

A および B 両抗原の減弱がみられた AB 型骨髓異形成症候群の 1 例

石川怜依奈¹⁾ 丸橋 隆行¹⁾ 須佐 梢¹⁾ 西本奈津美¹⁾ 岩原かなえ¹⁾
 後藤 秀樹²⁾ 石川 治³⁾ 早川 輝⁴⁾ 高橋遥一郎⁴⁾ 佐野 利恵⁴⁾
 小湊 慶彦⁴⁾ 横濱 章彦¹⁾

症例は 20 代男性。造血器疾患の既往歴や輸血歴、造血幹細胞移植歴はなし。当院で壊疽性膿皮症と診断し、デブリードマンのため緊急手術となった。血算では軽度の貧血と血小板減少が見られた。ABO 血液型検査で A、B 両抗原が減弱し部分凝集を示したことや、壊疽性膿皮症には造血器疾患を合併することから精査を行なった結果、トリソミー 8 を伴う Myelodysplastic syndrome with multilineage dysplasia (MDS-MLD) の診断となった。

血清学的検査やフローサイトメトリー、遺伝子検査から、遺伝的亜型や混合キメラの可能性は低く、造血器疾患による血液型抗原の減弱によって部分凝集を示したことが示唆された。本症例では、ABO 血液型検査において部分凝集がみられたことや原疾患の診断が、血算に異常が出る前に MDS の診断にいたる一助になった。

A、B 両抗原の減弱を同時に見た場合は、遺伝的亜型の可能性は低く、本例のように背景に造血器疾患がある可能性も念頭に入れる必要がある。

キーワード：部分凝集、抗原減弱、骨髓異形成症候群、ABO 血液型検査

はじめに

ABO 血液型検査は、輸血を行う上で必須の検査であり、通常赤血球表面の A 抗原、B 抗原を調べるオモテ検査と血漿（血清）中の抗 A、抗 B を調べるウラ検査を行い、両方の結果が一致した場合に ABO 血液型を判定することができる。しかし、遺伝的亜型や造血器疾患による抗原減弱、ABO 異型輸血後、ABO 異型造血幹細胞移植後、新生児、キメラ、モザイクなどが原因となりオモテ検査において部分凝集 (mf: mixed field agglutination) が見られ、オモテウラ不一致のために ABO 血液型が判定保留となることがある^{1)~4)}。

今回われわれは、A および B 両抗原の減弱のため部分凝集を示した稀な AB 型の症例を経験したため報告する。

対象および方法

症例

20 歳代、男性。輸血歴、造血幹細胞移植歴なし。問診では亜型を指摘された家族歴はなく、両親は A 型と B 型、兄は A 型である。

X 年 Y 月発熱および右耳下部熱感、腫脹を主訴に前々医を受診。抗菌薬により加療したものの炎症が拡大し、蜂窩織炎、壊死性筋膜炎疑いのため前医皮膚科に入院。点滴による抗生剤の投与をおこなったが、局所の炎症症状は改善が見られず、当院へ救急搬送、緊急手術となった。

当院では、右頸部から下顎にかけての炎症と膿瘍に対してデブリードマンが予定され、血液型検査がオーダーされた。検査では A および B 抗原が減弱しており、判定保留となった。その後日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター埼玉製造所（以下、血液センター）への依頼検査により 37℃ 反応性の抗 A および抗 B の存在が否定されたため、輸血の際は AB 型として対応した。術後、抗菌薬への反応も乏しく、数度の血液培養、炎症局所の培養も陰性であった。術中所見および臨床所見より、壊疽性膿皮症と診断し、抗菌薬投与の継続とステロイドパルス療法を含めた免疫抑制療法により症状は徐々に軽快した。壊疽性膿皮症には、造血器疾患が合併しやすく、当初より見られた軽度の貧血、血小板数の減少（表 1）や A 抗原および B 抗原の減弱

1) 群馬大学医学部附属病院輸血部

2) 北海道大学病院血液内科

3) 群馬大学医学部附属病院皮膚科

4) 群馬大学大学院医学系研究科法医学講座

〔受付日：2021 年 11 月 9 日、受理日：2022 年 2 月 23 日〕

は、造血器疾患に伴うものを疑い、血液内科にコンサルトされた。

骨髓穿刺では、芽球比率 0.4%、赤芽球に巨赤芽球様変化、顆粒球に脱顆粒、微小巨核球の形態異常を認めた。G-band 法による染色体分析では、47, XY, +8 [9], 47, XY, idem, del (11)(q?) [10] の異常を認めた。以上より、当院への搬送から 1 カ月後、Myelodysplastic syndrome with multilineage dysplasia (MDS-MLD) の診断となった。

患者は局所所見が改善後、壊死性膿皮症および MDS の加療のために転院となった。

表 1 入院時の臨床検査データ

Hb	11.1 g/dl
RBC	$3.27 \times 10^6 / \mu\text{l}$
WBC	$23.7 \times 10^3 / \mu\text{l}$
PLT	$106 \times 10^3 / \mu\text{l}$
白血球分画	
好中球 %	96 %
単球 %	1 %
リンパ球 %	1 %
後骨髄球 %	2 %
総蛋白	4.7 g/dl
アルブミン	2.1 g/dl
総ビリルビン	2.5 mg/dl
AST	36 U/l
ALT	43 U/l
LD	254 U/l
ALP	319 U/l
尿酸	1.6 mg/dl
BUN	10 mg/dl
クレアチニン	0.66 mg/dl
CRP	34.36 mg/dl

この研究は、群馬大学・人を対象とする医学系研究倫理審査委員会の承認を得て行われた(受付番号 160)。

検査方法・結果

1. ABO 血液型検査

自動輸血検査装置(Ortho Clinical Diagnostics, Innova II)を用いたカラム凝集法による入院時の ABO 血液型検査にてオモテ検査で抗 A (4+), 抗 B(mf) (mf: mixed field agglutination, 部分凝集) と判定されたため(図 1a), 試験管法で再検査した。試験管法(試薬: モノクローナル抗 A, 抗 B ワコー, 和光純薬)では抗 A (mf), 抗 B (mf) となり, 抗 A および抗 B で部分凝集を示した。ウラ検査はカラム凝集法(試薬: オートビュー用アフーマジエン, Ortho Clinical Diagnostics)にて A1 血球 (0), B 血球 (0) で AB 型を示し, ABO 血液型が判定保留となった。血液センターへの依頼検査において, 37°C 反応性の抗 A および抗 B は確認されなかった。

当院で血液型検査を実施してから 1 年後に MDS の増悪がみられ, 転院先より検体が提供された。カラム凝集法(用手法, バイオビュー抗 A, 抗 B, 抗 D カセット, Ortho Clinical Diagnostics)にて ABO 血液型検査を実施したところ, 抗 A (mf), 抗 B (mf) を示した(図 1b)。また当院での入院時に比べて抗 A および抗 B との反応において非凝集赤血球の割合が増加していた。

2. 被凝集価測定

抗 A, 抗 B に対する被凝集価測定は, 入院時の患者赤血球および対照赤血球(正常 AB 型赤血球)を生理食塩液で 3 回洗浄して 2~5% 赤血球浮遊液を作製し, 抗 A および抗 B 試薬(モノクローナル抗 A, 抗 B ワコー, 和光純薬)の 2 倍希釈系列 100 μl に対して 2~5% 赤血

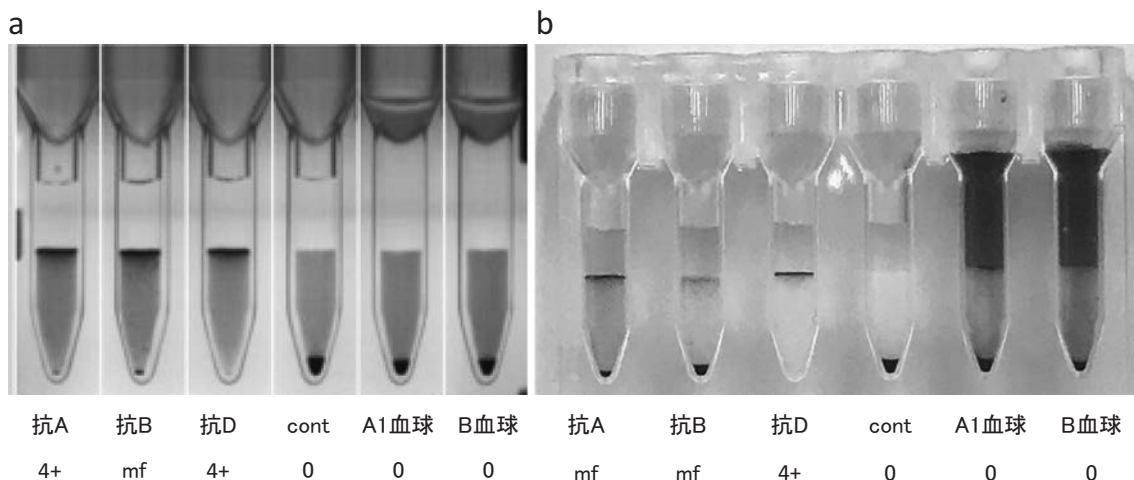


図 1 抗 A・抗 B・抗 D カセットを用いたカラム凝集法の反応像

a: 入院時

b: MDS 増悪後

増悪後は抗 A および抗 B との反応において, 非凝集血球が増加していた。

表2 入院時の ABO 血液型精査結果

被凝集価		×1	×2	×4	×8	×16	×32	×64	×128	×256	×512
抗 A	患者	mf	mf	mf	2+	2+	1+	w+	0	0	0
	正常 AB 型	4+	4+	4+	4+	4+	3+	2+	2+	1+	w+
抗 B	患者	mf	mf	mf	2+	1+	1+	w+	0	0	0
	正常 AB 型	4+	4+	4+	4+	4+	3+	2+	1+	w+	0

糖転移酵素活性		
	抗 A	抗 B
患者	64 倍	16 倍
正常 AB 型	128 倍	64 倍

レクチンとの反応		
	抗 A1	抗 H
患者	w+	4+
正常 AB 型	4+	4+
正常 O 型	0	4+

唾液中の型物質			
	A	B	H
	+	+	+

球浮遊液 50 μ l を加え、遠心後判定した。患者赤血球の被凝集価は抗 A : 32 倍、抗 B : 32 倍 (表 2) で、ともに正常 AB 型 (抗 A : 256 倍、抗 B : 128 倍) と比べて低下していた。

3. 糖転移酵素活性

測定用試薬 (ガルサーブ AB, 三光純薬) を用いた。患者血漿を O 型赤血球と反応させて、血漿中の血液型糖転移酵素によって形成された A および B 抗原の被凝集価を求め、それぞれ A および B 糖転移酵素活性の力価とした。

入院時の患者血漿中の糖転移酵素活性は A 型 : 64 倍、B 型 : 16 倍 (表 2) で、ともに正常 AB 型 (A 型 : 128 倍、B 型 : 64 倍) と比べて低下していた。

4. 各種レクチンとの反応

自家調製試薬 (抗 A1 レクチン、抗 H レクチン) 1 滴に 3~5% 患者赤血球浮遊液 1 滴を加えて 22 $^{\circ}$ C \cdot 5 分反応させ、遠心後判定した。

入院時の患者赤血球と抗 A1 レクチンとの反応は (w+), 抗 H レクチンとの反応は (4+) であった。AB 型対照赤血球は抗 A1 レクチン (4+), 抗 H レクチン (4+), O 型対照赤血球は抗 A1 レクチン (0), 抗 H レクチン (4+) であり、患者赤血球は対照と比較して抗 A1 レクチンとの反応が減弱していた (表 2)。

5. 唾液中の型物質検査

抑制試験 (マイクロプレート定性法) を用いて測定した。マイクロプレートに抗 A, 抗 B, 抗 H (モノクローナル抗体) 試薬の 2 倍希釈系列 25 μ l を作製し、沸騰水中で 10~15 分加熱して分解酵素を不活化した患者

の唾液 25 μ l を加えて混和後、湿潤室にて 22 $^{\circ}$ C \cdot 2 時間反応させた。1.4% に調製した A 血球、B 血球、O 血球を分注して 22 $^{\circ}$ C \cdot 1 時間反応させ、凝集を観察した。

唾液中に A, B および H 型物質を認めた (表 2)。

6. ABO 血液型抗原測定

被検全血 1 μ l に球状化試薬 (ADVIA CBC タイムパック, Siemens Healthineers) 500 μ l を混和後、室温で 10 分間反応させた。被検全血と球状化試薬の混合液 100 μ l に抗 A および抗 B モノクローナル抗体を 50 μ l 加え、4 $^{\circ}$ C で 15 分間反応させた後、生理食塩液で 2 回洗浄し上清を完全に除去した。FITC 標識ヤギ由来抗マウス IgM+IgG 抗体 (IM0821, Beckman Coulter) 20~50 倍希釈液を 100 μ l 加えて遮光し、4 $^{\circ}$ C で 20 分間反応させた。生理食塩液で 1 回洗浄して上清を完全に除去して生理食塩液 200 μ l に浮遊させた後、フローサイトメーター (BD FACSLytic, BD Biosciences) で測定した。

陰性対照 (O 型血球) の陰性領域における MFI および陽性率は A 抗原 242, 0.29%, B 抗原 279, 0.35% であった。陽性対照 (AB 型血球) の MFI および陽性率は A 抗原 25,597, 98.39%, B 抗原 30,475, 98.54% であり、ヒストグラムは単一性のピークを示した。患者血球の MFI および陽性率は A 抗原 14,133, 58.43%, B 抗原 14,193, 58.31% となった。陰性対照の MFI との比 (S/N 比) は、患者血球が A 抗原 58.40, B 抗原 50.87, 陽性対照が A 抗原 105.77, B 抗原 109.23 であった。A, B 抗原ともに AB 型血球と比べて MFI と陽性率が低く、陰性領域と陽性領域にピークをもつ連続性のパターンを示した (図 2) (表 3)。

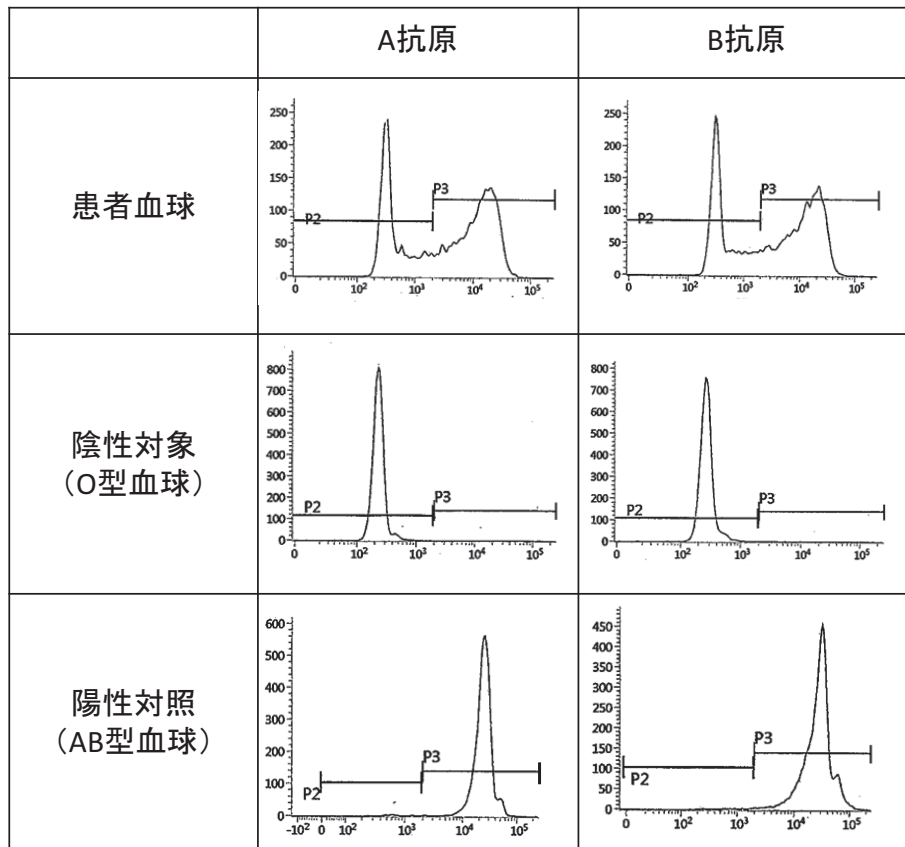


図2 入院時のモノクローナル抗 A および抗 B を用いたフローサイトメトリーの結果
 縦軸：細胞数
 横軸：蛍光強度（対数表示）
 P2：陰性領域
 P3：陽性領域
 患者赤血球のヒストグラムでは、陰性領域から陽性領域にわたって連続したパターンが見られた。

表3 入院時におけるモノクローナル抗 A および抗 B を用いたフローサイトメトリーの結果

患者血球	陽性対照 (AB 型血球)		
	Neg-MFI	MFI	S/N 比
A 抗原	242	14,133	58.40
B 抗原	279	14,193	50.87

MFI：平均蛍光強度
 Neg-MFI：陰性対照（O 型血球）の平均蛍光強度
 S/N 比：陰性対照 MFI と比較した被検検体の MFI が 2 以上を陽性とする。

以上の精査結果より、ABO 血液型は凝集の強い血球と弱い血球の混在を認めたため、判定保留となった。なお、血液型検査、被凝集価測定および ABO 血液型抗原測定は当院での検査結果、それ以外の検査は血液センターへの依頼検査の結果である。

7. ABO 遺伝子検査

患者末梢血から抽出した DNA を用いてサンガー法を行い、SeqStudio Genetic Analyzer (Applied Biosystems) で判定した。

ABO 遺伝子の塩基配列は ABO*A1.02/B1.01 であった。

考 察

本症例は、オモテ検査の抗 A および抗 B との反応で部分凝集を示し、判定保留となった。ABO 血液型オモテ検査で部分凝集が見られる原因として、遺伝的亜型や造血器疾患による抗原減弱、キメラ、モザイクなどが報告されている。

ABO 遺伝子検査の結果、患者の塩基配列は ABO*

A1.02/B1.01であった。日本人に特有のB亜型に見られるABO遺伝子+5.8kb領域の欠損⁵⁾は見られず、上述のように亜型を指摘されている家族はいなかった。また本邦で報告されているABO*cisAB.01やABO*cisAB.02といったcisAB型遺伝子の塩基配列⁶⁾⁷⁾とは異なるため、cisAB型は否定的であった。AB型の遺伝的亜型においてはcisAB型を除くと多くの場合でAまたはBアリのどちらか一方が通常のAB型と異なるためにA抗原またはB抗原のいずれかの減弱がみられることが報告されている。両親の血液型検査結果は問診であるため遺伝的亜型は完全には否定できないものの、両親が減弱している症例は極めて稀であることから^{8)~11)}遺伝的亜型の可能性は低いと考えられた。

フローサイトメトリーを用いたA、B抗原の解析において抗原が減弱している白血病やMDSの患者では得られるヒストグラムのパターンが一様でないことが報告されている¹²⁾¹³⁾、亜型との鑑別は困難であるとされている。一方、キメラでは通常連続した分布を示さない¹⁴⁾。本症例ではA、B抗原ともに連続性のヒストグラムを示したため、キメラである可能性は低いと考えられる。

さらに、血液型抗原の減少がみられた患者をフォローアップしていったところ、後年白血病の発症に至ったとの報告もある¹⁵⁾、その詳細は不明である。

白血病などの造血器疾患ではA糖転移酵素、B糖転移酵素ともに活性が低下する傾向がみられ¹⁶⁾、その原因としてABO遺伝子のプロモーター領域のメチル化や転写因子遺伝子の異常が報告されている¹⁷⁾。造血器疾患によって赤血球のA抗原やB抗原が減弱していても分泌型の患者であれば唾液中に患者本来の型物質を分泌しているとされる¹⁸⁾、本症例でも唾液中にA、BおよびH型物質が認められた。造血器疾患(特に白血病患者)では、患者赤血球のA抗原やB抗原が減弱するのに対しH抗原は増強する症例が多いことが知られている⁹⁾、本症例においても抗A1レクチンとの反応が減弱していた。さらに病状の悪化と共にAおよびB両抗原がさらに減弱したことは、MDSが原因であることを支持している。本症例では転院となり追跡調査ができなかったが、造血器疾患による糖転移酵素活性の低下は発症時や化学療法後に一過性に起こり、血液疾患の寛解により造血機能が回復することで、糖転移酵素活性が正常化することが報告されている¹⁶⁾。そのため寛解後に再度ABO血液型検査を行うことで患者の本来の血液型が判明する可能性がある。

以上から本症例は遺伝的亜型を完全に否定できないものの、MDSによる抗原減弱の可能性が考えられた。本症例でみられたAおよびB両抗原の減弱はcisAB型を除けば原因のいかんを問わず稀であるため、入院

時のABO血液型検査において部分凝集が見られたことは造血器疾患を検索する一助になった。そのため血算や臨床所見に異常が見られない場合でも、抗原の減弱が見られた場合には造血器疾患の可能性を考慮する必要がある。

結 語

輸血歴や造血幹細胞移植歴のない患者で、造血器疾患を示唆するような主訴や症状、明らかな臨床検査値の異常などが見られない場合でもABO血液型検査で部分凝集が起こりうる可能性を念頭に入れて検査に臨むことも重要である。

著者のCOI開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

謝辞：血液型精査にご協力いただきました日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター埼玉製造所品質部検査一課神戸考裕先生に心からお礼申し上げます。

文 献

- 1) 日本臨床衛生検査技師会：輸血移植検査技術教本、丸善出版、東京、2016、152—153。
- 2) 輸血医学教育委員会・検査技師教育推進小委員会：輸血のための検査マニュアル Ver.1.3.2、日本輸血・細胞治療学会、13—15。
- 3) Bianco T, Farmer BJ, Sage RE, et al: Loss of red cells A, B, and H antigens is frequent in myeloid malignancies. *Blood*, 97: 3633—3639, 2001.
- 4) Hakomori S: Antigen structure and genetic basis of histo-blood groups, A, B and O: their changes associated with human cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1473: 247—266, 1999.
- 5) Sano R, Nakajima T, Takahashi Y, et al: Expression of ABO blood-group genes is dependent upon an erythroid cell-specific regulatory element that is deleted in persons with the Bm phenotype. *Blood*, 119: 5301—5310, 2012.
- 6) 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cisA₂B₃型15例のA、B抗原量解析。日本輸血・細胞治療学会誌、58(3)：448—455, 2012。
- 7) 奥田久美子, 白神多佳子, 小野明子, 他：本邦2例目となるcisAB02遺伝子をもつシスABについて。日本輸血学会雑誌、51：249, 2005。
- 8) Xiaohong C, Sha J, Xi L, et al: Molecular genetic analysis of ABO blood group variations reveals 29 novel ABO subgroup alleles. *Transfusion*, 53: 2910—2916, 2013.

- 9) Haobo H, Sha J, Xi L, et al: Molecular genetic analysis of weak ABO subgroup in the Chinese population reveals ten novel ABO subgroup alleles. *Blood Transfus*, 17: 217—222, 2019.
- 10) Ying Y, Hong X, Xu X, et al: Molecular Basis of ABO Variants Including Identification of 16 Novel ABO Subgroup Alleles in Chinese Han Population. *Transfus Med Hemother*, 47: 160—166, 2020.
- 11) Zuo Q, Duan Y, Wang B, et al: Genomic analysis of blood samples with serologic ABO discrepancy identifies 12 novel alleles in a Chinese Han population. *Transfus Med*, 30 (4): 308—316, 2020.
- 12) 佐藤英洋, 安江静香, 内海真紀, 他: 赤血球 A・B 抗原減弱血液疾患における I 抗原発現低下: フローサイトメトリー法による血液型鑑別の可能性. *日本輸血細胞治療学会雑誌*, 59: 457—461, 2013.
- 13) 西野主真: フローサイトメトリーを用いた血液型抗原の解析. *日本輸血学会雑誌*, 40: 790—793, 1994.
- 14) 阿藤みや子, 小林 賢, 鈴木洋司, 他: 二卵性双生児にみられたキメラの細胞学的ならびに遺伝子解析. *日本組織適合性学会誌*, 10: 67—76, 2003.
- 15) Lopez M, Bonnet-Gajdos M, Reviron M, et al: An acute leukaemia augured before clinical signs by blood group antigen abnormalities and low levels of A and H blood group transferase activities in erythrocytes. *Br J Haematol*, 63 (3): 535—539, 1986.
- 16) 浅井隆善, 伊藤道博, 脇田 久, 他: 白血病に伴う血液型変異と血液型糖転移酵素活性. *日本輸血学会雑誌*, 34: 505—512, 1988.
- 17) Kominato Y, Sano R, Takahashi Y, et al: Human ABO gene transcriptional regulation. *Transfusion*, 60: 860—869, 2020.
- 18) Renton PH, Stratton E, Gunson HH, et al: Red cells of all four ABO groups in a case of leukemia. *Br Med J*, 1: 294—297, 1962.
- 19) Crookston MC: Anomalous ABO, H and Ii phenotype in disease. In: Garratty G, eds, *Blood group antigens and disease*, AABB, Arlington VA, 1984, 67—84.

DECREASED EXPRESSION OF BOTH A AND B BLOOD ANTIGENS IN A PATIENT WITH MYELODYSPLASTIC SYNDROME

Reina Ishikawa¹⁾, Takayuki Maruhashi¹⁾, Kozue Susa¹⁾, Natsumi Nishimoto¹⁾, Kanae Iwahara¹⁾, Hideki Goto²⁾, Osamu Ishikawa³⁾, Akira Hayakawa⁴⁾, Yoichiro Takahashi⁴⁾, Rie Sano⁴⁾, Yoshihiko Kominato⁴⁾ and Akihiko Yokohama¹⁾

¹⁾Division of Blood Transfusion Service, Gunma University Hospital, Faculty of Medicine, Gunma University

²⁾Department of Hematology, Hokkaido University Hospital

³⁾Department of Dermatology, Gunma University Hospital, Faculty of Medicine, Gunma University

⁴⁾Department of Legal Medicine, Gunma University Graduate School of Medicine

Abstract:

A man in his 20s was diagnosed with pyoderma gangrenosum and underwent emergency debridement. He had no history of a hematological disease, transfusion, or hematopoietic stem cell transplantation. ABO blood group typing results showed mixed field agglutination with both A and B blood antigens. Due to the possible association between hematological disease and pyoderma gangrenosum, bone marrow aspiration was performed and he was diagnosed with myelodysplastic syndrome with multilineage dysplasia (MDS-MLD) with chromosome 8 trisomy.

Serological tests, flow cytometric analysis, and genetic test precluded the possibility of hereditary ABO subgroup and blood chimerism, suggesting that his blood antigen expression was decreased due to MDS-MLD.

In turn, decreased A and B antigen expression and diagnosis of pyoderma gangrenosum allowed the diagnosis of MDS-MLD before he had overt abnormal hematological values.

For patients with decreased expression of both A and B blood antigens, the possibility of hematological disease should be kept in mind.

Keywords:

mixed field agglutination, decreased antigen expression, myelodysplastic syndrome, ABO blood group typing