

原 著

血液型遺伝子解析によって dispermic chimera と 推定された血液型キメラの 1 例

山岡 正暢 稲澤志津子 児玉加代子 池田 忠明
小川 茂樹 仁田 浩 筒井 英子 横山 繁樹

京都府赤十字血液センター

(平成 13 年 3 月 23 日受付)

(平成 13 年 7 月 9 日受理)

A CASE OF BLOOD GROUP CHIMERA : GENE ANALYSES OF BLOOD GROUPS SUGGEST A DISPHERMIC CHIMERA

Masanobu Yamaoka, Shizuko Inazawa, Kayoko Kodama, Tadaaki Ikeda,
Shigeki Ogawa, Hiroshi Nita, Hideko Tsustui and Shigeki Yokoyama
Kyoto Red Cross Blood Center

The subject was a 28-year-old Japanese woman whose red blood cells had two populations of A, CCDee, Jk(a + b -), and AB, CcDEe, Jk(a + b +), at 95% and 5%, respectively. The karyotype for her lymphocytes was a female type of 46, XX, 100%. She was not a twin and had no history of chimeric features such as hermaphroditism, patchy skin pigmentation, or heterochromia iridis, as is often seen in dispermic chimeras. Her chimerism was further investigated using genomic DNA from leukocytes and nails as a somatic sample. Amelogenin genes specific for Y chromosome were not detected in her nails. Analyses of microsatellite and blood group genes were carried out by a PCR-SSCP method. Analysis of *ABO* gene revealed that *A*, *B*, and *O* gene coexisted in not only her peripheral blood but also her nails, and that the amount of *B* gene was less than that of *A* or *O* gene, corresponding to the rate of red blood cells. Rh blood group gene analyses showed the same result. Furthermore, a double contribution of alleles from her father was suggested both in her peripheral blood and nails by microsatellite analysis at the D1S102 locus. Therefore, on the basis of these findings, we considered this was a case of dispermic chimera.

Key words : ABO blood group gene, Rh blood group gene, PCR-SSCP, dispermic chimera, blood group chimera

はじめに

血液型キメラは、血液細胞のみにキメリズムが見られる twin chimera と、血液細胞だけでなく体細胞にもキメリズムが見られる dispermic chimera とに大きく 2 種類に分類される¹⁾。したがって、体細胞にキメリズムが見られるかが両者を区別する 1 つの根拠となる。従来、血液のキメリズム検出には、主として赤血球血液型、赤血球

内酵素、HLA、血清型、核型による染色体分析が利用されてきた。血液型キメラを分類するには、双子歴、半陰陽などの特徴の有無に加え、体細胞として線維芽細胞の核型、唾液の血液型物質などから判断されてきた。しかし、双子歴、半陰陽などの特徴がなく、核型でのキメリズムがみられない例では分類は困難であり、また線維芽細胞の採取は生検を伴い容易ではない。

近年、血液型遺伝子をはじめとして種々の遺伝子が解明され、PCR (polymerase chain reaction) による遺伝子解析が可能となった。このため、血液細胞はもとより体細胞試料として爪、口腔粘膜細胞、毛髪などからのゲノム DNA を用いることによって、遺伝子レベルでキメリズムを容易に検出することができる。

ABO 血液型の表検査で部分凝集を示した本例は、A 血球と AB 血球が混在する血液型キメラと判明した。そこで、キメリズムをさらに調べるため体細胞試料として爪、および末梢血からのゲノム DNA を用いて遺伝子を解析したところ、爪においても血液型遺伝子の混在を認めた。この結果は、本例が dispermic chimera であることを示唆した。

材料および方法

血液型キメラを示した日本人女性 (S.I.) は、28 歳未婚で、子宮筋腫のため受診した産婦人科医からの依頼で血液型を精査した。本人、両親から末梢血および唾液を、また体細胞試料として爪を採取した。対照に健常人からの末梢血を使用した。彼女の双子兄弟姉妹の存在、出生状況、輸血歴などを面談により確認した。赤血球を抗 B 血清で凝集する小集団と凝集しない大集団の 2 種類に分け、それぞれ血液型を調べた。唾液検査、血清中の A 型、B 型転移酵素も測定した。

2 集団の ABO 血球混合比は、1 次抗体として抗 A 血清 (ヒト由来ポリクローナル, Ortho) とセラクローン抗 B (マスウ由来, 大日本製薬) を、また 2 次抗体として R-phycoerythrin conjugated anti-human Ig (Southern BA) と FITC-conjugated anti-mouse immunoglobulins (Dako) を用いて 2 重染色し、EPICS XL (Coulter) を使用するフローサイトメトリーで求めた²⁾。

白血球および爪からのゲノム DNA 抽出は、フェノール・クロロホルム法で行った³⁾。爪からの DNA 抽出前処理は、細かく切った爪に 10mM Tris/HCl 0.1M NaCl 10mM EDTA (pH 8.0) 0.32 ml, 10mg/ml proteinase K (Merk) 10 μ l, 0.4 M dithiothreitol 40 μ l, 10% SDS 40 μ l を添加し、56 で終夜加熱した。

ABO 血液型の遺伝子解析は、PCR-RFLP 法⁴⁾、および 261 番目塩基を挟む領域を増幅するための primer GA16⁴⁾、GA17⁴⁾ を使用する PCR-SSCP (polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism) 法で行った。PCR は、GeneAmp 9700 (Applied Biosystems) 装置を用い、10 mM Tris/HCl 50mM KCl 1.5mM MgCl₂ 0.01% gelatin (pH 8.3), 40 μ M GeneAmp dNTP Mix (Applied Biosystems), 20 ~ 200ng genomic DNA, AmpliTaq Gold (Applied Biosystems) 2u, 0.2 μ M GA16 primer, 0.2 μ M GA17 primer から成る反応液 13 μ l で行った。PCR 条件は、95 8 min, 30 cycles 95 30 sec 64 15 sec 72 30 sec, 72 2 min とした。増幅産物を 20 倍に 10% sucrose 0.1% xylene cyanol FF で希釈し⁵⁾、95 5 min 加熱して試料とした。この試料 4 ~ 6 μ l を 12.5% polyacrylamide gel (90 x 80 x 0.75mm, 架橋度 2%) に添加し、AE6510 型レゾルマックス・2 連ミニスラブ装置 (アトー) を使用して 10 に恒温化した 25 mM Tris 25mM boric acid 1mM EDTA (pH 8.3) 緩衝液中で、20 mA/gel, 100 min, 電気泳動を行った。DNA バンドを銀染色液 (第一化学) で染色した。

本人の末梢血中の B 遺伝子を半定量するため、803 番目塩基において B 遺伝子を特異的に増幅させる allele specific primer GA13⁴⁾ と GA01N⁴⁾ を用い、上記の PCR 条件で B 遺伝子のみ増幅させた。AB 型の健常人ゲノム DNA を彼女の母親のそれで任意に希釈した試料も同時に増幅させた。7% polyacrylamide gel で増幅産物を電気泳動し、バンド強度を比較して、B 遺伝子の混合比を求めた。

Rh 血液型の遺伝子解析で、RHE/e および RHc 対立遺伝子検出のために primer MTHR5 5'-GT-TCTGGCCACGTGTC AAC-3', THR7⁶⁾ 5'-CAT-GCTGATCTTCCTTTGGG-3' と、primer MRHP 3 5'-GGCCAAGATCTGACCGTGATG-3', MRHP4 5'-CAGTGTGATGACCACCTTCCC-3' を、それぞれ使用する PCR-SSCP 法で行った。基本的に、ABO 遺伝子解析と同様の条件で行ったが一部変更した。すなわち、PCR 条件では annealing

Table 1 Blood groups of the subject and her parents

	ABO	Rh	MNSs	Duffy	Lewis	P	Kidd	Xg
Subject(95%)	A	CCDee	MMSs	Fy(a+b-)	Le(a-b+)	P ₁	Jk(a+b-)	Xg(a+)
(5%)	AB	CcDEe	MMSs	Fy(a+b-)	Le(a-b+)	P ₁	Jk(a+b+)	Xg(a+)
Father	B	CcDEe	MMss	Fy(a+b-)	Le(a-b+)	P ₂	Jk(a+b+)	Xg(a+)
Mother	A	CcDEe	MNSs	Fy(a+b-)	Le(a-b-)	P ₁	Jk(a+b+)	Xg(a+)

温度を 65 に、また SSCP 泳動条件では、gel と泳動緩衝液に10% gel/25mM Tris 25mM boric acid 1mM EDTA (pH 8.3) あるいは 10%gel 5%glycerol/50mM Tris 50mM boric acid 2mM EDTA (pH 8.3) を用いて 50~90 min 泳動することのみ変更した。

マイクロサテライト多型性⁷⁾も、PCR-SSCP 法で調べた⁸⁾。ABO 遺伝子解析での PCR-SSCP 法と同じであるが、von Willebrand factor gene(12p)⁹⁾ に存在するマイクロサテライトに対し、PCR 条件の annealing 温度を 52 に、また GSN locus(9q)¹⁰⁾ と D1S102(1q)¹¹⁾ のそれぞれに対し 57 にそれぞれ変更し、反応液組成の緩衝液に 50mM Tris/HCl 2 mM MgCl₂ 0.02% gelatin 10mM (NH₄)₂SO₄ (pH 8.3) を使用した。また SSCP 泳動条件は Rh 血液型の遺伝子解析と同様に行った。

HLA 多型性の検討は、DNA タイピングで行った¹²⁾¹³⁾。性染色体に特有のアメロゲニン遺伝子領域を増幅することで性別を判定した(検出感度 5%)¹⁴⁾。末梢血のリンパ球核型は、G 染色法で行う解析を SRL に依頼した。

結 果

両親および本人に面談した結果、本人に双子歴はなく特筆する病歴・輸血歴もなかった。また外見的特徴も見うけられなかった。ABO 血液型判定で抗 B では部分凝集を示し、抗 A ではすべて凝集を示す 2 つの血球集団が存在した。裏試験では、A 血球、B 血球で凝集を示さなかった。そこで抗 B 血清で凝集・非凝集を示す 2 集団の血液型をさらに調べると Table 1 に示すように、A/AB、CCDee/CcDEe、Jk(a+b-)/Jk(a+b+) と異なっていた。ABO 血液型での 2 集団の混合比をフローサイトメーターで確認すると A 血球、AB 血球が、それぞれ 95%、5% であった(Fig. 1)。唾液中

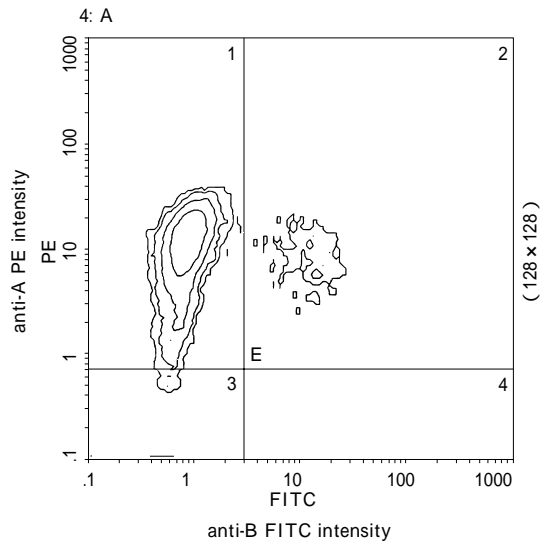


Fig. 1 Ascertainment of two red blood cell populations by flow cytometry.

Anti-B and anti-A positive cells were 5% in whole cells. The others showed anti-A positive cells.

A, B, H 型物質を認めた。血清中には A 型、B 型転移酵素がほぼ等量(被凝集価 1 : 8)みられた。

ABO 遺伝子の B 遺伝子に特有の 803 番目塩基において B 遺伝子を特異的に増幅する allele specific primer を用いて、末梢血由来のゲノムにおける B 遺伝子の混在を半定量すると約 5~10% 程度存在していた(Fig. 2)。これは血球の混在率と同程度であった。

primer GA16 と GA17 で増幅される領域での ABO 各遺伝子は、それぞれ異なっている¹⁵⁾。したがって、この領域の増幅産物を用いる PCR-SSCP 法で、ABO 遺伝子型を決定した。本法は A、O、B 遺伝子を正確に検出でき、PCR-RFLP 法と一致した結果がえられた。父親は BO、母親は AO で、本人の末梢血、爪、いずれにも A、O、B 遺伝子

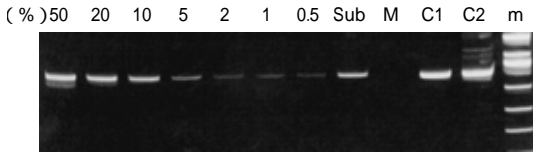


Fig. 2 Semi-quantitative determination of *B* gene in the subject's peripheral blood.

The concentration of DNA except C1 and C2 was adjusted to 100ng/ μ l. Samples for calibration were made by diluting an AB type control DNA with her mother's DNA from 50 to 0.5%. After amplification, PCR products were electrophoresed on 7% polyacrylamide gel. The gel was stained with ethidium bromide. Sub indicates the subject; M, her mother; C1, C2, normal donors with AB blood type; m, Marker 9 (ϕ X174/Hinf I digest, Nippon Gene)

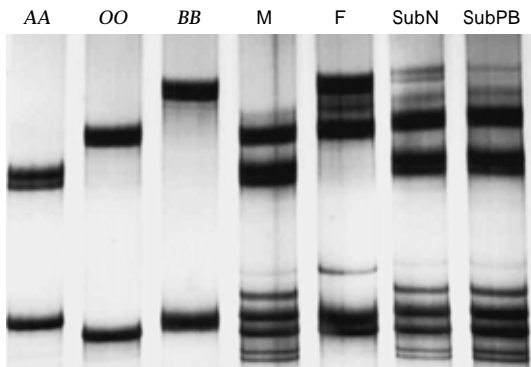


Fig. 3 Analysis of *ABO* genes by a PCR-SSCP method with genomic DNA from peripheral blood and nail.

Amplified fragments containing the nucleotide position 261 were electrophoresed as described in the text. Four μ l of the heat-denatured fragments from normal donors, AA, OO, BB genotype were electrophoresed at the same time as 6 μ l from peripheral blood and nails in the subject and her parents. M indicates her mother; F, her father; SubN, the subject's nails; SubPB, the subject's peripheral blood.

が混在していた (Fig. 3). さらに, バンド強度から A, O 遺伝子が B 遺伝子より多く存在していることを示し, これは, 赤血球の混合状態に対応していた (Table 1). 本人は, AO 遺伝子と AB 遺伝子のキメラと推定された.

RhE と Rhe 表現型に關する exon5 内の 676

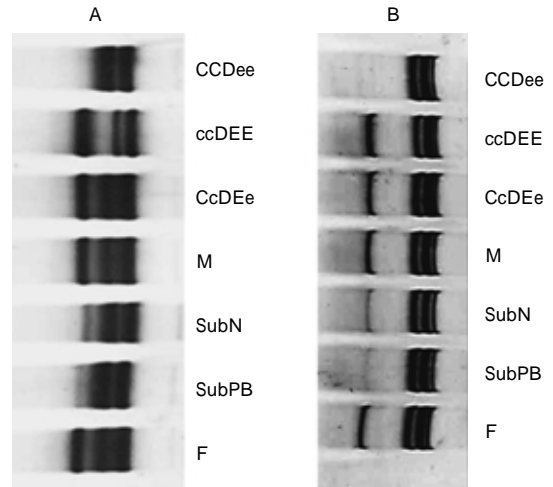


Fig. 4 Analyses of Rh blood group genes.

(A) Detection of *RHE/e* allele genes. The PCR products were electrophoresed on 10% polyacrylamide gel containing 5% glycerol in 50mM Tris 50mM boric acid 2mM EDTA (pH 8.3) buffer. (B) Detection of *RHc* allele gene. Electrophoresis with 10% polyacrylamide gel in 25mM Tris 25mM boric acid 1mM EDTA (pH 8.3) buffer was carried out. Four μ l of each sample was applied to the gels. CCDee, ccDEE, CcDEe shows serologically phenotyped normal controls. M, her mother's peripheral blood; SubN, the subject's nails; SubPB, the subject's peripheral blood; F, her father's peripheral blood.

番目塩基を挟む領域⁶⁾を primer MTHR5, THR7 で増幅した断片を泳動すると, RhE と Rhe 表現型に, それぞれ特異的なバンドを認めた. 本人の爪と末梢血は同様のパターンを示し, *RHE* 対立遺伝子の示すバンド強度は *RHe* のそれより弱かった (Fig. 4A). さらに *Rhc* 表現型に關する exon2 内の 178 201 203 307 番目塩基を挟む領域⁶⁾を primer MRHP3, MRHP4 で増幅して調べた. この領域内で, 相同性があるため *RHc* 対立遺伝子に特異的なバンドだけでなく *RHD* と *RHCE* 遺伝子のバンドも増幅される. 本人の爪と末梢血で, *RHc* 対立遺伝子の示すバンド強度が, *RHD* と *RHCE* のそれよりも弱いことを示した (Fig. 4B). これらのことから, *RH* 遺伝子解析でも, 赤血球の混合状態に対応する結果がえられた (Table 1).

データは示していないが, 末梢血リンパ球核型は,

46,XX,100%の正常核型で,XY細胞の混在は認めなかった.本人の爪から性染色体特有のアメロ

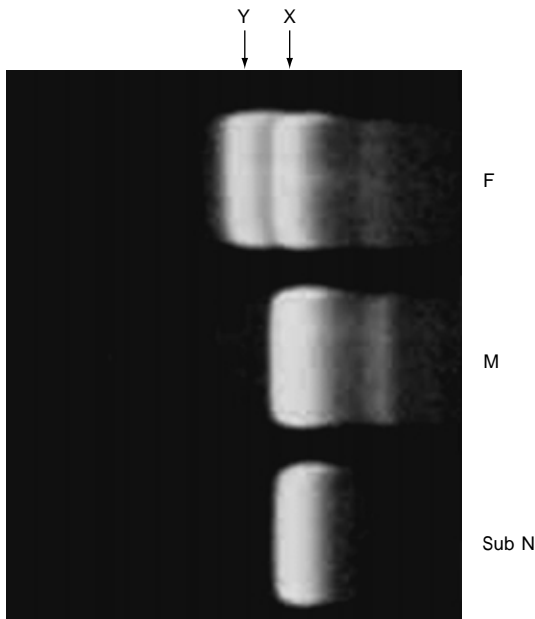


Fig. 5 Detection of Amelogenin genes specific for sex chromosomes.

Electrophoresed PCR products on 7% polyacrylamide gel were stained with ethidium bromide. Arrows show the genes on X or Y chromosome. F, her father's peripheral blood; M, her mother's peripheral blood; SubN, the subject's nails.

ゲン遺伝子増幅で, Y染色体遺伝子は検出されなかった(Fig. 5).

マイクロサテライトおよびHLAを用いて,両親,本人の多型を調べると,両親から,それぞれの対立遺伝子を受け継ぎ,親子関係に矛盾はなかった(Table 2)(Fig. 6). 親からの対立遺伝子の2重寄与(double contribution)が,dispermic chimeraに見られる¹⁶⁾¹⁷⁾. 検討したマイクロサテライトのなかで,D1S102に存在するマイクロサテライトで末梢血および爪のいずれにおいても父親からの2重寄与を示唆した(Fig. 6C). しかし,母親からの2重寄与は,これらの解析からは認められなかった(Fig. 6).

考 察

血液型キメラ以外に,血液型表検査で部分凝集を示す原因には,血液型亜型,後天的変化がある. しかし,本例において,A型,AB型血球の2集団が確認されたこと,また輸血歴,後天的変化をも

Table 2 HLA DNA typing in the subject and her parents. Genomic DNA from peripheral blood was used for HLA typing.

	A*	B*	DRB1*	DQB1*	DPB1*
Subject	02/24	35/54	0405/0407	0302/0401	0201/0501
Mother	02/02	07/35	0407/1401	0302/0502	0201/0402
Father	24/24	54/55	0405/1501	0401/0602	0201/0501

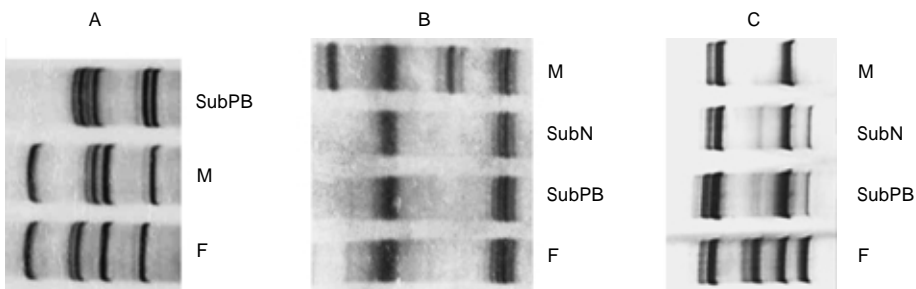


Fig. 6 Analyses of microsatellite polymorphism in the subject and her parents.

DNA bands were detected by a silver staining method. Microsatellite markers used to examine polymorphism are located in von Willebrand factor gene (A) GSN locus (B) and D1S102 (C). SubPB and SubN represent the subject's peripheral blood and nails, respectively. M, her mother's peripheral blood; F, her father's peripheral blood; Polyacrylamide gel used in the case of (A) was 10% gel, and those in the cases of (B) and (C) were 10% gel containing 5% glycerol.

たらず病歴も考えられないため、これらの可能性は否定された。

血液型キメラは2種類に大きく分類されている。すなわち、胎生期段階において2卵生双生児間で血管吻合が起こり、造血組織に造血幹細胞が混合して生着し、2種類の血液細胞が産生されることで生じる twin chimera と、卵子形成段階での2母体核と2精子とが受精するか、または2つの胎芽が早期に融合し、1個体として発育することで生じる dispermic chimera とである。dispermic chimera は、造血細胞の混合だけでなく全身のキメリズム、いわゆる whole body chimerism を呈する¹⁾¹⁸⁾。したがって、dispermic chimera が twin chimera と相違する点は、口腔粘膜細胞、線維芽細胞など、血液以外の体細胞でキメリズムが存在することである。

双生児の一方が胎生時に吸収されることもあり、双子でないだけで twin chimera を否定できない。しかし、本例が twin chimera ではなく、dispermic chimera であろうと推定する根拠は、第一に、末梢血だけでなく、体細胞試料の爪からのDNAにも、A、O、B 遺伝子が混在していたこと、第二に、PCR-SSCP 法での泳動像で、赤血球の混合状態に対応して、爪と末梢血のいずれも A、O 遺伝子よりも B 遺伝子が量的に少なかったことである。このことは、RHE/e および RHc 遺伝子解析からも確かめられた。

XX/XY 細胞の混在が、末梢血リンパ球と線維芽細胞の染色体分析で認められる dispermic chimera では、真性半陰陽、皮膚色素沈着、虹彩異色などの身体的特徴が見られることがある¹⁾¹⁹⁾。しかし、本人の外見は普通の成人女性であり、検査依頼した産婦人科医とも接触したが、dispermic chimera の特徴的な、これらの様相は見られないようであった。線維芽細胞での核型を検討していないが、爪からの性別判定で末梢血と同様に XX の女性型を示したことから、Y 染色体の混合はないと判断した。末梢血リンパ球と線維芽細胞で、XX/XY 細胞の混在を全く認めない dispermic chimera 例もある²⁰⁾。XX/XX の dispermic chimera は、XX/XY の混在する場合よりも上記の特徴が

見られるのは少ないと思う。本例は、このような例に分類できるだろう。

dispermic chimera では、血液型遺伝子以外の多型マーカーで、本人への父または母親からの対立遺伝子の2重寄与がある¹⁾¹⁶⁾¹⁷⁾。von Willebrand factor gene(12p)、GSN locus(9q)、データは示していないが D7S440(7q)、D5S107(5q)のマイクロサテライト、さらに HLA 遺伝子(6p)のいずれにおいても、母親からの2重寄与は認められなかった。これとは、対照的に D1S102(1q)のマイクロサテライトで父親からの2重寄与を示していると考えられる。なぜならば、本人の爪および末梢血のパターンは父親と同じで、バンド強度の強いバンドはキメラを構成する大集団の細胞に由来し(母親由来のバンドと同一)、他方はバンド強度が弱く、父親に特異的で、小集団の細胞に由来すると考えるからである。このことは、ABO 遺伝子型で父親からの2重寄与(B、O 遺伝子)の推定と合致し、本例が dispermic chimera であることを示唆した。

本例の dispermic chimera の生成機序を考察すると、Ford が理論的に提案した説のうち1から6の6タイプが考えられる¹⁸⁾²¹⁾。本例は父親からの2重寄与があり、母親からのそれは見られないということから、6タイプの中で最も可能性の高いタイプ、すなわち卵子と第2極体が、2精子で同時に受精し一体となった dispermic chimera 例であろう。

この dispermic chimera の生成機序と本例の A 血球と AB 血球混合率の成因との関連は不明である。A 血球と AB 血球混合率(95%:5%)と血清中の A 型、B 型転移酵素量(A 型、B 型ともほぼ同量)とに相違がみられた。これは、本例が血球混合率と A 型、B 型転移酵素量とは相関しない例と考える。なぜならば、dispermic chimera において、両者が同様の比率を示さない反対の例²²⁾、さらに、XX/XY 細胞の混合比が組織によって異なる例もある²³⁾。これらのことから、造血組織と血清中へ両型転移酵素を分泌する組織とで、A、B 遺伝子を含む細胞の混合比が異なっていると解釈できるからである。

爪,末梢血でA,B,O遺伝子の混在が,実験室内において両親のゲノムDNAの混入によらないことを次の理由で確認できる.von Willebrand factor geneとGSN locusにあるマイクロサテライト解析で,両親と全く同一の泳動像を示していないことから両親のゲノムDNAの混入を,さらに性染色体アメロゲン領域の遺伝子増幅で,Y染色体遺伝子バンドが末梢血および爪でも検出されないため父親からのDNA混入を否定できる.

最後に,本研究において261番目塩基を挟む領域を増幅するPCR-SSCP法での,ABO遺伝子の検出はRFLP法に比較して簡便・迅速にでき,血液型キメラの判定に有用であることを示した.また本例がXX/XXを示すdispermic chimeraであることを,末梢血および体細胞試料として爪からのDNAを用いる遺伝子解析から推定した.Tippettがunestablished typeに分類しているような双子歴不明で分類できないキメラがあるが⁽¹⁸⁾,このような場合に本法が応用されることが期待できる.

謝辞:本研究にあたり,性別判定法,爪からのDNA抽出およびマイクロサテライト増幅について,貴重な技術的資料と助言をいただいた科学警察研究所 千住弘明,松田秀明,日本赤十字社中央血液センター 内田茂治,また本稿を査読していただいたHLA研究所 佐治博夫の諸先生に深謝いたします.

文 献

- 1) Race, R.R., Sanger, R. : Blood groups in twins and chimeras, Blood groups in man, Sixth edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1975, 511 546.
- 2) Janse, C.J., Van Vianen, P.H. : Flow cytometry in malaria detection, edit. Darzynkiewicz Z, Robinson JP, Crissman HA, Flow cytometry, Second edition part B, Academic Press, London, 1994, 295 318.
- 3) 高田俊範, 木南 凌 : ゲノムDNAの調整, 編者村松正実, 岡山博人, 遺伝子工学ハンドブック実験医学別冊, 羊土社, 東京, 1991, 41 45.
- 4) Fukumori, Y., Ohnoki, S., Shibata, H., Yamaguchi, H., Nishimukai, H. : Genotyping of ABO blood groups by PCR and RFLP analysis of 5 nucleotide positions. Int. J. Leg. Med., 107 : 179 182, 1995.
- 5) Maruya, E., Saji, H., Yokoyama, S. : PCR-LIS-SSCP (low ionic strength single-stranded conformation polymorphism) a simple method for high resolution allele typing of HLA-DRB1, -DQB1, and -DPB1. Genome Res., 6 : 51 57, 1996.
- 6) Tanaka, M., Seno, T., Shibata, H., Okubo, Y., Okuda, H., Kajii, E., Utsumi, R. : Genotyping for RhC/c and RhE/e by PCR using allele-specific oligonucleotide primers. Jpn. J. Leg. Med., 51 : 32 38, 1997.
- 7) Wang, L., Juji, T., Tokunaga, K., Takahashi, K., Kuwata, S., Uchida, S., Tadokoro, K., Takai, K. : Polymorphic microsatellite markers for the diagnosis of graft-versus-host disease. New Eng. J. Med., 330 : 398 401, 1994.
- 8) 山岡正暢, 仁田 浩, 佐治博夫, 横山繁樹 : 造血幹細胞移植後のキメリズム検査 PCR-SSCP法によるマイクロサテライトを用いて. 日輸血会誌, 45 : 213, 1999.
- 9) Peake, I.R., Bowen, D., Bignell, P., Liddell, M.B., Sadler, J.E., Standen, G., Bloom, A.L. : Family studies and prenatal diagnosis in severe von Willebrand disease by polymerase chain reaction amplification of a variable number tandem repeat region of the von Willebrand factor gene. Blood, 76 : 555 561, 1990.
- 10) Kwiatkowski, D.J., Perman, S. : Dinucleotide repeat polymorphism at the GSN locus (9q32-34). Nucl. Acids Res., 19 : 967, 1991.
- 11) Weber, J.L., Kwitek, A.E., May, P.E. : Dinucleotide repeat polymorphism at the D1S102 locus. Nucl. Acids Res., 18 : 2199, 1990.
- 12) Inoko, H., Ota, M. : PCR-RFLP, edit. Hui KM, Bidwell JL, Handbook of HLA typing techniques, CRC Press, London, 1993, 9 70.
- 13) Kawai, S., Maekawajiri, S., Tokunaga, K., Juji, T., Yamane, A. : A simple method of HLA-DRB typing using enzymatically amplified DNA and immobilized probes on microtiter plate. Hum. Immunol., 41 : 121 126, 1994.
- 14) 千住弘明, 関口和正, 水野なつ子, 吉田日南子, 笠井賢太郎, 坂井活子, 佐藤 元, 瀬田季茂 : 法科学的証拠資料のPCR法による性別判定におけるアメロゲン領域遺伝子増幅用プライマーの作成. 科学警察研究所報告法科学編, 47 : 71 76, 1994.
- 15) Clausen, H., Bennett, E.P., Grunnet, N. : Molecular genetics of ABO histo-blood groups. Transfus. Clin. Biol., 2 : 79 89, 1994.
- 16) 辻 彰子, 棟方栄治, 北 武, 梅津和夫, 池田典昭 : DNA分析による血液型キメラの再検討. 日法医誌, 50 : 17 22, 1996.
- 17) Dauber, E.M., Glock, B., Mayr, D., Mayr, W.R. : A

- case of dispermic chimerism : Importance of DNA polymorphisms. *J. Biol. Regul. Homeost. Agents.*, 13 : 51-53, 1999.
- 18) Tippett, P. : Blood group chimeras. *Vox Sang.*, 44 : 333-359, 1983.
- 19) Chapelle, A.D.L., Schröder, J.I.M., Rantanen, P., Thomasson, B., Niemi, M., Tiilikainen, A., Sanger, R., Robson, E.B. : Early fusion of two human embryos ?. *Ann. Hum. Genet. Lond.*, 38 : 63-75, 1974.
- 20) Moores, P.P., Watkins, W.M., Greenwell, P., Dunn, D., Bird, A. : Zulu XX/XX dispermic chimaera from Natal with two populations of red blood cells and patchy skin pigmentation. *Vox Sang.*, 54 : 52-56, 1988.
- 21) Ford, C.E. : Mosaics and chimaeras. *Br. Med. Bull.*, 25 : 104-109, 1969.
- 22) Watkins, W.M., Yates, A.D., Greenwell, P., Bird, G., W.G., Gibson, M., Roy, T.C.F., Wingham, J., Loeb, W. : A human dispermic chimaera first suspected from analyses of the blood group gene-specified glycosyltransferases. *J. Immunogenet.*, 8 : 113-128, 1981.
- 23) Dewald, G., Haymond, M.W., Spurbeck, J.L., Moore, S.B. : Origin of chi 46, XX/46, XY chimerism in a human true hermaphrodite. *Science*, 207, 321-323, 1980.
-