 1 症例

岩原かなえ¹⁾ 丸橋 隆行¹⁾ 須佐 梢¹⁾ 西本奈津美¹⁾ 石川怜依奈¹⁾
 横手 恵子²⁾ 入内島裕乃¹⁾³⁾ 関上 智美¹⁾³⁾ 半田 寛³⁾ 横濱 章彦¹⁾

症例は 60 代男性。X-3 年骨髓異形成症候群と診断。O 型 RhD 陽性、Fy (a+b-)、血小板輸血前の不規則抗体スクリーニング陰性。約 40 年前に溶血性貧血のため複数回の赤血球輸血を受けているが、詳細は不明。病状の悪化から X 年 Y 月より定期的に血小板輸血のみを行っていたが、貧血の進行を認めたため不規則抗体スクリーニングがオーダーされた。このときの不規則抗体スクリーニングで間接抗グロブリン法陽性となり抗 Fy^bが同定された。抗 Fy^bの抗体価は最大で 4 倍、IgG サブクラスは IgG1 であった。のちの調査で不規則抗体が陽性になる以前に行われた血小板輸血 14 バッグのうち、2 バッグが Fy^b抗原陽性だったことが判明した。

本症例において抗 Fy^bが検出された原因として、約 40 年前に赤血球の輸血歴があること、Fy^bの免疫原性が弱いこと、精査の結果 mimicking 抗体が否定されたこと、抗 Fy^bの IgG 型の自然抗体の頻度は極めて低いことを考慮すると二次免疫応答の可能性が高いが、IgG 型の自然抗体も否定できない。

血小板輸血のみでも様々な種類の不規則抗体が検出される可能性があることを認識し、輸血業務に携わることが大切である。

キーワード：血小板製剤輸血、混入赤血球、不規則抗体

はじめに

不規則抗体には輸血や妊娠などの同種免疫を受けることで産生される免疫抗体と、同種免疫によらずに産生される自然抗体がある。免疫抗体のうち、輸血により産生されるものの多くは同種赤血球輸血によって産生される。

濃厚血小板製剤 (platelet concentrate : PC) における 1 バッグあたりの混入赤血球量は 20 μ l 以下との報告が多く^{1)~3)}、PC 輸血後に不規則抗体を産生するリスクは少ないと考えられている。しかし、PC 輸血後に不規則抗体を産生した症例も散見されており、その多くが抗 D をはじめとする Rh 系抗原に対する抗体であった^{3)~7)}。

今回、我々は PC 輸血後に抗 Fy^bが検出された症例を経験したので報告する。

症 例

60 歳代男性、X-3 年血小板減少症のため当院を紹介受診し、骨髓異形成症候群 (myelodysplastic syndromes : MDS) と診断された。約 40 年前に溶血性貧血のため複数回の赤血球輸血を受けているが、詳細は

不明である。X 年 Y 月より、病状の悪化のため血小板減少が著明となり定期的に PC の輸血を行った。O 型 RhD 陽性、Fy (a+b-)、PC 輸血前の不規則抗体スクリーニング陰性。同年 Y+2 月、貧血が進行したため赤血球輸血が必要となり、不規則抗体スクリーニングがオーダーされた。このときの不規則抗体スクリーニングで間接抗グロブリン法 (indirect antiglobulin test : IAT) 陽性となり抗 Fy^bが同定された (この日を day 1 とする)。のちの調査で不規則抗体が陽性になる前に輸血された PC 14 バッグのうち、day-21 と day-19 に輸血された 2 バッグで Fy^b抗原陽性であったことが判明した (図 1)。

検査方法・結果

1. 不規則抗体検査

抗 IgG カセットを用いたカラム凝集法をメーカー推奨法で実施した。赤血球試薬はスクリーニングにオーソバイオビュースクリーン J (Ortho Clinical Diagnostics, Raritan, NJ) および抗体の同定にリゾルブパネル C (Ortho Clinical Diagnostics) を用いた。PC 輸血前の検

1) 群馬大学医学部附属病院輸血部

2) 群馬大学医学部附属病院看護部

3) 群馬大学医学部医学科血液内科学

〔受付日：2019 年 8 月 21 日、受理日：2020 年 1 月 6 日〕

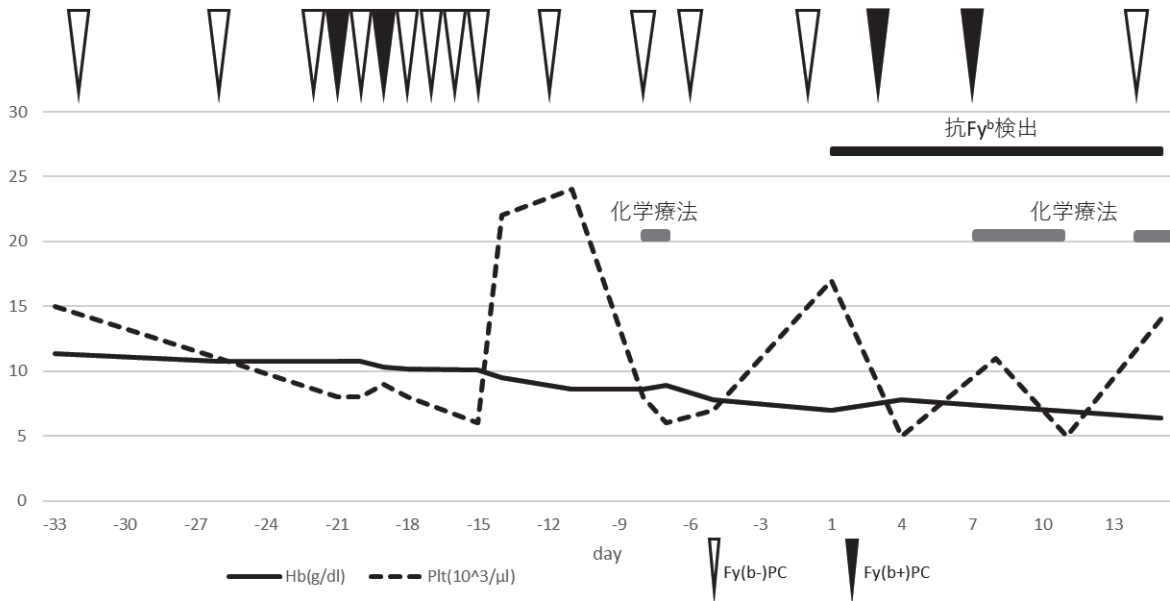
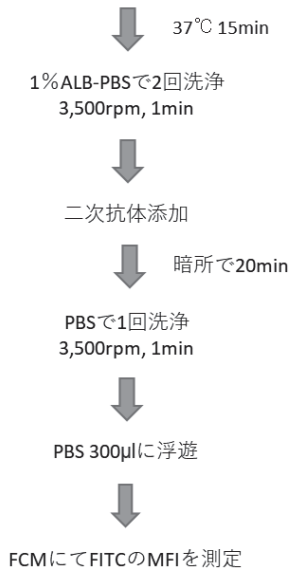


図1 抗 Fy^b 検出日 (day1) 前後の臨床検査データの推移と輸血状況
 抗 Fy^b 検出日 (day1) 前後のヘモグロビンと血小板数の推移と輸血状況を示した。day1 以前に輸血された PC 14 バッグのうち、2 バッグで Fy^b 抗原陽性であった。

3% Packed cell 1-2μl+ 検体(血漿) 100μl + LISS 100μl ホルテックス



Packed cell : Fy(a+b+)
 LISS液 : エンハンスメントソリューション
 二次抗体 : PE Anti-Human IgG × 20 100μl
 フローサイトメトリー : BD FACS Canto II

図2 FCM による不規則抗体の測定方法(抗 Fy^b-IgG 測定)
 陰性対照 (抗体陰性の血漿・血清) の FITC の mean fluorescence intensity (MFI) と比較して 2.0 以上を陽性と判定した。

体では陰性であったが、PC 輸血後において不規則抗体スクリーニングがカラム凝集法の IAT で陽性となり抗 Fy^b が同定された。

2. 抗 Fy^b 抗体価測定

不規則抗体検査の IAT が 1+ 以上となった検体 (day 1, day11) について抗体価の測定を行った。Fy^b 抗原陽性赤血球をプールし、用手法にて IAT で行った。反応増強剤はガンマ PEG (Immucor, Norcross, GA) を使用した。測定の結果、day1, day11 の抗体価はそれぞれ 4 倍、2 倍であった。

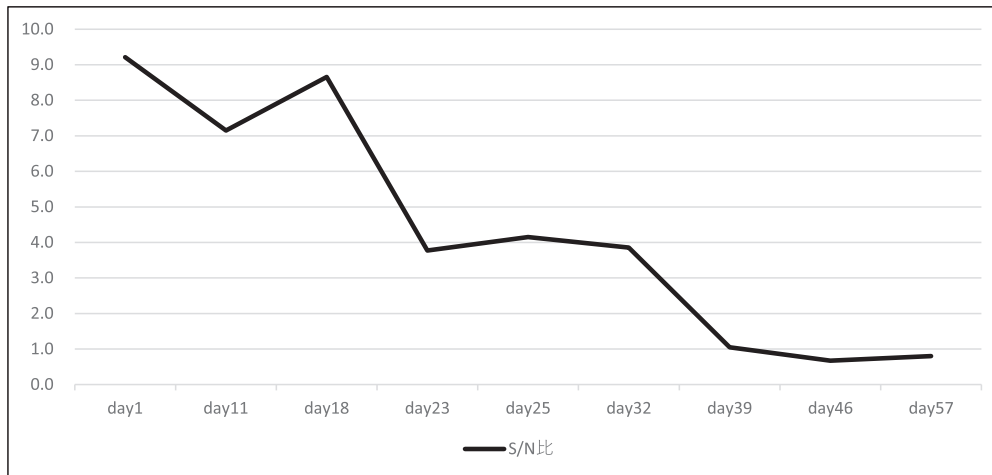
3. 抗 Fy^b 特異性の確認試験 (mimicking 抗体の否定)

mimicking 抗体を否定するため患者血漿中の抗 Fy^b を O 型 Fy^b 抗原陽性赤血球を用いて LISS (low ionic strength solution) 吸着法⁸⁾ を実施した。その赤血球をグリシン酸解離システム (Immucor) にて解離試験を行い、解離液を得た。

解離液の特異性を確認したところ抗 Fy^b に特異性を示したことから mimicking 抗体の可能性は否定された。

4. 抗 Fy^b-IgG 測定

図2の通りフローサイトメトリー法 (flow cytometry : FCM) にて測定した。検体は day1~day57 のうち、不規則抗体スクリーニングを実施した血漿の残りをを用いた。Packed cell は Fy^b 抗原陽性プール赤血球を洗浄して使用し、LISS 液はエンハンスメントソリューション (Ortho Clinical Diagnostics) を使用した。二次抗体は PE Anti-Human IgG (Life Span Biosciences, Seattle, WA) を使用した。フローサイトメーターは BD FACS Canto II (BD Biosciences, San Jose, CA) を用いた。検体の平均蛍光強度 (mean fluorescence intensity : MFI) をシグナル (S : signal)、不規則抗体陰性検体の MFI をノイズ (N : noise) として測定し、S/N 比を求



	day1	day11	day18	day23	day25	day32	day39	day46	day57
FCM(S/N比)	9.2	7.1	8.7	3.8	4.1	3.9	1.0	0.7	0.8
カラム凝集法 (IAT)	2+	2+	w+	w+	w+	w+	0	w+	0

図3 FCMによる不規則抗体の測定結果(抗Fy^b-IgGの測定)とカラム凝集法(IAT)との比較
FCMで抗Fy^b-IgGの測定を行ったところ day1～day32までの検体について陽性となった。またカラム凝集法(IAT)では day1, day11の検体で2+を示した。

表1 FCMによる不規則抗体のIgGサブクラスの測定結果(S/N比)

陰性対照(抗体陰性の血漿・血清)のFITCのMFIと比較して2.0以上を陽性と判定した。本症例ではIgG1が陽性となった。

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4
S/N比	2.82	1.11	1.10	1.09

め2.0以上を陽性と判定した。day1～day18までの検体においては高い数値を示したが、その後は低下し、day39には陰性となった(図3)。

5. 抗Fy^b-IgGサブクラスの測定

検出された抗Fy^bが臨床的意義のあるものか確認するため抗Fy^b-IgG測定と同様にIgGサブクラスの測定を行った。検体は血漿を使用した。二次抗体はIgG1～4に対してSheep Anti-human IgG1～4(The Binding Site Group Ltd, Birmingham, UK)をそれぞれ用いた。こちらも抗Fy^b-IgG測定と同様に検体のMFIをシグナル(S: signal), 不規則抗体陰性検体のMFIをノイズ(N: noise)として測定し、S/N比を求め2.0以上を陽性と判定した。結果はIgG1が陽性となり、臨床的意義のある抗体であることが判明した(表1)。

考 察

本症例ではPC輸血後に不規則抗体が陽性となり、抗Fy^bが同定された。

抗Fy^bが検出された原因として、mimicking抗体、PC中の抗Fy^bが患者へ移行した、PC輸血のみで抗Fy^b

が産生された、過去の赤血球輸血で産生された抗Fy^bが二次免疫応答で惹起された、IgG型の自然抗体、の5つを考えた。

Mimicking抗体は、血液型に特異性を示す自己抗体のうち、真の抗原を認識している抗体ではなく、特定の抗原に対する特異性を示してはいるけれども、別の抗原を認識している抗体を指す⁹⁾。本症例でもmimicking抗体が疑われたが、Fy(a+b+)赤血球にて吸着後、解離試験を行ったところ解離液から抗Fy^bが検出されたためmimicking抗体は否定された。

現在、献血者の不規則抗体スクリーニングは、5プール検体をLISS-IATカラム凝集法で実施しており、その感度は5プール検体で0.3IU/ml以上の抗Dを検出することが確認されている¹⁰⁾。しかし、出荷基準を満たしている製剤でも交差適合試験の副試験で陽性となり、製剤から不規則抗体が検出される例も報告されている¹¹⁾。そこで、本症例も輸血されたPCに抗Fy^bが含まれていた可能性を考えた。しかし、献血者の不規則抗体スクリーニングの感度と、PC輸血約20日後の抗体価が4倍であることを考慮すると移行抗体が原因とは考えにくい。

本症例では約40年前に赤血球製剤の輸血歴はあるものの、抗Fy^b検出前に輸血した製剤はPCのみであった。Fy^b抗原は血小板や白血球上には存在せず、赤血球のみ発現していることから¹²⁾、我々はPC中に含まれた混入赤血球による免疫応答によって抗体を産生したと考えた。本症例に輸血した14バッグのPCのドナー血液型を確認したところ、day-21とday-19に輸血した2

バッグの製剤のドナーが Fy (b+) であった。一次免疫応答では 5 日前後から IgM 抗体が出現し始めて増加、その後やや遅れて 6~7 日後になると IgG 抗体が出現し始め、2~3 週間後にピークに達するといわれている¹⁴⁾。それに対し、二次免疫応答では IgM 抗体はほとんど産生されないか、産生される場合でも一次免疫応答のパターンと同様とされている¹⁵⁾。IgG 抗体は一次免疫応答のときよりも短い潜伏期間で最初から出現し、しかもその抗体価は一次免疫応答のときよりも 10 倍以上高く、かつ長期持続し、また減衰期も長い¹³⁾。本症例では最初のドナー Fy (b+) の PC 輸血後、21 日間経過後に抗 Fy^b が検出された。また、検出された IgG のサブクラスは IgG1 であったことから、我々はこれらの製剤中の混入赤血球により感作され、抗 Fy^b が産生されたと考えた。しかし、Fy^b 抗原は免疫原性が弱く、Fy^a 抗原と比較して約 20 分の 1 程度とされている¹⁴⁾¹⁵⁾。赤血球抗原のうち免疫原性が最も強いとされる D 抗原においても一次免疫に必要な赤血球量は 30~50 μ l¹⁶⁾ 程度である。しかし、PC1 バッグあたりの混入赤血球量はそれより少ない^{1)~3)}。そのため、混入赤血球による免疫応答によって抗 Fy^b が産生されたとすると、過去の赤血球輸血で産生された抗 Fy^b が二次免疫応答で惹起された可能性が高いと考えられる。

また、抗 Fy^b は自然抗体の報告も複数ある^{17)~19)}。一般的に自然抗体は IgM 抗体のものが多くとされているが、本邦における自然抗体抗 Fy^b においては IgG 抗体の報告も複数あるが¹⁷⁾¹⁸⁾、いずれも 20 年以上前の報告であり、IgG サブクラスなど詳細が不明な部分もある。矢部らの報告²⁰⁾では献血者 1,280,000 人中から抗 Fy^b の自然抗体が検出されたのは 97 人であり、その頻度は約 0.08% と極めて少ない。

なお、本症例の ABO, Rh, Duffy 以外の血液型を検査した結果、抗 Le^a、抗 Jk^k、抗 N、抗 Di^a を産生する可能性があるが、現時点では抗 Fy^b 以外の抗体は産生されていない。さらに、抗 Fy^b 検出以降も day 3 と day 7 に Fy (b+) ドナーからの PC を輸血しているが、抗体価が上昇することもなかった。本症例では day-8、5~11、14~15 にかけて化学療法を実施しており、これが患者の免疫状態に影響を与えたために抗体価が上昇しなかった可能性も考えられるが、明確な因果関係は不明である。

以上より本症例で PC 輸血後に抗 Fy^b が陽性となった原因として、過去の赤血球輸血で産生された抗 Fy^b が二次免疫応答で惹起された可能性が高いと考えた。しかし、免疫抗体と自然抗体を明確に鑑別する方法はないため、自然抗体の可能性も否定できない。

まとめ

今回、我々は血小板輸血後に不規則抗体を産生した症例を経験した。血小板輸血後に不規則抗体を産生した症例は散見されるが、抗 Fy^b を産生した症例は我々の調べた限りでは見当たらなかった。血小板輸血により、様々な赤血球抗原に対しても不規則抗体が産生されることを再認識し、今後の輸血業務に携わっていく必要がある。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

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) 下平滋隆, 草山淳子, 北澤淳一, 他: RhD 陰性患者への血小板輸血, 編者 藤井康彦, 輸血副反応ガイド, 日本輸血・細胞治療学会, 東京, 2014, 88—90.
- 3) 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.
- 4) 金 錦麗, 岡部雅一, 大宮章子, 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*, 62: 740—744, 2016.
- 5) 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*, 63: 619—624, 2017.
- 6) 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*, 57: 465—469, 2011.
- 7) Moncharmont P, Barday G, Meyer F: Red blood cell alloimmunisation after platelet transfusion: a 5-year study. *Blood Transfus*, 12: s147—s148, 2014.
- 8) 丸橋隆行, 須佐 梢, 西本奈津美, 他: 自己免疫性溶血性貧血患者における自己抗体吸着法の比較—LISS を用いた自己抗体吸着法の基礎的検討—. *医学検査*, 65(2): 151—157, 2016.
- 9) 堀 勇二: 自己抗体と高頻度抗原に対する抗体. *日本輸血細胞治療学会誌*, 62: 623—629, 2016.
- 10) 日本赤十字社血液事業本部医薬情報課: 不規則抗体スクリーニングの検査法について. *輸血情報*, 1702—152, 2017.
- 11) 山田麻里江, 山田尚友, 東谷孝徳, 他: 副試験陽性で抗 Fy^b が検出された 1 例. *日本輸血細胞治療学会誌*, 60: 83, 2014.
- 12) Klein HG, Anstee DJ: Other red cell antigen, Mollison's *Blood Transfusion in Clinical Medicine*, 12th edition, WILEY Blackwell, 2014, 219.

- 13) 福岡良博, 佐藤進一朗, 谷直人, 他: 臨床免疫学, 医歯薬出版, 東京, 2013, 56—57.
- 14) Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD, et al: Other Blood Groups, Technical Manual, 18th ed, AABB, Maryland, 2014, 350.
- 15) Reid ME, Lomas-Francis C, Olsson ML: Duffy Blood Group System, The blood group antigen FactsBook, 3rd ed, Academic press, Chippenham, 2012, 368.
- 16) Lozano M, Cid J: The Clinical Implications of Platelet Transfusions Associated With ABO or Rh(D) Incompatibility. *Transfus Med Rev*, 17: 57—68, 2003.
- 17) 尾崎牧子, 松田憲一, 宮脇良樹, 他: 献血者より検出された自然抗体抗 Fy^b の 1 例. *医学検査*, 47: 1676—1679, 1998.
- 18) 大久保進, 石田萌子, 町井敏子, 他: 関西医科大学病院輸血部における過去 10 年間の不規則性抗体の検出状況—産生原因が明らかでない抗 Kell (K1), 抗 Fy^b 抗体検出の各 1 症例について—. *関西医大誌*, 37: 226—232, 1985.
- 19) 増山淳子, 西野主真, 多葉田祥代, 他: 自然抗体と思われる抗 Fy (b) 抗体及び, 輸血後産生された不規則性抗体 (抗 E, 抗 c, 抗 Jk (a)) が血清中に認められた 2 例. *日本輸血学会雑誌*, 33: 329, 1987.
- 20) 矢野隆一, 相川光男, 貞松美由紀, 他: 不規則抗体を保有する献血者の解析. *血液事業*, 24: 318, 2001.

ANTI-Fy^b DETECTED AFTER PLATELET TRANSFUSION IN A PATIENT WITH MYELODYSPLASTIC SYNDROME

Kanae Iwahara¹⁾, Takayuki Maruhashi¹⁾, Kozue Susa¹⁾, Natsumi Nishimoto¹⁾, Reina Ishikawa¹⁾, Keiko Yokote²⁾, Hirono Iriuchishima¹⁾³⁾, Tomomi Sekigami¹⁾³⁾, Hiroshi Handa³⁾ and Akihiko Yokohama¹⁾

¹⁾Division of Blood Transfusion Service, Gunma University Hospital, Faculty of Medicine, Gunma University

²⁾Division of Nursing, Gunma University Hospital, Faculty of Medicine, Gunma University

³⁾Department of Hematology, Gunma University Graduate School of Medicine

Abstract:

A 65-year-old man was diagnosed with myelodysplastic syndrome 3 years ago. He had blood type O RhD (+), Fy (a + b-) and was negative for irregular antibodies before platelet transfusion. The patient had a history of hemolytic anemia and received a red blood cell (RBC) transfusion about 40 years ago. He subsequently received a platelet transfusion due to progressive disease 3 months ago. Two months thereafter, he underwent irregular antibody screening due to anemia. The indirect antibody test was positive for irregular antibodies, and anti-Fy^b subclass IgG1 levels had increased four-fold. Two out of 14 packs of platelet concentrate administered before RBC transfusion were Fy^b antigen positive. The emergence of anti-Fy^b in our patient was probably due to a secondary immune response associated with his transfusion history, considering the relatively weak immunogenicity of the Fy^b antigen and the extremely low frequency of natural anti-Fy^b IgG antibodies, although contribution by natural IgG antibodies cannot be completely ruled out. It is important to understand that any type of irregular antibody can emerge after transfusion with blood products, including platelets.

Keywords:

platelet concentrate transfusion, red blood cell contamination, irregular antibody