

MHC

Major Histocompatibility Complex

日本組織適合性学会誌 第8巻第3号 平成14年1月31日発行

Contents

第11回日本組織適合性学会大会のご案内	166
第6回HLA DNAタイピングQCワークショップのご案内	172
平成14年度 認定HLA検査技術者特例認定実施要領	173
平成14年度 認定組織適合性指導者資格特例認定実施要領	174
〔原著論文〕日本人集団を対象とした HLA-A、B、DRの SSOP タイピング法 坂内 誠、柏瀬貢一、石川善英、赤座達也、十字猛夫	175
〔原著論文〕 Association between HLA class II genotypes and IgA nephropathy in Japanese patients Toshiaki Hiratsuka, Hidetoshi Kaneoka, Satoshi Etoh, Ritsuya Noda Satoru Ogahara, Toshiaki Murata, Isao Michinaga, Sigeo Takebayashi and Setsuya Naito	187
〔最新情報：“玉手箱”〕日本における腎移植の現状	両角國男 199
〔シリーズ：HLA研究者の個人史〕	辻 公美 207
日本組織適合性学会 会告	219
日本組織適合性学会 会則変更について	221
日本組織適合性学会 平成13年度予算案	222
日本組織適合性学会 平成12年度決算報告書	223
公示 認定 HLA検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則	224
公示 組織適合性技術者認定制度委員会細則	229
〈日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定〉	232
編集後記	234

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

JSHI

A. 第11回日本組織適合性学会大会演題申込票 * 受付番号

(*以外は各自ご記入下さい)

演 題:

発表者氏名:
(全 員)

演者所属:

演者連絡先: 〒

TEL

FAX

演題申込み: e-mail ・ フロッピーディスク (どちらかに○)

B. 第11回日本組織適合性学会大会演題受領通知書

(*以外は各自ご記入下さい)

* 受付番号

* 受 付 月 日

演題

発表者 (演者のみ)

上記演題抄録原稿を受領しました。

平成14年 月 日

第11回日本組織適合性学会大会
大会長 前 田 平 生

(注意: 裏面の住所・氏名を必ず記入して50円切手を貼付してください)

C. 第11回日本組織適合性学会大会演題採用通知書

(*以外は各自ご記入下さい)

* 受付番号

演題

発表者 (演者のみ)

発表時間は下記の通りに決定致しました。

平成14年 月 日

* 演題番号

* 日 時 9 月 日

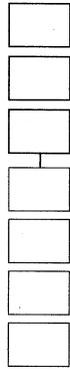
* ポスター・口演

第11回日本組織適合性学会大会
大会長 前 田 平 生

(注意: 裏面の住所・氏名を必ず記入して50円切手を貼付してください)

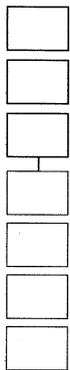
50円切手
をはって
下さい。

郵便はがき



50円切手
をはって
下さい。

郵便はがき



〒350-85550

埼玉県川越市鴨田辻道町一九八一
埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部
第十一回日本組織適合性学会大会
大会長 前田 平生

殿

〒350-85550

埼玉県川越市鴨田辻道町一九八一
埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部
第十一回日本組織適合性学会大会
大会長 前田 平生

殿

第6回HLA DNAタイピングQCワークショップ

参加申込書

申込送付先：FAX: 049-226-3091 TEL: 049-228-3506

〒350-8550 埼玉県川越市鴨田辻道町1981

埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部

日本組織適合性学会 HLA標準化委員会

委員長 前田 平生 宛

いずれかに○を付けて下さい。 (継続 新規) (個人 施設)

施設名 _____

部署 _____

氏名 _____

住所 〒 _____

電話 _____ 内線 _____

F A X _____

Eメール _____

※氏名とは、施設長・所属長などの代表者名ではなく、実際にDNAサンプルや資料などを受け取ってQCワークショップに参加される方の全員のお名前です。

- 参加費： 1. 個人参加 2,000円 1名のみ参加
2. 施設参加 10,000円 5名まで参加可能

振込口座：

銀行名：東京三菱銀行 東海大学病院出張所

口座番号：普通口座 310405

名義：JSHI事務局 猪子英俊

(注) 本年度から振込口座が変更になりました。

コメント： _____

平成14年度認定 HLA 検査技術者特例認定申請書

認定HLA検査技術者特例認定の申請をいたします。

※申請番号

平成 年 月 日申請

フリガナ		性別	<div style="border: 1px solid black; padding: 10px; width: 100%;"> <p style="font-size: 1.2em; margin: 0;">写真を貼付</p> <p style="font-size: 0.8em; margin: 5px 0 0 20px;">申請日前6カ月以内に撮影されたもので大きさは4×3 cm</p> <p style="margin: 10px 0 0 20px;">平成 年 月 日撮影</p> </div>	
申請者氏名	(印)	男・女		
生年月日	(歳)			
本籍地 (都道府県名)				
フリガナ				
現住所				
電話	()			
フリガナ				
勤務先名				
フリガナ				
勤務先住所				
電話	()	ファックス	()	
電子メール	@			

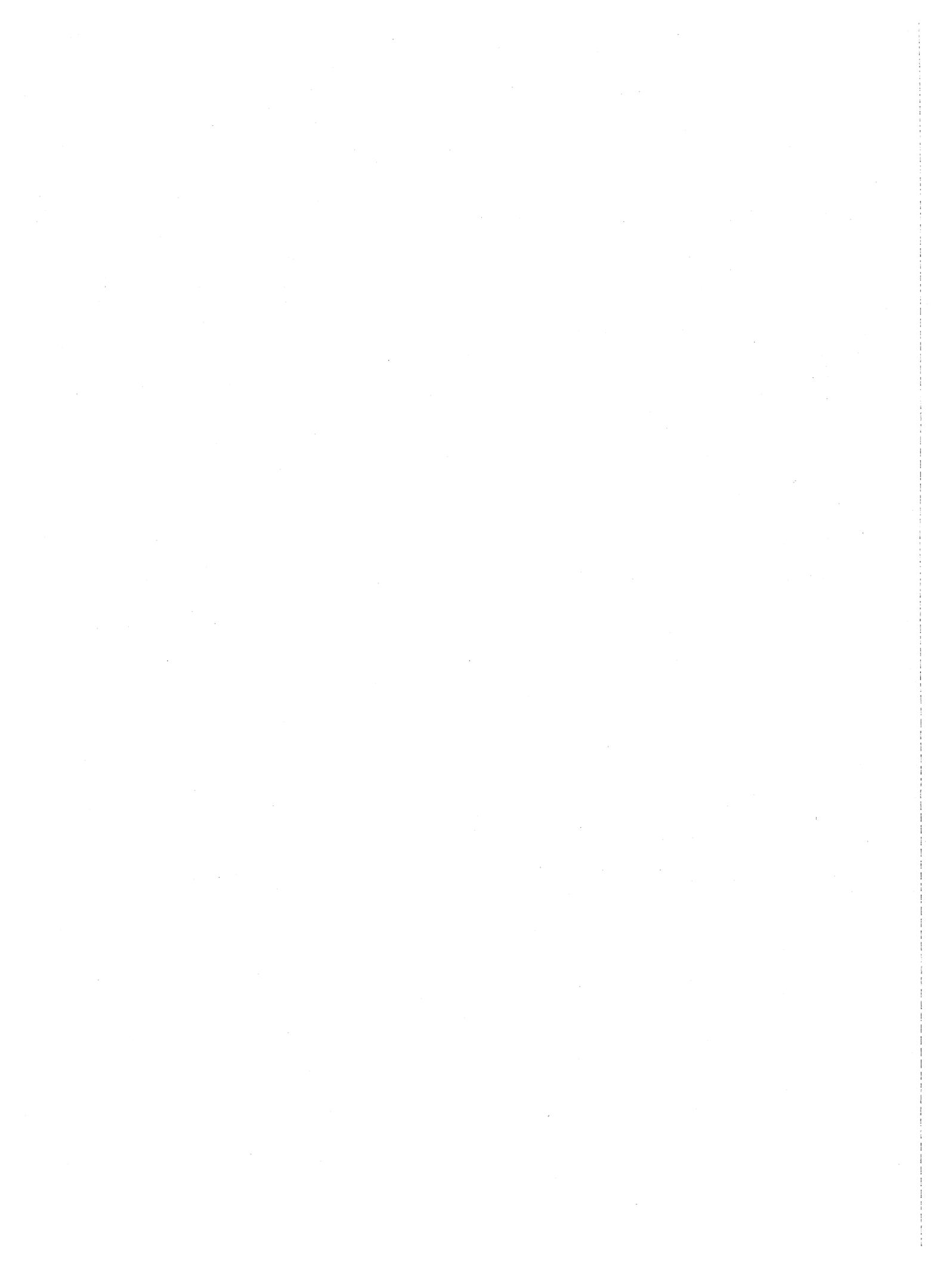
注 太枠内の必要事項を楷書で記入すること。※欄は記入しないこと。

※受付日

※書類の不備

※認定証番号・発行日

切り取り線



平成14年度認定組織適合性指導者特例認定申請書

認定HLA検査技術者特例認定の申請をいたします。

※申請番号

平成 年 月 日申請

フリガナ		性別	写真を貼付 申請日前6カ月以内に撮 影されたもので大き さは4×3 cm 平成 年 月 日撮影
申請者氏名	Ⓜ	男・女	
生年月日	(歳)		
本籍地 (都道府県名)			
フリガナ			
現住所			
電話	()		
フリガナ			
勤務先名			
フリガナ			
勤務先住所			
電話	()	ファックス	()
電子メール	@		

注 太枠内の必要事項を楷書で記入すること。※欄は記入しないこと。

※受付日

※書類の不備

※認定証番号・発行日

資格審査基準証明書

申請日：平成 年 月 日

申請者名			
生年月日	昭和	年	月 日
勤務先			
勤務先住所			
電話番号			
1	日本組織適合性学会会員歴	年 月加入	申請日までの会員歴通算 年
2	QCワークショップ参加歴		申請日までの参加歴通算 年
3	組織適合性関連業務歴 (内訳)		申請日までの業務歴通算 年
4	講習会参加歴	平成	年 月参加
5	総取得単位数		単位
(内訳)	原著論文		単位
	著書		単位
	学会発表		単位
	学会参加		単位
	講習会		単位
	QCワークショップ集会参加		単位
	実技研修会		単位
以上、相違ないことを証明します。			
平成 年 月 日			
申請者名			(印)
所属長名			(印)
(職名)			

切り取り線

単位内訳書 (原著論文・総説)

申請者名

(別記様式第2の2)

番号	著者名	題名	発表雑誌名	巻	ページ	発行年

切り取り線

単位内訳書 (著書・総説)

(別記様式第2の3)

申請者名

番号	著者名	題名	本名	出版社名	ページ	発行年

単位内訳書 (学会発表)

申請者名

(別記様式第2の4)

番号	発表者名	題名	学会名	開催地	抄録	巻	ページ	発行年

切り取り線

貼 付 用 台 紙

(この用紙に学会参加証及び講習会参加証の写しを貼付してください。)

A large, empty rectangular box with a solid black border, intended for pasting certificates. The box occupies most of the page's vertical space below the instructions.

切
り
取
り
線



Contents

第11回日本組織適合性学会大会のご案内	166
第6回HLA DNAタイピングQCワークショップのご案内	172
平成14年度 認定HLA検査技術者特例認定実施要領	173
平成14年度 認定組織適合性指導者資格特例認定実施要領	174
〔原著論文〕日本人集団を対象としたHLA-A、B、DRのSSOPタイピング法 坂内 誠、柏瀬貢一、石川善英、赤座達也、十字猛夫	175
〔原著論文〕Association between HLA class II genotypes and IgA nephropathy in Japanese patientsToshiki Hiratsuka, Hidetoshi Kaneoka, Satoshi Etoh, Ritsuya Noda Satoru Ogahara, Toshiaki Murata, Isao Michinaga, Sigeo Takebayashi and Setsuya Naito	187
〔最新情報：“玉手箱”〕日本における腎移植の現状	199
〔シリーズ：HLA研究者の個人史〕	辻 公美 207
日本組織適合性学会 会告	219
日本組織適合性学会 会則変更について	221
日本組織適合性学会 平成13年度予算案	222
日本組織適合性学会 平成12年度決算報告書	223
公示 認定HLA検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則	224
公示 組織適合性技術者認定制度委員会細則	229
<日本組織適合性学会誌MHCの投稿規定>	232
編集後記	234

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

JSHI

第11回日本組織適合性学会大会のご案内

第11回日本組織適合性学会大会

大会長 前田 平生

皆様には益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。

第11回日本組織適合性学会大会を下記の要領で開催致します。多くの皆様のご参加をお待ち致しております。

会 期：大会 2002年9月24日（火）～25日（水）

尚、HLA DNAタイピングのQCワークショップおよび認定講習会は、前日の9月23日（月：祝日）に同所で行います。

会 場：川越プリンスホテル プリンホール

〒350-8501

埼玉県川越市新富町1-22

TEL：049-227-1111 FAX：049-227-1110

HP：川越市 www.city.kawagoe.saitama.jp/

川越プリンスホテル www.princehotels.co.jp/kawagoe/

交 通：

1) JR埼京線・川越線（恵比寿-新宿-大宮-川越駅間）

新宿－川越 約51分（通勤快速）

池袋－川越 約45分（通勤快速）

大宮－川越 約18分

JR東日本時刻表 www2.jreast.co.jp/estation/station_time/index.asp

2) 東武東上線（池袋-川越市駅間、営団地下鉄有楽町線が乗り入れ）

池袋－川越 30分（急行・特急）

和光市－川越 17分（急行）

有楽町－和光市 38分

東武鉄道時刻表 www.tobu.co.jp/train/time/index.html

3) 西武新宿線（西武新宿－本川越駅間）

西武新宿－本川越 43分(特急小江戸号)

西武新宿－本川越 45～57分(急行等)

所沢－本川越 21分

西武鉄道時刻表 www.seibu-group.co.jp/timemenu/index.html

駅から会場まで：

川越プリンスホテルの1階が西武新宿線本川越駅。

JR線、東武東上線の川越駅から徒歩10分

(御注意) 川越駅 (JR線、東武線) および川越市駅 (東武線) は、会場のある本川越駅とは約600mほど離れています (鉄道では直結していません)

自家用車：

関越自動車道練馬IC－川越IC間約20km。

川越ICから3km (非混雑時10分)。

ホテル有料駐車場330台 (お願い：休日は公共交通を御利用ください)

I. 大会内容

今回は以下のような学術プログラムを予定しています。

1. 特別講演

仮題「日本人の起源」 宝来 聰先生 (総合研究大学院大学教授)

2. シンポジウム／ワークショップ

1 「細胞治療：現時点での治療成績と今後の展開」

2 「移植医療とHLA」

3 「HLAタイピング・移植検査の最前線」

3. 教育講演

4. 一般演題 (口演またはポスター)

今回は口演形式の発表を出来る限り多数の方にして頂けるようプログラム編成を行います。発表形式 (口演発表とポスター発表) につきましてはプログラム委員会に一任下さいますようお願いいたします。

5. その他：ランチョンセミナー等を企画しております。

II. 演題抄録申し込み要項

1. 申し込み方法

e-mailにtext形式の添付文書（E方式）でお申し込みください。この方法に不馴れな場合にはフロッピーディスク郵送の方式（F方式）があります。E方式にかえてホームページからの入力方式（H方式）のシステムは（11月末現在）作成中のため、後日、ホームページ上でお知らせいたします。

尚、演題抄録（イ）と演題申込票（ロ）はどなたにも共通です。

1) 演題抄録（紙）および演題申込票（はがき）

- ・演題名、発表者名（実際の演者を必ず先頭にして下さい）、所属、キーワード3個、発表希望形式（口演希望かポスター希望か）、本文の順に記載して下さい。
- ・本文は、800字以内で、英数字は半角文字を使用して下さい。
- ・文字は明朝体、12pt活字を使用して下さい。特殊文字は表記できません。
- ・A4版でプリントアウトした（イ）演題抄録原稿3部（原本1部とコピー2部）と（ロ）演題申込票に必要事項をご記入の上第11回大会事務局（下記）までお送り下さい。

E. e-mailにtext形式の添付文書（E方式）

（イ）演題抄録と同じ内容をテキスト形式に保存して、e-mailで第11回大会事務局アドレス（下記）にお送り下さい。

- 1) 差出人は発表演者と一致させ全部半角英字ローマ字で表記して下さい。
- 2) 内容は全部半角英字で11thHLAAbstにして下さい。2題以上申し込まれる方は、11thHLAAbst1、11thHLAAbst2...のようにお願いします。
- 3) ファイル名は全部半角英字で11thHLAローマ字演者名でお願いします。
例 11thHLAKawagoeTaro
- 4) 受け取り後、第11回大会事務局から確認のe-mailを送りますので差出人のe-mailアドレスが正しいことを御確認ください。
- 5) 添付ファイルが大会事務局で開けられなかった場合には個別に御連絡いたします。
- 6) e-mail送信の同日に（イ）演題抄録（紙）および（ロ）演題申込票（はがき）も郵送して下さい。

F. フロッピーディスク（3.5インチ、2HD）（F方式）

下記のファイルをテキスト形式に保存して、お送り下さい。

なお、ディスクには所属、氏名、使用したワープロソフト、システム名（Windows、Macintosh等）を記載して下さい。

- ・演題抄録（ファイル名はローマ字の発表者氏名にしてください）

(例 KawagoeTaro、2題以上申し込む時は1,2.....を付ける)

(御注意) (イ) 演題抄録(紙) および (ロ) 演題申込票(はがき) とともに郵送して下さい。

2) 演題抄録受領通知と発表形式通知

(ハ) 演題抄録受領通知及び (ニ) 発表形式通知のはがきに切手を貼り必要事項をご記入の上、提出して下さい。

(御注意) E形式申し込みの場合でも第11回大会事務局からe-mailの返事は初回の受領確認だけになりますので、(イ) (ロ) とともに (ハ) (ニ) はがきも必要です。

2. 演題申し込み締め切り日

2002年4月30日(消印有効)

3. 演題抄録申し込み先

〒350-8550 (施設固有番号)

埼玉県川越市鴨田辻道町1981

埼玉医科大学総合医療センター 輸血・細胞治療部内

第11回組織適合性学会大会事務局

e-mail : smchla@saitama-med.ac.jp

4. 研究発表形式通知

研究発表形式および発表日時につきましては、2002年6月中旬に通知致します。

Ⅲ. 大会参加

大会参加費(7,000円)は大会当日受付でお支払い下さい。

ネームカード(領収書兼用)をお渡し致します。ネームカードがないと会場には入れません。

Ⅳ. 懇親会

2002年9月24日(火)、18時頃より懇親会を開催致します。学会受付にて大会参加費をお支払いの際に、お申し込み下さい。懇親会費は3,000円です。

V. 宿泊と航空券等のご案内

今回は特定の旅行会社に依頼をいたしておりません。インターネット等を御利用の上、各自お手配くださいます様お願いいたします。

御参考：川越プリンスホテル www.princehotels.co.jp/kawagoe/

〒350-8501埼玉県川越市新富町1-22 (大会会場)

TEL：049-227-1111 FAX：049-227-1110

川越東武ホテル www.tobu.co.jp/hotel/kawagoe/index.html

〒350-1122埼玉県川越市脇田町29-1 (会場まで徒歩 3分)

TEL：049-225-0111 FAX：049-225-0607

JR各社 www.jr.cyberstation.ne.jp/

全日空 www.ana.co.jp/

日本航空 www.jal.co.jp/

VI. 大会についてのお問い合わせ

〒350-8550 (施設固有番号)

埼玉県川越市鴨田辻道町1981

埼玉医科大学総合医療センター 輸血・細胞治療部内

第11回日本組織適合性学会大会事務局

TEL：049-228-3506 FAX：049-226-3091

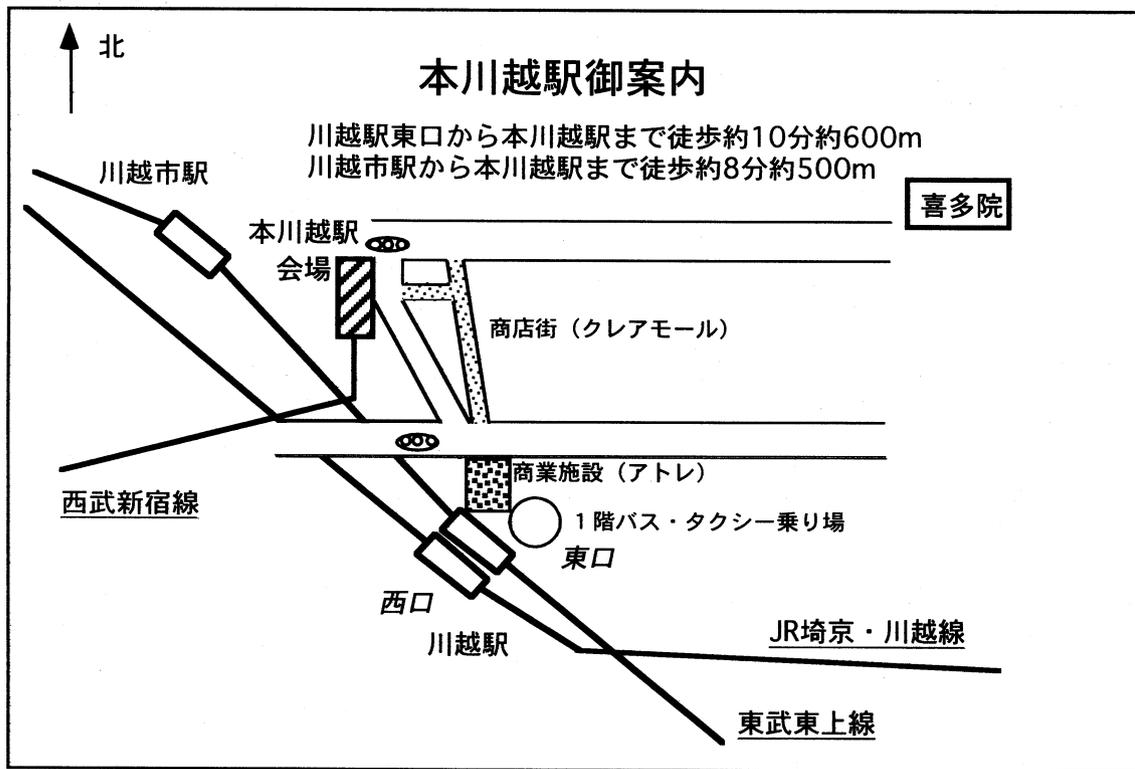
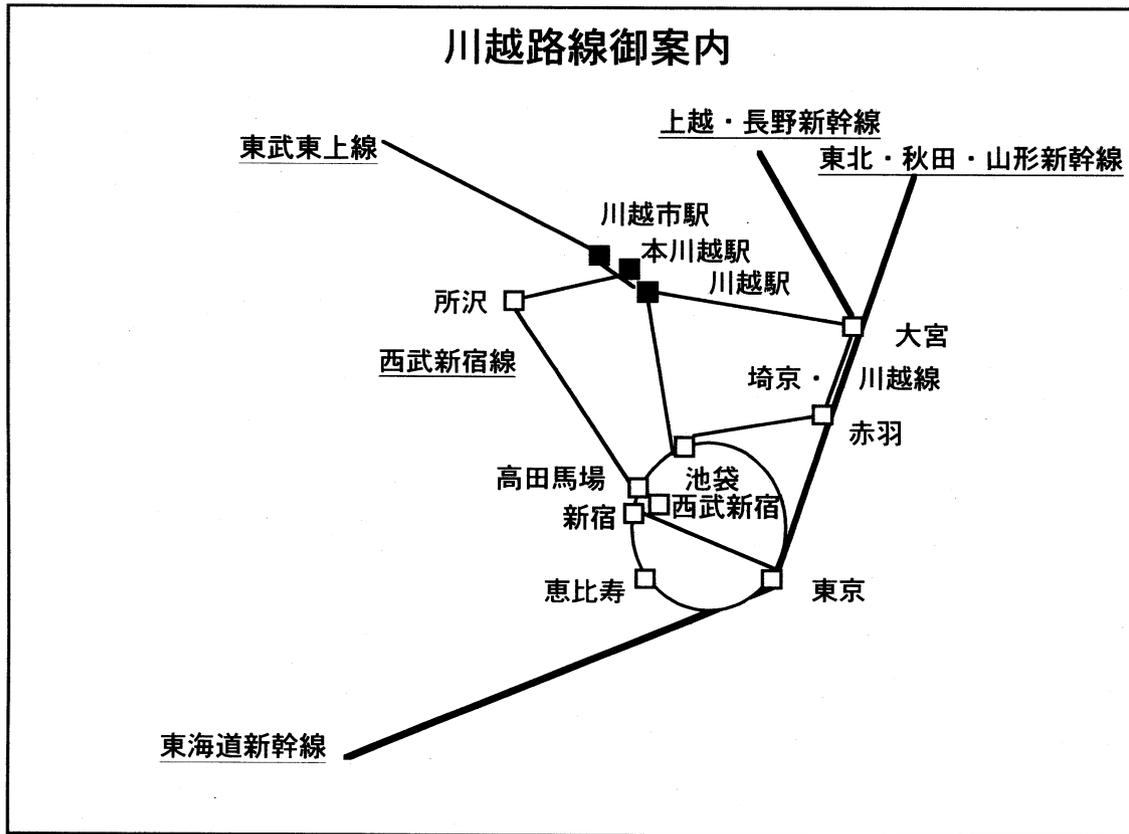
E-mail：smchla@saitama-med.ac.jp

HP：www.saitama-med.ac.jp/kawagoe/index.html

(できるだけFAXまたはE-mailを御利用ください)

VII. その他

- 1) HLA DNAタイピングのQCワークショップおよび認定講習会は本号別項にて御案内いたしております。
- 2) その他の情報に関しては、今後学会誌MHC誌上および日本組織適合性学会ホームページ上で更新して参ります。



第6回HLA DNAタイピングQCワークショップのご案内

日本組織適合性学会
HLA標準化委員会
委員長 前田平生

拝啓 寒気厳しき折柄、先生方におかれましてはご健勝にてご活躍のこととお慶び申し上げます。

さて、日本組織適合性学会では、例年通り、タイピング技術・データの信頼性向上を目的に、DNAタイピングのクオリティコントロール（QC）ワークショップを下記の要領で開催いたします。本ワークショップの成果は第11回日本組織適合性学会大会前日に討議されます。

多数の皆様の参加をお待ちしております。

尚、QCワークショップへの参加は、昨年と同様に有料とさせていただきます。
(個人参加 2,000円 1名参加のみ、施設参加 10,000円 5名まで参加可能)

敬具

記

1. スケジュール

平成14年3月中 血液（DNA）サンプルの配布（6種類を予定）
平成14年5月下旬 データ提出締め切り

2. 参加申し込み

別紙の申し込み用紙に必要事項を記入の上、FAXまたは郵送にてお送り下さい。

その際、下記の口座に参加費の振込をお願いいたします。振込の控えをもって領収書とさせていただきますが、必要な方はコメント欄にその旨お書き下さい。

締め切り日は、平成14年2月28日（木）です。

3. 振込口座

銀行名：東京三菱銀行 東海大学病院出張所
口座番号：普通口座 310405
名義：JSHI事務局 猪子英俊

(注) 本年度から振込口座が変更になりました。

平成14年度 認定 HLA 検査技術者特例認定実施要領

日本組織適合性学会
 会長 猪子 英俊
 組織適合性技術者認定制度委員会
 委員長 佐治 博夫

認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則（以下「規則」という。）に基づき認定 HLA 検査技術者資格特例認定を下記のごとく実施する。また、この特例認定は、本年度に限って実施する。なお、この資格特例認定では、規則第 9 条第 4 項の試験が免除される。実技研修は、講習会の前に受講しておかなければならない。なお、研修場所・日時に関しては後日申請者に文書で通知する。平成 15 年度に受験を予定している者は、講習会のみ今年度に受講しておくこと。平成 16 年度以降に受験を予定している者も講習会の受講は可能である。

- 1 申請資格： 規則第 8 条第 1 項の資格条件を満たす者。ただし、第 3 号は除く。なお、第 2 号の業務とは、組織適合性に関する検査、研究及び教育をいう。
- 2 申請書提出期限： 平成 14 年 6 月 21 日（金曜日）までに到着するよう簡易書留で下記の事務局へ送付すること。
- 3 申請書送付先： 〒259-1193 神奈川県伊勢原市望星台
 東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門内
 組織適合性技術者認定制度委員会事務局
 電話 0463-93-1121 内線 2653
- 4 提出書類： (1) 認定 HLA 検査技術者特例認定申請書と別記様式第 2
 (2) 申請料振り込み用紙の写し
 (3) 80 円切手を貼った返信用封筒
 必要な申請書類は本誌に綴じ込められている。なお、別記様式第 2 の 5 の貼付用台紙には学会参加証などのコピーを貼り付けること。ただし、講習会修了証の添付は不要である。また、過去の学会参加証がないものについても単位計算に算入してよいが、学会参加証の添付は必ずしも必要ない。
- 5 申請料： 20,000 円
 振込先
 東京三菱銀行東海大学病院出張所
 普通預金 311804
 JSHI 認定制度委員会事務局 猪子 英俊
 いったん納入した受験料は返却しない。
- 6 講習会： 日時：平成 14 年 9 月 23 日（月曜日）16 時～18 時（予定）
 会場：川越プリンスホテル
 参加費：未定
- 7 実技研修会： 日時、場所等は申請者に文書で通知する。

平成14年度 認定組織適合性指導者資格特例認定実施要領

日本組織適合性学会
 会長 猪子 英俊
 組織適合性技術者認定制度委員会
 委員長 佐治 博夫

認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則（以下「規則」という。）に基づき認定組織適合性指導者資格特例認定を下記のごとく実施する。また、この資格特例認定は、平成 14 年度と 15 年度の 2 年間に限って実施する。なお、この資格特例認定では規則第 13 条第 2 項の試験が免除される。

- 1 申請資格： 規則第 12 条第 1 項の資格条件を満たす者。ただし、第 1 号及び第 4 号は除く。なお、第 3 号の業務とは、組織適合性に関する検査、研究及び教育をいう。
- 2 申請書提出期限： 平成 14 年 6 月 21 日（金曜日）までに到着するよう簡易書留で下記の事務局へ送付すること。
- 3 申請書送付先： 〒259-1193 神奈川県伊勢原市望星台
東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門内
組織適合性技術者認定制度委員会事務局
電話 0463-93-1121 内線 2653
- 4 提出書類： (1) 認定組織適合性指導者特例認定申請書と別記様式第 2
(2) 申請料振り込み用紙の写し
必要な申請書類は本誌に綴じ込められている。なお、別記様式第 2 の 5 の貼付用台紙には学会参加証などのコピーを貼り付けること。ただし、講習会修了証の添付は不要である。また、過去の学会参加証がないものについても単位計算に算入してよいが、学会参加証の添付は必ずしも必要ない。
- 5 申請料： 50,000 円
振込先
東京三菱銀行東海大学病院出張所
普通預金 311804
JSHI 認定制度委員会事務局 猪子 英俊
いったん納入した受験料は返却しない。
- 6 講習会： 第 11 回日本組織適合性学会大会中の指定した教育講演

〔原著論文〕日本人集団を対象としたHLA-A、B、DRのSSOPタイピング法

坂内 誠^{1,2)}, 柏瀬貢一¹⁾, 石川善英¹⁾, 赤座達也¹⁾, 十字猛夫¹⁾

¹⁾日本赤十字社中央血液センター, ²⁾東京都赤十字血液センター

(平成13年8月16日受付)

要約

PCR-SSOP法を用い、日本人の多数検体のタイピングに適したHLA-DNA検査法を開発した。洗浄温度をそろえたHLA-A、B、DRB1それぞれ13、24、17(合計54)種のプローブを用いる事により、日本人集団で頻度が0.1%以上のアレルをホモ・ヘテロ接合とも血清学レベル以上で判定できた。アレルや血清型の異なる約100の既知検体を1つの例外を除き正しく判定できた。その1例は、HLA-AのPCRプライマー認識部位に変異が見出されたが、この変異体を考慮した混合プライマーに改良することにより正しく判定できるようになった。また、精製DNA検体のみならず、濾紙採血検体からのタイピングも可能だった。

キーワード：HLA, PCR-SSOP, DNAタイピング法, 日本人集団, 濾紙採血

はじめに

PCR-sequence-specific oligonucleotide probing (PCR-SSOP) 法は、多数検体を目的としたHLA-DNAタイピング法としてすぐれた方法である。しかし、世界中で報告されている多くのアレルを対象として、また、すべての判定をアレルレベルで行おうとすると、多数のプローブを必要とするために非常に煩雑な方法となる。今回、対象となるアレルをHLA-A、B、DRB1座とも日本人集団で通常見られるものに限定し、判定を血清学レベル以上とする事により、プローブ数を最低限に抑えたSSOP法によるタイピングが可能となるか検討を行った。また、採血が容易で輸送・保存に便利な濾紙採血による検体から、本法を用いてのタイピングが可能であるかについても併せて検討を行った。

材料と方法

1. DNAサンプル

DNAサンプルは、QIAamp (Qiagen) で精製したもので、アレルレベルまたは血清学レベルでHLA型既知のものを用いた。濾紙採血の場合は、FTA Paper (Whatman) に血液を滴下、室温で0~14ヶ月保存し、血液浸透部1.2mmΦを0.2ml PCRチューブ中でFTA Purification Reagent (Life Technologies) で3回、続いてPCR緩衝液(80mM Tris-HCl, 2mM MgCl₂, 20mM (NH₄)₂SO₄, pH9.0)で2回洗浄した。

2. PCR

HLA-A及びBはイントロン1と3に設定したプライマー(HLA-Aの場合はA1510-1/AL#AW, HLA-Bの場合はBINT1-57S1/BINT3-2CN3, 表1)でエクソン2から3を含む領域を増幅した。反応液(100μl)は、上記PCR緩衝液, 200μM dNTP, 0.5μM sense及びantisenseプライマー, 4% dimethyl sulfoxide,

代表者連絡先 〒150-0012 渋谷区広尾4-1-31
日本赤十字社中央血液センター研究部研究1課
坂内 誠

電話 03-5485-6009
ファックス 03-3406-7892
E-mail bannai@cbc.jrc.or.jp

表1 プライマーの塩基配列と認識部位

名称	塩基配列	認識部位
A1510-1	AAACSGCCTCTGYGGGGAGAAGCAA	intron 1
*AL#AW (文献4)	TGGCCCCTGGTACCCGT	exon 3 ~intron 3
AL#AWT+1	GTGGCCTCTGGTACCCGT	exon 3 ~intron 3
BINT1-57S1	AGGAGMRAGGGGACCGCAG	intron 1
BINT3-2CN3	AGGCCATCCCCGSCGACCTAT	intron 3
*DRBAMP-C (文献5)	TCGTGTCCCCACAGCACGT	intron 1 ~exon 2
*DRBAMP-B (文献1)	CCGCTGCACTGTGAAGCTCT	exon 2

*印のプライマーは他に報告されているものを用いた

5U Taq polymerase (AmpliTaq, Applied Biosystems)とし、95°C 5分処理後、95°C30秒-65°C1分-72°C1分40サイクル、72°C5分でPCRを行った。HLA-Aのプライマー改良後はAL#AWの代わりにAL#AWとAL#AWT+1を1:1で混合したものを用いた。HLA-DRはエクソン2を増幅(DRBAMP-C/DRBAMP-B)し、annealing温度は58°C、サイクル数は35とした。

3. SSOP

Kimura *et al.* (1)の方法に準じて行った。増幅産物をGel-loading buffer (0.25% bromophenol blue, 0.25% xylene cyanol FF, 15% Ficoll Type 400) 1/100量で着色し、その2 μ lをナイロン膜 (Immobilon-Ny+, Millipore) にドットし、アルカリ変成 (0.5N NaOH, 1.5M NaCl, 5分)、中和 (0.5M Tris-HCl pH7.4, 1.5M NaCl, 5分)、洗浄 (2x SSPE, 5分) 後、80°Cで30分乾燥した。ドットしたナイロン膜は、チューブ中でHybridization Buffer (6x SSPE, 5x Denhardt's, 0.1% N-lauroylsarcosine, 0.02% SDS) と42°C 30分prehybridizeし、digoxigeninをラベルしたプローブ (20pmole/ μ l) を0.1 μ l/ml加えて42°Cで一晩hybridizeした。プローブのラベルは20pmole/ μ lの合成オリゴDNAに対し、0.1nmole/ μ l digoxigenin-11-ddUTP, 2.5mM COCl₂, 1 \times reaction Buffer, 1U/ μ l terminal transferase (いずれも Boehringer Mannheim) を混合し、37°C、2時間の反応で行った。プローブを一晩hybridizeさせたナイロ

ン膜は、室温で洗浄液 (2x SSPE, 0.1% SDS) 2回とTMAC液 (3M tetramethylammonium chloride, 50mM Tris-HCl pH7.5, 2mM EDTA, 0.1% SDS) 1回で各5分洗浄後、非特異的にhybridizeしたプローブをTMAC液で55°C15分2回洗浄した。2x SSPEと0.3% Tween-20 in Buffer 1M (0.1M maleic acid, 0.15M NaCl) でそれぞれ5分洗浄、1% Blocking Reagent (Boehringer Mannheim) in Buffer 1Mで30分blocking後、このblocking液にAnti-Digoxigenin-AP Fab fragments (Boehringer Mannheim) を1/10,000量加えたものでさらに30分反応させる事により、hybridizeしたプローブに対しアルカリフォスファターゼ標識を行った。抗体洗浄液 (0.1M Tris-HCl; pH7.5, 0.3M NaCl, 2mM MgCl₂, 0.05% Triton X-100) で15分3回洗浄後、アルカリ緩衝液 (0.1M Tris-HCl pH9.5, 0.1M NaCl, 50mM MgCl₂) で5分処理し、CSPD (Applied Biosystems) による化学発光を、フィルム (Hyperfilm ECL, Amersham) に露光、またはイメージアナライザー (LAS-1000, Fuji film) で検出した。

4. プローブの設計

日本人集団で頻度が0.1%以上のアリルを対象とした(2)。HLA-DRB1についてはDR3 (DRB1*0301/02)も加えた。対象となるアリルの数はHLA-A, B, DRB1それぞれ15, 35, 30となり、それぞれ13, 24, 17種のプローブを設計することにより(表2-5)、判定不能となるヘテロ及びホモ接合体の頻度を理論上はそれぞれ、0%, 0.17%,

表2 プローブの塩基配列

Probes for HLA-A																					
1	A10-1+1L	T	A	T	T	T	C	T	T	C	A	C	A	T	C	C	G	T	G	T	
2	A10-2+1R1L	T	A	T	T	T	C	T	A	C	A	C	C	T	C	C	G	T	G	T	C
3	A10-3+1L	T	A	T	T	T	C	T	C	C	A	C	A	T	C	C	G	T	G	T	
4	*A10-4 ^(文献6)	A	T	T	T	C	A	C	C	A	C	A	T	C	C	G	T	G	T		
5	*A20-1 ^(文献6)	C	G	A	G	C	C	A	G	A	A	G	A	T	G	G	A	G	C		
6	A26-1-1L	C	A	G	G	A	G	A	C	A	C	G	G	A	A	T	G	T			
7	A26-2-1R1L	C	G	G	A	A	C	A	C	A	C	G	G	A	A	T	G				
8	A29-1+1L	C	A	G	A	C	T	C	A	C	C	G	A	G	T	G	G	A	C	C	
9	A36-1-2R1L	G	A	G	G	A	T	G	T	G	T	G	G	C	T	G					
10	A45-1-1L	C	G	C	C	C	T	G	A	A	A	G	A	G	G	A	C	C			
11	A52-1-1L	A	G	A	C	G	G	C	C	C	A	T	G	A	G	G	C	G			
12	*A55-1 ^(文献6)	C	C	T	A	C	C	T	G	G	A	T	G	G	C	A	C	G	T		
13	A57-1-1R1L	G	C	G	T	G	G	A	C	G	G	G	C	T	C	C	G				
Probes for HLA-B																					
1	*BEX2-1P ^(文献6)	T	T	T	C	T	A	C	A	C	C	G	C	C	A	T	G	T	C		
2	BEX2-2P+1L	A	T	T	T	C	C	A	C	A	C	C	T	C	C	G	T	G	T	C	
3	BEX2-3P+1L	A	T	T	T	C	T	A	C	A	C	C	T	C	C	G	T	G	T	C	
4	*BEX2-4P ^(文献6)	T	T	T	C	C	A	C	A	C	C	G	C	C	A	T	G	T	C		
5	*B14-1 ^(文献6)	C	T	T	C	A	T	C	A	C	C	G	T	G	G	G	C	T	A		
6	*B20-1 ^(文献6)	G	A	G	G	A	T	G	G	C	G	C	C	C	C	G	G	G	C		
7	*B20-2 ^(文献6)	G	A	G	G	A	C	G	G	A	G	C	C	C	C	G	G	G	C		
8	B22-2	G	C	C	G	T	G	G	G	T	G	G	A	G	C	A	G	G	A		
9	B27-1-2R	A	A	G	T	A	C	A	A	G	C	G	C	C	A	G	G				
10	*B27-2 ^(文献6)	A	T	C	T	A	C	A	A	G	G	C	C	C	A	G	G	C	A		
11	B27-3	A	T	C	T	G	C	A	A	G	G	C	C	A	A	G	G	C	A		
12	B27-4-2L	A	C	A	G	A	T	C	T	T	C	A	A	G	A	C	C				
13	B27-5-2L	A	C	A	G	A	T	C	T	C	C	A	A	G	A	C	C				
14	B27-6-1L	C	A	C	G	G	A	A	C	A	T	G	A	A	G	G	C	C			
15	B27-7-3L	C	A	G	A	T	C	T	G	C	A	A	G	A	C	C					
16	B31-1-2R	G	C	G	C	G	C	T	A	C	T	A	C	A	A	C					
17	B31-2	G	C	T	C	C	G	C	T	A	C	T	A	C	A	A	C	C	A		
18	*B35-1 ^(文献6)	C	T	C	A	C	A	C	T	T	G	G	C	A	G	A	C	G	A		
19	B55-1-1R1L	G	G	A	G	G	G	C	C	T	G	T	G	C	G	T	G				
20	B55-2-1R1L	G	G	A	G	G	G	C	G	A	G	T	G	C	G	T	G				
21	B55-3-1R1L	G	G	A	G	G	G	C	A	C	G	T	G	C	G	T	G				
22	*B60-1 ^(文献6)	A	A	G	G	A	C	A	A	G	C	T	G	G	A	G	C	G	C		
23	B27-8-3L	C	A	G	A	T	C	T	A	C	A	A	G	A	C	C	A	A			
24	B22-1-2L	C	G	C	C	G	T	G	G	A	T	A	G	A	G	C	A				
Probes for HLA-DRB1																					
1	*DRB1001 ^(文献1)	T	A	A	G	T	T	T	G	A	A	T	G	T	C	A	T	T	T		
2	DRB1002-1R	C	C	T	A	A	G	A	G	G	G	A	G	T	G	T	C	A			
3	DRB1003-2R	G	T	A	C	T	C	T	A	C	G	T	C	T	G	A	G				
4	DRB1004-1L	A	G	C	A	G	G	T	T	A	A	A	C	A	T	G	A	G			
5	DRB1005-1R	C	G	G	G	T	G	A	G	T	G	T	T	A	T	T	C				
6	*DRB1006 ^(文献1)	T	G	G	C	A	G	G	G	T	A	A	G	T	A	T	A	A	G		
7	*DRB1007 ^(文献1)	G	A	A	G	C	A	G	G	A	T	A	A	G	T	T	T	G	A		
8	DRB1008-1R	G	A	G	G	A	G	G	T	T	A	A	G	T	T	T	G	A			
9	*DRB3705 ^(文献1)	C	C	A	G	G	A	G	G	A	G	C	T	C	C	T	G	C	G		
10	DRB5703-1L	C	C	T	G	A	T	G	A	G	G	A	G	T	A	C	T	G			
11	DRB5704-1L	C	C	T	G	C	T	G	C	G	G	A	G	C	A	C	T	G			
12	DRB5708-1L	C	C	T	G	A	T	G	C	T	G	A	G	T	A	C	T	G			
13	DRB7001-1R	T	C	C	T	G	G	A	G	C	A	G	A	G	A	G	C	G			
14	DRB7003+1R-1L	A	C	C	T	C	C	T	G	G	A	A	G	A	C	A	G	G	C		
15	DRB70N	A	G	A	C	A	G	G	C	G	G	G	C	C	C	T	G	G	T		
16	*DRB7007N ^(文献1)	A	C	A	T	C	C	T	G	G	A	A	G	A	C	G	A	G	C		
17	*DRB7004 ^(文献1)	G	G	C	C	G	G	T	G	G	A	C	A	A	C	T	A	C			

*印のプライマーは他に報告されているものを用いた

表3 各アレルのプロープ反応パターン (HLA-A)

Allele	Probe													日本人 頻度(%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
	A10 -1+ 1L	A10 -2+ 1R1L	A10 -3 +1L	A10 -4	A20 -1	A26 -1 -1L	A26 -2- 1R1L	A29 -1 +1L	A36 -1- 2R1L	A45 -1 -1L	A52 -1 -1L	A55 -1	A57 -1- 1R1L	
1 A*0101	P				P								P	0.2
2 A*0201	P							P		P				10.9
3 A*0206/10		P						P		P				10.5
4 A*0207	P							P	P	P				3.4
5 A*0301	P					P						P		0.8
6 A*1101/02		P				P								8.2
7 A*2402			P							P			P	35.6
8 A*2601/02		P					P					P		12.0
9 A*2603		P					P	P				P		2.1
10 A*3001			P			P								0.3
11 A*3101				P		P								7.7
12 A*3303				P			P							7.9
合計													99.6	

0.67%と最小限にする事ができた。

5. 塩基配列決定

誤判定検体（検体58）について、HLA-A sequencing-based typing module (Applied Biosystems) を用いて塩基配列決定を行った。この際、エクソン3のforward primer でエクソン3に続いてイントロン3の一部の塩基配列も判定した。

結果

1. SSOP法の検討と判定精度

プローブ塩基配列の長さや位置を調節する事により、プローブ洗浄温度の統一を試みた。少数の既知検体 (HLA-A, B, DRB1それぞれ11, 16, 16検体) を用いて検討したところ、設計した54種のプローブすべてについて、一種類のTMAC洗浄温度(55℃)で陽性・陰性の判定が可能となった。これら54種のプローブを用いて、より多数の既知検体でタイピング法を検証した。なるべくアレルの組み合わせの違う検体をさらにHLA-A, B, DRB1それぞれ85, 95, 95検体用いて検証した。紙面の都合でHLA-Bプローブの反応結果のみ図1に示したが、フィルム感光による目視判定ではHLA-A, B, DRB1すべてのプローブで陽性と陰性が明らかに区別された。図2に示したようにイメージアナライザーを用いて発光シグ

ナルを数値化した場合も、陽性の数値と陰性の数値はやはり明らかに区別された。しかし、後述するように、HLA-Aで1検体のみに既知タイプと一致しない判定結果を得たものがあった。

これらの精製DNA検体とは別に、濾紙採血検体40例（この内、既知検体はHLA-A, Bが32検体、DRB1が19検体）でも検討を行った。すべての検体で十分なPCR増幅が得られ（図3）、それらでSSOPを行ったところ、既知検体すべてについて正しい判定が可能だった。

2. 誤判定検体

上述の誤判定となった検体はHLA-A*0210, 2601であるが、HLA-A*2601と反応すべき2種のプローブ (A26-2-1R1L とA52-1-1L) でシグナルが著しく弱かった。同様のHLA-Aヘテロ型を持つ他の8検体について、同様のSSOPを行ったところ、どの検体もこの2種のプローブに対し明らかな陽性シグナルを示した（図4）。誤判定検体をSSOP法で用いたPCRプライマーとは別のPCRプライマーを用いたApplied Biosystems社製キットで増幅・塩基配列決定を試みたところ、エクソン部でA*0210, 2601と確認できた一方、イントロン3の8番目の塩基がグアニン (G) とアデニン (A) のヘテロという結果

表4 各アレルのプロローブ反応パターン (HLA-B)

Allele	Probe																								日本人 頻度(%)	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24		
1 B*0702			P						P											P					P	5.2
2 B*1301	P				P	P						P					P									0.9
3 B*1302	P				P	P						P					P									0.1
4 B*1501/07	P				P							P					P									7.9
5 B*1511	P				P							P					P									1.0
6 B*1518	P													P	P											0.9
7 B*2704/052/11	P				P					P							P									0.3
8 B*3501	P						P					P					P									8.6
9 B*3701	P						P					P					P									0.2
10 B*3802			P											P						P						0.3
11 B*3901			P											P						P						4.0
12 B*3902			P											P						P						0.2
13 B*3904	P													P						P						0.2
14 B*40012							P							P						P						5.1
15 B*4002/03							P							P						P						9.3
16 B*4006							P							P						P						5.3
17 B*4402/03	P						P							P						P						7.9
18 B*4601	P													P						P						3.8
19 B*4801														P						P						2.7
20 B*5101/02	P													P						P						8.0
21 B*5201	P													P						P						13.7
22 B*5401	P													P						P						6.5
23 B*5502	P													P						P						3.2
24 B*5601	P													P						P						1.0
25 B*5603	P													P						P						0.2
26 B*5701	P													P						P						0.1
27 B*5801	P													P						P						0.6
28 B*5901	P													P						P						1.7
29 B*6701														P						P						1.0
合計																								99.9		

表5 各アレルのプローブ反応パターン (HLA-DR)

Allele	Probe																				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17				
DRB 1001		DRB 1002	DRB 1003	DRB 1004	DRB 1005	DRB 1006	DRB 1007	DRB 1008	DRB 1008	DRB 3705	DRB 5703	DRB 5704	DRB 5708	DRB 7001	DRB 7003	DRB 7004	DRB 7007	DRB 7007	DRB 70N	日本人	
	-1R	-1R	-2R	-1L	-1R		-1R	-1R		-1L	-1L	-1L	-1L	-1R	+1R-					頻度(%)	
1 DRB1*0101	P													P						5.3	
2 DRB1*1602		P													P					0.8	
3 DRB1*1501/02		P																		19.2	
4 DRB1*1403			P												P					0.9	
5 DRB1*1301/02			P														P			8.4	
6 DRB1*1101			P							P										2.4	
7 DRB1*1401/07			P								P									3.5	
8 DRB1*1405			P									P								2.0	
9 DRB1*1402/06			P										P							1.6	
10 DRB1*0301/02			P											P			P			0.0	
11 DRB1*0401				P																0.6	
12 DRB1*0403/04/05/06/07/10/17				P										P						22.0	
13 DRB1*0802/03					P														P	12.5	
14 DRB1*1201/02					P															5.3	
15 DRB1*0701						P														0.2	
16 DRB1*0901							P													14.9	
17 DRB1*1001								P												0.3	
																				合計	99.9

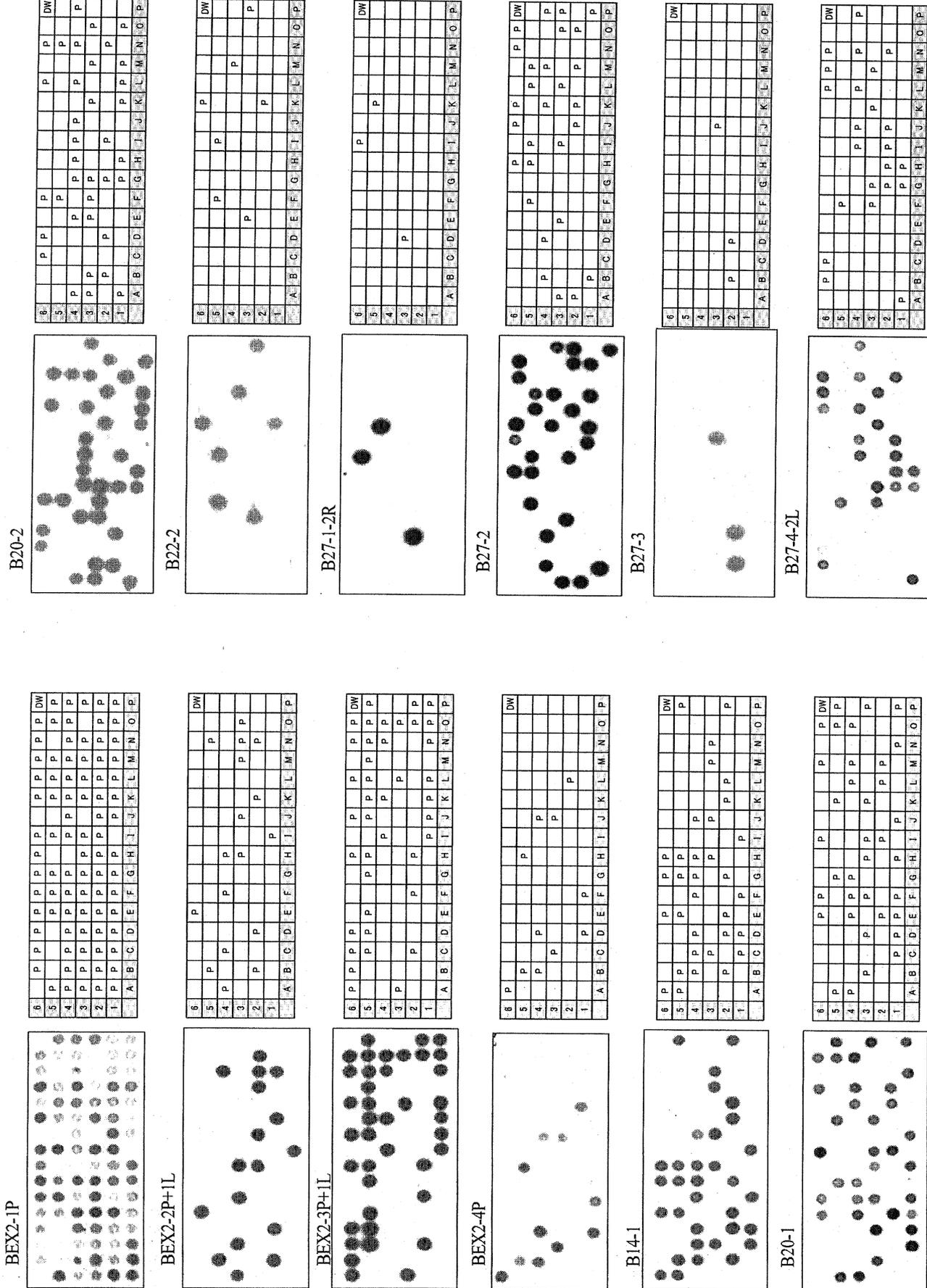


図1 HLA-Bでの24種のプロローブ反応

各プロローブの反応像 (左) と、既知検体のアリルまたは血清学タイプから予想される反応パターン (右)。P: 陽性, 空欄: 陰性, DW: 検体 DNAの代わりに蒸留水を加えPCRした産物をドットしたもの。

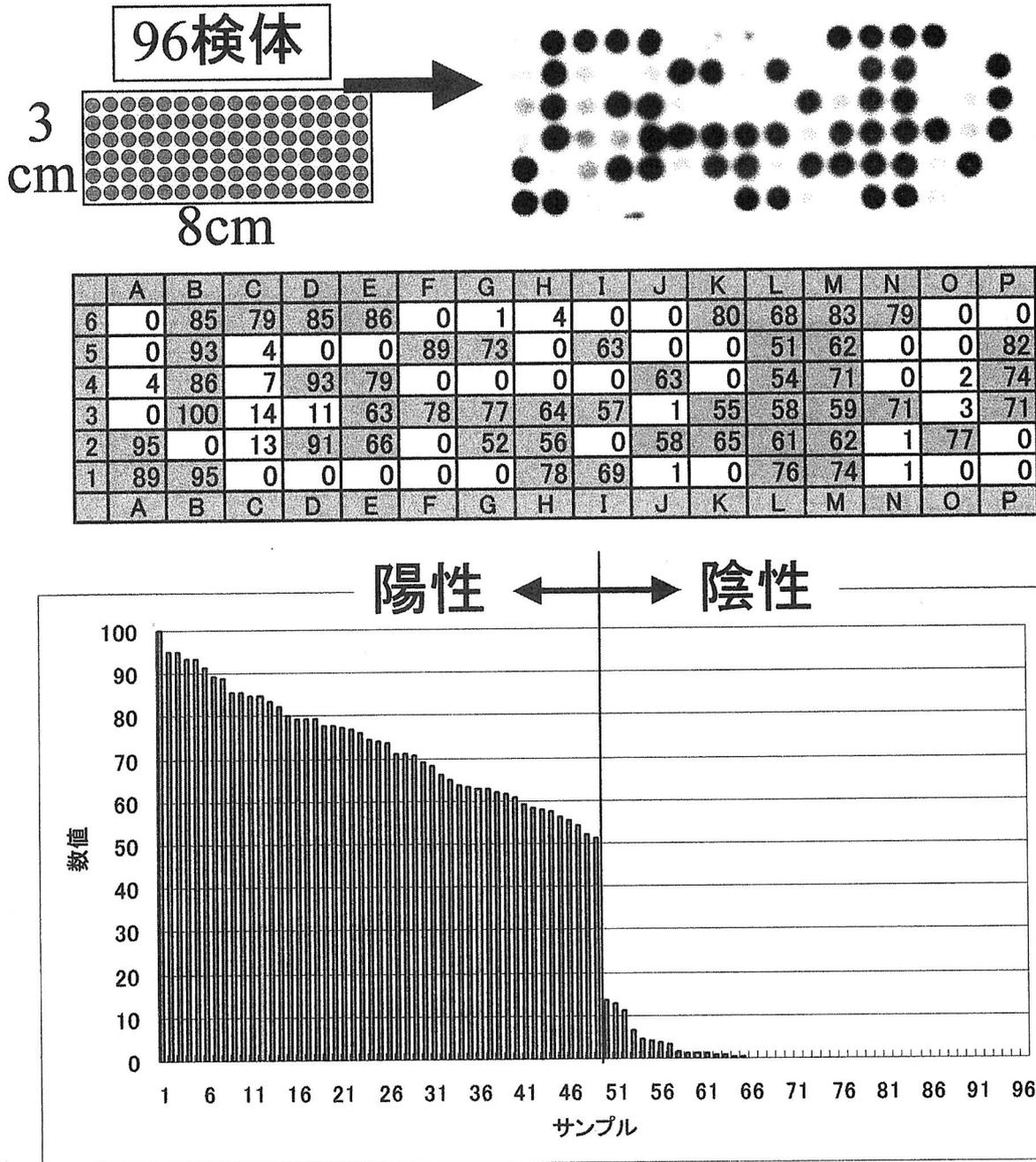


図2 発光シグナルの数値化

HLA-Bプローブの1例 (B35-1) を示した。3cm×8cmのナイロン膜にPCR産物をドットし、hybridize後、化学発光で検出した。図中表が発光シグナルを数値化したもので、最高値を100、最低値を0として相対値で示した。グレーのウェルが陽性検体の数値。下段はその数値が大きい順に左から並べてグラフ化したもの。陽性検体と陰性検体の数値は明らかに区別された。

を得た。これはこれまで変異の報告のない部位で一方のアリルが通常の (G) ではなく (A) の変異を有していたと考えられる (図5)。この部位は本法で用いたPCRプライマー (AL#AW) の認識部位だっ

た。今回見出した塩基置換を考慮し、AL#AWとAL#AWT+1を1:1に混合したプライマーを用いてPCRを行ったところ、誤判定した検体も正しく判定できるようになった。

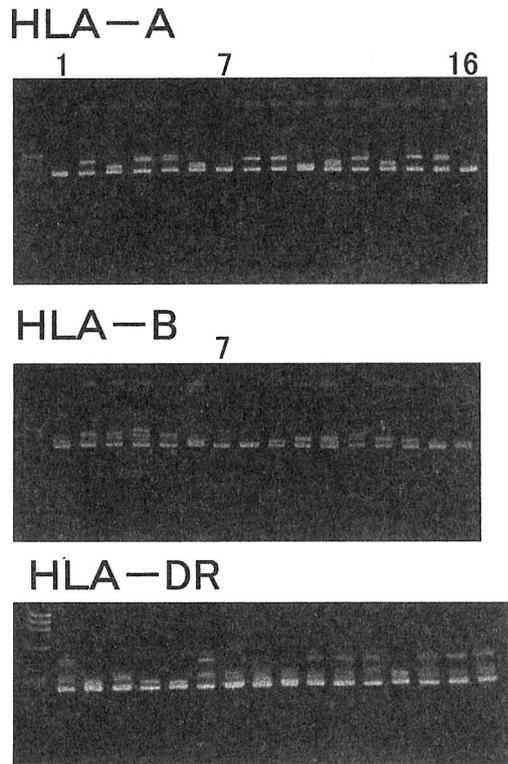


図3 濾紙採血検体のPCR増幅

HLA-A, B, DRB1それぞれ16検体のPCR産物の5% PAGE像を示した。一番左はサイズマーカーφ174/HaeIII。HLA-AとBで示した数字はホモ検体のlane番号。同時にPCRを行った他のそれぞれ24検体でも、同様な増幅を得られた。

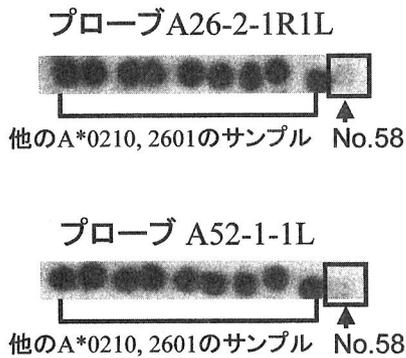


図4 誤判定検体のプローブ反応

HLA-A*0210, 2601既知検体に対するプローブA26-2-1R1L及びプローブA52-1-1Lの反応。No.58(誤判定検体)のみでシグナルが弱い。

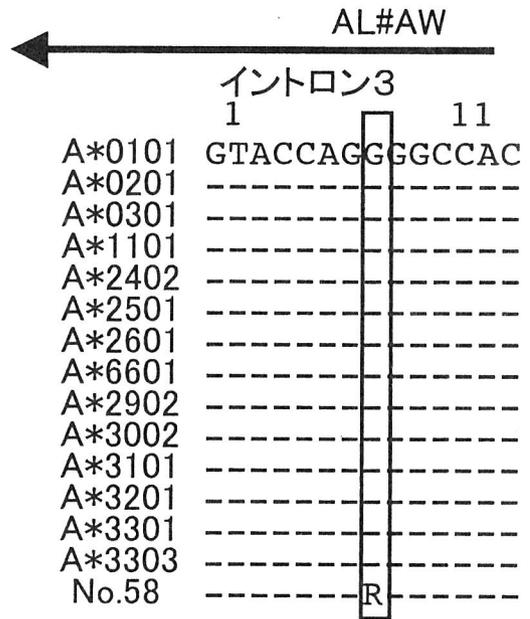


図5 インترون3先頭部の塩基配列

No.58が誤判定検体。RはAとG。他のアリの配列は文献7による。

考察

HLA-A, B, DRB1合計54種のプローブを用いる事により、日本人で頻度0.1%以上のアレルに対し、血清学レベル以上(二桁~四桁)での判定が可能なSSOP法ができた。

SSOP法はプローブの種類が多いと作業が煩雑となるが、今回の54種類であれば許容範囲とも思われる。今回は3cm×8cmのナイロン膜に96検体ドットしたが、12cm×8cmのナイロン膜を用いれば384検体のドットとなり、多数検体を一度にタイピングすることが可能となる。もちろん、多数検体のデータ処理には専用のソフトウェアが必要となろうが、研究室で簡易的に行うのであれば表計算ソフトを用いて作成した程度の判定プログラムでもタイピングが可能だった。

HLA既知検体を本法でタイピングしたところ、誤判定が1例見出された。誤判定検体は遺伝子のプライマー認識部位に変異があり、ヘテロ接合体のうち一方のみが優先的にPCR増幅された事が原因と推察された。変異体を意識したMixプライマーを用いることで対処が可能だった。プライマー認識配列の変異が原因となる誤判定は、今回の例以外にも、ま

た、他のDNAタイピング法においても、誤判定を起す可能性となると推察される。

濾紙採血検体からのDNA増幅とタイピングも可能だった。まだ少ない数での検討に留まっており、有効な増幅と判定についてやはり多数の検体について検証を重ねる必要があると思われる。

PCR産物の電気泳動で、メインバンドより泳動の遅い複数のextraバンドが観察された(図3)。これはHLAの増幅産物の泳動でよく観察されるheteroduplexと思われ、HLA-AとBでは偽遺伝子等の非特異的な増幅産物の可能性は低いと考えられる。光永 et al. (3) がPCR-RFLP法においてheteroduplexを減らす目的で用いているように、我々も一部のHLA-A PCR産物について再度denaturing後、徐々に(1°C/5分) 70°Cまで温度を下げて観察したところ、このextraバンドを著しく減少させる事ができた。ホモ検体では同じ遺伝子座の増幅産物どうしではheteroduplexは生成されないが、今回のホモ検体でもA*2402,- (lane 1と16), A*3303,- (lane 7), B*4403/- (lane 7)ではextraバンドは見られていない。精製DNA、濾紙採血検体ともextraバンドが観察されたものの、今回検討した範囲では、偽遺伝子の増幅が知られているHLA-DRも含めタイピング結果に影響は認められなかった。

結論

日本人で頻度0.1%以上のアレルに対し、血清学レベル以上(二桁~四桁)での判定が可能なSSOP法を開発した。濾紙採血検体からのタイピングも可能となった。

しかし、頻度は少ないもののプライマー認識部位に変異のある試料では、その変異の存在をも考慮したMixプライマーを設計しないと、誤判定を起す事が示された。本法に限らず、HLAのDNAタイピングでは、他の方法でタイプした多数の既知検体を用いた方法の検証が必要である。

謝辞

本研究は厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業の支援を受けて行ったものである。

参考文献

1. Kimura A, Sasazuki T: *HLA 1991. Proceedings of the Eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference. I.* (eds. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T), Eleventh International Histocompatibility Workshop reference protocol for the HLA DNA-typing technique. Oxford University Press, Oxford, 1992; p. 397-419.
2. 田中秀則: 血清学的なHLAタイピングについて, 臨床病理, 特**110**: 107-112, 1999.
3. Mitsunaga S, Oguchi T, Tokunaga K, et al.: High-resolution HLA-DQB1 typing by combination of group-specific amplification and restriction fragment length polymorphism. *Hum. Immunol.* **42**: 307-314, 1995.
4. Williams F, Mallon E, Middleton D: Development of PCR-SSOP for HLA-A typing of bone marrow registry donors. *Tissue Antigens* **49**: 61-66, 1997.
5. Kawai S, Maekawajiri S, Tokunaga K, et al.: Routine low and high resolution typing of the HLA-DRB gene using the PCR-MPH (microtitre plate hybridization) method. *Eur. J. Immunogen.* **23**: 471-486, 1996.
6. Bannai M, Ohashi J, Harihara S, et al.: Analysis of HLA genes and haplotypes in Ainu (from Hokkaido, northern Japan) supports the premise that they descent from Upper Paleolithic populations of East Asia. *Tissue Antigens* **55**: 128-139, 2000.
7. Cereb N, Kong Y, Lee S, et al.: Nucleotide sequences of MHC class I introns 1, 2, and 3 in humans and intron 2 in nonhuman primates. *Tissue Antigens* **47**: 498-511, 1996.

A PCR-SSOP method for typing of HLA-A, -B, and -DRB1 genes in Japanese population

Makoto Bannai^{1,2)}, Koichi Kashiwase¹⁾, Yoshihide Ishikawa¹⁾, Tatsuya Akaza¹⁾, and Takeo Juji¹⁾

¹⁾Japanese Red Cross Central Blood Center

²⁾Japanese Red Cross Tokyo Metropolitan Blood Center

Summary

A PCR sequence-specific oligonucleotide probing (PCR-SSOP) method has been adopted for typing of HLA-A, -B, and -DRB1 genes in the Japanese population. The method targets alleles observed at more than 0.1% gene frequency in the Japanese population. Using 13, 24, and 17 probes for HLA-A, -B, and -DRB1 genes, respectively, the method enabled us to discriminate HLA alleles or at least serological groups even in heterozygous samples. We set the washing temperature for a total of 54 probes to a single temperature (55°C). Approximately one hundred known samples for all three HLA genes could be typed correctly except one variant sample for HLA-A. A PCR primer did not work efficiently for one of the heterozygous alleles of the variant sample because it has a sequence substitution in the target portion of the intron. The method could be improved using mixed primers that also target the variant sequence. It is also possible to amplify DNA efficiently and type HLA genes using blood samples on filter paper.

Keywords: HLA, PCR-SSOP, DNA typing method, Japanese population, filter paper

[原著論文] Association between HLA class II genotypes and IgA nephropathy in Japanese patients

Toshiki Hiratsuka¹⁾, Hidetoshi Kaneoka¹⁾, Ritsuya Noda¹⁾, Satoru Ogahara¹⁾, Toshiaki Murata¹⁾, Isao Michinaga¹⁾, Sigeo Takebayashi²⁾, Takao Saito¹⁾ and Setsuya Naito¹⁾

¹⁾Fukuoka University Hospital Kidney Center, ²⁾Second Department of Pathology, Fukuoka University School of Medicine

(平成13年8月16日受付)

Summary

Background. The association between IgA nephropathy (IgAN) and serologically determined HLA-DR4 has been firmly established in various ethnic groups. The recent development of DNA typing of the HLA class II system has allowed precise determination of HLA genotypes, and provided new insights into the pathogenesis of this disorder. Here we analyzed HLA class II genotypes in Japanese patients with IgAN to determine the role of genetic factors in pathogenesis of this disease.

Patients and Methods. HLA class II genes were analyzed in 165 unrelated Japanese patients with biopsy-confirmed IgAN using polymerase chain reaction (PCR)-based sequence-specific oligonucleotide probe hybridization.

Results. HLA-DR4 correlated with IgAN in Japanese patients. DNA typing also showed a significant correlation between IgAN and HLA-DRB1*0405 and HLA-DRB1*1501 genotypes. We also found the correlation between the frequency of HLA class II genotypes and various clinical parameters. We found that HLA-DRB1*0405 and DQB1*0303 were associated with a broad range of clinical features including severity of renal dysfunction, and that HLA-DRB1*1501 was associated with proteinuria of >1g per day, and with high serum IgA concentrations.

Conclusion. We report here the association of IgAN with HLA-DRB1*0405, -DRB1*1501 and -DQB1*0303 in Japanese patients. The presence of these alleles correlated with distinct clinical findings, which may reflect heterogeneity of both the pathogenesis and genetic background of the disease.

Key words : IgA nephropathy, HLA class II, DNA typing, nephritogenic genes.

Introduction

IgA nephropathy (IgAN), first described by Berger and Hinglas in 1968 (1), is one of the commonest

causes of primary glomerulonephritis world-wide. The disease is more frequent in Asia and Oceania, less common in North and South America and Africa, and

Corresponding author: Hidetoshi Kaneoka
Fukuoka University Hospital Kidney Center
7-45-1 Nanakuma, Jonan-ku, Fukuoka,
Fukuoka 814-0180, JAPAN.

Phone: +81-92-801-1011, ext. 3373
Fax: +81-92-873-8008
e-mail: kaneokah@fukuoka-u.ac.jp

has a prevalence between the two in Europe (2). The geographic distribution of IgAN in distinct ethnic groups, familial segregation (3, 4), shared immunologic abnormalities in affected relatives (5 -7), and recurrence in renal allografts (8), together provide a strong evidence for the involvement of genetic factors in its pathogenesis.

The etiology of IgAN has not been yet clearly understood, however IgAN is characterized by mesangial cell proliferation, diffuse paramesangial deposits of IgA, and high levels of serum IgA in approximately half the affected patients, suggesting that immunological mechanisms play a role in its pathogenesis. Immune responses in humans have been shown to be regulated by a trimolecule system, consisting of etiologic antigens, human leukocyte antigens (HLA) on antigen-presenting cells, and T cell receptors (TCR) on responding T cells. A vast variety of genetic polymorphisms of HLA and TCR confers the diversity of the immune response, and consequently the clinical heterogeneity of immunologic diseases (9 - 11).

A positive association between HLA genotype and IgAN has been documented. Increased frequency of the serological determinant HLA-DR4 has been established in several ethnic groups, including Japanese and Caucasians (12 - 14). In the present study, we analyzed HLA class II genotypes in Japanese patients with IgAN, and demonstrated a significant association between IgAN and HLA-DRB1*0405, -DRB1*1501 and -DQB1*0303. Our study suggests that HLA-DRB1*1501 and -DRB1*0405 might play distinct roles in the pathogenesis of IgAN and that determination of HLA class II alleles may help in predicting clinical features in patients with IgAN.

Patients and Methods

Patients. A total of 165 unrelated Japanese patients with IgAN, diagnosed and treated at Fukuoka University Hospital and Clinic from January 1973 through July 1999, were recruited at random in this study. They included 82 males and 83 females, aged 10 to 71 years (mean \pm SD, 31.8 \pm 15.2 years) at the time of IgAN

onset. The diagnosis of IgAN in all patients was established by histological examination of renal biopsy specimens under light microscopy, immunofluorescent antibody staining and electron microscopy. Patients with clinical and serological evidence of Henoch-Schonlein purpura, systemic lupus erythematosus, liver diseases or other immunological disorders with a recognized association with IgAN, were excluded from the present study.

Clinical information and documents were obtained by careful retrospective inspection of the available hospital records. Clinical findings reviewed included prodromal infection, gross hematuria, proteinuria, serum IgA level and renal function (15). Impairment of renal function was inferred by the presence of abnormal serum creatinine levels (>1.3 mg/dl in males and >1.0 mg/dl in females) and/or endogenous 24-hour creatinine clearance (< 60 ml/min).

Pathological staging of IgAN was determined by light microscopy based on the degree of glomerular sclerosis as proposed by Takebayashi *et al.* (16). Group 1 included minimal change and mild mesangial proliferative glomerulonephritis (MPGN) with <20% sclerotic glomeruli, Group 2; moderate MPGN with 20 - 50% sclerotic glomeruli, and Group 3; severe MPGN with >50% sclerotic glomeruli. The characteristics of the study population are outlined in Table 1.

Antigen frequencies within the healthy Japanese population, as reported at the Eleventh International

Table 1 Demographic profile

female	83/165	50.3%
prodromal infection	46/160	28.8%
gross hematuria	47/160	29.4%
hypertension	46/149	30.9%
nephrotic syndrome	20/160	12.5%
proteinuria(>1g/day)	65/155	41.9%
renal dysfunction	38/164	23.2%
serum IgA(>400mg/dl)	69/160	43.1%
pathologic stage I	54/156	34.6%
II	55/156	35.3%
III	47/156	30.1%

Histocompatibility Workshop and Conference (11th IHWC), were used as healthy control references in this study (17).

Serological HLA-A,-B,-C,-DR, and-DQ typing. Serological typing of HLA-A, -B, -C, -DR, and -DQ was performed with a standard microdroplet lymphocytotoxicity test using antisera obtained from the 11th IHWC and from Japan Regional Workshops, and from locally screened and qualified antisera from multiparous women. Seventeen HLA-A, 38 -B, 9 -C, 14 -DR and 5 -DQ phenotypes were determined in this study.

HLA class II DNA typing. HLA class II DNA genotyping were carried out on the basis of the availability of genomic DNA from the patients. Genomic DNA was isolated from peripheral blood leukocytes by phenol/chloroform extraction and subsequent ethanol precipitation. To determine HLA-DRB1, -DQA1 and -DQB1 alleles, sequence-specific oligonucleotide (SSO) hybridization on PCR-amplified DNA products was performed (17). Primers, probes, and protocols for PCR-SSO hybridization were based on the recommendation from the 11th IHWC. HLA genotypes defined in the present study included 43 HLA-DRB1, 8 -DQA1 and 19 -DQB1 alleles (Table 2).

Statistical analysis. Data are expressed as mean \pm SEM. Statistical analyses were evaluated by Fisher's direct tests. A P value less than 0.05 denoted the presence of a statistically significant difference. Odds ratios and 95% confidence intervals (95% CI) were calculated from 2x2 tables as described previously (18). If any element of the table was zero, the ratio was calculated with Haldane's formula.

Results

Serological HLA phenotypes. The frequencies of selected antigens of serological HLA phenotypes are summarized in Table 3. For HLA class I antigens, the proportions of patients with HLA-B54 and HLA-Cw1 were significantly higher than the control. For class II antigens, HLA-DR4 was detected in a significantly higher proportion of patients compared to the control (patients, 52.7%; control, 40.4%; odds ratio (OR), 1.6; 95% CI 1.18 - 2.29, $p=0.0033$). It should be noted that HLA-B54, -Cw1 and -DR4 are in linkage disequilibrium in healthy Japanese population (19). The proportions of patients with other serological phenotypes, including HLA-A and -DQ antigens, were not significantly different from the control. There was no

skew of serological HLA phenotypes between male and female patients (data not shown).

HLA class II genotypes. The significant increase in the prevalence of HLA-DR4 prompted us to investigate HLA class II genotypes, especially the HLA-DR4-related DRB1*0401, DRB1*0402, DRB1*0403, DRB1*0404, DRB1*0405, DRB1*0406, DRB1*0407, DRB1*0408, DRB1*0409, DRB1*0410, and DRB1*0411 (Table 4). The increased prevalence of HLA-DR4 in our patients was mainly attributable to a significantly high proportion of patients with HLA-DRB1*0405. In addition to

Table 2 HLA class II genotypes analysed in this study

serological HLA phenotype	HLA genotype
HLA-DR1	HLA-DRB1* 0101, 0102, 0103
DR2 (15, 16)	1501, 1502, 1601, 1602
DR3	0301, 0302
DR4	0401, 0402, 0403, 0404, 0405, 0406 0407, 0408, 0409, 0410, 0411
DR5 (11, 12)	1101, 1102, 1103, 1104, 1201, 1202
DR6 (13, 14)	1301, 1302, 1303, 1304, 1305 1401, 1402, 1403, 1404, 1405
DR7	0701
DR8	0801, 0802, 0803, 0804
DR9	0901
DR10	1001
HLA-DQ	HLA-DQA1* 0101, 0102, 0103, 0201 0301, 0401, 0501, 0601
	HLA-DQB1* 0501, 0502, 0503, 05031, 05032, 0504 0601, 0602, 0603, 0604, 0605 0201, 0301, 0302, 0303, 03031, 03032 0401, 0402

Table 3 Serological HLA phenotypes in patients with IgA nephropathy

HLA phenotype	patients	control	O.R.	95% CI
	(n=165)	(n=1,023)		
HLA-A2	69 (41.8%)	438 (42.8%)	1.0	0.69 — 1.34
HLA-A24	95 (57.6)	592 (57.9)	1.0	0.71 — 1.38
HLA-A26	36 (21.8)	211 (20.6)	1.1	0.70 — 1.60
HLA-A31	26 (15.8)	157 (15.3)	1.0	0.66 — 1.62
HLA-A33	18 (10.9)	151 (14.8)	0.7	0.42 — 1.19
HLA-B7	15 (9.1)	100 (9.8)	0.9	0.52 — 1.63
HLA-B35	26 (15.8)	159 (15.5)	1.0	0.65 — 1.60
HLA-B39	6 (3.6)	90 (8.8)	0.4**	0.17 — 0.91
HLA-B44	20 (12.1)	146 (14.3)	0.8	0.50 — 1.37
HLA-B46	13 (7.9)	88 (8.6)	0.9	0.50 — 1.67
HLA-B48	8 (4.8)	64 (6.3)	0.8	0.36 — 1.62
HLA-B51	30 (18.2)	181 (17.7)	1.0	0.67 — 1.58
HLA-B52	41 (24.8)	207 (20.2)	1.3	0.89 — 1.91
HLA-B54	36 (21.8)	125 (12.2)	2.0***	1.33 — 3.03
HLA-B55	8 (4.8)	58 (5.7)	0.8	0.40 — 1.81
HLA-B59	11 (6.7)	39 (3.8)	1.8	0.90 — 3.59
HLA-B60	10 (6.1)	111 (10.9)	0.5	0.27 — 1.04
HLA-B61	39 (23.6)	207 (20.2)	1.2	0.83 — 1.80
HLA-B62	19 (11.5)	163 (15.9)	0.7	0.41 — 1.14
	(n=134)	(n=1,023)		
HLA-Cw1	59 (44)	227 (22.2)	2.8***	1.90 — 4.00
HLA-Cw4	14 (10.4)	84 (8.2)	1.3	0.72 — 2.37
HLA-Cw7	26 (19.4)	289 (28.3)	0.6*	0.39 — 0.96
HLA-Cw9	17 (12.7)	265 (25.9)	0.4***	0.25 — 0.70
HLA-Cw10	7 (5.2)	172 (16.8)	0.3***	0.13 — 0.59
	(n=165)	(n=898)		
HLA-DR1	16 (9.7)	96 (10.7)	0.9	0.51 — 1.57
HLA-DR4	87 (52.7)	363 (40.4)	1.6**	1.18 — 2.29
HLA-DR8	34 (20.6)	223 (24.8)	0.8	0.52 — 1.18
HLA-DR9	36 (21.8)	218 (24.3)	0.9	0.58 — 1.30
HLA-DR11	8 (4.8)	46 (5.1)	0.9	0.44 — 2.04
HLA-DR12	12 (7.3)	121 (13.5)	0.5*	0.27 — 0.93
HLA-DR13	22 (13.3)	135 (15.0)	0.9	0.54 — 1.41
HLA-DR14	18 (10.9)	96 (10.7)	1.0	0.60 — 1.74
HLA-DR15	57 (34.5)	285 (31.7)	1.1	0.80 — 1.61
HLA-DR16	0 (0.0)	14 (1.6)	0.0	NA
HLA-DQ1	113 (68.5)	632 (70.4)	0.9	0.64 — 1.31
HLA-DQ3	65 (39.4)	306 (34.1)	1.3	0.89 — 1.77
HLA-DQ4	53 (32.1)	248 (27.6)	1.2	0.87 — 1.77
HLA-DQ7	25 (15.2)	252 (28.1)	0.5***	0.29 — 0.72

phenotypes less than 3% in frequency were eliminated from the table.

NA not available, * $0.01 < p \leq 0.05$, ** $0.001 < p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$

Table 4 HLA class II genotypes in patients with IgA nephropathy

HLA phenotype	patients	control	O.R.	95% CI
	(n=139)	(n=493)		
DRB1-*0101	15 (10.8%)	48 (9.7%)	1.1	0.61 — 2.07
*1501	32 (23.0)	65 (13.2)	2.0**	1.23 — 3.16
*1502	18 (12.9)	87 (17.6)	0.7	0.40 — 1.20
*0401	8 (5.8)	18 (3.7)	1.6	0.69 — 3.79
*0403	10 (7.2)	26 (5.3)	1.4	0.65 — 2.96
*0405	47 (33.8)	116 (23.5)	1.7**	1.10 — 2.50
*0406	6 (4.3)	34 (6.9)	0.6	0.25 — 1.48
*1101	6 (4.3)	20 (4.1)	1.1	0.42 — 2.71
*1201	8 (5.8)	38 (7.7)	0.7	0.33 — 1.61
*1202	3 (2.2)	20 (4.1)	0.5	0.15 — 1.78
*1301	4 (2.9)	7 (1.4)	2.1	0.59 — 7.13
*1302	15 (10.8)	70 (14.2)	0.7	0.40 — 1.32
*1401	10 (7.2)	37 (7.5)	1.0	0.46 — 1.97
*1403	7 (5.0)	15 (3.0)	1.7	0.68 — 4.23
*1405	3 (2.2)	18 (3.7)	0.6	0.17 — 2.01
*0802	9 (6.5)	37 (7.5)	0.9	0.40 — 1.81
*0803	21 (15.1)	69 (14.0)	1.1	0.64 — 1.86
*0901	31 (22.3)	126 (25.6)	0.8	0.53 — 1.31
*1001	2 (1.4)	9 (1.8)	0.8	0.17 — 3.70
	(n=104)	(n=334)		
DQA1-*0101	21 (20.2)	78 (23.4)	0.8	0.48 — 1.43
*0102	31 (29.8)	79 (23.7)	1.4	0.84 — 2.24
*0103	30 (28.8)	119 (35.6)	0.7	0.45 — 1.18
*0201	2 (1.9)	4 (1.2)	1.6	0.29 — 8.96
*0301	37 (68.5)	211 (63.2)	1.3	0.69 — 2.35
*0401	1 (1.0)	16 (4.8)	0.2	0.03 — 1.47
*0501	16 (15.4)	65 (19.5)	0.8	0.41 — 1.37
*0601	5 (4.8)	13 (3.9)	1.2	0.43 — 3.58
	(n=136)	(n=307)		
DQB1-*0501	15 (11.0)	35 (11.4)	1.0	0.51 — 1.83
*0502	12 (8.8)	14 (4.6)	2.0	0.91 — 4.50
*0503	2 (1.5)	15 (4.9)	0.3	0.07 — 1.29
*0601	41 (30.1)	112 (36.5)	0.8	0.49 — 1.16
*0602	17 (12.5)	32 (10.4)	1.2	0.66 — 2.30
*0603	4 (2.9)	2 (0.7)	4.6	0.84 — 25.54
*0604	14 (10.3)	34 (11.1)	0.9	0.48 — 1.78
*0605	1 (0.7)	3 (1.0)	0.8	0.08 — 7.28
*0201	3 (2.2)	8 (2.6)	0.8	0.22 — 3.23
0301	25 (18.4)	87 (28.3)	0.6	0.35 — 0.94
*0302	26 (19.1)	47 (15.3)	1.3	0.77 — 2.22
*0303	28 (20.6)	33 (10.7)	2.2**	1.24 — 3.73
*0401	35 (25.7)	76 (24.8)	1.1	0.66 — 1.67
*0402	16 (11.8)	15 (4.9)	2.6**	1.24 — 5.42

HLA class II Genotypes of 0% in frequency were eliminated from the table

* 0.01 < p ≤ 0.05, ** 0.001 < p ≤ 0.01, *** p ≤ 0.001

HLA-DRB1*0405, the proportion of IgAN patients with HLA-DRB1*1501 was also higher than in the control (Table 4). The proportions of patients with HLA-DQA1 alleles were not significantly different from the control. However, high proportions of IgAN patients with HLA-DQB1*0303 and DQB1*0402 were noted relative to the control. On the other hand, the prevalence of HLA-DQB1*0301 among IgAN patients was significantly lower than in the control (Table 4), in contrast to the data of the Caucasian population (20).

Clinical findings and HLA genotypes. Next, we examined in detail the correlation between HLA class II genotypes and various clinical manifestations of IgAN, including gender, prodromal infection, gross hematuria, proteinuria, serum IgA level, renal function and nephrotic syndrome (Table 5).

1. Correlation between HLA class II genotypes and gender. Male patients constituted 49.7% (82/165) of patients with IgAN. The correlation pattern between male patients and HLA class II genotypes was quite similar to that observed in the whole group. Thus, proportions of male patients with HLA-DRB1*1501, DRB1*0405, DQB1*0303, and DQB1*0402, were significantly higher than the control (Table 5). However, the frequencies of female patients with these alleles were not significantly different from the control (Table 5), with the exception of HLA-DQB1*0402. The prevalence of HLA-DQB1*0301 was lower in male patients than the control, but was not statistically different in female patients.

2. Correlation between HLA class II genotypes and prodromal infection. Microbial infection is thought to be one of the triggers of IgAN. In our study, 46 of 160 (28.8%) patients had an episode of prodromal upper respiratory infection before they were diagnosed with IgAN. The prevalence of HLA-DRB1*1501 and DRB1*0405 among IgAN patients with a history of prodromal infection was not higher than the control. However, that of those with DRB1*0401 was higher than the control (patients, 10.8%; control, 3.7%; OR 3.2, 95% CI 1.02 - 10.00, $p=0.0352$). On the other

hand, the prevalence of HLA-DQB1*0301 among patients with IgAN and a history of prodromal infection was low, albeit insignificantly (data not shown).

3. Correlation of HLA class II genotypes and gross hematuria. Macroscopic hematuria is one of the major clinical signs in patients with IgAN. Gross hematuria prior to presentation was found in 47 of 160 (29.4%) patients. These patients were likely to have HLA-DRB1*1501 or DQB1*0303 than other alleles (Table 5).

4. Correlation of HLA class II genotypes and proteinuria The presence of more than 1g of urinary protein/day is a predictor of poor prognosis in IgAN. Sixty-five of 155 (41.9%) patients exhibited proteinuria of >1g per day. The prevalence of HLA-DQB1*0303 and DQB1*0301 was significantly higher and lower, respectively, in patients with heavy proteinuria (Table 5). The presence of nephrotic syndrome did not correlate with any HLA-DRB1 allele.

5. Correlation of HLA class II genotypes and renal dysfunction. Evidence of renal dysfunction was noted in 38 of 164 (23.2%) patients. These patients were more likely to have HLA-DRB1*0401, DRB1*0405, or DQB1*0303 genotype (Table 5).

6. Correlation of HLA class II genotypes and serum IgA level. Previous experimental studies have shown that mice with high serum IgA are susceptible to IgAN (21). Half of the patients in the present study had elevated serum IgA levels. Patients were arbitrarily divided into two groups based on serum IgA levels with a cut-off value of 400 mg/dl. Patients with serum IgA > 400 mg/dl represented 43.1% (63/160) of our population sample. In this group, the prevalence of HLA-DRB1*1501, DQB1*0303, and DQB1*0402 was higher, but that of DQB1*0301 was lower (Table 5).

Histopathological findings and HLA genotypes. Histopathological findings of renal biopsy specimens from 156 patients were divided into three categories based on the presence of all three microscopic features defined in Patients and Methods. Group 1 comprised 34.6% of patients, Group 2 - 35.3%, and Group 3 -

Table 5 Clinical findings and HLA class II genotypes

Phenotype	Genotype	control		male		female		gross hematuria		proteinuria (1g/day<)		renal dysfunction		serum IgA (400mg/dl<)	
		%	95%CI	%	95%CI	%	95%CI	%	95%CI	%	95%CI	%	95%CI	%	95%CI
HLA-DR15 DR4	HLA-DRB1*1501	13.2	25.7**	1.26 - 4.14	20.3	0.88 - 3.19	26.2*	1.12 - 4.88	16.7	0.61 - 2.82	20.6	0.71 - 4.08	31.6***	1.64 - 5.63	
	*1502	17.6	12.9	0.33 - 1.44	13.0	0.33 - 1.46	7.1	0.11 - 1.19	14.8	0.37 - 1.78	17.6	0.40 - 2.49	14.0	0.35 - 1.67	
	0401	3.7	2.9	0.18 - 3.42	8.7	0.96 - 6.57	9.5	0.89 - 8.62	7.4	0.69 - 6.48	11.8	1.12 - 11.05	0	NA	
	*0403	5.3	5.7	0.37 - 3.22	8.7	0.68 - 4.32	7.1	0.40 - 4.77	9.3	0.67 - 4.99	2.9	0.07 - 4.14	5.3	0.29 - 3.41	
	0405	23.5	35.7	1.06 - 3.07	31.9	0.88 - 2.63	31.0	0.73 - 2.89	27.8	0.67 - 2.35	47.1**	1.43 - 5.85	33.3	0.90 - 2.93	
	*0406	6.9	4.3	0.18 - 2.02	4.3	0.18 - 2.05	4.2	0.16 - 2.91	5.6	0.24 - 2.68	0	NA	5.3	0.22 - 2.52	
HLA-DQ	HLA-DQA1*0301	63.2	68.0	0.66 - 2.34	68.5	0.69 - 2.35	77.4	0.84 - 4.77	78.0	0.96 - 4.49	80.0	0.85 - 6.37	62.5	0.49 - 1.91	
	DQB1*0301	28.3	15.9*	0.24 - 0.96	20.9	0.35 - 1.27	26.8	0.45 - 1.93	15.1*	0.20 - 0.99	14.7	0.16 - 1.16	10.7**	0.13 - 0.73	
	0303	10.7	21.7	1.17 - 4.54	19.4	0.99 - 4.05	34.1***	2.05 - 9.02	34.0***	2.18 - 8.37	23.5*	1.07 - 6.10	28.6***	1.68 - 6.58	
	*0401	24.8	23.2	0.50 - 1.70	28.4	0.67 - 2.17	22.0	0.39 - 1.87	22.6	0.44 - 1.78	38.2	0.90 - 3.94	25.0	0.52 - 1.96	
	0402	4.9	11.6	1.04 - 6.29	11.9*	1.07 - 6.51	9.8	0.66 - 6.68	11.3	0.92 - 6.73	11.8	0.81 - 8.32	12.5*	1.08 - 7.17	

NA not available, *0.01<p≤0.05, **0.001<p≤0.01, ***p≤0.001

30.1%. In each group, a distinct association pattern was observed. Patients of Group 1, who exhibited the mildest histopathological changes, were more likely to have HLA-DRB1*1501 or DQB1*0303 than other alleles (Table 6). Those of Group 2, with moderate changes, were more likely to have HLA-DRB1*0405 or DQB1*0402, and unlikely of the DQB1*0301 allele (Table 6). The prevalence of patients of Group 3, with the most extensive glomerular sclerosis, and HLA-DRB1*0401 and DQB1*0303 was significantly higher than the control.

Discussion

The high prevalence of IgAN, presence of multiple affected patients in the same family (3 - 5, 22), wide variation of signs and symptoms, histopathological

findings (16, 23), clinical severity and renal prognosis (15), and recurrence of IgAN in transplanted kidneys (8), are all evidence for a multifactorial etiology and pathogenesis of this disease, where environmental factors including foods and/or infectious microorganisms trigger disease in individuals with susceptible genetic traits. Several studies have reported familial segregation of IgAN with multiple intrafamilial patients. Among them, a study of 114 family members from 4 generations in Australian aborigines and another of 87 family members from 8 generations from Kentucky, strongly support a genetic contribution (3, 4). More strikingly, Scolari *et al.* (22, 23) reported 28 patients with chronic glomerulonephritis, including 11 biopsy-proven cases of IgAN from three consanguineous families in a small valley in northern Italy. Immunological abnormalities

Table 6 Pathologic findings and HLA class II genotypes

Phenotype	Genotype	control		Group I		Group II		Group III	
		%	95%CI	%	95%CI	%	95%CI	%	95%CI
HLA-DR15 DR4	HLA-DRB1*1501	13.2	25.5*	1.11 - 4.57	23.4	0.98 - 4.15	18.9	0.65 - 3.64	
	*1502	17.6	12.8	0.28 - 1.66	8.5	0.15 - 1.24	16.2	0.37 - 2.23	
	*0401	3.7	0	NA	6.4	0.51 - 6.35	10.8	1.02 - 1.00	
	*0403	5.3	8.5	0.56 - 5.01	8.5	0.56 - 5.01	5.4	0.23 - 4.50	
	*0405	23.5	29.8	0.71 - 2.66	42.6**	1.30 - 4.45	27.0	0.57 - 2.56	
	*0406	6.9	4.3	0.14 - 2.58	8.5	0.43 - 3.71	0	NA	
HLA-DQ	HLA-DQA1*0301	63.2	63.6	0.49 - 2.15	74.3	0.76 - 3.71	67.7	0.56 - 2.68	
	DQB1*0301	28.3	26.1	0.44 - 1.80	13.3*	0.16 - 0.95	16.2	0.20 - 1.21	
	0303	10.7	28.3	1.57 - 6.83	13.3	0.50 - 3.25	32.4***	1.83 - 8.67	
	*0401	24.8	19.6	0.34 - 1.60	35.6	0.86 - 3.25	24.3	0.44 - 2.16	
	*0402	4.9	8.7	0.59 - 5.85	17.8**	1.67 - 10.60	5.4	0.24 - 5.07	

NA not available, *0.01<p≤0.05, **0.001<p≤0.01, ***p≤0.001

among relatives of patients with IgAN also strengthen the predicted role of the genetic background (6, 7).

Proliferation of mesangial cells in glomeruli, diffuse paramesangial deposits of IgA, high serum IgA levels, and the presence of immunological abnormalities, all suggest immunological involvement in the onset of IgAN (25). Genetic phenotypes influencing immunity include complements (25, 26), immunoglobulins (27), immunoglobulin switching elements (28), TCR (29), and HLA. Intrafamilial occurrence of IgAN in HLA-identical siblings has been reported (30, 31). The correlation between IgAN and HLA class II system has been extensively investigated in the last two decades. Serological typing has demonstrated an association with HLA-DR4 (32 - 36) and/or HLA-DQ3 or DQ4 (37, 38) in many ethnic groups, but not with any HLA-DP phenotypes (39). The genetic structure and disease association of HLA-DR4 has been characterized. The single serological determinant HLA-DR4 is subtyped into 34 alleles including HLA-DRB1*04011, DRB1*04012, DRB1*0402, DRB1*0403, DRB1*0404, DRB1*04051, DRB1*04052, DRB1*0406, DRB1*0407, DRB1*0408, DRB1*0409, DRB1*0410, and DRB1*0411, as of December, 1998. Some HLA-DR4-related alleles have been demonstrated to be in linkage disequilibrium with distinct HLA class I and class II alleles in association with distinct clinical entities in specific ethnic groups. HLA-DR4 has been shown to be associated with many autoimmune diseases. The association of HLA-DR4 with rheumatoid arthritis has been established in many ethnic groups (40, 41), a finding that has fueled the shared epitope hypothesis for the pathogenesis of rheumatoid arthritis (42). In this study, we found that the correlation between IgAN and HLA-DR4 was based on the association with genotypic HLA-DRB1*0405, the most frequent genotype of the DR4-related alleles in the Japanese population. Surprisingly, DNA typing also highlighted an additional association with HLA-DRB1*1501, as serological HLA-DR15 was not associated with our patients, and also as -DRB1*1501

is less prevalent than -DRB1*1502 in the healthy Japanese population (17). Furthermore, HLA-DRB1*1501 is unique in its association with Japanese patients with renal diseases. We have previously reported a significant correlation between HLA-DRB1*1501 and idiopathic membranous glomerulonephritis, and also a significant association of DRB1*1501 with rheumatoid arthritis-associated renal complications (43, 44). There have been no evidences about genotypic association of IgA nephropathy with membranous nephropathy or with other renal diseases except this report. These data, taken together with the results presented in this paper, suggest that HLA-DRB1*1501 might play a role in genetic nephritogenicity in Japanese.

IgAN exhibits a broad spectrum of clinical manifestations. One quarter of patients experience only urinary abnormalities without systemic sequelae, another quarter suffer from end-stage renal disease which requires dialysis and/or renal transplantation, while the remaining 50% of patients require constant medical follow-up (24, 45). This might reflect the heterogeneity of both exogenous pathogens and intrinsic factors. Clinical and histological subsets of the disease have been subjects of association with genetic markers. In the Caucasian population, Wopenka et al. (46) and Wyatt et al. (47) independently reported that C4A deficiency was associated with poor prognosis of IgAN. Rambašek et al. (48) found that homozygosity of C3 and Bf was more frequent in IgAN patients. Raguene and coworkers (49) showed a strong association between unfavorable outcome and the HLA-DQ3-related allele DQB1*0301. In Chinese IgAN patients, HLA-DR4 was reported to be significantly associated with gross hematuria (14). In the Japanese population, Hiki and coworkers (50) demonstrated that HLA-DR4 was strongly associated with benign IgAN, a result that was inconsistent with another Japanese report (33). Here we demonstrated that two HLA-DR4-related genotypes (HLA-DRB1*0401 and DRB1*0405) were associated with renal dysfunction in IgAN.

In the Japanese population, Haemophilus

parainfluenzae has been elucidated as one of the pathogens associated with IgAN. Suzuki *et al.* (51, 52) detected the presence outer membrane antigens from *H. parainfluenzae* in the mesangial region of renal biopsy specimens from patients with IgAN but not other renal diseases, and also demonstrated IgA class antibody specific to this bacterium in sera from IgAN patients. The responsible molecule has not yet been identified, however when it is, knowledge of the binding motifs of HLA-DRB*1501 and/or -DRB1*0405 may help identify the triggering epitopes in such molecules.

Expression levels and phenotypes of HLA molecules are important in IgAN. We demonstrated previously that HLA-DR expression on activated CD4-positive T cells from patients with IgAN was significantly higher than in patients with membranous nephropathy or healthy controls (53). Furthermore, expression of HLA-DR on T cells from patients expressing HLA-DR4 was higher than that on T cells from DR4-negative IgAN patients. We hypothesize that increased HLA class II molecule expression on CD4-positive T cells might augment antigen presentation, resulting in increased IgA production which may in turn contribute to the pathogenesis of the disease. Yokoyama and colleagues (54) reported intraglomerular expression of MHC class II, and Oren *et al.* (55) reported HLA-DRA mRNA expression in renal biopsy specimens from patients with IgAN. Ringrose and coworkers (56) reported increased expression of HLA class I on B lymphocytes from patients with IgAN.

In conclusion, we have demonstrated in the present study a significant association of IgAN in Japanese patients with HLA genotypes HLA-DRB1*0405, -DRB1*1501 and -DQB1*0303. These alleles were associated with distinct clinical findings, which may reflect the heterogeneity of both the pathogenesis and genetic background of this disease. The magnitude of the associations were not strikingly high. Further investigations using innovative methodology such as microsatellite determination is required to further clarify these associations.

Acknowledgments

The authors are grateful to Ms. Kaoru Kojima, Ms. Maho Watanabe and Keiko Aiura for technical and secretarial assistance.

References

- 1, Berger J: IgA glomerular deposits in renal disease. *Transplant. Proc.* **1**: 939-944, 1969.
- 2, Levy M, Berger J: Worldwide perspective of IgA nephropathy. *Am. J. Kidney. Dis.* **12**: 340-347, 1988.
- 3, Julian BA, Quiggins PA, Thompson JS, *et al.*: Familial IgA nephropathy. Evidence of an inherited mechanism of disease. *New. Engl. J. Med.* **24**:202-208, 1985.
- 4, O'Connell PJ, Harris M, Ibels LS, *et al.*: Familial IgA nephropathy: A study of renal disease in an Australian aboriginal family. *Aust. NZ. J. Med.* **17**: 27-33, 1987.
- 5, Egido J, Blasco RA, Sancho J, *et al.*: Immunological abnormalities in healthy relatives of patients with IgA nephropathy. *Am. J. Nephrol.* **5**: 14-20, 1985.
- 6, Waldo FB, Beischel L, West CD: IgA synthesis by lymphocytes from patients with IgA nephropathy and their relatives. *Kidney. Int.* **29**: 1229-1233, 1986.
- 7, Scivittaro V, Ranieri E, Cillo D, *et al.*: In vitro immunoglobulin production in relatives of patients with IgA nephropathy. *Clin. Nephrol.* **42**: 1-8, 1994.
- 8, Brensilver JM, Mallat S, Scholes J, *et al.*: Recurrent IgA nephropathy in living-related donor transplantation: Recurrence or transmission of familial disease? *Am. J. Kidney. Dis.* **12**:147-151, 1988.
- 9, Bjorkman PJ, Saper MA, Samraoui B, *et al.*: Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature.* **329**: 506-512, 1987.
- 10, Choi Y, Kotzin B, Herron L, *et al.*: Interaction of *Staphylococcus aureus* toxin -superantigens- with human T cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **86**: 8941-8945, 1989.
- 11, Garboczi DN, Ghosh P, Utz U, *et al.*: Structure of the complex between human T-cell receptor, viral

- peptide and HLA-A2. *Nature*. **384**: 134-141, 1996.
- 12, Naito S, Kohara M, Arakawa K: Association of class II antigens of HLA with primary glomerulopathies. *Nephron*. **45**: 111-114, 1987.
 - 13, Fauchet R, Gueguen M, Genetet B, *et al.*: HLA-DR antigen and IgA nephropathy (Berger's disease). *New Engl. J. Med.* **18**: 1033-1034, 1980.
 - 14, Huang CC, Hu SA, Lin JL, *et al.*: HLA and Chinese IgA nephropathy in Taiwan. *Tissue. Antigens*. **33**: 45-47, 1989.
 - 15, Frimat L, Briancon S, Hestin D, *et al.*: IgA nephropathy: Prognostic classification of end-stage renal failure. *Nephrol. Dial. Transplant*. **12**: 2569-2575, 1997.
 - 16, Takebayashi S: Histopathology of the biopsied kidney and its related glomerular deterioration. *Jpn. J. Nephrol.* **37**: 263-270, 1995.
 - 17, Imanishi T, Akaza T, Kimura A, *et al.*: HLA 1991, vol 1 (eds. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T), Allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci in various ethnic groups. Oxford University press, New York, 1992; p. 1063-1220.
 - 18, Liddell FD, Hanley JA: Relations between asbestos exposure and lung cancer SMRs in occupational cohort studies: *Br. J. Indust. Med.* **42**: 389-396, 1985.
 - 19, Nakai Y, Wakisaka A, Aizawa M, *et al.*: HLA and rheumatoid arthritis in the Japanese. *Arthritis. Rheum.* **24**: 722-5, 1981.
 - 20, Roccatello D, Coppo R, Piccoli G, *et al.*: Phenotypic and functional analysis of circulating phagocytic cells in IgA nephropathy patients. *Nephrol. Dial. Transplant*. **4**: 618-624, 1989.
 - 21, Muso E, Yoshida H, Takeuchi E, *et al.*: Enhanced production of glomerular extracellular matrix in a new mouse strain of high serum IgA ddY mice. *Kidney. Int.* **50**: 1946-1957, 1996.
 - 22, Scolari F, Amoroso A, Savoldi S, *et al.*: Familial occurrence of primary glomerulonephritis: evidence for a role of genetic factors. *Nephrol. Dial. Transplant*. **7**: 587-59, 1992.
 - 23, Scolari F, Amoroso A, Savoldi S, *et al.*: Familial clustering of IgA nephropathy: further in an Italian population. *Am. J. Kidney. Dis.* **33**: 857-865, 1999.
 - 24, Frimat L, Hestin D, Aymard B, *et al.*: IgA nephropathy in patients over 50 years of age: a multicenter, prospective study. *Nephrol. Dial. Transplant*. **11**: 1043-1047, 1996.
 - 25, Welch TR, Beischel LS, Choi EM: Molecular genetics of C4B deficiency in IgA nephropathy. *Human. Immunol.* **26**: 353-363, 1989.
 - 26, Jin DK, Kohsaka T, Abe J, *et al.*: Complement 4 gene deletion in patients with IgA nephropathy and Henoch-Schonlein nephritis. *Child. Nephrol. Urol.* **12**: 208-211, 1992.
 - 27, Luger AM, Komathireddy G, Walker RW, *et al.*: Molecular and serologic analysis of HLA genes and immunoglobulin allotypes in IgA nephropathy. *Autoimmunity*. **19**: 1-5, 1994.
 - 28, Moore RH, Hitman GA, Sinico RA, *et al.*: Immunoglobulin heavy chain switch region gene polymorphisms in glomerulonephritis. *Kidney. Int.* **38**: 332-336, 1990.
 - 29, Nagasawa R, Matsumura O, Maruyama N, *et al.*: T-cell receptor beta-chain gene polymorphism and the prognosis of IgA nephropathy in Japanese patients. *Nephron*. **70**: 502-503, 1995.
 - 30, Tolkoff-Rubin NE, Cosimi AB, Fuller T, *et al.*: IgA nephropathy in HLA-identical siblings. *Transplant*. **26**: 430-433, 1978.
 - 31, Grevska L, Polenakovic M, Kolevski P, *et al.*: IgA nephropathy in two HLA-identical brothers and acute, diffuse proliferative glomerulonephritis in the third, HLA-different brother. *Nephron*. **61**: 479-48, 1992.
 - 32, Kohara M, Naito S, Arakawa K, *et al.*: The strong association of HLA-DR4 with spherical mesangial dense deposits in IgA nephropathy. *J. Clin. Lab. Immunol.* **18**: 157-160, 1985.
 - 33, Kashiwabara H, Shishido H, Tomura S, *et al.*: Strong association between IgA nephropathy and HLA-DR4 antigen. *Kidney. Int.* **22**: 377-382, 1982.
 - 34, Nomoto Y, Endoh M, Miura M, *et al.*: IgA

- nephropathy associated with HLA-DR4 antigen. *Am. J. Nephrol.* **4**: 184-187, 1984.
- 35, Hiki Y, Kobayashi Y, Tateno S, *et al.*: Strong association of HLA-DR4 with benign IgA nephropathy. *Nephron.* **32**: 222-226, 1982.
- 36, Fauchet R, Pogamp PL, Genetet B, *et al.*: HLA-DR4 antigen and IgA nephropathy. *Tissue. Antigens.* **16**: 405-410, 1980.
- 37, Li PK-T, Burns APB, So AKL, *et al.*: The DQw7 allele at the HLA-DQB locus is associated with susceptibility to IgA nephropathy in Caucasians. *Kidney. Int.* **39**: 961-965, 1991.
- 38, Hiki Y, Kobayashi Y, Ookubo M, *et al.*: Association of HLA-DQw4 with IgA nephropathy in the Japanese Population. *Nephron.* **58**: 109-111, 1991.
- 39, Rambašek M, Ritz E, Mytilineos J, *et al.*: HLA-DP region gene polymorphism in primary IgA nephropathy: no association. *Nephrol. Dial. Transplant.* **7**: 125, 1992.
- 40, Stastny P: Mixed lymphocyte cultures in rheumatoid arthritis. *J. Clin. Invest.* **57**: 1148-1157, 1976.
- 41, Ohta N, Nishimura YK, Tanimoto K, *et al.*: Association between HLA and Japanese patients with rheumatoid arthritis. *Hum. Immunol.* **5**: 123-132, 1982.
- 42, Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ: The shared epitope hypothesis: an approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis. Rheum.* **30**: 1205-1213, 1987.
- 43, Ogahara S, Naito S, Abe K, Michinaga I, Arakawa K: Analysis of HLA class II genes in Japanese patients with idiopathic membranous glomerulonephritis. *Kidney. Int.* **41**: 175-182, 1992.
- 44, Tokunaga NK, Noda R, Kaneoka H, *et al.*: Association between HLA-DQB1*15 and Japanese patients with rheumatoid arthritis complicated with renal involvement. *Nephron.* **81**: 165-171, 1999.
- 45, D'Amico G: Clinical features and natural history in adults with IgA nephropathy. *Am. J. Kidney. Dis.* **12**: 353-357, 1988.
- 46, Wopenka U, Thysell H, Sjöholm AG, *et al.*: C4 phenotypes in IgA nephropathy: disease progression associated with C4 a deficiency but not with C4 isotype concentrations. *Clin. Nephrol.* **45**: 141-145, 1996.
- 47, Wyatt RJ, Julian BA, Woodford SY, *et al.*: C4A deficiency and poor prognosis in patients with IgA nephropathy. *Clin. Nephrol.* **36**: 1-5, 1991.
- 48, Rambašek M, Wall Bake AWL, Schumacher-Ach R, *et al.*: Genetic polymorphism of C3 and Bf in IgA nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.* **2**: 208-211, 1987.
- 49, Raguene O, Mercier B, Cledes J, *et al.*: HLA class II typing and idiopathic IgA nephropathy (IgAN): DQB1*0301, a possible marker of unfavorable outcome. *Tissue. Antigens.* **45**: 246-249, 1995.
- 50, Hiki Y, Kobayashi Y, Ookubo M, *et al.*: The role of HLA-DR4 in the long-term prognosis of IgA nephropathy. *Nephron.* **54**: 264-265, 1990.
- 51, Suzuki S, Nakatomi Y, Sato H, *et al.*: Haemophilus parainfluenzae antigen and antibody in renal biopsy samples and serum of patients with IgA nephropathy. *Lancet.* **343**: 12-20, 1994.
- 52, Suzuki S, Gejyo F, Nakatomi Y, *et al.*: Role of IgA, IgG, and IgM antibodies against Haemophilus parainfluenzae antigens in IgA nephropathy. *Clin. Nephrol.* **46**: 287-295, 1996.
- 53, Tanaka T, Kaneoka H, Kuroiwa A, *et al.*: Increased expression of HLA-DR molecule on peripheral blood Th lymphocytes from patients with IgA nephropathy. *Clin. Exp. Nephrol.* **3**: 186-191, 1999.
- 54, Yokoyama H, Takaeda M, Wada T, *et al.*: Intraglomerular expression of MHC Class II and Ki-67 antigens and serum gamma-interferon levels in IgA nephropathy. *Nephron.* **62**: 169-175, 1992.
- 55, Oren R, Laufer J, Goldberg I, *et al.*: C3, C4, factor B and HLA-DR alpha mRNA expression in renal biopsy specimens from patients with IgA nephropathy. *Immunol.* **86**: 575-583, 1995.
- 56, Ringrose TR, Thomas TH, Wilkinson R: Increased mononuclear cell membrane fluidity and increased B lymphocyte HLA class I expression in IgA

nephropathy. *Nephrol. Dial. Transplant.* **11**: 287-292, 1996.

〔最新情報：“玉手箱”〕 日本における腎移植の現状

両角 國男

名古屋市立大学, 人工透析部

はじめに

腎移植は、末期腎不全（尿毒症）に対する治療法として広く世界中で行われている。1950年代に移植手技は確立し、その後、移植免疫機序の解明と移植免疫抑制療法の進歩により移植成績は向上し現在にいたっている。末期腎不全に対する治療法として、血液透析に代表させる透析療法と腎移植は車の両輪にたとえられる関係にある。欧米ではこの喩えに矛盾しない治療実績を腎移植も透析療法もあげ、双方の治療特性を生かした腎不全総合治療対策が実施されている。しかし、日本では、腎移植症例は極めて少なく末期腎不全患者の大多数は血液透析により治療されている。

日本の腎移植はなぜ欧米諸国に比較し極めて少ないのだろうか？腎移植成績が悪いのだろうか？日本の移植システム整備が遅れているのだろうか？

本項では、最近の腎移植成績と日本の腎移植の現状を概説し、日本の動向、移植を増加させるための体制整備の改善など今後どのような展開が必要か考察する。

日本の末期腎不全、透析療法の現状

腎疾患が不可逆性に進行し慢性腎不全となり、さらに、自己腎の機能では生命を維持できないところまで悪化した状態を末期腎不全と定義する。末期腎不全の原因となった腎疾患として慢性糸球体腎炎が長く第1位の座を占めてきた。しかし、欧米諸国と同様にわが国でも糖尿病性腎症が急増し、1998年以降は第1位の座を占めている（1）。糖尿病性末期

腎不全が増加した原因は、糖尿病性腎症の増加に加え、透析治療開始後治療成績が不良なため透析療法導入に躊躇していた糖尿病性腎不全への透析療法の治療成績が向上したため、積極的に透析療法が行われるようになったためとされている。図1に透析療法を開始するわが国の末期腎不全の原疾患推移を導入年度と総数に対する割合を示した（2）。最近の原疾患分布は腎硬化症が少ないことを除くと欧米諸国と近似している。

末期腎不全治療法には、透析療法（血液透析、腹膜透析療法）と腎移植がある。一般的な血液透析療法では、1週3回各4時間程度の治療を行い、透析治療時間以外は、腎臓機能はまったく代償されていない。そのため、末期腎不全での水・電解質異常、窒素代謝物の蓄積・アシドーシスなどを短時間内に急速に是正することになる。また、高分子物質の排泄は透析療法では困難で、内分泌機能などの代償は薬物療法にて行うことになるため、腎臓の機能を断続的部分的代償することになる。

わが国の末期腎不全者総数は、2000年12月末現在で20万名を越し、毎年新規透析療法開始例が3万余名を数える。慢性血液透析患者の粗死亡率は約9.3%であり、最近では1年に約18,000名が死亡しているため、血液透析患者数は1年に12,000名増加している。腎移植症例数が増加することでこの透析患者数の増加を抑制することが可能である。しかし、現状と同様に腎移植が少なければ、今と同じ増加は続くため、多分血液透析患者総数は30万名にて平衡状態になると予測されている。

筆者連絡先 〒467-8602 名古屋市瑞穂区瑞穂町字川澄1番地
名古屋市立大学 人工透析部
両角 國男

電話 052-851-5511

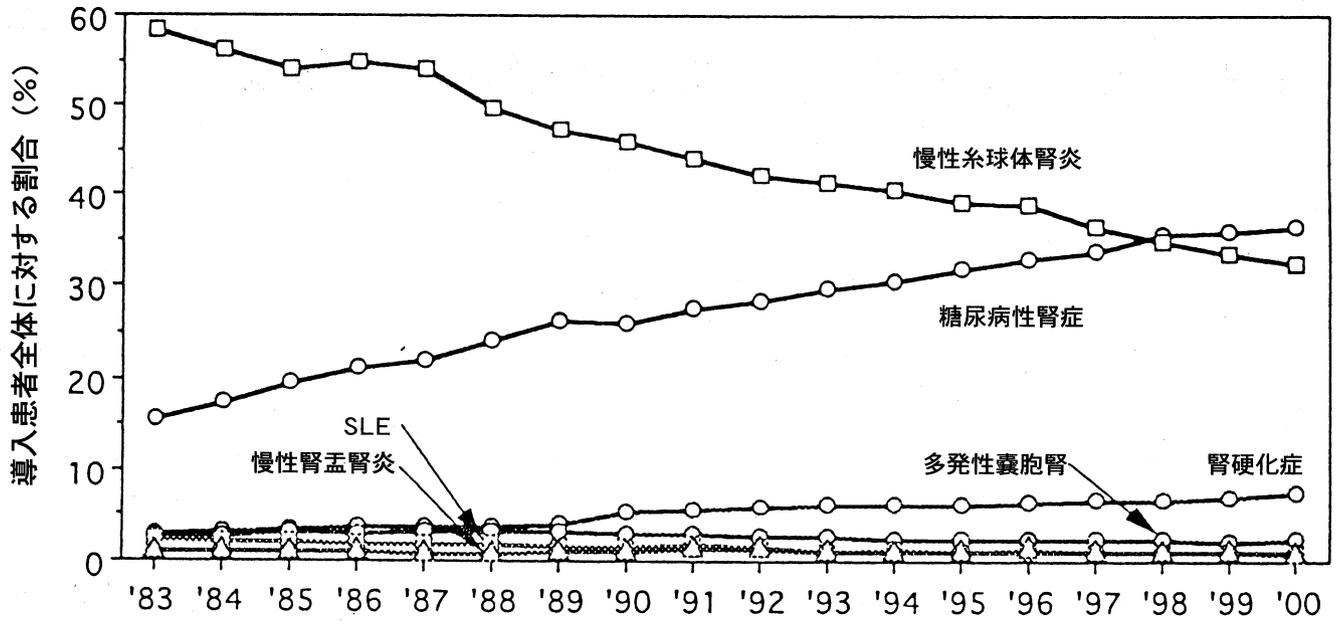


図 1-1 導入原疾患の推移 (導入患者)

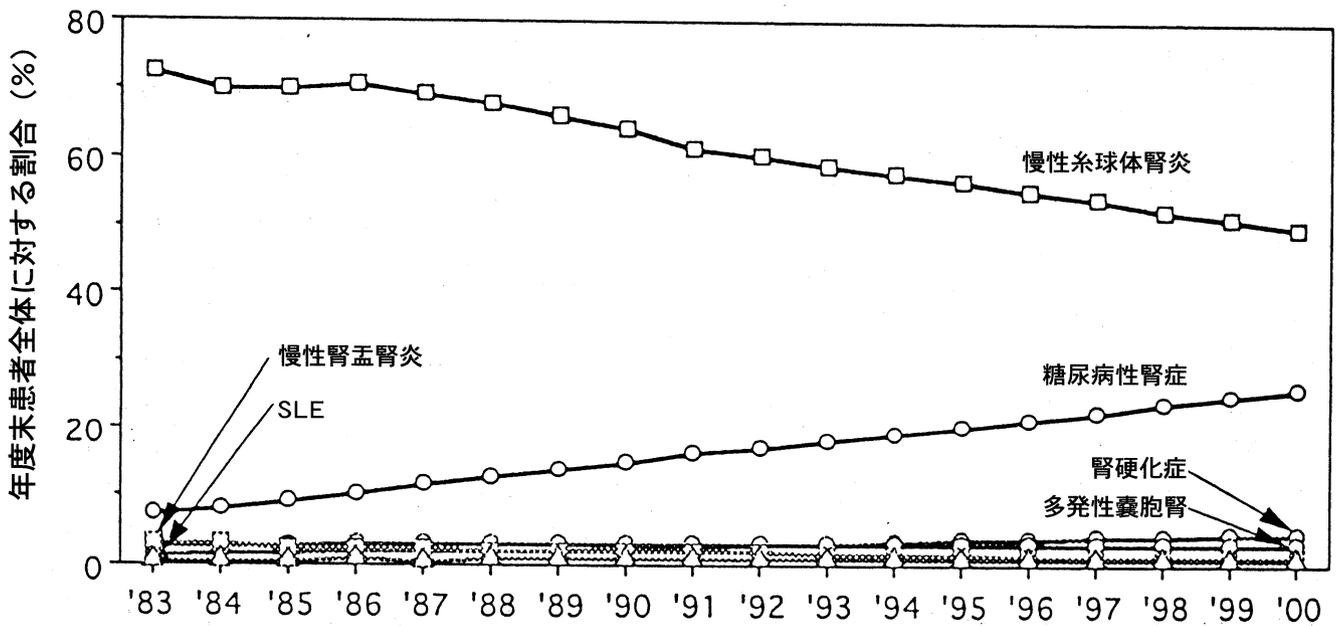


図 1-2 導入原疾患の推移 (年度末患者)

日本の腎移植の現状

一方、腎移植は、血液透析と異なり、全ての腎機能を正常に復帰させることができ、腎移植後には健常時と同様になり、社会的活動性を含めそのQOLは極めて良好である。

腎移植は、提供者（ドナー）により生体腎移植と、死体腎（献腎）移植に区分される。

日本臓器移植ネットワークへの死体腎移植希望登録総数も約14000名にのぼる。しかし、腎移植手術は年間約600から750件と少数で、生体腎移植が約50～6000件、死体腎（献腎）移植は150件と極めてわずかな件数に留まっている。

図2に、わが国の末期腎不全治療状況を経年的に示した。末期腎不全患者数は増加し続けているのに

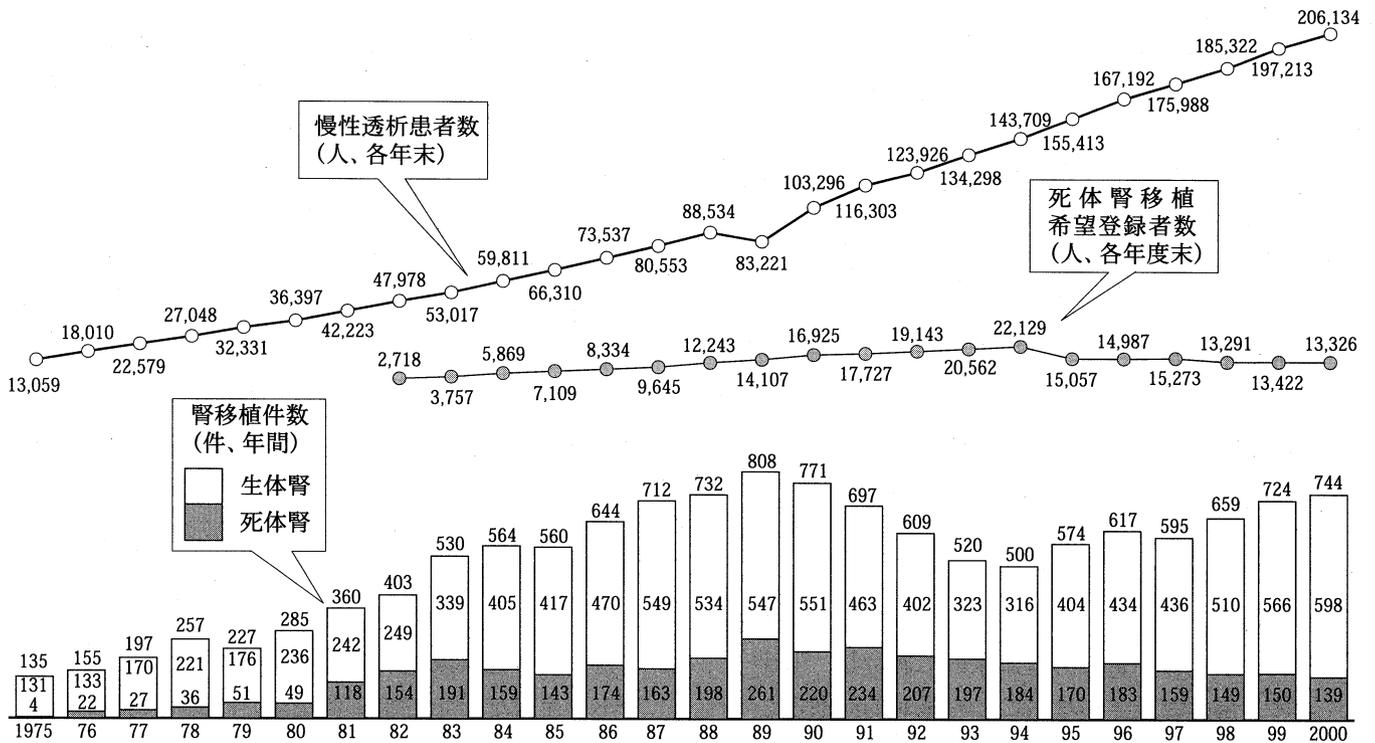


図2 慢性透析患者・死体腎移植希望登録者・腎移植件数の推移

対し、腎移植は1989年をピークに減少している。1995年より日本全体の腎移植システム構築のため日本腎移植ネットワークが活動を開始し、1997年には臓器移植法案が可決され発効し脳死体からの臓器移植が行われるようにシステムは整備された。しかし、皮肉なことにこの臓器移植法案の発効後の移植実績は逆に減少している。このように、わが国の腎不全治療実績は、大部分を透析療法が担っているため、透析療法と腎移植が適正バランスを保っている車の両輪と表現するには無理がある状況である。

一方、欧米では、それぞれ年間10,000から12,000件の腎移植が行われている。

欧米では、死体腎移植が多数を占め、北欧では殆ど100%、米国では65%である。米国の生体腎移植件数は現在年間に約4,000件であるが、米国の人口は約2.4億人とわが国の2倍であることを考えるとわが国は生体腎移植も極めて少ないことが明らかになる。

なぜ、こんなにも日本の移植実績は増加しないのであろうか？日本の移植成績が不良なのだろうか？

図2に、移植免疫抑制療法に違いのある年代別に生体腎と献腎に区分した移植腎生着成績を示す(3)。日本移植学会によるわが国の腎移植患者全体での、1年、5年、10年、15年患者生存率は、生体腎では95%、89%、82%、76%で、献腎では91%、84%、77%、71%である。この患者生存率は血液透析患者全体の生存率よりはるかに高く良好である。日本の血液透析患者の導入時平均年齢は63歳、全体の平均年齢も63歳と高齢に傾いている。腎移植患者の移植時年齢は30歳代であることを斟酌し、血液透析導入時年齢の近いグループの生存率と比較しても腎移植後長期生存率はより高く、腎移植が患者生存に有利に働いていることを示している。

一方、シクロスポリンを主たる移植免疫抑制療法にした1983年以降における1年、5年、10年、15年移植腎生着率は、生体腎で93%、77%、56%、40%、献腎で82%、63%、46%、35%である。しかし、移植成績は、生体腎・死体腎移植の区分と移植手術が行われた年代により大きく異なる。図3に見るように1983年以降の献腎移植成績の向上は

めざましい。わが国の腎移植のドナーが極めて高齢者が多いことを考えるとこの成績は欧米諸国と比較しまったく遜色ない良好なものである。

日本の腎移植の特徴（1）：ABO血液型不適合腎移植の実施

（腎提供者（ドナー）と受腎者（レシピエント）の組み合わせ原則の変更/拡大）

臓器移植にはドナーが不可欠である。腎臓は2個あるため1腎を提供しても残された腎臓によりその後の生活に支障のないことが予測されれば1腎を提供することが可能で、生体腎移植が行われてきた。ドナーの多くは血縁家族であり、夫婦間での腎移植も最近では増加している。

腎移植のドナー/レシピエント選択は、ABO血液型の組み合わせが古典的輸血原則に適合し、ドナーに対する前感作抗体のないことを絶対的原則として行われてきた。この原則からはずれた腎移植では、移植直後から激しい抗体関連型急性拒絶反応の出現する危険が高く、絶対禁忌とされてきた。しかし、1985年にベルギーよりABO血液型不適合間（例：ドナーはA型、レシピエントはB型、など）の腎移

植が適切な移植前処置により可能であるとの研究が報告されて（4）以来、わが国でも1989年の第1例以降ABO血液型不適合生体腎移植が多数行われるようになった（5）。生体腎移植に限られるが、腎移植前にドナー血液型に対する抗体（IgG,IgMクラス）を3～4回の血漿交換や免疫吸着により除去し、腎移植手術時にレシピエントの脾臓摘出を同時に行い、強力な移植免疫抑制療法を移植手術前から開始することで、超急性や急性の抗体関連型拒絶反応の予防/抑制が可能となり、移植腎生着を得ることができる。ABO血液型の適合した腎移植に比較し、抗体関連型拒絶反応出現や高度な免疫抑制療法に起因する感染症増加などの危険因子が関与する結果、移植腎1年生着率は5～10%程度悪いが、十分に臨床治療として評価しうる成績であり、ABO血液型の壁により従来家族間での腎移植をあきらめてきた腎不全患者などを対象に現在までに約400件のABO血液型不適合腎移植が行われ、最近では生体腎移植の概ね1割に相当する（6）。腎移植後3ヶ月頃までは抗体関連型急性拒絶反応の危険があるが、その期間を越すと通常の腎移植との差はなくなり、腎移植後1年生着率は85%程度でその後の長期生着成績は通常と同じである。

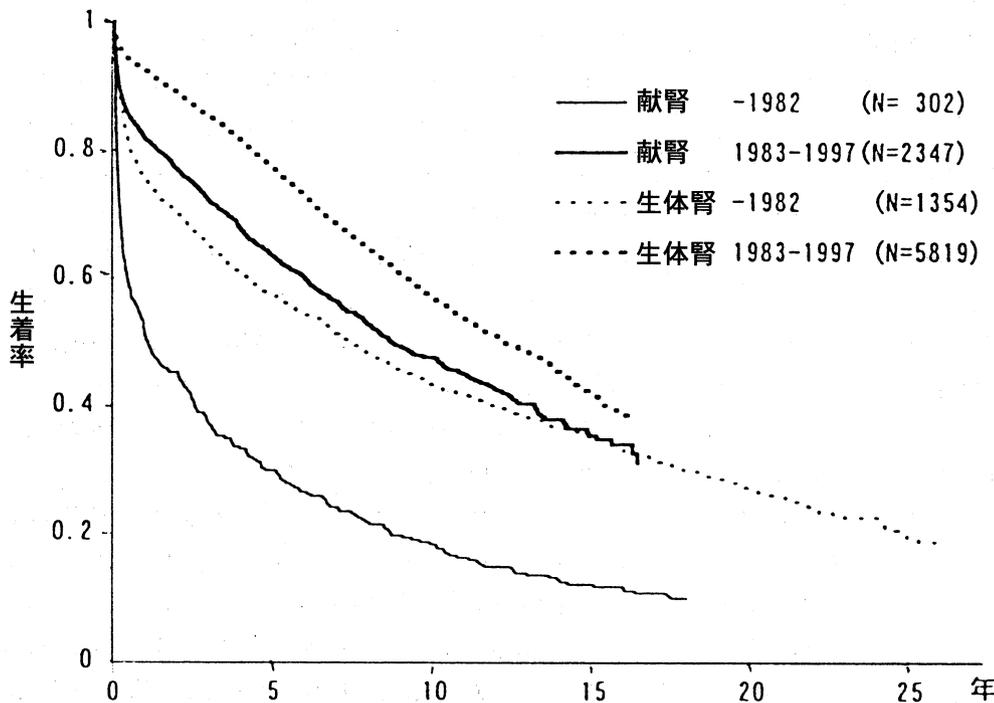


図3 時期別 移植腎生着率

日本の腎移植の特徴（2）：日本臓器移植ネットワークによる献腎腎移植システム

日本の腎移植実績の少なさ、特に欧米諸国と比較した際の献腎移植の少なさがわが国の腎不全治療体制の問題として古くより取り上げられてきた。こうした状況を打破するため日本臓器移植ネットワークが平成7年（1995年）に全国的に整備され、公平/公正を基本理念に活動を開始した。

献腎移植を希望し、同ネットワークに登録した末期腎不全患者数は約15000名を数える。図2に示したように毎年行われる献腎移植手術件数は150~180件程度であり、この現状が継続すると考えるなら腎移植希望登録後80年程度待たなければ移植手術を受ける機会はないことになる。腎移植ドナーの選択原則は、移植後の腎機能発現が良好に期待できること、移植によりレシピエントに不利益となる感染症、悪性腫瘍などが持ち込まれないことである。さらに、生体腎移植では、腎提供によりドナーの健康が損なわれないことである。従って、ドナー条件には、年齢、腎機能、腎障害を示す疾患の有無、感染症・腫瘍がないこと、献腎移植では、移植後無機能発現腎とならないため、温阻血時間60分以内の条件が必要である。腎移植後短期長期成績悪化因子として高齢ドナー、特に60歳以上ドナーが重要であることが米国にて強調されている。米国でも最近では高齢ドナーの増加傾向が目立っている。米国全体では60歳以上ドナーから脳死体からの臓器移植として提供された腎臓の約30%が、適切な評価を受けることなく移植成績を悪化させる可能性があるとして使用されずに廃棄されている。わが国の腎移植ドナーは高齢者が極めて多いことを考えるとこの違いには驚かざるをえない。

日本臓器移植ネットワークのレシピエントは、表1に示したルールに則り、登録されたコンピューター情報より自動的に決定されている。こうしたコンピューターにより自動的に選択されるシステムは、米国のUNOS(United National Organ Sharing)や、欧州のEuro-Transplantにて行われてきたシステムを研究しわが国の状況を勘案して導入された。欧米では多くの腎移植例のデータ蓄積があり、公平/公正で良好な腎移植成績を担保するために、血液型、HLA適合度(HLAミスマッチ数)、腎移植登録後待機期間など登録し、点数化し、そこに早期に腎移植を必要とする症例に追加ポイントを与えるなどの工夫をしたレシピエント選択ルールをそれぞれの地域において決定してきた。また、腎移植後成績の中央登録が積極的に行なわれ、定期的にHLA適合度別など移植腎の短期/長期成績に関連する各因子が解析され、その結果が次の選択方針の見直しに反映される

システムが定着している。

一方、日本臓器移植ネットワークの選択ルールにおいては、全国レベルでの公平/公正を確保することと、良好な移植後成績を期待するため、全国を7ブロックと1つのサブブロックに分割している。この選択基準を要約すると、「ABO血液型一致、HLA-DR優先のHLA適合(HLA適合数)による順位付け、待機日数にて最終決定し、ブロック内に配分する。ただし、HLA6抗原一致者は全国 SHIPPING 対象とする。」である。その後、腎移植の早期実施が医学的に望まれる小児腎不全患者対策として、15歳以下の小児から提供された腎臓の取り扱いについてのルールが追加されている。この特別ルールでは、ABO式血液型は一致に加え、適合(A型、B型ドナーにはAB型レシピエントも可、O型は万能ドナー)までを対象とし、同一条件ではドナー発生地から近い登録者を優先する、腎移植を急ぐ医学的緊急要件を勘案する事となっている。

HLA検査は、ブロック内の指定された施設にて行い、献腎移植希望者は、居住する県内の腎移植施設にて評価を受け、その施設で腎移植をうける原則にて運用されてきた。しかし、各ブロックの運用に違いがあり、細部まで完全に統一ルールにて行なわれているわけではない。この配分規則がスタートした時点では、それ以前の献腎移植システムのデータを引き継いだため、HLA検査に使用された抗血清の統一化が不十分で、HLA検査精度に多少のばらつきがあり、血清学的検査の整合性をあわせる課題があった。この時点にて、すでに複数のHLA検査施設では、HLA-classIIのDNAタイピング、DR-B1のDNAタイピングが実用化され、臨床応用されていたため、精度管理面より信頼性が高く、ブランクを生ずる可能性が低く科学的に進んだDNAタイピングを整備すべきとの意見もあったが、すぐに全国統一レベルで稼働させることを重視することとなり、統一トレーによる血清診断が採用された。HLA学の臨床応用のありかたやHLA検査担当者からは、精度が高く的確に組織適合性抗原系を分類でき、より優れた腎移植成績を保証するDNAタイピングが採用されなかったことは不満であろう。

こうした新しい日本臓器移植ネットワークによる

表1 腎臓移植希望者（レシピエント）選択基準

1. ABO式血液型の一致
2. HLA型の適合度

順位	DR座の適合数	A座及びB座の適合数
1	2	4
2	2	3
3	2	2
4	2	1
5	2	0
6	1	4
7	1	3
8	1	2
9	1	1
10	1	0
11	0	4
12	0	3
13	0	2
14	0	1
15	0	0

→全国 SHIPPING

3. HLA型の適合度の順位が同一の移植希望者（レシピエント）が複数存在する場合は、待機期間の長い者を優先する。
4. リンパ球直接交差試験（全リンパ球又は Tリンパ球）陰性

○臓器搬送（SHIPPING）に当たっては、さらに以下の点を考慮する。

- (1) 全国SHIPPINGはHLA型6抗原一致の場合とするが、遠隔地のレシピエントについては臓器搬送に要する時間を考慮する。PRM検査が可能な場合はPRM検査陰性を満たすこととする。
- (2) 全国SHIPPING対象以外で、HLA型の適合度の順位が同一であって、かつ、待機期間の長さが同等である場合には、臓器搬送に要する時間、医学的条件等の事項に配慮する。

(注)1年以内に待機希望者（レシピエント）の登録情報が更新されていることを必要条件とする。

献腎移植システムが動き出したが前述したごとく残念ながら献腎移植件数はまったく増加せず、逆に少し減少傾向にある。平成10年には、臓器移植法が成立し、脳死体からの多臓器移植も行われる体制が整ったが、献腎移植件数はさらに減少傾向となっている。従来行ってきた献腎移植は、角膜と腎臓移植に関する法律に基づき心臓停止後ドナーより提供された腎を用いて行ってきた。心臓停止後60分以内（実際には30分以内が望ましい）に十分に冷却灌流された腎臓は、しばらくは利尿のないことが多いが、平均すると10日間ほどの急性尿細管壊死より回復すると良好な腎機能を発揮することができるため、心臓停止後に提供された腎臓により献腎移植は可能である。ところが、脳死体からの臓器移植法に関連した脳死判定や摘出までの手順と、心臓死後の提供による腎臓移植の取り扱いの違いに誤解を生じ、提供施設からの協力を得られなくなったことなどがその原因である。

現在、このように落ち込んだ状況にある献腎移植手術件数の増加を図るため、献腎移植システムの見直しが行われている。そのなかで、HLA検査も再検討されている。欧米諸国と同様にHLAミスマッチ数で判定するように変更されるようである。今回の見直しのポイントは、献腎移植件数が増加するように各地での献腎移植を活性化させるようにシステムを見直すことで、現在具体的な変更について検討されている途中である。HLAについては、本来であれば、より科学的に信頼性が高く、整備されれば医療経済的にも有利なDNAタイピングが採用されるように改良されることが望ましい。しかし、わが国の少数の献腎移植例では、移植免疫抑制療法の進歩によりHLA適合度の良し悪しによる生着成績に与える有意差が、HLAの0ミスマッチ群とHLA-DRのミスマッチ数以外にはないこと、人種が同一のグループ間での移植成績に与えるHLAのインパクトが小さいこと、従来のデータをそのまま使用できることなど多くの理由によりDNAタイピングの採用は見送られる可能性が高い。HLA-class-IIに加え、class-IでもDNAタイピングが実用可能になってきた現状、科学の進歩を臨床に反映させより理にかなった治療を推進する本来のありかたに逆行していると

言わざるをえない。

いずれにしても、わが国の献腎移植が広く国民の支持を受け、現在の数倍以上の手術が行われることが必要である。そのためには、末期腎不全患者グループの積極的な活動、腎不全医療に関わる全ての医療従事者の協力、臓器移植に対する社会の関心、医療/福祉への国民の関心を高めるための活動など腎移植増加のためになすべき課題は多い。

日本の腎移植研究の動向

日本の腎移植研究は移植手術数が極めて少ないわりには盛んである。症例数が少ないことは各症例を十分に吟味することが可能となり、きめ細かい臨床研究がABO血液型不適合腎移植例の解析、免疫抑制薬の薬物動態、移植後の定期腎生検による病理解析、慢性移植腎機能障害基序の解明と慢性拒絶反応の診断基準作成(7)、心臓死後提供腎の解析など幅広い領域で行なわれている。また、臨床例が少ないため実験的研究に大きなエネルギーを傾け、遺伝子導入した実験動物における各種の移植腎機能傷害基序の解明、免疫抑制薬腎傷害の基序と抑制に関する研究(8)、異種移植の基礎研究多くの成果を挙げている。

終わりに

腎移植は臨床に定着した末期腎不全治療法で移植後の患者生存率、QOLともに極めて優れている。わが国の腎移植は症例数こそ少ないが成績は欧米諸国と比し遜色は無い。また、ABO血液型不適合腎移植、心臓死後の提供腎を主体とした献腎移植などわが国に特徴的な背景を有している。末期腎不全治療対策を総合的に考えるうえで、医療経済学的視野を含めても腎移植の大幅な増加が望まれている。腎移植の優れた治療成果を広く認識してもらうには生体腎移植を増加させることが重要である。また、全国的に組織化された日本臓器移植ネットワークによる献腎移植を推進することが望まれる。そのなかで、組織適合性検査の重要性の再評価、科学の進歩を的確に速やかに臨床に反映させるシステム作りが大切である。組織適合性検査・HLA学に関わる諸兄の腎移植推進への協力は大きな推進力であり、日本の

腎移植増加へのご助力をお願いしたい。

文献

- 1, わが国の慢性透析療法の現況：1998年12月31日現在 日本透析医学会
- 2, わが国の慢性透析療法の現況：2000年12月31日現在 日本透析医学会
- 3, 日本腎移植臨床研究会, 日本移植学会 腎移植臨床統計集計報告(2000)-II 1999年追跡調査報告 移植 36;91-105 2001年
- 4, Alexandre GPJ, *et al*: Splenectomy as a prerequisite for successful human ABO-incompatible renal transplantation. *Transplant Proc* 17:138-, 1985
- 5, Tanabe N, Takahashi K, *et al*: Long-term results of ABO-incompatible living kidney transplantation. *Transplantation* 65:224-228, 1998
- 6, Takahashi K, Saito K, *et al*.: Multicentre-cooperative study group. First report of a seven-year survey on ABO-incompatible kidney transplantation in Japan. *Clin Exp Nephrol* 5:119-, 2001
- 7, Oikawa T, Morozumi K, *et al*: Electron microscopic peritubular capillary lesions: a new criterion for chronic rejection. *Clinical Transplantation* 13 (Suppl 1): 24-32, 1999
- 8, Ogawa H, Muramatsu H, *et al*.: Molecular Cloning of endo- β -galactosidase C and its application in removing α -galactosyl Xenoantigen from blood vessels in the pig kidney. *J. Biological Chemistry* 275: 19368-19374, 2000

〔シリーズ：研究者の個人史〕 私の古いアルバムから

辻 公美

東海大学名誉教授， アムジェン メディカルアドバイザー， 日本再生医療学会理事長

はじめに

HLAの研究者の個人史の執筆についてMHC編集長の猪子英俊教授から本年9月に手紙をもらった。東海大学退官まで色んなところを転々としていたので、移動の度に資料を整理（実際後になってみれば失くしたり、大切な物まで捨てたり）してきたが、もともと整理整頓は大苦手、今になって大いに後悔している。何とか残っていた古スライドなどから記憶を呼びもどし筆をとった次第である。

HLAに夢中になった時期とその前及びその後と今について思い出をまとめた。迷分、駄文そして時代錯誤の点など失笑お許しください。

新兵の外科医がHLAに出会うまで

1957年に東京医大を卒業、インターン1年を経て東京医科大学外科学教室（故篠井金吾教授）に入局した。胸部外科特に肺外科を主に一般外科を勉む、医者のある方、患者への接し方などなど多くを教わった。早田義博名誉教授（当時医局長）から出張先病院に電話があった。篠井教授が欧米の胸部外科の現状視察のため数ヶ月旅行されるのでお供しないかと。その当時外国をみる事が出来るのは夢にも等しく非常にうれしかったが、教授と1対1で旅行することなど考えることすら出来なかった。入局1年生にとっては、教授は神様、とてもご一緒出来る心境でも雰囲気でもなかった。後で聞いたことだが、辻君はどんな奴だと先輩達にきいておられた様であ



った。

第40回アメリカ胸部外科学会（マイアミ1960.5）で口演された折日本人会をされた中、故河村謙二教授の顔があった。この数年後第1回日本移植学会を河村教授が主催され京都で開催（1965）された。その後ヨーロッパの胸部外科を視察後、故篠井教授は山男としてスイスマッターホルンへ登られた。

その当時、羽田からハワイホノルルへはプロペラ飛行機で隣席に篠井先生、機中でねむれるものではなかった。ホノルルの歓迎でも美味しい筈のジュージーなパイナップルも、ただ口に入れたというものであった。本土L.Aにつくとだんだ



筆者連絡先 〒103-0007 中央区日本橋浜町2-31-1浜町センタービル
アムジェン株式会社
辻 公美

電話 03-5641-9934
ファックス 03-5641-9026
E-mail

んもうどうにでもなれ、なる様になると腹がすわり覚悟が出来た。欧米での視察訪問を終えホテルに帰ってくると、時々否しばしば腰肩がはると言われ、ホテルの部屋の床に横になっていただき、先生の上へのっかり全身をマッサージしたものであった。うまいね、大変らくになった、今までやったことがあるのかと。先生今ならもっとうまく要領よくツボを押すことも出来るのですが・・・。

1963年春、篠井教授から外科医は病理学を勉べ、今丁度アメリカペン大病理に席があるので行きなさい・・・。1963年6月30日にフィラデルフィア空港に着きphiladelphia general hospitalレジデントハウスに到着。翌7月1日隣りのUniversity of Pennsylvania 病理学の故Prof. W E Ehrich を訪れた。

驚いたことには（これは島国日本人感覚であったことが後でわかったことだが）anatomical autopsyがあるからすぐ仕度をしてautopsyをなさいと。今まで一応新米外科医としても生身の体にメスを入れてきたが、血の流れていない出血しない体即ち死体病理解剖ははじめて。患者のカルテはレジデントの走りかき手書きで、読むのが難解というより全く読めなかった。ともかく型の如く解剖をすませてブザーをおすと、受持医・レジデント・ナース・学生・病棟主任など20人位が解剖台に集まってきて最後にProf.が。先ず患者の病歴説明と病理解剖所見を提示した。周りをとり囲む者達から〇〇〇〇は？△△△△？の矢継ぎ早の質問・・・ただただ唾然とするばかりであった。言葉のハンディもさることながら、教育研習の日米の相異に

ただただ驚くばかりであった。今にみておれ僕だって！数日すると組織標本が出来、それぞれの症例についてミクロをふまえたProf.のチェックがあった。ある時Prof. Ehrichからすべての解剖例で胸腺をしらべなさいと。後でわかったことだがProf. Ehrichは胸腺研究の大家であったと。胸腺から多



Univ of Penn、医学部入口

くのことを教えられた。

8月末にProf. Ehrichから、University of Penn.には世界中から若い優秀なドクターが集まるpost graduate courseがあり、授業料は払ってあげるから受講しなさい。今さら講義を受けたくもないし、何かリサーチがしたいといったら、君にとって今大切なことはリサーチするよりも英語を勉強すること、集点を1つにしぼりなさいと悟された。午前中は基礎医学の講義と病理組織標本をみ、午後は病理解剖(3日に1回の割で1年で100余例)にあけくれた。6月末には漠大な病理組織標本をみて診断するテストがあった。標本を理屈で理解していく時間もなく、私の力もな

なかったので結局標本をパターン認識して頭につめ込んだ。結果は幸にもパシ認定証をもらうことが出来た。



late Prof. W E Ehrichの肖像とMrs. Ehrich (1970.撮影)

パスしないと本人もエーリック先生も思っていたので“よく努力したね”と。evidence based medicine、物の見方、マクロから次いでミクロでなど体得出来た。帰国後患者をみる時の考え方に大いに役立った。今になって大いに感謝している次第である。

どうしてもアメリカでリサーチがやりたいのでProf. Ehrichの推薦状を添え20数ヶ所へapplication formを送り最終的にBostonとDurham、North Carolinaにしぼり、結局Duke University Medical Centerに採用された。真夏Uホールをひっぱって家族とともにPhiladelphia北からDurhamへ移動した。



(1964.6)

HLAとともに、HLAに恋をして

前述の如く、外科医を志していたのでProf. W W Shingleton, Dept. of SurgeryのResearch Fellowとなりimmunology, oncology, cryobiologyの漠然としたテーマで大きなofficeと実験室が与えられた。Immunologyに興味があるならProf. AmosがRosewell Park Memorialから来たので、onco-, transplantation immunologyをやってみないかといわれ、オウム返しに大喜びで了解、すぐProf. D B Amosを紹介された(1964.7)。Prof. Amosと呼ぶな。Bernardと呼べ。冗談交じりに私はDBAであるとも。マウスのinbred



Shingleton's Family 1964.11



Amos Party 1964.12

strainでDBAがあるところから。マウスのimmunogeneticsも自然に勉強出来た。

これがHLAとの出会いである。私は1964.7.1からDuke大に来たので、Prof. Amosが主催した1st International Histocompatibility Workshop & Conference (ConferenceはP S RussellとH J WinnがJune 7-8、D B AmosがJune 9~12)は終わったばかりであった。



Amos' Lab. 1963.7

したがってAmos Lab.では、リンパ球採取、保存、cytotoxicity test、HLA typingと腎・皮膚移植、oncoimmunology、T-ologyが一大テーマとなっていた。1964年初めての夏休み前(薄給で夏休みをゆっくりとるどころではなかった)、リンパ球採集のため採血と同種皮膚移植のボランティアを募っていたので1回400ml、週3回の血液提供を行い(1回100ドル?位をもらった)家族で東海岸へ旅行した。皮膚移植もたのまれたが、訳のわからぬHLA抗原で刺激されてはたまらないのでこれは拒否した。

Tsujiは日本人外科医だし器用だろうから、ハツカネズミの胸管から胸腺リンパ球を採取し、メチルコラントレン誘導担癌体の細胞免疫をやりなさいと。

一年間のペン大で英語で講義を受けたものの語学は一向に上達しておらず特にバーナードの英語は早口であった。Dr. Brack Hattlerが外科のチーフレジデントで、リサーチは癌免疫をやるというので一緒に仕事をするようになった。Bernardの英語の通訳をBrackがやってくれた。3人で話をし小生が内容を理解した時にはもうBernardの姿は消えて

いた。

今でいうT-ologyのはしりで、6ヶ月位で何とかマウス胸管に顕微鏡下でカニューレーションに成功した。世界中でProf. Gowanが第1成功者、第3番目に成功したらしい。その後給料は倍増した。

1965年篠井教授がワシントンを訪問された折、わざわざDurhamまで足をのばしていただいた。ここで篠井論文(1932)を手渡された。ヒト皮膚移植で2nd set現象を発表されたものであった。早速英訳しBernardにみせたところすぐP. Medawarに紹介してもらった。約10年も早く発見発表されていたことになるが、移植学を一生の仕事にしようと思った。Duke大では多くのことを経験したが、国際交流の重要性、世界中に友人が出来たことに感謝している。

1966年12月帰国した。移植免疫、腫瘍免疫、T-ologyを外科の領域に導入しようとした。しかしその時は、まだそれ程HLAに興味をもっていなかった。1967、正月母校東京医大篠井外科にもどり移植研究グループが出来た。十数人で移植免疫、組織適合性、肺移植、がん免疫など診療と研究に夜遅くまで勉強した。1968、夏過ぎD B AmosからHLA抗血清に興味があれば、USA・NIHに紹介してあげよう。初版のManual of Tissue Typing Techniques、NIH、1968とCatalog of Tissue Typing Antiseraが送られてきた。さらにはTransplantation Immunology Program Notes No.1 October 1968も送付された。東京医大・移植研究室では肺移植もう1つはTissue Typingに全力をあげた。

益々HLAの魅力にとりつかれた。慶応義塾大学医学部放射線医学教室に移った(1969.4~1971.12)。山下久雄教授をはじめ慶応医学部の多くの先生方の暖かい御理解と御支援により、2号棟地下・放射線医学組織適合性研究室で伊東元明・故宮本宏・大沢欣子達と移植免疫、組織適合性の研究に没頭出来た。さらに国内の多くの科学者達が組織適合性の見学にきていただき、日本の組織適合性の基盤を作ることが出来た。

1970.14th International Histocompatibility Workshop Conference (IHWC)、chairman、P I TerasakiがL.A.で開催され、日本からはじめて個人

参加が出来た。すでに滞米中の横山三男、狩野泰一、故関口進先生達とお会い出来、多くの指示をいただいた。L.A.のアンバサダーホテルの会

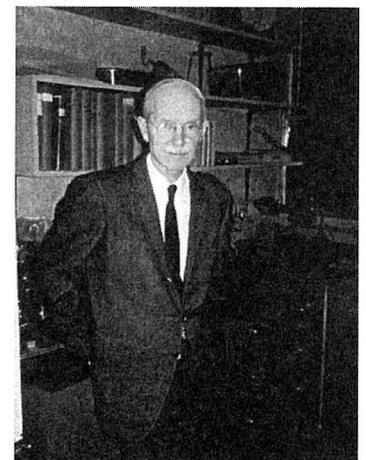


場の片隅で、Amos、Terasaki、Bashir、Morris、横山、辻等が非公式に集まり、HLAについて太平洋諸国で勉強会をしようとの話があり、帰国後東大医科研・故石橋幸雄教授に話をもっていった。これがUS-JAPAN Cooperative Seminar for HLA and Susceptibility to Disease (第1回サンタバーバラ1972.10、第2回ハワイ1977.5)、1st AOH (箱根1979.10)開催の契機となった。さらに1972、5th IHWC (chairman J. Dausset) のcouncillor Meetingで検討承認され、1974年からNews Letterが送付されてきた。6th IHWC (chairman 故F Kissmeyer-Nielsen、オーフス、1975.6.29~7.5)でHLAの人種差を検討するため日本、インド、ソ連などの正式参加が認められることとなった。

その後約1ヶ月アメリカの旅をした。数人のドクター達を紹介する。

慶応時代、国際標準HLA抗血清を用いて日本の腎移植例(慶応大、大越正秋教授、中村宏博士の症例)にはじめて1970年HLA Typingを行った。又日本国内の学会では、

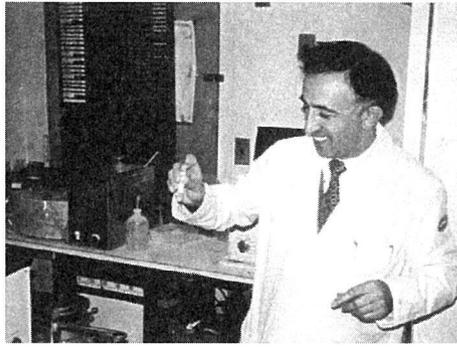
文部省科研・特定研究「免疫応答」班(故山村雄一班長)にHLA小委員会を設けていただき、日本のHLA-ologyの推進発展に大いに役立った。その時官僚にHLAの説明に参上した折、HLAを日本語に訳して下さいと言われ、思わず絶句したことを覚えてい



故 G. Snell, Jackson Lab.
ノーベル賞受賞者
Snellの移植の法則



D. E. Kayhoe, NIH
NIH HLA抗血清を分与された



P. Lalezari, Montefiore
好中球型



K. Reemtsma
1963.4臨床異種腎移植施行

る。(後述！日本では白血球型 (HLA) がHLA (白血球型) と表現するのか?)

西宮時代 (1972.1~1974.3) 1971年末頃2~3の学会で故山村雄一教授から、もう少し本格的に移植をやる気があるかと。故陣内伝之助、園田孝夫、故北川正保教授達の御助力で、兵庫県立西宮病院・腎臓移植センターに移った。はじめて公務員となるに及んで県西病院の事務長をはじめ、多くの関係者から公務員のルールなるものを教わった。本来小生は、自由奔放に生きるを主願にしていた (例が悪いが国鉄に乗るよりも私鉄でといった具合に) ので、色んな点で驚くと共に反発も感じた。

1972.9.24~29、4th International Transplantation So. Meeting (会長故S L Kountz, S F) の棧会に、第1回日米科学会議、HLAと疾患感受性 (会長 稲生綱政・D B Amos, Santa Barbara, 1972.10.4~5) が開催された。HLA研究の日本の遅れに、日本側の出席者全員啞然とした。今にみておれ我々もの合



1st US Japan Cooperative Seminar for HLA and Susceptibility to Disease
座長 稲生綱政・D B Amos
Santa Barbara, 1972.10.4~5

言葉? さえ生まれた。そして、日本人HLAパネル細胞の確立、日本人個有のHLA抗血清の採取・確保、HLAデータ処理とネットワ

ーク確立などなど、終戦後日本の復興に先輩達が努力された以上に、個々の研究者は努力したものだ。 “世のため人のため” に頑張ろうと相互に励まし合い努力したことも今は懐かしい。

東海大学時代 (1974.4.1~1998.3.31) 陣内先生に東海大への移動について参上した折、西宮はまだ2年しかたっていない、今移るなども止められたが。西宮からは井上博雄、能勢義介博士達と共に東

海大へ移動した。東海大では、はじめて落ち着いて25年を過ごし、あまりにも多くのことを行うことが出来た。

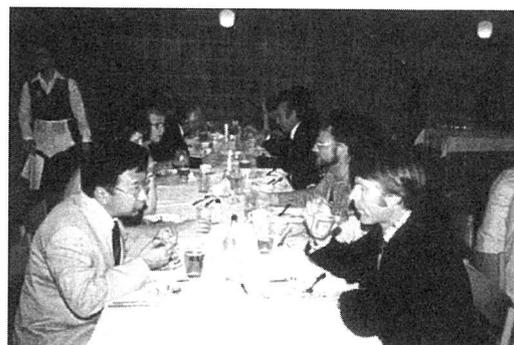


D B Amosを囲んで
大阪

1975.1月東海大学病院開院時 Amosが来院、箱根に遊び大阪と福岡を訪れた。



九大グループと



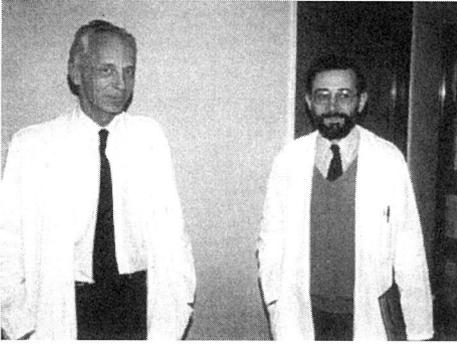
6th IHWC Arhusの会場

1975.6.29～7.5、6th IHWC（会長 故 F Kissmeyer-Nielsen、Arhus）に（前述の如く）日本から正式参加が認められた。

日本人由来のHLA抗血清をはじめて世界の檜舞台に出し、日本人HLAの特殊性がはじめて国際レベルで認識された。あえていうとこれまではHLAの

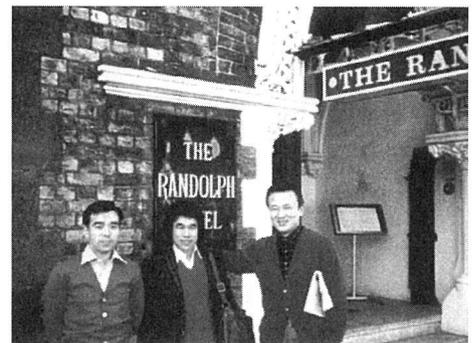
世界は欧米の2極構造であったのが、アジア（日本も含め）の参加により3極構造の土台を作ったことになった。

翌年1976.6.23～25、1st HLA α Disease国際会議（会長 J. Dausset α A. Svejgaard、Paris）が開催された。



パリで、1976.6

第2回日米科学会議が1977年5.4~7、ハワイで開かれた。日本人の日本人による研究を発表した。第1回日米会議の雪辱をかううじて晴らすことが出来た。どんな会議でもRose Payneが忠告してくれた。日本人同志でかたまるな、もっと自由に皆の輪に入れと。言葉のハンディもあったが、内容のレベルの問題であるといつも思っていたが、今回は良くなったと褒めてもらった。



1977.9.4~7 7th IHWC (会長 W Bodmeer, Oxford) に多くの日本からの参加者があった。

1979.10.23~26、First AOH (会長 辻公美、箱根)。前述の如く、HLA領域では未開発のアジア・オセアニア地域での研究が必要となり、1st AOH開催の機運が整い、箱根 National Parkで開催された。世界中のHLA貢献



1st AOH 旧吉田茂邸、大磯

者を招待し、HLAについてアジア・オセアニア地域住民の興味ある新しい知見が報告され世界中の興味をひいた。1998年にはインド、ニューデリーで6th AOH (会長 N Mehra) と引き継がれている。

この頃になってくると我々自身で採集同定したHLA抗血清に自身が出来て来た。HLAによる人種の起源と流れ、日本人のルーツについて、北 (アイヌ)、西南 (イキ、ツシマ)、南 (沖縄)、国外はシルクロード (ハンガリー、タシケント、イラン、シベリア、中国、台湾、蒙古) に遠征、挑戦した。

Bombayに1979.11月

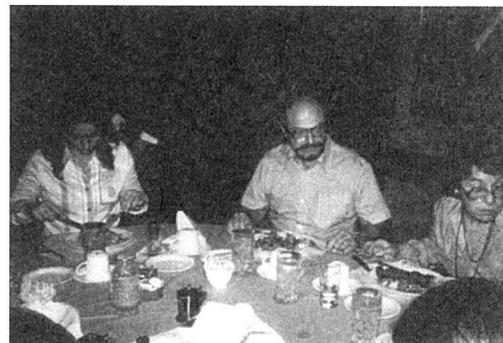
WHO Group Educational Activity Meeting on HLA Antigensに招待された。

翌年1980.1.30~2.4, 8th IHWC (会長 P I Terasaki, L.A.) が開催され、アジア・オセアニアからの多くの研究成果が報告された。



1988.11、友人Prof B Nikbin (Teheran) から1st Iranian Congress of Immunology & Allergyに夫妻で招待された。ホメ

6th AOH, New Delhi 1998.10 Prof. Mehra会長夫人





Prof. Reddy, Hyderabad, India
1982. Nov. 4~11



Prof. C. J. Lee, 2nd Cong. Critical Med.に出
席した機会に、台湾の山岳民族・高砂族の
HLAを。
1983.4

1983. MalariaとHLA研究
Botucatu, Brazilへ



イニ師時代で多くの経験をする事が出来た。イラン航空の中でイラン婦人が息苦しい—呼吸循環不全を訴えドクターコールがかかった。パイロットから必要ならソ連シベリア領に緊急着陸する

が・・・・・・・・。結果として無事にテヘランに着くことが出来た。

1989年日本人のルーツをシベリアにもとめ、バイカル湖のほとりまで。途中モスクワ、Prof L P Alexeevを訪れた。

1989.9、 Prof. Petrov、 Prof. Kaitovから International Conference on HLA α Immune Recognitions (Tashikent、当時のソ連) への招待を受けた。中央アジアの1つウズベキスタンの首都で、アフガンに隣するイスラムの国でシルクロードの町でもある。

時は流れて1991.11.6~13、11th IHWC (横浜) が開催、成功裡に終了したことはまだ記憶に新しい。

東海大学医学部最後の数年間は、研究の方向性を





カイトフ宅のパーティ
左：吉田孝人、右 カイトフ



PI Terasaki 訪東海大
陣屋で



16回国際移植学会
バルセロナ、スペイン
1996.8.
Carpenter 夫妻、Starzl、Lee 夫妻と

HLA の geno-proteomics (sHLA) から Xenotransplantation、Cell therapy の方に少しづつシフトさせた。

HLA のあとで

MHC を基礎にして、HLA transgenic mice・pigs、胎児臓器異種移植、Fetal Liver Fragment Xenotransplantation などを行った。

細胞療法研究会は、1993.6 に第1回細胞療法研究会 (代表世話人、塚田裕三慶応大学名誉教授) が横浜で開催された。

Xenotransplantation の領域では、我々は HLA transgenic pig の作成に成功した。我々は xeno hyperacute rejection 対策というより acute α chronic xeno-rejection に対して HLA transgenic pig の使用を考えている。

左 P Morrisと

右上 F Bach、C J Lee、水戸、柿田、辻

右下 HLA transgenic pig



細胞療法研究会は、第9回細胞療法研究会（当番世話人、赤池敏宏教授、松本、2001年）が成功裡に開催され、その時の世話人会で発展的解消して日本再生医療学会を発足させることとなった。細胞療法研究会の代表世話人、塚田名誉教授の後、1999年から代表世話人をやっていたこともあり、日本再生医療学会の理事長を拜命、事務局は京都大学再生医科学研究所（井上一知教授）、2002.4.18～19の第1回総会開催にむけ鋭意準備が進められている。

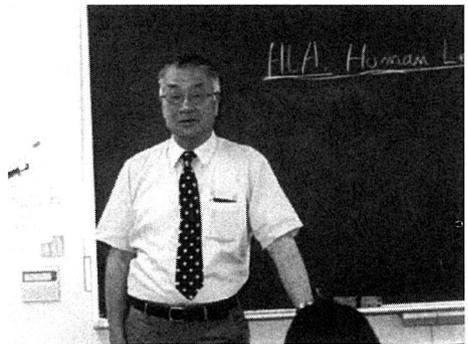
世界中で再生医学・再生医療に高い関心が寄せられているが、まだ国際的にもそれぞれの国でも、正式に再生医療学会は発足していない。我々日本のHLA ologistが欧米からの援助をえて、誕生・発育・成長して来たことを考えると、Regenerative Medicineについては日本から発信出来ればと思っている。ESの採取・培養・保存・増殖、適応疾患の整理、再生医学へのMHCの関与などなど、移植とHLAのNetwork Systemを参考にしながら、国内外の再生医療に関する生殖医学・工学、ハイブリッド生物工学、社会への対応、倫理・宗教面での理解など、多くのことをクリアーしなければならない。

今に思う

最近の新聞報道は、HLAという言葉を使うおり白血球型という表現になっている。敢えて一般大衆に日本語で紹介しようということだろうか。世界の中の日本で所謂グローバリゼーションの中では、いちいち白血球型（HLA）といわないで、確かにLeucocyte Antigenの直訳ではあるが、世界中で使用されているHLAを使って欲しい。白血球型ではなくHLAに恋をしたい。

おわりに

HLA研究者の個人史というテーマであったが、終わってみれば小生の古いアルバムから思い出をまとめたもの



2001.10.高校生を対象に

となってしまった。紙面の都合上、前半に集中して後半の部分はかなり割愛してしまった。

ここで一部の方々の御名前を出させていただいたが、お世話になった、一緒に勉強した、多くの国内外の方々の御名前は割愛させていただいたこと御容赦いただくと共に、ここに厚く感謝いたします。文中写真の中でもうお会いできなくなった方々のご冥福を祈ります。

日本組織適合性学会 会告

平成13年11月に開催された理事会において以下の事案が決議され、評議員会並びに総会において承認されましたのでお知らせ致します。

1. 認定制度について

1) 認定制度の設立

認定制度準備委員会より提出されました最終原案が承認されたことにより、平成13年11月2日より、「**認定HLA検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度**」が設立されました。よって本誌上に「**認定HLA検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則**」ならびに「**組織適合性技術者認定制度委員会細則**」を公示致します。本制度によって実施される平成14年度 **認定HLA検査技術者特例認定実施要領および認定組織適合性指導者特例認定実施要領**を本誌に掲載しておりますので、173,174頁を御覧下さい。

2) 組織適合性技術者認定制度委員会の発足

組織適合性技術者認定制度委員会が発足し、以下の方々が委員、協力者として委嘱されました。なお、本委員会の発足に伴い、認定制度準備委員会は平成13年11月2日付けで解散致しました。

組織適合性技術者認定制度委員会

委員長	佐治 博夫	(HLA研究所)
副委員長	小林 賢	(防衛医科大学校)
委員	赤座 達也	(日本赤十字社中央血液センター)
	大谷 文雄	(北里大学医学部)
	木村 彰方	(東京医科歯科大学難治研)
	斉藤 敏	(長野県赤十字血液センター)
	佐田 正晴	(国立循環器病センター)
	中島 文明	(神奈川県赤十字血液センター)
	成瀬 妙子	(東海大学医学部)
	西村 泰治	(熊本大大学院医学研究科)
	丸屋 悦子	(HLA研究所)

資格審査部会

部会長	赤座 達也	(日本赤十字社中央血液センター)
部員	石川 善英	(東京都赤十字血液センター)
	柏瀬 貢一	(東京都赤十字血液センター)
	田中 秀則	(東京都赤十字血液センター)

教育部会

部会長	西村 泰治	(熊本大大学院医学研究科)
部員	木村 彰方	(東京医科歯科大学難治研)
	小林 賢	(防衛医科大学校)
	酒巻 建夫	(国立佐倉病院)
	佐治 博夫	(HLA研究所)

協力者	佐田 正晴	(国立循環器病センター)
	前田 平生	(埼玉医科大学総合医療センター)
	石谷 昭子	(奈良県立医科大学)
	太田 正穂	(信州大学医学部)
	小河原 悟	(福岡大学医学部)
	小林 孝彰	(名古屋大学医学部)
	滝口 雅文	(熊本大学エイズ学研究センター)
	中島 文明	(神奈川県赤十字血液センター)
	成瀬 妙子	(東海大学医学部)
	橋本 光男	(兵庫県立西宮病院)
福西 孝信	(兵庫県立西宮病院)	
丸屋 悦子	(HLA研究所)	

試験問題検討部会

部会長	木村 彰方	(東京医科歯科大学難治研)
部員	石川 善英	(東京都赤十字血液センター)
	石谷 昭子	(奈良県立医科大学)
	太田 正穂	(信州大学医学部)
	小河原 悟	(福岡大学医学部)
	小林 賢	(防衛医科大学校検査部)
	徳永 勝士	(東京大学医学部)
	西村 泰治	(熊本大大学院医学研究科)
	平山 謙二	(長崎大学医学部)
	前田 平生	(埼玉医科大学総合医療センター)

2. 学会事務局の移転について

平成13年11月3日より、本学会事務局が以下の住所に移転致しました。なお、入退会や年会費に関する業務は引き続き学会事務センターにて取り扱います。また、事務局移転に伴い、会則が変更されました。詳細は次頁を御覧下さい。

新住所

〒259-1193

神奈川県伊勢原市望星台

東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門内

日本組織適合性学会事務局

TEL:0463-93-1121 内線2312, 2653

FAX:0463-94-8884

3. 新評議員について

3名の方が新評議員として承認されました。

今西 規	産業技術総合研究所生物情報解析研究センター
柏瀬 貢一	東京都赤十字血液センター
斎藤 敏	長野県赤十字血液センター

日本組織適合性学会の会則変更について
(平成13年11月2日総会議決による)

1. 日本組織適合性学会会則を以下のように一部変更する。

(事務局)

第2条 本会の事務局は、日本赤十字社中央血液センターにおく。

を、以下に変更する。

(事務局)

第2条 本会の事務局は、理事会が定めた場所におく。

以上

日本組織適合性学会
平成13年度予算案

自 平成13年4月1日
至 平成14年3月31日

収入		平成13年度	12年度(決算)	差異
前年度繰越金		4,433,167	6,553,447	-2,120,280
個人会員年会費	400件	2,660,000	1,854,750	805,250
賛助会員年会費	9件	700,000	700,000	0
学会誌広告費	30件	1,100,000	1,070,000	30,000
学会誌販売	15冊	30,000	67,340	-37,340
雑収入		400,000	0	400,000
利息		4,000	5,397	-1,397
当期収入計		4,894,000	3,697,487	1,196,513
計		9,327,167	10,250,934	-923,767

支出		平成13年度	12年度(決算)	差異
大会援助金		2,000,000	2,000,000	0
学会誌作成費		2,900,000	2,885,400	14,600
旅費		200,000	232,900	-32,900
通信費		250,000	193,368	56,632
事務費		50,000	72,251	-22,251
会議費		50,000	43,290	6,710
事務委託費		400,000	390,558	9,442
QCワークショップ		400,000	0	400,000
予備費		3,077,167	4,433,167	-1,356,000
当期支出計		6,250,000	5,817,767	432,233
当期収支差額		-1,356,000	-2,120,280	764,280
計		9,327,167	10,250,934	-923,767

日本組織適合性学会 平成12年度決算報告書

自 平成12年4月1日
至 平成13年3月31日

(収入の部)	予算	決算	差異
個人会員年会費	2,000,000	1,854,750	△ 145,250
賛助会員年会費	900,000	700,000	△ 200,000
学会誌広告費	1,100,000	1,070,000	△ 30,000
学会誌販売	30,000	67,340	37,340
雑収入	0	0	0
利息	8,000	5,397	△ 2,603
①当期収入合計	4,038,000	3,697,487	△ 340,513
前年度繰越金	6,553,447	6,553,447	0
②収入合計	10,591,447	10,250,934	△ 340,513

(支出の部)	予算	決算	差異
大会援助金	1,000,000	2,000,000	△ 1,000,000
学会誌作成費	2,900,000	2,885,400	14,600
旅費	200,000	232,900	△ 32,900
通信費	250,000	193,368	56,632
事務費	20,000	72,251	△ 52,251
会議費	50,000	43,290	6,710
事務委託費	400,000	390,558	9,442
QCワークショップ	150,000		150,000
予備費	5,621,447	0	5,621,447
支出合計	10,591,447	5,817,767	4,773,680
③当期支出合計	4,970,000	5,817,767	△ 847,767
当期収支差額	△ 932,000	△ 2,120,280	3,052,280
次期繰越金		4,433,167	

(内訳 定期預金：2,038,216 普通預金：1,478,067, 事務センター：948,831 現金：9,053)

注：事務センターの預り金には、前受金41,000円を含みます

平成12年度日本組織適合性学会会計を監査し、適正であったことを認めます

平成13年5月21日 日本組織適合性学会 監事

吉田孝人 (印)

柏木登 (印)

公 示

認定 HLA検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則

(目的)

第1条 この制度は、組織適合性に関する専門知識並びに精度の高い検査の施行を通じて、医療及び社会へ貢献できる認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者の育成を目的とする。

(定義)

第2条 認定 HLA 検査技術者とは、HLA 検査に関する基礎的な知識を有し、HLA 検査を正確に行える技能を有する者をいう。

(1) 認定 HLA 検査技術者の英語名称は、Certified HLA Technologist (JSHI) とする。

(2) 認定 HLA 検査技術者の英語略称は、HT/JSHI とする。

2 認定組織適合性指導者とは、HLA 検査に関する広範な知識を有し、かつ指導的立場に立てる者をいう。

(1) 認定組織適合性指導者の英語名称は、Certified Director for Histocompatibility (JSHI) とする。

(2) 認定組織適合性指導者の英語略称は、DH/JSHI とする。

(組織適合性技術者認定制度委員会)

第3条 組織適合性技術者認定制度委員会（以下「委員会」という。）は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度に関する必要事項を審議する。

2 委員会は、第1条の目的を達成するために、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者を認定する。

3 委員会の組織、運営については別に定める。

(指定履修課程)

第4条 委員会は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者育成のために、認定 HLA 検査技術者認定制度指定履修課程（以下「技術者履修課程」という。）及び認定組織適合性指導者認定制度指定履修課程（以下「指導者履修課程」という。）を別に定める。

(認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設)

第5条 認定 HLA 検査技術者育成のために、相当と認められた施設を認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設（以下「指定施設」という。）として認定する。

2 委員会は、認定した施設に対して、「認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設認定証」を交付する。ただし、認定証の有効期間は5年とする。

3 指定施設は、5年ごとに更新の手続きをしなければならない。

4 指定施設は、次の場合に認定が解除される。

(1) 第5条第1項に該当しなくなったとき。

(2) 指定施設の認定を辞退したとき。

(3) 更新手続きを行わなかったとき。

(認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設の基準)

第6条 指定施設は、次の各項のすべてを備えていなければならない。

(1) 認定組織適合性指導者または HLA 検査技術者が勤務し、組織適合性検査に関する教育指導体制

がとられていること。

- (2) 研修に関する要員、設備等が十分であること。
- (3) 備えるべき組織適合性検査の内容については別に定める。

2 外国における施設については委員会が別に定める。

(指定施設の認定及び認定更新)

第7条 指定施設の認定及び認定更新については、委員会の審議による。

(認定 HLA 検査技術者の認定試験受験資格基準及び申請手続き)

第8条 認定 HLA 検査技術者の認定試験受験資格基準は、次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 申請時において日本組織適合性学会（以下「学会」という。）の会員歴が通算して3年以上あること。
- (2) 申請時において組織適合性検査に関する業務経験が3年以上あること。
- (3) 申請日から遡る5年間で技術者履修課程に定められた講習の受講歴があること。
- (4) 申請日から遡る5年間で学会が主催するQCワークショップの参加歴があること。
- (5) 別表により、申請日から遡る5年間で資格審査基準が30単位以上あること。

2 認定 HLA 検査技術者の認定試験の受験を申請しようとする者は、次の各項の書類を委員会事務局に所定の期日までに提出しなければならない。

- (1) 認定 HLA 検査技術者認定試験受験申請書（別記様式第1）
- (2) 資格・更新審査基準証明書（別記様式第2）
- (3) 講習修了証の写し

3 認定 HLA 検査技術者の認定試験の受験を申請する者は、受験料を委員会事務局に所定の期日までに納入しなければならない。

- (1) 受験料は、15,000円とする。

(認定 HLA 検査技術者申請者の認定資格審査、研修、試験及び登録)

第9条 委員会は、年1回申請書類に基づき申請者の資格審査を行う。

2 資格基準を満たす申請者は、委員会が定めた技術者履修課程に基づき指定施設で所定の実技等の研修を受講しなければならない。

3 研修の日時、場所等は資格審査終了後に各申請者に文書で通知する。

4 委員会は、実技等の研修が修了した者に対して、年1回試験を行う。

5 認定試験に不合格の場合、研修歴は翌年の試験まで有効とする。

6 委員会は、認定 HLA 検査技術者としての適否を審査し、適格者を認定 HLA 検査技術者として「認定 HLA 検査技術者認定登録原簿」に登録する。

(認定 HLA 検査技術者の認定効力)

第10条 認定 HLA 検査技術者の資格は認定登録原簿に登録後発効する。

2 登録者には登録時に「認定 HLA 検査技術者認定証」を学会の会長から交付する。

3 登録者は、日本組織適合性学会誌に公告する。

4 認定証の有効期間は、登録した日から5年とする。

(認定 HLA 検査技術者の認定登録更新資格基準及び申請手続き)

第11条 認定 HLA 検査技術者の認定更新申請資格基準は、次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 認定証の登録日から5年間に別表により資格審査基準が30単位以上あること。
 - (2) 認定証の有効期間満了前の2年間に技術者履修課程に定められた講習を1回以上受講していること。
 - (3) 認定証の登録日から5年間に学会が主催するQCワークショップおよびQCワークショップ集会への参加があること。
- 2 登録更新の申請をする者は、認定証の有効期間満了の一ヶ月前から満了日までに委員会事務局に次の各項の書類を提出しなければならない。
- (1) 認定HLA検査技術者認定登録更新申請書(別記様式第3)
 - (2) 資格・更新審査基準証明書(別記様式第2)
 - (3) 講習修了証の写し
- 3 認定HLA検査技術者の認定更新を申請する者は、登録更新料を委員会事務局に所定の期日までに納入しなければならない。
- (1) 登録更新料は、15,000円とする。

(認定組織適合性指導者の認定試験受験資格基準及び申請手続き)

第12条 認定組織適合性指導者の認定試験受験資格基準は、次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 認定HLA検査技術者として登録された日から3年を経過した者。
 - (2) 申請時において学会の会員歴が通算して7年以上あること。
 - (3) 申請時において組織適合性検査に関する業務経験が7年以上あること。
 - (4) 申請日から遡る5年間で指導者履修課程に定められた講習の受講歴があること。
 - (5) 申請日から遡る5年間で学会が主催するQCワークショップの参加歴があること。
 - (6) 別表により、申請日から遡る5年間で資格審査基準が70単位以上あること。
- 2 認定組織適合性指導者の認定試験の受験を申請しようとする者は、次の各項の書類を委員会事務局に所定の期日までに提出しなければならない。
- (1) 認定組織適合性指導者認定試験受験申請書(別記様式第4)
 - (2) 資格・更新審査基準証明書(別記様式第2)
 - (3) 講習修了証の写し
- 3 認定組織適合性指導者の認定試験の受験を申請する者は、受験料を委員会事務局に所定の期日までに納入しなければならない。
- (1) 受験料は、30,000円とする。

(認定組織適合性指導者認定申請者の認定資格審査、試験及び登録)

第13条 委員会は、年1回申請書類に基づき申請者の資格審査を行う。

- 2 委員会は、資格基準を満たす申請者に対して、年1回試験を行う。
- 3 委員会は、認定組織適合性指導者としての適否を審査し、適格者を認定組織適合性指導者として「認定組織適合性指導者認定登録原簿」に登録する。

(認定組織適合性指導者の認定効力)

第14条 認定組織適合性指導者の資格は認定登録原簿に登録後発効する。

- 2 登録者には登録時に「認定組織適合性指導者認定証」を学会の会長から交付する。
- 3 登録者は日本組織適合性学会誌に公告する。
- 4 認定証の有効期間は、登録した日から5年とする。

(認定組織適合性指導者の認定登録更新資格基準及び申請手続き)

第 15 条 認定組織適合性指導者の認定更新申請資格基準は、次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 認定証の登録日から 5 年間に別表により更新資格審査基準が 70 単位以上あること。
 - (2) 認定証の有効期間満了前の 2 年間に指導者履修課程に定められた講習会を 1 回以上受講していること。
 - (3) 認定証の登録日から 5 年間に学会が主催する QC ワークショップおよび QC ワークショップ集会への参加歴があること。
- 2 登録更新の申請をする者は、認定証の有効期間満了の一ヶ月前から満了日まで委員会事務局に次の各項の書類を提出しなければならない。
- (1) 認定組織適合性指導者認定登録更新申請書（別記様式第 5）
 - (2) 資格・更新審査基準証明書（別記様式第 2）
 - (3) 講習修了証の写し
- 3 認定組織適合性指導者の認定更新を申請する者は、登録更新料を委員会事務局に所定の期日までに納入しなければならない。
- (1) 登録更新料は、30,000 円とする。

（認定組織適合性指導者の認定更新基準を満たさない場合の措置）

第 16 条 第 15 条第 1 項の更新申請資格基準を満たさない者であっても、第 11 条第 1 項の更新申請資格基準を満たしている場合には認定 HLA 検査技術者として更新することができる。

- 2 申請手続きは、第 11 条第 2 項及び第 3 項に従う。
- 3 次回の更新時に認定組織適合性指導者の更新申請資格基準を満たしていれば、認定組織適合性指導者へ認定変更することができる。

（認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定証の記載事項変更手続き）

第 17 条 認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定証の記載事項に変更が生じた者は、すみやかに委員会事務局に認定証記載事項変更申請書（別記様式第 6）を提出しなければならない。

- 2 変更手数料は、2,000 円とする。

（認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定証の再交付手続き）

第 18 条 認定証を紛失、破損などにより認定証の再交付を申請しようとする者は、別記様式第 7 でそれを気が付いた日から 30 日以内に申請しなければならない。

- 2 再交付手数料は、2,000 円とする。

（認定の取り消し）

第 19 条 認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者は次の各項の事由によりその資格を取り消される。

- (1) 認定 HLA 検査技術者又は認定組織適合性指導者の認定更新をしなかったとき。
 - (2) 学会を退会したとき。
 - (3) 認定 HLA 検査技術者又は認定組織適合性指導者としてふさわしくない行為があったとき。
- 2 前項(3)の判定は、委員会が審議に基づき、これを行う。

（規則の変更）

第 20 条 この規則の変更は、委員会及び学会の理事会並びに評議員会の議決を経たのち、学会の総会の承認を得なければならない。

(細則)

第21条 この規則の実施に関し必要事項は、委員会の議決を経たのち、学会の理事会及び評議員会の承認を得て別に定める。

附 則

この規則は、平成13年11月2日から施行する。

この規則が施行された日から2年間に限り、認定組織適合性指導者の認定は、別に定める資格特例認定実施要領によって実施する。

平成14年度の認定HLA検査技術者の認定試験は、別に定める認定HLA検査技術者認定試験実施要領によって実施する。

別表(第8条、第11条、第12条及び第15条関係)

種 類	単 位 数	備 考
原 著 論 文	筆頭者は一つにつき15単位とする。	日本組織適合性学会誌に限る。
	共著者は一つにつき10単位とする。	
	筆頭者は一つにつき10単位とする。	上記以外の組織適合性に関連するものに限る。
	共著者は一つにつき7単位とする。	
著 書 ・ 総 説	筆頭者は一つにつき10単位とする。	組織適合性に関連するものに限る。
	共著者は一つにつき7単位とする。	
学 会 発 表	筆頭者は一つにつき10単位とする。	日本組織適合性学会大会に限る。
	共著者は一つにつき7単位とする。	
	筆頭者は一つにつき7単位とする。	米国組織適合性学会大会、欧州組織適合性学会大会、国際組織適合性ワークショップ及びアジア・オセアニア組織適合性ワークショップに限る。
	共著者は一つにつき5単位とする。	
学 会 参 加	一回につき5単位とする。	日本組織適合性学会大会に限る。
	一回につき3単位とする。	米国組織適合性学会大会、欧州組織適合性学会大会、国際組織適合性ワークショップ及びアジア・オセアニア組織適合性ワークショップに限る。
	一回につき2単位とする。	上記以外の組織適合性に関する学会に限る。ただし、5年間で10単位を限度とする。
実 技 研 修 参 加	一回につき5単位とする。	ただし、認定HLA検査技術者の更新時において更新資格審査基準が規定単位数に達しない場合に限り5単位まで認める。
講 習 参 加	一回につき5単位とする。	
QCワークショップ 集 会 参 加	一回につき5単位とする。	

公 示

組織適合性技術者認定制度委員会細則

(目的)

第1条 この規則は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度の適正な実施を図るための組織適合性技術者認定制度委員会（以下「委員会」という。）に関し、必要な事項を定めるものとする。

(事務局)

第2条 本委員会の事務局は、日本組織適合性学会（以下「学会」という。）の事務局に置く。

(構成)

第3条 委員会の組織は次の者で構成する。

- (1) 委員長 1 名
 - (2) 副委員長 1 名
 - (3) 委員若干名
- 2 役員は次の規定により選任する。
- (1) 委員は、学会の評議員の中から学会の会長が委嘱する。ただし、委員には教育担当の理事が含まれていなければならない。
 - (2) 委員長は、学会の理事および指名理事の中から学会の会長が委嘱する。
 - (3) 副委員長は、委員の中から委員長が委嘱する。
- 3 第3条第1項の任期は2年とし、欠員が生じた場合の補欠の委員の任期は、前任者の残任期間とする。ただし、再任を妨げない。

(職務)

第4条 委員会役員の職務は、次のとおりとする。

- (1) 委員長は、委員会の会務を総轄し、委員会を代表する。委員長に事故があるとき、又は委員長が欠けたときは、副委員長がその職務を行う。
- (2) 委員は、本細則に定められた事項を議決する。

(業務)

第5条 委員会は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度を実施するため、以下に掲げる業務を行う。

- (1) 認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度履修課程の作成
- (2) 認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定試験受験申請者および更新者の資格審査
- (3) 認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定試験受験申請のための講習会
- (4) 認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定更新申請のための講習会
- (5) 認定 HLA 検査技術者認定試験受験のための実技研修会
- (6) 認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定試験および登録
- (7) 認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設の認定資格審査および登録。
- (8) その他委員長が必要と認めた事項

(会議)

- 第6条** 委員会は、年1回開催する。ただし、委員長が必要と認めた場合には、臨時に開催することができる。
- 2 委員長は、委員会を召集し、その議事を主宰する。

- 3 委員会は、委員の半数以上の出席がなければ議事を審議することができない。ただし、やむをえない事由で委員会に出席できない場合は、他の委員に委任状を提出し審議を委任することができる。委任状提出者は、議決に関して出席者として取り扱われ、その議決権は、委任された委員が代わりに執行する。
- 4 委員会の議事は、出席者の過半数の同意をもって議決される。

(記録)

- 第7条** 委員会の委員長は、議事要旨を作成し、これを5年間保管しなければならない。
- 2 議事要旨の公開について学会の会員から要請があった場合は、原則として応じなければならない。ただし、個人情報にかかわる部分は、非公開とすることができる。

(除名)

- 第8条** 本委員会の目的に反する行為のあった委員は、委員会の3分の2以上の同意による議決をもって除名することができる。

(専門部会)

- 第9条** 委員会は、専門事項を調査協議するために次の専門部会を置く。
- (1) 資格審査部会
 - (2) 教育部会
 - (3) 試験問題検討部会
 - (4) その他委員長が必要と認めた専門部会
- 2 各専門部会の部会長は、委員会の委員の中から委員長が委嘱する。ただし、教育部会の部会長は学会の教育担当の理事をもって充てる。
 - 3 各専門部会に属する部員は、その部会の部会長が学会の会員の中から指名し、委員会の委員長が委嘱する。
 - 4 各専門部会の部会長に事故があるとき、又は部会長が欠けたときは、委員長がその部会の部員の中から指名した代理者がその職務を行う。
 - 5 各専門部会の部会長及び部員の任期は、2年とし、欠員が生じた場合の補欠の部員の任期は、前任者の残任期間とする。ただし、再任を妨げない。
 - 6 部会の審議事項を委員会に答申し、最終決定は委員会で行う。

(専門部会の会議)

- 第10条** 各専門部会は、年1回開催する。ただし、各専門部会長が必要と認めた場合には、臨時に開催することができる。
- 2 各専門部会は、その部会長が主宰する。
 - 3 各専門部会は、部員の半数以上の出席がなければ議事を審議することができない。ただし、やむをえない事由で専門部会に出席できない場合は、その専門部会の他の部員に委任状を提出し審議を委任することができる。委任状提出者は、議決に関して出席者として取り扱われ、その議決権は、委任された部員が代わりに執行する。
 - 4 各専門部会の議事は、出席者の過半数の同意をもって議決される。
 - 5 各専門部会で議決された事項は、委員会の承認を得なければならない。
 - 6 各専門部会の部会長は、議事要旨を作成し、これを5年間保管しなければならない。
 - 7 議事要旨の公開について学会の会員から要請があった場合は、原則として応じなければならない。ただし、個人情報にかかわる部分は、非公開とすることができる。

(資格審査部会の業務)

- 第 11 条** 資格審査部会は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者の認定資格審査を行う。
- 2 資格審査部会は、認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設の被指定資格審査を行う。

(教育部会の業務)

- 第 12 条** 教育部会は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者の認定試験受験及び認定更新に必要な履修課程を作成する。
- 2 教育部会は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者の認定試験受験及び認定更新に必要な講習会を企画する。
- 3 教育部会は、認定 HLA 検査技術者の認定試験受験に必要な実技研修会を企画する。

(試験問題検討部会の業務)

- 第 13 条** 試験問題検討部会は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定を行うために必要な認定試験問題の作成を行う。
- 2 試験問題検討部会は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定試験の採点を行い、合否案を作成する。

(経費)

- 第 14 条** 本委員会の経費は、認定試験受験料、認定更新申請料、各種手数料、補助金、寄付金、その他で支弁する。

(会計年度)

- 第 15 条** 本委員会の会計年度は 4 月 1 日より、翌年 3 月 31 日とする。

(会計監査)

- 第 16 条** 収支決算は、学会の監事の監査を受けた後、学会の理事会、評議員会並びに総会の承認を得なければならない。

(細則の変更)

- 第 17 条** この細則の変更は、委員会及び学会の理事会並びに評議員会の議決を経たのち、総会の承認を得なければならない。

(雑則)

- 第 18 条** この細則の実施に関し必要な事項は、委員会の議決を経たのち、学会の理事会及び評議員会の承認を得て別に定める。

附 則

この細則は、平成 13 年 11 月 2 日から施行する。

＜日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定＞

1. 投稿規定

1.1. 原稿様式

提出原稿がそのまま電算写植で印刷できるように、原稿は全て、コンピューターのフロッピーディスクとA4サイズとプリントアウトしたものの両者を提出する。一般的なワープロソフトを使用し、ソフト名を明記する。字体、サイズ、行の字数、行間、などの体裁は自由とする。また、図表については、写植でそのまま掲載できるものを提出するが、挿入箇所を本文に指定する。図については天地を明示する。印刷の際に、縮小または拡大する場合があるので、考慮すること。また、図表の題や説明はワープロで、本文とは別頁に添付する。なお、掲載された論文等の著作権は、日本組織適合性学会に属し、インターネットを通じて電子配信されることがあります。

1.2. 原著論文

会員からの投稿を原則とするが、編集委員会が依頼することもありうる。日本語、英語を問わない。最初の一頁はタイトルページとし、タイトル、著者名、所属、脚注として代表者とその連絡先（電話、FAX、E-mail、郵便番号、住所）を記す。タイトル、著者名、所属は次の様式にしたがう。

Serological and nucleotide sequencing analysis of a novel DR52-associated DRB1 allele with the DR'NJ 25' specificity designated DRB1*1307.

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

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

HLA class II の DNA typing と MLC

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

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

内容は、二頁目よりはじめ、要約 (Summary), はじめに (Introduction), 材料と方法 (Materials and Methods), 結果 (Results), 考察 (Discussion), 参考文献 (References) の順に記載する。また、要約の末尾に日本語で5語以内のキーワードを加える (英文の場合には英語の Key words を加える)。脚注は適宜、設けてもよい。日本語で投稿の場合には、末尾に英語のタイトル、著者名、所属 (様式は上述に従う)、英語の要約と英語で5語以内の Key words をつける。枚数に特に指定はないが、速報的な短報 (全体で、2,000～3,000字、出来上がりA4版で2～4枚程度) を中心とする。もちろん、フルペーパー (full paper) も歓迎する。また、新対立遺伝子、日本人に認められた希な対立遺伝子に関する報告も受け付ける。なお、参考文献 (References) の記載については、下記1.5を参照すること、オリジナル1部にコピー3部を添えて、編集長宛 (下記3参照) に送付する。

1.3. 総説、シリーズその他

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

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

脚注は適宜，設けてもよい。なお，参考文献 (References) の記載については，下記1.5.を参照すること。

1.4. 校正

校正は編集委員が行い，特別な場合を除き，執筆者は校正を行わない。

1.5. 参考文献

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

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

2. 別刷

原著論文については，別刷は有料とする。その費用は部数，頁数による。

3. 原稿送付先

〒259-1193 神奈川県伊勢原市望星台

東海大学医学部 分子生命科学系遺伝情報部門 日本組織適合性学会誌 MHC
編集長 猪子 英俊

TEL : 0463-93-1121 内線 2312

FAX : 0463-94-8884

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

編集後記

日本においても、いよいよHLA検査技術者の認定制度がスタートしました。欧米ではすでに何らかの形で認定制度が導入されており、認定を受けた人々は、結果報告書やコメント、手紙などに"HLA specialist", "HLA scientist", "Director", など、肩書きとして加えているのをよく見かけます。これらの文字を肩書きや資格のひとつと考えればその通りですが、彼等が結果にこれらの文字を書き加えるのは、自らの技術やHLA学に対する自信と責任の表れではないかと思えます。

日本においても「HLA 専門家」は多数いらっしゃるし、他分野の方々からは「HLAは知識が必要な分野」との位置付けをされているにもかかわらず、「HLAおたく」の連鎖不平衡やHLAハプロタイプの知識も、JRO○線の駅名を暗記されている「電車おたく」とおなじくらい、『趣味の世界』、『奇異』と受け取られてしまうことがあります。21世紀はこうしたおたくとしての知識を活かしながら、HLA学が社会に対する『信用と責任』を担うため、認定制度を活性化しなければ、と感じているところです。

成瀬妙子

MHCバックナンバー

一冊¥2,000にて購入可能です。学会事務局までお問い合わせください。発行より2年を経過したものは、在庫が少数になっている場合もありますのでご了承下さい。

入会・変更

新入会、住所変更は学会事務センターまでお問い合わせください。また、日本組織適合性学会ホームページの入会申込書もご利用下さい。

(社) 学会事務センター

〒113-8622

東京都文京区本駒込5-16-9 学会センターC21

TEL : 03-5814-5810

FAX : 03-5814-5825

日本組織適合性学会ホームページ

学会活動に関する情報やHLA遺伝子の塩基配列情報が利用できます。

<http://square.umin.ac.jp/JSHI/mhc.html>

<http://jshi.umin.ac.jp/mhc.html>

MHC

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

2002年1月31日発行 8巻3号, 2001

定価 2,000円

発行 日本組織適合性学会(会長 猪子 英俊)

編集 日本組織適合性学会編集委員会(編集担当理事 猪子 英俊)

平成8年7月24日 学術刊行物認可

日本組織適合性学会事務局(事務担当理事 十字 猛夫)

〒259-1193 神奈川県伊勢原市望星台 東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門内

印刷・(株)栄文舎印刷所

〒229-1101 神奈川県相模原市相原2-12-1