

高力価寒冷凝集素を有する患者において寒冷凝集素温度作動域測定試験を実施した

1 症例

水野 友靖¹⁾ 西尾美津留¹⁾ 井上 誠也¹⁾ 川島 大輝¹⁾ 上田 格弘²⁾
藤田 智洋¹⁾ 宮木 祐輝¹⁾³⁾

寒冷凝集素症は自己免疫性溶血性貧血の一病型に分類され、鑑別には、特異抗血清を用いた直接抗グロブリン試験や寒冷凝集素価の測定がある。人工心肺を使用する待機的手術症例において、術前検査で高力価寒冷凝集素が判明。寒冷凝集素症と診断され、寒冷凝集素温度作動域（Thermal amplitude : TA）測定試験を実施した症例を経験したので報告する。患者は60歳男性、現病歴は狭心症、僧帽弁閉鎖不全症。術前検査で高力価寒冷凝集素が判明し、TA測定試験が依頼された。寒冷凝集素価は、5℃ 2,048倍、15℃ 256倍、21℃ 16倍、24℃ 16倍、28℃ 4倍、30℃ 4倍、35℃ 2倍であった。TA測定試験の結果から、35℃と比較して2管差以上の寒冷凝集素価の上昇を認めた24℃以下で凝集が悪化すると判断し、心筋保護液は30℃以上とした。手術は完遂されたが人工心肺離脱が困難であり、ECMO補助下でICUに入室。術後42日目、肺化膿症などの合併症により永眠された。TA測定試験は、in vitroで赤血球凝集が起こる作動温度を確認することにより臨床判断の一助となりうる。TA測定試験は臨床判断に直結する検査であり、臨床検査の付加価値を高め、臨床貢献に繋がる。

キーワード：寒冷凝集素温度作動域測定試験、寒冷凝集素、心筋保護液

はじめに

自己免疫性溶血性貧血（autoimmune hemolytic anemia : AIHA）は、自己の赤血球膜上の抗原に対して抗体が産生され、赤血球膜上の抗原に結合することにより赤血球が破壊されて、赤血球寿命が著しく短縮することによって生じる免疫性溶血性貧血の総称である^{1)~3)}。

AIHAは、体温付近である37℃で最大活性を示す温式AIHAと体温以下の低温で最大活性を示す冷式AIHAに大別される¹⁾²⁾。AIHAは比較的稀な疾患であり、推定患者数は100万対3~10人、年間発症率は100万対1~5人とされる^{1)~3)}。令和元年度の医療受給者証保持者数は、1,013人³⁾であり、病型比率は温式AIHAが約80%以上を占め、次いで寒冷凝集素症、発作性寒冷ヘモグロビン尿症²⁾とされている。

寒冷凝集素症はAIHAの一病型であり、病型分類の鑑別には特有の臨床所見のほかに特異抗血清を用いた直接抗グロブリン試験や寒冷凝集素価の測定がある。寒冷凝集素症の場合、直接抗グロブリン試験において抗補体血清が陽性となり寒冷凝集素価が上昇する。自

己免疫性溶血性貧血診療の参照ガイド令和4年度改訂版には、寒冷凝集素価が64倍以上の場合、病的意義の判断として直接凝集試験（direct agglutination test : DAggT）を実施することが推奨されており、DAggTの反応温度を変更することで、病原性の推測に有用な温度作動域を同定できると記載されている¹⁾。

今回、我々は、術前検査で高力価寒冷凝集素が判明し、寒冷凝集素症と診断した人工心肺を使用する手術症例において、寒冷凝集素温度作動域（Thermal amplitude : TA）測定試験を実施し、臨床判断の一助となった症例を経験したので報告する。

症 例

60歳男性、現病歴は狭心症、僧帽弁閉鎖不全症、三尖弁閉鎖不全症。輸血歴はなし。

20XX年6月、循環器症状の増悪を認め、近医より紹介受診した。来院時の検査所見はTable 1に示す。血液検査で寒冷凝集素の影響を認めたため、検体を加温後に測定した。加温前のMCHCは測定エラーであった。

1) 小牧市民病院診療技術局臨床検査科

2) 小牧市民病院血液内科

3) 小牧市民病院診療技術局臨床工学科

連絡責任者：水野 友靖, E-mail : labo-mizuno@komakihp.gr.jp

〔受付日：2024年10月7日、受理日：2024年12月17日〕

Table 1 初診時の検査所見

末梢血		生化学	
WBC	7,200 / μ l	TP	6.3 g/dl
RBC	446×10^4 / μ l	Alb	4.2 g/dl
Hb	15.4 g/dl	T-Bil	2.1 mg/dl
Ht	42.0 %	D-Bil	0.2 mg/dl
MCV	94.2 fl	AST	23.6 U/l
MCH	34.5 pg	ALT	24.3 U/l
MCHC	36.7 %	LDH	169.6 U/l
PLT	21.9×10^4 / μ l	CK	92.6 U/l
凝固		BUN	19.6 mg/dl
PT	23.4 秒	CRE	1.58 mg/dl
PT %	41.8 %	UA	8.1 mg/dl
PT-INR	1.87	Glu	236.3 mg/dl
APTT	34.5 秒	AMY	133.0 U/l
FIBLI	282 mg/dl	T-Cho	192.8 mg/dl
AT3	119 %	TG	409.8 mEq/l
FDP	<5.0 μ g/ml	Na	138.7 mEq/l
DD	<1.0 μ g/ml	K	4.6 mEq/l
外注検査		Cl	102.0 mEq/l
寒冷凝集素	65,536 倍	CRP	0.01 mg/dl
		BNP	132.3 pg/ml

総ビリルビン高値を示したが Hb 値, LDH 値は基準範囲内であった。以上より、寒冷凝集素症と診断された。

循環器内科にて手術適応と判断され、心臓血管外科に転科。心臓血管外科にて寒冷凝集素や輸血前検査などの追加検査が提出された。

外部委託先より寒冷凝集素価異常高値の結果を受け、検体検査部門管理者から検査科部長に報告。検査科部長より主治医に伝達され、手術予定前日に手術は延期された。その後、心臓血管外科から血液内科にコンサルトされ、直接抗グロブリン試験及び TA 測定試験が依頼された。手術時に用いる心筋保護液の冷却可能温度の指標⁴⁾とするために、設定温度は可能な限り細かい間隔 (5℃, 15℃, 21℃, 24℃, 28℃, 30℃, 35℃) にて設定した。

対象と方法

1. 血液型検査

抗血清は、モノクローナル抗 A ワコー、モノクローナル抗 B ワコー、モノクローナル抗 D ワコー及びモノクローナル抗 D ワコー用 Rh コントロール (富士フィルム和光純薬株式会社)、ウラ検査用試薬は、アフーマジェン[®] (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス株式会社、以下オーソ社) を用いて試験管法にて実施した。

2. 不規則抗体検査

全自動輸血検査装置 OrthoVision[®] (オーソ社) を用いたカラム凝集法 (column agglutination technology : CAT) にて実施した。検査方法は間接抗グロブリン試験 (LISS-IAT) 及び酵素 2 段法 (Ficin 法) を用いた。

赤血球試薬は、オーソ[®]バイオビュー[™]スクリーン J、カセットは、オーソ[®]バイオビュー[™]クームス/ニュートラルカセット (いずれもオーソ社) を使用した。追加検査は試験管法にて実施した。赤血球試薬は CAT 法と同じ試薬を用い、抗ヒトグロブリン試薬には、オーソ[®]抗ヒト IgG 血清 (ウサギ) (オーソ社) を使用した。

3. 直接抗グロブリン試験

OrthoVision にて実施した。カセットは、オーソ[®]バイオビュー[™]DAT/IDAT カセット及びオーソ[®]バイオビュー[™]クームスカセット (オーソ社) を使用した。

4. TA 測定試験

TA 測定試験は以下のプロトコールで実施した¹⁾⁵⁾。

採血管は、NP-EN0557 (EDTA-2Na, ニプロ株式会社) を用いた。

設定温度及び機材は、35℃ は冷凍機付インキュベーター (MIR-154, PHC 株式会社)、30℃ 及び 28℃ は卓上型恒温槽 (SH-10N, タイテック株式会社)、24℃ は室温、21℃ は血小板保存システム (PC900-Pro, フタバメディカル株式会社) 15℃ 及び 5℃ は薬用ショークース (MPR312-DCN, PHC 株式会社) を用いた。尚、室温の温度管理は監視機能付き無線ロガー (MD8000, 株式会社チノー) により常時監視し、測定当時の記録は 23.0~23.8℃ であった。

中央採血室にて採血後、直ちに検体検査室に搬送。

検体に到着後速やかに 1,200G 5 分遠心分離し、血漿を分取した。

生理食塩液としてイムノザール (シスメックス株式会社) を用いて、1 倍から 8,192 倍まで血漿の希釈系列を作製した。

血漿 100 μ l に対して 3% O 型赤血球浮遊液 50 μ l を滴下。各反応温度にて 45 分静置後に 1,000G 15 秒遠心し判定した。

反応強度 1+ を示す最高希釈倍率を寒冷凝集素価として判定した。

5. 寒冷凝集素検査

寒冷凝集素は株式会社エスアールエルに外部委託した。検査方法は赤血球凝集反応にて実施した⁶⁾。基準値は 256 倍未満とした。

結 果

1. 血液型検査

血液型は O 型 RhD 陽性で確定済みであり、検査依頼はなかった。後日、試験管法にて追加検査を実施し、抗 A (mf), 抗 B (mf), A₁ 赤血球 (4+), B 赤血球 (4+), 抗 D (4+), Rh Control (mf) となり ABO 血液型判定保留, RhD 血液型判定保留であった (Table 2)。

Table 2 輸血検査結果

血液型検査										
ABO 血液型検査							RhD 血液型			
オモテ検査			ウラ検査			総合判定	抗 D	Rh-Control	判定	
抗 A	抗 B	結果	A ₁ 赤血球	B赤血球	結果					
試験管法	mf	mf	判定保留	4+	4+	O 型	判定保留	4+	mf	判定保留
不規則抗体スクリーニング										
カラム凝集法						試験管法				
			Ficin	LISS-IAT			Sal-IAT			
Cell No.1			4+	4+			0			
Cell No.2			4+	4+			0			
Cell No.3			4+	4+			0			
結果			陽性			陽性			陰性	
直接抗グロブリン試験										
			未処理赤血球	温生食洗浄後赤血球						
多特異試薬			3+			3+				
抗 IgG 試薬			1+			0				
抗補体試薬			3+			3+				
対照			1+			0				
結果			保留			陽性				

2. 不規則抗体検査

LISS-IAT 及び Ficin 法にて陽性. 反応増強剤無添加間接抗グロブリン試験 (Sal-IAT) にて陰性. 陰性として最終報告した (Table 2).

3. 直接抗グロブリン試験

初回値は自己対照にも 1+ の凝集を認めたため, 患者赤血球を温生食にて 3 回洗浄後再検査を実施し, 多特異試薬 (3+), 抗 IgG 試薬 (0), 抗補体試薬 (3+), 対照 (0) となった (Table 2).

4. TA 測定試験

各反応温度での寒冷凝集素価は, 5℃ で 2,048 倍, 15℃ で 256 倍, 21℃ で 16 倍, 24℃ で 16 倍, 28℃ で 4 倍, 30℃ で 4 倍, 35℃ で 2 倍であった (Table 3).

5. 寒冷凝集素検査

寒冷凝集素価は 65,536 倍であった.

経 過

TA 測定試験の結果から, 35℃ と比較し 2 管差以上の寒冷凝集素価の上昇を認めた 24℃ 以下で凝集悪化と判断し, 心筋保護液は 30℃ 以上とすることで 3 枝冠動脈バイパス術及び僧帽弁置換術を施行した. 心筋保護液は 15 分間隔で通常の倍量を順行性に冠動脈に注入した. 手術準備血として RBC12 単位, FFP12 単位が依頼された. 術中における輸血は血液加温装置を用いた.

手術は完遂されたが人工心肺離脱が困難であり, ECMO 補助下で ICU に入室した. 術後 2 日目, 心タン

ポナーデのため再開胸手術, 術後 7 日目, 経食道エコーにて左房内大量血栓を認めたため, 僧帽弁再置換術及び血腫除去術を施行. 術後 42 日目, 肺化膿症などの合併症により永眠された.

術後の全身性炎症反応の影響により溶血が増強され, 頻回の RBC 輸血を要したこともあり, 退院までに RBC 88 単位, FFP 40 単位, PC 90 単位を輸血した. 手術日から退院までの検査データ及び RBC 使用状況の時系列を Fig. 1 に示す.

考 察

寒冷凝集素症に対する一般的な治療管理は, 貧血症状, 輸血依存, 末梢循環障害などの重篤な症状がない場合, 保温することが最も基本的であり, 室温・着衣・寝具などに十分な注意を払い身体部分の露出や冷却を避けることが重要となる¹⁾²⁾.

外科的手術においては, 低体温になりやすいため, 一般的に手術室内の温度を上げるなどの対策が取られる.

人工心肺を使用する手術においては, 常温下で体外循環を行うことや, 心筋保護液の温度を上げることが対策として挙げられる⁴⁾⁷⁾⁸⁾. 術前血漿交換を行い, 寒冷凝集素価を低下させる対策も文献報告されている⁴⁾⁷⁾⁹⁾. ただし, 血漿交換の回路を回すことにより, 回路内に凝集を来す恐れもあり, 血漿交換の実施自体がリスクになりうるとの報告⁹⁾もある. また, 抗 C1s 抗体 (Su-

では16倍に上昇し、5℃で2,048倍と更なる上昇を認めた。

外部委託検査である寒冷凝集素価は4℃で一晩反応させた後に判定することが一般的である。当院が実施したTA測定試験とは検査条件が異なるため、両者の寒冷凝集素価の検査値には乖離が見られる。

今回、我々は術中に用いる心筋保護液を30℃以上とすることで、人工心肺装置回路の詰まり等の赤血球凝集を起こすことなく手術を完遂することができた。TA測定試験は、in vitroで赤血球凝集が起こる作動温度を確認することで、手術プランを計画する上で一助となりうると考える。

本来、寒冷凝集素価の測定は、採血直後から37～40℃で加温しながら血清分離すること¹⁾⁵⁾が望ましいが、本症例の場合では、採血後直ちに検体処理をすることを前提として、輸送から遠心までを室温下で行った。これまで当院においてTA測定試験を実施した経験はなく、採血条件が検査結果に及ぼす影響は不明であるが、検体採取から分離に至るまでの過程においては今後検討の余地がある。

また、室温を24℃として実施したが、温度管理が不十分である可能性も否定できない。空調による影響を受ける可能性を回避するためには、温度環境を整えた恒温槽やインキュベーターを用いる必要がある。

残念ながら、本症例の患者転帰は不良ではあったが、高力価寒冷凝集素を保有する患者の人工心肺を使用する手術において、TA測定試験は臨床判断に有益であることが示唆された。

結 語

寒冷凝集素症は稀な疾患であり、TA測定試験が必要な局面に遭遇することは多くない。しかしながら、TA測定試験は臨床判断に直結する検査であり、自施設でTA測定試験を実施できる環境を整備することは、臨床検査の付加価値を高め、臨床貢献にも繋がると考えられた。

著者のCOI開示：本論文発表内容に関連して特に申告なし

文 献

- 1) 張替秀郎, 和田秀穂, 西村純一, 他：自己免疫性溶血性貧血診療の参照ガイド 令和4年度改訂版. Autoimmune_hemolytic_anemia.pdf (umin.jp) (2024年8月23日現在).
- 2) 杉本恒明, 小俣正男, 水野美邦, 他：内科学, 朝倉書店, 東京, 2003, 1819—1823.
- 3) 難病情報センター：指定難病一覧. https://www.nanbyou.or.jp/wp-content/uploads/upload_files/File/061-202404-kijyun.pdf (2024年8月23日現在).
- 4) David W. Barbara, William J. Mauermann, James R. Neal, et al: Cold agglutinins in patients undergoing cardiac surgery requiring cardiopulmonary bypass. The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 146: 668—680, 2013.
- 5) 福山臨床検査センター：事業概要. <https://www.fmlabo.com/service/erythrocyte/aiha/> (2024年8月23日現在).
- 6) SRL：総合検査案内. <https://test-directory.srl.info/akiruno/test/detail/003310200> (2024年8月23日現在).
- 7) 杉本憲治, 真野るみ子, 山田富雄, 他：寒冷凝集素合併Marfan症候群に対する低体温下Bentall+弓部人工血管置換術の麻酔および周術期管理の経験. 日本臨床麻酔学会誌, 18: 79—82, 1998.
- 8) 河野麻衣子, 大野長良, 千葉峻士, 他：寒冷凝集素陽性患者に常温人工心肺下で2弁置換を行った1例. Cardiovascular Anesthesia, 24: 71—73, 2020.
- 9) 畑 啓昭, 岩間英明, 奥知慶久, 他：寒冷凝集素症患者に対し安全に腹腔鏡下胆嚢摘出術を試行しえた1例. 日本消化器外科学会雑誌, 43 (5): 519—523, 2010.
- 10) Tor Henrik A. Tvedt, Egil steien, Bente Ovreb, et al: Sutimlimab, an investigational C1s inhibitor, effectively prevents exacerbation of hemolytic anemia in a patient with cold agglutinin disease undergoing major surgery. American journal of hematology, 97 (2): E51—E54, 2022.

COLD AGGLUTININ THERMAL AMPLITUDE TESTING IN A PATIENT WITH HIGH-TITER COLD AGGLUTININ: A CASE STUDY

Tomoyasu Mizuno¹⁾, Mitsuru Nishio¹⁾, Seiya Inoue¹⁾, Taiki Kawashima¹⁾, Norihiro Ueda²⁾,
Tomohiro Fujita¹⁾ and Yuki Miyaki¹⁾³⁾

¹⁾Department of Laboratory, Komaki City Hospital

²⁾Department of Hematology, Komaki City Hospital

³⁾Department of Clinical Engineering, Komaki City Hospital

Abstract:

Cold agglutinin disease, classified as a form of autoimmune hemolytic anemia, can be differentiated by direct antiglobulin testing and cold agglutinin (CA) titer measurement. Here, we report a case in which high-titer CA was found in a preoperative test, and a cold agglutinin thermal amplitude test (TA test) was performed. The patient was a 60-year-old male with angina pectoris and mitral regurgitation. CA titers were $2,048\times$ at 5°C , $256\times$ at 15°C , $16\times$ at 21°C , $16\times$ at 24°C , $4\times$ at 28°C , $4\times$ at 30°C , and $2\times$ at 35°C . Because CA titers differed by more than two grade at temperatures below 24°C compared to that at 35°C , indicating worsening agglutination, we set the myocardial protection solution to 30°C or higher. The patient completed the operation but was admitted to the ICU under ECMO assistance, and died of complications on postoperative day 42. TA testing supports clinical judgment by confirming the critical temperature at which hemagglutination occurs in vitro. Accordingly, the TA test directly relates to clinical judgment, adding value to clinical laboratory functions and contributing to clinical care.

Keywords:

Cold agglutinin thermal amplitude test, Cold agglutinin disease, myocardial protection solution