

第3回HLAクオリティコントロール(QC)ワークショップ報告

橋本光男¹⁾、斎藤 敏²⁾、猪子英俊³⁾、小河原悟⁴⁾、柏瀬貢一⁵⁾、木村彰方⁶⁾、
小林 賢⁷⁾、佐田正晴⁸⁾、徳永勝士⁹⁾、丸屋悦子¹⁰⁾、平田蘭子¹¹⁾、前田平生¹¹⁾

¹⁾ 兵庫県立西宮病院腎移植センター、²⁾ 長野赤十字血液センター検査課、³⁾ 東海大学医学部分子生命科学、⁴⁾ 福岡大学病院腎センター、
⁵⁾ 日赤中央血液センター検査三課、⁶⁾ 東京医科歯科大学難治研分子病態、⁷⁾ 防衛医科大学校病院検査部、⁸⁾ 国立循環器病センター
実験治療開発部、⁹⁾ 東京大学大学院人類遺伝学、¹⁰⁾ 京都府赤十字血液センター研究部、¹¹⁾ 埼玉医科大学総合医療センター輸血部

目 的

HLA検査は、各臨床分野、とくに非血縁者間骨髄移植、臓器移植におけるドナー・レシピエントの選択には必須の検査になっている。しかも、HLA検査は、従来の血清学的方法からDNAタイピングに移行し、HLAアレルの数は年々増加し、表記法についても統一されていない。このような状況において、本学会では、タイピング技術・データの信頼性向上を目的に、これまで大会主導で2回のHLA QCワークショップを開催してきた(1-3)。今回は、学会(標準化委員会)主導で大会の協力のもとに実施した。

方 法

1. DNAサンプル

学会会員に対してワークショップ参加を応募し、参加会員施設に対して6種類のDNAサンプルを送付した。参加施設はサンプルのDNAタイピングを実施した。検査方法、検査対象のローカス、検査精度(HighまたはLow resolution)は各参加施設の自主性に任せた。従来は、検査方法、検査結果だけを回答してもらっていたが、今回より、検査キットを用いて検査を実施した場合は、生データをスコア化して回答してもらい、各検査キットの精度管理を試みた。また、今回から、全てのローカスを検査でき、かつ、標準サンプルとして後日利用できるように十分量のDNAを配布した。これについては、標準化委員の施設からB細胞株の提供を受け、委員会で大

量培養した。グアニジン法によりDNAを抽出し、濃度を2 O.D.程度に調整し、各サンプル200 μ lずつ配布した。

2. 解 析

参加施設により用いている方法及びキットが異なるために検出可能なアレルに相違がみられたので、各アレルの一致率を算出するために以下の例に示すような基準を設定した。基本的にLow resolution(2桁)レベルでの一致は、2桁レベルで確定したアサインがしてあることとし、それ以外は全て不一致とした。ただし、A、B、Cwアレルについては、表記法について一定の見解が示されていないので、抗原名で報告されたものは2桁レベルでの解析にとどめた。High resolution(4桁)レベルの解析は、2桁レベルで一致した場合のみ行い、4桁レベルで確定したアサインが出来ない場合は、2桁レベルの解析にとどめ、4桁の解析の対象から除外した。また、High resolutionレベルでの一致率は、全体回答中の一致率として算出した。

結 果

1. 参加施設

今回のワークショップは、クラスIタイピングに29施設、クラスIIタイピングに61施設が参加した。前年度と比較すると、クラスIIタイピングは5施設の増加であったが、クラスIタイピングは13施設から29施設と約2倍強増えたのが特徴である(図1)。

	Consensus	報告例	Low resolution	High resolution
例 1.	DRB1*0406	*01	不一致	未検定
		*0901	不一致	未検定
		*04	一致	未検定
		*0403/06	一致	未検定
		*0407 一致	不一致	
例 2.	DPB1*0501	*0501/3801	不一致	未検定
例 3.	B*4002	*40	一致	未検定
		61	一致	未検定
		*4002/03/06	一致	未検定
		*4006	一致	不一致
例 4.	DRB3*0202	52	不一致	未検定
		+	不一致	未検定
		*01-03	不一致	未検定
		*0202/03	一致	未検定

2. アリルタイピング

クラスIに関しては、ほとんどの参加施設がHLA-A、-B、-Cタイピングを実施していたが、Low resolutionレベルでの報告が約半数を占めていた(A:45%、B:41%、C:56%)。クラスIIはHLA-DRB1タイピングを実施している61施設のうち約半数の施設がHLA-DRB3/4/5 (37施設)、-DQB1タイピング (36施設) も同時に報告していた。特にHLA-DRB1については、参加施設の約70%にあたる42施設がHigh resolutionレベルでタイピングを実施していた。

3. 方 法

表1に各施設で実施したタイピング方法を示す。更に、ローカス毎に検討すると、HLA-A、-BタイピングではPCR-SSP、-rSSO法がそれぞれ42%、25%であったが、HLA-CはPCR-SSP法が全体の85%を占めていた。市販キットはそれぞれのアリルで約70%の割合で使用されていた。HLA-DRB1アリルの検出はPCR-rSSO、-SSP、-RFLP法がそれぞれ35%、25%、21%であり、HLA-DQB1アリルも同様にPCR-RFLP、-SSP、-rSSO法がそれぞれ40%、29%、20%の割合で使用されていた。HLA-DPB1タイピングはPCR-RFLP法が全体の76%を占めていた。

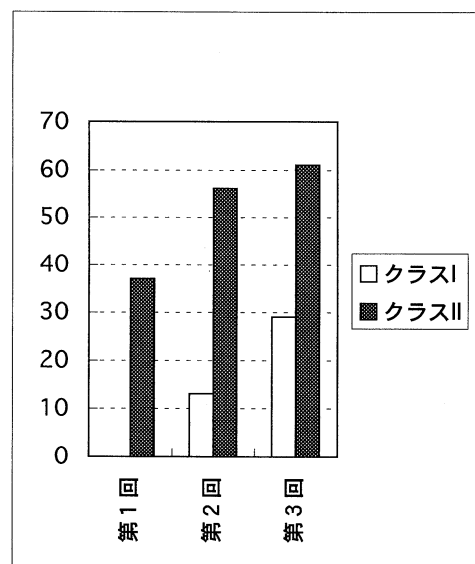


図1 QCワークショップ参加施設

4. 配付DNAサンプルのHLAアリル

6種類のDNAサンプルのHLAアリルを表2に示した。脚注に示すように一部のアリルに関してさらに詳細な報告があったので参考として付記した。

5. HLAクラスIアリル

1) HLA-Aアリル (表3)

今回配付された6種類のDNAサンプルに8種類のHLA-Aアリルが認められたが、このうちLow

表1 DNAタイピング方法

No	方法 (Class II)			(Class I)						
	DR方法(1)	DR方法(2)	DR方法(3)	DQ方法(1)	DQ方法(2)	DP方法(1)	DP方法(2)	ABC方法(1)	ABC方法(2)	ABC方法(3)
1	PCR-rSSO	PCR-SSP						PCR-SSP		
2	PCR-SSP									
3	PCR-SSP			PCR-SSP						
4	PCR-RFLP	PCR-rSSO	PCR-SSCP	PCR-RFLP	PCR-SSCP					
5	PCR-SSP			PCR-rSSO		PCR-rSSO		PCR-SSP		
6	PCR-SSP	PCR-rSSO								
7	PCR-RFLP			PCR-RFLP		PCR-RFLP				
8	PCR-rSSO									
9	PCR-RFLP	PCR-SSP		PCR-RFLP		PCR-RFLP		PCR-RFLP		
10	PCR-SSP			PCR-SSP				PCR-SSP		
11	PCR-RFLP			PCR-RFLP		PCR-RFLP				
12	PCR-SSP									
13	PCR-RFLP	PCR-SSP		PCR-RFLP	PCR-SSP					
14	PCR-RFLP	PCR-rSSO								
15	PCR-rSSO	PCR-SSP	PCR-SSCP	PCR-SSP		PCR-RFLP		PCR-rSSO	PCR-SSP	
16	SBT							SBT		
17	PCR-rSSO	PCR-SSCP								
18	PCR-rSSO							PCR-SSP		
19	PCR-SSP			PCR-SSP						
20	PCR-SSP									
21	PCR-rSSO	PCR-SSCP		PCR-rSSO	PCR-SSCP			PCR-MPH	PCR-SSCP	PCR-SSP
22	PCR-rSSO	PCR-RFLP	PCR-SSP	PCR-rSSO	PCR-RFLP			PCR-SSP		
23	PCR-RFLP	PCR-rSSO	PCR-SSCP	PCR-RFLP	PCR-SSCP	PCR-RFLP	PCR-SSCP	PCR-SSP	PCR-MPH	PCR-SSCP
24	PCR-rSSO			PCR-rSSO						
25	PCR-rSSO	PCR-RFLP	PCR-SSCP					PCR-MPH	PCR-SSCP	PCR-SSP
26	PCR-rSSO	PCR-SSP								
27	PCR-SSP			PCR-rSSO	PCR-SSP			PCR-SSP		
28	PCR-RFLP	PCR-rSSO		PCR-RFLP	PCR-SSP	GS-PCR-RFLP		GS-PCR-RFLP	PCR-RFLP	
29	PCR-SSO									
30	PCR-RFLP			PCR-RFLP		PCR-RFLP				
31	PCR-rSSO	PCR-RFLP	PCR-SSP	PCR-RFLP		PCR-RFLP	PCR-SSP	PCR-MPH	PCR-RFLP	PCR-SSP
32	PCR-rSSO	PCR-RFLP	PCR-SSCP	PCR-RFLP	PCR-SSCP	PCR-RFLP	PCR-SSCP			
33	PCR-rSSO									
34	PCR-rSSO	PCR-SSCP						PCR-SSP	PCR-MPH	
35	PCR-rSSO	PCR-SSP						PCR-SSP		
36	PCR-RFLP	SBT		PCR-RFLP		PCR-RFLP		SBT	PCR-SSP	
37	PCR-SSP									
38	PCR-SSP	PCR-RFLP		PCR-rSSO	PCR-SSP			PCR-SSP		
39	PCR-rSSO	PCR-RFLP		PCR-RFLP						
40	PCR-rSSO			PCR-rSSO				PCR-MPH		
41	PCR-SSP	PCR-rSSO		PCR-SSP						
42	PCR-rSSO							SBT		
43	PCR-rSSO	PCR-SSP		PCR-SSO						
44	PCR-SSP	PCR-rSSO								
45	PCR-rSSO	PCR-RFLP	PCR-SSCP	PCR-RFLP		PCR-RFLP		PCR-RFLP	PCR-SSP	
46	PCR-rSSO			PCR-rSSO		PCR-PHFA		PCR-MPH		
47	PCR-RFLP	PCR-rSSO	PCR-SSCP	PCR-RFLP		PCR-RFLP		PCR-MPH		
48	PCR-SSP			PCR-SSP						
49	PCR-rSSO									
50	PCR-rSSO									
51	TMA-HPA	PCR-rSSO	PCR-SSP							
53	PCR-SSO			PCR-SSO						
54								PCR-SSP		
55	PCR-rSSO	PCR-SSCP	PCR-SSP	PCR-rSSO	PCR-SSP			PCR-SSP		
56	PCR-rSSO	PCR-RFLP								
57	PCR-SSP			PCR-SSP						
58	PCR-rSSO									
59	PCR-rSSO	PCR-RFLP		PCR-RFLP		PCR-RFLP				
60	PCR-SSO			PCR-SSO		PCR-RFLP		SBT		
61	PCR-RFLP	SBT		PCR-SSO		PCR-RFLP		PCR-SSP	SBT	
62	TMA-HPA									
63	PCR-rSSO	PCR-RFLP		PCR-RFLP		PCR-RFLP		PCR-RFLP	PCR-SSP	SSCP

resolution (2桁) レベルでA11、A24、A26、A33については100%のアサインであったが、A2、A31に関してはそれぞれA2→A36、A31→blank(-)と確定できなかった施設がみられ、全体としては99%の一致率であった。High resolutionレベルではA*2602をA*2601とミスアサインされたのが2件あったが全体としては99%の一致率を示した。しかし、全体回答の中でHigh resolution (4桁) レベルで一致したのは54%と約半数であった。

2) HLA-Bアリル (表4)

HLA-Bについては11種類のアリルでの検討であった。しかし、Bアリルの場合は、アリルベースで2桁レベルで一致していても、抗原ベースで必ずしも2桁の一致とはならない特殊性が認められた。アリルベースでの2桁レベルの一致率はB*39、B*52を除いて100%であったが、抗原ベースでは使用するキットによりB*40とB*15グループのサブタイプ (B60、B61或いはB62、B71) が判定できないケースがみられた。従って、B*40、B*15に関しては、2桁レベルのタイピングに関してもHigh resolutionのタイピングが要求される。このHigh resolutionタイピングは、約58%で実施され、*4002、*5201、*1501を除いて100%の一致率であった。しかし、全体回答の中でHigh resolutionレベルで一致したのはHLA-Aと同様に57%と約半数であった。

3) HLA-Cアリル (表5)

7種類のHLA-Cアリルでの検討結果は、Low resolutionでは95%の一致率とHLA-A、Bアリルに比べて低かったが、1施設において検体取り違いなどによるミスアサインがあり、それを除けば99%の一致率であった。High resolutionタイ

ピングではCw*0401、Cw*1402では85~95%と低いものの、その他のアリルでは100%の一致率であった。しかし、全回答から見るとHigh resolutionタイピングの一致率は26%~76%、平均42%とHLA-A、Bに比べて低率であった。

クラスIアリルのLow及びHigh resolutionレベルでの全体回答の中の一致率を示した (図2)。今回は特にHLA-A、-B、-CのLow resolutionタイピングにおいて、それぞれ99%、99%、95%の高い一致率が得られた。

表2 コンセンサスHLAアリル

DNA No.	A*		B*		Cw*	
H1101	2402*	2602	4002	52011	03031	1202
H1102	0201*	0206	1301	4801	0304	0801
H1103	2601	3303	39021	4001*	0304	0702
H1104	2402*	-	3501	5401	0102	0304
H1105	1101	31012	15011	51011	0401	1402
H1106	2402*	31012	1518	51011	0704	1402

DNA No.	DRB1*		DRB3*	DRB4*	DRB5*
H1101	09012	1405	0202	0103	-
H1102	0407	12021	0301	0103	-
H1103	09012	1101	0202	0103	-
H1104	04051	1101*	0202	0103	-
H1105	0406	1401	0202	0103	-
H1106	1403	15011	0101	-	0101

DNA No.	DQA1*		DQB1*		DPA1*		DPB1*	
H1101	0104	0302	03032	05031	0103	0202	0201"	0501
H1102	03011	0601	0301	0302	0103	0201	0201"	0501
H1103	0302	0505	0301*	03032	0103	-	0201"	0301
H1104	0303	0505	0301*	0401	0103	0202	0201"	0501
H1105	0104	0301	0302	0502	0103	0202	0301	0501
H1106	0503	0505	0301*	-	0202	-	0501	-

#: A*2402101
&: A*02011
+: B*40011
\$: DRB1*11011
¥: DQB1*03011
": DPB1*02012

PEバイオシステムジャパン
PEバイオシステムジャパン
湧永製薬
住友金属
住友金属
横浜市立大学

表3 HLA-Aアレルタイピング

Lab-No	H1101		H1102		H1103		H1104		H1105		H1106	
	A(1)	A(2)	A(1)	A(2)	A(1)	A(2)	A(1)	A(2)	A(1)	A(2)	A(1)	A(2)
1	*24	*26	*02	-	*26	*33	*24	-	*11	*31	*24	*31
5	*2402	*26	*2	-	*26	*33	*2402	-	*11	*31012	*2402	*31012
9	*2402	*2602	*0201/24/26	*0206	*2601	*3303	*2402	-	*1101	*31012	*2402	*31012
10	*24	*26	*02	*02	*26	*3301/03	*24	*24	*1101-03/05	*3101/03	*24	*3101/03
15	*2402/09N	*2601/02	*0201/07/15 N/18/20/24	*0206/10/21	*2601/02	*3301/03	*2402/09N	-	*1101/03/04	*3101	*2402/09N	*3101
16	*2402101	*2602	*02011	*0206	*2601	*3303	*2402101	-	*1101	*31012	*2402101	*31012
17	*24	*2602	*0201	*0206	*2601	*33	*24	-	*11	*31012	*24	*31012
18	*24	*26	*02	*3601	*26	*33	*24	-	*11	*31012	*24	
21	*24	*2602	*02	-	*2601	*33	*24	-	*11	*31	*24	*31
22	*2402	*2601	*0201	*0206	*2601	*3303	*2402	-	*1101	*3101	*2402	*3101
23	*2402	*2602	*0201	*0206	*2601	*33	*2402	*2402	*11	*31012	*2402	*31012
25	*24	*2602	*0201	*0206	*2601	*33	*24	-	*11	*31012	*24	*31012
27	*2402-10/13	*2601-06/ 08/10-11N	*02011/02- 08/10-16/ 171-172/ 18-22/ 24- 26	-	*2601-06/ 08/10-11N	*3301/03	*2402-10/13	-	*1101-04	*31012	*2402-10/13	*31012
28	*2402	*2602	*0201	*0206	*2601	*3303	*2402	-	*1101	*31012	*2402	*31012
31	*2402	*2602	*0201	*0206	*2601	*3303	*2402	-	*1101	*31012	*2402	*31012
34	*24	*2602	*0201	*0206	*2601	*33	*24	-	*11	*31	*24	*31
35	*24	*26	*02	-	*26	*33	*24	-	*11	*31012	*24	*31012
36	*2402	*2602	*0201	*0206	*2601	*3303	*2402	-	*1101	*31012	*2402	*31012
38	*24	*26	*02	-	*26	*3301/03	*24	-	*11	*31012	*24	*31012
40	*24	*26	*2	*2	*26	*3301/03	*24	*24	*11	*31012	*24	*31012
42	*2402	*2602	*0201	*0206	*2601	*3303	*2402	-	*1101	*31012	*2402	*31012
45	*2402	*2602	*0201	*0206	*2601	*3303	*2402	-	*1101	*3101	*2402	*3101
46	*24	*2602	*0201	*0206	*2601	*33	*24	*24	*11	*31012	*24	*31012
47	*24	*2602	*0201	*0206	*2601	*33	*24	-	*11	*31012	*24	*31012
54	*24	*26	*02	*02	*26	*3301/03	*24	*24	*1101/02/03 /05	*3101/03/04	*24	*3101/03/04
55	*24	*2602	*0201	*0206	*2601	*3303	*24	-	*11	*31012	*24	*31012
60	*2402	*2602	*0201	*0206	*2601	*3303	*2402	-	*1101	*31012	*2402	*31012
61	*2402-7	*2601	*0201	*0206	*2601	*3301=3	*2402-7	*2402-7	*1101=2	*3101	*2402-7	*3101
63	*2402	*2602	*0201	*0206	*2601	*3303	*2402	-	*1101	*3101	*2402	*3101

6. HLAクラスIIアレル

1) DRB1アレル (表6)

今回のHLA-DRB1アレルは日本人に特徴的な6抗原、10アレルである。そのうちのDRB1*09、DRB1*11、DRB1*12は100%の一致率であったが、DRB1*04、DRB1*14及びDRB1*15ではDRB1*01、DRB1*09、DRB1*13等の擬陽性反応を報告した施設があった。High resolutionレベルではDRB1*04、DRB1*11、DRB1*14、DRB1*15のサブタイプであるDRB1*0403/06/07、DRB1*1101/04、DRB1*1401/07、DRB1*1501/03等の区別ができ

ない施設がみられた。全体として、Low、High resolutionレベルでの一致率は、それぞれ99%、99%であったが、全体回答中のHigh resolutionタイピングの一致率は72%であった。

一方、DRB3*、B4*、B5*アレルは、DRB1回答数の約60%でタイピングされ、2桁レベルでは90%の一致率であったが、High resolutionレベルでの全回答中での一致率は38%であった(表7)。

2) DQA1, DQB1アレル (表8、表9)

DQB1アレルタイピングに関してはLow、High resolution共に99%、99%の高率であったが、全体で

表4 HLA-Bアリルタイピング

Lab-No	H1101		H1102		H1103		H1104		H1105		H1106	
	B(1)	B(2)	B(1)	B(2)	B(1)	B(2)	B(1)	B(2)	B(1)	B(2)	B(1)	B(2)
1	*40	*52	*13	*48	*39	*40	*35	*54	*15	*51	*15	*51
5	*61	*5201	*1301	*4801	*3902	*4001	*35	*5401	*1530(75)	*51	*1510/18/37	*51
10	*40	*5201	*1301-03	*4801/03/04	*39	*4001/07/10	*35	*5401	*15	*51	*15	*51
15	*4002/03/08/09	*5201	*1301	*4801	*3902/08	*4001/07	*3501/03/07/11/+	*5401	*1501/04/07/12	*5101/03/07/11N	*1510/18	*5101/03/07/11N
16	*4002	*52011			*39021	*40011/40012	*3501	*5401	*15011/08/24	*51011/*52012/*78022	*1518	*51011
17	*4002	*52	*13	*48	*3902	*4001	*35	*5401	*1501	*51	*1518	*51
18	*40	*4013	*13	*48	*39	*40	*35	*54	*15	*51	*15	*51
21	*4000	*52	*13	*48	*3902	*60	*35	*54	*1501	*51	*1518	*51
22	*4002	*5201	*1301	*4801	*3902	*4001	*3501	*5401	*1501	*5101	*1518	*5101
23	*4002	*5201	*1301=2	*4801	*3902	*4001	*35	*5401	*1501	*5101	*1518	*5101
25	*4002	*52	*13	*48	*3902	*4001	*35	*5401	*1501	*51	*1518	*51
27	*4002/03	*5201	*1301/04	*4801	*3902	*40011-012/07	*3501/03/07/11/15/17/20-21	*5401	*1501/04/07/12/14/19/26N/27/32-35/38	*51011-012/03/07/11N	*1510/18/37	*51011-012/03/07/11N
28	*4002	*52011	*1301	*4801	*3902	*4001	*3501	*5401	*1501	*51011	*1518	*51011
31	*4002	*52011	*1301	*4801	*3902	*4001	*3501	*5401	*1501	*5101	*1518	*5101
34	*4002	*52	*13	*48	*39	*4001	*35	*54	*62	*51	*1509/10/18	*51
36	*4002	*52011	*1301	*4801	*39021	*4001	*3501	*5401	*15011	*51011	*1518	*51011
38	*61	*5201	*1301	*4801	*3902	*40011/12	*35	*5401	*62	*51	*71	*51
40	*61	*52	*1301/02	*4801/03	*4801/03	*4001	*35	*5401	*15	*51	*15	*51
42	*4002	*52011	*1301	*4801	*39021	*4001	*3501	*5401	*15011	*51011	*1518	*51011
45	*4002	*5201	*1301	*4801	*3902	*4001	*3501	*5401	*1501	*5101	*1518	*5101
46	*4002	*5201	*13	*48	*3902	*40011	*35	*5401	*1501	*5101	*1518	*5101
47	*4002	*5201	*1301	*4801	*3902	*4001	*35	*5401	*1501	*51	*1518	*51
54	*4002/06/08/09/11/16	*52011/012	*1301/02/03	*4801/03/04	*39	*40011/012/07/10	*35	*5401	*15(62)	*51	*1510/18/29/37	*51
55	*4002	*52	*1301	*4801	*39	*4001	*35	*5401	*1501	*51	*1518	*51
60	*4002	*52011	*1301	*4801	*39021	*4001	*3501	*5401	*1501	*5101	*1518	*5101
61				*4801								
63	*4002	*52011	*1301	*4801/4	*39021	*4001	*35	*5401	*15(62)	*51	*1518	*51

見るとHigh resolutionレベルの一致率は74%であった。一方、DQA1 アリルに関してもLow resolutionレベルでは、99%と高率であったが、High resolutionレベルでは72%と一致率が低く、特にDQA1*0505は一致率19%と低率であった。DQA1*0505はDQA1*05011のnucleotide position 31 (Exon 1) のGがT、582 (Exon 3) のCがAに置換しているのみであり、一般的にはDRB1*11と強い連鎖が示唆されている。今後、これらのプライマー等を追加して検討していかなければならないだろう。

3) DPB1アリル (表10)

DPB1タイピングに関しては日本人によくみられ

る3種類のアリル (DPB1*0201、DPB1*0301、DPB1*0501) でLow、High resolution共に約90%の一致率であった。

クラスIIタイピングの一致率をまとめたのが図3～図4で、クラスI同様にLow resolutionレベルでの一致率は全て90%以上であった。

考 察

本年も、昨年に引き続き第3回のHLA-DNAクオリティコントロール (QC) ワークショップを開催した。今回から、学会 (標準化委員会) 主導のワークショップとし、将来標準DNAとして利用できるような十分量のDNAの配付を心掛けた。その結果、多く

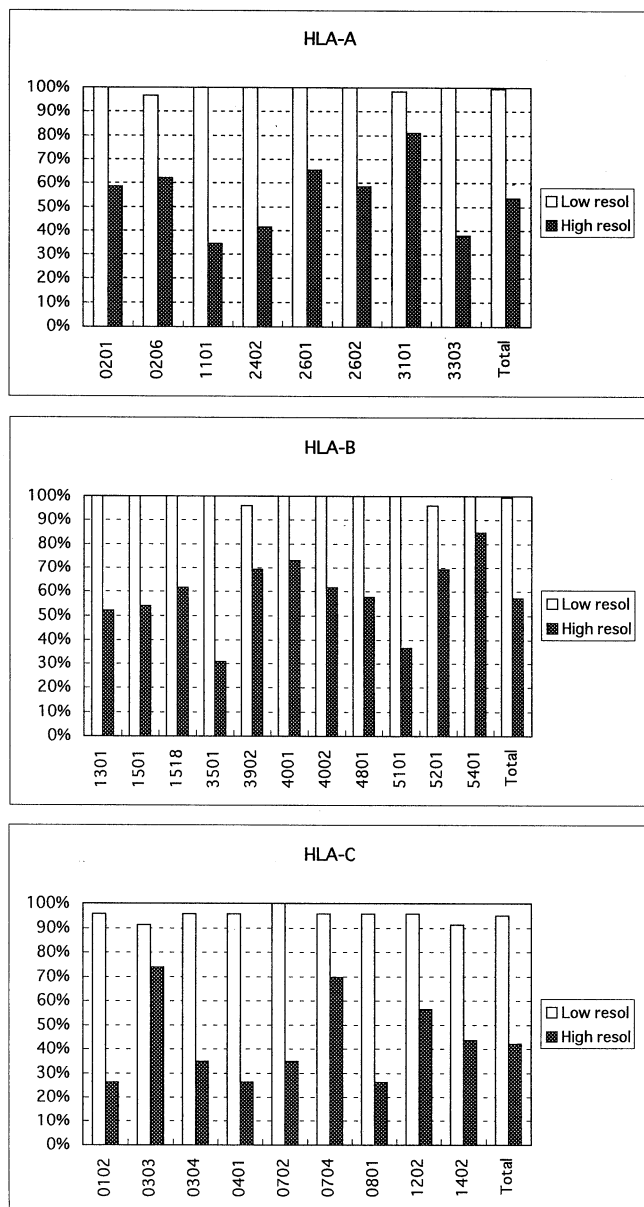


図2 HLAクラスI アリル一致率

のローカスをタイピングすることが可能になり、本年は総参加施設は、昨年と同程度であったが、HLA-A、B、Cアリルの検査をした施設は昨年に比べて約2倍となった。また、タイピングキットの精度管理も同時に行えるように、キット使用施設にはスコア化した生データの回答をお願いした。キット別の検討結果は、別稿にて報告されているので参照していただきたい。

タイピング精度については、Low resolutionレベルでは、全てのローカスについて、一部の施設を除いて概ね100%の一致率であった。間違いが認めら

れたのは、検体取り違いまたは転記ミスによるもの、その他は、一部キットに特有のプロブまたはプライマーの反応ミスによるものである。特に、DRB1のミスタイピングは致命的であるので、DRB3/4/5またはDQB1のタイピングを同時に行い、連鎖不平衡によりDRB1タイピングの整合性をみるか、原理のことなる他の方法でDRB1タイピングを実施することが望まれる。そのためにも、日本人によく観察されるアリル、ハプロタイプの理解が必要である。High resolutionによる間違いは、主に表記ミスによるものであり、本来アリルグループとしてしかタイピングできないものを、その一部のアリルとして確定し、報告したものである。例えば、あるキットでは、DRB1*0401/03/04/06/07のアリルグループしかタイプできないのに、その一部のアリルであるDRB1*0403などと確定して報告するミスである。4桁レベルの報告をするためには、これらのアリルを区別するHigh resolutionの方法を追加して行わなければならない。

今回のワークショップで、HLA-B、Cアリルの表記について、一部では抗原表記で報告した施設があった。具体例を挙げると、B*4002アリルの表記は、Low resolutionレベルでは、B*40、B*4002/03/06、B*61、B61とアリル表記と抗原表記またはそのミックスのものが認められた。今後、クラスI抗原のDNAタイピングが普及するにつれて、これらの表記は、とくに非血縁者間移植でのドナーまたはレシピエント候補者の検索アルゴリズムを作成するうえで重要な問題となる。骨髓、臓器移植ネットワークでの早急な検討が望まれるが、本学会としても統一した見解を表明する必要がある。

学会としては、本QCワークショップを通じて、1) 標準DNAの配付と維持保管、2) 表記法の統一見解、3) 日本人アリル、ハプロタイプの情報提供等を中心に、HLAに関する情報、知識ならびにタイピング技術の向上を計っていく所存である。

文 献

1. 小林 賢、猪子英俊、大谷文雄、木村彰方、徳永勝士、前田平生：第6回日本組織適合性学会大会QCワークショップ報告. MHC, 4:34-43, 1997.

表5 HLA-Cアレルタイピング

Lab-No	H1101		H1102		H1103		H1104		H1105		H1106	
	C(1)	C(2)	C(1)	C(2)	C(1)	C(2)	C(1)	C(2)	C(1)	C(2)	C(1)	C(2)
5	*03031	*12	*03	*08	*03	*7	1	10	*0403	*12	*07	*14
10	*0303	*1202	*03	*0801-04	*03	*0702-03	*0102-03	*0303	*04	*14	*0704	*1402
15	*0303	*1202/03/04	*0302/04	*08	*0302/04	*0701/02/03/05/06/08/+	*0102/03	*0302/04	*0401/02/04	*1402/03	*0704	*1402/03
17	9	*12	10	8	10	7	1	10	4	*14	*0704	*14
18	*0303	*1202	*03	*08	*03	*0702	*01	*03	*04	*14	*0704	*07
21	*15	*12	*0302/4	*08	*0302/4	*07	*0102/3	*0302/4	*04	*1402	*0704	*1402
22	*0303	*1202	*0304	*0801	*0304	*0702	*0102	*0304	*0401	*1402	*0704	*1402
23	*0303	*1202	*0304	*0801	*0304	*0702	*01	*0304	*04	*1402	*0704	*1402
25	*0303	*1202	*0304	*08	*0304	*07	*0102	*03	*0401	*14	*0704	*14
27	*03031	*12021-022/03/041-042	*0302/041-042	*0801-04	*0302/041-042	*0701-03/05-06/08	*0102-03	*0302/041-042	*04011-012/02-04	*1402-03	*0704	*1402-03
28	*0303	*1202	*0304	*0801	*0304	*0702	*0102	*0304	*0401	*1402	*0704	*1402
31	*0303	*1202	*0304	*0801	*0304	*0702	*0102	*0304	*0401	*1402	*0704	*1402
34	*03	*12	*03	*08	*03	*07	*01	*03	*04	*14	*07	*14
35	*0303	*1202	*03	*08	*03	*07	*01	*03	*04	*14	*07	*14
36	*03	*12	*03	*08	*03	*07	*01	*03	*04	*14	*07	*14
38	*0303	*1202/03	*0302/04	*08	*0302/04	*07	*0102/03	*0302/04	*04	*1402/03	*07	*1402/03
42	*0303	*1202	*0304	*0801	*0304	*0702	*0102	*0304	*0401	*1402	*0704	*1402
45	*0303	*1202	*0304	*08	*0304	*0702	*01	*0304	*04	*1402	*0704	*1402
47	*03031	*12	*0302/04	*08	*0302/04	*07	*0102/03	*0302/04	*04	*1402	*0704	*1403
54	*03031/032	*12021/022	*0302/041-06/08/09	*0801-04	*0302/04/06/08/09	*0702/03/10	*0102/03	*0302/04/06/08/09	*04	*14	*0704/11/12	*14021/022
55	*0303	*1202	*0302/4/5/6/8/9	*0801/2/3	*0302/4/5/6/8/9	*0702/3	*0102/3	*0302/4/5/6/8/9	*0401/3/5	*1402/3	*0704	*1402
60	*0303	*1202	*0304	*0801	*0304	*0702	*0102	*0304	*0401	*1402	*0704	*1402
61	*0102	*0302-4	*0401-2	*1402-3	*0704	*0704	*0303	*1202	*0801-3	*0302-4	*0302-4	*0702

2. 小林 賢、猪子英俊、成瀬妙子、柏瀬貢一、木村彰方、徳永勝士、斎藤 敏、佐田正晴、橋本光男、小河原悟、前田平生：第7回日本組織適合性学会大会QCワークショップ報告。MHC, 5:107-121, 1998.

3. 柏瀬貢一、小林 賢、猪子英俊、成瀬妙子、木村彰方、徳永勝士、斎藤 敏、佐田正晴、橋本光男、小河原悟、前田平生：第7回日本組織適合性学会大会QCワークショップ報告ークラス I DNA タイピングについて。MHC, 5:122-126, 1998.

参加施設名

継続参加：医療法人立川MC立川総合病院、検査科；国立循環器病センター、臨床検査部；福岡赤十字病院、検査部；京都府赤十字血液センター、検査2課；株式会社ベリタス、技術サービスチーム；自

治医科大学、輸血部；(株)三菱化学ビーシーエル、検査第二部凝固細胞性免疫；東京大学大学院医学系研究科、人類遺伝学教室；住友金属株式会社、バイオメディカル事業部診断薬室；住友金属バイオサイエンス、細胞分子生物課遺伝子；防衛医科大学校病院、検査部研究室；名古屋第二赤十字病院、組織適合検査センター；東京医科歯科大学難治疾患研究所、成人疾患研究部門分子病態分野；愛知県赤十字血液センター、検査2課；島田記念病院、検査科；香川県立中央病院、検査科血清検査室；山口県赤十字血液センター、検査課；福岡大学病院、第二内科2研；岡山県赤十字血液センター、検査課；石川県赤十字血液センター、検査課；宮城県赤十字血液センター、検査課；富士重工業健康保険組合総合太田病院、臨床検査科；大阪府立病院、組織適合性検査室；シオノギ製薬株式会社、診断医学事業部；大日

表6 DRB1アレルタイピング

Lab-No	継続 新規	H1101		H1102		H1103		H1104		H1105		H1106	
		DRB1(1)	DRB1(2)	DRB1(1)	DRB1(2)	DRB1(1)	DRB1(2)	DRB1(1)	DRB1(2)	DRB1(1)	DRB1(2)	DRB1(1)	DRB1(2)
1	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*11	*0405	*11	*0406	*1401	*1403	*15
2	継続	*0901	*14	*04	*12	*0901	*11	*04	*11	*04	*14	*14	*15
3	継続	*09	*14	*04	*12	*09	*11	*04	*11	*04	*14	*14	*15
4	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
5	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
6	継続	*0901	*14	*04	*12	*0901	*11	*04	*11	*04	*14	*14	*15
7	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
8	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
9	継続	*0901.2	*1405	*0407	*1202.1	*0901.2	*1101.1	*0405.1	*1101.1	*0406	*1401	*1403	*1501.1
10	新規	*0901	*14	*04	*1202	*0901	*11	*04	*11	*04	*14	*14	*15
11	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501/03
12	新規	*09	*1405	*04	*12	*09	*11	*04	*11	*04	*1401	*1403	*15
13	継続	*0901.2	*1405	*0407	*1202	*0901.2	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501/3
14	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
15	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
16	新規	*0901.2	*1405	*0407	*1202.1	*0901.2	*1101.1/05/30	*0405.1	*1101.1/05/30	*0406	*1401/10	*1403	*1501.1
17	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
18	継続	*0901	*14	*04	*12	*0901	*11	*04	*11	*04	*14	*14	*1501
19	新規	*09	*14	*04	*12	*09	*11	*04	*11	*04	*14	*14	*15
20	継続	*0901.2	*1405	*0407	*1202.1	*0901.2	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
21	継続	*0901	*1405	*0407	*12	*0901	*11	*0405	*11	*0406	*1401	*1403	*1501
22	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
23	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
24	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
25	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
26	継続	*09	*14	*04	*12	*09	*11	*04	*11	*04	*14	*14	*15
27	継続	*0901.2	*1405	*0407	*1202	*0901.2	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
28	継続	*0901	*1405	*0407	*1202.1	*0901	*1101	*0405.1	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
29	継続	*0901	*1405	*04	*1202	*0901	*1101	*04	*1101	*04	*1401/07	*1403	*1501
30	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
31	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
32	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
33	新規	*09	*14	*04	*12	*09	*11	*04	*11	*04	*14	*14	*15
34	新規	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
35	継続	*0901.2	*14	*04	*1202	*0901.2	*11	*04	*11	*04	*14	*14	*15
36	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
37	継続	*09	*14	*04	*12	*09	*11	*04	*11	*04	*14	*14	*15
38	継続	*0901.2	*1405	*0407	*1202	*0901.2	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
39	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
40	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
41	新規	*09	*14	*04	*12	*09	*11	*04	*11	*04	*14	*1403	*15
42	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
43	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
44	継続	*0901	*1405	*04(03/07)	*1202	*0901	*11(01/04)	*04(05/10)	*11(01/04)	*0406	*14(01/07)	*1403	*1501
45	新規	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
46	継続	*0901.2	*1405	*0407	*1202	*0901.2	*1101	*0405.1	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
47	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
48	継続	*09	*14	*04	*12	*09	*11	*04	*11	*04	*14	*14	*15
49	継続	*0901	*1405	*0405	*1203	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
50	新規	*0901	*1405/	*0403/	*1201/2	*0901	*1101/	*0405/10	*1101/	*0403/	*1401/	*1403/12	*15
51	新規	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
53	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0403/6	*1401	*1403	*1501/3/4/5
55	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
56	継続	*0901	*1405	*0403	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
57	継続	*09	*14	*04	*12	*09	*11	*04	*11	*04	*14	*14	*15
58	継続	*0901	*1405/	*0403/	*1201/	*0901	*1101/	*0405/	*1101/	*0403/	*1401/	*1403/	*1501/
59	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
60	継続	*0901	*1405	*0407	*1202	*0901	*1101	*0405.1	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
61	継続	*0901.2	*1405	*0407	*1202.1=2	*0901.2	*1101.1	*0405	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501
62	継続	*0901	*1405	*0401/03/04/06/07	*1202	*0901	*1101	*0405/10	*1101	*0401/03/04/06/07	*1401/07	*1403	*1501/02
63	継続	*0901.2	*1405	*0407	*1202.1	*0901.2	*1101	*0405.1	*1101	*0406	*1401	*1403	*1501

表7 drb3-b5アレルタイピング

Lab-No	H1101		H1102		H1103		H1104		H1105		H1106	
	DRB3	DRB4	DRB3	DRB4	DRB3	DRB4	DRB3	DRB4	DRB3	DRB4	DRB3	DRB5
1	*02	*01	*0301	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*01	*0101	*0101
4	*0202	*0103	*0301	*0103	*0202	*0103	*0202	*0103	*0202	*0103	*0101	*0101
5	*0202	*01	*0301	*01	*0202	*01	*0202	*01	*0202	*01	*0101	*0101
6	*02	*01	*0301	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*01	*0101	*0101
13	*0202		*0301		*0202		*0202		*0202		*0101	
15	*0202	*01	*0202	*01	*0202	*01	*0202	*01	*0202	*01		*0101
16	*0202	*01011/0103 101/01032/0 201N	*0301	*01011/0103 101/01032/0 201N	*0202	*01011/0103 101/01032/0 201N	*0202	*01011/0103 101/01032/0 201N	*0202	*01011/0103 101/01032/0 201N	*01011/0101 2/0102/0104	*01011
18	*02	*01	*0301	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*01	*0101	*0101
22	*0202	*0103	*0301	*0103	*0202	*0103	*0202	*0103	*0202	*0103	*0101	*0101
23	*0202		*0301	*0103	*0202		*0202	*0103	*0202	*0103	*0101	*0101
25	*01-03	*01	*01-03	*01	*01-03	*01	*01-03	*01	*01-03	*01	*01-03	*01-02
26	*02	*01	*0301	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*0101
27	*0202	*01	*0301	*01	*0202	*01	*0202	*01	*0202	*01	*0101	*01/02
28	*0202	*0103	*0301	*0103	*0202	*0103	*0202	*0103	*0202	*0103	*0101	*0101
29	*0202	*01	*0301	*01	*0202	*01	*0202	*01	*0202	*01	*0101	*0101
31	*0202	*0103	*0301	*0103	*0202	*0103	*0202	*0103	*0202	*0103	*0101	*01011
32	*0202	*01	*0301	*01	*0202	*01	*0202	*01	*0202	*01	*0101	*0101
33	*02	*01	*03	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*01	*01	*01
34	*02	*01	*0301	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*01	*0101	*0101
35	*02	*01	*0301	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*01	*0101	*01
36	*0202	*0101/03	*0301	*0101/03	*0202	*0101/03	*0202	*0101/03	*0202	*0101/03	*0101	*0101
37	52	53	52	53	52	53	52	53	52	53	52	54
38	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
43	*02	*01	*03	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*01	*01	*01
44	*02	*01	*03	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*01	*01-03	*0101
48	*01/02	*01	*01/03	*01	*02	*01	*02	*01	*01/02	*01	*01/02	*01/02
49	*02	*01	*0301	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*01	*0101	*0101
50	*0201/	*0101/	*0301	*0101/	*0201/	*0101/	*0201/	*0101/	*0201/	*0101/	*0101	*0101
51	*0201-0204	*0101-0103	*0301	*0101-0103	*0201-0204	*0101-0103	*0201-0204	*0101-0103	*0201-0204	*0101-0103	*0101	*0101/04
53	*0202/3	*01	*0301	*01	*0202/3	*01	*0202/3	*01	*0202/3	*01	*0101	*0101
55	*02	*01	*0301	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*01	*0101	*0101
56	*0202	*01	*0301	*01	*0202	*01	*0202	*01	*0202	*01	*0101	*0101
58	*0201/	*0101/	*0301	*0101/	*0201/	*0101/	*0201/	*0101/	*0201/	*0101/	*0101	*0101/
59	*02	*01	*03	*01	*02	*01	*02	*01	*02	*01	*01	*01
60	*0202		*0301	*0103	*0202		*0202	*0103	*0202	*0103	*0101	*0101
61	*0202	*0101=3				*0101=3						
63	*02	*01	*0301	*01	*02	*01	*02	*01	*0202	*01	*0101	*0101

本製薬株式会社、ラボラトリープロダクツ部学術2課；関西医科大学病院、輸血部；長野赤十字血液センター、検査部検査2課；横浜市立大学医学部附属病院、輸血部；東京大学医学科学研究所、臓器移植生理学研究部；株式会社エスアールエル、免疫血清部血液凝固課；富山県赤十字血液センター、製剤課検査係；長崎県赤十字血液センター、検査課；京都府

立医科大学附属病院、腎移植センター；虎の門病院、輸血部；日赤中央血液センター、検査三課；国立佐倉病院、HLA検査室；北里大学、医学部免疫学；湧永製薬株式会社、創薬研究所バイオ診断研究室；北海道赤十字血液センター、検査部検査二課；山形県立中央病院、輸血部；仙台社会保険病院、腎センター研究室；鹿児島大学医学部、ウイルス学；埼玉

表8 DQA1アレルタイピング

Lab-No	H1101		H1102		H1103		H1104		H1105		H1106	
	DQA1(1)	DQA1(2)	DQA1(1)	DQA1(2)	DQA1(1)	DQA1(2)	DQA1(1)	DQA1(2)	DQA1(1)	DQA1(2)	DQA1(1)	DQA1(2)
4	*01	*03	*03	*0401	*03	*0501	*03	*0501	*01	*03	*0501	-
9	*0101/04/05	*03011/02/03	*03011/02/03	*0601	*03011/02/03	*0501/03/05	*03011/02/03	*0501/03/05	*0101/04/05	*03011/02/03	*0501/03/05	-
13	*0104	*03	*03	*0601	*03	*0501	*03	*0501	*0104	*03	*0503	*0501
22	*0104	*0302	*0301	*0601	*0302	*05013	*0302	*05013	*0104	*0301	*0503	*05013
23	*01	*03	*03	*06	*03	*05	*03	*05	*01	*03	*05	*05
28	*0104	*0302	*03011	*0601	*0302	*0505	*0303	*0505	*0104	*03011	*0503	*0505
31	*0104	*0302	*03011	*0601	*0302	*0501=5	*0303	*0501=5	*0104	*03011	*0503	*0501=5
43	*01	*03	*03	*06	*03	*05	*03	*05	*01	*03	*05	-
60	*0104	*0302	*0301	*0601	*0302	*0501	*0303	*0501	*0104	*0301	*0503	*0501
61	*01	*03	*03	*0601	*03	*0501	*03	*0501	*01	*03	*0501	*0501
63	*0101/4/5	*03	*03	*0601	*03	*0501/3	*03	*0501/3	*0101/4/5	*03	*0501/3	-

表9 DQB1アレルタイピング

Lab-No	H1101		H1102		H1103		H1104		H1105		H1106	
	DQB1(1)	DQB1(2)	DQB1(1)	DQB1(2)	DQB1(1)	DQB1(2)	DQB1(1)	DQB1(2)	DQB1(1)	DQB1(2)	DQB1(1)	DQB1(2)
3	*03	*05	*03	-	*03	-		*04	*03	*05	*03	-
4	*03032	*05031	*0301	*0302	*0301	*03032	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
5	*03032	*05031	*0301	*0302/07	*0301	*03032	*0301	*0401	*0302/07	*0502	*0301	-
7	*0303	*05031	*0301	*0302	*0301	*0303	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	*0301
9	*03032	*05031	*0302, *03011	or*03032, *0304	*03011	*03032	*03011	*0401	*0302	*0502	*03011	-
10	*03	*05	*03	*03	*03	*03	*0301	*04	*03	*05	*03	*03
11	*0303	*05031	*0301	*0302	*0301	*0303	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
13	*0303	*0503	*0301	*0302	*0301	*0303	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
15	*0303/6	*05	*0301/04	*0302/05/07/08	*0301/04	*0303/06	*0301/04	*0401/02	*0302/05/07/08	*05	*0301/04	-
19	*03	*05	*03	*03	*03	*03	*03	*04	*03	*05	*03	*03
21	*0303	*05	*0301	*0302	*0301	*0303	*0301	*04	*0302	*05	*0301	-
22	*03032	*05031	*0301	*0302	*0301	*03032	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
23	*0303	*0503	*0301	*0302	*0301	*0303	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	*0301
24	*0303	*0503	*0301	*0302	*0301	*0303	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
27	*03032	*05031	*0301	*0302	*0301	*03032	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
28	*03032	*05031	*0301	*0302	*0301	*03032	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
30	*0303	*05031	*0301	*0302	*0301	*0303	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	*0301
31	*03032	*05031	*0301	*0302	*0301	*03032	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
32	*03032	*05031	*0301	*0302	*0301	*03032	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
36	*0303	*05031	*0301	*0302	*0301	*0303	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
38	*03032/06	*05031	*0301	*0302/07	*0301	*03032/06	*0301	*0401	*0302/07	*0502	*0301	-
39	*03032	*05031	*0301	*0302	*0301	*03032	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
40	*03	*05	*0301	*03	*0301	*03	*0301	*04	*03(not 0301)	*05	*0301	*03
41	*03	*05	*03	-	*03	-	*03	*04	*03	*05	*03	-
43	*0303	*0503	*0301	*0302	*0301	*0303	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	*0602
45	*0303	*0503	*0301	*0302	*0301	*0303	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
46	*03	*05	*0301	*03	*0301	*03	*0301	*04	*03	*05	*03	*0301
47	*03032	*05031	*0301	*0302	*0301	*03032	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
48	*03	*05	*0301	*0302	*0301	*0303	*03	*04	*03	*05	*03	-
53	*03032	*05031	*0301	*0302	*0301	*03032	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
55	*03032	*05031	*0301	*0302	*0301	*03032	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
57	*03	*05	*03	*03	*03	*03	*03	*04	*03	*05	*03	-
59	*0303	*0503	*0301	*0302	*0301	*0303	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	*0301
60	*0303	*0503	*0301	*0302	*0301	*0303	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-
61	*0303	*0503	*0301	*0302	*0301	*0303	*0302	*0201	*0301	*0502	*0301	*0301
63	*03032	*05031	*0301	*0302	*0301	*03032	*0301	*0401	*0302	*0502	*0301	-

表10 DPB1アレルタイピング

Lab-No	H1101		H1102		H1103		H1104		H1105		H1106	
	DPB1(1)	DPB1(2)	DPB1(1)	DPB1(2)	DPB1(1)	DPB1(2)	DPB1(1)	DPB1(2)	DPB1(1)	DPB1(2)	DPB1(1)	DPB1(2)
5	*1601	*0501/3801		*0501/3801	*1601/2001	*0301/0801	*1601	*0501/3801	*0301	*0501/3801	*0501/3801	-
7	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	*0501
9	*02012/013	*0501	*02012/013	*0501	*02012/013	*0301	*02012/013	*0501	*0301	*0501	*0501	-
11	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	-
15	*0201/3201/4101/7101	*0501/3801	*0201/3201/4101/7101	*0501/3801	*0201/3001/4101/7101	*0301/6101N/7801	*0201/3201/4101/7101	*0501/3801	*0301/6101N/7801	*0501/3801	*0501/3801	-
23	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	*0501
28	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	-
30	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	*0501
31	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	-
32	*02012	*0501	*02012	*0501	*02012	*0301	*02012	*0501	*0301	*0501	*0501	-
36	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	-
45	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	*0201
46	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	*0501
47	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	-
59	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	*0501
60	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	-
61	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	*0501
63	*0201	*0501	*0201	*0501	*0201	*0301	*0201	*0501	*0301	*0501	*0501	-

医科大学総合医療センター、輸血部；東京女子医科大学、腎センター；市立札幌病院、HLA検査室；新潟県立中央病院、検査科；（株）ビーエムエル川越総合研究所、試験検査部；兵庫県立西宮病院、腎移植センター；東海大学医学部、分子生命科学系遺伝情報部門；中外診断科学株式会社、研究担当；愛媛県立衛生研究所、疫学情報科

新規参加：大阪市立大学医学部附属病院、輸血部；高知県立中央病院、癌研究所；PEバイオシステムズジャパン株式会社、東京フィールドアプリケーション；大分県立病院、中央検査部；鷹揚郷腎研究所弘前病院、臨床検査部HLA検査室；京都府赤十字血液センター、研究部研究課；県立広島病院、臨床研究検査科；大阪府赤十字血液センター、検査二課；岩手医科大学附属病院、中検生化学検査室；福島県立医科大学附属病院、輸血移植免疫部；（株）メディカルアクセス

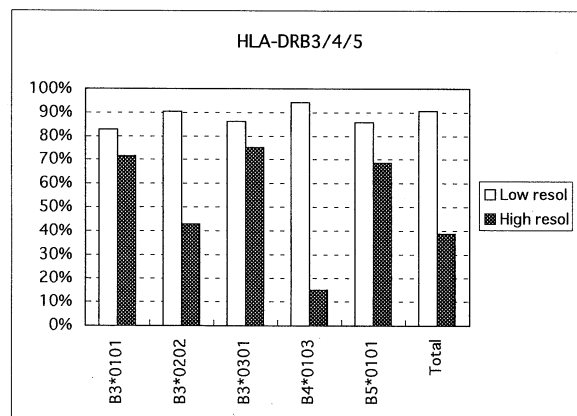
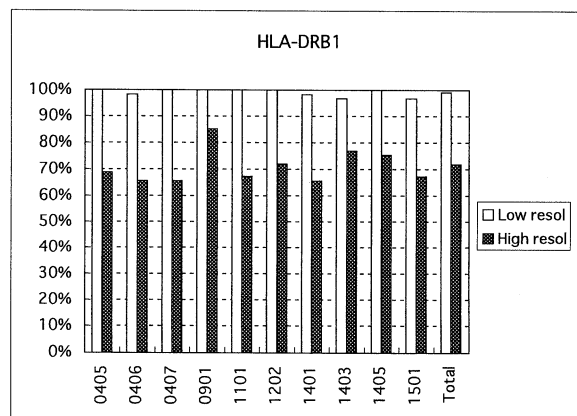


図3 HLAクラスIIアレル一致率

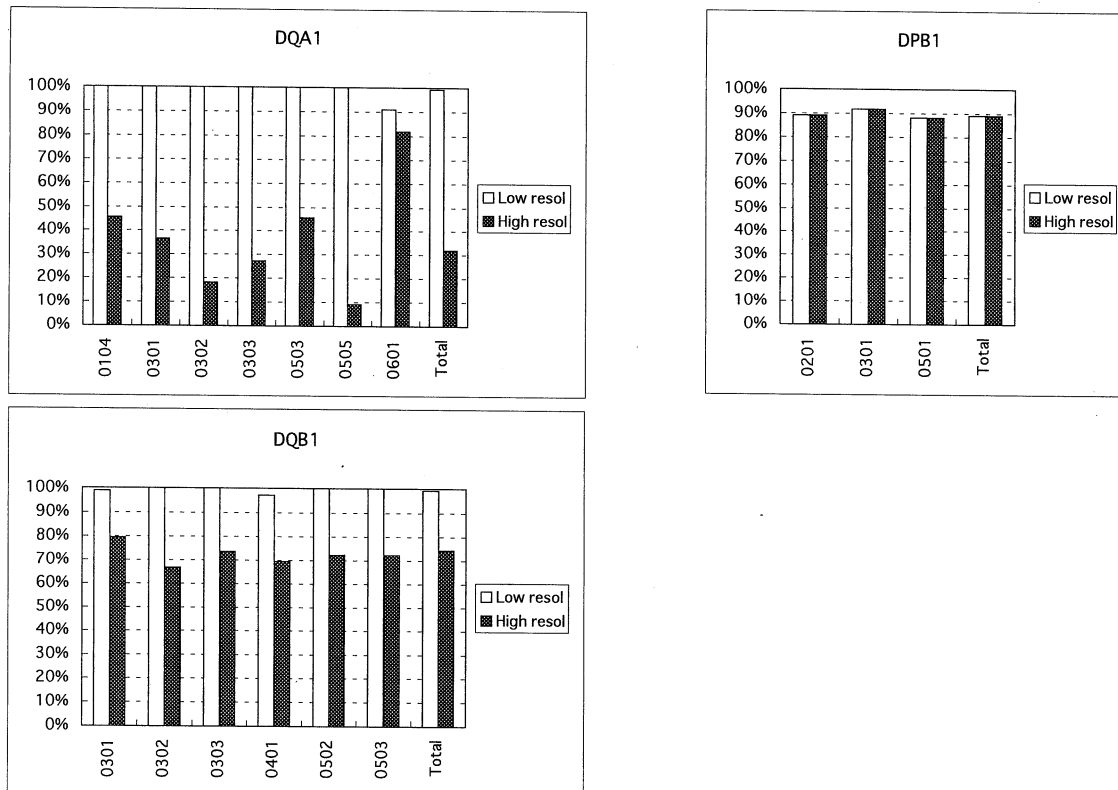


図3 HLAクラスIIアレル一致率

DYNAL-SSP, Unitray, INNO-LiPAの解析

平田蘭子、大久保光夫、前田平生

埼玉医大総合医療センター，輸血部

キット名：構成：解析検体数：結果

1) DYNAL SSP-DR low resolution：24プライマー：64検体

12施設から提出された64反応データを表1に示した。上段に24種類のプライマーの主な反応パターンと増幅産物のサイズを記載したが、#1105、#1106を*01,*0901、#1106の*1403を15、16番プライマーのエキストラ反応から*13とした結果報告があった。

2) DYNAL SSP-A low resolution：24プライマー：18検体

3施設のデータから、反応、判定がすべて一致した。

3) DYNAL SSP-B low resolution：48プライマー：12検体

2施設のデータから、ロットの違いでプライマーに変更があり反応パターンが異なるが判定は一致した。

4) DYNAL SSP-C low resolution：18プライマー：12検体

2施設のデータから、反応、判定がすべて一致し

た。

5) DYNAL SSP-high resolution

4 桁のタイピングが可能なSSPキットで、A2、A9、A10、A19、B40、DRB1*08/12キットについては各1施設からのみのデータと、DRB1*11が2施設、DRB1*14*が2施設、DRB1*04*が3施設からデータが提出され、それぞれ良好な反応、判定結果が得られていた。

6) ABC SSP Unitray : 9 5 プライマー (A : B : C = 24 : 48 : 23) : 3 0 検体

9 6 穴プレートタイプのSSPキットで、5施設からのデータが提出された。

Aでは、#1102がA*3601プライマー (16番) に反応した結果が1施設、#1103で6番にエキストラ反応が1施設にみられた。#1105で18番、#1106で1 2 番、2 1 番のプライマーに未反応が各1施設あった。

Bでは、ロット毎にプライマーに変更があるため個別データで確認したところ、1施設でB*5201の反応はあるが*4013とタイプされ、1施設で2 5 番のプライマーにエキストラ反応がみられた。

Cでは、#1102で8 4 番、#1105で9 0 番のプライマーに未反応が1施設あったが、判定結果は一致していた。

7) INNO-LiPA DQB : 2 1 プローブ : 1 8 検体

DQ-genericのPCR増幅後、リバープラインプローブとのハイブリダイゼーション (rSSO) により検出されるキットで、3施設のデータで反応がすべて一致した。

8) INNO-LiPA DPB : 2 4 プローブ : 1 2 検体

前記と同タイプのキットで、2施設のデータが提出されたが、表2に示すように異なる判定結果であった。1施設で7番プローブが未反応であることから#1101、#1103、#1104の*0201が*1601とミスタイプされ、#1102は*0201が未反応であった。

考察

方法1から5まではプライマーのみのキットで、増幅用試薬、電気泳動用試薬等は自家調整が必要となる。6はプレートにプライマーが分注されており増幅試薬にDNAとTaqポリメラーゼを加え、ウェルに分注後トレーのまま増幅を行い、電気泳動で判定するものである。7、8はrSSO法で全試薬がキットに含まれている。

今回のDNAは2OD以上の濃度で配布された。いくつかの方法で添付使用書の用量で増幅したところ、そのままのDNAでは増幅されず2から4倍希釈のDNAで増幅された検体があった。ミスタイプのあった施設に問い合わせたところ、増幅を行う前にDNAの濃度については考慮せずに扱っており、不完全な増幅も考えられた。

現在でも、次々と新しいアリルが報告されており、各試薬でロット毎にプローブ、プライマーの差し替えがある。判定表にも変更が追加されるため継続してデータを管理するのが困難であるが、血清学と同様にできるだけ過去のデータの反応性と比較して判定を行う必要がある。また、キット毎にプローブ、プライマーの設定が異なるため判定結果の記載が異なる。4桁の確定ができない場合の表記、特にクラスIでは2桁表記にすると血清学の親抗原タイプになってしまい、区別されていても同タイプと判定されることになる。アリルの頻度、血清学的タイプとの整合性など、試薬、方法、検査実施施設などが異なっても、検査結果について混乱しないよう最新の情報提供、表記の統一などが望まれる。

表1 dnal/ssp-dr low (A764)

SSP-DR*Low (A764)		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	31	32	33										
bp		195	195	210	215	220	80	85	260	185	160	215	195	205	165	105	200	195	175	200	145	150	170	230	200	260									
*01	0101/2/4	1	2																																
	0103																																		
*15	1501/2/3/4/5/6			3																															
*16	16011-1608				4																														
*03	03011/4/5/6/9/11					5	6												17																
	03021/0303					5		7											17																
*04	0401-14/16-24								8																										
	0415								8						13																				
*11	1101/3/4/6/9/10/11/12/15/24/27/28/29														13			16																	
	1102/14/16/20/21														13		15	16																	
	1105/8/26														13																				
	1107					5									13																				
*12	1201/3/4/5														14			16																	
	12021-12022														14																				
*13	1301/2/4/8/16/17/22/23/28/31																15	16	17																
	1303/6/12/30																15	17																	
	1305/7/11/14/20/21/24/29																16	17																	
	1309																15	17																	
	1310																15	17		19															
*14	1401/7/26																	18			21														
	1402/6/13/19/20/29							7										17	19																
	1403/12							7										17			20														
	1404/8/11/28																	18																	
	1405/14/23																	17	18																
	1409/17/21																	17		19															
	1410								8													21													
*07	0701								9																										
*08	0801/2/4-8/11/16									10								16																	
	0803/10/12-15									10																									
*09	09012										11																								
*10	1001											12																							
DRB3*	DRB3*0101-0301																					31			52										
DRB4*	DRB4*0101-5																						32		53										
	DRB4*0201N																																		
DRB5*	DRB5*0101-0204																						33		51										
no	Lab.No.	sample	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	31	32	33	DRB1	DRB1'	B3	B3'	B4	B4'	B5	B5'	Lot.No.
1	J	QC-H1101											8						8	8			8	8			*09	*14	+		+			A331	
2	E	QC-H1101											8						8	8			8	8			*0901	*14						S50.01	
3	G	QC-H1101											6						8	8			8	8			*09012	*14						B065	
4	H	QC-H1101											6						8	8			8	8			*09012	*1405/	B3*		B4*			A764	
5	I	QC-H1101											8						8	8			8	8			09	14	52		53			B662	
6	F	QC-H1101											8						8	8			8	8			09	1405						A76401	
7	B	QC-H1101											5						5	5			5	5			0901	14						B065	
8	C	QC-H1101											8	2					6	8			8	8			0901	1405/	01/02/03		01			B173	
9	D	QC-H1101											8						6	8			8	8			0901	1405/	0101/		0101/			A76401	
10	L	QC-H1101											8						8	8			8	8			09012	1405/	B3		B4			A764	
11	A	QC-H1101						0				8							8	8			8	8			0901	14	02		01			A764	
12	J	QC-H1102							8										8	8			8	8			*04	*12	+		+			A331	
13	E	QC-H1102							8										8	8			8	8			*04	*1202						S50.01	
14	H	QC-H1102							8										8	6			8	8			*0401/	*1202	B3*		B4*			A764	
15	B	QC-H1102							5										5	5			5	5			04	12						B065	
16	F	QC-H1102							8										8	8			8	8			04	12						A76401	
17	I	QC-H1102							8										8	8			8	8			04	12	52		53			B662	
18	C	QC-H1102							8					4	8	6			8	8			8	8			04	12	01/02/03		01			B173	
19	A	QC-H1102						0	8						8	8			8	8			8	8			04	1202	0301		01			A764	
20	L	QC-H1102							8						8	8			8	8			8	8			04	1202/	B3		B4			A764	
21	D	QC-H1102							6						6				8	8			8	8			0401/	1202/	0101/		0101/			A76401	
22	J	QC-H1103										8	8						8	8			8	8			*09	*11	+		+			A331	
23	E	QC-H1103							8										8	8			8	8			*0901	*11						B065	
24	G	QC-H1103							6	8									8	8			8	8			*09012	*11						A764	
25	H	QC-H1103							6	8									8	8			8	8			*09012	*1101/	B3*		B4*			A76401	
26	F	QC-H1103							8	8									8	8			8	8			09	11						B662	
27	I	QC-H1103							8	8									8	8			8	8			09	11	52		53			B065	
28	B	QC-H1103							5	5									5	5			5	5			0901	11						A76401	
29	C	QC-H1103							8	8									8	8			8	8			0901	11	01/02/03		01			B173	
30	D	QC-H1103							6	6									8	8			8	8			0901	1101/	0101/		0101/			A76401	
31	L	QC-H1103							8	8									8	8			8	8			09012	1101/	B3		B4			A764	
32	A	QC-H1103						0				8	8						6	8			8	8			0901	11	02		01			S50.01	
33	E	QC-H1104							8										8	8			8	8			*04	*11	+		+			A331	
34	J	QC-H1104							8										8	8			8	8			*04	*11						A764	
35	H	QC-H1104							6										8	8			8	8			*0401/	*1101/	B3*		B4*			A764	
36	A	QC-H1104						0	8										6	8			8	8			04	11	02		01			A764	
37	B	QC-H1104							5										5	5			5	5			04	11						B065	
38	F	QC-H1104							8										8	8			8	8											

表2 INNO-LiPA/DPB

	INNO-LIPA /DPB	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24			
	02012							7						13	14	15		17			20	21		23				
	02013/3201							7						14	15		17			20	21		23					
	0301/7801					6		8		10		12				16		18						23				
	0501/3801			3		5						12			15		17	18		20	21							
	0801												13	14	15	16		18		20	21		23					
	1601													13	14	15		17	18		20	21		23				
	20011.-012						6		8		10		12					17	18					23				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	DPB1	DPB1	Lot
A	H1101			8		8		8					8	8	8	8		8	8		8	8		8		*0501	*0201	80815147
B	H1101			8		4							8	4	4	8		8	8		8	8		2		0501/3801	1601	80815147
A	H1102			8		8		8					8	8	8	8		8	8		8	8		8		*0501	*0201	80815147
B	H1102			8									6			6		6	6		8	8		2		0501/3801		80815147
A	H1103						8	8	8		8		8	8	8	8	8	8	8		8	8		8		*0301	*02012	80815147
B	H1103						8		6		8		8	4	4	4	8	4	8		8	8		8		0301/0801	1601/2001	80815147
A	H1104			8		8		8					8	8	8	8		8	8		8	8		8		*0501	*0201	80815147
B	H1104			8		8							8	6	6	8		8	8		8	8		2		0501/3801	1601	80815147
A	H1105			8		8	8		8		8		8	2		8	8	8	8		8	8		8		*0501	*0301	80815147
B	H1105			8		6	8		4		4		8			2	8	4	8		8	8		6		0501/3801	0301	80815147
A	H1106			8		8							8			8		8	8		8	8				*0501	-	80815147
B	H1106			8		8							8			8		8	8		8	8				0501/3801		80815147

QCワークショップ生データ解析：micro SSPキット

木村 彰方

東京医科歯科大学難治疾患研究所、分子病態分野

はじめに

ワンラムダ社のmicro SSPキットはSSP法に基づくHLA-DNAタイピングキットであるが、全てのプライマーセットが同一エクソン内に設定されているため、特異的PCR産物の長さが短く、電気泳動の時間が短縮される特徴を有する。対象ローカスやアリル分別能（2桁、4桁、その中間）が異なる種々のキットが販売されているが、各々のキットでバージョンアップが行われるなど内容は多岐に渡っている。今回のQCワークショップでも多種多様なmicro SSPキットが使用されており、このため生データの比較は複数の施設で同一キットが使用された場合に限定

された。

対象・方法

今回のワークショップでは13施設よりmicro SSPキットを用いたデータが集められた。

使用されたキット名（対象ローカス、プライマーセット数、実施施設数および対象検体数）は以下の通りであった。

SSP1L (ABC, 96, 2施設, 各6検体, 但しロットが異なる)

SSP2L (DRDQ, 32, 7施設, 各6検体, 但し一部のデータはロットが異なる)

SSP2H	(DRB, 96, 1 施設, 6 検体)
SSP2-104	(DRB1*04, 28, 1 施設, 3 検体)
SSP2-111	(DRB1*11, 32, 1 施設, 2 検体)
SSP2-112	(DRB1*12, 10, 1 施設, 1 検体)
SSP2-114	(DRB1*14, 29, 1 施設, 3 検体)
SSP2-115	(DRB1*15, 12, 1 施設, 1 検体)
SSP2-Q1	(DQB1, 32, 1 施設, 6 検体)
SSP-JPN	(ABCDRDQ, 96, 4 施設, 各 6 検体)

生データのスコア化は以下の手順に従った。また集計後に生データ記入に疑問のあったサンプルについては、参加施設に連絡し記入内容の確認を行った。

スコア 0 : インターナルコントロールバンドがない
(陰性コントロールウェルを含む)

スコア 1 : 陰性 (特異的バンドがない)

スコア 2 : 疑陰性 (プライマーダイマーと思われるサイズのバンドが出たものを含む)

スコア 4 : 弱陽性 (特異的バンドはあるが薄いもの)

スコア 6 : 陽性 (スコア 8 よりバンドがやや薄いもの)

スコア 8 : 強陽性

スコア 1 または 2 を陰性、スコア 4, 6, 8 は陽性を判定し、スコア 0 は判定保留とした。

結果

生データよりのタイピング判定結果は大概正確であったが、一部にミスアサインが認められた。生データスコアの比較は複数の施設で同一ロットが使用されたキット (SSP2LおよびSSP-JPN) についてのみ可能であった。生データスコアの比較の結果、以下のような問題点が認められたが、特にSSP2Lを用いた場合 (表 1) に問題が散見された。

1) SSP2Lの1E (DR15に対応、表 1 のカラム4) が陰性のため、H1106をDR14, -としたミスアサイン (DR15の見逃し) が 1 件あった。但し、同一検体についても3C (DR51に対応、表 1 のカラム22) は明らかに陽性であった。

2) SSP2Lの4D (DQ7に対応、表 1 のカラム29) がスコア 0 であったため、H1102をDQ3, - (DQ7

の見逃し)、H1104をDQ4, - (DQ7の見逃し) とした例があった。

3) SSP2Lの2D (DR4のサブタイプに対応、表 1 のカラム13) が陰性あるいは弱陽性のため、H1102のDR4サブタイプミスに至る可能性のある例が認められた。また、当該プライマーはSSP-JPNでも用いられている (10C) が、4施設中2施設でスコア 4 と判定されており、このプライマーセットはPCRバンドが弱いことが示唆された。

考察

micro-SSPタイピングにおけるミスアサインはSSP2Lキットを用いた場合に少数例認められた。DR15の見逃しについては、QCWSとは別に当教室で行ったSSP-JPNを用いたタイピングでも稀に生じることがあった。また、DR4およびDR8サブタイプに対応するプライマーではPCRバンドの出方が弱いことも観察されている。従って、これらのキットを使用する場合には、薄いバンドでも陽性と判定することが必要な場合のあることに注意しなければならない。そのような際には非特異的バンドと特異的バンドを区別することも必要であり、このためサイズマーカーの使用が望ましい。一方、micro SSPキットでは特異的PCR産物が短く、電気泳動の際にゲルから流れ落ちてしまう可能性があるため、泳動時間が長すぎないように注意しなければならない。一般に、SSP法によるタイピングではインターナルコントロールバンドが出ないこと (PCR fail、スコア 0) が稀にある。このことでタイピング判定に疑義が生じる場合には再タイピングを行うべきである。またDR51陽性でDR2陰性など、連鎖不平衡を考慮すると不自然なデータが出た場合にも再タイピングを考慮することが望ましい。今回のQCワークショップ生データの解析から、micro SSPキットを使用する上では、以上のような点に注意すべきであると考えられた。

表1 SSP2Lキットを用いたタイプینگ生データの比較

Lot	sample no.	DRB1	DRB3	DRB4	DRB5	DQB1	DQB1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	
#2A	H1101	14	09012	01/02/03	01	05	03032/06	0														8					8				8	8								8
#2A	H1101	09	14	01/02/03	01	03	05	0														8					8				8	8								8
#3A	H1101	09	14	01/02/03	01	03	05	0														8					6				8	8	6	8						4
#3A	H1101	09012	14	01/02/03	01	03	05	0														8					8				8	8	6	8						6
#3A	H1101	14	09	01/02	01	03	05	0														8					8				8	8	8	8						6
#3A	H1101	09	14	01/02/03	01	03	05	0														8					8				8	8	8	8						2
#3A	H1101	09012	14	01/02/03	01	03032/06	05	0														4	8				8				8	8	8	8						8
#3A	H1101	09	14	01/02/03	01	03	05	0														8					8				8	8	8	8						8
#2A	H1102	04	12	01/02/03	01	0301/04	0302/04/07	0							8	8					2										8	8								8
#2A	H1102	04	12	01/02/03	01	03	03	0							8						8										8	8								8
#3A	H1102	04	12	01/02/03	01	03	03	0							8	6	4				4										8	8								4
#3A	H1102	04	12	01/02/03	01	03	03	0							8	6	6				6										8	8								6
#3A	H1102	04	12	01/02	01	03	03	0							8	4	6				6										8	8								6
#3A	H1102	04	12	01/02/03	01	03	03	0							8	8	8				8										8	8								8
#3A	H1102	04	12	01/02/03	01	0301/04	0302/05/07	0							8	6	8				8										8	8								8
#3A	H1102	04	12	01/02/03	01	03	03	0							8	6	6				6										8	8								0
#2A	H1103	11	09012	01/02/03	01	0301/04	03032/06	0							8						8										8	8								8
#2A	H1103	09	11	01/02/03	01	03	03	0							8						8										8	8								8
#3A	H1103	11	09	01/02/03	01	03	03	0							8						8										8	8								4
#3A	H1103	09012	11	01/02/03	01	03	03	0							8						8										8	8								8
#3A	H1103	11	09	02	01	03	03	0							8						8										8	8								6
#3A	H1103	09	11	01/02/03	01	03	03	0							8						8										8	8								8
#3A	H1103	09012	11	01/02/03	01	0301/04	03032/06	0							8						8										8	8								6
#3A	H1103	11	09	01/02/03	01	03	03	0							8						8										8	8								8
#2A	H1104	04	11	01/02/03	01	0301/04	0401/02	0							8	8					8										8	8								8
#3A	H1104	04	11	01/02/03	01	03	04	0							8						8										8	8								6
#3A	H1104	04	11	01/02/03	01	03	04	0							6	8					8										8	8								8
#3A	H1104	04	11	02	01	03	04	0							8	8					8										8	8								8
#3A	H1104	04	11	01/02/03	01	03	04	0							8	8					8										8	8								8
#3A	H1104	04	11	01/02/03	01	03	04	0							8	8					8										8	8								8
#3A	H1104	04	11	01/02/03	01	03	04	0							8	8					8										8	8								8
#3A	H1104	04	11	01/02/03	01	0301/04	0401/02	0							8	8					8										8	8								8
#3A	H1104	04	11	01/02/03	01	04	0401/02	0							8	8					8										8	8								0
#2A	H1105	04	14	01/02/03	01	03032/06	05	0							8						8	8									8	8								8
#3A	H1105	04	14	01/02/03	01	03	05	0							8						6	8									8	8								6
#3A	H1105	04	14	01/02/03	01	03	05	0							6						8										8	8								8
#3A	H1105	04	14	01/02	01	03	05	0							8						8										8	8								8
#3A	H1105	04	14	01/02/03	01	03	05	0							8						8										8	8								2
#3A	H1105	04	14	01/02/03	01	03	05	0							8						8										8	8								8
#3A	H1105	04	14	01/02/03	01	03	05	0							8						8										8	8								8
#3A	H1105	04	14	01/02/03	01	05	0302/05/07	0							8						8										8	8								8
#3A	H1105	04	14	01/02/03	01	03	05	0							8						8										8	8								8
#2A	H1106	15	1403/1	01/02/03	01	0301/04	-	0							8						8										8	8								8
#3A	H1106	14	15	01/02/03	01	01/02	03	0							6																8	8								8
#3A	H1106	14	15	01/02/03	01	01/02	03	0							8																8	8								6
#3A	H1106	14	15	01/02	01	01/02	03	0							6																8	8								8
#3A	H1106	14	15	01/02/03	01	01/02	03	0							8																8	8								8
#3A	H1106	14	14	01/02/03	01	01/02	03	0							8																8	8								8
#3A	H1106	14	14	01/02/03	01	01/02	0301/04	0							8																8	8								8
#3A	H1106	15	14	01/02/03	01	01/02	03	0						</																										

スマイテスト (HLA-DR Low-resolution) の評価

小原節子、加村ひろみ

名古屋第二赤十字病院, HLA検査室

キット名 : スマイテスト (HLA-DR Low-resolution)

参加施設 : 2 施設

評価

本キットはSSP法とRFLP法とを併用してHLA-DRB1型2桁(1~16)が確実に決まる。SSP法の部位は11種類のプライマーによりDR1, 15, 16, 3, 4, 11, 12, 7, 8, 9, 10 (DR13, 14以外)を決定し、RFLP法の部位が制限酵素による切断パターン解析にてDR13,14を決定する。

DNA増幅は15 μ lの反応量にて70分と短時間、解析(RFLP、電気泳動)は2時間程で総所要時間は約3.5時間である。増幅バンド、解析(RFLP)バンド共に明確で判定が容易である。このキットが製品化されて間もないため、今回のQCWSでは2施設のみの参加であったが、反応パターン表に示すように判定のミスは無かった。

解析に必要な試薬(primer, Taq DNA polymerase, proteinase K, 制限酵素, サイズマーカー等)が揃っていてキットとして完成していることと、試薬が安定していて管理が容易であるので日常検査に適している。特に検体数が少ない場合に使用し易い。

表1 Smi-Test(DR Low)反応パターン表

		SSP 法											RFLP 法					DRB1 判定	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16		
DNA.	施設	DR	1	15	16	3	4	11	12	7	8	9	10	Sac II	BsaJ I	Ava II	Fok+ Xm	Hae+ Sf	
H1101	14		1	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	0	1	1	0	1	*09, *14
	55		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6						
H1102	14		1	1	1	1	8	1	8	1	1	1	1	1	1	0	1	0	*04, *12
	55		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	1	1	0	1	0	*04, *12
H1103	14		1	1	1	1	1	8	1	1	1	8	1	1	1	0	1	0	*09, *11
	55		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	1	1	0	1	0	*09, *11
H1104	14		1	1	1	1	8	8	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	*04, *11
	55		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	1	1	0	1	0	*04, *11
H1105	14		1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	*04, *14
	55		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	1	1	0	0	*04, *14
H1106	14		1	8	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	*14, *15
	55		6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0	1	1	0	1	*14, *15

* SSP法 score 8 : positive
score 6 : 内部標準
score 1 : negative

* RFLP法 score 1 : 切断バンド有り
score 0 : 切断バンド無し

MPHによるHLA-A, Bタイピング

柏瀬 貢一、赤座 達也

日本赤十字社中央血液センター，研究一課

キット名

MPH-A, -B, -A2, -A26, -B15, -B61, -B40キット
(湧永製薬) の7種類の解析を行なった。

検体数

今回解析を行なった施設番号と、それぞれのキットに提出された検体数を表1に示した。

評価

High resolutionタイピング用のMPH-A2, -A26, -B15, -B61, -B40キットは施設間のデータのバラツキもなく、特異性も高かった(データ省略)。また、Low resolutionタイピング用のHLA-Aキットも同様にキットの信頼性は高かった(表2)。しかし、HLA-Bキットにおいては、エキストラ反応を示すプローブや弱いプローブが存在した(表3)。

キットの改良 (HLA-Bキット)

1) プローブの改良

プローブNo.11, 13, 20, 21については既に改良済みである。さらに、今回のQCWSで問題のあったプローブNo.5, 7についても改良が望まれる。

2) PCR条件の改良

(1) プライマーの改良

現在、HLA-Bキットで用いているプライマーは、Cerebらの報告(Tissue Antigens 1997: 50 p74-76)を基本に、2種類のプライマーセットを1本のチューブ内でPCRを行なっている(multiplex-PCR)。しかし、それぞれのプライマーセットで増幅効率の差が認められたため、プライマーの改良を行

なった。

5'側プライマーの変更：5B-CG-B2: 5'-GGCGGGGGCGCAGGACCCGG-3'
(Cerebらのプライマーに対して5'に1塩基伸ばした)

3'側プライマーの変更：3B-Int3(+1): 5'-GAGGCCATCCCCGGCGACCTAT-3'
(Cerebらのプライマーに対して5'側に2塩基伸ばした)

(2) DMSO添加

PCR反応液中にDMSO (dimethylsulfoxide) を添加し(最終濃度5%)増幅効率の改善を行なった。

(3) プローブの追加

現在のキットでは、B54/B55とB54/-の識別ができないが、新たにプローブを追加することで、識別が可能となった。

表1 MPH-クラスIの解析

施設番号	HLA-A	HLA-B	A2	A26	B15	B61	B40
4			○	○	○	○	
17	○	○	○	○		○	
21	○	○					
23	○	○	○	○		○	
25	○	○					
46	○	○	○	○	○		○
47	○	○	○	○	○		○
検体数	34	36	5	5	5	3	4

データが提出されたキットを○印で示した。

表2 MPH-A

施設	sample	HLA-1	HLA-2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
21	H1101	24	26				8	8	8	8					8		8		8
46	H1101	24	26				8	8	8	8					8		8		8
17	H1101	24	26/66				8	8	8	8					8		8		8
47	H1101	24	26/66				8	8	8	4					6		8		8
25	H1101	24	26/66		2		8	8	8	8	2				8	2	8		8
21	H1102	2		2	8													8	8
46	H1102	2			6													8	8
17	H1102	2			8													8	8
47	H1102	2			8													8	8
25	H1102	2			6													8	8
21	H1103	26	33							8	8				8	8	8		8
23	H1103	26/66	33							8	6				8	8	8		8
46	H1103	26	33							8	6				6	8	8		6
17	H1103	26/66	33							8	8				8	8	8		8
47	H1103	26/66	33							8	6				6	8	8		8
25	H1103	26/66	33							8	8				8	8	8		8
21	H1104	24		2	2		8	8	8							2			8
23	H1104	24		2			8	8	8										8
46	H1104	24					8	8	8										8
17	H1104	24					8	8	8										8
47	H1104	24					8	8	8										8
25	H1104	24		2			8	8	8										8
21	H1105	11	31	2			8	8		8	8		6			8			8
23	H1105	11	31012				8	8		8	8		6			8			8
46	H1105	11	31012				6	6		6	6		6			8			6
17	H1105	11	31012				8	8		8	8		8			8			8
47	H1105	11	31012				8	6		8	6		8			8			8
25	H1105	11	31012				8	8		8	8		4			8			8
21	H1106	24	31				8	8	8		8		6			8			8
23	H1106	24	31012				8	8	8		8		6			8			8
46	H1106	24	31012				8	8	8		6		8			8			8
17	H1106	24	31012				8	8	8		8		8			8			8
47	H1106	24	31012				8	8	8		6		8			8			8
25	H1106	24	31012				8	8	8		8		4			8			8

表3 MPH-B

施設	sample	HLA-1	HLA-2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
21	H1101	52	61			8	4		6		6			6						4	8	8		
23	H1101	52	4002			8	8		8		8			8						4	8	8	4	4
46	H1101	52	4002/3/6			8	8		8		8			8						8	8	8	8	
17	H1101	52	4002/			8	8		8		8			8						8	8	8	8	
47	H1101	52	4002			8	8		8		8			8						8	8	8	4	
25	H1101	52	4002/			8	4		6		6			8						4	8	8	4	
21	H1102	13	48	8	8				8	4				6						8	6		8	
23	H1102	44	48	8	8				8					8		2				4	4	4	8	4
46	H1102	13	48	6	8				8	6				8						8	6		8	
17	H1102	13	48	8	8				8	8				8						8	8		8	
47	H1102	13	48	6	8				8	4				8						8	6		6	
25	H1102	13	48	6	6				6	4				8						8	4		6	
21	H1103	3902	60	8	6		4		8					6						8			4	6
23	H1103	3902	41	8	4		8		8					8						8	4		2	
46	H1103	3902	4001	6	4		6		8					8						8			8	8
17	H1103	3902/	4001	8	8		8		8					8						8			8	8
47	H1103	3902	4001	6	4		2		8					8						8			2	4
25	H1103	3902	4001	6	4		6		8					8						8			4	6
21	H1104	35	54			8					6	6		4	8		8			8		8		4
23	H1104	35	5401			8					8	6		8	8		8			8		8		4
46	H1104	35	5401			8					8	6		2	8		8			8		8		8
17	H1104	35+	5401			8					8	8		8	8		8			8		8		8
47	H1104	35	5401			8					6	4		4	8		8			8		8		4
25	H1104	35	5401		2	8		2			8	6		4	8		8			8		8		4
21	H1105	51	1501		2	8				6	4			4	8					4	8	8		
23	H1105	51	15	4	4	8		2		6	8			4	8	4				4	8	8		
46	H1105	51	15			8				6	8			6	8					6	8	8		
17	H1105	51+	15			8				8	8			8	8					8	8	8		
47	H1105	51	15			8				6	6			8	8					6	8	8		
25	H1105	51+	15		2	8				4	8			4	8					4	8	8		
21	H1106	51	1518			8				6				6	8					4	8	8		
23	H1106	ND		6		8	2	2	2		8				8	8		2	2	8	8	8	2	2
46	H1106	51	15			8				8				8	8					6	8	8		
17	H1106	51+	1518/			8				8			8	8	8					8	8	8		
47	H1106	51	1518			8				6				8	8					6	8	8		
25	H1106	51+	1518/09/10/37			8				6				4	8	8				4	8	8		

MPHによるDR, DQタイピング

徳永 勝士

東京大学医学系研究科, 人類遺伝学教室

キット名

HLA-DRタイピング試薬 (湧永製薬)

HLA-DQタイピング試薬 (湧永製薬)

使用施設数

HLA-DR High-resolution 12施設

HLA-DR Low-resolution 5施設

HLA-DQ Low-resolution 3施設

(2) プローブの並びとプローブ番号が一部一致していないために混乱を生じ、3施設において記入間違いがあったものの、判定結果自体には影響なかった。

(3) 以上より、PCR-MPH法によるHLA- DRB1, DQB1タイピングは高い信頼性をもつ確立した方法といえる。

コメント

(1) スコアがやや低めのプローブが1、2あったものの、全ての施設で全検体について、陽性／陰性反応のパターンが一致した (表1)。判定結果についても、そのグループ名やアレル名の表記の仕方に若干の違いはあったものの、全ての施設で一致した。

表1 HLA-DR4 High-resolution typingの結果 (H1102)

施設番号 (任意)	プローブ												DRB1 allele
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
2	6	1	6	1	1	1	6	1	1	1	8	1	0407
3	8	1	8	1	1	1	8	1	1	1	8	1	0407
8	8	1	8	1	1	1	4	1	1	1	8	1	0407
9	8	1	8	1	1	1	8	1	1	1	8	1	0407
11	8	1	8	1	1	1	8	1	1	1	8	1	0407

Dynal-RELI法によるDRBとDQB-DNAタイピング

小河原悟、渡辺真穂、兼岡秀俊、内藤説也

福岡大学病院，腎センター

キット名

基本的にはダイナル社のRELIキットを使用した
が、一部前身のロッシュ社Amplicorキットが使用さ
れていた。DRBに関しては一部4桁まで決定できる
が基本的には2桁、DQBは4桁のタイピングが可能
であった。

20分(2-120分)であった。意見としては本体の値段
が高い、発色の時に時間が経つとバックが青くなる、
保存しておくラインが消える、Amplicorの方が発
色がよい等あったが、全体としては操作が簡単、短
時間でタイピングできる、再現性が高い等、評価は
高かった。

検体数

DRBは19施設、DQBは3施設の参加があった。
rSSO法としては最も多い参加であった。

DNAタイピング結果

DRBに関しては4桁レベルの回答が一部にあり、
他のキットとの併用、人種や連鎖により、推定され
たものと考えられた。DRBに関しては2桁レベル、
DQBでは4桁レベルで100%の正解率であり、本キ
ットの優秀性が証明された。

問題点

各プローブの評価を表1に示す。プローブ22、
23、19に関しては%SIが50%以下と発色が弱く、
リデザイン必要性を感じた。プローブ1、5、8、
17、18、20に関しては、今回のサンプルDNAでは
反応なく評価できない。しかし、r-値はほぼ1であ
り、再現性の高さが証明された。また今回のサンプ
ルにはなかったがDRB1*04と*08のヘテロの場合
は判定が困難になることが予想された。

アンケート調査

RELI法が行われた施設に対しアンケート調査を
おこない、15施設より回答が得られた。キット以
外の消耗品概算は平均599円(100~1843円)、増
幅・検出時間は228分(120~300分)、判定時間は

表1 RELI法における各プロローブの評価

プロローブ名	0	1	2	4	6	8	++	+-	-+	--	%Pos	%SI	平均	%Inc	r=	特異性
Prb28	0	93	2	0	0	19	19	0	0	95	16.7	100.0	8.00	100.0	1.00	B5*0101
Prb26	0	19	0	0	1	94	95	0	0	19	83.3	98.9	7.98	100.0	1.00	B4*0103
Prb14	0	76	0	1	1	36	38	0	0	76	33.3	94.7	7.84	100.0	1.00	B1*1101
Prb21	0	95	0	1	2	16	19	0	0	95	16.7	84.2	7.58	100.0	1.00	B1*1202
Prb27	0	95	0	0	5	14	19	0	0	95	16.7	73.7	7.47	100.0	1.00	B5*0101
Prb12	0	57	0	2	14	41	57	0	0	57	50.0	71.9	7.37	100.0	1.00	B1*1401,B1*1405,B3*0301
Prb3	0	19	0	6	21	68	95	0	0	19	83.3	71.6	7.31	100.0	1.00	B1*1101,B1*1401,B1*1403,B1*1405
Prb11	0	74	2	3	8	27	38	0	0	76	33.3	71.1	7.26	100.0	1.00	B1*1403,B3*0301
Prb4	0	57	0	5	14	38	57	0	0	57	50.0	66.7	7.16	100.0	1.00	B1*0405,B1*0406,B1*0407
Prb15	1	94	1	1	5	12	18	1	0	94	16.8	66.7	7.22	94.7	0.97	B1*1401
Prb7	0	77	0	2	11	24	37	1	0	76	33.3	64.9	7.19	97.4	0.98	B1*0901
Prb10	0	95	0	2	5	12	19	0	0	95	16.7	63.2	7.05	100.0	1.00	B3*0101
Prb9	0	42	0	4	23	45	72	4	0	38	66.7	62.5	7.14	94.7	0.93	B3*0202
Prb24	0	95	1	0	7	11	18	1	0	95	16.7	61.1	7.22	94.7	0.97	B3*0101
Prb2	0	95	0	1	7	11	19	0	0	95	16.7	57.9	7.05	100.0	1.00	B1*1501
Prb13	0	92	3	1	7	11	19	0	0	95	16.7	57.9	7.05	100.0	1.00	B1*1403
Prb16	0	95	1	1	7	10	18	1	0	95	16.7	55.6	7.00	94.7	0.97	B1*0405
Prb25	0	19	0	8	36	51	95	0	0	19	83.3	53.7	6.91	100.0	1.00	B3*0202,B3*0301
Prb6	0	94	1	2	7	10	18	1	1	94	16.7	52.6	7.00	94.7	0.94	B1*1202
Prb22	0	95	1	1	8	9	18	1	0	95	16.7	50.0	6.89	94.7	0.97	B1*1403
Prb23	0	96	0	3	7	8	18	1	0	95	16.7	44.4	6.56	94.7	0.97	B1*1202
Prb19	0	95	1	10	2	6	18	1	0	95	16.7	33.3	5.56	94.7	0.97	B1*0405