

O-077

スマートフォン向けゲーム Ingress のプレイヤーによる集団献血活動
～RedFacton in 広島～

広島県赤十字血液センター

松本佳子、森政順二、梅木 亨、下前孝典、
西川滋祐、名越五規、三郎丸悦二、浦 博之、
山本昌弘

【はじめに】

Ingress とは、米 Google の提供するスマートフォン向けオンライン・位置情報ゲームである。このゲームのプレイヤーが「世界は見えたままとは限らない。世界を救おう！命を救おう！」をキャッチフレーズに、献血活動を行うことを「RedFacton」と呼んでいる。平成 26 年の世界献血者デーに合わせ世界イベントとして呼びかけが始まり、日本でも個人的に献血への協力活動は行われていた。マレーシアや香港で行われた集団献血活動の記事を見た 1 人のプレイヤーの提案により、日本初の集団献血となる「RedFacton in 広島」を実施した。この活動内容と実績を検証したので報告する。

【方法】

「RedFacton」の団体登録を行い、9 日間の活動期間を設定し、広島県内 3箇所の献血ルームにおいて献血協力を実施した。ゲームのそれぞれのチームカラーに合わせた献血ルームで協力し、活動を行うことでゲーム内でのポイントが加算され、両チームが協力人数を競うこととした。また、献血に協力いただけない方も献血推進ボランティア（呼びかけ等）として活動に参加出来るようにした。参加証としてグループが製作した缶バッヂを配布した。

【結果】

参加者は 60 名あり、献血協力 50 名、ボランティア 10 名であった。献血協力の内、初回献血者 14 名、5 年以上献血協力のない方 19 名であった。年代別においては 30 代を中心に 10 代から 50 代まで幅広い年齢層の参加があった。

【考察】

日本初の集団献血「RedFacton in 広島」にどのような形で協力出来るか不安であったが、彼らのもつ SNS やコミュニティによって告知は大きく拡散された。オンラインゲームを通じ、献血に興味・関心のなかった人たちの協力を多く得られ、新たな献血者層の開拓が行えたのは大きな成果であった。また、費用を掛けずに献血者へ付加価値（処遇品を与えることではなく）を与える多くの協力が得られることがわかった。このような活動は広域展開が可能であり、今後全国に波及することが期待される。

O-078

ライオンズクラブと協同した献血推進
～眠れる獅子が動き始めた～

岡山県赤十字血液センター

廣江善男、村上文一、近藤修康、櫻井 智、
古谷野智、川元勝則、池田和真

【目的】

岡山県では平成 21 年度以降赤血球製剤の自給自足ができず、平成 24 年度に「献血推進改革」を行った。その一環として県内のライオンズクラブに対し専任職員を配置し、例会参加・献血協力の依頼を行った。既に献血実施のクラブに対しては、年 2 回以上の協力を依頼し、前年度以上の献血者の確保を目的に推進活動を行った。

【方法】

早期にガバナー候補者と環境保全委員長候補を訪問し、次年度のブロック内献血活動方針を決め新旧役員が集う会に積極的に参加し、献血がライオンズクラブ活動の柱の一つになるよう働きかけをした。キャビネット事務局の協力を得て全クラブの献血協力状況を毎月メール配信していただき、ライオンズクラブのホームページには献血のバナーを設置し「献血紹介カード」のダウンロードができるシステムの構築をおこなった。同時に、ライオンズクラブのニーズを掘り起こし血液センターが良きパートナーになるよう新しい活動を提案した。少人数のクラブでも少ない予算と短い期間で、マスコミにとりあげていただけるようなインパクトのある活動を展開することでライオンズクラブの活動は活性化する。

【結果】

平成 26 年度末には岡山県内のライオンズクラブ献血協力率が 98.7 % にまで増加した。県内献血者数 85,640 人に対しライオンズ関係の献血者数が 8,471 人で約 1 割を占めた。周年記念事業の際は、周年数と同数の献血者を確保し固定施設へ誘導していただき、記念式典では献血用テントや街頭用ジャンバーの寄贈を受けた。

【考察】

ライオンズクラブへの信頼関係を築き今後さらなるパートナーになるため、平成 27 年 7 月 3 日に日本初となる連携協定締結を計画中である。これにより、未実施クラブの献血協力や献血センターへの集団登録等大きな効果が期待できる。今後はロータリークラブや各種団体にも同様の働きかけをし、さらなる血液の安定確保を目指していきたい。

O-079

御堂筋献血ルームにおける女性献血者確保対策（マルチエントリーの試み）について

大阪府赤十字血液センター

長門瞬治、松室敬子、篠原勇司、多小谷英二、
安原武志、白髭 修、神前昌敏

【はじめに】 平成 26 年度、御堂筋献血ルームの献血者数は前年度比 113.5%と大きく実績を伸ばした。当献血ルームの周辺には若い女性をターゲットにした商業施設が多いため、女性献血者の占める割合が高い。平成 26 年度受付者数の 52.1%を女性が占めており、大阪全体の女性構成比 36.7%と比べると 15.4%も高くなっている。このような実情を憂慮し、当献血ルーム一丸となって取り組み、不採血率を前年度の 19.3%から平成 26 年度は 15.5%に減少させ、献血者を増やす一因となった事例を報告する。**【方法】** 400mL 献血希望者で特に前回血色素不足により不採血となった女性に対して受付時に成分献血の必要性を説明し、今回血色素が 400mL 献血の基準に満たない場合、成分献血にご協力をいただけるように受け付けを行った。400mL・成分献血どちらでも献血が可能なことから“マルチエントリー”と名付け、受付・採血スタッフとも認識できるようにした。今回、血色素不足により不採血となった方に対しても成分献血専用リーフレットを活用し、次回、成分献血か 400mL 献血でご協力がいただけるよう積極的に推進を行った。**【結果】** 平成 27 年 3 月、“マルチエントリー”による受け付けを行った人は 182 人（受付者数の 14.3%）で、同月における不採血率は前年度の 17.1%から 14.5%と 2.6%減少した。**【考察】** 当献血ルームの特徴として若年層の比率が高く、10 代 20 代の献血者が全体の 35.6%（うち女性 65.9%）を占めている。これらの世代に“マルチエントリー”を推進することにより、献血する機会を広げ「献血してみたい」という思いを叶え、新たな献血リピーターを生み出している。また、血色素が基準を満たした時には 400mL 献血が可能となるため、400mL 献血者数の増加にも結びついている。これらの効果が需要に見合う献血のよき理解者となる“マルチドナー”的確保につながるよう今後も努力していきたい。

O-080

臍帯血移植における HLA-6 座（A～DPB1）
12 アリルレベル適合性の成績への影響

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター¹⁾、

日本赤十字社血液事業本部²⁾、

日本医療研究開発機構研究班臍帯血移植組織適合性共同研究グループ³⁾

屋部登志雄^{1,3)}、武田直也¹⁾、山際裕子¹⁾、
小野あいこ¹⁾、東 史啓^{1,3)}、柏瀬貢一^{1,3)}、
折原 武³⁾、矢部普正³⁾、小川篤子^{1,3)}、
松本加代子³⁾、甲斐俊朗³⁾、森 鉄男³⁾、
大村和代¹⁾、鈴木雅治¹⁾、高梨美乃子²⁾、
佐竹正博^{1,2,3)}、森島泰雄³⁾、中島一格¹⁾

【目的】 臍帯血移植では HLA-A,-B,-DRB1 座のうち 2 抗原不一致までのドナー選択が可能であるが、各座のアリルレベル不適合や HLA-C,-DQB1,-DPB1 座適合性の移植成績への影響に関しては本邦ではまだ明らかになっていない。そこで後方視的研究として、臍帯血移植症例検体を収集して HLA6 座 12 アリルレベルのタイピングを行い移植成績への影響を解析した。**【方法】** 厚生労働科学研究班（現日本医療研究開発機構）内に「臍帯血移植組織適合性共同研究グループ」を設立し、これまでに全国 6 パンクより移植患者と臍帯血の DNA 検体を収集したものについて HLA アリルタイピングを行ってきた。各パンクより移植データを得て各座アリル適合性と成績との関連解析を行った。解析項目は生着率、GVHD 発症率、白血病再発率、生存率、非再発死亡率などである。多変量統計解析では生存率が Cox 比例ハザード回帰法を、生着、再発、GVHD 発症率は Fine-Gray 比例ハザード回帰法を用いて行った。**【結果】** 初回、単一臍帯血移植、造血系悪性疾患症例 1430 症例ペアについて解析した。HLA-C 座不適合（拒絶方向）では非再発死亡率が高く、全生存率は低かった。HLA-A,-B,-C,-DRB1 の 4 座のアリル不適合合計数が多い場合に生着率が低下していく、全生存率も低かった。一方 HLA-DPB1 座は不適合（GVH 方向）の場合に全生存率が高かった。**【考察】** 本研究グループ事業は非血縁ドナー選択の適切なアルゴリズムを作成するために HLA 合成性と他の遺伝子多型情報や移植臨床成績情報を含めた包括的な臍帯血移植データベースの作成を目指している。今回 HLA-A～DPB1 までの 6 座 12 アリルレベルデータ及び統計解析用移植成績データが揃い、データベースの基礎を完成することができた。本邦での臍帯血移植においてもアリルレベルの適合性が移植成績に影響していること、HLA-C 座、-DPB1 座適合性が生存率に関連していることが判明し、これらの適合性を考慮したドナー選択により移植成績が向上する可能性が示唆された。

O-081

臍帯血 CD34⁺細胞数測定法の標準化に向けた検討

—フローサイトメーター機台間格差のは是正—

日本赤十字社近畿ブロック血液センター

鹿本直也、堀江芳典、松本加代子、沖 学、
藤村吉博

【目的】

近年、移植用臍帯血選択時において有核細胞数より CD34⁺細胞数（以下 CD34）が重要視される傾向がある。近畿ブロック血液センターでは CD34 測定に BD 社の FACSCalibur を 3 台使用しているが測定値に機台間格差が存在する。そこで、現状より測定値の機台間格差を小さくするための機器設定方法を検討したので報告する。

【方法】

移植用臍帯血調製時の濃縮検体を、CD34 測定キットを用いて 3 台の BD 社 FCM で測定した。検出感度、蛍光補正に関して、(1) 現行法（BD 社推奨画面に近似するよう取込画面上で任意設定）、(2) 自動設定法（メーカー推奨機器設定ソフトによる自動設定）、(3) 標準値設定法（市販の標準ビーズが標準値を示すように個別設定）を用いて機器設定した。取込解析ソフトを用いて測定・解析し、同一検体に対する 3 機台間の測定値の幅を変動係数 CV で表し比較した。

【結果】

設定 (1) では 6.2% ~ 9.4% であった。設定 (2) では 68.7% ~ 75.3% となり解析画面の設定領域を大きく外れるものがあった。設定 (3) では 2.4% ~ 5.5% であり設定領域内に収まり良好な結果が得られた。

【考察】

CD34 の測定は、標準値設定法を用いて機器設定を標準化することで、測定方法の統一や測定者の習熟度の向上では解決出来ない機台間の測定値格差のは是正が可能となった。現行法は、機器設定において測定者の習熟度に負うことが多く、自動設定法はヒト末梢血中白血球の測定用の設定の為、臍帯血の調製検体測定にはそのままでは使用できなかった。標準値設定法は FCM 測定原理に基づくことより、異機種間に含めて FCM の機器設定の標準化への寄与が期待出来る。

O-082

バクテアラートによる自動判定と目視判定の乖離

日本赤十字社北海道ブロック血液センター¹⁾、
北海道赤十字血液センター²⁾

関本達也¹⁾、酒井智昭¹⁾、林 友子¹⁾、
荒閑みき¹⁾、折原 武¹⁾、吉政 隆¹⁾、
松林圭二¹⁾、遠藤正浩¹⁾、佐藤進一郎¹⁾、
本間稚広¹⁾、山本 哲²⁾、池田久實²⁾、
紀野修一¹⁾、高木 滌¹⁾

【はじめに】 北海道さい帯血バンクではバクテアラート並びにシグナル培地を用いた無菌試験を平成 25 年 9 月より実施している。今回、無菌試験を行った臍帯血についてバクテアラートの自動判定と反応グラフの目視判定において結果判定が乖離した症例について報告する。

【症例 1】 バクテアラート（赤血球沈査）とシグナル培地（最終産物）は全て陰性と判定されたが、バクテアラート BPN 培地（嫌気性菌検出用培地）の反応グラフでは緩やかな N 型を示し通常の反応パターンとは明らかに異なっていた。確認のために行ったバクテアラートによる継代培養では 7.2 日目に自動判定で陽性となった。また検査センターにおいて嫌気性グラム陽性桿菌 *Actinomyces meyeri* が同定された。【症例 2】 バクテアラートで陽性と自動判定されたが、反応グラフの目視確認では陰性と判定された。この判定を決定するために継代培養を実施するとともに菌種の同定検査を外部の検査センターに依頼したが、継代培養並びに検査センターでの同定検査とも全て陰性であった。【考察】 バクテアラートは培地中に発生した CO₂ ガスによる pH の変化を培地底面の色調変化により検出するが、この色調変化は可逆的であり反応途中で pH が上昇するとグラフは下降する。*Prevotella* や *Actinomyces* など菌種によっては増殖しても CO₂ 产生量が少ないため検出し難いが、症例 1 は単純に CO₂ の產生が検出できなかつたのでは無く、反応途中で pH が上昇したと考えられる。症例 2 は培養途中でバクテアラートの検出部に何らかのノイズが入り異常値を記録したと考えられる。SYSMEX に機器異常等の可能性を含め確認したところ、症例 1 は、菌の増殖以外の原因是考え難くアンモニア等の発生の可能性が考えられ、また症例 2 は温度変化、電気的ノイズ等外部要因による偽陽性の可能性が高いとのことであった。

【結語】 バクテアラートを用いた検査については機器の自動判定のみならず、反応グラフの目視確認が必要である。

O-083

ウサギ赤血球前駆細胞株樹立の試み

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所¹⁾、
理化学研究所バイオリソースセンター細胞材料開発室²⁾

船戸興自¹⁾、栗田 良¹⁾、柴 雅之¹⁾、
石川善英¹⁾、佐竹正博¹⁾、永井 正¹⁾、
中村幸夫²⁾、田所憲治¹⁾

【研究の背景と概要】

近年、iPS細胞や不死化赤血球細胞株から人工的に赤血球を生産し、血液製剤を作製しようという試みが国内外を問わず進められている。これらの研究のこれまでの戦略は、輸血可能な脱核赤血球をすべて *in vitro* において生産し製剤化しようとするものであった。近年、動物実験レベルではあるが、分化途中の有核赤血球が *in vivo* 環境下において効率良く脱核し、さらにグロビン変換及び赤血球特有の凹凸型形態変化を起こすことが報告されている。これらのこととは、分化途中の有核赤血球を個体に投与しても *in vivo* において速やかに成熟赤血球に分化する可能性を示唆しており、有核赤血球輸血の可能性について強く期待を持たせる結果であると考えられる。もし、この有核赤血球輸血が可能となり *in vitro* における脱核操作が不要となれば、iPS細胞や不死化赤血球細胞株を用いた輸血製剤作製への試みは格段に加速すると予想される。

しかし、現状ではこの有核赤血球輸血の可能性については全く未知であり、同可能性を本格的に論じるためにには、同種移植モデル系を用いた詳細かつ莫大な有効性・安全性に関する知見の蓄積が必須である。そこで本研究では、飼育が比較的容易で薬効試験などにも汎用されるウサギをモデル動物として、その骨髄細胞と ES細胞を用い、まずは同種移植用細胞ソースとなるウサギ赤血球前駆細胞株の樹立を試みた。今回は、その取り組みと進捗状況について報告したい。

O-084

赤血球抗原陰性血液検査の効率化について

日本赤十字社東北ブロック血液センター

浅野朋美、伊藤正一、荻山佳子、高橋美都保、
菱沼智子、入野美千代、福村雅史、鈴木 光、
峯岸正好、清水 博

【目的】赤血球抗原陰性血液（以下、陰性血）は、自動検査機器（PK7300）による検査に加え、再度用手法検査（二次確定）を実施した血液をいう。一方、PK7300 のみの結果で選択された血液は候補血といふ。平成 25 年 7 月から PK7300 で使用する試薬及び測定条件が全国統一され、検査精度が向上した。そこで、候補血を陰性血として供給した際の業務の効率化について考察した。

【方法】平成 24 年 4 月から平成 27 年 3 までの 3 年間に東北ブロック内の医療機関から依頼され二次確定した 11,003 本の内訳（指定因子）を調べた。加えて緊急時に備えて定期的に在庫分として二次確定した 19,071 本（E-,c- 型及び C-,e- 型）を合算した 30,074 本について用手法との一致率を調べた。【結果】11,003 本の内訳は、E-,c- 型が 15%、E-,c- 型 + α が 28%、C-,e- 型が 7%、C-,e- 型 + α が 6%、Fy^b、Jk^a、Jk^b、Di^a、S などの単独型が 13%、Lewis 型が 9%、その他複数因子型が 22% であった。全体の 47% が 3 因子以上の指定であったが、全供給数の 96% が PK7300 のみの検査（11 項目）で供給可能な因子指定であった。統一試薬後に 132,364 件の検査を実施し、用手法との不一致例（偽陰性）は 6 例（E : 1 例、e : 5 例）で、e 抗原の一一致率は 99.98% であった。【考察】統一試薬導入後の PK7300 の結果は十分活用可能と考えられた。近年、複数因子指定が半数を占めることから、PK7300 の結果を活用することで、作業の軽減及び二次検査試薬の節減など、業務の効率化並びに大幅な経費節減が期待される。また、遠隔地の医療機関の要望にも迅速に対応可能となる。

O-085

近畿ブロック血液センターにおけるまれな血液型スクリーニング状況

日本赤十字社近畿ブロック血液センター

有田明美、岡島馨人、川村 薫、亀山恵子、
河野 薫、白神多佳子、田中絵里、谷口暢子、
堂上真由、富永晴恵、奥田久実子、高橋英夫、
平島瑞子、木村恵子、松倉晴道、藤村吉博

【はじめに】 検出頻度が低く輸血時に適合血液が得難いまれな血液型血液は、検出頻度が極めて低い I 群と 100 人から数千人に 1 人の頻度の II 群に分類されている。医療機関からの供給依頼に円滑に対応するため、当施設で実施している自動輸血検査装置 PK7300 によるモノクローナル抗体を使用したまれな血液型のスクリーニングとその供給状況について報告する。**【方法】** 2014 年度、抗原陰性血液供給のためのスクリーニング対象となった S 抗原または Jk^a 抗原が未検査の献血者検体 120,393 件（全献血者の約 14%）について、8 種類のモノクローナル抗体（抗 Ge、抗 IFC、抗 Lan、抗 Ok^a、抗 K14、抗 En^a、抗 Di^b、抗 CD44）によるスクリーニングを、また、全献血者検体（845,197 件）について抗 Jr^a モノクローナル抗体によるスクリーニングを実施した。PK7300 で各モノクローナル抗体と凝集を認めなかった検体については、用手法での確認検査を実施した。供給状況については、供給実績より集計した。**【結果】** Jr(a-) 70 件、Di(b-) 237 件、K⁰ 1 例、Kx - 1 例、In(Lu) 14 件を新規に検出した。まれな血液の供給状況は、Jr(a-) 243 単位、Di(b-) 71 単位、In(Lu) 4 単位を赤血球製剤（RBC-LR）で、Jr(a-) 8 単位、D- - 4 単位を解凍血球製剤（FTRC-LR）で供給した。**【まとめ】** まれな血液型スクリーニングを継続的に実施することによって、特に II 群の主要なまれな血液型血液については、採血後 10 日間液状で保管し、常時 RBC-LR での供給に備えることが可能となった。今後も、より効率的で円滑なまれな血液の供給が可能となるよう、引き続きスクリーニングを継続していきたい。

O-086

PK7300 による ABO 血液型亜型の検出方法の検討

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

木村みな子、齋藤智美、橋本 香、作田暁香、
小原久美、榎本隆行、峰岸 清、稻葉頌一、
中島一格

【はじめに】

ABO 血液型原料一次検査（以下、現行法）で、B 型と判定した献血者が医療機関を受診したところ、同機関では ABO 血液型検査の判定ができずに当製造所に精査を依頼され、A_sB であった症例を経験した。そこで、現行法で使用しているモノクローナル抗 A 及び抗 B にプロメリンを添加する方法（以下、酵素法）と、関東甲信越ブロック血液センター製モノクローナル抗 B (HIRO-308) を用いる方法（以下、HIRO-308）で、現行法では検出できない亜型を検出可能であるか検討したので報告する。

【方法】

酵素法は、モノクロ抗 A 試薬・PK 及び抗 B 試薬・PK に第二試薬としてプロメリン試薬・PK を添加して 441,710 検体（実人数）の検査を実施した。HIRO-308 は pH7.0PBS で 50 倍希釈し、第二試薬としてプロメリソ試薬・PK を添加して 25,334 検体（実人数）の検査を実施した。SPC 値は現行法で 15 の設定を、検討では全量の増加を考慮し 10 とした。現行法のオモテ検査と判定が異なる検体について、試験管法による確認検査を実施した。

【結果】

酵素法は現行法と比べて抗 A、抗 B 共に反応が増強する傾向にあった。抗 A では、現行法陰性で酵素法陽性の検体が 174 例あり、B(A) が 12 例、キメラが 2 例、非特異反応 160 例であった。抗 B では、現行法陰性で酵素法陽性の検体が 135 例あり、B₃ が 4 例、B_m が 3 例、キメラが 1 例、非特異反応 127 例であった。

HIRO-308 は陽性で現行法陰性の検体が 4 例あり、cisA₁B₃ が 1 例、B₃ が 1 例、非特異反応 2 例であった。また、これらは全て酵素法では陰性であった。

【まとめ】

酵素法は、A₃、B₃ 等の亜型で反応を増強する傾向が認められた。現行法で抗 A 陰性の B(A) やキメラの検出例は増加したが、現行法で検出できない A_s、B_s、cisAB 等は検出することができなかった。なお、非特異反応が多くあった。

HIRO-308 では、現行法でオモテ・ウラ検査が A 型であった cisA₁B₃、現行法でオモテ検査 O 型であった B₃ を検出できた。

今後、原料一次検査の空チャンネルに加えることで、亜型の検出率向上につながるものと考える。

O-087

自動輸血検査装置 PK7300 によるプロメリ
ンを使用した Ax 型の検出

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

山口陽平、玉野奈穂、加藤裕貴、甲斐和裕、
海透紗弥佳、後藤美幸、山崎健一、豊田智津、
常山初江、矢部隆一、内川 誠、鈴木雅治、
中島一格

【目的】 現在の自動輸血検査装置 PK7300 で検出が難しい ABO 亜型として、強い抗 B 抗体を保有する cisAB 型と強い抗 A 抗体を保有する Ax 型がある。いずれもオモテ検査で抗原が検出できない。昨年 cisAB 型と反応する抗 B 抗体を作成し検出が可能となったが、Ax 型についてはまだ解決されていない。今回自動輸血検査装置 PK7300 で Ax 型を検出する方法を検討したので報告する。**【方法】** 使用試薬は PK7300 用試薬（モノクロ抗 A 試薬・PK）を使用した。第二試薬として、(1) プロメリソ試薬・PK を $10 \mu\text{L}$ 添加する方法、(2) $20 \mu\text{L}$ 添加する方法、(3) 2 倍希釈したもの $10 \mu\text{L}$ 添加する方法の 3 つと、(4) 血球浮遊液に高濃度プロメリソ（PK7300）を使用した方法、(5) 既存の一次検査 PK7300 法の 5 つの方法について比較検討を行った。検討検体は検査済み検体で ABO 型を正常判定した 1,000 検体と医療機関で発見された Ax 型血球 2 例を使用した。**【結果】** (5) では Ax 型血球は陰性 (SPC 値 24) となり、(1)(2)(3)(4) の方法では全て陽性 (SPC 値 2) と判定した。陽性検体と陰性検体の SPC 値分布は、二分化しているが偽陽性が(1) で 3 例、(2) で 71 例、(3) で 1 例、(4) で 1 例だった。(2) の偽陽性が多いのは、その反応像から分注量の増加が原因であった。(3) と (4) を比較すると陰性検体の平均 SPC 値が現在の方法(5) と近く、Ax 型の検出が可能となる方法は(4) となった。**【考察】** 自動輸血検査装置 PK7300 の 11ch に(4) の方法を追加することによって、Ax 型の検出が可能となる。昨年の血液事業学会で報告した抗 B 抗体 (HIRO-308) を 12ch に設定しており、cisAB 型と Ax 型が確実に検出できると考える。

O-088

血液型抗原検査 (PK7300) の精度管理の導入

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

甲斐和裕、山口陽平、川北綾子、佐藤あずさ、
後藤美幸、山崎健一、矢部隆一、鈴木雅治、
中島一格

【目的】 2013 年 7 月より血液型抗原検査 (PK7300) の検査法と検査試薬が全国統一され、11 種類の血液型抗原の検査を実施している。今回、製品検査 (PK7300) と同様に精度管理を行う方法を検討したので報告する。**【方法】** 精度管理血球 (QC 血球) で管理する血液型抗原は、M, Fy^b, S, Le^a, Jk^a, Jk^b, Di^a, C, c, E, e 抗原の 11 抗原とし、製品検査 (PK7300) 同様に精度管理ラックによる運用とした。11 抗原の陰性と陽性判定を QC 血球 5 本で実現するため、その組み合わせパターンと検出できる確率を推定した。比較的容易に検出可能な 5 本の組み合わせを決定し、PK7300 に精度管理検体登録して検査用検体で運用（自動 QC 出力管理）を開始した。引き続き、昨年の血液事業学会で報告した血液製剤を原料とする QC 血球調製法の導入を検討した。**【結果】** 各抗原の抗原陰性頻度から精度管理に用いる QC 血球 5 本の抗原組み合わせは M, Fy^b, S, Le^a, Jk^a, Jk^b, Di^a, C, c, E, e の順に 1: + * * + + - * + + + +, 2: * * - * * * + + - - +, 3: - * * - * * * - + + -, 4: * + * - + + - * * * *, 5: * - + * - + * * * * * と決定した (* はどちらでも可)。選択した QC 血球 5 本の検出頻度は 1: 1.1%、2: 7.7%、3: 1.2%、4: 5.9%、5: 1.3% と、最低検出頻度の血球 1 でも全国 8 検査施設における 1 日の検査数から検体を選択できることを確認した。検査用検体から調製（アルセバーフロイド）した QC 血球は採血日から 4 日間は安定した自動判定ができた。また、血液製剤から調製した QC 血球も調整日から 10 日間は安定した自動判定ができた。引き続き、血液製剤から調製した QC 血球の使用期限の検討を行う。**【まとめ】** QC 血球の組み合わせパターンを 5 つに固定化することで、製品検査 (PK7300) と同様の精度管理運用が実現した。また検査用検体の流用ではなく、血液製剤から調製した QC 血球へと運用を変更することで Lot 管理と使用期間の安定化が可能となった。

O-089

ABO 血液型判定に苦慮し通知の際に移植歴が判明した献血者の一例

日本赤十字社中四国ブロック血液センター¹⁾、
香川県赤十字血液センター²⁾

森 唯¹⁾、福村 瞳¹⁾、川尻なぎさ¹⁾、
猿渡 晃¹⁾、平田康司¹⁾、川田明志¹⁾、
中橋祥隆¹⁾、本田豊彦^{1,2)}、土肥博雄¹⁾

【はじめに】 献血者の原料血検査において、亜型と判定された方に対し通知を行っている。今回 A 亜型として判定した献血者へ通知を行った際、過去に移植歴をもつ献血者であることが判明した事例を経験したので報告する。**【方法及び結果】** 献血者は、初回献血で 21 歳男性。ABO 血液型一次検査にてオモテ検査 O 型、ウラ検査 A 型の判定結果が保留、二次検査の結果、オモテ検査、抗 A (w+) 抗 B (0)、ウラ検査、A1 血球 (0) B 血球 (3+) となり A 亜型が疑われ、各種の抗 A および抗 B との反応を確認したが同様の結果となった。追加検査においては、抗 A による吸着解離試験では (2+)、O 型血清 10 例に対して全て (0)、抗 A1 レクチンに (0)、抗 H に (4+)、抗 A に対する被凝集価は対照 (AB 型) 256 倍に対して 2 倍であった。また血清中の A 型転移酵素が検出感度以下であったが、唾液中に A および H 型物質の存在を認めた。以上のように、亜型の分類上カテゴリーに当てはまらない結果となった。一方 Luminex 法による遺伝子型は (O01, -) となり、表現型と遺伝子型で異なる結果となった。しかし表現型が優先される為、A 亜型として通知をしたところ、本来 A 型であったが、10 代の頃 O 型の骨髓移植を受けていたことが判明した。**【考察】** 今回の検査結果において、亜型の分類上カテゴリーに当てはまらない結果や表現型と遺伝子型の違いは、献血者が元来持つ A 型物質が、O 型骨髓移植ドナー由来の赤血球表面へ（微量に）吸着した為と思われる。**【結語】** 今回、移植歴がある方からの献血が行われた事実から、検査担当者に対し本事例を紹介し、判定の際の注意事項を周知した。また、採血実施センターへの情報提供を行うとともに、献血受入時の問診の重要性について再確認をおこなった。

O-090

献血者から検出した cisAB の 4 例

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター¹⁾、
日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所²⁾

永守拓哉¹⁾、河井妙保¹⁾、金子悦子¹⁾、
松田充俊¹⁾、小原久美¹⁾、小野寺孝行¹⁾、
榎本隆行¹⁾、峰岸 清¹⁾、稲葉頌一¹⁾、
中島一格¹⁾、小笠原健一²⁾

【はじめに】

ABO 血液型には様々な亜型が存在する。cisAB の一部では対立遺伝子の違いにより、PK7300 による一次検査でオモテ検査とウラ検査が一致し、A 型や AB 型として判定されることがある。今回、我々は過去の判定が A 型（1 名）、AB 型（1 名）であった献血者より cisAB を検出した。そこで、これまでに検出した cisAB の血清学的な性状と遺伝子型について報告する。

【方法】

HIRO-308 により検出した 1 例と一次検査により検出した 3 例について、血清学的検査と遺伝子検査（PCR-SSP 法）を実施した。

【結果】

（症例 1）一次検査で A 型と判定され、HIRO-308 により検出した 1 例は、抗 A と 4+ でドリコスに陰性、市販抗 B は 1 社が 1+、2 社が陰性、HIRO-308 には 4+ の反応を示した。血清中に 3+ で反応する抗 B があり、cisA₁B₃ (cisAB01/A) と判定した。過去に 4 回の検査履歴があり、すべて一次検査で A 型と判定されていた。（症例 2）一次検査で希釈抗 A との反応が弱く、二次検査対象となった 1 例は、二次検査では抗 A と 4+、抗 B とやや弱い反応を示し、一次検査の結果と乖離したため精査した。市販の抗 A と 4+ でドリコスに陰性、抗 B とほぼ 4+ の反応を示し、A、B 糖転移酵素活性は陰性で、cisA₂B₃ (cisAB02/O) と判定した。過去に 9 回の検査履歴があり、7 回は一次検査で AB 型と判定され、2 回は一次検査で保留となったが二次検査で AB 型と判定していた。（症例 3、4）一次検査で希釈抗 B との反応が弱く二次検査対象となったことから検出した 2 例は、抗 A と 4+ でドリコスに陰性、市販抗 B に 4+ ~ 3+ で血清中に抗 B を認め、A、B 糖転移酵素活性は陰性であり、cisA₂B₃ (cisAB01/O) と判定した。1 例は献血回数が 1 回、他の 1 例は献血回数が 5 回で、全て二次検査対象となっていた。

【まとめ】

今回、我々は過去に A 型、AB 型と判定していた献血者より cisAB を検出した。cisAB の一部は対立遺伝子の違いにより、抗 A 及び抗 B との反応が異なるため、現行の一次検査は cisAB01/O を検出できるが、cisAB01/A は A 型、cisAB02/O は AB 型と判定する可能性がある。

O-091**B 亜型より検出された新たな遺伝子変異**

日本赤十字社九州ブロック血液センター¹⁾、
佐賀県赤十字血液センター²⁾、
日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所³⁾

北原美加¹⁾、山崎久義¹⁾、熊本 誠¹⁾、
伊佐和美³⁾、小笠原健一³⁾、渡邊聖司¹⁾、
迫田岩根¹⁾、入田和男^{1,2)}、清川博之¹⁾

【はじめに】ABO 血液型亜型には血清学的精査のみでは判定困難な例も認められ、遺伝子解析が時として有用な場合がある。今回、B 亜型 3 例について遺伝子解析を行ったところ、現在までに報告のない遺伝子変異を検出したので報告する。

【方法】 血清学的精査は常法に従って行い、抗 B 血清との反応が弱かった 3 例 (No.1 ~ 3) について、遺伝子解析を行った。ABO 遺伝子解析は末梢血より DNA を抽出し、Luminex を使用した PCR-rSSO 法 (MBL 社製ジェノサーチ ABO) と PCR-SSP 法および直接シークエンス法により行った。

【結果】 検体 No.1 の血清学的精査結果は、オモテ検査：抗 A 血清陰性、3 種の市販抗 B 血清 w+ ~ 1+ (被凝集値 4 倍、対照 1024 倍)、ウラ検査：A₁ 赤血球 4+, B 赤血球 1+ であった。検体 No.2 は、オモテ検査：抗 A 血清陰性、抗 B 血清 w+ ~ 2+^{mf} (被凝集値 4 倍、対照 512 倍)、ウラ検査：A₁ 赤血球 3+, B 赤血球陰性であった。一方、検体 No.3 はオモテ検査：抗 A 血清陰性、抗 B 血清 3+^{mf} (被凝集値 64 倍、対照 512 倍)、ウラ検査：A₁ 赤血球 4+, B 赤血球陰性であった。また、B 型糖転移酵素活性は 3 例とも認められなかった。ABO 遺伝子解析結果は、No.1 と No.2 が PCR-rSSO 法で判定不能、ABO-SSP 法で B/O、直接シークエンス法で通常の B 遺伝子 (ABO*B.01) に対し c.526G > C (p.Gly176Arg), c.646T > A (p.Phe216Ile), c.657T > C, c.681A > G, c.703A > G (p.Ser235Gly) の変異をもつ B-O-B ハイブリッド遺伝子が検出された。No.3 は PCR-rSSO 法、ABO-SSP 法で B/O、直接シークエンス法では通常の B 遺伝子に対して c.503G > A (p.Arg168Glu) の変異が認められた。

【考察】 No.1 と No.2 は血清学的精査では B₃ 型に分類され、遺伝子解析結果より B-O-B ハイブリッド遺伝子が検出された。No.3 は抗 B 血清に対し、No.1,2 よりも強い凝集像を示し、c.503G > A (p.Arg168Glu) の変異をもつ B 遺伝子が検出された。これらの変異は現在までに報告のない変異であり、B 抗原減弱の原因と考えられた。

O-092**A₂ 型 (A₂B 型) 及び A₃ 型 (A₃B 型) に対応する対立遺伝子に関する解析**

日本赤十字社東北ブロック血液センター¹⁾、
日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所²⁾、
日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター³⁾

伊藤正一¹⁾、荻山佳子¹⁾、高橋美都保¹⁾、
入野美千代¹⁾、菱沼智子¹⁾、浅野朋美¹⁾、
福村雅史¹⁾、鈴木 光¹⁾、峯岸正好¹⁾、
清水 博¹⁾、小笠原健一²⁾、内川 誠³⁾

【目的】 ABO 血液型には多種の亜型が存在し、一つの表現型から複数の対立遺伝子が報告されている。日本人特有の遺伝子変異や遺伝子背景を明らかにすることは、今後の血液型遺伝子検査法の開発等に貢献する基礎データとなる。そこで、東北ブロック内で検出した A₂ 型 (A₂B 型) 及び A₃ 型 (A₃B 型) について解析した。**【方法】** A₂ 型：86 例、A₂B 型：253 例、A₃ 型：23 例、A₃B 型：22 例を対象とした。血清学的検査は定法に従って行い、遺伝子検査は対象者の血液からゲノム DNA を抽出し、既知の A² 遺伝子 (A201-A205) は PCR-SSP 法で同定し、必要に応じて直接シークエンス法により塩基配列を調べた。**【結果】** A₂ 型の 83 例 (97%) が既知の A² アリル (A201: 1, A202: 58, A203: 12, A205: 12) で、その他に 703G > A: 2 例と 778G > A: 1 例が検出された。A₂B 型の 252 例 (99%) が既知の A² アリル (A201: 1, A202: 97, A203: 45, A204: 96, A205: 13) で、残り 1 例は 950A > T であった。A₃ 型 23 例のうち、5 例はイントロン 1 内の一塩基置換 (+ 5893G > A: 3 例、+ 5909A > G: 2 例)、4 例がスプライシング部位の一塩基置換 (IVS3 + 1gt > tt) であった。残り 14 例はエキソン内の塩基置換 (A202: 3 例、407C > T: 1 例、607G > A: 4 例、658G > A: 1 例、950A > T: 5 例) であった。A₃B 型 22 例中 18 例 (82%) が既知の A² アリルで、残り 4 例がエキソン内の塩基置換 (703G > A: 3 例、681G > A: 1 例) であった。**【考察】** A₂ 型の 97% が既知の A² アリルであった。一方、A₃ 型では 87% が A² アリル以外の遺伝子で様々なバリエーションがあった。A₃B 型の 82% は A² アリルが関与し、A₃ 型とは遺伝子背景が異なっていた。

O-093

ABCG2 遺伝子変異による赤血球 Jr^a 抗原量の減少

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター¹⁾、
日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所²⁾

長部隆広¹⁾、海透紗弥佳¹⁾、小笠原健一²⁾、
常山初江¹⁾、大村和代¹⁾、矢部隆一¹⁾、
内川 誠¹⁾、鈴木雅治¹⁾、中島一格¹⁾

【はじめに】 JR 血液型 (ISBT32) に属する高頻度抗原の Jr^a 抗原は、ABCG2 遺伝子により発現する。まれな血液型である Jr(a-) のほとんどは、ABCG2 対立遺伝子 (アリル) の c.376C > T (p.Gln126X) のホモ接合型で生じる。また、c.421C > A によって 141 番目の Gln が Lys に置換した ABCG2 蛋白の発現減少が報告されている。赤血球 Jr^a 抗原量には個体差があることが知られていることから、c.376C > T (p.Gln126X) および c.421C > A (p.Gln141Lys) アリルによる赤血球 Jr^a 抗原量への影響について検討した。

【材料と方法】 ゲノム DNA を用いて、PCR-SSP 法または直接シーケンス法により ABCG2 遺伝子を解析した。赤血球凝集反応はカラム法にて実施した。フローサイトメトリーはヒトモノクローナル抗 Jr^a (HIRO-133) と FITC 標識抗ヒト IgG を用い、平均蛍光強度を測定した。
【結果】 献血者 1028 例を対象に、c.376C > T (p.Gln126X) と c.421C > A (p.Gln141Lys) について PCR-SSP 法を実施した。Jr(a+) として 126Gln/Gln、141Gln/Gln 488 例、126Gln/Gln、141Gln/Lys 398 例、126Gln/Gln、141Lys/Lys 98 例、126Gln/X、141Gln/Gln 29 例、126Gln/X、141Gln/Lys 13 例、Jr(a-) として 126X/X、141Gln/Gln 2 例が検出された。フローサイトメトリーでの各 ABCG2 アリルをもつ赤血球の平均蛍光強度の中央値は、126Gln/Gln、141Gln/Gln : 18.6 (42 例)、126Gln/Gln、141Gln/Lys : 15.2 (43 例)、126Gln/Gln、141Lys/Lys : 11.7 (8 例)、126Gln/X、141Gln/Gln : 9.23 (4 例)、126Gln/X、141Gln/Lys : 5.12 (3 例) で、126X または 141Lys により、有意に赤血球 Jr^a 抗原量が減少した。献血者由来の抗 Jr^a を用いたカラム法では、126X と 141Lys のヘテロ接合型の赤血球とは陰性であった。

【まとめ】 日本人の約 4% に 126X、約 50% に 141Lys が検出され、どちらか一方のアリルをもつ赤血球に Jr^a 抗原量の減少がみられ、126X と 141Lys のヘテロ接合型では顕著であった。カラム法では 126X/141Lys ヘテロ接合型の赤血球 (約 1%) は抗 Jr^a を検出することができない可能性が高く、不規則抗体スクリーニングや同定パネルに用いる赤血球の選択には注意が必要である。

O-094

HTLV-1 抗体検査ウェスタンプロット法判定保留検体の解析

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター¹⁾、
日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所²⁾

三村香奈¹⁾、井上千歳¹⁾、櫻田昌美¹⁾、
白井瑛子¹⁾、佐藤直美¹⁾、小島牧子¹⁾、
鈴木雅治¹⁾、蕎麦田理英子²⁾、松本千恵子²⁾、
内田茂治²⁾、佐竹正博^{1,2)}、中島一格¹⁾

【緒言】 日赤血液センターでは、HTLV-1 抗体検査について CLEIA 法でスクリーニング検査を実施し、陽性検体については通知のための確認検査としてウェスタンプロット法 (以下 WB 法) を実施している。CLEIA 法陽性検体の WB 法での判定結果は陽性、判定保留および陰性がほぼ 1:1:1 の割合となっている。今回我々は、WB 法判定保留検体について解析し今後の対応について検討した。
【対象および方法】 2013 年 4 月より 2015 年 3 月までの 2 年間に当施設で HTLV-1 WB 法を実施した検体を対象とした。WB 法で判定保留となった検体については、WB 法での 4 本バンドのパターン解析を実施した。一部の検体については PCR 法による HTLV-1 プロウイルスの検出を試みた。
【結果】 対象期間において HTLV-1 抗体 CLEIA 法陽性で WB 法を実施した検体数は 1,139 本、履歴陽性のため WB 法を実施した検体は 1,775 検体であった。履歴陽性検体において WB 陽性検体はなかった。CLEIA 法陽性検体の WB 法判定結果は、WB 法陽性 389 本 (34.2%)、陰性 405 本 (35.6%) で判定保留検体は 345 本 (30.3%) であった。WB 法で判定保留となった検体の 4 本のバンドの出現パターンは、gp46 のみ陰性で p53、p24 および p19 の 3 本のバンドは陽性である検体が一番多く 114 検体と WB 法判定保留検体全体の 33.0% を占めていた。また 3 本のバンドが陽性で gp46 のみ土判定の検体も 23 検体 (6.6%) 存在し、一部の検体については HTLV-1 プロウイルス PCR を実施した結果、プロウイルスの存在が確認された。WB 法での 4 本バンドのパターン毎の CLEIA 検査における平均 C.O.I 値の比較を行った結果、他のバンドパターンには有意な差は認められなかったが、他の 3 本は陽性で gp46 のみ土群に有意に高い傾向が認められた。
【考察】 現在の通知基準では、通知対象は CLEIA 法陽性かつ WB 法陽性検体のみであり、ほぼ同数ずつ存在する WB 法陰性および判定保留検体は通知対象から除外され、再来されている方も多い。今後さらにデータを加えて、WB 法判定保留検体の今後の取り扱いについて考察したい。

O-095

HTLV-1 感染者保有抗体の反応性および末梢血プロウイルス量の地域間比較

日本赤十字社九州ブロック血液センター¹⁾、
日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所²⁾、
佐賀県赤十字血液センター³⁾

守田麻衣子¹⁾、井上由紀子¹⁾、後藤信代¹⁾、
相良康子¹⁾、蕎麦田理英子²⁾、松本千恵子²⁾、
迫田岩根¹⁾、入田和男^{1),3)}、清川博之¹⁾

今回、我々は、HTLV-1 感染検査系における陽性率や判定保留例の出現の地域間での差違を明らかにするために、2010-2012 年の HTLV-1 一次検査陽性検体群から同一人検体を除いた関東（東京都、千葉県、山梨県採血分）315 例、九州 290 例を対象とし、プロウイルス量（PVL）および一次検査 4 法（PA, CLEIA 2 法, CLIA），確認検査 3 法（WB, IF, LIA）の結果を比較した。PV 陽性率では九州 79.0%，関東は 64.1% であった。また男性における PVL は、九州の 60 代、関東の 40, 50 代では女性よりも有意に高かった。女性では、九州、関東ともに加齢による PVL の推移は小さい中で、関東の 16-29 歳（n=11）の PVL 中央値は、2.03% と突出した高値を示した。一次検査では、CLIA による抗体陽性率が PV 陽性率と最もよく相関していた。WB 判定別割合は関東では陽性 62.4% (191/306)，保留 28.4% (87/306)，九州では陽性 70.9% (205/289)，保留 17.0% (49/289) で、関東分では WB 陽性例中 1 例 (0.52%) が PV 陰性であった。また、一次検査抗体価を比較したところ、関東、九州とも WB 陽性、WB 陰性、WB 保留の 3 群の各 2 群間において CLEIA COI, Architect S/Co のいずれも有意差がみられた。WB 保留例中の PV 陽性例は九州では 44.9% (22/49) で PVL は 0.001-8.13% と高 PVL 事例も含まれたが、関東は 13.8% (12/87) と低率で、PVL も 0.001-0.20% と低値であった。抗体低力価事例や確認検査判定保留例は献血者比率の高い中高年男性に多く、継続して低力価を呈する傾向が認められた。九州と関東との HTLV-1 検査結果の比較から、PV 陽性率は九州が有意に高値を示す ($p < 0.01$) 一方、WB 保留率は関東が高い傾向が明らかになった。確認検査陽性ながら PV が検出限界以下を示す事例があり、PV 陰性キャリアの存在が確認された。今後は、高 PVL を示した関東若年齢層女性や確定判定に至らず低力価抗体を長期にわたって保持する中高年男性において產生される抗体や PV の動態を追跡することで、長期潜伏感染状態における宿主側の生体内反応とウイルス側の生活環の解明へと繋がることが期待される。

O-096

埼玉製造所管内における HTLV-1 抗体検査の陽転化

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

松本晃暉、仙石佳宏、荻原 舞、藤本晃久、
花垣澄雄、原島 清、市原孝浩、海野 理、
加藤尚美、須藤克己、峰岸 清、稻葉頌一、
中島一格

【目的】

HTLV-1 については、全国の初回献血の抗体陽性者の調査から、九州・沖縄地方のキャリアの割合が減少している一方、関東地方で増加が見られ、ウイルスの拡散が示唆されている。今回我々は埼玉製造所で検査を実施している地域センター（茨城県、栃木県、群馬県、新潟県、長野県、埼玉県）以下（埼玉製造所管内）の HTLV-1 水平感染の現状を把握する目的で、管内における複数回献血者の HTLV-1 抗体陽転化について調査したので報告する。

【対象と方法】

2008 年 2 月 7 日～2015 年 3 月 31 日の間に、埼玉製造所管内で一次検査（CLEIA 法）を実施した総献血者 4,554,746 人中の複数回献血者 671,955 人（男性 405,792 人、女性 266,163 人）を対象とした。その中で同期間に一次検査陰性履歴を持ち、確認試験（IF 法又は WB 法）で HTLV-1 抗体が陽性であった献血者を陽転化事例として集計を実施した。

【結果】

期間内における HTLV-1 抗体陽転化事例は 12 人（男性 4 人、女性 8 人）であった。複数回献血者 10 万人当たりの件数は男女合わせて 1.79 件、男性 0.99 件、女性 3.0 件で、女性が男性の約 3 倍の数値となった。また陽転化時の年齢は、20 代 2 人（男性 1 人、女性 1 人）、30 代 3 人（男性 0 人、女性 3 人）、40 代 3 人（男性 2 人、女性 1 人）、50 代 3 人（男性 1 人、女性 2 人）、60 代 1 人（男性 0 人、女性 1 人）であった。

【考察】

今回の集計の結果、複数回献血者 10 万人当たりの陽転化件数は 1.79 件であった。埼玉製造所管内においても水平感染によって成人で感染が起こる事が確認された。また水平感染は男女両方向におこると報告されているが今回の調査でも同様の結果であった。陽転化時の年齢分布については、例数が少ないとても特徴的な傾向はみられなかった。今後さらに例数を増やして調査を続けたい。

O-097

HTLV-1 感染初期に生じる血液検査値の変動

日本赤十字社九州ブロック血液センター¹⁾、
 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所²⁾、
 佐賀県赤十字血液センター³⁾
 井上由紀子¹⁾、後藤信代¹⁾、守田麻衣子¹⁾、
 相良康子¹⁾、佐竹正博²⁾、迫田岩根¹⁾、
 入田和男^{1),3)}、清川博之¹⁾

【はじめに】九州管内献血者における直近6年間のHTLV-1感染検査の履歴調査から、男性118例、女性248例の抗体陽転事例が見いだされ、抗体陽転率は年々増加傾向を示している。今回、我々は、HTLV-1感染が生体内に及ぼす影響をみるために、抗体陽転化前後の白血球数、肝機能値の変動について、陰性持続例との比較を行った。【対象と方法】対象は、献血者情報システムを用いて、2007-2011年に抗体陽転化が認められた九州管内献血者のうち、5回以上の献血履歴を有し、肝炎ウイルスマーカーがすべて陰性であった事例55例を抽出して陽転群とし、性別および年齢構成比を合わせた陰性持続例164例を対照群とした。血算および生化学検査値については、初回検査値を基準として、その後の検査値について比を算出した。【結果】対照群の追跡全期間を通しての検査値変動幅は、白血球数で 1.00 ± 0.16 、ALT値で 1.07 ± 0.50 、 γ -GTP値で 1.02 ± 0.37 であった。これに対し、陽転群の変動は白血球数で 0.98 ± 0.19 、ALT値で 1.09 ± 0.86 、 γ -GTP値で 1.08 ± 0.46 と陰性群と同等であった。しかしながら、陽転群中には、陰性群の変動比の平均値+2SD以上の変動を抗体陽転化前に示した検体が18例（男性6例、女性12例）観察され、そのうち10例（男性5例、女性5例）はその変動から1年内に抗体が陽転化していた。これら10例の変動の内訳は重複を含め、白血球数7例、ALT値4例、 γ -GTP値4例であった。さらに、陽転後に変動がみられた事例が3例あった。すなわち、陽転群中38.2%（21/55）で抗体陽転化前後において、血算および生化学検査値に一過性の変動が認められた。【考察】HTLV-1水平感染に先行する白血球数の一過性の変動は、抗原または感染細胞の曝露あるいはT細胞への感染成立に起因するものと推測される。さらに、HTLV-1の動物モデルを用いた感染実験においては肝脾腫が観察されていることから、HTLV-1の感染に先行した肝機能値の変動は、HTLV-1抗原曝露が肝細胞のnecrosisを引き起こす可能性が考えられた。

O-098

個別NATの導入による輸血用血液の安全性向上効果の検証

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

浅沼 太、服部文子、関口史郎、橋川 薫、
 鈴木雅治、中島一格

【目的】日赤血液センターでは、平成26年8月よりPANTHERシステムを用いた個別NATスクリーニングが導入された。これ以前に実施されていた20プールNATから個別NATに移行したことによる輸血用血液の安全性の向上について検証を行なったので報告する。【対象及び方法】平成26年8月から平成27年3月までの期間にウイルス特定検査で陽性と判定されたNAT検体を対象とし、これを陰性血漿で20倍希釈して個別NATスクリーニングで3重測定を行い、20プールNATでは検出できない血液の件数を調査した。【結果】対象期間中にウイルス特定検査で209件（HBV150本、HCV49本、HIV9本、HBVとHCV重複1本）が陽性と判定され、このうち7件がNATのみ陽性の血液であった。NATのみ陽性の血液はすべてHBVであった。ウイルス特定検査で陽性と判定された血液209件を対象とした、20倍希釈後の個別NATスクリーニングの結果は、209件中24件が陰性と判定されたが、全てHBV陽性検体であった。この24件のうち血清学的検査(CL4800)で陰性と判定されたNATのみ陽性検体は2件であった。【考察】今回の検討結果より、20プールNATでは検出できなかったと推定されるHBV-DNA陽性血液が24件確認され、このうち2件については血清学的検査(CL4800)で陰性と判定されるNATのみ陽性の血液であった。全国で試算すると1年間で約12件のHBV陽性血が個別NAT導入によって輸血用血液から取り除ける事が推定され、輸血用血液の更なる安全性の向上が確認された。

O-099**PANTHER システムにおける非特異陽性発生率の調査**

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

加茂功行、服部文子、森田麻衣子、関口史郎、
橋川 薫、鈴木雅治、中島一格

【目的】 日赤血液センターでは、平成26年8月よりPANTHERシステムによる個別NATスクリーニング検査(Elite)が開始された。しかしEliteで陽性と判定されながら、ウイルス特定検査(同定検査)においてウイルスが特定できず、且つ血清学的検査(CL4800)で陰性と判定されたいわゆる非特異陽性と考えられる事例が散見しているため、その発生率について調査を実施した。

【方法】 Elite陽性、ウイルス同定検査陰性と判定された検体についてEliteによる再検査を実施し、その結果と血清学的検査結果を照合して非特異の判定を行った。また、非特異と判定された献血者の献血履歴から、その前後のNAT検査結果についても調査した。

【結果】 平成26年8月より平成27年3月までにElite陽性となり、同定検査を実施した本数は322件、このうち、113件(35.1%)において同定検査陰性と判定され、そのうち68件(21.1%)は血清学的検査においても全項目陰性の検体であった。同定陰性検体について、Eliteによる再検査を実施したところ、68件中67件についてはElite陰性と判定された。残り1件は陽性と判定されたが、再度Eliteによる検査を実施したところ、陰性と判定された。68件の献血者についてその後の履歴を調査したところ、21名が後日献血を行っており、Eliteによる検査で全て陰性と判定されていた。

【まとめ】 Elite陽性検体のうち、血清学的検査及び同定検査によって陰性と判定された検体について、Eliteによる再検査を実施したところ全て陰性と判定されたことから、PANTHERシステムの非特異発生率はElite陽性検体のおよそ20%であった。また、献血者の履歴から、現時点で非特異と判定された献血者がNAT陽性に転じた事例は確認できなかった。現行のシステムでは、このような非特異が強く疑われる検体であっても、一度Elite陽性と判定されるとその履歴により永久不適となる。今後は、このような献血者へのリエンタリー又は通知の在り方についても検討する必要があると考えられる。

O-100**核酸増幅産物の除染に使用可能なDNA汚染除去剤の評価**日本赤十字社北海道ブロック血液センター¹⁾、
北海道赤十字血液センター²⁾中内健太¹⁾、吉政 隆¹⁾、坂田秀勝¹⁾、
松林圭二¹⁾、佐藤進一郎¹⁾、加藤俊明¹⁾、
池田久實²⁾、紀野修一¹⁾、山本 哲²⁾、高本 澄¹⁾

【はじめに】 輸血用血液のウイルスNATスクリーニングには増幅産物による汚染事故リスクが存在している。一旦、汚染事故が起こると、除染には多大な労力と時間、費用が掛かり、血液の安定供給にも大きな影響を与えるため、効果的な防止対策や除染方法が必要である。そこで今回、増幅産物除去に使用可能と思われる各種市販薬剤のDNA分解除去能について評価した。

【方法】 处理薬剤としては、一般的な殺菌消毒剤である次亜塩素酸ナトリウム水溶液(有効塩素濃度[1] 500、[2] 1000、[3] 5000 ppm)、弱酸性次亜塩素酸水溶液([4] 100、[5] 250 ppm)、DNA汚染除去専用試薬である[6] A、[7] B、[8] C、[9] D、[10] E、そして[11] 水を用いた。DNA試料としてパルボB19 DNA断片(10^8 copies in 10 μL、906 bp)を0.2mL PCR用チューブに分注し50°Cで2時間乾燥させたものを用いた。これに水20 μLを加えただけものを対照とし、残りは各種薬剤20 μLを加えて15分間放置した。各種薬剤を加えたものは、処理液中の残存DNAをエタノール沈殿によって回収し、これを水20 μLに溶解したものを試料1(S1)とした。次に薬剤回収後のチューブに水20 μLを加えたものを試料2(S2)とした。S1、S2に対してreal-time PCRにより残存DNA量を測定し、分解率、除去率を算出した。

【結果】 各薬剤のDNA分解率/除去率(log reduction)は、[1] > 7.0 / > 7.0、[2] > 7.0 / > 7.0、[3] > 7.0 / > 7.0、[4] 1.2 / 3.9、[5] 4.8 / 6.7、[6] 0.0 / 2.0、[7] 2.2 / 3.8、[8] 1.7 / 1.7、[9] > 7.0 / > 7.0、[10] -0.2 / 1.8、[11] 0.1 / 2.8であった。

【考察】 今回使用した薬剤の中では次亜塩素酸ナトリウム水溶液が最も安いDNA分解除去能をもつことがわかった。本剤は刺激臭や腐食性があるため、長時間処理や金属表面の処理には注意を要する。本剤が使用できない素材や環境においては、DNA汚染除去試薬D(DNA-Exitus Plus)や弱酸性次亜塩素酸水溶液が使用可能である。核酸増幅産物の除染には、使用薬剤のDNA分解能だけでなく、特性、価格なども考慮して適切に使用することが望ましい。

O-101

自動核酸抽出増幅検出装置（PANTHER）の磁気分離洗浄エラーにより判明したM蛋白保有献血者の1例

日本赤十字社北海道ブロック血液センター¹⁾、
北海道赤十字血液センター²⁾

平塚紘大¹⁾、坂田秀勝¹⁾、伊原弘美¹⁾、
松林圭二¹⁾、佐藤進一郎¹⁾、加藤俊明¹⁾、
池田久實²⁾、紀野修一¹⁾、山本 哲²⁾、高本 澤¹⁾

【はじめに】

輸血用血液のNATスクリーニングは2014年8月より、ノバルティス社の自動核酸抽出増幅検出装置(PANTHER)を使用した個別NATが導入されている。北海道では、通常のMPX-NAT(HBV,HCV,HIV)に加えてHEV-NATも実施している。今回、MPX-NATにおいて検体に起因すると思われる核酸抽出工程の磁気分離洗浄(Mag Wash)エラーを起した事例について検討したので報告する。

【対象および検証】

被検検体(60代女性)は、HEV-NATは陰性、MPX-NATでのみ繰り返しエラーが発生し、検査不能となった。エラーの原因が検体に由来すると考えられたため、異常蛋白の存在の確認として血清蛋白分画、グロブリン定量、免疫電気泳動によるM蛋白同定を実施した。また、MPX-NATでのみ発生していることから、反応工程中にMPX-NATでのみ添加されるTarget Enhancer試薬(TER)の影響を確認するため、用手法にて、Mag Washまでの反応工程(温度、時間)を再現し、TER添加の有無による試験管内反応液の状態を確認した。

【結果】

被検検体は献血時の生化学、血球計数検査で際立った異常は認められなかっただが、血清蛋白分画でγ位に鋭いpeakを認め、免疫電気泳動にてIgG-λ型M蛋白が同定された。また、用手法にて反応を再現したところ被検検体でTERを添加した場合のみ凝集物が確認された。これらの結果から、M蛋白及びTERが関与する凝集物が詰まりを生じさせたと考えられた。

【考察】

TERの成分は水酸化リチウムであり、強アルカリ性下でウイルス粒子の破壊や蛋白の変性を促進するために添加される。どのような機序で凝集物が形成されるのか、凝集物の組成については現在解析中である。また、当該献血者は個別NAT以外の検査結果に異常は見られず、本エラーを契機にM蛋白が同定されたため医療機関への受診勧奨を行った。今後、このような検体が発生した際は、献血者の健康管理の一助となるため、積極的に精査の取組みが必要であると考える。

O-102

HBIGの国内自給に向けたワクチン接種プロジェクトの実施にかかるELISA法の測定結果

日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

佐藤直美、志村早紀、小島牧子、鈴木雅治、
中島一格

【緒言】 HBIGの国内自給に向けたワクチン追加接種プロジェクトが平成26年度より開始された。ワクチン接種者については、接種後1カ月をめどに献血にご協力いただき、各ブロック血液センターにおけるCLEIA法検査でHBs抗体価が20,000mIU/mL以上となった検体については日本血液製剤機構(以下JB)に送付される。JBにおいては、HBIG原料血漿の適格性試験として国家検定と同じシーメンス社のエンザイグノストAnti-HBsII(以下ELISA法)を用いて検査を実施し、ELISA法でHBs抗体価が10,000mIU/mL以上となったものが原料となる。しかしながら、CLEIA法で20,000mIU/mL未満となりJBへの送付対象とならなかった検体においても、ELISA法では10,000mIU/mL以上となる検体が存在することが知られている。今回我々は、ワクチン追加接種献血者を対象に、CLEIA法で20,000mIU/mL未満となった検体についてELISA法によるHBs抗体検査を実施したので報告する。
【方法】 検体はCLEIA検査後の感染症検査用検体をBiomek NXP(ベックマンコールター社)にて100希釈して用いた。ELISA法は、ベーリングELISAプロセッサーIII(BEP III)を用い全自动による反応および測定を実施した。
【結果】 平成26年度において、東京製造所検査分におけるワクチン接種者で、CLEIA法により20,000mIU/mL未満となったのは44検体(36名)であった。この44検体のELISA法検査結果は、23検体が10,000mIU/mL以上となった。このうちCLEIA法で10,000mIU/mL以上を示した検体はわずか7検体であり、中にはCLEIA法では1,600mIU/mLであったものがELISA法では12,000mIU/mLとなった検体も存在した。
【考察】 HBs抗体価については、測定法により定量結果が乖離する検体が存在することが知られている。今回、血液センターのCLEIA法検査ではHBIG原料送付対象から外れてしまう検体中にJBで用いられているELISA法ではHBIG原料として適となると推定される検体が半数以上存在することが確認された。効率の良い原料確保のために、血液センターにおけるELISA法の実施は意義が大きいことが示された。