

原 著

[原著]

まれな血小板特異抗体に起因したと考えられる
血小板輸血不応答症例大阪府赤十字血液センター¹⁾，済生会野江病院²⁾稲葉洋行¹⁾，樋本陽子²⁾，西海真弓¹⁾，岡 綾子¹⁾，尼岸悦子¹⁾，勝田通子¹⁾，
小島芳隆¹⁾，松山宣樹¹⁾，高 陽淑¹⁾，福森泰雄¹⁾，松倉晴道¹⁾，河 敬世¹⁾A case of platelet transfusion refractoriness caused
by a rare specific platelet antibody*Osaka Red Cross Blood Center¹⁾, Saiseikai Noe Hospital²⁾*Hiroyuki Inaba¹⁾, Yoko Himoto²⁾, Mayumi Nishiumi¹⁾, Ayako Oka¹⁾, Etsuko Amakishi¹⁾,
Michiko Katsuda¹⁾, Yoshitaka Kojima¹⁾, Nobuki Matsuyama¹⁾, Yangsook Koh¹⁾,
Yasuo Fukumori¹⁾, Harumichi Matsukura¹⁾ and Keisei Kawa¹⁾

抄 録

患者は70歳の男性，血小板減少のため，血小板輸血を開始したが，その後，血小板輸血不応(Platelet transfusion refractoriness ; PTR)となりHLA class I 抗体検査を実施した。HLA class I 抗体検査は蛍光ビーズ法，血小板特異抗体検査はMPHA法とModified Rapid MAIPA法を行った。PC-HLAの交差適合試験はLCT法・AHG-LCT法を用い，合わせてドナー血小板を用いMPHA法を行った。その結果，患者血清中にHLA class I 抗体を検出し，これに適合したPC-HLAを輸血した。しかし，2回にわたりPTRを認め，2回のPTR後血清を精査したところ，1回目のPTR後血清からは輸血された血小板製剤によって産生したと考えられるHLA class I 抗体を，2回目のPTR後血清からは1回目に検出されたHLA class I 抗体とHPA-6b抗体を検出した。その後，HLA class I 抗原適合，HPA-6b抗原陰性のPC-HLAを輸血し，輸血効果を認めた。

Key words: Platelet transfusion refractoriness, Anti-HPA-6b

【はじめに】

血小板特異抗体が，血小板輸血不応答(Platelet transfusion refractoriness ; PTR，以下PTRと略す)や輸血後紫斑病(Post-transfusion purpura ; PTP，以下PTPと略す)，新生児血小板減少(Neonatal alloimmune thrombocytopenic ; NAIT，以下NAITと略す)などの疾患を引き起こす原因となる事は

広く知られている。

また，我が国で報告された血小板特異抗体は，HPA-3a，-3b，-4a，-4b，-5a，-5b，-6bが³⁾NAIT症例¹⁾で，また抗HPA-2b，-5a抗体がPTR症例^{2)~4)}で検出されるなど，抗体の検出や抗体が及ぼす臨床症状に特徴的な傾向が見られる。その中でも，今回検出した抗HPA-6b抗体は，その多くがNAIT症

例^{5)~7)}から検出, 報告されており, 抗HPA-6b抗体が原因と考えられるPTRの報告例は僅かである⁸⁾。

今回我々は, 濃厚血小板HLA(Platelet concentrate HLA; PC-HLA, 以下PC-HLAと略す)を供給したがPTRを認め, 精査の結果PTRに関与したと考えられるHLA class I 抗体とHPA-6b抗体を検出しその後, HLA class I 適合, HPA-6b抗原陰性のPC-HLAを輸血し, 輸血効果が認められた症例に遭遇した。

【方 法】

1. 患者の背景

患者は70歳男性, O型, Rh(D)陽性, 8年前脳梗塞を発症し, 近医にて治療が行われていた。2009年9月, 血小板減少を認めたため, 精査加療の目的で転院となり, 転院先の医療機関にて治療を開始した。その後, 病状が改善し, 血小板数も回復傾向であったが, 再び血小板数の減少を認め, 医療機関において原因特定の目的で複数の検査を実施した。

検査の結果から, 患者は血管炎症候群の発症が疑われたため, 薬剤治療を試みるが血小板数の回復は認められず, 血小板製剤の輸血を再開, その後PTRとなり, 2009年12月, 当施設にてPC-HLAの輸血を目的とした抗体検査を実施した。

2. HLA抗原型と血小板型タイピング

患者のHLA抗原(Human leukocyte antigen; ヒト白血球抗原, 以下HLA抗原と略す)と血小板型は患者全血から市販のQuick Gene DNA Whole Blood Kit S (FUJIFILM社)を用いてDNAを抽出した後, PCR-sequence specific oligonucleotide (PCR-SSO法)を用いたDNAタイピングキット, ジェノサーチHLA-A, -B, -CとジェノサーチHPA (株式会社医学生物学研究所)を使用して決定した。

3. 患者血清中の抗体検査

HLA class I 抗体はフローサイトメトリーを原理とするLuminex200(Luminex社)と蛍光ビーズを使用し, LABScreen PRA I(One lambda社)を用

いて抗体スクリーニング検査を実施後, 同様の蛍光ビーズ法であるLABScreen Single Antigen(One lambda社)を使用して同定した。

また, 混合受身凝集法(Mixed passive hemagglutination: MPHA, 以下MPHAと略す)による血小板特異抗体スクリーニング検査は, 市販のAnti-HPA MPHAスクリーニングキット(BECKMAN COULTER社)とHPA-6b抗原を含む献血者由来自家製パネルを用いて行った。

そして, 検出された血小板抗体は, 血小板膜蛋白と数種類のモノクローナル抗体を反応させ血小板特異抗体を検出するModified Rapid MAIPA法(Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigen)と再度, 血小板抗体スクリーニング検査と同一の献血者由来自家製パネルを使用してMPHA法を行い, その検査結果を考慮し特異性を同定した。

4. HLA交差適合試験

HLA交差適合試験はリンパ球細胞毒性試験(Lymphocyte cytotoxicity test; LCT, 以下LCTと略す)と抗ヒト免疫グロブリンLCT (Anti-human immunoglobulin-LCT; AHG-LCT, 以下AHG-LCTと略す)法, 血小板交差試験としてMPHA法を使用した。

5. 輸血効果の評価

血小板の輸血効果は補正血小板増加数(Corrected count increment: CCI, 以下CCIと略す)を用いて評価を行い1時間値が $7,500/\mu\text{L}$ 以上を有効とした。

【結 果】

1. 患者のHLA抗原型と血小板型

患者のHLA 抗原型はHLA-A26, A31, B39, B62, Cw7, Cw9で血小板型はHPA-1a/a, -2a/b, -3a/a, -4a/a, -5a/a, -6a/a, Nak^{at}であった。

2. 患者血清中の抗体検査

患者の初回検査時のHLA class I 抗体検査結果はHLA-B51, A23, A24などに反応するHLA class I 抗体を検出した。

HLA class I 抗体検査後、PC-HLA輸血を開始した。1回目から16回目までのPC-HLA輸血製剤のHLA型等を表1に、輸血効果を図1に示した。ただし、第1回目の輸血と第3回の輸血は患者の急激な状態悪化のため、交差適合試験が間に合わず、医療機関と協議の上、HLA class I 抗原適合の血小板製剤を輸血した。そして、この3回目(1月5日)に輸血した血小板製剤によって、1回目のPTRを認めた。

そのため、PTR後の患者血清を用いてHLA class I 抗体検査を実施したところ、3回目に輸血した血小板製剤の持つHLA-A11抗原に対するHLA class I 抗体の増加を確認した。そこでHLA-A11抗原を許容抗原から外したHLA適合ドナープールを再構築し、PC-HLAを輸血した結果、輸血効果を認めた。しかし、8回目(1月12日)、再度PTRを起こしたため、この2回目のPTR後血清を使用して、HLA class I 抗体検査の再検査を実施したが、HLA class I 抗体の特異性は、1回目のPTR後の血清の検査結果と相違が見られなかった。

一方、市販のMPHAスクリーニングパネルと献

血者由来自家製血小板パネル(以下、自家製パネルと略す)を使用したMPHAによる血小板特異抗体検査は、クロロキン処理後の自家製パネルに検査依頼時から弱陽性の反応を認めており、患者血清中に血小板特異抗体の存在を疑っていた。しかし、患者血清中には、HLA class I 抗体が存在していたため、検査依頼時には適格な自家製パネルの選択がおこなえず、検査依頼時のMPHA法では抗体同定に至らなかった。

しかし、その後、PTRの原因を特定するためModified rapid MAIPAと再度、自家製パネルのMPHAを実施し、検査可能であった2回目のPTR後の血清中にHPA-6b抗体を検出した。

3. HLA交差適合試験

PC-HLA供給時のLCT法・AHG-LCT法でのHLA交差適合試験はすべて陰性であった。同時に実施したMPHA法での血小板交差適合試験は、2回目のPTR発生時血清以外(8回目の1月12日の輸血)、陽性反応は認めなかった。また、3回目の輸血でPTRを認めた血小板製剤は緊急出庫のため

表1 輸血血液のHLA型・HPA-6b型と輸血効果

輸血回数	輸血日	ABO	HLA			HPA-6b 抗原	クロスマッチ		輸血効果
			A	B	C		AHG-LCT	MPHA	
1	12月25日	O	11, —	55, 60	w1, w10	—	N.T.	N.T.	有効
2	12月29日	O	26, —	39, 62	w4, w7	N.T.	—	—	有効
3	1月 5日	O	11, 31	60, 62	w7, —	+ ¹⁾	+ ²⁾	+ ²⁾	不変
4	1月 6日	O	26, 26	61, 62	w9, w10	—	—	—	有効
5	1月 7日	O	26, —	61, 62	w9, —	—	—	—	不変
6	1月 9日	O	26, —	61, 62	w9, w10	—	—	—	有効
7	1月10日	O	26, —	54, 62	w1, w9	—	—	—	有効
8	1月12日	O	26, —	61, —	w9, —	+	—	+ ³⁾	悪化
9	1月13日	O	26, —	61, 62	w1, w10	—	—	—	有効
10	1月15日	O	26, 33	48, 54	w1, —	—	—	—	有効
11	1月16日	O	26, —	60, 61	w10, —	—	—	—	有効
12	1月18日	O	26, 33	46, 60	w1, w7	—	—	—	N.D.
13	1月19日	O	26, —	61, —	w10, —	—	—	—	N.D.
14	1月20日	O	26, —	61, 62	w9, w10	—	—	—	N.D.
15			26, —	61, —	w10, —	—	—	—	N.D.
16	1月21日	O	31, —	48, 61	w8, w10	—	—	—	N.D.

N.T.: 未検査 N.D.: データ無

1) 血小板輸血不応答(PTR)発生後に判明

2) 事後の交差適合試験結果

3) PC出庫後に判明

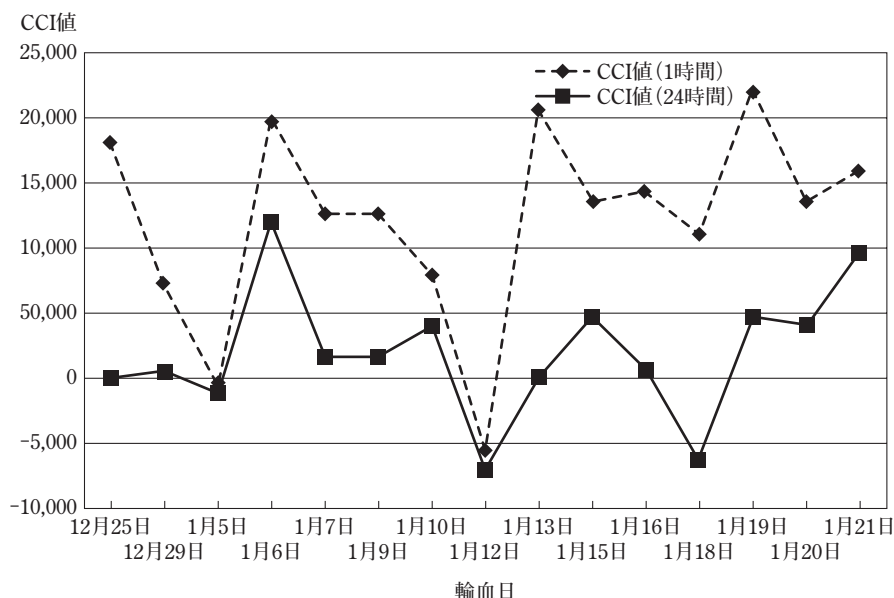


図1 輸血後補正血小板数の推移

交差試験未実施であった。後日、当該献血者の再来時にリンパ球と血小板を採取し、患者血清と交差適合試験を実施した。その結果、HLA交差適合試験は、検査依頼時血清陰性、1回目のPTR発生後血清は陽性であった。さらに、クロロキン処理後の血小板交差試験は検査依頼時、1回目のPTR後血清の両方が陽性であった(表1)。

4. 輸血効果の評価

輸血1時間後のCCI値が $7,500/\mu\text{L}$ 以上を輸血効果有効と判断した。PTRを認めた症例(1月5日と1月12日)以外、その値は $7,500\sim 22,000/\mu\text{L}$ を推移し、その結果、1時間値による判断基準では輸血効果ありと判断した(図1)。しかし、患者は血管炎症候群の疑いもあり、その疾患の影響からか、血小板製剤の輸血にもかかわらず、長時間持続しての血小板数の維持は困難であった(図1)。

【考 察】

血小板特異抗体によるPTRの検出例は、PC-HLAを輸血しているにも関わらず、期待され

た輸血効果がなく、その原因を追究した結果、患者血清中に血小板特異抗体が検出され、PTRの要因の1つとして、この血小板特異抗体が関与したと考えられる症例が多い。

今回、我々は患者血清中にHLA class I抗体と血小板特異抗体を検出し、これらの抗体が原因と考えられる2回のPTRを経験した。

そこで、この症例について精査を行い、PTR原因を検討した結果、1回目のPTRはHLA class I抗体検出後、緊急輸血されたHLA class I抗原適合の血小板製剤中に含まれたHLA class I抗原に対する抗体が増加し、この増加したHLA class I抗体によってPTRを生じたのではないかと推測した。

2回目のPTRはPTR後血清中にHLA class I抗体の増加が認められなかったため、この2回目のPTRはHLA class I抗体以外に原因があると考え、血小板特異抗体の精査を実施した。

その後、Modified Rapid MAIPA法により血小板特異抗体であるHPA-6b抗体を検出し、同時にドナーもHPA-6b抗原を保有することを確認した。

さらに、1回目のPTRを認めたドナーが再来し

たため、未検査であったHPA-6b抗原の血小板型タイピングとMPHA法による患者血清との交差適合試験を実施した結果、検査依頼時血清と1回目のPTR後血清の交差適合試験は陽性反応を認めた。しかし、この反応がHPA-6b抗体との反応であるかどうかは検体量が少なく確定はできなかった。

そこで我々は、この反応性から、この患者は検査依頼時にHLA class I 抗体を保有し、さらに輸血された血小板製剤ドナーの血小板との交差適合試験の結果からHPA-6b抗体の可能性が高い血小板特異抗体も保有していたのではないかと推測した。そして、今回のPTRの原因の1つは、これらの抗体によって、1回目のPTRが起り、2回目のPTRはHLA class I 抗体の増加が見られなかったため、血清中に存在したHPA-6b抗体が関与したのではないかと考えた。

また今回、PTRの原因と考えられたHPA-6b抗体は、その多くがNAIT症例で産生・検出されて

おり、我が国においても、HPA-6b抗体によるNAIT症例が報告されている^{5)~7), 9)~10)}。

しかし、今回の症例は、患者が男性であることから輸血によるHPA-6b抗体産生が強く示唆され、さらにこの患者は当施設にて血小板特異抗体検査を実施する以前に医療機関にて多数の血小板製剤を輸血されており、これら血小板製剤のいずれかにHPA-6b抗原が存在し、この抗原が原因となって抗体を産生したと考えられた。

以上の事から、今回の症例は輸血によって産生されたと考えられるHLA class I 抗体とHPA-6b抗体が原因と考えられるPTR症例であり、とくに、HPA-6b抗体が関与したと考えられるPTR報告は岩本ら⁸⁾に次ぎ本邦第2例目の貴重な症例であった。

本論文の要旨は第34回日本血液事業学会総会にて発表した

文 献

- 1) 永尾暢夫：母児不適合妊娠，血小板／顆粒球抗原・抗体検査標準マニュアル，高橋孝喜，99-101，医歯薬出版株式会社，東京都，2009
- 2) 丸屋悦子：Siba(HPA-2b)抗原の臨床的意義，血小板／顆粒球抗原・抗体検査標準マニュアル，高橋孝喜，102-105，医歯薬出版株式会社，東京都，2009
- 3) 坊池義浩ほか：頻回血小板輸血患者の血小板同種抗体とHPA-2b適合性の重要性，日本輸血学会誌，38：441-445，1992
- 4) 李悦子ほか：HPA-5a抗体を保有し血小板輸血不応を示した成人急性骨髄性白血病の1症例，日本輸血学会誌，45：32-37，1999
- 5) 加賀元宗ほか：HLA抗体の関与も考えられたHPA-6b抗体による同種免疫性新生児血小板減少症，周産期医学，37：924-926，2007
- 6) JG McFarland *et al.*: Neonatal alloimmune thrombocytopenia due to a new platelet-specific alloantibody, Blood, 81: 3318-3323, 1993
- 7) Kekomaki R. *et al.*: A new platelet alloantigen, Taa, on glycoprotein IIIa associated with neonatal alloimmune thrombocytopenia in two families, Br J Haematol, 83: 306-310, 1993
- 8) 岩本道子ほか：抗HPA-6b抗体が血小板不応状態に関与したと考えられる症例，日本輸血学会誌，49：439-443，2003
- 9) 森田庄治ほか：新生児同種免疫性血小板減少症（NAIT）抗体分析：1985～2005，日本輸血細胞治療学会誌，52：678-683，2006
- 10) 谷上純子ほか：血小板（HLA）抗体が検出された新生児血小板減少症例，日本産婦人科・新生児血液学会雑誌，17：S31-32，2007