

IgG サブクラス解析から検討した不規則抗体の臨床的意義

蓮沼 秀和¹⁾ 石田 智子¹⁾ 町田 保¹⁾ 岩下 洋一¹⁾ 清水 直美¹⁾²⁾

背景：IgG の検出感度が高い間接抗グロブリン試験で陽性となった不規則抗体は臨床的意義が高いものとされている。しかしながら IgG には 4 つのサブクラスがあり、注意すべきは IgG1 と IgG3 である。今回我々は不規則抗体ごとの IgG サブクラスについて解析を行い、その意義について検討を行ったので報告する。

方法：当院で検出された抗 D, 抗 E, 抗 c, 抗 e, 抗 Fy^b, 抗 Di^a, 抗 Jk^a, 抗 Jk^b, 抗 S, 温式自己抗体の計 185 例について、IgG サブクラスの測定を行い、抗体の特性について解析した。次いで検出された IgG サブクラス別に単球貪食試験を実施し、その臨床的意義について検討を行った。

結果：多くの抗体で IgG1 単独, IgG3 単独, IgG1 + IgG3 複合型が検出された。抗 E については単一の抗体として検出されたものは IgG1 単独が多く、複数抗体と共に検出されたものは IgG1 + IgG3 複合型を多く認めた。単球貪食試験では IgG3 の抗体結合量と貪食率に高い相関を認めた。

結論：不規則抗体の IgG サブクラスを解析した結果、IgG3 単独型, IgG1 + IgG3 複合型の臨床的意義が高く、複数抗体として検出された抗 E についてはより注意が必要であることが示唆された。

キーワード：不規則抗体, IgG サブクラス, フローサイトメトリー, 単球貪食試験

はじめに

臨床的意義のある不規則抗体とは 37℃ で活性を持つ IgG 型の免疫抗体であり、不規則抗体スクリーニングや交差適合試験ではその検出感度に優れた間接抗グロブリン試験 (Indirect Anti-globulin Test : IAT) を行うことが推奨されている¹⁾。しかしながら、IAT が陽性となった抗体が必ずしも溶血性輸血反応 (Hemolytic Transfusion Reaction : HTR) や胎児・新生児溶血性貧血 (Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn : HDFN) を起こすとは限らない^{2)~4)}。HTR や HDFN の発生機序には不規則抗体の種類や抗体価、輸血された赤血球の抗原量、そして IgG サブクラス等が関与している。IgG サブクラスには IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 の 4 種類があり、溶血に関与するものは補体結合性が強い IgG1 と IgG3 である。特に IgG3 は強い補体結合能を持ち、重篤な HTR や HDFN を起こす可能性がある^{5)~10)}。また、1 種類の不規則抗体を保有する場合は単一特異性 (単一抗体) であるが、2 種類以上の抗体特異性 (複数抗体) の場合は、抗体同定率の難易度が上昇し、輸血の際の適合率も低下すること等から、HTR や HDFN の危険性は高くなると考えられる。

そこで今回我々は日本人に比較的多く検出される抗

E を中心に、単一抗体・複数抗体における IgG サブクラスについて、検出感度が高いフローサイトメトリー (FCM) を用いた解析¹¹⁾¹²⁾を行い、更にその臨床的意義について単球貪食試験 (Monocyte Monolayer Assay : MMA) を用いて検討したので報告する。

材料と方法

1) 材料

2007 年 4 月から 2020 年 10 月の期間、当院にて抗体同定を行い、PEG-IAT が陽性となった抗 D : 3 例, 抗 E : 94 例, 抗 c : 10 例, 抗 e : 6 例, 抗 Fy^b : 24 例, 抗 Di^a : 21 例, 抗 Jk^a : 11 例, 抗 Jk^b : 2 例, 抗 S : 3 例, 温式自己抗体 : 11 例 (Autoimmune hemolytic anemia : AIHA の診断がついたもの) の計 185 例の残検体を用いた。

主な検体として凍結保管されていた血漿や血清の他、一部の AIHA の自己抗体についてはグリシン酸解離システム II ((株)イムコア社)にて調整した自己抗体解離液、および自己抗体を除去した PEG 吸着後の上清を使用した。

なお残検体の使用ならびに本研究における検討については当院倫理委員会の承認を得て行った (承認番号

1) 東邦大学医療センター佐倉病院輸血部

2) 東邦大学医療センター佐倉病院血液内科

〔受付日：2020 年 6 月 24 日, 受理日：2020 年 12 月 13 日〕

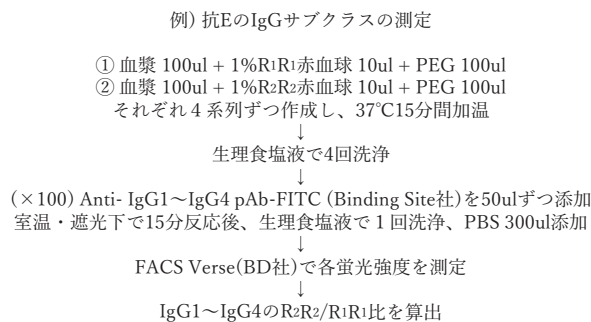


Fig. 1 FCMを用いたIgGサブクラスの測定法

S18089).

2) FCMを用いたIgGサブクラス測定方法

検体 100 μ l に対して、それぞれ 1% に調整した抗原陽性・陰性の赤血球 10 μ l, PEG 100 μ l を添加し 37°C で 15 分加温した。生理食塩液で 4 回洗浄後、100 倍希釈した Sheep Anti-Human IgG1~IgG4 pAb-FITC (Binding Site 社) を 50 μ l ずつ添加した。室温 15 分間反応後、FACS Verse((株)日本ベクトン・ディッキンソン)にて平均蛍光強度(中央値)を測定、IgG1~IgG4 における陽性血球と陰性血球の S/N 比を算出した (Fig. 1)。なお使用した陽性赤血球については原則として抗原がホモ接合体のものを用意したが、抗原頻度の問題から抗 Di^a に対してはヘテロ接合体の赤血球を使用した。自己抗体保有例については抗原陰性赤血球の調製が難しいため、健常人の検体を陰性対照として比較を行った。

3) カットオフ値の設定

市販されている各社抗 D 試薬 5 種について、R₁R₁ 赤血球に対する抗体価を反応増強剤無添加一間接抗グロブリン試験 (Sal-IAT) にて測定した。

次いで同じ希釈系列と約 1% に調整した R₁R₁ 赤血球と rr 赤血球を上記と同条件で反応させ、洗浄後に (×100) Sheep Anti-Human IgG1 pAb-FITC (Binding Site 社) 50 μ l を添加、FCM にて平均蛍光強度を測定し、S/N 比を算出した。

これらの測定結果をもとに、抗体価測定の結果で 1+ となった最大希釈倍数の S/N 比をカットオフ値として採用することとした。

4) 抗 E における単一抗体と複数抗体の比較

今回測定した不規則抗体の内、最も検出頻度の高い抗 E についてそれぞれ単一抗体、複数抗体として検出された IgG サブクラスの特性について比較検討を行った。

5) IgG サブクラス別の抗体感作量の比較

測定した検体の内、IgG2 単独の抗 E : 1 例および温式自己抗体 : 11 例を除く不規則抗体 173 例について、IgG1, IgG3 の S/N 比の平均値を算出し、単一抗体と複数抗体から検出された IgG1 単独, IgG3 単独と IgG1

+ IgG3 複合型における抗体感作量について比較検討を行った。

同様の方法で抗 E についても単一抗体と複数抗体として検出されたものについて比較検討を行った。

6) MMA

検出された不規則抗体 30 例 (抗 D : 2 例, 抗 E : 14 例, 抗 c : 2 例, 抗 Fy^b : 4 例, 抗 Di^a : 8 例) の IgG1 単独, IgG3 単独, IgG1 + IgG3 複合型について自動検査機器システム オーツビジョン[®] ((株)オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス社) を用いて対応抗原がホモ接合体の赤血球に対する抗体価の測定を行った (抗 Di^a に対してのみ対応抗原がヘテロ接合体の赤血球を使用)。

次いでそれらの抗体と赤血球の組合せについて伊藤らの報告¹³⁾による操作法にならない MMA を実施した。PKH 67 色素溶液 (Green Fluorescent Cell Linker Kit, Sigma-Aldrich 社) で標識した赤血球浮遊液を調製し、それぞれ抗体陽性の血漿 50 μ l と PEG 100 μ l を反応させ、37°C で 15 分間加温し、IgG 感作赤血球を調製した。次いで健常人の検体からリンパ球分離溶液 (Lymphoprep[™], Alere Technologies AS 社) を用いて分離した単核球の RPMI1640 浮遊液を IgG 感作赤血球と混和、CO₂ インキュベーター内で 37°C, 1 時間加温を行った。溶血操作の後、PE/Cy7-抗 CD14 (PE/Cyanine7 anti-human CD14 Antibody, Biologend 社) を用いて単核球の染色を行い、X 軸に PE/Cy7 (CD14) を、Y 軸に FITC (PKH 67) を展開させ両者が陽性となった領域を貪食率として FCM による解析を行った。

7) 同一抗体における貪食率の検討

MMA を行った抗 E : 14 例の内、抗体価が 32 倍かつそれぞれが IgG1 単独, IgG3 単独, IgG1 + IgG3 複合型となった 3 例について、IgG サブクラス別の貪食率の比較を行った。

8) 統計解析

MMA を行った 30 例の抗体価・貪食率・IgG サブクラスの抗体感作量についてピアソンの積率相関係数 (r) と有意差 (p) を算出し、p 値 0.05 未満を有意とした。

結 果

1) カットオフ値の設定

結果は Fig. 2 と Table 1 の通りであり、2 社の抗 D 試薬について最小値となった S/N 比 2.00 以上を特異性ありと判定した。

2) 不規則抗体の IgG サブクラス

測定した不規則抗体の IgG サブクラス全ての結果と複数抗体における IgG サブクラスの結果を Table 2, 3 に示す。各抗体の IgG サブクラスの検出頻度は下記の通りである。

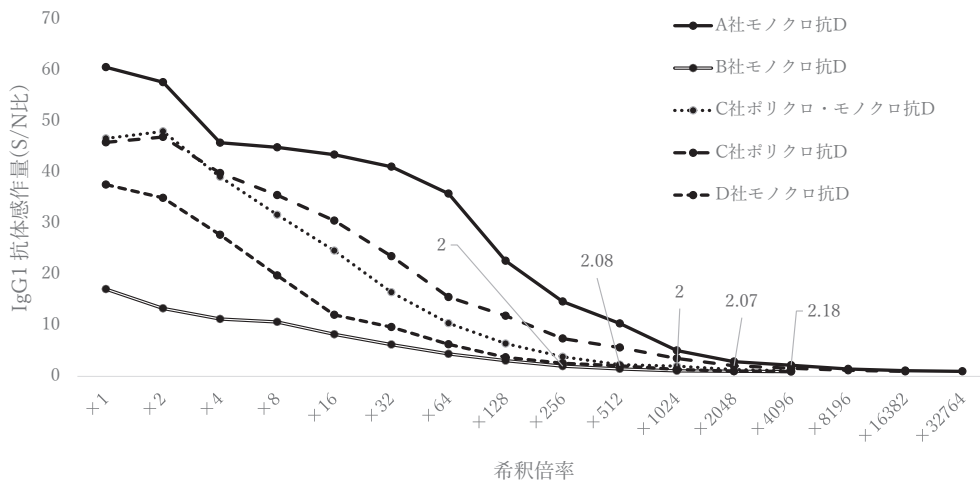


Fig. 2 抗D希釈系列とIgG1抗体感作量 (S/N比)

Table 1 メーカー製抗Dの抗体価とIgG1に対するS/N比

	A社	B社	C社①	C社②	D社
抗体価	4,096	256	1,024	2,048	512
S/N比	2.18	2.00	2.00	2.07	2.08

①Rh系抗体

抗EはIgG1単独が61例(64.9%), IgG3単独が8例(8.5%), IgG1+IgG3複合型が24例(25.5%), IgG2単独が1例(1.1%)とIgG1単独のものが最も多く検出された。

抗cは全て抗Eの複数抗体として検出されたものであるが、8/10例(80.0%)でIgG1単独、残り2例もIgG3単独であった。

抗D、抗eについては測定数が少ないものの、それぞれでIgG1+IgG3複合型を認めた。

②抗Fy^b

抗Fy^bは23/24例(95.8%)がIgG1単独であった。1例でIgG3単独が検出されたが、この症例において特筆すべき既往歴や抗体の高力価などは認められなかった。抗Fy^bについてIgG1+IgG3複合型は検出されなかった。

③抗Di^a

抗Di^aは21例中10例がIgG3単独(47.6%)、9例がIgG1+IgG3複合型(42.9%)、2例がIgG1単独型(9.5%)と全体の約90%でIgG3が検出された。

④Kidd系抗体

抗Jk^aはIgG1単独が6例(45%)、IgG3単独が1例(18%)、IgG1+IgG3複合型が4例(36%)検出された。

抗Jk^bの2例はいずれも複数抗体として検出されたものであるが、それぞれIgG1単独とIgG3単独を認めた。

⑤抗S

抗Sは1例でIgG3単独を、2例でIgG1+IgG3複合型を認めた。

⑥温式自己抗体

AIHAの患者が保有する温式自己抗体についてはIgG1単独が最も多い結果となった(6/11例)。

同種抗Eを保有していた1例の温式自己抗体については、今回測定した検体の中で唯一IgG1+IgG2+IgG3の複合型であった。

3) 抗Eにおける単一抗体と複数抗体の比較

単一および複数抗体として検出された抗EのIgGサブクラスの結果をTable 4に示す。単一抗体では57/75例がIgG1単独(76.0%)であるのに対し、抗Eを含む複数抗体では15/19例(78.9%)でIgG1+IgG3複合型が検出された。今回測定した複数抗体の組合せの内、抗E+抗c(9例)、抗E+抗Fy^b(2例)、抗E+抗c+抗S(1例)については全例で抗EにIgG1+IgG3複合型が検出された。

4) IgGサブクラス別の抗体感作量の比較

測定した不規則抗体と抗Eについて、それぞれIgG1, IgG3のS/N比の平均値をTable 5に示す。全体的にIgGサブクラスが単独で検出されたものよりもIgG1+IgG3複合型で検出されたIgG1, IgG3それぞれの抗体感作量が多い傾向が認められた。

同種抗EについてはIgG1の抗体感作量が高い傾向が認められた。複数抗体でIgG3単独のものが検出されなかったため、同様の評価が難しいが複数抗体として検出されたIgG1+IgG3複合型の内、IgG1が著明に高い傾向が認められた。

5) MMA

抗体種類, IgGサブクラス, IgGサブクラスの抗体感作量, 抗体価および貧食率を示した結果をTable 6に示す。今回測定した抗体の内、貧食率の高い10例についてはいずれもIgG3単独またはIgG1+IgG3複合型であ

Table 2 不規則抗体の件数と IgG サブクラスの結果

	件数	IgG1	IgG2	IgG3	IgG1+IgG3	IgG1+IgG2+IgG3
抗 D	3	1			2	
抗 E	94	61	1	8	24	
抗 c	10	8		2		
抗 e	6	3		1	2	
抗 Fy ^b	24	23		1		
抗 Di ^a	21	2		10	9	
抗 Jk ^a	11	6		1	4	
抗 Jk ^b	2	1		1		
抗 S	3			1	2	
温式自己 (溶血性)	11	6		1	3	1
合計	185	111	1	26	46	1

Table 3 複数抗体の IgG サブクラスの結果

複数抗体	件数	抗体名	IgG1	IgG3	IgG1+IgG3	IgG1+IgG2+IgG3
抗 E+抗 c	9	抗 E			9	
		抗 c	8	1		
抗 E+抗 c+抗 S	1	抗 E			1	
		抗 c		1		
		抗 S			1	
抗 E+抗 Fy ^b	2	抗 E			2	
		抗 Fy ^b	2			
抗 E+抗 Di ^a	2	抗 E	2			
		抗 Di ^a			2	
抗 E+抗 Jk ^a	3	抗 E	2		1	
		抗 Jk ^a		1	2	
抗 E+抗 Jk ^b	1	抗 E			1	
		抗 Jk ^b		1		
抗 E+温式自己 (溶血性)	1	抗 E			1	
		自己				1
抗 e+抗 Jk ^a	1	抗 e	1			
		抗 Jk ^a			1	
抗 e+抗 Jk ^b	1	抗 e			1	
		抗 Jk ^b	1			

Table 4 単一および複数抗体として検出された抗 E の IgG サブクラス

抗体	件数	IgG1	IgG2	IgG3	IgG1+IgG3
抗 E (単一抗体)	75	57	1	8	9
抗 E (複数抗体)	19	4			15
合計	94	61	1	8	24

り, 中には抗体価が低いものも含まれていた. 一方で IgG1 単独の抗体についてはいずれも貧食率が低い傾向が認められた.

6) 同一抗体による IgG サブクラスの検討

結果を Fig. 3 に示す. 抗体価が同等であっても IgG 1 単独のものに比べて IgG3 単独の貧食率が高値となった. 同様に IgG1+IgG3 複合型についても貧食率が高い結果となった.

7) 統計解析

結果を Fig. 4 (a) に IgG 感作量と貧食率の相関関係, (b) に IgG 感作量と抗体価の相関関係, (c) に抗体価と貧食率の相関関係を示す.

IgG1 単独の抗体については (a) $r=0.60$, $p=0.03$, (b) $r=0.91$, $p<0.001$, (c) $r=0.60$, $p=0.03$ とそれぞれの結果について優位な相関を認めた.

IgG3 単独の抗体は抗体感作量と貧食率について有意な相関を認めた ($r=0.91$, $p=0.002$) が, 抗体価については貧食率および IgG 抗体感作量との相関は認められなかった.

IgG1+IgG3 複合型については IgG1 の抗体感作量と抗体価 ($r=0.73$, $p=0.02$), および貧食率と IgG3 感作量 ($r=0.80$, $p=0.01$) に有意な相関が認められたが抗体価と貧食率について有意差は認められなかった.

Table 5 測定した抗体における IgG1 と IgG3 の抗体感作量

IgG サブクラス			単一抗体		複数抗体		全体	
			平均値 (S/N)	検体数	平均値 (S/N)	検体数	平均値 (S/N)	検体数
全体	単独	IgG1	5.88	88	6.05	17	5.90	105
		IgG3	9.73	21	3.22	4	8.69	25
	複合型	IgG1	17.1	22	20.5	21	18.8	43
		IgG3	12.9		8.68		10.8	
抗 E	単独	IgG1	6.92	57	9.52	4	7.09	61
		IgG3	6.41	8	-	0	6.41	8
	複合型	IgG1	10.3	9	26.3	15	20.3	24
		IgG3	9.46		7.99		8.54	

Table 6 単球貪食試験結果

No	抗体	サブクラス	IgG1 (S/N)	IgG3 (S/N)	抗体価	貪食率
1	抗 D	IgG1+IgG3	2.07	22.77	32 倍	93.02
2	抗 Di ^a	IgG3	1.69	31.02	2 倍	90.32
3	抗 Di ^a	IgG3	1.19	41.59	8 倍	85.38
4	抗 E	IgG1+IgG3	29.75	33.57	32 倍	82.27
5	抗 E	IgG1+IgG3	14.02	16.98	16 倍	78.57
6	抗 E	IgG3	0.94	22.58	32 倍	70.7
7	抗 Di ^a	IgG1+IgG3	2.04	3.37	8 倍	56.69
8	抗 Di ^a	IgG3	1.14	2.63	4 倍	43.61
9	抗 Di ^a	IgG1+IgG3	2.32	8.44	1 倍未満	29.45
10	抗 E	IgG1+IgG3	4.28	7.13	16 倍	20.95
11	抗 Fy ^b	IgG1	4.55	0.91	1 倍未満	14.43
12	抗 E	IgG1	52.27	1.12	128 倍	13.81
13	抗 E	IgG1	26.96	1.24	64 倍	12.51
14	抗 Di ^a	IgG1+IgG3	2.07	8.47	1 倍未満	11.56
15	抗 Fy ^b	IgG3	1.03	6.69	1 倍未満	10.65
16	抗 E	IgG1+IgG3	39.34	2.78	128 倍	10.07
17	抗 E	IgG3	1.28	2.02	1 倍	9.83
18	抗 E	IgG1	39.38	1.07	32 倍	8.94
19	抗 Fy ^b	IgG1	3.4	0.95	1 倍未満	8.53
20	抗 D	IgG1	7.89	1.78	4 倍	8.43
21	抗 E	IgG1+IgG3	23.51	2.57	4 倍	8.43
22	抗 E	IgG3	0.79	2.84	2 倍	7.95
23	抗 Di ^a	IgG1	2.00	0.93	1 倍未満	7.75
24	抗 E	IgG1	3.30	0.78	1 倍未満	6.51
25	抗 Di ^a	IgG1	2.62	1.29	1 倍未満	5.94
26	抗 Fy ^b	IgG1	2.03	1.00	1 倍未満	5.25
27	抗 c	IgG3	1.17	2.46	4 倍	4.7
28	抗 E	IgG1	3.12	1.17	4 倍	4.15
29	抗 c	IgG1	2.90	0.99	4 倍	3.57
30	抗 E	IgG1	2.61	1.02	4 倍	2.29

考 察

今回測定を行った不規則抗体については IgG1 単独や IgG3 単独, IgG1+IgG3 複合型のものが主に検出され, 一部の高頻度抗原に対する抗体などで報告¹⁴⁾された臨床的意義の乏しい IgG4 単独のものは認められなかった。

抗体種別にみた場合, Rh 系の抗体や抗 Fy^b については IgG1 が, 抗 Di^a や抗 S については IgG3 が多く検出された。これまでも同様の報告¹⁵⁾はされていたが, それらに加えて, 抗 E や抗 Di^a については IgG1+IgG3 複合型が検出された。

AIHA 症例が保有する自己抗体については IgG1 単独が最も多かった。他の報告¹⁶⁾でも IgG1 単独のものが多く検出され, 症例数は少ないものの今回の我々の結果と概ね一致していた。

今回 MMA を検討した抗体では, 抗 D, 抗 E, 抗 Di^a について貪食率が高い傾向が認められ, それらは全て IgG3 が検出された検体であった。単球貪食能については多くの報告¹³⁾¹⁷⁾¹⁸⁾で, IgG 抗体感作量や抗体価と相関があるとされていたが, 特に IgG3 の抗体感作量が高いものほど貪食率は有意に高かった。実際に単球貪食能に必要な付着抗体数については IgG1 が 1,230~4,020/赤血球, IgG3 が 150~640/赤血球程度とされており⁵⁾, 今回の結果からも IgG3 では低力価であってもより重篤な溶血反応を起こす可能性が示唆された。一方で IgG1 単独の抗体については抗体価や抗体感作量が高くなるほど有意に貪食率が上昇するが, 高力価の抗体であっても IgG3 が検出された検体と比較した場合に, 貪食率は低い傾向が認められた。IgG1+IgG3 複合型についても同様に, IgG3 の抗体感作量が高いほど貪食率が高くなる傾向が認められたが IgG1 のみ抗体感作量が多い症例では抗体価は高いものであっても貪食率が低値であった。以上の結果から, 貪食率の数値から HTR や HDFN を起こす具体的な値を示すことは難しいが, IgG1 単独の抗体よりも IgG3 単独, IgG1+IgG3 複合型の抗体がより注意を要することが示唆された。実際に抗 E による HDFN の症例では, IgG1+IgG3 複合型を確認した事例が報告されている^{19)~21)}。

別に注目すべき点として, 今回検出された IgG1+IgG3 複合型は免疫原性の高い抗原に対する抗体に多く検出された。免疫原性は D>K>E>Jk(a+) の順に強いとされ, Di^a 抗原は K 抗原よりも弱く, Fy^b 抗原については Rh 系の抗原に比べて弱いとされている。今回の結果から IgG1+IgG3 複合型が抗 D や抗 E, 抗 Di^a, 抗 Jk^a で検出され, 抗 Fy^b では認められなかったことや抗 E + 抗 c の複数抗体保有例では抗 E に比べて産生される頻度が低い抗 c について複合型が認められなかったことなどから抗体が産生されやすいものほど複合型の IgG

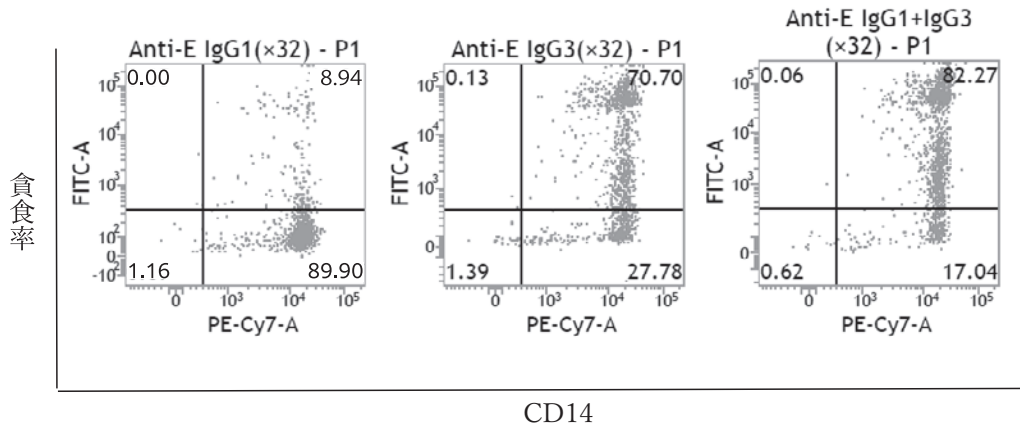


Fig. 3 抗体価 32 倍・IgG サブクラス別抗 E 貪食率の結果

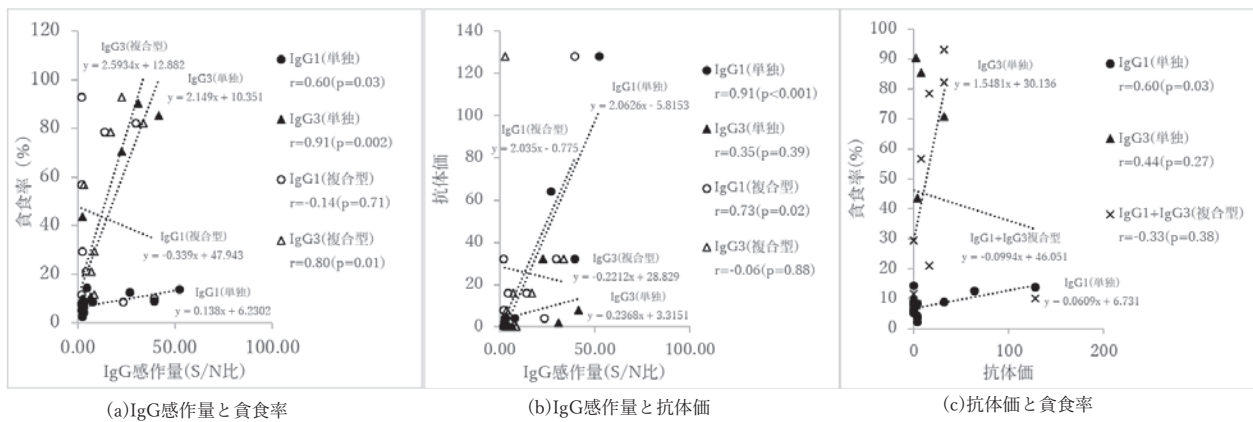


Fig. 4 IgG サブクラス・抗体価・貪食率の相関結果

サブクラスが産生されやすい傾向が示唆された。

同様に考察した場合、免疫能の亢進している AIHA においては産生される同種抗体に複合型の IgG サブクラスが産生される可能性が高いと考えられる。今回 AIHA の症例で検出した同種抗 E は残検体の不足から MMA の実施には至らなかったが、算出された IgG1+IgG3 複合型の抗体感作量と貪食率の相関図の結果 ($y=2.5934x+12.882$) から、検出された抗 E の IgG3 感作量 (S/N 比=4.75) より貪食率を算出すると約 25% となり、HTR のリスクが高いと考えられた。この検体は自己抗体が 128 倍、抗 E の抗体価が 512 倍とそれぞれが非常に高力価であり、ZZAP 処理自己赤血球による自己抗体の吸着や検出感度を下げた Sal-IAT などの検査法を駆使してもなお自己抗体を陰性化することが難しく同種抗 E の同定に苦慮した症例であった。赤血球型検査ガイドラインにおいては、自己抗体が検出された AIHA の症例では RhD 以外の Rh 血液型についても患者と同型にすることが求められている。自己抗体保有例では同種抗体を保有する事例が数多く報告され^{22)~24)}、それらが IgG1+IgG3 複合型である可能性を考

慮した場合に自己抗体保有例で患者と同型の赤血球を選択することは、IgG サブクラスの観点からも HTR の危険性をより効率的に回避できる手法であると考えられた。

今後の展望

今回測定した不規則抗体は種類によっては症例数の少ないものも多数あった。IgG サブクラスを解析することは HTR や HDFN を予測する上での一材料になり得るため、今後は抗体の種類や症例数を増やすことを目的として、他施設と共同で解析していきたいと考える。

結論

不規則抗体の IgG サブクラスの解析結果から臨床的意義の検討を行った。多くの抗体で IgG1 単独、IgG3 単独、IgG1+IgG3 複合型が認められ、MMA の結果からは IgG3 の抗体感作量が多いものほど有意に貪食率が高く、より注意が必要であることが示唆された。日本人に検出される機会の多い抗 E については単一抗体として検出されたものの多くは IgG1 単独のものが、複数抗体として検出された場合では IgG1+IgG3 複合型が多

く認められた。抗 E は自動検査機器の導入やその反応性から通常の検査で見逃される危険性は少ないが、複数抗体保有例や自己抗体保有例では同定に苦慮する可能性がある。今回の検討結果からは、複数抗体に検出される抗 E は IgG1+IgG3 複合型を検出する可能性が高く、より注意が必要であると考えられた。

著者の COI 開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

本研究の要旨は第 67 回輸血細胞治療学会シンポジウムにて報告した。

謝辞：FCM を用いた IgG サブクラスの測定と単球貪食試験につきましても的確な助言を頂きました群馬大学医学部附属病院 丸橋隆行先生、東北ブロック血液センター 伊藤正一先生、ならびに校正にも的確な御指導を頂きました浅井隆善先生に心より御礼申し上げます。

文 献

- 1) 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2版), 2016.
- 2) 関 恵美, 結城孝子, 佐藤まゆみ, 他：緊急輸血時に不規則抗体により不適合輸血となった2症例. 日本輸血細胞治療学会誌, 62 : 309, 2016.
- 3) 高杉淑子, 岡村奈央子, 徳住美鈴, 他：分娩時に Jra 不適合輸血がおこなわれた1症例. 日本輸血細胞治療学会誌, 58 : 765—769, 2012.
- 4) 菅原亜紀子, 橘川寿子, 高崎美苗, 他：Rh 血液型不適合輸血によっても溶血性副作用を呈さなかった抗 C+e +HI 抗体保有症例. 日本輸血細胞治療学会誌, 56 : 495—500, 2010.
- 5) 前田平生, 大戸 齊, 岡崎 仁, 他：改訂第4版 輸血学, 中外医学社, 東京, 2018, 261—272, 318—327, 597—648.
- 6) 多田克彦, 渋谷昇平, 塚原沙耶, 他：子宮内交換輸血で救命できた RhE 不適合妊娠の一例. 日本周産期・新生児医学会雑誌, 52 : 908—913, 2016.
- 7) 宮林 寛, 清水正樹, 菅野啓一, 他：RhE 不適合による新生児溶血性疾患 12 症例の検討. 日本周産期・新生児医学会雑誌, 49 : 618, 2013.
- 8) Kellin HG, Anstee DJ: Mollison's Blood Transfusion in Clinical Medicine, 12th ed, Wiley-Blackwell, Hoboken, 2014, 499—541.
- 9) 白石泰夫：スタンダード輸血検査テキスト第3版, 医歯薬出版株式会社, 東京, 2017, 106—113.
- 10) 池田和博：JAMT 技術教本シリーズ 輸血・移植検査技術教本, 丸善出版株式会社, 東京, 2016, 140—143.
- 11) 田中宏枝, 七枝かずみ, 長田広司, 他：IAT 法と FCM 法による赤血球抗体の IgG サブクラスの解析. 臨床病理, 41 (補冊) : 347, 1993.
- 12) 丸橋隆行, 北爪洋介, 田代香奈, 他：フローサイトメトリーによる不規則抗体スクリーニングの可能性. 輸血細胞治療学会誌, 65 : 782—792, 2019.
- 13) 伊藤正一：単球貪食試験による不規則抗体の評価とその臨床的意義. 検査と技術, 48 (6) : 597—603, 2020.
- 14) 小川公代, 永濱景子, 志賀達哉, 他：間接抗グロブリン試験に際しモノクロナール抗ヒト IgG 試薬が有用であった抗 JMH 保有症例. 輸血細胞治療学会誌, 64 : 66—71, 2018.
- 15) 大畑秀穂：スタンダード輸血検査テキスト第2版, 医歯薬出版株式会社, 東京, 1999, 78—81.
- 16) Ito S, Hishinuma T, Ogiyama Y, et al: Evaluation of erythrocyte autoantibodies with flow cytometric phagocytosis assay. International Journal of Blood Transfusion and Immunohematology, 8: 1—7, 2018.
- 17) 大橋 恒, 石丸 健, 天満智佳, 他：不規則抗体スクリーニングにおける酵素法の意義. 日本輸血細胞治療学会誌, 56 : 709—715, 2010.
- 18) 宮崎 孔, 高橋大輔, 佐藤進一郎, 他：FCM を用いた単球貪食試験による不規則抗体の臨床的意義の解析. 日本輸血細胞治療学会誌, 63 : 410, 2017.
- 19) 菅沼広樹, 大日方薫, 李 翼, 他：RhE 不適合による新生児溶血性疾患の4例—重症化予測と治療法の検討—, 日本小児血液学会雑誌, 24 : 106—110, 2010.
- 20) 大川原奈美, 藤川甲文, 石上園子, 他：抗 E 不適合による新生児溶血性疾患の一症例. 埼臨技会誌, 53 : 226, 2006.
- 21) 村井良精, 遠藤輝夫, 盛合美加子, 他：胎児・新生児溶血性疾患の発症予測に対する高感度 IgG サブクラス解析の有用性の検討. 日本輸血細胞治療学会誌, 65 : 653, 2019.
- 22) 安田広康, 奥津美穂, 川畑絹代, 他：自己抗体と同種抗体を保有する患者への赤血球輸血：主要な同種抗原を適合させた赤血球の選択と輸血効果の検討. 日本輸血細胞治療学会誌, 53 : 613—618, 2007.
- 23) 大澤真輝, 山岡 学, 佐能もも香, 他：輸血後に温式自己抗体, 抗 Jk3, 抗 E が検出された DHTR 症例. 日本輸血細胞治療学会誌, 63 : 405, 2017.
- 24) 竹山佳織, 武井映吏子, 早見美江, 他：抗 E+抗 c+温式自己抗体による遅発性溶血性副作用を発症した AIHA の一症例. 日本医学検査学会抄録集, 65 : 415, 2016.

CLINICAL SIGNIFICANCE OF IRREGULAR ANTIBODY BASED ON IgG SUBCLASS ANALYSIS

Hidekazu Hasunuma¹⁾, Tomoko Ishida¹⁾, Tamotsu Machida¹⁾, Yoichi Iwashita¹⁾ and Naomi Shimizu¹⁾²⁾

¹⁾Division of Blood Transfusion, Toho University Sakura Medical Center

²⁾Department of Hematology, Toho University Sakura Medical Center

Abstract:

Background: Detection of IgG antibodies using an indirect anti-globulin analysis is generally useful as a clinical laboratory examination. IgG has four subclasses, of which IgG1 and IgG3 have high complement binding activities which are reported to be frequently involved in hemolytic reactions. The purpose of this study was to evaluate the clinical significance of IgG subclasses regarding the respective alloantibodies or autoantibodies.

Methods: We measured fluorescence intensities by flow cytometry to investigate titers of erythrocyte-bound IgG subclasses in patients (n = 185) with anti-D, anti-E, anti-c, anti-e, anti-Fy^b, anti-Di^a, anti-Jk^a, anti-Jk^b and warm autoantibodies. Further, we performed monocyte monolayer assay (MMA) in about 30 of these cases to confirm clinical significance.

Results: The IgG subclasses IgG1 and IgG3 were common as a single antibody, while IgG1 + IgG3 was common as multiple antibodies. In patients with anti-E antibody, single antibody with IgG1 or multiple antibodies with IgG1 + IgG3, respectively, were common. High levels of cell-bound IgG3 showed a high phagocytic ratio in MMA.

Conclusions: IgG3 and IgG1 + IgG3 alloantibodies in patients with anti-E antibody warrant further investigation.

Keywords:

Irregular Antibody, IgG Subclass, Flow Cytometry, Monocyte Monolayer Assay