

カラム凝集法での抗 D 反応が弱いため partial D を疑い、遺伝子検査で partial D (DBT-1) と判明した 1 例

西山由加李¹⁾ 泉田久美子¹⁾ 木下美佐栄¹⁾ 古屋 伴子¹⁾ 吉浦 洋子²⁾
 川島 博信¹⁾ 松永 彰¹⁾ 井手口 裕²⁾ 田久保智子³⁾ 迫田 岩根³⁾
 友成 洋子³⁾ 佐藤 博行³⁾ 清川 博之³⁾ 田中 光信⁴⁾ 高橋 順子⁴⁾
 谷 慶彦⁴⁾

58歳男性。脳出血のため当院救命救急センターを受診した。入院時、AutoVue Innova[®]のカラム遠心凝集法によるRh血液型検査で抗Dの反応が(3+)と通常より弱く、weak Dまたはpartial Dが疑われた。各種市販抗D試薬およびエピトープ特異的抗Dモノクローナル抗体を用いた精査では、partial DのカテゴリーDBTとほぼ同様の反応パターンを示した。Polymerase chain reaction-sequence specific primers法によるRHD遺伝子解析ではexon 5, 6および7の増幅が認められず、更にcDNAのRHD遺伝子領域を直接シーケンス法にて分析したところ、RHD遺伝子のexon 5, 6および7がRHCE遺伝子のexon 5, 6および7に置換していることが確認された。以上より、本例は本邦でも珍しいpartial DのDBT-1 (RHD-CE (5-7)-D)と同定された。

カラム遠心凝集法での抗Dの反応は、試験管法に比べ強く反応することが多いので、カラム遠心凝集法で(3+)以下の凝集を示す場合は、weak Dやpartial Dの可能性を念頭におく必要がある。

キーワード：カラム遠心凝集法, partial D, DBT-1, RHD 遺伝子

はじめに

Rh D血液型のD variantは、抗Dの反応性からweak D, DELおよびpartial Dの3種類に分類される。いずれも、妊娠または輸血により抗Dを産生する可能性がある重要な血液型である。Rh血液型遺伝子は、1990年にRHCE遺伝子¹⁾、さらに1992年にRHD遺伝子がクローニングされ²⁾、その後飛躍的に解析が進められてきた^{3)~5)}。

Weak Dは赤血球膜のRhD蛋白の膜内または膜貫通部のアミノ酸変異によりRhD抗原が量的に減少していることが解明された。D陰性と判定されている中で、抗Dによる吸着解離試験によりRhD抗原が解離されるDELは、Weak Dと同様にRhD蛋白の膜内または膜貫通部のアミノ酸変異が確認されている。一方、partial DはRHDとRHCE遺伝子のhybridまたはRHD遺伝子の変異等によりRhD蛋白の構造異常をきたし、抗Dの反応性に違いを生じていることが解明されてきた。特に、抗Dモノクローナル抗体(MoAb)が多数作製

されたことにより、partial Dはタイプによって反応パターンが異なることが判明し、カテゴリー別に分類されることになった。2002年、4th International workshop on MoAbs against human red cells and related antigens (Section 1A)にて、遺伝子解析を踏まえたpartial D血球を用いた抗D MoAbの新たな解析が行われ、30カテゴリーに分類された⁶⁾。

Partial Dは、現在82のタイプが報告されているが⁷⁾、本邦における頻度は約14万から23万人に1人とされ⁸⁾⁹⁾、主にDIVb, DVa, DVI, DBT, DFR, DTIなどが報告されている^{10)~12)}。

今回我々は、自動機器のカラム遠心凝集法(CAT)にて、抗Dに対して(3+)と通常見られない弱い反応を示した症例について、各種抗Dによる精査とRHD遺伝子解析を行った結果、partial DのDBT-1 (RHD-CE (5-7)-D)であることが確認された貴重な症例を経験したので報告する。

1) 福岡大学病院臨床検査部

2) 福岡大学病院輸血部

3) 日本赤十字社九州血液センター

4) 大阪府赤十字血液センター

〔受付日：2010年11月19日，受理日：2011年3月4日〕

症 例

患者は58歳、男性。構音障害、右半身不全麻痺、意識障害を主訴として当院救命救急センターに搬送され、脳出血と診断された。既往歴としては特記事項なし。輸血歴は不明であった。

入院時血液型検査では、自動機器 AutoVue Innova[®] (オーソ・クリニカル・ダイアグノスティックス社：以下オーソ) による CAT の判定で、O 型、抗 D (3+)、Rh-control (-) となり、抗 D MoAb に対して通常より弱い凝集を認めた (Fig. 1)。

当院では、CAT で抗 D (3+) 以下の場合には試験管法での再検査を実施しているが、試験管法ではオーソ抗 D 血清の直後判定 (-)、D 陰性確認試験である間接抗グロブリン試験 (以下、IAT) (2+)、被凝集価は IAT 8 倍 (対照 O 型 R₁R₂ 128 倍)、オーソバイオクロン抗 D の直後判定 (-)、IAT (1+~2+) であった。その他の Rh 血液型は CcEe、不規則抗体検査 (-)、直接抗グロブリン試験 (-) であった。以上の結果より、weak D または partial D を疑い、各種抗 D を用いた精査と RHD 遺伝子の解析を行った。

材料および方法

1. 市販抗 D との反応

市販抗 D はポリクローナル抗体 (PoAb) 2 種 (オーソ、イムコア社製)、MoAb 6 種 (オーソ、日本赤十字、三光純薬、和光純薬、イムコアおよびシスメックス社製) を用い、対照に partial D の献血者から検出した DIVb, DVa, DVI, DBT-2 血球を使用した。反応は、生理食塩液法 (以下、生食法) (室温、20 分) を実施後、陰性の場合には IAT (37°C、1 時間) を行った。

2. 各種エピトープ特異的抗 D MoAb との反応

抗 D MoAb は、大阪センター製 (OSK) 5 種、東京都センター製 (HIRO) 8 種、市販 ALBAclone (Alba Bioscience) 11 種および D-SCREEN (DIAGAST) 9 種の計 33 種類を使用した。

IgM 型抗 D MoAb では生食法 (室温、20 分)、一部弱い抗体は LISS 添加後判定した。また、IgG 型抗 D MoAb は市販 LISS を添加後 IAT (37°C、30 分)、一部弱い抗体は PEG 添加後 IAT を行った。

3. RHD 遺伝子解析

患者末梢血白血球より genomic DNA を抽出し、Table 1 に示す primer を用いて RHD 遺伝子の全 exon を polymerase chain reaction-sequence specific primers (PCR-SSP) 法にて増幅した。PCR 反応には AmpliTaq Gold (Applied Biosystems) を用い、熱変性 95°C 9 分の後、熱変性 94°C 10 秒、アニーリング 58°C 15 秒、伸長 72°C 1 分を 30 サイクル行い、最後に 72°C 7 分の伸長反応を行った。

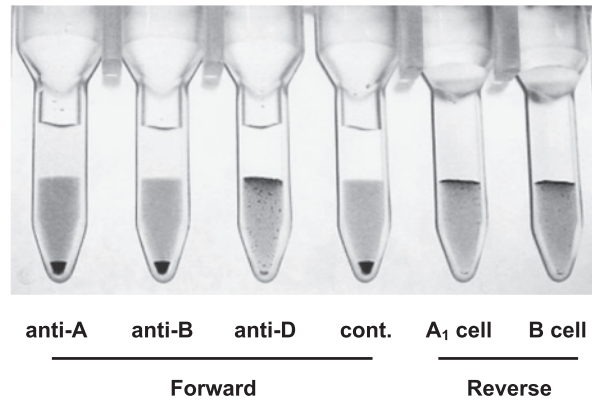


Fig. 1 Photograph of reaction cassette for ABO/Rh typing (ORTHO BioVue[®] System). The anti-D column for forward grouping shows weak reactivity.

次いで、患者赤血球 (網赤血球) より RNA を抽出し、逆転写酵素を用いて cDNA を得た。cDNA の RHD 遺伝子領域を PCR にて増幅し、その塩基配列を直接シーケンス法にて解析した。

結 果

1. 市販抗 D との反応

2 社の抗 D PoAb と 6 社の抗 D MoAb を用いて、患者血球および DIVb, DVa, DVI, DBT-2 血球を対比して反応性を検討した。患者血球は、2 社の PoAb で生食法陽性となり、MoAb では、3 社は生食法陽性、2 社は生食法および IAT 共に陰性、1 社は IAT のみ陽性となった。全ての抗 D について、DBT-2 血球は患者血球と同様の反応性を示した。DIVb 血球は MoAb C の反応性が、DVI 血球は MoAb F および G の反応性が患者血球とは異なっており、DVa (type6) 血球は PoAb A および B が (4+) で反応性低下が全く見られない点が患者血球は異なっていた (Table 2A)。

2. 各種抗 D MoAb との反応

33 種類のエピトープ (epitope : ep) 特異的抗 D MoAb を用いて、患者血球および DBT-2 血球を対比して反応性を検討した。患者血球は DBT の反応パターンと一致し、DBT-2 血球も同様の反応性を示した (Table 2B)。

3. RHD 遺伝子解析

PCR-SSP 法の結果、RHD 遺伝子の exon 5, 6 および 7 が増幅されなかった (Fig. 2)。次いで cDNA の RHD 遺伝子領域を直接シーケンス法にて解析したところ、RHD 遺伝子の exon 5, 6 および 7 領域において、667T>G, 697G>C, 712G>A, 733G>C, 744C>T, 787G>A, 800A>T, 916G>A, 932A>G, 941G>T, 968C>A, 974G>T, 979A>G, 985G>C, 986G>A, 989A>C, 992A>T, 1025T>C, 1048G>C, 1053C>T, 1057G>T, 1059A>G, 1060G>A, 1061C>A の合計 24 個の

Table 1 Primers used to amplify exons 1 to 10 of *RHD* genomic sequences.

<i>RHD</i> exon	Primer sequence (5'-3')	Product size
Exon 1	(F) AAGTACAGAGTAAAGAAGGAT (R) AAGAAGATGGGGGAATCTTTTTC	453bp
Exon 2	(F) ATCTCGTCTGCTTCCCCTCG (R) AATATTGCACAGCACTGGTG	356bp
Exon 3	(F) ATTCCCACAGAAAGTAGGT (R) AAGTAGCTGGGATTACAGGT	387bp
Exon 4	(F) AACACCAGTCTCATGGCTCAAG (R) GCATGGCAGACAACTGGGT	271bp
Exon 5	(F) CTTGTGGATGTTCTGGCCAAGTT (R) CACAGCTCCACCACCCGGCA	280bp
Exon 6	(F) AGCCCCAACACAGGGGAGAA (R) GCAGCTGTGCACTGCACAGT	378bp
Exon 7	(F) TGCCCATCCCCCTTTGGTGGCC (R) TCGTGTCTTTGGTCATACC	496bp
Exon 8	(F) GAGGACCCTTATTTCCCTCA (R) ATTATGTGATCCTCAGGGAAG	325bp
Exon 9	(F) CGTTTTGACACACAATATTTTC (R) TCATCAAAAATATTTAGCCT	145bp
Exon 10	(F) TTTCTCATTTGGCTGTTGGA (R) GACTCCAGTGCCTGCGCAACATT	155bp

(F): forward primer, (R): reverse primer

塩基置換が認められ、この領域の塩基配列は *RHCE* 遺伝子の exon 5, 6 および 7 と完全に一致することが確認された。以上より、本例は *RHD* 遺伝子の exon 5, 6 および 7 が *RHCE* 遺伝子の exon 5, 6 および 7 に置換した DBT-1 (*RHD-CE (5-7)-D*) と判明した (Fig. 3A)。

DBT-1 では、この遺伝子異常により 19 個のアミノ酸置換を生じるため、RhD 蛋白の細胞外第 4~第 6 ループの立体構造に変化を生じ、epD6 の一部、epD8, epD16 を除く他の多くのエピトープを失うものと推定された (Fig. 3B, Table 2B)。

考 察

DBT は、低頻度の Rh32 抗原を保有する新しい partial D として未発表で確認されていたが、1996 年 Beckers ら¹³⁾は、DBT では *RHD* 遺伝子の exon 5 から exon 7 までが *RHCE* 遺伝子に置換 (*RHD-CE (5-7)-D*) しており、また各種 ep 特異的 MoAb の反応性では、epD6/7 の一部および epD8 を認識する MoAb のみが反応したと報告した。1997 年 Wallace ら¹⁴⁾は前例を含めた 8 例の DBT を報告しているが、その 1 例に本邦初の症例 (抗 D 産生なし) が含まれている。8 例のうち 3 例は抗 D を産生しており、妊娠または輸血による可能性が高い。1999 年 Huang ら¹⁵⁾は抗 D を保有しない 2 例目の日本人の DBT 家系を報告したが、*RHD* 遺伝子は exon 5 から

exon 9 までが *RHCE* 遺伝子に置換 (*RHD-CE (5-9)-D*) していた。いずれの DBT 例も Rh32 抗原陽性と報告されている。以上の遺伝子解析の結果を踏まえ、*RHD-CE (5-7)-D* の hybrid は DBT-1、*RHD-CE (5-9)-D* は DBT-2 と分類された (Fig. 3A)。

本例は、市販抗 D および各種エピトープ特異的抗 D MoAb による精査において、DBT-2 血球とほぼ同様の反応を示したが、*RHD* 遺伝子解析の結果、DBT-1 であることが確認された。DBT 特異的とされる Rh32 抗原は、抗体が入手困難で確認できなかった。DBT-1 と DBT-2 は、遺伝学的には異なっているが血清学的には同様の反応を示すため、抗体の反応性では区別が困難である。DBT-2 は exon 5 から 9 までが *RHCE* 遺伝子に置換しているが、exon 8 と 9 の置換に伴うアミノ酸置換は C 末端細胞質ドメインの 1 アミノ酸置換 (398Glu>Val) のみであるので、DBT-1 と DBT-2 の細胞外エピトープにはほとんど差がないものと推定される (Fig. 3B)。

Partial D のカテゴリ別発現頻度は、欧米では DVI が多く本邦では DIVb, DVa が多くと報告されている⁸⁾⁹⁾。DBT 以外の partial D についても、妊娠や輸血によって輸血副作用や新生児溶血性疾患の原因となる同種抗 D の産生例が報告されており^{16)~19)}、本邦でも DIVb, DVI, DVa で抗 D 産生例が報告されている^{20)~23)}。現在のところ、DBT の抗 D 産生例は本邦では報告されていない。本例は経過良好のため輸血の必要がなかったが、今後

Table 2 Reactivity of anti-D antibodies.

RBCs		DIVb		DVa (type6)		DVI		DBT-2		patient		R1r
Method		Saline	IAT	Saline	IAT	Saline	IAT	Saline	IAT	Saline	IAT	Saline
Anti-D												
PoAbs	A	3+	n.t.	4+	n.t.	2+	n.t.	2+	n.t.	3+	n.t.	3+
	B	4+	n.t.	4+	n.t.	2+	n.t.	3+	n.t.	3+	n.t.	4+
MoAbs	C	4+	n.t.	0	4+	0	3+	0	3+	0	3+	4+
	D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3+
	E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4+
	F	4+	n.t.	4+	n.t.	0	4+	4+	n.t.	4+	n.t.	4+
	G	4+	n.t.	4+	n.t.	0	4+	4+	n.t.	4+	n.t.	4+
	H	4+	n.t.	4+	n.t.	4+	n.t.	4+	n.t.	4+	n.t.	4+

0: negative, n.t.: not tested

Epitope D		MoAbs	Reaction pattern					RBCs	
			DIVb	DVa	DVI	DFR	DBT	DBT-2	patient
epD1	1.1	LHM169/81	0	0	0	+	0	0	0
	1.2	LHM70/45	0	0	0	0	0	0	0
	1.2	LHM174/102	0	0	0	0	0	0	0
epD2	2.1	P3X249	0	+	0	+	0	0	0
epD3	3.1	LHM76/55	0	+	+	+	0	0	0
	3.1	HIRO-16	0	+	+	+	0	0	0
	3.1	P3X290	0	+	+ / 0	+	0	0	0
epD4	4.1	ESD1	0	+	+	+	0	0	0
epD5	5.1	HIRO-6	+	0 / +	0	+	0	0	0
	5.2	OSK3	+ / 0	0 / +	0	+	0	0	0
	5.2*	LHM76/58	+	0 / +	0	+	0	0	0
	5.4	P3X35	+	0	0	0	0	0	0
	5.4	P3X241	+	0 / +	0	0	0	0	0
epD6	6.1	OSK3-2	+	+	0	+	+	4+	4+
	6.2	OSK3-1	+	+	0	+	+	2+	4+
	6.3	LHM169/80	+	+	0	+	0	0	0
	6.3	HIRO-9	+	+	0	+	0	0	0
	6.3*	LHM50/2B	+ / 0	+	0	+	0	0	0
	6.4	HM16	+	+	0	0	+	1+	3+
	6.4	HIRO-1	+	+	0	0	+	3+	3+
	6.4	P3X61	+	+	0	0 / +	+	4+	3+
	6.5	OSK3-4	+	+	0	0	+	4+	3+
	6.5*	HM10	+	+	0	0	+	4+	4+
epD8	8.2*	LHM59/19	+	+	0	0	+	4+	4+
	8.2	P3X212 11F1	+	+	0	0	+	4+	2+
epD9	9.1	HIRO-4	0	+	+	+	0	0	0
	9.1	P3X212 23 B10	0	+	+	+	0	0	0
	9.1	LHM77/64	0	+	+	+	0	0	0
epD15	15.1	OSK3-3	0	+	+	+	0	0	0
	15.1	LHM76/59	0	+	+	+	0	0	0
epD16	16.1	HIRO-3	+	+	+	+	+	2+	3+

* Epitope assumed from pattern, 0: negative

(A) Commercially available anti-D PoAbs and MoAbs.

(B) Epitope-specific anti-D MoAbs

Reaction pattern is based on results of the 4th International Workshop on MoAbs against Human Red Cells and Related Antigens (Section 1A)⁶⁾

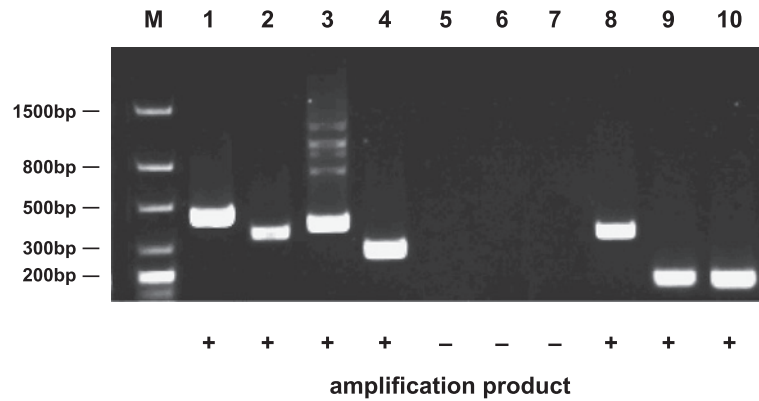


Fig. 2 PCR-SSP analysis of *RHD* gene with exon-specific primers. Lanes 1 to 10 show the PCR products of exons 1 to 10 of *RHD* gene, respectively. Lane M: DNA size marker. Note that no PCR products are present in exons 5 to 7.

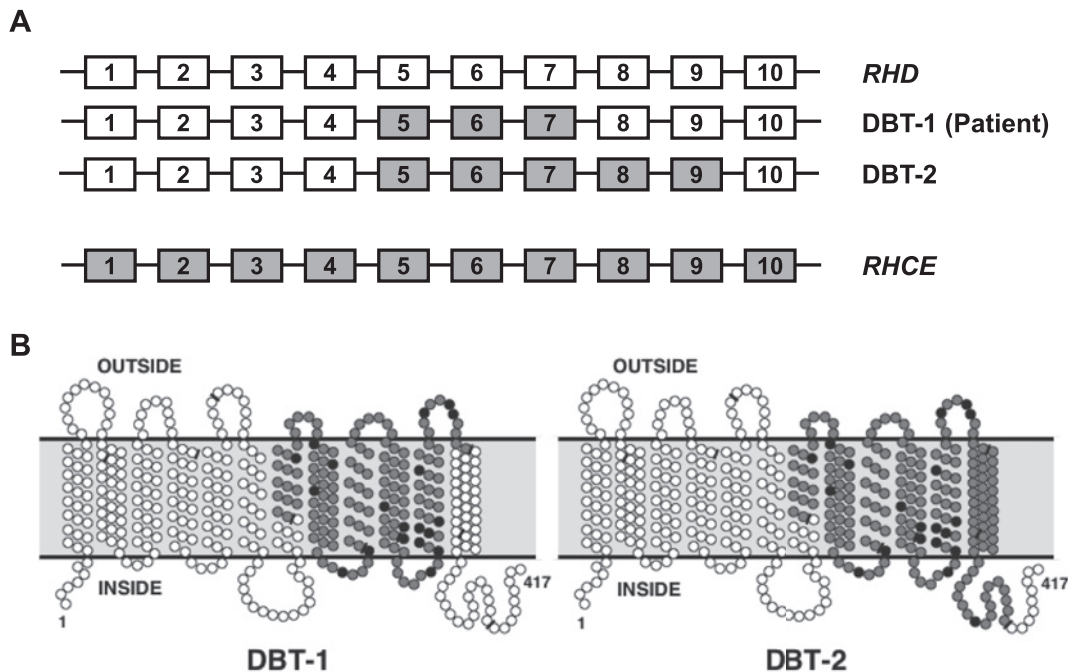


Fig. 3 Schematic representation of *RHD* gene rearrangements and topology of RhD polypeptides in DBT. (A) *RHD* gene rearrangements in DBT.

In DBT-1, exons 5 to 7 of the *RHD* gene are replaced by those of *RHCE* gene, whereas in DBT-2, exons 5 to 9 of the *RHD* gene are replaced by those of the *RHCE* gene.

(B) Topology of RhD polypeptides in DBT.

Gray circles show amino acids translated from exons derived from the *RHCE* gene, and black circles show amino acids which were substituted by gene rearrangement.

DBT phenotype results from the conformational alterations of the fourth to sixth extracellular loops of the RhD polypeptides. Note that the difference between DBT-1 and DBT-2 polypeptides is only one amino acid substitution (398 Glu>Val) in the C-terminal cytoplasmic domain.

の輸血ではD陰性血を使用する必要がある。抗体の産生を未然に防ぐために、これらの症例を見逃さないようにすることが大切である。

D variants 血球は、一般的に試験管法に比べてCATが強く反応すると報告されている²⁴⁾²⁵⁾。本症例も、CATの判定は抗D(3+)であったが、試験管法では生食法

による直後判定では陰性であった。従って、CATによるRhD血液型検査において(3+)以下の凝集を示す場合は、weak Dやpartial Dの可能性を考慮し、試験管法での再検査を行うことが望ましい。

しかし、partial D血球と各種抗Dとの反応性は、使用するPoAbやMoAbにより異なる。各社抗D試薬を

比較すると、MoAbとPoAbのブレンド、MoAbにおけるIgMとIgGのブレンドやクローンによって得られた抗体の認識するエピトープの違いで反応の強さに差がみられる。現在市販されている多くの抗D MoAbは、欧米で頻度の高いDVIを検出するが、その他のpartial Dについては1種類の抗D試薬だけで検出することは不可能である。抗D試薬の特性をよく理解し、PoAbおよび反応性の異なるMoAbを併用することが望ましい^{26)~29)}。また、被凝集価測定やIATを行えば更に判別が容易となる。

当院ではCATによる抗Dの反応が(3+)以下の際は試験管法によるPoAbとMoAbの2種類の抗D試薬を使用した精査を実施しているため、今回partial Dを検出する契機となった。地域の医療機関では多種類のエピトープ特異的抗D MoAbを保持するのは困難である。CAT(3+)以下の際は、PoAbおよび反応性の異なるMoAbを用いて試験管法による反応を確認し、被凝集価も低い場合はpartial Dを疑って血液センターに精査を依頼することが大切である。

また当院では、この症例を経験した後に、2例目の抗Dを保有しないDBT-1患者を経験した。Partial Dについてはある一定の地域に集中する傾向があるという報告もあり²⁰⁾、今後、DBT-1の地域集積性についても念頭に置いて検討していきたいと考えている。

謝辞：モノクローナル抗体を供与頂きました東京都赤十字血液センターに深謝致します。

文 献

- Chérif-Zahar B, Bloy C, Le Van Kim C, et al: Molecular cloning and protein structure of a human blood group Rh polypeptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87: 6243—6247, 1990.
- Le van Kim C, Mouro I, Chérif-Zahar B, et al: Molecular cloning and primary structure of the human blood group RhD polypeptide. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 89: 10925—10929, 1992.
- Huang CH: Molecular insights into the Rh protein family and associated antigens. *Curr Opin Hematol*, 4: 94—103, 1997.
- Avent ND, Reid ME: The Rh blood group system: a review. *Blood*, 95: 375—387, 2000.
- Flegel WA: The genetics of the Rhesus blood group system. *Blood Transfus*, 5: 50—57, 2007.
- Scott M: Section 1A: Rh serology Coordinator's report. *Transfus Clin Biol*, 9: 23—29, 2002.
- Wagner FF: RhesusBase. Available from URL: <http://www.uni-ulm.de/~fwagner/RH/RB/> (2010年11月現在).
- Okubo Y, Seno T, Yamano H, et al: Partial D antigens disclosed by a monoclonal anti-D in Japanese blood donors. *Transfusion*, 31: 782, 1991.
- 永尾暢夫: Rh血液型: 輸血検査のすべて. *Medical Technology*, 22: 538—550, 1994.
- Omi T, Takahashi J, Tsudo N, et al: The genomic organization of the partial D category DVa: The presence of a new partial D associated with the DVa phenotype. *Biochem Biophys Res Commun*, 254: 786—794, 1999.
- Hyodo H, Ishikawa Y, Tsuneyama H, et al: New RhD (IVb) identified in Japanese. *Vox Sang*, 79: 116—117, 2000.
- Omi T, Takahashi J, Seno T, et al: Isolation, characterization, and family study of DTI, a novel partial D phenotype affecting the fourth external loop of D polypeptides. *Transfusion*, 42: 481—489, 2002.
- Beckers EA, Faas BH, Simsek S, et al: The genetic basis of a new partial D antigen: D^{DBT}. *Br J Haematol*, 93: 720—727, 1996.
- Wallace M, Lomas-Francis C, Beckers E, et al: DBT: a partial D phenotype associated with the low-incidence antigen Rh32. *Transfusion Med*, 7: 233—238, 1997.
- Huang CH, Chen Y, Reid ME, et al: Evidence for a separate genetic origin of the partial D phenotype DBT in a Japanese family. *Transfusion*, 39: 1259—1265, 1999.
- Beckers EA, Faas BH, Ligthart P, et al: Characterization of the hybrid *RHD* gene leading to the partial D category IIIc phenotype. *Transfusion*, 36: 567—574, 1996.
- Flegel WA, Wagner FF, Müller TH, et al: Rh phenotype prediction by DNA typing and its application to practice. *Transfus Med*, 8: 281—302, 1998.
- Wagner FF, Eicher NI, Jørgensen JR, et al: DNB: a partial D with anti-D frequent in Central Europe. *Blood*, 100: 2253—2256, 2002.
- Ansart-Pirenne H, Asso-Bonnet M, Le Pennec PY, et al: RhD variants in Caucasians: consequences for checking clinically relevant alleles. *Transfusion*, 44: 1282—1286, 2004.
- 小原喜世志, 山口真澄, 練間美雪, 他: D抗原の部分欠損で血清中に抗D抗体を保有する一症例. *日本輸血学会誌*, 35: 212, 1989.
- 永吉裕二, 中野 稔, 伊地知紀子, 他: D抗原陽性(D部分欠損)の母親の産生した抗Dによる新生児溶血性疾患の一例. *血液事業*, 12: 201—204, 1989.
- 松倉晴道, 木村恵子, 山野 孟, 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. *日本輸血学会誌*, 39: 766—770, 1993.

- 23) 山本 健, 宮崎 好, 刀根勇一, 他: 献血者より検出された抗D抗体を保有する partial D の一例. 血液事業, 17: 94, 1994.
- 24) 木村恵子, 釜田生子, 中出 亮, 他: オーツバイオビューシステムの評価 オーツバイオビュー抗A, 抗B, 抗Dカセットについて. 機器・試薬, 20: 796—800, 1997.
- 25) Judd WJ, Moulds M, Schlanser G: Reactivity of FDA-approved anti-D reagents with partial D red blood cells. *Immunohematol*, 21: 146—148, 2005.
- 26) 河瀬正晴, 奥濃史郎, 田水敬雄: RhD 式血液型判定の問題点 第1報 ポリクローナル抗D抗体とモノクローナル抗体の比較. 医学検査, 45: 62—66, 1996.
- 27) 河瀬正晴, 奥濃史郎, 田水敬雄: RhD 式血液型判定の問題点 第4報 partial D についての考察. 医学検査, 45: 81—84, 1996.
- 28) Reid ME, Halverson GR, Roubinet F, et al: Use of LOR-15C9 monoclonal anti-D to differentiate erythrocytes with the partial DVI antigen from those with either partial D antigens or weak D antigens. *Immunohematology*, 14: 89—93, 1998.
- 29) 小原健良, 春川啓文, 中野 宏, 他: これまでに当施設で検出した partial D について. 日本輸血学会誌, 42: 184, 1996.

A CASE OF SUSPECTED PARTIAL D BECAUSE OF WEAK REACTIVITY TO ANTI-D ON COLUMN AGGLUTINATION TECHNOLOGY AND IDENTIFIED AS PARTIAL D (DBT-1) BY GENETIC TESTING

Yukari Nishiyama¹⁾, Kumiko Izumida¹⁾, Misae Kinoshita¹⁾, Tomoko Furuya¹⁾, Yoko Yoshiura²⁾, Hironobu Kawashima¹⁾, Akira Matsunaga¹⁾, Hiroshi Ideguchi²⁾, Tomoko Takubo³⁾, Iwane Sakota³⁾, Yoko Tomonari³⁾, Hiroyuki Sato³⁾, Hiroyuki Kiyokawa³⁾, Mitsunobu Tanaka⁴⁾, Junko Takahashi⁴⁾ and Yoshihiko Tani⁴⁾

¹⁾Department of Laboratory Medicine, Fukuoka University Hospital

²⁾Division of Transfusion Medicine, Fukuoka University Hospital

³⁾Japanese Red Cross Kyushu Blood Center

⁴⁾Japanese Red Cross Osaka Blood Center

Abstract:

A 58-year-old man was admitted to our hospital because of cerebral hemorrhage. Blood type testing on admission with the automated instrument AutoVue Innova[®] showed weak reactivity to anti-D, indicating the possibility of weak D or partial D. Further examinations using anti-D polyclonal and monoclonal antibodies showed a similar reactivity pattern as for the partial D category DBT phenotype.

The genomic DNA analysis by polymerase chain reaction with *RHD* exon-specific primers revealed no amplification of exons 5 to 7, and the following cDNA analysis suggested exons 5 to 7 of the *RHD* gene were replaced by *RHCE* equivalents. Thus, the patient was identified as DBT-1 (*RHD-CE (5-7)-D*).

Reactivity of the anti-D by column agglutination technology is generally strong compared to that of the tube method. It is therefore important to keep in mind the possibility of weak D or partial D if the reactivity of the anti-D by column agglutination technology is weaker than 3+.

Keywords:

column agglutination technology, partial D, DBT-1, *RHD* gene