過去3年間に於ける対象別赤血球抗体の頻度

神田 靖男 川平 宏 阿部 まを
石野たい子 武尾 宏 雨宮 洋一

日本大学附属板橋病院輸血室

(昭和56年5月8日受付)

FREQUENCY OF ANTI-ERYTHROCYTE ANTIBODIES IN DIFFERENT SUBJECTS DURING THE LAST THREE YEARS

Yasuo Kanda, Hiroshi Kawahira, Mao Abe, Taiko Ishino,
Hiroshi Takeo and Yoichi Amemiya

The Blood Transfusion Service, Nihon University School of Medicine, Tokyo

Anti-erythrocyte antibodies were detected in 56 (0.99%) of 5619 patients with various diseases and most of them contained anti-Lewis, Rh and P₁ antibodies.

The antibodies were detected in 14 (5.3%) of 264 pregnant women and most of them contained anti-RhD and E antibodies. Moreover, the antibodies were detected in 33 (0.22%) of 14,900 healthy blood donors, and most of them contained anti-Lewis and P₁ antibodies.

The other antibodies seemed to be natural antibodies of type IgM in all healthy blood donors except three cases, of whom one had a history of blood transfusion and the other two had a history of pregnancy. Most of patients with unidentified antibodies were positive for direct Coombs test but in patients with negative direct Coombs test, the antigen-antibody reaction occurred at low temperature zone by using saline and 22% albumin methods.

These results suggested that such methods as detecting anti-RhD, E Lewis and P₁ antibodies should be used in the identification of anti-erythrocyte antibodies.

Moreover, autoimmune hemolytic anemia (AIHA) characterised by positive direct Coombs test developed in a patient with severe epilepsy who had been administered a large amount of anti-epilepsy agents for long term. It was appeared that the cause of AIHA was due to phenitoin (Aleviatin) following clinical course. In case like this patient, all chemicals should be immediately discontinued and other drugs being different structures should be used property, also, hematological and immunological examination should be done.

はじめに

近代医学にとって輸血は欠くことのできない重要な治療手段であるにもかかわらず、その使用血液の選択で、全く逆の結果を招くことはしばしば遭遇されることである。しかも副作用が極めて重症な例については死を招くことさえ珍しくはない。

一方、従来から行なわれている赤血球抗体の検索方法も日進月歩の発展をとげており、かつて見

ることが比較的少いと思われていた抗体も日常頻繁に検出されるようになっている。特に臨床的に重要な抗体の検出は、輸血を行なう場合の検査として、基本的に重要なことである。最近では原因不明の輸血副作用と思われていたケースについて、多くの場合血清学的に原因を解明出来るに到っている。さらに現在では成分輸血の合理性が理解されるようになり、単に赤血球抗体の検出に留まらず、使用成分の効果の面から、白血球、血小

板および血漿など、血液全搬にわたって、血清学的に適合性の高い血液の使用が考慮されるなど今後ますます患者血液に対する適合性の問題は解明されてくるものと思われる。

そこでわれわれは過去3年間にわたり当院輸血室で検出した赤血球不規則性抗体の実態について紹介すると同時に若干の考察を加えてみたので報告する。

研究対象および方法：対象は昭和53年4月より昭和56年3月までの間に、当院輸血室で輸血の目的により検査を行なった5,619名の患者、産科より申し込のあった妊産婦264名および同期間内に供血の目的で訪れた健康供血者14,900名の計19,783名についてである。さらに方法についてはTable 1に示すごとく抗体スクリーニング、

Table 1 Procedure to screening and identify for detecting anti-erythrocyte antibodies.

- 1) Albumin Coombs methods
saline→1000rpm 1min→judgement→22%
albumin 1drop→1000rpm 1min→judgement
→37°C 30min incubation→1000rpm 1min→
judgement→washing (at least 3times)→
Coombs serum 1drop→1000rpm 1min→
judgement
- 2) Bromelin method
saline→1000rpm 1min→judgement→0.5%
bromelin 1drop→1000rpm 1min→judgement
→37°C 10~15min incubation→1000rpm
1min→judgement

抗体同定とともに、生食法、22%アルブミン法 (Ortho. Dade 社製) クームス法 (Ortho. Dade 社製) および0.5%プロメリン法 (自家製) を用いて行なった。またパネルセル (Ortho, 一部自家製) については、市販のものを使用した。なお抗体の存在が示唆されたり、または抗体価が低いために判定困難な検体については Lyphogel を用い血清を濃縮して行った。

成績：Table 2 はそれぞれ内容の異なる3つのグループにおける赤血球抗体の検出率を示したものである。一般輸血患者では5,619名中56名 (1.00%) 妊婦では264名中14名 (5.30%) 健康供血者で14,900名中33名 (0.22%) であった。従っ

Table 2 Frequency of anti-erythrocyte antibodies of different subjects

Category	No. of samples	Frequency (%)
Patients	5619	56 (1.00)
Pregnant women	264	14 (5.30)
Donors	14900	33 (0.22)
Total	19783	103 (0.52)

April, 1978~March, 1981

Table 3 Details of anti-erythrocyte of different subjects

Classification of anti-erythrocyte	No. of positive subjects			Total (19783)
	Patients (5619)	Pregnant women (264)	Donors (14900)	
D		4		4
E	9	4	3	16
E + c	4	1		5
C + e	2	1		3
E + ?	1			1
c		2		2
Le ^a	17		15	32
Le	8		2	10
E + Le ^a + Le ^b	1			1
c + Le ^a + Le ^b	1			1
Le + ?			1	1
C + e + N		1		1
P ₁	7		8	15
P ₁ + ?	1			1
M	1		2	3
S	1		1	2
Xg ^a			1	1
A		1		1
Cold ?	3			3
	56 (1.00%)	14 (5.30%)	33 (0.22%)	103 (0.52%)
ND	7		2	9

て全体では19,783名中103名 (0.52%) に赤血球抗体を認めた。

Table 3は Table 2に示した内訳を現わしたものである。一般患者群では Rh 式抗体が17例、

Table 4 Details of seven patients with unidentified antibodies

Diseases	No. of case	Sex/ Age	Methods					Trans. or preg. hist	Remark
			Saline	Albumin Coombs			Bromelin		
			22°C 37°C						
Auto-immune hemolytic anemia	1	F/31	+ / ++	##	###	###	###	(+)	Direct Coombs (+)
Aplastic anemia	1	F/65	+ / +	+ / ++	—	—	—	(+)	
Rectum cancer	1	M/79	+	++	+	—	—	(+)	
Severe epilepsy	1	F/6	—	—	+ / ++	+ / ++	—	(+)	Direct Coombs (+)
Lung cancer	1	M/70	+ / +	+ / ++	—	—	—	(—)	
Liver cirrhosis and other disease	1	M/71	—	—	—	##/###	—	(+)	Direct Coombs (+)
Biliary obstruction	1	F/7 m	+ / +	+ / ++	+	—	ND	(+)	Immature infant

(30.4%) で、そのうち抗 E 抗体が他の抗体との共存例を含めると15例 (88.3%) であった。一方 Lewis 抗体は27例 (48.2%) であり、そのうち Lewis^a 抗体は他の抗体との共存例を含めると17例 (63.0%) と Lewis^b 抗体の約2倍の陽性率を示した。さらに抗 P₁ 抗体は7例 (12.5%) であり、他の抗体との共存例は1例も認められなかった。一方妊婦群においては1例を除き全て Rh 式の抗体で占められており、他のグループで認められなかった抗 D 抗体についても4例が検出された。さらに抗 c 抗体が単独で2名検出された。健康供血者群においては Rh 式の抗体は抗 E 抗体が単独で3名 (12.1%) 検出されただけで Lewis 式抗体が18名 (54.5%) も検出され、そのうち抗 Lewis^a 抗体は15名 (83.3%) であった。さらに抗 P₁ 抗体は8名 (24.2%) であり、他の M, S, Xg^a 型抗体もいわゆる自然抗体の型で検出されたものであった。また抗 E 抗体の3例についてはいずれも以前に免疫感作を受けたものである。

Table 4 は同定が不可能な患者の病名と検査成績を表わしたものである。肺癌患者を除いた何れの例も、輸血または妊娠歴を有しているものの、自己免疫性溶血性患者1名、重症癲癇および、肝硬変患者の3例は直接クームス試験が (++) ~ (+++) を示しているのに対し、直腸癌、再生不良性貧血、胆道閉鎖および肺癌の患者は何れも直接クームス試験は陰性を示した。

考 察

輸血に際して行なう患者検査のうち血清学的検査は最も重要で、しかも不可欠な検査であることは周知の事実である。現在では供血者血液に対しても、血液型、梅毒血清反応、HB 抗原検査はもとより抗体スクリーニングも日常検査として多くの施設で行なっている。このことは輸血効果を期待する以前の問題として輸血副作用をなくする基本的なこととして強く認識されているからである。今回われわれが行なった赤血球抗体検査で同定された抗体のうち Lewis 抗体が最も多く、他の抗体との共存例を含め45例 (43.7%) と最も多く検出されており、次に Rh 式の抗体が34例 (33.0%) であった。さらに P₁ 式抗体が15例 (14.7%) となっており、この3グループで全体の約90%を占めている。従って他の赤血球抗体は全体の約10%となっている。

この数字は遠山¹⁾が報告した数字とほぼ同様のものであった。

さらに輸血患者群の血液中には自然型の抗体と、免疫型の抗体がほぼ1:2の割合であるのに対し、妊産婦群では90%以上に免疫型の抗体が検出された。また健康供血者群では対照的に90%近くが自然抗体の型をとるものが検出されて居り、抗 E 抗体の検出された3例については経産婦が2人、事情により供血した輸血歴のある男性が1人であり、健康供血者においては、約70%は男性で

しかも、10歳代、20歳代が全体の70%を占めている現状から、一般的に過去においての免疫感作の機会が少いための結果と思われた。そこで、それぞれのグループについてさらに考察を加えてみると、比較的輸血歴の多い患者群では免疫型抗体の中でも抗E抗体が多く、このことは村上³⁾のいうRhD抗原は抗原性は高いが現在の日本では適合した血液の輸血を行なっていることから、次に抗原性の強い抗E抗体の検出が最も多く検出されるのかもしれないという意見と一致しており、このことは妊婦との対照ではっきりしている。すなわち妊娠を未検査で継続していった場合、その保有頻度が極めて少いにもかかわらず抗D抗体の検出は多く、このことは実際上はRh式のSubtypeの中ではD抗原の免疫原性が最も高いことを裏付けたものと思われる。一般供血者において輸血歴のあるものの供血を否定している当院では、妊娠による免疫感作だけが実質的な免疫抗体産生に関与することになるが供血者のなかで女性の占める割合は約30%で、しかもそのうち妊娠、出産歴のある者はわれわれの調査では30%であることから14,900名中に抗E抗体を有する者が3名(うち1名は男性)はほぼ妥当な数字と思われる。従って供血者血清中にみられる抗体の多くは免疫感作の経験が全くない、いわゆる自然抗体としての抗Lewis抗体および抗P₁抗体であって、他の1~2例ずつ検出された抗M, S, Xg^aなどの抗体についても自然抗体と思われた。そこで健康供血者に約90%、また輸血患者に約65%みられる自然抗体のうちLewis式抗体について検討を加えてみると、抗Lewis抗体の検出された患者および、供血者のLewis式血液型は全てLewis(a-b-)であったが、これらはAndorkaら³⁾の報告に一致している。従って抗Lewis^aまたは抗Lewis^b抗体を患者が単独または共にもっている場合は、対応抗原のない血液を選択することで解決するわけである。しかしながらわれわれが経験した抗Lewis^a+Lewis^b抗体を同時に持つ例についてLewis(a-b-)の血液を選択しなければならない場合、本邦におけるこれらの頻度が1.8~10.5%と低いこと

より緊急時にしかも大量に集めることは困難なことである。一方Lewis式抗体、とくに抗Lewis^a抗体については遠山⁴⁾によれば、まれに強い溶血反応を起こすとの報告がなされていることを考えた時、適合した血液の選択は慎重にしなければならない。これについてはLewis式血液型の特徴である血漿中に存在する型物質を利用し、前もって患者血漿中の抗体を中和することによる解決が計られている。Hossaini⁵⁾の報告によれば抗Lewis^a+Lewis^b抗体をもつ患者の抗体抑制のためにはLewis(a-b+)の血漿を使用することを提案しており、このことは2つの考え方による。その1つは患者体内における循環血漿量、2つ目は表現型がLewis(a-b+)の供血者における遺伝子型はLewis(a+b+)であり、そしてこのような血漿にはLewis^aとLewis^bの型物質が同時に含まれていることよるとしている。さらに血漿を用いてのLewis抗体の中和抑制についてはPolosiら⁶⁾も報告しているがAndorkaら³⁾と同様に大量抗原の輸注によるその後の抗体量の増加や、また長期間輸血を必要とする患者において持続的に抗体を中和するための抗原輸注はIgG抗体の産生を促すため実際的でないと報告もあり、血漿輸注によるLewis抗体抑制の適応は一時的な輸血で、しかも大量の血液を必要とする心臓手術や緊急時における妊産婦などの輸血にはやむをえないかもしれないとしており、実際使用する際にも最少必要量で行なうべきで大量使用するべきではないと思われる。しかしながらMorelら⁷⁾は29歳の3人の子供を生んだ多数の輸血歴のある鎌状貧血症の女性について報告しており、彼によれば臨床的に重要な意味をもつ、まれな血液については、安全性が比較的高いLewis^b抗体を事前に供血者血漿で中和することで安全に輸血を行ない得たとしており、Lewis式血液型に関しては、それぞれの症例によって弾力的な運用が必要であるかもしれない。

次いで輸血副作用との関連は比較的少なにもかかわらず多く検出された抗P₁抗体についてはChandeyssonら⁸⁾の報告によれば遅延型の溶血反

応のあることを報告しており、可能なかぎり適合した血液 (P_2 約65%) を使用するべきである。さらに健康供血者に検出されることの少ない Rh 式抗体の意義については、現在までに広く紹介されており割愛するが、検出に際しては他の抗体検査と同様、検査方法の選択、使用標準血球、血清の良否および被検血液の状態を十分に吟味しておれば、とくに判断に苦しむことは少ない。従って赤血球抗体検出方法としては、生食法、22%アルブミン法および間接クームス試験に平行して0.5%ブロメリン法を行なうことが最も赤血球抗体の見逃しを少なくする方法と思われる。最近、われわれはフィシン法 (pH 7.4の PBS に1%になるようにフィシン粉末を溶かし、使用時、10倍に PBS で希釈した溶液で赤血球を処理) を行うことにより Lewis および Rh 式抗体の検出がより高頻度に検出されるようになってきている。同時に現在では比較的まれな血液に関しても特別な場合を除いて日赤からの供給の問題は減っている。

一方、同定不能例のうち自己免疫性溶血性貧血および肝硬変症では長期間にわたり合成ペニシリン製剤 (SBPC) の使用があったものの、同一薬剤による Challenge test は施行されず、その証明はなされていない。なお、重症癲癇で直接クームス試験が陽性を示している症例は、7歳の女児で生後まもなく癲癇様症状を呈し、5カ月後の昭和49年4月に当院小児科へ入院した。そして2カ月入院した後、退院し、長らく外来において抗癲癇剤 (主に Acetylpheneturide 0.2g/日, Phenytoin 0.1~0.15g/日, Nitra zepam 7mg/日, Soduim Valproate 200~400mg/日, Phenobarbital 40mg/日) を適宜、服用していたが昭和54年7月に強度の貧血により入院した。入院後、輸血の施行に際して行なった直接クームス試験が強陽性を示したため、直ちに上記、使用の薬剤を中止するとともに Pedonine 30mg を2週間続けて投与したところ、直接クームス試験が陰性に転化するとともに、貧血も改善された。その後、同一薬剤による Challenge test では Phenytoin による autoimmune hemolytic anemia (AIHA) であることを確

証したが⁹⁾¹⁰⁾¹¹⁾、このように抗癲癇剤の中には他の薬剤についても同様の副作用を起こすものが知られている¹²⁾ため、薬剤の使用に際しては血液および血清学的検査を平行して使用するべきと考えられた。また自己コントロール、直接クームス試験が共に陰性の例では、肺癌を除く3例は輸血歴が認められたが直腸癌、胆道閉鎖および再生不良性貧血では低温域で、しかも特異性の少ない自然抗体の存在が示唆された。なお胆道閉鎖患者はかなり重症な未熟児であった。一方村上¹³⁾によれば低温で反応する抗体でも不適合輸血を継続して行なっていくにつれ、だんだん高温域でも反応するようになり、溶血をとまなう副作用を招くことがあると指摘しており、低温域で反応する自然抗体においても、このことは充分認識しておくべきと思われる。

結 語

1) 赤血球抗体の検出は、① 患者の場合、約1.00%であり、その多くは Lewis, Rh 式および P_1 式抗体である。② 同様に妊産婦では5.3%でその多くは Rh 式のしかも抗 D, E など不適合妊娠に直接関連あるものが多い。③ 一般健康供血者では0.22%に抗体が検出されており、検出された抗体の33名中26名 (78.0%) 以上が Lewis 抗体および P_1 抗体で、その他の抗体についても IgM 型の自然抗体が多かった。

2) 重症癲癇患者に長期にしかも大量に抗癲癇剤投与をした症例の中には Phenytoin によると思われる直接クームス試験強陽性で AIHA を合併した症例が含まれ、この例においては当核薬剤の即時中止による貧血状態の改善が得られた。

3) 未同定抗体保有者では直接クームス試験が陽性のケースが多く、また陰性のケースについては低温領域で反応を起こす抗体が多かった。

以上の成績より赤血球抗体検査には Lewis 式 Rh 式および P 式抗体の検出が可能でしかも非特異的な反応を起こし難い方法が望まれる。

稿を終るにあたり御協力いただいた輸血室の職員、並びに資料を御提供いただいた小児科 藤井 裕、内海康文博士に感謝申し上げます。

文 献

- 1) 遠山 博編：輸血学. 298, 中外医学社, 東京, 1978.
- 2) 村上省三：抗E抗体検出の重要性. *Medical Tribune*, 1 : 28, 1977.
- 3) Andorka, D.W., et al.: Neutralization in vivo of Lewis antibodies. Report of two cases. *Amer. J. Med. Path.*, 62: 47—51, 1974.
- 4) 遠山 博：抗 Lewis 式血液型抗体による輸血副作用. *Medicol tribune*, 1 : 32, 1978.
- 5) Hossaini, A.A.: Neutralization of Lewis antibodies in vivo and transfusion of Lewis incompatible blood. *Amer. J. Cli. Path.*, 57: 489—493, 1972.
- 6) Pelosi, M., et al.: Transfusion of incompatible blood after neutralization of Lewis antibodies. *Obstetrics and Gynecology*, 44: 590—593, 1974.
- 7) Morel, P.A., et al.: Clinically significant and insignificant antibodies in blood transfusion. *Amer. J. Tech.*, 44: 122—129, 1978.
- 8) Chandeysson, P.L., et al.: Delayed hemolytic transfusion reaction caused by anti-P antibodies. *Transfusion*, 21: 77—82, 1981.
- 9) 堀田知光, 他：脳手術後に diphenylhydanti on によると思われる血色素尿症および aplstic cricis をきたした5症例. *臨床血液*, 20 (補冊 II) : 342, 6179.
- 10) 吉田 薫, 他：発作性夜間血色素尿症が疑われ Diphenylhydanti on による溶血性貧血であった一例. *日本腎臓学会誌*, 18 : 1023, 1977.
- 11) 堀田正一, 他：ヒダントインによる赤血球癆の1例とその治経過中の赤血球系分化過程について. *臨床血液*, 17 : 365, 1976.
- 12) Dukes, P.N.G.: *Meylers side effects of drugs. Excerpta Medica*, Amsterdam, 8: 110, 1975.
- 13) 村上省三：寒冷凝集素(1), *Immunoheamatology*, 1 : 133—135, 1979.