

赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドラインについて

日本輸血学会は輸血後 GVHD 予防のために専門の委員の先生方をお願いして輸血用血液製剤の放射線照射に関するガイドラインを作って頂き、輸血の安全性を高める意味で大きな貢献をしました。英国では臨床輸血学に関する実用的ガイドラインが専門家の委員会において討議され、その内容が英国輸血学会の機関紙である Transfusion Medicine に掲載されています。今般日本輸血学会幹事会のご支援のもとに、血液型抗原と患者が持つそれらに対する抗体に関する英国のガイドラインを参考にして、我国における同様のガイドラインを下記の先生方に作成して戴きました。本ガイドラインが輸血の臨床現場で役に立つ事を期待いたしまして、日本輸血学会の会告としてご報告致します。

なお、内容につきましては、会員の方々からご意見をいただき、より優れたものに改訂されていくことを期待しております。最後にお忙しいなかにもかかわらず本ガイドライン作成にご尽力下さいました委員の先生方に厚く御礼申し上げます。

日本輸血学会会長 十字 猛夫

赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドライン作成委員会

委員長	田村 眞
委員	小島 健一
委員	倉田 義之
委員	佐々木正照
委員	藤原 ムチ
委員	内川 誠

赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドライン

1. 赤血球抗体の臨床的意義

- 1.1. 臨床的に意義のある抗体とは、対応する赤血球型抗原が陽性の赤血球を生体内で破壊し、副作用の原因となる赤血球抗体(以下、抗体)である。
- 1.2. 規則抗体の抗 A、抗 B、抗 A,B は、いかなる場合でも、臨床的に意義のある抗体である。
- 1.3. 臨床的に意義のある不規則抗体は、ほぼ例外なく、37 反応相からの間接抗グロブリン法で陽性と

なる。

1.4. 緊急時、特に大量輸血を必要とする患者では、救命のため不規則抗体の存在を無視して輸血せざるを得ない場合もある。

1.5. 不規則抗体の血液型特異性と輸血用血液の選択

抗体の特異性	臨床的意義	血液の選択
Rh	あり	抗原陰性
Duffy	あり	抗原陰性
Kidd	あり	抗原陰性
Diego	あり	抗原陰性
S, s	あり	抗原陰性
Kell	あり	抗原陰性
A ₁ , P ₁ , N	まれ	抗グロブリン法による交差試験適合
M	まれ	抗グロブリン法による交差試験適合
M(37 で反応)	時に	抗原陰性
Le ^a , Le ^{ab}	まれ	抗グロブリン法による交差試験適合
Le ^b (ほとんど Le ^b H)	なし	選択の必要なし
	または	抗グロブリン法による交差試験適合
Xg ^a	なし	選択の必要なし
高頻度抗原に対する抗体		
JMH, Knops, Cost	なし	選択の必要なし
Chido/Rodgers		
その他の高頻度	特異性、症例	輸血認定医、輸血認定技師
または低頻度抗原	により異なる	または専門機関に相談
に対する抗体		

2. 患者検体

2.1. 赤血球系検査のための患者検体として、凝固血液(血清)あるいは EDTA 血液(血漿)のどちらも使用できる。血清検体を検査に用いている施設が血漿検体に切り替える場合、EDTA 加検体では弱反応性を示す臨床的に意義のある抗体が検出できることを確認する。

2.2. 輸血や妊娠など赤血球による免疫応答(1次あるいは2次応答)の結果、抗体が産生される。しかしながら、輸血あるいは妊娠による免疫から抗体産生までの期間についてはまったく予測できない。このことを考慮に入れて、不規則抗体スクリーニングや交差試験用の検体は採血されなければならない。

2.2.1 連日にわたって輸血を受けている患者では、少なくとも3日(72時間)ごとに検査用検体を採血する。

また、過去 3 ヶ月以内に輸血あるいは妊娠歴のある患者では、輸血予定日に先立つ 72 時間を目安に患者から検査用検体を採血する。

- 2.2.2 輸血前検査に使用できる検体の保管期間は、4℃で保管した場合、採血から 1 週間を限度する。輸血後に発症するかもしれない溶血性副作用の原因調査のため、輸血施行日から少なくとも 1 週間は検体を 4℃に保管しておく。一般には、検体の提出日から 10 日ないし 14 日間、冷蔵庫内に保管する。

3. 不規則抗体スクリーニング

- 3.1. 不規則抗体スクリーニングは、患者血清(血漿)と供血者血球間で行われる交差試験と比べ、検出の感度および信頼性の点で優れている。輸血前に行われる適合試験に、不規則抗体スクリーニングを組み入れる。

不規則抗体スクリーニングが陽性の場合、あらかじめ不規則抗体スクリーニングを行っておくことで、適合血液の準備が予定より遅れる見込みを臨床部門に知らせることができる。また、引き続いて行われる不規則抗体同定検査、および適合血液を選択する時間が確保できる。

3.2. 方法

間接抗グロブリン法は、臨床的に意義のある不規則抗体を検出する上で、もっとも信頼できる方法である。反応促進剤として、低イオン強度溶液 (low-ionic-strength solutions; LISS)、22%あるいは 30%ウシアルブミン液、20%ポリエチレングリコール液 (polyethylene glycol; PEG)を使用することで、反応時間を 10 分～30 分に短縮できる。反応促進剤を加えない場合には、45 分間以上(45 分～90 分間)の反応時間が必要である。

試験管、マイクロプレート、固相マイクロプレート、マイクロカラムを用いて、間接抗グロブリン法を行うことができる。

間接抗グロブリン法によって、臨床的に意義のある不規則抗体のほとんどが検出できることから、不規則抗体スクリーニングには間接抗グロブリン法を必須とする。間接抗グロブリン法単独でも不規則抗体スクリーニングを行うことができるが、以下の条件を考慮に入れる：

- (1) 検査実施者について、間接抗グロブリン法の技能(習熟度)を評価する。
- (2) 抗グロブリンコントロール血球を用い、特に血球の洗浄効果を必ず確認する。
- (3) 定めた手順に従った時、既知の臨床的意義のある抗体が検出されることを確認する。
- (4) 検査技師会等で主催するコントロールサーベイに定期的に参加する。

3.3. その他の方法

酵素法(2 段法)、ポリブレン (polybrene) 法、アルブミン法、食塩液法を不規則抗体スクリーニングに用いることができるが、検出できる抗体の特異性は限られる。これらの方法は、間接抗グロブリン法と組み合わせ使用すべきである。不規則抗体スクリーニングに、これらの方法を単独で用いてはならない。

3.4. 不規則抗体スクリーニング血球

不規則抗体を検出する手段として、不規則抗体スクリーニング血球を用いた不規則抗体スクリーニングは、信頼性および感度において通常の交差試験に比べて優れている。交差試験に用いられる供血者血球は、遺伝子型によって対応する赤血球型抗原量が異なる(量的効果)。たとえば Jk^a に対してホモ接合体($Jk^a Jk^a$)血球は、ヘテロ接合体($Jk^a Jk^b$)血球に比べ、赤血球 Jk^a 抗原量が多いことが知られている。このことから、患者血清(血漿)と供血者血球間で行われる交差試験は、不適合を検出する方法として、最善とは言えない。

不規則抗体スクリーニング血球は以下の条件を満たさなければならない。

(1) 不規則抗体スクリーニング血球は、以下の赤血球型抗原が陽性である。

C, c, D, E, e, Di^a , Di^b , Fy^a , Fy^b , Jk^a , Jk^b , S, s, M, N, P_1 , Le^a , Le^b

(2) 少なくとも 2 例の不規則抗体スクリーニング血球を 1 組として用いる。これらの血球は混合して用いてはならない。

(3) 以下の抗原については、ホモ接合体であることが望ましい。

D, E, c, C, e, Jk^a , Jk^b

3.5. 不規則抗体スクリーニングに、自己対照あるいは直接抗グロブリン試験を含める必要はない。

4. 不規則抗体の同定

4.1. 不規則抗体スクリーニングで陽性の場合、不規則抗体の特異性を決定し、臨床的意義について考慮する。

4.2. 不規則抗体が既に同定されている患者については、新たに産生される可能性のある不規則抗体の有無について検査する。

4.3. 複数の抗体が混在する場合、1 種類の不規則抗体同定用パネル血球では混在する不規則抗体をうまく同定できないことがある。このため、別の不規則抗体同定用パネル血球を用意しておくことが望ましい。新たに産生される可能性のある不規則抗体の混在を確認し易くなる。

4.4. 臨床的に意義のある抗体の混在を確認できない施設では、できるかぎり専門機関に相談する。

4.5. 不規則抗体スクリーニングで陽性となった方法で、不規則抗体同定用パネル血球との反応をみる。この時、患者自身の血球を用いた自己対照について同時に検査する。このことにより、たとえば高頻度抗原に対する不規則抗体の存在を推測できる。

4.6. 2~3 例の対応する血液型抗原陽性の血球と陽性、2~3 例の対応する血液型抗原陰性の血球と陰性となることで、抗体の特異性が決定される。

4.7. 1 種類の抗体が同定された場合、別に存在する可能性のある臨床的に意義のある抗体の混在を見逃してはならない。同定された不規則抗体に対応する抗原が陰性で、かつ他の血液型抗原が陽性の血球を用いることで、複数抗体の存在が確認できる。

4.8. 酵素法や室温相(18~25)での食塩液法は、不規則抗体同定に有効である場合がある。間接抗グ

ロブリン法で弱く反応する場合や、複数抗体の混在が疑われる症例では、特に有用である。一部の低温反応性抗体は、低温で補体を結合する場合がある。このような症例について間接抗グロブリン法で検査する際、多特異的抗グロブリン抗体の代わりに抗 IgG 抗体を使用すると、IgG 型の不規則抗体を確認し易くなる。

- 4.9. 酵素法のみで検出される抗体の臨床的意義は低いと考えられている。酵素法のみで不規則抗体が検出され、特異性が認められた場合、対応する血液型抗原がホモ接合体の血球を用い、間接抗グロブリン法で再検査すべきである。

5. 自己抗体

- 5.1. 自己抗体の多くは、臨床的意義はなく、検査上のみ問題となる。患者が自己免疫性溶血性貧血の場合、赤血球膜抗原に対する自己抗体は、赤血球寿命の短縮を引き起こし、急激な貧血の原因となる。

- 5.2. 患者が自己免疫性溶血性貧血の場合、ABO 型、RhD 抗原の正確な判定、さらに同種抗体の有無の確認に重点をおいて検査する。同種抗体が自己抗体によって隠されている可能性がある。

- 5.3. 自己抗体が、抗 e など主な血液型抗原に対して特異性を示した場合、対応する血液型抗原が陰性の輸血用血液を選択する。ただし、主な血液型抗原に特異性をもつ自己抗体と臨床的に意義がある同種抗体が混在した場合、抗原陰性血液の選択は同種抗体に対する特異性を優先する。特殊な血液型抗原に対する特異性についての情報は、まれに臨床的に意味をもつ場合がある。

5.4. 寒冷凝集素病

- (1) 37℃ に加温した生理食塩液で患者血球を洗浄し、直接抗グロブリン試験を行う。
- (2) 自己凝集による偽陽性反応を認めることがある。このため、ABO、RhD 血液型検査や直接抗グロブリン試験を行う際には、試薬対照について同時に検査する。AB 型、RhD 陽性と判定された場合には、特に注意する。
- (3) 37℃ に別々に加温しておいた患者血清(血漿)および血球試薬を用いて、同種抗体の有無について検査する。血清を使用している場合、抗グロブリン試薬には、抗 IgG 抗体が有用である。

5.5. 温式自己抗体

- (1) 食塩液法用の血液型判定用抗体を用いて、ABO、RhD、その他の血液型検査を行う。試薬対照(製造業者の指定したもの、あるいは6%ウシアルブミン液)について同時に検査する。
- (2) 同種抗体の有無を確認するために、血清(血漿)を患者自己血球を用いて吸収する(自己吸収)。一般に酵素処理した血球を用いると、自己抗体の吸収効率は上昇する。ZZAP 法は、患者血球に結合している自己抗体の除去と酵素処理が同時に行えるため、特に有効である。
- (3) 重度の貧血により、吸収に必要な患者血球が得られない場合がある。また過去 3 ヶ月以内に赤血球輸血を受けた患者では、患者自己血球での吸収は好ましくない。このような症例では、患者と同じ Rh 表現型(D, C, c, E, e)の血球で吸収を試みる。できるなら、同じ Rh 表現型に加えて Jk(a-)および Jk(b-)の2種類の血球を吸収に用いる。患者の主な血液型に関する情報が得られるなら、できる

だけ同じ表現型の血球を吸収に用いることがより望ましい。

(4) 同種抗体の有無が確認できない施設では、できるかぎり専門機関に相談する。