

新たな変異型 *RHD* 遺伝子をもつ weak D 初妊婦の 1 例

嶋田 里子¹⁾ 安田 広康²⁾ 佐藤須磨子¹⁾ 加藤 博¹⁾ 橋本志奈子³⁾
 小宮ひろみ⁴⁾ 則竹 保治⁵⁾ 伊藤 正一⁶⁾ 菊地 正輝⁶⁾ 佐々木佳奈⁷⁾
 小笠原健一⁷⁾ 大戸 齊²⁾

背景：抗 D を保有していない D 陰性妊婦に対しては、児由来の D 陽性赤血球による同種免疫感作を防止するため、妊娠期間中あるいは分娩時に抗 D ヒト免疫グロブリン (RhIG) の投与が推奨されている。しかし、weak D と判定された妊婦への RhIG 投与については判断が分かれるところである。

症例および結果：妊娠 34 週目の初妊婦で、Rh (D) 血液型検査で直後判定は陰性、間接抗グロブリン試験 (IAT) で陽性の結果から weak D と判定した。妊婦には RhIG の投与は行わず経過観察した。児 (第 1 子) は Rh (D) 陽性であったが、周産期および出産後も抗 D 産生は認められなかった。母親の *RHD* 遺伝子解析をしたところ gDNA イントロン 4 のスプライシング受容部位に A>G の変異があり、転写産物にはイントロン 4 に由来する 87bp の塩基挿入を認めた。

結論：RhIG を投与せず経過観察した weak D 初産婦を経験した。児は Rh (D) 陽性であったが、母親には抗 D 産生を認めなかった。母親の *RHD* 遺伝子にはこれまでに報告のない IVS4-2A>G の変異があり、weak D はスプライシング異常により RhD タンパクに 29 個のアミノ酸が挿入したことによって生じたものと考えられた。

キーワード：weak D, 変異型 *RHD* 遺伝子, 抗 D, 抗 D ヒト免疫グロブリン, 妊婦

はじめに

D 亜型は、D の抗原が弱い weak D と D 抗原を構成する成分が一部欠いている partial D に大別される¹⁾。通常 weak D は直後判定陰性、間接抗グロブリン試験 (D 陰性確認試験) で陽性となる²⁾。しかし、一部の partial D (DVI など) も同様の反応パターンをとるため日常検査では両者の鑑別が難しい³⁾。

抗 D ヒト免疫グロブリン (anti-D human immunoglobulin, RhIG) は、抗 D を保有していない D 陰性妊婦が児由来の D 陽性赤血球による同種免疫感作を防止するため、通常妊娠 28 週目と分娩後 72 時間以内に投与されている⁴⁾。また、partial D 妊婦も D 抗原の欠損部位に対する抗 D を産生し、稀に Rh 血液型不適合による胎児・新生児溶血性疾患 (HDFN: hemolytic disease of the fetus and the newborn) を起すことがある⁵⁾。そ

のため、被凝集価が 4 倍未満と低く、partial D の可能性のある weak D 妊婦へは、D 陰性妊婦に準じて RhIG を投与すべきとする考えがある⁶⁾⁷⁾。一方、weak D 妊婦についても American Association of Blood Banks (AABB)¹⁾ や British Committee for standards in Haematology (BCSH)⁴⁾ では Rh (D) 血液型検査で直後判定が陰性であれば D 陰性とすることを¹⁾ 推奨しているが、AABB の分科委員会である Scientific Section Coordinating Committee (SSCC)⁸⁾ は weak D 確認試験が陽性となれば D 陽性として対処してよいとしている。また、日本における partial D の頻度は約 0.0004% と欧米の 0.015~0.05% に比べ極めて低く⁹⁾、weak D として判定された partial D 妊婦が抗 D を産生することは稀であることから、weak D 妊婦へは積極的に RhIG を投与する必要はないとする考えもあり¹⁰⁾、明確な指針がない。

1) 南相馬市立総合病院臨床検査科

2) 福島県立医科大学附属病院輸血・移植免疫部

3) 南相馬市立総合病院産婦人科

4) 福島県立医科大学附属病院産婦人科

5) 福島県赤十字血液センター

6) 宮城県赤十字血液センター

7) 日本赤十字社中央血液研究所

〔受付日：2010 年 5 月 17 日，受理日：2011 年 1 月 14 日〕

Table 1 Serological results of a woman (proband) carrying a novel weak D phenotype

Red cells	Anti-D*		Agglutination titer
	IS	IAT	
Proband	0	1+	1
D+(R1R2)	4+	4+	512

*Bioclone; Ortho

IS: immediate spin IAT: indirect antiglobulin test nt: not tested

今回我々は、weak Dと判定した初産婦症例を経験し、妊婦に対しRhIGを回避しての経過と新たな変異型RHD遺伝子によるweak Dの精査結果について報告する。

症 例

患者は29歳女性、初産、輸血歴はない。献血時および他院での妊娠初期検診でweak Dと判定され、2006年9月妊娠34週目に当院紹介となる。ABO血液型はO型、不規則抗体スクリーニングは陰性であった。市販抗D試薬によるRh(D)血液型は直後判定で陰性、D陰性確認試験で陽性(1+)の反応からweak Dと判定した。日本人において日常検査でweak Dと判定された中にDVIが含まれる可能性は極めて低いので、妊婦へは妊娠期間中にRhIGの投与は行わなかった。妊娠経過は良好で自然分娩にて女児を出産した。児の血液型はO型、Rh(D)陽性であった。生後4日目の総ビリルビン値は9.6mg/dlであり、その他HDFNを疑う検査所見は認めなかった。分娩時の母親の不規則抗体スクリーニングは陰性であったが、その際もRhIGは投与しなかった。出産7カ月後に実施した不規則抗体スクリーニングは陰性で、抗D産生は認めなかった。しかし、被検赤血球の抗D被凝集価は1倍と低かったことから、変異型Dの可能性を考慮し、分娩後、日本赤十字血液センターへの精査を依頼した。

その後、2010年2月第2子(女児)を自然分娩にて出産した。妊娠期間中、母親の不規則抗体スクリーニング検査は陰性で抗D産生は認めなかった。妊娠40週目に出産した児はO型、Rh(D)陽性であった。分娩時の総ビリルビン値は1.2mg/dl、生後4日目の総ビリルビン値は8.9mg/dl、Hb20.7g/dlとHDFNを疑う検査所見は認められなかった。抗D産生の可能性は極めて低いと考え、第2子の周産期および分娩時もRhIGの投与は行わなかった。

方 法

1. 初診時検査

Rh(D)血液型検査には、抗D抗体試薬としてオーソ®バイオクロン®抗Dを用い、試験管法にて行った。

D陰性確認試験は、37°Cで60分間反応させ、IATで反応性をみた。抗Dによる被検赤血球凝集価測定は、抗D抗体試薬の2°希釈系列を作成し、37°Cで60分間反応させIATで対照赤血球(DCCeE)と比較した。

2. weak D 関連検査

1) 血清学的検査

Rh(D)血液型検査は常法に従い、3種類の市販ポリクローナル抗D試薬(ガンマ、オーソ、イムコア)および5種類の自家製モノクローナル抗D試薬を用いて反応性をみた。抗Dによる吸着解離試験は、10倍に希釈したポリクローナル抗D試薬(オーソ)を用い、37°C、60分間反応させ、DT解離液II(オーソ)を用いて抗体を解離した。解離液中の抗体は、サージ・スクリーン(オーソ)を用いて検出した。

2) RHD 遺伝子解析

① PCR-SSP (polymerase chain reaction-sequence specific primer) 法によるRHD遺伝子の検出

妊婦血より抽出したゲノムgDNAを用いて、以下に示す8種類のプライマーによるmultiplex-PCR[アニーリング59°C(30秒)、伸長反応72°C(1分)、35サイクル]を行い、ポリアクリルアミド・ゲル電気泳動によって増幅の有無を調べた。

DEL-f6: 5'-ATGACCAAGTTTTCTGGAAA-3',
 DEL-r3: 5'-CAGCAAGTCAACATATGTACT-3',
 DCE10-f1: 5'-TGTAATGAGACATTTAGGCT-3',
 D10-r1: 5'-TCAACTCCATTTTCTCTGACT-3',
 DCE8-f1: 5'-TACTGACACCGACAGTCCTT-3',
 DCE8-r1: 5'-TGCTGTGTCCTGGCAATGGT-3',
 DNEG-f2: 5'-CGAAGGTTTCCAAACCCCAA-3',
 DNAG-r2: 5'-TCTTTTCTGGCCTTAACATC-3'.

②塩基配列の解析

RHD遺伝子のgDNA塩基配列は、イントロン4の一部からエキソン6までの2901bpを、D4-f1(5'-AGCTCTGAACACCAGTCTCA-3')とD6-r1(5'-AGCCAGGATGGATCCCTCA-3')を用いて増幅し、解析した。

また、網赤血球より抽出したmRNAよりcDNAを調製後、D10-r1とRh-ENT3(5'-CACCATGAGCTCTAAGTACCCGCGGTCTGT-3')を用いてRHD遺伝子タンパクコード領域を特異的に増幅し、解析した。

結 果

初診時のRh(D)血液型検査で、被検赤血球とバイオクロン抗D(オーソ)との反応は直後判定で陰性、D陰性確認試験で陽性(1+)であった。また、被検赤血球の抗D被凝集価は対照の512倍と比べ1倍と著しく低値であった(Table 1)。次に各種抗Dとの反応を調べたところ、被検赤血球と3種類のポリクローナル抗Dとの反応は、室温15分後の判定ですべて陰性であ

Table 2 Reactivity of the woman's RBCs with three polyclonal and five monoclonal anti-D reagents

Anti-D reagents	R.T 15 min			IAT						
	Proband	D+	D-	Proband	D+	D-	DIVa	DIVb	DVa	DVI
Commercial polyclonal antibodies										
1) A IgG	0	4+	0	1+	4+	0	nt	nt	nt	nt
2) B IgG	0	4+	0	1+	4+	0	nt	nt	nt	nt
3) C IgG	0	4+	0	1+	4+	0	nt	nt	nt	nt
In-house monoclonal antibodies										
1) HIRO-55 IgG	nt	nt	nt	1+	4+	0	-	-	-	-
2) HIRO-5 IgG	nt	nt	nt	0	4+	0	+	+/-	+	-
3) HIRO-2 IgG	nt	nt	nt	3+	4+	0	+	+	-	-
4) HIRO-4 IgG	nt	nt	nt	3+	4+	0	-	-	+	+
5) HIRO-3 IgG	nt	nt	nt	3+	4+	0	+	+	+	+

R.T15 min : incubate at room temperature for 15 minutes, D+ : D positive, D- : D negative

IAT : indirect antiglobulin test nt : not tested

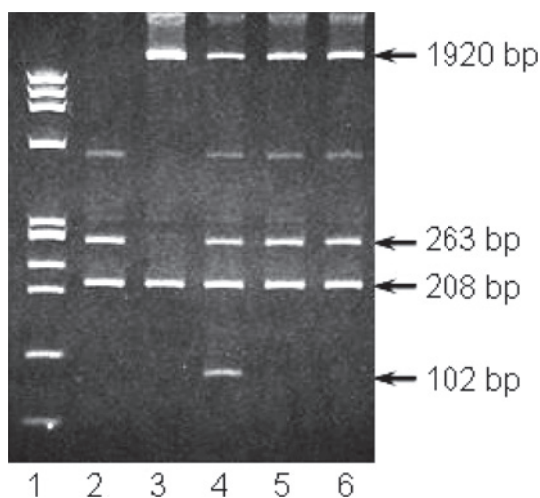


Fig. 1 PCR-SSP analysis of a patient with weak D phenotype

Genome DNAs were amplified using a set of eight primers to identify the *RHD* genotype. Lane 1: DNA size marker, lanes 2-5: control samples (*RHD* genotypes *D/D*, *d/d*, *DEL/d*, and *D/d*, respectively), lane 6: DNA sample obtained from the patient. The top band (1920 bp) is the hybrid-Rhesus box amplicon indicating the *RHD* deletion¹¹.

The second band (263 bp) corresponds to exon 10 of the *RHD*. The third band (208 bp) is the internal control corresponding to exon 8 of both *RHD* and *RHCE*. The fourth band (102 bp) is the *DEL* amplicon having the 1227G>A mutation.

た. 引き続き実施した IAT ではすべて 1+ を示した. 一方, 自家製モノクローナル抗 D との反応は IAT で 1+ ~ 3+ で HIRO-5 のみ陰性であったが, 既知の各種 partial D に一致する反応パターンは示さなかった (Table 2).

ポリクローナル抗 D による吸着解離試験では, 被検赤血球から得られた解離液と D 陽性赤血球の反応は 4+ であった. また, パネル赤血球との反応では抗 D 特異性が観察され, D 抗原が被検赤血球上に存在すること

が確認された.

RHD 遺伝子解析では, gDNA を用いて PCR-SSP を行ったところ, *RHD* 欠損型にみられる 1920 bp のバンド¹¹と通常の *RHD* にみられる 263 bp のバンドが検出された (Fig. 1). したがって, 妊婦の *RHD* 遺伝子型は *D/-*型と考えられた. 次に, *RHD* 遺伝子イントロン 4 の下流からエクソン 6 までの領域を PCR 増幅し塩基配列を調べた結果, イントロン 4 のスプライシング受容部位に変異 (IVS4-2A>G) が認められた. そこで, 網赤血球由来の mRNA より調製した cDNA を用いて RhD タンパクコード領域を増幅し塩基配列を調べたところ, エクソン 4 とエクソン 5 の間にイントロン 4 由来の塩基挿入 (87 bp) を認めた (Fig. 2). この塩基挿入により RhD タンパクに 29 個のアミノ酸が挿入されたと考えられる. また, 家系調査により, 変異型 *RHD* 遺伝子 (*D**) は父親由来であることが分かった. 発端者の父親は *D*/D* (*D*Ce/DcE*), 母親は *D/-* (*DcE/cE*), 発端者は *D*/-* (*D*Ce/cE*), 妹は *D/-* (*DcE/cE*) であった (Fig. 3).

考 察

一般的に, weak D は RhD タンパクの膜貫通ドメインや細胞質ドメインにコードする *RHD* 遺伝子の点変異によって, D 抗原が減弱している. 一方, partial D は *RHCE* 遺伝子と *RHD* 遺伝子の遺伝子変換や膜表面ドメインにコードする *RHD* 遺伝子の点変異によって, D エピトープの一部が欠損した不完全な D 抗原が発現される³. 欧米では, これまでに weak D アリルは 70 種以上, partial D アリルは 35 種以上の報告があり¹², weak D では type 1~3 が, partial D では DVI が最も一般的である¹. 一方, 日本では Type15 (845G>A, Gly 282Asp) や Type24 (1013T>C, Leu338Pro) の weak D アリルが同定されており^{13,14}, また日本人に特徴的な weak D や partial D アリルも見つかっている^{15~18}.

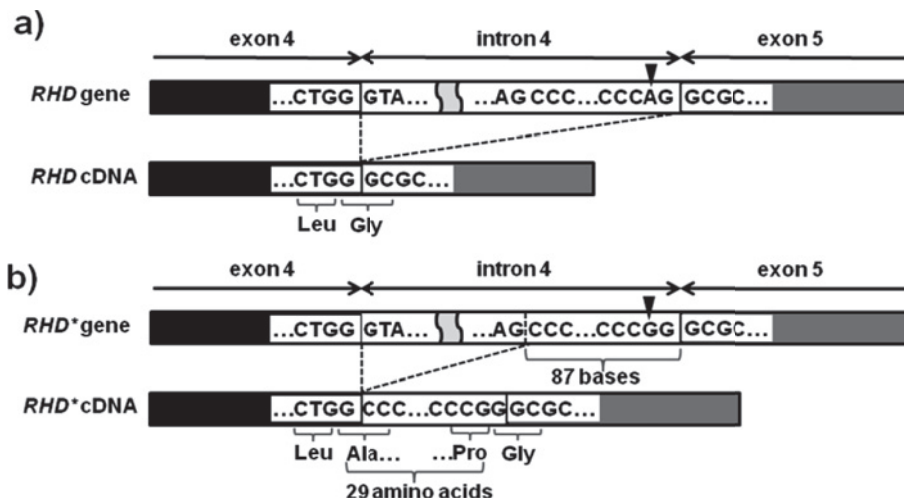


Fig. 2 Generation of novel *RHD* transcripts having an 87-base insertion by a cryptic splicing of the acceptor site
Sequencing results of the *RHD* gene and *RHD* cDNA are shown: a) an individual with common D+, b) the present patient with weak D. The patient has a novel *RHD* with A>G mutation at the splicing acceptor site of intron 4 as compared with common *RHD*. The intronic mutation may cause an 87-base insertion as a consequence of alternative splicing.

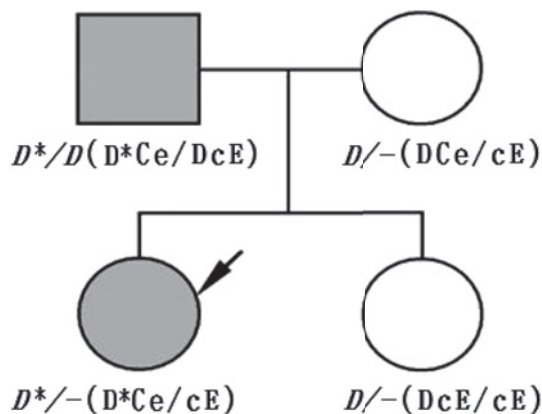


Fig. 3 Pedigree of a family associated with a novel variant *RHD* gene.
The Rh blood group phenotypes and *RHD* genotype of each person are shown. Arrow indicates the proband.

正常な赤血球に発現されている D エピトープ (抗原決定基) 数は 10,000~33,000 であるのに対し, weak D の D エピトープ数は 200~10,000 と少ない¹⁹⁾. 通常, weak D 赤血球にはすべての D エピトープが発現されているため, weak D 妊婦が周産期に児由来の D 陽性赤血球による暴露を受けても, 抗 D を産生することはないと考えられていた²⁰⁾. しかし, *RHD* 遺伝子解析やモノクローナル抗体を用いた D 抗原の血清学的研究によって, D エピトープ数が極端に低下している weak D (Rhesus Index が 0.3 未満)の中には主要な D エピトープの一部を欠くものがあり, 稀ではあるが抗 D を産生する可能性が指摘されている²¹⁾. 中でも, weak D type

4.2²²⁾や type 15²³⁾では変異部位が膜表面近くの膜貫通ドメインにあるため, RhD タンパクの高次構造に何らかの影響を及ぼしている可能性が考えられている. 事実, それぞれの weak D で同種抗 D を産生した症例報告がある²⁴⁾.

一方, partial D は, D エピトープの一部が欠損しているため, D 抗原の感作により欠損部位に対し抗 D を産生することがわかっている. 中でも, 主要な D エピトープ (epD6.1-6.8) を欠く DVI は, 抗 D をしばしば産生することがあり, 最も臨床的意義が高い partial D と考えられている²⁵⁾. そのため, 欧米では日常検査においては DVI を正常 D として誤判定しないよう, 患者や妊婦のための Rh (D) 検査には直後判定で DVI と反応しないモノクローナル IgM 抗 D 試薬が導入され¹⁾²⁶⁾, 現在では日本でも日常検査に常用されている.

初診時の Rh (D) 血液型検査において, 被検赤血球は市販抗 D 試薬と直後判定で陰性, D 陰性確認試験で陽性であったことから, weak D と判定した. しかし, 市販抗 D 試薬による被凝集価は 1 倍と極めて低かったことから, 発端者の D 抗原が variant である可能性を否定できなかったため, 産後に *RHD* 遺伝子関連検査を含めた精査を実施した. 複数のモノクローナル抗 D との反応では既知の各種 partial D と一致する反応パターンは示されなかったことから partial D ではないことが示唆された. *RHD* 遺伝子解析の結果, 発端者は D*/- であることが判明したが (Fig. 1), *RHD* 遺伝子 gDNA イントロン 4 のスプライシング受容部位に A>G (IVS4-2A>G) の点変異が認められ, イントロン 4 本来のス

プライシング受容部位が消失していることが分かった。これにより、第4イントロンの3'末端から87塩基上流にあるAGが新たなスプライシング受容部位となって、イントロン4の一部がmRNAに挿入されたと考えた(Fig. 2)。D抗原の発現減弱の程度はweak Dのtypeによって異なるが、多くはRHD遺伝子のSNP(single nucleotide polymorphism)によるものであり、それに伴って置換したアミノ酸はRhDタンパクの膜貫通ドメインや細胞質ドメインに位置することが分かっている³¹⁾。そのため、weak Dに認められるミスセンス変異はD抗原のエピトープよりもRhDタンパクの発現に影響すると考えられている³⁾。今回検出したweak DはRHD遺伝子のスプライシング部位の点変異によりエクソン5にイントロン4由来の87個の塩基が挿入された。その結果、RhDタンパクの膜貫通ドメインに29個のアミノ酸が余分に挿入され、D抗原が減弱したものと推定される。以上の検討から、抗Dを産生した症例報告があり注意を要するweak D type4.2やtype15の可能性は否定的と考えた。血清学的にweak Dを分類することは不可能であり、遺伝子検査の重要性を認識させられた。

家系調査により、家族のフェノタイプから患者は父親からD*Ceを母親からcEのハプロタイプを受け継いだためD抗原が著しく減弱したと推測される。2人の子供がこの変異遺伝子を持っているかは、今後の成長を待っての検査となる。

市販IgMモノクローナル抗D試薬の抗原検出感度は、ヒト由来のIgG抗Dポリクローナル抗体に比べ飛躍的に向上した。白人に一般的なweak D (type 1~3)はカラム凝集法でも検出できることが分っており²⁷⁾、抗Dポリクローナル抗体で認められた抗原抑制現象(C遺伝子がD遺伝子に対しtrans位にある場合におこる凝集減弱、例えばDce/Ce)の影響は受けないと考えられている。

2005年以前、欧米ではRh(D)血液型検査で直後判定が陰性であった場合にはweak Dテスト(=D陰性確認試験)が実施され、weak Dテストが陽性となった妊婦や輸血患者はD陽性として扱われていた²⁸⁾。その後、DVIの妊婦や輸血患者がD陽性赤血球によって感作されやすいことが明らかとなると²⁹⁾、DVIの頻度が比較的高い欧米ではRh(D)血液型の検査指針が見直され、直後判定で陰性~弱陽性の妊婦や患者はD陰性として扱うよう改正され、D陰性確認試験によるD抗原の確認は不要となった¹⁾⁵⁾²⁶⁾。

日本人におけるweak Dの頻度は0.004%で、白人0.3%に比して低い³⁰⁾。また、partial Dの頻度も約0.0004%⁹⁾と、欧米の0.015~0.05%に比べて著しく低い³⁰⁾。しかも、欧米ではpartial Dのおよそ95%がDVIであるのに対し、日本人ではDVIよりも主要なDエピトープ

(epD6.1-6.8)が比較的保たれ、市販抗D試薬による直後判定でも陽性となるDIVbやDVaの方が多³¹⁾。このことから、DVIの遺伝子頻度の低さを反映し、日常検査でweak Dと判定された中にDVIが含まれる可能性は欧米人に比べかなり低いと思われる。日本において、これまでにDIVbの妊婦が抗Dを産生しHDFNを起こした症例報告はあるが³²⁾、DVI妊婦の報告は調べた限りでは無い。輸血によりDVI患者が抗Dを産生したという報告も1症例のみである³³⁾。

日本人においてweak Dと判定された妊婦がD陽性児によって同種免疫感作され、抗DによるHDFNを起こすことは極めて低いと考えるが稀に可能性もある。通常、weak Dはすべてのエピトープが発現されているため妊娠初期にRh(D)血液型検査を行いweak DであればRhIGの対象とはならない³⁴⁾。一方、RhIGを投与しても副作用が起きる可能性は低いので、fail-safeを考慮して投与する考え方もある³⁵⁾。しかし、感染症の問題を考えると、RhIGは人血液を原料にしていることから感染症伝播のリスクを完全に排除することはできず必要性を十分に検討しての投与となる。以上のことから、今回のweak D妊婦のように抗D被凝集価が極めて低い場合のRhIG投与の適否については、血清学的検査にRHD遺伝子解析を含めた更なる症例の蓄積が必要であると考えられる。

結 語

新たな変異型RHD遺伝子によってD抗原が減弱したと思われるweak D初産婦を経験した。その変異遺伝子は、父親から遺伝していた。妊婦へは妊娠期間中および分娩後もRhIGを投与せず、児はD陽性であったが妊婦に抗D産生を認めなかった。通常weak Dと判定された妊婦はRhIG投与の対象とはならないが、抗D被凝集価が極めて低い妊婦への適否についてはRHD遺伝子解析を含めた総合的な判断が必要である。

文 献

- 1) Brecher M: The Rh system. Technical Manual, 16th ed. American Association of Blood Banks, Bethesda, MD, 2008, 387-407.
- 2) (社)日本臨床検査技師会「新輸血検査の実際」編集委員会: 新輸血検査の実際. 初版, 東京, 2009, 11-14.
- 3) Avent ND, Reid ME: The Rh blood group system: a review. Blood, 95: 375-387, 2000.
- 4) British Committee for Standards in Haematology (BCSH): Guidelines for the use of prophylactic anti-D immunoglobulin. http://www.bcsghguidelines.com/pdf/Anti-D_070606.pdf(2008年6月現在).

- 5) Legler TJ, Muller SP, Haverkamp A, et al: Prenatal RhD testing: A review of studies published from 2006 to 2008. *Transfus Med Hemather*, 36: 189—198, 2009.
- 6) 元島正信: Du 婦人の妊娠・分娩—特に抗 D 免疫グロブリンの使用について—. *産科と婦人科*, 56: 1785—1790, 1989.
- 7) 上原広幸: Du 妊婦における分娩後の RhIg 投与の一例. *日本輸血・細胞治療学会誌*, 47: 236, 2001.
- 8) Judd WJ: Practice guidelines for prenatal and perinatal immunology, revisited. *Trtransfusion*, 41: 1445—1452, 2001.
- 9) Okubo Y, Seno T, Yamano H, et al: Partial D antigens disclosed by a monoclonal anti-D in Japanese blood donor. *Transfusion*, 31: 782, 1991.
- 10) 大戸 斉: 血液型 (赤血球型) 母児不適合妊娠, 編者 大戸 斉, 遠山 博, 小児輸血学. 初版, 中外医学社, 東京, 2006, 84—100.
- 11) Wagner FF, Flegel WA: RhD deletion occurred in the Rhesus box. *Blood*, 95: 3662—3668, 2000.
- 12) Flegel WA: weak D nomenclature—Details suggested requirements and procedure for deposition of a newly found weak D allele. <http://www.uni-ulm.de/~wflegel/RH/> (2009 年 5 月現在).
- 13) Wagner FF, Gassner C, Muller TH, et al: Molecular basis of weak D phenotypes. *Blood*, 93: 385—393, 1999.
- 14) Kamesaki T, Kumada M, Omi T, et al: A novel mutation in the *RHD* gene in Japanese individuals with weak D, encoding an amino acid change in the 11th transmembranous domain of the RhD protein. *Vox Sanguinis*, 84: 141, 2003.
- 15) 石川善英, 常山初江, 内川 誠, 他: 日本人 RhD 抗原陰性検体から見つかった *RHD-RHCE* ハイブリッドアリル. *日本輸血学会誌*, 49: 565—567, 2003.
- 16) 榎本隆行, 神戸考裕, 小原久美, 他: 献血者から検出した partial D (DCS) について. *日本輸血・細胞治療学会誌*, 54: 202, 2008.
- 17) 佐々木佳奈, 小笠原健一, 常山初江, 他: 日本人にみられる weak D 遺伝子. *日本輸血・細胞治療学会誌*, 54: 202, 2008.
- 18) 佐々木佳奈, 小笠原健一, 常山初江, 他: 新たな変異を有する 3 例の weak D アリル. *日本輸血・細胞治療学会誌*, 55: 234, 2009.
- 19) Reid ME, Lomas-Francis C: *Blood Group Antigen Facts-Book*. 2nd ed, Academic Press, San Diego, 2004, 100.
- 20) Bowman JM: Controversies in Rh prophylaxis. *Am J Obstet. Gynecol*, 151: 289—294, 1985.
- 21) Wagner FF, Frohmajer A, Ladewig B, et al: Weak D alleles express distinct phenotypes. *Blood*, 95: 2699—2708, 2000.
- 22) Flegel WA, von Zabern I, Doescher A, et al: D variants at the RhD vestibule in the weak D type 4 and Eurasian D cluster. *Transfusion*, 49: 1059—1069, 2009.
- 23) Wagner FF, Gassner C, Muller TH, et al: Molecular basis of weak D phenotypes. *Blood*, 93: 385—393, 1999.
- 24) Flegel WA: How I manage donors and patients with a weak D phenotype. *Curr Opin Hematol*, 13: 476—483, 2006.
- 25) Wagner FF, Gassner C, Muller TH, et al: Three molecular structures cause Rhesus D category VI phenotypes with distinct immunohematologic features. *Blood*, 91: 2157—2168, 1998.
- 26) British Committee for Standards in Haematology (BCSH): Guideline for blood grouping and antibody testing in pregnancy. http://www.bcsghguidelines.com/pdf/pregnancy_070606.pdf (2008 年 7 月現在).
- 27) Noizat-Pirenne F, Verdier M, Lejealle A, et al: Weak D phenotypes and transfusion safety: where do we stand in daily practice? *Transfusion*, 47: 1616—1620, 2007.
- 28) de Silva M, Engelfriet CP, Reesink HW: Current status of immunoprophylaxis with anti-D immunoglobulin. *Vox Sang*, 85: 328—337, 2003.
- 29) Denomme GA, Wagner FF, Fernandes BJ, et al: Partial D, weak D types, and novel RHD alleles among 33,864 multiethnic patients: implications for anti-D alloimmunization and prevention. *Transfusion*, 45: 1554—1560, 2005.
- 30) 松田利夫: Partial D と weak D (D^u) —判定と意義—. *日本輸血学会誌*, 45: 11—19, 1999.
- 31) Issitt PD, Anstee DJ: *Applied Blood Group Serology*. 4th ed. Chapter 12: Rh. Montgomery Scientific Publication, Carolina. 1998, 343.
- 32) 永吉裕二, 他: D 抗原陽性 (D 部分欠損) の母親の産生した抗 D による新生児溶血疾患の 1 例. *血液事業*, 12: 201—203, 1989.
- 33) 松倉晴道, 木村恵子, 山野 猛, 他: 輸血により抗 D を産生したと考えられる partial D の 1 症例. *日本輸血・細胞治療学会誌*, 39: 766—770, 1993.
- 34) McCloy M, Roberts I: 出生前から新生児期にかけての輸血, 編者 Murphy MF, Pamphilon DH, 十字猛夫監訳, 中村幸夫訳 実践輸血医学, 近代出版, 東京都, 2004, 90—110.
- 35) 浮田昌彦: 血液型不適合妊娠と胎児・新生児溶血性疾患 第 3 編 Rh 感作の予防. *日本産婦人科・新生児血液学会誌*, 2: 7—18, 1992.

A CASE OF A WEAK D-PRIMIPAROUS WOMAN CARRING A NOVEL VARIANT *RHD* GENE

Satoko Shimada¹⁾, Hiroyasu Yasuda²⁾, Sumako Sato¹⁾, Hiroshi Kato¹⁾, Shinako Hashimoto³⁾,
Hiromi Komiya⁴⁾, Yasuji Noritake⁵⁾, Shoichi Ito⁶⁾, Masaki Kikuchi⁶⁾, Kana Sasaki⁷⁾,
Kenichi Ogasawara⁷⁾ and Hitoshi Ohto²⁾

¹⁾Division of Clinical Laboratory, Minami-soma General Hospital

²⁾Division of Blood Transfusion and Transplantation Immunology, Fukushima Medical University Hospital

³⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Minami-soma General Hospital

⁴⁾Department of Obstetrics and Gynecology, Fukushima Medical University Hospital

⁵⁾Japanese Red Cross Fukushima Blood Center

⁶⁾Japanese Red Cross Miyagi Blood Center

⁷⁾Japanese Red Cross Central Blood Institute

Abstract:

Background: To prevent anti-D alloimmunization by D-positive RBCs derived from an infant or newborn, the administration of Rh human-immunoglobulin (RhIG) to D-negative women without anti-D antibody is recommended during pregnancy or at delivery. However, there is no guidance for pregnant woman with the weak D phenotype in Japan.

Case and Results: A primigravid woman was admitted to our hospital at 34 week's gestation. Her RhD typed as weak D because her RBCs were not agglutinated by the immediate spin method but were positive by the indirect antiglobulin test using a commercial anti-D reagent. RhIG was not administered to the woman during pregnancy or at delivery despite her first baby being D-positive. However, anti-D alloantibodies were not detected in her sera during pregnancy or at delivery. Her *RHD* gene was suspected to be D variant and analyzed. According to the sequencing results of the *RHD* gDNA and *RHD* cDNA derived from peripheral reticulocytes, the pregnant woman had a novel *RHD* gene with A>G mutation at the splicing acceptor site of intron 4. This intronic mutation may cause alternative splicing as a consequence of its generating a unique transcript with an 87 base insertion.

Conclusion: We experienced a case of a weak D primiparous woman in whom RhIG was not administered during the perinatal period or at delivery. Her first baby was D-positive. However, anti-D alloimmunization was not induced. She has a novel *RHD* (IVS4-2A>G) with A>G mutation at the splicing acceptor site of intron 4. It was considered that abnormal splicing may have caused the weak D with a 29-amino acid insertion.

Keywords:

weak D, variant *RHD* gene, anti-D, RhIG, pregnant woman