

# P式赤血球型の稀な表現型 p の血清学的 および生化学的性状

太田 正穂      加登 通正      支倉 逸人  
信州大学医学部法医学教室

## Serological and Biochemical Characteristics of A Rare Phenotype p in the P Erythrocyte Groups

Masao OTA, Michimasa KATO and Hayato HASEKURA  
Department of Legal Medicine, Shinshu University School of Medicine

Two Japanese propositi with a rare blood phenotype p of the P erythrocyte groups are presented. They were both healthy blood donors. Their bloods were found to possess an irregular antibody which hemolysed all cells tested. Results of serological and biochemical analyses determined them to be phenotype p. *Shinshu Med. J.*, 33 : 213-219, 1985

(Received for publication December 21, 1984)

---

**Key words :** p phenotype, rare blood groups  
p 型, 稀な血液型

---

### I はじめに

ABO 式血液型が発見されてから80余年になるが、その間に血液型の数は赤血球型だけでも数十システムにのぼり、これらに属す160を越える抗原因子が発見されている<sup>1)</sup>。これらの血液型の中で発現頻度の低いものを稀な血液型と呼称している。稀な血液型のうちには、輸血の面で適合血を選ぶのに考慮しなければならないものがある。現在、日本輸血学会稀な血液型委員会では、p および P<sup>k</sup>, i, H 抗原 (-) すなわち Bombay および Para-Bombay, Fy (a-), Di (b-), k (-), Rhnoll, -D- など高頻度抗原を欠き抗体産生率の高いものを登録の必要がある稀な血液型としている。今回、著者らが経験した稀な血液型 p 型の検査結果について報告する。

### II 材料と方法

#### A 被検血液

p 型, 発端者 (K. U.) は35歳の健康な男子で、現在までに輸血歴など特記すべき病歴はない。発端者は長野日赤血液センターで献血をしたところ、ABO 式血液型検査で、血球側 [おもて] 検査と血清側 [うら] 検査の不一致をみた。発端者の血清は、非働化 (56°C で30分加熱) しないと交差試験に供した血球をすべて溶血させた。そこで発端者の血液型を精査するために当教室に依頼されたものである。血液は目的に応じて抗凝固剤を含むものと含まないものを使用した。もう1人の発端者 (M. Y.) は23歳の健康な男子で、輸血および病歴はない。この発端者も山梨県血液センターで先と同様な経験をたどって当教室に依頼されたもの

である。

### B 血液型判定用血清

抗-A, 抗-B, 抗-M, 抗-N, 抗-S, 抗-s, 抗-C, 抗-D, 抗-E, 抗-c, 抗-e, 抗-Le<sup>a</sup>, 抗-Le<sup>b</sup>, 抗-Fy<sup>a</sup>, 抗-Fy<sup>b</sup>, 抗-Jk<sup>a</sup>, 抗-Jk<sup>b</sup>, 抗-Tj<sup>a</sup> (抗-PP<sub>1</sub>P<sup>k</sup>), 抗-P<sub>1</sub>

これらの抗血清は市販品 (Ortho diagnostic 社, Dade 社, 東京標準血清社) を使用した。

## III 検査方法

### A 赤血球型検査

AABB Technical Manual<sup>2)</sup>にもとづいて, 被検血球の2%生理食塩水浮遊液を調整し, 各抗血清との反応を試験管法にて凝集を見た。S, s, C, c, E, e, Fy<sup>a</sup>, Fy<sup>b</sup>, Jk<sup>a</sup>, Jk<sup>b</sup> 各因子は, 各抗血清と37°Cで1時間感作した後, 抗グロブリン (クームズ) 血清 (Ortho Diagnostics 社) を用いて間接抗グロブリン試験を行い判定した。

### B 血清検査

血清中の不規則抗体同定のために, 市販のパネルセルズ (O型で詳しい血液型が既知の4%赤血球浮遊液セット; Ortho Diagnostics 社) および各抗原を持った健康人の4%赤血球浮遊液を使用して, 食塩水法, プロメリン法, および間接クームズ法にて検査した。プロメリン法は, 4%被検血球浮遊液をカピラリーピペット1滴 (約35 $\mu$ l) に0.5%プロメリン (和光純薬) 液 (1/15M. リン酸緩衝食塩水; pH5.5) 1滴と被検血清2滴を加える1段階法にてそれぞれ4°C, 25°C, 37°Cにおける反応状態を観察した。

また, 食塩水法およびプロメリン法にて4°C, 25°C, 37°Cにおける血清中の不規則抗体の抗体価も測定した。

さらに血清を protein A-Sepahrose CL-4B (Pharmacia 社) の affinity column chromatography にて IgG, IgM に分画したときの抗体価および2-メルカプトエタノール (2-ME) で処理<sup>3)</sup>したときの血清の抗体価を4°C, 25°C, 37°Cで測定した。なお, 2-ME 処理血清は0.2molの2-ME (1/15molのリン酸緩衝液で溶解) と等量の被検血清を37°Cで2時間反応させたものを用いた。

### C 生化学的検査

発端者2人の血液の packed stroma (2ml) をそれぞれ凍結乾燥し, クロロホルム-メタノール, 2:1 (vol/vol) 混液で総脂質を抽出, 抽出物を DEAE-

SephadexA-25 (Pharmacia 社) カラムにかけて中性脂質分画を得た<sup>4)</sup>。これをアセチル化後フロリジル (和光純薬) カラムクロマトグラフィーを行い<sup>5)</sup>, 脱アセチル化した中性糖脂質を高性能薄層プレート (HPTLC; Merck 社) 上に展開した。なお, 展開に用いた展開液はクロロホルム-メタノール-水, 60:35:8 (vol/vol) 混液であり, 発色にはアンスロン硫酸試薬を用いた。また同時に, 標準物質として当大学脂質生化学教室から分与されたフォルスマン抗原 (F), パラグロボンド (PG), グロボンド (Glob) およびトリヘキソシルセラミド (CTH) を同時に展開した。

血清中の抗Pおよび抗P<sup>k</sup>量を Wasserman と Levine<sup>6)</sup> の定量補体結合反応の変法を用いて定量した。この方法は, 加登らの行った方法<sup>7)</sup>に基づいており, 抗P量測定には抗原としてグロボンド (100ng), コレステロール (1 $\mu$ g), レシチン (100ng) を用い, また抗P<sup>k</sup>量測定には抗原としてトリヘキソシルセラミド (50 ng), コレステロール (500 ng), レシチン (100 ng) を用いた。補体はほぼ90%以上の溶血活性をもつモルモット血清を使用した。定量は溶血素を感作した羊赤血球を, 予め4°Cで2時間血清 (100 $\mu$ l), 抗原混合液 (100 $\mu$ l) モルモット補体 (100 $\mu$ l) および5mM ベロナール緩衝液 300 $\mu$ l (0.85% NaCl, 0.1% gelatin, 0.15mM CaCl<sub>2</sub>, 0.5mM MgSO<sub>4</sub> を含む) で反応させた溶液に加え, 37°Cで1時間反応させた。その反応液を遠心後, 上清をとりその溶血度を413nmにおける吸光度で観察し, 補体結合曲線を描きその50%補体結合度を血清1ml当たりの割合で求め, 血清中の抗体量とした。

## IV 結果

### P式血液型の稀な表現型 p

#### A 血液型検査

発端者 K.U. と M.Y. の各種抗血清で調べた血液型結果は Fig.1 に示した。K.U. と M.Y. の血球は Table 1, Table 2 に示すように抗-P<sub>1</sub>, 抗-P<sup>k</sup>, および抗-PP<sub>1</sub>P<sup>k</sup> (抗-TJ<sup>a</sup>) 血清とは反応しないことより血球側から p型と判定された。

#### B 血清学的検査

うら試験において K.U. および M.Y. の血清は非働化前には ABO 式に関わらず各血球を溶血させた。また非働化後はそれらの血球を凝集させた。これらの血清をパネルセルズ (Ortho Diagnostics 社), および数十種のO型血球に反応させると, そのすべてを凝

P血液型の血清学および生化学的性状

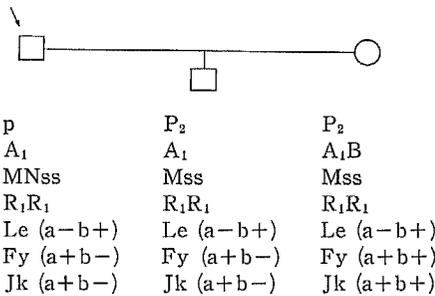
Table 1 Agglutination reactions with K.U.'s serum and cells: K.U.'s serum agglutinated all O, P<sub>1</sub>, O, P<sub>2</sub> and O, P<sup>k</sup><sub>2</sub> cells tested, but not A, p cells. K.U.'s red cell exhibited on agglutination reaction with anti-Tj<sup>a</sup>, anti-P<sub>1</sub>, or anti-P<sup>k</sup> antibody

Test red cell	K.U.'s serum	Test antibody	K.U.'s red cell
O, p <sub>1</sub>	++	Anti-PP <sub>1</sub> P <sup>k</sup> (Tj <sup>a</sup> )	-
O, p <sub>2</sub>	++	Anti-P <sub>1</sub>	-
O, P <sup>k</sup> <sub>2</sub>	++	Anti-P <sup>k</sup>	-
A, p	-		
A, p	-		

Table 2 Agglutination reactions with M.Y.'s serum and cells: M.Y.'s serum agglutinated all O, P<sub>1</sub>, O, P<sub>2</sub>, and O, P<sup>k</sup><sub>2</sub> cells tested, but not B, p cells. M.Y.'s red cell exhibited no agglutination reaction with anti-Tj<sup>a</sup>, anti-P<sub>1</sub>, or anti-P<sup>k</sup> antibody

Test red cell	M.Y.'s serum	Test antibody	M.Y.'s red cell
O, P <sub>1</sub>	++	Anti-PP <sub>1</sub> P <sup>k</sup> (Tj <sup>a</sup> )	-
O, P <sub>2</sub>	++	Anti-P <sub>1</sub>	-
O, P <sup>k</sup> <sub>2</sub>	++	Anti-P <sup>k</sup>	-
B, P	-		

Blood groups in K.U.'s family



Blood groups of M.Y.

p, B, MSs, R<sub>1</sub>R<sub>1</sub>, Le (a-b+)  
Fy (a+b-), Jk (a+b+)

Fig.1 Blood groups

集させた。食塩水、ブロメリン法を用いたK.U.血清中の不規則抗体の各温度における抗体価はTable 3に示す通りである。M.Y.のそれはTable 4に示す通りであった。食塩水法活性を有する完全抗体とブロメリン法ないしクームズ法活性を有する不完全抗体が存在することが認められた。

Table 3 Agglutinating titers of K.U.'s serum against O, P<sub>2</sub> red cells

	(Anti-PP <sub>1</sub> P <sup>k</sup> )		
	Saline	Bromelin	Coombs
37°C	1:32	1:512	N.T.
25°C	1:32	1:512	N.T.
4°C	1:32	1:512	N.T.
IgM fraction	1:16	N.T.	N.T.
IgG fraction	1:1	N.T.	1:16
2-ME treatment	Neg.	N.T.	1:16

N.T.: Not Tested, Neg.: Negative

Table 4 Agglutinating titers of M.Y.'s serum against O, P<sub>2</sub> red cells

	(Anti-PP <sub>1</sub> P <sup>k</sup> )	
	Saline	Bromelin
37°C	1:16	1:32
25°C	1:16	1:32
4°C	1:16	1:32

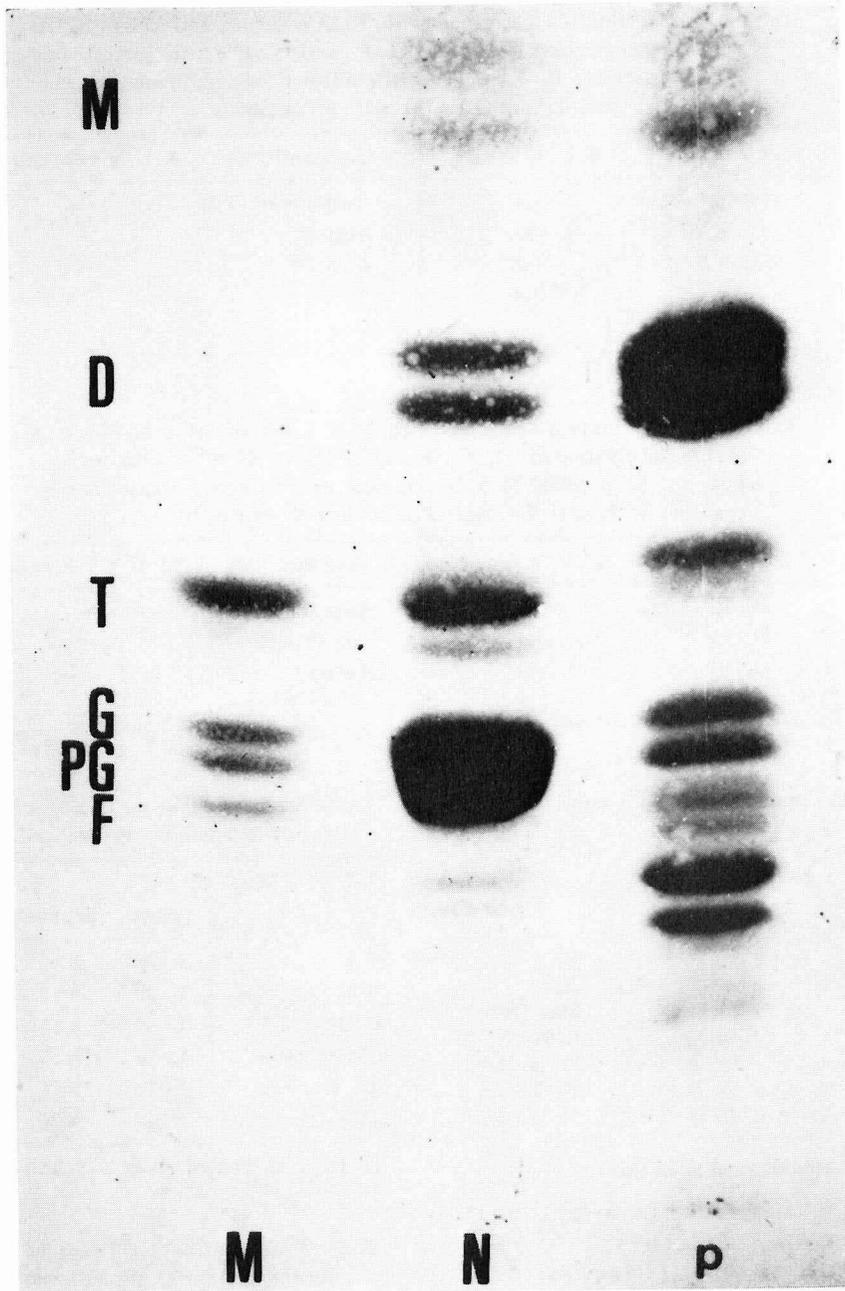


Fig. 2 Thin-layer chromatogram of erythrocyte glycolipids from K.U. (lane p) and normal donor (lane N). Lane M contains marker substances of Forssman (F), paragloboside (PG), globoside (G) and trihexosylceramide (T) glycosphingolipid. M and D are abbreviations for monohexosylceramide and dihexosylceramide respectively. The plate was developed with chloroform-methanol-water, 60 : 35 : 8 (vol/vol), and the glycolipids were detected with an anthrone reagent.

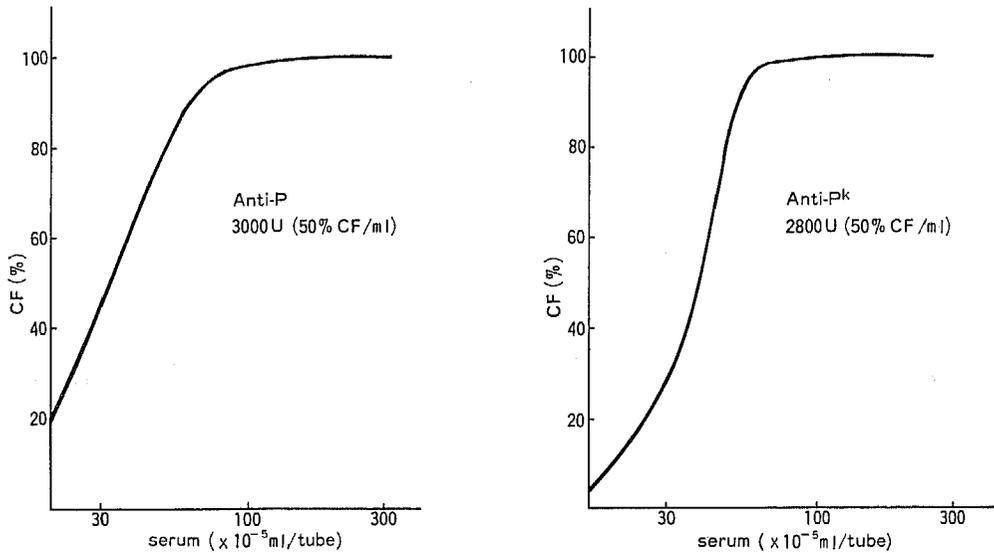


Fig. 3 Complement fixation curves of two glycolipid antigens with K.U. serum. Antigen preparations contained 100ng of globoside, 100ng of lecithin and 1 $\mu$ g of cholesterol as P antigen; and 50ng of trihexosylceramide, 100ng of lecithin and 500ng of cholesterol as P<sup>k</sup> antigen.

K.U. の血清は Table 1 に示したように P1 および P2 型血球, ならびに P<sub>2</sub><sup>k</sup> 型血球とは強陽性反応を示し, A<sub>p</sub> 型血球 (2例) とは陰性反応を示した。また, M.Y. の血清も Table 2 に示すように P1 および P2 型血球, 並びに P<sub>2</sub><sup>k</sup> 型血球とは強陽性反応を示し, B<sub>p</sub> 型血球 (1例) とは陰性反応をしめた。これらの結果から 両者の血清中の不規則抗体は抗 PP<sub>1</sub> P<sup>k</sup> と考えられた。さらに, K.U. 血清を Protein A Sepharose カラムで分画した IgM, および IgG 画分の凝集素価, と 2-ME 処理して IgM を分解した時の凝集素価を Table 3 に示した。IgM 画分は食塩水法活性, IgG 画分はクームズ法活性を有することが示された。

### C 生化学的検査

K. U. および P2 型血球の糖脂質組成を薄層クロマトグラフィーで比較した所見は, Fig. 2 に示した通りであり, トリヘキシシルセラミド (CTH) グロボシド (Glob) の欠損がみられるかわりに, ラクトシルセラミド (CDH) の増量が認められた。また K.U. の血清について抗原として CTH (P<sup>k</sup> 抗原), Glob (P 抗原) を用いて定量補体結合反応を行い, 抗-P<sup>k</sup>, 抗-P の定量を行った結果は Fig. 3 に示した。この図から 50% 補体結合度を血清 1 ml 当たりの割合で求

めると抗-P<sup>k</sup> は 2,800 単位であり抗-P は 3,000 単位であった。

### V 考 察

P 式血液型は, ABO 式, MN 式に続き, 血液型研究途上第 3 の血液型として 1927 年 Landsteiner と Levine<sup>8)</sup> により発見された。日本においては, 1935 年に今村<sup>9)</sup> が, 正常ブタ血清中に一部の人の血球を凝集して 2 群に分ける自然抗体があるのをみつけ, これを Q 式血液型と呼んだ。後に P 式血液型と Q 式血液型は大変関係が深いものとされた。さらに, 1951 年 Levine ら<sup>10)</sup> によりこの P 式血液型に新しく Tj<sup>a</sup> という血液型が加えられた。Tj とは Jay 婦人の tumor 抗原を意味するものであり, この婦人は血液型は O 型で胃癌患者であった。婦人の血清中には検査したすべての O 型赤血球と反応する凝集素があり, この血清を抗-Tj<sup>a</sup> 抗体と呼んだ。Jay 婦人のような血液型を Tj (a-) とし, 後に Sanger<sup>11)</sup> により p 型とされた。現在では Table 5 に示すように P, P<sub>1</sub>, P<sup>k</sup> の 3 つの抗原により 5 つの表現型が発見されている。P 式血液型抗原物質は糖脂質であり, 抗原活性は ABO 式血液型のように転移酵素により作られたオリゴ糖鎖である。これらの抗原の糖鎖構造は Table 6 に示すよう

Table 5 P Blood group system<sup>17)</sup>

Phenotypes	Antigens on erythrocyte	Antibodies in serum	Frequencies in Japanese (%)
P <sub>1</sub>	P <sub>1</sub> , P	none	35
P <sub>2</sub>	P	anti-P <sub>1</sub>	65
P	none	anti-PP <sub>1</sub> P <sup>k</sup>	very rare
P <sup>k</sup> <sub>1</sub>	P <sub>1</sub> , P <sup>k</sup>	anti-P	very rare
P <sup>k</sup> <sub>2</sub>	P <sup>k</sup>	anti-P	very rare

Table 6 Structures of glycosphingolipids

Glucosylceramide (CMH)						Glc-Cer
Lactosylceramide (CDH)						Gal (β1-4) Glc-Cer
Globotriaosylceramide (CTH : P <sup>k</sup> antigen)					Gal (α1-4) Gal (β1-4)	Glc-Cer
Globotetraosylceramide (globoside : P antigen)		GalNAc (β1-3)	Gal (α1-4)	Gal (β1-4)		Glc-Cer
Lactoneotetraosylceramide (paragloboside)		Gal (β1-4)	GlcNAc (β1-3)	Gal (β1-4)		Glc-Cer
Forssman		GalNAc (α1-3)	GalNAc (β1-3)	Gal (α1-4)	Gal (β1-4)	Glc-Cer
P <sub>1</sub> Antigen		Gal (α1-4)	Gal (β1-4)	GlcNAc (β1-3)	Gal (β1-4)	Glc-Cer

Table 7 50% complement fixation units per ml of K. U.'s serum and reported p sera.<sup>7)</sup>

	Antigens	
	P <sup>k</sup> (CTH)	P (Glob)
K. U.	3,000	2,800
Shi-H	770	195
Shi-M	300	220
Hata	1,280	1,180
Natsui	450	420

に Naiki と Marcus<sup>12)</sup> により決定されている。

今回、我々は血清学的な検査から2例のp式血液型を報告したが、特に発端者 K. U. についてはその血液型について生化学的な検査も加えp型と同定した。Marcus 氏<sup>13)</sup>によるとP式血液型物質を薄層クロマトグラフィーにて展開してみると、対照であるP<sub>1</sub>, P<sub>2</sub>型の人には赤血球膜上の主要な糖脂質成分であるCDH, CTH (P<sup>k</sup>抗原), Globoside (P抗原)に異常はないが、P<sup>k</sup>型の人にはGlobosideが欠損しており、その前駆物質であるCTHが主成分であると報告されている。さらにp型の人にはGlobosideとCTHの両物質が欠損していて、CTHの前駆物質であるCDHが主成分であると報告している。K. U. 血球の薄層クロマ

トグラフィーでのパターンをみると、Fig. 2に見られるように正常人に比べCTH, Globoside, が欠損し、そのかわりCDHが主成分として認められた。この結果からもK. U. はp型と同定できた。また、抗原としてGlobosideおよびCTHを用いて行った定量補体結合反応から、K. U. 血清中の不規則凝集素は抗-Pと抗-P<sup>k</sup>であると同定かつ定量できた。K. U. 血清中の抗-Pと抗-P<sup>k</sup>活性量は、すでに加登ら<sup>7)</sup>の報告したものに比べ、Table 7に示すようにそれぞれ3,000Uと2,800Uと非常に強いものであった。

p型の人にはほとんどすべての人が抗-P P<sub>1</sub> P<sup>k</sup> (抗Tj<sup>a</sup>)抗体をもっている。この内抗-P<sub>1</sub> P<sup>k</sup> (IgG)抗体は血清中に高力価に存在しており、妊娠、輸血に悪影響を及ぼすことが知られている。特に、妊婦の場合このIgG抗体が早期に胎盤を透過し、胎児側の抗原と反応し流産をおこす原因となると考えられる。Race と Sanger<sup>14)</sup>によるとp型41名の母親の内、流産経験者は70%以上にもものぼると報告している。今までにP<sup>k</sup>型の妊婦で習慣性流産をおこした報告例<sup>15)</sup>があることより、抗-PのIgG抗体も流産の原因になりうると考えられる。すなわち、このIgG抗体が胎盤を透過し胎児血球上のグロボンドと反応するからだと考えられる。我々の経験した2例のp型発端者はいずれも男性であるためこの種の危険はなく、またK. U.

の血清中の IgG 抗体価は Table 3 に示したように Nakajima と Yokota<sup>16)</sup> の報告した例 (クームズ法力価; 1:256) に比べそれほど高いものではなかった。

## VI 結 語

著者らは、現在日本において報告例が数十人しかない稀な血液型 p 型 2 例に遭遇したので、その検査結果と文献的考察を加えて報告した。その内の p 型 1 例については、生化学的検査を加えた。この方法は、貴重な抗血清も使う必要もなく比較的簡単に行えるため p 式血液型の同定には有用な方法である。

p 型を持った人は、血清中に高温で反応する自然抗体をもっているため、輸血上十分管理しておかなければならない。

また p 型の女性は妊娠時に血液型母児不適合をおこし、早期習慣性流産をおこす危険が高いため十分注意をする必要がある。

(本論文の要旨の一部は、1980年6月19日、第28回日本輸血学会総会において発表した。)

稿を終わるにあたり、本検査のために御指導を賜りました本大学法医学教室前教授 故野田金次郎教授、試薬を分与して下さった本学脂質生理学教室 上村敬一助教授、輸血部 緒方洪之講師、また稀な血液を提供して下さいました長野赤十字血液センター 北村道子氏、山梨県血液センター さらに、検査に御協力頂いた東京医科歯科大学法医学教室 中島八良助教授 本大学輸血部伊藤進技官に深謝します。

## 文 献

- 1) Race, R.R. and Sanger, R.: Blood Groups in Man. 6th ed., pp. 1-2, Blackwell Sci. Pub., London, Oxford, Edinburgh, Melbourne, 1975
- 2) AABB. Technical Manual, 8th ed., American Association of Blood Banks, Washington D.C., 1981
- 3) Hasekura, H.: ABO incompatibility test by titrating mercapto-treated maternal sera. Proc Japan Acad, 39: 550-555, 1963
- 4) Ledeen, R.W., Yu, R.K. and Eng, L.E.: Gangliosides of human myelin: Sialosylgalactosylceramide (G7) as a major component. J Neurochem, 21: 829-839, 1973
- 5) Saito, T. and Hakomori, S.: Quantitative isolation of total glycosphingolipids from animal cells. J Lipid Res, 12: 257-259, 1971
- 6) Wasserman, E. and Levine, L.: Quantitative micro-complement fixation and its use in the study of antigenic structure by specific antigen-antibody inhibition. J Immunol, 87: 290-295, 1961
- 7) Kato, M., Kubo, S. and Naiki, M.: Complement fixation antibodies to glycosphingolipids in sera of rare blood group p and P<sup>k</sup> phenotypes. J Immunogenet, 5: 31-40, 1978
- 8) Landsteiner, K. and Levine, P.: Further observations on individual differences of human blood. Proc Soc Exp Biol NY, 24: 941-942, 1927
- 9) 今村昌一: 新血液型 Q に就て. 犯罪誌, 9: 580-590, 1935
- 10) Levine, P., Bobbit O.B., Waller, R.K. and Kumichel, A.: Isoimmunization of a new blood factor in tumor cells. Proc Soc Exp Biol Med, 77: 403-405, 1951
- 11) Sanger, R.: An association between the P and Jay systems of blood groups. Nature, 176: 1163-1164, 1955
- 12) Naiki, M. and Marcus, D.M.: Human erythrocyte P and P<sup>k</sup> blood group antigens: Identification as glycosphingolipids. Biochem Biophys Res Commun, 60: 1105-1111, 1974
- 13) Marcus, D.M., Naiki, M. and Kundu, S.K.: Abnormalities in the glycosphingolipid content of human P<sup>k</sup> and p erythrocytes. Proc Natl Acad Sci USA, 73: 3263-3267, 1976
- 14) Race, R.R. and Sanger, R.: Blood Groups in Man. 6th ed., pp. 169-171, Blackwell Sci. Pub., London, Oxford, Edinburgh, Melbourne, 1975
- 15) 林田良子: P<sup>k</sup> 型の I 症例について. 日本輸血学会誌, 15: 181-183, 1968
- 16) Nakajima, H. and Yokota, T.: Two Japanese families with P<sup>k</sup> members. Vox Sang, 32: 56-58, 1977
- 17) 中島八良: 日本血液学全書10血液型と輸血. pp. 54, 丸善, 東京, 1977

(59. 12. 21 受稿)