

流早死産の血液学的・血清学的研究

Coil Planet Centrifugeの免疫血液学的研究

九州大学医学部附属病院検査部

大河内 一 雄
清 川 博 之

研究目的

昨年の流早死産分科会でも報告した様に、我々が経験した抗D抗体感作例の中に1例、交換輸血が必要であったにもかかわらず臍帯血の溶血曲線が重症黄疸発生を予知するものと全く違った、成人のパターンによく似た症例があったため、赤血球膜の抵抗性を見るだけでは感作例の予後を判定出来ないこともあると考え、濃度勾配のついた食塩水コイルの代りに、17~22%ウシ血清アルブミン溶液を濃度勾配をつけずに注入した。アルブミンコイル法を考案し、溶血パターンではなく、凝集した赤血球の進行度により感作赤血球を検出する方法を試み、直接クームス試験で陽性に出るものであれば、アルブミンコイル法でも検出出来ることを示した。

その後ポリビニールピロリドン(以下PVPと略)、Ficoll, Dextran, アルギン酸ソーダ等の高分子物質溶液においても同様の結果が得られることが分かったため、感度、使いやすさ、経済性などの点からPVPを用いてのPVPコイル法でクームス試験と同等以上の感度をもつ感作赤血球検出法の開発を続けて来た。さらに最近PVPコイル法で感作赤血球検出のみならず、赤血球膜上の血液型抗原を半定量的に測定することが可能であることもわかって来たので、今回はPVPコイル法を臍帯血について検討を加えた。

研究方法

サンプルコイルは12%PVP(K-30)ないしは、30%グリセリン溶液で作製した、2%PVP(K-30)を濃度勾配をつけずに注入したものを、臍帯血は、EDTA-2K処理を行った真空採血冷蔵庫に保存し、24時間以内に測定を行った。赤血球感作には10%赤血球浮遊液

と等量の倍数希釈した抗血清を用いて感作し、同一試料を用いてクームス試験及びPVPコイル法を同時に行って両者の感度を比較した。

クームス血清、抗D及び抗A血清はオルソー社のものを用いた。赤血球沈清作製には、再現性を高めるためにフィッシャー式遠心器にて6000G 5分間遠心を行い、血漿成分を十分取り除いた後、よく振盪混和してその中から5 μ lの血球沈渣をPVPコイルに注入して37 $^{\circ}$ C 10分間インキュベート後、CPCにて37 $^{\circ}$ C 10分間遠心処理を行った。

研究結果

1. 抗体感作赤血球の検出

倍数希釈した抗A血清で、A型成人赤血球の試験管内感作を行い、抗体感作赤血球検出法の感度を比較すると、クームス試験では64倍希釈の抗体で感作された赤血球まで検出可能であり、PVPコイル法では512倍希釈まで、PVP-Glycerinコイル法では2048倍希釈まで検出可能であった。

表1は母子のABO血液型適合群と不適合群で臍帯血を用いてPVPコイル法を用い、両者の赤血球進行度の分布を観察したものである。適合群では分布の幅が広く、平均値は2.5cmであったが、不適合群では適合群に比べて分布の幅がせまく、しかもよく伸びる傾向が見られ、平均値は2.9cmであった。そこで両者をあわせた平均値2.7cm以上と以下とで進行度を比較すると、ABO血液型適合群と、不適合群の合には、危険率0.5%以下で、有意の差を認めた。

2. 赤血球血液型抗原の半定量

成人赤血球及びA₂B₃, ABm等の成人亜型赤血球を用いて、検討を重ねて来たところ、赤血球

の進行度を比較すると、赤血球膜の抗原量によって差が出せる可能性があることがわかったため、A型臍帯赤血球を一定量の抗A血清で感作し、PVPコイル法で抗原量の測定を行うと、臍帯赤血球は、成人赤血球よりもパラツキが大きい、臍帯赤血球と成人赤血球の進行度には、はっきりとした差が見られた。このことは臍帯赤血球と成人赤血球の抗原量の差を推測させた。D抗原量に関しては、臍帯赤血球と成人赤血球ではほぼ同じ様な赤血球進行度を示し、臍帯赤血球と成人赤血球との間には、A型赤血球で見られた様な大きな差は見られなかった。

又、成人赤血球でDDとDdの間の差を出すことも可能であった。

ABO血液型不適合がない組合せを選びPVPコイル法で赤血球膜のA型抗原の定量を行い、児の在胎週数と抗原量との相関を求めると相関係数 $r = 0.48$ で両者の相関はうすかったが、児の生下時体重と抗原量の相関を求めると、相関係数 $r = 0.61$ で在胎週数よりはむしろ体重との相関があると言う結果であった。

考 察

CPCの免疫血液学的応用の一つとして、PVP等の高分子物質溶液を濃度勾配をつけずにコイルに注入してCPCによる遠心を行うことで、クームス試験と同等以上の感度をもつ抗体感作赤血球検出法を開発し、PVPコイル法を用いて、臍帯血について検討を行った。

ABO血液型不適合の臍帯血で直接クームス陰性でも、PVPコイル法を用いれば、不適合群と適合群で差が出せる可能性があることを示した。オートアナライザーによる直接クームス試験によれば、母親がO型で、母子不適合がある組合せでは、臍帯血中の抗A及び抗B抗体感作赤血球を100%検出出来ると言う報告があり、PVPコイル法を用いても従来直接クームス試験では検出出来なかった感作赤血球を検出出来る可能性があると考えられる。

さらにPVPコイル法で赤血球膜上の血液型抗原を半定量的に測定することが可能と考えられる

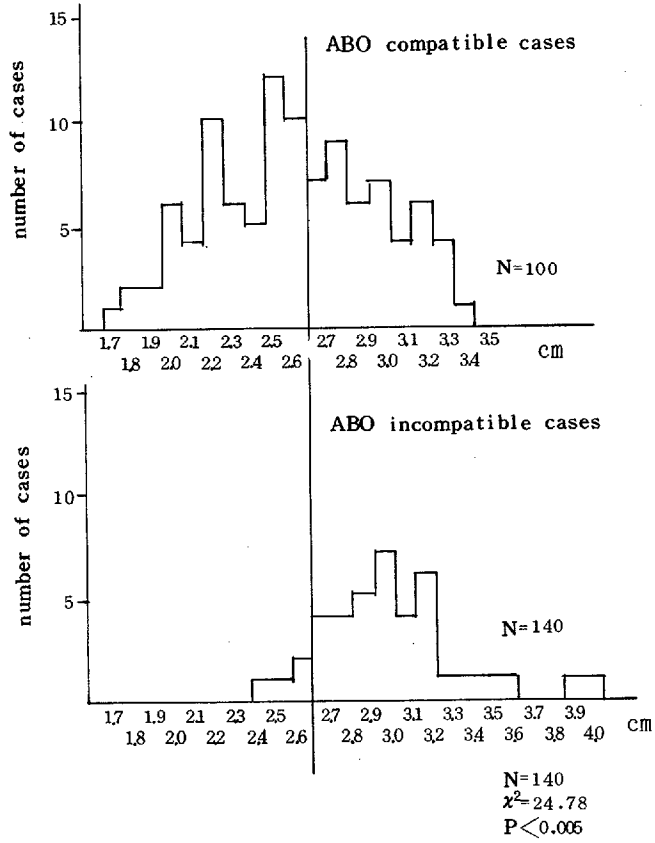
ため、A型赤血液の抗原量測定を行うと、臍帯赤血球と成人赤血球の進行度には、はっきりした差が見られた。D抗原の抗原量に関しては、臍帯赤血球と成人赤血球では、ほぼ同じような赤血球進行度を示し、A型赤血球で見られた様な大きな差は見られなかった。これらのことは従来、ABO不適合は抗原の未熟性から重症黄疸の発生が低いのではないかと言われて来たことを裏づけるような結果であった。成人赤血球のD抗原でDDとDdの差が出せることも知られたので、Rh(-)の妊産婦の保健管理に役立つものと思われる。

臍帯赤血球の血液型抗原の量と在胎週数及び体重との相関を求めて見ると、在胎週数よりも体重と相関するような結果であったが、臍帯赤血球が、AA、AO及びBB、BOであるかによって抗原量が左右されるため、その効果を考慮する必要がある、今後AA、AO及びBB、BOを区別するためには、より鋭敏に赤血球の抗原量を分別する条件を見出す必要があると考える。

要 約

1. CPCの免疫血液学的応用の一つとして、クームス試験と同等以上の感度をもつ抗体感作赤血球検出法を開発した。
2. ABO血液型不適合の臍帯血で、PVPコイル法を行うと、不適合群と適合群で差が認められた。
3. PVPコイル法で赤血球膜上の血液型抗原を半定量的に測定すると、A型抗原の量は、臍帯赤血球と成人赤血球とで大きな差が認められたが、D抗原では、A型赤血球で見られた様な差は見られなかった。
4. PVPコイル法で、成人赤血球ではDD、Ddの差が出せることが知られた。
5. 臍帯赤血球の血液型抗原の差と在胎週数及び体重との相関を求めたが、この点に関しては、今後AA、AO及びBB、BOを区別する条件を見出す必要がある、さらに検討する余地が残されている。

Distribution of the length of pvp coil on the cord blood cell



↓ 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用 ↓
論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります

研究目的

昨年の流早死産分科会でも報告した様に、我々が経験した抗 D 抗体感作例の中に 1 例、交換輸血が必要であったにもかかわらず臍帯血の溶血局線が重症黄疸発生を余地するものとに全く違った、成人のパターンによく似た症例があったため、赤血球膜の抵抗性を見るだけでは感作例の予後を判定出来ないこともあると考え、濃度勾配のついた食塩水コイルの代りに、17~22%ウシ血清アルブミン溶液を濃度勾配をつけずに注入した。