頻回血小板輸血患者の血小板同種抗体と HPA-2b 適合の重要性

坊池 義浩¹⁾ 荒木 延夫¹⁾ 成瀬 妙子¹⁾
浜中 泰光¹⁾ 清水 準也¹⁾ 能勢 義介¹⁾
谷脇 清助²⁾ 甲斐 俊朗²⁾ 原 宏²⁾
兵庫県赤十字血液センター¹⁾, 兵庫医科大学病院輸血部²⁾

(平成4年2月7日受付)

THE PLATELET ALLOANTIBODY AND IMPORTANCE OF COMPATIBLE HPA-2b IN PATIENTS RECEIVING MULTIPLE PLATELETS

Yoshihiro Bouike¹⁾, Nobuo Araki¹⁾, Taeko Naruse¹⁾, Yasumitsu Hamanaka¹⁾,
Junya Shimizu¹⁾, Yoshisuke Nose¹⁾, Kiyosuke Taniwaki²⁾,
Shunro Kai²⁾ and Hiroshi Hara²⁾

¹⁾Hyogo Red Cross Blood Center

²⁾Division of Blood Transfusion, Hyogo College of Medicine

8 HPA-2b antibodies were detected in the serum of 163 patients administered platelet concentrates at more than 100 units. When the patients showed HPA-2b antibody in the serum administered incompatible HLA-matched platelets by MPHA (mixed passive haemagglutination) test cross-match, no increase could be detected in the mean 24-hour post-transfusion CPI (corrected platelet increment). 900 Japanese plateletpheresis donors were examined using HPA-2b antibody at our laboratory and 687 of whom were typed as HPA-2b antigen negative. The mean 24-hour post-transfusion CPI of HLA-matched platelets typed as HPA-2b antigen negative and HPA-2b antigen positive were 0.91 ± 0.74 and -0.15 ± 0.35 , respectively. Efficiency was 72.2% and 0% ($p < 0.0001$), respectively.

I. 序 言

HLA 適合血小板輸血は、頻回血小板輸血により HLA 抗体を産生した患者に、多大な臨床的役割を果たしている。しかし、種々の血小板抗体検出法の進歩に伴い^{1)~3)}、HLA 適合血小板輸血不応答状態に関与した血小板抗体の存在が報告されるようになってきた⁴⁾⁵⁾。1989年 Saji らは HLA 適合血小板輸血不応答状態の頻回血小板輸血患者から Sib^a (HPA-2b) 抗体を検出し、日本人の HPA-2b 抗原頻度は 25.4% と報告している⁴⁾。よって、HPA-2b 抗体保有患者に HPA-2b 不適合血小板を輸血される確率が高いと考えられる。当センターでもすでに HLA 適合血小板依頼患者に血小板抗体検査を実施しているが、血小板成分献血登録者の血小板型検査を実施していないため、HPA-2b 陰性血小板を選んで供給することができ

ず、供給時交差適合試験を実施しているのが現状である。そこで、今回我々は HLA 型、血小板型ともに適合した血小板の供給を目的に、HLA 適合血小板依頼患者の血小板抗体検査と、血小板成分献血登録者の HPA-2b タイピングを試みたので報告する。

II. 対 象

血小板抗体スクリーニングは、昭和61年10月～平成3年7月の期間100単位以上の血小板輸血を受けた HLA 適合血小板依頼患者163例に実施した。患者の疾患は、急性骨髄性白血病 (AML) 50例、骨髄異形成症候群 (MDS) 31例、再生不良性貧血 (Apla. A.) 30例、急性リンパ性白血病 (ALL) 13例、急性前骨髄性白血病 (APL) 9例、慢性骨髄性白血病 (CML) 9例、その他21例を示した。HPA-2b タイピングは血小板成分献血登録

者900例に実施した。血小板輸血施行後の臨床効果は、HPA-2b抗体保有患者8例中5例について検討した。

III. 材料と方法

HLA抗体検査は成分献血登録者のリンパ球にて、リンパ球細胞毒性試験(LCT)⁶⁾と抗ヒト免疫グロブリン加リンパ球細胞毒性試験(AHG-LCT)⁷⁾で行った。血小板抗体検査は、当センターで作製した血小板抗体検出用パネルのHPA-1a⁸⁾、HPA-2a、HPA-2b、HPA-3a⁹⁾、HPA-4a¹⁰⁾、HPA-4b¹¹⁾、Nak⁸⁵⁾の各抗原を有したO型血小板抗原8セルと血小板抽出抗原¹²⁾¹³⁾8セルを使用した。クロロキン処理¹⁴⁾にてHLA抗原を除去しマイクロプレート(U底)に固定後、混合受身凝集法²⁾(mixed passive haemagglutination test: MPHA法)で行った。登録者のHPA-2bタイピングは血小板をクロロキン処理しマイクロプレート(U底)に固定後、当センターで検出した抗体価16,384倍のHPA-2b抗体を有するAB型NH血清を使用しMPHA法で行った。指示血球はオリンパス社製の抗ヒトIgGセル、IgMセル及び、柴田洋一先生(虎の門病院)より分与された抗ヒトIgGセルを使用した。臨床効果は輸血24時間後の補正血小板増加数¹⁵⁾(corrected platelet increment: CPI値)で判定した。

IV. 成績

頻回血小板輸血患者のHLA抗体と血小板抗体産生を図1に示した。HLA抗体はHLA適合血小板依頼患者163例中99例(60.7%)、血小板抗体はHLA抗体を保有する99例中14例(8.6%)、HLA抗体を保有しない64例中1例(0.6%)検出した。血小板抗体の特異性は、8例(4.9%)がHPA-2b抗体、1例(0.6%)がHPA-2a抗体¹⁶⁾、6例(3.7%)がunknownを示した(図2)。HPA-2b抗体保有患者を表1に示した。HPA-2b抗体保有のMUとGTの2例について、HLA適合血小板供給時にMPHA法で交差適合試験を実施し、血小板輸血後の臨床効果を検討した(図3)。MU例では供給した6回のHLA適合血小板のうち5回が不適合血小板で、CPIが0.17~−0.23と臨床効果はまったく認められなかった。適合時はCPI

図1 頻回血小板輸血患者のHLA抗体と血小板抗体産生

図2 頻回血小板輸血患者の血小板抗体特異性

が1.06と明らかな臨床効果を認めた。GT例では供給した13回のうち3回が不適合血小板で、CPIが−0.40~−0.87と臨床効果はまったく認められなかった。適合時はCPIが−0.42の1例を除いてはCPIが0.62~2.75と明らかな臨床効果を認めた。ただし、臨床効果を認めなかった1例は不適合血小板を同日(H2, 11, 24)に輸血したためではないかと考えられる。血小板成分献血登録者のHPA-2bタイピングは、900例中213例(23.7%)が陽性を示した。そして、血小板成分献血登録者のHPA-2bタイピングの結果はコンピューターに入力し、HPA-2b抗体の保有患者にコンピューターでドナー検索を行いHLA、HPA-2bともに

表1 HPA-2b抗体保有患者

患者	ABO	性別	年齢	病名	輸血歴	血小板抗体	H L A 抗体
MU	B	男性	34	MDS	有*	HPA-2b (×512)	A 2+A 11+A 31+Aw 33
HT	B	女性	69	MDS	有	HPA-2b (×16)	multispecificity
IT	A	男性	53	MDS	有	HPA-2b (×1)	multispecificity
KT	O	男性	25	ALL	有	HPA-2b (×1)	A 11
GT	B	男性	67	MDS	有	HPA-2b (×64)	A 11+A 26+A 31+Aw 33+B 7+B 40
NH	AB	女性	1	MDS	有	HPA-2b (×16384)	A 2+A 11+A 26
YN	A	男性	62	ALL	有	HPA-2b (×2)	A 11+A 24+A 26+A 31+Aw 33
MA	B	女性	58	Apla. A.	有	HPA-2b (×4)	A 2+A 11+A 31+Aw 33+B 7

* 有：血小板輸血 100単位以上

図3 HLA適合血小板のMPHA法交差適合試験と輸血後臨床効果

図4 HPA-2b適合、不適合血小板の輸血後臨床効果

適合した血小板を可能なかぎり供給した。その臨床効果(図4)はHLA適合、HPA-2b不適合の12例が平均CPI -0.15 ± 0.35 で有効率(CPI ≥ 0.6) 0%, HLA, HPA-2bともに適合の18例が平均CPI 0.91 ± 0.74 で有効率72.2%と両者間に有意差($p < 0.0001$)を示し、HLA, HPA-2bともに適

合した血小板輸血に明らかな臨床効果を認めた。

V. 考 察

最近、血小板抗体の占める臨床的意義はますます大きくなり、輸血後血小板減少性紫斑病(PTP)に関与したHPA-3b¹⁷⁾や新生児同種免疫性血小板減少症(NAIT)に関与したHPA-5a, HPA-5b抗体^{18)~20)}などが報告されている。また、頻回血小板

輸血により HLA 抗体が産生された患者には HLA 適合血小板輸血が施行されるが、HLA 適合にもかかわらず臨床効果の認められない患者が存在し、その原因の一つに血小板同種抗体の関与が考えられている。Saji らは HLA 適合血小板の輸血不応状態に関与した抗体として HPA-2b 抗体⁴⁾を、Ikeda らは Nak^a抗体⁵⁾を報告した。また、森田らの報告では経産婦献血者から HPA-4b 抗体が 0.12%、HPA-5b 抗体が 0.09% 検出されたのに対し、HPA-2b 抗体は 0.003% しか検出されなかった²¹⁾。しかし、永尾らは HLA 適合血小板依頼患者の 5.3% に HPA-2b 抗体を検出したと報告している²²⁾。今回当センターで HLA 適合血小板依頼患者に血小板抗体検査を実施したところ、163 例中 8 例の 4.9% に HPA-2b 抗体を検出し、特異性の判明した血小板抗体はもっとも多く HPA-2b 抗体を認めた。また、日本血小板型ワークショップによると、HPA-2b 抗体の検出は NAITP や経産婦に関与した例は少なく、輸血歴を有する患者に多いと報告されている²³⁾。そして、今回 HPA-2b 抗体保有患者 8 例中 2 例について輸血後に臨床効果を検討したところ、HPA-2b 抗体不適合の血小板を輸血後は臨床効果がまったく認められず、HPA-2b 抗体保有患者に適合した血小板を輸血することが必要と考えられた。そこで、血小板成分献血登録者の HPA-2b タイピングを実施したところ、900 例中 687 例の HPA-2b 抗原陰性者を検出し、HPA-2b 抗体を有した 5 例の患者に HPA-2b 抗原陰性の血小板を可能な限り供給した。その臨床効果は、HPA-2b 抗原陽性血小板の輸血後平均 CPI が -0.15 ± 0.35 で有効率 0% であったのに対し、HPA-2b 抗原陰性血小板の輸血後平均 CPI が 0.91 ± 0.74 で有効率 72.2% を示した。以上の成績より、HPA-2b 不適合血小板輸血では臨床効果が得られず、HPA-2b 抗体保有患者には HPA-2b 抗原陰性の適合した血小板輸血が重要と考える。そのためには、さらに多くの血小板成分献血登録者の確保と HPA-2b タイピングの実施が必須と考える。

VI. むすび

HLA 適合血小板依頼患者 163 例中で血小板抗

体を保有する患者は 15 例で、抗体陽性率は 9.2% を示した。血小板抗体 15 例中で特異性が判明したのは 9 例で、全例が HPA-2 系 (HPA-2b 抗体 8 例、HPA-2a 抗体 1 例) を示した。HPA-2b 適合血小板供給を目的とした血小板成分献血登録者の HPA-2b タイピングは、900 例中 213 例陽性で抗原頻度 23.7% と、HPA-2b 陰性のドナー検索は十分可能であった。血小板輸血後の臨床効果は、HPA-2b 適合群は平均 CPI が 0.91 ± 0.74 で有効率 (CPI ≥ 0.6) 72.2%、不適合群は平均 CPI が -0.15 ± 0.35 で有効率 0% で両者間に有意差 ($p < 0.0001$) を示し、HPA-2b 適合血小板輸血の有効性を認めた。

文 献

- 1) von dem Borne, A.E.G.K., Verheugt, F.W.A., Oosterhof, F., von Riesz, E., Brutel de la Rivière, A. and Engelfriet, C.P.: A simple immunofluorescence test for the detection of platelet antibodies. *Br. J. Haematol.*, 39: 195-207, 1978.
- 2) Shibata, Y., Juji, T., Nishizawa, Y., Sakamoto, H. and Ozawa, N.: Detection of platelet antibodies by a newly developed mixed agglutination with platelets. *Vox Sang.*, 41: 25-31, 1981.
- 3) Kiefel, V., Santoso, S., Weisheit, M. and Müller-Eckhardt, C.: Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens (MAIPA): A new tool for the identification of platelet-reactive antibodies. *Blood*, 70: 1722-1726, 1987.
- 4) Saji, H., Maruya, E., Fujii, H., Maekawa, T., Akiyama, Y., Matsuura, T. and Hosoi, T.: New platelet antigen, Sib^a, involved in platelet transfusion refractoriness in a Japanese man. *Vox Sang.*, 56: 283-287, 1989.
- 5) Ikeda, H., Mitani, T., Ohnuma, M., Haga, H., Ohtzuka, S., Kato, T., Nakase, T. and Sekiguchi, S.: A new platelet-specific antigen, NaK^a, involved in the refractoriness of HLA-matched platelet transfusion. *Vox Sang.*, 57: 213-217, 1989.
- 6) Terasaki, P.I., Bernoco, D., Park, M., Ozturk, G. and Iwaki, Y.: Microdroplet testing for HLA-A, -B, -C and -D antigens. *Am. J. Clin. Pathol.*, 69: 103-120, 1978.
- 7) Johnson, A.H., Rossen, R.D. and Butler, W.T.: Detection of alloantibodies using a sensitive antiglobulin microcytotoxicity test:

- Identification of low levels of pre-formed antibodies in accelerated allograft rejection. *Tissue Antigens*, 2: 215—226, 1972.
- 8) van Loghem, J.J., Dorfmeier, H. and van der Hart, M.: Serological and genetical studies on a platelet antigen (Zw). *Vox Sang.*, 4: 161—169, 1959.
- 9) von dem Borne, A.E.G.K., von Riesz, E., Verheugt, F.W.A., ten Cate, J.W., Koppe, J.G., Engelfriet, C.P. and Nijenhuis, L.E.: Bak^a, a new platelet-specific antigen involved in neonatal allo-immune thrombocytopenia. *Vox Sang.*, 39: 113—120, 1980.
- 10) Friedman, J.M. and Aster, R.H.: Neonatal alloimmune thrombocytopenic purpura and congenital porencephaly in two siblings associated with a “new” maternal antiplatelet antibody. *Blood*, 65: 1412—1415, 1985.
- 11) Shibata, Y., Matsuda, I., Miyaji, T. and Ichikawa, Y.: Yuk^a, a new platelet antigen involved in two cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Vox Sang.*, 50: 177—180, 1986.
- 12) 柴田洋一, 金 信子: 血小板同種抗原パネルの作成. 日輸血会誌, 34: 272, 1988.
- 13) 荒木延夫, 能勢義介: 血小板抗原系と HLA 適合血小板輸血. *Medical Technology*, 18: 947—952, 1990.
- 14) 森田庄治, 柴田洋一: 第2回日本血小板型ワークショップ報告(クロロキン処理法によるMPHA). 日輸血会誌, 35: 488, 1989.
- 15) 高橋孝喜, 十字猛夫, 大利隆行, 村井善郎, 直原徹, 荒木千枝子, 徳永栄一, 柴田洋一: 的確な HLA 適合血小板輸血供血者の決定. 日輸血会誌, 33: 360—378, 1987.
- 16) 荒木延夫, 成瀬妙子, 坊池義浩, 清水準也, 能勢義介, 谷脇清助, 原 宏, 金 信子, 柴田洋一: 本邦第一例の抗 HPA-2a の検出と性状及び HPA-2 抗原系頻度. 日輸血会誌, 37: 811—816, 1991.
- 17) Kickler, T.S., Herman, J.H., Furihata, K., Kunicki, T.J. and Aster, R.H.: Identification of Bak^b, a new platelet-specific antigen associated with posttransfusion purpura. *Blood*, 71: 894—898, 1988.
- 18) Ali, B., Patricia, F., Martine, R., Bertrand, G., Najib, D. and Philippe, B.: Br^b, a platelet alloantigen involved in neonatal alloimmune thrombocytopenia. *Vox Sang.*, 60: 230—234, 1991.
- 19) Kiefel, V., Shechter, Y., Atias, D., Kroll, H., Santoso, S. and Mueller-Eckhardt, C.: Neonatal alloimmune thrombocytopenia due to anti-Br^b (HPA-5a). *Vox Sang.*, 60: 244—245, 1991.
- 20) Kiefel, V., Santoso, S., Katzmann, B. and Mueller-Eckhardt, C.: A new platelet-specific alloantigen Br^a. *Vox Sang.*, 54: 101—106, 1988.
- 21) 森田庄治, 愛敬千絵, 石島あや子, 岡崎正太郎, 金 信子, 柴田洋一: 経産婦献血者 8 万人からスクリーニングされた抗血小板同種抗体について. 日輸血会誌, 37: 40—43, 1991.
- 22) 永尾暢夫, 谷上純子, 安原佳津江, 大久保康人, 山口英夫, 小川昌昭, 柴田洋一, 椿 和央, 朴 済江: 患者および献血者に見いだした血小板抗体の特異性, 特に HPA-4b 抗原の免疫と HLA-DR2 (A24-Bw52-Cw—DR2) 抗原の相関性について. 日輸血会誌, 37: 32—39, 1991.
- 23) 日本血小板型ワークショップ: Identified anti-platelet antibodies in Japan. 日本血小板型ワークショップ・ニュースレター, 29, p. 2, 1991.