

けんさ四方山話

よもやまばなし

検査に役立つ
ちょっといい話



輸血検査の精度管理編

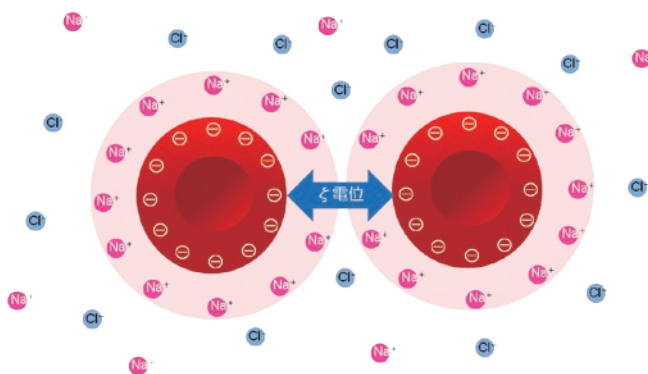
試薬を知ろう! アルブミンの役割

これから2回にわたり、間接抗グロブリン試験に用いるメディウムについて、機序や使用における注意点等について触れたいと思います。

1960年代に抗原-抗体反応に影響を与える因子についての様々な検証が行われましたが、1966年 Stroup と MacIroy がアルブミン存在下で血球と不規則抗体保有血清を反応させた場合、明らかに反応が強くなる事を報告しています。それ以前の1945年には、抗Dの検出にはアルブミンを使用すべきと、Diamond L.K. と Denton R.L. が提唱していました。ちなみに、1945年は、Coombs R.R.A. が間接抗グロブリン(クームス)試験を発表した年でもあり、第二次世界大戦終戦の年でもあります。

さて、アルブミンが輸血検査に用いられる以前、クームス試験は血清と血球の混和物を1~2時間、37℃で加温して実施していました。抗原-抗体反応を充分進行させるために必要な時間であり、2時間反応させれば99%まで抗原-抗体反応が進行するとされています。反応を最大限進行させるには4時間という報告もあります。勿論、抗体の性状によってはそれより短い加温時間であっても反応がプラトーに達する事があったり、抗体力価によっては30分加温で実施する場合がありますが、通常抗体の検出には60分以上の加温時間が望ましいとされています。つまり、非常に時間のかかる検査だったのです。そこにウシアルブミン液が登場する事により、反応時間が15~30分程度まで短縮できるようになりました。

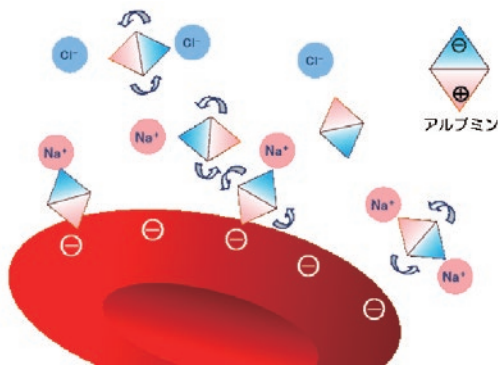
では、アルブミンが抗原-抗体反応にどのような影響を及ぼしているのか? 全てが解明されている訳ではありませんが、簡単に説明したいと思います。



赤血球は負に荷電していると言われていますが、これは末端にシアル酸を有する糖鎖が赤血球膜表面に様々存在しており、これが負の荷電を有しているからです。このような赤血球を生理食塩液(以下生食)に浮遊させると、陽イオンの Na^+ が赤血球の周囲に引き寄せられ、陽イオンの層(反発層)を形成します。この赤血球の周囲に形成される陽イオン層同士による電氣的反発力が、**ゼータ電位**です。このゼータ電位は、赤血球の膜荷電や、浮遊している溶液中の遊離陽イオンの濃度によっても変わります。生食中では、このゼータ電位により、赤血球間には約35~40nmの距離が存在し、自発凝集する事はありません。IgM型の抗体1分子の大きさは、この距離間を保つ赤血球2分子を充分架橋する事がで

試薬を知ろう! アルブミンの役割

きる大きさであり、そのため完全抗体と呼ばれていました。IgMより分子の小さなIgG型の抗体では、赤血球を架橋する事が原則できず、不完全抗体と呼ばれていたのです。つまり、凝集として目視で確認できないという事になります。アルブミンの第一の役割はここにあります。



アルブミンは両極性の分子と言われていますが、正と負の荷電を持つ磁石のような分子であるとお考え下さい。そのため、赤血球の周囲に引き寄せられているNaの陽イオンや血球の陰性荷電を一部中和するため、ゼータ電位が減少し、赤血球間の距離が縮まります。つまり、抗体が赤血球2分子を架橋しやすくなり、凝集を容易にする役割を持つのがアルブミンです。元々は、単量体のアルブミンを22～30%濃度(w/v)に調製したものが一般的でしたが、最近ではアルブミンを2～5量体の重合体にした重合ウシアルブミン(以下PBA)が、主流となっています。これは、分子量が大きい方が、凝集速度や凝集力に及ぼす効果が高い事に起因しています。つまり、同じ15分加温で単量体のアルブミン液と重合体のアルブミン液を比較すると、抗体検出感度は重合体(PBA)の方が高い傾向を認めます。

また、アルブミンの主な意義は凝集促進であり、それ自身はイオン化はしませんが、アルブミン溶液は生食やヒト血清に比べイオン強度が低いため、抗原-抗体反応の促進にも若干寄与しています。

では、クームス法における他メディウムとの抗体検出感度を比較するとどうなのか? と言えば、15～30分加温で抗体結合量がほぼプラトーとなるアルブミンに対して、LISSは10～15分。メディウムなしの生食においては60～120分が必要である事から、同一加温時間における抗体検出感度はLISS ≧ アルブミン ≧ 生食と言えます。ただし、どの方法においても、適切な抗原-抗体(-メディウム)比、および至適反応時間を要すれば、大きな感度差はないとも言えます。ただし、PEGを用いたクームス法は、抗原-抗体反応の増強効果が高く、抗体検出感度は他方法に比べ1～2管高いと言われています。

アルブミンを用いたクームス試験で抗体検出の感度アップを図りたい場合は、血清量の増量(2滴→3～4滴)や反応時間の延長(15分→20～30分)が有効です。ただし、加温時間に関しては、長時間加温により一部の抗体で反応性が低下するという報告もあります。そのため、60分以上の加温はしないよう注意する必要があります。

アルブミンを用いた検査方法では、加温後判定を実施するのが一般的ですが、この時検出される抗体の免疫グロブリンクラスは、IgG型は勿論ですが、IgM型も存在します。その中には、臨床的意義が低いと言われている冷式抗体も含まれます。アルブミン相で判定を行う事により、クームス試験において、臨床的意義の低い冷式抗体起因の反応を捉えてしまう事があるため、最近ではアルブミン相の判定を省略し、クームス法にそのまま移行するよう推奨する傾向があります。しかし、冷式抗体のクームス法への影響を100%回避できるものではなく、且つ、不規則抗体が検出された際には、その血清学的反応態度が問題解決に役立つ事があるのも事実です。

メディウム特性を良く理解した上で、不規則抗体スクリーニングや交差試験等、場面、場面に応じた運用方法を考える必要があります。