

原 著

[原著]

IgM型HLAクラスI抗体が血小板輸血不応状態に 関与したと考えられる1症例

埼玉県赤十字血液センター¹⁾、新潟県赤十字血液センター²⁾、新潟市民病院 血液科³⁾、臨床検査科輸血室⁴⁾ 二上由紀¹⁾、井上 進¹⁾、田原綾乃¹⁾、岡崎晃士¹⁾、小林洋紀¹⁾、加藤尚美¹⁾、森田庄治¹⁾、石島あや子¹⁾、柴田洋一¹⁾、南 陸彦¹⁾、富樫田鶴子²⁾、新國公司³⁾、齊藤治重⁴⁾、伊藤京子⁴⁾、細貝みゆき⁴⁾、鈴木典子⁴⁾

Platelet transfusion refractoriness suspected to be caused by an IgM anti-HLA class I antibody—Report of a case

Saitama Red Cross Blood Center¹⁾, Niigata Red Cross Blood Center²⁾,

Department of Hematology, Niigata City General Hospital³⁾,

Department of Clinical, Niigata City General Hospital⁴⁾

Yuki Futakami¹⁾, Susumu Inoue¹⁾, Ayano Tahara¹⁾, Koji Okazaki¹⁾,

*Hironori Kobayashi¹⁾, Naomi Kato¹⁾, Syoji Morita¹⁾, Ayako Ishijima¹⁾, Yoichi Shibata¹⁾,
Mutsuhiko Minami¹⁾, Tazuko Togashi²⁾, Koji Nikkuni³⁾, Harushige Saito⁴⁾, Kyoko Ito⁴⁾,*

Miyuki Hosogai⁴⁾ and Noriko Suzuki⁴⁾

抄 錄

血小板輸血不応状態(platelet transfusion refractoriness: 以下PTR)の原因として、HLAクラスI抗体がPTRに関与することは数多くの報告があり、少數例ではあるが、IgM型HLAクラスI抗体(以下IgM-HLA抗体)が関与した報告もある。

今回、PTRが疑われる患者のHLA・HPA検査を行い、IgM-HLA抗体がPTRに関与したと考えられる症例を経験した。HLA型および抗体特異性による輸血効果の比較検討を行った結果、IgM-HLA抗体の特異性に対応する抗原を持つ輸血では輸血効果が得られず、それに対応する抗原を持たない濃厚血小板HLA「日赤」(platelet concentrate HLA: 以下PC-HLA)では輸血効果を確認できた。

PTRを疑う患者でPTRを惹起させる非免疫学的要因がなく、HLA抗体スクリーニング検査でIgM-HLA抗体が疑われる時には精査を実施する必要があると考えた。

Key words: IgM anti-HLA class I antibody, platelet transfusion refractoriness, corrected count increment

はじめに

血小板輸血は、血小板数の減少または機能の異常に伴う重篤な出血ないし出血の予測される病態

に対して、血小板成分を補充することにより止血を図り、または出血を防止することを目的として行われる。血小板上には、ABO血液型抗原やヒ

ト血小板抗原(human platelet antigen: 以下HPA)の他、ヒト白血球抗原(human leukocyte antigen: 以下HLA)などの同種抗原が存在しており、中でもHLAは抗原性が強く、また、高い多型性を持っているため、長期にわたり血小板輸血を繰り返すとさまざまな特異性を持ったHLA抗体が產生される可能性がある。

PTRの原因には、同種抗体などの免疫学的機序によるものと、発熱、感染症、播種性血管内凝固症候群(disseminated intravascular coagulation syndrome: 以下DIC)、脾腫大などの非免疫学的機序によるものがある。HLAクラスI抗体がPTRに関与することは数多くの報告があり^{1)~3)}、少数例ではあるが、IgM型HLAクラスI抗体(以下IgM-HLA抗体)が関与した報告もある^{4), 5)}。今回、IgM-HLA抗体がPTRに関与したと考えられる症例を経験したので輸血効果と併せて報告する。

症例と方法

1. 症 例

73歳男性、急性骨髓性白血病。直近2回のランダム血小板輸血後に臨床症状の改善がなく、患者側にPTRを惹起させる非免疫学的要因(脾腫、DIC、感染症はFocus不明)も認められないと、当血液センターにHLA・HPA抗体検査を依頼された。

2. 検査方法

1) HLA抗体検査

リンパ球細胞障害性試験(lymphocyte cytotoxicity test: 以下LCT法)、抗ヒト免疫グロブリーン-LCT法(anti-human immunoglobulin-LCT: 以下AHG-LCT法)を実施し、湧永製薬社製のWAKFlowHLA抗体クラスI(MR)(以下MR)を用いてLuminex社のxMAPテクノロジーを利用した蛍光ビーズ法を実施した。追加検査としてONE LAMBDA社製のFlow Cytometric Reagents for Detection of Panel-Reactive antibody against HLA Class I antigen(以下FlowPRA)をFlowPRA-ScreeningおよびFlowPRA-SingleAntigenを用いて実施した。FlowPRAの二次抗体は添付のfluorescein isothiocyanate(以下FITC)標識抗ヒト

IgG(以下抗ヒトIgG)およびBIOSOURCE社製のFITC標識抗ヒトIgM(以下抗ヒトIgM)を用いた。

2) HPA抗体検査

ヒト血小板抽出抗原が固相されたプレートを使用するBECKMAN COULTER社製のMPHA-スクリーンを用いてMagnetic-Mixed passive hemagglutination法⁶⁾(以下M-MPHA法)を実施した。

結 果

1. 検査結果

HLA抗体検査はLCT法、AHG-LCT法はいずれも陰性。MRは自動判定では陰性であったが、蛍光シグナルの強度に抗原の偏りが見られHLA抗体の存在が疑われた。MRはLCT法、AHG-LCT法と比較して検出感度が高く、IgMおよびIgG-HLA抗体を検出可能であること、またM-MPHA法では抗ヒトIgG感作磁性粒子を使用しているためIgM-HLA抗体は検出できないことから低力価のIgG抗体やIgM抗体の存在を否定できないため、追加検査としてFlowPRA-Screeningを実施した。その結果、抗ヒトIgGでは陰性、抗ヒトIgMではHLA抗体の存在が疑われる弱陽性であった。さらに、FlowPRA-SingleAntigenでは抗ヒトIgGでA24、抗ヒトIgMでA24+B38,46,51,52,54,59の特異性が認められた。HPA抗体検査は陰性であった(表1)。

2. 抗体特異性の変化

臨床的効果がみられなかったランダム血小板の輸血日は4/17と4/19であり、4/21採血の血清でHLA・HPA抗体検査を実施した。効果の見られなかった輸血前の血清(4/16採血)からも4/21採血の血清とほぼ同じ特異性の抗体が認められた。その後三ヶ月間、経時的に検査を実施したが、抗体の特異性に特記すべき変化はなく、IgMからIgGにクラススイッチすることもなかった(表2)。

3. HLA型および抗体特異性による輸血効果の比較

レトロスペクティブにHLA型と抗体特異性を検討したところ、輸血効果がなかった2回のランダム血小板のHLA型はHLA-A2,31B46,56Cw1,4およ

表1 検査結果

検査方法		(標識抗体)	判定	抗体特異性
LCT, AHG-LCT			陰性	
WAKflowHLA抗体クラスI (MR)			陰性*	*自動判定では陰性であるが、蛍光シグナルの強度に偏りが見られた (A24+B52,54)
HLA抗体	FlowPRA-Screening	(IgG)	陰性	
		(IgM)	弱陽性	
	FlowPRA-SingleAntigen	(IgG)	陽性 A24	
HPA抗体	FlowPRA-SingleAntigen		(IgM)	陽性 A24+B38,46,51,52,54,59
	MPHA-スクリーン			陰性

表2 抗体特異性の変化

採血日	4.16	4.19	4.21	5.10	5.24	6.7	6.23	7.7	7.21
IgG-HLA抗体	A24	A24	A24	A24	A24	A24	A24	A24	A24
	A24	A24	A24	A24	A24	A24	A24	A24	A24
	B38	B38	B38	B38	B38	B38	B38	B38	B38
	B46	B46	B46	B46	B46	B46	B46	B46	B46
	B51	B51	B51	B51	B51	B51	B51	B51	B51
			B52		B52	B52	B52	B52	B52
	B54	B54	B54	B54	B54	B54	B54	B54	B54
				B56	B56		B56	B56	B56
	B59	B59	B59	B59	B59	B59	B59	B59	B59

びHLA-A2-B54,56Cw1,4であり、抗体特異性はIgG型HLAクラスI抗体(以下IgG-HLA抗体)でA24、IgM-HLA抗体でA24+B38,46,51,52,54,59であった。このことから、この2回のランダム血小板のPTRはB46、B54によるものと推定された。その後のPC-HLAではIgM-HLA抗体に対応する抗原を除外することで輸血効果を確認できた(表3)。

考 察

血小板の輸血効果については、臨床症状の改善の有無および血小板数の増加の程度で評価するとしており、血小板数の増加の程度は輸血後約1時間の補正血小板増加数(corrected count increment: 以下CCI)が7,500/ μ L以上、翌朝または24時間後のCCIが4,500/ μ L以上で有効とされる⁷⁾。4/17と4/19のランダム血小板輸血においては輸血後の血小板数の算定がなく、CCIによる効果判定は不明で、臨床的効果判定は口腔内出血の改善が見られないとの評価であった。その後の

HLA適合血小板輸血ではCCIによる効果判定は有効、臨床的効果判定(口腔内出血の改善)も認められ、共に有効の評価だった。

効果の見られなかった輸血前の血清(4/16採血)からも輸血効果が見られないと判断された時(4/21採血の血清)とほぼ同じ特異性の抗体が認められたことから検出された抗体は、4/17、4/19の輸血により產生された抗体ではなく、4/16以前の輸血により產生された抗体と考えられる。

輸血効果がなかった2回のランダム血小板のHLA型と抗体特異性から、この2回のPTRの原因是IgG-HLA抗体-A24によるものではなく、IgM-HLA抗体B46、B54によるものと推定された。その後のIgM-HLA抗体に対応する抗原を含まないPC-HLAでは輸血効果が見られたことからIgM-HLA抗体がPTRの原因として関与した可能性が考えられた。

HLA抗体によって血清学的に認識される各HLA抗原分子の同種抗原エピトープがHLA抗原間で共

表3 血小板製剤のHLA型と輸血効果

輸血日	血小板数測定値($\times 10^4$)			CCI		臨床症状の改善	HLA型	血小板製剤
	輸血前	1時間後	24時間後	1時間CCI	24時間CCI			
2010.4.17	1.2					無	A2,31B46,56Cw1,4	ランダム血小板
2010.4.19	0.8						A2,B54,56Cw1,4	
2010.4.30	0.4	2.8		16758		有	A11,B62,Cw4,-	
2010.5.6	0.6		2.2		9760		A33,B44,Cw14,-	PC-HLA

通することが確認されている。共通のアロ抗原エピトープを示す抗原は、HLA分子に共通のアミノ酸配列をもち、類似した抗原構造を有するため、B52抗原はB51抗原と、B56抗原はB54抗原と強い交差反応性を示すと言われる。今回、採血日により検出される抗体特異性に違いが見られた。この原因として、検出されたB52抗体、B56抗体は低力価であり、わずかな抗体価の違いにより検査結果に違いが生じたと考えられ、交差反応性を示すB51抗体、B54抗体が陽性であることからB52抗体、B56抗体が陰性と判定された血清中にも検出感度以下のB52抗体、B56抗体が産生されていたと推定された。また、三ヵ月後にはB46抗体、B51抗体が検出感度以下となっていたが、PC-HLA供給後は患者のHLA型の抗原性に類似する血小板製剤を輸血していたため、新たな抗体感作が誘導されなかった可能性が考えられた。

免疫抗体産生機序において、IgM抗体が最初に産生され、その後IgGにクラススイッチするのが一般的と考えられているが、今回の症例では三ヵ月経過後もIgGにスイッチしなかった⁵⁾。

斎藤らは、PTR患者121人の凍結保存血清についてHLA抗体スクリーニングを実施した結果、48症例からIgM-HLA抗体が検出されたと報告している。さらに、その48症例中7症例計74回の輸血において、IgM-HLA抗体の特異性に対応する抗原を持たない輸血では輸血効果を得ることができたが、対応する抗原を持つ輸血では輸血効果を得られなかつたとしている⁴⁾。一般的にIgM-HLA抗

体はPTRとの関係において臨床的に重視されていないため、多くの施設ではHLA抗体スクリーニングに際し、IgM-HLA抗体の検出は行われていない。

これまで血液センターではPC-HLAを供給するための交差適合試験としてAHG-LCT法を用いていたが、より高感度なImmunocomplex Capture Fluorescence Analysis(以下: ICFA)法が導入されている。ICFA法ではIgG-HLA抗体のみが検出対象となり、IgM-HLA抗体の検出は考慮されていないため、ICFA法による交差適合試験陰性の結果であってもIgM-HLA抗体によりPTRが起こる可能性は否定できない。PTRを疑う患者でPTRを惹起させる非免疫学的要因がなく、MRでIgM-HLA抗体が疑われる時には精査を実施する必要があると考えられた。

PC-HLA供給時に実施する交差適合試験に使用する患者血清は場合により採血後数週間経過していることもあり、その間に新たな抗体が患者に産生されていることも考えられる。また、新しく採血された血清でも交差適合試験の検出感度以下の抗体が存在する場合も考えられる。この対策として、当血液センターでは医療機関に輸血効果票の記入と提出をお願いし、これをもとにCCIを算定し、効果がない場合は必要に応じて精査を実施している⁶⁾。今後も、輸血効果票を活用し、より臨床的に有効な血小板製剤の供給に努めたいと思う。

文 献

1) 斎藤敏: 平成18年度日本組織適合性学会 認定 HLA検査技術者講習会テキスト

2) 安田広康ほか: 血小板混合凝集法(MPHA)で検出される低力価HLA抗体による血小板輸血不応. 医学検査, 48: 1007-1014, 1999.

- 3) 斎藤敏ほか：免疫学的血小板輸血不応症例の解析—血小板輸血効果の向上のために、日本輸血学会誌, 51:520-529, 2005.
- 4) 斎藤敏ほか：IgM型HLAクラスI抗体の血小板輸血不応状態への関与—PTR患者における免疫グロブリンクラス別HLA抗体陽性率—、日本輸血学会誌, 52:405-413, 2006.
- 5) 藤野恵三ほか：anti-PLT・オリビオ・MPHAで検出できないIgMタイプHLA抗体による血小板輸血不応症例(抄録), 日本輸血学会誌, 50:296, 2004
- 6) 森田庄治ほか：磁性粒子を応用した迅速な血小板抗体検出の試み, 血液事業, 25:33-40, 2002.
- 7) 厚生労働省：「輸血療法の実施に関する指針」(改定版)および「血液製剤の使用指針」(改定版), 平成19年7月・11月, 平成21年2月一部改正対応版, 2009. 6月
- 8) 飯野美穂ほか：血液センターにおけるPC-HLA輸血効果判定の現状—CCI情報提供前後の比較—, 埼臨技会誌, 57:86-91, 2010.