

MHC

日本組織適合性学会誌

Major Histocompatibility Complex

Vol. 11 No. 3, 2005

Contents

日本組織適合性学会事務局移転のお知らせ	
新会長挨拶	木村彰方 223
日本組織適合性学会からのお知らせ	
会告	225
第 14 回日本組織適合性学会大会のご案内	226
2004 年度 TFB 学術奨励賞選考結果について	229
2005 年度学術奨励賞の募集のお知らせ	230
第 9 回 QC ワークショップのご案内	232
平成 17 年度認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ	234
平成 17 年度認定 HLA 検査技術者認定試験申請要領	235
平成 17 年度認定 HLA 検査指導者認定試験申請要領	237
平成 17 年度認定 HLA 検査技術者・指導者認定試験受験申請書	
組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿	239
第 3 回日本組織適合性学会・近畿地方会プログラム	240
[原著論文]	
ニホンウズラ Mhc (Coja) 領域における多型マーカーの設定	細道一善, 椎名 隆, 清水佐良子, 原 ひろみ, 吉田 豊, 猪子英俊, 半澤 恵 241
[最新情報“玉手箱”]	
最新アリアル情報	小林 賢 253
第 8 回 HLA-QC ワークショップレポート	木村彰方, 太田正穂, 柏瀬貢一, 小林 賢, 酒巻建夫, 佐田正晴, 田中秀則, 中島文明, 成瀬妙子, 丸屋悦子, 安波道郎 255
平成 16 年度 HLA 技術者認定試験に関する報告	石川善英, 徳永勝士, 石谷昭子, 太田正穂, 小河原 悟, 柏瀬貢一, 木村彰方, 小林 賢, 中島文明, 西村泰治, 平山謙二, 丸屋悦子 299
日本組織適合性学会 会計報告	313
〈日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定〉	317
編集後記	319

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

日本組織適合性学会誌 MHC 編集委員会

編集委員長

徳永 勝士 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野

編集委員

間 陽子 理化学研究所分子ウイルス学研究ユニット
猪子 英俊 東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門
大谷 文雄 北里大学医学部免疫学講座
木村 彰方 東京医科歯科大学難治疾患研究所難治病態研究部門
小林 賢 日本薬科大学生物学研究室
中島 文明 神奈川県赤十字血液センター検査部
成瀬 妙子 東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門
安波 道郎 東京医科歯科大学難治疾患研究所難治病態研究部門

編集協力者

石川 善英 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部
石谷 昭子 奈良県立医科大学法医学教室
今西 規 産業技術研究所生物情報解析研究センター
太田 正穂 信州大学医学部法医学教室
小河原 悟 福岡大学病院第4内科
柏瀬 貢一 東京都赤十字血液センター検査部
斎藤 敏 長野県赤十字血液センター検査課
佐治 博夫 HLA 研究所
佐田 正晴 国立循環器病センター研究所再生医療部移植外科
高原 史郎 大阪大学医学部泌尿器科学講座
滝口 雅文 熊本大学エイズ学研究センターウイルス制御分野
西村 泰治 熊本大学大学院医学研究科免疫識別学教室
能勢 義介 兵庫県赤十字血液センター検査課
平山 謙二 長崎大学熱帯医学研究所環境医学部門
福西 孝信 兵庫県立西宮病院腎移植センター
前田 平生 埼玉医科大学総合医療センター輸血細胞治療部
丸屋 悦子 HLA 研究所
森島 泰雄 愛知県がんセンター血液化学療法部
脇坂 明美 日本赤十字社血漿分画センター

日本組織適合性学会事務局移転のお知らせ

平成16年9月23日の理事会、評議員会および24日の総会において、新たな学会執行部体制が議決、承認されました。それに伴い、学会事務局を東海大学医学部から東京医科歯科大学難治疾患研究所に移転いたしました。今後の入退会に関する事務、学会誌発送などは下記事務局にて対処致しますのでよろしくお願い致します。

日本組織適合性学会事務局

〒101-0062

東京都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 分子病態分野内

電話 03-5280-8054

FAX 03-5280-8055

電子メール jshijimu.tis@mri.tmd.ac.jp

また、年会費の納入は以下の口座にお願いします。

郵便振替口座

口座番号；00120-6-500623

口座名称；日本組織適合性学会

● Contents ●

日本組織適合性学会誌 第 11 卷第 3 号 平成 17 年 1 月 31 日発行

日本組織適合性学会事務局移転のお知らせ

新会長挨拶 木村彰方 223

日本組織適合性学会からのお知らせ

会告 225

第 14 回日本組織適合性学会大会のご案内 226

2004 年度 TFB 学術奨励賞選考結果について 229

2005 年度学術奨励賞の募集のお知らせ 230

第 9 回 QC ワークショップのご案内 232

平成 17 年度認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ 234

平成 17 年度認定 HLA 検査技術者認定試験申請要領 235

平成 17 年度認定 HLA 検査指導者認定試験申請要領 237

平成 17 年度認定 HLA 検査技術者・指導者認定試験受験申請書

組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿 239

第 3 回日本組織適合性学会・近畿地方会プログラム 240

[原著論文]

ニホンウズラ Mhc (Coja) 領域における多型マーカーの設定

..... 細道一善, 椎名 隆, 清水佐良子, 原 ひろみ, 吉田 豊, 猪子英俊, 半澤 恵 241

[最新情報“玉手箱”]

最新アリアル情報 小林 賢 253

第 8 回 HLA-QC ワークショップレポート 木村彰方, 太田正穂, 柏瀬貢一, 小林 賢,
酒巻建夫, 佐田正晴, 田中秀則, 中島文明, 成瀬妙子, 丸屋悦子, 安波道郎 255

平成 16 年度 HLA 技術者認定試験に関する報告 石川善英, 徳永勝士, 石谷昭子,
太田正穂, 小河原 悟, 柏瀬貢一, 木村彰方,
小林 賢, 中島文明, 西村泰治, 平山謙二, 丸屋悦子 299

日本組織適合性学会 会計報告 313

〈日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定〉 317

編集後記 319

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

JSHI

新会長挨拶

日本組織適合性学会会長
東京医科歯科大学難治疾患研究所難治病態研究部門分子病態分野
木村 彰方

このたび、第13回日本組織適合性学会総会(大阪)において、猪子英俊前会長の後を受けて会長に指名されました。身に余る大役ですが、理事、評議員、会員諸兄のご支援、ご協力をいただき、学会の発展に努める所存ですので、よろしく申し上げます。

HLAをめぐる研究はこの数年で大きく進歩しました。ご存知のようにヒトゲノムプロジェクトでゲノムの塩基配列が決定され、次いで全長cDNAプロジェクトやゲノム多様性プロジェクトによって、遺伝子の発現状況や多様性のあり方に関する情報が集積しています。これらの情報を基にした疾患の遺伝的要因解析(疾患感受性領域や疾患関連遺伝子の同定)や病態形成における遺伝子発現解析(発現プロファイルの検討)が行われています。HLAの世界では従来から疾患感受性との関連研究が行われてきましたが、ヒトゲノムプロジェクトによる疾患関連研究は、極めて大規模になったとは言え、その方法論はまさにHLA研究で培われたものであり、HLA解析の歴史的経緯を辿っています。

HLAタイピングで疾患の診断が出来ないように、ゲノム多様性の解析から疾患の診断に直接応用可能な知見が得られるとは思えませんが、疾患感受性リスク評価や疫学的介入による集団レベルでの疾患管理は可能になると考えられます。一方、HLAをマーカーとして疾患感受性との関連が分かったとしても、HLA内のどの遺伝子がどのようにして疾患感受性を決定するかについては不明なことが残されているように、他の領域についても遺伝マーカーが同定されたことは疾患の原因を明らかにしたことに必ずしも繋がりません。また、HLA研究の世界ではある意味常識的ではありますが、ある疾患とある遺伝マーカーとの有意な関連が報告されたとしても、それが追試で確認されず、真の関連とは考えられない(統計学的なエラーである)ことも多々あります。疾患研究では、どの遺伝子がどのような状況下でいかにして疾患のいかなる病態をどのように規定するかの解明なくしては真の関連解明とは言えず、治療や予防に繋がる病態修飾法の開発などの次のステップに進めません。その意味でHLA研究は、関連研究で明らかになった疾患感受性の遺伝的制御機構を、先陣を切って解明する使命を帯びていると考えます。

ヒトゲノム解析から推定される全遺伝子数は3,000 Mb中に約22,000個であると最近報告されました。HLA領域には4 Mb中に120以上の遺伝子が存在しますので、遺伝子密度がきわめて高い領域であると言えます。しかしながら、それら遺伝子の機能については全てが明らかになっているわけではなく、タンパクレベル、細胞レベル、個体レベルでの機能解析が必要です。それと同時に、HLAクラスI遺伝子群、クラスII遺伝子群、TAPやLMP遺伝子群、TNFやLT遺伝子群などに見られる機能的連関が、その他のHLA領域遺伝子群にもあるかどうか、あるとすればいかなる連関であるのかを解明することが、HLAのより深い理解をもたらします。また、HLA領域は遺伝子密度が高いと同時に多様性に富むことから、進化学的にも興味ある領域です。種を越えた配列比較や遺伝子発現比較は進化のメカニズムを解明する糸口を与えてくれるかも知れません。このように、HLAには解明すべき課題が山積みです。

一方、移植医療におけるHLAタイピングの有用性は確立していますが、今後は癌の抗原特異的免疫療法、免疫関連疾患の抗原特異的免疫制御療法などの医療にもHLAタイピングの実用が広まって行くと思われます。臨床現場で用いる以上、タイピング技術の向上と精度の維持は必要不可欠ですし、常に最新の知識を取り入れる努力が必要です。ご存知の通り、HLA学会では技術者および指導者の認定制度を設立し、今年から技術者筆記試験も始まりました。以前より行われているQCWSも大会期間中に行われることとなりました。大会初日を出

来るだけ土日あるいは祝日に設定し、その日に QCWS 集会や技術者講習会を行うことにより、検査実務を担当する多忙な会員諸兄が、最新の知識を発表、取得する場としての学会に出席しやすい環境を整える努力を重ねています。今後とも認定制度に関連した学会行事の内容を充実させ、社会に貢献する HLA 学会を目指したいと考えます。

昨今では、ライフサイエンス研究の目覚ましい進歩があり、生命倫理や研究倫理が特に問われる時代になっています。数々の研究に関する倫理指針が施行されていますし、2005年からの個人情報保護法案の施行に伴って、研究倫理指針の法制化も念頭に置かれていると聞き及んでいます。胚性幹細胞の取り扱いについては既に法制化がなされており、それに伴ってガイドラインが策定され施行されました。当学会でもヒトを対象とした研究が数々行われているところですので、それらのガイドラインを遵守しつつ研究を実施することが必要です。これまで当学会では、倫理問題検討ワーキンググループにおいて学会活動に関連する倫理的諸問題への対応を検討して来ました。このほど、外部委員にも加わっていただく倫理問題検討委員会を学会内に設置し、引き続き検討を行って行きます。

さて、会員諸兄もご承知のように、当学会が会員名簿の管理、会費の徴収、学会誌の発送と保管等の業務を委託していた(財)日本学会事務センター(以下、学会事務センター)が平成16年8月17日に倒産しました。学会事務センターは文部科学省所轄の財団法人であり、平成16年度当初において300以上の学会が業務委託を行っていた組織であるため、それが倒産するなどとは信じがたい出来事ですが、いわば預かり金制度を悪用した放漫な運営により倒産し、当学会を含む多くの学会が総額11.5億円もの被害を受けました。理事会では学会の財産を保全すべく、倒産に先立つ平成16年7月23日に学会事務センターに預けていた学会の財産を返還するよう申し入れましたが、結局返還されず約420万円の損害を被ってしまいました。新執行部としては、学会事務センター倒産に至る事実関係を解明するとともに、可能な限り債権を回収する所存ですが、残念ながらほとんど回収出来ない見通しです。今回の出来事は当学会のような中小学会(会員数300-1,200)に特に甚大な被害を与えたものであり、財政的再建に数年を要すると考えられる学会もあります。中小学会が萌芽的、先端的、専門的、学際的な研究領域の発展を担っていることに鑑みると、まさにわが国の学問の危機であるとも言えます。当学会も経済的な被害は甚大ですが、事務局経費節減等によって可及的速やかな財政的再建をはかるよう執行部一同で取り組んで行く所存です。

財政的に苦しい状況であっても、学会のアクティビティを保ち、さらに発展する方策をとることが必要です。昨年度より2年間に渡り(株)TFB社よりの寄付を原資としてTFB学術奨励賞を実施して来ましたが、今期より新たに日本組織適合性学会学術奨励賞を設立し若手会員の研究を奨励します。また、HLAを中心として多様な研究領域を連結した学際的研究を進め、基礎と臨床を結ぶ橋渡し学会となるべく努力を重ねたいと思います。

会員諸兄にはご迷惑をおかけすることも多々あるかと存じますが、一丸となって学会の活性化と発展を目指すべく、よろしくご協力のほどお願いします。

(平成16年12月1日)

日本組織適合性学会 会告

日本組織適合性学会会則第 11 条, 第 12 条に基づき, 評議員による理事選挙の結果, 新しい理事 9 名, 監事 2 名が選出されました。また, 会長が赤座達也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 16 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
木村 彰方	会長, 学術奨励賞
赤座 達也(指名理事)	会計, 会則
猪子 英俊	将来構想検討, 渉外(海外)
五條堀 孝	渉外(国内)
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, 倫理問題検討
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
笹月 健彦	監事

2. 倫理問題検討委員会(新設)について

徳永勝士理事を委員長として, 本学会に倫理問題検討委員会を新たに設置しました。学会が主導して行なう研究活動に纏わる生命倫理の諸問題について検討いたします。

3. 学術奨励賞(新設)について

平成 15 年度より行なわれてきた株式会社 TFB から本学会に対する『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』による学術奨励賞が終了しました。

それに替わり, 平成 17 年度より若手会員の研究助成を目的とした日本組織適合性学会学術奨励賞を新設します。木村彰方理事を委員長として, 学術奨励賞選考委員会を新設します。

第14回 日本組織適合性学会大会のご案内

第14回 日本組織適合性学会大会
大会長 西村 泰治

早春の候、皆様におかれましては、益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。

第14回日本組織適合性学会大会を下記の要領にて開催いたします。本大会では「**MHC研究：基礎から臨床応用へ(仮題)**」をメインテーマにしたいと考えております。多くの皆様方の御参加を、お待ちしております。

会 期： 2005年10月2(日)～4(火)

会 場： 熊本市民会館(10月2日)

熊本市桜町1-3

TEL: 096-355-5235

FAX: 096-355-5239

KKR ホテル熊本(10月3日～4日)

熊本市千葉城町3-31

TEL: 096-355-0121

FAX: 096-355-7955

HP: <http://www.kkr-hotel-kumamoto.com/>

大会内容：以下の学術プログラムを計画中です。なお下記の1.および2.の中の指定された講演の受講をもって、指導者認定あるいは認定更新に必要な講習の受講に代える予定です。詳細につきましては、追って学会誌MHC(第12巻第2号, 9月発送号)に掲載される予定ですので御参照ください。

1. 特別講演・教育講演(タイトルは変更される可能性があります。)

- James MaCluskey (Professor, Department of Microbiology and Immunology, Melbourne University)
“Impact of natural HLA Class I polymorphism on antigen presentation:
The power of one in HLA function and transplantation matching”
- 笹月健彦(国立国際医療センター・総長)
『ゲノムから疾病へのアプローチ: ABO, HLA そして全ゲノム』
- 中尾眞二(金沢大学大学院医学系研究科細胞移植学講座・教授)
『免疫療法としての同種造血幹細胞移植』

2. シンポジウム・ワークショップ(計画中)

- 免疫応答とMHC
- 造血幹細胞移植と組織適合性

3. 一般演題

一般演題募集要項

- 1) 発表形式: 発表は口演またはポスターにより行います。演者は本学会員であることが必要です。
発表形式(口演またはポスター)についてはプログラム委員会に、一任させて頂きたく存じます。
- 2) 申し込み方法 学会ホームページにも掲載する予定です。

① E-mailによる演題申し込み

- 演題の申し込みは、原則としてE-mailでのみ受け付けます。
件名は「14JSHI 演題」とし、①抄録、②演題申し込み書の2つのファイルを、添付書類にて、下記の第14回大会事務局(senjusat@gpo.kumamoto-u.ac.jp)あてに送って下さい。

② 抄録の様式(下記の見本を参照ください。)

- 抄録は Microsoft Word の文書ファイルを用いて作成ください。
- 演題名, 演者(発表者に○印), 所属(正式名称が長い場合には省略所属名), 本文の順で作成してください。本文は 800 字以内を厳守し, 目的, 方法, 結果, 考察などに分類して記載してください。フォントは MS 明朝の 11 ポイントで作成ください。英数字は半角文字を使用し, 2 文字で 1 文字と数えます。また μ, γ などのギリシア文字は, Symbol を利用してください。

③ 演題申し込み書の作成(下記の見本を参照してください。)

- 抄録とは別に, 演題名, 演者, 所属, 代表者の連絡先住所, 電話番号, FAX, E-mail アドレスを記載したファイルを作成してください。

3) 抄録の見本(目的以下の本文は, MS 明朝の 11 ポイントで 800 字以内)

食道癌拒絶抗原 PP-RP 由来の HLA-A24 拘束性 T 細胞エピトープの同定

○西村泰治¹⁾, 吉武義泰^{1,2)}, ○○○○¹⁾, ○○○○³⁾, 中村祐輔³⁾, 中面哲也¹⁾

¹⁾ 熊大・院医薬研究部・免疫識別学, ²⁾ 顎口腔病態学, ³⁾ 東大・医科研・ヒトゲノム解析センター

【目的】 食道癌において, 腫瘍拒絶抗原を同定する。○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○

【方法】 食道癌組織において, 9,216 種類の遺伝子について cDNA マイクロアレイ解析を行い, ○○○

【結果】 食道癌患者 26 名中 22 人で非癌部より癌部で高発現する, 新規ヒト癌抗原 PP-RP を同定した。

【考察】 ○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○

4) 演題申し込み書の見本

演題名: 食道癌拒絶抗原 PP-RP 由来の HLA-A24 拘束性 T 細胞エピトープの同定

演者: ○西村泰治¹⁾, 吉武義泰^{1,2)}, ○○○○¹⁾, ○○○○³⁾, 中村祐輔³⁾, 中面哲也¹⁾

¹⁾ 熊大・院医薬研究部・免疫識別学, ²⁾ 顎口腔病態学, ³⁾ 東大・医科研・ヒトゲノム解析センター

連絡代表者の氏名: 西村 泰治

代表者の連絡先住所: 〒860-8556 熊本市本荘 1-1-1

熊本大学大学院医薬研究部・免疫識別学分野

電話番号: 096-373-5313 FAX 番号: 096-373-5314

E-mail: mxnishim@gpo.kumamoto-u.ac.jp

4. 演題申し込み締め切り: 2005 年 5 月 31 日(火)必着

5. 演題受理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 にて演題受理を通知いたします。申し込んだにも関わらず, 演題受理の通知がなかった場合には, 下記の事務局あてに, お問い合わせください。演題発表形式(口演またはポスター)および発表日時につきましては, 2005 年 8 月下旬頃までに, E-mail または FAX にて通知いたします。

2005 年度学術奨励賞の募集

2005 年度学術集会大会に応募された一般演題の中から, 特に優秀と認められた演題の筆頭演者に学術奨励賞

が授与されます。応募を御希望の方には、本誌別頁に記載されている「2005年度学術奨励賞の募集要項」を御参照のうえ、奮って御応募下さい。

参加登録費

下記のように、事前登録を行います。

	理事・評議員	会 員
事前登録 (2005年8月31日迄)	¥8,000	¥6,000
2005年9月1日以降 あるいは当日参加	¥10,000	¥8,000

事前登録参加者は下記の銀行口座に振り込みを、お願いいたします。大会事務局より領収書を郵送いたしますので、学会当日に御持参ください。参加証は、学会当日に受付にてお渡しします。なお、振込の際に氏名の後に会員番号を必ずご記入下さい。

【振込先】 肥後銀行 本店(普通)口座番号 2327028
第14回日本組織適合性学会大会 大会長 西村 泰治(にしむらやすはる)

懇親会

2005年10月3日(月)19時頃より KKR ホテル熊本にて懇親会を開催いたします。

宿泊・交通の御案内

本大会に御参加の皆様には、学会旅行センター熊本が宿泊、熊本学会バックの手配をいたします。下記アドレスにアクセスいただき、お早めにお申し込み下さい。交通に関しましては各自お手配下さい。

連絡先: 860-0811 熊本市本荘 1-1-1 熊本大学病院恵和会内
TEL: 096-363-0865 FAX: 096-363-0867 E-mail: tabi@higo.co.jp
<http://higo.co.jp/jshi-hotel/> (2005年6月オンサイト予定)

大会事務局

本大会に関するお問い合わせ、ならびに一般演題のお申し込みは、下記大会事務局宛にお願いいたします。

〒860-8556 熊本県熊本市本荘 1-1-1
熊本大学大学院医学薬学研究部・免疫識別学分野
第14回 日本組織適合性学会大会事務局: 千住 覚
TEL: 096-373-5313(直通) FAX: 096-373-5314 E-mail: senjusat@gpo.kumamoto-u.ac.jp

その他

- 2005年度学術奨励賞の募集、QC ワークショップ、認定制度講習会につきましては、本誌別頁を御参照ください。
- 大会情報は今後刊行されます MHC 誌上、および日本組織適合性学会ホームページで更新いたします。

日本組織適合性学会 2004 年度 TFB 学術奨励賞選考結果について

日本組織適合性学会
学術奨励賞担当理事 木村 彰方

1. 2004 年度 TFB 学術奨励賞の公募経緯

(株)TFB 社より本学会における学術奨励を目的として寄付頂いた助成金を活用して、2003 年度に(株)TFB 学術奨励賞を設立した。2 回目となる本年度は、以下の通り選考した。

学術奨励賞は、第 13 回日本組織適合性学会大会に応募された一般演題の中から、特に優秀と認められた演題の筆頭演者に与えられるものとした。応募資格は、1) 筆頭演者は本学会の正会員であり、かつ 2003 年度までの会費を納入済であること、2) 筆頭演者は 2004 年 9 月 23 日時点で満 45 才未満であること、3) 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、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とした。

2. 選考経緯

TFB 学術奨励賞には、5 月末日迄に 11 件の応募があった。これらを含む第 13 回日本組織適合性学会大会一般演題の全抄録 (53 題) について、MHC 編集委員および編集協力者に 5 段階での採点を依頼した。返送された採点結果を集計し、優秀賞 5 件を選出した。優秀賞演題の得点はいずれも一般演題を含めた上位 3 分の 1 に入っていたが、各演題の得点は僅差であったことから、本年度は最優秀賞の選出は行わず、優秀賞のみとした。

3. 選考結果(順不同)

氏名(所属): 下嶋典子(奈良県立医科大学法医学教室)

演 題: 抹消血および胎盤 NK 細胞における HLA-E tetramer を用いた receptor 解析

氏名(所属): 橋本奈美(東海大学医学部基礎医学系)

演 題: LR-PCR 法による HLA クラス I 領域の多様性解析

氏名(所属): 高須美和(東京大学医学部人類遺伝)

演 題: HLA-A*3303-B*4403-DR*1302 ハプロタイプにおける HLA クラス I 領域のゲノム塩基配列

氏名(所属): 椎名隆(東海大学医学部基礎医学系)

演 題: 比較ゲノム解析による霊長類 HLA-B/C 祖先領域の推定

氏名(所属): 清水佐良子(東海大学医学部基礎医学系)

演 題: HLA クラス I 領域に位置する DNA 修復関連遺伝子 MDC1 の比較ゲノム解析および比較機能解析

4. 受賞講演

優秀賞演題は、第 13 回日本組織適合性学会大会中の 9 月 25 日に、TFB 学術奨励賞優秀賞受賞者口演として発表された。

2005年度 学術奨励賞募集のお知らせ

学術奨励賞選考委員会
委員長 木村 彰方

会員の皆様

本年度より、日本組織適合性学会学術奨励賞を創設し、若手会員への研究助成を行うこととしました。以下の要領で募集しますので、奮って御応募下さい。

1. 助成内容

2005年度学術集会大会に応募された一般演題の中から、特に優秀と認められた演題の筆頭演者に学術奨励賞を授与します。授与件数は若干件で、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) 筆頭演者は本学会の正会員であり、かつ2004年度までの会費を納入済であること
- 2) 筆頭演者は2005年10月4日時点で満45才未満であること
- 3) 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たこと
- 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

大会の演題抄録募集とは別途の手続きで行いますので、以下の書類を次のアドレス宛にメール添付で送って下さい。(HLA 学会事務局, Email; jshijimu.tis@mri.tmd.ac.jp)

必要書類

1) 抄録

一般演題に応募した抄録

(Word形式で保存しファイル名を応募者名抄録.docとする。{例; 木村彰方抄録.doc} Wordが使えない場合はテキスト形式で保存しファイル名を応募者名抄録.txtとする)

2) 申し込み用紙

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, 年齢を記入したもの

(Word形式で保存しファイル名を応募者名申込.docとする。Wordが使えない場合はテキスト形式で保存しファイル名を応募者名申込.txtとする)

4. 応募締め切り

2005年5月31日(必着)

(6月初旬までに応募ファイル受領を連絡しますが、受領連絡がない場合は、学会事務局までお問い合わせください)

5. 選考および結果通知について

応募された演題についてMHC編集委員および編集協力者等が予備審査を行い、その結果を参考にして学術

奨励賞選考委員会にて選考を行います。結果は、8月中旬頃までに応募者宛に通知致します。

6. 助成金の用途

用途について特に制限はありませんが、学術奨励賞であることの趣旨をご理解の上、適切に使用ください。なお、用途とその内訳を後述の報告書に記載するものとします。

7. 受賞者にかかる義務について

- 1) 受賞者は、第14回日本組織適合性学会大会(学術奨励賞受賞講演セッション)において発表を行って頂きます。
- 2) 受賞者は、助成が行われた研究課題についての報告書(様式は別途通知します)を学会宛に提出して頂きます。

8. 助成が行われた研究課題の成果発表について

研究課題の研究成果については、原著論文もしくは総説等の形式にて、学会誌 MHC への積極的な発表をお願いします。

9. 問い合わせ先

本件に関する問い合わせは学会事務局をお願いします。

日本組織適合性学会事務局

〒101-0062 東京都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内

Tel; 03-5280-8054, Fax; 03-528-8055, Email; jshijimu.tis@mri.tmd.ac.jp

第9回 HLA-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長 木村彰方

前回は引き続き認定制度委員会主催の QC ワークショップ (QCWS) を開催致しますので、下記の通り案内致します。今回は DNA タイピングに加えて、抗体検査についても QCWS を実施することを想定しています。DNA タイピング QCWS についてはこれまでと同様の方法で実施します。抗体検査 QCWS については、希望参加者数(参加施設数)を把握した後に、具体的な実施方法を検討します。また、今回から申し込み方法が一部変更となっていますので、ご注意ください。

記

1. スケジュール(すべて予定ですので、今後変更があり得ます)
平成 17 年 5 月上旬—中旬: サンプル配布(原則として、ラボ単位で配布)
(サンプルの配布は、DNA, 抗体を同時に行う予定です)
平成 17 年 7 月上旬—中旬: データ提出締め切り(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 17 年 10 月 2 日(日)午後 第 14 回日本組織適合性学会(熊本)にて
3. 参加費 (QC ワークショップ集会のみの参加も同様)
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。
DNA タイピング, 抗体検査のいずれかに参加, どちらも参加, 集会のみ参加のいずれも, 参加費は同一です。
4. 参加申し込み (QC ワークショップ集会のみ参加する場合も同様に申し込んでください)
学会ホームページ QC ワークショップ部会の URL (<http://jshi.umin.ac.jp/QCWS/>) より申し込み様式をダウンロードし、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まで送付ください。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。
参加費の払い込みをもって参加申し込みの完了と致しますので、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。集会のみの参加の場合も同様です。参加申し込み(参加費払い込み)の締め切りは、平成 17 年 3 月 11 日(金)とします。
5. 振込口座
郵便振替口座 00160-7-482142
組織適合技術者認定制度委員会
振替用紙の通信欄に、「第 9 回 QCWS 参加費, 参加者氏名」を記載してください。

第9回 HLA-QC ワークショップ参加申込書

(QC ワークショップ集会のみ参加する場合も、同様に申し込んでください)

参加申し込み締め切り(参加費払い込みを含む)は平成17年3月11日(金)です。

申込書の送付先

電子メール使用の場合

Email アドレス: jshiqcws.tis@mri.tmd.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8回 HLA-QC ワークショップに参加致します

1) 参加者

代表*	参加者氏名	参加内容&	所属施設・部署	E メールアドレス#

&; 参加する QCWS 内容の記号 (a; DNA タイピングのみ, b; 抗体検査のみ, c; どちらも, d; 集会のみ)のいずれかを記載してください

*; 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結構です。

2) サンプル (DNA および抗体)の送付先(実際にサンプルを受取る方の氏名)

QC ワークショップ集会のみの参加の場合は記入不要です

住 所: (〒 -) _____

施 設 名: _____

所属部署: _____

氏 名: _____

E-mail: _____, 電話: _____

具体的な QCWS 実施方法, 結果記入方法, 結果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。

組織適合性検査技術者認定制度 平成 17 年度・認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ

組織適合性検査技術者認定制度委員会
委員長 佐田 正晴
組織適合性検査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 17 年 10 月 2 日(日曜日) 17 時から 19 時(予定)
場 所：熊本市市民会館(熊本市桜町 1-3, 電話：096-355-5235) 大会議室
参加費：2,000 円(テキスト代を含む)

内 容：各講習とも質疑応答を含めて、30 分を予定しています。なお講習のタイトルは、今後、若干変更される可能性があります。

- (1) HLA タイピングの基礎： 田中 秀則 先生(東京都赤十字血液センター)
- (2) HLA 遺伝子多型の特徴と意義： 大橋 順 先生
(東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野)
- (3) 免疫系における HLA の役割： 平山 謙二 先生(長崎大学熱研・疾病生態分野)
- (4) 臓器移植と HLA—特に心臓移植において： 福嶋 教偉 先生
(大阪大学大学院医学系研究科・臓器制御外科学)

この講習会は、今後 HLA 検査技術者認定を取得、あるいは更新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。受講希望者には、以下の申込書に必要事項を記入し、熊本大学大学院医学薬学研究部・免疫識別学分野宛に FAX (096-373-5314) で平成 17 年 6 月 24 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「HLA 講習会」とし、申込書の必要事項を書き込んで「midorifu@kaiju.medic.kumamoto-u.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。なお参加費は平成 17 年 8 月 31 日(水)までに、指定の郵便振替口座(口座番号：00160-7-482142, 口座名称：組織適合性技術者認定制度委員会)に振込んでください。振替用紙の通信欄に、受講(予定)者の所属、氏名とともに、「平成 17 年度認定 HLA 検査技術者講習会受講料」と記載してください。参加費前納者には、事前に講習会資料を送付させていただきます。なお受講申し込みをされ参加費を振り込まれた方で、当日欠席された方には返金できませんことを御了承ください。

平成 17 年度認定 HLA 検査技術者講習会 受講申込書

(書き込み可能な申込書を、学会ホームページからダウンロードできますので、そちらも御利用ください。)

FAX 送信先：096-373-5314, E メール送信先：midorifu@kaiju.medic.kumamoto-u.ac.jp

氏 名：

所 属：

住 所：〒

電 話 番 号：

FAX 番 号：

E メールアドレス：

HLA 検査技術者認定取得予定 なし あり → 平成 年度を予定

平成17年度 認定HLA検査技術者認定試験申請要領

日本組織適合性学会
 会長 木村 彰方
 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」といいます。)に基づき認定HLA検査技術者資格認定試験を下記のように実施します。

平成18年度に受験を予定している人は、今年度までに講習会のみを受講しておく必要があります。また、平成19年度以降に受験を予定している人も講習会の受講は可能です。なお、講習会の詳細については本誌別頁に記載の「平成17年度・認定HLA検査技術者講習会のお知らせ」をご覧ください。

1 申請資格: 認定HLA検査技術者の資格認定試験を申請する人は、申請の前年度までに次の各項の認定試験受験資格基準をすべてを備えていなければなりません。

- (1) 日本組織適合性学会(以下「学会」といいます。)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) 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りません。

なお、(2)の業務とは、組織適合性に関する検査、研究および教育をいいます。

2 申請書提出期限: 平成17年4月22日(金)までに到着するよう簡易書留で下記の事務局へ送付してください。

3 申請書送付先: 〒101-0062 東京都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内
 組織適合性技術者認定制度委員会事務局
 電話 03-5280-8054, ファックス 03-5280-8055

4 提出書類: (1) 認定HLA検査技術者認定申請書と別記様式第1および別記様式第2の1から2の6
 (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いてください)

必要な申請書類は本誌に綴じ込められています。なお、別記様式第2の5の貼付用台紙には学会参加証等のコピーおよび講習会修了証を貼り付けてください。資格審査基準証明書(別記様式2の1)の所属長署名・捺印はなくてもかまいません。

資格審査結果については、6月上旬ごろに郵送で通知する予定です。

申請書類のファイルは、学会のホームページからもダウンロードできます。

5 申請料: 15,000 円

振込先

郵便振替口座: 00160-7-482142

口座名義: 組織適合性認定制度委員会

郵便振替用紙の通信覧に、「技術者資格認定試験申請料」と記入し、その下に、「申請者名」を書き込んでください。

6 実技研修会: 実施日時・場所等は、申請者に希望場所・日時を調査した上で決定し、本人に通知します。

実技研修は、規則第9条2項により、全員が受講しなければなりません(QCWS参加歴の有無によらず、実技研修は必須です)。

実施日時としては、7月から8月中の2ないし3日間(施設によって異なる)を予定しています。なお、開催都市は、東京、神奈川、京都、大阪、福岡を予定しています。

7 実技・筆記試験: 実技試験: 平成17年10月2日(日)時間未定

筆記試験: 平成17年10月2日(日)時間未定

会場: 熊本市民会館

試験の日時および会場については本人に郵送で6月上旬ごろ通知する予定です。

但し、実技試験は規則第9条4項により、QCワークショップの参加歴がある場合、免除されます。

平成17年度 認定組織適合性指導者資格認定試験申請要領

日本組織適合性学会
 会長 木村 彰方
 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」といいます。)に基づき認定組織適合性指導者資格認定試験を下記のように実施します。

平成18年度に受験を予定している人は、今年度までに講習会のみを受講しておく必要があります。また、平成19年度以降に受験を予定している人も講習会の受講は可能です。なお、認定組織適合性指導者講習会は、2005年10月3、4日に開催される第14回日本組織適合性学会大会(熊本)の講演などの受講をもって代えます。その詳細につきましては、9月頃に発刊予定のMHC誌第12巻第2号に掲載されますのでご参照ください。

1 申請資格: 認定組織適合性指導者の資格認定試験を申請する人は、申請の前年度までに次の各項の認定試験受験資格基準をすべてを備えていなければなりません。

- (1) 日本組織適合性学会(以下「学会」といいます。)の会員歴が通算して7年以上あること。
- (2) 組織適合性検査に関する業務経験が7年以上あること。
- (3) 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。
- (4) 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りません。

なお、(2)の業務とは、組織適合性に関する検査、研究および教育をいいます。

2 申請書提出期限: 平成17年4月22日(金)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: 〒101-0062 東京都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内
 組織適合性技術者認定制度委員会事務局
 電話 03-5280-8054, ファックス 03-5280-8055

4 提出書類: (1) 認定組織適合性指導者認定申請書と別記様式第4および別記様式2の1から2の6
 (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いてください)

必要な申請書類は本誌に綴じ込められています。なお、別記様式第2の5の貼付用台紙には学会参加証等のコピーおよび講習会修了証を貼り付けてください。資格審査基準証明書(別記様式2の1)の所属長署名・捺印はなくてもかまいません。

資格審査結果については、6月上旬ごろに郵送で通知する予定です。

申請書類のファイルは、学会のホームページからもダウンロードできます。

5 申請料: 30,000 円

振込先

郵便振替口座: 00160-7-482142

口座名義: 組織適合性認定制度委員会

郵便振替用紙の通信覧に、「指導者資格認定試験申請料」と記入し、その下に、「申請者名」を書き込んでください。

6 試験: 試験: 平成 17 年 10 月 2 日(日)時間未定

会場: 熊本市民会館

試験内容, 日時, 会場については, 本人に郵送で 6 月上旬ごろ通知する予定です。

平成17年度 認定HLA検査技術者認定試験受験申請書

認定HLA検査技術者認定試験の受験を申請します。

※受験番号

平成 年 月 日申請

フリガナ		性別	<div style="border: 1px solid black; padding: 10px; text-align: center;"> <p>写真を貼付</p> <p>申請日前6ヵ月以内に撮影されたもので大きさは4×3cm</p> <p>平成 年 月 日撮影</p> </div>
受験者氏名	(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	@		

※受付日

※書類の不備

※受験の出欠

※合否判定

平成16年度 認定HLA検査技術者認定試験受験票

※受験番号

フリガナ		性別	<div style="border: 1px solid black; padding: 10px; text-align: center;"> <p>写真を貼付</p> <p>申請日前6ヵ月以内に撮影されたもので大きさは4×3cm</p> <p>平成 年 月 日撮影</p> </div>
受験者氏名		男・女	
生年月日		(歳)	
本籍地 (都道府県名)			
フリガナ			
現住所			

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。

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 会		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

番号	著者名	題名	発表雑誌名	巻	ページ	発行年

単位内訳書 (著者・総説)

申請者名

番号	著者名	題名	本名	出版社名	ページ	発行年

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, occupying most of the page. It is intended for pasting copies of certificates.

切り取り線

単位内訳書 (学会・講習会等の参加)

(別記様式第2の6)

申請者名

番号	参加学会・講習会等の名称	開 催 期 日	開 催 地	単 位	数
計					単位

平成17年度 認定組織適合性指導者認定試験受験申請書

認定組織適合性指導者認定試験の受験を申請します。

※受験番号

平成 年 月 日申請

フリガナ		性別	<div style="border: 1px solid black; padding: 10px; text-align: center;"> <p>写真を貼付</p> <p>申請日前6ヵ月以内に撮影されたもので大きさは4×3cm</p> <p>平成 年 月 日撮影</p> </div>
受験者氏名	(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	@		

※受付日

※書類の不備

※受験の出欠

※合否判定

平成17年度 認定組織適合性指導者認定試験受験票

※受験番号

フリガナ		性別	<div style="border: 1px solid black; padding: 10px; text-align: center;"> <p>写真を貼付</p> <p>申請日前6ヵ月以内に撮影されたもので大きさは4×3cm</p> <p>平成 年 月 日撮影</p> </div>
受験者氏名		男・女	
生年月日	(歳)		
本籍地 (都道府県名)			
フリガナ			
現住所			

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。

切り取り線

組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿

組織適合性技術者認定制度委員会

委員長：佐田 正晴

副委員長：小林 賢

委員：赤座 達也，石川 善英，猪子 英俊，大谷 文雄，木村 彰方，酒卷 建夫，佐治 博夫，
中島 文明，成瀬 妙子，西村 泰治，徳永 勝士

資格審査部会

部会長：小林 賢

副部会長：田中 秀則

部員：柏瀬 貢一，中島 文明，成瀬 妙子

教育部会

部会長：西村 泰治

副部会長：成瀬 妙子

部員：太田 正穂，小河原 悟，木村 彰方，小林 賢，酒卷 建夫，佐治 博夫，佐田 正晴，
徳永 勝士，中島 文明，平山 謙二，丸屋 悦子

試験問題検討部会

部会長：石川 善英

副部会長：徳永 勝士

部員：石谷 昭子，太田 正穂，小河原 悟，柏瀬 貢一，木村 彰方，小林 賢，中島 文明，
西村 泰治，平山 謙二，丸屋 悦子

QC ワークショップ部会

部会長：木村 彰方

DNA 部門長：酒卷 建夫

DNA 副部門長：安波 道郎

抗体部門長：赤座 達也

抗体副部門長：中島 文明

部員：太田 正穂，柏瀬 貢一，小林 賢，齊藤 敏，酒卷 建夫，田中 秀則，佐田 正晴，
中島 文明，成瀬 妙子，丸屋 悦子

* 新たに抗体 QC を行うため，DNA 部門と抗体部門を併設。

* 部員は DNA 部門，抗体部門ともに共通で企画，解析を担当。

第3回日本組織適合性学会・近畿地方会プログラム

日 時：平成 17 年 2 月 5 日(土) 9 時 30 分開場 10 時～18 時

会 場：参天製薬株式会社本社 阪急千里線

大阪市東淀川区下新庄 3-9-19 TEL 06-6321-7000

<http://www.santen.co.jp/company/jp/overview/map.jsp>

テーマ「組織適合性の新しいパラダイムを求めて」

当番世話人 一戸 辰夫(京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科)

10 時～10 時 30 分 オープニングセミナー：

「HLA-E, F, G update」

司会：石谷 昭子(奈良県立医科大学・法医学)

下嶋 典子(奈良県立医科大学・法医学)

10 時 30 分～12 時 一般演題(1) HLA 基礎

12 時～12 時 50 分 昼食・世話人会

12 時 50 分～13 時 総会

13 時～14 時 テクニカルセミナー：

「HLA 抗体測定法の標準化を目指して」

司会：丸屋 悦子(NPO HLA 研究所)

14 時～15 時 15 分 一般演題(2) HLA 臨床・移植医療

15 時 15 分～17 時 シンポジウム：

「同種免疫応答にかかわる non-HLA immunogenetics」

司会：一戸 辰夫(京都大学医学部附属病院・血液・腫瘍内科)

屋部 登志雄(東京都赤十字血液センター)

村田 誠(名古屋大学医学部・第一内科)

塚田 順一(産業医科大学・第一内科)

17 時～18 時 特別講演：

司会：佐田 正晴(国立循環器病センター・再生医療部)

「がん免疫療法への新戦略」

西村 泰治(熊本大学大学院医学研究科免疫識別学教室)

18 時～ 懇親会

● 原著論文 ●

ニホンウズラ *Mhc* (*Coja*) 領域における 多型マーカーの設定

細道 一善¹⁾, 椎名 隆²⁾, 清水 佐良子²⁾, 原 ひろみ¹⁾, 吉田 豊¹⁾, 猪子 英俊²⁾, 半澤 恵¹⁾

1) 東京農業大学農学部家畜生理学研究室

2) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

(平成 16 年 10 月 20 日受付)

要約: 本研究では、まず血漿 IgG 濃度の高低両選抜系統 (HTUA 系および LTUA 系) から任意に選抜した計 6 個体を供試して、ニホンウズラ *Mhc* (*Coja*) 領域に位置する 3 箇所の繰り返し多型ならびに *Coja-DMB2* と *Coja-B1* に計 3 箇所の SNP 多型を同定し、次いでこれら 6 箇所の多型マーカーについて、両系統、計 39 個体を用いて多型解析ならびにハプロタイプ解析をおこなった。その結果、11 種類の *Coja* ハプロタイプが推定され、そのうちの *Coja* ハプロタイプ 2, 3 および 10 の多型頻度は両系統間にて有意差はないが差異は認められた。

キーワード: ニホンウズラ *Mhc*, 多型マーカー, ハプロタイプ

緒言

鳥類の *Mhc* に関する免疫遺伝学的研究はニワトリ (*Gallus gallus*) を中心に進められており、これまでは乳類と同様に種々の免疫応答に関与していることが数多く報告されている (1-3)。とりわけ、ニワトリ *Mhc* (B システム) ハプロタイプの一つである *B²¹* ハプロタイプはマレック病ウイルス (MDV) と強い抵抗性を示すが、*B¹⁹* ハプロタイプは MDV に強い感受性を示すことが知られており、その他のラウス肉腫、家禽コレラに対する抗病性についても B ハプロタイプとの相関が認められている (4-9)。一方、ニワトリと同じキジ目に属するニホンウズラ (*Coturnix japonica*) においても特定の *Mhc* (*Coja*) ハプロタイプがニューカッスル病ウイルス不活化ワクチンに対する抗体産生能の高低と関連することが示唆されている (10, 11)。

ニワトリ *Mhc* (*Mhc-B*) 領域は最小不可欠 *Mhc*

(minimal essential *Mhc*) と呼称され、ハプロタイプ *B¹²* の塩基配列 (92 kb) には、2 個の機能的な *Mhc* クラス IIB (*B-LB1* および *B-LB2*), 2 個の *Mhc* クラス I (*B-FA1* および *B-FA2*), *B-G*, *RING3*, *TAPBP1* および C 型レクチン様遺伝子 (*B-Lec*) を含む 19 個の遺伝子座が同定されている (12-15)。これに対して、*Coja* 領域は *Mhc B* 領域に比べて高度な重複ゲノム配列を有している。すなわち、*Coja* ハプロタイプ 1 の塩基配列 (180 kb) には、7 個の *Mhc* クラス I (*Coja-B1*, *-B2*, *-D2*, *-E*, *-F*, *-G*, *-H*), 7 個の *Mhc* クラス IIB (*Coja-DAB1*, *-DBB1*, *-DCB1*, *-DDB1*, *-DEB1*, *-DFB1* および *-DGB1*), 8 個の *B-G* (*Coja-BG1*~*BG8*), 6 個の C 型レクチン様遺伝子 (*Coja-Lec1*~*6*) および 4 個の NK などを含む 41 個の遺伝子座が同定されている (16, 17, 図 1)。さらにこの塩基配列には、ニワトリのハプロタイプ *B¹²* の塩基配列に全く認められない 37 箇所のマイクロサテライ

代表者連絡先 〒243-0034 神奈川県厚木市船子 1737
東京農業大学農学部家畜生理学研究室
半澤 恵

電話 046-270-6567
F A X 046-270-6569
E-mail khanzawa@nodai.ac.jp

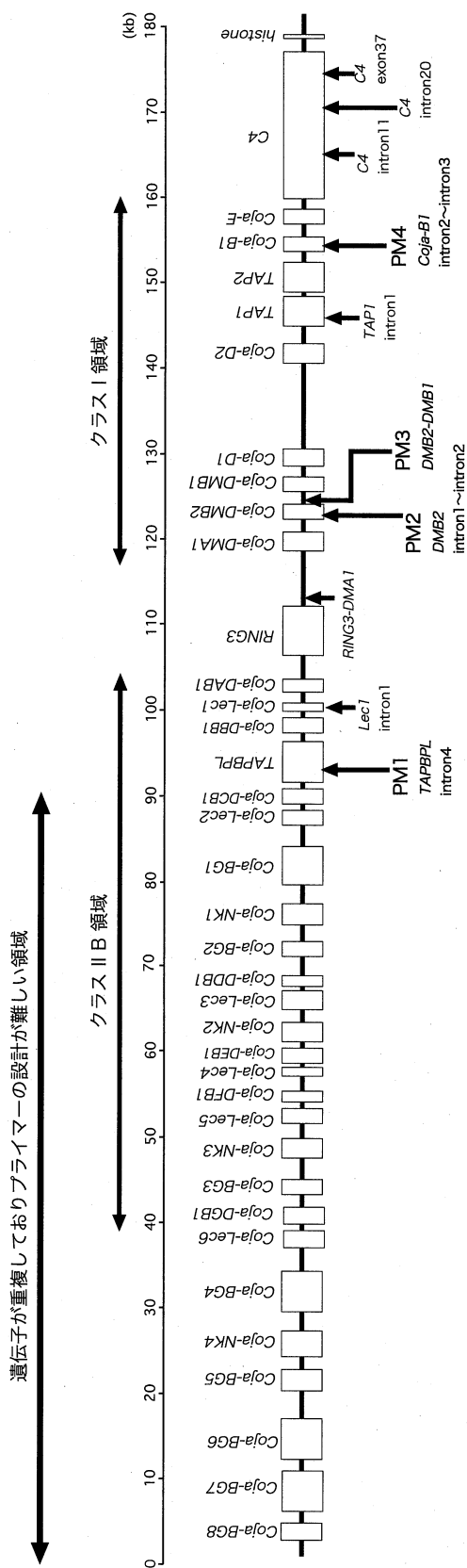


図1 Cojaハプロタイプ1の遺伝子地図とプライマーを設計した位置(太字は多型解析の結果、多型が認められたものを示す。)

ト(2塩基~6塩基繰り返し配列)や4箇所のミニサテライト(数塩基~50塩基の繰り返し配列)が存在している(17)。

著者らはこれまでに血漿中の自然抗体(IgG)濃度の高低による選抜系統, HTUA系およびLTUA系(18)それぞれ1個体を用いたCojaクラスIIB遺伝子のRT-PCR解析から, Cojaハプロタイプ1に加えて少なくとも3種類のCojaハプロタイプの存在を明らかにし, これらCojaハプロタイプにおけるmRNAの発現量の多いCojaクラスIIB遺伝子座の塩基配列に著しい差異が存在することを明らかにした(10, 17, 19-21)。したがって, これら2系統におけるCojaハプロタイプの数を把握することは血漿IgG濃度との関連性を明らかにするのみならず, Cojaハプロタイプと疾病, 産卵率や卵重などの経済有用形質を追究するために必須であると考えられた。ところがCoja領域には, CojaクラスIやクラスII遺伝子などの類似性の高い重複ゲノム配列が存在することから, HLA遺伝子座と同様にこれらのMHC遺伝子座に各遺伝子座特異的なプライマーを設計し, 多型解析を進めることは容易ではない。そこで本研究では, Coja領域に位置する繰り返し配列や遺伝子座特異的プライマーの設計可能な領域における多型マーカーの設定, それらのマーカーにおける多型解析, Cojaハプロタイプの推定, さらには血漿IgG濃度との関連性の調査として血漿IgG濃度高低選抜系統間における各マーカーおよびCojaハプロタイプの多型の頻度を比較したので, これらについて報告する。

材料および方法

供試ゲノムDNA

東京農業大学農学部家畜生理学研究室において, 渡邊・永山(1979)の手法により血漿中の自然抗体(IgG)濃度の高低両方向に選抜し閉鎖集団として飼育管理されているHTUA系(血漿IgG濃度3.77 mg/ml~12.38 mg/ml, 平均値7.28 ± 0.58 mg/ml)21個体およびLTUA系(血漿IgG濃度1.69 mg/ml~5.49 mg/ml, 平均値3.23 ± 0.23 mg/ml)18個体の計39個体を用いた。選抜はおよそ5年おきに集団内で血漿IgG濃度を測定し, HTUAおよびLTUA系内でそ

表1 HTUA系とLTUA系のIgG濃度の比較

N	HTUA (21)*	LTUA (18)	計 (39)
IgG濃度 (mg/ml)	3.77~12.38	1.69~5.49	1.69~12.38
平均IgG濃度±S.E (mg/ml)	7.28±0.58	3.23±0.23	5.41±0.46

* 括弧内の数字は個体数を示す。

それぞれ4 mg/mlを基準として分類した。血漿IgG濃度は世代や飼育環境によって変動があるため、本研究の直前に再度血漿IgG濃度を測定した個体を供試した。これらの個体から赤血球を分離し、NaCl-サポニン法にて赤血球核よりゲノムDNAを抽出した(19)(表1)。

供試プライマー

Coja ハプロタイプ1の塩基配列(180 kb, AB-078884)に存在する計41箇所のマイクロサテライトまたはミニサテライトの繰り返し配列から、類似性の高い重複ゲノム領域を除いた8箇所に、また、既知の報告(22-24)からSNP(1塩基置換: single nucleotide polymorphism)を有する可能性のある*Coja-DMB2*および他の*Coja*クラスI遺伝子に認められないユニークな配列を有する*Coja-B1*にプライマーを設計した(図1)。すなわち、*TAPBPL*のイントロン4、*Coja-Lec1*のイントロン1、*RING3*と*Coja-DMA1*の間、*DMB2*と*DMB1*の間、*TAP1*のイントロン1、*C4*のエキソン11と37およびイントロン20に位置する繰り返し配列、*Coja-DMB2*のイントロン1~2および*Coja-B1*のイントロン2~3を特異的に増幅させる計10種類のプライマーセットをPrimer Express(アプライドバイオシステムズ)により設計した。

PCR法

ポリメラーゼにはTaKaRa Ex Taq(宝酒造)を用いた。また、PCR増幅にはサーマルサイクラーGene Amp PCR System 9700(アプライドバイオシステムズ)を使用し、プレ熱変性:96°C, 3分間の後、熱変性:96°C, 30秒間、アニーリング:56~68°C, 30秒間、伸長反応:72°C, 30秒間のサイクルを30回繰り返し、さらに72°C, 5分間にて最終伸長反応

をおこなった(表2)。なお、*Coja-B1*のPCR増幅にはnested-PCR法を用いた。すなわち、1st-PCRにはすべての*Coja*クラスI遺伝子のエキソン2~4間(469~475 bp)を増幅させることが可能なプライマー(1-3および1-10)にて増幅させ、2nd-PCRでは1st-PCR産物を鋳型として、イントロン2~3を*CojaB-F/R*プライマーにて特異的に増幅させた(表2)。

塩基配列解析法

PCR増幅の確認された繰り返し配列や遺伝子において、6個体分のPCR産物をpGEM-T easy Vector System(プロメガ)にクローニングした。その後、各PCR産物に由来する8クローンずつの塩基配列をBig Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit v3.1(アプライドバイオシステムズ)およびABI 310 Genetic Analyzer(アプライドバイオシステムズ)にて決定した。

多型解析法ならびにハプロタイプ推定法

多型の認められた繰り返し配列や遺伝子において、HTUA系21個体およびLTUA系18個体の計39個体についての多型解析をおこなった。すなわち、繰り返し配列については、1%あるいは3%アガロースゲル電気泳動法によるPCR産物の易動度の相違や多型部位を識別する制限酵素によりPCR産物を処理し、アガロース電気泳動によるPCR-RFLPにより分類した。血漿IgG濃度による多型の差異、すなわち系統間における多型の差異は系統間の各多型およびハプロタイプの割合の差を検定することで調査した。ハプロタイプの推定およびハーディーワインバーグ平衡検定は、連鎖不平衡解析のソフトウェアPHASE(<http://www.stat.washington.edu/stephens/software.html>)およびArlequin(<http://acasun1.unige.ch/arlequin/>)により解析した。

結果

HTUAおよびLTUA系各3個体計6個体における多型の有無

10箇所のプライマーを設計した領域のうち、*TAPBPL*のイントロン4(多型マーカーの通称名;

表 2 設定した多型マーカーの位置と PCR 情報

多型の種類	マーカー 通称名	PCR増幅位置	Coja ハプロタイプ1 (AB078884)		PCR産物長	PCR プライマー		アニーリング 60 (°C)
			PCR増幅領域	繰り返し配列		プライマー名	プライマー配列(5' ~3')	
繰り返し 配列	PM1 TAPBPL	exon 4~intron 4	89043~89887	(ATCAT)12 (TYYTAYRRGRSYYRY AGKGTGATRRGRYYTGTGGR)9	845 (bp)	TAPBPL/VNTR-F	CAGGTCTCTGCTGGCCTATGA	60
			95147~95356	(AGAC)2 (AC)3AGAC (AG)2	210	TAPBPL/VNTR-R	TGGTGTGATGCCAACCCAT	
PM3	Coja-Lec1 intron 1	RING3 と DMA1 の 遺伝子間領域	109089~109371	(TCC)5	282	Lec1/VNTR-F	AAACCCAAATTCCTGGCGTG	60
			120440~120640	(CCCAGTGCT)4	200	Lec1/VNTR-R	GCAGAAAGAGGGCAGGAAAA	
			143820~144620	(CCATTC)3	800	RING3-DMA1/VNTR-F	GATAATAAACACATAAACGCACAGAAC	60
			intron 1	(GT)7	217	RING3-DMA1/VNTR-R	CTGCTCGGTGGGCAAAAGT	
PM2	DMB2 intron1~2	DMB2 と DMB1 の 遺伝子間領域	118204~118536	(TGG)4	262	DMB2-DMB1/VNTR-F	CCTCAATGACTGGAACCTCCCA	60
			150611~151523	(TG)6	235	DMB2-DMB1/VNTR-R	GCCGATGCTTACGGGACATA	
			150850~151167	(GT)7	800	TAP1/VNTR-F	GAATGGTGCCCCAGAAAGTTCT	60
			intron 2~3	(TG)6	217	TAP2/VNTR-R	CCAACCTATTCCGTTCCGGATC	
PM4*	Coja-BI intron 2~3	Coja-BI exon 2~4	118204~118536	(TGG)4	262	C4/VNTR/GT-F	ATGCATGTGCTTTGCAGTGTG	60
			150611~151523	(TG)6	235	C4/VNTR/GT-R	TGGATGTGCAGCGCTGTGAG	
			150850~151167	(GT)7	800	C4/VNTR/TC-F	GATGTGGTGGTGGGCATGA	60
			intron 1~2	(TGG)4	262	C4/VNTR/TC-R	GGATTGGGATAGGCATGGG	
SNP	PM2 DMB2	intron1~2	118204~118536	(TGG)4	262	C4/VNTR/TGG-F	CTTCTGGTCTGCTTCTGGTG	60
			150611~151523	(TGG)4	262	C4/VNTR/TGG-R	GCCCCTACCTTGTCCAGATCT	
			150850~151167	(TGG)4	262	DMB2-F	GGAGTGCATCCCCATTGCT	60
			intron 1~2	(TGG)4	262	DMB2-R	GCTCACCTTGGCCAGTGC	
PM4*	Coja-BI intron 2~3	Coja-BI exon 2~4	150611~151523	(TGG)4	262	I-3	GAAGTGGGTACGTGGACGG	56
			150850~151167	(TGG)4	262	I-10	CGTCGCTGTGGCCAGCATG	
			150850~151167	(TGG)4	262	CojaB-F	CCTGCCCTGGCTGTGTTTCAG	68
			intron 2~4	(TGG)4	262	CojaB-R	CCACCTCCAGTCCCACATTC	

* はnested PCRによりおこなった。

PM1) および *DMB2* と *DMB1* の遺伝子間領域 (PM3) に反復回数の違いに基づく 4 種類 (717 bp, 845 bp, 894 bp, 1209 bp) と 2 種類 (262 bp, 271 bp) の繰り返し配列の多型がそれぞれ確認された。また, *Coja-DMB2* のイントロン 1 (PM2-A) とエクソン 2 (PM2-B) および *Coja-B1* のエクソン 3 (PM4) に 2 箇所および 6 箇所の SNP がそれぞれ確認された。その他の 6 箇所のプライマーを設計した領域については 6 個体における PCR 増幅は確認されたものの多型は認められなかった。以下に PM1~4 の特徴について記した。

① PM1

PM1 において確認された 4 種類の PCR 産物の塩基配列を解析した結果, TTYYTAYRRGRSYTRYA-GKGTGGATRRGRYYTGGTGGTR の 39 塩基および ATGAT の 5 塩基をそれぞれ 1 単位とする繰り返し配列が含まれていた。また, これらの反復回数の組み合わせから, 4 種類の PCR 産物はそれぞれ 39 塩基単位と 5 塩基単位がそれぞれ 9 回と 12 回である塩基配列 (845 bp, PM1-9/12, DDBJ/EMBL/GenBank: AB186380), 6 回と 10 回である塩基配列 (717 bp, PM1-6/10, AB186381), 10 回と 14 回である塩基配列 (894 bp, PM1-10/14, AB186382), 18 回と 14 回である塩基配列 (1209 bp PM1-18/14, AB-186383) に分類された(図 2A)。

② PM3

次に PM3 において確認された 2 種類の PCR 産物の塩基配列を解析した結果, CCCAGTGCT の 9 塩基を 1 単位とする繰り返し配列が 3 回あるいは 4 回含まれていた。そこでこの 2 種類の多型を PM3-3 (AB186376) および PM3-4 (AB186375) とした。(図 2B)。

③ PM2

Coja-DMB2 において先の 6 個体について PCR 産物の塩基配列を比較した結果, 3 種類の対立遺伝子 (*Coja-DMB2*01*, *-DMB2*02* および *-DMB2*03*) が見いだされた (AB186377~9)。すなわち, *Coja-DMB2*01* における PCR 配列のイントロン領域に位

置する 31 番目 (PM2-A) と非同義置換 (Thr/Arg) を伴う 226 番目 (PM2-B) の塩基はそれぞれ G と C であるのに対して, *-DMB2*02* では A と C,

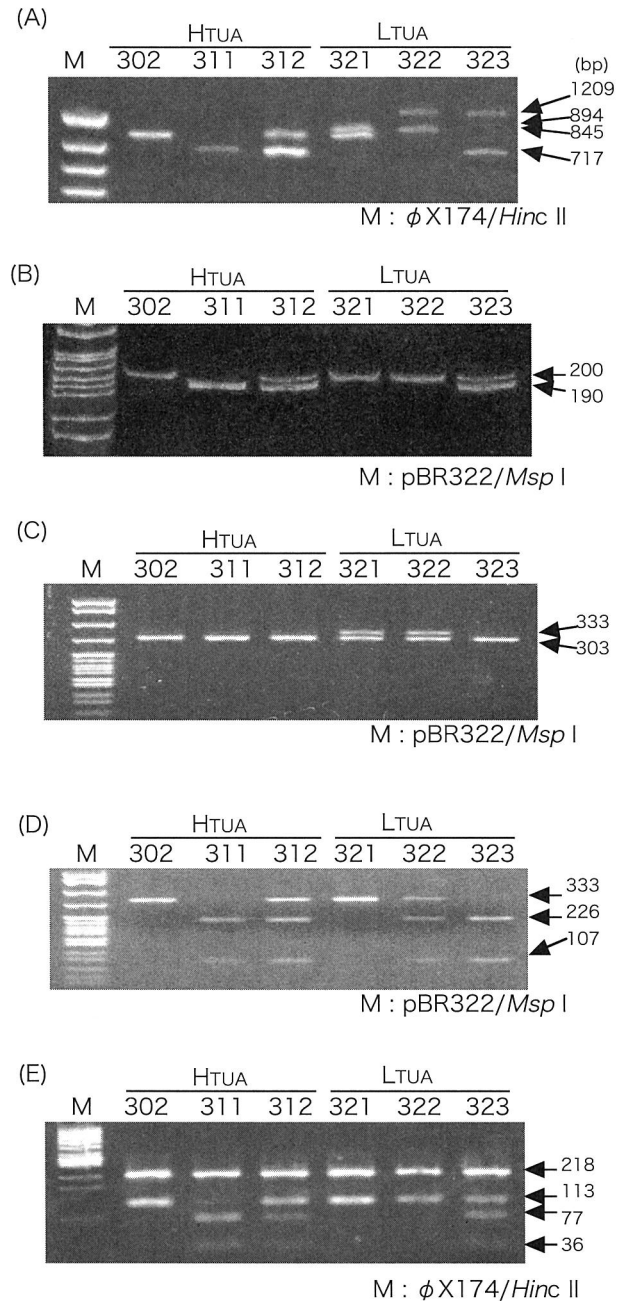


図 2 各多型マーカーにおける PCR 産物の電気泳動像
 (A) PM1 の PCR 産物の電気泳動像
 (B) PM3 の PCR 産物の電気泳動像
 (C) PM2-A の PCR 産物の *Dra* III による RFLP
 (D) PM2-B の PCR 産物の *Hinf* I による RFLP
 (E) PM4 の PCR 産物の *Mva* I による RFLP

-DMB2*03 では G と G であった。そこで、以降の *Coja-DMB2* の多型解析は PM2-A の A を認識する制限酵素 *DraIII* ならびに PM2-B の G を認識する制限酵素 *HinfI* を用いた PCR-RFLP によりおこなった(図 2 C, D)。

④ PM4

Coja-B1 において同様に 6 個体について PCR 産物の塩基配列を比較した結果、3 種類の対立遺伝子 (*Coja-B1*01*, *-B1*02* および *-B1*03*) が見い出された (AB186372~4)。これらの配列には 6 箇所の SNP が確認されたが、260 番目の非同義置換 (Val/Leu) を伴う SNP (PM4, G と C) を認識する制限

酵素 *MvaI* 以外に他の 5 箇所の SNP を認識する制限酵素は認められなかった。そこで、以降の *Coja-B1* の多型解析は制限酵素 *MvaI* を用いた PCR-RFLP により、260 番目の SNP を検出することとした(図 2E)。

HTUA および LTUA 系, 計 39 個体における多型解析

HTUA および LTUA 両系統, 計 39 個体について 6 箇所の多型マーカー (PM1, PM2-A, PM2-B, PM3, PM4) についての多型を検索したところ、前項にて見い出された多型以外に新しい多型は認められなかった(表 3)。また、前項にて多型の認められなかった 6 箇所についても多型は認められなかった。

表 3 各多型マーカーにおける多型と予測される *Coja* ハプロタイプ

系統	個体番号	性別	IgG濃度 (mg/ml)	PM1		PM3	PM2		PM4	<i>Coja</i> ハプロタイプ	
				39塩基	5塩基		PM2-A	PM2-B		ハプロタイプ 1	ハプロタイプ 2
HTUA	302	♀	9.86	9/9	12/12	4/4	G/G	C/C	G/G	9 / 12 - 4 - G - C - G / 9 / 12 - 4 - G - C - G	
	311	♂	12.38	6/6	10/10	3/3	G/G	G/G	C/C	6 / 10 - 3 - G - G - C / 6 / 10 - 3 - G - G - C	
	312	♂	11.90	6/9	10/12	3/4	G/G	C/G	G/C	6 / 10 - 3 - G - G - C / 9 / 12 - 4 - G - C - G	
	353	♂	3.77	6/10	10/14	3/3	A/G	C/G	G/C	6 / 10 - 3 - G - G - C / 10 / 14 - 3 - A - C - G	
	342	♂	5.35	10/10	14/14	4/4	A/A	C/C	G/C	10 / 14 - 4 - A - C - G / 10 / 14 - 4 - A - C - G	
	343	♂	6.75	6/9	10/12	3/4	G/G	C/G	G/G	6 / 10 - 3 - G - G - G / 9 / 12 - 4 - G - C - G	
	366	♀	7.25	9/10	12/14	4/4	G/A	C/C	G/G	9 / 12 - 4 - G - C - G / 10 / 14 - 4 - A - C - G	
	344	♀	10.81	6/9	10/12	3/4	G/G	C/G	G/G	6 / 10 - 3 - G - G - G / 9 / 12 - 4 - G - C - G	
	367	♀	8.71	6/10	10/14	3/3	A/G	C/G	G/C	6 / 10 - 3 - G - G - C / 10 / 14 - 3 - A - C - G	
	318	♂	9.45	9/10	12/14	4/4	G/A	C/C	G/G	9 / 12 - 4 - G - C - G / 10 / 14 - 4 - A - C - G	
	309	♀	9.64	6/9	10/12	3/4	G/G	C/G	G/C	6 / 10 - 3 - G - G - C / 9 / 12 - 4 - G - C - G	
	345	♂	4.91	9/9	12/12	4/4	G/G	C/C	G/G	9 / 12 - 4 - G - C - G / 9 / 12 - 4 - G - C - G	
	319	♂	8.71	9/18	12/14	4/4	A/G	C/G	G/G	9 / 12 - 4 - (A) - C - G / 18 / 14 - 4 - (G) - G - G	
	369	♀	7.08	10/18	14/14	4/4	A/G	C/G	G/G	10 / 14 - 4 - A - C - G / 18 / 14 - 4 - G - G - G	
	346	♂	6.70	10/18	14/14	4/4	A/G	C/G	G/G	10 / 14 - 4 - A - C - G / 18 / 14 - 4 - G - G - G	
	347	♂	4.09	10/10	14/14	4/4	G/G	C/C	G/C	10 / 14 - 4 - G - C - G / 10 / 14 - 4 - G - C - G	
	370	♀	4.32	6/6	10/10	3/3	A/G	C/G	G/C	6 / 10 - 3 - G - G - (C) / 6 / 10 - 3 - A - C - (G)	
	371	♀	5.06	6/18	10/14	3/4	G/G	G/G	C/C	6 / 10 - 3 - G - G - C / 18 / 14 - 4 - G - G - G	
	307	♀	5.06	9/9	12/12	4/4	G/G	C/C	G/G	9 / 12 - 4 - G - C - G / 9 / 12 - 4 - G - C - G	
	373	♀	4.65	6/10	10/14	3/3	A/G	C/G	G/C	6 / 10 - 3 - G - G - C / 10 / 14 - 3 - A - C - G	
352	♂	6.53	10/18	14/14	4/4	G/G	C/G	G/G	10 / 14 - 4 - G - C - G / 18 / 14 - 4 - G - G - G		
LTUA	321	♀	1.69	9/10	12/14	4/4	G/A	C/C	G/G	9 / 12 - 4 - G - C - G / 10 / 14 - 4 - A - C - G	
	322	♂	2.31	10/18	14/14	4/4	A/G	C/G	G/G	10 / 14 - 4 - A - C - G / 18 / 14 - 4 - G - G - G	
	323	♀	1.73	6/18	10/14	3/4	G/G	G/G	G/C	6 / 10 - 3 - G - G - C / 18 / 14 - 4 - G - G - G	
	341	♂	5.49	10/10	14/14	4/4	A/A	C/C	G/G	10 / 14 - 4 - A - C - G / 10 / 14 - 4 - A - C - G	
	348	♂	4.16	10/10	14/14	3/3	A/G	C/G	G/C	6 / 10 - 3 - G - G - (C) / 6 / 10 - 3 - A - C - (G)	
	324	♂	3.01	6/18	10/14	3/4	G/G	G/G	G/C	6 / 10 - 3 - G - G - C / 18 / 14 - 4 - G - G - G	
	377	♀	4.01	6/18	10/14	3/4	G/G	G/G	G/C	6 / 10 - 3 - G - G - C / 18 / 14 - 4 - G - G - G	
	378	♀	3.73	6/9	10/12	3/4	A/G	C/G	G/C	6 / 10 - 3 - (G) - G - C / 9 / 12 - 4 - (A) - C - G	
	354	♂	3.32	9/9	12/12	3/4	G/G	C/G	G/C	9 / 12 - 4 - G - C - G / 9 / 12 - 3 - G - G - C	
	379	♀	3.27	9/18	12/14	4/4	A/G	C/G	G/G	9 / 12 - 4 - (A) - C - G / 18 / 14 - 4 - (G) - G - G	
	355	♂	2.49	9/10	12/14	3/3	A/G	C/G	G/C	9 / 12 - 3 - G - G - C / 10 / 14 - 3 - A - C - G	
	339	♀	3.64	6/18	10/14	4/4	A/G	C/G	G/G	6 / 10 - 4 - (A) - C - G / 18 / 14 - 4 - (G) - G - G	
	356	♂	2.88	9/18	12/14	4/4	G/G	C/G	G/G	9 / 12 - 4 - G - C - G / 18 / 14 - 4 - G - G - G	
	376	♀	3.93	9/9	12/12	4/4	G/A	C/C	G/G	9 / 12 - 4 - G - C - G / 9 / 12 - 4 - A - C - G	
	361	♂	3.73	9/9	12/12	3/4	G/G	C/G	G/C	9 / 12 - 4 - G - C - G / 9 / 12 - 3 - G - G - C	
	362	♀	1.98	6/9	10/12	3/4	A/G	C/G	G/C	6 / 10 - 3 - (G) - G - C / 9 / 12 - 4 - (A) - C - G	
	380	♂	2.71	6/9	10/12	3/4	G/G	C/G	G/C	6 / 10 - 3 - G - G - C / 9 / 12 - 4 - G - C - G	
	363	♂	4.09	9/10	12/14	4/4	G/A	C/C	G/G	9 / 12 - 4 - G - C - G / 10 / 14 - 4 - A - C - G	

()は尤度が0.9以下であったことを示す。

計 39 個体におけるヘテロ接合度は PM1 にて 0.692 と最も高く、PM3 で 0.333 と最も低かったが(多型マーカーの平均ヘテロ接合度; 0.549), 両系統におけるヘテロ接合度に有意差は認められなかった(表 4)。さらに、各多型マーカーの特徴として、PM1-9/12, PM2-A における G, PM2-B における C, PM3 における PM3-4, PM4 における G の頻度は両系統共にそれぞれ高い傾向が挙げられた。各マーカーの多型頻度は系統間で有意差 ($P < 0.05$) は認められなかった(表 5)。また、各遺伝子型の観察値と多型頻度から算出した理論値の間には両系統共に有意差

表 4 各多型マーカーにおけるヘテロ接合度および系統間における P 値

マーカー名	HTUA	LTUA	計	P値
PM1	0.667	0.722	0.692	0.797
PM3	0.238	0.444	0.333	0.223
PM2-A	0.429	0.556	0.487	0.515
PM2-B	0.571	0.611	0.590	0.848
PM4	0.381	0.556	0.462	0.362

表 5 各多型マーカーにおける多型頻度および系統間における P 値

マーカー	多型	HTUA	LTUA	計	P値
PM1	PM1-9/12	0.31	0.39	0.35	0.463
	PM1-6/10	0.29	0.19	0.24	0.349
	PM1-10/14	0.29	0.22	0.26	0.522
	PM1-18/14	0.12	0.19	0.15	0.358
PM3	PM3-4	0.64	0.67	0.65	0.826
	PM3-3	0.36	0.33	0.35	0.826
PM2-A	G	0.74	0.67	0.71	0.490
	A	0.26	0.33	0.29	0.490
PM2-B	C	0.62	0.53	0.58	0.416
	G	0.38	0.47	0.42	0.416
PM4	G	0.71	0.72	0.72	0.938
	C	0.29	0.28	0.28	0.938

($P < 0.05$) は認められなかった(表 7)。

Coja 領域におけるハプロタイプ解析

6 箇所の多型マーカー組み合わせから、ソフトウェア PHASE を用いて推定されたハプロタイプは 39 個体において 11 種類であった(表 3 および表 6)。39 個体のうち、尤度 0.9 以下で推定されたハプロタイプを持つ個体は HTUA 系で 2 個体、LTUA 系で 4 個体の計 6 個体のみであった。また、これら 11 ハプロタイプにおけるヘテロ接合度は HTUA 系で 0.810, LTUA 系で 0.944 であり、これらの平均値は 0.872 であった。

HTUA および LTUA 系統間における Coja ハプロタイプの頻度を比較したところ、Coja ハプロタイプ 5(6/10-G-G-3-G) および Coja ハプロタイプ 10(10/14-G-C-4-G) は HTUA 系にのみ、Coja ハプロタイプ 7(6/10-A-C-4-G) は LTUA 系にのみ存在した。さらに Coja ハプロタイプ 2(9/12-A-C-4-G), Coja ハ

表 7 各マーカーおよび Coja ハプロタイプにおけるハーディーワインバーグ平衡検定

マーカー名	HTUA	LTUA	計
PM1-A	0.92	0.36	0.79
PM1-B	0.92	0.36	0.79
PM3	0.09	1.00	0.26
PM2-A	0.88	0.57	0.56
PM2-B	0.63	0.63	0.43
PM4	0.95	0.26	0.68
Coja ハプロタイプ	0.04	0.58	0.04

太文字は有意差 ($P < 0.05$) が認められたことを示す。

表 6 Coja ハプロタイプの多型頻度および系統間における P 値

	略称	HTUA	LTUA	計	P値
9/12-G-C-4-G	Coja ハプロタイプ1	0.286	0.194	0.244	0.349
9/12-G-G-3-C	Coja ハプロタイプ2	0.000	0.083	0.038	0.056
9/12-A-C-4-G	Coja ハプロタイプ3	0.024	0.111	0.064	0.117
6/10-G-G-3-C	Coja ハプロタイプ4	0.214	0.194	0.205	0.829
6/10-G-G-3-G	Coja ハプロタイプ5	0.048	0.000	0.026	0.185
6/10-A-C-3-G	Coja ハプロタイプ6	0.024	0.028	0.026	0.912
6/10-A-C-4-G	Coja ハプロタイプ7	0.000	0.028	0.013	0.277
10/14-A-C-4-G	Coja ハプロタイプ8	0.143	0.139	0.141	0.960
10/14-A-C-3-G	Coja ハプロタイプ9	0.071	0.028	0.051	0.384
10/14-G-C-4-G	Coja ハプロタイプ10	0.071	0.000	0.038	0.102
18/14-G-G-4-G	Coja ハプロタイプ11	0.119	0.194	0.154	0.358

プロタイプ 3(9/12-A-C-4-G) および *Coja* ハプロタイプ 10(10/14-G-C-4-G) においては HTUA 系と LTUA 系の頻度間に有意差はないが差異は認められた(表 6)。また、ハプロタイプの観察値と多型頻度から算出した理論値の間には HTUA 系においてのみ有意差 ($P=0.04$) が認められた(表 7)。

考 察

本研究において *Coja* 領域に存在する計 10 座位を対象に多型マーカーを検索した結果、3 箇所を繰り返し多型ならびに 3 箇所に SNP 多型を検出した。これら 6 箇所の多型はいずれも *TAPBPL* から *Coja-BI* までの約 62 kb のゲノム領域に集中していた(図 1)。この領域に位置する主働 (major) クラス IIB 遺伝子の対立遺伝子間の類似性 (80.0~91.9%) は、62 kb の外側に位置する微働 (minor) クラス IIB 遺伝子や *Coja-B* の類似性 (98.9~99.6% および 98.2~99.7%) に比べて低いことが報告されていることから、本多型マーカーは *Coja* 領域の中でも多様性の高い領域に設定されたと考えられた (10, 17, 21)。また、計 39 個体におけるこれらの多型マーカーのヘテロ接合度の平均値は 0.487 であり、ウズラを *Coja* ハプロタイプに分類するための多型マーカーとして十分な多型情報が得られると考えられた(表 4)。実際、39 個体を用いて多型を解析した結果、11 種類の *Coja* ハプロタイプの存在が推定された(表 6)。これら 6 種類の多型マーカー間の最大距離が約 62 kb であることを考慮すると互いに強く連鎖不平衡の関係にあると推測された。しかるに本研究において推定された 11 種類の *Coja* ハプロタイプの数はそれぞれの変異が独立して生じたと仮定した場合の多型の組み合わせの種類 (8 種類) より多かったことから、これらの多型マーカー間にて組み換えが生じた可能性が考えられた。この可能性を裏付けるものとして、HLA 領域の遺伝子配列には少なくとも 60~90 kb について 1 箇所の割合で (25)、また、マウス *Mhc* クラス II 領域には 4 箇所の組み換えホットスポットがそれぞれ存在し、これらが高頻度で組み換えを引き起こすことが報告されている (26-31) ことから、ウズラについても今後組み換えホットスポットを同定したり、ハプロタイプブロックを推定する必要があ

ると考えられた。

血漿 IgG 濃度の高低両選抜系統である HTUA 系と LTUA 系の間において、各マーカーおよび *Coja* ハプロタイプの多型に系統間差異は認められなかったことから、血漿 IgG 濃度と *Coja* 領域の関連性は低いと考えられる。しかし、血漿 IgG 濃度を規定する要因が複数あることが予測され、2 系統間でハプロタイプの頻度に有意差はないが差異は認められたことから、今後、系統間における血漿 IgG 濃度以外の免疫機能の差異を詳細に調査し、免疫形質と *Coja* ハプロタイプの関連性を解析していく必要があると考えられる。

ウズラにて 11 種類もの *Coja* ハプロタイプが確認されたが、ニワトリにおいても数多くのハプロタイプが報告されている (17, 32-34)。ところが、ウズラが多く遺伝子座と少ない対立遺伝子によって形成されているのに対し、ニワトリは少ない遺伝子座と多くの対立遺伝子によって形成されており、両者の多様性の成り立ちは大きく異なると考えられた。さらに、ウズラの家禽化の歴史はニワトリに比べ遙かに短いこと、*Coja* 領域はニワトリの MHC 領域に比べて、複雑な重複ゲノム構造を有していること、*Coja* ハプロタイプのヘテロ接合度は HTUA 系で 0.810、LTUA 系で 0.944、全体で 0.872 と非常に高かったことから、*Coja* ハプロタイプの数はニワトリよりも多く存在すると考えられた。

以上の考察より、本研究にて設定した多型マーカーは、これまでウズラにおいて不明であった組み換えホットスポットの同定、ハプロタイプブロックの推定などの遺伝学的解析や、*Coja* 領域と抗病性、免疫形質、さらには受精率、育成率および産卵率などの経済有用形質との関連性を明確にするためのツールとして有用であろう。

参考文献

1. Vainio O, Koch C, Toivanen A.: *B-L* antigens (class II) of the chicken major histocompatibility complex control T-B cell interaction. *Immunogenetics*. **19**(2): 131-40. 1984.
2. Chanh TC, Benedict AA, Abplanalp H.: Association of serum hemolytic complement levels

- with the major histocompatibility complex in chickens. *J Exp Med.* **144**(2): 555–61. 1976.
3. Gunther E, Balcarova J, Hala K, *et al.*: Evidence for an association between immune responsiveness of chicken to (T, G)-A-L and the major histocompatibility system. *Eur J Immunol.* **4**(8): 548–53. 1974.
 4. Longenecker BM, Mosmann TR.: Structure and properties of the major histocompatibility complex of the chicken. Speculations on the advantages and evolution of polymorphism. *Immunogenetics.* **13**, 1–8. 1981.
 5. Bacon LD.: Influence of the major histocompatibility complex on disease resistance and productivity. *Poultry Science.* **66**, 802–807. 1987.
 6. Briles WE, Stone HE, Cole RK.: Marek's disease; effect of B histocompatibility alloalleles in resistant and susceptible chicken lines. *Science.* **195**, 193–195. 1977.
 7. Collins W, Briles W, Zsigray R, *et al.*: The B locus (*Mhc*) in the chicken: association with the fate of RSV-induced tumors. *Immunogenetics.* **5**, 333–340. 1977.
 8. Guillemot F, Kaufman J, Skjodt K, *et al.*: The major histocompatibility complex in the chicken. *Trends in Genetics.* **5**, 300–304. 1989.
 9. Longenecker BM, Pazderka F, Gavora JS, *et al.*: Role of the major histocompatibility complex in resistance to Marek's disease: restriction of the growth of JMV-MD tumor cells in genetically resistant birds. *Advance Experimental Medical Biology.* **88**, 287–298. 1977.
 10. Shimizu S, Shiina T, Hosomichi K, *et al.*: MHC class IIB gene sequences and expression in quails (*Coturnix japonica*) selected for high and low antibody responses. *Immunogenetics.* **56**(4): 280–91. 2004.
 11. Inooka S, Takahashi S, Takahashi H, *et al.*: Immunological traits in generations to 7 to 12 of two lines of Japanese quail selected for high or low antibody response to Newcastle disease virus. *Poult Sci* **63**: 1298–1302. 1984.
 12. Guillemot F, Billault A, Pourquie, *et al.*: A molecular map of the chicken major histocompatibility complex: the class IIB genes are closely linked to the class I genes and the nucleolar organizer. *EMBO J.* **7**: 2775–2785. 1988.
 13. Kaufman J, Milne S, Gobel TW, *et al.*: The chicken B locus is a minimal essential major histocompatibility complex. *Nature.* **401**: 923–925. 1999.
 14. 椎名隆.: トリの MHC: 日本組織適合性学会誌. **4**(3): 16–24. 1998.
 15. 椎名隆, 渡邊誠喜.: ウズラ MHC 領域のゲノム解析: 家畜ゲノム解析と新たな家畜育種戦略. 345–347. 2000.
 16. Shiina T, Shimizu C, Oka A, *et al.*: Gene organization of the quail major histocompatibility complex (*MhcCoja*) class I gene region. *Immunogenetics.* **49**: 384–394. 1999.
 17. Shiina T, Shimizu S, Hosomichi K, *et al.*: Comparative genomic analysis of two avian — quail and chicken — major histocompatibility complex regions. *J Immunol.* **172**(11): 6751–63. 2004.
 18. 渡邊誠喜・永山文夫.: ウズラの血清 IgG 値に関する研究. 日本家禽学会誌. **16**: 59–64. 1979.
 19. Shiina T, Ando A, Imanishi T, *et al.*: Isolation and characterization of cDNA clones for Japanese quail (*Coturnix japonica*) major histocompatibility complex (*MhcCoja*) class I molecules. *Immunogenetics.* **42**: 213–216. 1995.
 20. Shiina T, Oka A, Imanishi T, *et al.*: Multiple class I loci expressed by the quail *Mhc*. *Immunogenetics.* **49**(5): 456–60. 1999.
 21. 細道一善, 椎名隆, 清水佐良子ら.: 血清 IgG 高低選抜ニホンウズラ系統における機能的 *Mhc* クラス II β 遺伝子の塩基配列解析. 動物遺伝育種学研究. In press. 2004.
 22. Carrington M, Yeager M, Mann D.: Characterization of *HLA-DMB* polymorphism. *Immunogenetics.* **38**(6): 446–9. 1993.
 23. Hermel E, Yuan J, Monaco JJ.: Characterization

- of polymorphism within the H2-M MHC class II loci. *Immunogenetics*. **42**(2): 136–42. 1995.
24. Maddox JF.: Single strand conformational polymorphisms in the second exons of the ovine DMB, DYA and DYB genes. *Anim Genet*. **30**(5): 382–3. 1999.
 25. Crawford DC, Bhangale T, Li N, *et al.*: Evidence for substantial fine-scale variation in recombination rates across the human genome. *Nat Genet*. **36**(7): 700–6. 2004.
 26. Uematsu Y, Kiefer H, Schulze R, *et al.*: Molecular characterization of a meiotic recombinational hotspot enhancing homologous equal crossing-over. *EMBO J*. **9**: 2123–2129. 1986.
 27. Shiroishi T, Hanzawa N, Sagai T, *et al.*: Recombinational hotspot specific to female meiosis in the mouse major histocompatibility complex. *Immunogenetics*. **31**: 79–88. 1990.
 28. Heine D, Khambata S, Wydner K S, *et al.*: Analysis of recombinational hot spots associated with the p haplotype of the mouse MHC. *Genomics*. **23**: 168–177. 1994.
 29. Lafuse W P, David C S.: Recombination hot spots within the I region of the mouse H-2 complex map to the E and E genes. *Immunogenetics*. **24**: 352–360. 1986.
 30. Khambata S, Mody J, Modzelewski A, *et al.*: E recombinational hot spot in the mouse major histocompatibility complex maps to the fourth intron of the E gene. *Genome Res*. **6**: 195–201. 1996.
 31. Yoshino M, Sagai T, Lindahl KF, *et al.*: No dosage effect of recombinational hotspot in the mouse major histocompatibility complex. *Immunogenetics*. **39**: 381–389. 1994.
 32. Jacob JP, Milne S, Beck S, *et al.*: The major and a minor class II beta-chain (*B-LB*) gene flank the Tapasin gene in the *B-F/B-L* region of the chicken major histocompatibility complex. *Immunogenetics*. **51**: 138–147. 2000.
 33. Livant EJ, Brigati JR, Ewald SJ.: Diversity and locus specificity of chicken MHC B class I sequences. *Anim Genet*. **35**(1): 18–27. 2004.
 34. Livant EJ, Zheng D, Johnson LW, *et al.*: Three new MHC haplotypes in broiler breeder chickens. *Anim Genet*. **32**(3): 123–31. 2001.

Development of polymorphic Genetic Markers in the Quail *Mhc* (*Coja*) Region

Kazuyoshi Hosomichi¹⁾, Takashi Shiina²⁾, Sayako Shimizu²⁾, Hiromi Hara¹⁾, Yutaka Yoshida¹⁾, Hidetoshi Inoko²⁾ and Kei Hanzawa^{1,3)}

- 1) Laboratory of Animal Physiology, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture, 1737 Funako, Atsugi, Kanagawa 243-0034, Japan
- 2) Department of Genetic Information, Division of Molecular Life Science, Tokai University School of Medicine, Bohseidai, Isehara, Kanagawa 259-1193, Japan
- 3) Corresponding author: Kei Hanzawa (Phone +81 462 70 6567, Fax +81 462 70 6569, E-mail: khanzawa@nodai.ac.jp)

Abstract: In this research, three polymorphic repetitive sequences and three SNPs in the *Coja-DMB2* and *Coja-B* genes were identified in the quail *Mhc* (*Coja*) region using a total of six quails derived from two lines (HTUA and LTUA lines), which were selected by plasma IgG concentration. Subsequently, polymorphism and haplotype analyses were performed on these five polymorphic markers using 39 individuals of both lines. As a result, 11 kind of *Coja* haplotypes were predicted. Especially, from the frequencies of *Coja* haplotypes the haplotype 2, 3 and 10 have difference ($P = 0.028$) between both lines.

Keywords: Quail *Mhc*, SNPs, polymorphic repetitive sequence, haplotype

● 最新情報：“玉手箱” ●

最新アレル情報

—削除および名称変更アレル—

小林 賢

日本薬科大学生物学

HLA 遺伝子群および HLA 関連遺伝子群 (TAP, MICA) に命名されているアレルは、平成 16 年 7 月現在で 1874 種類にもなる。このような状況の中で様々な報告ミスが認められている。アレルそのものの存在が確認できないものについては命名表から削除さ

れたり、塩基配列が同じであるということが確認されているアレルについては名称が変更されたりという措置がなされている。このような削除および名称が変更されているアレルは平成 16 年 3 月現在で 58 種類(表 1) あり、命名されたアレルの 3% にも達する。

表 1 削除されたアレルおよび命名替えされたアレル

削除アレル名	削除日	削除の理由	対応するアレル名				
A*0105N	17 Jul, 2001	右のアレルと同一配列	A*0104N	Cw*1201	13 Feb, 1996	右のアレルと同一配列	Cw*120202
A*0223	6 Aug, 1997	右のアレルと同一配列	A*0222	Cw*1301	9 Aug, 2002	塩基配列エラー	
A*2401	11 Mar, 1995	塩基配列エラー		Cw*1401	31 Jul, 1995	右のアレルと同一配列	Cw*140201
A*2412	10 Jun, 1996	右のアレルと同一配列	A*2408	Cw*1501	13 Feb, 1996	右のアレルと同一配列	Cw*150201
A*2416	30 Apr, 2002	右のアレルに命名替え	A*3108	Cw*1603	18 Aug, 1995	右のアレルと同一配列	Cw*1403
A*3005	7 Aug, 1995	右のアレルと同一配列	A*3004	Cw*16042	3 Oct, 1997	右のアレルと同一配列	Cw*160401
A*31011	10 Jun, 1996	右のアレルと同一配列	A*310102	Cw*1605	3 Oct, 1997	右のアレルと同一配列	Cw*160401
A*3302	7 Nov, 1996	右のアレルと同一配列	A*330301	DPA1*0101	28 Feb, 1995	右のアレルと同一配列	DPA1*010301
B*0701	11 Mar, 1995	塩基配列エラー		DPA1*0102	28 Feb, 1995	右のアレルと同一配列	DPA1*010301
B*1305	3 Oct, 1997	右のアレルと同一配列	B*1304	DPB1*02011	7 Aug, 1996	右のアレルと同一配列	DPB1*020102
B*1522	9 Aug, 2002	右のアレルに命名替え	B*3543	DPB1*0701	1 Aug, 1989	アレルが存在しない	
B*1541	28 Jul, 1998	右のアレルと同一配列	B*1539	DPB1*1201	1 Aug, 1989	アレルが存在しない	
B*1559	9 Aug, 2002	右のアレルに命名替え	B*3544	DPB1*4201	13 Oct, 1993	右のアレルと同一配列	DPB1*3101
B*1816	23 Nov, 2001	右のアレルと同一配列	B*1814	DPB1*4301	13 Oct, 1993	右のアレルと同一配列	DPB1*2801
B*27051	11 Mar, 1995	右のアレルと同一配列	B*270502	DQA1*03012	31 Jan, 1995	右のアレルと同一配列	DQA1*0302
B*2722	8 Apr, 2002	右のアレルと同一配列	B*2706	DQA1*05013	21 Apr, 1998	右のアレルに命名替え	DQA1*0505
B*39012	28 Jun, 1993	右のアレルと同一配列	B*390101	DQB1*03031	31 Jan, 1995	右のアレルと同一配列	DQB1*030302
B*3921	1 Dec, 2000	右のアレルと同一配列	B*3924	DRB1*0702	6 Mar, 1994	右のアレルと同一配列	DRB1*070101
B*4017	15 Apr, 1998	右のアレルと同一配列	B*4016	DRB1*08031	9 Oct, 1997	右のアレルと同一配列	DRB1*080302
B*4041	23 Nov, 2001	右のアレルと同一配列	B*4040	DRB1*09011	29 Dec, 1996	右のアレルと同一配列	DRB1*090102
B*4203	11 Mar, 1998	アレルが存在しない		DRB1*12031	29 Dec, 1996	右のアレルと同一配列	DRB1*120101
B*4401	6 Mar, 1994	右のアレルと同一配列	B*44020101	DRB1*1606	27 Sep, 1995	右のアレルと同一配列	DRB1*160501
B*5003	21 Aug, 2003	右のアレルと同一配列	B*5002	DRB4*0101102N	29 Dec, 1996	右のアレルと同一配列	DRB4*01030102N
B*5125	31 Jul, 2000	右のアレルと同一配列	B*5122	DRB5*0201	3 Mar, 1997	右のアレルと同一配列	DRB5*0202
B*5506	2 Dec, 1998	右のアレルと同一配列	B*5504	MICA*003	10 Oct, 1998	アレルが存在しない	
B*5803	16 Nov, 1994	アレルが存在しない					
B*7901	6 Mar, 1994	右のアレルに命名替え	B*1518				
Cw*0101	13 Feb, 1996	右のアレルと同一配列	Cw*010201				
Cw*0201	13 Feb, 1996	右のアレルと同一配列	Cw*020202				
Cw*0301	11 Mar, 1995	右のアレルと同一配列	Cw*030401				
Cw*0402	8 Jun, 1999	右のアレルと同一配列	Cw*04010101				
Cw*0601	31 Jan, 1995	右のアレルと同一配列	Cw*0602				
Cw*1101	14 Nov, 1991	塩基配列エラー					

筆者連絡先 〒362-0806 埼玉県北足立郡伊奈町小室 10281
日本薬科大学生物学
小林 賢

電話 048-721-1155
F A X 048-721-6208
E-mail kobayasi@nichiyaku.ac.jp

第8回 HLA-QC ワークショップレポート

第8回 HLA-QC ワークショップレポート —全体経過—

木村彰方^{1,2)}, 太田正穂³⁾, 柏瀬貢一⁴⁾, 小林 賢⁵⁾, 酒巻建夫⁶⁾, 佐田正晴⁷⁾,
田中秀則⁴⁾, 中島文明⁸⁾, 成瀬妙子⁹⁾, 丸屋悦子¹⁰⁾, 安波道郎^{1,2)}
(日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会)

- 1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 2) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部ゲノム多様性研究室, 3) 信州大学医学部法医学, 4) 東京都赤十字血液センター検査部, 5) 日本薬科大学生物学, 6) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, 7) 国立循環器病センター研究所, 8) 神奈川県赤十字血液センター検査部, 9) 東海大学医学部分子生命科学系, 10) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

1. ワークショップ集会までの経過

今回で通産8回目を迎えたHLA-QCワークショップ(QCWS)は、昨年度に引き続き認定制度委員会の主催で実施された。平成15年9月にQCWS部会において今年度のQCWSの大まかな方針が討議された。平成15年11月にMHC誌上と学会ホームページ上にQCWS案内が出され、平成16年3月の締め切りまでに175名(74施設)から参加申し込みがあった。参加申し込み、参加者との連絡のいずれについても原則としてインターネットを利用(HPからの申し込み、電子メール連絡)することとして運営した。参加者数が確定した4月に、QCWS部会において、具体的なサンプルの選定、QCWSのテーマ(後述)の決定と電子媒体を用いたデータ収集の方法を決定した。ついで、4月に施設単位としてサンプルを発送した。平成16年6月のデータ送付締め切りまでに、72施設から解析データが収集された。それらのデータを一括してMOに記録し、7月に各解析担当者へ送付され、8月末まで解析された。9月初旬に解析データを取りまとめ、QCWS集会で用いる資料を作成した。(表1)

表1 第8回QCWSの実施経過

時期	実行内容
平成15年9月	第8回QCWSの方針決定
平成15年11月	第8回QCWS案内の作成、MHCおよびHPへの掲載
平成16年3月	参加申し込み受け付け(74施設、175名)
平成16年4月	QCWS部会(H16.4.2)において具体的なサンプルの決定、解析担当者の決定、QCWS集会の方針決定
平成16年4月	QCWSサンプルの配布
平成16年6月	データ締め切り(72施設より回答)
平成16年6月	QCWS集会のみの参加者募集追加(3施設、3名)
平成16年7-8月	サンプル構成の公表、データ解析
平成16年9月	QCWS集会用資料配布(77施設)

2. QCWSのテーマ

組織適合性技術者認定制度の主旨にそったQCWSのテーマを設定することとして、今回のQCWSのテーマをQCWS部会で検討した結果、(1)正確なタイピング、(2)奇妙なデータが得られるタイピング、(3)少量試料からのタイピングの3テーマとした。医療業務(臨床検査など)以外で行われるヒトDNA

解析は、研究の範疇に入るため遺伝子解析ガイドラインに従って行わなければならないが、そのためには解析を行う各施設であらかじめそれぞれの倫理審査委員会に研究計画を申請し承認を受けて置く必要がある。そのため今回の QCWS では、遺伝子解析ガイドラインの対象外とされるヒト DNA (これまでによく研究され、学術的な価値が明らかであり、かつ研究者が容易に手に入れられるもの) を用いることとした。具体的には、国際 HLA ワークショップ解析で広く用いられ、種々の細胞バンクに登録されている B リンパ芽球様細胞株やがん研究に用いられているがん細胞株を用いた。(表 2)

配布したサンプルは 6 種類であり、前記の (1) の目的で作製した H1601, H1602 は、日本人由来ではないがん細胞株の DNA である。また、(2) の目的では、HLA クラス I 領域欠損細胞株に HLA 遺伝子の PCR 産物(表 3)を混入した H1603, および 2 種類の細胞株 DNA を 9:1 で混合した H1604 を作製した。一方、(3) の目的では、ろ紙にスポットした細胞から、いかなる方法を用いるとタイピングが行えるかを検討するものとした。なお、H1605 は H1604 で用いた DNA のもとである細胞株を 1:9 の比で混合した。(表 4)

3. ろ紙に付着した細胞からの DNA 抽出

ろ紙付着細胞からの DNA 抽出を行っている施設はそれほど多くないことを想定して、以下の抽出プロトコールを作成し、サンプル配布時に添付した。なお、今回の QCWS で用いたろ紙は IsoCode (Schleicher&Schuell 社)であった。

1. 各ろ紙 (5 mm パンチ)に約 100,000 個の細胞を

スポットしたため、以下のプロトコールに従って、これを抽出する。

2. 火炎滅菌したピンセットでパンチを 1 枚取り出し、火炎滅菌したハサミ等を用いて 2 等分した後に、滅菌された 1.5 ml チューブに移す。
3. ろ紙の入ったチューブに 1000__ の滅菌 dH₂O を加え、軽く (3~5 秒程度)ボルテックスした後に、チューブを軽く遠心し spin-down した洗浄水を吸引除去(洗浄ステップ)。
4. 上記の洗浄ステップをもう一度くり返す。または、上記のろ紙をきれいなキムワイプ上で水切りした後に新しいチューブに移す。
5. チューブに 50__ の滅菌 dH₂O を加え、ろ紙片が完全に浸っていることを確認する。
6. 恒温槽やヒートブロックを使用し 90-95°C で 5 分加熱する。このステップで DNA が dH₂O に抽出される(抽出ステップ)。
7. 充分ボルテックス (30 秒~1 分程度)した後に spin-down。
8. 火炎滅菌したピンセットでろ紙を取り出すか、または新しい滅菌チューブに DNA 抽出液を移す。約 150 ng の DNA が回収される。

注意事項

- #1: 抽出ステップについて: 抽出効率はこの条件の範囲ならあまり大きくは変わらない。加熱温度、加熱時間の増加はむしろ抽出効率を落とすことがある。
- #2: DNA 回収率について: ろ紙からの DNA 回収率は約 60% のため、約 150 ng の DNA が 50 μ l 中 (3 ng/ μ l) に回収されるものと予想される。1 回の PCR には 3-5 μ l (9-15 ng) 相当(但し、final reaction volume の 25% 程度まで)のサンプルを使用す

表 2 DNA ソースとなった細胞株とその HLA 型

Cell ID	A	B	C	DRB1	DRB3	DRB4	DRB5	DQA1	DQB1	DPA1	DPB1
A549	2501, 3001	1801/17N, 4403	nd	0701, 1104	0202/12	0101/03/0 6		0201,0501/03/05	0201/02. 0301/+	0103	0301, 0601
THP-1	0201, 2402	1511, 3501	nd	0101, 1501			0101	0101/04/05, 01012/03	0501, 0602/11/20	0103, 0202	0201, 0402
LCL72 1.221	del	del	del	0101				0101/04/05	0501	0103	0201
HL60	0101	5701	nd	0701		0101/03/0 6		0201	0303	0103. 0201	0201, 1301

del; deletion, nd; not determined

る。サンプル量を増やすと、PCR の阻害を生じることがある。

4. 参加者・参加施設

参加者は総数 178 名であり、以下の 77 施設に所属していた。参加者数、参加施設数とも昨年とほぼ同程度であった。

参加施設名

札幌北楡病院, 岩手医科大学附属病院, 鷹揚郷腎研究所弘前病院, 札幌市立札幌病院, 北海道大学医学部附属病院, 北海道赤十字血液センター, 東京医科歯科大学難治疾患研究所, 株式会社ベリタス, 東京大学医学系研究科, 日本赤十字社中央血液センター, 東京都赤十字血液センター, 東京女子医大腎臓病総合医療センター, 株式会社三菱化学ビーシーエル, 株式会社ティエフビー, 株式会社エスアールエル八王子 2 ラボ, 北里大学医学部, 横浜市立大学医学部附属病院, 神奈川県赤十字血液センター, 東海大学医学部附属病院, 東海大学医学部, 国立病院機構千葉東病院, 千葉県赤十字血液センター, 自治医科大学附属病院, 埼玉医科大学附属病院, 株式会社ビー・エム・エル, 防衛医科大学校, 富士重工業健

康保険組合総合太田病院, 長野県赤十字血液センター, 信州大学医学部, 静岡県立総合病院, 静岡県立こども病院, 名古屋第二赤十字病院, 愛知県赤十字血液センター, 岐阜赤十字病院, 三重大学医学部附属病院, 三重県赤十字血液センター, 大阪赤十字血液センター, 大阪府立急性期・総合医療センター, 国立循環器病センター, 特定非営利活動法人 HLA 研究所, 京都大学医学部附属病院, 兵庫県赤十字血液センター, 大阪市立大学医学部附属病院, 松江赤十字病院, 岡山県赤十字血液センター, 広島赤十字センター, 県立広島病院, 広島大学病院, 湧永製薬(株)創薬研究所, 山口県赤十字血液センター, 香川県立中央病院, 徳島大学医学部附属病院, 高知県立中央病院, 愛媛県立衛生環境研究所, 福岡大学医学部腎センター, 福岡赤十字病院, 福岡県赤十字血液センター, 佐賀県立病院好生館, 佐賀中部保健所, 国立病院長崎医療センター, 熊本県赤十字血液センター, 大分県立病院, 県立宮崎病院, 金沢医科大学病院, 石川県赤十字血液センター, 富山医科薬科大学附属病院, 立川メディカルセンター立川総合病院, 新潟市民病院, 新潟県赤十字血液センター, 株式会社ゲノムサイエンス研究所, 福島県立医科大学医学部附属病院, 宮城県赤十字血液センター, 仙台社会保険病院, 山形県立中央病院, Torrey Pines Institute for Molecular Studies (以上 77 施設, 郵便番号順)

表 3 PCR ソースとなった細胞株の HLA 型

Cell ID	A	B	C
JVM	0201		
KAS	2402	5101	
WDV		3801	
SPO0101			0501
H104			0702

表 4 QCWS サンプルの構成

ID	形状	構成
H1601	DNA	A549
H1602	DNA	THP-1
H1603	DNA	LCL721.221 にクラス I 遺伝子 PCR 産物を混合。 PCR 差物は以下の通り A(全 exon を含む LA-PCR 産物)は JVM と KAS 由来 B(全 exon を含む LA-PCR 産物)は WDV と KAS 由来 C(exon 2, 3, 4 それぞれの PCR 産物)は SPO0101 と H104 由来
H1604	DNA	THP-1 と HL60 を 9:1 で混合
H1605	cell	THP-1 と HL60 を 1:9 で混合
H1606	cell	A549

5. まとめ

QCWS は組織適合技術者認定制度委員会の担当となったため、昨年度に引き続き、認定制度の主旨にそった試料の構成や選択を行い、QCWS 集会の前に試料の DNA タイプを公表し、参加者自身が QCWS

集会までにタイピング結果を自身で検討できるようにした。また、あらかじめ解析資料を CDR で送付することによって、参加者が全体解析の結果も集会前に知ることを可能とした。HLA タイピング技術を向上させる上では、いかなるサンプルをどのように

タイピングするかなど、種々異なる条件を考慮してタイピング方法を選択し、タイピング結果を評価することが必要であるため、今後も認定制度の主旨を生かした QCWS を行っていく。

第 8 回 HLA-QC ワークショップレポート —クラス I データ正解率検討—

中島文明¹⁾、太田正穂²⁾、柏瀬貢一³⁾、小林 賢⁴⁾、酒巻建夫⁵⁾、佐田正晴⁶⁾、
田中秀則³⁾、成瀬妙子⁷⁾、丸屋悦子⁸⁾、安波道郎^{9,10)}、木村彰方^{9,10)}
(日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会)

1) 神奈川県赤十字血液センター検査部, 2) 信州大学医学部法医学, 3) 東京都赤十字血液センター検査部, 4) 日本薬科大学生物学, 5) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, 6) 国立循環器病センター研究所, 7) 東海大学医学部分子生命科学系, 8) 特定非営利活動法人 HLA 研究所, 9) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 10) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室

1. はじめに

QC ワークショップは前回から方向転換を計り、さまざまな状況のサンプルにどのように対応すべきかを問われるプログラムとなっている。また、倫理面への配慮から使用されるサンプルもセルライン由来の DNA や PCR プロダクトが主体となっている。検査結果は 100% の正解を望まれるところであるが、異常なサンプルに対しどのように判断を下すか、どのように伝えるかを考えなければならない。本稿「クラス I データ正解率」では、異常サンプルは除外し、正常サンプルでどの程度の正解率が得られているか、Low resolution および High resolution で検討した。

2. 検討方法

以下の要領にて検討した。

2.1. 検討種目

- 1) サンプルおよびローカス別正解率(表 1)
- 2) 対立遺伝子型別正解率(表 2)
- 3) 検査方法別正解率(表 3)

2.2. 検討総数

- 1) A, B ローカス: 69 施設分
- 2) C ローカス: 41 施設分

2.3. 除外検体

- 1) H1604, H1605
- 2) H1603 の C ローカス: Cw*0102 も検出されたため
- 3) 「総合判定」で方法が記入され遺伝子型結果が未記入あるいは検出不能などと記入されていたもの

2.4. 集計方法

- 1) 「総合判定」を集計対象とした。
- 2) Low resolution の集計:
A, B ローカスは遺伝子型で 2 桁か HLA (抗原対応)型が記入されている場合。
C ローカスは遺伝子型が 2 桁で記入されている場合。
- 3) High resolution の集計:
遺伝子型が 4 桁表記以上で記入されている場合。

表1 サンプルおよびローカス別正解率

QC ID	HLA型	遺伝子型	Low resolution			High resolution							
			報告数	正解数	正解率	Others	未記入	報告数	正解数	正解率	Others	未記入	
A*	H1601	A25 A30	2501 3001	66	65	98.5%	A-25, A-30	3	53	53	100%	-	-
	H1602	A2 A24	0201 2402	65	62	95.4%	A-2, A-24, 02, .02	2	50	50	100%	-	2
	H1603	A2 A24	0201 2402	65	63	96.9%	A-2, A-24, 02	2	50	49	98.0%	0206/10/20+	2
	H1606	A25 A30	2501 3001	51	50	98.0%	24	3	47	45	95.7%	2402/20, (Blank), 3011	15
				247	240	97.2%			200	197	98.5%		
B*	H1601	B18 B44	1801 4403	66	61	92.4%	B*35, 35, B-18, 15, B-44, 62	3	51	48	94.1%	1809,1815, 1501/03/05/+, 1546/53	-
	H1602	B75 (B15) B35	1511 3501	65	64	98.5%	B-35, B-15	3	51	48	94.1%	1508, B*1508, 3511/21	1
	H1603	B51 B38	5101 3801	65	62	95.4%	B-38, 39, B-51, 51	2	50	47	94.0%	3802/08, 3901/05/+, 5106, 5121 1809,1903,	2
	H1606	B18 B44	1801 4403	50	46	92.0%	B35, 75, 62, 15	3	44	41	93.2%	1501/03/05/+, 1546/53	16
				246	233	94.7%			196	184	93.9%		
Cw*	H1601	12 16	1203 1601	15	9	60.0%	*06/17, (Blank), *17, 06/12,	-	25	22	88.0%	1604, (Blank)	3
	H1602	Cw9 -	0303 -	12	10	83.3%	3, HLA-Cw9	-	24	21	87.5%	0102, 0301/03, Cw*0304/06	5
	H1603	Cw5 Cw7 Cw1	0501 0702 0102	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	H1606	12 16	1203 1601	6	2	33.3%	Cw*06, (Blank)	-	19	15	78.9%	1604, (Blank)	16
				33	21	63.6%			68	58	85.3%		
				526	494	93.9%			464	439	94.6%		

表2 対立遺伝子型別正解率

	遺伝子型	Low resolution			High resolution			Others
		報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率	
A*	0201	130	125	96.2%	100	99	99.0%	0206/10/20+, A-2, :02, 02
	2402	130	128	98.5%	100	100	100%	A-24
	2501	117	115	98.3%	100	99	99.0%	2402/20, A-25, 24
	3001	117	115	98.3%	100	98	99.0%	3011, A-30, (Blank)
		494	483	97.8%	400	397	99.3%	
B*	1801	116	109	94.0%	95	89	93.7%	1815, B-18, 75, 62, 1501/03/05/+, 1809, 1503, B35, 35
	1511	65	64	98.5%	51	49	96.1%	1508, B*1508, B-15
	3501	65	64	98.5%	51	50	98.0%	3511/21, B-35
	3801	65	62	95.4%	50	47	94.0%	3802/08, 3901/05/+, 5106, B-38, 39, 51
	4403	116	112	96.6%	95	92	96.8%	1546/53, (Blank), B-44, 15
	5101	65	64	98.5%	50	49	98.0%	5121, B-51
		492	475	96.5%	392	376	95.9%	
Cw*	0303	12	10	83.3%	24	21	87.5%	0102, 0301/03, C*0304/06, HLA-Cw9, 3
	1203	20	19	95.0%	45	45	100%	*17
	1601	21	11	52.4%	44	37	84.1%	1604, *06/17, 06/12, Cw*06, (Blank)
		53	40	75.5%	113	103	91.2%	
		1,039	998	96.1%	905	876	96.8%	

- 4) 「サンプル別」および「検査法別」集計においては、両対立遺伝子型とも正解した場合のみ、正解とした。

3. 結果および考察

「サンプルおよびローカス別」の正解率は前回同様90%台の数字を得ており、高水準の結果を維持している。そこでもみられたがLow resolutionの正解率がHigh resolutionを下回るケースがあった。不正解となる要因の多くは表記ルールの逸脱である。中

でもHLA(抗原対応)型の表記で「A-24, B-35」など余計な「-」を入れた施設があり不正解とした。なお、この施設は遺伝子型では正解しており、これも、Low<Highという結果に影響を与えている(表1)。また、表には示していないがアミノ酸同義置換を5桁目と6桁目で表記することは、ほぼ浸透したといえる。

「対立遺伝子型別」ではA, Bローカスともに90%台後半の正解率で対立遺伝子単独でみるとほとんど間違えていないことが理解できる。しかしながらC

表3 検査方法別正解率

	検査方法	Low resolution			High resolution			
		報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率	
全て	SSP	207	185	89.4%	154	148	96.1%	
	SSO	398	383	96.2%	359	337	93.9%	
	SBT	36	36	100%	60	59	98.3%	
	RSCA	6	6	100%	6	6	100%	
	SSCP	3	3	100%	3	3	100%	
	RFLP	1	1	100%	4	3	75.0%	
		651	614	94.3%	586	556	94.9%	
1法	SSP	122	105	86.1%	73	72	98.6%	
	SSO	283	273	96.5%	252	234	92.9%	
	SBT	-	-	-	18	18	100%	
	RSCA	4	4	100.0%	4	4	100%	
	RFLP	-	-	-	3	2	67.0%	
			409	382	93.4%	350	330	94.3%
2法	SSP	SSO	75	70	93.3%	66	62	93.9%
		SBT	-	-	-	5	4	80.0%
		RSCA	2	2	100%	2	2	100%
	SSO	SBT	28	28	100%	29	29	100%
		SSCP	4	4	100%	4	4	100%
		RFLP	1	1	100%	1	1	100%
			110	105	95.5%	107	102	95.3%
3法	SSP+SSO+SBT	8	8	100%	8	8	100%	
		8	8	100%	8	8	100%	

ローカスの正解率が低く、特に Cw*1601 の Low resolution では 52.4% の正解に留まり、これが全体の正解率をやや低下させた原因となっている(表2)。

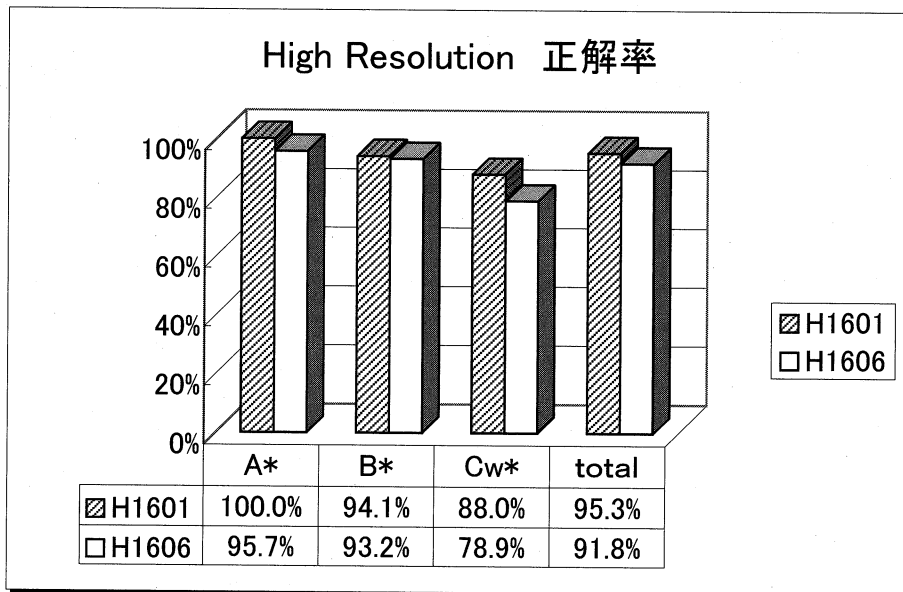
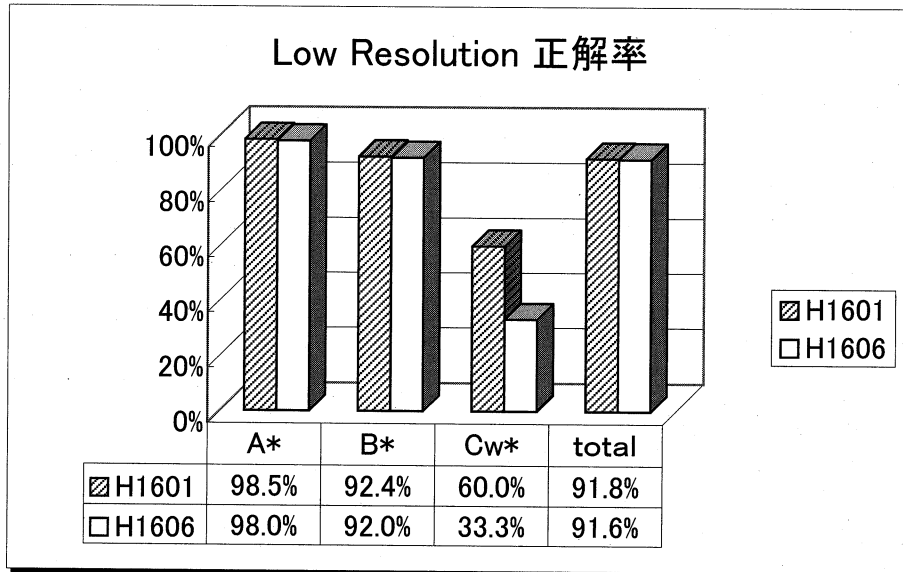
「検査方法別」では検査方法数の増加にともない正解率は高くなっているが、1法と2法でほとんど差がない。なかでも、SSPとSBTの2法で、しかもSBT試薬も2種類使用していながら間違えている施設があり問題である。これはH1602のCローカス部分でCw*0303ホモが正解とみられるが、Cw*0303、Cw*0102と回答していた(表3)。

以上、各検討種目以外では、同一サンプルでありながらDNA溶液であるH1601と細胞附着ろ紙であるH1606の比較において、後者がやや正解率が低い結果となっている。やはり、CローカスのLow resolutionは顕著に低下している(グラフ)。

この結果はQCワークショップ主要テーマである、さまざまな状況のサンプルにどのように対応すべき

かという点において、ひとつの問題提起がされたとみるべきである。形態の異なる同一サンプルで容認できる正解率の差とはどの程度なのか、本来差があってはならないことではないだろうか。その要因は、DNA抽出技術の違いによるものか、各検査試薬のPCR効率の差であるのか、さまざまな要素が考えられ、この数パーセントの差が各施設間の対応力を表すスケールとも考えられる。

さらに拡大して考えると全体の正解率90%台という数字に満足していいものなのか。ここでやっている方法は遺伝子タイピングであるから、本来100%の正解率でないといけなのではないだろうか。ここで得た数字は単なるワークショップ・データに過ぎないが、実際に日常行う遺伝子タイピングが研究データであろうと臨床に報告するデータであろうと1%の間違いもあってはならないはずである。そして、どのように100%に近づけるかがこのワークショップに参加する者全員の課題であると考えられる。



	QC ID	Low resolution			High resolution		
		報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率
A*	H1601	66	65	98.5%	53	53	100.0%
A*	H1606	51	50	98.0%	47	45	95.7%
B*	H1601	66	61	92.4%	51	48	94.1%
B*	H1606	50	46	92.0%	44	41	93.2%
Cw*	H1601	15	9	60.0%	25	22	88.0%
Cw*	H1606	6	2	33.3%	19	15	78.9%
total	H1601	147	135	91.8%	129	123	95.3%
total	H1606	107	98	91.6%	110	101	91.8%

グラフ H1601 と H1606 の正解率の比較

第8回 HLA-QC ワークショップレポート —HLA-Class II タイピングの評価—

丸屋悦子¹⁾, 太田正穂²⁾, 柏瀬貢一³⁾, 小林 賢⁴⁾, 酒巻建夫⁵⁾, 佐田正晴⁶⁾,
田中秀則³⁾, 中島文明⁷⁾, 成瀬妙子⁸⁾, 安波道郎^{9,10)}, 木村彰方^{9,10)}
(日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会)

1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所, 2) 信州大学医学部法医学, 3) 東京都赤十字血液センター検査部, 4) 日本薬科大学生物学, 5) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, 6) 国立循環器病センター研究所, 7) 神奈川県赤十字血液センター検査部, 8) 東海大学医学部分子生命科学系, 9) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 10) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室

1. 配布 DNA

今回配布されたサンプルとそのソースとなった細胞株の HLA-class II type を表 1 に示す。

- (1) 正確なタイピングができるか?
- (2) 奇妙なデータが得られるタイピング結果をどのように評価するか?
- (3) 微量サンプルのタイピングをどのように行なうか?

今年度は 4 種の細胞株をもとに 6 種のサンプルが作成され配布された。テーマ (1) の評価のため、日本人集団において一般的な HLA-class II 抗原を保有する 2 種の DNA 溶液 (H1602, H1603) が配布された。テーマ (2) の評価のため、人為的に 2 種の細胞株 (THP-1, HL60) 由来の DNA または細胞が相補的な割合 (9:1, 1:9) で混合され、DNA は溶液 (H1604) で、細胞はロシ付着サンプル (H1605) として配布された。テーマ (3) の評価のため、同一細胞株を用い、細胞より抽出した DNA 溶液 (H1601) と細胞をロシに滴下したサンプル (H1606) が配布された。

2. 参加施設

HLA-DRB1 について 73 施設, HLA-DRB3/4/5 について 34 施設, HLA-DQB1 について 31 施設, HLA-DQA1 について 4 施設, HLA-DPB1 について 1 施設からデータの提出があった。

3. HLA-class II タイピングの評価方法

HLA-class II タイピング結果の正誤判定は、Low Resolution Typing と High and Middle Resolution Typing 別に、H1601, 1606, 1602, 1603 について、参加施設が多い HLA-DRB1 と DQB1 につき行った。また混合サンプルである H1604, 1605 について、どのような実験結果が得られるか、その結果に基づき Tissue typer が判定した結果について、Low Resolution Typing と High and Middle Resolution Typing 別にまとめた。

4. HLA-class II 総合評価結果

表 2 にサンプル, H1601, H1606, H1602, H1603 について、HLA-DRB1, -DQB1, -DRB3/4/5 の Low Resolution type および High and Middle Resolution type の一致率を示す。

4-1. HLA-DRB1

- 1) 正確なタイピングができるか?

対象サンプル: H1602, H1603

Low Resolution

参加施設数: 62

両サンプルの正解率は 100% であり、タイピング法として、PCR-SSO または SSP 法で十分タイプできる。

☆ 抗原レベルのタイピングはどのような方法を用いても正確なタイピングが実施されていた。

表1 8QCWの配布サンプルリストおよび使用された細胞株とそのHLA-class II Type

サンプルデータ HLA-class II Type

キ ン 色	ヤ ブ 名 称	形 態	濃 度	容 量	ソ ン ヌ な っ た 細 胞 株	DRB1	DRB3	DRB4	DRB5	DQA1	DQA1	DQB1	DQB1
緑	H1601	溶液	50ng/ μ l	150 μ l	A549	0701	0202/ 12	0101/ 03/06		0201	0501/0 3/05	0201/ 02	0301/ +
橙	H1606	ろ紙	100,000 細胞/枚	2枚	A549	0701	0202/ 12	0101/ 03/06		0201	0501/0 3/05	0201/ 02	0301/ +
黄	H1602	溶液	50ng/ μ l	150 μ l	THP-1	0101 1501		0101	0101	0101/0 4/05	01012/ 03	0103	0602/ 11/20
青	H1603	溶液	50ng/ μ l	150 μ l	LCL721.22	0101				0101/0 4/05		0501	
赤	H1604	溶液	50ng/ μ l	150 μ l	THP-1=9 HL60=1	0101 1501			0101	0101/0 4/05	01012/ 03	0103	0602/ 11/20
紫	H1605	ろ紙	100,000 細胞/枚	2枚	THP-1=1 HL60=9	0101 1501			0101	0101/0 4/05	01012/ 03	0103	0602/ 11/20

High and Middle Resolution

参加施設数: 55

H1602, H1603 共に正解率99%で, PCR-SSP法を用いた1施設にミスがあった。

High Resolution Typing に適したタイピング法とは?

19施設が High Resolution typing 結果を提出し, 正解率は100%であった。使用されたタイピング法を分析すると,

- 7施設は SBT 法とその他の方法のコンビネーション
- 10施設は SBT 法以外の方法を2種以上使用
- 2施設は SSO のみ

☆ キット使用上の注意点: 単一方法 (PCR-SSO 法)のみで4桁をタイプした Lab が使用したキットと同一キット(ジェノサーチ HLA-DR, Dynal RELI)により, 他18施設は Middle Resolution 結果で判定していた。これは使用キットの検出限界の認識の違いによる相違と考えられる。組織適合性検査者は, 使用するキットの検出限界を正しく把握し, 判定を正確に行うことが肝要である。

☆ High Resolution typing を行うには, タイピング法別の検出限界を熟知し, その組み合わせにより4桁でのタイピング結果を得ることが可能である。

2) 奇妙なデータが得られるタイピング結果をどのように評価するか?

配布された H1604, H1605 は以下のような混合比率で人為的に作成され, 混合物であることはコメントされず配布された。

H1604 = THP-1 (90%) + HL60 (10%)

...DNA 混合溶液

H1605 = THP-1 (10%) + HL60 (90%)

...細胞を濾紙に付着

THP-1: HLA-DR1, DR15, HL60: HLA-DR7, -したがって H1604 は major type (90%) が (DR1, DR15), minor type (10%) が (DR7) と推定され, H1605 は major type (90%) が (DR7) で minor type (10%) が (DR1, DR15) と推定されるサンプルである。

Low Resolution

参加施設数: 64

〈解答の分類〉

H1604: DNA 溶液

- 1) 判定不能: 28施設 (3抗原検出の為)
- 2) Triplet 判定 (DR1, 15, 7): 21施設
- 3) Major type (DR1, DR15) のみを解答した: 14施設
- 4) Major type をミスし minor type (DR7) を検出: 1施設

各解答別に使用されたタイピング方法に偏りは認

表2 HLA-DRB1, -DQB1, -DRB3/4/5 における Low Resolution type・High and Middle Resolution type の一致率

	HLA-DRB1		HLA-DRB345		HLA-DQB1	
	Low	High /Middle	Low	High /Middle	Low	High /Middle
	N=61	N=55	N=34	N=19	N=31	N=22
H1601	98%	87%	94%	89%	100%	保留
H1606	93%	82%	94%	94%	100%	保留
H1602	100%	99%	97%	100%	100%	95%
H1603	100%	99%	97%	100%	100%	100%

保留: reference の解答が DQB1*0201/02, 正確なアリル決定がなされていない

められなかった。

H1605: ロシ付着細胞

- 1) 判定不能: 18 施設 (3 抗原検出の為)
- 2) Triplet 判定 (DR1, 15, 7): 12 施設
- 3) Major type (DR7) のみ検出: 4 施設 (PCR-SSO 法)
- 4) Major type と minor type である DR1 または DR15 の片方のみを検出: 20 施設 (DR1 は 14 施設で検出された。検出方法による偏りは見られなかった)
- 5) Major type および minor type (DR7) とは異なる抗原を検出: 2 施設
- 6) minor type (DR7) のみ検出: 1 施設
- 7) タイピング不能: 7 施設
—少量サンプル(ロシ付着細胞)のタイピング—
PCR-SSP 法は第 7 回 QCW で少量サンプルのタイピングには適さないとされた。この方法のみを用いた 17 施設の解答を分類すると、
- 1) 6 施設: タイピング不能
- 2) 3 施設: 3 抗原が検出され判定不能
- 3) 3 施設: Major type (DR7) と minor type (DR1, DR15) のうちどちらか一方のみ検出
- 4) 1 施設: Major type (DR7) と minor type とは別のタイプを検出
- ☆ PCR-SSP 法を日常検査法として用いる Tissue

Typer のほぼ半数は、昨年の QC の結論を反映しタイピング不能と適切な判断をしていた。

☆ タイピング結果を提出した施設の成績からも、微量サンプルの場合、たとえ抗原レベルのタイピングでも PCR-SSP 法を用いることはあまり適さないことがわかる。

High and Middle resolution typing

参加施設: 61

〈解答の分類〉

H1604: DNA 溶液

- 1) 判定不能: 27 施設 (3 アリル検出の為)
- 2) Triplet 判定: 17 施設
- 3) Major type (DRB1*0101, DRB1*1501) を解答: 16 施設
- 4) Major type と minor type ではないアリルを検出: 1 施設

H1605: ロシ付着細胞

- 1) 判定不能: 23 施設
- 2) Triplet 判定: 12 施設
- 3) タイピング不能: 4 施設
- 4) Major type (DRB1*0701) を解答: 3 施設 (記載ミス 1 施設)
- 5) Major type (DRB1*0701) および minor type (DRB1*0101, DRB1*1501) のどちらか一方のみ検出: 9 施設

- 6) Major type (DRB1*0701) と minor type を DRB1*0106/ として検出: 7 施設(タイピング方法として SBT を含む)
- 7) Major type (DRB1*0701) と minor type (DRB1*0101, DRB1*1501) 以外のアレルを検出: 1 施設
- 8) Major type (DRB1*0701) はミスし, minor type を検出: 2 施設

使用されたタイピング方法による特殊な偏り傾向はなかった。

—少量サンプル(ロシ付着細胞)のタイピング—

☆ Low Resolution の場合と同様, 昨年の QCW で得られた結論を補強する結果であった。

☆ 多施設の Tissue Typer が人為的に混合されたサンプルで, かつ事前にキメラの可能性のあることを知らされていない場合, 判定不能 (Triplet のため, 検体を取り直し再検査要) と解答している。正確なタイピングを行うことが目的である組織適合性検査者として, 誠にすばらしい解答である。

3) DNA サンプルが微量の場合のタイピングをどのように行なうか?

昨年同様, 微量サンプルとしてロシ付着細胞によるサンプルが配布された。ただし今回は同じ細胞由来の DNA 溶液が同時に配布された。

Low Resolution

参加施設数: 61

DNA 溶液で配布された H1601 の正解率は 98%, ロシで配布された H1606 の正解率は 93% であった。

—PCR-SSP 法のみを用いたタイピングは可能か?—

7QCW で微量 DNA には適さない方法とされた PCR-SSP 法であるが, この方法のみを用い解答した施設 (13) のうち 10 施設 (77%) はタイピング不能と解答した。残り 3 施設 (21, 23, 28) はタイピングを実施し, 3 施設とも正解であった。

☆ 前回の QCW の結果に基づき, 微量 DNA サンプルには不適当な方法と適切な判断がなされていた。

☆ 微量なサンプルであるが, PCR-SSP 法で 3 施設とも正解であった。特別な工夫があるのかもしれない。

High and Middle Resolution

参加施設数: 55

H1601 の正解率は 87%, H1606 の正解率は 82% であり, Low Resolution の正解率に比べ若干低下していた。

それぞれのサンプルでの過誤を以下に分類する。

H1601: 7 施設が不正解

- 1) 記載ミス <*070101/02 または *07>; 3
- 2) DR11 のアレルをミスタイプ; 4 施設(同じメーカーのキット使用)

H1606: 10 施設が不正解

- 1) 記載ミス <*070101/02 または *07, 11>; 4
- 2) DR11 のアレルミスタイプ; 6 施設中 4 施設は同じメーカーのキット使用)

—PCR-SSP 法のみを用いたタイピングは可能か?—

Row Resolution の場合と同様, PCR-SSP 法のみを用い解答した施設が 8 施設あり, そのうちの 7 施設 (88%) はタイピング不能と判断され, 残り 1 施設が解答したが不正解であった。

☆ 微量サンプルでの High and Middle Resolution タイピングには PCR-SSP 法は不相当であることが再確認された。

—High Resolution typing のためのタイピング法とは—

参加施設のうち 12 施設が 4 桁で結果を提出し, その正解率は 83% であった。以下に参加施設のタイピング法をまとめる。

- 1) PCR-SSO 法単独で解答…4 施設
3 施設が同一のキット**を使用し正解
1 施設は DR11 のアレルミスタイプ
- 2) 2~4 種の方法を組み合わせ解答…8 施設
7 施設が正解, 1 施設が DR11 のアレルミスタイプ
- 3) PCR-SBT 法ともう 1 法で 4 桁タイピングを行った 6 施設は記載ミスを無視すれば, 全施設正解であった。

☆ **項目 1 で見られた現象と同じ現象がみられた。すなわち同一キットで同一ロットを使用している参加施設が複数あり, 大多数は Middle Resolution の結果を出し, 一部の施設だけが 4 桁の結果を出し

ている。組織適合性検査者のうち初心者が陥り易いミスである。使用するキットの検出限界を熟知し、結果の判定を正確に行わなければならない。

☆ タイピング方法別の検出限界を熟知し、その組み合わせにより4桁でのタイピング結果を可能にすることが昨年と同様に確認された。

☆ 昨年はPCR-SBT法によるタイピングにおいても過誤が生じていたが今年はこの方法を用いることにより正確な結果が得られるようになった。

4-2. その他の HLA-class II タイピング

提出されたデータ数が HLA-DRB1 に比べ小数のため、抗原型・遺伝子型での一致率を表2に示すことにとどめる。

5. まとめ

今回の HLA-class II QC ワークショップの結果よりみられる問題点は、日常使用するキットの自動判定による結果を鵜呑みにした判定は過誤を犯す可能性がある。検出限界を熟知した上での判定を行うことが重要である。

第8回 HLA-QC ワークショップレポート —方法論別生データ検討 (PCR-SSO)—

酒巻建夫¹⁾, 太田正穂²⁾, 柏瀬貢一³⁾, 小林 賢⁴⁾, 佐田正晴⁵⁾, 田中秀則³⁾,
中島文明⁶⁾, 成瀬妙子⁷⁾, 丸屋悦子⁸⁾, 安波道郎^{9,10)}, 木村彰方^{9,10)}
(日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会)

- 1) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, 2) 信州大学医学部法医学, 3) 東京都赤十字血液センター検査部,
4) 日本薬科大学生物学, 5) 国立循環器病センター研究所, 6) 神奈川県赤十字血液センター検査部,
7) 東海大学医学部分子生命科学系, 8) 特定非営利活動法人 HLA 研究所, 9) 東京医科歯科大学
大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, 10) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野

1. 検体の特徴と狙い

今回も6種類のサンプルが提供された。細胞株由来の抽出 DNA, PCR 産物などの人工的に混合された DNA, あるいは、2種類の細胞株を混合したものを DNA の形状あるいは細胞のままろ紙に添付したものが配布された。目的1として正確なタイピングと正確な記載, 目的2としてキメラまたはコンタミネーションを想定した場合 (H1604 と 1605) の対応, 目的3としてろ紙添付した微量検体 (H1605, 1606) から正確なタイピングが得られるかどうかであった。PCR-SSO法ではPCR-SSP法と異なりPCR開始時のテンプレート DNA 量にほぼ比例してジェネリクな PCR 増幅が行われるので, 少量混合されている遺伝子のタイピング (H1604, H1605 中に存在) が

どのような影響を受けるかが大きな焦点であった。

2. PCR-SSO キットの使用状況と解析方針

今回の精度管理における PCR-SSO 法の使用採用は参加 72 施設中, 51 施設 (70.8%) に認められた。昨年よりも増加しているのは微量検体にも対応できる PCR-SSO 法を採用した施設が増加したためと思われる。表1に示すように SSO 法のみ使用した施設が1種類または複数使用を合わせて26施設 (51%) であり, その他の施設では SSO 法以外方法を併用していた。メーカー別ではダイナル社製キットを採用している施設が最も多く, 昨年に比べてゲノムサイエンスのキットを採用した施設の増加が見られた (表2)。それに伴いビーズ法が増加していた

表 1

方法	数	パーセント
SSO (1種) 単独	24	47.1
SSO (複数) 単独	2	3.9
SSO+SSP	11	21.6
SSO+SSP+SBT	2	3.9
SSO+SSP+SSCP	2	3.9
SSO+SSP+RFLP	2	3.9
SSO+SSP+RFLP+SSCP	1	2
SSO+SBT	3	5.9
SSO+SBT+RFLP	1	2
SSO+RFLP	2	3.9
SSO+SSCP	1	2
SSO施設数	51	100

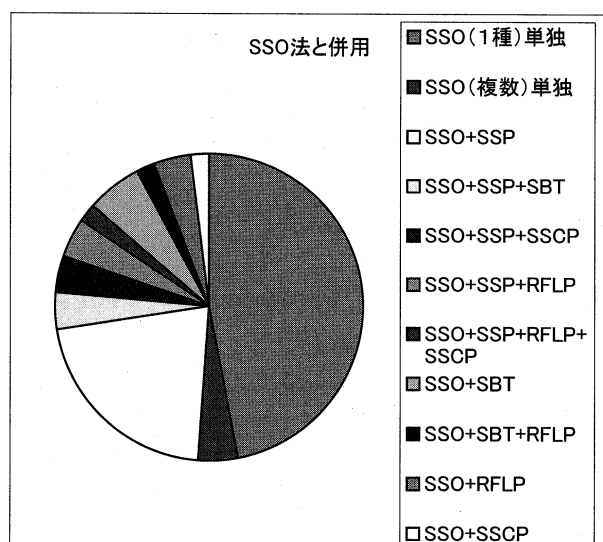


図 1

(表 3)。

タイピング結果や記載については他の分担報告者が行うので、ここでは各プローブの陽性・陰性反応状況を中心に解析を進めた。解析に際してできるだけ多くの施設が採用しているダイナルリライとワクナガ MPH-2 (以後 MPH と略す) キットを対象とした。ダイナルリライキットにおいては最新のロットになるにつれプローブ数が増加しているのので、古いキットのプローブが新しいキットのどのプローブに対応するかを決めて解析を実施した。ダイナルリライキットではすべて発色強度を血清法のスコアに準じて 1, 2, 4, 6, 8 で報告していたがワクナガ MPH キットでは OD 値やスコアでの報告であったので、比較するために解析では陽性、陰性のみ注目し、

表 2

メーカー別 (複数使用あり)

メーカー名	数	パーセント
ダイナル	28	54.9
湧永	13	25.4
ゲノムサイエンス	9	17.6
ワンラムダ	5	9.8
イノジェネ	3	5.9
SSO施設数	51	100

表 3

施設使用方法	数	パーセント
ストリップ	31	60.8
トレイ	13	25.4
ビーズ	13	25.4
SSO施設数	51	100

陽性判定の中でのシグナル強度(スコアの大小)については除外した。

3. 同一特異性検体のテンプレート濃度の反応性への影響

検体 H1601 と H1606 では同じ特異性の検体であるが、後者ではろ紙にサンプルが添付されていたので、テンプレート量が極端に少ないと考えられる。PCR-SSO 法の場合には PCR-SSP 法に比べてサンプル DNA 量が極端に少ない場合にも検査できるという特徴があるが、実際に微量な検体に対してでも完全に検出できるという結果になるのであろうか、またキット間では違いが見られるのであろうか。

H1601 と H1606 のプローブ別の反応とリライと MPH キットそれぞれについて HLA-A, HLA-B, HLA-DR ごとに結果を表 4, 5, 6 にそれぞれ示した。実際に使用している総プローブ数はメーカーにより異なっている。キットにより陽性に反応するプローブ数も異なっているが、HLA-A, B, DR おいて、総じてリライのキットでは H1601 に比べて H1606 の検体の場合にも強い反応が得られ特異性がアサインされているが、MPH キットでは H1606 検体では大

表 4-1

HLA-A座分析

リライ

プローブ#	陽性率%	
	H1601	H1606
	n=27	
1*	100	100
2	100	81
4	100	96
5	100	93
9	100	96
10	100	89
11	100	100
12	100	96
14	100	96
17	100	89
20*	100	83
22	100	85
27	100	46
30	100	81
32	100	81
34	100	100
36	100	96
38*	100	100

*,n=18

表 4-2

MPH

プローブ#	陽性率%	
	H1601	H1606
	n=11	n=10
2	91	70
3	73	10
5	91	40
13	100	80
17	100	80
18	91	50
20	100	90
21	91	60
24	100	80

表 5-1

HLA-B座分析

リライ

プローブ#	陽性率%	
	H1601	H1606
	n=27	
3	100	100
6	100	93
8	100	93
10	100	96
13	100	100
14	100	96
15	100	100
18	100	100
25	100	93
28	100	100
30	100	96
31	100	100
43	100	100
46	100	93
48	100	100
52	100	93
53	100	100
56	100	100
57	100	96
58	100	96

表 5-2

MPH

プローブ#	陽性率%	
	H1601	H1606
	n=11	n=10
1	100	90
2	100	100
3	100	90
4	82	60
8	91	90
9	91	90
13	100	80
14	91	60
15	91	50
17	91	90
20	91	70
21	100	80
22	82	70
23	100	80

表 6-1

HLA-DR座分析

リライ

プローブ#	陽性率%	
	H1601	H1606
	n=27	
3	100	93
5	100	96
9	100	93
14	100	93
18	100	93
21	100	100
24	100	93
32	100	85

*,n=18

表 6-2

MPH

プローブ#	陽性率%	
	H1601	H1606
	n=8	n=6
3	88	0
6	100	83
11	88	0
21	100	50
24	100	83

きな影響を受け反応性の低下が認められ特異性がアサインされにくくなっていた。どちらのキットでもすべてのプローブ(部位)が一律に影響を受けるのではなく、影響を受けにくいプローブ部位、受けやすいプローブ部位があった。これらの影響を推測するとテンプレート量(PCR産物の量)と、プローブの量や長さ、AT, GC リッチなどの組成が総合的に影響していると考えられる。すなわち結合力の強いプローブではPCR産物が少なくなっても陽性と判定されやすいが、結合力の弱いプローブではPCR産物が少なくなると結合するプローブが減少し判定が陰性化するためであろう。

4. キメラあるいはコンタミネーションを模した検体への対応

今回の精度管理におけるH1604とH1605ではひとつの遺伝子座に3つの特異性が検出されるという異常な検体であった。結果報告では一般的にはこのような検体に対しては再検査(検体の再採取)が必要な検体であり、多くの参加施設がこの点を指摘し判定不能などと正しく行っていた。2つの異なった特異性の細胞株を混合していたが、H1604とH1605では混合割合が逆になっていて陽性に反応する個々のプローブの割合がどのようになるかが注目点であった。さらにH1605検体はろ紙からの抽出操作が加わるので、微量な検体という要因が加わっている。表7-9ではH1604とH1605の検体でどちらの検体でも強く反応すると予測されるものは $=$ で表示しH1605に比べH1604で強く反応すると予測されるものは $>$ で表示し、弱く反応すると予測されるものは $<$ で表示した。nは参加施設数で数字が異なるのは検体により検査を実施しなかった施設があるため、陽性率は陽性とした施設パーセントである。表7-9において反応予測で $>$ のプローブにおいてはH1605のテンプレートがろ紙サンプルで少ない上に混合割合も少ないことからさらに微量になっていると考えられた。H1601とH1606でもH1604とH1605でも反応する共通プローブが存在するが、テンプレートが少なくなると影響を受けるプローブではテンプレート量がさらに微量になるとリライであろうとMPHであろうと大きく反応性が低下した。一方、こ

のような状況下でも強く発色し続けるプローブあった。通常の検体ではテンプレート量が一定の範囲内であれば陽性を陰性と取り違えることは少ないが、テンプレート(PCR増幅産物)が少ないような検体に直面したときは個々のプローブの特色を熟知した上で判定をすれば誤判定が少なくなると思われる。リライとMPHを比較すると総じてリライのほうが影響を受けにくいことが示された。

5. まとめ

大多数の施設では通常の濃度の検体に対して偽陰性や偽陽性が少なく正確にプローブの陽性・陰性を判定していた。成績も満足行くものと考えられた。リライキットの使用施設では各施設に配布したキットごと検体ごとの比較生データに示されるようにスコアの大小についても極めてよく一致していた。一方、2-3の施設では偽陰性や偽陽性が多く、正確にアサインしていない施設があったので、今後もそのキットを使用するのであればこれらの施設では習熟する必要がある。

微量テンプレート検体に対してはすべてのプローブが一律に影響を受けるのではなく、ほとんど影響がないものから、陰性と判定されるプローブまで含まれていた。テンプレート量によりプローブの反応性が大きく影響を受けるキットがあり使用者も注意する必要があるとともに、より広いテンプレート濃度に対応できるようにメーカー側も改良する必要がある。

キメラあるいはコンタミネーションを模した検体についてはほとんどの施設が異常検体であることに気づき正確に指摘した。SSO法では微量混入した検体の特異性を正確に同定するのは困難であり、方法としての限界がある。キットに付随している判定ソフトでは一遺伝子2つまでの特性が得られるようになっているのでこのような検体では判定不能という答えが返ってくるが、1プローブ設定部位に3つ以上の陽性プローブ反応が見られるようなときはプローブの特性を加味してキメラの可能性なども指摘するようなソフトの改良があってもよいと思われる。

キメラ検体などでは混合割合によっても得られる結果が異なってくる。昨年ではホモザイゴウトを

表 7-1

HLA-A座分析

リライ

プローブ#	反応性 予測	陽性率%	
		H1604	H1605
		n=27	
1	>	100	37
3	=	100	100
5	<	88	100
6	>	100	37
7	>	100	16
11	=	100	100
13	>	100	42
15	<	76	100
16	>	94	5
22	<	71	95
23	>	100	37
25	=	100	100
26	>	100	53
30	>	100	11
31	>	100	16
34	<	100	100
36	>	100	42
38	>	100	16
39	=	100	100

表 7-2

MPH-2

プローブ#	反応性 予測	陽性率%	
		H1604	H1605
		n=11	n=10
1	=	100	100
4	>	91	0
6	>	91	20
8	>	91	0
9	<	55	80
10	>	91	0
11	>	100	10
14	>	100	10
16	=	91	100
19	>	91	0
20	>	91	10
21	<	82	100
23	=	91	100
24	>	91	40

表 8-1

HLA-B座分析

リライ

プローブ#	反応性 予測	陽性率%	
		H1604	H1605
		n=28	
6	=	100	100
8	>	100	36
9	=	100	100
15	>	100	96
16	>	89	0
21	<	89	100
27	<	68	93
28	>	100	89
30	>	100	14
31	>	100	89
34	<	100	96
43	=	100	100
48	=	100	100
51	>	100	29
53	=	100	100
56	=	100	100

表 8-2

MPH

プローブ#	反応性 予測	陽性率%	
		H1604	H1605
		n=11	n=10
1	=	100	100
4	>	64	20
6	=	91	60
9	>	91	70
10	=	91	80
13	>	100	20
14	>	100	10
15	<	91	90
17	>	91	20
20	=	9	90
21	=	91	100
23	=	82	90

表 9-1

HLA-DR座分析

リライ

プローブ#	反応性 予測	陽性率%	
		H1604	H1605
		n=27	
1	>	100	78
2	>	100	41
5	<	74	100
11	>	100	52
16	>	100	56
18	<	48	93
21	<	93	100
30	>	96	74
36	>	96	74

表 9-2

MPH

プローブ#	反応性 予測	陽性率%	
		H1604	H1605
		n=8	n=6
1	>	100	0
2	>	100	0
6	<	88	100
10	>	88	17
17	>	88	0
18	>	88	0
20	>	100	0
24	<	75	83

1:1 に混合した場合には何の問題もなく SSO 法でもヘテロとしてタイピングしていた。今回は 1:1 の混合ではなくヘテロの検体がより日常でもありえる 1:10 のキメラ割合、あるいはコンタミネーション

濃度であったために、PCR-SSO 法と PCR-SSP 法では異なった結果が得られている。用いるキットの種類に応じてどのように結果が異なるかを理解しておくことが大切である。

第 8 回 HLA-QC ワークショップレポート —方法論別生データ検討 (PCR-SSP)—

小林 賢¹⁾, 太田正穂²⁾, 柏瀬貢一³⁾, 酒巻建夫⁴⁾, 佐田正晴⁵⁾,
田中秀則³⁾, 中島文明⁶⁾, 成瀬妙子⁷⁾, 丸屋悦子⁸⁾, 安波道郎^{9,10)}, 木村彰方^{9,10)}
(日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会)

1) 日本薬科大学生物学, 2) 信州大学医学部法医学, 3) 東京都赤十字血液センター検査部, 4) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, 5) 国立循環器病センター研究所, 6) 神奈川県赤十字血液センター検査部, 7) 東海大学医学部分子生命科学系, 8) 特定非営利活動法人 HLA 研究所, 9) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 10) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室

1. はじめに

PCR-SSP 法の解析は、キット別を実施した。また、採用している施設が 2, 3 施設しかないようなキットについては、解析から除外した。なお、HLA-C 遺伝子座については事前にサンプルのアリルが判明していなかったことから、解析の対象から外した。ただし、アリルが明らかになっているものについては一部を解析対象とした。

2. Micro SSP Japanese Class I and Class II ABCDRDQ DNA Typing Tray (Micro SSP JPN) (図 1)

サンプル H1601 について Micro SSP JPN キットで、本来 HLA-A 遺伝子座の判定を 2 桁レベルの粗分別では HLA-A*25/26/43+ としなければならないところ、HLA-A*25, HLA-A*24/43/66, HLA-A*25/26/43 というような判定が 9 施設中 5 施設にみかけられた。また、4 桁レベルの細分別においても HLA-A*2501/2606/+ としなければならないところ、HLA-A*2501/02/03/+ と判定した施設が 2 施設みかけられた。さらに、もう一つのアリルである HLA-

A*3001 については「検査結果(ワークシート)記載法と結果報告書表記法の原則(2003 年度版)」が遵守していない判定(A*3001/3002-07/+)が一施設で見受けられた。サンプル H1601 について Micro SSP JPN を使用して実施した施設において何らかの判定ミスが 9 施設中の 8 施設にみかけられた。昨年の QC ワークショップにおいて学会が推奨している「表記法の原則」が守られていない施設が多くみかけられたが、この点について今年の QC ワークショップ参加施設ではかなりの改善がみうけられた。

サンプル H1603 について 9 施設中の 3 施設において本来陽性反応を示さないはずの HLA-A*03, A*3204, A*3602 アリルを増幅するプライマーセットがスコア 4 から 6 の陽性反応を示していた。判定上、問題になっていないようであったが、プライマーの設計を再考する必要があるものと思われた。また、HLA-C 遺伝子座については HLA-Cw*0702 アリルを 9 施設中 3 施設で増幅できていなかった。このアリルの増幅には 2 種類のプライマーセットが使用されているにもかかわらず、何れもが陰性反応を示していた。また、その反応性も弱いことから、

早急な改善が必要とされるものと思われる。

HLA クラス II アリルについては、何れのサンプルについてもほとんど問題のない反応性を示していた。ただし、上述と同様な表記ミスや判定ミスが多く、施設の多くでみかけられた。

昨年度と同じロットが多く、施設の多くで使用されているにもかかわらず、サンプルの反応性はかなりの改善がみられたが、相変わらず表記ミスや判定ミスが多く、表記法のさらなる理解と判定時の注意が必要と思われた。

3. Micro SSP Generic HLA Class I DNA Typing Tray (Micro SSP 1L) (図 2)

サンプル H1601 と H1603 で転記ミスと思われる反応結果の書き込み位置のずれが 2 施設でみられた。施設に問い合わせたが、「そのような事実はない」という返事がかえってきた。しかしながら、一目で分かるように反応結果の記入場所が一つずつずれていることが分かっていたかと思う。自分のデータ入力についても責任を持っていただきたいと思う。DNA タイピングはある意味で究極的な方法であることから、誰もがそのデータを信用しているわけである。その意味でも血清学的検査法以上に慎重にならなくてはならないものと考えられる。

この方法を使用した施設においても表記ミスや判定ミスが複数の施設でみかけられた。

4. Micro SSP Generic HLA Class II DNA Typing Tray (Micro SSP 2L) (図 3)

サンプル H1601 から H1603 の 3 種類の DNA についてはまったく反応性に問題点は見られなかった。しかしながら、サンプル H1603 の HLA-DRB1*0701 アリルの判定において命名表から削除されている HLA-DRB1*0702 を判定していた施設が 2 カ所でみられた。昨年と同じようなことがあったが、検査を実施する者は、常に WHO の命名を把握できるような環境を整えておく必要がある。手元にアリル一覧や削除アリル一覧などを常に置いておくことが望まれる。

5. Micro SSP HLA Class I and Class II ABDR DNA Typing Tray (Micro SSP ABDR) (図 4)

サンプル H1601 から H1603 の 3 種類の DNA については反応性に問題点はほとんど見られなかったが、サンプル H1603 において一施設で偽陽性反応が原因で HLA-B*39 と判定されていた。また、前述のキットと同様に HLA-DRB1*0702 アリルの削除情報を知らないことによる判定ミスが 4 施設中 3 施設にみられた。DNA タイピングを実施する際には、手元にアリル一覧や削除アリル一覧などを置いて検査を実施することが望まれる。今後、改善されることを期待する。

6. ABC SSP Unitray (図 5)

サンプル H1601 から H1603 の 3 種類の DNA については問題となるような反応性がほとんど見られなかった。しかしながら、一施設でサンプル H1601 と H1603 において反応性に問題がないことから判定ミスと思われる結果が記載されていた。

サンプル H1604 については、HLA-B*1511, B*3501, B*5701 の 3 種類のアリルが存在することから、B*3501 と B*5701 の反応パターンの組み合わせが HLA-B*5301/02/04/05/08 の反応パターンを包含してしまう(図 6)。このことから、「コメント」欄などに「B*5301/02/04/+ の存在も否定できない」などの記載があるべきである。このようなコメントのあったのは、2 施設のみであった。もっと判定には慎重であるべきである。

7. DRDQ 2T Unitray (図 7)

サンプル H1601 から H1603 の 3 種類の DNA については問題となるような反応性がほとんど見られなかったものの、表記ミスが複数の施設にみかけられた。Micro SSP で問題となった HLA-DRB1*0702 の削除については、問題なく判定されていた。この問題点については、キットに添付されている判定表のみを頼りに検査を実施しているために起きている可能性が考えられる。やはり個人個人のアップデートを日頃から念頭に置いていただきたいと思う。

H1601

Lot #	Lab #	2				3				4				HLA-DRB1	DRB1*104	HLA-DRB3,4,5	DRB4*01	HLA-DQB1	DQB1*0301/+
		G	E	I	D	G	E	I	D	G	E	I	D						
005	78	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	DRB1*0701	DRB1*104	DRB3*02/12	DRB4*01	DQB1*02	DQB1*03
005	12	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0701/02/03/+	110/04/06/+	DRB3*01/02/03/+	DRB4*01/02/03/+	0201/02/03	0301/04/06/+
005	38	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	07	11	B3*01/02/03	B4*01	02	03
005	38	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	07	11	DRB3*01/02/03	DRB4*01	*02	*03
005	76	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0701/02/03/+	110/04/06/+	3*01/02/03	4*01/02/03/+	0201/02/03	0301/04/09/+
05A	31	6	8	4	8	8	8	8	8	8	8	8	8	*07	*11	3*01*02*03	4*01	*02	*03
	DRB1*0701	Recommended Assignment												HLA-DQB1					
	DRB1*104	Recommended Assignment												DQB1*02	DQB1*03				
	DRB3*0202/12	Recommended Assignment												DRB4*01	DQB1*02	DQB1*0301/04/09/+			
	DRB4*0101/03/06	Recommended Assignment												DRB4*01/04/06/+	DRB4*01/01/02/02/+	DQB1*0201/02/03			
	DQB1*0201/02	Recommended Assignment												unwritable	unwritable	HLA-DQ2	unwritable		
	DQB1*030101	Recommended Assignment												DRB1*0702 allele does not exist (deleted allele)	HLA-DQ5				

H1602

Lot #	Lab #	1				3				4				HLA-DRB1	DRB1*1501	HLA-DRB3,4,5	DRB5*02	HLA-DQB1	DQB1*0602/11/20
		G	E	I	D	G	E	I	D	G	E	I	D						
005	78	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	DRB1*0101	DRB1*1501	DRB5*0101	DRB5*02	DQB1*0501	DQB1*0602/11/20
005	12	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	DRB1*01	DRB1*15	DRB5*01		DQB1*05	DQB1*06
005	28	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0101/02/04/+	150/02/03/+	DRB5*01/02/03/+		0501/02/03/+	0601/02/03/+
005	76	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	01	15	B5*01/02	05	05	06
05A	31	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0101/02/04/+	150/02/03/+	5*01/02	0501/02/03/+	0601/02/03/+	
	DRB1*0101	Recommended Assignment												*01	*05	*05	*06		
	DRB1*1501	Recommended Assignment																	
	DRB5*0101	Recommended Assignment																	
	DQB1*0501	Recommended Assignment												DRB1*15	DQB1*05	DQB1*06			
	DQB1*0602/11/20	Recommended Assignment												DRB1*1501/02/03/+	DQB1*0501/02/03/+	DQB1*0601/02/03/+			
		Recommended Assignment												unwritable	HLA-DQ5	unwritable			

H1603

Lot #	Lab #	1				4				HLA-DRB1	DRB1*0101	HLA-DRB3,4,5	DRB5*05	HLA-DQB1	DQB1*0501	
		G	E	I	D	G	E	I	D							DRB1*0101 <th>DRB1*0501 <th>DQB1*0501 <th>DQB1*0501 </th></th></th>
005	78	8	8	8	8	8	8	8	8	DRB1*0101	HLA-DRB3,4,5	DRB5*05	HLA-DQB1	DQB1*0501		
005	12	8	8	8	8	8	8	8	8	DRB1*01			DQB1*0501	DQB1*06		
005	28	8	8	8	8	8	8	8	8	0101/02/03/+			DQB1*05	DQB1*06		
005	76	8	8	8	8	8	8	8	8	01			05	DQB1*06		
05A	31	8	8	8	8	8	8	8	8	0101/02/04/+			0501/02/03/+			
	DRB1*0101	Recommended Assignment												*01	*05	
	DQB1*0501	Recommended Assignment														
		Recommended Assignment												DRB1*05	DQB1*06	
		Recommended Assignment												DRB1*1501/02/03/+	DQB1*0501/02/03/+	
		Recommended Assignment												unwritable	HLA-DQ5	unwritable

H1604

Lot #	Lab #	1				3				4				HLA-DRB1	DRB1*0701	HLA-DRB3,4,5	DRB5*0101	HLA-DQB1	DQB1*0303
		G	E	I	D	G	E	I	D	G	E	I	D						
005	12	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	DRB1*0101	DRB1*0701	DRB1*1501	DRB5*0101	DQB1*0303	
005	28	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0101/02/03/+	0701/02/03/+	150/02/03/+	DRB5*0101/02/03/+	0303/06	
005	38	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	DRB1*01	DRB1*07	*15	n.d	DQB1*05	
005	76	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	DRB1*0101/02/04/+	DRB1*0701/02/03/+	DRB1*1501/02/03/+	DRB5*01/02	DQB1*06	
05A	31	6	6	4	6	6	6	6	6	6	6	6	6	*01	*07	*15	4*01	*05	
	DRB1*0101	Recommended Assignment												DRB5*0101	DRB5*0101/02/03/+	DQB1*0501/02/03/+	DQB1*0601/02/03/+		
	DRB1*0701	Recommended Assignment																	
	DRB1*1501	Recommended Assignment												DRB4*01	DRB5*01/02	DQB1*05	DQB1*06		
	DRB4*0101/03/06	Recommended Assignment												DRB1*07	DRB1*1501/02/03/+	DQB1*0501/02/03/+	DQB1*0601/02/03/+		
	DRB5*0101	Recommended Assignment												unwritable	unwritable	HLA-DQ5	unwritable		
	DQB1*0501	Recommended Assignment												DRB1*0702 allele does not exist (deleted allele)					
	DQB1*0303	Recommended Assignment																	
	DQB1*0602/11/20	Recommended Assignment																	

Figure 4 Micro SSP Generic HLA Class II DNA Typing Tray (Micro SSP 2L)

H1601

Lot #	Lab #	11				12				HLA-DRB1		HLA-DRB3,4,5	
		G	E	H	C	B				DRB1*0701	DRB1*1104	DRB3*0202/12	DRB4*0101/03/06
005	09	8	8	8	8	8	8	8	8	0701/02/03/+	1101/04/06/+	DRB3*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+
005	16	8	8	8	8	8	8	8	8	DRB1*07	DRB1*11	DRB3*01/02/03	DRB4*01
005	21	8	8	8	8	8	8	8	8	0701/02/03/+	1101/04/06/+	DRB3*01/02/03	DRB4*01
04A	59	8	8	8	8	8	8	8	8	0701/02/03/+	1101/04/06/+	3*0101/02/03/+	4*0101/02/03/+
DRB1*0701										Recommended Assignment			
DRB1*1104										DRB1*07	DRB1*11	DRB3*01/02/03	DRB4*01
DRB3*0202/12										DRB1*0701/03/04/+	DRB1*1101/04/06/+	DRB3*0101/0201/+	DRB4*0101/02/03/+
DRB4*0101/03/06										unwritable	unwritable	unwritable	unwritable
DRB1*0702 allele does not exist (deleted allele)													

H1602

Lot #	Lab #	10			12			HLA-DRB1		HLA-DRB3,4,5		
		G	E	D				DRB1*0101	DRB1*1501	DRB5*0101		
005	09	8	8	8				0101/02/04/+	1501/02/03/+	DRB5*0101/02/03/+		
005	16	8	8	8				DRB1*01	DRB1*15	DRB5*01/02	-	
005	21	8	8	8				0101/02/04/+	1501/02/03/+	DRB5*01/02		
04A	59	8	8	8				0102/04/05/+	1501/02/03/+	5*0101/02/03/+	-	
DRB1*0101								Recommended Assignment				
DRB1*1501								DRB1*01	DRB1*15	DRB5*01/02		
DRB5*0101								DRB1*0101/02/04/+	DRB1*1501/02/03/+	DRB5*0101/0202/+		
								unwritable	unwritable	unwritable		

H1603

Lot #	Lab #	10	HLA-DRB1		HLA-DRB3,4,5	
		G	DRB1*0101			
005	09	8	0101/02/04/+	-	-	
005	16	8	DRB1*01	-	-	
005	21	8	0101/02/04/+	-	-	
04A	59	8	0102/04/05/+	-	-	
DRB1*0101			Recommended Assignment			
			DRB1*01			
			DRB1*0101/02/04/+			
			unwritable			

H1604

Lot #	Lab #	10				11				12				HLA-DRB1		HLA-DRB3,4,5	
		G	E	H	D	B				DRB1*0101	DRB1*0701	DRB1*1501	DRB4*0101/03/06	DRB5*0101			
005	09	8	8	8	8	8	8	8	8	DRB1*0101/02/04/+	DRB1*0701/02/03/+	DRB1*1501/02/03/+	判定不能				
005	16	8	8	1	8	8	8	8	8	DRB1*01	DRB1*07	DRB1*15	DRB4*01	DRB5*01/02			
005	21	8	8	1	8	8	8	8	8	0101/02/04/+	0701/02/03/+	1501/02/03/+	DRB4*01	DRB5*01/02			
04A	59	8	8	1	8	8	8	8	8	DRB1*0102/04/05/+	DRB1*0401/02/03/+	DRB1*1501/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+	DRB5*0101/02/03/+			
DRB1*0101										Recommended Assignment							
DRB1*0701										DRB1*01	DRB1*07	DRB1*15	DRB4*01	DRB5*01/02			
DRB1*1501										DRB1*0101/02/04/+	DRB1*0701/03/04/+	DRB1*1501/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+	DRB5*0101/0202/+			
DRB4*0101/03/06										unwritable	unwritable	unwritable	unwritable	unwritable			
DRB5*0101										DRB1*0702 allele does not exist (deleted allele)							

図 6 Micro SSP HLA Class I and Class II ABDR DNA Typing Tray (Micro SSP ABDR) Class II

	1	2	7	25	26	30	35	42	43	61	64	68	76	78	81	90	92
	1	4			5			6	8		9	10	11		12		
	A	B	G	A	B	F	C	B	C	E	H	D	D	F	A	B	D
B*1511																	
B*3501																	
B*5701																	
B*5301/02/04/05/08																	

図 8 ABC SSP Unitray における HLA-B*15, B*35, B*57 と B*53 の反応パターン

H1601

8	10	16	28	29	34	35	36	37
1	2	4	5					
HLA-DRB1	HLA-DRB3.4.5	HLA-DQB1						
DRB1*0701	DRB3*0202/12	DRB4*0101/03/06	DRB5*0202/12	DRB5*0101/0201/+	DRB5*0101/0201/+	DRB5*0101/0201/+	DRB5*0101/0201/+	DRB5*0101/0201/+
DRB1*1104	DRB1*1104	DRB1*0301/+	DRB1*1104	DRB1*1104	DRB1*1104	DRB1*1104	DRB1*1104	DRB1*1104
DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12
DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06
DRB1*0201/02	DRB1*0201/02	DRB1*0201/02	DRB1*0201/02	DRB1*0201/02	DRB1*0201/02	DRB1*0201/02	DRB1*0201/02	DRB1*0201/02
DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01
DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701
DRB1*1104	DRB1*1104	DRB1*1104	DRB1*1104	DRB1*1104	DRB1*1104	DRB1*1104	DRB1*1104	DRB1*1104
DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12	DRB3*0202/12
DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06	DRB4*0101/03/06
DQB1*0201/02	DQB1*0201/02	DQB1*0201/02	DQB1*0201/02	DQB1*0201/02	DQB1*0201/02	DQB1*0201/02	DQB1*0201/02	DQB1*0201/02
DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01	DQB1*0301/01

H1602

1	3	31	32	33
1	4	5		
HLA-DRB1	HLA-DRB3.4.5	HLA-DQB1		
DRB1*0101	DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101
DRB1*1501	DRB1*1501	DRB1*1501	DRB1*1501	DRB1*1501
DRB3*0102/03/+	DRB3*0102/03/+	DRB3*0102/03/+	DRB3*0102/03/+	DRB3*0102/03/+
DRB4*0101/02/02	DRB4*0101/02/02	DRB4*0101/02/02	DRB4*0101/02/02	DRB4*0101/02/02
DRB5*0102/03/+	DRB5*0102/03/+	DRB5*0102/03/+	DRB5*0102/03/+	DRB5*0102/03/+
DRB1*0101/04/05/+	DRB1*0101/04/05/+	DRB1*0101/04/05/+	DRB1*0101/04/05/+	DRB1*0101/04/05/+
DRB1*1501	DRB1*1501	DRB1*1501	DRB1*1501	DRB1*1501
DRB3*0102	DRB3*0102	DRB3*0102	DRB3*0102	DRB3*0102
DRB4*0101/02/03	DRB4*0101/02/03	DRB4*0101/02/03	DRB4*0101/02/03	DRB4*0101/02/03
DRB5*0102	DRB5*0102	DRB5*0102	DRB5*0102	DRB5*0102
DRB1*0101/04/05/+	DRB1*0101/04/05/+	DRB1*0101/04/05/+	DRB1*0101/04/05/+	DRB1*0101/04/05/+
DRB1*1501	DRB1*1501	DRB1*1501	DRB1*1501	DRB1*1501
DRB3*0102	DRB3*0102	DRB3*0102	DRB3*0102	DRB3*0102
DRB4*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+
DQB1*0501	DQB1*0501	DQB1*0501	DQB1*0501	DQB1*0501
DQB1*0602/11/20	DQB1*0602/11/20	DQB1*0602/11/20	DQB1*0602/11/20	DQB1*0602/11/20
DRB1*0101/02/04/+ (i#19)	DRB1*0101/02/04/+ (i#19)	DRB1*0101/02/04/+ (i#19)	DRB1*0101/02/04/+ (i#19)	DRB1*0101/02/04/+ (i#19)

H1603

1	32
1	4
HLA-DRB1	HLA-DRB3.4.5
DRB1*0101	DRB5*0101
DRB1*0204/+	DRB1*0204/+
DRB1*04/05/+	DRB1*04/05/+
DRB1*0101/04/05/+	DRB1*0101/04/05/+
DRB1*1501	DRB1*1501
DRB3*0102	DRB3*0102
DRB4*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+
DQB1*0501	DQB1*0501
DQB1*0602/11/20	DQB1*0602/11/20
DRB1*0101/02/04/+ (i#19)	DRB1*0101/02/04/+ (i#19)

H1604

1	3	16	30	31	32	33	39
1	2	4	5				
HLA-DRB1	HLA-DRB3.4.5	HLA-DQB1					
DRB1*0101	DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101
DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701	DRB1*0701
DRB3*0102N	DRB3*0102N	DRB3*0102N	DRB3*0102N	DRB3*0102N	DRB3*0102N	DRB3*0102N	DRB3*0102N
DRB4*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+	DRB4*0101/02/03/+
DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101	DRB5*0101
DQB1*0303	DQB1*0303	DQB1*0303	DQB1*0303	DQB1*0303	DQB1*0303	DQB1*0303	DQB1*0303
DQB1*0602/11/20	DQB1*0602/11/20	DQB1*0602/11/20	DQB1*0602/11/20	DQB1*0602/11/20	DQB1*0602/11/20	DQB1*0602/11/20	DQB1*0602/11/20
DRB1*0101/02/04/+ (i#19)	DRB1*0101/02/04/+ (i#19)	DRB1*0101/02/04/+ (i#19)	DRB1*0101/02/04/+ (i#19)	DRB1*0101/02/04/+ (i#19)	DRB1*0101/02/04/+ (i#19)	DRB1*0101/02/04/+ (i#19)	DRB1*0101/02/04/+ (i#19)

9 DRDQ 2T SSP Unitray

8. まとめ

全体的には、昨年度の QC ワークショップに比して、反応性が向上し、偽陽性反応や偽陰性反応の減少がみられた。また、表記法や判定についても向上

していたが、まだ多くの施設でミスがみられることから、表記法の原則や削除アレルなどを熟知し、なお一層の努力が望まれる。

第 8 回 HLA-QC ワークショップレポート —方法論別生データ検討 その他 (RFLP, SBT, SSCP, RSCA)—

柏瀬貢一¹⁾, 太田正穂²⁾, 小林 賢³⁾, 酒巻建夫⁴⁾, 佐田正晴⁵⁾, 田中秀則²⁾,
中島文明⁶⁾, 成瀬妙子⁷⁾, 丸屋悦子⁸⁾, 安波道郎^{9,10)}, 木村彰方^{9,10)}
(日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会)

1) 東京都赤十字血液センター検査部, 2) 信州大学医学部法医学, 3) 日本薬科大学生物学, 4) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, 5) 国立循環器病センター研究所, 6) 神奈川県赤十字血液センター検査部, 7) 東海大学医学部分子生命科学系, 8) 特定非営利活動法人 HLA 研究所, 9) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 10) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室

1. はじめに

今回のワークショップのサンプルの特徴と狙いは、以下の 3 点が挙げられる。

- ① 正確なタイピング
→ 外国人由来の稀なアレルやハプロタイプが崩れたサンプルによりそれぞれ使用している方法の正確性の確認
- ② 奇妙なデータが得られるタイピング
→ キメラサンプルによる 3 量体, 4 量体の検出およびハプロイドの量的な差異の検出
- ③ 少量 DNA からのタイピング
→ ろ紙にスポットした少量の DNA によるタイピング精度の確認

今回のワークショップのサンプルが RFLP, SBT, SSCP, RSCA 法を用いた場合、どのような点で優れているのかあるいは限界があるのか、各施設から提出されたコメントを基に解析を行った。

2. 原理

RFLP (restriction fragment length polymorphism)

制限酵素により変異部位が切断し得るかを電気泳動により確認を行う方法。

長所として、高価な機器が必要なく比較的簡単に操作が行える。

短所として、すべての変異部位に対する制限酵素があるとは限らない。また、制限酵素の失活による部分切断など判定に注意を要する。

SBT (sequence-based typing)

PCR 産物をシーケンサーにより泳動を行い、直接塩基配列を解析する方法。

長所として、解像度が高いことが挙げられる。

短所として、RFLP と同様に *sis/trans* を区別することはできない。

SSCP (single-strand conformation polymorphism)

PCR 産物を熱変性などで一本鎖にし、電気泳動に

より一本鎖 DNA の移動度の差異を検出する方法。

長所として、未知の変異を検出できる点や *sis/trans* を区別できる。

短所として、アリルを同定するためには、他の方法で確定された標準 DNA が必要である。

RSCA (reference strand-mediated conformation analysis)

標準 DNA とサンプルとのヘテロデュプレックスの移動度によりタイピングを行う方法。

長所として、SSCP 同様 *sis/trans* を区別できることや新規アリルの検出が可能であることと、量的差異を検出可能であることが挙げられる。

短所は、未だすべての対立遺伝子を区別できるまで至っていないことや、蛍光物質を検出できるゲルタイプの電気泳動装置が必要である。

3. 参加施設・方法

今回、データが提出された施設数を方法毎に図 1 に示した。

RFLP 法は主に HLA-DRB1, DQB1, DPB1 タイピングに用いられていた。HLA-B は 1 施設だけ用いられていたが RFLP 法を使用していたのは H1606

の 1 サンプルだけであった。SBT 法は主に HLA-A, B, C, DRB1 タイピングで用いられており、ほとんどの施設が市販キットを使用していた。SSCP 法を HLA-DRB1, DQB1, DPB1 に用いていた施設は昨年度がそれぞれ 5, 3, 2 施設だったが、今年度はそれぞれ 2, 2, 1 施設と減少した。1 施設のみが HLA-A, B, DRB1 を RSCA 法によりタイピングが行われていた。

4. 反応・判定結果および問題点

RFLP 法

一部の施設において、H1606 (ろ紙) のタイピングが困難とコメントされていた。十分量の PCR 産物が得られないと RFLP の判定は困難であると考えられた。また、制限酵素の種類によりアリルの絞込みができないとコメントされていた (DRB1*07 など)。

SSCP 法

SSCP 法を DRB1 のタイピングに用いた 2 施設とも、H1601 と H1606 のアリルの同定ができないとコメントされていた。原因として、DRB1*1104 の標準 DNA の入手が困難で同定できなかったことにあるが、稀なアリルについて標準 DNA を用意する

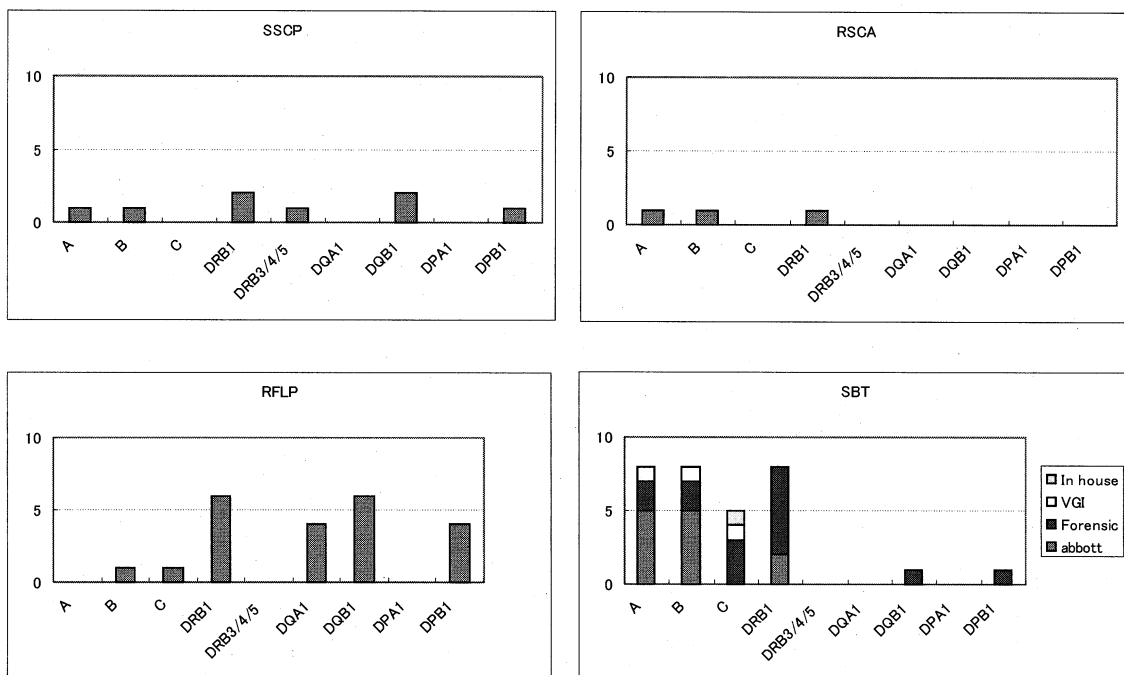


図 1 方法論別の使用施設数

ことは極めて困難であり、SSCP法の限界がこのような点にあることは昨年のQCWSでも報告した。昨年のQCWSでは5施設がDRB1のタイピングにSSCP法を使用していたが、今年度は2施設となったことからその点がうかがえる。

SBT法

予想通り稀なアリのルの同定が行われていた。H1605とH1606のろ紙由来DNAサンプルのBローカスにおいてPCR増幅不能によりタイピング結果が得られなかったとコメントされた(施設コード11)。Abbott社のPCRは約2kbと比較的長めのPCR増幅を行うため、DNAの量がある程度多めに必要になることから増幅が困難であったと思われる。なお、H1601のDPB1においてDPB1*0301,0601とDPB1*200101,2901がambiguityとコメントが記載されていた。使用された判定ソフトが最新のアリのルをフォローしており正確性の高いambiguityの判定結果を得ることができたと推測される。

RSCA法

この方法の特徴は、増幅量を数値化し易いことが

挙げられる。今回、キメラを模したサンプルではアリのル間の増幅量が数値化されたデータが提出された。この様にキメラのサンプルなどには威力を発揮する方法と思われた。しかしながら、H1601のコンセンサス(正解)のDRB1*1104がDRB1*1101と区別できなかったことから、現在市販されているキットでは4桁レベルの十分な分解能が未だ得られておらず、更なる改良が望まれる。また、H1603のBローカスにおいてB*3801とB*5101以外に第3のアリのルとしてB*1567あるいは新アリのルを示唆するようなデータが得られたとコメントされた。

5. まとめ

今回のQCWSの目的である稀なアリのルへの対応を考慮した場合、RFLP, SBT, SSCP, RSCA法の4つの内、標準DNAを必要としないSBT法が最適と思われた。また、キメラへの対応としては、4つの方法ともアリのルを同定することは困難であった。確実にキメラの存在自体を確定するためにはHLAタイピング以外(マイクロサテライト等)で確認することも必要と思われた。

第8回 HLA-QC ワークショップレポート —テーマ別検討(濾紙サンプルについて)—

太田正穂¹⁾, 柏瀬貢一²⁾, 小林 賢³⁾, 酒巻建夫⁴⁾, 佐田正晴⁵⁾, 田中秀則²⁾,
中島文明⁶⁾, 成瀬妙子⁷⁾, 丸屋悦子⁸⁾, 安波道郎^{9,10)}, 木村彰方^{9,10)}
(日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会)

1) 信州大学医学部法医学, 2) 東京都赤十字血液センター検査部, 3) 日本薬科大学生物学, 4) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, 5) 国立循環器病センター研究所, 6) 神奈川県赤十字血液センター検査部, 7) 東海大学医学部分子生命科学系, 8) 特定非営利活動法人 HLA 研究所, 9) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 10) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室

1. はじめに

第7回 HLA-QC ワークショップに続き、本年度も同じテーマで濾紙に添付したサンプルからの

HLA-DNA タイピングを行った。昨年と異なり、濾紙に添付したサンプルは DNA ではなく、培養細胞である。検査は約 100,000 個の細胞がスポットされ

た2種類のサンプル H1605 と H1606 について行った。濾紙からの DNA 抽出は、各検査施設で実施したタイピング法の感度と精度について考察するため、QCWS 部会が推奨する統一したプロトコールに基づいて行って頂いた。今回、サンプルの一は2種類の細胞を9:1の割合で混合し濾紙に添付したものを使用しており、血液で見られるキメラ状態をこのようなサンプルでも判定可能であるか、その結果と各施設からの報告に興味を示された。

2. 検査試料・DNA抽出法

参加施設には、濾紙に細胞を添付した2種類のサンプル (H1605 と H1606) を配付した。H1605 は THP-1 細胞 (A*0201A*2402, B*1511B*3501, DRB1*0101DRB1*1501, DRB5*0101, DQA1*0101/04/05DQA1*01012/03, DQB1*0501DQB1*0602/11/20, DPA1*0103DPA1*0202, DPB1*0201DPB1*0402) と HL-60 細胞 (A*0101, B*5701, DRB1*0701, DRB4*0101/03/06, DQA1*0201, DQB1*0303, DPA1*0103, DPA1*0201, DPB1*0201DPB1*1301) が1:9の割合で総数およそ100,000個分スポットされたものである。また、H1606 は A549 細胞 (A*2501A*3001, B*1801/17, NB*4403, DRB1*0701, DRB1*1104, DRB3*0202/12, DRB4*0101/03/06, DQA1*0201, DQA1*0501/03/05, DQB1*0201/02, DQB1*0301/+, DPA1*0103, DPB1*0301, DPB1*0601) が約100,000個分スポットされている。

DNA 抽出は QCWS 担当部会で推奨した標準プロトコール(表1)に従って行うことを依頼し、DNA タイピングは参加施設で通常行われている方法で検査しその結果を提出して頂いた。

3. 結果と考察

1) 判定に参加した施設数と判定一致率

a) サンプル H1605

サンプル H1605 は人為的に二つの細胞を1:9の割合で混合し作製した複雑な試料であり、判定結果の一致率がその施設の判定精度を必ずしも反映しているとは言えない。今回のように HLA 型がキメラ様を示す結果で、しかも血液細胞を直接観察せず濾紙から抽出した DNA のタイピングだけで判定結果を提出しなければならないときに、判定不能という報告をした施設の報告書については検討する必要があると思われる。ここでの判定結果の一致率は、あくまで2種類の細胞を混合してタイプされるコンセンサス遺伝子型との一致率を示した。

サンプル H1605 タイピングで HLA 型を報告した施設は総数54でありその内訳を表2に示した。この報告で判定不能としたが、考え得る可能な型を示した施設はタイピン実施施設に含まれ、型の報告を記していない施設は除外した。最も多くの施設が報告したローカスは A と DRB1 であり、44 施設 (81%) が実施していた。続いて多かったのは B 座 (42 施設) であった。最も少ないのは DQA1 と DPB1 ローカスであった (3 施設)。判定結果報告が多かった遺伝子座は、臨床的に必要とされている遺伝子座、あるいはタイピングキットに含まれる判定用の遺伝子座構成に依存していると考えられた。しかし、骨髄移植など臨床的に重要と言われている C 座の報告施設 (21 施設, 39%) がそれほど多くなかったのは、まだこの遺伝子座の検査がルーチン検査で必需性が少ないかと感じた。

本サンプルを行った方法の解像度は、大多数の施

表1 濾紙からの DNA 抽出法(同一プロトコール)

1. DNA を添付した濾紙を2等分にしてチューブに移す。
2. チューブに1000 μ l の滅菌水を加え、軽くボルテックスし、スピンドウンを行い、洗浄水を除去する。
3. 洗浄を繰り返すか、濾紙をキムワイプで水切りをして新しいチューブに移す。
4. 100 μ l の滅菌蒸留水をチューブに加え、完全に濾紙を浸らせる。
5. 90 $^{\circ}$ C ~ 95 $^{\circ}$ C で5分加熱
6. ボルテックス (30秒~1分) 後、spin-down
7. 新しいチューブにDNA抽出液を移す。

設で low and medium resolution level であり, high resolution level で判定結果を提出したのは, 大多数が DPB1, DRB3/4/5, DRB1 でありいずれも 30% 以下であった(表2)。また, タイピングの一致率(コンセンサス遺伝子型と一致)は, DQA1 座を除いて low/medium でも high でもそれほど高くはなく, 50% を超える一致率を示したのは, DRB3/4/5 座 (low/medium: 52%) と C 座 (low/medium: 56%, high: 67%) であり, 残りのほとんどは 20~30% 台であった。このようにこのサンプルにおけるタイピングの一致率が低いのは, サンプルの組成が複雑(2種類の細胞を 1:9 の割合で混合)であることと, DNA 抽出が血液からではなく濾紙からであったことが原因であると考えられる。

b) サンプル H1606

サンプル H1606 のタイピング参加施設数とその判定結果を表3に示した。このサンプルは単一細胞(A549)を濾紙に添付したものであることから, コンセンサス遺伝子型と各施設からの判定結果は, いずれも高い一致率(90%以上)を示した。この結果は昨

年(7thQCWS)と同様に好成績を示しており, DNA抽出法と各施設で用いたタイピングテクニックの質の高さに由来すると考えられた。多くの施設で本サンプルのタイピングに low/medium level のタイピングを試みている。また, タイピング結果を提出した施設はサンプル H1605 と同様 DRB1(97%), A(90%), B(88%) 座が多かった。

2) タイピング結果詳細と施設数

各施設からの H1605 サンプルのタイピング結果は多様であったので, サンプルのコンセンサス遺伝子型と報告された型について詳細な検討を行った(表4)。サンプルの組成(2種類のサンプルの混合比)から, 一方の細胞(HL60)の HLA 型が優位にタイピングされると考えられるが, コンセンサス遺伝子型と一致するタイプを提示できなかった施設からの結果は, 原則と異なっているものが見られた。Low/Medium レベルにおいて A, C, DRB4/5 座では HL60 サンプルの型のみを報告する施設が多かったが, その他の B, DRB1, DQB1 座では HL60 のタイプとへ

表2 参加施設数と一致率 (H1605)

遺伝子座	結果提出施設数 N=54 (%)		コンセンサス 遺伝子型	Low/Medium		High	
	使用数 (%)	一致率 (%)		使用数 (%)	一致率 (%)		
HLA-A	44	81	*0101,*0201,*2402	40/44 (91)	8/40 (20)	4/44 (9)	1/4 (25)
HLA-B	42	78	*5701,*1511,*3501	33/42 (79)	8/33 (24)	9/42 (21)	2/9 (22)
HLA-C	21	39	*0602,*0303	18/21 (86)	10/18(56)	3/21 (14)	2/3(67)
HLA-DRB1	44	81	*0701,*0101,*1501	34/44 (77)	11/34 (32)	10/44 (23)	2/10 (20)
HLA-DRB3/4/5	23	43	B4*0101/03/06,B5*0101	23/23 (100)	12/23 (52)	0	
HLA-DQA1	3	6	*0201,*0101/04/05,*0101/02/03	3/3	3/3(100)		
HLA-DQB1	18	33	*0303,*0501,*0602	13/18 (72)	2/13 (15)	5/18 (28)	2/5 (40)
HLA-DPB1	3	6	*0201,*1301,*0402	1/3(33)	0/1(0)	2/3 (67)	0/2 (0)

推定される反応の強さ

HLA-A:*01>*02=*24, HLA-B*57>*15=*35, HLA-Cw*0602>*0303, HLA-DRB1*07>*01,*15

表3 参加施設数と一致率 (H1606)

遺伝子座	結果提出施設数 N=58 (%)		コンセンサス 遺伝子型	Low/Medium		High	
	使用数 (%)	一致率 (%)		使用数 (%)	一致率 (%)		
HLA-A	52	90	*2501,*3001	23/52 (44)	21/23 (91)	29/52 (56)	29/29 (100)
HLA-B	51	88	*1801/17 N,*4403	43/51 (84)	40/43 (93)	8/51 (16)	7/8 (88)
HLA-Cw	23	40	*1203,*1601	19/23 (83)	4/19 (100)	4/23 (17)	4/4 (100)
HLA-DRB1	56	97	*0701,*1104	44/56 (79)	41/44 (93)	12/56 (21)	9/12 (75)
HLA-DRB3/4/5	25	43	3*0202/12.4*0101/03/06	24/25 (96)	23/24 (96)	1/24 (4)	0/1 (0)
HLA-DQA1	4	7	*0201,*0501/03/05	3/4 (75)	3/3(100)	1/4 (25)	1/1 (100)
HLA-DQB1	21	36	*0201/02,*0301/+	16/21 (76)	16/16 (100)	5/21 (24)	5/5 (100)
HLA-DPB1	3	5	*0301,*0601	1/3 (33)	1/1 (100)	2/3 (67)	0/2 (0)

表 4 H1605 で提出されたタイプと施設数

	Low/Medium				High			
A	*01 16	*01,*02 8	*01,*24 4	*01,*02,*24 8	*0101,*0202 1	*0101,*0202,*2402 1		
B	*57 6	*57,*15 13	*57,*35 1	*57,*15,*35 8	*5701 2	*5701,*1511 2	*5701,*1511,*3501 2	
C	*06 7	*06,*03 10			*0602 1	*0602,*0303 2		
DRB1	*07 2	*07,*01 6	*07,*15 3	*07,*01,*15 11	*0701 2	*0701,*0101 3	*0701,*1501 3	*0701,*0101,*1501 2
DRB4,DRB5	B4*01 9	B5*01 2	B4*01,B5*01 12					
DQB1	*03 1	*03,*05 6	*03,*06 1	*05,*06 2	*03,*05,*06 2	*0303,*0602 1	*0303,*0501,*0602 2	

表 5 コンセンサス遺伝子型と異なった判定例 (H1605)

HLA-A			
1	*0101	*0201	*2402
2	0101/04/09	0201/07/09/+	2408
3	0101/04N/09		2410/22/31/+
4	0102	0249	
5	0101		3601

HLA-DRB1			
	*0701	*0101	*1501
1	0701/03/04/+		1601/03/05/+
2	0701/03/04/+	0106/09	
3	0701/03/04/+	0106/09	1501/02/04/+
4	0701/03/04/+	0106	1501/02/04/+
5	0701/03/+		1405/02/1408/+
6		0101/05/07/+	0602

2 labo
5 labo

HLA-B			
1	*5701	*1511	*3501
2	5301	1511	
3	5701	1511	5801
4	5701/06	1531	
5	5701/02/03/+	1508	3501/07/11/+
6	5701/06		3532
7	5301/02/03/+	1516/67	

HLA-DQB1			
	*0303	*0501	*0602
1	0303/12	05031	
2	0306	0501	
3	0201		

HLA-C			
1	*0602	*0303	
2	0602	0304/09	

テロ接合体である THP-1 の一方の型とが組み合わさったヘテロ型で報告する施設が大多数であった。このような結果は、判定キットに含まれるプライマーの設定、PCR 条件などが原因であるか、あるいは検査者が先入観として、通常は 1 座当りのアレルはヘテロ接合体の 2 種類と考え、弱い反応を擬陽性として排除した可能性も考えられるが、詳細な検討が必要である。

3) タイピング誤判例

H1605, H1606 サンプルで、明らかにコンセンサス遺伝子型に含まれていないアレルを報告した例を表 5, 6 に示した。表中色塗りし、ボールドで記した

タイプがコンセンサスにない異なったタイプである。誤判例で特徴的なのは high resolution で報告した結果で多く見られた。High resolution による報告は、精度の高い価値ある情報を提供するが、検査結果には注意が必要である。特に今回のように血液以外からの DNA 抽出、さらに微量な試料から抽出した DNA を用いたときは、2 種類以上の検査法を用いて確認することが重要である。

4) タイピングを行った遺伝子座

今回それぞれのサンプルについてタイピングを行った遺伝子座数は、H1605 では A, B, DRB1, DRB3/4/5 の 4 座をタイピングした施設が最も多く

表6 コンセンサス遺伝子型と異なった判定例 (H1606)

HLA-A		
	*2501	*3001
1	2402/20	
2	2501/02	3011

HLA-B		
	*1801/17 N	*4403
1	35	44
2	1503	
3	1501/03/05/+	4403/07/26/+
4	1546/53	1809

HLA-C		
	*1203	*1601
1	1203/06/07/+	- #
2	12	- \$
3	12	06

HLA-DRB1		
	*0701	*1104
1	07	-
2	0701	1101
3	0701	1101
4	0701	1101
5	0701/02/03/+	1110/12
6	0701/03/+	1405/02/1408/+

HLA-DRB3, DRB4		
	3*0202/12	4*0101/03/06
1	0202	
2	0208	0101/02/03+

HLA-DPB1		
	*0301	*0601
1	0303	0601
2	0306	0601

#:4施設,

\$:3施設 (MicroSSPJpn, MPH)

表7 判定結果に記載されたコメント例

- H1606においては、DPB1、DQB1につきましては反応不明瞭の為判定不能とさせていただきます。
- H1605はB locusではB*1508/11/15、B*3501/03/07/+とB*5701/06がタイプされ、DR locusではDRB1*0101/02/04/+、DRB1*0701/02/03/+とDRB1*1501/02/03/+がタイプされた。これもタイプが3つ取れたため全てのlocusを判定不能とした。
- 昨年、ろ紙の検体はSSOでやりましたが、今年はSSPでやってみようと思いい工夫してみましたがダメでした。
- HLA Typing検査は1種類 (SSP) の検査法のみで検査を実施しているため、他の検査法での (コンタミネーションなどを含め) 確認をすることはできませんでした。
- 1605の結果は専用の判定ソフトでは判定不能でした。意図的に混合されたサンプルと思われます。
- アレルが同定出来たがクラスIIがトリプレットになった為総合判定はしなかった。
- サンプルH1605,1606の判定で一部3つのHLAタイプが検出されました。
- H1605:三量体となり判定不能
- H1605のDRB1のアレルタイピングで、RFLP法でDRB1*0101、DRB1*07、DRB1*1501/03の複数のタイプが判定されたが、SBT法ではDRB1*0101、DRB1*1501の2つのアレルのみが確認できた。しかし、総合的に見ると複数のアレルが確認されたため判定不能と記載した。複数の候補がでてしまった検体が多くあり、その場合、総合判定を報告するときは、全てのアレルに対して判定不能と報告するか悩んだ。つまり、他のローカスで決定されたアレルのなかに見落としているものが含まれている可能性を否定できないためである。
- H1605、H1606はタイピング不能
- H1604, H1605はコンタミネーション?
- H1605は複数のタイプが考えられ、判定不能としました。

(9施設: 17%), 次に A, B, DRB1 の3座が8施設 (15%), A, B, C, DRB1 の4座が6施設 (11%) であった。7座のタイピングを実施している施設が4施設 (8%) 見られ、微量資料からでも多くの遺伝子座のタイピングが可能であることが示唆された。

サンプル H1606 では、圧倒的に A, B, DRB1, DRB3/4/5 の4座 (22%) と A, B, DRB1 の3座 (21%) の報告が多かった。このサンプルでも7座を

報告している施設は4施設 (7%) あり、タイピング法の感度が向上していることが伺われる。両サンプルの報告遺伝子座数が似た傾向を示しているのは、タイピングに用いた判定キットに依存していると考えられる。

今回の QCWS の解析報告書から多くの事を考えさせられた。また H1605 サンプルで見られたように、ある遺伝子座では3つのアレルがタイプされ、

しかも用いたタイピング法によっては判定結果に強弱も観察されるルーチン検査では通常見られない現象について、各施設がどのように対処したか興味を持たれた。今回は明らかに判定不能と示した施設とタイピング結果にコメント(表7)を添付して報告した施設があり、解析に参考となった。このように通

常ではみられない3つのアレルが検出されたときは、その遺伝子座近傍、あるいは遺伝子座内に存在するマイクロサテライトを用いた補助検査を試みることも重要であると思われる。さらに、判定結果には異状現象が認められたことを説明するようなコメントが必要であろう。

第8回 HLA-QC ワークショップレポート —テーマ別検討: 模擬キメラ—

安波道郎^{1,2)}, 太田正穂³⁾, 柏瀬貢一⁴⁾, 小林 賢⁵⁾, 酒巻建夫⁶⁾, 佐田正晴⁷⁾, 田中秀則⁴⁾,
中島文明⁸⁾, 成瀬妙子⁹⁾, 丸屋悦子¹⁰⁾, 木村彰方^{1,2)}
(日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会)

- 1) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, 2) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 3) 信州大学医学部法医学, 4) 東京都赤十字血液センター検査部, 5) 日本薬科大学生物学, 6) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, 7) 国立循環器病センター研究所, 8) 神奈川県赤十字血液センター検査部, 9) 東海大学医学部分子生命科学系, 10) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

模擬キメラサンプルについて (H1604, H1605)

「キメラ」とは、複数の個体(あるいは配偶子)に由来する細胞が単一の個体に共存する状態と定義される。実際には、造血幹細胞の移植後の末梢血に見られるだけでなく、医療行為に伴わない場合でも、妊娠時に胎児由来の細胞が少数ながらも母体末梢血に現れたり、稀には双胎(多胎)の胎児間で造血幹細胞が移行して生ずることが知られている。HLA の型の異なる細胞が同一個体内に存在することによって、惹き起こされる生物学的効果については、議論のあるところであるが、今回のワークショップでは HLA 型決定の場での問題点として、キメラの状態を模した検体 H1604, H1605 を用いて、HLA 型決定の方法論ごとにその検査結果がどのように影響されるかを検討し、キメラであることを実証する方法、さらにその混在比を知る方法について考察した。

検体 H1604, H1605 は、キメラを模倣するものとして、2種類の細胞株 THP-1 (H1602 と同一)と HL60 の DNA を混和 (H1604)、あるいは細胞懸濁

液を混和 (H1605) して作製された(図 4.1.1)。以下、方法論毎の結果を記す。

(1) SSP および SSO

SSP では混在比が低い場合でも概ね 2 種類を超えるアレルを検出する傾向にあり、SSO では個々のプローブの感度によるが混在比が低いアレルは弱いシグナルを示すため、検出不可能かあるいは判定不能となる傾向にある。詳細は方法論別検討 SSP の項、SSO の項を参照。

(2) SBT

塩基配列決定の前段階の増幅反応に座位特異的なプライマーを用いている場合はキメラの混在比に対応した信号強度が得られるが、プライマーがアレルグループ毎に設定されている場合は、プライマーを競合しないアレルの信号がキメラの混在比に相応な強度よりも強調される可能性がある。いずれの場合も SSO と同様に、混在比が低いアレルは弱い信号

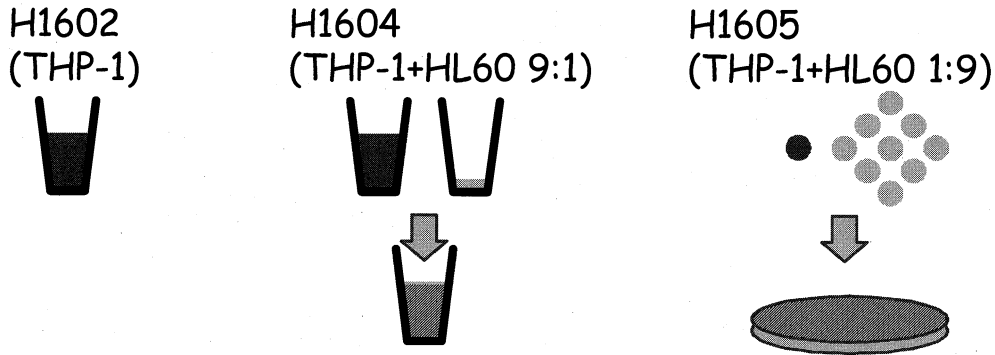


図 4.1.1 検体 H1604, H1605 の調製

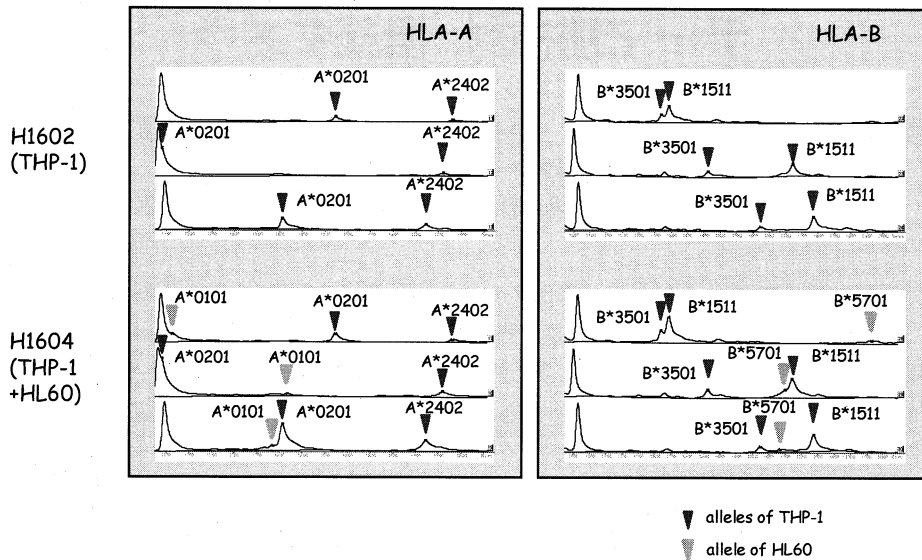


図 4.1.2 RSCA 法による解析

を示すため、検出不可能かあるいは判定不能となる傾向にある。また、混在比が高い際にも判定ソフトを用いると、2 アリル以上のアサインメントには対応していないため、判定はできないという結果になる。

(3) RSCA

RSCA では 2 種類を超えるアリルが存在してもそれぞれを型判定することが可能なだけでなく、信号強度から各々のアリルがどのくらい含まれているかを推定できる。実際、H1504 において第三のアリルが検出され、型判定も可能であり、キメラの混在比を推定することができた(図 4.1.2)。また、前回(第 7 回)のワークショップで、対立遺伝子間での量比が

1:1 から偏移する、いわゆる「ヘテロ接合性の消失 (Loss of heterozygosity, LOH)」を模した検体の解析においても有用であることが明らかであったが、今回も H1602 (THP-1) がおそらく LOH のため、2 アリルの信号強度が約 2 対 1 となっていることが判明した。

(4) マイクロサテライト多型

マイクロサテライト多型解析は、遺伝性疾患の原因遺伝子探索や、様々な個人差の遺伝学的研究に用いられるだけでなく、法医学の分野でも個人識別や親子鑑定において重要な位置を占める手段である。このマイクロサテライト多型解析によってキメラであること、さらに細胞の混在比を推定することが可

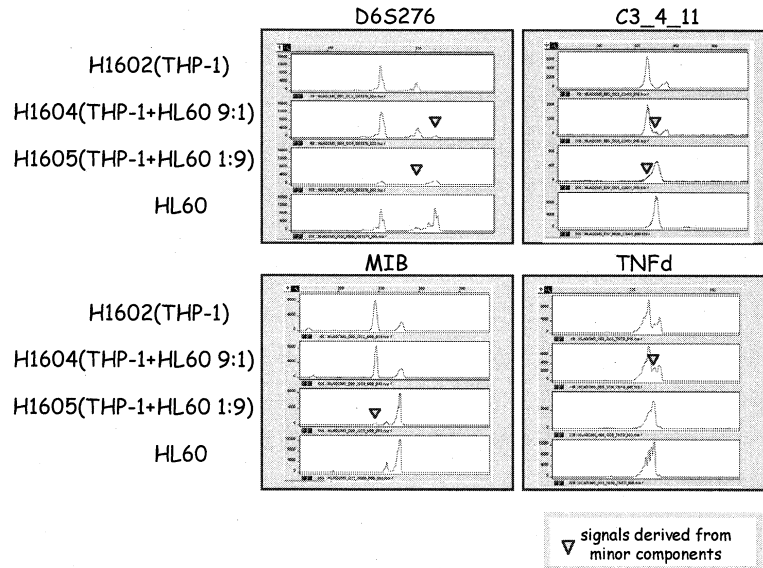


図 4.1.3 マイクロサテライト多型解析

能である。多型は HLA 領域に限らず、すべての染色体上に散在しているが、ここでは HLA 領域の 4 つのマイクロサテライト多型マーカーを用いて解析

した例を示す(図 4.1.3)。RSCA でも同様であるが、混在比が 5% 以下である場合、信号がノイズに隠れて検出できないことが多く、注意が必要である。

第 8 回 HLA-QC ワークショップレポート —DNA タイピング結果表記と HLA 型表記—

田中秀則¹⁾、太田正穂²⁾、柏瀬貢一¹⁾、小林 賢³⁾、酒巻建夫⁴⁾、佐田正晴⁵⁾、
中島文明⁶⁾、成瀬妙子⁷⁾、丸屋悦子⁸⁾、安波道郎^{9,10)}、木村彰方^{9,10)}
(日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会)

1) 東京都赤十字血液センター検査部, 2) 信州大学医学部法医学, 3) 日本薬科大学生物学, 4) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, 5) 国立循環器病センター研究所, 6) 神奈川県赤十字血液センター検査部, 7) 東海大学医学部分子生命科学系, 8) 特定非営利活動法人 HLA 研究所, 9) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 10) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室

1. はじめに

日本組織適合性学会では、昨年「検査結果(ワークシート)記載法と結果報告書表記法およびアンビグイティ (ambiguity) の取扱いの原則 (2003 年度版)」(以下、表記法)が本学会の HLA 標準化委員会から

提示され、QC ワークショップにおける結果報告も、これらの原則に従って結果の表記を行なうことになっている。今回の HLA-QC ワークショップにおける各施設からの結果報告を基に、結果表記の問題点について検討を行なったので報告する。

2. 結果および考察

各参加施設から提出結果の結果表記を、ローカスごとに集計し、表記法とは異なる結果については表中に網掛けで示した(表1~6)。また、結果集計を行うために、一部の結果表記を以下に示す内容で変更を行なった。

- ローカス名を削除した。
- ブランクを意味するハイフン(“-”または“-”)を削除した。(表記法では、片方のアレルだけが検出された場合に、“-”(ハイフン)を入力することとされているが、一部のデータでは、両方のカラムに“-”(ハイフン)が入力されている場合と、未記入(空欄)であった場合があり、“-”(ハイフン)が入力されたカラムを空欄に変更し、未記入として集計した。)
- アレルの表記である“*” (アスタリスク)を削除し、集計した。
- 判定不能、判定不可、判定保留または“?”を、N.D.とした。

2.1. アレル表記の問題点

① HLA型(抗原型)での表記

DNAタイピング結果のアレル表記として、HLA型に置き換えて報告された例(例: A*1, DRB*1, DRB1*7, DQB1*5)が見られた。2桁レベルのタイピングキットでの結果を、そのまま入力または“0”(ゼロ)を入力し忘れたものと思われるが、表記法としては、「アンビギュイティ(ambiguity)の取扱い」に従い、表記することが必要である。

② 区分出来ないアレルの表記

例として、DRB1*07, DRB1*11など2桁による結果の表記が見られたが、2桁レベル(粗分別, low resolution)のタイピングを行なった結果を表記したものだと思われるが、出来ればこのような表記においても、表記法の「アンビギュイティ(ambiguity)の取扱い」に従い、“/”(スラッシュ)を用いた区分出来ないアレルを表記する表記法が必要である。

③ “/”(スラッシュ)を用いたアレルの表記

“/”(スラッシュ)を用いた区分不可能なアレルの表

記として間違っていた例を以下に示す。

- 3種類のアレルを記し、最後に“/+”とするところを、4種類のアレルを表記した例(DRB1*0101/04/05/07/+)
- 区分不可能なアレルを2桁で表記するところを、3桁で表記した例(DRB1*0101/021/04/+)
- “/+”(スラッシュ, プラス)は、4種類以上の区分不可能なアレルがある場合に用いるが、2種類のアレル表記に“/+”を用いていた例(DRB1*0701/03/+), 2種類だけの表記なら“+”は不要となる。
- 3種類のアレルを記し、最後に“/”(スラッシュ)が抜けている例(DRB1*0101/02/04N+)
- 最初のアレルを4桁表記するところを、5桁で表記した例(DRB1*07011/03/04/+)

④ 5桁目以降の区分出来ないアレルの表記

表記法では、「5桁以上の細分化が知られているアレルで、5桁以上でアレルが特定できた場合にのみ、その桁数でアレルを記載する」とされており、5桁目以降の区分出来ないアレルがある場合は、4桁で表記するとなっている。そのため、DRB1*070101/02の表記は間違いで、DRB1*0701と表記する必要がある。

また、現在WHOの命名委員会では5桁目以降2桁で同義置換のアレルを表記するようになっているが、未だに5桁目の1桁で同義置換のアレルを表記してある例が見られた。

⑤ N(null)の表記

表記法の「アンビギュイティ(ambiguity)の取扱い」では、区分出来ないアレルを、最初4桁、以降2桁で表記することになっていることから、nullを意味する“N”については表記する必要はない。(例: A*0101/02/04N/+およびB*3501/07/40N/+等の結果表記では、“N”を表記しない。)

⑥ 判定不能、判定不可、判定保留の表記への対応

今回のQCWSではキメラのサンプルが配布され、検出された3種類のアレルを記載した施設と、判定不能、判定不可等の表記をした施設がそれぞれあった。

表1 HLA-A ローカス表記の集計

Sample :H1601				
Allele:A*250101		Allele:A*3001		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	1	1 未記入 (または-)	1	
2 25	13	2 30	14	
3 25/43/66	1	3 3001	37	
4 2501	37	4 3001/02/03/+	8	
5 2501/02	6	5 3001/08	7	
6 2501/02/03/+	6	6 3001/11	1	
7 2501/03/04	1			
8 2501/03/04/+	1			
9 2501/04	1			
10 250101	1			

Sample :H1603				
Allele:A*020101		Allele:A*24020101		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	2	1 未記入 (または-)	2	
2 02	14	2 24	15	
3 0201	7	3 2402	6	
4 0201/02/03/+	6	4 2402/03/04/+	9	
5 0201/02/04/+	1	5 2402/03/05/+	8	
6 0201/02/12/+	1	6 2402/03/08/+	3	
7 0201/04/05/+	1	7 2402/03/13/+	3	
8 0201/04/07/+	11	8 2402/05/07/+	1	
9 0201/07/08/+	1	9 2402/07/09/+	1	
10 0201/07/09/+	10	10 2402/07/09N/+	3	
11 0201/07/15/+	3	11 2402/08/20/+	1	
12 0201/09/11/+	2	12 2402/09	1	
13 0201/09/24/+	2	13 2402/09/11/+	6	
14 0201/12/36	2	14 2402/09/17	1	
15 020101	2	15 2402/09/20/+	1	
16 0206/10/20+	1	16 2402/09N/11N/+	1	
17 2	1	17 2402/11	1	
18 N.D.	1	18 2402/11N/20/+	1	
		19 2402/20	1	
		20 2402/30/31+	1	
		21 24020101	1	
		22 N.D.	1	

Sample :H1605				
Allele:A*0101		Allele:A*020101		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	15	1 未記入 (または-)	40	
2 01	9	2 (*02)	1	
3 0101	5	3 (*0201)	1	
4 0101/02	3	4 (0201)	1	
5 0101/02/03/+	3	5 02	4	
6 0101/02/04/+	1	6 0201	1	
7 0101/02/04N+	1	7 0201/02/03/+	1	
8 0101/02/04N/+	1	8 0201/07/+	1	
9 0101/04	1	9 0201/07/09	1	
10 0101/04/05	1	10 0201/07/09/+	3	
11 0101/04/09	10	11 0201/09/11/+	1	
12 0101/04N/09	4	12 0201/09/24/+	1	
13 010101	2	13 0219/36/37/+	1	
14 0102	1	14 0249	1	
15 1	1	15 2	1	
16 N.D.	14	16 N.D.	11	
Allele:A*2402				
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	59	6 2402/09N/11N/+	2	
2 24	3	7 2402/20	1	
3 2402/03/04/+	3	8 2408	1	
4 2402/09	1	9 2410/22/31/+	1	
5 2402/09/11/+	1			

Sample :H1602				
Allele:A*020101		Allele:A*2402		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	2	1 未記入 (または-)	2	
2 02	14	2 24	15	
3 0201	7	3 2402	5	
4 0201/02/03/+	6	4 2402/03/04/+	9	
5 0201/02/04/+	1	5 2402/03/05/+	7	
6 0201/02/07/+	1	6 2402/03/08/+	3	
7 0201/02/12/+	1	7 2402/03/09/+	1	
8 0201/04/05/+	1	8 2402/03/13/+	3	
9 0201/04/07/+	10	9 2402/05/07/+	1	
10 0201/07/09/+	10	10 2402/07/09/+	1	
11 0201/07/15/+	4	11 2402/07/09N/+	3	
12 0201/07/18/+	1	12 2402/08/20	1	
13 0201/09/11/+	2	13 2402/09	2	
14 0201/09/24/+	2	14 2402/09/11/+	6	
15 0201/12/36	2	15 2402/09/17	1	
16 020101	2	16 2402/09/20/+	1	
17 2	1	17 2402/09N/11N/+	1	
18 N.D.	1	18 2402/11	1	
		19 2402/11N/20/+	1	
		20 2402/20	2	
		21 24020101	1	
		22 N.D.	1	

Sample :H1604				
Allele:A*24020101		Allele:A*020101		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	12	1 未記入 (または-)	11	
2 24	12	2 02	10	
3 2402	3	3 0201	5	
4 2402/03/04/+	5	4 0201/02/03/+	4	
5 2402/03/13/+	1	5 0201/02/04/+	1	
6 2402/04/08/+	1	6 0201/07/09/+	6	
7 2402/07/09/+	1	7 0201/07/15/+	2	
8 2402/07/09N/+	2	8 0201/07/18/+	1	
9 2402/09	2	9 0201/09/11/+	2	
10 2402/09/11/+	3	10 0201/09/12	1	
11 2402/09/17	1	11 0201/09/24/+	1	
12 2402/09/20/+	1	12 0201/12/36	1	
13 2402/09N/11N/+	2	13 020101	1	
14 2402/11	1	14 0201?	1	
15 2402?	1	15 0236	6	
16 2410	6	16 2	1	
17 N.D.	14	17 N.D.	14	

Allele:A*0101			
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1 未記入 (または-)	28	8 0101/04/09	3
2 01	8	9 0101/04N/09	1
3 01/02/24	1	10 010101-4N/06-09?	1
4 0101	2	11 1	1
5 0101/02	2	12 N.D.	14
6 0101/02/03/+	4	13 未定?	1
7 0101/04	1		

Sample :H1606				
Allele:A*250101		Allele:A*3001		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	10	1 未記入 (または-)	10	
2 25	6	2 30	7	
3 25/43/66	1	3 3001	33	
4 2501	34	4 3001/02/03/+	3	
5 2501/02	7	5 3001/08	6	
6 2501/02/03/+	2	6 3001/11	3	
7 2501/03/04/+	1	7 3011	1	
8 2501/04	1	8 N.D.	5	
9 250101	1	9 2402/20	1	
10 N.D.	5			

WS 集会において、このような場合の表記として、判定が出来なかった意味である undefined の略として“undef”を結果として表記し、判定出来ない内容をコメント欄で説明することが適切であるとされた。

⑦ “()”または“?”付き表記

結果表記において、判定結果が明確でないことを意味していると思われる“()”(カッコ)または“?”を付き表記が見られた(例: DRB1*(0101), DRB1*(1501))。このような場合においても、判定が不可能または検査結果が不明確である場合には、結果を

表 2 HLA-B ローカス表記の集計

Sample :H1601			
Allele:B*1801/17N		Allele:B*440301	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1 未記入 (または-)	7	1 未記入 (または-)	6
2 18	15	2 44	16
3 1801	8	3 4402/03/07/+	3
4 1801/02/03/+	7	4 4403	7
5 1801/02/05/+	1	5 4403/04/07/+	1
6 1801/03/05	4	6 4403/07	4
7 1801/03/05/+	19	7 4403/07/08/+	1
8 1801/05/06/+	1	8 4403/07/13	1
9 1801/05/08/+	2	9 4403/07/13/+	15
10 1801/05/11/+	2	10 4403/07/26	3
11 1801/05/17N	1	11 4403/07/26/+	5
12 1801/17	2	12 4403/13/26/+	2
13 1801/17N	1	13 4403/26/35/+	1
14 1809	1	14 4403/26/36/+	1
15 1815	1	15 440301	6
		1501/03/05/+	1
		1546/53	1
		35	1

Sample :H1603			
Allele:B*3801		Allele:B*510101	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1 未記入 (または-)	7	1 未記入 (または-)	6
2 38	13	2 51	15
3 3801	21	3 5101	7
4 3801/02/04/+	2	4 5101/02/03/+	4
5 3801/02/05/+	1	5 5101/03	1
6 3801/02/08	1	6 5101/03/07/+	5
7 3801/02/08/+	5	7 5101/03/09	1
8 3801/02/09	1	8 5101/03/09/+	17
9 3801/09	19	9 5101/03/11/+	1
10 3802/08	1	10 5101/03/11N/+	1
11 3901/05/+	1	11 5101/07/09/+	1
		12 5101/09/11/+	2
		13 5101/09/11N/+	2
		14 5101/11N	1
		15 5101/11N/27N/+	1
		16 510101	4
		17 510103/07/+	1
		18 5106	1
		19 5121	1
		20 N.D.	1

Sample :H1605			
Allele:B*151101		Allele:B*350101	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1 未記入 (または-)	29	1 未記入 (または-)	46
2 (1511)	3	2 35	4
3 15	4	3 35/15	1
4 1508	2	4 3501/03/07/+	1
5 1508/11	2	5 3501/07/11/+	1
6 1508/11/15	1	6 3501/07/40N/+	1
7 1511	10	7 3501/32	1
8 1511/31	3	8 3532	1
9 151101	1	9 5301	1
10 1516/67	1	10 5301/02/03/+	1
11 1531	1	11 N.D.	14
12 N.D.	15		
Allele:B*570101			
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1 未記入 (または-)	33	6 5701/03	1
2 57	10	7 5701/06	17
3 57/58	1	8 5701/07	1
4 5701	6	9 5701/5801	1
5 5701/02/03/+	1	10 570101	1

Sample :H1602			
Allele:B*151101		Allele:B*350101	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1 未記入 (または-)	6	1 未記入 (または-)	6
2 15	10	2 35	15
3 1501/08/11	1	3 3501	7
4 1502/08/11/+	1	4 3501/02/03/+	2
5 1502/11/21/+	1	5 3501/03/06/+	2
6 1508	2	6 3501/03/07/+	23
7 1508/11	14	7 3501/07/11/+	8
8 1508/11/15	4	8 3501/07/27/+	1
9 1508/11/15/+	1	9 3501/07/40N/+	2
10 1511	23	10 3501/42	3
11 151101	9	11 350101	2
		12 3511/21	1

Sample :H1604			
Allele:B*151101		Allele:B*350101	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1 未記入 (または-)	17	1 未記入 (または-)	22
2 15	10	2 35	13
3 1502/11/21/+	1	3 3501	4
4 1508	3	4 3501/02/03/+	1
5 1508/11	3	5 3501/03/06/+	1
6 1508/11/15	2	6 3501/03/07/+	6
7 1511	14	7 3501/07/11	1
8 151101	6	8 3501/07/11/+	3
9 1517	1	9 3501/07/11N/+	1
10 N.D.	15	10 3501/07/27/+	1
		11 3501/07/40N/+	1
		12 3501/42	2
		13 3501/5701/+	1
		14 350101	2
		15 3511/21	1
		16 N.D.	12
Allele:B*5701			
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1 未記入 (または-)	39	9 5701/03/06	1
2 3501/5701/+	1	10 5701/06	6
3 53/57	1	11 5701/07	1
4 5301	1	12 58	1
5 57	10	13 5801	2
6 57/58	1	14 5801/02/04	1
7 5701	3	15 5801/04	2
8 5701/03	1	16 5804	1

Sample :H1606			
Allele:B*1801		Allele:B*440301	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1 未記入 (または-)	17	1 未記入 (または-)	16
2 18	8	2 44	9
3 1801	6	3 4402/03/07/+	2
4 1801/02/03/+	3	4 4403	5
5 1801/02/05/+	1	5 4403/07	4
6 1801/03/05	4	6 4403/07/08/+	1
7 1801/03/05/+	18	7 4403/07/13	1
8 1801/05/06/+	2	8 4403/07/13/+	13
9 1801/05/08/+	2	9 4403/07/26	2
10 1801/05/11/+	2	10 4403/07/26/+	6
11 1801/17	2	11 4403/13/26/+	1
12 1801/17N	1	12 4403/26/35/+	1
13 1809	1	13 4403/26/36/+	1
14 N.D.	5	14 440301	5
		15 N.D.	5
Allele:B*?			
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1 1501/03/05/+	1	3 1546/53	1
2 1503	1	4 35	1

“undef” (undefined) と表記し、コメントでその内容について説明することが適切と思われる。

⑧ 遺伝子座の表記 (HLA 型だけの表記)

HLA-DRB3, DRB4 および DRB5 遺伝子座における結果表記として、遺伝子座の数字を対立遺伝子

(アリル)として表記している例(例: 3, 4, 5)が見られた。2桁レベルでのタイピング結果を、表記したものであるが、区分不可能なアリルも含んでいることから、表記法の「アンビギュイティ (ambiguity) の取扱い」に従い結果を表記をすることが必要がある。

表3 HLA-C ローカス表記の集計

Sample :H1601				
Allele:Cw*120301?		Allele:Cw*1601		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	未記入 (または-)	28	1 未記入 (または-)	36
2	12	11	2 16	8
3	12/14/17	1	3 1601	12
4	1202/03/04+	1	4 1601/02	3
5	1202/03/06/+	2	5 1601/02/04	1
6	1203	3	6 1601/04	3
7	1203/04/05/+	1	7 1601/06	3
8	1203/04/06	2	8 1604	1
9	1203/06	5	9 Cw16	1
10	1203/06/07	4		
11	1203/06/07/+	3		
12	120301	5	1 06/12	1
13	12031/06/07	1	2 06/17	1
14	Cw12	1	3 17	1

Sample :H1602				
Allele:Cw*030301		Allele:Cw*?		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	未記入 (または-)	1	1 未記入 (または-)	35
2	03	9	2 0102	1
3	03(9)	1	3 03	3
4	0301/03	1	4 03/-	1
5	0302/03/04/+	1	5 0304/06	1
6	0303	5		
7	0303/04/05/+	1		
8	0303/11/12/+	5		
9	0303/11/13	1		
10	0303/11/13/+	1		
11	0303/12/13	3		
12	0303/13	5		
13	030301	5		
14	3	1		
15	Cw9	1		

Sample :H1603				
Allele:Cw*0501		Allele:Cw*07		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	未記入 (または-)	29	1 未記入 (または-)	26
2	05	3	2 07	6
3	0501	1	3 0701/02/03/+	4
4	0501/02/03/+	2	4 0702/13/17/+	1
5	0501/03/04	1	5 7	1
6	0501/03/04/+	1	6 Cw7	1
7	0501/03/05	1	7 N.D.	2
8	0501/03/05/+	1		
9	N.D.	2		
Allele:Cw*01?				
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	未記入 (または-)	3	10 0102/05/06	2
2	01	10	11 0102/05/06 and 0103?	1
3	01/08?	1	12 0102/05/06/+	2
4	0102	7	13 0102/06/07/+	1
5	0102/03/04/+	1	14 0102/0701 and 02/07/08	1
6	0102/03/05	1	15 0103 or 0102/05/06/+	1
7	0102/03/05/+	4	16 0303 and 0102	1
8	0102/03/06/+	1	17 1	1
9	0102/03/07/+	2	18 Cw1	1

Sample :H1604				
Allele:Cw*030301		Allele:Cw*0602		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	未記入 (または-)	4	1 未記入 (または-)	12
2	03	7	2 06	10
3	03(9)	1	3 0602	4
4	0301/03	1	4 0602/03/04/+	1
5	0302/03/04/+	1	5 0602/03/07	2
6	0303	4	6 0602/03/07/+	2
7	0303/04/05/+	1	7 0602/04/06/+	4
8	0303/11/12	2	8 0602/07	3
9	0303/11/12/+	4	9 0607	1
10	0303/11/13	3	10 6	1
11	0303/12	1	11 Cw6	1
12	0303/13	4	12 N.D.	1
13	030301	4		
14	3	1		
15	Cw9	1	102	1
16	N.D.	3	120401	2

Sample :H1605				
Allele:Cw*0303		Allele:Cw*0602		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	未記入 (または-)	44	1 未記入 (または-)	39
2	(*03)	1	2 06	7
3	(0303)	1	3 0602	4
4	03	2	4 0602/03/04/+	1
5	0301/03	1	5 0602/03/07	1
6	0303	3	6 0602/03/07/+	2
7	0303/11/12	1	7 0602/07	9
8	0303/11/12/+	2	8 0602/07/10	1
9	0303/11/13	3	9 N.D.	3
10	0303/13	1	10 N.T.	1
11	0304/09	1		
12	N.D.	6		

Sample :H1606				
Allele:Cw*120301?		Allele:Cw*1601		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	未記入 (または-)	36	1 未記入 (または-)	44
2	12	6	2 16	8
3	1202/03/06/+	3	3 1601	1
4	1203	2	4 1601/02	1
5	1203/04/06	1	5 1601/02/04	1
6	1203/06	3	6 1601/04	2
7	1203/06/07	2	7 1601/04/06	1
8	1203/06/07/+	4	8 1601/06	2
9	1203/06/11	1	9 1604	1
10	120301	3	10 N.D.	4
11	12031/06/07	1	11 N.T.	1
12	N.D.	4		
13	N.T.	2	06	1

また、アレル記載欄に何も結果表記をせずに、HLA型(抗原型)DR51, DR52, DR53だけを表記する施設もあった。このことは、Cローカスにおいても、同様な表記が見られ、DNAタイピングの結果をアレル欄に記載する必要がある。表記法における、

以下の記載「2桁レベル(粗分別, low resolution)でタイピングのみを実施した検査の場合、a.粗分別タイピングのみを実施した場合は、原則的に2桁レベルで報告するものとするが、「HLA型」で結果を報告してもよい。」に従い「HLA型」だけを表記をし

表4 HLA-DRB1 ローカス表記の集計

Sample :H1601				
Allele:DRB1*0701		Allele:DRB1*1104		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 未記入 (または-)	2	1 未記入 (または-)	3	
2 07	16	2 11	18	
3 0701	17	3 1101	2	
4 0701/02/03/+	3	4 1101/01/10/+	1	
5 0701/03/+	1	5 1101/02/03/+	2	
6 0701/03/04	3	6 1101/02/04/+	3	
7 0701/03/04/+	21	7 1101/03/04/+	1	
8 0701/03/05/+	5	8 1101/04	1	
9 070101	2	9 1101/04/06/+	4	
10 070101/02	1	10 1101/04/10/+	8	
11 7	1	11 1101/04/12/+	1	
		12 1101/04/15/+	5	
		13 1101/10/12/+	1	
		14 1104	13	
		15 1104/06/25/+	2	
		16 1104/06/41/+	1	
		17 1104/1143	1	
		18 1104/43/44	1	
		19 110401	4	

Sample :H1602				
Allele:DRB1*0101		Allele:DRB1*150101		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 未記入 (または-)	2	1 未記入 (または-)	2	
2 01	16	2 15	17	
3 0101	19	3 1501	20	
4 0101/02/04/+	6	4 1501/02/03/+	9	
5 0101/02/1/04/+	1	5 1501/02/04	1	
6 0101/04/05	3	6 1501/02/04/+	15	
7 0101/04/05/+	15	7 1501/03/06/+	1	
8 0101/04/05/07/+	1	8 1501/05/09/+	1	
9 0101/05/07	2	9 1501/06/07/+	2	
10 0101/05/07/+	3	10 150101	4	
11 0101/07	1			
12 0101/08	1			
13 0102/04/05/+	1			
14 1	1			

Sample :H1603				
Allele:DRB1*0101/04/05		Allele:DRB1*-		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 未記入 (または-)	2	1 未記入 (または-)	68	
2 01	16	2 - or 0106/09	1	
3 0101	19	3 01/-	1	
4 0101/02/04/+	5	4 0101/04/05/+	1	
5 0101/02/1/04/+	1	5 010102	1	
6 0101/04/05	3			
7 0101/04/05/+	17			
8 0101/05/07	2			
9 0101/05/07/+	3			
10 0101/08	1			
11 0101802/04/+	1			
12 0102/04/05/+	1			
13 1	1			

Sample :H1604				
Allele:DRB1*0101		Allele:DRB1*1501		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 未記入 (または-)	8	1 未記入 (または-)	29	
2 01	11	2 15	12	
3 01/07/15	1	3 1501	13	
4 0101	10	4 1501/02/03/+	3	
5 0101/02/04/+	2	5 1501/02/04/+	10	
6 0101/04/05	3	6 1501/05/09/+	1	
7 0101/04/05/+	10	7 1501/06/07/+	2	
8 0101/05/07	2	8 150101	2	
9 0101/05/07/+	3			
10 0101/07	1			
11 0102/04/05/+	1			
12 1	1			
13 N.D.	18			
14 不明?	1			

Allele:DRB1*0701				
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 未記入 (または-)	35	7 0701/03/05/+	1	
2 07	8	8 070101	1	
3 0701	6	9 07011/03/04/+	1	
4 0701/02/03/+	1	10 7	1	
5 0701/03/04	1	11 N.D.	12	
6 0701/03/04/+	4			
		12 0401/02/03/+	1	

Sample :H1605				
Allele:DRB1*0101		Allele:DRB1*0701		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 未記入 (または-)	20	1 未記入 (または-)	17	
2 (0101)	1	2 07	10	
3 01	8	3 0701	8	
4 0101	7	4 0701/02/03/+	2	
5 0101/02/04/+	2	5 0701/03/+	1	
6 0101/04/05/+	3	6 0701/03/04	4	
7 0101/05/07	2	7 0701/03/04/+	14	
8 0101/05/07/+	1	8 070101	2	
9 0106	2	9 07011/03/04/+	1	
10 0106/09	6	10 N.D.	12	
11 N.D.	18	11 N.T.	1	
12 N.T.	1			
13 不明?	1			

Allele:DRB1*1501				
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 未記入 (または-)	48	6 1501/02/04/+	5	
2 (1501)	2	7 1601/03/05/+	1	
3 15	6	8 1601/03/05/+?	1	
4 1501	6	9 1405/02/1408/+	1	
5 1501/02/03/+	2			

Sample :H1606				
Allele:DRB1*0701		Allele:DRB1*1104		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 未記入 (または-)	8	1 未記入 (または-)	11	
2 07	12	2 11	11	
3 0701	15	3 1101	2	
4 0701/02/03/+	2	4 1101/02/04/+	1	
5 0701/03/+	1	5 1101/03/04/+	1	
6 0701/03/04	3	6 1101/04	1	
7 0701/03/04/+	20	7 1101/04/06/+	1	
8 0701/03/05/+	2	8 1101/04/10/+	10	
9 070101	1	9 1101/04/15/+	5	
10 070101/02	1	10 1101/10/12/+	2	
11 N.D.	6	11 1104	12	
12 N.T.	1	12 1104/06/25/+	1	
		13 1104/06/41/+	1	
		14 1104/43	2	
		15 1104/43/44	1	

Allele:DRB1*?				
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 未記入 (または-)	70	16 110401	3	
2 1405/02/1408/+	1	17 1110/12	1	
3 1202/1501	1	18 N.D.	5	
		19 N.T.	1	

と思われるが、QCWS のデータとしては、アリルも表記すべきである。

⑨ アリルの記載方法

対立遺伝子を意味する表記は、必ず "*" (アステ

リスク)を用いることになっており、HLADRB3-02 等のような "-" (ハイフン)を用いることは間違っている。

表 5 HLA-DRB3/4/5 および DQA1 ローカス表記の集計

Sample :H1601			
Allele:DRB3*0202/12		Allele:DRB4*0101/03/06	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	*01/*02/*03	1	01
2	01	2	01/02
3	01/02/03	3	01/02/03
4	0101/02/03/+	4	0101/02/03+
5	0101/0201/+	5	0101/02/03/+
6	02	6	0101/02/05/+
7	02/03	7	0101/0201
8	0201/02/03/+	8	0101/03/04/+
9	0202	9	010101
10	0208	10	4
11	3	11	B4-01
12	B3-02	12	1

Sample :H1602			
Allele:DRB5*0101		Allele: -	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	01	1	未記入 (または-)
2	01/02	2	DRB5*01/02
3	0101	3	N.D.
4	0101/0105/09/+	4	1
5	0101/02/03/+	5	4
6	0101/0202	6	1
7	0101/05/09	7	3
8	0101/05/09/+	8	4
9	5	9	1
10	B5-01	10	1

Sample :H1603			
Allele:DRB4*0101/03/06		Allele:DRB5*0101	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	未記入 (または-)	1	未記入 (または-)
2	01	2	01
3	01/02	3	01/02
4	0101/02/03/+	4	0101
5	0101/02/05/+	5	0101/02/03/+
6	01030102N	6	0101/0202
7	4	7	0101/05/09
8	B4-01	8	0101/05/09/+
9	N.D.	9	5
		10	B5-01
		11	N.D.

Sample :H1604			
Allele:DRB3*0202/12		Allele:DRB4*0101/03/06	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	未記入 (または-)	1	未記入 (または-)
2	01	2	01
3	01/02/03	3	01/02
4	02	4	01/02/03
5	02/03	5	0101/02/03+
6	0201/02/03/+	6	0101/02/03/+
7	0202	7	0101/02/05/+
8	0208	8	0101/03/04/+
9	B3-02	9	B4-01
10	N.D.	10	N.D.
11	N.T.	11	N.T.

Sample :H1605			
Allele:DRB4*0101/03/06		Allele:DRB5*0101	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	未記入 (または-)	1	未記入 (または-)
2	01	2	0101
3	01/02	3	01
4	0101/02/03/+	4	01/02
5	0101/02/03/+	5	0101
6	0101/02/05/+	6	0101/05/09
7	B4-01	7	0101/05/09/+
8	N.D.	8	B5-01
9	N.T.	9	N.D.
		10	N.T.

Sample :H1606			
Allele:DQA1*0201		Allele:DQA1*0501/03/05	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0201	1	0501
		2	0501/02/03/+
		3	0501/03/05
		4	0505

Sample :H1602			
Allele:DQA1*0101/04/05		Allele:DQA1*0102/03	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0101	1	未記入 (または-)
2	0101/02/04	2	0102
3	0101/02/04/+	3	1
4	N.D.	4	1

Sample :H1603			
Allele:DQA1*0101/04/05			
Local Assignment	件数		
1	0101		
2	0101/02/04		
3	0101/02/04/+		
4	N.D.		

Sample :H1604			
Allele:DQA1*0101/02/03/+		Allele:DQA1*0201	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0101/02/04	1	未記入 (または-)
2	0101/02/04/+	2	0201
3	N.D.	3	N.D.

Sample :H1605			
Allele:DQA1*0101/02/03/+		Allele:DQA1*0201	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	未記入 (または-)	1	未記入 (または-)
2	0101/02/04/+	2	0201
3	0101/02/04/+	3	N.D.
4	N.D.	4	N.T.
5	N.T.	5	1

Sample :H1606			
Allele:DQA1*0201		Allele:DQA1*0501/03/05	
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	未記入 (または-)	1	未記入 (または-)
2	0201	2	0501
3	N.T.	3	0501/02/03/+
		4	0501/03/05
		5	N.T.

2.2. HLA 型の表記の問題点

HLA 型 (HLA 抗原型)の表記については, 10 施設で HLA 型が表記されておらず, 3 施設で HLA 型だけが表記され, アリルの表記がされていなかった。

HLA-A ローカスの HLA 型表記において, A25/

43/66 と表記されていたが, A10 と表記することがより適切であると思われる。また, A-2, A-25, A-30 等の“-” (ハイフン)を用いる表記は不適切である。

HLA-B ローカスの HLA 型表記では, 概ね問題はないが, アリルが B*15 と表記されているにも関

表6 HLA-DQB1 および DPB1 ローカス表記の集計

Sample :H1601				
Allele:DQB1*0201/02		Allele:DQB1*0301/+		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 02	10	1 03	8	8
2 0201	4	2 0301	9	2
3 0201/02	3	3 0301/04/09	2	6
4 0201/02/03	9	4 0301/04/09/+	2	2
5 0201/02/03/	1	5 0301/09	4	1
6 0201/02/03/+	1	6 0301/09/13	1	1
7 0202	4	7 030101	1	1
8 2	2	8 3	1	1
		9 7	1	1

Sample :H1602				
Allele:DQB1*0501		Allele:DQB1*0602/11/20		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 05	9	1 未記入 (または-)	1	1
2 05/06	1	2 06	10	7
3 0501	13	3 0601/02/03/+	8	7
4 0501/02/03/+	7	4 0602	1	1
5 050101	1	5 0602/03	1	1
6 5	2	6 0602/11/15/+	1	1
7 N.D.	1	7 0602/11/16	2	1
		8 0602/1101/15/+	1	1
		9 0602/111/15/+	1	1
		10 6	2	2

Sample :H1603				
Allele:DQB1*0501		Allele: -		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 05	10	1 未記入 (または-)	32	1
2 0501	14	2 0501/02/03/+	1	1
3 0501/02/03/+	7	3 9	1	1
4 050101	1			
5 5	2			

Sample :H1604				
Allele:DQB1*0501		Allele : DQB1*0602/11/20		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	1	1 未記入 (または-)	4	4
2 05	7	2 06	8	6
3 05/06	1	3 0601/02/03/+	6	6
4 0501	11	4 0602	6	1
5 0501/02/03/+	6	5 0602/11/15/+	1	2
6 5	2	6 0602/11/16	1	1
7 N.D.	6	7 0602/1101/15/+	1	1
		8 0602/111/15/+	1	2
		9 6	2	2

Sample :H1605				
Allele:DQB1*0303		Allele: -		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	17	1 未記入 (または-)	8	6
2 03	4	2 05	6	6
3 0303	6	3 0501	6	3
4 0303/06/12	1	4 0501/02/03/+	1	1
5 0303/12	3	5 05031	1	8
6 03032	2	6 N.D.	1	2
7 0306	1	7 N.T.	2	2

Allele:DQB1*0602/11/20				
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	17	6 0602/08/11/+	1	6
2 (0602)	1	7 N.D.	6	2
3 06	2	8 N.T.	2	1
4 0601/02/03/+	2			
5 0602	2	0201	1	1

Sample :H1606				
Allele:DQB1*0201		Allele:DQB1*0301/+		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	5	1 未記入 (または-)	5	5
2 02	8	2 03	5	9
3 0201	4	3 0301	1	2
4 0201/02	1	4 0301/04/09	2	2
5 0201/02/03	7	5 0301/04/09/+	2	4
6 0201/02/03/+	1	6 0301/09	2	2
7 0202	2	7 0301/09/13	4	4
8 N.D.	4	8 N.D.	4	2
9 N.T.	2	9 N.T.	2	2

Sample :H1601				
DPB1*0301		Allele:DPB1*0601		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 0301	5	1 0601	3	1
		2 0601	3	1
		3 0601/2001	1	1

Sample :H1602				
Allele:DPB1*0201		Allele:DPB1*0402		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 0201	3	1 0402	4	1
2 0201/3201	1	2 0402/2301	1	1
3 020102	1			

Sample :H1603				
Allele:DPB1*0201		Allele: -		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 0201	3	1 未記入 (または-)	4	1
2 020102	1	2 0402	1	1
3 02012	1			

Sample :H1604				
Allele:DPB1*0201		Allele:DPB1*0402		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 0201	1	1 0402	3	1
2 0201/3201	1	2 0402/2301	1	6
3 N.D.	6	3 N.D.	6	6

Allele:DPB1*1301				
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 0102	2			

Sample :H1605				
Allele:DPB1*0402		Allele:DPB1*1301		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	1	1 未記入 (または-)	1	3
2 0401/02	1	2 1301	3	1
3 0402	2	3 N.D.	1	1
4 N.D.	1			

Sample :H1606				
Allele:DPB1*0301		Allele:DPB1*0601		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	件数
1 未記入 (または-)	1	1 未記入 (または-)	1	2
2 0301/2901	1	2 0601	2	1
3 0303	2	3 0601/2001	1	1
4 N.D.	1	4 N.D.	1	1

ならず, HLA 型は B75 と表記されていた。HLA 型を B75 と判定可能である場合に, アリルを B*15 と表記することは間違いであり, DNA タイピングの詳細をアリル欄に表記することが必要である。

HLA-DRB1 ローカスのアリル表記で, HLA-

DRB1*1 および HLA-DRB1*7 といった, HLA 型の表記("0" ゼロが抜けている)を用いているのは, 不適切である。また, HLA 型では DR-1, DR-7 といった "-" (ハイフン)を用いた表記は, HLA 型表記としては不適切である。

平成 16 年度 HLA 検査技術者認定試験に関する報告

石川善英¹⁾, 徳永勝士²⁾, 石谷昭子³⁾, 太田正穂⁴⁾, 小河原 悟⁵⁾, 柏瀬貢一⁶⁾,
木村彰方⁷⁾, 小林 賢⁸⁾, 中島文明⁹⁾, 西村泰治¹⁰⁾, 平山謙二¹¹⁾, 丸屋悦子¹²⁾
(日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会試験問題検討部会)

- 1) 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部, 2) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野, 3) 奈良県立医科大学法医学教室, 4) 信州大学医学部法医学教室, 5) 福岡大学病院第 4 内科, 6) 東京都赤十字血液センター検査部, 7) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 8) 日本薬科大学生物化学研究室, 9) 神奈川県赤十字血液センター検査部, 10) 熊本大学大学院医学系研究科免疫識別学教室, 11) 長崎大学熱帯医学研究所環境医学部門, 12) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

日本組織適合性学会 HLA 検査技術者, 組織適合性指導者認定制度は平成 13 年に制度化された。2 年間は認定制度規則に決められた資格条件を満たす者は特例措置として試験が免除されていたため, 平成 16 年 9 月 23 日, 第 12 回日本組織適合性学会大会のなかで, 初めての HLA 検査技術者認定試験が行われた。

認定に必要な知識については MHC (Vol. 9, No. 1, 2002) に日本組織適合性学会会告として公表されており, この項目に従い, 学会員を初め専門の先生方 37 人に数問づつの問題作成をお願いし, 集められた約 200 問の中から, 50 問を選び, 試験問題とした。学会として初めての試みであったため, 問題の難易度を評価し, 合格ラインの参考にするため, 学会大会の中で, 学会参加者に協力をお願いし, 無記名で模擬試験を行った。また模擬試験においては会員の知識レベルの調査を兼ね, 現在の職務, HLA 関連業務経験年数, 認定 HLA 検査技術者資格, 組織適合性指導者資格の有無の記入をお願いした。85 名参加による模擬試験の結果は表 1 のとおりである。模擬試験の結果は学会大会中, 掲示板でも公表された。

模擬試験, 本試験共に, 50 問を試験時間 50 分で実施した。試験時間が短いという意見が聞かれ, 一部に難度の高い問題があったが, 全体として平均点が 6 割程度という目標が達成された。

50 問のうち, 一問(問 6) は問題に間違いがあり,

全員正解とした。正解率が 30% 以下と低かった問題は, 連鎖不平衡について(問 3), NK 細胞について(問 14, 21), 感染免疫について(問 28) の 4 問であった。このうち問 28 は指導者に求められている知識レベルの問題であった。この他に指導者レベルの問題が 9 問あったが, 正解率 30% を下回る問題はなかった。

指導者と技術者との成績を比較すると, 指導者 33 点 (24 人) に対し技術者 32 点 (14 人) と, 平均点に差はみられなかったが, それぞれの問題の正解率を比較すると指導者の方が 1.5 倍以上正解率の高い問題が 9 問あった。問 3, 問 11~問 14, 問 16, 問 21, 問 22, 問 28 であり, これらのうちの 6 問は指導者レベルの問題であった。一方技術者が指導者より 1.5 倍以上正解した問題も 5 問あった。問 5, 問 18, 問 32, 問 46, 問 49 であり, このうち問 18 と問 32

表 1 模擬試験結果 (50 点満点)

得点	人数
<19	1
20<24	8
25<29	25
30<34	28
35<39	18
40<44	4
47	1
平均点	31 点

は指導者レベルの問題であった。

HLA 関連業務経験年数による違いは10年未満32点(47人), 10年以上31点(36人)であり, 差はなかった。

今回試みに行った模擬試験の結果は会員の知識レ

ベルの調査, 各自の知識の再確認, 今後の講習内容の参考データとして有益であった。今後もより多くの会員の協力で模擬試験が継続されることが望まれる。

平成 16 年度 認定 HLA 検査技術者試験

問 1. 微量リンパ球細胞傷害試験を開発した研究者は誰か。ア～オより一つ選びなさい。

- ア. テラサキ
- イ. ドセー
- ウ. ベナセラフ
- エ. スネル
- オ. ファンルード

(正解: ア, 正解率: 92%)

問 2. ある遺伝子の遺伝様式について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. ホモ接合体である兄弟同士は対立遺伝子型が一致する。
- b. 両親がともにヘテロ接合体であればホモ接合体の子供は生まれない。
- c. 両親がともにホモ接合体であればすべての子供は同じ対立遺伝子型を持つ。
- d. 対立遺伝子型を全く共有しない両親から生まれる子供はヘテロ接合体となる。
- e. 兄弟が 4 人いれば少なくとも一組の兄弟同士は対立遺伝子型がすべて一致する。

ア. a, b イ. c, d ウ. a, e エ. b, d オ. c, e

(イ, 75%)

問 3. 連鎖不平衡を生じさせたり増加させたりする原因として、誤っているものを一つ選びなさい。

- ア. 遺伝的組換えが頻繁に起こること。
- イ. 集団の個体数が少ないこと。
- ウ. 異なる遺伝子構成を持つ複数の集団が混合すること。
- エ. 突然変異によって新しい対立遺伝子が生じること。
- オ. 遺伝的組換えが抑制されてハプロタイプが保存されやすくなること。

(ア, 25%)

問 4. 以下の文は HLA ワークショップの意義や役割について述べている。正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. HLA ワークショップに参加することは、最新の情報や知識を知る上で重要である。
- b. HLA ワークショップは、もっとも優れた検査施設を決定するために開催される。
- c. HLA ワークショップで検討されたいくつかのタイピング法は、標準法として推奨されている。
- d. ワークショップ本部では、各種特異性の抗血清を保存し、タイピング用に市販できる体制を整えている。
- e. HLA ワークショップでは、移植に必須の HLA 検査法のみを評価する。

ア. a, c イ. b, d ウ. c, e エ. b, e オ. a, d

(ア, 94%)

問 5. 遺伝子レベルでの命名法について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 1 桁目と 2 桁目の 2 桁の数字で HLA 抗原型を表す。
- b. 3 桁目と 4 桁目の 2 桁の数字は HLA 抗原型への対応特異性を細分化するために使用する。
- c. 5 桁目と 6 桁目の 2 桁の数字で同義置換を表す。
- d. 7 桁目と 8 桁目の 2 桁の数字で非コード領域の塩基置換を表す。
- e. 8 桁目以降の末尾に、N, L, S, C, A を付加する場合がある。

ア. aのみ イ. b, c ウ. a, d エ. a, b, c オ. すべて (オ, 60%)

問 6. (削除)

問 7. 古典的 HLA クラス I 分子でないのはどれか。下記のア～オより一つ選びなさい。

- a. HLA-A
- b. HLA-B
- c. HLA-C
- d. HLA-D
- e. HLA-E

ア. a, b イ. b, e ウ. c, d エ. a, c オ. d, e (オ, 99%)

問 8. HLA クラス II 分子の構造について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 鎖の細胞外ドメインは、 ₁, ₂, ₃ の3つのドメインから構成されている。
- b. ₂ドメインと ₂ドメインは免疫グロブリン様構造を示す。
- c. ₁ドメインと ₂ドメインには、システインによる S-S 結合が見られる。
- d. 鎖と 鎖の二つの糖ペプチドが共有結合した構造を示す。
- e. ₁ドメインと ₁ドメインから構成されるペプチドを収容する溝の両端は開いている。

ア. a イ. b と c と e ウ. d と e エ. すべて正しい オ. すべて間違い (イ, 53%)

問 9. HLA クラス I と HLA クラス II 分子の遺伝的多型について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. HLA 遺伝子多型のうちアミノ酸置換を伴う変異は、抗原ペプチドとの結合に関与する部位に集中している。
- b. HLA 遺伝子多型のうちアミノ酸置換を伴う変異は、膜貫通領域に集中している。
- c. HLA 遺伝子多型のうちアミノ酸置換を伴わない変異は、第一エクソンに集中している。
- d. HLA 遺伝子の多型は、感染症への抵抗性には関係がない。
- e. HLA 遺伝子の多型は、ある種の疾患へのかかりやすさに関係する。

ア. a, b イ. b, c ウ. d, e エ. a, e オ. b, d (エ, 88%)

問 10. 日本人で高頻度に観察される HLA ハプロタイプはどれか。下記のア～オより一つ選びなさい。

- a. A1-B8-DR17
- b. A24-B52-DR15
- c. A29-B7-DR10
- d. A33-B44-DR13
- e. A33-B58-DR17

ア. a, b イ. c, d ウ. a, e エ. b, d オ. b, e (エ, 96%)

問 11. TAP 分子についての、正しい記述を一つ選びなさい。

- ア. 内在性抗原ペプチドを小胞体に運ぶ。
- イ. 外来性抗原タンパク質をペプチドに分解する。
- ウ. TAP とは、Transcribed Antigen Protein の略である。
- エ. 抗原ペプチドを結合し、キラー T 細胞に提示する。
- オ. HLA-DR 分子へのペプチドの結合を抑制する。

(ア, 40%)

問 12. MHC の遺伝子の進化の特徴について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. MHC 遺伝子では大きな変異を生成するために、突然変異率が高くなっている。
- b. MHC 遺伝子はその機能を維持するために、突然変異率が低く抑えられている。
- c. HLA と相同な遺伝子は、両生類や魚類にも存在する。
- d. HLA の様な高度な多型性はヒトに特異的で、他の生物では観察されない。
- e. MHC の変異をつくる仕組みは免疫グロブリンの場合と同じである。

ア. a, e イ. b, c, d ウ. c エ. b, d オ. すべて間違い

(ウ, 44%)

問 13. HLA-クラス II 分子について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 主に細胞外から由来した抗原ペプチドを結合する。
- b. 小胞体の中ではインバリアント鎖と会合している。
- c. 結合するペプチドの長さはクラス I に結合するものより短い。
- d. 外来抗原が存在しない場合はペプチド結合ポケットは空である。
- e. 同一細胞では DR, DQ, DP 分子に結合している抗原ペプチドは同じである。

ア. a, b イ. b, c ウ. c, d エ. d, e オ. a, e

(ア, 45%)

問 14. 次の記述のうち、正しい記述の組み合わせを下記のア～オより一つ選びなさい。

- a. HLA-E は NK レセプターの 1 種、killer Immunoglobulin-like receptor (KIR) のリガンドとなって NK 傷害活性を抑制する。
- b. HLA-G は NK レセプターの 1 種、Immunoglobulin-like transcript 2 (ILT2) のリガンドとなって NK 傷害活性を抑制する。
- c. HLA-E は NK レセプターの 1 種、CD94/NKG2A のリガンドとなって NK 傷害活性を抑制する。
- d. HLA-G はいずれの NK レセプターとも反応せず、NK 活性を抑制しない。
- e. HLA-E はいずれの NK レセプターとも反応せず、NK 活性を抑制しない。

ア. a, b イ. b, c ウ. c, d エ. d, e オ. c, e

(イ, 25%)

問 15. HLA-DM 分子の機能について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 抗原ペプチドを結合し、ヘルパー T 細胞に提示する。
- b. 抗原ペプチドを結合し、キラー T 細胞に提示する。
- c. 抗原ペプチドを結合しない。
- d. HLA-DR 分子へのペプチドの結合を促進する。

e. HLA-DR 分子へのペプチドの結合を抑制する。

ア. a, b イ. b, c ウ. c, d エ. d, e オ. b, e

(ウ, 47%)

問 16. HLA クラス I 分子に結合しているペプチドについての記述のうち、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 結合しているペプチドは、アミノ酸が7つからなるものが多い。
- b. 結合しているペプチドは、すべて疎水性アミノ酸からなる。
- c. ウイルス感染細胞では、ウイルス由来のペプチドが結合していることがある。
- d. 結合しているペプチドの N 末端は、ほとんどが疎水アミノ酸のバリンである。
- e. 結合しているペプチドは、T 細胞によって認識されることがある。

ア. a, b イ. c, d ウ. d, e エ. a, d オ. c, e

(オ, 59%)

問 17. HLA クラス I 関連分子について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 構造的に HLA クラス I 分子に類似したものである。
- b. 報告されている遺伝子はすべて 6p21.3 に局在している。
- c. CD1 遺伝子の遺伝子産物として同定されているのは CD1a のみである。
- d. CD1 分子は、脂質抗原をのせて抗原提示細胞に発現する機能を有する。
- e. いずれの分子も α_2 ミクログロブリンを伴っている。

ア. a, c イ. b, e ウ. b, d エ. a, d オ. c, e

(エ, 38%)

問 18. TNF α (腫瘍壊死因子アルファ) について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 腫瘍細胞に直接作用して、細胞死をひき起こす。
- b. 白血球に作用して、炎症性メディエーターの放出を促す。
- c. 標的細胞での効果は、転写因子 NF κ B が活性化されることを介して現れる。
- d. 抗 TNF α モノクローナル抗体の投与が炎症性疾患の治療に有効と考えられる。
- e. 遺伝子組換えの技術で作製した TNF α 受容体アンタゴニストの投与が炎症性疾患の治療に有効と考えられる。

ア. a イ. b, c ウ. a, d, e エ. すべて正しい オ. すべて間違い

(エ, 53%)

問 19. a~d の中で、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. CD8 陽性の細胞障害性 T 細胞はウイルス由来ペプチドを結合した HLA クラス I 分子を認識することによりウイルス感染細胞を傷害することができる。
- b. 細胞障害性 T 細胞が標的細胞を傷害する方法としては、パーフォリンやグランザイムのような顆粒放出分子による方法と、Fas・Fas リガンドのような細胞表面分子による方法とがある。
- c. パーフォリンは補体第 9 成分と類似した分子で重合体を作ることにより細胞膜に穴をあける。
- d. Fas・Fas リガンドによる細胞障害のように、核の特徴的な変化を伴う細胞萎縮による細胞死をアポトーシスと言う。

ア. すべて間違い イ. すべて正しい ウ. a, b, c エ. a, c, d オ. b, c, d (イ, 51%)

問 20. CD4 陽性の Th1 細胞と Th2 細胞について、誤った記述を一つ選びなさい。

- ア. Th1 細胞はガンマインターフェロンを産生してマクロファージの活性化を促進する。
- イ. Th2 細胞が産生するサイトカインは IgE などのアレルギーに関与する抗体産生を促進する。
- ウ. CD4 陽性 T 細胞は Th1 あるいは Th2 細胞のいずれかに区分することができる。
- エ. Th2 細胞は好酸球を活性化するサイトカインを分泌する。
- オ. Th1 細胞は NK 細胞活性化を誘導するサイトカインを分泌する。 (ウ, 39%)

問 21. NKT 細胞について、誤った記述はどれか。一つ選びなさい。

- ア. NKT 細胞は T 細胞と NK 細胞の特性を併せ持つリンパ球である。
- イ. NKT 細胞は CD1d とセラミドの刺激で活性化し増殖する。
- ウ. NKT 細胞は HLA クラス I 分子上の抗原ペプチドを認識する。
- エ. NKT 細胞は腫瘍転移抑制効果をもつ。
- オ. NKT 細胞はサイトカイン産生をする。 (ウ, 19%)

問 22. T 細胞が示すアロ反応性についての記述のうち、誤った記述の組み合わせはどれか。

- a. アロ反応とは、遺伝的背景が異なる同種個体に発現する抗原に対する反応である。
- b. ヒトの場合、T 細胞にアロ反応性を誘導する最も強い要因は、HLA の違いである。
- c. HLA が完全に一致していれば、T 細胞のアロ反応は起こりえない。
- d. 臓器移植の際に起こる拒絶反応には、ヘルパー T 細胞とキラー T 細胞の両方のアロ反応性が関与する。
- e. 造血幹細胞移植に際し、レシピエント由来の T 細胞のアロ反応により、GVH (移植片対宿主) 反応が発生することがある。

ア. a, b イ. b, c ウ. c, d エ. d, e オ. c, e (オ, 33%)

問 23. 臓器移植のドナー適応条件についての記述のうち、誤った記述の組み合わせはどれか。

- a. 移植を行う臓器の種類によりドナー適応条件が異なる。
- b. 悪性腫瘍の既往があっても全身性感染症がなければ臓器提供が可能である。
- c. 臓器ドナーに年齢や性別の制限はない。
- d. 摘出された臓器の阻血時間は短いほど好ましい。
- e. 複数の臓器提供をうける場合、ドナーの循環動態維持は不可欠である。

ア. a, b イ. b, c ウ. c, d エ. d, e オ. c, e (イ, 85%)

問 24. 移植腎喪失の原因として最も多いものを次の中から一つ選びなさい。

- ア. 腎炎の再発
- イ. 不慮の死亡
- ウ. 急性拒絶反応
- エ. 慢性拒絶反応
- オ. 薬剤性 (エ, 48%)

問 25. 現在死体腎移植の登録および検索に用いられている HLA 抗原はどれか。次のア～オより一つ選びなさい。

- ア. A, B, Cw, DR, DQ, DP 抗原
- イ. A, B, Cw 抗原
- ウ. DR, DQ, DP 抗原
- エ. A, B, DR, DQ, DP 抗原
- オ. A, B, DR 抗原

(オ, 84%)

問 26. 輸血による HLA 抗体産生について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 頻回血小板輸血により産生されやすい
- b. ドナーに含まれる免疫細胞は関与しない
- c. 白血球除去フィルターにより HLA 抗体産生が抑制される
- d. 産生された HLA の抗体価は不変である
- e. HLA-C 抗体は産生されにくい

- ア. a, c, e イ. b, d, e ウ. a, b, c エ. c, d, e オ. b, c, e

(ア, 84%)

問 27. 同種造血幹細胞移植について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 臍帯血移植は骨髄移植にくらべ HLA 不適合ドナーからの移植が多い。
- b. 同種末梢血幹細胞採取は健常人にマクロファージ刺激因子 (M-CSF) を投与し、血球成分採血装置を用いて実施する。
- c. 非血縁者間移植には骨髄バンクドナーからの移植と臍帯血バンクからの移植がある。
- d. 自家末梢血幹細胞移植では同種造血幹細胞移植にくらべサイトメガロウイルス感染症の発症率が高い。
- e. 移植後の造血の回復は一般的に末梢血幹細胞移植、骨髄移植、臍帯血移植の順に早くなる。

- ア. a, b, c イ. b, c, d ウ. c, d, e エ. a, c, e オ. b, d, e

(エ, 58%)

問 28. 黄色ブドウ球菌などが産生するスーパー抗原について、正しい記述を一つ選びなさい。

- ア. 抗原提示細胞によりペプチドに分解され、HLA クラス I 分子により CD8⁺ T 細胞に提示される。
- イ. 抗原提示細胞によりペプチドに分解され、HLA クラス II 分子により CD4⁺ T 細胞に提示される。
- ウ. HLA クラス I 分子と T 細胞レセプターに結合して、多くの T 細胞に多量のサイトカインを産生させる。
- エ. HLA クラス II 分子と T 細胞レセプターに結合して、多くの T 細胞に多量のサイトカインを産生させる。
- オ. HLA クラス I およびクラス II 分子と T 細胞レセプターに結合して、多くの T 細胞に多量のサイトカインを産生させる。

(エ, 18%)

問 29. 次の疾患とその罹り易さに関連する HLA 血清型の組合せの正しいものはどれか。

- a. 強直性脊椎炎: HLA-B27
- b. 関節リウマチ: HLA-DR4
- c. 後天性免疫不全症候群 (AIDS): HLA-B57

- d. ナルコレプシー：HLA-DR4
- e. I型糖尿病：HLA-DR2

ア. a イ. a, b ウ. b, c エ. a, d, e オ. すべて正しい (イ, 55%)

問 30. 親子鑑定について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 友人の紹介で親子鑑定を引き受けても良い。
- b. 日本で最も多い親子鑑定は認知請求事件である。
- c. 検査結果は、口頭で報告すれば充分である。
- d. 検査項目は、遺伝形質の確立した高度の多型性を示すマーカーを使用する。
- e. 父権肯定確率が45%と60%の二人の男については、60%の方が父親である。

ア. a, b イ. b, c ウ. b, d エ. a, d オ. c, e (ウ, 96%)

問 31. 妊娠において、母児の接点である胎盤トロホプラスト細胞上に発現している HLA 分子はどれか。下記のア～オより一つ選びなさい。

- a. HLA-DR
- b. HLA-G
- c. HLA-DQ
- d. HLA-B
- e. HLA-E

ア. a, b イ. b, c ウ. c, d エ. d, e オ. b, e (オ, 84%)

問 32. 次の記述のうち、誤った記述の組み合わせはどれか。

- a. ナルコレプシーは全ての人種において HLA-DQB1*0602 と 100% 関連する。
- b. 種々の人種においてナルコレプシーと強い関連を示すのは、HLA-DRB1*1502 である。
- c. ナルコレプシーの家系内発症例は、比較的まれであり、患者全体の約 1% である。
- d. イヌの遺伝性ナルコレプシーは、劣性遺伝形式をとる。
- e. ナルコレプシー患者において、オレキシン変異が報告されている。

ア. a, b イ. b, c ウ. c, d エ. d, e オ. a, e (ア, 35%)

問 33. オーダーメイド医療について、誤った記述の組み合わせはどれか。

- a. HLA 遺伝子型により疾患感受性が異なるので、HLA タイピングはオーダーメイド医療の一助となる。
- b. HLA 遺伝子多型の殆どは SNP (一塩基多型)なので、オーダーメイド医療の対象とはならない。
- c. 移植における適合性判定のための HLA タイピングはオーダーメイド医療の先駆けといえる。
- d. HLA と相関する疾患で、その HLA 遺伝子の近傍に位置する未知の遺伝子が真の感受性遺伝子である場合には、HLA タイピングはオーダーメイド医療の一助とはならない。
- e. オーダーメイド医療は、HLA 遺伝子にみられるような多型に応じて、治療法を勧案する医療をいう。

ア. a, b イ. c, d ウ. a, c エ. b, d オ. c, e (エ, 64%)

問 34. HLA タイピングの歴史について、誤った記述はどれか。ア～オより一つ選びなさい。

- ア. HLA タイピング法が多数開発された今日では、目的や時間、費用に応じて最適な方法を選択することが可能となった。
- イ. DNA タイピングの開発により、タイピングに要する時間が短縮されることとなった。
- ウ. 血清学的検査法、細胞学的検査法、DNA タイピングのうち、もっとも技術的な熟達が必要とされるのは、細胞学的検査法である。
- エ. 最近では、現在用いられている HLA タイピング法を使用すれば、必ず全ての抗原遺伝子型を検出できるようになった。
- オ. リンパ球細胞毒試験 (LCT) 法の開発は、HLA 抗原タイピングの普及に大きく貢献した。

(エ, 86%)

問 35. クラス II 抗原の血清学タイピング (LCT 法) について、正しい記述はどれか。一つ選びなさい。

- ア. 一般に、抗血清は血小板などによるクラス I 抗体の吸収処理が必要である。
- イ. リンパ球はナイロンウールカラム法などにより分離された T 細胞を用いる。
- ウ. 抗原抗体反応後、補体作用により陽性と判定される生細胞が染色される。
- エ. 染色後、反応停止、固定に流動パラフィンを用いる。

(ア, 68%)

問 36. 次の文章の空欄 a, b, c に入る細胞名として、正しい組み合わせはどれか。

フィコール・コンレイ比重遠心法は各細胞の比重差を利用し、遠心することにより (a) を分離する方法である。比重液としては、フィコール・コンレイ (Ficoll-Conray) やフィコール・ハイパック (Ficoll-Hypaque) などが一般的に用いられ、主に (b) と顆粒球を除去する。フィコール・コンレイで分離された (a) 浮遊液をトロンピンで処理し、残存している (c)、単球および顆粒球を除去する。

- ア. a: T リンパ球 b: 赤血球 c: B リンパ球
- イ. a: B リンパ球 b: 赤血球 c: T リンパ球
- ウ. a: T リンパ球 b: B リンパ球 c: 赤血球
- エ. a: リンパ球 b: 赤血球 c: T リンパ球
- オ. a: リンパ球 b: 赤血球 c: 血小板

(オ, 85%)

問 37. タイピングトレイ作製について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 一つの抗原を決定する際に、最低 2 種類の抗血清を使用することが望ましい。
- b. 他施設の抗血清や市販の抗血清を用いる場合、記載されている反応特異性が違っていることがあるので、自施設で確認後使用することが望ましい。
- c. 他施設の抗血清や市販の抗血清は、すでに評価されているので、再確認しないで使用することができる。
- d. タイピングの際には必ず陰性、陽性反応が出るので、陰性・陽性コントロールは必要がない。
- e. 自施設の血清でも、他施設でその特異性が確認された血清を使用することが望ましい。

ア. a, c, e イ. a, b, e ウ. a, c, d, e エ. a, b, c, e オ. すべて (イ, 93%)

問 38. 感作リンパ球試験 (PLT 試験) と HLA 抗原の関係で正しいのはどれか。下記のア～オより一つ選びなさい。

- a. HLA クラス I 抗原を検出する
- b. HLA クラス II 抗原を検出する
- c. HLA-DP 抗原を検出する
- d. HLA-C 抗原を検出する
- e. HLA-DM 抗原を検出する

ア. a, b イ. b, c ウ. c, d エ. d, e オ. b, d (イ, 60%)

問 39. 細胞介在性リンパ球溶解反応 (CML) 試験について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. リンパ球間の細胞破壊試験である
- b. ターゲット細胞は ConA 等により幼若化させる
- c. 反応後上清中のアイソトープを測定する
- d. キラー細胞は不活性化させて使用する
- e. 抗血清と細胞のリンパ球細胞毒試験である

ア. a, b, c イ. c, d, e ウ. b, c, d エ. a, c, e オ. b, d, e (ア, 49%)

問 40. DNA タイピング法について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. PCR-SSOP 法はオリゴヌクレオチドプローブを用いる。
- b. PCR-SBT 法は多量検体のタイピングに適する。
- c. PCR-SSCP 法は泳動度の差でタイピングする。
- d. PCR-RFLP 法はすべてのアリルを決定できる。
- e. PCR-SSP 法はプライマー設定が比較的容易である。

ア. a イ. b, e ウ. a, c エ. d, e オ. e (ウ, 72%)

問 41. HLA の DNA タイピングについて、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. PCR を用いる方法では検体 DNA の純度、濃度に依存しない。
- b. どの DNA タイピング法を用いても結果は同じである。
- c. クラス I のタイピングでは A-, B-, C-ローカスを同時に PCR 増幅する。
- d. クラス I のタイピングで調べるのは主にエクソン 2 とエクソン 3 である。
- e. いくつかの変異の組み合わせでアリルが決められる。

ア. a, b イ. c, d ウ. d, e エ. b, d オ. c, e (ウ, 68%)

問 42. PCR に使用する DNA を抽出するときに適していない抗凝固剤はどれか。一つ選びなさい。

- ア. フッ化ナトリウム
- イ. EDTA
- ウ. クエン酸ナトリウム

- エ. ヘパリン
- オ. ACD-A 液

(エ, 76%)

問 43. PCR について、間違った記述の組み合わせはどれか。

- a. 鋳型 DNA, プライマー, デオキシヌクレオチド三リン酸, DNA ポリメラーゼが必要である。
- b. プライマーのアニーリング, DNA の熱変性, DNA 鎖の伸長反応の順の繰り返しからなる。
- c. 1 サイクルの反応で目的とする DNA 断片がほぼ 2 倍に増える。
- d. サイクル数が増加して増幅率が低下する原因の一つは DNA ポリメラーゼの失活である。
- e. 十分なサイクル数の PCR を行った後では, PCR 産物量は初期鋳型 DNA 量にほぼ比例する。

- ア. a, b イ. c, d ウ. d, e エ. b, e オ. a, c

(エ, 54%)

問 44. HLA 遺伝子と抗原型の関係について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. A*0215N の血清対応型は A2 である。
- b. B*4601 と B*4602 の血清対応型は B46 である。
- c. B*670101 と B*670102 の血清対応型は異なる。
- d. B*4001 は HLA-B60 抗原をコードする HLA 遺伝子のひとつである。
- e. HLA-B61 抗原をコードする HLA 遺伝子はひとつしかない。

- ア. a, b イ. c, d ウ. d, e エ. a, c オ. b, d

(オ, 61%)

問 45. 組織適合性検査について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. ヒトの組織適合性検査の材料としてヒトの組織臓器細胞が必要である。
- b. ヒトの組織適合性検査の材料として血液を用いることができる。
- c. ヒトの組織適合性検査の材料として血液以外は用いることができない。
- d. ヒトの組織適合性検査の材料として用いる材料は常に新鮮でなければならない。
- e. ヒトの組織適合性検査の材料として用いる材料はかならずしも新鮮である必要はない。

- ア. a, d イ. b, e ウ. c, d エ. a, e オ. b, c

(イ, 92%)

問 46. 造血幹細胞移植における交差試験について、誤った記述の組み合わせはどれか。

- a. 造血幹細胞移植では交差試験は必要としない。
- b. 造血幹細胞移植でも患者が女性の場合交差試験が必要である。
- c. 造血幹細胞移植で、移植ソースの多様化に伴い、交差試験の意義を検討する必要がある。
- d. 造血幹細胞移植における交差試験についてその方法の検討が必要である。
- e. 造血幹細胞移植においてドナー細胞とレシピエント血清との交差試験が陽性的の場合、拒絶される危険率が高い。

- ア. a, b イ. b, d ウ. b, e エ. d, e オ. c, d

(ア, 56%)

問 47. 患者およびドナーの HLA 抗体検査について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. LCT および AHG-LCT 法では、使用するリンパ球を選択することが必要である。
- b. AHG-LCT 法は、患者の HLA-DR 抗体を検出する方法として有用である。
- c. Flow PRA 法は、HLA 抗体を高感度に検出する方法である。
- d. DTT 処理法により、IgM 抗体の反応性が増強する。
- e. MLC 法は、患者の HLA 抗体を検出する方法として有用である。

ア. a,b イ. c,d ウ. b,e エ. a,c オ. b,d

(エ, 58%)

問 48. マイナー組織適合性抗原について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. マイナー組織適合性抗原とは、HLA 以外の組織適合性抗原の総称である。
- b. マイナー組織適合性抗原とは、その名のとおり、臨床的意義もマイナーである。
- c. マイナー組織適合性抗原とは、その遺伝子が主要組織適合性抗原と同じ染色体上に隣接して存在する。
- d. マイナー組織適合性抗原は、HLA 拘束性を有する。
- e. マイナー組織適合性抗原は主要組織適合性抗原と同じく体全体に発現されている。

ア. a,d イ. b,e ウ. c,d エ. a,e オ. b,c

(ア, 31%)

問 49. 骨髄移植後の生着確認検査として不適切なものはどれか。ア～オより一つ選びなさい。ただし、ドナー/レシipient間で不一致がある場合。

- ア. ABO 式血液型
- イ. Rh 式血液型
- ウ. Lewis 式血液型
- エ. HLA 抗原
- オ. マイクロサテライト多型

(ウ, 49%)

問 50. 連鎖する 3 つの遺伝子座 A, B, C に、対立遺伝子がそれぞれ 2 個ずつ存在する。この場合に、理論上可能なハプロタイプの組合せはいくつ存在するか。ア～オより一つ選びなさい。

- ア. 3
- イ. 6
- ウ. 8
- エ. 12
- オ. 16

(ウ, 69%)

日本組織適合性学会
平成 15 年度 決算報告書

自 平成 15 年 4 月 1 日
至 平成 16 年 3 月 31 日

(収入の部)	予 算	決 算	差 異
会 員 年 会 費	3,600,000	3,156,300	-443,700
前 受 け 金	250,000	278,000	28,000
学 会 誌 廣 告 費	1,150,000	920,000	-230,000
学 会 誌 販 売	150,000	149,340	-660
利 息	50	976	926
当 期 収 入 合 計	5,150,050	4,504,616	-645,434
前 年 度 繰 越 金	5,469,015	5,469,015	0
収 入 合 計	10,619,065	9,973,631	-645,434
(支出の部)	予 算	決 算	差 異
大 会 援 助 金	1,000,000	0	1,000,000
学 会 誌 作 成 費	3,150,000	2,478,379	671,621
旅 費	200,000	0	200,000
通 信 費	200,000	264,270	-64,270
事 務 費	50,000	79,353	-29,353
会 議 費	50,000	0	50,000
事 務 委 託 費	500,000	489,510	10,490
当 期 支 出 合 計	5,150,000	3,311,512	1,838,488
次 期 繰 越 金	5,469,065	6,662,119	-1,193,054
支 出 合 計	10,619,065	9,973,631	645,434
当 期 収 支 差 額	50	1,193,104	-1,193,054

繰越金内訳(TFB 表彰基金残金を含む)

(内訳 定期: 2,000,961 普通: 2,911,041 事務センター: 1,942,428 現金: 7,689)

平成 15 年度日本組織適合性学会会計を監査し、適正であったことを認めます。

平成 16 年 9 月 日本組織適合性学会 監事

片 桐 一
吉 田 孝 人

日本組織適合性学会
平成 15 年度 認定制度決算報告書

自 平成 15 年 4 月 1 日
至 平成 16 年 3 月 31 日

(収入の部)	予 算	決 算	差 異
申請料(指導者)	600,000	550,000	50,000
申請料(技術者)	240,000	240,000	0
講習会参加費	50,000	3,480	46,520
QC ワークショップ	200,000	600,000	-400,000
利 息	30	29	1
当期収入合計	1,090,030	1,393,509	-303,479
前年度繰越金	2,821,513	2,821,513	0
収入合計	3,911,543	4,215,022	-303,479

(支出の部)	予 算	決 算	差 異
事業経費	200,000	72,765	127,235
実技研修費委託費	100,000	43,074	56,926
会場費	100,000	0	100,000
講師費	200,000	60,000	140,000
QC ワークショップ	200,000	116,959	83,041
会議費	40,000	60,074	-20,074
旅 費	200,000	68,800	131,200
通信費	30,000	16,850	13,150
事務費	20,000	30,220	-10,220
当期支出合計	1,090,000	468,742	621,258
次期繰越金	2,821,543	3,746,280	-924,737
支出合計	3,911,543	4,215,022	-303,479
当期収支差額	30	924,767	-924,737

繰越金内訳(内訳 普通: 3,738,389 現金: 7,891)

平成 15 年度日本組織適合性学会認定制度会計を監査し、適正であったことを認めます。

平成 16 年 9 月 日本組織適合性学会 監事

片桐 一
吉田 孝人

平成 15 年度 TFB 基金決算報告書

自 平成 15 年 4 月 1 日
至 平成 16 年 3 月 31 日

項	目	金	額
収	入	700,000	
支	出	500,000	
当期収支差額		200,000	
次期繰越金		200,000	

繰越金内訳(普通預金: 200,000)

平成 15 年度日本組織適合性学会 TFB 基金会計を監査し、適正であったことを認めます

平成 16 年 9 月 日本組織適合性学会 監事

片桐 一
吉田 孝人

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サイズでプリントアウトしたものの両者を提出する。ソフトはMSWordとする。字体、サイズ、行の字数、行間、などの体裁は自由とする。また、図表については、写植でそのまま掲載できるものを提出するが、挿入箇所を本文に指定する。図については天地を明示する。印刷の際に、縮小または拡大する場合があるので、考慮すること。また、図表の題や説明はワードで、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。

Nucleotide sequence for a Cw8 subtype, Cw8N, and its association with HLA-B alleles. Fumiaki Nakajima¹⁾, Yoshihide Ishikawa²⁾, Junko Nakamura¹⁾, Toshio Okano¹⁾, Chieko Mori¹⁾, Toshikazu Yokota¹⁾, Ling Lin^{2) 3)}, Katsushi Tokunaga¹⁾ and Takeo Juji¹⁾

- 1) Kanagawa Red Cross Blood Center, Kanagawa, Japan
- 2) Department of Research, Japan Red Cross Central Blood Center, Tokyo, Japan
- 3) Department of Transfusion and Immunohematology, University of Tokyo, Tokyo, Japan

HLA-Cw8 のサブタイプ “Cw8N” の塩基配列および

HLA-B 座との関連分析

中島 文明¹⁾, 石川 善英²⁾, 中村 淳子¹⁾, 岡野 俊生¹⁾, 森 知恵子¹⁾, 横田 敏和¹⁾, 林 玲^{2) 3)}, 徳永 勝士²⁾, 十字 猛夫²⁾

- 1) 神奈川県赤十字センター, 検査課,
- 2) 日本赤十字中央血液センター, 研究一課,
- 3) 東京大学医学部附属病院, 輸血部,

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、出来上りA4版で2~4枚程度)を中心とする。もちろん、full article 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. ………
- 1.1.1. 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 1.2. 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. Komatsu-Wakui M, Tokunaga K, Ishikawa Y, *et al.*: Wide distribution of the MICA-MICB null haplotype in East Asian. *Tissue Antigens* **57** (1): 1-8, 2001.
2. Tokunaga K, Imanishi T, Takahashi K, *et al.*: On the origin and dispersal of East Asian populations as viewed from HLA haplotypes. *Prehistoric Mongoloid Dispersals* (eds. Akazawa T, Szathmary

EJ), Oxford University Press, p. 187-197, 1996.

3. 徳永勝士，尾本恵市，藤井康彦ら：HLA に連鎖した遺伝標識に関するハプロタイプ調査，移植，**18**: 179-189, 1983.
4. 徳永勝士，大橋 順：疾患遺伝子の探索．わかる実験医学シリーズ「ゲノム医学がわかる」(菅野純夫編)，羊土社，p. 48-55, 2001.

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

私は、20年間勤務していた防衛医科大学校を退官し、縁あって4月から新設の日本薬科大学に移ることになりました。移ってから、早いものでもう8ヶ月が経過しようとしている。防衛医科大学校では、輸血・移植免疫学を中心とした臨床的な講義を4年生と6年生に週2コマ(1コマは90分)ほど行ってきたが、新しい大学では、今までの教科と異なる専門基礎科目の生物学を担当することになった。新しい学部・新しい教科の教育、新しいスタッフということで何もかも新しく、また大学のシステムもできていないことから、この8ヶ月間、試行錯誤を繰り返しながら突っ走ってきた。高等学校における生物の教育は、私が学んだ時代からみると考えられないほど様変わりし、日本薬科大学では生物を全く学んだことのない学生が、実に30%を超えている(私たちの時代は必須だったので、ほぼ0%であった)。また、生物は生物IBとIIに別れ、生物IBを学んだ生徒は70%弱であるのに対し、生物IIを学んだ学生は僅か40%弱という現状である。このような状況で大学における生物学の授業は、我々が大学で学んだ時代と明らかに事情が異なることが想像頂けると思う。薬学部での教科は、化学が中心と思われているかもしれないが、現在では生物系が半数以上を占めている。そのため、専門課程で生物系の授業に学生がついていけるように日々基礎学力の向上を図っている。しかしながら、高校で生物を学んでいない学生が多いことから、高校の生物を取り入れた授業にならざるを得ないのが実情である。また、これだけでは不十分なことから、それ以外にも補習授業を5時限目を実施ししなければならず、教員としてはかなり多くの時間を授業関係に費やさなければならぬ。3学科あるため、授業が週に3コマと補習が1コマの計4コマを実施している。これらの準備に費やしている時間は相当であり、このような状況が

いつまで続くかと思うと、今後の研究活動に不安を感じざるを得ない。この大学にきて生物学を教えるようになって、改めて感じていることは、基礎学力の大切さである。やはり、基礎という土台があってはじめて色々なことがその上に積み重ねられるのである。そして、しっかりと築いた安定した土台は、どんな状況におかれても崩れることがないのである。すなわち、自分の知識がしっかりと根を下ろしてやがて太い幹ができ、そしてそこに色々な枝葉がつれるのであると思う。読者の先生方も今一度ご自身の基礎となる根とそこからできた研究の幹、そして今研究されている枝葉を見つめ直しては如何でしょうか。

小林 賢

「MHC」バックナンバー

一冊¥2,000にて購入できます。学会事務局までお問い合わせ下さい。なお在庫僅少の号もありますので、万一品切れの際にはご容赦ください。

入・退会、所属・住所・連絡メールアドレス変更

各種の申請は、学会事務局で受け付けます。

日本組織適合性学会事務局

〒101-0062

東京都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 分子病態分野内

電話 03(5280)8054

FAX 03(5280)8055

電子メール jshijimu.tis@mri.tmd.ac.jp

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

2005年1月31日発行 11巻3号, 2005

定価 2,000円

発行 日本組織適合性学会(会長 木村 彰方)

編集 日本組織適合性学会編集委員会(編集担当理事 徳永 勝士)

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)

〒101-0062 東京都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内

印刷・研究社印刷株式会社

〒352-0011 埼玉県新座市野火止7-14-8