

綜 説

白血球 HLA 型の法医学における応用

支 倉 逸 人

信州大学医学部法医学教室

Application of the Leukocyte HLA Groups in the Field of Legal Medicine

Hayato HASEKURA

Department of Legal Medicine, Shinshu University School of Medicine

Key words : HLA, paternity test, cytotoxicity inhibition test

白血球型, 親子鑑定, 細胞毒阻止試験

I はじめに

免疫血液学の父 Karl Landsteiner は, 1900 年に ABO 式血液型を発見した当初から, 血液型の法医学的応用の価値を高く評価していた。彼が 1930 年に Nobel 賞を受賞した時, 人間の血液型は A_1A_2BO , MN, P の 3 種類発見されていて $6 \times 3 \times 2 = 36$ 型に分けられるだけであったが, 受賞講演の中で, 彼は血液型がさらに多種類発見され, 人間がひとりひとり別の血液型をもっていることが判るようになるかも知れないという考えを述べている¹⁾。

現在, 人の血液型は, 狭義の血液型である赤血球型 (ABO, MN, P, Rh, etc.) を越えて, 広義の血液型と言われる血清型 (Hp, Gc, Gm, etc.), 酵素型 (AP, PGD, PGM, etc.), 白血球 HLA 型, 染色体異形などきわめて多種類発見され, Landsteiner の予言はまさに現実となっている。

そのなかでも白血球 HLA (human leukocyte antigen) 型は, 5 カ所の遺伝子座位にそれぞれ数種ないし数十種の対立遺伝子が存在することが知られ, とびぬけて型分け能力に秀れている。しかもリンパ球上の抗原が, 新生児期から充分発現していること, 血清中に可溶性抗原が存在することなど, 法医学領域への応用上, きわめて価値が高い。

II HLA 型の歴史

赤血球抗体による溶血性の輸血副作用の外に, 発熱

表1 法医学で用いられている遺伝多形 (広義の血液型) とその基本型

赤血球型

ABO : O, A, B, AB
 MN : M, N, MN ; SS, ss, Ss,
 P : P1, P2, p
 Le : a-b-, a+b-, a-b+
 Rh : R1R1, R1r, R2R2, R2r, R1R2,
 Fy : a+b-, a-b+, a-b+,
 Jk : a+b-, a-b+, a+b+
 Di : a+b-, a-b+, a+b+
 Xg : a+, a-

唾液型

Se : Se, se

血清型

Hp : 1-1, 2-2, 2-1
 Gc : 1-1, 2-2, 2-1
 Gm : -2, -5 ; 2, -5 ; -2, 5 ; 2, 5
 Km : 1, -1

酵素型

AP : A, B, BA
 PGD : A, C, AC
 PGM : 1, 2, 2-1
 GPT : 1, 2, 2-1
 EsD : 1, 2, 2-1

白血球型

HLA-A : A2, A9, A10, etc.
 HLA-B : B5, B7, B40, etc.
 HLA-C : CW1, CW3, etc.
 HLA-DR : DRW2, DRW4, etc.

染色体異形

Y heteromorphism :
 Q-band heteromorphism :
 C-band heteromorphism :

性の輸血副作用があり、かなり以前から、その原因が白血球にあるのではないかと考えられていた。

Dausset²⁾ は輸血患者血清中の白血球凝集素 leucoagglutinin の研究を続けていた。ある患者の血清で、多数例の白血球を凝集させたところ、陽性と陰性に分かれたことから、この抗体を Mac と名付けて 1958年に発表した。これが白血球の型分けの始まりで、Mac は現在の抗 A 2 に相当する。その後の HLA 型研究の成果により、Dausset は 1980年に Snell および Benacerraf とともに Nobel 賞を受賞している。

また van Rood ら³⁾ や Payne⁴⁾ は 1958年頃に経産婦血清中に抗白血球抗体を発見し、それによって白血球型を分けた。

その後の数年間は、白血球抗体検査方法の模索の時代だった。白血球凝集反応 leuko agglutination, 補体結合反応 complement fixation, タンニン酸処理赤血球凝集反応 tanned cell agglutination, ラテックス粒子凝集反応 latex fixation, 抗グロブリン消費試験 anti-globulin consumption, 免液付着反応 immune adherence などが動員された⁵⁾⁻⁷⁾。

1964年に Durham で開催された第 1 回の国際組織適合性 workshop は当時の各国のおもな研究者が一堂に集まり、同じ抗血清と血液とを用いて、各自の方法で検査を行い、成績を比較するものであった。方法は違っても、ほぼ同じ結果が示され、白血球の型分けの標準化は可能だという明るい共感が得られたといわれる⁸⁾。

Terasaki と McClelland⁹⁾ が 1964に micro lymphocytotoxicity test を発表したことは、白血球型検査法の標準化に決定的な力をもっていた。これにより、1件わずか 1 μ l の抗血清 (1ml で 1000件) で、きわめて再現性の高い検査ができるようになった。その結果は膨大なデータとなるので、コンピューターで分析して、抗原抗体の特異性を検討するシステムができた。現在国際 workshop は 8 回、日本 workshop も 8 回行われているが、いずれもこのシステムにより運営されるようになっている¹⁰⁾⁻¹¹⁾。

III HLA 抗原

1980年ロスアンゼルスでの国際 workshop で集計された HLA 抗原は表 2 のとおりである¹⁰⁾。表には、A-locus 17種、B-locus 36種、C-locus 8種、DR-locus 11種、D-locus 15種の抗原の頻度が示してある。

表 2 HLA 抗原の表現型頻度 (%) (第 8 回国際組織適合性 workshop データ, 1980)¹⁰⁾

A-locus 抗原	日本人	白人	黒人
	(n=949)	(n=4129)	(n=367)
A1	1.1	27.0	6.5
A2	43.2	45.7	27.3
A3	1.1	23.0	14.2
A11	17.2	11.8	1.1
AW23 (9)	1.1	4.6	20.4
AW24 (9)	58.5	16.7	5.7
A25 (10)	0.1	3.8	0.8
A26 (10)	18.7	7.2	7.4
A28	1.1	8.3	16.6
A29	0.4	7.6	12.3
AW30	0.3	4.8	28.3
AW31	15.3	5.6	4.4
AW32	0.1	8.3	3.0
AW33	13.1	3.3	9.0
AW34	1.9	1.0	12.5
AW36	0.5	0.7	3.3
AW43	0	0.1	1.9

B-locus 抗原	日本人	白人	黒人
	(n=950)	(n=4100)	(n=365)
B7	11.4	17.3	17.0
B8	0.2	16.1	5.8
B13	4.0	5.5	1.4
B14	0.2	6.6	8.0
B18	0	10.8	7.7
B27	0.8	7.6	3.0
BW35	14.1	17.5	12.1
B37	1.1	3.1	0.8
BW38 (16)	0.4	5.3	0
BW39 (16)	5.7	4.0	3.6
BW41	0.7	2.5	2.5
BW42	1.2	0.6	14.8
BW44 (12)	12.5	22.2	13.7
BW45 (12)	0.3	2.0	7.7
BW47	0.4	0.8	0.3
BW48	4.6	1.1	2.2
BW49 (21)	0.6	4.5	4.9
BW50 (21)	0	2.5	1.4
BW51 (5)	15.9	12.6	2.7
BW52 (5)	20.5	2.9	1.9
BW53	0.2	1.5	12.6
BW54 (22)	14.1	0	0
BW55 (22)	5.8	4.4	1.6
BW56 (22)	2.2	1.1	0
BW57 (17)	0	6.5	7.7
BW58 (17)	1.7	2.2	20.3
BW59	4.2	0.9	1.6
BW60 (40)	12.7	7.9	2.7
BW61 (40)	16.8	2.9	0.8
BW62 (15)	16.7	10.1	1.9
BW63 (15)	0.4	1.2	0.6
8W57	1.6	0.1	0
8W59	2.4	1.7	18.2
8W66	0	0.3	2.6
BW4	57.6	65.5	65.3
BW6	87.8	83.0	83.1

C-locus 抗原

	日本人 (n=950)	白人 (n=4130)	黒人 (n=365)
CW1	32.1	7.5	1.1
CW2	0.7	9.7	22.5
CW3	46.5	20.1	17.5
CW4	9.3	22.1	29.3
CW5	0.2	11.7	5.8
CW6	1.4	15.1	17.3
CW7	9.6	21.9	21.8
CW8	0	5.8	7.3

DR-locus 抗原

	日本人 (n=884)	白人 (n=4077)	黒人 (n=323)
DR1	12.2	15.4	9.6
DR2	36.0	25.2	28.5
DR3	3.2	21.0	31.6
DR4	41.4	21.1	9.6
DR5	4.3	19.5	24.8
DRW6	9.1	5.1	—
DR7	1.0	23.5	18.6
DRW8	12.6	5.4	10.8
DRW9	23.0	2.1	5.3
DRW10	1.2	1.3	3.7
DRW6Y	10.7	17.8	—

D-locus 抗原

	日本人 (n=36-158)	白人 (n=430)
DW1	11.5	13.3
DW2	6.8	14.4
DW3	0	15.7
DW4	0	10.3
DW5	8.7	10.9
DW6	6.8	19.5
DW7	14.0	19.5
DW8	5.6	6.1
DW9	0	2.8
DW10	0	5.1
DW11	—	—
DW12	27.4	—
DYT	16.0	—
DEn	17.2	—
DKT-2	7.6	—

人種差はかなり著しく、白人や黒人と比較して日本人に特徴的に多いとされる抗原には AW24(9), BW52(5), BW54(22), BW61(40), CW1, DRW9などがある。反対に白人や黒人では多いのに日本人に特まれな抗原には, A1, A3, B8, B18, CW2, CW5, DR7 などがある。

このほかに, DR supertypic antigen とよばれる MT 抗原系がある。抗MT 1 抗体はDR1, DR2, DRW10のすべて, および DRW6 と DRW8 の一部と反

応する。抗MT 2 抗体は DR3, DR5, DRW6, DRW8, およびDR blank の人と反応する。抗MT 3 抗体は DR4, DR7, DRW9 と反応する¹⁰⁾。

さらに, DR 座とは異なる遺伝子座を有すると考えられる抗原系として, MB 系 (MB1, MB2, MB3) や 2nd DR 系 (Te21, Te22, Te23, Te24, TB21, TB22) がでてきている¹¹⁾。

IV 親子鑑定への応用

法医学において親子鑑定 (paternity test) を行う際には, 多種数の遺伝形質の検査を行うが, 白血球 HLA 型は, 遺伝形式が確立し, 型の種類が多く, 新生児でも抗原が発現していて, 検査手技も標準化され, 成績の再現性も良くなって, もっとも役に立つ形質であるといえる。

欧米では1971年ごろから, HLA を親子鑑定に利用しはじめている¹²⁾⁻¹⁴⁾。

日本でもまもなく HLA 型頻度の調査が始まった¹⁵⁾。親子鑑定の際に参考として HLA の検査もすることは, そのころから行われていたと思われるが, 鑑定書に記録されたり, 論文に発表されたりしはじめたのは, 1976年ころからであろう¹⁶⁾⁻²²⁾。男が死亡していても, 血縁者を検査して本人の HLA 型を確定し, 親子鑑定に成功した例もかなり報告されている¹⁶⁾²³⁾²⁴⁾。

A 親子鑑定の方法

まず検査を行う前に, 受胎日と妊娠期間について, 関係者の主張を聞く。しばしば, 受胎日から10月10日で生まれるなどと信じていて, 標準妊娠期間が最終月経の初日から280日とされることを知らないために, 無用の誤解や争いが生じていることがある。

次に関係者の採血を行う。赤血球型なら少量の血液で検査できるが, HLA-A, B, C を検査するには10ml 位, DR の検査まで行うには20ml 位の血液が必要である。

各種の血液型(赤血球型, 血清型, 酵素型, 白血球型など)を検査して, 遺伝学的に親子関係に矛盾がないかを検討する。

親子として合わない型が出た場合には, 多くの遺伝形質について例外的な遺伝現象が発見されているので, にわかに否定と結論せず, 十分に血清学的, 遺伝学的に検討しなければならない。

また, 親子として矛盾しない型の組み合わせであれば, 「父権否定の確率」や「父権肯定の確率」を計算する。

表 3 HLA 型による父権肯定の確率³⁵⁾

Phenotypes of the mother & the child		Phenotype of the putative father							
	X	A	B	C	AB	AC	BC	CD	
X X	$\frac{1}{1+x}$	$\frac{1}{1+a+2x}$	$\frac{1}{1+b+2x}$	$\frac{1}{1+c+2x}$	0	0	0	0	
X A	0	$\frac{a+x}{a+x+a(a+2x)}$	0	0	$\frac{1}{1+2a}$	$\frac{1}{1+2a}$	0	0	
A X	$\frac{1}{1+x}$	$\frac{1}{1+a+2x}$	$\frac{1}{1+b+2x}$	$\frac{1}{1+c+2x}$	0	0	0	0	
A A	$\frac{a+x}{a+x+a^2+3ax+x^2}$	$\frac{(a+x)(a+3x)}{(a+x)(a+3x)+(a+2x)(a^2+3ax+x^2)}$	$\frac{x(a+x)}{x(a+x)+(b+x)(a^2+3ax+x^2)}$	$\frac{x(a+x)}{x(a+x)+(c+2x)(a^2+3ax+x^2)}$	$\frac{a+2x}{a+2(x+a^2+3ax+x^2)}$	$\frac{a+2x}{a+2(x+a^2+3ax+x^2)}$	0	0	
A B	0	0	$\frac{b+x}{b+x+b(b+2x)}$	0	$\frac{1}{1+2b}$	0	$\frac{1}{1+2b}$	0	
A AB	0	0	$\frac{b+x}{b+x+b(b+2x)}$	0	$\frac{1}{1+2b}$	0	$\frac{1}{1+2b}$	0	
AB A	$\frac{1}{1+a+x}$	$\frac{1}{1+a+x}$	$\frac{x}{x+(a+x)(b+2x)}$	$\frac{x}{x+(c+x^2)}$	$\frac{1}{1+2(a+x)}$	$\frac{1}{1+2(a+x)}$	0	0	
AB AB	0	$\frac{a+x}{a+x+(a+b)(a+2x)}$	$\frac{b+x}{b+x+(a+b)(b+2x)}$	0	$\frac{1}{1+a+b}$	$\frac{1}{1+2(a+b)}$	$\frac{1}{1+2(a+b)}$	0	
AB AC	0	0	0	$\frac{1}{1+c}$	0	$\frac{1}{1+2c}$	$\frac{1}{1+2c}$	$\frac{1}{1+2c}$	

B 否定の確率

「否定の確率」とは、母子の型の組み合わせに対して、無関係の一般の男が父という疑いをかけられた時、何%の男が父ではないと否定できるかという確率で、「この男は否定できない少数者に属している」という形で父らしさを表現する²⁵⁾²⁶⁾。

たとえば母A2型、子A2A3型、男A3AW24型であれば、A3を持たない99%の男は否定できるのに、この男は否定できない1%のうちに入っていることになる。

多種類の遺伝形質について検査して、いずれでも否定できなかったばあいには、「父権否定の総合確率 cumulative probability of paternity exclusion」を計算する。たとえば ABO, HLA などでの否定の確率をそれぞれ P_{ABO} , P_{HLA} …… とすると、総合否定確率 CPE は次の式で表わされる²⁷⁾。

$$CPE = 1 - (1 - P_{ABO}) (1 - P_{HLA}) \dots\dots$$

C 父権肯定の確率

これに対して、「肯定の確率」は、否定されない男のうちにも、まれな型を子と共有しているいかにも父らしいものから、劣性遺伝子(ないし使用した抗血清では検出されない因子)を子と共有する可能性があるのかろうじて否定されないような余り父らしくないものまであるので、これを数字で表現するものである²⁸⁾⁻³²⁾。裁判に確率論を持ち出すことについては種々の議論もあったというが、民事事件では提出された証拠だけをもとにして判決する必要があり、父権肯定の確率も各国の裁判に定着し、HLA 型の証拠能力も認められている³²⁾⁻³⁴⁾。

標準的な親子鑑定の母子男の組み合わせにおいて、母と男の型の組み合わせから問題の子と同じ型の子が生まれる率を X (Probability of paternity of the alleged father), 一般の男性を父として、問題の母の型の女性から問題の子の型の子が生まれる率を Y (Probability of paternity of a random male) とおくと、父権肯定の確率 P (Plausibility of paternity, Likelihood of paternity) は次の式で表わされる³⁰⁾。

$$P = \frac{X}{X+Y} = \frac{1}{1 + \frac{Y}{X}} \quad (\text{Essen-Möller's formula})$$

たとえば HLA-A 座抗原が、母A11型、子A11型のばあい、A11型の男もAW24型の男もともに父権を否定されないが、A11型はいかにも父らしいのに対し

て、AW24型の男は余り父らしくない。

この組み合わせについて、父権肯定の確率を計算すると、A11型の男は89.8%とかなり父らしい印象なのに、AW24型の男は31.4%となり、50%と設定してある事前確率よりもだいぶ低くなり、むしろ父らしくない印象を示す。

Hasekura らは HLA の 1 座位に於ける父権肯定の確率の計算式を表に作成した³⁵⁾(表3)。

この表は、母子の型の組み合わせに対して、男の型の父権肯定の確率が、各抗原の遺伝子頻度から計算できるようにしたものである。検査に用いた抗血清ではまったく抗原が検出できなかった型(Blank)をX, 1抗原のホモ接合体または1抗原とBlankの組み合わせの型をA, B, C, 2抗原のヘテロ接合体をAB, CDなどと表わし、それぞれの抗原の遺伝子頻度は小文字で表わしてある。

HLA の A, B, C, DR の各座位を 2 つ以上検査したばあいには、各抗原の連鎖についての haplotype の頻度が分れば、それに基づいての父権肯定の確率が出せるはずであるが、きわめて複雑な計算になることから、haplotype 頻度が未だ十分に確定されていないことから、現在の鑑定では各座ごとに計算を行っているものが多い。A, B の 2 座位の組み合わせについて計算するにはコンピューターが用いられている³⁶⁾⁻³⁸⁾。

D 父権肯定総合確率 (Cumulative plausibility of paternity)

各種の血液型についてそれぞれ父権肯定の確率が出ると、これを総合して「父権肯定総合確率W」が次の式で計算される。

$$W = \frac{P_{ABO} \cdot P_{HLA} \dots}{P_{ABO} \cdot P_{HLA} \dots + (1 - P_{ABO}) \cdot (1 - P_{HLA}) \dots}$$

$$= \frac{1}{1 + \frac{Y_{ABO}}{X_{ABO}} \cdot \frac{Y_{HLA}}{X_{HLA}} \dots}$$

この数値は、事前確率を50%とし、男の父らしさを0% (絶対否定) から100% (絶対肯定) の間の百分率で示すもので、表4のように解釈すべきだとされている³⁹⁾⁴⁰⁾。

総合確率の計算に際して問題となるのは、遺伝子座が同一染色体上にある形質同士の扱いである。たとえば、第1染色体にはRhおよびFy (Duffy) 赤血球型、PGM₁ (Phosphoglucomutase), PGD (6-phosphogluconate dehydrogenase), UMPK (Uridine monophosphate kinase) の各酵素型の遺伝子

表4 父権肯定の確率の解釈 (Hummel)³⁹⁾

肯定の確率(W)	解釈 (Likelihood of paternity)
99.8%以上	父とみなしてよい Practically proved
99.0%以上	極めて父らしい Extremely likely
95.0%以上	非常に父らしい Very likely
90.0%以上	父らしい Likely
10~90%間	何ともいえない Not useful
10.0%以下	父でないらしい Unlikely
5.0%以下	非常に父でないらしい Very unlikely
1.0%以下	極めて父でないらしい Extremely unlikely
0.2%以下	父でないともみなしてよい Practically excluded

座があり、また、第6染色体には、P赤血球型およびHLAの各座位を含むMHC (Major histocompatibility complex) 遺伝子群、PGM₃酵素型、補体のC₃およびC₄成分の血清型の座位が並んでいる⁴⁾。

これらの遺伝子座位間の距離は互いにかかなり離れていて、一般には独立して遺伝するとみなしてもさしつかえないと考えられるが、HLAの各座については、密接に関連していて、特定の遺伝子同士が結合したまま遺伝し、連鎖不平衡 linkage disequilibrium が強く認められる。このように関連している遺伝形質についての父権肯定の確率をすべて独立とみなして総合確率を計算すると、不当に高い確率となるおそれがある。

そこでわれわれは、同じ染色体上にある形質については、連鎖の可能性を考慮して1種類だけを選んで計算した父権肯定の総合確率と、全部の形質を独立とみなして計算した数値とを出して、真の値はその間にあると説明した鑑定書を作成している¹⁸⁾。

E HLA型判定の落とし穴

HLA型が法医に応用されはじめた初期には、再現性の乏しさや抗血清の特異性検定の不十分なことから、その証拠能力が疑問視されたというが、現在は検査方法が標準化され、特異性のくわしく判った抗血清も出そろい、判定の確実さはほぼ赤血球型に匹敵するようになったといえる³²⁾。

しかし、あくまで血清学的反応による検査なので、種々の誤判の原因が必然的につきまとい、結果の判定および解釈には、かなりの知識と経験が必要である。

実際に家系を検査していて、両親に存在しない抗原が子供に出現する現象を時々経験する。たとえば、ある家族をA2, A24(9), AW31, AW33に対する抗血

清で検査したところ次のように結果が判定された。

母：2冊9-31冊33+(A2AW31)

父：2-9冊31冊33+(A9AW31)

子：2-9-31冊33冊(AW31AW33!?)

これでは親子関係が否定されると解釈する危険がある。つまりこの抗AW33血清AW31と弱く交差反応を起こすもので、子供がAW31のホモ接合体となると、かなり強い反応を起こして、誤判の原因となったものである。

F 親子鑑定が行われる事件

親子鑑定は民事事件に関して行われるのがふつうで、特に「認知請求事件」が大多数を占めている。これは、結婚外で生まれた子を原告とし、母が原告代理人となって、男に対し自分の子であることを認めろと訴える。認知されれば、子は父から扶養を受け、遺産を嫡出子の半分相続し、裁判所の許可を得て、父の姓を名のり、父の戸籍に入ることができる。

したがって、日本では欧米に比較して親子鑑定の責任がきわめて重大で、例数ははるかに少なくなっている。

反対に父が原告となって、嫡出子とされる子が実は母の不貞により生まれたとあって、子を被告として訴えるのが、「嫡出否認請求事件」である。

また、「親子関係不存在確認請求事件」は、種々の事情で実子でない子を実子として届け、後に戸籍を訂正したいと訴えるものである。

民法には「女は前婚解消後6カ月経過しなければ再婚できない」という規定があるが、これに違反して再婚した女が、前婚解消後300日以内で、後の結婚届けの201日以後に子を生んだばあい、前夫、後夫のどちらの子かを裁判所に決めてもらう「父を定める訴え」がある。

さらに、産院などで起こった「取りかえ子事件」や、中国残留孤児の肉親さがしなどでも親子鑑定が行われている。

珍しい事例として、母を定める鑑定を経験した⁴²⁾。ある夫婦の6人の子供が、妻の子であるか、同居している妻の妹の子であるかを鑑定せよという事件である。鑑別すべき2人の女が姉妹であることで、困難が予想されたが、ABO赤血球型とHLA白血球型で、すべての子供が妻の子ではなく、妹の子であると判定できた。

すなわち、妻はABOはO型でHLAは(A9B15CW1)(A10BW54CW3)であり、妹はB型で(AW

33B12C-) (A10BW54CW3) であった。子供のうち 5 人は (AW33B12C-) というハプロタイプを有していることで、残りの 1 人は (A10BW54CW3) をもっていたが AB 型であることで、いずれも妻との母子関係は否定され、妹の子と確認された。

一方、刑事事件に関して親子鑑定が行われることはまれであるが、次のような事例を経験している。1 つは母親による嬰兒殺事件で、父親の関与ないし責任が問題となり、内縁の前夫および内縁の現夫についていずれが父であるかを鑑定した⁴³⁾。もう 1 例は、ある家が火災になり、一家 4 人が焼死した事件で、当夜付近のほかの家に放火した少年が逮捕され、この家に対しても放火殺人を犯したと疑われた。司法解剖の結果、父と長女の血液型が合わないことが判り、真の父と疑われる男も発見され、親子鑑定の結果、長女はこの男の子と判明し、その男の話などから、家庭の事情が明らかとなり、一家心中と判定された⁴⁴⁾。

V 個人識別への応用

法医学においては、個人識別 personal identification が重要な仕事のひとつである。この目的には、従来指紋がもっとも有力な形質とされてきたが、検査できる血液型の種類が増すにつれ、血液ないし血痕からの個人識別の価値が高くなってきた。

A 血液型の「識別率」

任意の 2 例の血液をとった時、これらを異なる型に識別することができる割合を、その血液型の型分け能力、識別率、relative usefulness of a blood group system という⁴⁵⁾⁴⁶⁾。

たとえば ABO 式の検査をしたところ 2 例の血液とも A 型で型分けができないばあいは、A 型の日本人における頻度が 40% であるから、たまたま 2 例とも A 型となる率は $0.4 \times 0.4 = 0.16$ すなわち 16% となる。同様に 2 例とも O 型 30%、B 型 20%、AB 型 10% となる率はそれぞれ $0.3^2 = 0.09$ 、 $0.2^2 = 0.04$ 、 $0.1^2 = 0.01$ となる。これらを合計すると、ABO 式で型分けができない割合は 26%、ABO 式の識別率は $100\% - 26\% = 74\%$ である。

同様に Rh 式赤血球型で、Rh+型 99.5% と Rh-型 0.5% とに分けたばあいの識別率は $1 - (0.995^2 + 0.005^2) = 0.010$ で 1% しかない。

HLA について識別率をみると、A 座について、A2、A24(9)、A26(10)、A11 の 4 因子だけ検査すると 84%、B 座について B5、B7、B12、B15、B16、BW22、

BW35、BW40 の 8 因子検査すると 96%、これら A 座および B 座の 12 因子により 99% の識別率をもっている。

さらに C 座抗原を CW1、CW3、CW4、CW7 の 4 因子検査すると 82%、DR 座を DR1、DR2、DR4、DRW6、DRW8、DRW9 の 6 因子検査すると 93% の識別率が得られる。

現在ふつうに検査室できる程度に HLA の型分けを行えば、その識別率は 99.99% 以上、すなわち数万人検査してもすべて異なる型に識別できることになる。(血縁者なら同型者が出る可能性は多くなり、同胞では 4 分の 1 の率で同型となる。)

B 可溶性 HLA 抗原

HLA 抗原は白血球などの細胞膜以外に、血清中に可溶性抗原として cytotoxicity inhibition や radioimmunoassay で証明される⁴⁷⁾⁴⁹⁾。生きたリンパ球が得られなくとも、被検者の血清から HLA 型が判定できるということは、法医学上意義が大きい。この可溶性抗原は、採血後 10°C に保存すると 6 カ月以上、-70°C に保存すると 1 年以上、抗原性に変化がない。また加熱すると 60°C 15 分でほぼ活性を失うことをみた⁵⁰⁾。

血清中の可溶性 HLA 抗原は、リンパ球上の抗原をパパインで分解して得られるものとほぼ同様で、H 鎖と L 鎖からなり、L 鎖は $\beta 2$ -microglobulin、H 鎖は glycoprotein で HLA 抗原活性があるとされる⁴⁸⁾。

C 細胞毒阻止試験の方法

可溶性 HLA 抗原の検出に用いる細胞毒阻止試験 cytotoxicity inhibition test は次のように行われる⁴⁹⁾⁵¹⁾。

1 予備試験として、抗血清の cytotoxic titer (100% cytotoxicity を起こし得る稀釈倍数) を測定する。その抗血清を稀釈して力価を 2 倍、3 倍、4 倍に調整し、それぞれ 1 μ l ずつ、マイクロプレートの各列に分注する。

2 被検血清を 2 倍連続稀釈して 1 μ l ずつ、各稀釈列の抗血清に加え、室温 60 分間振盪しながら吸収させる。

3 判定用リンパ球浮遊液 1 μ l を加え、室温 30 分感作後、ウサギ補体 5 μ l を入れ室温 60 分反応させ、エオジン染色、ホルマリン固定を行って、鏡検して染色率 (% lysis) を判定する。

4 % 阻止率を次のように計算する。

$$\% \text{阻止率} = \frac{100 - \text{検体染色率}}{\text{陰性対照染色率}} \times 100$$

50%阻止率以上を阻止陽性と判定し、被検血清の稀釈倍数を抗原価とする。

このようにして検出した血清中の HLA 抗原と、cytotoxicity test により判定したリンパ球上の HLA 抗原とを比較すると、大部分の例ではよく一致して、血清から型判定が可能と考えられた。

しかし一部には不一致がみられ、とくに CNAP (cytotoxicity negative, absorption positive)⁵²⁾ とよばれる現象は、技術的な誤差によるものというより、本質的な抗原抗体特異性の問題と思われた。たとえば抗 BW35 血清は BW35 陽性者の血清ばかりでなく、B5 および B15 陽性者の血清によっても阻止された。これから、BW35 は B5, B15, BW35 の共通の基本構造に相当するなどといった推定がされる⁵³⁾。

D 死体の HLA 型判定

死体の血液型検査が必要となる事例はしばしば生じる。各種の赤血球型は死後数日まで判定できる可能性があるが、リンパ球はほぼ 1 日で死滅してしまうため、細胞毒試験による HLA 型判定は司法解剖時には不可能とされていた。

コペンハーゲン大法医学教室では、親子鑑定中の男が急死したので司法解剖を行い、脾臓細胞を採取して、HLA 抗血清の吸収試験により HLA 型判定に成功し、親子鑑定の結論を出すことができた⁵⁴⁾。

われわれは前記 (IV-4 親子鑑定が行われる事件) のように、焼死した家族 4 人の HLA 型を、死体血清を用いて細胞毒阻止試験により判定した。A2, A9, A10, BW35, B40 の 5 因子について検査すると、母は A2BW35, 長女は A9BW35, 三女 A2BW35 であるのに対して、父は A10BW35B40 で、父と長女間の父子関係が否定された。後に、母と関係があったと疑われた男が発見され、リンパ球の細胞毒試験により HLA 型を検査すると A2A9BW35 で、その他の赤血球型、血清型とともに、長女の父として矛盾がなく、父権肯定の確率は 98.4~99.6%であった⁵⁵⁾。

E 血痕の HLA 型判定

血清中に HLA 抗原が存在することから、乾燥した血痕を用いて HLA 型を判定する試みがなされている⁵⁶⁾⁻⁶¹⁾。

これには、血痕を生理食塩水で浸出し、その浸出液 1 μl を抗血清 1 μl と混合して吸収を行う方法⁵⁶⁾⁻⁵⁸⁾と、微量の血痕を直接数 μl の抗血清中につけて吸収

する方法⁵⁹⁾⁻⁶⁰⁾とがある。いずれの方法でも、ほぼ確実に HLA 型判定が可能であるが、浸出液を用いるほうが、抗血清の使用量が少なくすむ。

F 血清中の HLA 抗原量の遺伝性

血清中の HLA 可溶性抗原の抗原価は、抗原の種類により、また個体により、さらには白血病の病態などによっても、かなりの多様性がある⁶²⁾。とくに、A9 抗原が他の抗原に比較して著しく抗原価が高い。また少数ながら、リンパ球上にある抗原が血清中にまったく検出されない例があることも注目される。

われわれは、血清中の HLA 抗原価の遺伝性をしらべるために、両親と新生児 (臍帯血) について、リンパ球で HLA 型を判定し、その血清中の抗原価を細胞毒阻止試験で測定した⁶³⁾。A2 抗原価は、新生児でもすでに親とほぼ同様の価を示し、抗原価の高い個体 (strong inhibitor) と低い個体 (weak inhibitor) とが、明確に遺伝していることがうかがわれた。また、A9 抗原価および A10 抗原価では、新生児の価が親の価よりも一般に低く、十分に発現していない事を示していた。いずれの抗原でも、親が weak inhibitor であれば子は必ず weak inhibitor であり、HLA 抗原価に遺伝性があると考えられた。しかし、A2 と A9, A9 と A10 など各抗原価の間の相関は認められず、ABO 抗原の分泌型のような変異遺伝子の存在は推定できなかった。

VI おわりに

HLA 型の発展、その抗原系の複雑化、研究の多様化には、感嘆するばかりである。各種の赤血球型、血清型、酵素型などについても、めざましい発展があったが、それらの研究者が比較的少数に限られていたのに対し、HLA 研究者の数は非常に多く、研究者の分野も臨床各科から基礎の各科にわたり、研究投資 (情熱、時間、費用、技術、設備) も膨大なものになっている。

たとえば第 8 回 International Histocompatibility Workshop ひとつをみても、20 カ国以上の 130 施設 400 名以上の研究者が 3 年間にわたって 720 種類の抗血清で 37,763 人の検査をしている⁶⁴⁾。日本の病理、輸血、臨床等の研究者の活躍は心強い限りである。

日本の法医学は、現在のところ、この成果のほんの一部を利用させてもらっている段階である。日ならずして、白血球 HLA 型は、法医学上の諸問題の解決に威力を発揮してゆくことと信ずる。

この綜説は、文部省科学研究費一般研究A課題番号 444039のまとめであり、また信大医学セミナー「白血球 HLA 型」の講演資料である。これらの機会を与えて下さった関係の諸先生に深く感謝の意を表する。

文 献

- 1) Ortho Diagnostics : Blood group antigens and antibodies as applied to the ABO and Rh systems. Ortho Diagnostics, Raritan, 1969
- 2) Dausset, J. : Iso-leucoanticorps. Acta Haematol Basel, 20 : 156-166, 1958
- 3) vanRood, J.J., Eernisse, J.G. and Leuwen, A. : Leukocyte antibodies in sera from pregnant women. Nature, 181 : 1739, 1958
- 4) Payne, R. : Leukocyte agglutinins in human sera. Correlation between blood transfusions and their development. Arch Intern Med, 99 : 587, 1957
- 5) Kashiwade, H. and Hasekura, H. : Tests for leukocyte antibodies by passive agglutinations, I. DEAE fractionation of the antibody, and comparison of latex and sheep cell agglutinations, leukocyte agglutination, and anti-globulin consumption. Proc Japan Acad, 47 : 736-740, 1971
- 6) Kashiwade, H. and Hasekura, H. : Do, II, Distributions of the latex agglutination titers among the blood transfused patients. Proc Japan Acad, 47 : 799-802, 1971
- 7) Terasaki, P.I. (ed.) : Histocompatibility Testing 1970. Munksgaard, Copenhagen, 1970
- 8) Amos, D. B. : Personal communication.
- 9) Terasaki, P. I. and McClelland, J. D. : Microdroplet assay of human serum cytotoxins. Nature, 204(4962) : 998, 1964
- 10) Terasaki, P.I. : Histocompatibility Testing 1980. UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles, 1980
- 11) 第8回日本HLA workshop. 東京女子医大, 1980
- 12) Mayr, W. : Die Genetik des HLA Systems. Populations- und Berücksichtigung der Paternitätsserologie. Humangenetik, 12 : 195-243, 1971
- 13) Jennet, M., Hässig, A. and Bernheim, J. : Use of the HL-A system in disputed paternity cases. Vox Sang, 23 : 197-200, 1972
- 14) Turowska, B., Turowski, G. und Kobiela, J.S. : Die Bestimmungen des HL-A Antigens in der forensischen Praxis. Kriminal. forens. Wissenschaft, (9/1972) : 103-105, 1972
- 15) Tsuji, K., Aizawa, M., Itakura, K., Nakayama, E., Hasekura, H., Yoshida, T., Akaza, T., Orita, K., Kodama, T., Nomoto, K., Goya, T., Miyamoto, H. and Ito, M. : Distribution of the HL-A antigens of the Japanese population in Japan. Vox Sang, 26 : 449-456, 1974
- 16) 中嶋八良, 石本剛一, 浅野 稔, 十字猛夫 : 父として疑われている男が死亡している場合の父子鑑定 の 3 例. 日法医誌, 30 : 351-355, 1976
- 17) 支倉逸人, 柳田純一 : 浦和地裁越谷支部民事部認知請求事件鑑定書. 埼玉法医親子 2 号, 1978
- 18) 支倉逸人, 柳田純一, 柏手宏允, 吉村公一, 中村 博, 原 正昭, 高浜一宏 : HLA 型の法医学への応用 : HLA と臨床医学, 辻 公美 (編), pp.220-234, 東海大出版, 東京, 1979
- 19) 木村 康 : ヒト白血球抗原の基礎と応用. 第63次日本法医学会総会特別講演. 日法医誌, 33 : 485-487, 1979
- 20) 支倉逸人, 柳田純一, 吉村公一, 中村 博, 原 正昭 : 白血球 HLA 型の法医学的応用 (会). 日法医誌, 33 : 573, 1979
- 21) 向山明孝, 山本 茂 : HLA 抗原の法医鑑識への応用 (I) (会). 日法医誌, 33 : 531, 1979
- 22) 塩野 寛, 田畑典子, 真屋篤代, 村岡 茂, 安積順一, 森田匡彦, 千葉真彰, 黒田 誠 : HLA の親子鑑定への応用. HLA によってのみ父子関係を否定できた 2 鑑定例. 日法医誌, 34 : 658-660, 1980
- 23) 中嶋八良 : 死亡した男の同胞の血液型検査結果にもとづいて父子鑑定を行った 1 例. 日法医誌, 32 : 85-87, 1978
- 24) Speiser, P., Mayr, W.R., Pacher, M., Pauch, V., Bleiner, I., Melzer, G., Weirather, M. and Groer, K. : Exclusion of paternity in the HL-A system without testing the deceased

- accused man. *Vox Sang*, 27 : 379-381, 1974
- 25) Mayr, W.R. und Pausch, V. : Die Berechnung der Vaterschafts-ausschlusschance im HL-A-System. *Z Immunitaetsforsch*, 150 : 447-457, 1975
 - 26) Speiser, P. : Chances of paternity exclusion in tabular form. *Z Immunitaetsforsh*, 143 : 203-205, 1972
 - 27) Wiener, A.S. : Problems and pitfalls in blood grouping tests for non-parentage : Distribution of the blood groups. *Am J Clin Pathol*, 51 : 9-14, 1969
 - 28) Terasaki, P.I., Bernoco, D., Gjertson, D., Mickey, M. R. and Perdue, S. : Ninety-five per cent probability of paternity with HLA, ABO and haptoglobins. *Forensic Sci International*, 12 : 227-232, 1978
 - 29) Mayr, W.R. : Das HL-A-System in der Paternitätsserologie. *Z Rechtsmed*, 75 : 81-103, 1974
 - 30) Essen-Möller, E. : Beweiskraft der Ähnlichkeit im Vaterschaftsnachweis. Theoretische Grundlagen. *Mitt Anthropol Ges Wien*, 68 : 9-53, 1938 (cit. from 32)
 - 31) Spielmann, W. und Seidl, S. : Zur Anwendung des HL-A Systems in der Paternitätsserologie. *Z Rechtsmed* 74 : 121-140, 1974
 - 32) Terasaki, P. I. : Resolution by HLA testing of 1,000 paternity cases not excluded by ABO testing. *J Family Law*, 16 : 534-557, 1978
 - 33) Mayr, W.R., Waltz, H. und Wegener, R. : Das HLA-System in der Vaterschaftsserologie : Praktische Erfahrungen bei 1130 Fällen. In Hummel, K. and Gerchow, J. (eds.): *Biomathematical Evidence of Paternity*. pp. 177-191, Springer, Berlin-Heidelberg, 1981
 - 34) Page-Bright, B. : Proving paternity — Human leukocyte antigen test. *J Forensic Sci*, 27 : 135-153, 1982
 - 35) Hasekura, H., Yanagida, J., Yoshimura, K. and Hara, M. : Paternity tests with the leukocyte HLA groups, I. Likelihood of paternity. *Proc Japan Acad*, 57B : 342-345, 1981
 - 36) Hummel, K., Ihm, P. and Conradt, J. : A 'universal program' for the computation of the plausibility of the biological fatherhood and other relationships on the basis of blood group findings including the HLA system with native as well as foreign people. *Vox Sang*, 31 : 456-464, 1976
 - 37) Conradt, J., Valentin, J., Hummel, K. and Ihm, P. : An algorithm to evaluate HLA results taking into account recombination between the A and B loci. In : Hummel, K. and Gerchow, J. (eds), *Biomathematical Evidence of Paternity*, pp. 151-158. Springer, Berlin-Heidelberg, 1981
 - 38) Lötterle, J. und Hommel, G. : Zur Vaterschaftsplausibilität im HLA-System. Untersuchungen unter Benutzung verschiedener Haplotypfrequenztabellen. In : Hummel, K. and Gerchow, J. (eds.), *Biomathematical Evidence of Paternity*, pp. 193-200, Springer, Berlin-Heidelberg, 1981
 - 39) Hummel, V.K. : Biostatistical Opinion of Parentage Based Upon the Results of Blood Group Tests, Table-Part I. Gustav-Fischer, Stuttgart, 1971 (cit from 40)
 - 40) AABB Committee on Technical Workshops : Paternity Testing. Am. Assoc. Blood Banks, Wash, D. C. 1978
 - 41) McKusick, V.A. and Ruddle, F.H. : The status of the gene map of the human chromosomes. *Science*, 196 : 390-400, 1977
 - 42) 上野 佐, 塚本昭次郎, 須藤孝子, 唐沢佐智子, 梶原正弘, 岡田健夫, 大類正江, 支倉逸人, 吉村公一 : 成人兄弟6名の実母鑑定例について(会). *日法医誌*, 57 : 155, 1982
 - 43) 支倉逸人, 柳田純一 : 埼玉県警察科学捜査研究所嘱託, 嬰兒殺被疑事件鑑定書. 埼玉法医親子1号, 1976
 - 44) 支倉逸人, 柳田純一 : 埼玉県浦和警察署嘱託, 殺人被疑事件鑑定書. 埼玉法医親子5号, 1979
 - 45) Fisher, R.A. : Standard calculations for evaluating a blood-group system. *Heredity (Lond)*, 5 : 95-102, 1951 (cit. from 46)

- 46) Race, R.R. and Sanger, R. : Blood Groups in Man, 6th ed. Blackwell (Oxford), 1968
- 47) vanRood, J.J., vanLeeuwen, A., Koch, C.T. and Frederiks, E. : HL-A inhibiting activity in serum. In : Terasaki, P.I. (ed.), Histocompatibility Testing 1970, pp. 483-485. Munksgaard, Copenhagen, 1970
- 48) Miyakawa, Y., Tanigaki, N., Kreiter, V.P., Moore, G.E. and Pressman, D. : Characterization of soluble substances in the plasma carrying HL-A alloantigenic activity and HL-A common antigenic activity. Transplantation, 15 : 312-319, 1973
- 49) Billing, R.J., Safani, M. and Peterson, P. : Soluble HLA antigens present in normal human serum. Tissue Antigens, 10 : 75-82, 1977
- 50) Yoshimura, K., Takahama, K., Hara, M., Nakamura, H., Yanagida, J. and Hasekura, H. : Stability of soluble HLA antigens in plasma. Proc Japan Acad, 55B : 368-373, 1979
- 51) 吉村公一, 高浜一宏, 原 正昭, 柳田純一, 支倉逸人 : 細胞毒阻止試験による死体血液の HLA 型判定. 科学警察研報, 33 : 49-52, 1980
- 52) Yunis, E.J., Ward, F.E. and Amos, D.B. : Observations of the CNAP phenomenon. In : Terasaki, P.I. (ed.) Histocompatibility 1970, pp. 351-356, Munksgaard, Copenhagen, 1970
- 53) Yoshimura, K., Takahama, K., Hara, M., Yanagida, J. and Hasekura, H. : Analysis of HLA antigens in serum. Relationships among B5, B15, and Bw35 antigens. J Saitama Med School, 7 : 353-356, 1981
- 54) Hansen, H.E. and Gürtler, H. : HLA-typing of a dead man by a microabsorption method : Solution of a paternity case. Tissue Antigens, 13 : 61-66, 1979
- 55) Yoshimura, K., Takahama, K., Hara, M., Yanagida, J. and Hasekura, H. : HLA grouping of cadavers' sera by the microcytotoxicity inhibition test applied to a paternity case. Proc Japan Acad, 56B : 376-381, 1980
- 56) Rittner, C. and Waiyawuth, V. : HL-A typing in dried blood stains, I. Specificity and reliability of the inhibition test. J Immunogenet, 1 : 99-111, 1974
- 57) Rittner, C. and Waiyawuth, V. : HL-A typing in dried blood stains, II. Comparative studies on microcytotoxicity and microcomplement fixation tests. J Immunogenet, 2 : 211-222, 1975
- 58) Newall, P.J. : The identification of HLA-A2 and HLA-B5 antigens in dried bloodstains. Can Soc Forens Sci J, 12 : 1-16, 1979
- 59) Hodge, D.G., Wolf, E., Lincoln, P. J., Festenstein, H. and Dodd, B.E. : The detection of the HLA-A1 antigen in bloodstains. Med Sci Law, 20 : 213-220, 1980
- 60) Lötterle, J. : HLA-typisierung von Blutspuren. Untersuchungen mit einem Absorptionstest. Z Rechtsmed, 87 : 217-224, 1981
- 61) 井上徳治, 藤政篤志, 原 三郎 : ヒト血痕からの HLA 型検査 (会). 日法医誌, 36 : 103, 1982
- 62) 辻 公美, 渋谷恵子, 井上博雄 : 血漿中遊離 HLA 抗原の測定方法とその生物学的意義. 移植, 14 : 171-176, 1979
- 63) Yoshimura, K., Hara, M., Yanagida, J., Hasekura, H., Kashimura, Y., Akamine, K., Kaneko, K. and Tamura, T. : Genetic control of soluble HLA antigen levels in serum. Proc Japan Acad, 57B : 146-151, 1981
- 64) Terasaki, P.I., Park, M.S., Bernoco, D., Opelz, G. and Mickey, M.R. : Overview of the 1980 International Histocompatibility Workshop. In : Terasaki, P.I. (ed.) Histocompatibility, 1980, pp. 1-17, UCLA Tissue Typing Lab., Los Angeles, 1980 (57. 6. 23 受稿)