

総説 (教授就任記念講演)

ABO 血液型の抗原および遺伝子の解析と臨床的応用

細井 英司

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部医用検査学講座細胞・免疫解析学分野

(平成20年11月21日受付)

(平成20年11月26日受理)

はじめに

血液細胞の膜上には、多くの蛋白や血液型抗原が存在し、それぞれ固有の構造を有している。特に、ABO 血液型抗原は個人のもつ遺伝子によって表現され、輸血や骨髄移植などの臓器移植時に適合性や生着を確認する上で重要である。また、個人識別、親子鑑定や犯罪捜査のための遺伝標識として個人を識別する良い標識にもなっている。

近年、細胞工学や分子生物学の進歩により、血液型研究に新たな進展がみられている。特に、フローサイトメトリー (FCM) による細胞表面抗原解析技術や遺伝子解析技術の導入により種々の血液型抗原や血液型遺伝子が解析され、血液型を蛋白・DNA レベルで解析・判定することが可能となり、血液型研究がさらに発展した。本稿では ABO 血液型の抗原および遺伝子について解説し、さらに、ABO 血液型の解析とその臨床的応用について解析結果を紹介し、この解析法の臨床的有用性について述べたい。

1. ABO 血液型システム

1900年、オーストリアのカール・ランドスタイナー (Karl Landsteiner)¹⁾ は人の血清に他人の赤血球を混ぜ合わせると血球が凝集する組み合わせと、凝集しない組み合わせがあることを発見し、それらを3つの血液型グループ (A, B, O 型) に分けた。さらに、1902年に De-Castello と Stürli ら²⁾ が AB 型を追加し、A, B, O, AB の4つの血液型の存在が明らかにされ、ABO 血液型システムとして確立された。この時の血清学的な現象が

「ランドスタイナーの法則」と呼ばれており、現在も ABO 血液型の判定に用いられている (表1)。その後、1924年に Bernstein³⁾ により4つの表現型 (A, B, O および AB) と6つの遺伝子型 (A/A, A/O, B/B, B/O, O/O および A/B) が提唱され、ABO 血液型の遺伝形式が認識されるようになった。また、ABO 血液型が発見されて以来、多くの研究者の血液型研究により、現在までに29種類の血液型システムが国際輸血学会によって認証されている^{4,5)} (表2)。

表1 ランドスタイナーの法則

血液型	赤血球膜上の抗原	血清中の抗体
A	A 抗原	抗 B 抗体
B	B 抗原	抗 A 抗体
O	—	抗 A 抗体, 抗 B 抗体
AB	A 抗原, B 抗原	なし

2. ABO 血液型の抗原構造と体内分布

ABO 血液型抗原は糖鎖抗原系であり、赤血球の細胞膜脂質二重層を構成する脂質であるセラミドに直接オリゴ糖が結合した糖脂質、あるいは重脂質層から突出した蛋白構造にオリゴ糖が結合した糖タンパクとして赤血球膜上に存在する⁶⁾ (図1)。また、ABO 血液型抗原は赤血球膜上に存在するだけでなく、体内の組織 (胃粘膜、唾液腺細胞、毛髪、爪など)、各分泌液や体液 (胃液、唾液、胆汁、精液、尿、汗など) に広く分布している⁷⁾。図2は、O型に特異的な H 抗原を発現した赤白血病患

表2 国際輸血学会で認証されている血液型システム

ISBT No.	System name	ISBT symbol	Locus	ISBT No.	System name	ISBT symbol	Locus	ISBT No.	System name	ISBT symbol	Locus
001	ABO	ABO	9	011	Yt	YT	7	021	Cromer	CROM	1
002	MNS	MNS	4	012	Xg	XG	X	022	Knops	KN	1
003	P	P 1	22	013	Scianna	SC	1	023	Indian	IN	11
004	Rh	RH	1	014	Dombrock	DO	12	024	Ok	OK	19
005	Lutheran	LU	19	015	Colton	CO	7	025	Raph	RAPH	11
006	Kell	KEL	7	016	Landsteiner-Wiener	LW	19	026	John Milton Hagen	JMH	15
007	Lewis	LE	19	017	Chido/Rodgers	CH/RG	6	027	I	I	6
008	Duffy	FY	1	018	H	H	19	028	Globoside	GLOB	3
009	Kidd	JK	18	019	Kx	XK	X	029	Gill	GIL	9
010	Diego	DI	17	020	Gerbich	GE	2				

2004 International Society Blood Transfusion (ISBT)

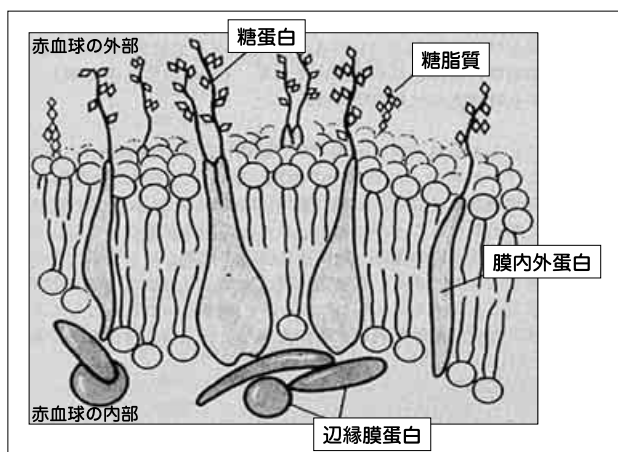


図1 赤血球膜上の ABO 血液型抗原の構造 (文献6 より一部改変して引用)

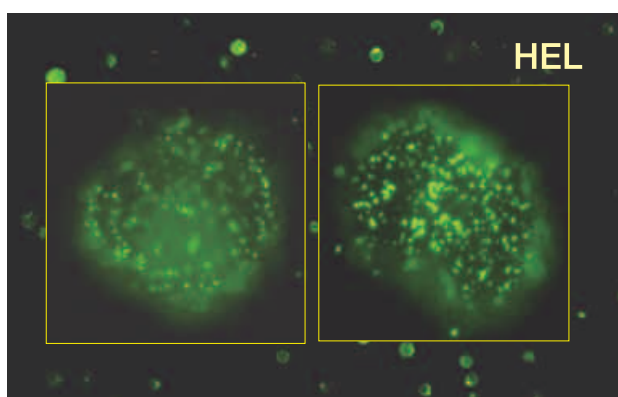


図2 蛍光抗体間接法による培養白血病株細胞 (HEL) 膜上の H 抗原発現

HEL 細胞は、赤白血病患者由来の培養白血病株細胞で、赤血球系、単球系および巨核球系へ分化可能な多能性幹細胞の性質を有する。また、血液型は O 型であり、細胞膜表面には H 抗原を持ち、さらにエリスロポエチン受容体も発現され、細胞内にヘモグロビンを有している。

者由来の培養白血病株細胞 (HEL) に抗 H 抗体を用いた蛍光抗体間接法で細胞膜上の H 抗原発現の状態を観察したものであり、H 抗原が顆粒状に発現していることが観察できる。

3. ABO 血液型の亜型・変異型

ABO 血液型は、赤血球膜上にある A, B あるいは H 抗原の発現量によって区別され、亜型・変異型として分類されている。例えば、A 型の亜型には、A₂, A₃, A_x, A_m, A_{el} が区別されており、この順に抗原量が低下する。また、B 型の亜型も同様に、B₃, B_x, B_m, B_{el} の順に抗原量が減少する。さらに、O 型にも亜型が存在し、O 型に特異的な H 抗原を持たないまれな血液型である Oh、ボンベイ型が知られている。また、AB 型では A_xB, A₁B_x, A_mB, A₁B_m, A_{el}B, A₁B_{el}, cisAB などが区別されている^{8,9)}。

cisAB 型は特異な遺伝形式を示す血液型であり、cisA₂B₃, cisA₁B₃, cisA₂B の血液型がある。この血液型は、1964年ポーランドの Seyfried ら¹⁰⁾が、O 型と A₂B 型の両親から A₂B 型の子どもが生まれた家系の報告が初めて、日本では、1966年山口ら¹¹⁾が、O 型と A₂B₃型の両親から A₂B₃型の子どもが3人生まれた家系 (徳島県の症例) (図3) を報告し、この血液型を cisAB と名付けた。また、この血液型は地域集積性があり、日本国内では徳島県、石川県、香川県に多く、輸血検査において、時に経験する血液型である^{12,13)}。cisAB の遺伝形式は A 遺伝子と B 遺伝子が同じ染色体上に存在し遺伝すると考えられていた亜型であり、一方の対立遺伝子が O, A

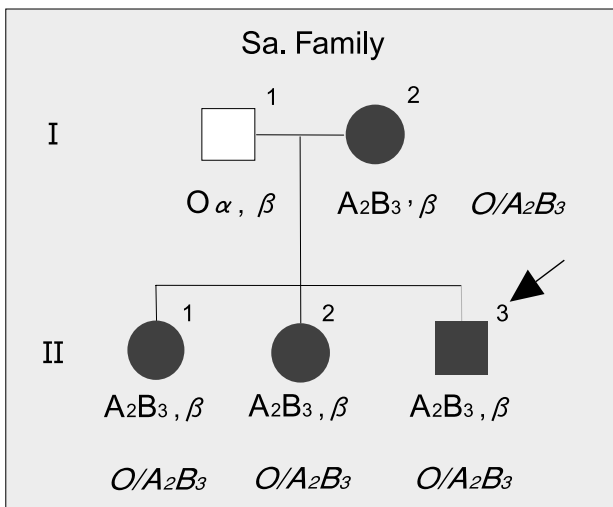


図3 O型とA₂B₃型の両親からA₂B₃型の子ども3人が生まれた家系
本症例は徳島県の症例で、A遺伝子とB遺伝子が同じ染色体上に存在し、遺伝している家系である。(文献11より一部改変して引用)

またはB対立遺伝子のいずれかとヘテロ結合すると、それぞれ cisA₂B₃, cisA₁B₃, cisA₂B の3種類の表現型として表される。近年、遺伝子解析などの手法が用いられるようになり、この遺伝子形式が遺伝子学的に証明され、さらに多くの亜型に対して、新たな知見が次々と見出されている。

4. ABO 血液型遺伝子の構造と機能

ABO 血液型抗原の抗原決定基は第9番染色体長腕部(9q34.1-q34.2)¹⁴⁻¹⁷⁾に位置するABO遺伝子の産物であるAまたはB糖転移酵素により決定されている。1990年、cDNAクローニングとゲノムDNAの構造解析により、ABO遺伝子は7つのエクソンを持ち、そのcDNAは355アミノ酸残基をコードする1065塩基対からなることが明らかにされた。また、この遺伝子座の3つの主要な対立遺伝子(A, B, O)のcDNAの塩基配列に違いが認められ、A対立遺伝子に比べB対立遺伝子には7塩基置換、そのうちの526, 703, 796および803の4塩基置換により、アミノ酸置換が生じ、産生される糖転移酵素の酵素活性に差が生じることが明らかにされた。一方、O対立遺伝子はA対立遺伝子の1塩基が欠失するだけであるが、この1塩基欠失によりframe-shiftが起こり、コドン117番目が終止コドンとなるためそれ以降の蛋白への翻訳が行われず酵素活性が生じないことも示された¹⁸⁻²⁰⁾。また、ABO血液型の亜型にも塩基欠失や塩基

置換が見出されている。A遺伝子とB遺伝子が同一染色体上にあつて遺伝すると考えられていた cisAB 型の A₂B₃ (cisAB) 対立遺伝子は、基本的にはA対立遺伝子と同じ塩基配列をもっているが、803の塩基(G)がB対立遺伝子の塩基(C)に置換することにより、アミノ酸のグリシンからアラニンへの置換が生じ、産生される糖転移酵素はA糖転移酵素が同時にB糖転移酵素活性を合わせもつことになると考えられている²¹⁾。しかし、その両酵素活性は非常に弱く、膜上に発現するAおよびB抗原量の少ないAB型が作られる(図4)。また、A₂B₃対立遺伝子には467番目の塩基が(C)から(T)に置換しており、アミノ酸がプロリンからロイシンに置換している。しかし、このアミノ酸置換は本糖転移酵素活性自体にはあまり影響がないと考えられている^{22,23)}。

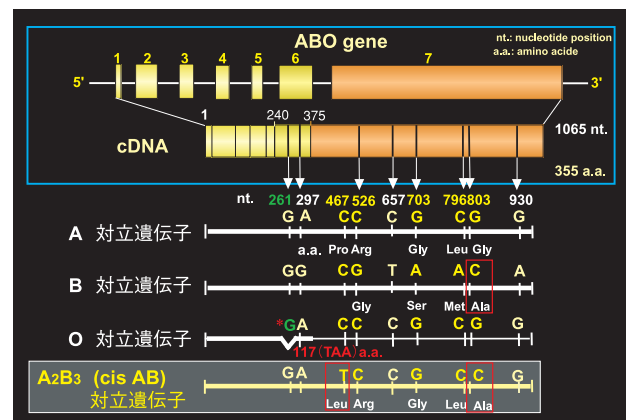


図4 ABO 遺伝子座の構造とA, B, Oおよび cisAB 対立遺伝子の塩基配列およびアミノ酸配列の比較

上段の box はアミノ酸をコードしているエクソンを示す。下段のO対立遺伝子における *G は261番の1塩基の欠失を示し、117 (TAA) はコドン117番目が終止コドンになることを示す。(文献34より引用)

5. ABO 血液型抗原の生合成

図5にABO血液型抗原の生合成過程をまとめた。ABO血液型抗原は、糖鎖でできており²⁴⁾、まず基本となる赤血球膜上の前駆体の糖鎖(H鎖)に、H遺伝子によって産生されたH糖転移酵素により、末端のD-ガラクトースにフコースが転移されることによりつくられる。このH抗原に、第9番染色体上のA遺伝子により産生されたA糖転移酵素によって、N-アセチルガラクトサミンがH鎖に付加されることによってA抗原がつくられる。また、B抗原は、B遺伝子により産生されたB糖

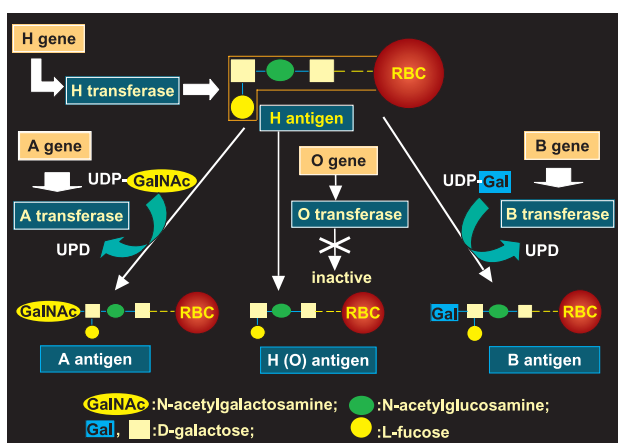


図5 ABO 血液型抗原の生合成過程

転移酵素がD-ガラクトースをH鎖に付加することによりつくられる。一方、O型はO型転移酵素の酵素活性が不活性なため、H鎖がそのままO型抗原となる。つまり、H鎖はO型抗原であり、ABO血液型の基本構造となっている¹⁸⁻²⁰⁾。

6. ABO 血液型の解析とその臨床的応用

1) 血清学的解析

輸血検査におけるABO血液型の判定は、血清学的反応により決定されている。ABO血液型は、赤血球膜上にA、B、H抗原を発現しており、血清中には抗A抗体あるいは抗B抗体を持っている(ランドスタイナーの法則)¹⁾。図6にABO血液型抗原の血清学的検査法による判定例を示した。オモテ試験は赤血球膜上のAあるいはB抗原の有無をスライド法で判定した結果であり、抗A血清と抗A&B血清で強い凝集を認め、抗B血清とは非凝集であり、A型と判定できる。一方、ウラ検査は血清中の規則抗体である抗A抗体と抗B抗体の有無を試験管法で判定した結果を示しており、B型血球のみ凝集が認められることより、A型と判定される。従って、オモテ・ウラの両検査の結果によって血液型がA型と確定される。なお、オモテ検査にはスライド法と試験管法があるが、主として試験管法が用いられており、ウラ検査では試験管法が推奨されている。

2) フローサイトメトリーを用いたABO血液型抗原の解析

近年、輸血検査においてABO血液型抗原の検査は試

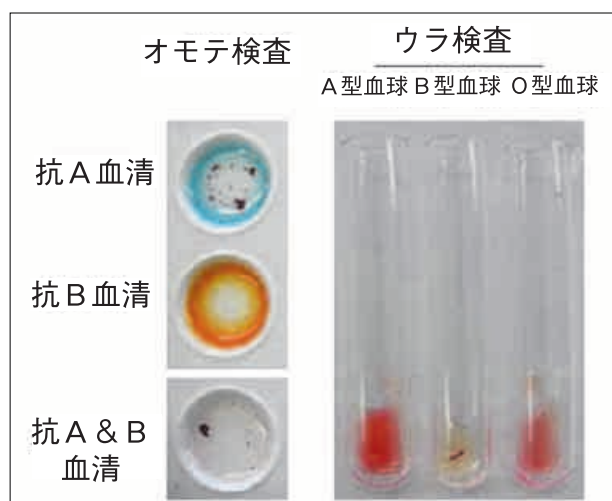


図6 ABO 血液型抗原の血清学的検査法

オモテ試験は、抗A血清と抗A&B血清で強い凝集を認め、抗B血清とは非凝集であり、A型と判定できる。一方、ウラ検査では、B型血球のみ凝集が認められることより、A型と判定される。従って、オモテ・ウラの両検査の結果により、血液型がA型と確定される。

験管法やカラム凝集法による判定が行われているが、これらの凝集反応は抗体感作の二次的の反応を観察しているにすぎない。一方、フローサイトメトリー (FCM) を用いた抗原検査は、fluorescein isothiocyanate (FITC) 等の蛍光色素で標識された結合抗体の蛍光強度を測定することにより、抗体結合状態の第一相を観察でき、さらに赤血球膜上の抗原数を定量的に捉えることが可能であり²⁵⁻²⁸⁾、亜型、キメラ・モザイクなどの輸血検査のみならず、幹細胞移植の適合性や生着確認をする上で、有用な解析法である。以下にFCMによる解析結果を示す。

(1) ABO血液型における赤血球膜上のH抗原量の比較

H抗原はO型に特異的な抗原であるが、ABO血液型抗原の前駆体糖鎖であり、AあるいはB抗原量の低下する亜型において、その発現量が増加する。従って、亜型の検査ではH抗原量の増加が判定指標の1つとして用いられている。図7に各ABO血液型における赤血球膜上のH抗原量を陽性率として示した。A型 $11.3 \pm 4.2\%$ 、B型 $28.7 \pm 3.8\%$ 、O型 $92.2 \pm 6.8\%$ 、AB型 $5.2 \pm 2.1\%$ であり、O型に対してB型、A型、AB型の順でH抗原の陽性率の有意な低下が認められた。

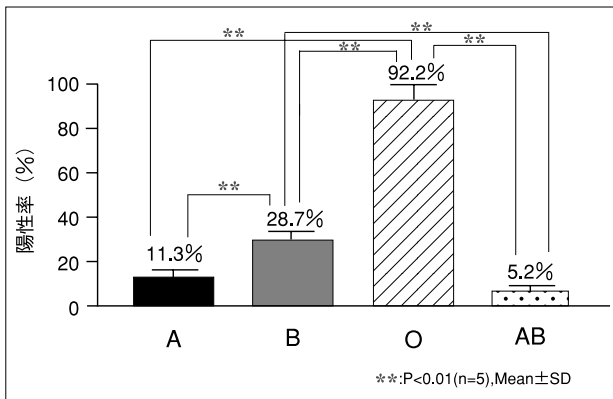


図7 ABO血液型における赤血球膜上のH抗原量の比較

(2) A型、B型およびAB型における赤血球膜上のA抗原量およびB抗原量の比較

図8-Iは、A型とAB型の赤血球膜上のA抗原量を陽性率で比較したものであり、A型 $98.0 \pm 0.9\%$ で、AB型 $94.0 \pm 1.6\%$ であった。一方、図8-IIはB型とAB型の赤血球膜上のB抗原量を陽性率で比較したもので、B型 $97.5 \pm 1.0\%$ 、AB型 $84.9 \pm 4.2\%$ であった。これらの結果より、A抗原はAB型よりA型赤血球のほうが、B抗原はAB型よりB型赤血球の方が多く発現していることが明らかとなった。

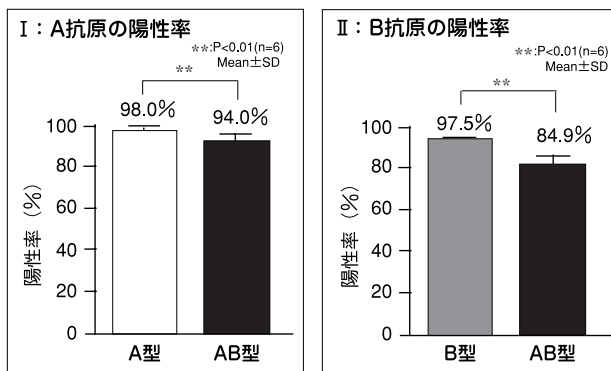


図8 A型、B型およびAB型における赤血球膜上のA抗原量およびB抗原量の比較

I: A型、AB型におけるA抗原量の比較 II: B型、AB型におけるB抗原量の比較

(3) AB型とcisA₂B₃型における赤血球膜上のA抗原量、B抗原量およびH抗原量の比較

AB型における各抗原の陽性率は、A抗原 $94.0 \pm 1.6\%$ 、

B抗原 $84.9 \pm 4.2\%$ 、H抗原 $5.2 \pm 2.1\%$ であった。一方、cisA₂B₃型ではA抗原71.7%、B抗原13.4%、H抗原90.0%であり、AB型に比較してH抗原量が多く発現しており、A抗原、B抗原ともに低値であることを陽性率で比較することが可能となった(図9)。

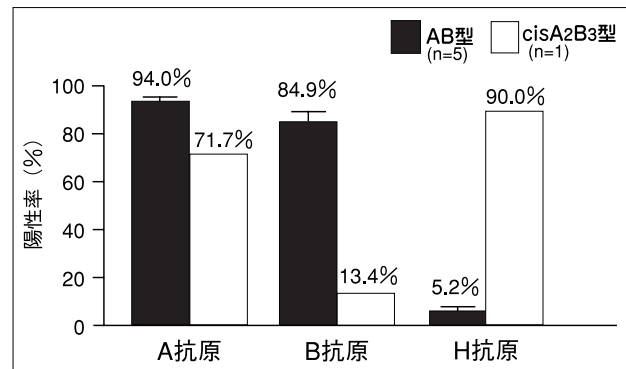


図9 AB型とcisA₂B₃型における赤血球膜上のA抗原量、B抗原量およびH抗原量の比較

3) ABO血液型遺伝子の解析

ABO遺伝子解析法には、まず目的の領域をPCRで増幅し、そのPCR産物について、ある特定の制限酵素を用いて塩基配列を決定するRFLP(restriction fragment length polymorphism)法^{19,20,29-31)}、増幅DNAの1本鎖DNA高次構造より対立遺伝子を区別するSSCP(single strand conformation polymorphism)法³²⁾、さらに増幅DNAの塩基配列を直接決定するdirect sequence法³¹⁾がある。しかし、これらの解析法はまずPCRを行い、さらに各解析法を組み合わせた2段階の操作が必要であり、臨床検査においては、その操作法が複雑である。一方、対立遺伝子の塩基配列に特異的なプライマーを用いて特定の配列を持ったDNA部分だけをPCRで増幅するPASA(PCR-amplification of specific alleles)法は、特異的な増幅DNAバンドパターンにより塩基配列が決定できるため、1段階の操作で判定が可能であり、臨床検査において有用である。特にcisAB型の解析では、803番塩基の解析に必要な制限酵素がないためRFLP法では解析できず、PCR-direct sequence法が唯一の解析法であったが、PASA法を用いることにより、短時間で簡単にcisAB型の遺伝子型判定が可能となった^{16,33-35)}。以下にPASA法による解析データを紹介する。

(1) PASA 法による解析

PASA 法は、PCR 反応に用いるプライマーの 3' 末端を検出したい対立遺伝子の塩基配列に相補的な塩基になるように設定することにより、図10-I に示したように、特異的なプライマーの組み合わせのみで、それぞれの対立遺伝子が増幅されるものである。一方、図10-II のように、3' 末端が相補的でない場合、その部分でのプライマーが相補結合できなくなるため、それ以降の相補鎖の合成ができず、増幅 DNA バンドは検出されない。従って、特異的に増幅したバンドパターンから 1 塩基置換の判定が可能となる。

図11に PASA 法を用いた ABO 血液型遺伝子の解析法の手順を示した^{33,34)}。まず抽出 DNA を鋳型として、O 対立遺伝子、B 対立遺伝子と A および O 対立遺伝子を判別するために、ABO 遺伝子の cDNA の 261 番塩基について、3 組のプライマー (1 と 2, 5 と 6, 7 と 8) を同時に用いるマルチプレックス (多重) PCR-1、次に A および B 対立遺伝子を判別するために、526 番塩基について 1 組のプライマー 3 と 4 を用いた PCR-2 をそれぞれ行い、さらに cisAB 型の判別には、PCR-1 と PCR-2 に加え、796 番塩基が A 対立遺伝子に、803 番塩基が B 対立遺伝子にそれぞれ相補的なプライマー 9 と 10 を用いた PCR-3 を行う。次に、PCR-1 と PCR-2 の PCR 産物の一部を混合したものと、PCR-3 における PCR 産物の一部をそれぞれアガロース電気泳動し、増幅された DNA のバンドパターンから genotype を判定する。

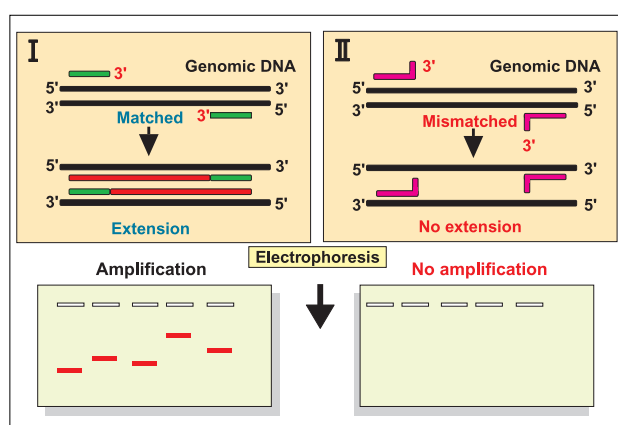


図10 PCR Amplification of Specific Alleles (PASA) の原理
I は、PCR 反応に用いるプライマーの 3' 末端が検出したい対立遺伝子の塩基配列に相補的な塩基に設定してあり、それぞれの対立遺伝子が増幅される。一方、II は 3' 末端の 1 塩基が相補的でなく、その部分でのプライマーが相補結合できなくなるため、それ以降の相補鎖の合成ができず増幅 DNA バンドは検出されない。

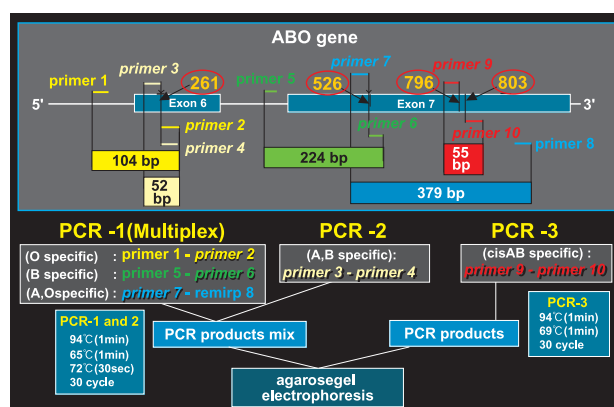


図11 PASA 法を用いた ABO 血液型遺伝子の解析法
プライマー 2, 3 と 4, 6, 7, 9, 10 の 3' 末端の塩基は、それぞれ O, A と B, B, A と O, cisAB の各対立遺伝子の塩基配列に相補的である。一方、プライマー 1, 5, 8 は、ABO 対立遺伝子に共通の塩基配列を持つ。上記各プライマーの組み合わせにより、O 対立遺伝子で 104bp, A と B 対立遺伝子で 52bp, B 対立遺伝子で 224bp, A と O 対立遺伝子で 379bp, cisAB 対立遺伝子では 55bp の DNA 断片が増幅される。(文献33より引用)

① ABO 血液型遺伝子の特異的増幅 DNA バンドパターン

図12に、代表的な ABO 血液型 (A/O, A/A, B/O, B/B, O/O および A/B 型) について、それぞれの PCR 産物の一部をアガロース電気泳動したときの増幅 DNA バンドパターンを示した。A/O は 379, 104 および 52bp の 3 つのバンド, A/A では 379 および 52bp の 2 つのバンド, B/O では 379, 224, 104 および 52bp の 4 つのバンド, B/B で 224 および 52bp の 2 つのバンド, O/O では 379 および 104 bp の 2 つのバンド, A/B で 379, 224 および 52bp の 3 つ

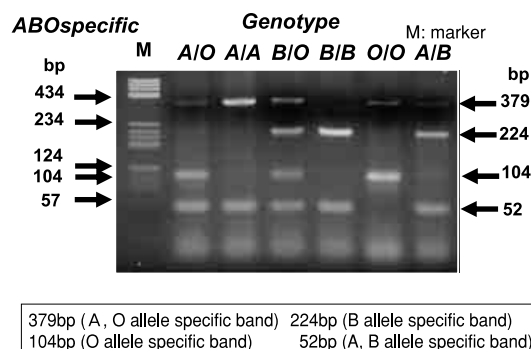


図12 PASA 法による ABO 血液型遺伝子の特異的増幅 DNA バンドパターン

代表的な ABO 血液型 (A/O, A/A, B/O, B/B, O/O および A/B 型) について、それぞれの PCR 産物の一部をアガロース電気泳動したときの増幅 DNA バンドパターンを示した。M: Hea III digest of Plasmid pBR322 (marker) (文献33より一部改変して引用)

のバンドが増幅され、全例で予想された対立遺伝子に特異的なバンドのみが認められた³³⁾。

② cisAB血液型遺伝子の特異的増幅DNAバンドパターン

図13は、血清学的解析および家系調査により genotype が明らかな 3 種類の cisAB 型と A/B, A/A および B/B 型について、それぞれの PCR 産物の一部をアガロース電気泳動したもので、上段は ABO 対立遺伝子に特異的な PCR-1 と 2 による反応であり、増幅 DNA バンドパターンにより、A₂B₃, A₁B₃, A₂B の 3 種類の表現型が区別できる。一方、下段は cisAB 対立遺伝子に特異的な PCR-3 の反応であり、55bp の DNA の増幅により、cisAB の確定ができる。なお、cisA₂B₃では、379, 104, 52および 55bp の 4 つのバンドが増幅され、さらに cisA₁B₃, cisA₂B においても予想された型特異的なバンドのみが増幅されており、3 種類の cisAB 型の表現型と cisAB の確定が可能である^{33,34)}。

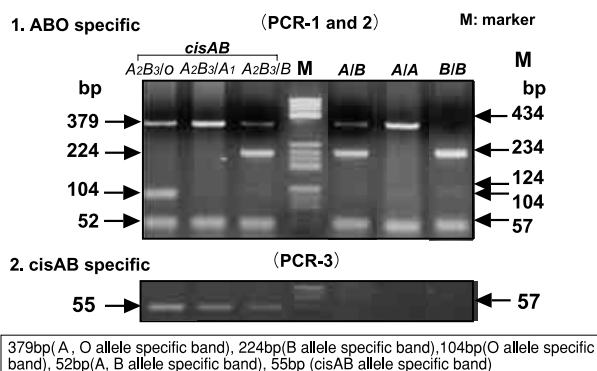


図13 PASA 法による cisAB 血液型遺伝子の特異的増幅 DNA バンドパターン

上段は PCR-1 と 2 (ABO 対立遺伝子に特異的)、下段は PCR-3 (cisAB 対立遺伝子に特異的) による増幅を示している。PCR-3 では、cisAB のみに 55bp の DNA の増幅バンドが認められる。すなわち、cisA₂B₃では、379, 104, 52および 55bp の 4 つのバンドが、cisA₁B₃は 379, 52および 55bp の 3 つのバンドが、cisA₂B では 379, 224, 52および 55bp の 4 つの予想された型特異的なバンドのみが増幅される。M: Hea III digest of Plasmid pBR322 (marker)

おわりに

カール・ランドスタイナーによって ABO 血液型が発見されて以来、約一世紀が過ぎ、血液型研究に新たな進展がみられた。特に、細胞工学や遺伝子工学の進歩により、ABO 血液型の抗原と遺伝子の構造や機能が明らか

となり、ABO 血液型の亜型、キメラ・モザイク、ホモ・ヘテロ接合などの判定や移植治療の生着確認、個人識別などが蛋白や遺伝子の解析により可能となった。

今回、フローサイトメトリー (FCM) による細胞表面抗原解析と ABO 血液型遺伝子解析について解析例を紹介した。FCM による細胞表面抗原解析は、赤血球膜上の A 抗原、B 抗原および H 抗原量を陽性率として定量的に比較することを可能にし、亜型の検査や骨髄移植時の生着確認をする上で有用である。また、遺伝子解析では型特異的プライマーを用いた PASA 法が、約 4 時間で簡単に遺伝子型を判定可能にした。特に、AB 型の亜型である cisAB 型の判定では、従来の血清学的検査で必要とされていた家系調査を必要とせず、本人の DNA 解析のみで確定診断が可能であり、cisAB 型の確定法として実用的な解析法と考えられる。また、多くの亜型について遺伝学的背景が次々と明らかにされてきているが、亜型の種類によっては、遺伝子検査により得られた結果が従来の血清学的検査で分類されていたカテゴリーに一致しない例も見いだされており、今後各種亜型の遺伝子の解明と遺伝子検査における判定基準の確立が望まれる。

文 献

- 1) Landsteiner, K.: Zur Kenntnis der antifermentativen, lytischen und agglutinierenden Wirkungen des Blutserums und der Lymphe. Zentralbl. Bakteriol., 27: 357-362, 1900
- 2) von Decastello, A., Stürli, A.: Über die Isoagglutinine im Serum gesunder und kranker Menschen. Mfinch. Med. Wschr., 49: 1090-1095, 1902
- 3) Bernstein, F.: Ergebnisse einer biostatistischen zusammenfassenden Betrachtung über die erblichen Blutstrukturen des Menschen. Klin. Wochenschr., 3: 1495-1497, 1924
- 4) Lewis, M., Anstee, D. J., Bird, G. W. G., Brodheim, E., et al.: Blood group terminology 1990. The ISBT Working Party on Terminology for Red Cell Surface Antigens. Vox Sang., 58(2): 152-69, 1990
- 5) Daniels, G. L., Fletcher, A., Garratty, G., Henry, S., et al.: International Society of Blood Transfusion. Blood group terminology 2004: from the International Society of Blood Transfusion committee on terminology for red cell surface antigens. Vox Sang., 87:

- 304-316, 2004
- 6) Stroup, M., Treacy, M.: Blood group antigens and antibodies, Raritan, N. J.: Ortho Diagnostic Systems, 1982; 遠山 博, 福岡良男, 村上省三 (訳): 血液型抗原と抗体, 近代出版, 東京, 1984, pp. 3-6
 - 7) Zmijewski, C. M.: Immunohematology, 3rd ed., Appleton-Century-Crofts, New York, 1978, pp. 71-72
 - 8) Economidou, J., Hughes-Jones, N. C., Gardner, B.: Quantitative measurements concerning A and B antigen sites. *Vox Sang.*, 2(5) : 321-328, 1967
 - 9) Cartron, J. P., Gerbal, A., Hughes-Jones, N. C., Salmon, C.: 'Weak A' phenotypes. Relationship between red cell agglutinability and antigen site density. *Immunology*, 27(4) : 723-727, 1974
 - 10) Seyfried, H., Walewska, I., Werblinska, B.: Unusual inheritance of ABO group in a family with weak B antigens. *Vox Sang.*, 9 : 268-277, 1964
 - 11) Yamaguchi, H., Okubo, Y., Hazama, F.: Another Japanese A2B3 blood-group family with the propositus having O-group father. *Proc. Jpn. Acad.*, 42 : 517-520, 1966
 - 12) Okubo, Y., Tomita, T., Seno, T., Yokoishi, F., *et al.* : Serological findings and distribution in Tokushima Prefecture of Cis AB. *Jap. J. Med. Technol.*, 28 : 66, 1979
 - 13) Yamaguchi, H.: A review on ABO variants and rare bloods. *Jap. J. Med. Technol.*, 34(1) : 3-10, 1985
 - 14) Watkins, W. M.: Biochemistry and genetics of the ABO, Lewis, and P blood group systems, In *Advances in Human Genetics* (Harris H & Hirschhorn K eds.). Plenum Press, New York, 1980, pp. 136-136
 - 15) Larsen, R. D., Ernst, L. K., Nair, R. P., Lowe, J. B.: Molecular cloning, sequence, and expression of a human GDP-L-fucose : β -D-galactoside 2- α -L-fucosyltransferase cDNA that can form the H blood group antigen. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 87(17) : 6674-6678, 1990
 - 16) Yamamoto, F., Hakomori, S.: Sugar-nucleotide donor specificity of histo-blood group A and B transferases is based on amino acid substitution. *J. Biol. Chem.*, 265(31) : 19257-19262, 1990
 - 17) Bennett, E. P., Steffensen, R., Clausen, H., Weghuis, D. O., *et al.* : Genomic cloning of the human histo-blood group and locus. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 206(1) : 318-325, 1995
 - 18) Yamamoto, F., Clausen, H., White, T., Marken, J., *et al.* : Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system, *Nature*, 345 : 229-233, 1990
 - 19) Yamamoto, F., Clausen, H., White, T., Marken, J., *et al.* : Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system, *Nature*, 345 : 229-233, 1990
 - 20) Yamamoto, F., Hakomori, S.: Sugar-nucleotide donor specificity of histo-blood group A and B transferases is based on amino acid substitutions. *J. Biol. Chem.*, 265(31) : 19257-19262, 1990
 - 21) Yoshida, A., Yamaguchi, H., Okubo, Y.: Genetic mechanism of Cis-AB inheritance. II. Cases associated with structural mutation of blood group glycosyltransferase. *Am. J. Hum. Genet.*, 32(5) : 645-50, 1980
 - 22) Yamamoto, F., McNeill, P. D., Kominato, Y., Yamamoto, M., *et al.* : Molecular genetic analysis of the ABO blood group system : 2. cis-AB alleles. *Vox Sang.*, 64(2) : 120-123, 1993
 - 23) Yamamoto, F.: Molecular genetics of the ABO histo-blood group system. *Vox Sang.*, 69(1) : 1-7, 1995
 - 24) Watkins, W. M.: Molecular basis of antigenic specificity in the ABO, H and Lewis blood group systems; Montreuil H, Vliegenhart JFG, Schachter H(eds) *Glycoproteins*. Amsterdam Elsevier, 1995, pp. 313-390
 - 25) Garratty, G., Arndt, P.: Applications of cytofluorometry to transfusion science, *Transfusion*, 35 : 157-175, 1995
 - 26) 松本洋典, 谷脇雅史: 細胞表面抗原の解析・セルソーティング, *臨床検査*, 51(9) : 941-947, 2007
 - 27) 両宮洋一: 血液型の判別, *臨床検査*, 41(10) : 1135-1141, 1997
 - 28) Hosoi, E., Hirose, M., Hamano, S.: Expression levels of H-type α (1, 2)-fucosyltransferase gene and histo-blood group ABO gene corresponding to hematopoietic cell differentiation. *Transfusion*, 43(1) : 65-71, 2003
 - 29) 細井英司: 毛髪 DNA を用いた ABO 式血液型 genotype の遺伝子解析. *臨床病理*, 43(4) : 391-396, 1995
 - 30) 細井英司: PCR 法を用いたパラフィン切片組織からの ABO 遺伝子増幅法. *医学検査*, 45(6) : 992-997, 1995
 - 31) 細井英司, 吉川貴美枝: ABO 式血液型および cisAB

- 型のgenotypeの遺伝子解析. 臨床病理, 41(10) : 1133-1140, 1993
- 32) 小林 賢 : 遺伝子診断と治療. 医学検査, 44(5) : 871-872, 1995
- 33) 細井英司 : アリル特異的増幅法 (PASA 法) を用いた ABO 式血液型および cisAB 型 genotype の遺伝子解析. 臨床病理, 44(8) : 783-790, 1996
- 34) 細井英司 : ABO 式血液型の遺伝子解析とその臨床検査への応用. 臨床病理, 45(2) : 148-156, 1997
- 35) Hosoi, E., Hirose, M., Hamano, S., Kuroda, Y. : Detection of histo-blood group ABO mRNA in human chronic myeloid leukemia cell lines using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). Cancer Lett., 133(2) : 191-196, 1998

Detection of ABO blood group antigens and genetic analysis of ABO blood group and their application for clinical studies

Eiji Hosoi

Department of Cells and Immunity Analytics, Institute of Health Biosciences, the University of Tokushima Graduate School, Tokushima, Japan

SUMMARY

The ABO blood group system is the most important blood group system among the 29 International Society of Blood Transfusion (ISBT)-recognized systems, consisting of four antigens (A, B, O, and AB). These antigens are known as oligosaccharide antigens, and widely expressed on the membrane of red cell and tissue cells as well as, in the saliva and body fluid. The ABO blood group system was discovered by the Austrian scientist Karl Landsteiner, who found three different blood types (A, B, and O) in 1900 from serological differences in blood. In 1902, DeCastello and Stürli discovered the fourth type, AB. The phenomenon of these serological differences was called the Landsteiner Law, and is still used to detect ABO blood group antigens in clinical laboratories. In 1924, Felix Bernstein predicted that the mechanism of inheritance involved three alleles at the ABO locus from extensive family studies. Furthermore, the structure and biochemical characteristics of the ABO antigens were elucidated by many investigators.

In recent years, the ABO blood group at chromosome locus 9 has been determined, the gene cloned and the structures determined by Yamamoto *et al.* This has made it possible to genetically analyses of ABO blood group antigens using molecular biology techniques.

Clinically, blood group antigens are important. In particular, the ABO blood group antigens are one of the most important issues in transfusion medicine, evaluation of the adaptability of donor blood cells with bone marrow transplantations, and survival confirmation of hemocytes.

This article reviews the serology, biochemistry, biosynthesis and genetic characteristics of ABO antigens, and the analysis of ABO blood group using flow cytometry and polymerase chain reaction (PCR) amplification of specific alleles (PASA)-method and their application for clinical studies.

Key words : ABO blood group system, cisAB allele, transfusion medicine, flow cytometry, PCR amplification of specific alleles (PASA)