

交換輸血を必要とした抗 Kg による新生児溶血性疾患の 1 症例

佐々木哲也¹⁾ 伊藤 正一²⁾ 萩山 佳子²⁾ 井上優花子¹⁾ 後藤 健治¹⁾
坂口 俊³⁾ 土屋 繁国⁴⁾ 鳥谷由貴子⁴⁾ 外館玄一郎⁴⁾ 松本 敦⁴⁾
高館 潤子¹⁾ 藤原 亨⁵⁾

低頻度抗原である Kg 抗原に対する抗体は新生児溶血性疾患 (HDN) を引き起こす重要な抗体として知られている。抗 Kg による HDN 症例は現在日本でのみ確認されており、報告例も少ない。今回我々は、低頻度抗原に対する抗体である抗 Kg による HDN 症例を経験したので報告する。症例は開業産婦人科で出生した男児。患児は血液型 O 型 RhD 陽性、不規則抗体検査陰性 (自己対照のみ陽性)、直接抗グロブリン試験 (DAT) 陽性であり、赤血球抗体解離液を使用した不規則抗体検査は陰性であった。HDN の原因は低頻度抗原に対する抗体と推定し、合成血調製後、交換輸血が実施された。東北ブロック血液センターに患児と両親の精査を依頼し、母親と患児血漿と患児赤血球抗体解離液から抗 Kg が同定された。本症例のように ABO 不適合や主な血液型抗原に対する不規則抗体が原因の HDN が否定されるも患児 DAT が陽性の場合、低頻度抗原に対する抗体の関与を考慮する。

キーワード：新生児溶血性疾患、低頻度抗原、抗 Kg、交換輸血

I. 緒 言

新生児溶血性疾患 (hemolytic disease of the newborn : HDN) の原因のひとつに母児間血液型不適合妊娠がある。母体は児赤血球に対し同種免疫反応を起こし、IgG 抗体が産生される。産生された IgG 抗体は胎盤を通過して児赤血球と免疫反応を起こすことで HDN を発症する¹⁾。日本人における HDN の約 65% が ABO 血液型不適合妊娠に起因する²⁾。HDN は Rh 血液型や Diego 血液型の不適合妊娠についても報告があり³⁾⁴⁾、なかでも低頻度抗原に対する抗体に起因した HDN は稀である。Kg 抗原は RHAG 遺伝子の変異により発現する低頻度抗原で、日本人における頻度は約 0.2% である⁵⁾。Kg 抗原に対する抗 Kg は HDN を引き起こす可能性が高いとされている⁶⁾が、報告例は少ない。今回我々は、院内検査で抗体同定が困難であった HDN 症例を経験し、精査の結果、抗 Kg が同定されたので報告する。

II. 症 例

患 者：生後 3 日の男児。妊娠 40 週 1 日で自然分娩。体重 2,614g, Apgar score 1 分値 9 点, 5 分値 10 点。

現病歴：開業産婦人科にて出生後、徐々に黄疸が増悪した。生後 3 日の採血結果より T-Bil 36mg/dl, D-Bil 3mg/dl と高値であったため、直ちに前医に搬送された。前医にて血液型不適合妊娠による重症黄疸と診断され、交換輸血目的で同日当院へ緊急搬送となった。患児搬送中、開業医と前医へ母親と患児の前情報を収集したところ、ABO 血液型は共に O 型 RhD 陽性、患児の直接抗グロブリン試験 (direct antiglobulin test : DAT) は抗 IgG (3+)、妊娠初期の母親の不規則抗体スクリーニングは陰性、母親の妊娠出産歴は 6 妊 6 産であった (Table 1)。患児到着後の輸血検査では、前情報通り DAT 陽性であったが患児の血漿と赤血球抗体解離液 (以下、解離液) を使用した不規則抗体スクリーニングは陰性のため、低頻度抗原に対する抗体の存在が疑われた。後日、患児と両親の検体を東北ブロック

1) 岩手医科大学附属病院中央臨床検査部

2) 日本赤十字社東北ブロック血液センター

3) 岩手県立宮古病院小児科

4) 岩手医科大学医学部小児科学講座

5) 岩手医科大学医学部臨床検査医学・感染症学講座

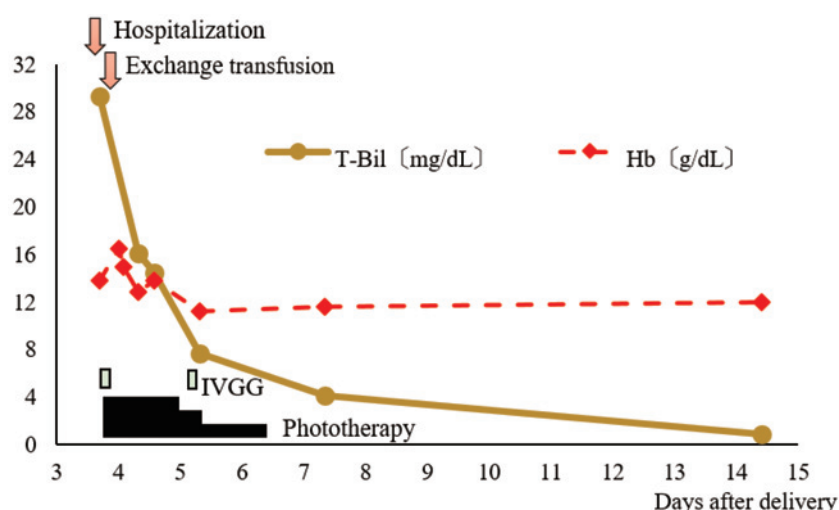
第 72 回日本輸血・細胞治療学会学術総会優秀演題

連絡責任者：佐々木哲也, E-mail : tetsuya-sasaki@umin.ac.jp

〔受付日：2024 年 9 月 20 日, 受理日：2024 年 12 月 11 日〕

Table 1 Information of the affected infant and his mother from the private obstetrician-gynecologist and the previous doctor

Subject	Blood groups	Direct antiglobulin test	Irregular antibodies screening	History of pregnancy and delivery
Infant	O, RhD +	Anti-IgG: 3 + Anti-C3b, C3d: 0	N.T	Gravida: 6 Para: 6
Mother	O, RhD +	N.T	Negative (11th week of pregnancy)	

Fig. 1 Progress of the affected infant after exchange transfusion
IVGG: Intravenous injection gamma globulin

血液センターにて精査したところ、母親と患児血漿と患児解離液から抗 Kg が同定された。また、父親と患児赤血球は Kg 抗原が陽性であった。

患児は当院到着時からアテトーゼ様の不随意運動や強直発作を繰り返し認めた。同日、交換輸血と共に免疫グロブリンの投与と光線療法が実施された。合成血は、交差適合試験陰性となった O 型 Ir-RBC-LR-2 を 2 袋と AB 型 FFP-LR240 を 2 袋で 750ml 調製し、交換輸血で 500ml 使用された。交換輸血前の血液検査では T-Bil 29.3mg/dl, D-Bil 3.3mg/dl, Hb 13.8g/dl, 交換輸血終了後は T-Bil 16.1mg/dl, D-Bil 1.8mg/dl, Hb 12.8g/dl であった。T-Bil の低下と共に光線療法の照射量も漸減し、生後 6 日には終了した (Fig. 1)。ビリルビンのリバウンドはなく、生後 14 日には T-Bil 0.9mg/dl まで改善した。生後 16 日に、頭部 MRI の検査所見と聴性脳幹反応検査で V 波の反応が見られなかったことから、ビリルビン脳症と診断された。生後 21 日には退院調整目的で紹介元へ転院となった。

成長過程：全般的な発達の遅れがあり、1 歳時点で頸定、座位の獲得に至っていない。

III. 当院における検査とその結果

1) ABO, RhD 血液型検査

試験管法で実施した。

結果：O 型 RhD 陽性

2) 不規則抗体スクリーニングと不規則抗体同定検査

Micro Typing System (MTS) で実施した。赤血球試薬 (Ortho Clinical Diagnostics) として、スクリーニング赤血球はサージスクリーン®とオーソ®ディエゴ A (Di^a) 血球、同定パネル赤血球はリゾルブ®パネル A を使用した。ID-Diluent 2 (Bio-Rad Laboratories) を用いて、スクリーニング赤血球と同定パネル赤血球を MTS 用赤血球浮遊液試薬に調製後、使用した。

結果：陰性、自己対照のみ (3+)

3) DAT

試験管法で実施した。多特異性抗ヒトグロブリン試薬、抗 IgG 試薬、抗補体試薬は Ortho Clinical Diagnostics のオーソ®グリーンクームス血清バイオクロン®, オーソ®抗ヒト IgG 血清 (ウサギ) グリーン, オーソ®バイオクロン®抗 C3b, C3d を使用した。

結果：多特異性抗ヒトグロブリン (3+), 抗 IgG (3+), 抗補体 (0)

Table 2 Testing results of the affected infant and his parents at the Japanese Red Cross Tohoku Block Blood Center

1) Serological Tests			
Subject	Blood groups	Identification of antibodies in plasma	IgG subclass of the anti-Kg antibody (FCM Analysis)
Infant	O, RhD +, Kg +	Anti-Kg antibody (also detected in the erythrocyte eluate)	IgG1
Father	O, RhD +, Kg +	Negative	N.T
Mother	O, RhD +, Kg –	Anti-Kg antibody (Titer ^{a)} 1:1,024)	IgG1
2) Genetic analysis of the 3rd exon of the <i>RHAG</i> gene ^{b)}			
Subject	Phenotype	Results ^{c)}	
Infant	Kg +	Heterozygous for RHAG*01 and RHAG*01. – 03	
Father	Kg +	Heterozygous for RHAG*01 and RHAG*01. – 03	
Mother	Kg –	Homozygous for RHAG*01	
3) FCM phagocytosis assay			
Materials		Titer ^{a)}	Phagocytosis (%) ^{d)}
Maternal serum (anti-Kg), Kg-positive red cells		1:1,024	97.0
Positive control (anti-D), Kg-positive red cells		1:256	88.1

a) Saline-indirect antiglobulin test.

b) Direct sequencing.

c) RHAG*01 (DSLK +, Kg -) is the wild type, and c.490A>C (p.Lys164Gln) mutation in 3rd exon of the RHAG gene results in the RHAG*01. - 03 (DSLK -, Kg +) variant.

d) Phagocytosis of 40% or less has low clinical significance, while phagocytosis of 60% or more has high clinical significance.

4) 解離液による不規則抗体スクリーニング

試験管法で実施した。解離液は、オーソ[®]DT 解離液 II (Ortho Clinical Diagnostics) により調製した。スクリーニング赤血球はサージスクリーン[®]とオーソ[®]ディエゴ A (Di^a) 血球を使用し、ガンマ PEG (Immunucor) を用いた PEG 添加間接抗グロブリン試験を実施した。

結果：陰性

5) 交差適合試験

2 袋の O 型 Ir-RBC-LR-2 の交差適合試験を MTS で実施した。

結果：陰性

IV. 東北ブロック血液センターで実施した精査

患児と両親の血清学的検査、遺伝子検査、単球貪食試験の結果 (Table 2) と、患児同胞の家系調査結果 (Fig. 2) を以下に示す。

1) 血液型検査

患児：O 型 RhD 陽性, Kg 陽性

父親：O 型 RhD 陽性, Kg 陽性

母親：O 型 RhD 陽性, Kg 陰性

父親と患児の赤血球は既知の抗 Kg と陽性反応を呈した。

2) 不規則抗体検査

患児血漿・解離液：抗 Kg

父親血漿：陰性

母親血漿：抗 Kg (抗体価：1,024 倍)

抗体価測定は反応増強剤無添加一間接抗グロブリン試験で実施した。母親血漿は、由来の異なる 3 例の Kg 陽性赤血球と全て陽性、母親と患児血漿と父親赤血球との反応は陽性であった。

3) フローサイトメトリーによる抗 Kg の IgG サブクラス測定⁷⁾

母親と患児血漿中の抗 Kg : IgG1

4) RHAG 遺伝子のエキソン 3 を対象とした直接シーケンス法による解析

患児と父親の対立遺伝子の一方に c.490A>C の遺伝子変異が検出され, Kg 陽性者に認められる RHAG*01. - 03 (DSLK -, Kg +) と一致した。

5) フローサイトメトリーを用いた単球貪食試験⁷⁾

母親血清と Kg 陽性赤血球との貪食率：97.0%

陽性コントロール (抗 D, 抗体価 256 倍)：88.1%

貪食率が 60% 以上となった抗体は臨床的意義が高いと評価した⁷⁾⁸⁾。

6) 患児同胞の家系調査

第 1, 3, 5 子において Kg 陽性が確認された。この同胞 3 名は出生時、特に臨床的問題はなく、光線療法の治療歴もない。

V. 考 察

HDN の原因には、ABO 血液型不適合妊娠で胎盤移行する IgG 性抗 A, 抗 B が最も多く、次いで Rh 血液型に関連した抗体によるものが多い²⁾。稀に抗原陽性類

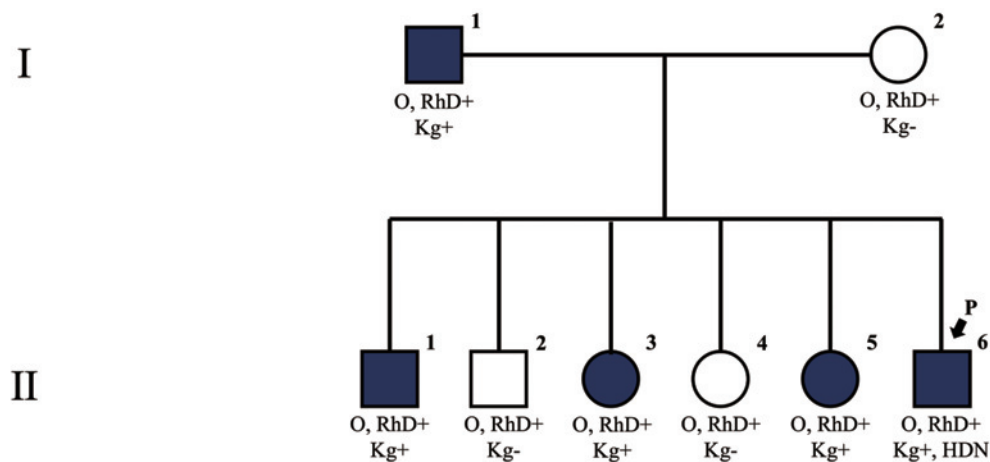


Fig. 2 Genealogy of the affected infant

The father, the affected infant, and his three siblings (II-1, II-3, II-5) were positive for Kg antigen and heterozygous for RHAG*01 and RHAG*01. -03. The top row shows the individual's ABO blood type and the bottom row shows the individual's Kg antigen. HDN, hemolytic disease of the newborn; P, proband

度 1% 未満である低頻度抗原に対する抗体に起因した HDN も発症しており、重症例も少数報告されている⁹⁾。

Kg 抗原は 1989 年に HDN の原因となった低頻度抗原として初めて報告された¹⁰⁾。その後、Kg 抗原は Rh 関連糖蛋白質 (Rh associated glycoprotein : RhAG) 上に発現しており、RHAG 遺伝子エクソン 3 の c.490A > C による pLys164Gln のアミノ酸置換が Kg 抗原発現の原因であることが報告された⁵⁾。この Kg 抗原に対する抗 Kg による HDN 症例は過去に 2 例のみ報告されており、両者とも交換輸血に至った重症例であった¹⁰⁾¹¹⁾。

本症例では、母親と患児血漿と患児解離液に抗 Kg が同定されたことから、患児へ胎盤移行した母親由来抗 Kg により、重症黄疸を伴う HDN が発症したと考えられた。また、本症例の抗 Kg は、抗体価 1,024 倍、食食率 97.0% と高値であることから、非常に臨床的意義を持つこと⁶⁾が示された。

HDN に関与する IgG 抗体のサブクラスには IgG1 と IgG3 があり、両者はマクロファージによる溶血を引き起こす¹²⁾。特に IgG1 は胎盤通過性に富んでおり¹³⁾、IgG3 に比べ HDN の重症度に寄与する報告がある¹⁴⁾。HDN の重症度には①胎盤を通過する抗体量、②妊婦 IgG 抗体のサブクラス、③抗体の胎盤通過時期、④胎児赤血球上の対応する抗原の存在と発達、⑤胎児の単球食細胞系の能力、が寄与する¹⁵⁾。本症例の抗 Kg は IgG1 であり、抗体価が 1,024 倍と高い。Kg 抗原が存在する RhAG は胎児早期から発現しており¹⁶⁾、胎児赤血球と抗 Kg との抗原抗体反応も早期に生じていた可能性がある。さらに、新生児の単球食食能は成人に匹敵する¹⁷⁾ことから、本症例は重症の HDN を発症したと考えられた。また、本症例は過去の症例報告と比べても高い T-Bil

の値を示している。久保ら¹¹⁾の報告では、抗 Kg 抗体価：1,024 倍、IgG サブクラス：IgG1 + IgG3 複合型 (IgG1 : IgG3 = 1 : 1)、交換輸血前患児 T-Bil (生後 5.5 時間後)：14.2mg/dl であるのに対し本症例では、抗 Kg 抗体価：1,024 倍、IgG サブクラス：IgG1 単独、交換輸血前患児 T-Bil (生後 3 日)：29.3mg/dl であった。本症例は、抗 Kg が IgG1 単独かつ出生後 3 日経過していたことが溶血の進行を助長し、T-Bil 高値となったと考えられた。

過去 2 例の抗 Kg による HDN 症例¹⁰⁾¹¹⁾では、共に 3 人目の Kg 陽性者が発端者であるが、本症例では 4 人目の Kg 陽性者が発端者となった。Kg 陽性の患児同胞 3 名が出生時に臨床的な問題なく経過した要因は、母親の抗体産生時期や IgG 抗体のサブクラスの関与が考えられた。妊娠回数によって抗 D を獲得する頻度は、2 回目が最も多いが、3 回目以降で初めて獲得する報告もある¹⁾。本症例の母親も出生 3 人目の Kg 陽性者で初めて抗 Kg を産生し、本症例妊娠時の二次免疫応答によって高力価に産生された抗 Kg が HDN に関与したと考えられた。また、3 人目までに抗 Kg を産生していたとしても、IgG サブクラスが IgG2 や IgG4 であれば高度な溶血に至りにくい¹²⁾。

妊娠出産に伴う同種免疫の原因に母児間輸血がある¹⁾。その頻度は妊娠週数や妊娠回数が増すにつれ高くなる¹⁸⁾。妊娠初期の不規則抗体スクリーニングが陰性でも、母児間輸血が原因で妊娠後期に陽転化する場合もあり、その頻度は 0.44% との報告もある¹⁹⁾。今回、患児搬送時に前情報である①母子共に ABO 血液型同型、②母親妊娠初期不規則抗体スクリーニング陰性、③患児 DAT 陽性、を得た時点では、妊娠後期に陽転化した同種抗体による HDN を疑った。当院の検査では患児 DAT

陽性、不規則抗体スクリーニング陰性であった。原因抗体の大半が患児赤血球に吸着した可能性も踏まえ、患児解離液による不規則抗体スクリーニングを行ったが陰性であった。以上の結果から低頻度抗原に対する抗体の関与が疑われた。しかし、不規則抗体検査用赤血球に低頻度抗原が含まれていることは少なく、低頻度抗原に対する抗体の検出は難しい。先の①～③に当てはまる HDN 症例では、妊娠後期に陽転化した同種抗体のほか、低頻度抗原に対する抗体に起因することも考慮する。特に患児解離液とスクリーニング赤血球が反応を示さない場合、低頻度抗原に対する抗体が原因である可能性が高い¹⁵⁾。

VI. 結 語

抗 Kg のような低頻度抗原に起因する抗体は院内検査のみでの同定は困難であるが、本症例のように、ABO 不適合や主な不規則抗体による HDN が否定されるも、患児が DAT 陽性である場合、低頻度抗原に対する抗体の関与を考慮する。

著者の COI 開示：伊藤正一、荻山佳子：血液製剤を製造・販売している日本赤十字社の社員である。本論文の内容は日本赤十字社の見解ではなく、筆頭著者自身のものである。

謝辞：抗 Kg の同定や同胞の家系調査を行って頂いた日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所、抗 Kg のモノクローナル抗体試薬を開発して頂いた日本赤十字社近畿ブロック血液センターの皆様へ深謝申し上げます。また、母親と患児の前情報提供と同胞の採血に協力して頂いた岩手県立宮古病院臨床検査技術科の皆様へ深謝申し上げます。

文 献

- 1) 前田平生, 大戸 斉, 岡崎 仁, 他：改訂第 4 版輸血学, 中外医学社, 東京, 2018, 598—600.
- 2) 宮崎澄雄, 古賀広幸, 赤塚順一, 他：小児溶血性貧血の全国調査成績. 日本小児血液学会雑誌, 6 : 437—440, 1992.
- 3) 亀山順治, 浮田昌彦：Rh 式血液型による新生児溶血性疾患の 9 例. 日本産婦人科・新生児血液学会誌, 1 : 65—70, 1991.
- 4) 中島八良, 尾沢彭宣, 砂川佐知子：日本人経産婦に認められた抗 Di^a の 2 例. 日本輸血学会雑誌, 22 : 161—165, 1976.
- 5) Tanaka M, Abe T, Minamitani T, et al: The Kg-antigen, RhAG with a Lys164Gln mutation, gives rise to haemolytic disease of the newborn. *Br J Haematol*, 191: 920—926, 2020.
- 6) Tanaka M, Horikawa T, Kusumi T, et al: Anti-Kg antibodies induce monocyte phagocytosis of the red blood cells. *Transfusion*, 61: 3050—3051, 2021.
- 7) Ito S, Hishinuma T, Ogiyama Y, et al: Evaluation of erythrocyte autoantibodies with flow cytometric phagocytosis assay. *Int J Blood Transfus Immunohematol*, 8: 1—7, 2018.
- 8) 伊藤正一：単球貪食試験による不規則抗体の評価とその臨床的意義. 検査と技術, 48 : 597—603, 2020.
- 9) Klein HG, Anstee DJ: Haemolytic disease of the fetus and the newborn, Mollison's blood transfusion in clinical medicine, 11th ed, Blackwell Publishing, Oxford, 2005, 496—545.
- 10) Ichikawa Y, Sato C, McCreary J, et al: Kg, a new low-frequency red cell antigen responsible for hemolytic disease of the newborn. *Vox Sang*, 56: 98—100, 1989.
- 11) Kubo S, Takahashi J, Yoshizawa H, et al: Male newborn with anti-Kg antibody-induced hemolytic disease of the newborn. *Pediatr Int*, 51: 582—584, 2009.
- 12) Klein HG, Anstee DJ: Immunology of red cells, Mollison's blood transfusion in clinical medicine, 11th ed, Blackwell Publishing, Oxford, 2005, 48—113.
- 13) Hashira S, Okitsu-Negishi S, Yoshino K: Placental transfer of IgG subclasses in a Japanese population. *Pediatr Int*, 42: 337—342, 2000.
- 14) Lambin P, Debbia M, Puillandre P, et al: IgG1 and IgG3 anti-D in maternal serum and on the RBCs of infants suffering from HDN: relationship with the severity of the disease. *Transfusion*, 42: 1537—1546, 2002.
- 15) Vengelen-Tyler V: The serological investigation of hemolytic disease of the newborn caused by antibodies other than anti-D. In: Garratty G, eds, Hemolytic disease of the newborn, American Association of Blood Banks, Arlington, Virginia, 1984, 145—167.
- 16) Daniels G, Green C: Expression of red cell surface antigens during erythropoiesis. *Vox Sang*, 78: 149—153, 2000.
- 17) Speer CP, Wieland M, Ulbrich R, et al: Phagocytic activities in neonatal monocytes. *Eur J Pediatr*, 145: 418—421, 1986.
- 18) Bowman JM, Pollock JM, Penston LE: Fetomaternal transplacental hemorrhage during pregnancy and after delivery. *Vox Sang*, 51: 117—121, 1986.
- 19) 千葉 想, 奥田靖彦, 笹津聡子, 他：妊娠中の不規則抗体陽性化についての検討. 山梨産科婦人科学会雑誌, 12 : 10—14, 2021.

A CASE OF HEMOLYTIC DISEASE OF THE NEWBORN DUE TO ANTI-KG REQUIRING EXCHANGE TRANSFUSION

Tetsuya Sasaki¹⁾, Shoichi Ito²⁾, Yoshiko Ogiyama²⁾, Yukako Inoue¹⁾, Kenji Goto¹⁾, Shun Sakaguchi³⁾, Shigekuni Tsuchiya⁴⁾, Yukiko Toya⁴⁾, Genichiro Sotodate⁴⁾, Atsushi Matsumoto⁴⁾, Junko Takadate¹⁾ and Tohru Fujiwara⁵⁾

¹⁾Iwate Medical University Hospital Central Laboratory Department

²⁾Japanese Red Cross Tohoku Block Blood Center

³⁾Department of Pediatrics, Iwate Prefectural Miyako Hospital

⁴⁾Department of Pediatrics, School of Medicine, Iwate Medical University

⁵⁾Department of Laboratory Medicine and Infectious Diseases, School of Medicine, Iwate Medical University

Abstract:

Antibodies against Kg-antigen, a low-frequency antigen, are known to cause hemolytic disease of the newborn (HDN), although few reports of this have appeared. Here, we report a case of HDN caused by anti-Kg, namely antibodies against this low-frequency antigen. The case patients was a 3-day-old boy with progressive jaundice after birth. He was transferred as an emergency to our hospital from the previous hospital for exchange blood transfusion. The patient was O-type RhD +, negative for irregular antibody test, positive for direct antiglobulin test (DAT), and negative for irregular antibodies test using erythrocyte elution. The cause of his HDN was presumed to be antibodies against low-frequency antigens, and after preparing compatible blood, an exchange transfusion was performed. Detailed examination of the patient and his parents by the Tohoku Block Blood Center resulted in the identification of anti-Kg in the mother's and the patient's plasma. In cases like this, where HDN due to ABO incompatibility or major irregular antibodies is ruled out but the patient's DAT is positive, the involvement of antibodies against low-frequency antigens should be considered.

Keywords:

Hemolytic disease of the newborn, Low-frequency antigen, Anti-Kg, Exchange blood transfusion