

**研究速報** Enzyme linked immunosorbent assay による抗血液型抗体の測定

東北大学移植・再建・内視鏡外科, 東北大学輸血部\*

佐藤 明史 川岸 直樹 峯岸 正好\* 土井 秀之 里見 進

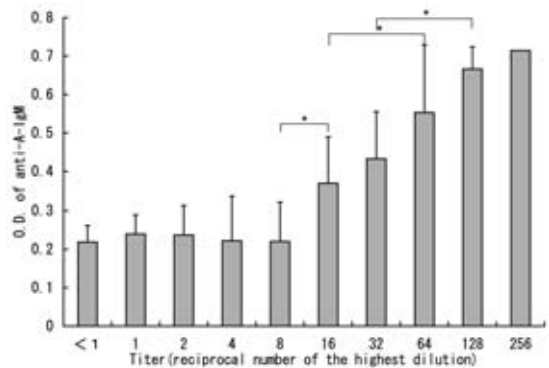
**緒言:** 血液型不適合移植において, 抗血液型抗体価の測定は治療方針を決定するうえで必須である。しかし, 現在の抗体価の測定法は肉眼的な判定に基づいているため誤差が生じることが少なくなく, 移植医療においては客観的かつ正確な抗体量の測定法が求められている。今回, enzyme linked immunosorbent assay (以下, ELISA と略記) の手法を用いて, 抗血液型抗体量を測定する方法を確立したので報告する。

**対象と方法:** 2000年8月から2004年11月までに当科において血液型不適合生体肝移植を受けた6症例の保存血清および healthy volunteer より採取した血清を用いて, ELISA 法による吸光度値と従来の方法による抗体価との比較・検討を行った。測定法の手順であるが, 96well のプレートに Dextra 社製の A 型および B 型の bovine serum albumin (以下, BSA と略記) に結合した血液型抗原を 4℃ over night で固相。0.5% Tween, 2% BSA-PBS で 2 時間ブロッキング後, 50 倍に希釈した血清 50μl を入れ, 2 時間インキュベーション。続いて, 2 次抗体として Sigma 社製の goat anti-human IgM or IgG alkaline phosphatase conjugate を入れ, 1 時間インキュベーション。最後に Sigma 社製の p-nitrophenyl phosphate で発色させ, 30 分後に 405nm の波長で吸光度を測定した。検体数は <1 倍から 256 倍までそれぞれ, 24, 28, 24, 46, 20, 14, 12, 10, 8, 2 であった。

**結果:** 抗 A 型 IgM 抗体に関して, 吸光度値と抗体価の比較を示した (Fig. 1)。吸光度値は臨床的に問題となる抗体価 16 倍以上で有意に上昇した。抗 A 型 IgG 抗体と抗 B 型抗体に関しても同様の結果であり, 吸光度値と抗体価はほぼ相関していた。

**考察:** 本邦での臓器移植医療においては慢性的なドナー不足のために, 血液型不適合移植が行われることが少なくない。その周術期の血液型抗体価の測定は治療方針を決定するうえで最も重要な検査の一つであり, 現在は赤血球凝集法を用いた生食法, 間接クームス法<sup>1)</sup>で行われている。しかし, この方法は肉眼的な判定に基づいているため, 1 管から 2 管分の誤差が生じることがありえると考えられている。当科で経験し

Fig. 1 Comparison of titer (the standard tube method) vs. optical density (O.D.) (ELISA method) for anti-A-immunoglobulin M antibody. \*: p < 0.05



た症例のうち, 第 4 病日に抗体価の上昇を伴う液性拒絶反応を起こした 1 例においては, その前日から吸光度値の急激な上昇が起こっており, 抗体価の測定値が実際の抗体量とは解離していた可能性も考えられた。当科では, 抗 IgM 抗体が 16 倍を超えた時点で, 液性拒絶を疑い血漿交換を考慮する<sup>2)</sup>が, Fig. 1 では抗体価が 8 倍から 16 倍にあがる時点で, 吸光度値も有意に上昇していた。また, 検体の量が非常に少量でも測定可能 (1well につき 1μl) であり, ELISA による抗血液型抗体の測定は, 従来の抗体価測定と比較して, 有用かつ正確なものとなりうる可能性が示唆された。

**Key word:** ABO-incompatible

**文献:** 1) Vengelen-Tyler V ed : AAB technical manual. Thirteen edition American Association of Blood Banks, Bethesda, 2002, p697-700 2) Kawagishi N, Ohkohchi N, Fujimori K et al : Antibody elimination by apheresis in living donor liver transplant recipients. Ther Apher 5 : 449-454, 2001

**A New Method for Measuring of Anti-Blood-Group A and B Antibody using Enzyme linked Immunosorbent Assay**

Akefumi Satoh, Naoki Kawagishi, Masayoshi Minegishi\*, Hideyuki Doi and Susumu Satomi

Division of Advanced Surgical Science and Technology, Graduate School of Medicine, Tohoku University

Department of Blood Transfusion, Tohoku University Hospital\*

<2005年11月30日受理>別刷請求先: 佐藤 明史 〒980-8574 仙台市青葉区星陵町1-1 東北大学移植・再建・内視鏡外科