

直接抗グロブリン試験陽性患者への自己血輸血の管理経験

天本 貴広¹⁾ 山口 真紀²⁾ 吉永 英子¹⁾ 柳場 澄子²⁾ 柏木 美紀²⁾
溝上 真衣²⁾ 藤好 麻衣²⁾ 内藤 嘉紀²⁾

69歳、女性。Evans症候群の既往があり、直接抗グロブリン試験 (direct antiglobulin test : DAT) 陽性の患者において、人工股関節置換術周術期に貯血式自己血輸血を実施した。貯血された赤血球製剤の保管期間中の経時的溶血所見は、日本赤十字社より供給される赤血球製剤成分の変化と差が認められなかった。また、貯血1回目の自己血赤血球のDAT強度は35日間変化なく、解離液抗体価は21日目までは16倍、28日目以降は8倍と減衰した。貯血2回目の自己血赤血球DAT強度は14日間変化せず、解離液抗体価は4倍まで減衰した。術後48時間までに、DAT陽性である自己血赤血球4単位と自己血新鮮凍結血漿2単位を投与したところ溶血を疑う所見は認めず、臨床経過は良好であった。DAT陽性患者における貯血式自己血輸血の有効性については、報告例が少なく不明な点が多いが、適切な事前評価と製剤モニタリングを行うことで有効な輸血効果を得られた症例を経験した。

キーワード：直接抗グロブリン試験、貯血式自己血輸血、Evans症候群

はじめに

直接抗グロブリン試験 (direct antiglobulin test : DAT) は生体内で赤血球が免疫グロブリンや補体、またはその両方で感作されているか否かを確認する検査である。DAT陽性の赤血球は、主として脾臓の網内系においてFcγレセプターを有するマクロファージによる貪食や抗体依存性細胞障害によって破壊されるため、DAT陽性赤血球製剤は通常の製剤と同等の輸血効果が得られない可能性があり、その使用の有効性と安全性については明確な答えが出ていないのが現状である^{1)~3)}。特に貯血式自己血輸血においては、赤血球液の冷蔵保存期間が最大42日間と長く、DATが増強する可能性があるため注意が必要である⁴⁾。今回我々はEvans症候群の既往があり、DAT陽性の患者において、人工股関節置換術周術期に貯血式自己血輸血を実施した。また、DAT陽性患者における自己血輸血の管理について文献的考察を交えて報告する。

症 例

患 者：69歳、女性。
主 訴：左股関節痛。
輸血歴：有り。
妊娠歴：有り。

既往歴：Evans症候群、全身性エリテマトーデス。

現病歴：Evans症候群および全身性エリテマトーデスに対してプレドニゾロン、タクロリムス、エルトロソバグの投薬を受けていた。20XX年7月、当院で左変形性股関節症と診断され人工股関節全置換術適応となる。

結 果

1. 輸血関連検査所見 (表1)

20XX年7月、他院にて下記の輸血関連検査を行った。

1) 血液型検査 (表1a)

(1) ABO・RhD血液型検査：全自動輸血検査機器 (VISION : Ortho-Clinical Diagnostics社) のカラム凝集法による検査を実施し、抗A (4+)、抗B (0)、A₁赤血球 (0)、B赤血球 (3+)、抗D (4+)、Control (0.5+) と判定された。用手法 (試験管法) による再検では、Rhコントロールに凝集は認めなかった。

(2) その他の血液型：グリシン塩酸/EDTA (ガンマ EGA キット : Immucor Gamma社) 処理後の患者血球タイピングは、ccEE、Le (a-b+)、Fy (a+b-)、Jk (a+b+)、Di (a-)、MMSsであった。

2) 不規則抗体検査 (表1b)

不規則抗体スクリーニング (試験管法) : スクリーニ

1) 久留米大学医療センター臨床検査室

2) 久留米大学病院臨床検査部

連絡責任者：天本 貴広、E-mail : amamoto_takahiro@kurume-u.ac.jp

[受付日：2023年8月6日、受理日：2023年11月8日]

表1 輸血関連検査所見
a～dは他院, e～gは当院の結果を示す。

a. ABO・RhD 血液型

	オモテ検査			ウラ検査			抗 D	Control	ABO 血液型 判定	RhD 血液型 判定
	抗 A	抗 B	結果	A ₁ 赤血球	B 赤血球	結果				
試験管法	4+	0	A 型	0	4+	A 型	4+	0	A 型	陽性
カラム凝集法	4+	0	保留	0	3+	保留	4+	0.5+	保留	保留

(試験管法における「Control」は, Rh コントロール試薬との反応)

b. 不規則抗体スクリーニング:(試験管法)

血球 No.	I	II	Di (a+)	自己 対照
生理食塩液法	0	0	0	0
15分静置判定	0	0	0	0
PEG-IAT	0	0	0	w+

(PEG-IAT: PEG 添加 間接抗グロブリン試験)

c. 直接抗グロブリン試験:(試験管法)

広範囲	抗 IgG	抗補体	対照
1+	w+	w+	0

その他の血液型:(グリシン塩酸/EDTA 処理後)
ccEE, Le (a-b+), Fy (a+b-), Jk (a+b+), Di (a-), MMSs

d. 赤血球抗体解離同定試験:(PEG-IAT)

血球 No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
解離液	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
8倍希釈解離液	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+

e. ABO・RhD 血液型

	オモテ検査			ウラ検査			抗 D	抗 D'	Control	ABO 血液型 判定	RhD 血液型 判定	
	抗 A	抗 B	抗 A, B	結果	A ₁ 赤血球	B 赤血球						結果
カラム凝集法	4+	0	4+	A 型	0	3+	A 型	4+	4+	0	A 型	陽性

f. 不規則抗体スクリーニング

血球 No.	I	II	III	Di (a+)	自己対照
カラム凝集法	LISS-IAT	3+	3+	3+	NT
試験管法	生理食塩液法	0	0	0	0
	PEG-IAT	0	0	0	w+

(LISS-IAT: 低イオン強度溶液添加 間接抗グロブリン試験)

g. 直接抗グロブリン試験:(試験管法)

広範囲	抗 IgG	抗補体	対照
w+	w+	w+	0

ング赤血球試薬として, サージスクリーン[®], オーソ[®] ディエゴ A (Dia) 血球を使用し, 生理食塩液法, 15分静置判定, PEG-IAT における反応は, 全て陰性であった。一方, PEG-IAT における自己対照のみ (w+) の凝集が観察された。

3) 直接抗グロブリン試験 (試験管法) (表 1c): 直接抗グロブリン試験結果は, 広範囲(1+), 抗 IgG(w+), 抗補体 (w+), 対照 (0) であり, 陽性と判定された。

4) 赤血球抗体解離試験 (表 1d): DiaCidel (BIO-RAD 社) を用いた解離試験を実施した。PEG-IAT を用いた同定検査では, すべてのパネル赤血球 (リゾルブ[®] パネル C) に (3+) の凝集を認めた。また, 8倍希釈解離液による PEG-IAT では全てのパネル赤血球に (1+) の凝集を認め, 血液型特異性を示唆するような所見は認めなかった。

20XX+1 年 7 月, 当院にて輸血関連検査を再検した (表 1e~g)。全自動輸血検査機器 (WADiana Compact: KAINOS 社) による血液型検査では, 抗 A (4+), 抗 B (0), 抗 AB (4+), 抗 D (4+), 抗 D' (4+), Con-

trol (0), A₁ 赤血球 (0), B 赤血球 (3+) であった。不規則抗体スクリーニングは, LISS-IAT で (3+) の特異性のない凝集反応を認めた。尚, 試験管法での PEG-IAT では自己対照の (w+) 以外は陰性と判定された。直接抗グロブリン試験の結果についても, 広範囲 (w+), 抗 IgG (w+), 抗補体 (w+), 対照 (0) であり 1 年前の判定と著変なかった。

2. 血液・生化学検査

白血球数 $6.4 \times 10^3/\mu\text{l}$, 赤血球数 $4.53 \times 10^6/\mu\text{l}$, Hb 12.2g/dl, 血小板 $89 \times 10^3/\mu\text{l}$ であり, Evans 症候群による血小板減少を認めたが貧血はなかった。また生化学所見としては AST 21U/l, ALT 27U/l, LD 242U/l, 総 BIL 0.8mg/dl, 直接 BIL 0.1mg/dl であり溶血を示唆する所見を認めなかった。

以上の検査結果から貯血式自己血輸血の実施は可能と判断し, 1回 400ml の貯血を 2回, 計 800ml を貯血 (テルモ血液バッグ MAP 液) し, 自己血赤血球 4 単位, 自己血新鮮凍結血漿 4 単位および自己フィブリン糊を作製した。

表2 溶血指標となる検査値
赤血球液-LR「日赤」の安定性試験成績 (n=8) と比較し、大きな変化は認められなかった。

項目	製剤	1日目	7日目	14日目	21日目	28日目	35日目
AST (U/l)	自己血赤血球 (1回目)	7	11	20	27	32	40
	自己血赤血球 (2回目)	12	14	17	Not assessed	Not assessed	Not assessed
	赤血球-LR「日赤」-2	Not assessed	Not assessed	Not assessed	Not assessed	Not assessed	Not assessed
LD (U/l)	自己血赤血球 (1回目)	131	322	661	1,091	1,480	1,765
	自己血赤血球 (2回目)	180	339	595	Not assessed	Not assessed	Not assessed
	赤血球-LR「日赤」-2	Not assessed	Not assessed	Not assessed	Not assessed	Not assessed	Not assessed
K (mEq/l)	自己血赤血球 (1回目)	2.4	12.3	22.1	30.6	38.1	46.3
	自己血赤血球 (2回目)	1.8	10.8	20.4	Not assessed	Not assessed	Not assessed
	赤血球-LR「日赤」-2	3.7±0.4	15.2±1.7	25.6±2.6	33.6±2.9	39.1±2.9	47.4±3.2
Hb (g/dl)	自己血赤血球 (1回目)	14.6	14.7	14.7	14.8	14.7	14.8
	自己血赤血球 (2回目)	13.9	13.8	14.3	Not assessed	Not assessed	Not assessed
	赤血球-LR「日赤」-2	19.4±0.8	19.4±0.8	19.4±0.8	19.4±0.8	19.3±0.8	19.5±0.8

表3 自己血赤血球の DAT と解離液抗体価の推移

DAT	自己赤血球	1日目	7日目	14日目	21日目	28日目	35日目
広範囲	1回目	w+	w+	w+	w+	w+	w+
	2回目	w+	w+	w+	Not Test	Not Test	Not Test
抗 IgG	1回目	w+	w+	w+	w+	w+	w+
	2回目	w+	w+	w+	Not Test	Not Test	Not Test
抗補体	1回目	w+	w+	w+	w+	w+	w+
	2回目	w+	w+	w+	Not Test	Not Test	Not Test
対照	1回目	0	0	0	0	0	0
	2回目	0	0	0	Not Test	Not Test	Not Test
解離液抗体価 (PEG-IAT)	1回目	16倍	16倍	16倍	16倍	8倍	8倍
	2回目	16倍	8倍	4倍	Not Test	Not Test	Not Test

3. 貯血された自己血赤血球の成分変化

1) 溶血指標となる検査値 (表2) : 貯血された自己血赤血球製剤の一部を子バッグに採取しシーラーで分離した後、同条件 (2~6℃) で保管しサンプリング検査に用いた。赤血球溶血の指標となる検査項目として Hb および K 値を評価したところ、保管期間中の Hb に継続的な変化はなく、K 値に関しても日本赤十字社より供給される赤血球製剤成分⁵⁾の変化と差を認めなかった。

2) 自己血赤血球の DAT と解離液抗体価の推移 (表3) : 貯血1回目の自己血赤血球 DAT 強度は35日の保管期間中、変化を認めなかった。解離液の抗体価は、21日目まで16倍であり、28日目以降は8倍と低下した。なお、貯血2回目の自己血赤血球 DAT 強度も大きな上昇は変化なく、解離液抗体価も4倍へ減衰した。

4. 臨床経過 (図1)

術中に自己血赤血球2単位、自己血新鮮凍結血漿2単位が輸血された。術後48時間までに、総出血量は650mlに達し、Hb低下を認めたため、術後1日目に自己血赤血球2単位の輸血が実施された。術後2日目には、Hb10.7g/dlへ上昇し、以後は緩徐に術前のHbまで回

復した。術後1日目の自己血赤血球輸血は、Hb9.4g/dlと赤血球製剤の使用ガイドラインにおける推奨輸血トリガー値より高い状況で実施された。これは総出血量が推定循環血液量3,200ml (体重40kg) の約20%に達し、血小板低値から更なる出血のリスクが高いと判断されたためだが、本症例の患者背景に基づく特殊な状況判断であったと考える。

血小板に関しては、出血リスクが高いと判断された術後4日目までは、血小板製剤の使用ガイドラインに則り血小板数 $50 \times 10^3/\mu\text{l}$ 未滿を輸血トリガーとして血小板輸血を実施され術後48時間以降の出血症状は認めなかった。また、血清K、総BiL、AST、LDの上昇など、溶血を疑う所見は認めず臨床経過は良好であった。なお、自己血新鮮凍結血漿2単位はフィブリン析出のため破棄した。

考 察

貯血式自己血輸血は同種血輸血による副反応を回避し、血液製剤の使用適正化に寄与する輸血方法として周術期に推進される輸血療法である。一方で、採取や

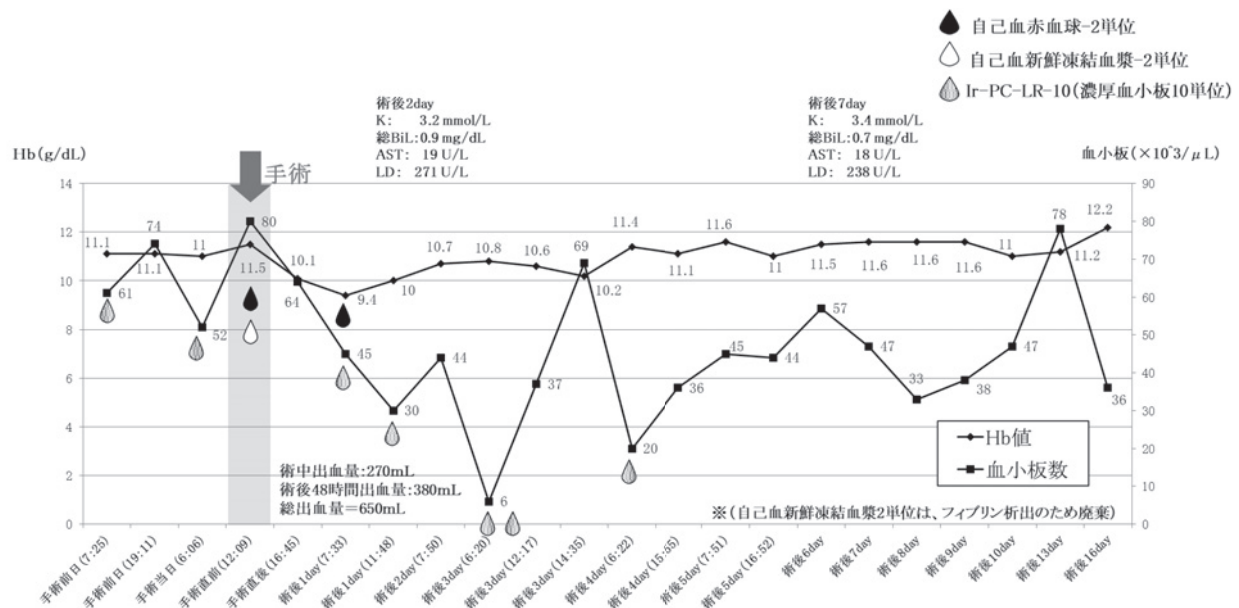


図1 臨床経過
() 内は測定時刻を示す。

保管に関する問題点もあり、適切な患者の選択や製剤管理が必要である。また、DAT 陽性患者における貯血式自己血輸血の報告は乏しく、その安全性や有効性については不明な点が多い。

伊藤らは、同種血製剤における DAT 陽性の苦情件数の割合は 0.015% であり、実際の献血者の DAT 陽性例はその数倍に及ぶことを報告している³⁾。また、献血者集団における DAT 陽性者は 1,000 人に 1 人から 14,000 人に 1 人の範囲で存在するという報告もある⁶⁾。これらの報告から、健常者においても DAT 陽性例は一定数認められるものの、溶血など臨床的に重大な結果と関連しない場合も多く存在すると考えられる。本症例においても、Evans 症候群の治療中であったが、貧血および溶血所見はなく全身状態は安定していたため、同種血輸血による不規則抗体産生の予防等を鑑み自己血貯血を選択実施した。ただし、in vitro の実験系で 128 倍以上の自己抗体で赤血球を感作した場合にマクロファージの貪食率が高くなることが報告³⁾されていることより、患者血漿中の自己抗体の存在、DAT ならびに解離液抗体価を測定し、溶血性輸血反応の危険性を評価した。本症例の血漿中における自己抗体の存在は LISS-IAT では 2+ 程度の凝集を認めたが、PEG-IAT にて感度以下であり、臨床的に溶血をきたす可能性は低いと考えられた。なお、この結果の違いに関しては、カラム凝集法と試験管法の原理の違いによる結果であると予測されるが詳細は不明である。また、患者採血検体の DAT は広範囲 (w+)、抗 IgG (w+)、抗補体 (w+)、対照 (0)、抗体解離液の抗体価は 16 倍であり、臨床的

に影響を及ぼす可能性はないと考えられた。しかしながら、保存中に DAT が増強される報告⁴⁾もあることから、貯血直後から輸血直前までの自己血製剤の溶血関連検査項目および DAT の凝集変化を観察した。その結果、DAT 陽性の自己血製剤は、同種血製剤と比較し Hb, K 値において同様の検査値の推移を認めた。製剤中の赤血球に関する DAT は広範囲 (w+)、抗 IgG (w+)、抗補体 (w+)、対照 (0) と一定であり、解離液の抗体価は 16 倍から 4 倍まで減衰した。1 回目採血分の自己赤血球は、保存 21 日目まで 16 倍の力価を認めていたが、2 回目採血分の自己赤血球は、1 日目 16 倍、7 日目 8 倍、14 日目 4 倍と低下していた。これは、初回貯血以後に造血された比較的新しい赤血球には、自己抗体の結合が弱い可能性⁷⁾があるのではないかと考えられた。

表 4 に本症例と本邦における DAT 陽性患者の自己血輸血に関する報告との比較を示す。本邦における DAT 陽性患者の自己血輸血に関する報告^{8)~12)}において DAT の強度は本症例と比較して、どれも強い凝集態度を示していた。貯血式の 2 例⁸⁾⁹⁾においては 800ml 由来の赤血球輸血を実施後に輸血効果を認め、溶血所見はなかったとされている。本症例は、DAT が (w+) に加えて抗補体も (w+) であることが特徴であったが、輸血後の溶血所見を認めなかった。

上記のように、DAT 陽性患者における自己血輸血は溶血の危険性が懸念されるものの、病態によっては自己血輸血が必要な症例もある。したがって、DAT 陽性患者の自己血貯血を計画する際は、DAT の凝集強度、解離液の抗体価を事前に評価した上で、実施の可否を

表4 本症例と本邦における DAT 陽性患者の自己血輸血に関する報告

著者名	年齢	性別	病態	術式	DAT	自己血	輸血量	転帰 (経過)	引用文献番号
本症例	69歳	女性	SLEとEvans症候群	人工股関節置換術	W+	貯血式	自己血赤血球4単位と自己血新鮮凍結血漿2単位	11.6g/dlまで上昇 溶血所見は認められない	-
川野 洋之, 他: 日本輸血学会雑誌, 2000.	57歳	女性	慢性 関節リウマチ	人工股関節置換術	2+	貯血式	2回に分けて自己血 800mlを貯血	輸血効果あり	8)
豊田 茂雄, 他: 日本輸血細胞治療 学会誌, 2006.	68歳	女性	温式 AIHA	人工骨頭置換術	3+	貯血式	自己血 MAP4 単位と FFP2 単位に加え 術中回収式自己血の輸血	溶血は認めない	9)
永納 和子, 他: 麻酔, 2000.	69歳	女性	胃体部原発の 悪性リンパ腫に 伴う AIHA	胃全摘術 および脾臓 摘出術	強陽性	希釈式	400gの自己血	手術終了時 Hb 値 7.1g/dl 3週間後 9.1g/dl	10)
五十嵐 浩太郎, 他: 麻酔, 2002.	39歳	男性	Evans 症候群	腹腔鏡下 脾臓摘出術	陽性	希釈式	400gの自己血	Hb 値低下や血尿はない	11)
天本 貴広, 他: 自己血輸血, 2014.	78歳	女性	温式自己抗体 と抗 Wra が疑 われる AIHA	人工股関節置換術	2+	回収式	225gの返血	即時的・遅発的溶血 所見はなかった	12)

判断することが重要であり, DAT (2+) 以下かつ解離液抗体価 128 倍以下³⁾が選択基準の指標となりうると考える。また, 本症例では検討していないが, IgG₂ や IgG₄ においては Fc レセプターへの結合力が非常に弱く, 溶血に関与しないことが予測される¹³⁾ため, 自己抗体のサブクラス解析も有用な判断材料となる。採取後の管理としては, 保存中に DAT が増強される可能性を考慮し, 貯血直後から輸血直前までの自己血製剤の溶血関連検査項目および DAT の凝集変化を注意深くモニタリングすることも重要である。なお, 保存中に血漿中 IgG や補体による赤血球への非特異的感作が生じる可能性があるため, 全血保存以外の保管管理が推奨されると考える。

結 語

今回, DAT 陽性患者における自己血輸血において, 適切な事前評価と製剤モニタリングを行う保管管理で有効な輸血効果が得られた症例を経験した。DAT 陽性自己血輸血の報告例は少なく, 今後も症例の蓄積と, その安全性および有効性の検討が必要と思われる。

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) 亀崎豊実: 直接抗グロブリン試験陽性化の機序と臨床。血液事業, 41: 97—98, 2018.
- 2) 丸山美津子: 直接抗グロブリン試験陽性時の解釈と医療機関における輸血対応について。血液事業, 41: 99—100, 2018.
- 3) 伊藤正一: 直接抗グロブリン試験陽性赤血球の臨床的意義。血液事業, 41: 102—104, 2018.

- 4) Klein HG, Anstee DJ: Harmless warm autoantibodies; in Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine, 12th Edition, Wiley-Blackwell, 2014, 268—270.
- 5) 赤血球液-LR「日赤」添付文書: 赤血球液-LR「日赤」の安定性試験成績 (社内資料)。
https://www.jrc.or.jp/mr/pdf/result_RBC-LR-2_230313.pdf (2023年8月1日現在)。
- 6) Judith L Hannon: Management of blood donors and blood donations from individuals found to have a positive direct antiglobulin test. Transfus Med Rev, 26: 142—152, 2012.
- 7) Masatoshi Beppu, Kiyomi Kikugawa: Lipid Peroxidation in Cells and Cellular Aging. Journal of Japan Oil Chemists' Society, 44: 738—750, 1995.
- 8) 川野洋之, 東谷孝徳, 江頭貞臣, 他: 直接クームス試験陽性患者の自己血輸血の1例。日本輸血学会雑誌, 46: 345, 2000.
- 9) 豊田茂雄, 齊藤崇博, 川畑典子, 他: 温式自己免疫性溶血性貧血患者の整形外科手術時に施行された貯血式自己血輸血。日本輸血細胞治療学会誌, 52: 717—718, 2006.
- 10) 永納和子, 山中郁男, 田尻 治, 他: 自己免疫性溶血性貧血の麻酔経験。麻酔, 49: 417—419, 2000.
- 11) 五十嵐浩太郎, 櫻井行一, 高畑 治, 他: エヴァンズ症候群の麻酔管理—希釈式自己血輸血の有用性—。麻酔, 51: 1260—1262, 2002.
- 12) 天本貴広, 大川孝浩, 樋口富士男: 温式自己抗体と抗 Wra が疑われた自己免疫性溶血性貧血患者における回収式自己血輸血の1症例。自己血輸血, 27: 55, 2014.
- 13) 大戸 齊: 新生児溶血性疾患と母児免疫, 編者 前田平生, 大戸 齊, 岡崎 仁, 輸血学, 第4版, 中外医学社, 東京, 2018, 601.

EXPERIENCE MANAGING AUTOLOGOUS BLOOD TRANSFUSION IN A PATIENT WITH A POSITIVE DIRECT ANTIGLOBULIN TEST

*Takahiro Amamoto*¹⁾, *Maki Yamaguchi*²⁾, *Hideko Yoshinaga*¹⁾, *Sumiko Yanaba*²⁾, *Miki Kashiwagi*²⁾,
*Mai Mizokami*²⁾, *Mai Fujiyoshi*²⁾ and *Yoshiki Naito*²⁾

¹⁾Department of Clinical Laboratory, Kurume University Medical Center

²⁾Department of Clinical Laboratory, Kurume University Hospital

Abstract:

A 69-year-old woman treated for Evans syndrome underwent direct antiglobulin test (DAT)-positive autologous blood transfusion perioperatively during hip replacement surgery. Hemolytic findings of the stored erythrocyte products did not differ over time from those of the components of erythrocyte products supplied by the Japanese Red Cross Society. DAT intensity of the first stored autologous erythrocytes remained unchanged for 35 days, while dissociated fluid antibody titer decreased 16-fold up to Day 21 and 8-fold after Day 28. The DAT intensity of autologous erythrocytes in the second blood reservoir remained unchanged for 14 days, and the antibody titer of the dissociated fluid showed a 4-fold decrease. Clinical course following administration of 4 units of DAT-positive autologous red blood cells and 2 units of autologous fresh-frozen plasma up to 48 hours postoperatively was satisfactory, without evidence of hemolysis. Few studies have reported the effectiveness of stored autologous blood transfusion in DAT-positive patients, and many points are unclear. Here, we experienced a case in which an effective transfusion effect was obtained by performing appropriate preliminary evaluation and product monitoring.

Keywords:

Direct antiglobulin test, Preoperative autologous blood donation, Evans syndrome