

# 血液型判定が困難となる学内実習用疑似検体の作成

笠井 英利

帝京短期大学 ライフケア学科

## Creation of pseudo specimens for on-campus practical training in which blood type determination is difficult

Hidetoshi KASAI

Department of Life Care, Teikyo Junior College

---

### Abstract

Since ABO blood types show serological reactions that follow Landsteiner's law, a front test, which is a test for antigens, and a back test, which is a test for antibodies in plasma, are performed, and a comprehensive determination is made based on the agreement of the results of each test. However, in clinical practice, cases of ABO blood type mismatch may be encountered for various reasons, making it difficult to determine the ABO blood type. Therefore, it would be beneficial for clinical laboratory education to have students experience training that simulates such cases during their in-school training. However, obtaining such samples in educational settings is often difficult. Therefore, we prepared a general blood sample and created a pseudo-sample that would show partial agglutination (mix field: MF) to simulate a transfusion of type O red blood cells to a type A patient, and a pseudo-sample that would show reactivity to type O in the front test and type B in the back test to simulate type Bm. For a pseudo-sample simulating a transfusion of type O red blood cells to a type A patient, a sample with an A:O mixture ratio of 6:4 was appropriate, and for a sample simulating type Bm, a sample containing 20 drops of type O red blood cells and 1 drop of a 5% suspension of type B red blood cells was appropriate. Even in environments where special specimens are difficult to obtain, it is possible to create pseudo specimens that anticipate special evaluation results by adjusting general blood samples in an ingenious way, making it possible to use this information in clinical testing education.

**Keyword** : ABO blood type, front-back mismatch, on-campus training

## 要 旨

ABO 血液型は Landsteiner の法則に従った血清学的反応を示すことから抗原の検査であるオモテ検査と血漿中の抗体検査であるウラ検査を判定し、それぞれの判定結果の一致をもって総合判定される。しかし、臨床現場では様々な理由でオモテ・ウラ不一致の症例に遭遇することがあり、ABO 血液型の判定が困難となることがある。そのため、臨床検査の教育現場における学内実習でこのような症例を想定した実習を経験しておくことは臨床検査教育において有益となる。しかし、教育現場でこのような検体を入手することは困難であることが多い。そこで、一般的な血液試料を調整し、部分凝集 (mix field: MF) を示す検体として A 型患者に O 型赤血球輸血を実施したことを想定した疑似検体を、オモテ検査が O 型、ウラ検査が B 型の反応性を示す検体として Bm 型を想定した疑似検体を作成した。A 型患者に O 型赤血球輸血を実施したことを想定した疑似検体では A : O の混合比率が 6 : 4 の検体が、Bm 型を想定した検体では O 型赤血球 20 滴に対して B 型 5% 赤血球浮遊液を 1 滴滴下した検体が適切であった。特殊な検体が入手困難な環境であっても一般的な血液試料を工夫して調整することで特殊な判定結果を想定した疑似検体を作成し、臨床検査教育に役立てることが可能となる。

**キーワード** : ABO 血液型、オモテ・ウラ不一致、学内実習

### I. はじめに

血液型は赤血球表面の血液型抗原によって決定される。血清学的検査によって多くの型が存在するが、その中でも特に ABO 血液型は輸血において重要な意味をもつ血液型で ABO 血液型を誤った赤血球輸血が行われると輸血された赤血球が血管内溶血により破壊され、生命を脅かす重大な輸血事故につながる。

ABO 血液型は、1900 年、オーストリアの Karl Landsteiner が他人どおしの赤

血球と血清を混合することで凝集塊が形成される場合とされない場合があることを見出したことから発見された。これは赤血球表面の A 抗原および B 抗原と血清中の抗 A および抗 B が反応することで形成される。この抗原と抗体には保有規則があり、ABO 血液型はこの保有規則から A 型、B 型、O 型、AB 型の 4 つのタイプに分類される。A 型のヒトは赤血球表面に A 抗原、血清中に抗 B を保有する。B 型のヒトは赤血球表面に B 抗原、血清

中に抗 B を保有する。O 型のヒトは赤血球表面に A 抗原と B 抗原のどちらも保有せず、血清中に抗 A と抗 B を保有する。AB 型のヒトは赤血球表面に A 抗原と B 抗原を保有し、血清中に抗 A も抗 B も保有しない。この血清学的な保有規則を Landsteiner の法則と呼ぶ (表 1)。

表 1 Landsteiner の法則

|     | 抗原      | 抗体    |
|-----|---------|-------|
| A型  | A抗原     | 抗B    |
| B型  | B抗原     | 抗A    |
| O型  | 無し      | 抗A、抗B |
| AB型 | A抗原、B抗原 | 無し    |

通常、ABO 血液型検査は現在もこの法則に基づいた判定が行われ、赤血球表面の A 抗原および B 抗原を検出して判定を行うオモテ検査と血清中の抗 A および抗 B を検出して判定を行うウラ検査を実施し、両検査の判定結果の一致によって ABO 血液型が判定される。しかし、先天性の亜型、造血器疾患などの各種疾患、ABO 異型造血幹細胞移植後、緊急時の ABO 異型適合赤血球輸血後などの治療によるもの、自然抗体の影響など様々な理由からオモテ検査とウラ検査の判定結果が不一致となり、ABO 血液型の判定が困難となるケースがある<sup>1)</sup>。学内実習でこのようなオモテ検査とウラ検査の判定結果が不一致となる特殊な検体の検査を経験し考察することはより高い輸血検査学の理解につながる。しかし、教育機関で特殊な反応性を示す検体を入手することは困難となる。そこで、特殊症例の一部と

反応性を類似させた学内実習用疑似検体を作成した。

## II. 疑似検体概要

### 1. MF を示す検体

MF を示す主な例として、ABO 亜型 ( $A_3$   $B_3$ )、キメラ・モザイク、ABO 異型適合赤血球輸血後、ABO 血液型異型造血幹細胞移植後の血液型移行期の場合などが挙げられる。

#### ABO 亜型 ( $A_3$ $B_3$ )

ABO 亜型は先天的に赤血球表面の A 抗原や B 抗原の量が少なくなる変異型でいくつかのタイプに分類できる。中でも、 $A_3$  型と  $B_3$  型は抗 A 試薬や抗 B 試薬と強く反応する赤血球から弱く反応する赤血球、反応しない赤血球が幅広く混在し、オモテ検査が MF を呈する。

#### キメラ・モザイク

キメラは同一個体が 2 つ以上の接合子に由来する異なる細胞・組織を共存している状態のものをいう<sup>2)</sup>。血液型キメラには 2 卵性キメラと 2 精子性キメラがあり、前者は発生初期の子宮内で双生児間の血管吻合によって、一方の造血幹細胞が他方に移行することで起こると考えられている。後者は 1 つの卵が 2 つの精子と受精した場合に起こる。また、モザイクは単一の接合子に由来しており、1 つの受精卵が突然変異などにより 2 つ以上の細胞集団が混在した状態のものをいう。これ

らが2種類以上の反応性の ABO 血液型の赤血球を混在する場合、オモテ検査が MF を呈する。

### ABO 異型適合赤血球輸血後

ABO 血液型検査の結果が待てない超緊急時や ABO 同型赤血球液の在庫は無いが緊急で赤血球輸血が必要な場合に ABO 異型適合赤血球輸血を行うことがある。患者体内に患者由来の赤血球と ABO 異型の供血者由来の赤血球が混在することになるためオモテ検査が MF を呈する。

### ABO 異型造血幹細胞移植後の血液型移行期

造血幹細胞移植は主に造血器腫瘍などに行われる治療法で、ABO 血液型よりもヒト白血球抗原 (human leukocyte antigen: HLA) の適合が優先され、ABO 異型の造血幹細胞移植が行われることも少なくない。造血幹細胞は血液細胞のもととなる細胞で、分裂、分化することで赤血球、白血球、血小板が形成される。ABO 異型造血幹細胞移植が行われると患者の血液型はドナーの血液型へ経時的に変化するため移植後の血液型移行期に患者由来の赤血球とドナー由来の赤血球が混在することとなり、オモテ検査が MF を呈する。

これらの内、ABO 異型適合赤血球輸血後の疑似検体は試験管内で混合することで容易に作成可能である。また、A 型

の MF は抗 A<sub>1</sub> レクチンを用いることで ABO 亜型の A<sub>3</sub> 型との鑑別について考察することができる。そこで、実習用の MF 検体は A 型患者に O 型赤血球輸血を実施したことを想定した疑似検体とした。

### 2. オモテ検査が O 型、ウラ検査が B 型のオモテ・ウラ不一致となる検体

オモテ検査が O 型、ウラ検査が B 型のオモテ・ウラ不一致となる症例として、B 亜型 (B<sub>m</sub>)、血液疾患における抗原減弱、血清中の血液型物質の異常増加による抗体試薬の中和、ABO 血液型マイナーミスマッチ造血幹細胞移植後などが挙げられる。

#### B 亜型 (B<sub>m</sub>)

B 亜型の内、B<sub>m</sub> 型は B 抗原量が微量であり、オモテ検査で O 型、ウラ検査で通常 B 型を示す特徴をもつ。抗 B 試薬を用いた吸着解離試験により微量 B 抗原を証明することができる。

#### 血液疾患における抗原減弱

骨髄異型性症候群 (myelodysplastic syndromes: MDS) や急性 (慢性) 骨髄性白血病などの血液疾患では赤血球表面の A 抗原や B 抗原が減弱することがあり、B 型患者では B 抗原が一時的に減弱してオモテ検査が O 型様の反応性を呈することがある。

#### 血清中の血液型物質の異常増加による抗体試薬の中和

卵巣嚢腫や胃がんなどで血清（血漿）中に B 型物質が異常に増加するとオモテ検査に用いる抗 B 試薬が中和され、弱反応または偽陰性反応を示し、オモテ検査が O 型様の反応性を呈することがある<sup>3)</sup>。

### ABO 血液型マイナーミスマッチ造血幹細胞移植後

ABO 血液型マイナーミスマッチ造血幹細胞移植後、赤血球はドナー型の反応を示すが血清中の抗体が患者の生来保有していた抗原に対するタイプであった場合、その規則抗体が検出されないことが知られている<sup>4)</sup>。その詳細な機序は不明であるが、免疫寛容により抗体が産生されなくなるものと考えられている<sup>5)</sup>。したがって、B 型患者に O 型の造血幹細胞移植が行われた場合、オモテ検査が O 型、ウラ検査が B 型の反応を呈する。

これらの内、B 亜型の Bm 型の疑似検体を作成し、抗 B を用いた吸着解離試験で微量抗原の検出を行うことで特殊な輸血検査の手順、原理を学ぶ良い機会となる。したがって、実習用のオモテ検査が O 型、ウラ検査が B 型の反応性を示す検体は Bm 型の疑似検体とした。

## Ⅲ. 試薬・試料

### 1. 試薬

抗 A 試薬 オーソ<sup>®</sup> バイオクロン<sup>®</sup>

抗 A (マウス由来モノクローナル抗体)

抗 B 試薬 オーソ<sup>®</sup> バイオクロン<sup>®</sup>

抗 B (マウス由来モノクローナル抗体)

### 2. 試料

学内実習に用いた廃棄予定の残検体

## Ⅳ. 疑似検体の作製と評価

### 1. A 型患者に O 型赤血球輸血を実施したことを想定した疑似検体

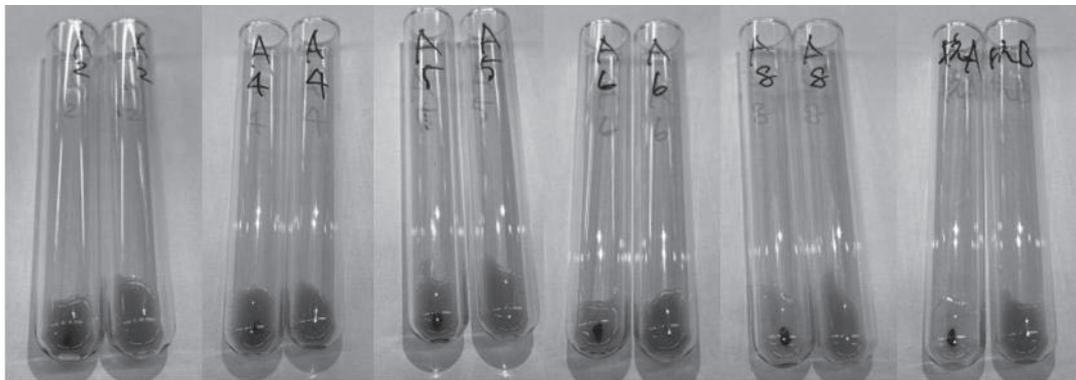
A 型と O 型の洗浄プール血球沈査をそれぞれ 8 : 2、6 : 4、5 : 5、4 : 6、2 : 8 の割合で混合し、混合赤血球沈査と等量の A 型血漿を添加して MF 疑似検体とし、直後遠心による ABO 血液型検査における抗 A 試薬との反応で見られた MF の度合いを評価した。

### 2. Bm 型の疑似検体

O 型の洗浄プール血球沈査 20 滴に洗浄済みの B 型赤血球沈査 1 滴、洗浄済み B 型 50% 赤血球浮遊液 1 滴、洗浄済み B 型 25% 赤血球浮遊液 1 滴、B 型 5% 赤血球浮遊液 1 滴の割合で混合し、等量の B 型血漿を添加してオモテ検査が O 型、ウラ検査が B 型となる疑似検体を作成した。まず、この疑似検体を用いた直後遠心による ABO 血液型検査の反応性を確認し、5 min 間の室温感作を行った後にも再度遠心判定して反応性の確認を行った。その後、これらの検体に対して抗 B を用いた吸着解離試験を実施し、微量 B 抗原検出の可否について評価を行った。

表2 A型患者にO型赤血球輸血を実施したことを想定した疑似検体のABO血液型オモテ検査

|              | 抗A試薬 | 抗B試薬 | オモテ検査判定 |
|--------------|------|------|---------|
| A : O(2 : 8) | MF   | 0    | 判定保留    |
| A : O(4 : 6) | MF   | 0    | 判定保留    |
| A : O(5 : 5) | MF   | 0    | 判定保留    |
| A : O(6 : 4) | MF   | 0    | 判定保留    |
| A : O(8 : 2) | MF   | 0    | 判定保留    |
| A型血液         | 4+   | 0    | A型      |



A : O      2 : 8      4 : 6      5 : 5      6 : 4      8 : 2      A型

図1 MFの反応像

表3 A型患者にO型赤血球輸血を実施したことを想定した疑似検体のABO血液型オモテ検査

|              | 直後判定 | 5 min感作後の判定 | 抗Bを用いた吸着解離試験 |
|--------------|------|-------------|--------------|
| B型赤血球沈査1滴    | O型   | 微小凝集塊有り     | B抗原検出(4+)    |
| 50%B型血球浮遊液1滴 | O型   | O型          | B抗原検出(4+)    |
| 25%B型血球浮遊液1滴 | O型   | O型          | B抗原検出(4+)    |
| 5%B型血球浮遊液1滴  | O型   | O型          | B抗原検出(4+)    |

## V. 結果

### 1. A型患者にO型赤血球輸血を実施したことを想定した疑似検体

直後遠心によるABO血液型検査の結果を表2に示す。A : Oが2 : 8、4 : 6、5 : 5の検体は抗A試薬の青色がほとんど認

識できないほど強く濁っていた。6 : 4の比率では抗A試薬の青色が残り、濁りも確認された。A : Oの混合比率8 : 2の検体は抗A試薬の青色が確認され、濁りがごくわずかであった。(図1)

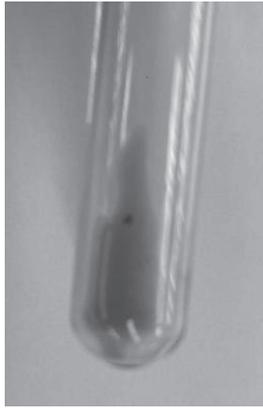


図2 B型赤血球沈査を1滴滴下した検体の5 min 室温感作後の微小凝集塊

## 2. Bm 型の疑似検体

直後遠心による ABO 血液型検査の判定結果、5 min 間の室温感作後の判定結果および抗 B を用いた吸着解離試験の結果を表 3 に示す。いずれの検体も直後遠心による ABO 血液型検査の判定結果はオモテ検査が O 型、ウラ検査が B 型と判定された。5 min 間の室温感作後の判定では B 型赤血球沈査を 1 滴滴下した検体のみ微小な凝集塊が確認された (図 2)。抗 B を用いた吸着解離試験ではいずれの検体も B 抗原を検出することができた。

## VI. 考 察

A 型患者に O 型赤血球輸血を実施したことを想定した疑似検体において、A : O の混合比率 2 : 8、4 : 6、5 : 5 の検体は抗 A 試薬の青色がほとんど認識できないほど強く濁っており、学生においても MF の検出が容易すぎると推測される。混合比率 8 : 2 の検体は抗 A 試薬の青色が確認されたが濁りがごくわずかであり、学生が MF を判定するには困難であると推測さ

れる。混合比率 6 : 4 の検体は抗 A 試薬の青色が残り、濁りも十分に確認できることから学生の MF の検出経験に適切な比率であると考えられる。したがって、A : O の混合比率 6 : 4 の検体が学内実習用疑似検体として適切であると考えられる。

Bm 型の疑似検体において、いずれの検体も直後遠心を用いた ABO 血液型検査の判定結果がオモテ O 型、ウラ B 型となり、抗 B を用いた吸着解離試験で微量 B 抗原の検出が可能であった。このことからいずれの濃度でも学内実習用疑似検体として実用可能であると考えられる。しかし、5 min 間の室温感作後の判定では B 型赤血球沈査を 1 滴滴下した検体で微小な凝集塊が確認された。操作が不慣れな学生は必要以上の室温感作を無意識に行い、ABO 血液型検査の検出感度が高まることで微量抗原を直後遠心による ABO 血液型検査の判定の時点で検出してしまう可能性がある。今回、判定後に 5 min 間の室温感作を行ったが、操作に不慣れな学生はそれ以上の室温感作を行ってしまう可能性もある。このことから今回調整した検体の中では最も低濃度で混合した B 型 5% 赤血球浮遊液を 1 滴滴下した検体が学内実習用疑似検体として最も優れていると考えられる。

## VII. まとめ

学内実習用疑似検体として、A 型患者に O 型赤血球輸血を実施したことを想定した疑似検体は A : O の混合比率 6 : 4 が、

Bm 型の疑似検体は O 型赤血球 20 滴に対して B 型 5% 赤血球浮遊液を 1 滴滴下した検体が適切であると考えられる。学校教育の場で特殊な検体の入手が困難な環境であっても既存の血液試料を工夫することで学生教育に有用な検体の作成を行うことが可能となる。

## 参考文献

- 1) 川俣豊隆 他 (2017) 当院における ABO 血液型オモテ・ウラ検査不一致の基礎疾患の検討 日本輸血細胞治療学会誌 63 (5) 683-690.
- 2) Patricia Tippett, (1983) Blood Group Chimeras. A Review. Vox Sang. 44 (6), 333-359
- 3) 株式会社 日本医学臨床検査研究所  
<https://www.jcl.co.jp/yuketsunr1>  
(2024.8.9 アクセス)
- 4) 阿部真知子 他 (2016) ABO 血液型マイナーミスマッチ及びメジャーマイナーミスマッチ同種造血幹細胞移植後における患者赤血球型に対する抗 A, 抗 B 抗体の推移 日本輸血細胞治療学会誌 62 (6) 699-704.
- 5) Stussi G., Huggel K., Schanz U., et al: Levels of Anti-A/B antibodies after ABO-Incompatible Hematopoietic Stem Cell Transplantation. Transplant Proc, 37: 1385-1387, 2005.