

当院における不規則抗体検出状況と 不規則抗体検査法の後方視的検討

松浦秀哲^{1,2}・赤塚美樹^{1,3}・杉浦 縁^{1,2}・荒川章子^{1,2}
村松知佳^{1,2}・磯貝聡衣^{1,2}・永田梨奈^{1,2}・恵美宣彦^{1,3}

(¹藤田保健衛生大学病院・輸血部)

(²藤田保健衛生大学病院・臨床検査部)

(³藤田保健衛生大学医学部・血液内科学教室)

緒 言

不規則抗体は、抗 A、抗 B 以外の赤血球抗原に対する抗体であり、安全に赤血球輸血を行うために不規則抗体検査は重要な検査である。輸血副作用のひとつである遅発性溶血性副作用 (DHTR) の多くは二次免疫応答により増加した IgG 型同種抗体である不規則抗体が原因であり、その予防法として感度の高い検査法で不規則抗体を検出することが推奨されている。¹「輸血療法の実施に関する指針」では、不適合輸血を防止するために ABO 血液型、RhD 血液型抗原に並んで、不規則抗体検査を実施するよう記されている。²当院輸血部においても輸血前に原則、全症例で不規則抗体検査を実施している。

今回、過去 3 年間の当院での不規則抗体検出状況を後方視的に検討したので報告する。

対象および方法

対象は、当院で 2012 年 1 月から 2014 年 12 月までの 3 年間に不規則抗体スクリーニング検査を実施したのべ 30,703 件 (19,914 症例)。不規則抗体検査は、カラム凝集法に基づく自動輸血検査装置 AutoVue Innova (オーソクリナルダイアグノスティック株式会社) を用い、スクリーニング検査を実施した。スクリーニング用赤血球は Di^a 抗原を含む 3 種類であった。酵素法はフィシン処理赤血球を、間接抗グロブリン法は未処理赤血球を使用した。スクリーニング検査が陰性でなかった検体については、用手検査である試験管法で不規則抗体同定検査を行った。

検出した不規則抗体名に加え、性別、初回検出時の年齢、輸血歴、妊娠歴、出産歴、不規則抗体を検出した検査法、不規則抗体保有症例に対する輸血の状況について調査した。

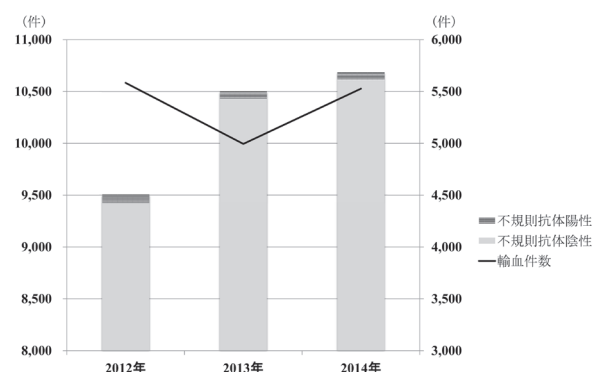
統計学的検討には JMP 統計解析ソフト (SAS Institute Inc, Cary, NC, USA) を用いた。年齢は中央値 (第 1 四分位数 - 第 3 四分位数) で示し、Wilcoxon の検定を用いた。男女の抗体検出率の差の検定は、Pearson's chi-squared test を用いて行った。いずれも $p < 0.05$ を有意水準とした。

結 果

過去 3 年間の不規則抗体検査数と赤血球液使用患者数の推移を示す (グラフ 1)。

対象全体の年齢の中央値は 63 (43-73) 歳で、初回抗体検出時の年齢は 66 (52-76) 歳であった。男女の内訳は、男性 9,648 例、女性 10,266 例であった。このうち不規則抗体が検出されたのは 230 例 (1.15%) で、男性 86 例、女性 144 例だった。男性の初回抗体検出年齢は 71 (58-78) 歳、女性では 62 (42-75) 歳で、男性の方が有意に高齢であった ($p = 0.002$)。また不規則抗体検出率は、女性で 1.40% であり男性の 0.89% に比べて有意に高値であった ($p = 0.0007$) (表 1)。

不規則抗体陽性症例のうち、輸血前には不規則抗体



グラフ 1 不規則抗体検査数と赤血球液輸血症例の推移

が陰性で輸血後に陽転した症例は 54 例 (23.9%) であった。不規則抗体保有女性症例の中で経妊婦および経産婦は 101 例 (70.0%) を占め、妊娠中の症例も 17 症例 (11.8%) 存在していた。検出された不規則抗体のうち最も多く検出された抗体は抗 E で 101 例であり、次いで抗 Le^a が 65 例、抗 Di^a が 16 例、抗 Jk^a が 12 例の順で多かった (表 2)。2 抗体以上を保有する複数抗体陽性例は 22 例、また抗原陰性の割合が 1% 以下の高頻度抗原に対する抗体を保有する症例は 7 例存在した。臨床的意義のある不規則抗体が検出された症例にはすべて対応抗原陰性血が輸血されており、不適合輸血は 1 例も無かった。

全 19,914 例のうち、スクリーニング検査において酵素法で陽性反応を示したのは 798 例で、そのうち不規則抗体同定検査によって不規則抗体検出された症例は 192 例であった (感度 91.0%, 特異度 96.9%, 陽性的中率 24.1%, 陰性的中率 99.9%)。また、酵素法のみで陽性となったのは 559 例で、そのうち 72 例で特異性を認めた。検出された不規則抗体は抗 Le^a (36 例)、抗 E (30 例)、抗 Le^b (2 例) などであり、54.2% は臨床的意義が無いとされるものであった。他方、スクリーニング検査における間接抗グロブリン試験で陽性となった症例 539 例のうち 139 例において不規則抗体が検出された (感度 65.9%, 特異度 98.0%, 陽性的中率 25.8%, 陰性的中率 99.6%)。間接抗グロブリン試験のみ陽性は 300 例であり、19 例で不規則抗体が検出された。検出された抗体は抗 Fy^b (8 例)、抗 M (4 例)、抗 Di^a (2 例) などであり、その全てが臨床的意義の

ある抗体であった。

考 察

本邦において不規則抗体を有する確率は 1.88% との報告がある³。これに対し、本検討では 1.15% と低率であった。この理由として、当院では出来るだけ低温反応性の冷式抗体を検出しないよう加温などの工夫をしていたことが考えられる。冷式抗体は臨床的意義に乏しく、友田らは冷式抗体保有患者に抗原陽性血を輸血しても溶血反応を示唆する所見を認めなかったと報告している⁴。また、2014 年に改訂された赤血球型検査 (赤血球系検査) ガイドラインでも冷式抗体の抗 P₁, 抗 M, 抗 N, 抗 Le^a, 抗 Le^b は輸血用血液製剤の選択の必要はないとされている⁵。臨床的に意義のある不規則抗体が検出された場合、当該抗原陰性の赤血球製剤を選択する必要があるが、適合血の準備には時間を要する。臨床的に意義のある 37℃ 反応性の不規則抗体のみを検出することは DHTR を防ぎつつ、不要な製剤選択ステップを省くことで輸血遅延を減らすことにつながる。

不規則抗体の陽性率は男性の 0.89% に対して女性が 1.40% と有意に高かった。これは女性の方が妊娠、出産で抗原の暴露を受け免疫される機会が多かったためであると考えられる。輸血歴や妊娠歴を有する患者群では、有しない群に比べて抗体陽性率が約 4 倍高いことが報告されている³。

本検討においても不規則抗体保有女性患者の 70% が経妊婦、経産婦であった。また、不規則抗体陰性症例が輸血後に不規則抗体を産生する症例も 54 例認められている。

輸血歴をもつ症例の不規則抗体保有率については 2.6%, 3.7% との報告があるが、輸血により不規則抗体を産生する確率は、赤血球抗原の免疫原性や受血者の免疫能などに依存するため症例によって様ではない。輸血や妊娠によって産生される不規則抗体は免疫抗体と言われ、同種免疫によらない自然抗体と異なり、臨床的意義のある抗体である。輸血の際に輸血歴、妊娠歴を確認することは不規則抗体検査の結果を解釈する上で有用であり、臨床的意義のある不規則抗体の存在を推定するのに重要である。

表 1 不規則抗体陽性率と初回抗体検出年齢

抗体名	症例数(件)	症例数はのべ数	
		抗体名	症例数(件)
抗E	101	抗Jr ^a	4
抗Le ^a	65	抗P ₁	4
抗Di ^a	16	抗S	2
抗JK ^a	12	抗JK ^b	2
抗Fy ^b	11	抗Fy ^a	1
抗c	9	抗Di ^b	1
抗C	8	抗JMH	1
抗e	6	抗v	1
抗M	4	抗f	1
抗D	4		

表 2 不規則抗体の種類と症例数

	検査実施患者数	男性	女性	p value
	19,914	9,648	10,266	
不規則抗体陽性患者数(例)	230	86	144	
抗体陽性率(%)	1.15	0.89	1.40	0.0007
*初回抗体検出年齢(歳)	66(52-76)	71(58-78)	62(42-75)	0.002

*Median (25th-75th)

3年間の調査で検出された抗体は、抗Eが101例と最も多かった。これは日本人におけるE抗原陽性の頻度が約50%であり、抗原陰性患者が抗原陽性の赤血球輸血で感作を受ける機会が多いためと推察される。抗Le^aは65例と抗Eに次いで多かった。今回の調査では抗Le^aを保有している症例のうち、輸血歴、妊娠歴、出産歴のいずれもない症例が60症例であった。これらは自然抗体として抗Le^aを保有していたと考えられる。また、複数抗体を保有する症例は22症例、適合率が1%以下の高頻度抗原に対する抗体を保有する症例は7症例存在した。複数抗体保有症例や高頻度抗原に対する抗体を保有する症例では、輸血の際に適合血を得るのが容易ではない。緊急を要する危機的出血の際には、不規則抗体を保有している症例であっても交差適合試験を省略してABO型同型の輸血を実施することが推奨されている⁷。幸い当院では不規則抗体保有症例に抗原陽性輸血を実施した経験はない。これは事前に不規則抗体検査が実施できていたこと、血液センターの協力で短時間で抗原陰性血の供給を受けられたことが理由として考えられる。

ところで当院では不規則抗体スクリーニングに間接抗グロブリン法と酵素法を採用している。酵素法は産生初期のRh抗体を感度良く検出できる特徴があるが、非特異的反応を拾ったり、臨床的意義の乏しい冷式抗体を検出したりするため、近年では不規則抗体スクリーニング検査における酵素法の意義は低いと言われている^{8,9}。実際本検討では酵素法による不規則抗体の検出感度、特異度は非常に高かったが、検出された抗体のうち37.0%は臨床的意義のない抗Le^a、抗Le^b、抗P₁であった。さらに酵素法のみ陽性例では54.2%が臨床的意義のない抗体であった。抗Le^aについては、過去に溶血性副作用の報告があるが、臨床的な意義は無いという報告もある¹⁰。不規則抗体検査は単に検出感度が良いだけでなく、臨床的に意義のある抗体のみを適切に検出できることが求められる。それは、臨床的意義のない抗体を検出することで、必要な輸血を遅延させないためである。当院でも抗体スクリーニングにおいて今後も酵素法を継続するか否かを検討する余地があると考えられる。

結 論

3年間に19,914例の不規則抗体検査を実施し、230例(1.15%)で不規則抗体を検出した。女性の抗体検出率は1.40%と男性の抗体検出率0.89%に比べて有意に高値であった。後方視的に調査した結果、不規則抗体検査は適切に実施されており不適合輸血は1例も行われていなかった。

今後の課題としては、臨床的意義をもつ不規則抗体

のみをより鋭敏に検出できる検査方法の検討と、不規則抗体が検出感度以下に低下した場合にも二次免疫応答によるDHTRを防止するために有用な不規則抗体カードの普及である。

文 献

- 1) 日本輸血・細胞治療学会輸血療法委員会：輸血副作用対応ガイド Ver1.0. 2011；pp.13-14.
- 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」(改訂版)及び「血液製剤の使用指針」(改訂版). 2012；pp.15-18.
- 3) 藤井フサ子, 金城和美, 中田 弘, 稲葉頌一：九州大学医学部附属病院における不規則抗体陽性率の実際-10年間の調査-. 日輸血会誌. 1997；43(3)：364-368.
- 4) 友田 豊, 東谷孝徳, 遠藤輝夫, 小野 智, 金光靖, 岸野光司, 国分寺晃, 児玉 建, 竹ノ内博之, 寺内純一, 石井規子, 寺西節子, 西野主眞, 久田正直, 湯元浩史, 万木紀美子, 佐藤進一郎, 紀野修一, 藤井康彦, 大戸 斉：冷式抗体保有患者への対応抗原陽性赤血球製剤輸血：多施設共同研究による冷式抗体の臨床的意義の評価. 日輸血細胞治療会誌. 2013；59(5)：733-739.
- 5) 日本輸血・細胞治療学会 赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドライン改訂タスクホース：赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドライン(改訂1版). 2014.
<http://yuketsu.jstmct.or.jp/wp-content/themes/jstmct/images/medical/file/guidelines/Guide-Line3.pdf>
- 6) Heddle NM, Soutar RL, O'Hoski PL, Singer J, McBride JA, Ali MA, and Kelton JG：A prospective study to determine the frequency and clinical significance of alloimmunization post-transfusion. *Br. J. Haematol.* 1995；91(4)：1000-1005.
- 7) 日本麻酔科学会, 日本輸血細胞治療学会：危機的出血への対応ガイドライン. 2007.
<http://yuketsu.jstmct.or.jp/wp-content/themes/jstmct/images/medical/file/guidelines/Ref4-1.pdf>
- 8) Issitt PD, Combs MR, Bredehoeft SJ, Campbell ML, Heimer M, Joyner L, Lorentsen L, Remley C, Bullock S, Bumgarner J, Zakeriniasar M, Kirkland A, Melroy H, and Millikin D：Lack of clinical significance of "enzyme-only" red cell alloantibodies. *Transfusion.* 1993；33. 284-293.

- 9) 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. 日輸血細胞治療会誌. 2010; 56(6): 709-715.
- 10) Roy RB, Wesley RH, and Fitzgerald JD: Hemolytic transfusion reaction caused by anti-Le. *Vox*

Sang. 1960; 5: 546-550.

- 11) Oberman HA, Barnes BA, and Friedman BA: The risk of abbreviating the major cross-match in urgent of massive transfusion. *Transfusion.* 1978; 18: 137-141.

(平成 28 年 2 月 13 日受理)