

# 第10回日本組織適合性学会大会

The 10th Japanese Society for  
Histocompatibility and Immunogenetics (JSHI)  
Annual Meeting



会 期：2001年 11月1日（木）～2日（金）

会 場：シーホークホテル&リゾート

〒810-8650

福岡市中央区地行浜2-2-3

TEL:092-844-8111 FAX:092-844-7887

大会長：笹月健彦

（九州大学生体防御医学研究所教授）

事務局

〒812-8582

福岡市東区馬出3-1-1

九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門

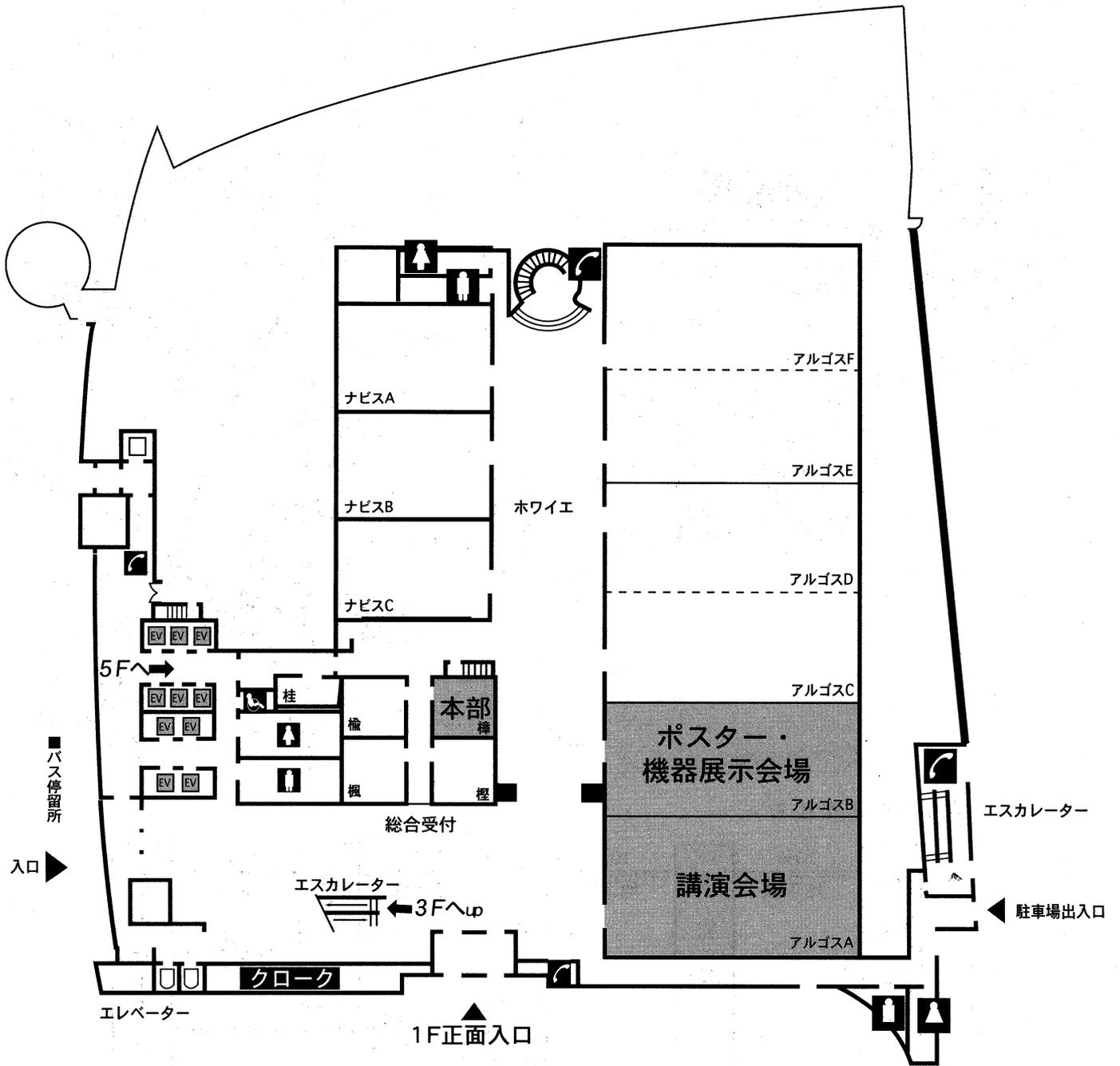
第10回日本組織適合性学会大会事務局

TEL：092-642-6828, FAX：092-632-0150

E-mail: hla2001@bioreg.kyushu-u.ac.jp

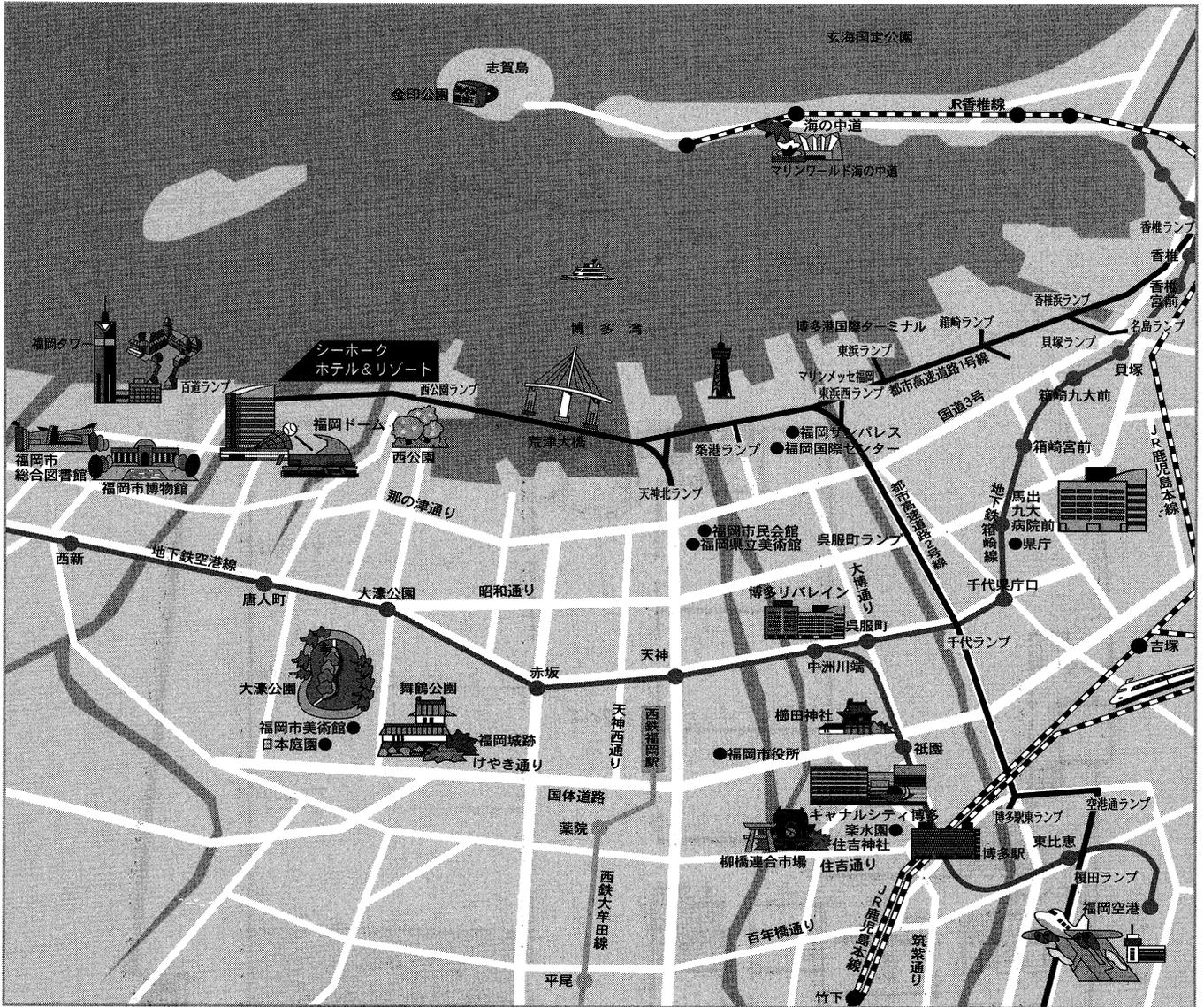


# 会場案内図

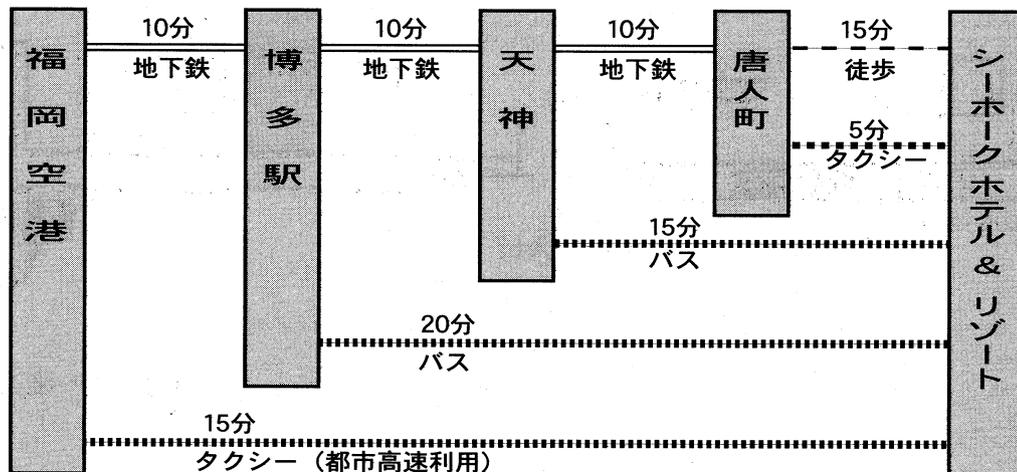


< 1Fフロアー図 >

# 会場周辺図



## <会場へのアクセス>



## 大会内容とお願ひ

- 理事会：11月1日午前7時30分～9時 楡 (シーホークホテル&リゾート, 1F)
- 評議員会：11月2日午前7時30分～8時30分 アルゴスA  
(シーホークホテル&リゾート, 1F)
- 認定制度準備委員会：10月31日 18時～19時30分 楡  
(シーホークホテル&リゾート, 1F)
- HLA標準化委員会：10月31日(水)午後12時～1時  
福岡ソフトリサーチパーク
- ポスター展示会場：アルゴスB (シーホークホテル&リゾート, 1F)
- モーニング, ランチョン, イブニングセミナー：アルゴスA
- 機器試薬展示会場：アルゴスB
- 懇親会場：ソトコトクラブ (シーホークホテル&リゾート, 5F)

受付：シーホークホテル&リゾート

11月1, 2日は午前8時30分より大会参加受付を行います。

なお, 新入会の受付も同場所でお取り扱いします。

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下さい。

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下さい。

## 発表者・座長の方へのお願ひ

### <シンポジウム, 特別講演及び会員研究口演発表の方へ>

1. シンポジウムは発表15分, 討論5分, 特別講演は発表25分, 討論5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下さい。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下さい。
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, 受付係にご提出下さい。
6. 発表終了後, スライドは会場の受付でお返し致します。当日お引き取り頂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11月1日午前8時30分から行います。

2. ポスター展示時間は11月1日午前10時～午後6時, 11月2日午前9時～午後4時です。
3. 会員ポスター発表は11月2日午後1時半～午後2時半(アルゴスB)の時間内で座長の進行のもとで行います。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×幅110cmです。ポスターは見やすいものをご用意下さい。
5. パネルの最上部15cm幅に演題名, 発表者氏名, 所属を記入して下さい。受付終了後, 10時までにポスターを貼付け展示して下さい。ポスターの撤去は11月2日午後5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下さい。
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(シーホークホテル&リゾート)と宿泊・航空券のご案内

上記について第10回日本組織適合性学会大会ホームページ

(<http://square.umin.ac.jp/JSHI/mhc.html>)にご案内しておりますので, ご閲覧下さい。

## 第10回日本組織適合性学会

シーホークホテル&amp;リゾート

2001 Nov. 1-2

11月1日 (木)	11月2日 (金)
7:30 理事会	7:30 評議員会
9:00 シンポジウム (発表15分+討論5分) ×6人 「Non-classical MHC」 座長: 猪子 英俊 演者: 松浦 晃洋 橋本 敬一郎 石谷 昭子 猪子 英俊 大久保 岩男 小幡 裕一	8:30 モーニングセミナー
11:00 分子遺伝I (前田平生) 口演	9:30 シンポジウム (発表15分+討論5分) ×6人 「多因子疾患の遺伝要因としてのHLA」 座長: 西村 泰治 演者: 猪子 英俊 徳永 勝士 西村 泰治 有波 忠雄 塩澤 俊一 白澤 専二
12:00 ランチョンセミナー	11:30 特別講演 (発表25分+討論5分) ×2人 「International collaboration in studying HLA」 座長: Paul Terasaki 演者: Dominique Charron "HLA-The State of The Arts" 座長: 笹月 健彦 演者: John Hansen "Development of a Human MHC Database"
13:00 疾病I (滝口雅文) 口演	12:30 ランチョンセミナー
14:00 シンポジウム (発表15分+討論5分) ×5人 「MHC-免疫システムの中心に据えて」 座長: 福井 宣規 演者: 松下 祥 小園 晴生 稲葉 カヨ 福井 宣規 中野 直子	13:30 (赤座達也) (石谷昭子) ポスター討論 (能勢義介) (佐治博夫) (平山謙二) (佐田正晴)
16:00 シンポジウム (発表15分+討論5分) ×6人 「MHCと移植」 座長: 笹月 健彦 演者: John Hansen 山本 健/笹月 健彦 Paul Terasaki 宇高 恵子 前仲 勝実 十字 猛夫	14:30 シンポジウム (発表15分+討論5分) ×4人 「MHC-総合ゲノム科学の視点から」 座長: 笠原 正典 演者: 五條堀 孝 笠原 正典 猪子 英俊 野中 勝
18:00 イブニングセミナー	16:00 分子遺伝II (木村彰方) 口演
19:00 懇親会	17:00 総会
	17:30

※演者・タイトル等の詳細は次頁をご覧ください。

## 11月1日(木)

●12:00~13:00 ランチョンセミナー1  
テーマ:HLA DNAタイピングの新システム

座長:なし

1. 少量・多量検体、Low・High Resolution, 抗体検査にも対応する  
One Lambda 社 Scan100 登場  
斎藤 克行 (One Lambda 社)

●18:00~19:00 イブニングセミナー

座長:徳永勝士 (東京大学医学系研究科)

1. 新アレル判定ソフトウェア Match Maker II の紹介  
中里見 哲也 (アプライドバイオシステムズジャパン株)
2. 疾患や移植関連遺伝子同定のためのDNA多型解析  
猪子 英俊 (東海大学医学部)

## 11月2日(金)

●8:30~9:30 モーニングセミナー

座長:木村彰方 (東京医科歯科大学難治疾患研究所)

1. Future of HLA high resolution typing with RSCA and its advantages (予定)  
Marsh SG (Antony Nolan Research Institute)

●12:30~13:30 ランチョンセミナー2  
テーマ:HLA SBTタイピングの方向性

座長:木村彰方 (東京医科歯科大学難治疾患研究所)

1. 検査室で出来る SBT (VGI社SBTシステム)  
成瀬 妙子 (東海大学医学部)
2. 研究用SBT 試薬の最新版 (Forensic社SBT試薬)  
河田 寿子 (東海大学医学部)

# プログラム



**特別講演**

11月2日(金) 11:30~12:30

**「International collaboration in studying HLA」**

座長：Paul Terasaki (Terasaki Foundation Lab.)

HLA-The State of The Arts

Dominique Charron (Inst Cordeliers, Lab Immunogenet)

座長：Takehiko Sasazuki (Kyushu University)

Development of a Human MHC Database

John Hansen (Fred Hutchinson Cancer Res. Ctr.)

**シンポジウム I**

11月1日(木) 9:00~11:00

**「Non-classical MHC」**

座長：猪子 英俊 (東海大学)

1. CD1—その構造と機能の保存性と多様性—  
松浦 晃洋 (藤田保健衛生大学)
2. MHCクラスI関連遺伝子MR1の解析  
橋本 敬一郎 (藤田保健衛生大学)
3. HLA-Gの発現と機能—HLA-E、-Fとの相互作用において—  
石谷 昭子 (奈良県立医科大学)
4. MICとCD1遺伝子領域のゲノム構造  
猪子 英俊 (東海大学)
5. Zn- $\alpha$ 2-glycoproteinの構造とその多様な生理機能  
大久保 岩男 (滋賀医科大学)
6. マウスTL抗原  
小幡 裕一 (理化学研究所)

**シンポジウム II**

11月1日(木) 14:00~16:00

**「MHC—免疫システムの中心に据えて」**

座長：福井 宣規 (九州大学)

1. HLAクラスII分子を介したシグナルによる免疫応答制御  
松下 祥 (熊本大学)
2. TCR-MHC-ペプチド複合体相互作用の動力学的熱力学的解析

小園 晴生 (東京理科大学)

3. 樹状細胞における抗原プロセッシングとMHC分子へのローディングならびに  
T細胞活性化機構  
稲葉 カヨ (京都大学)
4. T細胞レパトリー形成におけるTCR-MHC/ペプチド複合体相互作用  
福井 宣規/笹月 健彦 (九州大学)
5. TCR-peptide/MHCによる抑制性シグナルと自己免疫応答の制御  
中野 直子 (東京理科大学)

---

## シンポジウムⅢ

11月1日 (木) 16:00~18:00

### 「MHCと移植」

---

座長：笹月 健彦 (九州大学)

1. Genetic of Hematopoietic Stem Cell Transplantation  
John Hansen (Fred Hutchinson Cancer Res. Ctr.)
2. HLA多型と非血縁者間骨髄移植ークラス I マッチングの重要性ー  
笹月 健彦/山本 健 (九州大学)
3. Impact of HLA on Organ Transplantation  
Paul Terasaki (Terasaki Foundation Lab.)
4. Why so many T cells respond to allo-MHC molecules?  
宇高 恵子 (京都大学)
5. Ig-like receptor群の分子認識機構  
前仲 勝実 (国立遺伝学研究所)
6. minor histocompatibility antigens  
十字 猛夫 (日赤中央血液センター)

---

## シンポジウムⅣ

11月2日 (金) 9:30~11:30

### 「多因子疾患の遺伝的要因としてのHLA」

---

座長：西村 泰治 (熊本大学)

1. マイクロサテライト多型を用いたHLAと相関する疾患の遺伝子マッピングと同定  
猪子 英俊 (東海大学)
2. 多因子疾患におけるHLAとnon-HLA遺伝子の相互効果  
徳永 勝士 (東京大学)
3. HLAクラスII多型と自己免疫疾患  
西村 泰治 (熊本大学)
4. アトピー型喘息とHLA  
有波 忠雄 (筑波大学)
5. 慢性関節リウマチ(RA)の疾患遺伝子ー遺伝的寄与に関する検討と考察ー

塩澤 俊一 (神戸大学)

6. 自己免疫性甲状腺疾患の疾患感受性遺伝子の同定

白澤 専二 (国立国際医療センター研究所) / 笹月 健彦 (九州大学)

**シンポジウムV**

11月2日 (金) 14:30~16:00

**「MHC-総合ゲノム科学の視点から」**

座長：笠原 正典 (総合研究大学院大学)

1. MHCから見たゲノム進化の典型と非典型

五條堀 孝 (国立遺伝学研究所)

2. MHCのゲノムダイナミクス：ゲノムパラロジの視点から

笠原 正典 (総合研究大学院大学)

3. ポストゲノムシーケンシング解析のモデル領域としてのMHC

ーゲノム多様性解析と比較ゲノム解析ー

猪子 英俊 (東海大学)

4. 硬骨魚類メダカを用いたMHCの比較ゲノム学的解析

野中 勝 (東京大学)

**第5回HLA QCワークショップ**

10月31日 14:00-17:00

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)

**モーニングセミナー**

11月2日 (金) 8:30~ 9:30

**ランチョンセミナー**

11月1日 (木) 12:00~13:00

11月2日 (金) 12:30~13:30

**イブニングセミナー**

11月1日 (木) 18:00~19:00

## 会員研究発表 I (口演発表)

11月1日(木) 11:00-12:00 分子遺伝学 I

座長：前田平生

1. 日本人集団を対象としたHLA-A, B, DRB1の血清学レベルSSOP法と、イントロン変異による誤判定  
○坂内 誠<sup>1,2)</sup>, 柏瀬貢一<sup>2)</sup>, 田中秀則<sup>2)</sup>, 石川善英<sup>2)</sup>, 赤座達也<sup>2)</sup>, 十字猛夫<sup>2)</sup>  
1) 東京都赤十字血液センター  
2) 日本赤十字社中央血液センター
2. 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DNA middle-high resolution typing法の検討  
○河田寿子, 中島舞子, 吉川枝里, 成瀬妙子, 猪子英俊  
東海大学医学部分子生命科学
3. LongReadTowerTMSsystemとABI PRISM 377を用いたSBT法の比較  
○吉川 枝里, 中島 舞子, 河田 寿子, 成瀬 妙子, 猪子 英俊  
東海大学医学部分子生命科学
4. MALDI-TOF/MS法を用いたHLA-Aアレルタイピングの検討  
○川村美貴, 団 克昭, 田村雄一, 河上 裕  
慶應義塾大学医学部先端医科学研究所細胞情報研究部門
5. DNAマイクロアレイによるHLA遺伝子タイピングシステムの開発  
○宮城 徹<sup>1)</sup>, 川井信太郎<sup>1)</sup>, 大橋陽子<sup>2)</sup>, 近藤聖二<sup>2)</sup>, 唐木幸子<sup>2)</sup>, 岡 孝紀<sup>1)</sup>, 徳永勝士<sup>3)</sup>  
1) 湧永製薬(株)創薬研究所診断ユニット  
2) オリンパス光学工業(株)ゲノム医療事業推進PJ  
3) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室
6. RSCA法による大腸がん腫瘍組織におけるHLAクラス I 遺伝子のLOH変異の検出  
○安波道郎<sup>1)</sup>, 野内達人<sup>1)</sup>, 壬生隆一<sup>2)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>  
1) 1 東京医科歯科大・難研・分子病態  
2) 九大・医・第一外科

11月1日(木) 13:00-14:00 疾 病 I

座長：滝口 雅文

7. HLA抗原発現欠損Bare Lymphocyte Syndrome Type I 患者の解析  
○屋部登志雄<sup>1)</sup>, 川村純代<sup>1)</sup>, 佐藤昌子<sup>1,3)</sup>, 田中秀則<sup>1)</sup>, 男山順子<sup>2)</sup>, 清水和広<sup>1)</sup>, 西村元子<sup>1)</sup>  
柏瀬貢一<sup>1)</sup>, 石川善英<sup>1)</sup>, 赤座達也<sup>1)</sup>, 徳永勝士<sup>3)</sup>, 十字猛夫<sup>1)</sup>  
1) 日本赤十字社中央血液センター  
2) 2) 熊本県赤十字血液センター  
3) 3) 東京大学医学部人類遺伝学

## 8. HLAクラスIテトラマーを用いたEBV特異的及びHCMV特異的CD8T細胞の解析

○松田智子, 富山宏子, 滝口雅文

エイズ学研究センター-ウイルス制御分野

## 9. 子宮癌患者CD4陽性T細胞が認識するヒトパピローマウイルス抗原上のエピトープ

○大久保光夫<sup>1)</sup>, 井奥宏樹<sup>2)</sup>, 斉藤麻紀<sup>2)</sup>, 平田蘭子<sup>1)</sup>, 竹田省<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・細胞治療部<sup>2)</sup> 埼玉医大総合医療センター 産婦人科

## 10. 日本住血吸虫性肝線維症重症化に対するHLA-クラスIIとIL-13プロモーター遺伝子アレルの相乗効果

○M.Kikuchi<sup>1)</sup>, K.Hirayama<sup>1)</sup>, H.Chen<sup>2)</sup>, R.Ubalee<sup>1)</sup>, T.Yin<sup>2)</sup>, X. Gu<sup>2)</sup>, J.Liu<sup>3)</sup>, S.Zhang<sup>2)</sup> and H.Yuan<sup>3)</sup><sup>1)</sup> 1. Department of Molecular Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University.<sup>2)</sup> Jiangxi Provincial Institute of Parasitic Disease.<sup>3)</sup> Department of Epidemiology, School of public Health, Shanghai Medical University.

## 11. 1型糖尿病(IDDM)の易罹患性に寄与するHLA領域遺伝子の解析

○邵 文碩<sup>1)</sup>, 安波道郎<sup>1)</sup>, 高橋めぐみ<sup>1)</sup>, 柴田宏樹<sup>1)</sup>, 太田正穂<sup>2)</sup>, 勝山善彦<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>,  
浜口和之<sup>4)</sup>, 坂田利家<sup>4)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 1 東京医科歯科大・難研・分子病態<sup>2)</sup> 信州大・医・法医学<sup>3)</sup> 東海大・医・分子生命<sup>4)</sup> 大分医大・第一内科

## 12. HLA遺伝子の多型によるIDDMへの疾患感受性の決定機序の解析

: CLIP置換型インバリアント鎖遺伝子を用いたGAD65自己反応性TCRリガンドの多様性の解析

○植村靖史, 藤井慎嗣, 千住覚, 田畑博巳, 西村泰治

熊本大・院医・免疫識別

---

**11月2日(金) 16:00-17:00 分子遺伝学II**

---

座長: 木村 彰方

## 13. パラグアイ原住民に見いだされたMICA欠失ハプロタイプの解析

○会田かやの<sup>1)</sup>, Graciela Russomando<sup>2)</sup>, 菊池三穂子<sup>3)</sup>, 平山謙二<sup>3)</sup><sup>1)</sup> 埼玉医大・医動物<sup>2)</sup> アスンシオン大・医科学研究所・分子生物<sup>3)</sup> 長崎大・熱帯医学研・分子免疫遺伝

## 14. HLA-B遺伝子全領域に関する新しいゲノムシーケンシング解析法の確立

○松澤 由美子<sup>1)</sup>, 佐野 和美<sup>1)</sup>, 今川 由香利<sup>2)</sup>, 矢吹 和朗<sup>3)</sup>, 椎名 隆<sup>1)</sup>, 成瀬 妙子<sup>1)</sup>, 猪子 英俊<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 東海大学医学部分子生命科学2<sup>2)</sup> 横浜市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室<sup>3)</sup> 横浜市立大学医学部眼科学教室

15. MHC領域のゲノムシーケンシングのためのゴリラBACライブラリーの構築

- 外山愛花, 大塚正人, 須鎌千知, 安西達也, 椎名 隆, 猪子英俊  
東海大学医学部分子生命科学2

16. ペンギン類MHC多型による種の分類と進化の検討

- 津田とみ<sup>1)</sup>, 津田道雄<sup>1)</sup>, 河田寿子<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, 安藤麻子<sup>1)</sup>, 椎名隆<sup>1)</sup>, 福田道雄<sup>2)</sup>, 栗田正徳<sup>3)</sup>,  
南浩史<sup>4)</sup>, 清田雅史<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> 葛西臨海水族園

<sup>3)</sup> 名古屋港水族館

<sup>4)</sup> 水産庁遠洋水産研究所

17. ヒツジMHC(OLA)-DRB1の塩基配列の決定と多型解析

- 今内 覚<sup>1,2)</sup>, 長岡淑子<sup>1)</sup>, 小沼 操<sup>2)</sup>, 間 陽子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 理研・筑波研

<sup>2)</sup> 北大・獣医

18. 様々な生物種における MHC 領域のシーケンシングと MHC 統合データベース (M-integra) の開発

- 椎名 隆<sup>1)</sup>, 羽原拓哉<sup>2)</sup>, 山口香織<sup>2)</sup>, 安西達也<sup>1)</sup>, 小原 栄<sup>1)</sup>, 今西 規<sup>3)</sup>, 五條堀孝<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2

<sup>2)</sup> 国立遺伝学研究所生命情報 DDBJ 研究センター

<sup>3)</sup> 産業技術総合研究所生物情報解析研究センター

## 会員研究発表Ⅱ (ポスター発表)

---

11月2日 (金) 13:30-14:30 分子遺伝Ⅲ

---

座長: 赤座達也

19. HLAクラス I およびクラス III 領域における日本人ハプロタイプのゲノムシーケンシング解析

-1: 遺伝子領域 433 kb のPCR 増幅とシーケンシング

- 橋本奈美<sup>1)</sup>, 勝山善彦<sup>2)</sup>, 椎名 隆<sup>1)</sup>, 金子剛久<sup>3)</sup>, 吉川枝里<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, 太田正穂<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> 信州大学医学部附属病院薬剤部

<sup>3)</sup> 北里大学医学部

<sup>4)</sup> 信州大学医学部法医学教室

20. HLAクラスI領域における日本人ハプロタイプのゲノムシーケンシング解析-2: 遺伝子領域内のSNP解析

- 勝山善彦<sup>1)</sup>, 太田正穂<sup>2)</sup>, 橋本奈美<sup>3)</sup>, 椎名隆<sup>3)</sup>, 金子剛久<sup>4)</sup>, 吉川枝里<sup>3)</sup>, 成瀬妙子<sup>3)</sup>, 大森榮<sup>1)</sup>,  
福島弘文<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 信州大学病院薬剤部

<sup>2)</sup> 信州大学医学部法医学教室

<sup>3)</sup> 東海大学医学部分子生命科学

<sup>4)</sup> 北里大学医学部

## 21. チンパンジーのMHCクラスI領域における比較ゲノム解析

○安西達也<sup>1)</sup>, 椎名 隆<sup>1)</sup>, 木村夏季<sup>1)</sup>, 柳谷和代<sup>1)</sup>, 須鎌千知<sup>1)</sup>, 桑野裕子<sup>1)</sup>, 重成敦子<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, Jerzy K Kulski<sup>1)</sup>, 藤森克史<sup>2)</sup>, 福住康仁<sup>2)</sup>, 山崎正明<sup>2)</sup>, 田代弘行<sup>2)</sup>, 岩本千恵<sup>3)</sup>, 梅原由美<sup>3)</sup>, 今西 規<sup>3)</sup>, 池尾一穂<sup>3)</sup>, 五條堀孝<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> 不二家バイオサイエンス研究所

<sup>3)</sup> 国立遺伝学研究所生命情報研究センター

## 22. SLAクラスI遺伝子領域のゲノム構造解析

○重成敦子<sup>1)</sup>, 安藤麻子<sup>1)</sup>, 椎名隆<sup>1)</sup>, Claire Rogel-Gaillard<sup>2)</sup>, Patrick Chardon<sup>2)</sup>, 松坂恭成<sup>1)</sup>, 傳田晃弘<sup>1)</sup>, 田宮元<sup>1)</sup>, 安江博<sup>3)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大・医・分子生命科学

<sup>2)</sup> Laboratoire mixte INRA-CEA

<sup>3)</sup> 独立行政法人・動衛研

## 23. ラットMHCクラスI領域におけるゲノムシーケンシング解析

○小原 栄<sup>1)</sup>, 椎名 隆<sup>1)</sup>, 藤森克史<sup>2)</sup>, 山崎正明<sup>2)</sup>, 田代弘行<sup>2)</sup>, Lutz Walter<sup>3)</sup>, Eberhard Gunther<sup>3)</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> ゲッティンゲン大・独

## 24. 板鰐類MHC遺伝子領域のシーケンシング解析

○佐野和美<sup>1)</sup>, 椎名 隆<sup>1)</sup>, 太田裕子<sup>2)</sup>, Martin F. Fiajnik<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学医学部分生生命科学2

<sup>2)</sup> Maryland大医学部

---

**11月2日 (金) 13:30-14:30 分子遺伝IV**


---

座長：能勢 義介

## 25. 日本人に初めて検出されたDR2LUMについて

○能勢 義介, 皆森久美子, 秋田眞哉, 荒木延夫, 井本しおん, 三戸 壽  
兵庫県赤十字血液センター 検査一課

## 26. 血清学的HLA class Iタイピングの反応性から新バリエーション抗原と考えられた3例の遺伝子学的解析

○高橋大輔<sup>1)</sup>, 荒関みき<sup>1)</sup>, 関本達也<sup>1)</sup>, 宮崎孔<sup>1)</sup>, 中島文明<sup>2)</sup>, 佐藤進一郎<sup>1)</sup>, 加藤俊明<sup>1)</sup>, 池田久實<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 北海道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

## 27. 新たに見出されたHLA遺伝子型について

○清水まり恵, 田中秀則, 植木純一, 峯元睦子, 栗田裕子, 柏瀬貢一, 野尻徳行, 赤座達也,

中島一格, 十字猛夫

日本赤十字社中央血液センター

28. Exon4に塩基置換が認められたHLA-Bバリエーション抗原について

○田中秀則<sup>1)</sup>, 明坂珠生<sup>2)</sup>, 清水まり恵<sup>1)</sup>, 柏瀬貢一<sup>1)</sup>, 石川善英<sup>1)</sup>, 池田孝子<sup>3)</sup>, 加藤 道<sup>3)</sup>  
生田 満<sup>4)</sup>, 赤座達也<sup>1)</sup>, 高橋朋子<sup>2)</sup>, 三上俊郎<sup>4)</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> 星薬科大学薬学部

<sup>3)</sup> 愛知県赤十字血液センター

<sup>4)</sup> 青森県赤十字血液センター

29. 日本人におけるNK受容体KIR遺伝子の多型解析

○川村純代<sup>1)</sup>, 屋部登志雄<sup>1)</sup>, 佐藤昌子<sup>1,2)</sup>, 大橋 順<sup>2)</sup>, 赤座達也<sup>1)</sup>, 徳永勝士<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> 東京大学医学部人類遺伝学

---

11月2日 (金) 13:30-14:30 分子遺伝学V

---

座長: 佐田 正晴

30. LABScreen™ PRAを用いたHLA抗体検査法の検討

○藤原孝記, 大塚 薫, 市原孝浩, 島野佳恵, 田中秀則, 野尻徳行, 中島一格, 十字猛夫  
日本赤十字社中央血液センター

31. PCR-SBTによる新規ウシMHC(BoLA)-DRB3遺伝子の検出

○竹嶋伸之輔<sup>1)</sup>, 池上美絵<sup>1)</sup>, 森田光男<sup>2)</sup>, 間 陽子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 理化学研究所 筑波研究所

<sup>2)</sup> 家畜改良事業団

32. ウシMHC(BoLA)-DRB3の遺伝子の多様性の解析

○竹嶋伸之輔<sup>1)</sup>, 池上美絵<sup>1)</sup>, 森田光男<sup>2)</sup>, 斉藤成也<sup>3)</sup>, 猪子英俊<sup>4)</sup>, 間 陽子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 理化学研究所 筑波研究所

<sup>2)</sup> 家畜改良事業団

<sup>3)</sup> 国立遺伝学研究所

<sup>4)</sup> 東海大学医学部分子生命科学II

33. ウズラMHCクラスIIB発現遺伝子と抗体産生能に関する解析

○清水佐良子<sup>1)</sup>, 椎名隆<sup>2)</sup>, 高橋慎司<sup>3)</sup>, 小山卓美<sup>4)</sup>, 小野寺節<sup>1)</sup>, 猪子英俊<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 東大・院農

<sup>2)</sup> 東海大・医

<sup>3)</sup> 国立環境研

<sup>4)</sup> 国立家衛試

34. ミニブタSLAクラスI遺伝子の多型性と発現状態の解析

○安藤麻子<sup>1)</sup>, 河田寿子<sup>1)</sup>, 太田正穂<sup>2)</sup>, 佐田正晴<sup>3)</sup>, 後藤理枝子<sup>3)</sup>, 中谷武嗣<sup>3)</sup>, 重成敦子<sup>1)</sup>, 中西喜彦<sup>4)</sup>, 森 研一<sup>5)</sup>, 柴 麻紀子<sup>6)</sup>, 筒井真理子<sup>6)</sup>, 谷川 学<sup>7)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

- 1) 東海大・医・分子生命科学
- 2) 信州大・医・法医学
- 3) 国立循環器病センター研究所
- 4) 鹿児島大・農・家畜繁殖学
- 5) (株)ジャパンファーム
- 6) 独立行政法人 家畜改良センター
- 7) CSKリサーチパーク

## 11月2日 (金) 13:30-14:30 疾 病Ⅱ

座長：平山 謙二

### 35. 抗HCV抗体陽性心筋症のHLA遺伝子解析

○中島舞子<sup>1)</sup>, 吉川枝里<sup>1)</sup>, 太田正穂<sup>2)</sup>, 勝山善彦<sup>2)</sup>, 木村彰方<sup>3)</sup>, 松森 昭<sup>4)</sup>, 篠山重威<sup>4)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

- 1) 東海大学医学部分子生命科学
- 2) 信州大学医学部法医学
- 3) 東京医科歯科大学難治疾患研究所
- 4) 京都大学循環病態学

### 36. 帯状疱疹後神経痛とHLAクラスI, IIの関連について

○佐藤昌子<sup>1), 2), 4)</sup>, 屋部登志雄<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>3)</sup>, 植木純一<sup>1)</sup>, 柏瀬貢一<sup>1)</sup>, 田中秀則<sup>1)</sup>, 大橋 順<sup>2)</sup>, 十字猛夫<sup>1)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>, 花岡一雄<sup>4)</sup>, 徳永勝士<sup>2)</sup>

- 1) 日本赤十字社中央血液センター
- 2) 東京大学医学部人類遺伝学
- 3) 東海大学医学部分子生命科学
- 4) 東京大学医学部付属病院麻酔科

### 37. ベーチェット病患者におけるMICA 遺伝子の解析

○佐野和美, 椎名 隆, 水木信久, 猪子英俊  
東海大学医学部分生生命科学2

### 38. C型慢性肝炎の進行とHLA

○太田正穂<sup>1)</sup>, 吉澤 要<sup>2)</sup>, 斉藤 敏<sup>1)</sup>, 田中栄司<sup>2)</sup>, 勝山善彦<sup>3)</sup>, 福島弘文<sup>1)</sup>, 清澤研道<sup>2)</sup>

- 1) 信州大学医学部法医学
- 2) 信州大学医学部第二内科
- 3) 信州大学付属病院薬剤部

### 39. 膵管狭細型膵炎とHLA

○太田正穂<sup>1)</sup>, 川 茂幸<sup>2)</sup>, 吉澤 要<sup>2)</sup>, 斉藤 敏<sup>1)</sup>, 浜野英明<sup>2)</sup>, 勝山善彦<sup>3)</sup>, 福島弘文<sup>1)</sup>, 清澤研道<sup>2)</sup>

- 1) 信州大学医学部法医学教室
- 2) 信州大学医学部第二内科
- 3) 信州大学病院薬剤部

40.HLAに連鎖した高安動脈炎感受性遺伝子領域のマッピング

○高橋めぐみ<sup>1)</sup>, 柴田宏樹<sup>1)</sup>, 安波道郎<sup>1)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>, 太田正穂<sup>2)</sup>, 勝山善彦<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京医科歯科大学, 難研, 分子病態

<sup>2)</sup> 信州大学医学部法医

<sup>3)</sup> 東海大学医学部分子生命

---

11月2日(金) 13:30-14:30 疾病Ⅲ

---

座長: 石谷 昭子

41.正常および妊娠中毒症胎盤におけるHLA-G発現の消失部位について

○下嶋典子<sup>1)</sup>, 石谷昭子<sup>1)</sup>, 梅影秀史<sup>2)</sup>, 大村素子<sup>1, 3)</sup>, 中西真理<sup>1)</sup>, Geraghty DE<sup>4)</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> 兵庫県立西宮病院

<sup>4)</sup> Fred Hutchinson Cancer Research Center

42. Vogt-小柳-原田病に関連する自己抗原の解析

○千住 覚<sup>1)</sup>, 山田和博<sup>1,2)</sup>, 篠原利通<sup>3)</sup>, 村田恭啓<sup>2)</sup>, 中面哲也<sup>1)</sup>, 石原麻美<sup>4)</sup>, 中村 聡<sup>4)</sup>, 大野重昭<sup>4,5)</sup>,  
谷原秀信<sup>2)</sup>, 根木 昭<sup>2,6)</sup>, 西村泰治<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 熊本大・免疫識別

<sup>2)</sup> 熊本大・眼科

<sup>3)</sup> ハーバード大

<sup>4)</sup> 横浜市大

<sup>5)</sup> 北海道大

<sup>6)</sup> 神戸大

43. 赤血球抗体保有者に認められたHLA抗体

○山本 賢<sup>1)</sup>, 森 勝志<sup>2)</sup>, 佐田正晴<sup>3)</sup>, 片山善章<sup>2)</sup>, 宮田茂樹<sup>1)</sup>, 中谷武嗣<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 国立循環器病センター・輸血管理室

<sup>2)</sup> 国立循環器病センター・臨床検査部

<sup>3)</sup> 国立循環器病センター・実験治療開発部

<sup>4)</sup> 国立循環器病センター・臓器移植部

44. PRA(抗HLA抗体)とHLA型との関連性

○森 勝志<sup>1)</sup>, 山本 賢<sup>2)</sup>, 佐田正晴<sup>3)</sup>, 片山善章<sup>1)</sup>, 宮田茂樹<sup>2)</sup>, 中谷武嗣<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 国立循環器病センター・臨床検査部

<sup>2)</sup> 国立循環器病センター・輸血管理室

<sup>3)</sup> 国立循環器病センター・実験治療開発部

<sup>4)</sup> 国立循環器病センター・臓器移植部

45. 牛白血病ウイルスによる白血病発症の感受性を規定するウシMHCクラスII遺伝子

○間 陽子, 竹嶋伸之輔

理研・筑波研

46. 異なるMHCを有するBLV感染羊の免疫応答

○今内 覚<sup>1,3)</sup>, 竹嶋伸之輔<sup>1)</sup>, 田島 茂<sup>1)</sup>, 岡田幸助<sup>2)</sup>, 小沼 操<sup>3)</sup>, 間 陽子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 理研・筑波研

<sup>2)</sup> 岩手大・農

<sup>3)</sup> 北大・獣医

11月2日(金) 13:30-14:30 移 植 I

座長：佐治博夫

47. 母子間・同胞間マイクロキメリズム (The long term natural feto- maternal microchimerism) について

○丸屋悦子<sup>1)</sup>, 佐治博夫<sup>1)</sup>, 一戸辰夫<sup>1)</sup>, 玉木茂久<sup>2)</sup>, 渡辺新<sup>3)</sup>, 小川啓恭<sup>4)</sup>,

<sup>1)</sup> HLA研究所, 京大第一内科

<sup>2)</sup> 山田日赤内科

<sup>3)</sup> 中通総合病院小児科

<sup>4)</sup> 阪大第三内科

48. 小児同種免疫感作：造血幹細胞移植後の輸血による

○安田広康<sup>1)</sup>, 大戸 斉<sup>1)</sup>, 菊田 敦<sup>2)</sup>, 鈴木 仁<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 福島医科大学 輸血・移植免疫部

<sup>2)</sup> 福島医科大学 小児科

49. 移植腎の急性および慢性拒絶反応に関わるT細胞の比較解析

○小幡文弥<sup>1)</sup>, 池田幸代<sup>1)</sup>, 大久保みどり<sup>2)</sup>, 篠原信賢<sup>2)</sup>, 斉藤毅<sup>3)</sup>, 吉田一成<sup>3)</sup>, 馬場志郎<sup>3)</sup>, 遠藤忠雄<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 北里大学医療衛生学部臨床免疫学

<sup>2)</sup> 北里大学医学部免疫学

<sup>3)</sup> 北里大学医学部泌尿器科学

<sup>4)</sup> 埼玉中央病院

50. 血小板輸血におけるHLA-C座抗原適合の必要性

○斉藤 敏, 大田 智, 瀬下秀幸, 山崎雄一郎, 野村節夫  
長野県赤十字血液センター

51. TNF $\alpha$ , TNFR2遺伝子多型の移植への影響

○柏瀬 貢一, 石川 善英, 赤座 達也, 十字 猛夫  
日本赤十字社中央血液センター 研究部

52. TNF- $\alpha$ プロモータ多型は腎移植成績と関連するか

○酒巻建夫, 野田岳, 山崎正明, 飯田好江  
国立佐倉病院・HLA検査室, 臨床研究部



# シンポジウム



S1-1

## CD1—その構造と機能の保存性と多様性—

松浦晃洋、杵渕 幸

藤田保健衛生大学医学部病理

CD1は複数の単クローン抗体によって同定された第1番目のヒトリンパ球分化抗原 (Cluster of differentiation antigen 1) である。これはウサギの抗血清によって検出されていたヒト胸腺特異抗原 (Human thymus antigen) に相当し、HLAクラスIと同様に $\beta 2m$ を非共有結合する。重鎖の分子量、発現の違いから、CD1のなかにはCD1a, CD1b, CD1cという似て異なる分子種の存在が明らかになった。CD1遺伝子座の解析からヒトは5個 (hCD1A, B, C, D, E), マウスは2個 (mCD1D1, mCD1D2), ラットは1個 (rCD1D) の構造遺伝子が証明された。さらに、ウサギ、ウシ、ヒツジ、ブタ、モルモットなど調べられた全ての哺乳類においてCD1相同遺伝子の存在が報告されている。これらのCD1遺伝子群は細胞外 $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ドメインの類似性からグループI CD1 (古典的CD1クラス: hCD1A, hCD1B, hCD1C) とグループII CD1 (CD1dクラス: hCD1D, mCD1s, rCD1) の2群に分類される。前者は齧歯類には欠失しているが、後者は種を越えて保存されている。

CD1はMHCクラスI, クラスII分子と類似した全体構造をもち、MHC foldというべきリガンド結合構造を膜遠位側に有する。しかし、foldの大きさや、構成するアミノ酸組成に違いがあり、主に脂質を結合すると報告されている。抗原提示に関する報告を概略すると、結核菌やらい菌のマイコバクテリア属の菌体膜脂質は主にグループI CD1分子によりT細胞に提示され、これらに反応するT細胞レセプターには多様性がある。一方、CD1d分子は合成糖脂質 ( $\alpha$ -GalCer) やGPIを提示する。特徴的なことは反応する細胞のほとんどは均一なT細胞レセプターを保有するNKT細胞である。両グループとも自己由来の脂質成分を提示し、自己反応性T細胞を活性化しうるようである。

ラットCD1の発現、多型性、機能モチーフ、反応性T細胞について検索したなかから、いくつかの興味深い知見をNon-classical class I解析の一例として紹介する。

S1-2

## MHCクラスI 関連遺伝子MR1の解析

橋本敬一郎

藤田保健衛生大

我々のゲノム中には、古典的MHC遺伝子以外にMHCクラスI及びクラスII関連遺伝子が存在しており、その解明はMHC遺伝子ファミリーの全体像を理解する上に於いても重要である。MR1遺伝子は、最初にヒトゲノム中より積極的な探索により発見されたMHCクラスI関連遺伝子である。ヒトに於いてはCD1と同じく1番染色体に存在するが、特にその $\alpha 1$ 及び $\alpha 2$ ドメイン領域においてCD1等よりもより古典的MHCクラスI遺伝子に近いという特徴を有している。また、古典的MHCクラスI分子の抗原ペプチド結合ドメインに相当するそれらの領域は、MR1においてヒト、マウス間での保存性が非常に高いことが特筆される。MR1分子の機能は未だ不明であるが、その高い保存性に基つき生体内で重要な機能を有しているであろう事が推測される。MR1遺伝子導入細胞を用いた解析より、MR1分子と $\beta 2$ -ミクログロブリンとの会合が示され、MR1分子は、分子構造としては重鎖と軽鎖から構成される典型的なMHCクラスI構造と同様な構造を形成していると推測される。MR1遺伝子導入細胞での結果からは、古典的MHCクラスI分子とは対照的にMR1分子の細胞表面での発現は認められず、未成熟な糖鎖を有し細胞内に留まっている知見が得られている。クラスI分子の中には、特殊なリガンドを要求するものが知られており、細胞表面への出現にもそれらが必要とされる事が報告されている。MR1の細胞内挙動は、これらの場合と類似しているが、実際にリガンド結合待機状態にあるのか更に詳細な解析が必要である。また、現在MR1リコンビナント蛋白質を利用して種々の分子性状の解明を目指している。MR1分子の特徴について他のMHCクラスI関連分子等との比較を行ないながら論じたい。

S1-3

## HLA-Gの発現と機能－HLA-E, -Fとの相互作用において－

石谷昭子

奈良県立医科大学法医学教室

妊娠は免疫学において非常に興味ある現象である。Semiallograftである胎児を母体は拒絶せず、妊娠期間中生着させる機構はいまだ解明されていない。母体と胎児のまさしく接点である胎盤トロホブラストには、いかなるHLA class Iaもclass IIも発現していない（HLA-Cが弱く発現しているという報告がある）とされている。ここに多型性が著しく乏しいことが特徴であるHLA class Ib遺伝子、HLA-G,-E,-Fが発現している。この多型性の著しく乏しいclass Ib分子が母子の接点をカバーすることにより、母体のT細胞の免疫学的拒絶から胎児を保護しているのではないかと推測されている。

HLA-GはT細胞やNK細胞のサイトカイン分泌を刺激し、子宮内のサイトカインバランスを妊娠維持に有利なTH2にシフトさせると考えられる。HLA-GはまたILT2, ILT4およびKIR 2DL4のNK receptorに認識され、傷害活性を抑制する。HLA-Eは細胞内蛋白由来のペプチドは結合せず、細胞内の他のHLA class I のシグナルペプチドのみを結合し、はじめて膜表面に発現できるという特異な発現様式をもっている。HLA-EはCD94/NKG2 NK receptorに認識され、傷害活性を抑制あるいは活性化する。その分子内にHLA-Gのシグナルペプチドを結合した場合はNKを活性化することが明らかになった。おそらく胎盤においては、HLA-Gと-EとでNK細胞を抑制したり活性化したりすることにより、傷害活性の抑制やサイトカインの分泌を制御することにより、妊娠の維持に働いているのではないだろうか。HLA-Fの発現については、通常は細胞質内のみを発現しているのであるが、満期胎盤の脱落膜に深く侵入しているトロホブラストにのみ膜近辺に強い発現がみられるという興味深い結果も得ているが、まだ研究の緒についたところである。

S1-4

## MICとCD1遺伝子領域のゲノム構造

猪子英俊

東海大学 医学部 分子生命科学

MIC 遺伝子はHLA クラス I 領域に7個 (MICA, MICB, MICC, MICD, MICE, MICE, MICE, MICE, MICE, MICE) が存在し, HLA-B\*4801 ハプロタイプの一部を除いて, MICA, MICBの発現が確認されている。我々が決定した1.8 Mbのクラス I領域のゲノム塩基配列より, これらのMIC 遺伝子群の形成の過程を追究した結果, HLA-F - MICEからなる祖先的なクラスI遺伝子の基本ユニットから, MICA, MICB 領域への倍化をはじめとする8回の遺伝子重複により形成されたと推定した。すなわち, 重複前の時期 (6千万年以前) には, MICE が主に発現していたが, MICA, MICBの誕生により, MIC 遺伝子の発現はMICE からMICA, MICBに移行したものと考えられた。また, MIC 遺伝子群は哺乳類のなかで, げっ歯類における欠損, チンパンジーでの一個の発現遺伝子の欠失などの種々の知見から, 可塑性に富んだ遺伝子群の一つであると言える。一方, HLA 領域の側系 (paralogous) 領域の一つであるCD1遺伝子は第1染色体 1q21-22 領域に5個が存在し, これらすべての発現が確認されている。このCD1 遺伝子領域1.1 Mbのゲノム塩基配列の決定を行い, ドットマトリックス解析をおこなった結果, CD1 遺伝子間には, HLA クラス I 領域に顕著に見いだされた遺伝子重複の痕跡は認められなかった。したがって, CD1 遺伝子領域は現在の HLA 領域が完成した以前 (6千万年以前) に形成されたと推測された。さらに, HLA領域と同様に, CD1 を含む1q21-q22領域にみいだされた13個の発現遺伝子のうち, 12個もの多くが免疫学的に重要な機能を有する遺伝子であり, また類似遺伝子を共有していた。さらにこのCD1 遺伝子領域に存在する嗅覚レセプター遺伝子は6p21.3-22.2 に位置するものと最も遺伝的距離に近いなどの共通点が見いだされた。これは, 6p21.31-p22と1q21-q22領域が太古に起源が一つであったことを強く示唆するものである。

S1-5

## Zn- $\alpha$ 2-glycoproteinの構造とその多様な生理機能

大久保岩男

滋賀医科大学・生化学第二講座

Zn- $\alpha$ 2-glycoprotein (Zn  $\alpha$  2gp) は1961年BurgiとSchmidによって、ヒトの血漿中に見いだされた分子量38,000 ~ 41,000の可溶性の糖タンパク質であり、血漿や精漿を始め種々の体液中に存在する。このタンパク質は電気泳動的に $\alpha$ 2領域に泳動されること、酢酸亜鉛により沈殿することからZn  $\alpha$  2gpと命名されている。現在までに、このタンパク質の全一次アミノ酸配列、cDNAおよび遺伝子構造などの物理化学的諸性質のかなりの部分が明らかにされてきている。しかし、このタンパク質の生理機能に関しては不明な点が多く、多様な生理機能を有しているとも考えられている。また、Zn  $\alpha$  2gpの全一次アミノ酸配列が、主要組織適合抗原 (MHC) のHLA class I-a 鎖と36 ~ 39%、HLA class IIと25 ~ 29%の相同性を示すことから、このタンパク質は免疫応答にも関わっている可能性が推定されているが、現時点では実証されていない。本講演においては、私どもが明らかにしたヒトやラットのZn  $\alpha$  2gpの物理化学的・免疫学的諸性質、免疫組織化学的局在、Zn  $\alpha$  2gp cDNAの単離とその構造解析、遺伝子構造とその染色体上の座位を述べさらに最近Sanchezらにより明らかにされたZn  $\alpha$  2gpの結晶構造などを紹介する。生理機能に関しては、約20年以前にこのタンパク質が腎炎起因性糖タンパク質 (nephritogenic renal glycoprotein) として機能している可能性が示唆されていたが、最近この機能以外に幾つかの生理機能が見いだされている。それらは、Zn  $\alpha$  2gpがvitronectinなどと同程度の活性を有する細胞接着因子として機能すること、癌腫における悪液質発症の原因物質 (lipid-mobilizing factor) としてさらには肝臓におけるstellate cellsの増殖阻害因子として機能することなどである。本講演ではこれらの生理機能などについても紹介する。

S1-6

## マウスTL抗原

小幡裕一 (理化学研究所・筑波研究所・バイオリソースセンター)

辻村邦夫、高橋利忠 (愛知県がんセンター研究所)

TL分子はMHC class Ib群に属し、すべてのマウスの腸上皮細胞と特定のマウスの胸腺T細胞に発現する。しかし、TL分子が抗原提示能を有するか、またどのような分子と結合できるかなど、TL分子の生体機能に関しては未解決の部分が多い。そこで、TL遺伝子導入マウスを利用して、TLを認識するCTLを誘導した。抗TL-CTLのTCRは、他のMHC抗原提示分子の関与を必要とせず、直接TL分子を認識する。CTLはTAP欠損細胞に発現させたTL分子 (+抗原?) を認識し、さらにTL分子を発現させた種々の昆虫細胞をも傷害する。これらの実験からTLに提示される抗原分子の有無および性状を明らかにすることはできなかったが、通常のペプチド抗原ではない可能性が強く示唆された。さらに、Baculovirusを用いてSf9昆虫細胞に産生させたB6マウス由来のTL分子とb2Mの複合体のtetramerを作成し、TL-CTLの反応性を解析することを試みた。TL tetramerは通常のMHC class I tetramerとは異なり、抗原ペプチドを添加せずに作成したにもかかわらず、細胞染色が可能であった。樹立済みのCTLクローンを染色すると、検索したすべてのTL-CTLクローン(TCR  $\alpha\beta$  および TCR  $\gamma\delta$ ) は染色されたが、コントロールとして用いたH-2Kb-CTLクローンは染色されなかった。またCTLの傷害活性とtetramerによる染色強度には正の相関が見られた。さらに、種々の組織由来のリンパ球を検索し、CD8IELやCD8胸腺T細胞では、TL tetramerはTCRとは無関係にCD8を介して結合することが示された。このことが、生理学的な意味を持つかどうか検討中である。

S2-1

## HLA クラスII 分子を介したシグナルによる免疫応答制御

松下 祥

熊本大学・院医・免疫識別学

TCR-ペプチド-MHC複合体が形成されると、MHC分子を介して抗原提示細胞側にもシグナルが伝達される。HLA-DR, DQ, DPを介したシグナル伝達機構を解析した。

B細胞を、固相化抗DR抗体と共に、またはエメチン処理したDR拘束性T細胞クローン+ペプチドと共に培養すると、IgM産生の特異的増強が観察された。膜型ならびに分泌型m鎖のmRNA発現増強を伴っており、PTK抑制剤ならびにSyk抑制剤がIgM産生を効率良く抑制した。実際、DR分子の架橋により、Sykのリン酸化ならびにSyk活性の増強が誘導された。膜型IgMの発現増強は、T-B相互作用のごく初期におけるBCR発現レベルの維持に貢献しているのかもしれない。

固相化抗HLA抗体による架橋でmonocytesに刺激を入れると、MAPK/Erkの活性化はDRを介した刺激でのみ観察されたが、MAPK/p38の活性化はDR, DQ, DP全てを介した刺激で観察された。DRを介したシグナルは、IL-1bなどの炎症性モノカインの産生をより強く誘導したが、DQ/DPを介したシグナルはIL-10などの抗炎症性モノカインの産生をより強く誘導した。さらに、ダニ抗原, PPD, random 19-mer peptide反応性DR拘束性T細胞はDQ/DP拘束性T細胞に比べて、よりTh1寄りのサイトカイン産生パターンを示した。以上より、DR, DQ, DP分子はMAPK familyを介して異なるシグナルをmonocytesへ伝達し、in vivoにおいてもT細胞応答の質の決定に影響を与えていると結論した。多重遺伝子族として進化したクラスII遺伝子はシグナル伝達機構においても多様性を獲得し、異なる機能を担っていると考えられる。

S2-3

## 樹状細胞における抗原プロセッシングとMHC分子へのローディングならびにT細胞活性化機構

稲葉カヨ

京都大学大学院生命科学研究所

T細胞依存性の免疫応答を誘導するためにはプロフェッショナルな抗原提示細胞が不可欠であるが、その中でも樹状細胞はもっとも強力な活性を持つ細胞として知られている。この特性は、細胞の分化成熟過程と密接に関連し、抗原の捕捉・プロセッシングによるペプチドのMHC分子への結合の制御とT細胞への提示とco-stimulatory分子の発現によることがin vitroの実験によって明らかにされている。

一般に未成熟な樹状細胞は食作用活性が強く貪食活性やマクロピノサイトシス活性により粒子状物質をはじめとして多量の分子を細胞内に取り込むことができる。しかし、それらは完全に消化分解されてしまわれることはなく、かなり長時間にわたってMIIC (MHC class II compartment)と呼ばれる後期エンドソーム/ライソソーム域において保持される。しかし、刺激が加えられると抗原ペプチドは速やかにMHCクラスII分子に結合される。このとき同時にCD80/86などのco-stimulatory分子もまたCIIVから抗原ペプチドを結合したMHCクラスII分子と共にCIIV(class II vesicle)を経て輸送される。しかも、これらの分子が細胞表面に高密度にかつ安定して発現されることにより、抗原特異的T細胞に対し抗原を提示すると共にその活性化を誘導する。しかし、誘導される応答の質は、樹状細胞が産生するサイトカインや周囲のサイトカイン環境によって直接あるいは間接的に制御されている。しかも、生体内に投与された抗原は樹状細胞に取り込まれ、提示されるにも関わらず有効な免疫応答が誘導されることが限らない。今回は、これらを考慮しつつ、樹状細胞による抗原提示とT細胞の活性化を考えてみたい。

S2-2

## MHC class II分子のペプチド獲得機構

小園晴生

東京理科大・生命研

MHC IIは、抗原提示にあたり細胞内でペプチドの交換・選択を行う。まず、MHC class IIは、ERで合成され、そこでインバリアント鎖 (Ii) と結合する。IiはClass IIをMIICといった酸性小胞に誘導する。酸性小胞では、抗原タンパク質由来のペプチドとCLIPペプチドの交換が起こり、T細胞に提示されていく。我々は、このMHC IIのペプチド交換反応のエネルギー論的、構造学的根拠を明らかにすべく、酸性条件下と中性条件下で円偏光二色性(CD)、示差走査型熱量測定(DSC)とX線小角散乱(SAXS)、及び、X線広角散乱(WAXS)という手法を用いて、溶液中でのMHC II-ペプチド複合体の動態解析を行った。CDによると中性下においてはCLIP結合MHC IIのみが、それに対して酸性下ではすべてのMHC IIが高いSDS感受性を示した。DSCの結果では、酸性下でMHC IIは $T_m$ で8°Cほど安定になるがそれはエンタルピックな安定化ではなかった。また、SAXSによる解析では、慣性半径、及び、 $p(r)$ 関数で差は見られなかった。そこでWAXSで、平均的な $\alpha$ -helix間の距離である10 Å - 30 Åの領域に注目したが、酸性下と中性下で顕著な差は見られなかった。これらのことより、酸性下でのペプチド交換反応の促進はHis残基等がプロトン化して水素結合を形成できなくなる結果、自由度が増し、ゆらぎの速度または振れ幅が大きくなるからであると結論した。これにより、結晶解析やCDによる解析でMHC IIの構造に変化が見られないにもかかわらず、何故、ANSやSDSといった疎水性プローブが低いpHでのみMHC class IIに結合するのか、すなわちペプチド交換が起こりうるのかが説明できる。

S2-4

## T細胞レパートリー形成におけるTCR-MHC/ペプチド複合体相互作用

福井宣規, 笹月健彦

九州大学生体防御医学研究所免疫遺伝学分野, CREST

免疫システムは、多様な感染源との相互作用を通じて進化してきた生体にとって必須の防御機構である。このため、主要組織適合抗原（MHC）遺伝子群は高度の多型性を有し、集団としてこれら微生物の多様性に適応してきたと考えられるが、一方、外来抗原に対する免疫応答性及び自己免疫疾患に対する感受性がMHCに連鎖した遺伝形質として規定されていることが知られている。

胸腺内T細胞分化過程で、MHC分子は自己抗原ペプチドを未熟胸腺細胞上のT細胞受容体（TCR）に提示することで自己MHCによる拘束性の獲得（正の選択）および自己反応性T細胞の除去（負の選択）という選択を行い、末梢で免疫応答に寄与するT細胞レパートリーを決定する。一方、MHC分子は末梢において、外来抗原由来のペプチドをTCRに提示することで免疫応答を惹起する。すなわち、MHC分子は、胸腺でのT細胞レパートリー形成と末梢での抗原提示を介して免疫応答性を規定していると考えられる。これまで、末梢での抗原提示におけるTCR-MHC/ペプチド相互作用が十分に研究されてきたのに対して、T細胞レパートリー形成におけるそれは依然として不明な点が多い。これは、自己抗原ペプチドの多様性のために、この相互作用を分子レベルで論じることが困難である点に起因している。この問題を克服するために、我々はMHC分子が1種類の抗原ペプチドで占有されたトランスジェニックノーックアウトマウスを樹立した。このマウスを用いた研究成果を基に、TCR-MHC/ペプチド相互作用を介してT細胞レパートリーがどのようにして形成されるかに関して我々の知見を紹介すると共に、MHC分子がT細胞レパートリー形成を介して免疫応答性及び自己免疫疾患感受性の決定に寄与する可能性につき議論する。

S2-5

## TCR-peptide/MHCによる抑制性シグナルと自己免疫応答の制御

中野直子

東京理科大学生命科学研究所

TCRとself-peptide/MHCの相互作用は、胸腺におけるT細胞レパトアの選択に中心的な役割を果たすばかりでなく、末梢においてもTCRを介してT細胞のトレランスやホメオスタシスの維持に重要であると考えられる。そこで新たなself-peptideとしてMHCクラスII分子に結合し抗原エピートープとなるmoth cytochrome c (MCC) 88-103, およびMCC88-103特異的TCRによって認識されるMCC 99位及び102位に極性を大きく変えるような変異を加えた変異ペプチド99E, 102Eを発現するトランスジェニックマウスを作成した。

MCC88-103に対する免疫応答は、変異ペプチド99Eあるいは102Eを発現するマウスでも抑制されており、この時、抗原依存的なTGF- $\beta$ 1の発現誘導が認められた。MCC88-103反応性TCRトランスジェニックであるANDマウスと99Eあるいは102Eを交配したダブルトランスジェニックマウスにおいて、ANDT細胞の多くは胸腺で99Eによりネガティブセレクションを受け、一方102EによりCD4+への部分的分化阻害が見られた。しかし、AND/99EおよびAND/102E双方のマウスの末梢には多くのCD4+T細胞が存在し、これらは、CD44<sup>high</sup>, CD62L<sup>-</sup>, CD25<sup>+</sup>, CD45RB<sup>low</sup>のエフェクター/メモリー様の細胞表面マーカーを有していた。これらのT細胞はアナジー状態にあり抗原刺激によりIL-2を発現せずTGF- $\beta$ 1を産生することが明らかになった。胸腺細胞の解析からCD44<sup>high</sup>, CD25<sup>+</sup>細胞への分化は、ダブルポジティブからCD4+へと移行する過程で起こることが明らかになり、アフィニティーの強くないself-peptide/MHCとの相互作用によりネガティブセレクションされないT細胞は、TGF- $\beta$ 1産生T細胞に分化しうることが明らかになった。

TGF- $\beta$ 1は免疫応答を抑制することから、末梢において免疫応答を制御する上でTGF- $\beta$ 1産生T細胞は、重要であることが考えられる。一方、抗原ペプチドMCC88-103がANDT細胞にIL-2を誘導するのに対し、変異ペプチド99E, 102Eは、これらの細胞にTGF- $\beta$ 1の発現を誘導することが明らかになった。従って、変異ペプチドによってANDT細胞に誘導されるシグナルと抗原ペプチドによってTGF- $\beta$ 1産生ANDT細胞に誘導されるシグナル系に、抑制的に働く共通な分子が用いられている可能性があり、現在解析中である。

S3 - 3

## IMPACT OF HLA ON ORGAN TRANSPLANTATION

Paul Terasaki

Terasaki Foundation Laboratory, Los Angeles CA

HLA has an influence on organ transplantation in the following areas:

1. HLA matching.

- a. For living donors, there appears to be only two classes of match: HLA identical and all others, which includes 1 and 2 haplotypes of mismatch.
- b. For cadaver donors, there is about a 10% overall difference in survival of 0 to 6 ABDR mismatch over a 10 year period.

2. HLA antibodies.

- a. Pretransplantation testing is important, not only for avoidance of hyperacute rejection, but also accelerated rejection.
- b. Post transplantation, evidence is accumulating that HLA antibodies are responsible for chronic rejection. This is the most important new area of application of HLA to organ transplantation.

S3-4

## Why so many T cells respond to allo-MHC molecules?

Keiko Udaka

Department of Biophysics, Kyoto University

A high frequency of allo-reactive T cells in one's immune system has been attributed to the cross-reactivity of the self-MHC restricted T cell repertoire. We have analyzed the reactivities of allo- versus self-restricted responses with a single TCR of 2C.

[ differences on a single molecular level ]

Alloreactive TCRs are presumed to have not gone through negative selection in the thymus. That would spare T cells with high affinities towards the alpha-helices on MHC molecules. This has been supported by the findings of peptide-independent clones among allo-reactive T cells. Such bias has been also suggested for a peptide-dependent clone, 2C by its unusually high affinity and by its resistance to variations of the cognate peptide. However, our careful analysis revealed that a few variations, in fact, created the MHC ligands fit into a continuous affinity range just like the cases of self-restricted T cells. This indicated that the sole parameter that determines T cells' response is its affinity regardless of the restricting MHC molecule and it can be created by a combination of MHC molecule and peptide.

Meanwhile, an alternative approach to the question was needed to prove the bias born by the alpha-helices. We are analyzing the peptide repertoire that can be presented by an MHC class I molecule that have only one of the restricting alpha-helices.

[ differences on a cellular level ]

High avidity recognition has been considered a part of the reasons why so many T cells are allo-reactive. While analyzing the avidity concept which assumes a complete compensation of the shortage of affinity by a large number of ligands we have realized its limit. Low affinity ligands are instead capable of evoking a negative signal in T cells through fyn. Self-restricted repertoire that is enriched by the low-affinity self-reactive T cells, therefore would bear some hurdle in activation threshold.

S3-5

## Ig-like receptor群の分子認識機構

前仲 勝実<sup>1,2</sup>

1 国立遺伝研・構造遺伝学研究センター

2 総研大・生命体科学

ここ数年の間にナチュラルキラー(NK)細胞の機能制御に重要な免疫グロブリン(Ig)様ドメインを持つIg-like receptor群が発見されてきた。このIg-like receptor群は細胞内ドメインに免疫レセプター抑制性モチーフ(ITIM)あるいは活性型モチーフ(ITAM)を持つため、シグナル伝達の抑制と活性化の両方に関与する。今回はIg-like receptor群の中で、MHCクラスIを認識することから骨髄移植の際に関わると推測されているNK細胞レセプター、Killer cell Ig-like receptor (KIR)群のMHCに対する分子認識機構について機能と構造の両面から、生化学的および構造生物学的解析の結果について述べたい。また、TCR(T細胞レセプター)やIg-like transcript(ILT)群などの他のMHC結合レセプターの分子認識とも比較したい。

KIRファミリーの中のKIR2DとHLA-Cを用いて、表面プラズマ共鳴による相互作用解析を行った結果、KIR2D-HLA-Cの認識はアリアル特異的で、かつペプチド依存性を示すが、TCR-MHC認識と比べ、速度論的にも熱力学的にも異なり、分子認識機構の差異が見られた。更に我々や他のグループのKIRとMHCのX線結晶構造解析から、KIR群はIg様ドメイン間のelbow角が大変急で、MHC結合部位のループ領域が細胞表面に露出する共通の構造を持っていることがわかった。また、KIRはMHCの結合ペプチドC末側付近の領域を認識し、表面の電荷分布の相補性が認識の特異性を決定することが示唆された。

S3-6

## マイクロサテライト多型を用いたHLAと関連する疾患の遺伝子マッピングと同定

猪子英俊

東海大学 医学部 分子生命科学

ポストゲノムシーケンシングプロジェクトの重要な柱として、ヒトゲノム多様性プロジェクトが世界的に進行しようとしている。それらのヒトゲノム多様性プロジェクトが、SNP (単一ヌクレオチド多型)を用いて複合疾患遺伝子を相関解析によるゲノムワイドなマッピングし、同定しようとしているのに対して、我々は、より高度な多型性を有し、効率良く、かつ精度の高いマッピングが可能な遺伝多型マーカーであるマイクロサテライトを利用することを提唱している。

このマイクロサテライトの有効性は、我々が3.6Mbからなる第6染色体 HLA領域をミニゲノムモデルとして、疾患遺伝子をマッピングした解析より、明らかになった。すなわち、我々はまず HLA 領域の 2.2 Mb について、ゲノムの塩基配列を決定し、そのデータにもとづき、SNP とマイクロサテライトの遺伝多型マーカーを収集して、HLA 領域にマップされる様々な複合疾患の感受性遺伝子のマッピングを行った。その結果、マイクロサテライトがしめす連鎖不平衡の距離は 100 kb であり、したがって 100 kb に 1 個のマイクロサテライトを設定すれば、容易に複合疾患 (多因子性疾患) の原因遺伝子のマッピングが可能であることがわかった。例えば、尋常性乾癬を、マイクロサテライトを用いて、HLA 領域内の感受性遺伝子をマッピングしたところ、候補領域を 100 kb にまで絞りこむことが出来た。同様に、ベーチェット病やリウマチの感受性遺伝子を見いだすことに、成功した。一方、SNP を用いた場合には、3 kb 以内の SNP の、しかもその一部のみしか相関をしめさないことがわかった。すなわち、マイクロサテライトは 100 kb に 1 個 (全ゲノムで、30,000 個) のマイクロサテライトを設定すれば、ゲノムワイドにあらゆる疾患についてマッピング可能あることをしめしている。これら結果は、SNP の多型の数 (対立遺伝子: allele) が 2 個しかなく、多型性に乏しいことによる、と考えられた。

S4-2

## 多因子疾患におけるHLAとnon-HLA遺伝子の相互効果

徳永勝士, 土屋尚之

東京大学・院医・人類遺伝学

自己免疫疾患をはじめ多くの疾患に対する感受性遺伝子のひとつとして、HLAクラスIあるいはクラスII遺伝子が認められてきた。我々は数年来、HLA領域の遺伝子に加えて、HLA領域以外の疾患感受性遺伝子についても探索を行ってきた。全身性エリテマトーデス（SLE）を例にとると、これまでに3種のnon-HLA遺伝子の多型との関連を新たに見出した。TNFR2（1番染色体短腕）の196Rアレル陽性者の有意な頻度上昇は、我々の報告の後、他の日本人SLE患者群においても、またヨーロッパ人家族集積例慢性関節リウマチ（RA）患者群においても報告された。従来よりFCGRクラスター領域（1番染色体長腕）にSLE感受性遺伝子の存在を示唆する報告があったが、最近我々は、FCGR2Bの膜貫通部分に見出した非同義的な単一塩基多型（SNP）とFCGR3Aの既知のSNPがともに関連するとの結果を得た。さらに、CD19（16番染色体短腕）についても、3'非翻訳領域の2塩基繰返し配列回数が多いアレルの有意な頻度上昇を見出した。SLEと関連するHLA遺伝子としては、DRB1\*1501が日本人を含む多くの集団において報告されている。我々は、SLEに対するオッズ比に関してDRB1\*1501と上記non-HLA遺伝子との間に相互効果が認められるか否か解析した。その結果、TNFR2の196RとDRB1\*1501、およびFCGR2Bの多型とDRB1\*1501をともに持つ個体では、それらを単独で持つ個体よりもオッズ比が高くなる傾向を認めたが、対照的にCD19の多型とDRB1\*1501の間では認められなかったことから、遺伝子の組み合わせごとに相互の効果が異なるものと考えられた。

S4-3

## HLAクラスII 多型と自己免疫疾患

西村泰治

熊本大学大学院医学研究科・免疫識別学

現在までに、種々の自己免疫疾患への感受性と特定のHLA対立遺伝子との間の正または負の相関に関する報告が多数なされている。この蓄積された情報を、疾患発症機序の解明および治療法・予防法の開発へと活用するためには、HLAの遺伝的多型性がどのような機序で自己免疫疾患発症に影響を与えているかを明らかにする必要がある。自己免疫疾患発症の1つの病因として、Molecular Mimicry (分子擬態) 仮説が提唱されている。これは、ウイルスや細菌の感染を契機にして、微生物由来のペプチドによって活性化されたT細胞が、自己の臓器細胞由来の自己抗原ペプチドを交差反応により認識し、自己免疫疾患の発症を誘導するというものである。HLA-DR53が感受性を示す自己免疫疾患であるI型糖尿病 (IDDM) では、発症初期にグルタミン酸脱炭酸酵素65 (GAD65) に対する自己免疫現象が認められ、GAD65エピトープと何らかの微生物エピトープとの間での分子擬態が疾患発症に関与している可能性が考えられる。我々は、最近、発現クローニングの手法を用いてT細胞が認識するエピトープを同定するシステムを開発しており、現在、このシステムを用いてIDDM患者由来のHLA-DR53拘束性GAD65反応性のT細胞が認識する多様なエピトープのパターンを解析している。この情報をもとに微生物蛋白質のアミノ酸配列データベースの中から、GAD65自己反応性T細胞を分子擬態により活性化する微生物由来のエピトープを同定できれば、感染を契機として分子擬態により自己免疫現象が発生するメカニズムを明らかにし、さらになぜ特定のHLAクラスII対立遺伝子がIDDMに感受性を示すのかを解明できるものと期待される。

S4-4

## アトピー型喘息とHLA

有波忠雄

筑波大学 基礎医学系 遺伝医学

アトピー型喘息に関係している遺伝子は数多くあると予測され、なかでも、HLA遺伝子は最も重要なアトピー型喘息に関係する可能性のある遺伝子群である。連鎖解析ではこれまで報告された8研究のゲノムワイド連鎖解析のなかで4研究において6p22-p21領域に連鎖が示唆されている。しかし、連鎖の有無を分ける表現型は特定されていない。関連研究によってもアトピー型喘息とHLAタイプは一致した結果が得られていない。我々は日本人家系を用いてダニ感受性気管支喘息のゲノムワイド連鎖解析を行った。その結果6p22-p21領域において、ロッド値2.1を得た。この領域の喘息に関係する遺伝子を同定するために、候補遺伝子をtransmission disequilibrium test (TDT)で検討中である。DRB1遺伝子に関しては、これまでダニ感受性に対してDRB1\*11, DRB1\*07との正の相関が、また、DRB1\*04, DRB1\*14とは負の相関が報告されている。しかし、我々のサンプルにおいてはこれらは確認されていない。一部のHLA遺伝子と連鎖不平衡にあるTNFアルファのプロモーター多型に関してはプロモーター活性が低いと予想されるハプロタイプと喘息に有意な相関が見られた。

S4-5

## 慢性関節リウマチ(RA)の疾患遺伝子

### — 遺伝的寄与に関する検討と考察 —

○塩沢俊一, 駒井浩一郎, 小西良武, 村山公一, 川崎博樹

神戸大・保健学科・院・病態解析 附属病院・免疫内科 (第三内科)

RAの遺伝素因について, 私共は家系解析から第1染色体D1S214/253, 第8染色体D8S556, X染色体DXS1232に疾患感受性遺伝子座RA1, RA2, RA3を同定し, 今回RA1, RA3遺伝子としてdeath receptor DR3遺伝子, Dbl遺伝子変異をDNA上に特定した。Fasファミリーに属しアポトーシスを誘導するRA1遺伝子はDR3エキソンマップ上でnt564(A→G);Asp159Gly, nt630+622(del14), nt631-538(C→T), nt631-391(A→T), nt631-243(A→G)のSNP 4箇所および核酸欠損1箇所の連鎖不平衡を示す変異であった。このために転写が早期に終結し, 細胞内death domainを欠いた変異体が生成し, DR3変異体は正常DR3分子と三量体を形成しドミナントネガティブにDR3機能を低下させた。DR3変異体存在下にDR3分子はTRADD分子に結合せず下流のシグナルが阻害された。変異は多発家系のRAで6/60(10%), 孤発RAで7/297(2.36%), 健常対照者で1/266(0.38%)に存在し, 変異遺伝子は遺伝的にRA家系に有意に保存, 伝承されたものと考えられた。私どもはDR3が, ヒトにおいてアポトーシス不全を来し, 自己免疫疾患を誘起すると推定している。RA3遺伝子は, Dbl3'端近くの223bpの第23, 24エキソンスキッピングで, DNA上にnt2522+394(C→T)ほかのSNPが見出された。SNPは疾患有意に見出され, RA患者の40%に存在していた。変異体は支配下のG蛋白Rac-2に結合するがこれを活性化できず, GEF活性に欠陥があり, Racを構成要素とするNADPHオキシダーゼ活性を低下させ, 好中球の活性酸素生成能は変異例において有意に低下していた。

S4-6

## 自己免疫性甲状腺疾患の疾患感受性遺伝子の同定

○白澤専二<sup>1</sup>, 笹月健彦<sup>2</sup>国立国際医療センター研究所・臨床病理研究部<sup>1</sup>九州大学生体防御医学研究所・個体機能制御学部門・免疫遺伝学分野<sup>2</sup>

自己免疫疾患は複数の遺伝要因と複数の環境要因の相互作用により発症する多因子疾患である。これまでに、多数の自己免疫疾患において疾患感受性を規定している第1の遺伝要因として、連鎖あるいは特定のハプロタイプとの正の相関より主要組織適合抗原複合体遺伝子（ヒトではHLA）が同定されている。HLAにより提示された抗原ペプチドをT細胞受容体が認識するphaseを考慮するならば、HLAの関与は想像に難くないが、HLAのみで自己免疫疾患を説明することは不可能であり、他の遺伝要因の存在が強く推定される。甲状腺特異的な自己免疫疾患であるGraves病 (GD) および橋本病 (HT) においては1) 多発家系の存在 2) twin study, 3) HLAの特異的アレルとの正の相関より、それぞれに特異的な遺伝要因の関与が示唆される。一方、1) GDとHTの混在する家系、2) GDからHTへ移行する症例が存在することより、両者に共通の遺伝要因が存在することが推定される。本研究では同じ甲状腺を舞台としてHTとGDがどのような遺伝子を共有、あるいは特異的に持つことにより自己免疫性甲状腺疾患(AITD)を形成するのかを解明する事を目的としている。

AITDの罹患同胞対123組に対して、392個のマイクロサテライトマーカーを用いた全ゲノムスキャンを行い、MAPMAKER/SIBSのプログラムによりMLSを算出し、連鎖解析を行った結果、19個の領域でMLS>1を示した。また、AITDではD5S436でMLSが3.14を、HTではD8S272でMLSが3.77を示したことより、AITDおよびHTの疾患感受性遺伝子が5q31-q33, 8q23-q24にそれぞれ存在することが示唆された。これらの領域に約100 kb間隔で新たにマーカーを設置し、孤発例も含めた患者-健常群による相関解析を行い、疾患感受性遺伝子座の限局化を現在進行させている。

S5-2

## MHCのゲノムダイナミクス：ゲノムパラロジの視点から

笠原正典

総合研究大学院大学・先導科学研究科・生命体科学専攻

ヒトのゲノムを詳細に観察すると、ブロック重複によって形成されたと考えられる遺伝子の集団（クラスター）が2-4セット、典型的には4セット、異なった染色体上に存在する現象が認められる。この現象は、ゲノムパラロジ（genome paralogy）として知られている。われわれはこれまでに、1) ヒトの主要組織適合遺伝子複合体（MHC）がゲノムパラロジを示す典型的な遺伝領域であること、2) MHCとブロック重複によって分岐したと考えられる領域は、主として第1, 9, 19染色体上の限局された領域に存在すること、3) ブロック重複は有顎脊椎動物の共通祖先が出現するまでに起きたと推定されること、などを提唱してきた。現在、急ピッチで進行中のモデル生物のゲノム解析は、基本的にこの提唱を支持するものである。ここでは、この話題を中心にして、MHCというゲノム領域がどのようにして誕生し、そしてどのような変遷をへて今日に至ったのかについて述べる。

最近、ヒトゲノムのドラフト配列を決定したVenterらは、1077個にもおよぶ領域が異なった染色体間でのブロック重複によって形成されたと推測されると述べている。これからも示唆されるように、ゲノムパラロジという現象はヒトゲノムにおいてかなり高頻度に認められるものである。ここでは、一般的に、ゲノムパラロジという視点から免疫系を眺めることの有用性についても論じたい。

S5-3

## ポストゲノムシーケンシング解析のモデル領域としてのMHC —ゲノム多様性解析と比較ゲノム解析—

猪子英俊

東海大学 医学部 分子生命科学

MHC領域は進化的に保存されている遺伝子が数多く存在することや、あらゆる生物種の塩基配列情報およびマッピング情報が豊富であることから、遺伝子の動態を追究するには最適な領域、すなわち、MHC領域はヒトゲノムの形成機序を効率良く追究するためのモデル領域となりうる。我々はすでにヒト MHC領域2.2 Mbおよびその相同領域の1つである1q22-23 CD1遺伝子群領域1.1 Mbのゲノムシーケンシングを完了したが、次のいわゆるポストゲノムシーケンシングとしての重要な課題の一つは、MHC 遺伝子やそのゲノム領域の形成の過程を明らかにし、ヒトが高等な免疫系を獲得したゲノム進化の経緯を明確にすることであろう。我々のグループではこのような観点から、機能的に高度に保存されている他種のMHC領域のゲノムシーケンシングをおこない、比較解析することによりゲノム進化、形成の分子機構を解明することを試みている。具体的には、ナメクジウオ（頭索類）、サメ（軟骨魚類）、ウズラ（鳥類）、ラット、ブタ、アカゲザル、チンパンジー、ヒト（哺乳類）の各種 MHC または MHC 祖先領域を対象として、これまでに合計1918 kb (ナメクジウオ: 398 kb, サメ: 32 kb, ウズラ: 201 kb, ラット: 199 kb, ブタ: 156 kb, アカゲザル: 42 kb, チンパンジー: 890 kb) の塩基配列を決定した。これらの塩基配列をもとに比較ゲノム解析をおこなった結果、生物種間における基本的な遺伝子構造は大まかには保存されているが、それぞれの生活環境に適応するためのMHCや MHC 関連遺伝子が“birth and death”により進化、形成されてきたことが示唆された。また、現在のゲノムからその進化を遡ることが可能であること、さらには、ナメクジウオのようにMHC 祖先領域の構造を保持している生物種も現存していることがわかってきた。

S5-4

## 硬骨魚類メダカを用いたMHCの比較ゲノム学的解析

野中 勝

東京大学 大学院理学系研究科 生物科学専攻

哺乳類のMHC領域内には、補体遺伝子C4とC2、あるいはClass IA, LMP2, LMP7, TAP1とTAP2の様に、その産物が構造上の共通性を持たないにもかかわらず機能的には密接に結びついている遺伝子の組み合わせが存在する。これら遺伝子間の連鎖の進化上の起源を明らかにすべく、硬骨魚メダカを用いてMHCの遺伝的、物理的構造解析を試みた。主に縮重プライマーを用いたRT-PCR法により、ヒトMHCに存在する遺伝子のうち3種類のclass IA(UAA, UBA, UCA), 3種類のclass IIB(DAB, DBB, DCB), LMP2, LMP7, TAP2, 補体C4, Bfのメダカホモログを単離した。近交系間の戻し交配パネルを用いて連鎖解析を行ったところ、LG(連鎖群)3にDCBが、LG11にDAB, DBB, LMP2, LMP7, TAP2が、LG14にBfが、LG16にC4が、LG18にDAB, DBBが、LG22にUCAがマップされ、ヒトMHCにコードされる遺伝子がメダカにおいては多くの染色体に分かれて散在することが示された。にもかかわらず、LG11にはMHCクラスI抗原の提示に関わる機能関連、構造無関係遺伝子のクラスターが認められ、これらの遺伝子が脊椎動物の進化過程を通じて保存されたMHCの中核部分であることが示唆された。この領域を物理的に解析すべく、BACクローンの単離と塩基配列の決定をおこなった。予備的な解析からヒトMHCと明確な対応を示す領域は約400kbと推定され、現在までにその半分以上の塩基配列を明らかにした。基本的にはヒトクラスII領域に存在する遺伝子の間にclass IA遺伝子が混在する形であった。



# 一般演題



## 1

## 日本人集団を対象としたHLA-A, B, DRB1の血清学レベルSSOP法と、イントロン変異による誤判定

○坂内 誠<sup>1),2)</sup>, 柏瀬貢一<sup>2)</sup>, 田中秀則<sup>2)</sup>, 石川善英<sup>2)</sup>,  
赤座達也<sup>2)</sup>, 十字猛夫<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 東京都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】

日本人に通常見られるHLA-A, B, DRB1アレルに対し、血清学レベル以上で判定できるSSOP法を検討した。検討の中で、既知試料に対し誤判定となったものがあつたため、それについても併せて検討を行った。

## 【方法】

多型エクソン (HLA-A, Bはエクソン2及び3, DRB1はエクソン2) を増幅後、PCR産物をナイロン膜にドットしSSOPを行った。対象となるアレルは日本人集団で0.1%以上のものを中心とし、HLA-A, B, DRB1それぞれ15, 35, 30種に限定した。これによりプローブ数はHLA-A, B, DRB1それぞれ13, 24, 17 (合計54) 種と最低限に抑えた。プローブの洗浄温度はすべて同一温度 (55°C) に設定できた。Digoxigenin-ddUTPラベルしたプローブに対しALP標識抗Digoxigenin抗体を反応させ、検出にはCSPDによる化学発光を用いた。

## 【結果及び考察】

日本人集団試料に対し、ホモ・ヘテロ接合とも血清学レベル以上 (二桁～四桁) で判定できるSSOP法を作る事ができた。フィルム感光による目視判定の他、イメージアナライザーを用いた数値化発光シグナルにおいても陽性と陰性がはっきりと区別された。今回の方法を多数の既知検体で検証したところ、下記例外を除きすべてを正しく判定できた。誤判定となったものはA\*2601,0210に対し、A26のプローブ反応が著しく弱かった。検討の結果、プライマー認識部位のイントロン配列に報告の無い変異が見つかり、PCR増幅が正しく行われなかった事が原因と考えられた。変異体を考慮したmix primerに改良したところ、正しく判定できるようになった。

日本人の多数検体のDNAタイピング法として有用な方法を設計できた。他の方法においても今回のような変異体による誤判定の可能性を常に考慮しておく必要がある。

## 2

## 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DNA middle-high resolution typing法の検討

○河田寿子, 中島舞子, 吉川枝里, 成瀬妙子,  
猪子英俊

東海大学医学部分子生命科学

## 【目的】

リアルタイム自動検出機と蛍光標識プローブを使用したPCR-SSP タイピング法は、多数のプライマーの標的領域の増幅確認に電気泳動を必要としない簡便な方法であり、同時に2遺伝子座のタイピングも可能であるという報告を前回は行った。今回は、新たな試薬を用いより操作を簡便に、さらにプローブ、プライマーの数を増やし、middle-high resolution タイピングの検討をしたので報告する。

## 【方法】

クラスII領域HLA-DRB1遺伝子については60組、クラスI-A遺伝子については40組のプライマーセットを使用し、ABI社のTaqMan Universal PCR Master Mix及びSSP Bufferを使用しPCR増幅を行った。また内部標準はTaqMan Internal Positive Probeにて検討を行った。PCR増幅とシグナル検出はABI社PRISM7700を使用した。

## 【結果と考察】

前回報告したTaqMan PCR kitとアニール温度、検出時間等同一の反応条件で良好な解析結果が得られた。このUniversal PCR Master Mixは、PCR増幅に必要なプライマー、プローブ、DNAサンプル以外の物は全て調整済みであり、試薬を分注するのみで操作がさらに簡便となった。また使用蛍光標識プローブの量を2/3に減らすことが可能になった。

現在我々はクラスII遺伝子について、プライマー、蛍光標識プローブの数を増やし high resolutionタイピングに向けての解析と他遺伝子座や、内部標準の同時検出に向けての検討を行っている。

### 3 LongReadTowerTMSystemとABI PRISM 377を用いたSBT法の比較

○吉川 枝里, 中島 舞子, 河田 寿子,  
成瀬 妙子, 猪子 英俊  
東海大学医・分生2

現在多数のHLAタイピング法が開発されているが、その中で最も信頼性の高い方法としてSBT法 (sequencing-based typing) が挙げられる。我々の研究室で行っているSBT法には、VISIBLE社のLongReadTowerTMSystem(以下VISIBLE)を用いる方法と、ABI社のABI PRISM 377 (以下ABI)を用いる方法の2つがある。本発表は、この2つのSBT法について、タイピング精度を比較検討することを目的とした。

HLA-AについてのSBTタイピングは、VISIBLE法ではA\*02011,2402101 / A\*0209,2402101 / A\*0212,2413 の3つのタイプの可能性がしめされたのに対し、ABI法ではA\*02011,2402101 / A\*0212,2413 の2つの可能性に絞られた。両者の違いは、VISIBLE法がExon2と3を増幅するのに対し、ABI法ではExon2~4と、増幅領域が長いことが挙げられる。A\*02011とA\*0209はExon4の1塩基が異なるがVISIBLE法では識別不可能であり、100% matchとなり、ABI法では識別可能なため候補から除外されたと考えられる。また、ABI法は4種の蛍光を認識できるため、1検体を1レーンで識別することができるのに対し、VISIBLE法は2種の蛍光しか認識できないため、使用する複数レーンでの個々の泳動の結果にズレが生じる事が多く、判定は慎重に行う必要がある。しかし、簡便かつ短時間でできるため、少数でのタイピングには適していると考えられた。

このように、2つの特性や利点をよく理解し、目的に応じて使い分けることで、より高精度なタイピングが可能となると思われる。

### 4 MALDI-TOF/MS法を用いたHLA-Aアレルタイピングの検討

○川村美貴, 団 克昭, 田村雄一, 河上 裕  
慶應義塾大学医学部  
先端医科学研究所細胞情報研究部門

#### 【目的】

各種腫瘍抗原が単離同定され、抗原ペプチド療法が新しい癌治療法として確立されつつある。それら抗原ペプチドはHLA拘束性であり、日本人に対する治療に用いるためには日本人に高発現するHLAアレル、特にA2やA24の詳細なタイピングが必須である。これまでAアレルのDNAタイピングはPCR-RFLP, SSCP あるいはsequenceに基づいて行われてきた。しかし、日本人に多いA\*0201, A\*0206, A\*0207はそれぞれ1ないし2塩基の違いを区別しなくてはならないことから、アレルを4桁まで確定することは簡単ではない。そこで今回プローブ伸長法とMALDI-TOF/MS法とを組み合わせ、プローブ伸長反応産物の分子量を測定することにより変位部位の塩基を決定して、ゲノタイピングすることを検討した。

#### 【方法】

ゲノムDNAをテンプレートとしてA2アレル特異的または全てのAアレルを増幅するプライマーを用いてPCR産物を得た。次にPCR産物をテンプレートとして用い、多型部位と3'末端で隣接するプローブをddNTPとDNAポリメラーゼを加えてサーマルサイクル反応を行い1塩基伸長させた産物を増幅した。伸長反応によって付加される塩基は多型に応じて異なるため、1塩基付加したプローブの分子量をMALDI-TOF/MSによって測定することにより、Aアレル多型性を決定した。

#### 【結果および考察】

A2アレルのA\*0201, A\*0206, A\*0207はA2特異的PCR産物の2カ所の多型部位に付加された塩基を分子量から判定することによりゲノタイプを決定することが可能となった。また再現性の高い結果を得るために、PCR産物の濃度および脱塩精製の条件が影響することが明らかとなった。本法により全てのAアレルタイピングを検討している。

## 5 DNAマイクロアレイによるHLA遺伝子タイピングシステムの開発

- 宮城 徹<sup>1)</sup>, 川井信太郎<sup>1)</sup>, 大橋陽子<sup>2)</sup>, 近藤聖二<sup>2)</sup>,  
唐木幸子<sup>2)</sup>, 岡 孝紀<sup>1)</sup>, 徳永勝士<sup>3)</sup>
- <sup>1)</sup> 湧永製薬(株)創薬研究所診断ユニット  
<sup>2)</sup> オリnbas光学工業(株)ゲノム医療事業推進PJ  
<sup>3)</sup> 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室

DNAマイクロアレイ (DNAチップ) は、数千から数万個ものプローブをスライドガラスのような担体に固定したもので、従来のハイブリダイゼーション法に比較して飛躍的に多量のデータを取得することができる。

現在、多数検体のHLA遺伝子タイピング法では、担体としてマイクロプレートやメンブレンを用いている。これらの方法ではプローブ数には限りがあり、次々と世界で報告される多数のアレルに対応するのは困難である。

それに対し、DNAマイクロアレイを使用すればプローブ数が飛躍的に増加し、高い解像度でのタイピングが可能となるはずである。

しかし、現在市販されている製品は主に研究用途であり、臨床検査で使用できるような高品質、高精度かつ操作が簡便な製品は今だ存在しない。

我々は信頼性の高いDNAマイクロアレイ技術の確立を目指し、新規HLA遺伝子タイピングシステム (信頼性の高い専用スキャナを含む) を開発している。

本研究では点着式DNAマイクロアレイにおけるDNA固相化条件、ハイブリダイゼーション条件等の検討を行った結果、HLA遺伝子をアレル特異的に検出することができた。また、平板担体上にチャンバーを設けることでマイクロプレートと同様の簡便な操作が可能となった。

本法はHLA遺伝子検査の簡易化、低コスト化に非常に有用であると考えられる。

## 6 RSCA法による大腸がん腫瘍組織におけるHLAクラス I 遺伝子のLOH変異の検出

- 安波道郎<sup>1)</sup>, 野内達人<sup>1)</sup>, 壬生隆一<sup>2)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>
- <sup>1)</sup> 東京医科歯科大・難研・分子病態  
<sup>2)</sup> 九大・医・第一外科

大腸がんの発症および進展にはがん抑制遺伝子群やミスマッチ変異修復に関与する遺伝子群などの遺伝子異常が関与する。それらの変異の結果、がん細胞においてはゲノムの安定な保持機構に破綻が生じ、腫瘍組織の増大や悪性度の進行に伴って、より多くの遺伝子異常が蓄積される。このことは、がんが進行するにつれてより"非自己"となることを示唆する。一方、宿主側にはがん特異抗原を認識する免疫学的監視機構が存在すると考えられるが、がん細胞においてゲノム不安定性によりHLAクラス I 遺伝子が欠失すると、免疫系へのがん特異抗原提示が減弱すると推測される。腫瘍組織におけるHLAクラス I 遺伝子の欠失を対立遺伝子レベルで明らかにすることは、腫瘍の進行度の指標となるばかりでなく、将来がん特異抗原に基づく免疫療法を行なう際にも重要になると考えられる。

RSCA(Reference Strand-mediated Conformation Analysis)法は、検体ゲノムDNAからPCR法で増幅したDNA断片について、蛍光標識を付加した既知の標準DNA断片(Reference strand)とのヘテロ二重鎖分子を形成させ、そのゲル電気泳動での移動度からアレルの同定を行なうもので、2種あるいは3種の異なる標準DNA断片でのテストを組合せることにより数十を超えるアレルを判別することができ、HLAのDNAタイピングに応用されている。RSCA法を用いると、ヘテロ接合性消失(LOH)型の変異のある試料では片方のバンドのシグナルが減弱あるいは消失するため、そのシグナル強度からLOHを検出できると考えられる。我々は、大腸がん患者の腫瘍組織および正常粘膜組織のDNA試料の対についてRSCA法を行ない、複数の症例でHLA-BのLOHを検出し、HLA領域のLOH型変異検出法としてRSCA法が応用可能であることを実証した。

## 7 HLA抗原発現欠損Bare Lymphocyte Syndrome Type I 患者の解析

○屋部登志雄<sup>1)</sup>, 川村純代<sup>1)</sup>, 佐藤昌子<sup>1,3)</sup>,  
田中秀則<sup>1)</sup>, 男山順子<sup>2)</sup>, 清水和広<sup>1)</sup>, 西村元子<sup>1)</sup>,  
柏瀬貢一<sup>1)</sup>, 石川善英<sup>1)</sup>, 赤座達也<sup>1)</sup>, 徳永勝士<sup>3)</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> 熊本県赤十字血液センター

<sup>3)</sup> 東京大学医学部人類遺伝学

### 【目的】

HLAクラスI発現欠損Bare Lymphocyte Syndrome Type I 患者の原因は世界で約10例ほど報告されているがいずれもTAP欠損であった。今回TAP分子に異常の見られないBLS患者を得たので詳細に解析を行った。

### 【方法】

慢性糸球体腎炎患者の末梢血リンパ球及び患者より樹立した培養細胞を用いて血清学的HLAタイピング, 抗体染色, RT-PCR, genomic DNA解析, ウェスタンブロットングによりクラスI及びクラスI関連分子について解析した。

### 【結果と考察】

患者の末梢血細胞, 培養細胞共にクラスI 抗血清に反応しないことからHLA-A,B,Cのタイピングは不可能であった。クラスII抗原は正常に検出されこの患者はBLS Type Iであることが判明した。患者クラスI遺伝子型はA\*2601, B\*1501, Cw\*0303であった。抗クラスI抗体を用いたフローサイトメーター解析から細胞表面クラスI発現は健常人の約1/10であることが判明した。細胞内のクラスI抗原蛋白およびmRNAは多少低いが検出された。低温培養により細胞表面クラスI発現の上昇が見られ, 患者細胞におけるクラスI H鎖へのペプチド結合機構の異常が推定された。TAP1, TAP2分子は蛋白, mRNAともに検出されたので従来とは異なる原因が考えられる。現在他のクラスI関連分子について解析中である。

## 8 HLAクラスIテトラマ-を用いたEBV特異的及びHCMV特異的CD8T細胞の解析

○松田智子, 富山宏子, 滝口雅文  
エイズ学研究センター-ウイルス制御分野

### 【目的】

ヒトサイトメガロウイルス(HCMV), EBウイルス(EBV)に対する細胞傷害性T細胞(CTL)を, HLAクラスIテトラマ-を用いてフローサイトメトリ-で検出する方法を確立する。これにより, 健康人でこれらのウイルスに特異的な CTLの量的, 質的な解析を行う。

### 【方法】

HLA-A\*02及び, -A\*1101を持った健康人の末梢血より分離したCD8陽性細胞を, 抗CD28抗体, 抗CD45RA抗体, 抗perforin抗体及びHCMV(NLVPMVATV), EBV(IVTDFSVIK, AVFDRKSDAK)由来のペプチドより作成したHLA-A\*0201及び, -A\*1101のテトラマ-を使って, それぞれのウイルス特異的CD8+T細胞の量的, 質的な解析をフローサイトメトリーを用いて行った。

### 【結果】

(1)2つのEBVエピート-ペプチド結合テトラマ-を用いてCD8陽性細胞を解析した結果, それぞれ50%と60%の人でEBV特異的CD8+T細胞が認められた。(2)HCMVエピート-ペプチド結合テトラマ-を用いてCD8陽性細胞を解析した結果, 61%の人でHCMV特異的なCD8+T細胞が認められた。(3)テトラマ-陽性CD8+T細胞上のCD28とCD45RAの発現を解析した結果, HCMV特異的CD8+T細胞ではCD28-CD45RA+が, EBV特異的CD8+T細胞ではCD28+CD45RA-が多い結果がみられた。(4)抗perforin抗体を用いてperforinの発現を解析した所, HCMV特異的CD8+T細胞では高い発現を, EBV特異的CD8+T細胞では低い発現を示した。

### 【考察】

以上の結果から健康人では, EBV特異的及びHCMV特異的CD8+T細胞が存在し, 前者はメモリーT細胞であり後者はエフェクタ-T細胞である事が明らかになった。

## 9

## 子宮癌患者CD4陽性T細胞が認識するヒトパピローマウイルス抗原上のエピトープ

○大久保光夫<sup>1)</sup>, 井奥宏樹<sup>2)</sup>, 斉藤麻紀<sup>2)</sup>, 平田蘭子<sup>1)</sup>,  
竹田 省<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・細胞治療部

<sup>2)</sup> 同 産婦人科

## 【目的】

ヒトパピローマウイルスE7抗原上のCD4陽性T細胞が認識するエピトープを解析したので報告する。

## 【方法】

埼玉医大総合医療センター婦人科を受診し、子宮頸部癌検査を希望し文書をもって同意され、病理学的な診断で子宮頸部に異形成病変が認められた125名の病変組織と、さらに末梢血の提供にも協力が得られた105名分のリンパ球および12名分のT細胞を対象とした。HPVタイピングはHPVのL1領域のPCRで判定した。HLAはPCR-reverse SSO method とPCR-SSCPによって決定した。抗原特異的なT細胞は抗原ペプチド刺激に反応し、CD4陽性でIL-4を産生する一群として知られている。そこでHPV E7蛋白を部分的にコードするアミノ酸配列を12種類作製し、これらを患者末梢血単核球とともに2日間培養して、T細胞表面上のCD4と細胞内のIL-4を細胞内サイトカイン検出法によりフローサイトメトリーにて解析した。

## 【結果と考察】

HLA DRB1\*0901あるいはDRB1\*0405を持つ症例はHPV E7 61-80: DSTLRRCVQSTHVDIRTLEに対してCD4とIL-4陽性のT細胞頻度が0.3%から3.6%と高値であった。さらに、陽性症例の反応性はペプチド抗原濃度依存性を示した。また、HPV E7 82-95: LLMGTLGIVCPICSに対して低い頻度ながらも陽性T細胞が検出された。しかし、その他のペプチドには反応性は認められなかったことからDSTLRRCVQSTHVDIRTLEにはT細胞の認識するエピトープ部位とHLA DRB1\*0901あるいはDRB1\*0405に結合するアグレトープが内包されていると考えられた。今回同定されたHPV上のCD4T細胞のエピトープによる免疫反応は、子宮癌の予防や病変を切除した後の再発予防に利用できる可能性がある。

## 10

## 日本住血吸虫性肝線維症重症化に対するHLA-クラスIIとIL-13プロモーター遺伝子アレルの相乗効果

○M.Kikuchi<sup>1)</sup>, K.Hirayama<sup>1)</sup>, H.Chen<sup>2)</sup>, R.Ubalee<sup>1)</sup>  
T.Yin<sup>2)</sup>, X. Gu<sup>2)</sup>, J.Liu<sup>3)</sup>, S.Zhang<sup>2)</sup> and H.Yuan<sup>3)</sup>.

<sup>1)</sup> Department of Molecular Immunogenetics, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University.

<sup>2)</sup> Jiangxi Provincial Institute of Parasitic Disease.

<sup>3)</sup> Department of Epidemiology, School of public Health, Shanghai Medical University.

住血吸虫症は寄生性蠕虫疾患で浸淫地である中国揚子江流域では年間で約100万人が感染し、約5万人程度が住血吸虫性肝硬変患者であることが報告されている。我々は中国における日本住血吸虫感染による住血吸虫性肝線維症における宿主遺伝要因の解析を目的として、これまでに、HLAクラスII遺伝子領域のDR, DQ及び, DP遺伝子領域と肝線維化症との相関を解析し肝線維化を起こさない群でDRB1\*1101を持つ者が顕著に増加しており、肝線維化の進んだ群ではDRB5\*0101が有意に増加していたことを報告している。今回はT細胞の応答性に関わると考えられる遺伝子群、すなわちHLAクラスIII遺伝子領域のTNF- $\alpha$ 遺伝子プロモーター領域、第16染色体短腕上IL-4レセプター遺伝子、第5染色体長腕上のIL-4遺伝子及びIL-4遺伝子プロモーター領域、IL-13遺伝子及びIL-13遺伝子プロモーター領域の患者集団での多型解析を行った。

対象としたのは、中国江西省玉山に在住し10年以上の感染歴を持つ192名で、肝線維化の程度を超音波診断法を用いて評価し、正常であるGrade 0から、最も重症なGrade IIIまでの4グループの解析を行った。

この結果、IL-13遺伝子プロモーター領域では、IL-13P-1454C/-1055CアレルとIL-13P-1454A/-1055Tアレルの2型が認められ、IL-13P-1454C/-1055Cのホモ接合体は肝線維化に対して感受性を示し、IL-13P-1454A/-1055Tが優性の抵抗性アレルであることが示された。また互いに第5、第6という別の染色体上に存在するが等しく感受性との相関が見られたHLA-クラスII遺伝子とIL-13P遺伝子との相互作用を解析したところ、DRB5\*0101とIL-13P-1454C/-1055Cという遺伝子マーカーは肝線維化の感受性に対して相乗的に作用していることが明らかとなった。

## 11

## 1型糖尿病(IDDM)の易罹患性に寄与するHLA領域遺伝子の解析

○邵 文碩<sup>1)</sup>, 安波道郎<sup>1)</sup>, 高橋めぐみ<sup>1)</sup>, 柴田宏樹<sup>1)</sup>,  
太田正穂<sup>2)</sup>, 勝山善彦<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>, 浜口和之<sup>4)</sup>,  
坂田利家<sup>4)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京医科歯科大・難研・分子病態

<sup>2)</sup> 信州大・医・法医学

<sup>3)</sup> 東海大・医・分子生命

<sup>4)</sup> 大分医大・第一内科

1型糖尿病(Insulin-dependent Diabetes Melitus)は典型的な臓器特異的自己免疫疾患である。その発症には複数の遺伝子座位が関与することが家系を用いた連鎖解析やTDT解析から明らかにされており、その中のひとつIDDM1は6番染色体短腕のHLA領域にマップされている。また、患者-対照研究による関連解析によって、HLA-DR/DQ領域やHLA-B座位のアレルとの相関が数多く報告されている。さらにTNF遺伝子などクラスII領域の遺伝子群のアレルにも相関を認める報告があるが、これらがこの領域に存在する単一の主効果遺伝子との連鎖不平衡を反映するものか、あるいはHLA領域にいくつかの責任遺伝子が存在するかは明確ではない。我々は日本人の患者-対照研究によって、患者群にDR4(DRB1\*0405), B54(B\*5401)の頻度の増加を認めたと、2座位解析によりこれらが独立にリスクに関与すること、また両者の存在により相加的にリスクを増大させることを報告した。今回、前述の患者-対照研究でB54に次ぐO. R. を与えたB61について、DNAタイピングによりB\*4002, B\*4003およびB\*4006の決定を行なったところ、患者群においてはいずれのB61アレルとも増加していることが判明した。このことから、IDDMとB61の相関は特定のB61アレルに限られるのではなく、B61群に共通した事象であると考えられた。一方、HLA領域のマイクロサテライトマーカーのタイピングにより、TNF遺伝子の近傍にさらに新たな易罹患性に寄与する遺伝子が存在することを示唆する結果を得た。現在、その付近の候補遺伝子についての多型解析を行なっている。

## 12

## HLA遺伝子の多型によるIDDMへの疾患感受性の決定機序の解析：CLIP置換型インバリアント鎖遺伝子を用いたGAD65自己反応性TCRリガンドの多様性の解析

○植村靖史, 藤井慎嗣, 千住 覚, 田畑博巳,  
西村泰治  
熊本大・院医・免疫識別

## 【目的】

インスリン依存型糖尿病の1つの要因として、Molecular Mimicryの仮説が提唱されている。これは、感染を契機にして、微生物由来の外來非自己抗原ペプチドによって活性化されたT細胞が、膵β細胞の自己抗原に対し、分子相同性による交差反応を示し、膵β細胞の破壊が起こりIDDMが発症するという仮説である。本研究は、この仮説を検証するために、IDDM患者より樹立され、日本人で疾患感受性を示すHLA-DR53に拘束された、CD4陽性GAD65自己反応性T細胞抗原受容体(TCR)が認識するペプチドの多様性を解析し、その情報をもとに分子擬態を示す非自己ペプチドを同定することを目的とする。

## 【方法】

ヒトインバリアント (Ii) 鎖p33遺伝子のCLIP領域p89-102を、ランダムな13アミノ酸をコードする合成オリゴヌクレオチド・ライブラリーと置換し、T細胞クローンが認識する拘束分子をコードするHLA-II遺伝子と共にCOS細胞に導入した。このエピトープ発現ライブラリーとT細胞を共培養し、IFN-γの産生を指標にTCRリガンドを同定した。

## 【結果】

総クローン数 $2 \times 10^5$ のスクリーニングを実施し、GAD65自己反応性T細胞クローンに増殖活性を示すペプチドを同定した。さらに、GAD65p115-127をHLA-DR53拘束性に認識するが、発現するTCR遺伝子が異なる2つのT細胞クローンに対し、GAD65p115-127を部分的に3残基ランダムとしたサブライブラリーを用いて、交差反応を示すリガンドを20種以上同定した。それぞれのTCRが認識するペプチドのシークエンスのパターンは異なり、個々のアミノ酸残基が独立してTCR認識に貢献する場合と、隣接アミノ酸残基同士の相互関係がTCR認識に貢献する場合とがあることが明らかとなった。現在、T細胞受容体に分子擬態を示すペプチドのモチーフを解析中である。

## 13

## パラグアイ原住民に見いだされたMICA欠失ハプロタイプの解析

○会田かやの<sup>1)</sup>, Graciela Russomando<sup>2)</sup>,  
菊池三穂子<sup>3)</sup>, 平山謙二<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 埼玉医大・医動物

<sup>2)</sup> アスンシオン大・医科学研究所・分子生物

<sup>3)</sup> 長崎大・熱帯医学研・分子免疫遺伝

## 【はじめに】

HLA-Bの近傍に存在するMICA, BはHLAクラスI類似の分子をコードしている。MICA, Bは上皮細胞や単球・マクロファージなどに発現しているが、ペプチドとは結合せずそれ自身が $\gamma\delta$ T細胞やNK細胞を刺激する。また最近MICA-MICB null (MICA-Del-MICB\*0107N-HLA-B\*4801) タイプが日本を含む東アジアに広く分布することが報告されている。

## 【対象と方法】

今回我々は南米パラグアイのCorai Indiansの64名(血縁を含む)を対象に, HLA-B (SSOP法), MICA (TM region SSCP法) 遺伝子領域の解析を行い, その過程で発見したDeletionハプロタイプについてその構造解析を行った。

## 【結果】

タイピングされた62名中39名がMICA-Delタイプを有しており, うち38名はHLA-B48陽性であった。残り1名はこれまでに報告のないHLA-B15-MICA-Delを持つと考えられた。この1名およびHLA-B48-MICA-Delを持つ4名でMICB exon 2-3のDNA配列を観たところ, すべてexon 3にストップコドンを持つnullタイプであった。またMICA領域を含む大きな欠失も日本人と同じ部位にあることを確認した。

## 【考察】

これまでアジア地域でのみ報告されているMICA-MICB null-HLA-B48ハプロタイプが地理的に離れたパラグアイの集団において確認されたことは興味深い。今回の対象は血縁を含む比較的閉鎖された地域の集団であることから, ボトルネック効果の可能性があり, 頻度についての検討は困難であるが, アジア地域と比較して高頻度であるとすると, 何らかの要因によりこの欠失が生存に有利に働いたことも考えられ, 他の近縁の部族についても今後解析する予定である。

## 14

## HLA-B遺伝子全領域に関する新しいゲノムシークエンシング解析法の確立

○松澤由美子<sup>1)</sup>, 佐野和美<sup>1)</sup>, 今川由香利<sup>2)</sup>,  
矢吹和朗<sup>3)</sup>, 椎名 隆<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学医学部分子生命科学2

<sup>2)</sup> 横浜市立大学医学部耳鼻咽喉科学教室

<sup>3)</sup> 横浜市立大学医学部眼科学教室

400個以上の対立遺伝子が見い出されているHLA-B抗原遺伝子のこれまでのDNAタイピング法は, エクソン領域を中心とした判定が行なわれているが, イントロン領域を含めたDNAタイピング法はいまだ確立されていない。そこで, 本研究ではHLA-B抗原対立遺伝子が既知の4種類のホモ接合体細胞KT3, HY1471, HY3984, HY1199を用い, HLA-B遺伝子のプロモータ部位から3'UT領域までのHLA-B抗原遺伝子全領域を含む4.6KbのLong PCRを行い, 48種のプライマーを用いてシークエンス解析を行なった。すなわち, まず4.6KbのLong PCR増幅産物をヘテロ接合体と仮定し, PCR Cloning Reagent System with GATWAY Technology キットを用いてクローニングを行なった。その後, 異なる染色体由来のクローンを分別するため, エクソン2からエクソン3を解読するように設計した3種のプライマーを用いてシークエンスを行なうことにより, それぞれの対立遺伝子を有するクローンに分けたのち, 遺伝子全体のシークエンス解析を行なった。その結果, 4.6Kb領域の塩基配列が解読された。KT3についてはイントロン3に既知配列と比較したところ, 5箇所の多型が認められた。したがって, この解析法を用いることにより, これまで詳細に解析されていなかったイントロン領域, 発現調節領域や膜貫通部位の塩基配列の多型や変異を明らかにすることが可能となった。今後はヘテロ接合体細胞などの検体数を増やして比較検討し, 解析していく予定である。

## 15

MHC領域のゲノムシーケンシングのための  
ゴリラBACライブラリーの構築

○外山愛花, 大塚正人, 須鎌千知, 安西達也,

椎名 隆, 猪子英俊

東海大学医学部分子生命科学 2

## 【目的】

MHC領域は免疫系に関する遺伝子を主に数多い遺伝子が存在しているため, 様々な生物種における塩基配列を比較することにより, 遺伝子の動態, 免疫系獲得の経緯などからヒトへの進化の道筋を辿るモデル領域になることが期待される。類人猿であるゴリラは進化的に比較的ヒトに近いものであるが, 塩基配列決定の基盤となるゲノムライブラリー作製の報告はなかった。そこで我々は, シーケンシングの最も主要な基盤材料であるBACベクターを用いてゴリラゲノムライブラリーの構築を目指している。

## 【方法】

ゴリラの培養細胞をアガロース寒天に埋め込み, その中で高分子DNAを調製した。まず, EcoRI / EcoRI Methyrase処理によりDNAの限定分解処理した後, パルスフィールドゲル電気泳動を用いてサイズ分画を行った。目的の大きさのDNA断片 (150 kb~350 kb) を切り出し, 電気溶出法でDNAを回収した。pBACe3.6ベクターにライゲーションした後, エレクトロポレーション法を用いて大腸菌DH10Bに形質転換した。

## 【結果及び考察】

今回行った条件では200 kb以上のDNA断片の形質転換効率は低く, それに伴いインサートDNAを含まないクローンの比率が高くなった (約50%) ため, 150 kb~200 kbのDNA断片を実際のライブラリー構築に用いることにした。この範囲のDNA断片サイズでは, インサートなしクローンの比率はやや高いが (15%), 平均インサート長は約160 kbと十分な大きさの断片を含んでいた。このことから, BACライブラリー構築の重要なステップであるサイズ分画が期待どおり達成されていることが示唆され, 今回の条件で作製されたゲノムライブラリーは十分ゲノムクローンのスクリーニング可能であることが期待された。今後, インサートなしクローンの比率をさらに下げる条件を検討し, ゲノム5回分をカバーする整理化ライブラリーの作製, ならびにこのライブラリーを用いたMHC領域のBACクローンのスクリーニングを目指したい。

## 16

ペンギン類MHC多型による種の分類と進化の  
検討○津田とみ<sup>1)</sup>, 津田道雄<sup>1)</sup>, 河田寿子<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>,  
安藤麻子<sup>1)</sup>, 椎名 隆<sup>1)</sup>, 福田道雄<sup>2)</sup>, 栗田正徳<sup>3)</sup>,  
南 浩史<sup>4)</sup>, 清田雅史<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> 葛西臨海水族園<sup>3)</sup> 名古屋港水族館<sup>4)</sup> 水産庁遠洋水産研究所

## 【目的と背景】

現生のペンギン類の祖先はおよそ4700万年前, 海鳥の仲間から分岐し, その原始的ペンギンから, 現在の6属16種と2亜種からなるペンギン類が進化してきたと考えられている。本研究の目的は, ペンギン類でMHC可変領域の多型性を証明しその多型性にもとづいてペンギン類を含む鳥類の分化と進化の検討を系統的に行うことである。前回までにMHC遺伝子の多型性を検索し, その多型はペンギン類の進化および分類の詳細を検討する有効な手段であることを発表してきた。今回は主にアデリーペンギン属とコガタペンギン属の系統樹についての結果を発表する。

## 【方法】

野生及び飼育下のペンギン類の血液または組織を材料としDNAあるいはRNAを抽出した。DNAからMHC領域のクラスII  $\beta$ 1ドメインをPCR増幅し, 直接あるいはサブクローニングし, 塩基配列を解析した。この増幅された遺伝子が「発現される遺伝子」であることは, RT-PCR産物の塩基配列が同一であることで確認した。得られた配列から近隣結合法(NJ法)にて系統解析を行った。

## 【結果および考察】

アデリー属はアデリーペンギン, チンストラップペンギン, ジェンツーペンギンの3種からなり, いずれも種として明らかに分化している。アデリーペンギンとチンストラップペンギンには亜種はないが, ジェンツーペンギンは2または3亜種に区別することができる。今回MHC遺伝子を指標として得られた系統樹ではアデリーペンギンとチンストラップペンギンは種によるクラスターを形成した。コガタペンギンは2つまたは6つの亜種があるとされているが, 今回コガタペンギンでは亜種というよりも亜種に発展する前段階としてのコロニーによるDNAレベルでの違いが生じていることが推測される結果を得た。今後サンプル数を増やし, ペンギン類の亜種の識別が可能かどうかの検討も含め, 本研究をすすめる予定である。さらに今回の発表には, 現生のペンギンと共通の祖先を持つ海鳥類との比較検討も加えたい。

## 【謝辞】

本研究をおこなうにあたり, 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の協力をいただいた。南半球の様々な地域の野生個体の材料収集には世界各地のペンギン研究者の協力をいただいた, Belinda Cannell, Yurek Jerzy Kulski, Ivon LeMaho, Rory P. Wilson, Gary D. Millerの各博士に深く感謝する。

## 17 ヒツジMHC(OLA)-DRB1の塩基配列の決定と多型解析

○今内 覚<sup>1,2)</sup>, 長岡淑子<sup>1)</sup>, 小沼 操<sup>2)</sup>, 間 陽子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 理研・筑波研

<sup>2)</sup> 北大・獣医

### 【目的】

ヒツジMHC(OLA)は、第20染色体に位置し、ウシと同様にclassI, classII, classIII遺伝子が存在する。このうちclassII遺伝子群の中でβ鎖をコードするDRB1は最も機能的で多型性に富んでいる。DRB1遺伝子には現在までに127種類の対立遺伝子の存在が報告されているが、その遺伝子構成と塩基配列の情報は他の動物に比べ著しく少ない。今回我々は、ヒツジ101頭のDRB1遺伝子の塩基配列を決定したので報告する。

### 【方法：結果】

サフォーク、チェビョットおよびコリデールなど計101頭のヒツジのOLA-DRB1第2エクソンを、ウシ用に設計したプライマーを用いたsemi-nested PCRにより増幅した。これらのPCR産物をpBluescript IIにサブクローニングし塩基配列を決定した結果、34種類の対立遺伝子が得られた。これらの中には、チェビョット種に6種類およびサフォーク種に1種類の新規対立遺伝子が含まれていた。これらの塩基配列を既知の対立遺伝子と比較した結果、85.2～97.5%の相同性が認められた。また、品種特異的対立遺伝子は、サフォーク種では14種類およびコリデール種では1種類見いだされた。また、各品種間の対立遺伝子頻度を検索した結果、サフォーク、チェビョットおよびコリデールにおいて差異が認められ、サフォークではOLA-DRB1 n\*2 (23.9%), チェビョットではOLA-DRB1 n\*23 (27.5%), コリデールではOLA-DRB1 n\*22 (25.0%)がそれぞれ高頻度で検出された。さらに興味深いことに、9～86番目のアミノ酸配列を同じ偶蹄目に属するウシと比較した結果、11, 12, 16, 18, 37, 42, 51, 57, 70, 71, 76および86番目においてヒツジ特有の多型性が存在することが明らかとなった。

### 【考察】

本研究により、OLA-DRB1第2エクソンは他の動物種のそれと同様に高度に多型性に富むことと品種特異的対立遺伝子が分布していることが明らかとなった。

## 18 様々な生物種における MHC 領域のシーケンシングと MHC 統合データベース (M-integra) の開発

○椎名 隆<sup>1)</sup>, 羽原拓哉<sup>2)</sup>, 山口香織<sup>2)</sup>, 安西達也<sup>1)</sup>, 小原 栄<sup>1)</sup>, 今西 規<sup>3)</sup>, 五條堀孝<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 2

<sup>2)</sup> 国立遺伝学研究所生命情報 DDBJ 研究センター

<sup>3)</sup> 産業技術総合研究所生物情報解析研究センター

### 【目的】

MHC 領域は進化学的に保存されている遺伝子が数多く存在することや、あらゆる生物種の塩基配列情報およびマッピング情報が豊富であることから、遺伝子の動態を追究するには最適な領域といえる。すなわち、MHC 領域はヒトゲノムの形成機序を効率良く追究するためのモデル領域となりうる。そこで本研究では、MHC 領域が高等な免疫系を獲得してきた経緯を明らかにするために、様々な生物種についてこの領域のゲノム配列を決定し、それらの配列をデータベース化すること、その後MHC 領域の比較ゲノムマップを完成させることによりMHC 領域の形成の分子機構を解明すること、MHC 祖先領域を推定すること、MHC 遺伝子の起源を明らかにすることを目的とする。

### 【結果および考察】

これまでに合計 1918 kb (ナメクジウオ: 398 kb, サメ: 32 kb, ウズラ: 201 kb, ラット: 199 kb, ブタ: 156 kb, アカゲザル: 42 kb, チンパンジー: 890 kb) の塩基配列を決定した。これらの塩基配列をもとに比較ゲノム解析をおこなった結果、生物種間における基本的な遺伝子構造は大まかには保存されているが、それぞれの生活環境に適応するためのMHC や MHC 関連遺伝子の birth and death により形成されてきたことが示唆された。また、現在のゲノムからその進化を遡ることが可能であること、さらには、ナメクジウオのように MHC 祖先領域の構造を保持している生物種も現存していることがわかってきた。

これらの生物種のゲノム配列の蓄積とともに MHC 統合データベース (M-integra) の開発も進めている。これまでに MHC 領域の遺伝子地図、Unigene や完全長 cDNA 配列との相同性解析結果、多様性プロファイル解析結果の視覚化に成功した。今後、様々な生物種のゲノム配列を入力する一方、全データに対するキーワード検索や全配列データに対する相同性検索などの検索エンジンも充実させ、今秋に一般公開する予定である。

## 19

## HLAクラスI領域における日本人ハプロタイプのゲノムシーケンシング解析-1: 遺伝子領域 433 kb のPCR 増幅とシーケンシング

○橋本奈美<sup>1)</sup>, 勝山善彦<sup>2)</sup>, 椎名 隆<sup>3)</sup>, 金子剛久<sup>3)</sup>, 吉川枝里<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, 太田正穂<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> 信州大学医学部付属病院薬剤部

<sup>3)</sup> 北里大学医学部

<sup>4)</sup> 信州大学医学部法医学教室

### 【目的】

1999年に報告したHLA領域の全塩基配列は、遺伝子の機能解析および分子進化的解析を飛躍的に加速させた。ところが、これは欧米人に頻度の高いいくつかのHLAハプロタイプからなるモザイク配列である。そこで我々は日本人ハプロタイプ間や民族集団間におけるゲノム構造の差異やSNPを見出すため、日本人でみられる1つのハプロタイプのHLAクラスIおよびクラスIII領域、1.9 Mbのゲノム塩基配列を決定することを目的とした。

### 【方法】

材料には、日本人由来のHLAがホモ接合体である細胞株、KT3 (A24, B54, DR4)を用いた。ロングPCRプライマーには、HLA-FからLTB遺伝子間に存在する50発現遺伝子をそれぞれ増幅させる82セットを用い、LA PCR kit Ver.2.1 (TaKaRa)によりPCR増幅を行った。シーケンシングプライマーには、両鎖ともに300~400 bpに1個ずつで合計4000個を設計した。

### 【結果および考察】

HLA-FからLTB遺伝子間の50発現遺伝子のうち、このハプロタイプに欠落していると考えられるHCGII-7, HCGIV-6遺伝子を除く48遺伝子については目的の分子量に明瞭なPCR増幅産物が得られ、合計433 kbの領域の増幅を完了した。続いて、これらの増幅産物のシーケンシングにより、これまでに400 kbの塩基配列を決定した。したがって、本研究にて設計したプライマーは他のHLAハプロタイプのシーケンシングへの適用が可能であることが示唆された。

## 20

## HLAクラスI領域における日本人ハプロタイプのゲノムシーケンシング解析-2: 遺伝子領域内のSNP解析

○勝山善彦<sup>1)</sup>, 太田正穂<sup>2)</sup>, 橋本奈美<sup>3)</sup>, 椎名 隆<sup>3)</sup>, 金子剛久<sup>4)</sup>, 吉川枝里<sup>3)</sup>, 成瀬妙子<sup>3)</sup>, 大森 榮<sup>1)</sup>, 福島弘文<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 信州大学病院薬剤部

<sup>2)</sup> 信州大学医学部法医学教室

<sup>3)</sup> 東海大学医学部分子生命科学

<sup>4)</sup> 北里大学医学部

### 【目的】

SNP(single nucleotide polymorphism)は、数百塩基から1,000塩基対に1つ存在すると推測されており、第4世代の遺伝子多型マーカーとして、疾患のリスク診断や薬剤の使い分け診断などその有用性が注目されている。現在我々は、日本人に特徴的なハプロタイプ (A24-B54-DR4)をもつ細胞株 (KT3)のゲノムDNAを用いて、クラスI領域内にある遺伝子を含むように設定したプライマーによりロングPCRを行い、そのPCRプロダクトのダイレクトシーケンシングから塩基配列を決定している。今回、1999年に報告されたHLA領域の塩基配列をもとに、これまでに決定した塩基配列を比較し、SNPの検索を行った。

### 【方法】

HLAがホモ接合体であるHTC(KT3)のゲノムDNAをロングPCRにて遺伝子増幅を行い、増幅領域内を300~400 bpに1個の割合で設けたシーケンシングプライマーとBigDye Terminator Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems 社)を用いてシーケンシングを行った。得られたシーケンシングデータをオートアセンブラソフト (Applied Biosystems 社)にて集積し、エクソンとイントロンにおけるSNPを検索した。

### 【結果と考察】

これまで、塩基配列を決定した400 kbのうちHLAクラスI (A,B,C,E,F,G), MICA, MICB領域を除く合計23遺伝子 (167 kb)におけるSNPを1999年に報告した塩基配列と比較したところ、イントロン内では104箇所、エクソン内では24箇所見つかった。現在残りの遺伝子について更に解析を行っている。今後、さらに日本人に特徴的なハプロタイプをもつHTCの解析が可能であれば、より精密なSNP情報が得られ、疾患関連遺伝子の解析に大いに寄与するものと考えられる。

## 21

## チンパンジーのMHCクラスI 領域における比較ゲノム解析

○安西達也<sup>1)</sup>, 椎名 隆<sup>1)</sup>, 木村夏季<sup>1)</sup>, 柳谷和代<sup>1)</sup>, 須鎌千知<sup>1)</sup>, 桑野裕子<sup>1)</sup>, 重成敦子<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, Jerzy K Kulski<sup>1)</sup>, 藤森克史<sup>2)</sup>, 福住康仁<sup>2)</sup>, 山崎正明<sup>2)</sup>, 田代弘行<sup>2)</sup>, 岩本千恵<sup>3)</sup>, 梅原由美<sup>3)</sup>, 今西 規<sup>3)</sup>, 池尾一穂<sup>3)</sup>, 五條堀孝<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> 不二家バイオサイエンス研究所

<sup>3)</sup> 国立遺伝学研究所生命情報研究センター

## 【目的】

ヒトと500万年前に分岐したと考えられているチンパンジーのMHCクラスI領域の完全配列を決定し、このゲノム情報を用いて比較解析を行うことを目的とする。

## 【方法】

チンパンジーBACライブラリーよりMHCクラスIおよびIII領域を含むクローンを選定し、ショットガン法によるゲノムシーケンシングを行う。ここで得られるチンパンジー配列についてゲノム解析、比較ゲノム解析を行う。具体的には、1) 遺伝子構成の比較と直系遺伝子（オーソログ）の同定、2) 2種間の直系遺伝子の相同性解析、3) 遺伝子間領域の相同性解析、4) 他の霊長類や異なるヒトハプロタイプを用いた種特異的な配列情報の検出と解析である。

## 【結果と考察】

これまでにチンパンジーMHCクラスIおよびIII領域のゲノム塩基配列967Kbを決定した。

ヒトとの比較解析の結果、ヒトMICA前半部とヒトMICB後半部の融合により生じたMICキメラ遺伝子の生成とそれに伴う100kbに及ぶ大規模な欠失を除き、遺伝子構成はヒトと比べてほぼ保存されていた。

また、全体的にクラスI遺伝子周辺の相同性は低く（多型が蓄積され）、中でもクラスIa遺伝子内の相同性は、イントロン領域よりもエクソン領域の方が低く、さらにエクソン領域の塩基配列よりもアミノ酸配列の方が低かった。クラスIb遺伝子では特にHLA-G遺伝子を含む約30Kbの領域が、その両外側と比べ相同性が局所的に高くなり配列が保存されていた。これに対してHLA-E遺伝子周辺は、クラスIaとHLA-Gの中間程度の値を示した。さらに、クラスIIIとクラスIの境界領域における相同性の平均値は、クラスIII領域では99.3%、クラスIセントロメア末端領域では97.7%であった。この値は、変異あるいは多型が、クラスIII領域では負の淘汰が働き、クラスI領域では正の淘汰および平衡選択が働いたことに由来すると示唆された。

## 22

## SLAクラスI遺伝子領域のゲノム構造解析

○重成敦子<sup>1)</sup>, 安藤麻子<sup>1)</sup>, 椎名 隆<sup>1)</sup>, Claire Rogel-Gaillard<sup>2)</sup>, Patrick Chardon<sup>2)</sup>, 松坂恭成<sup>1)</sup>, 傳田晃弘<sup>1)</sup>, 田宮 元<sup>1)</sup>, 安江 博<sup>3)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大・医・分子生命科学

<sup>2)</sup> Laboratoire mixte INRA-CEA

<sup>3)</sup> 独立行政法人・動衛研

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領域の免疫応答に関与している遺伝子群の比較ゲノム解析を行うため、ブタの全MHC領域（SLA）について、ゲノム塩基配列を決定するプロジェクトをフランスのグループとともに進めている。これらの目的を達成するために、ブタ（ラージホホワイト系）のゲノムをクローン化したYAC、BACライブラリーを使用して、まずSLAクラス領域のコンティグを作成し、得られた2つのBACクローンについてショットガン法によりシーケンシングをおこなった。その結果、ヒトHLA-Bと-C領域に相当するSLA領域には、8個の古典的SLAクラスI遺伝子と3個の非古典的クラスI遺伝子が2つのクラスターを形成して存在することが明らかになった。また、ヒトでは、尋常性乾癬の疾患感受性遺伝子が存在している、HLA-CとHLA-E遺伝子の間に位置するS遺伝子の周辺領域に着目し、得られた約155kbのシーケンシング配列について、ヒトとブタとのゲノム構造について詳細な比較、解析をおこなった。その結果、このBACクローンにはS遺伝子のほかに、ヒトのMHCクラスI遺伝子領域と同様に、転写因子TFIIH (p52) 遺伝子、SPR1遺伝子、SEEK1遺伝子、STG遺伝子及び、トリコヒアリンと相同性を有するHCR遺伝子の一部、並びに肝癌由来のcDNAライブラリーのAK025618と、4個のヒトESTと相同性を示す配列が存在することが明らかになった。

さらに、今回解析したクローンのテロメア側の、ヒトではHLA-E遺伝子を含む領域に位置するBACクローン2個についても、ショットガンクローンを作成し、塩基配列解析を進めている。

## 23

ラットMHC クラス I 領域におけるゲノム  
シーケンシング解析

○小原 栄<sup>1)</sup>, 椎名 隆<sup>1)</sup>, 藤森克史<sup>2)</sup>, 山崎正明<sup>2)</sup>,  
田代弘行<sup>2)</sup>, Lutz Walter<sup>3)</sup>, Eberhard Gunther<sup>3)</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> ゲッチングン大・独

## 【目的】

ヒトゲノムの進化形成機序を効率よく追求するための一つのアプローチとして、我々は様々な生物種におけるMHC領域のゲノム塩基配列を決定し、比較ゲノムマップの作成を試みている。このモデル動物の一つであるラットのMHCクラス I (RT1) 領域、約2.2MbのPACクローンによるコンティグマップは、ほぼ完成されている。そこで本研究では、まず、クラス III 領域のテロメア側に位置するIkbl遺伝子からクラス I 遺伝子領域を含む1つのPACクローンについて、その塩基配列を決定し、既知の遺伝子との相同性解析を行った。

## 【方法】

PACクロンのシーケンシングには、ショットガン法を用い、3100 Genetic Analyzerおよび377 PRISM (ABI 社)を用いて、塩基配列を決定した。その後、Repeat Maskerプログラムにより反復配列の検索ならびに反復配列を除いた領域について、既知配列との相同性解析を行った。

## 【結果および考察】

IKBL遺伝子からクラス I 遺伝子領域を含むPACクロンの塩基配列を決定したところ、その塩基数は198,911bpであり、GC含量は48.7%であった。また、相同性解析により、この配列にはセントロメア側より、Ikbl, Atp6g, Bat1, 9つのクラス I 遺伝子の順で含まれていた。Ikbl, Atp6gおよびBat1遺伝子の方向は、ヒトおよびマウスと同様であり、9つのクラス I 遺伝子の方向は、すべてセントロメア側からテロメア側であった。また、マウスとラットにおけるIkbl, Atp6G, Bat1のエクソン領域の相同性が91.6%であったのに対して、マウスのBat1にもっとも近傍に位置するH-2Dとラットの9つのクラス I 遺伝子との相同性は84.7% ~ 88.6%であったことから、H-2Dのオーソログを同定するには至らなかった。したがって、マウスとラットのクラス I 領域の構造の形成過程は大きく異なると考えられた。

## 24

## 板鰓類MHC遺伝子領域のシーケンシング解析

○佐野和美<sup>1)</sup>, 椎名 隆<sup>1)</sup>, 太田裕子<sup>2)</sup>,  
Martin F. Flajnik<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大・医

<sup>2)</sup> Maryland大・医

## 【目的】

板鰓類(サメ・エイ)が属する軟骨魚綱は、脊椎動物が誕生した時期に起きたとされる2回の大規模なゲノム重複直後の約4.4億年前にヒトの祖先と分岐した生物種である。また、MHC遺伝子の存在が確認されているもっとも原始的な脊椎動物でもある。板鰓類の中には、分岐当時の系統を現在もなお保持している種も存在するため、より原型に近いMHC遺伝子領域を有する可能性が高く、脊椎動物のMHCの起原を明らかにする一助となるものと期待される。そこで本研究では、板鰓類のMHC遺伝子領域の進化、重複の過程を明確にするために、そのMHC遺伝子領域のゲノムシーケンシングを行い、板鰓類間やその他の生物種間にて比較解析することを目的とする。

## 【方法】

コモリザメ (*Ginglymostoma cirratum*) のLMP2, LMP7, LMPZ, TAP1, TAP2, RING3およびクラス I 遺伝子陽性の6個のコスミドクローンを用いた。これらのコスミドクローンをショットガン法によりゲノムシーケンシング解析を行った。

## 【結果および考察】

これまでのところ、クラス I 遺伝子陽性のコスミドクローン、32kbのゲノム塩基配列を決定した。そこで、データベース上に登録されているコモリザメのmRNA (cDNA) 情報と比較したところ、このクローンはUAA遺伝子のエクソン2からエクソン8までを含み、UAA遺伝子の対立遺伝子のひとつであるUAA09と98%の相同性を示した。興味深い特徴のひとつとして、エクソン2からエクソン8までの塩基数は16 kbであり、これは既知のクラス I 遺伝子の中でもっとも長いものであった。さらに、イントロン4領域も長く、約8 kbであった。

## 25

## 日本人に初めて検出されたDR2LUMについて

○能勢義介, 皆森久美子, 秋田真哉, 荒木延夫,  
井本しおん, 三戸 壽  
兵庫県赤十字血液センター

## 【目的】

DR2 (DR15, DR16) ハプロタイプのDRB1とDRB5は強いhomologousが認められており, 8種のDRB1\*15アリルと9種のDRB1\*16アリルが13種以上のDR2抗原蛋白を, そして11種のDRB5アリルが10種のDR51抗原蛋白をそれぞれ合成している。近年, DR15陽性, DR51陰性のパネルとしてDR2ES, DR2LUM, DR2CA, DR2CB, DR2 (LUM) XそしてDR2 (LUM) Yの6種類が報告されているが, 今回, 我々は南アフリカ黒人から検出されたDR15陽性, DRB5欠損のDR2LUMと考えられるパネルを日本人から検出したので報告する。

## 【材料と方法】

日本人男性NAK (HLA-A\*0206, A\*24, B\*07, B\*1501, Cw\*03031, Cw\*07, DRB1\*0101, DRB1\*15011, DQB1\*0501, DQB1\*0602) のDNAを用い, DRB5のexon2, exon3についてPCRを行った。なお, プライマーデザイン, PCR条件はVoorterらの方法に従った。

## 【結果】

NAKはOne lambda社SSP2Hキットの6種のDRB5プライマーセット及び, VoorterらのDRB5のプライマーセット (exon2: DRB95016/DRB97004b, DRB95016/DRB95008b, exon3: RB96037c/DRB96161c, RB96037c/DRB96160c, exon2+ exon3: DRB95016/DRB96036b) 5種の計11種に陰性を示し, DRB5が欠損していることが確認された。

## 【結論】

DR2LUMのハプロタイプはDRB1\*15011, DRB5NEG, DQB1\*0602であり, 今回我々が検出したNAKもDRB1\*15011, DRB5NEG, DQB1\*0602であることからNAKはDR2LUMであると考えられた。

## 26

## 血清学的HLA class Iタイピングの反応性から新バリエーション抗原と考えられた3例の遺伝子学的解析

○高橋大輔<sup>1)</sup>, 荒関みき<sup>2)</sup>, 関本達也<sup>2)</sup>, 宮崎 孔<sup>1)</sup>,  
中島文明<sup>2)</sup>, 佐藤進一郎<sup>2)</sup>, 加藤俊明<sup>2)</sup>, 池田久實<sup>1)</sup>  
<sup>1)</sup> 北海道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

## 【はじめに】

今回, 我々は血清学的HLA class Iタイピングの反応性が既存のHLA-A11, -B7, -B52とは異なる反応性を示した新バリエーション抗原 (以下HLA-A11V, -B7V, -B52V) を検出したので報告する。

## 【方法】

血清学的HLA class Iタイピングは, 日赤共通トレイ, 自家製トレイ, 市販トレイ (ワンラムダ社製) を使用してLCT法により実施した。また, DNAタイピングはmicro-SSP法 (ワンラムダ社製) 及びPCR-SSO法で実施した。更にダイレクトシーケンス法により, Exon 2及びExon 3部分の塩基配列の解析を行った。HLA遺伝子はpT7blue T-vectorを用いてクローニングした。

## 【結果及び考察】

A11VはA11特異性を含む抗血清6本中3血清に反応が見られた。PCR-SSO法ではA\*1101-04のいずれでもないことが確認された。この抗原をcodeするアリルは, A\*1101のcodon 503 ( $\alpha$ 2-domain)にA→Gの1塩基置換(アミノ酸: K→R)が認められ, 新アリルと考えられた。また, B7VはB7特異性を含む抗血清7本中3血清に反応が見られた。micro-SSP法ではB\*07021-22/04/07/09/11の反応性を示した。この抗原をcodeするアリルは, B\*07021のcodon 215 ( $\alpha$ 1-domain)にG→Cの1塩基置換(アミノ酸: R→P)が認められ, 新アリルと考えられた。A11V及びB7Vをcodeするアリルの変異部位は, これまでのHLA class Iアリルでは変異が認められていない部位であった。一方, B52Vは血清学的にB52/(Bw4/Bw6)とタイプされ, Bw6関連抗原は検出されなかった。B52Vの塩基配列はB\*52011と比較して, Bw4を規定するcodon 301-321がBw6に遺伝子置換している他は同一であることが判明した。また, B52VはB\*78021とホモロジーが高く, codon 259及び272がそれぞれA→C, codon 261がC→Gの3箇所だけに変異が認められた。この新アリルはWHO Nomenclature CommitteeにおいてB\*7805と命名された。

## 27

## 新たに見出されたHLA遺伝子型について

○清水まり恵, 田中秀則, 植木純一, 峯元睦子,  
栗田裕子, 柏瀬貢一, 野尻徳行, 赤座達也,  
中島一格, 十字猛夫  
日本赤十字社中央血液センター

## 【はじめに】

現在, 血液センターでは血清学またはDNAによるHLAタイピング法を用い, 成分献血登録者および骨髄バンク登録希望者のHLAタイピングを行っている。今回, これらのHLAタイピングにおいて, 既知の反応または泳動パターンを示さないことから, 新たなHLA遺伝子型(アリル)が見出されたので, その特徴を含め報告する。

## 【方法】

HLA-A, -B抗原の血清学レベルのタイピングは, 通常のLCT法で行ない, HLA-DRB1の血清学レベルのタイピングは, PCR-MPH (Microtiter Plate Hybridization) 法で行った。HLA-A, -BおよびHLA-DRB1のアリルレベルのタイピングは, PCR-MPH法とPCR-SSCP (Single-Strand Conformation Polymorphism) 法を併用して行った。それぞれのタイピングにおいて, 異なるパターンを示すことから判定結果が保留となった検体について, PCR-SBT (Sequencing-Based Typing) 法により塩基配列の解析を行った。また, これまでに血清学またはアリルレベルでタイピングが行われた検体数から, 新たなアリルが検出される頻度についても検討を行った。

## 【結果および考察】

塩基配列の解析結果から17種類の新たなアリルが見出され, 6種類が血清学レベルのタイピングで, 11種類がアリルレベルのタイピングで見出された。これらのアリルは, それぞれ異なる様式で新たなアリルを形成したものと推測され, 各アリルに見られる変異箇所も, 特定の遺伝子領域に集中していなかった。また, 新たなアリルが検出される頻度は, 血清学レベルのタイピングで約0.01%, アリルレベルのタイピングで約0.1~0.05%であることが推測された。

## 28

## Exon4に塩基置換が認められたHLA-Bバリエーション抗原について

○田中秀則<sup>1)</sup>, 明坂珠生<sup>2)</sup>, 清水まり恵<sup>1)</sup>, 柏瀬貢一<sup>1)</sup>,  
石川善英<sup>1)</sup>, 池田孝子<sup>3)</sup>, 加藤 道<sup>3)</sup>, 生田 満<sup>4)</sup>,  
赤座達也<sup>1)</sup>, 高橋朋子<sup>2)</sup>, 三上俊郎<sup>4)</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> 星薬科大学薬学部

<sup>3)</sup> 愛知県赤十字血液センター

<sup>4)</sup> 青森県赤十字血液センター

## 【はじめに】

HLAクラス I (主にHLA-A, B, C) 抗原の多型性のほとんどは,  $\alpha 1$ および $\alpha 2$ ドメインに集中しており, DNAタイピングもexon2および3に限定した方法がとられている。今回, 血清学的に検出された2種類のHLA-Bバリエーション抗原(以下, B62VおよびB48V)について, 塩基配列の解析を行なったところ, exon4にのみアミノ酸変異を伴う塩基置換が生じている新たなアリルを見出したので報告する。

## 【材料および方法】

血清学的な検査は, 通常のLCT法で行った。塩基配列の解析は, PCR-SBT (Sequencing-Based Typing) 法によるダイレクト・シーケンスおよび, このPCR産物をクローニング後, exon2, 3および4の塩基配列の解析を行った。また, HLA-DRB1のアリルタイピングは, PCR-MPH (Microtiter Plate Hybridization) 法とPCR-SSCP (Single Strand Conformation Polymorphisms) 法を併用して行った。

## 【結果および考察】

B62VおよびB48V抗原は, B62 (B\*1501) およびB48抗原 (B\*4801) と比べ, 一部の抗血清に反応を示さなかった。また, 塩基配列の解析結果では, B62VおよびB48V抗原は, B\*1501およびB\*4801と比較して, exon4にのみ塩基置換が認められ, 新たなアリルでコードされていることが判明した。

今回の解析結果から,  $\alpha 3$ ドメインのアミノ酸変異が血清学的な反応性に影響していることが推測された。これまでに,  $\alpha 3$ ドメインまたは $\beta_2$ -ミクログロブリンを遺伝子組替えによって作製したキメラ分子において, モノクローナル抗体の反応性が変化する事は報告されており, 現在これらバリエーション抗原を保有するトランスフェクタント細胞を作製し, 各種抗体との反応性について検討を行なう予定である。

## 29 日本人におけるNK受容体KIR遺伝子の多型解析

○川村純代<sup>1)</sup>, 屋部登志雄<sup>1)</sup>, 佐藤昌子<sup>1,2)</sup>,  
大橋順<sup>2)</sup>, 赤座達也<sup>1)</sup>, 徳永勝士<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> 東京大学医学部人類遺伝学

### 【目的】

Killer Immunoglobulin-like Receptor(KIR) はNK細胞, 一部のT細胞に発現し, 主に標的細胞上の古典的クラスI抗原をリガンドとするNK受容体である。KIRには細胞傷害性を抑える抑制型と促進する活性化型がある。この機能より感染防御, 腫瘍細胞破壊, 移植免疫反応などに関与するものと考えられる。ヒト染色体19q13.4に存在するKIR遺伝子領域には約12のKIR遺伝子座があり, 個人により持ち合わせている遺伝子座の種類・数・対立遺伝子の種類が異なることが主にCaucasianの解析から知られている。今回は日本人におけるKIR各遺伝子座の種類とその頻度, 各個人のKIR表現型を解析し, 他人種の報告との比較を行った。

### 【方法】

日本人健常人の末梢血単核球から抽出したDNAを用いて遺伝子特異的PCR-SSP解析を行った。また, 変異があると考えられたものについてはDNAシーケンシングを行った。

### 【結果・考察】

12種類のKIR抗原の有無についてタイピングを行った。日本人において最も頻度の高いKIR表現型は5つの抑制型と1つの活性化型を持つタイプであった。これは外国での報告例と同じであったがその他のタイプの頻度は他人種と異なり, また現在のところ日本人でしか見られないタイプも存在した。KIR遺伝子座の詳細を明らかにすることは移植成績, 疾患感受性との関連を検討する上でも非常に有用であると考えられる。

## 30 LABScreen™ PRAを用いたHLA抗体検査法の検討

○藤原孝記, 大塚 薫, 市原孝浩, 島野佳恵,  
田中秀則, 野尻徳行, 中島一格, 十字猛夫

日本赤十字社中央血液センター

HLA抗体検査は, LCT法およびAHG-LCT法が主に用いられているが, あらかじめスクリーニングに用いるリンパ球をタイピングし, 凍結保存しなければならない。また, 血小板輸血不応に関与する低力価のHLA抗体を検出できない場合があること, Non-HLA LCT陽性抗体の存在下や免疫抑制剤ATGを使用している場合にはHLA抗体を検出することは困難であることなどの問題がある。このような問題に対応するために, LABScreen™ PRAを用いたHLA抗体検査法について検討した。

### 【方法】

Luminex<sup>100</sup>Lab MAP (Luminex社) を応用したLABScreen™ PRA ClassI (One Lambda社: 以下LABScreen PRA) 用いてHLA抗体の検出および同定を行い, AHG-LCT法の結果およびMPHA法(クロロキン未処理)の結果と比較検討を行った。

LABScreen PRAは, 被検血清と55パネルのHLA精製抗原固相ビーズを同時に反応させ, フローサイトメータにより各ビーズの反応を同時に捕らえることによりHLA抗体を検出し同定する方法である。

### 【対象検体】

PC-HLA供給患者45例(うちAHG-LCT法のみ弱陽性3例)免疫抑制剤ATG使用患者3例, 非溶血性輸血副作用症例検体20例(うちAHG-LCT法にて陽性5例, AHG-LCT法にて陰性15例)陰性対照5例を用いた。検出感度試験は, 抗血清4例を用い, 限界希釈法にて実施した。

### 【結果】

PC-HLA供給患者45例ではLABScreen PRAにて45例とも陽性, AHG-LCT法では44例が陽性(うち2例が弱陽性)陰性が1例だった。ATG使用患者3例については, AHG-LCT法で陽性, LABScreen PRA, MPHA法で陰性であった。非溶血性輸血副作用症例検体20例ではLABScreen PRAにて陽性が5例で陰性が15例, AHG-LCT法でも同様であった。検出感度をAHG-LCT法と比較した結果, 希釈倍率で4~32倍高感度であった。

### 【考察】

LABScreen PRAを用いた方法はAHG-LCT法と比較して, ATGやNon-HLA抗体の影響を受けことなくHLA抗体検査ができ, 低力価のHLA抗体を検出することが可能であると思われた。また, パネルセルの確保の必要がないこと, 短時間で多量検体処理が可能であることなど多くの点でHLA抗体のルーチン検査に有用な方法であった。

### 31 PCR-SBTによる新規ウシMHC(BoLA)-DRB3遺伝子の検出

○竹嶋伸之輔<sup>1)</sup>, 池上美絵<sup>1)</sup>, 森田光男<sup>2)</sup>, 間 陽子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 理化学研究所 筑波研究所

<sup>2)</sup> 家畜改良事業団

#### 【目的】

ウシMHC(BoLA)クラスII分子には細胞表面に発現する分子としてDR及びDQが存在する。DR分子は多型のないDRA遺伝子と機能的で多型性に富むDRB3遺伝子にコードされている。既存のBoLA-DRB3のタイピング法として、血清学的方法やRFLP, PCR-RFLP, PCR-SSO, MS-PCR及びPCR-DDGE等のDNAタイピング法がある。しかし、これらの方法は新規アレルの同定が不可能であったり、あるいは大量のサンプルを処理できないといった欠点を有する。そこで、我々はBoLA-DRB3アレルの塩基配列を迅速に決定可能なPCR-SBT法を開発し、その有用性を調べた。

#### 【方法・結果】

我々はBoLA-DRB3第2エクソンの塩基配列より予想された88種類のアミノ酸配列をライメントする事により、BoLA-DRβ鎖に4つの超可変領域を見だし、第1可変領域をもとにDRB3アレルを8群に分類した。次に、各群のアレルを特異的に増幅できる5'プライマー(PCR-SSP;Sp1-Sp8)、全てのアレルを増幅可能な5'プライマー(ALL)、及び遺伝子座特異的3'プライマー(DRB3B)を設計し、塩基配列決定用配列を付加した。まず、DRB3遺伝子座特異的なプライマー(ERB3N及びHL031)を用いて1stPCRを行ない、その産物を8種類のPCR-SSP用プライマー及びALLを用いた2ndPCR法に供試した。各個体について1つ又は2つのPCR-SSP増幅産物が得られた。一方、プライマーとしてALLを用いた場合には両方のアレルを含む1つの産物が得られた。増幅産物が2つ得られた場合には、各々の塩基配列をダイレクトシーケンス法により決定し、増幅産物が一つである場合には、ALL由来の産物の塩基配列を決定した。次に、開発した方法の精度を確認するため、第5回国際BoLAワークショップにおいてPCR-RFLP型及びMHCハプロタイプが同定されている53頭のウシのアレルを決定した。同定されたアレルとそのアレルより予測されたPCR-RFLP型は全て一致していた。

#### 【考察】

PCR-SBT法がBoLA-DRB3タイピングに極めて有効な方法である事が示された。

### 32 ウシMHC(BoLA)-DRB3の遺伝子の多様性の解析

○竹嶋伸之輔<sup>1)</sup>, 池上美絵<sup>1)</sup>, 森田光男<sup>2)</sup>, 斉藤成也<sup>3)</sup>, 猪子英俊<sup>4)</sup>, 間陽子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 理化学研究所 筑波研究所

<sup>2)</sup> 家畜改良事業団

<sup>3)</sup> 国立遺伝学研究所

<sup>4)</sup> 東海大学医学部分子生命科学II

#### 【目的】

ウシは経済的に重要な家畜であり、人類の文化形成に多大な影響を与えてきた。現在、日本には約300万頭、インドには3億頭のウシが生存している。ウシMHC(BoLA)-DRB3アレルは現在まで100以上報告されているが、新規アレルの報告も続いており、その多様性の全貌は未だ明らかになっていない。そこで本研究では、BoLA-DRB3の各品種におけるアレル頻度の算出、それを基にした品種間における進化の解析及びHLA-DRB1との塩基配列レベルでの進化的変化を比較し、BoLA-DRB3の特徴を検証した。

#### 【方法・結果】

我々の開発したPCR-SBT法(本学会で発表)を用いて、ホルスタイン種102頭・黒毛和種200頭・ジャージー種50頭及び日本短角種100頭のBoLA-DRB3タイピングを行なった。その結果、新規アレル3種類を含む、38種類のアレルが同定され、そのうち19種類は品種特異的であった。次に、各品種におけるアレル頻度を算出後、Neiの最小遺伝距離法により遺伝距離を計算し、近隣接合法を用いて系統樹を作成した。黒毛和種とホルスタイン種は近くに、ジャージー種は最も遠くに位置していた。更に、本研究において同定された38種に既知の配列を加えた102種のBoLA-DRB3と既知の234種のHLA-DRB1の第2エクソンの塩基サイトに関して、非抗原認識部位(non-ARS)と抗原認識部位(ARS)について同義及び非同義置換の比率をNeiとGojoboriの方法を用いて比較した。その結果、non-ARSに対しては、負の選択圧がHLA-DRB1でより強く働き、一方ARSに対しては、正の選択圧がBoLA-DRB3においてより強く働いていた。そこで、各塩基サイトの正の選択圧をadaptsite(SuzukiとGojobori)を用いて計算し、その(1-p)値を比較した。その結果、ペプチド収容溝6のアミノ酸残基にはHLA-DR1では正の選択圧が認められるが、一方BoLA-DRでは弱かった。また、β鎖のα-helixからβ-sheetに変化する部位の周辺はBoLA-DRにのみ正の選択圧が認められた。

#### 【考察】

BoLA-DRB3の多様性に関する進化的情報が得られた。

## 33

## ウズラMHCクラスIIB発現遺伝子と抗体産生能に関する解析

○清水佐良子<sup>1)</sup>, 椎名 隆<sup>2)</sup>, 高橋慎司<sup>3)</sup>, 小山卓美<sup>4)</sup>,  
小野寺 節<sup>1)</sup>, 猪子英俊<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 東大・院農

<sup>2)</sup> 東海大・医

<sup>3)</sup> 国立環境研

<sup>4)</sup> 国立家衛試

## 【目的】

ウズラを用いたニューカッスル病ウイルス(NDV)不活化ワクチンに対して高抗体産生系統(H系)および低抗体産生系統(L系)への選抜維持の過程で、抗体産生能の高低を規定する感受性遺伝子は、MHCクラスII遺伝子と何らかの関連があると考えられる。前年度の本学会大会において、これら両系統のMHCクラスIIB遺伝子の多型解析および発現解析について報告した。本発表では、両系統の発現クラスIIB遺伝子と抗体産生能との関連性を解明するために、各臓器における発現クラスIIB遺伝子の分布およびヒツジ赤血球(SRBC)免疫による、クラスIIB遺伝子の相対的発現量の変動について報告する。

## 【方法】

H系(1年齢),L系(1年齢,4週齢)のウズラを剖検し、胸腺、ファブリキウス嚢、脾臓、肺、肝臓、腎臓および末梢リンパ球よりRNAを抽出した。上記と同齢のH,L系ウズラにSRBC抗原を一次、二次免疫し、抗体価の測定、末梢リンパ球由来RNAを用いたRT-PCRおよびABI PRISM 7700による相対的発現量の算出を行なった。

## 【結果および考察】

両系統のMHCクラスIIB遺伝子は、末梢リンパ球や免疫担当器官のみでなく、肺、肝臓、腎臓にも検出された。SRBC免疫後1週目では、抗NDV抗体価と同様にH系がL系よりも2倍高い抗体価を示した。またL系の4週齢個体は、1年齢個体よりも抗体価が低く、二次応答能も低い傾向であった。これらの抗体価とMHCクラスIIB mRNAの相対的発現量とを比較検討した結果、1.測定期間中における相対的発現量の推移は、両系統共に同様なパターンを示した。2.H系における相対的発現量は、L系よりも7倍多かった。したがって、両系統内で特に抗体産生に関連する遺伝子の特定には至らなかったが、クラスIIB遺伝子の発現量が抗体産生能に関係することが示唆された。

## 34

## ミニブタSLAクラスI遺伝子の多型性と発現状態の解析

○安藤麻子<sup>1)</sup>, 河田寿子<sup>1)</sup>, 太田正徳<sup>2)</sup>, 佐田正晴<sup>3)</sup>,  
後藤理枝子<sup>3)</sup>, 中谷武嗣<sup>3)</sup>, 重成敦子<sup>1)</sup>, 中西喜彦<sup>4)</sup>,  
森 研一<sup>5)</sup>, 柴 麻紀子<sup>6)</sup>, 筒井真理子<sup>6)</sup>,  
谷川 学<sup>7)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大・医・分子生命科学, <sup>2)</sup> 信州大・医・法医学

<sup>3)</sup> 国立循環器病センター研究所

<sup>4)</sup> 鹿児島大・農・家畜繁殖学, <sup>5)</sup> (株)ジャパンファーム

<sup>6)</sup> 独立行政法人 家畜改良センター, <sup>7)</sup> CSKリサーチパーク

## 【目的】

我々はブタのMHC(SLA)遺伝子の多型性の特徴を明らかにし、SLA遺伝子のDNAタイピング法を確立するとともに、同種及び異種間の動物移植実験や免疫応答性の研究に有用なSLA遺伝子を固定したミニブタ作成のために、SLA遺伝子の多型性解析を行っている。本研究では、種々の系統のミニブタを中心としたSLAクラスI遺伝子の多型性と発現状態を解析した。

## 【方法】

6個のSLAクラスI遺伝子 (SLA-1, -2, -3, -6, -7, -8) の第2, 第3エキソン領域を特異的に増幅するプライマーを設計し、クラウン、メキシカンヘアレス、ゲッチング系のミニブタと交雑種の4系統のブタの末梢血より抽出した全RNAを用いて、RT-PCRを行った。得られたPCR産物の直接塩基配列決定、並びにTAクローニング後の塩基配列決定によって多型性を解析した。非古典的クラスI遺伝子であるSLA-6, -7, -8については、ゲッチング系ミニブタの胸腺、肝臓、腎臓、脾臓、小腸、心臓、精巣の全RNAを用いてRT-PCRによって発現状態を解析した。

## 【結果】

SLA-1, -2, -3遺伝子のPCR産物の塩基配列解析の結果から、これまでにSLAクラスI遺伝子をコードするクローンとして報告されているPD1 (SLA-1), PD14 (SLA-2), PC1 (SLA-3) cDNAクローンやSLA-3遺伝子クローンの塩基配列が見いだされた。さらにこれらの各遺伝子に新アレルが見いだされた。また、各組織における非古典的クラスI遺伝子の発現解析から、SLA-6遺伝子は腎、脾臓などで中程度の発現レベルの増幅産物が認められたが、胸腺ではほとんど認められなかった。一方、SLA-7遺伝子は胸腺で多量の増幅産物が認められたが、それ以外の組織では少量の産物しか認められなかった。また、SLA-8遺伝子は解析したすべての組織で増幅産物が認められた。

## 【考察】

SLAクラスI遺伝子のDNAタイピングに有用な各クラスI遺伝子座特異的に増幅を行うプライマーを設計することができた。また、3個の非古典的クラスI遺伝子の各組織における発現状態の違いは、これらの遺伝子の未同定な機能との関連性を示している可能性が示唆された。

## 35 抗HCV抗体陽性心筋症のHLA遺伝子解析

○中島舞子<sup>1)</sup>, 吉川枝里<sup>1)</sup>, 太田正穂<sup>2)</sup>, 勝山善彦<sup>2)</sup>,  
木村彰方<sup>3)</sup>, 松森昭<sup>4)</sup>, 篠山重威<sup>4)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</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> 信州大学医学部法医学

<sup>3)</sup> 東京医科歯科大学難治疾患研究所

<sup>4)</sup> 京都大学医学研究科循環病態学

### 【目的】

これまでに我々は抗HCV抗体陽性心筋症とHLA多型の関係を明らかにするため、抗HCV抗体陽性の拡張型(DCM), 肥大型(HCM)心筋症患者のHLA遺伝子解析を行ってきた。その結果, DCMにおいてはHLA-A11に有意な増加を認め, HCMではDQB1\*0303, DRB1\*0901の有意な増加, A24の有意な減少が認められた。今回, HLA-クラスⅢ領域に存在するTNF $\alpha$ 遺伝子の多型解析, ならびにTNF遺伝子周辺のマイクロサテライトを用いた相関解析を行い, HCV陽性DCM, HCMのHLA領域内の感受性遺伝子について検討した。

### 【方法】

抗HCV抗体陽性のDCM患者20例, HCM患者34例のHLA-クラスⅠ, クラスⅡ遺伝子の高精度DNAタイピング, TNF $\alpha$ 遺伝子多型解析, およびTNF遺伝子周辺のマイクロサテライト多型検索による相関解析を行い, 一般集団と比較した。

### 【結果と考察】

抗HCV抗体陽性DCM, HCMともに, 現在報告されている5カ所のプロモーター領域塩基配列多型部位において, 特定の塩基配列とTNF $\alpha$ 遺伝子との相関はみだされなかったが, マイクロサテライトを用いた解析では, DCMでD6S273, HCMでTNFd, MIBとの間に有意な相関が認められた。このことから, TNF遺伝子自身が疾患発症に関与する可能性は低いことが考えられる。また, 抗HCV抗体陽性DCMとHCM間において, マイクロサテライトを用いた解析結果で相関を示した部位に共通性が認められないことから, 両者の発症機序は異なることが示唆された。今後, 例数を増やし, さらに詳細な解析を検討していく予定である。

## 36 帯状疱疹後神経痛とHLAクラスⅠ, Ⅱの関連について

○佐藤昌子<sup>1,2,4)</sup>, 屋部登志雄<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>3)</sup>,  
植木純一<sup>1)</sup>, 柏瀬貢一<sup>1)</sup>, 田中秀則<sup>1)</sup>, 大橋 順<sup>2)</sup>,  
十字猛夫<sup>1)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>, 花岡一雄<sup>4)</sup>, 徳永勝士<sup>2)</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

<sup>3)</sup> 東海大学医学部分子生命科学

<sup>4)</sup> 東京大学医学部付属病院麻酔科

### 【目的】

帯状疱疹後神経痛(PHN)は, 水痘帯状疱疹ウイルスの再活性化によって起こる帯状疱疹(HZ)罹患後, 疱疹が消失しても難治性の疼痛が持続するものをいう。PHNへの移行のリスクファクターとしては, 高齢, 細胞性免疫の低下, などがあげられているが, 近年その遺伝的素因が示唆された。今回, 我々はPHN患者についてHLAクラスⅠ(HLA-A,B), クラスⅡ(HLA-DRB1)についてタイピングを行い健常日本人集団と比較した。

### 【対象】

東京大学付属病院麻酔科外来受診中のPHN患者38名と健常日本人125名を対象とした。

### 【方法】

末梢血より抽出したDNAを用い, HLAクラスⅠ遺伝子とクラスⅡ遺伝子について直接塩基配列決定法, PCR-MPH法によりDNAタイピングを行った。その後二つのグループ間で各アレルとハプロタイプについてグループ間で $\chi^2$ 検定を行った。

### 【結果と考察】

PHN患者と健常日本人集団との間で, 統計的な有意差がHLA-A\*3303, B\*4403で認められ, HLA-DRB1でも有意差の認められるアレルがみつかった。更に有意差の認められたアレルからなるハプロタイプにおいても, 統計学的に有意差が認められた。

このことから, PHNにおいては, 以前に示唆された結果も含め, 遺伝的な素因が関与している可能性が強いと考えられた。

## 37

## ベーチェット病患者におけるMICA遺伝子の解析

○佐野和美<sup>1)</sup>, 椎名 隆<sup>1)</sup>, 水木信久<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 東海大・医<sup>2)</sup> 横浜市立大・医

我々のグループの解析により、全身性炎症性疾患であるベーチェット病の病因遺伝子は、HLA-B遺伝子近傍に存在すると推定されており、中でも、HLA-B遺伝子のハプロタイプのひとつであるHLA-B51との高い相関が知られている。そこで、ベーチェット病患者のHLA-B51遺伝子領域とそのプロモーター領域の塩基配列を決定し、健常者の塩基配列との比較解析を行ったが、ベーチェット病特異的な多型は見い出されなかった。一方、ベーチェット病発症に関わる遺伝子候補領域に存在するMICA遺伝子の発現は、上皮系細胞のみに限られており、ベーチェット病の病態、病変部位と一致する。さらに、MICA遺伝子の5'上流に、熱ショックタンパク質である(HSP)のプロモーターエレメント(HRE)が見い出されたこと、ベーチェット病はストレスや寒冷刺激などにより発作が誘発されることから、MICAプロモーター領域の変異が、MICA遺伝子の発現量の調節や抗原提示に異常を与えている可能性が考えられた。そこで、本研究ではベーチェット病患者のMICA遺伝子領域、特にHREを含むMICAプロモーター領域の塩基配列を、健常者の塩基配列と比較し、疾患に関わる変異を見出すことを目的とした。

MICA遺伝子のプロモーター領域を含むエクソン1～エクソン5領域を増幅するプライマーを設計し、コントロールとしてHLA-B51陽性の健常成人のゲノムDNAを用いてロングPCR法を行った。これまでに、約12kbのPCR産物の増幅が確認されたことから、現在、この産物の塩基配列を蛍光自動シーケンサーにて解析中である。

## 38

## C型慢性肝炎の進行とHLA

○太田正穂<sup>1)</sup>, 吉澤 要<sup>2)</sup>, 斉藤 敏<sup>1)</sup>, 田中栄司<sup>2)</sup>, 勝山善彦<sup>3)</sup>, 福島弘文<sup>1)</sup>, 清澤研道<sup>2)</sup><sup>1)</sup> 信州大学医学部法医学<sup>2)</sup> 信州大学医学部第二内科<sup>3)</sup> 信州大学付属病院薬剤部

## 【目的】

C型肝炎ウイルス(HCV)により引き起される慢性肝疾患は、長期に渡りほとんど肝障害を示さない無症候性キャリア(ASC)の状態から肝硬変(LC)にいたるまで幅広い患者層を持つ。今回我々は、以下の3条件を満たすものをASC患者として、ASC患者群、LC患者群とHLA抗原との相関を調べた。更に、ASC患者群とLC患者群の両群間でのHLA抗原との相関も調べた。

## 【方法】

ASCの定義：Ⅰ) HCV感染から20年以上経過していること。Ⅱ) 最近の5年間ALTが正常範囲にあり、肝生検あるいは超音波検査でほぼ正常であること。Ⅲ) 過去にインターフェロン治療はしていないこと。患者はASC41名、LC60名を、コントロールは長野県在住の健常人201人を選んだ。HLAタイピングはMicro SSPTM DNA Typing Kit (One Lambda社)を用いて行い、DRB1とDQB1アレル決定はPCR-RFLPを用いた。

## 【結果と考察】

ASCおよびLC患者間に年齢、性、感染期間、ウイルスの遺伝子型やウイルス量に違いは認められなかった。ASC患者群では、A2, DRB1\*1202(R.R.=10.1, p=0.00002), DQB1\*0301が、LC患者群では、A24,B51, DRB1\*0405 (R.R.=3.2, p=0.0001), DRB1\*1412 (R.R.=18.7, p=0.00001), DQB1\*0401 (R.R.=3.3, p=0.00008), DQB1\*0503 (R.R.=4.3, p=0.0008) が有意な相関を示した。ASC患者群とLC患者群での比較では、ASC群はLC群に比べDR12 (18% vs 3%; p=0.0005, OR=10.6)が高頻度で認められた。C型慢性肝炎の進行に影響を及ぼす要因の一つとしてHLA class II遺伝子が重要であると考えられる。

## 39

## 膵管狭細型膵炎とHLA

○太田正穂<sup>1)</sup>, 川 茂幸<sup>2)</sup>, 吉澤 要<sup>2)</sup>, 齊藤 敏<sup>1)</sup>,  
浜野英明<sup>2)</sup>, 勝山善彦<sup>3)</sup>, 福島弘文<sup>1)</sup>, 清澤研道<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> 信州大学医学部法医学教室

<sup>2)</sup> 信州大学医学部第二内科

<sup>3)</sup> 信州大学病院薬剤部

## 【目的】

膵管狭細型膵炎は、主膵管に不規則な狭細像、著明なリンパ球・形質細胞の浸潤を伴う炎症組織所見、高ガンマグロブリン血症、各種自己抗体の陽性化、およびステロイド治療に対する良好な反応性などの特徴的な病態から、自己免疫性関連疾患と考えられるが、その発症機序など詳細については不明である。今回は、本疾患発症とHLA抗原とに特徴的な相関が認められるかを調べた。同時に、主にアルコール飲酒で誘発された慢性石灰化膵炎患者のHLA抗原との相関も調べ、両疾患の疾患感受性について検討した。

## 【方法】

対象は膵管狭細型膵炎患者37名と、慢性石灰化膵炎患者32名、コントロール群として長野県在住健康常人201名を選んだ。HLAタイプはMicroSSPTM DNA Typing Kit (One Lambda)にて決定した。また、DRB1, DQB1, DPB1アレルタイピングはPCR-RFLP法にて行った。

## 【結果と考察】

膵管狭細型膵炎患者群では、クラスI抗原に特徴的な強い相関は認められなかったが、クラスII抗原ではDR4(R.R.=3.4, p=0.0013)とDQ4(R.R.=3.6, p=0.00024)に強い相関を示した。アレルではDRB1\*0405(R.R.=4.3, p=0.000035)とDQB1\*0401(R.R.=4.5, p=0.00024)が強い相関を示し、DPB1では患者群と相関するアレルは認められなかった。慢性石灰化膵炎患者群では、DQB1\*0503(R.R.=4.4, p=0.0042)とDPB1\*0301(3.8, p=0.0093)に相関が認められた。膵管狭細型膵炎患者が、日本人特徴的なハプロタイプ(DR4-DQ4)と連鎖を示すB54抗原に相関が認められなかったのは(R.R.=1.2, p=0.13)、膵管狭細型膵炎の疾患感受性にHLAクラスII分子(DR4,DQ4)の関与が強く示唆された。

## 40

## HLAに連鎖した高安動脈炎感受性遺伝子領域のマッピング

○高橋めぐみ<sup>1)</sup>, 柴田宏樹<sup>1)</sup>, 安波道郎<sup>1)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>,  
太田正穂<sup>2)</sup>, 勝山善彦<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 東京医歯大・分子病態

<sup>2)</sup> 信州大・医・法医

<sup>3)</sup> 東海大・医・分子生命

高安動脈炎は大動脈およびその主要分枝血管に炎症を来す原因不明の疾患である。本症では、その発症に自己免疫機序の関与が推定されるため、以前よりHLA解析が行われている。我々も遺伝子レベルでのHLA多型解析を行い、最も強い相関がHLA-B座の対立遺伝子(B52とB39)に観察されることを報告している。また、HLA領域内のマイクロサテライトマーカーを用いて、さらなる高安病感受性遺伝子領域のマッピングを試みたところ、TNF座からHLA-B座近傍にかけて約400kbの領域に渡って、特定の対立遺伝子との有意な相関を認めた。罹患オッズ比およびp値のピークは、HLA-B遺伝子の近傍以外にも、TNF-MICA間のC1-2-A座の付近に観察された。そこで、このC1-2-A座近傍の感受性遺伝子を同定する目的で、C1-2-A座周辺約200kb内に存在する遺伝子群(TNFA, IKBL1, ATP6G, MICB, P5-1)についての多型検索を行った。その結果、IKBL1遺伝子の上流プロモーター領域に4箇所の多型を認めた。ついでそれらと高安病との相関を検討したところ、IKBL1遺伝子プロモーター領域の-263A/G多型との強い相関(-263G陽性頻度:57.6% vs. 36.4%, RR=2.41, pc<0.001; -263GG遺伝子型:10.9% vs.1.4%, OR=8.90, p=0.0001; -263AG遺伝子型:46.7% vs. 34.7%, OR=1.65, p=0.045)が観察された。以上より、高安病への感受性にIKBL1遺伝子座の関与が示唆されるため、この多型に依存した転写活性変化の有無を検討中である。

## 41

## 正常および妊娠中毒症胎盤におけるHLA-G発現の消失部位について

○下嶋典子<sup>1)</sup>, 石谷昭子<sup>1)</sup>, 梅影秀史<sup>2)</sup>,  
大村素子<sup>1,3)</sup>, 中西真理<sup>1)</sup>, Geraghty DE<sup>4)</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> 兵庫県立西宮病院

<sup>4)</sup> Fred Hutchinson Cancer Research Center

## 【目的】

HLA-Gは、非常に多型性に乏しく、その発現は、母体と胎児の接点である胎盤トロホプラストのうち、最も母体組織近くに存在するextravillous trophoblast(EXT)に限局されている。これまで、このHLA-Gが胎児を母体の拒絶反応から保護しており、HLA-Gの発現低下あるいは消失が母体の胎児拒絶の原因になると考えられてきた。それ故、妊娠中毒症胎盤EXTにおいてHLA-G発現が消失しているという報告がなされると、これが中毒症の病因ではないかと考えられた。しかし、我々は正常の満期胎盤においてもHLA-Gの発現低下あるいは消失したEXTが存在することをみだしたので、EXTにおけるHLA-Gの発現について再度検討を行った。

## 【方法】

インフォームドコンセントを得て採取された正常初期胎盤10例、中期胎盤3例、正常満期胎盤5例および妊娠中毒症胎盤10例の新鮮凍結切片を作製し、抗HLA-G抗体87G、抗サイトケラチン抗体CAM5.2を用いた免疫組織染色およびHE染色を行った。

## 【結果と考察】

正常初期胎盤、中期胎盤、正常満期胎盤、中毒症胎盤のいずれにおいてもHLA-GはEXTに発現していたが、正常満期胎盤、中毒症胎盤の一部のEXTにおいてHLA-Gの発現が低下あるいは消失していた。これらのHLA-Gを発現していない細胞の形態は、細胞質がHE難染性で、時には膨化しており、死細胞に似た形態を示していた。これらの細胞はHLA-Gのみならず、他の諸蛋白合成も不能であると考えられる。すなわちHLA-Gを発現していないEXTは、正常胎盤においても見いだされ、しかもこれらは中毒症の場合と同様に死細胞に類似した像を示していたことから、妊娠中毒症におけるHLA-Gの発現消失は中毒症の原因というよりはむしろ、何らかの原因による細胞死の結果を見ているに過ぎないのではないかと考えられた。

## 42

## Vogt-小柳-原田病に関連する自己抗原の解析

○千住 覚<sup>1)</sup>, 山田和博<sup>1,2)</sup>, 篠原利通<sup>3)</sup>, 村田恭啓<sup>2)</sup>,  
中面哲也<sup>1)</sup>, 石原麻美<sup>4)</sup>, 中村 聡<sup>4)</sup>, 大野重昭<sup>4,5)</sup>,  
谷原秀信<sup>2)</sup>, 根木昭<sup>2,6)</sup>, 西村泰治<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 熊本大・免疫識別, <sup>2)</sup> 同・眼科, <sup>3)</sup> ハーバード大

<sup>4)</sup> 横浜市大, <sup>5)</sup> 北海道大, <sup>6)</sup> 神戸大

## 【目的】

Vogt-小柳-原田病(VKH)は、ぶどう膜炎を主体とする炎症性疾患であり、メラノサイトを標的とする自己免疫疾患と考えられている。本研究は、この疾患において自己免疫反応の標的となっている抗原を同定し、疾患発症機序を解明することを目的とする。

## 【方法】

ウシぶどう膜cDNA libraryとVKH患者血清を用いたイムノスクリーニング(SEREX法)により自己抗原の候補を同定し、患者群と健康対照群における抗体陽性率を比較する。さらに、同定した分子の組織発現を解析する。

## 【結果】

VKHに関連する標的自己抗原の候補としてLEDGF(Lens Epithelial cell Derived Growth Factor)およびUACA(Uveal Autoantigen with Coiled coil domains and Ankyrin repeats)を同定した。LEDGFは、ストレス誘導蛋白として以前に同定されていたものであり、これに対する抗体陽性率はVKH患者66.7%、交感性眼炎71.4%、ベーチェット病34.4%、サルコイドーシス25.0%、健康対照群21.6%であった。一方、UACAは、本研究において新規に同定された分子であり、抗体陽性率は、VKH19.6%、交感性眼炎0%、ベーチェット病28.1%、サルコイドーシス21.1%、健康対照群0%であった。UACAのmRNAはぶどう膜、メラノサイト、筋組織等を含む多くの組織・細胞に認められた。また、免疫組織染色によりUACA蛋白がぶどう膜に発現していることを確認した。

## 【結論】

LEDGFとUACAが、原田病を含めたぶどう膜炎において自己抗原として病態形成に関与していると考えられた。

## 43 赤血球抗体保有者に認められたHLA抗体

○山本 賢<sup>1)</sup>, 森 勝志<sup>2)</sup>, 佐田正晴<sup>3)</sup>, 片山善章<sup>2)</sup>,  
宮田茂樹<sup>1)</sup>, 中谷武嗣<sup>4)</sup>

- <sup>1)</sup> 国立循環器病センター・輸血管理室  
<sup>2)</sup> 同・臨床検査部  
<sup>3)</sup> 同・実験治療開発部  
<sup>4)</sup> 同・臓器移植部

### 【目的】

赤血球製剤および血小板製剤輸血を受けた症例に対しHLA抗体スクリーニング検査を行った結果、HLA抗体保有者において赤血球抗体(Rh系)が散見された。赤血球抗体とHLA抗体産生の関連性をみるためにRh系抗体が検出された症例に対してHLA抗体スクリーニング検査を行い、HLA抗体の有無について検討し、若干の知見を得たので報告する。

### 【測定方法】

不規則性抗体検査は全自動輸血検査システム;Auto Vue(オリ社)を用いたカラム凝集法(フィジ2段法, ケム法)で行った。HLA抗体検査はFlowPRATM I & II Screening Test(One Lambda社)を用い、IgGサブクラス測定はFITC標識IgG1,2,3,4(East Coast Biologics社)を用い、%GATEが10%以上を陽性とした。HLA型はMicro SSPTM HLA DNA Typing Kitを用いた。

### 【結果および考察】

赤血球抗体が検出された13例中、輸血後1~2ヶ月の間にPRAの測定が可能であった8例(抗E抗体のみ;2例, 抗E+c抗体;3症例, 抗E+c+Jka抗体;3症例)において、全例にHLA抗体を認めた。うち5例は特異性を示し、その4例はB7関連抗体が認められた。このB7関連抗体を認めた4例のうち3例でHLA型が確認できたが、B7関連とB5関連抗原の両方を有する症例が1例で左心補助人工心臓(LVAS)装着患者であった。B5関連抗原のみが2例であった。また、8例のHLA抗体のサブクラス(IgG)を測定した結果、抗Jka抗体を保有している3例にのみIgG2を認めた。以上の結果より、輸血により赤血球抗体を産生する患者は同時に白血球抗原に対してもHigh responderであることが考えられた。さらに糖蛋白に親和性の高い抗体であるIgG2が抗Jka抗体を保有している症例のみで認められており、赤血球上の糖鎖を含む蛋白抗原であるJka抗原による感作が関与していると考えられた。今後、さらに症例数を増やし検討していきたいと考えている。

## 44 PRA(抗HLA抗体)とHLA型との関連性

○森 勝志<sup>1)</sup>, 山本 賢<sup>2)</sup>, 佐田正晴<sup>3)</sup>, 片山善章<sup>1)</sup>,  
宮田茂樹<sup>2)</sup>, 中谷武嗣<sup>4)</sup>

- <sup>1)</sup> 国立循環器病センター・臨床検査部  
<sup>2)</sup> 同・輸血管理室  
<sup>3)</sup> 同・実験治療開発部  
<sup>4)</sup> 同・臓器移植部

### 【はじめに】

われわれはPRA検査を行う中でPRA産生群とPRA非産生群のHLA型に関連性があることを認めたので報告する。

### 【対象】

血小板輸血が行われ、血小板輸血前と輸血後1~2ヶ月の間にPRAの測定が可能であった40例について検討した。なお輸血に際しては、全症例について放射線照射ならびに白血球除去フィルターが用いられた。

### 【方法】

PRAの測定: Flow cytometryを測定原理とした「FlowPRA™ I & II Screening Test」(One Lambda社)を用いた。判定は10%以上を陽性とした。

HLA型: PCR-SSP法を測定原理とした「Micro SSP™ DNA Typing Kit」にて測定した。

### 【結果および考察】

40例中PRA陰性は22例(男性19例, 女性3例), PRA陽性は18例(男性7例, 女性11例)であり、女性が男性より有意( $p=0.0012$ )にPRAを産生した。これは女性が妊娠などにより白血球抗原に対する一次免疫を獲得していた場合、血小板輸血により2次免疫応答で抗HLA抗体が速やかに産生されたと考えられた。また、抗HLA抗体陽性18例中12例でHLA特異抗体が同定され、うち10例(83.3%)にB7関連抗原に対する抗体を認めた。対象の40例についてHLA B locusを評価すると、PRA陰性例のB locusの構成は、B5関連抗原のみが3例(13.6%), B7関連抗原のみが6例(27.3%), B5関連抗原とB7関連抗原の両方を有する症例が13例(59.1%)であった。一方、PRA陽性例のB locusは、13例(72.2%)がB5関連抗原のみで構成されていた。残りの5例(27.8%)についてはB5関連抗原とB7関連抗原の双方を有し、B7関連抗原のみは0例であった。

以上の結果より、抗HLA抗体の産生はrecipientが構成するHLA B locusのタイプが重要な要因であり、特にB5関連抗原のみの構成がハイリスクとなるので、この場合、抗HLA体の産生に対し特に注意が必要と考える。

## 45 牛白血病ウイルスによる白血病発症の感受性を規定するウシMHCクラスII遺伝子

○間陽子, 竹嶋伸之輔

理研・筑波研

### 【目的】

ウシMHC (BoLA) クラスII遺伝子, *DRA*, *DRB3*, *DQA1*, *DQB1*, *DQA2* 及び *DQB2* の中で, *DRB3* 遺伝子が最も多型に富み機能的な蛋白質をコードする。本研究と最も近縁なレトロウイルスである牛白血病ウイルス(BLV)感染牛における白血病発症とBoLAクラスII対立遺伝子の関連性を解析した。

### 【方法】

BLV感染未発症および白血病発症牛の*DRB3*第2エクソンの塩基配列をPCR-sequence-based typing法により決定し, アリルを同定した。

### 【結果】

各病態のアリル頻度を調べた結果, 発症牛には*DRB3\*1601*が, 一方未発症健康牛には*DRB3\*14011*が有意に多かった。次に, それらから予測されるアミノ酸配列における各残基の選択圧をadaptsite プログラム(SuzukiとGojobori, 2000)を用いて計算し, 正の選択圧が認められた残基について発症牛と健康牛における頻度をフィッシャーの直接確率検定法で計算し,  $p$ 値が0.01以下となったものを有意と同定した。その結果, Gln- $\beta$ 74, Arg- $\beta$ 77, Val- $\beta$ 78のアミノ酸配列を有するアリルがBLVによる白血病発症に対して抵抗性に, 一方Tyr- $\beta$ 30, Ala- $\beta$ 74, Thr- $\beta$ 77, Tyr- $\beta$ 78のアミノ酸配列を有するアリルは感受性である可能性が示された。さらに, これらの遺伝子型頻度を比較した。74, 77, 78位がGln, Arg, Valである対立遺伝子を少なくとも一つ有する個体の頻度は, 発症牛に比較して未発症健康牛で有意に高かった。一方30, 74, 77, 78位がTyr, Ala, Thr, Tyrである対立遺伝子をホモ接合で有する個体の頻度は発症牛で有意に高かった。これらの74及び78番目のアミノ酸残基は $\beta$ 1ドメインの $\alpha$ -ヘリックス上に, 30番目は $\beta$ シート上に相当し, いずれも抗原認識部位として機能すると推測される。

### 【考察】

BLVによる白血病発症の感受性を*DRB3*遺伝子が規定している可能性が示唆された。

## 46 異なるMHCを有するBLV感染羊の免疫応答

○今内 覚<sup>1,3</sup>, 竹嶋伸之輔<sup>2</sup>, 田島 茂<sup>3</sup>, 岡田幸助<sup>2</sup>, 小沼 操<sup>3</sup>, 間 陽子<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 理研・筑波研

<sup>2</sup> 岩手大・農

<sup>3</sup> 北大・獣医

### 【目的】

ヒツジMHC (*OLA*)クラスII遺伝子群の中で $\beta$ 鎖をコードする*DRB1*は高度に多型性に富み, さらに, 疾患との関連性も強く示唆されている。我々は, *DRB1*の第2エクソンがコードする $\beta$ 鎖の70/71位のアミノ酸残基がR/Kであるアリルをヘテロで保有する個体は牛白血病ウイルス(BLV)誘発性の白血病発症に抵抗性に, 一方, 70/71位がS/Rであるアリルを保有する個体は感受性を示すことを報告している。今回我々は, ヒツジを用いたBLV実験感染を行い, 抵抗性と感受性のアリルによって誘導される免疫応答の差異について比較検討した。

### 【方法：結果】

*OLA-DRB1*第2エクソンの70/71位のアミノ酸残基がRK/RKおよびRK/SRである個体を各2頭ずつ選抜し抵抗性群, SR/SRである個体を4頭選抜し感受性群とし, 各々にBLV感染牛の血液1mlを皮下接種した。接種後51週目までに, 両群においてウイルス動態に明確な差は認められず, そのレベルは低く維持されていた。抵抗性群では, IgM陽性細胞の増加と中和抗体の上昇が観察された。一方, 感受性群は, リンパ球幼若化試験においてBLV抗原に対して高反応性を示した。またBLV由来ペプチドを添加した結果, TcおよびBエпит-ペプチドに対し高反応性を示したが, Thエпит-ペプチドに対しては反応は認められなかった。さらに, 感受性群においてBLV抗原によって誘導されるリンパ球幼若化反応系に単クローン性抗体(MHCclassI, classII, CD4, CD8)を添加した。これらの全ての抗体により濃度依存性に増殖反応が抑制されたことから, BLV抗原に対する増殖反応はMHC依存性であることが証明された。

### 【考察】

BLV感染羊においてMHCのアリル間において免疫応答に差異があること, 特に, 抵抗性群ではBLVに対する中和抗体が強く誘導されることが明らかとなった。

## 47 母子間・同胞間マイクロキメリズム (The long term natural feto-maternal microchimerism) について

○丸屋悦子<sup>1)</sup>, 佐治博夫<sup>1)</sup>, 一戸辰夫<sup>1)</sup>, 玉木茂久<sup>2)</sup>,  
渡辺 新<sup>3)</sup>, 小川啓恭<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> HLA研究所, 京大第一内科

<sup>2)</sup> 山田日赤内科

<sup>3)</sup> 中通総合病院小児科

<sup>4)</sup> 阪大第三内科

### 【目的】

同種SCTではHLA適合性が最大の予後要因とされる。適合ドナーが得られない患者には適合性のより良いミスマッチドナーの選択が必須となる。我々は母子間または母体を通じ同胞間に何らかの免疫寛容が成立し、存続すると仮定し、母または母由来非遺伝ハプロタイプミスマッチ同胞が最良のミスマッチドナーと考えている。この仮説を検証するため、免疫寛容の傍証として母子・同胞間の相互micro chimerismを検出し、その頻度および持続期間などを検討した。

### 【方法】

標的alleleとして、子の血中にnon-inherited maternal haplotype由来allele (NIMHA)が、また母血中に子に遺伝したpaternal haplotype由来 alleleを選択した。子(母)の爪DNAを体細胞コントロールとした。1st PCRは標的に選択したHLA locus specific primerを用い、産物を滅菌蒸留水で $10^2 \sim 10^4$ に希釈し、2nd PCRはallele specific primerを用いて行なった。爪由来DNA陰性で、末梢血由来DNAから特異的増幅産物が得られた場合をmicro chimerism陽性とした。感度は1st PCRにアプライできる鋳型DNA量に依存し、 $10^{-3} \sim 10^{-5}$ であった。

### 【結果・考察】

52例の母子間・同胞間 (132人) を検査した結果、28例 (54%) に母児双方向のmicro chimerismが検出された。Micro chimerismが母に検出され子に検出されなかった例が10例 (19%) で、その逆が5例 (10%) で、双方向とも検出されなかった例が9例 (17%) であった。母子では最長50年、同胞では25年間micro chimerismが存続していることが解った。今後、micro chimerismの有無と移植成績の相関を検討したい。

## 48 小児同種免疫感作：造血幹細胞移植後の輸血による

○安田広康<sup>1)</sup>, 大戸 齊<sup>1)</sup>, 菊田 敦<sup>2)</sup>, 鈴木 仁<sup>2)</sup>,

<sup>1)</sup> 福島医科大学 輸血・移植免疫部

<sup>2)</sup> 同大学 小児科

### 【目的】

造血幹細胞移植後の同種免疫応答に、同種または自己由来免疫担当細胞の反応性に違いがあるかをHLA抗体またはHPA抗体感作頻度からプロスペクティブに検討した。

### 【対象】

1995年から2000年までの5年間に、同種 (allo-PBSCT 7例, allo-BMT 17例) と自己 (auto-PBSCT 16例) の造血幹細胞移植を施行した血液疾患30例、固形腫瘍10例、計40例の小児を対象とした。観察期間は中央値で6 (2-136)週。

### 【方法】

HLA抗体の検出は6種のパネル・リンパ球によるLCT法, AHG-LCT法を用い、HPA抗体は3種のパネル血小板によるMPHA法を用いて2週間に1度定期的に施行した。輸血はすべてベッドサイドにて白血球除去フィルターを用いて施行した。

### 【結果】

同種造血幹細胞移植(Allo-)群(n=24)および自己造血幹細胞移植(Auto-)群(n=16)のいずれの群においても、HLA抗体およびHPA抗体は検出されなかった。輸血には、Allo-群では中央値6(2-44)週の観察期間に赤血球4(0-112)単位、ドナー数4(0-60)、血小板145(50-1485)単位、ドナー数19(7-131)が使用された。Auto-群では中央値7(2-136)週間に赤血球8(1-141)単位、ドナー数8(1-80)、血小板235(50-1455)単位、ドナー数21(5-94)が使用された。

### 【考察・結語】

小児における造血幹細胞移植後の輸血による同種免疫感作は、Allo-またはAuto-の移植に関わらず認められなかったことから、白血球除去フィルターが1次免疫応答をほぼ抑制していることが再確認された。また、造血幹細胞移植に伴う免疫抑制剤や化学療法が移植後のAllo-またはAuto-の免疫担当細胞にも抑制的に作用し、同種免疫応答を抑制している可能性が示唆された。

## 49 移植腎の急性および慢性拒絶反応に関わるT細胞の比較解析

○小幡文弥<sup>1)</sup>, 池田幸代<sup>1)</sup>, 大久保みどり<sup>2)</sup>, 篠原信賢<sup>2)</sup>, 斉藤 毅<sup>3)</sup>, 吉田一成<sup>3)</sup>, 馬場志郎<sup>3)</sup>, 遠藤忠雄<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 北里大学医療衛生学部臨床免疫学

<sup>2)</sup> 同医学部免疫学

<sup>3)</sup> 同医学部泌尿器科学

<sup>4)</sup> 埼玉中央病院

### 【目的】

臓器長期生着の妨げとなる慢性拒絶反応の解明と克服は、現在の移植医療の重要課題である。腎移植後の慢性拒絶反応に関わるT細胞の性質、特にTh1/Th2バランスおよびT細胞クロナリティーについて、急性拒絶反応との比較解析を行った。

### 【方法】

北里大学病院で腎移植を受けた患者につき、拒絶反応に伴って施行されたバイオプシー試料を用いた。バイオプシー試料からRT-PCRにより、TCRAC, TCRBC, CD4, CD8, IFN- $\gamma$ , IL-4各mRNAの発現量を測定した。クロナリティー解析は、28種のTCRV遺伝子を結合させたナイロン膜とのハイブリダイゼーションにより行った。

### 【結果・考察】

TCR定常域の増幅量から $\alpha\beta$ T細胞の浸潤程度を検討した結果、陰性対照としての1 hour バイオプシー群(1h群=7例)に比較し、急性拒絶反応群(AR群=8例)および慢性拒絶反応群(CR群=6例)はともに同程度の増加を認めた。CD4<sup>+</sup>およびCD8<sup>+</sup>T細胞に関しても、AR/CR両群は1h群に比べ同程度の増加を示した。慢性拒絶反応は、非免疫学的な組織傷害であるとの見解もあるが、今回の結果は、免疫系細胞が慢性拒絶反応に関与する事を示す所見と言える。Th1細胞の指標であるIFN- $\gamma$ の産生は、AR/CR両群はいずれも1h群より有意に高かったが、AR/CR群間では差がなかった。

一方Th2細胞の指標であるIL-4の産生は、AR群では全く検出されず、CR群においてのみ検出された(6例中2例)。これらの症例では、慢性拒絶反応にTh2型免疫応答が関与した事を示唆する。

浸潤T細胞のクロナリティーについて、TCRV遺伝子の多様性から検証した結果、AR/CR両群において、多クローン性症例または少クローン性症例の双方が観察された。バイオプシー試料と末梢血との間のV遺伝子頻度との差は、AR群で大きい傾向を認め、拒絶反応の場に局在するT細胞クローンが多いことを示唆した。

## 50 血小板輸血におけるHLA-C座抗原適合の必要性

○斉藤 敏, 大田 智, 瀬下秀幸, 山崎雄一郎, 野村節夫

長野県赤十字血液センター

### 【はじめに】

HLA-C抗原はこれまで、血小板輸血効果にほとんど影響を与えないと報告されていたが、第24回国際輸血学会で我々はHLA-C座不一致が血小板不応答を引き起こしたと思われる3症例を報告した。今回これらの症例に新たな3症例を加えた6症例についてHLA-C座の適合性と血小板輸血効果につき検討を行ったので報告する。

### 【材料と方法】

HLAタイピングはLCTとPCR-SSPを実施した。抗HLA抗体の検出にはLCT, AHG-LCT, クロロキン未処理MPHA(NT-MPHA)及び酸未処理FCM(NT-FCM)を実施した。血小板抗体の検出にはクロロキン処理MPHA(T-MPHA)と酸処理FCM(T-FCM)を実施した。輸血効果はCCI<sub>24h</sub>により評価しt-testを用いた統計処理を行った。

### 【結果】

AHG-LCT, NT-MPHA, NT-FCMによるスクリーニングで患者血清中に抗Cw3, 抗Cw3+抗Cw7, 抗Cw7, 抗Cw8抗体のいずれかの抗体が検出された。一方LCTではこれらC座に対する抗体は検出できなかった。全ての患者においてHLA-A, B適合, C不適合の血小板輸血でCCI<sub>24h</sub>が低く、HLA-A, B, C座を適合させた血小板輸血で高いCCI<sub>24h</sub>を得る事ができた( $P < 1.7 \times 10^{-28}$ )。

### 【結語・考察】

これまで血小板輸血に際しHLA-C座を適合させることは不必要と考えられていたが、C座抗原を適合させなければ血小板輸血効果がない症例が抗HLA抗体保有患者88症例中6例(6.8%)に認められた。複数のHLA-C抗原との連鎖不平衡が報告されているB60, B61を持つ患者において抗Cw8抗体を産生した症例と抗Cw3抗体を産生した症例が認められたことから、患者がこのようなB抗原を持つ際には特にC抗原に注意する必要があると思われる。

## 51 TNF $\alpha$ , TNFR2遺伝子多型の移植への影響

○柏瀬 貢一, 石川 善英, 赤座 達也, 十字 猛夫  
日本赤十字社中央血液センター 研究部

### 【目的】

骨髄移植においてHLAの適合度は最も重要な因子であるが、HLAの適合度だけでは移植成績は説明できない。これにはマイナー抗原や免疫反応の個体差が関与していると考えられる。そこで免疫反応に関与している分子のうち、日本人で多型が報告されているTNF $\alpha$  (TNFA) とその受容体であるTNFR2 (TNFR2) の遺伝子タイプの骨髄移植への影響を解析した。

### 【方法】

非血縁者間骨髄移植を行った463例を対象とした。PCR-SSOP (sequence-specific oligo nucleotide probes) 法を用いてTNFAとTNFR2のタイピングを行った。日本人において比較的頻度の高い多型として、TNFAは上流域、-1,031, -863, -857の変異の組み合わせから4種類の遺伝子タイプ (U01,U02,U03,U04) が、TNFR2はコーディング領域の196番目のアミノ酸にM (ATG)  $\rightarrow$  R (AGG) 変異が報告されている。そこで、これらの遺伝子タイプをTNFAは5種類、TNFR2は2種類のプローブを用いたPCR-SSOP法により決定した。

遺伝子タイプと移植との関連について3度以上のGVHD発生率、再発率および無病生存率を解析した。

### 【結果】

患者あるいはドナーが、TNFAのU02およびU03を持つ場合、HLAの適合度とは独立的にGVHDの発生率は高く、再発率は低かった。また患者がTNFR2-Rを持つ場合再発率が高かった。TNFA, TNFR2多型の生存率への影響は認められなかった。

### 【考察】

TNFA-U01に比べてU02およびU03はTNF $\alpha$ 高産生型と報告されている。TNF $\alpha$ は広範囲にわたってproinflammatoryに働くサイトカインであるため、産生量が高いとされるU02およびU03を持つ場合GVHDの発生率が高くなったと思われる。さらにその効果がGVLに働き再発率を低下させたと考えられる。一方、TNFR2について196番目のアミノ酸変異と機能変化について詳細な報告はないが、患者が196Rを持つと再発率が有意に高くなる事が示唆された。

## 52 TNF- $\alpha$ プロモータ多型は腎移植成績と関連するか

○酒巻建夫, 野田岳, 山崎正明, 飯田好江  
国立佐倉病院・HLA検査室, 臨床研究部

### 【目的】

腎移植患者の長期生着には拒絶反応、腎炎の再燃、感染症、薬剤の副作用などさまざまな要因が関与している。組織適合もそのうちの1つの重要な要因になっている。一方ではレシピエントの遺伝的背景の寄与についてはまだ必ずしも明らかではない。今回TNF- $\alpha$ プロモータ多型が移植成績に関係するかどうかを検討した。

### 【方法】

本院の生体及び死体腎移植患者40名を対象にして抹消血よりDNAを抽出した。HLA-DR, クラスIII領域のTNF- $\alpha$ プロモータ, 第17染色体のACE遺伝子のイントロン16の多型を主にPCR-SSP法を用いて調べた。A,B抗原については血清法で疑義のある検体についてDNA法を実施した。健常人228名を対照群とした。TNFプロモータ多型は徳永らの方法により分類した。腎機能は血清クレアチニン値1.5を基準として経過良好群と不良群に分類した。

### 【結果および考察】

症例数が少ないので移植患者群で頻度の高いHLA抗原について調べると、40名中B51, B35が11名、8名とやや多いが、B52は6名と少ないが、移植成績とは関連が認められなかった。DR4の頻度も19名(48%)に認められやや高い傾向があった。経過良好群21名と不良群19名ではDR4あるいはDRB1\*0405, DR9共に差がなかったが、DR8では経過良好群には7名、不良群には1名が認められた。この点については単なる偶然であるのか今後も追跡する必要がある。腎移植希望登録患者ではDR4の表現が10%近く多いという偏りが見られるが移植患者群のTNF- $\alpha$ プロモータ多型の偏りは認められなかった。すなわち患者群、健常群それぞれの表現頻度はU01は93%と90%, U02は33%と33%, U03は25%と26%であった。経過良好群と不良群間でも差が認められなかった。このことから移植患者の予後に対してはTNF- $\alpha$ のプロモータ多型の関与は少ないと考えられた。またACE多型に差は認められなかった。本研究は国立病院・療養所治療共同臨床研究(坂本班)の一環として行われた。