

## 遺伝子検査により適合血の輸血を行った抗 Do<sup>a</sup> 保有患者の 1 症例

石丸 健<sup>1)</sup> 舘岡 樹里<sup>1)</sup> 大橋 恒<sup>1)</sup> 深井 寛治<sup>1)</sup> 乾 典明<sup>2)</sup>  
佐藤進一郎<sup>1)</sup> 加藤 俊明<sup>1)</sup> 池田 久實<sup>1)</sup>

Dombrock 血液型の Do<sup>a</sup> と Do<sup>b</sup> 抗原は、共優性の対立遺伝子 *DOA*、*DOB* によって決定される。何れの抗原も免疫原性は高くなく、抗体が検出されることはまれである。抗 Do<sup>a</sup> と抗 Do<sup>b</sup> は、通常、反応性が弱く、他の抗体と共存しているため、同定が非常に難しい抗体である。したがって、抗原陰性血のタイピングに利用可能な抗血清の入手は困難であり、通常は交差適合試験によって適合血が選択される。しかし、その適合血の信頼性は高くなく、患者に溶血性輸血副作用をもたらすことがある。

今回我々は、抗 Do<sup>a</sup> 保有患者の輸血において、血清学的タイピングに替わる方法として PCR-SSP 法を用いた DNA タイピングにより適合血の選択を行った。患者には *DOA* 陰性 (*DOB/DOB*) の 2 バッグが輸血されたが、溶血所見は認められなかった。なお、北海道内の献血者 (n=235) における Dombrock 遺伝子の頻度は、*DOA* が 0.109、*DOB* が 0.891 であった。

Dombrock 血液型の DNA タイピングは、適合血のスクリーニングにおいて有用な方法であると考えられた。

キーワード：Dombrock 血液型、抗 Do<sup>a</sup>、DNA タイピング

### はじめに

Dombrock 血液型は、共優性の対立遺伝子 *DOA* と *DOB* の支配を受け、抗 Do<sup>a</sup> と抗 Do<sup>b</sup> により Do(a+b-), Do(a+b+), Do(a-b+) の 3 つの表現型に分類される。日本人の抗原頻度は Do<sup>a</sup> が 20%、Do<sup>b</sup> が 98% 程度と推定されている<sup>1)2)</sup>。一方、抗 Do<sup>a</sup>、抗 Do<sup>b</sup> は輸血や妊娠によって産生される免疫抗体であるが、Do<sup>a</sup>、Do<sup>b</sup> 抗原の免疫原性は弱く、抗体が検出されることはまれである。また、これらの抗体は反応性が弱く、他の抗体と共存していることが多いため、同定が難しい抗体としても知られている<sup>3)</sup>。

抗 Do<sup>a</sup> と抗 Do<sup>b</sup> は、何れも急性および遅発性の溶血性輸血副作用に関与した報告があり、臨床的意義がある抗体と考えられている<sup>4)~9)</sup>。しかし、輸血用血液の確保においては、タイピング用抗血清が入手困難であるため、抗原陰性が確認された適合血を確保できないのが現状である。今回我々は、抗 Fy<sup>a</sup> 保有患者から共存する抗 Do<sup>a</sup> を検出し、Dombrock 遺伝子検査により適合血の輸血を行った症例を経験したので報告する。

### 症 例

60 歳代、女性、胆嚢癌患者。妊娠歴有、輸血歴不明。

貧血改善のため 2008 年 2 月 13 日に交差適合試験陰性の 400ml 由来赤血球濃厚液 (RCC-LR-2) 2 バッグが輸血された。同年 8 月 18 日、化学療法による造血抑制に備えて輸血用血液を準備する目的で実施された不規則抗体検査において抗 Fy<sup>a</sup> が同定されたが、他の抗体の混在も疑われたため当施設に検査依頼があった。患者血清は間接抗グロブリン法において Fy(a-) 血球にも (1+) の凝集を示し、精査の結果、抗 Do<sup>a</sup> が同定された。適合血の選択については、Fy(a-) は通常血清学的タイピングで検索を行ったが、Do(a-) はタイピング用抗血清が入手できなかったため、DNA タイピングにより対応した。適合血として Fy(a-) かつ *DOA* 陰性 (*DOB/DOB*) の RCC-LR-2 を確保して輸血に備えた。輸血は 9 月 24 日と 10 月 21 日に 1 バッグずつ行われたが、何れも溶血所見は認められなかった。なお、輸血時および 11 月 10 日の患者検体では、抗 Do<sup>a</sup> の反応性は陰性化していた。

### 材料および方法

#### 1. 血清学的検査

血液型および不規則抗体検査は常法に従い実施した。なお、抗 Do<sup>a</sup> 同定用パネル血球として、Do<sup>a</sup> 抗原が既知

1) 北海道赤十字血液センター

2) 札幌月寒病院内科

〔受付日：2010 年 2 月 24 日、受理日：2010 年 4 月 30 日〕

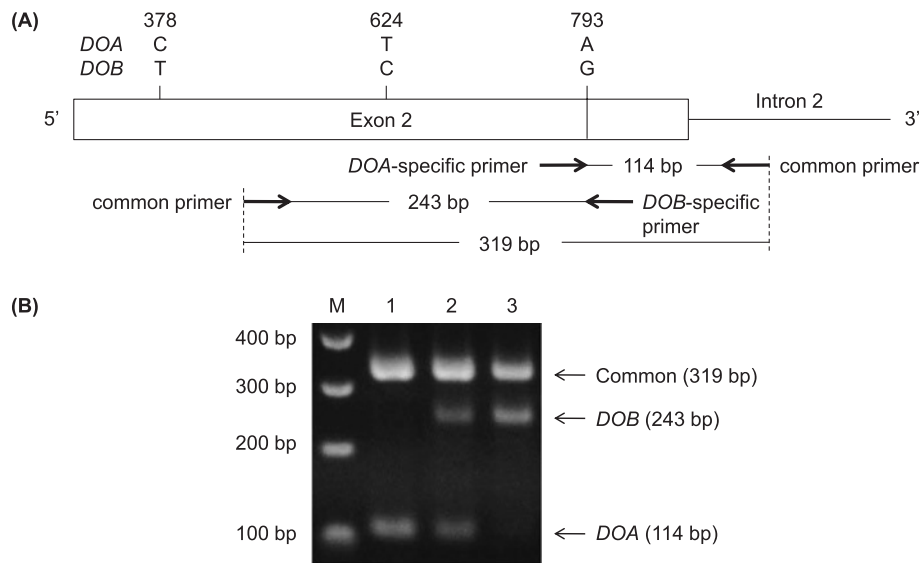


Fig. 1 DOA and DOB genotyping by polymerase chain reaction with sequence-specific primers (PCR-SSP)

(A) Specific primers for DOA (793A) and DOB (793G) products. (B) Lane 1, DOA/DOA; Lane 2, DOA/DOB; Lane 3, DOB/DOB; Lane M, DNA ladder.

の Fy (a-) 血球 7 種類 (Immucoor 社) と, Dombrock 遺伝子型が既知の Fy (a-) 血球 3 種類 (自家製) を用いた. また, Fy (a-) 血液の検索には自動輸血検査装置 PK7300 (Olympus 社) を使用した.

## 2. フローサイトメトリー法

Papain, trypsin,  $\alpha$ -chymotrypsin, pronase, sialidase, DTT (200mM), glycine HCl/EDTA でそれぞれ処理した血球<sup>10)11)</sup>と未処理血球について, 患者抗体との反応性を抗ヒト IgG・PE 標識抗体 (Jackson 社) を用いたフローサイトメトリー法の平均蛍光強度で比較し, 患者抗体が反応する抗原の性質を調べた. また, 抗ヒト IgG<sub>1</sub>, IgG<sub>2</sub>, IgG<sub>3</sub>, IgG<sub>4</sub> マウスモノクローナル抗体 (Sigma 社) と抗マウス IgG・PE 標識抗体 (Jackson 社) を用いて, 患者抗体の IgG サブクラスを測定した.

## 3. 単球貪食能試験

Arndt と Garratty の方法<sup>12)</sup>に準じて実施し, 3 名の健康人からそれぞれ分離・調整した単球による赤血球の貪食率を平均して, 0~5% を陰性, 5.1~20% を弱陽性, >20% を強陽性と判定した.

## 4. PCR-SSP 法による Dombrock 遺伝子検査

1 本の PCR チューブで DOA/DOB タイピングが行えるように, DOA (793A) に特異的なプライマーセット (forward: 5'-GAGCTACCACCCAAGAGGAA-3', reverse: 5'-GATCCTGAGTGGCCTCAATT-3') と, DOB (793G) に特異的なプライマーセット (forward: 5'-GATGTCCACTTTAATGCCT-3', reverse: 5'-GACCTCAACTGCAACCAGTC-3') をデザインした (Fig. 1-A). PCR は, QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen

社) を用いて全血 200 $\mu$ l から抽出したゲノム DNA をテンプレートに, TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup> Hot Start Version (タカラバイオ社) を使用して以下の条件で実施した. TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup> HS (5units/ $\mu$ l) 0.125 $\mu$ l, 10 $\times$  Ex Taq Buffer 2.5 $\mu$ l, dNTP Mixture (各 2.5mM) 2 $\mu$ l, テンプレート 50~100ng, プライマー等量混合液 (各 10 $\mu$ M) 2 $\mu$ l に滅菌蒸留水を加えて全量 25 $\mu$ l の PCR 反応液を調製し, GeneAmp<sup>®</sup> PCR System 9700 (Applied Biosystems 社) を用いて [98 $^{\circ}$ C/10 秒 $\rightarrow$ 65 $^{\circ}$ C/30 秒 $\rightarrow$ 72 $^{\circ}$ C/30 秒]  $\times$  30 サイクル $\rightarrow$ 72 $^{\circ}$ C/10 分の条件で増幅を行った. 判定は増幅産物を 2% アガロースゲルで電気泳動後エチジウムブロマイド染色し, UV 照射にて実施した (Fig. 1-B).

## 結 果

### 1. 患者抗体の同定

患者の主要な血液型は, O, D+C+c+E+e+, K-k+, Fy (a-b+), Jk (a+b+), M+N-S+s+, Le (a-b+), P<sub>2</sub>, Xg (a+), Di (a+b+), Jr (a+) で, 血清中には抗 Fy<sup>a</sup> が確認された. さらに, Fy (a-) 市販パネル血球 20 本中 9 本に間接抗グロブリン法で (1+) の凝集がみられたため, 他の抗体の混在が疑われたが, パネル血球の抗原表からは特異性を見いだせなかった. そこで, 凝集がみられた Fy (a-) 血球について各種処理を行い患者血清と反応させたところ, この抗体に対する抗原の反応性は, sialidase, glycine HCl/EDTA に影響されないが, papain で増強し, trypsin,  $\alpha$ -chymotrypsin, pronase, DTT (200mM) では減弱す

ることが確認された (Fig. 2)。この抗原の特徴と、凝集がみられた市販パネル血球の頻度 (白人あるいは黒人の抗原頻度) から、患者抗体は抗 Do<sup>a</sup> である可能性が高いと考え<sup>13)</sup>、抗 Do<sup>a</sup> 同定用パネル血球を準備して反応性をみたところ、抗 Do<sup>a</sup> の特異性が確認された (Table 1)。なお、患者の Dombrock 遺伝子型は DOB/DOB であった。

患者血清中から検出された抗 Fy<sup>a</sup> と抗 Do<sup>a</sup> は何れも IgG<sub>1</sub> であり、抗体価 (スコア値) はそれぞれ 32 倍 (33) と 16 倍 (16) であった。また、単球貪食能試験は抗 Fy<sup>a</sup>

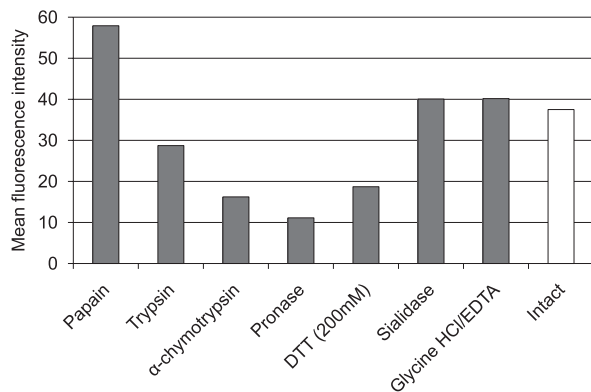


Fig. 2 Change in flow cytometric reactivity of patient's serum (anti-Do<sup>a</sup>) by enzyme/chemical-treatment of RBCs

が 25%、抗 Do<sup>a</sup> が 8% で、何れも溶血性輸血副作用への関与を示唆する結果となった<sup>12)</sup>。

## 2. 輸血用血液のタイピング

適合血の確保については、約 2,000 例の献血ドナーを対象とした PK7300 による抗原スクリーニングで得られた 424 例の Fy (b+) 血球について、Fy<sup>a</sup> 抗原タイピングを行い、17 例の Fy (a-b+) を検出した。さらに、これらの血液からゲノム DNA を抽出し、PCR-SSP 法による Dombrock 遺伝子検査を行い、Fy (a-b+) かつ DOB/DOB の RCC-LR-2 を 16 バッグ確保した。

また、抗 Do<sup>a</sup> が検出される約 6 カ月前 (2008 年 2 月 13 日) の最初の輸血に使用された 2 バッグの献血ドナーを調査したところ、1 名は DOA/DOB であることが判明したが、もう 1 名は検体が入手できなかった。

## 3. Dombrock 遺伝子の頻度調査

北海道内の献血ドナー 235 名を対象に DOA/DOB タイピングを実施したところ、各アレルの頻度は、DOA が 0.109、DOB が 0.891 であった (Table 2)。また、遺伝子型が DOA/DOB の血球を用いて、献血ドナー 42,770 名の抗体スクリーニングを実施したが、Dombrock 抗体は検出されなかった。

## 考 察

Do<sup>a</sup>、Do<sup>b</sup> 抗原は、その抗原頻度から輸血や妊娠によ

Table 1 Identification of anti-Do<sup>a</sup> specificity with red cell panels

Panel cell No.	Antigen		Dombrock genotype	Test results	
	Fy <sup>a</sup>	Do <sup>a</sup>		Sal	PEG-IAT
1	0	+	Unknown	Negative	1 +
2	0	+	Unknown	Negative	1 +
3	0	+	Unknown	Negative	1 +
4	0	+	Unknown	Negative	1 +
5	0	0	Unknown	Negative	Negative
6	0	0	Unknown	Negative	Negative
7	0	0	Unknown	Negative	Negative
8	0	Unknown	DOA/DOB	Negative	1 +
9	0	Unknown	DOB/DOB	Negative	Negative
10	0	Unknown	DOB/DOB	Negative	Negative
Auto control	0	Unknown	DOB/DOB	Negative	Negative

Sal: saline test.

PEG-IAT: indirect antiglobulin test using polyethylene glycol.

Table 2 Dombrock genotype and allele frequencies

Genotype (793A > G)	Japanese (Hokkaido area) (% in 235)	Donor race <sup>14)</sup>				
		New York (% in 218)	Ashkenazi (% in 69)	Israeli (% in 188)	Chinese (% in 58)	Thai (% in 100)
DOA/DOA	0.9	17.0	14.5	16.5	1.7	2.0
DOA/DOB	20.0	27.0	33.3	48.4	19.0	25.0
DOB/DOB	79.1	56.0	52.2	35.1	79.3	73.0
Frequency of alleles						
DOA	0.109	0.305	0.312	0.407	0.112	0.145
DOB	0.891	0.695	0.688	0.593	0.888	0.855

る免疫の機会が少なくないにもかかわらず、抗 Do<sup>a</sup>、抗 Do<sup>b</sup>が検出されることはまれである<sup>3)</sup>。我々の自験例においても、献血ドナーからの検出例はなく、患者から2例の抗 Do<sup>a</sup>（本症例を含む）と1例の抗 Do<sup>b</sup>が検出されているにすぎない。このように、Do<sup>a</sup>、Do<sup>b</sup>抗原は免疫原性が低いため、抗 Do<sup>a</sup>、抗 Do<sup>b</sup>が輸血検査で問題となることは少ない。しかし、もし遭遇した場合には、複数抗体として存在することが多いため、複雑な同定検査が必要になる。抗 Do<sup>a</sup>、抗 Do<sup>b</sup>は、Swanson ら<sup>15)</sup>と Molthan ら<sup>16)</sup>がみいだしたオリジナル血清をはじめ、その検出例のほとんどに他の抗体の共存がみられ、中には4~6種類もの抗体との共存例が報告されている<sup>6)7)</sup>。免疫原性が低い Do<sup>a</sup>、Do<sup>b</sup>抗原に感作されるような患者は、免疫が誘起されやすい特徴を持ち、輸血や妊娠により多種の抗体を容易に産生するのも知れない。抗 Do<sup>a</sup>が検出された本症例においても、抗 Fy<sup>a</sup>が認められた。しかし、共存した抗体が1種類と少なかったのは、患者の表現型が D+C+c+E+e+、Jk(a+b+)、S+s+、Di(a+b+)であり、主要な抗原の多くが陽性であったことが幸いしたと推察される。

本症例の抗 Do<sup>a</sup>は抗体価が16倍であったが、スコア値は16と低く、その反応性は非常に弱かった。また、同定から約1カ月後の輸血時には抗体が陰性化したことから、最初の輸血（輸血血液の遺伝子型が DOA/DOB）に抗原感作があったと推定すると、抗 Do<sup>a</sup>の検出が可能であった期間は長く見積もっても6~7カ月程度と考えられた。このように、反応性が弱く、検出限界以下になりやすい抗体の特徴から、交差適合試験では防止し得なかった抗 Do<sup>a</sup>による溶血性輸血副作用が報告されている<sup>9)</sup>。本症例においても、抗 Do<sup>a</sup>が同定できずに、交差適合試験のみで輸血血液を選択していれば、同様な副作用が起きていたのかも知れない。したがって、抗 Do<sup>a</sup>、抗 Do<sup>b</sup>が同定された輸血患者への適合血は、事前に抗原タイピングがなされた Do(a-)あるいは Do(b-)の抗原陰性血が最良の選択肢と考えられる。

通常、赤血球の抗原タイピングは抗血清やモノクローナル抗体が充実しているため、抗原陰性血の検索は容易である。しかし、少数ながら抗体試薬が入手できない血液型もあり、その代表例が Do<sup>a</sup>、Do<sup>b</sup>抗原である。先に述べたように、抗 Do<sup>a</sup>、抗 Do<sup>b</sup>は複数抗体として存在し、短期間で抗体が消失してしまうため、患者血清を用いた抗原タイピングも期待できない。そこで、考えられる手段は、DNAタイピングを利用した適合血の選択である<sup>17)</sup>。Dombrock血液型は、2000年に Gubin ら<sup>18)</sup>によって遺伝子が同定されて以来、Do<sup>a</sup>と Do<sup>b</sup>の多型を決定するエクソン2の793A>G(Asn265Asp)をターゲットにしたDNAタイピングが報告されている<sup>19)~22)</sup>。我々も、この1塩基置換をPCR-SSP法で検出

することにより、DOAとDOBアレルのタイピングを行った(Fig.1)。本症例は、抗 Do<sup>a</sup>が同定されてから輸血までに時間的余裕があったため、遺伝子検査による対応は比較的容易であった。しかしながら、もし検出された抗体が抗 Do<sup>b</sup>であった場合には、適合血となる DOA/DOA は日本人において低頻度であるため、検索は困難を極めたと予想される(Table 2)。また、たとえ抗体が抗 Do<sup>a</sup>であっても、共存する抗体が数種類にもおよぶ場合には、血液を確保するまでに多大な時間を要したと思われる。何れにせよ、抗 Do<sup>a</sup>、抗 Do<sup>b</sup>が同定された場合、迅速に適合血を確保することは非常に難しいと考えられる。

抗 Do<sup>a</sup>、抗 Do<sup>b</sup>は溶血性輸血副作用への関与が報告されているが、Rh、Kell、Duffy、Kidd、Diegoなどの主要な血液型抗体ほど重症度は高くはないと考えられている<sup>23)</sup>。本症例の抗 Do<sup>a</sup>においても、単球貪食能試験の結果は弱陽性であり、臨床的意義はそれほど高くないと推察された<sup>12)</sup>。したがって、輸血までに時間的余裕がない場合、他の主要な血液型抗体が共存していれば、まずはこれらの抗体に対する抗原陰性血を優先して準備することが大切である。そして、抗 Do<sup>a</sup>、抗 Do<sup>b</sup>については、“血清学的に最も矛盾のない”製剤、すなわち交差適合試験の反応性が弱い製剤から使用することもやむを得ないであろう<sup>23)</sup>。しかし、こうした対応は緊急避難的なものであり、抗 Do<sup>a</sup>、抗 Do<sup>b</sup>保有患者に安全な適合血を迅速に供給するためには、Dombrock遺伝子検査によるドナー登録や冷凍血確保に努めていくことが必要であると考えられた。

## 結 語

抗 Do<sup>a</sup>保有患者に遭遇し、遺伝子検査により適合血の輸血を行った症例を報告した。血液型の遺伝子検査は、溶血性輸血副作用の防止に役立つことは少ないが、本症例のように抗原陰性血を確保するためのタイピング用試薬が入手できない場合には、有効な手段になると考えられた。

本論文の要旨は第57回日本輸血・細胞治療学会総会（さいたま市）において発表した。

## 文 献

- 1) Nakajima H, Moulds JJ: Do<sup>a</sup> (Dombrock) blood group antigen in the Japanese: tests on further population and family samples. Vox Sang. 38: 294-296, 1980.
- 2) 永尾暢夫, 富田忠夫, 上 恵子, 他: 日本人に初めて検出された抗 Do<sup>a</sup>の1例と Do(a+b-)の1家系. 日本輸血学会雑誌, 29: 402-404, 1983.

- 3) Reid ME: The Dombrock blood group system: a review. *Transfusion*, 43: 107—114, 2003.
- 4) Moheng MC, McCarthy P, Pierce SR: Anti-Do<sup>b</sup> implicated as the cause of a delayed hemolytic transfusion reaction. *Transfusion*, 25: 44—46, 1985.
- 5) Judd WJ, Steiner EA: Multiple hemolytic transfusion reactions caused by anti-Do<sup>a</sup>. *Transfusion*, 31: 477—478, 1991.
- 6) Halverson G, Shanahan E, Santiago I, et al: The first reported case of anti-Do<sup>b</sup> causing an acute hemolytic transfusion reaction. *Vox Sang*, 66: 206—209, 1994.
- 7) Strupp A, Cash K, Uehlinger J: Difficulties in identifying antibodies in the Dombrock blood group system in multiply alloimmunized patients. *Transfusion*, 38: 1022—1025, 1998.
- 8) Shirey RS, Boyd JS, King KE, et al: Assessment of the clinical significance of anti-Do<sup>b</sup>. *Transfusion*, 38: 1026—1029, 1998.
- 9) Baumgarten R, van Gelder W, van Wintershoven J, et al: Recurrent acute hemolytic transfusion reactions by antibodies against Do<sup>a</sup> antigens, not detected by cross-matching. *Transfusion*, 46: 244—249, 2006.
- 10) Daniels GL: Effect of enzymes on and chemical modifications of high-frequency red cell antigens. *Immunohematology*, 8: 53—57, 1992.
- 11) Beattie K, Crawford M, Mallory D, et al: *Immunohematology method and procedures*, 1st edition, American Red Cross National Reference Laboratory, Rockville, 1993.
- 12) Arndt PA, Garratty G: A retrospective analysis of the value of monocyte monolayer assay results for predicting the clinical significance of blood group alloantibodies. *Transfusion*, 44: 1273—1281, 2004.
- 13) Reid ME, Lomas-Francis C: *The blood group antigen FactsBook*, 2nd ed, Academic Press, London, 2004.
- 14) Hashmi G, Shariff T, Seul M, et al: A flexible array format for large-scale, rapid blood group DNA typing. *Transfusion*, 45: 680—688, 2005.
- 15) Swanson J, Polesky HF, Tippett P, et al: A 'new' blood group antigen, Do<sup>a</sup>. *Nature*, 206: 313, 1965.
- 16) Molthan L, Carwford MN, Tippett P: Enlargement of the Dombrock blood group system: the finding of anti-Do<sup>b</sup>. *Vox Sang*, 24: 382—384, 1973.
- 17) Reid ME: DNA analysis to find rare blood donors when antisera is not available. *Vox Sang*, 83 (Suppl. 1): 91—93, 2002.
- 18) Gubin AN, Njoroge JM, Wojda U, et al: Identification of the Dombrock blood group glycoprotein as a polymorphic member of the ADP-ribosyltransferase gene family. *Blood*, 96: 2621—2627, 2000.
- 19) Rios M, Hue-Roye K, Lee AH, et al: DNA analysis for the Dombrock polymorphism. *Transfusion*, 41: 1143—1146, 2001.
- 20) Wu GG, Jin SZ, Deng ZH, et al: Polymerase chain reaction with sequence-specific primers-based genotyping of the human Dombrock blood group *DOI* and *DO2* alleles and the *DO* gene frequencies in Chinese blood donors. *Vox Sang*, 81: 49—51, 2001.
- 21) Storry JR, Westhoff CM, Charles-Pierre D, et al: DNA analysis for donor screening of Dombrock blood group antigens. *Immunohematol*, 19: 73—76, 2003.
- 22) Araujo F, Pereira C, Monterio F, et al: Genotyping Dombrock alleles in Portuguese blood donors by real-time PCR. *Transfusion*, 43: 1495—1496, 2003.
- 23) Daniels G, Poole J, de Silva M, et al: The clinical significance of blood group antibodies. *Transfusion Medicine*, 12: 287—295, 2002.

## DOMBROCK GENE-MATCHED RED CELL TRANSFUSION IN A PATIENT WITH ANTI-Do<sup>a</sup>

Ken Ishimaru<sup>1)</sup>, Juri Tateoka<sup>1)</sup>, Wataru Ohashi<sup>1)</sup>, Kanji Fukai<sup>1)</sup>, Noriaki Inui<sup>2)</sup>, Shinichiro Sato<sup>1)</sup>, Toshiaki Kato<sup>1)</sup> and Hisami Ikeda<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Hokkaido Red Cross Blood Center

<sup>2)</sup>Department of Internal Medicine, Sapporo Tsukisamu Hospital

### **Abstract:**

The red cell antigens Do<sup>a</sup> and Do<sup>b</sup> are encoded by a pair codominant alleles (*DOA*, *DOB*) at the Dombrock locus. Both antigens are weakly immunogenic and the corresponding alloantibodies are rare. Anti-Do<sup>a</sup> and anti-Do<sup>b</sup> are usually weakly reactive and coexist with other alloantibodies. Furthermore, the serologic identification of anti-Do<sup>a</sup> and anti-Do<sup>b</sup> is notoriously difficult. Therefore, Do<sup>a</sup> and Do<sup>b</sup> typing antisera are not readily available for screening antigen-negative RBC units, and the selection of compatible blood is frequently based on crossmatch results. However, inaccurate selection can put patients at risk for hemolytic transfusion reactions.

Here, we used *DOA/DOB* PCR-SSP assay as an alternative to serologic typing for selecting RBC units for a patient with anti-Do<sup>a</sup>. The patient received 2 units of *DOA*-negative (*DOB/DOB*) RBC and had no symptoms or laboratory evidence of hemolysis. The Dombrock gene frequencies in blood donors in Hokkaido (n = 235) were 0.109 for *DOA* and 0.819 for *DOB*.

DNA-base typing appeared useful for screening for Dombrock-compatible donors.

### **Keywords:**

Dombrock blood group system, anti-Do<sup>a</sup>, DNA typing