

原著

## 不規則抗体の検出状況と低温性抗体の臨床的意義

三浦真希子<sup>1)</sup> 竹浦 久司<sup>2)</sup> 永尾 暢夫<sup>1)</sup>Frequency of irregular antibodies and clinical significance  
of cold-reactive irregular antibodiesMakiko MIURA<sup>1)</sup>, Hisashi TAKEURA<sup>2)</sup>, and Nobuo NAGAO<sup>1)</sup>

## Abstract

The Health and Labor Ministry of Japan recommends that antigen-negative red blood cells (RBCs) should be used when patients have clinically significant warm-reactive irregular antibodies. However, cold-reactive antibodies are not included in the guideline. Therefore, in this study we investigated low clinical significance of cold-reactive antibodies.

We investigated the patients who had irregular antibodies between June 2006 and December 2010. A total of 6,030 blood samples from 3,559 patients were screened and 132 cases (2.19%) were positive for irregular antibodies. Ten warm-reactive antibodies in thirty-three cases and three cold-reactive in twenty-two cases (18 of anti-Le<sup>a</sup> including 3 of Coombs' positive cases, 3 of anti-M, and 1 of anti-P<sub>1</sub> antibody) were detected. Antigen-negative RBCs were secured for all the patients with warm-reactive antibodies, and compatibility tests were matched, except one case with a low-frequent antigen. Meanwhile, antigen-negative RBCs were not secured for the patients with cold-reactive antibodies, except Coombs' positive cases. However, compatibility tests were matched, except two cases with dosage effect of anti-M antibody. No blood transfusion reaction was reported in cases with cold-reactive antibodies.

Though antigen-negative RBCs were secured only for the patients with Coombs' positive anti-Le<sup>a</sup> antibody, no hemolysis reactions with cold-reactive antibodies were reported. Cold-reactive antibodies were confirmed to be not clinically significant.

キーワード 低温性抗体 不規則抗体 輸血副作用

1) 保健科学部医療検査学科

2) きつこう会多根総合病院中央検査部

## 1. はじめに

輸血副作用の原因としては多種のものが知られており<sup>1)</sup>、急性免疫反応、急性非免疫反応、遅延性免疫反応、遅延性非免疫反応の4種に分類される。このうち遅延性免疫反応を起こす原因のひとつとして、ABO血液型抗原以外の赤血球抗原と反応する不規則抗体がある。我が国では現在、殆どの施設が輸血前に不規則抗体スクリーニングを実施しており、予め適合した血液製剤を選択でき、効果的に輸血副作用を避けることが可能となっている。不規則抗体スクリーニングを実施する際は、輸血副作用を減らすという臨床的意義のある抗体を検出することが重要である。厚生労働省の「輸血療法の実施に関する指針(改定版)」では、交差適合試験の術式に関して、「ABO血液型の不適合を検出でき、かつ37℃で反応する臨床的に意義のある不規則抗体を検出できる間接抗グロブリン法を含む適切な方法を用いる」と定められており、「患者が37℃で反応する臨床的に意義のある不規則抗体を持っていることが明らかな場合には、対応する抗原を持たない血液を用いる」と記載されている<sup>2)</sup>。一方、低温性抗体については、37℃で活性を示さない場合臨床的意義は低いとされており、適合血の選択の義務付けはされていないが、副作用例の報告が少ないためか、各施設にその判断を委ねられているのが現状である。

今回、輸血予定患者について不規則抗体の保有状況とその特異性及び、適合血液の確保率を解析し、低温性抗体については、その臨床的意義について検討し、臨床的意義が低いことを追認したので報告する。

## 2. 方法

きつこう会多根総合病院にて2006年1月から2010年12月の5年間に不規則抗体スクリーニングを実施し、同定された症例を対象とした。

不規則抗体スクリーニングはカラム凝集法による low-ionic-strength solutions (LISS; 低イオン強度溶液) - クームス法 (Micro Typing System :

BIO RAD)、同定は LISS- クームス法に加え、必要に応じてプロメリン法 (Micro Typing System : BIO RAD) が実施された。ただし、2009年6月から12月中旬の期間では、スクリーニングはカラム凝集法によるパライン2段法 (Micro Typing System : BIO RAD) 及び LISS- クームス法、同定は LISS- クームス法に加え、必要に応じてパライン2段法が実施された。交差適合試験はカラム凝集法による生理食塩液法 (Micro Typing System : BIO RAD) 及び LISS- クームス法で実施された。

同定された抗体を温性と低温性に分け、適合血の確保状況、交差適合試験の適合率を調べ、低温性抗体については患者診療録から輸血副作用の有無を確認した。なお、主治医が輸血により有害事象が出現したと判断して患者診療録に記載があった場合を輸血副作用ありとした。

## 3. 結果

検討対象期間の不規則抗体スクリーニングの総件数及び患者数は、男性3,278件 (1,926名)、女性2,752件 (1,633名)、計6,030件 (3,559名) で、陽性件数は各々68件 (2.07%)、64件 (2.33%)、計132件 (2.19%) であった。

このうち、不規則抗体が同定された件数は温性抗体が33件 (16名)、低温性抗体が22件 (13名) であった。温性抗体は10種類検出され、その特異性は、抗E (12件、6名)、抗C (8件、3名)、抗 E+c+Jk<sup>a</sup> (4件、1名)、抗 Di<sup>a</sup> (3件、2名)、抗 Fy<sup>b</sup> (1件)、抗 s+C (1件)、抗 Xg<sup>a</sup> (1件)、抗 S (1件)、抗 C+e (1件)、抗 E+c (1件) であった。低温性抗体は3種類検出され、その特異性は抗 Le<sup>a</sup> (18件、10名)、抗M (3件、2名)、抗 P<sub>1</sub> (1件) であった。このうち、抗 Le<sup>a</sup> では3件 (3名) のクームス活性例を認めた。

温性抗体の抗原陰性血の確保状況は100%で、抗原陰性血を用いた交差適合試験では、抗Cが検出された患者において低頻度抗原によると思われる不適合が確認された1件 (3バック中1バック不適合) を除き、すべて適合した。輸血実施件数、人数及び

輸血単位数は、抗E（11件、5名、56単位）、抗C（9件、3名、47単位）抗E+c+Jk<sup>a</sup>（3件、1名、26単位）、抗Di<sup>a</sup>（2件、1名、14単位）、抗Fy<sup>b</sup>（0件）、抗s+C（1件、2単位）、抗Xg<sup>a</sup>（1件、4単位）、抗S（1件、4単位）、抗C+e（1件、4単位）、抗E+c（1件、2単位）であった（表1）。

低温性抗体については、抗Le<sup>a</sup>のクームス活性例を除き抗原陰性血は確保されていなかったにも関わらず、交差適合試験では、抗Mで量的効果による不適合（7バック中5バック不適合）が2件（1名）みられたのみで、他はすべて適合していた。不適合となったのは、製剤がMMのホモ接合赤血球であったためであり、製剤がMNのヘテロ接合赤血球であった場合は適合した。輸血実施件数、人数及び輸血単位数は、抗Le<sup>a</sup>のクームス活性例（3件、3名、10単位）、それ以外の抗Le<sup>a</sup>（13件、7名、68単位）、

抗M（0件）、抗P<sub>1</sub>（0件）であった。輸血が実施されたのは抗Le<sup>a</sup>保有例のみであったが、副作用は認められなかった（表2）。また、パパイン法で抗Cが同定され、LISS-クームス法で陰性となった例があったが、輸血にはC陰性血が用いられ副作用は認められなかった。

不規則抗体が同定された患者のうち、2名は対象期間中に単一抗体から複合抗体となっていた。1名は、抗C陽性のためC抗原陰性血が輸血されたが、約1カ月後の検査で抗C+eが検出された。もう1名は抗E陽性のためおよそ1カ月間で4回E抗原陰性血が輸血されたが、約1カ月後の検査で抗E+c+Jk<sup>a</sup>が検出された。いずれも交差適合試験実施時に不適合となり、精査を行った後、新たに抗原陰性血が発注され輸血されていた。

表1 温性抗体の抗原陰性血確保状況

抗体	件数	人数	交差適合試験適合%	交差適合試験不適合%	輸血実施件数(人数)	輸血単位	抗原陰性血確保率%
抗Di <sup>a</sup>	3	2	100.0	0	2 (1)	14	100
抗C	8	3	96.0	4.0 <sup>*</sup>	9 (3)	47	100
抗E	12	6	100.0	0	11 (5)	56	100
抗E+c+Jk <sup>a</sup>	4	1	100.0	0	3 (1)	26	100
抗Fy <sup>b</sup>	1	1	100.0	0	0	0	100
抗s+C	1	1	100.0	0	1 (1)	2	100
抗Xg <sup>a</sup>	1	1	100.0	0	1 (1)	4	100
抗S	1	1	100.0	0	1 (1)	4	100
抗C+e	1	1	100.0	0	1 (1)	4	100
抗E+c	1	1	100.0	0	1 (1)	2	100

※低頻度抗原によると思われる不適合のため

表2 低温性抗体の抗原陰性血確保状況及び輸血による副作用の有無

抗体	件数	人数	交差適合試験適合%	交差適合試験不適合%	輸血実施件数(人数)	輸血単位	抗原陰性血確保率%	副作用
抗Le <sup>a</sup> ク活性 <sup>*</sup> 有	3	3	100.0	0	3 (3)	10	100	なし
抗Le <sup>a</sup> ク活性無	15	7	100.0	0	13 (7)	68	0	なし
抗M	3	2	28.6	71.4	0	0	0	
抗P <sub>1</sub>	1	1	100.0	0	0	0	0	

※ク活性：クームス活性

#### 4. 考察

37℃未満で検出される低温性抗体は臨床的に意義のある抗体として考えられていないが<sup>2)</sup>、我が国において低温性抗体をもつ患者に抗原陰性血を選択せずに輸血した場合の症例報告は少ない。今回我々が行った解析では、温性抗体を保有する患者については抗原陰性血が確保されていたが、低温性抗体を保有する患者については確保されていなかった。ただし、クームス活性を認める抗 Le<sup>a</sup> に関しては、抗原陰性血が確保されていた。抗 Le<sup>a</sup> は、Lewis 抗原に対する抗体で、5～37℃までと抗体活性の温度幅が広く、37℃で活性を示す場合は、まれに即時型あるいは遅延型の溶血性副作用を起こすことがあるためであり、これは、厚生労働省の「輸血療法の実施に関する指針（改定版）」に準じた判断であった。低温性抗体陽性例で、輸血が実施されたのは抗 Le<sup>a</sup> を有する症例のみであったが、抗原陰性血の確保状況に関わらず交差適合試験は陰性であり、輸血による副作用も認められなかった。抗原陽性血が輸血されたか否かについては検査されていなかったため、抗原陽性と陰性の場合に分けて副作用の有無を検討することはできなかったが、Le(a+b-)、Le(a-b+)、Le(a-b-) の日本人における頻度は、各々20%、70%、10%であり<sup>3)</sup>、このことから輸血製剤の20%は抗原陽性であったと考えられた。

大久保らは室温のみで反応し、37℃では反応を認めない抗 Le<sup>a</sup> を除く抗体（抗 P<sub>1</sub>、抗 Le<sup>b</sup>）保有患者に抗体を無視して抗原陽性血を輸血したが問題はなく、また追跡調査できた患者の抗体価の上昇も認められなかったことを報告している<sup>4)</sup>。濱田らは抗 Le<sup>a</sup> を含む37℃での反応またはクームス活性を認めない抗体は無視して輸血しても問題ないことを報告している<sup>5)</sup>。さらに、近年では、低温性抗体の臨床的意義に関して、友田らが、反応増強剤を使わないクームス法、もしくは2-Mercaptoethanol 処理後のクームス法で凝集を認めない IgM 性の抗体を低温性抗体とし、抗 Le<sup>a</sup>、抗 P<sub>1</sub>、抗 M、抗 L<sup>a+b</sup>、抗 Le<sup>b</sup> などの抗体について抗原陽性血を輸血しても副作用

は発生しなかったことを報告している<sup>6)</sup>。これらの先行研究を踏まえても、低温性抗体について適合血液の義務付けがされていないことは妥当と考えられた。

また、今回、パパイン法のみで検出された抗 C が、LISS-クームス法で陰性となった例があった。酵素法のみで検出される抗体の臨床的意義は低いため<sup>7)</sup>、通常は抗原陰性血の適応とはならない<sup>8)</sup>。日本輸血・細胞治療学会のガイドラインでも、酵素法のみで検出される抗体の臨床的意義は低いとされている<sup>9)</sup>。また、米国 AABB (American Association of Blood Banks) の Technical Manual や英国 BCSH (British Committee for Standards in Haematology) のガイドラインでは、酵素法をルーチンで使用することに否定的である<sup>10)</sup>。一般的に、蛋白分解酵素処理では Rh、Lewis、Kidd 系血液型などの抗原に対する各抗体の反応性が高まることが知られているが、今回のように酵素法を実施しないことで検出されなくなった抗体であれば、あえて抗原陰性血を確保しなくても臨床的に問題はないかもしれない。しかし、臨床的意義が全く無いとは言えないことも事実であり、施設間で対応にバラつきがあると考えられた。

#### 5. 結論

我々は、輸血予定患者について不規則抗体の保有状況とその特異性及び、適合血液の確保率について解析し、低温性抗体の臨床的意義について検討した。低温性抗体については抗 Le<sup>a</sup> のクームス活性例を除き抗原陰性血は確保されていなかったが、副作用は認められなかったことから臨床的意義が低いことを追認した。低温性抗体についての適合血液の義務付けはされておらず、各施設にその判断を委ねていることは、先行研究を踏まえて妥当と考えられた。

#### 6. 謝辞

本研究に際して、ご協力頂いたきつこう会多根総合病院の皆様に心より感謝申し上げます。

## 参考文献

- 1) 柴田洋一：Technical Manual 13TH EDITION  
日本語版、American Association of Blood  
Banks 編、p 615-640, 2002
- 2) 厚生労働省医薬食品局血液対策課：輸血療法の  
実施に関する指針（改定版）、p8-9, 2005
- 3) 窪田哲朗、加藤亮二、藤田清貴、梶原道子、永  
尾暢夫：免疫検査学（第2版）、医歯薬出版、  
p 277-278, 2010
- 4) 大久保進、岡山桂子、石田萌子、安永幸二郎：  
低温性抗体保有患者への輸血について、日輸血  
会誌、36（5）、593-597, 1990
- 5) 濱田貴子、加藤真奈美、木島嘉子、大和田恵、  
竹内真弓、松岡牧、中林恭子、七戸かずみ、吉  
野樹美江、長谷川正幸、桧山由美子、岡本好雄、  
長田広司、藤井寿一、清水勝：冷式抗体保有患  
者への輸血用血液の選択時に冷式抗体を無視す  
ることの当否、日輸血会誌、44（1）、27-32,  
1998
- 6) 友田豊、紀野修一：抗体検査で検出された冷式  
抗体の臨床的意義、日本輸血細胞治療学  
会誌、56（2）、181, 2010
- 7) 大橋恒、石丸健、天満智佳、佐藤進一郎、加藤  
俊明、池田久實：不規則抗体スクリーニ  
ングにおける酵素法の意義、日本輸血細胞治療  
学会誌、56（6）、709-715, 2010
- 8) 安田広康：不規則抗体保有症例への適合血の  
選択、Medical Technology, 39（13）、1555-  
1556, 2011
- 9) 赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン  
作成委員会：赤血球型検査（赤血球系検査）  
ガイドライン（会告Ⅷ）、日本輸血学会誌、49,  
398-402, 2003
- 10) Chapman J.F., Elliott C. Milkins C.E. and  
Poole G.D. : Guidelines for compatibility  
procedures in blood transfusion laboratories,  
*Transfus. Med.*, 14（1）、59-73, 2004