

Vol.4 No.3  
1998

# MHC

Major Histocompatibility Complex

日本組織適合性学会誌 第4巻第3号 平成10年3月31日発行

## Contents

〔原著論文〕日本人サルコイドーシス患者のHLAクラスII-DRB1, -DQB1, -DPB1 各対立遺伝子のDNAタイピング ……………小林 明, 豊島 幹夫, 古富 淳, 千田 金吾, 松原 亨一, 小出 幸夫, 佐藤 篤彦, 吉田 孝人	131
〔原著論文〕HLA-Cw*0801, Cw*0802, Cw*0803の血清学によるタイピングと遺伝子頻度 ……………斉藤 敏, 大田 智, 橋爪 清隆, 福島 弘文, 太田 正穂, 山田 英世	138
〔シリーズ:異種のMHC〕トリのMHC……………	椎名 隆 146
〔シリーズ:血清学〕クラスI抗原の共通トレイ - HLAタイピング用全国共通トレイについて……………	田中 秀則 155
〔最新情報:“玉手箱”〕最新アリル情報……………	小林 賢 169
〔シリーズ:HLA研究者の個人史〕HLAと私……………	徳永 和夫 188
〔伝言板〕日本組織適合性学会からのお知らせ……………	195
第7回日本組織適合性学会大会のお知らせ……………	大会長 猪子 英俊 196
第6回アジアオセアニア組織適合性ワークショップ……………	198
(6 AOH)などのお知らせ	
<日本組織適合性学会誌MHCの投稿規定>……………	199
編集後記……………	201

Major Histocompatibility Complex  
Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

J S H I



## Contents

[原著論文] 日本人サルコイドーシス患者の HLA クラスII-DRB1, -DQB1, -DPB1 各対立遺伝子の DNA タイピング .....小林 明, 豊島 幹夫, 古富 淳, 千田 金吾, 松原 亨一, 小出 幸夫, 佐藤 篤彦, 吉田 孝人	131
[原著論文] HLA-Cw*0801, Cw*0802, Cw*0803 の 血清学によるタイピングと遺伝子頻度 .....斉藤 敏, 大田 智, 橋爪 清隆, 福島 弘文, 太田 正穂, 山田 英世	138
[シリーズ: 異種の MHC] トリの MHC.....椎名 隆	146
[シリーズ: 血清学] クラスI 抗原の共通トレイ -HLAタイピング用全国共通トレイについて- .....田中 秀則	155
[最新情報: “玉手箱”] 最新アリル情報.....小林 賢	169
[シリーズ: HLA 研究者の個人史] HLA と私.....徳永 和夫	188
[伝言板] 日本組織適合性学会からのお知らせ.....	195
第7回日本組織適合性学会大会のお知らせ.....大会長 猪子 英俊	196
第6回アジアオセアニア組織適合性ワークショップ.....	198
(6 AOH) などのお知らせ	
<日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定>.....	199
編集後記.....	201



# 〔原著論文〕日本人サルコイドーシス患者の HLA クラスII-DRB1, -DQB1, -DPB1 各対立遺伝子の DNA タイピング

小林 明<sup>1) 4)</sup>, 豊島 幹夫<sup>2)</sup>, 吉富 淳<sup>2)</sup>, 千田 金吾<sup>2)</sup>, 松原 亨一<sup>4)</sup>,  
小出 幸夫<sup>1)</sup>, 佐藤 篤彦<sup>2)</sup>, 吉田 孝人<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>浜松医大, 微生物学 <sup>2)</sup>浜松医大, 第2内科 <sup>3)</sup>昭和大学, 細菌学 <sup>4)</sup>中外製薬, 診断科学研究所

(平成9年9月22日 受付)

## 要約

日本人サルコイドーシス患者53名を対象とし, ヒト主要組織適合性抗原クラスIIのDRB1, DQB1, DPB1各対立遺伝子のDNAタイピングを行った. 遺伝子増幅法としてトランスクリプションメデイエイテッドアンプリフィケーション法とポリメレースチェーンリアクション法を用い, 検出法としてハイブリダイゼーションプロテクションアッセイ法を用いた. 患者群全体では, DRB1\*0803, DQB1\*0601が増加しており有意差を示した. DPB1では, 有意な差はみられなかった. 男性群ではDRB1\*1502, DQB1\*0601, \*0402が, 女性群ではDRB1\*0405, DQB1\*0401が有意に増加しており, 男女に違いがみられた.

## キーワード:

サルコイドーシス, DRB1, DQB1, ハイブリダイゼーションプロテクションアッセイ, トランスクリプションメデイエイテッドアンプリフィケーション

## はじめに

サルコイドーシス(サ症)は病因不明の多臓器肉芽腫性疾患であり, その発症には外来抗原などの環境要因と, ヒト主要組織適合性抗原(HLA)などの遺伝的要因が複雑に関係しているとされている. HLAは遺伝的に高度な多型性を持ち, 抗原ペプチドをT細胞に提示することで, 免疫系において中心的な役割をはたしている. HLAは, 免疫異常が関係する疾患に対する感受性を規定する要因の一つと考えられており, I型糖尿病や, 慢性関節リウマチなど, 多くの疾患でその疾患感受性との関係が研究されている. サ症では眼所見のある症例でHLA-DRB1とDQB1の対立遺伝子座をDNAタイピング

した報告があり, 眼病変の病型や病変部位の違いにより相関性を示すクラスII対立遺伝子が異なることが知られている. 呼吸器に所見のある症例でのHLA-DRB1とDQB1をDNAタイピングした報告は少なく, DPB1のDNAタイピングの報告はまだない. 著者らは, より詳細で正確なタイピング結果を得るためシーケンシングオリゴヌクレオチド(SSO)法の一つであるハイブリダイゼーションプロテクションアッセイ(HPA)法を用い, サ症患者のHLA-DRB1, -DQB1, -DPB1の対立遺伝子(アليل)タイピングを行い, 健常人群との比較を行うことにより, 免疫遺伝学的探求を試み, 興味ある新しい知見を得たので報告する.

筆頭筆者連絡先: 〒171-0033 東京都豊島区高田3丁目41-8  
中外製薬診断科学研究所

小林 明

電話: 03-3987-0289  
ファックス: 03-3989-0785

## 材料と方法

### サ症患者群

静岡県下の病院において診断された、サ症患者 53 例（男性 23 例、女性 30 例）を対象とした。対照群は、健常人 255 例を用いた。診断基準は、厚生省によるサルコイドーシスの診断基準(1)を参照した。

### DNA 抽出

末梢血を抗凝固剤ヘパリンまたは、EDTA 2K の存在下に採取し、塩化アンモニウム緩衝液にて赤血球を溶血後、遠心して白血球を集めた。これにグアニジンチオシアネート溶液(2)を加えてよく攪拌して溶解し、エタノールを加えて DNA を析出させた。これを遠心後、ペレットを 70%エタノールで洗い、再度遠心してペレットを TE バッファーに溶解し遺伝子増幅のサンプルとした。

### HLA-DRB1, -DQB1, -DPB1 タイピング

HLA のアレルタイピングは、白血球より抽出した DNA を検体とし、遺伝子増幅法としてトランスクリプションメダイエイテッドアンプリフィケーション (TMA) 法(3~5)とポリメレースチェインリアクション (PCR) 法によって行った。これらの増幅産物のアレル特異性の検出は、ハイブリダイゼーションプロテクションアッセイ (HPA) 法(3, 4, 6)を用いて行った。DRB1 のアレルタイピングは、2 段階で行った。まず TMA と HPA により、血清学レベルのタイピングとグループ分けを行った。次に DR 2 グループ、DR 4 グループ、DR 3, 5, 6, 8 各グループ特異的 PCR を行い(7)、HPA によりアレルを決定した。DQB1 と DPB1 のアレルタイピングは、TMA と HPA により行った。TMA 法とは、増幅領域に特異的な第一プライマー (プロモータープライマー) と第二プライマー、逆転写酵素 (RT), RNA 合成酵素 (RNA poly.) を用いて増幅産物として RNA を得る方法である。鋳型 DNA にアニーリングした第一プライマーから RT により DNA 鎖が伸長し、RNA 合成のための鋳型ができ、次に RNA poly.がこのプロモーター配列を認識して RNA が産生される。この RNA に第二プライマーがアニーリ

ングし、RT により DNA 鎖が伸長し、RT の RNaseH 活性によって DNA/RNA ハイブリッドの RNA が分解される。この一本鎖 DNA に第一プライマーがアニーリングし、RT によって DNA 鎖が伸長して RNA 合成の鋳型ができ、RNA poly.によって RNA が産生される。この RNA が再び RNA 合成サイクルに入ることによって、大量の RNA が産生される。検出法である HPA 法は化学発光物質アクリジニウムエステル (AE) で標識した合成 DNA プローブを用いる方法である。これらの合成 DNA プローブは、検出を目的とする変異の近傍にアミノリンカーアームを組み込んで合成し、ここに AE を標識する。この標識プローブと標的核酸分子を液相中でハイブリダイズさせると、プローブと標的分子の塩基配列が完全に相補的なときは安定した 2 重螺旋を形成する。このとき AE は、2 重螺旋中に挟まれて安定化され、次の加水分解のステップから保護される。最後にアルカリ条件下で過酸化水素を加えると、保護されて残った AE が発光する。具体的な手順は以下のように行った。増幅産物の RNA またはアルカリ変性した DNA と、検出する特異性を示すプローブをマイクロプレート中で混合し、60℃で 20 分ハイブリダイズさせた。つぎにアルカリ性のバッファーを加えて 60℃で 10 分インキュベートし、ミスマッチのあるプローブとフリーのプローブを失活させた。最後に化学発光用プレートリーダーを用い、アルカリ条件下で過酸化水素を加えて、化学発光を測定した。

### 統計処理法

統計処理法として  $\chi^2$  検定を行い P 値を算出した。P 値に対し検索した HLA 抗原数として DRB1 は 25、DQB1 は 12、DPB1 は 10 を乗ずることにより補正 P 値 ( $P_c$ ) とした。 $P_c$  が 0.05 未満の場合に有意差とした。

### 結果

表 1 に、患者群とコントロール群の DRB1 対立遺伝子の抗原頻度を示す。患者群ではコントロール群に比較して\*0803 が増加しており有意差を示した ( $P < 0.00005$ ,  $P_c < 0.002$ )。DR 8 グループの対

表1. DRB1 Typing Results

DRB1	Sarcoidosis		Control	
	n=53	%	n=255	%
*0101	2	3.4	28	11.0
*1501	6	11.3	38	14.9
*1502	14	26.4	48	18.8
*1602	0	0.0	6	2.4
*0301	0	0.0	1	0.4
*0401	0	0.0	3	1.2
*0403	2	3.4	14	5.5
*0405	18	34.0	55	21.6
*0406	0	0.0	15	5.9
*0407	0	0.0	3	1.2
*0410	5	9.4	12	4.7
*1101	1	1.9	9	3.5
*1201	4	7.5	20	7.8
*1202	0	0.0	16	6.3
*1301	2	3.4	5	2.0
*1302	10	18.9	36	14.1
*1401	1	1.9	18	7.1
*1403	1	1.9	11	4.3
*1405	2	3.4	16	6.3
*1406	2	3.4	6	2.4
*0701	0	0.0	0	0.0
*0802	4	7.5	17	6.7
*0803	16	30.2 <sup>1)</sup>	24	9.4
*0901	15	28.3	69	27.1
*1001	1	1.9	6	2.4
DR8	20	37.7 <sup>2)</sup>	41	16.1

1)P&lt;0.00005, Pc&lt;0.002 2)P&lt;0.0004, Pc&lt;0.01

表2. DQB1 Typing Results

DQB1	Sarcoidosis		Control	
	n=55	%	n=255	%
*0501	2	3.6 <sup>1)</sup>	33	12.9
*0502	1	1.8	13	5.1
*05031	2	3.6	22	8.6
*0601	25	45.5 <sup>2)</sup>	63	24.7
*0602	6	10.9	34	13.3
*0603	1	1.8	5	2.0
*0604	11	20.0	38	14.9
*0301	8	14.5	67	26.3
*0302	2	3.6 <sup>3)</sup>	47	18.4
*0303	17	30.9	71	27.8
*0401	18	32.7 <sup>4)</sup>	52	20.4
*0402	10	18.2 <sup>5)</sup>	18	7.1

1)P<0.05, Pc:NS 2)P<0.002, Pc<0.03  
3)P<0.01, Pc:NS 4)P<0.05, Pc:NS  
5)P<0.01, Pc:NS NS:Not Significant

表3. DPB1 Typing Results

DPB1	Sarcoidosis		Control	
	n=52	%	n=255	%
*0201	24	46.1	101	39.6
*0202	2	3.8	29	11.4
*0301	9	17.3 <sup>1)</sup>	22	8.7
*0401	7	13.5	33	12.9
*0402	12	23.1	35	13.7
*0501	26	50.0	154	60.4
*0901	10	19.2	43	16.9
*1301	1	1.9	11	4.3
*1401	2	3.8	6	2.4
*1601	0	0.0	4	1.6

1)P&lt;0.06, Pc:NS NS:Not Significant

立遺伝子をまとめて集計しても有意差 (P<0.0004, Pc<0.01) を認めた. 表2に患者群とコントロール群の, DQB1 対立遺伝子の表現頻度を示す. 患者群とコントロール群を比較すると, \*0601が増加しており有意差を示した (P<0.002, Pc<0.03).

\*0402は増加傾向 (P<0.01, Pc:NS), \*0302は減少傾向を示したが (P<0.01, Pc:NS), P値を補正すると有意とならなかった. 表3に, 患者群とコントロール群の, DPB1 対立遺伝子の表現頻度を示す. 患者群とコントロール群を比較すると, \*0301が有意ではなかったが増加傾向を示した (P<0.06). そのほかは, 特に差は見られなかった. 表4に患者群を男女別に集計した結果を示す. DRB1では, 男性患者群の, \*0803 (P<0.0003, Pc<0.008) と \*1502 (P<0.03, Pc:NS) に増加傾向が見られたが, \*1502はP値を補正すると有意とならなかった. 女性患者群では \*0405 (P<0.03, Pc:NS) と \*0803 (P<0.005, Pc:NS) に増加傾向が見られたが, P値を補正すると有意とならなかった. DQB1では, 男性患者群において, コントロール群に比較して \*0601が増加しており, 有意差 (P<0.0003, Pc<0.004) が見られた. \*0402は増加傾向が見られたが, (P<0.02, Pc:NS) P値を補正すると有意とならなかった. 女性患者群では \*0301が減少傾向となり (P<0.04, Pc:NS), \*0302も減少傾向を示し (P<0.03, Pc:NS), \*0401は増加傾向を示したが (P<0.03, Pc:NS), P値を補正すると有意とならなかった. DPB1では, 男性患者群の

表 4. HLA class II alleles in male and female patients with Sarcoidosis

	Sarcoidosis		Female		Male		Control	
	n=53	%	n=30	%	n=23	%	n=255	%
DRB1 *1502	14	<b>26.4</b>	5	<b>16.7</b>	9	<b>39.1</b> <sup>1)</sup>	48	<b>18.8</b>
*0405	18	<b>34.0</b>	12	<b>40.0</b> <sup>2)</sup>	6	<b>26.0</b>	55	<b>21.6</b>
*0410	5	<b>9.4</b>	4	<b>13.3</b>	1	<b>4.3</b>	12	<b>4.7</b>
*0802	4	<b>7.5</b>	0	<b>0.0</b>	4	<b>17.4</b>	17	<b>6.7</b>
*0803	16	<b>30.2</b>	8	<b>26.7</b> <sup>3)</sup>	8	<b>34.8</b> <sup>4)</sup>	24	<b>9.4</b>
*0901	15	<b>28.3</b>	12	<b>40.0</b>	3	<b>13.0</b>	69	<b>27.1</b>
DR8	20	<b>37.7</b>	8	<b>26.7</b>	12	<b>52.2</b> <sup>5)</sup>	41	<b>16.1</b>
DQB1 *0601	25	<b>45.5</b>	11	<b>34.4</b>	14	<b>60.9</b> <sup>6)</sup>	63	<b>24.7</b>
*0301	8	<b>14.5</b>	3	<b>9.4</b> <sup>7)</sup>	5	<b>21.7</b>	67	<b>26.3</b>
*0302	2	<b>3.6</b>	1	<b>3.1</b> <sup>8)</sup>	1	<b>4.3</b>	47	<b>18.4</b>
*0303	17	<b>30.9</b>	14	<b>43.4</b>	3	<b>13.0</b>	71	<b>27.8</b>
*0401	18	<b>32.7</b>	12	<b>37.5</b> <sup>9)</sup>	6	<b>26.1</b>	52	<b>20.4</b>
*0402	10	<b>18.2</b>	5	<b>15.6</b>	5	<b>21.7</b> <sup>10)</sup>	18	<b>7.1</b>
DPB1 *0201	24	<b>46.1</b>	10	<b>34.5</b>	14	<b>60.9</b> <sup>11)</sup>	101	<b>39.6</b>
*0301	9	<b>17.3</b>	7	<b>24.1</b> <sup>12)</sup>	2	<b>8.7</b>	22	<b>8.7</b>
*0402	12	<b>23.1</b>	8	<b>27.6</b> <sup>13)</sup>	4	<b>17.4</b>	35	<b>13.7</b>

1)P<0.03, Pc:NS 2)P<0.03, Pc:NS 3)P<0.005, Pc:NS 4)P<0.0003, Pc<0.008

5)P<0.00003, Pc<0.0008 6)P<0.0003, Pc<0.004 7)P<0.04, Pc:NS 8)P<0.03, Pc:NS

9)P<0.03, Pc:NS 10)P<0.02, Pc:NS 11)P<0.05, Pc:NS 12)P<0.01, Pc:NS 13)P<0.05, Pc:NS  
NS : Not Significant

\*0201が増加 (P<0.05, Pc:NS) していたが, 補正P値では有意差とならなかった. 女性患者群では\*0301が増加傾向を示し, (P<0.01, Pc:NS), \*0402も増加傾向を示したが (P<0.05, Pc:NS), 補正P値は有意ではなかった.

## 考察

### サ症患者群のHLAクラスII出現頻度

サ症患者群では, コントロール群に比較してDRB1\*0803と, これと連鎖不平衡にあるDQB1\*0601の頻度が有意に高値を示したことで, サ症の発症への関与が示唆された. DPB1では, \*0301が増加傾向を示したが有意水準に達しなかったもので, サ症との関連性は薄いものと考えられた. これまでに, DR52とこれと連鎖不平衡にあるDR11, DR12, DR13, DR14の増加が見られた(8~10)とする報告があるが, 今回はそのような傾向は見ら

れなかった. 以前の血清学的HLAタイピングのデータでは抗DR52血清の中にDR8に反応するものがあり, DR8陽性の検体はDR52も陽性とタイプされていた. しかしHLA遺伝子を調べることで, DR8ハプロタイプはDR52をコードするDRB3遺伝子を持たないことがわかった. DR52が多かったという報告ではDR52の中にDR8を含めている可能性があり, これがDR52の出現頻度を誤って高くしていた場合もあると考えられる. また本研究の症例は, 眼所見や皮膚所見のない症例を含んでいる. 病変部位や症状によって相関を示すHLA各アリルが異なることも考えられる.

患者群を性別で集計すると, DRB1では, 男性群では\*0803のほかに\*1502が多く, \*0802, \*1302も増加傾向を示し, 男性群の50%以上がDR8陽性であった. 女性群では\*0803は補正P値では有意とならず, DR8は男性群の約半分の頻

度であった。また女性群では、\*0405、\*0410が多く、半数以上がどちらかをもつことがわかった。健常群との比較では有意差とならなかったものの、女性群のDR 9の頻度(40.0%)は、男性群(13%)の約3倍となり、DR 9の関与が性別により異なることが示唆された。DQB1では、男性群では60%以上が\*0601となり、\*0402も増加していた。DQB1\*0601は、DRB1\*1502、\*0803と連鎖不平衡にあるので、DRB1\*1502、\*0803が多いことが影響していると考えられた。DQB1\*0402の増加は、DRB1\*0802との連鎖不平衡の影響と考えられた。女性群では、DQB1\*0401が多くなっており、これはDRB1\*0405との連鎖不平衡の影響と考えられた。また、DQB1\*0303は、男性群で減少、女性群で増加して男性の約3倍となっており、これはDRB1\*0901の影響と考えられた。DPB1でも患者群を男女別に集計するとコントロール群に比較して差が見られているが、これらのP値はDRB1\*0803や、DQB1\*0601、\*0402のP値に比べて大きく、補正すると有意ではなかった。この結果はDPB1とDRB1、DQB1との間の連鎖不平衡が弱いことを反映していると考えられる。さらにDPB1の多型がサ症の疾患感受性に及ぼす影響は、DRB1、DQB1に比べて小さいと考えられた。

サ症患者のDRB1、DQB1タイピング結果からハプロタイプを推定し、表5に示した。サ症患者群とコントロール群を比較すると、DRB1\*0405-DQB1

\*0401、DRB1\*0803-DQB1\*0601が増加していた。男性患者群では、コントロール群に比較してDRB1\*1502-DQB1\*0601、DRB1\*0802-DQB1\*0401、DRB1\*0803-DQB1\*0601が増加していた。女性患者群では、DRB1\*0405-DQB1\*0401、DRB1\*0803-DQB1\*0601、DRB1\*0410-DQB1\*0402が高頻度となっていた。

サ症患者群のHLAクラスII対立遺伝子の頻度に現われた性差について

サ症は、約5対3の割合で女性に多いとの報告がある(11)。また、発症時期を見ると、10歳代後半から20歳代と、40歳代後半から50歳代の二つのピークがあり、女性では、特に後半のピークが大きいとされる(11)。女性で、40歳代後半から50歳代に発症のピークがあるということは、閉経前後の発症が多いことを示唆しており、このことから性ホルモンの関与が疑われる。サ症の疾患感受性とHLA頻度の性差について、Pasturenziら(12)はイタリア人患者で女性にHLA-B8、B40の増加が見られ、男性でHLA-DR1、DR7の減少傾向が見られたが、P値を補正すると有意差はみられなかったとしている。日本人では、今野ら(13)によれば、ぶどう膜炎を持つサ症患者で、男性患者でDR2とDRB1\*1501が有意な増加を示し、女性患者ではDR53が増加傾向を示すとの報告がある。今野らはこの理由として、性ホルモンが関係しているのでは

表5. Haplotype frequency of DRB1 - DQB1

DRB1	DQB1	Sarcoidosis		Female		Male		Control	
		n=53	%	n=30	%	n=23	%	n=255	%
*0405	*0401	18	34.0 <sup>1)</sup>	12	40.0 <sup>2)</sup>	6	26.1	51	20.0
*1502	*0601	14	26.4	5	16.7	9	39.1 <sup>3)</sup>	46	18.0
*0803	*0601	15	28.3 <sup>4)</sup>	8	26.7 <sup>5)</sup>	7	30.4 <sup>6)</sup>	24	9.4
*1302	*0604	10	18.9	5	16.7	5	21.7	35	13.7
*0901	*0303	15	28.3	12	40.0	3	13.0	68	26.7
*1501	*0602	6	11.3	4	13.3	2	8.7	34	13.3
*1201	*0301	4	6.8	2	6.7	2	8.7	16	6.3
*0802	*0402	4	6.8	0	0.0	4	17.4 <sup>7)</sup>	6	2.4
*0410	*0402	5	9.4	4	13.3 <sup>8)</sup>	1	4.3	11	4.3

1)P<0.03 2)P<0.02 3)P<0.02 4)P<0.0002 5)P<0.005 6)P<0.003 7)P<0.0003 8)P<0.04

ないかと考察している。いずれにしても、サ症における HLA 頻度の性差の原因に関しては今後さらに研究が必要である。

#### 参考文献

1. 山本正彦：サルコイドーシスの概念，定義と診断基準。日本臨床，**52**:1426-1432, 1994.
2. Matsubara K, Koide Y, Kobayash IA, *et al.* : A rapid and sensitive method for HLA-DRB1 typing by acridinium-ester-labeled DNA probes. *Hum. Immunol.* **35**:132-139, 1992.
3. Kobayash IA, Matsubara K, Takeda S, *et al.* : Hybridization protection assay with a new amplification method : a simple and practical method for HLA typing on microtiter plates. *MHC & IRS, Supplement 1* :109-113, 1994.
4. 松原亨一, 小林明, 武田さおりら : TMA-HPA法による HLA-DR, DQ, DP のタイピング。今日の移植,**7**:42-49, 1994.
5. 平田蘭子, 前田平生, 菅野優子ら : TMA-HPA法による HLA-DRB1 タイピングキットの評価, 臨床検査,**40**:241-247, 1996.
6. Kimura A, Sasazuki T. : *HLA 1991 Vol. 1* (eds. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T). 11th International Histocompatibility Workshop reference protocol for the HLA DNA-typing technique, Oxford University Press, Oxford 1992:p. 397-419.
7. Arnold LJ, Hammond PW, Wiese WA, *et al.* : Assay formats involving acridinium ester-labeled DNA probes. *Clin. Chem.* **35**:1588-1594, 1989.
8. Kunikane H, Abe S, Tsuneta Y, *et al.* : Role of HLA-DR antigens in Japanese patients with sarcoidosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* **135**:688-691, 1987.
9. Ina Y, Takada K, Yamamoto M, *et al.* : HLA and sarcoidosis in Japanese. *Chest.* **95**:1257-1261, 1989.
10. Ishihara M, Ishida T, Mizuk IN, *et al.* : Clinical features of sarcoidosis in relation to HLA distribution and HLA-DRB3 genotyping by PCR-RFLP. *Br. J. Ophthalmol.* **79**:322-325, 1995.
11. 平賀洋明 : 日本におけるサルコイドーシス疫学, 医学のあゆみ,**178**:5-8, 1996.
12. Pasturenz IL, Martinett IM, Cuccia M, *et al.* : HLA class I, II and III polymorphism in Italian patients with sarcoidosis. *Chest.* **104**:1170-1175, 1993.
13. 今野泰宏, 前田平生 : サルコイドーシスの HLA における眼所見と性差, 医学のあゆみ,**178**:97-101, 1996.

## Genetic analysis of HLA class II polymorphism in Japanese patients with sarcoidosis

Akira Kobayashi<sup>1,4)</sup>, Mikio Toyoshima<sup>2)</sup>, Jun Yoshitomi<sup>2)</sup>, Kingo Senda<sup>2)</sup>, Koichi Matsubara<sup>4)</sup>, Yukio Koide<sup>1)</sup>,  
Atsuhiko Satoh<sup>2)</sup>, Takato O. Yoshida<sup>3)</sup>

1) Dept. Microbiology and Immunology, Hamamatsu Univ. School of Medicine, Shizuoka, Japan

2) Second Dept. of Internal Medicine, Hamamatsu Univ. School of Medicine, Shizuoka, Japan

3) Dept. Microbiology and Immunology, Showa Univ. School of Medicine, Tokyo, Japan

4) Diagnostic Technology Laboratories, Chugai Pharm. Co. Ltd., Tokyo, Japan

### Summary

Fifty three Japanese patients with sarcoidosis were typed for HLA - DRB1, - DQB1, - DPB1 alleles. Specific region of DRB1, DQB1, DPB1 genes were amplified enzymatically by PCR method and transcription mediated amplification. Amplified DNA and RNA were detected with chemiluminescence labeled sequence specific oligonucleotide probes. We found significantly increased frequency of DRB1\*0803 ( $P < 0.00005$ ) and DQB1\*0601 ( $P < 0.002$ ) in the patient group. Then in the male patient group, we found significantly increased frequency of DRB1\*1502, \*0803, DQB1\*0601 or \*0402, and in the female patient group, we found that the frequencies of DRB1\*0405, \*0803, DQB1\*0601 and \*0401 were increased significantly.

### Key Words :

sarcoidosis, DRB1, DQB1, hybridization protection assay, transcription mediated amplification

# 〔原著論文〕 HLA-Cw\*0801, Cw\*0802, Cw\*0803 の血清学によるタイピングと遺伝子頻度

斉藤 敏<sup>1)</sup>, 大田 智<sup>1)</sup>, 橋爪 清隆<sup>1)</sup>, 福島 弘文<sup>2)</sup>, 太田 正穂<sup>2)</sup>, 山田 英世<sup>1)</sup>

1) 長野県赤十字血液センター, 検査課      2) 信州大学医学部, 法医学教室

(平成9年10月6日 受付)

## 要約

成分献血ドナー, 血液病患者及びその家族のクラス I タイピングにおいて, 現在使用している5種類の HLA-Cw 8 抗血清による反応パターンの違いから, Cw 8 抗原が3種のサブタイプに分類された. それぞれの反応パターンを示す細胞から DNA を抽出し HLA-C について PCR-SSP 法を用いて DNA タイピングを実施したところ, HLA-Cw\*0801, Cw\*0802, Cw\*0803 の3アレルが識別された. 抗血清の反応パターンによる Cw 8 抗原の分類と3種類の Cw\*08 アレルとの間には相関性があり, 今回使用した抗血清により HLA-Cw\*08 の3アレルが血清学的に識別可能であった. 日本人における HLA-Cw\*0801, Cw\*0802, Cw\*0803 の遺伝子頻度はそれぞれ6.3%, 0%, 2.3%で, 2座間における連鎖不平衡は HLA-Cw\*0801 では A26.1 (A\*2602), B71 (B\*1518), B\*4006, B\*4801 が推定され, Cw\*0803 では B\*4801 が推定された. 更に, 3座間の連鎖不平衡として A24-Cw\*0801-B\*4006, A26.1-Cw\*0801-B\*4006, A24-Cw\*0803-B\*4801 の3ハプロタイプが推定された.

## キーワード:

Cw 8N, Cw\*0801, Cw\*0802, Cw\*0803, PCR-SSP

## はじめに

現在, Cw\*0801, Cw\*0802, Cw\*0803 の3アレルが報告(1)されている HLA-Cw 8 抗原は, 1979年 Mayr(2), Carvalho(3)らによってそれぞれ T8, T9 として報告され, 1980年の第8回国際組織適合性ワークショップにおいて Cw 5 の交差反応抗原として命名され, 主に白人の HLA-B 14 と連鎖不平衡を有する HLA-C 抗原と考えられていた(4). その後, 第9回国際組織適合性ワークショップに, タイ, 中国人の B15-C ブランクを有するパネルリンパ球と反応する抗 Cw 8 の血清 9w 492 が提出され, Cw 8 に近い新しい抗原が推定された(5)が,

第10回国際組織適合性ワークショップでは Cw 8 の新しいサブタイプの可能性は否定された(6). ところが第11回国際組織適合性ワークショップに, 9w 492 と同様の反応を示す抗血清 BRA 207 が提出され, 再度 HLA-Cw 8 に近い抗原の存在が推定された(7). その後, 中島らにより HLA-C 座にブランクのあるパネルリンパ球と反応する日本人由来の抗血清が見つけれ Cw 8N の定義がなされた(8). この抗原は Zemmour らが発表した Cw\*0801 アレル由来のものであると報告された(9). 一方, B14 に連鎖不平衡のある Cw 8 は Cw\*0802 由来であり, 日本人にはほとんど存在していない(10).

筆頭筆者連絡先: 〒380 長野市南県町 1074  
長野県赤十字血液センター  
斉藤 敏

電話: 026-228-4775  
ファックス: 026-226-1573

Belich らによりブラジルインディアンで見つけられた Cw\*0803 については(11), Wang らにより日本人に存在する事が報告されている(12)が, Cw\*0803 由来の抗原を血清学により識別することはこれまで不可能であった. 今回これらアリルが表現する抗原の違いを5種類の抗血清を使用することで血清学により識別する事が出来たので報告し, 同時に HLA-Cw\*0801, Cw\*0802, Cw\*0803 の遺伝子頻度及びこれらアリルと連鎖する抗原についても検討を加えた.

## 材料と方法

### 血清学タイピング

血清学的方法によるタイピングは LCT 法にて行い, 補体はワンラムダ社の同一ロットの検定済みを使用した(13). クラス I タイピングに使用した抗血清はワークショップに提出され, 血清交換により得たものと, 当センターで特異性を確定した 144 種である. 5種類の Cw 8 抗血清に対するリンパ球の反応及び血清の評価は平成 8 年 11 月～平成 9 年 4 月の期間に当センターにおいてタイピングした成分ドナー, 患者及びその家族とメルボルン血液センターより提供された外国人由来のパネルリンパ球, あわせて総数 335 のデータに基づいて行った.

### DNA タイピング

DNA はリンパ球をプロテナーゼ K により消化塩析にて抽出した(14). 血清学タイピングを実施した 335 パネルについては, 凍結リンパ球から DNA を抽出し, Bunce らの PCR-SSP (Polymerase Chain Reaction with Sequence-Specific Primers) 法を用いて HLA-C アリルタイピングを実施した(15). この方法で識別できない Cw\*0102, Cw\*0103 アリルタイピングには 3 種類の新しいプライマーをデザインした(5C01:5'-CCC ACT CCA TGA AGT ATT TCT T-3', 3C102:5'-CGT CGT AGG CGT ACT GGT C-3', 3C103:5'-CGT CGT AGG CGA ACT GGT T-3'). PCR は HYBAID のオムニジーンを用いて 95℃ 3 分間変性後, 95℃ 45 秒の変性, 66℃ 60 秒のアニーリング, 72℃ 30 秒の伸長反応を 5 サイクル行った後, 95℃ 45 秒の変

性, 58℃ 60 秒のアニーリング, 72℃ 30 秒の伸長反応を 25 サイクル行い, 最後に 72℃ 5 分間伸長反応を行った. PCR 反応組成は 50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 250 μM dNTP, 0.5 単位 Taq ポリメラーゼからなり計 20 μl に調製した. 増幅後, PCR 産物 8 μl を 5% アクリルアミドゲルを用いて 100 volts で 30 分間, 0.5xTBE バッファーにて電気泳動した後, エチジウムブロマイドでゲルを染色し UV 照射にて増幅バンドを観察しアリル判定を行った. 日本人では Cw\*0801 と B\*4006 が連鎖不平衡にあることから(中島ら, 文献 8), 血清学的タイピングで, B 61 抗原陽性を示した 62 パネルについては PCR-MPH (Polymerase Chain Reaction-Microtiter Plate Hybridization) 法にて B 61 のアリルタイピングを実施した(16). また, B 48 が Cw\*0801, Cw\*0803 の 2 アリルと連鎖不平衡にあることが推定されたため, 血清学的タイピングで B 48 抗原陽性を示した 17 パネルについては HLA-A, B のアリルタイピングを PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism) 法にて実施し(光永ら, 未発表), DRB1, DQB1, DPB1 のアリルタイピングも PCR-RFLP 法にて実施した(17～21). PCR-RFLP 法で識別できないアリルについては PCR-SSP 法を行いアリルを決定した(22～25).

### 統計処理

血清学的タイピングを実施したパネルから患者, 患者家族, 外国人のパネルを除いた血縁関係のない 259 パネルを用いて得たデータの統計学的処理は, HLA-A, B, C 座における, 遺伝子頻度, ハプロタイプ頻度, 2 座間, 3 座間の連鎖不平衡について, 今西らの方法を用いて行った(26).

## 結果

### Cw\*08 アリル由来抗原の血清との反応

DNA タイピングを実施した 335 パネルの中には, 血清学的検査により HLA-C 座にブランクを有したパネル及び Cw 8 以外の抗原がタイプされていたパネルで Cw\*08 アリルを保有しているパネルは 1 パネルもなかった. Cw\*08 のアリルを保有するパネ

ルはすべていずれかの Cw 8 抗血清に反応し Cw 8 とタイプされていた。リンパ球と抗血清との反応パターンをアレルレベルで解析したところ、HLA-Cw\*0801, Cw\*0802, Cw\*0803 を保有するパネルが5種類の抗血清により識別された(表1)。MYON, MRC-ELY 抗血清は Cw\*0501 または Cw\*0802 を保有しているパネルリンパ球とのみ反応し, AY 732 抗血清は Cw\*0801 または Cw\*0802 を保有

表.1 Cw\*08 関連アレルを有するパネルに対する抗血清の反応パターン

血清番号	Cw*0501	Cw*0801	Cw*0802	Cw*0803	Cw*0704
MYON	+	-	+	-	-
MRC-ELY	+	-	+	-	-
AY732	-	+	+	-	-
26-1173	-	+	+	+	+
18K1116	-	+	-	-	-

しているパネルリンパ球と, 18K1116 抗血清は Cw\*0801 を保有しているパネルリンパ球と, 26-1173 抗血清は Cw\*0801, Cw\*0802, Cw\*0803 及び Cw\*0704 を保有しているパネルリンパ球と反応した。これら抗血清の評価をそれぞれの抗原を表現しているアレルで行った結果を表2に示す。MYONはCw\*0501+Cw\*0802 に対し R 値 0.934, Q スコア 7.49, MRC-ELY は Cw\*0501+Cw\*0802 に対し R 値 1.000, Q スコア 8.03, AY732 は Cw\*0801 +Cw\*0802 に対し R 値 0.956, Q スコア 9.15, 26-1173 は Cw\*0801 +Cw\*0802 +Cw\*0803 +Cw\*0704 に対し R 値 1.000, Q スコア 10.03, 18K1116 は Cw\*0801 に対し R 値 0.935, Q スコア 9.13 と, それぞれのアレルをタイプし得る抗血清として高い値を示した。

表.2 抗血清によるアレルタイプングの評価

Serum I.D.	Specificities	+/+	+/-	-/+	-/-	R-値	Qスコア
MYON	Cw*0802+Cw*0501	7	1	0	325	0.934	7.49
MRC-ELY	Cw*0802+Cw*0501	8	0	0	327	1.000	8.03
AY732	Cw*0801+Cw*0802	51	0	4	280	0.956	9.15
26-1173	Cw*0801+Cw*0802+Cw*0803+Cw*0704	67	0	0	267	1.000	10.03
18K1116	Cw*0801	40	5	0	290	0.935	9.13

遺伝子頻度及び連鎖不平衡

長野県における Cw\*08 アレルの遺伝子頻度は Cw\*0801 が 6.3%, Cw\*0803 が 2.3%, Cw\*0802 が 0% でハプロタイプ頻度として, 2 遺伝子座間で A24- Cw\*0801 が 3.0%, A26.1 (A\*2602)- Cw\*0801 が 1.1%, A2- Cw\*0801 が 0.9%, A24- Cw\*0803 が 1.2%, Cw\*0801-B\*4006 が 3.7%, Cw\*0801-B\*1518 (B71) が 0.8%, Cw\*0801-

表.4 2 座間のハプロタイプ表現頻度(HF)及び連鎖不平衡(N= 259)

Haplotype	HF(%)	LD <sup>1)</sup>	RLD <sup>2)</sup>	$\chi^2$ <sup>3)</sup>
A24 -Cw*0801	3.0	0.6	0.15	1.3
A26.1 -Cw*0801	1.1	0.9	0.47	36.9
A2 -Cw*0801	0.9	-0.4	-0.32	1.0
A24 -Cw*0803	1.2	0.3	0.24	1.2
Cw*0801 -B*4006	3.7	3.4	1.00	292.6
Cw*0801 -B*1518	0.8	0.6	0.32	17.1
Cw*0801 -B*4801	0.8	0.6	0.22	10.8
Cw*0803 -B*4801	1.7	1.7	0.74	227.1

<sup>1)</sup> LD: Linkage disequilibrium  
<sup>2)</sup> RLD: Relative linkage disequilibrium  
<sup>3)</sup>  $\chi^2$ : chi square values

表.3 長野県におけるHLA-Cw\*08 アレルの遺伝子頻度(N=259)

Allele	Frequency
Cw*0801	6.3%
Cw*0802	0%
Cw*0803	2.3%

B\*4801が0.8%, Cw\*0803-B\*4801が1.7%であると計算され、3遺伝子座間においてはA26.1(A\*2602)-Cw\*0801-B\*4006が1.0%, A24-Cw\*0801-B\*4006が1.6%, A24-Cw\*0803-B\*4801が1.2%と計算された(表3, 4, 5). Cw\*0801との連鎖不平衡が低く、統計学的には推定されなかったHLA-B座抗原には、B35が3パネル、B60が2パネル、B62が1パネル認められ、Cw\*0803では、B54が1パネル、B62が1パネル認められた。

表.5 3座間のハプロタイプ表現頻度(HF)及び連鎖不平衡(N=259)

HLA-type	HF(%)	LD <sup>1)</sup>
A24 -Cw*0801-B*4006	1.6	1.5
A26.1 -Cw*0801-B*4006	1.0	1.0
A24 -Cw*0803-B*4801	1.2	1.1

<sup>1)</sup> LD: Linkage disequilibrium

表.6 B48陽性パネルのアリルタイプ

ID	HLA-A	HLA-B	HLA-Bw	HLA-Cw	HLA-DRB1*	HLA-DQB1*	HLA-DPB1*
6615	A*0201 A*3101	B*5101 B*4801	Bw4 Bw6	Cw*1402 Cw*0801	1501 1403	0602 0301	0501
6604	A*0201 A*2402	B*5201 B*4801	Bw4 Bw6	Cw*1202 Cw*0801	1501 1502	0602 0601	0501 0901
6608	A*0201 A*2402	B*5201 B*4801	Bw4 Bw6	Cw*1202 Cw*0801	1501 1502	0602 0601	0501 0901
6563	A*0201 A*2402	B*0702 B*4801	Bw6	Cw*0702 Cw*0801	0101 0407	0501 0302	0501 02012
6520	A*0206 A*0101	B*3701 B*4801	Bw4 Bw6	Cw*0602 Cw*0801	1001 0407	0501 0302	02012
6679	A*2402	B*5201 B*4801	Bw4 Bw6	Cw*1202 Cw*0801	0405 1405	03032 0401	0501 02012
6732	A*1101	B*3901 B*4801	Bw6	Cw*0702 Cw*0801	08032 0901	03032 0601	0501
6542	A*0201 A*3303	B*4403 B*4801	Bw4 Bw6	Cw*0803 Cw*1403	1302 0406	0604 0302	0501 0401
6534	A*0206 A*0201	B*3501 B*4801	Bw6	Cw*0803 Cw*0303	0802 1201	0301 0402	02012
6793	A*2402	B*4002 B*4801	Bw6	Cw*0803 Cw*0304	1602 1201	0301 0502	0501 02012
6609	A*2402 A*3303	B*4403 B*4801	Bw4 Bw6	Cw*0803 Cw*1403	1602 1302	0502 0604	0501 0401
6525	A*2402 A*3303	B*4403 B*4801	Bw4 Bw6	Cw*0803 Cw*1403	1201 1302	0301 0604	1401 0401
6699	A*2402 A*2601	B*3501 B*4801	Bw6	Cw*0803 Cw*0303	1501 0406	0602 0302	1301 02012
6629	A*2402 A*2601	B*1518 B*4801	Bw6	Cw*0803 Cw*0704	1407 0401	0301 0502	1401
6655	A*2402 A*2601	B*3501 B*4801	Bw6	Cw*0803 Cw*0303	1501	0602	02012
2718	A*0206 A*3101	B*3902 B*4801	Bw6	Cw*0702 Cw*0303	1201 1401	0301 05031	0501 0301
6760	A*0206 A*3303	B*4006 B*4801	Bw6	Cw*0801 Cw*0303	1201 1401	0301 0503	0501 0201

B48を有するパネルのアリルタイプ

統計処理によりCw\*0801とCw\*0803の2アリルにB48抗原との連鎖不平衡が推定されたので、B48陽性17パネルにつきHLA-A, B, DRB1, DQB1, DPB1のDNAタイピングを実施し、他座との連鎖不平衡を推測するとともにB48のアリルの異同について調べた(表6). Cw\*0801, Cw\*0803, Cw\*0303にそれぞれ連鎖不平衡があると推定されるB48抗原はすべてエクソン2, エクソン3ともにPCR-RFLP法により、B\*4801と同じフラグメントパターンを示した. Cw\*0801-B\*4801ハプロタイプではDPB1\*0501の頻度の増加が、Cw\*0803-B\*4801ハプロタイプではDPB1\*0501の著しい減少が認められた. また、Cw\*0803-B\*4801ハプロタイプにおいてA\*2402の増加及び、A\*0201の減少が認められた。

## 考察

日本人における HLA-C 座抗原は血清学的タイピングにより Cw 1, Cw 2, Cw 4, Cw 5, Cw 6, Cw 7, Cw 8 (Cw\*0802), Cw 8N (Cw\*0801), Cw 9, Cw 10, Cx 4451 (Cw\*14), Cw 6.2 (Cw\*1502), Cx 52 (Cw\*1202) 抗原が判定され, 当センターにおけるこれまでの検査では HLA-C 座のブランクは 7.8%であった(27). 今回, 259 パネルの統計処理の結果, Cw\*0803 由来抗原が血清学的にタイプできることから HLA-C 座のブランクは 3.6%に減少した.

今回使用した抗血清 26-1173 は Cw\*0803 由来抗原のほかに Cw\*0801, Cw\*0802, Cw\*0704 由来抗原にも反応するためこれらアリル由来の抗原を同時に持つパネルにおいては, 血清学により Cw\*0803 由来抗原をタイプする事はできない. すなわち, 抗血清 26-1173 を使用し Cw\*0803 由来抗原がタイプできるのは, 抗血清 26-1173 (Cw\*0801, Cw\*0802, Cw\*0803, Cw\*0704 由来抗原が反応) が陽性を示し, 抗 Cw 7 血清 (Cw\*0701, Cw\*0702, Cw\*0703, Cw\*0704 由来抗原が反応) には陰性となり, 更に抗血清 18K 1116 (Cw\*0801 由来抗原が反応), AY 732 (Cw\*0801, Cw\*0802 由来抗原が反応) の両血清ともに陰性を示す場合である. また通常の抗 Cw 7 血清に陽性反応を示す場合でも, 5 種類の抗 Cw 8 血清で 26-1173 だけが陽性を示し, B 71 (B\*1518) 抗原を持たないパネルにおいては Cw\*0803 由来抗原をタイプしてもよいと思われる. これは, 日本人において, Cw\*0704 由来抗原は B 71 (B\*1518) 抗原とのみしか連鎖不平衡が認められていないため (259 人からなる今回のデータ, 未発表), B 71 抗原が陰性で Cw 7 抗原陽性, 26-1173 が陽性を示すパネルでは Cw\*0704 アリル由来以外の Cw 7 抗原と Cw\*0803 由来抗原のヘテロ接合体と考えられるからである. 更に, Cw\*0704 由来抗原も, 限られた条件下で血清学的にタイプが可能と思われる. それは, 26-1173 血清に陽性反応を示し, 通常の抗 Cw 7 血清にも陽性反応を示し, さらに Cw 8 以外の抗原 (Cw 1, Cw 2, Cw 3 など) がタイプされる細胞においてタイプされる (Cw 1, Cw\*0704 由来抗原, のように).

中島らの報告では(8), B\*4006 と Cw 1, Cw 4, Cw 7 とハプロタイプを形成するパネルが報告されているが, 今回の我々のデータでは B\*4006 とハプロタイプを形成する HLA-C 座は全て (19 パネル中 19 パネル) が Cw\*0801 であった. また B\*4002 とハプロタイプを形成する Cw\*0801 のパネルも報告されているが当センターのデータでは一例もなかった.

日本人における DPB 1\*0501 の遺伝子頻度は 0.3989 と報告されているが (橋本ら, 文献 28), 今回我々の検査では Cw\*0801-B\*4801 ハプロタイプを持つ DPB 1\*0501 の頻度は増加しており, Cw\*0803-B\*4801 ハプロタイプを持つ DPB 1\*0501 アリル頻度は著しく減少していた. Cw\*0303 と連鎖不平衡が認められる B\*4801 も含め B 48 抗原と HLA-C アリルとのハプロタイプ頻度の異同を観察する事により, 日本民族の由来及び拡散について新たな知見が得られる可能性がある.

PCR-RFLP による B 48 のアリルタイピングではエクソン 2, エクソン 3 ともに B\*4801 とタイプされたが, 制限酵素の認識部位以外における変異の可能性もあるので, 今後ハプロタイプの違う B 48 についてシークエンスを実施し, その異同について確認する必要がある. また, MICA, MICB と HLA-B 座との強い連鎖不平衡が報告されているので, B\*4801 と HLA-C 座間のハプロタイプが違うパネルについて MICA, MICB のアリルタイプを調べる事もハプロタイプを知る上で興味深い.

抗体が認識するエピトープはアミノ酸配列の直線的な部分だけではなく, ペプチド, ペプチドが結合したアミノ酸及び隣接するアミノ酸配列の可能性もあることも考慮に入れ, 今回の血清学的反応から抗血清の認識するエピトープを推定すると (表 7), Cw\*0501 及び Cw\*0802 由来の抗原に反応する MYON, MRC-ELY 抗血清の認識するエピトープは両アリルの特異的なアミノ酸配列である 138 番の K (lysine) が第一候補と推定される. 一方 Cw\*0801 由来抗原に特異的なアミノ酸配列は認められず, Cw\*0801 由来抗原と Cw\*0803 由来抗原に特異的なアミノ酸配列は  $\alpha 2$  ドメインの 152 番目の T (threonine) であり, 両抗原の違いは 175 番目が

表.7 HLA-C 座アレルのアミノ酸配列

position	$\alpha$ 1 domain				$\alpha$ 2 domain					
	21	34	77	80	114	138	152	156	175	177
consensus	R	R	S	N	D	T	V	L	G	E
Cw*0501	H	Q	N	K	N	K	E	R	-	K
Cw*0801	-	Q	-	-	N	-	T	-	-	K
Cw*0802	-	Q	-	-	N	K	E	R	-	K
Cw*0803	-	Q	-	-	N	-	T	-	R	K
Cw*0704	-	-	-	-	-	-	A	D	-	K
Cw*01	-	-	-	-	-	-	E	R	-	-
Cw*02	H	-	N	K	-	-	E	W	-	-
Cw*03	H	-	-	-	-	-	E	-	-	-
Cw*04	-	-	N	K	N	-	E	R	-	-
Cw*0602	-	-	N	K	-	-	E	W	-	-
Cw*07*1	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-
Cw*12	-	-	-	-	-	-	E	W	-	-
Cw*13	H	-	-	-	-	-	E	W	-	-
Cw*1402	-	-	-	-	-	-	E	R	-	-
Cw*1403	H	-	-	-	-	-	E	R	-	-
Cw*15	H	-	N	K	-	-	E	-	-	-
Cw*1601	-	-	-	-	-	-	A	Q	-	-
Cw*1602	-	-	N	K	-	-	A	Q	-	-
Cw*17	-	-	N	K	N	-	E	-	-	-
B*4601	-	-	-	-	-	-	E	W	-	-

Agreement with the consensus is designated with a dash (-).

\*1: Without Cw\*0704

Cw\*0801 由来抗原で G(glycine), Cw\*0803 由来抗原で R(arginine) の違いであることから 18K1116 血清が認識するエピトープの候補は 152 番目の T と, 175 番目の G と考えられる。Cw\*0801, Cw\*0802, Cw\*0803 由来抗原に共通する Cw 8 抗原特異的なアミノ酸配列は 34 の Q(glutamine), 114 の N(asparagine) と 177 の K(lysine) であり, Cw\*0802 由来抗原と Cw\*0501 由来抗原の違いは 21, 77 及び 80 番目のアミノ酸であることから AY732 血清が認識するエピトープの候補は  $\alpha$  1 ドメインの 21 R, 34 Q, 77 S(serine), 80 N と  $\alpha$  2 ドメインの 114 N, 175 G, 177 K と推測される。26-1173 血清が認識するエピトープの候補は 21 R, 77 S, 80 N, 177 K と考えられる。

また, AY732 で見られたエクストラ反応は B46 抗原に由来すると考えられるが, B46 は  $\alpha$  1 ドメインの 66-76 番までのアミノ酸配列が HLA-C 座特異的なアミノ酸配列を持ち,  $\alpha$  1 ドメインの 21, 77, 80 番目のアミノ酸が Cw\*08 アレルと同じであることと, 77, 80 番目のアミノ酸がペプチドバインディングの位置であることから B46 に結合したペプチドによりエピトープが変化し, 本来抗 C 特異性を示す抗血清と交差反応性を示したと考えら

れる (9, 29)。

このようにアミノ酸配列と HLA 抗原の血清学的反応を理解することは HLA クラス I のエピトープを推察する上で大きな力となりうるものと思われる。今後も DNA タイピングのみならず血清学によるスクリーニングを実施しアレル由来の抗原を識別できる抗血清の収集をしていく必要がある。

## 参考文献

1. Bodmer JG, Marsh SGE, Albert ED, *et al.*: Nomenclature for factors of the HLA system, 1996. *Tissue Antigens* **49**:297-321, 1997.
2. Mayr WR: Ein neues HLA-C Transplantations antigen. *Wiener Klinische Wochenschrift* **90**: 812-813, 1978
3. Carvalho AS: A New HLA-C Specificity (T 9) in Linkage Disequilibrium with HLA-B 14. *Tissue Antigens* **13**:158-162, 1979.
4. Gandini E, Mayr WR: *Histocompatibility Testing 1980* (ed. Terasaki PI), Joint Report CW 8. UCLA Tissue Typing Laboratory, Los Angeles, 1980; p.504-505.
5. Hay J, Mayr WR: *Histocompatibility Testing 1984*. (eds. Albert ED, Baur MP, Mayr WR), Joint Report CW 8. Springer-Verlag, Berlin, 1984; p.183.
6. Mayr WR, Contu L, Kirnbauer M, *et al.*: *Immunobiology of HLA, Vol. 1* (ed. Dupont B), Antigen Society #17 Report (Cw 5 and Cw 8). Springer-Verlag, Berlin, 1989; p.222.
7. 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 University Press, Oxford, 1992; p.340-344.
8. Nakajima F, Ishikawa Y, Nakamura J, *et al.*: Nucleotide sequence for a Cw 8 subtype, Cw 8 N, and its association with HLA-B alleles. *MHC (in Japanese)* **2**:1-5, 1995.
9. Zemmour J, Gumperz JE, Hildebrand WH, *et al.*: The molecular basis for reactivity of anti-Cw 1 and anti-Cw 3 alloantisera with HLA-B 46 haplotypes. *Tissue Antigens* **39**:249-257, 1992.

10. Bronson SK, Pei J, Miller PT, *et al.* : Isolation and characterization of yeast artificial chromosome clones linking the HLA-B and HLA-C loci. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **88** : 1676 - 1680, 1991.
11. Belich MP, Madrigal JA, Hildebrand WH, *et al.* : Unusual HLA-B alleles in two tribes of Brazilian Indians. *Nature* **357** : 326 - 329, 1992.
12. Wang H, Tokunaga K, Akaza T, *et al.* : Identification of HLA-C alleles using PCR-single-strand-conformation polymorphism and direct sequencing. *Tissue Antigens* **49** : 134 - 140, 1997.
13. Terasaki PI, McClelland JB : Microdroplet assay of human serum cytotoxins. *Nature* **204** : 998 - 1000, 1964.
14. Olerup O, Zetterquist H : HLA-DR typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours: an alternative to serological DR typing in clinical practice including donor-recipient matching in cadaveric transplantation. *Tissue Antigens* **39** : 225 - 235, 1992.
15. Bunce M, Barnardo M.C.N.M, Procter J, *et al.* : High resolution HLA-C typing by PCR-SSP: identification of allelic frequencies and linkage disequilibria in 604 unrelated random UK Caucasoids and a comparison with serology. *Tissue Antigens* **48** : 680 - 691, 1996.
16. Nakano H, Kawai S, Kashiwase K, *et al.* : DNA typing of HLA-A 2, A 26 and B 61 alleles using the PCR-MPH method. *MHC* (in Japanese) **3** : 205 - 212, 1997.
17. Uryu N, Maeda M, Ota M, *et al.* : A simple and rapid method for HLA-DRB 1 and -DQB 1 typing by digestion of PCR-amplified DNA with allele specific restriction endonucleases. *Tissue Antigens* **35** : 20 - 31, 1990.
18. Nomura N, Ota M, Tsuji K, *et al.* : HLA-DQB 1 genotyping by a modified PCR-RFLP method combined with group-specific primers. *Tissue Antigens* **38** : 53 - 59, 1991.
19. Sengar DPS, Goldstein R : Comprehensive typing of DQB 1 alleles by PCR-RFLP. *Tissue Antigens* **43** : 242 - 248, 1994.
20. Ota M, Nomura N, Sugimura K, *et al.* : Modified PCR-RFLP method for HLA-DPB 1 and -DQA 1 genotyping. *Tissue Antigens* **38** : 60 - 71, 1991.
21. Ota M, Seki T, Fukushima H, *et al.* : HLA-DRB 1 genotyping by modified PCR-RFLP method combined with group specific primers. *Tissue Antigens* **39** : 187 - 202, 1992.
22. Mizuki N, Ohno S, Ando H, *et al.* : A strong association between HLA-B\*5101 and Behcet's disease in Greek patients. *Tissue Antigens* **50** : 57 - 60, 1997.
23. Olerup O, Aldener A, Fogdell A, *et al.* : HLA-DQB 1 and -DQA 1 typing by PCR amplification with sequence-specific primers (PCR-SSP) in 2 hours. *Tissue Antigens* **41** : 119 - 134, 1993.
24. 兼重俊彦, 稲川明, 福森泰雄ら : 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 DRB 1, DPB 1 タイピング. *MHC* (in Japanese) **2** : 76 - 84, 1995.
25. Krausa P, Browning MJ : A comprehensive PCR-SSP typing system for identification of HLA-A locus alleles. *Tissue Antigens* **47** : 237 - 244, 1996.
26. Imanishi T, Tokunaga K, Yoshida T, *et al.* : Allele and haplotype frequencies of HLA in Japanese. *Transplant Now* (in Japanese) **4** : 147, 1991.
27. Satoshi S, Satoshi Ota, Hashizume K, *et al.* : Gene frequency and haplotypic associations of serologically detectable HLA-Cw\*15 in Japanese population. *MHC* (in Japanese) **3** : 94 - 104, 1997.
28. 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.
29. Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, *et al.* : The foreign antigen binding site and T cell recognition regions of class 1 histocompatibility antigens. *Nature* **329** : 512 - 518, 1987.

Serological definition of HLA-Cw\*08 alleles and gene frequency of Cw\*08 in Japanese population.

Satoshi Saito<sup>1)</sup>, Satoshi Ota<sup>1)</sup>, Kiyotaka Hashizume<sup>1)</sup>, Hirofumi Fukushima<sup>2)</sup>, Masao Ota<sup>2)</sup>, and Eisei Yamada<sup>1)</sup>.

1) Nagano Red Cross Blood Center, Nagano, Japan

2) Department of Legal Medicine, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan

### Summary

During the course of routine HLA typing for potential apheresis donors, potential bone marrow recipients and their families, we identified three subtypes of HLA-Cw 8 using five kinds of anti-HLA Cw 8 sera. The result of DNA typing showed that these three subtypes were defined as HLA-Cw\*0801, Cw\*0802 and Cw\*0803. The gene frequencies of Cw\*0801, Cw\*0802 and Cw\*0803 were 6.3%, 0% and 2.3%, respectively in Japanese population. In Cw\*0801 and Cw\*0803, following linkage disequilibria were observed: Cw\*0801 was associated with A 26.1, B\*1518 (B 71), B\*4006 (B 61) and B\*4801, while Cw\*0803 was associated with B\*4801. Characteristic haplotypes of A 24 - Cw\*0801 - B\*4006, A 26.1 - Cw\*0801 - B\*4006 and A 24 - Cw\*0803 - B\*4801 were also observed in this study.

### Key words

Cw 8 N, Cw\*0801, Cw\*0802, Cw\*0803, PCR-SSP

# 〔シリーズ：異種の MHC〕 トリの MHC

椎名 隆

東海大学医学部，分子生命科学 2

## 要約

これまで，MHC 領域が解析されていた鳥類はニワトリである。しかし，その MHC 領域におけるクラス I およびクラス II 遺伝子の構成並びに発現遺伝子数はその他の動物種とは異なった様相を呈している。本稿において，ニワトリと近縁であると考えられているウズラの MHC 領域の遺伝子解析を行ったところ，クラス I 領域とクラス II 領域とが独立していること，少なくとも 4 つ以上のクラス I 遺伝子が発現していることなどから，ウズラとニワトリとの MHC 領域の遺伝子構成に大きな相違が見い出された。この理由として，両者の生育する環境や人為的な選抜淘汰などが挙げられる。

## 1. はじめに

主要組織適合遺伝子複合体 (major histocompatibility complex : MHC) は自己と非自己を認識し，免疫応答を司ることにより，個体の生体防御機構の一旦を担っている抗原をコードする遺伝子群である。ヒトの MHC 領域は第 6 染色体短腕上の 6p21.3 に位置し，約 4 Mb 内に 230 近くの遺伝子が存在するという，他のゲノム領域と比較して遺伝子密度が顕著に高い領域である(1)。また，この領域は，高度な遺伝的多型性を有していること，100 以上の疾患と高い相関を持つことなどの興味深い特徴を有する。ニワトリの MHC 領域 (B 遺伝子型) も，組織適合性，補体活性，T-B 細胞間相互作用など種々の免疫機能に関与していることはもとより，マレック病，ラウス肉腫，家禽コレラなどに対する抵抗性，産卵率，育成率および死亡率などの経済形質等についても血清学的手法並びに分子生物学的手法を用いた解析により MHC 領域により支配されていることが報告されている。これらは他の総説にまとめられているので参照されたい(2~4)。

これまでの鳥類の MHC についての研究は 1961

年の最初の報告以来，現在に至るまでニワトリに関する知見を中心に展開されてきた(5)。ここでは，ニワトリの MHC 領域の遺伝子構成についての概略，並びにウズラを材料に用いた著者らの研究成果に基づくトリ MHC 領域における遺伝子構成の差異および今後の展望について概説する。

## 2. ニワトリ MHC の特徴

### 2.1. ニワトリの MHC 領域

ニワトリの MHC を支配する B 遺伝子型は当初，血液型システムの 1 つとして発見された(6)。第 16 番染色体上の B 遺伝子座位 (B 座位) に存在する複対立遺伝子によって支配されているが，その後，B 座位の血液型因子が同型および異型のひなを用いた移植片対宿主反応 (Graft Versus Host Reaction : GVHR) により，B 座位が MHC 領域であることが明らかにされた(7,8)。

この B 座位は遺伝子クローニング並びに連鎖解析により，6 Mb に及ぶ rDNA 遺伝子領域 (NOR) に隣接して位置すると考えられた(9)。総計 500 kb の 6 つのクラスターよりなり，38 個の遺伝子 (1

遺伝子/13.1 kb) が同定されるという HLA 領域同様に遺伝子密度の高い領域である(図1)(2~4, 10, 11). この領域には, 哺乳類のクラス I 遺伝子に相当する6つの B-F 遺伝子, クラス II  $\beta$  鎖遺伝子に相当する5つの B-L  $\beta$  遺伝子, 哺乳類では見いだされていない赤血球抗原を支配する20個の B-G 遺伝子やその他6個の非 MHC 遺伝子から構成されている(12). これら6つのクラスターの中で, クラスター I は B-F/B-L 領域, クラスター V と VI は B-G 領域, クラスター III は B-L/NOR 領域とそれぞれ呼ばれている(10, 11). この B-G 領域と B-F/B-L 領域間は0.05 cM と推定されているが, この領域間の組換え体ニワトリを用いて, マレック病に対する抵抗性が検索され, マレック病抵抗性遺伝子は B-G 領域よりも B-F/B-L 領域に強く連鎖していることが明らかにされている(13). 一方, クラスター II および IV は, 同じく第16番染色体上に存在するが, クラスター I や III と連鎖しないことが報告され, この座位は新たに Rfp-Y 遺伝子座と命名された. 6つの B-F 遺伝子と5つの B-L  $\beta$  遺伝子の内, 4つの B-F 遺伝子と3つの B-L  $\beta$  遺伝子が B 遺伝子座に, また, 2つの B-F 遺伝子と2つの B-L  $\beta$  遺伝子が Rfp-Y 遺伝子座にマップされる(図1)(14-17). B-L  $\beta$  遺伝子はさらにもう一つの遺伝子の存在が示唆されているが, その位置は未だ確定されていない(18). しかし, MHC 抗原の豊富な多様性から推察するとさらに多くの MHC 遺伝子が存在するものと

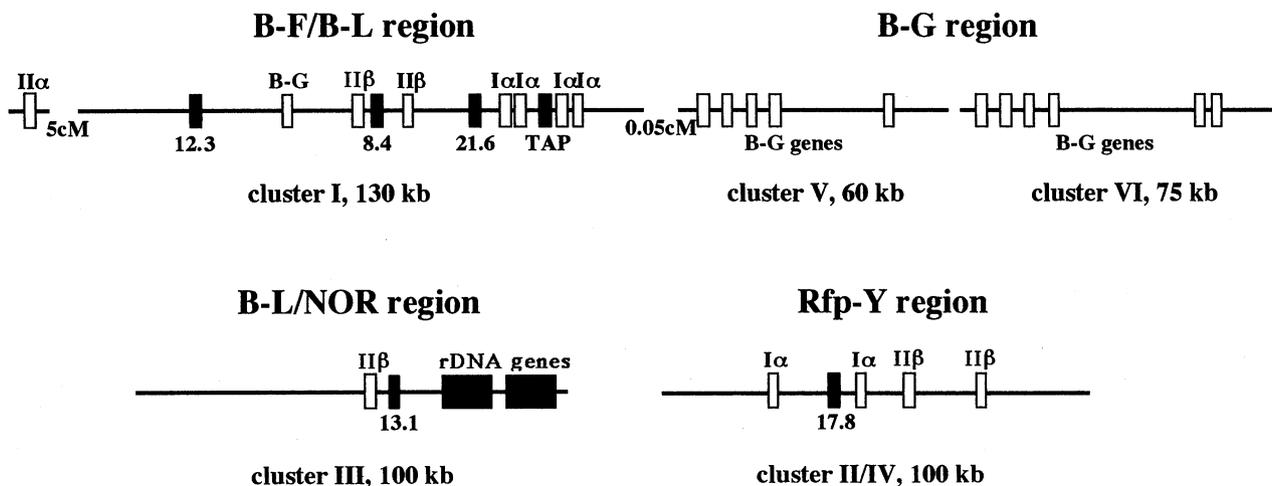
考えられる. クラス II 抗原  $\alpha$  鎖遺伝子に相当する遺伝子 (B-L  $\alpha$ ) は哺乳類の MHC 領域の遺伝子構成と大きく異なり, HLA-DRA/B, -DQA/B, -DPA/B の様に  $\beta$  鎖遺伝子の近傍に位置せず, クラスター I から 5 cM 離れた位置に1個のみ見いだされている(19).

B-F および B-L 遺伝子のシーケンシング解析や機能解析が行われているが, これらの遺伝子の構成に関する最終的結論は得られていない. ただし, Kaufman らのグループによれば, ニワトリは哺乳類とは大きく異なり, これらの MHC 遺伝子のなかで1つの B-F 遺伝子, 1つの B-L  $\alpha$  遺伝子と2つの B-L  $\beta$  遺伝子のみが発現している可能性が高いとし, これらの遺伝子を最小不可欠 MHC (minimum essential MHC) と呼んでいる(20).

## 2.2. B-G 遺伝子

B-G 領域で特徴的なことは, 哺乳類では見いだされていない膜抗原をコードする B-G 遺伝子がこの領域に含まれていることである. この遺伝子がコードする抗原は単量体では 40~48 kDa, 2量体では 85~90 kDa の分子量を有し, 赤血球膜上に強く発現している. その機能として, アジュバンド活性, 移植片対宿主反応および同種移植片拒絶が認められることから, B-G 遺伝子は, 主に赤血球型に関連し, B-F 遺伝子はウィルス抵抗性に, B-L 遺伝子は免疫応答に関与すると考えられている(21~24). この B-G 遺伝子と相同性を有する遺伝子として, ミエリ

図1, ニワトリ MHC 領域 (B 座位) の遺伝子構成 (Kaufman ら, 1995 より改編)  
MHC 遺伝子を白い四角, また, 非 MHC 遺伝子を黒い四角で示した.



ン神経軸索糖蛋白質 (Myelin oligodendrocyte protein ; MOG) やブチロフィリン (butyrophilin ; BT) が挙げられる(25,26). いずれの遺伝子もヒト HLA 領域には, クラス I 領域のテロメア側 HLA-F 遺伝子近傍に同定されている. これまでに B-G 領域には, 20 個の B-G 遺伝子が同定されているが, 各遺伝子と発現様式との対応については未だ明らかにされていない. しかし, B-G 遺伝子は哺乳類には存在しない鳥類特異的なものであり, 進化学的にも鳥類独自の進化を遂げた免疫学的機能を有していると想像される.

#### 2.4. ニワトリ MHC 領域の非 MHC 遺伝子

非 MHC 遺伝子はニワトリ MHC 領域内に 6 個が見い出されているが, これまでにその塩基配列や機能が明らかにされている遺伝子はそれらの内, 3 個のみである(図1). すなわち, GTP 結合蛋白質(12.3 遺伝子), 新規の免疫グロブリン族の遺伝子(8.4 遺伝子), および TAP 2 遺伝子である(27). これらのなかで, 12.3 遺伝子はヒト HLA 領域では, クラス I 領域に, また, TAP 2 遺伝子はクラス II 領域にそれぞれ対応する遺伝子が存在する. 残る 6 つの遺伝子については, 現在までのところ機能不明な新規遺伝子である. HLA クラス III 領域に存在する HSP 70, TNF, 各補体遺伝子 (C 2, C 4A, C 4B) などの遺伝子はこれまでにニワトリ MHC 領域には見い出されていない.

### 3. ウズラ MHC の特徴とニワトリ MHC との比較

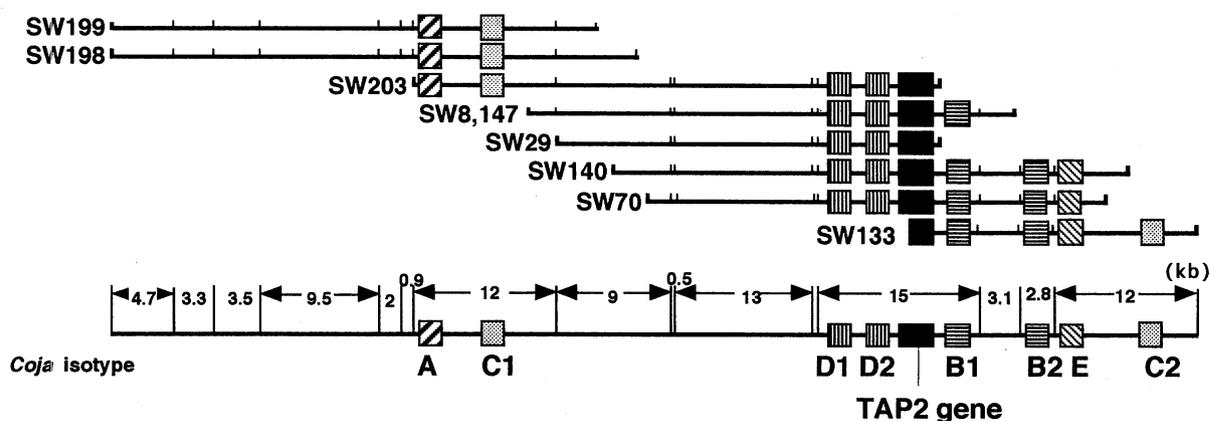
#### 3.1. MHC 領域の比較

前述したように, 鳥類の MHC 領域における遺伝子解析は主にニワトリでのみ行われてきた. 著者らは, ニワトリとの属間雑種やキメラが作成可能であることから, 近縁種と考えられているウズラ (*Coturnix japonica*) を用いて, その MHC 領域 (Coja 領域) の特徴を見出し, MHC と経済形質との関連性を追及するとともに, ニワトリ MHC と比較, 検討して鳥類における MHC 進化の過程を明らかにすることを目指している. すなわち, ウズラ DNA とニワトリ MHC 遺伝子プローブを用いたサザンハイブリダイゼーション解析, ウズラ MHC ク

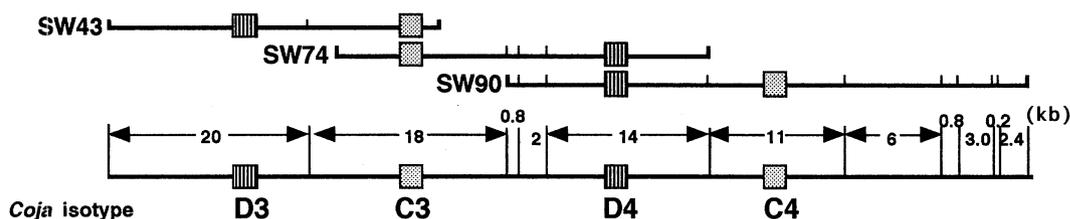
ラス I およびクラス II 抗原 cDNA と遺伝子クローンのシークエンシング解析, ウズラ MHC 領域のコスミドコンティグの作成を行った. その結果, ウズラ MHC の第一の特徴として, クラス I 領域は 170 kb 内に少なくとも 12 個もの MHC クラス I 遺伝子を有していることが明らかとなった(図 2). また, 各遺伝子の塩基配列を決定したところ, これらの内, 少なくとも 7 個の遺伝子 (Coja-A, -B 1, -B 2, -C, -D 1, -D 2, -E 遺伝子座) が発現可能な遺伝子構造を有し, これらのうち少なくとも 4 個の遺伝子 (Coja-A, -B, -C, -D) が発現していることが cDNA クローンの分離並びに RT-PCR 解析によりわかった(28). ニワトリでは, 前述のように 6 個のクラス I 遺伝子のうち, 1 個の遺伝子 (B-FIV) のみ発現が確認されていることから, ウズラとニワトリにおける MHC の遺伝子構成は大きく異なっていると考えられる. この結果を支持するものとして, ニワトリとウズラ間のキメラの作出の問題が挙げられる. ウズラの肢芽組織をニワトリに移植し, ウズラとニワトリとのキメラを作成した場合, 3 ヶ月内に拒絶反応が起き, 組織移植片は脱落するが, 逆にニワトリの肢芽組織をウズラに移植した場合, ほぼ免疫寛容状態になり, 組織移植片は生着する(29). これらの移植片の挙動の相違は, クラス I 抗原並びにクラス II 抗原と結合する T 細胞レセプターのウズラとニワトリのレパトアの差異によるものと説明されてきた. しかし, 著者らの知見では, 発現に関与するクラス I 遺伝子の数はニワトリが 1 個であるのに対して, ウズラでは少なくとも 4 個以上存在することから, 発現時期に特異的な, あるいは臓器並びに組織の移植に関与するクラス I 抗原数の差異により, ウズラとニワトリとのキメラにおける移植片の拒絶あるいは生着が決定するものとも考えることもできる. 今後, ヒトの HLA-G 抗原のような臓器特異的な抗原の存在や抗原蛋白レベルでの発現の確認についても追及する必要がある. ウズラとニワトリとのクラス I 遺伝子数の差異については, ニワトリのクラス I cDNA プローブを用いたサザンハイブリダイゼーション解析においても示唆された(図 3). すなわち, ニワトリの MHC クラス I cDNA プローブを用いたにもかかわらず, ニワトリ DNA よりもウ

図2. ウズラ MHC クラス I 領域の遺伝子構成  
矢印の間の数字は EcoR I 切断部位間の距離を示す。

### cluster 1 (90.8 kb)



### cluster 2 (78.2 kb)



ズラ DNA を用いた方が、多数のしかもシグナルの強いバンドが出現した。

ウズラ MHC の 2 番目の特徴として、170 kb のウズラ MHC クラス I 領域内には、クラス II  $\beta$  遺伝子が見い出されないことである。また、クラス II  $\beta$  遺伝子を含む 20 個のコスミドクローンには、クラス I 遺伝子は認められなかった。従って、ニワトリでは、クラス I 遺伝子の近傍にクラス II  $\beta$  遺伝子が見い出されるが、ウズラには、クラス I 遺伝子とクラス II 遺伝子とが混在することなく互いに独立の領域として存在することから、ウズラの MHC 領域はニワトリよりもニワトリ以外の動物の MHC (ヒト HLA やマウス H-2 など) 領域の遺伝子構成に近いものと推定される。実際、各種動物の MHC 領域を比較しても、ニワトリ以外の動物 (ヒト、マウス、ブタ、カエルおよびゼブラフィッシュ) MHC のクラス I、クラス II およびクラス III 領域はそれぞれ独立のクラスターを形成しているが、ニワトリ MHC のみ、クラス I 遺伝子とクラス II 遺伝子とが入り交

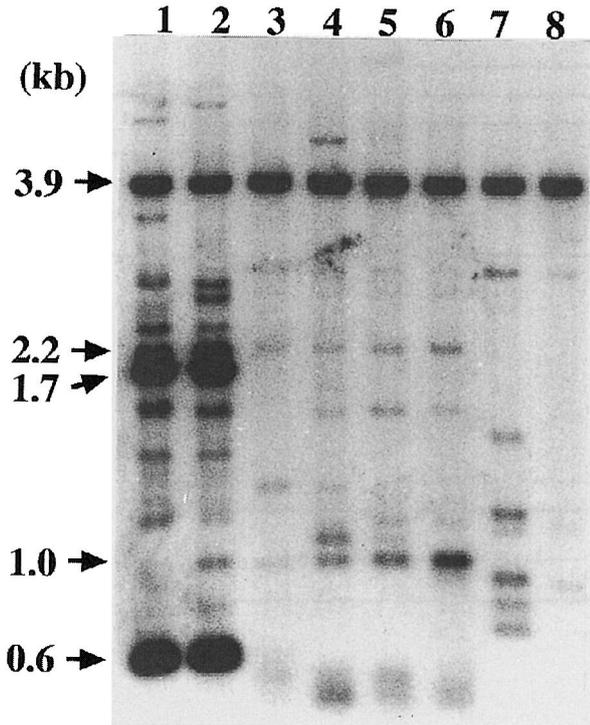
じって存在し、また明確なクラス III 領域も認められない (図 4) (30)。この推定はウズラのクラス I、クラス II 並びにクラス III 領域間の物理的配置をそれぞれ明らかにすることにより、検証されるであろう。

ウズラ MHC 内の非 MHC 遺伝子として、我々は現在までに、TAP 2、Ring 3 (細胞周期調節遺伝子; クラス II 領域に存在する)、B-G 様遺伝子を見い出している (図 4)。TAP 2 遺伝子はニワトリ同様にクラス I 領域内に存在し、塩基配列決定の結果、3400 bp 内に 9 つのエクソンから構成されていた。また、ヒトの Ring 3 遺伝子とニワトリの B-G 遺伝子をプローブに用いたサザンハイブリダイゼーション解析の結果、ウズラ MHC クラス II 領域に 1 つの Ring 3 遺伝子と複数個の B-G 様遺伝子が存在することを見い出した。

### 3.2. MHC クラス I 抗原の比較

RT-PCR 法により発現を確認した 4 個のウズラク

図3, ニワトリ MHC クラス I cDNA をプローブに用いた各種家禽のサザンハイブリダイゼーション解析  
 1 ; ウズラ (A 系), 2 ; ウズラ (B 系),  
 3 ; ニワトリ (白色レグホーン種),  
 4 ; ニワトリ (ブラックミノルカ種),  
 5 ; ニワトリ (ロードアイランドレッド種),  
 6 ; ニワトリ (横斑プリマスロック種),  
 7 ; 七面鳥, 8 ; ホロホロ鳥



ラス I cDNA クローン (Coja-A, -B, -C, -D) より推定されるアミノ酸配列をニワトリの B-F 19 (31) および HLA-A 2 (32)cDNA のアミノ酸解析を基にして, 各クローン間におけるアミノ酸配列を比較した. その結果, 図5に示したように, 糖鎖の結合部位である 87 番目のアスパラギン酸 (CHO), S-S- 結合部位である 101, 163, 201, 257 番目のシステイン (S), リン酸化部位である 315 番目のスレオニン, 325, 328 番目のセリン (P) は各クローン間に保存されていた. また,  $\beta$  2 ミクログロブリン,  $\alpha$  1,  $\alpha$  2,  $\alpha$  3, CD 8 に接触するアミノ酸残基は Coja-A ~D 各 cDNA 間におおむね保存されていた. さらに, ループやストランド構造を維持するために必要なアミノ酸残基 (Pro- 184, Phe- 206, Pro- 208, Pro- 233, Val- 259, His- 261, Leu- 264, Pro- 267) も魚類, 両生類, 哺乳類と同様によく保存されていた. これらに対して, ペプチドと結合する部位 (A ~F) が 35 箇所が見い出されたが, これらのうち, 29 箇所は Coja-A ~D 各 cDNA 間でアミノ酸が異なり, 高い多様性を有していた. したがって, 各ドメイン並びに CD 8 などに接触するアミノ酸残基はクラス I 抗原の一般的な構造および機能に大きく関わ

図4, 各種動物における MHC 領域の比較

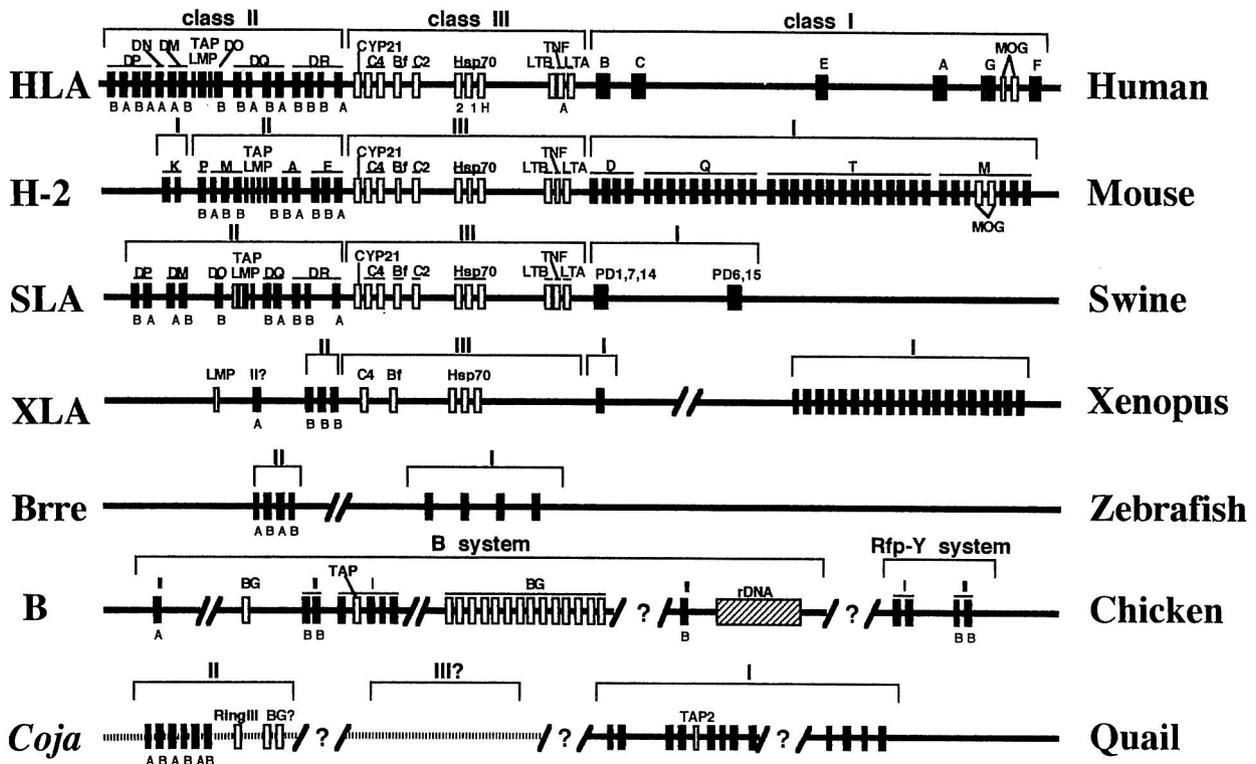
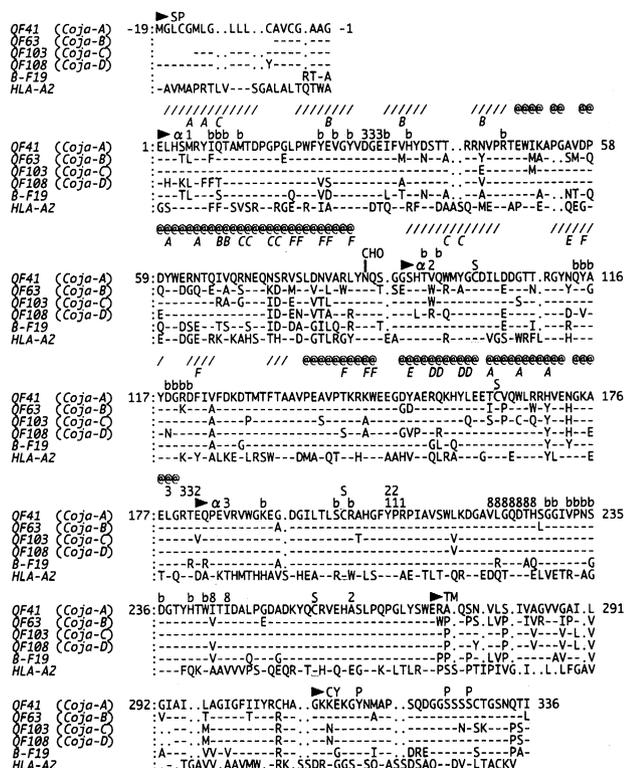


図5. アミノ酸配列における  
各クラス I 遺伝子の構造解析

- 1; βシート部位, @; αヘリックス部位,
  - S; S-S-結合しているアミノ酸残基,
  - P; リン酸化されているアミノ酸残基,
  - CHO; 糖鎖が結合しているアミノ酸残基,
  - 1; α1ドメインに接触しているアミノ酸残基,
  - 2; α2ドメインに接触しているアミノ酸残基,
  - 3; α3ドメインに接触しているアミノ酸残基,
  - 8; CD8に接触しているアミノ酸残基,
  - b; β2ミクログロブリンに接触しているアミノ酸残基,
- A~F; A~F各ポケットに位置するアミノ酸残基



るものとしてよく保存されているが、ペプチドに接触するアミノ酸残基に観察される多様性はペプチドの拘束性を規定しているものと考えられ、Coja-A~D各遺伝子はそれぞれ異なる種類のペプチドを提示するものと推定された。

### 3.3. MHC クラス I 遺伝子の進化

ウズラとニワトリはそれらの属間雑種やキメラの作成が可能ほど、遺伝的距離が近いものとされている。実際、ウズラ、ニワトリを含む各種動物のクラス I 遺伝子の塩基配列を用いた系統樹を作成してみると、ウズラは魚類(サケ)と最も遺伝的距離が遠く、ニワトリと最も近い値を示した(図6)。しか

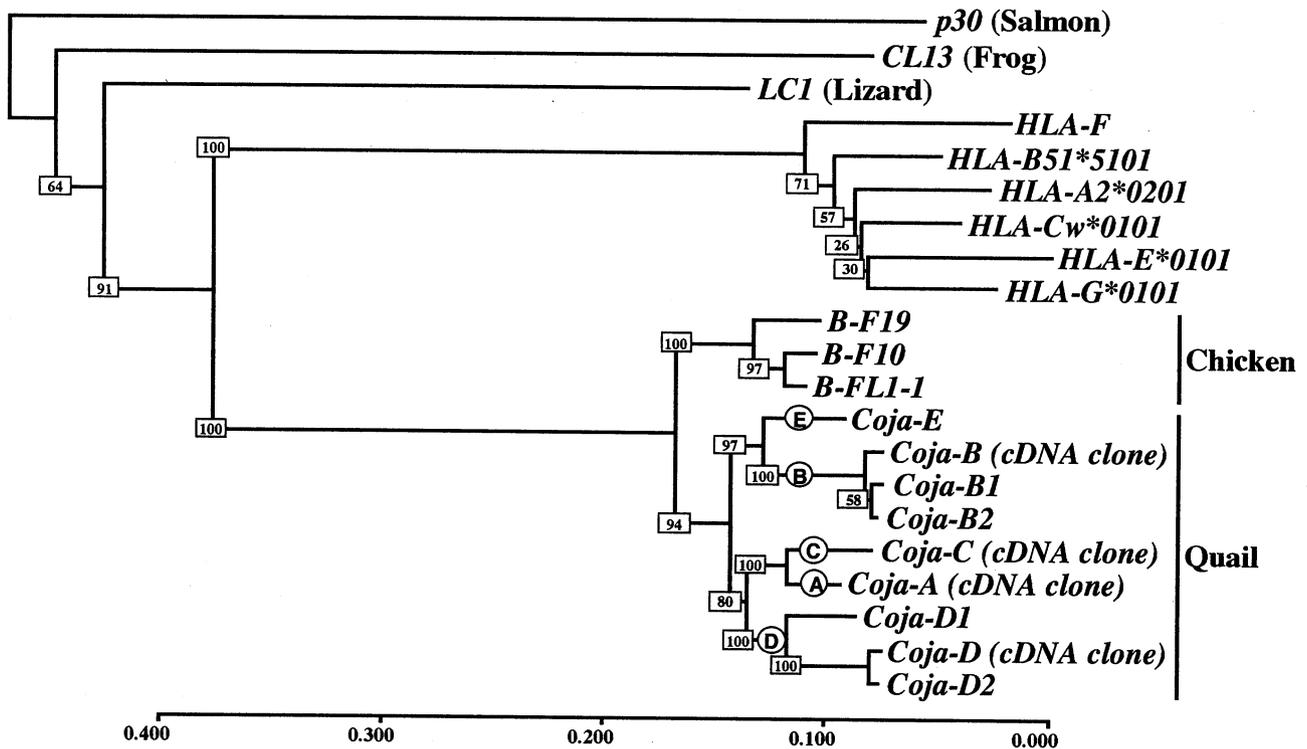
るに、ウズラとニワトリとの MHC クラス I 遺伝子間のホモロジーは73.6~76.9%と高いものの、その領域におけるクラス I 遺伝子の構成並びに遺伝子数などが異なることから、ウズラとニワトリとのクラス I 遺伝子領域の進化の程度には大きな相違が存在することが考えられた。この両者の遺伝的進化の程度の異なる理由の一つとして、ニワトリは留鳥で約1万年前から家禽化されているのに対して、ウズラは南北間の渡り鳥で野生状態で生息していたことが考えられる(33)。ウズラは、熱帯地並びに寒冷地特有のウイルスや細菌などの各種抗原に暴露され、これらに対する抵抗性を獲得するため、多くの遺伝的変異が生じ、MHC クラス I 領域において4つのあるいはそれ以上の遺伝子の発現に至ったのではないかと我々は推定している。

ウズラの MHC クラス I 領域の構成とニワトリのそれとの大きく異なる原因のもう一つの理由として、ウズラとニワトリは独立して進化してきた可能性が挙げられる。ウズラとニワトリとのミトコンドリア DNA の全塩基配列を比較すると、その属間差は約20%であり、この属間差はヒトと赤毛ザルとの間の種間差に相当する。根井らの方法(34)にて計算しても、ウズラとニワトリとの属間差が94.5%と計算され、ウズラやニワトリにおける各ミトコンドリア DNA は独立に進化してきたことを意味する。このような例として、起源が全く異なっているが、その形態は非常に類似しているクロアリとシロアリが挙げられる。これらのアリと同様にウズラとニワトリ間の差異についてもその起源は異なっているか、あるいは太古に両者は分化し、その後、平行的に進化したものと考えられる(35)。

### 4. おわりに

本稿では、ニワトリとウズラの MHC 領域における遺伝子構成について概説した。近縁であるものと考えられていた両者の MHC 領域がの遺伝子構成が予測に反し、大きく異なっていることに驚かされる。ウズラと同様に、白鳥やツバメなどの渡り鳥はクラス I 遺伝子を多く有しているのか、また、南極大陸に生息するペンギンは抗原刺激を受ける機会が少ないことから、クラス I 遺伝子が少ない方向に進化し

図6, MHCクラスI遺伝子a1~a3ドメイン領域間における各種動物の塩基配列を基にした系統樹  
 DDBJのClustalwソフトウェアを用いて塩基配列のアライメントを行った後, Neighborjoining法  
 (36)により系統樹を作成した。  
 四角の中の数字はブートストラップ値(分岐の信頼性)を示す。



ているのかという新しい問題など興味は尽きない。  
 今後, 前述した仮説と共にこれらの問題について追  
 及していく予定である。

参考文献

1. Campbell RD, Trowsdale J : A map of the human major histocompatibility complex. *Immunology Today* **18** : supplement., 1997.
2. 岡田育穂 : 鶏における血液型研究の進展, 日本家禽会誌, **28** : 203-213, 1991.
3. Okada I : The B complex in the chicken Development from a blood group stem into the major histocompatibility complex. *J. Fac. Appl. Biol. Sci.* **31** : 11-28, 1992.
4. Plachy J, Pink RL, Hala K : Biology of the chicken MHC (Bcomplex). *Critic Alreviews in Immunol.* **12** : 47-79, 1992.
5. Schierman LW, Nordskog AW : Relationship of erythrocyte to leukocyte antigen in chicken. *Science* **134** : 1008-1009, 1961.
6. Briles WE, Stone HE, Cole RK : Marec's disease ; effect of B histocompatibility alloalleles in resistant and susceptible. *Genetics* **35** : 633-652, 1950.
7. Miller MM, Goto RM, Taylor RL, et al. : Assignment of Rfp-Y to the chicken major histocompatibility complex/NOR microchromosome and evidence for high-frequency recombination associated with the nucleolar organizer region. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93** : 3958-3962, 1996.
8. Jeffy WP, Mcdermid EM : Prolonged skin homograft survival and erythrocyte antigen in young chickens. *Science* **137** : 984, 1962.
9. Bloom SE, Bacon L : Linkage of the major histocompatibility (B) complex and the nucleolar organizer in the chicken. *J. Heredity* **76** : 146-154, 1985.
10. Guillemot F, Billault A, Pourquoi O, et al. : A molecular map of the chicken major histocompatibility complex : the class II  $\beta$  genes are closely linked to the class I

- genes and the nucleolar organizer. *EMBOJ* **7**: 2775 - 2785, 1988.
11. Guillemot F, Kaufman J, Skjoldt K, *et al.* : The major histocompatibility complex in the chicken. *Trends in Genetics* **5**: 300 - 304, 1989.
  12. Hara K, Plachy J, Schulmannova J : Role of the B-G region antigen in the humoral immune response to the B-F region antigen of chicken MHC. *Immunogenetics* **14**: 393 - 400, 1981.
  13. Briles WE, Briles RW, Taffs RE, *et al.* : Resistance to a malignant lymphoma in chickens is mapped to subregion of major histocompatibility (B) complex. *Science* **219**: 977 - 979, 1983.
  14. Briles W, Goto R, Auffrey C, *et al.* : A polymorphic system related to but genetically independent of the chicken major histocompatibility complex. *Immunogenetics* **37**: 408 - 414, 1993.
  15. Miller MM, Goto R, Zoorob R, *et al.* : Regions of homology shared by *Rfp-Y* and major histocompatibility B complex genes. *Immunogenetics* **39**: 71 - 73, 1994.
  16. Miller MM, Goto R, Bernot A, *et al.* : Two Mhc class I and two class II genes map to the chicken *Rfp-Y* system outside the B complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**: 4397 - 4401, 1994.
  17. Pharr G, Gwynn A, Bacon L : Histocompatibility antigen(s) linked to Rfp-Y (Mhc-like) genes in the chicken. *Immunogenetics* **45**: 52 - 58, 1996.
  18. Zoorob R, Bernot A, Renoir DM, *et al.* : Chicken major histocompatibility complex class II B genes : analysis of interallelic and interlocus sequence variance. *Eur. J. Immunol.* **23**: 1139 - 1145, 1993.
  19. Kaufman J, Bumstead N, Miller MM : *Advances In Avian Immunology Research* (ed. Davison TF), The chicken class II A gene is located outside of the B complex Carfax Publishing Company, London, UK, 1995; p. 119 - 127.
  20. Kaufman J, Volk H, Wallny HJ : A "minimal essential Mhc" and an "unrecognized Mhc" : Two extremes in selection for polymorphism. *Immunol. Rev.* **143**: 63 - 88, 1995.
  21. Hara K, Plachy J, Schulmannova J : Role of the B-G region antigen in the humoral immune response to the B-F region antigen of chicken MHC. *Immunogenetics* **14**: 393 - 400, 1981.
  22. Kline K, Briles W, Bacon L, *et al.* : Characterization of two distinct disulfide-linked B-G molecules in the chicken. *J. Hered.* **79**: 249 - 256, 1988.
  23. Salomonsen J, Skjoldt K, Crone M, *et al.* : The chicken erythrocyte-specific antigen. Characterization and purification of the B-G antigen by monoclonal antibodies. *Immunogenetics* **25**: 337 - 345, 1987.
  24. Kaufman J, Skjoldt K, Salomonsen J : The B-G multigene family of the chicken major histocompatibility complex. *Critical Rev. in Immunol.* **11**: 113 - 143, 1991.
  25. Pham-Dinh D, Allinquant B, Ruberg M, *et al.* : Characterization and expression of the cDNA coding for the human Myelin/oligodendrocyte glycoprotein. *J. Neurochem.* **63**: 2353 - 2356, 1994.
  26. Danielle P, Mattei M, Nussbaum J, *et al.* : Myelin/oligodendrocyte protein is a member of a subset of the immunoglobulin superfamily encoded within the major histocompatibility complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**: 7990 - 7994, 1993.
  27. Bernot A, Zoorob R, Auffray C : Linkage of a new member of the lectin supergene family to chicken Mhc genes. *Immunogenetics* **39**: 221 - 229, 1994.
  28. Shiina T, Ando A, Imanishi T, *et al.* : Isolation and characterization of cDNA clones for Japanese quail (*Coturnix japonica*) major histocompatibility complex (*MhcCoja*) class I molecules. *Immunogenetics* **42**: 213 - 216, 1995.
  29. 浜崎浩子, キメラの拒絶と受容反応, 細胞工学, **12**: 337 - 350, 1991.
  30. Trowsdale J : Both man and bird and beast : comparative organization of MHC genes. *Immunogenetics* **41**: 1 - 17, 1995.
  31. Kaufman J, Andersen R, Avila D, *et al.* : Different feature of the Mhc class I heterodimer have evolved

- at different rates. *J. Immunol.* **148**: 1532-1546, 1992.
32. Saper MA, Björkman PJ, Wiley DC : Refined structure of the human histocompatibility antigen HLA-A 2 at 2.6 Å resolution, *J. Mol. Biol.* **219**: 277-319, 1991.
33. Akishinomiya F, Miyake T, Takada M, *et al.* : Monophyletic origin and unique dispersal patterns of domestic fowls. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **93**: 6792-6795, 1996.
34. Nei M : In *Molecular Evolutionary Genetics*, Columbia Univ. Press, London, 1987 ; P. 78-179.
35. 大野乾 : イブの起源, *細胞工学*, **18**: 93-99, 1994.
36. Saitou N, Nei M : The neighbor-joining method : a new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol. Biol. Evol.* **4**: 406-525, 1987.

# 〔シリーズ：血清学〕 クラスⅠ抗原の共通トレイ

## －HLAタイピング用全国共通トレイについて－

田中 秀則

日本赤十字社中央血液センター，検査課

### はじめに

現在全国の血液センターでは，濃厚血小板 HLA 「日赤」供給に必要な成分献血登録者及び骨髄バンク登録者の HLA タイピングを行っている．この検査に使用される HLA タイピングトレイは，各トレイ供給センター（全国9センター）または各血液センターで作製されていた．それぞれのタイピングトレイは，異なる抗血清を使用して作製されていることから，センター間におけるタイピング精度が均一化されていないのが現状であった．

このような問題について，血液センターで構成される「白血球・血小板抗原型に関する研究会」では，タイピング精度の向上と均一化を行うためのひとつとして，各血液センターで使用するタイピングトレイの共通化について検討を行った．そのため，全国の各血液センターが保有している HLA 抗血清の再評価を行い，共通化したトレイの作製およびその供給の可能性について検討を行った．その結果，量的にも質的にも全国の血液センターで使用するタイピングトレイの供給が可能と考えられ，平成9年7月より日本赤十字社内で行っている試薬製造業務のひとつとして，HLA タイピング用全国共通トレイ（共通トレイ）の製造及び供給が行われるようになった．

ここでは，以下の内容について概説したい．

1. 共通トレイの製造及び供給システム
2. DNA を使った HLA 再検査システム
3. 共通トレイ使用抗血清について

### 1. 共通トレイの製造及び供給システム（図1参照）

共通トレイは，日本人に0.1%以上の頻度で見

られる HLA 型でタイピング可能な型（表1のⅠ群）をタイプするトレイであり，使用する抗血清のほとんどが各血液センターで行われている抗体スクリーニングで得られた血清である．これらの抗血清を十分に評価し，有効に活用するシステムが，共通トレイの製造及び供給のシステムと考えられ，以下にその概要を紹介する．

#### ①抗血清収集

共通トレイ用の抗血清は，全国の各血液センターにおいて，献血者の5%を越す数の検体及び分娩血について実施されている抗体スクリーニングによって収集される．

#### ②抗体スクリーニングに関する情報提供

トレイ製造センター（中央センター）は，各血液センターに在庫している抗血清について調査を行うことにより，共通トレイ用の抗血清として必要な特異性及び抗体スクリーニング法に関する情報を各血液センターに提供する．

#### ③抗血清の評価

抗血清の評価は，信頼性を高めるために以下の2回にわたって行っている．

1) 各血液センターで得られた抗血清を，基幹センター単位で行われている血清評価検討会（HLA ワークショップ）で評価する．

2) 1)で行われたワークショップの評価結果に基づき，共通トレイに必要な特異性の抗血清を選択し，中央センターで評価（抗血清評価試験）を行う．この評価試験では，市販血清及び海外施設との血清交換で得られた HLA 抗血清についても評価する．

#### ④共通トレイ用抗血清の選択

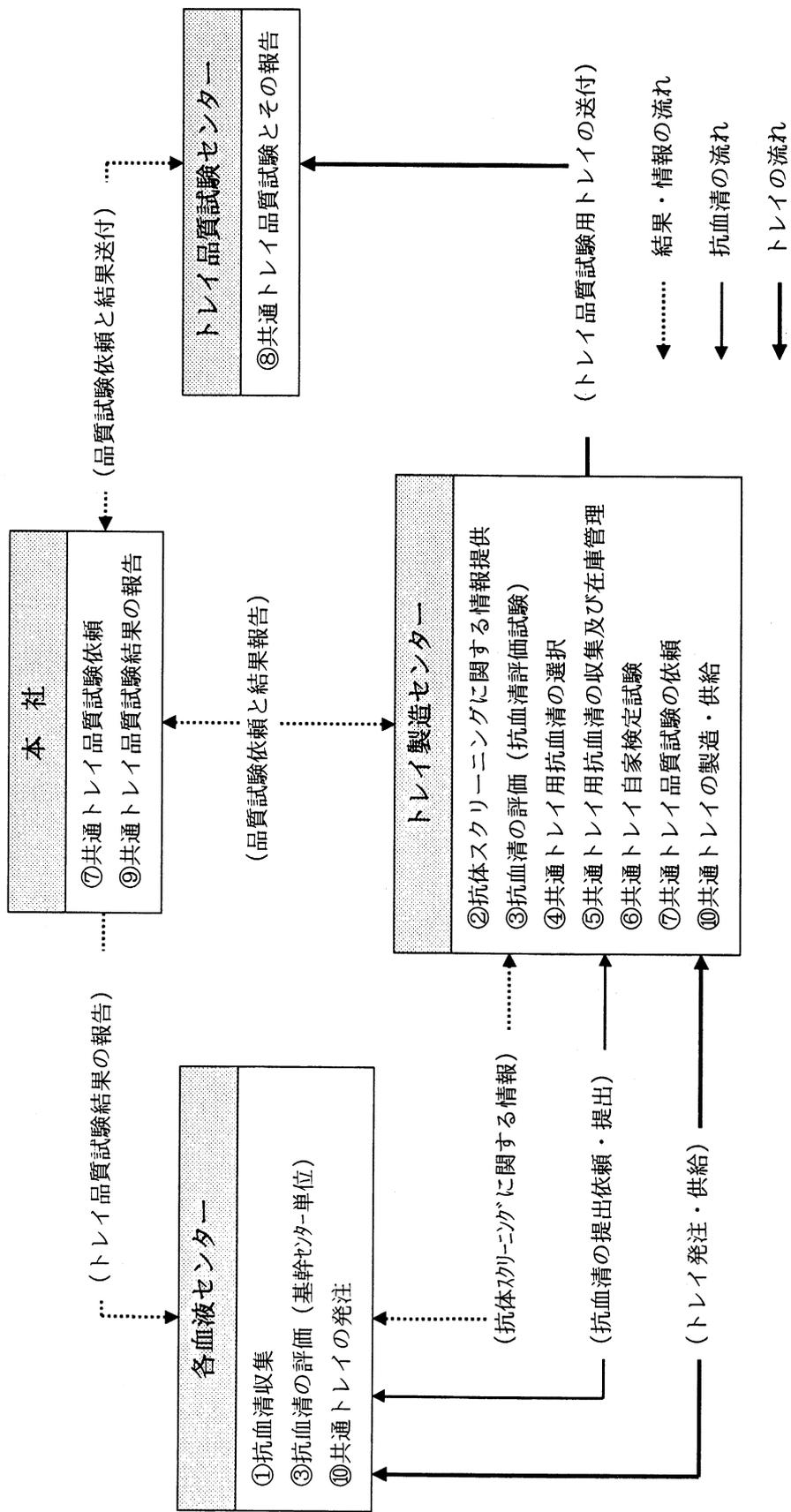


図1、共通トレイ製造および供給の業務内容の流れ

表 1、品質試験用標準細胞抗原リスト

## HLA-A

I 群		II 群	
抗原	頻度	抗原	頻度
A1	0.2	A1	0.2
A2	24.8	A2	24.7
		A210	0.1
		A218	-
		A203	-
		A28	-
A3	0.8	A3	0.8
A11.1	8.1	A11.1	8.1
A11.2	0.1	A11.2	0.1
		A23	-
A24	35.6	A24	35.6
		A2404	-
		A2408	-
		A25	-
A26	14.1	A26.3	9.8
		A26.1	2.2
		A26.4	2.1
A30	0.3	A30	0.3
A31	7.7	A31	7.7
A33	7.9	A33	7.9

## HLA-B

I 群		II 群	
抗原	頻度	抗原	頻度
B7	5.2	B7	5.2
B13	1.0	B13	0.9
		B13N	0.1
B27	0.3	B27	0.3
B35	8.6	B35	8.6
B37	0.2	B37	0.2
B38	0.3	B38	0.3
B39	4.4	B3901	4.0
		B3902	0.2
		B3904	0.2
B44	7.9	B44	7.9
		B45	-
B46	3.8	B46	3.8
B48	2.7	B48	2.7
B51	8.0	B51	7.9
B5102	0.1	B5102	0.1
B52	13.7	B52	13.7
B54	6.5	B54	6.5
B55.1	2.9	B55.1	2.9
B55.2	0.3	B55.2	0.3
B56	1.2	B56	1.0
		B22N	0.2
		B57	0.1
B58	0.6	B58	0.6
B59	1.7	B59	1.7
B60	5.1	B60	5.1
B61	14.6	B61	14.6
B62	7.9	B62	7.9
B67	1.0	B67	1.0
B70	0.9	B70	0.9
B75	1.0	B75V	1.0
		B75*	-

B75V = B\*1511

B75\* = B\*1502 or B\*1521

## HLA-C

I 群		II 群	
抗原	頻度	抗原	頻度
Cw1	16.4	Cw1	16.4
Cw9	11.8	Cw9	11.8
Cw10	9.6	Cw10	9.6
Cw4	4.1	Cw4	4.1
Cw7	15.3	Cw7	15.3
		Cw6	1.1

- : 日本人における頻度が0.1%未満のタイプ

I 群に示す HLA 抗原型は、日本人に 0.1% 以上の頻度で見られる HLA 抗原型で、濃厚血小板 HLA 供給のための成分献血者及び骨髄バンク登録者の HLA タイピングにおいてタイプする必要がある HLA 抗原型である。

中央センターで行った抗血清評価試験結果をもとに、共通トレイ用抗血清を選択する。選択した抗血清の在庫量を考慮し、最終的に共通トレイに使用する抗血清を選択する。

#### ⑤共通トレイ用抗血清の収集及び在庫管理

中央センターは、選択した抗血清の提出を各血液センターに依頼し、その抗血清を収集し保管する。また、収集する際に提出後の血清在庫量を調査し、次回作製するロットの製造予定数の参考とする。

#### ⑥共通トレイ自家検定試験

中央センターは、収集した抗血清で自家検定及び品質試験用トレイを作製し、自家検定基準（表2）に従って自家検定試験を行い、その結果報告書を作成する。

#### ⑦共通トレイ品質試験の依頼

中央センターは、自家検定試験で適とされたロットについて、日本赤十字社本社に自家検定結果を添付し品質試験の依頼をする。本社は、各トレイ品質試験センター（3センター）に、品質試験の依頼を行う。

#### ⑧共通トレイ品質試験とその報告

トレイ品質試験センターは、品質試験基準（自家検定基準と同じ）に従い、共通トレイの品質試験を行い、その結果を本社に報告する。

#### ⑨共通トレイ品質試験結果の報告

本社は、品質試験結果を中央センターに報告する。また、その試験結果が適と判定された場合は、各血液センターにその内容を報告する。

#### ⑩共通トレイの製造・受注及び供給

中央センターは、品質試験結果が適となったロットの共通トレイを製造し、保管する。また、各血液センターからの発注に対し、共通トレイを供給する。

以上の流れで検定を行ったトレイを供給している。ほとんどの血液センターは、医薬品製造所であり GMP (Good Manufacturing Practice) に基づく様々な規準に適合する必要がある。中でも品質管理部門における自家製造試薬は、自家検定を行う必要があり HLA タイピング用トレイもこれに該当する。共通トレイは、前述したように自家検定及び品

質試験を行い、適合となったロットについて製造及び供給を行っている。ここで実施した試験結果は、各血液センターに配布され HLA タイピングトレイ（共通トレイ）の受け入れ試験に重要な資料となっている。

## 2. DNA を使った HLA 再検査システム

共通トレイを使用して行う HLA タイピングでは、HLA タイプの組み合わせにより、一方のタイプが判別できない場合がある（詳細については次章で紹介する）。このような検体について、以下の手順で DNA タイピング用検体を中央センターに送付し、DNA を使ったタイピングにより HLA 再検査を行っている（図2参照）。ここではその流れについて紹介する。

### ①HLA タイピング

各血液センターでは、共通トレイを使用し濃厚血小板 HLA 供給に必要な成分献血登録者及び骨髄バンク登録者の HLA-A, B, C のタイピングを行う。

### ②HLA 再検査対象検体の確定

各血液センターでは、HLA タイピング結果の判定については、共通トレイ“使用上の注意点”（表3参照）に示された再検査基準に従い、HLA 再検査が必要な検体を確定する。

### ③HLA 再検査用検体の保存

各血液センターでは、HLA 再検査用検体を現行の骨髄バンク二次検査で使用している方法\*に従い、そのリンパ球を分離し凍結保存する。

\*: 3,000 個/ $\mu$ l に調製したリンパ球浮遊液 400  $\mu$ l を、遠心後上清を取り除きリンパ球沈渣にする。

### ④HLA 再検査検体送付

各血液センターに保存してある HLA 再検査用検体を、現行の骨髄バンク二次検査で使用している方法\*に従い、HLA 再検査依頼書を付け基幹センターに送付する。

\*: ③で凍結保存したリンパ球を、凍結状態（ドライアイス）で宅急便を使用し送付する。

### ⑤HLA 再検査検体分注

基幹センターは、HLA 再検査が必要な検体で骨

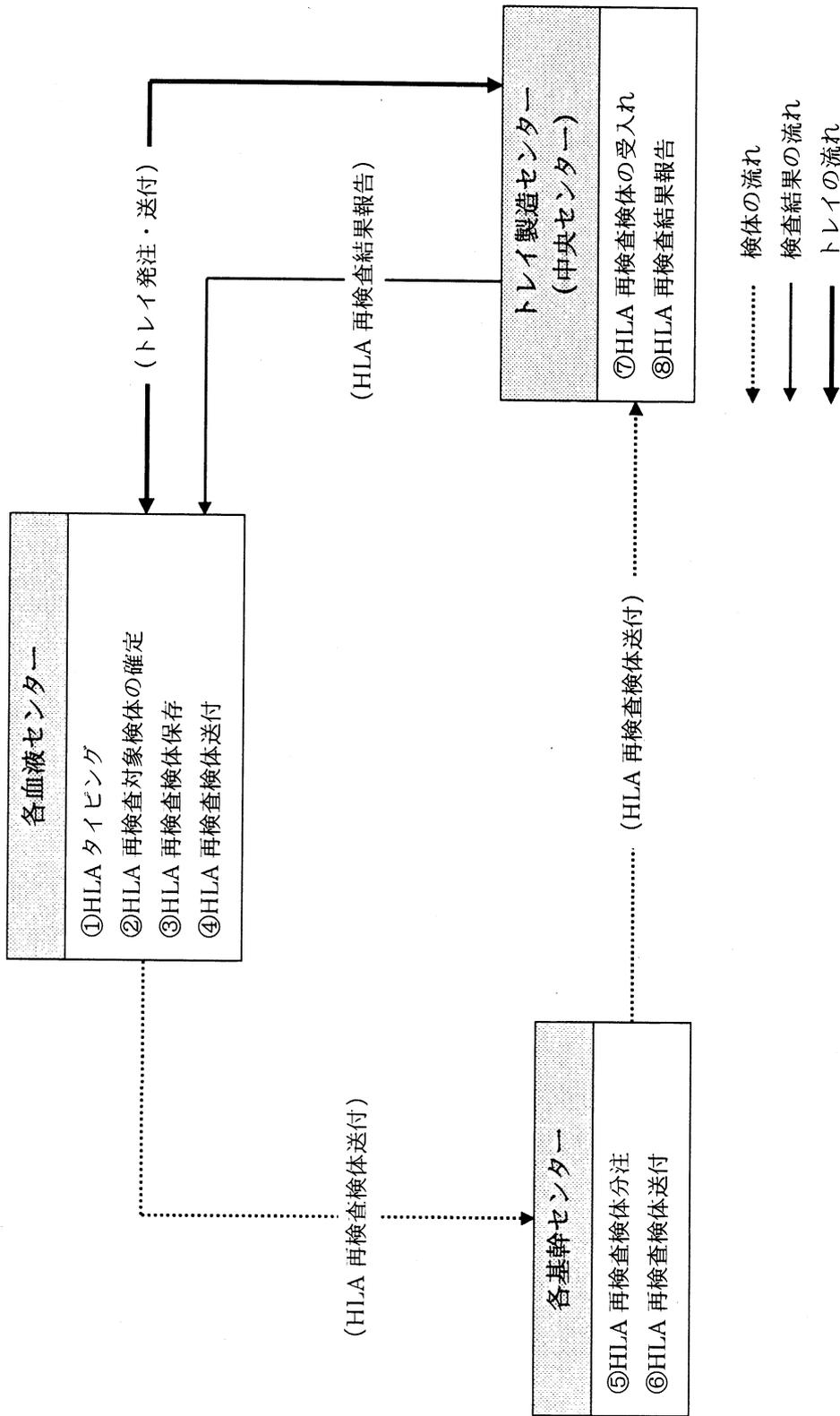


図2、HLA再検査の流れ

表 2、自家検定基準

HLA タイピング用全国共通トレイ  
特異性試験

## HLA タイピング用全国共通トレイ

次の試験を行うとき、これに適合するものでなければならない。

## 特異性試験

## a. 材料

## (1) 標準細胞 (リンパ球)

標準細胞は、品質試験用標準細胞抗原リスト (表 1) に示す I 群の抗原をもつリンパ球を 1 種類以上使用する。

## (2) 補体

本社が指定した ABC 用ウサギ補体を用いる。

## b. 試験

## (1) 調整方法

①トレイ (JRT<sub>1</sub>) を室温に 10 分以上放置し、各ウエルの抗血清を融解させる。

## (2) 操作方法

①標準細胞 (3000 個/ $\mu$ L) を 1 $\mu$ L ずつ各ウエルに分注し、抗血清と混和させる。

②室温で 30 分間加温する。

③ABC 用ウサギ補体を 5 $\mu$ L ずつ各ウエルに分注する。

④室温で 60 分間加温する。

⑤染色液で染色する。

⑥細胞が沈降した後、スコアを判定する。

## (3) スコア判定

陽性コントロール、陰性コントロールの反応を確認し、各ウエル中における死細胞数を、全細胞数に対する比率から下記の反応スコアとして決定する。

死細胞率 (%)	スコア
0- 10	1
11- 20	2
21- 40	4
41- 80	6
81- 100	8

## c. 結果

(1) 別添に示す「トレイ品質試験結果」用紙に、試験結果を記入する。試験結果は、各抗原をもつ標準細胞に対する反応スコアに基づき、下記の基準で表記する。なお、使用した標準細胞リストを添付すること。

結果	抗血清の反応性
+	各抗原をもつ標準細胞 90% 以上に対し、反応スコア 4 以上で反応が認められる。
W	各抗原をもつ標準細胞 90% 未満 50% 以上に対し、反応スコア 4 以上で反応が認められる。
E	各抗原をもつ標準細胞 50% 未満 10% 以上に対し、反応スコア 4 以上で反応が認められる。
空欄	上記以外

(2) トレイ品質試験結果に基づき、判別できない抗原について以下の事項について記入する。

## ①再検査基準

## ②判定困難な抗原

## ③日本人において稀な抗原の判定

## ④ブロード抗原による判定

## d. 判定

## (1) 各抗原に対する判定

トレイ品質試験結果がトレイ製造センターの特異性と一致し、I 群の各抗原がタイプできる場合を適とする。

## (2) 総合判定

作成した使用上の注意点を考慮し、I 群の各抗原がタイプできるトレイを適とする。

表 3、HLA タイピング用全国共通トレイ使用上の注意点

作成年月日：平成 9 年 11 月 10 日

トレイ製造センター：日本赤十字社中央血液センター

## 1.再検査基準

	判定タイプ	再検確認する抗原	再検不要で確認されるタイプ	再検査法
1	A26、A33	A33 の存在	・ウエル 3F での反応が、スコア 2 以下の 場合、A26、-と判定する。	
2	B39、-	B38 の存在	・ウエル 10A、11A での反応が、スコア 2 以下の場合、B39、-と判定する。	・確認トレイ*
3	B7、-	B27 の存在	・ウエル 10A、11A での反応が、スコア 2 以下の場合、B7、-と判定する。	・B27 確認検査(DNA タイピング)で確認
4	B60、-	B61 の存在		・B40 確認検査(DNA タイピング)で確認
5	B62、-	B75(B75*)、B70 の 存在		・B15 確認検査(DNA タイピング)で確認
6	B75(B75*)、-	B70 の存在		・B15 確認検査(DNA タイピング)で確認
7	B75、B70	B75* の存在	・ウエル 9A での反応が、スコア 6 以上の 場合、B75、B70 と判定する。	・B15 確認検査(DNA タイピング)で確認

確認トレイ\*： それぞれのタイプが確認できるトレイ等を使用する。

不可能な際は、中央センターに相談する。

## 2.判定困難な抗原（判定不可の抗原については以下の手順に従う）

## ③Cw9がある時の、Cw10の存在：

他のトレイでも確認不可能なため、Cw9と判定する。

## 3.日本人において稀な抗原の判定

下記の抗原の存在が考えられる場合、下記の抗原が確認できるトレイを使用する等により確認を行う。

A28(A68, A69), A23, A25, A29, A32, A34, A36, A43 A66, A74, A80

B8, B14(B64, B65), B21(B49, B50), B41, B42, B45, B47, B53, B63, B73 B76, B77, B78, B81

## 4.ブロード抗原による確定

	判定タイプ	確定抗原	備考
1	A11.2、-	A11、-	
2	B55.1、-	B55、-	
3	B54、B55.1	B54、B55	
4	B54、B55.2	B54、B55	
5	B57、-	B17、-	
6	B62、B58	B62、B17	
7	B75、B58	B75、B17	

髄バンク二次検査の検体については、DNA抽出後(PK処理等)の検体100 $\mu$ l(最低50 $\mu$ l)を、1.5mlサンプルチューブに分注する。

#### ⑥HLA再検査検体送付

基幹センターは、⑤で分注した再検査用検体及び成分献血登録者の検体(リンパ球沈渣の状態)をドライアイスで梱包後、中央センター検査三課に送付する。各センターから送付された、HLA再検査依頼書についても同封する。

#### ⑦HLA再検査検体の受け入れ

中央センターでは、HLA再検査依頼書に従い再検査検体を受け入れ、再検査を実施する。

#### ⑧HLA再検査結果報告

中央センターは、再検査結果を各血液センター(HLA再検査依頼センター)にFAXで報告する。

以上の方法で共通トレイを使用した場合のHLA再検査を実施している。この再検査の導入により、血清学的に明確に判別できなかった抗原を同定することが可能となった。その一例として、PCR-SSP法を使ったB60/-の場合、B60ホモまたはB60/B61ヘテロの判定が上げられる(1)。また、PCR-SSCP法によるB15関連抗原(特にB70)の判定には、有用なシステムである。

### 3. 共通トレイ使用抗血清について

日本人に見られる様々なHLA型、主にサブタイプ(Associate Antigenと表現する場合もある)を、血清学的に判別することは可能である(表1のII群を参照)。しかし、サブタイプを判別する抗血清のほとんどが、抗体スクリーニングで得難い特異性で、年間約7万枚を製造する共通トレイ(抗血清量として約70mlを使用)に、継続して使用することは困難である。そのため、共通トレイに使用する抗血清は、血液センターで行っている抗体スクリーニングで比較的多くの量が確保できる特異性であることが必要となってくる。

前述した「白血球・血小板抗原型に関する研究会」において、各血液センターの抗血清在庫量調査を実施し、比較的多くの抗血清が確保できる特異性を選択した。これらの組み合わせにより(表4参照)、日

本人に0.1%以上の頻度で見られるHLA型でタイピング可能な型(表1のI群を参照)を決定し、それらをタイピングするトレイを共通トレイとした。

#### 3.1. 特異性別血清在庫状況について

前述したようにHLA抗血清は、特異性によって抗体スクリーニングで比較的得易い血清とそうでない血清がある。ここでは、最近実施した血液センターにおけるHLA抗血清在庫状況調査について紹介する。

調査の対象となった血清は、ワークショップ等で特異性が判明しており、その在庫量が30ml以上の血清とした。その結果994本の抗血清に関する情報が得られ、この中で共通トレイに使用する特異性の血清621本について、特異性別血清数を表5に示した。

特異性別血清数で、在庫数の多い(在庫本数が20本以上)血清は、A2+(A28)、A24+(A23)、A26+(A25)、A31+(A30)、B7、B7+B60+B48、B60+B61+B13、B54+B55+(B56)関連の特異性を有する血清であった。また、在庫数少ない(在庫本数が5本以下)血清は、A30、A33、B57+B58、B16関連、B37、B48、B60、B59、B52、B35+(B5102)、B62+B70、B55関連、B56、B46、Cw4、Cw9の特異性を有する血清であった。

このように抗血清在庫が多い(得易い)特異性の中でA2、A2+A28、A23+A24、A30+A31については、丸屋の報告(2)にある免疫原性を表わす数値(Immunogenecity index: immuno. index)が高い(immuno index > 0.41)特異性である。また、在庫が少ない(得難い)特異性の中でA33、B16関連、B35+B53、B46、B48、B52、B55、B60は、immuno. indexが低い(immuno index < 0.3)特異性である。しかし、在庫として少ない特異性で、immuno indexが0.4以上と比較的高い特異性(A30、B37、B56、B57+B58)もある。これらの特異性に対応する抗原の遺伝子頻度は、日本人において2.0%以下と低く、抗体スクリーニングにこれら抗原を有するパネルを使用していないか、または免疫感作を受ける機会が少ないことが、在庫と

して少ない原因と考えられる。しかし、これらの抗原 (A 30, B 37, B 56, B 57, B 58) を有するパネルを凍結リンパ球として、抗体スクリーニングで継続的に使用すれば、抗血清が見つかる可能性はある。

### 3.2. 共通トレイ使用抗血清について

共通トレイに使用している抗血清は、抗血清評価試験及び各血液センターでの使用経験から、各特異性において様々な特徴が見られている。ここでは、共通トレイに使用している特異性とその特徴について紹介する。

#### 3.2.1. A2 関連抗血清

共通トレイでは、A2の抗血清としてA2, A2+A28の抗血清を使用している。これまで日本人においてA2の部分抗原としてA203, A210, A218が認められている。しかし、共通トレイに使用するA2抗血清は、これらの部分抗原全てに反応する血清を使用しており、これらの部分抗原は判別していない。しかし、一部のA2抗血清の特徴として、A24の部分抗原であるA2408 (A9HH) 抗原と交差反応を示すことがあり、A2抗原がない検体ではA2408の判定に有用である。

#### 3.2.2. A24 関連抗血清

A24関連抗血清として、A24+A23とA24抗血清を共通トレイに使用している。これまでに、日本人でA24の部分抗原であるA2403, A2404 (A24AK), A2408 (A9HH) が見出されている。しかし、共通トレイに使用する抗血清では、これらの部分抗原を出来るだけA24と判別できるように血清を選択している。しかし、A2408の場合A24+A23及びA24抗血清に反応を示さないこともあり、A2関連抗血清との反応を参考にする必要がある。

#### 3.2.3. A26 関連抗血清

日本人においてA26.1 (A\*2602), A26.3 (A\*2601), A26.4 (A\*2603) 等のA26部分抗原が認められている。一方、A26単一特異性の

抗血清については、「白血球・血小板型抗原に関する研究会」等で、数多くの血清について評価を行ってきた。しかし、一部のA26部分抗原 (A26.1, A26.3, A26.4等) に反応を示す血清は認められたが、A25陰性でA26部分抗原全てに良好な反応を示す抗血清は稀であった。そのため、現在ではA25+A26の抗血清をA26血清として使用している (日本人においてA25抗原は、ほとんどないと思われることも理由のひとつである。)

#### 3.2.4. A11 抗血清

共通トレイでは、A11抗血清としてA11.1+A11.2 (A1101+A1102) とA11.2 (A1102) の血清を使用し、A11.1とA11.2の判別を行っている。しかし、使用しているA11関連抗血清では、A11.2ホモの反応パターンを示した場合、A11.1/A11.2ヘテロとの判別がつかない。このような場合は、A11/-として扱っている。

日本人におけるA11.2抗原の頻度は、0.1%と低い。しかし、在庫調査からA11.2抗血清は、得易い抗血清であることが分かったため、共通トレイに使用することになった。また、この血清は安定した反応性を示し、男性献血者からも得られる抗血清であり、自然抗体 (IgM抗体) の可能性がある。

#### 3.2.5. A30, A31, A33 抗血清

前記したようにA30単一特異性の血清は、日本人で得難い血清の一つである。しかし、丸屋らの報告にもあるように、immuno. index が0.60と高く、免疫原性としては強い抗原と思われる(2)。そのためか、A30抗原頻度の高い海外施設ではA30単一特異性血清を保有している施設が多い。共通トレイでは、A30の有無を判別するためにA30単一特異性の血清を使用することにした (神奈川センターに血清の在庫があったこともその理由である)。しかし、継続的にA30単一特異性を使用するためには、海外施設との血清交換が必要である。

A31単一特異性と思われる血清については、これまでのワークショップ結果等から一般的にA30抗原の一部にも反応することがあり、最近実施した血清評価試験でも同様な結果であった。このように、

A 30 または A 31 抗原の有無を判別するには、A 30 + A 31 血清を使った方が明確に両抗原を検出することができる。しかし、A 30 ホモと判定された場合、A 30, A 31 ヘテロとの判別をするためには、A 31 + A 33 の抗血清が有用となる。

A 31 + A 33 血清は、一般的に A 30 にエキストラ反応を示さない場合が多く、前述したように A 30 ホモと A 30/A 31 ヘテロを判別する場合に有用な血清である。しかし、この特異性の血清は、得ることが困難な血清のひとつであり、継続的に共通トレイに使用することが難しいと思われる。

A 33 単一特異性血清の immuno. index は、0.03 と低く得難い抗血清の一つである(2)。最近行った抗血清評価試験でも、10本について評価を行ったが、良好な反応を示す抗血清は、2本だけであった。また、この血清は A 26 抗原にエキストラ反応を示す場合があり、A 26 ホモの場合、A 26/A 33 ヘテロと判定する場合があるので注意が必要である。(A 31 + A 33 抗血清は、A 26 のエキストラ反応がない)。

### 3.2.6. B 16 関連抗血清

B 16 関連の抗血清として、B 67, B 67 + B 38 + B 39, B 38 + B 39, B 39, B 67 + B 55 の特異性を有する5種類の血清を使用し、B 67, B 38, B 39 の判別を行っている。B 16 抗血清は得難い特異性のひとつであり、B 38 + B 39, B 38, B 14 + B 38 + B 39 の immuno. index も 0.30 以下と低い値である(2)。また、これまでに B 39 の部分抗原として B 3901, B 3902, B 39N (B\* 3904) 及び B 39N2 (B\* 3905) の4種類が日本人に認められており、それぞれ血清学的に判別することが可能である。しかし、共通トレイではこれらを B 39 としてタイプできるように使用血清を選択している。

共通トレイに使用している B 16 関連抗血清では、B-ローカスで B 39 抗原だけが検出された場合、B 38 抗原の有無を判別することができない。このような場合、Bw 4 血清が陰性の時は B 39/- として扱っているが、Bw 4 血清が反応を示した場合は、他のトレイで B 38 の有無を確認している。しかし、日本人の表現型で B 38/B 39 ヘテロとなる頻度は、

約 0.03% と考えられ非常に稀である。

### 3.2.7. B 7, B 48, B 60, B 61 関連抗血清

共通トレイでは、B 7 関連として B 7 + B 27, B 7 抗血清を、B 40 関連として B 7 + B 48 + B 60, B 48, B 48 + 60, B 48 + B 60 + B 61, B 60, B 60 + B 61 + B 13 の抗血清を使用している。これらの抗血清では、B 7 抗原がある場合の B 27 抗原を、また B 60 抗原がある場合の B 61 抗原を判別することができない。前者では Bw 4 血清が陰性の場合、B 7/- として扱っているが、Bw 4 血清が陽性の場合、DNA タイピングで B 27 の存在を確認している。後者の場合も同様に、DNA タイピング(1)により、B 60/B 60 及び B 60/B 61 の判定を行っている。

共通トレイに使用している B 7 及び B 40 関連の抗血清で、B 7 + B 27, B 7, B 7 + B 48 + B 60, B 60 + B 61 + B 13, B 48 + B 60 + B 61 は、在庫調査の結果(表5)からも分かるように、スクリーニングで良い血清が得やすい特異性である。これらの特異性の immuno. index は、B 7 + B 27 と B 48 + B 60 + B 61 が、それぞれ 0.32, 0.45 と比較的 low 値であったが、他の特異性では、何れも 0.5 以上と高く、得やすい特異性であることが分かる(2)。中でも B 7 特異性の immuno. index は、1.85 と B-ローカスで最高値を示す特異性である(2)。他の B 40 関連抗血清、B 48 + 60, B 48, B 60 については、それほど得難い抗血清ではないが、immuno. index は何れも 0.2 以下であり、免疫原性としては弱い特異性(抗原部位)と思われる(2)。また、単一特異性の血清 B 48 及び B 60 は、B 40 関連抗原にエキストラ反応を示す場合もあり、B 40 関連抗原をホモまたはヘテロでもつ検体(B 48/B 60, B 48/B 61, B 48/B 48)では、判定し辛いこともあり、必要に応じて DNA タイピング(1)で確認を行っている。

B 7 の部分抗原である B 705 は、日本人でも見られる抗原である。B 705 は、血液センターで行っているワークショップで韓国人に見られ、A 29-B 705-CBL のハプロタイプを形成することが分かった。このハプロタイプを有する検体を、共通トレイでタ

表4、共通トレイ血清分注表

No.	位置	特異性	コメント
37	7A	B59	
38	7B	B59+B51+B52+B5102	
39	7C	B51	B5102(E)
40	7D	B51+B5102	B5102(W)
41	7F	B52	B51(E)
42	7E	B52	
43	8F	B35	B35(W),B61(E)
44	8E	B35+B5102	B53(+)
45	8D	B35+B51+B5102	B53(+)
46	8C	B62	B62V,B76(+)
47	8B	B75+B46	B75*(-),B46(W)
48	8A	B62+B75+B57	B75*B63,B77,B1528(+)
49	9A	B62+B70	B50(+)
50	9B	B62+B70+B75+B46+B57	B75*B77,B63,B22N(+)
51	9C	B54	
52	9D	B54+B55.1	B56(E)
53	9E	B54+B55.1+B55.2	
54	9F	B54+B55.1+B56	B55.1(W),B22N(-)
55	10F	B55.1+B55.2	
56	10E	B55.1+B55.2	B67(E),B7801(+)
57	10D	B56	B22N(+)
58	10D	B56	B22N(+)
59	10B	B46	
60	10A	Bw4	
61	11A	Bw4	B27(W),A32(+)
62	11B	Bw6	B38,B59(+),B46(-)
63	11B	Bw6	B38,B59(W),B14,B46(-)
64	11D	Cw1	Cw103(+)
65	11E	Cw1	Cw103(+)
66	11F	Cw9+Cw10+B46	B62(E)
67	12F	Cw9+Cw10	
68	12E	Cw9	
69	12E	Cw9	
70	12C	Cw4	Cw6(E)
71	12B	Cw7	
72	12B	Cw7	

No.	位置	特異性	コメント
1	1A	N.C	
2	1B	P.C	
3	1C	A1	
4	1D	A2	A203,A210,A218(+)
5	1E	A2+A28	A203,A210,A218(+)
6	1F	A3	
7	2F	A23+A24	A2403,A2404(+),A2408(-)
8	2E	A24	A2403,A2404(+),A2408(-)
9	2D	A26	A26.1,A26.3,A26.4,A25,A34,A66(+)
10	2D	A26	A26.1,A26.3,A26.4,A25,A34,A66(+)
11	2B	A11.1+A11.2	
12	2B	A11.1+A11.2	
13	3A	A11.2	
14	3B	A30	
15	3C	A31+A30	
16	3D	A31	A30(E)
17	3E	A31+A33	A74(+)
18	3F	A33	A26,A28(E)
19	4E	B57+B58	
20	4E	B57+B58	
21	4D	B44+B45	
22	4C	B44	
23	4B	B37	B38(E)
24	4A	B67	
25	5A	B38+B39+B67	B3901,B3902,B3904(+)
26	5B	B38+B39	B3901,B3902,B3904(+)
27	5C	B39	B3901,B3902,B3904(+)
28	5D	B7+B27	B73(+)
29	5E	B7	B8101(+)
30	5F	B7+B60+B48	B8101(+)
31	6F	B48	
32	6E	B48+B60	
33	6D	B61+B60+B48	B27KH,B8101,BFUV(+)
34	6C	B60	
35	6B	B61+B60+B13	B13N,B47(+)
36	6A	B13	B13N(+)

表5、特異性別血清在庫数

特異性	本数
A2	50
A2+A28	6
A3	8
A24+A23+2403	31
A24 (A23 +/-)	23
A26	46
A11.1+A11.2	16
A11.2	8
A31 (A30 +/-)	23
A33	5
B57+B58	4
B44+B45	11
B44	14
B67	7
B38+B39+B67	4
B38+B39	7
B39	6
B7+B27	18

特異性	本数
B7	40
B7+B60+B48	22
B48	5
B48+B60	9
B61+B60+B48	8
B60	2
B61+B60+B13	43
B13	11
B59	5
B59+B51+B52+B5102	6
B51	11
B51+B5102	9
B52	4
B35+B5102	3
B51+B5102+B35+(B52)	10
B62	6
B62+B63+B75+B15N+B57	11
B46+B62+B63+B75+B15N+B77	8

特異性	本数
B62+B70+B57	4
B62+B70+B75+B35+B56	6
B54	14
B54+B55.1	12
B54+B55.1+B55.2	23
B54+B55.1+B56	4
B55.1+B55.2	5
B67+B55.1+B55.2	5
B67+B55.1+B55.2+B56+B22N	1
B46	2
Bw4	5
Bw6	3
Cw1	13
Cw9+Cw10 (B46 +/-)	12
Cw9	2
Cw4	3
Cw7	7

イピングした場合、ABL-B 7-CBL のタイプになる。一般的な日本人のタイプでは B 7-Cw 7 なる場合が多く、B 705 の場合 CBL となるのが特徴である。このように、B 7-CBL とタイプされた場合、B 705 の特異性を有する抗血清（一部の B 48 + B 60 + B 61 抗血清）の反応に注意する必要がある。

### 3.2.8. B 59 抗血清

共通トレイでは、B 59 の判定に B 59 と B 5 + B 59 抗血清を使用している。しかし、B 59 単一特異性の血清は、B 5 関連抗原（特に B 51）に対するエキストラ反応を示す場合がある。もう一方に B 5 関連抗原をもつ検体では、B 59 抗原の有無が確認できない場合もある。最近実施した抗血清の評価でも、B 59 抗原に強い反応を示す抗血清ほど B 5 抗原（特に B 51）にエキストラ反応を示す傾向にあった。しかし B 8 + B 59 抗血清は、B 5 関連抗原に対するエキストラ反応が見られないこともあり、今後 B 8 + B 59 抗血清を使用する必要があるかもしれない（B 8 抗原の判定にも有用である）。

### 3.2.9. B 51, B 5102, B 52, B 35 関連抗血清

B 5 及び B 35 関連の抗血清として、前述した B 5 + B 59 以外に、B 51, B 51 + B 5102, B 52, B 35 + B 5102, B 35 +  $\alpha$  ( $\alpha$ : B 5 抗原陰性の特異性), B 5 (B 51) + B 35 の抗血清を共通トレイに使用し B 51, B 5102, B 52, B 35 抗原の判定を行っている。これら特異性の immuno. index は、B 51 で 0.77 と比較的高値であるが、B 52 及び B 35 + B 5102 は、それぞれ 0.15, 0.04 と低値である(2)。このことは、B 51 抗血清は得易く、B 52 及び B 35 + B 5102 抗血清は得難いことが、前述した特異性別の在庫本数（表 5 参照）からも分かる。

B 51 関連抗血清の特徴として下記の 2 つが上げられる。

① B 51 + B 5102 抗血清は、B 52 に対するエキストラ反応を示す。

② B 51 単一特異性の抗血清は、B 51 に対する反応が弱い。

ここに示した①の特徴の場合、B 52 ホモの場合、B 51/B 52 との判別が困難な場合がある。しかし、一般的に B 52 ホモの場合でも、B 51 単一特異性の血清には反応を示さない場合が多く、この血清に対する反応性を参考に B 52/B 52 または B 51/B 52 の判別が可能と思われる。②の特徴の場合、B 51 と B 5102 の判別が困難になる場合があるが、B 35 + B 5102 抗血清により判別が可能と思われる。

B 5103 は、稀ではあるが日本人に見られる B 51 の部分抗原である。共通トレイでは、B 5 + B 59 抗血清に B 5103 に反応する抗血清を使用しているが、この特異性を有する全ての血清が B 5103 と反応を示すとは限らない。そのため、最近中央センターで作製したヒト由来モノクローナル抗体（JRH 02, 特異性: B 51 + B 5102 + B 52 + B 35 + B 37 + B 18 + B 78）が B 5103 にも反応を示すことから、B 5 (B 51) + B 35 血清として継続的に使用する予定である。また、このモノクローナル抗体は B 37 の特異性を有していることから、これまで 1 種類の血清（B 37 単一特異性の血清）で B 37 抗原を判定していたが、2 種類の血清で判定することができるようになる。

### 3.2.10. B 62, B 75, B 70 抗血清

共通トレイでは、B 15 関連抗原で B 62, B 70, B 75 をタイピングの対象としている。これまでに、日本人において 2 種類の B 75 が見られており、主に B\* 1511 でコードされるタイプであるが、B\* 1502 でコードされるタイプ（B 75\* と表現している）も稀に見られる。また、B 75 として扱っている抗原がもうひとつあり、B\* 1528 でコードされるタイプである。この抗原は、現在使用している共通トレイでは B 62 特異性をもつ血清と B 75 + B 46 に反応を示すため、B 62 と B 75 の判別がつかない場合もあり、DNA タイピングでの再検査を行っている。

B 15 関連抗原の判定には、B 62, B 62 + B 75, B 62 + B 70, B 62 + B 70 + B 75 血清を使用し B 62, B 70, B 75 のタイピングを行っている。しかし、これらの血清の組み合わせでは、B 62 を有

する検体で B 62/B 62, B 62/B 70, B 62/B 75 の判別が困難なことから, 当初 B 5 + B 75 抗血清を使用することにより B 62/B 75 を判別していた。しかし, その後の抗血清評価試験で良好な反応を示す B 5 + B 75 抗血清を得ることができなかったため, 現在では B 75 + B 46 抗血清 (B 75 \* は陰性) を使用している。それでも B 62 がある場合の B 62/B 62 と B 62/B 70 の判別は困難であることから, 現在 DNA タイピングにより判別を行っている。

### 3.2.11. B 54, B 55, B 56 抗血清

B 22 関連抗原のタイピングには, 8 種類 (表 4 参照) の血清を使用して B 54, B 55.1, B 55.2, B 56 を判別しており, B 22N (B\* 5603) についてもトレイのロットによっては判別可能な場合もあるが, 現在骨髓バンクのデータでは B 56 として扱っている。また, 現在使用している抗血清では, B 55.1/B 55.1 または B 55.1/B 55.2 (日本人での頻度は, それぞれ 0.08%, 0.02% である) の判別ができないことから, B 55/- として扱っている。

B 22 関連抗血清の特徴として, B 54 ホモの場合 B 55.1 + B 55.2 及び B 55.1 + B 55.2 + B 67 の血清にエキストラ反応を示す場合があり, B 54 ホモと B 54/B 55 ヘテロの判別ができない場合がある。また, B 55.1/B 55.1 または B 55.1/B 55.2 の検体では, B 54 抗血清にエキストラ反応を示す場合があり, B 54 抗原の有無を確定し辛い場合もある。現在, このような検体については, 別のタイピングトレイを使用し再確認を行っている。

### 3.2.12. C-ローカスの抗血清

C-ローカスのタイピングには, 9 種類の抗血清を使用し Cw 1, Cw 9, Cw 10, Cw 4, Cw 7 を判別している。Cw 9 および Cw 10 のタイピングには, Cw 9 + Cw 10 (+B 46) 及び Cw 9 抗血清をそれぞれ 2 種類使用している。Cw 9 + Cw 10 の血清で, 1 種類は B 46 にも反応を示す抗血清を使用しており, B 46 の判定に有用な抗血清である。また, これまでに Cw 10 単一特異性の血清は見つかっておらず, Cw 9 抗原がある場合の Cw 10 抗原の有無に

ついては判別できない。そのため, Cw 9/Cw 9 及び Cw 9/Cw 10 を Cw 9/- として扱っている。

### おわりに

共通トレイは, 昨年 7 月からこれまでに, 約 3 万枚を製造し各血液センターに供給しており, 年間の供給枚数は約 6 ~ 7 万枚になると予想される。この場合, トレイに使用する血清量は約 80ml となり, 現在血液センターで行っている抗体スクリーニングで確保できる量のほぼ限界と思われる。

また, 共通トレイは, 自家検定及び品質試験を行っているトレイであり, 日本人に見られるほとんどの抗原は, 問題なく判定が出来るはずであり, 事実そうだと思っている。しかし, トレイ使用センターからは, 様々な問い合わせがあり, その内容を再検査で確認することにより新たな発見がある。例えば, 規定の反応パターンとは少し違うものを確認することによって, 新たなアレルが見つかっている。また, 共通トレイに使用する抗血清としては, 良くない特異性も分かってくる。今後, 様々な疑問・質問に答えることにより, より良いトレイ作り, タイピングシステム作りができるものと思う。

### 参考文献

- 1) 小川篤子, 林玲, 柏瀬貢一ら: HLA-B 60, B 61, B 48 グループを識別する PCR-SSP 法, *MHC*, 2:6-9, 1995
- 2) 丸屋悦子: HLA 分子とそのエピトープー血清学を中心にして, *MHC*, 4:18-52, 1997

## 〔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

最新アレル情報も今回で MHC に掲載されるようになって5回目となり， $\alpha$ 鎖を除き，すべての遺伝子座の塩基配列が載せられたこととなります。今回のように一つの遺伝子座としてまとめて掲載するのはしばらくお休みになると思います。しかしながら，この間にも数多くの新しいアレルが公認されていることから，今後の“アレル情報”はこれらの新規に公認された配列を掲載していくこととなります。

今回は HLA-B 遺伝子座の塩基配列を掲載します。この配列は，1997年6月までに公認されているアレルを掲載しましたが，もっとも新しい情報をもとに掲載してあります。ページ数やアレル数の関係から非常にシークエンスデータが読みづらくなってしまったことをお詫びいたします。ご不明な点は著者までお問い合わせください。

日本組織適合性学会では，インターネット上にホームページを運営しており，こちらからも HLA-A, B, C, DR, DQ, DP各遺伝子座の塩基配列情報を見ることができます。インターネットに掲載しているシークエンス情報は，WHO から新たなアレル名が公認される度に最新のものへ変更しています。これらのデータを見るには，インターネットの閲覧用アプリケーションである Explorer や Netscape が必要ですが，読み出した情報は，コンピュータに保存することができます。これらのファイルは，テキスト形式で保存してありますので Excel 形式などにも容易に変換することができます。なお，学会のホームページアドレスは，<http://square.umin.ac.jp/JSHI/mhc.html> です。このホームページでは，シークエンスの情報以外にも学会員へのお知らせや次期大会，国際組織適合性ワークショップ，アジア・オセアニア組織適合性ワークショップなどの情報も掲載しております。

学会員の方で最新アレル情報，ホームページの内容などに関するご意見・ご質問がありましたら何でもお気軽にお問い合わせください。皆さまからのご連絡をお待ちしております。また，インターネットがご利用できない方については，学会のホームページを体験できるフロッピーディスクをお送りいたします。ただし，返信用の切手の貼ってある封筒を同封してください。

宛先は，

〒359-8513 埼玉県所沢市並木3-2

防衛医科大学校検査部

小林 賢

です。

1  
 Consensus ATGCGGGTCA TGGCGCCCG AACCTCTCT CTGCTGCTCT CGGGGCCCC GGGCCCTGAC GAGACTGGG CCGGCTCCG CTCCTATGAG TATTTCTACA CCGCCCTGTC CGGGGGGAC CCGGCTTCAI CGCATGTGSC TACGTGGAG AAGCGAATY CTTAATGPTTC GACACGGAG CCGCAATCC  
 B\*07021 T-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*07022 G-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*0703 T-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*0704 G-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*0705 T-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*0706 G-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*0707 T-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*0708 T-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*0801 T-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*0802 G-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*0803 T-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*0804 T-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*0805 T-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*1301 C-----G-----AG-----A-----C-----A-----  
 B\*1302 C-----G-----AG-----A-----C-----A-----  
 B\*1303 C-----G-----AG-----A-----C-----A-----  
 B\*1304 C-----G-----AG-----A-----C-----A-----  
 B\*1305 T-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*1401 T-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*1402 G-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*1403 T-----G-----C-----T-----T-----C-----  
 B\*1501 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1502 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1503 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1504 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1505 T-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1506 T-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1507 T-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1508 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1509 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1510 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1511 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1512 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1513 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1514 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1515 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1516 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1517 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1518 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1519 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1520 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1521 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1522 C-----G-----AG-----A-----C-----C-----  
 B\*1523 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1524 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1525 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1526 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1527 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1528 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1529 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1530 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1531 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1532 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1533 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1534 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1535 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1536 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1537 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1538 C-----G-----A-----A-----C-----C-----  
 B\*1801 C-----G-----AG-----A-----C-----G-----C-----  
 B\*1802 C-----G-----AG-----A-----C-----G-----C-----  
 B\*1803 C-----G-----AG-----A-----C-----G-----C-----  
 B\*1804 C-----G-----AG-----A-----C-----G-----C-----  
 B\*1805 C-----G-----AG-----A-----C-----G-----C-----  
 B\*2701 C-----G-----AG-----A-----C-----A-----C-----  
 B\*2702 C-----G-----AG-----A-----C-----A-----C-----  
 B\*2703 C-----G-----AG-----A-----C-----A-----C-----

B*2704	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*2705	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*2706	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*2707	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*2708	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*2709	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*2710	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*2711	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*2712	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3501	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3502	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3503	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3504	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3505	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3506	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3507	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3508	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3509	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*35092	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3510	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3511	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3512	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3513	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3514	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3515	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3516	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3517	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3518	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3519	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3520	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3521	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3701	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3702	C	G	AG	T	C	T	A	C	T
B*3801	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3802	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*38022	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3901	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*39011	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*39013	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3902	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*39022	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3903	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3904	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3905	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3906	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3907	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3908	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3909	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3910	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3911	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*3912	T	C	T	A	C	T	A	C	T
B*4001	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*40011	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4002	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4003	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4004	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4005	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4006	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4007	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4008	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4009	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4010	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4011	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4012	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4013	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4101	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4102	C	A	G	T	C	T	A	C	T
B*4201	T	C	T	A	C	T	A	C	T





B*2704	AGA	C	A	C	T	C	AT	C	T	C	AT
B*2705	AGA	G	G	GG	GA	C	AT	C	T	C	AT
B*2706	AGA	G	G	GG	GA	C	AT	C	T	C	AT
B*2707	AGA	G	G	GG	GA	C	AT	C	T	C	AT
B*2708	AGA	G	G	GG	GA	C	AT	C	T	C	AT
B*2709	AGA	G	G	GG	GA	C	AT	C	T	C	AT
B*2710	AGA	G	G	GG	GA	C	AT	C	T	C	AT
B*2711	AGA	G	G	GG	GA	C	AT	C	T	C	AT
B*2712	AGA	G	G	GG	GA	C	AT	C	T	C	AT
B*3501	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3502	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3503	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3504	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3505	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3506	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3507	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3508	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3509	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*35092	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3510	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3511	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3512	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3513	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3514	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3515	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3516	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3517	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3518	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3519	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3520	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3521	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3701	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3702	C	A	C	T	T	T	AT	T	A	C	C
B*3801	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*3802	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*3803	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*3804	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*3805	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*3806	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*3807	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*3808	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*3809	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*3810	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*3811	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*3812	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4001	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4002	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4003	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4004	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4005	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4006	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4007	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4008	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4009	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4010	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4011	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4012	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4013	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4101	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4102	A	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C
B*4201	AGA	A	A	C	G	T	AT	T	A	C	C











B*2704	.....C.....G.....
B*2705	.....C.....
B*2706	.....C.....
B*2707	.....C.....
B*2708	.....C.....
B*2709	.....C.....
B*2710	.....C.....
B*2711	.....C.....
B*2712	.....C.....
B*3501	.....G.....
B*3502	.....G.....
B*3503	.....G.....
B*3504	.....G.....
B*3505	.....G.....
B*3506	.....G.....
B*3507	.....G.....
B*3508	.....G.....
B*3509	.....G.....
B*3510	.....G.....
B*3511	.....G.....
B*3512	.....G.....
B*3513	.....G.....
B*3514	.....G.....
B*3515	.....G.....
B*3516	.....G.....
B*3517	.....G.....
B*3518	.....G.....
B*3519	.....G.....
B*3520	.....G.....
B*3521	.....G.....
B*3701	.....C.....
B*3801	.....C.....
B*3802	.....C.....
B*3803	.....C.....
B*3901	.....C.....
B*3902	.....C.....
B*3903	.....C.....
B*3904	.....C.....
B*3905	.....C.....
B*3906	.....C.....
B*3907	.....C.....
B*3908	.....C.....
B*3909	.....C.....
B*3910	.....C.....
B*3911	.....C.....
B*3912	.....C.....
B*4001	.....C.....
B*4002	.....C.....
B*4003	.....C.....
B*4004	.....C.....
B*4005	.....C.....
B*4006	.....C.....
B*4007	.....C.....
B*4008	.....C.....
B*4009	.....C.....
B*4010	.....C.....
B*4011	.....C.....
B*4012	.....C.....
B*4013	.....C.....
B*4101	.....C.....
B*4102	.....C.....
B*4201	.....C.....

B\*4202 .....  
 B\*4402 .....  
 B\*44031 .....  
 B\*44032 .....  
 B\*4404 .....  
 B\*4402 .....  
 B\*4407 .....  
 B\*4408 .....  
 B\*4409 .....  
 B\*4410 .....  
 B\*4501 .....  
 B\*4701 .....  
 B\*4702 .....  
 B\*4801 .....  
 B\*4802 .....  
 B\*4803 .....  
 B\*4901 .....  
 B\*5001 .....  
 B\*5002 .....  
 B\*51011 .....  
 B\*51012 .....  
 B\*51021 .....  
 B\*51022 .....  
 B\*5103 .....  
 B\*5104 .....  
 B\*5105 .....  
 B\*5106 .....  
 B\*5107 .....  
 B\*5108 .....  
 B\*5109 .....  
 B\*5110 .....  
 B\*52011 .....  
 B\*52012 .....  
 B\*5301 .....  
 B\*5401 .....  
 B\*5501 .....  
 B\*5502 .....  
 B\*5503 .....  
 B\*5504 .....  
 B\*5505 .....  
 B\*5601 .....  
 B\*5602 .....  
 B\*5603 .....  
 B\*5701 .....  
 B\*5702 .....  
 B\*5703 .....  
 B\*5704 .....  
 B\*5801 .....  
 B\*5802 .....  
 B\*5901 .....  
 B\*67011 .....  
 B\*67012 .....  
 B\*7301 .....  
 B\*7801 .....  
 B\*78021 .....  
 B\*78022 .....  
 B\*8101 .....  
 B\*8201 .....  
 HLA-A .....  
 HLA-B .....  
 HLA-C .....





B\*4202  
 B\*4402  
 B\*4403  
 B\*44031  
 B\*44032  
 B\*44033  
 B\*44034  
 B\*4404  
 B\*4405  
 B\*4406  
 B\*4407  
 B\*4408  
 B\*4409  
 B\*4410  
 B\*4501  
 B\*4601  
 B\*4701  
 B\*4702  
 B\*4801  
 B\*4802  
 B\*4803  
 B\*4901  
 B\*5001  
 B\*5002  
 B\*5101  
 B\*51011  
 B\*51012  
 B\*51021  
 B\*51022  
 B\*5103  
 B\*5104  
 B\*5105  
 B\*5106  
 B\*5107  
 B\*5108  
 B\*5109  
 B\*5110  
 B\*52011  
 B\*52012  
 B\*5301  
 B\*5302  
 B\*5401  
 B\*5501  
 B\*5502  
 B\*5503  
 B\*5504  
 B\*5505  
 B\*5506  
 B\*5507  
 B\*5508  
 B\*5509  
 B\*5510  
 B\*5511  
 B\*5512  
 B\*5513  
 B\*5514  
 B\*5515  
 B\*5516  
 B\*5517  
 B\*5518  
 B\*5519  
 B\*5520  
 B\*5521  
 B\*5522  
 B\*5523  
 B\*5524  
 B\*5525  
 B\*5526  
 B\*5527  
 B\*5528  
 B\*5529  
 B\*5530  
 B\*5531  
 B\*5532  
 B\*5533  
 B\*5534  
 B\*5535  
 B\*5536  
 B\*5537  
 B\*5538  
 B\*5539  
 B\*5540  
 B\*5541  
 B\*5542  
 B\*5543  
 B\*5544  
 B\*5545  
 B\*5546  
 B\*5547  
 B\*5548  
 B\*5549  
 B\*5550  
 B\*5551  
 B\*5552  
 B\*5553  
 B\*5554  
 B\*5555  
 B\*5556  
 B\*5557  
 B\*5558  
 B\*5559  
 B\*5560  
 B\*5561  
 B\*5562  
 B\*5563  
 B\*5564  
 B\*5565  
 B\*5566  
 B\*5567  
 B\*5568  
 B\*5569  
 B\*5570  
 B\*5571  
 B\*5572  
 B\*5573  
 B\*5574  
 B\*5575  
 B\*5576  
 B\*5577  
 B\*5578  
 B\*5579  
 B\*5580  
 B\*5581  
 B\*5582  
 B\*5583  
 B\*5584  
 B\*5585  
 B\*5586  
 B\*5587  
 B\*5588  
 B\*5589  
 B\*5590  
 B\*5591  
 B\*5592  
 B\*5593  
 B\*5594  
 B\*5595  
 B\*5596  
 B\*5597  
 B\*5598  
 B\*5599  
 B\*5600  
 B\*5601  
 B\*5602  
 B\*5603  
 B\*5604  
 B\*5605  
 B\*5606  
 B\*5607  
 B\*5608  
 B\*5609  
 B\*5610  
 B\*5611  
 B\*5612  
 B\*5613  
 B\*5614  
 B\*5615  
 B\*5616  
 B\*5617  
 B\*5618  
 B\*5619  
 B\*5620  
 B\*5621  
 B\*5622  
 B\*5623  
 B\*5624  
 B\*5625  
 B\*5626  
 B\*5627  
 B\*5628  
 B\*5629  
 B\*5630  
 B\*5631  
 B\*5632  
 B\*5633  
 B\*5634  
 B\*5635  
 B\*5636  
 B\*5637  
 B\*5638  
 B\*5639  
 B\*5640  
 B\*5641  
 B\*5642  
 B\*5643  
 B\*5644  
 B\*5645  
 B\*5646  
 B\*5647  
 B\*5648  
 B\*5649  
 B\*5650  
 B\*5651  
 B\*5652  
 B\*5653  
 B\*5654  
 B\*5655  
 B\*5656  
 B\*5657  
 B\*5658  
 B\*5659  
 B\*5660  
 B\*5661  
 B\*5662  
 B\*5663  
 B\*5664  
 B\*5665  
 B\*5666  
 B\*5667  
 B\*5668  
 B\*5669  
 B\*5670  
 B\*5671  
 B\*5672  
 B\*5673  
 B\*5674  
 B\*5675  
 B\*5676  
 B\*5677  
 B\*5678  
 B\*5679  
 B\*5680  
 B\*5681  
 B\*5682  
 B\*5683  
 B\*5684  
 B\*5685  
 B\*5686  
 B\*5687  
 B\*5688  
 B\*5689  
 B\*5690  
 B\*5691  
 B\*5692  
 B\*5693  
 B\*5694  
 B\*5695  
 B\*5696  
 B\*5697  
 B\*5698  
 B\*5699  
 B\*5700  
 B\*5701  
 B\*5702  
 B\*5703  
 B\*5704  
 B\*5705  
 B\*5706  
 B\*5707  
 B\*5708  
 B\*5709  
 B\*5710  
 B\*5711  
 B\*5712  
 B\*5713  
 B\*5714  
 B\*5715  
 B\*5716  
 B\*5717  
 B\*5718  
 B\*5719  
 B\*5720  
 B\*5721  
 B\*5722  
 B\*5723  
 B\*5724  
 B\*5725  
 B\*5726  
 B\*5727  
 B\*5728  
 B\*5729  
 B\*5730  
 B\*5731  
 B\*5732  
 B\*5733  
 B\*5734  
 B\*5735  
 B\*5736  
 B\*5737  
 B\*5738  
 B\*5739  
 B\*5740  
 B\*5741  
 B\*5742  
 B\*5743  
 B\*5744  
 B\*5745  
 B\*5746  
 B\*5747  
 B\*5748  
 B\*5749  
 B\*5750  
 B\*5751  
 B\*5752  
 B\*5753  
 B\*5754  
 B\*5755  
 B\*5756  
 B\*5757  
 B\*5758  
 B\*5759  
 B\*5760  
 B\*5761  
 B\*5762  
 B\*5763  
 B\*5764  
 B\*5765  
 B\*5766  
 B\*5767  
 B\*5768  
 B\*5769  
 B\*5770  
 B\*5771  
 B\*5772  
 B\*5773  
 B\*5774  
 B\*5775  
 B\*5776  
 B\*5777  
 B\*5778  
 B\*5779  
 B\*5780  
 B\*5781  
 B\*5782  
 B\*5783  
 B\*5784  
 B\*5785  
 B\*5786  
 B\*5787  
 B\*5788  
 B\*5789  
 B\*5790  
 B\*5791  
 B\*5792  
 B\*5793  
 B\*5794  
 B\*5795  
 B\*5796  
 B\*5797  
 B\*5798  
 B\*5799  
 B\*5800  
 B\*5801  
 B\*5802  
 B\*5803  
 B\*5804  
 B\*5805  
 B\*5806  
 B\*5807  
 B\*5808  
 B\*5809  
 B\*5810  
 B\*5811  
 B\*5812  
 B\*5813  
 B\*5814  
 B\*5815  
 B\*5816  
 B\*5817  
 B\*5818  
 B\*5819  
 B\*5820  
 B\*5821  
 B\*5822  
 B\*5823  
 B\*5824  
 B\*5825  
 B\*5826  
 B\*5827  
 B\*5828  
 B\*5829  
 B\*5830  
 B\*5831  
 B\*5832  
 B\*5833  
 B\*5834  
 B\*5835  
 B\*5836  
 B\*5837  
 B\*5838  
 B\*5839  
 B\*5840  
 B\*5841  
 B\*5842  
 B\*5843  
 B\*5844  
 B\*5845  
 B\*5846  
 B\*5847  
 B\*5848  
 B\*5849  
 B\*5850  
 B\*5851  
 B\*5852  
 B\*5853  
 B\*5854  
 B\*5855  
 B\*5856  
 B\*5857  
 B\*5858  
 B\*5859  
 B\*5860  
 B\*5861  
 B\*5862  
 B\*5863  
 B\*5864  
 B\*5865  
 B\*5866  
 B\*5867  
 B\*5868  
 B\*5869  
 B\*5870  
 B\*5871  
 B\*5872  
 B\*5873  
 B\*5874  
 B\*5875  
 B\*5876  
 B\*5877  
 B\*5878  
 B\*5879  
 B\*5880  
 B\*5881  
 B\*5882  
 B\*5883  
 B\*5884  
 B\*5885  
 B\*5886  
 B\*5887  
 B\*5888  
 B\*5889  
 B\*5890  
 B\*5891  
 B\*5892  
 B\*5893  
 B\*5894  
 B\*5895  
 B\*5896  
 B\*5897  
 B\*5898  
 B\*5899  
 B\*5900  
 B\*5901  
 B\*5902  
 B\*5903  
 B\*5904  
 B\*5905  
 B\*5906  
 B\*5907  
 B\*5908  
 B\*5909  
 B\*5910  
 B\*5911  
 B\*5912  
 B\*5913  
 B\*5914  
 B\*5915  
 B\*5916  
 B\*5917  
 B\*5918  
 B\*5919  
 B\*5920  
 B\*5921  
 B\*5922  
 B\*5923  
 B\*5924  
 B\*5925  
 B\*5926  
 B\*5927  
 B\*5928  
 B\*5929  
 B\*5930  
 B\*5931  
 B\*5932  
 B\*5933  
 B\*5934  
 B\*5935  
 B\*5936  
 B\*5937  
 B\*5938  
 B\*5939  
 B\*5940  
 B\*5941  
 B\*5942  
 B\*5943  
 B\*5944  
 B\*5945  
 B\*5946  
 B\*5947  
 B\*5948  
 B\*5949  
 B\*5950  
 B\*5951  
 B\*5952  
 B\*5953  
 B\*5954  
 B\*5955  
 B\*5956  
 B\*5957  
 B\*5958  
 B\*5959  
 B\*5960  
 B\*5961  
 B\*5962  
 B\*5963  
 B\*5964  
 B\*5965  
 B\*5966  
 B\*5967  
 B\*5968  
 B\*5969  
 B\*5970  
 B\*5971  
 B\*5972  
 B\*5973  
 B\*5974  
 B\*5975  
 B\*5976  
 B\*5977  
 B\*5978  
 B\*5979  
 B\*5980  
 B\*5981  
 B\*5982  
 B\*5983  
 B\*5984  
 B\*5985  
 B\*5986  
 B\*5987  
 B\*5988  
 B\*5989  
 B\*5990  
 B\*5991  
 B\*5992  
 B\*5993  
 B\*5994  
 B\*5995  
 B\*5996  
 B\*5997  
 B\*5998  
 B\*5999  
 B\*6000

1101

1001  
 Consensus GGAGGAGAG CTCAGGTGGA AAAGAGGGA GCTACTCTCA GCTTGGCTC AGCCACATG CCGAGGGCTC TGAATGTCT CTCACACTT GAAAGCTCA  
 B\*07021 T-----G-----\*  
 B\*07022 T-----G-----\*  
 B\*0703 T-----G-----\*  
 B\*0704 T-----G-----\*  
 B\*0705 T-----G-----\*  
 B\*0706 T-----G-----\*  
 B\*0707 T-----G-----\*  
 B\*0708 T-----G-----\*  
 B\*0801 T-----G-----\*  
 B\*0802 T-----G-----\*  
 B\*0803 T-----G-----\*  
 B\*0804 T-----G-----\*  
 B\*0805 T-----G-----\*  
 B\*1301 T-----G-----\*  
 B\*1302 T-----G-----\*  
 B\*1303 T-----G-----\*  
 B\*1304 T-----G-----\*  
 B\*1305 T-----G-----\*  
 B\*1401 T-----G-----\*  
 B\*1402 T-----G-----\*  
 B\*1403 T-----G-----\*  
 B\*1501 T-----G-----\*  
 B\*1502 T-----G-----\*  
 B\*1503 T-----G-----\*  
 B\*1504 T-----G-----\*  
 B\*1505 T-----G-----\*  
 B\*1506 T-----G-----\*  
 B\*1507 T-----G-----\*  
 B\*1508 T-----G-----\*  
 B\*1509 T-----G-----\*  
 B\*1510 T-----G-----\*  
 B\*1511 T-----G-----\*  
 B\*1512 T-----G-----\*  
 B\*1513 T-----G-----\*  
 B\*1514 T-----G-----\*  
 B\*1515 T-----G-----\*  
 B\*1516 T-----G-----\*  
 B\*1517 T-----G-----\*  
 B\*1518 T-----G-----\*  
 B\*1519 T-----G-----\*  
 B\*1520 T-----G-----\*  
 B\*1521 T-----G-----\*  
 B\*1522 T-----G-----\*  
 B\*1523 T-----G-----\*  
 B\*1524 T-----G-----\*  
 B\*1525 T-----G-----\*  
 B\*1526N T-----G-----\*  
 B\*1527 T-----G-----\*  
 B\*1528 T-----G-----\*  
 B\*1529 T-----G-----\*  
 B\*1530 T-----G-----\*  
 B\*1531 T-----G-----\*  
 B\*1532 T-----G-----\*  
 B\*1533 T-----G-----\*  
 B\*1534 T-----G-----\*  
 B\*1535 T-----G-----\*  
 B\*1536 T-----G-----\*  
 B\*1537 T-----G-----\*  
 B\*1538 T-----G-----\*  
 B\*1601 T-----G-----\*  
 B\*1602 T-----G-----\*  
 B\*1603 T-----G-----\*  
 B\*1604 T-----G-----\*  
 B\*1605 T-----G-----\*  
 B\*2701 T-----G-----\*  
 B\*2702 T-----G-----\*  
 B\*2703 T-----G-----\*

B\*2704 -----G-----\*  
 B\*27052 -----G-----\*  
 B\*27053 -----G-----\*  
 B\*2706 -----G-----\*  
 B\*2707 -----G-----\*  
 B\*2708 -----G-----\*  
 B\*2709 -----G-----\*  
 B\*2710 -----G-----\*  
 B\*2711 -----G-----\*  
 B\*2712 -----G-----\*  
 B\*3501 -----\*  
 B\*3502 -----\*  
 B\*3503 -----\*  
 B\*3504 -----\*  
 B\*3505 -----\*  
 B\*3506 -----\*  
 B\*3507 -----\*  
 B\*3508 -----\*  
 B\*35091 -----\*  
 B\*35092 -----\*  
 B\*3510 -----\*  
 B\*3511 -----\*  
 B\*3512 -----\*  
 B\*3513 -----\*  
 B\*3514 -----\*  
 B\*3515 -----\*  
 B\*3516 -----\*  
 B\*3517 -----\*  
 B\*3518 -----\*  
 B\*3519 -----\*  
 B\*3520 -----\*  
 B\*3521 -----\*  
 B\*3701 -----\*  
 B\*3702 -----G-----\*  
 B\*3801 -----\*  
 B\*38021 -----\*  
 B\*38022 -----\*  
 B\*39011 -----\*  
 B\*39013 -----\*  
 B\*39021 -----\*  
 B\*39022 -----\*  
 B\*3903 -----\*  
 B\*3904 -----\*  
 B\*3905 -----\*  
 B\*39061 -----\*  
 B\*39062 -----\*  
 B\*3907 -----\*  
 B\*3908 -----\*  
 B\*3909 -----\*  
 B\*3911 -----\*  
 B\*3912 -----\*  
 B\*40011 -----G-----\*  
 B\*40012 -----G-----\*  
 B\*4002 -----G-----\*  
 B\*4003 -----G-----\*  
 B\*4004 -----G-----\*  
 B\*4005 -----G-----\*  
 B\*4006 -----G-----\*  
 B\*4007 -----G-----\*  
 B\*4008 -----G-----\*  
 B\*4009 -----\*  
 B\*4010 -----\*  
 B\*4011 -----\*  
 B\*4012 -----\*  
 B\*4013 -----\*  
 B\*4101 -----G-----\*  
 B\*4102 -----G-----\*  
 B\*4201 -----G-----\*

```

*****
B*4202 -----C-----
B*4402 -----C-----
B*44031 -----C-----
B*44032 -----C-----
B*4404 -----C-----
B*4405 -----C-----
B*4406 -----C-----
B*4407 -----C-----
B*4408 -----C-----
B*4409 -----C-----
B*4410 -----C-----
B*4501 -----C-----
B*4701 -----C-----
B*4702 -----C-----
B*4801 -----C-----
B*4802 -----C-----
B*4803 -----C-----
B*4901 -----C-----
B*5001 -----C-----
B*5002 -----C-----
B*51011 -----C-----
B*51012 -----C-----
B*51021 -----C-----
B*51022 -----C-----
B*5103 -----C-----
B*5104 -----C-----
B*5105 -----C-----
B*5106 -----C-----
B*5107 -----C-----
B*5108 -----C-----
B*5109 -----C-----
B*5110 -----C-----
B*52011 -----C-----
B*52012 -----C-----
B*5301 -----C-----
B*5302 -----C-----
B*5401 -----C-----
B*5501 -----C-----
B*5502 -----C-----
B*5503 -----C-----
B*5504 -----C-----
B*5505 -----C-----
B*5506 -----C-----
B*5601 -----C-----
B*5602 -----C-----
B*5603 -----C-----
B*5604 -----C-----
B*5701 -----C-----
B*5702 -----C-----
B*5703 -----C-----
B*5704 -----C-----
B*5801 -----C-----
B*5802 -----C-----
B*5901 -----C-----
B*67011 -----C-----
B*67012 -----C-----
B*7301 -----C-----
B*7801 -----C-----
B*78021 -----C-----
B*78022 -----C-----
B*8101 -----C-----
B*8201 -----C-----
HLA-A -----A-----
HLA-B -----A-----
HLA-C -----A-----
Consensus GGAGGAGAG CTGAGTGGG AAGAGGAGG GGTACTCTTA GCTTGGCTTC AGCCAGAGTC CCCAGGCTTC TAAATGTCG A
*****

```

# 〔シリーズ：HLA 研究者の個人史〕 HLA と私

徳永 和夫

福岡県赤十字血液センター、品質管理部

## 1. はじめに

私は九大薬学部を卒業して1972年に福岡県赤十字血液センターに就職した。最初の4年間は技術部の製剤係に勤務した。その頃は現在のようにビニールバッグではなくガラス瓶で採血されていた。全て200mlでほとんど全血でしたが、遠心後、長針と短針のついた連結管及び減圧ポンプを使って血液を分離し、濃厚血小板も製造した。有効期限は6時間でした。1975年に針刺し事故でB型肝炎になり1976年に職場復帰後、血清細菌学課へ配置替えとなりHLAに出会いました。因みに福岡県のB型肝炎の労災認定は私が最初でした。

## 2. 日赤「抗白血球抗体」研究班

私と与えられたテーマは、血液センターらしく「輸血副作用と抗白血球抗体との関係」でした。日赤にはこのテーマを研究するための研究班があり、当時の基幹センター（北海道、中央、大阪、福岡）と京都センターがメンバーで、班長は当時中央センター所長の徳永栄一先生でした。私は班員の吉成所長の代理で研究班の会合に参加するようになった。

## 3. HLA 検査法の習得

さて、HLA 関連の書籍を読んでも比重遠沈法やマイクロシリンジ等が理解できないので、九大病院中央検査部に実習に行った。大河内先生自身は輸血後肝炎の追跡をされていましたが、若い女性の方が分娩血を濾過して凍結保存し、HLA 抗体のスクリーニングをされていました。私はその方から Amos の二段法（血清・補体の反応物をスナッピングにより捨てトリパンブルーで染色）を習った。この時以来大河内先生にはお世話になっています。仕事以外の話の時は優しいのですが、仕事の話になると目の

色、顔つきも変わってそれは厳しいもので、私はいつも冷汗をかいていました。



1978年 大河内先生の研究室で

## 4. 女性献血者の抗体スクリーニング

試薬を揃え検査法を練習し、1976年5月から女性献血者の血清を対象に抗体スクリーニングを実施し、リンパ球をブルーに染める血清を数%見つけた。この時はニコンの生物顕微鏡（倒立でも位相差でもない）でトレイを見ていた。5%エオシン液と10%ホルマリン液で染色固定するテラサキ法に変更後もこの顕微鏡で何十枚も検鏡していたので近視がひどくなった。その後倒立の位相差顕微鏡を購入してもらいリンパ球の明瞭な反応像に感激した。この頃テラサキトレイは今より高価でしたので、使用後はすぐ洗浄し洗剤に漬け良く洗って何度も使用していた。しかしホルマリン固定するとなかなか綺麗にならず再使用は困難でした。ところで女性献血者の中でも当然経産婦の方が良いので、献血の受付の段階で妊娠経験の有無について聞いてもらった。すぐ高校生のお母さんから「なぜ娘に妊娠の経験有りなどと言わせるのか」と抗議の電話があり聞くことはやめた。抗体陽性の血清があると直ぐに製剤に行って貴重な全血や凍結血漿を研究用として頂いた。

## 5. 補体は自家製

ヘキスト社製の補体は高かったので、九大一外科（斉藤先生、豊田先生）、九大中検（佐藤先生）、福大二内科（内藤先生）で協力して家兎から補体を作製した。家兎の首にカニューレを刺し脱血する。赤かった兎の目がやがて白くなります。一度に20匹程度から採血して1~2ℓの新鮮血清を確保するが後で検定すると使用できないものもあった。

## 6. タイピングトレイの作製

抗体スクリーニングの結果得られた抗体陽性血清の特異性の同定をするためにはHLA抗原の分かったパネルが要り、それにはタイピングトレイが要る。当初は斉藤先生からテラサキラボのトレイを分けてもらい職員をタイプした。そしてNIHに血清を頼んだり、愛知県がんセンターの赤座先生、東大の十字先生、内藤先生等から抗血清を分与してもらいトレイを作った。間もなく九大中検、九大一外科、福大、血液センターで共通のトレイを補体作製と同様に共同で一回に数百枚作製した。今のように血清分注器は無かったので全て手作りでした。トレイはその当時提案されている抗原を可能な限りタイプできるように設計した。因みにその当時のトレイは60穴でしたので、2枚で120本の血清を用意した。まず4施設で利用可能な血清をリストアップし、次に不足の血清を他の施設に依頼した。この頃は400μℓのベックマンチューブに1, 2本いただけませんかという慎ましい頼み方で、それに皆抗血清が無いという悲劇を共通に理解していたのでほとんど断られたことはありませんでした。こういう意味でもHLAはマフィアでした。血清のマスターシートができると各施設に用意すべき血清のリストとチューブの本数を連絡し、用意すべき小道具・資材（各種マイクロシリンジ、オイル分注用のマイクロピペッターと注射器、ピアノ線、テラサキトレイ等）を確認した。トレイにトレイ番号をマジックで書き、広い机の上に並べ、一方で持参した血清をシートに合わせて並べた。ベックマンの小型遠心器で遠心して乳びや混濁が無いか見てあれば血清を綺麗にした。この為血清が不足するときはトレイの底を黒く塗った。血清を6本づつ縦に入れていき、一人

がマルチプルシリンジ（6本）にて血清を分注した。そのすぐ後から血清が入っていることを確認しながらマイクロピペッターもしくは注射器でミネラルオイルを血清が乾く前に分注していった。3組位でやった。広い場所と忍耐と体力が必要でした。出来たトレイを血清の分注レベルに応じてグレードに分け公平に真剣に分配し、ビニールに詰めドライアイスを入れて持ち帰った。夕方にまた集まってピヤガーデン等でねぎらいの会を持った。これが本当に楽しかった。このトレイ作りは結構長く続いた。新しい抗原や血清の評価に数ラボで協力してやるこの意味は大きかったが、抗原の数が増加し、各施設のトレイの使用量が増えるに従いお世話ができなくなり、10年後位にはやめた。

## 7. 定山溪温泉の熱情

HLAをはじめて間もなく札幌市郊外の定山溪温泉で文部省特定研究班の会合があった。どういう経緯で私が参加することになったか覚えていないが、ここでその当時のHLAに関わっていた研究者の一同に会うことが出来た。相沢先生、板倉先生、野本先生、辻先生、脇坂先生、十字先生……そして私が感じたものはHLAへの熱情でした。

## 8. 抗体の特異性の同定

献血者からの抗体陽性血清が集まったので抗体の特異性の同定をした。特異性（A2, A10, A11, B5, B35, B7, B22, B40）の高い血清があることが分かったので、松本市で1977年に開催された第25回日本輸血学会総会で発表した。これが私の初めての学会発表で同定、データ解析そしてスライド作製まで豊田先生に「おんぶにだっこ」でお世話になった。相関係数等も全て卓上計算器を使って一本一本計算した。この時発表が終わると会場から拍手があった。大河内先生が一般演題の私の発表に拍手してくれたのでした。正直感激しました。こんなことはこれ以後一度も経験がありません。

## 9. 第5回日本HLAワークショップ

同定の終わった血清を千葉大学の宮島先生がお世話していた第5回日本HLAワークショップ（WS）

に提出した。この時日本ではラボコードがアルファベット順で「A: 北大」から始まっていた。福岡センターは「U」でした。後には日本でも国際 WS のラボネームが使用されました。1977年に千葉大学に10数ヶ所のラボが集まって WS が開催され、一部屋で「ロ」の字型になって討論があった。数本の血清が標準血清となり嬉しかった。

#### 10. Homozygous Typing Cell

(HTC): DHO⇒Dw 12

HLA がホモと思われるセンター職員が二人いた。東京医科歯科大の笹月先生に送付したところ一人が HTC でした。その細胞の名前は TOK で抗原名は DHO と決められ、DP 抗原も東海大の能勢先生により提唱された新抗原 Cp 63 であった。後に ABC, DR, DQ, DP 全てホモであることが分かった。兼岡先生（現福大病院）が留学していたスタンフォード大学のエングルマン先生が、NIH の研究資金で HTC の持ち主をリンパ球採取のため呼んだ。400 ml 採血し遠心してバッフィコートを取って残りを返却するというのを4回繰り返した。凍結されたリンパ球の半分は NIH に送付された。因みに日本でも細胞がなくなると400ml 採血をしていた。しかし成分採血装置が血液センターに導入されてからは、リンパ球採取二時間位で  $3 \times 10^9$  の9乗個程度取れるようになり非常に楽になった。とにかくこの人のリンパ球は世界中で実験材料に使用されることになった。この人は日本人をカモと思っていたエングルマン先生にテニスで勝ってしまったために HLA と違って日本人では無いのではと疑われた。この人こそ私であり、つくづく他の人でなくて良かったと何度も思った。

#### 11. SN-2 (Bw 39.2 ⇒ B 67),

CwTo 1 (Tok-1 ⇒ Cw 7)

面白くもない抗体スクリーニングは、集めた血清をトレイに分注し最初の10人位のリンパ球を反応させて検鏡するときに報われる。トレイの底を読みながら頭はこの血清の特異性をリンパ球の HLA 抗原から推測している。この時の楽しさは大変なものであった。自動判定の場合はこのワクワクする楽し

みがない。ところが SN-2 (B 67) のときはこれが無かった。つまりこの血清 (JR 50-290) は40人位のリンパ球と反応させても、全く細胞毒性を示さない。よくあるスクリーニングの時の間違いかと思っていた。その頃は50位のパネルを使用していたが、ある職員の細胞の時にのみはっきりと8で反応した。何かの間違いかなと思ったが、その職員の B ローカスはひとつしか無かったので密かに期待した。この血清の特異性は齊藤・内藤先生が提唱していた SN-2 で、この職員の家系調査をしたところ本人を含む兄弟4人とも SN-2 を持ち血液型も HLA 型も全く同じでした。そしてこの頃新しい C ローカスの抗原を規定する血清として考えていた JR 50-253 が、この SN-2 と連鎖して反応した。この抗原を CwTo 1 として第6回日本 HLAWS で報告した。BFU, Cw 4s, Bu (B 70), Bw 22 new 等も全て職員がいたおかげでした。

#### 12. 第1回アジアオセアニア HLAWS

東海大学の辻先生のお世話で1979年に箱根の小涌園ホテルで1st AOHWS が開催された。私はこのとき初めて Amos 先生などの肉声を聞いた。しかし意味不明であった。でも HLA の世界を近くに感じることができた。

#### 13. 第8回世界 HLAWS

テラサキ先生が主催の WS がロスアンゼルス有名なホテルで開催された。私は一人で行って空港からホテルまでタクシーに乗って通常の料金の倍はばられた。この WS で SN-2 公認のために JR 50-290 を提出したが、何とこの血清には黒人に特有な B 42 が含まれていたために SN-2 の存在が疑問視された。とにかく SN-2 は日本人に特有でかつ頻度が低い抗原なので B 42 に埋もれてしまいました。外国人パネルの必要性を前にも増して痛感した。

そして JR 50-253 の CwTo 1 ですが、私は1979年の第27回日本輸血学会総会で報告したのですが、同じ年に Dausset 先生の Dehay さんが CVE として報告していた。経緯は知りませんが同じと思われるふたつの抗原をまとめて報告するように依頼が

あり、テラサキラボから直径 30cm 程のテープが送られて来た。電算が分からない私は佐藤先生に相談しながら九大の電算機センターに行って解析した。この頃の言語は FORTRAN でした。最後には大河内先生の家に出発の前の夜にお邪魔して朝までお世話になり報告書を作製して家に帰ってすぐ出発しました。それなのに結局英語に自信がなくて笹月先生に報告をお願いしました。日本人では A 24-B 7, B 39, A 11-SN-2 等と、白人では典型的なハプロタイプの A 1-B 8, A 3-B 7 と連鎖していたのでほぼ間違いないと思っていた。そして Cw 7 と認定された。



1981年 シドニーの BASHIR 先生の家で

#### 14. 日赤の白血球抗原研究会

日赤の抗白血球抗体研究班は、1983年に白血球・血小板抗原研究会となって当センターの吉成所長が会長となった。研究会は全国70のセンターを対象にしたもので白血球や血小板抗原・抗体の検査を血液センターに定着させ、各血液センターがその地域のタイピングラボラトリーとして医療の一端をになうことができるようにすることを目的とした。そこで8つの協力センターがタイピングトレイを全国に配布したり、全センターが参加する第5回日赤 HLAWS を1984年に福岡で開催した。この WS には十字先生、赤座先生、森島先生（名大）、笹月先生（九大）など日赤以外の HLA 研究者に大変なご協力を頂いた。研究会にのめり込んだ HLA 担当者達は、「HLA 馬鹿」と命名され、事務局の私は若くして「馬鹿の会の会長」と言われた。研究会では精度管理のためにブロック単位でセルイクスチェンジ

を定期的実施したり、補体を検定して全国共通のものを使用した。この時は1ロット最低100ℓの補体が必要だったが、その確保のために(株)ペリタスに随分ご尽力いただいた。また、教育のために HLA 担当者が集まる研修会を開催した。若い人が HLA を担当したので、あっと言う間に HLA 検査は全国のセンターに定着したが、WS 等のために担当者の時間外が多くなり、かなりのセンターから苦情が殺到した。



1982年 テラサキ先生を囲んで

#### 15. HLA 適合血小板

HLA 担当者の一つの関心は HLA 適合血小板でした。研究会が発足したその年に福岡に HLA 適合血小板輸血で有名だった Duquesnoy 先生を招待して、HLA 適合血小板について講演していただいた。その後大河内先生から「中央センターに(採血)枕を持って男を追いかける女性がいる。」と徳永先生から聞いたが知っているかと聞かれた。その人こそ荒木(後に内川)さんで HLA 適合血小板の供給を日本で最初に実践された人でした。この頃は成分採血もまだ定着していなかった頃で、わざわざ依頼に応じて2時間近くかかる血小板フェレーシスに来てくれる人がいるか疑問視されていた時代でした。荒木さんは持ち前のパンダ力でドナープールを作り日本でもできることを証明したのです。AHG-LCT も実用化しました。私は1000人程度の成分献血者をタイピングして、福岡の血液研究会で HLA 適合血小板が供給できずと説明した後、直ぐに米国留学に行ったので、リストは全く役に立たなかったなどと帰国後に随分苦言を呈されました。

## 16. 日中共同研究

佐治先生が本社の依頼を受けて、日本赤十字社と中国紅十字社の間で血液事業に関する共同研究の具体化について尽力していました。HLA も中国側の希望項目にありましたので私も協力を依頼されました。1983年から1985年まで調査のために2回、実習や追加実習のために3回、主に北京と成都に行きました。フリーザーからマイクロシリンジ、エオシンから補体まであらゆるものを一式揃えました。目指すところは中国で準備できるものでの HLA 検査でした。それにしても大量の荷物を手荷物で持ち込んだので、北京の税関が通してくれません。中国紅十字の人が政府の許可書を持ってきてやっと通関できました。中国では紅十字も政府の一機関なのでした。私と荒木さんは北京の血液センターで DR 検査（ナイロンカラム法）の実習をしました。検鏡すると死んで染色されているはずの B セルがない。中国製のエオシンのせいで細胞が溶けてしまうのです。メルク製のエオシンを持参していたので助かりましたが、原因が分かるまでパニックでした。何故か上海製のテラサキトレイとベックマンチューブは既にありました。



1983年 中国成都輸血研究所で

## 17. オリент代表は中国人

パネル作製のために職員のタイピングを始め、中国人の HLA 抗原の多様性に心から驚いた。B 13 は多いし B 8 もあるし A 29 もあるし DR 7 はゴロゴロだし、今まで人種別 HLA 抗原の頻度でオリエンタルとして日本人のデータが記載されていたが、これは中国人のデータにすべきと思った。さらに抗体

の特異性の同定をすると当然ながら日本では得難い抗血清が沢山見つかった。パネルが充実すれば 56 民族あると云われている中国ならいくらでも新抗原が見つかるのではと思った。この共同研究は人材の育成や基礎の確立に役立ったと思ったが、天安門事件のためにこの時の人たちの多くが海外に流出したのは残念です。

## 18. 休職

色々と自分で手を動かさないで働いているうちに干からびてしまったので、ある人の紹介でテラサキ先生のお世話になりました。休職して1985年8月から1986年7月まで家族と一緒に米国に行きました。この時は岩城先生、竹内先生に大変お世話になりました。英語も上達せず、テラサキ先生やパーク先生の期待に応えず、論文も「輸血と腎移植」の一つだけでした。テラサキ先生が「米国に来た意義は、英語になれることと、アメリカを旅行することだよ」と諭され、最後の2週間、家族とヨセミテ公園などを旅行したのが家族にとって良い思い出です。腎移植のコーディネーターになろうと思って米国にいきましたが、日本の現状では血液センターにいて腎移植のお手伝いはできないと考え骨髄移植の方に力を入れることにしました。

## 19. 骨髄幹細胞の凍結保存

帰国後、骨髄移植医から依頼されて、骨髄液から幹細胞を濃縮したり、抗癌剤で処理したり、凍結保存もした。ドナーがいなくて同種骨髄移植ができないために自家骨髄を保存しておくというのが多かったが、中には同種骨髄移植後の生着不全に対処するためというのもあった。森島先生に教わってプロトコルを書いて練習して万全を期したが、初めて幹細胞の濃縮をしたときは手が震えた。50ml のプラスチックチューブを使い HLA 検査でリンパ球を分離する方法で幹細胞（単核球）を取るのだが、1ℓ以上の赤黒い骨髄液が最後には0.5ml程度の白いペレットになる。これに患者さんの将来がかかっていると思うと絶対に失敗（細菌汚染、分取ミス）は許されないと緊張してしまう。最初は自分でやっていたが、成分採血装置を使って採血課の看護

婦さんに濃縮を依頼し、次には無菌操作に慣れている製剤課をお願いして今に至っている。これは現在臍帯血を凍結保存するのに引き継がれている。後述する骨髄バンクへの取り組みも含めて「環境は血液センターで整備するので臨床医には臨床に専念してほしい」という福岡センターの方針があったのでこういうことが可能であったと今思っても感謝です。

## 20. 骨髄バンクを！

HLA 検査を始めてしばらくすると医療機関から腎移植や骨髄移植の適合者選択のために検査を依頼されるようになった。当初は無料で引き受けていたが HLA 検査室を維持するために数年後に有料にした。腎移植も骨髄移植も移植されて初めて HLA 検査費用を含んだ移植料を保健請求できる。つまり適合者がいない時は患者負担となる。国公立では保健診療以外のお金を患者に請求できないので大学によっては HLA 検査料は教室の講座費などからでていた。それはともかく皆さんご存じのように家族で骨髄提供者が見つかる患者の割合は 30～40% で残りの人は他人に頼るしかない。適合者の見つからない患者家族は、時に私に適合血小板ドナーの中に適合した人がいないかと聞いてくる。何とかしなければと思った。その頃、仙台市で輸血学会が開催された時、十字先生や佐治先生と骨髄バンクを作ろうと話し合った。1988 年第 9 回国際 HLAWS がプリンストンで開催された時上記メンバーに森島先生も加わってバンク設立について熱い議論をした。翌年の 1989 年 11 月に森島先生等は名古屋で東海骨髄バンクを設立した。私は 1987 年頃から骨髄バンク設立のために活動することを認めていただき、1988 年にボランティア団体の福岡骨髄バンク推進連絡会議を結成した。十字先生、森島先生、佐治先生等の協力により九州全県でシンポジウムを開催し、多くの方の協力を得て 1991 年 4 月に九州骨髄バンクを設立した。バンクそのものは 1993 年 4 月に日本骨髄バンクの発展に合わせて解散した。その間に 8 人のドナーから 7 人の患者に骨髄を提供できた。その内 3 人が現在も元気でいてくれるのは嬉しい限りである。

## 21. 骨髄液を熊本からドイツへ

バンク設立後、西ドイツから 17 才の日系 2 世の少女のために適合ドナーを探しているとファックスが入った。彼女の HLA は B 46 を含む典型的な日本人のハプロタイプであったので、当時世界中に数十万人いたドナーからは見つからず、九州の 1,000 人にも満たないドナーの中に一人適合者が見つかった。まだバンクの体制が不十分で断ろうと思っていたが、服部絢一理事長の「できるかぎりの努力をなさい。」という強い決意にコーディネートを開始した。服部先生と航空自衛隊に飛行機を飛ばしてくれるように依頼に行ったが、成田には軍用機が着陸できないことを初めて知った。朝 8 時の熊本発の飛行機に乗るために、国立熊本病院の先生たちは朝 3 時半に集合して骨髄を採取してくれた。羽田からバスに乗り成田へ、13 時発の JAL でフランクフルトへ、そして飛行機を乗り換えデュッセルドルフへ、赤十字社の青い点滅灯の緊急車に乗って大学病院へ着いて直ぐ点滴されました。採取後 21 時間 30 分でした。この時全く面識のない日本航空福岡支店に電話して飛行機のダブルブッキングや空港で骨髄液の X 線検査の免除とか色々お世話になった。彼女が見に行く予定であった大相撲公演がデュッセルドルフであったが移植後 1 ヶ月だったので、貴の花や若の花が見舞いに行った。無菌室は一階にあり外からマイクロホンで話ができるようになっていた。残念だがその後容態が急変し 1 ヶ月して亡くなった。

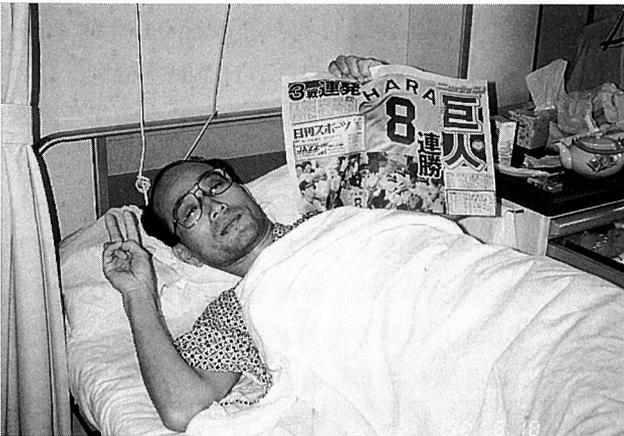


1992 年 国立熊本病院で

## 22. 骨髄提供

帰国翌月の20回目の結婚記念日に骨髄を提供した。私のHLAは日本人に一番多いのだから何時かこの日がくることを確信していた。私はバンクのコーディネーターだったので自分で子供と妻へ説明をし同意してもらった。忙しかったので血液センターで採血してもらった自己血液を持参して採取前日の午後マスコミを避けて病院の裏口からこっそり入院した。翌日朝8時30分に筋弛緩剤を注射されストレッチャーに乗せられ手術室へ。麻酔ですと言われマスクを着けられた。この麻酔医は前日説明にきた女医さんだと気が付いた時までしか覚えていない。目が覚めたら病室に戻っていた。10時頃手術場室で覚醒して色々面白いことを喋ったらしいが私には記憶がない。内容は守秘義務なので教えてくれない。私はこの時以来、T字帯ことクラシカルパンツのとりこになり今も愛用しております。テニスの時を除いて。

話をさせてもらっています。



1992年 骨髄提供後に病室で

## 23. 最後に

臆気な記憶と限られた資料に基づいて書いたので間違いや、お世話になっているのに登場していない方が多々あります。どうかお許してください。私はHLAに出会い、人に出会い、良い人生を歩ませてもらったと思っています。助かった患者さん、亡くなった患者さん、そしてその家族の方達がいて私の今があることを実感します。HLAを離れた今もこれらのことを感謝して、血液疾患の長期治療のため遠方から入院してくる患者・家族の方達が、家庭的な雰囲気を楽しみながら利用できる宿泊施設のお世

## 日本組織適合性学会からのお知らせ

### ホームページ運営委員会の発足について

下記の方々に委員を委嘱して、ホームページ運営委員会を平成9年7月1日より発足いたしました。任期は現理事会の任期（平成10年の改選期）と同じとします。

委員長	赤座 達也	日本赤十字社中央血液センター
委員	猪子 英俊	東海大学医学部・分子生命科学
	柏瀬 貢一	日本赤十字社中央血液センター
	木村 彰方	東京医科歯科大学・難治疾患研成人疾患研究部門
	小林 賢	防衛医科大学病院・検査部
	田中 秀則	日本赤十字社中央血液センター
	徳永 勝士	東京大学医学部・人類遺伝学
	成瀬 妙子	東海大学医学部・分子生命科学
	前田 平生	埼玉医科大学総合医療センター・輸血部

（なお、ホームページアドレスは <http://square.umin.ac.jp/JSHI/mhc.html> です）

### HLA 標準化委員会の発足について

下記の方々に委員を委嘱して、HLA 標準化委員会を平成9年11月10日より発足いたしました。任期は現理事会の任期（平成10年の改選期）と同じとします。

委員長	前田 平生	埼玉医科大学総合医療センター・輸血部
委員	猪子 英俊	東海大学医学部・分子生命科学
	小河原 悟	福岡大学病院・腎センター
	柏瀬 貢一	日本赤十字社中央血液センター
	木村 彰方	東京医科歯科大学・難治疾患研成人疾患研究部門
	小林 賢	防衛医科大学病院・検査部
	斉藤 敏	長野県赤十字血液センター
	佐田 正晴	国立循環器病センター研究所・実験治療開発部
	徳永 勝士	東京大学医学部・人類遺伝学
	橋本 光男	兵庫県立西ノ宮病院・腎移植センター

## 第7回日本組織適合性学会大会のお知らせ

第7回日本組織適合性学会

大会長 猪子 英俊

第7回日本組織適合性学会大会を下記のとおり開催致します。今回は趣向を変え、温泉地での開催とさせていただきます。この機会にMHCに携わる様々な分野の方々と活発な交流がなされることを期待しております。会員の皆様には何卒多数ご参加いただきますようお願い申し上げます。

### 記

会期 1998年7月16日（木）10時50分より開始

17日（金）16時終了予定

会場 箱根 湯本富士屋ホテル

神奈川県足柄下郡箱根町湯本

小田急電鉄箱根湯本駅下車 徒歩3分

参加費 5,000円

### 主な開催内容

#### 1. シンポジウム: MHCの進化と多型性の形成

1). 大野 乾 (Beckman Research Institute, USA):

何故有顎脊椎動物だけが免疫機構を獲得し得たのだろうか?

座長: 笹月 健彦 (九州大学)

2). 根井 正利 (The Pennsylvania State Univ. USA):

Locus-specific polymorphism and evolution by a birth-and-death process in MHC genes.

座長: 五條堀 孝 (国立遺伝学研究所)

2. シンポジウム: HLAクラス I 抗原 DNAタイピングの開発と現状

座長: 片桐 一(旭川医科大学), 猪子 英俊(東海大学)

3. ワークショップ: HLA DNA タイピングのQC

座長: 前田 平生(埼玉医科大学), 佐田 正晴(国立循環器病センター)

4. 一般演題(演題は3月14日に締め切りました)

なお、7月16, 17日の両日12:00より、ランチオンセミナーを開催する予定です。

宿泊等に関する詳細は、本誌4巻2号に掲載されておりますのでご覧下さい。

大会問い合わせ先

〒259-1193

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 遺伝情報部門内

第7回日本組織適合性学会事務局

TEL : 0463-93-1121 内線2653

FAX : 0463-94-8884

E-mail : tnaruse@is.icc.u-tokai.ac.jp

第6回アジア・オセアニア組織適合性ワークショップ  
1998年度 豪州・東南アジア組織タイピング協会科学会議

1998年10月29日～11月1日、ニューデリー（インド）

6th Asia-Oceania Histocompatibility Workshop(6AOH)  
and

The 1998 Annual Scientific Meeting of ASEATTA

*MHC in Medicine: 21st Century*  
October 29 to November 1, 1998  
New Delhi, India

Oct 29	:Educational Program	Registration fee:
Oct 30- Nov 1	:Scientific Sessions	US\$250 (US\$150 students)
Nov 1	:Valedictory function	Educational Program:US\$ 25

Proposed Scientific Programme

Genetic Diversity of MHC:	evolution, sequence analysis, microsatellite typing
HLA Expression and Cancer:	liver cancer, nasopharyngeal carcinoma, technologies
HLA and Keratoplasty:	immunogenetic matching, storage techniques
Bone Marrow Transplantation:	HLA matching, cord blood, xenotransplantation
Solid Organ Transplantation:	immunobiology, sensitization, molecular matching
HLA and Infections:	HIV, mycobacterial infections
Human mice:	MHC transgenics, immune regulation and disease
Non-HLA genes:	HFE gene, CSBP gene, BATI, Per B11
Technology update:	SBT, Class I molecular typing

Secretariat

Prof. Narinder Mehra  
Dept. of Histocompatibility & Immunogenetics  
All India Institute of Medical Sciences  
New Delhi 110029 India

Tel: 91(11)696-7588, 659-4638  
Fax: 91(11)686-2663  
E-mail: [nkmehra@medinst.ernet.in](mailto:nkmehra@medinst.ernet.in)

(2nd announcement 請求ハガキは、当学会事務局にも用意しております。)

# ＜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サイズと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りますので、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。最初の一文はタイトルページとし、タイトル、著者名、所属、脚注として代表者とその連絡先（電話、FAX、E-mail、郵便番号、住所）を記す。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\*1307 specificity designated DRB1\*1307.

Toshihiko Kaneshige<sup>1)</sup>, Mitsuo Hashimoto<sup>2)</sup>,  
Yayoi Murayama<sup>1)</sup>, Tomoko Kinoshita<sup>2)</sup>,  
Tsutomu Hirasawa<sup>1)</sup>, Kiyohisa Uchida<sup>1)</sup>,  
Hidetoshi Inoko<sup>3)</sup>

- 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<sup>1)</sup>, 稲葉 洋行<sup>1)</sup>, 荒木 延夫<sup>1)</sup>, 浜中 泰光<sup>1)</sup>, 阪田 宣彦<sup>1)</sup>, 土田 文子<sup>2)</sup>, 辻 公美<sup>2)</sup>, 成瀬 妙子<sup>3)</sup>, 猪子 英俊<sup>3)</sup>

- 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、二頁目よりはじめ、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 (References) 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\*1307 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 : 岩波講座分子生物科学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

〒259-1100 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  
E-mail : hinoko@is.icc.u-tokai.ac.jp

## 編集後記

先日、本学会とは別の学会ではあるが、学会はいかにあるべきかについて考える機会があった。これまで、随分多くの学会に関係してきた。激しい議論が行き過ぎて別の引っぱり合いになっている学会、あまりになれ合いで仲間内のおだてあいになっている学会、大きすぎて会場が30もありどこで何が行われているのかわからない学会等々。学会がどうあるべきかは当然各学会によって違うのだけれど、では日本組織適合性学会はどうあるのが一番良いのだろうか。幸い今年の学会大会は温泉に一泊泊まり込みで親睦をはかるとか。組織適合性学会の未来について有意義な話ができれば幸いである。

本誌編集にあたり、できるだけ多くの原著論文を集めたい、しかし、論文の質はそれなりに保ちたいというのが編集委員の希望である。多くの会員諸子が優れた原著を多数投稿されることを期待している。

本稿執筆中に関口進先生ご逝去の報が入った。組織適合性研究会当時から HLA 研究にご尽力された関口先生のご冥福をお祈りいたします。

(大谷 文雄)

---

MHC

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

1998年3月31日発行 4巻3号, 1998

定価 2,000円

発行 日本組織適合性学会(会長 片桐 一)

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)

平成8年7月24日 学術刊行物認可

---

日本組織適合性学会事務局(事務担当理事 十字 猛夫)

〒150-0012 東京都渋谷区広尾4-1-31 日赤血液センター内

印刷・(株)栄文舎印刷所

〒229-1101 神奈川県相模原市相原2-12-1