輸血の副作用から発見された稀な Rh 式 血液型-D-($\bar{R}^0$) の家系について

広島血液銀行

土 谷 太 郎 蔵 田 元 二

東京医科歯科大学

横 山 三 男*

松山中央病院

高 橋 進

A FURTHER FAMILY OF $\bar{R}^0$ (-D-) DISCOVERED BY TRANSFUSION REACTION

By

Taro TSUCHIYA and Motozi KURATA

(Division of Research and Development, Hiroshima Blood Bank)

Mitsuo YOKOYAMA

(Tokyo Medical and Dental University School of Medicine)

Susumu TAKAHASHI

(Matsuyama Central Hospital)

Abstract

Various examples of the $\bar{R}^0\bar{R}^0$ (-D-/-D-) genotype have been found in England, U.S.A., Japan and Puerto Rico.

The present paper reports studies of an additional family.

Characteristics of these bloods as established by previous studies were also seen in our cases, and it seems to reveal a complex array of Rh antibodies.

はしがき：

一般には一つの民族、遺伝学的には一つの集団のなかで新しい血液型が発見されると、それは直ちに人類学の立場や遺伝学の領域から興味ある材料となってくる。しかし、既知の血液型系のなか

で極めて稀な血液型が発見された場合には、むしろその発生起原について説明にかなりのおもしろさがともなってくる。

さらに最近に至つては、血液型物質の化学を中心に酵素化学が血液型物質の構成にあずかる化学的成分の解明に導入されるようになり、血液型は遺伝学とともに酵素の活性とその特異性を利用してその化学的本質について研究を展開するというきざしがあらわれてきた。

さて Rh 式血液型では年ごとにいくつかの亜型が発見されており、かなり複雑な様相を示めしてきた。それとともに染色体上の Rh 遺伝子の配列については満足な結論にまで至らずに低迷している現状である。この中にあつて、Rh 式血液型の

* 現在：Laboratory of Neurochemistry, National Institute of Neurological Diseases and Blindness, National Institutes of Health, U.S.A.

稀なものの一つとして—D—($\bar{R}^0$)型が1950年, Race, Sanger and Selwyn¹⁾²⁾ によつて発見された。この赤血球は, 1)Rh 式血液型の主な因子である rh' (C), rh'' (E), hr' (c) および hr'' (e) を欠如しており, 2)抗 Rh_0 (D) 血清に対して一般の Rh_0 (D) 型をもつ血球よりかなり強く反応する, (3)抗 Rh_0 (D) 抗体をより強く吸収する, 4)不完全 Rh_0 (D) 抗体を用いても, 食塩水中に浮遊させた Rh_0 (D) 血球が凝集されるという特性をもっていることが明かにされている。

その後, —D—($\bar{R}^0$) 型血球はアメリカ³⁾ で一家系, カナダで⁴⁾⁵⁾⁶⁾ 二家系発見されたが, わが国⁷⁾⁸⁾⁹⁾ ではすでに三家系が発見されており, ここに報告する家系は世界で第8番目, わが国では第4番目の家系としてランクされることになろう。

発見のいとぐち:

1960年3月, 松山中央病院で子宮癌の診断のもとで, 患者(I.Y. 家婦, 53才)の子宮および卵巣の摘出を行つた。患者がB型であつたので, そのときB型保存血1000ccを輸血したが別に異常を認めなかつた。しかし, 4月になつて貧血がひどかつたのでB型保存血200ccを再び輸血したところ患者は急激に重症な輸血副作用を起した。松山中央病院の検査科は直ちに患者の血液を広島血液銀行の免疫血液学研究室へ送り血清学的な検査を依頼した。

広島血液銀行では, 検査用のパネルセルを用い患者血清について検査するかたわら, 患者の血球についても血液型についてくわしく検査を行つた。ところが, 患者血清がすべてのB型およびO型パネルセルを凝集するほか, 任意にあつめた200名のB型およびO型供血者血球のすべてを凝集した。他方, 患者の血球はB型であることは確認されたが, この血球が抗 Rh_0 (D) 血清と反応する以外, 抗 rh^w (Cw), 抗 rh' (C), 抗 hr' (c), 抗 hr'' (E) および抗 hr'' (e) 血清とはいずれも全く反応を示さなかつた。

広島血液銀行では, この血液が今までに経験したことの無い異常な反応を示す血液であつたの

で, 検査成績を再確認するため, さらに500名のB型およびO型供血者血球を用いて患者血清についての凝集反応を検査するほか, アメリカの血液型抗血清製造所5社よりそれぞれ抗Rh血清を入手して患者の血球について検査した。しかし, いずれも初めの結果を確認する同一な成績を示した。幸いにABCCより入手したアメリカ人2名の Rh_0 (D) 陰性血球も検査に用いられたがいずれも患者血清によつて強く凝集された。

そこで, 患者の血液はアメリカ国立予防衛生研究所へ送られ, 患者の血球と血清について詳細な検査が行われ—D—($\bar{R}^0$) 血液型であることが暗示されてきた。広島血液銀行は同時にイギリス輸血研究所の Dr. Ivor Dunsford へも送り同定を依頼したところ, アメリカとイギリスの検査は全く一致した。

以来, 約1年有余にわたつて家系調査ならびに血清学的な検査を重ね今日, ほぼ結論に達したのでここに報告することにした。

実験材料並びに実験方法:

1) 患者ならびに家系調査によつて採血し得た血液は5ccずつを $\frac{1}{4}$ 量のACD溶液に入れてよく混合し, 血球についての血液型の検査に用いた。また, 10ccずつの血液は試験管に入れ, 室温に1時間おいて凝固させ, 血餅を試験管壁から剝離し, 5°Cに一夜放置してから血清を分離した。確認試験のため外国へ送る血液は, 血液を等量のAlsever 溶液¹⁰⁾¹¹⁾ に入れ, 血清には窒化ソーダを入れて空送した。

2) 抗Aおよび抗B血清は広島血液銀行製造のものを使用した。抗 rh' (C), 抗 hr' (c), 抗 Rh_0 (D), 抗 rh'' (E) および抗 hr'' (e) 血清は, それぞれ Ortho 社製, Knickerbocker 社製, Hyland 社製, Boston Blood Grouping 研究所製および Wadley Blood Bank 製を用いた。ことに Ortho より入手した各Rh血清はいずれも完全抗体(食塩水法用)のみを含むものを使用した。その他の抗Rh血清はすべて不完全抗体(アルブミン法用)であつた。

3) ABOならびにRh 式血液型の判定法およ

第2表 1. 血球の抗 Rho (D) 完全抗体に対する被凝集価 (食塩水法)

血 球	1 ×	2 ×	4 ×	8 ×	16 ×	32 ×	64 ×	128 ×	256 ×	512 ×	凝集計数
-D-/-D-	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	—	66
CDe/-D-	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+ ^w	W	—	54
CDe/cDE	≡	≡	≡	+	+	+ ^w	—	—	—	—	37
CDe/CD _e	≡	≡	≡	+	+	+ ^w	—	—	—	—	37

2. 血球の抗 Rho (D) 不完全抗体に対する被凝集価 (アルブミン法)

血 球	1 ×	2 ×	4 ×	8 ×	16 ×	32 ×	64 ×	128 ×	256 ×	512 ×	凝集計数
-D-/-D-	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	+ ^w	—	65
CDe/-D-	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	w	—	63
CDe/cDE	≡	≡	≡	≡	+	+	—	—	—	—	44
CDe/CD _e	≡	≡	≡	≡	+ ^w	w	—	—	—	—	39

(表 2) ことに凝集計数 (titration score) によると明かな差となった。

抗 Rh₀ (D) 血清について抗血清が食塩水中に浮遊させた Rh₀ (D) 血球とは反応しないが、アルブミン法、トリプシン酵素法および間接クームス法では Rh₀ (D) 血球とよく反応することを確認してから、この不完全抗体のみを含む血清にホモ -D-/-D- 型およびヘテロ CDe/-D- 型血球の食塩水浮遊液を加えて反応をみたところ、CDe/cDE 型および CDe/CD_e 型血球の食塩水浮遊液は全く反応しなかったのに反して -D- 型のホモおよびヘテロの血球はいずれも強く凝集反応をしめた。

患者血清については、各型の血球を用い各種の検査方法によって抗体価を測定したところ、血球の Rh 式血液型の相異によって抗体価に有意の差を示さなかった。ただし使用した血球が hr' (c) のホモ型および rh'' (E) のホモ型のいずれもがやゝ高い価を示した。患者血清中の抗体は食塩水法で 37℃では 1 : 256, 18℃では 1 : 64を示し、アルブミン法では 37℃で 1 : 512, トリプシン法で 1 : 2048, 間接クームス法で 1 : 1024をしめた。

患者の血球が欠如している抗原が rh' (C), hr' (c), rh'' (E) および hr'' (e) であつたので、患者血清中にはそれらに対応する抗体のうちのいくつか、または、それらすべての抗体、すなわち抗 rh' (C), 抗 hr' (c), 抗 rh'' (E) およ

び抗 hr'' (e) が含まれていると予測されたので、各種の Rh 式血液型の血球を選択して吸収および解離試験を行い抗体の分離解析を試みた。しかし結果は期待したように clear-cut な抗体分離に成功しなかつた。抗体分離の試みは、表 3 および表 4 に示すとおりである。

表 3 抗体の吸収と解離試験の試み (その 1)

イギリス輸血研究所における検査によつて患者血清中には抗 D をのぞく Rh 抗体の他には不規則抗体は含まれていないことがわかつた。除外された抗体はたぐみに各型血球を用いて抗体を吸収した上清に対して用いたパネルセルが反応しないことによつて決定されるが、M, N, S, s, P,

表4 抗体の吸収と解離試験の試み（その2）

Le^a, Le^b, K^a, K^b, Kp^a, Kp^b, Lu^a, Lu^b, Fy^a, Fy^b, JK^a, I, Vel, U, いずれの抗体も認められなかった。

考 察：

Rh 式血液型の発見者の1人である Wiener は Rh 因子の遺伝方式に関して“複数対立遺伝子説”を唱えている。この説はおゝかたの人々の反対にもかかわらず、今日にいたるまでいわば孤立した形で Wiener によって固守されてきている。しかし反対はむしろ遺伝子説というより Wiener 独特の Rh 命名法にかなりと向けられているむきがある。他方、イギリスの Lister 研究所の一角で Taylor の組織化した血液型研究を継承した Race and Sanger は Rh 式血液型に関する大成への道を求め歩いた。そして、数理統計学の大御所 Fisher との討議から Rh の遺伝方式を“連関説”で切り開いた。

以来、二つの説はおゝよそこ20年間にわたって争いつづけられてきているが未だに軍配を決するまでにはなんらの事実も求められてはいない。そして依然として R-r 方式と CDE-cde 方式の二つの命名法がするどく対立している現状である。

加うるに、Rh 式血液型に関する血清学的手技と遺伝学的な考察が進歩するにおよび、今日までにかなりの数の Rh 因子が発見され、一般の人々

にはすべての因子について細かに記憶するということがむずかしくさえなつてきた。この Rh 式血液型の中で、極めて稀な型の一つとして今日われわれが発見した -D- (Wiener のいう $\bar{R}^0$) がある。すなわち、血球にあるべきはずの rh' (C), hr' (c), rh'' (E) および hr'' (e) といういずれも Rh 式血液型の基本的な因子とされている抗原が Rh₀ (D) 因子を除いては欠除しているというのである。初めてこの血球を発見した Race らは染色体の“削除” (deletion) という言葉で説明した。

さらに、最近になつて Race & Sanger¹⁴⁾ は $\bar{R}^0$ (-D-) 遺伝子をもつ家系調査によつて、それらの家系がいずれも近親結婚であることから“modifier gene”による作用であることを強調している。すなわち遺伝子それ自体がすでに修飾されたものであるか、遺伝子の作用が赤血球でその特異的抗原としての作用をあらわす過程においてなんらかの修飾が加えられたものであろうと推論している。

これらに対して1961年後半横山¹⁵⁾は、DNA が遺伝子としての活性および遺伝に関する最小単位としての化学的構成成分であることが明かとなつたこと、および Benzer¹⁶⁾ が T₄ バクテリオファージの研究から考え出した“cistron”の sub-element (最小単位) としての“muton”の存在を提唱したことの二つを組合せて、 $\bar{R}^0$ (-D-) 遺伝学的起源について一つの考え方を発表した。

すなわち、染色体上の Rh 遺伝子の座は単一の cistron によつて成り (Wiener 説への近寄り)、その cistron の中でいくつかの“muton” (Race 説への近寄り) に mutation が起つたために $\bar{R}^0$ (-D-) という変型があらわれるだろうという仮説を立てた。もしこの cistron-muton 説が認められるとするならば Wiener や Race の説に対する中間型として両者を全うするものとなるであろう。

ともあれ、血清学的な反応や遺伝学的な仮定からのみで $\bar{R}^0$ (-D-) の起源はたやすくは解決され

そうにもない。ここに血液型抗原についての微細な化学的研究が必要となってくるわけである。

また、たとえば酵素の作用が特異的に一定の抗原の削除に遺伝学的な背景をもつて関与するということはあるまいか。最近の横山ら²¹⁾の酵素を中心とした血液型物質への解明の研究はそれらになんらかの役割を果していることを暗示している。また、Levine ら¹⁷⁾の Rh₀(D)陰性の血球の加熱材料が抗D様抗体をモルモットで産生するという研究から考えられるように、C,c,E およびe抗原が潜在性のものでD抗原のみの凝集原が血清学的に現われたものとも見られそうである。このような推測から血球にある各種血液型因子の特異性の支配にあずかる化学構造と抗原の活性についての研究が問題になってくるのであろう。

今回、われわれが発見した $\bar{R}^0$ (-D-) 家系も Race らの想像に一致して近親結婚であることが明かとなった。そしてこの家系は、さきに我が国で報告されている他の三家系とは全く近親関係はなかつた。

患者の血清中の抗体は、 $\bar{R}^0$ (-D-) 血球以外のすべての血球を凝集した。このことから血清中には $\bar{R}^0$ 血球が欠除して抗原に対するすべての抗体、すなわち抗 rh'(C)、抗 rh'(E)、抗 ar'(c) および抗 hr''(e) 抗体が含まれていることが想定された。しかし、Rh₀ 式血液型の各型血球を用いた吸収および解離試験による抗体の特異性の分離には Hackel¹⁸⁾ がみごとな成績を報告したようには成功しなかつた。ことに、cde/cde 血球で吸収した感作血球から解離した抗体が rh''(E) 抗原と反応するという結果が、われわれをもつとも混迷させた。同じような成績はさきに報告された横山らの症例においても見られるし、国行¹⁹⁾の注意深い検査においても、これと同じような混乱が認められている。これに関して、われわれは Wiener²⁰⁾ がのべたように $\bar{R}^0$ (-D-) の血清中には多形性の反応系をもつ Rh 抗体すなわち抗 Hr (CcEe) があるのかも知れない。この抗体はそれぞれの抗原と反応する特異性はあらかずが、血清学的にはそれらを分離できないというものであ

ろう。しかし、最近横山ら²¹⁾はセルローズカラムクロマトグラフィーによつて -D- 血清中のいわゆる抗 Hr⁰ 抗体の分離という試みで免疫化学的に興味深い結果を得ており、この問題は血液型の抗原の化学とともに抗体の特異性、抗体の多形性、抗体の蛋白質化学からみた性状からなんらかの暗示をあたえるものとして発展しそうである。さらに hr''(e) 血球から抗 rh''(E) 抗体が解離されたという矛盾は Shapiro²²⁾ が最近報告したように、抗 Hr⁰ 抗体は rh''(E) とも rh''(e) とも反応するが、rh''(E) に対する反応が rh''(e) に対する反応よりかなり強いという特性をもつもので、もしかすると R⁰ (-D-) 血清中には抗 Hr⁰ 抗体が含まれていたのかも知れない。

この家系には2人の -D-/-D- 型と5人の CDe /-D- 型が発見され、-D-/-D- の抗体は流産や新生児溶血性疾患と関係があつたようである。われわれが世界で第8番目、日本で第4番目の家系としてこの論文を作製中、またしてもこの $\bar{R}^0$ (-D-) の家系がこんどは Puerto Rico²³⁾ で発見された。

結 論：

- 1) $\bar{R}^0$ (-D-) に関する新しい家系を発見した。
- 2) $\bar{R}^0$ (-D-) 血清中の抗体は多形性のようで特異性を示す各抗体の分離が困難であつた。
- 3) 遺伝学的に $\bar{R}^0$ (-D-) の起源についてのべた。

追 加：

全面的に御協力いただいた Dr. Ivor Dunsford, National Blood Transfusion Service, Sheffield, England. に感謝いたします。

文 献

- 1) Race, R.R., Sanger, R. & Selwyn, J.G.: A probable deletion in a human Rh chromosome. *Nature*, 166: 520, 1950.
- 2) Race, R.R., Sanger, R. & Selwyn, J.G.: A possible deletion in a human Rh chromosome. A serological and genetical study. *Brit. J. Exp. Path.*, 32: 124, 1951.

- 3) Waller, R.K., Sanger, R. & Bobbitt, O.B.: Two examples of the -D/-D-genotype in an American family. *Brit. Med. J.* i: 198, 1953.
 - 4) Buchanan, D.I. & McIntyre, J.: The descendants and contemporaries of Louis L' Iroquois. *Proc. V Int. Cong. Blood Transfusion.* Paris, 1955, p. 133.
 - 5) Buchanan, D.I. and McIntyre, J.: Consanguinity and two rare matings. *Brit. J. Haemat.*, 1: 304, 1955.
 - 6) Buchanan, D.I.: Blood genotypes -D/-D-and CDe/-D-. Transfusion therapy and some effects of multiple pregnancy. *Amer. J. Clin. Path.*, 26: 21, 1956.
 - 7) Yokoyama, M. & Furuhashi, T.: On the discovery of rare Rh genotype. *Proc. Jap. Acad.*, 33: 233, 1957.
 - 8) 国行昌頼: 日本法医学雑誌, 12: 275, 1958.
 - 9) Ose, T. & Bush, O.B.: Program 8th Cong. Int. Soc. Blood Transf., Tokyo, 1960.
 - 10) Cahan, A.: Fluid for shipping whole blood specimens. *J. Amer. Med. Assoc.* 158: 971, 1955.
 - 11) Cahan, A.: A transporting fluid for blood specimens. *Lancet.* ii: 145, 1955.
 - 12) 厚生省編: 生物学的製剤基準, p. 143, 1961.
 - 13) American Association of Blood Banks: Technical Methods and Procedures. p. 63, 1960.
 - 14) Race, R.R. & Sanger, R.: Consanguinity and certain rare blood groups. *Vox Sang.* 5: 383, 1960.
 - 15) Yokoyama, M., Solomon, J.M., Kuniyuki, M. and Stroup, M.: R (-D-) in two Japanese families with a note on its genetic interpretation. 1: 273, 1961.
 - 16) Benzer, S.: The Elementary Units of Heredity. The Chemical Basis of Heredity, The Johns Hopkins University Press. 1957.
 - 17) Levine, P., Celano, M., Fenichel, R. & Singer, H.: A "D"-like antigen in rhesus red blood cells and in Rh-positive & Rh-negative red cells. *Science.* 133: 332, 1961.
 - 18) Hackel, E.: Rh antibodies in the serum of two -D- people. *Vox Sang.* 2: 331, 1957.
 - 19) 国行昌頼: 私信.
 - 20) Wiener, A.S., Unger, L.J. & Sacks, M. S.: Rh-Hr blood types-present status. *J. A.M.A.* 172: 1158, 1960.
 - 21) 横山三男: Nature, 印刷中.
 - 22) Shapiro, M.: Serology and genetics of a new blood factor, hr^s. *J. Forensic Med. (So. Africa)* 7: 96, 1960.
 - 23) de Torregrosa, M.V., Rullan, M.M., Cecile, C., Sabater, A. & Alberto, C.: Severe erythroblastosis in a primigravida associated with absence of Rh chromosomes. *Am. J. Obst. & Gynec.* 82 (6): 1375, 1961.
-