

## 血液製剤中の不規則抗体検査陽性率と交差適合試験副試験の必要性について

山田麻里江<sup>1)</sup> 山田 尚友<sup>1)</sup> 中尾 真実<sup>1)</sup> 久保田 寧<sup>2)3)</sup> 木村 晋也<sup>3)</sup>末岡榮三朗<sup>1)2)</sup>

交差適合試験は輸血をする上で、受血者と供血者の適合性を確認する重要な検査であり、主試験と副試験がある。「輸血療法の実施に関する指針」では、供血者の血液型検査を行い、間接抗グロブリン試験を含む不規則抗体スクリーニングが陰性であり、かつ患者の血液型検査が適正に行われていれば ABO 同型血液使用時の副試験は省略してもよいとされ、日本赤十字社血液センターから供給される血液製剤はこれに該当する。したがって交差適合試験時に副試験を実施している施設は少ないと思われる。

当院では、感染症患者でまれに検出される汎血球凝集反応や血液製剤中の不規則抗体の存在が、病態にあたえる影響が大きいと思われる 5 歳以下の患児において、間接的な血液型確認も兼ねて交差適合試験の副試験を実施している。

今回、5 歳以下の患児で血液製剤中の不規則抗体により、交差適合試験の副試験が陽性となった症例を経験し、使用済み血液製剤 725 本の血漿における不規則抗体スクリーニング陽性件数の割合について検討を行ったところ、11 本が PEG-IAT 陽性 (1.52%) であった。血液製剤中の不規則抗体検出率を考慮し、副試験を実施するのであれば影響を受けやすいと思われる乳幼児を対象とすることが現実的と考えられた。

キーワード：交差適合試験副試験、間接抗グロブリン試験、不規則抗体、血液製剤、不規則抗体検査陽性率

## 緒 言

輸血に伴う副作用を事前に防止するための検査である交差適合試験には、主試験と副試験がある。副試験は受血者赤血球と供血者血漿の反応を判定する検査であり、供血者の血漿中に含まれる抗体によって受血者の赤血球が反応し副作用が起こる可能性があるかを確認する。現在、日本赤十字血液センターから供給されている赤血球製剤は、血漿成分がほとんど除かれており、血漿中の抗体による副作用は少なく、副試験の重要性は低いと考えられている。また血液製剤の使用指針や赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドラインでは、供血者の血液型検査を行い、間接抗グロブリン試験を含む不規則抗体スクリーニングが陰性であり、かつ患者の血液型検査が適正に行われていれば ABO 同型血液使用時の副試験は省略してもよいとの記載があり<sup>1)2)</sup>、通常は副試験を行う機会は少ない。しかし、壊死性腸炎や重症感染症を認める児においては、まれに細菌が産生する酵素により赤血球膜が変化することで、製剤中に含まれる血漿中の抗体と反応する汎血球凝集を起こすことがあるため<sup>3)</sup>、児の血液を用いて主・副試験を

施行することが望ましいとされている<sup>2)</sup>。このようなことをふまえ当院では開院当初から、影響が大きいと思われる 5 歳以下の患児において、すべての血液製剤輸血で副試験を実施している (年間平均 245 件)。

今回、当院にて 5 歳以下の患児の血液製剤輸血で交差適合試験時に副試験を行ったところ、ポリエチレングリコール添加間接抗グロブリン試験(以下 PEG-IAT)において副試験が陽性となった 2 症例を経験した。また血液製剤の血漿部分の不規則抗体スクリーニングを実施し、陽性件数の割合について検討を行ったため、陽性症例を含めて報告する。

## 症 例 1

1 歳男児。血液型は B 型 RhD 陽性。輸血歴はあるが、20XX 年 3 月以降無し。先天性赤芽球癆で当院小児科外来にて経過観察中であった。20XX 年 8 月、外来時の血液検査で Hb 6.1g/dl と低下したため、輸血目的で入院となり赤血球製剤 1 単位の依頼があった。

## 1. 患児の検査結果

入院当日に提出された患者検体の不規則抗体スクリー

1) 佐賀大学医学部附属病院検査部

2) 佐賀大学医学部附属病院輸血部

3) 佐賀大学医学部附属病院血液・呼吸器・腫瘍内科

〔受付日：2019 年 5 月 26 日，受理日：2019 年 10 月 15 日〕

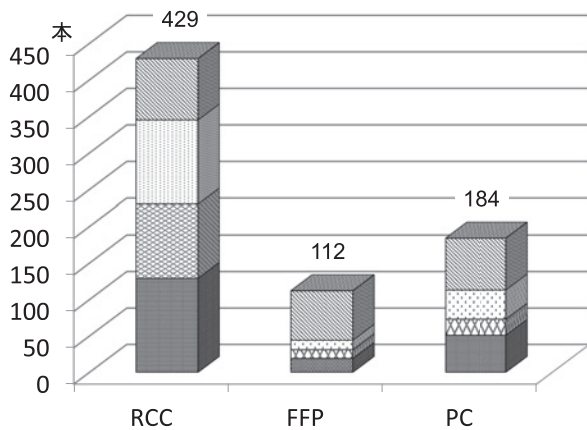


図1 不規則抗体スクリーニングを実施した血液製剤の血液型内訳

■ A型, □ B型, ▨ O型, ▩ AB型

ニングは、食塩液法、PEG-IATともに陰性であった。交差適合試験では主試験がPEG-IATで陰性であったが、副試験は食塩液法で陰性、PEG-IATで2+となった。患児の直接抗グロブリン試験は陰性で、外来時の血液検査ではCRPの測定はされていなかったが、汎血球凝集反応を検出することが可能なピーナツレクチンとの反応も陰性であった。また、患児の血液型抗原はDCCeE, Fy (a+b+), Jk (a+b+)であった。

### 2. 赤血球製剤1単位の血漿部分の検査結果

患児の検査結果から、血液製剤中の血漿部分に原因がある可能性が示唆されたため、血漿部分の不規則抗体検査を実施したところ抗Fy<sup>b</sup>が検出された。抗体価は反応増強剤無添加-IAT (以下Sal-IAT)で1倍、PEG-IATで4倍であった。

### 3. 輸血の対応

血液センターより納品した赤血球製剤1単位より抗Fy<sup>b</sup>が検出され、患児がFy (b+)であったことから交差適合試験(副試験)で陽性となったことが判明した。赤血球製剤の上清は製造過程で血漿部分を大部分取り除き、MAP液に置換しているため患者への影響は少ないと考えられる。しかし患者は1歳児であるため安全を考慮し、院内在庫の中から主試験、副試験が陰性となった2単位製剤を2分割して出庫した。

## 症例2

生後2カ月の男児。血液型はA型RhD陽性。輸血歴あり。心肺停止後、蘇生した患児で、20XY年7月にPT 27.8%, PT-INR 2.00, APTT 59.6秒, Fib 232.5mg/dl, CRP 9.46mg/dlのため、FFP-LR-240の輸血依頼があった。

### 1. 患児の検査結果

輸血依頼時に提出された患者検体の不規則抗体スク

リーニングは、食塩液法、PEG-IATともに陰性であったが、交差適合試験の副試験ではPEG-IATで2+となった。患児の直接抗グロブリン試験は陰性、ピーナツレクチンとの反応も陰性であった。また患児の血液型抗原はDccEE, Fy (a+b-), Jk (a+b+), Le (a+b+), MNであった。

### 2. A型RhD陽性FFP-LR-240の検査結果

患児の検査結果から、血液製剤中の血漿部分に原因がある可能性が示唆されたため、血漿部分の不規則抗体スクリーニングを実施したところ、食塩液法でw+~1+, PEG-IATで3+の凝集が認められた。血漿部分の不足のため、同定までは行うことができなかったが、DTT処理によりIgM型が示唆された。血液センターへ返品して調査した結果、抗Le<sup>a</sup>と抗Le<sup>b</sup>が検出された。

### 3. 輸血の対応

患児のLewis抗原は、マウス由来のモノクローナル抗体試薬を用いた食塩液法で判定したところ、Le (a+b+)であった。FFP-LR-240には抗Le<sup>a</sup>と抗Le<sup>b</sup>を保有していたことから、交差適合試験(副試験)で陽性となったことが判明した。輸血は新たにFFP-LR-240を血液センターから納品し、副試験が陰性であることを確認して出庫した。

## 使用済み血液製剤の不規則抗体スクリーニング

症例1を経験したことから、使用済みの血液製剤の不規則抗体スクリーニングを実施し、陽性となる製剤の有無について検討した。

### 1. 対象

2013年9月から2014年6月までの、一時保管期間を過ぎた使用済みの血液製剤のセグメントチューブから集めた血漿を用い、不規則抗体スクリーニングが可能であった725本の血液製剤について検討を行った。内訳は、赤血球製剤429本(2単位:426本, 1単位:3本)、血漿製剤112本(FFP-LR-A<sub>p</sub>製剤:23本, FFP-LR-480製剤:89本)、血小板製剤184本(10単位:184本)であった。また血液型別では、赤血球製剤がA型129本, B型101本, O型115本, AB型84本、血漿製剤がA型19本, B型12本, O型13本, AB型68本、血小板製剤がA型51本, B型22本, O型40本, AB型71本であった(図1)。

### 2. 検査方法

市販の不規則抗体スクリーニング赤血球試薬を使用し、試験管法による食塩液法(直後判定)とPEG-IAT<sup>9)</sup>を実施した。また血漿量が十分残っていた製剤については、抗体同定と抗体価測定を行った。

### 3. 結果(表1, 2)

725製剤中、食塩液法で5本陽性(0.69%), PEG-IATで11本陽性(1.52%)で特異性がみとめられ、凝集の

強さは食塩液法で1+~2+, PEG-IAT でw+~3+であった。そのうち食塩液法とPEG-IATにおいてともに陽性であったものが3本あり、PEG-IATへの持ち越しの可能性が示唆された。PEG-IATのみ陽性であった8本については、抗体同定や抗体価を測定できたのは1本のみで抗Fy<sup>b</sup>を検出した。その他の7本については検体量不足であったため、臨床的意義のある抗体かどうかは不明である。

4. 上記検討により抗Fy<sup>b</sup>を検出した血液製剤の詳細

食塩液法では陰性、PEG-IATでは3+, Sal-IATでは2+となった。抗Fy<sup>b</sup>抗体価は、Sal-IATで4倍、PEG-IATで32倍であった(表2)。

輸血した患者は70歳代女性。血液型はO型RhD陽性。交通外傷により出血性ショックの状態であった。心タンポナーデに対し心嚢ドレナージを施行され、赤血球製剤を20単位、FFP-LR-480を9本、血小板製剤

を30単位、FFP-LR-480から製造したクリオプレシピテートを6本、輸血した。

抗Fy<sup>b</sup>が検出された製剤は、クリオプレシピテートとして使用されたため輸血量は少なく、また輸血した患者の抗原はFy(b-)であった。しかし直前に赤血球製剤を大量に使用しており、その中にFy(b+)製剤が含まれていたかは不明である。患者は輸血前・後の不規則抗体スクリーニングは陰性で、直接抗グロブリン試験も陰性であり、明らかな溶血所見は認めなかった。

考 察

今回、5歳以下の児への輸血検査において、PEG-IATを用いた副試験で陽性をみとめ、血液製剤の血漿部分から抗Fy<sup>b</sup>や抗Le<sup>a</sup>+抗Le<sup>b</sup>が検出された症例を経験した。症例1を経験したことから、他の血液製剤の血漿部分について不規則抗体スクリーニングを実施した。その結果、725製剤中、食塩液法で5本陽性(0.69%)、PEG-IATで11本陽性(1.52%)で特異性がみとめられ、その内8本(1.10%)がPEG-IATのみ陽性であった。使用済み血液製剤のセグメントチューブを使用したため検体量不足であり、1本以外は臨床的意義のある抗体かどうか不明であった。抗体同定が可能であった1本はFFP-LR-480であり、PEG-IATで32倍の抗Fy<sup>b</sup>を保有していたが、患者がFy(b-)で小容量のクリオプレシピテートとして輸血されていたため、明らかな溶血所見は認めなかった。

表1 使用済み血液製剤の不規則抗体スクリーニング結果

血液製剤	単位・量	食塩液法 陽性本数/総数 (%)	PEG-IAT 陽性本数/総数 (%)
RCC-LR	2単位	3/426 (0.70%)	6/426 (1.41%)
	1単位	0/3 (0%)	0/3 (0%)
FFP-LR	Ap	1/23 (4.35%)	1/23 (4.35%)
	480ml	1/89 (1.12%)	2/89 (2.25%)
PC-LR	10単位	0/184 (0%)	2/184 (1.09%)
全体		5/725 (0.69%)	11*/725 (1.52%)

※PEG-IATのみ反応した本数：全体8/725 (1.10%)

表2 不規則抗体スクリーニングが陽性となった製剤の内訳 (n=13)

製剤名	単位	血液型	食塩液法	PEG-IAT	LISS-IAT	Sal-IAT	カラム凝集法	不規則抗体	抗体価
RCC	2	A+	1+	2+	NT	NT	NT	同定不能	NT
	2	O+	0	2+	NT	NT	NT	同定不能	NT
	2	O+	1+	0	NT	NT	NT	同定不能	NT
	2	B+	0	w+	NT	NT	NT	同定不能	NT
	2	AB+	1+	2+	NT	NT	NT	同定不能	NT
	2	AB+	0	w+	NT	NT	NT	同定不能	NT
	2	AB+	0	1+	NT	NT	NT	同定不能	NT
FFP	3.75	AB+	2+	0	NT	NT	NT	同定不能	NT
	3.75	AB+	0	1+	NT	NT	NT	同定不能	NT
	4	AB+	0	3+	3+	2+	2+	抗Fy <sup>b</sup>	PEG-IAT: 32倍 Sal-IAT: 4倍
	4	A+	2+	1+	NT	NT	NT	同定不能	NT
PC	10	AB+	0	3+	NT	NT	NT	同定不能	NT
	10	AB+	0	w+	NT	NT	NT	同定不能	NT

PEG-IAT: ポリエチレングリコール添加間接抗グロブリン試験

LISS-IAT: 低イオン強度溶液添加間接抗グロブリン試験

Sal-IAT: 反応増強剤無添加間接抗グロブリン試験

NT: 未実施

日本赤十字社が発行している輸血情報<sup>5)</sup>によると、日本赤十字社が販売している血液製剤は、ガイドライン<sup>2)</sup>に準じて間接抗グロブリン試験による不規則抗体検査が実施されている。また、献血者の不規則抗体スクリーニングには、患者と同様な高感度の検査法を求められておらず、英国のガイドラインでは患者が0.1IU/ml未満の抗Dを検出できることが基準になっているが、献血者では0.5IU/ml以下とされている<sup>6)</sup>。日本赤十字社では5プールの検体でカラム凝集法が実施されており、0.3IU/mlの抗Dが検出できるとされる<sup>5)</sup>。したがって当院で経験した血液製剤中に含まれる不規則抗体の検出は、PEG-IATとカラム凝集法による検査法の感度の差や、5プールの検体による希釈等が影響しているものと考えられた。

輸血療法の実施に関する指針や赤血球型検査（赤血球系検査）ガイドライン、様々な輸血関連の教本に記載されているように、供血者の血液型検査を行い、間接抗グロブリン試験を含む不規則抗体スクリーニング検査が陰性であり、かつ患者の血液型検査が適正に行われていればABO同型血液使用時の副試験は省略してもよいとされている<sup>12)</sup>。ただし、汎血球凝集反応を示すような壊死性腸炎や重症感染症を認める児においては、児の血液を用いて主・副試験を施行することが望ましいとされており<sup>2)</sup>、副試験が汎血球凝集反応の発見につながった症例<sup>7)</sup>もあることから、血液製剤の血液型を間接的に確認するためにも、当院では5歳以下の児について副試験を実施している。副試験は通常、食塩液法までの実施でよいとされている<sup>8)</sup>が、当院では不規則抗体スクリーニングと一緒にPEG-IATまで実施していたため、血液製剤中の不規則抗体を検出することが可能であった。

このような経験をふまえ、副試験を行うことで血液製剤中の臨床的意義のある不規則抗体があるかどうかを確認する一助となる場合があり、今後全患者において副試験を実施した方がよいのか考えるきっかけとなった。しかしながら、臨床的意義のある抗体の検出率が極めて低いこと、血液製剤中に含まれる赤血球抗原に対する不規則抗体による有害事象の報告が今のところないこと、業務の煩雑化につながることから、副試験を実施するのであれば影響を受けやすいと思われる乳幼児を対象とすることが現実的と考える。したがって当院の運用は5歳以下での副試験（PEG-IAT）の実施

にとどまっているのが現状である。

今後、献血者に対する不規則抗体検査の現状をふまえ、交差適合試験の副試験の必要性や、副試験を実施するのであれば基準を明確にする等の考慮が必要であると考えられる。

## 結 語

小児において交差適合試験の副試験を実施したところ、PEG-IATで陽性となった2症例を経験した。また使用済みの血液製剤のセグメントチューブを用いて不規則抗体スクリーニングを実施したところ、PEG-IATで陽性となった製剤が725本中11本あり、その内1本から抗Fy<sup>b</sup>が検出された。血液製剤中の不規則抗体検出率を考慮し、当院では5歳以下の患児に限り副試験を実施する運用のまま、現状維持することとした。今後、献血者の不規則抗体検査の現状を考慮し、副試験の実施について検討する必要があると考える。

著者のCOI開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

## 文 献

- 1) 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。平成26年11月一部改正。
- 2) 奥田 誠, 石丸 健, 内川 誠, 他：赤血球型検査(赤血球系検査)ガイドライン(改訂2版)。日本輸血細胞治療学会誌, 62: 651—663, 2016。
- 3) 大戸 斉, 遠山 博：小児輸血学, 初版, 中外医学社, 東京, 2006, 62—64。
- 4) 佐々木正照, 山田美加子, 金子礼子, 他：各種検査法における赤血球IgG性同種抗体の検出感度の検討。日本輸血学会雑誌, 49: 640—645, 2003。
- 5) 日本赤十字社血液事業本部技術部学術情報課：不規則抗体スクリーニングの検査法について。日本赤十字社輸血情報, 1702-152。
- 6) Guidelines for the Blood Transfusion Services in The UK.  
<http://www.transfusionguidelines.org.uk/red-book/> (2019/9/27 accessed)
- 7) 領家敬子, 糸賀真人, 福田芳美, 他：Pseudomonas aeruginosa感染によるPolyagglutinationの1症例。日本輸血細胞治療学会誌, 57: 39—45, 2011。
- 8) 前田平生, 大戸 斉, 岡崎 仁：輸血学, 改訂第4版, 中外医学社, 東京, 2018, 505—507。

## POSITIVE RATE OF BLOOD PRODUCTS IN THE IRREGULAR ANTIBODY SCREENING TEST AND THE SIGNIFICANCE OF MINOR CROSSMATCHING IN THE CROSSMATCH TEST

Marie Yamada<sup>1)</sup>, Naotomo Yamada<sup>1)</sup>, Mami Nakao<sup>1)</sup>, Yasushi Kubota<sup>2)3)</sup>, Shinya Kimura<sup>3)</sup>  
and Eisaburo Sueoka<sup>1)2)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Laboratory Medicine, Saga University Hospital

<sup>2)</sup>Department of Transfusion Medicine, Saga University Hospital

<sup>3)</sup>Division of Hematology, Respiratory Medicine and Oncology, Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Saga University Hospital

### **Abstract:**

The crossmatch test is important in blood transfusion for identifying the compatibility of blood products from the donor to the recipient. The crossmatch test comprises major and minor crossmatch tests. According to “the guidance on the enforcement of blood transfusion therapy in Japan”, minor crossmatching is avoidable under the following conditions: when ABO type-identical blood products are used, blood-type tests in both the donor and recipient are conducted properly, an irregular antibody screening test using the indirect antiglobulin test is negative, and blood products supplied by the Japanese Red Cross blood center correspond to this criteria. However, patients (children in particular) who suffer from infectious diseases like sepsis may experience polyagglutination due to the enzymes produced by the offending bacteria. Therefore, minor crossmatch as well as major crossmatch tests using donor blood are recommended, especially in children. For these reasons, we are conducting minor crossmatch tests in patients under 5 years old in our hospital. We have encountered positive cases in minor crossmatch tests. Regarding the positive rate of blood products in the irregular antibody screening test, we found that 11 of 725 blood products were polyethylene glycol-enhanced indirect antiglobulin test (PEG-IAT) positive (1.52%). These results suggest that it may be necessary to conduct minor crossmatch tests in infants susceptible to irregular antibodies.

### **Keywords:**

Minor crossmatch, Indirect antiglobulin test, Irregular antibody, Blood product, Irregular antibody test positive rate