補体第9成分(C9)欠損症の輸血後にみられる 沈降抗体の出現について

稲 葉 頌 一

九州大学医学部付属病院輸血部 (指導: 大河内一雄教授)

(昭和59年1月27日受付)

OCCURRENCE OF PRECIPITATING ANTIBODY IN PATIENTS WITH TRANSFUSED HEREDITARY NINTH COMPONENT OF COMPLEMENT (C9) DEFICIENCY

Shoichi Inaba

Blood Transfusion Service, Kyushu University Hospital

(Director: Prof. Kazuo Okochi)

In 1979, anti-C9 antibody was found in a patient with hereditary C9 deficiency. This patient had received multiple transfusions with several units of blood. The detection of C9 deficient patients and follow-up of those transfused were done in 52,000 patients treated at Kyushu University Hospital to investigate the frequency of C9 deficiency, and the incidence of anti-C9 precipitating antibodies in transfused patients. Transfusion reactions in recipients having anti-C9 antibody were also monitored. The study identified twelve patients with C9 deficiency (a prevalence of 0.023%). Three out of twelve patients had received transfusions. One of the patients who had received several units of blood within a week, produced low-titer anti-C9 precipitating antibody. This patient was transfused in the presence of anti-C9 precipitating antibody without evidencing transfusion reactions. No precipitating antibody was detected in the remaining two patients who had received several units of blood during the course of a single day.

These observations suggest that one of the factors that may be conducive to the development of anti-C9 antibody is the frequency of multiple transfusions. Furthermore the likelihood of transfused C9 deficient patients developing transfusion reactions is minimal.

結 言

ヒト血清どうしのゲル内沈降反応には、現在までに、約10種が知られている(表1)。このような同種沈降反応の検出を目的として二重免疫拡散法を用いて、九大病院患者血清をスクリーニングしていた昭和54年11月、これら既知の沈降反応のいずれとも一致しない沈降反応が見出された。その一方の血清は、輸血を受けた胃癌患者のもので、他のほとんど全てのヒト血清との間に沈降線を作ることが判明した。この患者血清の性質を調べ、それが、補体第9成分(以下C9)に対する抗体を含むこと、この患者が遺伝性C9欠損家系の一員であることを明らかにすることができた¹⁰⁾。遺伝性C9欠損症は、稲井ら¹¹⁾によって世界第1例の報告

表1 ヒト血清どうしにみられるゲル内沈降反応

- 1) 同種抗原 (allo-, iso-, 主として輸血によって抗体を作るもの)
血液型物質 (A, B型)¹⁾: ベータ・リポ蛋白 Ag 型²⁾:
アルファ2マクログロブリン³⁾: ハプトグロビン欠損症⁴⁾
- 2) ウイルス関連抗原によるもの
HBs 抗原: HBe 抗原: アルブミンレセプター⁵⁾: ヒトパルボウイルス⁶⁾
- 3) 本態不明のもの
Milan 抗原⁷⁾: Arai 抗原⁸⁾: 博多抗原⁹⁾

がなされ、その後、数家系が報告されているが¹²⁾¹³⁾ 輸血による抗体産生は、未だ報告されていなかった。C9欠損症に対する輸血の影響を明らかにするため、昭和55年12月より、九大病院患者血清を対

象に、二重免疫拡散法¹⁴⁾および電気向流法¹⁵⁾を用いて、C9欠損症のスクリーニングをはじめ、昭和58年7月までに、12名のC9欠損症を発見した。そのうち3名が輸血をうけており、発端者となった患者を含めて4名の輸血をうけたC9欠損患者について、輸血後の血清を調査することができたので報告し、併せて、C9欠損症患者に対する輸血の際の問題点について考察を行った。

第1部 発端者血清にみられたヒト血清に
対する沈降反応の検討

発端者

症例 S.H. 64歳女性、妊娠7回、輸血歴なし。元来健康で特記すべき既往はなかった。昭和54年8月、胃癌の集団検診にて進行胃癌を指摘された。貧血の改善のため、同年10月6日に新鮮全血を1単位、10月8、9、10、11、15日に1単位ずつ、計5単位の赤血球濃厚液の輸血をうけた。10月17日、胃全摘術および肝転移切除術をうけ、術中に赤血球濃厚液7単位、新鮮凍結血漿7単位の輸血をうけた。これらの輸血に際しては、発熱、蕁麻疹といった。輸血副作用と思われる症状はみられなかった。11月26日（最初の輸血後52日目）の血清で、たまたま、他のヒト血清との間に沈降線が観

察された。二重免疫拡散法でこの血清は、32倍稀釈まで他のヒト血清と沈降反応を起すことが観察された。12月6日（最初の輸血後62日目）の血清補体価は26単位（正常30～50単位）、C₃は115mg/dl（正常62～132mg/dl）、C₄は80mg/dl（正常24～75mg/dl）であった。沈降線が観察された後、輸血を行わなかったところ、この患者血清と他の

表2 C9欠損者の補体価

患 者	性別	CH50	C9添加後のCH50	C9欠損血漿との混合後のCH50
輸血をうけたもの				
1. S.H.	F	26	26*	
2. T.Yas.	M	15	46	
3. N.M.	F	14	41	15
4. T.Yam.	M	11	41	13
輸血をうけてないもの				
5. T.M.	M	12	27	
6. Y.Y.	F	13	44	
7. K.S.	M	14	40	
8. S.Y.	F	8	25	
9. E.S.	F	13	44	
10. S.S.	M	9	32	
11. Y.T.	M	15	39	17
12. M.M.	F	10	36	10
13. K.R.	M	8	40	9

* 抗C9による添加C9の吸収

表3 4例のC9欠損者の輸血後の抗体価

S.H.			T.Yas.			N.M.			T.Yam.		
64歳女性妊娠歴(+)輸血歴(-)			80歳男性輸血歴(-)			55歳女性妊娠歴(+)輸血歴(-)			11歳男性輸血歴(+)		
胃 癌			胃 癌			心房中隔欠損症			外傷性骨折		
最初の輸血からの経過日数	輸血内容	抗C9	最初の輸血からの経過日数	輸血内容	抗C9	最初の輸血からの経過日数	輸血内容	抗C9	最初の輸血からの経過日数	輸血内容	抗C9
1	新鮮血1		前		-	前		-	前		-
3	濃厚液1		1	保存血3		1	濃厚液3		1	濃厚液2	
4	同 1		3	同 3			凍結血漿5				
5	同 1		6	同 3					20		-
6	同 1		7	同 1		17		-			
10	同 1			凍結血漿5					40		-
12	同 7					31		-			
	凍結血漿7		21		+	52		-	75		-
			27	保存血3	+						
52		×32	40		-				97		-
68		× 8									
106		× 2									
191		+	112		-						

* ライホゲル濃縮

ヒト血清との沈降反応は減弱し、12月22日（最初の輸血後78日目）には、血清8倍稀釈まで、昭和55年1月31日（最初の輸血後118日目）には血清2倍稀釈まで、4月15日（最初の輸血後192日目）にはライホゲルによる血清濃縮を行ってようやく認められる程度となった（表3）。患者は、3月上旬より肺転移を来とし、5月17日死亡した。

材料

1) 被験血清

① 昭和54年11月26日、11月30日、12月5日、12月6日の発端者（症例S.H.）の血清（以下S.H.血清）。

② ヒト血清プール（以下プール血清）：S.H.血清と沈降線を作ることが確認でされた約350人の九大病院患者血清をプールしたもの。

③ 発端者の同胞6名の血清。

各血清は、終濃度0.2%となるように4%チツ化ソーダ水（アジ化ナトリウム；キシダ化学K.K.）を加え、4℃で冷蔵庫に保存した。一部は-80℃に冷凍保存し、補体価の測定に用いた。①②の血清は、一部56℃30分間加熱処理し、補体の非働化を行った。血清濃縮には、ライホゲル（アトーK.K.）を用いた。

2) 沈降反応の比較に用いた動物免疫ヒト特異抗血清

市販の α -リボ蛋白、ハプトグロビン、セルロプラスミン、C9、アンチトロニンIII、C_{1s}、 α_2 マクログロブリン、トランスフェリン、に対する抗ヒト特異抗血清（ウサギ、Behringwerke：Hoechst社）を入手し、二重免疫拡散法にてS.H.血清とプール血清の作る沈降線と融合するか、交叉するかの比較を行った。

方法

1) 二重免疫拡散法¹⁴⁾

二重免疫拡散法には、2%デキストランT-500（pharmacia社）、0.5%NaCl、0.1%チツ化ソーダを含むTris-HCl緩衝液（pH 7.2）に溶解した0.7%アガロース（Agarose-A 45；半井化学薬品工業K.K.）ゲル平板を用いた。ゲル平板上にゲルパンチャー（オクタロニー用7穴パンチャー、直径2mm、径間5mm；常光産業K.K.）を用いて

穴をあけ、ヘマトクリット管にて、約10 μ lの各種血清を注入し、湿潤箱内で室温24時間以上反応させた後、観察箱上で実体顕微鏡を用いて、沈降線の観察を行った。

2) 電気向流法¹⁵⁾および免疫電気泳動法¹⁶⁾

電気向流法および免疫電気泳動法には、pH 8.6、イオン強度 $\mu=0.025$ のVeronal緩衝液で溶解したアガール・アガロース混合ゲル平板（0.2%Agar Noble；Difco社、0.5%アガロースII；同仁薬化学研究所）を用いた。電気向流法では、ゲル平板上に2列1組の穴を、ゲルパンチャー（ES用パンチャー14穴、直径2mm、径間5mm）を用いて必要な数だけあけ、血清注入後、定電流装置（アイソザイム泳動電源；東洋製作所）を用い、3mA/cmで1時間泳動し、沈降線の有無を観察した。泳動には、pH 8.6、イオン強度 $\mu=0.05$ のVeronal緩衝液を用いた。

免疫電気泳動法では、プール血清を電気向流法と同じゲル平板上で、同じ条件で泳動した後、S.H.血清、抗ヒトトランスフェリン血清、抗ヒト α_2 マクログロブリン血清と反応させ、36時間後に沈降線の観察を行い、プール血清中の抗原の電気移動度を調べた。

3) セファデックス G-200カラムクロマトグラフィー

pH 7.2のリン酸食塩緩衝液（PBS）で平衡化したセファデックス G-200（Pharmacia社）カラム（2.5cm $\times$ 70cm）に、プール血清と、昭和54年11月26日のS.H.血清を、それぞれ添加し、20ml/hrの速度で展開した。フラクションコレクター（FRACTION COLLECTOR, FRAC 300；Pharmacia社）に、3mlずつフラクションし、吸光度を、連動のSingle Path Monitor, UV-1（Pharmacia社）を用いて280nmでモニターした。各フラクションは、電気向流法により、どの分画で沈降反応がみられるかを観察した。すなわち、プール血清の各フラクションは、S.H.血清を陽極側に、各フラクションを陰極側において泳動し、S.H.血清の各フラクションは、各フラクションを陽極側に、プール血清を陰極側において泳動した。

4) ロケット免疫電気泳動法¹⁷⁾によるC9の定量

市販のウサギ免疫抗ヒトC9特異抗血清 (Hoechst 社) を 3% 含む, 1% アガロースゲル (Agarose A-45) を Veronal 緩衝液 (pH 8.6, $\mu=0.025$) に溶解し, 56°C でロケット泳動用ゲル平板を作成した。ゲル平板に直径2mmの穴をあけ, 検体の血清を3倍希釈してマイクロシリンジで10 μ l 注入し, 2mA/cm の定電流で, 4°C, 14時間の泳動を行った。(LKB パワーサプライ, LKB マルチフォー泳動槽, RTE-5 β 恒温槽, LKB 社) 泳動用緩衝液は, 電気向流法と同じ Veronal 緩衝液 (pH 8.6, $\mu=0.05$) を用いた。泳動終了後は, ゲル平板に濾紙を重ねて脱水し, 生理食塩水で洗浄する操作を3回繰り返し, ドライヤーにて乾燥させた後, 蛋白染色液 (クマシーブリリアントブルーR; キンダ化学 K.K. 3.0g: メタノール625ml: 酢酸125ml: 脱イオン水625ml) で5分間染色した。脱色液 (メタノール50%: 酢酸4%: 脱イオン水46%) で十分脱色した後, 穴の中心から沈降線の先端までの距離を測定した。コントロールとしてプール血清を100%とし, 比較定量を行った。

結果

1) 問題となった沈降反応の抗原および抗体の性質

① 電気向流法および免疫電気泳動法による検討

電気向流法では, S.H. 血清を陽極側に, プール血清を陰極側において泳動した時のみ沈降線がみられ, 逆においた場合には沈降線はみられなかった。56°C 30分の加熱処理を行ったプール血清は, S.H. 血清との間に沈降線を作らなくなったが, S.H. 血清は同じく熱処理を行っても, プール血清との間に沈降線を作った。以上の観察から, S.H. 血清中には, プール血清中の易熱性抗原に対する抗体があると考えられた。

免疫電気泳動では, プール血清は α グロブリンの位置に S.H. 血清と沈降線を作ったのでプール血清中の抗原は, α グロブリンの一種と考えられた。

② セファデックス G-200カラムクロマトグラフィーによる検討

G-200によりフラクションされたプール血清の

各フラクションを電気向流法で S.H. 血清と反応させたところ, 第3峰にのみ沈降反応がみられた。このことからプール血清中の抗原は, アルブミンと同程度の分子量をもつと考えられた。また S.H. 血清を G-200 でフラクションした場合は, 第1峰に弱く, 第2峰に強くプール血清との間に沈降反応がみられたので, S.H. 血清中には主として IgG 抗体, 一部 IgM 抗体が含まれていると考えられた。

2) 動物免疫抗血清とプール血清の沈降反応と S.H. 血清による沈降反応の比較

①②の結果から, プール血清中の抗原は, 分子量6~8万の易熱性の α グロブリンであることが知られたので, S.H. 血清とプール血清との作る沈降線と連続する沈降線を形成する動物免疫抗血清を二重免疫拡散法で探したところ, 抗ヒトC9血清が見出された。すなわち, S.H. 血清とプール血清の沈降線は, 抗ヒトC9血清とプール血清の沈降線と完全に融合し, S.H. 血清と抗ヒトC9血清との間には全く沈降反応がみられなかった (図1)。以上の事実から, プール血清中の抗原はC9であり, S.H. 血清中の抗体は, 抗C9抗体であることが同定された。文献上もC9は分子量71,000~76,000の α グロブリンとされており¹⁸⁾¹⁹⁾ 前述の結果と一致していた。

3) 発端者 (S.H.) の家族調査

S.H. の同胞6名のC9量をロケット免疫電気泳

図1 S.H. 血清中の抗C9抗体の同定

1: patient T. Yas.
2: anti-C9 rabbit
3: pooled human serum (PHS)

図2 力価の低い抗体産生者（症例：T. Yas.）

● ■ Homozygous C9 Deficiency
◐ ◑ Heterozygous C9 Deficiency
○ □ Normal Value of C9

図3 輸血を受けたC9欠損症者の家族調査

動法で測定した結果、正常者2名（84%，95%），欠損者2名，正常の1/2以下のもの2名（35%，35%）であった。このことから発端者（S.H.）はC9欠損家系の一員であることが知られた（図3）。

S.H. 同胞の血清補体価は，C9欠損者で低値（16，16）であるが，溶血活性がみられC9量低値のもの（42，56）とC9量が正常のもの（40，66）はいずれも，正常の溶血活性をもっており，両者に差はなかった。

第2部 輸血をうけたC9欠損症者の血清学的追跡

以上の同定作業によって，一人のC9欠損症患者が輸血をうけた後に，抗C9抗体を産生していたことが明らかになった。九大病院患者血清を対象にC9の有無を沈降反応で調べ，発端者以外の輸血をうけたC9欠損症患者を見出し，輸血後の沈降抗体の変化を追跡した。

材料

1) 被験血清

昭和55年12月から，昭和58年7月まで（32月間）に，九大病院検査部に生化学検査のため提出された入院および外来患者血清約35万検体を被験血清とした。実際にC9を調べられた患者数は把握できなかったが，昭和57年4月から昭和58年3月までの1年間の九大病院受診患者総数は52,012名であった。（九大病院医療情報部調べ）

2) 精製C9

C9の精製はBieseckerらの方法¹⁸⁾に準拠して

行った。2lのヘパリン加ヒト血漿に硫酸プロタミンを加えて血清化したものを，原材料とし，ポリエチレングリコール沈殿法（7～20%，PEG 4000，和光純薬工業K.K.）を行い，沈殿を5mM EDTA，2Na（片山化学工業K.K.）入りの25mM Veronal緩衝液（pH 7.0）に溶解した。この液をリジンセファロースカラム（Pharmacia 社）に通してプラスミノーゲンを除いた後，DEAE セファロースカラム（Pharmacia 社）に添加し，食塩濃度勾配法（0.1M～0.4M）によりC9-rich分画を溶出させた。更にこの分画をハイドロキシル・アパタイトカラム（Bio-Rad 社）に添加し，リン酸緩衝液（pH 7.7）濃度勾配法（80mM～400mM）により純度の高いC9分画を得た。得られた分画を濃縮し，セファデックス G-200カラムで再度不純物を降し，精製C9を得た。得られた精製C9は，免疫電気泳動

法で、抗ヒト全血清（Hoechst 社）との間に、1本のみ沈降線を作った。精製 C9 は、抗 C9 血清の作成、C9 欠損症確認のための C9 添加実験、および抗 C9 抗体検出用受身赤血球凝集反応²⁰⁾に用いた。

3) ウサギ免疫抗ヒト C9 血清

精製 C9 と Freund Complete Adjuvant を等量混合して、ウサギを免疫し、頸動脈より脱血し、4℃一晩静置後、遠心して血清を分離した。得られた血清から非特異抗体を除いて、抗ヒト C9 特異抗血清とするため、福岡日赤血液センターから供与をうけた C9 欠損供血者由来の新鮮凍結血漿 100 ml に、25% グルタルアルデヒド（グルタルアルデヒド；平井化学薬品工業 K.K.）を 20 ml 加えてゲル化させ、ホモジナイズ、洗浄、遠心の操作を 10 回繰り返して不溶性抗原²¹⁾を作り、非特異抗体の吸収に用いた。吸収操作を行った後のウサギ血清は、二重免疫拡散法で、プール血清との間に 1 本のみ沈降線を作った。このウサギ血清は血清 8 倍稀釈まで、二重免疫拡散法で、プール血清との間に沈降線を作った。

方法

1) 二重免疫拡散法および電気向流法

C9 欠損症のスクリーニングは、2 倍稀釈抗 C9 血清を、抗血清として、二重免疫拡散法で行った。これにより検出された低 C9 血清は、電気向流法で再度確認を行った。二重免疫拡散法および、電気向流法の条件は、前述の通りである。

2) C9 欠損症の診断基準

二重免疫拡散法および電気向流法を用いて C9 を検出できなかった血清について、以下の①②の条件で、補体価を測定し、C9 欠損症の診断を下した。福岡日赤血液センターより、新鮮な C9 欠損血漿の供与をうけて、昭和 57 年 2 月より更に③の条件での補体価測定を加えた。

① 補体価が低値であるが 0 でないこと。

② 精製 C9 添加により、補体価が正常域まで上昇すること。

③ 既知の C9 欠損血漿と 1 : 1 で混合しても補体価の上昇がみられないこと。

3) 受身赤血球凝集反応²⁰⁾

市販の羊保存血（日本バイオテスト研究所）を

pH 7.2 の PBS 緩衝液で十分洗浄した後、5% 羊血球遊液を作り、2.5% グルタルアルデヒドを 1/5 容加え、グルタルアルデヒド固定血球を作った。PBS で 3 回洗浄した後、再び 5% 浮遊液とし、5 mg/dl 濃度のタンニン酸液（タンニン酸；平井化学薬品工業 K.K.）と等量混合し、37℃ 10 分反応させた後、3 回洗浄してタンニン酸処理羊固定血球を作った。この血球を PBS で 5% 血球浮遊液とし、0.3 mg/ml 濃度の精製 C9 と等量混合し、室温 1 時間反応させた後、3 回洗浄し、ウサギ血清を 2% 加えた PBS で、0.5% 血球浮遊液を作り、抗 C9 抗体検出用受身血球とした。反応には、U 型マイクロタイタープレートを用い、マイクロダイリューターにて、25 μ l の各種血清を倍々に稀釈した後、感作血球を 25 μ l ずつ加え、十分振盪して室温に放置し、翌日、凝集像を判定した。

結果

1) C9 欠損症の頻度の推定

C9 欠損症は、発端者以外に、12 名検出された。いずれも、上記の診断基準とした添加実験で、C9 欠損症であることが、確認された（表 2）。これら 12 名の全てが、患者数を調べることができた昭和 57 年 4 月から、昭和 58 年 3 月までの 1 年間に、少くとも 1 回は、血清を調べられていた。この 1 年間の九大病院受診患者 52,012 名の全員の C9 を検査することができたとすれば、九大病院での C9 欠損症の頻度は、少くとも $12/52,012 = 0.00023$ (0.023%) と推定される。

2) 輸血をうけた C9 欠損症患者における抗 C9 沈降抗体の産生について

12 名の C9 欠損症のうち 3 名が、輸血をうけていた。発端者を含めた 4 名の患者の輸血に用いられた血液成分および単位数と、輸血後の血清中の沈降抗体の推移を表 3 に示した。症例 T. Yas. は 80 歳の男性で、繰り返し輸血をうけ、最初の輸血後 21 日目、および 27 日目の血清で、抗ヒト C9 血清とプール血清の作る沈降線が T. Yas. 血清のそばでプール血清側にわん曲する現象が観察された（図 2）。このことから、T. Yas. 血清中には、力価の低い抗 C9 沈降抗体が、産生されたと考えられた。また、この患者（症例 T. Yas.）は、沈降抗体が産

生されたと思われる時期（最初の輸血後27日目）に輸血をうけているが、発熱、蕁麻疹といった輸血副作用を疑わせる症状は、見られず、沈降線のわん曲も、その後は観察されなかった。この患者（症例 T. Yas.）には、血縁者がいなかったため、家族調査はなし得なかった。

症例 N.M. は55歳の女性で、過去6回の妊娠歴があったが、輸血歴はなかった。症例 T. Yam. は、11歳の男性で、9歳の時に輸血の既往があった。両者（症例 N.M., T. Yam.）ともに、手術時にのみ数単位 of 輸血をうけていたが、輸血後の血清を2カ月以上にわたって追跡したにもかかわらず、沈降抗体を観察することはできなかった（表3）。この両者は一部家族の血清を調べることができたので、遺伝性 C9欠損症であることが確認された（図3）。

3) 受身赤血球凝集反応による抗 C9抗体の検出
グルタルアルデヒド固定タンニン酸処理羊赤血球に、精製 C9を感作した血球を用いた抗 C9抗体の検出は、ウサギ抗ヒト C9血清（Hoechst 社）で²¹と強い凝集価を示したが、二重免疫拡散法で、ほぼ等力価（32倍）であったヒト抗 C9血清（昭和54年12月5日 S.H. 血清）では²⁶と低い凝集価であった。力価の低いヒト抗 C9血清（昭和55年1月31日、4月15日 S.H. 血清；昭和55年9月17日、9月24日 T. Yas. 血清）では²²と非特異凝集との判別が困難であり、抗体の存在を確認できなかった。また沈降抗体を認めなかった時期の T. Yas. 血清、および症例 N.M., T. Yam. の血清、輸血をうけなかった9名の C9欠損症患者血清、プール血清、56℃30分加熱非働化プール血清は、全て²²以下の凝集価であり、各血清に凝集価の差は認められなかった。

考 察

C9欠損症は、他の補体成分欠損症とは異なり、羊感作血球に対する溶血活性（補体価）が0とならず、正常値の1/2ないし1/3の値で測定されるので、補体価測定のみで発見するのは困難である。発端者となった症例 S.H. の場合、抗 C9沈降抗体の存在によって、たまたま、C9欠損症であることが知られた。この場合の抗体産生が、輸血による

免疫反応であることは、輸血と抗体力価の推移との時間的關係からはほぼ確かなことと考えられた。発端者以外の C9欠損患者についても輸血後の経過を観察できるように、沈降反応による C9欠損症スクリーニングを行い、12名の C9欠損症患者を発見した。12名の C9欠損症患者のうち3名が輸血をうけており、発端者を含めて4名の C9欠損症患者の輸血の際の反応および輸血後の血清の追跡を行うことができた。これら輸血をうけた C9欠損症患者の観察から、

1) 短期間に、繰り返し輸血をうけると、抗 C9沈降抗体が産生される（症例 S.H. : T. Yas.）。

2) 過去に妊娠や輸血の既往があっても、ただ一度の輸血のみでは、沈降抗体産生は起りにくい（症例 N.M. : T. Yam.）。

3) 力価の低い沈降抗体の存在下に輸血をうけても、強い副作用は見られない（症例 T. Yas.）。

の3点が知られた。

血漿中には数百種類の高分子蛋白質が含まれており、その一部については、欠損症や、アロタイプの存在が知られている。そのため輸血によって、何種類もの同種抗体の産生が起ることが予期されるが、現在までに、抗体産生が起ることが知られている血漿蛋白質抗原としては、IgA（クラス、サブクラス）²²、IgG（Gm型）²³、 β -リボ蛋白（Ag型）²、およびハプトグロビン⁴、の4種のみで、本報告の C9を加えても、わずか5種にすぎない。

C9欠損症は、福岡日赤血液センターの報告²⁴によれば、約3,000人に1人（0.035%）と遺伝性血漿蛋白質欠損症としては、高頻度であり、その後、大阪日赤血液センターによりなされた調査²⁵では、さらに高頻度（0.063%）となっており、日本人全体では、数万人に達すると推定される。今日まで、C9欠損症での輸血副作用の報告が、なされていないのは、意識して調査されなかったことはもちろんであるが、頻回に輸血をうけなければ、抗体が産生されないこと、および力価の低い抗体存在下に輸血をうけても、強い副作用がみられないという今回の経験から理解される。しかしながら、発端者（症例 S.H.）のように力価の高い沈降抗体が存在する場合に、C9を含む、新鮮な血漿成

分を大量に輸注すればどのような反応が起きるのか、今回の調査では明らかにすることができなかった。このような場合には原則として輸血を避けるべきであろう。もし輸血を避けられないのであれば、血漿を除去した洗浄赤血球と、C9が除去、不活化されている加熱ヒトアルブミンで、対処すべきであろう。また、開心術や血液疾患のように、血小板・顆粒球等の新鮮な血漿を多量に含む製剤が、頻回に必要な場合には、洗浄によって血漿を除去することも便法ではあるが、C9欠損の供血者を探すが望まれよう。

今回の発端者（症例 S.H.）の発見を基として、福岡日赤血液センターでは、供血者の C9 の調査がなされ、現在までに約 150 名の C9 欠損供血者が登録されている。

C9 欠損症の輸血後に産生される抗体を、早期に検出できるように、受身赤血球凝集反応を試みたが、予期した成績が得られなかった。おそらく、ヒト抗体と、動物免疫抗体とでは、C9 分子上の抗原認識部位が異っており、羊赤血球に感作された C9 分子は、ヒト抗体の抗原認識部位を、表現し難い状態になっているのであろう。

今回の調査では、九大病院患者における C9 欠損症の頻度は、少くとも 0.023% と推定され、福岡地区の供血者中の頻度 (0.035%) と、統計学的な有意差はなかった。

総 括

1) ヒト血清どうしにみられた未知の沈降反応が、輸血をうけた C9 欠損症患者に産生された、抗 C9 抗体によるものであることを同定し得た。

2) 九大病院受診患者、約 52,000 名を対象に C9 欠損症のスクリーニングを行い、12 名の C9 欠損症患者を発見した。C9 欠損症の頻度は、少くとも 0.023% と推定された。

3) 4 名の輸血をうけた C9 欠損症患者の経過を観察し、以下のことを明らかにした。

① C9 欠損症に頻回輸血を行うと、抗 C9 沈降抗体が産生される。

② 妊娠や輸血の既往があっても、少い回数の輸血では、抗 C9 沈降抗体は産生され難い。

③ 力価の低い沈降抗体の存在下に、輸血をして

も、強い副作用症状はみられない。

4) 以上の観察から、C9 欠損症に対する輸血に、大きな危険はないと判断された。しかし、力価の高い沈降抗体の存在下に、C9 を含む血漿成分を大量に輸注した時、どのような反応が見られるのか未知である。

謝辞 稿を終るにあたり、本論文の御指導、御校閲を賜った恩師大河内一雄教授に感謝いたします。

本研究は一部、昭和 56 年度文部省科学研究費補助金、課題番号 56771126 の補助をうけた。

C9 欠損供血者血漿を、快く供与して下さった福岡県赤十字血液センターの吉成意之所長、前田義章副所長、深田謙二係長、補体価の測定をしていただいた九大病院検査部の森田耕作技師長、江藤ふじ子技官、および患者統計に協力いただいた九大病院医療情報部の野瀬善明部長、山岸和子技官の各氏に、心から感謝いたします。

なお、本論文の一部は、第 28 回（仙台）および第 30 回（東京）日本輸血学会総会で発表した。

文 献

- 1) Allison, A.C. and Blumberg, B.S.: An isoprecipitation reaction distinguishing human serum-protein types. *Lancet*, i: 634—637, 1961.
- 2) Okochi, K.: Serum lipoprotein allotypes Ag(X) and Ag(Y) in Japanese. *Vox Sang.*, 13: 319—326, 1967.
- 3) Leikola, J., Fudenberg, H.H., Kasukawa, R. and Milgrom, F.: A new genetic polymorphism of human serum α 2-macroglobulin (AL-M). *Amer. J. Hum. Genet.*, 24: 134—144, 1972.
- 4) 加藤俊明, 高島国晴, 黒田 誠, 金子園明, 浜中栄一: 抗ハプトグロビン抗体が原因と思われる輸血副作用の 1 症例. *日輸血会誌*, 29: 221—222, 1983.
- 5) 伊藤圭一, 藤村邦子, 松尾美千栄, 川島章代, 古川ミチヨ, 吉川啓子, 倉本信代, 大河内一雄, 今井光信: HBe 抗原陽性血清間に見られた沈降線の分析—HBs 抗原粒子上の変性アルブミンレセプターに対する抗体の存在について—. *日輸血会誌*, 28: 237—241, 1982.
- 6) Cossart, Y.E., Field, A.M., Cant, B. and Wildows, D.: Parvovirus-like particles in human sera. *Lancet*, i: 72—73, 1975.
- 7) Prete, S.D., Costantino, D. and Doglia, M.: Different Australia antigen determinants in acute viral hepatitis. *Lancet*, ii: 292—294, 1970.
- 8) 藤松順一, 岸恵美子, 北村豊宏, 滝本義一, 守本富昭, 古田精市, 小松敬直, 清沢研道, 赤羽賢浩, 小田正幸, 眞弓 忠: 肝疾患に関連した新しい抗

- 原について. 肝臓, 68: 484, 1976.
- 9) 稲葉頌一大河内一雄: 博多抗原, 内科, 49: 752—753, 1982.
- 10) 大河内一雄, 稲葉頌一: C9 欠損者の輸血後にみられた抗 C9 抗体. 日輸血会誌, 27: 446—447, 1981.
- 11) Inai, S., Kitamura, H., Hiramatsu, S. and Nagai, K.: Deficiency of the ninth component of complement in man. *J. Clin. Lab. Immunol.*, 2: 85—87, 1979.
- 12) Lint, T.F., Zeitz, H.J. and Gewurz, H.: Inherited deficiency of the ninth component of complement in man. *J. Immunol.*, 125: 2252—2257, 1980.
- 13) 行山 康, 藤原忠雄, 谷本潔昭, 広瀬俊一, 堀内淑彦: 遺伝性補体第9成分欠損症. 第17回補体シンポジウム抄録集, 122—124, 1980.
- 14) Ouchterlony, Ö.: In vitro method for testing the toxin-producing capacity of diphtheria. *Acta Path. Microbiol. Scandinav.*, 25: 186—191, 1948.
- 15) Bussard, A. and Heut, J.: Description d'une technique combinant simultanément l'électrophorèse et la précipitation immunologique dans un gel. *Biochem. Biophys. Acta*, 34: 258—260, 1959.
- 16) Grabar, P. and Williams, C.A.: Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques. et immunochimiques d'un mélange de protéines. Application au sérum sanguin, *Biochem. Biophys. Acta*, 10: 193—194, 1953.
- 17) Laurell, C.B.: Antigen-antibody crossed electrophoresis. *Anal. Biochem.*, 10: 358—362, 1965.
- 18) Biesecker, G., Muller-Eberhard, H.J.: The ninth component of human complement: Purification and physicochemical characterization. *J. Immunol.*, 124: 1291—1296, 1980.
- 19) Putnam, F.W.: *The Plasma Proteins*, Academic Press, New York, 1975.
- 20) Juji, T. and Yokochi, T.: Hemagglutination technique with erythrocyte coated with specific antibody for detection of Australia antigen. *Jap. Exp. Med.*, 39: 615—620, 1969.
- 21) Avrameas, S. and Ternynck, T.: The cross-linking of proteins with glutaraldehyde and its use for the preparation of immuneadsorbents. *Immunochemistry*, 6: 53—63, 1969.
- 22) Vyas, G.N., Perkins, H.A. and Fudenberg, H. H.: Anaphyroid transfusion reactions associated with anti-IgA. *Lancet*, ii: 312—315, 1968.
- 23) Vierucci, A., Blumberg, B.S., Dettori, M., Borgatti, L. and Lenene, C.: Isoantibodies to inherited types of β -lipoprotein (Ag) and immunoglobulins (Gm and Inv). *J. Pediatr.*, 72: 776—789, 1968.
- 24) 木下幸子, 深田謙二, 前田義章, 稲葉頌一, 大河内一雄: 補体第9成分 (C9) 欠損者のスクリーニングについて. 日輸血会誌, 28: 317—319, 1982.
- 25) 吉村敬次, 南川 正, 大軒子郎, 大久保康人, 山口英夫, 田中正好, 赤垣洋二, 稲井眞弥: 献血者における補体第9成分欠損者のスクリーニングについて. 第19回補体シンポジウム抄録集, 15—17, 1982.