

総 説

Partial D と weak D (D^u) —判定と意義—

Partial D and weak D (D^u) —typing and policies—

松 田 利 夫

東京都赤十字血液センター

Key words: D 抗原, D^u, Partial D, Rh 血液型, Weak D

はじめに

Rh 血液型 D 抗原, すなわち Rh₀ (D) が陰性の患者に D 陽性の血液を輸血すると, 2~5 カ月以内におおよそ 85% の患者が抗 D 抗体を産生する. Westphal¹⁾によると, D 陰性の患者に D 陽性の血液を輸血して抗体を産生するリスクを 50% と仮定すると, 他の血液型における抗体産生のリスクは K 5.0%, c 2.05%, E 1.69%, k 1.5%, e 0.5%, Fy^a 0.23%, C 0.11%, Jk^a 0.07% になるという. このように D 抗原は免疫原性 (antigenicity) が非常に強いことから, 日本人では陰性者は 0.5% にすぎないが, 通常の輸血時には ABO 血液型を調べるとともにこの血液型も前もって検査している.

最近, 抗 D 血液型判定用抗体もモノクローナル抗体が使用されるようになったことから, D 抗原のさまざまな変異型 (variant) が報告されている. 本稿では輸血検査においてこれらをどのように取り扱えばよいのか考えてみたい.

最近の分子生物学的研究により, Rh タンパクは 30~32 kDa の Rh ポリペプチド (Rh 30 polypeptide) と 40~100 kDa の糖タンパク (Rh 50 glycoprotein) からなることなど, 多くの知見が得られつつある^{2)~4)}. Rh 30 polypeptide の遺伝子は D 抗原をコードしている *RHD* と CE 抗原をコードしている *RHCE* の非常によく似た 2 つの遺伝子からなり, 染色体 1 p 34.3~p 36.13 に存在し, 10 のエクソンにより構成されている (図 1). この 2 つの遺伝子が生成する D と CE のポリペプチドはそれぞれ 417 個のアミノ酸からなり, 赤血球膜を 12 回貫通している. D 陽性のヒトは, 通常,

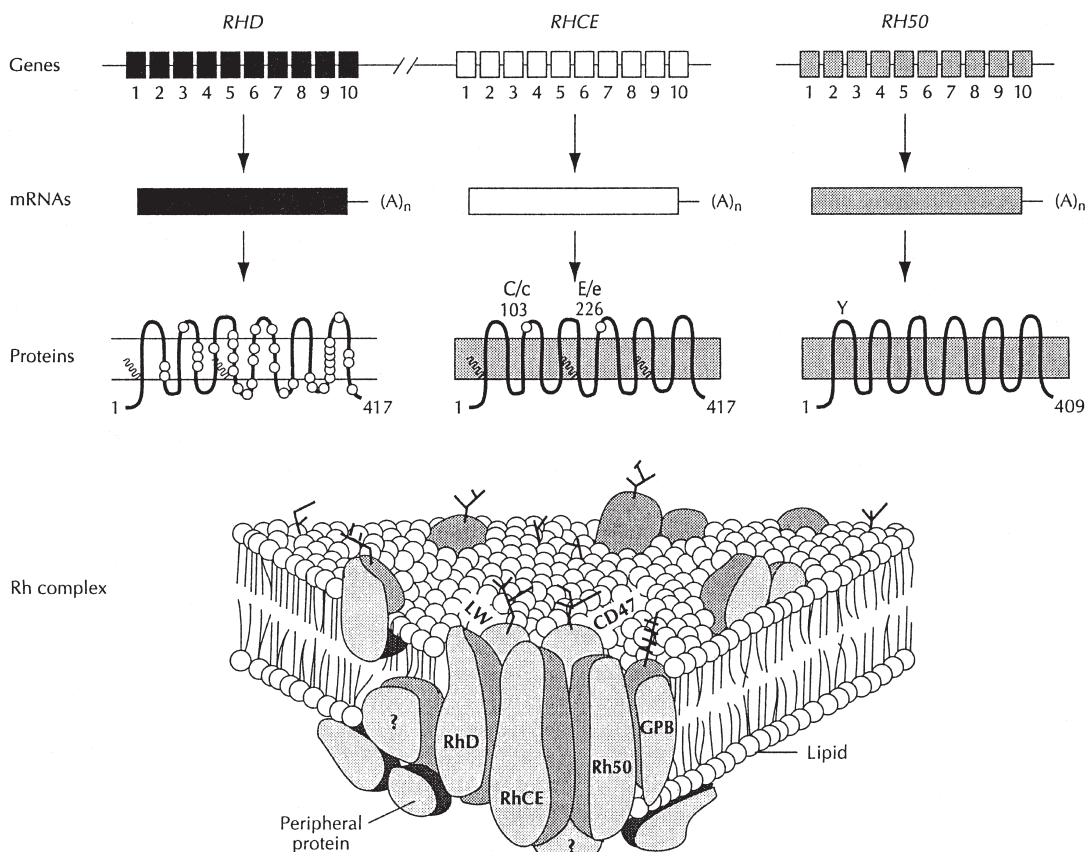
RHD と *RHCE* の両遺伝子をもっているが, *RHD* を欠き, *RHCE* のみのホモ接合になると D 陰性となる (図 2). Rh 30 polypeptide 関連タンパクである Rh 50 glycoprotein をコードする遺伝子も *RHD*-*RHCE* 遺伝子とよく似ている. 10 のエクソンから構成され, 409 個のアミノ酸からなるタンパクをコードする. このタンパクも赤血球膜を 12 回貫通している. ただ, この遺伝子は染色体 6 p 11~p 21.1 に存在する. 赤血球膜には, これら Rh 50 glycoprotein と Rh 30 polypeptide, さらに CD 47, LW glycoprotein, GPB glycoprotein などが複合体を形成して存在していると考えられている²⁾³⁾.

D 抗原の頻度は白人 85%, 黒人 92%, モンゴロイドでは 99% 以上である. D 抗原の表現型 (phenotype) は大きく 5 つに分類できる. 正常な D, elevated D, partial D, weak D (D^u), partial weak D である.

Elevated D は正常血球より抗原量が多い血球のことである. たとえば, D⁻の抗原基は 110,000~200,000 で, 通常の D 陽性血球のおおよそ 10 倍である.

Partial D

RHD により生成される D 抗原は赤血球膜を 12 回貫通しているが, 細胞外に出ている 6 つのドメインで抗 D 抗体と結合すると考えられている. この部位には数多くの異なる抗原決定基 (エピトープ) が存在する. Partial D ではこのエピトープの一部を欠いている. そのため, 正常の D 抗原と質的に異なったものになっている. 遺伝子レベル



© 1997 Curr Opin Hematol

Fig. 1 The Rh family from genes to mRNAs to proteins. Top : The 10 exons of the *RHD*, *RHCE*, and *RH 50* genes are depicted. The linkage order and physical orientation of *RHD* and *RHCE* are arbitrary. The organization of *RH 50* is tentative. $(A)_n$ designates the poly (A) tail of mRNAs. Each protein is predicted to pass the plasma membrane 12 times. In RhD, the 35 amino acid positions that differ from those of RhCE are denoted by open circles. In RhCE, the location of C/c and E/e polymorphisms in the 2nd and 4th extracellular loops is indicated. In both RhD and RhCE, potential palmitoylation sites at the inner leaflet of the lipid bilayer are indicated by slanted curves. "Y" denotes the single complex N-glycan on Rh 50 protein. Bottom : A model for the Rh complex in which Rh 30 and Rh 50 interact to form a core and make contact with other integral membrane proteins, ie, CD 47, LW, and GPB. "?" indicates unknown membrane or cytoskeleton components that might be linked with the Rh complex. (Huang et al. Current Opinion in Hematology, 4 : 94—103, 1997)

ではこれは *RHD* と *RHCE* 遺伝子の再編成 (rearrangement), すなわち *RHD* 遺伝子が *RHCE* 遺伝子に置換されたり (III-VI, DFR, DBT), *RHCE* 遺伝子が *RHD* 遺伝子に置換される場合 (Rh_o^{Har}) と, single point mutation により起る場合 (II, VII, DNU, HMi) が報告されている (図 2)²⁾³⁾.

Partial D の研究は, 歴史的には, D 陽性者の中に抗 D 抗体をもっているものがあることから始まった. Wiener らは D, すなわち Rh_o の部分抗原を Rh^A , Rh^B , Rh^C , Rh^D (それぞれのちの Rh 13, Rh 14, Rh 15, Rh 16 に相当する) と命名し, これらを欠く血球を Rh_o^a , Rh_o^b , Rh_o^c , Rh_o^d と表記した⁵⁾⁶⁾. 1960

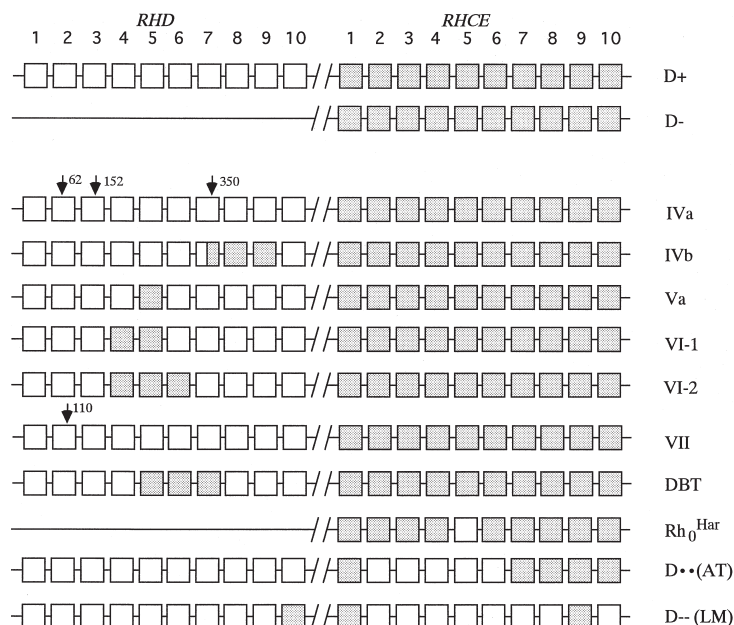


Fig. 2 Schematic representation of the 10 exons of *RHD* and *RHCE* showing the locations of point mutations and exons and parts of exons in which an exchange of genetic material between the two genes appears to have occurred. □ : *RHD*. ■ : *RHCE*. Arrows show the site of a point mutation.

年代に入り, Tippetと Sanger⁷⁾も D 陽性者の抗 D 抗体について研究し, それらの血球を I から VI までのカテゴリーに分類した. カテゴリー III は Rh^d であるが⁵⁾, これら 2 つの研究者間で検体の交換が行われていないので, Rh^A , Rh^B , Rh^C , Rh^D のどれが I から VI までのどのカテゴリーにあてはまるのか相関させることはできない⁶⁾.

なお, Rh^A , Rh^B , Rh^C , Rh^D という分類は 1994 年の国際輸血学会赤血球表面抗原の用語に関するワーキングパーティで廃止された. また, カテゴリー I とされていた血球もすでに削除されているが, 1977 年にカテゴリー VII が付け加えられているので, 現在, II から VII のカテゴリーに分類されている.

近年, 数多くのモノクローナル抗 D 抗体が作製された. それらのモノクローナル抗体と Tippetと Sanger により分類されたカテゴリーの血球との反応性の検討から, 1989 年に D 抗原のエピトープとしてエピトープ (ep) D 1 から epD 5, および epD 6/7 の 6 つが報告された⁸⁾. 90 年には epD 8

が, 93 年には epD 9 が加わり, 94 年には Scott⁹⁾により epD 6/7 がさらにいくつかのものに別れることが報告され, 現在では少なくとも 37 のエピトープがあると考えられている¹⁰⁾. また, Tippetと Sanger のカテゴリー以外にも, DFR, DBT, HMi, HMii, R_0^{Har} などが partial D 血球として報告されている.

Partial D 血球の phenotype は認識するエピトープがわかっているモノクローナル抗体を用いることにより決定できる¹¹⁾. たとえば, 表 1 に示すようにカテゴリー D^II の血球は epD 4 と epD 9 を欠いている. カテゴリー D^{IVa} と D^{IVb} の違いは epD 4 で区別がつくことがわかる.

なお, いくつかの partial D 抗原は特定の低頻度抗原と関連している¹²⁾¹³⁾. たとえば, D^{Va} は D^w を, DBT は $Rh\ 32$, R_0^{Har} は $Rh\ 33$ と FPTT を持つ. D^{IVa} は Go (a+) で, D^{IVb} は Go (a-) である.

欧米では partial D のおおよそ 95% が D^{VI} で, D^{VI} の頻度は 0.015%¹⁴⁾~0.05%¹⁵⁾の間と考えられている. わが国でも, D^{IVb} , D^{Va} , D^{VI} , DBT などが報

Table 1 Reactivity of partial D phenotypes with monoclonal antibodies-9 and 30 epitope models.

Mab ↓	1-9	1-30	II	IIa	IIb	IIc	IVa	IVb	Va	VI	VII	DFR	DBT	R ₁ ^{14a}	HM1	HMii
REG-A (p)	1	1	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	nt
REG-A (g)	1	2	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
P3x249	2	3	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+
BS227(p)	2	4	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+
HD-7	3	5	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+/	+
UCHD4	4	6	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
MCAD-1	5	7	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
JSML	5	8	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+
HAM-A(p)	5	9	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+
BS231	5	10	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+
HAM-A(s)	5	11	+	+	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-
RUM-1	6/7	12	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
BRAD-3	6/7	13	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+
43F10	6/7	14	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
BS221	6/7	15	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+
2B6	6/7	16	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
HM16	6/7	17	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
HM10	6/7	18	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
P3X61(s)	6/7	19	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
MAD-2	6/7	20	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+
BRAD-5	6/7	21	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	-
AR	8	22	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+
BRAD2(i)	9	23	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
	9	24	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+
LOS-2(p)		25	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	nt	nt
13E10		26	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	nt	nt
LHM59-19		27	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	nt	nt
P3X21211F1 (s)		28	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	nt	nt
BS227(i)		29	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	-	nt	nt
8D8		30	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+

*This reaction pattern (P 3×21223 B 10) is known to be concentration-dependent, At high concentrations positive reactions may be obtained with DFR cells. nt : not tested. (Scott et al. Biotest Bulletin, 5 : 459-466, 1997)

告されているが、partial D の頻度は約 1/143,000 と総数は欧米と比べ非常に少ない¹⁶⁾。また、それらの構成も欧米と異なり D^{VI} より D^{IVb}, D^{Va} が多い。

Weak D (D^u)

1946 年に Straton¹⁷⁾ は正常の D より抗原量が低い血球を D^u として報告した。D^u はさらに抗原量が比較的多い high grade とよばれるグループと、抗原量が少ない low grade の 2 つに分けられる⁶⁾。High grade のものは遺伝子型が Cde/cDe, Cde/CDe などのように C と D が *trans* の位置関係(それぞれが別の相同染色体上についている)をとると D の発現が弱くなるもので、low grade のものは遺伝的なもの、白人の CD^ue, cD^uE, 黒人の cD^ue, などである。

D^u は抗原が量的に少ない血球であり、partial D のように抗原に質的な違いがあるわけではない。量的な差は連続したものであって、どこまでが正常な D で、どこからが D^u であると定義するのは難しい。試薬の改良により 1946 年当時に D^u

と判定された多くの検体が 1986 年に再検査すると D 陽性と判定されたという⁶⁾。あとで触れるが、最近のモノクローナル抗 D 抗体を用いるとさらに多くのものが生理食塩水(生食)法で陽性となる。抗原基の数の違いによる差は試薬の力価により判定結果が異なる。そこで、最近ではこのような血球を weak D と呼ぶようになった。Weak D の頻度は白人 0.3%, 黒人 1.7% である¹⁸⁾。わが国は 0.004% である¹⁹⁾。

Weak D の RHD-RHCE 遺伝子は正常な配列であるが、明らかに RHD mRNA の発現の抑制が認められ、転写あるいは mRNA の前駆体のプロセッシングのレベルでの異常が考えられている²⁰⁾²¹⁾。

吸着解離試験によってのみ D 抗原が検出できる非常に弱い D がある。大久保ら²²⁾ はこれを Del と命名した。D 陰性と判定された日本人の中の 10% ほどにこのような人がいるという。

Partial weak D は partial D か つ weak D の血球のことである。

Table 2 Anti-D Blood Grouping Reagents (J. Case²⁵⁾)

利 点	欠 点
ポリクローナル試薬 (1)High-protein (高分子物質添加)IgG 1. 生理食塩水(生食)浮遊血球を用いた試験管直遠心法で十分な反応が得られる。 2. 全血または35—45% 浮遊血球を用いた warm- スライド法で十分な凝集力(アビディティ)が得られる。 3. 抗ヒトグロブリン法で確実に weak D(D^u)が検出できる。 4. 原料は手ごろな価格で豊富に得られる。 (2)Low-protein IgM IgG が吸着している血球の自然凝集を回避できる。それゆえ、IgG が吸着している血球に対する試験に適している。また、平行したコントロールテストが不要である。 (3)化学修飾した IgG (low-protein) 1. 十分な力価：試験管直遠心法では高分子物質添加試薬に似た強い反応性があり、warm- スライド法でも十分なアビディティがある。 2. 高分子物質を添加しなくても生食浮遊血球を凝集させるので、IgG が吸着している血球の自然凝集が回避できる。 3. IgM 試薬に似て、平行したコントロールテストが不要である。 4. IgM 試薬に似ず、抗ヒトグロブリン法による weak D(D^u)の検出に適している。 5. IgG 原料は豊富に得られ、製造過程も簡単で市場の動きに対し素早い対応ができ、かつ価格も安い。 モノクローナル試薬 1. 一度、安定した抗体産生ハイブリドーマが得られれば、原材料は比較的豊富に得られる。 2. 高い力価が低タンパク溶液中で得られる。それゆえ、直遠心法が適用でき、スライド法のアビディティは高分子物質添加試薬と同等である。 モノクロ(IgM)/ポリクロ(IgG)ブレンド試薬 1. モノクローナル IgM 抗 D は直遠心法でもスライド法でも D + 血球とよく反応する。 2. いくつかの weak D に対し、IgM の力価は十分な反応性をそなえている。 3. ポリクローナル IgG 抗 D はモノクローナル抗体で認識できない partial D, weak D と抗ヒトグロブリンで反応する。 モノクロ(モノクロ IgM +モノクロ IgG)ブレンド試薬 モノクローナル抗体 / ポリクローナル抗体ブレンド試薬に適用される利点と欠点が適用できる。	IgG が吸着している血球の場合、自然凝集(spontaneous agglutination)の原因となりうる。それゆえ、 1. IgG が吸着しているために直接抗ヒトグロブリン試験陽性を示す血球の D 判定には適さない。 2. すべての血球ごとに、高タンパクコントロール試薬(できれば抗 D 試薬のメーカーから市販されている同じ組成のもの)を用いて、平行したコントロールテストを行わなければならない。 1. 原料により得られる力価に限界がある。生食浮遊血球を用いた試験管直遠心法で十分な反応性が得られるものの、37℃、15分以上のインキュベーションを必要とする。しかし、スライド法は行えない。 2. weak D(D^u)は検出できない。 3. 原料不足。それゆえ利用者に影響を与えることがあり、かつ価格を膨らませる。 現実的には、DAT 陽性血球の試験に限り使用する。 1. 修飾 IgG 分子はヒンジ領域(hinge region)が酵素反応により傷つきやすい。それゆえ、製品中に細菌繁殖に由来するプロテアーゼ活性が残存していると、予期しない力価の低下を起こすことがある。 2. もし、ある限界の時間をこえて 37℃ でインキュベーションを行うと、そのあまりにも高い力価により地帯現象(prozone)を起こす。 3. 未処理の IgG より安定性にかける。 1. エピトープに対する特異性が単一であるので、すべての partial D を認識することはできない。 2. IgM は潜在的に IgG より安定性が劣る。 3. 抗体を含む組織培養上清には抗体を保護するためのタンパクを含んでいないので、製造(ろ過)過程で予期せぬ安定性のロスが起こることがある。 4. 原材料が、将来、クローンミュートーションを起こすかもしれない。 1. いくつかの partial D は高分子物質添加抗 D 試薬により直接凝集するが、モノクローナル IgM 抗体 D とはそうでない。(例：Tippett Category V) 2. ほとんどのモノクローナル IgM 抗 D は R₀^{14r} 血球に対し強い凝集を起こす。それゆえ、D + と D - の古い分類に混乱を起こす。 3. 同じ抗原に対する IgM と IgG 抗体が直接混合されている場合、抗原基との競合により、IgM 成分の反応性が減少する。おそらく、地帯現象を引き起こしている。 さらなる欠点として、どちらのモノクローナル抗体とも反応しないエピトープを持つ partial D がある。複数のモノクローナル抗体を用いるとそのようなことは減少するであろうが、抗原基に対する競合の影響が増加する。

日本における Rh₀ (D) 検査

日本赤十字社血液センターでは業務標準を作成して血液センター間の検査の標準化に努めている。D 抗原のスクリーニングは、大阪府赤十字血液センターで調製している「抗 D「日赤」」を用いて、生食法あるいはプロメリン変法で行う。この抗体は IgG 型モノクローナル抗体であるが化学

的修飾を行っているので生食法で凝集を起こす²³⁾。国際輸血学会と国際血液学標準化委員会の合同の血液型試薬に関するワーキングパーティの報告によると、この抗体は生食法では IVa, Vc, VII とは強く反応するが、II, VI, Rh 33 とは反応せず、III, IVb, Va とは反応するが弱いとされている⁹⁾。それゆえ、多くの partial D をスクリーニングでき

る。VI とそれ以外の partial D の検出率が日本と欧米で異なっている理由の一つはこの試薬によりスクリーニングを行っていることであろう。

スクリーニングで陰性を示した場合は抗 D 「日赤」およびポリクローナル抗 D 試薬の 2 種類の試薬を用い、間接抗ヒトグロブリン試験 (IAT 法) で “Rh 陰性確認検査” を行う。この検査で凝集が認められた場合は “D⁺ 確認試験” を行う。D⁺ 確認試験は抗 D の希釈列をつくり、IAT 法を行い、対照 (R₁R₂ 血球) と比較する。被凝集価が対照と 4 管以上の差がある場合を D⁺ (血液センター業務標準にはまだ D⁺ という言葉が使われている)、4 管未満の場合は D 陽性とする。抗 D 「日赤」の被凝集価がポリクローナル抗 D 試薬のそれより明らかに低い場合は partial D が考えられる。

日本臨床衛生検査技師会も「輸血検査の実際」²⁴⁾を刊行して輸血検査の標準化に努めている。その中に D 判定に関する検査法も記載されている。ただ、試薬に関する情報は少ない。血液型の検査は血球と市販の抗血清がどのように反応するかにより判定する。そこで、まず血液型判定用抗 D 試薬にはどのようなものがあり、それらはどのような特徴があるのか知らなければならない。表 2 は Case²⁵⁾がその特徴をまとめたものである。

輸血における Rh₀ (D) 検査

—ヨーロッパにおける試み—

最近のヨーロッパにおける検査は次のような考えで行われている²⁶⁾。受血者の D 判定に用いる抗体は D^{VI} を陰性と認識するアビディティーの高い (high avidity) IgM 型モノクローナル抗体を用いる。High avidity IgM 型モノクローナル抗体とはほとんどの weak D が生食法で陽性を示すものである。すなわち、この抗体では D 陰性、D^{VI} および非常に弱い weak D の血球が陰性となる。酵素法、IAT 法は行わない。これらの方法は偽陽性反応を起こしやすい。たとえば、多くの IgM 型モノクローナル抗体は非常に弱い cold agglutinin reactivity を持っており、弱い偽陽性反応を低温で、特に酵素処理血球を用いた場合、起こすことがある。それゆえ、酵素処理血球は使用せず、試薬はかならず室温に戻してから使うべきである。

英国では D の判定は、ABO 血液型判定におけるうら検査がないので、少なくとも 2 種類の試薬を用いて行うことを推奨している。Scott²⁷⁾が行った 1997 年のアンケート調査によると、2 種類の抗 D 試薬を使用している検査室が 89%、同じ試薬で 2 回行っているところが 2%、1 種類の試薬のみは 4%、3 種類以上の試薬を使用しているところは 5% となっている。2 種類の抗 D 試薬を使用している検査室における組み合わせは、2 つの異なった IgM 型モノクローナル抗体が 53%、IgM 型と IgM/IgG モノクローナル抗体とほかの試薬 11%、その他 5% と、ほとんどの検査室で IgM 型モノクローナル抗体が用いられている。

Partial D : D^{VI} 血球は epD 6/7 をはじめ多くのエピトープを欠いており、他の partial D と比較し、D 抗原基数は 500 以下と少ない (最近報告された D^{VI} の type II や type III は抗原基数はそれぞれ 2,500, 12,000 と多い)。そのため、D^{VI} の人は D 抗原に対する抗体を非常に作りやすい。言い換えれば、epD 6/7 は最も antigenicity の強いエピトープと考えられる。それゆえ、D^{VI} の人に D 陽性血液を輸血してはいけない。D^{VI} の受血者には D 陰性血液を用いるべきである。そこで、D 判定に用いる抗体は D^{VI} を陰性と認識するモノクローナル抗体を用いることになる。

受血者の D 判定にポリクローナル抗体は使用しない。ポリクローナル抗 D 抗体で判定すると D^{VI} は weak D と判定される。それゆえ、weak D の人には D 陰性の血液を輸血するという考え方もあった。しかし、D^{VI} を D 陰性と判定できるモノクローナル抗体を使用することにより、weak D の患者に D 陽性の血液を輸血することに問題はなくなった。

しかし、このような IgM 型モノクローナル抗体を用いたスクリーニングでは D^{VI} 以外の partial D のヒトには D 陽性の血液が輸血されることになる。partial D は D 陽性者の中に抗 D 抗体をもっているものがあることから研究が始まったことからわかるように、原則は partial D の受血者には D 陰性の血液を輸血すべきであろう。しかし、欧

Table 3 Comparison of antibody titers to weak D between spin-tube saline tests using high avidity IgM monoclonal antibodies and antiglobulin tests using polyclonal reagents

(Tokyo Metropolitan Blood Center 1994)

Cells	FCM (mean ch)	IAT *	RUM-1 **	WRAG **	Screening
A-MM	17.3	1	0	0	0
K-43	nt	2	0	0	0
O-FS	16.9	2	0	0	0
A-YM	17.2	2	0	0	0
O-KH	21.4	4	0	0	0
A-KK	17.4	8	0	0	0
O-SR	32.4	16	0	2	0
O-51	nt	16	2	nt	0
A-ST	32.6	16	2	nt	0
S-45	nt	16	4	4	0
A-SM	29.2	16	8	4	0
A-JW	31.9	16	8	4	0
B-YY	43.3	32	8	4	0
A-NM	45.2	32	16	nt	0
O-DS	32.2	32	32	8	0
O-ST	nt	64	16	16	0
O-YK	nt	64	32	32	0
R ₁ r	111.3	1,024	32	32	+
rr	16.2	0	0	0	0

*Using Ortho polyclonal anti-D

**IgM monoclonal antibody

nt : not tested

米では D^{VI} 以外の partial D の頻度は D^{VI} の 1/10 以下にすぎないこと、また、D^{VI} と比べ D^{VI} 以外の partial D の人が抗体を産生する率はずっと低いと考えられることから、このような抗体を用いたスクリーニングが行われている。実際、D^{VI} 以外の partial D の母親の抗 D 抗体による新生児溶血性疾患が報告されているのは D^{Va}, D^{Ivb} の各 1 例だけである²⁸⁾²⁹⁾。欧米では D 陰性者の割合が多い。それゆえ、非常に頻度の低い partial D を検出することより、偽陽性反応により陰性患者を陽性と誤って輸血する危険を避けることを優先している。

R₀^{Har} は残された問題である。R₀^{Har} はポリクローナル抗体で D 陰性と判定されていたが、high avidity IgM 型モノクローナル抗体とは強く反応し、いままでの判定と逆の結果を示す。

Weak D : それでは high avidity IgM 型モノクローナル抗体を使用するとどの程度までの weak D を生食法で陽性と判定できるのだろうか。表 3 は矢部らがオーソ製ポリクローナル抗 D 試薬を

用いた IAT 法で D^u と判定された血球を high avidity IgM 型モノクローナル抗体で検査を行った結果である (未発表データ)。RUM-1 (BPL 製) および WRAG 製の抗 D 試薬とも、終力価が IAT 法 2⁴ 以上のほとんどの血球を陽性と判定している。

血液センターにおけるスクリーニング：血液センターではポリクローナル抗体を含めた複数の試薬で、IAT 法も用いて検査を行っている。血液センターでは D^{VI} をはじめ partial D あるいは weak D とわかった血液は D 陽性とする。

もし、D^{VI} 血球を誤って D 陰性の患者に輸血すると患者は抗体を産生するのであろうか。D^{VI} 血球により抗 D が産生されたという報告はいまのところない。おそらく、D^{VI} 血球の免疫力は非常に弱いと考えられている。

High avidity IgM 型モノクローナル抗体で陰性を示す weak D 血球は D 陰性の患者に輸血しても問題はないのであろうか。weak D の弱いもの

は抗原性が非常に弱いと考えられている。Schmidt ら³⁰⁾は ccD^eee あるいは ccD^eE の血液 68 単位を 45 人の D 陰性患者に輸血したが、輸血した血液の viability (生存率) は正常で、抗 D 抗体を産生した患者もなかったという。In vitro の研究でも弱い weak D および Del の血球は、それらに抗 D 抗体を感作した後、単球貧食試験を行っても貧食されないという³¹⁾。

抗 D 免疫グロブリンの投与

血液型不適合妊娠における抗 D 免疫グロブリンの投与も輸血と同じように考えられている。High avidity IgM 型モノクローナル抗体を使用すると D 陰性、D^{VI} および非常に弱い weak D が陰性を示すので、これらの母親に対しては抗 D 免疫グロブリンを投与することになる。もちろん、原則として、母親が D^{VI} 以外の partial D とわかった場合にも抗 D 免疫グロブリンを投与すべきと考えられている³²⁾。ただ、すでに述べたように、D^{VI} 以外の partial D の母親からの新生児溶血性疾患は 2 症例が報告されているのみで、その可能性は非常に低いと考えられている。

以上の考え方は、オーストラリアにおいても採用されている。Phenotype の頻度が大きく異なる日本でこれを採用するか否かは議論のあるところであろうが、参考になるであろう。

ま と め

近い将来、人道上の配慮から、ポリクローナル抗体の試薬は市場から姿を消すことはまちがいない。重要なことは、ABO 血液型判定用試薬においてもすでに同様のことが起こっているが、ポリクローナル抗体とモノクローナル抗体では反応パターンが異なるということである。検査担当者は試薬の性質を良く理解した上で使用する必要がある。一般的特徴を知っておくとともに、D 判定でモノクローナル試薬を用いる場合はその抗体がどのエピトープを認識するものかを知っておくことは重要であろう。

遺伝子タイピングの導入が D 抗原の場合も期待されている。胎児の RHD 遺伝子タイピングはすでに行われている。しかし、RH 遺伝子に rearrangement が起っていると、血清学的タイピング

と遺伝子タイピングで食い違いを生じるようだ。輸血検査においてはまだ当分の間は血清学的タイピングが主流であろう。

それゆえ、国内においても日本人に適したモノクローナル抗 D 試薬の開発が望まれるとともに、輸血学会において D 判定のガイドラインを作成すべきと考える。矢部ら³³⁾は、抗体の混合により、抗原基に対する抗体同士の競合反応が起ることを報告している。試薬の調製は単純に多くのモノクローナル抗体を混ぜ合わせればよいというものではない。

追記：今年 (1998 年) 6 月、オスロで国際輸血学会が開かれた。血液型試薬に関するワーキングパーティで Scott は、数多くの D エピトープが見つかり混乱が生じて来たことから、D エピトープの “x.y” 表示を提案した。x は D カテゴリー血球による反応パターンを 1~9 の番号で表わし、y はその他の D の variant との反応パターンを番号化しようというものである。また、partial D とは抗 D 抗体を産生するもので、抗 D 抗体を産生しないものは D variants ではあるが、partial D とは呼ばないことを提案した。

RHD 遺伝子に関しても、RHD 遺伝子を持つ D 陰性のアフリカ人³⁴⁾、正常でない RHD 遺伝子配列を持つ weak D³⁵⁾ など、新しい知見が報告された。RH 遺伝子に関しては、まだまだ新発見の報告が続くであろう。

謝辞：この総説を書くにあたり多くのご助言をいただいた John Case 先生、Derek S. Ford 先生、Marion L. Scott 先生に深謝いたします。

文 献

- 1) Westphal, R.G. : Handbook of transfusion medicine. American Red Cross, Washington DC, 1996, p. 63.
- 2) Cartron, J.-P. : Defining the Rh blood group antigens. Biochemistry and molecular genetics. Blood Reviews, 8 : 199—212, 1994.
- 3) Huang, C.-H. : Molecular insights into the Rh protein family and associated antigens. Current Opinion in Hematology, 4 : 94—103, 1997.
- 4) Sonneborn, H.-H. and Voak, D. eds. : A review of 50 years of the Rh blood group system. Biotech Bulletin, 5 : 1997.
- 5) Tippett, P. : Sub-divisions of the Rh (D) antigen.

- Medical Laboratory Science, 45 : 88—93, 1988.
- 6) Tippett, P. : Rh blood group system : The D antigen and high-and low-frequency Rh antigens. In Vengelen-Tyler, V. and Pierce, S. eds. Blood Group systems : Rh. AABB, Arlington, 1987, 25—53.
 - 7) Tippett, P. and Sanger, R. : Observation on subdivisions of the Rh antigen D. *Vox Sang.*, 7 : 9—13, 1962.
 - 8) Lomas, C., Tippett, P., Thompson, K.M., Melamed, M.D. and Hughes-Jones, N.C. : Demonstration of seven epitopes on the Rh antigen D using human monoclonal anti-D antibodies. *Vox Sang.*, 57 : 261—264, 1989.
 - 9) Scott, M.L. : ISBT/ICSH Working Party on Blood Grouping Reagents-Monoclonal anti-D report 1994. (unpublished)
 - 10) Scott, M.L. : Rh serology-Coordination's report. *Transfusion Clinique et Biologique*, 6 : 333—338, 1996.
 - 11) Scott, M.L., Voak, D., Jones, J.W., et al. : A model for RhD—the relationship of 30 serologically defined epitopes to predicted structure. *Biotest Bulletin*, 5 : 459—466, 1997.
 - 12) Tippett, P., Lomas-Francis, C. and Wallace, M. : The Rh antigen D : partial D antigens and associated low incidence antigens. *Vox Sang.*, 70 : 123—131, 1996.
 - 13) Daniels, G.L. : Low frequency antigens associated with Rh : markers for genetic variants. *Biotest Bulletin*, 5 : 399—407, 1997.
 - 14) Flegel, W.A. and Wagner, F.F. : The frequency of Rh D protein variants in Caucasians. *Transfusion Clinique et Biologique*, 3 : 3 S : 10 s (abstract), 1996.
 - 15) van Rhenen, D.J., Thijssen, P.M.H.J. and Overbeeke M.A.M. : Serological characteristics of partial D antigen category VI in 8 unrelated blood donors. *Vox Sang.*, 66 : 133—136, 1994.
 - 16) 永尾暢夫 : Rh 血液型. *Medical Technology*, 22 : 538—550, 1994.
 - 17) Straton, F. : A new Rh allelomorph. *Nature*, 158 : 25—26, 1946.
 - 18) Daniels, G. : Human Blood Groups. Blackwell Science, Oxford, 1995, p. 278.
 - 19) 大久保康人, 富田忠夫, 山野 孟, 永尾暢夫, 湯川美鳥, 西 房子 : Rh (D) 陰性と D^u について. *衛生検査*, 23 : 215, 1974.
 - 20) Rouillac, C., Gane, P., Cartron, J., Le Ponnec, P.Y., Cartron, J.P. and Colin, Y. : Molecular basis of the altered antigenic expression of RhD in weak D (D^u) and Rh C/e in R^N phenotypes. *Blood*, 87 : 4853—4861, 1996.
 - 21) Avent, N.D., Martin, P.G., Armstrong-Fisher, S.S., et al. : Evidence of genetic diversity underlying RhD⁻, weak D (D^u), and partial D phenotypes as determined by multiplex polymerase chain reaction analysis of the RHD gene. *Blood*, 89 : 2568—2577, 1997.
 - 22) Okubo, Y., Yamaguchi, H., Tomita, T. and Nagao, N. : A D variant, Del? *Transfusion*, 24 : 542, 1984.
 - 23) 山野 孟, 高橋英夫, 中出 亮, 他 : 血液型判定用抗 D モノクローナル抗体の作製. *日輸血会誌*, 35 : 424—433, 1989.
 - 24) 日臨技輸血検査標準法改訂委員会 : 日本臨床衛生検査技師会ライブラリー XII : 輸血検査の実際. 日本臨床衛生検査技師会, 1996.
 - 25) Case, J. : Anti-D blood grouping reagents : manufacturing issues. (unpublished)
 - 26) Jones, J.W., Voak, D., Scott, M.L. and Sonneborn, H.-H. : Policies for the selection of monoclonal Rh D typing reagents. *Biotest Bulletin*, 5 : 485—494, 1997.
 - 27) Scott, M.L. : ABO and Rh Typing : Lessons from NEQAS 1995—97. (unpublished)
 - 28) Mayne, K., Bowell, P., Woodward, T., Sibley, C., Lomas, C. and Tippett, P. : Rh immunization by the partial D antigen of category D^{Va}. *Br. J. Haematol.*, 76 : 537—539, 1990.
 - 29) Okubo, Y., Yamaguchi, H., Seno, T., et al. : Haemolytic disease of the newborn due to an anti-D in the serum of a mother with a D^{Iv} phenotype. ISBT 2 nd Regional Congress (Hong Kong) Abstract Book p. 31, 1991
 - 30) Schmidt, P., Morrison, E.G. and Shohl, J. : The antigenicity of the Rh^o (D^u) blood factor. *Blood*, 20 : 196—202, 1962.
 - 31) Ogasawara, K., Yabe, R. and Mazda, T. : Del red cells sensitized with anti-D are not phagocytosed by monocytes. *Transfusion*, 28 : 603—604, 1988.
 - 32) Lubenko, A., Contreras, M. and Habash, J. : Should anti-Rh immunoglobulin be given to D variant women? *British Journal of Haematology*, 72 : 429—433, 1989.
 - 33) Yabe, R., Morimoto, K., Nakata, K., Takenaka, M., Mazda, T. and Takahashi, Y. : The effect of epitopes of IgG/IgM monoclonal blend anti-D reagents on agglutination in saline tests. ISBT 2 nd Regional Congress (Beijing) Program & Abstract p. 85, 1997.
 - 34) Daniels, G., Green, C.A., Smart, E., Daka, A. and Malde, R. : RHD is common in Rh D-negative Africans. *Vox Sang.*, 74 : S 1, abstract no 1435, 1998.
 - 35) Flegel, W.A., Gassner, C., Müller, T.H., Schöitzer, D., Schunter, F. and Wagner, F.F. : The molecular basis of weak D. *Vox Sang.*, 74 : S 1, abstract no 55, 1998.