

HLA-C 抗体保有患者における HLA-C 座不一致血小板製剤の輸血効果の解析

大河内直子¹⁾ 松橋 美佳¹⁾ 山崎 翔²⁾ 小林 洋紀¹⁾ 礪波 薫¹⁾
 宮城 徹¹⁾ 柏瀬 貢一¹⁾ 相原 忠広¹⁾ 脇谷 勇次¹⁾ 津野 寛和¹⁾
 岡崎 仁²⁾ 室井 一男¹⁾

【背景】HLA 抗体による血小板輸血不応症例には、HLA 適合血小板 (PC-HLA) が推奨される。ドナーの選定には、HLA-A 座、B 座の適合性を確認するが、HLA-C 座の適合性は優先されない。本研究では、HLA-C 座の適合性による輸血効果を解析した。【方法】関東甲信越ブロックにおいて HLA-C 抗体による交差適合試験陽性例の輸血効果を解析した。また、東京大学医学部附属病院において HLA 抗体を保有する血小板輸血不応患者 1 例に対して PC-HLA (66 本)、適合血小板 (19 本) およびランダム血小板製剤 (7 本) について、輸血効果を評価し、後追いの交差適合試験を実施した。【結果】交差適合試験陽性 57 件 (陽性率 0.25%) のうち HLA-C 抗体によるものは 27 件 (47.4%) であり、Cw8 抗体が 55.0% を占めていた。HLA-C 座不一致製剤の 75% は有効であった。東大 01 症例は Cw15 抗体陽性かつ Cw10 抗体陽性であったが、HLA-C 座不一致製剤 6 本 (75%) は有効であった。【結論】HLA-C 抗体が原因となる交差適合試験陽性例が存在するが、HLA-C 抗体の多くは血小板輸血効果に影響しないことが確認できた。

キーワード：HLA 適合血小板、HLA-C 抗体、交差適合試験

はじめに

頻回血小板輸血の実施に伴う血小板輸血不応 (platelet transfusion refractoriness, PTR) は 1960 年代に認識されはじめ、PTR の約 10~25% が免疫学的機序によるものと報告されている^{1)~3)}。Human leukocyte antigen (HLA)、Human platelet antigen (HPA)、A 抗原、B 抗原に対する同種抗体や血小板の膜蛋白に対する自己抗体が免疫学的な PTR の原因として知られており、このうち HLA 抗体が約 95% を占めている⁴⁾。HLA 抗体については、HLA 型が適合する血小板製剤を選択することにより輸血効果が得られることが報告され³⁾⁵⁾⁶⁾、日本赤十字社では、血小板ドナーの HLA 型同定を血液事業として推進してきた。2010 年 4 月より前は Lymphocyte Cytotoxicity Test (LCT) 法を用いて HLA 型 (HLA-A, HLA-B, HLA-C) を血清学的に判定していた⁷⁾⁸⁾。現在では Polymerase chain reaction-reverse sequence specific oligonucleotide 法 (PCR-rSSO) を原理とする WAKFlow HLA タイピング試薬 (湧永製薬、東京) を用いて HLA 型 (HLA-A, HLA-B, HLA-C) をアレル型で判定したのち血清型に変換している。約 9 割の血小板製剤で HLA 型が同定され、患者血清中に HLA 抗体が存在する場合には、反応する HLA 抗原を持たな

い血小板ドナーを選定し、PC-HLA (製剤名は「濃厚血小板 HLA-LR〔日赤〕」) として供給することが可能となっている。この PC-HLA とは、「HLA 一致」ではなく、「HLA 適合」の血小板であり、患者が持つ HLA 抗体に反応しない (患者血清とドナーリンパ球の交差適合試験が陰性となる) HLA 型の血小板製剤である。

PC-HLA の選択にあたっては血小板上に強く発現する HLA-A 座と HLA-B 座の血清型の一致が重視される。HLA-C 座は PTR の原因となるという報告があるものの⁹⁾、一般的には血小板上の発現量が低いために血小板輸血における意義は低いと考えられている¹⁰⁾。一方で、本邦においては PC-HLA 供給に際して実施する交差適合試験において HLA-C 抗体が原因で陽性となることがあり、適合ドナーが少ない場合には対応に苦慮している。本研究では、HLA-C 抗体の臨床的意義を確認するため、関東甲信越ブロック血液センターにおいて、HLA-C 抗体が原因でクロスマッチ陽性となった事例について、血小板輸血の有効性を調査した。また、同抗体を有する 1 症例に輸血された血小板製剤の輸血効果を詳細に解析した。

1) 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

2) 東京大学医学部附属病院輸血部

〔受付日：2021 年 12 月 9 日、受理日：2022 年 2 月 10 日〕

材料と方法

サンプル

2017～2019年度の関東甲信越ブロック血液センターにおける交差適合試験陽性検体について輸血効果を調査した。また、東京大学医学部附属病院においてHLA抗体を保有する血小板輸血不応患者(1例)に対して輸血された92本の血小板製剤について、1時間後あるいは24時間後のCorrected Count Increment (CCI)を計測し、輸血効果を評価した。CCI 1時間値は7,500/ μ l以上、CCI 24時間値は4,500/ μ l以上を有効と判定した。関東甲信越ブロック血液センターでは患者血清とドナーリンパ球の交差適合試験を実施した。交差適合試験陰性のPC-HLA (66本)、同試験なしで供給した適合血小板 (19本) および緊急的に輸血したランダム血小板製剤 (7本) について、CCIの評価と後追いの交差適合試験を行った。(日本赤十字社倫理審査承認番号 2018-045-1, 東京大学医学部附属病院倫理審査番号: 11954)

HLA抗体同定検査

患者血清中のHLA抗体は、Luminex100/200システム (Luminex, 米国) でLABScreen Single Antigen (One Lambda, 米国) を用いて同定し、経時的に測定した。陽性とする判定基準を、nMFI(補正蛍光値) \geq 1,000とした。

交差適合試験

交差適合試験は、WAKFlow HLA抗体クラスI(ICFA)試薬(湧永製薬, 東京)を用いたImmunocomplex capture fluorescence analysis (ICFA)法により、患者血清とドナーリンパ球を用いて実施した。患者血清は、輸血前に医療施設で採血され、当ブロックセンターに送付され、EDTAを終濃度10mMになるように添加し、4°Cで保存したものを使用した。ドナー検体は、採血当日あるいは翌日の全血検体(EDTA採血)を使用した。

HLA型試験 (DNAタイピング)

HLA型を特定するために、全血検体200 μ lからゲノムDNAを抽出した(溶出液量200 μ l)。自動DNA抽出装置のBiomek-NX(ベックマン・コールター, 東京)で抽出する場合はQuickGene-HT (KURABO, 大阪)を使用し、手で抽出する場合はQuick Gene DNA whole blood kit S (KURABO, 大阪)を用いた。患者のDNAはすべて手で抽出した。PCR-rSSOを原理とするWAKFlow HLAタイピング試薬(湧永製薬, 東京)を用いてHLA型 (HLA-A, B, C)を判定した。

PC-HLAの供給方法

PC-HLAドナーのHLA型は、患者と一致することを基本とするが、登録ドナー数が少ないHLA型の患者の場合、患者のHLA型と交差反応性を持つ抗原 (Cross Reactive Group Antigens: CREG)を許容することで候補ドナー数を増やす(許容抗原)。また、患者が保有す

るHLA抗体と反応しない抗原も許容抗原とする場合がある。さらに、居住地域、ABO型、最近の献血履歴、血小板献血予約情報などを踏まえて、PC-HLAドナー登録リストの中から適切なドナーを選択する。血小板献血予約者の中に適切なドナーが見つからない場合は、PC-HLAのドナー候補者に、指定日での献血を依頼し、アフエレーシスによる採血を実施する。ブロック管内で見つからない場合には全国でドナーを検索する。適切なドナー検索の十分な期間を確保するために、PC-HLAの供給には1週間前の予約が必要となる。製造部署で血小板製剤が製造されると同時に、検査部署では交差適合試験を行い、陰性が確認された製剤はPC-HLAとして供給される。

交差適合試験なし適合血小板の供給方法

免疫学的PTRへの対応はPC-HLAの供給が原則であるが、上記の通り準備に一定の期間を要することから、緊急的に交差適合試験未実施のHLA適合血小板(適合血小板と呼んでいる)を供給することがある。適合血小板は、すでに製造された血小板製剤の在庫の中から、あるいは望ましい時期に血小板献血予約のあるドナーの中から、PC-HLAと同じ条件で選択し、すなわちコンピュータクロスマッチを実施して、患者指定血小板として供給する製剤である。

統計解析

CCI平均値の比較にはスチューデントのt検定を用いた。

結果

PC-HLAドナー登録数の増加と交差適合試験陽性率の低下

2011～2020年度の東京製造所における交差適合試験陽性率の推移を図1に示す。2011年度には1.02%であった交差適合試験陽性率が、2020年度には0.17%にまで低下している。一方、関東甲信越ブロック(東京製造所と埼玉製造所)のPC-HLAドナー登録数は増加しており、2020年度末では17万人に達している(図2)。ドナー登録数の増加に伴う許容抗原設定数の低減が交差適合試験陽性率の低下の一因であると考えられる。また、血清学的に判定したHLA型が登録されているドナーがPC-HLA候補になった場合には、DNAタイピングを実施してアレル型を確定し、登録しているため、血清学的判定ドナーの割合が年々低下していることも要因と考えられる。

交差適合試験陽性の原因は、HLA-C抗体が約半数を占める

日赤血液センターでは交差適合試験陽性例の原因調査を行っている。また、適合ドナーが他にいない場合は、同試験が陽性の製剤でもランダム血小板よりは輸

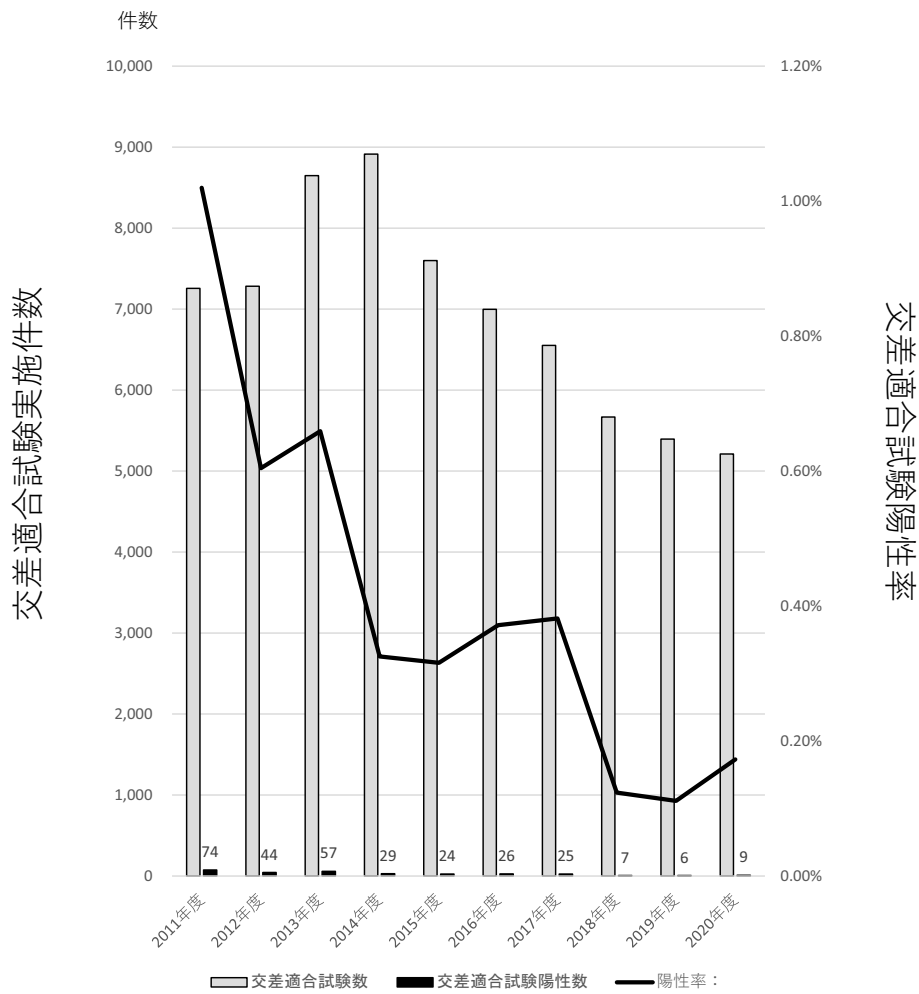


図1 PC-HLA 交差適合試験陽性数と陽性率の推移

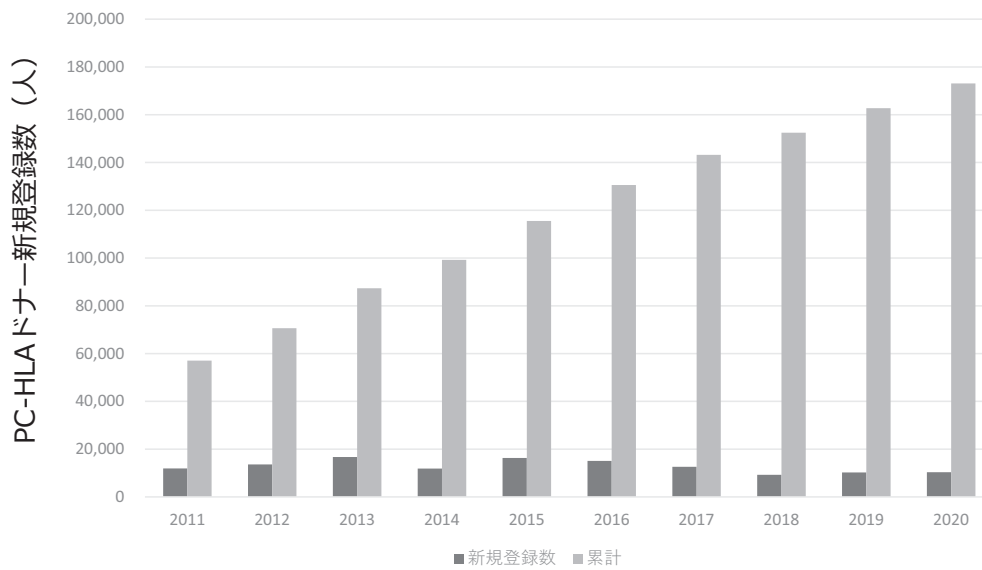


図2 PC-HLA ドナー登録数の推移

表1 関東甲信越ブロック血液センターにおける交差適合試験実施件数と陽性率の推移および陽性原因の内訳

年度	クロスマッチ 実施件数 (n)	陽性数 (n)	陽性率 (%)	HLA-C 抗体		HLA-A or -B 抗体		原因不明		その他	
				(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)	(n)	(%)
2017年度	8,240	34	0.41	15	44.1	7	20.6	10	29.4	2	5.9
2018年度	7,510	12	0.16	7	58.3	1	8.3	4	33.3	0	0.0
2019年度	7,456	11	0.15	5	45.5	4	36.4	2	18.2	0	0.0
合計	23,206	57	0.25	27	47.4	12	21.1	16	28.1	2	3.5

表2 交差適合試験陽性原因
抗原：n数に同一抗原で患者の重複はないが、2種類以上の抗体を保有する患者あり

2017～2019 関東甲信越ブロック		
陽性原因抗原	n	%
Cw1	1	5.0
Cw4	5	25.0
Cw7	0	0.0
Cw8	11	55.0
Cw9	1	5.0
Cw10	2	10.0
Cw12	0	0.0
Cw14	0	0.0
Cw15	0	0.0
total	20	

血効果が期待できるとして供給することがあり、その場合には医療機関と情報共有し輸血効果の情報を収集している。2017～2019年度の関東甲信越ブロック血液センターにおける交差適合試験陽性数は57件(0.25%)であり、このうちHLA-C抗体によるものが27件(47.4%)であった(表1)。なお、この調査では3つの条件を満たした場合にHLA-C抗体が陽性原因であると判断している。すなわち、不一致の抗原がHLA-Cのみであること、不一致の抗原に対する抗体のnMFIが5,000程度以上であること、当該抗原を有さないドナーとの交差適合試験が陰性になることである。HLA-C抗体のうちCw8に対する抗体が11件(55.0%)を占めていた(表2)。Cw4を有する製剤(1本)、Cw8を有する製剤(2本)、Cw14を有する製剤(1本)が輸血されたが、このうち3本が有効で、Cw8を有する製剤の1本が無効であった(表3)。有効無効の判定は主治医判断でありCCI値の確認はできていない。

HLA-C抗体を保有する患者に輸血されたHLA-C座不一致製剤の約8割は有効

HLA-C抗体を有する症例で同抗体の輸血効果への影響を解析した。本症例(東大01)は75歳の男性、血液型はAB型で、ホジキンリンパ腫の治療中であった。約7カ月の検討期間中に92本の血小板製剤が供給され

た。内訳は、PC-HLA 65本、適合血小板18本、ランダム血小板7本、洗浄PC-HLA 1本、洗浄適合血小板1本であった(表4)。このうち43本(46.7%)について1時間CCIあるいは24時間CCIの測定が可能であった。交差適合試験なしで供給した適合血小板については輸血後に後追いで交差適合試験を実施し、すべて陰性であることを確認した。PC-HLA、適合血小板、ランダム血小板でCCIの平均値に有意差はなく、ABO型の適合度にも差はなかった(表4および付録資料1※)。東大01症例は、本研究開始時においてB44、Cw9、Cw10およびCw15に対する抗体を保有していた(表5)。各抗体の輸血直前のnMFIは、B44(3,858)、Cw9(1,532)、Cw10(3,076)およびCw15(7,809)であった。各抗原を有する製剤の輸血効果と交差適合試験の結果を表6に示した。B44を有する製剤はランダム血小板1本が輸血され、有効であった。Cw9を有する製剤はランダム血小板で2本輸血された。輸血効果を評価できたのは1本で、無効であった。輸血効果がなかったランダム血小板投与時には肺炎と副鼻腔炎を認めていたが発熱はなかった。Cw10を有する製剤は、PC-HLAで6本、ランダム血小板で1本輸血されており、そのうちPC-HLA 1本で輸血効果が評価でき、有効であった。Cw15を有する製剤はPC-HLAとして6本、適合血小板として2本輸血された。輸血効果が評価できた6本のうち、5本が有効であった。無効であった適合血小板1本の輸血時には明らかな感染や発熱は認めなかった。後追いの交差適合試験は全て陰性であった。不一致製剤の輸血後に、不一致抗原に対する抗体のnMFI増加は認めなかった(表5)。本症例に輸血されたB44、Cw9、Cw10およびCw15抗原を有する製剤とHLA型不一致製剤の輸血効果について調べたところ、有意差はなかった(表7)。PC-HLA、適合PCの比較でCCIに有意差は認められず、ランダムPCとの間にも有意差がなかった(付録資料1※)。

考 察

全国のPC-HLAの供給数は2015年度まで増加傾向にあり、その後減少に転じている(図3)。PC-HLA供給の増加は、造血幹細胞移植が標準的治療となり実施件

表3 交差適合試験陽性となった原因抗体の nMFI と陽性製剤の輸血効果. Index 1 は 2.0 以上, Index 2 は 10.0 以上を陽性と判定する.

年度	患者 ID	陽性原因	抗体検査結果 (nMFI)	交差適合試験結果			輸血効果判定
				Index-1 値	Index-2 値	判定	
2017	#01	Cw4	14,554	3.3	1.9	+	連絡なし
	#02	Cw8	8,387	2.5	4.7	+	有
	#03	Cw8	9,413	6.4	1.0	+	無
	#04	B46	21,666	10.9	1.8	+	連絡なし
2018	#05	Cw4	6,902	2.9	10.3	+	有
2019	#06	Cw8	4,018	2.2	0.9	+	連絡なし
		Cw9	10,261	2.9	1.2	+	連絡なし
	#07	Cw14	16,411	8.4	1.0	+	有
	#08	B5504	1,935	3.0	6.0	+	連絡なし
	#09	B59	9,792	2.5	1.0	+	連絡なし

表4 東大01症例に輸血された血小板製剤の内訳と CCI および交差適合試験

	供給数	(%)	CCI 測定数			有効数	有効率 (%)	CCI 平均値		クロスマッチ実施数		クロスマッチ陽性率	ABO 型			適合度 (%)
			1hr	24hr	48hr			1hr	24hr	出庫前	後追い		AB	A	B	
全製剤	92		7	36	29	34	79.1	15,574.1	5,330.4	66	22		31	43	18	33.7%
PC-HLA 適合 PC	65	70.7	3	27	18	25	83.3	18,107.5	4,433.2	65	0	0%	20	34	11	30.8%
ランダム PC	18	19.6	3	5	8	5	62.5	10,547.9	4,655.3	0	15	0%	4	8	6	22.2%
洗浄 PC-HLA	7	7.6	1	3	2	3	75.0	23,052.6	4,885.6	0	7	0%	7	0	0	100.0%
洗浄適合 PC	1	1.1	—	—	1	—	—			1	0	0%	0	1	0	0.0%
CCI測定率 (%)			7.6	39.1	31.5											

表5 東大01症例の血清における HLA 抗体価の推移. HLA 不一致製剤の輸血時期を矢印で下段に示す.

	サンプルIDと採取間隔											
	58日		47日		49日		24日		71日		61日	
	東大01-1	東大01-2	東大01-3	東大01-4	東大01-5	東大01-6	東大01-7					
A2	123	91	↓	54	47	44					68	9
A26	0	0	↓	29	↓	0	14				51	0
A33	0	0		0	0	15	↓				44	0
B35	538	206		25	↓	24	68				92	16
B39	0	0		0	0	0	0	↓			21	0
B44	12,297	8,678		5,793	6,497	3,858	↓				3,296	746
B46	0	0	↓	0	0	0					0	0
B52	0	0	↓	3	↓ ↓	0	15	↓			375	33
B55	66	16	↓	33	0	0					21	0
B61	0	0	↓	0	0	21					35	0
B62	21	0	↓	0	0	0					139	18
Cw7	0	0		15	0	31	↓				59	296
Cw8	0	0		0 ↓	0 ↓	30					21	37
Cw9	3,122	1,532	↓	727	↓	788	577				379	34
Cw10	5,604	3,076	↓ ↓ ↓	1,510	↓	1,776	1,217	↓ ↓ ↓	↓		786	66
Cw12	42	0	↓	198	↓ ↓	0	59	↓ ↓ ↓			59	26
Cw15	11,269	7,809	↓	3,587	↓ ↓ ↓	5,350	↓ ↓ ↓	4,611	↓ ↓		2,804	480

↓は不一致抗原を有する血小板輸血を示す。

同定試薬において同じ抗原型で複数のビーズがあるものについては、日本人における頻度を考慮してデータを選択した。

表6 東大01症例に輸血されたHLA型不一致製剤のHLA型と輸血効果. 血小板数が測定されなかったためCCI値が算出できず, 輸血効果が判定できなかった場合は(-)とした.

使用製剤	PLT値(μL)			CCI			ドナー血型 ABO Rh	ドナーHLA型					製剤中の血小板総数 ×10 ¹¹	交差適合試験結果			後追い 交差適合試験結果			
	pre	post	increment	値	測定時間 (hr)	判定		A	B	Cw		Index-1 値		Index-2 値	判定	Index-1 値	Index-2 値	判定		
										1	2									
PC-HLA	9000	17000	8000	4326	48	-	AB +	24	-	51	-	10	14	2.70	1.0	0.8	-			
PC-HLA	-	-	-	-	-	-	AB +	24	-	51	-	10	14	2.75	0.9	0.7	-			
PC-HLA	4000	16000	12000	7455	24	有効	B +	11	24	51	54	1	15	2.35	0.8	0.9	-			
PC-HLA	7000	18000	11000	5970	24	有効	A +	11	24	51	54	8	15	2.69	0.9	0.8	-			
PC-HLA	-	23000	-	-	-	-	A +	24	-	51	-	10	14	2.59	0.9	0.5	-			
PC-HLA	15000	30000	15000	7087	24	有効	AB +	11	24	51	54	1	15	3.09	0.8	0.7	-			
PC-HLA	11000	15000	4000	2655	48	-	AB +	24	-	51	54	1	15	2.20	0.9	0.7	-			
PC-HLA	16000	17000	1000	545	48	-	A +	11	24	51	54	8	15	2.68	0.9	0.6	-			
PC-HLA	9000	20000	11000	6582	24	有効	B +	11	24	51	54	1	15	2.44	0.9	0.7	-			
PC-HLA	15000	16000	1000	564	48	-	AB +	24	-	51	-	10	14	2.59	0.6	0.4	-			
PC-HLA	11000	24000	13000	7843	24	有効	AB +	24	-	51	-	10	14	2.42	0.8	0.7	-			
PC-HLA	10000	13000	3000	1599	48	-	AB +	24	-	51	-	10	14	2.74	0.9	0.7	-			
PC-HLA	13000	25000	12000	7270	24	有効	A -	24	-	54	-	1	12	2.41	0.0	0.9	-			
ランダムPC	18000	57000	39000	23336	1	有効	AB +	11	24	52	54	1	12	2.44				0.0	0.9	-
ランダムPC	-	100000	-	-	-	-	AB +	2	24	62	46	1	9	2.59				0.9	0.8	-
ランダムPC	11000	14000	3000	1724	48	-	AB +	11	26	61	55	1	10	2.54				0.7	0.8	-
ランダムPC	24000	32000	8000	5034	24	有効	AB +	24	33	44	52	12	14	2.32				0.9	0.9	-
ランダムPC	1000	24000	23000	12817	24	有効	AB +	24	-	52	54	1	12	2.62				1.0	0.9	-
ランダムPC	13000	16000	3000	1691	24	無効	AB +	24	26	35	52	9	12	2.59				0.7	0.5	-
ランダムPC	22000	22000	0	0	48	-	AB -	11	24	39	54	1	7	2.15				0.7	0.9	-
適合PC	27000	22000	-5000	-3527	48	無効	A +	11	-	51	54	1	15	2.07				0.9	0.9	-
適合PC	22000	36000	14000	8143	24	有効	A +	11	24	51	-	14	15	2.51				0.8	0.8	-

不一致抗原 (抗体陽性)
不一致抗原 (抗体陰性)

表7 東大01症例に輸血されたHLA-C型不一致製剤とその他の製剤のCCIの平均値の比較

	Cw9, Cw10, Cw15 陰性製剤		Cw9, Cw10, Cw15 陽性製剤		P
	(n)	CCI	(n)	CCI	
1hr CCI	7	14,035.5	0	-	-
24hr CCI	28	5,520.7	7	6,396.1	0.75

数が飛躍的に増加したこと, HLA抗体検出試薬の改良によりHLA抗体が検出しやすくなったことと関連があるのではないかと考えられる. 一方, 2015年をピークに減少傾向にあるのは, 血小板製剤全体の供給数が減少していることと同時に起きており, 明らかな要因は特定できていない. このうち2017~2019年度の当ブロック血液センターにおける交差適合試験陽性例の47.4%がHLA-C抗体に起因していた. HLA-Cについては, 血清学的タイピング法の技術的な限界から抗原同定が不完全なドナーが存在することが陽性となる原因の一つである. また, 血小板上のHLA-C抗原の発現量が低いことから, 輸血効果の期待できるドナーを対象から外さないために, HLA-C抗体が認識するHLA-C抗原を持つドナーを除外するのは, 患者の持つHLA-C抗体がnMFI≥10,000であることを一つの目安としている. また必要に応じて該当する抗原を持つ献血者検体との交差適合試験も数例実施して, HLA-C抗体が交差適合試験陽性の原因であるかどうかを総合的に判断してい

る. このような経験に基づいた対応が実施されていることが交差適合試験陽性例の中でHLA-C抗体の比率が高い要因となっており, 今後, その妥当性を検証していく必要がある. 極端に適合ドナーが少ないケースでは, 交差適合試験が陽性の製剤を供給せざるを得ない場合もある. 2017~2019年度においては, HLA-C不適合製剤で輸血効果が確認できた4本中3本(75%)が有効であった(表3). 交差適合試験が陽性となるような強いHLA-C抗体を有する患者においても, HLA-C不適合製剤が高い確率で有効になることが確認された.

東大01症例は, HLA-C抗体(Cw9, Cw10およびCw15に対する抗体)を有していたが, これらの抗原を有する製剤17本の交差適合試験は全て陰性であった. 17本のうち, 輸血効果を評価できた8本中6本(75.0%)が有効であった(表6). 本症例は, ランダム血小板が繰り返し無効になるためHLA抗体検査を実施したところHLA抗体が検出され, PC-HLAの適応であると判断され, PC-HLAの供給が開始された. 本研究期間中に一時的な発熱は認められたが持続的な発熱や感染症は認められず, PC-HLAの有効率は83.3%であることから, 非免疫学的なPTRは一時的に混在していた可能性は残るが, おおむね否定できると考えられる. 本解析は, PC-HLA供給開始後のものであり, その期間でランダム血小板の有効率がPC-HLAや適合血小板と同じであったことは, 輸血されたランダム血小板には患者が保有するHLA抗体に反応する抗原が発現していなかったこ

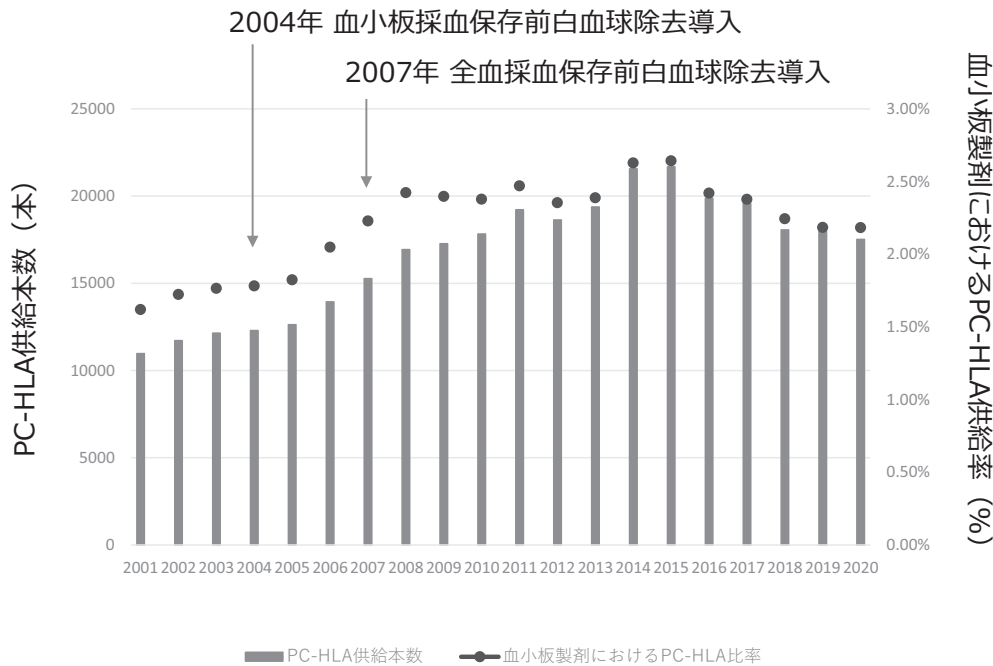


図3 PC-HLA 供給数および血小板製剤全体における PC-HLA 比率の推移

とが理由と考えられる。また、患者が保有する B44 抗体は、クロスマッチが陰性化するほど減弱化していたため、B44 陽性製剤も有効であったと考えられた(表 5)。検出された HLA 抗体がすべて臨床的な輸血不応を引き起こすわけではないことを示す症例であった。HLA-C 抗体の輸血効果への影響を評価するには、さらに症例を増やす必要がある。

交差適合試験が陽性にも関わらず輸血効果が認められた例は本報告でも紹介したとおり存在する。輸血効果の予測は細胞を用いた検査法の方が直接的ではあるが、ビーズ法を用いた試薬の方が利便性が高いため、広く普及してきた歴史がある¹¹⁾¹²⁾。しかし、ビーズ法における臨床的意義のある nMFI のカットオフ値は世界的にも定まっていない。低力価の HLA 抗体は輸血効果と相関しないという報告や¹³⁾、輸血効果との相関からカットオフ値を定める試みはあるが¹⁴⁾¹⁵⁾、抗体の補体結合反応が重要であるという報告もあり¹⁶⁾、コンセンサスには至っていない¹⁷⁾。日本輸血・細胞治療学会血小板小委員会が作成した HLA 適合血小板の使用ガイドでも、HLA 適合血小板を使用した場合には有効性評価を必ず行うべきであるとされ、高感度なビーズ法の結果の解釈には注意が必要であることが指摘されている¹⁸⁾。血小板における HLA 発現量と HLA 抗体の性質の両方を考慮しながら、nMFI のカットオフ値を検討する必要がある。そのためには、臨床側が持つ輸血効果情報と日赤血液センター側が持つ HLA 型・製剤中の血小板数を突き合わせた上での nMFI 値の解析が必須であり、多施設共同研究として、臨床側との協力体制の構築が不可欠で

ある。

PC-HLA は交差適合試験陰性を確認した製剤として供給されてきたが、陽性率は極めて低いレベルに達してきており、同試験の是非について議論すべき時期に来ていると考える。そのためには根拠となる大規模研究のデータが必要である。清家らは、交差適合試験を実施した PC-HLA (43 本) と実施していない適合血小板 (41 本) の有効性を調査し、輸血効果に差がなかったことを報告している¹⁹⁾。本研究は前向きのも施設共同研究として計画したが、症例のエントリーが十分でなく、1 例のみの解析となった。今後、大規模な臨床研究において適合血小板の PC-HLA に対する非劣勢を確認する必要があるが、そのためには医療機関と協力体制が不可欠である。2017~2019 年度の当ブロック血液センターにおける交差適合試験陽性例は 57 件 (0.25%) であり、それらがもし輸血された場合の有効率を予測し、それを許容できるかどうか議論する必要がある。そのためには、交差適合試験陽性でも供給された製剤の輸血効果情報が極めて有用であり、また HLA 抗体保有者に輸血されたランダム血小板の HLA 型情報と輸血効果情報も有用である。

ただし、陽性製剤を見逃す確率は、患者が保有する抗体特異性による点には留意すべきである。交差適合試験は、HLA-C 抗体を保有する患者と血清学ドナーの組合せて陽性となることが多い。これは、血清学的タイピングでは検出が難しい HLA-C 抗原があったためである。日赤血液センターでは適宜血清学ドナーの DNA タイピングを実施して情報を更新しているが、まだ一

部血清学データのための献血者が残っている。そのため、HLA-C 抗体が原因の交差適合試験陽性事例が認められるが、今回の検討で示したとおり、輸血効果に影響を及ぼす割合は低いと考えられる。PC-HLA 供給の迅速化については、血液センター内の体制拡充を含めて議論すべきものである。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし
※付録資料 1 は J-stage 電子版に掲載

文 献

- 1) Aster R. H., Levin R. H., Cooper H., et al: Complement-Fixing Platelet Iso-Antibodies in Serum of Transfused Persons. Correlation of Antibodies with Platelet Survival in Thrombocytopenic Patients. *Transfusion*, 4: 428—440, 1964.
- 2) Shulman N. R.: Immunological Considerations Attending Platelet Transfusion. *Transfusion*, 6: 39—49, 1966.
- 3) Doughty H. A., Murphy M. F., Metcalfe P., et al: Relative importance of immune and non-immune causes of platelet refractoriness. *Vox Sang*, 66: 200—205, 1994.
- 4) Pavenski K., Freedman J., Semple J. W.: HLA alloimmunization against platelet transfusions: pathophysiology, significance, prevention and management. *Tissue Antigens*, 79: 237—245, 2012.
- 5) Yankee R. A., Grumet F. C., Rogentine G. N.: Platelet transfusion therapy; the selection of compatible platelet donors for refractory patients by lymphocyte HL-A typing. *N Engl J Med*, 281: 1208—1212, 1969.
- 6) Yankee R. A., Graff K. S., Dowling R., et al: Selection of unrelated compatible platelet donors by lymphocyte HL-A matching. *N Engl J Med*, 288: 760—764, 1973.
- 7) 柏瀬貢一, 平田蘭子, 前田平生: HLA 検査法, 輸血学, 第 4 版, 2018, 533—538.
- 8) Hod E., Schwartz J.: Platelet transfusion refractoriness. *Br J Haematol*, 142: 348—360, 2008.
- 9) Saito S., Ota S., Seshimo H., et al: Platelet transfusion refractoriness caused by a mismatch in HLA-C antigens. *Transfusion*, 42: 302—308, 2002.
- 10) Stanworth S. J., Navarrete C., Estcourt L., et al: Platelet refractoriness—practical approaches and ongoing dilemmas in patient management. *Br J Haematol*, 171: 297—305, 2015.
- 11) Pei R., Lee J. H., Shih N. J., et al: Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities. *Transplantation*, 75: 43—49, 2003.
- 12) Fujiwara K., Shimano K., Tanaka H., et al: Application of bead array technology to simultaneous detection of human leukocyte antigen and human platelet antigen antibodies. *Vox Sang*, 96: 244—251, 2009.
- 13) Deng X., Jackman R. P., Bolgiano D., et al: Low-level HLA antibodies do not predict platelet transfusion failure in TRAP study participants. *Blood*, 121: 3261—3266, 2013.
- 14) Pai S. C., Lo S. C., Lin Tsai S. J., et al: Epitope-based matching for HLA-alloimmunized platelet refractoriness in patients with hematologic diseases. *Transfusion*, 50: 2318—2327, 2010.
- 15) Linjama T., Niittyvuopio R., Tuimala J., et al: Platelet donor selection for HLA-immunised patients; the impact of donor-specific HLA antibody levels. *Transfus Med*, 27 (Suppl 5): 375—383, 2017.
- 16) Fontaine M. J., Kuo J., Chen G., et al: Complement (C1q) fixing solid-phase screening for HLA antibodies increases the availability of compatible platelet components for refractory patients. *Transfusion*, 51: 2611—2618, 2011.
- 17) Tumer G., Gniadek T., Baye J., et al: The effect of serum pretreatment regimens for the detection of HLA class I antibodies in platelet-refractory patients. *Transfusion*, 60: 488—497, 2020.
- 18) 藤原孝記, 李悦子, 石田明, 他: HLA 適合血小板の使用ガイド. *日本輸血細胞治療学会誌*, 67: 573—588, 2021.
- 19) Seike K., Fujii N., Asano N., et al: Efficacy of HLA virtual cross-matched platelet transfusions for platelet transfusion refractoriness in hematopoietic stem cell transplantation. *Transfusion*, 60: 473—478, 2020.

TRANSFUSION EFFECT OF HLA-C INCOMPATIBLE PC-HLA IN PATIENTS WITH ANTI-HLA-C

Naoko Watanabe-Okochi¹⁾, Mika Matsuhashi¹⁾, Sho Yamazaki²⁾, Hiroki Kobayashi¹⁾, Kaoru Tonami¹⁾, Toru Miyagi¹⁾, Koichi Kashiwase¹⁾, Tadahiro Aihara¹⁾, Yuji Wakiya¹⁾, Nelson Hirokazu Tsuno¹⁾, Hitoshi Okazaki²⁾ and Kazuo Muroi¹⁾

¹⁾Japanese Red Cross Kanto-Koshinetsu Block Blood Center

²⁾Department of Transfusion Medicine, University of Tokyo Hospital

Abstract:

Background: Use of HLA-compatible platelets (PC-HLA) is recommended for platelet transfusion refractoriness (PTR) caused by HLA antibodies. Selection of PC-HLA is based on compatibility with HLA-A and -B loci, but not with HLA-C. In this study, we analyzed the transfusion effect of HLA-C locus-incompatible PC-HLA. **Methods:** The normalized Mean Fluorescent Intensity (nMFI) of HLA-C antibodies and the effectiveness of transfusion of crossmatch-positive platelets due to HLA-C antibodies tested at the Japanese Red Cross Kanto Koshinetsu block blood center from 2017 to 2019 were analyzed. The transfusion effect was evaluated by calculating the Corrected Count Increment (CCI) of the PC-HLA (66 products), computer-crossmatched platelets (19 products) and random platelets (7 products) transfused to a patient with HLA antibody-positive PTR (case-01) at the University of Tokyo Hospital. **Results:** In the study period, positive crossmatch was confirmed in 57 cases (0.25%), among which 27 (47.4%) were due to HLA-C antibody. The Cw8 antibody accounted for 55.0% of cases. The effectiveness of crossmatch-positive PC-HLA due to HLA-C antibody was 75%. Antibodies against Cw15 and Cw10 were identified in Case-01, but 75% (6/8) of the transfused HLA-C mismatched products (75%) were effective. **Conclusion:** HLA-C incompatibility did not affect transfusion effectiveness in most cases.

Keywords:

PC-HLA, anti-HLA-C antibody, crossmatch