

## 新生児における cisAB 型の血液型検査反応性と発育に伴う抗原量の変化に関する検討

櫻澤 貴代<sup>1)</sup> 高橋秀一郎<sup>1)2)</sup> 渡邊 千秋<sup>1)</sup> 伊藤 誠<sup>1)</sup> 魚住 諒<sup>1)</sup>  
増田 裕弥<sup>1)</sup> 早坂 光司<sup>1)</sup> 西田 睦<sup>1)</sup> 杉田 純一<sup>1)2)</sup> 豊嶋 崇徳<sup>1)2)</sup>

cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型はオモテ検査での抗 A, 抗 B の反応が弱く, 血漿中に抗 B が認められる反応態度であるが<sup>1)</sup>, 新生児における cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型の反応態度に関する報告は少ない. 今回, cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型が疑われる新生児の血液型反応態度と成長に伴う血液型抗原量の変化について検討した.

症例は日齢 0 日の新生児. ABO 血液型検査はカラム凝集法にてオモテ検査のみ施行し, 抗 A : 2+, 抗 B : 0 となった. 母親が血清学的検査で cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型と疑われていたことから, 児の血液型精査, 母児の ABO 遺伝子タイピング, 血液型抗原量を測定した. 児の赤血球の抗 B 吸着解離試験より B 抗原が検出され, ABO 遺伝子タイピングでは母児共に cisAB01/O01 と判定された. 血液型抗原量は母親と比較して児の A, B 抗原量は低く, 特に B 抗原量が著しく低かった. 1 歳 11 カ月時に再検査したところ, 児の B 抗原量は出生時よりも増加し, 血漿中から抗 B が検出された.

新生児の cisAB 型では通常の血液型検査では検出できない B 抗原量であるため, 血液型判定に際し cisAB 型を疑う場合は ABO 遺伝子タイピングや血液型抗原量の測定が有用であることが示唆された.

キーワード: 新生児, cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型, 血液型抗原量

### 緒 言

血液型の亜型は, 正常の血液型と反応性が異なるため判定に苦慮する場合があるが, 輸血療法を行う上では血液型を正確に判定する必要がある. cisAB 型は同一染色体に A 遺伝子, B 遺伝子が存在する血液型であり, cisAB 型は対立遺伝子の組み合わせによって, cisAB/A<sup>1</sup>, cisAB/B, cisAB/O の 3 つの遺伝子型に大別され, それぞれ血液型検査での反応態度が異なる. 遺伝子型が cisAB/O である cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型はオモテ検査の抗 A, 抗 B の反応が弱く, ウラ検査でほぼ例外なく抗 B が認められるとされているが<sup>1)</sup>, 新生児における cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型の反応態度に関する報告は少ない. 今回, cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型が疑われる母親から出生した新生児において, 児の血液型精査, ABO 遺伝子タイピング, 血液型抗原量を測定することにより反応性を検討し, また, 成長に伴う血液型抗原量の変化の検討を行ったので報告する. 本研究は当院の倫理審査委員会の承認を得ている. (臨床研究番号: 018-0312)

### 対象および方法

#### 症例

37 週, 2,706g で出生した日齢 0 日の新生児. 血液型検査はカラム凝集法にてオモテ検査のみ施行し, 抗 A : 2+, 抗 B : 0, 抗 D : 4+, コントロール : 0 となった. 試験管法での ABO 血液型検査においても, 同様に抗 A : 2+, 抗 B : 0 となった. 母親の血液型検査では, オモテ検査の抗 B の反応が弱く, 血漿中に抗 B が存在していた. 抗 A<sub>1</sub> レクチン陰性, 抗 H レクチン陽性で A, B 糖転移酵素活性がなかったことから cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型を疑われていた. また, 父親が O 型という情報から, 児も cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型である可能性を疑い, 血液型精査, ABO 遺伝子タイピング, フローサイトメトリー法 (FCM) による血液型抗原量の測定を実施した.

#### 方法

##### 1) 血液型精査

##### ①血液型検査

血液型検査は出生時と 1 歳 11 カ月時にカラム凝集法と試験管法にて実施した. 出生時の血液型はオモテ検査のみ実施した. カラム凝集法はオーソ<sup>®</sup>バイオビュー抗 A 抗 B 抗 D カセットを用いて全自動輸血検査システ

1) 北海道大学病院検査・輸血部

2) 北海道大学大学院医学研究院内科系部門内科学分野血液内科教室

[受付日: 2019 年 10 月 7 日, 受理日: 2019 年 12 月 11 日]

表1 児の血液型精査の結果

ABO 血液型検査				
出生時	抗 A	抗 B	A <sub>1</sub> 赤血球	B 赤血球
カラム凝集法	2+	0	NT	NT
試験管法	2+	0	NT	NT
1歳11カ月時				
カラム凝集法	4+	2+	0	0
試験管法	4+	1+	0	w+
亜型検査				
レクチン	抗 A <sub>1</sub>	抗 H		
児	0	0		
対照*	0	0		
対照	3+	w+		
抗 B 吸着解離試験	B 赤血球	O 赤血球		
児	2+	0		
対照	3+	0		
糖転移酵素活性	A	B		
児	活性なし	活性なし		
対照	4倍	16倍		

対照：正常 A<sub>1</sub>B 型。\*：正常 A<sub>1</sub>B 型新生児。NT：Not tested。  
亜型検査は出生時に実施。

ム(オーソ<sup>®</sup>Autovue<sup>®</sup>Innova, オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社)にて実施した。

試験管法はオーソ<sup>®</sup>バイオクロン抗 A, オーソ<sup>®</sup>バイオクロン抗 B (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社)を用いて実施した。

#### ②レクチンとの反応

児の赤血球と抗 A<sub>1</sub>レクチン, 抗 Hレクチン(オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社)との反応を調べた。

#### ③抗 B 吸着解離試験

児の赤血球の抗 B 吸着解離試験をオーソ<sup>®</sup>バイオクロン抗 B を用いて実施した。

#### ④糖転移酵素活性測定

児の血漿中の A, B 糖転移酵素活性をガルサーブ<sup>®</sup>AB (積水メディカル)を用いて測定した。

#### 2) ABO 遺伝子タイピング

児と母親の全血から DNA を抽出し, ジェノサーチ ABO<sup>®</sup> (MBL 株式会社)を用いて PCR-rSSO (Polymerase Chain Reaction-reverse Sequence Specific Oligonucleotide)法にて検査を実施し, 専用ソフトウェアにて ABO 遺伝子型の判定を行った。

#### 3) 血液型抗原量測定

A, B 抗原量の測定は FCM にて李らの報告<sup>2)</sup>を参考に以下の方法を用いて実施した。児は出生時と 1 歳 11 カ月時に測定し, 母親の A, B 抗原量も測定した。陰性コントロールは正常 O 型赤血球, 陽性コントロールは正常 A<sub>1</sub>B 型赤血球を用いた。

EDTA 加全血の被検赤血球を PBS (phosphate-buffered saline) にて 3 回洗浄し, 3% 赤血球浮遊液を

300μl 作製した後, 被検赤血球の凝集を阻止する目的で 0.1% グルタルアルデヒドを 1.5ml 加え, 室温で 15 分反応させた。PBS で 3 回洗浄後, 上清を除き PBS を 600μl 加えて 1.5% 赤血球浮遊液とした。1.5% 赤血球浮遊液 30μl にオーソ<sup>®</sup>バイオクロン抗 A 及び抗 B を 50μl 加えて 4℃ で 30 分反応させた。反応後, PBS で 3 回洗浄し, 100 倍希釈した FITC 標識ヤギ由来マウス IgM 抗体 (Jackson Immuno Reserch LABORATORIES, INC) を 50μl 加え, 遮光して 4℃ で 30 分反応させた。PBS で 3 回洗浄後, PBS800μl に浮遊させ, フローサイトメーター (ベックマン・コールター社) で測定した。児の出生時と 1 歳 11 カ月時の測定時期が異なるため, A, B 抗原の平均蛍光強度 (Mean Fluorescence Intensity; MFI) をそれぞれの陰性コントロールの MFI で除した値を算出し (以下 MFI 比), MFI 比を元に母親と児, 児の出生時と 1 歳 11 カ月時の抗原量を比較した。

## 結 果

### 1) 血液型精査

血液型検査, レクチンとの反応, 抗 B 吸着解離試験, 糖転移酵素活性の結果を表 1 に示す。

#### ①血液型検査

出生時のカラム凝集法による血液型検査では, 抗 A : 2+, 抗 B : 0, 抗 D : 4+, コントロール : 0 となった。試験管法では, 抗 A : 2+, 抗 B : 0 となった。

1 歳 11 カ月時でのカラム凝集法による血液型検査では抗 A : 4+, 抗 B : 2+, 抗 D : 4+, コントロール : 0, A<sub>1</sub> 赤血球 : 0, B 赤血球 : 0 となった。試験管法では抗 A : 4+, 抗 B : 1+, A<sub>1</sub> 赤血球 : 0, B 赤血球 : w+ となり, 血漿中に抗 B を認めた。

#### ②レクチンとの反応

出生時の児の赤血球と抗 A<sub>1</sub>レクチン, 抗 Hレクチンとの反応は共に陰性であった。

#### ③抗 B 吸着解離試験

児の赤血球の抗 B 吸着解離試験にて, B 抗原が検出された。

#### ④糖転移酵素活性測定

児の血漿中には, A, B 共に糖転移酵素活性は認められなかった。

### 2) ABO 遺伝子タイピング

ABO 遺伝子タイピングでは, 母児共に遺伝子型は *cisAB01/O01* と判定された。

### 3) 血液型抗原量測定

児と母親の A, B 抗原量の測定結果を図 1 に示す。

母親の A 抗原の MFI 比は 138.2 であったのに対し, 児の出生時は 16.2 であり, 1 歳 11 カ月時で 17.0 であった。B 抗原では母親の MFI 比は 10.3 であった。児の出

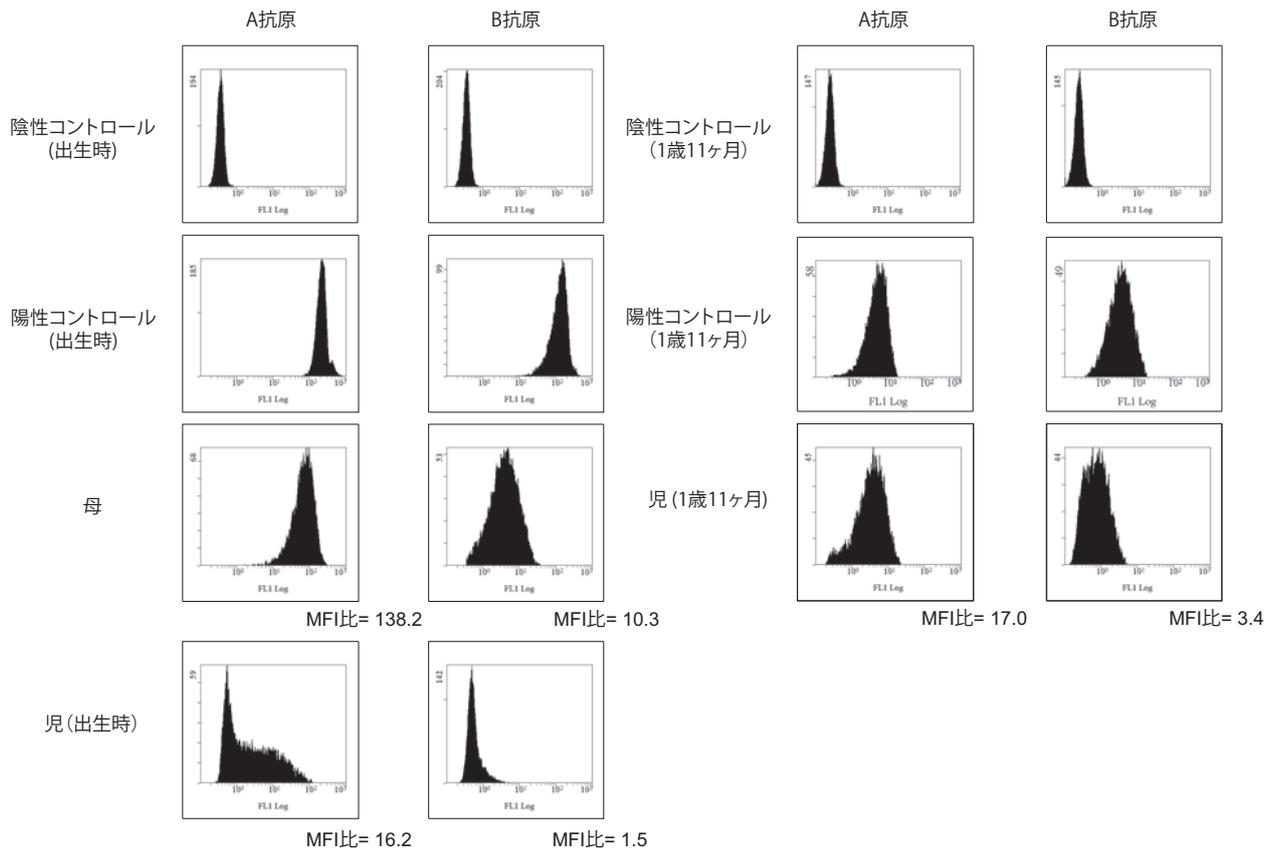


図1 フローサイトメトリー法による児と母親のA, B抗原量測定結果

陽性コントロール: 正常A<sub>1</sub>B型赤血球. 陰性コントロール: 正常O型赤血球. 陰性コントロールをもとに陽性細胞のゲートを設定.  
MFI比: 各サンプルのMFI/陰性コントロールのMFI.

生時では1.5であり, 1歳11カ月時では3.4であった.

考 察

4カ月未満の乳児は抗体産生能がないことや, 母親の移行抗体の影響があるため, 血液型はオモテ検査のみで判定して良いとされている<sup>3)</sup>. 新生児の血液型抗原量は成人と比べて約1/4程度と少なく<sup>4)</sup>, しばしばオモテ検査での抗A, 抗Bとの反応が弱いことがある. 本症例ではオモテ検査での抗Aの反応が弱く, 抗Bとの反応が見られなかったため, 新生児であることを考慮し, A型と判定されかねなかったが, 母親がcisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型疑いであったことから, 児もcisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型である可能性を疑うきっかけとなった.

cisAB型の新生児において, O型の母親から移行した抗A, 抗Bによる胎児・新生児溶血性貧血(Hemolytic disease of fetus and newborn; HDFN)を発症したという報告<sup>5)</sup>がある. cisAB型の新生児がA型と判定された場合, 新生児期ではB抗原量が少ないため, A型の血漿製剤が輸血された場合には, 血漿中の抗Bと反応する可能性は不明であるが, 成長と共にB抗原量が増加していくことにより, A型血漿製剤中の抗Bと反応する可能性が考えられる. 本症例のように新生児期に正

確に血液型判定し得た事で, 発育に伴って高まる溶血性副作用のリスクを回避できるものと考えられる. したがって, cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型の母親から出生した新生児の血液型を判定する場合, 児もcisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型である可能性を考慮して検査を実施する必要があると考える.

レクチンとの反応において成人のcisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型では抗A<sub>1</sub>レクチンが陰性, 抗Hレクチンが強陽性となることが報告されている<sup>2)</sup>. 本症例では抗A<sub>1</sub>, 抗Hレクチン共に陰性であった. 対照のA<sub>1</sub>B型の新生児においても抗A<sub>1</sub>レクチン, 抗Hレクチンとの反応が陰性となった. このことから新生児では血液型抗原量が少ないがゆえに抗Hレクチンが陰性となったと考えられる.

FCMによる血液型抗原量測定では, A抗原のMFI比は出生時に16.2であり, 1歳11カ月時では17.0と上昇傾向ではあったが, 母親のMFI比と比較すると低値であった. B抗原のMFI比は出生時では1.5と著しく低く, 1歳11カ月時では3.4まで増加していたが, 母親のMFI比と比較すると低値を示していた. 亜型においては保有する対立遺伝子により, A, B抗原量に差異が生じることも報告されている<sup>6)</sup>. しかし, 本症例の児と母親の遺伝子型は両者ともにcisAB01/O01であり, 保有する対立遺伝子によるB抗原量の差異ではないと考

える。

李らは、cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型のFCM法によるA、B抗原量の測定から、A抗原量は正常A<sub>1</sub>B型に比べて少なく抗原量の個体差が少ないが、B抗原量は正常A<sub>1</sub>B型に比べて少なく個体差が大きいと報告している<sup>2)</sup>。本症例では出生時、1歳11カ月時いずれにおいてもA、B抗原量共に正常A<sub>1</sub>B型と比較して著しく少なかったが、成長と共にA、B抗原量は増加傾向であった。

この結果より、cisAB型における抗原発現量と抗Aおよび抗Bとの反応の多様性は、個体差だけではなく個々の症例の発育過程における反応性の変化が関与している可能性が考えられる。血液型抗原量は出生後徐々に増加し、2～4歳で成人レベルまで達するとされており<sup>4)</sup>、本症例でも出生時と比較して1歳11カ月のA、B抗原量は増加していたことから今後成長と共にA、B抗原量がさらに増加することが予想される。オモテ検査の結果の解釈が難しい場合は、FCMによる抗原量測定が有用である可能性がある。

本症例における血漿中の抗Bは1歳11カ月時に確認された。抗A、抗B抗体価は、5歳～10歳にかけてピークに達するとされているため<sup>4)</sup>、本症例においても今後抗B抗体価は上昇すると考えられる。

cisAB型の確定は、血液型遺伝子をABO遺伝子タイピングにより確認する必要がある。cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型の典型的な反応態度を示さない新生児では両親の情報とABO遺伝子タイピングが血液型確定に重要と考える。

## 結 語

cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型における血液型検査の反応態度は、個体差だけでなく発育に伴う個体内の変化に影響を受ける可能性がある。新生児におけるcisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型の判定には、血清学的反応による判定に加えて、両親の血液型聴取やFCMおよびABO遺伝子タイピングが有用である。

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) 安藤高宣, 伊藤正一, 石丸 健, 他: 輸血・移植検査技術教本, 一般社団法人 日本臨床衛生検査技師会, 東京, 2016, 11—12.
- 2) 李 悦子, 瀧本朋美, 尾崎修治, 他: フローサイトメトリー法によるcisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub>型15例のA、B抗原量解析. 日本輸血細胞治療学会誌, 58: 448—455, 2012.
- 3) 室井一男: 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, 東京, 2016.
- 4) 前田平生, 大戸 齊, 岡崎 仁, 他: 輸血学, (改訂第4版), 中外医学社, 東京, 2018, 159.
- 5) Zhi-Hui D, Axel S, You-Wan Y, et al: Haemolytic disease of fetus and newborn caused by ABO antibodies in a cisAB offspring. TRANSFUSION AND APHERESIS SCIENCE, 39: 123—128, 2008.
- 6) 伊藤正一, 萩山佳子, 高橋美代子, 他: B遺伝子より生じたと考えられる新たなシスAB遺伝子. 日本輸血細胞治療学会誌, 56: 218, 2010.

## ABO BLOOD GROUP TYPING REACTIVITY TO CISAB IN A NEWBORN BABY AND DEVELOPMENTAL CHANGE IN ABO ANTIGEN LEVEL

*Takayo Sakurazawa*<sup>1)</sup>, *Shuichiro Takahashi*<sup>1)2)</sup>, *Chiaki Watanabe*<sup>1)</sup>, *Makoto Ito*<sup>1)</sup>, *Ryo Uozumi*<sup>1)</sup>, *Yuya Masuda*<sup>1)</sup>, *Koji Hayasaka*<sup>1)</sup>, *Mutsumi Nishida*<sup>1)</sup>, *Junichi Sugita*<sup>1)2)</sup> and *Takanori Teshima*<sup>1)2)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Laboratory and Transfusion Medicine, Hokkaido University Hospital

<sup>2)</sup>Department of Hematology, Faculty of Medicine, Hokkaido University

### **Abstract:**

ABO blood typing reactivity to cisA<sub>2</sub>B<sub>3</sub> shows weak agglutination to anti-A, anti-B and anti-B antibody present in plasma. However, the reactivity of ABO to cis A<sub>2</sub>B<sub>3</sub> in newborn babies remains to be elucidated. Here, we examined ABO blood typing reactivity and developmental change of A and B antigen levels in a boy with suspected cis A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>. First, we checked his ABO blood typing with the column agglutination method on birth. Reactivity of anti-A was 2+, and anti-B was negative. On further ABO subtype tests, flow cytometric analysis (FCM) of antigen levels and ABO gene typing, we detected B antigens on his red blood cells by the adsorption-elution test. Expression levels of A and B antigens were lower than those of his mother. Both he and his mother's ABO gene type were defined as cisAB01/O01. As he grew, he showed higher B antigen levels and anti-B antibodies were detected at age 23 months. In infants with cisAB, B antigen levels are too low to be detected with usual ABO blood typing. ABO gene typing and FCM are therefore useful for ABO blood typing, particularly for newborn babies with suspected cisAB.

### **Keywords:**

Newborn baby, cis A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>, levels of A and B antigen