

MHC

Major Histocompatibility Complex

日本組織適合性学会誌 第9巻第3号 平成15年2月28日発行

Contents

第12回日本組織適合性学会大会のご案内	152
第7回アジア・オセアニア組織適合性会議宿泊、交通のご案内	157
平成15年度 認定HLA検査技術者特例認定実施要領	161
平成15年度 認定組織適合性指導者資格特例認定実施要領	162
[Original article] Analysis of HLA-B polymorphism in insulin dependent diabetes mellitus in Japanese. Wenshuo Shao1, Michio Yasunami1, Megumi Takahashi Hiroki Shibata, Kazuyuki Hamaguchi, Toshiie Sakata, Masao Ota, Yoshihiko Katsuyama, Hidetoshi Inoko, Akinori Kimura	163
第6回HLAQCワークショップ報告	
1. 全体報告	
第6回HLAQCワークショップ経過報告	前田平生 他 170
クラスIタイピングの評価	齊藤 敏 他 173
クラスIIタイピングの評価	橋本光男 他 177
アレル表記法と結果報告の原則について2002	木村彰方 他 183
2. 方法別報告	
Micro-SSPキットの評価	荒関 みき 185
UniTrayの評価	木原正明 他 187
Dynal RELI-A, B, Cw, -DRB, -DQBの検討	今井厚子 他 190
スマイテストHLA-SPPキットの評価	安田広康 他 196
PCR-MPHの評価	加藤 道 198
シオノギHLA-DNAタイピングキットの評価	石井博之 他 201
PCR-RFLP法の解析	鳥谷竜哉 他 205
SBT法の評価	河田寿子 他 210
[最新情報：“玉手箱”] 最新アレル情報	小林 賢 213
[寄稿] 日本のHLA研究の歴史と邂逅	能勢 義介 231
<国際学会印象記>第13回 International Histocompatibility Workshop and Congress.	森島 泰雄 240
日本組織適合性学会からのお知らせ	
日本組織適合性学会 会告	242
日本組織適合性学会 平成13年度決算報告	244
日本組織適合性学会 認定制度委員会 平成14年度予算 平成15年度予算案	245
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	247
平成14年度認定HLA検査技術者登録者名簿	253
平成14年度認定組織適合性指導者登録者名簿	254
第7回HLA-DNAタイピングQCワークショップのご案内	255
認定HLA検査技術者講習会	256
<日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定>	257
編集後記	259

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

J S H I

第7回アジア・オセアニア組織適合性会議

送付先
〒140-8604 東京都品川区東品川2-3-11
JTB国際旅行事業部 国際会議センター
「第7回アジア・オセアニア組織適合性会議」係

宿泊申込書

申込締切日：2003年8月15日

(フリガナ) 申込者名		(フリガナ) ご所属名	
(フリガナ) 住所	〒		
電話：	ファックス：		

ホテル

宿泊者名(フリガナ)	同室者名(フリガナ)	部屋タイプ	チェックイン/アウト/泊数	予約金
		<input type="checkbox"/> シングルルーム	～	<input type="checkbox"/> 17,325円
		<input type="checkbox"/> ツインルーム	(泊)	<input type="checkbox"/> 22,050円
		<input type="checkbox"/> コテージツインお一人様利用	～	<input type="checkbox"/> 15,225円
		<input type="checkbox"/> コテージツインお二人様利用	(泊)	<input type="checkbox"/> 18,900円
		<input type="checkbox"/> シングルルーム	～	<input type="checkbox"/> 17,325円
		<input type="checkbox"/> ツインルーム	(泊)	<input type="checkbox"/> 22,050円
		<input type="checkbox"/> コテージツインお一人様利用	～	<input type="checkbox"/> 15,225円
		<input type="checkbox"/> コテージツインお二人様利用	(泊)	<input type="checkbox"/> 18,900円
		<input type="checkbox"/> シングルルーム	～	<input type="checkbox"/> 17,325円
		<input type="checkbox"/> ツインルーム	(泊)	<input type="checkbox"/> 22,050円
		<input type="checkbox"/> コテージツインお一人様利用	～	<input type="checkbox"/> 15,225円
		<input type="checkbox"/> コテージツインお二人様利用	(泊)	<input type="checkbox"/> 18,900円
計：				円(1)

交通プラン

コード記入欄	禁煙/喫煙	料金	人数	金額
	<input type="checkbox"/> 禁煙	5,490円	× _____	= _____ 円
	<input type="checkbox"/> 喫煙		人	
	<input type="checkbox"/> 禁煙	5,490円	× _____	= _____ 円
	<input type="checkbox"/> 喫煙		人	
計：				円(2)

エクスカッション

コード	コース	月日	料金	人数	金額
EX-1	信濃富士浅間山と草津温泉「湯もみ」見学	9/17	10,525円	× _____ 人	= _____ 円
EX-1	信濃富士浅間山と草津温泉「湯もみ」見学	9/18	10,525円	× _____ 人	= _____ 円
EX-2	信濃富士浅間山麓周遊	9/18	8,625円	× _____ 人	= _____ 円
EX-3	北信濃ハイライト 小布施&善光寺 1DAY	9/20	11,925円	× _____ 人	= _____ 円
EX-4	信州ハイライト 長野・松本・上高地 2DAY	9/20-21	42,825円 (ツイン利用お一人)	× _____ 人	= _____ 円
計：					円(3)

切り取り線

お支払額

宿泊予約金： ¥ _____ (1)
交通プラン代全額 ¥ _____ (2)
エクサージョン代金全額： ¥ _____ (3)
通信手数料=¥525 × (室数) = ¥ _____ (4)
合計(1)+(2)+(3)+(4)： ¥ _____

第7回アジア・オセアニア組織適合性会議

上記金額を下記の方法にて支払います。

- クレジットカード マスターカード ダイナースクラブ ビザカード アメリカンエキスプレス
- カードナンバー _____ 有効期限 ____年 ____月
所有者氏名 _____ 署名 _____
- 銀行振込 ____月 ____日 _____銀行 _____支店より _____名義で
振込みました (振込みます)。
振込先： 東京三菱銀行 新丸の内支店 (普) 1025740
口座名義： (株) ジェイティービー 国際旅行事業部 (メッセージ： CD101923-168)
- 注) 振込み手数料はお客様負担となります。予めご了承ください。
銀行振込の場合、領収書(振込書)の北°-を申込書に添付するかファックスにて弊社までご送付下さい。

日付 _____ 署名 _____

申込書の北°-を取り、控えとしてお持ち下さい。

第7回 HLA-DNAタイピングQCワークショップ参加申し込み書

申込書の送付先

電子メール使用の場合

Emailアドレス：jshiqcws@ri.ndmc.ac.jp

郵送またはFaxの場合

〒101-0062千代田区神田駿河台2-3-10

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野 木村彰方

Fax：03-5280-8055

以下の通り、第7回 HLA-DNAタイピングQCワークショップに参加致します

代表*	参加者氏名	所属施設・部署	Eメールアドレス#

*：参加者の代表（結果の問い合わせなどに対応される方に◎をつけてください）

#：問い合わせや案内に用いますので、代表者のみの記入でも結構です。

サンプル送付先（実際にサンプルを受取る方）

住 所：_____

施設名：_____

所属部署：_____

氏 名：_____

E-mail：_____，電話：_____

結果の記入方法や返送方法の詳細等を今後検討し、学会ホームページに掲載するとともに、代表者宛に連絡します。

平成15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 15 年 月 日申請

フリガナ		性別	<div style="border: 1px solid black; padding: 10px;"> <p>写真を貼付</p> <p>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>平成 15 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15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 15 年 月 日申請

フリガナ		性別	<div style="border: 1px solid black; padding: 10px;"> <p style="font-size: 1.2em; margin: 0;">写真を貼付</p> <p style="font-size: 0.8em; margin: 5px 0;">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 0;">平成 15 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

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 ⑩
			所属長名 ⑩
			(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202)

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)

申請者名

(別記様式第2の3)

番号	著者名	題名	本名	出版社名	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 copies of certificates. The box occupies most of the page's width and height.

切
り
取
り
線

Contents

第12回日本組織適合性学会大会のご案内	152
第7回アジア・オセアニア組織適合性会議宿泊，交通のご案内	157
平成15年度 認定HLA検査技術者特例認定実施要領	161
平成15年度 認定組織適合性指導者資格特例認定実施要領	162
[Original article] Analysis of HLA-B polymorphism in insulin dependent diabetes mellitus in Japanese. Wenshuo Shao1, Michio Yasunami1, Megumi Takahashi Hiroki Shibata, Kazuyuki Hamaguchi, Toshiie Sakata, Masao Ota, Yoshihiko Katsuyama, Hidetoshi Inoko, Akinori Kimura	163
第6回HLAQCワークショップ報告	
1. 全体報告	
第6回HLAQCワークショップ経過報告	前田平生 他 170
クラスIタイピングの評価	斉藤 敏 他 173
クラスIIタイピングの評価	橋本光男 他 177
アレル表記法と結果報告の原則について2002	木村彰方 他 183
2. 方法別報告	
Micro-SSPキットの評価	荒関 みき 185
UniTrayの評価	木原正明 他 187
Dynal RELI-A,-B,-Cw,-DRB,-DQBの検討	今井厚子 他 190
スマイテストHLA-SPPキットの評価	安田広康 他 196
PCR-MPHの評価	加藤 道 198
シオノギHLA-DNAタイピングキットの評価	石井博之 他 201
PCR-RFLP法の解析	烏谷竜哉 他 205
SBT法の評価	河田寿子 他 210
[最新情報：“玉手箱”] 最新アレル情報	小林 賢 213
[寄稿] 日本のHLA研究の歴史と邂逅	能勢 義介 231
<国際学会印象記>第13回 International Histocompatibility Workshop and Congress. 森島 泰雄	240
日本組織適合性学会からのお知らせ	
日本組織適合性学会 会告	242
日本組織適合性学会 平成13年度決算報告	244
日本組織適合性学会 認定制度委員会 平成14年度予算 平成15年度予算案	245
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	247
平成14年度認定HLA検査技術者登録者名簿	253
平成14年度認定組織適合性指導者登録者名簿	254
第7回HLA-DNAタイピングQCワークショップのご案内	255
認定HLA検査技術者講習会	256
<日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定>	257
編集後記	259

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

JSHI

第12回日本組織適合性学会大会のご案内

第12回日本組織適合性学会大会

大会長 猪子 英俊

早春の候、皆様には益々御清祥のことと御慶び申し上げます。

この度、第12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。特に今大会は、第7回アジア・オセアニア組織適合性会議との併催となっております。会員の皆様の多数の御参加をお待ち致しております。

会 期：2003年9月15日(月)～9月17日(水)

会 場：軽井沢プリンスホテル西館

長野県北佐久郡軽井沢町軽井沢

TEL: 0267-42-1111

FAX: 0267-42-7139

大会内容

1. シンポジウム

- 1) ゲノム多様性を考える
- 2) HLAタイピング 標準化シンポジウム
- 3) 移植医療

2. ワークショップ

- 1) HLAハプロタイププロジェクト
- 2) HLA クオリティーコントロールワークショップ(QCWS)

3. 一般演題

4. モーニングセミナー, ランチョンセミナー, その他

一般演題募集要項

1. 発表形式

発表形式は口演(日本語)とポスター(英語)により行います。演者は本学会員であることが必要です。

2. 申し込み方法

1) 抄録形式

- ・抄録は、日本語、または英語ワードプロセッサのテキストファイルを用いて、和文、または英文にて作成願います。演題名、演者、所属、本文の順に記載し、発表者には○印を付けてください。また、和文抄録の場合には、演題名の下に英語タイトルを付記してください。
- ・本文は800字以内とし、目的、方法、結果、考察等に分類して記載願います。英数字は半角文字を使用し、2文字で1字とします。

2) 演題申し込み票ファイルの作成

- ・抄録とは異なるファイルにて作成願います。希望する発表形式（口演、またはポスター）を第一行目に記載の上、改行後に演題名、演者、所属と、代表者の連絡先住所、電話番号、FAX、e-mailアドレスを記載してください。

3) e-mailによる申し込み

- ・演題受付は、原則としてe-mailにより行います。件名はENDAIとして、1)抄録、2)演題申し込みファイルの2つのファイルを、添付書類にて第12回大会事務局アドレスにお送りください。
- ・e-mailによる申し込みが困難な場合は、郵送によっても受け付けます。その場合は、ファイルを3.5インチフロッピーディスクに保存し、プリントアウトした書類1セットを簡易書留にて大会事務局までお送り下さい。

3. 演題申し込み締め切り

2003年5月31日(土) 必着

4. 演題受領通知および採択通知

演題受付後7日以内に、e-mailまたはFAXにて演題受領の通知を致します。演題発表の形式および日時につきましては、2003年7月下旬頃迄に、e-mailまたはFAXにて通知を致します。

参加登録費について

本大会は、第7回アジア・オセアニア組織適合性会議（7th AOH）との併催のため、大会参加の事前登録を行います。第12回大会（JSHI）と7th AOHの両方に登録の方には割引料金が適用されますので是非御利用下さい。

参加費

	JSHI	7th AOH	JSHI+7th AOH
事前登録 (2003年5月31日受付まで)	¥12,000	¥30,000	¥35,000
当日参加 (2003年6月1日以降)	¥15,000	¥35,000	¥45,000

事前登録参加費は下記の銀行口座に振り込みをお願いします。参加証(領収書兼用)は、当日学会受け付けにてお渡し致します。なお、お振り込みの際にはお名前のあとに会員番号を必ず御記入願います。

〈振込先〉

みずほ銀行 厚木支店

普通 8055561

7th AOH登録 木村彰方 (きむら あきのり)

※ JSHIのみ参加の場合も、上記の口座にお振込をお願い致します。

※ 7th AOHの参加登録は、オンラインにより行っております。詳細は、別送の7th AOH セカンドアナウンスメントを御参照頂き、ウェブサイト(<http://www.congre.co.jp/7thaoh/>)よりアクセスしてください。

懇親会

2003年9月16日(火)19:00ごろより懇親会を開催致します。参加費¥3,000は、当日受付にて申し受けます。

宿泊・交通の御案内

本大会に御参加の皆様には、第7回アジア・オセアニア組織適合性会議のための学会割引宿泊、交通プランを御利用頂けます。別項を御参照の上、お早めにお申し込みください。

TFB学術奨励賞(仮称)の募集

昨年の本学会において決定致しました通り、2003年度より、TFB学術奨励賞(仮称)として、若手学会員への助成が開始されます。今大会においては、以下の要領で助成金の授与を行いますので奮って御応募下さい。

1. 助成内容

今大会および第7回アジア・オセアニア組織適合性会議に応募された一般演題抄録の中から、優秀と認められた演題の筆頭演者に授与されます。授与件数は数件で、1件につき10万円程度の助成金授与を予定しております。

2. 応募資格

助成金応募にあたっては、以下の条件のすべてを満たしていることが必要です。

- 1) 本年9月15日時点で満45才未満、かつ2002年度までの会費を納入済であること
- 2) 応募しようとする演題の内容において、筆頭演者が中心的な役割を果たしていること
- 3) 共同演者を含めた演者全員が、本学会の個人会員（正会員、名誉会員、特別名誉会員）であること
- 4) 応募しようとする演題の内容が、本学会にふさわしく、かつ未発表であること

3. 応募方法

以下の書類一式を簡易書留にて、大会事務局まで郵送願います。

必要書類

- 1) 抄録 30部

一般演題に応募した抄録をA4用紙にプリントアウトしたもの(コピー可)

- 2) 申し込み用紙

A4用紙に、演題名、演者(全員)、所属(全員)と、応募者(筆頭演者)の連絡先住所、電話番号、FAX、e-mailアドレス、生年月日、年令を記入したもの

- 3) 返信用定型封筒1通(80円切手を貼付のこと)

4. 応募締め切り

2003年5月31日(必着)

5. 審査および採択通知について

応募された演題については、MHC編集委員および編集協力者が審査を行い、結果は7月中旬頃までに郵送にて通知致します。

6. 助成金の使途

特に制限はありません。

7. 受賞者口演について

助成金受賞者は、第12回日本組織適合性学会大会または第7回アジア・オセアニア組織適合性会議において、受賞口演のセッションにおいて発表を行って頂きます。

大会事務局

本大会に関するお問い合わせ、一般演題、TFB学術奨励賞(仮称)の応募は、下記の大会事務局にお願い致します。

〒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2 遺伝情報部門内

第12回日本組織適合性学会大会事務局

TEL: 0463-93-1121 内線2312 FAX: 0463-94-8884

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

その他

2003年9月17日～9月19日より開催されます第7回アジア・オセアニア組織適合性会議(7th AOH)に関する詳細は、本学会員の皆様に別送致します「7th AOH 2nd circular」を御覧下さい。7th AOHに関するお問い合わせは、下記のメールアドレスまでお願い致します。

aoh7th@m.med.u-tokai.ac.jp

第7回アジア・オセアニア組織適合性会議

宿泊，交通のご案内

2003年9月15日～19日

軽井沢プリンスホテル

拝啓 時下ますますご清栄のこととお慶び申し上げます。

さて、このたび軽井沢プリンスホテルにて「第7回アジア・オセアニア組織適合性会議」が開催されるにあたり、参加されます皆様の宿泊の手配をJTB品川支店・国際旅行事業部で取り扱わせていただくこととなりました。

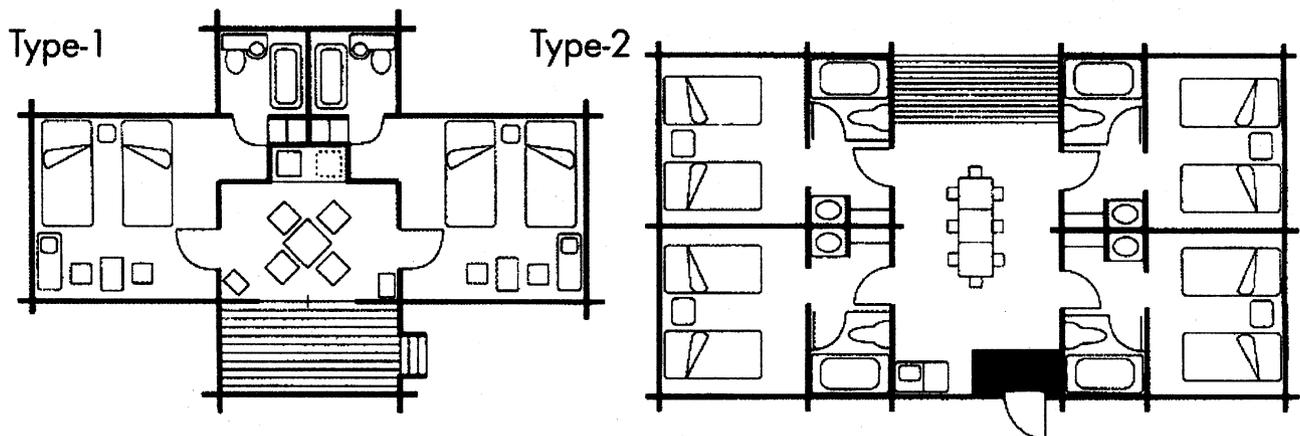
皆様のご希望に添いますよう努力いたしますので、下記内容をご参照の上、お早めにお申し込み頂きますようご案内申し上げます。

ホテル

ホテル名 (チェックイン/アウト)	室タイプ		料 金		住所/電話/最寄駅
軽井沢プリンス ホテル (15:00/11:00)	西館	シングルルーム	1泊1室	17,325円	〒389-0193 長野県北佐久郡軽井沢町軽井沢 0267-42-1111 JR軽井沢駅から車で5分
		ツインルーム	1泊1室	22,050円	
	コテージ (Type1 または Type2)	ツインルームの お一人様利用	1泊1室	15,225円	
		ツインルームの お二人様利用	1泊1室	18,900円	

◆ 室料は、1室1泊あたりの料金(サービス料込、税金込)です。

◆ 上記料金には、お食事は含まれません。



交通プラン

本会議ご参加に便利な交通プランをご用意いたしました。

料金につきましては特別プランにつき、宿泊とあわせた包括料金となります。

交通プランのみのお申込は出来ませんので予めご了承ください。

○条件

新幹線あさま利用（普通指定席）／運賃（片道）お1人様 5,490円

適用期間： 往路（東京～軽井沢）：9月15日～19日

復路（軽井沢～東京）：9月16日～20日

設定列車：

〈往路〉

日程	コード	乗車駅／時間	列車名	下車駅／時間
9月15日	TR1-1	東京／09：32	あさま507	軽井沢／10：40
	TR1-2	東京／11：28	あさま513	軽井沢／12：35
	TR1-3	東京／19：16	あさま529	軽井沢／20：17
9月16日	TR1-4	東京／07：00	あさま551	軽井沢／08：18
	TR1-5	東京／10：28	あさま509	軽井沢／11：36
	TR1-6	東京／16：48	あさま523	軽井沢／17：55
9月17日	TR1-7	東京／07：00	あさま551	軽井沢／08：18
	TR1-8	東京／10：28	あさま509	軽井沢／11：36
	TR1-9	東京／16：48	あさま523	軽井沢／17：55
9月18日	TR1-10	東京／07：00	あさま551	軽井沢／08：18
	TR1-11	東京／10：28	あさま509	軽井沢／11：36
	TR1-12	東京／16：48	あさま523	軽井沢／17：55
9月19日	TR1-13	東京／07：00	あさま551	軽井沢／08：18

〈復路〉

日程	コード	乗車駅／時間	列車名	下車駅／時間
9月16日	TR2-1	軽井沢／19：08	あさま528	東京／20：16
9月17日	TR2-2	軽井沢／13：42	あさま516	東京／14：52
	TR2-3	軽井沢／19：08	あさま528	東京／20：16
9月18日	TR2-4	軽井沢／13：42	あさま516	東京／14：52
	TR2-5	軽井沢／19：08	あさま528	東京／20：16
9月19日	TR2-6	軽井沢／09：08	あさま506	東京／10：16
	TR2-7	軽井沢／13：42	あさま516	東京／14：52
	TR2-8	軽井沢／19：08	あさま528	東京／20：16
9月20日	TR2-9	軽井沢／09：08	あさま506	東京／10：16
	TR2-10	軽井沢／13：42	あさま516	東京／14：52
	TR2-11	軽井沢／20：07	あさま530	東京／21：26

○ご注意

- ◆ 上記プランは各コース15名様以上の催行になります。15名未満の場合は催行致しません。
- ◆ 申込列車に乗り遅れた場合、その列車以降の自由席にご乗車頂けます。
他の列車の指定席への変更、乗車券のみのご利用および払い戻しは出来ませんのでご了承ください。
- ◆ お客様のチケット送料は別途かかります（送料到着払となります）
- ◆ 上記プランは事前申込の為、2003年7月15日までにお申込み願います。

尚、予約の変更・取消にともなうご返金は会議終了後となります。予めご了承ください。

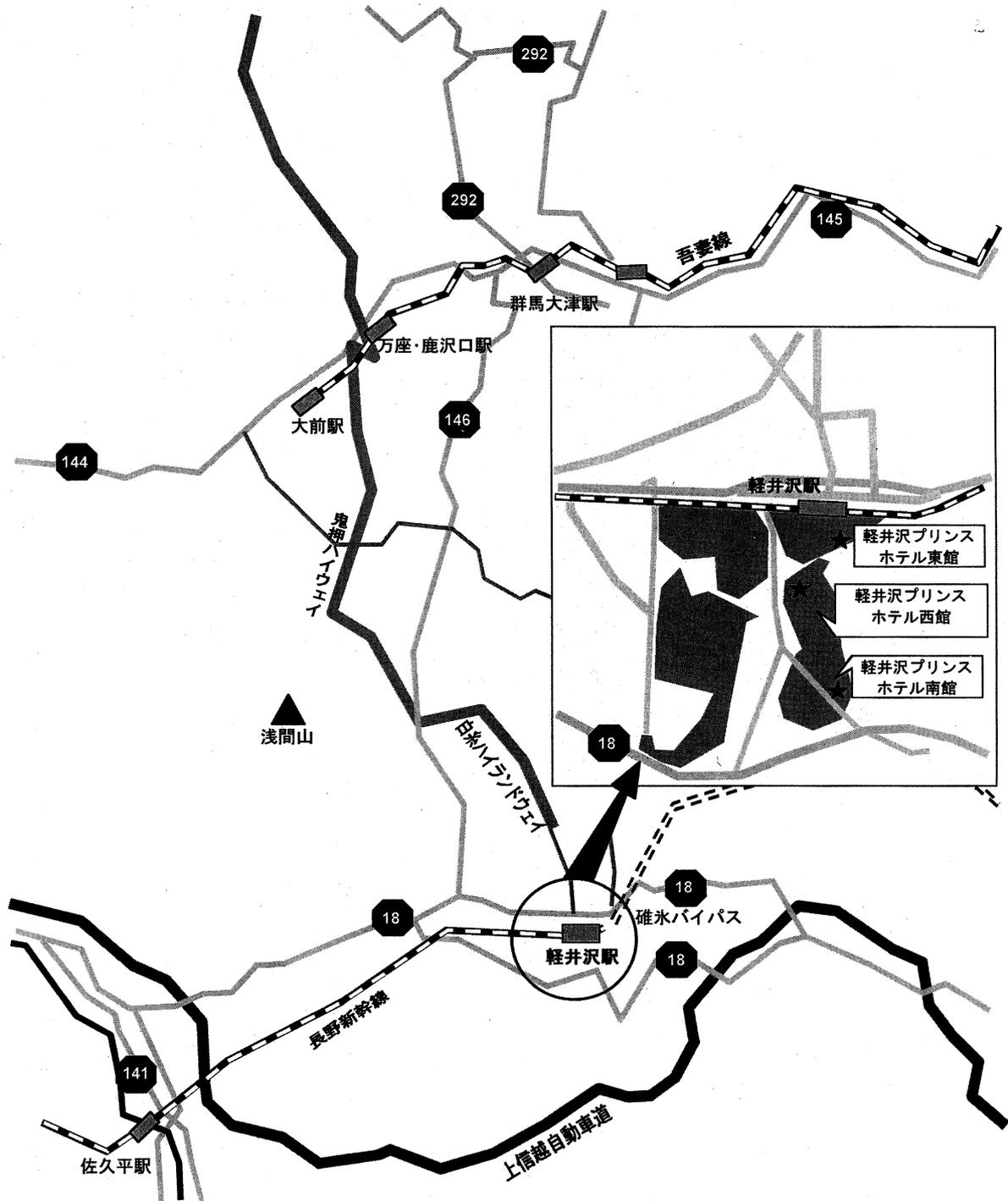
お申込およびお問い合わせ先

(株) ジェイティービー 国際旅行事業部 「第7回アジア・オセアニア組織適合性会議」 係 (CD101923-168)

営業時間： 9:30~17:30 (除 土日および祝祭日)

〒140-8604 東京都品川区東品川2-3-11 ファックス：(03)5495-0685 電話：(03)5796-5445

軽井沢周辺地図



平成15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 佐田 正晴

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。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16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17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。資格基準が変更されているので本号に掲載されている規則を確認すること。
- 2 申請書提出期限： 平成15年4月26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（申請者へ送れるように住所・氏名などを記載しておくこと）
 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のコピーおよび講習会修了証を貼り付けること。ただし、講習会が修了していない者については添付不要である。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。その場合でも、学会参加証の添付は必ずしも必要ない。資格審査基準証明書（別記様式2の1）の所属長署名・捺印はなくてもよい。
- 5 申請料： 20,000円
 振込先
 みずほ銀行厚木支店
 普通預金 8037067
 JSHI 認定制度委員会事務局 猪子英俊
- 6 講習会： 日時：平成15年9月15日（月曜日）16時から18時（予定）
 会場：軽井沢プリンスホテル西館
 参加費：2,000円程度を予定（テキスト代を含む）
 （但し、平成14年度の講習会に受講済みの者は除く）
- 7 実技研修会： 日時、場所等は申請者に文書で通知する。7から8月中の2ないし3日間（施設によって異なる）を予定している。

平成15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 佐田 正晴

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、今年度で終了する。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。平成 17 年度以降に受験する者に対する講習会は、平成 16 年度の第 13 回大会（大阪）時に実施する。

- 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。資格基準が変更されているので本号に掲載されている規則を確認すること。
- 2 申請書提出期限： 平成 15 年 4 月 26 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のコピーおよび講習会修了証を貼り付けること。ただし、講習会が修了していない者については添付不要である。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。その場合でも、学会参加証の添付は必ずしも必要ない。資格審査基準証明書（別記様式 2 の 1）の所属長署名・捺印はなくてもよい。
- 5 申請料： 50,000 円
振込先
みずほ銀行厚木支店
普通預金 8037067
JSHI 認定制度委員会事務局 猪子英俊
- 6 講習会： 第 12 回日本組織適合性学会大会及び第 7 回アジア・オセアニア組織適合性ワークショップ会議中の指定した講演
(第 11 回日本組織適合性学会大会で講習が修了している者を除く)

[Original article] Analysis of HLA-B polymorphism in insulin dependent diabetes mellitus in Japanese.

Wenshuo Shao¹⁾, Michio Yasunami¹⁾, Megumi Takahashi¹⁾, Hiroki Shibata¹⁾,
Kazuyuki Hamaguchi²⁾, Toshiie Sakata²⁾, Masao Ota³⁾, Yoshihiko Katsuyama³⁾,
Hidetoshi Inoko⁴⁾ and Akinori Kimura¹⁾

¹⁾Department of Molecular Pathogenesis, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University, Tokyo, Japan.

²⁾Department of Internal Medicine I, Oita Medical University School of Medicine, Oita, Japan

³⁾Department of Legal Medicine, Shinshu University School of Medicine, Matsumoto, Japan

⁴⁾Department of Genetic Information, Division of Molecular Life Science, Tokai University of Medicine, Isehara, Japan

(Received Nov. 20, 2002)

Summary

Insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) is a classical organ-specific autoimmune disease of the pancreatic beta cells. We have previously reported that HLA-B61, along with HLA-B54 and DRB1*0405, was associated with IDDM in a Japanese population, suggesting the presence of an HLA-B-linked risk factor which is independent of HLA-DR/DQ alleles. Because HLA-B61 antigen is encoded by two major B40-related alleles, B*4002 and B*4006, in Japanese, we re-examined the association with the HLA-B polymorphisms, and analyzed the microsatellite loci flanking to the HLA-B locus. The results indicated that the frequencies of both B*4002 (21.6% vs. 12.2%, OR=1.99, P=0.023, 95% CI=1.09-3.63) and B*4006 (19.4% vs. 10.5%, OR=2.06, P=0.024, 95% CI=1.09-3.88) were increased in the patients, and that two microsatellite markers, C1_4_1 and C1_2_5, showed strong associations with IDDM. In addition, haplotypic association studies suggested that the HLA-B itself, not the flanking regions linked to the microsatellite alleles, conferred the risk of IDDM.

Key words : HLA-B, DNA typing, microsatellite, insulin dependent diabetes mellitus

Introduction

Insulin dependent diabetes mellitus (IDDM) is a typical organ-specific autoimmune disease of pancreatic beta cells. Etiology of the disease is still largely unknown, but susceptibility to the disease is well known to be controlled by multiple genetic factors under the influence of environmental factors (1). Genetic analyses of familial cases revealed one of the major disease-susceptibility genes, IDDM1, was mapped in the HLA

region on the short arm of chromosome 6 (1). In accordance with this finding, the associations of IDDM with the HLA alleles and certain alleles of non-HLA genes within the HLA region have been documented (2). Most of the data have indicated that alleles of the DR/DQ loci primarily confer the risk of IDDM, but it is still uncertain whether the alleles of other genes in the HLA region would contribute to the risk, because there are strong linkage disequilibria between the alleles of

Correspondence should be addressed to :
Michio Yasunami, MD, PhD.
Department of Molecular Pathogenesis, Medical Research Institute,
Tokyo Medical and Dental University
2-3-10 Kanda-Surugadai, Chiyoda-ku, Tokyo 101-0062, Japan

Phone: +81-3-5280-8082
Fax: +81-3-5280-8055
E-mail: myasunam.tis@tmd.ac.jp

genes within this region, especially between the HLA-B and DR/DQ loci. Previously, we reported the association of Japanese IDDM with HLA-DRB1*0405, TNF alpha gene promoter allele D, and HLA-B54 (3). Although these alleles are in strong linkage disequilibria in the Japanese populations, the stratification analyses suggested that the risk linked to HLA-B54 was independent of the DR/DQ-linked factor. In addition, we observed that another HLA-B allele, B61, was also associated with IDDM albeit to lesser extent than B54, so as to conclude that IDDM1 may be composed of at least two closely linked but independent genetic factors; one is linked to the HLA-DR/DQ loci, and the other maps in the vicinity of the HLA-B locus.

DNA typing of the HLA polymorphisms have revealed that some alleles determined by serology are heterogeneous in terms of the nucleotide sequence. HLA-B*61 is a serologically defined allele whose allogeneic antigen specificity is encoded by multiple B40 group alleles (see IGMT/HLA web site, <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla>), and the immunological properties may differ among them. HLA-B*4002 and B*4006 are the two commonly found B61-encoding alleles in the Japanese population (4), and can be determined by time and labor-consuming typing such as PCR-sequence specific oligonucleotide probing (SSOP) or sequence-based typing (SBT).

In the present study, we developed a rapid high resolution typing method for the B40 group alleles to handle large number of samples. By this method, we re-examine the HLA-B polymorphism of IDDM patients and healthy controls to delineate the HLA-B-linked risk factor for IDDM. In addition, genotyping and association analysis of the HLA-B-linked polymorphic microsatellite marker loci were carried out for fine mapping of the susceptibility gene.

Materials and methods

Subjects

A total of 139 unrelated diabetic patients were randomly selected for the subjects of this study. All

patients were residents of the Northern part of the Kyushu island in Japan. The diagnosis of IDDM was made as described previously (3). Two hundred and thirty seven healthy Japanese individuals, who also were residents of the same area as the patients, were enrolled as the control population. Informed consent was obtained from all the patients and the control subjects. The genetic analyses were approved by the ethical committee of the Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University.

HLA DNA typing

Low resolution DNA typing for HLA-B40/B47 group was performed as follows. The genomic DNA fragment including HLA-B exons 2 and 3 was amplified by PCR with primers Bex23F (5'-GGGAGGAGGGA GGGGAC-3') and Bex23R (5'-GGAGGCCATCCC CGGCGA-3'). One hundredth of the PCR product was further amplified with HLA-B40/B47-group-specific primers, Primer-3 (5'-CGCCACGAGTCCGAGGAA-3') and primer-G (5'-AGCCGCCGTGTCCGCG-3') as described (5). PCR products of 550 bp were detected through 1.0% agarose gel electrophoresis and visualized by ethidium bromide staining. High resolution subtyping of HLA-B40 group was done by combination of Rsa I-restriction fragment length polymorphism (RFLP) and single strand conformation polymorphism (SSCP) analyses. In brief, the HLA-B40/47 group-specific PCR products were digested with Rsa I and subjected to 1.0% agarose gel electrophoresis. Because the electrophoretic patterns corresponding to HLA-B60 group (B*4001 and B*4007) and HLA-B*4002 should not be distinguishable by the Rsa I digestion as shown in more detail in the Results section, the parallel Rsa I digests were heat-denatured and subjected to 7% PAGE gel electrophoresis for the SSCP analysis to resolve the ambiguity (6). All B60-positive individuals were typed as B*4001 by means of direct sequencing of HLA-B40/B47 group-specific PCR product using Primer-3 as a sequencing primer.

Genotyping of microsatellite loci

Polymorphisms of two HLA-B-linked microsatellite loci, C1_4_1 and C1_2_5, were examined by using fluorescent dye-conjugated PCR primers as described previously (7). Five alleles of C1_4_1 and 19 alleles of C1_2_5 were detected in the subjects in this study.

Data analysis

Odds ratio (OR) was calculated by Woolf's formula or that with Haldane's modification, and the statistical significance was examined by the chi-square test with Yates' correction. 95% Confidence Interval (CI) of OR was given when appropriate. The P values of the OR were corrected for each locus by the number of alleles tested. A corrected P value (Pc) of less than 0.05 was considered as statistically significant. Two-locus stratification analyses were carried out to detect the alleles which showed strongest association among the neighboring loci, according to the method of Svejgaard and Ryder (8).

Results

High resolution DNA typing of the B40 group alleles

Comparison of the nucleotide sequence data for the coding region of the forty-four HLA-B40 alleles (B*400101 through B*4044), which were retrieved from the IGMT/HLA web site (<http://www.ebi.ac>.

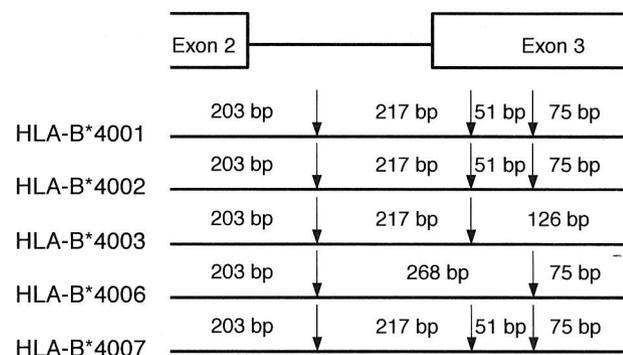


Figure 1.

Restriction map of B40 group-specific PCR products. Sites which could be cleaved by Rsa I were shown by arrows.

uk/imgt/hla/), revealed the presence of two polymorphic Rsa I cleavage sequences (GTAC) within the B40-group-specific amplified fragments. In Japanese, five major B40-related alleles could be observed, B*4001, B*4002, B*4003, B*4006 and B*4007: B*4001 and B*4007 encode B60 antigen, while B*4002, B*4003 and B*4006 encode B61 antigen. Upon the RFLP analysis, an additional Rsa I site, which exists in the second intron of the B*4006101 and B*4006102 genomic database sequences, was found in all the B40 alleles tested in this study (Figure 1). In accordance with the available sequence data, we could expect either one or mixture of two of three different band patterns, easily distinguishing B*4002 from B*4003 and B*4006 all of that belong to the HLA-B61 group. However, RsaI-RFLP alone could not distinguish HLA-B*4002 from B*4001 or B*4007. Then, the DNA conformation analyses detecting SSCP was employed to resolve the ambiguity. Although initial attempt to discriminate the alleles by SSCP of group-specific PCR product was failed because of the length of PCR fragments, Rsa I cut the PCR fragments into pieces with appropriate size for detecting the internal polymorphism, and improved the discrimination of SSCPs between B*4001 and B*4002 (Figure 2). Identity of each pattern was confirmed by the SBT of representative individuals. We could not test B*4007, because none of the patients or control were positive for B*4007 in this study. This method would potentially discriminate B*4007 from B*4001, because the sequences of the amplified fragments are different by one nucleotide between these two alleles.

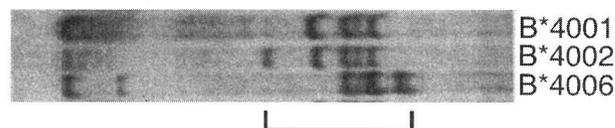


Figure 2.

RFLP-SSCP analysis of HLA-B40 group alleles commonly found in the Japanese population. Single strand DNAs migrated into the gel shown by a bracket.

We applied this typing method to the association study of IDDM, because our previous observations suggested that HLA-B61 was increased in frequency in the patients.

Sixty two out of 137 patients (45.6%) and 51 out of 181 control subjects (30.0%) were positive for the HLA-B40/B47 group specific amplification. Further fine

typing showed that the individuals positive for B*4001 were 11 (7.9%) in the patients, while they were 23 (12.7%) in the control (OR=0.59, 95% CI=0.28-1.26); those for B*4002 were 30 (21.6%) vs. 22 (12.2%) (OR=1.99, P=0.023, 95% CI=1.09-3.63); those for B*4003 were 3 vs. 1 (OR=3.97, 95% CI=0.41-38.1); and those for B*4006 were 27 (19.4%) vs. 19 (10.5%) (OR=2.06, P=0.024, 95% CI=1.09-3.88). No other alleles belonging to the HLA-B40/47 group were found in either patient or control populations. Collectively, the frequency

Table 1 Frequencies of HLA-B40-related alleles in patients and control individuals.

group/allele	IDDM (N=139)	control (N=181)	odd's ratio	(95% CI)	P	Pc
B40/47	64 (46.0%)	63 (34.8%)				
B60	11 (7.9%)	23 (12.7%)	0.59	(0.28-1.26)	0.17	
B*4001	11 (7.9%)	23 (12.7%)	0.59	(0.28-1.26)	0.17	
B*4007	0 (0.0%)	0 (0.0%)				
B61	55 (39.6%)	41 (22.7%)	2.24	(1.37-3.64)	0.0011	0.0043
B*4002	30 (21.6%)	22 (12.2%)	1.99	(1.09-3.63)	0.023	
B*4003	3 (2.2%)	1 (0.6%)	3.97	(0.41-38.1)	0.20	
B*4006	27 (19.4%)	19 (10.5%)	2.06	(1.09-3.88)	0.024	

Table 2 Allele frequencies of HLA-B-linked microsatellite marker loci in patients and control individuals.

allele	IDDM	control	odds ratio	(95% CI)	P	Pc
C1_4_1	(2N=278)	(2N=474)				
*213	63 (22.7%)	65 (13.7%)	1.84	(1.26-2.71)	0.0016	0.0081
*221	84 (30.2%)	100 (21.1%)	1.62	(1.15-2.27)	0.0044	0.022
C1_2_5	(2N=276)	(2N=474)				
*192	36 (13.0%)	28 (5.9%)	2.39	(1.42-4.01)	0.00074	0.014

Table 3 Frequencies of patients and control subjects according to HLA-B61, C1_4_1*213 and C1_2_5*192 (a), and the case-control comparison for each factor (b. [1] and [2]) and the stratification analysis (b. [3] through [8]).

Odds ratio and 95% confidence interval of the value of odds ratio (in parenthesis) are given for each comparison.

a.

HLA-B61	C1_4_1*213	C1_2_5*192	IDDM	Control
+	+		51 (N=139)	48 (N=237)
+	-		4	4
-	+		4	10
-	-		80	175
+		+	26 (N=138)	20 (N=237)
+		-	29	32
-		+	8	7
-		-	75	178

b.

Factor A	Factor B	Individual association		Independent A association		Independent B association		Difference between A and B	Combined association	Association between A and B	
		[1]A	[2]B	[3]++ vs. +-	[4] +- vs. --	[5] ++ vs. +-	[6] +- vs. --			[7] ++ vs. +-	[8] ++ vs. --
HLA-B61	C1_4_1*213	2.33 (1.47-3.68)	2.02 (1.29-3.17)	2.66 (0.34-9.04)	2.19 (0.53-8.96)	1.06 (0.25-4.49)	0.88 (0.27-2.87)	2.50 (0.41-15.2)	2.32 (1.45-3.74)	255.0 (61.0-1065.3)	210.0 (63.1-699.1)
HLA-B61	C1_2_5*192	2.36 (1.49-3.73)	2.54 (1.46-4.44)	1.14 (0.35-3.66)	2.15 (1.22-3.80)	1.43 (0.66-3.10)	2.71 (0.95-7.75)	0.79 (0.26-2.46)	3.09 (0.26-2.46)	8.41 (3.41-20.7)	15.9 (4.21-40.7)

frequency of HLA-B61 was increased in the patients (39.6% vs.22.7%, OR=2.24, P=0.0011, Pc=0.0043, 95% CI=1.37-3.64). These results suggested that both of the two major HLA-B61-encoding alleles, B*4002 and B*4006, conferred the risk for IDDM.

Association of microsatellite with IDDM

Two microsatellite marker loci flanking to the HLA-B locus, C1_4_1 (6 kb centromeric to the HLA-B, 40 kb telomeric to the MIC-A) and C1_2_5 (62 kb telomeric to the HLA-B, 19 kb centromeric to the HLA-C), were selected for fine mapping of the genetic risk factor linked to the HLA-B locus (7). As shown in Table 2, C1_4_1*213 allele (22.7% vs. 13.7%, OR= 1.84, P=0.0016, Pc=0.0081, 95% CI=1.26-2.71) and C1_2_5*192 (13.0% vs. 5.9%, OR=2.39, P=0.00074, Pc=0.014, 95% CI=1.42-4.01) were increased in frequency in the patients. The frequency of C1_4_1*221 (30.2% vs. 21.1%, OR= 1.62, P=0.044, 95% CI=1.15-2.27) was also elevated. As shown later, C1_4_1*213 and C1_2_5*192 were in linkage disequilibrium with HLA-B61, while HLA-B54 was in linkage disequilibrium with C1_4_1*221. None of the alleles of C1_2_5 in linkage disequilibrium with HLA-B*54 showed statistically significant association with IDDM.

Evaluation of individual risk factors by two locus stratification analyses

The stratification analysis was employed to evaluate the relationship of two HLA-B-linked genetic factors. The analysis was composed of six ways of tests, each of which was a 2x2 comparison of two subgroups classified with respect to the presence or absence of the two factors, between patients and controls (test[3] through test[8] in Table 3). The result of the analysis (Table 3) indicated that HLA-B61, either B*4002 or B*4006, conferred the risk for IDDM both in the presence and in the absence of C1_4_1*213 (test[3] and test[4], respectively). In clear contrast, C1_4_1*213 did not increase the risk in the presence or in the absence of HLA-B61 (test[5] and test[6], respectively). As for

C1_2_5*192, the situation was slightly different from that in the case of C1_4_1*213; HLA-B61 and C1_2_5*192 alone conferred the risk and the presence of both factors further increased the risk. Thus, even though all these alleles, C1_4_1*213, HLA-B61 and C1_2_5*192, strongly associated with IDDM, we could conclude that HLA-B61 was the primary risk factor for IDDM and that the increased frequencies of the other two markers might reflect the linkage disequilibrium between these alleles and HLA-B61, although there is a possibility that another risk factor might be in linkage disequilibrium to C1_2_5*192. As for the HLA-B54-positive haplotype, the association to IDDM was apparent with the centromeric marker but not with C1_2_5. The stratification analysis between HLA-B54 and C1_4_1*221 also resulted in demonstrating the primary association of IDDM with the HLA-B allele (data not shown).

Discussion

We developed a rapid and cost-effective high-resolution typing method for the HLA-B40 group, B*4001, B*4002, B*4003, and B*4006, found in the Japanese population. All individuals positive for the HLA-B40/47 SSP in this study were typed without ambiguity by combination of the RFLP and SSCP analyses. No special equipment or expensive reagents were needed, so as to be suitable for the association studies handling hundreds of samples.

The results of the present study indicated that HLA-B*4002 and -B*4006 were almost equivalent as the risk of IDDM, whereas the HLA-B*4001 which is also in the B40 allele-group but encodes different allo-antigen, B60, was not associated with IDDM. The primary function of class I MHC molecules including HLA-B is to bind intracellular antigenic peptide at "the peptide-binding groove" made up by alpha 1 and alpha 2 domains, and polymorphisms in these regions of the molecule deeply affect the affinity between the peptide and the class I molecule (9). The relationship between the anchor amino acid residues of peptide sequence motif and the side

chain-binding pockets in the peptide-binding groove have been studied extensively for several MHC molecules, and some general rules were established (10). These rules were found to be applicable also to the most class I molecules whose structures were not determined precisely. It has been reported that the gross properties of the pocket C for the second amino acid residue of the peptide and the pocket F for the COOH-terminal residue fell into the same groups for B*4001, B*4002 and B*4006 (10), suggesting the general sequence preference for binding peptides is similar among these alleles. However, because the pocket F of these three alleles are not composed of identical amino acids, the affinity of individual antigens may differ for these alleles, and it remains possible that the pathogenic autoantigen(s) are efficiently bound by HLA-B*4002 and B*4006, but not by B*4001.

Microsatellite markers have been shown to be effective in mapping the disease genes not only in the linkage analysis (11), but also in the association analysis which is based on linkage disequilibrium between the true disease-predisposing allele and genetic markers in a given population (12). The strength of linkage disequilibrium between the alleles of two loci is determined by a function of the time since the coexistence of respective alleles had been established in the population history and the genetic distance between the loci. Therefore, theoretically, the closer the distance is, the stronger the association is expected. If the linkage disequilibrium is too strong, simple comparison of the measures of association can not tell the position of the disease gene. However, even in such occasions, the risk of individual markers can be evaluated by the stratification analyses. In the present study, the risk of HLA-B locus on the B54-haplotype was found to be primarily linked to B54 by the simple association analyses. In contrast, that on the B61-haplotypes became apparent only when with the stratification analyses. Although the product of the gene, which showed primary association with the disease in a case-control study, does not always cause the disease, HLA-B may be primarily

involved in the pathogenesis of IDDM, because the HLA-B is the only one expressed gene in the genomic region flanked by two microsatellite markers used in this study.

Immunological studies on the function of the disease-predisposing HLA-B alleles, such as identification of antigenic peptides derived from pancreatic beta cells, would be helpful to understand the pathogenesis. On the other hand, the involvement of the HLA-B in IDDM can be tested by the intervention cohort study by manipulating the recognition of the antigenic peptide-HLA-B complex in high risk individuals.

In summary, we have re-examined the association of IDDM with HLA-B61 in the Japanese populations and found that both of B*4002 and B*4006 were equally associated with IDDM. The analysis of two microsatellite markers flanking the HLA-B locus and the two locus stratification analysis have strongly suggested that the HLA-B61 itself was involved in the pathogenesis of IDDM. This is an additional confirmation for the involvement of the HLA-B gene in the composition of IDDM1 susceptibility locus.

References

1. She J-X, Marron M P: Genetic susceptibility factors in type 1 diabetes: linkage, disequilibrium and functional analyses. *Current Opinion in Immunology* 10 :682-689,1998.
2. Yasunaga S, Kimura A, Hamaguchi K, *et al.*: Different contribution of HLA-DR and -DQ genes in susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Tissue Antigens* 47:37-48,1996.
3. Hamaguchi K, Kimura A, Seki N, *et al.*: Analysis of tumor necrosis factor- α promoter polymorphism in type 1 diabetes: HLA-B and-DRB1 alleles are primarily associated with the disease in Japanese. *Tissue Antigens* 55:10-16, 2000.
4. Ogawa A, Tokunaga K, Lin L, *et al.*: Diversity of HLA-B61 alleles and haplotypes in East Asians and Spanish Gypsies. *Tissue Antigens* 51:356-

- 366,1998.
5. Bunce M, Fanning G L, Welsh K I:Comprehensive, serologically equivalent DNA typing for HLA-B by PCR using sequence-specific primers (PCR-SSP). *Tissue Antigens* **45**:81-90,1995.
 6. Hoshino S, Kimura A, Fukuda Y, *et al.*:Polymerase chain reaction-single-strand conformation polymorphism analysis of polymorphisms in DPA1 and DPB1 genes: A simple, economical, and rapid method for histocompatibility testing. *Hum. Immunol.* **33**:98-107,1992.
 7. Ota M, Katsuyama Y, Kimura A,*et al.*:A second susceptibility gene for developing rheumatoid arthritis in the human MHC is localized within a 70-kb interval telomeric of the TNF genes in the HLA class III region. *Genomics* **71**:263-270, 2001.
 8. Svejgaard A, Ryder L P:HLA and disease associations: detecting the strongest association. *Tissue Antigens* **43**:18-27,1994.
 9. Brusic V, Rudy G,Harrison L C:MHCPEP, a database of MHC-binding peptides: update 1997. *Nucleic Acids Res.* **26** :368-371,1998.
 10. Zhang C, Anderson A, DeLisi C:Structural principle that govern the peptide-binding motifs of class I MHC molecules. *J. Mol. Biol.* **281**:929-947,1998.
 11. Lander E, Kruglyak L:Genetic dissection of complex traits: guidelines for interpreting and reporting linkage results. *Nat. Genet.* **11**:241-247,1995.
 12. Thomson G:Significance levels in genome scans. *Adv. Genet.* **42**:475-486, 2001.

第6回 HLAクオリティコントロール(QC) ワークショップ報告

1. 全体報告

第6回HLA QCワークショップ経過報告

前田平生¹⁾、平田蘭子¹⁾、小河原悟²⁾、柏瀬貢一³⁾、木村彰方⁴⁾、斉藤 敏⁵⁾、
徳永勝士⁶⁾、成瀬妙子⁷⁾、橋本光男⁸⁾、丸屋悦子⁹⁾、屋敷伸治¹⁰⁾
(HLA標準化委員会)

¹⁾ 埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部, ²⁾ 福岡大学医学部第4内科, ³⁾ 東京都赤十字血液センター検査三課,
⁴⁾ 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態, ⁵⁾ 長野県赤十字血液センター, ⁶⁾ 東京大学大学院人類遺伝学,
⁷⁾ 東海大学医学部分子生命科学系, ⁸⁾ 兵庫県立西宮病院腎移植センター,
⁹⁾ 特定非営利活動法人HLA研究所, ¹⁰⁾ 鹿児島大学医学部ウイルス学

1. ワークショップ集会までの経過

今回で6回目の開催になるHLA-QCワークショップは、平成14年1月にMHC誌上においてワークショップ開催の案内が出された。昨年同様、ワークショップ参加は有料（施設参加（5名まで参加可能）は10,000円、個人参加は2,000円）とした。参加申込の締切りは、平成14年2月28日で77施設からの参加申込があった。3月末日に3種類の血液（2～3ml）と3種類のDNAサンプル（IHW reference cell）を参加者に送付した。前年度は、発送時に試験管の破損等があったため、今回はプラスチック製の試料ケースに入れて発送した。結果的に破損等の報告はなかった。平成14年5月31日までに76施設からタイピング結果の報告があった。このことは、全施設においてDNA抽出は問題なく行われたと考えられる。6月中に結果をコンピューター入力し、7月中旬に入力内容の確認のため中間報告を参加施設に送付した。また、各キット別のデータ解析を参加施設に依頼し、各キット別の生データを解析施設に送付

した。表1にこれまでの経過を示す。

表1 第6回HLA-DNAタイピングQCワークショップ

平成14年1月	ワークショップ参加申込
2月末	申込締切り 76施設参加
3月末	サンプル配布（3血液, 3DNA）
5月31日	結果報告締切り 75施設報告
6月	結果データ入力
7月中旬	参加施設へ中間報告（入力確認）
8月	ワークショップ集会報告者依頼 データ解析
9月23日	第6回HLA-QCワークショップ集会

2. 参加者・参加施設

今回のワークショップ参加施設数は、施設参加として43施設（継続39, 新規4）、個人参加として33施設（1名参加26, 2名参加2, 3名参加5施設）、合計76施設であった（表2）。第1回から第5回ま

代表者連絡先 〒350-8550 川越市鴨田辻道1981
日本組織適合性学会標準化委員会委員長
埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部
前田平生

電話：0492-28-3506
ファックス：0492-26-3091
E-mail：himaeda@saitama-med.ac.jp

表2 第6回HLA-QCワークショップ参加施設

施設・個人参加	継続	新規	総計
施設参加数	39	4	43
個人参加施設数	22	11	33
1名参加	16	10	26
2名参加	1	1	2
3名参加	5	0	5
総計	61	15	76

個人参加者数 33 12 45

での参加施設数は、順に37, 61, 63, 72, 65施設であり、昨年度は参加費が有料化されたためか一時的に参加施設数の減少が見られたが、本年度は認定技術者制度の発足も相まって、参加施設は一昨年以上に増加した。参加者としては、施設参加として141名、個人参加として45名の登録があり、合計186名の参加があった。

第6回までの地域別、施設形態別の参加施設数を表3に示す。これまで6年間に1回でも参加した施設は112施設で、施設形態の内訳としては、病院36施設（32%）、大学病院・血液センターは同数の23施設（20%）で、全体の70%以上を占めていた。地域別では、関東甲信越で45施設（40%）と最も

表3 第1～第6回HLA-QCワークショップ参加施設と地域

地域・施設分類	メーカー	血液センター	検査センター	大学・研究所	大学病院	病院	総計
北海道		1				1	2
東北	1	1			3	4	9
関東甲信越	10	6	3	6	10	10	45
東海北陸		4			3	3	10
近畿	2	4	1	2	4	3	16
中四国	1	3		2	2	9	17
九州沖縄		4	1	1	1	6	13
総計	14	23	5	11	23	36	112

(14輸血部)

表4 参加施設分類と参加回数

参加回数・施設分類	メーカー	血液センター	検査センター	大学・研究所	大学病院	病院	総計
1	4	4	1	1	6	5	21
2	2			3	2	10	17
3	6	5			2	5	18
4		4		2	7	5	18
5	1	4	1	1	2	8	17
6	1	6	3	4	4	3	21
総計	14	23	5	11	23	36	112

多く、その他の地域では、北海道を除き9～17施設（8～15%）であった。また、参加回数では、6回連続参加した施設は、21施設（18%）あり、施設形態別では血液センターの6施設（5%）が最も多かった。4回以上参加した施設数は、56施設でちょうど全体の半数であった（表4）。

3. まとめ

平成9年に開催された第1回QCワークショップへの参加施設は、わずか37施設であったのが、第6回ワークショップではほぼ倍の76施設が参加するようになった。この間、クラスIIタイピングは、2桁レベルのタイピングから4桁レベルのタイピングに移行し、また、当初クラスIタイピングの報告は皆無であった状況から今日では、参加施設の9割以上にあたる71施設からHLA-A, B アリルタイピングが実施されるようになった。こうして、クラスIIのみならず、クラスI抗原に関してもHLAタイピングの主座はDNAタイピングが占めるようになった。

また、ワークショップの運営に関して、学会主導の第3回以降は、全体報告の他に各キット別の生データの解析をできるだけ多くの参加者に報告してもらうように配慮した。その結果、各キットの長所・短所を含めた多くの情報を参加者が共有することができ、参加者間の円滑なコミュニケーションの向上にも資することができたと考えている。今後のワークショップのあり方に反映していただきたい。

その他に、いくつかの課題も残されている。当面の問題としては、現実の移植医療におけるドナー/レシピエントのマッチングシステムが血清型で行われており、DNAタイピングの結果報告が必ずしも現状の医療に則していないことがあげられる。これについては、HLA標準化委員会から「アリル表記法と結果報告の原則について2002」として指針をまとめるのでそれを参照していただきたい。第2点は、HLAタイピングが治療前検査であるならば、その

医療の結果からHLA検査結果ならびにマッチングシステムを再評価することである。これが行われてはじめて検査技術者は、HLAタイピング結果に対する責任感ならびに誇りが生まれることになるであろう。認定組織適合性指導者の責任ははなはだ重い。

参加施設

北海道赤十字血液センター 検査部検査三課, 鷹揚郷腎研究所弘前病院 臨床検査部HLA検査室, 岩手医科大学附属病院 中検生化学検査室, 仙台社会保険病院 研究部, 宮城県赤十字血液センター 検査課, 株式会社ゲノムサイエンス研究所 研究開発部, 福島県立医科大学医学部附属病院 輸血・移植免疫部, 新潟市民病院 中央検査部特殊検査室, 医療法人立川MC立川総合病院 検査科, 長野県赤十字血液センター 検査課, 信州大学医学部 法医学, 島田記念病院 検査科, 富士重工業健康保険組合総合太田病院 臨床検査科, 自治医科大学附属病院 輸血・細胞移植部, 有限会社ディーアールラボ, 埼玉医科大学総合医療センター 輸血・細胞治療部, (株)ピーエムエル 細胞形態学部細胞生物学課, 埼玉医科大学附属病院 中央検査部輸血検査室, 埼玉県赤十字血液センター 検査二課, 防衛医科大学校病院 検査部研究室, 国立佐倉病院 HLA検査室, 千葉県船橋赤十字血液センター 検査二課, 東京女子医科大学 腎センター移植免疫, (株)テイエフビー 技術部, 虎の門病院 輸血部, 株式会社ベリタス 技術営業部, 東京医科歯科大学難治疾患研究所 成人疾患研究部門分子病態分野, 東京都赤十字血液センター 検査三課, アプライドバイオシステムズジャパン株式会社 テクニカルサポート, 東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学分野, (株)三菱化学ビーシーエル 検査第二部凝固細胞性免疫, 北里大学医学部 免疫学, 株式会社エスアールエル 遺伝子検査室, 横浜市立大学医学部附属病院 輸血部, 神奈川県赤十字血液センター 検査部検査一課, 東海大学医学部附属病院 細胞移植医療センター, 東海大学医学部 分子生命科学系遺伝情報部門, 名古屋第二赤十字病院 組織適合検査室, 静岡県立こども病院 臨床病理科, 静岡県立総合病

院 総合診療部血液管理室, 愛知県赤十字血液センター 検査二課, 三重県赤十字血液センター 検査課, 石川県赤十字血液センター 検査課, 金沢医科大学病院 北陸腎移植HLA検査センター, 富山医科薬科大学附属病院 輸血部, 富山県赤十字血液センター 製剤課品質管理係, 塩野義製薬(株)シオノギバイオメディカル大阪ラボラトリー 臨床検査部, シオノギ製薬(株)診断薬部 研究開発部門, 大阪市立大学医学部附属病院 輸血部, 大阪府立病院 臨床検査科組織適合検査室, 国立循環器病センター 臨床検査部輸血管理室, 大阪府赤十字血液センター 検査二課, 関西医科大学附属病院 輸血部, 京都府立医科大学附属病院 腎移植センター, 京大医学部附属病院 輸血部, 兵庫県赤十字血液センター 検査一課, 兵庫県立西宮病院 腎臓移植センター, 広島県赤十字血液センター 検査課, 湧永製薬株式会社 創薬研究所バイオ診断研究室, 山口県赤十字血液センター 検査課, 松江赤十字病院 輸血管理室, 岡山県赤十字血液センター 検査課, 国立病院岡山医療センター 輸血管理室, 香川県立中央病院 検査科血清検査室, 徳島大学医学部附属病院 輸血部, 高知県衛生研究所 保健科学部, 高知県立中央病院 癌研究所, 愛媛県立衛生環境研究所 疫学情報科, 福岡赤十字病院 臨床検査部HLA検査, 福岡大学病院 第四内科, 長崎県赤十字血液センター 検査課, 国立病院長崎医療センター 臨床検査科, 熊本県赤十字血液センター 検査課, 大分県立病院 中央検査部, 宮崎県立宮崎病院 輸血検査室, 沖縄県立中部病院 輸血検査 (76施設)

クラス I タイピングの評価

斉藤 敏¹⁾, 橋本光男²⁾, 小河原悟³⁾, 柏瀬貢一⁴⁾, 木村彰方⁵⁾, 徳永勝士⁶⁾,
成瀬妙子⁷⁾, 平田蘭子⁸⁾, 丸屋悦子⁹⁾, 屋敷伸治¹⁰⁾, 前田平生⁸⁾
(HLA標準化委員会)

¹⁾ 長野県赤十字血液センター, ²⁾ 兵庫県立西宮病院腎移植センター, ³⁾ 福岡大学医学部第4内科, ⁴⁾ 東京都赤十字血液センター検査三課,

⁵⁾ 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態, ⁶⁾ 東京大学大学院人類遺伝学, ⁷⁾ 東海大学医学部分子生命科学系,

⁸⁾ 埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部, ⁹⁾ 特定非営利活動法人HLA研究所, ¹⁰⁾ 鹿児島大学医学部ウィルス学

1. 参加施設

今回のHLA QCクラス Iに参加した施設数は、A座71施設、B座71施設、C座44施設で、A座に18施設、B座に20施設、C座に6施設が新たに参加した。

2. 解析方法

データ解析に当たっては、昨年同様、Low resolutionのタイピング結果の一致は、2抗原が特定されていることとした。orや/のついた回答で複数の抗原が含まれている場合(Cw*12/13/15等)は不一致としたが、A*23/A*24, A*01/*A36, B*54/B*55については、Low resolutionにあたらなると考え、一致率の解析から除外した。一方、血清学表記での回答(B61, B62等)は一致とした。High resolutionの一致はコンセンサスと完全一致であることとし、4桁表示が2桁レベルで間違っている回答はLow resolution解析の対象とし、High resolution解析の対象外とした。明らかに記入ミスによると考えられた回答については、確認後訂正した。

3. 結果および考察

1) HLAクラス I 遺伝子型の一致率

今回配布された6種類のDNAサンプルのコンセンサスHLAクラス I 遺伝子型を表1に示し、それぞれの遺伝子型の一致率を表2—表4に示す。コンセンサスの5桁目以降の報告数は最小のB*40011の1施設から最大のA*01011の5施設と少なかったが、1施設のみ報告のB*40011を除き報告された全てのデータが一致していたことから参考データとして掲載する。

今回のHLA-A遺伝子型は日本人集団に一般的に見ることのできるアリルであったため、Low resolutionでは大変高い一致率であった。不一致回答は、A*26, A*24をblankとした回答がそれぞれ1, A*24をA*11とした回答が1であった。また、同じメーカーのキットを使用していた3施設がA*01とA*36およびA*24とA*23の識別ができなかった。High resolutionにおいても、A*2402以外100%の一致率であった。

HLA-B遺伝子型には、日本人ではほとんど見る

表1 平成14年度QCWSのHLAクラス I 遺伝子型 (コンセンサス)

	H1401		H1402		H1403		H1404		H1405		H1406	
HLA-A*	02011	2601	01011	2601	2402 101	2601	2402 101	3303	0206	2402 101	02011	3303
HLA-B*	1517	3801	2705	40011	5401	4002	44031	5401	52011	4601	15011	15011
HLA-Cw*	0701	12031	0202	03041	0102	03041	0102	1403	0102	1202	0303	1502

表2 HLA-A 遺伝子型一致率

遺伝子型	Low resolution			High resolution		
	報告数	一致数	一致率	報告数	一致数	一致率
A*0101	68	68	100.0	27	27	100.0
A*0201	141	141	100.0	43	43	100.0
A*0206	70	70	100.0	23	23	100.0
A*2601	213	212	99.5	65	60	92.3
A*2402	201	199	99.0	52	50	96.2
A*3303	139	139	100.0	39	39	100.0
計	832	829	99.6	249	242	97.2

表3 HLA-B 遺伝子型一致率

遺伝子型	Low resolution			High resolution		
	報告数	一致数	一致率	報告数	一致数	一致率
B*1501	140	138	98.6	46	44	95.7
B*1517	71	71	100.0	60	59	98.3
B*2705	71	71	100.0	15	12	80.0
B*3801	71	66	93.0	38	37	97.4
B*4001	71	71	100.0	32	32	100.0
B*4002	71	71	100.0	37	36	97.3
B*4403	70	70	100.0	30	30	100.0
B*4601	70	70	100.0	41	41	100.0
B*5201	70	70	100.0	55	54	98.2
B*5401	137	137	100.0	105	104	99.0
計	842	835	99.2	459	449	97.8

表4 HLA-C 遺伝子型一致率

遺伝子型	Low resolution			High resolution		
	報告数	一致数	一致率	報告数	一致数	一致率
Cw*0102	130	129	99.2	61	60	98.4
Cw*0202	43	43	100.0	23	23	100.0
Cw*0303	44	44	100.0	20	20	100.0
Cw*0304	86	86	100.0	29	27	93.1
Cw*0701	44	44	100.0	11	9	81.8
Cw*1202	43	43	100.0	29	29	100.0
Cw*1203	44	44	100.0	13	13	100.0
Cw*1403	44	44	100.0	34	34	100.0
Cw*1502	44	41	93.2	10	10	100.0
C座 計	522	518	99.2	230	225	97.8

ことのないB*1517, B*3801が含まれたいた。Low resolution においてB*1517は100%の一致率であったが、B*3801は3施設において検出ができなかった。この3施設はHLA-AのLow resolutionでA*01とA*36およびA*24とA*23を識別できなかったメーカーのキットを使用していた。また、B*1501をB75, B44とタイプした施設がそれぞれ1施設あり、54, 55を識別できなかった施設が3施設あった。High resolution においては、B*4001, B*4403, B*4601の一致率が100%であった他、B*2705を除きいずれのアリルも95%以上の一致率であった。B*27のアリルタイピングは疾患との関係から早くよりタイピングキットも開発されているにもかかわらず、報告数も少なく一致率も低かった。HLA-CのLow resolutionでは、Cw*15が検出できなかった施設が3施設、Cw*01をCw*12と報告した施設が1施設あった以外は100%の一致率であった。High

表5 クラス DNAタイピングの方法

方法	N	%	キット名	N
SSO	49	69.0	Reli	24
			MPH	13
			塩野義	9
			SPP	7
			Inolipa	1
SSP	41	57.7	Micro-SSP	23
			Unitray	7
			Dynal-SSP	5
SBT	10	14.1	ABI	8
			Genekit	3
			AlleleSEQR	1
SSCP	6	8.5		
RFLP	3	4.2		
RSCA	2	2.8	PeI-RSCA	2

表6 方法別一致率

方 法	施設数 (N)	使用比 率(%)	Low resolution			High resolution		
			報告数	一致数	一致率	報告数	一致数	一致率
SSO	24	33.8	604	599	99.2	145	142	97.9
SSP	16	22.5	551	543	98.5	100	95	95.0
SBT	2	2.8	49	49	100.0	18	16	88.9
1法使用合計	42	59.2	1204	1191	98.9	263	253	96.2
SSO+SSP	14	19.7	453	452	99.8	258	252	97.7
SSP+SBT	3	4.2	107	107	100.0	83	83	100.0
SSO+SBT	1	1.4	36	36	100.0	36	36	100.0
SSP+RSCA	1	1.4	36	36	100.0	12	9	75.0
2法併用合計	19	26.8	632	631	99.8	389	380	97.7
SSO+SSP+SSCP	2	2.8	72	72	100.0	38	38	100.0
SSO+SSP+RFLP	2	2.8	72	72	100.0	72	69	95.8
SSO+SBT+SSCP	1	1.4	36	36	100.0	19	19	100.0
SSO+SBT+RSCA	1	1.4	36	36	100.0	36	36	100.0
SSO+SBT+RFLP	1	1.4	36	36	100.0	33	33	100.0
3法併用合計	7	9.9	252	252	100.0	198	195	98.5
SSO+SSP+SBT+SSCP	2	2.8	72	72	100.0	52	52	100.0
SSO+SSP+SBT+SSCP+RFLP	1	1.4	36	36	100.0	36	36	100.0
計	71	100.0	2196	2182	99.4	938	916	97.7

resolution においても Cw*0102をCw*0105と回答した施設が1施設、Cw*0304を他のCw*03アリアル、Cw*0701を他のCw*07とした施設がそれぞれ2施設ずつあった他は100%の一致率であった。

2) 方法別・使用キット別一致率

今回参加した施設が使用したタイピング方法とキットの種類を表5に示し、方法別一致率

表7 Low resolution におけるキット別不一致数 (SBT除く)

Kit-1	Kit-2	施設数	A	B	C
Reli	単独	14	0	0	0
	Micro-SSP	4	0	0	0
	Dynal-SSP	3	0	0	0
	SPP	1	0	0	0
	Unitray	1	0	1	0
	塩野義	1	0	2	0
Micro-SSP	単独	11	3	1	3
	MPH	2	0	0	0
	SPP	1	0	1	0
	Unitray	1	0	0	0
	RSCA	1	0	0	0
	Dynal+Inolipa+MPH	1	0	0	0
塩野義	単独	7	0	0	0
	MPH+SPP	1	0	0	0
MPH	単独	5	0	0	0
	SPP	1	0	0	0
Unitray	単独	3	0	0	1
	SPP	1	0	0	0
SPP	単独	2	0	2	0
Dynal-SSP	単独	1	0	0	0

を表6に示す。

1方法のみ使用している施設は42施設(59.2%)あり、24施設がSSOのみ使用、16施設がSSPのみを実施していた。2施設がSBTのみを実施していた。Low resolutionの一致率において、SSO、SSPのみ使用した施設と、これら2法を併用した施設にのみ不一致が存在した。それ以外の方法の組み合わせにおいて不一致は一例もなかった。High resolutionにおいて、2法以上の方法を使用した施設で、SBTも実施した施設では100%の一致率であった。SSO、SSPの2法、SSO、SSP、RFLPの3法を使用した施設で不一致が認められた。

使用キット別Low resolution不一致数を表7に示す。キットの品質上に問題があると考えられたのはSPPのみで、その他のキットはいずれも品質に差はないと考えられた。

3) 施設分類別・参加回数別一致率

施設分類別一致率を表8に示す。Low resolutionにおいて施設分類による大きな差はなかった。研究機関においては100%の一致率であった。High resolutionの回答率では、研究機関が66%と最も高く、ついで検査センター・メーカーの59%、血液セン

ターの45%、大学付属病院の35%、病院の27%の順であった。血液センターにおいて、High resolutionの回答率が病院より高いのは、そのタイピング目的が骨髄移植のためからと考えられる。研究機関、検査センター・メーカー、血液センターの一致率は99%と高いものであった。

QCワークショップ参加回数別一致率を表9に示す。参加回数が多い施設でのLow resolution, High resolutionの一致率が高い。また、High resolutionの回答数も参加回数の多い施設で多くなっていた。

まとめ

今回のQCにおいて、一部のキットを除きその精

度に問題がないことが証明された。精度に問題が残ったキットについては、早期の改良を望む。同じキットを使用していても同じ結果がでない施設が存在し、これらについてはキット販売メーカーによる徹底した指導が必要と思われる。また、7施設が血清学に置き換えた回答をしたが、QCWSが行われた時点ではDNAタイピングの結果を血清学タイプに戻さないことになっていた。これら回答を出した施設のなかに、HLA認定技術者のいる施設が2施設、HLA認定指導者のいる施設が1施設あったことは問題である。

表8 施設別一致率

施設内訳	施設数	Low resolution			High resolution			
		回答数	2桁間違い	%	回答数	回答率	4桁間違い	%
病 院	22	636	628	98.7	175	27.5	168	96.0
血 液 セ ン タ ー	17	556	554	99.6	255	45.9	252	98.8
大 学 附 属 病 院	14	432	429	99.3	152	35.2	143	94.1
検 査 セ ン タ ー ・ メ ー カ ー	10	320	319	99.7	191	59.7	189	99.0
研 究 機 関	8	252	252	100.0	165	65.5	164	99.4
計	71	2196	2182	99.4	938	42.7	916	97.7

表9 参加回数別一致率

参加回数	施設数	Low resolution			High resolution			
		回答数	一致数	一致率	回答数	回答率	一致数	一致率
1	23	678	668	98.5	148	21.8	138	93.2
2	15	458	454	99.1	171	37.3	163	95.3
3	13	384	384	100.0	160	41.7	158	98.8
4	20	676	676	100.0	459	67.9	457	99.6
計	71	2196	2182	99.4	938	42.7	916	97.7

クラスIIタイピングの評価

橋本光男¹⁾, 斉藤 敏²⁾, 小河原悟³⁾, 柏瀬貢一⁴⁾, 木村彰方⁵⁾, 徳永勝士⁶⁾, 成瀬妙子⁷⁾,
平田蘭子⁸⁾, 丸屋悦子⁹⁾, 屋敷伸治¹⁰⁾, 前田平生⁸⁾
(HLA標準化委員会)

¹⁾ 兵庫県立西宮病院腎移植センター, ²⁾ 長野県赤十字血液センター, ³⁾ 福岡大学医学部第4内科, ⁴⁾ 東京都赤十字血液センター検査三課,

⁵⁾ 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態, ⁶⁾ 東京大学大学院人類遺伝学, ⁷⁾ 東海大学医学部分子生命科学系,

⁸⁾ 埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部, ⁹⁾ 京都府赤十字血液センター研究部, ¹⁰⁾ 鹿児島大学医学部ウイルス学

1. 参加施設

今回のクラスIIタイピングQCWSの参加施設は75施設(無回答:1施設)であった。その内訳は、新規参加が15施設(施設参加:4施設, 個人参加:11施設)で、60施設(施設参加:39施設, 個人参加:21施設)が継続参加であった。クラスII遺伝子座毎の参加内訳は、DRB1アレルが75施設, DRB3, DRB4アレルについては、それぞれ43, 42施設であった。DQA1, DQB1, DPB1アレルはそれぞれ、13, 47, 14施設で、例年に比べてDRB1遺伝子型のみでの参加が増えている傾向が認められた(表1)。

表1 QCワークショップ参加施設数

	第1回(1997)	第2回(1998)	第3回(1999)	第4回(2000)	第5回(2001)	第6回(2002)
	施設数(%)	施設数(%)	施設数(%)	施設数(%)	施設数(%)	施設数(%)
DRB1						
Low	4 (11.1)	8 (14.8)	13 (21.3)	19 (28.4)	15 (23.4)	15 (20.0)
Middle	0 (0)	2 (3.7)	2 (3.3)	6 (9.0)	12 (18.8)	14 (18.7)
High	32 (88.9)	44 (81.5)	46 (75.4)	42 (62.7)	37 (57.8)	46 (61.3)
計	36	54	61	67	64	75
DRB3						
Low	3 (18.8)	4 (13.3)	16 (44.4)	12 (30.0)	16 (41.0)	7 (16.3)
Middle	1 (6.3)	0 (0)	4 (11.1)	4 (10.0)	9 (23.1)	17 (39.5)
High	12 (75.0)	26 (86.7)	16 (44.4)	24 (60.0)	14 (35.9)	19 (44.2)
計	16	30	36	40	39	43
DRB4						
Low	10 (62.5)	19 (67.9)	22 (71.0)	28 (71.8)	24 (61.5)	18 (42.9)
Middle	0 (0)	4 (14.3)	5 (16.1)	2 (5.1)	7 (17.9)	4 (30.8)
High	6 (37.5)	5 (17.9)	4 (12.9)	9 (23.1)	8 (20.5)	9 (21.4)
計	16	28	31	39	39	42
DQA1						
Low	3 (27.3)	3 (33.3)	4 (36.4)	3 (21.4)	1 (7.7)	1 (7.7)
Middle	0 (0)	0 (0)	2 (18.2)	2 (14.3)	4 (30.8)	4 (30.8)
High	8 (72.7)	6 (66.7)	5 (45.5)	9 (64.3)	8 (61.5)	8 (61.5)
計	11	9	11	14	13	13
DQB1						
Low	0 (0)	3 (9.4)	8 (22.2)	14 (32.6)	8 (18.6)	5 (10.6)
Middle	0 (0)	0 (0)	2 (5.6)	4 (9.3)	11 (25.6)	17 (36.2)
High	29 (100)	29 (90.6)	26 (72.2)	25 (58.1)	24 (55.8)	25 (53.2)
計	29	32	36	43	43	47
DPB1						
Low	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Middle	1 (5.9)	0 (0)	2 (11.1)	0 (0)	1 (6.7)	1 (7.1)
High	16 (94.1)	21 (100)	16 (88.9)	20 (100)	14 (93.3)	13 (92.9)
計	17	21	18	20	15	14

2. タイピング方法と異なる方法の併用

HLA-DR, DQ, DPタイピングに用いられたタイピング方法を表(2)に示した。DRタイピングにはPCR-SSOP法(35.6%)とPCR-SSP法(33.9%)が用いられ、DQ, DPタイピングには各々、PCR-SSP法(49.2%), PCR-RFLP法(61.9%)が採用されている。それぞれの施設が遺伝子座ごとに異なった方法を用いてタイピングを行っていると考えられる。この傾向は前回のWSから認められ、今回も同様の結果が得られた。一方、クラスIIタイピングと異なる方法の併用数については表(3)に示した。DRタイピングは、2種類以上の方法で実施している施設は31施設であるのに対し、1種類のみでタイピングを行っている施設は、参加施設の約半数に相当する38施設であった。前回のWSでは、参加施設の70%弱が2種類以上の方法で実施していたが、今回のWSでは1種類の方法でタイピングを実施している施設が増加しているのが特徴であった。DQ, DPタイピングについては、前回のWSに比較して2種類の方法を併用している施設が増加している傾向がみられた(DQタイピング:44.7%, DPタイピング:57.1%)。タイピング方法の組み合わせは、DRタイピングには、PCR-SSO法或いはPCR-SSP法を主体にPCR-RFLP法, PCR-SSCP法を併用していた。DQタイピングは、PCR-SSP法を主体にPCR-RFLP法或いはPCR-SSO法を組み合わせでタイピングを行い、DPタイピングは、PCR-RFLP法を主体に他の方法を併用しているのが特徴であった(表4)。

表2 クラスII タイピング方法

locus\method	SSOP (%)	SSP (%)	RFLP (%)	SBT (%)	SSCP (%)	RSCA (%)	PHFA (%)
DR	42 (35.6)	40 (33.9)	16 (13.6)	9 (7.6)	10 (8.5)	1 (0.8)	0 (0)
DQ	12 (19.0)	31 (49.2)	16 (25.4)	1 (1.6)	3 (4.8)	0 (0)	0 (0)
DP	0 (0)	3 (9.5)	14 (61.9)	1 (14.3)	2 (4.8)	0 (0)	1 (4.8)

表3 異なる方法の併用

(2002年)

遺伝子座	4種類 (%)	3種類 (%)	2種類 (%)	1種類 (%)	計
DR	2 (2.7)	12 (14.7)	17 (22.7)	38 (50.7)	75
DQ	0 (0)	0 (0)	21 (44.7)	26 (55.3)	47
DP	0 (0)	0 (0)	8 (57.1)	6 (42.9)	14

(2001年)

遺伝子座	4種類 (%)	3種類 (%)	2種類 (%)	1種類 (%)	計
DR	1 (1.6)	10 (15.6)	26 (40.6)	27 (42.2)	64
DQ	0 (0)	2 (5.1)	15 (38.5)	22 (56.4)	39
DP	0 (0)	1 (6.7)	4 (26.7)	10 (66.7)	15

表4 方法の種類と組み合わせ

DR				
方法(1)	方法(2)	方法(3)	施設数 (%)	High (%)
SSO	SSP	RFLP	3 (21.4)	2 (20.0)
SSO	SSP	SSCP	2 (14.3)	2 (20.0)
SSO	RFLP	SSCP	2 (14.3)	2 (20.0)
計			14	10
SSP	SSO		9 (52.9)	3 (23.1)
SSP	RFLP		4 (23.5)	3 (23.1)
計			17	13
SSO			19 (50.0)	3 (42.9)
SSP			19 (50.0)	4 (57.1)
計			38	7

DQ			
方法(1)	方法(2)	施設数 (%)	High (%)
SSP	RFLP	9 (42.9)	9 (52.9)
SSP	SSO	7 (33.3)	4 (23.5)
RFLP	SSCP	2 (9.5)	2 (11.8)
計		21	17
SSP		20(76.9)	3 (60.0)
RFLP		3 (11.5)	1 (20.0)
SSO		3 (11.5)	1 (20.0)
計		26	5

DP			
方法(1)	方法(2)	施設数 (%)	High (%)
RFLP	SSP	4 (50.0)	4 (50.0)
RFLP	SSCP	2 (25.0)	2 (25.0)
RFLP	SBT	1 (12.5)	1 (12.5)
RFLP	PHFA	1 (12.5)	1 (12.5)
計		8	8
RFLP		6 (100)	5 (100)
計		6	5

表5 平成14年度QCWSパネルのHLAクラスII遺伝子型 (コンセンサスタイプ)

DNA ID	DRB1(1)	DRB1(2)	DRB3/4/5(1)	DRB3/4/5(2)	DQA1(1)	DQA1(2)	DQB1(1)	DQB1(2)	DPB1(1)	DPB1(2)
H1401	*01021	*12021	3*0301		*0101	*0601	*0301	*0501	*0201	*0301
H1402	*0404	-	4*0103		*0301	-	*0302	-	*0201	*1401
H1403	*04051	*1106	3*0202	4*0103	*0303	*0505	*0301	*0401	*0501	-
H1404	*04051	*13021	3*0301	4*0103	*0102	*0303	*0401	*0604	*0401	*0501
H1405	*08032	*09012	4*0103		*0103	*0302	*0303	*0601	*0201	*0501
H1406	*04051	*0406	4*0103		*0301	*0303	*0302	*0401	*0201	*0501

注) SBT等により2施設以上で一致して確認されたアレルについては5桁表示をした。

3. 第6回QCWS配付DNAサンプルのHLAクラスII コンセンサスタイプ

今回配付した6種類のDNAサンプルのコンセンサスHLAクラスII遺伝子型を表5に示した。これらのコンセンサスタイプは各施設からの報告を基に推定したものである。6種類のDNAサンプルのうちH1401, H1402及びH1403は培養細胞由来のDNA

サンプルで、それぞれDRB1*0102, DRB1*0404, DRB1*1106と日本人集団には稀少な遺伝子型である。特に、H1402はDRB1*0404のホモ接合と考えられる。他の3種類のサンプルは日本人集団に一般的なクラスIIハプロタイプを形成している。詳細については前々回の第4回クオリティコントロール(QC)ワークショップ報告「日本人のHLAアレルと

表6 DRB1遺伝子型一致率

遺伝子型	Low resolution			Middle resolution			High resolution			Total	others	
	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	一致率		
DRB1*0102	75	75	100	20	14	70.0	36	34	94.4	88.1	0101/04/05	
DRB1*1202	75	75	100	15	15	100	45	45	100	100		
DRB1*0404	75	74	98.7	20	18	90.0	39	39	100	96.2	0405/06/09/+	0403/06/07/+
DRB1*0405	223	223	100	66	65	98.5	111	110	99.1	99.2	0415	
DRB1*0406	(74)	(74)	(100)	25	18	72.0	33	33	100	86.0	0404/08/19/+	
DRB1*1106	75	74	98.7	13	12	92.3	47	42	89.4	93.4	1101, 1104, 1344	1104/25/35
DRB1*1302	74	73	98.6	23	22	95.7	36	35	97.2	97.2	13/14, 1315	1301/1416/+
DRB1*0803	73	72	98.6	21	21	100	37	36	97.3	98.6	blank	
DRB1*0901	73	73	100	0			73	72	98.6	99.3	0902	
計	743	739	99.3	203	185	89.8	457	446	97.3	95.3		

表7 DRB3/4 遺伝子型一致率

遺伝子型	Low resolution			Middle resolution			High resolution			Total	others	
	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	一致率		
DRB3*0202	43	39	90.7	17	15	88.2	16	15	93.8	90.9	01, 0208	0101/02/03/+
DRB3*0301	86	77	89.5	32	27	84.4	37	37	100	91.3	01, 0101/02/03/+	0201/02/03/+
DRB4*0103	162	148	91.4	59	53	89.8	31	31	100	93.7	01/02/03/+	0101/02/15/+
計	291	264	90.5	108	95	87.5	84	83	97.9	92.0		

その対応抗原2000」を参考にして頂きたい。

4. HLA-DRB1遺伝子型の一一致率

今回のDRB1遺伝子型は日本人集団に一般的な6種類とDRB1*01, DRB1*04及びDRB1*11のそれぞれの稀少アリルであるDRB1*0102, DRB1*0404, DRB1*1106の計9種類である(表6)。9種類のDRB1遺伝子型のうちDRB1*0102, *0405, *0406, *0901, *1202の5種類のアリルのLow resolutionは100%の一致率であったが、残りの4種類についてはそれぞれ1例ずつのアサインミスがみられた(DRB1*04をDRB1*01, DRB1*11をDRB1*13, DRB1*13をDRB1*13/14, DRB1*08を空白)。High resolutionレベルでは、稀少アリルのDRB1*0102, *1106の一致率が他のアリルのそれに比べて低く、それぞれ94.4%, 89.4%であった(DRB1*0102をDRB1*0101, DRB1*1106をDRB1*1104)。DRB1*0404, DRB1*0406, DRB1*1202の3種類のアリルは100%の一致率であったが、日本人集団に一般的にみられるDRB1*0901をDRB1*0902, DRB1*1302を

DRB1*1315といった稀有アリルで報告した施設がみられた。同様の傾向がMiddle resolutionでも認められ、3種類の稀少アリルであるDRB1*0102, DRB1*0404, DRB1*1106の一致率が低く、それぞれ70.0%, 90.0%, 92.3%であった。特にDRB1*0102については、DRB1*0101/0105或いはDRB1*0101/04/05と報告した施設がみられることから使用キットに問題があると考えられた。他で一致率が低かったアリルは、H1406のDRB1*0405, *0406のDRB1*04ヘテロ接合のサンプルで、DRB1*0405/10, -, 或いはDRB1*0405/10/28/+, -とタイプされ、DRB1*0406を空白と報告せざるを得なかったと考えられた。Low, Middle及びHigh resolutionタイピングの一致率は、99.3%, 92.4%, 98.0%と稀少アリルが含まれていたにもかかわらず良好な結果が得られた。

5. DRB3/4遺伝子型の一一致率

今回配付されたサンプルのDRB3/4遺伝子型は、DRB3*0202, DRB3*0301とDRB4*0103, の3種類である(表7)。Low, Middle及びHigh resolution

表8 DQB1遺伝子型一致率

遺伝子型	Low resolution			Middle resolution			High resolution			Total	others
	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	一致率	
DQB1*0301	93	93	100	34	34	100	49	48	96.0	98.7	0303
DQB1*0302	93	93	100	35	35	100	48	48	100	100	
DQB1*0303	47	47	100	14	14	100	28	28	100	100	
DQB1*0401	93	93	100	27	27	100	54	54	100	100	
DQB1*0402	47	47	100	14	14	100	27	27	100	100	
DQB1*0501	47	47	100	12	12	100	27	27	100	100	
DQB1*0601	47	46	97.9	11	11	100	28	28	100	99.3	blank
DQB1*0604	47	47	100	14	14	100	23	23	100	100	
計	420	419	99.7	136	136	100	233	232	99.3	99.8	

表9 DQA1遺伝子型一致率

遺伝子型	Low resolution			Middle resolution			High resolution			Total	others
	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	一致率	
DQA1*0101	13	13	100	4	4	100	8	8	100	100	
DQA1*0102	13	13	100	3	3	100	10	10	100	100	
DQA1*0103	13	13	100	0			13	12	92.3	96.2	0102
DQA1*0301	26	25	96.2	4	4	100	15	14	93.3	96.5	0103
DQA1*0302	13	13	100	2	2	100	8	8	100	100	
DQA1*0303	39	39	100	6	6	100	24	23	95.8	98.6	0301
DQA1*0505	13	13	100	3	3	100	7	7	100	100	
DQA1*0601	13	13	100	0			13	13	100	100	
計	130	129	99.5	22	22	100	85	82	97.4	98.8	

タイピングのなかで、最も高い一致率が得られたのはHigh resolutionタイピングであった。ミスアサインは、サンプルH1403のDRB3*0202をDRB3*0208と報告した1例のみで、97.9%の一致率が得られた。Low及びMiddle resolutionタイピングは、それぞれ90.5%、87.5%と前回のQCWSとほぼ同じ結果であった(Low:85.3%、Middle:92.0%)。特に、Low resolutionレベルではDRB1遺伝子型の確認試験という意味合いが強く、DRB3或いはDRB4遺伝子型が陽性であるといった報告が多くみられた。全体としては92.0%の一致率で、他のクラスII遺伝子座のタイピングと比較して最も低い一致率であった。

6. DQA1, DQB1遺伝子型の一一致率

今回のDQB1遺伝子型は、DQB1*0301、*0302、*0401、*0402、*0501、*0601、*0604の7種類で日本人集団に一般的にみられる遺伝子型である。

Low、Middle及びHigh resolutionタイピングは、それぞれ99.7%、100%、99.3%と高い一致率が得られた(表8)。ミスアサインは、Low resolutionレベルでDQB1*06をブランクに、High resolutionでDQB1*0303を*0301と報告した2例のみであったが、DRB1とDQB1遺伝子型のハプロタイプを考慮するとこのようなミスタイプを防ぐことができると思われる。今回のDQA1遺伝子型は、DQA1*0101、*0102、*0103、*0301、*0302、*0303、*0505、*0601の8種類である(表9)。

今回のDQA1タイピングは、Low resolutionレベルで1例(DQA1*03を*01)、High resolutionレベルで3例(DQA1*0103を0102、DQA1*0301を*0103、DQA1*0303を*0301)のミスアサインであった。これらのミスアサインは、技術的或いは表記ミスが原因と考えられる。DQA1タイピングで問題となっていたDQA1*0505に関しては、全ての参加施設で一致がみられた。

表10 DPB1遺伝子型一致率

遺伝子型	Low resolution			Middle resolution			High resolution			Total
	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	一致率
DPB1*0201	56	56	100	4	4	100	52	52	100	100
DPB1*0301	14	14	100	1	1	100	13	13	100	100
DPB1*0401	14	14	100	1	1	100	13	13	100	100
DPB1*0501	56	56	100	4	4	100	52	52	100	100
DPB1*1401	14	14	100	0			14	14	100	100
計	154	154	100	10	10	100	144	144	100	100

表11 異なる方法の併用と一致率

DRB1			Low resolution			Middle resolution			High resolution			Total
併用数	施設数	(%)	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	一致率
4種類	2	2.7	12	12	100	5	5	100	17	17	100	100▲
3種類	12	16.0	132	132	100	5	5	100	113	112	99.1	99.7
2種類	17	22.7	187	187	100	25	23	92.0	135	135	100	97.3
1種類	44	58.7▼	484	467	96.5	149	140	94.0	180	173	96.1	95.5
計	75											

DQB1			Low resolution			Middle resolution			High resolution			Total
併用数	施設数	(%)	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	一致率
2種類	21	44.7	231	231	100	23	22	95.7	207	205	99.0	98.2
1種類	26	55.3	286	286	100	94	92	98	165	165	100	99.3
計	47											

DPB1			Low resolution			Middle resolution			High resolution			Total
併用数	施設数	(%)	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	報告件数	一致数	一致率	一致率
2種類	8	57.1	88	88	100	0			88	88	100	100
1種類	6	42.9	66	66	100	10	10	100	56	56	100	100
計	14											

7. DPB1遺伝子型の一一致率

今回送付したDPB1遺伝子型は、DPB1*0201、*0301、*0401、*0501、1401の5種類である(表10)。これらは今までのWSで送付された既知の遺伝子型であるので、全ての施設のコンセンサスが得られ100%の一一致率であった。

8. 異なる方法の併用と一致率

異なる方法を併用することがクラスII 遺伝子型の精度を向上させるか否かを検討した(表11)。DRB1タイピングは、1種類の方法で実施している施設が全体の58.7%に相当する44施設と増加しているのが今回のWSの特徴である。しかし、Low、Middle、High resolutionタイピング全体としては、1種類では95.5%、2種類で97.3%、3種類で99.7%、4種類の方法を併用した施設は100%の一

致率であった。特に、3種類以上の方法を併用している施設でのミスアサインは、130例の報告のうち1例のみで非常に高い一致率が得られている。一方、DQB1、DPB1タイピングに関しては、併用数が1種類と2種類のみでの実施であったが、両者の間で一致率の相違は認められなかった。結論としては、1種類の方法でも精度の高いタイピングを行うことが可能であると考えられるが、特にDRB1タイピングに関しては、複数の方法を併用するほうがより精度の高いタイピング結果を得ることができると言えよう。

9. 一致率の低かったHLAクラスII遺伝子型

今回のQCWSで一致率の低かった3種類の遺伝子型を表12に示した。これらは日本人集団には稀少な遺伝子型で、今回始めて送付された遺伝子型であ

表12 一致率の低い遺伝子型

alleles	sample No.	Low (%)	Middle (%)	High (%)	miss assign
DRB1*0102	H1401	100	70.0	94.4	DRB1*0101, DRB1*0101/04/05
DRB1*0404	H1402	98.7	90.0	100	DRB1*01, DRB1*(0405/06/09/+, 0403/06/07/+)
DRB1*1106	H1403	98.7	92.3	89.4	DRB1*(1101, 1104, 1344), DRB1*1104/25/35

遺伝子型	コドン78	コドン85	コドン86
DRB1*0101	TAC(Tyr)	GTT(Val)	GGT(Gly)
DRB1*0102	TAT(Tyr)	GCT(Ala)	GTG(Val)

遺伝子型	コドン74
DRB1*0403	GAG(Glu)
DRB1*0404	GCG(Ala)

遺伝子型	コドン85	コドン86
DRB1*1101	GTT(Val)	GGT(Gly)
DRB1*1106	GCT(Ala)	GTG(Val)

表13 クラスII遺伝子型一致率の推移

遺伝子型	第3回(1999)				第4回(2000)				第5回(2001)				第6回(2002)			
	Lab No.	Low(%)	Middle(%)	High(%)	Lab No.	Low(%)	Middle(%)	High(%)	Lab No.	Low(%)	Middle(%)	High(%)	Lab No.	Low(%)	Middle(%)	High(%)
DRB1	61	99.2	100	98.9	67	99.9	98.6	99.0	64	98.8	96.2	95.7	75	99.3	92.4	98.0
DRB3/4/5	36	90.8	100	99.4	40	100	92.3	91.6	39	85.3	92.0	99.5	43	90.5	87.5	97.9
DQA1	11	98.5	100	97.0	14	100	94.7	95.7	13	100	94.3	100	13	99.5	100	97.4
DQB1	36	98.6	100	98.5	43	100	90.1	88.4	43	99.6	98.0	99.4	47	100	100	99.3
DPB1	18	97.7	90.0	99.0	20	94.8		94.8	15	99.7	100	99.8	14	100	100	100
計		97.0	98.0	98.6		98.9	93.9	93.9		96.7	96.1	98.9		97.9	96.0	98.5

る。DRB1*0102, *0404, *1106とそれぞれの既知の遺伝子型との変異は、表12に示すようにコドン74, 78, 85, 86の超可変部領域内での変異である。年々、新しい遺伝子型が見出され公認されている現状を考慮すると、High resolutionレベルでのタイピングはその度にプローブやプライマーを追加しなければならないが、少なくともLow或いはMiddleタイピングに関しては、特徴的な遺伝的多型性を示す複数の領域を網羅したプローブやプライマー等を組み入れて、ミスアサインを防ぐ必要がある。

10. まとめ

今回のQCWSのクラスIIタイピングに75施設が参加し、そのうち15施設が新規参加であった。今回のQCWSにおいて二つの特徴的な傾向が認められた。一つは、DRB1遺伝子型タイピングのみの参加が増えてきたことである。二つめの特徴としては、1種類の方法でタイピングを実施している施設が増

えていることである。深刻な経済不況が医療の現場にも反映して、試薬等の経費を節約せざるを得なくなってきたと考えられるが、タイピング従事者が既にDNAタイピング技術を習熟し、それぞれの施設に適した方法で日常業務を行っている結果を反映しているのであろう。しかし、DRB1タイピングの一致率は、1種類の方法でタイピングを実施している施設よりも、異なる方法で複数のキットを併用している施設の方が高い一致率を示している(表11)。

血清学的方法でHLAタイピングを行う場合、1種類の抗血清で判定するよりも、ロットの異なる複数の抗血清を用いてタイピングを行うほうが正確且つ精度の高い結果が得られると言われてきた。たとえ1種類の方法でDNAタイピングを行うにしても、特徴的な遺伝的多型性を示す複数の領域を網羅したプローブやプライマー等を組み入れることにより、ミスアサインを防ぐことができると考えられる。表13にHLA標準化委員会が主催してきた過去4年の遺

伝子座毎の一致率を示した。前年度より細胞株由来のDNAサンプルが配布され、日本人集団に稀少な遺伝子型が含まれるようになってきた。それ故、前回のDRB1遺伝子型タイピングの一致率は低下していたが、今回の結果は、参加施設が過去最大の75施設に増えているにも関わらず、前々回にほぼ匹敵する一致率が得られている。今回のDRB1タイピングのミスアサインは23例で、そのうちの78%にあたる18例は、日本人集団に稀少な遺伝子型が含まれているH1401からH1403の細胞株由来のDNAサンプルであった。従って、日本人集団に一般的な遺伝子型に関して、今回のQCWSに参加した全施設のタイピングクオリティは、非常に高いと判断できる。

HLA-DRB1タイピングは日常業務として定着して、正確なHLAタイピングを行っていると思われる。表記ミス等の初歩的なミスや、判定後に他のクラスII遺伝子型との連鎖を確認することさえ気をつけられればであるが。

この4年間、HLA標準化委員会のメンバーの一員としてクラスIIタイピングの精度管理に携わってきましたが、拙い解析能力で参加施設の会員諸氏に大変ご迷惑をおかけしましたことを深謝し、共にQCWSに参加できたことを喜びとします。本ワークショップの更なる発展を期待します。

アレル表記法と結果報告の原則について2002

木村彰方¹⁾、柏瀬貢一²⁾、徳永勝士³⁾、小河原悟⁴⁾、斉藤 敏⁵⁾、成瀬妙子⁶⁾、橋本光男⁷⁾、
丸屋悦子⁸⁾、屋敷伸治⁹⁾、平田蘭子¹⁰⁾、前田平生¹⁰⁾
(HLA標準化委員会)

¹⁾ 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態, ²⁾ 東京都赤十字血液センター検査三課, ³⁾ 東京大学大学院人類遺伝学, ⁴⁾ 福岡大学医学部第4内科, ⁵⁾ 長野県赤十字血液センター, ⁶⁾ 東海大学医学部分子生命科学系, ⁷⁾ 兵庫県立西宮病院腎移植センター,
⁸⁾ 特定非営利活動法人HLA研究所, ⁹⁾ 鹿児島大学医学部ウィルス学, ¹⁰⁾ 埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部

HLAタイピングでは、血清学タイピング手法に加えて種々の原理に基づくDNAタイピングが用いられている。特に最近では、抗血清収集の困難さやタイピング精度の問題から、DNAタイピング手法がより一層普及し、タイピング目的によっては、血清学タイピングが行われないこともある。また、DNAタイピングの結果を用いて、臓器移植ペアの選択等が行われることも一般化しつつある。

日本組織適合性学会標準化委員会では「アレル表記法と結果報告の原則について2000」において、HLAタイピング結果の報告に関する提言を行った。

その中には、「2. DNAあるいは血清学的タイピングの結果欄に、血清学分類に書き替えた血清型を報告すべきではない」と、「3. 血清学的分類との対応が重要である場合（例えば臨床医への報告など）には、血清型との対応について、コメントあるいは説明の欄を設けて、追加説明することを推奨する」の提言が含まれるが、このようなDNAタイピングの結果のみでHLA型の判定が行われることが一般化している現状に鑑みて、「アレル表記法と結果報告の原則2000」に以下のことを付け加えることを提案する。

I. 結果報告について

1. DNAタイピングを行った場合には、原則としてDNA型を報告することとするが、それに加えて、DNAタイピングの結果から推定される血清型を「血清対応型」として報告することを可とする。

例1：HLA-Bローカスの1501を、血清対応型のB62として報告する

例2：HLA-Bローカスの4001を、血清対応型のB60として報告する

2. 血清対応型の推定は、WHO命名委員会報告に従う。血清型が不明とされている場合は、「血清対応型」として報告しない。

例1：HLA-Bローカスの1511を、血清対応型のB75と推定する

例2：HLA-Bローカスの1522を、血清対応型のB35と推定する

例3：HLA-Bローカスの1523は血清型が不明なため、血清対応型としては報告しない。また、ブランク「-」としても報告しない。

3. WHO命名委員会で血清型が不明あるいは親抗原型のみしか記載されていなくても、HLA学会標準化委員会において「血清対応型」が確認されている場合（別表）には、それを「血清対応型」として推定してもよい。

例1：HLA-Bローカスの1529を、血清対応型のB70と推定する

例2：HLA-Bローカスの4003を、血清対応型のB61と推定する

II. 表記について

1. ブランク「-」は、区別出来ないアレルの表記に用いる。

例1：HLA-Bローカスの「4002/03, -」は、両側のアレルが4002または4003の場合を示す

例2：上記の血清対応型の表記は、「B61, -」とする

2. 両側の血清対応型がアレルレベルで区別可能な場合は、両側に同一名を記載する。

例1：HLA-Bローカスの4002, 4003のヘテロ接合の血清対応型表記は、「B61, B61」とする

別表

WHO命名報告2000において血清型が不明とされている以下のアレルについては、日本人においては血清対応型が判明しているため、→の後に記載した血清対応型を用いて報告してもよい。

B*4007 →B60 (WHO命名報告2000では血清型不明)

B*1529 →B70 (WHO命名報告2000ではB15)

B*4003 →B61 (WHO命名報告2000ではB40)

B*4004 →B61 (WHO命名報告2000ではB40)

日本組織適合性学会HLA標準化委員会
(2002年9月23日)

2. 方法別報告

Micro-SSPキットの評価

荒関 みき

北海道赤十字血液センター

1. はじめに

Micro-SSPキットはPCR-SSP法を原理とする簡便なHLAタイピングキットであり、Low resolutionタイピング用キットからMiddle・High resolutionタイピング可能なキットまで各種存在する。

2. 参加施設・方法

使用したMicro-SSPのキット名と参加施設数を表1に示す。Low resolutionタイピングキットとして利用している施設が多いが、今回その中でも参加施設数が多く、誤判定が見られたSSP1L,SSPJPNのデータについての解析結果を報告する。

表1 Micro SSP 使用キット名と参加施設数

キット名	判定可能なLocus	解像度	参加施設数
SSP 1L	A,B,C	Low	14
SSP JPN	日本人特有なA,B,C,DR,DQ	Low	11
SSP 2L	DR,DQ	Low	10
SSP-ABDR	A,B,DR	Low	1
SSP 2H	DRB1	High	2
SSP2-101	DRB1*01	High	1
SSP2-104	DRB1*04	High	3
SSP2-108	DRB1*08	High	1
SSP2-111	DRB1*11	High	1
SSP2-112	DRB1*12	High	1
SSP2-113	DRB1*13	High	1
SSP2-115	DRB1*15	High	1
SSP2-Q1	DQB1	High	2

3. 反応・判定結果

反応性の問題による誤判定例を表2~4に示す。SSP-1L(Lot#004)では、ウエル1Dが偽陰性となったためにA*2601/02/04/+と判定するところをA*2603/05/06/16と判定した施設があった(表2)。SSP JPN(Lot#2)では、サンプル#1406においてウエル9Dが偽陰性となったためCw*1502/05/06/07の判

表2 SSP 1L (Lot#004) 偽陰性反応による誤判定

Sample No	SSP 1Lでの判定	施設No	ウエル位置		誤判定内容			
			1	2				
#1401	A*2601/02/04/+	13	8	8 8	←A*2603/05/06/16			
		16	8	8 8				
		18	8	8 8				
		19	4	8 6				
		37	6	8 8				
		42	8	8 4				
		44	8	8 8				
		47	8	8 8				
		66	6	8 4				
		70	2	8 6				
		71	6	8 6				
		#1403	A*2601/02/04/+	13		8	8 8	←A*2603/05/06/16
16	8			8 8				
18	8			8 6				
19	7			8 4				
37	8			8 8				
42	8			8 4				
44	8			8 8				
47	8			8 8				
66	6			8 4				
71	6			8 6				
A*26の反応性								
A*2601/02/04/08/10~15/17				+	+	+		
A*2603/05/06/16			-	+	+			

表3 SSP JPN (Lot#002) 偽陰性反応による誤判定

Sample No	SSP JPNでの判定	施設No	ウエル位置		誤判定内容
			8	9	
#1406	Cw*0303, Cw*1502/05/06/07	2	8	8 6 6	← Cw*0303, Cw*0302/04 ← Cw*0303, Cw*0302/04/05/+
		18	8	8 8 6	
		21	8	8 8 8	
		22	8	8 8 8	
		34	8	8 6 7	
		38	8	8 8 7	
		44	8	8 8 8	
		49	8	8 8 8	
		64	8	8 8 8	
		71	8	8 8 8	
Cw*0303, Cw*1502他の反応性					
Cw*0303			+	+	- -
Cw*1502/05/06/07			-	-	+
Cw*0302/04/05/+			+	-	+

表4 SSP JPN (Lot#002) 偽陽性反応による誤判定

Sample No	SSP JPNでの判定	施設No	ウエル位置					誤判定内容
			3	4	7	8	9	
#1406	B*1501/04/07/+ , -	2	8	8 6	8	8 1	← B*1501/07/26N/+ , B*1508/11/15	
		18	8	8 6	1	8 1		
		21	8	8 8	1	8 1		
		22	8	8 8	8	8 1		
		34	8	8 8	1	8 1		
		38	8	8 8	1	8 1		
		44	8	8 8	1	8 1		
		49	8	8 8	1	8 1		
		64	8	8 8	1	8 1		
		71	8	8 8	1	8 1		
B*1501他の反応性								
B*1501/04/07/+			+	+	+	-	+	
B*1508/11/15			+	+	-	+	+	

表5 SSP JPN (Lot#002) キット側の問題と思われる偽陰性反応

Sample No	SSP JPNでの判定	施設No	ウエル位置					
			2 A	5 E	4 D	8 C	7 C	8 B
#1403	B*5401/5507, B*4002/03/08/09	2	8	8	4	8	1	8
		18	8	8	4	8	1	8
		21	8	8	2	8	1	8
		22	8	8	7	8	1	8
		38	8	8	8	8	1	8
		49	8	8	7	8	1	8
		57	8	8	7	8	1	8
		64	8	8	4	8	1	8
		71	8	8	7	8	1	8
#1404	B*5401, B*4403/07	2	8	6	4	8	8	1
		18	8	8	4	8	8	1
		21	8	8	4	8	8	1
		22	8	8	7	8	8	1
		34	8	8	4	8	8	1
		38	8	8	8	8	8	1
		44	8	8	6	8	8	1
		49	8	8	4	8	8	1
		57	8	8	8	8	8	1
		64	8	8	7	8	8	1
71	6	8	7	8	6	1		
B*5401他の反応性								
B*5401			+	+	+	-	-	
B*4002/03/08/09			-	-	-	-	+	
B*5507			+	+	+	+	+	
B*4403/07			-	-	-	+	-	

表6 アサインミスによる誤判定例

原因	トレイ名	Sample No	内容
判定不能ウエルを陰性として判定 ^{(*)1}	SSP 1L(Lot#004)	#1403	B*4002/06/08/09/+ → B*4006
		#1401	A-Locus判定保留(*2) → A*2601/02/+,-
	SSP JPN(#Lot002)	#1402	DRB1*0401/02/03/+ → DRB1*0405/06/+
		#1405	A-Locus判定保留(*3) → A*0201/02/03/+,- DRB1*判定保留(*4) → DRB1*0901,-
判定表の読み間違い ^{(*)5}	SSP 1L(Lot#004)	#1404	Cw*1403 → Cw*1402/04/05
		#1401	Cw*0701/02/03/+ → Cw*0704/11/12
	SSP JPN(#Lot002)	#1403	A*2402/03/04/+ → A*1101/02/03/+
		#1404	B*4403/07 → B*4402/05/11
日本人用判定表による判定 ^{(*)6}	SSP JPN(#Lot002)	#1401	B*3801/02 → B*3802
			Cw*0701/02/03/+ → Cw*0702/+
			DRB1*0101/02/04/05 → DRB1*0101/05

(*)1 内容欄矢印左側は判定不能ウエルを保留とした判定結果の表記で右側が判定不能ウエルを陰性として誤判定した内容
 (*2) #1401のA-LocusはA*0201,A*2601
 (*3) #1405のA-LocusはA*0206,A*2402
 (*4) #1405のDRB1*はDRB1*0901,DRB1*08032
 (*5) 内容欄矢印左側は正しい判定結果表記で右側は誤判定内容
 (*6) 内容欄矢印左側は判定表のCommon Japanese Alleles欄とOther Alleles欄の両方を考慮した判定結果で、右側はCommon Japanese Alleles欄のみでの判定を行った誤判定内容

定ができなかった施設(表3)と、同じく#1406において本来B*1501ホモの反応パターンとなるところをウエル4Eが偽陽性となったため、B*1508/11/15をもアサインしていた施設があった(表4)。また、SSP JPN(Lot#2)においてウエル5Dの反応性の弱さが確認された(表5)が、この反応性が原因で判定不能とした施設はあるものの、誤判定となった施設はなかった。これはKeyとなるウエル(ウエル5EはB*5401とB*5507のみ陽性)が陽性で

あったためと考えられる。ただし、サンプル#1404については、B*5401とB*5507を鑑別する唯一のウエル7Bの反応性をもとにB*5401とアサインすることができたが、サンプル#1403ではウエル7Bがもう一方のアリルB*4002で陽性であることから鑑別に使うことができないため、B*5401とアサインすることができず、このキットにおいては、B*5401/5507と判定するのが正しいと思われる。

アサインミスによる誤判定を表6に示す。判定不応ウエルを陰性として判定したためにおきた誤判定が多かった。その他に、判定表の読み間違い、SSP JPNにおける日本人用判定表による判定を行ったための誤判定があった。

4. 問題点

反応性で問題となったウエルのうち、SSP JPNのウエル5Dについてはメーカー側で既に対応済みであり、次ロットより改善される予定である。他のウエルについては、他の多くの施設で正しい反応性が得られていることから、これについては施設間差の問題と捉えてメーカー側の適切な情報提供等の対応を望みたい。

アサインミスの中で判定不能ウエルの対処を誤ったためのミス、判定表の利用法を誤ったためのミスについては施設が限られているため今回このQCワークショップを機会に改善されることを望む。判定表の読み間違いによるミスはどこの施設でも起こる可能性があり、それをいかに無くしていくかについて各施設が真剣に取り組んでいくべき問題と考える。

5. まとめ

Micro-SSPキットの反応性は全体的に特に問題なく、一部の施設を除いては正確な判定が行われていると思われる。しかし、SSP JPNは1キット(96ウエル)でA,B,C,DR,DQローカスをタイピング可能としており、用いるプライマーを日本人に多いタイプを中心に厳選しているため、ホモタイプの時には他法で確認するなどメーカー側の指導を厳守する必要

がある。また判定表の読み間違いによるミスは判定時にダブルチェック体制をとるなど検査体制面からの改善を考慮すべきである。さらにLow resolution キットに関しては、他法との併用なしに安易に4ケタでの結果を出さず、2ケタでの報告をすることが望ましいと考える。

Micro-SSPは操作が容易なことから、HLA検査ま

たはDNA検査に不慣れな施設でも導入しやすい検査法の一つである。しかし正しい判定、解析がなされないと大きなタイピングミスにつながるため、メーカー側は適切な情報提供を行い、かつ導入施設側はキットの特徴を正しく理解した上で利用することが重要と考える。

UniTray の評価

木原正明, 石川登志子, 松浦宏美

三菱化学ピーシーエル, 検査第二部 細胞性免疫グループ

1. はじめに

ペルフリーズ社ユニトレイは、SSP法に基づいており、特異的バンドの有無によってHLAアレルを判定するキットである。キット形状は、あらかじめプライマーがプレートに分注された形になっている。キットの構成は、クラス I, IIそれぞれにおいて、2桁レベルで判定する Low-resolution, 4桁レベルで判定する High-resolution のキットに大別される。High-resolution のキットのA, B, DRB1は Low で得られた結果を元にキットを選択し High-resolution タイピングを実施する。一方, C, DQB1

については Low の結果は必要無くダイレクトにタイピングが行える。SSP法を用いた市販キットの中では、比較的 High-resolution キットのバリエーションが豊富である。

2. 参加施設・方法

参加施設は7施設で、Low-resolution を使用した施設はA, B, C:7施設, DRB1:4施設, DQB1:2施設, である。High-resolution を使用した施設はA, B, DRB1:2施設, DQB1:1施設, であった。他のタイピング方法を併用している施設が5施設あったが、

提出された生データからユニトレイのみで得られた結果に置き換えて解析を行った(表1)。なお、生データから報告データに転記する際に生じたと思われた単純な記入ミスについては生データを解析に用いた。

表1 ユニトレイ使用状況

施設No	A*		B*		C*		other	DRB1*		other	DQB1*		other
	Low	High	Low	High	Low	High		Low	High		Low	High	
4	○		○		○			○			○		
51	○		○		○			○			○		
6	○	○	○	○	○			○	○	5			5
27	○		○		○		1			1			
32	○		○		○					5			5
54	○		○		○		1. 2. 3			1. 2. 3			1. 4
11	○	○	○	○	○		1	○	○	4		○	4

other 1. SSO 2. SSCP 3. SBT 4. RFLP 5. SSP(他のキット)

表2 クラスII結果

サンプルNo	H1401				H1402				H1403			
	DRB1-1		DRB1-2		DRB1-1		DRB1-2		DRB1-1		DRB1-2	
	Low	High										
施設No												
4	*0101/02/04/+		*1201/02/03/+		*0401/02/03/+		-		*0401/02/03/+		*1101/02/03/+	
51	*0101/02/04/+		*1201/02/03/+		*0401/02/03/+		-		*0401/02/03/+		*1101/02/03/+	
6	*0101/02/04/+	*0102	*1201/02/03/+	*1202	*0401/02/03/+	*0404	*0401/02/03/+	*0404	*0401/02/03/+	*0405	*1101/02/03/+	*1106
11	*01	*0102	*12	*1202	*04	*0404	-	-	*04	*0405	*11	*1106
コンセンサス	*0102		*1202		*0404		-		*0405		*1106	
施設No												
4	*0301/04		*0501/02/03/+		*0302		-		*0301/04		*0401/02	
51	*0301/04/09/+		*0501/02/03/+		*0302/05/08		-		*0301/04/09/+		*0401/02	
11		*0301		*0501		*0302		-		*0301		*0401
コンセンサス	*0301		*0501		*0302		-		*0301		*0401	

サンプルNo	H1404				H1405				H1406			
	DRB1-1		DRB1-2		DRB1-1		DRB1-2		DRB1-1		DRB1-2	
	Low	High	Low	High								
施設No												
4	*0401/02/03/+		*1301/02/03/+		*0801/02/03/+		*0901		*0401/02/03/+		-	
51	*0401/02/03/+		*1301/02/03/+		*0801/02/03/+		*0901		*0401/02/03/+		-	
6	*0401/02/03/+	*0405	*1301/02/03/+	*1302	*0801/02/03/+	*0803	*0901		*0401/02/03/+	*0405	-	*0406
11	*04	*0405	*13	*1302	*08	*0803	*0901		*04	*0405	-	*0406
コンセンサス	*0405		*1302		*0803		*0901		*0405		*0406	
施設No												
4	*0401/02		*0602/03/04/+		*0303		*0601/06		*0302		*0401/02	
51	*0401/02		*0601/02/03/+		*0303		*0601/02/03/+		*0302/05/08		*0401/02	
11		*0401		*0604		*0303		*0601		*0302		*0401
コンセンサス	*0401		*0604		*0303		*0601		*0302		*0401	

表3 クラスI結果

サンプルNo	H1401				H1402				H1403			
	A-1		A-2		A-1		A-2		A-1		A-2	
	Low	High										
施設No												
4	*0201/02/03/+		*2601/02/04/+		*0101/02/03/+		*2601/02/04/+		*2402/03/04/+		*2601/02/04/+	
51	*0201/02/03/+		*2601/02/04/+		*0101/02/03/+		*2601/02/04/+		*2402/03/04/+		*2601/02/04/+	
6	*0201/02/03/+	*0201	*2601/02/04/+	*2601	*0101/02/03/+		*2601/02/04/+	*2601	*2402/03/04/+	*2402	*2601/02/04/+	*2601
27	*02		*26		*01		*26		*24		*26	
32	*0201/02/03/+		*2601/02/04/+		*0101/02/03/+		*2601/02/04/+		*2402/03/04/+		*2601/02/04/+	
54	*0201/02/03/+		*2601/02/04/+		*0101/02/03/+		*2601/02/04/+		*2402/03/04/+		*2601/02/04/+	
11	*02	*0201	*26	*2601	*01		*26	*2601	*24	*2402	*26	*2601
コンセンサス	*0201		*2601		*0101		*2601		*2402		*2601	
施設No												
4	*1517		*3801/02/04/+		*2701/03/05/+		4001/07/10/+		*5401/02		4002/03/06/+	
51	*1517		*3801/02/04/+		*2701/03/05/+		4001/07/10/+		*5401/02		4002/03/06/+	
6	*1517		*3801/02/+		*2701/03/+		4001/07/10/+	*4001	*5401/02		4002/03/06/+	*4002
27	*15				*27		*40		*54		*40	
32	*1517		*3801/02/04/+		*2701/03/05/+		*4001/07/10/+		*5401/02		4002/03/06/+	
54	*1517		*3801/02/04/+		*27		4001/07/10/+		*5401/02		4002/03/06/+	
11	*1517		*38		*27	*2705	*40	*4001	*54		*40	*4002
コンセンサス	*1517		*3801		*2705		*4001		*5401		*4002	
施設No												
4	*0701/04/05/+		*1203/04/07/+		*0202/04		*0304/06/07/+		*0102/03/05		*0304/06/07/+	
51	*0701/04/05/+		*1203/06/07		*0202		*0304/06/07/+		*0102/03		*0304/06/07/+	
6	*0701/04/05/+		*1203/06/+		*0202		*0304/06/+		*0102/03		*0304/06/+	
27	*07		*12		*02		*0304/06/07/+		*01		*03	
32	*0701/04/05/+		*1203/06/07		*0202		*0304/06/07/+		*0102/03		*0304/06/07/+	
54	*07		*12		*0202		*03		*01		*03	
11	*07		*1203		*0202		*0304		*0102		*0304	
コンセンサス	*0701		*1203		*0202		*0304		*0102		*0304	

サンプルNo	H1404				H1405				H1406			
	A-1		A-2		A-1		A-2		A-1		A-2	
	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High	Low	High
施設No												
4	*2402/03/04/+		*3301/03/04/+		*0201/02/03/+		*2402/03/04/+		*0201/02/03/+		*3301/03/04/+	
51	*2402/03/04/+		*3301/03/04/+		*0201/02/03/+		*2402/03/04/+		*0201/02/03/+		*3301/03/04/+	
6	*2402/03/04/+	*2402	*3301/03/+		*0201/02/03/+	*0206	*2402/03/04/+	*2402	*0201/02/03/+	*0201	*3301/03/+	
27	*24		*33		ND		ND		*02		*33	
32	*2402/03/04/+		*3301/03/04/+		*0201/02/03/+		*2402/03/04/+		*0201/02/03/+		*3301/03/04/+	
54	*2402/03/04/+		*3301/03/04/+		*0201/02/03/+		*2402/03/04/+		*0201/02/03/+		*3301/03/04/+	
11	*24	*2402	*33		*02	*0206	*24	*2402	*02	*0201	*33	
コンセンサス	*2402		*3303		*0206		*2402		*0201		*3303	
施設No												
4	4403/04/07/+		*5401/02		*4601/02		*5201/02/03		*1501/04/07/+		-	
51	4403/04/07/+		*5401/02		*4601/02		*5201/02/03		*1501/04/07/+		-	
6	4403/04/+		*5401/02		*4601/02		*5201/02/+		*1501/04/07/+	*1501	*1501/04/07/+	*1501
27	ND		*54		ND		ND		*15		-	
32	4403/04/07/+		*5401/02		*4601/02		*5201/02/03		*15		*15	
54	4403/04/07/+		*5401/02		*4601/02		*5201/02/03		*1501/04/07/+		-	
11	44	*4403	*54		*46		*52		*15	*1501	-	
コンセンサス	*4403		*5401		*4601		*5201		*1501		-	
施設No												
4	*0102/03/05		*1403		*0102/03/05		*1202/08		*0303/11/12		*1502/03/04/+	
51	*0102/03		*1403		*0102/03		*1202		*0303/11/12		*1502/03/04/+	
6	*0102/03/+		*1403		*0102/03/+		*1202/08		*0303/11/+		*1502	
27	*01		*14		ND		ND		*03		*15	
32	*0102/03		*1403		*0102/03		*1202		*0303/11/12		*1502/03/04/+	
54	*01		*1403		*01		*12		*03		*15	
11	*01		*1403		*0102		*1202		*03		*15	
コンセンサス	*0102		*1403		*0102		*1202		*0303		*1502	

3. 反応・判定結果

1) クラスII結果

Low-resolution キットを使用した施設及び High-resolution キットを使用した施設、共に結果はコンセンサスデータと一致した(表2)。また、生データスコアにおいてもコンセンサスデータとの矛盾は無く、特に問題は認められなかった。しかし、DQB1Low-resolution の結果において Ambiguity のアリル数に違いがみられた。これはキットのロットの違いによるものであった。

2) クラスI結果

Low-resolution キットを使用した施設において、次に示すコンセンサスデータとの不一致が2件認められた(表3)。コンセンサスデータを『 』内に示す。

①H1401において

B*15, 47 『B*15, 38』

②H1402において

C*02, 03 (or15) 『C*02, 03』

①の解析

各施設のH1401のB Low-resolution のスコアを比較した(表4)。不一致が発生した施設はB*38が陽性となるプライマーNo45, 46, 66が全て陰性を示し

表4 H1401 B Low-resolutionスコア(抜粋)

プライマーNo	25	38	45	46	47	66	41		
反応アリル	BW4	B* 15	B* 38	B* 35/38/39	B* 15/40/47	B* 38/39/+	B* 27/47		
施設 No	27	8	8	1	1	8	1	8	Lot ABC24
	32	8	8	8	8	0	8	1	Lot ABC24
	54	8	8	8	8	8	1	1	Lot ABC24
	11	8	8	8	8	8	4	1	Lot ABC24
	4	8	8	8	8	8	8	1	Lot ABDR21
	51	8	4	8	8	8	8	1	Lot ABDR20
	6	6	6	6	6	6	8	1	Lot ABC22

表5 H1402 C Low-resolutionスコア(抜粋)

プライマーNo	75	76	77	84	90	93	95		
反応アリル	CW* 02/17	CW* 03	CW* 02/15/+	CW* 02/15/+	CW* 03/07/15	CW* 17	B* 02/15/+		
施設 No	27	8	8	8	8	8	1	8	Lot ABC24
	32	8	8	8	8	8	1	8	Lot ABC24
	54	8	8	4	4	8	1	8	Lot ABC24
	11	8	8	8	8	8	1	8	Lot ABC24

た。これは、他施設のデータから false negative と考えられる。また、他施設が陰性であったNo41のプライマー (B*47) を陽性としていたが、これはプライマーダイマーを陽性バンドと取り違えたものと考えられた。

②の解析

各施設のH1402のC Low-resolution のスコアには特に差異は認められなかった (表5)。Cw*15に反応するプライマーNo77, 84, 90, 95は確かに全て陽性であるが、No76が陽性によりCw*03が確定し、No75が陽性、No93が陰性によりCw*02が確定する。従ってプライマーNo77, 84, 90, 95の陽性バンドはCw*02, Cw*03による産物であって、この不一致は判定上のミスであると考えられた。

4. 問題点, まとめ

- 1) クラス I, クラス II 全体のコンセンサスデータとの一致率は99.4%と良好な結果を示した。

- 2) 古いロットのキットは判定アリル数が少なく Ambiguity の表記に漏れが発生する可能性が高い。また、4桁が判定されるケースもあり、古いロットのキットを使用する際は注意が必要と考えられた。

- 3) 1つのアリルが false negative により判定出来ない例があった。false negative の原因は不明であるがサーマルサイクラーの温度校正が正確で無い可能性が高いと思われる。ユニットレイにはサーマルサイクラーの校正確認用キ

ットであるユニチェックがあり、これにより定期的にサーマルサイクラーの状態を確認することが望ましいと考える。

また、キット自体も特にクラス I においてPCRがかかりにくい部分があり改良が望まれる。

- 4) 陽性バンドの取り違いによるミスタイピング、判定上のミスタイピングが各1件あった。ユニットレイ判定プログラムを用いて判定を行えばこれらは回避できる可能性が高い。また、アリルの増加に伴い判定表は複雑化しており、判定表のみの判定は避けるべきである。

Dynal RELI-A,-B,-Cw,-DRB,-DQBの検討

今井厚子¹⁾, 関 佐織²⁾, 平田蘭子¹⁾

¹⁾埼玉医科大学総合医療センター輸血・細胞治療部, ²⁾埼玉医科大学附属病院, HLA検査センター

1. はじめに

Dynal RELIは、血清学タイピングに相当するA, B, Cw, DRB, DQBが個別にキット化されており、各ローカス用プライマーとプローブストリップの組み合わせ以外の試薬、反応条件などはすべて同一に設定されている。

2. 回答施設数

クラスIでは、回答のあった76施設のうちA, Bは24施設(31.6%), Cwは回答44施設のうち5施設(11.4%)で使用されていた。クラスIIでは、DRBは回答75施設のうち24施設(32%), DQBは回答49施設のうち4施設(8.2%)で使用されており、これらの施設から提出されたスコアシートをもとに検討した。RELI使用24施設の増幅装置については、21施設(87.5%)がパーキンエルマー社の9600または9700, その他ATTO AB1820, FUNAKOSHI PTC-150, ASTEC PC-800を使用していた。また、DNA抽出方法は、11施設がグアニジン法, SSPクイクバッファ5施設, ドナクイック3施設, プロテナーゼK法3施設, スピンカラム法1施設, 不明1施設であったが、これらの装置やDNA抽出方法の違いによるキットへの影響は無いものと考えられた。

3. クラス I

1) HLA-A

Lowレベルでの判定結果は一致していたが、2例の4桁でのタイプに不一致があった(表1)。サンプルH1403の回答で、A*2601を*2608との判定があり、プローブ29で発色が認められず陰性と判定したためと考えられた。H1404の回答で、A*2402を*2404との判定があり、プローブ14, 15のストリップ反応からの読みとりミスが考えられた。プローブ1, 2, 9, 21, 25, 27, 29の反応でスコア2, 4の弱い反応結果が複数の施設から報告されていた。

2) HLA-B

結果の表記は様々であった(表2)。Lowレベルでの一致率は94.2%であったが14例の判定に問題がみられた(表3)。サンプルH1401では、B*1507, blankとの回答があり、全体的に陽性プローブの反応が弱く判定が困難であったと考えられ、また、キット添付の日本人用早見表に適合しないため判定不能との回答もあった。H1403では、プローブ6で発色が認められずB*40, *5402との判定があり、また、H1403, H1404の回答でB*5401とB*5507の反応パターンが同一のため区別ができず、B*5401, *5507またはB*54, *55との判定が9例あった。

表1 RELI-A

A	A* RELI	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
A24	2402/09N						6				10					15		17					22	23				28					32		34	35	
	2404						6				10			14			17						22	23				28					32		34	35	
A26	2601/02	1							8	9	10				14		17							24					29	30						35	
	2608	1							8	9	10				14		17							24				28	30							35	
A33	3301/03								8	9	10			13			17					21				25		27						32		35	
	sample NO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
1	H1403	6					6		6	6	8				6	6		4					6	6	6			6		6		6		6	4	2608	24
2	H1404						8		8	8	8			8	8			4					6	8	8	6		6	8			8		8	4	2404	3301/03/04/+

表2 RELI-Bによる表記

H1401				H1402				H1403					
#1B-1	n	%	#1B-2	#2B-1	n	%	#2B-2	#3B-1	n	%	#3B-2	n	%
1517	14	61.0	3801	1 27	3	13.0	4001/14	4002	11	47.8	5401	12	52.2
*1517	4	17.5	*3801	2 2705	3	13.0	4001	*4002	4	17.4	*5401	4	17.4
15	1	4.3	38	3 2703/	2	8.8	*4001	40	2	8.8	54	1	4.3
B*1517	1	4.3	B*3801	4 2703/05/09/+	2	8.8	40	4002/27/29	2	8.8	B54	1	4.3
B15	1	4.3	B38	5 2703/05/10	2	8.8	4001/	4002/	1	4.3	54/55	1	4.3
1507	1	4.3	記入無し	6 2703/05/10/+	2	8.8	*4001/14	B*4002/27/29	1	4.3	5401,5507	1	4.3
判定不能	1	4.3	判定不能	7 *2703	1	4.3	*4001/14/22N	61	1	4.3	5401/5507	1	4.3
	23	100		8 *2703/05/10	1	4.3	4001/11/14/+	B61	1	4.3	B*5401/5507	1	4.3
				9 *2703/05/10/13/07	1	4.3	4001/14/22		23	100	5402	1	4.3
				10 *2705	1	4.3	4001/14/22/+					23	100
				11 2703/05	1	4.3	4001/14/22N						
				12 2703/05/	1	4.3	40011/						
				13 2703/05/+	1	4.3	B*4001/11/14/+						
				14 B*2703/05/09/+	1	4.3	60						
				15 B27	1	4.3	B60						
					23	100							

H1404				H1405				H1406					
#4B-1	n	%	#4B-2	#5B-1	n	%	#5B-2	#6B-1	n	%	#6B-2	n	%
4403	5	22.7	5401	4601	9	39.2	5201	1 1501/12/19/+	8	33.2	-	14	58.2
4403/07	4	18.2	*5401	4601/02	6	26.2	*5201	2 1501	3	12.5	記入無し	7	29.2
44	3	13.6	54/55	*4601	4	17.4	5201/	3 *1501	2	8.3	*1501/12/+	1	4.2
4403/	3	13.6	54	4601/	1	4.3	52011/	4 15	2	8.3	1524	1	4.2
*4403	2	9.1	5401/5507	B*4601/02	1	4.3	B*5201	5 1501/	2	8.3	4403	1	4.2
*4403/07	2	9.1	5504,5507	46	1	4.3	52	6 *1501/12/+	1	4.2		24	100
4403/07/13	2	9.1	B*5401/5507	B46	1	4.3	B52	7 *1501/12/19/33/34/60	1	4.2			
B*4403/07/13	1	4.6			23	100		8 1501/12	1	4.2			
	22	100						9 1501/12/	1	4.2			
								10 B*1501/12/19/+	1	4.2			
								11 B15	1	4.2			
								12 62	1	4.2			
									24	100			

スマイテストHLA-SPPキットの評価

安田広康, 渡部和也, 大戸 斉

福島県立医科大学医学部附属病院, 輸血・移植免疫部

1. はじめに

スマイテストHLA-SPP(sequence specific primer and probe)法は, 増幅補助溶液としてAmpdirect™(株式会社島津製作所)を使用し, DNAの抽出および精製を行うことなく全血をそのまま使用できることを特徴とする。

本法は, まず1st PCRにおいて増幅補助溶液の存在下で, HLA-A,B,DRB1の各領域のエクソン2やエクソン3領域の全長を特異的プライマーを用いて増幅する。2nd PCRでは, 1st PCRでの増幅産物を鋳型として, ピオチン化特異的プライマーを用いたSSP法によりさらに増幅する。検出では, 特異的プローブを固相化した各ウエルに, 2nd PCR産物を加えハイブリダイズし, HRP標識ストレプトアビジンを結合させ, 基質を添加して発色させた後, 450 nmで吸光度を測定する。尚, 各アレルタイピングに使用する特異的プライマーおよび特異的プローブは, HLA-AおよびDRB1では16種, HLA-Bでは32種である。また, ハイブリダイゼーションは37°C, 30分で施行した。

2. 参加施設・方法

第6回HLA-QCワークショップに参加したのべ9施設から提出された生データをもとに評価した。各アレルごとの参加施設数の内訳は, HLA-Aが7施設, HLA-Bが5施設, HLA-DRB1が4施設であった。また, 評価に際し発色後の吸光度(OD)をスコア化した。すなわち, スコア8はOD 2.000以上, スコア6はOD 1.000~1.999, スコア4はOD 0.500~0.999, スコア2はOD 0.250~0.455, スコア1はOD 0.250以下とした。

3. 結果

各アレルに対する反応性についてTable 1~3に示した。各Tableにおいて, 特異的または非特異的反応を示したウエル数をスコア別に上表に示し, 各特異的アレルの反応性については, 総ウエル数, スコアの中央値とその範囲, 偽陰性あるいは偽陽性反応のウエル数を下表に示した。

HLA-A アレル全体における非特異的反応の割合は, 参加7施設, 総672ウエル中わずかに5ウエル(0.7%)で, その反応は弱陽性であった。しかし, 特異的反応においてスコア2の偽陰性を示したウエルが2箇所(2施設)あったが, それはA*01アレルとの反応であった(Table.1)。

HLA-DRB1アレルにおける非特異的反応は, 参加4施設, 総384ウエルで全く認めなかった。しかし, 特異的反応においてスコア2の偽陰性反応を示したウエルが3箇所あった。その内訳はDRB1*04の2ウエル(2施設)とDRB1*12の1ウエル(1施設)であった(Table.2)。

HLA-B アレルにおける非特異的反応は, 参加5施設, 総842ウエル中21ウエル(2.5%)に認めた。非特異的反応で偽陽性を呈した反応は8ウエルで, B*1517(63)を有するサンプルH1401において認めた。内訳は, HLA-B*58, *59の30ウエルのうちそれぞれ4ウエル, 3ウエルであった。これにはハイブリダイゼーションの際, B*1517(63)の増幅産物がB*58, B*59のプローブと交差反応したためと考える。また, 非特異的反応での偽陰性反応はB*3801を有する同じH1401で認め, 5ウエル(5施設)全てで検出できなかった。これは, 本キットが日本人に稀なB*3801にではなく, よりポピュラーなB*3802にのみに対応しているためである。さ

Table 1 Reactivity to HLA-A alleles of 6 QC samples by PCR-SPP

Participant: n= 7 Probe:n= 16						
Score	8	6	4	2	1	Total
Number of wells with specific reaction	57	12	13	2	583	672
Number of wells with nonspecific reaction	0	0	0	5	0	5 (0.7%)
HLA-A	*01	*02	*24	*26	*33	
Number of wells	7	21	21	21	14	
Median	4	8	8	8	6	
Range	2-8	6-8	4-8	4-8	4-8	
False negative	2	0	0	0	0	

Table 2 Reactivity to HLA-DRB1 alleles of 6 QC samples by PCR-SPP

Participant: n= 4 Probe:n= 16							
Score	8	6	4	2	1	Total	
Number of wells with specific reaction	24	7	6	3	344	384	
Number of wells with nonspecific reaction	0	0	0	0	0	0 (0%)	
HLA-DRB1	*01	*04	*08	*09	*11	*12	*13
Number of wells	4	16	4	4	4	4	4
Median	8	8	8	8	8	6	6
Range	8-8	2-8	4-8	6-8	4-8	2-8	4-8
False negative	0	2	0	0	0	1	0

Table 3 Reactivity to HLA-B alleles of 6 QC samples by PCR-SPP

Participant: n= 5 Probe:n= 32								
Score	8	6	4	2	1	Total		
Number of wells with specific reaction	19	16	11	5	789	840		
Number of wells with nonspecific reaction	3	3	2	7	5	21 (2.5%)		
HLA-B	*58	*59	*40(61)	*15(62)	*27	*46	*54	*3801
Number of wells	30	30	30	5	5	5	10	5
Median	1	1	1	6	8	6	4	1
Range	1-8	1-8	1-4	2-8	2-8	2-8	2-6	-
False negative				1	1	1	2	5
False positive	4	3	1					

らに、特異的反應での偽陰性反應は、B*15(62), B*27, B*46においてそれぞれ1ウエル(各1施設), B*54では2ウエル(同一施設)認めた。一方、それ以外のB*44, B*52, B*40(60), B*40(61), B B*1517(63)との反應では偽陰性反應は認めず、各スコアの中央値も6~8と良好であった。

施設間の反應性の違いについて、A, B, DRB1ごとに比較した。

参加は全部で9施設あったが、A, B, DRB1すべてに参加したのは3施設のみであった。施設間の各ローカスの平均スコア(範囲)はそれぞれAローカス7.0(5.8~8.0), Bローカス6.0(4.8~7.6), DRB1ローカス6.6(6.2~7.4)と、Bローカス・アリルとの反應性が最も低く、施設間の平均スコアにもばらつきを認めた。この原因として、サーマルサイクラーの温度設定が機種によっては困難であったためと考える。

4. まとめ

1) スマイテストHLA-SPP法によるHLA-A, -B, -DRB1の各タイピング結果から、特にBローカスの一部のアリルとの反應性が低かった。

2) また、allele間あるいは施設間でスコア(反應強度)にばらつきが認められた。

3) 日本人に稀なアリルB*3801やB*1517(63)では、偽陰性あるいは非特異的反應を呈することがある。

4) 反應性の全般的評価としては、平均スコアは6以上であり、また発色後のバックグラウンドも低く偽陽性反應は少なかった。

5) 以上から、本法は日本人を対象としたLow resolution法としてのHLAタイピングに有用と思われる。

PCR-MPHの評価

加藤 道

愛知県赤十字血液センター，検査二課

1. はじめに

湧永製薬のr-SSOによるHLAタイピングキットPCR-MPHは、5'末端ビオチン標識プライマーを用いて目的の遺伝子領域をPCR法で増幅し、その増幅物をマイクロプレートに固定したプローブとハイブリダイズさせ、さらに酵素標識アビジンをビオチンを介して結合させ、発色によりハイブリダイズした増幅DNAを検出する方法である。キットの種類も非常に豊富でClass I 及びClass II合わせて17種類のキットが市販されている。判定についても判定用ソフトがサポートされており容易に判定が可能である。

2. 参加施設・方法

参加施設は16施設であった。使用されたキットの種類及び参加施設数を表1に示す。

今回から新たにMPH-2のキットが加わったために、Class I 13種類、Class II 10種類と使用キットの種類が増えたが（昨年14種類）、データが提出されたMPH-2のキットは、全てメーカーからの検討用の試供品であり市販されているものではなかった。また、MPH-2 HLA-A, B, DR以外は1キットのみの提出であり検討の対象からは除外した。

プローブの反応性或いは判定結果に不一致があった

7種類のキットについて、クロスハイブリダイゼーション（以下「クロス」）及びテクニカル的な問題等を検討した。なお、検討の対象となったその他のキットについては良好な結果が得られていた。

表1 使用試薬及び参加施設数

Class I

試薬	解像度	参加施設数
HLA-A	Low	2
MPH-2 HLA-A	Low	10
HLA-A2	High	7
MPH-2 HLA-A2	High	1
HLA-A26	High	7
MPH-2 HLA-A26	High	1
HLA-B	High	2
MPH-2 HLA-B	High	10
HLA-B5	High	1
HLA-B15	High	6
MPH-2 HLA-B15	High	1
HLA-B40	High	5
HLA-C	Middle	4

(13種類)

Class II

試薬	解像度	参加施設数
ジーンカラーHLA-DR	Low	9
MPH-2 HLA-DR	Low	8
HLA-DR1	High	4
HLA-DR3/11/13/14	High	6
MPH-2 HLA-DR3/11/13/14	High	1
HLA-DR4	High	5
MPH-2 HLA-DR4	High	1
HLA-DR12/8	High	4
MPH-2 HLA-DR12/8	High	1
HLA-DQ	Low	3

(10種類)

3. 反応・判定結果

1) HLA-B (表2)

同一施設（施設番号15）から提出されたデータで、H1401のNo.17, H1406のNo.20に偽陽性がみられた。

H1401はNo.17が陽性の場合2桁判定はB*39になるはずだが、B*38が判定できているのはOD値0.45 (cut off値0.35)と反応性が弱いため、このプローブを考慮（陰性として）

表2 HLA-Bの反応と判定結果

検体番号	施設	プローブNo																						判定結果	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	B-1	B-2
H1401	15	8	8				8			8							8	8	6		6	8	*3801/02	*15	
	56	8	8				8			8		2	8					8	8	2	6	8	*3801/02	*5701/+	
H1406	15			8			8			8							8		4	8		8	*1501/02/04/+	-	
	56			8			8			6	2						8		8			8	*15	-	

(反応スコア=1は空白で表示)

表3 MPH-2 HLA-Bの反応と判定結果

検体番号	施設	プローブNo																								判定結果	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	B-1	B-2
H1404	9施設	8	8			8	8	8		8				8	8	8	8			8	8	8				*44	*54
	47	8	8			8	8	8		8				8	8	8	7			8	8	8				*44	*5401/02
H1406	9施設	8					8						8	8			8								*15	-	
	47	8					8						8	8			8						8	8	*15	-	

(反応スコア-1は空白で表示)

表4 MPH-2 HLA-DRの反応と判定結果

検体番号	施設	プローブNo																								判定結果	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	B-1	B-2
H1402	7施設				8													8	8						8	*04	-
	60				8													8	8	8	8				8	*04	-
H1403	6施設			8	8							8						8	8	8	8				8	*04	*11
	26			8	8							8						6	8	4	8	8			8	*04	*11
H1404	60			8	8		4					8						8	8	6	8	4			8	*04	*11
	7施設			8	8									8				8	8	8	8				8	*04	*13
H1404	60			8	8									8				8	8	8	8				8	*04	*13

(反応スコア-1は空白で表示)

表5 MPH-2 HLA-DRの反応と判定結果

検体番号	施設	プローブNo																								判定結果	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	B-1	B-2
H1405	23					8	8														8	8	8	8	8	*08	*09
	26					8	8															8	8	8	8	*08	*09012
	31					8	8															8	8	8	8	*0801/02+	*09012
	41					8	8															8	8	8	8	*08	*09
	46					8	8															8	2	8	8	*0801/02+	*09012
	56					8	8															8	2	8	8	*08	*09012
	60					8	8															2	2	8	8	*08	*09
	66					8	8															8	8	8	8	*0801/02+	*0901

(反応スコア-1は空白で表示)

*08のクロス・ハイブリダイゼーション

して判定したと思われる。

H1406のNo.20は陽性の場合でも、2桁判定はB*15と判定され判定結果に問題はなかった。

No.17, No.20いずれもアミノ酸シーケンスからクロスは考えられないため、今回の偽陽性は酵素液を加えた後の洗浄が十分でない場合に発生する、テクニカル的なことが原因で起こったものと考えられる。

2) MPH-2 HLA-B (表3)

同一施設 (施設番号47) から提出されたデータで、H1404のNo.16に偽陰性、H1406のNo.22に偽陽性がみられた。

今回のMPH-2 HLA-Bキットは、データを提出した10施設全てが試供品で3種類のロットが使用され

ていた。その中で47が使用したキットは、唯一初期のロットを使用しており、2番目のロットからは試薬の調整法、カットオフ値等が改良されているため、上記2つのデータを新しいカットオフ値に照らし合わせて検討してみた。

H1404のNo.16はカットオフ値1.3に対しOD値0.8のため陰性と判定されるが、他の9施設の内3施設の反応が弱陽性であり、メーカーにも確認したところB*44に対して反応性が弱いプローブであることが判明したため、本キットを使用しているB*44が疑われる場合は、No.16のプローブの反応性を考慮して判定する必要があると思われる。

H1406のNo.22はカットオフ値1.1に対しOD値1.0のため改良されたカットオフ値では陰性になり問題はなかった。

なお、何れも元のスコアにおいて2桁判定では問題はなかつた。

3) ジーンカラーHLA-DR

ジーンカラーHLA-DRは、骨髄バンク二次検査用にも使用されている試薬であり、判定ミスにつながるような反応は無かったが、元々、DR*04 (No.4) のプローブの反応性が弱いことが指摘されており、今回のデータにおいてもDR*04との反応性が弱い傾向がみられ、特にDR*04ヘテロの場合にそれが顕著にみられた。

4) MPH-2 HLA-DR (表4, 5)

表4において施設番号60に偽陽性が多くみられた。偽陽性がみられたプローブについてはクロスが考えられないため、当該施設に作業手順等確認した

表6 HLA-DR4の反応と判定結果

検体番号	施設	プローブNo												判定結果	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	B-1	B-2
H1406	15	8	8	8	8		8			8	8	8	*04051	*0406	
	52	4	4	6	8		6			8	8	8	*0405	*0406	
	54	6	8	8	8		6			6	8	8	*04051	*0406	
	56	4	8	8	8		6			8	8	8	*0405/28/29/30	*0406	
	66	7	8	8	8		8			6	8	8	*0405	*0406	

(反応スコア-1は空白で表示)

表7 HLA-DR3/11/13/14の反応と判定結果

検体番号	施設	プローブNo												No.12 OD値 cut off:2.05	判定結果	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12		B-1	B-2
H1403	15			8			8						1	1.69	*1106	
	42			6			8						2	0.39	*1106	※2000.04期限切
	52			4			6						4	4.11	*1104	
	54			8			6						8	2.05	*1104	
	56			8			8						8	2.68	*1104/25/35	
	66			8			8						6	2.03	*1104/25/+	

(反応スコア-1は空白で表示)

※1106のクロス・ハイブリダイゼーション

表8 HLA-DQの反応と判定結果

検体番号	施設	プローブNo											判定結果	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	B-1	B-2
H1403	42						7	6	6	6	6	*03	-	※2001.11期限切
	54						6	8	8	8	8	*0303/	*04	
	56						6	8	8	8	8	*03	*04	

(反応スコア-1は空白で表示)

ところ、洗浄をジェットピペットとアスピレーターを使用し、マニュアルで実施しているという事であったため、洗浄が不十分なためのテクニカルなことが要因で発生した偽陽性であると考えられた。

表5ではNo.22のプローブにDR*08のクロス反応がみられるが、この反応については判定表に明記しており問題にはならなかった。

5) HLA-DR4 (表6)

施設番号66のNo.1が偽陰性であるが、No.1は元々発色の弱いプローブであったため、当該プローブのデータがOD値0.34 (カットオフ値0.35) とカットオフ値に近いことから、判定時にプローブの反応性を考慮する必要があったと思われた。但し、No.1が陰性であっても4桁判定では不一致にならなかった。

6) HLA-DR3/11/13/14 (表7)

H1403はNo.12のプローブにDR*1106のクロス反応があることが、メーカーよりアナウンスされていなかったために、No.12に陽性反応を示した施設は判定表どおりにDR*1104と判定し、判定結果に不一致が発生してしまった(但し、最終結果は全てコンセンサスタイプと一致していた)。また、コンセンサスタイプのDR*1106に判定されていた施設についても施設番号15は、OD値1.69とカットオフ値は切っているもののクロス反応の傾向は見られた。施設番号42についてはOD値が完全に陰性であるため、当該施設に確認したところ、2000年4月期限切れのキットを使用しており、試薬の劣化が原因による偽陰性であると思われた。

本年8月にメーカーよりNo.12のプローブにDR*1106の特異性が追加されたが、今回のデータからOD値が2.0前後になることが多く、現

状のカットオフ値2.05ではクロス反応が弱い時に、偽陰性になることが考えられるため、カットオフ値の改良(低くする)も必要であると思われた。但し、No.12が偽陰性の場合でも、No.3とNo.6のプローブが陽性の場合、No.11かNo.12が陽性のパターンしかないため、判定ミスは回避できると考えられる。

7) HLA-DQ (表8)

施設番号42はNo.7のプローブが陰性で判定結果が不一致であったが、これも2001年11月切れのキットを使用しており、試薬の劣化が原因による偽陰性であると考えられた。

4. まとめ

1) 全体的にPCR-MPHは完成された試薬であり判定に問題はないが、本キット単独でのタイピン

- グには注意が必要であると思われる。
- 2) 判定に関して血清学的タイピングと同様に、プローブの反応性を把握しておく必要がある。
 - 3) 洗浄作業等テクニカルの面で影響を受けやすく、作業に若干の熟練が必要である。
 - 4) 試薬に関するプローブの特異性等メーカーから

のリアルタイムな最新情報の供給が求められる。

- 5) データをスコア化しているが、その規定が無いためにプローブの反応性が把握しにくく、スコア化の基準を規定する必要があると思われる。

シオノギHLA-DNAタイピングキットの評価

石井博之, 小野明子, 池田通代, 福森泰雄

大阪府赤十字血液センター

1. はじめに

シオノギHLA-DNAタイピングキットはマイクロプレートを使用したMRHA (microtiter plate reverse hybridization assay) 法を原理とする方法である。特徴としては、ハイブリダイゼーションを37℃で行うことができる。製品は、HLA-A, B, C, B40の4種類があり、HLA-A, Cがそれぞれ23プローブ、HLA-Bが31プローブ、HLA-B40が15プローブの構成となっている。解像度については、HLA-B40は全てのアリルを、HLA-A, B, Cは日本人で通常観察されるアリルの大部分をmedium/high resolutionで検出することが可能である。

2. 参加施設・方法

今回、データを提出された参加施設は7施設 (HLA-A, B, C : 3施設, HLA-A, B : 2施設, HLA-B, C : 1施設, HLA-A : 1施設) であった。ローカス毎では、HLA-Aが6施設、HLA-Bが6施設、HLA-Cが4施設の参加があり、各施設においてスコア化された各プローブの反応性データを中心に解析した。

3. 反応・判定結果

表1, 2, 3に各ローカスの反応と判定結果を示す。

1) HLA-A

Aローカスにおいては、アリルの表記法に違いがみられるものの、判定結果では施設間での相違はなかった。各プローブの反応性については、No.14, 15において若干弱い施設が複数あり施設間差がみられた。表記法においては、2桁で切っている施設、可能性のあるアリルを/で区切って表示する施設、キットの判定用プログラム (シオノギHLA-DNAタイピングシステム) で表示される最初の組み合わせで報告している施設があった。

2) HLA-B

Bローカスにおいては、Aローカスと同様に表記法に違いがみられたが、判定結果に相違はなかった。各プローブの反応性は、No.11, 18, 28のプローブが弱い施設が複数あり、No.12, 14, 27のプローブは全体的に弱い傾向があった。またNo.26のプローブにおいては、アリル特性があり、B44がある場合弱い傾向がみられた。

3) HLA-C

Cローカスにおいては、表記法の違い以外は特に問題はなかった。

4. まとめ

特に大きな問題点もなく、全体的には各ローカス

表1 HLA-A ローカスの反応スコアと判定結果

sample No.	施設番号	プローブNo.																							locus名
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	
H1401	H14-17	8	1	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	1	6	1	1	8	1	8	1	8	8	8	0201/04/06/+
	H14-20	8	1	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	8	1	8	1	8	1	8	8	0201/04/06/+
	H14-36	8	1	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	8	1	8	1	8	1	8	8	0201/04/06/+
	H14-58	8	1	8	8	1	1	6	8	1	1	1	1	4	1	1	4	2	8	1	8	1	8	8	0201/04/06/+
	H14-59	8	1	8	8	1	1	6	8	1	1	1	1	8	1	1	6	1	8	1	8	1	8	8	0201/04/06/+
	H14-69	8	1	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	8	1	1	8	1	8	1	8	1	8	8	0201/04/06/+
H1402	H14-17	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	8	0101/02	
	H14-20	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	8	0101/02	
	H14-36	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	6	1	8	1	8	1	8	0101/02	
	H14-58	8	8	8	8	1	1	1	6	1	1	1	1	1	1	1	4	1	8	1	8	1	8	0101/02	
	H14-59	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	1	8	0101/02	
	H14-69	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	1	8	0101/02	
H1403	H14-17	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	1	8	8	2402/04/05/+	
	H14-20	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	1	8	1	2402/04/05/+	
	H14-36	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	1	8	1	2402/04/05/+	
	H14-58	8	8	8	8	1	1	1	8	2	1	1	1	1	1	8	1	4	1	8	1	8	1	2402	
	H14-59	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	1	8	1	2402/04/05/+	
	H14-69	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	1	8	1	24	
H1404	H14-17	8	8	8	8	1	6	1	8	1	1	1	1	1	6	8	1	1	1	8	1	1	1	2402/04/05/+	
	H14-20	8	8	8	8	1	8	1	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	2402/04/05/+	
	H14-36	8	8	8	8	1	8	1	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	2402/04/05/+	
	H14-58	8	8	8	8	1	8	1	8	1	1	1	1	1	6	8	1	1	1	8	1	1	1	2402	
	H14-59	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	2402/04/05/+	
	H14-69	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	24	
H1405	H14-17	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	0201/04/06/+	
	H14-20	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	0201/04/06/+	
	H14-36	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	0201/04/06/+	
	H14-58	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	0201/04/06/+	
	H14-59	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	0201/04/06/+	
	H14-69	8	8	8	8	1	1	1	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	02	
H1406	H14-17	8	1	8	8	1	6	6	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	0201/04/06/+	
	H14-20	8	1	8	8	1	8	8	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	0201/04/06/+	
	H14-36	8	1	8	8	1	8	8	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	0201/04/06/+	
	H14-58	8	1	8	8	1	8	8	6	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	0201/04/06/+	
	H14-59	8	1	8	8	1	8	8	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	0201/04/06/+	
	H14-69	8	1	8	8	1	8	8	8	1	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	02	

表2 HLA-B ローカスの反応スコアと判定結果

sample No.	施設番号	プローブNo.																														locus名				
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30		31			
H1401	H14-17	1	1	8	1	1	1	1	1	8	6	1	6	8	1	1	1	1	1	1	1	1	6	1	8	1	8	8	8	1	1	1	8	1517		
	H14-20	1	1	8	1	1	1	1	1	8	8	1	8	8	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	8	8	1	1	1	1	8	1517	
	H14-36	1	1	8	1	1	1	1	1	8	8	1	6	8	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	8	8	1	1	1	1	8	1517	
	H14-59	1	1	8	1	1	1	1	1	8	8	1	6	8	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	4	8	8	1	1	1	1	1	8	1517
	H14-61	1	1	8	1	1	1	1	1	8	8	1	6	8	1	1	1	1	1	1	1	1	4	1	8	1	8	8	8	1	1	1	1	1	8	1517
	H14-69	1	1	8	1	1	1	1	1	8	8	1	6	8	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	8	8	1	1	1	1	1	1	8
H1402	H14-17	8	1	6	1	1	1	1	1	8	1	8	8	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	8	2701/02/03/+		
	H14-20	8	1	8	1	1	1	1	1	8	1	8	1	8	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	8	2701/02/03/+		
	H14-36	6	1	6	1	1	1	1	1	8	6	1	8	6	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	6	1	1	6	1	1	1	6	2701/02/03/+		
	H14-59	6	1	8	1	1	1	1	1	8	6	1	8	6	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	6	1	1	6	1	1	1	8	2701/02/03/+		
	H14-61	8	1	4	1	1	1	1	1	8	4	1	8	4	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	8	2701/02/03/+		
	H14-69	8	1	8	1	1	1	1	1	8	8	1	6	8	1	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	27	
H1403	H14-17	1	8	1	1	1	1	1	8	1	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	8	4002/03		
	H14-20	1	8	1	1	1	1	1	8	1	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	8	4002/03		
	H14-36	1	8	1	1	1	1	1	8	1	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	8	4002/03		
	H14-59	1	8	1	1	1	1	1	8	1	8	6	1	1	8	6	1	1	1	1	1	1	8	1	1	6	1	1	6	1	1	1	6	4002/03		
	H14-61	1	8	1	1	1	1	1	8	1	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	8	4002/03		
	H14-69	1	8	1	1	1	1	1	8	1	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	8	4002/03		
H1404	H14-17	1	1	8	1	1	1	1	8	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	4403		
	H14-20	1	1	8	1	1	1	1	8	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	4403		
	H14-36	1	1	8	1	1	1	1	8	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	4403		
	H14-59	1	1	8	1	1	1	1	8	8	6	1	1	8	6	1	1	1	1	1	1	6	1	8	1	1	4	4	1	1	1	1	8	4403		
	H14-61	1	1	8	1	1	1	1	8	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	1	1	6	1	8	1	1	4	1	8	1	1	1	8	4403		
	H14-69	1	1	8	1	1	1	1	8	8	8	1	1	8	8	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	4403		
H1405	H14-17	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	4601		
	H14-20	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	4601		
	H14-36	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	4601		
	H14-59	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	4601		
	H14-61	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	4	8	4601	
	H14-69	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	4601		
H1406	H14-17	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	1501/05/06/+		
	H14-20	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	1501/26N/27/+		
	H14-36	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	1501/05/06/+		
	H14-59	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	1501/05/06/+		
	H14-61	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	1501/05/06/+		
	H14-69	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	8	1	1	1	1	1	1	1	8	1	1	8	1	1	8	1	1	1	1	8	1501/26N/27		

表3 HLA-C ローカスの反応スコアと判定結果

sample No.	施設番号	プローブNo.																							locus名	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23		
H1401	H14-20	8	1	1	1	8	8	1	8	1	8	8	1	8	1	1	8	1	1	8	1	8	1	1	0701/02/03/+	1203/1604
	H14-36	8	1	1	1	8	8	1	6	1	6	8	1	8	1	1	8	1	1	8	1	6	1	1	0701/02/03/+	1203/1604
	H14-61	8	1	1	1	8	8	1	8	1	8	8	1	8	1	1	8	1	1	8	1	6	1	1	07	1203
	H14-69	8	1	1	1	8	8	1	8	1	8	8	1	8	1	1	8	1	1	8	1	8	1	1	07	1203/1604
H1402	H14-20	8	1	8	1	1	8	8	1	8	8	1	1	8	1	1	8	1	8	1	8	1	1	02021/022/024	0304	
	H14-36	8	1	8	1	1	8	6	1	6	8	1	1	8	1	1	8	1	8	1	8	1	1	0202	0304	
	H14-61	8	1	8	1	1	8	8	1	8	8	1	1	8	1	1	8	1	8	1	8	1	1	0202	0304	
	H14-69	8	1	8	1	1	8	8	1	8	8	1	1	8	1	1	8	1	8	1	8	1	1	0202	0304	
H1403	H14-20	8	8	8	1	1	1	8	8	1	8	1	8	8	1	1	8	1	8	1	8	1	1	0102/03	0304	
	H14-36	8	8	8	1	1	1	8	8	1	8	1	8	6	1	8	1	8	1	8	1	8	1	0102/03	0304	
	H14-61	8	8	8	1	1	1	8	8	1	8	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	0102/03	0304	
	H14-69	8	8	8	1	1	1	8	8	1	8	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	0102/03	0304	
H1404	H14-20	8	8	1	8	1	1	8	8	1	1	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	0102/03	1403	
	H14-36	8	8	1	8	1	1	8	8	1	1	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	0102/03	1403	
	H14-61	8	8	1	8	1	1	8	8	1	1	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	0102/03	1403	
	H14-69	8	8	1	8	1	1	8	8	1	1	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	0102/03	1403	
H1405	H14-20	8	8	1	1	1	8	1	8	8	1	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	0102/03	1202	
	H14-36	8	8	1	1	1	8	1	8	8	1	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	0102/03	1202	
	H14-61	8	8	1	1	1	8	1	8	8	1	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	0102/03	1202	
	H14-69	8	8	1	1	1	8	1	8	8	1	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	8	1	0102	1202	
H1406	H14-20	8	1	8	1	1	1	8	8	1	1	8	1	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	0303	1502/03/04/+	
	H14-36	8	1	8	1	1	1	8	8	1	1	8	1	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	0303	1502/03/04/+	
	H14-61	8	1	8	1	1	1	8	8	1	1	8	1	1	8	8	1	8	1	6	1	1	1	0303	15	
	H14-69	8	1	8	1	1	1	8	8	1	1	8	1	1	8	8	1	8	1	8	1	8	1	0303	15	

ともに良好な成績であった。AおよびBローカスで一部のプローブに見られた施設間差は、手技や使用している装置等によるものと思われる。また反応性の低い傾向のプローブやアレル特性のあるプローブもみられたが、判定に支障をきたすものではなかった。各施設ともに発色不良やfalse positive等によるタイピングミスも無く正確にタイピングされていた。判定結果の表記法については、QCの場合、解釈によっては不一致と判断される可能性もあり、「アレル表記法と結果報告の原則について2000」に則した表記に統一して結果報告することが望ましい。

PCR-RFLP法の解析

烏谷竜哉, 竹内潤子, 奥山正明

愛媛県立衛生環境研究所, 疫学情報科 (臓器移植支援センター)

1. はじめに

PCR-RFLP法は、HLA領域においてDNAタイピングの普及が始まった当初から簡便で高精度な結果が再現性よく得られることから、自家調整も含めて多くの研究室や検査室で利用されてきた。しかし、WHOのHLA命名委員会で公認されるアリル数は年々飛躍的に増加し、PCR-RFLP法でアリルレベルのタイピングに対応するには、随時プライマーや使用する制限酵素を更新していく必要がある。今回、RFLP法を実施した各施設の協力により、それぞれの施設での問題点や方法を比較検討することができたので、QCの報告結果と併せて解析する。

2. 参加施設・方法

ローカス別の使用施設数を表1に示した。PCR-RFLP法はQCの結果報告の際に生データの回収が困難なため、今回すべてのRFLP法使用施設に対して、RFLP法単独での解析結果、誤判定の原因、問題点、使用プライマー、制限酵素等について郵送にて調査を行った。

クラスIのタイピングを実施した施設が4施設あったが、少数のため今回の解析からは除外した。

3. タイピング結果及び誤判定の要因

DRB1及びDQB1におけるRFLP法のタイピング結果を、各施設から報告された表記別に集計してそれ

ぞれ表2及び表3に示した。なお、DQA1及びDPB1については特に問題なく回答されていたので省略した。

RFLP法は自家調整で使用している施設が多いが、それぞれの施設で使用プライマーや制限酵素の組み合わせが異なることに加え、解析に使用している判定表が何時のNomenclatureアリルに対応しているかによって見かけ上の解像度が著しく異なるため、各施設のタイピング結果を比較する際には十分な注意

表2 PCR-RFLP法によるDRB1のタイピング結果

サンプル	アリル 1		アリル 2	
	タイピング結果	施設数	タイピング結果	施設数
#1401	0102	19	1202	19
	0102	18	1202	16
	01	1	12021	2
			12	1
#1402	0404	19		
	0404	12		
	0404/23/32	3		
	0404/13/23/32/37/42	1		
	0404/23/40	1		
#1403	0405	19	1106	19
	0405	12	1106	4
	0405/24/28/29/30	3	11	4
	0405/09/24/29/30	1	1104/06	3
	04051/053	1	1103/04/06	3
	04051	1	1104/06/34/38/42	1
	04	1	1103/04/06/25	1
			1104/06/38/+	1
			1103/04	1
			1104	1
#1404	0405	19	1302	20
	0405	12	1302	16
	0405/24/28/29/30	3	13	2
	0405/09/24/29/30	1	13021	1
	04051/053	1	1302/23/30/31/34	1
	04051	1		
#1405	0803	18	0901	15
	0803	12	0901	12
	08032	4	09012	2
	08032/10/12/14/18	1	09	1
	08	1		
#1406	0405	19	0406	19
	0405	11	0406	16
	0405/09/24/28/29/30	2	0406/20	1
	0405/24/28/29/30	2		
	04051	2		
	0409	1		
	04	1		
(0410)	3	(0420)	3	
(0411/17)	1	(0419/21)	1	

表1 PCR-RFLP法の使用施設数

ローカス	参加数	RFLP 使用施設		キット別使用施設数		
		施設数	利用率	自家製	DRLab	SMITEST
DRB1	75	20	27%	12	3	5
DQB1	47	16	34%	13	2	1
DPB1	14	14	100%	9	2	3
A,B,C	71	4	6%	4	0	0

が必要である。

(1)DRB1

一般的にグループ特異的PCRが使用されているが、DR4グループやDR52関連グループでは増幅されるアリルが多いため、他のグループと比べて解析が複雑となる傾向にある。今回のサンプルでは#1402のDRB1*0404, #1403, #1404, #1406のDRB1*0405, #1403のDRB1*1106においてambiguityの報告が多く見られた。特に#1406のDRB1*0405, *0406ヘテロ接合体は、制限酵素の組み合わせ次第では同じRFLPパターンとなるアリルペアが存在する (DRB1*0410,*0420及び*0411, *0419) ので、Sac II +Hph I やHae II +Hph I 等の追加の制限酵素処理が必要となる。

今回の誤判定は、#1403のDRB1*1106を*1103/04あるいは*1104と報告した施設がそれぞれ1施設あった。*1106と*1104は通常では区別する制限酵素がないので1104/06と報告すべきであり、表記上のミスと言える。また、DRB1*0405を*0409と判定した原因は、制限酵素Mnl I でのバンドパターンの読み間違いと推察される。

(2)DQB1

#1405においてDQB1*0303を*0301と報告した施設が1施設あった。原因はRFLPのバンドサイズを正確に読んだにもかかわらず、判定表をずらして見ってしまったという初歩的なミスであった。

また、DQB1の一部のアリル (DQB1*0201/02, *0301/09等) はexon3を解析する必要がある。#1401や#1403のDQB1*0301ではほとんどの施設が*0301と回答しているが、実際にexon3を確認して*0309を否定しているかは不明である。

4. 誤判定の原因及びRFLP法の問題点と利点

各施設が経験した誤判定の原因と、RFLP法の問題点、利点を集計した結果を表4に示した。誤判定の原因として最も大きなものは、制限酵素の失活等の管理ミスであり、失活によって生じるpartial digestionを含めると7割以上の施設が経験していた。問題点とも重複するが、近接しているバンドの区別にはある程度慣れが必要であり、各酵素の特性を把握することの重要性を多数の施設が指摘していた。

表 3 PCR-RFLP 法による DQB1 のタイピング結果

サンプル	アリル 1		アリル 2	
	タイピング結果	施設数	タイピング結果	施設数
#1401	0301	16	0501	16
	0301	13	0501	15
	03011	1	05011	1
	0301/09	1		
	0301/09/10/+	1		
#1402	0302	16		
	0302	15		
	0302/07/08	1		
#1403	0301	15	0401	15
	0301	12	0401	15
	03011	1		
	0301/09	1		
#1404	0301/09/10/+	1		
	0401	16	0604	16
	0401	16	0604/09	8
			0604	5
			0603/04/05/06	1
			0604/09/12	1
			06	1
	0303	16	0601	16
	0303	10	0601	15
	03032	5	06011	1
#1405	0301	1		
	0302	16	0401	16
	0302	15	0401	16
#1406	0302/07/08	1		

表 4 誤判定の原因, 問題点, 利点

(1) 誤判定の原因 (16 施設)	施設数
・制限酵素の失活等の管理ミス	7
・partial digestion (star 活性等)	5
・バンドの読み間違い(初歩的なもの)	4
・バンドが近接している場合の区別が困難	4
・転記ミス	2
・分注ミス	2
・Mnl I 等、サイズを読み取りにくい酵素がある	2
・非特異バンドの存在等	1
・判定表の見間違い	1
・反応液のコンタミネーション	1
・New allele 或いは稀少 allele の切断パターンが不明	1
(2) 問題点 (22 施設)	施設数
RFLP 全全般	
・塩基変異場所を認識する酵素が必要→アリル判定に限界	8
・バンドが近接していると判定が困難	6
・大量検体に向かない(労力が大きい)	6
・制限酵素の特性を把握する必要がある (特に additional な酵素で熟練が必要)	3
・時間がかかる	2
・切断されないパターンの場合、酵素の活性が不安	2
・プライマー部分や増幅領域外の解析が必要なアリルが増加	1
・特になし	1
自家製	
・制限酵素のクオリティの管理が難しい	5
・アリルの増加に伴い、制限酵素の種類が増える	2
・自家製では allele の更新が手間	1
キット	
・酵素が増えないので、新しいアリルへの対応が難しい	2
・メーカー側の new allele に対する対応が遅い	1
・キットが高価	1
(3) 利点 (16 施設)	施設数
RFLP 全全般	
・操作が簡単(専用の機器が不要、Generic タイピングが簡便)	6
・検査結果が明瞭 (FP, FN がない)	3
・少〜中規模の検体処理効率が良い	2
・再現性に優れている	1
自家製	
・安価	4
・PCR 産物を他法 (SSCP, SBT) に応用できる	2
・解像度を目的に応じて変更可能	2
・4析の解析ができる(?)	2
キット	
・キット化されているため判定も比較的容易 (パターン解析)	1
・キットの場合、プライマーや制限酵素の品質が保持され安心	1

最も避けなければならないのは、バンドサイズを読み間違えたり判定表を見間違えたりする単純ミスであり、複数の職員で確認する等の対策が必要と考えられた。

その他の問題点としては、塩基配列の変異場所を認識する制限酵素が必要なためRFLP法を用いたアレル判定の限界を多数の施設が指摘していた。また、自家製ではアレルの増加に伴い制限酵素の種類が増加して管理が一層難しくなるのに加え、判定表の更新作業も重荷になるが、キットに対しては新しいアレルへの対応に不満があるようであった。

一方RFLP法の利点としては、特殊な機器を必要とせず操作が単純で検査結果が明瞭であるということ、また、検査の目的に応じて解像度の調整が容易であり4桁を目指す場合には増幅産物を他法に利用できること、そして自家製では安価であることが重要なポイントであった。一方、キット化によるメリットも複数の施設から指摘された。

5. 各施設で使用するプライマー及び制限酵素

本法は自家調整が容易なため、キットを使用せず各施設独自の方法で解析している場合が多い。そこで、他施設の方法を知ること互いの検査精度を向上させることが可能と考え、プライマーの設定や制限酵素の選択等について調査を行った。特に問題のあったグループについてのみ以下に述べる。

(1) DRB1*01

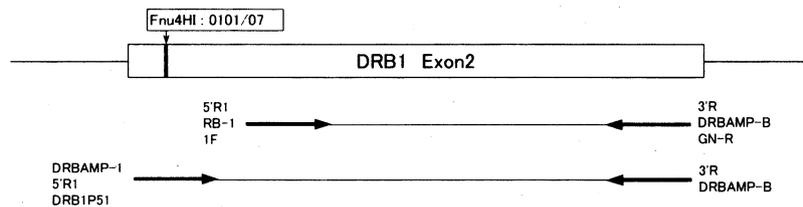
センスプライマーは大きく分けて2種類のプライマーが使用されていたが(図1)、いずれを用いても解析の精度に差はないと考えられた。

DRB1*0101と*0107とは

Fnu4H I (BsoF I)で区別可能であるが、両プライマーとも多型部位を増幅できないため現実には区別できない。この多型部位の上流にはDR1に特有のモチーフがないので、*0101/07が解析可能なDR1特異的PCRは困難と考えられる。

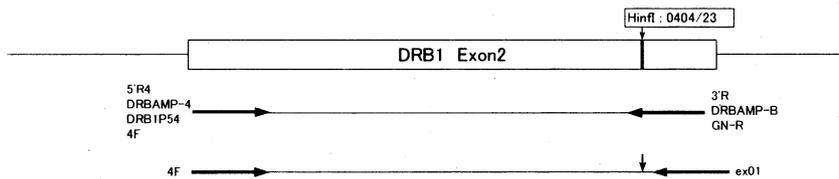
(2) DRB1*04

すべての施設がほぼ同じプライマーを使用していたが、解析対象とするNomenclatureが新しいほど多くの制限酵素を使用していた(図2)。DRB1*0404と*0423は通常のアンチセンスプライマーでは区別できないが、多型部位の下流側に設計したプライマー(ex01)を追加して解析している施設があった。また、DR4グループは解析対象アレルが多く、ヘテロ接合体の解析が困難となるため、2種類のアンチセンスプライマーで2つのグループに分けて解析す



	センスプライマー	アンチセンスプライマー	制限酵素	施設数
1	5'R1 GGGTTGCTGGAAAGATGCATCT	3'R CCGCTGCACCTGTGAAGCTCT	AvaII,PstI,HphI	3
	RB-1 GGGTTGCTGGAAAGATGCATCT	DRBAMP-B CCGCTGCACCTGTGAAGCTCT	AvaII,PstI PstI,MnlI,HphI	1
2	1F TGCGGTTGCTGGAAAGTTG	GN-R GCCGCTGCACCTGTGAAGCTCT	FokI,PstI,HphI	3
3	DRBAMP-1 TTC TTGTGGCAGCTTAAGTT	DRBAMP-B CCGCTGCACCTGTGAAGCTCT	MnlI,HphI,PstI,SacII	1
4	5'R1 TTGTGGCAGCTTAAGTTGAAT	3'R CCGCTGCACCTGTGAAGCTCT	AvaII,PstI	2
5	DRB1P51 TTC TTGTGGCAGCTTAAGTTGAA	DRBAMP-B CCGCTGCACCTGTGAAGCTCT	AvaII,PstI HphI,Sau96I	1

図1 DRB1*01 グループの PCR-RFLP



No.	センスプライマー	アンチセンスプライマー	制限酵素	施設数
1	5'R4 DRBAMP-4 GTTTCCTGGAGCAGGTTAAAC	3'R DRBAMP-B CCGCTGCACCTGTGAAGCTCT	SacII,AvaII,HinfI,HaeII,HphI,MnlI	7
	DRBAMP-4	DRBAMP-B	HhaII,HinfI,SacII,HphI,MnlI (FokI,BsrBI)	3
2	DRB1P54 CGTTCCTGGAGCAGGTTAAAC	DRBAMP-B CCGCTGCACCTGTGAAGCTCT	HinfI,SacII,Cfr13I,HhaI,RsaI,HphI(AciI,Tsp45I,SfaNI, BsrI,NlaIV,Hsp92II,MnlI)	1
	4F	GN-R GCCGCTGCACCTGTGAAGCTCT	HaeII,SacII,HinfI,HphI,MnlI	1
3	4F CGTTCCTGGAGCAGGTTAGAC	GN-R GCCGCTGCACCTGTGAAGCTCT	Fnu4HI(BsoFI),HhaI,MnlI,HphI,RsaI	1
op 4F	CGTTCCTGGAGCAGGTTAGAC	ex01 GCTCACCTCGCCGCTGCACT	HaeII,SacII,AvaII,HinfI,HphI,MnlI (FokI,DdeI,ApaI, Sau96I,BsrI, BsrBI,HinP1I,RsaI,Tsp45I,AciI,SfaNI)	1
	5'R4 GTTTCCTGGAGCAGGTTAAAC	3'R86V CTGCACCTGTGAAGCTCTCAC	HinfI (0404/23)	1
		3'R86G CTGCACCTGTGAAGCTCTCCA	(0401,0405,0407) 27allele	
			(0403,0404/23,0406,0410) 23allele	1

図2 DRB1*04 グループの PCR-RFLP

る施設があった。

(3)DRB1*03, *08, *11, *12, *13, *14

エクソン2ではDR52関連抗原を1つのグループとして増幅する方法が主流であるが(図3), 特にヘテロ接合体の解析を容易にするため, Hph I の認識部位にプライマーを設計して2あるいは4つのグループに分割して増幅する方法を採用する施設があった(図4)。DRB1*1201と*1206の区別にはエクソン3の解析が必要となるが, エクソン3のジェネリックプライマーを設計している施設が1施設あった。

(4)DRB1*07

DRB1*0701/03/04/05/06の5種類のアリルが報告されている現在では, 複数の制限酵素で解析を行わないと4桁の結果は得られない。特に, 5施設が使用している5'R7では*0701と*0703の置換部位を増幅できないので他のプライマーへの変更が必要である(図7)。

(5)DRB1*09

DRB1*09012, *0902の2種類のアリルが報告されているにもかかわらず, 制限酵素を使用していない施設が複数見られた。これらのアリルを区別するためには, 増幅後Rsa I やDde I で解析する必要がある。

(6)DQB1

各施設共通してDQB1*05, *06及び*02, *03, *04の2つのグループに分けて増幅しているが, センスプライマーには各施設で異なるプライマーが使用されていた。このうち, GH28及びGH28NLはエクソン部分の比

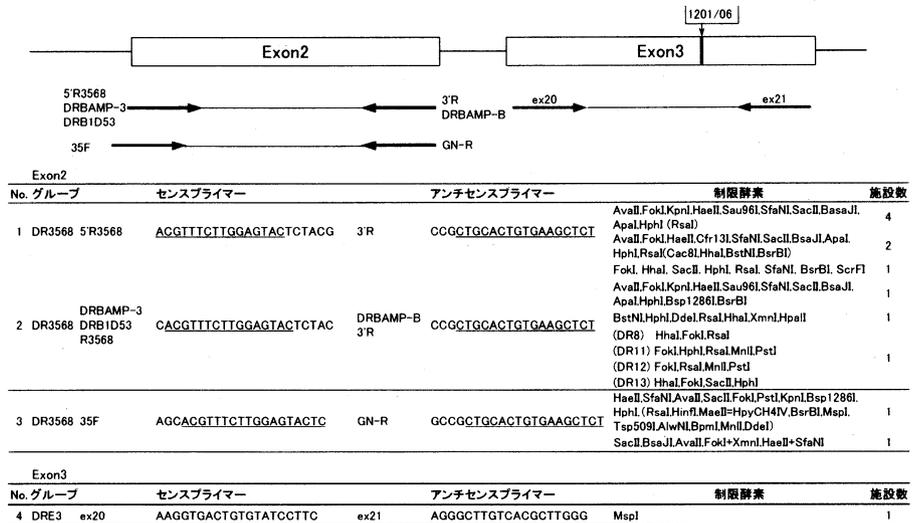


図3 DRB1*03,*08,*11,*12,*13,*14グループのPCR-RFLP(1)

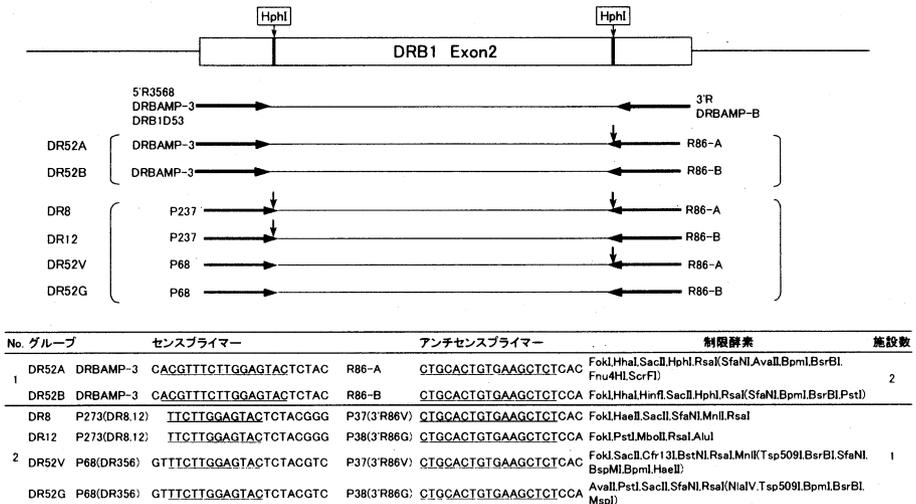


図4 DRB1*03,*08,*11,*12,*13,*14グループのPCR-RFLP(2)

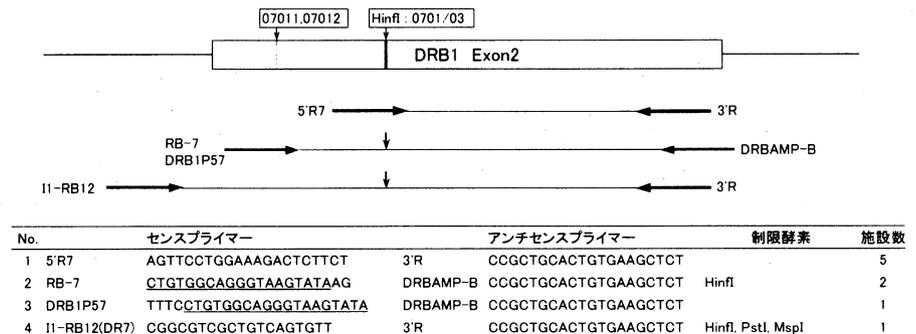


図5 DRB1*07グループのPCR-RFLP

較的内側に設計されているため, *0602, *0603, *0609及び*0302, *03032に区別できないアリルが存在する(図6)。4桁の結果を求める場合, より

上流側に設計されたプライマーに変更すべきである。

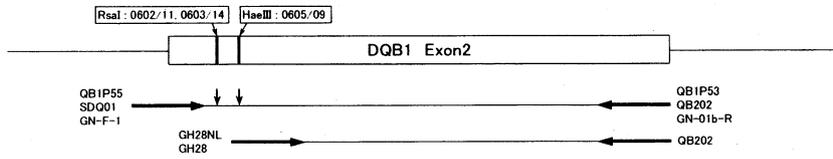
また、DQB1*0201/02及び*0301/09の区別にはエクソン3の解析が必要となる(図7)。SSP法を併用する施設も多いが、RFLP用のプライマーを設計している施設が2施設あった。

(7)DPB1

1つのグループとして増幅する施設が4施設、2あるいは4つのグループに分割して増幅する施設がそれぞれ3施設、1施設であった(図8)。いずれの方法でもほとんどのアレルが問題なく解析できると考えられた。

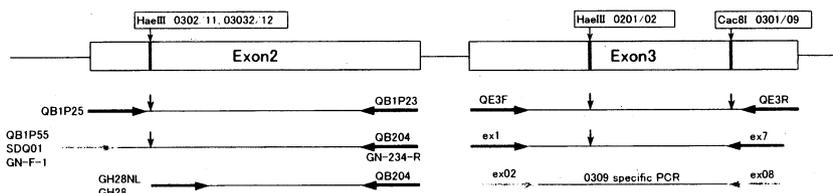
6. まとめ

近年のアレル数の飛躍的な増加に伴い、HLAタイピングは複数の方法を併用してはじめて高精度の結果が得られるようになってきた。RFLP法を用いて詳細な解析を行うには定期的なデータの更新等かなりの労力が必要となるが、タイピングの目的によって要求される精度は異なるので、RFLP法の限界を理解し、数あるタイピング法の1つの選択肢として使用すべきである。



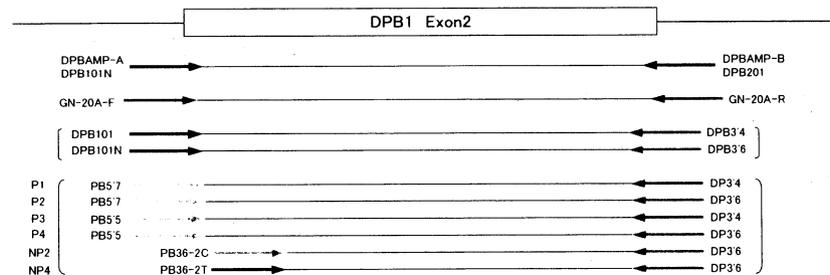
No.	センスプライマー	アンチセンスプライマー	制限酵素	施設数
1	QB1P55 GATTCCCGCAGAGGATTTTCG	QB1P53 TCCCGCGGTACGCCACCTC	BsaHI, HaeIII, HhaI, RsaI (Fnu4HI)	4
2	QB1P55 GATTCCCGCAGAGGATTTTCG	QB202 CACCTGCAGATCCCGCGGTACGCCACCTC	FokI, ApaI, HaeIII, SfaNI, BsmFI, HphI, RsaI	1
3	SDQ01 AGGGATCCCGCAGAGGATTTTCGTG	QB202 CACCTGCAGATCCCGCGGTACGCCACCTC	FokI, ApaI, HaeIII, SfaNI, BsmFI, DraIII, HphI, HaeIII, RsaI, HpaII	2
4	SDQ01 AGGGATCCCGCAGAGGATTTTCGTG	QB202 CACGGCAGATCCCGCGGTACGCCACCTC	RsaI, HhaI, HaeIII (BsmFI, SfaNI, BsaHI, Tsp45I, Fnu4HI, ApaI, MspI, AclI)	1
5	GN-F-1 CGGTGATTCCTCCGAGAGGATTTTCG	GN-01b-R CCGCGGAACGCCACCTCTGTATTT	BsaHI, HaeIII, HhaI, RsaI, DraIII, BsmFI	1
6	GH28NL GCATGTGCTACTTACCAACG	QB202 CACCTGCAGATCCCGCGGTACGCCACCTC	SfaNI, BsmFI, BsmFI, BsmFI, HaeIII, BsaHI, MspI, HaeIII, RsaI (BstI, Tsp45I)	1
7	GH28 CTCGGATCCGCATGTGCTACTTACCAACG	QB202 CACGGCAGATCCCGCGGTACGCCACCTC	FokI, HaeIII, HhaI, RsaI, BsaHI, AvaII	3

図6 DQB1*05,*06グループのPCR-RFLP



Exon2		Exon3			
No.	センスプライマー	アンチセンスプライマー	制限酵素	施設数	
1	QB1P25 GGATTTTCGTGTCACAGTTTAAGG	QB1P23 GTCGTGGGAGCTCCAACCTG	BsaHI, HaeIII, HhaI (Sau96I=Cfr13I)	4	
2	SDQ01 AGGGATCCCGCAGAGGATTTTCGTG	QB204 CACCTGCAGATCCCGAGCTCCAACCTGGTA	FokI, SacI, AvaII, HinfI, HpaII	2	
3	QB1P55 GATTCCCGCAGAGGATTTTCG	DQ202 CACCTGCAGTCCCGAGCTCCAACCTGGTA	BsaHI, HaeIII, HhaI (RsaI, AclI, BsmFI, MbolI, Cfr13I)	1	
4	GN-F-1 CGGTGATTCCTCCGAGAGGATTTTCG	GN-234-R CGTGGCGGAGCTCCAACCTGGTATTT	BsaHI, HaeIII, HhaI, RsaI, AclI	1	
5	GH28NL GCATGTGCTACTTACCAACG	QB204 CACCTGCAGTCCCGAGCTCCAACCTGGTA	FokI, BglI, SacI, BsaHI, BsmFI, HpaII	1	
6	GH28 CTCGGATCCGCATGTGCTACTTACCAACG	QB204 CACCTGCAGTCCCGGAGCTCCAACCTGGTA	SfaNI, BsmFI, BsmFI, BsmFI, HaeIII, BsaHI, MspI, HaeIII, RsaI (AclI)	1	
Exon3					
1	OE3F GGAGCCCGCAGTGCACATG	OE3R TCACAGTGGGAGGTGTAGA	HaeIII, CaeBI (MbolI, MnlI, MspI)	1	
2	ex1 TGGAGCCCGCAGTGCACATG	ex7 GTGGCAGGTGTAGACGTCTC	HaeIII	1	
3	ex02 ACAGTGCACATCTCCCGATC	ex08 CACGTGGCAGGTGTAGACCG	0301	1	
			0309	1	

図7 DQB1*02,*03,*04グループのPCR-RFLP



No. group	センスプライマー	アンチセンスプライマー	制限酵素	施設数
1	DPBAMP-A CCTCTCCCGCAGAGAATTAC	DPBAMP-B AGCCCTCACTCACCTCGGGC	ApaI, BstNI, BstUI, DdeI, EcoNI, FokI, RsaI, SacI	2
2	DPB101N GTGAAGCTTTCCCGCAGAGAATTAC	DPB201 CACCTGCAGTCACTCACCTCGGGCGTGTG	BspI, 1286I, BsmFI, Sau96I, DdeI, EcoNI, FokI, RsaI, BsrBI, DdeI, FokI, BstUI, EcoNI, BspI, 1286I, RsaI (BbvI, BstNI, ScaI)	1
3	GN-20A-F CCCCTCCCGCAGAGAATTAC	GN-20A-R CAAAGCCCTCACTCACCTGG	BspI, 1286I, BsmFI, Sau96I, DdeI, EcoNI, FokI, RsaI (BsrBI, BstNI, BstUI, PstI, MspI, MaeII, HpyCH4IV, MnlI, Cac8I, Fnu4HI, FauI)	1
4	DPB101N GTGAAGCTTTCCCGCAGAGAATTAC	DPB34 CAGGGTCACGGCCTCGT	AvaII, SacI, DdeI, BsaJI, BstUI, EcoNI, RsaI, FokI	2
		DPB36 CTGCAGGGTCATGGGCC	SacI, BsaHI, DdeI, FokI, BstUI, EcoNI, RsaI	
		DP34 CAGGGTCACGGCCTCGT	AvaII, SacI, BsmFI, DdeI, BsaJI, EcoNI, FokI, RsaI	
		DP36 CTGCAGGGTCATGGGCC	AvaII, SacI, BsmFI, DdeI, EcoNI, FokI	
5	DPB101N GTGAAGCTTTCCCGCAGAGAATTAC	PB34 CAGGGTCACGGCCTCGT	FokI, BstUI, EcoNI, RsaI, BbvI, SacI, DdeI, BsaJI	
P1	PB57 CTCCCGCAGAGAATTACGCTG	PB34 CTGCAGGGTCATGGGCC	FokI, BstUI, EcoNI	
P2	PB57 CTCCCGCAGAGAATTACGCTG	PB36 CTGCAGGGTCATGGGCC	FokI, BstUI, EcoNI, DdeI	
P3	PB55 CCGCGCAGAGAATTACCTTTT	PB34 CAGGGTCACGGCCTCGT	FokI, BstUI, EcoNI, DdeI	
P4	PB55 CCGCGCAGAGAATTACCTTTT	PB36 CTGCAGGGTCATGGGCC	FokI, BstUI, EcoNI, RsaI, ScaI, SacI, DdeI, MnlI	1
NP2	PB36-2C AACCGGGAGGAGTIA TCGC	PB36 CTGCAGGGTCATGGGCC	EcoNI, DdeI, RsaI	
NP4	PB36-2T CAACCGGAGGAGTIA TCGT	PB36 CTGCAGGGTCATGGGCC	EcoNI, DdeI, ScaI, FokI, SacI, RsaI	

図8 DPB1のPCR-RFLP

SBT法の評価

河田寿子, 成瀬妙子

東海大学医学部, 分子生命科学系

1.はじめに

QCワークショップにおいて昨年初めての総合評価が行われた, Sequencing Based Typing (SBT)法の本年は2回目の報告である。自家製も含め, 近年発売された機械, 試薬などの積極的な使用報告があり, 本法は今後のさらなる普及に期待が持たれる所でもある。

2.参加施設・方法

参加施設および使用された方法については表1にまとめた。参加施設数自体は昨年と同じであるが企業が1施設減り, 病院検査室が増加した。これはSBTに使用するシークエンサーについて, 安価なものが入手可能になったため導入されたと思われる。目的遺伝子は昨年と同様に, HLA-Bの使用を主とした, クラスIが中心になされていた。しかし, その使用目的はさまざまで, 通常の検査で使用している遺伝子座のみを解析した施設, また他法で判定されなかった検体のみを解析した, さらに通常は行わないがQCなので解析した, などQCをどのような形で施設が利用するかなどの意識の違いが表れていると感じた。

方法については, 各施設ごとに使用しやすいものを選んでいられると思われる。ここで区別をするならば, 自家製キットか, 判定ソフトを使用しているかないか, またキットについてはどの範囲まで解析しているかによって違いが表れるが, キット, 機械の詳しい解析については本誌にVGIとABIのSBT法の比較検討の報告があるので参照していただきたい¹⁾。

表1 参加施設・方法

1.参加施設数	12施設
内訳	
血液センター	5
大学・研究施設	3
企業	1
検査センター	1
病院検査室	2
2.SBT法を解析に用いた遺伝子座	
クラスI	
A,B,C遺伝子	3
A,B 遺伝子	8
B遺伝子のみ	1
クラスII	
DR,DQ遺伝子	1
DR,DP遺伝子	1
DRのみ	6
3.解析に使用した試薬について	
クラスI	
HLA Sequencing-Based Typing kit (ABI)	8
Allele SEQR (Forensic)	1
Gene kit HLA (VGI)	3
自家製	2
クラスII	
HLA Sequencing-Based Typing kit (ABI)	5
Allele SEQR (Forensic)	1
Gene kit HLA (VGI)	3
自家製	1

3.判定結果

昨年同様, 判定にSBTを使用している施設は, 用いていない施設に比べ高精度なタイピング結果の報告がなされ一致率も高かった。また標準化委員会で提唱されている表記法²⁾に従って報告されているので, 表記における混乱はほぼみられず, 一致率がさらに高まっていると感じた。今回の参加施設は前回とほぼ同様であったためか, 手技的なミスの減少も功を奏したと思われる。しかし, 今回の結果の中でプロトコール通りに行っているだけではSBT法で

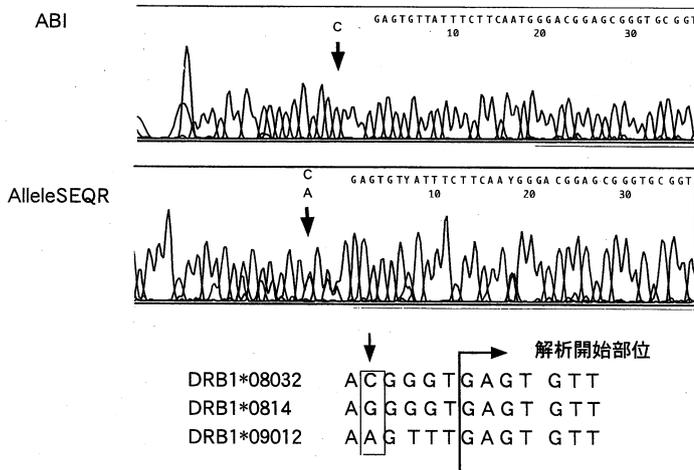


図1 DRB1*08032と*0814の判別

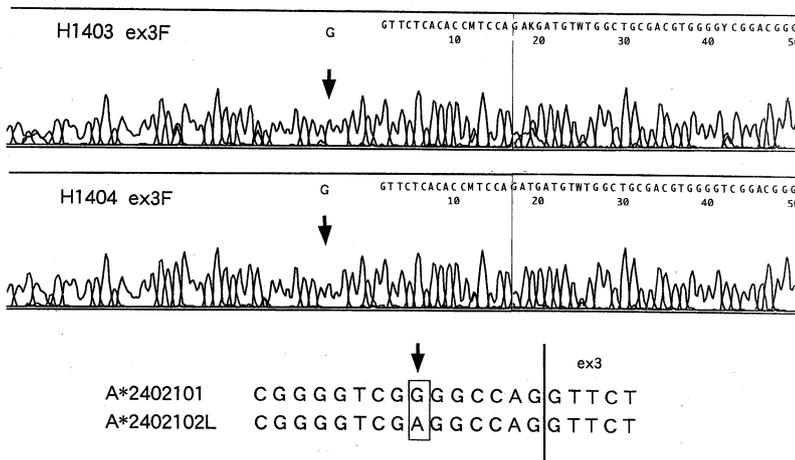


図2 A*2402101とA*2402102Lの判別

は決定できない対立遺伝子の存在がみられ、しかもそれは、シーケンスデータ上ではその違いが確認できるものであった。以下にその報告例を示す。

4.問題点

1) シークエンスデータと解析範囲

最初にDRB1遺伝子での解析結果について述べる。キット、自家製ともに、エクソン2のPCR産物でのシーケンス解析を行っている。自家製は市販の解析ソフトを使用していないことと、VGI-SBTは1施設のみを使用であることからここでの説明は除外する。

今回の検体H1405のDRB1遺伝子は、*0803と*0901のヘテロである。これをSBTで解析した場合

5桁表記の*08032、*09012となる。今回の回答例ではほとんどが5桁であったが、2施設でDRB1*0803/14の回答があった。使用試薬は、ABI 1施設、Forensic1施設であった。ABIのDRB1試薬は特異的Primerを使用しているためDR8とDR9は別々の産物を得ることができる。その場合はデータピークは1本しか出ないので判定ミスはないはずである。では、どのようなことが起こっているのか。

図1に実際の解析データを示した。上が特異的Primerを使用したABI社製の結果、下がDRB1を1組のPrimerで増幅したForensic社製での結果で、共にABI社の蛍光シーケンサーで泳動したのち、

ABI社のMatch Toolにて解析を行った。ここでシーケンスデータから塩基が削除されている部分がみられるが、これは解析ソフトがライブラリーの配列と照合するために、必要のない部分の情報を削除したためである。解析データの下にDRB1*08032と*0814、*09012の塩基配列を示したが、*08032と*0814の判別は解析開始部位から5塩基上流に存在するので、ソフト上では判別することができない。よって解析ソフトのみの結果を報告するのであれば、DRB1*0803/14は正解である。ソフト内でのライブラリーを確認したところ、2つの塩基配列情報は全く同一であった。しかし、実際のシーケンスデータは*08032と*0814を判別するに必要な部分は得られているので結果はDRB1*08032と回答するのが適切であると思われる。

次に昨年回答例で指摘のあったA*2402について報告する。

H1403、H1404、H1405のA遺伝子はA*2402を含むヘテロであるが、3施設でA*2402101と回答している。この対立遺伝子を特定するためには、イントロン部分のシーケンスを確認し、A*2402102Lとの判別を行わなければならない。実際のデータを図2に示した。これはABIのSBTキットのクラスI-Aエクソン3部分のシーケンスデータである。今回の組み合わせではエクソン3 Primer

setでのシーケンスに違いが表れている。クラス I の解析はエクソンのデータのみを使用しているの
で、示したデータも解析ソフトによってエクソン以
外の塩基が削除されている。しかしシーケンスで
はイントロン部分の配列も検出されており、エク
ソンから7塩基上流にその違いが存在する。今回はG
の塩基が確認され、A*2402101と判定された。こ
こで気をつけておくべきことだが、クラス I はエク
ソンの塩基配列が登録されているものがほとんど
で、イントロンの情報があるものは少ないことだ
る。今回はGがホモで確認されているため対立遺伝
子のイントロンの配列もGであることから判定し
ているが、イントロンの情報は確認されていない。
これらの例のようにSBT法の解析は、解析ソフトの範
囲外での判定も存在するということがある。

2) Ambiguityの扱いと記入方法

SBTは対立遺伝子の解析は容易だが、報告の記
入に迷うことがある。なぜならライブラリーに登
録された対立遺伝子名がそのまま結果として出て
くるからである。しかし本学会標準化委員会の提
唱する表記法の原則ができたため、本年は回答の
混乱は見られなかった。

だが、QCの報告用紙には判別できない対立遺
伝子に対するコメント欄が無いので別紙を添付し
た施設や、SBTの結果のみ別紙で報告した施設
もあった。さらにヘテロの対立遺伝子の組み合
わせに限りがある場合はどう報告するのかとい
った疑問も生じた。たとえばA/B, C/Dならば、
A-C, A-D, B-C, B-Dの4つの組み合わせが
考えられるが、SBTの解析結果よりA-C, B-D
の2つの可能性しかない場合にもやはりコメン
トが必要であろう。そして、SBTのみでは判
別できない対立遺伝子が存在するにもかかわらず
、遺伝子頻度を考慮して対立遺伝子を特定して
いた施設もあった。これもコメントが必要ではな
いだろうか。

5.まとめ

今回の報告は実際のデータより得られた問題
点を中心にまとめた。今後QCワークショップが
回数を重ねるにつれて、また異なる問題点が
でてくることが予想される。その時はまたこ
の場で討議し、より

正確な判定ができるように検討を重ねるべき
と考える。

他法においては日本人のタイピングをより
正確に検出できるキットの開発が望まれている。
その場合判定に重要なもの以外の対立遺
伝子候補の削除が考えられる。だがSBT法
は直接読んだ塩基配列が登録されている
すべての対立遺伝子にたいして照合され
る。よって、種類の増加や人種間にみ
られる頻度は無視して結果がだされて
くる。さらにライブラリーとして登
録されている対立遺伝子情報は塩基
配列の全長が示されていないものも
あるため、Ambiguityが増える可
能性がある。よって判定された遺
伝子候補数が他法と比較して多い
場合も考えられる。しかし、SBT
法は他法のキットでは検出できな
い塩基配列を正確に解析できる所
が、最大の利点である。この利
点を最大限に活用し、日本人の
正確なタイピングをする技術が
HLA認定技師に求められてくる
であろう。技術と知識の両方が
伴ってSBT法の良さが、より
発揮されると思われる。

参考文献

1. 吉川枝里, 中島舞子, 河田寿子他: Gnen Kit HLA sequencing Assay (VISIBLE社) と Sequencing based typing Kit (Applied Biosystems社) 法の比較検討. *MHC* 9:78-83, 2002.
2. 日本組織適合性学会HLA標準化委員会: アリル表記法と結果報告の原則について2000, *MHC* 7:131-132, 2000.

〔最新情報：“玉手箱”〕 最新アレル情報

小林 賢

防衛医科大学, 校検査部

はじめに

「Nomenclature for factors of the HLA system, 2002」が European Journal of Immunogenetics, Human Immunology と Tissue Antigens 誌に掲載されるが、この中に命名法のルール変更が記載されている。会員の方においても重要な情報となると思われるので、その内容を翻訳し、掲載することにした。原文は、HLA Informatics Group のホームページ (http://www.anthonynolan.org.uk/HIG/lists/new_nomenclature.html) を参照して頂きたい。また、その英文を翻訳して掲載したが、意識せずに原文をなるべく忠実に訳している。そのため、多少意味が分かりづらいかもかもしれないが、意図は理解できるものと思う。

また、今回は、MICA 遺伝子のアレルについての最新シーケンス情報を図に掲載する。

HLA アレル名の拡大

(Nomenclature for factors of the HLA system, 2002 から引用)

HLA 遺伝子がコードするタンパク質の異なるアレルを識別するために4桁コードを使用する規則が、1987の命名法報告において最初に施行された。1990年に、5桁目が、エクソン内の同義（非符号化）置換だけが異なっているシーケンスを区別できるようにするために追加された。これらの規則が採用されたとき、この命名法システムはすべてのシーケンスされた HLA アレルを収容できると予想された。残念なことに、それは特定遺伝子のアレル数が現在の命名規則で可能な最大値に急速に接近しているように、そのケースになるということは分かっていた。

特に、3つの問題領域がある；第一に、同義置換

のために使用される5桁目は、9種類のアレルだけを識別することができる。すでに、A*0201には6種類の命名されたアレルが存在する：A*02011からA*02016である。そして、G*0101には8種類のアレルが存在する：G*01011からG*01018である。第二の問題領域は、一桁目と二桁目によって定義されるアレル・ファミリー内で、最高99のバリエーションを識別するために使用される3桁目と4桁目にある。99種類のアレルを上回る最初のアレル・ファミリーは、すでに73種類のバリエーションが現在までに命名されているB*15ファミリーである。そして、すでに50種類のバリエーションが命名されているA*02とDRB1*13ファミリーが続く。最も差し迫った問題は、DP遺伝子にある。最初の2桁（99種類のアレルを収容できるだけのシステム）の異なる組み合わせで、非同義（符号化）置換によって異なる全てのアレルを命名するために1989年に決定された。最も最近割り当てられた名前はDPB1*9201であった。そのため、あと8種類のコーディングシーケンスが報告されたら、新しく発見されたDPB1アレルを命名するための能力がこのシステムに残されていない。

この話題については多くの議論があった。コロンのあるいはセミコロンのによって切り離された慎重なフィールドでアレル名の分裂を含め、異なるいくつかの選択が考慮された。利用可能な名前数を制限しない一方、このオプションは、手近に問題の解決があまりにも根本的そして破壊的になると委員会によって最終的に見なされた。既存のデータベース構造の変化を制限するために、アレルの既存フォーマットに対して最小の変化で解決を追求するように決定された。

以下の決定は、3つの重大な問題を解決することに労を惜しまなかった。

- a. 各アレルの最高99種類の同義置換を与えている現在の4桁目と5桁目との間に特別な桁を一桁導入する。これは、完全なアレル名を8桁に拡大する。その内訳は、アレル・ファミリーを定義している最初の桁（それは血清学的ファミリーに一致している）、コード領域の変異を記述している3桁目と4桁目、同義置換を記述している5桁目と6桁目、そしてイントロンの変異あるいは5'または3'領域での変異を記述している7桁目と8桁目である。
- b. 変異型をコードする総数が99を越えるケースには、最初のを延長するために第二の系列が使用されることになる。例えば、B*15アレル・ファミリーについては、B*95系列が使用され、新しく追加されたB*15アレルのために利用される。従って、B*1599の次に付けられるB*15アレルは、B*9501になる。同様に、A*92系列は、A*02アレル・ファミリーの第二の系列として利用される。
- c. HLA-DPB1アレルについては、既存のシステム内で新しいアレルを割り当てることに決められた。それゆえに、DPB1*9901が割り当てられた後は、DPB1*0102, DPB1*0203そしてDPB1*0302などと続く。

同義置換のための付加的な桁の導入は直ちに実施されることになる。そして、表に示すように、現在の5桁目以降が命名されている全てのアレル名は命名が変えられることになる。新しいアレル・シーケンスの提出によって命令された時、他の変化は必要に応じて施行されることになる。

表 HLAアレルの命名法

命 名	指 示
HLA	HLA領域とHLA遺伝子に対する接頭辞
HLA-DRB1	特定のHLA遺伝子座（すなわちDRB1）
HLA-DRB1*13	DR13抗原をコードするアレル・ファミリー
HLA-DRB1*1301	特定のHLA アレル
HLA-DRB1*1301N	ヌルアレル
HLA-DRB1*130102	同義置換で相違するアレル
HLA-DRB1*13010102	コード領域外に変異をもつアレル
HLA-DRB1*13010102N	コード領域外に変異をもつヌルアレル

〔寄稿〕 日本のHLA研究の歴史と邂逅

能勢 義介

兵庫県赤十字血液センター

HLA抗原の歴史と発展

1950年代半ばにフランスのDausset先生らによって発見されたHLA抗原は、世界のHLA学者による国際組織適合性会議（以下国際HLA会議）により発展してきた。またアジア・オセアニア地域においても日本が中心となりアジア・オセアニアHLAワークショップが開催された。国内では日本HLAワークショップ、日本MLCワークショップが開催され日本人のHLA抗原解析が行われた。海外でも各地域においてアメリカHLA学会、ヨーロッパHLA学会など活発に行われた。国内では日本組織適合性研究会（現在の日本組織適合性学会）が年2回実施され、さらに地方においても中部、四国、近畿などでHLA研究会が開催された。そして日本移植学会や、

日本輸血学会、日本免疫学会にHLA部門の発表の場が常設された。このようにHLAは国際レベルで組織的に解析が行われた事より急速に進歩を遂げていった。日本においても多くの先生方の努力により、日本人のHLAが発展、解明されてきた。比較的初期から関わってきたひとりとしてその歴史と内容を紹介する。

1. 国際組織適合性会議（国際HLA会議）

HLA抗原は、世界のHLA研究者が参加する国際HLA会議により、HLA抗原の種類、機能、さらに生物学的、臨床的意義などの解析が世界的規模で行われた。主催者は世界の参加施設より提出された

表1 国際HLA会議のあゆみ

回数	開催年	開催国	主催者	主な内容
1	1964年	アメリカ	D.B. Amos	検査法
2	1965年	オランダ	J.J. van Rood	検査法
3	1967年	イタリア	R.Ceppellini	HL-A
4	1970年	アメリカ	P.I.Tarasaki	LA, four座
5	1972年	フランス	J.Dausset	MCL, AJ
6	1975年	ノルウエー	F.Kissmeyer-Nielsen	HLA-A, B, C, D
7	1977年	イギリス	W.Bodmer	DR
8	1980年	アメリカ	P.I.Tarasaki	クラスII複数座
9	1984年	ドイツ	E.D.Albert & W.Mayr	DQ, DP, 生化学
10	1987年	アメリカ	B.Dupont	遺伝子のRFLP解析
11	1991年	日本	辻、相沢、笹月	遺伝子解析
12	1996年	フランス	D.Charron	遺伝子解析
13	2002年	アメリカ	J.A.Hansen	遺伝子解析

(敬称略)

HLA抗血清を集積，各施設に分配する。そして各施設が検討した各人種の膨大なHLA抗原データを集約解析し，世界のHLA研究者が一同に会した国際HLA会議で検討するワークショップ形式で行われた。会議では各研究者により提唱された新抗原を，さらにその他複数の研究者により追認され，さらにWHOのHLA抗原命名委員会に諮りHLA抗原が命名公認されてきた。また各人種のHLA抗原頻度や連鎖不平衡，人種特有のHLAや，臨床的には主に移植，疾患との関係等が検討され，HLAの臨床的意義が解明されてきた。

筆者がHLA研修のため留学したアメリカのデューク大学免疫学教室のAmos先生が，1964年最初の第1回国際HLA会議を主催された。その後第8回まで約2年に一回，その後の第13回までは3~6年に一回開催されてきた（表1）。当初はHLA抗原やHLA遺伝子座の解析を中心に行われた。HLA検査方法も当初は重要なテーマで，リンパ球分離法，T，Bリンパ球分離法，リンパ球細胞毒検査法などが確立されてきた。HLA遺伝子座も第5回まではHLAクラスI遺伝子座は2種に分類されLA座（現在のA座）とfour座（現在のB座）と呼ばれていた。第6回からHLAクラスI抗原に新しくA座とB座の間に存在するC座（古い呼び名のAJ座）が加わり，現在のHLA-A，B，Cに分類された。またHLAの呼び名もHL-Aから現在のHLAに変更された。クラスIの対立抗原の種類は第4回国際会議ではじめて分類され，A座が7種，B座が13種に分類され，現在はA座28種，B座61種，C座10種が公認されている。HLAクラスII抗原は第5回国際会議で細胞学的方法のMLCにより検出される抗原系として最初に報告され，現在のクラスII領域の存在が示された。その後第6回で正式にHLA-D抗原と命名，対立抗原も6種（Dw1~6）公認された。第7回でD抗原を血清学的に検出するBリンパ球タイピングが導入され，D抗原と高い相関する抗原系としてHLA-DR（D related）が命名され，対立抗原も7種（DRw1~7）が公認された。またD抗原も新たに5種公認され11種となった。さらに第8回でD抗原が新たに1種公認され12種，DR抗原が新たに4種公認され10種となった。また第8回ではHLAクラスII領域にDR座とは異なる

る第2，第3の遺伝子座の存在が提案され，第9回で現在のHLA-DR，DQ，DPの3種の遺伝子座に分類された（図1）。特にDP座はShawらにより，PLT

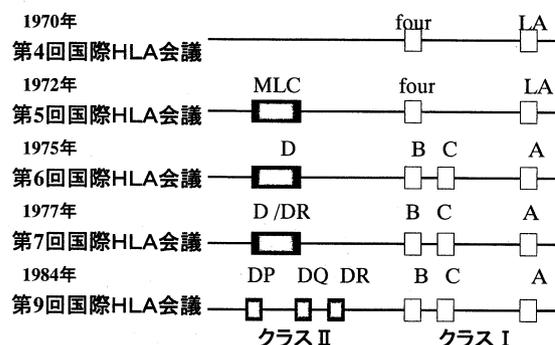


図1 HLA遺伝子座の歴史

(primed lymphocyte typing) 手技で発見された抗原系である。各対立抗原もDR抗原が新たに6種公認され16種，そしてDQ抗原が新しく3種（DQw1~3），DP抗原が新しく6種（DPw1~6）公認された。現在ではD抗原が26種，DR抗原が24種，DQ抗原が9種，DP抗原が6種となっている（表2）。

表2 国際HLA会議とHLA抗原

回	年	開催都市	A	B	C	D	DR	DQ	DP	計
1.	1964	Durhan								
2.	1965	Leiden								
3.	1967	Turin								
4.	1970	Los A	7	13						20
5.	1972	Paris	16	15						31
6.	1975	Aarhus	20	20	5	6				51
7.	1977	Oxford	20	31	6	11	7			75
8.	1980	Los A	20	40	8	12	10			90
9.	1984	Munch	23	47	8	19	16	3	6	122
10.	1987	New Y	24	52	11	26	20	9	6	148
11.	1991	横浜	27	59	10	26	24	9	6	161
12.	1996	Saint M	28	61	10	26	24	9	6	164

初めて日本人のHLA抗原の解析が行われたのはノルウエーで開催された第6回からで，日本の4施設（北大，東大，東海大，九大）から10種の日本人由来のHLA抗血清が提出され，日本人のHLA抗原が初めて検討された。筆者も当時東海大に送られてきた178種のHLA抗血清を使用し日本人の家族調査を行った。そして日本人より相沢先生がSa1（現在のB54），十字先生がJ-1（現在のB54），内藤先

生がSN-2（現在のB67）の新抗原を提唱報告したが、日本人のみのデータだけでは公認されなかった。

1977年イギリスのオックスフォードで開催された第7回国際HLA会議は、日本から14施設16名（相沢、赤座、板倉、十字、加藤、河野、松山、内藤、能勢、斉藤、笹月、関口、高橋、辻、脇坂、吉田）の先生方が参加した。筆者も初めて技術員として参加でき、国際会議の雰囲気味わう機会を得た。また念願の日本人より前回提唱されたJ-1, Sa1がBw54に、吉田孝人先生、赤座達也先生らが提唱された40.3がBw48に、また日本HLAワークショップで提唱されたB50.2がBw52に命名公認された。

1980年アメリカで開催された第8回HLA国際HLA会議は、UCLAのTerasaki先生が第4回に引き続き主催されたこともあり、日本から15施設31名（相沢、辻、赤座、秋山、廣田、井上、板倉、十字、金子、柏木、加藤、小林、小森、前田、松山、宮本、森本、守口、内藤、中山、西村、能勢、太田、佐田、佐藤、関口、高田、徳永、宇野、脇坂、吉田）の先生方が参加した。また当時Terasaki先生の研究室に留学されておられた中田先生、岩城先生、大森先生らが参加された。日本人からの新抗原は板倉克明先生が提唱されたHOK-1がBw59に、日本HLAワークショップで提唱されたB40の分割抗原の40.1がBw60に、40.2がBw61に、笹月健彦先生が発見されたDHOがDw12に、日本HLAワークショップで提唱されたDR7JがDRw9に命名公認された。またBw52を辻 公美先生が、Bw54を内藤説也先生が、Bw59を相沢 幹、板倉克明先生がCw7を笹月健彦先生が、DRW6Yを関口 進先生が、DRw17を中田精三先生が、DRw18, 19を大森耕一郎先生が、MT2を十字猛夫先生が、MT3を中田精三先生が世界のデータをまとめられた。そしてHLA-Dワークショップに参加した東海大、北里大、東京医科歯科大の日本人のデータを笹月健彦先生がまとめ報告された。

1984年ドイツで開催された第9回は日本の12施設が参加し、主に子供が3人以上有する家族を中心に、補体などのクラスⅢを含むHLA領域の解析が行われた。また世界中からHLAモノクローナル抗

体95種と、HLA-Dホモ接合体細胞（HTC）92種が提出され、2次元電気泳動によるHLAクラスⅡ分子の解析が行われた。またこれらのHTCが世界のスタンダードHTCとして登録された。またHLAクラスⅠとクラスⅡ間に位置する補体などが存在するクラスⅢ領域も徳永勝士先生らにより詳細に解析されまとめられた。日本人からの新抗原は第6回国際会議で内藤説也先生が提唱されたSN2がBw67に、徳永和夫先生が提唱されたTOK1がCw7に、クラスⅡ抗原として笹月先生が提唱されたDYTがDw15に、筆者が提唱したDEnがDw19に、日本HLAワークショップで提唱されたNJ1がDRw13に、NJ2がDRw12に、NJ3がDRw14に、十字先生が提唱されたTB21がDQw3に命名公認された。

1987年アメリカで開催された第10回は日本の18施設が参加し、倉知 透先生が提唱されたTS-1がBw75に、黒田 誠先生が提唱されたCx46がCw11に、筆者が提唱したDKyがDw23に、脇坂明美先生が提唱されたDQWaがDQw4に、前田平生先生が提唱されたTA10がDQ7に命名公認された。またこの国際会議より本格的にHLA領域のRFLPによる遺伝子解析が行われた。そしてDR抗原はDRA遺伝子とDRB1～B4遺伝子、DQ抗原はDQA1とDQB1遺伝子、DP抗原はDPA1遺伝子とDPB1遺伝子により構成されていることが解明された。そして次回日本で最初の国際HLA会議の開催が決定した。

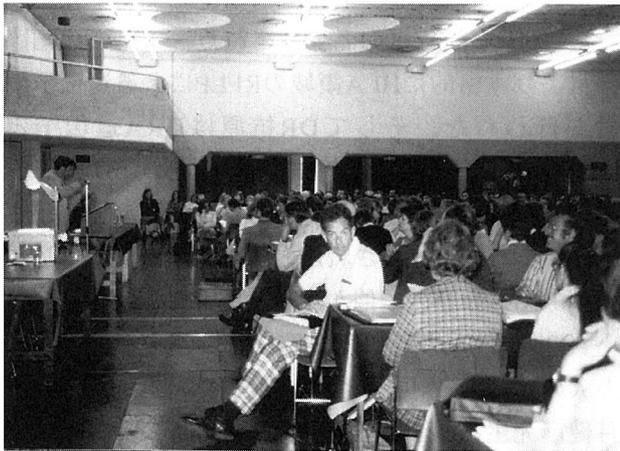
1991年日本で第11回国際HLA会議が横浜で、東海大の辻 公美先生、北大の相沢 幹先生、九大の笹月健彦先生の3者により開催された。この国際会議は53カ国、244施設、日本からも41施設が参加し、800名を越す過去最高規模の国際会議となった。この会議では橋本光男先生が提唱されたB5135がB5102に、斉藤 敏先生が提唱されたBTAがB5103に、前田平生先生が提唱されたHR6がDR1403に命名公認された。HLA遺伝子解析はクラスⅠのHLA-A遺伝子が41種、B遺伝子が61種、C遺伝子が18種、クラスⅡのDRA遺伝子が2種、DRB1遺伝子が60種、DRB3遺伝子が4種、DRB4遺伝子が1種、DRB5遺伝子が4種、DQA1遺伝子が14種、DQB1遺伝子が19種、DPA1遺伝子が8種、DPB1遺伝子が38種に分類整理された。同時に既知HLA-D抗原とDRB1遺

伝子，既知DP抗原とDPB1遺伝子の1対1の高い相関が明らかにされた。特に金子剛久先生が提唱されたDKT2がDRB1*0406，筆者が提唱したDP-Cp63がDPB1*0901と同定された。さらに各対立遺伝子のエキソン部の塩基配列が報告され，現在のHLA遺伝子領域の基礎が築かれた。特に木村彰方先生らが膨大なデータの解析に携われた。

1996年フランスで開催された第12回は，50カ国，約500名の参加を得て開催された。詳細は参加者の日本組織適合性学会誌の学会印象記を参考いただきたい（1997年vol.3）。そして第13回は2002年5月アメリカのHansen先生により第13回国際HLAワークショップが開催された。

2. アジア・オセアニア組織適合性会議

1979年第1回アジア・オセアニア組織適合性会議は筆者が当時所属していた東海大の辻公美先生により箱根で開催された。参加9カ国，33施設，提出



第7回国際HLA会議

HLA抗血清504種（クラスIが402種，クラスIIが102種），パネルセルはクラスIが1702種，クラスIIが831種にて検討された。この時は筆者も研究室の一員としてお手伝いさせていただいたが，国際学会となると2年前から準備が開始され，事務局の設置から始まり教室員の役割分担，HLA抗血清の配布，データの回収，コンピュータへの入力，そしてデータ解析は東海大学の大型コンピュータを夕刻から早朝まで使用した（昼間は他の部署が使用するため）。毎日毎日早朝から膨大なデータがプリントされ，データ入力をチェックして解析し，午後から解析データのミーティングが連日行われた。今更ながらワークショップの大変さを身に沁みて感じたものである。主に解析は教室員の小森清和先生がその責を負われ，毎晩コンピュータと格闘された。筆者は解析とまとめの裏方としてサポートさせていただいたが，キー血清の選択と抗原のタイピング基準設定に苦慮した。特にクラスII抗血清の解析は施設により当時はデータに偏りがあり，施設を限定しキー血清を選択した。その結果既知DR抗原以外に5種のクラスターを作る抗血清が検出されAOH1~5と命名した。そして13種の人種の遺伝学的解析が安田先生を中心に行われた。第2回以降の開催を表3に示したが現在まで第6回開催され，特にアジア・オセアニア地区の人種のHLA解析が行われた。日本では第1回に続き第3回を北大の相沢幹先生が開催，そして2003年第7回を東海大の猪子英俊先生により軽井沢で開催される予定である。



第3回アジア・オセアニア組織適合性会議

表3 アジア・オセアニアHLAワークショップのあゆみ

回数	開催年	場所	主催者
第1回	1979年	日本	辻 公美
2	1981年	オーストラリア	M.J. Simons
3	1986年	日本	相沢 幹
4	1992年	オーストラリア	R.L. Dawkins
5	1995年	タイ	P. Chiewsilp
6	1998年	インド	N. K. Mehra
7	2003年	日本	猪子英俊

(敬称略)

3. 日本HLAワークショップ

筆者がHLAを始めてから3年後の1974年、大阪で東海大の辻 公美先生、阪大の森 隆先生により記念すべき第1回日本HLAワークショップが開催された。その当時は現在のHLA-A座をLA座、B座をfour座と呼んでいた時代（その他の座は発見されていない）で、抗血清も各施設の努力で妊婦血清や分娩血より採取し、今では到底考えられないタイピング用抗血清作製の苦難の時代であった。またリンパ球細胞毒テスト（LCT）で使用する補体の入手は困難を極めた。当時は現在の良質な抗血清や補体は市販されておらず、すべて各施設の自主努力に頼っていた。特に補体は何十匹もウサギを入手し、脱全血採取し各ロット検定でパスしたウサギの補体のみをプール分注、凍結保存し検査時に解凍溶解して使用した。このような時期に最初の日本HLAワークショップが開催されたのである。

ワークショップは主催者が各参加施設から提出されたHLA抗血清を集約し、参加施設に分配する。参加施設は独自のパネルセルとのデータを主催者に送付し、参加施設全体のデータで抗血清が解析さ

れ、HLA抗体の特異性や新たなHLA抗原の発見、日本人のHLA抗原頻度などが検討された。特に当時は既知抗原（白人由来抗原といっても良い）と異なる日本人の解析データが報告され、参加者は日本人特有の新しいHLA抗原発見に大いに興奮した。

表4に現在まで開催された日本HLAワークショップを示した。第3回までは主に日本人のHLAクラスI抗原が解析されたが、1975年の第6回国際組織適合性会議でMLC抗原に相当する現在のクラスII抗原がBリンパ球の血清学的手法（LCT）により検出が可能となり、1976年の第4回からHLAクラスII抗血清の解析が行われた。今おもえばBリンパ球の純度も抗血清の特異性、力価も不十分でさらに良質な補体の入手にも苦慮したが、阪大の松山正経先生、森 隆先生らのコンピューター解析より、提出抗血清でクラスターを作る2種のグルーピングの解析がやっとであった。しかし白人の細胞とは明らかに反応性が異なりクラスIと同様、クラスII抗原にも日本人特有の抗原が示唆された。

第5回以降は日本の多くの施設は国際HLAワークショップ（国際組織適合性会議）に参加し、また日本人由来のHLA抗血清も多く提出され、国際レベルで解析され大きな成果を収めた。特に人種差による反応性は人種特異抗原の発見に寄与し、日本人から白人に見られないB54抗原が最初に公認された。当

表4 日本HLAワークショップのあゆみ

回数	開催年	場所	主催者	主な内容
第1回	1974年	大阪	辻, 森	血清学的解析 (HLAクラスI)
2	1975年	福岡	大河内, 野本	血清学的解析 (HLAクラスI)
3	1976年	千葉	宮島	血清学的解析 (HLAクラスI)
4	1976年	大阪	森, 松山	血清学的解析 (HLAクラスI, II)
5	1977年	千葉	宮島	血清学的解析 (HLAクラスI, II)
6	1978年	東京	関口	血清学的解析 (HLAクラスI, II)
7	1980年	大阪	宮島	血清学的解析 (HLAクラスI, II)
8	1982年	東京	十字	血清学的解析 (HLAクラスI, II)
9	1985年	福岡	内藤	血清学的解析 (HLAクラスI, II)
10	1990年	浜松	吉田, 赤座	血清学的, 生化学的, 遺伝子解析
11	1993年	鹿児島	園田, 屋敷	遺伝子解析

(敬称略)

初HLAワークショップの参加はHLA抗血清を保有していることが条件となり、特定の限られた施設の参加の感が強かった。しかし当初は10施設前後であったが第8回では45施設となり、ワークショ

プを進めるごとに参加施設が増えた。第10回からは遺伝子解析のDNAタイピングが導入され、新しく東海大の猪子英俊先生、太田正穂先生らのPCR-RFLP法が報告された。1993年鹿児島大の園田俊郎先生が開催された第11回日本HLAワークショップでは、DNAタイピングのPCR-RFLP, PCR-SSOP, TMA-HPA, PCR-MPH, PCR-SSO, PCR-SSP, PCR-SSPA, PCR-SSCPなどの方法論が検討され、現在のHLA遺伝子検査の基礎を作っていた。

それ以降日本HLAワークショップは実施されていないが、ワークショップには膨大な費用と人材を要すること、初期のワークショップの目的である国際的な実力をつけ、日本人のHLA解析を行い臨床に還元していくなどの目的が十分達成されたことより、現在は発展的解消に至っている。これまで定期的に行きわたったのは各主催者の先生方の惜しみない努力と、参加者の熱い思いが続けられた源であった。特に日本HLAワークショップでは当時千葉大の宮島哲也先生、川崎市立井田病院の関口進先生、そして東大の十字猛夫先生らが中心的な役割を果たされた。

4. 日本MLCワークショップ

日本HLAワークショップは主にHLA抗血清を使用した解析であるがMLCワークショップは細胞と細胞の反応性により検出されるHLA-D, DP抗原の解析である(表5)。

日本での第1回MLC (LD) ワークショップは1976年北里大の柏木登先生が主催された。6施設(北大, 北里大, 千葉大, 東海大, 愛知県がんセンター, 阪大)が参加し、提出された日本人由来HLA-DHTC13種、柏木先生の努力により入手された第6

表5 日本MLCワークショップのあゆみ

回数	開催年	場所	主催者	方法	主な内容
第1回	1976年	大阪	柏木	MLC	日本人由来HTCsの特異性
2	1978年	東京	笹月	MLC	MLC手技の確立, 日本人のD抗原
3	1982年	神奈川	柏木	MLC	日本人のD抗原の多様性
4	1985年	東京	井上	PLT	PLT細胞, 日本人のDP抗原

(敬称略)

回国際組織適合性会議(国際HLA会議)で検討された既知のHLA-DHTC(DW1~6, 107, 108)8種を、日本人細胞42種で検討した。しかし提出された日本人由来HLA-DHTCは既知HLA-DHTCとは相関を示さず、全て新しいHLA-D抗原の可能性を示したが、日本人集団のHLA-D抗原を詳細に解析するまでには至らなかった。

第2回MLCワークショップは第7回国際HLA会議が行われた翌年の1978年、当時の東京医科歯科大の笹月健彦先生により東京で開催された。参加19施設(旭川医大, 北大, 千葉大, 国立佐倉, 東大医科研, 北里大, 東海大, 東大, 東京女子医大, 川崎井田, 東京医科歯科大, 浜松医大, 愛知県がんセンター, 阪大, 広大, 九大, 福大, 福岡血液センター, 長崎大), 提出された日本人由来HLA-DHTC29種、日本人パネル220種で前回より大規模に日本人のHLA-D抗原の解析が行われた。当時すでに笹月先生が日本人より発見されていた新しいHLA-D抗原のDHO, DYTを含む日本人由来HLA-DHTC29種と白人由来細胞より検出された既知HLA-D抗原(HLA-Dw1~8)を使用し、日本人のHLA-D抗原の集団解析がはじめて組織的に行われた。そして日本人由来HTCの29種の相互MLCより7種のHLA-D特異性が同定された。そしてわずか1種のみがDw1と同一で、他の6種(DHO, DC1, DYT, DKT2, DEN, DHi-2)は新しいHLA-D抗原特異性を示した。特に提出されたHTCの6種がDHO, 4種のHTCがDYTと同等であり、笹月先生が報告された新抗原のDHO, DYTは、日本人特有で一般的なHLA-D抗原であることが確認された。また日本人の集団解析より各HLA-D抗原頻度や、その他のHLA-A, B, C, DR抗原との連鎖不平衡も解析され大きな成果が得られた。同時に

MLC技術のワークショップも検討され、日本でのMLC技術のスタンダード法が確立された。このワークショップでは教室員の兼岡秀俊先生、太田伸生先生が活躍された。

第3回MLCワークショップは第8回国際HLA会議の2年後の1982年、再度北里大の柏木 登先生と金子剛久先生が担当された。今回は主に日本人由来HLA-DHTCのクラスタリングを行い、そのDクラスターに内在するマイナーD抗原を解析することを目的とした。参加は前回より少ない6施設（兵庫医大、愛知がんセンター、東海大、東京医科歯科大、広島大、北里大）で、HLA-DHTCは主にDw12, DYT, DKT2, DEn特異性を有する23種が提出された。方法としてHLA-DHTC間の相互MLCと日本人パネル及び今回新たに日本人の家族調査が加わった。HLA-DHTCによる日本人パネル、家族細胞のMLC反応、各HTC間のMLC反応において、同一のHLA-DHTC間で反応差が観察され、MLC反応を誘引する遺伝子座は複数存在する可能性が示された。

1985年第4回MLCワークショップが愛媛県衛生研究所の井上博雄先生により主催され、筆者も一緒にお手伝いをさせていただいた。主な目的は1981年ShawらによりPLT (primed lymphocyte typing) 手技により発見された、新しいHLA抗原であるSB (secondary B cell) 抗原 (1984年第9回国際HLA会議でDP抗原と公認命名される) の日本人解析で、日本の8施設（東海大、北里大、東大医科研、東京女子医大、慶応、大阪府立、愛媛衛研、鹿児島大）が参加した。提出されたPLT細胞は42種で白人細胞より作製された既知HLA-DPのPLT細胞 (DPw1~5) が11種、日本人細胞より作成されたPLT細胞 (DPw4, 5, Cp63) が11種、さらにHLA-Dの特異性を示す日本人由来PLT細胞22種が提出され、日本人パネル173種により解析が行われた。今回提出された日本人由来PLT細胞のDPw4, DPw5は、白人由来既知PLT細胞と同一のクラスターをつくり、白人と差を認めなかった。筆者らが発見したCp63は既知DP抗原と相関を示さず、既知DP抗原とは異なる新しい特異性を示す抗原であることが確認された。HLA-Dに相関するPLT細胞は今回、解析評価に値するデータが得られず今後の課題となった。

このようにMLCワークショップは計4回実施されたが、HLA-DHTC細胞や、PLT細胞が入手困難であること、また操作が複雑で無菌操作やアイソトープの専門技術が必要であること、またHLA-D, DP抗原検出がDNA解析の進歩により可能になったこと等から、日本HLAワークショップと同様発展的解消となった。特に筆者は限られた参加施設の東海大の一員として直接データを提出でき、MLCワークショップに参加できたことを嬉しく思っている。また板倉、秋山、佐丸、大森、金子、早坂、森本、広瀬、福田、井上、甲斐、松尾の各先生らが直接データに参加し、そして柏木 登先生、笹月健彦先生、井上博雄先生らがMLCワークショップの中心的な役割を果たされた。

5. 日本組織適合性研究会と日本組織適合性学会

日本人のHLA研究を発展、促進する目的で、東京女子医大の村上省三先生を会長として日本組織適合性研究会が発足し、1973年第1回日本組織適合性研究会が北大の相沢 幹先生の世話人で開催され、特別講演として十字猛夫先生が「HL-A系の現状と問題点」、辻 公美先生が「腎移植とHL-A系」を話された。その後春の日本輸血学会前日と、秋の日本移植学会前日の年2回途切れることなく毎回開催され、1991年までの18年間に36回開催された。特に国際ワークショップが行われる前後の研究会は活発な討論が行われた。また必ずその時折のHLAのトピックスがシンポジウムに取り上げられ、日本におけるHLA発展に大きく寄与した。研究会が18年間継続できたのは、当初から関わられてこられた相沢 幹先生、野本亀久雄先生、辻 公美先生、十字猛夫先生、吉田孝人先生、板倉克明先生、赤座達也先生、内藤説也先生、柏木 登先生、関口 進先生らのご努力によるものである。そして1992年悲願の学会に昇格し研究会は発展的解消となり、相沢 幹先生を会長として日本組織適合性学会が発足した。そして1992年、第1回日本組織適合性学会が北里大の柏木 登先生により東京で開催され、2002年、埼玉医大の前田平生先生により川越で第11回日本組織適合性学会が開催された (表6)。

表6 日本組織適合性学会のあゆみ

回数	開催年	場所	総会長
第1回	1992年	東京	柏木 登
2	1993年	旭川	片桐 一
3	1994年	浜松	吉田孝人
4	1995年	福岡	内藤説也
5	1996年	東京	十字猛夫
6	1997年	東京	関口 進
7	1998年	箱根	猪子英俊
8	1999年	京都	佐治博夫
9	2000年	鹿児島	園田俊郎
10	2001年	福岡	笹月健彦
11	2002年	川越	前田平生

(敬称略)

6. 近畿HLA研究会

1984年当時の大阪府立病院の井上博雄先生、国立循環器センターの雨宮 浩先生らが中心となり近畿HLA研究会が発足、雨宮 浩先生が第1回近畿HLA研究会を主催された。当時は国内でも日本組織適合性研究会で日本組織適合性学会は存在しなかった。現在まで年一回の19回、近畿地域で毎回約80名の参加者を得て開催されている(表7)。地方のHLA研究会は初期の段階で幾つか存在したが、現在まで継続しているのは当研究会のみである。事務局は大阪府立病院の多田正義先生が担当され研究会の存続に大きな力を注がれた。筆者も世話人として第8回近畿HLA研究会を主催させていただいた。内容はその時折のトピックスを主題とした講演、シンポジウムを、一般演題は毎回平均10題程度が発表された。特にHLAを始めて間もない若い研究者の発表の場として、当研究会は力を発揮した。そして翌年第20回記念近畿HLA研究会を阪大の高原史郎先生が主催される予定で、事務局も近畿大の椿和央先生に移された。そして今年の第11回日本組織適合性学会において、当研究会が本学会の地方会として昇格することが認められた。

7. その他HLA研究に関係した学会

日本移植学会(現在まで37回開催)、日本輸血学

会(現在まで50回開催)、日本免疫学会(現在まで31回開催)には必ず組織適合性の一般演題がありHLAの研究の成果の多くがこれらの学会で発表された。特に移植、輸血の両学会前日に日本組織適合性研究会(現在の日本組織適合性学会)が開催された。国外では特に1972年アメリカのHLA研究者が中心となり第1回アメリカHLA学会が開催された。筆者も第3回に参加したが、日本と比較して参加人数、参加国、学会規模がはるかにしのいだ。特にHLA技術者が中心となって構成されているのが大きな特徴である。内容もその時折の技術的な課題がテーマに上がり、小さな技術問題を真剣に討論され、技術者として大きな感銘を受けた。現在まで第27回が開催され、多くの日本人研究者が参加発表された。

その他筆者の個人的な研究会として1988年から現在まで、臨床の先生方を対象に約2ヶ月に1回の割合で、73回の臨床HLA研究会を大阪で開催した。

表7 近畿HLA研究会のあゆみ

回	開催年	場所	世話人
第1回	1984年	大阪	雨宮 浩
2	1985	大阪	井上博雄
3	1986	西宮	福西孝信
4	1987	京都	佐治博夫
5	1988	大阪	永尾暢夫
6	1989	西宮	谷脇清助
7	1990	大阪	白倉良太
8	1991	大阪	能勢義介
9	1992	大阪	高原史郎
10	1993	大阪	佐田正晴
11	1994	大阪	橋本光男
12	1995	大阪	白倉良太
13	1996	大阪	平野敦之
14	1997	大阪	吉田克法
15	1998	大阪	村田紀和
16	1999	大阪	椿 和央
17	2000	奈良	石谷昭子
18	2001	京都	丸屋悦子
19	2002	大阪	永尾暢夫

(敬称略)

代表世話人として大阪市大の一色 玄先生，鍋谷クリニックの鍋谷 登先生そして筆者も世話人としてお手伝いをさせて頂き，小規模な研究会であるが猪子英俊先生や成瀬妙子先生にも幾度かご講演いただいた。また14年間継続できたのはHLAが臨床と深い関係にあり，この分野が日進月歩であったことが要因と考えている。

以上特に日本の初期のHLA研究の歴史を回顧し，日本のHLAの基礎と今日の発展を築き上げてこられた緒先輩，緒先生方の並々ならぬ努力に対し敬意と感謝を申し上げます。

また日本のHLA研究の初期から，日本の研究者に惜しみない協力と，常に我々を支えて下さったUCLAのTerasaki 先生にお礼と深謝を申し上げます。

〈国際学会印象記〉 第13回 International Histocompatibility Workshop and Congress.

森島 泰雄

愛知県がんセンター病院, 血液化学療法部

第13回のInternational Histocompatibility Workshop (IHWS)とInternational Congress of Histocompatibility & Immunogeneticsが前者は2002年5月12日から16日までカナダのBritish Columbia州のビクトリアで、引き続き後者がアメリカのWashington州シアトルで5月18日から22日まで開催された。ビクトリアはバンクーバーからほど近い小島の入り江に面した英国風の趣のあるリゾート観光地で、期待どおりシーフード（とくにサーモン）が美味しかった。IHWSを終えた参加者は船でシアトルに移動した。ビクトリアとシアトルとは国が違うが隣町で、シアトルからは富士山のようなレイニエ山が遠望できた。

この伝統あるWorkshopは言うまでもなくHLAの歴史を作ってきた国際会議であるが、前回は1996年のパリであり、実に7年ぶりの開催となった。この会議のchairmanはシアトルFred Hutchinson Cancer Research Center (FHCRC) のDr. John A Hansenである。FHCRCは造血幹細胞移植（以前は骨髄移植と呼ばれていた）のメッカとされているところであり、Dr E. Donnall Thomasはノーベル賞を授与されている。Dr HansenはFHCRCでHLAに関する基礎的な研究とともに、造血幹細胞移植とHLAについての解析で世界をリードしてきた移植医で、わたしの古くからの友人である。

わたしはといえば、16年前にDr Bo Dupontがニュージャージーのプリンストンとニューヨークで主催したこの会議に出席した（実際にはactiveには何もしなかった）ことがあるだけで、その後HLA自体の研究からは遠ざかり、造血幹細胞移植や骨髄バンクなどの臨床を行っていたので、この会議にはあ

まり縁がなかった。2001年の7月頃、吉田考人先生と十字猛夫先生から「Dr HansenがこのWorkshopにおいてHCT (hematopoietic cell transplantation) componentを企画しているから」とお誘いを受けたのがきっかけで、このHCT componentに参加することとなった。

さて、ビクトリアでのworkshopは以下に示すようなcomponent working groupが組織され、これまでのworkshopの進め方とおなじように、データ解析や討議が行なわれた。

Hematopoietic cell transplantation

NK/KIR genes

Anthropology

Biology of HLA-E, F, and G

Chronic rejection

Cytokine gene polymorphism

Database and biostatistics

Genomic analysis of human MHC haplotype

HLA expression in cancer

Serology, null alleles, and class I phenotype

Disease

Technology

ClassicalなHLAに加えて、HLA-E, F, GやNK gene, microsatellite markerの解析やその臨床応用などが焦点になった。HCT component以外のセッションを聞く余裕はなかったが、serologyでは日赤の十字先生、石川先生、柏瀬先生、田中先生、HLA-E, F, Gでは石谷先生、cytokine geneでは吉田先生、石川先生、microsatelliteでは猪子先生らが積極的に参加されていた。HCT componentには15カ国から24の骨髄バ

ンクや移植センターが参加し、非血縁者間移植2574例のドナーと患者のHLA遺伝子型と臨床データが集積された。日本骨髄バンクを介する移植(JMDP)とそれ以外の移植(non-JMDP)とを対比するかたちで進められ、日本ではHLA-A, B抗原の違いが、移植後の生存にとり重要であり、欧米では重要性でないとの従来主張を確認するところから始まり、これらの違いを解く鍵は、両者におけるHLA genotypeの違いであり、許容できるHLA(移植免疫反応を惹起しないHLA型の組み合わせ)の存在とその解析が焦点になり、このworkshop終了後もHCT componentは続くことになった。

二つの会議の間に「the Second International Symposium on Minor Histocompatibility Antigens」と「HLA-peptide Ligands」のシンポジウムが開催され、いずれも現在のトピックスでありタイムリーな企画であった。

SeattleのCongressでは、すべての発表演題の中からfeatured symposiumとして12題が選ばれたが、その中に東海大安西先生らの「genomic comparison between chimpanzee and human by nucleotide sequencing within class I region」と奈良医大石谷先生らの「protein expression and peptide binding suggest unique and interesting functional roles for HLA-E, F, and G in maternal-placental immune recognition」の発表があり良かった。さらに、東海大猪子先生によるkeynote address「From HLA to human genome diversities: Disease gene mapping by association analysis using microsatellite」は注目を集めた。

Congressにおける個々の発表のついて解説できるだけの余裕はなかったが、全体として古典的なHLAから始まった解析がその他の組織適合性抗原へと広がりを見せ、組織適合性研究は21世紀の入り新たな展開を見せていることが確認できた。抗原や遺伝子とその多型が具体的に同定されてきて、わたしの専門とする造血幹細胞移植への応用を考える上でも参考になった。

私にとって、このworkshopでは解析と討議で大変であったが、昔20年ほど前にDr Bo Dupontのラボに留学していた当時のフェローの幾人かがこの会議でも活躍しており、FHCRCのDrsとも話ができ、な

つかしく楽しい会議であった。

次回の会議はオーストラリアで開催されることになった。

日本組織適合性学会からのお知らせ

日本組織適合性学会 会告

評議員による理事選挙の結果、新しい理事10名、監事2名が選出されました。また、日本組織適合性学会会則第11条、第12条に基づき、会長が佐田正晴評議員を指名理事として推薦し、理事会において本件が承認されました。平成14年9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. 新理事・監事(任期2年)

理 事 氏 名	担 当
猪 子 英 俊	会 長
赤 座 達 也	会 計
木 村 彰 方	会則、将来構想検討
五條堀 孝	渉 外
笹 月 健 彦	渉 外
佐 治 博 夫	標準化
佐 田 正 晴	認定制度
十 字 猛 夫	事務局
徳 永 勝 士	編 集
西 村 泰 治	教 育
前 田 平 生	選挙管理
監 事 氏 名	担 当
片 桐 一	監 事
吉 田 孝 人	監 事

2. 近畿HLA研究会の地方会としての承認

本学会の関連下部組織として活動を行っております、近畿HLA研究会が、本学会の地方会として承認されました。これに伴い、地方会への参加は、認定制度の単位として算定可能になりました。

3. 認定制度について

1) 平成14年度 認定HLA検査技術者登録者および認定組織適合性指導者登録者名簿

平成14年度の認定HLA検査技術者および認定組織適合性指導者特例認定申請者のうち、審査の結果認定・登録された方についての名簿を本誌253、254ページに掲載しております。

2) 認定制度規則の改定について

認定HLA検査技術者および認定組織適合性指導者認定制度規則の改定が行われました。新規則は、本誌247ページに掲載しております。

3) 平成15年度の特例認定について

平成15年度の特例認定については、認定組織適合性指導者のほかに、認定HLA検査技術者についても実施されることとなりました。申請にあたっては、本誌に掲載されております特例認定実施要項を御参照下さい。

4) クオリティコントロールワークショップ(QCWS)について

従来、標準化委員会にて行って参りましたQCWSは、これより認定制度委員会にて運営されることとなります。

4. TFB学術奨励賞(仮称)について

株式会社TFBより本学会に対し、HLA及びこれに関わる分子生物学分野の研究、技術の開発に対する助成が行われることとなりました。助成金額は計70万円で、平成15年度より開始される予定です。本件の運用にあたっては、今後理事会が中心となってTFB学術奨励賞(仮称)として主に若手の研究者、技術者への助成を行ってゆく予定です。

日本組織適合性学会 平成13年度決算報告書

自 平成13年4月1日

至 平成14年3月31日

(収入の部)	決算	予算	差異
会 員 年 会 費	3,683,650	3,360,000	-323,650
前 受 け 金	59,000	0	-59,000
学 会 誌 広 告 費	1,100,000	1,100,000	0
Q Cワークショップ	937,685	400,000	-537,685
学 会 誌 販 売	115,280	30,000	-85,280
利 息	2,646	4,000	1,354
当 期 収 入 合 計	5,898,261	4,894,000	-1,004,261
前 年 度 繰 越 金	4,433,167	4,433,167	0
合 計	10,331,428	9,327,167	-1,004,261

(支出の部)	決算	予算	差異
大 会 援 助 金	2,000,000	2,000,000	0
学 会 誌 作 成 費	3,037,650	2,900,000	-137,650
旅 費	28,380	200,000	171,620
通 信 費	268,315	250,000	-18,315
事 務 費	61,608	50,000	-11,608
会 議 費	6,675	50,000	43,325
事 務 委 託 費	530,255	400,000	-130,255
Q Cワークショップ	186,126	400,000	213,874
当 期 支 出 合 計	6,119,009	6,250,000	130,991
次 年 度 繰 越 金	4,212,419	3,077,167	-1,135,252
合 計	10,331,428	9,327,167	-1,004,261
当 期 収 支 差 額	-220,748	-1,356,000	-1,135,252

平成13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

会計監事 柏木 登、吉田孝人

日本組織適合性学会 平成14年度予算

自平成14年4月1日
至平成15年3月31日

(収入の部)	平成14年度	13年度(決算)	差異
会員年会費	3,800,000	3,683,650	116,350
前受金	0	59,000	-59,000
学会誌広告費	1,100,000	1,100,000	0
QCワークシヨップ	400,000	937,685	-537,685
学会誌販売等	100,000	115,280	-15,280
利息	2,000	2,646	-646
当期収入計	5,402,000	5,898,261	-496,261
前年度繰越金	4,212,419	4,433,167	-220,748
合計	9,614,419	10,331,428	-717,009

(支出の部)	平成14年度	13年度(決算)	差異
大会援助金	0	2,000,000	-2,000,000
学会誌作成費	3,000,000	3,037,650	-37,650
旅費	200,000	28,380	171,620
通信費	250,000	268,315	-18,315
事務費	50,000	61,608	-11,608
会議費	50,000	6,675	43,325
事務委託費	500,000	530,255	-30,255
QCワークシヨップ	400,000	186,126	213,874
当期支出計	4,450,000	6,119,009	-1,669,009
次年度繰越金	5,164,419	4,212,419	952,000
合計	9,614,419	10,331,428	-717,009
当期収支差額	952,000	-220,748	1,172,748

注：次年度大会援助金は12年度に支払い済み

日本組織適合性学会 平成15年度予算(案)

自平成15年4月1日
至平成16年3月31日

(収入の部)	平成15年度	14年度(予算)	差異
会員年会費	3,800,000	3,800,000	0
前受金	0	0	0
学会誌広告費	1,100,000	1,100,000	0
QCワークシヨップ	0	400,000	400,000
学会誌販売等	100,000	100,000	0
利息	100	2,000	-1,900
当期収入計	5,000,100	5,402,000	-401,900
前年度繰越金	5,164,419	4,212,419	952,000
合計	10,164,519	9,614,419	550,100

(支出の部)	平成15年度	14年度(予算)	差異
大会援助金	1,000,000	0	1,000,000
学会誌作成費	3,000,000	3,000,000	0
旅費	200,000	200,000	0
通信費	250,000	250,000	0
事務費	50,000	50,000	0
会議費	50,000	50,000	0
事務委託費	500,000	500,000	0
QCワークシヨップ	0	400,000	-400,000
当期支出計	5,050,000	4,450,000	600,000
次年度繰越金	5,114,519	5,164,419	-49,900
合計	10,164,519	9,614,419	550,100
当期収支差額	-49,900	952,000	-1,001,900

注：QCワークシヨップ経費は15年度より認定制度特別会計に移管する。
予算の承認が執行年度の半ばになるため次年度案も作ることにした。

認定制度委員会 平成14年度予算

自平成14年4月1日
至平成15年3月31日

(収入の部)	平成14年度	13年度(決算)	差異
申請料(指導者)	1,160,000		1,160,000
申請料(技術者)	1,850,000		1,850,000
講習会参加費	236,000		236,000
利息	10		10
当期収入計	3,246,010	0	3,246,010
前年度繰越金	0		0
合計	3,246,010	0	3,246,010

- 86 -

(支出の部)	平成14年度	13年度(決算)	差異
旅費	80,000		80,000
通信費	20,000		20,000
事務費	250,000		250,000
会議費	80,000		80,000
実技研修費委託費	290,000		290,000
QCワークショップ			
会場費	120,000		120,000
講師費	0		0
当期支出計	840,000	0	840,000
次年度繰越金	2,406,010		2,406,010
合計	3,246,010	0	3,246,010
当期収支差額	2,406,010	0	2,406,010

認定制度委員会 平成15年度予算(案)

自平成15年4月1日
至平成16年3月31日

(収入の部)	平成15年度	14年度(予算)	差異
申請料(指導者)	300,000	1,160,000	-860,000
申請料(技術者)	350,000	1,850,000	
講習会参加費	50,000	236,000	
QCワークショップ	400,000		
利息	10	10	0
当期収入計	1,100,010	3,246,010	-2,146,000
前年度繰越金	2,406,010	0	2,406,010
合計	3,506,020	3,246,010	260,010

(支出の部)	平成15年度	14年度(予算)	差異
旅費	80,000	80,000	0
通信費	10,000	20,000	-10,000
事務費	100,000	250,000	-150,000
会議費	100,000	80,000	20,000
実技研修費委託費	75,000	290,000	-215,000
QCワークショップ	400,000		400,000
会場費	80,000	120,000	-40,000
講師費	250,000	0	250,000
当期支出計	1,095,000	840,000	255,000
次年度繰越金	2,411,020	2,406,010	5,010
合計	3,506,020	3,246,010	260,010
当期収支差額	5,010	2,406,010	-2,401,000

注：QCワークショップ経費は15年度より認定制度特別会計に移管される。
予算の承認が執行年度の半ばになるため次年度案も作ることにした。

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、申請の前年度までに次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 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) 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) 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) 別表により、5年間で資格審査基準が30単位以上あること。但し、当学会の大会への参加が5単位以上含まれていなければならない。
- 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（実技試験を含む）を行う。但し、実技試験はQCワークショップの参加歴がある場合には免除される。
- 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、更新の前年度までに次の各項のすべてを備えていなければならない。
- (1) 認定証の登録年度から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。但し、当学会の大会への参加が5単位以上含まれていなければならない。
 - (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) 認定証の登録年度から5年間に学会が主催する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、申請の前年度までに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年度から3年を経過した者。
 - (2) 学会の会員歴が通算して7年以上あること。
 - (3) 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) 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) 5年間で学会が主催するQCワークショップ集会の参加歴があること。
 - (6) 別表により、5年間で資格審査基準が70単位以上あること。但し、当学会の大会への参加が10単位以上含まれていなければならない。
- 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、更新の前年度までに次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 認定証の登録年度から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。但し、日本組織適合性学会誌における原著論文、総説、または学会の大会における発表が15単位以上含まれていなければならない。また、原則として当学会の大会への参加が15単位以上含まれていなければならない。
- (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) 認定証の登録年度から5年間に学会が主催する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。

平成14年9月25日改正

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。

(平成14年9月25日追加)

平成15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。	日本組織適合性学会地方会、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、オーストラリア・東南アジア組織適合性検査学会に限る。
	共著者は一つにつき5単位とする。	
学 会 参 加	筆頭者は一つにつき5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。但し、抄録記録があるもの。
	共著者は一つにつき3単位とする。	
	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。
学 会 参 加	一回につき3単位とする。	日本組織適合性学会地方会、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、オーストラリア・東南アジア組織適合性検査学会に限る。
	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。但し、5年間で10単位を限度とする。
	一回につき5単位とする。	但し、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 会 参 加	一回につき5単位とする。	日本組織適合性学会または組織適合性技術者認定制度委員会が主催するものに限る。
	一回につき2単位とする。	日本組織適合性学会または組織適合性技術者認定制度委員会が主催する以外の講習会で委員会が承認したものに限り、5年間で10単位まで認める。但し、認定HLA検査技術者に限る。
QCワークショップ 集 会 参 加	一回につき5単位とする。	

平成14年度認定HLA検査技術者登録者名簿 (敬称略)

(認定期間：平成14年9月23日～平成19年9月22日)

登録番号	氏名	登録番号	氏名
G02001	榊 澤 憲 治	G02030	吉 田 佐 織
G02002	藤 野 恵 三	G02031	猿 渡 晃
G02003	樋 口 香 織	G02032	白 鳥 滋 久
G02004	小 原 節 子	G02033	石 井 博 之
G02005	佐 藤 薫	G02034	門 伝 一 江
G02006	土 田 文 子	G02035	高 原 勝 行
G02007	山 岡 学	G02036	植 木 純 一
G02008	佐 藤 一 弘	G02037	石 川 登志子
G02009	加茂谷 邦 麿	G02038	木 原 正 明
G02010	道 野 淳 子	G02039	堀 切 順 子
G02011	橋 口 裕 樹	G02040	高 陽 淑
G02012	李 悦 子	G02041	小 野 明 子
G02013	安 田 広 康	G02042	吉 武 俊 一
G02014	男 山 順 子	G02043	中 村 淳 子
G02015	浅 尾 洋 次	G02044	弓 指 佳津江
G02016	久 山 芳 文	G02045	藤 井 まり恵
G02017	大 澤 敬 子	G02046	市 原 孝 浩
G02018	飯 田 好 江	G02047	今 井 重 美
G02019	山 崎 正 明	G02048	金 信 子
G02020	平 田 康 司	G02049	昆 理 子
G02021	溝 渕 詔 子	G02050	松 下 正 毅
G02022	大久保 光 夫	G02051	河 野 節 美
G02023	伊 藤 八重子	G02052	山 口 恵津子
G02024	吉 本 千 尋	G02053	平 田 蘭 子
G02025	岸 野 光 司	G02054	今 井 厚 子
G02026	大久保 みどり	G02055	松 見 達 也
G02027	中 條 聖 子	G02056	河 田 寿 子
G02028	小 川 公 明	G02057	前 田 初 代
G02029	関 本 達 也	G02058	内 田 純 子

平成14年度認定組織適合性指導者登録者名簿 (敬称略)

(認定期間：平成14年9月23日～平成19年9月22日)

登録番号	氏名	登録番号	氏名
S02001	河賀泰子	S02019	安尾美年子
S02002	大田智	S02020	酒巻建夫
S02003	木村彰方	S02021	松浦宏美
S02004	松崎龍典	S02022	永尾暢夫
S02005	安藤等	S02023	能勢義介
S02006	坂内誠	S02024	猪子英俊
S02007	小林孝彰	S02025	小河原悟
S02008	大谷文雄	S02027	中島文明
S02009	小林賢	S02028	吉田孝人
S02010	阿藤みや子	S02029	柏瀬貢一
S02011	太田正穂	S02030	安藤麻子
S02012	益尾清恵	S02031	川井信太郎
S02013	大熊重則	S02032	前田平生
S02014	兼岡秀俊	S02033	佐田正晴
S02015	加藤道	S02034	福森泰雄
S02016	十字猛夫	S02035	成瀬妙子
S02017	赤座達也	S02036	佐治博夫
S02018	徳永勝士	S02037	丸屋悦子

第7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

認定制度委員会

委員長 佐田正晴

QC ワークショップ部会 (仮称) 担当 木村彰方

昨年の本学会で、DNA タイピングのクオリティーコントロール (QC) ワークショップの担当を、標準化委員会から認定制度委員会に変更することが決定されました。そこで、認定制度委員会では、新たに QC ワークショップ部会 (仮称) を設け、この部会が QC ワークショップを担当することに致しました。認定制度委員会が主催する QC ワークショップでは、タイピング技術の向上、タイピング結果の再現性追求、また、結果の解釈が困難な場合の対処など、HLA-DNA タイピングを巡る種々の技術的問題への対処を含めた QC をテーマと致します。

QC ワークショップ部会 (仮称) の正式な発足前ですので、具体的な QC ワークショップの方法、サンプルの選定、およびワークショップ集会の進め方などについては今後さらに詳細を検討することと致しますが、時間的な都合もありますので、下記のように QC ワークショップの開催を案内致します。認定制度委員会が主催する最初の QC ワークショップであり、これまでとは異なった運営がなされる予定ですので、よろしくご了承ください。

記

1. スケジュール

平成15年5月上旬 サンプル配布

平成15年6月下旬 結果提出締切り (原則として、電子媒体による)

2. QC ワークショップ集会

平成15年9月15日 (月、祝日) 午後 第12回日本組織適合性学会 (軽井沢) にて

3. 参加費

認定制度との関連で、参加は原則として個人を対象とします。

QC ワークショップにかかる資料代等の実費として、一名2,000円を申し受けます。

4. 参加申し込み

原則として、申し込み様式を学会ホームページ QC ワークショップ部会 (仮称) の URL (<http://jshi.umin.ac.jp/QCWS/>) よりダウンロードし、必要事項を記入後、メール添付にて QC ワークショップ部会 (仮称) まで送付ください。また、必要事項をメール本文に直接記入して送られても結構です。なお、電子媒体の使用が困難な場合は、別紙用紙に必要事項を記入し、ファックスまたは郵送にてお送りください。

参加費は以下の口座に振込んでください。原則として、振込の控えをもって領収書とさせていただきます。

参加申し込みの締切りは、平成15年3月31日 (月) とします。

5. 振込口座

みずほ銀行厚木支店

普通預金 8037067

JSHI 認定制度委員会事務局 猪子英俊

組織適合性技術者認定制度 認定HLA検査技術者講習会のお知らせ

組織適合性技術者認定制度委員会
委員長 佐田 正晴
組織適合性技術者認定制度委員会教育部会
部会長 西村 泰治

日時：平成 15 年 9 月 15 日（月曜日）16 時から 18 時（予定）
場所：軽井沢プリンスホテル西館
参加費：2,000 円程度を予定（テキスト代を含む）

内容

HLA 分子の構造と機能	西村 泰治（熊本大学）
HLA 遺伝子のタイピング法	石川 善英 （東京都赤十字血液センター）
HLA の疾患感受性解析への応用	安波 道郎（東京医科歯科大学）

講習会の詳細については、次号の学会誌に掲載する予定です。

この講習会は、平成 15・16 年度に HLA 検査技術者認定を取得しようとする者を対象に実施されますが、それ以外の者であっても自由に参加することができます。ただし、平成 15 年度の特例 HLA 検査技術者認定を取得しようとする者で、平成 14 年度に講習を修了している方には、受講義務はありません。

平成 15 年度の取得予定者以外にあっては、以下の申込書に必要事項を記入し、認定制度委員会事務局宛に FAX (0463-94-8884) で平成 15 年 6 月 28 日（金）までに送付してください。あるいは、E メールで件名を「認定講習会」とし、申込書の必要事項を書き込んで「tnaruse@is.icc.u-tokai.ac.jp」宛に、上記締め切り日までに送信してください。テキストは、申込数に応じて作成し、申込者に優先して配布します。そのため当日の申し込み者については、テキストの配布を受けられない場合がありますことを、あらかじめご了承ください。

平成 15 年度認定 HLA 検査技術者講習会 受講申込書

氏 名：
所 属：
住 所： 〒
電 話 番 号：
FAX 番 号：
E メール：

HLA 検査技術者認定取得予定 なし あり→平成 年度を予定

＜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。MSワードなどの一般的なワープロソフトを使用し、ソフト名を明記する。字体、サイズ、行の字数、行間、などの体裁は自由とする。また、図表については、写植でそのまま掲載できるものを提出するが、挿入箇所を本文に指定する。図については天地を明示する。印刷の際に、縮小または拡大する場合がありますので、考慮すること。また、図表の題や説明はワープロで、本文とは別頁に添付する。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⁾,
Tutomu 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 University School of Medicine, Kanagawa, Japan

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*DJ25' 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

〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1

東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野

日本組織適合性学会誌 MHC

編集長 徳永 勝士

TEL : 03-5841-3692

FAX : 03-5802-2907

E-mail : tokunaga@m.u-tokyo.ac.jp

編集後記

MHC編集長を引き受けて早8年、マンネリを感じ始めて何とかしなければとアセリつつあった矢先、徳永新編集長という良き後継者を得ることができ、バトンタッチすることが出来ました。初めの頃は新米、不慣れで、企画も、校正もかなりの時間をとられましたが、出来上がった冊子をとるとやはり感慨深いものがありました。最近では、私の研究室の成瀬に編集作業はまかせっきりで、実験と同様現場を離れたことは、一面寂しい思いもしていました。編集委員会のため、編集委員が一年に3回都内に集まり、知恵を出しあい、忌憚のない意見や情報を交換する共同作業は、他の学会にはない結束を楽しめました。徳永、木村、大谷、小林、中島、成瀬の各編集委員の方々、大変ご苦勞さまでした。また、編集方針や査読に多大なご協力をいただいた多くの編集協力者の皆様に、厚く感謝いたします。これからは、徳永新編集長のもと、新編集委員とともに、違った観点から“MHC”の発展に努力したいと思います。

猪子英俊

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

2003年2月28日発行 9巻3号, 2003

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