

## 個別核酸増幅検査スクリーニングにおいて検査不能であった献血者検体

## 2 事例の解析

平塚 紘大<sup>1)</sup> 中内 健太<sup>1)</sup> 坂田 秀勝<sup>1)</sup> 岸本 信一<sup>1)</sup> 松林 圭二<sup>2)</sup>  
 佐藤進一郎<sup>1)</sup> 生田 克哉<sup>3)</sup> 紀野 修一<sup>1)</sup>

血液センターでは2014年8月に自動核酸抽出増幅検出装置(PANTHER)を使用した個別検体による核酸増幅検査(nucleic acid amplification test : NAT)を導入した。B型肝炎ウイルス, C型肝炎ウイルス, ヒト免疫不全ウイルスを同時に検出する3価NAT(multiplex-NAT : MPX-NAT)を実施してきた。今回, MPX-NATにおいて, PANTHER内の核酸抽出工程中に洗浄動作不良(洗浄エラー)が繰り返し発生し, 検査不能となった献血者検体2事例について, その原因を解析した。MPX-NATでのみ添加される反応増強試薬(Target Enhancer Reagent : TER)の影響を確認するため核酸抽出工程を試験管内で再現した。両事例ともTERを添加した試験管内に凝集物が形成され, 献血者検体中にIgG型M蛋白が同定された。TERとM蛋白との相互作用により凝集物が形成され洗浄エラーが発生したと推測された。今後, 個別NAT検査において検査不能な検体が発生した際は, M蛋白の可能性を考慮して積極的に精査を行い, 献血者の健康管理に資することが必要と考える。

キーワード : M蛋白, 核酸増幅検査(NAT), 生化学検査, 凝集物

## はじめに

血液センターにおいて, 輸血用血液の核酸増幅検査(nucleic acid amplification test : NAT)として, 2014年8月よりGrifols社の自動核酸抽出増幅検出装置Procleix® PANTHER® System(PANTHERシステム)を使用した個別検体によるNATスクリーニング(個別NAT)検査が導入され, B型肝炎ウイルス(HBV), C型肝炎ウイルス(HCV)およびヒト免疫不全ウイルス(HIV)を同時に検出する3価NAT(multiplex-NAT : MPX-NAT)を実施してきた。また, 2020年8月より, 輸血用血液製剤の更なる安全対策として, HBV, HCV, HIVに加えてE型肝炎ウイルス(HEV)を同時に検出する4価NATを全国導入した。

北海道ブロック血液センターにおいては, PANTHERシステムの導入に伴いMPX-NATに加えて, 試行的にHEV-NATを全例に実施してきた。HEV-NATはMPX-NATとは異なる反応測定系による検査で, MPX-NATにおいてのみ, 核酸抽出工程で磁気分離洗浄による動作不良が発生し検査不能となった献血者検体2事例を経験した。今回, その原因について解析したので報告する。

## 対象および方法

## 1. PANTHERシステムによる核酸抽出工程

PANTHERシステムの反応工程・核酸抽出工程を図1に示す。まず検体からの①核酸抽出, 次に②核酸増幅(Transcription Mediated Amplification : TMA法)による標的となる核酸の増幅, 最後に③増幅産物の検出の主に3つの工程からなり, 全工程は1本の反応チューブ内で実施される。MPX-NAT(Procleix® Ultrio Elite® assay, Grifols社)およびHEV-NAT(Procleix® HEV assay, Grifols社)の核酸抽出工程においては, 検体前処理として反応チューブ内に界面活性剤とオリゴヌクレオチドおよび磁性粒子からなる抽出試薬(Target Capture Reagent : TCR), 献血者検体の順に添加される。MPX-NATでは, さらにDNAウイルスであるHBVの検出感度を上げる目的で反応増強試薬(Target Enhancer Reagent : TER)を添加している。試薬および献血者検体が添加された反応チューブを64℃加温することで蛋白変性およびウイルス粒子の破壊が起こり核酸が遊離され, オリゴヌクレオチドが標的とする核酸とハイブリッドを形成し磁性粒子上に捕捉される。磁気分

1) 日本赤十字社北海道ブロック血液センター

2) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

3) 北海道赤十字血液センター

〔受付日 : 2020年10月27日, 受理日 : 2021年2月9日〕

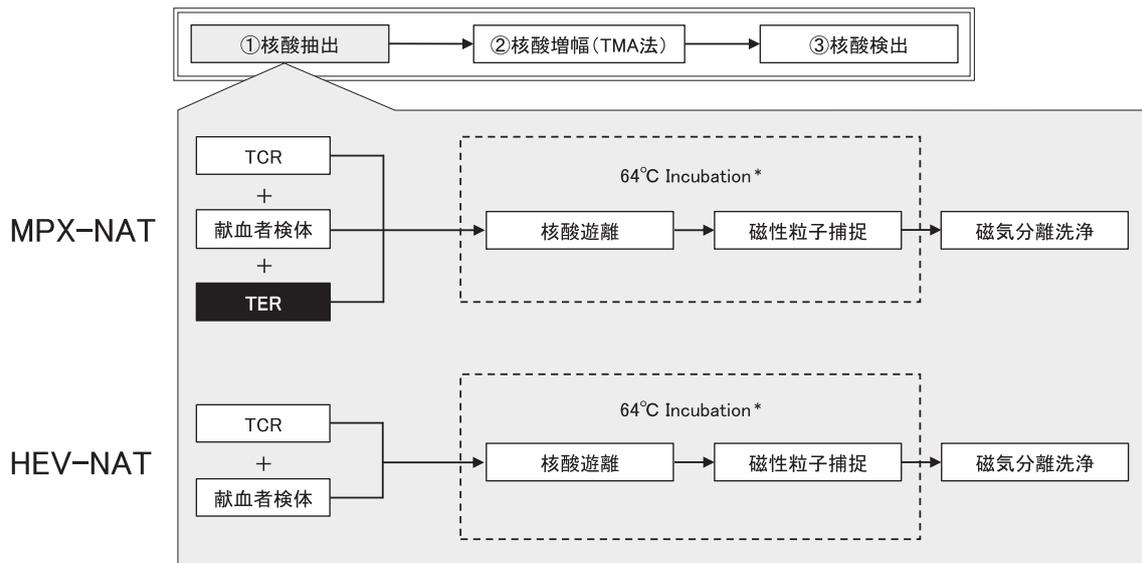


図1 PANTHER システムの反応工程および核酸抽出工程

PANTHER システムの反応系を二重線部に示した。灰色部は MPX-NAT と HEV-NAT の核酸抽出工程を示す。MPX-NAT のみ TER が添加される。

TCR : Target Capture Reagent

TER : Target Enhancer Reagent

\* : インキュベーション中は、段階的に温度変化している。

離洗浄により、核酸が結合した磁性粒子以外のウイルス粒子の残骸や血漿蛋白成分が除去され、核酸が抽出される。MPX-NAT でのみ TER が添加されること以外はどちらも同様の反応工程であった。

## 2. 対象

2014年8月から2015年7月までの期間(献血者由来検体 271,829 本)に、核酸抽出工程において MPX-NAT のみ磁気分離洗浄エラー(洗浄エラー)により検査不能となり、MPX-NAT の再測定においても同様の洗浄エラーが発生し検査不能となり輸血用血液製剤として不適であった2事例(事例1:64歳女性、事例2:49歳男性)を対象とした。なお、対象期間中の献血回数は、事例1は本事例を含めて4回、事例2は本事例の1回だけであった。

## 3. 献血者検体の解析

### 3-1. 献血時の検体測定

感染症検査は CL4800 (富士レビオ株式会社)、生化学検査は LAbOSPECT008 (株式会社日立ハイテク)、血球計数検査は XE-2100D (シスメックス株式会社)により献血時の検体を測定した。

### 3-2. 献血者検体の異常蛋白の確認<sup>1)</sup>

(a) 血清蛋白分画:セルロースアセテート膜を支持体とする電気泳動法により、血清蛋白の移動度の違いからデンストメーターで分画比を算出した。

(b) 免疫グロブリン定量:各種免疫グロブリン(IgG, IgA および IgM)の定量にはそれぞれ N-アッセイ TIA

IgG-SH ニットーボー、N-アッセイ TIA IgA-SH ニットーボー、および N-アッセイ TIA IgM-SH ニットーボー(いずれもニットーボーメディカル株式会社)を使用した免疫比濁法(TIA法)にて測定した。

(c) 免疫電気泳動:寒天ゲルを支持体にして、血清蛋白を電気泳動し、各種抗血清との抗原抗体反応により M 蛋白を同定した。

これらの異常蛋白の確認は、札幌臨床検査センター(血清蛋白分画および免疫グロブリン定量)および株式会社エスアールエル(免疫電気泳動)に検査を依頼した。

### 3-3. 試験管内反応液の確認

PANTHER システムの核酸抽出工程に準じて、反応チューブ内の状態を用手法にて再現した。試薬は、PANTHER システムで使用した TCR および TER を使用し、献血採血時の検査用検体(血漿および血清)を試料とした。まず、試験管に TCR 160 $\mu$ l、献血者(事例1)血漿検体 200 $\mu$ l、TER 40 $\mu$ l の順に分注した(混合比 TCR : 4、献血者血漿検体 : 5、TER : 1)。TER の有無による試験管内反応液の違いを確認するため、TER の代わりに生理食塩液(生食)を使用した。混和後、 $43.7 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  で 4.6 分、 $64.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  で 28.2 分、 $43.7 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  で 5.2 分の順に段階を踏んでインキュベーションした。その後、 $18.0 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$  で 8 分冷却し、試験管内反応液を肉眼で観察した。対照として、検査工程が正常であった献血者血漿検体(C1)を使用した。事例2についても同様に

表1 献血時検査結果

項目	生化学検査							感染症検査 (個別 NAT)	
	総蛋白 (TP)	アルブミン (ALB)	アルブミン/グロブリン比 (A/G)	ALT (GPT)	$\gamma$ -GTP	総コレステロール (CHOL)	グリコアルブミン (GA)	MPX-NAT	HEV-NAT
基準値	6.6 ~ 8.2 (g/dl)	4.0 ~ 5.1 (g/dl)	1.3 ~ 2.1	8 ~ 49 (IU/l)	9 ~ 68 (IU/l)	140 ~ 259 (mg/dl)	16.5 未満 (%)	1.0 未満 (S/CO)	1.0 未満 (S/CO)
事例 1	8.2	4.6	1.2	22	12	240	14.9	検査不能	0.00 (-)
事例 2	10.0	4.2	0.7	19	16	156	14.5	検査不能	0.15 (-)

項目	感染症検査 (血清学)							
	梅毒 TP 抗体	HBs 抗原	HBs 抗体	HBc 抗体	HCV 抗体	HTLV-1 抗体	HIV-1/2 抗体	パルボウイルス B19 抗原
基準値	1.0 未満 (C.O.I.)	1.0 未満 (C.O.I.)	10 未満 (mIU/ml)	1.0 未満 (C.O.I.)				
事例 1	0.1 (-)	0.2 (-)	0.2 (-)	0.1 (-)	0.2 (-)	0.1 (-)	0.1 (-)	0.1 (-)
事例 2	0.1 (-)	0.3 (-)	483.8 (+)	3.0 (+)	0.1 (-)	0.1 (-)	0.1 (-)	0.1 (-)

項目	血球計数検査							
	赤血球数 (RBC)	ヘモグロビン (Hb)	ヘマトクリット (Ht)	平均赤血球容積 (MCV)	平均赤血球 Hb 量 (MCH)	平均赤血球 Hb 濃度 (MCHC)	白血球数 (WBC)	血小板数 (PLT)
基準値	M: 418 ~ 560 F: 384 ~ 504 ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )	M: 12.7 ~ 17.0 F: 11.0 ~ 14.8 (g/dl)	M: 38.8 ~ 50.0 F: 34.6 ~ 44.6 (%)	83.0 ~ 99.5 (fl)	26.8 ~ 33.5 (pg)	31.7 ~ 35.2 (%)	38 ~ 89 ( $\times 10^2/\mu\text{l}$ )	17.0 ~ 36.5 ( $\times 10^4/\mu\text{l}$ )
事例 1	409	13.2	38.9	95.1	32.3	33.9	43.2	28.3
事例 2	394	13.2	39.2	99.5	33.5	33.7	75.0	17.9

S/CO: sample/cutoff

C.O.I.: cutoff index

(+) : 陽性, (-) : 陰性

実施し、対照は検査工程正常の献血者血漿検体 (C2) を用いた。また、血清検体 (事例 1 および事例 2) においても同様に実施した。対照には、それぞれ献血者血清を使用した。

#### 3.4. プラスミンによる分解試験

凝集物の発生がフィブリン析出に起因する可能性を確認するため、プラスミンによる分解試験を行った。凝集物を等分割し、マイクロチューブ管底に入れ、プラスミン (SIGMA 社) を 100 $\mu\text{l}$  添加した。混和しながら 37.0 $^{\circ}\text{C}$  加温下で 2 時間以上インキュベーションした。また、同様の洗浄エラーが発生しなかった血漿検体 500  $\mu\text{l}$  にトロンビン試薬 (トロンボチェック Fib: シスメックス株式会社) 10 $\mu\text{l}$  を加え 5 分放置し、形成されたフィブリンを対照とした。

## 結 果

### 1. 献血時の検査結果

献血時の生化学検査、血球計数検査および感染症検査結果を表 1 に示した。事例 1 は、生化学検査においてアルブミン/グロブリン (A/G) 比が基準値を若干下回る結果であった。個別 NAT 検査については、MPX-NAT は洗浄エラーのため検査不能、HEV-NAT は陰性

であった。血球計数検査および感染症検査に異常はみられなかった。事例 2 は、生化学検査では、総蛋白 (TP) の高値および A/G 比の低下がみられ、蛋白異常が疑われた。個別 NAT 検査については、事例 1 同様の洗浄エラーのため MPX-NAT は検査不能、HEV-NAT は陰性であった。血球計数検査では、赤血球数 (RBC) の若干の低下がみられ、感染症検査において HBc 抗体陽性、HBs 抗体高力価の B 型肝炎既往感染者であったが、それ以外の検査項目は陰性であった。また、対象期間中に献血履歴があった事例 1 は、本事例の過去 3 回に洗浄エラーの発生はなく、検査結果に異常はなかった (データ未掲載)。

### 2. 献血者検体の異常蛋白の確認

献血者検体の血清蛋白分画、免疫グロブリン定量および免疫電気泳動結果を表 2 および図 2 に示した。事例 1 は、免疫グロブリン定量において IgG が高値であり、蛋白電気泳動では  $\gamma$  グロブリン分画 ( $\gamma$  分画) の増加がみられ鋭いピークが認められた (図 2 (a))。特異抗血清との反応による免疫電気泳動においては、IgG- $\lambda$  型 M 蛋白が同定された。事例 2 については、免疫グロブリン定量は IgG が著増しており、蛋白電気泳動ではアルブミン分画 (ALB 分画) が低下し、 $\gamma$  分画の増

表2 献血者検体の異常蛋白の確認

項目	血清蛋白分画					免疫グロブリン定量			免疫電気泳動 特異抗血清による同定
	ALB	$\alpha 1$	$\alpha 2$	$\beta$	$\gamma$	IgG	IgA	IgM	
基準値	61.6 ~ 71.2 (%)	1.9 ~ 3.0 (%)	5.3 ~ 8.9 (%)	6.9 ~ 10.9 (%)	10.8 ~ 19.6 (%)	870 ~ 1,700 (mg/dl)	110 ~ 410 (mg/dl)	33 ~ 190 (mg/dl)	
事例1	59.1	2.1	7.7	6.9	24.2	2,192	51	151	IgG- $\lambda$ 型 M 蛋白
事例2	46.7	1.9	6.0	6.2	39.2	4,512	35	94	IgG- $\kappa$ 型 M 蛋白

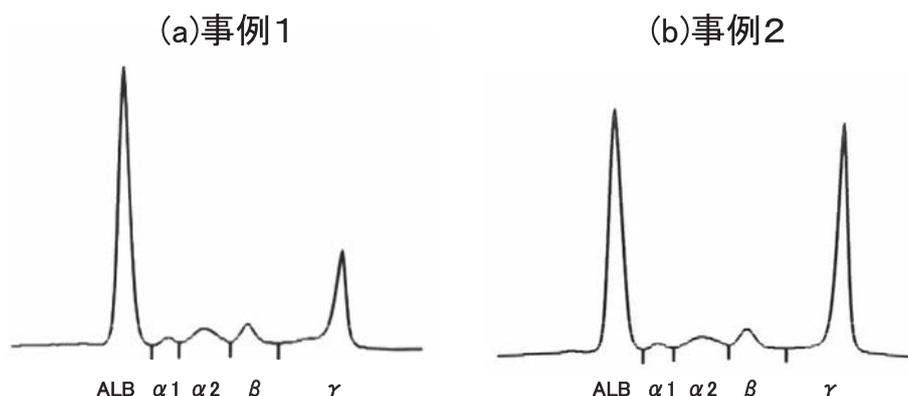


図2 電気泳動法による血清蛋白分画

献血者検体の電気泳動法による血清蛋白分画画像を示した。事例1、事例2ともに $\gamma$ 分画に鋭いピークを認めた。

加がみられ、事例1同様に鋭いピークが認められた(図2(b))。免疫電気泳動においては、IgG- $\kappa$ 型M蛋白が同定された。

### 3. 試験管内反応液の確認

PANTHER システム内の核酸抽出工程を再現した試験管内反応液の確認について図3に示した。両事例ともに血漿検体とTCRおよびTERを混和した反応液中に凝集物が形成されたが、TERの代わりに使用した生食では、反応液中に凝集物はみられなかった(図3(a)および(b)の上段)。対照検体においては、TERおよび生食いずれにおいても凝集物はみられなかった(図3(a)および(b)の下段)。また、血清検体については、血漿検体と同様の方法で確認したが、両事例においてTERおよび生食を使用した反応液中に対照を含みいずれも凝集物の形成はみられなかった(図に示さず)。

### 4. プラスミンによる分解試験

血清検体では凝集物の確認ができず、血漿検体を使用した場合に凝集物が形成されたことから、フィブリンの関与を確認するためプラスミンによる分解試験を行ったが、凝集物に変化は認めなかった(図4)。

## 考 察

今回、献血者の個別NAT検査としてMPX-NATおよびHEV-NATを実施したところ、MPX-NATのみ

において核酸抽出工程中の磁気分離洗浄で動作不良が発生した。MPX-NATの磁気分離洗浄では、献血者検体(血漿)と試薬(TCRおよびTER)を反応させ、変性蛋白を含む反応液を除去した後に洗浄操作を行う。洗浄液分注後の液面を感知し次の動作に進むが、洗浄エラーは、その液量が規定値を超えているという内容であった。このことから、反応液を吸引する際に、異物や洗浄ノズルの詰まりにより吸引不良が発生したと考えられた。輸血用血液の各種検査における機器・装置のエラーが発生した場合、その原因を究明することは非常に重要であるため積極的な精査を実施した。その結果、MPX-NATとHEV-NATで核酸抽出工程の際に添加する試薬の違いから、MPX-NATでのみ添加するTERが原因ではないかと推測した。そこで、PANTHERシステムによるMPX-NATの核酸抽出工程の一部である検体前処理を試験管内で再現したところ、TERを添加することにより凝集物が形成されたことから、TERの関与が強く疑われた。この凝集物がPANTHERシステムにおけるMPX-NATの反応チューブ内でも同様に発生し磁気分離洗浄時の動作不良を引き起こしたことが示唆された。

洗浄エラーが発生した献血者検体をPANTHERシステムにより再測定したところ、同じ洗浄エラーが再現されたため、この原因が検体に由来する可能性が高い

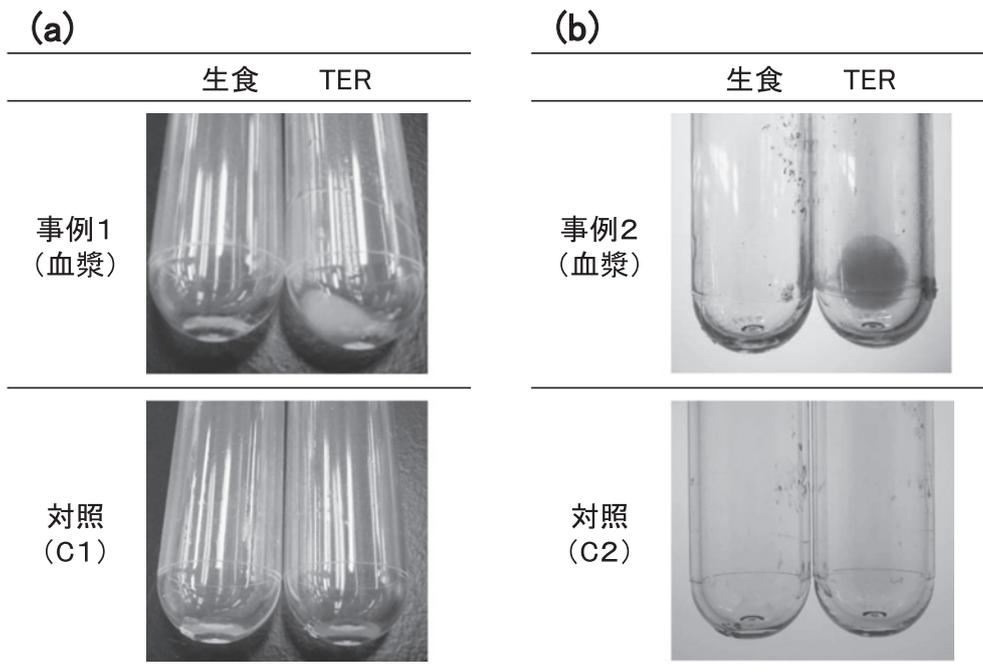


図3 血漿検体による試験管内反応液中の凝集物の確認

血漿検体を用いて TER または生食を添加した試験管内反応液中の凝集物の有無を示した。(a) 事例1 (血漿), 下段は対照 (C1), (b) 事例2 (血漿), 下段は対照 (C2)。事例1, 事例2 どちらも TER を添加した試験管 (右) でのみ凝集物が認められた。血清検体では事例1, 事例2 ともに凝集物は認められなかった (写真未掲載)。

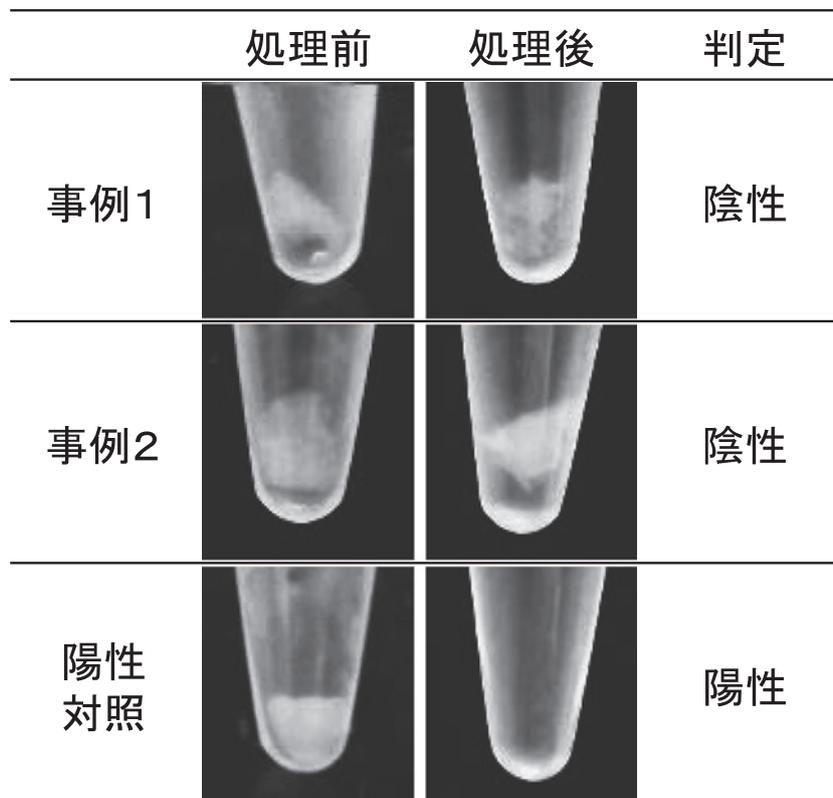


図4 プラスミンによる分解試験結果

プラスミンを添加したことによる凝集物分解能の有無を示した。事例1, 事例2 ともにプラスミンで分解されなかった。陽性対照は、洗浄エラーが発生しなかった血漿検体とトロンビン試薬との混和により形成されたフィブリンであり、プラスミンの添加により分解された。

と判断した。また献血時の生化学検査結果より、事例1はA/G比が基準値を若干下回っており、事例2ではTPの高値とA/G比の低下が認められ、いずれも血清蛋白の異常が疑われた。異常蛋白の精査により、両事例ともにIgGの高値に伴いIgAは抑制されており、事例1ではIgG-λ型、事例2ではIgG-κ型のM蛋白が同定された。様々な免疫生化学検査において、患者検体由来のM蛋白と試薬との反応により凝集や沈殿、混濁が生じることで測定系に干渉し測定結果に影響を与えることが知られている<sup>2)3)</sup>。今回、試験管内で形成された凝集物の精査において、血漿検体でのみ凝集物が形成されたことからプラスミンによる分解試験を実施したところ、凝集物に変化は認められず、これがフィブリン単体である可能性は否定された。しかし、M蛋白共存下においてフィブリンが関与して凝集物が形成された可能性は否定できず、また凝集物がM蛋白であることを直接証明することもできなかった。一方で、Ivanaらは、クロアチアにおける献血血液に対してGrifols社のProcleix Ultrio Plusアッセイによる個別NAT検査を実施した際に、我々が経験したと同様の洗浄エラーが発生し、M蛋白が同定されたと報告している<sup>4)</sup>。このことから両事例においても、M蛋白が関与している可能性が十分に考えられた。凝集物の形成については、pH、イオン強度、界面活性剤の種類などの試薬組成とM蛋白自体の物理化学的性状とが組み合わさって発生するといわれている<sup>5)~7)</sup>。また、蛋白質の溶液に酸や塩基を滴下すると蛋白質は変性する<sup>8)</sup>。凝集物の形成に関与していると推測されるTERの主成分は水酸化リチウムであるが、これはウイルス粒子の破壊や蛋白変性を促進させる作用があり、特に、HBVの検出感度を上げるために使用されている。以上のことからM蛋白と強アルカリ性溶液である水酸化リチウムによる物理化学的性状の変化により凝集物が形成され、洗浄エラーが発生したのではないかと推察された。個別NAT導入後の1年間にM蛋白が検出された献血者は4例であったが、今回の2事例以外の2例(IgG-κ型が1例、IgA-λ型が1例)については、洗浄エラーは発生しなかった(データ未掲載)。また、事例1は、対象期間中において4回の献血履歴があり、過去3回は洗浄エラーが発生しなかったことから、3回目の献血以降にM蛋白が産生もしくは濃度が上昇した可能性が考えられた。M蛋白の存在が凝集物生成の原因のひとつとして強く疑われ、M蛋白のアイソタイプや濃度などの質的、量的な違い、あるいは他の血漿蛋白との相互作用など、様々な要因が関与している可能性が考えられるが、検査に使用した献血者検体(血漿・血清)の残余量に限りがあるため、詳細な解析には至らなかった。

M蛋白は、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン血症(MGUS)をはじめ、多発性骨髄腫や原発性マクログロブリン血症等の腫瘍性疾患と関係するため、その検出は診断的価値が大きい<sup>1)</sup>。血液センターでは、輸血用血液の検査以外に、献血者サービスとして生化学検査や血球計数検査を実施しており、これらに極端な異常値を認めた場合には医療機関への受診勧奨を行っている。蛋白異常については、TPが9.1g/dl以上または6.0g/dl未満の場合が対象となる。事例2は、生化学検査結果におけるTPの異常高値およびA/G比の低値より積極的に異常蛋白の精査を実施したところ、M蛋白が同定され受診勧奨の通知を行った。事例1に関してはA/G比の軽微な減少を認めたのみでその他の生化学検査結果に異常値は認められず受診勧奨の対象事例とならなかったが、個別NAT検査の洗浄エラーを契機にM蛋白が同定されたことから受診勧奨通知を発送できた。Ivanaらは、個別NATにおいて再測定を実施しても検査不能の場合には、原因を調査する必要があると報告している<sup>4)</sup>。わが国で個別NAT検査が導入されてから6年が経過するが、北海道ブロック血液センターにおいて約25万件/年の個別NAT検査で同様の洗浄エラーは約25件/年発生し、再検査を実施しても検査不能となる献血者検体が年間1~2例発生している。これまで、検査不能となった献血者検体について、本事例を除き異常蛋白の確認ができた4例からはいずれもM蛋白が同定された(データ未掲載)。2020年8月5日より、輸血用血液の個別NAT検査は、HBV、HCV、HIVに加えてHEVを同時に検出する4価NATを導入している。HBVの検出感度を上げるためにTERを添加する工程に変わりはなく、同様の洗浄エラーが発生する可能性は十分に考えられる。したがって、生化学検査で異常がなくとも個別NAT検査において検査不能な検体が発生した際には、M蛋白の可能性を考慮して積極的に精査を行い、献血者の健康管理に資することが必要と考える。

と判断した。また献血時の生化学検査結果より、事例1はA/G比が基準値を若干下回っており、事例2ではTPの高値とA/G比の低下が認められ、いずれも血清蛋白の異常が疑われた。異常蛋白の精査により、両事例ともにIgGの高値に伴いIgAは抑制されており、事例1ではIgG-λ型、事例2ではIgG-κ型のM蛋白が同定された。様々な免疫生化学検査において、患者検体由来のM蛋白と試薬との反応により凝集や沈殿、混濁が生じることで測定系に干渉し測定結果に影響を与えることが知られている<sup>2)3)</sup>。今回、試験管内で形成された凝集物の精査において、血漿検体でのみ凝集物が形成されたことからプラスミンによる分解試験を実施したところ、凝集物に変化は認められず、これがフィブリン単体である可能性は否定された。しかし、M蛋白共存下においてフィブリンが関与して凝集物が形成された可能性は否定できず、また凝集物がM蛋白であることを直接証明することもできなかった。一方で、Ivanaらは、クロアチアにおける献血血液に対してGrifols社のProcleix Ultrio Plusアッセイによる個別NAT検査を実施した際に、我々が経験したと同様の洗浄エラーが発生し、M蛋白が同定されたと報告している<sup>4)</sup>。このことから両事例においても、M蛋白が関与している可能性が十分に考えられた。凝集物の形成については、pH、イオン強度、界面活性剤の種類などの試薬組成とM蛋白自体の物理化学的性状とが組み合わさって発生するといわれている<sup>5)~7)</sup>。また、蛋白質の溶液に酸や塩基を滴下すると蛋白質は変性する<sup>8)</sup>。凝集物の形成に関与していると推測されるTERの主成分は水酸化リチウムであるが、これはウイルス粒子の破壊や蛋白変性を促進させる作用があり、特に、HBVの検出感度を上げるために使用されている。以上のことからM蛋白と強アルカリ性溶液である水酸化リチウムによる物理化学的性状の変化により凝集物が形成され、洗浄エラーが発生したのではないかと推察された。個別NAT導入後の1年間にM蛋白が検出された献血者は4例であったが、今回の2事例以外の2例(IgG-κ型が1例、IgA-λ型が1例)については、洗浄エラーは発生しなかった(データ未掲載)。また、事例1は、対象期間中において4回の献血履歴があり、過去3回は洗浄エラーが発生しなかったことから、3回目の献血以降にM蛋白が産生もしくは濃度が上昇した可能性が考えられた。M蛋白の存在が凝集物生成の原因のひとつとして強く疑われ、M蛋白のアイソタイプや濃度などの質的、量的な違い、あるいは他の血漿蛋白との相互作用など、様々な要因が関与している可能性が考えられるが、検査に使用した献血者検体(血漿・血清)の残余量に限りがあるため、詳細な解析には至らなかった。

M蛋白は、意義不明の単クローン性ガンマグロブリン

## 結 語

MPX-NATにおいて、核酸抽出工程時の洗浄エラーが発生した献血者検体からM蛋白が検出された。個別NAT検査時に検体に起因する洗浄エラーを認めた場合は、献血者に重篤な疾病が隠れている可能性があるため、積極的な原因精査は献血者の健康管理に有用と考えられる。

著者のCOI開示：著者らは日本赤十字社職員である。

## 文 献

- 1) 福岡良博, 佐藤進一郎, 谷直人, 他: 臨床免疫学, 医歯薬出版, 東京, 2011, 109-160.

- 2) 藤田清貴：M 蛋白の検査法. 検査と技術, 30 : 33—38, 2002.
- 3) 大杉千尋, 村上信司, 渡辺嗣信：AST 測定試薬と反応する IgM-κ 型 M 蛋白の性状. 医学検査, 63 : 730—736, 2014.
- 4) Ivana B, Margareta M, Tomislav V, et al: Detection of three blood donors with multiple myeloma by routine viral individual-donor nucleic acid testing screening. *Transfusion*, 57: 2813—2814, 2017.
- 5) 松村義寛：タンパク凝固, 沈殿の原理. 検査と技術, 5 : 253—256, 1977.
- 6) 大澤 進：キット製品と尿酸の混濁. 臨床検査, 27 : 822—823, 1983.
- 7) 青木義政, 亀子光明, 藤田清貴, 他：酸性条件下で凝集沈殿する IgG4λ 型 M 蛋白が引き起こしたアルブミン測定への影響. 生物物理化学, 51 : 231—235, 2007.
- 8) 平野 篤, 白木賢太郎：姿をかえるタンパク質. 生物工学, 89 : 404—407, 2011.

## ANALYSIS OF TWO BLOOD DONOR SAMPLES WHICH COULD NOT BE TESTED BY INDIVIDUAL NUCLEIC ACID AMPLIFICATION TEST SCREENING

Koudai Hiratsuka<sup>1)</sup>, Kenta Nakauchi<sup>1)</sup>, Hidekatsu Sakata<sup>1)</sup>, Shinichi Kishimoto<sup>1)</sup>, Keiji Matsubayashi<sup>2)</sup>, Shinichiro Sato<sup>1)</sup>, Katsuya Ikuta<sup>3)</sup> and Shuichi Kino<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Japanese Red Cross Hokkaido Block Blood Center

<sup>2)</sup>Central Blood Institute, Blood Service Headquarters, Japanese Red Cross Society

<sup>3)</sup>Japanese Red Cross Hokkaido Blood Center

### Abstract:

In August 2014, the Japanese Red Cross Blood Center introduced individual nucleic acid amplification test (NAT) screening using the PANTHER system. All blood donations are screened by multiplex-NAT (MPX-NAT) for hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus. In this study, in MPX-NAT, we analyzed two blood donor samples that could not be tested due to repeated failures in the washing operation during the nucleic acid extraction process on PANTHER. The nucleic acid extraction process was reproduced in a test tube to confirm the effect of the Target Enhancer Reagent (TER), which is added in MPX-NAT only. In both cases, aggregates were formed in the test tubes to which TER was added, and IgG-type M protein was identified in blood donor samples. We speculated that aggregates were formed due to interaction between TER and M protein, and that these caused the failure in washing operations. The possibility of M protein in samples that cannot be tested due to repeated failures on PANTHER should be considered for the contribution of the health management of blood donors.

### Keywords:

M protein, nucleic acid amplification test (NAT), biochemical test, aggregate