

# 第9回日本組織適合性学会大会

The 9th Japanese Society for  
Histocompatibility and Immunogenetics (JSHI)  
Annual Meeting



会 期：2000年 6月1日（木）～6月2日（金）

会 場：霧島ロイヤルホテル（鹿児島県始良郡霧島町）

大会長：園田俊郎

（鹿児島大学医学部ウイルス学教授）

事務局

〒890-8520

鹿児島市桜ヶ丘8-35-1

鹿児島大学医学部ウイルス学講座

大会幹事 屋敷伸治

TEL：099-275-5283, FAX：099-265-8164

E-mail: yashiki@med5.kufm.kagoshima-u.ac.jp





## 大会内容ご案内とお願い

大会本部：西館3階会議室 鶴亀の間

理事会：6月1日AM7：30～西館2階ダイニングルーム錦江（来賓の間）

評議員会：6月2日AM7：30～西館3階会議室 コスモス

HLA標準化委員会：5月31日PM6：00～7：00 西館3階会議室鶴亀の間

ポスター展示会場：西館2階ロイヤルホール・ルビーの間

サンライス、ランチョンセミナー：西館2階ロイヤルホール

機器試葉展示会場：西館2階ロイヤルホール前ロビー

懇親会場：西館2階ダイニングルーム錦江

受付：霧島ロイヤルホテル西館2階ロイヤルホール前ロビー

6月1、2日は午前8時より大会参加受付をおこないます。

なお、新入会の受付も同場所でお取扱いします。

大会参加費：受付にて参加費5,000円を納め、参加証をお受け取りください。

懇親会費：懇親会に参加される方は5,000円を納め、懇親会参加シールをお受け取りください。

## 発表者・座長の方へのお願い

### 〈シンポジウム、教育講演及び会員研究口演発表の方へ〉

1. シンポジウムⅠは発表30分、討論5分、シンポジウムⅡは発表25分、討論5分、教育講演は発表30分、討論10分、会員口演発表は発表7分、討論3分とします。
2. スライドは35mm判を使用し、使用プロジェクターは会場に1台のみ用意します。
3. スライド枚数はシンポジウムが30枚以内、会員口演発表が10枚以内でお願いします。
4. 後部席からも充分判読できる明解なスライドをご用意ください。同一スライドを2回以上使用される場合は映写回数分をご用意ください。
5. スライドは受付係がお渡しする所定のフォルダーに入れ、試写、確認の上受付係にご提出ください。
6. 発表終了後、スライドは会場の受付でお返しいたします。当日お引き取りいただけなかったスライドは事務局にてお預かりします。

### 〈ポスター発表の方へ〉

1. ポスター展示の受付は6月1日午前8時からおこないます。
2. ポスター展示時間は6月1日午前9時～午後7時、6月2日午前9時～午後1時です。
3. 会員ポスター発表は6月1日午後1時10分～午後2時30分（西館2階ロイヤルホール・ルビーの間）の時間内で座長の進行のもとで行ないます。ポスター発表討論時間は10分です。

4. 展示用パネルは高さ160cm x 幅110cmです。ポスターは見やすいものをご用意ください。
5. パネルの最上部15cm幅に演題名、発表者氏名、所属を記入してください。受付終了後、9時までにポスターを貼付け展示してください。ポスターの撤去は6月2日午後2時までをお願いします。

#### 〈座長の方へ〉

1. ご担当時刻の30分前までに、会場受付までご連絡ください。
2. 会場進行係はおりますが、セッションの進行は座長におまかせしますので、発表者の持ち時間を厳守の上よろしくをお願いします。

#### 大会会場（霧島ロイヤルホテル）と宿泊・航空券のご案内

上記について第9回日本組織適合性学会大会ホームページ (<http://jshi.umin.ac.jp>) にご案内しておりますのでご覧ください。

## 第9回日本組織適合性学会大会日程表

### 第1日 2000年6月1日(木)

|                     |   |
|---------------------|---|
| 7:30                | 日本組織適合性学会理事会  |
| 8:50                | 開会式   |
| 9:00                | <p style="text-align: center;"><b>シンポジウム I</b><br/> <b>「21世紀の移植」</b><br/>                     (各30分講演、5分討論)<br/>                     座長：片桐 一、佐治博夫</p> <p>(9:00) 「世界の臓器移植」 P.I.Terasaki</p> <p>(9:35) 「日本の骨髄移植」 十字猛夫</p> <p>(10:10) 「日本の臓器移植」 吉田孝人</p> <p>(10:45) 「CMVと臓器移植」 榮鶴義人</p>  |
| 11:20               | <p style="text-align: center;"><b>教育講演 (40分)</b><br/>                     座長：笹月健彦<br/>                     「ATLの民族疫学」 田島和雄<br/>                     (30分講演、10分討論)</p>   |
| 12:00               | ランチョンセミナー (60分)   |
| 13:10<br> <br>14:30 | <p style="text-align: center;"><b>会員研究発表 (80分)</b><br/>                     ポスター発表 (20題：各7分発表、3分討論)<br/>                     座長：能勢義介、小出幸夫、小河原悟、高橋孝喜</p>   |
| 14:30               | <p style="text-align: center;"><b>機器試薬展示説明会 (50分)</b><br/>                     主宰：大会長 園田俊郎</p>  |
| 15:30               | <p style="text-align: center;"><b>シンポジウム II</b><br/> <b>「ウイルス感染とHLA」</b><br/>                     座長：園田俊郎、徳永勝士</p> <p>(15:30) 「ウイルスの進化」 五條堀孝<br/>                     (35分講演、5分討論)</p> <p>(16:10) 「EBVとHLA」 Masucci, MG<br/>                     (35分講演、5分討論)</p> <p>(16:50) 休憩 (10分間)</p> <p>(17:00) 「HPVとHLA」 藤吉利信<br/>                     (25分講演、5分討論)</p> <p>(17:30) 追加発言：大久保光夫<br/>                     (7分発表、3分討論)</p> <p>(17:40) 「HIVとHLA」 滝口雅文<br/>                     (25分講演、5分討論)</p> <p>(18:10) 追加発言：大久保光夫<br/>                     (7分発表、3分討論)</p> <p>(18:20) 「HTLV-IとHLA」 屋敷伸治<br/>                     (25分講演、5分討論)</p> <p style="text-align: center;">18:50 終了</p> |
| 19:00-21:00 懇親会     |   |

### 第2日 2000年6月2日(金)

|       |   |
|-------|---|
| 7:30  | 日本組織適合性学会評議委員会  |
| 8:00  | サンライズセミナー (60分)   |
| 9:00  | <p style="text-align: center;"><b>会員研究発表</b><br/>                     座長：猪子英俊<br/>                     口演発表 (6題：各7分発表、3分討論)</p> |
| 10:00 | <p style="text-align: center;"><b>会員研究発表</b><br/>                     座長：木村彰方<br/>                     口演発表 (6題：各7分発表、3分討論)</p> |
| 11:00 | <p style="text-align: center;"><b>会員研究発表</b><br/>                     座長：西村泰治<br/>                     口演発表 (6題：各7分発表、3分討論)</p> |
| 12:00 | ランチョンセミナー (60分)   |
| 13:15 | <p style="text-align: center;"><b>日本組織適合性学会総会 (45分間)</b><br/>                     司会：園田俊郎</p>                                   |
| 14:00 | <p style="text-align: center;"><b>第4回HLAQCワークショップ (1時間45分)</b><br/>                     座長：前田平生</p>                             |
| 15:45 | <p style="text-align: center;"><b>学会総括および閉会式</b><br/>                     大会長 園田俊郎</p>  |
| 16:00 | 終了  |

ポ  
ス  
タ  
ー  
|  
展  
示  
及  
び  
機  
器  
試  
薬  
展  
示

ポ  
ス  
タ  
ー  
展  
示  
及  
び  
機  
器  
試  
薬  
展  
示

敬称略

# プログラム





**教育講演** 6月1日(木) 11:20-12:00

座長：笹月健彦 (九州大学生体防御医学研究所)

ATLの民族疫学：南米に渡った古モンゴロイドの病気  
 田島和雄 (愛知県がんセンター研究所)

**シンポジウム I：「21世紀の移植」** 6月1日(木) 9:00-11:20

座長：片桐 一 (旭川医科大学)

佐治博夫 (京都赤十字血液センター)

- |              |              |              |
|--------------|--------------|--------------|
| 1. 世界の臓器移植：  | P.I.Terasaki | (UCLA)       |
| 2. 日本の骨髄移植：  | 十字 猛夫        | (日赤中央血液センター) |
| 3. 日本の臓器移植：  | 吉田 孝人        | (浜松医科大学)     |
| 4. CMVと臓器移植： | 榮鶴 義人        | (鹿児島大学医学部)   |

**シンポジウム II：「ウイルス感染とHLA」** 6月1日(木) 15:30-18:50

座長：園田俊郎 (鹿児島大学医学部)

徳永勝士 (東京大学医学部)

- |                |            |                  |
|----------------|------------|------------------|
| 1. ウイルスの進化：    | 五條堀 孝      | (国立遺伝学研究所)       |
| 2. EBVとHLA：    | Masucci MG | (カロリンスカ大学)       |
| 3. HPVとHLA：    | 藤吉 利信      | (鹿児島大学医学部)       |
| 4. HIV-1とHLA：  | 滝口 雅文      | (熊本大学エイズ学研究センター) |
| 5. HTLV-IとHLA： | 屋敷 伸治      | (鹿児島大学医学部)       |
| 追加発言(2題)       | 大久保光夫      | (埼玉医科大学)         |

**第4回HLAQcワークショップ** 6月2日(金) 14:00-15:45

座長：前田 平生 (埼玉医科大学)

(日本組織適合性学会HLA標準化委員会委員長)

**サンライズセミナー、ランチョンセミナー** 6月1日(木) 12:00-13:00  
6月2日(金) 8:00-9:00  
12:00-13:00

「新規HLA検査法の紹介」

## 会員研究発表 I (ポスター発表)

6月1日(木) 13:10-14:00 分子遺伝学 I

座長：能勢義介 (兵庫県赤十字社中央血液センター)

### 1. 新たに見出されたAローカスバリエント抗原について

○伊佐和美<sup>1)</sup>、荒木延男<sup>2)</sup>、明坂珠生<sup>1, 3)</sup>、藤井まり恵<sup>1)</sup>、田中秀則<sup>1)</sup>、柏瀬貢一<sup>1)</sup>、  
能勢義介<sup>2)</sup>、赤座達也<sup>1)</sup>、中島一格<sup>1)</sup>、十字猛夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社中央血液センター

<sup>2)</sup> 兵庫県赤十字血液センター

<sup>3)</sup> 星薬科大学

### 2. 日本人に見出されたHLA-A2 nullの疑われるVariant HLA-A0206V1 の塩基配列の決定

○猿渡 晃<sup>1)</sup>、中島文明<sup>2)</sup>、藤井まり恵<sup>3)</sup>、伊藤八重子<sup>1)</sup>、伊藤圭一<sup>1)</sup>、田中秀則<sup>3)</sup>、  
十字猛夫<sup>3)</sup>、佐々木匡秀<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 山口県赤十字血液センター

<sup>2)</sup> 神奈川県赤十字血液センター

<sup>3)</sup> 日本赤十字社中央血液センター

### 3. ルーチンタイピングで見出されたHLA-Bバリエント

○明坂珠生<sup>1, 2)</sup>、柏瀬貢一<sup>1)</sup>、田中秀則<sup>1)</sup>、藤井まり恵<sup>1)</sup>、島村益広<sup>3)</sup>、加藤 道<sup>4)</sup>、  
石川善英<sup>1)</sup>、赤座達也<sup>1)</sup>、高橋明子<sup>2)</sup>、十字猛夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社中央血液センター

<sup>2)</sup> 星薬科大学医薬品化学研究所生物活性学研究室

<sup>3)</sup> 埼玉県赤十字血液センター

<sup>4)</sup> 愛知県赤十字血液センター

### 4. 日本人に新たに見出されたHLA-B61 Variant HLA-B61Vについて

○樋口香織<sup>1)</sup>、小田秀隆<sup>1)</sup>、光富吉朗<sup>1)</sup>、藤井まり恵<sup>2)</sup>、柏瀬貢一<sup>2)</sup>、田中秀則<sup>2)</sup>、  
千代田晨<sup>1)</sup>、十字猛夫<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 長崎県赤十字血液センター

<sup>2)</sup> 日本赤十字社中央血液センター

### 5. 血清学的に検出された2種類のHLA-B22変異型抗原について

—HLA-B22関連抗原の血清学な反応性について—

○田中秀則<sup>1)</sup>、明坂珠生<sup>1, 4)</sup>、寺木佳子<sup>2)</sup>、猿渡 晃<sup>1)</sup>、伊佐和美<sup>1)</sup>、藤井まり恵<sup>1)</sup>、  
柏瀬貢一<sup>1)</sup>、赤座達也<sup>1)</sup>、中島一格<sup>1)</sup>、十字猛夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社中央血液センター

<sup>2)</sup> 千葉県船橋赤十字血液センター

<sup>3)</sup> 山口県赤十字血液センター

<sup>4)</sup> 星薬科大学

---

## 6月1日(木) 13:10-14:10 分子遺伝学II

---

座長：藤吉利信 (鹿児島大学医学部)

### 6. ウズラMHC (Coja) クラスII領域における遺伝子解析

○清水佐良子<sup>1)</sup>、椎名 隆<sup>2)</sup>、高橋慎司<sup>3)</sup>、小野寺 節<sup>1)</sup>、猪子英俊<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 東大・農学部

<sup>2)</sup> 東海大・医学部

<sup>3)</sup> 国環研・地域環境

### 7. ゲノム4倍体化以前にヒトの祖先と分岐した頭索動物(ナメクジオウオ)におけるMHC相当領域のシーケンシング解析

○椎名 隆<sup>1)</sup>、吉川枝里<sup>1)</sup>、瀧嶋伸貞<sup>1)</sup>、岩田京子<sup>1)</sup>、桑野裕子<sup>1)</sup>、北村悠香<sup>1)</sup>、

Pierre Pontarotti<sup>2)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学医学部・分子生命科学

<sup>2)</sup> INSERM, FRANCE

### 8. MHC多型によるペンギン類の進化と分類

○津田とみ<sup>1)</sup>、津田道雄<sup>1)</sup>、成瀬妙子<sup>1)</sup>、河田寿子<sup>1)</sup>、安藤麻子<sup>1)</sup>、椎名 隆<sup>1)</sup>、

Ivon LeMaho<sup>2)</sup>、栗田正徳<sup>3)</sup>、福田道雄<sup>4)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>、

<sup>1)</sup> 東海大学医学部・分子生命科学

<sup>2)</sup> SEPE/CNRS, France

<sup>3)</sup> 名古屋港水族館

<sup>4)</sup> 葛西臨海水族園

### 9. チンパンジーMIC遺伝子領域の解析：HLA-B\*4801に連鎖されるMICA付近の大規模欠失領域との相関について

○安西達也<sup>1)</sup>、成瀬妙子<sup>1)</sup>、涌井美紀<sup>2)</sup>、徳永勝士<sup>2)</sup>、十字猛夫<sup>3)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学医学部・分子生命科学

<sup>2)</sup> 東京大学医学部・人類遺伝学

<sup>3)</sup> 日本赤十字社中央血液センター

### 10. Multiplex PCR法を用いたMIC-A deletionの検出と東アジアにおけるMIC-A-MIC-B nullハプロタイプの分布と進化

○涌井美紀<sup>1)</sup>、徳永勝士<sup>1)</sup>、石川善英<sup>2)</sup>、柏瀬貢一<sup>2)</sup>、田中秀則<sup>2)</sup>、中島文明<sup>3)</sup>、

赤座達也<sup>2)</sup>、十字猛夫<sup>2)</sup>

- 1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学
- 2) 日本赤十字社中央血液センター
- 3) 神奈川県赤十字血液センター

#### 11. HLA遺伝子頻度からみた日本語の形成過程

○成瀬妙子<sup>1)</sup>、棚橋 訓<sup>2)</sup>、巽 典之<sup>3)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

- 1) 東海大学医学部・分子生命科学
- 2) 慶応義塾大学文学部民族学考古学
- 3) 大阪市立大学医学部臨床検査医学

---

## 6月1日(木) 13:10-14:00 疾患I

---

座長：小河原 悟 (福岡大学医学部)

#### 12. 抗HCV抗体陽性心筋症のHLA遺伝子解析

○中島舞子<sup>1)</sup>、成瀬妙子<sup>1)</sup>、松澤由美子<sup>1)</sup>、松森 昭<sup>2)</sup>、篠山重威<sup>2)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>、  
厚生省特発性心筋症調査研究班

- 1) 東海大学医学部・分子生命科学
- 2) 京都大学医学研究科循環病態学

#### 13. 慢性維持血液透析患者における慢性C型肝炎のウイルス量とHLAとの相関

○森本順子、長谷川義之、吉武圭輔、野田律矢、小河原 悟、兼岡秀俊、内藤説也  
福岡大学病院 腎センター

#### 14. 帯状疱疹後神経痛における発症過程の異なる3集団を用いたHLA遺伝子解析

○安西達也<sup>1)</sup>、成瀬妙子<sup>1)</sup>、Nicolette Takashige<sup>1)</sup>、小澤 明<sup>2)</sup>、笹尾ゆき<sup>2)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

- 1) 東海大学医学部・分子生命科学
- 2) 東海大学医学部・皮膚科

#### 15. 肺MAC感染症とHLA抗原

○高橋正光<sup>1)</sup>、石坂彰敏<sup>2)</sup>、仲村秀俊<sup>1)</sup>、小林 賢<sup>3)</sup>、玉井誠一<sup>3)</sup>

- 1) 川崎市立井田病院呼吸器科
- 2) 東京電力病院検査科
- 3) 防衛医科大学校検査部

#### 16. 日本人のP-ANCA関連腎炎とHLAとの相関

○吉武圭輔、森本順子、長谷川義之、野田律矢、小河原 悟、村田敏晃、兼岡秀俊、内藤説也  
福岡大学病院 腎センター

---

**6月1日(木) 13:10-13:50 移 植**

---

座長：高橋孝喜 (虎ノ門病院)

## 17. 献腎移植希望登録者のHLA-A,B及びDRの血清学的タイピングとDNAタイピングの比較

○渡辺真穂、萩尾美代、小河原 悟、兼岡秀俊、内藤説也  
福岡大学病院 腎センター

## 18. FCMによる抗HLA抗体の検出(血小板輸血後の抗体価の推移と免疫抑制剤療法の効果指標について)

○森 勝志<sup>1)</sup>、米田孝司<sup>1)</sup>、片山義章<sup>1)</sup>、佐田正晴<sup>2)</sup>、中谷武嗣<sup>2)</sup>  
1) 国立循環器病センター臨床検査部  
2) 国立循環器病センター・研究所実験治療開発部

## 19. Panel reactive antibody (PRA)検査におけるB cell陽性症例は腎移植では予後不良?

○橋本光男、木下朋子、谷口由香里、福西孝信  
兵庫県立西宮病院・腎移植センター

## 20. マイナー組織適合性抗原(mHa)の適合性とGVLとの関係

○丸屋悦子<sup>1, 11)</sup>、岡本真一郎<sup>2)</sup>、塩原信太郎<sup>3)</sup>、関 茂樹<sup>4)</sup>、甲斐俊朗<sup>5)</sup>、  
藤井康彦<sup>6)</sup>、加藤剛二<sup>7)</sup>、河敬世<sup>8)</sup>、藤井 浩<sup>9)</sup>、原田実根<sup>10)</sup>、伊藤和彦<sup>11)</sup>、  
徳永勝士<sup>12)</sup>、十字猛夫<sup>13)</sup>、佐治博夫<sup>1)</sup>  
1) 京都府赤十字血液センター  
2) 慶應大学医血内  
3) 金沢医大輸血  
4) 佐久総合内  
5) 兵庫医大輸血  
6) 山口大医三内  
7) 名古屋第一日赤  
8) 大阪府立母子保健総合医療セ小  
9) 京都第一日赤内  
10) 岡山大医二内  
11) 京大輸血  
12) 東大人類遺  
13) 日赤中央血液七

## 会員研究発表Ⅱ（口演発表）

6月2日（金） 9：00-10：00 分子遺伝学Ⅲ

座長：猪子英俊（東海大学医学部）

### 21. HLA-DR 遺伝子領域に存在する新規RNA結合タンパク質遺伝子の分子生物学的解析

○千田昇平<sup>1)</sup>、北條浩彦<sup>1)</sup>、平井百樹<sup>2)</sup>、屋敷伸治<sup>3)</sup>、園田俊郎<sup>3)</sup>、徳永勝士<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京大学大学院・医学系研究科・人類遺伝学

<sup>2)</sup> 東京大学大学院・医学系研究科・人類学

<sup>3)</sup> 鹿児島大学・医学部・ウイルス学

### 22. MICA遺伝子多型の解析：新たなMICAアレルの発見

○大淵信久、高橋めぐみ、木村彰方

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子病態

### 23. 日本人におけるCD1D遺伝子の多型性

○柏瀬貢一<sup>1)</sup>、石川善英<sup>1)</sup>、徳永勝士<sup>2)</sup>、赤座達也<sup>1)</sup>、十字猛夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社中央血液センター

<sup>2)</sup> 東京大学医学部人類遺伝学教室

### 24. ブタDRB,DQB,DMA遺伝子の多型性解析

○安藤麻子<sup>1)</sup>、河田寿子<sup>1)</sup>、重成敦子<sup>1)</sup>、村上珠美<sup>1)</sup>、椎名 隆<sup>1)</sup>、佐田正晴<sup>2)</sup>、辻 隆之<sup>2)</sup>、  
鳥生厚夫<sup>3)</sup>、中西喜彦<sup>4)</sup>、三橋忠由<sup>5)</sup>、関川賢二<sup>6)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学・医学部・分子生命科学

<sup>2)</sup> 国立循環器病センター

<sup>3)</sup> 農水省家畜改良センター

<sup>4)</sup> 鹿児島大学・農学部

<sup>5)</sup> 農水省畜産試験場

<sup>6)</sup> 農水省家畜衛生試験場

### 25. HLA-A\*3101およびHLA-A\*3303間のペプチド結合の特異性

○松田智子、富山宏子、滝口雅文

熊本大学エイズ学研究センター・ウイルス制御分野

### 26. CLIP置換型インバリアント鎖遺伝子を利用したHLAクラスⅡ・ペプチド複合体発現ライブラリーの開発

○藤井慎嗣、千住覚、植村靖史、西村泰治

熊本大学大学院医学研究科・免疫識別

---

**6月2日(金) 10:00-11:00 分子遺伝学IV**

---

座長：木村彰方 (東京医科歯科大学)

## 27. HLA領域と相同性を示す第1染色体Iq22-23領域のシークエンシング解析

○椎名 隆<sup>1)</sup>、瀧嶋伸貞<sup>1)</sup>、安藤麻子<sup>1)</sup>、重成敦子<sup>1)</sup>、吉川枝里<sup>1)</sup>、岩田京子<sup>1)</sup>、桑野裕子<sup>1)</sup>、  
北村悠香<sup>1)</sup>、野上正弘<sup>1)</sup>、河田寿子<sup>1)</sup>、福住康仁<sup>2)</sup>、渡辺幸治<sup>2)</sup>、山崎正明<sup>2)</sup>、田代弘行<sup>2)</sup>、  
数藤由美子<sup>3)</sup>、笠井文生<sup>3)</sup>、香田 淳<sup>4)</sup>、奥村克純<sup>4)</sup>、田宮 元<sup>1)</sup>、添田栄一<sup>5)</sup>、池村淑道<sup>6)</sup>、  
木村 穰<sup>1)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学・医学部

<sup>2)</sup> 不二家バイオ研究所

<sup>3)</sup> 東大・院理・生物科学

<sup>4)</sup> 三重大・生物資源

<sup>5)</sup> 理研・ライフサイエンス筑波センター

<sup>6)</sup> 遺伝研・進化遺伝

## 28. ミトコンドリアDNAタンパクコーディング領域の多型解析

○石川善英、柏瀬貢一、岡井 幹、赤座達也、十字猛夫  
日本赤十字社中央血液センター

## 29. HLAクラスIとクラスIIアレルの同時検出を可能にしたDNAタイピングシステム

○松崎雄三<sup>1)</sup>、小林 賢<sup>2)</sup>、阿藤みや子<sup>3)</sup>、鈴木洋司<sup>3)</sup>、向田政博<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 防衛医科大学校法医学講座

<sup>2)</sup> 防衛医科大学校検査部

<sup>3)</sup> 防衛医科大学校輸血部

## 30. リアルタイムPCR産物自動検出機と蛍光標識プローブを用いたHLA 2 遺伝子座同時DNAタイピング法の開発

○河田寿子、成瀬妙子、松澤由美子、猪子英俊  
東海大学医学部・分子生命科学2

## 31. DNAオリゴマーマイクロアレイを用いたHLA-DNAタイピング

○松村嘉之<sup>1)</sup>、市原竜生<sup>1)</sup>、鈴木 収<sup>1)</sup>、成瀬妙子<sup>2)</sup>、猪子英俊<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 日清紡研究開発センター

<sup>2)</sup> 東海大学医学部・分子生命科学

## 32. HLA-E,-F,-Gの発現について—モノクロナル抗体による免疫染色およびリアルタイムPCR産物自動検出機によるmRNAの半定量

○石谷昭子<sup>1)</sup>、下嶋典子<sup>1)</sup>、川崎明彦<sup>1)</sup>、岸田 学<sup>1)</sup>、梅影秀史<sup>2)</sup>、赤崎正佳<sup>3)</sup>、大村素子<sup>1, 4)</sup>、  
Daniel Geraghty<sup>5)</sup>、羽竹勝彦<sup>1)</sup>

- 1) 奈良県立医科大学法医学
- 2) 奈良県立医科大学産婦人科
- 3) 赤碕クリニック
- 4) 兵庫県立西宮病院
- 5) Fred Hutchinson Cancer Research Center

---

**6月2日(金) 11:00-12:00 疾患II**

---

座長：西村泰治 (熊本大学医学部)

33. SEREX法によるVogt-小柳-原田病関連自己抗原の解析

○山田和博<sup>1, 2)</sup>、千住 覚<sup>1)</sup>、中面哲也<sup>1)</sup>、村田恭啓<sup>2)</sup>、Toshimichi Shinohara<sup>3)</sup>、  
根木 昭<sup>2)</sup>、西村泰治<sup>1)</sup>

- 1) 熊本大学大学院医学研究科・免疫識別
- 2) 熊本大学医学部・眼科
- 3) ハーバード大・眼科

34. 難治性Graves病への感受性はDPB1\*0501とB\*35によって規定される

○高橋めぐみ<sup>1)</sup>、玉井 一<sup>2)</sup>、木村彰方<sup>1)</sup>

- 1) 東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子病態分野
- 2) 隈病院・内科

35. 急性、慢性C型肝炎患者におけるHCV特異的CTLの動態

ーエピトープペプチドを複合したHLA-4量体複合体を用いた解析ー

○曾場尾勇司、徳永美知代、富山宏子、滝口雅文

熊本大学エイズ学研究センター・ウイルス制御分野

36. クロウン病感受性におけるTNF $\alpha$ プロモーター多型の独立の寄与

○川崎 綾<sup>1)</sup>、土屋尚之<sup>1)</sup>、萩原清文<sup>2)</sup>、高添正和<sup>3)</sup>、徳永勝士<sup>1)</sup>

- 1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室
- 2) 東京大学医学部附属病院アレルギーリウマチ科
- 3) 社会保険中央総合病院内科

37. 無精子症患者の疾患感受性遺伝子はクラスII領域に存在する

○太田正穂<sup>1)</sup>、勝山喜彦<sup>2)</sup>、佐田正晴<sup>3)</sup>、中谷武嗣<sup>3)</sup>、高原史郎<sup>4)</sup>、辻村 晃<sup>4)</sup>、北村雅哉<sup>4)</sup>、  
三浦英信<sup>4)</sup>、西村健作<sup>4)</sup>、奥山明彦<sup>4)</sup>、猪子英俊<sup>5)</sup>

- 1) 信州大学医学部法医学教室
- 2) 信州大学病院薬剤部
- 3) 国立循環器病センター研究所
- 4) 大阪大学医学部泌尿器科



5) 東海大学医学部分子生命科学

38. Buerger病感受性遺伝子はHLA領域内に少なくとも4種存在する

○木村彰方<sup>1)</sup>、高橋めぐみ<sup>1)</sup>、太田正穂<sup>2)</sup>、勝山善彦<sup>2)</sup>、猪子英俊<sup>3)</sup>、大内 博<sup>4)</sup>、  
市来正隆<sup>4)</sup>、錦見尚道<sup>5)</sup>、大淵信久<sup>1, 6)</sup>、小林 靖<sup>6)</sup>、沼野藤夫<sup>6)</sup>

1) 東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子病態分野

2) 信州大学医学部法医学教室

3) 東海大学医学部分子生命科学

4) JR仙台病院・外科

5) 名古屋大学・医学部・1 外科

6) 東京医科歯科大学・医学部・3 内科

---

(シンポジウムⅡ：「ウイルス感染とHLA」)

---

追加発言

39. パピローマウイルス感染子宮病変とHLAアリル頻度に関する検討

○大久保光夫<sup>1)</sup>、斎藤麻紀<sup>2)</sup>、平田蘭子<sup>1)</sup>、竹田 省<sup>2)</sup>、木下勝之<sup>2)</sup>、前田平生<sup>1)</sup>

1) 埼玉医大総合医療センター・輸血・細胞治療

2) 埼玉医大総合医療センター・産婦人科

40. HIV-1陽性血友病患者のHLAの解析：AIDSの病勢とHLA-DRB1アリルの相関

○大久保光夫<sup>1)</sup>、平田蘭子<sup>1)</sup>、田口仁美<sup>2)</sup>、中村哲也<sup>2)</sup>、岩本愛吉<sup>2)</sup>、前田平生<sup>1)</sup>

1) 埼玉医大総合医療センター・輸血・細胞治療

2) 東大医科学研究所・感染症研究部



# 教 育 講 演



## A T Lの民族疫学：南米に渡った古モンゴロイドの病気

田島和雄

愛知県がんセンター研究所

私たちは1988年から日本全国の主要医療施設の協力の下にA T Lの全国実態調査を継続し、日本のA T Lの疫学的特性を明らかにしてきた。日本では毎年約700例余りのA T Lの新患者が推定120万人のHTLV-I感染者から発生（推定罹患率は40歳以上で年間0.001）しており、その7割は九州地方出身者で占められる。また、A T L患者の地理分布は日沼らを中心に実施してきたHTLV-Iの感染者の地理分布と合致し、それは日本の南北に分布していると考えられる旧日本民族の子孫の地理分布にも符合する。一方、アジア地域における国際調査によると日本人を除くモンゴロイド集団にはHTLV-Iの集積が観られないという、民族疫学的に極めて興味深い知見が得られた。私たちは1981年に九州地方のA T L好発地帯において実施したHTLV-Iの血清疫学調査により、HTLV-Iが母児・夫婦間の家族内における自然感染により伝播してきたという疫学的現象を明らかにしていた。その同族内の自然感染経路に鑑み、本研究の焦点を約25,000-12,000年前にベリンジア平原を越えてアジア大陸から新大陸に移動したとされる旧モンゴロイド集団に移した。

私たちは十年前から、鹿児島大学ウイルス学教室との共同による南米全土の僻地に居住する41部族を対象とした大規模なフィールド調査を展開してきた。その結果、HTLV-Iはアンデス高地民族にのみ観察され、他のオリノコ・アマゾン川流域、パタゴニア地方などに広く分布している低地民族はHTLVのII型を保有することが判明した。さらに、HLAのハプロタイプの分布特性からも高・低地民族を遺伝学的に大別することができた。古代に南米大陸まで渡っていった古モンゴロイド集団が、太平洋を挟んで日本列島に住む日本民族とウイルス学的・免疫遺伝学的に結びつくことは医学のみならず、考古・人類学にとっても重要な知見である。次に、私たちは南米の考古学者の協力を得て、本研究の焦点をチリ北部やペルー南部の砂漠地帯に埋葬されているアンデス先住民族のミイラ集団に絞った。まず、100例余りのミイラの骨・骨髄組織を採取し、二体のミイラ(約1500年前)の骨髄組織からヒトβグロビン遺伝子の抽出に成功した。さらに、その一体からHTLV-I-pX、-LTR遺伝子を抽出し、それらをクローニングし、既存の両遺伝子の塩基配列と比較検討した。それらの塩基配列はアンデス先住民族やアイヌ民族のそれらと極めて類似していた。本研究結果は、HTLV-Iが新大陸発見以前に南米先住民族に存在し、それが旧日本民族の亜型と同系統に属することを科学的に証明した新知見と考える。

今後は一連の民族疫学的研究を再度アジア大陸の先住民族を対象に再検討し、モンゴロイドのHTLV-Iや旧日本民族の起源にせまる研究に挑戦しながら、一方では、環太平洋地域におけるがんの民族疫学的研究の発展に寄与していきたい。



# シンポジウム





S1 - 1

## ADVANCES IN TRANSPLANTATION IN THE WORLD WITH RESPECT TO HISTOCOMPATIBILITY.

Paul I. Terasaki  
(UCLA)

During the past few years, results of transplantation have markedly improved. This review will concern the advances made in histocompatibility for organ transplants. With continuing advances made in immunosuppression, there is a need to adjust our thinking on the role of HLA in transplantation. Very high survival rates are achieved with mismatched transplants. Three main areas in which histocompatibility issues are involved will be discussed.

1. Matching. To what extent is matching applicable to different types of transplants such as kidney, heart, liver, pancreas and bone marrow. Also, what is the evidence for the type of test needed, and more specifically, DNA testing to what degree of resolution. There is evidence that organ transplants may require a lower level of resolution compared to bone marrow transplants. Since there are more than 1000 HLA alleles now known, it is now an impracticality to insist that all alleles be typed for all organ transplants. Even for bone marrow transplants, the extreme polymorphism of unrelated donor pool. Worldwide sharing of bone marrow and eventually the results should aid in narrowing down which are the acceptable and which are the unacceptable mismatches. Even within one organ, such as the kidney, a different level of matching is needed depending on whether the kidney is from a cadaver donor or a living unrelated donor.

2. Preformed HLA antibodies and crossmatching. The value of testing patients before transplants will be discussed. Patients requiring liver transplants, for example, rarely have preformed antibodies, but the consequence of a positive cross match is still significant. For heart transplants, the fraction of patients who are sensitized before transplantation is increasing as a result of left ventricular assist devices and the need for transfusion. Thus the role of PRA and crossmatching is becoming more important in heart transplants. In addition, considerable data is now accumulating on the level of sensitivity of preformed antibody and crossmatching. Often, even if hyperacute rejection does not occur with a positive crossmatch using a sensitive test, subsequently, these patients tend to have acute irreversible rejections.

3. Post transplant HLA antibodies. Following a transplant, evidence is accumulating that HLA antibodies may be the main trigger for rejection. If this is true, then monitoring patients for post transplant HLA antibodies should be valuable in determining what type of immunosuppression should be given to patients. For heart transplants, there is the possibility that serological tests may eventually replace the biopsy. With the availability of ELISA and flow cytometry tests, more patients can now be seen to produce antibodies after transplantation. Moreover, these new tests allow the clear distinction of the Class I, Class II and autoantibodies. To date, the differing roles of Class I and Class II antibodies in rejection has not been well defined. The autoantibodies had produced many false positive reactions in the past. In fact, there is still some indications that autoantibodies may enhance, or help transplants. Most of the transplants performed throughout the world is from cadaver donors. In the coming century, hopefully, Japan will join the rest of the world in utilizing this source of organs from people who no longer need them.

## S1-2

## 世紀の移植（日本の骨髄移植）

十字猛夫

日本赤十字社中央血液センター

世紀における日本の骨髄移植はどのように変貌をとげるであろうか。夢を含めて概観をまとめてみたい。

近未来における変化

骨髄バンクドナー登録者数を増やすこと

HLA抗原検査の精度があがり、アレルレベルの検査が日常的となる時代には、アレル適合ドナーが必要となることは必然であり、登録ドナー数を当面30万人に増やすことが計画されている。マスコミを含めて、広報活動の強化と、タイピング機能の精度向上と簡素化が望まれている。

マイナー組織適合抗原の解明と応用

我国の非血縁者間骨髄移植の成績もかなり良くなってきている。しかし、主要組織適合性抗原がアレルレベルで適合していても、それ以外のマイナー抗原が移植の成否にかかわるといわれている。グルミーらがマイナー抗原の研究を組織的に行い、また我国でも佐治らがマイナー抗原を追求している。現在までに解明されている抗原を適合させる方向での臨床応用が期待されている。ヒトの全ゲノムを解析するプロジェクトが世界的レベルで進行していて、きわめて近い将来に完成されるといわれている。それを基礎として、多数の同種抗原系が解明されるものと思われる。それらが移植抗原としての意味をもつのかどうかの、解析が可能となろう。骨髄移植後に関連する細胞リンパ腫が発現した症例に、骨髄細胞ドナーの末梢リンパ球を移注することによって、リンパ腫を治療できると報告されている。この方向での試みは、骨髄移植の成績の向上につながるものと考えられる。

GVHDの予防

輸血後GVHDの予防は、輸血用血液への放射線照射で解決できることが、我国の輸血現場で確認されている。しかしながら骨髄移植では、この方法は不可能である。1970年代後半にWilsonらは、親ストレインマウスのリンパ球をF1マウスに、GVHDを起こさない数量で、数回接種すると、GVHDに対する抵抗性を誘導できると報告している。この抵抗性は、同じ系統のF1マウスに抵抗性を獲得したマウスのリンパ球を移注することによって、passive transferできることも確かめられている。ヒトとマウスでGVHD発症に必要なリンパ球の数は異なっているので、困難な面があるが、Wilsonらの結果を人に応用し、GVHD発症の予防法を確立することが望まれる。

中・長期的な展望

我々が現在もっている免疫学の知識は、まだ限られたものであって、將に氷山の一角(the tip of the iceberg)を眺めているにすぎない。免疫学的抗原提示についても、解析されているのは、主としてペプチドのみであって、脂質、糖質については、CD1抗原の機能が、問題とされはじめたところである。また、免疫を担当する細胞の機能についても、未知の部分が多い。NK細胞について、NK受容体の分子構造とその機能が解明されはじめた所であり、その全貌はあきらかとなっていない。また、最近T細胞受容体(T cell receptor)とNK受容体(NK receptor)を同時に保有する細胞群がマウスにおいても、ヒトにおいても、その存在が確認されている。腫瘍免疫に関与するものと推定されているが、その働きは、今後の研究をまたなければならない。

このような未知の部分の解明された時には、骨髄移植療法が治療の対象としている多くの疾患は、遺伝子治療、免疫療法、新しい細胞治療などの治療法によって、なおすことが可能になることが考えられる。しかし、このようなことが可能になるためには、MHCを含めた移植に重要な組織適合抗原がタイプされているドナーの登録制度と、GVHDの予防法の確立は絶対に必要となると考えられる。

S1-3

## 日本の臓器移植

吉田孝人

浜松医科大学

演者は「移植は総合医学であり、その国の総合文化の上に成り立っている。」と定義付けてきました。

そこで、私見ではありますが次の順序で、21世紀の「日本の臓器移植」を皆さんと共に考え、理想の姿を探すことで、与えられた責任を果たさせていただきます。

- A. 日本の総合文化・日本人の人生観からみた移植／移植からみた今までの日本の総合文化・日本人の人生観。
- B. 今までの総合医学、特にヒトの免疫学、感染症学からみた移植。
- C. 同種臓器移植の限界をどのように打開していくか。
  1. 素材／臓器の側から／テーラーメイド臓器は可能か。
    - ・人工臓器は何処まで我々の一部となり得るのか／どのように臓器移植と用いるのか。
    - ・無菌の異種臓器は目的を可能にするのか／レシピエントに合わせた異種臓器は創れるのか。
    - ・ES細胞からの臓器／クローン臓器が到来するのか。
  2. 生体の側から。
    - ・レシピエントの免疫系を変える／ドナーにあわせる。
    - ・トレランスの誘導／特定の抗原に対するトレランス誘導。
    - ・微生物の排除／微生物に対する新たな挑戦。
- D. 薬の開発／新たな立場からの臓器移植の薬は開発されるのか。
- E. 21世紀の日本の総合文化は何処に行くのか／新しい宇宙観・人生観とは。

## S1-4

**CMVと臓器移植**

栄鶴義人

(鹿児島大学医学部附属難治性ウイルス疾患研究センター・臓器がんウイルス研究分野)

サイトメガロウイルス (CMV:cytomegalovirus)は、ベータ・ヘルペスウイルス亜科に属し、日本人成人の約80%以上が感染している極めてありふれたウイルスである。通常健康人では、CMV感染は不顕性に終わり、抗体存在下にウイルスは終生体内に存続する。しかし、移植患者やエイズ患者等の易感染性宿主では、持続感染しているCMVの再活性化(内因感染)や移植臓器などを介する再感染(外因感染)により、肺炎、消化管潰瘍・出血、網膜炎、脳炎など、場合によっては死に直結する重篤な感染症を起こす典型的な日和見ウイルスである。

腎、肝、心などの固形臓器の移植患者でのCMV感染症の危険因子として、1) ドナーおよびレシピエントのCMVに対する抗体の有無、2) 使用する免疫抑制剤の種類、3) 移植臓器の由来(生体もしくは死体)、4) HLA適合性の程度、および、5) 輸血の種類と頻度などが挙げられる。ドナーおよびレシピエントが共に抗体陰性の場合、CMV感染症発症の頻度は最も低く0~20%である。ドナーが抗体陽性レシピエントが抗体陰性の場合、90~100%の高率でCMV感染症が発症し、しかも、肺炎など重篤な病態を示すことが多い。免疫抑制剤では、リンパ球に細胞傷害を引き起こすような抗CD3抗体の使用や高濃度のステロイド剤の使用がCMV感染症発症の危険因子と考えられる。また、移植臓器が死体由来の場合生体由来よりCMV感染症を起こし易い。さらに、CMVの再活性化には免疫低下と同種免疫反応を伴う場合が多く、HLA適合性の程度はCMV感染症の発症頻度に大きく影響する。

移植患者にCMV感染症が起これば、移植臓器自体の生残率も悪く、拒絶反応以外の理由で移植臓器がダメージを受けることがある。すなわち、腎でのglomerulopathy、肝の胆管硬化症、および、心の冠動脈のアテローム性動脈硬化症などがCMV感染を引き金に起こればと考えられている。

同種骨髄移植患者のCMV間質性肺炎は、1) 骨髄移植後ほぼ1ヵ月から3ヵ月の時点で移植患者の40~50%で起こり、治療しない場合は80~90%死亡する、2) 同種骨髄移植患者に起こり、同系あるいは自家骨髄移植患者では希である、3) その発症はGVHDと深い関連がある、などの特徴を有している。その成因については、CMV感染細胞に対する免疫病理学的機序による組織破壊がその本態と考えられている。

このような移植患者でのCMV感染症に対する対策は過去10年間で飛躍的に進歩した。すなわち、PCRによるゲノム検出および単クローン抗体による抗原血症検出により迅速診断が可能となり、治療としては、ガンシクロビル(GCV)が汎用されている。現在、抗原血症の出現と同時にGCVを投与するpre-emptive therapyが最も効果的な治療法と考えられている。

## S2-1

## ウイルスの進化

五條掘 孝

国立遺伝学研究所

ウイルス感染症にとって、宿主側の免疫機構と病原性ウイルスの相互作用を解明することは重要な問題である。特に、細胞性免疫の主役的役割をもつHLAにとって次々と抗原性を変化させていく病原性ウイルスは大敵である。このような抗原の変化は、病原性ウイルスの遺伝情報の変化であり、進化学的には突然変異と自然淘汰によって引き起こされていると考えられている。

ここで自然淘汰というときには、生存に有利な突然変異のためウイルス集団に生き残っていくような作用をする「正の淘汰 (positive selection)」と、生存に有害なためウイルス集団から消滅していくような作用をする「負の淘汰 (negative selection)」がある。突然変異が生存にとって有利でも有害でもないとき、「淘汰的に中立 (selectively neutral)」という。遺伝情報を激しく変化させて宿主の免疫機構から病原性ウイルスが逃れるには、注目する遺伝子産物、すなわちタンパク質のアミノ酸配列においてアミノ酸変化を好むような「正の淘汰」が働くことが必要であろう。

このような詳細な進化機構を、様々な病原性ウイルスを例としてとりあげながら議論する。まず、HIV (ヒト・エイズウイルス) やHCV (ヒトC型肝炎ウイルス) のそれぞれのウイルスにおいて、塩基配列データから分子系統樹を再構築し、いわゆる「分子疫学」的立場から各サブタイプの進化的関係について概略的に議論する。さらに、この分子系統樹の応用として、感染者の体内におけるウイルスクローンの変異とその多様化の過程を追跡できる事を示したい。

また、先に述べたように大規模なデータベース解析に基づく同義置換 (アミノ酸を変えない塩基置換) と非同義置換 (アミノ酸を変える塩基置換) の数の比較から、正の自然淘汰を受けている可能性のある遺伝子ファミリーは、全体のわずか0.5%程度に過ぎないが、そのほとんどがウイルスの表面抗原などのタンパク質である事実を指摘する。さらに、最近、各アミノ酸サイトごとに正の自然淘汰が働いているかどうかを検出する方法を開発した。(Suzuki and Gojobori, 1999, MBE 16(10):1315-1328) この新しい方法を用いてHIVやインフルエンザウイルスの表面タンパク質の各アミノ酸サイトを調べたところ、それぞれ十数個にわたるサイトで正の自然淘汰を受けている可能性があることがわかった。(またYamaguchi and Gojobori, 2000, JV, in pressも参照) また、それがほとんどの場合、実験的にエピトープと同定されたサイトに相当することがわかった。

さらに、同じ方法をHLAクラスI遺伝子にも適用したところ、HLAタンパク質の立体構造から知られる抗原認識部位 (ARS: Antigen Recognition Site) の他に、もう一つ新たなARSが存在する可能性が極めて高いことがわかった。

このことから、この新しい方法が、正の淘汰を受ける可能性のあるアミノ酸サイトを同定することが非常に役立つことを指摘しうる。さらに、それらの同定されたサイトの立体構造上の位置から、HLA分子とウイルス膜抗原表面タンパク質の相互作用を進化的視点からより詳細に調べることが可能になることを指摘する。

S2 - 2

## EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION AND HLA

Maria G. Masucci.

(Microbiology and Tumor Biology Center, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden)

Epstein-Barr virus (EBV) is a gamma-herpesvirus widely spread in all human populations with a prevalence of over 90% in adults. Infection results in the establishment of a life long carrier state characterised by the persistence of antibodies to several viral gene products and by the secretion of infectious virus in saliva. EBV induces growth transformation of human and primate B lymphocytes in vitro. B cell transformation is associated with the expression of a restricted set of viral genes which encode two non-translated small RNAs, EBER-1 and -2, six nuclear proteins, EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3A, -3B, -3C and EBNA-LP and three membrane proteins, the latent membrane proteins LMP1, 2A and 2B.

Three forms of latent infection, referred to as Latency I-III, have been demonstrated in EBV carrying B-cell lines and EBV carrying tumor biopsies. In Latency I only EBNA-1 is expressed. The same EBNA-1 transcription program is used in Latency II together with transcription of LMP-1, -2A and -2B. In Latency III the latent membrane proteins are expressed together with the six EBNAs. Only a small fraction of latently infected B lymphocytes enters spontaneously the productive cycle which is characterised by the coordinate expression of immediate early, early and late genes that encode for viral transactivators, enzymes involved in viral replication and structural proteins, respectively. Strong humoral and cellular immune responses contribute to the control of primary EBV infection and allow to asymptomatic persistence of the virus in healthy carriers. Cells expressing Latency III, which are detected during primary infection, are promptly eliminated by CD8+ MHC class I restricted cytotoxic T lymphocytes that recognise viral epitopes in association with different MHC class I molecules. In vitro CTL reactivation experiments have revealed a hierarchy of epitope choice which is illustrated by the predominance of HLA A11 restricted effectors in polyclonal EBV specific CTL cultures from HLA A11 positive Caucasians. Between 50 and 80% of the CTL clones isolated from these cultures recognize an immunodominant epitope in amino acid residues 416-424 of the nuclear antigen EBNA4 while approximately 10% of the clones recognize a subdominant epitope in residues 399-408. Several mechanisms may account for the generation of this selective immunodominance including differences in the production of antigenic peptides by the cellular processing machinery and affinity of binding to the presenting class I allele or individual variations in the T cell repertoire specific for each epitope. EBV provides the only well documented example of the natural occurrence of CTL escape mutants in a genetically stable virus. This is illustrated by the regular detection of mutations affecting the HLA A11-restricted epitopes in EBNA4 399-408 and 416-424 in 23 EBV isolates from South East Asia, where HLA A11 is expressed in over 50% of the populations, but only in 4 of 15 European isolates, where the frequency of HLA A11 is approximately 10%, and none of 15 isolates from central Africa where HLA A11 is not present. All mutations identified to date affect anchor residues which are important for binding to HLA A11 molecules. The corresponding synthetic peptides are unable to form stable complexes with HLA A11 and LCLs carrying the mutated viruses are not recognized by CTLs specific for the wild type sequence. Analysis of EBV antigen choice in HLA A11 positive Chinese failed to demonstrate CTL precursors restricted through this allele. The exclusive expression of EBNA4 in EBV transformed immunoblasts suggests that strain selection may occur at the time of primary infection.

S2-3

## HPVとHLA

藤吉利信

鹿児島大学医学部ウイルス学講座

### 【目的と意義】

ヒトの発がんの1/3はウイルス関連がんであり、HTLV-I、HPV、EBウイルス、肝炎ウイルス、などがヒトがんウイルスとして知られている。これらのウイルスは、長期のキャリア状態から一部の個体にがんを発生させる。つまり、ウイルス発がんには環境要因であるウイルスだけでなくヒトの遺伝宿主要因が関与している。HLA遺伝子などの免疫応答に関する遺伝子群には個体による遺伝的多型があり、このような多型がウイルス暴露に対する免疫応答の個体固有な差異をもたらす。

子宮頸がん発症においても、HPV感染とHLA遺伝子多型などの宿主要因の関与が考えられる。そこで、本研究では日本人（鹿児島県地方）の子宮頸がん患者群のHPV感染とHLA遺伝子多型を調べるとともに、子宮頸がん発生率が先進国の5-10倍高いことが報告されているボリビアの子宮頸がん患者群と比較することにより、子宮頸がん発症におけるHPV感染とHLAの遺伝背景を明らかにすることを目的とする。

### 【検体と方法】

- 1) 症例・対象：インフォームドコンセントを得た鹿児島大学医学部附属病院に受診した子宮頸がん症例（104例）と鹿児島県地方健康正常人（175例）を対象とした。
- 2) HPV-DNA検出：子宮頸がん組織ホルマリン固定パラフィン包埋標本切片、あるいは子宮頸部スミア細胞から抽出したDNAを用い、藤永ら（J General Virol. 72:1039-44, 1991）のPCR-RFLP法でHPV-DNAを検出した。
- 3) HLAアレルタイピング：対象患者よりヘパリン加末梢血約30mlを採血し、リンパ球（PBL）を分離調整した。凍結保存したリンパ球（PBL）より抽出したDNAを用い、ARMS法でHLAクラスI（A、B、C）、PCR-SSO法でHLAクラスII（DRB1、DQB1）アレルタイピングをそれぞれ行った。

### 【結果と考察】

- 1) HLAタイピング：鹿児島症例のHLAクラスIIアレルタイピングでは、HLA-DRB1\*0401およびDQB1\*0402の頻度が高かった（ $p<0.05$ ）。鹿児島子宮頸がん症例においてHLA-DRB1\*1302およびDQB1\*0604の頻度が低かった（ $p<0.05$ ）。鹿児島子宮頸がん症例においてHLA-B\*44の頻度が低い傾向がみられた。
- 2) HPV-DNA検出：子宮頸部スミア細胞検体での検索がフィルード調査に有用であることが判明した。ボリビアではHPV typeは31型が最も多く、鹿児島地区では、16型が優位であった。

### 【まとめ】

鹿児島地区の子宮頸がん症での解析は子宮頸がんのリスク因子としてHLAクラスII DRB1\*0401、およびDRB1\*0403、防御因子としてHLAクラスII DRB1\*1302、およびDQB1\*0604が明らかになった。ボリビア症例については、子宮頸部スミア細胞検体から抽出したDNAを用いてもHLAタイピングが可能であることが明らかになった。優位なHPV typeが鹿児島地区とボリビア症例では異なることから、それぞれのHLAクラスIIアレルが認識するエピトープが何か興味深く、これを特定することによりHPV抗原ペプチドの候補を決定することができる。

### 【共同研究者】

Carolina Lema, 李 洪川, 嵯 宏, 屋敷伸治, 園田俊郎（鹿児島大・医・ウイルス）辻 隆広, 永田行博（鹿児島大・医・産婦人科）, Luis Hurtado Gomez（ボリビア医学会会長）, Luisa Valentina Hurtado（ボリビア国立衛生研究所）

## S2-4

## HIVとHLA

滝口雅文

熊本大学エイズ学研究センター・ウイルス制御分野

HIV-1はたくみに免疫系から逃避し、宿主の免疫系を破壊しエイズを発症させる。HIV-1が免疫系から逃避する機構に関しては、以下のような可能性が示されている。

(1) HIV-1 Nef蛋白によるHLAクラスI分子のdown-regulationの結果、CTLが認識できなくなる。(2) エピトープ上に変異が生じるため、CTLの認識ができなくなる。(3) CD8+ およびCD4+ T細胞のアポトーシスがおこり、免疫系が低下する。我々はこれらの機構のうち(1)、(2)が実際にHIV-1が感染した生体内でおきているか明らかにする第一歩として、多数のHIV-1 CTLエピトープの同定をおこなった。さらに、これらを認識するCTLクローンを作製し、これを用いてNefによるHLAクラスIのdown-regulationがCTLの認識を低下させるかを調べた。その結果、細胞への感染終期には、Nef蛋白はHLAクラスIのdown-regulationを介してCTLの認識を低下させている事が明らかになった。

血中のCTLは、細胞傷害活性が低下している可能性が示唆されている。そこでどのような分化レベルの、また機能をもったCTLが血中に存在するかを、HLAクラスIテトラマーを作製して調べた。6種類のエピトープに対するHLA-B\*3501テトラマーを作製し、これを用いてHIV-1感染者のPBMC中のHIV-1特異的CD8+ T細胞を調べた所、数%のHIV-1特異的CD8+ T細胞が見られ、これらのT細胞の多数はCD28-CD45RA-のeffector typeのT細胞であった。この事より血中HIV-1特異的CD8+ T細胞は細胞傷害活性をもったCTLであると考えられた。

血中に特異的CTL活性をもったHIV-1特異的CD8+ T細胞が存在するにも関わらず、HIV-1を排除できない機序はまだ明らかでない。NefによるHLAクラスIのdown-regulationは、HIV-1の細胞への感染の終期にしかみられず、この機序のみによってHIV-1の逃避が可能になるとは考えられない。エピトープ上の変異によるCTLの認識からの逃避が、多数のエピトープ上でおきているかを、今後実際の感染者を使って詳細に検討する研究が必要と考えられる。



S2-5

## HTLV-1とHLA

### 屋敷伸治

鹿児島大学医学部ウイルス学講座

成人T細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) はヒトレトロウイルスの一種、human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I)の感染でおこる白血病である。九州の南西部、沖縄、四国、紀伊、三陸、東北、北海道にはHTLV-Iキャリアが多発しており、ATLとHTLV-I関連疾患 (HAM/TSPなど) が発生している。このHTLV-Iキャリアの地域集積性と同一家族や患者にATLとHAM/TSPが併発することは極めて稀であり、ATLとHAM/TSPは同一種のHTLV-Iが感染しておこることから両者の発症を振分ける要因は宿主の免疫遺伝要因の関与が示唆されていた。そこで南九州のATL、HAM/TSPとHTLV-Iキャリアの同意を得て家系調査とHLAの遺伝解析をおこなった。

ATL患者ではHLA-A\*26, B\*4002, B\*4006, B\*4801, DRB1\*0901、HAM/TSP患者ではA\*24, B\*07, DRB1\*0101が高頻度に認められた。HLA haplotypesの解析では、ATL患者とその家系では日本人に稀なHLA haplotypes (A\*26B\*4006DRB1\*0901, A\*26B\*4002DRB1\*0901, A\*26B\*4002DRB1\*1401, A\*26B\*15DRB1\*1406, A\*24B\*4801DRB1\*1401, A\*24B\*4801DRB1\*1501, A\*02-B\*4002DRB1\*1401, A\*31B\*51DRB1\*0901) が高頻度に認められるが、HAM/TSP患者家系では平均的日本人のHLA haplotypes (A\*24B\*07DRB1\*0101, A\*24B\*52 DRB1\*1502, A\*02B\*4601DRB1\*0803, A\*24B\*5401DRB1\*0405)とATL関連 HLA haplotypesがヘテロで検出された。すなわち、ATL患者は日本人集団の少数派に属する遺伝系統であり、HAM/TSP患者は日本人の主流派と少数派の混血集団であることが明らかになった。

次に、これらのATL、HAM/TSP患者に特有のHLA分子がHTLV-Iに対しどのように免疫応答しているのかCD8+CTLの機能で解析した。ATL患者に好発するHLA-A\*26, B\*4002, B\*4006分子は、HTLV-Iのウイルス蛋白 (Gag, Pol, Env, Tax, Rex) のうち、Tax蛋白 (宿主細胞の転写因子や増殖分化にかかわる機能蛋白とも相互作用し、HTLV-I感染T細胞の不死化とがん性変化を導きATLの発症につながる) を全く認識できず抗TaxCD8+CTLのnon-responderであることが明らかになった。そして、これらのHLAを保有するATL患者は非保有者に比して、12.6歳早くATLを発症していることが明らかになった。すなわちATL患者はTax抗原を認識するCTLが作動できず、HTLV-I感染T細胞の排除が不十分でATL細胞の増殖を許容している可能性が考えられた。一方、HAM/TSPに好発するHLA-A\*24, B\*07はTax蛋白をよく認識し、CTLが誘導されやすくHTLV-I感染細胞の増殖を阻止していることも明らかになった。

また、抗体産生の誘導に関連するCD4+T細胞の免疫応答でも高低反応がみられ、ATL患者に好発するDRB1\*0901, DRB1\*1401, DRB1\*1406, DRB1\*1501はHTLV-I Env抗原に対し低応答性であった。一方、HAM/TSP患者に好発するDRB1\*0101, DRB1\*1502, DRB1\*0803, DRB1\*0405は高応答性であった。

したがって、ATL患者ではHTLV-I Tax特異的CTLの誘導とHTLV-I Env抗体の産生が弱く、HTLV-Iと感染T細胞の排除ができずATLの発症リスクを高めることになると考えられた。一方、HAM/TSP患者ではHTLV-I Tax, Envに対するCTLと抗体産生の誘導がよくHTLV-I感染T細胞の増殖を抑えATLの発症リスクを低めているが、自己反応性T細胞クローンや交叉反応性抗体を誘導してHAM/TSPの発症リスクを高めている可能性が考えられた。

よって、HLA遺伝子の多型がHTLV-I抗原の認識とT/B免疫応答の強度を規定してATLとHAM/TSPの発症を振分けていることが確認された。

## 第4回HLAQCワークショップ

前田平生

埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部  
(日本組織適合性学会標準化委員会委員長)

### 【目的】

昨年度に引き続き、タイピング技術・データの信頼性向上を目的に、第4回HLAQCワークショップを開催する。

### 【方法】

本年度は、71参加施設に対して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タイピングを実施する。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。更に、各検査キットの精度管理をするために、生データをスコア化して回答する。各検査施設から回答されたタイピング結果についてLow resolution (2桁)、High resolution (4桁) レベルでの正解率を報告する。また、アリルの表記法についても検討する。

### 【進行予定】

- ・1999年12月：ワークショップ参加の案内
- ・2000年1月：71施設が参加を表明
- ・2000年2月：6種類のDNAサンプルの配布
- ・2000年4月：生データ、検査結果の回収
- ・2000年5月：データの解析
- ・2000年6月：ワークショップ (鹿児島)

### 【ワークショップ】

- 1.ワークショップ報告
  - 1) HLAアリルの表記法について
  - 2) HLAクラスIアリルの結果報告
  - 3) HLAクラスIIアリルの結果報告
  - 4) 各キット別の生データ・検査結果の解析
- 2.日本人の抗原・アリルの関係について
  - 1) HLAクラスIについて
  - 2) HLAクラスIIについて
- 3.今後の課題

### 【考察】

学会主導のHLAQCワークショップを重ねることにより、HLA検査の精度管理、表記法の標準化が達成され、今後は、検査技術者、施設の学会認定制を計りたい。

# 一般演題



## 1

## 新たに見出されたAローカスバリエント抗原について

○伊佐和美<sup>1)</sup>, 荒木延夫<sup>2)</sup>, 明坂珠生<sup>1,3)</sup>,  
藤井まり恵<sup>1)</sup>, 田中秀則<sup>1)</sup>, 柏瀬貢一<sup>1)</sup>,  
能勢義介<sup>2)</sup>, 赤座達也<sup>1)</sup>, 中島一格<sup>1)</sup>, 十字猛夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社中央血液センター

<sup>2)</sup> 兵庫県赤十字血液センター

<sup>3)</sup> 星薬科大学

### 【はじめに】

Aローカスの抗原は、Bローカスと比較し多型性が少ない。また、日本人において一般的に認められるアリルにコードされる抗原は、一部 (A\*0201、A\*0206、A\*0207にコードされるHLA-A2抗原等)を除いて血清学的に判別することが可能である。今回、既存のAローカス抗原とは異なった血清学的反応パターンを示す2例の抗原 (以下、HLA-A24VおよびA31V)が見出されたので報告する。

### 【方法】

HLA-ABC抗原のタイピングには、HLAタイピング用全国共通トレイ、自家製トレイおよび市販トレイ (ワンラムダ社製) を使用し、通常LCT法を用いた。また、リンパ球の分離にはクラス I 用ビーズ (ダイナル社製) を使用した。DNAタイピングには、Aローカスシークエンス用キット (パーキンエルマ社製) を使用し、エクソン2、3および4のダイレクトシークエンスを行った。更に、変異型をコードするアリルを特異的に増幅するプライマーを使用し、エクソン2および3の塩基配列の決定を行った。

### 【結果および考察】

HLA-A24V抗原は、A24を含む特異性の抗血清10本中7本に反応が認められた。この抗原をコードするアリルは、A\*2402101と比較し、エクソン2の81番目に塩基置換が認められ、アミノ酸 (His3→Gln) に変異が認められた。HLA-A31V抗原は、A31+A33の抗血清には反応を示さなかった。この抗原をコードするアリルは、A\*31012と比較し、エクソン3の570、571番目の2箇所塩基置換が認められ、2箇所のアミノ酸 (Glu166→Asp、Trp167→Gly) に変異が認められた。

今回、新たに見出された2例のバリエント抗原のアミノ酸変異は、反応を示さない抗血清のエピトープ部位の可能性があり、血清学的な反応性に影響しているものと思われた。

## 2

## 日本人に見出されたHLA-A2 nullの疑われるVariant HLA-A\*0206 V1の塩基配列の決定

○猿渡 晃<sup>1)</sup> 中島文明<sup>2)</sup> 藤井まり恵<sup>3)</sup>  
伊藤八重子<sup>1)</sup> 伊藤圭一<sup>1)</sup> 田中秀則<sup>3)</sup>  
十字猛夫<sup>3)</sup> 佐々木 匡秀<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 山口県赤十字血液センター

<sup>2)</sup> 神奈川県赤十字血液センター

<sup>3)</sup> 日本赤十字社中央血液センター

### 【目的】

我々は日本人集団より、血清学的検査でHLA-A2関連抗血清に全く反応せず、遺伝子検査PCR-SSP法においてHLA-A\*0206に分類された未知のHLA-A2をHLA-A\*0206V1と称し塩基配列の決定を行ったので報告する。

### 【方法】

血清学的検査はLCT法によりLocal-Typing-Tray(TT-71,72各72穴)を用いておこない、遺伝子検査はHLA-A\*0201からHLA-A\*0218を分類する10種類のプライマーセットを用いたHLA-A2 High-Resolution PCR-SSP法とA-Locus SBT法によるExon2及びExon3のダイレクトシークエンスを行った。

### 【結果】

血清学的検査の結果、発端者はA11.1 BL B46 B48 Cw1N Cw8N とタイプされ、タイピングトレイに使用される8種類のA2関連抗血清の全てに反応が見られなかった。遺伝子検査の結果、HLA-A2 High-Resolution PCR-SSP法ではA\*0206と同じ増幅パターンを呈し、HLA-A\*0206V1のExon2及びExon3の塩基配列はダイレクトシークエンスの結果、HLA-A\*0206 alleleと比較してExon2 176番目にGからCへの1塩基置換が認められた。

### 【考察】

塩基置換が及ぼすアミノ酸配列の変化は、 $\alpha 1$ ドメインの35番目にArgからProへ置換することとなる。このHLA-A2は塩基置換によってStop-Codonが形成されたものではなかった。血清学的検査で抗原の発現を証明し得ず、今後、他のExonのシークエンスが必要である。

## 3

## ルーチンタイピングで発見されたHLA-Bバリエーション

- 明坂珠生<sup>1)</sup>、<sup>2)</sup>、柏瀬貢一<sup>1)</sup>、田中秀則<sup>1)</sup>、  
藤井まり恵<sup>1)</sup>、島村益広<sup>3)</sup>、加藤道<sup>4)</sup>、  
石川善英<sup>1)</sup>、赤座達也<sup>1)</sup>、高橋朋子<sup>2)</sup>、十字猛夫<sup>1)</sup>
- <sup>1)</sup> 日本赤十字社中央血液センター  
<sup>2)</sup> 星薬科大学 医薬品化学研究所 生物活性学研究室  
<sup>3)</sup> 埼玉県赤十字血液センター  
<sup>4)</sup> 愛知県赤十字血液センター

## 【緒言】

血清学及び、DNAルーチンタイピングで見つかった14検体のHLA-Bバリエーションの塩基配列を決定したので報告する。

## 【方法】

イントロン1にB-locusアレルを2つのグループに分けるプライマーが報告されている。このプライマー及びイントロン3に設定したB-locusに特異的プライマーを用い、バリエーションのみをPCRで増幅し、エクソン2及び3の塩基配列を決定した。一部の検体はバリエーションを増幅するためのプライマーを別に設定した。特異的なプライマーを設定できない場合はクローニングを行った。変異部分が他のアレルにないユニークなものは、PCR-RFLP法又はPCR-SSOP法でその変異を確認した。

## 【結果及び考察】

血清学で見つかったバリエーション (B35V、B46V、B54V、B55V) のうちB35V、B46Vは、 $\alpha$ ヘリックス上のアミノ酸に変異が起きていたが、B54V、B55Vはアミノ酸の変異が $\beta$ シート上にあり、抗原性の違いはHLAの構造あるいは結合ペプチドが変わったためと考えられた。

DNAタイピングで見つかったB\*1501V2、B\*1501V4、B\*1511V、B\*3901V、B\*3902V、B\*4002Vのうち、B\*3901Vは同義置換で、その他はアミノ酸の置換があった。これらは、通常血清学的検査では、最も相同性の高いアレルと区別できなかった。血清学及びDNAタイピングで発見されたバリエーションはB\*3902Vを除き、現在1検体しか見つからない。3検体見つかったB\*3902VはいずれもDRB1\*1406をもち、ハプロタイプを組むと推定された。

B13V、B52Vは血清学的にブランクと判定され、B13Vは15bpの欠失があった。B52Vは $\beta$ シート上の1ヶ所のアミノ酸置換がみられたが、非発現の原因は不明であり、さらに詳細な解析が必要である。

## 4

## 日本人に新たに見出されたHLA-B61 Variant “HLA-B61V” について

- 樋口香織<sup>1)</sup> 小田秀隆<sup>1)</sup> 光富吉朗<sup>1)</sup>  
藤井まり恵<sup>2)</sup> 柏瀬貢一<sup>2)</sup> 田中秀則<sup>2)</sup>  
千代田農<sup>1)</sup> 十字猛夫<sup>2)</sup>
- <sup>1)</sup> 長崎県赤十字血液センター  
<sup>2)</sup> 日本赤十字社中央血液センター

## 【目的】

現在、日赤では成分献血登録者および骨髄バンク登録ドナーのクラスIタイピングを血清学的検査法で行っている。今回我々は日本人献血者において一部のB61の抗血清に反応しないB61 variant (以下B61V) を見出したので報告する。

## 【方法】

血清学的タイピングは日赤共通トレイ (Lot#JRT17, #JRT16)、市販のタイピングトレイ HLA-ABCプレートHS72 (Lot#KFA1b, ヘキスト)、テラサキHLAトレイABC用First72 (Lot#17, ワンラムダ)、Oriental72 (Lot#19A, ワンラムダ)、及び Monoclonal トレークラス I (Lot#6A, ワンラムダ) を使用し、LCT法で行った。DNAタイピングはワンラムダ マイロSSPTM Class I Generic Typing Kit (Lot#2) を用いた。また、塩基配列をダイターミネーター法によるダイレクトシーケンシングにて解析した。

## 【結果】

日赤共通トレイおよび市販のタイピングトレイによるHLAタイプはA24, A26, B52, B61?, Cw10, Cblank と判定された。ワンラムダ マイロSSPTM Class I ではA24, A26, B52, B61, Cw10, Cw12 と判定された。日赤共通トレイでの反応は血清No.44688 (B61, B60, B48, B705, BFU) にはスコア6で反応し、血清No.161288 (B61, B60, B13, B41, B47) には反応を示さなかった。他のトレイでもB61の抗血清の一部に反応を示さなかった。Exon2, 3, 4のダイレクトシーケンシングの結果、B\*4002のExon2の257番目の塩基がGからCへと変異しているニューアレルである事が判明した。

## 【考察】

257番目の塩基の変異は $\alpha$ ヘリックス上の62番目のアミノ酸がアルギニンからプロリンに置換したことになり、このアミノ酸の置換が血清学での反応性の違いを示したものであると思われる。B61の変異は通常Exon3に多く、Exon2の257番目の変異はユニークであるため、マイロSSPTM Class I のプライマーではB61と判定された。このドナーのFamily Studyは出来なかったが、出身地において献血者138名のHLAクラスIタイピングを行ったところ、血清学的に同じパターンを示すB61が一例認められた。このパネルからハプロタイプを推測すると、A26-B61V-Cw10であると考えられた。現在この抗原をコードするアレルはニューアレルとしてWHOに登録申請中である。

## 5 血清学的に検出された2種類のHLA-B22変異型抗原について

### —HLA-B22関連抗原の血清学な反応性について—

○田中秀則<sup>1)</sup>、明坂珠生<sup>1,4)</sup>、寺木佳子<sup>2)</sup>、猿渡 晃<sup>3)</sup>、伊佐和美<sup>1)</sup>、藤井まり恵<sup>1)</sup>、柏瀬貢一<sup>1)</sup>、赤座達也<sup>1)</sup>、中島一格<sup>1)</sup>、十字猛夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>日本赤十字社中央血液センター

<sup>2)</sup>千葉県船橋赤十字血液センター

<sup>3)</sup>山口県赤十字血液センター

<sup>4)</sup>星薬科大学

#### 【はじめに】

HLA-B22関連抗原は、OrientalおよびPacific Islanderに比較的高頻度に見られる抗原で、これまでに3種類 (HLA-B54、-B55、-B56) の抗原が公認され、関連するアليلは14種類 (それぞれ1、8、5種類) が報告されている。今回、血清学的に検出された2種類のB22変異型 (以下、B54VおよびB55V) について塩基配列の解析を行った。

#### 【材料および方法】

血清学的な検査は、免疫磁気ビーズを使用した通常のLCT法で行った。タイピングトレイは、日赤共通トレイ、自家製トレイ、市販トレイ (One Lambda社製) を使用した。また、塩基配列の解析には、変異型をコードするアليلを特異的に増幅するプライマーを使用したダイレクトシーケンシング法で行った。

#### 【結果および考察】

塩基配列の解析結果から、B54VおよびB55V抗原は、B\*5401およびB\*5502と比較しExon2において3ヶ所の塩基置換が認められ、新たなアليل (B\*5401V1およびB\*5502V1) であることが判明し、共にβシートで3ヶ所のアミノ酸置換が認められた。一般的には、βシートでのアミノ酸置換は、血清学反応に影響をしない場合が多いが、これらの変異型では複数の抗血清で反応が異なっていた。

日本人に見られるB22抗原群では、B55がB\*5502とB\*5504でコードされる抗原に、B56ではB\*5601、B\*5603およびB\*5605でコードされる抗原に区分されることが血清学的に判明している。また、B54はExon2においてC-ローカスの配列が、B56の2種類のサブタイプについては、Exon3において他抗原群に由来する塩基配列が認められている。今回検出されたB\*5401V1についてはB61関連の、B\*5502V1についてはB7または67関連のアليلに由来する塩基配列が組み合わさって形成されたものであることが推測された。

## 6 ウズラ MHC (Coja) クラス II 領域における遺伝子解析

○清水佐良子<sup>1)</sup>、椎名 隆<sup>2)</sup>、高橋慎司<sup>3)</sup>、小野寺節<sup>1)</sup>、猪子英俊<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 東大・農、<sup>2)</sup> 東海大・医、

<sup>3)</sup> 国環研・地域環境

#### 【目的】

我々は、ウズラにおけるニューカッスル病ウイルス不活化ワクチンに対する抗体産生能の高低を規定する感受性遺伝子は Coja クラス II 遺伝子と何らかの関連があるものと考えている。そこで、本研究では、Coja クラス II 領域の遺伝子構成を明らかにするために、コスミドクローンをを用いたマッピング解析、クラス II 領域のシーケンシング解析およびクラス II 遺伝子の多型解析をおこなうことを目的とした。

#### 【方法】

ウズラゲノム DNA には、ニューカッスル病ウイルス不活化ワクチンに対する抗体産生能の高低により選抜したウズラ集団 (H<sub>2</sub> line および L<sub>2</sub> line) より抽出したものを、また、コスミドライブラリーには、椎名ら (Immunogenetics, 1999) のものをそれぞれ用いた。PCR 解析のプライマーには、ニワトリのクラス II B 遺伝子の塩基配列をもとに、エクソン2～4 領域 (604 bp) を増幅させるものを設計し、ゲノム DNA を鋳型として、PCR - sequencing 解析をおこなった。コスミドクローンの塩基配列の決定には、ショットガン法により行った。その後、BLAST を用いた相同性解析ならびに Grail および GENSCAN を用いたエクソンあるいは遺伝子の予測をそれぞれ行い、遺伝子を同定した。

#### 【結果および考察】

PCR - sequencing 解析の結果、H<sub>2</sub> 系ウズラには5種類の塩基配列が、また、L<sub>2</sub> 系ウズラには10種類の塩基配列がそれぞれ見い出された。また、コスミドクローンのマッピング解析の結果、ウズラには、少なくとも10個のクラス II 遺伝子を有する個体と12~13個を有する個体が存在するようである。したがって、このクラス II B 遺伝子の数の差異こそが抗体産生能の謎を解く鍵になるかもしれない。さらに、このクラス II 領域に存在する1つのコスミドクローン (C1: 46 kb) の塩基配列を決定したところ、9個の遺伝子 (DMb, DMa, RING3, class IIB1, class IIB2, Tapasin, class IIB3, lectin like, NK receptor) が見い出された。特に、NK receptor が MHC 領域に見い出されたことは、鳥類の免疫機構を解明する上で興味深い遺伝子である。

## 7

## ゲノム4倍体化以前にヒトの祖先と分岐した頭索動物(ナメクジウオ)におけるMHC相当領域のシーケンシング解析

○椎名 隆<sup>1)</sup>、吉川枝里<sup>1)</sup>、瀧嶋伸貞<sup>1)</sup>、岩田京子<sup>1)</sup>、桑野裕子<sup>1)</sup>、北村悠香<sup>1)</sup>、Pierre Pontarotti<sup>2)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大・医、

<sup>2)</sup> INSERM, FRANCE

## 【目的】

“ゲノムビッグバン”と呼ばれるゲノム4倍体化の形跡はヒトの場合、第1染色体1q21-25、第6染色体6p21.3、第9染色体9q33-34、第19染色体19p13.3の4領域に顕著に見出されている。これらの4つの領域は起源を一にし、ゲノム進化の過程で脊椎動物の誕生時に、重複によって進化・形成したとされている。このゲノム4倍体化以前にヒトの祖先と分岐したとされる頭索動物のナメクジウオ(*amphioxus*)は進化学上、脊椎動物の直前に位置付けられ、ゲノムサイズ、遺伝子数ともにヒトの1/5~1/6ほどのコンパクトな作りである。また、MHC、抗原の発現やその遺伝子の存在はこれまでに明らかにされておらず、MHCの起源を探る上で興味深い生物種である。そこで、我々はこのナメクジウオの遺伝子ライブラリーより、MHC領域に存在し、進化学的に保存されている遺伝子をプローブに用いたスクリーニングならびに陽性クローンのシーケンシング解析を行った。

## 【方法】

塩基配列の決定には、ショットガン法により行った。その後、BLASTを用いた相同性解析ならびにGrailおよびGENSCANを用いたエクソンあるいは遺伝子の予測をそれぞれ行い、遺伝子を同定した。

## 【結果】

スクリーニングの結果、RXRB, RING3, NOTCH, PBX, TNX, BAT1, C3, LMP2についてはそれぞれ複数の陽性クローンが得られたがBf/C2, LMP2, TAP1, TAP2については陰性であった。RING3, RXRBおよびNOTCH陽性の3個のコスミドクローンの塩基配列を決定し、遺伝子解析を行った結果、それらの総塩基数は117,777 bpで、13個の遺伝子の存在が予測された。これらの遺伝子のうち、7個(RING3, h-Rev107-like, RXR, NEU-like, p44 protein, NOTCH, Selectin)の遺伝子あるいは相同遺伝子については、上記の相同染色体領域上に存在した。特に、ヒトの1q21~24領域に存在するSelectinは糖鎖を認識する接着分子であることから、MHC抗原が誕生する以前より、個体間の自己と非自己の識別を行ってきた可能性が考えられる。

## 8

## MHC多型によるペンギン類の進化と分類

○津田とみ<sup>1)</sup>、津田道雄<sup>1)</sup>、成瀬妙子<sup>1)</sup>、河田寿子<sup>1)</sup>、安藤麻子<sup>1)</sup>、椎名隆<sup>1)</sup>、Ivon LeMaho<sup>2)</sup>、栗田正徳<sup>3)</sup>、福田道雄<sup>4)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学・医・分子生命科学

<sup>2)</sup> CEPE/CNRS, France

<sup>3)</sup> 名古屋港水族館

<sup>4)</sup> 葛西臨海水族園

## 【目的】

ペンギン類は現在6属16種に分類されている。その祖先である海鳥類は5,000万年前ころ(新生代第三紀始新生の中頃)に多様化し、4,700万年前ころペンギン科が分岐したと考えられている。6属のうちアデリーペンギン属およびエンペラーペンギン属は種の分化が明らかである。それに比べ他の属では検討の余地が残っていたり、またいくつかの属には亜種が存在する。本研究は、遺伝的多型性をしめすMHC領域の遺伝子解析を行うことによりペンギンを含む鳥類の進化の過程を分子進化的にあきらかにすることを目的としている。

## 【方法】

野生あるいは飼育下の5属12種のペンギンの血液あるいは組織からDNAおよびRNAを分離した。鳥類MHC領域のクラスII抗原遺伝子β1ドメインおよびクラスI抗原遺伝子α1~α3ドメインに特異的なプライマーを作成し、それらをPCRにて増幅し、その産物を直接に、さらにサブクローニングしたもので塩基配列を決定した。NJ法等を用い系統樹の作成と近縁関係の検討を行った。

## 【実験結果と考察】

現在までにアデリーペンギン(*Pygoscelis adeliae*)、ジェンツーペンギン(*Pygoscelis antarctica*)、エンペラーペンギン(*Aptenodytes forsteri*)、フンボルトペンギン(*Spheniscus humboldti*)などにおいてペンギン特異的な塩基配列を確認し、各々の種で多数の対立遺伝子(allele)がみられることを明らかにした。さらに類縁関係の検討からフンボルトペンギン属のフンボルトペンギンとマゼランペンギンの類縁関係が強いことがしめされた。引き続き、MHC領域の遺伝子を指標としたペンギン類の系統遺伝学的解析をすすめる、ペンギンを含む鳥類の進化の詳細を明らかにしていく予定である。

## 【謝辞】

ペンギン類の材料収集は、日本動物園水族館協会種保存委員会ペンギン類別調整委員会(JAZGA Penguin TAG)の協力による。



## 9

## チンパンジーMIC遺伝子領域の解析：HLA-B\*4801に連鎖されるMICA付近の大規模欠失領域との相関について

○安西達也<sup>1)</sup>、成瀬妙子<sup>1)</sup>、涌井美紀<sup>2,3)</sup>、徳永勝士<sup>2)</sup>、  
十字猛夫<sup>3)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学医学部・分子生命科学、

<sup>2)</sup> 東京大学医学部・人類遺伝学、

<sup>3)</sup> 日本赤十字社中央血液センター

## 【目的】

多型性に富むMICA遺伝子は、HLA-B遺伝子から46kbセントロメア側に位置する。最近、HLA-B\*4801を保持したヒトではMICA全長を含んだ約100Kbの領域に欠失がみられ、同時にMICB遺伝子も終止コドン有するnullアレル(MICB0107N)に連鎖するハプロタイプの存在が確認されている(涌井ら、1999)。また、詳細な位置は不明であるものの、チンパンジーにもこの領域において同規模の欠失が確認されている。

本研究では、このMICA-MICB nullハプロタイプについて、その起源・形成を推察することを目的とし、チンパンジーのMIC遺伝子領域の解析を行なった。

## 【方法】

チンパンジーリンパ芽球様細胞から抽出した高分子DNAを用いて、ヒトのMICBからHLA-B間に数kb間隔で設定されたプライマーセット12種と、さらにMICAとMICB近傍の高い相同性を考慮して選定したプライマー6種によりPCR増幅を試み、その有無により欠失領域の推定を行なった。その後、より詳細な欠失部位の同定をするため、予想される欠失領域の末端からのダイレクトシーケンスを行なうとともに、チンパンジーBACライブラリーを用いたMIC遺伝子領域のクローニングと塩基配列の決定を行なった。

## 【結果・考察】

MICBからHLA-B間に選定されたプライマーを用いた解析結果から、チンパンジーでの欠失領域の末端はセントロメア側はヒトとほぼ同位置と推察されるものの、テロメア側での欠失部位末端はヒトと比較してよりセントロメア側(ヒトMICA側)に推定された。

現在、チンパンジーMIC遺伝子(Patr-MIC)領域とPatr-B遺伝子の解析を進めているが、これまでの結果から、このチンパンジーとヒトHLA-B\*4801に連鎖したMICAを含んだ欠失は、ヒトとチンパンジーにおける独自の進化(平行進化)により別々に獲得した結果であると推測される。

## 10

## Multiplex PCR法を用いたMIC-A deletionの検出と東アジアにおけるMIC-A-MIC-B nullハプロタイプの分布と進化

○涌井美紀<sup>1),2)</sup>、徳永勝士<sup>1)</sup>、石川善英<sup>2)</sup>、柏瀬貢一<sup>2)</sup>、  
田中秀則<sup>2)</sup>、中島文明<sup>3)</sup>、赤座達也<sup>2)</sup>、十字猛夫<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学

<sup>2)</sup> 日赤中央血液センター

<sup>3)</sup> 神奈川県赤十字血液センター

## 【目的】

NK細胞受容体のひとつであるNKG2Dのリガンドとして知られているMIC-Aは、ストレスにより誘導され、初期の免疫応答に関与している。我々はMIC-Aの全長が欠失し、MIC-Bはストップコドンによりどちらも発現していないnullハプロタイプが、アジア民族などに特徴的なHLA-B\*4801と連鎖不平衡にあることを報告した。そこで、MIC-A deletionの簡便な検出法を確立し、東アジアにおけるMIC-A-MIC-B nullハプロタイプの分布と進化、HLA-B48との関連を検討した。

## 【方法】

大規模な欠失領域(約100 kb)のシーケンスに基づきMIC-A deletionを検出する3種のプライマーペアを設定し、血清学的HLA既知の東アジアの7民族集団試料(N=1329)を解析した。MIC-A、MIC-BはPCR-SSCP法とシーケンス法によりタイピングした。

## 【結果】

HLA-B48は7民族集団で平均してアレル頻度4.6%と高く、そのうち約9割はMIC-Aが欠失していたが、残り約1割はMIC-A\*008-MIC-B0102とハプロタイプを形成していた。さらに、HLA-B48-MIC-A deletionハプロタイプのうち、約9割はMIC-B0107Nを持ち、残り約1割はMIC-B0102を示した。HLA-B48以外でMIC-A deletionと関連していたのは1例のみであった。

## 【考察】

HLA-B48-MIC-A\*008-MIC-B0102ハプロタイプのMIC-Aが欠失した後に、MIC-B0102がMIC-B0107Nとなり、MIC-A-MIC-B nullハプロタイプが形成されたと推測できた。東アジアの諸集団に共通して4%以上の頻度で存在することから、何らかの淘汰的利点を持つかもしれない。いまだ解明されていないMIC-A、MIC-Bの機能を探るうえでも興味深い知見と思われる。

## 11 HLA遺伝子頻度からみた日本語の形成過程

○成瀬妙子<sup>1)</sup>、棚橋 訓<sup>2)</sup>、巽 典之<sup>3)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>東海大学医学部分子生命科学

<sup>2)</sup>慶應義塾大学文学部民族学考古学

<sup>3)</sup>大阪市立大学医学部臨床検査医学

### 【目的】

日本人の起源については、すでに多くの遺伝学的なアプローチがなされているが、日本語の形成過程については、朝鮮語やウラル・アルタイ語、南方言語などとの関係が提唱されているものの、現在においてもなおはっきりとした結論をみるには至っていない。そこで今回、最近の日本人の起源に関する考察に着目し、言語学者の提唱する日本語系統仮説について、HLA遺伝子型解析の情報を用いてアプローチを試みた。

### 【方法】

特に今回は、南方言語であるオーストロネシア語族を母語に持つ集団(メラネシアの5集団、ポリネシア、ミクロネシア、ジャワ人)と、現日本人集団、沖縄地方集団のHLA遺伝子を比較し、言語の伝播過程に関する言語学的モデルと対比させ、南アジア、オセアニア集団の日本語の形成過程への影響を考察した。

### 【結果】

オーストロネシア語族を母語に持つ集団では、マライ・ポリネシア語派に属する集団と、日本人集団、特に沖縄地方集団との間にDRB1\*0405-DQB1\*0402という特徴的なHLAハプロタイプの存在が示され、共通のHLA遺伝子型を持つ、南方起源の祖集団が沖縄地方へ移住した可能性が示唆された。また、これらの集団とジャワ人との間には共存する遺伝子型は認められず、このことはジャワ人の属しているインドネシア語派が比較的早期にマライ・ポリネシア語派から分岐し、その後サンスクリット語の影響を強く受けたこととも一致する結果となった。

### 【考察】

沖縄を中心とする日本の南部には、オーストロネシア語族起源の語が多く残されており、このことはマライ・ポリネシア語派に属する集団が日本語の形成過程に関与した可能性を物語っている。今回の検証において、南方起源の言語が日本語の形成過程に影響したという、言語学的な仮説に添う結果を得た。

## 12 抗HCV抗体陽性心筋症のHLA遺伝子解析

○中島舞子<sup>1)</sup>、成瀬妙子<sup>1)</sup>、松澤由美子<sup>1)</sup>、

松森 昭<sup>2)</sup>、篠山重威<sup>2)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>、

厚生省特発性心筋症調査研究班

<sup>1)</sup>東海大学医学部分子生命科学

<sup>2)</sup>京都大学医学研究科循環病態学

### 【目的】

拡張型(DCM)、肥大型(HCM)心筋症患者に有意にHCV感染を認めることはすでに報告されているが、HCV感染者の肝炎発症の有無には、HLA及び抗原提示に関与する遺伝子の多型性が関与することが知られている。そこで今回、HLA遺伝子解析を行い、HCVとDCM、HCMとの因果関係について検討した。【方法】

HCV抗体陽性のDCM患者21例、HCM患者16例のHLAクラスII DNAタイピングを行い、一般集団136名と比較した。

### 【結果】

DCMでは、DPB1\*0901が患者群8例(40.0%)と有意に増加していた( $p < 0.018$ )。HCMではHLA-DRB1\*0901、-DQB1\*0303がともに9例、56.3%と、有意な増加が認められた( $p < 0.017$ )。HCV感染を考慮しないHCMでは、HLA-DR4が疾患感受性因子であることが報告されているが、HCV抗体陽性群での解析結果では、DRB1\*04は患者群が対照群を下回っていた。以上の結果より、HCV感染後、DPB1\*0901はDCMへ、DRB1\*0901-DQB1\*0303はHCMへと進行するが、DRB1\*0405保有者の多くは慢性肝炎へと進行するので、結果的にHCV抗体陽性心筋症患者群でのDR4は低頻度となると考えられた。

### 【考察】

HCV抗体陽性のDCMとHCMにおいては、異なるHLA遺伝子型に有意差が見られ、HCV感染後の心筋障害の発症に関してDCMとHCMでの発症機構が異なることが示唆された。HCV感染後の肝炎発症にはTh1によるCTL活性化が必要であるが、このTh0からTh1への活性化には、抗原提示細胞上のHLAクラスII抗原が関与することが知られている。従ってHLA遺伝子多型がHCV感染後の発症の過程で、CTL活性化に影響を及ぼしていると考えられた。

## 13

## 慢性維持血液透析患者における慢性C型肝炎のウイルス量とHLAとの相関

○森本順子、長谷川善之、吉武圭輔、  
野田律矢、小河原 悟、兼岡秀俊、内藤説也  
福岡大学病院 腎センター

## 【目的】

HLAと慢性C型肝炎ウイルスとの関連について諸家の報告がある。今回我々は、C型肝炎を有する維持血液透析患者においてHCV-RNA量とHLAとの相関を検討する。

## 【対象】

HCV-RNA量100コピー/ml未満(L群) 27名、HCV-RNA量100コピー/ml以上(H群)31名、正常対象群として第11回国際HLAワークショップ正常日本人(N群)を使用した。

## 【結果】

H群に対し、L群ではDRB1\*01(odd比(OR) 11.8, 95% confidence interval(CI) 1.4~105.6), DRB1\*04(OR 3.6, 95%CI 1.2~107.3), DRB1\*0101,(OR 11.8, 95% CI 1.4~102.1) DQB1\*0501 (OR 12.2, 95% CI 1.4~105.6)が有意に多く、又L群とN群の比較ではB7(OR4.6, 95%CI 1.9~11.1), DRB1\*01(OR 3.5, 95%CI 1.5~8.3), DRB1\*04(OR 3.5, 95%CI 1.5~8.1),DQB1\*03(OR3.9, 95%CI1.7~8.7), DRB1\* 0101, (OR 3.9, 95%CI 1.6~9.4), DRB1\*0406,(OR 3.1, 95%CI 1.1~8.6), DQB1\*0501(OR 3.3, 95%CI 1.3~8.0)がL群に有意に多かった。H群とN群のでは有意差なかった。

## 【結語】

B7, DRB1\*0101, DRB1\*0406, DQB1\*0501はHCVウイルスの増殖、排除機構に対して何らかの影響を与えている。

## 14

## 帯状疱疹後神経痛におけるHLA遺伝子解析

○安西達也<sup>1)</sup>、成瀬妙子<sup>1)</sup>、Nicolette Takashige<sup>1)</sup>、  
小澤 明<sup>2)</sup>、笹尾ゆき<sup>2)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学医学部・分子生命科学

<sup>2)</sup> 東海大学医学部・皮膚科

## 【目的】

帯状疱疹後神経痛(PHN)は、帯状疱疹(HZ)治癒後も慢性、難治性神経痛が残ったものをいう。その帯状疱疹は、水痘・帯状疱疹ウイルス(VZV)による再帰感染によるとされ、特に高齢者に発症する疾患である。

本研究では、PHNおよびHZを発症した症例と、各症例に適した健常集団を用いてHLA遺伝子解疾患感受性の検索を行なうことを目的とした。

## 【対象】

PHN患者40名、帯状疱疹未発症高齢者集団(HZ-)55例、および日本人一般集団136例を対象とした。

## 【方法】

血液より抽出した高分子DNAを用いて、クラスI遺伝子(HLA-A, -B, -C)は血清学的方法、PCR-SSP法、-RFLP法、SBT法を併用し、クラスII遺伝子(HLA-DRB1, -DQA1, -DQB1)はPCR-RFLP法によりタイピングを行なった。その後、統計学的な解析を行ない、各集団での比較を行なった。

## 【結果および考察】

PHN患者群と日本人一般集団との比較では、患者群ではHLA-B44(35%,  $P < 0.0042$ ), -DQA1\*0501(25%,  $P < 0.038$ )に有意な増加が認められた。しかし、-A2(25%,  $P < 0.024$ ), -DQA1\*0101(15%,  $P < 0.032$ ), DQB1\*0401(12.5%,  $P < 0.017$ ), DRB1\*0405(15%,  $P < 0.032$ )に有意な減少が確認された。

今回の結果から、PHNにおけるHLA遺伝子との相関が示唆された。しかし、その相関において、感受性と抵抗性を示す対立遺伝子の両方がクラスI、クラスIIに散在し、また、それらの対立遺伝子については連鎖不平衡が認められないことから、マイクロサテライトを用いた解析や抗原提示に関わる遺伝子について解析が必要と考えられた。

## 15 肺MAC感染症とHLA抗原

○高橋正光<sup>1)</sup>、石坂彰敏<sup>2)</sup>、仲村秀俊<sup>1)</sup>、小林 賢<sup>3)</sup>、  
玉井誠一<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>川崎市立井田病院呼吸器科

<sup>2)</sup>東京電力病院検査科

<sup>3)</sup>防衛医科大学校検査部

### 【目的】

我が国における肺MAC (*Mycobacterium avium* complex) 感染症は、陳旧性肺結核症に合併する二次性の症例が多いが、一方で明らかな肺疾患の既往歴や免疫不全状態にない健常者で発症することも少なくない。そこで、我々はMACの発症にHLAが関与している可能性があると考え、HLA抗原の調査を行った。

### 【方法】

American Thoracic Societyの判断基準に従って診断されたMAC症患者59名について血清学的方法でHLA-A, BおよびDR抗原を決定した。また、第10回日本組織適合性ワークショップで報告された日本人のHLA頻度をコントロールとして比較検討した。

### 【結果および考察】

MAC患者群でHLA-DR6抗原が51%に認められ、コントロール群の20%に比して有意に (odd's ratio = 4.1 (95%信頼区間 = 2.4 - 7.0),  $p = 5 \times 10^{-8}$ ) 増加していた。また、HLA-A33 抗原も患者群では29%にみられ、コントロール群の13%に比して有意な (odd's ratio = 2.8 (95%信頼区間 = 1.6 - 5.2),  $p = 5 \times 10^{-4}$ ) 増加が示された。ハプロタイプA33-B44-DR6は、MAC感染症患者の約4人に一人の割合 (24%) で認められた。MAC症の発症には、HLA-A33および/またはHLA-DR6抗原そのものか、あるいは、A33-B44-DR6ハプロタイプと相関することから、その近傍に存在する感受性遺伝子が関与しているものと考えられた。今回の調査では、血清学的手法でしかHLA抗原をタイプしていないので、今後DNAタイピングを実施し、より詳細な解析を行う予定である。

## 16 日本人のP-ANCA 関連腎炎とHLA との相関

○吉武圭輔 森本順子 長谷川善之 野田律矢  
小河原悟 村田敏晃 兼岡秀俊 内藤説也

福岡大学病院腎センター

### 【目的】

急速進行性腎炎とP-ANCA 陽性を示すpauci-immune type 腎炎の合併が高い割合で報告されている。今回我々は日本人のP-ANCA 関連腎炎とHLAとの相関を検討した。

### 【方法】

日本人のP-ANCA陽性を示す急速進行性腎炎患者36人 (男17人, 女19人, 平均年齢  $62.6 \pm 10.4$  歳) を対象として血清学的 HLA タイピングとDNA タイピングを行った。また、この結果を第11回国際組織適合性学会ワークショップの正常日本人 HLA 頻度と比較した。

### 【結果】

P-ANCA 陽性を示す急速進行性腎炎患者では、HLA-DR8 (38.8% vs. 23.8%, OR 2.0, 95%CI 1.0-4.0,  $P=0.03$ ) が、正常日本人に比べて有意に多く、HLA alleles ではDRB1\*0803 (32.4% vs. 15.9%, OR 2.5, 95%CI 1.2-5.3,  $P=0.01$ ) とDQB1\*0601 (55.9% vs. 32.9%, OR 2.6, 95%CI 1.3-5.1,  $P=0.005$ ) で有意で、DRB1\*0803 と DQB1\*0601 は連鎖不平衡の関係にあった。

### 【結論】

HLA-DRB1\*0803-DQB1\*0601のallele が、日本人のP-ANCA 関連腎炎と相関することが示された。

## 17

## 献腎移植希望登録者のHLA-A,B及びDRの血清学的タイプとDNAタイプとの比較

○渡辺真穂 萩尾美代 小河原悟 兼岡秀俊 内藤説也  
福岡大学病院 腎センター

### 【目的】

日本臓器移植ネットワークの九州、沖縄ブロックの献腎移植希望登録者のHLA-A,B及びDRのDNA検査を行い、既に登録されている血清学的にタイプされたHLA型との相違を明らかにする。

### 【対象】

九州、沖縄の各県の既登録者1432名。全例にHLA-DR DNA検査を行い、血清学的HLA-DRと相違のあった46名をHLA-A,B DNA検査の対象とした。

### 【方法】

DNA抽出は中外診断科学前処理試薬を用いた。HLA-DR DNAタイピングはTMA-HPA、RELI、Micro-SSP、SSPのキットを用いた。血清学と相違のあったものは複数のDNAタイピング法で確認した。また、HLA-A,BのDNAタイピングはINNO-Lipa、RELI、Micro-SSP JPNのキットを用いた。

### 【結果】

HLA-DRに関しては血清学と2桁レベルで一致したのは1116例(78%)。空白が埋まったもの149例(10%)。空白になったもの29例(2%)。1アレル違い105例(7%)、2アレル違い14例(1%)。スプリットが決定したもの243例(17%)。HLA-Aに関しては血清学と2桁レベルで一致したのは38例(83%)。スプリットが決定したもの3例(7%)。1アレル違い5例(10%)。HLA-Bに関して2桁レベルで一致したのは29例(63%)。スプリットが決定したもの4例(10%)。1アレル違い12例(26%)、2アレル違い1例(2%)であった。

### 【考察】

血清学的タイピング法とDNAタイピング法ではDRは22%、そのうちHLA-Aは17%、Bは37%の不一致があり、今後HLA-A,Bに関してはDNA検査が必要と思われた。今後DNAタイピングを行なったドナー、レシピエントの腎移植成績を追及していく予定である。

## 18

## FCMによる抗HLA抗体の検出（血小板輸血後の抗体価の推移と免疫抑制剤療法の効果指標について）

○森 勝志<sup>1)</sup>、米田孝司<sup>2)</sup>、片山善章<sup>3)</sup>、  
佐田正晴<sup>4)</sup>、中谷武嗣<sup>5)</sup>  
<sup>1~3)</sup> 国立循環器病センター臨床検査部、  
<sup>4),5)</sup> 同・研究所実験治療開発部

### 【目的】

HLA抗体検査法としてLCTが行われているが、用いている抗原が新鮮なリンパ球であるがゆえに種々の問題点を抱えている。われわれは、HLA抗原をマイクロビーズにコートした測定試薬を用い、FCMによりHLA抗体を検出し、その有効性について検討した。

### 【対象と方法】

測定対象は血小板輸血が行われた12例ならびに免疫抑制剤療法が行われた1症例について追跡調査を行った。

測定方法はFlowPRAクラス I、クラス II (One Lambda社)を用い、添付説明書に従い測定した。測定器機は、FACSCalibur (ベクトンディッキンソン社)を用いた。結果判定は、%GATEが10%以上を陽性とした。

### 【結果】

血小板輸血前・後の検体が確保できた12症例についてHLA抗体スクリーニング検査を行った。結果、12例中4例がクラス I 抗体陽性となった。すなわち1例目は0.06%から 65.15% (97日後)、2例目は0.46%から23.33% (16日後)、3例目は19.41%から98.49% (32日後)、4例目は1.03%から54.93% (20日後)であった。また3例目について追跡調査を行った結果、輸血後6日目では75.73%、17日目には97.63%と上昇し、抗体価の推移が観察できた。免疫抑制剤療法施行患者については当初クラス I ; 86.24%、クラス II 0.39%であったものが、T細胞をコントロール (OKT3+シクロスポリン投与) することにより10日目にはクラス I ; 17.45%、クラス II 3.14%まで低下し、以降横這い状態であったが、現在 (200日経過) では陰性化が認められた。

### 【まとめ】

本法は測定機器としてFCMを必要とするものの従来法に比し、操作性・客観性に優れた測定法であった。今回、血小板輸血により1週間以内に抗体価の再上昇を認める症例も確認され、今後適正な血小板輸血を行う為のスクリーニング検査法のひとつとして期待される。また、HLA抗体陽性患者については免疫抑制剤療法の効果判定の手段として有効ではないかと考えられた。心臓移植施行患者についても解析中である。

## 19 Panel reactive antibody (PRA) 検査におけるB cell陽性症例は腎移植では予後不良?

○橋本光男、木下朋子、谷口由香里、福西孝信  
兵庫県立西宮病院・腎移植センター

### 【目的】

腎移植希望者のHLA抗原による前感作状態の有無を調べるためにPanel reactive antibody (PRA) 検査が行われている。しかし、その臨床的意義についてはPRA陽性者の移植予後は不良で、陰性者のそれは良好であるという報告もある一方、必ずしも移植予後とは相関しないという報告も多く未だに結論が得られていない。そこで、当施設で施行した腎移植症例についてPRAが長期間の移植成績に与える影響について検討した。

### 【対象と方法】

1980年11月から1999年2月までに当施設で生体腎移植を行った160例の直前クロスマッチ陰性症例を対象とした。PRA検査はリンパ球細胞障害試験(LCT法)で150人のT cell、50人のB cellを用い、それぞれ2%、4%以上をPRA陽性症例とした。移植腎生着率はKaplan-Meier法で算出し、有意差検定はCox-Mantel法を用いた。

### 【結果と考察】

検討した160症例のうちT cell陽性症例は21.3%、B cellのそれは34.5%であった。T及びB cellの反応パターンより(1):T cell(-)B cell(-)、(2):T cell(+)B cell(+/-)、(3):T cell(-)B cell(+)の3群に分類して生着率を解析した。(1)、(2)、(3)群の症例数は100、34、26症例で、5年生着率はそれぞれ、74.0%、67.6%、53.8%、10年生着率は、58.0%、47.5%、23.1%であった。(1)群と(3)群、(2)群と(3)群でそれぞれ統計的に有意差が認められたが(P=0.0001、P=0.0398)、(1)群と(2)群間には有意ではなかった。この結果よりPRA陽性症例のうち、(3)群のB cell陽性症例は長期の予後は不良であることが強く示唆された。(2)群のT cell陽性症例は移植予後とは相関しない結果が得られたが、(2)群についてはT cell(+)B cell(+)症例とnon-HLAと考えられるT cell(+)B cell(-)症例が含まれている。従って、クラスI抗体、クラスII抗体、non-HLA抗体が混在している可能性があり、今後、これらの抗体を区別して臨床成績との関連を明らかにする必要があると考えられる。

## 20 マイナー組織適合性抗原(mHa)の適合性とGVH・GVLとの関係

○丸屋悦子<sup>1,11)</sup>・岡本真一郎<sup>2)</sup>・塩原信太郎<sup>3)</sup>  
関 茂樹<sup>4)</sup>・甲斐俊朗<sup>5)</sup>・藤井康彦<sup>6)</sup>  
加藤剛二<sup>7)</sup>・河敬世<sup>8)</sup>・藤井浩<sup>9)</sup>・原田実根<sup>10)</sup>  
伊藤和彦<sup>11)</sup>・徳永勝士<sup>12)</sup>・十字猛夫<sup>13)</sup>  
佐治博夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 京都府赤十字血液セ、<sup>2)</sup> 慶応大医血内、<sup>3)</sup> 金沢医大輸血、

<sup>4)</sup> 佐久総合内、<sup>5)</sup> 兵庫医大輸血、<sup>6)</sup> 山口大医三内、

<sup>7)</sup> 名古屋第一日赤、<sup>8)</sup> 大阪府立母子保健総合医療セ小、

<sup>9)</sup> 京都第一日赤内、<sup>10)</sup> 岡山山大医二内 <sup>11)</sup> 京大輸血、

<sup>12)</sup> 東大人類遺、<sup>13)</sup> 日赤中央血液セ

### 【目的】

HLA一致血縁間BMTにおけるCD31、CD49b、CD62L不適合とGVHD発症との相関を本学会で報告した。我々はこれらをimmune-dominantマイナー組織適合性抗原(マイナー抗原:mHa)の候補としている。またGoulmyらによりHA-1不適合とGVHD発症の相関が報告されたが、日本人症例ではそれを検証できなかった(24th ASHI・1998で報告)。これらのマイナー抗原の適合性がHLA identical BMTで、GVH反応やGVL効果におよぼす影響を調べたので報告する。

### 【方法】

HLA一致血縁間BMTペア(223組)のg-DNAを用い、各マイナー抗原:CD31(codon 563/670; Asn, Gly/Ser, Arg)、CD49b(Lys/Glu)、CD62L(Ser/Pro)、HA-1(His/Arg)の各変異部位を含む領域を特異的に増幅し、RFLPやSSCP法により変異を検出した。

マイナー抗原の適合性と移植成績への影響:各マイナー抗原のHLA拘束性別に移植ペアを分類し、各群を疾患全体・悪性腫瘍・白血病の各群に分類し、不適合群(IC)と適合群(C)における無病生存率(DFS)、再発率(RR)およびGVHD( $\geq 1$ )発症率を比較した。

### 【結果】

各マイナー抗原のHLA拘束性別にCD31、CD49b、CD62L(接着分子の多型性)のうち、CD49bとCD62LでIC群の%DFSがC群より高く(CD49b; IC=100%, C=69%、CD62L; IC=75%, C=69%)、GVL効果が示唆された。CD31についてはGVL効果はなく、GVHDとのみ相関した。HA-1はIC群の%DFSがC群より高く(IC=87%, C=67%) GVL効果が示唆され、GVHDとの相関はなかった。

### 【まとめと考察】

\* HA-1(H)はHLA-A2拘束性で、その不適合はGVHDとの相関はなく、GVL効果を有する傾向がある。

\* CD62LはHLA-A3 like group拘束性で、その不適合はGVHDと有意な相関( $p<0.02$ )を示し、GVL効果を有する傾向がある。

\* CD31(codon 563/670)はHLA-B44 like group拘束性で、その不適合はGVHDと有意な相関( $P<0.05$ )を示すが、GVL効果はない。

\* CD49bはHLA-A24・A3 like group拘束性で、GVHDと有意な相関( $p<0.02$ )を示し、GVL効果を有する傾向がある。

今後、症例を増やし、マイナー抗原適合性によるGVL効果をターゲットに、この現象の検証を重ね、アロセルセラピーの可能性を追求したい。

## 21 HLA-DR遺伝子領域に存在する新規RNA結合タンパク質遺伝子の分子生物学的解析

○千田昇平<sup>1)</sup>、北條浩彦<sup>1)</sup>、平井百樹<sup>2)</sup>、屋敷伸治<sup>3)</sup>、園田俊郎<sup>3)</sup>、徳永勝士<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京大学大学院・医学系研究科・人類遺伝学

<sup>2)</sup> 東京大学大学院・理学系研究科・人類学

<sup>3)</sup> 鹿児島大学・医学部・ウイルス学

### 【目的】

HLA class II領域において新規の遺伝子の探索を行う。

### 【方法】

Sanger Centreから報告されたHLA class II領域のゲノム配列についてコンピュータープログラムによる解析を行い、新規の遺伝子候補が示唆される領域を同定した。予測される転写産物は、分子生物学的手法を用いて解析した。また数種類のHLA-DRハプロタイプを持つゲノムDNAのサザンプロット、及びFISH法による解析により、染色体上における局在を調べた。さらにhomozygous typing cell (HTC)を用いて単一塩基多型(SNP)を解析した。

### 【結果】

予測されるアミノ酸配列は、アフリカツメガエル由来の二本鎖RNA結合蛋白質(Xlrp)、及びHIV-I RNAの二本鎖RNA部位に結合するヒト細胞質由来の蛋白質(TRBP)と高い相同性を有しており、この予測される遺伝子候補をhomo sapiens RNA binding protein (HSRBP) と命名した。転写産物の全長は約1.8kbであることが確認された。さらに、ヒトゲノム中にHSRBP、又はそれに類似した配列が複数存在し、さらにHSRBPがHLA-DR53グループに特異的に存在することが示された。またHRRBP中に8カ所のSNPと2カ所のins/delが見出され、3種類のハプロタイプに大別された。

### 【考察】

本研究と独立にHSRBPと高い相同性を示し、二本鎖RNA結合タンパク質をコードする遺伝子が報告された。従って、二本鎖RNA結合タンパク質をコードする遺伝子がヒトゲノム中に複数存在し、multigene familyを形成していると考えられる。HTLV-Iはヒトレトロウイルスの一種であり、RNAゲノム内で二本鎖RNAの二次構造をとる可能性がある。HSRBPがHTLV-Iゲノムと何らかの相互作用を持ち、さらにHSRBP内で見いだされたSNPが、HTLV-Iの感染が原因と考えられるATL、HAMへの疾患感受性に寄与している可能性が考えられ、現在解析中である。

## 22 MICA遺伝子多型の解析：新たなMICAアレルの発見

○大淵信久、高橋めぐみ、木村彰方

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子病態

### 【目的】

HLA-B遺伝子の近傍に位置するMICA遺伝子は上皮系の細胞に発現するが、その産物は $\gamma\delta$ 型T細胞に認識されると報告されており、何らかの免疫学的機能を担っていると考えられる。MICA遺伝子は多型に富むことが報告されているが、その解析は主に第2、第3、第5エクソンに限られている。そこでMICA遺伝子多型をさらに詳細に検討する目的で、今回我々は第2から第6エクソンにかけての全多型を解析した。

### 【方法】

14株の10th Workshop HTC について、第2から第6エクソンまでの塩基配列を決定した。また、各多型をSSOPによって確認した。

### 【結果および考察】

既報のものとは異なる新しいアレルが2種 (MICA-new1、MICA-new2) 認められた。また、第6エクソンのシークエンスでは6種類のパターンが認められた。MICA-new1はDBB、DEM、およびWIN (いずれもHLA-B57) に認められ、MICA\*002と第3エクソン内で第116コドンが異なる(Arg vs Gln) ほか、第4エクソンの3'末端のグアニン (第295コドンの一部) を欠失していた。MICA-new2はOMW (HLA-B45) に認められ、MICA-new1と同じ第4エクソン末端の1塩基欠失があり、既報のMICA\*015とは異なっていた。これらの新たなアレルはいずれも第4から第6エクソンまで同一の塩基配列を有するが、第4エクソンでフレームシフトが起きるため、推測されるアミノ酸配列は第5エクソン以降で他のアレルと全く異なる。つまり、膜透過ドメインには他のアレルのようなアラニンリピート (A4~A9) がない代わりにロイシンリピート (L12FL4) を有し、細胞内ドメインはほとんど存在しない (他アレルは42アミノ酸だが、これらは2アミノ酸のみ) と推測される。

## 23

## 日本人におけるCD1D遺伝子の多型性

○柏瀬 貢一<sup>1)</sup>、石川 善英<sup>1)</sup>、徳永 勝士<sup>2)</sup>、  
赤座 達也<sup>1)</sup>、十字 猛夫<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社中央血液センター

<sup>2)</sup> 東京大学医学部人類遺伝学教室

## 【目的】

CD1分子はMHCクラスI分子と類似の構造をもつ膜糖タンパクでCD1a-d分子が同定されており、ペプチドではなく脂質または糖脂質を結合して提示することが知られている。最近、我々はヒトの系においてCD1d分子が糖脂質の一つである $\alpha$ -ガラクトシルセラミド ( $\alpha$ -GalCer) を結合し、V $\alpha$ 24NKT細胞を活性化することを明らかにした。V $\alpha$ 24NKT細胞はin vitroの系で抗腫瘍活性を持つことが確かめられており、これを用いた新しい癌の免疫療法の可能性が期待されている。

これまでCD1分子は多型性が乏しいと考えられているが多型解析の報告はない。そこで、今回日本人におけるCD1D遺伝子の多型解析を行った。

## 【方法】

材料は日本人健常者48検体より調製したcDNAを用いた。CD1D遺伝子のcoding region 約1kbを4つのfragmentに分けPCR増幅し、PCR産物をsingle-strand conformation polymorphism (SSCP) 法にて解析を行った。

## 【結果および考察】

今回、SSCP法による解析では日本人のCD1D遺伝子には多型はみとめられなかった。最近Hanらにより人種は明らかでないがExon2部分 ( $\alpha$ 1ドメイン) に多型が存在することが報告された。今回SSCP法でその多型を検出できなかったことも考えられるため、今後さらにシークエンスレベルの解析を行い併せて報告する予定である。

## 【参考文献】

Han M et al. Polymorphism of human CD1 genes. *Tissue Antigens* 1999; 54: 122-127

## 24

## ブタDRB, DQB, DMA遺伝子の多型性解析

○安藤麻子<sup>1)</sup>、河田寿子<sup>1)</sup>、重成敦子<sup>1)</sup>、村上珠美<sup>1)</sup>、  
椎名 隆<sup>1)</sup>、佐田正晴<sup>2)</sup>、辻隆之<sup>2)</sup>、鳥生厚夫<sup>3)</sup>、  
中西喜彦<sup>4)</sup>、三橋忠由<sup>5)</sup>、関川賢二<sup>6)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大・医・分子生命科学

<sup>2)</sup> 国立循環器病七、

<sup>3)</sup> 農水省家畜改良七

<sup>4)</sup> 鹿児島大・農

<sup>5)</sup> 農水省畜産試験場

<sup>6)</sup> 農水省家畜衛生試験場

## 【目的】

我々はブタからヒトへの異種移植の可能性の追求、並びにMHC遺伝子の多型性や免疫応答能との関連性を明らかにするために、ブタのMHC(SLA)領域のSLA遺伝子並びに、SLAクラスII遺伝子の発現に関与すると考えられるDOやDM遺伝子のcDNAクローニングとSLA遺伝子の多型性解析を行っている。本研究では、種々の系統におけるブタのDRB, DQB, DMA遺伝子の多型性を解析した。

## 【方法】

ゲッチング系ミニブタ、クラウンミニブタ、梅山豚、中ヨークシャー、メキシカンヘアレスの5系統のブタのDNAについて、SLA-DRB, -DQB遺伝子は、各第2エキソンを増幅するプライマー、SLA-DMA遺伝子は第3エキソンを増幅するプライマーを用いてPCRを行い、PCR産物の直接塩基配列決定、TAクローニング後の塩基配列決定、並びにPCR-RFLP法によって多型性を解析した。

## 【結果】

5系統のブタにおけるDRB, DQB遺伝子第2エキソンの多型性解析とこれまでのcDNAクローンの解析からDRB1遺伝子は4種類の新アレルを含む計10種類、DRB2遺伝子は1種類の新アレルを含む計3種類、DQB遺伝子は2種類の新アレルを含む計7種類のアレルが見いだされた。また、DMA遺伝子第3エキソンの多型性解析から、cDNAクローンの解析を含めて4ヶ所の1塩基置換による5種類のアレルが認められた。

## 【考察】

以上のSLA-DRB, DQB遺伝子の第2エキソンの多型性解析から、ヒトのDRB, DQB遺伝子と同様に抗原認識部位と考えられる部位に高頻度に多型性が認められた。また、DMA遺伝子の第3エキソンの4ヶ所の1塩基置換による多型性を示す部位のなかで、アミノ酸置換を伴うものは、2ヶ所のみであった。



## 25

## HLA-A\*3101およびHLA-A\*3303間のペプチド結合の特異性

○松田智子、富山宏子、滝口雅文

熊本大学エイズ学研究センター・ウイルス制御分野

## 【目的】

HLA-A\*3101とA\*3303に結合するペプチドのアンカーは、2番目(P2)が疎水性のアミノ酸(Ala, Ile, Leu, Val, Phe, Tyr)、C末端がArgである事を、我々は以前にpool sequencing analysisによって明らかにした。今回、これらのアンカーをもった8-merから11-merまでの232個の合成ペプチドとその変異ペプチドを作製し、これらのペプチドとHLA-A\*3101およびA\*3303に対する結合を調べ、それぞれのHLAクラスI分子への結合の特異性が、ペプチドのいずれの部位によって決定しているかを明らかにした。

## 【方法】

RMA-S-A\*3101およびRMA-S-A\*3303を用いて以前に報告(Takamiya et al. Int. Immunol. 6: 255-261, 1994)したstabilization assayを用いて、ペプチドとHLAクラスI分子の結合を調べた。

## 【結果】

P2にaromatic hydrophobic residue (Phe, Tyr)をもったペプチドの方が、aliphatic hydrophobic residue (Ala, Ile, Leu, Val)をもったペプチドよりHLA-A\*3303に対する結合力は大きかったが、HLA-A\*3101に対してはこのような違いは見られなかった。またP1のアミノ酸の解析では、P1に陰性に荷電したアミノ酸(Glu, Asp)をもったペプチドでは、A\*3303に対しては結合力が強く、一方A\*3101に対しては結合力が弱かった。逆にP1に陽性に荷電したアミノ酸(Arg, Lys)をもったペプチドでは、A\*3101に対しては強い結合力をA\*3303に対しては弱い結合力を示した。

## 【考察】

A\*3101およびA\*3303結合ペプチドは同様なアンカーモチーフをもっているが、それぞれのalleleに対する結合の特異性は、P1のアミノ酸の極性によって決定されている。このP1の極性の特異性は、Aポケットを形成する62番目と63番目のアミノ酸の極性のためと考えられる。

## 26

## CLIP置換型インバリエント鎖遺伝子を利用したHLAクラスII・

## ペプチド複合体発現ライブラリーの開発

○藤井慎嗣、千住覚、植村靖史、西村泰治

熊本大・院医・免疫識別

種々の免疫疾患において、もし病変局所に集積するCD4+T細胞が認識するTCRリガンドとその多様性を同定できれば、これらの疾患の病因・病態の究明に大きく貢献すると考えられる。本研究は、HLAクラスII分子と多様な抗原ペプチドの複合体を発現する培養細胞のライブラリーを作製し、CD4+T細胞クローンが認識できる抗原ペプチドおよびその多様性を同定するシステムを構築することを目的とする。

ヒトIi鎖遺伝子の第89-104アミノ酸残基に相当するCLIP領域を任意のペプチドをコードするオリゴDNAに置換できる、CLIP置換型Ii鎖遺伝子発現ベクターpCIを作製した。ヒトグルタミン酸脱炭酸酵素由来のGAD65 p116-129ペプチドをコードする合成オリゴDNAを組み込んだCLIP置換型Ii鎖遺伝子(pCIG)、およびHLA-DR53遺伝子を一過性に発現するCOS-7細胞は、インスリン依存型糖尿病(IDDM)患者より樹立したDR53拘束性GAD65自己反応性T細胞クローンSA32.5を効率よく活性化しIFN- $\gamma$ の産生を刺激した。またpCIGをpCIで1/1000に希釈して遺伝子導入しても、T細胞クローンによるIFN- $\gamma$ の産生を検出できた。さらに、pCIのCLIP部分を13merのランダムペプチドをコードするオリゴDNAに組み換えたライブラリーを作製した。現在、このシステムを用いてT細胞クローンSA32.5が認識するリガンドの多様性を解析中である。さらに、その情報をもとに自己反応性T細胞を交差抗原性の発現により活性化する微生物由来の非自己ペプチドを同定して、感染を誘因として自己免疫現象が発生する可能性を検討しようと考えている。

## 27

## HLA 領域と相同性を示す第1染色体 1q22-23 領域のシーケンシング解析

○椎名 隆<sup>1)</sup>、瀧嶋伸貞<sup>1)</sup>、安藤麻子<sup>1)</sup>、重成敦子<sup>1)</sup>、吉川枝里<sup>1)</sup>、岩田京子<sup>1)</sup>、桑野裕子<sup>1)</sup>、北村悠香<sup>1)</sup>、野上正弘<sup>1)</sup>、河田寿子<sup>1)</sup>、福住康仁<sup>2)</sup>、渡辺幸治<sup>2)</sup>、山崎正明<sup>2)</sup>、田代弘行<sup>2)</sup>、数藤由美子<sup>3)</sup>、笠井文生<sup>3)</sup>、香田 淳<sup>4)</sup>、奥村克純<sup>4)</sup>、田宮 元<sup>1)</sup>、添田栄一<sup>5)</sup>、池村淑道<sup>6)</sup>、木村 穰<sup>1)</sup>、猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大・医、<sup>2)</sup> 不二家バイオ研、<sup>3)</sup> 東大・院理・生物科学、

<sup>4)</sup> 三重大・生物資源、<sup>5)</sup> 理研・ライフサイエンス筑波センター、

<sup>6)</sup> 遺伝研・進化遺伝

## 【目的】

我々は MHC の起源と進化の過程を明らかにすることを目的として、HLA 領域と相同性を有する CD1 遺伝子群を含む第1染色体 1q22-23 領域の塩基配列を決定しつつある。本発表では、CD1 遺伝子群から FCER1A 遺伝子までの 1 Mb について、その塩基配列を決定し、既知の遺伝子とのホモロジー解析をおこなったのでこれについて報告する。

## 【方法】

塩基配列の決定には、ショットガン法により行った。その後、BLAST を用いた相同性解析ならびに Grail および GENSCAN を用いたエクソンあるいは遺伝子の予測をそれぞれ行い、遺伝子を同定した。

## 【結果および考察】

CD1 遺伝子群から FCER1A 遺伝子までの 1 Mb をカバーする 9 つの BAC / PAC クローンの塩基配列を決定し、相同性解析をおこなった。その結果、セントロメア側から、CD1D - CD1A - CD1C - CD1B - CD1E - SPTA1 - MNDA - IFI16 - FY - FCER1A の順に 10 個の既知遺伝子が見い出された。また、これらの遺伝子に加えて、細胞接着分子である BL1A や匂い受容体遺伝子である OLFA 遺伝子ホモログなど 6 個の遺伝子が新たに同定された。特に、OLFA 遺伝子はこの領域と相同染色体領域である 6 番、19 番染色体上にも見い出されていることから、染色体 4 倍体化を解明する上で興味深いものと考えられる。さらに、CD1 遺伝子領域における Dot matrix 解析をおこなった結果、CD1 遺伝子間には、HLA クラス I 領域に認められたような遺伝子重複の痕跡は認められなかった。したがって、CD1 遺伝子群の形成は太古に起きたものと推測された。

## 28

## ミトコンドリアDNAタンパクコーディング領域の多型解析

石川善英、柏瀬貢一、岡井 幹、赤座達也、十字猛夫  
日赤中央血液センター

## 【目的】

ミトコンドリア(mt)DNAは約17kbからなる環状DNAであり、そのうちの約11kbに13種類のタンパクをコードしている。mtDNAは極めて多型性が高く、マウス、ラットではmt由来のペプチドがMHCに提示され、マイナー抗原として細胞傷害性T細胞を誘導することが報告されている。mtタンパクの多型がマイナー抗原になり得るとすると、mtは多種類のマイナー抗原供給源となる。そこでmtタンパクのマイナー抗原としての可能性を調べる目的で、日本人のmtDNAの多型を解析した。

## 【方法】

健康人80人から抽出したDNAを用いた。タンパクコーディング領域全体を約300bpずつ44フラグメントに分け、30~40bpの重なりをもってPCR増幅し、各フラグメントをPCR-SSCP法で多型解析した。頻度の高い変異箇所はその塩基配列を決定した。

## 【結果】

PCR増幅した44フラグメントのうち、38フラグメントで多型が見られ、それぞれ、2~8種類のSSCPパターンに分けられた。また各フラグメントのSSCPパターンの組み合わせとしてコーディング領域全体を比較すると、解析した80検体が68パターンに分けられた。頻度の高い変異がATP合成酵素(A6L:30/80)、cytochrome-b (21/80)、NADH脱水素酵素サブユニット(ND3:20/80)で見つかった。塩基配列の解析からA6LとND3の変異は非同義置換であった。

## 【考察】

mtDNAのタンパクコーディング領域も多型性が極めて高いことが確認された。非同義置換も確認され、MTタンパクはマイナー抗原の候補になり得ると考えられた。現在頻度の高い非同義置換について骨髄移植成績との関係を解析中である。

## 29

## HLAクラスIとクラスIIアレルの同時検出を可能にしたDNAタイピングシステム

○松崎雄三<sup>1)</sup>、小林 賢<sup>2)</sup>、阿藤みや子<sup>3)</sup>、  
鈴木洋司<sup>3)</sup>、向田政博<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 防衛医科大学校法医学講座

<sup>2)</sup> 同検査部

<sup>3)</sup> 同輸血部

## 【目的】

HLAタイピングは分子生物学的研究の発展に伴い遺伝子型判定の有用性が高まっている。近年ではシンプルで信頼性の高いDNA抽出キットと遺伝子型判定キットの開発等により、日常的に行われるようになった。しかし、遺伝子型検査法の一つであるPCR-SSP法によりHLA-A、B、DQB1およびDRB1の型判定を実施した場合、複雑な電気泳動操作が要求され、また結果の誤判定も皆無とはいえない。そこで、PCRから増幅産物の確認までを自動化できるABI PRISM 7700 Sequence Detection System (PE-ABD社) を用いて、HLA DNAタイピングを試みた。

## 【試料および方法】

血清型および遺伝子型が既知の正常成人ボランティア静脈血から採取したDNAを用いて、HLA-A、B、DQB1およびDRB1について、ダイナル社製PCR-SSPキット、FAM、TETあるいはVICを蛍光標識した13種類のプローブとTaqMan PCR Core Kitを用い、Sequence Detection SystemにてPCR増幅と相対蛍光強度を測定し型判定を行った。

## 【結果および考察】

いずれの検体においても、血清型および遺伝子型の結果は一致した。今回試みたSequence Detection Systemによる型判定は、各施設において使用されている市販のSSPキットを用いても十分可能であり、温度条件もSSPキットの設定条件で行えるため容易であった。また、複数の蛍光標識プローブを用いることで104検体にもおよぶPCRから結果判定までを、96ウェルプレート一枚で行えるため、電気泳動操作における労力の削減と時間の短縮あるいは人為的ミスによる結果の誤判定を最小限に止めることが可能となり、検査業務の自動化に有効な方法であると考えられる。

## 30

## リアルタイムPCR産物自動検出機と蛍光標識プローブを用いたHLA 2 loci 同時 DNAタイピング法の開発

○河田寿子、成瀬妙子、松澤由美子、猪子英俊

東海大・医・分生2

## 【目的】

PCR-SSP(sequence specific primer) 法は多数の対立遺伝子特異的なプライマーを用いてPCR 反応を行い、標的の領域が増幅されたか否かを確認する、非常に簡便な方法である。前回我々はリアルタイムPCR自動検出機を用い、電気泳動することなしにHLAクラスI、クラスIIのSSPタイピングを行う系を確立した。今回、2色の異なる蛍光プローブを使用し、多遺伝子座同時解析の可能性を検討したので報告する。

## 【方法】

クラスI領域HLA-A遺伝子については24組、クラスIIのDRB1遺伝子については12組のプライマーセットを用い、ABI社 TaqMan PCR Kit及びSSP Bufferを使用してPCRを行った。PCR増幅とシグナル検出はABI社 PRISM 7700を使用した。

## 【結果と考察】

最初に同一反応条件、同一プレート上で個々に、HLA-A、-DRB1の検出を行なったが、良好な結果が得られた。そこでそれぞれのプライマー、プローブセットを使用し同一チューブ内で混合し、AとDR遺伝子増幅を一回のPCR反応で行なったところ、HLA-AはFAM、-DRはVICとそれぞれに正確なプライマー位置に蛍光検出されることが確認された。このことから、1回のPCRでの多遺伝子座同時解析が可能であることが示唆された。このリアルタイムPCR-SSP法は電気泳動の必要がなく迅速なタイピングが可能である。さらに多遺伝子の同時解析法が確立されれば、機器の能力が最大限に生かされ、移植医療での多数検体処理、迅速解析、タイピングの簡素化、自動化に貢献できると考えられる。

### 31 DNAオリゴマーマイクロアレーを用いた HLA-DNAタイピング

○松村嘉之<sup>1)</sup>、市原竜生<sup>1)</sup>、鈴木 収<sup>1)</sup>、

成瀬妙子<sup>2)</sup>、猪子英俊<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 日清紡研究開発センター

<sup>2)</sup> 東海大・医・分子生命科学

#### 【目的】

DNAマイクロアレイはDNA多型解析のツールとして近年注目されている。これをHLA-DNAタイピングに応用することで、従来の手法に比べ少量の試料かつ短時間での解析が期待できる。そこで我々は、HLAタイピング用マイクロアレイの作製と、これを用いたHLA-DNAタイピング法の開発を開始した。今回はDR2およびDR4のHLA-DRB対立遺伝子ハイブリジュレーションタイピングについて検討を行った。

#### 【方法】

マイクロアレイは、各アリルに特異的な配列を持つDNAオリゴマーマイクロアレーをキャプチャーローブとし、その溶液をスライドガラスに約200 $\mu$ mの微少な点としてスタンプした後、科学結合させることで作製した。ターゲットは、全血から抽出したDNAをテンプレートとし、ビオチン化オリゴマーマイクロアレーをプライマーとして、HLA-DRB1の第2 exonをPCR増幅し調製した。ターゲット溶液をマイクロアレー上に滴下し、42°Cで60分間ハイブリダイズさせ、HRP-TMB系で化学発色させた後、イメージスキャナで発色像を読み取り、発色強度のパターンを解析してタイピングを行った。

#### 【結果と考察】

マイクロアレーを用いたタイピングは、ハイブリダイゼーション条件およびポストハイブリダイゼーション条件を最適化することによって、PCR-RFLP法によるタイピングと高い相同性のある結果となった。

よってDNAマイクロアレーがHLA-DNAタイピングに応用可能であることが示唆された。

DNAマイクロアレーによる多型解析はHLA-DNAタイピングで重要な超可変領域の同定に有利なツールであり、少量の検体で多数のHLA領域を一度に解析可能である。また、短時間での解析が可能なることから、移植医療を中心とした組織適合性検査に広く利用できるものと期待される。

### 32 HLA-E,-F,-Gの発現について モノクロナル抗体による免疫染色およびリアルタイムPCR産物自動検出機による mRNAの半定量

○石谷昭子<sup>1)</sup>、下嶋典子<sup>1)</sup>、川崎明彦<sup>1)</sup>、

岸田 学<sup>1)</sup>、梅影秀史<sup>2)</sup>、赤崎正佳<sup>3)</sup>、

大村素子<sup>1,4)</sup>、Daniel Geraghty<sup>5)</sup>、羽竹勝彦<sup>1)</sup>、

<sup>1)</sup> 奈良県立医科大学法医学、

<sup>2)</sup> 奈良県立医科大学 産婦人科学、<sup>3)</sup> 赤崎クリニック、

<sup>4)</sup> 兵庫県立西宮病院、<sup>5)</sup> Fred Hutchinson Cancer Research Center

#### 【目的】

HLA class Ib遺伝子のうちHLA-Gの発現については多くの報告がなされてきたが、その結論は互いに矛盾する場合があり、その機能を考える上に問題となっている。一方、HLA-Eは多くの組織にそのmRNAが発現していることは知られているが、蛋白レベルの発現についてはあまり多くの報告はない。HLA-Fについてはまだ報告はわずしか見られない。今回、我々は抗HLA-F抗体の作製に成功したので、これでHLA-E,-F,-G全てに対するモノクロナル抗体を持つこととなった。そこでこれらの抗体を用いてclass Ib蛋白の検出をおこない、一方、PCR産物自動検出機によりmRNAの半定量を行い、蛋白とmRNAの双方からこれら遺伝子の発現について総合的に検討した。

#### 【方法】

抗HLA-Fモノクロナル抗体の作製；E coliに産生させたHLA-F蛋白をマウスに免疫し、定法に従いモノクロナル抗体を作製した。抗HLA-F抗体の特異性検定；FACSおよびWestern blotにより各種HLA抗原との反応性を調べた。mRNAの半定量；221、221-G1、221-AEH等のcell line、胎盤および各種組織よりRNAを抽出し、ABI PRISM 7700によりHLA-E,-F,-GのmRNAの半定量をおこなった。免疫染色；同様の試料につき、各種抗体を用いて免疫組織染色を行った。

#### 【結果と考察】

抗HLA-F抗体の特異性については、FACSではHLA-A2,-B27,-B7,-Cw4, Cw15, E, G の221 transfectantおよび各種HLA型のB-LCLと全く反応はみられず、westernではHLA-E,-G,-A2,B7蛋白とは反応せず、その特異性が立証された。mRNAの半定量については、HLA-Gの場合は、これまで RT-PCRによりmRNAが存在すると報告されていたものも、その量はわずかで、有意の量とは認められないものもあり、各組織間での相対的発現量により、その遺伝子の機能との関連がより明らかになるものと考えられる。

## 33

## SEREX法による Vogt-小柳-原田病関連自己抗原の解析

○山田和博<sup>1,2)</sup>、千住 覚<sup>1)</sup>、中面哲也<sup>1)</sup>、村田恭啓<sup>2)</sup>、

Toshimichi Shinohara<sup>3)</sup>、根木 昭<sup>2)</sup>、西村泰治<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 熊本大・院医・免疫識別

<sup>2)</sup> 同・医・眼科

<sup>3)</sup> ハーバード大・眼科

## 【目的】

Vogt-小柳-原田病は、ぶどう膜炎を主病変とするメラノサイトを標的とした自己免疫性疾患と考えられているが、まだ自己抗原は同定されていない。また本症への感受性はHLA-DRB1\*0405-DQ4と非常に強く相関している。本研究は本症における自己抗原を同定し、自己反応性T細胞エピトープを決定して、病因ならびにHLAによる疾患感受性の決定機序を解明することを目的とする。

## 【方法】

入ファージベクターとしてλZAP IIを用いてウシぶどう膜より $1 \times 10^6$ 個の独立クローンを含むcDNA発現ライブラリーを作成した。このライブラリーと大腸菌およびファージ蛋白で抗大腸菌、抗ファージ抗体を吸収した患者血清を用いたイムノスクリーニング：SEREX (serological identification of antigens by recombinant expression cloning) 法により標的抗原を解析した。

## 【結果】

現在までに8名の患者血清を用いて、入ファージ約 $19 \times 10^5$ 個について1次スクリーニングを行った。得られた陽性クローンについて患者血清を35名に拡大して更にスクリーニングを行い複数の患者血清中で抗体価の上昇がみられる蛋白の遺伝子を2種類同定した。この2種はLens epithelial cell derived growth factorとClone3(GeneBank accession number X99145)のウシの相同遺伝子であった。これらは原田病における標的自己抗原の候補と考えられた。

## 34

## 難治性Graves病への感受性はDPB1\*0501とB\*35によって規定される

○高橋めぐみ<sup>1)</sup>、玉井 一<sup>2)</sup>、木村彰方<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京医歯大・難研・分子病態分野

<sup>2)</sup> 隈病院・内科

## 【目的】

Graves病(GD)は自己抗体(TSAb)によるTSHレセプターの持続刺激のために甲状腺機能亢進を来す自己免疫疾患である。TSAbは臨床的にTBIIとして測定されており、治療により通常陰性化するが、約10%は治療開始後数年を経てもTBIIが陰性化せず治療に抵抗する。昨年の本学会でTBII持続陽性例では通常のGD患者と同様にDPB1\*0501頻度が増加していることを報告したが、長期に渡ってTBIIが持続陽性を示すことに関連する病因遺伝子を検索することを目的としてHLA-B遺伝子を解析した。

## 【対象と方法】

治療開始後3年以上経てもTBIIが陰性化しない難治性GD患者58名、通常のGD患者141名、及び健常者集団317名を対象として、HLA-DPB1遺伝子型をPCR-RFLP法で、HLA-B遺伝子型をPCR-SSOP法またはPCR-SSP法で決定した。

## 【結果および考察】

難治性GD患者集団58名において、DPB1\*0501頻度の有意な増加(88.0% vs 61.8%, RR=4.53, pc=0.005)を確認した。このうち29名についてPCR-SSOP法によるHLA-Bタイピングを行いB\*3501(24.1% vs 13.1%)頻度の増加を認めた。そこで患者集団全体でPCR-SSP法によりB\*35の有無を検討したところ、有意な頻度の増加(27.6% vs 13.1%, RR=2.57, pc=0.05)が確認された。ついで2ローカス解析を行ったところ、難治性GDへの感受性はB\*35単独では高まらず、B\*35はDPB1\*0501の存在に依存するリスクファクターであると考えられた。一方、通常のGD患者では、DPB1\*0501頻度は同様に増加していた(87.2%)が、B\*35頻度の増加(19.2% vs 13.1%)は有意ではなかった。以上より、DPB1\*0501はTBII産生レベルを規定するものであり、B\*35が難治性病態(持続性組織障害)に関連すると考えられた。

### 35 急性、慢性C型肝炎患者におけるHCV特異的CTLの動態 -エピトープペプチドを結合したHLA-4量体複合体を用いた解析-

○曾場尾勇司、徳永美知代、富山宏子、滝口雅文  
熊本大学エイズ学研究センターウイルス制御分野

#### 【目的】

C型肝炎ウイルス(HCV)特異的細胞傷害性T細胞(CTL)は、ウイルスの抑制と肝細胞傷害の両方に重要な役割を果たしていることが知られている。しかし、C型慢性肝炎患者においては、HCV特異的CTLが存在しながらなぜウイルスを排除できないのか明らかではない。以前我々は急性C型肝炎患者の末梢血リンパ球を用いて、HLA-B\*3501拘束性HCV NS3特異的CTLエピトープを報告した。このエピトープペプチドで慢性C型肝炎患者の末梢血リンパ球を刺激してもCTLは誘導できなかったため、このエピトープがウイルスの排除に重要な役割を果たしていると推測された。そこで、このエピトープ特異的CTLを量的、質的に解析するため、エピトープペプチド-HLA-B\*3501 4量体複合体(Tetramer)を作成し、フローサイトメトリーを用いた解析を行った。

#### 【方法】

エピトープペプチド、HLA-B\*3501重鎖、 $\beta 2m$ をリフォルディングしたあとHLA重鎖のC末端をビオチン化し、あらかじめ蛍光色素(Phycoerythrin)で標識したアビジンと結合させることによりTetramerを作成した。これはHCV NS3特異的CTLのみに結合することが示された。

#### 【結果】

Tetramerと蛍光色素を標識した抗CD8抗体を用いて、2例のHLA-B35陽性急性C型肝炎患者の急性期に採取された末梢血リンパ球を染色して解析すると、CD8<sup>+</sup> Tetramer<sup>+</sup>細胞(特異的CTL)が検出された。さらにCD8<sup>+</sup> Tetramer<sup>+</sup>細胞のCD45RAとCD28の発現を解析すると、メモリータイプと推測されているCD45RA<sup>-</sup>CD28<sup>+</sup>がほとんどであった。さらに急性肝炎回復期の様々な時点で採取されたリンパ球も同様に解析すると、発症から時間が経過するとすみやかに特異的CTLは減少しており、CD45RAとCD28の発現の変化についてはCD45RA<sup>-</sup>CD28<sup>+</sup>細胞は急激に減少するが他のタイプはそれほど変動が見られなかった。また、慢性C型肝炎患者の末梢血リンパ球より検出された特異的CTLは急性期の急性C型肝炎患者の1/3から1/10程度であった。

#### 【考察】

急性B型肝炎患者由来末梢血リンパ球を用いた検討では、臨床的治癒後も長期間特異的CTLが残存すると報告されているが、我々の検討では急性期に増加していたメモリータイプと考えられる特異的CTLは、回復期にはすみやかに減少することが示された。

また、慢性C型肝炎患者で検出された少数の特異的CTLは、持続する肝障害を引き起こしている一方でウイルスの残存を許していると推測された。

### 36 クロウン病感受性におけるTNF $\alpha$ プロモーター多型の独立の寄与

○川崎綾<sup>1)</sup>、土屋尚之<sup>1)</sup>、萩原清文<sup>2)</sup>、高添正和<sup>3)</sup>、徳永勝士<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室

<sup>2)</sup>東京大学医学部附属病院アレルギーリウマチ内科

<sup>3)</sup>社会保険中央総合病院 内科

#### 【目的】

クローン病に関しては、様々な人種でHLA領域遺伝子との関連が報告されてるが、結果には顕著な集団差が認められる。一方、臨床的にTNFの抑制がクローン病に有効であることが知られており、TNF領域が一義的に、あるいはHLAと独立に感受性に関与する可能性も示唆される。さらに、TNFR2存在領域である1pの連鎖を報告した成績も存在する。今回、我々は、HLA-DRB1, TNF $\alpha$ プロモーター、TNFR2の遺伝子型を決定し、これらの遺伝子がクローン病の感受性遺伝子である可能性と、各遺伝子間に相互作用が存在する可能性を検討した。

#### 【方法】

日本人クローン病患者154例、および健常対照群265例のゲノムDNAを用いて、PCR-MPH法、PCR-PHFA法およびPCR-SSCP法により、HLA-DRB1, TNF $\alpha$ プロモーター上流領域、TNFR2-196M/R多型の遺伝子型を決定した。

#### 【結果】

クローン病患者において、HLA-DRB1\*0405および0410の有意な増加と、DRB1\*1302の減少傾向が観察された。TNF $\alpha$ プロモーターでは、TNFA-U03アレル(-1031C, -863A, -857C)の有意な増加がみられた。TNFA-U03は、HLA-DRB1\*0405および0410とは独立にクローン病との関連を示した。TNFR2-196M/R多型とクローン病の間には関連はみられなかった。また、TNF $\alpha$ プロモーター、TNFR2-196M/R多型間の相互作用は認められなかった。

#### 【結論】

今回の結果から、日本人において、HLA-DRB1, TNF $\alpha$ プロモーター遺伝子が独立にクローン病の感受性に関与することが示唆された。

## 37

## 無精子症患者の疾患感受性遺伝子はクラスII領域に存在する。

○太田 正穂<sup>1)</sup>, 勝山善彦<sup>2)</sup>, 佐田正晴<sup>3)</sup>, 中谷武嗣<sup>3)</sup>,  
高原史郎<sup>4)</sup>, 辻村晃<sup>4)</sup>, 北村雅哉<sup>4)</sup>, 三浦秀信<sup>4)</sup>,  
西村健作<sup>4)</sup>, 奥山明彦<sup>4)</sup>, 猪子英俊<sup>5)</sup>

<sup>1)</sup>信州大学医学部法医学教室, <sup>2)</sup>信州大学病院薬剤部,  
<sup>3)</sup>国立循環器病センター研究所, <sup>4)</sup>大阪大学医学部泌尿器科,  
<sup>5)</sup>東海大学医学部分子生命科学

## 【目的】

無精子病は一般に精子形成不全や精子輸送経路通過障害に起因する。特発性無精子症は先天性精子形成不全により発症しており、この原因としてY染色体および常染色体上の遺伝子異常についての報告がなされている。我々は、これまでに、無精子症発症にHLA-A33,-B44,-DR13ハプロタイプが強い相関を示すことを報告した。更に、HLAクラスII領域内に局在するマイクロサテライトを用いて無精子症患者の多型解析を行い疾患感受性について検討したところ、クラスI領域のマイクロサテライトとは相関を示さず、クラスI領域以外に疾患感受性遺伝子が存在する結果を得た。今回、前回報告したマイクロサテライト解析に加え、クラスIIIおよびクラスII領域内にあるマイクロサテライトを用いて疾患感受性遺伝子の局在について検討した。

## 【方法】

大阪大学病院を受診した無精子症患者（精子輸送経路通過障害および高度乏精子症患者を除外した）67人から得たDNAを対象として用いた。またコントロールには血縁関係のない健康人男性248人から得たDNAを用いた。検査に用いたマイクロサテライトはHLA遺伝子領域にある21種類を用いた。マイクロサテライト解析はPCR-FLPにて行い、アリル解析はGenescan672 Software(ABI)を用いて行った。

## 【結果】

クラスI領域にある8種類のマイクロサテライト、およびクラスIのテロメア側にあるマイクロサテライトD6S276では、患者群に統計上有意な相関は得られなかった。しかしクラスII領域内のDR-DQ間のマイクロサテライトでは非常に強い相関を示した(D6S1560, T16, DQCARI) in the class II region displayed statistically strong association (D6S1560: allele 247, R.R.=3.8,  $p=8.6 \times 10^{-5}$ , T16: allele 229, R.R.=3.4,  $p=7.8 \times 10^{-5}$ , DQCARI: allele 207, R.R.=5.3,  $p=2.9 \times 10^{-8}$ )。このことから無精子症発症の原因遺伝子はHLA-DRと-DQ間に存在することが示唆された。現在更にこの領域内にある遺伝子と無精子症誘因についての検討を行っている。

## 38

## Buerger病感受性遺伝子はHLA領域内に少なくとも4種存在する

○木村彰方<sup>1)</sup>, 高橋めぐみ<sup>1)</sup>, 太田正穂<sup>2)</sup>, 勝山善彦<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>, 大内博<sup>4)</sup>, 市来正隆<sup>4)</sup>, 錦見尚道<sup>5)</sup>, 大淵信久<sup>1, 6)</sup>, 小林靖<sup>6)</sup>, 沼野藤夫<sup>6)</sup>

<sup>1)</sup>東京医歯大・難研・分子病態, <sup>2)</sup>信州大・医・法医,  
<sup>3)</sup>東海大・医・分子生命, <sup>4)</sup>JR仙台病院・外科,  
<sup>5)</sup>名大・医・1外, <sup>6)</sup>東京医歯大・医・3内

## 【目的】

Buerger病は四肢に閉塞性動脈炎を来す原因不明の疾患である。我々は一昨年の本学会で本症への感受性とB\*5401およびDRB1\*1501との相関を報告したが、これらの感受性アリルを有する患者は約半数である。そこで、より多数の患者を対象として、HLAに連鎖した感受性遺伝子をさらに検索し、その詳細なマッピングを行うことを目的とした。

## 【方法】

日本人Buerger病患者93名および健康者240名を対象とし、PCR-SSP法およびPCR-SSCP法を用いてB\*5401およびDRB1\*1501の有無を検討した。DPB1遺伝子型はPCR-RFLP法で決定した。一方、HLA領域内の21個のマイクロサテライトについて、PCR-FLP法によりその多型を検討した。

## 【結果と考察】

患者集団においてB\*5401 (30.1% vs 14.6%, RR=2.52,  $pc=0.001$ ) とDRB1\*1501 (26.9% vs 13.3%, RR=2.39,  $pc=0.01$ ) 頻度の有意な増加を確認した。DPB1解析では、DPB1\*0501頻度の有意な増加 (82.8% vs 57.1%, RR=3.62,  $pc=0.0002$ ) が観察された。これら3種 (B\*5401, DRB1\*1501, DPB1\*0501) の感受性アリルは互いに連鎖不平衡にないため、HLAに連鎖した感受性遺伝子が少なくとも3種存在すると考えられた。ついでHLA-B近傍やDPB1近傍を含めて21座のマイクロサテライトの多型を検討したところ、患者集団で有意な頻度増加を示したものは、HLA-E座近傍に存在するC3-2-11座の213アリル (33.3% vs 14.2%, RR=3.03,  $pc=0.002$ ) のみであったが、このアリルは前記3種の感受性アリルのいずれとも連鎖不平衡になかった。これらのことから、本症への感受性遺伝子はHLA領域内に少なくとも4種存在し、それらはHLA-E座、HLA-B座、HLA-DRB1座およびHLA-DPB1座にそれぞれマップされた。さらにこれらの感受性アリル群のペアのそれぞれについて2ローカス解析を行ったところ、DRB1\*1501はDPB1\*0501とは独立した危険因子であるが、B\*5401およびC3-2-11/213はDPB1\*0501に依存した危険因子であると考えられた。このことはHLAと関連するBuerger病の病因がDRB1\*1501群とDPB1\*0501群の2つに分類出来ることを示唆する。

## 39

パピローマウイルス感染子宮病変とHLAア  
リル頻度に関する検討

○大久保光夫<sup>1)</sup>、斎藤麻紀<sup>2)</sup>、平田蘭子<sup>1)</sup>、竹田省<sup>2)</sup>、  
木下勝之<sup>2)</sup>、前田平生<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 埼玉医大総合医療センター

<sup>2)</sup> 輸血・細胞治療、同 産婦人科

## 【目的】

子宮頸癌病変の約80%からヒトパピローマウイルス(HPV)が検出され、HPVが子宮頸癌の病因に関与していると考えられているが、HPVに感染しても高度異形成病変が消退する症例も観察される。これは感染免疫反応の結果としてウイルスとともに異型細胞が排除されたものと推定される。そこで子宮病変とHPV陽性患者のHLAアリルに相関があるかどうかを検討した。

## 【方法】

対象は当センター外来の組織診にて子宮頸部病変を認められた77症例で、内訳は軽度異形成(CINI)9例、中等度異形成(CINII)19例、高度異形成(CINIII)19例、上皮内癌(CINIII)13例、頸部浸潤癌(IC)17例である。病巣組織からDNAを抽出しHPV-DNAの検出とウイルスのタイピングを行った。また、免疫反応の存在を確認するために病変からmRNAを抽出し、T細胞レセプター( $\alpha\beta$ ,  $\gamma\delta$ )、Fasリガンド、パーフォリンのメッセージの確認を行った。次に末梢単核球を用いてHLA-A、-Bを血清学的に、HLA-DRB1、-DQB1をDNAタイピングで決定した。

## 【結果】

HPV16陽性のCINIIIおよびIC群(n=24)は健常人と比較してDRB1\*0901とDQB1\*03032の陽性頻度が統計学的に有意に増加しDRB1\*1302は陽性頻度が低い傾向にあった。さらにCINII群では他の群と比較してDRB1\*0401またはB1\*0405の陽性頻度が高く、HPV陽性率が低かった。

## 【考察】

以上よりDRB1\*0901とDQB1\*03032はHPVの持続感染と癌化に関係し、DRB1\*1302とDRB1\*0401あるいはDRB1\*0405はHPVの排除あるいは病変の進行防御に関与している可能性がある。

## 40

HIV-1陽性血友病患者のHLAの解析：AIDS  
の病勢とHLA-DRB1アリルの相関

○大久保光夫<sup>1)</sup>、平田蘭子<sup>1)</sup>、田口仁美<sup>2)</sup>、中村哲也<sup>2)</sup>、  
岩本愛吉<sup>2)</sup>、前田平生<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 埼玉医大総合医療センター 輸血・細胞治療、

<sup>2)</sup> 東大医科学研究所 感染症研究部

## 【背景・目的】

欧米・アフリカのコホート研究はHIV-1の易感染性あるいは抵抗性と特定のHLAクラスIアリルに相関関係があることを報告している。感染免疫においてクラスII分子は液性免疫のみならず細胞性免疫に関して重要な役割を果たしているが、AIDSにおいてはHLAクラスIIの解析は進んでいない。今回、病勢と生死が一定期間観察できたHIV-1抗体陽性の血友病患者においてHLAクラスIIの解析を行い新たな知見が得られたので報告する。

## 【方法】

東大医科研附属病院に通院し、1986年以降にHIV-1抗体陽性が確認された血友病患者55人のHLA-A、-BとHLA-DRB1、-DQB1アリルを決定した。1995年1年間の臨床データと1995年から1999年までの4年2カ月間の病勢を調査して、HLAアリルとの相関を統計学的に処理した。本研究で対象とした患者群は1995年の研究開始時点で感染後最低9年から13年を経過していると推定されている。

## 【結果】

1995年の調査開始時点でHLA-DRB1\*0405の頻度がHIV-1陽性患者全体で有意に減少していた。4年2カ月の間に16人がAIDSで死亡した。生存者ではHLA-DRB1\*0405の頻度がさらに減少していた。また、この期間に死亡した患者ではHLA-DRB1\*0803陽性者の頻度が有意に増加していた。

## 【考察】

以上の結果からDRB1\*0405はAIDSの進行に関与するアリルと推定される。4年2カ月間の観察期間においてはAIDSの進行とDRB1\*0803が相関しており、DRB1\*0803は後期のAIDS進行に関与する第2のアリルと考えられる。今回のAIDSの進行とHLAクラスIIアリルの相関に関する報告は患者の経過観察に有用な情報と成り得る。