

Title	Expression levels of ABCG2 on cord red blood cells and study of fetal anemia associated with anti-Jra
Author(s)	藤田, 聡子
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/59552">https://hdl.handle.net/11094/59552</a>
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"&gt;大阪大学の博士論文について&lt;/a&gt;</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

# 論文内容の要旨

## Synopsis of Thesis

氏 名 Name	藤田 聡子
論文題名 Title	Expression levels of ABCG2 on cord red blood cells and study of fetal anemia associated with anti-Jr <sup>a</sup> (臍帯血赤血球におけるABCG2の発現量と抗Jr <sup>a</sup> 抗体による胎児貧血に関する検討)
<p>論文内容の要旨</p> <p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>血液型不適合妊娠とは、ある赤血球血液型抗原が母体では陰性、胎児では陽性である場合をいう。血液型のひとつであるJr<sup>a</sup>は高頻度抗原のひとつであり、日本人では陰性の頻度が最も高く約0.1%が陰性である。抗Jr<sup>a</sup>抗体はJr<sup>a</sup>陰性の女性が妊娠することにより主に産生され、次の妊娠時に胎児へ移行し時に重度の胎児貧血を生じるが発生機序は不明な点が多い。近年、Jr<sup>a</sup>抗原の責任遺伝子が同定され、Jr<sup>a</sup>抗原は細胞表面の膜輸送体のひとつであるATP-binding cassette (ABC) subfamily G2 (以下ABCG2)であり、ABCG2のnull mutationの個体がJr<sup>a</sup>陰性であると報告された。我々は抗Jr<sup>a</sup>抗体合併妊娠の症例を蓄積しており、本研究では胎児貧血の発生機序を明らかにするために、臍帯血赤血球におけるJr<sup>a</sup>抗原(ABCG2)発現、抗Jr<sup>a</sup>抗体の赤血球食食および赤血球系コロニー形成に対する影響、及び抗Jr<sup>a</sup>抗体の性状と胎児貧血との相関に関する検討を行った。</p> <p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>1) 胎児貧血を認めた症例の臨床的特徴を明らかにするため、本邦から文献的に報告されている子宮内胎児輸血(intrauterine transfusion、以下IUT)を要した5症例と、我々が経験した胎児貧血の症例を検討した。いずれの症例も、児の総ビリルビン値は低く網赤血球の増加を認めなかった。また、IUTが行われたのは1症例を除き妊娠31週以前であり、妊娠後期にかけて貧血の増悪を認めなかった。以上から、抗Jr<sup>a</sup>抗体による胎児貧血は溶血所見に乏しく、妊娠後期にかけて増悪傾向を認めないという特徴を有すると考えられた。</p> <p>2) 当院で経験した症例のIUT時(妊娠30週)の胎児血、分娩時(妊娠37週)の臍帯血、父親、母親から採取した洗浄赤血球を用い、モノクローナル抗Jr<sup>a</sup>抗体を用いてフローサイトメトリー法でJr<sup>a</sup>抗原の発現量を検討した。Jr<sup>a</sup>抗原は、成人に比して、胎児や新生児に多く発現し、妊娠30週の胎児は妊娠37週の胎児と比較してJr<sup>a</sup>抗原の発現量が多かった。</p> <p>3) 更にサンプル数を増やし、妊娠週数と胎児赤血球におけるJr<sup>a</sup>抗原(ABCG2)、D抗原の発現量を検討した。凍結保存されていた妊娠21-41週に出生した臍帯血赤血球(63症例)から赤血球ゴーストを作成し、モノクローナル抗ABCG2抗体、抗D抗体を用いて、フローサイトメトリー法で赤血球表面におけるJr<sup>a</sup>抗原(ABCG2)、D抗原の発現を検討した。臍帯血赤血球におけるJr<sup>a</sup>抗原の発現量は、個体差が大きく、発現量は妊娠週数と共に低下する傾向を認めた。それに対し、D抗原では個体差が少なく、妊娠週数と共に増加する傾向を認めた。</p> <p>4) 抗Jr<sup>a</sup>抗体による胎児貧血は溶血所見が乏しい特徴を認めたことから、貧血の機序として胎児の造血を抑制しているのではないかと考え、抗Jr<sup>a</sup>抗体が胎児造血に与える影響を検討した。臍帯血単核球、及びJr<sup>a</sup>抗原(ABCG2)を高発現していると考えられるネコ骨髓由来の単核球を用いて、抗Jr<sup>a</sup>血清および抗Jr<sup>a</sup>モノクローナル抗体の存在下でコロニーアッセイを行った。臍帯血単核球では赤芽球系コロニー(BFU-E, CFU-E)の抑制は認めなかったが、ネコ単核球を用いたところ、抗Jr<sup>a</sup>モノクローナル抗体がBFU-Eを抑制する傾向が認められた(p=0.0572)。</p> <p>5) 抗Jr<sup>a</sup>抗体が赤血球の食食を誘導するかどうかを検討した。色素標識した成人赤血球を、胎児貧血を認めた抗Jr<sup>a</sup>母体血清、及び抗D血清で感作し、単球に食食される割合をフローサイトメトリーで測定した。抗D血清は食食を誘導したが、抗Jr<sup>a</sup>血清は食食を誘導しなかった。これは溶血所見に乏しいという我々が経験した胎児貧血の臨床所見と合致していた。</p> <p>6) 胎児貧血を発症した症例と、発症しなかった症例の違いを明らかにするため、抗Jr<sup>a</sup>抗体が認識するエピトープを検討した。ABCG2を高発現しているK562細胞を用い、胎児貧血を発症した抗Jr<sup>a</sup>血清と、胎児貧血を発症しなかった抗Jr<sup>a</sup>血清が、どの程度モノクローナル抗ABCG2抗体の結合を阻害するかどうか、フローサイトメトリーで検討した。血清中の抗Jr<sup>a</sup>抗体は5D3と同じエピトープである細胞外ループを認識していたが胎児貧血の有無とこれらの間には相関は認めなかった。</p> <p>〔総括(Conclusion)〕 胎児赤血球におけるABCG2発現は、妊娠後期に低下することが明らかになり、このことが抗Jr<sup>a</sup>抗体による胎児貧血の臨床経過と関連している可能性が示唆された。また、抗Jr<sup>a</sup>抗体は抗D抗体と異なり、溶血の促進は認めず、赤血球造血を抑制することが胎児貧血の主たる原因であることが示唆された。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 藤田 聡子	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 木村 正
	副 査 大阪大学教授 金倉 謙
	副 査 大阪大学教授 大園 東一

**論文審査の結果の要旨**

抗Jr<sup>a</sup>抗体はJr<sup>a</sup>陰性の女性が妊娠することにより産生され、次の妊娠時に胎児へ移行し時に重度の胎児貧血を生じるが不明な点が多い。Jr<sup>a</sup>抗原は細胞表面の膜輸送体のひとつであるATP-binding cassette (ABC) subfamily G2 (以下ABCG2) であり、ABCG2のnull mutationの個体がJr<sup>a</sup>陰性であると報告された。本研究では胎児貧血の発生機序を明らかにするため、以下の検討を行った。

過去の症例から、抗Jr<sup>a</sup>抗体による胎児貧血は溶血所見に乏しく、妊娠後期にかけて増悪傾向を認めないという特徴があった。妊娠週数と胎児赤血球におけるJr<sup>a</sup>抗原 (ABCG2)、D抗原の発現量を検討したところ、Jr<sup>a</sup>抗原は妊娠週数と共に低下し、D抗原は妊娠週数と共に増加していた。抗Jr<sup>a</sup>抗体は赤血球食食を惹起しておらず、また胎児の造血を抑制する傾向はあったが有意差は認めなかった。

胎児赤血球におけるABCG2発現は、妊娠後期に低下することが明らかになり、このことが抗Jr<sup>a</sup>抗体による胎児貧血の臨床経過と関連している可能性がある。また抗Jr<sup>a</sup>抗体は抗D抗体と異なり、溶血は認めず、赤血球造血を抑制することが胎児貧血の主たる原因であることが示唆された。

以上から、学位に値するものと認める。