

MHC

Major Histocompatibility Complex

日本組織適合性学会誌 第2巻第2号 平成7年11月1日発行

Contents

Ridley & Jopling分類によるらしいの病型とHLA上甲 覚, 並里 まさ子, 増田 寛次郎, 平田 蘭子, 前田 平生	55
PCR-SSP法による日本人集団のHLA-C遺伝子タイピング安藤 等, 水木 信久, 山本 理絵, 宮田 義久, 脇坂 和男, 猪子 英俊	60
[最新情報: "玉手箱"] 血清学的タイピングと遺伝子タイピングの異同 (2)	中島 文明 67
[最新情報: "玉手箱"] 最新アレル情報	小林 賢 71
[最新情報: "玉手箱"] 最新PCR-RFLP情報: 1995年版 Nomenclature for factors of the HLA systemを対象とした, PCR-RFLP法によるDRB1, DPB1タイピング兼重 俊彦, 稲川 明, 福森 泰雄, 猪子 英俊	76
[海外ラボ紹介] Harvard大学—Jack L. Strominger教授の研究室—	菅原 稔 85
[国際学会印象記] EFI & BSHI合同ミーティング (1995年)	坂内 誠 88
[書評]	大谷 文雄 90
[Q & A]	阿藤みや子, 小林 賢 91
[伝言板] 第24回国際輸血学会総会のお知らせ	湯浅 晋治 92
第12回 近畿HLA研究会 抄録	94
日本組織適合性学会会則	100
日本組織適合性学会平成6年度決算報告書	103
日本組織適合性学会平成7年度予算案	104
<日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定>	105
編集後記	107
日本組織適合性学会会員名簿	

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of The Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

JSHI

Contents

Ridley & Jopling分類によるらいの病型とHLA上甲 寛, 並里 まさ子, 増田 寛次郎, 平田 蘭子, 前田 平生	55
PCR-SSP法による日本人集団のHLA-C遺伝子タイピング安藤 等, 水木 信久, 山本 理絵, 宮田 義久, 脇坂 和男, 猪子 英俊	60
〔最新情報: “玉手箱”〕 血清学的タイピングと遺伝子タイピングの異同 (2)	中島 文明 67
〔最新情報: “玉手箱”〕 最新アレル情報	小林 賢 71
〔最新情報: “玉手箱”〕 最新PCR-RFLP情報: 1995年版 Nomenclature for factors of the HLA systemを対象とした, PCR-RFLP法によるDRB1, DPB1タイピング兼重 俊彦, 稲川 明, 福森 泰雄, 猪子 英俊	76
〔海外ラボ紹介〕 Harvard大学—Jack L. Strominger教授の研究室—	菅原 稔 85
〔国際学会印象記〕 EFI & BSHI合同ミーティング (1995年)	坂内 誠 88
〔書評〕	大谷 文雄 90
〔Q & A〕	阿藤みや子, 小林 賢 91
〔伝言板〕 第24回国際輸血学会総会のお知らせ	湯浅 晋治 92
第12回 近畿HLA研究会 抄録.....	94
日本組織適合性学会会則.....	100
日本組織適合性学会平成6年度決算報告書	103
日本組織適合性学会平成7年度予算案.....	104
〈日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定〉	105
編集後記.....	107
日本組織適合性学会会員名簿	

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of the Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

J S H I

〔原著論文〕 Ridley & Jopling 分類によるらいの病型とHLA

上甲 寛^{1,3)}, 並里 まさ子²⁾, 増田 寛次郎¹⁾, 平田 蘭子³⁾, 前田 平生³⁾

¹⁾東京大学医学部, 眼科学教室, ²⁾国立療養所多磨全生園, 基本治療科, ³⁾埼玉医科大学総合医療センター, 輸血部

(平成7年8月25日受付)

要約

日本人らいで, Ridley & Jopling の5分類による病型とHLAとの相関を検討した。対象は, らい患者105例と正常対照の健康成人100例である。患者群の内訳は, lepromatous(LL)型23例, borderline-lepromatous(BL)31例, mid-borderline(BB)18例, borderline-tuberculoid(BT)33例である。HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ抗原の検索は, 対象者の末梢リンパ球を用い補体依存性リンパ球細胞障害試験を行った。その結果, HLA-DR2の頻度は, 対照群で100例中35例(35.0%), 患者群全体で105例中67例(63.8%), LL型で23例中17例(73.9%), BLで31例中16例(51.6%), BBで18例中14例(77.8%), BTで33例中20例(60.6%)であった。しかし, 対照群との比較においてHLA-DR2の増加は, 患者群全体(オッズ比=3.3, $P<0.005$)とLL型(オッズ比=5.3, $P<0.05$)でのみ有意性を示した。一方, HLA-DR53は対照群(69.0%)との比較において, 患者群全体(43.8%)で有意に低下していた(オッズ比=0.35, $P<0.05$)。病型間の比較では, BLはBBに比べてHLA-Bw4が有意に低下していた。らい患者におけるLL型の感受性因子の一つとして, HLA-DR2が考えられた。

キーワード:

らい, Ridley & Jopling 分類, HLA 抗原, HLA-DR2

はじめに

らいは, らい菌という単一病原菌によって発症する疾患でありながら個体の抵抗力の差などにより異なる病型を示す特徴がある。らいの病型は, 1953年の第6回国際らい会議で決定された2群, 2型(未定型群, 境界群, 類結核型, らい腫型)のマドリッド分類を基礎とし, その後, 臨床と病理所見からRidleyとJopling(R&J)の提唱した5分類が広く用いられている(1)。それによるとらい菌に対してほとんど抵抗を示さないlepromatous(LL)typeを一方の極とし, 抵抗力を示し自然治癒もありうるtuberculoid(TT)typeを他方の極としている。そして, LLとTTの中間型をLL型に近い方からborderline-lepromatous(BL), mid-borderline(BB), borderline

-tuberculoid(BT)の3つに分けている。

これまでに, らい発症の感受性因子としてヒト主要組織適合抗原(HLA)の検索が試みられ, HLA-DR2とDQ1の関連が報告されている(2)。現在では, DNAレベルでの検索がなされている(3, 4)。また, R&Jの5分類による病型の違いとHLAの相関を検討した報告もみられる(5, 6)。しかし, 日本人らいにおいては, 国際的らいの病型分類であるR&Jの5分類とHLAの関連を述べた報告はない。また, 日本人以外でも境界群のBL, BB, BTすべてを検討した報告はない。今回, 日本人らいでR&Jの5分類による病型とHLAとの相関を検討したので報告する。

材料と方法

1. 対象

国立療養所多磨全生園基本治療科外来を受診したらい患者105例と、正常対照として健康成人100例を対象とした。らいの病型分類は過去の記録から Ridley&Jopling の5分類に基づいて、1人の皮膚科専門医が行なった。患者群の内訳は、LL型は23例(男性15例, 女性8例)で平均年齢は67.0±7.2歳(平均値±標準偏差), 境界群のBLは31例(男性19例, 女性12例)で平均年齢は66.6±8.7歳, BBは18例(男性7例, 女性11例)で平均年齢は70.8±8.2歳, BTは33例(男性14例, 女性19例)で平均年齢は67.3±11.4歳であった。

2. 方法

1) 血清学的タイピング

HLA-A, -B, -C, -DR, DQ 抗原の検索は105例のらい患者と、100例の健康成人の末梢血のリンパ球

を用い補体依存性リンパ球細胞障害試験を行った(7)。

2) 統計解析

統計学的検討にはカイ2乗検定を行い、期待値が5以下の場合は Fisher の直接確率法を用いた。そして、相関の有意性を判定するために P 値は Bonferroni の補正を行い、得られた Corrected P (Pc) 値が5%未満を統計学的に有意差ありとした(8, 9)。

結果

1) らいの病型と対照群間の比較

HLA クラス I の抗原頻度には、有意な差を認めるものはなかった。

クラス II では、HLA-DR2 に有意な差を認め、患者群全体では105例中67例63.8%, 対照群は100例中35例35.0%でオッズ比3.3であった。病型でみると、HLA-DR2 は LL 型と対照群との間にのみ有意差を認め、LL 型は23例中17例73.9%でオッズ比5.3であ

表1. 病型別らい患者群と対照群のHLA抗原頻度

抗原	患者群	LL	BL	BB	BT	対照群
	n=105 n(%)	n=23 n(%)	n=31 n(%)	n=18 n(%)	n=33 n(%)	n=100 n(%)
Bw 4	56(53.3)	14(60.9)	8(25.8)# 4	15(83.3)	19(57.6)	59(59.0)
DR 1	13(12.4)	3(13.0)	4(12.9)	2(11.1)	4(12.1)	8 (8.0)
DR 2	67(63.8)# 1	17(73.9)# 2	16(51.6)	14(77.8)	20(60.6)	35(35.0)
DR 4	26(24.8)	7(30.4)	3 (9.7)	5(27.8)	11(33.3)	42(42.0)
DR 6	30(28.6)	4(17.4)	9(29.0)	7(38.9)	10(30.3)	24(24.0)
DR 8	13(12.4)	3(13.0)	7(22.6)	1 (5.6)	2 (6.1)	26(26.0)
DR 9	20(19.0)	3(13.0)	8(25.8)	4(22.2)	5(15.2)	33(33.0)
DR11	6 (5.7)	1 (4.3)	4(12.9)	1 (5.6)	0 (0)	2 (2.0)
DR12	7 (6.7)	2 (8.7)	1 (3.2)	0 (0)	4(12.1)	7 (7.0)
DR13	14(13.3)	2 (8.7)	5(16.1)	2(11.1)	5(15.2)	19(19.0)
DR14	12(11.4)	2 (8.7)	4(12.9)	2(11.1)	4(12.1)	7 (7.0)
DR52	41(39.0)	7(30.4)	12(38.7)	8(44.4)	14(42.4)	31(31.0)
DR53	46(43.8)# 3	10(43.5)	11(35.5)	10(55.6)	15(45.5)	69(69.0)
DQ 1	88(83.8)	20(87.0)	25(80.6)	16(88.9)	27(81.8)	73(73.0)
DQ 3	54(51.4)	11(47.8)	18(58.1)	10(55.6)	15(45.5)	59(59.0)
DQ 4	14(13.3)	3(13.0)	2 (6.5)	3(16.7)	6(18.2)	32(32.0)
DQ 7	25(23.8)	6(26.1)	9(29.0)	5(27.8)	5(15.2)	17(17.0)

1:Pc<0.005, χ^2 値=17.0, オッズ比=3.3 (患者群と対照群間)

2:Pc<0.05, χ^2 値=11.6, オッズ比=5.3 (LL型と対照群間)

3:Pc<0.05, χ^2 値=13.2, オッズ比=0.35 (患者群と対照群間)

4:Pc<0.05, χ^2 値=12.9, オッズ比=0.07 (BLとBB間)

った(表 1). HLA-DR53は, 患者群全体と対照群との間にのみ有意差を認めオッズ比0.35であった(表 1).

2) 病型間の比較

HLA クラス I の抗原頻度では, HLA-Bw4に有意な差を認め, BL は31例中8例25.8%で, BB(18例中15例83.3%) との比較においてオッズ比0.07であった(表 1). HLA クラス II の抗原頻度には, 有意な差を認めるものはなかった.

考察

日本の病型分類は, 1980年頃まで, マドリッド分類を基礎にして境界群を可能な限り減らし, 主に類結核型とらい腫型の2型に分ける方法が用いられてきた(10). しかし, 1989年以降, 日本においてもらいについてその病型を記載するとき, Ridley&Jopling の5分類に準拠することになった(11). 国際的にも, R&J の5分類は広く利用されているので, 日本人らいにおいて, この分類法の病型で HLA との相関を検討することは, 他国での結果と比較するうえでも重要である.

これまでらいの発症および病型の違いと HLA との間に関連があることが報告されている. 1990年に Todd らは, らい全体とらい腫型と類結核型において, HLA との相関を10数カ国の過去のデータを用いて統計学的にまとめた(2). その結果, HLA の血清学的なタイピングにおいて, らい全体, らい腫型, 類結核型で DR2 と DQ1 の関与を認めている. しかし, 病型の定義が異なるものが含まれているので, 国際分類法である R&J の5分類に基づき検討する必要がある.

Kim らは韓国人のらいを R&J の5分類で病型を分け, LL と TT 型で HLA の血清学的タイピングを行ない, 特定の HLA と相関するか比較検討した(5). しかし, 両病型とも HLA-DR2 と DQ1 の頻度は, 対照群に比べて増加をみたが, P 値を補正すると統計学的に有意差はなかった. また, DR4 と DR53 は, 両病型とも減少していたが, Pc 値では有意差はなかった. Rani らもインド人のらいを R&J の5分類で病型を決定し, LL, BL, BB 型で HLA の血清学的タイピングをおこなった(6). その結果, LL 型は対照

群との比較において, HLA-B60, DR2, DR8, DQ1 が有意に増加した. BL 型は対照群との比較において, DR9 と DQ7 の有意な増加をみた. BB 型では, B40のみ対照群との比較において有意に増加した. しかし, 病型どうしでの比較では, 有意な差をみた HLA 抗原はなかった.

我々の結果では, 患者群全体と LL 型は対照群に比べて, HLA-DR2 との間に正の相関があった. オッズ比をみると, LL 型は患者群全体より HLA-DR2 との関連が強いことがわかった. 人種を越えて, DR2 は LL 型と相関しており, らいにおける LL 型の感受性因子の一つであると考えられる. 一方, HLA-DR53 を患者群全体および病型でみた場合, 患者群全体でのみ対照群と比較して負の相関を示した. DR53 はらい発症の抵抗因子の一つである可能性が示唆された. DR53 は DR4, 7, 9 に連鎖する DRB4 遺伝子産物である. HLA-DR7 は日本人ではほとんどみられないため, DR53 の有意な低下は DR4, 9 の減少に関連している可能性も考えられる. DR4 と DR9 の頻度はともに, 対照群に比べて有意差はないものの減少していた. それ故, らいの発症には DR4 と DR9 も抵抗性に働いているのかもしれない. HLA-DR4 と DR9 に関しては, さらに症例を増やし検討する必要がある.

LL 型では, らい菌に対する細胞性免疫が抑制され, 液性免疫が亢進していることが明らかにされている. Anderson らは, HLA-DR2 分子の B3 鎖(現在の DRB5 遺伝子産物)の第3超可変領域とらい菌由来の 65kD 蛋白質中の T 細胞の認識する抗原決定基の一つは, そのアミノ酸配列が類似していると報告している(12). そのため, T 細胞へ抗原提示しても自己と認識するためらい菌を排除する免疫応答が働かず, 菌は増殖を続け, 病態は LL 型へと悪化する可能性が考えられる. また, HLA-DQ によるらい菌由来のある抗原ペプチドの提示は, サプレッサー T 細胞を活性化し, ヘルパー T 細胞の免疫応答を抑制するとの報告もある(13, 14). 今回の結果では, DQ1 は LL 型で 87% と高頻度であったが, 対照群も 73% であるため有意差はなかった. しかし, 今後さらに症例を増やし検討する必要がある.

ヘルパー T 細胞には Th1 や Th2 と呼ばれるタイ

ブがあり、それぞれ異なる機能を有することが知られている(15, 16)。LL型の病変部にはTh2型様のT細胞が多いと報告されており、Th2型のT細胞がインターロイキン4を分泌してB細胞の抗体産生能を高め、III型のアレルギー反応を起こしやすいと考えられている(17)。このTh2型のT細胞の活性化にHLA-DR2または密に連鎖するDRB5などの他のHLA遺伝子産物が関与している可能性がある。

境界群のBL, BB, BTでは、対照群との比較において、HLA-DR2, DQ1頻度は増加しているが、統計学的に有意な差はなかった。病型間での比較では、BLでHLA-Bw4の有意な減少をみたが、他の病型では有意な増減を示すHLA抗原はなかった。境界群のデータは他国でもほとんどないので、今後、さらに症例を増やし検討する必要がある。

本研究では、血清学的タイピングで、日本人らいでは初めてRidley&Joplingの5分類での病型とHLAとの相関を解析し考察したが、今後さらに症例を増やしHLAのDNAタイピングを行い検討する予定である。

参考文献

1. Ridley DS, Jopling WH: Classification of leprosy according to immunity; a five-group system. *Int. J. Lepr.* **34**: 2255-273, 1966.
2. Todd JR, West BC, McDonald JC: Human leukocyte antigen and leprosy: study in northern Louisiana and review. *Rev. Infect. Dis.* **12**: 63-74, 1990.
3. Rani R, Fernandez-Vina MA, Zaheer SA, *et al.*: Study of HLA class II alleles by PCR oligotyping in leprosy patients from north India. *Tissue Antigens* **42**: 133-137, 1993.
4. 上甲覚, 沼賀二郎, 藤野雄次郎ら: らいのぶどう膜炎とHLA-DR 2対立遺伝子, 日本らい学会雑誌, **64**: 112-118, 1995.
5. Kim SJ, Choi IH, Dahlberg S, *et al.*: HLA and leprosy in Koreans. *Tissue Antigens* **29**: 146-153, 1987.
6. Rani R, Zaheer SA, Mukherjee R: Do human leukocyte antigens have a role to play in differential manifestation of multibacillary leprosy: A study on multibacillary leprosy patients from North India. *Tissue Antigens* **40**: 124-127, 1992.
7. Maeda H, Juji T: A new B-cell alloantigen, TB21, coded for in the HLA-D/DR region. *Tissue Antigens* **20**: 327-334, 1982.
8. Dunn OJ: Multiple comparisons among means. *Am. J. Stat. Assoc.* **56**: 52-64, 1961.
9. 西村泰治: 多型の統計学的解析法, 最新医学, **46**: 909-923, 1991.
10. らい研究協議会: らいの病状, 病勢および病型の分類とその記載要領について. レプラ, **28**: 391-392, 1959.
11. らいの病型表示に関する国立らい療養所協同研究班: 病型表示に関する協同研究の決定事項. 日本らい学会雑誌, **58**: 137-139, 1989.
12. Anderson DC, van Schooten WCA, Barry ME, *et al.*: A Mycobacterium leprae-specific human T cell epitope cross reactive with a HLA-DR2 peptide. *Science* **242**: 259-260, 1988.
13. Ottenhoff THM, deVries RRP: HLA class II immune response and suppression gene in leprosy. *Int. J. Lepr.* **55**: 521-534, 1987.
14. Ottenhoff THM, Walford C, Nishimura Y, *et al.*: HLA-DQ molecules and the control of Mycobacterium leprae-specific T cell nonresponsiveness in lepromatous leprosy patients. *Eur. J. Immunol.* **20**: 2347-2350, 1990.
15. Powrie F, Coffman RL: Cytokine regulation of T-cell function: potential for therapeutic intervention. *Immunology Today* **14**: 270-274, 1993.
16. Stadecker MJ, Flores Villanueva PO: Accessory cell signals regulate Th-cell responses: from basic immunology to a model of helminthic disease. *Immunology Today* **15**: 571-574, 1994.
17. Yamamura M, Uyemura K, Deans RJ, *et al.*

: Defining protective responses to pathogens : cytokine profiles in leprosy lesions.

Science **254**: 277-279, 1991.

HLA and leprosy classified by Ridley & Jopling's criteria

Satoru Jokoi³⁾, Masako Namisato²⁾, Kanjiro Masuda¹⁾, Ranko Hirata³⁾ and Hiroo Maeda³⁾

- 1) Department of Ophthalmology, University of Tokyo School of Medicine
- 2) National Leprosarium, Tama-Zensho-En
- 3) Blood Transfusion Service, Saitama Medical Center, Saitama Medical School

Summary

Human leukocyte antigens (HLA) were analyzed in Japanese leprosy patients to ascertain whether immunogenetic differences exist among the forms of leprosy in classification of Ridley & Jopling. The subjects were 105 Japanese leprosy patients, including 23 lepromatous (LL), 31 borderline lepromatous (BL), 18 borderline lepromatous (BB) and 33 border line tuberculoid (BT). Controls were 100 healthy subjects. A standard microcyto toxicity test was used for typing HLA-A, -B, -C, -DR and -DQ antigens. The occurrence of HLA-DR2 antigen was significantly increased in the whole patients (63.8%) and the LL patients (73.9%) as compared with the control subjects (35.0%). The association with DR2 was even stronger in the LL patients (odds ratio = 5.3, $P < 0.05$) than in the whole patients (odds ratio = 3.3, $P < 0.005$). On the other hand, HLA-DR53 antigen was significantly decreased in the whole patients (43.8%) as compared with the control subjects (69.0%). HLA-Bw4 antigen was significantly decreased in the BL patients (25.8%) as compared with the BB patients (83.3%). Our results suggest that HLA-DR2 contributes to the susceptibility to the LL leprosy.

Key words:

Leprosy, classification of Ridley & Jopling, HLA antigens, HLA-DR2

〔原著論文〕 PCR-SSP法による日本人集団の HLA-C遺伝子タイピング

安藤 等¹⁾, 水木 信久²⁾, 山本 理絵¹⁾, 宮田 義久¹⁾, 脇坂 和男¹⁾, 猪子 英俊²⁾

¹⁾湘南赤十字血液センター, 検査課, ²⁾東海大学医学部, 分子生命科学

(平成7年9月8日受付)

要約

日本人非血縁健康成人74例及び10th 国際 HLA ワークショップの B 細胞ホモ接合体90例を対象として HLA-C 遺伝子の DNA タイピングを PCR-SSP (polymerase chain reaction-sequence specific primers) 法にて施行した. Bunce らの方法 (1, 2) に準じて, 19種類のプライマーセットを合成し, タイピングに用いた. その結果, 血清学的にタイピング可能な HLA-C 抗原 (Cw1-Cw10) はすべて PCR-SSP 法により, 簡単かつ迅速に DNA タイピングが可能であった. 一方, 良い抗血清がないため血清学的にタイピング不可能な, いわゆる HLA-C ブランクとなる HLA-C アロ抗原型に関しても, PCR-SSP 法により簡単にタイピングが可能であった. HLA-Cw3抗原は, PCR-SSP 法により数個のアリルが個別に DNA タイピングが可能であった. さらに, 今回新しいアリルの存在が示唆された. 血清学的にタイピング可能な HLA-C 抗原 (Cw1-Cw10) の抗原頻度は, PCR-SSP 法による DNA タイピングのアリル頻度と一致していた. また, 血清学的にタイピング不可能な HLA-Cw*12, -Cw*14, -Cw*15アリル頻度は, それぞれ16.2%, 23.0%, 6.8%であった.

キーワード:

HLA-C, PCR-SSP, DNA タイピング, 集団頻度

はじめに

HLA 抗原系の解析は抗血清の発見を発端に, これに対応する抗原が同定され, 蛋白ならびに分子レベルでの解析へと進展してきた. 一方, 近年急速に発展したバイオテクノロジー (組換え DNA 技術や細胞工学的手法) の応用により, HLA 抗原の構造と機能の解析のみならず, 臨床医学への応用面においても, これまでとまったく違ったアプローチが可能となり, 従来の方法では検出できない多型性が多く存在することが明らかになった. 現在, HLA 抗原には血清学的に同定できる129種あまりの多型性が知られている. しかし, DNA レベルでの多型性については未知の部分も少なくない. 特に HLA-C 抗原は HLA-Cw1~Cw10の抗原が公認されている. しかしながら, 血清学的同定は他のクラス抗原に比べ困難であり, いずれの人種においても

30~50% (遺伝子頻度) のブランクが残されている.

著者らは, この点を明らかにするために 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 PCR-sequence-specific primer (PCR-SSP) 法を用いて, 血清学的にタイプされた B 細胞ホモ接合体について, アリル特異的プライマー19種による HLA-C 遺伝子の増幅の成否で判定した. また, 血清学的に判定不能の, いわゆる HLA-C ブランクとなる HLA-C アロ抗原型についても検討した. さらに日本人非血縁健康成人74例を対象に HLA-C アリルの遺伝子頻度について調べた.

材料と方法

HLA-ホモ接合体 B 細胞株および末梢血よりグアニン・チオシアナート法 (3) を用いてゲノム DNA を抽出

表1 PCR-SSP法 HLA-Cタイピングに用いたプライマー

Primer mixes	Sense primer annealing site	Length	Antisense primer annealing site	Length	Size bp	HLA allelic specificity
HLAC01	Ex3 58- 76	19	Ex4 195-214	20	1026	HLA-Cw*0101, 0102
HLAC02	Ex2 221-239	19	Ex3 216-233	18	521	HLA-Cw*0201, 02021, 02022, Cw*1701
HLAC03	Ex2 58- 76	19	Ex3 246-265	20	208	HLA-Cw*0303, 0304
HLAC302	Ex3 59- 76	18	Ex3 246-265	20	207	HLA-Cw*0302
HLAC09	Ex2 252-270	19	Ex3 246-265	20	530	HLA-Cw*0303
HLAC10	Ex2 253-270	18	Ex3 246-265	20	529	HLA-Cw*0302, 0304
HLAC04	Ex2 221-239	19	Ex3 25- 42	18	330	HLA-Cw*0401, 0402
HLAC05	Ex2 221-239	19	Ex3 233-251	19	538	HLA-Cw*0501
HLAC06	Ex2 221-239	19	Ex3 18- 36	19	324	HLA-Cw*0602
HLAC07	Ex3 59- 76	18	Ex4 234-251	18	1062	HLA-Cw*0701, 0702, 0703
HLAC704	Ex2 248-268	20	Ex3 258-275	18	536	HLA-Cw*0704
HLAC08	Ex2 211-229	19	Ex3 258-275	18	573	HLA-Cw*0801, 0802, 0803
HLAC12a	Ex2 211-229	19	Ex3 134-151	18	449	HLA-Cw*1201, 12021, 12022
HLAC12b	Ex2 211-229	19	Ex3 131-148	17	453	HLA-Cw*1203
HLAC14	Ex2 4- 24	21	Ex3 18- 36	19	541	HLA-Cw*1401, 1402, 1403
HLAC15a	Ex2 221-239	19	Ex3 66- 85	20	373	HLA-Cw*1501, 1502, 1503, 1505
HLAC15b	Ex2 221-239	19	Ex3 195-213	19	500	HLA-Cw*1501, 1502, 1503, 1504, Cw*1701
HLAC16a	Ex2 211-229	19	Ex3 196-214	19	512	HLA-Cw*1601
HLAC16b	Ex2 221-239	19	Ex3 196-214	19	502	HLA-Cw*1602

した。HLA-C 遺伝子内の多型性に富む第2エキソンおよび第3エキソン領域に設定された各 allele 特異的な塩基配列に対応するアレル特異的プライマー、19種(1, 2)(表1)を用いてPCR(polymerase chain reaction)法により増幅した。内部コントロールとして、各反応液には各アレル特異的プライマーと共に HLA-C 遺伝子近傍のイントロン領域に設定したプライマー(5'-TGACAGCAGTCGCTCCAG-3', 5'-TCATCCCTACCCTTCTGCAC-3' 142bp)を加えて、PCRの陽性対照とした。PCR反応組成は、80mM Tris-HCl (pH9.0), 2 mM MgCl₂, 20mM (NH₄)₂SO₄, 0.2 mM dNTP(dATP, dTTP, dGTP, dCTP), 5% dimethylsulfoxide(DMSO), 0.25 μM のプライマー, 0.1μM の内部コントロールプライマー, ゲノムDNA, および0.5単位 Taq ポリメラーゼから成り、反応液量は計10μl に調整した。PCR は MJ RESEARCH, INC 社の Programmable Thermal Controller (PTC-100TM)を用いて、以下のサイクルで行った。まず、94°Cで22秒変性、67°Cで50秒アニーリング、72°Cで30秒伸長反応を3サイクル行い、その後、94°Cで22秒変性、65°Cで50秒アニーリング、72°Cで30秒伸長反応を25サイクル行った。PCR産物は2%アガロースゲルを

用いて0.5×TBE(89mM Tris base, 89mM ホウ酸, 2 mM EDTA, pH8.0)緩衝液にて電気泳動を行い、EtBr 染色後、UV 照射にて増幅バンドを観察した。1サンプル当たり、各アレル特異的プライマーセット19種類のPCRを行い、その増幅バンドの成否から判定した。

結果

血清学的にタイプされた日本人非血縁健康成人74例と10th 国際 HLA ワークショップのホモ接合体 B 細胞株90例より得られたゲノム DNA を対象に、HLA-C 遺伝子の各アレルに特異的な塩基配列のみを特異的に増幅するアレル特異的プライマー19種を用いてPCR-SSP法を行い、既知の抗原特異性を決定する HLA-C 遺伝子の増幅の成否を解析したところ、Cw*01(Cw*0101/Cw*0102)は1026bp, Cw*02(Cw*0201/Cw*02021/Cw*02022/Cw*1701)は521bp, Cw*03(Cw*0303/Cw*0304)は208bp, Cw*0302は207bp, Cw*0303は503bp, Cw*03(Cw*0302/Cw*0304)は529bp, Cw*04(Cw*0401/Cw*0402)は330bp, Cw*0501は538bp, Cw*0602は324bp, Cw*07(Cw*0701/Cw*0702/Cw*0703)は1062bp, Cw*0704は536bp, Cw*08(Cw*0801/Cw*0802/Cw*0803)は573bp, Cw*1201/Cw*

12021/Cw*12022)は449bp, Cw*1203は453bp, Cw*14(Cw*1401/Cw*1402/Cw*1403)は541bp, Cw*15(Cw*1501/Cw*1502/Cw*1503/Cw*1505)は373bp, Cw*15(Cw*1501/Cw*1502/Cw*1503/Cw*1504/Cw*1701)は500bp, Cw*1601は512bp, Cw*1602は502bpにそれぞれ内部コントロール142bpとともにPCR産物が目的とする配列に特異的,かつ効率よく増幅され,タイピングが可能であった(図1).また,血清学的にタイピング不可能なブランク抗原Cw*12, Cw*14, Cw*15, Cw*16, Cw*17についても,明瞭に識別された.さらに,血清学的特異性(Cw1-Cw10)とPCR-SSP法によるDNAタイピングの結果と1対1で対応していた.また,PCR-SSP法によりHLA-Cw3抗原の部分抗原であるHLA-Cw9抗原がCw*0303にHLA-Cw10抗原がCw*0304にそれぞれ対応し,アリルレベルでDNAタイピングが可能であった.さらに,今回Cw*03(Cw*0302, Cw*0303, Cw*0304)とは異なるアリルを見出し,新たなサブタイプが存在する可能性が考えられた.すなわち,HLA03のプライマーのみにより増幅され,HLAC302, HLAC09とHLAC10のプライマーでは増幅されないサンプルが2例検出された.

次に,日本人非血縁健康成人74例を対象にHLA-Cアリル頻度について調べたところ, Cw*01は33.8%, Cw*0303は17.6%, Cw*0304は27.0%, Cw*04は8.1%, Cw*0501は1.4%, Cw*07は21.4%, Cw*08は32.4%であった.このことから,血清学的にタイピング可能なHLA-C抗原(Cw1-Cw10)の抗原頻度は,PCR-SSP法によるDNAタイピングのアリル頻度と一致していた.また,血清学的にタイピング不可能なブランク抗原Cw*12, Cw*14, Cw*15のアリル頻度は,それぞれ16.2%, 23.0%, 6.8%であった.なお, Cw*02, Cw*0302, Cw*0602, Cw*0704, Cw*1203, Cw*1504, Cw*1505, Cw*1601, Cw*1602とCw*1701については今回のサンプルからは検出されなかった(表2).

考察

近年,HLA抗原のアロ特異性に対応する多型性はPCR法の開発に伴ってHLAクラスII抗原はDNAレベルでタイピングすることが可能となり,血清学的あるいは細胞学的手法では区別の困難なサブタイプが多数存在することが明らかにされている.HLAクラスI

表2 日本人におけるHLA-Cアリルの頻度(N=74)

Alleles	N	Frequency
Cw*0101/0102	25	33.8%
Cw*0201/02021/02022	0	0%
Cw*0302	0	0%
Cw*0303	13	17.6%
Cw*0304	20	27.0%
Cw*0401/0402	6	8.1%
Cw*0501	1	1.4%
Cw*0602	0	0%
Cw*0701/0702/0703	16	21.6%
Cw*0704	0	0%
Cw*0801/0802/0803	24	32.4%
Cw*1201/1202	12	16.2%
Cw*1203	0	0%
Cw*1401/1402/1403	17	23.0%
Cw*1501/1502/1503	5	6.8%
Cw*1504	0	0%
Cw*1505	0	0%
Cw*1601	0	0%
Cw*1602	0	0%
Cw*1701	0	0%

抗原についても,同様に血清学的レベルよりはるかに多くのサブタイプが存在することが塩基配列の決定により明らかになっている(5).

著者らは,HLA-C座抗原は他のHLAクラスI抗原に比べて血清学的に同定が困難であり,遺伝子頻度のうえからもブランクの多いことに注目し,PCR-SSP法によるHLA-Cアリルの遺伝的多型性を19種類のプライマーを用いてDNAタイピングを試みた.その結果,血清学的にタイピング可能なHLA-C抗原(Cw1-Cw10)はすべてPCR-SSP法により,簡単かつ迅速にDNAタイピングが可能であった.さらに抗血清がないため,血清学的にタイピング不可能であることからHLA-CブランクとなるHLA-Cアロ抗原型に関しても,PCR-SSP法により簡単にタイピングが可能であった.一方,PCR-SSP法によりHLA-Cw3抗原の部分抗原であるHLA-Cw9抗原はCw*0303に,HLA-Cw10抗原はCw*0304に対応することが判明した.さらに,今回新しいアリルが示唆された.我々はこのサンプルを用いて,現在塩基配列の解析を行っている.

次に日本人非血縁健康成人74例に対して血清学的

表3 日本人におけるHLA-Cの血清学的特異性とのアリルの対応

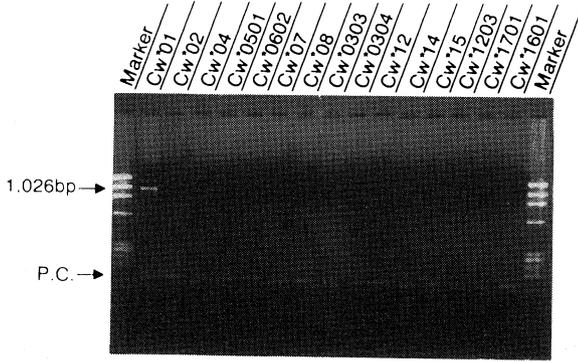
HLA-C alleles	Common HLA associations	Rare HLA association
Cw*0101/0102	Cw1	
Cw*0201/02021/02022	Cw2	
Cw*0302/0303/0304	Cw3	
Cw*0303	Cw9	
Cw*0304	Cw10	
Cw*0401/0402	Cw4	
Cw*0501	Cw5	
Cw*0602	Cw6	
Cw*0701/0702/0703/0704	Cw7	
Cw*0801/0802/0803	Cw8/Cw8N	
Cw*1201/12021/12022/1203	Cx52	
Cw*1301		
Cw*1401/1402/1403	Cx4451 (Cx44/Cx51)	
Cw*1501/1502/1503/1504/1505		Cx4451 (Cx44/Cx51)
Cw*1601/1602/1603		
Cw*1701		

にタイピング可能なHLA-C抗原(Cw1-Cw10)の抗原頻度は、PCR-SSP法によるDNAタイピングのアリル頻度と一致していた(表3)。また、血清学的にタイピング不可能のHLA-Cw*12, -Cw*14, -Cw*15アリル頻度は、それぞれ16.2%, 23.0%, 6.8%であった。このことから、HLA-CアリルをPCR-SSP法でDNAタイピングを行うことにより、調べた検体すべてについて少なくとも1つのHLA-Cアリルを同定することができ、血清学的タイピングにおける2つの染色体から由来する両者のCアリルとも決定できない、いわゆる“ブランク”をしめすようなサンプルはなかった。

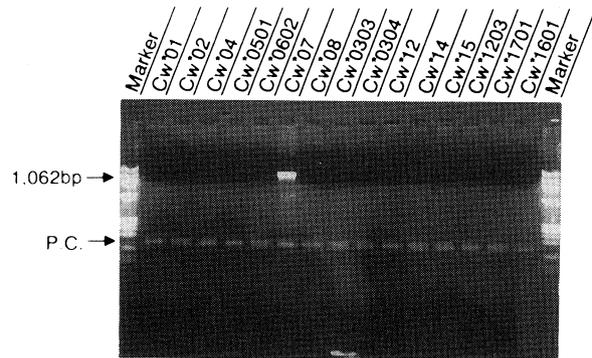
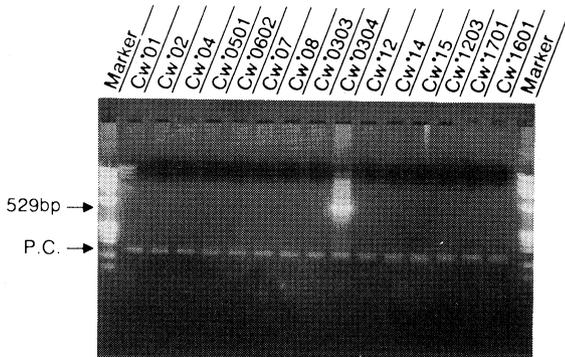
HLA抗原は自己-非自己を識別する遺伝子マーカーとして、免疫担当細胞間の相互作用と活性化に重要な役割をになっている。したがって顕著な遺伝子多型性に富んでいることが特徴的であるが、これらの各HLA抗原タイプは主として抗血清を用いたタイピングで決定されていた。しかしながらHLA抗原の血清学的タイピングの煩雑な点としては、膨大な数の経産婦血液をスクリーニングすることによって得られた多種類の抗血清を準備しなければならないことである。しかし、その供給量には限度があり、かつ、得られる抗体の特異性は、まったくの偶然性に頼らざるをえないのが現状である。また既知の抗原に対する抗血清はみづかりやすい

が、パネル細胞の不確定な未知の抗原に対するものは、見落としている可能性が高い。また、HLA抗体の供給量として有望視されているモノクローナル抗体も、これまで多くの研究者の努力にもかかわらず、HLAタイピングに使用できる特異性のすぐれたものはあまり得られていない。一方、遺伝子組換え技術や細胞工学的手法を応用し、目的とするHLA抗体を効率よく作製および検出する方法も考案された(6, 7)。しかし、PCR法の開発により、HLA抗原の遺伝子レベルでのタイピングが有用であることが明らかとなり、PCR法を利用した多数の方法が開発されている。DNAタイピングは、リンパ球の保存状態が悪くて血清学的方法によるタイピングが可能なサンプルでも確実にタイピングすることができ、かつ血清学的方法よりも詳細な分類が可能である。また、HLA抗原の遺伝的多型性の塩基配列レベルでの解析、すなわちHLA遺伝子タイピングは臓器移植、骨髄移植の適合性、疾患発症並びに病態との関連性の分子レベルでの解析にも適用されている。

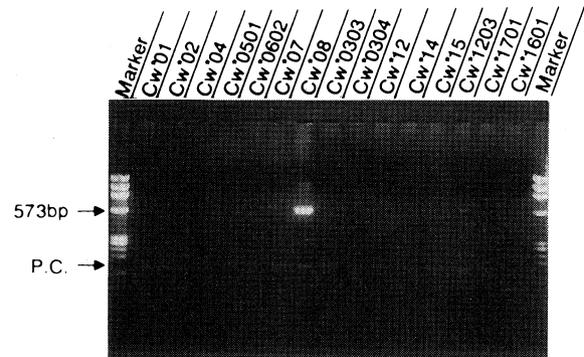
このような意味で、本研究では血清学的方法では検出できない未知のHLA-C抗原をもアリル特異的プライマーを用いてPCR-SSP法で簡便なDNAタイピングが可能となったことは意味深いと考えられる。今後、HLA-Cアリルタイピングを施行することにより、HLA-C



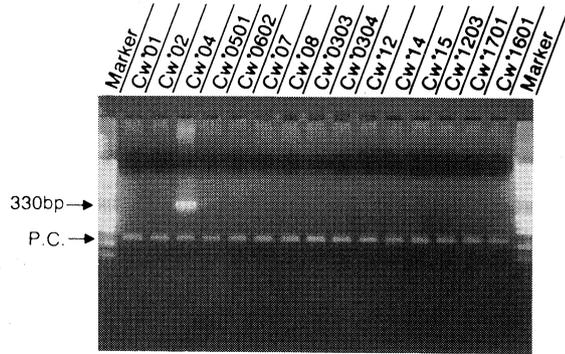
(ex 1) Cw*01 (TABO89)

(ex 5) Cw*0701/0702/0703
(MGAR)

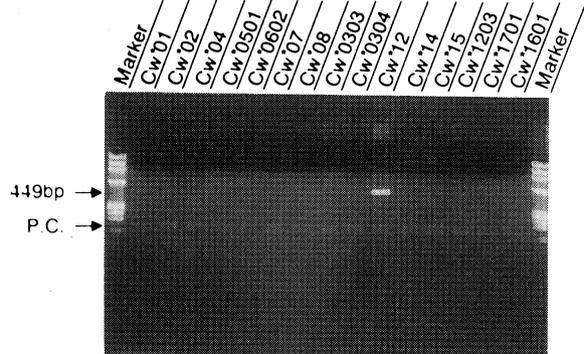
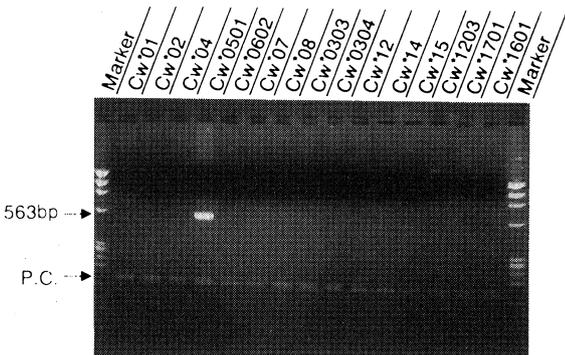
(ex 2) Cw*0304 (BOLETH)



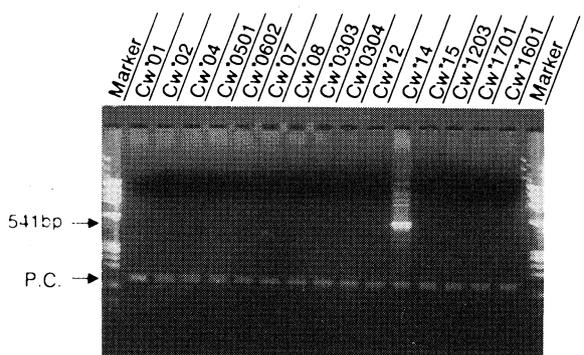
(ex 6) Cw*08 (WT61)



(ex 3) Cw*04 (WT100IS)

(ex 7) Cw*1201/1202
(B4181324)

(ex 4) Cw*0501 (DUCAF)



(ex 8) Cw*14 (HOR)

図1 PCR-SSP法によるHLA-C遺伝子タイピング。上段にしめすアルル特異的プライマー19種を用いて、10th国際HLAワークショップホモ接合体B細胞株のHLA-C遺伝子タイピングを行った。P.C.は内部ポジティブコントロールとして加えた増幅バンド、両端はサイズマーカーをしめす。

抗原の免疫機能がさらに解明されることを期待する。現在、今回使用したプライマーを用いて PCR-RFLP 法でアレルタイピングの計画を進行中である。

参考文献

1. Bunce M, Welsh KI: Rapid DNA typing for HLA-C using sequence-specific primer (PCR-SSP): Identification of serological and non-serologically defined HLA-C alleles including several new alleles. *Tissue Antigens* **43**: 7-17, 1994.
2. Bunce M, Barnardo MCNM, Welsh KI: Improvements in HLA-C typing using sequence-specific primers (PCR-SSP) including definition of HLA-Cw9 and Cw10 and a new allele HLA-"Cw7/8v". *Tissue Antigens* **44**: 200-203, 1994.
3. 小林賢, 岩崎誠, 秦美暢ら: グアニジン・チオシアナートを用いた高分子 DNA 迅速抽出法, 日本輸血学会雑誌, **40**: 413, 1994.
4. 赤座達也, 今西規, 藤原孝ら: 日本人集団における HLA 遺伝子頻度とハプロタイプ頻度, 今日移植, **7**: 87-99, 1994.
5. Bodmer JG, Marsh SGE, Albert ED, *et al.*: Nomenclature for factors of the HLA system, 1995. *Hum. Immunol.* **43**: 149-164, 1995.
6. Takata H, Inoko H, Ando A, *et al.*: Cloning and analysis of HLA class I cDNA encoding a new HLA-C specificity Cx52. *Immunogenetics* **28**: 265, 1988.
7. Ando H, Miyata Y, Takata H, *et al.*: Identification of alloantisera reacting with HLA-C blank (Cx52) using a mouse L-cell transfected with the HLA-Cw*1201 allele. *Hum. Immunol.* **36**: 76-80, 1993.

HLA-C genotyping in a Japanese population by the PCR-SSP method

Hitoshi Ando¹⁾, Nobuhisa Mizuki²⁾, Rie Yamamoto¹⁾, Yoshihisa Miyata¹⁾, Kazuo Wakisaka¹⁾, Hidetoshi Inoko²⁾

1) Shonan Red Cross Blood Center, Kanagawa, Japan

2) Department of Molecular Life Science Tokai University School of Medicine, Kanagawa, Japan

Summary

HLA-C genotyping was performed for 74 unrelated healthy Japanese volunteers as well as for 90 homozygous B cell lines provided by the 10th International Histocompatibility Workshop by the PCR-SSP (polymerase chain reaction-sequence specific primers) method. According to the previous studies, 19 allele specific primer sets were prepared and employed for HLA-C genotyping. As a result, all the HLA-C antigens defined serologically (Cw1-Cw10) could be detected easily and unequivocally by this PCR-SSP technique. Furthermore, even the serologically untypable HLA-C antigens, so called HLA-C blank, due to no reaction against any sera used could be also assigned easily by the PCR-SSP method. Each serologically defined HLA-C antigen corresponded to each allele specific primer defined allele except the HLA-Cw3 antigen which turned out to comprise several HLA-C alleles including a new allele. As for the frequencies of the serologically defined HLA-C antigens (Cw1-Cw10), there was no discrepancy between the results detected by the PCR-SSP method and those detected by the serological analysis. On the other hand, the frequencies of untypable HLA-C antigens were assigned by the PCR-SSP method as follows; Cw*12 with 16.2%, Cw*14 with 23.0%, Cw*15 with 6.8%.

Key words:

HLA-C, PCR-SSP, DNA typing, population

〔最新情報：“玉手箱”〕 血清学的タイピングと 遺伝子タイピングの異同 (2)

中島 文明

神奈川県赤十字血液センター，検査課

前回は1度で書ききれなかったため、その続きとなります。

15. B22new

福岡県赤十字血液センターの徳永らが第8回日本HLA ワークショップで提唱したB56に関連した抗原である(1)。B56 monospecific血清に反応し、B54+55.1+B56という血清に反応しないことが特徴である。B56がA31-Cw4-B56となるのに対し、B22newはA11.1-Cw1-B22newというハプロタイプを持つ。さきほどのB55.1/B55.2もそうであったが、提唱された時はBw55.1/Bw55.2/Bw22newとそれぞれ“w”が付いていた。その後、第11回国際組織適合性ワークショップの後、HLA 抗原名から“w”が取れたことから、習慣的にこれらも“w”抜きで呼ぶようになっていく。

16. B39N

これは我々が第1回日本組織適合性学会で報告したB39のスプリット抗原である。B3901(+), B3902(+), B39N(-)という抗血清があり、他のB39関連抗血清との組み合わせでタイプできる。対立遺伝子の解析も済みでありB*3904と命名されている(2)。頻度はB3902の半分ほどで、A2-Cw7-B39N-DR4.2(DRB1*0403)-DQ3というハプロタイプが家系調査から確認されている。

17. FU

福岡県赤十字血液センターの徳永らが第9回日本HLA ワークショップで提唱したB48に関連した抗原である(3)。B48を含むB40関連の長い血清に反応するものがあり、一方、B48 monospecific血清には

反応しないことが特徴であり、B48というよりもむしろB40のサブタイプとした方が妥当かもしれない。family studyでA24-Cw4-FUというハプロタイプが報告されている。非常に低頻度である。対立遺伝子の解析も済みであり、B*4007と命名されており、現在、論文を投稿中である。

18. B48A1/B48A2/B48A3

湘南赤十字血液センターの安藤らが提唱しているB48のスプリット抗原である。FUとは異なりB48 monospecific血清にすべて反応する。そして、B60+B61+B13といった特異性の抗血清のtail部分に反応するものがB48A1、反応しないものがB48A2という定義である。その後、別の反応パターンからB48A3が提唱されている。

19. B13N

我々が見いだしたB60+B61+B41という特異性の抗血清に反応するB13と反応しないB13があり、反応する方をB13Nと呼んでる。日本人ではA30-Cw6-B13N-DR7-DQ2, A3A2-Cw6-B13N-DR7-DQ2が低頻度ながら同程度存在し、外国人ではこれ以外のハプロタイプがあり必ずCw6-DR7とassociateしている。これに対しconventionalな方のB13はA2(A24)-Cw10-B13-DR12-DQ7というassociationで存在する。B13の対立遺伝子およびIEFのパターンともすでに報告されており、最近、B13Nとこれらとの対応も確認された。すなわち、B13N=B*1302, B13(conventionalな方)=B*1301で日赤中央血液センターLing LinらがHuman Immunologyに報告している(4)。

20. CX4451

兵庫県赤十字血液センターの荒木らが第33回日本組織適合性研究会で報告した B44, B51 に associate する C ローカス抗原である (5). Cw1 + CX4451 という血清でタイプできる. A33-CBL-B44, A31-CBL-B51 に反応し, A3-Cw5-B44 などには反応しない. 日本人では 20% 以上の頻度が確認されている. C ローカスの片方に Cw1 があるとアサインできないため正確な頻度は計算できない.

21. CX44

これは, 第10回日本 HLA ワークショップ共同報告書で我々が報告したものである (6). 上記の CX4451 の B44 にのみ associate する部分をみている Cw9 + Cw10 + CX44 という血清でタイプできる. 日赤中央血液センター Wang らが対立遺伝子の解析をし, C*1403 と新しいアレル名が付いた. 現在, 論文を投稿中である.

22. CX52

A24-B52 に associate する C ローカス抗原として transfectant を用いて同定した抗血清に関する論文を, 湘南赤十字血液センターの安藤らが Human Immunology に報告している (7). C*1201 として解析されており, B52 と思われた抗血清のなかに CX52 特異性のものが存在するというものである. B52 との association が強いので証明が難しい.

23. Cw1N

第3回日本組織適合性学会で我々が報告した Cw1 のサブタイプである (8). Cw1 抗原でありながら Cw1 monospecific 血清に反応陰性のパネルがあり, ほとんどが A24-Cw1-B46-DR9-DQ3 であった. これは, 前述の A24AK とおなじハプロタイプで非常に興味深いものがある. しかも, このハプロタイプであるとすべてが A24AK であり Cw1N であるかということ, そうではないところがなおさらと思わせるものがある. A24AK 同様非常に低頻度である.

24. Cw8N

第2回日本組織適合性学会で我々が報告した Cw8 のサブタイプである. 以前, 白井松新薬の日暮らが近畿 HLA 研究会で日本人の Cw8 抗原について報告していたが, そのときの抗血清よりも短いところを見ている. association は B61, B48, B70, B15N, B35 で, 外国人の B14-Cw8 には反応しないことがポイントである. これまでは日本人で C ローカスブランクの部分であり, ここがタイプできると約 13% 埋まることとなる (9). 現在, 塩基配列を解析中である.

25. DR8.1/DR8.2

第7回日本 HLA ワークショップから提唱されてきた DR8 のスプリット抗原である. 完全に確立されているにもかかわらず, 海外では未だに信じられていない向きがある. 対立遺伝子, IEF とともに解析され尽くされている (10). 特に, 第11回日本 HLA ワークショップにおける京都府赤十字血液センター丸屋らの報告は詳細であり興味深い (11). DR8.1 = DRB1*0803, DR8.2 = DRB1*0801/0802 でそれぞれ monospecific な抗血清がある. 頻度は DR8.1 : DR8.2 = 2 : 1 となる.

26. DR4.1/DR4.2

これも第7回日本 HLA ワークショップから提唱されてきた DR4 のスプリット抗原である. DR4.1/4.2 それぞれ monospecific な抗血清と DR1 + DR4.1 + HR5 という抗血清と DR4.2 + DR14 というモノクローナル抗体がある. 第11回国際組織適合性ワークショップ以降 DR4 各対立遺伝子との対応も明確になった (12). すなわち DR4.1 = DRB1*0401/0404/0405/0408/0409/0410/0413, DR4.2 = DRB1*0403/0406/0407/0411 である. これは, アミノ酸配列で No.33 (His) - No.67 (Leu) - No.70 (Gln) - No.74 (Ala) が DR4.1, No.33 (His) - No.67 (Leu) - No.70 (Gln) - No.74 (Glu) が DR4.2 の抗血清が反応している部位と推測される. DR1 + DR4.1 + HR5 の抗血清は No.67 (Leu) - No.70 (Gln) - No.74 (Ala) をエピトープとして認識しているものと考えられ, 上記 DR4.1 各アレルの他 DRB1*0101/0102/1402/1406/

1409が共通のアミノ酸配列を有している, DR4.2+DR14の抗体は, No.67(Leu)-No.74(Glu) を認識しているものと考えられ, 上記DR4.2各アレルの他DRB1*1401/1404/1405/1407/1408/1410/1411 が共通のアミノ酸配列を有している.

27. DR4N

これは結論から言ってしまうとDRB1*0402に対応している. 我々が見いだした日本人由来の抗血清を用いて外国人のDR4をタイプングしていたところ, 一部のDR4パネルが反応陰性であり, これが遺伝子タイプングでDRB1*0402と判明した. この血清はアミノ酸配列でNo.33(His)-No.67(Leu)-No.70(Gln)を認識しているものと考えられる. DRB1*0402はNo.67(Ile)-No.70(Asp)なのでこの血清に反応せず, 前述のDR4.1/4.2 monospecific血清にも全く反応しない. 他に, DRB1*0412/0414/0415もDRB1*0402同様No.67(Leu)-No.70(Gln)と異なるので, この血清に反応せずDR4Nの範疇にはいると推測される. 日本人由来の抗血清で外国人のDR4をアレルレベルまでタイプできてしまうところがなんとも皮肉な現象である.

28. DR14.1/DR14.5

埼玉医大の平田, 前田らが第42回日本輸血学会で報告した血清学的に分類できるDR14抗原である. DR14 monospecificな抗血清と, その一部分にしか反応しない抗血清があり, その陽性部分がDRB1*1401で陰性部分がDRB1*1405であることがわかり, 前者をDR14.1, 後者をDR14.5と呼んでいる. ここで述べるDR14にはHR5とDR1403(いわゆるNJ25)は含まれていない. このDR14に一部分しか反応しない抗血清はアミノ酸配列でNo.57(Ala)-No.60(His)を認識しているものと考えられる. したがって, DRB1*1404/1407/1410もDR14.1のグループにはいると推測される. また, DR14すべてと反応する血清はNo.37(Phe)-No.67(Leu)-No.70(Arg)-No.74(Glu)を認識していると考えられ, DRB1*1408/1411もDR14.5のグループにはいることが推測される.

29. HR5

これも埼玉医大の平田, 前田らが提唱してきたDR抗原である(13).当初はDR5グループであったところ, 遺伝子解析でDRB1*1402/1406とallele名が付いてしまい, いつのまにかDR14グループになってしまっている(14).日本人はほとんどDRB1*1406である. また, 外国ではDR3x6などと呼ばれていた. DR4のところでふれたとおりDR1+DR4.1+HR5の抗血清に反応し, DRB3遺伝子(=DR52)を持ち, DQ7とassociateしていることが特徴である.

以上でひととおり終わりますが, 足りない分についてはどなたか補足編をやっていただけるとありがたいと思います.

参考文献

1. 徳永和夫, 河賀泰子, 藤沢優子ら: Bw22newに対する抗血清の評価: 第8回日本HLAワークショップ共同報告, 移植, 18: 526-527, 1983.
2. Ogawa A, Tokunaga K, Nakajima F, *et al.*: Identification of gene encoding novel HLA-B39 subtype. *Hum. Immunol.* (in press).
3. 河賀泰子, 吉川啓子, 徳永和夫ら: Bw48のスプリット抗原と思われるFU抗原について: 第9回日本HLAワークショップ共同報告書, 移植, 18: 168-169, 1985.
4. Lin L, Tokunaga K, Nakajima F, *et al.*: Both HLA-B*1301 and B*1302 exist in Asian populations and are associated with different haplotypes. *Hum. Immunol.* (in press).
5. 荒木延夫, 成瀬妙子, 坊地義浩ら: 新しいC座抗原Cw11new, CX4451について: 第10回日本HLAワークショップ共同報告, 今日の移植, 4・別冊: 105-112, 1991.
6. 中島文明, 中村淳子, 岡野俊生ら: B44パネルのCローカス・ブランク部分に反応する血清の評価: 第10回日本HLAワークショップ共同報告, 今日の移植, 4・別冊: 76-77, 1991.
7. Ando H, Miyata Y, Takata H, *et al.*:

- Identification of alloantisera reacting with HLA-C blank (Cx52) using a mouse L-cell transfected with the HLA - Cw*1201 allele. *Hum Immunol.* **36**: 76-80, 1993.
8. 中島文明, 中村淳子, 岡野俊生ら: HLA-Cw のサブタイプ "Cw1N" を認識するアロ抗血清について, *MHC & IRS* (日本組織適合性学会誌), **1**: 41-42, 1994.
 9. Tongio MM, Betuel H, Gandini E, *et al.*: *HLA 1991* Vol. 1 (eds. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T), Antigen Society no. 114: HLA-C. Oxford Science Publications, Oxford, 1992; p. 340-345.
 10. Watanabe Y, Matsushita S, Kohsaka T, *et al.*: Sequence variation in Japanese HLA - DRw8 specificity. *Hum Immunol.* **34**: 162-166, 1992.
 11. 丸屋悦子, 佐治博夫: 血清学で分類できる HLADR8.1/8.2 と DRB1*08 allele の相関について: 第11回日本 HLA ワークショップ報告, *MHC & IRS* (日本組織適合性学会誌), **1**: Supplement: 203-205, 1994.
 12. Williamson J, Brown J, Charoenwongse P, *et al.*: *HLA 1991* Vol. 1 (eds. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T), Antigen Society no. 204, : HLA - DR4, - DR9. Oxford Science Publications, Oxford, 1992; p. 361 - 364.
 13. Maeda H, Hirata R, Matuki K, *et al.*: *HLA 1991* vol 1. (eds. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T), Antigen Society no.214, part 1: two new DR14-related antigens, HR5 and DR1403(HR6). Oxford Science Publications, Oxford, 1992; p. 386-391.
 14. Schreuder GMTH, Brown J, Hasimoto M, *et al.*: *HLA 1991* vol 1. (eds. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T), Antigen Society no. 206: HLA - DR6, - DR13, - DR14, and the new specificities, HLA - DR1403(HR6) and - DR1404(DR8x14, DR8I). Oxford University Press, Oxford, 1992; p. 366-372.

〔最新情報：“玉手箱”〕

最新アレル情報

小林 賢

防衛医科大学校, 検査部

はじめに

HLA の命名は、従来国際ワークショップ終了後に開催される命名委員会で決められてきた。しかしながら、HLA の研究が進むにつれ、新たな HLA アレル (allele) が毎月何種類も報告されるようになり、ワークショップごとの命名ではとても対応することができなくなってきた。そこで年に一回改訂されるようになったのだが、それでも新しいアレルがどんどん報告されるためこの間隔でも対応できなくなってきたことから、1995年から遺伝子に関する命名が毎月更新されるようになった。ただし今までのように抗原に関してはワークショップで決められるようである。このように HLA アレルが複雑化してきている現在、組織適合性学会として学会員のみならず最新のアレルをこの学会誌を通じて提供することになった。

1995年3月に開催された WHO 命名委員会の決定内容が “Nomenclature for factors of the HLA system, 1995” として 6 月 (Human Immunology (1)), 7 月 (Tissue Antigens (2)) に発表された。そこで公認された遺伝子座は表1に示す如くである。クラス I 遺伝子として10種類 (A, B, C, E, F, G, H, J, K, L) が、クラス II 遺伝子として23種類 (DRA, DRB1, DRB2, DRB3, DRB4, DRB5, DRB6, DRB7, DRB8, DRB9, DQA1, DQB1, DQA2, DQB2, DQB3, DOB, DMA, DMB, DNA, DPA1, DPB1, DPA2, DPB2) がそれぞれ公認されている。また HLA 関連遺伝子として TAP1 と TAP2 および LMP2 と LMP7 遺伝子座がそれぞれ認められている。

以下に “Nomenclature for factors of the HLA system, 1995” (1, 2) で報告された内容を抜粋して紹介する。現在公認されている HLA アレルの塩基

配列については、クラス I が KL Arnett と P Parham (3) によって、またクラス II が SGE Marsh と JG Bodmer (4) によってそれぞれ記載されている。

1. 塩基配列エラーについての方針

以前に公認されたアレルであっても塩基配列にエラーが含まれているということが多くの新しい塩基配列の提出で明らかとなってきた。これらは既知のサンプルを再シーケンスすることによって検出されている。ある HLA 抗原のアレルについて塩基

表1. HLA領域に存在する遺伝子の名称

名 称	分子の性質
HLA-A	クラスIα鎖
HLA-B	クラスIα鎖
HLA-C	クラスIα鎖
HLA-E	クラスI 6.2 kB HindIII断片に連鎖
HLA-F	クラスI 5.4 kB HindIII断片に連鎖
HLA-G	クラスI 6.0 kB HindIII断片に連鎖
HLA-H	5.4 kB HindIII断片に連鎖したクラスI偽遺伝子
HLA-J	5.9 kB HindIII断片に連鎖したクラスI偽遺伝子
HLA-K	7.0 kB HindIII断片に連鎖したクラスI偽遺伝子
HLA-L	9.2 kB HindIII断片に連鎖したクラスI偽遺伝子
HLA-DRA	DRα鎖
HLA-DRB1	DR1, DR2, DR3, DR4, DR5などの特異性を決定するDRβ1鎖
HLA-DRB2	DRβ1鎖様配列を有する偽遺伝子
HLA-DRB3	DR52とDw24, Dw25, Dw26特異性を決定するDRβ3鎖
HLA-DRB4	DR53を決定するDRβ4鎖
HLA-DRB5	DR51を決定するDRβ5鎖
HLA-DRB6	DR1, DR2とDR10ハプロタイプにみられるDRβ偽遺伝子
HLA-DRB7	DR4, DR7とDR9ハプロタイプにみられるDRβ偽遺伝子
HLA-DRB8	DR4, DR7とDR9ハプロタイプにみられるDRβ偽遺伝子
HLA-DRB9	DRβ偽遺伝子
HLA-DQA1	発現されているDQα鎖
HLA-DQB1	発現されているDQβ鎖
HLA-DQA2	発現が確認されていないDQα鎖関連遺伝子
HLA-DQB2	発現が確認されていないDQβ鎖関連遺伝子
HLA-DQB3	発現が確認されていないDQβ鎖関連遺伝子
HLA-DOB	DOβ鎖
HLA-DMA	DMα鎖
HLA-DMB	DMβ鎖
HLA-DNA	DNα鎖
HLA-DPA1	発現されているDPα鎖
HLA-DPB1	発現されているDPβ鎖
HLA-DPA2	DPα鎖関連偽遺伝子
HLA-DPB2	DPβ鎖関連偽遺伝子
TAP1	ABC(ATP結合カセット)トランスポーター
TAP2	ABC(ATP結合カセット)トランスポーター
LMP2	プロテアソーム関連遺伝子
LMP7	プロテアソーム関連遺伝子

配列が報告されればそれに名称が付与される。また、それと同じ抗原性を有していてそのアレルと異なった塩基配列が認められればこれにも新しい名称が付けられることになる。しかし、最初に報告された塩基配列に誤りがあった場合には、正しい塩基配列に関連した方の名前が維持され、誤った塩基配列に関連した名前が削除されることになった。例えば Cw*0301 と Cw*0302 はともに HLA-Cw3 のアレルであるが、Cw*0301 には塩基配列のエラーがあり、正しくは Cw*0302 と同じであったためにエラーのある Cw*0301 は削除されることになった。今回この基準に基づいて削除されたアレルは B*27051, Cw*0301, Cw*0601, DQA1*03012, DQB1*03031, DPA1*0101 と DPA1*0102 である。また、塩基配列エラーの存在が広く疑われていて、オリジナルサンプルが再シーケンスできないような場合にも混乱をさけるためにそのアレル名が削除される。

2. 新しい対立遺伝子のネーミング

a. 新アレルシーケンスの受理条件

以前に報告されているように、オフィシャルネームについて新塩基配列の受理に関して以下の条件が要求される。

1. いくつかのクローンがシーケンスされていなければならない。
2. 塩基配列決定法が両方向で行われていなければならない。
3. データバンクにアクセスナンバーを取得しなくてはならない。
4. 全長の塩基配列が望ましいが必須なものではない。しかしながら、最低クラス I ではエクソン2と3を、クラス II ではエクソン2の塩基配列が要求される。
5. 論文が投稿されていなければならない。
6. DNA あるいは他の材料(特にセルライン)が公共のアクセス可能な保管場所あるいは少なくともオリジナルラボで利用できるようになっていなければならない。
7. 命名委員会への塩基配列提出はコンピューターで読み込み可能なコピーを含んでいなくてはならない。研究者は塩基配列に関する質問を完成

表2. HLA-Aアレルの名称

HLA Alleles	HLA -A Serological Specificities	HLA Alleles	HLA -A Serological Specificities	HLA Alleles	HLA -A Serological Specificities
A*0101	A1	A*1101	A11	A*3005	A30(19)
A*0102	A1	A*1102	A11	A*31011	A31(19)
A*0201	A2	A*2301	A23(9)	A*31012	A31(19)
A*0202	A2	A*2402	A24(9)	A*3201	A32(19)
A*0203	A203	A*2403	A2403	A*3301	A33(19)
A*0204	A2	A*2404	A24(9)	A*3302	A33(19)
A*0205	A2	A*2405	A24(9)	A*3303	A33(19)
A*0206	A2	A*2406	A24(9)	A*3401	A34(10)
A*0207	A2	A*2407	A24(9)	A*3402	A34(10)
A*0208	A2	A*2501	A25(10)	A*3601	A36
A*0209	A2	A*2601	A26(10)	A*4301	A43
A*0210	A210	A*2602	A26(10)	A*6601	A66(10)
A*0211	A2	A*2603	A26(10)	A*6602	A66(10)
A*0212	A2	A*2604	A26(10)	A*6811	A68(28)
A*0213	A2	A*2605	A26(10)	A*68012	A68(28)
A*0214	A2	A*2901	A29(19)	A*6802	A68(28)
A*0215N	-	A*2902	A29(19)	A*6901	A69(28)
A*0216	A2	A*3001	A30(19)	A*7401	A74(19)
A*0217	A2	A*3002	A30(19)	A*8001	-
A*0301	A3	A*3003	A30(19)		
A*0302	A3	A*3004	A30(19)		

することが期待され、既知の関連アレルと新しい塩基配列との比較を提供する。

b. アレル名

今回、クラス I 領域では新たに12種類の HLA-A、33種類の HLA-B と4種類の HLA-C アレルが表2, 3, 4 に示すように命名された(太字で示す)。HLA-B*27051, Cw*0301 および Cw*0601 はそれぞれ B*27052, Cw*0302 および Cw*0602 と同一であることが判明したため、HLA-B*27051, Cw*0301 と Cw*0601 は削除された。加えて、HLA-A*2401 と B*0701 はいくつかの塩基配列エラーがあると信じられており、引き続き掲載することは混乱のもととなるので削除された。

また、クラス II 領域では28種類の DRB1、3種類の DQA1、3種類の DPA1 と7種類の DPB1 アレルが新たに表5, 6, 7 に示すように命名された(太字で示す)。また TAP2 遺伝子にも1種類新たに追加された(表8)(太字で示す)。DRB1*1313の塩基配列は疑わしい部分が存在していたために報告者により取り下げられたので削除された。DQA1*03012 と DQB1*03031 は DQA1*0302 と DQB1*03032 とそれぞれ同一であったために除かれた。DQA1*0101 と DPA1*0102 は再シーケンスの結果 DPA1*0103 と同一であることが示されたので削除された。

表3. HLA-Bアレルの名称

HLA Alleles	HLA-B Serological Specificities	HLA Alleles	HLA-B Serological Specificities	HLA Alleles	HLA-B Serological Specificities
B*0702	B7	B*2703	B27	B*4101	B41
B*0703	B703	B*27052	B27	B*4102	B41
B*0704	B7	B*27053	B27	B*4201	B42
B*0705	B7	B*2706	B27	B*4402	B44(12)
B*0801	B8	B*2707	B27	B*44031	B44(12)
B*0802	B8	B*2708	-	B*44032	B44(12)
B*1301	B13	B*2709	B27	B*4404	B44(12)
B*1302	B13	B*3501	B35	B*4405	B44(12)
B*1303	-	B*3502	B35	B*4406	B44(12)
B*1401	B64(14)	B*3503	B35	B*4501	B45(12)
B*1402	B65(14)	B*3504	B35	B*4601	B46
B*1501	B62(15)	B*3505	B35	B*4701	B47
B*1502	B75(15)	B*3506	B35	B*4801	B48
B*1503	B72(70)	B*3507	B35	B*4802	B48
B*1504	B62(15)	B*3508	B35	B*4901	B49(21)
B*1505	B62(15)	B*3509	B35	B*5001	B50(21)
B*1506	B62(15)	B*3510	-	B*5101	B51(5)
B*1507	B62(15)	B*3511	-	B*5102	B5102
B*1508	B62(15)	B*3512	-	B*5103	B5103
B*1509	B70	B*3513	-	B*5104	B51(5)
B*1510	B71(70)	B*3701	B37	B*5105	B51(5)
B*1511	B15	B*3801	B38(16)	B*52011	B52(5)
B*1512	B76(15)	B*3802	B38(16)	B*52012	B52(5)
B*1513	B77(15)	B*39011	B3901	B*5301	B53
B*1514	B76(15)	B*39013	B3901	B*5401	B54(22)
B*1515	B62(15)	B*39021	B3902	B*5501	B55(22)
B*1516	B63(15)	B*39022	B3902	B*5502	B55(22)
B*1517	B63(15)	B*3903	B39(16)	B*5601	B56(22)
B*1518	B71(70)	B*3904	B39(16)	B*5602	B56(22)
B*1519	B76(15)	B*3905	-	B*5701	B57(17)
B*1520	B62(15)	B*39061	B39(16)	B*5702	B57(17)
B*1521	B15	B*39062	B39(16)	B*5703	B57(17)
B*1522	-	B*3907	-	B*5801	B58(17)
B*1523	-	B*3908	-	B*5802	-
B*1524	B62(15)	B*40011	B60(40)	B*5901	B59
B*1525	B15	B*40012	B60(40)	B*67011	B67
B*1526N	-	B*4002	B61(40)	B*67012	B67
B*1527	-	B*4003	B40	B*7301	B73
B*1528	-	B*4004	B40	B*7801	B7801
B*1529	-	B*4005	B4005	B*7802	-
B*1801	B18	B*4006	B61(40)	B*8101	-
B*1802	B18	B*4007	-		
B*2702	B27	B*4008	-		

表4. HLA-C, -E, -Gアレルの名称

HLA Alleles	HLA-C Serological Specificities	HLA Alleles	HLA-C Serological Specificities	HLA Alleles
Cw*0101	Cw1	Cw*0803	Cw8	E*0101
Cw*0102	Cw1	Cw*1201	-	E*0102
Cw*0201	Cw2	Cw*12021	-	E*0103
Cw*02021	Cw2	Cw*12022	-	E*0104
Cw*02022	Cw2	Cw*1203	-	
Cw*0302	Cw3	Cw*1301	-	G*01011
Cw*0303	Cw3	Cw*1401	-	G*01012
Cw*0304	Cw3	Cw*1402	-	G*01013
Cw*0401	Cw4	Cw*1403	-	G*0102
Cw*0402	Cw4	Cw*1501	-	G*0103
Cw*0501	Cw5	Cw*1502	-	
Cw*0602	Cw6	Cw*1503	-	
Cw*0701	Cw7	Cw*1504	-	
Cw*0702	Cw7	Cw*1505	-	
Cw*0703	Cw7	Cw*1601	-	
Cw*0704	Cw7	Cw*1602	-	
Cw*0801	Cw8	Cw*1603	-	
Cw*0802	Cw8	Cw*1701	-	

表5. HLA-DRアレルの名称

HLA Alleles	HLA-DR Serological Specificities	HLA-D-associated Specificity	HLA Alleles	HLA-DR Serological Specificities	HLA-D-associated Specificity
DRA*0101	-		DRB1*0420	DR4	-
DRA*0102	-		DRB1*0421	DR4	-
			DRB1*0422	DR4	-
DRB1*0101	DR1	Dq1	DRB1*11011	DR11(5)	Dw5
DRB1*0102	DR1	Dw20	DRB1*11012	DR11(5)	Dw5
DRB1*0103	DR103	Dw'BON'	DRB1*1102	DR11(5)	Dw'JVM'
DRB1*0104	DR1	-	DRB1*1103	DR11(5)	-
DRB1*15011	DR15(2)	Dw2	DRB1*11041	DR11(5)	Dw'FS'
DRB1*15012	DR15(2)	Dw2	DRB1*11042	DR11(5)	-
DRB1*15021	DR15(2)	Dw12	DRB1*1105	DR11(5)	-
DRB1*15022	DR15(2)	Dw12	DRB1*1106	DR11(5)	-
DRB1*1503	DR15(2)	-	DRB1*1107	-	-
DRB1*1504	DR15(2)	-	DRB1*11081	DR11(5)	-
DRB1*1505	-	-	DRB1*11082	DR11(5)	-
DRB1*1601	DR16(2)	Dw21	DRB1*1109	DR11(5)	-
DRB1*1602	DR16(2)	Dw22	DRB1*1110	-	-
DRB1*1603	-	-	DRB1*1111	-	-
DRB1*1604	DR16(2)	-	DRB1*1112	-	-
DRB1*1605	-	-	DRB1*1113	DR11(5)	-
DRB1*1606	DR2	-	DRB1*1114	-	-
DRB1*03011	DR17(3)	Dw3	DRB1*1115	DR11(5)	-
DRB1*03012	DR17(3)	Dw3	DRB1*1116	-	-
DRB1*0302	DR18(3)	Dw'RSH'	DRB1*1117	-	-
DRB1*0303	DR18(3)	-	DRB1*1118	-	-
DRB1*0304	DR3	-	DRB1*1119	-	-
DRB1*0305	DR3	-	DRB1*1120	-	-
DRB1*0401	DR4	Dw4	DRB1*1121	-	-
DRB1*0402	DR4	Dw10	DRB1*1122	-	-
DRB1*0403	DR4	Dw13	DRB1*1201	DR12(5)	Dw'DB6'
DRB1*0404	DR4	Dw14	DRB1*12021	DR12(5)	-
DRB1*0405	DR4	Dw15	DRB1*12022	DR12(5)	-
DRB1*0406	DR4	Dw'KT2'	DRB1*12031	DR12(5)	-
DRB1*0407	DR4	Dw13	DRB1*12032	DR12(5)	-
DRB1*0408	DR4	Dw14	DRB1*1301	DR13(6)	Dw18
DRB1*0409	DR4	-	DRB1*1302	DR13(6)	Dw19
DRB1*0410	DR4	-	DRB1*1303	DR13(6)	Dw'HAG'
DRB1*0411	DR4	-	DRB1*1304	DR13(6)	-
DRB1*0412	DR4	-	DRB1*1305	DR13(6)	-
DRB1*0413	DR4	-	DRB1*1306	DR13(6)	-
DRB1*0414	DR4	-	DRB1*1307	-	-
DRB1*0415	DR4	-	DRB1*1308	DR13(6)	-
DRB1*0416	DR4	-	DRB1*1309	DR13(6)	-
DRB1*0417	DR4	-	DRB1*1310	DR13(6)	-
DRB1*0418	DR4	-	DRB1*1311	DR13(6)	-
DRB1*0419	DR4	-			

3. イントロンとフランキングシーケンス多型に関するネーミング

同じアレルであってもプロモーター領域にも多型性が見つかってきていたので命名委員会では承認されているアレル名の6桁と7桁目にその多型を表現することとなった。サイレントミューテーションを表す5桁目の数字に続いてイントロンや5'または3'フランキング領域における多型性を示すようになった。すなわちDRB4*0101101のように示す。

DR53をコードするDRB4遺伝子とはならずDR4, DR7かDR9をコードする遺伝子とハプロタイプを形成しているが, DR7(Dw11)はDR53をコードするDRB4*0101遺伝子を有しているもののsplice siteに変異があるために発現されていない。このよ

表5. 続き

HLA Alleles	HLA -DR Serological Specificities	HLA-D- associated Specificity	HLA Alleles	HLA -DR Serological Specificities	HLA-D- associated Specificity
DRB1*1312	-	-	DRB1*08042	DR8	-
DRB1*1314	DR13(6)	-	DRB1*0805	DR8	-
DRB1*1315	-	-	DRB1*0806	DR8	-
DRB1*1316	-	-	DRB1*0807	DR8	-
DRB1*1317	-	-	DRB1*0808	DR8	-
DRB1*1318	-	-	DRB1*0809	DR8	-
DRB1*1319	-	-	DRB1*0810	DR8	-
DRB1*1320	-	-	DRB1*0811	DR8	-
DRB1*1321	-	-	DRB1*09011	DR9	Dw23
DRB1*1322	-	-	DRB1*09012	DR9	Dw23
DRB1*1401	DR14(6)	Dw9	DRB1*1001	DR10	-
DRB1*1402	DR14(6)	Dw16	-	-	-
DRB1*1403	DR14(6)	-	DRB3*0101	DR52	Dw24
DRB1*1404	DR14(6)	-	DRB3*0201	DR52	Dw25
DRB1*1405	DR14(6)	-	DRB3*0202	DR52	Dw25
DRB1*1406	DR14(6)	-	DRB3*0203	-	-
DRB1*1407	DR14(6)	-	DRB3*0301	DR52	Dw26
DRB1*1408	DR14(6)	-	-	-	-
DRB1*1409	DR14(6)	-	DRB4*01	DR53	Dw4, Dw10, Dw13, Dw14, Dw15, Dw17, Dw23
DRB1*1410	-	-	DRB4*0101101	DR53	Dw17
DRB1*1411	-	-	DRB4*0101102	-	Dw11
DRB1*1412	-	-	DRB4*0102	DR53	-
DRB1*1413	-	-	DRB4*0103	DR53	Dw4
DRB1*1415	-	-	-	-	-
DRB1*1416	-	-	DRB5*0101	DR51	Dw2
DRB1*1417	-	-	DRB5*0102	DR51	Dw12
DRB1*1418	-	-	DRB5*0103	-	-
DRB1*1419	-	-	DRB5*0201	DR51	Dw21
DRB1*1420	-	-	DRB5*0202	DR51	Dw22
DRB1*1421	-	-	DRB5*0203	DR51	-
DRB1*0701	DR7	Dw17, Dw'DB1'	-	-	-
DRB1*0801	DR8	Dw8.1	DRB6*0101	-	-
DRB1*08021	DR8	Dw8.2	DRB6*0201	-	-
DRB1*08022	DR8	Dw8.2	DRB6*0202	-	-
DRB1*08031	DR8	Dw8.3	-	-	-
DRB1*08032	DR8	Dw8.3	DRB7*01011	-	-
DRB1*08041	DR8	-	DRB7*01012	-	-

表6. HLA-DQアレルの名称

HLA Alleles	HLA -DQ Serological Specificities	HLA-D- associated Specificity	HLA Alleles	HLA -DQ Serological Specificities	HLA-D- associated Specificity
DQA1*0101	-	Dw1	DQB1*0504	-	-
DQA1*01021	-	Dw2, Dw21, Dw19	DQB1*06011	DQ6(1)	Dw12, Dw8
DQA1*01022	-	Dw21	DQB1*06012	DQ6(1)	Dw12, Dw8
DQA1*0103	-	Dw18, Dw12, Dw8	DQB1*0602	DQ6(1)	Dw2
DQA1*0104	-	Dw9	DQB1*0603	DQ6(1)	Dw18, DwFS'
DQA1*0201	-	Dw7, Dw11	DQB1*0604	DQ6(1)	Dw19
DQA1*03011	-	Dw4, Dw10, Dw13, Dw14, Dw15	DQB1*06051	DQ6(1)	Dw19
DQA1*0302	-	Dw23	DQB1*06052	DQ6(1)	Dw19
DQA1*0401	-	Dw8, Dw'RSH'	DQB1*0606	-	-
DQA1*0501	-	Dw3, Dw5, Dw22	DQB1*0607	-	-
DQA1*05011	-	Dw3	DQB1*0608	-	-
DQA1*05012	-	Dw5	DQB1*0609	-	-
DQA1*05013	-	Dw22	DQB1*0201	DQ2	Dw3
DQA1*0502	-	-	DQB1*0202	DQ2	Dw7
DQA1*0503	-	Dw16	DQB1*0301	DQ7(3)	Dw4, Dw5, Dw8, Dw13
DQA1*0601	-	Dw8	DQB1*0302	DQ8(3)	Dw4, Dw10, Dw13, Dw14
DQB1*0501	DQ5(1)	Dw1	DQB1*03032	DQ9(3)	Dw23, Dw11
DQB1*0502	DQ5(1)	Dw21	DQB1*0304	DQ7(3)	-
DQB1*05031	DQ5(1)	Dw9	DQB1*0305	-	-
DQB1*05032	DQ5(1)	Dw9	DQB1*0401	DQ4	Dw15
			DQB1*0402	DQ4	Dw8, Dw'RSH'

表7. HLA-DP, -DMアレルの名称

HLA Alleles	Associated HLA -DP Specificities	HLA Alleles	Associated HLA -DP Specificities	HLA Alleles	Associated HLA -DP Specificities
DPA1*0103	-	DPB1*1701	-	DPB1*4601	-
DPA1*0104	-	DPB1*1801	-	DPB1*4701	-
DPA1*02011	-	DPB1*1901	-	DPB1*4801	-
DPA1*02012	-	DPB1*20011	-	DPB1*4901	-
DPA1*02021	-	DPB1*20012	-	DPB1*5001	-
DPA1*02022	-	DPB1*2101	-	DPB1*5101	-
DPA1*0301	-	DPB1*2201	-	DPB1*5201	-
DPA1*0401	-	DPB1*2301	-	DPB1*5301	-
		DPB1*2401	-	DPB1*5401	-
		DPB1*2501	-	DPB1*5501	-
DPB1*01011	DPw1	DPB1*26011	-	DPB1*5601	-
DPB1*01012	DPw1	DPB1*26012	-	DPB1*5701	-
DPB1*0201	DPw2	DPB1*2701	-	DPB1*5801	-
DPB1*02011	DPw2	DPB1*2801	-	DPB1*5901	-
DPB1*02012	DPw2	DPB1*2901	-	DPB1*6001	-
DPB1*0202	DPw2	DPB1*3001	-	DPB1*6101N	-
DPB1*0301	DPw3	DPB1*3101	-	DPB1*6201	-
DPB1*0401	DPw4	DPB1*3201	-		
DPB1*0402	DPw4	DPB1*3301	-		
DPB1*0501	DPw5	DPB1*3401	-		
DPB1*0601	DPw6	DPB1*3501	-		
DPB1*0801	-	DPB1*3601	-		
DPB1*0901	-	DPB1*3701	-		
DPB1*1001	-	DPB1*3801	-		
DPB1*11011	-	DPB1*3901	-		
DPB1*11012	-	DPB1*4001	-		
DPB1*1301	-	DPB1*4101	-		
DPB1*1401	-	DPB1*4401	-		
DPB1*1501	-	DPB1*4501	-		
DPB1*1601	-				

表8. TAPアレルの名称

TAP alleles	TAP alleles
TAP1*0101	TAP2*0101
TAP1*02011	TAP2*0102
TAP1*02012	TAP2*0103
TAP1*0301	TAP2*0201
TAP1*0401	

うに通常は発現している遺伝子でもその中に変異などが存在していて発現されなかったり (non-expressed), ヌルアレル(null allele)となっているような場合にはその意味を表すために DRB4*0101102 N のように “N” を最後に付加することになった。

A*68011と A*68012との区別ができない場合には A*6801だけで十分である。また, A2には17種類のアレルがあるが, それらが区別できない場合には A*02を充当する。

4. 新塩基配列の公表

命名に関する更新は毎月 Tissue Antigens, Human Immunology および Immunogenetics に発表される。これらは, 訂正塩基配列の詳細, 新塩基配列や確認塩基配列に関して命名委員会に報告された情報が含まれている。

以上のように HLA アレルの命名法もかなり複雑化してきている。今後, いろいろな民族の HLA タイ

ピングが実施されてくるとますますアレルが増え、より複雑化することが予想される。そのため、DNA タイピングする上でいろいろと問題も発生してくるかと思われる。

参考文献

1. Bodmer JG, Marsh SGE, Albert ED, *et al.*: Nomenclature for factors of the HLA system, 1995. *Tissue Antigens* **46**: 1-18, 1995.
2. Bodmer JG, Marsh SGE, Albert ED, *et al.*: Nomenclature for factors of the HLA system, 1995. *Hum. Immunol.* **43**: 149-164, 1995.
3. Arnett KL, Parham P: HLA class I nucleotide sequences, 1995. *Tissue Antigens* **46**: 217-257, 1995.
4. Marsh SGE, Bodmer JG: HLA class II nucleotide sequences, 1995. *Tissue Antigens* **46**: 258-280, 1995.

〔最新情報:“玉手箱”〕最新 PCR-RFLP 情報:1995年版 Nomenclature for factors of the HLA system を対象とした, PCR-RFLP 法による DRB1, DPB1 タイピング

兼重 俊彦¹⁾, 稲川 明¹⁾, 福森 泰雄²⁾, 猪子 英俊³⁾

¹⁾ シオノギ製薬, 診断医学部 ²⁾ 大阪府赤十字血液センター, 研究部 ³⁾ 東海大医学部, 分子生命科学

PCR 法によるクラス II 遺伝子タイピングの実用化とその普及により, 公認されたクラス II 抗原の各遺伝子座の対立遺伝子 (アリル) の数は増加の一端を辿っている。これらは従来より WHO Nomenclature Committee より 1~2 年の間隔で, Nomenclature として公表されて来たが, 本年より月毎に追加, 改訂されており, 6 月に 1995 年版の Nomenclature for factors of the HLA system として整理された (1)。通常新規アリルの塩基配列は論文や accession number の検索より調べることができる

(注 1)。われわれはこれらから塩基配列を検索して定期的に研究室のデータベースに入れ, 日常的に実施しているタイピング技法で検出が可能か否かを確認し, 必要に応じてタイピング法の改良を行ってきた。最近新たに発見されたアリルの多くは極めて低頻度で存在するものであると考えられるが, 遺伝子タイピングのデータが普遍的な性格を持つものであり, また現時点で個々の塩基置換の持つ意味が明確でない以上, それらのアリルを対象とし既存のアリルとの異同の判別が可能でタイピングが行われる必要があるとわれわれは考えている。

周知の通り, 遺伝子タイピング技法として種々の方法がこれまでに開発されており, 既に利用する立場に応じて, それぞれの技法の特徴を生かして選択ができる状況にあると思われる。これらのタイピング技法の中で, 1989 年に猪子らのグループにより開発された PCR-RFLP 法 (2, 3) は, 主要なクラス II 遺伝子 (DRB1, DQA1, DQB1, DPB1) 全てでも 20 種類程度のオリゴプライマーと市販の制限酵素を調達さえすれば基本的に遺伝子タイピングが可能であり, 技術的にも容易で再現性の高いデータが得られることから, 数多くの研究室や検査室で利用され

ている方法である。しかしながら方法の特性として, 多型性部位の検出においてはそれを識別可能な制限酵素の有無に依存することは否めない。今回, '95 年版の Nomenclature for factors of the HLA system の全ての DRB1 および DPB1 アリルを対象として, PCR-RFLP 法による遺伝子タイピングでいずれの範囲までのアリルの検出が可能なのかを, われわれが日常的に用いている方法により紹介することにする。

1. '95 年版の Nomenclature for factors of the HLA system の DRB1, DPB1 アリル

'95 年版の Nomenclature for factors of the HLA system (1) に公認されている DRB1 アリルは 124 個, そのうち同義置換のものは 11 個, また第 4 回本学会大会において報告された DRB1*1123, DRB1*04052 を加えると現在 126 個のアリルが認められている。

一方 DPB1 アリルは 62 個 (その内, 同義置換のものは 6 個) が '95 年版の Nomenclature for factors of the HLA system に公認されている。この中で DPB1*5701 は塩基配列が公開されていない。

2. PCR 増幅

DRB1 アリルの遺伝子タイピングでは他の DRB 遺伝子の増幅を避けるために, 第 11 回国際組織適合性ワークショップの頃より, DRB1 アリルグループ特異的な PCR が導入されており, PCR-RFLP 法では太田らによる改良法の報告の中でも用いられている (4)。更にこのグループ特異的な PCR 増幅はヘテロ接合体の 2 つの HLA 遺伝子が別々のグループに属する場合には, 個々にそれらを解析できるので,

表1
DRB1, DPB1 第2エクソン増幅のためのPCRプライマーセット

group	sense	antisense	size(bp)
[DRB1]			
DR1	RB-1 (5'-GGTTGCTGGAAAGATGCATCT)	DRBAMP-B (5'-CCGCTGCACTGTGAAGCTCT)	206
DR2	DRBAMP-2 (5'-TTCTGTGGCAGCCTAAGAGG)	DRBAMP-B	261
DR52A(86:Gly)	DRBAMP-3 (5'-CACGTTTCTTGGAGTACTCTAC)	R86-A (5'-CTGCACTGTGAAGCTCTCAC)	263
DR52B(86:Val)	DRBAMP-3	R86-B (5'-CTGCACTGTGAAGCTCTCCA)	263
DR4	DRBAMP-4 (5'-GTTTCTTGGAGCAGGTTAAAC)	DRBAMP-B	263
DR7	RB-7 (5'-CTGTGGCAGGGTAAGTATAAG)	DRBAMP-B	259
DR9	RB-9 (5'-GGTATCTGCACAGGCATCT)	RBR-92 (5'-CGTAGTTGTCTGCACAC)	177
DR10	RB-10 (5'-TTGAGGAGGTTAAGTTGAG)	RBR-10 (5'-TCCTCTTGGTTATGGACGCG)	86
[DPB1]			
P1	PB5'7 (5'-CTCCCCGAGAGAATTACGTG)	PB3'4 (5'-CAGGGTCACGGCCTCGT)	264
P2	PB5'7	PB3'6 (5'-CTGCAGGGTCATGGCCC)	267
P3	PB5'5 (5'-CCCAGAGAGAATTACCTTTT)	PB3'4	261
P4	PB5'5	PB3'6	264
NP2	PB36-2C (5'-AACCGGGAGGAGT(A/T)CGC)	PB3'6	180
NP4	PB36-2T (5'-CAACCGGGAGGAGT(A/T)CGT)	PB3'6	179

多型性領域の組み合わせのみが異なるヘテロ接合体に由来する問題(3)(例えば特定のヘテロ接合体の組み合わせが決定できない, heteroduplexバンドの出現など)の回避に有効である。われわれも表1に示したグループ特異的なプライマーを用いている。この中でDR7, DR10については対応するアレルの種類が1種類であり, またDR9は同義置換のDRB1*09011と09012が存在するが, この区別がPCR-RFLP法で不可能であるため, PCR増幅の有無により, それぞれDRB1*0701, 1001, 0901としてアレルを決定する。またDR52(DR3,5,6,8)関連アレルグループには多くの種類のアレルが存在することから, コドン86のGTG(Gly), GGT(Val)に対応した2種類のアンチセンスプライマー(注2)を用いて, 更に2つのグループに分けている。これと同様のものが第12回国際組織適合性ワークショップのプロトコールにも示されている。但し, コドン86が上記以外のものが2種類(DRB1*08042, 1316)あり, これらのアレルに対しては表1の「R86-A」, 「R86-B」プライマーでは増幅が困難と思われる。また日常には用いていないが, DR52関連アレルグループと同様にDR4アレルグループでもヘテロ接合体の両方のDRB1アレルがここに属する場合に必要な応じてこの「R86-A」, 「R86-B」プライマーを使用して別々に増幅し, それぞれを制限酵素で処理する。

DPB1アレルのタイピングでは福森らが第2エクソン内の両端に存在する可変部位に着目し, センス

プライマー, アンチセンスプライマー各々2種類のもの(表1, オリジナルの5'3は5'7に改変)を用いて4つのグループ(P1~P4)に選別するPCRを第11回国際組織適合性ワークショップのカンファレンスで発表した(5)。DPB1アレル数の増加を想定した場合, これも前述のDRB1タイピングと同様に有効である。但し, その後P4グループのアレルの数が増加したことで, 日本人集団ではこのグループに属するアレルの出現頻度が高いため, コドン36(BstUIの認識部位)の可変部位を利用したプライマーを設定し, 同じく「PB3'7」プライマーにより増幅可能なP2グループと合わせ, 新たなグループをNP2, NP4を設定した(表1)。

3. RFLPパターン

ここで示すRFLPパターンは, いわゆる「yes/no」方式のmodified PCR-RFLP法ではなく, 制限酵素処理により得られるバンドのサイズにより判別する方法であることを最初にお断りしておく。

使用する制限酵素は「standard」と「supplementary」に分け, 後者は必要に応じて用いる(表中, 下線で示したサイズの違いで区別可能)。同義置換のアレルについては特にそれらの区別を目的として「supplementary」の制限酵素処理をしないものとした。尚, 各々の制限酵素断片のサイズは表に切断順に並記している。

表2-1
DR1 及び DR2 グループの RFLP パターン

[DR 1]		Standard			Supplementary		
DRB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Hph</i> I	<i>Pst</i> I				
0102	206	86,120	206				
0104	206	86,120	165,41				
0101	206	86,109,11	165,41				
0103	111,95	86,109,11	165,41				

[DR 2]		Standard			Supplementary		
DRB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Hph</i> I	<i>Bpm</i> I	<i>Ava</i> II	<i>Sac</i> II	<i>Hha</i> I	
1504	261	141,120	205,56	261	203,58	98,97,66	
1604	261	141,109,11	261	261	261	98,163	
1603	261	141,109,11	261	261	203,58	98,163	
1601	261	141,109,11	261	261	203,58	98,99,2,62	
1602	261	141,109,11	261	177,84	203,58	98,99,2,62	
1501=1503	166,95	141,120	205,56	261	203,58	98,97,66	
1605	166,95	141,109,11	261	261	203,58	98,99,2,62	
1606	166,95	141,109,11	261	261	203,58	98,163	
1502(1,2)	166,95	141,109,11	205,56	261	203,58	98,97,66	

表2-2
DR52A グループの RFLP パターン

[DR52A]		Standard					Supplementary					
DRB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Hha</i> I	<i>Sac</i> II	<i>Hph</i> I	<i>Rsa</i> I	<i>Sfa</i> NI	<i>Ava</i> II	<i>Bpm</i> I	<i>Bsr</i> BI	<i>Bso</i> FI	<i>Scr</i> FI	
1407	263	103,160	263	146,109,8	15,111,137	263	182,81	210,53	53,141,69	150,7,106	66,21,42,60,74	
1111	263	103,160	263	146,109,8	15,111,39,98	146,117	263	263	53,210	150,113	66,21,42,60,74	
0302	263	103,160	263	146,109,8	15,111,39,98	146,117	182,81	87,123,53	53,210	150,113	66,21,42,60,18,56	
1403	263	103,160	263	146,109,8	15,111,39,98	146,117	182,81	87,176	53,210	150,113	66,21,42,60,18,56	
1414	263	103,160	263	146,109,8	15,111,39,98	146,117	182,81	210,53	53,141,69	150,113	66,21,42,60,74	
1123	263	103,160	263	146,109,8	15,81,69,98	263	263	263	53,210	150,113	66,63,60,18,56	
0305	263	103,160	263	146,109,8	15,48,102,98	146,117	182,81	210,53	53,210	150,113	66,21,42,60,18,56	
0808	263	103,160	263	36,110,109,8	15,81,30,137	263	263	263	53,210	150,7,106	66,63,60,18,56	
0802(1,2)	263	103,160	263	36,110,109,8	15,81,30,39,98	146,117	263	263	53,210	150,113	66,63,60,18,56	
0807	263	103,160	263	36,110,109,8	15,81,30,39,98	263	263	263	53,210	150,113	66,63,60,18,56	
0811	263	103,160	263	36,110,109,8	15,81,30,39,98	263	263	263	53,210	150,7,106	66,63,60,18,56	
1112	263	103,160	208,55	146,109,8	15,150,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
1109	263	103,160	208,55	146,109,8	15,150,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,21,42,60,74	
1305	263	103,160	208,55	146,109,8	15,150,98	146,117	263	263	53,210	150,55,53	66,21,42,60,74	
1402	263	103,160	208,55	146,109,8	15,111,39,98	146,117	182,81	87,123,53	53,210	150,55,53	66,21,42,60,74	
1409	263	103,160	208,55	146,109,8	15,111,39,98	146,117	182,81	210,53	53,210	150,55,53	66,21,42,60,74	
1101(1,2)	263	103,160	208,55	146,109,8	15,81,69,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
1108(1,2)	263	103,160	208,55	146,109,8	15,81,69,98	263	182,81	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
1307	263	103,160	208,55	146,109,8	15,81,30,39,98	146,117	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
1115	263	103,160	208,55	146,99,10,8	15,150,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
0809	263	103,160	208,55	36,110,109,8	15,81,69,98	263	263	263	53,147,63	150,55,53	66,63,60,74	
1105	263	103,160	208,55	36,110,109,8	15,81,69,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
0801	263	103,56,104	263	36,110,109,8	15,81,30,39,98	263	263	263	53,210	150,113	66,63,60,18,56	
1413	263	103,56,104	208,55	146,109,8	15,111,39,98	263	182,81	87,123,53	53,210	150,55,53	66,21,42,60,74	
0805	263	103,56,104	208,55	36,110,109,8	15,81,30,39,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
1302	171,92	103,160	208,55	146,109,8	15,150,98	146,117	263	263	53,147,63	150,55,53	66,21,42,60,74	
1114	171,92	103,160	208,55	146,109,8	15,81,69,98	263	263	263	53,147,63	150,55,53	66,63,60,74	
1119	171,92	103,160	208,55	146,109,8	15,81,69,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	
1313	171,92	103,56,104	263	146,109,8	15,81,30,39,98	263	202,61	263	53,210	150,113	66,63,60,18,56	
08031	171,92	103,56,104	263	36,110,109,8	15,111,39,98	263	263	263	53,210	150,113	66,63,60,18,56	
08032	171,92	103,56,104	263	36,110,109,8	15,81,30,39,98	263	263	263	53,210	150,113	66,63,60,74	
1303=1312	171,92	103,56,104	208,55	146,109,8	15,81,30,39,98	263	263	263	53,210	150,55,53	66,63,60,74	

3.1. DRB1の RFLP パターン

制限酵素部位の解析より、これらのグループ毎の RFLP パターンは表2-1~2-4に示した通りである。尚、登録された accession number や論文に掲載さ

れた塩基配列の間で整合性のない場合には、掲載論文の塩基配列より RFLP パターンを検索した。表の RFLP パターンより区別できないものは、1501=1503, 1110=1117, 1104=1106, 1303=1312, 1306=

表 2-3
DR52B グループの RFLP パターン

[DR 52 B]		Standard					Supplementary			
DRB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Hha</i> I	<i>Hinf</i> I	<i>Sac</i> II	<i>Hph</i> I	<i>Rsa</i> I	<i>Sfa</i> NI	<i>Bpm</i> I	<i>Bsr</i> BI	<i>Pst</i> I
1318	263	103,160	263	263	146,117	15,150,98	146,117	263	53,210	225,38
1401	263	103,160	263	263	146,117	15,111,137	263	210,53	53,141,69	263
1408	263	103,160	263	263	146,117	15,111,137	146,117	210,53	53,141,69	263
0303	263	103,160	263	263	146,117	15,111,39,98	146,117	87,123,53	53,210	225,38
1418	263	103,160	263	263	146,117	15,111,39,98	146,117	87,123,53	53,141,69	263
1110=1117	263	103,160	263	263	146,117	15,111,39,98	263	210,53	53,141,69	263
1412	263	103,160	263	263	146,117	15,111,39,98	146,117	87,176	53,210	225,38
1405	263	103,160	263	263	146,117	15,111,39,98	146,117	210,53	53,141,69	263
0301(1,2)	263	103,160	263	263	146,117	15,48,102,98	146,117	210,53	53,210	225,38
1107	263	103,160	263	263	146,117	15,81,69,98	263	210,53	53,210	225,38
1314	263	103,160	263	263	146,117	15,81,69,98	146,117	263	53,210	225,38
1404	263	103,160	263	263	36,110,117	15,111,137	263	210,53	53,141,69	263
1415	263	103,160	263	263	36,110,117	15,111,39,98	146,117	263	53,210	225,38
1411	263	103,160	263	263	36,110,117	15,111,39,98	263	210,53	53,141,69	263
08041	263	103,160	263	263	36,110,117	15,81,30,39,98	146,117	263	53,210	225,38
1417	263	103,160	263	208,55	146,117	15,150,98	146,117	210,53	53,210	225,38
1113	263	103,160	263	208,55	146,117	15,150,98	263	210,53	53,141,69	263
1406	263	103,160	263	208,55	146,117	15,111,39,98	146,117	87,123,53	53,210	225,38
1311	263	103,160	263	208,55	146,117	15,81,69,98	146,117	263	53,210	225,38
1103	263	103,160	263	208,55	146,117	15,81,69,98	263	263	53,147,63	225,38
1104(1,2)=1106	263	103,160	263	208,55	146,117	15,81,69,98	263	263	53,210	225,38
0304	263	103,160	93,170	263	146,117	15,48,102,98	146,117	210,53	53,210	225,38
0806	263	103,56,104	263	263	36,110,117	15,81,30,39,98	263	263	53,210	225,38
12021	263	103,99,2,59	162,101	208,55	36,110,117	15,248	263	87,176	53,210	263
12022	263	103,99,2,59	162,101	208,55	36,110,117	15,248	263	87,176	53,210	225,38
1116	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,150,98	263	263	53,147,63	225,38
1301	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,150,98	146,117	263	53,147,63	225,38
1306=1310	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,150,98	146,117	263	53,210	225,38
1315	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,150,98	146,117	87,176	53,147,63	225,38
1416	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,111,137	263	263	53,147,63	225,38
1308	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,111,39,98	146,117	263	53,147,63	225,38
1319	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,111,39,98	146,117	87,176	53,147,63	225,38
1102	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,81,69,98	263	263	53,147,63	225,38
1118	171,92	103,160	263	208,55	146,117	15,81,69,98	263	263	53,210	225,38
1317	171,92	103,160	263	208,55	36,110,117	15,81,69,98	146,117	263	53,147,63	225,38
12031	171,92	103,160	162,101	208,55	36,110,117	15,248	263	87,176	53,210	263
0810	171,92	103,56,104	263	263	36,110,117	15,81,30,39,98	263	263	53,210	225,38
1304	171,92	103,56,104	263	208,55	146,117	15,81,69,98	263	263	53,147,63	225,38
1309	171,92	103,97,63	263	208,55	146,117	15,150,98	146,117	210,53	53,210	225,38
1201	171,92	103,99,2,59	162,101	208,55	36,110,117	15,248	263	87,176	53,210	263
12032	171,92	103,99,2,59	162,101	208,55	36,110,117	15,248	263	87,176	53,210	225,38

表 2-4

DR4 グループの RFLP パターン

DR4 グループの *Mnl*I 処理では認識部位と切断部位が重複するため、実際の RFLP パターンは表に示したサイズ以外のものが観察され複雑になる。われわれは日本人集団で頻度の高い DRB1*0401 (typeI), 0403=0406 (typeIII), 0405 (typeV) の増幅産物を酵素処理しコントロールとして並列し電気泳動を行っている。

[DR 4]		Standard						
DRB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Hha</i> I	<i>Hinf</i> I	<i>Sac</i> II	<i>Hph</i> I	<i>Mnl</i> I	< type >	
1410	263	100,163	263	263	143,120	79,107,6,4,67	III	
0422	263	100,163	263	263	72,71,120	79,113,71	I	
0403	263	100,163	263	263	72,71,120	79,107,6,4,67	III	
0407	263	100,163	263	263	72,71,109,11	79,107,6,4,67	III	
0415	263	100,163	263	205,58	72,71,120	79,69,115	-	
0404	263	100,163	263	205,58	72,71,120	79,107,6,71	V	
0413	263	100,163	263	205,58	72,71,120	79,113,71	I	
*0401=0416	263	100,163	263	205,58	72,71,109,11	79,113,71	I	
0408	263	100,163	263	205,58	72,71,109,11	79,107,6,71	V	
0406	263	100,163	90,173	263	72,71,120	79,107,6,4,67	III	
0420	263	100,163	90,173	263	72,71,109,11	79,107,6,4,67	III	
0421	263	100,163	90,173	205,58	72,71,109,11	79,113,71	I	
0419	263	100,163	90,173	205,58	72,71,109,11	79,107,6,71	V	
04052	263	156,107	263	205,58	72,71,109,11	79,107,6,71	V	
0411	263	100,56,107	263	263	72,71,120	79,107,6,4,67	III	
0417	263	100,56,107	263	263	72,71,109,11	79,107,6,4,67	III	
0410	263	100,56,107	263	205,58	72,71,120	79,107,6,71	V	
04051	263	100,56,107	263	205,58	72,71,109,11	79,107,6,71	V	
0409	263	100,56,107	263	205,58	72,71,109,11	79,113,71	I	
0418	168,95	100,163	263	263	72,71,120	79,184	-	
0402	168,95	100,163	263	205,58	72,71,120	79,184	-	
0414	168,95	100,163	263	205,58	72,71,109,11	79,184	-	
0412	168,95	100,56,107	263	263	72,71,120	79,184	-	

**Hha* I + *Bsr* I; 0416: 100,58,(10),95 / 04 others,1410: 100,68,95

表3-1
DPB1-P1 グループの RFLP パターン

[P 1]	Standard				Supplementary			
	DPB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Bst</i> UI	<i>Eco</i> NI	<i>Rsa</i> I	<i>Bbv</i> I	<i>Sac</i> I	<i>Dde</i> I
1401	264	46,218	193,71	264	264	264	264	264
4501	264	46,218	193,71	169,95	264	264	264	264
2501	264	46,218	193,71	22,147,95	264	264	264	264
5201	264	46,218	193,71	22,147,95	147,117	264	264	264
0301=2901	264	46,218	193,71(3,68)	22,242	264	264	264	264
5001	264	46,218	196,68	22,242	264	264	264	24,230
4401	264	46,218	193,3,68	22,242	264	101,163	264	264
5601	264	46,57,2,159	193,71	22,147,95	147,117	264	264	264
0601=2001	234,30	46,218	193,3,68(71)	22,242	264	264	264	264
3001	234,30	46,218	196,68	169,95	264	264	158,106	264
1101	234,30	46,57,2,159	193,71	22,78,69,95	147,117	264	264	264
3501	175,89	46,218	264	264	264	264	264	264
0901	175,89	46,218	196,68	264	264	264	264	264
1001	175,89	46,218	196,68	169,95	264	264	264	264
5401	175,89	46,218	196,68	169,95	264	264	158,106	264
3701	175,89	46,218	196,68	22,147,95	264	264	264	264
0101(1,2)	175,89	46,57,2,159	264	22,78,69,95	147,117	264	264	24,230
2601(1,2)	175,89	46,57,2,159	264	22,78,69,95	147,117	264	264	264
1301	175,89	46,57,2,159	196,68	22,78,69,95	147,117	264	264	264
3601	175,59,30	46,218	264	22,147,95	264	101,163	158,106	264
1701	175,59,30	46,218	196,68	264	264	264	264	264
5501	175,59,30	46,218	196,68	169,95	147,117	264	264	264
5801	175,59,30	46,218	196,68	169,95	147,117	101,163	264	264
2101	175,59,30	46,218	196,68	22,147,95	264	101,163	158,106	264
2701	175,59,30	46,57,2,159	264	22,78,69,95	147,117	264	264	264

表3-2
DPB1-P2 及び P3 グループの RFLP パターン

[P 2]	Standard			[P 3]	Standard			
DPB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Bst</i> UI	<i>Eco</i> NI	DPB1 allele	<i>Fok</i> I	<i>Bst</i> UI	<i>Eco</i> NI	<i>Dde</i> I
1501	234,33	46,57,2,162	193,74	0801	172,89	43,218	19,174,68	261
1801	175,59,33	46,221	267	1901	172,89	43,218	19,174,68	155,106
				3101	231,30	43,57,2,159	19,171,71	261
				3801	172,59,30	261	19,242	155,106
				0501	172,59,30	43,218	19,242	155,106
				1601	172,59,30	43,218	19,174,68	261
				2201	172,59,30	43,218	19,174,68	155,106

1310であり、また先の2章の「R86-A/B」により増幅できないと思われる DRB1*08042, 1316については掲載していないが、プライマー「DRBAMP-B」を用いた場合にはそれぞれ DRB1*08041, 1301と区別できない。

3.2. DPB1の RFLP パターン

DPB1のグループ毎の RFLP パターンを表3-1~3-4に示した(DPB1*5701は除外した)。RFLPパ

ターンにより区別できないものは、0301=2901, 0601=2001, 3901=4001, 4901=5301の4組である。これらのうち0301=2901, 0601=2001では *Eco*NI 切断片サイズがわずかに異なるが、そのサイズが小さいため通常のゲルでは判別が困難と思われる。

尚、新たに設定した「NP4」では、0402=1801の区別が不可能であり(表3-4)、従来のグループセットとの併用が適当と思われる。

表3-3
DPB1-P4 グループの RFLP パターン

DPB1 allele	Standard							
	<i>Bst</i> UI	<i>Eco</i> NI	<i>MnI</i> I	<i>Dde</i> I	<i>Sca</i> I	<i>Fok</i> I	<i>Sac</i> I	<i>Rsa</i> I
2301	43,221	19,245	83,102,79	264	166,98	172,59,33	264	166,98
0402	43,221	19,245	83,69,33,79	264	166,98	172,59,33	264	166,98
4701	43,221	19,174,71	83,102,3,76	264	166,98	172,59,33	264	166,98
3401	43,221	19,171,74	83,102,11,68	264	166,98	231,33	98,166	166,98
4101	43,221	19,174,71	83,69,33,3,76	264	166,98	231,33	264	166,98
0201(1,2)	43,221	19,174,71	83,69,33,3,76	264	166,98	172,59,33	264	166,98
4801	43,221	19,174,71	83,69,33,3,76	264	166,98	172,59,33	98,166	166,98
3201	43,221	19,174,71	83,69,33,3,76	264	264	172,59,33	264	166,98
4601	43,221	19,174,71	83,69,33,3,76	264	264	172,59,33	264	264
0202	43,221	19,174,71	83,69,33,3,76	155,109	166,98	172,59,33	98,166	166,98
0401	43,57,2,162	19,245	83,102,79	264	166,98	172,59,33	264	166,98
3901=4001	43,57,2,162	19,245	83,102,79	264	166,98	172,59,33	264	98,69,98
5101	43,57,2,162	19,245	83,69,33,3,76	264	166,98	172,59,33	264	166,98
4901=5301	43,57,2,162	19,245	83,69,33,3,76	264	166,98	172,59,33	264	98,69,98
2401	43,57,2,162	19,245	83,69,33,3,76	155,109	166,98	172,59,33	264	166,98
3301	43,57,2,162	19,174,71	83,102,3,76	264	166,98	172,59,33	264	166,98
2801	43,57,2,162	19,171,74	83,69,33,11,68	264	166,98	231,33	264	166,98

表3-4
DPB1-NP2 及び NP4 グループの RFLP パターン

DPB1 allele	Standard			
	<i>Eco</i> NI	<i>MnI</i> I	<i>Dde</i> I	<i>Rsa</i> I
0401	180	101,79	180	82,98
3901=4001	180	101,79	180	11,69,98
5101	180	68,33,3,76	180	82,98
4901=5301	180	68,33,3,76	180	11,69,98
2401	180	68,33,3,76	71,109	82,98
3301	109,71	101,3,76	180	82,98
1501	109,71	101,5,6,68	180	11,69,98
2801	106,74	68,33,11,68	180	82,98

DPB1 allele	Standard						
	<i>Eco</i> NI	<i>MnI</i> I	<i>Dde</i> I	<i>Sca</i> I	<i>Fok</i> I	<i>Sac</i> I	<i>Rsa</i> I
2301	179	100,79	179	81,98	87,59,33	179	81,98
1801=0402	179	67,33,79	179	81,98	87,59,33	179	81,98
4701	108,71	100,3,76	179	81,98	87,59,33	179	81,98
3401	108,71	100,11,68	179	81,98	146,33	13,166	81,98
4101	108,71	67,33,3,76	179	81,98	146,33	179	81,98
0201(1,2)	108,71	67,33,3,76	179	81,98	87,59,33	179	81,98
4801	108,71	67,33,3,76	179	81,98	87,59,33	13,166	81,98
3201	108,71	67,33,3,76	179	179	87,59,33	179	81,98
4601	108,71	67,33,3,76	179	179	87,59,33	179	179
0202	108,71	67,33,3,76	70,109	81,98	87,59,33	13,166	81,98

4. すべての多型性部位について、PCR-RFLP 法による識別を可能にするミスマッチプライマー法
PCR-RFLP 法は多型性部位を認識する制限酵素

がなければ識別できないという弱点があるが、最近この弱点を克服する手段が開発されている。すなわちその多型性部位を含む領域に PCR プライマーの

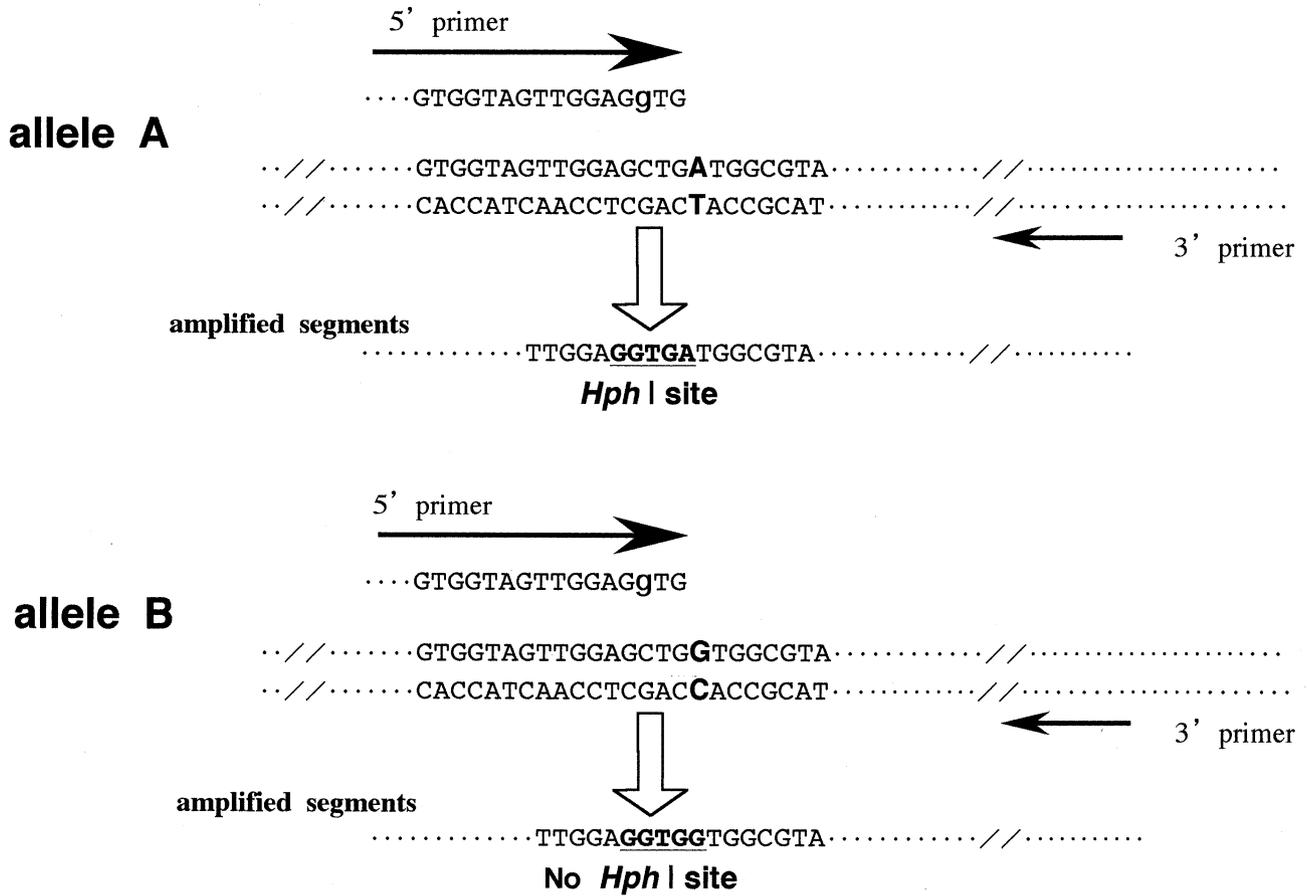


図1
 ミスマッチプライマー法の原理 (文献6より改変)

一方を設定し、しかもそのプライマーには一方のアリルにのみに、ある制限酵素の認識部位が出現するように1塩基の置換を導入する(図1)(6)(一般的には1塩基のミスマッチ程度ではPCR反応のアニーリングに問題は生じない)。

したがって、このミスマッチプライマーで増幅されたPCR産物の制限酵素による切断の有無でアリルの識別が可能となる。このミスマッチプライマー法はすべての多型性部位をPCR-RFLP法で識別しうる有力な方法であり、従来のPCR-RFLP法で同定できないアリルについて、必要に応じ採用すべきであろう。

5. 日常検査におけるPCR-RFLP法の補助的手段

5.1. PCR-SSP法

これまで示したPCR-RFLP法により識別の不可能で、比較的遺伝子頻度の高いと思われるものについては、便宜的にPCR-SSP法を用いて何れかのア

リルを決定している(表4)。

5.2. 同一グループ内で多型性領域の組み合わせのみが異なるヘテロ接合体への対応

同一のグループ内にヘテロ接合体の両方のアリルが含まれる場合に、少数ながら、多型性領域の組み合わせのみが異なるため、ヘテロ接合体アリルの組み合わせが決定できないことがある(3)が、両者のRFLPパターンの異なる制限酵素の認識部位に対応した配列のプライマーを用いて、別個に増幅しRFLP解析することで特定のアリルを決めることができる。

5.3 クラスII遺伝子ハプロタイプからのデータの検証

DRB1タイピングにおいて検出されるアリルがホモ接合体となった場合や稀少なアリルが検出された場合には、連鎖不平衡を示すDQA1, DQB1とのハ

表4
PCR-SSP 法による DRB1, DPB1 タイピング用のプライマー塩基配列を示していないプライマーは表1を参照。

combination	specificity	primer		size (bp)
		sense	antisense	
DRB1*1501=1503	1501,1502	DRBAMP-2	RB30-2T	90
	1503	DRBAMP-2	RB30-2C	90

RB30-2T	5'-CTCCTCCTGGTTATAGAAGTA		anneal. temp. : 62°C	
RB30-2C	5'-CTCCTCCTGGTTATAGAAGTG			
DRB1*1104=1106	1106,1201,1202	DRBAMP-3	RB85-2C	258
	52B other	DRBAMP-3	RB85-2T	258

RB85-2T	5'-CCGTGAAGCTCTCCACAA		anneal. temp. : 62°C	
RB85-2C	5'-CCGTGAAGCTCTCCACAG			
DPB1*0301=2901	Eco NI/ 193+3+68	PB5'7	PB69-1A	217
DPB1*0601=2001	Eco NI/ 193+71	PB5'7	PB69-1G	217

PB69-1A	5'-CCGGCACTGCCCGCTT		anneal. temp. : 64°C	
PB69-1G	5'-CCGGCACTGCCCGCTC			

プロタイプ(7)の検証を行い、データの妥当性の評価が必要である。

6. まとめ

クラス II 遺伝子タイピングの普及に伴い多くの新規アレルが発見され、タイピングの実用化が始まった1992年当時の Nomenclature for factors of the HLA system (8)に掲載されるアレルは DRB1 60 (そのうち, DRB1*0702はその後削除された), DPB1 36であるのに対し, '95年の Nomenclature for factors of the HLA system では何れもその約2倍の数のものが公認されている。これらの新規アレルに対応するために、既に実用化されている種々のタイピング法は複雑なものになることが予想されるが、PCR-RFLP 法においてはここで示したように、基本的に当初設定した方法(5, 9)を用い、特に大きな改良の必要もなく、ほとんどのもののタイピングが可能であると思われる。

注釈

- 1つのアレルに対し、複数の accession number が登録されている場合、それらの間で塩基配列が異なっているものが見受けられ、混乱を生じたことがある。結果的には発表された掲載論文の配列を採用するのが妥当と思われる。
- 一般的なプライマー「DRBAMP-B」による増幅産物では、制限酵素 HphI 処理により区別が可能な部位である。

参考文献

1. Bodomer, JG, Marsh, SGE, Albert, ED, *et al.*: Nomenclature for factors of the HLA system, 1995. *Tissue Antigens* **46**: 1-18, 1995.
2. Maeda, M, Murayama, N, Ishii, H, *et al.*: A simple and rapid method for HLA-DQA1 genotyping by digestion of PCR-amplified DNA with allele specific restric-

- tion endonucleases. *Tissue Antigens* **34**: 290-298, 1989.
3. Inoko, H: PCR - RFLP method holds great promise for complete HLA classII genotyping. *Tissue Antigens* **36**: 88 - 92, 1990.
 4. Ota M, Seki T, Fukushima H, *et al.* : HLA-DRB1 genotyping by modified PCR-RFLP method combined with group - specific primers. *Tissue Antigens* **39**: 187-202, 1992.
 5. Fukumori, Y, Nagao, N, Ohnoki, S, *et al.* : *HLA 1991* Vol. 2 (eds. Tsuji, K, Aizawa, M, Sasazuki, T), A polymerase chain reaction - restriction fragment length polymorphism method with allele - specific primers for HLA - DPB1 genotyping. Oxford Science Publications, Oxford, 1992 ; p. 331-333.
 6. Kuman, R, Dunn, LL: Designed diagnostic restriction fragment length polymorphisms for the detection of point mutations in ras oncogenes. *Oncogene Res.* **1**: 235-241, 1989.
 7. Hashimoto, M, Kinoshita, T, Yamasaki, M, *et al.* : Gene frequencies and haplotypic associations within the HLA region in 916 unrelated Japanese individuals. *Tissue Antigens* **44**: 166-173, 1994.
 8. Bodomer, JG, Marsh, SGE, Albert, ED, *et al.* : Nomenclature for factors of the HLA system, 1991. *Hum. Immunol.* **34**: 4 - 18, 1992.
 9. Kaneshige, T, Hashimoto, M, Matsumoto, Y, *et al.* : Serologic and nucleotide sequencing analyses of a novel DR52-associated DRB1 allele with the DR'NJ25' specificity, designated DRB1*1307. *Hum. Immunol.* **41**: 151-159, 1994.

〔海外ラボ紹介〕 Harvard 大学

—Jack L. Strominger 教授の研究室—

菅原 稔

エイジーン研究所

はじめに

米国東海岸の主要都市の一つである Boston は、米国建国の歴史を刻む落ちついた街である。歴史に飾られたこの街のもう一つの顔は、“学問、とりわけ科学の都”であろう。Logan International Airport から美しいチャールズ河を渡って車で5分ほどのところに、Harvard 大学、MIT 等で世界的に有名な“大学の街”Cambridge がある。学生街らしく多くの喫茶店や書店が軒を並べる、落ちついた雰囲気の美しい街だ。Boston 市ならびにチャールズ河をはさんで対峙している Cambridge 市を中心とする Boston Metropolis は、人口約57万人を擁し、大学・研究所、そしてそれらと太いパイプで結ばれる企業群が集積している。

Harvard 大学

1636年に創設されたアメリカ最古の大学であり、牧師 John Harvard (1607-1638) が遺産の半分と蔵書のすべてを寄贈したことから、Harvard 大学と呼ばれることになった。優秀な牧師を育成するための宗教大学として発足した Harvard College だが、19世紀に様々な分野の学部が新設され、今日ではあらゆる学問を包括する総合大学（学生数約16,000人）として、高い研究水準を維持し、著名な教授のもとに多数のポスドク、大学院生が生命のロジックを求めて研究を進めている。

Department of Biochemistry and Molecular Biology (BMB)

筆者は、1989年3月から1994年9月までの約5年半、巨大な Harvard 大学のほんの一つの学部にすぎない Department of Biochemistry and Molecular

Biology (BMB) の Jack L. Strominger 教授の研究室で、“Gene Regulation of MHC Class II Molecule” のテーマで研究する機会に恵まれた。その間この BMB 内で下記に列記した世界的に著名な研究者と知り合いになれたことは大変幸運なことで、自分の生涯にとって大きな財産である。

- 1 F : Don C. Wiley (Structure of MHC molecule)
- 2 F : James C. Wang (Structure and functional analysis of DNA)
Park S. Ptashne (Molecular genetics; mechanisms of gene control)
Stephen C. Harrison (Virus structure; protein - nucleic acid interactions; receptors)
- 3 F : Ernest G. Peralta (Signal transduction pathways of muscarinic acetylcholine receptors)
Nancy Kleckner (Chromosome behavior in bacteria and yeast)
Guido Guidotti (Structure and function of membrane proteins)
- 4 F : Jack L. Strominger (Molecular basis of immune recognition)
Tom Maniatis (Splicing, eukaryotic gene expression and regulation)
Douglas A. Melton (Anti-sense, molecular embryology)

BMB では、背景を大きく異にする研究者間の意見交換、材料・情報交換、研究協力といったものが、

きわめて自由な形で毎日絶え間なく繰り返されている。他に研究者間のもう一つの交流の場として Retreat と呼ばれる 1泊2日の研究合宿が、毎年秋に New England のリゾート地、Woods Hole で開かれる。各々の教授は、自分のラボの研究方針・成果について統括し、学生及び他の研究者からの批評を受けることになる。

ボスの指導や助言を必要以上に期待せず、自分で研究プロジェクトを組み立て、そのうえで、必要な技術を習得するという、自主性・積極性こそ survival game に必須の要素である。したがって、研究室の枠に当てはまらない、ポスドク間の交流は大きな情報源であり、積極的に discussion, seminar などに参加することは研究の質的な向上にも影響する。そのような姿勢は、人脈を広げていく上で大いに役立つし、なんとといっても孤独になりがちな研究生生活に潤いを与えてくれる。しかも、これだけの数の研究者が一カ所に集まると、お互いの交流を促進するフレンドリーな雰囲気も手伝って、共同研究などを進めるうえで、計り知れないメリットが生じてくる。当然、ここ BMB では、研究者が研究に没頭できるという理想的な環境が保証されており、快適で効果的な研究環境の実現のために、しかるべき金とエネルギーと知恵とがぎざまれている。1995年から、建物の名称が、BMB から Molecular and Cellular Biology (MCB) へと変更され、今なお常に時代の変化に対応し拡張しつつある。

Jack L. Strominger 研究室/Strominger's style/研究テーマ

さて、筆者の所属していた Strominger 研究室について少し述べてみたい。ラボは、毎年ほぼ16名のポスドクと4名の大学院生ならびに3名のテクニシャンから構成され、日本の大学における助教授・助手といった中間管理的ポジションは存在しない。プロジェクトに関しては、そのプロジェクトの性格と個人のラボでの経験年数にもよるが、大体、一人当たり平均2-3件担当し、米国内及び日本を含む海外の研究室との共同プロジェクトも進行中である (Jack は、親日家で、これまで何十人も日本人をポスドクとして採用している.)。ポスドクと大学院

生は世界の各地から来ているため、ラボは、いろいろな性格、習慣を持った人の集まりとなっている。研究時間は人によってまちまちで、1週間7日、朝8時から夜11時まで働く人もいれば、週末は十分休息を取って、平日集中して仕事をしている人もいる。

ラボ全体の研究テーマは、Jack の興味の範囲の広さを反映して、多岐にわたる。しかし、基本的には、“Molecular Basis of Immune Recognition” という大きな目標を掲げ、いろいろな系を用いて研究を進めている。この研究テーマを原点とし、各個人の希望に従って仕事が開始される。こうした自由度の高さから、実際の研究へのアプローチは研究者間で大きく異なることになり、日本のようにグループで研究するという感覚はきわめて薄く、各研究者は各々個別に研究テーマに取り組んでいる。

Jack は一旦、サイエンスの話になると目の輝きが変わり、高度の論理と創造性に富むアイデアが次々と飛び出してくる。Jack はそのテーマに関しての最新情報や助言を与えるが、研究の方針や具体的な実験計画はポスドクの自主性に委ねられている。すなわち、実験の詳細に関して彼が細かく指示することはほとんどなく、ポスドク、大学院生の研究態度等についての不必要な干渉も全くしない。ポスドクは、彼の作り出すモデル・仮説を各自が自分なりに理解し、自らの実験に組み込んでいくことになる。このやり方は、日頃の研究の進め方にも反映していて、Jack の方から研究の進展状況を尋ねてくることは滅多にないので、我々の方から話しかけない限り、何週間 Discussion なしと言うことになりかねない。

Jack が議論の際に好んで使う言葉に、bottom line と priority の2つがある。(1) 何が知りたいことなのか？(2) 今やろうとしている実験は、そのためのベストの方法なのか？(3) そしてそれに払う労力は、得られる情報の質に見合う物か？彼は常にこれらの観点から、各々のプロジェクトを見直している。その根底には常に明確な問題意識があり、そしてその探求を行うに足りるだけの技術的な裏づけがある場合に、いかに実り多い結果がもたらされるか？その実例を Jack に見いだすことができる。

当研究室では、Research Seminar (研究報告会)

および Journal Club (TcR, Antigen presentation, MHC molecule, Gene regulation of MHC molecule 等を中心とした文献紹介) が、両方とも毎週一回ずつ行われている。火曜の午前中に行われる Research Seminar では、その週の担当者が、約 1 時間の持ち時間で仕事の進行状況を発表し、他のポスドクから問題点を指摘してもらい、今後の方針などを討議する。これは、年 3, 4 回しか回ってこないが、その分密度の濃い discussion が行われる。また、筆者の所属した Gene Regulation of MHC Molecule の Journal Club では、毎週月曜日の夕方 4 時から、他の研究機関からの up-to-date な論文の紹介や、各々の最新実験データについて、自由に議論を交わしあうことができた。

もう一つのラボ, Division of Tumor Virology at Dana-Farber Cancer Institute (DFCI)

Jack は、筆者の所属していた前述の Cambridge にある Harvard 大学内のラボ以外に Harvard Medical School 内の DFCI にもう 1 つのラボを維持している。そこには、下記の member が働いている (た) が、絶えず人の移動が激しく、大変残念なことに Harvard 大学のラボとの正式な交流はなく、個人的なもののみであった。

Michael B. Brenner; $\gamma\delta$ T cell receptor, signal transduction (すでに完全に独立)

Michael S. Krangel; $\gamma\delta$ T cell receptor (Duke 大学へ移動)

Martin E. Hemlar; Adherent molecule (ほぼ完全に独立)

Sam Speck; Mechanism of EBV transformation (Washington 大学へ移動)

Thomas Spies; Cloning of new gene(s) within MHC region (Fred Hutchinson Cancer Research Center へ移動)

Jaekyoon Shin; Signal transduction pathway
Kai Wucherfenning; Immune recognition / Ag presentation

おわりに

留学する目的は、それまで行ってきた研究をさらに深めることであつたり、全く新しい研究への転機にしたりと、ひとによってさまざまであると思われる。新しい研究環境に身を置き、一流の研究者の研究姿勢や発想を身近に学び、文化的背景のまるで違ったいろいろな人々と交流する中で、自分自身を刺激し直すといった意義は誰もが認めるところであろう。

多くのポスドクにとり、Harvard 大学で過ごす数年間は、自らの科学者としての人生を決定する重大な時期ともいえる。ここで成功する事が、米国という競争社会で独立した地位を築き上げる最も確かな近道となる。いつ・どこでも、著名な教授が若い研究者たちと気さくにサイエンスを語り合っている。こうした環境の中で、権威とは全く異なる科学者としての自覚や自信が生まれてくる。このような環境を作り出すことのできるアメリカが、今後も世界の科学をリードするであろう、と言うのが自分の偽らざるを得ない実感である。能力のあるものが、その力を十分に発揮できるように、十分にバックアップしている米国の基礎科学の分野での世界における優位性は、ここしばらくはゆるがえないものであろう。

謝辞

この原稿の執筆の機会を与えて下さいました猪子英俊教授 (東海大学医学部) ならびに、承諾して下さいった古市泰宏所長 (エイジーン研究所) に感謝いたします。

〔国際学会印象記〕 EFI & BSHI 合同ミーティング(1995年)

坂内 誠

東京都赤十字血液センター，研究二課

European Foundation for Immunogenetics (EFI) と British Society for Histocompatibility and Immunogenetics (BSHI) の合同ミーティングが、3月8日から11日までイギリスのブライトンで開催されました。参加者の中心はやはりヨーロッパの人達ですが、それでも世界中から研究者が集まっています。一般演題数も300題を越える規模でした。MHCをはじめとする免疫遺伝学の様々な分野の講演や発表がありました。私の印象に残った分野にしぼって書いてみたいと思います。

1. HLA-クラスIのアリルタイピングについて

学会の性格上、HLA タイピングを行う演題は非常に多かったのですが、アリルタイピングまで行っている演題はHLA-A, B, C 座ともまだ少ないようでした。

HLA-B 座では、ある特定の血清学的グループのアリルを解析している発表がいくつかありました。塩基配列決定法による2題 (HLA-B41 および B35)、SSOP法が3題 (HLA-B14, B17 および B44)、SSP法が2題 (HLA-B14 および B54, B57)、SSCP法が2題 (我々のHLA-B40の他 B27, B44) ありました。

アリルタイピングを、HLA-B 座すべてのグループにわたって試みている発表も2題ありました。ドイツの Mler 等のグループは、塩基配列をひたすら決定して多くのアリルをタイピングしていました。アメリカの Fernandez-Vina, Stastny 等のグループは、SSOP法を用いてこれも人海戦術で4つの人種でアリルタイピングを行っていました。

HLA-B 座のDNA タイピングはまだ発展途上でアリルレベルのタイピングをしようと思ったら、多

くの人手と時間がかかるのが現状であるというのが再確認できました。

2. HLA 遺伝子のイントロン部分の塩基配列を決定した発表

HLA 遺伝子のうち、エキソン領域は、HLA の抗原性に直接関係し、また、DNA タイピングにとって重要なため多くの研究が行われていますが、イントロン領域は、発現する抗原とは直接関係なく解析も難しいため、研究はまだほとんど行われておりません。

アメリカの S. Y. Yang 等のグループは、HLA-A, B, C などのクラスI 遺伝子座について、それぞれいくつかのアリルでイントロンの塩基配列を決定し比較しました。その報告によると、それぞれの遺伝子座には、それぞれ特異的に配列が保存されていて、遺伝子座間の保存の程度は HLA-C > B > A の順でした。また、同一遺伝子座の各アリル間では、同一血清学的グループの中で比較的良好に塩基配列が保存されていました。

この発表から、HLA の場合、イントロンはエキソンより塩基配列の系統関係がよく保存されていて、進化の中で、エキソン領域にむしろ積極的に多型が造られていることを示唆するものと私は考えました。また、DNA タイピングの際、遺伝子座特異的、あるいはグループ特異的なPCRが不可欠ですが、この目的のためにも配列が保存されているイントロン領域にプライマーを設計することが得策と思われます。

3. マウスの MHC 領域に“臭い”分子に対する receptor 遺伝子を見出したという発表

マウスで MHC 領域が、“臭い”を介して交配にかかわっているという話を以前聞き、興味を持っていました。MHC は高度の多型性を示し、型により様々な疾患への感受性に差が生じています。従って、MHC に多くの多型を持つほど、その生物種や集団内に、特定の病気に対する抵抗力を持つ個体が存在し、種や集団が維持される可能性が高くなると推察されます。もし、交配の際に MHC の多型を維持、発展させるメカニズムがあればその生物にとって都合が良いことになります。

以前聞いた話は、マウスの迷路実験で、MHC が同じマウスと違うマウスのどちらを選ぶかという実験で、MHC の違うマウスが選ばれるというものでした。この現象は臭覚を介していることは推察されるものの、MHC 分子そのものが関与している可能性も考えられていました。

今回の発表はフランスのグループによるもので、MHC 領域に MHC とは別に臭い分子に対する receptor 分子の遺伝子を見出したというものです。今後、臭いの発生に関わる遺伝子も発見され、これらの遺伝子に多型が示され、自分と同じ臭いを選ばないメカニズムが解明されるとすれば、交配において MHC の多型を維持、発展させるメカニズムとして非常に興味あると思えました。

本発表はポスターの掲示が遅く、3月9日に私が見た時にはまだ掲示されていませんでした。また、抄録には遺伝子発見に対する記載がなく、3月10日ブライトンからロンドンへ帰る電車の中で、直前に見てこられた猪子先生から伺いました。先生も同様の遺伝子を探しておられたようで、先を越されたとおっしゃっていました。

4. おわりに

ブライトンはロンドンから電車で1時間余り南へ下った海岸の保養地の町で、会場のブライトンセンターもホテルやみやげ物屋が並ぶ海岸通りに面したところがありました。季節はずれのせいか、少し寂れた印象ですが、何かノスタルジーを感じさせられました。

今回の旅行では、徳永先生・猪子先生とほぼ全行程、また十字先生とも途中からご一緒させていただきました。

きました。ミーティングと前後してロンドンの ICRF (Imperial Cancer Research Fund) の Juria G. Bodmer 研究室、John Trowsdale 研究室を訪問しました。この訪問については、猪子先生が本誌 Vol. 1 No.2 で書かれておられます。Dr. Bodmer 研究室では、新しいアリルが登録される Nomenclature Committee の実質的な登録作業を S. G. E. Marsh が行っていますが、Marsh が実際、引き出しを開けて、今現在審査中のアリルに関する書類を見せてくれたその厚さが 10cm 程あったように思われました。

Dr. J. Trowsdale とその友人の Dr. Stephan Beck からはこの後、猪子先生、十字先生、徳永先生ともども、イギリススタイルのレストランにご招待いただき、歓迎を受けました。とてもすばらしい人達でした (写真)。



左から、猪子先生、徳永先生、十字先生、坂内、Dr. J. Trowsdale、Dr. S. Beck

今回の学会出張は私にとって、とても有意義でした。イギリスの伝統ある町並み、豊かな自然、そして人々のマナーや誠意ある対応などを目の当たりにして、大きなカルチャーショックを受けました。我々も技術的にはイギリスに追いついて来ている印象を持ちましたが、研究に流れる文化的伝統、それに根ざした基礎科学に対する思い入れ、また長い歴史の積み重ねによる情報や人が集まるシステムなど、奥の深さには感心させられました。

〔書評〕 IMMUNOBIOLOGY : THE IMMUNE SYSTEM IN HEALTH AND DISEASE.

Charles A. Janeway, Jr. And Paul Travers 著
Current Biology Ltd., Garland Publishing Inc. 出版 (1994年/5,400円)

大谷 文雄

北里大学医学部, 免疫学

本書は米国, 英国の医学生, 大学院生向けに書かれた免疫学の教科書で, 内容は最新の知見を述べていながら説明は平易であり, 図も多くてわかり易い。現代の免疫学を理解する上で恰好の本である。

免疫学の近年の進展はめざましく, そのため, 名著と言われた教科書も十年前のものは, もはや古典に属するような状態である。また, この十年間の新たな教科書の出版も著しく少なかった。これは, 免疫学研究の進歩があまりに早かったために, 教科書が出版された時点で既に最新の知見から遅れてしまうおそれがあったからである。この間に出版された免疫学の本は主に最新の知見を分担執筆した本であり, 適当な筆者を得た分野についてはくわしく述べられていても, 免疫学の体系全体を語るものとはなっていないし, 説明にも統一性が無かった。

このような急速な免疫学の進歩もここ数年落ち着きを見せはじめ, 免疫学の新たな全体像の確立がなされたため, 免疫学の体系自体の変革をとまなうような発見は見られなくなりつつある。その意味ではちょうど今が現代免疫学の教科書の書き頃であると言えよう。

本書はこのような時点をとらえて書かれたエール大学の C. A. Janeway とロンドン大学の P. Travers の共同執筆による免疫学の教科書である。A 4 版626ページから成るこの本は以下の五つのパートから構成されている。

- I An introduction to immunobiology
- II The recognition of antigen
- III The development of lymphocyte reper-

toires

IV The adaptive immune response

V The immune system in health and disease

I から IV までは各々二つの章に, V は四つの章に分けられており, 全体的には, 古典的な免疫現象から説きおこし, T細胞レセプターによるMHC及びペプチドの認識, 多くの細胞接着因子やCD抗原系の解説, 種々のサイトカインの役割等の最新の知見の説明にまで至っている。

特筆すべきは, 図の豊富さと美しさで, 図を眺めているだけで免疫学の大筋は理解できるし, 図の説明文をつなげただけでも教科書になり得る。英文も比較的簡単に読み易く, また各章, 各パートごとに“まとめ”と“参考文献”が列記され, 巻末には付録として, CD抗原系の解説や, 種々のリンフォカインを整理した表, 更に簡単な用語解説まで付いているのも便利である。

本書は免疫学全般の教科書であるために, ヒトHLA抗原に関する記述は極めて少なく, その点は組織適合性学会会員には多少不満が残るかもしれないが, 免疫学におけるMHCの重要性がくわしく述べられており, HLAをMHCの中の一員として理解し, 更にMHCの免疫学における役割りを理解する上では適当な記述であると言えよう。

本書はペーパーバックの為, 安価(5,400円:筆者が日本国内の一般書店にて購入の価格)であるのもありがたい。本書の日本国内取扱い代理店は南江堂書店。同店によれば今秋、笹月健彦教授監訳による日本語訳版が出版される予定とのことである。

Q & A

阿藤 みや子¹⁾, 小林 賢²⁾

¹⁾防衛医科大学校輸血部, ²⁾同検査部

Q. PCR に用いるプライマーの反応条件はどのように決められるのですか？

A. PCR の至適条件は、プライマー、Taq DNA ポリメラーゼ、dNTP 濃度、バッファー、MgCl₂濃度、PCR 装置、チューブの形状や液量等により異なるのでそれぞれに適した条件を求めなくてはなりません。PCR 反応は、熱変性、アニーリング、伸長反応の 3 ステップを 30 回程度繰り返し行い、目的領域の DNA を増幅させる方法ですが、通常熱変性と伸長反応の温度はどの条件でもだいたい一定で、94~96°C の熱変性と 72°C の伸長反応が用いられています。反応時間については、液量、ミネラルオイルの有無や目的領域の DNA 鎖長によって異なります。PCR 条件を決定する要因のなかで、アニーリング温度は最も重要になってきます。言い換えれば、プライマーの設計が大変重要なウエイトを占めることとなります。通常アニーリング温度 (T_m) を計算式で求める場合、 $T_m = (A+T) \times 2 + (G+C) \times 4$ (°C) の計算式が用いられますが、ここで求められた値は、実際の温度よりも高いことが多く、5°C 前後のずれが生じます。近年、熱力学を計算要素に加えた実際の温度に近い値の求められる計算式が報告されています。すなわち、 $T_m = \Delta H / \Delta S + \Delta S^\circ + R \times \ln(c/4) - 273.15 + 16.6 \log M$ という式です。実際に自分で計算しようとするとかかなり複雑ですが、コンピューターソフトが出ていますのでそれを利用すると簡単に求めることができます。いずれにせよ至適条件を見いだすには何回かの試行が必至のようです。

Q. アガロースゲルにエチジウムブロマイドを入れて泳動すると、ゲルに濃淡が生じるのはなぜですか。

A. TBE 泳動緩衝液を用いた場合、DNA は陰極から陽極側へと移動しますが DNA 染色に用いるエチジウムブロマイドは、逆に陽極側から陰極側へと移動します。そのため、あらかじめゲルにエチジウムブロマイドを加えてから泳動すると、どうしても下半分が白っぽく、上半分が濃くなるという現象が起きてしまいます。この方法はただ PCR 産物の確認を行うだけでしたら短時間で出来るという利点もあります。しかしながら細かなエキストラのチェックや RFLP を行う場合には向きません。細かい DNA 断片を見なければならぬような場合には、バットに染色液を作りゲルを浸して染色する方法をとります。0.5mg/ml 濃度のエチジウムブロマイド液を遮光できるバットに作っておき、泳動の終わったゲルを 15分~30分間浸し染色すると、ムラなく均一に染色できます。この染色液は繰り返し使用することができ (肉眼で見て赤色が消えるまで) 経済的でもあります。ひとつ注意したいことは、ポリアクリルアミドゲルの染色の際、必ずフタを取ってから染色液に浸けること (忘れると染色されません)、またこのゲルはアガロースゲルやヌシーブドゲルに比べ軽いためによく沈めたつもりでも浮き上がってしまうこともありますので、軽く振とうさせながら染色します。この他にもエチジウムブロマイドをアガロースゲルと泳動緩衝液に加え泳動する方法もあります。しかし実際この方法で行う場合には十分注意する必要があります。きれいに染色出来、廃液量や危険性の問題からも泳動後染色する後染色法がもっとも望ましい方法であると思われます。染色後の廃液も直接流してしまうことは避けて、専用のビンなどに貯めて、それぞれの施設での処理法に従わなければなりません。

〔伝言板〕 第24回国際輸血学会総会のお知らせ

第24回国際輸血学会総会組織委員会

会長 湯浅 晋治

順天堂大学医学部, 輸血学

皆様にはますますご健勝にてご活躍のこととお慶び申し上げます。

この度、第24回国際輸血学会総会を日本輸血学会と日本血液事業学会の共催により開催することになりました。

国際輸血学会総会は2年に1回開かれており、日本での開催は1960年の第8回以来36年ぶりとなります。当時は売血制度もお全盛で、日本の輸血医学は欧米には遙かに及ばない状況にありました。その後、日本の輸血医学及び血液事業は急速に発展を遂げ、今や世界の最高水準にあります。

私共はこの機会を本邦における輸血医学及び血液事業の総決算と位置づけ、全世界からの参加者と共に討議を行い、その成果を21世紀に生かす場にしたいと考えております。また、アジア諸国から多くの研究者を招くことにより、この地域の輸血医学及び血液事業の発展に貢献できることを期待しております。

なにとぞ、本総会の開催の意義についてご理解いただき、多数ご参加くださいますようご案内申し上げます。

記

会 期 1996年3月31日(日)～4月5日(金)

会 場 幕張メッセ

〒261 千葉県千葉市美浜区中瀬2-1

電話：043-296-0001 ファックス：043-296-0529

主催機関の名称

1)主催：

国際輸血学会、第24回国際輸血学会総会組織委員会

2)共催：

日本輸血学会、日本血液事業学会、財団法人ウイルス肝炎研究財団

3)後援(予定)：

文部省、厚生省、日本赤十字社、日本医師会、日本医学会、千葉県、千葉市

4)協賛(予定)：

日本アフェレーシス学会、日本医科器械学会、日本移植学会、日本ウイルス学会、日本胸部外科学会、日本外科学会、日本血液学会、日本血液代替物学会、日本血栓止血学会、日本産科婦人科学会、日本人工臓器学会、日本整形外科学会、日本組織適合性学会、日本内科学会、日本麻酔学会、日本免疫学会、日本臨床血液学会、日本臨床病理学会、日本骨髄移植研究会、自己血輸血研究会、日本血液成分治療研究会

参加登録

	1995年12月31日まで	1996年1月1日以降
I S B T会員 日本輸血学会会員 日本血液事業学会会員	40,000円	50,000円
一般、上記会員以外	45,000円	55,000円
学生	15,000円	
同伴者	10,000円	

申込書類請求先：

第24回国際輸血学会総会事務局

〒103 東京都中央区日本橋2-14-9 加商ビル2階

(株)アイシーエム企画 コンベンション営業部内

電話：03-3272-8013 ファックス：03-3273-2445

第12回近畿HLA研究会

抄録

会 期：1995年6月17日(土)
 会 場：三和化学研究所 大阪メディカルホール 4 F会議場
 〒532 大阪市淀川区宮原4-3-5
 T E L 06-394-3831
 世話人：大阪大学医学部バイオ臓器移植学
 〒565 大阪府吹田市山田丘2-2
 T E L 06-879-3062
 F A X 06-879-3069

1. 日本人に特異的なDR13ハプロタイプの解析(2)

木下 朋子, 橋本 光男, 山崎 美保, 市川 靖二, 福西 孝信

兵庫県立西宮病院, 腎移植センター

日本人には3種類の特徴的なDR13ハプロタイプが存在することをこれまでに検討してきた。クラスIのDNAタイピングを行うことにより、アレルレベルでのハプロタイプの解析が可能となった。【対象と方法】1959人の日本人非血縁者のDNAタイピングをPCR-SSOP, PCR-SSP法で行った。【結果】以下のハプロタイプが特徴的であることがわかった。

- (1) A*3302-Cw*14-B*4403-DRB3*0301-DRB1*1302-DQA1*0102-DQB1*0604
- (2) A*0301-Cw*05-B*4402-DRB3*0101-DRB1*1301-DQA1*0103-DQB1*0603
- (3) A*3302-Cw10-B58-DRB3*0301-DRB1*1302-DQA1*0102-DQB1*0609

2. HLA-Cw4 抗原系の血清学的解析

川崎 盛彦¹⁾, 岩本 通子¹⁾, 中島 克子¹⁾, 嶋 裕子¹⁾, 狩野 好彦²⁾, 武井 浩充³⁾

¹⁾奈良県赤十字血液センター, ²⁾群馬県赤十字血液センター, ³⁾茨城県赤十字血液センター

Cw4 抗原サブタイプと抗血清の評価のために, 9本の抗 Cw4 単一特異性血清, 及び3本の抗 Cw4 + Cw6 血清と50パネルの Cw4 陽性セルとの反応を解析した. 抗 Cw4 単一特異性血清に反応するが, 抗 Cw4 + Cw6 血清に反応しないか弱い反応のセルが各種ハプロタイプに存在した. これらのミス反応は抗原量, 抗体力価の問題ではないことが力価測定と吸収試験で確認できた. つまり, Cw4 と Cw6 に共通するエピトープの有無を反映しているものと考えら

れる. また, 反応が親子で一致しないことが3家系で認められ, HLA 蛋白の高次構造が反映しているものと考えられた. (データは研究会の抄録集を参照). 既報のアミノ酸配列より, α 1 ドメイン69番から96番目アミノ酸が Cw4 と Cw6 に特異的に共通であり, 79R と90D 及び80K と89E がイオン結合による架橋を形成し, エピトープ中心となっている可能性が高い. この架橋が切れる構造を仮定すれば上記の反応成績を説明できる.

3. 15歳未満発症のインスリン依存型糖尿病における GAD 抗体と HLA クラス II 抗原

西牧 謙吾¹⁾, 新平 鎮博²⁾, 和東 栄美²⁾, 今井 龍也¹⁾, 川村 智行¹⁾, 稲田 浩¹⁾, 一色 玄¹⁾, 鍋谷 登³⁾, 能勢 義介⁴⁾

¹⁾大阪市大医学部, 小児科, ²⁾同 発達保健, ³⁾ナベヤクリニック, ⁴⁾兵庫県赤十字血液センター, 検査課

【目的】インスリン依存型糖尿病(IDDM)は自己免疫疾患であり, 膵 β 細胞の成分に対する種々の自己抗体を持つ. 最近 GAD 抗体測定が容易になり, IDDM 患者の診断・予知マーカーとして注目されている. 今回, 血清学的に解析した疾患感受性 HLA 抗原, 罹患年数と GAD 抗体陽性率を比較した結果, 興味あるデータを得たので報告する. **【対象・方法】**対象は15歳未満発症の IDDM 患者32名. DR, DQ は血清学的タイピングを行った. GAD 抗体は, GAD 研究会(ヘキストジャパン社製のキットを使用)の測定結果を用いた. **【結果】**GAD 抗体陽性者は, 罹患年数10年未満で6/12 (50%), 10年以上では, 5/20

(25%) の陽性率であった. HLA との関連から見ると, 罹患年数10年未満の場合, DR4.1 保有者は2/10 (20%) であるのに対し, 非保有者は4/4 (100%) と陽性率が高く, 10年以上では, DR4.1 保有者は1/11 (9.1%) であるのに対し, 非保有者は4/7 (57%) と陽性率が高い傾向を示した. この傾向は, DQ4 でも見られたが, DR9, DQ3 では見られなかった. **【結語】**GAD 抗体は, ある特定の HLA クラス II 抗原(DR4.1, DQ4)保有者に比べ, 非保有者の方が高い陽性率を示す傾向がある. その意義については, 今後検討を要する.

4. ブロッキング法を用いた抗体解析について

斎藤 隆夫¹⁾, 高橋 順子¹⁾, 吉村 敬次¹⁾, 富田 忠夫¹⁾, 福森 泰雄¹⁾, 大軒 子郎¹⁾, 柴田 弘俊¹⁾, 大久保 康人¹⁾, 高橋 英夫¹⁾, 小河 英人¹⁾, 山野 孟¹⁾, 矢橋 弘嗣²⁾, 平井 博美³⁾, 兼重 俊彦³⁾

¹⁾大阪府赤十字血液センター, ²⁾大阪府南大阪赤十字血液センター, ³⁾シオノギ製薬, 診断医学部

今回、患者血清中より Cx4451及び Cw1の一部とのみ反応すると思われる抗体を得た。

本血清の持つ抗体が C 座抗原特異的であることを確認するために特異性既知の抗血清を用いて抗原をブロックし、調べようとする抗体の特異性を検査するブロッキング法を考案した。その結果、B 座抗原をブロックする抗血清を用いた場合抗体は吸収され陰性となった。また、C 座抗原をブロックする抗血清を用いた場合抗体は吸収されずに陽性を示し、本

血清が C 座抗原特異的であることを示唆する結果を得た。

家系調査により本血清と反応する抗原が矛盾なく遺伝していることを確認し、その HLA-C 遺伝子の塩基配列解析の結果、エクソン2において Cx4451は B51と連鎖する Cw*1401と B44に連鎖する Cw*1403であった。Cw1については引き続き検討中である。

5. PCR-RFLP 法による HLA-C の generic タイピングの試み

福森 泰雄¹⁾, 大軒 子郎¹⁾, 柴田 弘俊¹⁾, 斎藤 隆夫¹⁾, 高橋 順子¹⁾, 吉村 敬次¹⁾, 大久保 康人¹⁾, 富田 忠夫²⁾, 矢橋 弘嗣²⁾, 平井 博美³⁾, 兼重 俊彦³⁾

¹⁾大阪府赤十字血液センター, ²⁾大阪府南大阪赤十字血液センター, ³⁾シオノギ製薬, 診断医学部

【はじめに】PCR-RFLP 法を用いて HLA-C の generic なタイピングを試みた。【材料, 方法】PCR プライマーは HLA-C 遺伝子のエクソン 2 部分に設定し、増幅を行った。この PCR 産物に対し、DdeI, EagI, NlaIV で処理した。その後、必要に応じて、AciI, BstNI, SmaI, NcoI などの酵素処理を行った。【結果】HLA-C のエクソン 2 の増幅産物の酵素処理で、各対立遺伝子は 6 つのグループ (group1 : Cw1, group2 : Cw2, group3 : Cw0301 (欠番),

group4 : Cw14, Cw4, Cw3 (0301を除く), group5 : Cw6, Cw7, group6 : その他の型) に分類できた。また、Cw4, Cw3, Cw14は BstNI と AciI 処理で、Cw6, Cw7は SmaI 処理で、group6に属する Cw5, Cw8, Cw12, Cw15, Cw16などは AciI 処理の結果より、さらに細かく分類可能で、PCR-RFLP の結果と血清学の結果に矛盾はなかった。血清学の結果と合わせて、HLA-C 型判定の一助となりうる。

6. PCR-LIS-MPH 法による HLA-DR low resolution typing について

原 祐子, 丸屋 悦子, 佐治 博夫, 横山 繁樹

京都府赤十字血液センター

【はじめに】PCR-MPH 法は DNA を用いた HLA-class II の血清学レベルのタイピングを大量かつ簡便迅速に行える方法である。低イオン強度の溶液 (Low Ionic Strength: LIS) 中で熱変性させる条件で一本鎖 DNA の形成効率を高め、その効果を検討した。【材料と方法】当センターにおける control DNA 7種およびパネル DNA 1種を用いた。LIS-熱変性：増幅した DNA を滅菌蒸留水で4倍希釈した後熱変性する。各プローブに添加する DNA 量は従

来の半量(4倍希釈 DNA としては倍量の10 μ l)とする。【結果とまとめ】増幅 DNA を希釈した後熱変性すると反応を増強することができた。結果的に用いる DNA 量が減り、一度の PCR で再検用 DNA も確保できた。さらにプローブの種類が増加しても対応が可能である。PCR-LIS-MPH 法をスクリーニングとして用い、PCR-RFLP, -SSCP 法等を組み合わせることで high resolution typing の精度を高めることにつながった。

7. PCR-LIS-SSCP (low ionic strength single strand conformation polymorphism) 法による HLA-DRB1, DQB1, DPB1 allele typing (予報)

丸屋 悦子, 原 祐子, 佐治 博夫, 横山 繁樹

京都府赤十字血液センター

【はじめに】SSCP は塩基配列の変異を検出する鋭敏で経済的な方法である。一本鎖 DNA 形成の効率良い方法：LIS-熱変性法を開発し、PCR-LIS-SSCP による HLA-DRB1, DQB1, DPB1 allele typing を行った。【材料と方法】Japanese, Hispanic, Black, Caucasian DNA 200例と reference として Terasaki DNA exchange DNA を用いた。LIS-熱変性は増幅 DNA を低イオン強度溶液に浮遊させ加熱処理する。【結果とまとめ】LIS-熱変

性の効率は formamide よりまさり、形成される SSCP パターンも鮮明である。試薬と冷却操作を省けるので、簡便で安価である。PCR-LIS-SSCP を用いた HLA-class II allele typing は十分な解像力を持ち high resolution typing として有用、変異検出能力の高さから「適合性」を目的とした typing に有利、SSOP, RFLP, SSP など他の typing 法の確認法としても有用であることがわかった。

8. HLA-A26 の New allele, HLA-A26KY について(予報)

丸屋 悦子¹⁾, 林 玲²⁾, 石川 善英²⁾, 徳永 勝士²⁾, 木村 彰方³⁾, 仁田 浩¹⁾, 佐治 博夫¹⁾

¹⁾京都府赤十字血液センター, ²⁾中央赤十字血液センター, ³⁾九州大学医学部生体防御研究所

【はじめに】木村らが開発した PCR-SSOP による HLA-A locus allele typing を行ない, 既存の HLA-A26 alleles (A2601, 2602, 2603, 2604) と異なった SSOP 反応パターンを示す DNA (仮称: HLA-A26KY) を検出し, この DNA について検討した。【材料と方法】DNA: 89人の健康な日本人由来 DNA を用いた。HLA-A locus SSOP typing は木村らの方法に準じた。exon 2および exon 3の部分塩基配列の決定は direct sequencing 法を用いた。

【結果および考察】HLA-A26 関連 probes と HLA-A26KY の反応は A26 specific probes すべてに陽性, A26 allele を分類する probes で amino acid positions 70~79と反応する probes と new reaction pattern を示した。この部位の sequencing により, A26KY は Glu-76 (A*2601=2=4: Ala, A*2603: Val) であった。現在, 全 exon の塩基配列を決定している。

9. Alternative splicing により産生される多様な HLA-G mRNA, およびそれらの蛋白に対するモノクローナル抗体について

石谷 昭子¹⁾, 藤井 知行²⁾, Daniel E. Geraghty³⁾

¹⁾奈良県立医科大学, 法医学, ²⁾東京大学医学部, 産婦人科, ³⁾Fred Hutchinson Cancer Research Center

HLA-G mRNA は, alternative splicing により, 3種の膜結合性抗原の mRNA (G1, G2, G3), および2種の可溶性抗原の mRNA (G1 sol., G2 sol.) が合成されることを明らかにした。G1は, full length, G2は $\alpha 2$ が欠損, G3は $\alpha 2$, $\alpha 3$ が欠損していた。これらの抗原に対する抗体については, HLA-G 全遺伝子に対するものと, 可溶性抗原 G1 sol. に対するものの2種のモノクローナル抗体の作製に成功した。これら抗体の特異性については, cytotoxicity test, FACS, ELISA および免疫組織化学により検定を行った。

10. 抗 HLA-G モノクローナル抗体を使用したヒト各種組織および各妊娠周期胎盤における HLA-G 抗原の検索

長池 知恵子¹⁾, 石谷 昭子¹⁾, 平野 佳成¹⁾, 伊藤 信彰¹⁾, 羽竹 勝彦¹⁾, Daniel E. Geraghty²⁾

¹⁾奈良県立医科大学, 法医学, ²⁾Fred Hutchinson Cancer Research Center

ヒト各種組織・各妊娠周期の胎盤における HLA-G 抗原の局在を我々が作成した抗 HLA-G 抗体および抗可溶性 HLA-G 抗体を用いて, 新鮮凍結切片および固定凍結切片の免疫組織染色により検索した。抗 HLA-G 抗体による検索では胎盤の Extravillous Trophoblast にのみ HLA-G 抗原の発現を認めた。抗可溶性 HLA-G 抗体による検索においてもほぼ同部位に発現を認めた。現在, 絨毛間腔等の母体血についても検索を行っている。

日本組織適合性学会会則

第1章 総則

(名称)

第1条 本会は、日本組織適合性学会(Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 略称 JSHI) と称する。

(事務局)

第2条 本会の事務局は、日本赤十字中央血液センターにおく。

(目的)

第3条 本会は、組織適合性とそれに関する学問の進歩発展に資するため、国内のみならず国外の関連機関とも連絡を密にして研究の促進を図り、その成果の応用を通じて広く人類の健康と福祉に貢献することを目的とする。

(事業)

第4条 本会は、前条の目的を達成するため次の事業を行う。

1. 学術集会（学術集会、講演会、ワークショップなど）の開催
2. 研究資料の刊行
3. 内外関連研究機関および研究組織との連絡
4. HLA タイピングの精度向上に関する事業
5. その他本会の目的を達成するに必要な事業

第2章 会員

(会員の資格)

第5条 本会の会員は次のとおりとする。

1. 正会員：本会の目的に賛同した者で、第6条に定める入会手続きを経て入会し、年度会費を納入した者
2. 特別会員：本会对し特別の功労があり、理事会、評議員会の議を経て会長が推薦し、総会において承認された者
3. 賛助会員：本会の目的に賛同し、本会の事業を援助するために第6条に定める入会手続きを経て入会し、年度会費を納入した団体または個人

(入会)

第6条 本会に入会を希望するものは、所定の入会申し込み書に年会費を添えて申し込むものとする。

(年会費)

第7条 年会費は別途これを定める。既納の会費は返却しない。

(会員の権利)

第8条 会員は本会の事業に関する連絡を受け、学術集会や本会の行う事業に参加することができる。

(退会)

第9条 本人より退会の申し出のあった会員、および年会費を3年以上未納の会員は退会とみなし、学術集会を含む本会の事業の連絡を停止する。

(除名)

第10条 本会の目的に反する行為のあった会員は、理事会および評議員会の議決により、総会の承認を経て除名することができる。

第3章 役員

(役員)

第11条 本会に次の役員をおく。

会長	1名
理事	若干名
監事	2名
評議員	若干名

(選任)

第12条 役員は次の規定によって選任する。

1. 評議員は正会員の中から、附則に定める資格を満たすものと理事会および評議員会の議を経て会長が委嘱し、総会の承認を得るものとする。
2. 理事および監事は、評議員会において、評議員の中から互選により選出する。理事と監事を兼務することはできない。
3. 会長は理事会において、理事の中から互選により選出する。

(職務)

第13条 本会の役員の職務は次のとおりとする。

1. 会長は、本会を代表し、本会の業務を総轄する。
2. 理事は理事会を構成し、この会則に定められた事項を議決する。各理事は、庶務、会計、編集、渉外などの業務を分業する。
3. 監事は本会の業務および経理を監査する。
4. 評議員は評議員会を構成し、この会則に定めら

れた事項を議決する。

(任期)

第14条 会長、理事、監事の任期は2年とする。但しいずれの役員も再選は妨げない。

(職員)

第15条 本会の事務を円滑に処理するため、事務局に事務局長をおく。事務局長は、理事会において理事の中から互選により選出し、その任期は2年とする。事務局は、必要に応じ事務局職員をおくことができる。職員の任免は会長が行う。

第4章 会議

(学術集会)

第16条 学術集会は、原則として年1回行い、大会長がこれを主宰する。大会長は、理事会および評議員会の議を経て会長が委嘱する。

(総会)

第17条 総会は、年1回学術集会に際して開催し、大会長を議長として以下に述べる事項、ならびに理事会および評議員会において議決された事項を会員に報告し、承認を受けるものとする。

1. 事業報告ならびに事業計画
2. 会計報告ならびに予算
3. その他

(評議員会)

第18条 評議員会は、年1回の学術集会に際して定期的で開催する外、会長が必要と認めた際は、臨時に評議員会を召集して会務の円滑な運営に当たる。評議員会の議長は、定期の評議員会では該当学術集会の大会長が行い、臨時の評議員会では評議員の互選により選出する。

(評議員会の議決)

第19条 評議員会は、別に定める会則改正の場合を除き、評議員の半数以上の出席のもとに、出席者の過半数の賛成がなければ議決することが出来ない。やむおえない事由で評議員が出席できない場合は、議長あるいは他の評議員に委任状を提出し審議を委任することができる。委任状提出者は議決に関し出席者として取り扱われ、その議決権は委任された者が代わりに執行する。

(評議員会議事録)

第20条 評議員会の議事については次の事項を記載した議事録を作成しなければならない。議事録は議

長の責任において作成し、次回の評議会で内容の確認を得るものとする。

1. 会議の日時および場所
2. 出席者の氏名
3. 議決事項
4. 議事の経過

(理事会)

第21条 理事会は会長が主宰する。理事会は、定期理事会および臨時理事会とする。定期理事会は毎年2回会長がこれを召集する。会長は、会長が必要と認めたとき、または3分の1以上の理事から開催が請求されたときは速やかに臨時理事会を召集しなければならない。

(理事会の議決)

第22条 理事会は3分の2以上の理事が出席し、出席した理事の過半数の賛成がなければ議決することができない。監事は理事会に出席して意見を述べることができるが議決には加わらない。

(委員会)

第23条 本会の業務を遂行するのに必要な委員会を設置することができる。委員会の設置および委員の選任は、理事会および評議員会の議を経て会長が行う。

第5章 分科および地方会

(分科会)

第24条 本会に分科会をおくことができる。分科会の設置並びに廃止は、理事会および評議員会の議決を経て会長が決定する。

(地方会)

第25条 本会の下部組織として地方会をおくことができる。地方会の設置並びに廃止は、理事会および評議員会の議決を経て会長が決定する。

第6章 会報

(会報)

第26条 本会は会報を発行する。この内1回は各年の学術集会の子稿集を兼ねる。

(編集)

第27条 会報の編集は、評議員の中から互選によって選出された編集委員が別に定める会報規定に基づいて行う。但し学術集会の子稿集を兼ねる場合には、各大会長に委嘱することかできる。

第7章 会計

(経費)

第28条 本会の経費は、会費、補助金、寄付金、その他で支弁する。

(会費)

第29条 本会の年会費は、次に定める通りとする。

1. 正会員：年額 5,000円
2. 特別会員：免除
3. 賛助会員：年額 100,000円

(会計年度)

第30条 本会の会計年度は4月1日より、翌年3月31日とする。

(会計監査)

第31条 収支決算は監事の監査を受けた後、理事会、評議員会ならびに総会の承認を受けるものとする。

第8章 会則の変更および細則

(会則の変更)

第32条 この会則は、理事会、および評議員会の3分の2以上が出席した評議員会の議決を経て、総会の承認を得なければ変更することができない。

(会則の実施)

第33条 この会則の実施に際し疑義を生じた場合、または会則以外に必要な事項が生じた場合は、理事会および評議員会がこれを処理する。

(細則)

第34条 この会則施行についての細則は、理事会、評議員会の議決および総会の承認を経て別に定める。

(付則) この会則は、平成3年4月8日から施行する。

日本組織適合性学会
平成6年度決算報告書

自 平成6年4月 1日
至 平成7年3月31日

収入

個人会員年会費 (260件)	1,300,000
平成7年度年会費前納 (1件)	5,000
賛助会員年会費 (12口)	1,200,000
学会誌広告費 (@30000×2件)	60,000
〃 (@40000×3件)	120,000
学会誌販売 (22冊)	44,000
預金利息	55,643
平成5年度繰越金	6,173,001
計	8,957,644

支出

第3回大会援助金	500,000
学会誌・ニュースレター作成費	1,380,200
旅費 (選管2名、事務局員)	95,315
通信費	192,190
事務局費	14,754
銀行振込手数料	1,400
繰越金	6,773,785
計	8,957,644

平成7年度への繰越金 6,773,785

内訳

定期預金	1,961,370
普通預金	1,652,654
郵便振替	3,138,000
現金 (事務局費)	21,761

日本組織適合性学会

平成7年度予算案

自 平成7年4月 1日

至 平成8年3月31日

収入

平成6年度繰越金	6,773,785
個人会員年会費 (320件)	1,600,000
賛助会員年会費 (15口)	1,500,000
学会誌広告費	900,000
学会誌販売 (25冊)	50,000
預金利息	60,000
計	10,883,785

支出

大会援助金	500,000
学会誌・ニュースレター作成費	1,800,000
旅費	300,000
通信費	300,000
事務費	100,000
会議費	50,000
予備費	1,000,000
繰越金	6,833,785
計	10,883,785

〈日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定〉

1. 投稿規定

1.1. 原稿様式

提出原稿がそのまま電算写植で印刷できるように、原稿は全て、コンピューターのフロッピーディスクとA4サイズでプリントアウトしたものの両者を提出する。一般的なワープロソフトを使用し、ソフト名を明記する。字体、サイズ、行の字数、行間、などの体裁は自由とする。また、図表については、写植でそのまま掲載できるものを提出するが、挿入箇所を本文に指定する。図については天地を明示する。印刷の際に、縮小または拡大する場合があるので、考慮すること。また、図表の題や説明はワープロで、本文とは別頁に添付する。

1.2. 原著論文

会員からの投稿を原則とするが、編集委員会が依頼することもありうる。日本語、英語を問わない。タイトル、著者名、所属は次の様式にしたがう。

Serological and nucleotide sequencing analysis of a novel DR52-associated DRB1 allele with the DR'NJ25' specificity designated DRB1*1307.

Toshihiko Kaneshige¹⁾, Mitsuo Hashimoto²⁾, Yayoi Murayama¹⁾, Tomoko Kinoshita²⁾, Tsutomu Hirasawa¹⁾, Kiyohisa Uchida¹⁾, Hidetoshi Inoko³⁾

- 1) Shionogi Biochemical Laboratories, Shionogi Company, Osaka, Japan
- 2) Kidney Transplantation Center, Hyogo Prefectural Nishinomiya Hospital, Hyogo, Japan
- 3) Department of Molecular Life Science, Tokai University School of Medicine, Kanagawa, Japan

HLA class II の DNA typing と MLC

能勢 義介¹⁾, 稲葉 洋行¹⁾, 荒木 延夫¹⁾, 浜中 泰光¹⁾, 阪田 宣彦¹⁾, 土田 文子²⁾, 辻 公美²⁾, 成瀬 妙子³⁾, 猪子 英俊³⁾

- 1) 兵庫県赤十字血液センター, 検査課
- 2) 東海大学医学部, 移植免疫学
- 3) 東海大学医学部, 分子生命科学

内容は、要約 (Summary)、はじめに (Introduction)、材料と方法 (Materials and Methods)、結果 (Results)、考察 (Discussion)、参考文献 (References) の順に記載する。また、要約の末尾に日本語で5語以内のキーワードを加える (英文の場合には英語の Key words を加える)。脚注は適宜、設けてもよい。日本語で投稿の場合には、末尾に英語のタイトル、著者名、所属(様式は上述に従う)、英語の要約と英語で5語以内の Key words をつける。枚数に特に指定はないが、速報的な短報(全体で、2,000～3,000字、出来上がり A4版で2～4枚程度)を中心とする。もちろん、フルペーパー (full paper) も歓迎する。なお、参考文献 (References) の記載については、下記1.5を参照すること。オリジナル1部にコピー3部を添えて、編集長宛(下記3参照)に送付する。

1.3. 総説、シリーズその他

編集委員会からの依頼を原則とするが、会員からの投稿も大いに歓迎する。日本語を原則とする。タイトル、著者名、所属は上記1.2.の通りにしたが、要約と要約の末尾に日本語で5語以内のキーワードを添える。その他の体裁は自由とするが、構成がいくつかの章、節などから成る場合には、次の番号に従い、適当な見出しを添える。

1. 2. 3. 4.
- 1.1. 1.2. 1.3. 1.4.
- 1.1.1. 1.1.2. 1.1.3.

脚注は適宜、設けてもよい。なお、参考文献 (Refer-

ences) の記載については、下記1.5.を参照すること。

1.4. 校正

校正は編集委員が行い、特別な場合を除き、執筆者は校正を行わない。

1.5. 参考文献

参考文献は、本文中に数字で、例えば (3), の様に表示し、末尾にまとめて、次のようなスタイルで記載する。ただし、著者名、または編集者名は、筆頭3名まで記載し、以下は省略する。

1. Kaneshige T, Hashimoto M, Murayama A, *et al.* : Serological and nucleotide sequencing analysis of a novel DR52 - associated DRB1 allele with the DR'NJ25' specificity designated DRB1*1307. *Hum. Immunol.* **41** : 151-160, 1994.
2. Inoko H, Ota M : *Handbook for HLA Tissue - Typing Laboratories* (eds. Bidwell J, Hui KM), PCR - RFLP. CRC Press, Boca Raton, 1993; p.1-70.
3. 能勢義介, 稲葉洋行, 荒木延夫ら : HLA class II の DNA Typing と MLC, 輸血, **39**: 1031-1034, 1993.
4. 猪子英俊, 木村彰方 : 岩波講座分子生物学11巻, 生物体のまもりかた (本庶佑編), 自己と他の識別, 岩波書店, 東京, 1991; p.129-194.

2. 別刷

原著論文については、別刷は有料とする。その費用は部数、頁数による。

3. 原稿送付先

〒259-11 神奈川県伊勢原市望星台
東海大学医学部 分子生命科学系遺伝情報部門 日本組織適合性学会誌 MHC
編集長 猪子 英俊
TEL: 0463-93-1121 内線2312
FAX: 0463-94-8884

編集後記

世の中ではマルチメディアだとか、インターネットなどがやたらにマスコミで騒がれていますが、ではいったいどのくらい普及しているのでしょうか。マルチメディアはまだまだ試行錯誤の時代だと思えますが、インターネットについてはかなりの普及速度で加入者が増えます。その中でも大学・研究所などの施設では著しい普及率で、もう当たり前のようになってきています。残念なことに我が大学は国立であるにもかかわらず未だにインターネットの設備がなく(学内LANは既に設置済みです)、設置までにも数年かかりそうです。私は、しかたがないので個人的にインターネットに加入することにしました。組織適合性学会雑誌(MHC)でも今後、論文の提出、論文の閲覧、意見・感想などをインターネットを利用して積極的に実施していきたいと考えています。その試みとして私の加入しているインターネットにホームページをもうけて学会からのアナウンスなどを流すと同時に、E. mailを通じて学会員のご意見やご感想などを広く受けたいと思っています。以下に編集委員のE. mailアドレスを示しますので積極的にご参加ください。(小林 賢)

学会シーズンを迎えて、会員の皆様も西へ東へと知識、情報の収集にお忙しいことと存じます。私もつい最近、かねてより興味があった考古学的分野の講義を聴く機会に恵まれ、次回が待ちどおしい今日この頃です。それにしても、考古学の分野においても遺伝子解析技術がどんどん応用されており、分野ごとの垣根を取り払い、学際的な研究を進める必要を強く感じました。HLA解析もより多くの分野でお役に立ちたいものです。(成瀬妙子)

編集委員長 猪子 英俊 hinoko@is.icc.u-tokai.ac.jp

編集委員 大谷 文雄 otani-f@kitasato-u.ac.jp

徳永 勝士 tokunaga@jrc.or.jp

小林 賢 ken-@super.win.or.jp

MHC

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of The Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

1995年11月1日発行 2巻2号, 1995

定価 2,000円

発行 日本組織適合性学会 (会長 吉田孝人)

編集 日本組織適合性学会編集委員会 (編集担当理事 猪子英俊)

日本組織適合性学会事務局 (事務会計担当理事 十字猛夫)

〒150 東京都渋谷区広尾4-1-31 日赤血液センター内

印刷・港北出版印刷株

〒150 東京都渋谷区渋谷2-7-7