

(社) 大分県臨床検査技師会

平成24年度第2回移植検査部門講演会

現場で役立つ輸血検査 こんな時、どうする！！（第2弾）

鹿児島大学病院 輸血部

舞木 弘幸

九州ブロック各県赤十字血液センター 業務集約化についてのお知らせ

平成19年11月29日

平成19年11月29日

関係医療機関 院長 様

鹿児島県赤十字血液センター 所長

九州ブロック各県赤十字血液センターの業務集約について（お知らせ）

拝啓、時下ますますご清祥のこととお慶び申し上げます。

平素は血液事業の推進に格別のご高配を賜り、厚くお礼申し上げます。

さて、近年、血液事業を取り巻く環境は、少子高齢化社会の到来や社会構造の変革等によって献血者が減少してきている一方で、血液製剤の更なる安全性の追求が求められてきております。

このような環境変化の中、血液製剤の安全性向上、安定的供給等に積極的に取り組むとともに、効率的な事業運営を図る必要があることから、日本赤十字社血液事業本部より各県赤十字血液センターに対し「業務集約化」の事業方針が示されました。

九州ブロック内の各県赤十字血液センターにおきましても別紙＜供給体制＞のとおり、九州全県の検査業務並びに沖縄県を除く九州七県の製剤業務を福岡県久留米市に集約することになりました。

集約後も、血液製剤の供給につきましては支障を来さないよう努力する所存でございますので、業務集約につきまして事情ご賢察の上、ご理解とご協力を賜りますようお願い申し上げます。

具体的な内容につきましては、別紙＜供給体制＞を参考にさせていただきますと幸いです。

末筆ながら、今後とも血液事業の推進につきましてご支援いただきますよう、重ねてお願い申し上げます。

敬具

◆九州ブロック赤十字血液センター検査・製剤部門の業務集約化に伴う血液製剤の供給体制◆

血液製剤の安全性の向上・安定的な血液供給のため、九州全県の検査業務を平成20年1月から、沖縄県を除く九州七県の製剤業務を平成20年4月（一部3月末）から、福岡県久留米市に業務集約いたします。これにより、採血した血液は一旦、久留米市の集約施設に搬送し、検査及び製剤（製品化）の済んだ血液製剤が集約施設から鹿児島センターに送付されるという流れになります。

別紙＜供給体制＞



(1) 発注から供給まで



（赤血球製剤は採血後4日目以降、血小板製剤は採血の翌日以降に九州血液センターから各血液センターに届けられ、その後医療機関にお届けします。）

(2) 血液製剤の供給体制について

- ① 照射赤血球濃厚液（Ir-RCC-LR）照射濃厚血小板（Ir-PC）及び新鮮凍結血漿（FFP-LR）は従来通りです。
- ② 照射濃厚血小板（Ir-PC）につきましては、今まで同様、前日予約をお願い致します。
- ③ 因子指定血、RH(-)等は原則として前日までにご予約をお願いします。（注）指定抗原の発現頻度及び在庫状況により供給が遅くなる場合があります。
- ④ 血漿分画製剤（赤十字アルブミン、日赤ポリグロビンN、クロスエイトM）のご注文は従来通りです。
- ⑤ その他の血液製剤、並びにご不明な点などございましたら供給課までお問い合わせ下さい。

(3) 技術協力の体制について

現在、実施されている技術協力は引き続き九州血液センターにおいて実施されます。（詳細は供給課までお問い合わせください）

お問合せ先 鹿児島県赤十字血液センター 供給課 ☎099 (257) 2221

血液型検査にて異常を呈した場合

血液型検査にて異常を呈する要因

- 血液型亜型 A_x の1家系、 A_1B_m の1例
- 型転移酵素活性の低下による抗原減弱
- 無 γ グロブリン血症による抗体欠損の1例
- 自己抗体による偽陽性反応
- 血液型ウラ試験での弱陽性反応
- 血液型A、Bキメラ
- ABO不適合移植後の血液型キメラ
- 異型適合血輸血後の血液型キメラ

血液型検査にて反応結果に差を認めた A x の 1 家系

輸血検査所見

1. 血液型検査

ABO式血液型

オモテ試験: 抗A抗体(1+^{mf})、抗B抗体(—)

ウラ試験: A1血球(2+)、B血球(4+)

Rh式血液型

抗D血清(4+)

2. 不規則性抗体検査

ブロメリン法(—)、Peg-IAT法(—)

3. レクチンとの反応

抗A1レクチン(—)、抗Hレクチン(4+)

4. 抗体価

抗A1抗体価: 8倍、抗B抗体価: 128倍

5. 型転移酵素活性

A-transferase 0倍(対照A型512倍)

B-transferase 0倍(対照B型32倍)

6. 抗A抗体を用いた吸着解離試験 A1血球(4+)、B血球(—)、O血球(—)

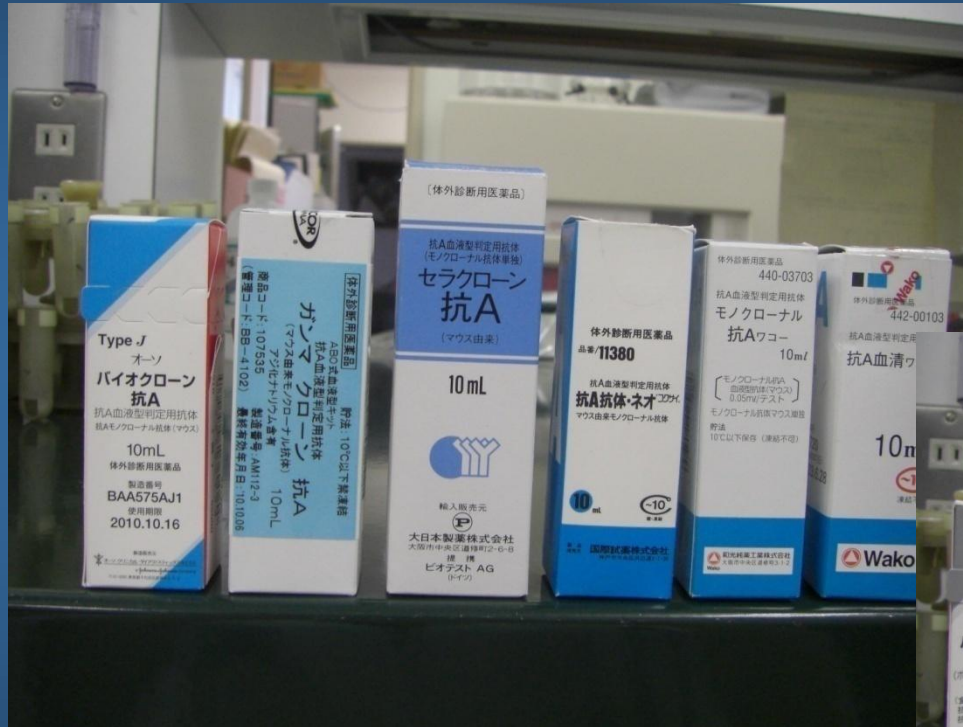
7. 爪を用いたAB型物質の検出 A1血球(+^w)、B血球(—)

8. 各社抗A抗体との反応 バイオクロン抗A以外にセラクロン抗A、ワコーモノクロ抗A、ワコー動免抗Aに凝集を認めた

9. 家系調査 患者以外に母親、第1子からA抗原が検出された

各メーカーの試薬との反応性の比較

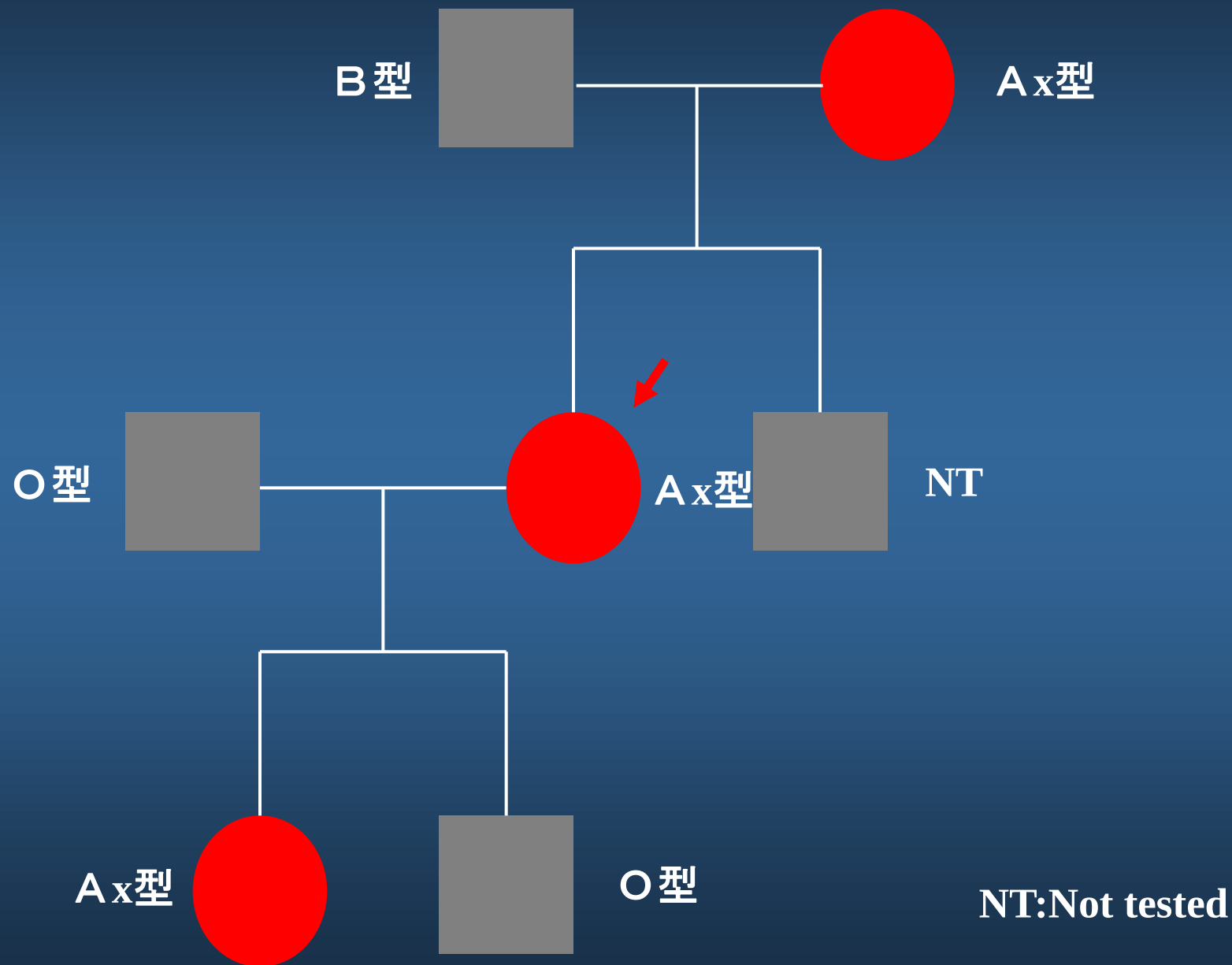
各社抗A抗体



各社抗D抗体



血清学的方法による家系調査結果



カラム凝集法による血液型検査結果

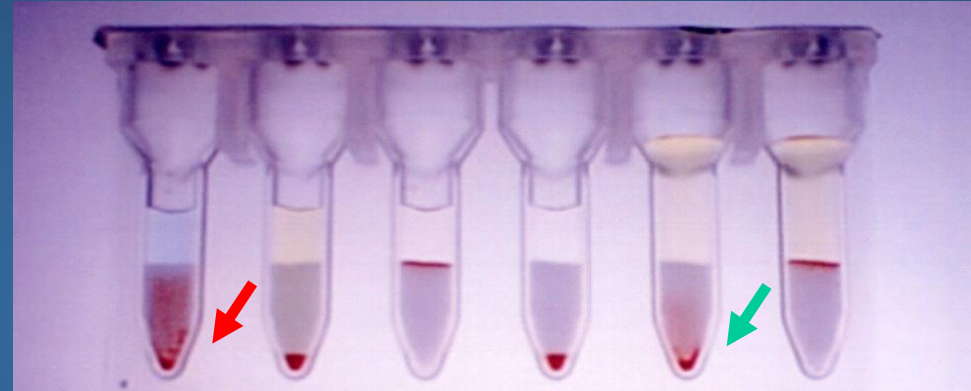
患者

母親

抗A抗体
1
抗B抗体
2
抗D抗体
3
Control
4
A1血球
5
B血球
6

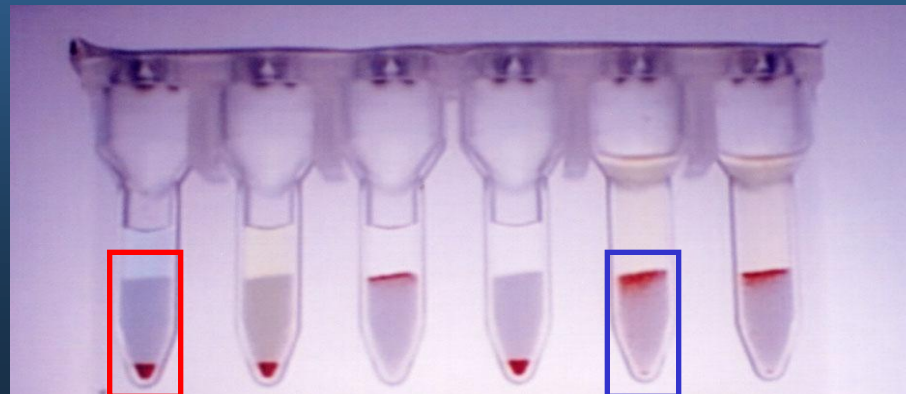


抗A抗体
1
抗B抗体
2
抗D抗体
3
Control
4
A1血球
5
B血球
6



第1子

抗A抗体
1
抗B抗体
2
抗D抗体
3
Control
4
A1血球
5
B血球
6



吸着解離試験、型転移酵素活性の測定が有用であった
抗体欠損（低下）、 A_1B_m の各 1 例

抗A，抗B血清を用いた吸着解離試験（熱解離試験） に必要な機材、試薬

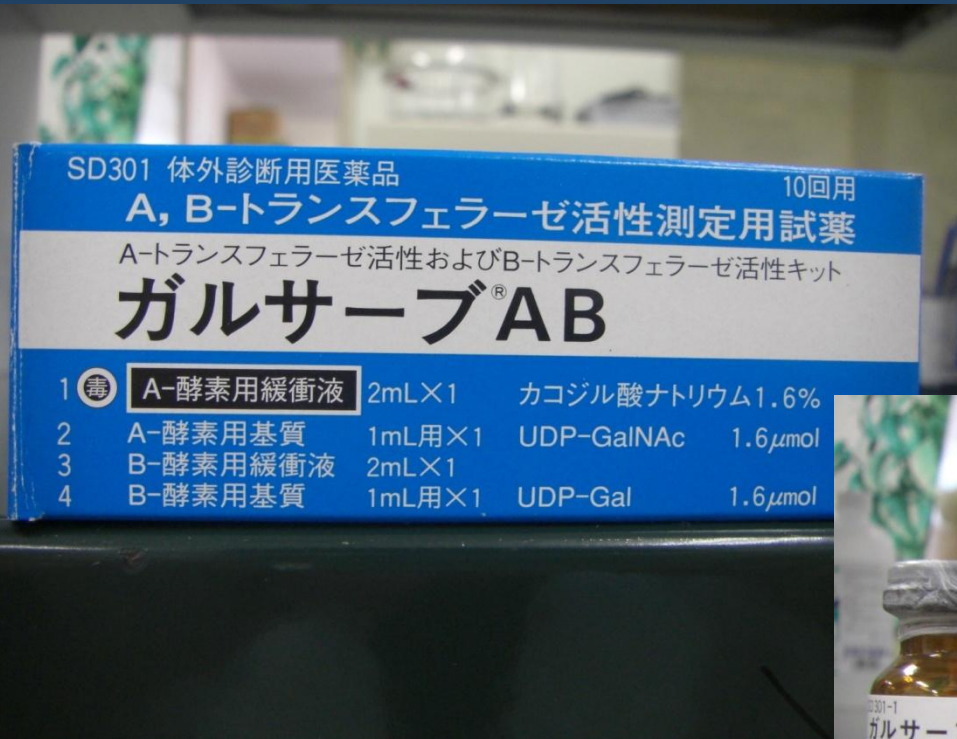
52℃前後の温度設定可能な恒温槽



吸着させる抗A、抗B抗体および解離液と
反応させるA血球、B血球



型転移酵素活性試薬 ガルサーブ A B



A、B緩衝液とA、B基質



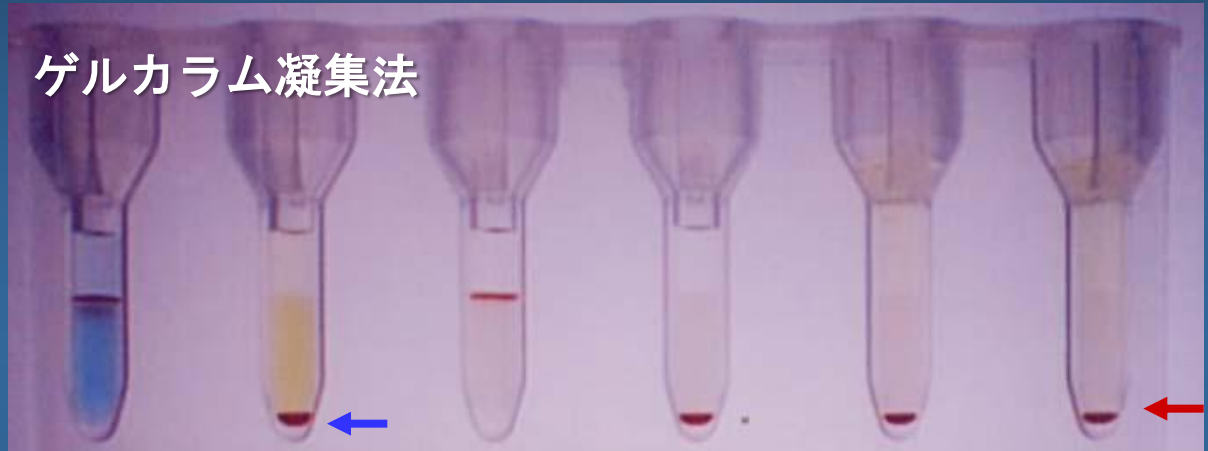
カラム凝集法による血液型検査結果

抗A抗体 1 抗B抗体 2 抗D抗体 3 Control 4 A₁血球 5 B血球 6

症例 1 : 抗B抗体欠損
(低下) のA型

吸着解離試験 : B抗原陰性

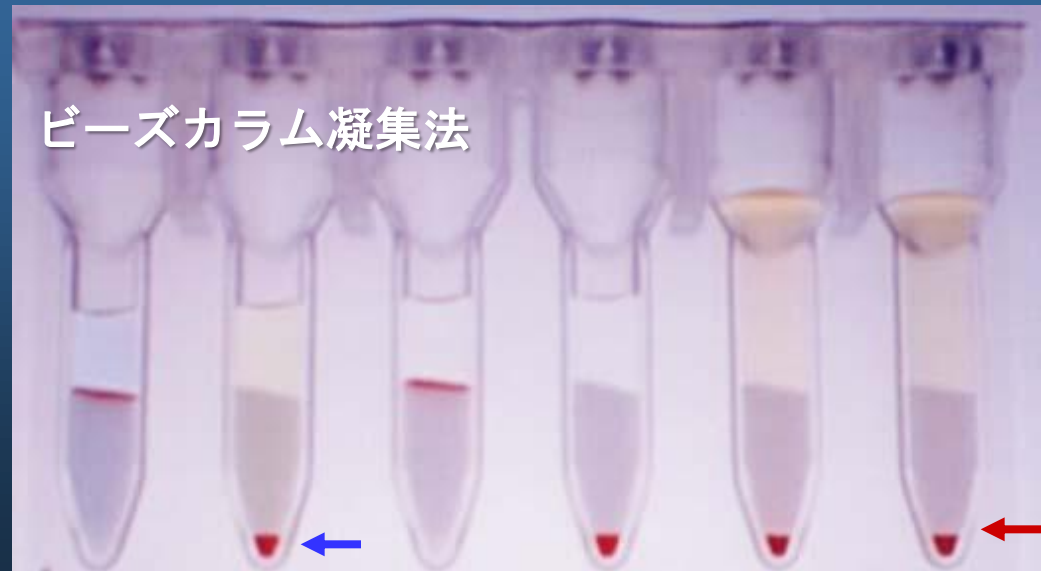
B型転移酵素活性 : 陰性



症例 2 : A₁Bm型

吸着解離試験 : B抗原陽性

B型転移酵素活性 : 16倍



A型転移酵素の低下によりA抗原の減弱を呈した 1症例

症例提示

入院時検査所見：白血球数6300／ μ L、赤血球数404万／ μ L、血小板数

3.9万／ μ Lと軽度の貧血と血小板減少症を呈していた。

輸血検査所見：ABOオモテ試験が抗A抗体（2+mf）、抗B抗体（－）でありウラ試験はA1血球（－）、B血球（4+）であった。

A型転移酵素活性は8倍（対照A型256倍）であった。

尚、治療後にフローサイトメトリーにてA抗原の発現量を測定したところ陽性率は増加していたことから、抗A抗体に部分凝集を呈した要因は血能の低下に伴った型転移酵素活性の低下によるものと考えられた。

ゲルカラム凝集法を用いた血液型検査結果

抗A抗体

1

抗B抗体

2

抗D抗体

3

Control

4

A1血球

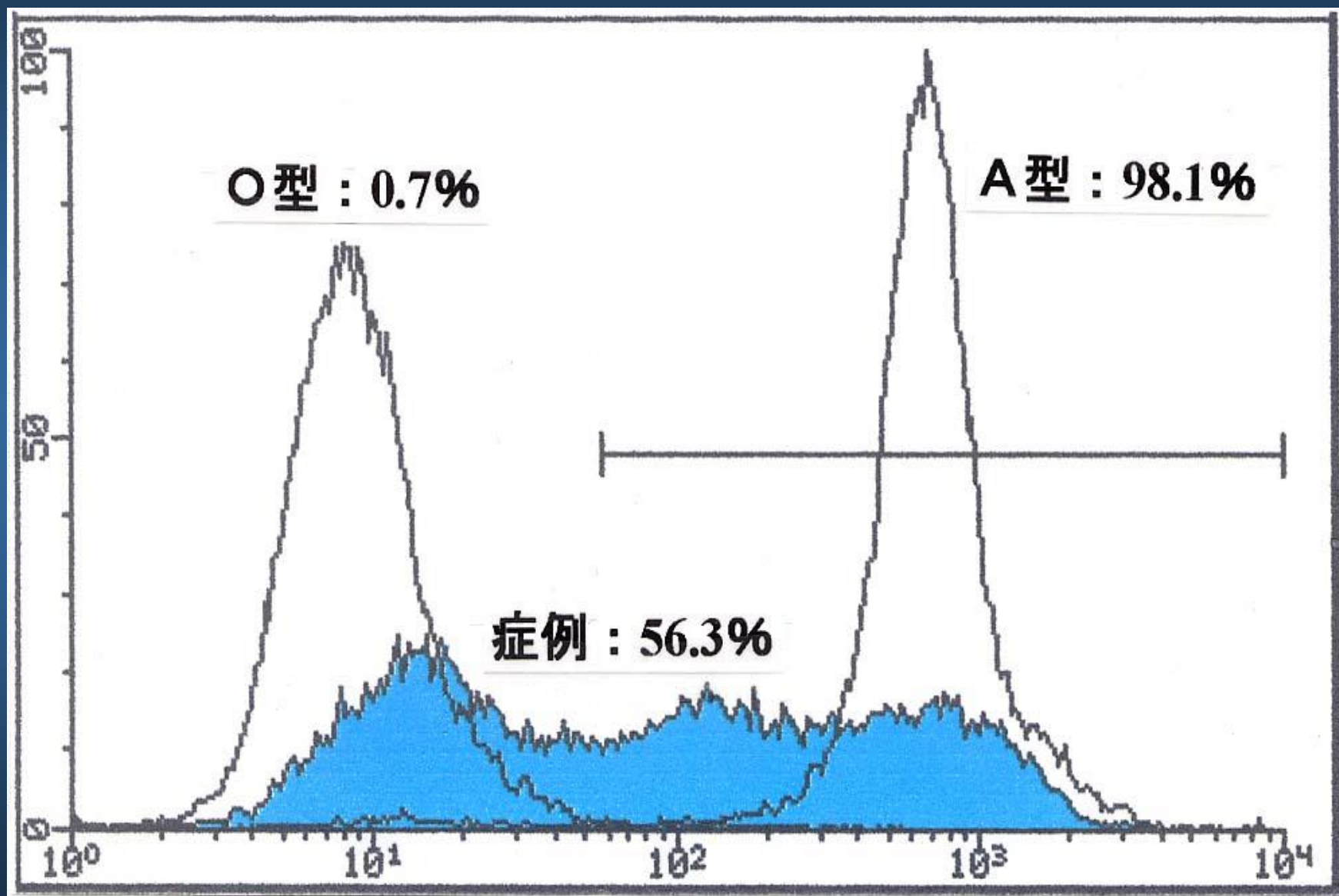
5

B血球

6



フローサイトメトリーを用いたA抗原量の測定



無 γ グロブリン血症による抗体欠損 (低下) の1例

検査データ

●血液型検査（試験管法）

オモテ試験 抗A抗体（0） 抗B抗体（0） → **O型**

ウラ試験 A血球（0） B血球（0） → **AB型**

4℃にて A血球（1+） B血球（0）

●生化学検査

TP : 6.5g/dL (6.7~8.3 g/dL)

IgG : 626mg/dL (680~1620mg/dL) ↓

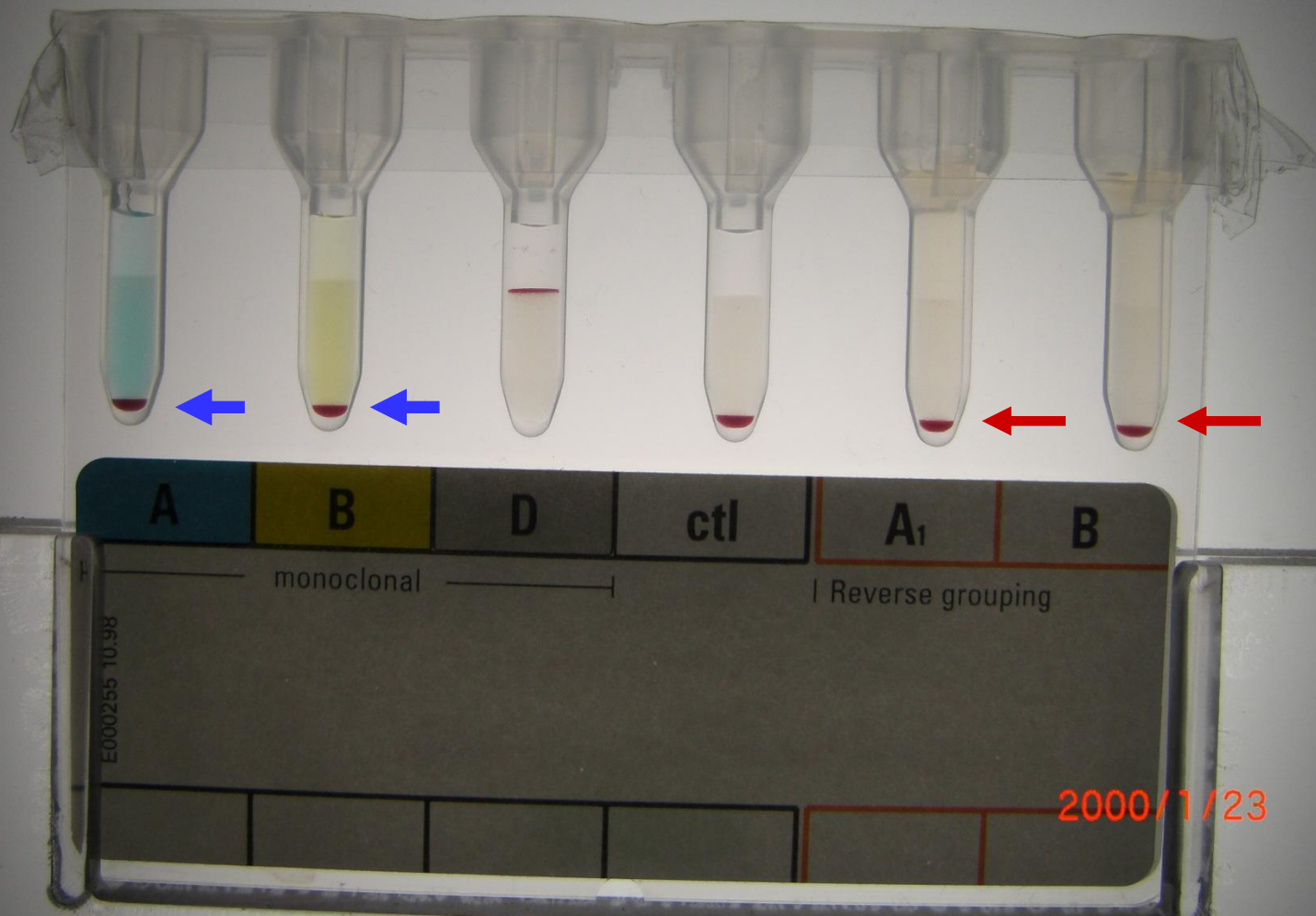
IgA : <1.0mg/dL (84~438mg/dL) ↓

IgM : 2.0mg/dL (57~288mg/dL) ↓↓

イムノグロブリン
の低下

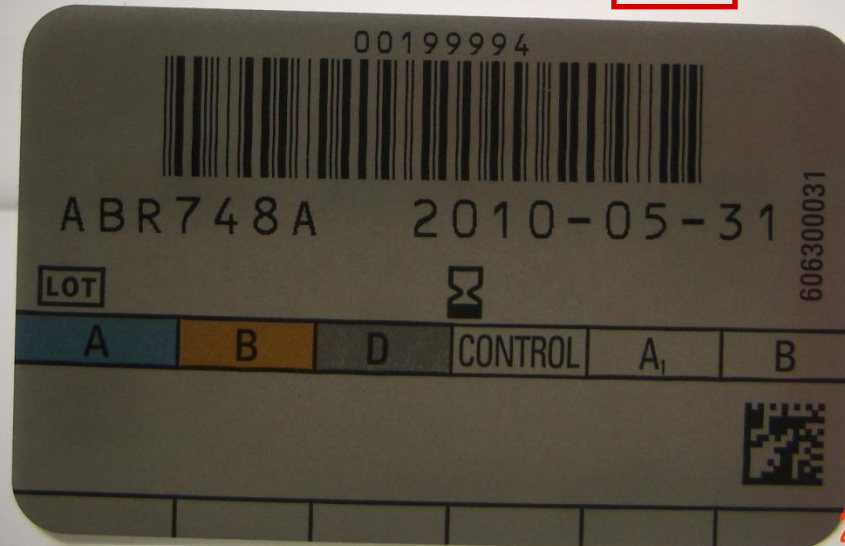
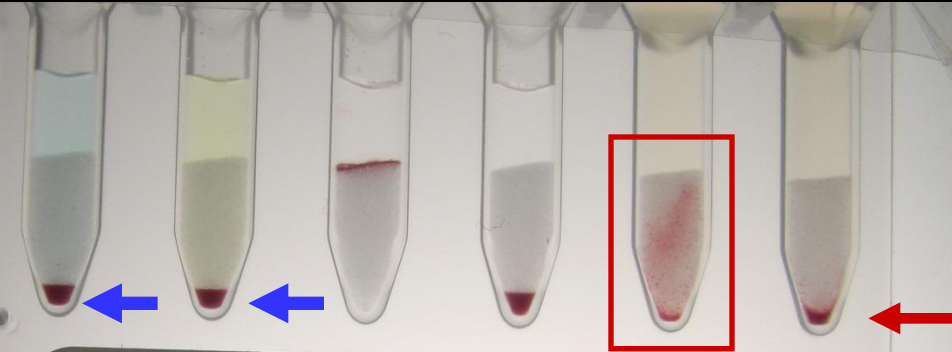
ゲルカラム凝集法による血液型検査

オモテ試験: O型、ウラ試験: AB型



ビーズカラム凝集法による血液型検査

オモテ試験: O型、ウラ試験: 保留



抗B抗体のみ特異的に欠損したO型の1例

研究

臨床検査 45:1145-1149, 2001

抗B抗体欠損O型症例のABO血液型 遺伝子解析*

舞木弘幸¹⁾/丸山芳一¹⁾/大西浩史²⁾/中川智美²⁾/中野 稔³⁾/
橋口聖一³⁾/市之瀬守³⁾/山下 巧⁴⁾/肥後恵子¹⁾/丸山征郎¹⁾

症例提示

輸血検査所見

1. ABOオモテ試験O型、ウラ試験B型であった。
2. 抗Bを用いた吸着解離試験にてB抗原陰性であった。
3. B型転移酵素活性も陰性であった。

	抗A抗体	抗B抗体	A1血球	B血球	血液型
患者	0	0	4*	0	判定保留
長男	0	0	4+	4+	O型
長女	0	4+	4+	0	B型

ゲルカラム凝集法による血液型検査結果

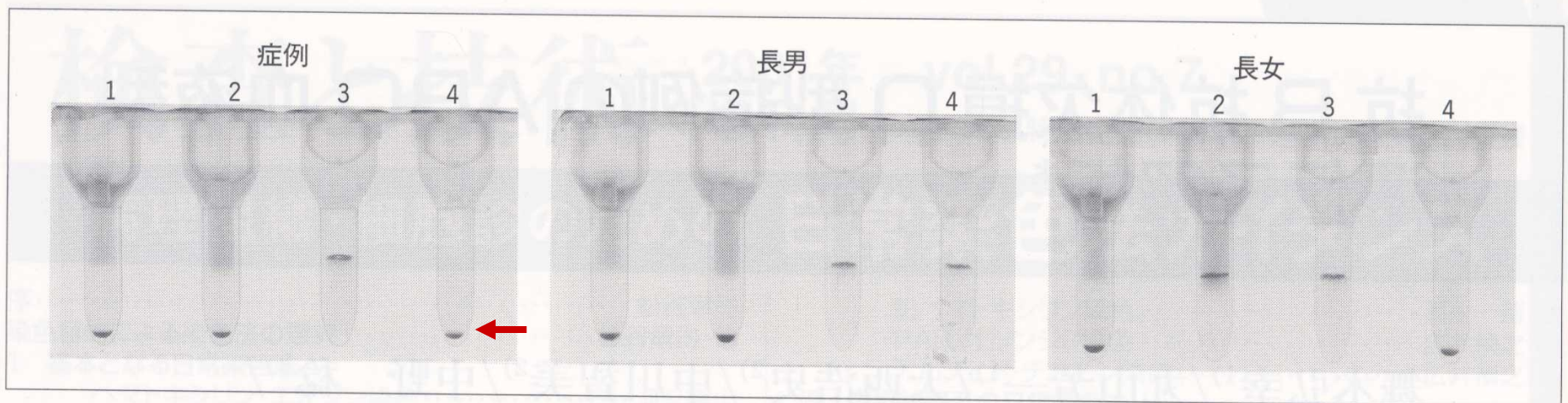


図1 Micro typing system (MTS) を用いた ABO 血液型検査
1: 抗 A 血清, 2: 抗 B 血清, 3: A₁ 血球, 4: B 血球

自己抗体によりABO、RhD血液型判定が 困難であった症例

症例提示

血液型検査：オモテ試験 抗A抗体（4+）、**抗B抗体（1+）**

ウラ試験 A血球（0）、B血球（2+）

RhD血液型 抗D抗体（4+）、**Ctrl（1+）**

追加検査：DATが陽性であったことから自己抗体による影響が考えられ、自己抗体の吸収処理を行った。

クロロキン処理にて吸収後、再度血液型検査を行いA型RhD陽性と判明した。

自己抗体吸収処理前後の血液型査結果

抗A抗体

1

抗B抗体

2

抗D抗体

3

Control

4

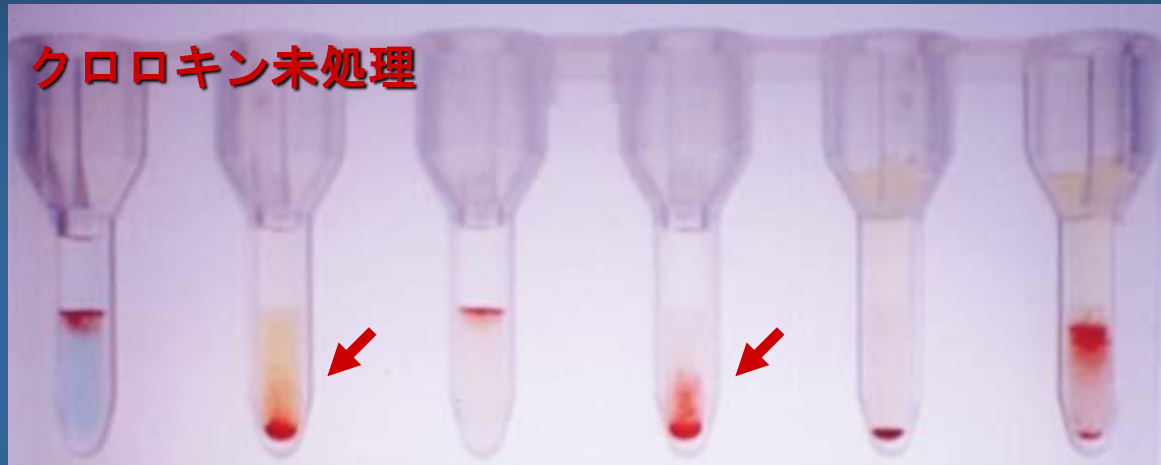
A1血球

5

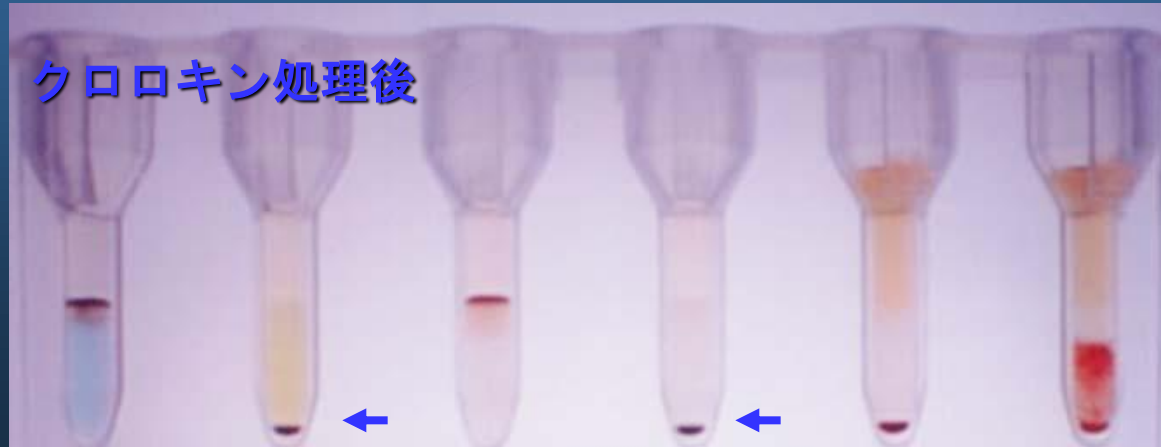
B血球

6

クロロキン未処理



クロロキン処理後



血液型ウラ試験での弱反応性について

—Ael、AelB症例から考える—

鹿児島大学病院輸血部

舞木 弘幸 外室 善英 尾前 歩

迫田 みどり 古川 良尚

はじめに

A B O血液型検査においてオモテ試験の結果とウラ試験の結果が一致した場合、血液型は確定されている。オモテ試験での弱反応性については、糖鎖が未発達である新生児以外は通常、異常と考えられている。一方、ウラ試験での弱反応性については具体的には基準が定められていないのが実情である。また、最近普及してきているカラム凝集法によるウラ試験での弱反応性についても同様に具体的な判定基準が設定されていない。

今回、ウラ試験にて弱反応性を呈した症例について吸着解離試験を実施してAeI型、AeIB型と判定された症例を経験したことから血液型検査のウラ試験の弱反応性の対応、解釈について考えてみたいと思う。

症例 1 Ael型

血液型検査

試験管法による結果

抗 A 抗体	抗 B 抗体	抗 D 抗体	Ctrl	A 1 血球	B 血球
0	0	4+	0	2+	4+

抗 A 1 レクチン (ー)

抗 H レクチン (3+)

抗 A 抗体を用いた吸着解離試験の結果

A 1 血球 (1+)、B 血球 (ー) で A 抗原を検出した。

ゲルカラム凝集法による血液型検査結果

抗A抗体
1

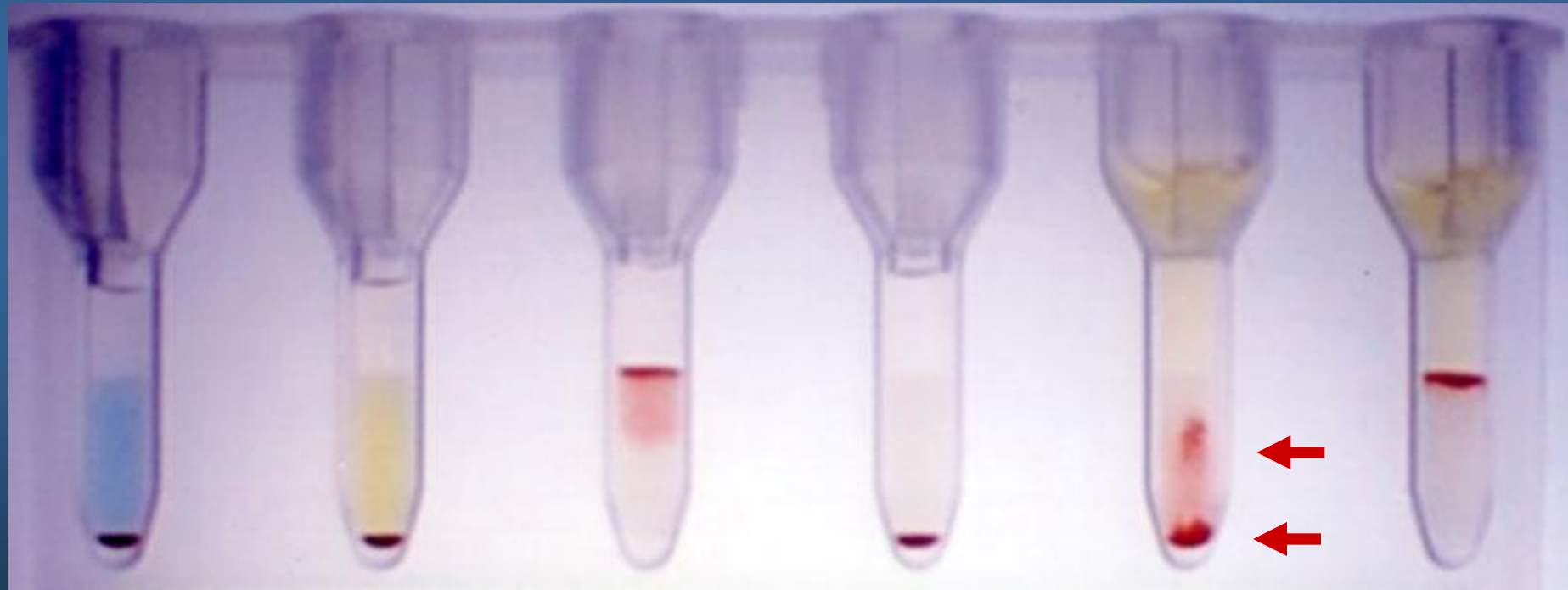
抗B抗体
2

抗D抗体
3

Control
4

A1血球
5

B血球
6



ビーズカラム凝集法による血液型検査結果

抗A抗体
1

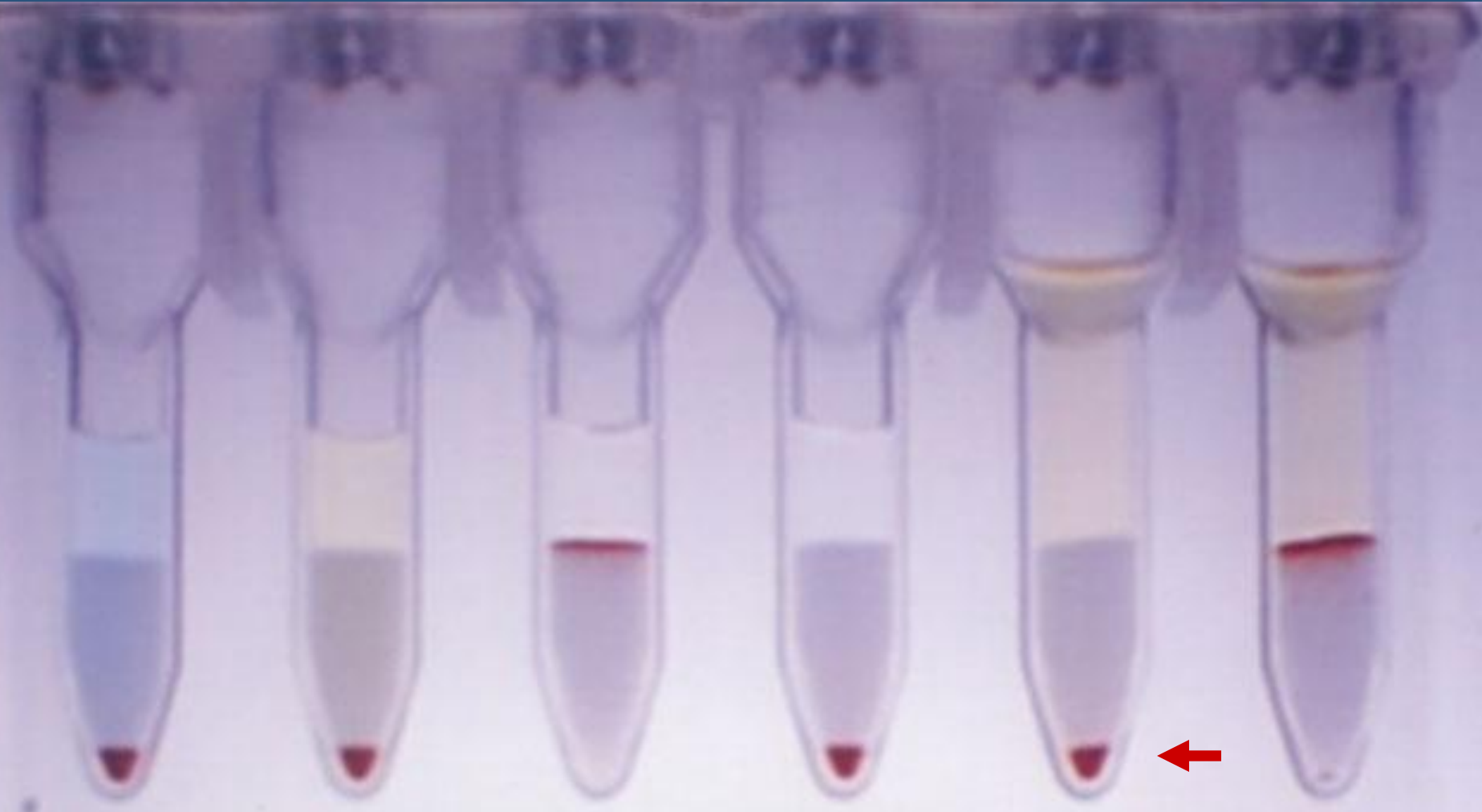
抗B抗体
2

抗D抗体
3

Control
4

A1血球
5

B血球
6



症例 2 AelB型

血液型検査

試験管法による結果

抗 A 抗体	抗 B 抗体	抗 D 抗体	Ctrl	A 1 血球	B 血球
0	4+	4+	0	2+	0

抗 A 抗体を用いた吸着解離試験の結果

A 1 血球 (1+)、B 血球 (ー) で A 抗原を検出した。

ビーズカラム凝集法による血液型検査結果

抗A抗体
1

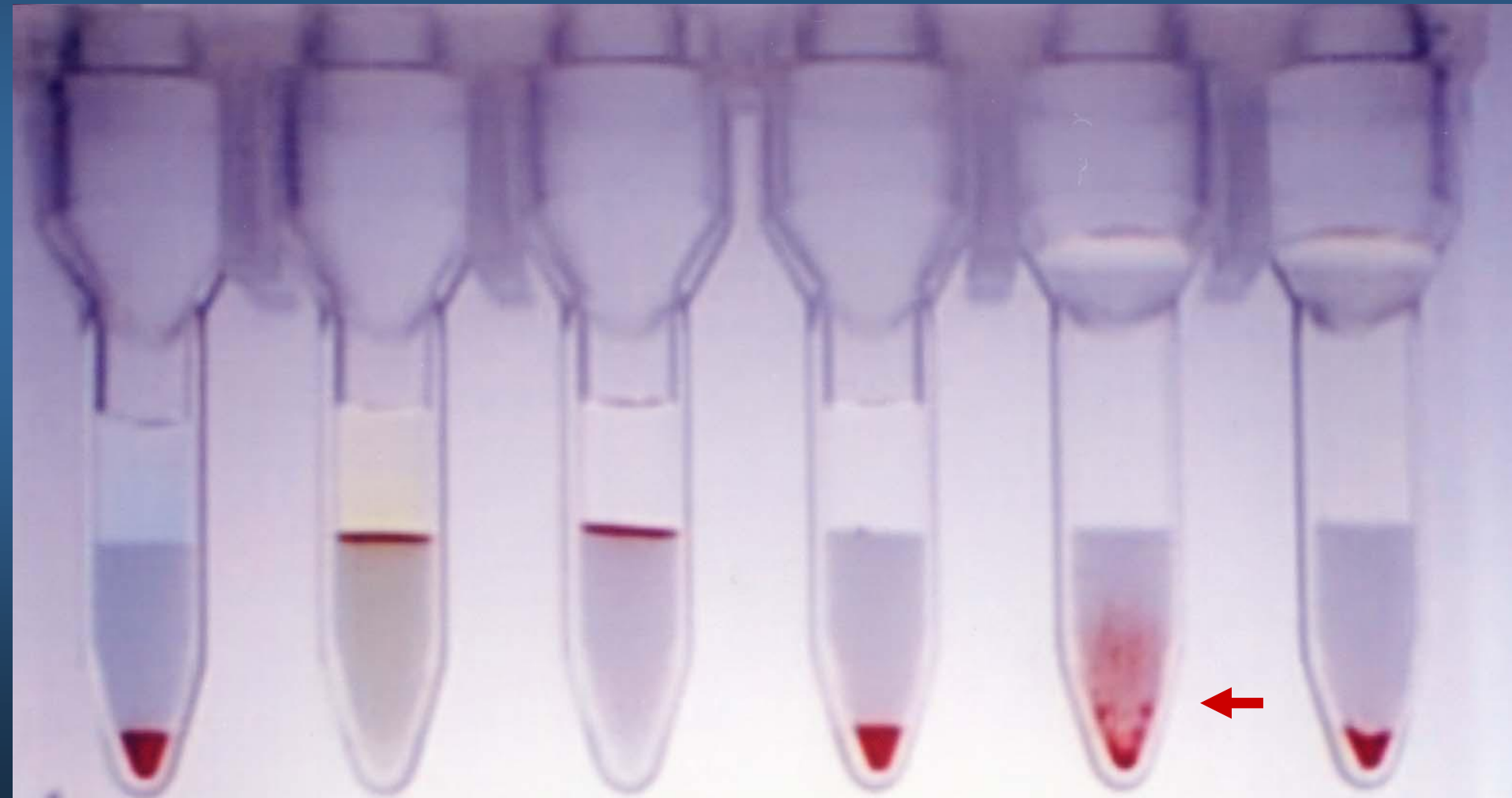
抗B抗体
2

抗D抗体
3

Control
4

A1血球
5

B血球
6



A B O 亜型での血液型検査結果

	抗 A 抗体	抗 B 抗体	A 1 血球	B 血球
A2	4+	0	0	4+
A3	1+ ^{mf}	0	0	4+
Am	0	0	0	4+
Ax	w+	0	w+	4+
Ael	0	0	1+	4+
B3	0	1+ ^{mf}	4+	0
Bm	0	0	4+	0
Bx	0	w+	4+	w+
Bel	0	0	4+	1+
AxB	w+	4+	w+	0
A1Bx	4+	w+	0	w+
AmB	0	4+	0	0
A1Bm	4+	0	0	0
AelB	0	4+	1+	0
A1Bel	4+	0	0	1+

症例 1

症例 2

まとめ

A B O血液型検査のウラ試験においてたびたび弱反応を呈することがあり、判定に苦慮することがある。

今回、ウラ試験において弱反応を呈した2症例に対して吸着解離試験を行いAel型、AelB型を検出した。

A B O血液型検査でのウラ試験での弱反応性については具体的な判定基準がないのが実情である。

今後は、日本輸血・細胞治療学会等においてA B O血液型検査での具体的な判定基を設定したガイドラインの作成をお願いしたい。

血液型検査にてキメラが考えられる場合

フローサイトメトリーにより診断しえた
A, Bキメラの1例

症例提示

血液型検査結果

抗 A 血清	抗 B 血清	抗 D 血清	Ctrl	A 1 血球	B 血球
1+ ^{mf}	4+ ^{mf}	4+	0	0	0

各種血液型表現型：CCDee, Le(a-b+), P2, NNss, Fy(a+b-), Jk(a+b+)

フローサイトメトリーの結果

A型とB型のキメラと判明した。陽性率は、A型8.0%、B型92.0%であった。

ゲルカラム凝集法を用いた血液型検査結果

抗A抗体
1

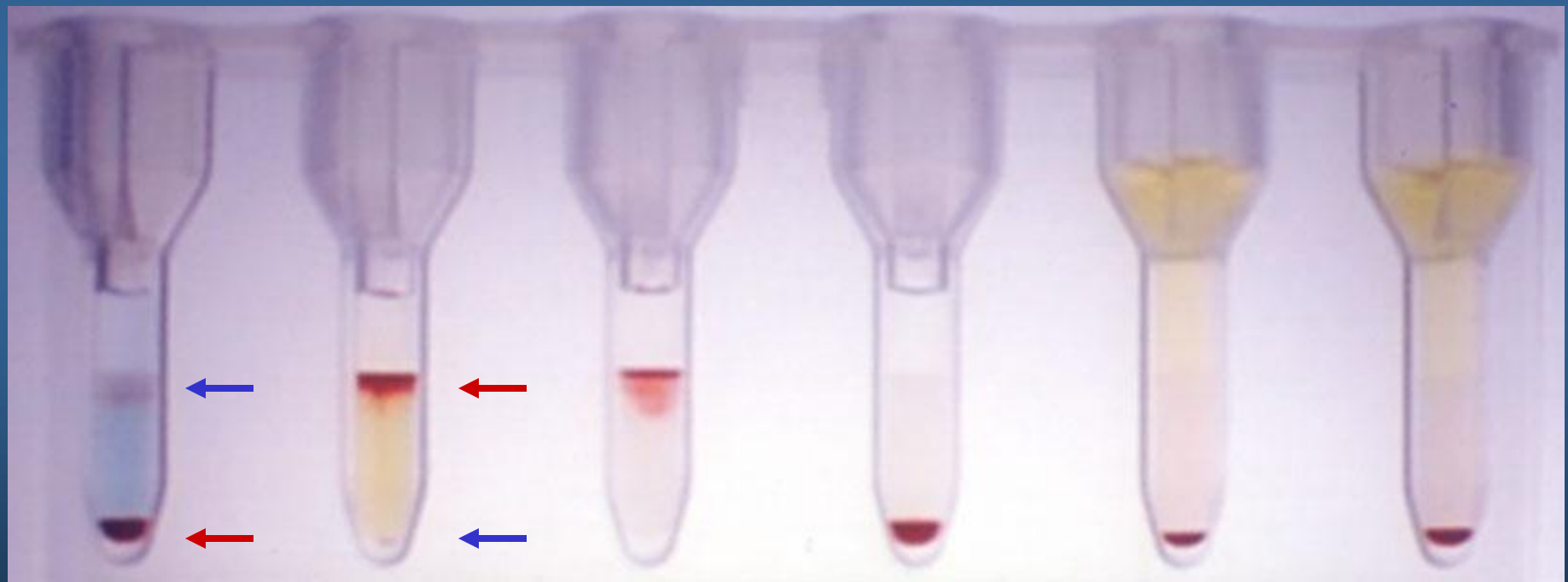
抗B抗体
2

抗D抗体
3

Control
4

A1血球
5

B血球
6



ビーズカラム凝集法による血液型検査結果

抗A抗体

1

抗B抗体

2

抗D抗体

3

Control

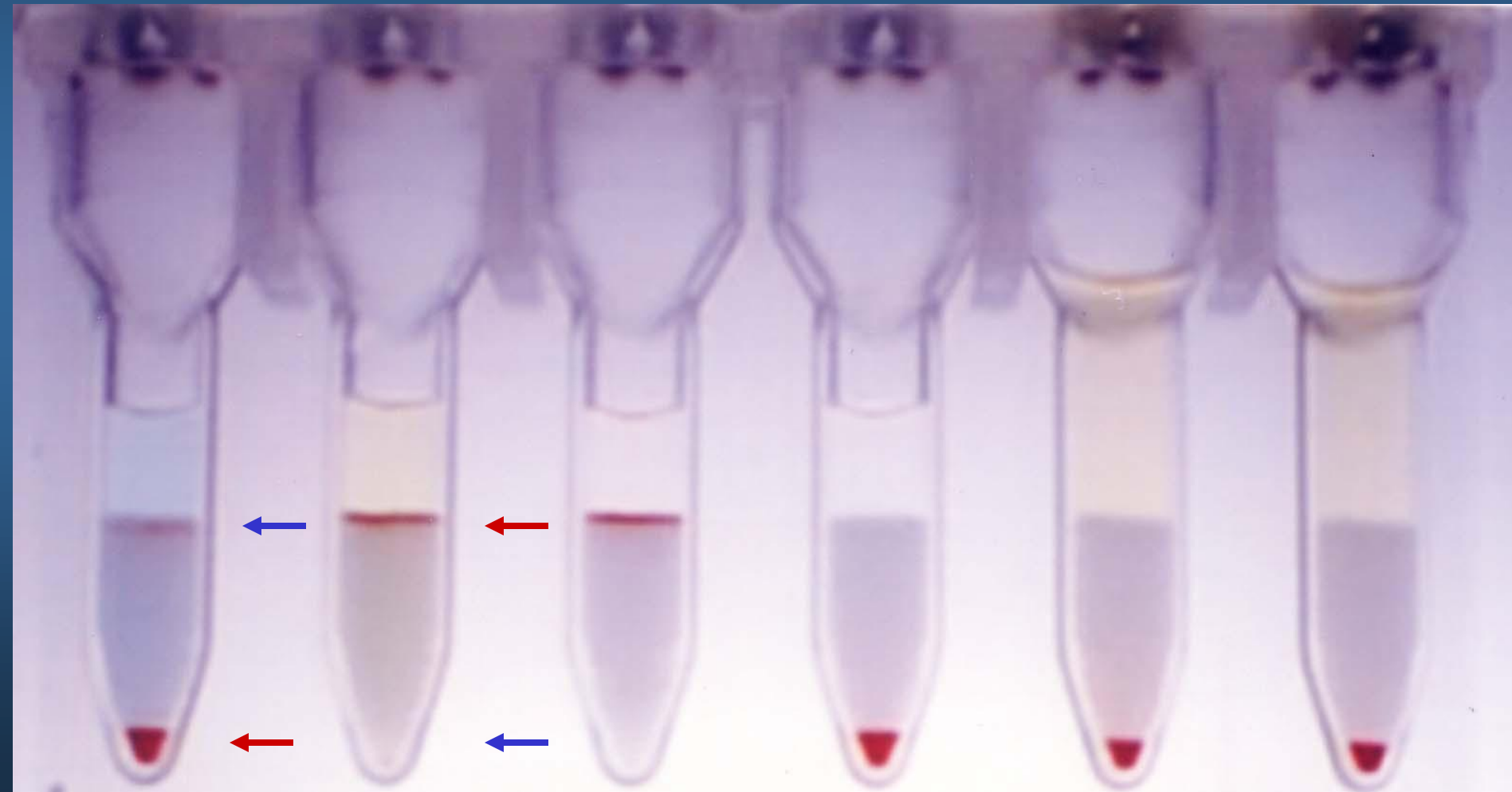
4

A1血球

5

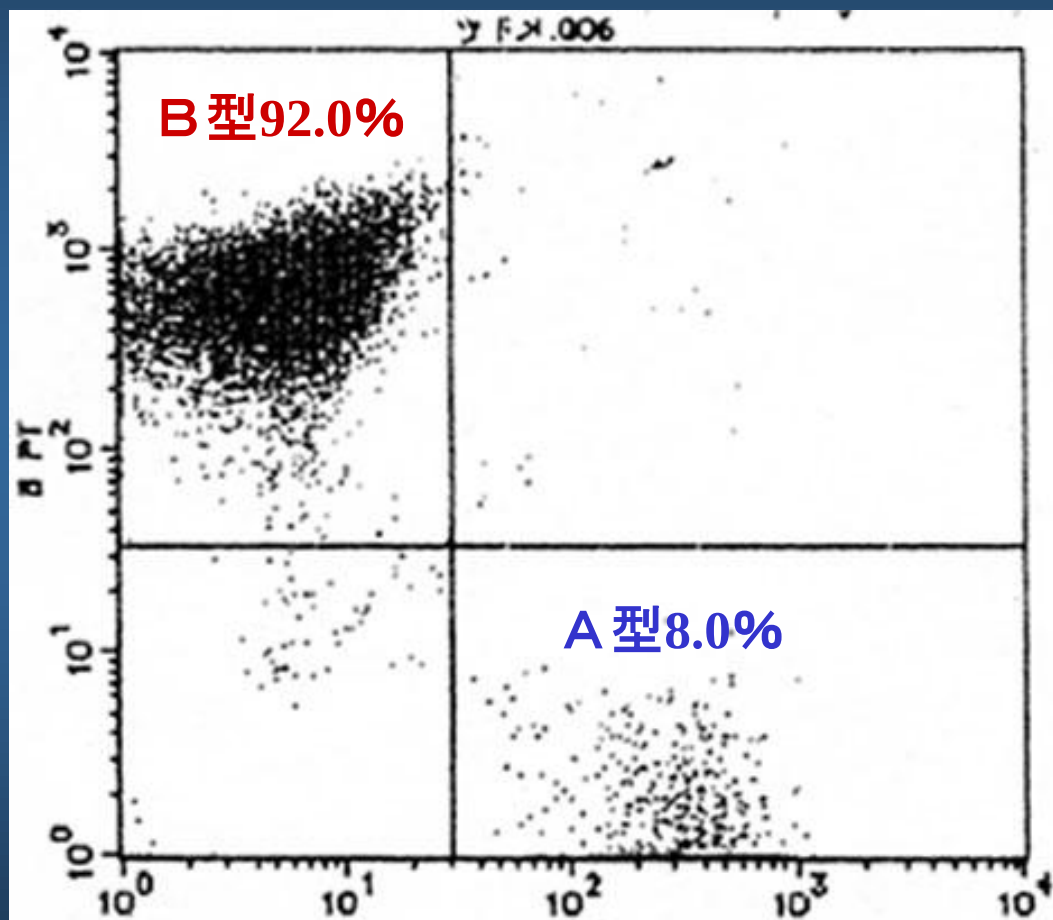
B血球

6



フローサイトメトリーを用いたTwo color 解析によるA, Bキメラの診断

抗B (Mouse IgM, FITC)



抗A (Human IgM, PE)

ABO不適合造血幹細胞移植後 長期間混合キメラを呈している1例

CD34陽性細胞移植後13年目の各種血液型検査結果

MTSによる
検査結果

抗A抗体
1

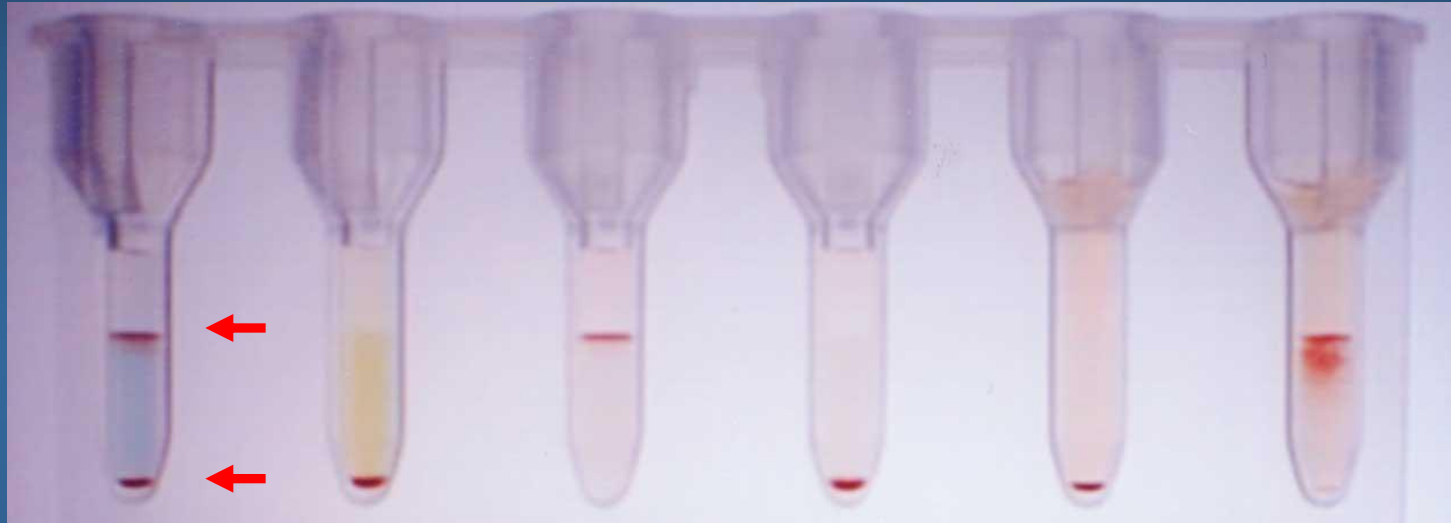
抗B抗体
2

抗D抗体
3

Control
4

A1血球
5

B血球
6



各種血液型検査の反応結果

A1	C	c	E	e	M	N	S	s
2+ ^{mf}	4+	4+	4+	4+	2+ ^{mf}	3+ ^{mf}	0	4+
H	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Xg ^a	Di ^a	P1	
4+ ^{mf}	4+	2+ ^{mf}	4+	1+ ^{mf}	1+ ^{mf}	0	1+ ^{mf}	

異型適合血輸血後キメラを呈した1例

異型適合血輸血を受けて緊急搬送された症例

AB型の患者にA型のRCC-LR 2単位輸血

テスト詳細

プロフィール情報

血液型

作成日付 2012/04/05

残り時間

検体情報

検体ID 81204040012

検体タイプ CENTBLOOD

優先順位 Normal

ABO (オモテ/ウラ) /Rh ユーザー 11

メンテナンス

結果情報

ABO Rho (D)

結果 ? +

初期の結果 ? +

ロット情報

試薬キット

ロットID

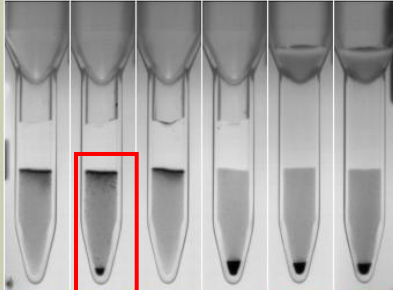
ウラ試験用血球

0363

カセット情報

抗A/抗B/抗D/Control/Reverse Diluent

00 - 106113 89010 2012-09-06



抗A 抗B 抗D Ctrl A1血球 B血球

4 MF 4 0 0 0

コメント

患者情報の変更

優先順位の変更

コメント追加

カセット保存

結果の否認

結果の承認

結果の編集

結果の編集

新規ドナー

戻る

不規則抗体検査にて異常を呈した場合

間接抗グロブリン試験にて自己対照を含めすべての 血球に凝集を呈する症例に対しての輸血の選択

鹿児島大学医学部附属病院輸血部

舞木 弘幸 丸山 芳一 肥後 恵子

宮路 由香 渡辺 紘子 丸山 征郎

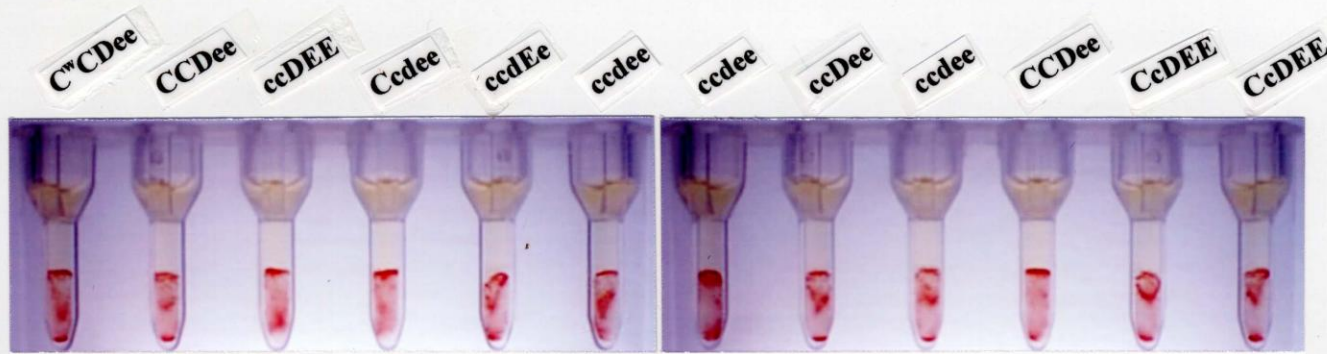
検査所見

1 血液検査 : WBC 10200／ μ l, **RBC 147万／ μ l**, **Hb 5.8g／dl**,
Plt 34.9万／ μ l, **Ret 238‰**

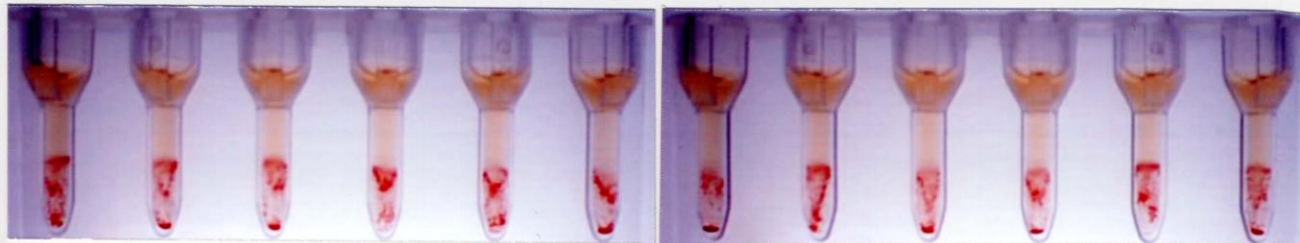
2 生化学検査 : **LDH 984IU／L**, **T-Bil 2.3mg／dl**, **ID-Bil 1.6mg／dl**,
TP 7.4g／dl (Alb 57.1%, α 1G 3.6%, α 2G 6.2%,
 β G 9.9%, γ G 23.2%) , IgG 2146mg／dl, IgA 449mg／dl,
IgM 56.7mg／dl, IgD 2.0mg／dl, C3 126.8 mg／dl,
C4 24.8mg／dl

3 輸血検査 : A型 **R1r (CcDee)**, クロロキン処理後の赤血球使用)
DAT : 4+ (1024倍) , **Peg-IAT : 3+ (256倍)**

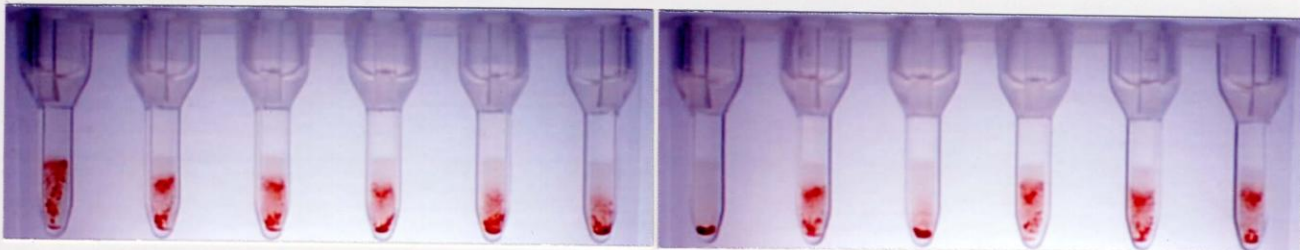
カラム凝集法による血清からの自己抗体の同定



A : 未処理血清を用いた Liss-IAT 試験



B : 自己吸収処理血清を用いた Liss-IAT 試験

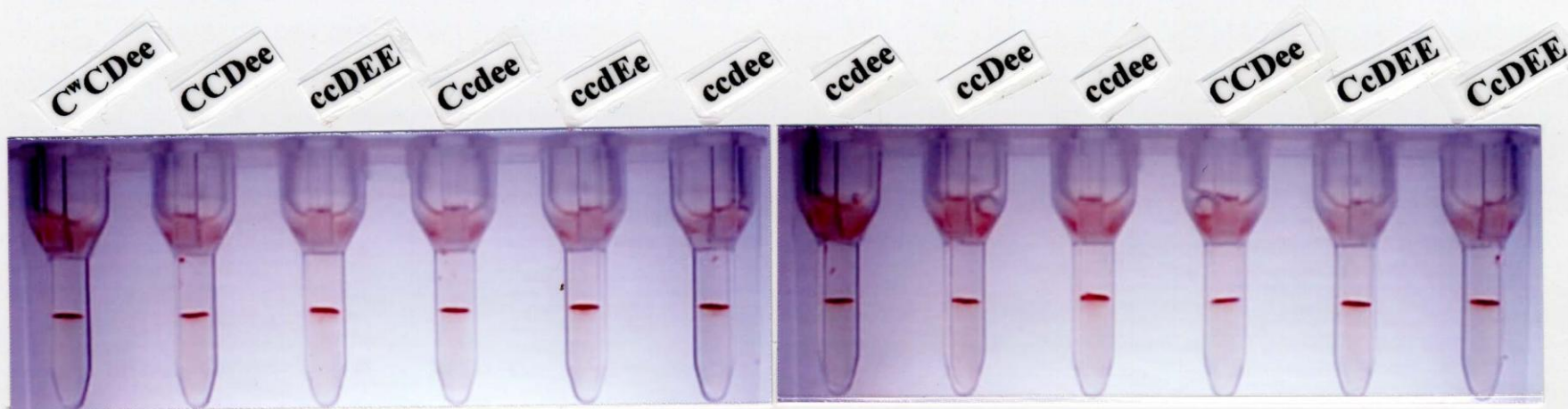


C : 10 倍希釈血清を用いた Liss-IAT 試験

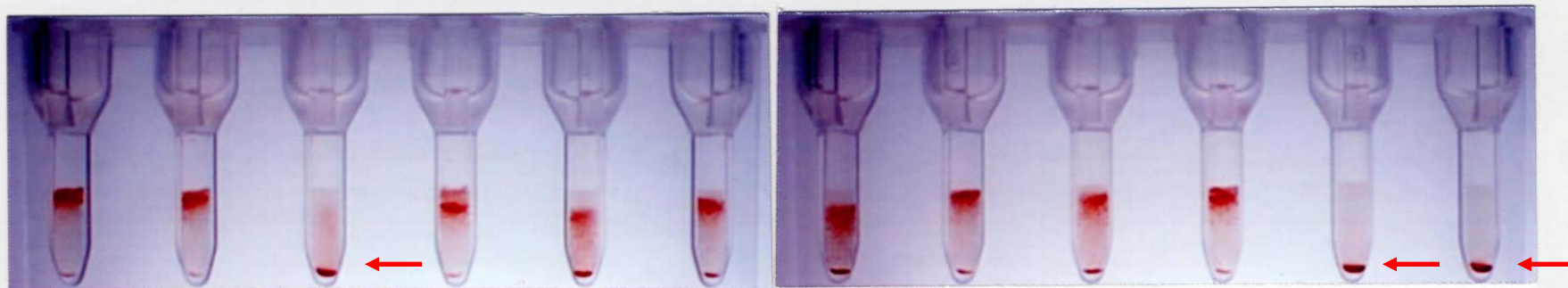
ゲルカラム凝集法による血清からの自己抗体の同定

カラム凝集法による解離液からの自己抗体の同定

抗e自己抗体を検出

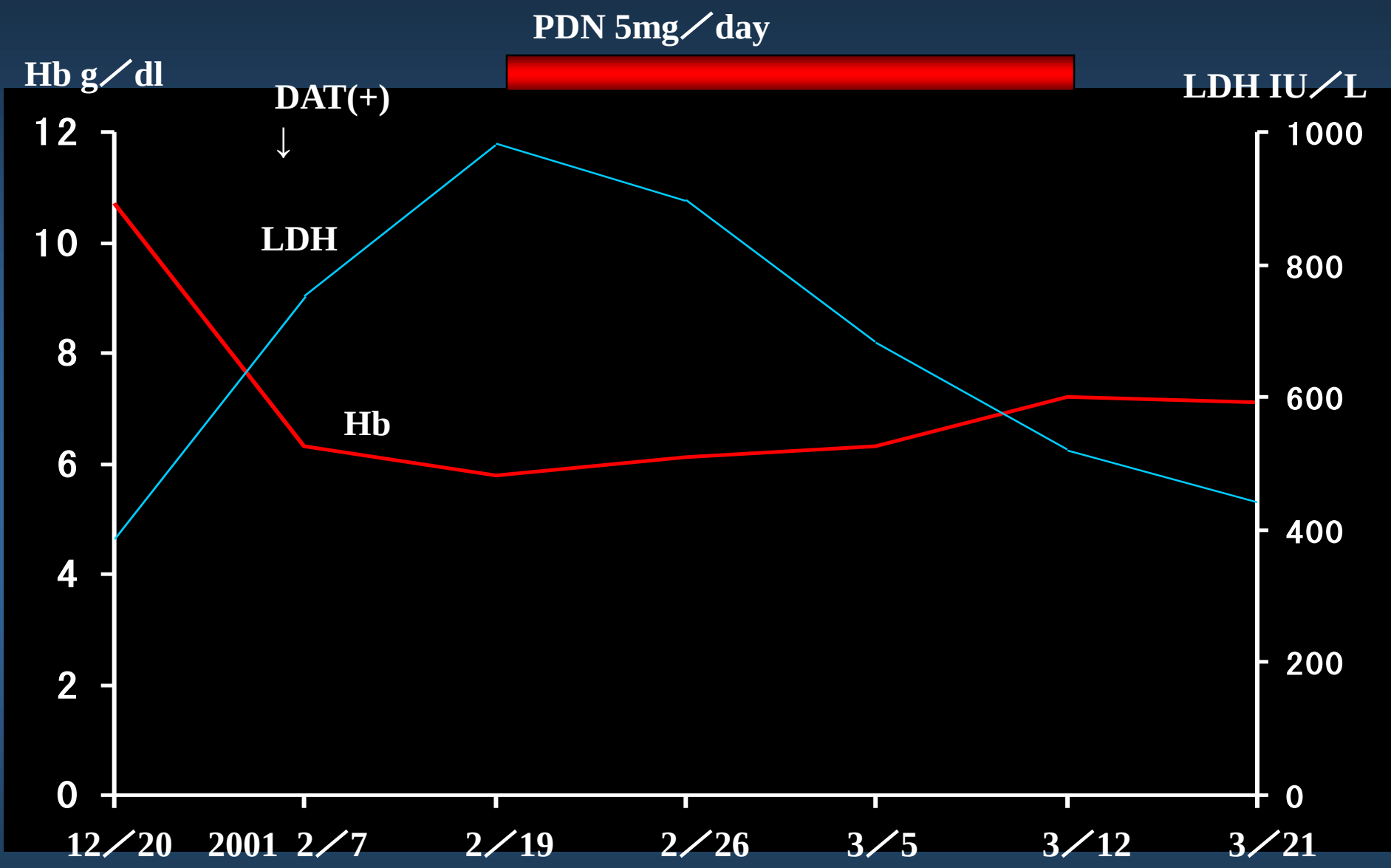


A : 未処理解離液を用いた Liss-IAT 試験



B : 50 倍希釈解離液を用いた Liss-IAT 試験

ゲルカラム凝集法による解離液からの自己抗体の同定



臨床経過 (AIHA 75yr/M)

自己抗体保有 8 例に対しての解析結果

鹿児島大学病院輸血部

舞木 弘幸 田之上 三喜恵 迫田 みどり 外室 喜英
古川 良尚

今回、自己抗体保有症例について検討、報告してみようと思った理由は

平成20年1月より九州ブロックの血液センターの検査業務が久留米市の九州血液センターに集約化されました。

血液センターへの赤血球系の主な依頼検査は

- 血液型検査精査：吸着解離試験、糖転移酵素活性
- 不規則性抗体同定：パネル血球による抗体同定

DAT陽性による抗体解離試験

高頻度抗原に対する抗体の同定は病院レベルでは困難。

自己抗体保有症例での抗体同定は実施可能か。

直接抗グロブリン試験および間接抗グロブリン試験 陽性にて自己抗体の精査を行った8症例

症例	診断名	年齢	性別
1	SLE Evans症候群	38歳	女性
2	AIHA	9歳	女性
3	大動脈弁狭窄症	84歳	女性
4	潰瘍性大腸炎	36歳	女性
5	IgA腎症	31歳	女性
6	慢性腎不全	57歳	男性
7	膀胱腫瘍	77歳	男性
8	SLE	62歳	女性

自己抗体、同種抗体の精査の方法

- 血清からの自己抗体、同種抗体の検出
クロロキンにて自己吸収処理を行った。
- 赤血球からの自己抗体の検出
酸解離にて自己抗体の検出を行った。

自己抗体の吸収方法

- ZZAPによる吸収操作
- PEGによる吸収操作
- クロロキンによる吸収操作



検査成績 1

症例	診断名	Bro法	IAT法	吸収後	解離液	抗体同定
1	SLE Evans症候群	2+	2+～3+	抗S	2+	吸収後血清
2	AIHA	NT	抗C 抗e	抗C 抗e	抗C 抗e	血清 解離液
3	大動脈弁狭窄症	0～2+	3+	2+	0	なし
4	潰瘍性大腸炎	4+	3+	2+	0～2+	なし
5	IgA腎症	抗E	抗E 2+	抗E 1+	1+～2+	血清
6	慢性腎不全	0	2+	1+	抗E 1+	解離液
7	膀胱腫瘍	3+	2+～3+	抗e	2+	吸収後血清
8	SLE	3+	4+	2+～3+	2+	なし

自己抗体保有症例に対しての輸血は？

自己抗体保有症例に対しての輸血

症例	診断名	自己抗体	同種抗体	RCC	Hb前	Hb後	LDH前	LDH後
1	SLE Evans	なし	抗S	2U	3.4	6.7	121	NT
2	AIHA	抗C 抗e	なし	なし	5.5	NT	358	NT
3	大動脈弁狭窄症	なし	なし	22U	12.2	14	188	215
4	潰瘍性大腸炎	なし	なし	なし	11	NT	132	NT
5	IgA腎症	なし	抗E	18U	11.9	10	162	189
6	慢性腎不全	抗E	なし	12U	11.3	10.4	171	171
7	膀胱腫瘍	なし	抗e	なし	12.9	NT	193	NT
8	SLE	なし	なし	4U	5.8	8.3	369	348

まとめ

- 自己抗体保有8例に対して、精査を行い5例に特異性を認める自己抗体もしくは同種抗体を検出した。
- 吸収処理後の患者血清を用いて不規則性抗体同定検査を行ったところ血清中から同種抗体3例（抗E 1例、抗e 1例、抗S 1例）、自己抗体1例（抗E 1例）を検出した。
- 患者赤血球の解離液からは自己抗体1例（抗C＋抗e）を検出した。
- Rh表現型がCCDee、ccDEEの症例5例中4例にRh系の自己抗体もしくは同種抗体を検出しており、輸血時の血液製剤のRh表現型の選択には注意が必要と考えられた。

**Auto Vue Innova陽性、Peg-IAT法陰性を呈した
ミミッキング抗体と思われる 1 例**

不規則抗体スクリーニング結果

MNss

1

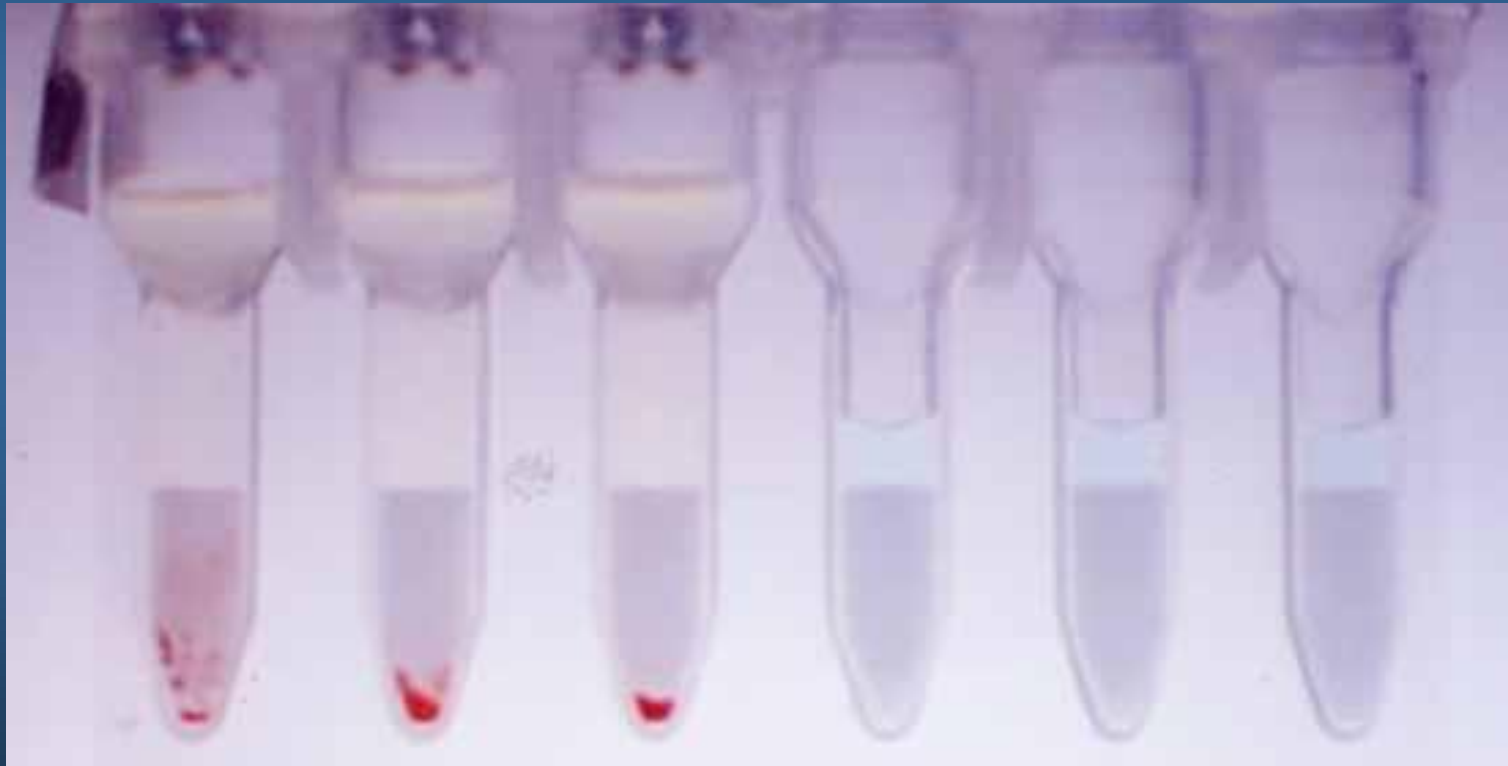
MNss

2

MMSS

3

0.8%RCD法



2+

1+

0

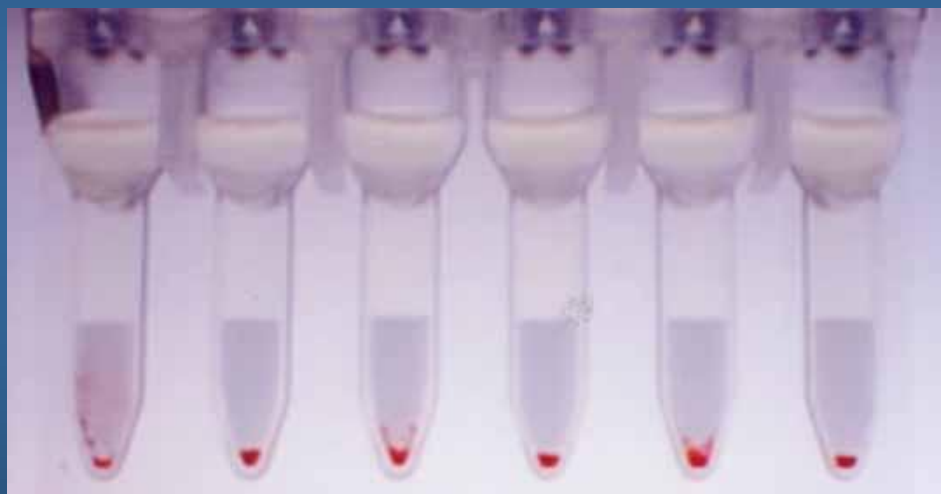
不規則抗体の精査

- 食塩水法：陽性、特異性を認めなかった。
- Peg-IAT法：陰性、抗体は検出されなかった。
- Auto Vue Innova：陽性を呈し、抗N様の抗体を検出した。
- Micro Typing System：陰性、抗体は検出されなかった。
- DAT試験：陰性 抗IgG(一)、抗C3b,C3d(一)
- 各種タイピング MINss、CcDEe、Le(a-b+)、P2、Jk(a-b+)、Fy(a+b-)

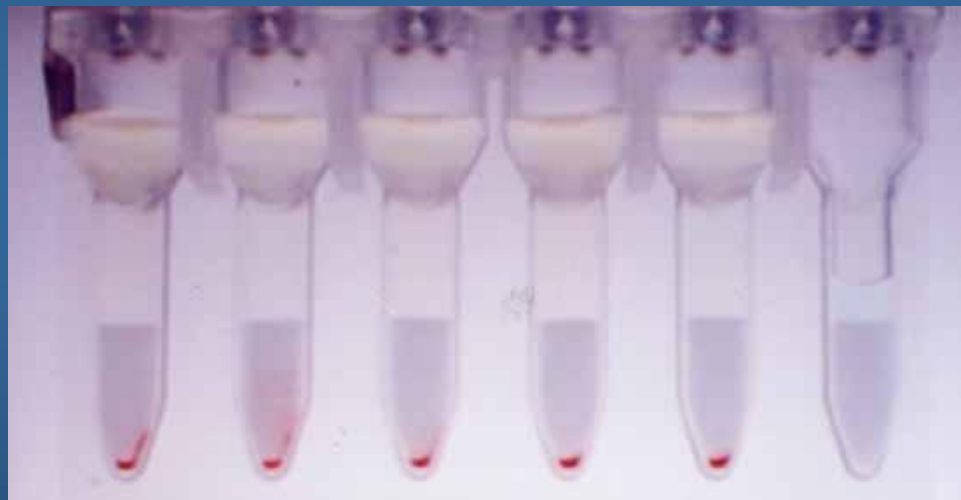
Auto Vue Innovaによる間接抗グロブリン試験の結果

NNss *MMss* *MNss* *MMss* *MNss* *MMSS*
1 2 3 4 5 6

MNss *NNss* *MNss* *MMSS* *MMSS*
7 8 9 10 11



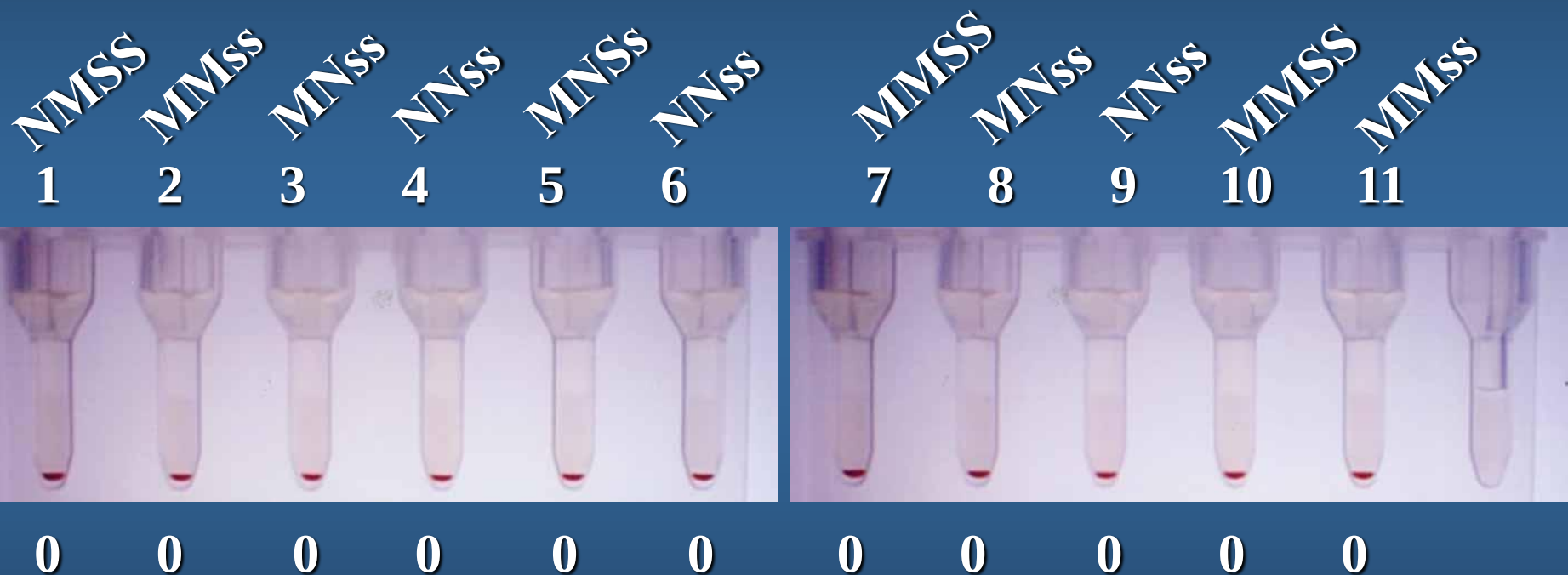
2+ 0 1+ 0 w+ 0



1+ 2+ w+ 0 0

抗N同定

Micro Typing Systemによる間接抗グロブリン試験の結果



不規則抗体：陰性