Japan Society of Obstetrics and Gynecology

C. 産婦人科検査法

Obstetrical and Gynecological Examination

20. 免疫学的検査

Immunological Examination

1）赤血球凝集反応，直接・間接クームス試験，自己抗体検査，血清不規則抗体検査

（1）はじめに

胎児を遺伝学的にみるとその半分は父親に，残りの半分は母親に由来しているため，胎児の血液型は母親の血液型と異なることがある．異型輸血のように母親の血液型と異なった血球が母体循環血中に混入されないかぎり，母体が感作されることはない．しかしながら正常妊娠中ならびに分娩時，あるいは検査の際に，胎児の血球が少なからず母体循環血中に入りこんでいることがわかってきた．この現象は胎児から母体への輸血（母児間輸血）（feto-maternal transfusion：FMT，あるいは feto-maternal hemorrhage：FMH）といわれ，経腟分娩時に限らず，妊娠中の交通外傷に伴う常位胎盤早期剝離，前置胎盤の出血，羊水穿刺，帝王切開術，人工妊娠中絶手術，胎児採血，外回転術などの施行の際にも，胎児から母体への輸血は起こりうると考えられている（表 C-20-1）．

（表 C-20-1） 母児間輸血と関連すると考えられている項目

妊娠の終了に伴うもの：
分娩*，人工妊娠中絶*，自然流産*，子宮外妊娠*，胞状奇胎*
妊娠中の出血：
常位胎盤早期剝離，腹部外傷（交通事故など）
妊娠中の検査・手技：
絨毛採取（CVS）*，臍帯穿刺*，胎児鏡，羊水穿刺*，外回転術

*抗 D 免疫グロブリン投与が推奨される

胎児赤血球上には母親に存在しない血液型抗原があるため，母児間輸血が起こった場合，母親の免疫系が活性化され，母体血中に胎児赤血球抗原に対する抗体が生じ，さらには抗体のうち IgG は胎盤を通過して胎児に移行し，胎児ならびに新生児の血球成分に結合する．赤血球が標的抗原となる場合では胎児赤芽球症，胎児・新生児貧血，核黄疸が生じ（図 C-20-1），これらを総称して胎児あるいは新生児溶血性疾患（hemolytic disease of the fetus and newborn：HDN）という．また，血小板が標的抗原となる場合は新生児血小板減少症（neonatal alloimmune thrombocytopenia：NAIT）という．

このような溶血性疾患の出現を事前に察知するため，胎児あるいは新生児溶血を起こしたりする，あるいは，母体への輸血の際に重篤な副作用を生じたりする抗体を，妊娠初期にスクリーニングしておくことは非常に重要である．ここでは産婦人科医として最低限知っておくべき基本事項を概説する．

（2）赤血球凝集反応

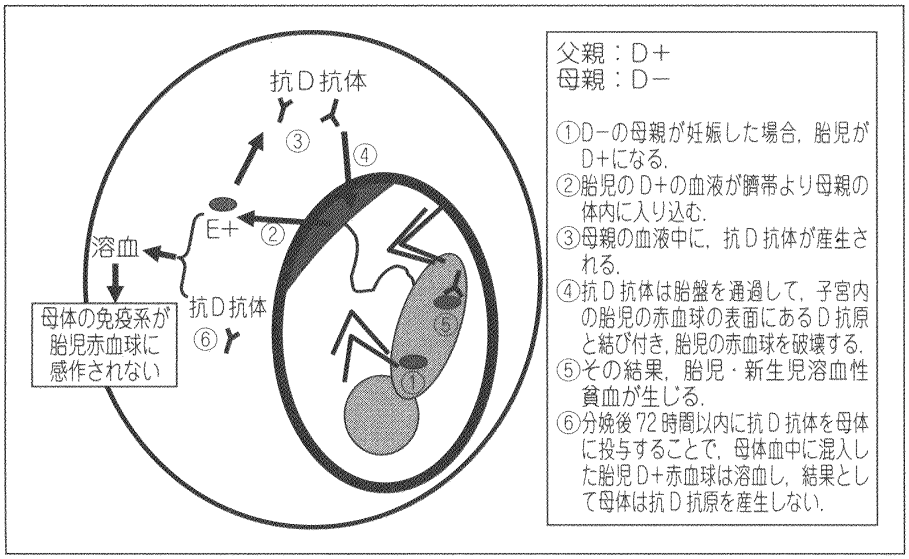
妊婦の血液型判定や輸血時のクロスマッチの際には，赤血球凝集反応を利用している．

①ABO 血液型の検査

ABO 血液型は赤血球表面に存在する A，B の 2 種類の抗原の組み合わせにより，A・B・AB・O の 4 型に分類される．日本人における ABO 式血液型の各型のおおよその頻度は，A：O：B：AB＝4：3：2：1である．

NII-Electronic Library Service

Japan Society of Obstetrics and Gynecology



（図 C-20-1） 母体由来の抗 D 抗体による胎児・新生児溶血性貧血

（表 C-20-2） ABO 式血液型の判定

オモテ試験（患者血球の抗原を調べる）		ウラ試験（患者血清中の抗 A，抗 B 抗体の存在を調べる）		ABO 式血液型判定
抗 A 血清	抗 B 血清	A 型血球	B 型血球	
+	−	−	+	A
−	+	+	−	B
+	+	−	−	AB
−	−	+	+	O

（臨床検査データブック 2005 ～ 2006，一部改変）

ABO 血液型に対する抗 A 抗体・抗 B 抗体は，A 抗原・B 抗原を持つ赤血球による感作がなくても生じる自然抗体(natural antibody)とされている．大部分が IgM 抗体であり，胎盤を通過しない．これら抗 A 抗体・抗 B 抗体は規則抗体あるいは正常規則抗体と呼ばれている．

ABO 血液型は，被検者の血球に抗 A 抗体ならびに抗 B 抗体を別々に反応させることで判定される．不適合輸血を防止するために，輸血前に義務付けられており，受血者血球と抗 A 抗体ならびに抗 B 抗体を反応させる「オモテ試験」と受血者血清と標準 A 血球ならびに標準 B 血球を反応させる「ウラ試験」を行う(表 C-20-2)．

「オモテ試験」と「ウラ試験」とが一致している場合に血液型を確定することができるが，一致しない場合にはその原因を精査する必要がある．その際，同一患者からの異なる時点での 2 検体を用いて二重チェックを行ったり，同一検体について異なる 2 人の検査者がそれぞれ独立に検査し，二重チェックを行うことで，照合確認するように努める．「オモテ試験」と「ウラ試験」の不一致の理由を表 C-20-3 に示す．

②Rh 血液型

Rh 血液型は Fisher-Rice 命名法により，C と c，D，E と e という 5 種類の抗原の組み合わせから構成される．このうち最も抗原性(免疫原性)が強く，輸血の副作用が強く生

NII-Electronic Library Service

Japan Society of Obstetrics and Gynecology

じるのがD抗原であるため，Rh血液型といえば，Rho(D)血液型を指すことが多い．赤血球上にD抗原を保有している場合をRho(D)陽性，保有していない場合をRho(D)陰性という．

Rho(D)血液型は被検者血球上にあるRho(D)抗原と抗D抗体(抗D試薬)を反応させて判定する(表C-20-4)．この検査が陰性の患者の場合には，抗原陰性として取り扱い，D抗原確認試験は行わなくてもよい．

日本人のRho(D)陽性率は99.5%であり，Rho(D)陰性率は0.5%であるのに対し，白人は15%と高い．妊婦がRho(D)陰性，かつ，その配偶者がRho(D)陽性の場合は，Rh不適合妊娠として管理する必要がある．図C-20-1に示すように，分娩時に胎児血が母体に流入し母体が抗D抗体(IgG)を産生すると，次回妊娠時に児が重篤な貧血を呈する．Rh陽性児を分娩したRho(D)陰性妊婦における抗D抗体産生を予防する方法として，抗D免疫グロブリン(RhIg)を分娩後72時間以内に投与を行う(図C-20-1)．

一方，妊娠28週における抗Dヒト免疫グロブリンの投与により，妊娠中のRho(D)感作率が2%から0.1%に減少したとの報告以来，欧米では妊娠28週前後において抗Dヒト免疫グロブリンの予防的投与を行っている．

Rho(D)以外に日本人において問題となるのが，E因子である．D因子と同様にE因子も胎児・新生児溶血性疾患を起こすため，注意が必要である．

(3) 直接・間接クームス試験

①直接クームス試験(図C-20-2)

(表C-20-3)「オモテ試験」と「ウラ試験」の不一致の原因

1. 赤血球側に原因がある場合
   a. 抗原が弱いか，反応が起こらない：
      i. 生来，抗原性が弱い
      ii. 悪性腫瘍などの疾病による抗原性の低下
      iii. 悪性腫瘍による抗A，抗B血清の中和
   b. 抗原が異常に反応する
      i. 自己免疫疾患による血球の抗体感作
      ii. 汎凝集反応
      iii. ABO不適合輸血
2. 血清側に原因がある場合
   a. 抗体の反応が弱いか，反応が起こらない
      i. 低ガンマグロブリン血症による抗体欠如
      ii. 骨髄腫やデキストラン投与後の連銭形成
   b. 不規則抗体の存在
   c. 新生児の胎盤通過性母体由来抗体の存在
   d. O型血液を他の血液型患者へ輸血後
3. 技術的に原因がある場合
   a. 抗血清の力価低下
   b. 血球浮遊濃度
   c. 溶血反応の見落とし
   d. 遠心法
   e. 試験管の振り方
   f. 反応温度と時間の誤り
   g. フィブリン析出
   h. 細菌汚染
4. 事務的処理に原因がある場合
   a. 試験管の取り違い
   b. 記載ミス

(臨床検査データブック 2005～2006，一部改変)

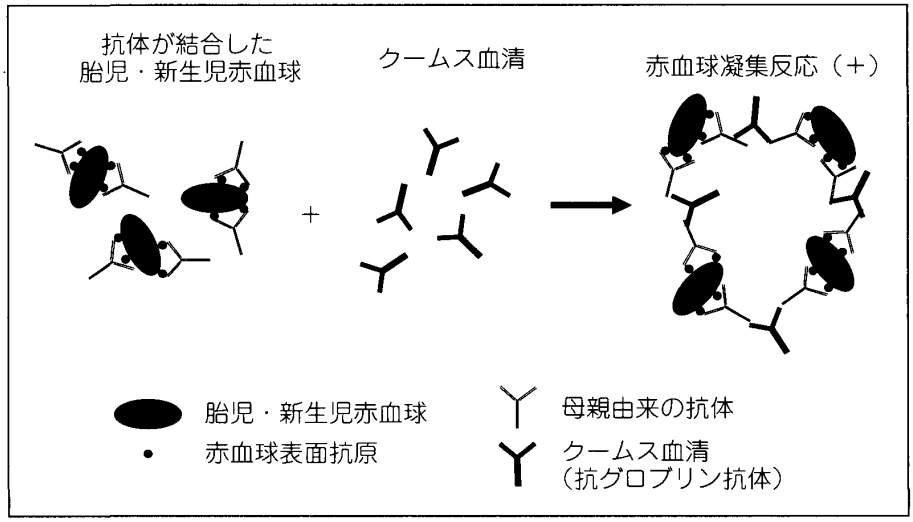
(表C-20-4) Rh式血液型の判定

抗D血清	Rh-hrコントロール	Rh式血液型判定
+	−	Rh (D) 陽性
−	−	Rh (D) 陰性*1
+	+	判定保留*2

*1 D陰性確認試験（間接抗グロブリン法）を行う．
*2 再採血のうえ再検査し，直接抗グロブリン試験も行う．
(臨床検査データブック 2005～2006，一部改変)

NII-Electronic Library Service

Japan Society of Obstetrics and Gynecology



（図 C-20-2） 直接クームス試験

胎児赤血球表面に母親に由来する各種の赤血球抗原に対する抗体が存在すると，胎児・新生児赤血球は胎児脾臓で破壊され，胎児・新生児溶血性疾患が生じる．胎児・新生児赤血球に各種の赤血球抗原に対する抗体が付着しているか否かを調べるのが直接クームス試験である．

予め精製ヒト免疫グロブリンで免疫したウサギまたはその他の動物から血清を得る．このようにして得られた血清をクームス血清といい，抗ヒト免疫グロブリン IgG 抗体や抗ヒト補体抗体などが含まれている．胎児・新生児赤血球浮遊液にクームス血清を直接作用させ，胎児・新生児赤血球が凝集するかどうかをみる試験であり，凝集した場合，直接クームス陽性と判定する．

②間接クームス試験(図 C-20-3)

妊娠中に胎児の赤血球を採取することは容易ではない．これに対し，母体血清中に浮遊している抗胎児赤血球抗体は母体血より得ることが可能である．母体血清と健常人血球を反応させ，健常人種々の血液型のパネル赤血球に母体血中の抗胎児赤血球抗体を結合させた後，さらにクームス血清を添加して間接的に赤血球凝集が起こるかどうかをみる試験を間接クームス試験という．

(4)自己抗体検査

抗リン脂質抗体(抗 β_2GPI 抗体，抗プロトロンビン抗体，抗キニノーゲン抗体)については，すでに他項で述べられているため，ここでは抗リン脂質抗体以外の自己抗体につき解説する．

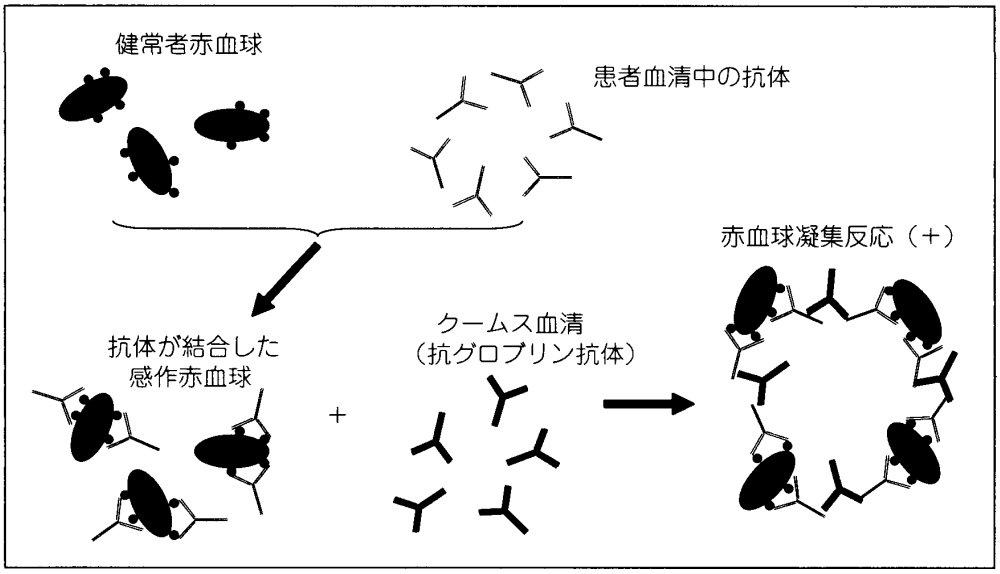
妊娠母体が産生する抗体のうち，胎盤移行性があるのは IgG のみである．産生された IgG は，胎盤内の母児接点である絨毛間腔に移行した後，胎盤絨毛に局在する IgG の Fc レセプターに捕捉され，pinocytosis により胎児側へと移送される．母体由来の同種 IgG 抗体は，胎児血あるいは胎児組織と免疫反応を起こし，胎児において細胞の破壊や自己免疫疾患を引き起こす．母体ではさまざまな自己抗体が産生されうるが，母体から胎児や新生児に移行することにより，臨床的に問題となる自己抗体は抗 SS-A/Ro 抗体・抗 SS-B/La 抗体，抗甲状腺刺激ホルモン(TSH)受容体抗体，抗アセチルコリン受容体抗体，抗血小板抗体などである．

①抗 SS-A/Ro 抗体・抗 SS-B/La 抗体

全身性エリテマトーデスやシェーグレン症候群合併妊娠では，抗 SS-A/Ro 抗体や抗

NII-Electronic Library Service

Japan Society of Obstetrics and Gynecology



（図 C-20-3） 間接クームス試験

SS-B/La 抗体が高値となることがある．これら抗体は IgG で胎盤通過性があるため，胎児ならびに新生児心臓の刺激伝達系に作用し，児に先天性房室ブロックが認められる．また，抗 SS-A/Ro 抗体は新生児ループス症候群の90％に認められる．

②抗 TSH レセプター抗体

抗 TSH レセプター抗体(TRAb；別名 TSH-binding inhibitory immunoglobulin, TBII)は IgG であり，胎盤通過性がある．妊娠満期の TRAb 値が＞＞50％の場合には新生児バセドウ病の発症が多い．甲状腺刺激抗体(TSAb)も同様に IgG であるため，胎盤を通過し，胎児ならびに新生児バセドウ病の原因となる．

③抗アセチルコリン受容体抗体

重症筋無力症合併妊娠では，母体血中に存在する抗アセチルコリン抗体(IgG)が胎盤を通過し胎児に移行するため，胎児の嚥下運動が抑制されることで羊水過多が生じることがある． また出生後では10～20％の頻度で neonatal myasthenic syndrome と呼ばれる，啼泣や吸啜力の減弱，呼吸障害などの症状を呈する．

④抗血小板抗体

抗血小板抗体は IgG であるため，児へ移行し新生児血小板減少症を発症することがある．また母児間輸血時に胎児から母体へ移行した胎児血小板表面抗原に対して同種抗血小板抗体が母体中に産生され，これが胎盤を通過して児の血小板を破壊することがある．これを同種免疫性新生児血小板減少症といい，重篤な場合には脳出血や水頭症を認めることがある．

(5) 血清不規則抗体検査(赤血球抗原に対する抗体検査)

①自然抗体と免疫抗体

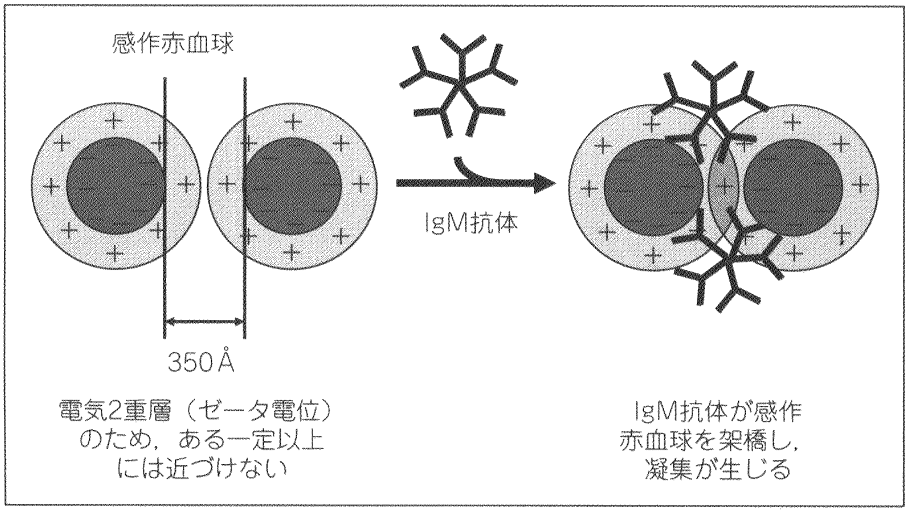
母体血清中に存在する抗 A，抗 B 抗体以外の赤血球血液型同種抗体を不規則抗体といい，自然抗体と免疫抗体に分けられる．

明らかな免疫刺激がない人にも見出される抗体を自然抗体といい，そのほとんどが IgM 抗体で，37℃では反応しない冷式抗体である．輸血の副作用を引き起こすことは少ないとされる．

これに対して，免疫抗体は輸血や妊娠の際に何らかの免疫刺激を受けて産生される IgG 抗体で，37℃で反応する温式抗体である．胎児期から重症の溶血疾患を生じる可能性が

NII-Electronic Library Service

Japan Society of Obstetrics and Gynecology



（図 C-20-4） 生理食塩水法

ある．

②不規則抗体スクリーニングの臨床的意義

日本人妊婦における不規則抗体保有率は 2～3 %と高い．妊婦全員に不規則抗体検査を行う臨床的意義は，新生児溶血性疾患を引き起こす可能性のある不規則抗体を予め把握できること，分娩時などの大量出血時に行われる緊急輸血に備えてその不規則抗体に対する抗原のない血液（適合輸血）を準備し，迅速に安全な輸血ができることである．

③不規則抗体検出法

大きく分けて，スクリーニングと同定検査に分けられる．

a）不規則抗体スクリーニングは，主要な血液型抗原を含む O 型ヒト赤血球試薬（2～4 本を 1 組）と妊婦血清（血漿）を反応させ，赤血球凝集の有無を観察するものである．スクリーニング法として代表的なものを以下に示す．

（i）生理食塩水法

赤血球は膜表面に電荷（ゼータ電位）を持っているため，生理食塩水中に浮遊させた際，お互いに近づけず凝集することはない（図 C-20-4）．しかしながら IgM 抗体が存在すると，感作赤血球を架橋することで凝集が生じる．このような抗体は完全抗体と呼ばれ，抗 P_1，抗 M，抗 N，抗 Le^a，抗 Le^b などの低温反応性抗体が含まれる．

それに対し IgG 抗体では架橋が生じないため，高力価 IgG 抗体でない限り，凝集は起こらない．

（ii）酵素法（ブロメリン法，フィシン法，パパイン法）

酵素は赤血球表面にあるシアル酸を除去するため，ゼータ電位が低下し，赤血球同士が近づきやすくなる．酵素で処理した血球を用いることで，抗 Rh，抗 Le^a，抗 Le^b，抗 P_1，抗 Kidd，抗 I などの検出感度が増強される．逆に抗 M，抗 N，抗 S，抗 s，抗 Fy^a，抗 Fy^b，抗 Xg^a などの検出感度は減弱または消失する．

（iii）間接抗グロブリン（クームス）法

妊婦血清内に存在する不規則抗体と血球試薬（抗体に反応する抗原が陽性の血球）を混合し，反応促進剤（アルブミン，低イオン強度溶液，ポリエチレングリコール）を添加後，37℃でインキュベートする．洗浄後，抗グロブリン（クームス）血清を加えることで抗体付着赤血球同士が架橋され，凝集反応が生じる．

b）不規則抗体同定検査

NII-Electronic Library Service

Japan Society of Obstetrics and Gynecology

基本的にはスクリーニングで陽性になった方法を中心に，同定用パネル血球を用いて検査する．不規則抗体は1つとは限らない．複数存在する場合もあるため注意が必要である．

c）不規則抗体が陽性時の対処

不規則抗体の種類によって胎児や新生児溶血性疾患の重症度が異なる場合がある．臨床的に重症となる不規則抗体が検出された場合は，その抗体の抗体価(凝集反応が認められるぎりぎりの血清希釈倍率)を経時的に測定していく．不規則抗体の抗体価が急激に上昇してきた場合には，胎児貧血の発症に危険性があることを念頭におかなくてはいけない．以前は羊水穿刺によるΔOD450や臍帯穿刺により胎児貧血の有無を評価していたが，今では経腹超音波にて胎児の中大脳動脈最高収縮期血流速度(MCA-PSV)を測定することで胎児貧血の有無が推定できるようになってきている．

おわりに

胎児血が妊娠分娩などにより母体血液中に入ること(母児間輸血)がわかってきている．したがって血液型不適合妊娠に伴う母児合併症に対処するために，すべての妊婦において赤血球不規則抗体スクリーニングを行うことが大切である．一旦抗体が生じてしまった女性は生涯にわたり持ち続けるため，次回妊娠の際に担当医は十分なる問診を行い，重篤な合併症を回避または最低限に抑えるように管理すべきであろう．

〈塩﨑　有宏*，斎藤　滋*〉

*Arihiro SHIOZAKI, *Shigeru SAITO

*Department of Obstetrics and Gynecology, University of Toyama, Toyama

Key words：Feto-maternal hemorrhage・Coomb test・Autoantibody・Rh isoimmunizasion

索引語：母児間輸血・クームス試験・不規則抗体・Rh不適合妊娠・自己抗体

NII-Electronic Library Service