

症 例

Del型赤血球濃厚液の輸血により
抗D抗体を産生した一例

笠井 晴生 柴田 紗希 三上 はづき 藤田 忠夫 新川 由基
市立長浜病院 中央検査技術科

【要 旨】

今回我々は、RhD陰性と判定した南米人の患者に対し、RhD陰性の赤血球濃厚液（Red Cells Concentrates：RCC）を輸血したにも関わらず、抗D抗体を検出した症例を経験した。原因として輸血に使用されたRhD陰性のRCCにDel型のRCCが含まれていたため、抗D抗体の産生が生じたと考えられた。輸血後は明らかな溶血を示す所見は認められなかった。

現状ではDel型のRCCはRhD陰性として供給されている。Del型はCeハプロタイプを認める例が多い為、RhD陰性の妊婦および妊娠の可能性のある女性に輸血を実施する場合は、Del型のRCC輸血を極力回避する事でD抗原の感作を避けるために、Ceハプロタイプを認めないRhD陰性RCCを選択することが重要と思われる。

キーワード

Del型 RhD陰性 抗D抗体 Ceハプロタイプ

はじめに

Del型は、間接抗グロブリン法によるD陰性確認試験でRhD陰性と判定されたものの中で、抗D抗体を用いた吸着解離試験を実施するとD抗原を認める血液型である¹⁾。

今回、RhD陰性と判定した南米人の患者に対し、RhD陰性のRCCを輸血していたにも関わらず、輸血から2ヶ月後に抗D抗体を検出した症例を経験した。今後の輸血の安全性向上において役立つ事例であったため報告する。

I. 症 例

50代歳女性 南米人。O型RhD陰性 ccdEE。出産歴4回あり。RhD陽性児の出産歴は不明。輸血歴も不明。出産後の抗Dヒト免疫グロブリンの使用も不明であった。当院婦人科を受診、子宮頸癌と診断される。入院中に貧血改善の目的で、入院49～67日の間にO型RhD陰性のRCCが合計12単位（6bag）輸血された。入院127日目に抗体スクリーニング検査が陽性となり、抗D抗体を同定した。

II. 方 法

不規則抗体スクリーニングはカラム凝集法（オートビュー-Innova、オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス、以下オーソ）を用いて、low ionic strength solution-indirect antiglobulin test（LISS-IAT）法、不規則抗体同定は試験管法による生理食塩液法、polyethylen glycol（PEG）-IAT法で実施した。不規則抗体スクリーニング及び抗体同定用のパネル血球試薬はそれぞれ、バイオビュースクリーンJ、及びリゾルブパネルA（オーソ）を用いた。

D陰性確認試験にはバイオクロン抗D（ポリクロナルブレンド、オーソ）を用いて間接抗グロブリン法で実施した。抗D抗体価は反応促進剤無添加、37℃ 60分加温後、間接抗グロブリン法で実施した。

C、c、E、e抗原検査は各バイオクロンRh式血液型判定用抗血清（オーソ）を用いて実施した。

抗D抗体を用いた吸着解離試験は、試薬製造元であるオーソ学術部から推奨された次の方法で実施

した。3倍希釈した抗D血清（ヒト由来ポリクローナル抗体、オーソ）を使用し、37℃で2時間加温後3000rpm 5分間遠心。血球沈渣を4℃に冷却した生理食塩液で6回洗浄し、最終上清に抗D抗体が存在しないことを確認後DT解離液Ⅱ（オーソ）を用いて抗体を解離した。

直接抗グロブリン試験は抗ヒトIgG血清、バイオクロン抗C3b、C3d（オーソ）を用いて試験管法で実施した。

Dithiothreitol (DTT) 処理血球と患者血清との反応性の確認²⁾は、洗浄したパネル血球1容に対して0.01MDTT (pH8.0) を1容加え、DTTの最終濃度を0.005Mとして37℃で30分間加温した。DTT処理血球は4回洗浄後、3~5%血球浮遊液とし、DTT処理血球浮遊液1滴に対して患者血清2滴を加えPEG-IAT法により検査した。

Ⅲ. 輸血検査結果および臨床経過

入院127日目に抗体スクリーニング検査で抗D抗体を検出し、抗D抗体価は128倍であった。入院から約一年半後の抗D抗体価は8倍であった（図1）。

輸血したRCCの中にDel型が含まれていた可能性があり、近畿ブロック血液センターに確認した。輸血されたRCCのRhフェノタイプはccdee 3本、

ccdEe 1本、CcdEE 1本Ccdee 1本であり、Del型が含まれていた可能性が高いとの報告を受けた。また後日、CcdeeのRCCについてドナーの精査結果から、Del型と判定された事の連絡があった（表1）。

抗D抗体を用いた患者赤血球の吸着解離試験は陰性であり、患者血液型はRhD陰性と確定した。また、検出された抗体が、抗D抗体様の反応態度を示す抗LW抗体を否定する目的で、患者血清とDTT処理パネル血球の反応を確認した。結果は陽性となりD抗原特異性を認めた。輸血されたDel型赤血球に、抗D抗体が吸着していることを確認するために、直接抗グロブリン試験を実施したが結果は陰性となった。本症例の臨床経過、血液・生化学検査値の変化を図2に示す。Del型RCCの輸血後速やかにヘモグロビン値が上昇し輸血効果を認めた。また、溶血所見を示すデータであるLD値、AST値、カリウム値、総ビリルビン値（T-BIL）の上昇は認めなかった。

Ⅳ. 考 察

Del型はD陰性と判定された中で、約10%に認められるとされている。大久保ら³⁾はRhD陰性と判定した6,165例に対し抗D吸着解離試験を実施した結果、634例（10.3%）はDel型と判定され、表現型はCcdee、CcdEe、CCdee、CCdEeでありDel型の

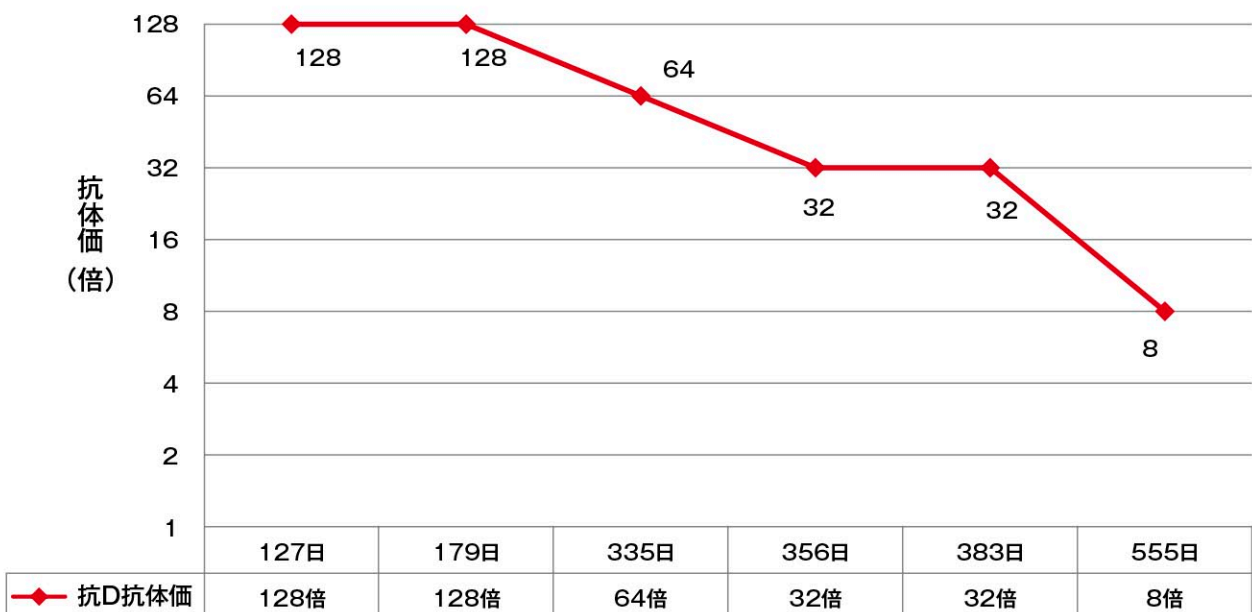


図1 抗D抗体価の推移

表1 輸血された赤血球濃厚液 (RCC) のRh フェノタイプ

輸血日 (入院後)	RCC-LR	Rh フェノタイプ	Rh D
49日	1	ccdee	D 陰性
	2	ccdee	D 陰性
55日	3	ccdee	D 陰性
	4	ccdEe	D 陰性
67日	5	CcdEE	D 陰性
	6	Ccdee	Del 型

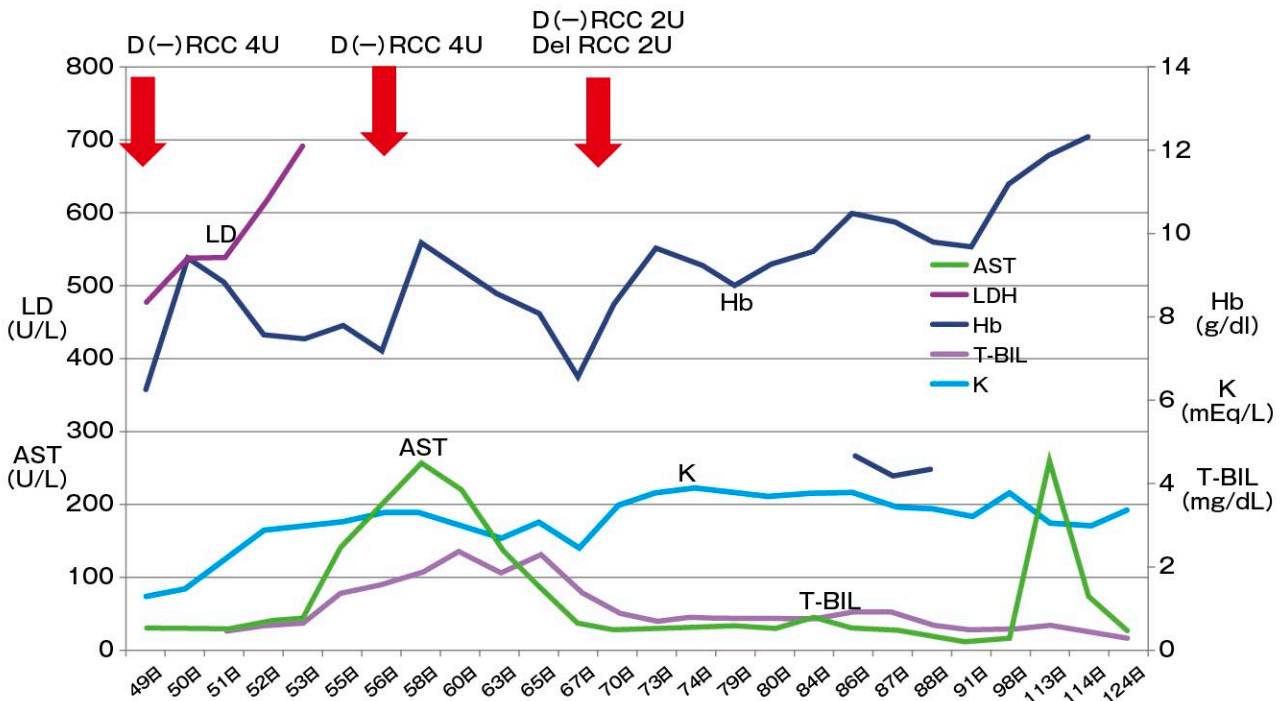


図2 臨床経過

すべてがC抗原を保有していたと報告している。さらに石川ら⁴⁾は、Cおよびe抗原陽性でD陰性の68検体に対して抗D抗体を用いた吸着解離試験を実施した結果から25検体はDel型と判定されたと報告している。Del型はCcdeeとCcdEeのフェノタイプを持つものが多いとされておりCeハプロタイプが密接に関係していると考えられている⁵⁾。今回の症例においてもDel型RCCのRh フェノタイプはCcdeeでありCeハプロタイプが確認された。

Del型RCC輸血が感作の原因で、抗D抗体を産生した症例は過去にも報告例^{6) 7) 8)}があり、いずれの症例においても溶血性輸血副作用は認められていない。今回の我々の症例においても同様であった。

Del型RCC輸血の感作により抗D抗体が産生された症例については、一次免疫応答による症例⁷⁾と二次免疫応答による症例⁸⁾のいずれも報告されている。本症例は患者が南米人でRhD陽性児の出産歴は不明、輸血歴も不明、出産後の抗Dヒト免疫グロブリンの使用も不明であるために一次免疫応答によるものを完全には否定できない。しかし今回検出された抗D抗体は過去の出産で産生され、その力価が低く、輸血前抗体スクリーニングでは検出感度以下となっていた抗体が、Del型RCC輸血の感作により、再び抗体が検出された二次免疫応答によるものである可能性が高いと考えられた。Del型の赤血球上にはD抗原が40個未満と、ごく微量のD

抗原が存在し¹⁾感作された人に高力価の抗D抗体を産生する事があるとされている。

新生児溶血性疾患 (hemolytic disease of the newborn: HDN) とは、胎児赤血球が母親由来の同種IgG抗体に被覆されIgG被覆赤血球が出生前から出生後も破壊される疾患であり、重症度は子宮内死亡から無症状まで様々である。輸血で産生された抗D抗体は、RhD陽性児妊娠で重症HDNを惹起しやすいため、⁹⁾妊娠の可能性があるRhD陰性女性にRhD陽性の赤血球輸血を避けることは極めて重要である。高力価の抗D抗体 (抗体価4,096倍) による重症溶血を発症した胎児に緊急帝王切開術を行った症例¹⁰⁾や、256倍の抗D抗体により生児を得られなかった症例¹¹⁾などが報告されている。これらの報告から妊婦に抗D抗体を認めた場合、胎児に重症の溶血性貧血を引き起こす可能性があると考えられる。

Del型RCC輸血の感作により抗D抗体が産生される可能性があることから、D陰性の妊婦に輸血を実施する場合、輸血するRCCがDel型であるかを確認する事は極めて重要であると考えられる。

現状ではDel型RCCはRhD陰性血として供給されており、RhD陰性患者に輸血を実施する場合Del型RCCのごく微量のD抗原にさらされる危険性が少なからず存在する。佐久間ら⁷⁾はRhD陰性RCCに抗D抗体を用いた吸着解離試験を実施する事は現実的ではなく、C抗原陰性血を選択することでDel型RCCの輸血を回避することも検討する価値があると報告している。

Del型RCCの輸血が感作の原因で、抗D抗体を産生した症例は我々が検索し得た範囲ではいずれの症例についても溶血性輸血副作用は報告されていなかったが、今後の症例の蓄積を待ちたい。

V. 結 語

今回、RhD陰性と判定した患者にRhD陰性RCCを輸血したところ、輸血したRCCの中にDel型が含まれていたため抗D抗体を検出した症例に遭遇した。

この症例を経験し、RhD陰性の妊婦および妊娠の可能性のある女性に輸血を実施する場合は、Del型RCCの輸血により高力価の抗D抗体を産生する事例が存在することから、Del型を極力回避する目的で、Ceハプロタイプを認めないRhD陰性のRCCを選択することが重要であると思われる。

本論文の要旨は、第35回滋賀県医学検査学会 (2013年、長浜市) で発表した。

謝 辞

論文作成にあたりご指導頂きました、市立長浜病院病理診断科黒澤学先生、輸血された血液製剤のRhフェノタイプ及びDel型の確認について情報提供頂きました近畿ブロック血液センターの皆様 に深謝致します。

■文献

- 1) 堀 勇二:「Rh血液型検査の手順と注意点」、Medical Technology39,1393-1394,医歯薬出版株式会社、東京、2011.
- 2) 柴田洋一:「抗体の検出、抗体の同定、血清学的適合試験の方法」、Technical Manual13thed (日本語版)、729-730、柴田洋一、オリンパス光学株式会社、東京2002.
- 3) 大久保康人:「血液型と輸血検査」、36、医歯薬出版株式会社、東京、1991.
- 4) 石川善英、他:「日本人のRhDelアレルとその遺伝子タイピング法」、日本輸血学会誌、2004、50:710-713.
- 5) 永尾暢夫:「Rh血液型」、Medical Technology22、538-550、医歯薬出版、東京、1994.
- 6) 遠山博:「A.赤血球型-3.Rh血液型」、輸血学改訂第3版、225、遠山博、中外医学社、東京、2004.
- 7) 佐久間香枝、他:「Del型MAP加赤血球濃厚液により抗D抗体価が著明に上昇したD陰性の1例」、日本輸血細胞治療学会誌、2010;56:381-385.
- 8) 佐久間志津江、他:「RhD陰性血の赤血球輸血にもかかわらず抗Dを産生したRhD陰性の1

- 例]、日本輸血学会誌、2005;51:585-588.
- 9) 柴田洋一：「胎児と新生児の周生期の輸血」、Technical Manual13thed、＜日本語版＞、533-535、柴田洋一、オリンパス光学株式会社、東京、2002.
- 10) 柴田暁男、他：「血清抗D抗体の急激な上昇のため緊急帝王切開にて出生した重症溶血性疾患の1例」、日本未熟児新生児学会雑誌、2005;17:161.
- 11) 長谷川政明、他：「胎児中大脳動脈最高流速測定が胎児貧血の推定に有用であった重症RhD不適合妊娠の症例」、日本産科婦人科学会中国四国合同地方部会雑誌、2003;51:199.