

第3回 日本組織適合性学会大会

THE 3rd JSHI ANNUAL MEETING

JULY 20~22 1994

HAMAMATSU

抄 録

大会長 吉田孝人

会期 平成6年7月20日(水)~22日(金)

会場 FORTE(フォルテ) 地下2階ホール

〒453 浜松市旭町12-3 (JR浜松駅北口)

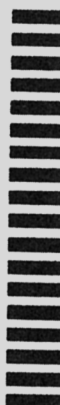
TEL053-458-2111 (内線2149)

大会事務局 浜松医科大学微生物学教室

〒431-31 浜松市半田町3600

TEL/FAX 053-435-2335

The Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics



特別講演

特別講演 1

HLA and marrow transplants from unrelated donors

John A. Hansen, Effie Petersdorf, Paul J. Martin, and Claudio Anasetti*

*Immunogenetics Program, Division of Clinical Research, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA

本文 P19

HLA plays a critical role in marrow allografting impacting significantly on the risk of graft rejection, the incidence and severity of acute graft-versus-host disease (GVHD), the prevalence of chronic GVHD and the probability of finding adequately matched unrelated donors. In Seattle alternate donor transplants are currently considered according to diagnosis, age of the patient and the degree of HLA mismatching.

MARROW TRANSPLANTATION, UNRELATED DONOR, HLA MATCHING

特別講演 2

Signaling via HLA class II molecules : Cell activation and death

Dominique Charron*

*Laboratoire d'Immunogénétique Moléculaire, Institut Biomedical des Cordeliers, Paris, France. Université Paris VI/INSERM U396

本文 P21

In addition to their antigen presenting function HLA molecules have been shown to transduce signals in resting and activated B cells. Two different signalling pathways which lead to opposite effector functions were observed. Both cell activation /differentiation and cell death can be induced through HLA class II. The rôle of HLA class II engagement in normal and auto immune response is discussed.

HLA - Signaling - PKC - Cell Death.

シンポジウム I 日本人における DNA タイピングと骨髄移植

S1-1

日本人の HLA 遺伝子とその周辺の話題

徳永勝士*

*日赤中央血液センター研究部

要旨：日本人に存在するHLAクラスII遺伝子群のアリールの検索はこれまでにほぼ終了しているが、一方、クラスI遺伝子群のアリールの解析はまだ不十分である。我々はこれまでにA2、A24、A26、A11、B13、B15、B40などの抗原グループについて、日本人に存在するサブタイプ塩基配列を決定してきた。また、日本人の近隣集団についても、中国北部漢族、韓国人やシベリアのブリヤート族などにおけるHLA抗原およびハプロタイプの分布を調査してきた。本シンポジウムでは、クラスIアリールの解析の現状を報告するとともに、HLA遺伝子群からみた日本人の特徴を概観し、また近隣の諸集団との関係について、いくつかの話題を提供したい。

S1-追加発言

新しいHPA法(TMA-HPA)による オロチオン族のHLA class II allele

吉田孝人*

*浜松医科大学微生物

要旨：日本人の近隣集団の1つ、中国東北部の黒河地方に住むオロチオン族のHLAクラスI, II, IIIについて検討している。クラスIについては血清学的に、クラスIIについては血清学的とDNAタイピングのPCR-HPA法、新しいTMA-HPA法で検索した。クラスIIIについては complement typing を行った。我々は興味あるHLAハプロタイプと日本人に少ないアリールを高頻度に見いだしているため日本人のHLA遺伝子とその周辺の話題に追加する。

Key Words: DNA typing, TMA-HPA, the Orochi

HLA の DNA タイピングと骨髄移植

笹月健彦*

*九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門

要旨：我国の公的骨髄ドナーバンクを介した非血縁者間骨髄移植におけるHLA適合性の意義を検討する目的で、厚生省骨髄移植調査研究班の共同研究として移植ペアのHLA-DNAタイピングを行なった。100例の移植ペアは全例で血清学的にA, B, DR抗原が一致していたが、A, DRB1, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1のそれぞれについて、22, 18, 8, 14, 41, 53ペアでDNAレベルの不一致が認められ、調査した全てのHLAが一致したペアは29例であった。調査した時点で60日以上経過が観察できた85症例についてDNAレベルでのHLA適合度と臨床予後との関連を検討したところ、30日以内の早期死亡およびII度以上のGVHD発症は、HLA一致で13%および38%であるのに対し、DR不一致ではそれぞれ27%および40%であり、またDPのみ不一致では19%および32%であった。このことはクラスII抗原のうちDP抗原の不一致は臨床予後に大きな影響を与えないことを示す。一方、Aのみ不一致では早期死亡43%およびGVHD発症75%と移植予後が不良であったことから、今後クラスI抗原についてもDNAレベルでの検討が必要となることが示唆された。

白血病と骨髄移植

大野 竜 三*

*浜松医科大学第三内科

本文 P 23

要旨：近年の化学療法と骨髄移植療法の進歩により、白血病は治癒可能な疾患となってきた。骨髄移植療法は現時点での最強の抗白血病療法であるが、graft-versus-host disease (GVHD)のコントロールが最大の課題である一方、GVHDには明らかにgraft-versus-leukemia 効果を示している。

再発した白血病の予後は絶対不良であり、骨髄移植療法が絶対適応となる。慢性骨髄性白血病も骨髄移植が絶対適応と見なされているが、最近、インターフェロンでPh¹ 染色体が消失する症例長期生存率は骨髄移植例より良好であると報告されており、このような症例での選択が問題になりつつある。

小児・45歳未満成人急性骨髄性白血病や成人急性リンパ性白血病では、強力な化学療法で治療される患者については、再発までは化学療法を施行し、再発したら骨髄移植を施行するというのがコンセンサスとなりつつある。ただし、化学療法の予後因子不良例では骨髄移植の方がよいと思われる。


key words : bone marrow transplantation, leukemia, chemotherapy

血液疾患に対する遺伝子治療の基礎的研究

谷 憲三郎・日比野 仁・中崎有恒・林 焯唐・高橋圭介
長山人三・高橋 聡・齋藤 泉・浅野茂隆*

東京大学医科学研究所内科

本文 P25



要旨：血液細胞への効率良い遺伝子導入法としては、レトロウイルスベクターならびにアデノウイルスベクターが挙げられる。われわれは先ずレトロウイルスベクターを用い、FACSソーターにて濃縮したマウス骨髄幹細胞への比較的長期的な遺伝子導入を行うことができた。つぎにアデノウイルスベクターを用い、各種白血病細胞やマーマセツト骨髄細胞に対して短期的に高い効率での遺伝子導入が可能であることも明らかにした。従ってこれら2つのベクター系を用途に応じて使いわけることで血液疾患への遺伝子治療法開発も可能となると考えられた。さらに、われわれはヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子導入線維芽細胞を用いたサイトカイン補充遺伝子治療法の開発基礎研究も行っており、臨床応用への可能性を検討中である。

Key words: Retroviral vector, Adenoviral vector, Hematopoietic cells

シンポジウムⅡ HLA 抗原の発現調節機構

S2-1

HLA クラスII抗原の インターフェロン- γ による発現調節機構

小出幸夫・龍 慶子・根津延和・吉田孝人*

*浜松医科大学微生物学

本文 P27

要旨：我々はインターフェロン(IFN)- γ によるHLA-DR抗原の発現が転写レベルで制御されており、これには新たな蛋白合成が必要でないことを認めた。そこで、このDR抗原の発現に関与するシグナル伝達機構を研究した。IFN- γ はそのレセプターに結合するとこれに会合しているチロシンキナーゼ、恐らくJAK1、2、を活性化し、その後IP₃の産生とCキナーゼの活性化を惹起することが判明した。IP₃による細胞内Ca²⁺濃度の上昇とCキナーゼの活性化がIFN- γ によるHLA-DR抗原の発現に必須であると考えられる。

key words : HLA-DR, signal transduction, IFN- γ

S2-2

Proteasome のインターフェロン γ による調節

田中啓二*

*徳島大学酵素科学研究センター

本文 P29

要旨：最近、内在性抗原のプロセッシング提示機構の解明が進み、この免疫反応システムにおけるプロテアソーム（蛋白質分解酵素複合体）の役割の重要性が明らかになりつつある。ガンマ型インターフェロン（IFN- γ ）はMHCにコードされたプロテアソーム遺伝子LMP2とLMP7をUp-Regulationさせると同時にサブユニットXとYをDown-Regulationさせる。この分子構成の変動は抗原ペプチド生成に適応したプロテアソームの機能変化であることが示唆されている。cDNAクローニングの結果、XはLMP7と69%、YはLMP2と61%のホモロジーを有することが判明し、IFN- γ は通常のX/Y型プロテアソームからLMP2/7型プロテアソームへの構造変換を誘導して大量に侵入してきた非自己抗原のプロセッシングを加速させ、細胞性免疫反応を亢進させると考えられた。これまでIFN- γ の主な作用機構は標的遺伝子の転写促進と考えられてたが、抗原のプロセッシング反応においてはプロテアソームの機能変換という新しい仕組みで応答することが示唆された。 key words : antigen processing, interferon- γ , proteasome

絨毛癌由来細胞株からの核蛋白と非古典的 クラス I 遺伝子上流域との特異的結合

古山将康・木村俊夫・大橋一友・錦織直子・脇本昭憲・加藤宗寛・筒井建紀・佐治文隆*

*大阪大学医学部産科婦人科

本文 P31

要旨：免疫学的妊娠維持機構において胎盤絨毛に発現する主要組織適合抗原は重要な役割を担っているが、非古典的クラス I 抗原であるHLA-G抗原が胎盤絨毛に特異的に発現することが報告された。本研究では異なるHLAクラス I 抗原を発現する種々の絨毛癌細胞株をモデルとして、抽出核蛋白とクラス I 遺伝子上流域との結合をゲル移動度シフト法を用いて解析した。HLA-Gを発現する細胞株BeWoからの抽出核蛋白中にHLA-G遺伝子の転写開始点から上流120bpから190bpの部位に結合する蛋白をゲル移動度シフト法で確認した。この核蛋白はHLA-A2遺伝子上流域のNFκβの結合パターンとは異なり、クラシカルなクラス I 抗原を発現する他の絨毛癌細胞株には同定できなかったことから、NFκβとは異なる核蛋白であることが示唆された。key word: HLA-G,choriocarcinoma, nuclear protein

HLA クラスII遺伝子群の発現調節における 座位特異性と遺伝的多型性

木村彰方*

*九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門

要旨：多重遺伝子族であるHLAクラスII遺伝子群は、抗原提示細胞や活性化T細胞などの限られた細胞群に発現しIFNによる発現誘導を認めるという共通性を有しているが、その発現量およびTNFへの反応性は遺伝子毎に異なる。このような発現調節は主に転写レベルで行われており、各遺伝子の転写調節領域に結合する転写因子の種類および結合親和性が座位毎に異なることに依存する。一方、HLAクラスII遺伝子群は、その構造領域の著明な遺伝的多型性に加えて転写調節領域にも多型性を有しており、転写因子との結合親和性が対立遺伝子間で異なり、このため対立遺伝子間で発現レベルの相違が認められる。本シンポジウムでは、転写制御におけるHLAクラスII遺伝子群の特異性を紹介する。

第11回日本HLAワークショップ報告

園田俊郎*

*鹿児島大学医学部ウイルス学

第11回日本HLAワークショップは血清学的タイピングとDNAタイピングとの統合をめざし、既存の日本人パネルセルを用いてHLA-クラスI, II DNAタイピング法の実用性を以下の項目で検討した。本ワークショップには40施設から260名が参加し、日本人のパネルセル1764を用いて、クラスI, II DNAタイピング法の特異性、操作性、迅速性、経済性ならびにアレル特異的抗血清の有無を検討した。その結果、クラスI DNAタイピングではHLA-Bアレルに加えて、HLA-Aアレルの同定が可能となった。クラスIIタイピングでは1216パネルのHLA-DR, DQ, DPのアレルが同定された。抗血清との対応ではアレル特異的血清は見いだせなかった。以上のDNAタイピングでアレルまで確定されたパネルセルによって、日本人のHLA遺伝子頻度と5座位のハプロタイプを解析し、DPとの連鎖の多様性を明らかにした。これによって、腎臓、骨髄移植のドナー選択にあたってのDNAタイピングの重要性が確認された。



一般演題 (1~32)

1.

HLA-A2サブタイプの血清学的反応性

柏瀬貢一・石川善英・徳永勝士^{*1)}、橋本正美・大橋初弥^{*2)}
中島文明^{*3)}、赤座達也・田所憲治・十字猛夫^{*1)}

^{*1)}日赤中央血液センター、^{*2)}東京都駒込赤十字血液センター
^{*3)}神奈川県赤十字血液センター

要旨：我々はHLA-A2関連血清の反応パターンの違いによりA2のサブタイプとしてA2S、A2AKおよびA2Kを見出した。A2S、A2AKは、それぞれ第11回国際HLAワークショップに提出されたA2S、A2Leeと血清学的反応性から同一の抗原と考えられたが、A2Kは他のサブタイプとは異なり、新抗原であることが示唆された。一方、A2S+A10の特異性を示す血清が見出された。149および152番のClass I抗原のアミノ酸配列は、A2SとA10関連抗原だけが、それぞれThr、Gluであることから、A2S+A10の特異性を示した血清は、この部位を認識したと推定された。

Key words : HLA-A2 , LCT , epitope

2.

HLA-A 遺伝子 DNA タイピング法の開発

伊達是志・木村彰方・笹月健彦*

*九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門

要旨：PCR-SSOP法によるHLA-A遺伝子のDNAタイピング法を開発した。HLA-A遺伝子の第1から第3エクソン領域をPCR法により特異的に増幅後、77種のSSOPを用いてドットプロットハイブリダイゼーションを行なうことにより、*0201と*0209以外の全ての対立遺伝子が分類可能であった。また*0201と*0209は第4エクソンのPCR-SSOP解析で区別できた。この結果、血清学的に区別の困難なサブタイプ（例えばA2に14種、A26に4種など）および新たな対立遺伝子3種（A2に2種、A24に1種）を含めた全48種のHLA-A対立遺伝子がDNAレベルで同定できた。さらに、特定のHLA-B対立遺伝子との強い連鎖不平衡（A*0207とB46、A*2601とB61など）がサブタイプのレベルで確認された。

3.

PCR-RFLP 法による HLA クラス I アロ抗原のサブアリルタイピング

大西浩史*

*住友金属株式会社診断薬室

本文 P43

要旨 : HLAクラス I 抗原を対象とした DNA タイピングのシステムの開発が進んでいる。今回は、PCR-RFLP 法を HLA クラス I 抗原の解析に応用するにあたり、まずアロ抗原をひとつの単位としてそのサブアリルをタイピングするシステムの開発を、HLA-B44 抗原をそのモデルとして検討を行った。日本人由来の B44 ポジティブ検体を対象にタイピングを実施した結果、その大部分が B*44 03 の対立遺伝子であることが明かとなった。

key words : PCR-RFLP, HLA-class I antigens, HLA-B44

4.

PCR-SSCP 法による B40 グループのアリル解析

坂内 誠^{*1)}・徳永勝士・林 玲・石川善英^{*2)}、植木純一・大橋初弥^{*1)}、
田中秀則・赤座達也・田所憲治^{*2)}、藤澤 洵^{*1)}、十字猛夫^{*2)}

^{*1)}東京都赤十字血液センター

^{*2)}日赤中央血液センター

要旨 : 血清学的方法では判定が困難な HLA-B locus のアリルレベルの解析を目的として、HLA-B locus の DNA タイピングを試みた。genomic DNA を用いて、exon 2 の最初の部分を区別する 2 種類の primer group により exon 2 - exon 3 を含む PCR (1st-PCR) を行ったところ、B locus に特異的な増幅が可能だった。さらにこの PCR 産物を鋳型とし、exon 2 または exon 3 のみをそれぞれ再度 PCR (2nd-PCR) により増幅し、SSCP 法により解析した。今回、B40 グループをこの方法で解析したところ、1st-PCR により、B60 (B*4001) と B61 (B*4002 or B*4006) が、また、exon 3 の 2nd-PCR 産物の SSCP で、B*4002 と B*4006 が区別された。今回の方法は、HLA-B locus の他のグループのアリル解析にも応用可能と思われる。

5.

PCR産物の直接塩基配列決定法による HLA-C抗原対立遺伝子のタイピング

成瀬妙子・河田寿子・増井 理・安藤麻子・木村 稜^{*1)}、能勢義介^{*2)}、一色 玄^{*3)}、猪子英俊^{*1)}

^{*1)}東海大学医学部分子生命科学, ^{*2)}兵庫県赤十字血液センター
^{*3)}大阪市立大学医学部小児科

要約:

我々はPCR産物の直接塩基配列決定法によるクラスI抗原対立遺伝子のタイピングについて検討を行ってきたが、今回、HLA-C抗原について検討した。有核細胞よりダイナミーズを用いてmRNAを抽出後、RT-PCRでHLA-C抗原遺伝子の第2エキソン～第4エキソンを増幅し、蛍光自動シーケンサーにより直接塩基配列決定法にて解析を行った。また、増幅領域を制限酵素で切断するPCR-RFLP法についても検討を行ったところ、16種の制限酵素を使用して19種の対立遺伝子の識別が可能であった。このようにRNA抽出の操作が簡便になったことで検出までの時間が短縮され、さらにPCR-RFLP法を組み合わせることにより、C抗原遺伝子の詳細なタイピングが可能と考える。

6.

日本人のDR-NJ25, DR14特異性の 遺伝学的多型性とハプロタイプの解析

橋本光男・木下朋子^{*1)}、兼重俊彦^{*3)}、山崎美保^{*1)}、市川靖二^{*2)}、内田清久^{*3)}、福西孝信^{*1)}

^{*1)}兵庫県立西宮病院腎移植センター, ^{*2)}兵庫県立西宮病院泌尿器科
^{*3)}シオノギ製薬株式会社診断医学部

本文 P53

要旨: DR-NJ25, DR14 特異性は、日本人に特徴的な抗原系の1つであるが、血清学的には判定が困難であり、クラスI抗原との連鎖も明確でない。我々は、1792名の日本人非血縁者の血清学的及び、DNAタイピングを行い、221名のDR14, 88名のDR-NJ25陽性者を認めた。各抗原の多型性をDNAタイピングで検討すると、DR14は、DRB1*1401, 1405, 1407の3種類、DR-NJ25については、DRB1*1307, 1402, 1403, 1406, 1412の5種類の遺伝子型にスプリットされた。今回の解析で1例しか認められなかったDRB1*1402と1412を除いた6種類のDRB1*14遺伝子型は、DPB1を除く他のクラスIIアリル(DRB3, DQA1, DQB1)と強い連鎖を示し、7種類のクラスIIハプロタイプを形成した。この7種類のDR14ハプロタイプは、全てクラスI抗原とも有意な連鎖がみられ、日本人に特徴的な6種類のHLAハプロタイプを推定することができた。

7.

HLA-DNA タイピングの導入と 血清学的タイピング結果との相違

西垣文敬・笹木剛志*¹⁾, 平野哲夫・新藤純理*²⁾, 脇坂明美・吉木 敬*³⁾

*¹⁾市立札幌病院中央検査部, *²⁾市立札幌病院腎移植科

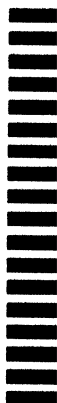
*³⁾北海道大学医学部病理学第一

本文 P 55

要旨: HLAタイピングは腎移植の際に重要な役割を果たし、特にDR型のマッチングが重要とされているが、血清学的方法とDNAタイピング結果との不一致が指摘されている。そこで、我々は献腎移植希望透析患者 106名を対象に、市販DNAタイピングキットを用い、その結果について検討した。

106名中、不一致が認められたのは8名(7.5%)であった。原因としてはB細胞分離、良質抗血清獲得の困難性が考えられ、DNAタイピングの必要性が示唆された。また今回我々が使用したSSP法によるキットは簡便で短時間で実施可能なことから、新たにDNAタイピングを導入する施設にとってはその導入が容易であると考えられたが、全体の50%の抗原については遺伝子型までは決定できなかった。今後は、全ての遺伝子型をSSP法で判定可能なキットの開発が待たれる。

Key words : DNA typing , renal transplantation , PCR-SSP



8.

PCR-MPH 法による 簡便な HLA class II 遺伝子のタイピング

前川尻真司・川井信太郎*¹⁾, 徳永勝士・宮本正樹・赤座達也・十字猛夫*²⁾・山根明男*¹⁾

*¹⁾湧永製薬株式会社バイオ研究所

*²⁾日赤中央血液センター

本文 P 57

要旨:大量検体のHLAのDNAタイピングをルーチンとして行うことを目的とし、迅速で操作が簡便、コストが安価なPCR-MPH法を前年度の本学会で報告した。しかし、前回報告した12種のプローブの組み合わせによるDRB1遺伝子のgeneric typingでは、DR3, 11, 12, 8がホモなのか、それらとDR6とのヘテロなのかの判定ができない、或いはDRB1*1403をDR8と判定してしまう、等の限界があった。今回、これらの限界を克服するために4種のプローブを追加した。更にsubtypingに関しても検討し、現在報告されている日本人に存在するほとんどのallele typingが可能になった。また、本法でのDQB1遺伝子のgeneric typingについても検討したので報告する。

key words : HLA-DNA typing, PCR-MPH, ELISA

TMA-HPA 法による HLA タイピング

— 24 medium resolution probes を用いた HLA-DRB1 タイピング —

玖田 孝・松原亨一・小林 明・武田さおり・藤原曜子・遠保 宏*¹⁾, 小出幸夫・吉田孝人*²⁾

*¹⁾中外製薬株式会社診断科学研究所

*²⁾浜松医科大学微生物学

我々は独自の増幅法TMA法(Transcription mediated amplification : DNAを鋳型に用いて大量のRNAを産生させる方法)とHPA法(Hybridization Protection Assay : 化学発光標識DNAプローブを用いたSSOP法)を用いた簡便かつ正確なHLA-class II タイピング法を開発し、報告してきた。今回、DRB1 1st.タイピングにおける解析力を向上させ2nd.タイピングの必要性をなるべく少なくすることを目的に、これまで16種であったプローブを24種に増やす検討を行なった。

健常人由来のDNA100検体をTMA法で増幅し、HPA法で検出した。検出は96穴マイクロプレートを用いて行なった。日本人に適した24種のプローブを組み合わせることで1st.タイピングでalleleまで決定できた検体は約50%であった。さらに、alleleまで決定できなかった検体の多くは2nd.タイピングにおいて1種もしくは2種のプローブでallele タイピングが可能であった。その結果、DRB1 alleleタイピングがより迅速に行なえるようになった。

日本人を対象にした PCR-SSP 法による DQB1 タイピングの試み

酒巻建夫・前島基志・山崎正明・苅部正宏・柏原英彦*

*国立佐倉病院臨床研究部臨床検査科

本文 P 61

要約：DNA配列特異的なプライマーの組み合わせを用いてPCRの成否によりタイプを決定する、迅速、簡便なPCR-sequence-specific primers (PCR-SSP)法を検討した。すでにDRB1, B3-5に関して発表しているが、今回、日本人のDQB1遺伝子を対象としてプライマーの設計を行った。これらのプライマーを用いるとPCR-SSOP法と比較して、DQB1*0201, 0301, 0302, 0303, 0401, 0402, 0501, 0502, 05031, 0601, 0602, 0604, 0605の13種類の同定ができることが判明した。この方法は少数の検体を短時間に処理するのに最適な方法であった。今後、PCR-SSP法を臓器移植のドナーのDRB1, DRB3-5, DQB1タイピングに利用すれば、より適合度の高い移植が可能となると思われる。

key words : HLA-DQB1, PCR-SSP

11.

Reverse dot blot 法を利用した、ヘテロ接合体からの新たなDPB1アレル(DPB1 * JYO)の直接塩基配列決定

兼重俊彦・内田清久^{*1)}，木下朋子・橋本光男・福西孝信^{*2)}

^{*1)}シオノギ製薬株式会社診断医学部

^{*2)}兵庫県立西宮病院腎移植センター

本文 P 65

要旨：HLA-DPB1 タイピングで既知のアレルと異なる profile を示した試料 JYO の塩基配列解析を行った。塩基配列決定には PCR 産物をプラスミドベクターにクローニングする方法（；常法）と併せ、reverse dot blot 法の positive spot より鋳型を調整し直接塩基配列決定を行う方法を用いた。これらの塩基配列解析により JYO の DPB1 アレルは DPB1 * 0202 と、DPB1 * 0402 の codon 36 が GCG (Ala) に置換した新たなアレル(DPB1 * JYO=5101)のヘテロ接合体であることが分かった。今回我々が開発した、reverse dot blot 法を利用した直接塩基配列決定法は、クローニングステップを必要とせずにヘテロ接合体アレルからも、信頼性の高いデータが短時間の内に得られることから有用である。

12.

日本人における HLA-DMB 遺伝子の多型性の解析

河田寿子・成瀬妙子・許 珊^{*1)}，能勢義介^{*2)}，木村 穰・猪子英俊^{*1)}

^{*1)}東海大学医学部分子生命科学

^{*2)}兵庫県赤十字血液センター

要旨:

HLA-DM 遺伝子は、HLA-DQ, DP 間に存在が報告された新しいクラス II 遺伝子であるが、他のクラス II 抗原による抗原提示の素過程に重要な機能をになっている。そこで我々は、DMB について多型性を検討した。日本人由来 HLA-D 抗原ホモ接合体細胞 27 検体より抽出した DNA の、DMB 遺伝子の中で最も多型性が報告されている第 III エクソンを PCR で増幅し、直接塩基配列決定法で判定した。その結果、日本人においてもすでに公認されている対立遺伝子である DMB*0101 18例 (67%)、*0102 4例 (14.8%)、*0103 7例 (25.9%) を認めた。さらに塩基配列の異なる 2例 (7.4%) を検出し日本人 DMB 遺伝子に特有な多型性も認めた。

13.

PCR-RFLP 法による TAP 遺伝子多型の解析

桑田昇治・柳沢雅美・柴田洋一*¹⁾、徳永勝士・田所憲治・十字猛夫*²⁾

*¹⁾東京大学医学部輸血部

*²⁾日赤中央血液センター

本文 P 67

要旨： TAP分子は、遺伝子座がHLAクラスII領域に存在し、多型を呈することが報告され、抗原ペプチドの粗面小胞体への能動的輸送を行なう。TAP1 遺伝子2ヶ所、TAP2 遺伝子4ヶ所の多型が報告されている。我々は、PCR-RFLP法にてTAP遺伝子多型を解析し、制限酵素認識塩基配列の存在しない領域については、mismatch-PCR-RFLP法にて解析した。白人では稀なTAP1D対立遺伝子が23%存在し、TAP2対立遺伝子も新たに2種類の存在が明らかとなった。TAP 遺伝子の型判定にはPCR-RFLP法による解析法が簡便で確実であると考えられる。Mismatch-PCR-RFLP法は、制限酵素認識塩基配列のない場合でも解析が可能であり、他の遺伝子多型の解析にも応用可能な方法である。

key words: TAP, HLA, PCR

14.

DP 抗原亜領域のセントロメア側300kb の領域に位置する新しい発現遺伝子の構造解析

安藤麻子*¹⁾、菊池イアーラ幸江*²⁾、河田寿子・椎名 隆・重成敦子・木村 稔・猪子英俊*¹⁾

*¹⁾東海大学医学部分子生命科学

*²⁾東海大学医学部移植免疫学

要旨： HLA-DP遺伝子よりセントロメア側の領域、300kbについてcDNAクローニングや塩基配列の決定などの詳細な解析を行い、前年度の結果と併せてこの領域に合計8個の新遺伝子を同定した。この領域のコスミドクローンの解析結果とYACクローンを再クローニングしたコスミドクローンの解析結果から、HSET~COL11A2間300kbのコスミドコンティグを作成し、これまでにバルスフィールド電気泳動によって作成したこの領域の物理地図を確認した。一方、cDNAクローンの塩基配列の解析からHKE3遺伝子は、40SリボソームタンパクS18をコードしていることが明らかになったが、それよりセントロメア側に存在するHKE2遺伝子は、既存の遺伝子とは相同性が認められず、現在のところ機能不明の遺伝子である。

15.

韓国人における HLA-DRB1の 遺伝子頻度について

森山 哲・光永滋樹・徳永勝士・田所憲治・十字猛夫*¹⁾, 金 炳哲・朴 明姫*²⁾

*¹⁾日赤中央血液センター

*²⁾ソウル大学医学部臨床病理

要約：すでに血清学的タイピングにより class I,II 抗原が判定されている韓国人（ソウル在住の成人）の 214 人について、PCR-SSCP法、及びPCR-RFLP法を用いてHLA-DRの対立遺伝子を決定した。各々の対立遺伝子の遺伝子頻度を第11回国際組織適合性ワークショップ（11IHW）の結果（n=100）と比較するとDRB1*0802の頻度は11IHWでは0.5%であるが、今回の結果は2.6%であり若干の差がみられ、その他の遺伝子頻度についてはほぼ一致していた。また、11IHWでの日本人の遺伝子頻度と比較したところ同様な頻度であることが確認されたが、日本人に9%程存在するDRB1*1502が韓国人ではわずか2%しか確認されないなどの違いが幾つかみられた。さらに、DRB1*1404のような日本人には極めて希な対立遺伝子も観察された。



16.

アジア人における B*1301およびB*1302の確認と そのハプロタイプ

林 玲*^{1,2)}, 徳永勝士*¹⁾, 中島文明*³⁾, 石川善英・柏瀬貢一*¹⁾,
桑田昇治*²⁾, 赤座達也・田所憲治*¹⁾, 柴田洋一*²⁾, 十字猛夫

*¹⁾日赤中央血液センター, *²⁾東京大学医学部輸血部

*³⁾神奈川赤十字血液センター

HLA-B13抗原は1D-IEFにより2つのサブタイプ（B13.1, B13.2）に分けられ、それぞれB*1301, B*1302にコードされていることが知られている。YangらはB*1301はアジア人に、B*1302は白人にのみ見いだされると報告している。

ところが、日本人のB13は血清学的にB13とB13Nに分けられることがわかっている。そこでこの2つのスプリット抗原遺伝子の塩基配列を決定したところ、それぞれB*1301, B*1302であることが確認できた。さらにアジア人のB13陽性の54検体をPCR-SSO法により調べたところ、アジア人のB13はその半数以上がB*1302であった。またこの2つのアレルは関連するハプロタイプが異なり、B*1301はA2-Cw10-DR12-DQ7, B*1302はA30-Cw6-DR7-DQ2とハプロタイプを組むことが推定された。さらに、genomic DNAを試料として、PCR-SSCP法を用いたB13のアレルタイピング法を確立した。

ブリヤット族における MHC ハプロタイプの分布

田中秀則・徳永勝士^{*1)}、賢田美江・内川千枝子^{*2)}、伊藤圭一・平川和也^{*3)}、赤座達也^{*1)}、高橋孝喜^{*4)}、田所憲治・十字猛夫^{*1)}

^{*1)}日赤中央血液センター、^{*2)}東京大学医学部附属病院輸血部
^{*3)}山口県赤十字血液センター、^{*4)}虎ノ門病院輸血部

本文 P71

要旨：ブリヤット族のHLA, BF及びC4アロタイピング結果から、BFおよびC4の遺伝子頻度、3座位間(BF-C4A-C4B)の補体ハプロタイプ、5座位(HLA-B, BF, C4A, C4B, HLA-DR)のMHCハプロタイプ頻度を算出し、その分布の特徴について検討を行った。MHCハプロタイプの解析では、欧州の民族と関連性が推定されるタイプ(B13-BFS-C4A3-C4B1-DR7, B44-BFF-C4A3-C4B1-DR7, B50-BFS07-C4A2-C4B1+12-DR7)、東北アジアの民族との関連性が推定されるタイプ(B58-BFF-C4AQ0-C4B1-DR13, B37-BFF-C4A3-C4B1-DR10)等が認められた。

Key words : Buryat, MHC haplotype, distribution

同種角膜移植における HLA クラスII抗原遺伝子のタイピング

佐藤忠之・土田文子・佐藤 薫^{*1)}、竹部兼太郎・バトムフムンフバト・志村龍男・萩原政夫^{*2)}、島崎 潤・坪田一男^{*3)}、辻 公美^{*1,2)}

^{*1)}東海大学病院細胞移植医療センター移植免疫室
^{*2)}東海大学医学部移植免疫学、^{*3)}東京歯科大学眼科

要旨：角膜移植後の移植片脱落の原因のひとつに拒絶反応がある。提供角膜と患者とのHLAマッチングの重要性については、諸外国の報告があるものの結論は得られていない。今回われわれは実際の角膜移植例において、ドナー角膜辺縁組織とレシピエント角膜組織を材料としたHLAクラスII DNAタイピングを行い、拒絶反応との関連について検討した。クラスII DNAタイピングは、拒絶反応が認められた10組と認められなかった20組を対象としてDQB1とDPB1について行った。その結果タイプのマッチ数が0のグループと1または2のグループに分けた場合、DQB1ではカイ2乗値0.017 ($P \geq 0.1$)で拒絶有り群と拒絶無し群とで有意差はなかったが、DPB1ではカイ2乗値2.829 ($P < 0.1$)で傾向が認められた。

B細胞ラインを用いた腎移植希望登録患者の panel reactive antibody(PRA)検出法の検討

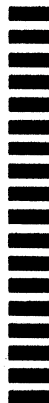
前島基志・苅部正宏・山崎正明・酒巻建夫・柏原英彦*

*国立佐倉病院臨床研究部臨床検査科

本文 P73

要旨：登録患者血清中のPRA 検査には、T細胞を用いてclass I (T warm) 抗体の検出を行っているが、class II (B warm) 抗体の検出は、多量の新鮮なB細胞の入手が困難なため、現在当施設では行っていない。今回我々は、日本人由来のLCLを使用して、登録患者血清中のclass I,II抗体の有無を検討した。未吸収登録患者血清とLCLの反応では、T細胞より陽性率が高く、吸収後の反応では末梢B細胞と同程度の陽性率と強い相関を示したことから、LCLはclass I抗体に加えclass II抗体の検出にも使用できると考えられた。LCL細胞は計画的に調整できるので、PRAを継続的に調べる上で末梢血B細胞に代えることができると思われる。

key words: LCL, PRA, Cadaveric kidney transplantation



非血縁間骨髄移植のためのDNAクロスマッチ “PCR-LIS-DCP”

丸屋悦子・佐治博夫*

*京都府赤十字血液センター

本文 P75

要旨：非血縁間骨髄移植のHLA 適合検査はPCR-DNA タイピングによるアレル型マッチングにより精度の高い適合性が得られる。この方法による検査過誤の防止と最終確認のためレシピエントとドナー候補者のMHC領域のDNAをPCRで増幅し、直接マッチングさせるDNAクロスマッチ法としてLIS-DCP (Low Ionic Strength-DNA Conformation Polymorphism) 法を開発した。LIS-DCPはDNAの融解特性を利用しDNA溶液のイオン強度を下げ、94℃加熱変性後55℃でアニールすることにより mismatch hybridization によるHDF (Hetero Duplex Formation) と熱変性によるSSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) の両方を形成しかつ持続させ同時に検出できる。クロスマッチ一致例はすべてアレル型適合例であり、不一致例ではアレル型のミスタイピングが検出された。検査所要日数も2日と迅速かつ簡便で安価なクロスマッチ法である。

Key words: DNA crossmatch, PCR-LIS-DCP, Unrelated BMT

HLA-A 遺伝子の DNA タイピングおよび 腎移植マッチングへの応用

新宅究典・福田康彦^{*1)}, 伊達是志^{*2)}, 星野修司・田代裕尊・古川雅博・土肥雪彦^{*1)}, 木村彰方^{*2)}

^{*1)}広島大学医学部第二外科

^{*2)}九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門

要約: 臓器移植におけるHLAクラスII抗原のマッチングの重要性はDNAレベルでも証明されている。一方、クラスI抗原に関しては血清学タイピングにもとづいた検討が主流であった。今回、我々は、HLA-A遺伝子のDNAタイピングを行ない、腎移植症例52ペアにつき検討を加えた。DNAタイピングにもとづいて移植症例のマッチングを検討したところ、3例において、従来の血清学にもとづいたマッチングとは異なった結果が得られた。うち2例は、サブタイピングが可能となったことによるマッチングカテゴリーの変更によるものである。また、血清学的タイピングではidenticalであったが、DNAタイピングにてはone mismatchと判定した2例は、いずれもgraft lossに陥っていた。今後、HLA-B、Cに関してもDNAタイピングを行ない、より詳細な検討が必要である。

サルコイドーシスの HLA タイピングと TNF- β , HSP70 遺伝子の多型性

石原麻美・水木信久・鈴木克也・大野重昭^{*1)}, 石田敬子^{*2)},
小野弘光^{*3)}, 平賀洋明^{*4)}, 安藤 等・成瀬妙子・猪子英俊^{*5)}

^{*1)}横浜市立大学医学部眼科, ^{*2)}日赤医療センター眼科

^{*3)}札幌鉄道病院眼科, ^{*4)}札幌鉄道病院呼吸器科, ^{*5)}東海大学医学部分子生命科学

要旨: 前回我々は、サルコイドーシスではHLA-DR5、-DR6、-DR8のDRB1遺伝子上の特異的アミノ酸配列に疾患感受性があることを示唆する結果を得た。今回は北海道地方の本症患者30名の血清学のおよびクラスII遺伝子タイピングを施行したところ前回（関東地方中心）とほぼ同様の結果であった。次に本症の疾患感受性遺伝子がクラスII領域近傍の非HLA遺伝子である可能性も否定できないため、HSP70およびTNF- β 遺伝子の多型解析を施行した。HSP70-1、70-2の5'untranslated region (+190, +145)の多型性をPCR増幅後のNla IVおよびMbo IIによるRFLP解析で調べた。Hum70tのcoding region (+2437)の多型性およびTNF β の多型性はPCR増幅後のNco I RFLPで調べた。日本人正常人ではHSP70の多型性は非常に低く、かつ患者との間にも相違を認めなかった。HSP70、TNF- β 遺伝子の本症への関与は今のところ否定的である。

サルコイドーシスと HLA class II allele

豊嶋幹生・早川啓史・吉富 淳・佐藤篤彦^{*1}, 小林 明・松原亨一^{*2},
小出幸夫・内嶋雅人・吉田篤司・吉田孝人^{*3}

^{*1}浜松医科大学第二内科, ^{*2}中外製薬診断学研究所
^{*3}浜松医科大学微生物学

要旨：浜松地区のサルコイドーシス患者47例を対象に免疫学的遺伝背景の鍵を握っているHLAクラスIIについて、そのアレルのDNAタイピングを我々の開発したRNA増幅(TMA)-HPA法で実施したところ、次の如き興味ある結果をえた。HLA-DRB1*0803, $\chi^2=6.82$, $p<0.01$, RR 3.36; HLA-DQB1*0601, $\chi^2=11.87$, $p<0.001$, RR 4.04と患者集団で高いこと、またHLA-DR - HLA-DQ ハプロタイプ: DRB1*0405 - DQB1*0401が対照に比して約3.3倍、DRB1*0803 - DQB1*0601が対照に比して約3.5倍、DRB1*0802 - DQB1*0402が対照に比して約8倍であった。この患者集団のなかの限られた患者ではあるが肺胞洗浄液中のT cellのTCR mRNAについて検索しているのでサルコイドーシスの病態について推論したい。 Key Words: Sarcoidosis, HLA class II allele, Etio-pathogenesis



HLA-DQ 遺伝子座の多型性と インスリン依存性糖尿病

安永晋一郎・木村彰方・笹月健彦*

*九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門

要旨：HLA-DQA1およびDQB1遺伝子の各13種類の対立遺伝子のcDNAについて全塩基配列を決定し、計3種類の新しい対立遺伝子を発見した。この塩基配列に基づき、HLA-DQA1遺伝子について、エクソン3および4を対象としたPCR-SSOP法による新しいDNAタイピング法を確立した。この方法により、従来区別できなかった対立遺伝子が分類でき、HLAクラスIIハプロタイプがさらに詳細に検討できた。ついで、この方法によりIDDMとHLA-DQA1との相関を検討した結果、疾患感受性は、日本人ではDQA1*0302と、ノルウェー人ではDQA1*05011および*0301と強く相関すること、一方疾患抵抗性は、いずれの人種においてもDQA1*01021、*0103、*0104および*05013と相関することが明らかになった。DRB1とDQB1遺伝子のタイピング結果と総合して解析することにより、IDDMへの疾患感受性はDR遺伝子座が疾患抵抗性はDQ遺伝子座がそれぞれ規定していると考えられた。

HLA-A DNA タイピング法の臨床解析への応用

木村彰方・伊達是志・笹月健彦*

*九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門

要旨：HLA-A DNAタイピング法を用いてHLA-Aと甲状腺自己免疫病との相関を解析した。その結果Graves病とA*0206および*2601との正の相関ならびに橋本病とA*0207との正の相関が明らかとなった。クラスII領域の遺伝子解析とあわせて検討した結果、Graves病への疾患感受性はA*0206+DPB1*0501あるいはA*2601単独により規定されるのに対し、橋本病はA*0207+DRB4*0101によって規定されるものと推定され、両者は病因論的に異なる疾患単位であると考えられた。一方、非血縁間骨髄移植ペアのHLA遺伝子群の解析から、HLA-Aサブタイプ間のミスマッチも移植予後（早期死亡、GVHD発症）と関連することが明らかとなった。

強直性脊椎炎（AS）患者の眼症状と HLA-DR1*0803

沼賀二郎^{*1)}、イスラムS.M.モノワール^{*2)}、平田蘭子・前田平生^{*3)}、三井 弘^{*4)}

^{*1)}東京大学医学部附属病院分院眼科, ^{*2)}東京大学医学部眼科
^{*3)}埼玉医科大学総合医療センター輸血部, ^{*4)}三井記念病院整形外科

強直性脊椎炎(AS)に眼症状として急性前部ぶどう膜炎(AAU)を併発することは良く知られている。今回、AAUの併発の有無に免疫遺伝学的相違があるかを検討したので報告する。対象はAS患者42例で、内訳はAAU併発例20例、AAU非併発例22例である。HLA-B27陽性はAAU併発例で18例(90%)、非併発例で18例(82%)であった。HLA-DR8.1陽性例がAAU併発例で13例(65%)、非併発例で1例(5%)であり、AAUの併発の有無でHLA-DR8.1に統計的有意差がみられた($P<0.0005$, $RR=39$)。またHLA-DR8.1は全てDRB1*0803であり、これがASの眼症状の発症に関与するものと考えられた。

Key word: Ankylosing spondylitis, Acute anterior uveitis, HLA-DRB1*0803

HTLV-I 関連ぶどう膜炎における HLA クラスII解析

鍵谷雅彦・大野重昭^{*1)}, 上永吉達彦・大庭紀雄^{*2)}, 屋敷伸治・
園田俊郎^{*3)}, 石原麻美・水木信久^{*1)}, 成瀬妙子・猪子英俊^{*4)}

^{*1)}横浜市立大学医学部眼科, ^{*2)}鹿児島大学医学部眼科,
^{*3)}鹿児島大学医学部ウイルス, ^{*4)}東海大学医学部分子生命科学

要旨: HTLV-IはATL(adult T cell leukemia),HAM/TSP(HTLV-I associated myelopathy /tropical spastic paraparesis),HTLV-I関連ぶどう膜炎(HAU)をはじめとする種々の慢性炎症性疾患の原因ウイルスであることが知られている。この様な疾患発現の多様性を説明するものの一つとして宿主側の免疫応答の違いが考えられる。このため、今回我々はHAUの発症に関与する遺伝的背景を解析する目的で、平成4年度文部省科学研究費がん特別研究(大庭紀雄班長)「HTLV-I眼症に関する総合的研究」検討班の各班眼科を受診したぶどう膜炎患者のうちHAU患者37名についてPCR-RFLP法を用いHLA-DQA1,DQB1,DRB1およびDPB1遺伝子のDNAタイピングを行ったが、日本人一般集団との間に統計的有意差はなく、その結果としてHAUに特有なHLAクラスII抗原 alleleを認めなかった。

成人型多発性嚢胞腎家系における HLA-DRB1, PKD-1遺伝子の解析

李 丹・佐田正晴・辻 隆之^{*1)}, 高原史郎・奥山明彦^{*2)}, 堀江重郎^{*3)}, 村山敦浩^{*4)}

^{*1)}国立循環器病センター研究所, ^{*2)}大阪大学医学部泌尿器科
^{*3)}東京大学医学部泌尿器科, ^{*4)}シオノギ製薬株式会社診断医学部

本文 P77

要旨: 成人型嚢胞腎(以下PCK)家系を対象とし、DRB1 alleleおよび白人PCKの責任遺伝子と考えられているPKD-1遺伝子の解析を行い、疾患感受性遺伝子についての検索を行った。家系内haplotypeの解析において、PCK患者の90%にDRB1*0803, 1302, 1401, 1501いずれかのhaplotypeが認められ、更にその40%は両方のhaplotypeを有していた。PKD-1遺伝子は、日本人PCK患者でも連鎖が認められたが、連鎖率は白人PCKと比較し低率だった。日本人PCKではPKD-1遺伝子よりDRB1遺伝子との連鎖が濃厚で、特定のDRB1 alleleが腎機能の良否を左右する可能性も示唆された。

Key words : PCK, HLA-DRB1, PKD-1

白樺花粉症に関わる花粉抗原ペプチドと HLA-DR 分子

植原元晴・種市麻衣子・水本桂子・安部裕介・片桐 一^{*1)}、熊井恵美^{*2)}

^{*1)}旭川医科大学第二病理

^{*2)}旭川赤十字病院耳鼻咽喉科

要旨：我々は以前に日本の白樺花粉症はHLA-DR9と相関し、このDR分子が発症に関与する可能性を報告した。日本産白樺の花粉から抽出した抗原材料の17kDaフラグメントには強い抗原性が認められる。このフラグメント中の抗原活性を有する部位を明らかにすることを目的として、17kDaフラグメントのトリプシン消化物によるリンパ球増殖反応を検討したところ、ヨーロッパ産白樺の17kDa抗原フラグメント *Bet v I* アミノ酸配列の56-66番目に相当する部分が反応を示した。さらに、この部分に相当する各種ペプチドを用いて、DR分子との結合性、及びペプチドのどのアミノ酸がリンパ球増殖反応に重要であるかを解析した。

key words : birch pollen, antigenic peptide, core sequence

同一 DR で DRB1 遺伝子が異なる MLC 反応

能勢義介・荒木延夫・稲葉洋行・浜中泰光・阪田宣彦^{*1)}、鍋谷 登^{*2)}、一色 玄^{*3)}、成瀬妙子・猪子英俊^{*4)}

^{*1)}兵庫県赤十字血液センター、^{*2)}ナベヤクリニック

^{*3)}大阪市立大学小児科、^{*4)}東海大学医学部分子生命科学

本文 P81

要約：MLC反応により検出されるHLA-D抗原はHLA-DNA解析によるDRB1遺伝子と最も高い相関を示すことから、主要なMLC抗原はDR抗原であると考えられている¹⁾²⁾。そこで今回、DR抗原が同一でDRB1遺伝子が異なる細胞間のMLC反応を詳細に検討した。反応細胞をDw15 (DRB1*0405, 0410) と、刺激細胞をDR4関連D抗原としたMLC反応は、Dw15が75%DNV値23.2, Dw14 (DRB1*0404, 0408) が62.6, Dw4 (DRB1*0401) が68.6, Dw13 (DRB1*0403, 0407) が82.0, Dw10 (DRB1*0402, 0414) が91.4を示し、DR4関連D抗原のDRB1遺伝子第2エクソンの37~74番目が異なるアミノ酸数が多い程、高いMLC反応を示す傾向を示した。

Key words : MLC (mixed lymphocyte culture), DRB1*alleles, Amino acid

31.

細菌性スーパー抗原によって誘導されるT細胞アナジー —サイトカイン遺伝子発現に対するアナジー・スペクトラム—

小出幸夫・内嶋雅人・吉田篤司・吉田孝人*

*浜松医科大学微生物学

本文 P 83

要旨：T細胞レセプターを介した各種サイトカインmRNAの発現には、カルシニューリン/Cキナーゼ系とこれとは別個のシグナルの少なくとも二種の伝達系が存在することが示唆された。後者のシグナルはSEBによるアナジーの影響を受けず、アナジー耐性サイトカイン群のmRNA発現に関与すると考えられる。

Key words: anergy, cytokine, super antigen

32.

自己免疫疾患とHLA II結合性ペプチド

西村泰治^{*1)}、高橋克史・元木政道・小森谷恵司^{*2)}、五十川修司・松下祥^{*1)}

^{*1)}熊本大学免疫識別学

^{*2)}帝人新薬創製研究所

要旨：HLA-DRB1*0405はインスリン自己免疫症候群(IAS)非感受性慢性関節リウマチ(RA)感受性であり、DRB1*0405とは4個のアミノ酸残基が異なるだけのDRB1*0406はIAS感受性RA非感受性を示す。これらのDR分子に結合するペプチドの構造モチーフを、1アミノ酸置換を有する多数のアナログペプチドの精製DR分子への結合を観察することにより同定し比較した。10数個のアミノ酸からなるDR結合性ペプチドでは、2個および1個のアミノ酸を介在して位置する3個のアミノ酸がDR分子への結合に重要な役割を担っていた。2つのDR分子に結合するペプチドの構造モチーフは、ほぼ同一であったが微妙に異なっていた。この情報をもとにインスリン α 鎖分子中に、DRB1*0406に高親和性を、DRB1*0405に低親和性を示すペプチドを同定し、これがインスリン自己反応性T細胞が認識するエピトープとなっていることを明らかにした。II型コラーゲン分子上の自己反応性T細胞エピトープに関しては、現在検討中である。

P33.

新しいHLA-A9サブタイプ(A24AK)の配列決定

柏瀬貢一・徳永勝士・石川善英・林 玲・赤座達也・田所憲治・十字猛夫*

*日赤中央血液センター

要旨：HLA-A9は A23, A24, A2403が WHO公認抗原として認められている。我々は本文P35日本人において、血清学的方法でA23, A24, A2403とは反応パターンが異なる抗原を見出したので仮にA24AKと名付け、家系調査および塩基配列を解析した。LCT法により家系調査を行った結果、A24AKは矛盾なく親から子へ遺伝していることが確認された。また cDNAをクローニングして決定した塩基配列では、A*2402と比較して第2エクソンに 7塩基の変異がみられた。この変異によるアミノ酸置換は α 2ドメインの76, 79, 80, 81, 82, 83番の6残基であった。興味深いことに、これまで報告されたA9グループの抗原は全てこの部分にBw4特異性を決定するアミノ酸を有するのに対し、A24AKはBw4の配列を持たない。

非血縁の健常なドナーにおけるA24AKの抗原頻度は、0.015%であった。(当施設)

Key words : HLA-A24AK , LCT , Bw4

P34.

日本人におけるB75の血清学的検討について

大田 智・斉藤 敏・橋爪清隆・山田英世*¹⁾、中島文明*²⁾

*¹⁾長野県赤十字血液センター

*²⁾神奈川県赤十字血液センター

本文P37

日本人におけるB75の多形性については様々な報告があるにも関わらず未だはつきりとした結論が出ていない。今回B75のパネル及び抗B75血清を使用し血清学的に調べた結果少なくとも2つのB75が日本人に存在していることが判明し、それぞれの抗原によりB75-Cw9, B15N-Cw8-DR12の連鎖不平衡のあることが確認された。家族に於いても矛盾なくこれらの抗原は遺伝していた。B15NはB75モノスペシフィック及びB75+B46の様な抗血清との反応が陰性であった。

P35.

HLA 新抗原 B5103における 当血液センターの血清学的検索の足跡

林 律子・山崎雅子・青山憲一・小松孝良・鈴木六郎・高倉 清*

*浜松赤十字血液センター

本文 P 39

要旨：第11回国際組織適合性ワークショップ会議 (11th IHWS:1991, 蕨) に新抗原として提唱し、WHOのNomenclature委員会で、正式にB5103と命名された抗原は、当血液センターにおける通常のHLA血清学的タイピングで見出した3名のDonorの発見が公認される糸口となった。

Key Words : BTA, B5103, New Antigen Study



P36.

HLA-Cw1のサブタイプ“Cw1N”を認識する アロ抗血清について

中島文明・中村淳子・岡野俊生・森 知恵子・横田敏和*

*神奈川県赤十字血液センター検査課

本文 P 41

要旨：HLA-Cw1 抗原のサブタイプを認識すると思われるアロ抗血清を得た。この抗体に反応しないCw1を“Cw1N”と仮に呼ぶこととし、血清学的に解析を試みた。頻度は非常にまれで5/1859 (p.f=0.3%) でしかない。また、A24-Cw1N-B46-DR9-DQ3 となる特徴あるハプロタイプを有し、family study においても確認された。しかしながら、抗体との反応のみで述べていることであり、これが本当に“Cw1N”と呼んでいる新抗原であるのか、あるいは複雑な抗原構造の結果としてこのような反応を示すものかは現在のところ不明である。少なくとも、このHLA-C領域をcodeしている塩基配列が従来のCw1と同一であるか確認する必要があると考える。

key words : serological analysis, association, haplotype

P37.

1976年から93年までのHLA-B, DR 抗原の推移

小河原 悟・道永 功・内藤説也*¹⁾, 八木美輝子・野田律也・平塚俊樹*²⁾

*¹⁾福岡大学病院腎センター

*²⁾福岡大学医学部第二内科

本文 P 47

要旨: 1976年から1993年にかけて約7500件のHLA血清学的タイピングを行ない, B, DR抗原について年次毎の抗原ブランクの割合と主要な抗原頻度を第11回国際組織適合ワークショップで示された抗原頻度と比較した. B抗原では1981年まで新抗原のタイピングが可能になり抗原のブランクの割合は減少したが, その後は一定であった. 抗原頻度は年次を経て有意にB39が低く, B54が高く, 九州地方に特有である可能性が示唆された. DR抗原では1990年まで一定の抗原のブランクの割合であったが, その後減少した. 抗原頻度はDR12とDR14が有意に低く, 抗血清に問題があると考えられ, 今後DNAタイピングの必要性が示された.

key words: blank allele, HLA-B antigen, HLA-DR antigen

P38.

肝細胞における内因性胆汁酸の主要組織適合抗原(MHC) class I 遺伝子発現調節機構

平野史倫・田中廣壽・牧野雄一・三浦貴徳・野村嘉伸・牧野 勲*

*旭川医科大学第二内科

本文 P 45

要旨: 原発性胆汁性肝硬変(PBC)治療薬であるウルソデオキコール酸(UDCA)が肝細胞のMHC class I 抗原を減少させることが免疫組織学的に示されているが, 胆汁酸による肝細胞MHC class I 抗原の発現調節機構はいまだ不明である. そこで, 今回, (1) UDCA・内因性胆汁酸は肝細胞のMHC class I mRNA, 抗原の発現を容量・時間依存性に増加させ, その強さは胆汁酸のhydrophobicityと一致していること, (2) 胆汁酸によるMHC class I mRNAの発現はPKC阻害剤により抑制されることを明らかにした. 以上より, 胆汁酸はMHC class I 発現を正に調節し, PBCの病態進展及び治療に関与している可能性を推測させた. また, 胆汁酸によるMHC class I の誘導にPKCを介した細胞内情報伝達系の関与が強く示唆された.

key words : ursodeoxycholic acid, bile acid, major histocompatibility complex class I

P39.

HLA 検査における 血清学的タイピングと DNA タイピングの比較

村山敦浩・稲川 明・中谷さやか・辻 敏永・清水喜一*¹⁾, 左田正晴・辻 隆之*²⁾

*¹⁾シオノギバイオメディカルラボラトリーズ

*²⁾国立循環器病センター研究所

本文 P 59

要旨: 欧米では血清学的タイピングと DNA タイピングによる結果に約 25% の不一致があると報告されている。日本においても若干の不一致が認められるという報告がある。今回著者らは当施設での血清学的タイピングと DNA タイピングによる結果の比較をおこなった。血清学的タイピング 318 例中 10 例 (3.1%) は検査不可能であったが、DNA タイピングはすべて検査可能であった。それぞれの方法による結果に不一致はなかったが、血清学的タイピングでブランクとしたものの中には血清学的タイプは同じであっても異なる遺伝子型を持つものがあった。DNA タイピングは試料の反応性に左右されずに検査できる点、検査試薬が安定に供給できる点などから血清学的タイピングに比べて有用であると思われた。

key words: HLA typing, DNA typing, HLA-DR

P40.

Modified regular dot-blot hybridization for HLA-A SSOP

秦 美暢・小林 賢*¹⁾, 阿藤みや子*²⁾, 玉井誠一・関口 進*¹⁾

*¹⁾防衛医科大学校検査部, *²⁾同 輸血部

本文 P 49

Summary: PCR-SSOP (regular-dot) による DNA typing では 1 枚の filter に 1 種類の probe しか hybridize できず、少量の検体に対しても使用する probe の数だけ反応を繰り返さなければならない。今回我々は、dot blotter 上で PCR products と SSO probes を反応させる方法を考案した。well 毎に異なった組み合わせの反応を同時に行えるため、1 回の検体処理数や使用する probes の種類と数が自由にデザインできる。感度も従来の regular dot と同程度であり、特殊な器材を必要としない自由度の高い方法であると思われた。今回、第 11 回日本組織適合性ワークショップ後に九州大学木村彰方先生より配布された HLA-A 遺伝子の SSOP 用の PCR primers と SSO probes を用いて本方法を試みたので報告する。

Key Words: DNA typing, SSOP, regular dot-blot

P41.

PCR-RFLP法によるHLA-DRB1のタイピング

光永滋樹・小口 隆・徳永勝士・赤座達也・田所憲治・十字猛夫

*日赤中央血液センター

要約：DRB1遺伝子の群特異的増幅のためのプライマーのTmをほぼそろえることにより、7種類のプライマーを4本のチューブに分け、同一のPCR条件下で増幅する事を可能にした。増幅後、電気泳動により検体に含まれている群を容易に判定することができた。内部コントロールという意味からなるべく複数の切断箇所をもつもの、またより少ない種類で各アリルが区別できるように、という方針でRFLP解析のための制限酵素を各群に対し考案した。DR1/10の群は2種、DR2/7/9の群は3種、DR3/5/6/8の群は7種、DR4の群は5種の制限酵素でほぼすべてのアリルの同定が可能であった。100人の日本人のタイピングを行ったが、血清学的結果と矛盾したものはなかった。この方法により血清学的情報がない場合でも、比較的簡便にDRB1のタイピングが可能になった。

P42.

16プローブを用いたPCR-MPH法による簡便なDRB1 generic typing

宮本正樹・徳永勝士・赤座達也・田所憲治・十字猛夫*¹⁾、川井信太郎・前川尻真司・山根明男*²⁾

*¹⁾日赤中央血液センター

*²⁾涌永製薬株式会社バイオ研究所

本文P63

要旨：抗血清の確保が難しい血清学的なHLAクラスIIタイピングの代わりに、迅速かつ簡便で、多数検体を処理できるDNAタイピング法（PCR-Microtiter plate hybridization (PCR-MPH)法）の開発と検討を行ってきた。127プローブを用いたプレートでは、DR3, 11, 12, 6, 8の純接合であるか、DR6とのヘテロ接合であるかの区別と、DRB1*1403がDR8と判定される問題点があった。本研究では、47プローブを追加させた167プローブによる改善を行い、さらに自動化に向けたタイピングシステムの確立を目指した。改良プレートは、従来の操作性を保持したままで、日本人検体の約99.3%が確定可能となり、PCR-RFLP法やPCR-SSCP法による結果と一致した。自動化に際し、ELISAの機器がそのまま代用可能で、一人で一日に100検体程度の判定が実施できた。

Key words: PCR-MPH, HLA-DRB1 generic typing, Routine typing system

P43.

北里自家繁殖 mongrel 犬の主要組織適合抗原(DLA)DRB1遺伝子型の解析

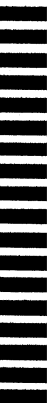
伊東一郎・渡部浩二・大谷文雄・角田みさを・小幡文弥・大久保みどり・金子剛久・柏木 登^{*1)}、鱈川浩司・武藤 健^{*2)}

^{*1)}北里大学医学部免疫学

^{*2)}北里大学医学部実験動物学

要旨：昨年の本学会で、我々は beagle 犬の DLA-DRB1 遺伝子の PCR-SSO 法による DNA typing について報告した。即ち、PCR-primer は、ヒト HLA-DRB typing 用 primer と同じ個所を既報の DLA-DRB1 の塩基配列に基づき合成し、SSO probe は既報の抗原型を識別できるように、11種を作製して用いた。なお、本 probe は、国際 DLA-WORKSHOP 等で既に公認された基準 DNA との hybridization で確認してある。今回の検索対象は、9 家系を含む 70 頭の mongrel 犬であり、本 probe により DRB1 抗原型の typing が可能であった。今後、beagle 犬の family study も含めてさらに例数を増やし、DLA-DRB1 遺伝子型の typing の完成を期したい。

Key words : mongrel dogs DLA-DRB1 alleles, PCR-SSO



P44.

異種移植における MHC クラス II 遺伝子プローブを用いた Xeno DNA Typing と Xeno MLR の検討

佐藤忠之^{*1)}、竹部兼太郎・バトムンフムンフバト・志村龍男・萩原政夫^{*2)}、辻 公美^{*1,2)}

^{*1)}東海大学病院細胞移植医療センター移植免疫室

^{*2)}東海大学医学部移植免疫学

要旨：近年ヒト臓器移植の実験モデルとして盛んにブタが用いられているが、ブタどうし(Allo)またはヒトとブタ(Xeno)のMHCマッチングはほとんど考慮されていない。われわれはヒトHLAクラスII遺伝子とブタSLAクラスII遺伝子をプローブとしたサザンハイブリダイゼーションによるXeno DNA Typingおよびブタとヒトのリンパ球を用いたXeno MLRを行いMHCのマッチングを検討した。HLA-DRB1およびSLA-DRB1をプローブにしたブタのDNA Typingでは、品種ごとに特徴的なバンドパターンが検出された。そしてXeno MLRでは、ヒトのAllo MLRの値(約2~3万cpm)よりも全体に低い値(約3~8千cpm)であったが、ヒト個人ごとに反応の強弱が検出された。

P45.

HLA-DRB1とサルコイドーシス

安波礼子*¹⁾, 立花日軍夫*²⁾, 吉原博子*¹⁾

*¹⁾大阪府立病院臨床検査科

*²⁾大阪府立病院内科

本文 P79

要旨：サルコイドーシスは原因不明の疾患であるが，HLA-DRw5.2関連抗原がサルコイドーシス患者に多く見られ，HLA遺伝子が疾患感受性遺伝子の1つと推定される．今回サルコイドーシス患者のDRB1-DNAタイピングを行い，疾患に関連するHLA抗原の分子レベルでの特定を試みた．正常コントロールに比して患者群では，DRB1-1201と0803が有意に上昇しており，DRB3ではなくDRB1遺伝子産物の方に関連抗原があると思われた．

key words: sarcoidosis, HLA-DRB1

P46.

百歳老人における疾患感受性アリの解析

高田 肇*^{1,2)}, 新藤裕実子*¹⁾, 園田 啓*³⁾, 猪子英俊*¹⁾秋坂真史・鈴木 信*⁴⁾, 多田隈卓史*²⁾

*¹⁾東海大学医学部分子生命科学, *²⁾慶応大学医学部微生物学

*³⁾慶応大学医学部中央臨床検査部, *⁴⁾琉球大学医学部地域医療

要旨：ヒトの超長寿の達成には、好適な生活環境に加えて、優れた遺伝要因が必要ではないかと考えられている（エリート説）。この観点から、これまでに、沖縄地区在住の90歳以上の超長寿者102名（うち100歳以上82名）を対象としたHLA抗原頻度の血清学的解析を行い、90歳以上生存する確率は、DR1保有者は非保有者に比べて13.3倍高く、DR9保有者は非保有者よりも5.2倍低いことを報告してきた。これは、その後新たに解析した100歳以上の39名の結果によっても確認され、これらの結果から、HLAと相関する様々な疾患を本質的に回避することによって、超長寿が達成されていることが推察された。

そこで他のクラスII抗原についてもさらに追及するため、100歳以上を対象としてDR, DQ, DP抗原のDNAタイピングを実施した。これまでのところ、DPB1*0501を高頻度(18/23)に認めている。さらに彼らのもつアリルについて疾患感受性との関連を解析中である。また、超長寿者ではLAK活性が有意に高いことから、アロNK活性と相関するHLA-Cアリルとの関連についても解析を進行中であり、併せて報告したい。

夫婦間における HLA-B 抗原の組み合わせ についての検討

小林 賢・秦 美暢・関口 進^{*1)}, 成瀬妙子・猪子英俊^{*2)}

^{*1)}防衛医科大学検査部

^{*2)}東海大学医学部生命科学

要旨: 夫婦間のHLA抗原が同一でない方が外来抗原に対する適応力がある子供を産むのに適していると考えられる。そこで今回我々は、夫婦のHLA-B抗原を解析し、どのような組み合わせになっているのかを検討した。出産経験のある夫婦477組を対象に実施した。夫婦間で同一抗原をもつ組み合わせでは、B46が3倍、B61が1.7倍程度期待値に比して高かった。それ以外は期待値と実測値がほぼ一致していた。またヘテロの組み合わせも期待値と実測値とがほぼ一致していたが、期待値または実測値が10組以上を対象とした場合、B52-B7 (1.7倍), B52-B62 (1.6倍), B62-B44 (2.2倍) の組み合わせでは期待値に比して低かった。またB35-B62 (1.6倍), B55-B61 (1.9倍) では高い傾向が認められた。10組以下では、B55-B35 (2.4倍), B60-B46 (1.8倍), B67-B62 (2.9倍) が高く, B7-B35 (1.9倍), B60-B35 (1.6倍) が低い傾向を両施設で示された。これらは両施設共に認められた。一部を除き、今の集団が維持されており、改めて異なったタイプを求めて婚姻する必要がないのかもしれない。例外的な組み合わせについては今後詳細な検討を行ない、発表したい。

key words: Mate, HLA-B antigens

胃, 肺癌患者における TNF- β 遺伝子多型性の検討

土田文子^{*1)}, 志村龍男・萩原政夫・竹部兼太郎・
バトムフムンフバト^{*2)}, 加藤治文^{*3)}, 生越喬二^{*4)}, 辻 公美^{*1,2)}

^{*1)}東海大学病院細胞移植医療センター移植免疫室, ^{*2)}東海大学医学部移植免疫学

^{*3)}東京医科大学医学部第一外科, ^{*4)}東海大学医学部第二外科

要旨: 癌患者におけるステージ分類には、宿主因子を反映しているものは少ない。今回、宿主因子の一つとしてTNF- β 遺伝子多型性とHLAタイピングを行った。胃癌患者143人と肺癌患者135人、および正常者165人を対象とした。胃、肺癌患者とHLAとの間には有意差は見られなかった。肺癌患者では、TNF- β 10.5/10.5-kb alleleが38.5%と正常の53.3%に対して有意に低下していた($P < 0.05$)。予後との関係では、10.5/10.5-kb alleleが肺癌患者のステージIII+IVで5生率において有意に($P < 0.05$)予後良好であり、胃癌においても3生率で87.1%と有意に($P < 0.05$)予後良好であった。TNF- β 10.5/10.5-kb alleleは、予後因子の一つとして有用であると思われる。

key words: TNF- β , gastric cancer, lung cancer, prognosis

抗原ペプチドのアナログによる T細胞性免疫応答の修飾

西村泰治・Yu-zhen Chen・五十川修司・松下 祥*

*熊本大学免疫識別学

要旨：本研究は抗原ペプチド上の単一のアミノ酸を置換することにより生ずるT細胞性免疫応答の変化を解析し、これを免疫異常に起因する疾病の治療法の開発に応用することを目的とする。このために溶連菌M蛋白あるいはスギ花粉主要アレルゲン（Cry jI）に特異的なヒトCD4⁺T細胞クローンを樹立し、それぞれの抗原に由来するT細胞エピトープを含むペプチドおよびそのアナログを合成した。さらに HLA-DR分子とペプチドの結合およびDR分子により提示されたペプチドを認識したT細胞クローンの増殖応答あるいはサイトカインの分泌パターンを解析した。この結果、以下のことが明らかとなった。1) ペプチド上のDR結合性アミノ酸残基の周囲に、T細胞レセプター(TCR)により認識されるアミノ酸が4個存在する。2) TCRサイトのアナログペプチドの多くがTCRアンタゴニストとしてT細胞の抗原認識を抑制した。3) アナログペプチドの一部には特定のサイトカインの応答のみを変化させるものが存在した。