

胎児輸血を実施し出生後に児由来赤血球の出現が遅延した抗 D による

胎児・新生児溶血性疾患の 1 症例

青木 香苗¹⁾ 山口 恭子¹⁾ 裕尾 綾花¹⁾ 榎本 麻里¹⁾ 堀田多恵子¹⁾
 平安山知子²⁾ 亀崎健次郎²⁾ 康 東天¹⁾

今回、出生後に児由来赤血球（以下児赤血球）の出現が遅延した抗 D による胎児・新生児溶血性疾患（HDFN）症例を経験した。

母体は 1 経妊 1 経産，A 型 RhD 陰性，抗 D 陽性（抗体価 128 倍）であり，第 1 子が HDFN 既往のため本症例である第 2 子の妊娠 14 週に当院紹介となった。妊娠 28 週に抗 D 抗体価 256 倍となり，31 週及び 33 週に胎児貧血が疑われ，O 型 RhD 陰性の RBC で計 2 回（31 週時約 100ml，33 週時約 130ml）の胎児輸血を実施し，妊娠 36 週に誘発分娩となった。児は出生時，溶血及び黄疸は軽度であったが，日齢 0 に大量免疫グロブリン投与（1.5g/kg）をされた。血液型検査で胎児輸血前は AB 型 RhD 陽性であったが，出生直後は O 型 RhD 陰性，抗 D 抗体価 1,024 倍であり，児赤血球が消失し輸血製剤由来の赤血球に置き換わっていることが示唆された。その後，抗 D 抗体価が 4 倍まで低下した日齢 83 に輸血検査にて初めて児赤血球が検出できたことより，出生後の児赤血球の出現遅延には抗 D が関与していると考えられた。この期間，溶血所見は乏しいものの緩徐に貧血が進行し，輸血を要した。

本症例のような胎児輸血を必要とする HDFN 症例では輸血前の血液型検査実施と，経時的に抗体価をモニタリングすることは重要である。

キーワード：RhD 血液型不適合妊娠，胎児・新生児溶血性疾患，胎児輸血

はじめに

胎児・新生児溶血性疾患（hemolytic disease of the fetus and the newborn：HDFN）は主として Rh，ABO 血液型による母児間血液型不適合により発症する。日本人では元来 RhD 陰性者が 0.5% と頻度が低いことに加えて，抗 D 免疫グロブリン投与の普及により RhD 血液型不適合妊娠による抗 D 産生率は低下している¹⁾。しかしながら，Verduin らの報告では最も頻繁に HDFN を起こし得る抗体は RhD（80%），Kell（12%），Rhc（5%）と RhD が最も多く²⁾，胎児輸血や交換輸血等の輸血療法を要するほど重症化する場合がある^{3)~5)}。

今回，抗 D による HDFN に対し胎児輸血が実施され，出生後の溶血及び黄疸が軽度であったにも関わらず，その後の児由来赤血球（以下児赤血球）の出現が遅延した症例を経験したので報告する。

検査方法

1) 直接抗グロブリン試験 (direct antiglobulin test : DAT)

バイオビュー DAT/IDAT カセット（オーソ社）を用いたカラム凝集法にて判定した。抗体解離試験では赤血球検査にガンマ EGA キット（イムコア社），抗体検査に DiaCidel（BIO-RAD 社）を用いた。

2) 抗体価測定および IgG サブクラス

抗体価はバイオビュー抗 IgG カセット（オーソ社）を用い，LISS-間接抗グロブリン試験 (indirect antiglobulin test : IAT) で測定した。また，PEG-IAT に IgG サブクラス抗血清（ヒツジ）（オーソ社販売）を用いて血漿中の IgG サブクラスを確認した。

3) フローサイトメトリー解析

FACS Canto（日本ベクトン・ディッキンソン）を用いた。患者赤血球を固定し，抗 A 及び抗 B 試薬を一次抗体，FITC 標識抗体を二次抗体として反応させた。

1) 九州大学病院検査部

2) 九州大学病院遺伝子・細胞療法部

〔受付日：2018 年 1 月 11 日，受理日：2018 年 4 月 16 日〕

表1 血液型検査及び直接抗グロブリン試験 (DAT) 結果

	血液型検査							DAT			
	オモテ試験		ウラ試験		RhD		Rh フェノタイプ	IgG	C3b/C3d	control	判定
	抗 A	抗 B	A1 血球	B 血球	抗 D	control					
在胎 31 週	4+	4+	N.T	0	4+	4+	N.T	3+	3+	0	(+)
抗体解離試験後*	4+	4+	N.T	N.T	4+	0	C+c+E+e+	N.T	N.T	N.T	N.T
日齢 0	0	0	0	1+	0	0	C-c+E+e+	0	0	0	(-)
日齢 14	mf	0	0	1+	0	0	mf	0	0	0	(-)
日齢 27	mf	0	0	w+	0	0	N.T	0	0	0	(-)
日齢 48	mf	0	N.T	0	0	0	N.T	0	0	0	(-)
日齢 64	mf	0	N.T	N.T	0	0	N.T	0	0	0	(-)
日齢 83	mf	mf	N.T	N.T	mf	0	N.T	0	0	0	(-)
日齢 118	mf	mf	N.T	N.T	mf	0	N.T	0	0	0	(-)
日齢 146	mf	mf	N.T	N.T	mf	0	N.T	0	0	0	(-)
日齢 189	4+	4+	0	0	4+	0	C+c+E+e+	0	0	0	(-)

mf：部分凝集, N.T：未検査, IgG：抗 IgG 血清, C3b/C3d：抗 C3b/C3d 血清

*ガンマ EGA キットを用いて抗体を解離した赤血球浮遊液で検査実施

表2 出生時の臨床検査所見

<CBC>		<生化学>	
WBC	13.08×10 ³ /μl	TP	5.1 g/dl
RBC	2.56×10 ⁶ /μl	Alb	3.4 g/dl
Hb	7.8 g/dl	BUN	11 mg/dl
Ht	23.4 %	CRE	0.62 mg/dl
MCV	91.4 fl	UA	3.3 mg/dl
MCH	30.1 pg	T-Bil	5 mg/dl
MCHC	33.1 g/dl	D-Bil	0.1 mg/dl
PLT	230×10 ³ /μl	AST	29 U/l
		ALT	7 U/l
<凝固>		LD	416 U/l
PT	15.2 sec	ALP	757 U/l
PT-INR	1.24	AMY	6 U/l
APTT	72.3 sec	CK	202 U/l
Fib	228 mg/dl	CRP	0.02 mg/dl
FDP	7.7 μg/dl	GLU	88 mg/dl
DD	2.3 μg/dl	Na	137 mmol/l
		K	4.3 mmol/l
		Cl	104 mmol/l
		Ca	10.1 mg/dl

症 例

a. 母体情報

母体は1経妊1経産, A型RhD陰性. 第1子妊娠後期には既に抗D陽性であったため抗D免疫グロブリンは投与されなかった. 今回, 本症例である第2子を自然妊娠成立後, RhD不適合妊娠既往のため妊娠14週に当院紹介となった. 妊娠14週の母体抗D抗体価は128倍, 以降23週まで128倍で経過し, 28週, 30週に256倍に上昇した. 31週以降は抗体価測定を実施しておらず, 36週の出産直後には2,048倍であった. また, 母体から抗D以外の不規則抗体は検出されなかった.

b. 児の経過

<出生前>

妊娠31週に胎児の中大脳動静脈最大血流速度(mid-

dle cerebral artery peak systolic velocity : MCA-PSV)が1.6MoMを超えたため臍帯穿刺を実施したところ, Hb 6.7g/dl, Ht 20.2%の胎児貧血を認めた. 翌日, O型RhD陰性(C-c+E+e+)・サイトメガロウイルス抗体(以下CMV)陰性の分割した赤血球製剤(以下RBC)が約100ml臍帯血輸血され, 直後の臍帯血検査にてHb 10.6g/dl, Ht 30.6%に増加した. 輸血前検査では, オモテ試験はAB型, RhDはコントロールが陽性, DATは抗ヒトIgG血清と3+の凝集を認めた(表1). コントロールが陽性のため抗体解離試験後の赤血球浮遊液を用いて, 再度オモテ試験, RhDおよびRhフェノタイプ検査を実施したところ, オモテ試験AB型, RhD陽性(C+c+E+e+)と判定した. また, 胎児血漿中の抗D抗体価は64倍であり, DiaCidelによる抗体解離試験でも抗Dを検出した.

その後, 33週で再びMCA-PSVが1.5MoMを超え, 臍帯穿刺でHb 5.6g/dl, Ht 17.1%と胎児貧血を認めたため, 31週時と同じRBCが約130ml臍帯血輸血され, Hb 10.6g/dl, Ht 30.8%に増加した. この際胎児の血液型検査は実施しなかった. その後はMCA-PSVの上昇なく経過し, 胎児貧血のリスク回避のため36週に誘発分娩となった.

<出生後>

児は男児, 体重2,710g, アプガースコア8/9点で出生し, Hb 7.8g/dl, T-Bil 5.0mg/dlであった(表2). 輸血検査ではオモテ試験がO型, RhD陰性(C-c+E+e+), ウラ試験は抗Bが1+の陽性, DAT陰性, 抗D抗体価1,024倍であった. この結果が輸血前と乖離しており, 児赤血球が消失していると推測された(表1). また, PEG-IATにて母体および児の血漿とD抗原陽性血球をそれぞれ反応させた結果, 抗IgG1, 抗IgG2, 抗IgG3, 抗IgG4と4+, 0, 4+, 0の凝集を示し, 母体,

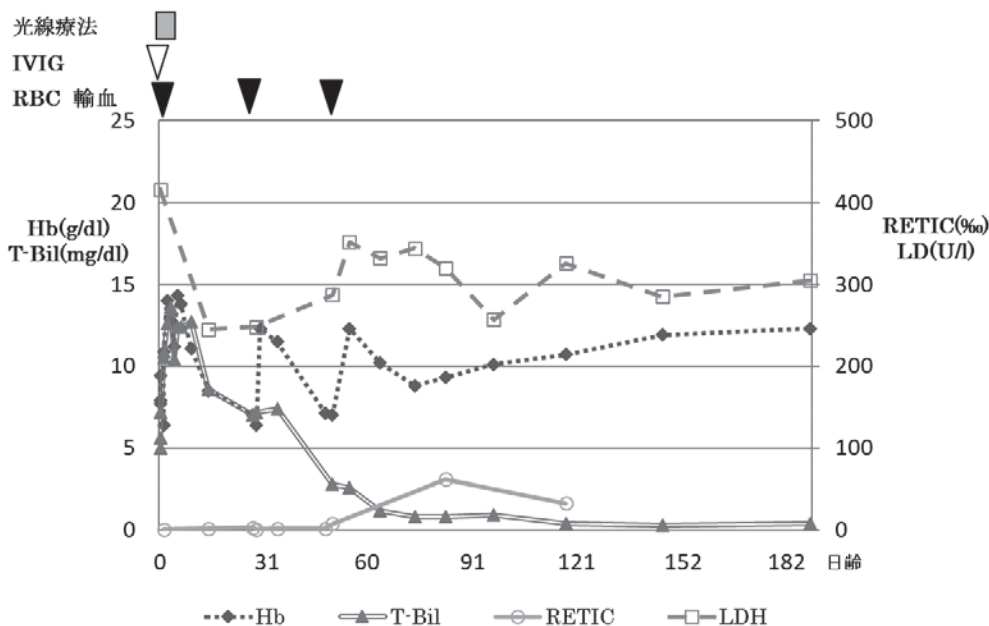


図1 出生後の治療および臨床検査データの推移

光線療法：日齢1～4，大量免疫グロブリン投与（IVIG）：日齢0に1.5g/kg，RBC輸血：日齢1，28，50

児どちらからも IgG1, IgG3 の抗 D を検出した。

治療としては T-Bil は光線療法基準に達しないが，出生時としてはやや高値であること，また胎児期の溶血性貧血のエピソードが考慮され，日齢0に大量免疫グロブリン投与（以下 IVIG）（1.5g/kg），日齢1～4に光線療法が施行され，日齢3の13.6mg/dlをピークに徐々に低下していった。また貧血に対して日齢1にA型RhD陰性・CMV陰性RBC60ml（20ml/kg）が輸血された。以降は緩徐な貧血進行のみで全身状態良好のため，日齢19に退院となった（図1）。

<外来フォロー>

退院後も，T-Bil 2.8～7.4mg/dl，LD 250～350U/lと溶血所見は乏しいものの緩徐に貧血が進行し，児赤血球が検出されないまま経過した。そこで，日齢28にはA型RhD陰性・CMV陰性RBCが70ml（20ml/kg），日齢50にはA型RhD陰性・CMV陽性RBCが80ml（20ml/kg）輸血された。その後，日齢74以降はHbが上昇傾向を示し，日齢83にはHb9.3g/dl，網状赤血球62%と児由来血球の産生が示唆され（図1），血液型検査で出生後初めてB抗原及びD抗原が部分凝集となった。児のB抗原量をフローサイトメトリー解析したところ，日齢64ではB抗原量0%であったが，日齢74で6.4%，日齢83で17.8%と漸増し（図2），以降は輸血の必要なく貧血が改善した。さらに，オモテ・ウラ試験が一致し，部分凝集も消失したのは日齢189であった（表1）。抗Bは日齢48に陰性化し，DATは出生後1度も陽転化していない。抗D抗体価は約2

週間おきの検査にて1～2管ずつ低値し，日齢146に抗Dの陰性化を確認した（図2）。

考 察

1973年より抗D免疫グロブリン投与が普及し，抗Dを保有する感作妊婦は著明に減少した。ごくまれに抗D免疫グロブリン投与前や，投与を受けたにも関わらず産生する例があるが¹⁾，初回妊娠中に産生する頻度は高くない¹⁾。しかし，抗DによるHDFNは重症例が多く^{3)～5)}，無治療であれば高度貧血のため胎児水腫を引き起こし，全身浮腫，胸腹水，肝腫大，心嚢水腫によって胎内死亡にいたることがある。妊娠34週未満で発症した場合は，胎外生存が可能となる週数まで胎児輸血が治療に有効となる。

本症例では第1子妊娠後期に抗D産生を認めたため抗D免疫グロブリンは投与されず，第2子妊娠初期には抗D抗体価128倍であった。妊娠28週に抗D抗体価の上昇，31週にMCA-PSVの上昇から胎児貧血を認めたため2回の胎児輸血が実施された。どちらも輸血後はHb10.6g/dlまで貧血が回復し，妊娠36週まで妊娠継続可能となった。

通常，胎児輸血ではO型RhD陰性RBCの使用が原則となり⁶⁾，母体が不規則抗体陽性である場合は抗原陰性血が必要である。さらに，胎児や新生児輸血にはCMV陰性血が推奨されるため⁶⁾⁷⁾，本症例の胎児輸血ではO型RhD陰性・CMV陰性RBCを第一に選択した。出生後の輸血においても児の血液型が未確定であることか

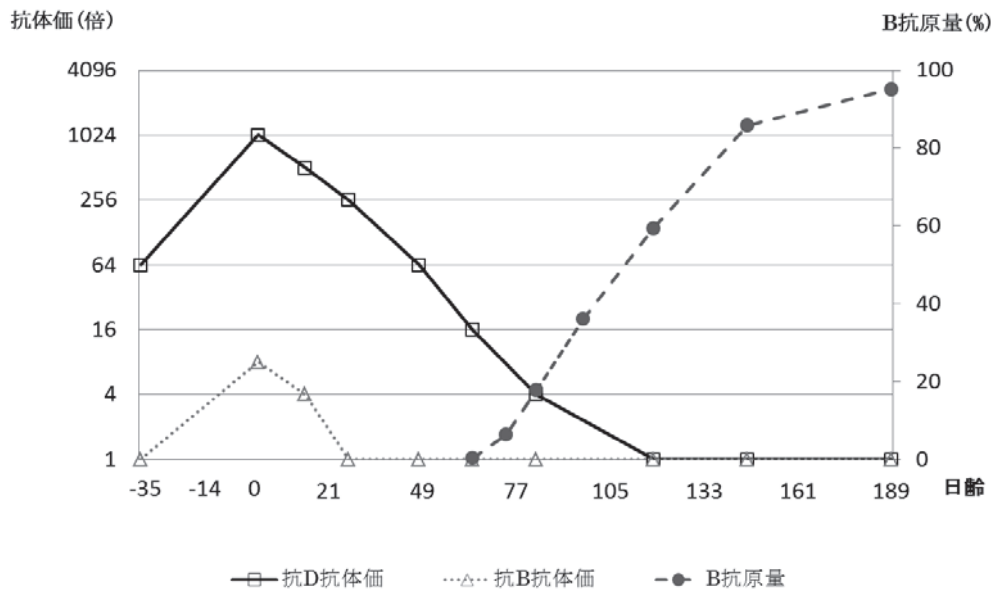


図2 児の抗D・抗B抗体価およびB抗原量の推移

日齢-35 (在胎31週)の抗D抗体価64倍から出生直後の日齢0では1,024倍へ上昇し、その後は徐々に低下した。4倍まで低下した日齢83からB抗原量が増加した。

ら、O型RhD陰性・CMV陰性RBCが望ましかったが、稀血のため供給が非常に困難であった。主治医と相談し、CMV陰性を優先するために胎児輸血前の血液型(AB型)及び母体由来の移行抗Bを考慮して適合血をO型もしくはA型とし、この旨が主治医より家族へ説明された。その結果、生後1カ月まではA型のRhD陰性・CMV陰性RBCが輸血可能となった。児の血液型を確認できていたため、適合血の選択肢を広げることができたと考える。

さらに、胎児輸血前の輸血検査を実施していたことより、AB型RhD陽性、DAT陽性であった児赤血球が完全に消失し、出生後にO型RhD陰性、DAT陰性の輸血製剤赤血球に置き換わっていることが確認できた。重症の胎児貧血に成人赤血球を輸血すると、2~3回の輸血後に胎児の赤血球産生は抑制され、胎児循環の赤血球は完全に成人赤血球に置き換わることがある⁸⁾。恐らく出生後の溶血が少なく黄疸及び貧血も軽度であったのは、児赤血球が完全に消失していたためと考えられる。その結果、交換輸血の必要はなくIVIGと光線療法のみで早期退院となった。

しかし、その後も緩徐な貧血進行を認め、日齢74まで児赤血球の出現を認めなかった。原因として、交換輸血未実施のため排除されずに残っていた高力価の抗Dによる溶血が考えられたが、出生後は溶血所見が乏しく、網状赤血球数も低値を示していたことから、赤血球が産生されていない可能性も考えられた。

赤血球産生抑制に抗体が関与するものとして、ABO major mismatch 造血幹細胞移植後に発症する後天性赤

芽球癆が知られており⁹⁾、レシipient由来の抗Aもしくは抗Bがドナー由来の赤血球系前駆細胞の分化・増殖を阻害することによって貧血が発症すると言われている。血漿中に赤血球と反応する抗体が存在した場合、不規則抗体でも赤血球産生が抑制され得ると考えられ、実際に抗Kellや抗Mによる赤血球産生抑制と思われるHDFN症例がある¹⁰⁾¹¹⁾。しかし、Dornらは抗Dにも同様に分化・増殖の阻害作用があるかを調べるため、in vitroで抗D含有母体血清とO型RhD陽性のヒトCD34+造血幹細胞をインキュベーションした結果、赤血球への分化・増殖が阻害されなかったと報告した⁵⁾。

本症例では、出生後の血清ハプトグロビン値測定や骨髓像の確認など積極的な原因検索を行っていないため、児赤血球の出現が遅延した機序は不明である。しかしながら、抗Dが高力価の期間中は児赤血球を検出できず、低下・消失後は児赤血球が順調に回復したことから、抗Dの影響が強く示唆される。Dornらの報告のように分化・増殖の段階で抗Dが阻害していないのであれば、その後の骨髓内で抗Dに感作された赤芽球系細胞が破壊されていた可能性が高いと考える。

結 語

胎児輸血後は輸血製剤赤血球と児赤血球が置き換わる恐れがあるため、胎児輸血前の児の血液型検査は必要と考える。また、本症例のように出生後に高力価の移行抗体が残っていた場合、児赤血球の出現が遅延し抗体価が低下するまで貧血進行の恐れがある。そのため、溶血所見が乏しい場合でも経時的に抗体価をモニ

タリングすることは重要である。

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：本論文作成にあたり、ご協力頂きました九州大学大学院医学研究院成長発達医学分野 大賀正一教授、九州大学大学院医学研究院 臨床医学部門生殖病態生理学分野 加藤聖子教授に感謝いたします。

文 献

- 1) 大戸 斉：新生児溶血性疾患と母児免疫，編者 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，東京，2004，511—525.
- 2) Verduin EP, Lindenburg IT, Smits-Wintjens VE, et al: Long-term neurodevelopmental outcome after intrauterine transfusion for hemolytic disease of the fetus/newborn. *BMC Pregnancy Childbirth*, 10: 77—83, 2010.
- 3) Burk CD, Malatack JJ, Ramsey G, et al: Misleading Rh phenotype and severe prolonged anemia in hemolytic disease of the newborn. *Am J Dis Child*, 141: 712—713, 1987.
- 4) 曲木行永，伊禮仁美，坪井浩美，他：頻回の血漿交換療法および胎児輸血により新生児溶血性疾患を回避し得た重症 Rho(D)不適合妊娠症例。倉敷中病年報，66：95—99, 2003.
- 5) Dorn I, Schlenke P, Härtel C: Prolonged anemia in an intrauterine-transfused neonate with Rh-hemolytic disease: no evidence for anti-D-related suppression of erythropoiesis in vitro. *Transfusion*, 50: 1064—1070, 2010.
- 6) 胎児輸血実施マニュアル作成ワーキンググループ：胎児輸血実施マニュアル，日本周産期・新生児医学会，2017.
- 7) 小児輸血ガイドライン検討タスクフォース：科学的根拠に基づいた小児輸血ガイドライン，日本輸血・細胞治療学会，2017.
- 8) Rodeck C, Whittle M: Red cell alloimmunization, *Fetal Medicine*, 2nd ed, ELSEVIER, Amsterdam, 2009, 567—577.
- 9) Gmur JP, Burger J, Schaffner A, et al: Pure red cell aplasia of long duration complicating major ABO-incompatible bone marrow transplantation. *Blood*, 75: 290—295, 1990.
- 10) Yasuda H, Ohto H, Nollet KE, et al: Hemolytic disease of the fetus and newborn with late-onset anemia due to anti-M: a case report and review of the Japanese literature. *Transfus Med Rev*, 28: 1—6, 2014.
- 11) Weiner CP, Widness JA: Decreased fetal erythropoiesis and hemolysis in Kell hemolytic anemia. *Am J Obstet Gynecol*, 174: 547—551, 1996.

DELAYED APPEARANCE OF NEONATAL RED BLOOD CELLS AFTER INTRAUTERINE FETAL TRANSFUSIONS FOR HEMOLYTIC DISEASE OF THE FETUS AND NEWBORN CAUSED BY ANTI-D

*Kanae Aoki*¹⁾, *Kyoko Yamaguchi*¹⁾, *Ayaka Matsuo*¹⁾, *Mari Enomoto*¹⁾, *Taeko Hotta*¹⁾, *Tomoko Henzan*²⁾, *Kenjiro Kamezaki*²⁾ and *Dongchon Kang*¹⁾

¹⁾Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Kyushu University Hospital

²⁾Center for Cellular and Molecular Medicine, Kyushu University Hospital

Abstract:

We report a case of hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) caused by anti-D with delayed appearance of RhD (+) red blood cells. The mother was gravid 1, para 1, and A-type RhD (-) and showed an anti-D titer of 1 : 128. The anti-D titer increased to 1 : 256 at 28 weeks of pregnancy. Intrauterine fetal transfusions were performed twice, at 31 and 33 weeks of pregnancy, after diagnosis of fetal anemia. Transfusion volumes were 100 ml and 130 ml, respectively. The newborn was delivered at 36 weeks by labor induction, at which time hemolysis and jaundice were mild and intravenous immunoglobulin (1.5 g/kg) was administered. The blood type of the newborn before intrauterine fetal transfusion was AB-type RhD (+); however, the blood typing test at birth showed O-type RhD (-) and the anti-D antibody titer was 1 : 1,024. This indicated that red blood cells derived from the newborn had disappeared and were completely replaced by the red blood cells from the blood products. Red blood cells derived from the newborn were detected for the first time on day 83 after birth when the anti-D antibody titer had decreased to 1 : 4. We speculate that delayed appearance of the newborn's red blood cells was due to the presence of anti-D. Blood typing before transfusion and serial monitoring of antibody titers should be performed when fetal blood transfusion is needed in a newborn with HDFN.

Keywords:

Rh incompatibility, hemolytic disease of the fetus and newborn, intrauterine fetal transfusion

©2018 The Japan Society of Transfusion Medicine and Cell Therapy

Journal Web Site: <http://yuketsu.jstmct.or.jp/>