Feijao chumbinho の植物性凝集素を用いたウシの Fc 式赤血球型出現頻度相見和宏*¹⁾ 本好茂一*¹⁾ 池本卯典*²⁾

(昭和 63 年 6 月 24 日受理)

Classification of Cattle Red Cell Blood Group Antigens with
Feijao chumbinho Lectin
 KAZUHIRO AIMI, SHIGEKATSU MOTOYOSHI (Department of Veterinary
 medicine, Nippon Veterinary and Zootechnical College, Musashino,
 Tokyo 180) and SHIGENORI IKEMOTO

SUMMARY

The agglutinin having affinity for cattle red cells was found in *Feijao chumbinho* lectin. The red cells agglutinated by this lectin were Fc type and those not agglutinated were fc type. The phenotype frequencies of the Fc type were estimated to be 41.75% for Japanese Black cattle and 35.71% for Japanese Brown cattle. The genetic study on the Fc system proved that the inheritance of this system was controlled by a dominant allele at an autosomal locus. The gene frequencies of Fc were 0.237 for Black cattle and 0.197 for Brown cattle. These results provide useful information for the research of individual differences and population genetics.

要 約

Feijao chumbinho の抽出液から抽出した Fc 凝集素によって凝集される Fc 抗原の表現型の出現頻度は、黒毛和種は 41.75%、褐毛和種は 35.71% であった。なお、それぞれの遺伝子頻度は、黒毛和種の Fc は 0.237、褐毛和種の Fc は 0.198 であった。

遺伝学的調査においては、Fc 型と fc 型の組み合わせからは、Fc 型と fc 型が生まれ、fc 型と fc 型の組み合わせからは、fc 型のみが生まれ、Fc 型は生まれなかった。したがって、Fc 遺伝子は優性遺伝形質と推定された。

DUJARRIC ら¹⁾はウシ赤血球に *Phaseolus vulgaris* (ゴガツササゲ) の種子抽出液によって凝集されるものと、凝集されないものがあり、これによって 2 群に分類が可能であると、凝集された赤血球の被凝集素価は 1~128 倍に分散すると報告している。

DATTA²⁾ は、20 頭のウシ赤血球について、215 種の豆科種子抽出液を用いて凝集反応を実施し、凝集素活性を有する 31 種を見出した。

HINES³⁾ は、DATTA の見出した凝集素活性を示す凝集素のうちの 10 種について、アンガス、シャロレー、ガンジー、ホルスタイン、ショートホーンなど 1,727 頭のウシ赤血球を用い凝集反応を試み、赤血球の保存期間に比例して被凝集価は高くなるので、採血後はなるべく早く血球型を検査するよう提唱している。

また、*Sophora japonica* (エンジュ)、*Wistaria floribunda* (ノダフジ)、*Robinia pseudacasia* (ハリエンジュ)、*Vicia dasycarpa*、*Vicia villosa*、*Phaseolus coccineus* (ベニバナインゲン)、*Phaseolus vulgaris* (ゴガツササゲ) など 7 種の種子抽出液を用いて、アンガス、ガンジー、ホルスタイン種の赤血球は陽性型と陰性型とに分類され、*Sophora japonica* を除いた 6 種の種子は免疫抗体を用いて検出される V 抗原と相関があると報告している。

日本においては、IKEMOTO ら⁴⁾ および渡辺ら⁵⁾ はブラジル産の *Feijao chumbinho* (フランスインゲン) 種子抽出液を用いて、黒毛和種および褐毛和種の赤血球との凝集反応を行い、凝集される血球と、凝集されない血球とに分類し、植物の学名、*Feijao chumbinho* に由来する Fc システムと命名し、陽性 (Fc) 型の被凝集価は黒毛和種においては 2~64 (平均 21.8±3.16) 倍、褐毛和種では 4~64 (平均 21.0±2.35) 倍であったと報告している。

凝集素の同定試験としてウシの既知血液型、A, B, C, F-V, J, L, SU, Z, R-S および N-F の計 10 システムの

*1) 日本獣医畜産大学獣医畜産学部 (東京都武蔵野市境南町1-7-1)

*2) 自治医科大学医学部 (栃木県河内郡南河内町薬師寺3-311)

溶血素により分類した血液型と、Fc 凝集素による凝集反応を比較対照し、共通と思われる血液型抗原は検出されず、新しい血液型抗原と推定している。

前述のように、ウシ赤血球膜の Fc 抗原は、IKEMOTO⁴⁾、渡辺⁵⁾によって、Fc 式血液型として報告され、その表現型および遺伝子頻度は検出されているが、調査例数はいずれも少ない。そこで、著者らは約 10 年間にわたり検討を続け、表現型および遺伝子頻度の検出を行った。

1. 実験材料および方法

1) *Feijao chumbinho* (*Phaseolus vulgaris* L.)

Feijao chumbinho の種子は、ブラジル・サンパウロ大学の OTTENSÖSER 教授より分与されたものを用いた。

2) ウシ血球

黒毛和種(1, 200 頭)、褐毛和種(42 頭)および Holstein 種(200 頭)の血球は主として東京都品川屠殺場、栃木県宇都宮屠殺場の屠殺牛より採血したもので、0.85%生理的食塩液で 3 回洗浄した後、2% 血球浮遊液として使用した。

なお、遺伝子の調査には福島県、茨城県などの牧場に飼育されている繁殖牛から採血して、前記同様に処理し検査した。

3) Fc 凝集素の粗抽出法

Feijao chumbinho の種子 1g につき、0.15 M phosphate buffered saline 10ml を加え、37℃ に 6 時間放置した後、乳鉢でよくすりつぶし、3,000 rpm で 20 分間遠沈後、さらに 6,000 rpm で 30 分間遠沈し、その上清液を Fc 凝集素として使用した。

4) 和合力の測定

Fc 凝集素 1 滴と 2% ウシ血球浮遊液 1 滴をホールグラス上に滴下し、ガラス棒を用いて速やかに攪拌を始めたと同時に、秒時計により凝集の発現する (+1) 時間を各 3 回宛測定し、和合力の平均値を求めた。

5) 被凝集活性および凝集素価の判定

被凝集活性の検査はホールグラスに Fc 凝集素と 2% ウシ血球 1 滴をそれぞれ滴下し、室温に 15 分間置いたのち、肉眼的にその凝集像を観察した。凝集の強さによって、4(卅)、3(卅)、2(卅)、1(+) に分類し、凝集しない血球は 0(-) とした。

凝集素価の判定は、Fc 凝集素をホールグラスに 1 滴取り、生理的食塩液で倍数希釈し、2% 赤血球浮遊液を加え、室温で 15 分後肉眼的に凝集の有無を判定し最終凝集価をもって凝集素価とした。

6) 血液型の判定

ホールグラスに Fc 凝集素(粗抽出液)を 1 滴宛滴下し、それに、2% ウシ赤血球浮遊液を加え、室温で湿潤箱に約 30 分間置いたのち、ホールグラスを静かに揺り

動かし、凝集の認められる血球を Fc 型、凝集の認められない血球を fc 型と分類した。

7) 遺伝学的調査

51 家系について種雄牛および母牛、子牛の赤血球を採取し、前記のように処理して 2% 血球浮遊液を作製し、それぞれ血球型を検査して、Fc 抗原の遺伝について調査した。遺伝子頻度の推定は、1 対の対立遺伝子 Fc と fc を考え、Fc は fc に対して優性であるとすれば、集団中に含まれる表現型 Fc か fc のいずれかで、Fc には Fc・Fc と Fc・fc の遺伝子型が考えられる。しかし、fc に含まれるものは劣性ホモ接合体の fc・fc だけである。したがって、Fc と fc の遺伝子頻度を p, q とすれば、Herd-Weinberg の法則によって、表現型 Fc の頻度は $p^2 + 2pq$ 、表現型 fc の頻度は q^2 となり、これから fc の遺伝子頻度 $q = \sqrt{q^2} = \sqrt{a}$ 頻度となり、Fc の遺伝子頻度 $p = 1 - q$ として求めた。

2. 実験結果

1) 凝集反応像は非凝集像と確実に区別できた。ウシ赤血球の被凝集活性はウシの個体によって若干の差があり、強く凝集される血球〔4(卅)・3(卅)〕、凝集の比較的弱い血球〔1(+)] およびその中間〔2(卅)] 型とがあった(図 1)。

2) Fc 凝集素に対するウシ赤血球の和合力を平均値として示した。すなわち、 $4'00'' \pm 50''$ であり、被凝集性の強い血球ほど和合力も強い傾向のあることが判明した(表 1)。

3) 凝集素価は、黒毛和種と褐毛和種各 5 例宛の Fc 型血球、および、対照として 3 例の黒毛和種 fc 型赤血球に

Fc 型

(2)

fc 型

(0)

凝集反応の表示は、1 個の塊として埋められるものを(4)、数個の塊として埋められるものを(3)、中等度の凝集を(2)、凝集の認められたものを(1)、凝集の認められないものを(0)として表記した。

図 1 Fc 凝集素による Fc 型と fc 型の凝集反応像

表 1 Fc 凝集素の Fc 抗原に対する和合力

凝 集 素	凝 集 素 価
Fc 抽 出 液	$4'00'' \pm 50''^*$

注) *: 平均凝集素価

表2 Fc凝集素のFcおよびfc型抗原に対する凝集素価

試料		Fc凝集素の稀釈								
		1	2	4	8	16	32	64	128	256
黒毛和種 Fc型	1	4	3	3	2	2	1	1	1	0
	2	4	3	3	3	2	2	1	1	0
	3	3	3	3	2	1	0	0	0	0
	4	3	3	3	2	1	0	0	0	0
	5	4	3	3	3	2	2	1	0	0
褐色和種 Fc型	1	4	3	3	2	2	2	1	1	0
	2	4	4	3	3	3	2	1	1	0
	3	3	3	2	2	2	1	0	0	0
	4	3	3	3	3	2	1	0	0	0
	5	3	3	3	2	1	1	0	0	0
黒毛和種 fc型	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表3 Fc凝集素による黒毛和種と褐色和種赤血球の凝集反応例

品	種	Fc 凝集素の稀釈				
		1	2	4	8	16
黒毛和種	No. 1	0	0	0	0	0
	2	0	0	0	0	0
	3	4	3	3	2	2
	4	3	3	3	2	2
	5	0	0	0	0	0
褐色和種	No. 1	4	3	3	3	2
	2	0	0	0	0	0
	3	0	0	0	0	0
	4	0	0	0	0	0
	5	0	0	0	0	0

について観察した結果、凝集素価は16～128倍の範囲内に分散していた。fc型は観察時間を90分に延長して精細に検討したが、いずれも陰性(0)反応を示し、まぎらわしい反応は認められなかった。

なお、凝集素価と被凝集活性との間には関連があり、凝集素価64倍を示す場合の赤血球は、Fc凝集素の原液(1)に対する被凝集活性がいずれも4(冊)であった(表2)。

4) 黒毛和種、褐毛和種各5例の血液型で、黒毛和種はNo. 3, No. 4の血球がそれぞれ凝集されFc型、褐毛和種はNo. 1の血球が凝集されFc型を示した(表3)。交差吸収試験においては、黒毛和種Fc型血球に対する凝集素を完全に吸収した後、褐毛和種Fc型血球を用いて凝集反応を試みたが陰性であった。逆に褐毛和種Fc型血球に対する凝集素を完全に吸収したのち、黒毛和種Fc型血球を加え凝集反応を試みても同様に陰性であった。いっぽう、Holstain種血球および黒色、褐毛和種のfc型血球で吸収したのち、黒毛和種や褐毛和種Fc型血

表4 Fcおよびfc抗原を用いたFc凝集素の交差吸収試験

吸収に用いた赤血球	反応した赤血球				
	黒毛和種		褐色和種		ホルスタイン(fc)
	Fc	fc	Fc	fc	
黒毛和種	Fc	0	0	0	0
	fc	3	0	3	0
褐色和種	Fc	0	0	0	0
	fc	3	0	3	0
ホルスタイン(fc)	0	0	0	0	0

表5 Fc式血液型の表現型および遺伝子頻度

品種	検査例	表現型出現頻度		遺伝子頻度
		Fc	fc	
黒毛和種	1,200	501 (41.75%)	699 (58.25%)	Fc=0.237 fc=0.763
褐色和種	42	15 (37.71%)	27 (64.29%)	Fc=0.198 fc=0.802
ホルスタイン	200	0	200	Fc=0 fc=1.00

表6 Fc式血液型の遺伝

組合わせ	調査家数	生まれた子	表現型	
			Fc	fc
fc×fc	31	31	0(0%)	31(100%)
Fc×fc	10	10	6(60%)	4(40%)
Fc×Fc	10	10	9(90%)	1(10%)
計	51	51	15(29.4%)	36(70.6%)

注) $\chi^2=0.87$ $df=1$ $0.3 < P < 0.5$

球を加えると黒毛和種や褐色和種のFc型血球はいずれも凝集した(表4)。

5) 表現型の出現頻度と遺伝子頻度は表5に示すように、黒毛和種の表現型は1,200例中にFc型は501例(41.75%)であり、fc型は699例(58.25%)であった(表5)。また、褐毛和種は42例中にFc型は15例(35.71%)、fc型は27例(62.29%)であった。なお、Holstain種は200例について調査したが、すべて陰性(fc)反応を示し、ついにFc型を見出すことはできなかった。

6) 親子関係の明らかな51家系で両親と子ウシのFc抗原の遺伝では、31例のfc×fcからは31例の子ウシが生まれ、すべてfc型で、Fc×Fcの10例からは6例のFc型と4例のfc型が生まれ、10例のFc×Fcの組み合わせからは、9例のFc型と1例のfc型が生まれていた(表6)。

3. 考 察

渡辺ら⁵⁾は、230頭の黒毛和種について表現型の出現頻度を求め、Fc型は43.04%、fc型は56.96%であると報告している。しかし、遺伝子頻度は明らかにしてい

ない。IKEMOTO ら⁴⁾も少数例について報告しているが、その報告は Fc 凝集素の発見を主題にしたもので、遺伝子頻度の検出にまではいたっていない。黒毛和種の表現型出現頻度は前述のように、Fc 型は 41.75%，fc 型 28.25% で、褐毛和種は Fc 型 35.71%，fc 型 62.29% であり、Holstein 種はすべて fc 型であった。遺伝子頻度は Fc 遺伝子は黒毛和種 0.237，褐毛和種 0.198 で、黒毛和種の方がわずかに高い頻度を示したが、黒毛、褐毛和種のいずれも Fc より fc 遺伝子頻度はわずかに高かった。Holstein 種は fc 型に偏在し、Fc 抗原は認められなかった。これらの成績は、IKEMOTO ら⁴⁾、渡辺ら⁵⁾の報告でも同様に Holstein 種はすべて fc 型で、Fc 型は見い出されていない。遺伝学的家系調査では Fc と fc の組み合わせより fc の子ウシが生まれることは、Fc の遺伝子構成は Fc/Fc のホモ接合型と Fc/fc のヘテロ接合型の存在することを示唆するものといえよう。今回の調査では fc と fc との組み合わせでは全例 fc 型であった。したがって、fc の遺伝子構成は fc/fc と推定される。このような遺伝形式は優性遺伝であり、Fc 抗原はおそらく常染色体上に遺伝子座を有する優性遺伝子に支配されているものであろう。なお、 χ^2 検定を試みたところ 0.87 であり、df を 1 として 5% 水準で検定を行うと、 $0.3 < P < 0.5$ となり有意差は認められなかった。

細田ら⁶⁾は、Holstein 種の親子鑑定の標識遺伝子としてウシの各種血液型を指標に採用している。今回著者の検討した Fc 抗原も、遺伝性は明確であり、黒毛和種や褐毛和種については親子鑑定における調査標識としても有効な情報を提出するものと思われる。

なお、Fc 凝集素の凝集素価和合力ならびに Fc 抗原の被凝集活性、Fc 型と fc 型による交差吸着試験などを実

施したところ、繁用されている異種や同種の免疫抗体および自然抗体などに比較して、凝集素価は若干劣っていたが、和合力は免疫抗体とはほぼ同程度であった。また、Fc 型赤血球の被凝集性も免疫抗体や自然抗体に比較して劣るものではなく、凝集像は明確で陽性と陰性型の判定は初心者でも十分になし得るものであった。また、交差吸着試験においては fc 型で吸着しても、とくに Fc 凝集素価に変動はなく、また Fc 型で吸着すると Fc 凝集素活性は完全に吸着された。これは抗体活性の単一性のある程度示唆するものといつてよからう。このように、Feijao chumbinho 抽出液中に含まれる Fc 凝集素はウシの Fc 式血液型分類用凝集素として有用なものと考えられる。

稿を終えるにあたり、種々ご教示をいただいた神奈川県警察本部科学捜査研究所法医学科長の渡辺嘉彦博士に深謝いたします。

引用文献

- 1) DUJARRIC DE LA RIVIERE, R., SAINT-PAUL, M. and EYQUEM, A.: C. R. Acad. Sci. Paris., 240, 575~578 (1955).
- 2) DATTA, S. P.: Vox Sang., 15, 432~442 (1968).
- 3) HINES, H. C.: Anim. Blood Groups. Biochem. Genet., 2, 221~228 (1971).
- 4) IKEMOTO, S., WATANABE, Y., MUKOYAMA, H., KOMPA, R. and ABE, T.: Proc. Jpn. Acad., 44, 275~280 (1968).
- 5) 渡辺嘉彦, 向山明孝, 池本卯典, ほか: 東農大 農学集報, 14, 227~232 (1970).
- 6) 細田達雄, 阿部恒夫, 小坂未蔵: 畜産試験場報告, 3, 99~102 (1963).

健保略称
強ミノC

慢性肝疾患の 肝機能異常を改善する…

健保適用

●適応症 「慢性肝疾患における肝機能異常の改善」

●用法・用量 1日1回, 40mlを静脈内に注射する。
年齢, 症状により適宜増減する。

■グリチルリチン製剤

強力ネオミノファーゲンシ

包装 20ml 5管・30管, 5ml 5管・50管, 2ml 10管・100管

→使用上の注意などについては, 添付文書をご参照下さい。

株式会社 ミノファーゲン製薬本舗 営業本部 〒107 東京都港区赤坂8-10-22 TEL (402) 6201