

MHC

日本組織適合性学会誌

Major Histocompatibility Complex

Vol. 12 No. 2, 2005

Contents

第 14 回日本組織適合性学会大会プログラム

御案内	67
プログラム	79
特別講演, 教育講演	93
シンポジウム	99
学術奨励賞受賞者講演	107
大会長奨励賞受賞者講演	113
会員研究発表	117
平成 17 年度・認定 HLA 検査技術者講習会のご案内	141
平成 17 年度・認定組織適合性指導者講習会のご案内	142
[総説]	
T 細胞エピトープ同定の新戦略	
—細胞内寄生性細菌の T 細胞エピトープの同定—..... 小出幸夫	143
平成 16 年度認定 HLA 検査技術者登録名簿	153
〈日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定〉	155
編集後記	157

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分子病態分野
小林 賢 日本薬科大学生物学研究室
中島 文明 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部
成瀬 妙子 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野
安波 道郎 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野

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

● Contents ●

日本組織適合性学会誌 第 12 卷第 2 号 平成 17 年 8 月 31 日発行

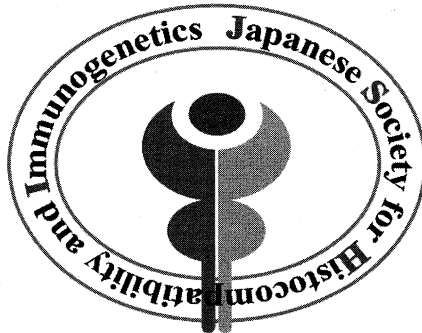
第 14 回日本組織適合性学会大会プログラム

御案内	67
プログラム	79
特別講演, 教育講演	93
シンポジウム	99
学術奨励賞受賞者講演	107
大会長奨励賞受賞者講演	113
会員研究発表	117
平成 17 年度・認定 HLA 検査技術者講習会のご案内	141
平成 17 年度・認定組織適合性指導者講習会のご案内	142
[総説]	
T 細胞エピトープ同定の新戦略—細胞内寄生性細菌の T 細胞エピトープの同定— 小出幸夫	143
平成 16 年度認定 HLA 検査技術者登録名簿	153
〈日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定〉	155
編集後記	157

第 14 回 日本組織適合性学会大会のご案内

The 14th Annual Meeting of
the Japanese Society for Histocompatibility
and Immunogenetics (JSHI)

「MHC 研究: 基礎から臨床応用へ」



大会長 西村 泰治 熊本大学大学院医学薬学研究部・免疫識別学分野

会 期 2005 年 10 月 2 日(日)

QC ワークショップ, 認定試験, 認定制度技術者講習会ほか
3 日(月), 4 日(火)

学術集会, 総会, 懇親会, 企業展示会ほか

会 場 熊本市市民会館(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

事務局 〒860-8556 熊本市本荘 1-1-1

熊本大学大学院医学薬学研究部・免疫識別学分野内

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

交通案内

会場周辺地図



[会場までの交通の御案内] 詳細については、学会ホームページの大会案内を御参照ください。

熊本市民会館(10月2日会場)熊本市桜町 1-3 (TEL: 096-355-5235, FAX: 096-355-5239)

- ・ JR 熊本駅から 市電(健軍町行き: 熊本城前下車), 徒歩 3分
- ・ JR 熊本駅から タクシーで 12分
- ・ 熊本空港から 空港リムジンバス(市内・熊本駅行き)で 40分(交通センター下車), 徒歩 3分
- ・ 九州各地から 高速バス利用(交通センター下車), 徒歩 3分

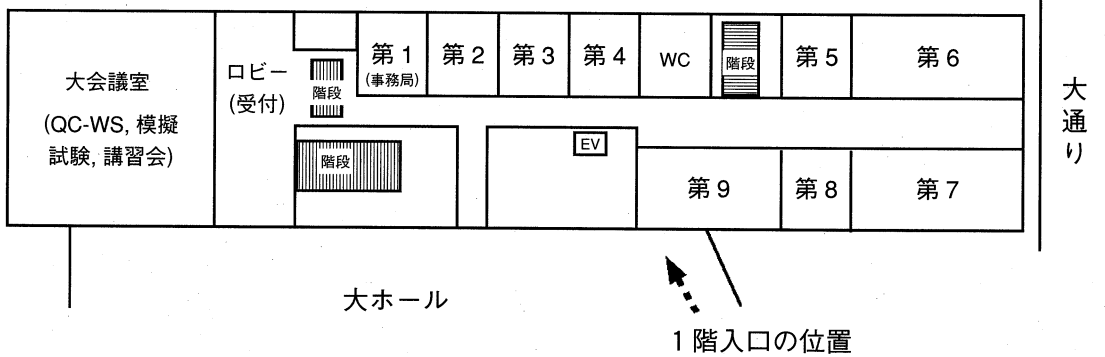
KKR ホテル熊本(10月3日, 4日会場)熊本市千葉城町 3-31 (TEL: 096-355-0121, FAX: 096-355-7955)

- ・ JR 熊本駅から 市電(健軍町行き: 市役所前下車), 徒歩 10分
- ・ JR 熊本駅から タクシーで 15分
- ・ 熊本空港から 空港リムジンバス(市内・熊本駅行き)で 40分(通町筋下車), 徒歩 15分
- ・ 九州各地から 高速バス利用(通町筋下車), 徒歩 15分

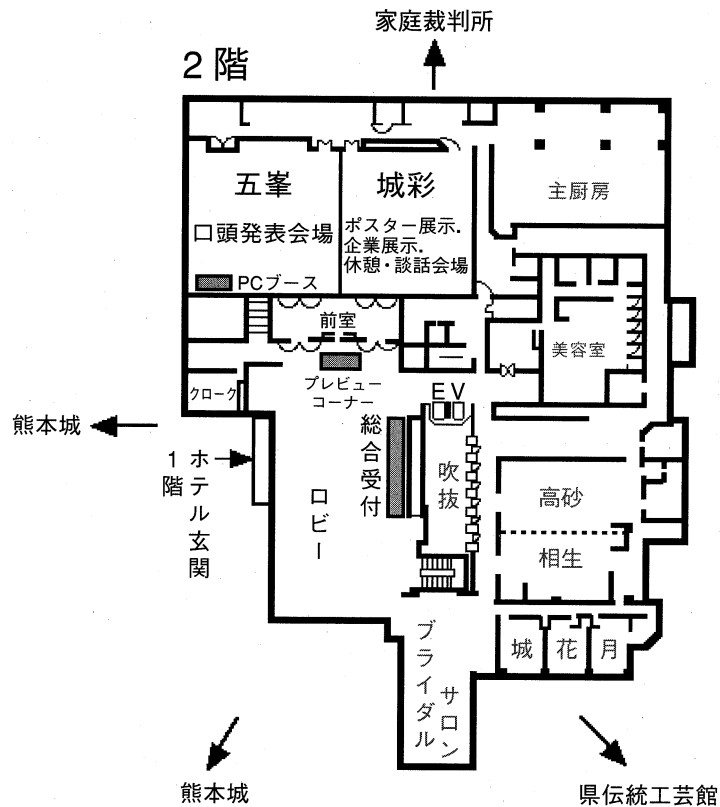
会場案内図

熊本市民会館 2 階 (10月2日会場)

2 階 会議室配置図



KKR ホテル熊本 2 階 (10月3, 4日会場)



大会事務局 (立田・花岡の間) と認定制度委員会会場 (金峯の間) は、3 階です。

御挨拶

本大会では「MHC 研究: 基礎から臨床応用へ」をメインテーマとして掲げました。優れた基礎および臨床医学研究の成果が、医療における検査、疾病の診断、治療ならびに予防に、精力的に応用される時代を迎えつつあります。さらに、検査および診断用の試薬ならびに方法の開発、治験や探索医療 (Translational Research) と書いた、基礎的な研究成果を臨床応用に結びつけるシステムの整備が、従来にも増して重要視されております。考えて見ますと本学会の活動は、その発足時点より移植・輸血医療と密接に関連し、これを支援して来た点において社会貢献の大きな学会と言えます。そこで、我々の組織適合性に関する研究が、今後どのように臨床への応用を通じて社会に貢献できるのかを考えて見たいと願い、特別講演、教育講演およびシンポジウムを企画させて頂きました。プログラムの作成にあたりましては、九州在住の評議員を中心とするプログラム委員、ならびに各学問分野を御専門とする先生方にアドバイザーとして御助言を頂き、その貴重な御意見を大いに参考にさせて頂きました。

特に特別講演の講師として本年 11 月 29 日～12 月 3 日にメルボルンで国際組織適合性学会を主催され、MHC クラス I 経路による抗原提示機構について優れた業績をあげておられる James McCluskey 博士、および国立国際医療センターの総長として、厚生医療における重要な方針の決定に貢献されるとともに、ゲノム医学研究を推進しておられます笹月健彦先生に、御多忙なスケジュールを御調整頂きましたうえで、御講演を頂く機会を得ました。また金沢大学の中尾眞二教授には、免疫療法としての造血幹細胞移植の可能性について、貴重な臨床研究の御成果を御教示頂くことに致しました。さらにシンポジウムでは、MHC 研究と密接に関連した臨床免疫学、ならびに移植医療において、第一線で御活躍の先生方に御講演を、お願い致しました。また会員研究発表を重視する観点から、全演題を口演およびポスターにより御発表いただき、特にポスター会場において会員の皆様方の交流を深めて頂くことに致しました。多様な学会員の皆様方の御期待にそえるプログラム作成を心掛けたつもりでございます。本大会を通じて得られる、新しい人および研究成果との『未知との遭遇』が、皆様方の新たな好奇心と向上心をあおり、皆様方の研究、教育、診療、検査・診断等の業務、および学会のさらなる発展に貢献できることを期待しております。

また本大会では、従来の学術奨励賞に加えて、会員研究発表演題の中から、特に HLA タイピングの実務と密接に関連した優れた演題を選考し、学会長奨励賞として表彰することに致しました。なおこの件に関しましては、学術奨励賞選考委員会ならびに組織適合性技術者認定制度委員会の御意見も参考にさせて頂きました。以上のような本大会における試みが、学会員の皆様方の御賛同を得て、『参加して得をした』と御満足いただける大会にすべく、大会運営者一同、努力したいと存じます。

大会の運営に際しましては、貴重なアドバイスを頂いた多くの学会員、ならびに御協賛を賜りました企業の皆様方に、厚くお礼を申し上げます。また、大会事務局の千住覚助教授、入江厚助手、および福田緑さんの尽力に感謝いたします。熊本の初秋の風情、うまい食べ物と酒、そして何よりも大会を御堪能ください。多数の学会員の皆様方の御参加を、お待ち申し上げます。『皆様、こぞって熊本へいらしてください』。

第 14 回日本組織適合性学会大会・大会長
熊本大学大学院医学薬学研究部・免疫識別学分野
西村 泰治

御案内

【大会・懇親会参加の皆様へ】

1 参加登録

- 1) 参加受付は、以下の場所で行ないます。
10月2日(日)10:30~19:30 市民会館大会議室前ロビー
10月3日(月) 8:30~17:00 KKR ホテル熊本2階ロビー
10月4日(火) 8:30~14:00 KKR ホテル熊本2階ロビー
- 2) 事前登録者の方は、郵送にてお送りしております「参加証引換券」を受付に御提示ください。「参加証引換券」と引換えにて、参加証をお渡しします。
- 3) 当日参加費は、理事・評議員は10,000円、一般会員は8,000円です。それぞれの受付にて参加費をお支払いの上、参加証をお受け取り下さい。
- 4) ネームカードが参加証兼領収書となります。会期中、御着用下さい。参加証は認定HLA検査技術者・認定組織適合性指導者の申請・更新の際に必要となります。
- 5) 学会には、この抄録集(本号)をお持ち下さい。学会期間中、総合受付にて一部2,000円にて頒布もいたします。
- 6) 日本組織適合性学会への入会手続き、および年会費の納付は、大会会場では受け付けておりませんので御了承ください。

2 懇親会

日時: 2005年10月3日(月)19:00~

会場: KKR ホテル熊本ガーデン(雨天の際には1階「有明・不知火の間」にて行ないます)
“TOKITA GROUP”によるジャズ生演奏を予定しております。

参加費: 3,000円

多数のご参加をお待ちしております。参加希望者は総合受付にて参加費をお支払いの上、参加費領収書をお受け取り下さい。

【演者の皆様へ】

1 特別講演, 教育講演, シンポジウム

液晶プロジェクターによる発表のみで、PCのアプリケーションはMicrosoft Power Point (Windows と Macintosh format のいずれも可です)とさせていただきます。スライドは使用できませんので、ご注意ください。プレゼンテーションデータは、原則として、ご自身のPCによる持込みとさせていただきます。USBメモリーの利用を御希望の方は、事前に事務局に御相談下さい。OSはWindows (2000・XP), Macintosh (MacOS9もしくはX)とさせていただきます。各セッション開始の30分前までに会場入口附近のプレビューコーナーでの試写を終え、発表開始予定時刻の20分前までに会場内のステージ横のPCブースへPCをご持参ください。

2 会員研究発表, 学術奨励賞および大会長奨励賞受賞講演発表

全ての演者の方に、口演発表とポスター展示の両方を行なっていただきます。

口演発表は、会員研究発表が、発表7分、討論3分、学術奨励賞および大会長奨励賞受賞講演発表については、事前にお伝えした発表時間をお願いいたします。液晶プロジェクターによる発表のみで、PCのアプリケーションはMicrosoft Power Point (Windows と Mac いずれも可です)とさせていただきます。プレゼン

セッションデータは、USB メモリーによる持込みのみとさせていただきます。MO, FD, ZIP, CD-Rなどの受付は出来ません。各セッション開始の30分前までに、会場入口附近のPCプレビューコーナーへデータをご持参下さい。発表データのファイル名は、「**【演題番号】【氏名】**」としてください。演題番号は、この抄録集に掲載している番号を記載ください。抄録受付時の受付番号とは異なりますので、御注意ください。会場内では、演者ご自身で演台上のPCを操作していただきます。

3 ポスター討論

すべての会員研究発表，学術奨励賞および大会長奨励賞受賞講演の発表者の方には，ポスター展示を行っていただきます。

- 1) ポスター会場は、KKR ホテル熊本2階「城彩の間」です。
- 2) パネルのサイズは、幅90cm、高さ210cm(演題名と発表者を含む)です。演題番号は事務局で掲示しますが、演題名、所属、氏名は演者をご用意下さい。ポスター貼付用の画鋏は、ポスター会場でお受け取り下さい。
- 3) ポスター貼付・撤去は、下記の時間内に、お願いいたします。所定時間内に撤去されない場合は、事務局で処分させていただきますので、ご了承下さい。
貼付時間: 10月3日(月) 8:30~12:00
撤去時間: 10月4日(火)15:00~17:00
- 4) 10月3日(月)18:00~18:45を、ポスター討論の時間といたします。発表者の方は、ご自身のポスターの前でディスカッションを、お願いいたします。

【お願い】

- 1 発表時間，質疑応答時間を遵守下さい。
- 2 会場内でのポケットベルや携帯電話のご使用はご遠慮下さい。
- 3 参加者へのメッセージは掲示板で行います。

【QCワークショップ集会】

日 時: 10月2日(日)13:00~16:00

会 場: 熊本市市民会館 大会議室

参加費: QCWS参加者および集会のみ参加者で、既に参加費を振り込んでおられる方は受付にて参加証を、お受け取り下さい。当日、集会のみ参加希望の方は当日受付にて参加費2,000円をお支払い下さい。但し当日に参加申込された方には、QCワークショップ資料を配付できないことがありますので、ご了承下さい。

【認定制度技術者講習会】

日 時: 10月2日(日)17:30~19:30

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)、既に参加費を振り込んでおられる方は、受付にて出席確認を済ませてから御入場下さい。当日参加も可能ですが、講習会資料の数に限りがありますので御了承ください。

内 容: HLA タイピングの基礎

田中 秀則(東京都赤十字血液センター)

HLA 遺伝子多型の特徴と意義

大橋 順(東京大学大学院医学系研究科・人類遺伝学分野)

免疫系における HLA の役割

平山 謙二(長崎大学熱帯医学研究所・疾病生態分野)

臓器移植と HLA; 特に心臓移植において

福嶋 教偉(大阪大学大学院医学系研究科・臓器制御外科学)

【認定制度指導者講習会】

第 14 回日本組織適合性学会大会中の特別講演 2 題, 教育講演 1 題, およびシンポジウム 2 題の合計 5 題のうちから 3 題以上の聴講をもって, 指導者認定あるいは認定更新に必要な講習を受講したものと認めます。なお, 会場の入り口付近に準備いたします, 受講者記帳名簿へのサインをもって受講証明といたします。

【QC ワークショップ集会】

日 時: 10 月 2 日(日)13:00~16:00

会 場: 熊本市市民会館 大会議室

【認定制度技術者筆記試験】

日 時: 10 月 2 日(日)16:10~17:15

会 場: 熊本市市民会館 第 4 会議室

【認定制度技術者試験の模擬試験】

日 時: 10 月 2 日(日)16:15~17:15

会 場: 熊本市市民会館 大会議室

昨年度と同様に上記要領にて, 無記名形式の模擬試験を実施します。模擬試験の主旨は, 会員諸氏の MHC に対する理解度や認識度を把握し, 技術者講習会や大会プログラムに反映させることにあります。主旨を, ご理解いただき模擬試験に参加いただきたく存じます。

【認定制度指導者筆記試験】

日 時: 10 月 2 日(日)16:10~17:15

会 場: 熊本市市民会館 第 3 会議室

【認定制度指導者面接試験】

日 時: 10 月 2 日(日)17:15~18:15

会 場: 熊本市市民会館 第 3 会議室

【認定制度技術者講習会】

日 時: 10 月 2 日(日)17:30~19:30

会 場: 熊本市市民会館 大会議室

【認定証授与の案内】

認定試験合格者は10月3日(月)午後1時に掲示板に張り出します。なお、認定証の授与は10月3日(月)午後2時以降に随時行いますので大会事務局(KKRホテル熊本, 3階立田/花岡の間)に、お越し下さい。

【会議等日程】

- | | |
|-----------|---|
| 1 理事会 | 10月2日(日)11:00~12:00
熊本市民会館 第2会議室 |
| 2 QCWS 部会 | 10月2日(日)12:00~13:00
熊本市民会館 第3会議室 |
| 3 認定審査会 | 10月2日(日)17:15~19:00
熊本市民会館 第2会議室 |
| 4 評議員会 | 10月2日(日)19:30~21:00
熊本市民会館 第5, 6会議室 |
| 5 認定制度委員会 | 10月3日(月)12:00~13:00
KKRホテル熊本3階「金峯の間」 |
| 6 総会 | 10月3日(月)13:00~14:00
KKRホテル熊本2階「五峯の間」 |

【企業展示】

日 時: 10月3日(月)9:00~19:00
10月4日(火)9:00~16:00
場 所: KKRホテル熊本2階「城彩の間」

【宿泊・交通の御案内】

本大会に御参加の皆様方には、学会旅行センター熊本が宿泊、熊本学会パ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ください。なお大会ホームページからもアクセスできます。

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
Home page: <http://higo.co.jp/jshi14/>

第14回日本組織適合性学会大会プログラム

10/2 (日) 熊本市民会館	9時	10時	11時	12時	13時	14時	15時	16時	17時	18時	19時	20時	21時
大会議室	クオリティコントロール ワークショップ(13:00-16:00)												
第1会議室	模倣試験 (16:15-17:15)												
第2会議室	第2 理事会 (11:00-12:00)	大会事務局											
第3会議室	第3 QCWS部会	第2 認定審査会 (17:15-19:00)	技術者講習会 (17:30-19:30)										
第4会議室	第3 指導者試験 指導者面接 18:15												
第5会議室	第4 技術者試験 17:15												
第6会議室	ベリタス相談室												
	第5,6 JSHI 評議員会 (19:30-21:00)												

10/3 (月) KKRホテル熊本

3F 金峯	認定制度委員会	大会事務局											
3F 立田+花岡	8:55	大会事務局											
2F 五峯	開会の辞	会員研究発表 M1 (9:00- 9:30) M2 (9:30-10:10) M3 (10:10-10:50)	特別講演(1) J. McCluskey (11:00-12:00)	JSHI 総会 (13:00-14:00)	シンポジウム(1) 臨床免疫学の カッティングエッジ (14:00-15:30)	会員研究発表 M4 (15:40-16:20) M5 (16:20-16:50) M6 (16:50-17:20) M7 (17:20-17:50)	ポスター展示/企業展示(搬入:7~9時)						ポスター 討論
2F 城彩	懇親会												
ガーデン	懇親会												

10/4 (火) KKRホテル熊本

3F 立田+花岡	16:45	大会事務局											
2F 五峯	開会の辞	会員研究発表 M8 (9:00-9:30) M9 (9:30-10:10)	受賞者講演 学術奨励賞 (10:10-11:00) 大会長奨励賞 (11:00-11:25)	特別講演(2) 笹月健彦 (11:30-12:30)	ランデブ セミナー (ベリタス) (12:30-13:30)	教育講演 中尾真二 (13:30-14:15)	シンポジウム(2) 臓器移植と 組織適合性の最前線 (14:15-15:45)	会員研究発表 M10 (15:45-16:15) M11 (16:15-16:45)	ポスター展示/企業展示				展示撤出
2F 城彩	9時	10時	11時	12時	13時	14時	15時	16時	17時	18時	19時	20時	21時

第14回 日本組織適合性学会大会 プログラム・座長リスト

(会場: KKR ホテル熊本 2階「五峯の間」)

10月3日(月) 午前	
8:55 - 9:00	開会の辞 (大会長: 西村 泰治)
9:00 - 9:30	M1-1~3 1. HLA遺伝子の解析 (座長: 前田平生 埼玉医科大学)
9:30 - 10:10	M2-1~4 2. 非古典的MHCクラスIの解析 (座長: 安波道郎 東京医科歯科大学)
10:10 - 10:50	M3-1~4 3. 新規HLA対立遺伝子・HLAと疾患 (座長: 中島文明 日赤中央血液研究所)
11:00 - 12:00	SL-1 特別講演(1) James McCluskey (Melbourne Univ.) (座長: 西村泰治 熊本大学) Impact of natural HLA class I polymorphism on antigen presentation: The power of one in HLA function and transplantation matching
10月3日(月) 午後	
12:00 - 13:00	ランチタイム, 認定制度委員会 (委員長: 佐田正晴) 3階「金峯の間」
13:00 - 14:00	総会 (大会長: 西村泰治)
14:00 - 15:30	S1 シンポジウム(1) 「臨床免疫学のCutting Edge」 (座長: 滝口雅文 熊本大学, 千住 覚 熊本大学) S1-1 豊嶋 崇徳 (九州大学) 『同種移植と免疫寛容』 S1-2 滝口 雅文 (熊本大学) 『HIV-1の細胞傷害性T細胞からの逃避機構』 S1-3 河上 裕 (慶應義塾大学) 『T細胞応答を利用した癌の免疫制御-現状と課題-』
15:40 - 16:20	M4-1~4 4. 抗HLA抗体とその検出法 (座長: 赤座達夫 NPO法人HLA研究所)
16:20 - 16:50	M5-1~3 5. 抗HLA抗体/mHAと血液細胞移植 (座長: 佐治博夫 NPO法人HLA研究所)
16:50 - 17:20	M6-1~3 6. 抗HLA抗体と腎臓移植 (座長: 兼岡秀俊 福岡大学)
17:20 - 17:50	M7-1~3 7. 抗HLA抗体と心臓・肝臓移植 (座長: 佐田正晴 国立循環器病センター)
18:00 - 18:45	ポスター討論 (学術奨励賞・大会長奨励賞の受賞者および会員研究発表者の全演題) 2階「城彩の間」
19:00 - 21:00	懇親会 (野外ガーデン, ジャズ演奏あり)
10月4日(火) 午前	
9:00 - 9:30	M8-1~3 8. 鳥類のMHC (座長: 安藤麻子 東海大学)
9:30 - 10:10	M9-1~4 9. ほ乳動物のMHC (座長: 徳永勝士 東京大学)
10:10 - 11:00	G-1~3 学術奨励賞受賞者講演 (座長: 木村彰方 学会長/選考委員長)
11:00 - 11:25	P-1,2 大会長奨励賞受賞者講演 (座長: 西村泰治 大会長)
11:30 - 12:30	SL-2 特別講演(2) 笹月健彦 (国立国際医療センター) (座長: 猪子英俊 東海大学) 『ABO, HLA, そして全ゲノム - HLAへの再挑戦 - 』
12:30 - 13:30	ランチオンセミナー (共催 株式会社 ベリタス) ~最先端の研究を充実させる新製品紹介~ 1. シークエンス解析に膨大な時間を費やしていませんか? 講師: 横沢佑弥 株式会社ベリタス ~Conexio Genomics社Assign~ 2. ALDH活性を利用したStem/Progenitor cellの新しい測定法 講師: 松本佳子 株式会社ベリタス
10月4日(火) 午後	
13:30 - 14:15	EL 教育講演 中尾真二 (金沢大学) (座長: 木村彰方 東京医科歯科大学) 『免疫療法としての同種造血幹細胞移植: 現状と問題点』
14:15 - 15:45	S2 シンポジウム(2) 「臓器移植と組織適合性の最前線」 (座長: 一戸辰夫 京都大学, 小河原 悟 福岡大学) S2-1. 村田 誠 (名古屋大学) 『造血幹細胞移植とマイナー組織適合性抗原』 S2-2. 池亀和博 (大阪大学) 『HLA半合致 (ハプロアイデンティカル) 造血幹細胞移植』 S2-3. 杉谷 篤 (九州大学) 『腎移植, 膵移植における組織適合性検査の意義』
15:45 - 16:15	M10-1~3 10. MHCと免疫応答 (座長: 小幡文弥 北里大学)
16:15 - 16:45	M11-1~3 11. MHCと免疫療法 (座長: 平山謙二 長崎大学)
16:45 - 16:50	閉会の辞 (大会長: 西村 泰治)

プログラム

1) プログラム委員 (50 音順)

小河原悟, 兼岡秀俊, 千住 覚, 滝口雅文, 西村泰治, 平山謙二

2) アドバイザー (50 音順)

赤座達也, 一戸辰夫, 猪子英俊, 佐治博夫, 佐田正晴, 十字猛夫, 玉木茂久

特別講演 (1)

10月3日(月) 11:00~12:00

座長 西村泰治(熊本大学)

SL-1 “Impact of natural HLA class I polymorphism on antigen presentation:
The power of one in HLA function and transplantation matching”

James McCluskey Department of Microbiology and Immunology,
Melbourne University

特別講演 (2)

10月4日(火) 11:30~12:30

座長 猪子英俊(東海大学)

SL-2 ABO, HLA, そして全ゲノム——HLA への再挑戦——

笹月健彦 国立国際医療センター

教育講演

10月4日(火) 13:30~14:15

座長 木村彰方(東京医科歯科大学)

EL 免疫療法としての同種造血幹細胞移植: 現状と問題点

中尾真二 金沢大学大学院医学系研究科 細胞移植学講座

シンポジウム (1)

10月3日(月) 14:00~15:30

臨床免疫学の Cutting Edge

座長 滝口雅文(熊本大学)

千住 覚(熊本大学)

S1-1 同種移植と免疫寛容

豊嶋崇徳 九州大学病院 遺伝子・細胞療法部

S1-2 HIV-1 の細胞傷害性 T 細胞からの逃避機構

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

S1-3 T 細胞応答を利用した癌の免疫制御——現状と課題——

河上 裕 慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所 細胞情報研究部門

シンポジウム (2)

臓器移植と組織適合性の最前線

10月4日(火) 14:15~15:45

座長 一戸辰夫 (京都大学)
小河原 悟(福岡大学)

- S2-1 造血幹細胞移植とマイナー組織適合性抗原
村田 誠 名古屋大学医学部附属病院 血液内科
- S2-2 HLA 半合致(ハプロアイデンティカル)造血幹細胞移植
池亀和博 大阪大学大学院医学系研究科 血液腫瘍内科学講座
- S2-3 腎移植, 膵移植における組織適合性検査の意義
杉谷 篤 九州大学病院 腎疾患治療部 臨床腫瘍外科

ランチョンセミナー

10月4日(火) 12:30~13:30

共催 株式会社ベリタス

~最先端の研究を充実させる新製品紹介~

- 1: シークエンス解析に膨大な時間を費やしていませんか? ~Conexio Genomics 社 Assign~
講師: 横沢佑弥 株式会社ベリタス
- 2: ALDH 活性を利用した Stem/Progenitor cell の新しい測定法
講師: 松本佳子 株式会社ベリタス

会員研究発表 I

学術奨励賞受賞者講演

10月4日(火) 10:10~11:00

座長 木村彰方(学会長, 選考委員長)

G-1 ES 細胞から分化誘導した樹状細胞を用いた MHC 拘束性 T 細胞応答制御技術の開発

○千住 覚¹⁾, 平田真哉¹⁾, 松吉秀武¹⁾, 末盛博文²⁾, 福岡大喜¹⁾,
栗崎朱里¹⁾, 下村真菜美¹⁾, 植村靖史¹⁾, Yu-Zhen Chen¹⁾, 古谷正敬³⁾,
中辻憲夫⁴⁾, 西村泰治¹⁾

- 1) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学分野
- 2) 京都大学再生医科学研究所幹細胞医学研究センター
- 3) 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室
- 4) 京都大学再生医科学研究所発生分化研究分野

G-2 HLA 領域内ハプロタイプの LD マッピング

○志知大輔¹⁾, 吉川枝里²⁾, 重成敦子²⁾, 河田寿子³⁾, 猪子英俊²⁾,
太田正穂⁴⁾, 勝山善彦⁴⁾, 成瀬妙子¹⁾, 木村彰方¹⁾

- 1) 東京医科歯科大・難研・分子病態
- 2) 東海大・医・基礎医学系・分子生命科学
- 3) 東海大・医・教育研究支援センター
- 4) 信州大・医・法医学教室

G-3 新たなヒトナルコレプシー感受性 / 抵抗性遺伝子: *NLC1-A*

○川嶋実苗^{1,2)}, 田宮 元³⁾, 海老澤尚¹⁾, 本多 裕⁴⁾, 十字猛夫⁵⁾,
猪子英俊³⁾, 徳永勝士²⁾

- 1) 東京大学大学院医学系研究科睡眠障害解析学
- 2) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学
- 3) 東海大学医学部分子生命科学 2
- 4) 精神神経センター附属清和病院
- 5) 日本赤十字中央血液センター

大会長奨励賞受賞者講演

10月4日(火) 11:00~11:25

座長 西村泰治(大会長)

P-1. HLA-B 座抗原トリプレット表現型の遺伝子構造解析

○勝山善彦¹⁾, 太田正穂²⁾, 斉藤 敏³⁾, 太田 智³⁾, 野村節夫³⁾, 福島弘文²⁾

- 1) 信州大学附属病院薬剤部法医学教室
- 2) 信州大学医学部法医学教室
- 3) 長野県赤十字血液センター

P-2. IgM 型 HLA 抗体の血小板輸血不応状態への関与

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

会員研究発表 II

1. HLA 遺伝子の解析

10月3日(月) 9:00~9:30

座長 前田平生(埼玉医科大学)

M1-1. HLA-B においてヘテロアレルの検体がホモアレルと判定された症例

○泉澤康弘¹⁾, 山本芳子¹⁾, 齋藤まみ絵¹⁾, 蔵方浜起¹⁾, 笹 啓二¹⁾,
小川公明¹⁾, 白濱秀也¹⁾, 和賀一雄²⁾, 三谷絹子²⁾, 石原義盛¹⁾

- 1) 株式会社エスアールエル 遺伝子・染色体解析センター
- 2) 獨協大学 血液内科

M1-2. HLA-A 遺伝子欠失による HLA-A 非発現型アリの切断点の解析

- 高須美和¹⁾, 林 律子²⁾, 伊村公良²⁾, 興津 馨²⁾, 浅井隆善²⁾,
石川善英³⁾, 椎名 隆⁴⁾, 徳永勝士¹⁾
- 1) 東京大・院医・人類遺伝
 - 2) 静岡県赤十字血液センター
 - 3) 日本赤十字社中央血液研究所
 - 4) 東海大・医・分子生命科学 2

M1-3. HLA 遺伝子欠損: 先天性遺伝子欠損と LOH

- 丸屋悦子¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 丸屋かおり¹⁾, 大沼 豪¹⁾, 赤座達也¹⁾,
田中康博²⁾, 道野淳子³⁾, 野村恵子³⁾, 金兼弘和³⁾, 平久保由香⁴⁾,
佐治博夫¹⁾
- 1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
 - 2) 神戸市立中央病院血液内科
 - 3) 富山医科薬科大学
 - 4) 自治医科大学付属病院小児科

2. 非古典的 MHC クラス I の解析

10月3日(月) 9:30~10:10

座長 安波道郎(東京医科歯科大学)

M2-1. HLA-G のアリルと発現機構について

- 下嶋典子¹⁾, Chul-Woo Pyo²⁾, Luke M. Williams²⁾, Yuki Moore²⁾,
Hironobu Hyodo²⁾, Shuying Sue Li²⁾, Lue Ping Zhao²⁾, 石谷昭子¹⁾,
Daniel E. Geraghty²⁾
- 1) 奈良県立医科大学法医学教室
 - 2) Fred Hutchinson Cancer Research Center

M2-2. HLA-F 抗原の細胞表面への発現機構について——HLA-F は活性化のマーカー?——

- 石谷昭子¹⁾, Ni Lee²⁾, Max Toppp²⁾, Daniel E. Geraghty²⁾
- 1) 奈良医大・法医学
 - 2) Fred Hutchinson Cancer Research Center

M2-3. HLA-F 遺伝子プロモーター領域に存在するマイクロサテライトの多型解析

- 中西真理¹⁾, 芦田恒雄²⁾, 井手 武³⁾, 村田紀和⁴⁾, 永塚由佳¹⁾, 福留昭人¹⁾,
実藤信之¹⁾, 大村素子¹⁾, 羽竹勝彦¹⁾, 石谷昭子¹⁾
- 1) 奈良医大・法医学
 - 2) 芦田耳鼻咽喉科

- 3) 奈良医大・化学
- 4) 協和会病院リウマチセンター

M2-4. マウス脳に発現している非古典的 MHC クラス Ib 遺伝子の解析

○重成敦子, 大場幸枝, 吉村眞一, 猪子英俊
東海大学・医・分子生命科学

3. 新規 HLA 対立遺伝子・HLA と疾患

10月3日(月) 10:10~10:50

座長 中島文明(日赤中央血液研究所)

M3-1. SBT 法により見出された HLA 遺伝子型について

○市原孝浩, 柏瀬貢一, 峯元睦子, 清水まり恵, 伏見美津恵, 鶴岡加奈,
佐竹正博, 中島一格
東京都赤十字血液センター

M3-2. ベトナム (kinh 族) に認められた, 新規 DR14 アレルの解析

Nguyen Thi Phuong Lan¹⁾, 菊池三穂子¹⁾, Vu Thi Que Huong²⁾,
Vu Thien Thu Ngu²⁾, Vo Dinh Tham³⁾, Tran van Dat⁴⁾, Do Quang Ha²⁾,
森田公一⁵⁾, ○平山謙二¹⁾

- 1) 長崎大学・熱帯医学研究所・分子免疫遺伝学
- 2) Arbovirus laboratory, Pasteur Institute Ho Chiminh City, Vietnam
- 3) Pediatric Hospital No. 2, Ho Chi Minh City, Vietnam
- 4) Center for Preventive Medicine, Vinh long Province
- 5) 長崎大学・熱帯医学研究所・ウイルス学

M3-3. 日本人血友病患者における HIV 感染抵抗性と HLA-B の関連解析

Mwansa Munkanta¹⁾, ○安波道郎²⁾, 照沼 裕³⁾, 高橋めぐみ²⁾, 花房秀次⁴⁾,
三浦琢磨⁵⁾, 池田柊一⁶⁾, 酒井道生⁷⁾, 藤井輝久⁸⁾, 高橋義博⁹⁾, 岡 慎一¹⁰⁾,
松田重三¹¹⁾, 石川正明¹²⁾, 瀧 正志¹³⁾, 高嶋能文¹⁴⁾, 伊藤正彦¹⁾,
三間屋純一¹⁴⁾, 木村彰方²⁾

- 1) 山梨大学大学院医学工学総合研究部
- 2) 東京医科歯科大学難治疾患研究所・大学院疾患生命科学研究所
- 3) 日本バイオセラピー研究所
- 4) 荻窪病院
- 5) 芳賀赤十字病院
- 6) 佐世保市立総合病院
- 7) 産業医科大学医学部
- 8) 広島大学医学部附属病院
- 9) 大館市立総合病院
- 10) 国立感染症研究所・エイズ研究センター

- 11) 帝京大学医学部
- 12) 東北大学医学部
- 13) 聖マリアンナ医科大学医学部
- 14) 静岡こども病院

M3-4. 高安動脈炎疾患感受性遺伝子 *NFKB1* の機能解析

柴田宏樹, ○安波道郎, 大谷仁志, 木村彰方

東京医科歯科大学難治疾患研究所・大学院疾患生命科学研究所

4. 抗 HLA 抗体とその検出法

10月3日(月) 15:40~16:20

座長 赤座達夫 (NPO法人 HLA 研究所)

M4-1. 母子間の HLA の相異が出産時における母血清中の抗体産生に与える影響について

○河賀泰子¹⁾, 山口恵津子²⁾, 黒田ゆかり²⁾, 吉武国利²⁾, 徳永和夫²⁾,
佐藤博行²⁾, 柏木征三郎²⁾, 丸屋悦子¹⁾, 赤座達也¹⁾, 佐治博夫¹⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
- 2) 福岡県赤十字血液センター

M4-2. 臨床に適した HLA 抗体スクリーニング/同定システムの構築

○丸屋悦子¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 丸屋かおり¹⁾, 大沼 豪¹⁾, 赤座達也¹⁾,
松本佳子²⁾, 益尾清恵²⁾, 佐治博夫¹⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
- 2) 株式会社ベリタス

M4-3. HLA 抗体検出における FlowPRA Screening および HLA 抗体同定における LABScreen Single antigen の評価

○島野佳恵, 藤原孝記, 関根みゆき, 菅原直子, 田中秀則, 佐竹正博,
中島一格

東京都赤十字血液センター

M4-4. 精製抗原を用いた HLA 抗体同定法と LCT, AHG-LCT 法との比較検討

○橋本志歩¹⁾, 中島文明¹⁾, 中村淳子²⁾, 渡辺嘉久¹⁾, 鎌田裕美¹⁾,
松田利夫¹⁾, 赤座達也³⁾, 岡崎 仁¹⁾, 十字猛夫¹⁾

- 1) 日本赤十字社中央血液研究所
- 2) 神奈川県赤十字血液センター
- 3) HLA 研究所

5. 抗 HLA 抗体/mHA と血液細胞移植

10月3日(月) 16:20~16:50

座長 佐治博夫 (NPO法人 HLA 研究所)

M5-1. HLA-Class II 抗体を認めたが DRB1 不適合の息子をドナーとして
末梢血幹細胞移植で生着を得た 1 例

○玉木茂久¹⁾, 海野 啓¹⁾, 水谷 実¹⁾, 辻 幸太¹⁾, 岩崎香織²⁾, 今井重美²⁾,
丸屋悦子³⁾, 佐治博夫³⁾

- 1) 山田赤十字病院内科
- 2) 三重県赤十字血液センター
- 3) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

M5-2. 化学療法と random-PC 輸注の併用により抗 HLA 抗体が著減した AML-M7 症例

○佐藤 壯

医) 北楡会 札幌北楡病院・臨床検査科

M5-3. Correlation between disparity for microsatellites markers and clinical outcome
after unrelated HLA identical hematopoietic stem cell transplantation (HSCT)

○Suyun. Li¹⁾, M. Onizuka¹⁾, T. Kikuchi²⁾, M. Ota³⁾, Y. Morishima⁴⁾,
A. Ando¹⁾, H. Inoko¹⁾

- 1) Department of Molecular Life Science, Tokai University
School of Medicine, Kanagawa, Japan
- 2) Department of Pathology, Sapporo Medical University
- 3) Department of Legal Medicine, Shinshu University Graduate
School of Medicine, Nagano, Japan
- 4) Department of Hematology and Cell Therapy, Aichi Cancer
Center, Nagoya, Japan.

6. 抗 HLA 抗体と腎臓移植

10月3日(月) 16:50~17:20

座長 兼岡秀俊(福岡大学)

M6-1. 抗 HLA 抗体と移植腎拒絶反応との関連についての経時的検討——第 1 報——

○難波行臣¹⁾, 佐田正晴²⁾, 永谷憲歳²⁾, 京 昌弘³⁾, 今村亮一¹⁾,
市丸直嗣¹⁾, 丸屋悦子⁴⁾, 赤座達也⁴⁾, 佐治博夫⁴⁾, 奥山明彦¹⁾,
高原史郎⁵⁾

- 1) 大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学(泌尿器科)
- 2) 国立循環器病センター 再生医療部
- 3) 桜橋循環器クリニック
- 4) NPO 京都 HLA 研究所
- 5) 大阪大学大学院医学系研究科 先端移植基盤医療学

M6-2. 腎移植患者における抗 HLA 抗体の変動解析

○松井由紀子¹⁾, 吉田一成²⁾, 竹内康雄³⁾, 大久保みどり⁴⁾, 遠藤忠雄⁵⁾,
馬場志郎²⁾, 小幡文弥¹⁾

- 1) 北里大学・医療衛生学部・免疫学
- 2) 同・医学部・泌尿器科学
- 3) 同・腎臓内科
- 4) 同・医学部・免疫学
- 5) 武蔵村山病院

M6-3. 腎移植患者における抗 HLA 抗体 monitoring の意義

○佐藤 壯¹⁾, 玉置 透²⁾, 坂田博美²⁾, 堀江 卓²⁾, 久木田和丘²⁾,
目黒順一²⁾, 米川元樹²⁾, 川村明夫²⁾

- 1) 医) 北榆会 札幌北榆病院・臨床検査科
- 2) 同・外科

7. 抗 HLA 抗体と心臓・肝臓移植

10月3日(月) 17:20~17:50

座長 佐田正晴(国立循環器病センター)

M7-1. 抗 HLA 抗体陽性患者に生体部分肝移植を施行した一例

○小野寺利恵^{1) 2)}, 谷広ミサエ^{1) 2)}, 平岡朝子^{1) 2)}, 栗田絵美^{1) 2)},
水野真美^{1) 2)}, 亀谷真由美^{1) 2)}, 井上睦美^{1) 2)}, 藤井輝久²⁾, 高田 昇²⁾

- 1) 広島大学病院診療支援部
- 2) 広島大学病院輸血部

M7-2. 心臓移植における抗 HLA 抗体スクリーニング検査の有用性

○山本 賢¹⁾, 河合 健¹⁾, 佐野隆宏¹⁾, 佐藤 清¹⁾, 佐田正晴²⁾,
永谷憲歳²⁾, 植田初江³⁾, 花谷彰久⁴⁾, 中谷武嗣⁴⁾, 北村惣一郎⁵⁾

- 1) 国立循環器病センター 臨床検査部
- 2) 同 再生医療部
- 3) 同 病理検査室
- 4) 同 臓器移植部
- 5) 同 心臓血管外科

M7-3. 心臓移植において有用であった抗原結合トレイを用いた PRA 検査

○酒巻建夫¹⁾, 飯田好江¹⁾, 野田 岳¹⁾, 山崎正明¹⁾, 福寫教偉²⁾

- 1) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室
- 2) 大阪大学大学院医学研究科・臓器制御外科学

8. 鳥類の MHC

10月4日(火) 9:00~9:30

座長 安藤麻子(東海大学)

M8-1. ニワトリ第16番染色体のゲノム配列決定による MHC 領域のゲノム解析

○椎名 隆¹⁾, 細道一善¹⁾, Ronald Goto²⁾, 柳谷和代¹⁾, 猪子英俊¹⁾,
Marcia M Miller²⁾

- 1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学
- 2) ベックマン研究所分子生物学

M8-2. ニワトリ MHC 領域に見い出されたヒッチハイキング領域の多様性解析

○細道一善¹⁾, 椎名 隆¹⁾, Ronald Goto²⁾, 柳谷和代¹⁾, 西堀正英³⁾,
Marcia M Miller²⁾, 猪子英俊¹⁾

- 1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学
- 2) ベックマン研究所分子生物学
- 3) 広島大学大学院生物圏科学研究科

M8-3. ペンギン類の MHC クラス II 領域 DRB 様遺伝子の多型解析

○吉川枝里¹⁾, 津田とみ^{1,2)}, 成瀬妙子³⁾, 炭山大輔¹⁾,
福田道雄⁴⁾, 栗田正徳⁵⁾, 津田道雄¹⁾, 村田浩一⁶⁾, 猪子英俊¹⁾

- 1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学
- 2) 徳島文理大学人間生活学部
- 3) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野
- 4) 東京都葛西臨海水族園
- 5) 名古屋港水族館
- 6) 日本大学生物資源科学部

9. ほ乳動物の MHC

10月4日(火) 9:30~10:10

座長 徳永勝士(東京大学)

M9-1. ブタ MHC 領域内のマイクロサテライトマーカーを用いた
SLA ホモ接合体サンプルの多型性解析○安藤麻子¹⁾, 上西博英²⁾, 河田寿子³⁾, 田中麻衣子⁴⁾, 重成敦子¹⁾,
Christine Renard⁵⁾, Patrick Chardon⁵⁾, 猪子英俊¹⁾

- 1) 東海大・医・基礎医学系・分子生命科学
- 2) 農業生物資源研・家畜ゲノム研究チーム
- 3) 東海大・伊勢原研究推進部・教育・研究支援センター
- 4) STAFF 研・研究第2部
- 5) LREG INRA CEA Jouy en Josas, France

M9-2. ウシ MHC クラス II *DQA* 遺伝子の PCR-SBT 法の開発とそれを用いた牛白血病抵抗性クラス II ハプロタイプの検出

○竹嶋伸之輔, 三木晶未, 加堂真由, 佐藤正明, 間 陽子
理研・分子ウイルス

M9-3. アカゲザル MHC クラス I 領域の多型解析

○安波道郎¹⁾, 高橋(田中)弓子¹⁾, 日野原邦彦¹⁾, 俣野哲朗²⁾,
森 一泰³⁾, 本多三男⁴⁾, 保富康宏⁵⁾, 宮澤正顕⁶⁾, 木村彰方¹⁾

- 1) 東京医科歯科大学・難治疾患研究所/大学院疾患生命科学研究所
- 2) 東京大学医学部
- 3) 医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター
- 4) 国立感染症研究所・エイズ研究センター
- 5) 三重大学医学部
- 6) 近畿大学医学部

M9-4. ヒトおよびチンパンジーの *DRB1* 遺伝子領域における突然変異率の推定

○大橋 順¹⁾, 中伊津美¹⁾, 豊田 敦²⁾, 高須美和¹⁾, 徳永勝士¹⁾,
石田貴文³⁾, 榊 佳之²⁾, 北條浩彦⁴⁾

- 1) 東大・医学部・人類遺伝
- 2) 理研・ゲノム科学総研センター
- 3) 東大・理学部・人類
- 4) 国立精神・神経センター神経研・疾患研究第7部

10. MHC と免疫応答

10月4日(火) 15:45~16:15

座長 小幡文弥(北里大学)

M10-1. 帯状疱疹後神経痛の遺伝的素因と免疫学的機構の解析

○武田昌子¹⁾, 高崎一郎²⁾, 倉石 泰²⁾, 花岡一雄³⁾, 徳永勝士⁴⁾,
屋部登志雄⁵⁾

- 1) 東京大学大学院医学系研究科麻酔学
- 2) 富山医科薬科大学薬品作用学
- 3) JR 東京総合病院
- 4) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学
- 5) 東京都赤十字血液センター

M10-2. HLA トランスジェニックマウスを用いた癌抗原特異的 CTL 誘導ペプチドの有効性と安全性の証明

○小森宏之¹⁾, 中面哲也¹⁾, 松井政則²⁾, 西村泰治¹⁾

- 1) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学分野
- 2) 埼玉医科大学・微生物学教室

M10-3. HLA-A2 トランスジェニックマウスを用いた SARS 抗原特異的 CTL エピトープの同定

○Chen Yu-Zhen¹⁾, Gang Liu²⁾, 中面哲也¹⁾, 千住 覚¹⁾, 松井政則³⁾, 西村泰治¹⁾

- 1) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学分野
- 2) 中国協和医科大学・薬物化学研究室
- 3) 埼玉医科大学・微生物学教室

11. MHC と免疫療法

10月4日(火) 16:15~16:45

座長 平山謙二(長崎大学)

M11-1. MHC クラス II 拘束性自己抗原と TRAIL 遺伝子を共発現する樹状細胞による自己免疫疾患の抑制

○平田真哉¹⁾, 松吉秀武¹⁾, 福間大喜¹⁾, 栗崎朱里¹⁾, 下村真菜美¹⁾, 植村靖史²⁾, 西村泰治¹⁾, 千住 覚¹⁾

- 1) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学分野
- 2) 埼玉医科大学・免疫学

M11-2. MHC クラス II 結合インバリエント (Ii) 鎖融合ベクターによる腫瘍抗原提示システムの開発

○栗崎朱里, 平田真哉, 福間大喜, 下村真菜美, 松吉秀武, 西村泰治, 千住 覚

熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学分野

M11-3. MHC を一部共有するアロ ES 細胞由来の樹状細胞を用いた抗原特異的抗腫瘍免疫療法の開発

○福間大喜^{1), 2)}, 松吉秀武³⁾, 平田真哉¹⁾, 栗崎朱里¹⁾, 吉武義泰²⁾, 篠原正徳²⁾, 西村泰治¹⁾, 千住 覚¹⁾

- 1) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学分野
- 2) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・顎口腔病態学
- 3) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・頭頸部感覚病態学

抄 錄 集

特 別 講 演 (1), (2)
教 育 講 演

SL-1

Impact of natural HLA class I polymorphism on antigen presentation: The power of one in HLA function and transplantation matching

^{1,3,+}James McCluskey, ¹Danielle Zernich, ¹Anthony W. Purcell, ¹Diah Elhassen, ¹Whitney A. Macdonald, ¹Lars Kjer-Nielsen, ²Lauren K. Ely, ¹Nihay Laham, ¹Tanya Crockford, ¹Nicole A. Mifsud, ³Brian D. Tait, ³Rhonda Holdsworth, ¹Andrew G. Brooks, ²Stephen P. Bottomley, ²Travis Beddoe, ⁴Chen Au Peh, ²Natalie Borg, ²Fleur Tynan, ⁴Scott Burrows and ²⁺Jamie Rossjohn.

¹Department of Microbiology & Immunology, University of Melbourne, Parkville, Victoria 3010, Australia. ²The Protein Crystallography Unit, Department of Biochemistry and Molecular Biology, School of Biomedical Sciences, Monash University, Clayton, Victoria 3168, Australia. ³Victorian Transplantation and Immunogenetics Service, Australian Red Cross Blood Service, P.O. Box 354, South Melbourne, Victoria, 3205, Australia. ⁴Renal Unit, Royal Adelaide Hospital, North Terrace, Adelaide, S.A., 5000; ⁴QIMR, Herston, QLD.

HLA class I polymorphism creates diversity in epitope specificity and T cell repertoire. We show how HLA polymorphism not only alters determinant selection but also controls the choice of Ag presentation pathway. Single residue polymorphisms that distinguish HLA-B*4402, B*4403 and B*4405 exert subtle changes on class I structure leading to dramatic differences in Ag presentation and T cell recognition. For instance the polymorphism between HLA-B*4402 (Asp116) and B*4405 (Tyr116) permits B*4405 to constitutively acquire peptides without any detectable incorporation into the TAP-associated peptide-loading complex even under conditions of extreme peptide starvation. This mode of peptide capture is less susceptible to viral interference than the conventional loading pathway used by HLA-B*4402 that involves assembly of class I molecules within the peptide-loading complex. In addition, the single residue substitution that distinguish HLA-B*3501 (Leu156) from B*3508 (Arg156) alters selection of an immunodominant determinant from Epstein-Barr virus in a manner wholly unpredictable by common bioinformatic tools designed to select T cell epitopes *in silico*. The structural bases for the functional effects of these HLA class I polymorphisms are explained in the context of HLA evolution, selection and maintenance of polymorphism.

+ Joint senior and corresponding authors.

McCluskey 博士の招聘に際しては、「第 36 回 (2004 年度) 内藤記念海外学者招へい助成金」の支援を頂きました。

SL-2

ABO, HLA, そして全ゲノム —HLA への再挑戦—

笹月健彦

国立国際医療センター

ABO 血液型が 1900 年 Landsteiner によって発見されて以来, 最も簡便にヒトの遺伝的多型性を知ることが出来ることから, ABO 型と多くの疾病との統計学的相関が調べられてきた。

一方, Amiel がマウスの放射線誘導白血病と H-2 との連鎖を報告して以来, HLA と数々の疾病の相関が報告されてきた。それは HLA が抗原ペプチドと結合して, T 細胞レセプター (TCR) に認識され, 免疫応答の制御に直接関与していることが明らかになる以前にすでに始まっている。HLA が他に例をみない, 著しい多型性を示すことに由来している。

ヒトゲノムの解明が進んだこの 10 年の間に, 今度は特定の遺伝子だけではなく, 全ゲノムスキャンによる, 疾病関連遺伝子の解明が進められている。

最終的に疾病関連遺伝子の全解明のためには, ABO, HLA 研究からの教訓をどう生かすのか, 逆に HLA 研究で未解決のまま残されている多くの課題にどう再挑戦するのか深く検討すべき時である。

EL

免疫療法としての同種造血幹細胞移植: 現状と問題点

中尾眞二

金沢大学大学院医学系研究科・細胞移植学

同種造血幹細胞移植は、ドナーの免疫によって患者の腫瘍細胞が根絶されることに期待した一種の免疫療法である。化学療法や放射線治療では治し得なかった造血器悪性腫瘍や固形腫瘍の一部は同種移植後のアロ免疫によって治癒することが示されている。このような移植片による免疫学的抗腫瘍 (graft-versus-tumor, GVT) 効果は、慢性白血病や低悪性度リンパ腫では移植片対宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) がなくても起こりうるが、その他の進行が早い造血器悪性腫瘍や固形腫瘍では、GVT 効果の発現には GVHD の発症を必要とする。GVHD はそれ自身が致死的な合併症であり、これを抑えようとするため腫瘍が再燃するため、結果的にこれらの腫瘍では治癒を得ることができない。このようなアロ免疫の限界を克服するアプローチとして三つの方法が試みられている。一つは、血液細胞に選択的に発現しているマイナー組織適合抗原 (mHa) を同定し、これに特異的な T 細胞を *ex vivo* で増幅し患者に投与するという方法である。最近では ACC1, ACC2 などの mHa や、接着分子 CD62L 由来の多型ペプチドのように、日本人に多い HLA-A24 に拘束性のペプチドが同定され、これらを標的とする細胞療法が開発が期待されている。二つめは、同種反応性の NK 細胞に期待した免疫療法である。KIR リガンドが GVHD 方向に不適合の HLA 一ハプロタイプ不適合ドナーからの移植では、急性骨髄性白血病の再発率が明らかに低下することが示されている。日本人では、KIR リガンドのうちグループ 1 に分類される HLA-C のアレル頻度が非常に低いため、NK 細胞による GVT 効果を利用することは困難であったが、臍帯血移植の場合には、KIR リガンドが GVHD 方向に不適合のグラフトを比較的容易に見いだすことができる。三つめは、同種抗原ではなく、白血病関連抗原に対するドナー由来の免疫に期待した能動免疫療法である。近年、同種移植後のドナーの T 細胞に、PR1 のような白血病関連抗原に対する免疫を誘導することを目的としてワクチン療法が試みられており一定の成果を挙げている。同種造血幹細胞の治療成績を向上させるためには単一の免疫反応ではなく、これら複数の免疫反応を利用することが不可欠と思われる。本講演ではこれらのアプローチに関する我々の試みを紹介したい。

シンポジウム

- (1) 臨床免疫学の Cutting Edge**
- (2) 臓器移植と組織適合性の最前線**

S1-1

同種移植と免疫寛容

豊嶋崇徳

九州大学病院・遺伝子・細胞療法部

同種造血幹細胞移植の最大の合併症は移植片対宿主病 (GVHD) である。GVHD は移植片中に混入するドナー T 細胞がホストの二次リンパ組織に存在する抗原提示細胞 (APC) を認識し、標的組織を傷害する。その予防として cyclosporine, tacrolimus などによる T 細胞活性化抑制が標準的であり、日和見感染が問題となり、アロ応答性 T 細胞の選択的抑制が望まれる。最近、ドナー T 細胞をホスト抗原と培養することにより、アロ応答性 T 細胞の選択的除去を試みた臨床試験が米国で開始された。われわれは、リンパ節内におけるドナー T 細胞とホスト APC の過剰な接触により、ドナー T 細胞のアロ抗原特異的なアポトーシスを *in vivo* で誘導できるのではないかと考え、リンパ組織からの T 細胞の遊走を阻害する FTY720 をマウス骨髄移植モデルに投与し検討した。その結果、輸注されたドナー T 細胞はホストのリンパ節内で早期に活性化し、アポトーシスによってその数を急速に減じた。その結果 GVHD の軽症化が観察され、*in vivo* でのアロ応答性 T 細胞の選択的抑制が可能であると考えられた。同種造血幹細胞移植のもう一つの問題点は、昨今の少子化に伴う HLA 一致同胞ドナーの不足である。HLA 不適合ドナーを選択せざるを得ない場合が増加しているが、GVHD 誘導能の低い不適合ドナーの選択が必要となる。われわれは母子免疫寛容を利用した HLA 不適合ドナーからの移植成績をマウスモデルを用いて検討した。子から母への移植では non-inherited maternal antigen (NIMA) に対し、母から子への移植では inherited paternal antigen (IPA) に対し免疫寛容が導入される可能性が指摘されている。子から母への移植では NIMA に対する T 細胞応答性が低下しており、移植後には GVHD は軽症化した。一方、母から子への移植では IPA に対する T 細胞応答性の低下はみられず、GVHD は重症化した。この NIMA 効果は経胎盤、母乳によってもたらされ、CD25+ 制御性 T 細胞が関与している可能性が示唆された。NIMA 移植後には免疫再構築も良好であり、母子免疫寛容を考慮にいれたドナーの選択が可能であることが示唆された。

S1-2

HIV-1 の細胞傷害性 T 細胞からの逃避機構

滝口雅文

熊本大学エイズ学研究センター・ウイルス制御分野

HIV-1 の細胞傷害性 T 細胞 (CTL) からの逃避機構としては、1) CTL が認識するエピトープ部位の変異による認識傷害もしくは抗原提示能の傷害、2) Nef による HLA クラス I 分子の細胞表面からの downregulation による抗原提示能の傷害、3) HIV-1 特異的 CD8T 細胞の分化異常による細胞傷害活性能の低下あるいは喪失などが知られている。これらの機序がそれぞれの HIV-1 感染者で、実際どの程度 HIV-1 の特異的 CTL からの逃避の関与しているのかは、いまだ明らかになっていない。

我々は、HIV-1 をヒト CD4T 細胞に感染させ、これを用いて CTL による細胞傷害活性と HIV-1 増殖抑制能を測定する方法を確立した。これにより生体での反応に近い状況下で、特異的 CTL の HIV-1 感染細胞の認識と、HIV-1 の増殖の抑制を調べることが可能となった。さらに、テトラマーを用いて、患者末梢血中の HIV-1 特異的 CD8T 細胞を測定し、また患者に感染しているウイルスのシーケンス解析によりエピトープ部位の変異が患者体内でおきているかを調べることにより、ヒトの生体内でのウイルスと免疫系の攻防を、より正確に明らかにすることができるようになった。

本シンポジウムでは、このような方法を用いて最近我々が明らかにしてきた HIV-1 感染者での HIV-1 の細胞性免疫からの逃避機序の解析に関する研究を紹介する。

S1-3

T 細胞応答を利用した癌の免疫制御 —現状と課題—

河上 裕

慶應義塾大学医学部・先端医科学研究所・細胞情報研究部門

我々はヒトで明らかな免疫学的癌排除が認められる悪性黒色腫を中心に、免疫療法の科学的開発に向けて、1) 自己癌細胞に対する免疫応答の証明と担当免疫細胞の同定、2) 免疫細胞が認識する腫瘍抗原の同定と生体内免疫応答の解明、3) 強力な免疫増強法の開発、4) 癌細胞の免疫回避機構の解明とその克服法の開発、4) 臨床試験の実施と評価という基本課題に取り組んできた。悪性黒色腫では、まず癌細胞反応性 T 細胞が重要であることを明らかにし、各種分子生物学的・免疫学的手法を用いて、その認識抗原を同定し、腫瘍抗原の実体を明らかにした。腫瘍抗原の同定は、その低免疫原性機序の解明 (HLA 低親和性など)、抗腫瘍 T 細胞の生体内動態の定量的・定性的測定、癌細胞の免疫回避機構の解明 (腫瘍抗原 / HLA 消失、抗原特異的アナジー、自己腫瘍抗原反応性制御性 T 細胞、癌組織内での T 細胞機能阻害など)、強力な免疫増強法の開発 (改変腫瘍抗原、アジュバントなど) 等を可能にし、臨床試験実施を介して、癌の免疫学的排除にいたる各ステップの問題点・課題が明らかになってきた。このような癌免疫学の飛躍的な進歩にもかかわらず、現時点では、免疫療法が比較的效果がみられる悪性黒色腫においても、進行癌に対して PR を主体とした抗腫瘍効果はせいぜい 40% 台である。我々は、今までの結果に基づいて、現在、凍結融解腫瘍前処置後の樹状細胞腫瘍内投与による個別化免疫療法、癌幹細胞に対する免疫療法、制御性 T 細胞と免疫抑制分子産生の分子基盤解明を中心とした癌細胞免疫回避機構の克服に取り組んでいる。本シンポジウムでは、我々の今までの経験と将来展望につき議論したい。

S2-1

造血幹細胞移植とマイナー組織適合性抗原

村田 誠

名古屋大学医学部附属病院・血液内科

白血病などの造血器悪性疾患に対する HLA 一致ドナーからの造血幹細胞移植は、移植片対白血病 (GVL) 効果により原疾患を治癒しうる一方、移植片対宿主病 (GVHD) などの治療関連疾患を招くこともある。GVL 効果や GVHD は、患者細胞表面上に提示されたマイナー組織適合性抗原(マイナー抗原)を標的とするドナー T リンパ球応答が強く関与している。マイナー抗原とは、主要組織適合性抗原(ヒトでは HLA) の分子上に提示される細胞内タンパク由来のペプチド断片のうち、遺伝子多型または性差により患者とドナー間で異なるアミノ酸配列を持つものである。例えば白血病細胞を含む造血細胞中心に発現しているマイナー抗原に対する T リンパ球応答は主として GVL 効果を誘導し、また上皮細胞など造血細胞以外の組織で発現しているマイナー抗原に対する T リンパ球応答は GVHD を誘導すると考えられている。従ってマイナー抗原を同定しその組織分布を明らかにすることは、同種移植後の免疫応答の解明に役立ち、GVHD 発症の危険性の高い患者/ドナーの組み合わせの予測や、GVL 効果の増強を目的とした再発予防法・治療法などの開発に寄与し、最終的には同種移植術の治療成績の向上をもたらすと期待されている。これまでに分子レベルで同定されたヒト・マイナー抗原は、Y 染色体上の遺伝子に由来するものと(それらを HY と総称することがある)、常染色体上遺伝子に由来するものとに大きく分類される。前者は Y 遺伝子と X 遺伝子の相違が抗原性をもたらすもので、常に女性 (XX) からみて男性 (XY) がマイナー抗原陽性となる。一方、常染色体遺伝子由来マイナー抗原の抗原機序としては、これまでのところ一塩基多型、一塩基挿入/欠失、遺伝子欠損などの遺伝子多型が報告されており、それらの頻度はマイナー抗原の種類や人種によってさまざまである。シンポジウムではこれら同定されたヒト・マイナー抗原について概説し、それぞれの臨床的意義についてまとめるとともに、最近報告されたマイナー抗原に対する B 細胞性免疫の関与についても言及したい。

S2-2

HLA 半合致(ハプロアイデンティカル)造血幹細胞移植

池亀和博

大阪大学大学院医学系研究科・血液腫瘍内科

造血器腫瘍で移植を必要とする患者のうち、HLA 適合の血縁者ドナーが得られるのは高々約 40% 程度であり、今後少子化を考えると更に低下すると予想される。非血縁者からの移植は一般医療として確立してきたが、移植までに時間的余裕のない場合もある。最近の移植領域での 1 つのトピックスは“alternative donor”からの移植であり、実際には臍帯血移植か、HLA 不適合血縁者からの移植か、という選択を迫られる。一般に HLA 不適合の血縁者、すなわち HLA 半合致ドナー (HLA-haploidentical donor) から移植を行う場合、強い GVHD を回避するため T 細胞除去が行われ、特に NK alloreactivity が期待される症例においては有効性が報告されている。一方新しい免疫抑制剤の登場や各種支持療法の進歩により、無処理の HLA 半合致移植も本邦を中心に行われるようになってきた。我々は非血縁者間移植での GVH 予防の検討から始まり、未処理の HLA 半合致移植の確立を目指して基礎および臨床経験を重ねている。また近年ミニ移植が普及してきたことに伴い、これと HLA 半合致移植を組み合わせることで、より安全な移植法を開発したいと考えている。本セミナーでは、まず 1) HLA 半合致骨髄移植(標準法)、2) HLA 半合致ミニ移植、それぞれにおける成績と検討を提示する。1) においては、FK506 + MTX + mPSL + MMF の 4 剤を用いた GVHD 予防が有効であることや、sIL2R を指標とした GVH 反応の magnitude の評価を中心に議論したい。また児から母への移植と、母から児への移植とでは急性 GVHD の発症率に差があり、何らかの生物学的機序の存在を想像させる。2) においては、免疫療法としてのミニ移植を意識して、「HLA-haploidentical minitransplantation は HLA 適合移植より強い GVL 効果が得られるか」という命題を提起したい。次に 3) HLA 半合致の標準法とミニ移植を合わせた 100 例以上の解析結果を示す。最後に 4) minor antigen の不適合についての計算モデルを提示し、ご意見を仰ぎたいと思っている。

S2-3

腎移植，膵移植における組織適合性検査の意義

杉谷 篤

九州大学病院・腎疾患治療部・臨床腫瘍外科

我が国の腎移植，膵移植の成功・普及は，組織適合性検査に大きく依存している。T cell, B cell に分離して行う従来の LCT 法でクロスマッチ陰性と判定されていた症例のなかでも，AHG 処理，ELISA-PRA，Flow-PRA と微量抗体の検出精度が上がるにつれて陽性例が増えていき，それが臨床での拒絶反応発生率，病理所見，グラフト生着率と相関することもわかってきた。

献腎移植，膵移植，膵腎同時移植の登録に必須となる HLA typing は，血清学的方法から DNA typing となって精度が向上した。ドナーが発生してレシピエント選定を行うときには，ネットワークの基準に従って，ドナーの DNA typing，LCT 法による Direct Cross Match (DCM) が迅速に行われるようにシステムが整備され，HLA-DR の 1 個以上が一致すると一腎は膵腎同時移植のレシピエントに優先的に供与されている。しかし，地域によって LCT 法に相違があり，さらに精度が高い Flowcyte PRA や Flowcyte Crossmatch (FCXM) の結果も加味した移植可否の最終判断や移植後抗体価の変動測定は各移植施設に委ねられるので，移植医の責任は大きい。

また，生体腎移植，生体膵移植を行うときには，ドナーとレシピエントの HLA typing，DCM，FCXM の方法や考え方は完全に移植施設の裁量，力量に依存している。抗体拒絶の診断には，臨床経過に加えて① Flow-PRA あるいは FCXM による抗ドナー HLA 抗体の検出，② 病理所見による特徴的所見，③ C4d 沈着の証明が必要で，Chronic allograft nephropathy と総括された中にも，非常に軽微な抗体拒絶が慢性的に持続していることも示唆されている。腎と膵によって HLA 抗原の発現性に臓器特異性があるため，膵グラフトは拒絶により容易に血栓を形成するので，膵移植，膵腎同時移植の場合には，一層このような抗体検査が大切となる。ABO 不適合腎移植，抗 HLA 抗体陽性患者に対する生体腎移植の成功も，近年のめざましい免疫抑制剤の進歩とともに，抗 A・抗 B 抗体価の的確な測定，抗 HLA 抗体の出現，推移の把握が可能になったからである。術前からドナーとレシピエントの拒絶反応の起こりやすさを予測して，テラーメイド医療を行おうという提唱もされている。

本講演では，実際の献腎移植，膵移植，生体腎移植の現状を紹介し，移植の方針決定から移植後の管理，長期予後に関連して，組織適合性検査の意義と今後の展望を述べたい。

學術獎勵賞受賞者講演

G-1 ES細胞から分化誘導した樹状細胞を用いた MHC拘束性T細胞応答制御技術の開発

○ 千住 覚¹⁾, 平田真哉¹⁾, 松吉秀武¹⁾, 末盛博文²⁾, 福岡大喜¹⁾, 栗崎朱里¹⁾, 下村真菜美¹⁾, 植村靖史¹⁾, Yu-Zhen Chen¹⁾, 古谷正敬³⁾, 中辻憲夫⁴⁾, 西村泰治¹⁾

- 1) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学
- 2) 京都大学再生医科学研究所幹細胞医学研究センター
- 3) 慶應義塾大学医学部産婦人科学教室
- 4) 京都大学再生医科学研究所発生分化研究分野

【背景と目的】 移植臓器に対する拒絶反応の制御, 抗腫瘍免疫療法の確立, 自己免疫疾患の治療など, 免疫応答を抗原特異的に制御する技術の開発は, 免疫学に課せられた重要課題である。免疫応答は, 種々のT細胞が樹状細胞上のMHCと抗原ペプチドの複合体を認識することによりはじまり, また, 様々に修飾される。そこで, 特定の抗原に由来するエピトープをMHC上に提示すると同時に, 免疫応答を正または負へ制御する分子を発現する樹状細胞を遺伝子改変により作製し, これを生体移入することにより, 免疫応答を抗原特異的に制御する手法が考えられる。一般に樹状細胞への遺伝子導入にはウイルスベクターの使用が必要とされるが, 医療技術としての実用性を考慮すると, 安全性や法的規制等が問題となる。一方ES細胞は, ウイルスベクターを用いることなく遺伝子導入を行なうことが可能である。本研究は, ES細胞に遺伝子導入を行い, これを樹状細胞へ分化させることにより, ウイルスベクターを用いることなく遺伝子改変樹状細胞を作製し, さらにこれを用いて免疫応答を制御する技術を開発することを目的とする。

【方法と結果】 まず, マウスのES細胞から樹状細胞(ES-DC)を作製する方法を開発した(Blood. 101: 3501-3508, 2003)。モデル腫瘍抗原(OVA)とケモカインを同時に発現させたES-DCをマウスへ移入することにより, OVA発現腫瘍細胞に対する強力な抗腫瘍免疫応答を誘導できた(J Immunol. 172: 776-786, 2004)。ミエリン鞘抗原由来のエピトープをMHC上に提示し, 同時に免疫抑制分子を発現するES-DCを投与することにより, 多発性硬化症のモデルである実験的自己免疫性脳脊髄炎の予防が可能であった(J Immunol. 174: 1888-1897, 2005)。また, カニクイザルES細胞からのES-DC作製技術を開発した。

【考察】 マウスモデルを用いて, 遺伝子改変ES-DCによる抗腫瘍免疫応答の誘導と自己免疫疾患の予防が可能であることを示した。カニクイザルES-DC作製法は, ヒトES-DC作製にも応用可能であると期待される。ES-DCによるES細胞由来のMHCをはじめとするアロ抗原に対

する免疫寛容誘導法を開発できれば, ES細胞由来の細胞や組織を用いた再生医療をクローン化ES細胞を用いることなく実現することが可能になると期待される。

G-2

HLA 領域内ハプロタイプの LD マッピング

○ 志知大輔¹⁾, 吉川枝里²⁾, 重成敦子²⁾, 河田寿子³⁾, 猪子英俊²⁾, 太田正穂⁴⁾, 勝山善彦⁴⁾, 成瀬妙子¹⁾, 木村彰方¹⁾

- 1) 東京医科歯科大・難研・分子病態
- 2) 東海大・医・基礎医学系・分子生命科学
- 3) 東海大・医・教育研究支援センター
- 4) 信州大・医・法医学教室

【目的】 HLA 領域は、高い遺伝子密度と多型性、集団に特徴的な連鎖不平衡 (linkage disequilibrium; LD) を示すことが知られているが、日本人集団における HLA 領域内でのハプロタイプ構造や LD 分布に関する詳細な報告は未だ少ない。そこで我々は、HLA 領域の 3 Mb 内に位置する HLA 遺伝子や SNPs およびマイクロサテライトマーカーの多型解析から、日本人に特徴的な LD ブロックの推定を試みた。

【方法】 HLA 遺伝子 (10 種), SNPs (53 マーカー), マイクロサテライト (21 マーカー) についてタイピングを行い、全多型マーカーが確定した非血縁者 132 名のデータを基に、EM アルゴリズムによりハプロタイプ構造を推定した。予測された構造の内、日本人に典型的な HLA ハプロタイプに着目し、その構成多型マーカー間での LD の強さを LD 係数 (D' および r^2) により評価した。

【結果】 典型的な HLA アリルから構成された推定ハプロタイプのうち、 $A*2402-B*5201-Cw*1202-DRB1*1502-DQB1*0601-E*010301-G*0104$ ($D' = 0.39, 0.042\%$) $A*2402-B*0702-Cw*0702-DRB1*0101-DQB1*0501-E*0101-G*0104$ ($D' = 0.40, 0.023\%$) は 3.0 Mb にもわたってその構造を保持していた。また、LD 解析から HLA-A, B, DRB1 遺伝子座近傍には 1 Mb にわたる LD ブロックが形成され、特に HLA-B では広い領域にわたる LD が見出された。

$B*5201-D6S2444*158$ ($D' = 0.87, r^2 = 0.56$)

$B*5201-C3_2_11*207$ ($D' = 0.92, r^2 = 0.71$)

$B*0702-DQ_CARII*200$ ($D' = 0.93, r^2 = 0.63$)

$B*0702-C3_2_11*227$ ($D' = 0.82, r^2 = 0.53$)

【考察】 HLA 遺伝子が LD ブロックの枢軸を成す一方で、他の SNPs やマイクロサテライト多型間での LD は、近傍の座位間だけに反映され、HLA アリル間の LD に比べ弱い傾向にあった。このことは、HLA 領域内の特徴的で、かつ多様に富んだ LD ブロックの形成過程には、HLA 遺伝子自体への選択圧が大きく寄与することが示唆された。

G-3

新たなヒトナルコレプシー感受性 / 抵抗性遺伝子: NLC1-A

○ 川嶋実苗^{1,2)}, 田宮 元³⁾, 海老澤尚¹⁾, 本多 裕⁴⁾, 十字 猛夫⁵⁾, 猪子英俊³⁾, 徳永勝士²⁾

- 1) 東京大学大学院医学系研究科睡眠障害解析学
- 2) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学
- 3) 東海大学医学部分子生命科学 2
- 4) 精神神経センター附属清和病院
- 5) 日本赤十字中央血液センター

【背景・目的】 HLA 領域に存在するハプロタイプ: HLA-DRB1*1501-DQB1*0602 が強く関与していることが知られているヒトナルコレプシーは、複数の遺伝要因と環境要因が関与し合って発症に至る多因子疾患である。我々は、HLA 以外の疾患関連遺伝子の探索を目的としている。昨年度の本大会においては、約 3 万個のマイクロサテライトマーカーを用いたゲノムワイドな関連分析をおこない、そこで検出されたマーカーのうち、特に強い関連が確認された 3 マーカー周辺を更に高密度に設定したマイクロサテライトマーカーを用いた fine mapping を行うことで、各候補領域を 50-100 kb にまで絞ったことを報告した。今回は、その中の 1 つの候補領域をさらに狭め、候補遺伝子の同定を行うことを目的としている。

【方法】 データベース上に登録されている一塩基多型 (SNP) を約 5-10 kb 毎に選定した。それらの登録された SNPs が今回用いた集団内においても多型性を示すことを確認し、確認できた 76 SNPs を用いた関連解析・連鎖不平衡解析を行った (患者: 190 名, 対照: 190 名)。次に、狭められた領域に存在する遺伝子・mRNA などをデータベースを用いて探索し、それら遺伝子のエクソン、イントロン、プロモーター領域内の多型解析・関連解析、発現解析 (RT-PCR, reporter gene assay) を行った。

【結果・考察】 今回注目した候補領域には 2 つの強い関連を示したマイクロサテライトマーカー (NA3.4, NA3.L) が存在する。76 SNPs を用いた関連解析において、両マーカー周辺に存在する複数の 8 SNPs でも同様に有意差に至った。特に、NA3.L 近傍 2 SNPs (C-4, C-7) では、マーカー NA3.L と同様に強い関連が示された ($p < 0.0007$) (患者: 339 名, 対照: 630 名)。従って、この領域では NA3.L 周辺に疾患と関与する変異があると考えられたため、NA3.L 周辺領域を narcolepsy candidate region 1 (NLC1) と名づけた。NLC1 には 3 つの予測遺伝子が存在する (NLC1-A, NLC1-B, NLC1-C)。これら遺伝子内に存在する 23 SNPs を用いた関連解析の結果、マーカー NA3.L とその近傍 SNPs (C-4, C-7) より低い p 値を示す多型は

存在しなかった。ヒト視床下部(睡眠中枢)の mRNA を用いた RT-PCR の結果 *NLC1-A* の発現が確認され、また、多型と遺伝子の発現量との関連を解析したところ、NL3.L (プロモーター領域)と C-7 (イントロン 1 内)多型が転写レベルに影響する事がわかった。

大会長奨励賞受賞者講演

P-1

HLA-B 座抗原トリプレット表現型の遺伝子構造解析

○ 勝山善彦¹⁾, 太田正穂²⁾, 斉藤 敏³⁾, 太田 智³⁾, 野村節夫³⁾, 福島弘文²⁾

- 1) 信州大学付属病院薬剤部法医学教室
- 2) 信州大学医学部法医学教室
- 3) 長野県赤十字血液センター

【目的】 血液成分登録のための HLA タイピングで、HLA-B 座に 3 抗原が同定された献血者とその家族について細胞学的検査、遺伝子タイピング、さらに HLA 領域内のマイクロサテライトを用いたフラグメント解析を行い、モザイク現象を示した家系の遺伝子構造について検討した。

【材料と方法】 発端者を含め、家族の HLA タイピングを LCT 法により行った。DNA タイピングは末梢血、爪由来の DNA を用いて PCR-RFLP, PCR-SSP により行った。血液細胞上の HLA 抗原の発現確認を FCM で単染色(抗 HLA-B55, 抗 HLA-B15CREG, 抗 HLA-B40CREG 抗体を一次抗体とし、FITC 標識抗ヒト IgG を二次抗体に用いた)解析により行った。更に、モザイク現象を示す周辺の遺伝子構造を解析するために HLA 領域内に設定した 23 種類のマイクロサテライトを用いてフラグメント解析を行った。

【結果と考察】 血清学タイピングにより、発端者に B55, -B61, -B62, その子供に B60, -B61, -B62 の 3 抗原が確認された。DNA を用いたタイピングでは、発端者に HLA-B*5502, -B*1501, -B*4002 の 3 アリルが、子供に HLA-B*4001, -B*1501, -B*4002 の 3 アリルが確認された。また FCM による単染色解析では 3 種類全ての抗血清と強蛍光の陽性単一ピークのヒストグラムが得られた。マイクロサテライトによるフラグメント解析では、HLA-C, B 座を含む C4-2-12 から C1-2A に至るおよそ 700 Kb にアリのトリプレット現象が見られた。今回の解析で、HLA-B*1501, -B*4002 の 2 アリルを含む 700 Kb の遺伝子領域が親から子に遺伝し、2 種類の血球が混在しているキメラではなく、同一細胞上に 3 (B55, -B61, -B62 または B60, -B61, -B62) 抗原が発現しているモザイクと考えられる。今後これらの抗原の発現機構を含めた遺伝子解析を行う予定である。

P-2

IgM 型 HLA 抗体の血小板輸血不応状態への関与

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

【はじめに】 IgM 型の HLA 抗体はまれで、AHG-LCT による検出が可能と考えられていることから、最近、IgM 型の HLA 抗体が原因の血小板輸血不応状態 (PTR) が 2 症例報告されたにもかかわらず、血小板輸血において重要視されていない。今回、PTR の患者 121 症例中 47 例 (40%) に IgM 型抗 HLA 抗体が検出され、半数以上が AHG-LCT では検出できなかったため報告する。

【方法】 PTR 患者 121 人の凍結血清を用い、AHG-LCT, MPHA, M-MPHA, FlowPRA 法により HLA 抗体・血小板抗体スクリーニングを行った。患者が保有している IgM 型 HLA 抗体の特異性を同定できた症例については、抗体の特異性と輸血された血小板の HLA 型から輸血効果について解析を行った。血小板輸血効果は CCI_{24 hours} により判定した。

【結果】 121 症例中 M-MPHA 法により 47 症例、FlowPRA 法により 35 症例の IgM 型 HLA 抗体が検出され、FlowPRA 法により検出された 35 症例はすべて M-MPHA 法により検出できた。47 例の IgM 型 HLA 抗体のうち AHG-LCT により検出できたのは 20 症例のみであった。また、IgM 型 HLA 抗体が検出された 47 症例中 40 症例においては IgG 型 HLA 抗体も混在していた。IgM 型 HLA 抗体のみが検出された 7 症例中 4 症例において、患者の保有する IgM 型 HLA 抗体の特異性を同定することができ、該当抗原陽性の血小板輸血においては CCI_{24 hours} が 1.0 ± 1.4 を示し輸血効果が得られなかったが、該当抗原陰性の血小板輸血においては CCI_{24 hours} が 22.0 ± 4.2 を示し輸血効果が得られた。また、IgM 型 HLA-B5CREG 抗体が検出された症例においては、IgM 型 M-MPHA による交差試験陰性血小板を輸血することにより輸血効果を得ることができた。

【考察】 これまでまれと考えられていた IgM 型の HLA 抗体が 40% の高率で PTR 患者に存在し、約 15% は IgM 型単独の HLA 抗体で、血小板輸血効果に影響を及ぼすと考えられたことから、HLA 適合血小板供給のためには IgM 型の HLA 抗体スクリーニングも行う必要がある。また、IgM 型 HLA 抗体は、多くの場合において、AHG-LCT では検出することができなかったことから、検出感度の高い別の方法を用いる必要がある。今後、患者に最も適合する血小板製剤を供給するために、同一患者における IgM 型、IgG 型 HLA 抗体の特異性の異同および抗体の経時変化についても解析を行う予定である。

會員研究発表

M1-1

HLA-B においてヘテロアリルの検体がホモアリルと判定された症例

○ 泉澤康弘¹⁾, 山本芳子¹⁾, 齋藤まみ絵¹⁾, 蔵方浜起¹⁾, 笹啓二¹⁾, 小川公明¹⁾, 白濱秀也¹⁾, 和賀一雄²⁾, 三谷絹子²⁾, 石原義盛¹⁾

- 1) 株式会社エスアールエル 遺伝子・染色体解析センター
2) 獨協大学 血液内科

【目的】 HLA のタイピング検査において PCR-SBT 法でホモアリル, PCR-rSSO 法でヘテロアリルとなった症例を報告する。

【方法】 サンプル: (株)エスアールエルの HLA タイピング検査にご依頼のあった血液検体。EDTA2Na 加血液 2mLDNA 抽出: 使用した機器は QIAGEN BioRobot9604 (QIAGEN 社), 抽出キットは QIAamp Blood Kit 9604 kit (QIAGEN 社)を用いた。

PCR-SBT 法によるタイピング検査: タイピング試薬は旧試薬 HLA-B High Resolution Typing System (Applied Biosystems 社), 新試薬 AlleleSEQR HLA-B (Forensic Analytical Molecular Genetics 社)を用いて GeneAmp PCR system 9700 (Applied Biosystems 社)にて PCR 増幅を行い 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems 社)にて測定, Assign (Conexio Genomix 社)で解析を行った。

【結果および考察】 検体は PCR-SBT 法での初検時(旧試薬 HLA-B High Resolution Typing System 使用)に B*670101 のホモアリルと判定したが, 以前の血清学でのデータでは [B61, B67] と乖離していた。そのため PCR-rSSO 法での確認したところやはり [B61, B67] であった。タイピング試薬を新試薬 AlleleSEQR HLA-B (Forensic Analytical Molecular) に変えて, 再測定を行ったところ, [B*4002, B*670101] と判定された。

旧試薬 HLA-B High Resolution Typing System においては PCR 増幅時の Reverse Primer 領域の多型により PCR 増幅が認められなかったことが原因と判明し, 新試薬の AlleleSEQR HLA-B の Primer により増幅が可能となった。

現在, HLA 検査で主流となっている DNA 検査では PCR 増幅が常識となっている。しかしながら多型の存在がいわば当然の HLA 遺伝子においては, 一種類の PCR 増幅系で検査を行なうことは片アリルの消失の危険性があると思われる。この症例以降, SRL では PCR-SBT 法でホモアリルになった例については PCR-rSSO 法で確認をしている。

M1-2

HLA-A 遺伝子欠失による HLA-A 非発現型アリルの切断点の解析

○ 高須美和¹⁾, 林 律子²⁾, 伊村公良²⁾, 興津 馨²⁾, 浅井 隆善²⁾, 石川善英³⁾, 椎名 隆⁴⁾, 徳永勝士¹⁾

- 1) 東京大・院医・人類遺伝
2) 静岡県赤十字血液センター
3) 日本赤十字社中央血液研究所
4) 東海大・医・分子生命科学 2

【目的】 現在, WHO HLA 命名委員会に HLA-A 非発現型アリルは 24 種類登録されており, これら非発現型アリルのほとんどが 1 塩基置換, あるいは小規模な挿入や欠失である。一方, 林らは新生児血小板減少症患者の家系調査から HLA-A 非発現アリルの存在を認め, さらにパルスフィールド電気泳動法の解析により, HLA-A 遺伝子を含む 10 kb 程度の欠失の存在を推定した (MHC 11: 11-16, 2004)。本研究では, この HLA-A 非発現型検体をさらに解析し, 欠失の切断点を塩基配列レベルで決定することを目的とした。

【方法】 HLA-A 非発現型検体より樹立した EBV 細胞株からゲノム DNA を抽出した。HLA-A 遺伝子, HLA-A より約 24 kb セントロメア側にある HCG9 遺伝子, および約 14 kb テロメア側にある HCG4P6 遺伝子について, プロモーター領域から 3'-非翻訳領域をカバーするロング PCR を行い, それらを鋳型としたダイレクトシーケンシングを実施した。切断点の同定には, HCG9~HLA-A 間および HLA-A~HCG4P6 間のユニーク配列を選択してプライマーを設計し, PCR-ダイレクトシーケンシングを行った。

【結果および考察】 HLA-A, HCG9 および HCG4P6 各遺伝子の DNA 塩基配列を決定したところ, HCG9, HCG4P6 はヘテロ接合であったのに対し, HLA-A はヘミ接合であると考えられることから, 少なくとも HLA-A 遺伝子は完全に欠失していることが判明した。相同性の高い遺伝子群が密集する領域であるため, 特異的な PCR プライマーの設定がしばしば困難であったが, これまでの HCG9~HLA-A 間, HLA-A~HCG4P6 間の塩基配列解析の結果から, HLA-A 遺伝子を含む約 13 kb の欠失が考えられ, 切断点の位置はそれぞれセントロメア側で約 600 bp, テロメア側で約 900 bp の範囲内に限定された。現在, 切断点をさらに絞り込むとともに, この HLA-A 欠失型の DNA タイピング法について検討中である。

M1-3 HLA 遺伝子欠損: 先天性遺伝子欠損と LOH

○ 丸屋悦子¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 丸屋かおり¹⁾, 大沼 豪¹⁾, 赤座達也¹⁾, 田中康博²⁾, 道野淳子³⁾, 野村恵子³⁾, 金兼弘和³⁾, 平久保由香⁴⁾, 佐治博夫¹⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
- 2) 神戸市立中央病院血液内科
- 3) 富山医科薬科大学
- 4) 自治医科大学付属病院小児科

【はじめに】 造血幹細胞移植 (SCT) を目的とした家族の組織適合性検査や, SCT 後の再発で Mixed Chimera が認められ, 再移植を目的とした患者 HLA 型確認検査の結果, HLA の LOH (loss of heterozygosity) がみられた 4 症例と HLA-DRB 欠損遺伝子の存在が示唆された 1 家系・HLA-A 欠損遺伝子の存在が示唆された 2 家系について報告する。

【方法】

◆ LOH の検出: 血液由来の DNA による家族の HLA タイピング結果より, 両親と患者の間に遺伝関係が否定される結果が得られた場合, 体細胞由来(口腔内粘膜) DNA を用いリタイピングを行い, LOH の有無を確認する。

◆ 欠損遺伝子について: 家族の HLA タイピング結果からハプロタイプ解析を行い, 親子間の遺伝関係が否定される結果が得られた場合, 体細胞由来 DNA を用いたリタイピングを行い, マイクロサテライト解析により親子関係を確認する。

【結果】 LOH 現象: 急性期 ATLL (blast 70%) 1 名, 再生不良性貧血 (MDS の疑い) 1 名, AML 患者 2 名(内 1 例は移植後の再発)に認められた。

LOH 現象を起こした座位と haplotype: HLA-B-C 座 (B*5901-C*0102); 1 例, B 座 B*3501: 1 例, HLA-A*2601-B*4002-DRB1*1405: 1 例, HLA-A*3101-B*4002-DRB1*0901: 1 例

欠損遺伝子 ① 悪性リンパ腫の患者 (16 歳) と父の遺伝関係が HLA-DR 座のみで否定され, 9 種のマイクロサテライト多型では親子の遺伝関係が否定されなかった。DR 座欠損遺伝子の存在が示唆された父由来 haplotype は HLA-A*2402-Cw*1402-B*5101-DRB1*X-DQB1*0601 であった。② 骨髄移植を目的とした家系調査で 2 家系の A 座欠損遺伝子の存在を示唆する家系が認められた。1 家系は両親と 5 人の兄弟姉妹の家系で母の haplotype に A 座欠損遺伝子を含む haplotype: A deficient (x)-B35-DR14 が存在し, 3 人の姉妹に遺伝していた。もう一方は患者と両親の家系で, 母 haplotype: A deficient (x)-B35-DR4 が患者に遺伝していた。

【考察】 造血幹細胞移植目的の家族検査およそ 700 件中に検出された症例である。癌細胞の免疫監視機構からのエスケープ戦略とされる LOH 現象はそれほどまれな現象ではなく再発のメカニズムに関与する可能性があり, LOH 現象の検出は治療上重要である。HLA 欠損遺伝子もまれでなく検出されるようであり, さらに詳細な解析をする予定である。

M2-1 HLA-G のアリルと発現機構について

○ 下嶋典子¹⁾, Chul-Woo Pyo²⁾, Luke M. Williams²⁾, Yuki Moore²⁾, Hironobu Hyodo²⁾, Shuying Sue Li²⁾, Lue Ping Zhao²⁾, 石谷昭子¹⁾, Daniel E. Geraghty²⁾

1) 奈良県立医科大学法医学教室

2) Fred Hutchinson Cancer Research Center

【目的】 HLA class Ib の一つである HLA-G は, HLA class Ia と比べ非常に多型性に乏しい遺伝子である。また, そのタンパクが, 妊娠免疫に重要な役割を果たす, 胎盤トロホプラストに強く発現していることから, HLA-G が母体 T 細胞に, 胎児を非自己と認識できないようにさせていると考えられ, 妊娠免疫に重要な分子であると考えられてきた。そして, 妊娠が成立しないのは, HLA-G の発現低下や, 父母間の多型性の違いによると推測された。そこで我々は, HLA-G の各アリルのトランスフェクタントを, HLA class Ia null cell line である, 721.221 で作製し, これらの細胞における HLA-G の多型性の違いによる膜結合型 HLA-G, 可溶性 HLA-G のそれぞれの発現量の違いを比較した。

【方法】 HLA-G*01013 と比較し, synonymous な置換が 1 つあるいは 2 つ存在する HLA-G*0103, HLA-G*0104, HLA-G*0106 の各遺伝子を HLA null cell line である, 721.221 にトランスフェクトした。いずれの遺伝子についても, 膜結合型 HLA-G と, 可溶性 HLA-G のそれぞれを産生するよう, 細胞を作製した。これらの細胞に発現する膜結合性 HLA-G は, FACS で, 可溶性 HLA-G 抗原は, ELISA により検出した。

【結果】 HLA-G*01013, HLA-G*0103, HLA-G*0104, HLA-G*0106 の 4 つのアリル間において, 膜結合型, 可溶性の HLA-G 産生量はほぼ同じであった。

【考察】 実際の胎盤トロホプラストにおいては, HLA-G が父母双方からの遺伝子に由来するので, 今回作製したモデルで, 胎盤トロホプラスト上の HLA-G を模擬出来てはいない。今後は, これら各遺伝子をあらゆる組み合わせでトランスフェクトした細胞を作製し, その HLA-G 発現量を検討するとともに, これら細胞に対する NK 細胞活性等も比較する予定である。

M2-2 HLA-F 抗原の細胞表面への発現機構について—HLA-F は活性化のマーカー?—

○ 石谷昭子¹⁾, Ni Lee²⁾, Max Toppp²⁾, Daniel E. Geraghty²⁾

1) 奈良医大・法医学

2) Fred Hutchinson Cancer Research Center

【目的】 HLA-F は非古典的 class I (class Ib) 抗原の一つで, 多型性が著しく乏しいことは他の class Ib と同じであるが, その機能ははまだ不明である。この分子は細胞表面には発現しないと考えられてきたが, 我々はこれまでに妊娠末期の胎盤トロホプラストおよび EB virus を transfect した B cell line には HLA-F が表面に発現することを報告してきた。本研究においては, 通常, HLA-F を細胞表面には発現していないリンパ球について, それらを活性化させた場合の HLA-F の細胞表面への発現を調べ, その発現のメカニズムを検討した。また, TAP および Tapasin 依存性についても検討した。

【方法】 健常者の末梢血より単核細胞を分離し, これを各種マイクロビーズ, Ls + / Vs + カラム, Midi MACS により, 各種 subset を分離した。これらの T, B, NK, 樹状細胞等をそれぞれ PMA + ionomycin, CD40 ligand, LPS, GM-CSF + IL4 等で活性化させ, その活性化前後の HLA-F の発現を 2 種類の抗 HLA-F モノクロナル抗体を用いて FACS により検索した。また, 細胞内の全 HLA-F 量は western blot で半定量した。

【結果】 調べたいずれの subset においても, リンパ球は活性化前は細胞質内には HLA-F 蛋白が存在しているが, 細胞表面には発現していない。活性化後には活性化の方法に係わらず, すべて HLA-F が膜上に発現した。しかし, いずれの場合も細胞内の総 HLA-F 量には活性化前後で変化がなかった。また, 2 種の抗体により, HLA-F の膜上への発現のタイムコースが異なっていた。このことは発現の kinetics を考える上に貴重なデータと考えられる。また, TAP あるいは Tapasin 欠損者の PBMC も活性化により HLA-F を膜上に発現した。

M2-3

HLA-F 遺伝子プロモーター領域に存在する
マイクロサテライトの多型解析

○ 中西真理¹⁾, 芦田恒雄²⁾, 井手 武³⁾, 村田紀和⁴⁾, 永塚由佳¹⁾, 福留昭人¹⁾, 実藤信之¹⁾, 大村素子¹⁾, 羽竹勝彦¹⁾, 石谷昭子¹⁾

- 1) 奈良医大・法医学
- 2) 芦田耳鼻咽喉科
- 3) 奈良医大・化学
- 4) 協和会病院リウマチセンター

【目的】 HLA-F 遺伝子は非古典的クラス I 遺伝子の 1 つで多型性は非常に乏しい。ただ、この遺伝子のプロモーター領域には 3 塩基を単位とするマイクロサテライト (STR) が存在する。我々は、これまでに HLA 領域全体にわたる SNPs を用いてスギ花粉症の感受性遺伝子の検索を行ってきた中で、HLA-F 遺伝子近辺に一つの相関を見いだした。そこで、HLA-F 遺伝子のこの STR の多型解析を行い、スギ花粉症との相関を検索した。

【方法】 日本人健常者 159 名, スギ花粉症患者 119 名よりインフォームドコンセントを得て採血し, それより DNA を抽出した。プライマーは Raha-Chowdhury らの報告にしたがって下記の配列を用いた。

forward; 5' CTGTCCTATTTCATATGCTCAGG3' reverse;
5' ATGAACTTGTCCTGAG AATGAAG 3' PCR は Gene Amp PCR System 9700 を用いて, 94°C30 秒, 64°C30 秒, 72°C1 分を 30 回行った。この PCR 産物を ABI PRISM 310 を用いて電気泳動し, GeneScan 350 ROX Size Standard を用いてサイズを測定した。

【結果】 すべての DNA の PCR 産物において 171 bp から 385 bp までの 26 種類の allele が認められた。スギ花粉症との相関については allele12 (305 bp) が有意に増加し, allele 20 (332 bp) が有意に減少していた。この STR は多型性に著しく富み, かつメンデル遺伝することから, 感受性検索には非常に有用なツールとなると考えられる。

M2-4

マウス脳に発現している非古典的 MHC クラス Ib 遺伝子の解析

○ 重成敦子, 大場幸枝, 吉村眞一, 猪子英俊
東海大学・医・分子生命科学

【目的】 マウスの非古典的 MHC クラス Ib 抗原は, Q, T, M の 3 つの領域に分布し存在し, 遺伝子構成や役割は未だ解析されていないものが多い。近年, 脳で MHC クラス I 分子が発現し, 神経回路の形成に関与している可能性を示す報告がある。我々は, 脳で発現している MHC クラス Ib 分子の役割を解明することを目的とした。昨年の本学会において, 免疫染色によりヒトでは HLA-E 遺伝子に相当する MHC クラス Ib 抗原の Qa1 遺伝子が脳の神経系で発現し, RT-PCR より 11 個の MHC クラス Ib 遺伝子が脳で発現していることを明らかにした。今回は脳内で最も大量に発現している Qa1 遺伝子と, マウスの脳で特異的に発現している M5 遺伝子について解析をおこなった。

【方法】 C57BL/6 マウスの脳より cDNA を作製し RT-PCR を行ない, マウスのドラフト配列と比較することにより遺伝子の解析を行なった。また, それぞれの遺伝子が脳で発現している細胞の同定を in situ hybridization などによりおこなう。

【結果】 Qa1 と M5 遺伝子の脳での発現が認められた。ヒトでは HLA-A から HLA-F 遺伝子間領域に存在する M5 遺伝子は, 早期終始コドン出現のため成熟タンパク質に翻訳されない aberrant mRNA と, エキソン 3 領域が欠損している mRNA の 2 種類が認められた。現在, 脳における発現細胞の同定を行なっている。

【考察】 Qa1 遺伝子は, MHC クラス Ib 分子に特徴的な構造を示しているのに対し, M5 遺伝子は $\alpha 3$ ドメインが欠損していることから, MHC クラス I 領域に位置しているが, クラス II 分子に近い構造であると考えられた。また, 多数の MHC クラス Ib 遺伝子が脳で発現しており, それらが脳に特異的な何らかの役割を果たしている可能性が示唆された。

M3-1

SBT 法により見出された HLA 遺伝子型について

○市原孝浩, 柏瀬貢一, 峯元睦子, 清水まり恵, 伏見美津恵, 鶴岡加奈, 佐竹正博, 中島一格
東京都赤十字血液センター

【はじめに】 HLA タイピングは造血幹細胞移植のドナーと患者のマッチング, 疾患感受性との相関解析や人類遺伝学の調査に不可欠な検査である。これまでに, RFLP 法や SSOP 法などを用いた High resolution タイピングによるアリルレベルの遺伝子頻度の集計データは報告されてきた。しかしながら, より高精度な SBT 法による詳細な解析は未だない。そこで, 我々は SBT 法による HLA-A, -B 及び -DRB1 の解析を行ったので報告する。

【方法】 サンプル: 東京都赤十字血液センターに HLA のタイピング依頼のあった 8,876 件について解析を行った。

方法: 末梢血から QIAamp Blood kit により DNA 抽出を行った。HLA-A と -B は Celera Diagnostic 社(現在は Atria Genetics 社) Sequencing-Based Typing Starter Kit を使用し, HLA-DRB1 は Forensic Analytical Molecular Genetics 社(現在は Atria Genetics 社) Allele SEQRHLA-DRB1 Kit を用いて DNA タイピングを行った。また rare アリル及び New アリルはクローニングを行い塩基配列の解析を行った。

【結果】 New アリルが HLA-A で 8 アリル, HLA-B で 8 アリル, HLA-DRB1 で 2 アリル検出された。今までに日本人に報告のない rare アリルが, HLA-A で 10 アリル, HLA-B で 11 アリル, HLA-DRB1 で 11 アリル検出された。

非発現型アリルは, A*0215N が 3 件, A*1121N が 1 件, A*2445N が 1 件検出された。いずれも EXON4 領域に塩基置換を伴っていた。HLA-B 及び DRB1 では, 非発現型アリルは検出されなかった。

【考察】 現在, 最も高精度と言われている SBT 法を用いた High resolution タイピングにより HLA-A, -B 及び -DRB1 の遺伝子型について解析を行った。今回のデータは, 全国各地より依頼された多数検体であることから, ほぼ日本人の平均的な遺伝子頻度と考えられ, HLA の研究に有用なデータと思われる。

M3-2

ベトナム (kinh 族) に認められた, 新規 DR14 アレルの解析

Nguyen Thi Phuong Lan¹⁾, 菊池三穂子¹⁾, Vu Thi Que Huong²⁾, Vu Thien Thu Ngu²⁾, Vo Dinh Tham³⁾, Tran van Dat⁴⁾, Do Quang Ha²⁾, 森田公一⁵⁾, ○平山謙二¹⁾

- 1) 長崎大学・熱帯医学研究所・分子免疫遺伝学
- 2) Arbovirus laboratory, Pasteur Institute Ho Chiminh City, Vietnam
- 3) Pediatric Hospital No. 2, Ho Chi Minh City, Vietnam
- 4) Center for Preventive Medicine, Vinh long Province
- 5) 長崎大学・熱帯医学研究所・ウイルス学

【目的】 デング熱はネッタイシマカが媒介するアルボウイルス感染症であり, 現在世界の熱帯地域で約 10 億人が流行地に生活し年間 1 億人が感染し約 50 万人が重症型のデング出血熱を発症している。デング出血熱の重症化の機序については明らかではないが, 疾患の重症化には個人差が存在することから, 病原体の毒性以外に宿主側の免疫応答性を制御するような遺伝的な要素が重症化を決定しているものと考えられている。我々は重症化に関連する免疫関連遺伝子の探索を目的として, ベトナムのデング出血熱患者の HLA-DRB1 の DNA タイピングを行ったところ, 新規 DR14 のアレルを検出した。この新規アレルのキン族における頻度, 及びデング出血熱感染との関連について解析を行った。

【方法】 ベトナム, ホーチミン市, 第 2 小児病院, 及びホーチミン市から約 50 Km 程郊外にあるヴィンロン県健康保険センターに受診あるいは入院した小児デング熱・デング出血熱患者で Kinh 族を対象として, 各人より EDTA 血を採取し全サンプルの染色体 DNA の抽出を行い, SSOP 法を用いて HLA-DRB1 タイピングを施行した。

【結果】 シーケンスの結果から, 新規 DR14 アレルは DRB1*14012 の抗原結合部位であるエクソン 2 のコドン 57 から 77 番目の第 7 ポケットを構成するアミノ酸が DRB1*0704 と入れ替わった構造を持っていた。現在, この集団における頻度等, さらに詳細な検討を行っている。

M3-3

日本人血友病患者における HIV 感染抵抗性と HLA-B の関連解析

Mwansa Munkanta¹⁾, ○安波道郎²⁾, 照沼 裕³⁾, 高橋めぐみ²⁾, 花房秀次⁴⁾, 三浦琢磨⁵⁾, 池田柊一⁶⁾, 酒井道生⁷⁾, 藤井輝久⁸⁾, 高橋義博⁹⁾, 岡 慎一¹⁰⁾, 松田重三¹¹⁾, 石川正明¹²⁾, 瀧 正志¹³⁾, 高嶋能文¹⁴⁾, 伊藤正彦¹⁾, 三間屋純一¹⁴⁾, 木村彰方²⁾

- 1) 山梨大学大学院医学工学総合研究部
- 2) 東京医科歯科大学難治疾患研究所・大学院疾患生命科学研究所
- 3) 日本バイオセラピー研究所
- 4) 荻窪病院
- 5) 芳賀赤十字病院
- 6) 佐世保市立総合病院
- 7) 産業医科大学医学部
- 8) 広島大学医学部附属病院
- 9) 大館市立総合病院
- 10) 国立感染症研究所・エイズ研究センター
- 11) 帝京大学医学部
- 12) 東北大学医学部
- 13) 聖マリアンナ医科大学医学部
- 14) 静岡こども病院

【目的】 ヒト免疫不全ウイルス (HIV) は、初感染時に一過性のウイルス血症を惹起したのち、主に CD8 陽性 T 細胞応答により宿主末梢血中からほとんど姿を消す。数年を経て再び末梢血中のウイルス量が増し、それに並行して宿主の CD4 陽性 T 細胞数は減少し AIDS を発症するが、長期にわたり血中ウイルス量が低値のまま経過する患者 (長期未発症者・緩徐進行患者: LTNP/NP) が少数ながら存在する。これまでに欧米やアフリカの民族集団での研究から、AIDS にいたる病気の進行の個人差に HLA 多型やその他の遺伝要因の関与が報告されている。我々は、1980 年代半ばに HIV に汚染された血液製剤により感染した日本人血友病患者の長期経過観察コホート研究において 10 年以上の期間にわたって AIDS を発症せずに経過している患者群の宿主抵抗性機構の解明を目的として、HLA 多型の解析を行なった。

【方法】 42 名の LTNP/NP を含む 80 名の長期生存者につき、HLA-B 座位の遺伝子型を決定し、194 名の日本人一般集団を対照群として関連を解析した。

【結果・考察】 欧米、アフリカのコホートにおいて HIV 抵抗性と関連の認められた HLA-B*5701, B*5801 および B27 群アレルは日本人血友病患者群では関連を示さなかったが、HLA-B*1507 陽性者の頻度が有意に高く (6.25% vs. 1.03%, OR = 6.40, P = 0.039), 一方, HLA-B*5401

は頻度が低かった (3.75% vs. 14.95%, OR = 0.22, P = 0.016)。B*5401 は欧米の AIDS 発症感受性との関連が報告されている B55 および B56 とともに B22 抗原エpiteープを共有することから、感染後に比較的早期に進行し長期生存者群で低頻度である可能性がある。

【結論】 日本人血友病患者群で HLA-B アレルと宿主の HIV 抵抗性との関連が示された。

M3-4

高安動脈炎疾患感受性遺伝子 *NFKBIL1* の機能解析

柴田宏樹, ○安波道郎, 大谷仁志, 木村彰方
東京医科歯科大学難治疾患研究所・大学院疾患生命科学研究部

【目的】 *TNFA-MICB* 間の高安動脈炎疾患感受性遺伝子領域に位置する *NFKBIL1* 遺伝子上流域の多型解析法を開発し、それを適用して日本人集団に4箇所のSNPの組合せから成る5種のアリルを同定し、そのうちの一つIKBLp*03が高安動脈炎と関連すること(OR=2.8 Pc=0.0002)を明らかにした。今回、*NFKBIL1* 遺伝子の疾患感受性に果たす役割を知るために、遺伝子上流域多型の機能と遺伝子産物であるIKBLタンパクの機能解析を試みた。

【方法】 *NFKBIL1* 遺伝子上流域の配列を持つルシフェラーゼレポーター遺伝子を作製し、細胞に導入して多型が示す転写への効果を調べた。また、IKBLタンパク発現ベクターを作製して、細胞内局在とIkB様の作用の有無を明らかにした。さらに酵母2ハイブリッド法でタンパク間相互作用する分子を探索し、同定した分子の遺伝子座に連鎖した多型と高安動脈炎との関連を解析した。

【結果・考察】 IKBLp*03は-263Gで特徴付けられるが、この部分のみが-263Aと異なっているIKBLp*01に比べ高い転写活性を示した。GFP標識したIKBLタンパクは、核に集積し、核スペckルに局在した。IKBLタンパクにはIkB様のNFκBの転写活性を調節する機能はなく、それ自体も転写活性化能を有さなかった。また、細胞間基質分子の発現調節に関わることが知られている核タンパクとの相互作用が明らかになり、その核タンパクをコードする遺伝子の近傍に存在するマイクロサテライト多型にも高安動脈炎と関連するアリルが認められた(OR=2.17, P=0.0085)。現在この遺伝子領域の多型解析を進めている。

【結論】 高安動脈炎疾患感受性遺伝子として同定した*NFKBIL1* 遺伝子には機能的な多型が存在し、核に局在する別のタンパクとの相互作用を介して疾患感受性に寄与することが示唆された。

M4-1

母子間のHLAの相異が出産時における母血清中の抗体産生に与える影響について

○河賀泰子¹⁾, 山口恵津子²⁾, 黒田ゆかり²⁾, 吉武国利²⁾, 徳永和夫²⁾, 佐藤博行²⁾, 柏木征三郎²⁾, 丸屋悦子¹⁾, 赤座達也¹⁾, 佐治博夫¹⁾

1) 特定非営利活動法人HLA研究所
2) 福岡県赤十字血液センター

【目的】 HLAハプロタイプは両親から子へそれぞれ遺伝される。子は母由来と父由来のHLAハプロタイプを持ち、母親とは一つのハプロタイプを共有するが、父由来のHLAは母親にHLA抗体を産生させる免疫源となる。母親の子に遺伝していないHLAハプロタイプ(NIMA)と子の父由来HLAハプロタイプ(IPA)との相違が、母親の妊娠・出産による抗体の産生状況にどのような影響を及ぼすかを検討した。

【方法】 355組の母子のHLAは主として血清学的方法でタイピングしたが、一部はDNAを用いて確認検査を行った。抗体の有無は母血清と子臍帯血中のリンパ球(CD8⁺, CD4⁺)を用い、LCT法により判定した。陽性を示した血清に対し、他の臍帯血由来細胞を含むランダムリンパ球80例を用いLCT法を実施し、抗体の特異性を検討した。

【結果】 355本の母血清に対する子リンパ球の反応結果において、微弱な反応も含め陽性と判定した血清は56本(15.8%)であった。しかし母のNIMAがA33-B44の場合母血清中の抗体陽性例は16例中7例(43.8%), B48を含む場合のそれは10例中4例(40.0%)であり、逆にIPAがA33-B44の場合抗体陽性は19例中3例(15.8%), B48の場合は5例中0(0%)と差が見られた。またHLAによっては前述とは逆の結果を示す例もあった。

【考察】 妊娠・出産により母血清中に子のリンパ球に対する抗体が産生されるが、産生の有無については母子間のHLAの違い、すなわち母親のNIMAと子のIPAの相互関係から検討することも興味深いと思われる。今後例数を増やし検討したい。

M4-2

臨床に適した HLA 抗体スクリーニング/同定システムの構築

○ 丸屋悦子¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 丸屋かおり¹⁾, 大沼 豪¹⁾, 赤座達也¹⁾, 松本佳子²⁾, 益尾清恵²⁾, 佐治博夫¹⁾

1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

2) 株式会社ベリタス

【目的】 近年, 造血幹細胞移植領域で, 移植方法の多様化が進み, 臍帯血移植や Haploidentical 移植などの HLA ミスマッチ移植症例が急増し, 急性拒絶または生着不全を経験する機会が増えている。よって液性免疫機序が造血幹細胞移植の予後に与える影響についての研究が急務である。臨床に即応した HLA 抗体検査システムの構築をめざし, 抗体スクリーニングと特異性の同定を, 迅速(1日)におこなうため, Luminex 法を用いた HLA 抗体検査法とソフトウェアを検討した。

【方法】 抗体スクリーニングシステムの概要

1. 1次スクリーニング: HLA 抗体 (class I & class II) の有無を判別
2. 2次スクリーニング: 1次スクリーニングの陽性検体の特異性同定
3. 3次スクリーニング: 同定された特異性につき, その特異性の確定

Luminex (蛍光ビーズ法)を用いた市販の抗体スクリーニングキット (LABScreen Mixed), 抗体特異性同定用キット (LABScreen PRA) について, 健常人 104 家系の検体を用いて検討した。

1. 夫・妻・ベビーの HLA-A, B, DR を判定し, 妊娠で免疫原となりうる HLA 抗原 (IPA: inherited paternal antigens) を特定した。
2. 夫・妻の妊娠後の各血清 (n = 395) について, 2 種のキットを用いテストをした。
3. 結果の解析は, negative beads と positive beads の比が 10 倍以上の場合解析へ進み, 10 倍以下の場合非特異反応とし adsorbed out (市販)やろ過による再精製を試みた。LABScreen Mixed はキット付属のソフトを用いた場合, 約 6 割が陽性と判定された。陽性検体中に男性検体が 2 割含まれたため, cut off 値を男性検体 (94 例)を用いて検討し再設定した。特異性解析ソフトは開発中(赤座)のものを使用した。

【結果・考察】 LABScreen Mixed と同 PRA による抗体スクリーニング結果の比較

HLA class I 抗体				HLA class II 抗体			
n=395	MIX		P	n=395	MIX		P
	+	-			+	-	
PRA	+	50	7	PRA	+	20	3
	-	3	341		-	10	362
<0.001				<0.001			

- ◆ LABScreen Mixed による抗体検出は PRA の結果と良好な相関を示すが, 偽陰性があった。キット指定の判定法でも回避できなかった。今後の問題点である。
- ◆ LABScreen PRA により母血清中に免疫原である子抗原の同定ができた。
- ◆ 非特異反応は全血清中の 7% (n = 28) に検出された。Adsorbed out 処理により 93% の非特異反応が除去できた。非特異反応が除去できない検体については検討中である。

M4-3

HLA 抗体検出における FlowPRA Screening および HLA 抗体同定における LAB-Screen Single antigen の評価

○ 島野佳恵, 藤原孝記, 関根みゆき, 菅原直子, 田中秀則, 佐竹正博, 中島一格
東京都赤十字血液センター

近年, 従来の LCT 法に代わり精製した HLA 抗原を用いる検査法が主流になりつつあり, 我々も 1998 年より日常検査において従来法に加え, FlowPRA Screening (One Lambda: 以下 FlowPRA) を実施している。FlowPRA は, 陽性領域の設定やアーティファクトなど客観的判定が困難な検体があるため, 今回 LABScreen Single antigen (One Lambda: 以下 LABSA) による再解析を実施した。

【方法】 FlowPRA にて弱陽性あるいは疑陽性と判定された 64 検体を使用した。また, 特異性既知の HLA 抗血清を用いることにより検出感度および特異性について確認を行った。方法として FlowPRA Specific, LABScreen Mixed, LABScreen PRA, LABSA を用いて追加検査を行った。HLA 抗体検出の評価は, FlowPRA の結果と他法の結果を比較し, 2 法以上で陽性かつ一部の特異性が一致した場合を陽性と判定した。また, HLA 抗体同定の評価は LABSA の特異性とその他の方法により総合的に判定した特異性を比較した。

【結果および考察】 64 例中 22 例が抗体陰性と判定され, FlowPRA での非特異的な反応が示唆された。これらは FlowPRA のヒストグラムが 1 ピークであった。また, LABScreen Mixed において 7 例に偽陰性が認められた。LABSA の検出感度は, AHG-LCT 法と比較した結果, 希釈倍率で 4~64 倍となり, FlowPRA と同程度の検出感度が得られた。また, 特異性同定能力は, 単一抗原を使用していることもあり, 明確な特異性が解析された。しかし, 一部のピーズにおいて非特異的な反応を示すものがあった。FlowPRA, LABSA は有用な方法であるが判定が困難な場合, 複数の方法を用いて総合的に結果を判断する必要があると思われる。

M4-4

精製抗原を用いた HLA 抗体同定法と LCT, AHG-LCT 法との比較検討

○ 橋本志歩¹⁾, 中島文明¹⁾, 中村淳子²⁾, 渡辺嘉久¹⁾, 鎌田裕美¹⁾, 松田利夫¹⁾, 赤座達也³⁾, 岡崎 仁¹⁾, 十字猛夫¹⁾

1) 日本赤十字社中央血液研究所

2) 神奈川県赤十字血液センター

3) HLA 研究所

【目的】 精製抗原を用いた検査法は簡便でかつ高感度という点で, HLA 抗体の検査法として広まりつつある。従来行われてきた検査法である LCT 法との相関は明らかではないため, 精製抗原を用いた検査試薬として LABScreen (LABScreen PRA, Single Antigen) を使用し, LCT 法 (AHG-LCT 含) と比較検討を行った。

【方法】 LCT 法により HLA 抗体特異性が既知の血清 30 本 (献血者由来 28 検体, PC 輸血患者 2 検体; ClassI 陽性 26 検体, ClassII 陽性 11 検体) に対し LABScreen の検査を実施し, LABScreen により HLA 抗体特異性が既知の血清 11 本 (献血者由来 9 検体, RC-MAP 輸血患者 2 検体; ClassI 陽性 8 検体, ClassII 陽性 6 検体) に対し LCT 法の検査を実施し, それぞれの結果を比較した。LABScreen は IgG, IgM 抗体について同定をした。

【結果】 LCT 法 ClassI 抗体陽性の 26 検体中, LABScreen で IgG(-) IgM(+) が 5 検体。ClassII 抗体陽性の 11 検体全てが LABScreenIgG(+) で, その内 IgM(+) は 5 検体。一方, LABScreen ClassI 抗体陽性の 8 検体中 LCT 法 (+) が 4 検体。LABScreen ClassII 抗体陽性の 6 検体においては LCT 法で抗体を検出できなかった。LABScreen では ClassI, II とも LCT 法と同様の抗体のほかにも多くの特異性を同定できた。しかし, LCT 法と LABScreen で特異性が異なっていたものが 4 検体あり, また, HLA-C,DQ はその反応パターンから抗体特異性を見落とす場合があった。

【考察】 今回の検討から, LABScreen の感度が高いことを再認識した。しかし, ピーズの種類が十分でないため特異性が明らかにできない場合や, また IgM クラスの抗体の検出, LABScreen を用いた抗体の検出頻度など, 新たな課題が出てきた。

M5-1

HLA-Class II 抗体を認めたが DRB1 不適合の息子をドナーとして末梢血幹細胞移植で生着を得た 1 例

○ 玉木茂久¹⁾, 海野 啓¹⁾, 水谷 実¹⁾, 辻 幸太¹⁾, 岩崎 香織²⁾, 今井重美²⁾, 丸屋悦子³⁾, 佐治博夫³⁾

1) 山田赤十字病院内科

2) 三重県赤十字血液センター

3) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

【緒言】 近年, HLA 抗体が造血細胞移植に及ぼす影響について注目されている。臍帯血移植では, ドナー不適合抗原に対する抗体が拒絶に関与するとの指摘もある。

【症例】 51 歳女性。骨髓異形成症候群 (MDS; RAEB)。検診で汎血球減少症を指摘され, 平成 16 年 10 月 1 日外来受診。骨髓穿刺検査にて低形成性 MDS と診断され入院。WBC1100/ μl (Neu. 14.9%, Ly. 81.8%, Blast. 2%), Hb 7.7 g/dl, Plt $2.7 \times 10^4/\mu\text{l}$ 。骨髓有核細胞数 $1.1 \times 10^4/\mu\text{l}$, 巨核球数 0/ μl , 染色体異常あり。化学療法を実施したが非寛解で輸血依存となり, 血縁ドナーでの造血細胞移植を検討した。患者には, HLA 一致同胞と HLA-DR 一座不適合(他のアリル一致)の息子がおり, まず息子をドナー候補としたが, 移植前検査にて広域な HLA-Class II 抗体があり, ドナーを HLA 一致の弟へ変更した。平成 17 年 3 月 8 日, Flu/BU の前処置で同種骨髓移植を実施。採取有核細胞 1.38×10^8 cells/kg, 骨髓濃縮回収率 27.4%, GVHD 予防は CyA + miniMTX。Day + 24 の末血性染色体 (FISH 法) でドナー核型 6/500, Day + 35 に造血回復認めず生着不全と診断。HLA-DR 不適合の息子を再移植ドナーとし 4 月 20 日, Flu/Mel の前処置で同種末梢血幹細胞移植を実施。移植細胞数 9.49×10^6 CD34 + cells/kg で, GVHD 予防は CyA + miniMTX。Day + 28 に骨髓穿刺検査で生着と完全寛解を確認した。

【考察】 HLA 抗体の存在は, HLA 不適合移植におけるドナー選択で注意を要する。しかし拒絶頻度に関して明らかな知見は未だなく, 全国規模で HLA 抗体保有患者への移植症例の集積が必要である。今回は, 移植前後の血清において抗体強度の推移も検討を加え発表する。

M5-2

化学療法と random-PC 輸注の併用により抗 HLA 抗体が著減した AML-M7 症例

○ 佐藤 壯

医) 北楡会 札幌北楡病院・臨床検査科

症例は 47 歳, 男性。貧血と血小板減少から当院紹介入院。骨髓検査の結果, 芽球を認めず, 染色体異常もないことから, 再生不良性貧血を疑い, 血小板輸血による補充療法と CsA 投与を開始。その後血小板輸血不応性となり, 日赤検査で抗血小板抗体陽性, 本来は HLA-PC の適応となるが HLA-PC ドナーを確保できないため random-PC 輸血を継続した。血小板数低値の遷延から, mPSL, ATG, G-CSF で治療したところ, 血球は回復したが, 骨髓に芽球が 20% 出現, 染色体検査で t(1,22) が認められ, AML-M7 と診断, Ida + Ara-C による化学療法を行った。治療開始後血小板数 1 万未満が続き, 連日血小板輸血を行い, 初回治療で完全寛解となった。寛解後, Flow PRA 法による抗 HLA 抗体検査の結果, 抗体の減少が認められた。その後 2 回の地固め療法でも, 数回の血小板輸血で速やかに血小板の回復が認められ, 抗 HLA 抗体もほぼ消失した。

【考察】 血小板減少に対しては, 血小板輸注が治療の第一選択であるが, 時に抗血小板抗体を産生し, 血小板輸血不応性となる場合がある。抗血小板抗体はその大半が抗 HLA 抗体で, 一度産生された抗体は持続し, 通常は HLA-PC の適応となる。また, 抗 HLA 抗体陽性のため HLA-PC の供給を受けている患者は, 化学療法, 自家移植を受けても抗体は持続している。ただ, この患者の場合, 治療中連日の random-PC 輸血による抗原刺激で活性化した memory B cell が, 抗体産生細胞に分化する過程で, 抗腫瘍剤の核酸合成阻害により排除された可能性が示唆された。

患者は現在, 4 回目の地固め療法中で, 6 月に HLA-DR one locus mismatch の非血縁 donor から骨髓移植を行うことが決定した。今後は, 無事移植が行われるように, 抗 HLA 抗体の再産生がないことを注意深くモニタリングしていく予定である。

M5-3

Correlation between disparity for microsatellites markers and clinical outcome after unrelated HLA identical hematopoietic stem cell transplantation (HSCT)

○ Suyun. Li¹⁾, M. Onizuka¹⁾, T. Kikuchi²⁾, M. Ota³⁾, Y. Morishima⁴⁾, A. Ando¹⁾, H. Inoko¹⁾

- 1) Department of Molecular Life Science, Tokai University School of Medicine, Kanagawa, Japan
- 2) Department of Pathology, Sapporo Medical University
- 3) Department of Legal Medicine, Shinshu University Graduate School of Medicine, Nagano, Japan
- 4) Department of Hematology and Cell Therapy, Aichi Cancer Center, Nagoya, Japan

Purpose: GVHD remains a major issue following an HSCT because of minor histocompatibility antigen (mHag) incompatibilities. Our previous study using 13 microsatellites within the HLA region but away from the HLA classical loci showed no statistically significant associations between the mismatches in the donor recipient pairs with clinical outcome. To date, a number of gene homologues to HLA class I genes have been found outside the HLA, although unlike HLA almost no functional analysis of these polymorphisms has been carried out. Our current study is aimed at identifying functional genetic variation in HLA class I related genes in donors and recipients, and to determine if these genomic differences contribute to GVHD and non-relapse mortality after HSCT. The goal is to identify antigens that can be targeted to prevent GVHD.

Methods and materials: We studied about 30 microsatellites polymorphisms in the HLA-related gene families (chr6q25 REAT1, chr7q22.1 AZGP1, chr1q21-25 CD1, chr19q13.3FCGRT and chr20q11.2 EPCR) of 180 donor-recipient pairs and correlated the disparity with the clinical outcome after HLA-matched UR-HSCT.

Results: Very low percentages 8%–50% of allele matching were obtained for 30 microsatellites loci in those chromosomes. Among these, the microsatellites 174H04 disparity (in the cluster of the REAT1) is associated with adverse clinical outcomes such as acute GVHD and survival. Mismatching at the microsatellite loci, 697E08 and 176G04 revealed a possible trend with significance levels, 0.067 and 0.079 in the chronic GVHD, which could be analyzed in future using a greater statistical power.

Conclusions: These results highlight the potential importance of HLA class I related gene polymorphisms in HSCT, and indicate that microsatellite typing may be useful to identify individuals at the highest risk of complications and new targets for therapeutic intervention.

M6-1 抗 HLA 抗体と移植腎拒絶反応との関連に ついての経時的検討—第 1 報—

○ 難波行臣¹⁾, 佐田正晴²⁾, 永谷憲歳²⁾, 京 昌弘³⁾, 今村 亮一¹⁾, 市丸直嗣¹⁾, 丸屋悦子⁴⁾, 赤座達也⁴⁾, 佐治博夫⁴⁾, 奥山明彦¹⁾, 高原史郎⁵⁾

- 1) 大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学(泌尿器科)
- 2) 国立循環器病センター 再生医療部
- 3) 桜橋循環器クリニック
- 4) NPO 京都 HLA 研究所
- 5) 大阪大学大学院医学系研究科 先端移植基盤医療学

【目的】 近年, 急性期および慢性期の移植腎機能低下の原因として抗ドナー抗体の存在が注目されている。また, 慢性拒絶反応による移植腎機能喪失に先駆け抗 HLA 抗体が血中に認められることが報告されている。しかし, どのような状況下に抗 HLA 抗体が認められるかは不明である。今回我々は, 術前より定期的にレシピエントの抗体測定を施行し, 移植腎生検の組織学的診断との比較を行い抗 HLA 抗体と拒絶反応との関連性を検討したので報告する。

【対象】 2003 年から 2004 年に当科にて生体腎移植を受け定期的に移植腎生検および抗 HLA 抗体を検査した 16 例を対象とした。

【方法】 LABScreen Mixed を用いた Luminex 法により移植後血清 229 検体の HLA class I/II 抗体の有無を測定した。移植腎生検組織は抗 C4d 抗体による免疫染色を施行し, Banff 97 分類改訂版に準じ生検組織の病理組織学的評価を行った。

【結果】 16 例中 4 例に抗 HLA 抗体の出現を認めた。この 4 例中の 1 例に液性拒絶反応を認めるも, 他の 3 例には拒絶反応は認めなかった。(表 1)

【考察】 液性拒絶反応と抗 HLA 抗体(抗ドナー抗体)の関係は, 従来報告されているものと同様であった。抗 HLA 抗体の変化と細胞性拒絶反応との関連性は認められなかったが, 観察期間が術後 28 日と短期間であるため, 長期間の観察が必要と思われる。

表 1

	細胞性 拒絶反応	液性 拒絶反応	拒絶反応 (-)
抗HLA抗体 (+) n=4	0	1	3
抗HLA抗体 (-) n=12	2	0	10

M6-2 腎移植患者における抗 HLA 抗体の変動解 析

○ 松井由紀子¹⁾, 吉田一成²⁾, 竹内康雄³⁾, 大久保みどり⁴⁾, 遠藤忠雄⁵⁾, 馬場志郎²⁾, 小幡文弥¹⁾

- 1) 北里大学・医療衛生学部・免疫学
- 2) 同・医学部・泌尿器科学
- 3) 同・腎臓内科
- 4) 同・医学部・免疫学
- 5) 武蔵村山病院

【目的】 腎移植患者における抗 HLA 抗体の種類(抗 class I, 抗 class II, IgG, IgM) が 1 年間にどのように変動したのかを解析した。

【対象・方法】 腎移植患者 22 例から, 1 年間の間隔を置いて血清を採取し, 抗 HLA class I および class II 抗体を Flow PRA 法により検出した。2 次抗体としては FITC 標識ヤギ抗ヒト IgG 抗体または抗ヒト IgM 抗体を用いた。

【結果】 22 例の患者のうち 5 例は, 1 年前と後でどの抗 HLA 抗体も全く検出されなかった。一方, IgG 抗体が 1 年前後とも陽性であったのは 9 例であった。そのうち 2 例は再移植患者であり, いずれも術前から抗体陽性であった。これら 9 例の患者では 1 年前後で IgG 抗体の種類(抗 class I-1 例, 抗 class II-7 例, 抗 class I+class II-1 例)は変わらず保たれていた。ただし IgM 抗体については 3 例で抗 class I 抗体が陽性から陰性に転じた。IgG 抗体が陽性から陰性に転じた例はなかった。IgG 抗体, IgM 抗体が陰性から陽性に転じた例はそれぞれ 1 例ずつ検出された。血清クレアチニン値については, IgG 抗体が陽転した 1 例では増悪変化したが, 他の例では抗体陰性・陽性に拘わらず, 低値あるいは高値を維持した。

【結論】 腎移植患者における抗 HLA 抗体の種類(抗 class I, 抗 class II, IgG, IgM) は, 多くの症例で一年間安定していた。抗体が安定している患者では血清クレアチニン値も低値あるいは高値で安定していた。

M6-3

腎移植患者における抗 HLA 抗体 monitoring の意義

○ 佐藤 壯¹⁾, 玉置 透²⁾, 坂田博美²⁾, 堀江 卓²⁾, 久木 田和丘²⁾, 目黒順一²⁾, 米川元樹²⁾, 川村明夫²⁾

1) 医)北楡会 札幌北楡病院・臨床検査科

2) 外科

【目的】 腎移植において、移植前検査や免疫抑制療法の進歩によって超急性拒絶・急性拒絶反応は回避されるようになり、むしろ慢性拒絶をコントロールして移植腎の生着期間をいかに延長させるかが、近年の大きな課題となっている。また、移植腎が拒絶された患者において、移植腎の廃絶前に高率に抗 HLA 抗体が陽性となり、これが慢性拒絶反応の病因に関与しているとの報告もある。当院では従来から移植患者の血漿・血清を定期的に保存してきており、それらの検体を用いて、腎移植患者における抗 HLA 抗体の有無およびその特異性を retrospective に検討したので報告する。

【対象と方法】 対象は、当院における腎移植 52 症例から HLA Identical 症例、再移植症例を除き、移植後 1 年以上経過した 39 症例中、移植前から血清が保存されていた 27 症例。移植後の経過期間は約 11 年から 1 年。抗 HLA 抗体の有無については FlowPRA Screening Test を用い、特異性の同定には Class I および Class II Single Antigen Test (One Lambda) を使用した。

【結果】 27 症例中 11 症例が抗体陽性で、移植前から陽性が 4 例、移植後陽性となったのが 7 例だった。移植前から陽性の 4 例はすべて腎機能に問題なく、抗体もドナー非特異的だった。一方、移植後陽性化した 7 例は全例血清 Cr 値が上昇、2 例が現在抗体除去療法を受けている。4 例はその後さらに腎機能が悪化し透析再導入となり、ドナー特異的抗 HLA 抗体も陽性だった。残り 1 例は、抗体陽性化後も血清 Cr 値は変化なく推移し、無治療で約 5 年が経過している。

【考察】 移植腎の機能低下や廃絶にはドナー特異的抗 HLA 抗体の関与が示唆され、移植前後の定期的な抗 HLA 抗体検査とその特異性の同定が重要であると考えられた。今後は抗 HLA 抗体陽性化後の適切な治療方法確立が望まれる。

M7-1

抗 HLA 抗体陽性患者に生体部分肝移植を施行した一例

○ 小野寺利恵^{1,2)}, 谷広ミサエ^{1,2)}, 平岡朝子^{1,2)}, 栗田絵美^{1,2)}, 水野真美^{1,2)}, 亀谷真由美^{1,2)}, 井上睦美^{1,2)}, 藤井輝久²⁾, 高田 昇²⁾

1) 広島大学病院診療支援部

2) 広島大学病院輸血部

【はじめに】 抗 HLA 抗体陽性患者に生体部分肝移植を施行し、その経過について抗体価の推移と共に観察したので報告する。

【症例】 50 歳代、女性。アルコール性肝硬変(ウイスキー 3 杯/日)。肝移植の適応として、2005 年 2 月 28 日当院第二外科入院。2005 年 3 月 29 日、21 歳長男より生体部分肝移植を予定した。しかし、リンパ球クロスマッチ試験が陽性 (FCM 法にて 1024 倍)であったことから、術前に 3 回の血漿交換を行い抗体価の低下を図った。

【入院中経過】 Luminex による HLA タイピングはレシピエント A*0201, A*0206, B*3501, B*5201, Cw*0303, Cw*1202, DR04, DR09, ドナー A*0201, A*0206, B*0702, B*5201, Cw*0702, Cw*1202, DR01, DR09 であった。リンパ球クロスマッチ (AHG-LCT, 及び FCM 法)は陽性。DTT 処理した血清でもリンパ球クロスマッチは陽性であった。MPHA 法 (OLYMPUS 社)陽性、クロロキン処理にて陰性化した。抗 HLA 抗体の抗体価は FCM 法にて測定し、3 回の血漿交換後には 1024 倍から 128 倍まで低下し、移植直後から 3 日間は陰性化した。術後 7 日目および 8 日目に 32 倍まで上昇したが、その後徐々に低下していった。術後経過は順調であり、非常に早い肝機能の改善を認め、危惧された拒絶反応も認められなかった。4 月 20 日の biopsy にても拒絶反応を認めなかったため、4 月 26 日当院を軽快退院した。

【考察】 抗体価の測定には AHG-LCT より FCM 法の方が客観的に評価できるため有用であると思われた。また、感度も FCM 法の方が同一希釈検体に比べ、2² 倍高かった。これまで、クロスマッチ陽性例における生体部分肝移植の成功率は陰性例と比べて有意差はないとの報告もあり、今回も予定通り手術を施行した。入院中は全く拒絶反応を示唆する所見はなく非常に良好な経過を得たが、今後も厳重な観察が必要と思われた。

M7-2

心臓移植における抗 HLA 抗体スクリーニング検査の有用性

○ 山本 賢¹⁾, 河合 健¹⁾, 佐野隆宏¹⁾, 佐藤 清¹⁾, 佐田 正晴²⁾, 永谷憲歳²⁾, 植田初江³⁾, 花谷彰久⁴⁾, 中谷武嗣⁴⁾, 北村惣一郎⁵⁾

- 1) 国立循環器病センター 臨床検査部
- 2) 同 再生医療部
- 3) 同 病理検査室
- 4) 同 臓器移植部
- 5) 同 心臓血管外科

【目的】 心臓移植の1年生着率は80%前後で、術後1年以内の主な死亡原因は急性拒絶反応と感染症である。このため移植後の拒絶反応に対するモニタリングは非常に重要となる。当センターでは Flow PRA (以下 PRA) を用いたレシピエント血清中の抗 HLA 抗体の推移を治療の指標の1つにしている。そこで今回、PRA 陽性率、心筋バイオプシー、免疫抑制剤血中トラフ値の推移について検討したので報告する。

【対象および方法】 当センターにおいて心臓移植を施行した13例(男性:11例, 女性:2例)を対象とした。PRA 測定はフローサイトメータによる Flow PRAI&II Screening Test (Flow PRA: One Lambda) を用い、分析機器は FACS Calibur、測定解析ソフトは Cell Quest を使用した。シクロスポリンおよびタクロリムス血中トラフ値はそれぞれ TDxFLx, IMx (アボットジャパン) で測定した。また心筋バイオプシーは ISHLT の診断基準に従った。

【結果】 移植前に PRA 陽性が3例、移植後 PRA の陽転化がそれぞれ5例、残りの5例は陰性のまま推移した。移植前の Direct Crossmatch は全て陰性であった。PRA が陽性ないし上昇傾向を示した場合には、免疫抑制剤投与量の調整を行った。心筋バイオプシーでは4症例において3A が認められたが、PRA の変化とは相関しなかった。また液性拒絶反応は認めなかった。

【考察・結語】 移植前後に PRA を測定することで各患者の液性免疫能を評価することができる。そのため、心筋バイオプシー検査やその他の検査を評価する上で重要な指標であり、適正な免疫抑制療法を進める上で有用である。

M7-3

心臓移植において有用であった抗原結合トレイを用いた PRA 検査

○ 酒巻建夫¹⁾, 飯田好江¹⁾, 野田 岳¹⁾, 山崎正明¹⁾, 福寛 教偉²⁾

- 1) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室
- 2) 大阪大学大学院医学研究科・臓器制御外科学

【目的および方法】 高度に HLA 抗原で感作された心臓移植希望者の減感作の評価および移植後の液性拒絶指標を目的に既存抗体 (PRA) 検査を HLA 抗原結合トレイ (LAT1240) を用いて行った。

【経過および結果】 対象の患者は長期間の療養生活中に頻回に輸血、血液製剤の使用を受け、初回登録時点で IgG クラスの抗 HLA 抗体がクラス I および II 抗原に対しほぼ60%のパネルと反応した。経過を追うと徐々に低下する傾向が認められたが、このままでは提供の機会があってもクロスマッチが陽性になるおそれがあるので、減感作(シクロフォスファミドの静注とグロブリン製剤)を実施した。これにより PRA が14%程度まで低下した。1年半後、心臓移植を実施した。術後、ほぼ1週間後から液性抗体による拒絶反応が惹起され、既存抗体の著明な上昇(40パネルに対してすべて陽性と通常の4倍希釈と、16倍希釈でも陽性)が認められた。術後8日目から2回の血漿交換を実施するも著効認めず、さらに2回の血漿交換と減感作を実施した。その後、術後20日目あたりから PRA 抗体も横ばいから低下傾向が認められるようになり、ドナーと同一の DR 抗原に対する反応性が陰性化するようになった。それに伴い臨床症状も安定に向かった。術後3ヶ月ではベッドから離れられるようになったが、その後喉頭クループのため、窒息をきたし、誤嚥性肺炎を併発し帰らぬ人となった。

【まとめ】 移植希望患者の PRA 検査には LAT トレイはよい方法である。移植後の液性抗体の上昇を検査するためにも利用価値がある。ドナーリンパ球を保存し頻回にドナー特異抗体を検査するとなると、保存した細胞数量から自ずと限界がある。LAT トレイではパネルでの評価ができるが、必ずしもドナーと全く同一の組み合わせや単独抗原が結合されているわけではないので、明瞭な結論が出にくい側面がある。しかし血清を希釈することにより、全体的な既存抗体保有状況とドナーと共通抗原に対する抗体が、上昇傾向か下降傾向かの判断ができるので有効な検査法の一つとなると考えられる。

M8-1

ニワトリ第 16 番染色体のゲノム配列決定による MHC 領域のゲノム解析

○ 椎名 隆¹⁾, 細道一善¹⁾, Ronald Goto²⁾, 柳谷和代¹⁾, 猪子英俊¹⁾, Marcia M Miller²⁾

1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

2) ベックマン研究所分子生物学

【目的】 ニワトリの MHC 領域は第 16 番染色体に位置し, 最多 145 個の rRNA を含む NOR を挟んで, 一方では古典的 MHC (B) 領域が, 他方では非古典的 MHC (Y) 領域が位置する。B 領域のゲノム配列 92 kb は既に決定されているが, この領域の近傍や Y 領域におけるゲノム構造は不明である。もし MHC 領域の全体像が明らかにされれば, マレック病やラウス肉腫などの疾病解析や比較ゲノム解析を飛躍的に加速させると考えられた。そこで本研究では, ニワトリの B ならびに Y 領域のゲノム配列を決定し, 詳細なゲノム解析ならびに他の生物種との比較解析を目的とした。

【材料および方法】 BAC ライブラリーには, ニワトリの祖先であるセキショクヤケイ TAM31~33, CHORI261 BAC ライブラリーを用いた。スクリーニングには, MHC-I, CD1, BAC 末端配列をプローブとした。ゲノム配列はショットガン法により決定した。

【結果および考察】 B 領域のほぼ全長を網羅する 242 kb のゲノム配列を決定した結果, 48 個の遺伝子が同定された。これらのうち, 23 個は HLA 領域に位置する遺伝子の直系あるいは側系遺伝子であった。特に 2 個の CD1 遺伝子は古典的 MHC-I と約 50 kb の極めて隣接した位置に同定されたことから, CD1 の起源は鳥類の可能性がある。一方, Y 領域において 359 kb のゲノム配列を決定した結果, 19 個の非古典的 MHC-I, 5 個の MHC-II B, 19 個の C 型レクチン様遺伝子の合計 43 個の遺伝子が同定された。ところが, B 領域に位置する TAP1, TAP2, RING3 などの生物種間にてよく保存されている遺伝子のホモログがこれまでに認められないことから, Y 領域は MHC-I, MHC-II B, C 型レクチン様遺伝子を基本ユニットとした度重なる重複により形成されたと考えられた。

M8-2

ニワトリ MHC 領域に見い出されたヒッチハイキング領域の多様性解析

○ 細道一善¹⁾, 椎名 隆¹⁾, Ronald Goto²⁾, 柳谷和代¹⁾, 西堀正英³⁾, Marcia M Miller²⁾, 猪子英俊¹⁾

1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

2) ベックマン研究所分子生物学

3) 広島大学大学院生物圏科学研究科

【目的】 ニワトリ MHC (B) 領域はそのハプロタイプとマレック病およびラウス肉腫など様々な疾病の抗病性と関連することが報告されている。本研究ではそれらの疾病の中で家畜衛生上最も重要なマレック病に抵抗性を示す B21 ハプロタイプの B 領域の塩基配列を決定し, 他のハプロタイプと比較することにより B 領域に存在する疾病の遺伝的要因を探ること, ヒトを含めた生物種間における疾患の遺伝的感受性多型形成の相違を明確にすることを目的とした。

【方法】 B 領域の塩基配列は BAC クローンのショットガン法により決定した。また, 7 種類の B ハプロタイプがそれぞれホモ接合体のゲノム DNA を鋳型として, TAP1, TAP2 および DMB2 の 3 遺伝子それぞれのプロモーター領域から 5' UTR 領域を PCR 増幅, 塩基配列を決定し, これらを比較した。

【結果および考察】 B21 と既報の B12 の塩基配列, 約 75 kb について比較したところ, クラス I 遺伝子である BF1 および BF2 の近傍領域における SNP% および Indel% が他に比べて高い傾向が認められた。さらに, この領域に含まれる TAP1, TAP2 および DMB2 の 3 つの遺伝子の塩基配列を 7 種類のハプロタイプについて比較したところ, TAP2 および DMB2 はそれぞれ 2 ヶ所のイントロンに 10~99 塩基の長い Indel を含んでいた。一方, TAP1 のイントロンに含まれる Indel は 1~7 塩基と短いものであったが, エキソン 11 に 14 塩基の Indel が存在した。この Indel とフレームシフトによる終始コドンから, 対立遺伝子間でアミノ酸配列が大きく異なった。ヒトでは HLA-A ならびに HLA-B/C 遺伝子を中心とする約 300 kb の SNP% がヒッチハイキング効果により高くなっており, これらの領域に複数の疾患感受性遺伝子が集約されることが報告されている。本研究からクラス I 遺伝子によるヒッチハイキング効果が鳥類においても認められたことから, ヒッチハイキング効果がヒトと同様に疾患感受性遺伝子多型の誕生に関与したと考えられた。

M8-3

ペンギン類の MHC クラス II 領域 DRB 様遺伝子の多型解析

○ 吉川枝里¹⁾, 津田とみ^{1,2)}, 成瀬妙子³⁾, 炭山大輔¹⁾, 福田道雄⁴⁾, 栗田正徳⁵⁾, 津田道雄¹⁾, 村田浩一⁶⁾, 猪子英俊¹⁾

- 1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学
- 2) 徳島文理大学人間生活学部
- 3) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野
- 4) 東京都葛西臨海水族園
- 5) 名古屋港水族館
- 6) 日本大学生物資源科学部

【目的】 1億4000万年前から6500万年前の白亜紀に出現したと考えられているペンギン類は、絶滅危惧種を含め現在6属17種に分類されている。ペンギン類の起源については、現在でも謎が多いが、形態学的研究などから、ウミガラスなどの飛翔性と潜水性をあわせもつ小型の海鳥類から進化したと考えられている。また、ペンギン類の分類に関しては、現在形態学的分類のみで、未だ議論的になっているため、遺伝子レベルでの系統分類が期待されている。しかし、分子生物学の分野においての研究報告は少なく、ペンギン類のMHCに関する報告は我々以外にはない。また、ペンギン類の生息地が、南極から赤道直下の島々と広範囲であるため、MHC領域の超可変領域に、それぞれの種に特異的な配列が見つかる可能性を考え、ペンギン類の分類や個体識別などへの応用を視野に入れ、ペンギン類のMHCの多型解析を行ってきた。

これまでに我々は、フンボルトペンギンのDRB1様遺伝子第2から第3エクソンの807bpの塩基配列を決定し報告した。その報告では以前決定した第2エクソン内198bpのペンギン類数種の塩基配列と比較することで、それぞれの種に特有な多型を見出すことができた。このことから、まだ解析を行っていない他の属及び種においても、塩基配列を決定し比較解析を行うことで、特有な特徴が検出できる可能性が高い、と期待される。

【結果】 今回新たに、絶滅危惧種であるキガシラペンギン4検体について、第2エクソンからイントロンを含めた第3エクソンの塩基配列を決定し、フンボルトペンギンの塩基配列と比較した結果、第2エクソンに5箇所、第3エクソンに3箇所、そして第2イントロンに6箇所のキガシラペンギンに特有と思われる多型と9bpの欠失が認められた。また、ペンギン類の中では最も原始的な種で、フンボルトペンギンに近縁であると考えられているコガタペンギンについても、現在塩基配列を決定しているので、報告する予定である。

M9-1

ブタ MHC 領域内のマイクロサテライトマーカーを用いた SLA ホモ接合体サンプルの多型性解析

○ 安藤麻子¹⁾, 上西博英²⁾, 河田寿子³⁾, 田中麻衣子⁴⁾, 重成敦子¹⁾, Christine Renard⁵⁾, Patrick Chardon⁵⁾, 猪子英俊¹⁾

- 1) 東海大・医・基礎医学系・分子生命科学
- 2) 農業生物資源研・家畜ゲノム研究チーム
- 3) 東海大・伊勢原研究推進部・教育・研究支援センター
- 4) STAFF 研・研究第2部
- 5) LREG INRA CEA Jouy en Josas, France

【目的】 我々は同種、異種移植の際の免疫応答におけるブタMHC (SLA) 抗原の関与、並びにSLAタイプと相関を示す疾患やSLA領域周辺に連鎖を示す経済形質の解析を進めるために、SLA領域のゲノム解析と多型性解析を行っている。本研究では、最近配列解析が完了した2.4MbのSLA全領域の塩基配列情報に基づいて、高密度に設定したマイクロサテライト (MS) マーカーを用い、種々の系統のSLAホモ接合体ブタサンプルを中心にその多型性を解析した。

【方法】 MSマーカーは、SLA領域内に合計42個(クラスI領域及びその拡張領域に20個、クラスIII領域に12個、クラスII領域に10個)を設定した。これらのマーカーを用いて、血清学的タイピングにより、SLAハプロタイプが解析されている12種(H01~H38)のSLAホモまたは、ヘテロ接合体であるブタDNAサンプル20種について、ABI3730自動シーケンサーにより、多型解析を行った。

【結果と考察】 MSマーカー42個中、18個を用いた多型解析の結果、H01~H38の各ハプロタイプにより、特徴的なMS多型パターンが認められた。これらのサンプルの中で、H03, H04, H10, H24のSLAホモ接合体サンプルでは、2.4MbのSLA全領域にわたる大きな一つのハプロタイプブロックが見いだされたが、一部亜型も見られた。一方、H01, H10のSLAホモ接合体サンプルについては、1.75MbのクラスI, III領域とクラスII領域の二つのハプロタイプブロックが見いだされた。現在、さらにマーカー数を増やして、各ハプロタイプブロックの特徴を明らかにするとともに、クラスI, III領域とII領域の二つのハプロタイプブロックが見いだされたサンプルについて、クラスII-III領域間の多型を詳細に解析し、ハプロタイプブロックの境界領域の特定を進めている。

M9-2

ウシ MHC クラス II *DQA* 遺伝子の PCR-SBT 法の開発とそれを用いた牛白血病抵抗性クラス II ハプロタイプの検出

○ 竹嶋伸之輔, 三木晶未, 加堂真由, 佐藤正明, 間 陽子
理研・分子ウイルス

【目的】 牛白血病ウイルス (BLV) は成人 T 細胞白血病の原因ウイルスである HTLV-1 に最も近縁なレトロウイルスで, ウシの悪性 B リンパ腫である地方病性牛白血病を惹起する。BLV はウシに未発症健康, 持続的リンパ球増多症及び白血病発症を誘発するが, 我々はこの個体差が生じる原因の一つがウシ MHC (BoLA) クラス II *DRB3* 遺伝子の多型性にある事を示してきた。本研究では, 新たに *DQA1*, 2 及び 3 のアレルを決定するための PCR-SBT 法を開発し, 白血病発症に関与する *DRB3-DQA1-DQA2-DQA3* ハプロタイプを見いだしたので報告する。

【方法】 *DQA1* 及び 2 exon 2 近傍の intron 配列を決定し, その情報をもとに *DQA1*, 2 及び 3 の全アレルを増幅可能なプライマーを設計して PCR-SBT 法を確立した。

【結果と考察】 BoLA には 5 つの発現 *DQA* 遺伝子が存在する。我々は, 中でも顕著な多型性を示す *DQA1*, 2 及び 3 遺伝子をタイピング可能な PCR-SBT 法を世界に先駆けて確立し, 各 *DQA* 遺伝子のアレル頻度を初めて算出した。次に, BLV 感染健康牛 30 頭および白血病発症牛 23 頭の *DRB3*, *DQA1*, *DQA2*, 及び *DQA3* 遺伝子のタイピングを行い, ハプロタイプを予測し, その頻度を 2 群で比較した。その結果, *DRB3*0701-DQA1*0101-DQA2*22031-DQA3(-)* 及び **14012-*10012-*20021(-)* が健康牛でそれぞれ 10% および 12% であるのに対し発症牛群では各々 0% で, 有意に減少していた ($p=0.035$ $p=0.018$)。そこで, 新たに BLV 感染牛 53 頭の *DRB3*, *DQA1*, 2 及び 3 のタイピングを行い BLV 感染細胞数の割合との相関性を解析した。その結果, *DRB3*0701-DQA1*0101-DQA2*22031-DQA3(-)* 又は **14012-*10012-*20021(-)* を有する個体は, 持たない個体と比較して, BLV 感染細胞数の割合が有意に減少している事が示された ($p=0.001446$)。このことから, 抵抗性クラス II ハプロタイプを有する個体では BLV 感染細胞数が低く抑えられ, その結果白血病発症のリスクが低下し, 牛白血病発症に抵抗性を示す可能性が示唆された。

M9-3

アカゲザル MHC クラス I 領域の多型解析

○ 安波道郎¹⁾, 高橋(田中)弓子¹⁾, 日野原邦彦¹⁾, 俣野哲朗²⁾, 森 一泰³⁾, 本多三男⁴⁾, 保富康宏⁵⁾, 宮澤正顕⁶⁾, 木村彰方¹⁾

- 1) 東京医科歯科大学・難治疾患研究所/大学院疾患生命科学研究所
- 2) 東京大学医学部
- 3) 医薬基盤研究所・霊長類医学研究センター
- 4) 国立感染症研究所・エイズ研究センター
- 5) 三重大学医学部
- 6) 近畿大学医学部

【目的】 アカゲザルはマカク属に分類される旧世界ザルであり, ヒト近縁の実験動物として医学生物学での実用的価値が極めて高い。我々は HLA-A および HLA-B の相同遺伝子であるが, 多コピー化している Mamu-A, Mamu-B 遺伝子の多型解析に Reference strand-mediated conformation analysis (RSCA) 法を応用した方法を開発し, ハプロタイプ型判定に適用した。そこで家系情報の明らかな個体群について Mamu-A, Mamu-B 遺伝子を含む MHC 領域の遺伝子多型を解析することで, アカゲザル MHC ハプロタイプの成り立ちを明らかにすることを試みた。

【方法】 HIV 感染のモデルであるサル免疫不全ウイルス (SIV) 感染実験系に使用されている個体およびその繁殖コロニーの個体に由来する B 細胞株より, mRNA およびゲノム DNA を抽出し, Mamu-A, Mamu-B 遺伝子 cDNA の RSCA とクローン化, MIC 遺伝子座の多型解析, マイクロサテライト多型解析を行なった。

【結果・考察】 RSCA 法により明らかになった実験個体群に頻回に伝播している MHC ハプロタイプを同定した。それらはそれぞれ少なくとも 1-4 種の Mamu-A アレル, 2-6 種の Mamu-B アレルから構成され, その多くが新規の配列を有していた。MIC 遺伝子は, その配列から MIC-1, -2, -3 の 3 群に分類されていたが, MIC-1/3 および MIC-2 の 2 座位からなることが推定された。HLA 領域に存在するマイクロサテライト多型を検出する PCR プライマーについて検討したところ, その約 1/4 はアカゲザルの多型解析に使用可能であった。

【結論】 アカゲザル MHC クラス I 分子は遺伝子多重化による多様性獲得とともに, 個々のアレルの配列においても HLA クラス I 分子と同様の高度の多型を示し, 宿主の感染抵抗性に関与すると考えられた。

M9-4

ヒトおよびチンパンジーの *DRB1* 遺伝子領域における突然変異率の推定

○ 大橋 順¹⁾, 中伊津美¹⁾, 豊田 敦²⁾, 高須美和¹⁾, 徳永 勝士¹⁾, 石田貴文³⁾, 榊 佳之²⁾, 北條浩彦⁴⁾

- 1) 東大・医学部・人類遺伝
- 2) 理研・ゲノム科学総研センター
- 3) 東大・理学部・人類
- 4) 国立精神・神経センター神経研・疾患研究第7部

【目的】 ヒトおよびチンパンジーの *DRB1*0701* 対立遺伝子を含むゲノム領域の配列比較に基づき、各系統での当該領域における突然変異率を推定する。

【方法】 チンパンジーの *Patr-DRB1*0701* 対立遺伝子を完全に含むゲノム領域約 38 kb の配列決定を行う。次に、その領域に相当するヒトの *HLA-DRB1*070101* 対立遺伝子を含むゲノム領域の2配列と *HLA-DRB1*04011* 対立遺伝子を含むゲノム領域の配列をデータベースから取得する。各配列中の各種リピート配列部分をマスクした上で多重アラインメントを行う。アラインメント後に4種類の配列を比較し、*HLA-DRB1*04011* 領域の配列をアウトグループとみなして、*Patr-DRB1*0701* および *HLA-DRB1*070101* を含むそれぞれの配列において、独立に起きたと考えられる塩基置換の個数をカウントした。*Patr-DRB1*0701* と *HLA-DRB1*070101* との分岐年代は種々の分岐年代とほぼ等しい(400万年から740万年前)と仮定して突然変異率を推定した。

【結果】 配列比較できた領域サイズは18806 bpであった。チンパンジーで起きたと推定される突然変異数は128個、ヒトでの推定数は68個であった。これらは、チンパンジーでは $9.2 \times 10^{-10} - 1.7 \times 10^{-9}$ (/塩基/年)、ヒトでは $4.9 \times 10^{-10} - 9.0 \times 10^{-10}$ (/塩基/年)に相当する。推定された突然変異率は、チンパンジーにおいて有意に高かった ($P < 0.001$)。

【考察】 5' 領域、遺伝子中、3' 領域に分けて突然変異率を推定した場合でも推定値に大きな差異はないことから、自然選択の影響に関わらず、チンパンジーの *DRB1* 遺伝子領域における突然変異率はヒトに比べて高いと思われる。ただし、他の *DRB1* 対立遺伝子であっても同様の傾向が観察されるのか、今後検討すべきであろう。

M10-1

帯状疱疹後神経痛の遺伝的素因と免疫学的機構の解析

○ 武田昌子¹⁾, 高崎一朗²⁾, 倉石 泰²⁾, 花岡一雄³⁾, 徳永 勝士⁴⁾, 屋部登志雄⁵⁾

- 1) 東京大学大学院医学系研究科麻酔学
- 2) 富山医科薬科大学薬品作用学
- 3) JR 東京総合病院
- 4) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学
- 5) 東京都赤十字血液センター

【目的】 帯状疱疹後神経痛 (PHN) は難治性の慢性疼痛疾患で、その病態は十分に解明されていない。帯状疱疹から PHN への移行には、加齢、細胞免疫低下、帯状疱疹の重症度などとの関連が報告されているが遺伝的素因との関連については不明であった。帯状疱疹および PHN が潜伏感染した水痘帯状疱疹ウイルスの再活性化により起る疾患であることから HLA 抗原遺伝子群との関連を解析し、HLA ハプロタイプと PHN との有意な関連を本学会において報告した。今回は発症メカニズムの実験的な解析のために PHN に相当する帯状疱疹後痛マウスを用いて MHC との関連と免疫学的機構の関与を検討した。

【方法】 MHC ハプロタイプの異なる2系統 (BALB/c: H2^d と C57BL/6: H2^b) の帯状疱疹後痛の発症率を比較、さらに T 細胞機能を欠失する胸腺欠損マウス (ヌードマウス、系統は BALB/c) を用いて免疫系との関連を調べた。各系統において von Frey 法を用いて疼痛関連反応を評価し、帯状疱疹後痛へ移行したか否かを診断した。さらに、コンジュニックマウス BALB/b (背景遺伝子は BALB/c で、MHC 遺伝子群のみが C57BL/6) を用いて帯状疱疹後痛の発症率を調べた。

【結果】 BALB/c と C57BL/6 の帯状疱疹後痛への発症率を比較したところ有意差が認められ、BALB/c よりも C57BL/6 が帯状疱疹後痛へ移行しやすいことが判明した。さらにコンジュニックマウスではその発症率が C57BL/6 と同様であった。またヌードマウスは疼痛関連反応が認められなかった。

【考察】 帯状疱疹後痛マウスでも、MHC ハプロタイプにより発症率が有意に異なることが判明し、PHN と HLA との関連を支持した。またコンジュニックマウスの結果から帯状疱疹後痛に関与する遺伝子が H2 領域に存在すると考えられ、さらにヌードマウスの結果から T 細胞が疼痛発症に関与する可能性が示唆された。

M10-2

HLA トランスジェニックマウスを用いた癌抗原特異的 CTL 誘導ペプチドの有効性と安全性の証明

○ 小森宏之¹⁾, 中面哲也¹⁾, 松井政則²⁾, 西村泰治¹⁾

1) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学

2) 埼玉医科大学・微生物学教室

【背景と目的】 HSP105 および, Glypican-3 (GPC3) は当教室で同定した腫瘍免疫のターゲットとして理想的な癌特異的抗原である。HSP105 は, ヒトの大腸, 膵臓, 食道, 乳癌, メラノーマなどの多様な癌と正常組織では精巢でのみ高発現を認め, すでに HLA-A24 あるいは A2 拘束性のヒト細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が認識するエピトープペプチドを多数同定した。また Glypican-3 (GPC3) は肝癌およびメラノーマにおいて高発現する癌胎児性抗原であり, 免疫療法に応用可能な HLA-A24 拘束性細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が認識する GPC3 由来のエピトープを同定している。今回ヒトへの臨床応用をめざして, 最も有効かつ自己免疫現象を誘導しない CTL エピトープペプチドを同定するために, HLA-A2 および A24 transgenic mouse (Tgm) を用いて実験を行った。

【方法】 HLA-A2 および A24 結合モチーフを持ち, マウスとヒトで共通のアミノ酸配列を示すペプチドを, HSP105 については HLA-A2 拘束性ペプチド 16 種類と A24 拘束性ペプチド 9 種類を, また GPC3 については HLA-A2 拘束性ペプチド 10 種類を作製した。それぞれのペプチドをパルスした Tgm 骨髄由来樹状細胞を, HLA-A2 あるいは A24 Tgm に 2 回免疫後に脾細胞を回収し, 各ペプチド特異的 CTL の誘導の有無を ELISPOT 法により IFN- γ 産生細胞数を検出して検討した。また, 免疫した Tgm の重要臓器へのリンパ球浸潤を組織学的に検討することにより, 自己免疫現象発生の有無を検討した。

【結果】 HLA-Tgm に自己免疫現象を伴うことなく, HLA-A2 および A24 拘束性抗原特異的 CTL を誘導できる最適のペプチドを同定した。現在これらのエピトープペプチドを用いて, 癌患者の末梢血単核細胞を刺激して CTL を誘導し, 各癌抗原特異的な癌細胞株に対する細胞傷害性を検討中である。

M10-3

HLA-A2 トランスジェニックマウスを用いた SARS 抗原特異的 CTL エピトープの同定

○ Chen Yu-Zhen¹⁾, Gang Liu²⁾, 中面哲也¹⁾, 千住 覚¹⁾,

松井政則³⁾, 西村泰治¹⁾

1) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学

2) 中国協和医科大学・薬物化学研究室

3) 埼玉医科大学・微生物学教室

【背景と目的】 本研究は新興感染症である SARS に関して, 細胞傷害性 (キラー) T 細胞が SARS 感染細胞を認識して, これを傷害することにより排除する際に識別する SARS 抗原と, T 細胞エピトープペプチドを迅速に同定するシステムを構築することを目的とする。このようなシステムを利用して, SARS 抗原に対する T 細胞応答の感染免疫における意義を解明するとともに, ワクチン開発等の予防法および治療法の開発に資する情報を得る。なお日本には SARS 患者がいないので, 我々は HLA-A2 トランスジェニックマウス (Tgm) を用いた in vivo 実験を行ない, その情報を中国人共同研究者に提供して, 中国における 1 患者を対象とした研究を支援するものである。

【方法と結果】 SARS ウイルスの S, M および N 抗原のアミノ酸配列の中から, HLA-A2 (A*0201) 結合モチーフを有するペプチドを, 既存のコンピューターソフトウェアを利用した検索により同定した。これを合成して, TAP-1 欠損 RMA-S 細胞株に, ペプチドを結合する $\alpha 1$ および $\alpha 2$ ドメインがヒト HLA-A2 に由来し, $\alpha 3$ ドメインがマウス CD8 分子と親和性が強いマウス D^b 分子に由来する, キメラ MHC クラス I 分子 (HLA-A2/D^b-HHD) を発現させた細胞を用いて, ペプチドの中から HLA-A2/D^b-HHD 分子に結合するものを同定した。HLA-A2/D^b-HHD を発現する Tgm に, 上記の合成ペプチドをマウス骨髄由来樹状細胞にパルスして腹腔内に投与した後に, 脾臓を摘出して脾細胞より CD8⁺ キラー T 細胞を分離し, これと免疫した合成ペプチドを in vitro で共培養した。その後, ELISPOT 法により IFN- γ を産生するキラー T 細胞を検出することにより, HLA-A2/D^b-HHD によりキラー T 細胞に提示される, SARS 抗原エピトープを複数同定した。

【結論】 以上のように, HLA-A2/D^b-HHD Tgm を利用して, SARS 抗原特異的 CTL エピトープを迅速に同定するシステムを確立した。このようにして得た情報を中国に提供することにより, SARS 患者を対象とした研究を支援できると期待している。

M11-1

MHC クラス II 拘束性自己抗原と TRAIL 遺伝子を共発現する樹状細胞による自己免疫疾患の抑制

○ 平田真哉¹⁾, 松吉秀武¹⁾, 福間大喜¹⁾, 栗崎朱里¹⁾, 下村真菜美¹⁾, 植村靖史²⁾, 西村泰治¹⁾, 千住 覚¹⁾

1) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学

2) 埼玉医科大学・免疫学

【目的】 我々はこれまでにマウス ES 細胞に自己抗原遺伝子と T 細胞抑制性分子の遺伝子を導入し, *in vitro* で DC へ分化させた細胞 (ES-DC) をマウス個体へ投与して, 実験的自己免疫性脳脊髄炎 (EAE) の発症を予防する研究を行ってきた。今回, そのメカニズムについて, 抑制能を有した T 細胞の関与を観察したので報告する。

【方法】 マウス ES 細胞 TT2 (H-2^{kb}) にインバリエント鎖の CLIP 領域をマウス MHC クラス II (I-A^b) 拘束性 Myelin oligodendrocyte glycoprotein (MOG) p35-55 ペプチドに置換した分子をコードする遺伝子 (Ii-MOG) と, T 細胞応答抑制性因子である TRAIL あるいは PD-L1 遺伝子を電気穿孔法にて 2 段階で導入し, *in vitro* で DC に分化誘導させた。この遺伝子改変 ES-DC をマウス (H-2^{kb}) 個体へ先行投与し, その後に MOG ペプチドあるいは Myelin Basic Protein (MBP) p35-47 ペプチドにて EAE 発症を誘導し, 発症抑制効果を検討した。

【結果】 ES-DC 未投与群や Ii-MOG のみを導入した ES-DC 投与群, Ii-MOG + PD-L1 遺伝子発現 ES-DC 投与群に比較して, Ii-MOG + TRAIL 発現 ES-DC 投与群では, MOG 誘導性のみでなく MBP により誘導された EAE の発症も有意に抑制された。さらに Ii-MOG + TRAIL 発現 ES-DC 投与マウスの脾臓 CD4⁺CD25⁺ 制御性 T 細胞を移入したマウスにおいても, MBP や MOG ペプチドにより誘導される EAE 発症が抑制された。また, 抗 CD25 抗体で制御性 T 細胞を除いたマウスでは, TRAIL と MOG を発現する ES-DC による MBP 誘導性 EAE の予防効果が消失した。

【考察】 Ii-MOG + TRAIL 発現 ES-DC により, 制御性 T 細胞を誘導でき, これを利用して実験的自己免疫疾患の予防モデルを確立した。

M11-2

MHC クラス II 結合インバリエント (Ii) 鎖融合ベクターによる腫瘍抗原提示システムの開発

○ 栗崎朱里, 平田真哉, 福間大喜, 下村真菜美, 松吉秀武, 西村泰治, 千住 覚

熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学

【目的】 樹状細胞 (Dendritic cell; DC) は, 免疫応答制御の中心的役割を担っている最も強力な抗原提示細胞である。近年, DC に抗原遺伝子を導入し, DC 自身に抗原を発現させたものを生体内に投与することにより, 抗原特異的な T 細胞を強力に活性化できることが示されている。抗腫瘍免疫の誘導においては, 腫瘍抗原特異的な CD8⁺ キラー T 細胞の活性化に加えて, CD4⁺ ヘルパー T 細胞を活性化させることが, 局所の炎症反応を増強し, さらに, CD8⁺ メモリー細胞の機能を維持, 増強させる上で重要であると考えられている。そこで本研究は, 遺伝子導入により DC に発現させた腫瘍抗原由来のエピトープを DC 上のクラス I とクラス II 分子に共に提示させる目的で, インバリエント (Ii) 鎖と腫瘍抗原との融合蛋白を発現させるベクターを開発し, その効果を検討した。

【方法および結果】 卵白アルブミン抗原 (OVA) のシグナル配列を欠損するタンパク断片 (アミノ酸 241-340) を発現するベクター (pCAG-OVA), および, これを Ii 断片 (アミノ酸 1-80) との融合蛋白として発現するベクター (pCAG-Ii/OVA) を作製し, これらを C57BL/6 (B6) マウス由来の ES 細胞に導入したものを樹状細胞 (ES-DC) へ分化させた (ES-DC-OVA および ES-DC-Ii/OVA)。*in vitro* の実験により, ES-DC-OVA はその MHC クラス I 上のみならず, ES-DC-Ii/OVA はクラス I とクラス II 上に共に OVA 由来のエピトープを提示できることを確認した。ES-DC-OVA あるいは ES-DC-Ii/OVA を B6 マウスに腹腔内投与したところ, いずれの場合にも OVA 特異的な細胞傷害性 T 細胞の誘導が観察された。しかしながら, OVA 遺伝子を発現させたマウスメラノーマ細胞 (B16-OVA) に対する腫瘍拒絶効果を比較したところ, ES-DC-OVA よりも ES-DC-Ii/OVA を用いて免疫を行なった場合の方が, 強い腫瘍拒絶効果の誘導が認められた。

【考察】 以上の結果から, 腫瘍抗原特異的なキラー T 細胞と同時に腫瘍抗原特異的なヘルパー T 細胞を活性化することにより, より強力な抗腫瘍免疫効果が得られることが確認された。近年, ヒトの腫瘍細胞に発現する種々の腫瘍抗原が同定されているが, そのうちのかなりのものは細胞質あるいは核に局在するタンパク質であり, 遺伝子導入

により DC に発現させても、そのエピトープの MHC クラス II 上への提示は期待できない。このような細胞質あるいは核タンパクを CD4⁺ ヘルパー T 細胞に認識させて抗腫瘍免疫を増強するために、今回開発した Ii 鎖融合ベクターが特に有用であると考えられる。

M11-3

MHC を一部共有するアロ ES 細胞由来の樹状細胞を用いた抗原特異的抗腫瘍免疫療法の開発

○ 福間大喜^{1,2)}, 松吉秀武³⁾, 平田真哉¹⁾, 栗崎朱里¹⁾, 吉武義泰²⁾, 篠原正徳²⁾, 西村泰治¹⁾, 千住 覚¹⁾

1) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学

2) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・顎口腔病態学

3) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・頭頸部感覚病態学

【背景と目的】 樹状細胞 (DC) は最も強力な抗原提示細胞であり、DC に腫瘍抗原遺伝子を導入し、抗原を発現させた DC を生体内に投与することにより、腫瘍抗原特異的な T 細胞を強力に活性化できる。我々は ES 細胞に遺伝子導入を行い、これを樹状細胞 (ES-DC) に分化させる独自の遺伝子改変樹状細胞作製法を開発している。この方法にはウイルスベクターを使用することなく、遺伝子導入樹状細胞を大量に作製できるという大きな利点がある。一方で、医療技術としての実用化を考慮すると、使用可能なヒト ES 細胞と患者との間の HLA を始めとする遺伝的背景の差が大きな問題となる。本研究ではマウスモデルを用いて、レシピエントとの間に MHC の一部を共有しモデル腫瘍抗原 (OVA) を発現するアロ ES-DC を投与することにより、腫瘍抗原特異的な T 細胞の活性化による抗腫瘍免疫応答の誘導の可否を検討した。

【方法と結果】 C57BL/6 マウス (H-2^b) に OVA を発現するアロ ES-DC (H-2^{k/b}) を腹腔内投与すると、脾細胞中に共有する H-2K^b に拘束された OVA 抗原特異的な細胞傷害性 T 細胞が誘導されることを Cr 遊離試験により確認した。さらに、この ES-DC を腹腔内投与されたマウスでは、OVA を発現する同系マウス由来の腫瘍細胞の増殖が明らかに抑制され、生存期間も有意に延長した。

【考 察】 MHC を一部共有するアロ ES-DC を投与することにより、腫瘍抗原に特異的な T 細胞を活性化し、抗腫瘍免疫応答を誘導できることが確認された。将来、各民族集団中で遺伝子頻度が高い HLA 対立遺伝子を発現するヒト ES-DC を用いた、抗腫瘍免疫療法の可能性が期待される。

第 14 回日本組織適合性学会・大会の開催に際しまして、
御支援を賜りました企業への謝辞

本大会の開催に際しまして、下記の企業から協賛金の御寄付、あるいは企業展示会への御出展を頂きました。ここに厚く御礼を申し上げます。なお平成 17 年 8 月 12 日までに御支援を賜り、御承諾を頂きました企業についてのみ掲載させて頂きました。(なお、その後に御支援を賜りました企業につきましては、大会ホームページならびに大会期間中の掲示板に、掲載させて頂きまことを御了承ください。)

アステラス製薬 株式会社
アプライドバイオシステムズジャパン 株式会社
アボット ジャパン 株式会社
株式会社 イムノヘルスジャパン
株式会社 エスアールエル
財団法人 化学及血清療法研究所
九動 株式会社
協和発酵工業 株式会社
興和 株式会社
正晃 株式会社
第一製薬 株式会社
中外製薬 株式会社
トーアエイヨー 株式会社
ノバルティスファーマ 株式会社
萬有製薬 株式会社
日立ソフトウェアエンジニアリング 株式会社
株式会社 ベリタス
三菱ウェルファーマ 株式会社
湧永製薬 株式会社

(以上 50 音順)

また、特別講演者 James McCluskey 博士の招聘に際しては、
「第 36 回 (2004 年度) 内藤記念海外学者招へい助成金」
による支援を頂きました。ここに厚く御礼を申し上げます。

認定 HLA 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御案内

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

日 時: 平成 17 年 10 月 2 日(日曜日) 17:30~19:30 (時刻が変更されました!!)
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) 事前に参加費を振込んでおられる方には、受付にて出席確認を済ませてから御入場ください。当日参加も可能ですが、講習会資料の数に限りがありますので御了承ください。
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(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 (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(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 | 福寫 教偉(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方を対象に実施されますが、それ以外の方であっても自由に参加することができます。なおすでにメキりを過ぎておりますが、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」宛に送信してください。なお参加費は平成 17 年 9 月 9 日(金)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。9 月 9 日(金)までに参加費を振込まれた方には、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。また、テキストの印刷部数は事前申込者数に応じて決定され、事前申込者に優先してテキストを配布します。このため当日の申込者が多い場合には、当該者にはテキストを配布できない場合がありますことを、あらかじめ御了承ください。なお講習会資料は、講習会の 1~2 ヶ月後に学会ホームページに掲載される予定です。

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、学会ホームページの「認定制度」関連サイトからダウンロード
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

認定組織適合性指導者認定制度 平成17年度・認定組織適合性指導者講習会の御案内

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

平成17年10月3日、4日に開催されます。第14回日本組織適合性学会大会中の下記の特別講演2題、教育講演1題、およびシンポジウム2題の合計5題のうちから3題以上の聴講をもって、指導者認定あるいは認定更新に必要な講習を受講したものと認めます。なお、会場の入り口付近に準備いたします、受講者記帳名簿へのサインをもって受講証明といたしますので、お忘れなく御記帳ください。

10月3日(月) 第1日目

11時～12時 特別講演(1)

- James McCluskey (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”

14時～ シンポジウム(1) 「臨床免疫学の Cutting Edge」

- 15時30分
- 豊嶋 崇徳(九州大学病院 遺伝子・細胞療法部)
『同種移植と免疫寛容』
 - 滝口 雅文(熊本大学エイズ学研究センター ウイルス制御分野)
『HIV-1の細胞傷害性T細胞からの逃避機構』
 - 河上 裕(慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所 細胞情報研究部門)
『T細胞応答を利用した癌の免疫制御—現状と課題—』

10月4日(火) 第2日目

11時30分～ 特別講演(2) 「ABO, HLA, そして全ゲノム—HLAへの再挑戦—」

- 12時30分
- 笹月 健彦(国立国際医療センター)

13時30分～ 教育講演 「免疫療法としての同種造血幹細胞移植: 現状と問題点」

- 14時15分
- 中尾 眞二(金沢大学大学院医学系研究科 細胞移植学講座)

14時15分～ シンポジウム(2) 「臓器移植と組織適合性の最前線」

- 15時45分
- 村田 誠(名古屋大学医学部附属病院 血液内科)
『造血幹細胞移植とマイナー組織適合性抗原』
 - 池亀 和博(大阪大学大学院医学系研究科 血液腫瘍内科学講座)
『HLA半合致(ハプロアイデンティカル)造血幹細胞移植』
 - 杉谷 篤(九州大学病院 腎疾患治療部 臨床腫瘍外科)
『腎移植, 膵移植における組織適合性検査の意義』

● 総 説 ●

T 細胞エピトープ同定の新戦略 —細胞内寄生性細菌の T 細胞エピトープの同定—

小出 幸夫

国立大学法人 浜松医科大学微生物学

(平成 17 年 6 月 14 日受付)

要約: T 細胞は癌細胞や細胞内寄生病原体に対する生体防御機構として、重要な役割を果たす。すなわち、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) は癌細胞や細胞内寄生病原体のうち、細胞質内に寄生する病原体に対する防御に重要な働きを行い、1 型ヘルパー T (Th1) 細胞は食胞内に寄生する病原体の排除に重要な役割を果たすことが知られている。これら T 細胞のエピトープを同定することは、エピトープ・ワクチンの作製、および特異的 T 細胞のテトラマー法などでの検出に重要である。しかしながら、従来の方法ではペプチド・ライブラリーからエピトープを段階的に絞り込むという多大な労力と費用を要した。ここでは、我々が結核菌の主要防御抗原として同定した MPT51 分子を対象として、ペプチド・ライブラリーからコンピューター・アルゴリズムを使って、一挙に T 細胞エピトープを同定する方法、およびレトロウイルス発現ベクターとコンピューター・アルゴリズムを併用した合成ペプチドを必要としないエピトープ同定法を紹介する。

キーワード: T 細胞エピトープ, コンピューター・アルゴリズム, ペプチド・ライブラリー, レトロウイルス発現ベクター

はじめに

近年、TLR, NOD, RIG-1 など自然免疫系の予想外に複雑なシステムが明らかとなり、自然免疫がにわかに脚光を浴びている。しかし、病原体や癌細胞に対する防御機構としては、T 細胞および B 細胞によって担われている適応免疫が自然免疫に比し圧倒的に強力であることは、特に感染症に対するワクチンの有効性により明らかである。B 細胞が関与する抗体はウイルスに結合することで中和反応を示し、宿主細胞への侵入を阻止する。また、細菌の線毛に結合することで、細菌の粘膜への結合を阻止する。抗体はまた、補体を活性化して細胞壁に穴をあけた

り、オプソニン効果によってマクロファージの食菌作用を促す。一方、T 細胞は図 1 に示すように、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が癌細胞に傷害を与えると考えられている。病原体に関しては、一旦、細胞質内へ侵入したウイルスに抗体はアクセスできず、CTL が宿主細胞を傷害することでウイルスを排除する。細胞質に侵入するリケッチャや、一旦、食胞に取込まれ、その後細胞質にエスケープするリステリアおよび赤痢菌にも CTL が有効である。すなわち、細胞質内寄生病原体には CTL が有効である。一方、結核菌やサルモネラは食胞に取込まれた後、リソソームとの融合(所謂、P-L 融合)を阻害するため、

筆者連絡先 〒431-3192 浜松市半田山 1-20-1
浜松医科大学微生物学教室
小出 幸夫

電話 053-435-2334
F A X 053-435-2335
E-mail Koide1b@hama-med.ac.jp

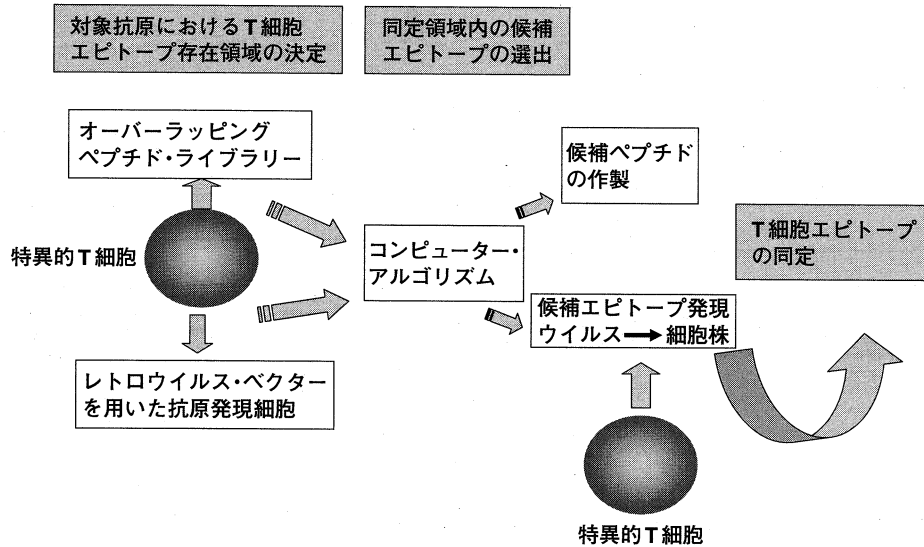


図3 新規T細胞エピトープ同定法

現する。そして、これをCTLが認識する。これらのT細胞がMHCと共に認識するペプチド(エピトープ)の生成には様々なファクターが関与すると考えられる。1) プロテアソームによる抗原の断片化, 2) TAPによるERへの輸送, 3) MHC分子へのペプチドの結合親和性: これらは何れもアミノ酸配列に特異的な反応である。さらに、これらのステップを経てMHC分子にペプチドが結合しても、これに反応する4) T細胞クローンが存在しなければ、当然のことながら、T細胞エピトープとはならない。以上のように複数の要素が関与するため、1つの抗原にはT細胞エピトープとなる可能性のある多くのペプチドが含まれているが、実際にエピトープとして機能するものは僅かである。

T細胞エピトープの同定は、ある抗原(病原体、癌細胞など)に対する特異的T細胞の検出(テトラマー法, ELISPOT, 細胞質内サイトカイン検出法), CTL活性測定における標的細胞へのペプチド・パルスなどに必須である。さらに、ワクチンとしても、癌に対する樹状細胞ワクチンにはT細胞エピトープであるペプチドのパルスが必要である。これは治療的ワクチンであるが、予防的ワクチンとしてはHLAタイプの多様なヒトへのエピトープ・ワクチンは有用でないように思える。しかしながら、さまざまなHLA型に対するT細胞エピトープを連結したpoly-

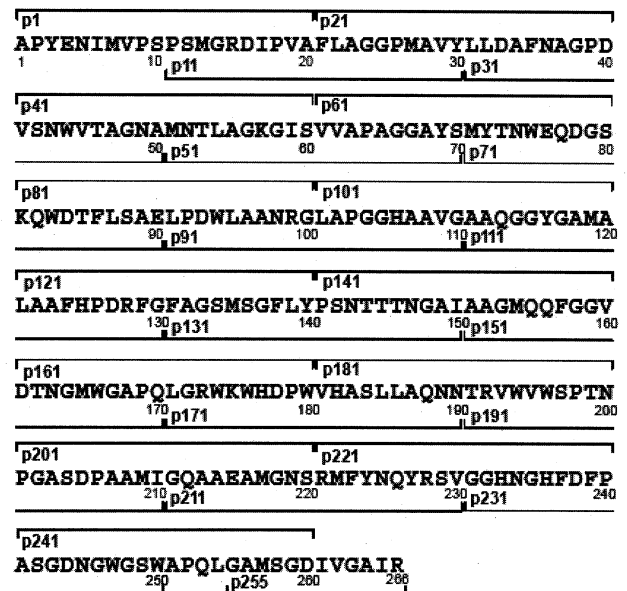


図4 MPT51分子のアミノ酸配列とオーバーラッピング・ペプチド・ライブラリー。各々のペプチドは20アミノ酸よりなり、10アミノ酸重複している。

epitope ワクチン(1)により、この問題は解決され得る。また、ある種のエピトープは複数のHLA型に対するT細胞エピトープとなりうる(promiscuous epitope)。

本稿では、我々が見いだした結核菌の新規防御抗原であるMPT51分子(2)を用いて、T細胞エピト-

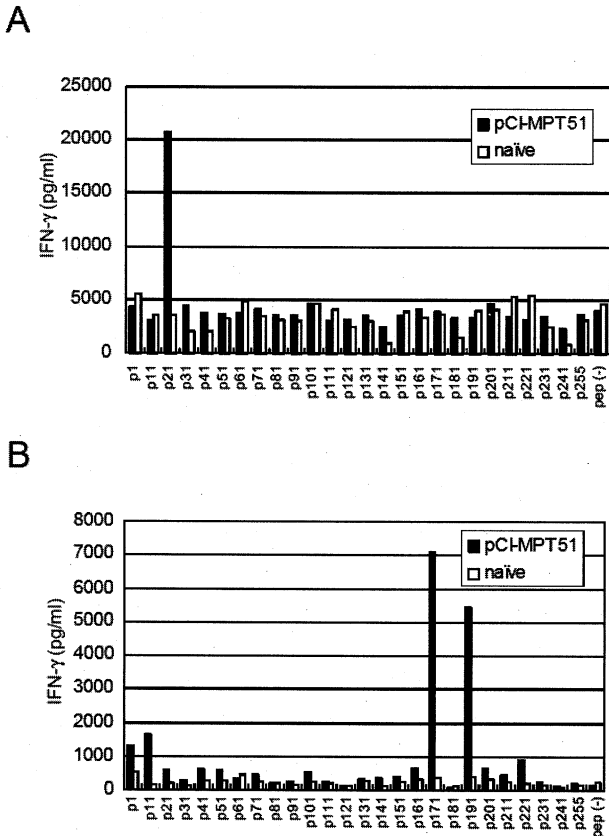


図5 MPT51/DNA ワクチンで免疫した BALB/c マウス脾細胞 (A) と C57BL/6 マウス脾細胞のペプチド・ライブラリーに対する反応性。ELISA で IFN- γ 濃度を測定した。

表1 MPT51 p 21-40 における MHC クラス I 分子拘束性 T 細胞エピトープのコンピューター・アルゴリズムによる検索

	prediction score (9-mer)							
	SYFPEITHI		BIMAS			RANKPEP		
	Kd	Ld	Kd	Dd	Ld	Kd	Dd	Ld
21-29				0.4			25.0	
23-31	18.0	15.0	57.6	20.0	5.0	10.0	103.0	53.0
24-32	13.0	12.0	48.0	400.0	7.5		76.0	40.0
25-33		13.0					35.0	48.0
27-35				0.4	10.0			
29-37	20.0		120.0				34.0	

ブ同定の新戦略を紹介する。

1. T 細胞エピトープの同定法

従来から行われている T 細胞エピトープの同定法を図 2 の「古典的ペプチド・ライブラリー法」として示す。その概要は、まず目的の抗原分子全てをカ

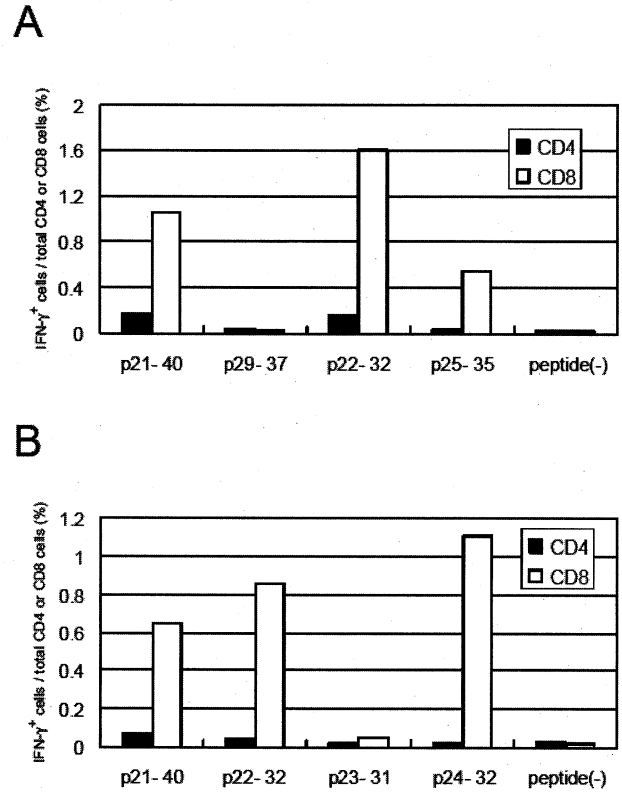


図6 MPT51/DNA ワクチンで免疫した BALB/c マウス脾細胞の各ペプチドに対する反応性を細胞表面の CD4, CD8 と細胞質内の IFN- γ に対する抗体により 3 カラー解析をおこなった。

バーする 15-20 アミノ酸からなるペプチド・ライブラリーを作製する(図 4)。この際、各ペプチドは少なくとも 9 アミノ酸オーバーラップさせる必要がある(3)。これを用いて、抗原提示細胞の存在下で特異的 T 細胞を刺激する。これにより、IFN- γ 産生などを指標としてエピトープが存在すると予想されるペプチドをライブラリーより選出する。その後、選出したペプチドの N 末および C 末を段階的に削除したペプチド (CD8 + T 細胞: 8~10 アミノ酸, CD4 + T 細胞: 12~24 アミノ酸) を多数作製し、再度、特異的 T 細胞に反応させ、最終的に T 細胞エピトープを同定する。この方法は高価なペプチドをふんだんに使用しなければならず、エピトープ同定までに長時間を要するという欠点がある。

最近、多くの抗原のエピトープが上記の方法で解明されたので、この情報を基にした、T 細胞エピトープを予測するコンピューター・アルゴリズムが

開発された。筆者の知る限り、現在以下の3種が存在する。1) SYFPEITHI Epitope Prediction (<http://www.syfpeithi.de/>), 2) BIMAS HLA Peptide Binding Prediction (http://bimas.dcrn.nih.gov/cgi-bin/molbio/ken_parker_comboform), 3) RANKPEP (<http://www.mifoundation.org/Tools>). これらを用いて、目的の抗原のアミノ酸配列と MHC 型 (HLA, H2) をパソコンに記入して、インターネットによりエピトープの候補一覧を得る。このうちスコアの高いものを選んでペプチドを合成し、抗原提示細胞存在下で特異的 T 細胞に反応させ、T 細胞エピトープを同定する方法である(図2下)(4)。この方法は一見簡便に思えるが、スコアが高いものが本物のエピトープであるとは限らず、結局、多くのペプチド(40以上)を作製しなければならないという難点がある。また、アルゴリズムは MHC クラス I 分子に関してはある程度評価できるものになっているが、MHC クラス II 分子に関してはまだ使用に耐えられない。

我々は上記の方法を改良した2種のエピトープ同定法を確率した(図3)。その一つは、まずオーバーラッピングペプチド・ライブラリーを作製し(図4)、抗原提示細胞存在下で特異的 T 細胞に反応させ、IFN- γ 産生により、エピトープが存在すると思われるペプチドをライブラリーより選出する方法である(5)。因みに、我々は遺伝子銃を用いた DNA ワクチンにより、特異的 T 細胞を得ている。DNA ワクチンは効率良く、抗原特異的 T 細胞を誘導できる。また、この免疫脾細胞を用いれば、抗原提示細胞も含まれているので便利である。選出したペプチドを上記コンピューター・アルゴリズムにかけ、候補エピトープとなるペプチドを数種作製し、再度、特異的 T 細胞に反応させ T 細胞エピトープを同定する。この方法では、エピトープの絞り込みにアルゴリズムを用いるため、ペプチドの合成を最小限に節約できる。また、我々はレトロウイルス・ベクターによるマッピングも行っている(6)。まず、目的の抗原をコードする遺伝子を数個に分断してレトロウイルス・発現ベクターに挿入し、細胞株に感染、発現させる。これを特異的 T 細胞に反応させ、エピトープが存在すると予想される DNA 断片を更に分断して、レト

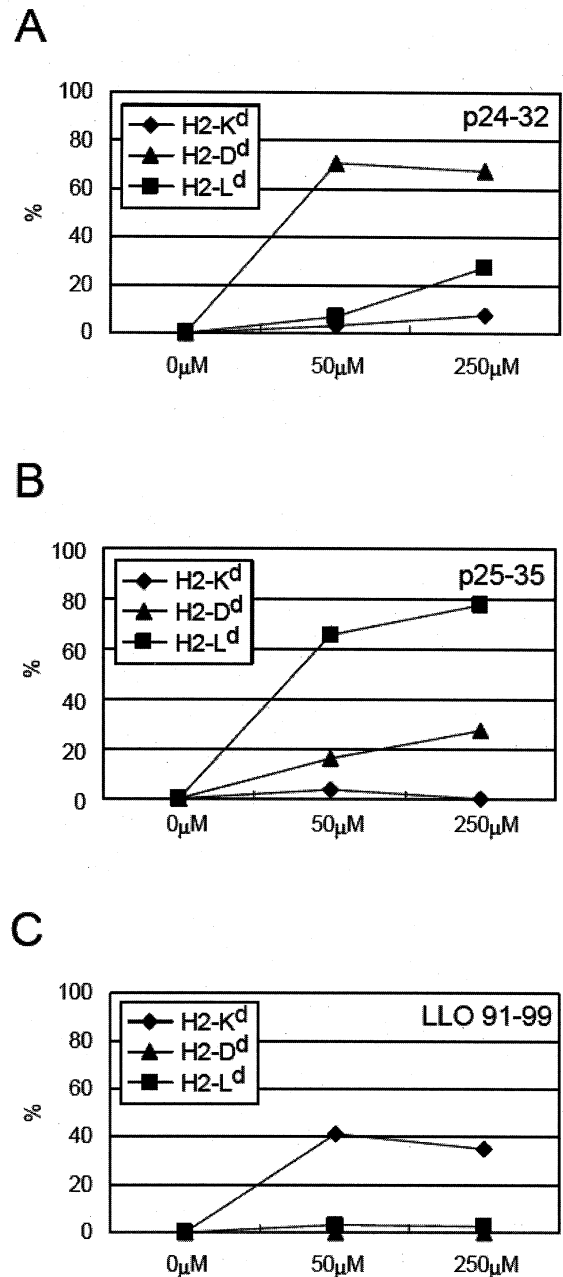


図7 MHC安定化試験. RMA-S-K^d, -D^d, L^d細胞株に各ペプチドを反応させクラスI分子の発現(安定性)を測定した。

ロウイルスで細胞株に発現させ、T細胞に反応させる。その後、コンピューター・アルゴリズムにかけ、候補エピトープを発現するレトロウイルス・ベクターを作製し、細胞株に感染・発現させる。そして、これらを T 細胞に反応させ T 細胞エピトープを同定する。この方法は、レトロウイルスの作製と発現細胞株の作製に時間を要するが、ペプチドの合成を用

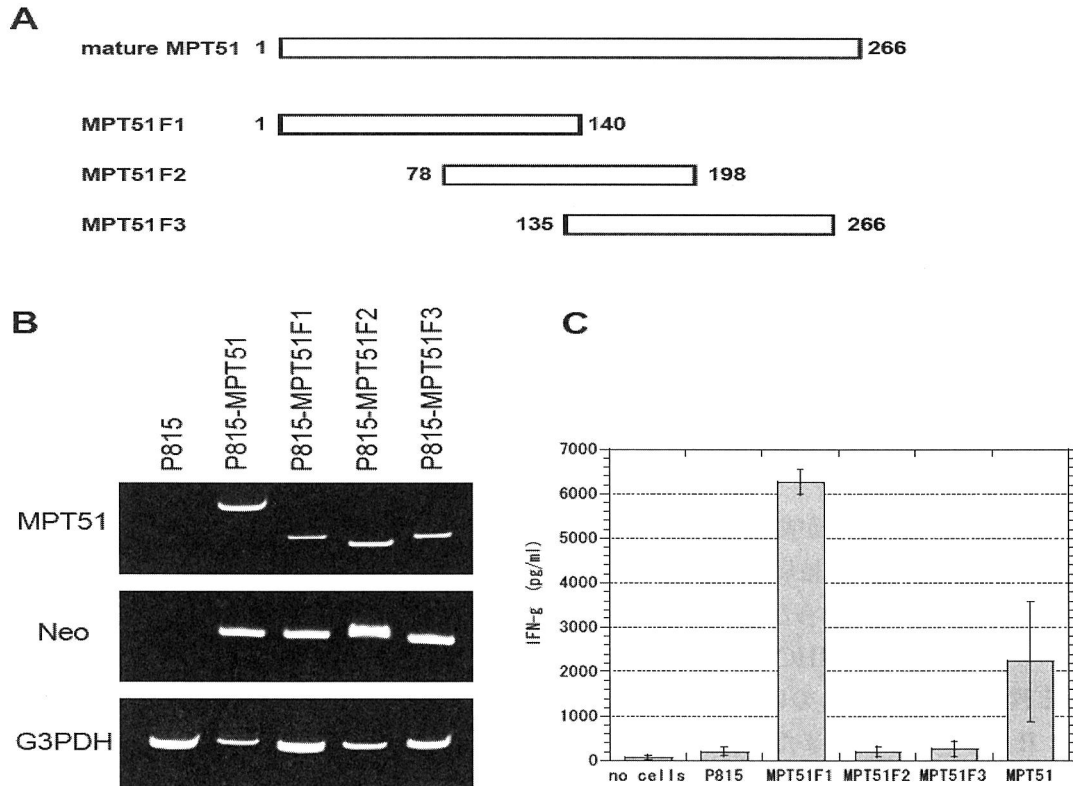


図8 レトロウイルス発現ベクターの構築と MPT51 特異的 T 細胞の感染細胞株に対する反応性。(A) MPT51 を重複させながら 3 分割した DNA を作製し、レトロウイルス・ベクターに挿入した。(B) 各レトロウイルス発現ベクターを P815 細胞に感染させ、mRNA の発現を RT-PCR で検討した。(C) MPT51 特異的 T 細胞の感染細胞株に対する反応性を IFN- γ 産生量で検討した。

いないため、実験が安価で済む。CD8 + T 細胞エピトープの同定には適していると考えられる。

2. 実施例 1: オーバーラッピングペプチド・ライブラリー

図 4 には結核菌の分泌蛋白 MPT51 のアミノ酸配列とそのオーバーラッピングペプチド・ライブラリーが示してある。ペプチドは 20 アミノ酸で、各々 10 アミノ酸ずつ重複するように設計した。これを、MPT51/DNA ワクチンで免疫した BALB/c マウス (図 5A) および C67BL/6 (B6) マウス (図 5B) の脾細胞に反応させ、ELISA により IFN- γ 産生量を測定した。その結果、BALB/c マウスでは p 21–40 に、B6 マウスでは p 171–190 と p 191–210 に MPT51 の T 細胞エピトープが存在することが推察された。いくつかの実験により、BALB/c マウスで認められた p 21–40 に存在するエピトープは CD8 + T 細胞

エピトープであり、B6 で認められたエピトープは CD4 + T 細胞エピトープであることが判明した。そこで、p 21–40 のアミノ酸配列を前記アルゴリズムにかけ、H2 クラス I 分子 (K^d, D^d, L^d) に拘束性のエピトープを検索した (表 1)。

その結果、p 23–31, p 24–32, p 29–37 が候補と考えられた。そこで、これらをさらに MPT51 特異的 T 細胞に反応させ、3 カラー flow cytometry で解析すると、p 29–37 は T 細胞質内に IFN- γ を産生誘導しなかった (図 6A)。また、p 23–31 も IFN- γ 誘導能を示さなかったが、p 24–32 は CD8 + T 細胞の細胞質内に IFN- γ を産生誘導することが顕著に認められた。従って、この p 24–32 が CD8 + T 細胞エピトープと判断した。次に、このエピトープの拘束性分子を調べるため、MHC 安定化試験を行った。RMA-S 細胞株は TAP2 を欠損しているため、26°C ではクラス I 分子を発現できるが、37°C ではこれ

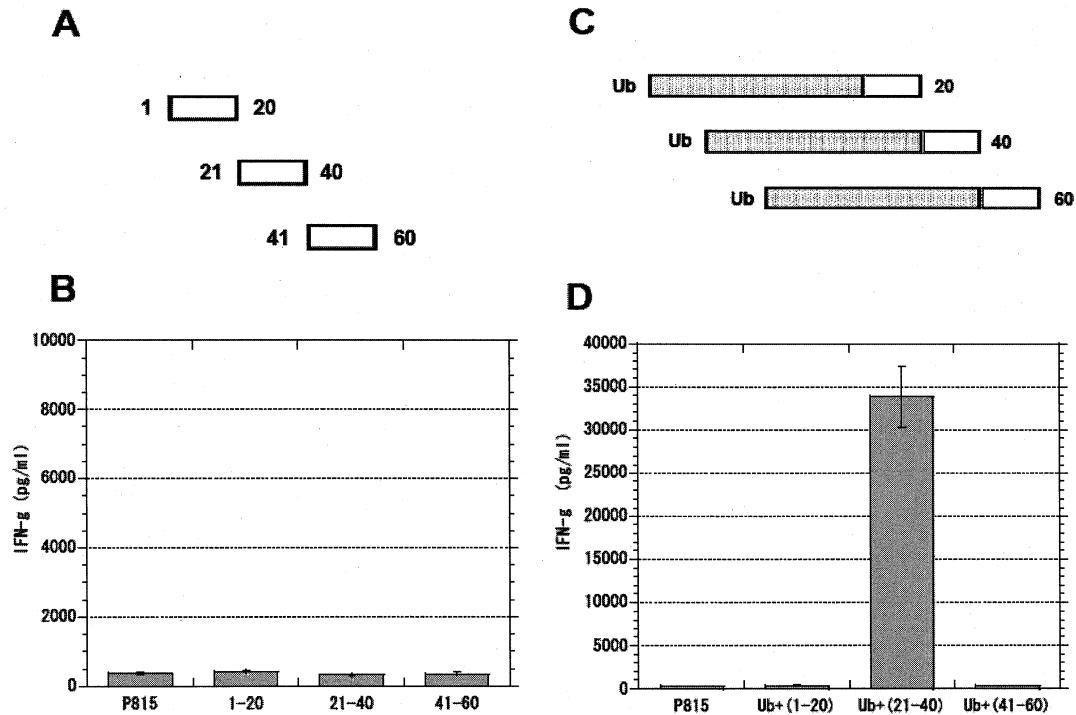


図9 (A) MPT51 の1-20, 21-30, 31-40 をコードする DNA を合成し、レトロウイルスに挿入した。(B) 各ウイルス感染細胞にたいする特異的 T 細胞の反応を IFN- γ 産生で検討した。(C) 各 DNA 断片の 5' 側にユビキチン遺伝子を結合し、レトロウイルスに挿入した。(D) MPT51 特異的 T 細胞の感染細胞株に対する反応性を IFN- γ 産生量で検討した。

を発現できない。しかし、MHC クラス I にペプチドが結合すると 37°C でも安定してクラス I 分子を発現する。この現象を利用して、拘束性分子を同定した。まず、RMA-S 細胞株に H2-K^d, -D^d, -L^d 遺伝子を導入した。これらを用いた MHC 安定化試験の結果、p 24-32 は H2-D^d によって抗原提示されることが分かった(図 7A)。p 25-35 は L^d に結合するが、T 細胞応答は認められない(図 7B)。リステリア由来の LLO91-99 は陽性コントロールであり、K^d に結合することが既に知られている(図 7C)。

B6 マウスでは p 171-190 と p 191-210 に MPT51 の CD4 + T 細胞エピトープが存在することを証明した。周知のごとく、MHC クラス II のペプチド結合溝には、ペプチドがはみ出した状態で結合すること、そしてエピトープは前記したように 12~24 アミノ酸であることを考慮すると、上記 20 アミノ酸から最小単位に絞り込むことは意味がないと考えられる。従って、p 171-190 をドミナント、p 191-210 をサブドミナント・エピトープとした。拘束分子に関し

ては、B6 マウスが発現している MHC クラス II 分子は H2-A^b のみであるので、これが抗原提示を考えると考えられる。

3. 実施例 2: レトロウイルス発現ベクター法

図 8A に示すように、MPT51 遺伝子を重複させた形で 3 分割 (F1, F2, F3) し、レトロウイルス発現ベクター (pDON-AI) に挿入し、パッケージング細胞株 (Phoenix) に遺伝子導入することで、レトロウイルスを作製した。これを P815 細胞株に感染させた。その結果、図 8B に示すように 3 細胞株共、同等の mRNA 発現をしめた。そこで、MPT51/DNA ワクチンで免疫した BALB/c マウスの脾細胞を反応させたところ、F1 のみが感作 T 細胞に IFN- γ 誘導能を示した。その後、更に絞り込み、p 1-60 にエピトープが存在することが判明した。そこで、図 9A に示すように 20 アミノ酸を発現するウイルスを 3 種作製し、検討したが、T 細胞応答は全く認められなかった。そこで、ユビキチン遺伝子を各々の DNA

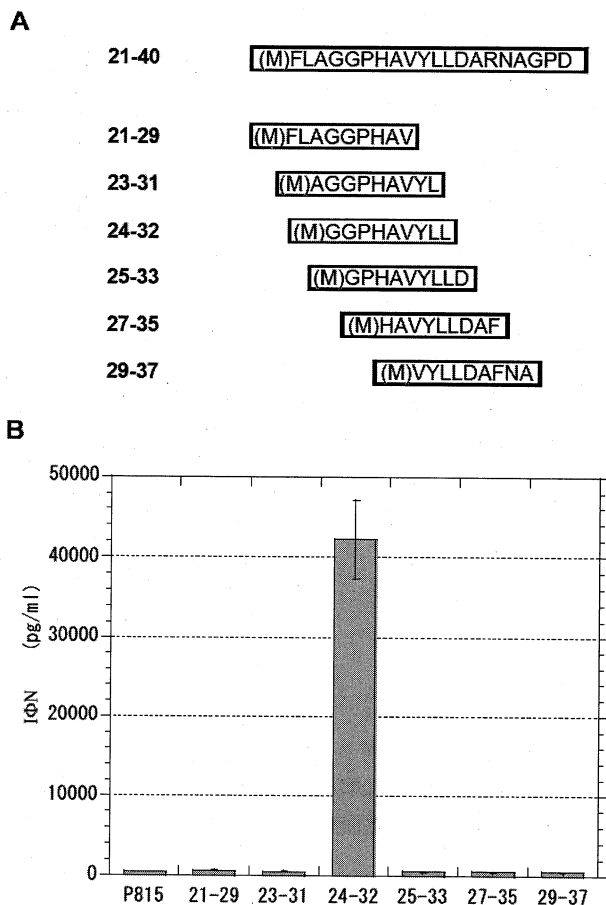


図10 エピトープ候補ペプチド発現ウイルスの構築 (A) と MPT51 特異的 T 細胞の各感染細胞株に対する反応性。

断片 5' 側に結合させウイルスを作製し、検討した結果、p 21-40 にエピトープが存在することが推察された。そこで、p 21-40 をアルゴリズムにかけ、候補エピトープ(表 1) をコードする DNA を全て合成した(図 10A)。これらのペプチドを発現する細胞株を免疫脾細胞に反応させたところ、p 24-32 のみが IFN- γ 誘導能を示した。拘束性分子に関しては、p 24-32 と H2-K^d, -D^d, -L^d 遺伝子の何れかを P815 細胞にレトロウイルス・ベクターで共遺伝子導入することで D^d が拘束性分子であることが判明した。

エピトープの確認は、CD8 と D^d/24-32 テトラマーの 2 カラー解析(図 11, 上段)および p 24-32 で刺激した T 細胞の CD8 と細胞内 IFN- γ の 2 カラー解析(図 11, 下段)で行った。

4. HLA-A 拘束性エピトープの同定

HLA-A*0201 および HLA-A*2402 遺伝子を β 2m ノックアウト・マウスに導入したトランスジェニック (Tg) ・マウスを作製した。これらを用いて、T 細胞エピトープの同定を行っているが、MPT51 のエピトープは既に同定した。このような Tg マウスは各種抗原の HLA 拘束性エピトープの同定に有用と考えられる。

おわりに

近年、急速に進歩したコンピューター・アルゴリズムは、T 細胞エピトープの同定にも応用されるようになった。このプログラムはその性格上、データベースが蓄積されるほど能力を発揮するので、今後さらにエピトープ同定の強力なツールとなることが期待される。しかし、現在の所、有用なものは MHC クラス I 拘束性エピトープの同定であり、クラス II 拘束性エピトープの同定には課題が残されている。また、前記したように T 細胞エピトープに関しては、抗原提示細胞内でのプロテアソームによる抗原の断片化も重要なファクターであり、プロテアソーム切断モチーフが報告されている (7)。これを基に、プロテアソーム切断部位のアルゴリズム (MAPP: <http://mpiib-berlin.mpg.de/MAPP/expertquery.html>) (8) も作製されているが、未だ使用に耐えるものではない。将来、これらのアルゴリズムがより進化することで、これらを組み合わせて使用することにより、T 細胞エピトープの同定がより容易になることが期待される。

参考文献

1. Smith SG: The polypeptide approach to DNA vaccine. *Curr Opin Mol Ther* 1(1): 10-15, 1999.
2. Miki, K., Nagata, T., Tanaka, T., et al.: Induction of protective cellular immunity against *Mycobacterium tuberculosis* by recombinant attenuated self-destructing *Listeria monocytogenes* strains harboring eukaryotic expression plasmids for antigen 85 complex and MPB/MPT51. *Infect Immun* 72: 2014-21, 2004.
3. Van der Zee, R., Van Eden, W., Melen, R.H., et

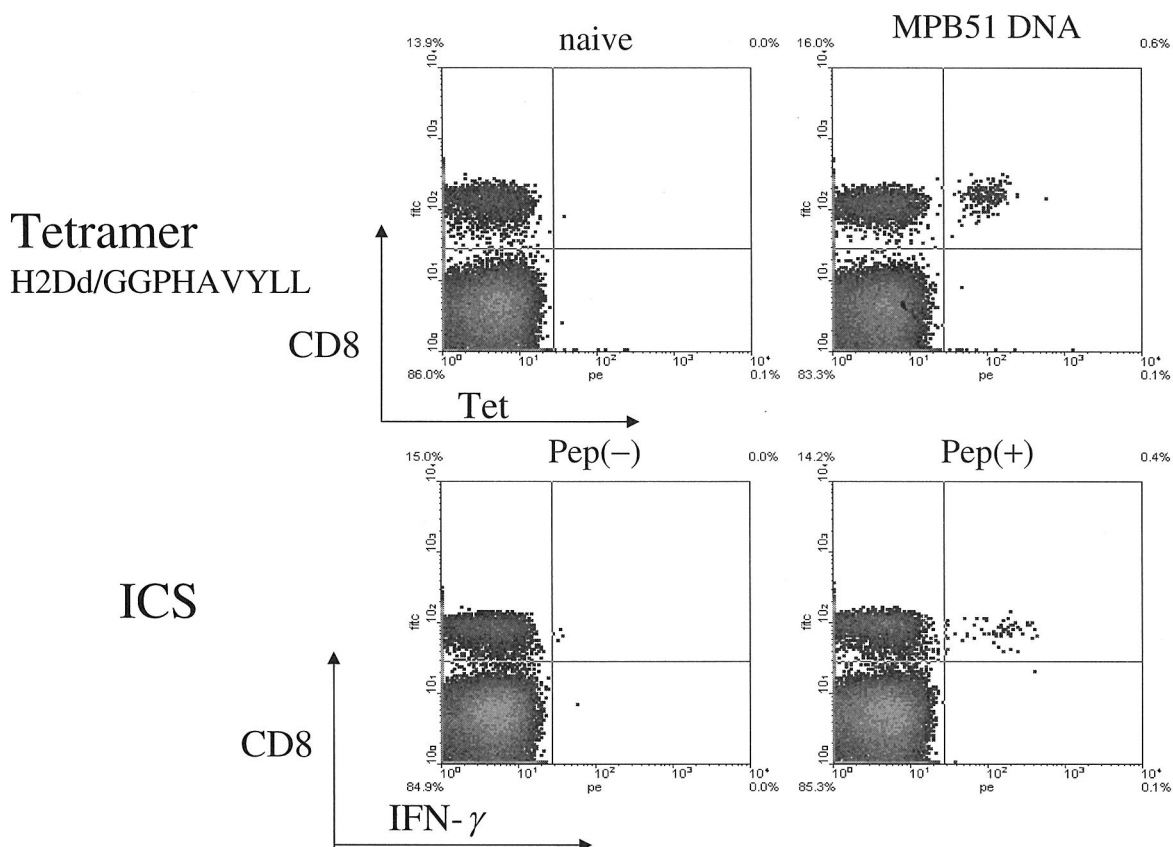


図 11 Flow cytometry による MPT51/DNA ワクチン免疫 BALB/c 脾細胞における MPT51 特異的 T 細胞の検出。
(上段)テトラマー法, (下段)細胞質内 IFN- γ 検出。

- al.*: Efficient mapping and characterization of a T cell epitope by the simultaneous synthesis of multiple peptides. *Eur J Immunol* 19: 43–47, 1989.
- Kuzushima K, Hayashi N, Kudoh A, *et al.*: Tetramer-assisted identification and characterization of epitopes recognized by HLA-A*2402-restricted Epstein-Barr virus-specific CD8⁺ T cells. *Blood* 101(4): 1460–1468, 2003.
 - Suzuki, M., Aoshi, T., Nagata, T., *et al.*: Identification of murine H2-D^d- and H2-A^b-restricted T-cell epitopes on a novel protective antigen, MPT51, of *Mycobacterium tuberculosis*. *Infect Immun* 72, 3829–37, 2004.
 - Aoshi T, Suzuki M, Uchijima M, *et al.*: Expression mapping using retroviral vector for CD8⁺ T cell epitope: Definition of a *Mycobacterium tuberculosis* peptide presented by H2-D^d. *J Immunol Methods* 298: 21–34, 2005.
 - Toes RE, Nussbaum AK, Degermann S, *et al.*: Discrete cleavage motifs of constitutive and immunoproteasomes revealed by quantitative analysis of cleavage products. *J Exp Med* 194: 1–12, 2001.
 - Hakenberg J, Nussbaum AK, Schild H, *et al.*: MAPP: MHC class I antigenic peptide processing prediction. *Appl Bioinformatics* 2(3): 155–158, 2003.

平成 16 年度認定 HLA 検査技術者登録名簿 (敬称略)

(認定期間: 平成 16 年 9 月 23 日から平成 21 年 9 月 22 日)

認定番号	氏 名
G04001	古沢美由紀
G04002	石塚 敏
G04003	山下 礼子
G04004	山本 賢

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

今年もまた、年に一度の大会シーズンがやってきました。早いもので大会ももう14回を数えます。私は幸運にも第1回より皆勤で参加して参りましたので、それぞれの大会を懐かしく振り返ったりしています。年に一度、いつもの顔ぶれが集まって、HLAのこと、研究のことなどをアツク楽しく語れるこの大会は、自分の中で大切な年中行事のひとつになっています。

今大会は一般演題も42題を数え、特に新しい方のご発表が増えたように思います。組織適合性という、掘り所のありそうな、なさそうな分野ですが、これからもこの学会が繁栄し続けるように、若い方の熱意と積極的な参加に期待がかかるところです。皆様もご承知の通り、前年度日本学会事務センターの破産により、本学会も相当な被害を受けました。財政的にはかなり苦しい状態です。しかし、学会長の木村先生、編集長の徳永先生のご努力のお陰を持ちまして、このような立派な装丁の(と編集委員が述べるのも何ですが)学会誌を滞りなくお届けできる今日この頃です。会員の皆さまにはご事情をご理解頂き、財政難を吹き飛ばす勢いで大会参加、学会誌への投稿をお待ちしております。共にがんばりつつ、熊本でお会い致しましょう！

成瀬 妙子

「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8月31日発行 12巻2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