

ワークショップ2

遺伝子検査導入の利点と課題

伊藤正一(日本赤十字社東北ブロック血液センター)

1 はじめに

ABO血液型判定は他の血液型判定とは異なり、赤血球抗原を検査する「オモテ検査」と血漿(血清)中の抗Aおよび抗Bの有無を調べる「ウラ検査」があり、一致した際にABO血液型が確定される。つまり、どちらか一方が異常反応を呈した場合は、ABO血液型は判定保留となる。オモテ検査の異常例として、亜型、ABH抗原減弱、血液型キメラ等があり、ウラ検査の異常例として、規則抗体の抗A(抗B)の低下または欠損、亜型による不規則抗体抗Aまたは抗Bの存在、主な血液型抗原に対する不規則抗体の存在によるものがある。こうした異常反応を解決するには血清学検査としてさまざまな検査を実施する必要がある。通常実施している血清学を中心としたABO精査に加えて遺伝子検査を導入する利点および課題について考察した。

2 原料血液検査におけるABO血液型判定の異常反応

過去3年間の当施設の状況を調べたところ、延べ1,002,880件中、ABO血液型一次検査保留は7,513件(0.75%)であった。その内訳は、オモテ検

査異常が1,130件(15%)、ウラ検査異常が6,383件(85%)であり、ウラ検査の異常に起因する保留例が顕著に高かった。その中でもオモテ検査がA型、ウラ検査の抗Bが弱いまたは陰性例は、ウラ検査異常全体の61%を締めていた(図1)。ウラ検査の反応が弱い例では、精査を実施しても、一部の例外を除き、規則抗体の抗Aまたは抗Bの反応が弱い(通常よりも抗体価が低い)ために生じていた。ウラ検査の反応が弱いことがきっかけで亜型を同定する例はごく一部であるが、正常な表現型の範疇とするためにさまざまな精査を実施しているのが現状である。そこに多くの時間と労力を費やしている。

3 血清学的精査

通常、オモテまたはウラ検査の異常反応によって、血液型が確定されない場合は、血清学的精査としてさまざまな検査が必要となる(図2)。スライド法では、凝集開始時間および部分凝集の観察を行い、抗A₁または抗Hレクチンとの反応によって、A₂以下の亜型を鑑別し、H抗原の増減によって亜型判定の一助としている。ABH抗原量のバリ

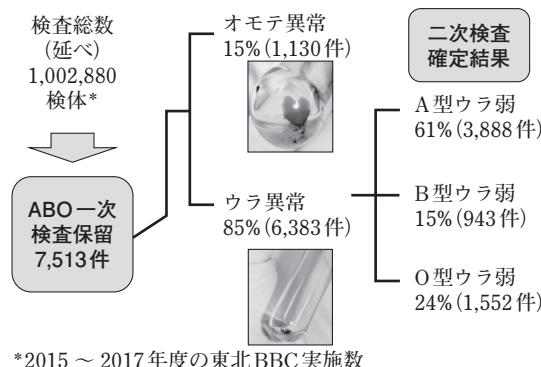


図1 献血者の血液型検査で遭遇する異常反応



図2 血清学による血液型判定

エーションや血液型キメラの鑑別にはフローサイトメトリー(FCM)解析は有用である。また、抗Aおよび抗B試薬と直接凝集を示さない亜型においては、赤血球上の微量な抗原を鑑別する方法として吸着解離試験は必須である。しかし、現在、吸着解離試験に用いる質の高い抗Aおよび抗B試薬が入手できない問題点もある。その他、血漿中の糖転移酵素活性、唾液および爪のABO型物質の検出は、亜型判定の一助となる。しかし、種々の検査を実施しても、そのほとんどが用手法で実施されているため、担当者の技術、知識および経験に委ねられることが多く、血清学的検査は難しいと言われる要因となっている。

4 日常検査に活用可能な遺伝子検査

血清学的検査で判定保留検体のABO遺伝子型を調べることによって、本質的な血液型の推定が可能となる。とくにウラ検査が弱い検体では、単に規則抗体(抗A、抗B)の反応が弱い場合と亜型個体(A_x、A_{el}、B_x、B_{el})が保有する2+程度の不規則性抗A₁(または抗B)との推定には有用である。

当施設では、血清学と並行してABO遺伝子型を調べ、さらに亜型が疑われる場合は、表現型に対応する既知の主要アリルを同定するPCR-SSP法[A2-SSP, Bm-SSP, B(A)-SSP, cisAB-SSP]の中から血清学結果に基づいて選択し、実施している(図3)。血清学と遺伝子検査を併用することによって、異常反応を呈した検体の精査に費やす時間と検査実施者のストレスが軽減され、血清学のみで実施していた時期に比べて精査が効率的に

進められるようになった。オモテ検査の抗Aと弱陽性を示すA型およびAB型では、血漿中の糖転移酵素活性およびFCM解析とA2-SSPの組み合わせでA2~A3付近の表現型を判定し、A_xBとB(A)の鑑別は、抗Aによる吸着解離試験とB(A)-SSPを併用することで、推定が可能となった。cisABについても種々の血清学的検査によって推定はできるが、cisAB遺伝子の有無を調べることによって、ある程度表現型を確定することができる。B_m型は日本人で最も多く検出される亜型で、オモテ・ウラ不一致の典型例であるが、血清学で類似の反応態度を示すB/O血液型キメラ(混合比1:99)との鑑別には遺伝子検査が有用である。

5 まとめ

遺伝子検査は、血清学的検査の弱点(限界)を補填し、精査の一助として有用である。とくに表現型と遺伝子型の一一致率が99.8%のB_m型については、遺伝子検査の有用性は極めて高い。一見、遺伝子検査のみで血液型を判定しても問題ないようになるかもしれないが、現実的には、A₂、A₃、A_x、A_{el}等では、一つの表現型から複数の対立遺伝子が同定されているため、表現型と遺伝子型が1:1の関係にはならず、判断の一助にはなるが十分ではない。また、近年ではエキソン以外のイントロン1やプロモーター部位の一塩基置換または欠失によってもA₃、B₃型の報告がある。すべての亜型について、全領域を調べる遺伝子検査を実施するのは逆に非効率的となる。そのため、血清学的検査を前提とし、まずは表現型に基づいてターゲ

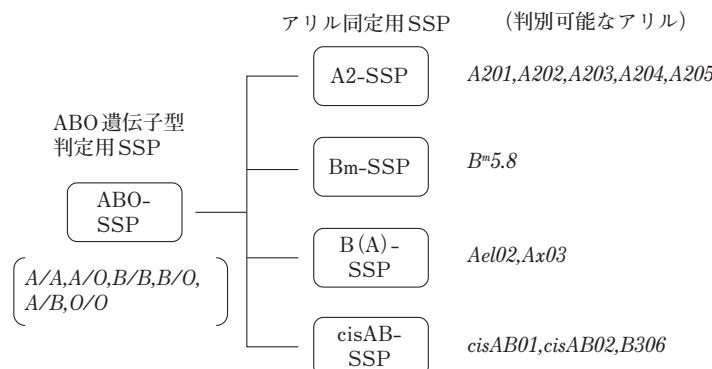


図3 ルーチン検査で活用可能な遺伝子検査

ットを絞ったPCR-SSP法を実施する。それでも解決しない場合は、シークエンス解析など高度な遺伝子検査を段階的に行う方が効率的と考える。血清学的検査は表現型を正しく判定するためには欠かせない。したがって、今後も血液型の判定は

血清学が中心であることは間違いないが、吸着解離試験に用いる抗A、抗B試薬の問題や検査の効率性を考慮した際、今後、遺伝子検査は精査の一部として不可欠であろう。