

MHC

日本組織適合性学会誌

Major Histocompatibility Complex

Vol. 12 No. 3, 2006

Contents

研究倫理審査委員会の設置について(会告)	159
日本組織適合性学会からのお知らせ	
第15回日本組織適合性学会大会のご案内	168
2005年度TFB学術奨励賞選考結果について	171
2006年度学術奨励賞の募集のお知らせ	172
第10回QCワークショップのご案内	174
平成18年度認定HLA検査技術者講習会のお知らせ	176
平成18年度認定HLA検査技術者認定試験申請要領	177
平成18年度認定HLA検査指導者認定試験申請要領	179
平成18年度認定HLA検査技術者・指導者認定試験受験申請書	
組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿	181
第4回日本組織適合性学会・近畿地方会プログラム	182
[原著論文]	
日本骨髓バンク登録ドナーにおけるHLA遺伝子頻度, ハプロタイプ頻度 盛山芳恵, 加藤和江, 村 徹, 十字猛夫	183
[シリーズ: MHCの比較ゲノム]	
ネコおよびイヌ科の主要組織適合抗原遺伝子座ゲノムショットガンおよび BACシーケンス解析に基づくMHC構造比較	203
[シリーズ: HLA研究者の個人史]	215
第9回HLA-QCワークショップレポート	
木村彰方, 赤座達也, 太田正穂, 柏瀬貢一, 小林 賢, 酒巻建夫, 佐田正晴, 田中秀則, 中島文明, 成瀬妙子, 丸屋悦子, 安波道朗	223
平成17年度HLA検査技術者認定試験に関する報告	
石川善英, 徳永勝士, 石谷昭子, 太田正穂, 小河原 悟, 柏瀬貢一, 木村彰方, 小林 賢, 中島文明, 西村泰治, 平山謙二, 丸屋悦子	283
平成17年度認定組織適合性指導者登録名簿, 認定HLA検査技術者登録名簿	295
日本組織適合性学会 会計報告	297
〈日本組織適合性学会誌MHC投稿規定〉	299
編集後記	301

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 日本薬科大学生物化学研究室
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巻第3号 平成18年1月31日発行

研究倫理審査委員会の設置について(会告)	159
日本組織適合性学会からのお知らせ	
第15回日本組織適合性学会大会のご案内	168
2005年度TFB 学術奨励賞選考結果について	171
2006年度学術奨励賞の募集のお知らせ	172
第10回QC ワークショップのご案内	174
平成18年度認定HLA 検査技術者講習会のお知らせ	176
平成18年度認定HLA 検査技術者認定試験申請要領	177
平成18年度認定HLA 検査指導者認定試験申請要領	179
平成18年度認定HLA 検査技術者・指導者認定試験受験申請書 組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿	181
第4回日本組織適合性学会・近畿地方会プログラム	182
[原著論文]	
日本骨髄バンク登録ドナーにおけるHLA 遺伝子頻度, ハプロタイプ頻度 盛山芳恵, 加藤和江, 村 徹, 十字猛夫	183
[シリーズ: MHC の比較ゲノム]	
ネコおよびイヌ科の主要組織適合抗原遺伝子座ゲノムショットガンおよびBAC シーケンス解析に基づくMHC 構造比較	203
[シリーズ: HLA 研究者の個人史]	215
第9回HLA-QC ワークショップレポート	223
木村彰方, 赤座達也, 太田正穂, 柏瀬貢一, 小林 賢, 酒巻建夫, 佐田正晴, 田中秀則, 中島文明, 成瀬妙子, 丸屋悦子, 安波道朗	
平成17年度HLA 検査技術者認定試験に関する報告	283
石川善英, 徳永勝士, 石谷昭子, 太田正穂, 小河原 悟, 柏瀬貢一, 木村彰方, 小林 賢, 中島文明, 西村泰治, 平山謙二, 丸屋悦子	
平成17年度認定組織適合性指導者登録名簿, 認定HLA 検査技術者登録名簿	295
日本組織適合性学会 会計報告	297
〈日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定〉	299
編集後記	301

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

JSHI

研究倫理審査委員会の設置について(会告)

平成 17 年 11 月 14 日

会員各位

日本組織適合性学会
会長 木村 彰方

この度、日本組織適合性学会の研究倫理審査に関する規則が定められ、合わせて研究倫理審査委員会が設置され、研究に関する倫理審査を申請するための書式が作成されました。

規則にありますように、この委員会は、学会として行なう多施設共同研究の計画や、所属する機関に研究倫理審査委員会がない学会員が行なう研究計画についての倫理審査を担当することになります。

申請にあたりましては、下に挙げた関連指針(ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針、疫学研究に関する倫理指針、臨床研究に関する倫理指針、遺伝学的検査に関するガイドライン)などを御一読いただいたうえで申請書類を作成するとともに、学会事務局あるいは研究倫理審査委員会委員長にあらかじめ相談下さるようお願い致します。

- ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針
http://www.mext.go.jp/a_menu/shinkou/seimei/genome/04122801.htm
- 疫学研究に関する倫理指針
http://www.mext.go.jp/a_menu/shinkou/seimei/epidemiological/04122801.htm
- 臨床研究に関する倫理指針
<http://www.mhlw.go.jp/topics/2003/07/tp0730-2b.html>
- 遺伝学的検査に関するガイドライン
<http://www.jshg.jp/> の「参考資料」のページよりダウンロードできます。

以上

日本組織適合性学会研究倫理審査委員会規則

(趣旨)

第1条

1. 日本組織適合性学会は、学会員によって行なわれるヒトを対象とする生物医学研究が、高い倫理性に立脚するものでなければならないとの認識に立ち、ここに日本組織適合性学会(以下、「学会」という。)研究倫理審査委員会(以下、「委員会」という。)を設ける。
2. 委員会の組織及び運営は関連する法律および国の指針を遵守し、この規則に定めるところによるものとする。

(構成)

第2条

1. 委員会は、次の各号に掲げる委員をもって構成する。
内部委員 学会会員から選出した者 4名以上
外部委員 学会会員外から選出した者 4名以上
2. 前項の委員の半数以上は、外部委員とする。
3. 外部委員には、倫理・法律を含む人文・社会科学の有識者及び自然科学の有識者のほか、一般の立場の者を含めなければならない。
4. 外部委員の半数以上は、倫理・法律分野の有識者及び社会の意見を反映できるものとする。
5. 男女両性で構成されなければならない。
6. 委員の任期は2年とする。ただし、再任は妨げない。

(委員会の議事)

第3条

1. 委員会は、委員の半数以上が出席し、かつ、前条第4項の外部委員1名以上の出席がなければ会議を開くことができない。
2. 委員会は、審査に当たって申請者に出席を求め、研究計画等について説明を求めるとともに、意見を述べさせることができる。
3. 委員会は、必要に応じ、専門事項を調査検討するため、学識経験者の出席を求め、意見を聞くことができる。
4. 委員は、自己が関与する申請についての審査に加わることができない。
5. 審査の判定は、審査に加わった委員の3分の2以上の合意によるものとする。

(専門委員)

第4条

1. 委員会は、専門の事項を調査検討するため、専門委員を置くことができる。
2. 専門委員は、当該専門の事項に係る学会内外の学識経験者のうちから委員長が委嘱する。
3. 委員会は、必要に応じ、専門委員の出席を求め、討議に加えることができる。ただし、専門委員は、審査の判定に加わることができない。

(審査の申請)

第5条

1. 学会会員が研究を行おうとするときに、会員が所属する機関に研究倫理審査委員会がない場合や、学会主導の多施設共同研究の場合に、当該研究計画の倫理上の審査を申請するものとする。
2. 申請は、「研究倫理審査申請書」様式 1-1 及び 1-2 により行うものとする。
3. 遺伝子解析研究に係る申請は様式 1-1, 1-2 のほか様式 1-3 を提出するものとする。

(審査結果の通知)

第6条

1. 委員長は、委員会の審査結果を「審査結果通知書」により申請者に通知するものとする。なお、委員会の審査結果が「承認」または「条件付承認」の場合は、学会会長より通知するものとする。
2. 前項の通知をするに当たっては、次の各号に掲げる表示により行い、第2号から第6号に該当する場合は、理由等を付記するものとする。
 - (1) 承認
 - (2) 条件付承認
 - (3) 変更の勧告(再審査)
 - (4) 不承認
 - (5) 非該当
 - (6) その他

(異議申し立て)

第7条

1. 申請者は審査の結果に異議があるときは、再審査を求めることができる。再審査を求める場合は、異議の根拠となる資料等を添付し、第5条の申請手続の例により行うものとする。
2. 委員会は、前項の申立があったときは再度審査し、委員長あるいは学会会長は、その結果を前条の例により申請者に通知するものとする。

(研究計画の変更)

第8条

1. 申請者は、承認を受けた研究計画の変更をしようとするときは、遅滞なく委員会にその旨を報告するものとする。
2. 委員会は、前項の報告について、必要があると認めるときには、当該変更に係る研究計画について、改めて審査の手続をとることができる。

(研究実施状況の報告)

第9条

1. 申請者は承認を受けた研究計画について、実施状況を1年に1回以上文書を以って学会会長に報告するものとする。

(委員会の公開)

第 10 条

1. 委員会は、議事要旨を原則として公開するものとする。ただし、個人の人権や研究に係る知的財産の保護に支障をきたすおそれがある審査経過及び結論の内容は、非公開とする。

(事務)

第 11 条

1. 委員会に係る事務は、学会事務局において行う。

(雑則)

第 12 条

1. この規則は必要に応じて見直すものとする。
2. この規則に定めるもののほか、委員会の運営に関し必要な事項は、委員会が定める。

附則

この規則は、平成 17 年 10 月 5 日から施行する。

研究倫理審査申請書

受付番号 第 号
平成 年 月 日提出

日本組織適合性学会 会長 殿

申請者(研究責任者):

所属:

所属住所:

E-mail:

職名:

氏名:

印

1 研究課題

--

2 研究期間

年 月 日 ~ 年 月 日

3 研究責任者

氏 名	所属及び職名

4 分担・共同研究者

氏 名	所属及び職名	役割分担

* 必要に応じて枠幅を変更して下さい。

研究計画書		受付番号	
研究責任者氏名			
研究題目			
研究目的(研究期間中に何をどこまで明らかにしようとするのかを記入)			
研究方法			
研究対象(試料等の種類, 量および件数)			
予想される被験者への危険や不利益および苦情, 問い合わせに対応するための体制			
個人識別情報を含む情報の保護方法			
被験者に理解を求め同意を得る方法とその内容 インフォームド・コンセントのための説明文書(被験者への説明文書)及び同意文書の書式を別に用意して提出すること			

* 必要に応じて詳細を記述した添付文書を作成して下さい。

様式 1-3

研究責任者氏名	
研究題目	
インフォームド・コンセントのための説明者に関する事項(あらかじめ特定できない場合には、その理由および予測される類型)	
説明者の所属・職・氏名等	
説明者への説明項目(この欄に記入できない場合には、説明文書等を添付すること)	
その他の研究遂行者に関する事項(あらかじめ特定できない場合には、その理由および予測される類型)	
試料採取責任者の所属・職・氏名	
個人識別情報管理者の所属・職・氏名	
遺伝カウンセリングに関する事項(必要性の有無、必要な場合にはその体制の内容)	
代諾者への説明を予定している場合に関する事項(認知症等の疾患患者、未成年者、または死者等由来試料を用いる場合)	
試料提供者が有効なインフォームド・コンセントをあたえられない理由	
試料等が研究のために必須な理由	
代諾者の選定に関する基本的な考え方	
既採取試料等を研究に用いる場合に関する事項	
試料等の提供を受けた時の同意の有無	
同意の内容または範囲	
同意がないまたは不十分な場合には、研究対象とする必要性	
試料等またはそこから得られた遺伝情報を外部に提供する場合に関する事項	
提供の必要性	
提供先の機関名(公的機関、民間機関の別を含めて記入)	
提供元で行う匿名化の方法	
提供先における責任者の氏名	
提供先における研究内容	
提供先における責任体制	
提供先との予定する契約内容	
試料の保存に関する事項	
研究期間中の保存方法	
研究終了後の保存を予定する場合には、その必要性と方法	
細胞・遺伝子・組織バンクに試料等の寄託を予定する場合に関する事項	
バンクの運営機関名	
バンクの責任者氏名	
試料等の匿名化の方法	
試料等の廃棄に関する事項	
廃棄の方法	
試料等の匿名化の方法	

* 必要に応じて枠幅を変更下さい。

研究実施状況報告書

日本組織適合性学会 会長 殿

研究の実施状況について下記の通り報告致します。

平成 年 月 日

所属
職・氏名

印

記

研究課題:

承認日: 平成 年 月 日

研究責任者氏名:

新たに提供された試料等の数: 件

既存試料の数: 件

外部機関への試料等の提供: 件

研究が実施された試料等の数: 件

研究の進捗状況, 結果:

問題発生の有無(有の場合はその内容):

日本組織適合性学会 研究倫理審査委員会 委員

徳永勝士(委員長)	東京大学大学院医学系研究科
稲葉 裕*	順天堂大学医学部
大谷文雄	北里大学医学部
小林 賢	日本薬科大学
田中秀則	東京都赤十字血液センター
田村智英子*	お茶の水女子大学人間文化研究科
成瀬妙子	東京医科歯科大学難治疾患研究所
西谷 修*	東京外語大学大学院地域文化研究科
原田節子*	医療通訳
神谷恵子*	神谷法律事務所

(* 印は外部委員)

第 15 回 日本組織適合性学会大会のご案内

第 15 回 日本組織適合性学会大会
大会長 木村 彰方

早春の候、皆様には益々御清祥のこととお慶び申し上げます。

第 15 回日本組織適合性学会大会を下記の要領で開催致します。今大会は、組織適合性：その旧くて新しいテーマ (Histocompatibility revisited) をテーマとしますので、会員の皆様の多数のご参加をお待ち致しております。

会 期： 2006 年 9 月 24 日(日)～9 月 26 日(火)

会 場： シェーンバッハ・サボー

東京都千代田区平河町 2-7-5 砂防会館別館 B 棟

TEL： 03-3261-8386

大会内容

1. 特別講演・シンポジウム(いずれも予定)
 - 1) 特別講演 森山成彬先生(作家 帚木蓬生)
「医学における ethico-legal-social issue」(仮題)
 - 2) 招待講演 Ekkehard ALBERT 教授(ミュンヘン大学)
「Histocompatibility」(仮題)
 - 3) シンポジウム「組織適合性：臨床から望むもの」
2. ワークショップ
 - 1) ワークショップ「組織適合性と生命倫理」
3. 一般演題
4. QC ワークショップ, 認定技術者講習会
5. ランチョンセミナー, その他

一般演題募集要項

1. 発表形式

発表形式は口演(日本語)とポスターによりおこないます。

演者は本学会員であることが必要です。発表形式(口演またはポスター)については、大会事務局にご一任願います。

2. 申し込み方法

1) 抄録の形式

- 抄録は、Microsoft Word の文書ファイルを用いて、和文、または英文にて作成願います。
- 演題名、演者、所属、本文の順に記載し、発表者には○印を付けてください。
- 本文は 800 字以内とし、目的、方法、結果、考察等に分類して記載願います。英数字は半角文字を使用し、2 文字で 1 字とします。 α , β , μ などのギリシア文字はフォントを Symbol に、それ以外の文字は MS 明朝に統一願います。

2) 演題申し込み票ファイルの作成

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

3) 申し込み受け付け

- 演題受付は, 原則として e-mail により行います。件名は「15JSHI 演題」として,
 - 抄録, 2) 演題申し込みファイルの2つのファイルを, 添付書類にて第15回大会事務局アドレス (naruse.tis@mri.tmd.ac.jp) にお送りください。

3. 演題申し込み締め切り

2006年5月31日(水)必着

4. 演題受領通知および採択通知

演題受付後7日以内に, e-mail または FAX にて演題受領の通知を致します。演題発表の形式(口演またはポスター)および日時につきましては, 2005年7月下旬頃迄に, e-mail または FAX にて通知を致します。

参加登録費

参加費は事前登録を行います。

	理事・評議員	会 員
事前登録(2006年7月31日受付まで)	¥8,000	¥6,000
当日参加(2006年8月1日以降)	¥10,000	¥8,000

事前登録参加費は下記の銀行口座に振り込みをお願いします。入金確認後, 大会事務局より参加証の引き換え券を郵送致します。参加証(領収書兼用)は, 当日学会受け付けにてお渡し致します。なお, お振り込みの際には, お名前のあとに会員番号を必ずご記入願います。

〈振込先〉 みずほ銀行 お茶の水支店
普通 口座番号 1027291
第15回日本組織適合性学会大会事務局 木村彰方

懇親会

2006年9月25日(火) 19:00 ごろより懇親会を開催致します。奮ってご参加ください。

宿泊・交通について

本大会の宿泊, 交通に関しましては, 各自ご手配願います。会場近辺のホテルは混雑が予想されますので, お早めに予約されることをお勧め致します。

2006年度学術奨励賞の募集

2006年度学術集会大会に応募された一般演題の中から, 特に優秀と認められた演題の筆頭演者に学術奨励賞が授与されます。本年度から, 実務を通じた発見や技術応用などを対象とした実務関連の学術奨励が新たに加わ

りました。詳しくは本誌に記載されている「2006年度学術奨励賞の募集要項」をご参照下さい。

大会事務局

本大会に関するお問い合わせは、下記の大会事務局にお願い致します。

〒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 分子病態内

第15回日本組織適合性学会大会事務局

TEL: 03-5280-8054 FAX: 03-5280-8055 E-mail: naruse.tis@mri.tmd.ac.jp

その他

大会情報は今後のMHC誌上、および日本組織適合性学会ホームページで随時更新致します。

日本組織適合性学会 2005 年度学術奨励賞選考結果について

日本組織適合性学会
学術奨励賞選考委員長 木村 彰方

1. 2005 年度学術奨励賞の公募経緯

2005 年度より、若手研究者の研究奨励と研究助成を目的として日本組織適合性学会学術奨励賞を創設した。学術奨励賞は、第 14 回日本組織適合性学会大会に応募された一般演題の中から、特に優秀と認められた演題の筆頭演者に与えられるものとした。応募資格は、1) 筆頭演者は本学会の正会員であり、かつ 2004 年度までの会費を納入済であること、2) 筆頭演者は 2004 年 10 月 4 日時点で満 45 才未満であること、3) 応募しようとする演題の内容において、筆頭演者が中心的な役割を果たしていること、4) 応募しようとする演題の内容が、本学会にふさわしく、かつ未発表であることとした。

2. 選考経緯

学術奨励賞には、5 月末日迄に 8 件の応募があった。これらを含む第 14 回日本組織適合性学会大会一般演題の全抄録 (42 題) について、MHC 編集委員および編集協力者に 5 段階での採点を依頼した。返送された採点結果を集計し、最優秀賞 1 件、優秀賞 2 件を選出した。最優秀賞演題の得点は一般演題を含めた 1 位であり、優秀賞演題 2 題の得点はいずれも上位 6 分の 1 に入っていた。

3. 選考結果

最優秀賞

氏名(所属): 千住覚(熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別)

演 題: ES 細胞から分離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

優秀賞(順不同)

氏名(所属): 志知大輔(東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子病態)

演 題: HLA 領域内ハプロタイプの LD マッピング

氏名(所属): 川嶋実苗(東京大学大学院・医学系研究科・睡眠障害解析学)

演 題: 新たなヒトナルコレプシー感受性/抵抗性遺伝子: *NLC1-A*

4. 受賞講演

優秀賞演題は、第 14 回日本組織適合性学会大会中の 10 月 4 日に、学術奨励賞受賞者講演として発表された。

2006 年度 学術奨励賞募集のお知らせ

学術奨励賞選考委員会
委員長 木村 彰方

会員の皆様

2005 年度に引き続き研究助成を目的とした日本組織適合性学会学術奨励賞の募集を行います。2006 年度より、学術奨励賞に分野区分を設けて募集・選考を行うことにいたしますが、若手研究者の研究を奨励することに加えて、実務に関する有用な発見や技術応用に関する研究奨励を行うこととします。以下の要領で募集しますので、奮って御応募下さい。

1. 助成内容

2006 年度学術集会大会に応募された一般演題の中から、特に優秀と認められた演題の筆頭演者に学術奨励賞を授与します。授与件数は若干件で、1 件につき 10 万円程度の助成金授与を予定しております。

2. 募集分野

- (1) 基礎研究系(主に基礎医学系の研究。理学、生物学的な研究を含む)
- (2) 臨床研究系(臨床関連研究。基礎医学的な疾患研究などを含む)
- (3) 技術応用系(実務関連研究。実務を通じた発見、技術応用などを含む)

3. 応募資格

助成金応募にあたっては、以下の条件のすべてを満たしていることが必要です。

- 1) 筆頭演者は本学会の正会員であり、かつ 2005 年度までの会費を納入済であること
- 2) 応募しようとする演題の内容において、筆頭演者が中心的な役割を果たしたこと
- 3) 応募しようとする演題の内容が、本学会にふさわしく、かつ未発表であること
- 4) 筆頭演者は 2006 年 9 月 26 日時点で満 45 才未満であること。ただし、技術応用系については年齢制限をもうけません。

4. 応募方法

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

必要書類

1) 抄録

一般演題に応募した抄録

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

2) 申し込み用紙

演題名, 演者(全員), 所属(全員), 応募分野(基礎研究系, 臨床研究系, 技術応用系のいずれかひとつ), 及び応募者(筆頭演者)の連絡先住所, 電話番号, FAX, e-mail アドレス, 生年月日, 年令を記入したもの
(Word 形式で保存しファイル名を応募者名申込.doc とする。Word が使えない場合はテキスト形式で保

存しファイル名を応募者名申込.txt とする)

5. 応募締め切り

2006年5月31日(必着)

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

6. 選考および結果通知について

応募された演題について MHC 編集委員および編集協力者等が予備審査を行い、その結果を参考にして学術奨励賞選考委員会にて選考を行います。結果は、8月中旬頃までに応募者宛に通知致します。

7. 助成金の使途

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

8. 受賞者にかかる義務について

- 1) 受賞者は、第15回日本組織適合性学会大会(学術奨励賞受賞講演セッション)において発表を行って頂きます。
- 2) 受賞者は、助成が行われた研究課題についての報告書(様式は別途通知します)を学会宛に提出して頂きます。

9. 助成が行われた研究課題の成果発表について

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

10. 問い合わせ先

本件に関する問い合わせは学会事務局をお願いします。

日本組織適合性学会事務局

〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台 2-3-10

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野内

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

第 10 回 HLA-QC ワークショップのご案内

日本組織適合性学会
認定制度委員会
委員長 佐田正晴
QC ワークショップ部会長 木村彰方

前回到引き続き認定制度委員会主催の QC ワークショップ (QCWS) を開催致しますので、下記の通り案内致します。前回と同様、DNA タイピング QC (DNA-QC) に加えて、抗体検査 QC (抗体 QC) を実施します。

記

1. スケジュール(すべて予定ですので、今後変更があり得ます)
平成 18 年 4 月下旬 DNA サンプル, 抗体サンプル配布(原則として、ラボ単位で配布)
平成 18 年 6 月中旬 データ提出締切り(原則として、電子媒体による)
平成 18 年 8 月下旬 解析結果送付(原則として、ラボ単位で配布)
2. QC ワークショップ集会
平成 18 年 9 月 24 日(日)午後 第 15 回日本組織適合性学会(東京)にて
3. 参加費 (QC ワークショップ集会のみの参加も同様)
認定制度との関連で、参加は原則として個人を対象とします。
QC ワークショップにかかる資料代等の実費として、一名 2,000 円を申し受けます。
DNA-QC, 抗体 QC のどちらか一方に参加、どちらにも参加、集会のみに参加のいずれも、参加費は同一です。
4. 参加申し込み (QC ワークショップ集会のみ参加する場合も同様に申し込んでください)
学会ホームページ QC ワークショップ部会の URL (<http://jshi.umin.ac.jp/QCWS/>) より申し込み様式をダウンロードし、必要事項を記入後、メール添付にて QC ワークショップ部会まで送付ください。必要事項をメール本文に直接記入して送られても結構です。なお、電子媒体の使用が困難な場合は、別紙用紙に必要事項を記入し、ファックスまたは郵送にてお送りください。
参加費の払い込みをもって参加申し込みの完了と致しますので、参加費は以下の口座に振込んでください。原則として、振込の控えをもって領収書とさせていただきます。集会のみの参加の場合も同様です。参加申し込み(参加費払い込み)の期限は、平成 18 年 3 月 17 日(金)とします。
5. 振込口座
郵便振替口座 00160-7-482142
組織適合技術者認定制度委員会
振替用紙の通信欄に、「第 10 回 QCWS 参加費」および参加者氏名を必ず記載してください。

第 10 回 HLA-QC ワークショップ参加申込書
 (QC ワークショップ集会のみ参加する場合も、同様に申し込んでください)

参加申し込み締め切り(参加費払い込みを含む)は平成 18 年 3 月 17 日(金)です。

申込書の送付先

電子メール使用の場合

Email アドレス: jshiqcws.tis@mri.tmd.ac.jp

郵送または Fax の場合

101-0062 千代田区神田駿河台 2-3-10

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野 木村彰方

Fax: 03-5280-8055

* * *

以下の通り、第 10 回 HLA-QC ワークショップに参加致します

1) 参加者

代表*	参加者氏名	参加内容&	所属施設・部署	E メールアドレス#

&; 参加する QCWS 内容の記号 (a; DNA-QC のみ, b; 抗体 QC のみ, c; どちらも, d; 集会のみ)のいずれかを記載してください

*; 参加者の代表(結果の問い合わせなどに対応される方に◎をつけてください)

#; 問い合わせや案内に用いますので、代表者のみの記入で結構です。

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

QC ワークショップ集会のみの参加の場合は記入不要です

住所(郵便番号): (〒 -) _____

施設名: _____

所属部署: _____

氏名: _____

E-mail: _____, 電話: _____

具体的な QCWS 実施方法, 結果記入方法, 結果返送方法の詳細等を今後検討し, 学会ホームページに掲載するとともに, 代表者宛に連絡します。

組織適合性検査技術者認定制度 平成 18 年度・認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ

組織適合性検査技術者認定制度委員会

委員長 佐田 正晴

組織適合性検査技術者認定制度委員会教育部会

部会長 西村 泰治

日 時：平成 18 年 9 月 24 日(日曜日) 16 時頃より(未定：詳細は次号に掲載)

場 所：シェーンバツハ・サポー(東京都千代田区平河町 2 丁目 7-5)

参加費：2,000 円(テキスト代を含む)

内 容：各講習とも質疑応答を含めて、25 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 クラス I 抗体の方法別検出感度と血小板輸血効果
齊藤 敏 (長野県赤十字血液センター検査課)
- (2) HLA の遺伝学；疾患感受性解析
太田 正穂 (信州大学医学部法医学)
- (3) HLA の免疫学；HLA とウイルスとの戦い
千住 覚 (熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学)
- (4) 腎移植，膵移植をめぐる HLA タイピング，クロスマッチの意義
杉谷 篤 (九州大学病院・腎疾患治療部・臨床腫瘍外科)

この講習会は、今後 HLA 検査技術者認定を取得、あるいは更新しようとする者を対象に実施されますが、それ以外の者であっても自由に参加することができます。受講希望者には、以下の申込書に必要事項を記入し、熊本大学大学院医学薬学研究部・免疫識別学分野宛に FAX (096-373-5314) で平成 18 年 6 月 30 日(金)までに送付してください。あるいは、E メールで件名を「HLA 講習会」とし、申込書の必要事項を書き込んで「midorifu@kaiju.medic.kumamoto-u.ac.jp」宛に、上記締め切り日までに送信してください。テキストは、申込数に応じて作成し、申込者に優先して配布します。そのため当日の申し込み者については、テキストの配布を受けられない場合がありますことを、あらかじめご了承ください。なお参加費は平成 18 年 8 月 31 日(木)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 18 年度認定 HLA 検査技術者講習会受講料」と記載してください。参加費前納者には、事前に講習会資料を送付させていただきます。なお受講申し込みをされ参加費を振り込まれた方で、当日欠席された方には返金できませんことを御了承ください。

平成 18 年度・認定 HLA 検査技術者講習会 受講申込書

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

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

氏 名：

所 属：

住 所：〒

電 話 番 号：

FAX 番 号：

E メールアドレス：

HLA 検査技術者認定取得予定 なし あり → 平成 年度を予定

平成 18 年度 認定 HLA 検査技術者認定試験申請要領

日本組織適合性学会
 会長 木村 彰方
 組織適合性技術者認定制度委員会
 委員長 佐田 正晴

認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則(以下「規則」といいます。)に基づき認定 HLA 検査技術者資格認定試験を下記のように実施します。

平成 19 年度に受験を予定している人は、今年度までに講習会のみを受講しておく必要があります。また、平成 20 年度以降に受験を予定している人も講習会の受講は可能です。なお、講習会の詳細については本誌別頁に記載の「平成 18 年度・認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ」をご覧ください。

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

- (1) 日本組織適合性学会(以下「学会」といいます。)の会員歴が通算して 3 年以上あること。
- (2) 組織適合性検査に関する業務経験が 3 年以上あること。
- (3) 5 年間で技術者履修課程に定められた講習の受講歴があること。
- (4) 5 年間で資格審査基準が 30 単位以上あること。但し、当学会の大会への参加が 5 単位以上含まれていなければなりません。

なお、(2) の業務とは、組織適合性に関する検査、研究および教育をいいます。

2 申請書提出期限: 平成 18 年 4 月 21 日(金)までに到着するよう簡易書留で下記の事務局へ送付してください。

3 申請書送付先: 〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台 2-3-10
 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野内
 組織適合性技術者認定制度委員会事務局
 電話 03-5280-8054, ファックス 03-5280-8055

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

- (2) 申請料振り込み用紙の写し
- (3) 80 円切手を貼った返信用封筒(申請者へ送れるように住所・氏名などを記載しておいてください)

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

資格審査結果については、6 月上旬ごろに郵送で通知する予定です。

申請書類のファイルは、学会のホームページからもダウンロードできます。

5 申請料: 15,000 円

振込先

郵便振替口座: 00160-7-482142

口座名義: 組織適合性認定制度委員会

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

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

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

実施日時としては、7月から8月中の2ないし3日間(施設によって異なります)を予定しています。なお、開催都市は、東京と京都を予定しています。

7 実技・筆記試験: 実技試験: 平成18年9月24日(日)時間未定

筆記試験: 平成18年9月24日(日)時間未定

会場: シェーンバッハ・サポー(東京都千代田区平河町2-7-5)

試験の日時および会場については本人に郵送で8月下旬ごろ通知する予定です。

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

平成 18 年度 認定組織適合性指導者資格認定試験申請要領

日本組織適合性学会
 会長 木村 彰方
 組織適合性技術者認定制度委員会
 委員長 佐田 正晴

認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則(以下「規則」といいます。)に基づき認定組織適合性指導者資格認定試験を下記のように実施します。

平成 19 年度に受験を予定している人は、今年度までに講習会のみを受講しておく必要があります。また、平成 20 年度以降に受験を予定している人も講習会の受講は可能です。なお、認定組織適合性指導者講習会は、2006 年 9 月 25, 26 日に開催される第 15 回日本組織適合性学会大会(東京)の講演などの受講をもって代えます。その詳細につきましては、8 月頃に発刊予定の MHC 誌に掲載されますのでご参照ください。

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

- (1) 日本組織適合性学会(以下「学会」といいます。)の会員歴が通算して 7 年以上あること。
- (2) 組織適合性検査に関する業務経験が 7 年以上あること。
- (3) 5 年間で指導者履修課程に定められた講習の受講歴があること。
- (4) 5 年間で資格審査基準が 70 単位以上あること。但し、当学会の大会への参加が 10 単位以上含まれていなければなりません。

なお、(2)の業務とは、組織適合性に関する検査、研究および教育をいいます。

2 申請書提出期限: 平成 18 年 4 月 21 日(金)までに到着するよう簡易書留で下記の事務局へ送付すること。

3 申請書送付先: 〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台 2-3-10
 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野内
 組織適合性技術者認定制度委員会事務局
 電話 03-5280-8054, ファックス 03-5280-8055

4 提出書類: (1) 認定組織適合性指導者認定申請書と別記様式第 4 および別記様式 2 の 1 から 2 の 6
 (2) 申請料振り込み用紙の写し
 (3) 80 円切手を貼った返信用封筒(申請者へ送れるように住所・氏名などを記載しておいてください)

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

資格審査結果については、6 月上旬以降に郵送で通知する予定です。

申請書類のファイルは、学会のホームページからもダウンロードできます。

5 申請料: 30,000円

振込先

郵便振替口座: 00160-7-482142

口座名義: 組織適合性認定制度委員会

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

6 試験: 試験: 平成 18 年 9 月 24 日(日)時間未定

会場: シェーンバッハ・サボー(東京都千代田区平河町 2-7-5)

試験内容, 日時, 会場については, 本人に郵送で 8 月下旬ごろ通知する予定です。

平成18年度 認定HLA検査技術者認定試験受験申請書

認定HLA検査技術者認定試験の受験を申請します。

※受験番号

平成 年 月 日申請

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

※受付日

※書類の不備

※受験の出欠

※合否判定

平成18年度 認定HLA検査技術者認定試験受験票

※受験番号

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

注 太枠内の必要事項を楷書で記入すること。※欄は記入しないこと。

資格審査基準証明書

申請日：平成 年 月 日

申請者名			
生年月日	昭和	年	月 日
勤務先			
勤務先住所			
電話番号			
1	日本組織適合性学会会員歴	年 月加入	申請日までの会員歴通算 年
2	QCワークショップ参加歴		申請日までの参加歴通算 年
3	組織適合性関連業務歴 (内訳)		申請日までの業務歴通算 年
4	講習会参加歴	平成 年 月参加	
5	総取得単位数		単位
(内訳)	原 著 論 文		単位
	著 書		単位
	学 会 発 表		単位
	学 会 参 加		単位
	講 習 会		単位
	QCワークショップ集会参加		単位
	実 技 研 修 会		単位
以上、相違ないことを証明します。			
平成 年 月 日			
申請者名			印
所属長名 (職名)			印

初り取り線

単位内訳書 (原著論文・総説)

申請者名

番号	著者名	題名	発表雑誌名	巻	ページ	発行年

単位内訳書 (著者・総説)

申請者名

番号	著者名	題名	本名	出版社名	ページ	発行年

貼 付 用 台 紙

(この用紙に学会参加証及び講習会参加証の写しを貼付してください。)

A large, empty rectangular box with a black border, intended for pasting copies of conference and workshop participation certificates. The box occupies most of the page area below the instructions.

平成18年度 認定組織適合性指導者認定試験受験申請書

認定組織適合性指導者認定試験の受験を申請します。

※受験番号

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

※受付日

※書類の不備

※受験の出欠

※合否判定

平成18年度 認定組織適合性指導者認定試験受験票

※受験番号

フリガナ		性別	<p>写真を貼付</p> <p>申請日前6ヵ月以内に撮影されたもので大きさは4×3cm</p> <p>平成 年 月 日撮影</p>
受験者氏名		男・女	
生年月日	(歳)		
本籍地 (都道府県名)			
フリガナ			
現住所			

注 太枠内の必要事項を楷書で記入すること。※欄は記入しないこと。

組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿 (2005)

組織適合性技術者認定制度委員会

委員長：佐田 正晴

副委員長：小林 賢

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

資格審査部会

部会長：小林 賢

副部会長：田中 秀則

部員：柏瀬 貢一, 中島 文明, 成瀬 妙子

教育部会

部会長：西村 泰治

副部会長：成瀬 妙子

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

試験問題検討部会

部会長：太田 正穂

副部会長：石川 善英

部員：石谷 昭子, 大橋 順, 小河原 悟, 柏瀬 貢一, 木村 彰方, 小林 賢, 高原 史郎,
田中 秀則, 徳永 勝士, 中島 文明, 西村 泰治, 平山 謙二, 丸屋 悦子, 屋部 登志雄

QC ワークショップ部会

部会長：木村 彰方

副部会長：成瀬 妙子

DNA 部門長：酒巻 建夫

DNA 副部門長：安波 道郎

抗体部門長：赤座 達也

抗体副部門長：中島 文明

部員：太田 正穂, 柏瀬 貢一, 小林 賢, 斉藤 敏, 田中 秀則, 佐田 正晴, 丸屋 悦子

第4回日本組織適合性学会・近畿地方会案内
(メインテーマ：組織適合性への新たな挑戦)

会 期：2006年2月4日(土) 10:00~18:00

会 場：参天製薬株式会社本社

(大阪市東淀川区下新庄3-9-19)

世話人：谷 慶彦(大阪府赤十字血液センター)

【特別講演】

「HLAの将来展望」(仮)

十字 猛夫(日本赤十字社中央血液研究所所長)

【オープニングセミナー】

「Lessons from HLA-DNA Typing」(仮)

小野 明子(大阪府赤十字血液センター 検査二課)

【テクニカルセミナー】

「HLA抗体測定法の標準化を目指して(その2)」

【シンポジウム】

「移植の最前線～組織適合性と免疫抑制剤」

【臨床に即応した抗体検査ワークショップ】(近畿地方会ワーキンググループ)

* 一般演題募集 : 2005年11月1日~2005年12月20日

* 一般演題送付先: endai_desk@osaka.bc.jrc.or.jp

* 参加費 : 正会員 2,000円, 学生会員 1,000円, 世話人 3,000円

* 問い合わせ/連絡先: 谷 慶彦

〒536-8505 大阪市城東区森之宮2-4-43 大阪府赤十字血液センター

Tel. 06-6962-7001 (代表), e-mail: tani@osaka.bc.jrc.or.jp

* 本会参加は、認定技術者・指導者の新規・更新時の単位となります。

● 原著論文 ●

日本骨髄バンク登録ドナーにおける HLA 遺伝子頻度, ハプロタイプ頻度

盛山 芳恵, 加藤 和江, 村 徹, 十字 猛夫

日本赤十字社

(平成 17 年 7 月 11 日受付)

要約: 日本骨髄バンク登録ドナー(以下ドナーとする)として登録された人々の HLA 型から, HLA-A, -B, -DR の 3 座位の HLA 抗原の遺伝子頻度および HLA-A, -B, -DR の 3 座の HLA 抗原のハプロタイプ頻度の算出を行い, さらにドナーが登録した骨髄データセンターの都道府県をそのドナーの出身地と仮定して, HLA ハプロタイプの都道府県別頻度の計算を行った。ドナー全体のハプロタイプ頻度と韓国, 台湾, 中国, 中国東北部のハプロタイプ頻度との比較も行った。11th International Histcompatibility Workshop (以下 11th IHW とする)の日本の HLA 遺伝子頻度結果は, 全検体数が少なかったために検出できなかった日本人には比較的稀であるとされてきた HLA 型が, 今回のドナー全体での調査では, いくつか検出された。これは大きな集団を解析することによって初めて可能になった貴重なデータである。都道府県別ハプロタイプ頻度を較べてみると, ハプロタイプの分布に多少の差異があることが示された。東北アジアの近隣の国々(韓国, 台湾, 中国, 中国東北部)との比較では, 日本は韓国と多くの HLA 抗原ハプロタイプを共有している事が示され, 人類学的に近い関係にあることが推測された。

キーワード: HLA 遺伝子頻度, ハプロタイプ頻度

はじめに

平成 3 年 12 月の日本骨髄バンク設立から現在(平成 16 年 9 月末日)までのドナーは累計で 249,614 人, 有効登録者(取消者を除いた数)は 196,733 人である。ドナーは日本人だけとは限らないが, 日本列島に居住する人々の HLA 抗原遺伝子頻度・HLA-A, -B, -DR の 3 座抗原ハプロタイプ頻度を, 15 万人以上のデータを用いて各都道府県別での結果を公開することははじめてのことであり, HLA 適合ドナーを必要とする患者および主治医にも, また HLA 研究者に

とつても, 重要な情報を提供できると考える。日本人集団を対象とした HLA 遺伝子頻度, ハプロタイプ頻度については第 10, 第 11 回日本 HLA ワークショップ (10JWS, 11JWS) (3), 11th 12th International Histcompatibility Workshop (11th IHW, 12th IHW) (4) 等での報告があるが, いずれも今回の集計と較べて, 数が 2 桁少ない集団での解析である。

今回, 日本骨髄バンク登録患者が保有している稀なハプロタイプが, 地域的偏りがあるとするならば, その地域での登録ドナーを増やすことが重要となる

代表者連絡先 〒105-0011 東京都港区芝公園 2 丁目 4 番 1 号
秀和芝パークビル B 館 14 階 日本赤十字社 血液事業本部
中央血液研究所 中央骨髄データセンター 調整課
盛山 芳恵

電話 03-5733-8231
F A X 03-5733-8220
E-mail moriyama@bs.jrc.or.jp

と考へ HLA 3 座抗原ハプロタイプの都道府県別分布の解析を行った。韓国, 台湾, 中国, 中国東北部などの近隣東北アジアの国々の人々の HLA 3 座抗原ハプロタイプの頻度を参考のために付記した。

材料と方法

1. 解析対象データ

平成 8 年 4 月以降(クラス II 検査に DNA 検査を導入)に登録された 159,696 件のドナーで HLA 抗原遺伝子頻度を, 156,484 件で HLA 3 座抗原ハプロタイプの頻度を解析した。

2. 解析対照とした HLA 抗原

A11.1, A11.2, A68, A69, B3901, B3902, B5102, B5103 等, 一部の検体についてのみ血清学によるサブタイプが分類されている抗原は, 同一の基準で解析が行えないと考へ, それぞれ A11, A28, B39, B51 等に訂正後解析を行った。一方, ほとんどが血清学によりサブタイプまで分類されている B12, B15, B16, B22, B40, DR6, DR2 のブロード抗原については対象外とし, これら抗原がタイプされているドナーは今回の解析から除外した。

3. 解析方法

HLA3 座抗原ハプロタイプの頻度

産業技術総合研究所生物情報解析研究センター
今西 規 作成プログラムを使用し算出した(1, 2)

HLA 遺伝子頻度

遺伝子頻度 (GF) は次の式で計算した。GF = $1 - \sqrt{(1-PF)}$ (PF (表現型頻度))

4. 検査体制

ドナーに対する HLA 抗原の検査は次のように行われた。

1) 血清学的検査(クラス I)

全国の赤十字血液センターで収集された HLA 抗血清を赤十字 HLA ワークショップで特異性を解析して, 優れたもののみ集めて全国共通トレイ(共通トレイ)を東京都赤十字血液センターが作成し, 自家検定ならびに北海道, 大阪府, 福岡県赤十字血液セン

ターで品質試験を行った上で使用した。HLA クラス I 抗原の血清学的検査は, 全国赤十字血液センターで上記の共通トレイを用いて LCT (lymphocyte cytotoxicity test) 法で行った。この共通トレイで, 国内で 0.1% 以上の頻度で血清学的に検出される HLA-A, -B 型をタイプすることが可能である。

DNA を使用した再検査システム

血清学的に検出できない下記の場合には, DNA 検査を併用した

• 判定できない HLA 型

共通トレイでは父親由来 HLA 型と母親由来 HLA 型の組み合わせによっては, 片方の型が判定できないことがある。例えば, B60 と B61 の両方を保有する場合, 血清学的には B60/- と判定され, B61 が検出できない。このような場合は DNA を使用して再検査を行った。

• 新しい HLA 型

共通トレイの抗血清の反応が, 規定された HLA 型の反応パターンに合わない場合に DNA を使用して確認検査を行った。

2) DNA 検査(クラス II)

PCR-microtiter plate hybridization (PCR-MPH) 法で検査を行った。

結果

1. HLA 遺伝子頻度

表 1 に, ドナー全体の HLA 遺伝子頻度を示す。11th IHW データと比較すると頻度順においては, 多少前後するものがあるがほぼ同等の結果を得た。HLA-B14, -B47 の頻度については 11th IHW で 0.1% であったが, ドナーでは HLA-B14 が 0.01%, B47 が 0.001% と低頻度となっていた。表 2 に, 11th IHW の報告で遺伝子頻度 (GF) が 0% であった HLA 抗原の, 現在のドナー件数と HLA 遺伝子頻度を示す。今まで日本人集団には存在しないとされていた HLA 型であっても, ドナーに低頻度であるが存在していた。しかしながら, それらの稀な HLA 型を保有するドナーの人種的背景(日本人か外国人か)を調査することはできなかった。表 3, 表 4 に低頻度抗原の HLA-A, B, Cw, DR 型と推測されるハプロタイプを

表1 解析対象とした HLA 抗原とその遺伝子頻度 (%) 全体

(11th IHW データとの比較)

A locus	日本骨髓バンク	11th IHW	B locus	日本骨髓バンク	11th IHW	DR locus	日本骨髓バンク	11th IHW
24	37.1	35.1	61	12.9	10.7	4	23.7	22.8
2	24.1	24.4	52	11.3	10.7	15	18.2	17.4
26	12.0	10.9	51	9.0	9.3	9	14.4	13.0
11	8.9	10.4	62	8.7	8.3	8	12.2	13.3
31	8.7	8.0	35	8.3	8.1	13	7.4	7.8
33	7.7	7.7	54	7.5	6.3	14	7.2	5.5
3	0.5	0.6	44	7.5	7.4	1	5.6	5.5
1	0.4	0.7	60	5.4	5.6	12	5.4	7.0
30	0.2	0.4	7	5.4	5.0	11	2.5	2.6
BL	0.4	1.7	46	4.4	4.4	1403	1.6	J25:1.9
			39	4.0	4.5	16	0.8	0.8
			48	2.9	3.2	10	0.5	0.6
			55	2.6	2.9	7	0.3	0.4
			59	2.0	1.9	3	0.1	0.2
			70	1.6	1.6	BL	0.2	1.0
			13	1.4	1.8			
			67	1.1	1.5			
			56	1.1	1.6			
			75	1.0	1.1			
			17	0.6	B57:0.0 B58:0.7			
			37	0.5	0.7			
			38	0.3	0.3			
			27	0.3	0.4			
			14	0.0 (0.01)	0.1			
			47	0.0 (0.001)	0.1			
			BL	0.2	1.3			

日本骨髓バンク: N=159,696

11th IHW (11th IHW データから引用): N=1,023(A,B locus) N=898(DR locus)

示す。これは、表2の低頻度抗原のうち、ハプロタイプの推測が可能であった HLA-A29, A32, B8 を保有するドナー HLA データである。推測したハプロタイプは、A29-B7-Cw15-DR8, A29-B7-Cw15-DR10, A29-B44-DR7, A32-B61-Cw2-DR11, A32-B44-Cw5-DR4, A1-B8-Cw7-DR3 であった。A32-B44-Cw5-DR4 は、近畿に多い傾向がみられた。表5, 表6-1, 表6-2, 表7に遺伝子座別での都道府県別 HLA 遺伝子頻度を示す。全ての遺伝子座において沖縄県の頻度は、その他の都道府県と較べると明らかに差があった。全国頻度と較べ特に沖縄県の頻度が高い HLA 抗原は、HLA-A2, A26, A35, B59, DR4, DR14, 頻度の低い HLA 抗原は、HLA-A33, B7, B44, B46, B52, DR1, DR9, DR13 であった。その他に A 座抗原に特徴あるものとして、HLA-A30 は青森県・四国の頻度が低く、HLA-A33 は中部に多く分布が見られた。B 座抗原に特徴あるものとし

て、HLA-B7 は山陽・山陰、HLA-B44 は中部に多い傾向が見られた。HLA-B38 は鳥取県だけが0%であった。DR 座抗原に特徴あるものとして、HLA-DR1 は山陰・山陽、HLA-DR8 は四国、HLA-DR13 は中部、HLA-DR14 は東北、HLA-DR3 は大分県を除いた九州に多く分布し、HLA-DR7 は青森県だけが0%であった。

2. ハプロタイプ頻度

図1に、全国の上位10位までのハプロタイプ頻度と11th IHW データを比較したものを示す。上位5位までは11th IHW と同一順位であった。6位以降は多少順位の違いが見られた。表8-1, 8-2に、全国で上位10位のハプロタイプについて、都道府県別の頻度を算出したものを示す。図2は、表8-1, 8-2の結果を地図上に色分けしたものである。A24-B52-DR15 は、ほとんどが8%以上の頻度であったが、

表 2 11th IHW の報告で遺伝子頻度 (GF) が 0% であった HLA 抗原

A locus N=159,696

HLA 型	件数	GF (%)
A29	29	0.0091
A32	28	0.0088
A28	27	0.0085
A23	7	0.0022
A34	3	0.0010
A25	1	0.0003

B locus N=159,696

HLA 型	件数	GF (%)
B8	30	0.0094
B18	8	0.0025
B50	6	0.0019
B45	5	0.0016
B53	5	0.0016
B63	5	0.0016
B49	3	0.0010
B76	3	0.0010
B77	3	0.0010
B41	2	0.0007
B42	1	0.0003
B73	1	0.0003
B78	1	0.0003
B81	1	0.0003

DR locus N=159,696

HLA 型	件数	GF (%)
DR1404	3	0.0010
DR103	2	0.0007

沖縄県が 2.77% と他の集団に比べ低頻度であり、次いで愛媛県以外の四国、青森県で低い傾向が見られた。A33-B44-DR13 は中部、甲信越周辺に多く分布していた。A24-B7-DR1 は山陰・山陽に多く分布し、このハプロタイプは全国順位が 3 位であるが、山陰・山陽においては 2 位であった。A24-B54-DR4 は沖縄県の中で一番多い頻度のものであったが、全国で見ると徳島県が他の集団に比べ高頻度であった。A2-B46-DR8 と A26-B61-DR9 は特に特徴ある分布は見られなかった。A11-B62-DR4 の分布傾向は、北陸・中部から東北にかけてのグループと、近畿周辺から九州にかけての 2 つのグループに分けられる。前者が後者より分布頻度が高い傾向が見られた。A24-B61-DR9 は、長崎県が一番頻度が高かった。A24-B59-DR4 は、沖縄県で 2 番目に多い頻度であり、このハプロタイプの全国平均は 1.12% であるが、沖縄県はその約 4 倍の 4.29% であった。A11-B54-DR4 は、他の集団に比べ高知県が高頻度であった。

3. 他の東北アジアの近隣諸国との比較

図 3 に、日本、韓国、台湾、中国、中国東北部の上位 10 位ハプロタイプを比較したものを示す。日本

Haplotype frequencies – HLA- A-B-DR
HF (%)

全国 N=19,975		11 th IHW N=893	
1. A24-B52-DR15	8.65	1. A24-B52-DR15	8.2
2. A33-B44-DR13	4.96	2. A33-B44-DR13	5.2
3. A24-B7 -DR1	3.92	3. A24-B7 -DR1	3.6
4. A24-B54-DR4	2.86	4. A24-B54-DR4	2.3
5. A2 -B46-DR8	2.15	5. A2 -B46-DR8	2.2
6. A26-B61-DR9	1.74	6. A11-B62-DR4	1.6
7. A11-B62-DR4	1.60	7. A26-B61-DR9	1.2
8. A24-B61-DR9	1.55	7. A2 -B61-DR9	1.2
9. A24-B59-DR4	1.12	7. A2 -B35-DR4	1.2
10. A11-B54-DR4	1.07	7. A24-B61-DR9	1.2

線で結んだものは同一ハプロタイプ

図 1 全国のハプロタイプ頻度 (%)

表 3 低頻度抗原の HLA-A, B, Cw, DR 型と推測されるハプロタイプ A locus

HLA 型	都道府県	地域	A (1)	A (2)	B (1)	B (2)	Cw (1)	Cw (2)	DR (1)	DR (2)	推測されるハプロタイプ
A29	北海道	北海道	29	24	7	35	15	9	8	4	A29-B7-Cw15-DR8
	宮城県	東北	29	31	7	51	15	14	8		
	千葉県	関東	29	2	7	35	9		8	15	
	愛知県	中部	29	24	7	52	15	12	8	15	
	愛知県		29	31	7	61	15	10	8	14	
	愛知県		29	33	7	44	15	14	8	13	
	三重県		29	33	7	17	15	10	8	3	
	滋賀県	近畿	29	26	7	61	15	9	8	9	
	大阪府		29	11	7	51	15		8	4	
	大阪府		29	24	7	62	15	4	8	4	
	兵庫県		29	31	7	56	1		8	12	
	兵庫県		29	11	7	54	1		8	4	
	兵庫県	29	24	7	51			8	9		
	山口県	山陽	29	24	7	52	15	12	8	15	
	福岡県	北九州	29	24	7	52			8	15	
	東京都	関東	29	24	7	52			10	15	A29-B7-Cw15-DR10
	神奈川県		29	11	7	55	15	9	10	9	
	山口県	山陽	29	31	7	52	15	1	10	15	
宮城県	東北	29	24	44	7	16	7	7	1	A29-B44-DR7	
東京都	関東	29	32	44	61	2		7	12		
神奈川県		29	2	44	62	10		7	4		
A32	石川県	北陸	32	24	61	52	2	12	11	15	A32-B61-Cw2-DR11
	東京都	関東	32	2	61	46	2	1	11	4	
	東京都		32	26	61				11	9	
	東京都		32	26	61	48	4		11	9	
	茨城県		32	26	61	52			11	15	
	栃木県		32	24	61	52			11	15	
	愛知県	中部	32	24	61		2	8	11	9	
	愛知県		32	24	61	46	2	1	11	8	
	三重県		32	2	61	46	2	1	11	8	
	大阪府	近畿	32	24	61	54	1		11	4	
	大阪府	近畿	32	33	44		5	7	4	7	A32-B44-Cw5-DR4
	大阪府		32	11	44	60	5	7	4	12	
	兵庫県		32	33	44	17	5	10	4	3	
	奈良県		32	24	44	54	5	1	4	8	
奈良県	32		24	44	52	5	12	4	15		
鹿児島県	南九州	32	24	44	54	5	1	4			

※ Cw locus の結果は、血清学的検査でタイプできていないものが存在し、一部、DNA 検査で検出されているものも含んでいるので参考値とする

と同一のハプロタイプを持つものは、台湾・中国・中国東北部においては1ハプロタイプであったが、韓国とは6ハプロタイプを共有していた。

考 察

HLA 遺伝子頻度を調べてみると、今まで日本人集

団には存在しないとされてきた HLA 型でも調査数が15万以上となるとドナーに低頻度であるが存在していることが示された。日本骨髄バンクの目的が、患者に HLA 適合ドナーを探し出すことであるかぎり、極めて稀な HLA 型にも大きな関心を持たなければならない。低頻度であった原因について、いく

表 4 低頻度抗原の HLA-A, B, Cw, DR 型と推測されるハプロタイプ B locus

HLA 型	都道府県	地域	A (1)	A (2)	B (1)	B (2)	Cw (1)	Cw (2)	DR (1)	DR (2)	推測されるハプロタイプ
B8	新潟県	甲信越	1	28	8	63	7		3	13	A1-B8-Cw7-DR3
	東京都	関東	1	2	8	44	7		3	15	
	東京都		1	26	8	17	7	10	3	14	
	東京都		1	2	8	60	7		3	4	
	東京都		1	24	8	48	7		3	12	
	東京都		1	31	8	61	7	10	3	8	
	京都府	近畿	1	2	8	44	7		3	13	
	大阪府		1	24	8	52	7		3	15	
	兵庫県		1	24	8	51	7	1	3	9	
	兵庫県		1	31	8	61	7		3	14	
	長崎県	北九州	1	2	8	13	7	10	3	12	
	熊本県	南九州	1	3	8	41	7		3	4	
	宮崎県		1	24	8	52	7		3	15	
	沖縄県	沖縄	1	11	8	54	7	1	3	4	

※ Cw locus の結果は、血清学的検査でタイプできていないものが存在し、一部、DNA 検査で検出されているものも含んでいるので参考値とする

つかの可能性が考えられる。1つは、外国人が登録ドナーに存在すること。2つ目は、今まで日本人集団にないとされてきた HLA 型(例えば HLA-A29, -A32)に対しては、その HLA 型に対する抗血清がタイピングトレイに入っていなかったこと。また現在でもドナーの保有する2種類の HLA 型の組み合わせによってはタイプできないものが存在している(例: HLA-A28 は片側に A2 を持つと血清学的検査の判定は A2 のみが検出されて、A28 は検出できないことがある)。今後、ドナー登録時検査に DNA 検査が導入されることで、これらの HLA 型が検出されるようになれば、その頻度も高くなっていくと思われる。3つ目は、日本に極く低頻度であるが、その HLA 型が存在することが考えられる。そこで HLA-A29, A32 については、HLA-A29 または A32 を保有する患者がいることから、登録ドナーのデータの見直しを行い、HLA-A29 または A32 が本当に陰性かどうかを検討することを目的として、再検査を次のように行った。HLA-A29, A32 を保有するドナーと患者の HLA 型から、HLA-A29, A32 陽性のハプロタイプの推測を行い (A29-Cw15-B7-DR8, A29-Cw16-B44-DR7, A32-Cw2-B61-DR11, A32-Cw5-B44-DR4), そのハプロタイプを持つと思われるドナーを選択し DNA 検査を行った。その結果、登録時の HLA-A 抗原が、一つしか検出されなかった

登録ドナーに HLA-A29 または A32 を検出することができた。今回、この再検査を行うことで HLA-A29, A32 の HLA 抗原遺伝子頻度が若干上がったと思われる(表2)。この2つの HLA 型は現在思われている以上に日本に多く存在するのではないかと予測される。

全国の HLA ハプロタイプ頻度は、今まで報告されたものとはほぼ同じであったが、都道府県別で頻度を算出し、比較すると、HLA ハプロタイプの分布が地域によって多少異なることが明らかとなった。古代史によれば、日本人の成立は、一万年以上前から日本列島に居住していた縄文文化人と弥生時代の初期に朝鮮半島から移住してきた弥生文化人の融和によって成り立ったと考えられているが、弥生文化人の渡来が2000年前頃とするならば、両文化人が完全に混合するまでには時間的に短いために、多少の HLA ハプロタイプの分布差が生じているものと思われる。HLA 抗原ハプロタイプは、その連鎖不平衡の強さから、長期間にわたって維持されるが、ほかの遺伝的特色は、この期間にほとんど混和されたと考えべきであるので、それぞれの文化人に特徴的な HLA ハプロタイプを持つからといって、その人がその文化人の直系の子孫ということとはできない。しかしながら HLA ハプロタイプの抗原の組み合わせは前述のように、数千年にわたり維持されているので、

表5 都道府県別 HLA 遺伝子頻度 (%) A locus

地域	都道府県	A1	A2	A3	A11	A23	A24	A25	A26	A28	A29	A30	A31	A32	A33	A34	N数
北海道	北海道	0.37	24.97	0.74	8.07		36.60		12.74	0.04	0.009	0.13	8.73		7.53		10,856
東北	青森県	0.51	25.27	1.22	9.13		33.84		15.37	0.06			9.91		6.17		786
	岩手県	0.19	23.26	0.41	8.29		36.96		13.92	0.03		0.16	9.01		6.73		1,598
	宮城県	0.36	24.52	0.72	8.06		35.77		13.51		0.031	0.28	9.76		7.07		3,226
	秋田県	0.44	25.53	1.07	8.53		36.21		13.14			0.16	9.59		5.35		1,922
	山形県	0.41	23.61	0.53	9.52		35.46		14.06			0.16	8.42		7.54		1,599
	福島県	0.37	24.28	0.41	9.18		37.11		12.79	0.01		0.21	8.63		6.48		4,200
甲信越	新潟県	0.47	23.05	0.76	9.22		36.71		11.75	0.01	0.010	0.18	8.79		8.89		5,185
	長野県	0.52	23.31	0.74	8.56		36.59		12.02			0.07	9.07		9.61		2,027
	山梨県	0.23	22.09	0.14	8.63		37.23		12.45			0.19	7.56	0.05	10.65		1,066
関東	茨城県	0.53	23.42	0.64	8.98		37.74		12.20		0.017	0.25	8.44	0.02	7.62		3,042
	栃木県	0.49	22.78	0.56	8.83	0.049	38.29		12.28			0.05	7.98	0.02	8.22		2,056
	群馬県	0.41	24.44	0.60	9.30		36.41		11.51	0.03		0.13	7.78		8.05		1,585
	埼玉県	0.44	22.98	0.52	8.76		38.15		11.67			0.14	8.46		8.69		5,880
	千葉県	0.56	22.78	0.55	9.09		37.36		12.23		0.011	0.18	9.02		8.09		4,481
	東京都	0.46	23.82	0.51	9.01	0.002	36.94		11.86	0.01	0.004	0.21	8.56	0.01	8.06	0.002	23,212
	神奈川県	0.45	23.35	0.56	8.96	0.007	37.44	0.0066	11.77	0.01	0.026	0.20	8.72	0.02	8.52		7,638
中部	岐阜県	0.64	22.26	0.61	8.31	0.024	37.06		11.20			0.14	8.82		10.59		2,123
	静岡県	0.39	23.78	0.49	8.48		35.70		11.05			0.15	8.77		10.93		3,751
	愛知県	0.53	23.10	0.43	8.65		36.76		11.32	0.01	0.016	0.13	8.40	0.01	10.24		9,583
	三重県	0.48	23.51	0.32	8.95		37.02		9.93		0.020	0.12	7.62	0.02	11.74		2,516
北陸	富山県	0.38	22.04	0.96	9.98		38.74		10.55			0.03	7.95		8.87		1,841
	石川県	0.65	23.83	0.91	9.18		37.26		10.64			0.13	7.86	0.03	8.14		1,941
	福井県	0.53	23.16	0.45	8.02		41.42		9.41			0.29	7.71		9.82		1,221
近畿	滋賀県	0.29	23.06	0.41	9.26		39.48		10.44		0.041	0.12	7.87		9.58		1,223
	京都府	0.37	24.65	0.47	8.78		38.55		9.91	0.01		0.20	8.94	0.01	7.81		3,519
	大阪府	0.51	24.21	0.59	9.50		37.00		11.23	0.01	0.013	0.28	8.76	0.03	7.54		7,758
	兵庫県	0.46	25.20	0.44	8.78	0.009	38.38		11.55		0.035	0.13	9.23	0.02	5.94		5,742
	奈良県	0.33	24.53	0.53	8.76		38.82		9.66			0.04	8.63	0.08	8.94		1,229
	和歌山県	0.34	26.17	0.19	10.28		37.48		10.44			0.10	9.31		6.47		1,031
山陰	鳥取県	0.36	23.26	0.45	9.08		39.00		11.61			0.05	8.23		7.79		1,102
	島根県	0.55	21.44	0.36	9.20		37.31		12.28		0.036	0.18	9.08		7.61		1,379
山陽	岡山県	0.33	23.95	0.42	9.57		37.56		11.57		0.015	0.09	9.90		6.09		3,463
	広島県	0.52	23.57	0.32	8.95		37.43		12.75	0.02		0.16	9.98		5.95		3,170
	山口県	0.31	23.37	0.54	8.78	0.026	37.36		12.75		0.051	0.13	9.79		5.76		1,965
四国	徳島県	0.45	23.58	0.19	9.76		39.78		11.76				9.98		4.36		786
	香川県	0.37	25.63	0.89	10.09		34.33		13.52			0.05	9.06		4.20		960
	愛媛県	0.54	25.75	0.44	8.94		37.46		12.42				9.57		5.17		1,580
	高知県	0.64	25.28	0.25	10.80		34.31		12.60				9.88		5.61		788
北九州	福岡県	0.35	23.26	0.39	9.55		37.31		11.77	0.02	0.008	0.18	8.45	0.01	8.04		6,072
	佐賀県	0.21	23.21	0.25	9.54		36.58		12.32			0.21	8.58		8.77		1,211
	長崎県	0.38	23.82	0.26	8.18		38.39		12.91			0.42	8.80		7.53	0.038	1,325
南九州	熊本県	0.36	23.41	0.46	9.55		36.74		11.81			0.26	8.57	0.03	8.24		1,512
	大分県	0.43	24.36	0.30	9.99		37.55		12.07			0.13	8.24		5.93		1,164
	宮崎県	0.57	22.61	0.61	9.91		38.32		11.38			0.09	9.80		5.47		1,062
	鹿児島県	0.22	26.13	0.41	9.42		37.15		12.57	0.03		0.38	8.73	0.03	5.77		1,838
沖縄	沖縄県	0.36	31.58	0.22	7.24		34.18		16.62	0.01		0.15	6.81	0.01	2.56	0.008	6,482
全国	全国	0.44	24.10	0.52	8.89	0.002	37.06	0.0003	12.04	0.01	0.009	0.17	8.66	0.01	7.72	0.001	159,696

表 6-1 都道府県別 HLA 遺伝子頻度 (%) B locus

地域	都道府県	B7	B8	B13	B14	B17	B18	B27	B35	B37	B38	B39	B41	B42	B44	B45	B46	B47	B48	B49	N 数
北海道	北海道	5.07		1.42	0.005	0.48	0.005	0.30	8.46	0.47	0.22	4.67			7.55	0.005	4.45		2.98		10,856
東北	青森県	3.30		1.02		0.64		0.38	9.48	0.70	0.45	5.29			7.26		4.16		3.89		786
	岩手県	4.28		1.16		0.60		0.28	8.63	0.28	0.28	5.11			6.40		3.76		3.18		1,598
	宮城県	5.17		1.29		0.64		0.19	7.99	0.53	0.33	4.68			7.00		4.28		3.20		3,226
	秋田県	4.25		1.57		0.29		0.18	10.49	0.47	0.55	4.80			6.20		5.32		2.82		1,922
	山形県	5.73		1.51		0.34		0.31	8.35	0.41	0.19	4.12			7.57		4.54		2.73		1,599
	福島県	5.19		1.41		0.50		0.11	8.31	0.45	0.27	4.36			6.36		3.79		3.10		4,200
信越	新潟県	4.94	0.01	1.40		0.92		0.24	7.73	0.58	0.32	4.05			8.58		4.85		3.05		5,185
	長野県	5.43		1.39		0.57		0.15	7.70	0.45	0.22	3.82			9.07		4.47		3.64		2,027
	山梨県	5.65		1.32	0.047	0.80		0.19	7.71	0.42	0.23	3.63			9.97		3.87		2.61	0.047	1,066
関東	茨城県	5.20		1.37	0.017	0.49		0.21	7.82	0.69	0.21	4.27			7.48		4.59		3.38		3,042
	栃木県	6.25		1.22		0.59		0.17	8.35	0.59	0.27	4.25			7.90		4.00		2.71	0.024	2,056
	群馬県	5.08		1.33		0.73		0.16	7.95	0.60	0.09	5.35			7.78		4.35		3.43		1,585
	埼玉県	5.66		1.39	0.009	0.72		0.16	8.25	0.57	0.28	3.97			8.31		4.68		3.17		5,880
	千葉県	5.12		1.50	0.011	0.60		0.18	8.09	0.58	0.39	4.51			7.79		4.46		3.20		4,481
	東京都	5.24	0.02	1.48	0.004	0.66	0.002	0.25	8.25	0.53	0.27	4.19	0.002		7.79	0.002	4.60		2.99		23,212
	神奈川県	5.69		1.36	0.026	0.62	0.013	0.28	8.23	0.58	0.22	4.10			8.39	0.013	4.25	0.007	3.00		7,638
中部	岐阜県	5.50		1.52		0.54		0.26	6.98	0.69	0.31	3.94			10.46		4.16	0.024	2.63		2,123
	静岡県	4.47		1.54		0.63	0.013	0.23	8.16	0.51	0.16	4.67			10.94		4.36		2.55		3,751
	愛知県	5.14	0.01	1.42	0.011	0.51		0.19	7.88	0.57	0.18	3.28			10.20		4.71		2.65		9,583
	三重県	5.92	0.02	1.74		0.50		0.22	7.22	0.62	0.26	3.31			11.24		5.50		2.70		2,516
北陸	富山県	5.39		1.23		0.46		0.27	7.74	0.46	0.24	4.25			9.23		3.79		3.03		1,841
	石川県	5.05		1.82	0.026	0.44		0.39	7.91	0.67	0.18	3.97			7.86		4.10		2.48		1,941
	福井県	6.30		1.94		0.62		0.29	6.61	0.70	0.25	3.42			9.86		3.37		3.16		1,221
近畿	滋賀県	5.51		1.23		0.82		0.20	6.42	0.45	0.37	3.96			8.68		4.95		2.90		1,223
	京都府	5.85	0.03	1.49	0.014	0.81		0.24	7.41	0.54	0.27	3.72			7.45		4.76		3.34		3,519
	大阪府	5.79	0.01	1.69	0.026	0.75		0.37	7.65	0.58	0.34	3.44			7.26		4.81		2.78		7,758
	兵庫県	5.85	0.03	1.60	0.017	0.66		0.37	7.98	0.56	0.24	3.80			5.64		4.76		2.77	0.009	5,742
	奈良県	6.08		1.64		0.74		0.41	7.48	0.45	0.41	3.14			8.81		4.37		2.72		1,229
	和歌山県	4.41		1.17		0.63		0.24	7.25	0.63	0.24	3.86			5.95		5.18		2.31		1,031
山陰	鳥取県	6.91		1.69		0.91		0.23	7.05	0.59		3.28			6.71		5.17		2.76		1,102
	島根県	8.09	0.04	1.02		1.17		0.11	8.17	0.76	0.18	3.77			6.64	0.036	5.17		2.13		1,379
山陽	岡山県	6.94		1.29	0.015	0.87	0.015	0.14	7.53	0.48	0.25	3.81			5.37		4.26		2.87		3,463
	広島県	7.06	0.02	1.46		0.73		0.22	7.81	0.71	0.27	4.09			5.48		3.93		3.09		3,170
	山口県	7.48	0.03	1.51		0.61		0.18	8.87	0.33	0.25	3.15			5.58		3.81		2.97		1,965
四国	徳島県	4.82		0.83		0.38		0.38	8.85	0.83	0.13	3.36			3.83		4.29		3.50		786
	香川県	5.79		1.15		0.89		0.37	8.88	0.57	0.37	3.50			4.26		5.74		3.01		960
	愛媛県	5.57		1.11	0.032	0.44		0.16	9.75	1.11	0.44	3.74		0.0317	4.97		4.90		2.63		1,580
	高知県	4.41		0.83		0.45		0.19	8.97	0.76	0.06	3.95			5.68		4.48		2.77		788
北九州	福岡県	6.32		1.35	0.008	0.88		0.43	7.57	0.49	0.39	3.09			7.33		4.20		2.22		6,072
	佐賀県	5.65		1.75		0.75		0.37	8.36	0.29	0.25	2.85			8.22		3.45		3.06		1,211
	長崎県	5.79	0.11	1.64		0.99	0.038	0.30	9.47	0.34	0.23	3.07			7.00		3.85		2.02		1,325
南九州	熊本県	6.56	0.03	1.16		0.90		0.36	7.28	0.43	0.50	3.30	0.033		7.45		3.26		3.33		1,512
	大分県	6.62		1.04		0.73		0.34	8.76	0.52	0.26	3.05			4.93		4.53		2.66		1,164
	宮崎県	5.57	0.09	1.57		0.42		0.33	7.79	0.33	0.09	3.60			5.22		5.22		2.33		1,062
	鹿児島県	4.62		1.48	0.027	0.79		0.38	7.84	0.30	0.38	3.04			5.74		4.17		2.26		1,838
沖縄	沖縄県	2.26	0.03	0.95	0.062	0.56	0.008	0.29	15.54	0.26	0.19	4.53			2.90		2.89		2.61		6,482
全国	全国	5.38	0.01	1.42	0.010	0.65	0.003	0.26	8.34	0.53	0.26	3.98	0.001	0.0003	7.49	0.002	4.41	0.001	2.89	0.001	159,696

表 6-2 都道府県別 HLA 遺伝子頻度 (%) B locus

地域	都道府県	B50	B51	B52	B53	B54	B55	B56	B59	B60	B61	B62	B63	B67	B70	B75	B76	B77	B78	B81	N数
北海道	北海道		9.07	10.54		7.12	2.30	1.08	1.74	5.68	13.94	8.58		1.18	1.67	0.95			0.0046		10,856
東北	青森県		10.33	7.19		6.65	2.51	1.34	1.80	5.43	14.32	9.76		1.60	2.19	0.70					786
	岩手県		9.84	9.80		8.19	1.90	0.88	1.74	5.27	14.65	9.04		1.20	1.99	0.75					1,598
	宮城県	0.016	9.20	10.33		6.02	2.48	0.87	1.56	5.73	15.99	8.91		1.11	1.78	1.01					3,226
	秋田県		9.50	9.79		6.12	2.10	1.02	1.49	5.70	14.05	8.53		1.81	1.84	0.78					1,922
	山形県		8.25	11.65		6.23	2.05	0.82	1.45	5.90	13.73	9.31		1.58	1.80	0.75					1,599
	福島県		8.80	12.63		6.69	2.90	0.95	1.71	5.02	13.00	10.48		1.02	2.04	0.91					4,200
甲信越	新潟県		9.18	12.67		6.41	2.11	1.04	1.53	5.16	12.19	8.79	0.010	1.42	1.53	0.93					5,185
	長野県		8.83	11.66		7.27	2.68	0.94	1.64	5.27	11.60	9.59		1.39	1.17	0.82					2,027
	山梨県		9.30	11.13		6.40	2.71	1.37	2.33	5.05	11.60	8.73		1.27	2.04	1.27					1,066
関東	茨城県		8.14	12.63		8.03	2.73	1.12	2.04	4.90	12.69	8.77		0.96	1.82	0.79					3,042
	栃木県		7.98	13.01	0.024	6.48	2.31	0.81	2.01	5.24	12.25	9.74		1.22	1.82	1.13					2,056
	群馬県		8.57	11.69	0.063	7.20	2.30	0.76	1.98	4.25	13.17	8.74		1.43	1.85	0.70					1,585
	埼玉県		8.39	11.85		7.19	2.14	1.03	1.77	5.27	12.86	8.39		1.33	1.51	0.90				0.0085	5,880
	千葉県		8.90	11.90		7.02	2.33	1.27	1.80	5.05	12.69	8.98		1.16	1.61	1.05					4,481
	東京都	0.002	8.67	11.92		7.26	2.54	1.02	1.75	4.96	12.88	8.85	0.002	1.15	1.63	0.90	0.002	0.004			23,212
	神奈川県	0.007	8.99	11.35		7.01	2.62	0.93	1.86	5.13	13.11	8.72		1.13	1.45	0.90					7,638
中部	岐阜県		9.65	12.30		7.77	2.65	0.97	1.81	5.10	10.91	8.72		0.90	1.33	1.02					2,123
	静岡県		9.55	10.21		6.95	2.89	0.95	1.54	4.86	13.11	8.08		1.36	1.19	1.14					3,751
	愛知県		8.95	11.45		7.43	2.48	1.02	1.55	5.50	12.36	8.77		1.15	1.49	0.96					9,583
	三重県		8.55	11.09		7.97	2.43	0.96	1.70	5.67	10.75	7.93		1.02	1.28	0.80	0.020				2,516
北陸	富山県		7.54	11.50		8.36	2.45	1.42	2.14	5.24	12.39	9.14		1.37	1.23	1.04					1,841
	石川県		8.70	12.47		8.22	2.40	0.85	2.19	5.13	12.62	8.59		1.24	1.40	1.37					1,941
	福井県		8.69	13.57		7.58	1.78	0.95	2.66	5.60	10.23	8.11		1.57	1.61	0.78					1,221
近畿	滋賀県		9.08	14.79		6.99	2.36	1.28	1.77	6.81	10.26	7.08		1.36	1.32	0.90					1,223
	京都府		9.25	12.72		7.50	2.34	1.11	2.04	5.37	12.39	8.04		1.19	1.23	1.01					3,519
	大阪府	0.013	9.32	11.31		7.75	3.09	1.22	1.96	5.75	12.22	8.19	0.007	0.98	1.48	1.11					7,758
	兵庫県	0.009	9.35	11.11		8.46	2.95	1.12	2.25	5.18	12.48	8.80		1.04	1.46	1.08					5,742
	奈良県		8.68	12.59		8.01	3.06	0.65	1.85	5.39	11.21	8.50		1.02	1.10	0.69					1,229
	和歌山県		10.49	11.20		10.17	3.25	1.12	1.96	6.72	12.02	7.88		0.78	1.22	1.37					1,031
山陰	鳥取県		10.08	14.11		6.37	2.39	0.87	1.55	5.03	12.64	8.73		1.23	1.14	0.87					1,102
	島根県		8.01	13.32		6.60	2.57	1.02	2.01	4.45	13.16	8.05		1.06	1.31	0.65					1,379
山陽	岡山県		10.18	11.60		7.81	2.86	1.35	2.09	5.26	13.64	7.64		1.05	1.34	1.10					3,463
	広島県		9.66	10.84		7.97	2.80	1.38	2.07	5.67	12.46	8.81		0.95	1.49	1.16					3,170
	山口県		10.02	10.73		7.26	2.66	1.15	2.06	5.09	13.57	9.01		0.69	1.33	1.23			0.026		1,965
四国	徳島県		10.83	8.50		10.97	3.23	1.34	1.67	6.51	14.10	8.50		1.28	1.09	1.41					786
	香川県		9.63	8.60		9.29	3.34	1.26	1.15	5.57	14.18	9.46	0.052	0.99	1.52	0.63					960
	愛媛県		9.12	10.56		9.12	3.18	1.24	1.24	4.57	12.92	8.63		1.24	1.98	1.47					1,580
	高知県		11.01	7.52		10.51	4.21	1.28	1.60	5.28	15.10	7.17		1.60	1.15	1.34					788
北九州	福岡県		8.74	12.75		8.29	2.76	1.31	2.04	5.21	12.44	8.43		1.28	1.33	1.09					6,072
	佐賀県		8.86	13.27		8.00	2.76	1.04	2.38	5.13	11.94	7.60		1.20	1.92	0.66					1,211
	長崎県		8.27	12.82		8.35	2.56	0.83	2.10	5.95	13.00	6.80		1.25	1.90	1.06					1,325
南九州	熊本県		8.97	14.09		8.53	2.34	0.83	2.00	5.44	12.03	8.06		1.43	1.40	1.20	0.033				1,512
	大分県		9.42	12.07		8.38	3.01	0.86	1.38	5.70	12.85	8.57		1.51	1.51	1.34					1,164
	宮崎県		8.61	11.86		8.76	2.91	1.33	2.38	6.17	13.92	8.40		0.76	1.52	0.99					1,062
	鹿児島県		9.12	10.42	0.054	9.21	3.43	1.12	3.29	6.67	14.08	8.26	0.027	0.90	1.42	1.59					1,838
沖縄	沖縄県		8.42	3.61		8.58	3.35	1.37	5.36	7.52	14.82	10.02		0.60	2.07	0.91					6,482
全国	全国	0.002	8.98	11.28	0.002	7.52	2.62	1.08	1.98	5.40	12.91	8.70	0.002	1.15	1.56	0.98	0.001	0.001	0.0003	0.0003	159,696

表7 都道府県別 HLA 遺伝子頻度 (%) DR locus

地域	都道府県	DR1	DR103	DR3	DR4	DR7	DR8	DR9	DR10	DR11	DR12	DR13	DR14	DR1403	DR1404	DR15	DR16	N数
北海道	北海道	5.38		0.04	22.97	0.30	12.40	14.91	0.46	2.60	5.69	7.31	7.75	1.72		17.67	0.81	10,856
東北	青森県	3.56		0.13	25.52		13.95	14.32	0.70	2.71	5.90	6.51	8.16	3.10		14.84	1.02	786
	岩手県	4.71			24.29	0.19	13.02	13.20	0.38	2.47	5.01	6.57	8.98	2.86		17.37	0.75	1,598
	宮城県	5.43		0.05	22.03	0.36	13.35	15.22	0.47	2.73	4.68	6.90	8.04	2.24		17.42	0.92	3,226
	秋田県	4.42			24.28	0.34	12.69	13.83	0.44	2.64	5.57	6.04	8.48	2.26		17.92	0.99	1,922
	山形県	5.66			22.56	0.38	11.97	13.77	0.38	2.73	5.47	7.17	7.40	2.09		18.81	0.75	1,599
	福島県	5.58		0.04	23.13	0.30	10.97	15.26	0.49	2.29	5.21	6.79	7.80	1.77		19.72	0.79	4,200
甲信越	新潟県	5.15		0.01	23.73	0.26	12.06	12.50	0.49	2.59	5.80	8.99	7.21	1.81		18.74	0.99	5,185
	長野県	5.40			22.20	0.32	11.85	13.83	0.42	2.60	5.01	8.80	7.08	1.92		19.18	1.14	2,027
	山梨県	5.95			24.17	0.09	11.55	13.59	0.28	2.23	4.86	9.45	7.05	1.85		17.36	0.85	1,066
関東	茨城県	5.74		0.02	23.40	0.36	12.48	14.40	0.64	2.21	5.01	7.60	7.11	1.82	0.017	18.29	0.78	3,042
	栃木県	6.46		0.12	24.27	0.17	11.78	13.71	0.49	2.39	4.22	7.93	8.11	1.64		18.61	0.88	2,056
	群馬県	5.18		0.03	23.69	0.28	11.44	14.08	0.47	2.52	4.32	8.43	7.23	2.10		18.76	1.33	1,585
	埼玉県	5.84		0.06	22.84	0.29	12.11	14.07	0.43	2.46	5.09	8.40	7.29	1.68		18.49	0.78	5,880
	千葉県	5.46		0.07	23.53	0.28	11.79	14.47	0.49	2.44	4.99	7.66	7.66	2.03		18.79	0.68	4,481
	東京都	5.57		0.11	23.33	0.38	11.87	14.49	0.48	2.47	5.41	7.46	7.47	1.72		18.33	0.85	23,212
	神奈川県	5.85		0.06	23.26	0.37	11.53	14.92	0.58	2.54	5.00	7.98	7.23	1.68		17.78	0.76	7,638
中部	岐阜県	5.62		0.09	22.87	0.24	11.95	14.28	0.66	2.41	5.10	9.55	6.42	1.40		18.30	0.69	2,123
	静岡県	4.71		0.08	24.15	0.28	11.63	14.33	0.44	2.59	4.92	10.61	7.05	1.52		15.92	1.09	3,751
	愛知県	5.22		0.07	23.48	0.27	11.81	14.51	0.50	2.46	5.22	9.73	6.64	1.45		17.80	0.93	9,583
	三重県	5.79	0.020	0.10	21.71	0.28	13.51	13.81	0.48	2.60	5.60	10.84	6.62	1.10		16.27	0.86	2,516
北陸	富山県	5.30			24.59	0.03	12.83	13.83	0.52	2.53	5.93	8.27	6.34	1.04		17.86	0.79	1,841
	石川県	5.24		0.03	24.62	0.31	11.42	14.56	0.62	2.85	6.77	7.41	5.40	1.35		18.00	0.72	1,941
	福井県	6.26			25.15	0.37	10.41	14.15	0.58	2.07	5.95	8.92	5.21	1.15		19.26	1.11	1,221
近畿	滋賀県	5.68		0.04	19.93	0.12	11.91	14.79	0.37	2.40	4.86	8.85	5.94	0.86		21.74	0.99	1,223
	京都府	6.13		0.17	23.47	0.31	11.13	14.74	0.43	2.85	5.28	7.79	6.29	1.26		19.21	0.90	3,519
	大阪府	5.86		0.16	23.48	0.56	12.70	14.80	0.54	2.61	5.55	7.07	6.63	1.39		17.89	0.82	7,758
	兵庫県	6.02	0.009	0.23	23.87	0.28	12.92	15.26	0.52	2.46	5.85	5.71	6.60	1.64		17.85	0.76	5,742
	奈良県	6.00		0.16	21.93	0.20	12.82	14.85	0.41	2.35	6.52	7.88	5.78	1.02	0.041	18.17	1.02	1,229
	和歌山県	4.16		0.19	25.06	0.24	14.94	14.26	0.53	2.75	5.08	6.05	6.72	1.66		17.37	0.73	1,031
山陰	鳥取県	6.91		0.05	23.20	0.36	12.43	13.84	0.41	2.57	5.41	6.91	6.13	1.74		18.95	1.23	1,102
	島根県	8.09		0.15	21.77	0.36	13.16	14.93	0.65	2.53	4.26	6.72	6.95	1.65		17.92	0.69	1,379
山陽	岡山県	6.88		0.07	24.08	0.25	13.55	15.31	0.51	2.01	5.17	5.57	7.16	1.41		17.01	0.67	3,463
	広島県	7.39		0.02	23.50	0.28	13.06	15.02	0.65	2.44	5.72	5.41	6.72	1.59		17.61	0.63	3,170
	山口県	7.21		0.15	23.83	0.43	12.80	15.02	0.38	2.34	5.41	5.41	6.80	2.06		17.05	0.33	1,965
四国	徳島県	5.16			27.16	0.06	15.07	14.62	0.64	2.97	6.65	4.62	7.06	1.09		15.07	0.51	786
	香川県	5.63		0.16	26.05	0.26	14.79	14.49	0.63	3.28	5.57	4.58	7.86	1.57		14.98	0.73	960
	愛媛県	5.63		0.03	24.15	0.13	14.87	15.36	0.99	2.50	6.21	5.10	6.10	1.37		15.84	0.95	1,580
	高知県	4.81			26.47	0.19	16.68	14.65	0.83	2.83	5.15	5.35	6.29	2.05		12.89	1.66	788
北九州	福岡県	6.38		0.33	24.24	0.38	11.69	14.46	0.45	1.99	5.59	6.95	5.99	1.27		19.43	0.84	6,072
	佐賀県	5.69		0.41	24.41	0.33	10.50	15.68	0.37	2.26	4.87	7.73	6.00	1.41		19.85	0.75	1,211
	長崎県	5.59		0.68	22.35	0.61	10.14	15.73	0.34	2.33	5.55	7.08	6.51	1.06	0.038	19.72	0.91	1,325
南九州	熊本県	6.53		0.40	23.32	0.36	11.40	16.03	0.36	1.94	4.57	7.45	6.35	1.50		20.32	0.83	1,512
	大分県	6.62		0.09	24.36	0.30	12.61	16.53	0.65	1.65	5.39	4.84	6.44	1.43		17.83	1.08	1,164
	宮崎県	5.37		0.24	26.74	0.28	13.48	17.21	0.33	1.90	4.73	4.43	5.67	1.66		18.41	0.33	1,062
	鹿児島県	4.37		0.55	25.98	0.38	12.23	14.93	0.27	2.67	5.51	5.68	7.52	1.67		17.17	0.82	1,838
沖縄	沖縄県	2.41		0.18	28.31	0.22	11.60	11.41	0.24	2.21	5.88	3.41	10.78	1.52		20.47	0.59	6,482
全国	全国	5.55	0.001	0.11	23.71	0.32	12.19	14.45	0.49	2.46	5.38	7.35	7.20	1.63	0.001	18.17	0.83	159,696

表 8-1 都道府県別ハプロタイプ頻度 (HF) と順位

A-B-DR	北海道	北海道	青森県	青森県	岩手県	岩手県	宮城県	宮城県	秋田県	秋田県	山形県	山形県	福島県	福島県	茨城県	茨城県	栃木県	栃木県	群馬県	群馬県	埼玉県	埼玉県	千葉県	千葉県
A24-B52-DR15	820	1	5.68	1	7.27	1	8.14	1	7.87	1	9.82	1	9.87	1	9.66	1	9.97	1	9.09	1	9.35	1	9.09	1
A33-B44-DR13	506	2	4.25	2	4.40	2	4.64	2	3.87	2	5.17	2	4.39	2	5.11	2	5.85	2	5.41	2	5.95	2	5.36	2
A24-B7-DR1	355	3	2.32	4	3.13	3	3.67	3	3.02	3	3.95	3	3.55	3	3.57	3	4.08	3	3.70	3	4.02	3	3.39	3
A24-B54-DR4	258	4	2.60	3	2.91	4	2.00	5	2.45	5	1.67	8	2.40	4	2.66	4	2.59	4	2.28	4	2.81	4	2.64	4
A2-B46-DR8	229	5	1.86	6	1.76	5	2.34	4	2.98	4	2.00	5	1.85	6	2.36	5	2.03	5	1.89	5	2.05	5	2.31	5
A26-B61-DR9	189	6	1.91	5	1.66	6	1.80	7	2.07	6	1.78	7	1.82	7	1.73	7	1.63	7	1.64	7	1.51	7	1.46	8
A11-B62-DR4	137	8	1.69	8	1.60	7	1.46	8	1.65	7	2.18	4	2.39	5	1.63	8	1.76	6	1.69	6	1.65	6	1.58	7
A24-B61-DR9	149	7	1.34	9	1.07	11	1.98	6	1.61	8	1.95	6	1.60	8	1.78	6	1.35	8	1.62	8	1.44	8	1.61	6
A24-B59-DR4	088	12	0.79	26	0.74	23	0.83	14	0.83	19	0.85	14	0.95	11	0.95	11	1.09	11	1.32	9	0.99	10	1.07	9
A11-B54-DR4	075	17	0.79	25	0.82	16	0.69	18	0.87	16	1.47	9	0.84	14	0.86	15	0.70	18	0.85	13	0.81	12	0.97	11
N 数	10,856		786		1,598		3,226		1,922		1,599		4,200		3,042		2,056		1,585		5,880		4,481	

A-B-DR	東京都	東京都	神奈川県	神奈川県	新潟県	新潟県	富山県	富山県	石川県	石川県	福井県	福井県	山梨県	山梨県	長野県	長野県	岐阜県	岐阜県	静岡県	静岡県	愛知県	愛知県	三重県	三重県
A24-B52-DR15	915	1	8.71	1	9.80	1	9.12	1	10.28	1	10.70	1	9.26	1	9.32	1	9.77	1	7.84	1	9.08	1	9.08	1
A33-B44-DR13	506	2	5.55	2	5.82	2	5.25	2	5.02	2	5.81	2	6.90	2	6.19	2	6.49	2	7.59	2	6.93	2	7.98	2
A24-B7-DR1	369	3	4.02	3	3.58	3	4.01	3	3.51	3	4.73	3	4.30	3	3.70	3	4.03	3	3.13	3	3.46	3	4.10	3
A24-B54-DR4	267	4	2.72	4	2.85	4	3.12	4	2.77	4	3.60	4	2.41	4	2.97	4	3.02	4	2.55	4	2.59	4	2.84	5
A2-B46-DR8	221	5	1.88	5	2.41	5	1.67	6	1.84	6	1.64	6	1.87	6	2.16	5	2.20	5	2.22	5	2.20	5	2.86	4
A26-B61-DR9	166	6	1.81	6	1.32	7	1.37	7	1.51	7	1.17	11	1.52	8	1.67	7	1.36	9	1.52	8	1.52	8	1.60	7
A11-B62-DR4	163	7	1.71	7	2.02	6	1.91	5	2.10	5	1.34	9	1.80	7	1.92	6	1.37	8	1.67	6	1.71	6	1.59	8
A24-B61-DR9	161	8	1.48	8	1.18	8	1.23	9	1.35	9	1.49	8	1.94	5	1.20	8	1.66	6	1.57	7	1.57	7	1.69	6
A24-B59-DR4	088	10	0.94	10	0.79	14	1.36	8	1.06	12	1.50	7	0.93	16	1.12	10	0.78	16	0.82	14	0.80	14	0.98	11
A11-B54-DR4	085	12	0.81	14	0.64	24	0.88	12	0.87	15	1.07	12	0.53	32	1.06	12	1.40	7	1.03	10	0.79	16	1.15	9
N 数	20,000		7,638		5,185		1,841		1,941		1,221		1,066		2,027		2,123		3,751		9,583		2,516	

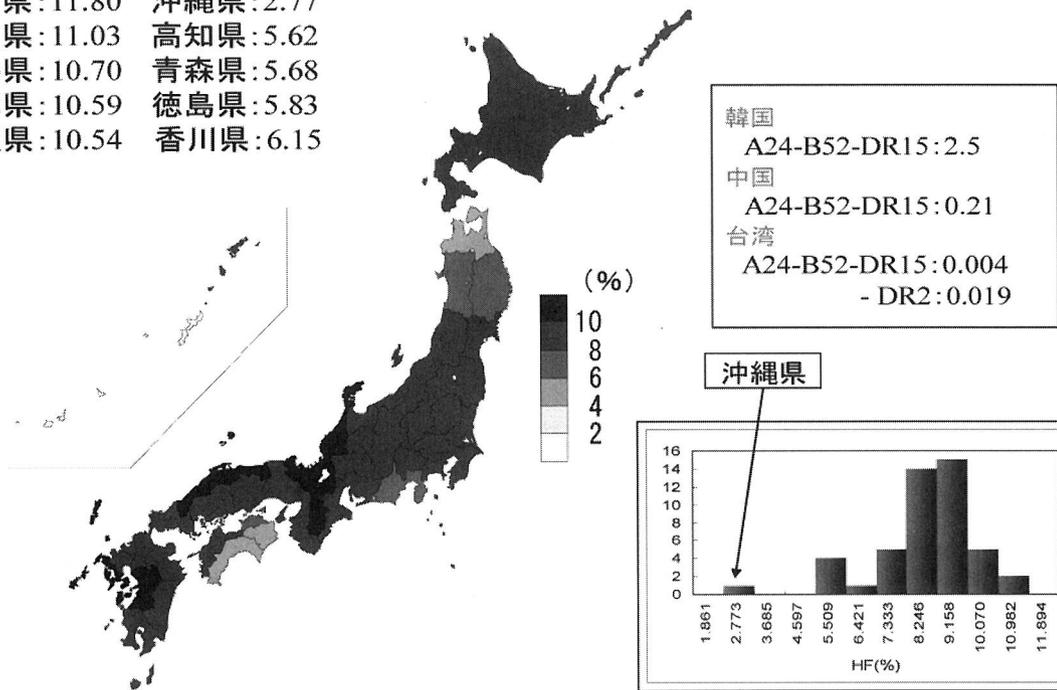
表 8-2 都道府県別ハプロタイプ頻度(HF)と順位

A-B-DR	滋賀県	京都府	京都府	大阪府	大阪府	兵庫県	兵庫県	奈良県	奈良県	和歌山県	和歌山県	鳥取県	鳥取県	鳥取県	岡山県	岡山県	広島県	広島県	山口県	山口県	徳島県	徳島県		
A24-B52-DR15	11.80	1	10.01	1	8.96	1	8.49	1	10.08	1	9.15	1	11.03	1	10.54	1	9.31	1	8.55	1	8.80	1	5.83	1
A33-B44-DR13	6.19	2	4.91	2	4.59	2	3.66	3	5.43	2	3.53	2	4.42	3	4.66	3	3.58	3	3.60	3	3.55	3	2.78	4
A24-B7-DR1	4.36	3	4.20	3	3.75	3	4.22	2	3.88	3	2.87	5	5.21	2	5.88	2	4.96	2	4.96	2	5.13	2	3.31	3
A24-B54-DR4	2.59	4	2.87	4	2.83	4	2.93	4	2.77	4	3.28	3	2.24	5	2.36	6	2.95	4	2.93	4	3.03	4	5.67	2
A2-B46-DR8	2.31	5	2.35	5	2.19	5	2.33	5	2.05	5	2.93	4	2.32	4	2.55	5	2.18	5	1.81	5	1.60	7	2.08	5
A26-B61-DR9	1.32	8	1.42	8	1.70	6	1.64	6	1.11	9	1.47	8	1.89	6	2.62	4	2.11	6	1.67	7	2.05	5	1.98	6
A11-B62-DR4	1.46	6	1.59	6	1.36	8	1.17	10	1.19	8	1.65	6	1.33	7	1.38	8	1.04	12	1.78	6	1.38	8	1.27	9
A24-B61-DR9	0.85	15	1.54	7	1.53	7	1.38	7	1.72	6	1.42	9	1.16	9	0.93	14	1.57	7	1.45	8	1.73	6	0.52	48
A24-B59-DR4	1.22	9	1.05	10	1.09	9	1.32	8	0.97	13	1.13	13	0.83	15	1.22	10	1.32	8	1.14	10	1.02	11	1.30	8
A11-B54-DR4	1.05	12	0.76	17	1.02	10	1.09	11	1.34	7	1.58	7	1.01	11	1.31	9	0.99	15	0.99	12	1.19	10	1.43	7
N 数	1,223	3,519	7,758	5,742	1,229	1,031	1,102	3,463	3,170	1,965	786													

A-B-DR	香川県	愛媛県	愛媛県	高知県	高知県	福岡県	福岡県	佐賀県	佐賀県	長崎県	長崎県	熊本県	熊本県	大分県	大分県	高崎県	高崎県	鹿児島県	鹿児島県	沖縄県	沖縄県	全国	全国	
A24-B52-DR15	6.15	1	8.17	1	5.62	1	9.88	1	9.90	1	10.01	1	10.59	1	9.45	1	8.94	1	8.28	1	2.77	4	8.65	1
A33-B44-DR13	2.24	6	3.48	3	3.86	2	4.84	2	5.93	2	5.12	2	5.28	2	3.22	3	3.43	4	3.38	2	1.41	11	4.96	2
A24-B7-DR1	4.05	2	3.58	2	2.30	6	4.14	3	3.71	3	3.47	3	4.14	3	4.35	2	3.87	2	2.69	4	1.45	8	3.92	3
A24-B54-DR4	3.80	3	3.17	4	2.95	3	3.06	4	2.78	4	3.43	4	3.13	4	3.17	4	3.68	3	3.18	3	4.45	1	2.86	4
A2-B46-DR8	2.54	4	2.30	5	2.15	7	1.75	6	1.53	6	1.93	7	1.64	6	1.74	6	2.17	6	1.68	7	1.45	9	2.15	5
A26-B61-DR9	2.28	5	2.19	6	2.52	4	1.83	5	2.40	5	2.07	6	1.91	5	2.60	5	2.26	5	1.47	9	1.26	13	1.74	6
A11-B62-DR4	1.70	7	0.79	18	0.81	24	1.38	8	1.35	9	0.84	16	1.13	9	1.22	9	1.04	16	0.97	13	1.04	17	1.60	7
A24-B61-DR9	1.31	9	1.76	7	1.56	8	1.40	7	1.42	7	2.26	5	1.29	8	1.66	7	1.67	7	1.76	5	0.95	21	1.55	8
A24-B59-DR4	0.66	27	0.68	21	0.98	15	1.05	11	1.35	8	1.29	10	0.77	16	0.63	30	1.16	10	1.68	6	4.29	2	1.12	9
A11-B54-DR4	0.69	25	1.19	10	2.43	5	1.30	9	1.28	10	0.92	13	1.02	11	1.42	8	1.13	11	1.48	8	0.71	27	1.07	10
N 数	960	1,580	788	6,072	1,211	1,325	1,512	1,062	1,838	6,482	19,975													

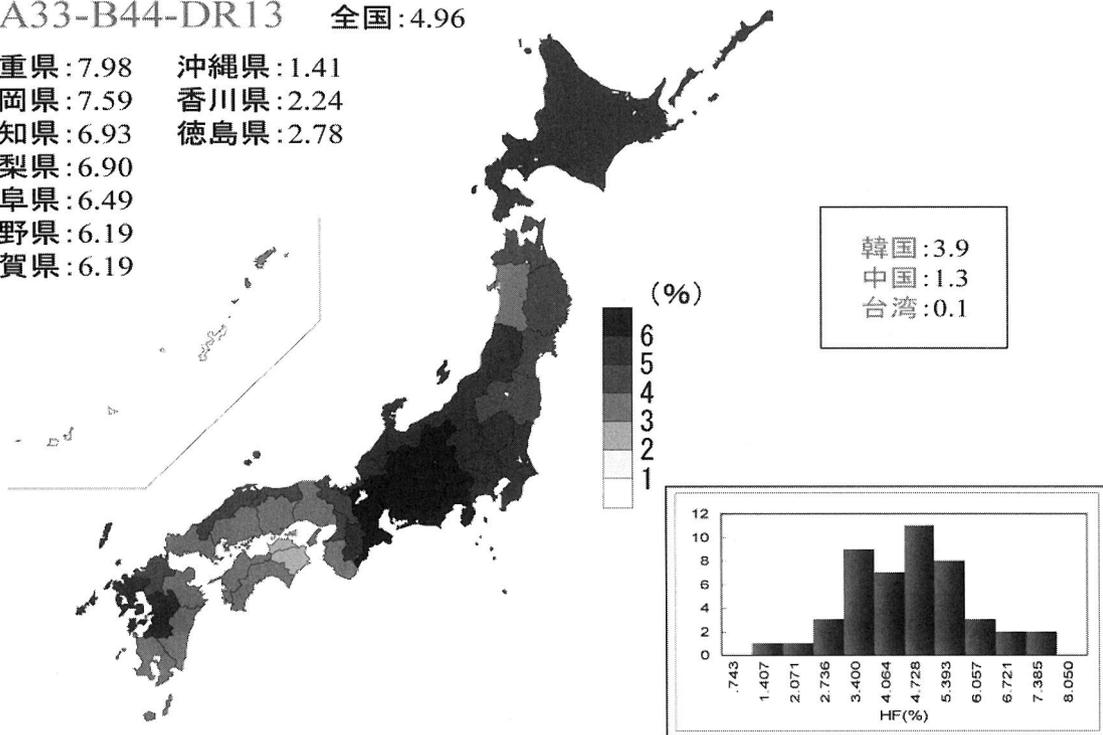
1.A24-B52-DR15 全国:8.65

滋賀県:11.80 沖縄県:2.77
 鳥取県:11.03 高知県:5.62
 福井県:10.70 青森県:5.68
 熊本県:10.59 徳島県:5.83
 島根県:10.54 香川県:6.15



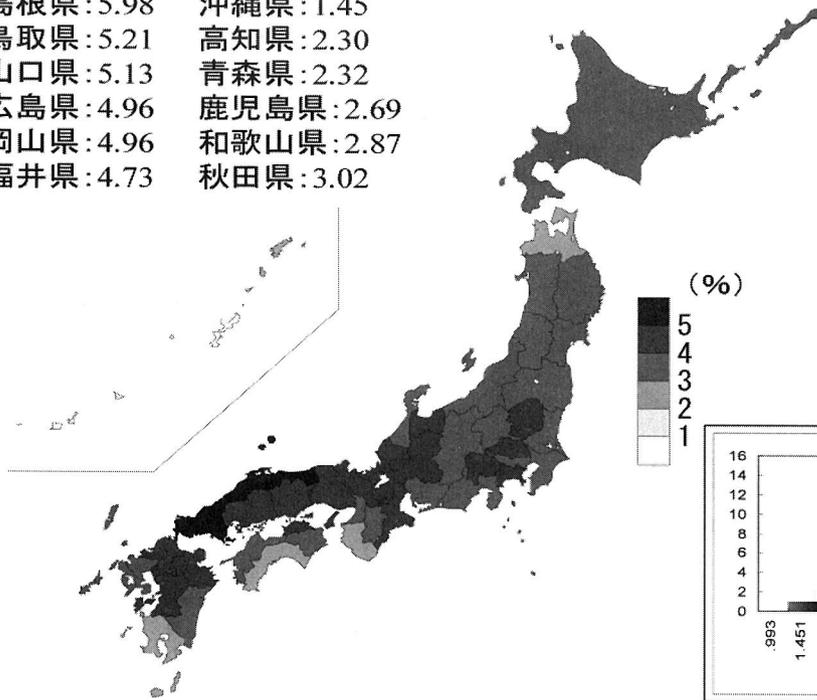
2.A33-B44-DR13 全国:4.96

三重県:7.98 沖縄県:1.41
 静岡県:7.59 香川県:2.24
 愛知県:6.93 徳島県:2.78
 山梨県:6.90
 岐阜県:6.49
 長野県:6.19
 滋賀県:6.19

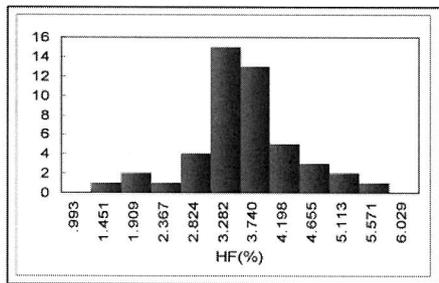


3.A24-B7-DR1 全国:3.92

島根県:5.98 沖縄県:1.45
 鳥取県:5.21 高知県:2.30
 山口県:5.13 青森県:2.32
 広島県:4.96 鹿児島県:2.69
 岡山県:4.96 和歌山県:2.87
 福井県:4.73 秋田県:3.02

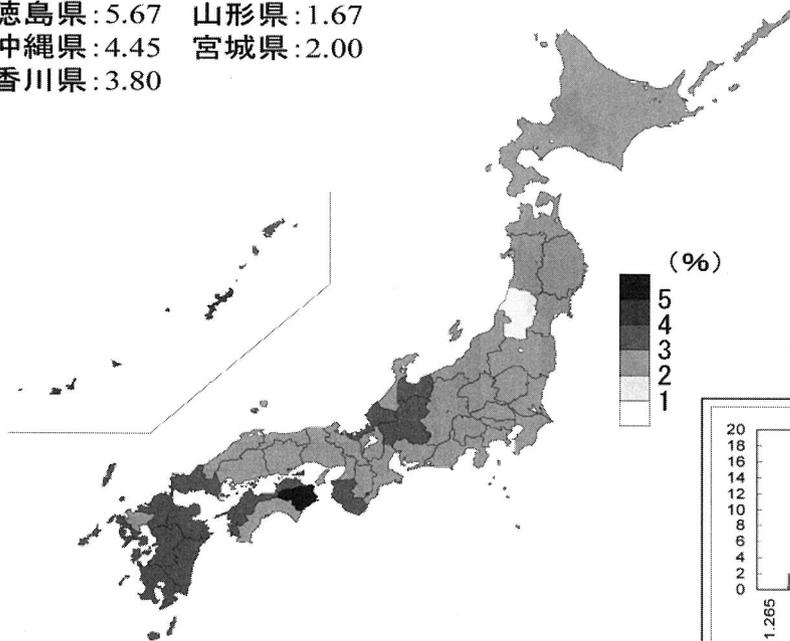


韓国:2.6
 中国:0.1
 台湾:0.02

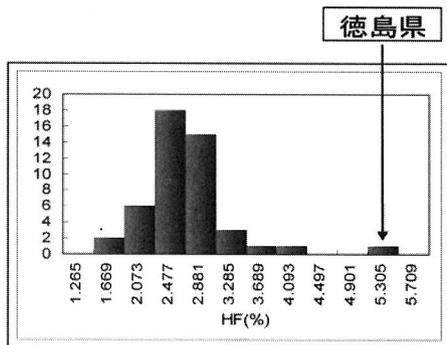


4.A24-B54-DR4 全国:2.86

徳島県:5.67 山形県:1.67
 沖縄県:4.45 宮城県:2.00
 香川県:3.80

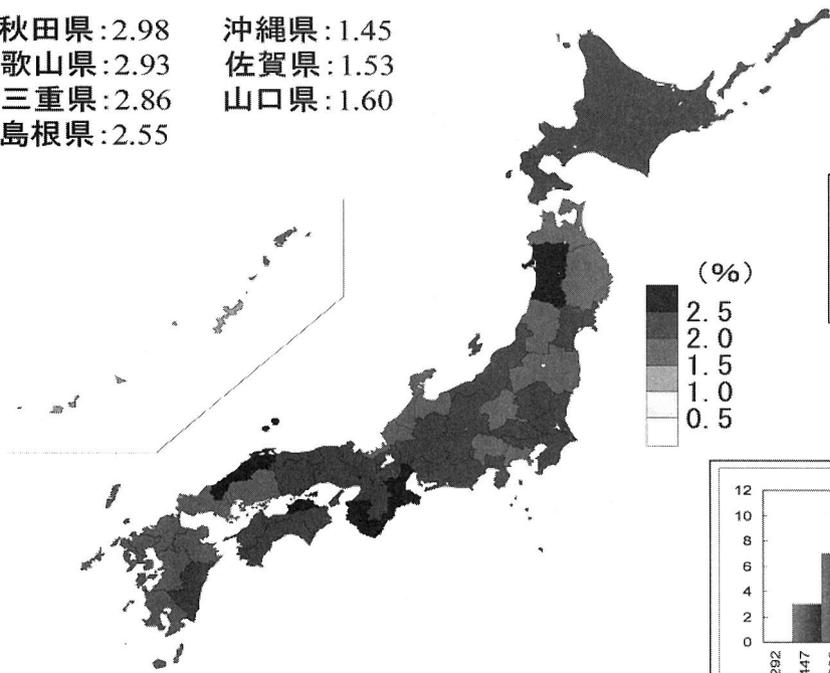


韓国:1.5
 中国:0.4
 台湾:0.6
 中国東北部:1.2

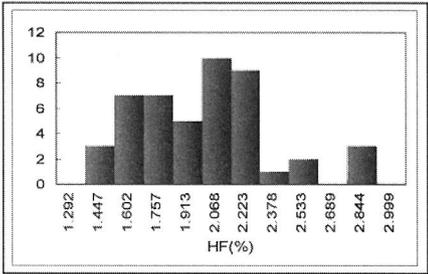


5.A2-B46-DR8 全国:2.15

秋田県:2.98 沖縄県:1.45
 和歌山県:2.93 佐賀県:1.53
 三重県:2.86 山口県:1.60
 島根県:2.55

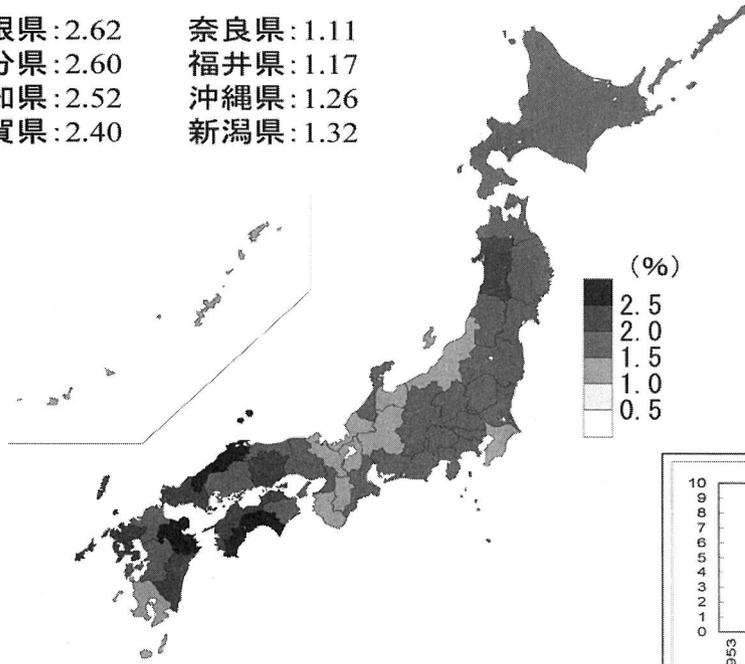


韓国:2.0
 中国:0.9
 台湾:1.2

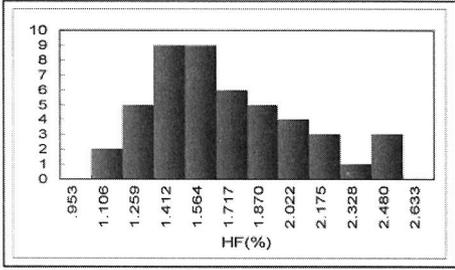


6.A26-B61-DR9 全国:1.74

島根県:2.62 奈良県:1.11
 大分県:2.60 福井県:1.17
 高知県:2.52 沖縄県:1.26
 佐賀県:2.40 新潟県:1.32

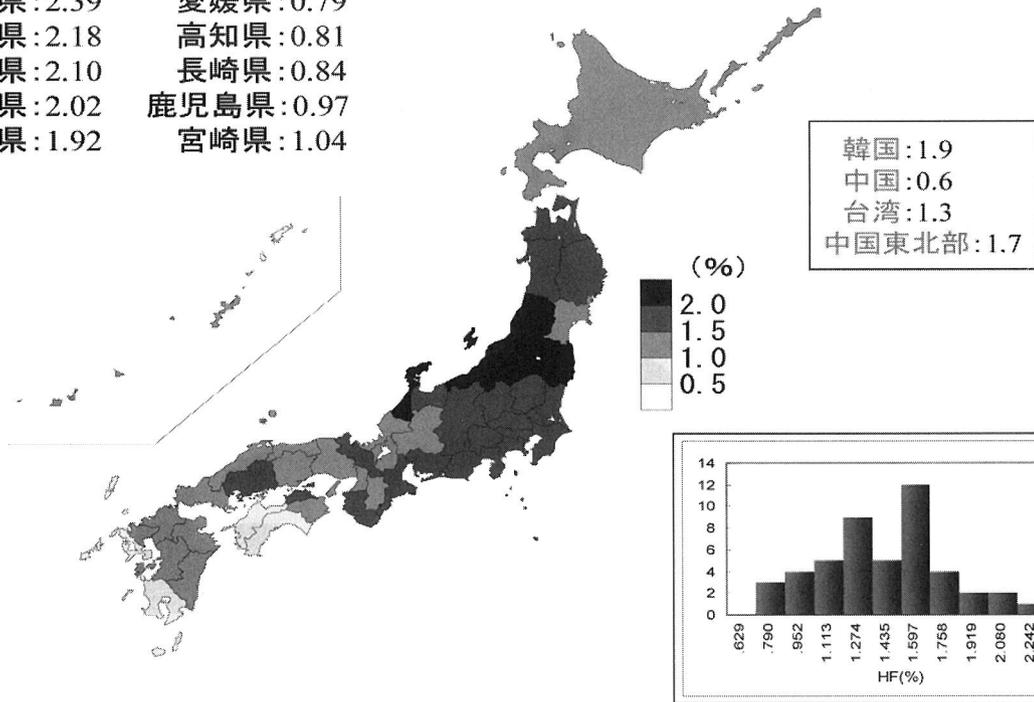


韓国:0.9
 中国:0.1
 台湾:0.05



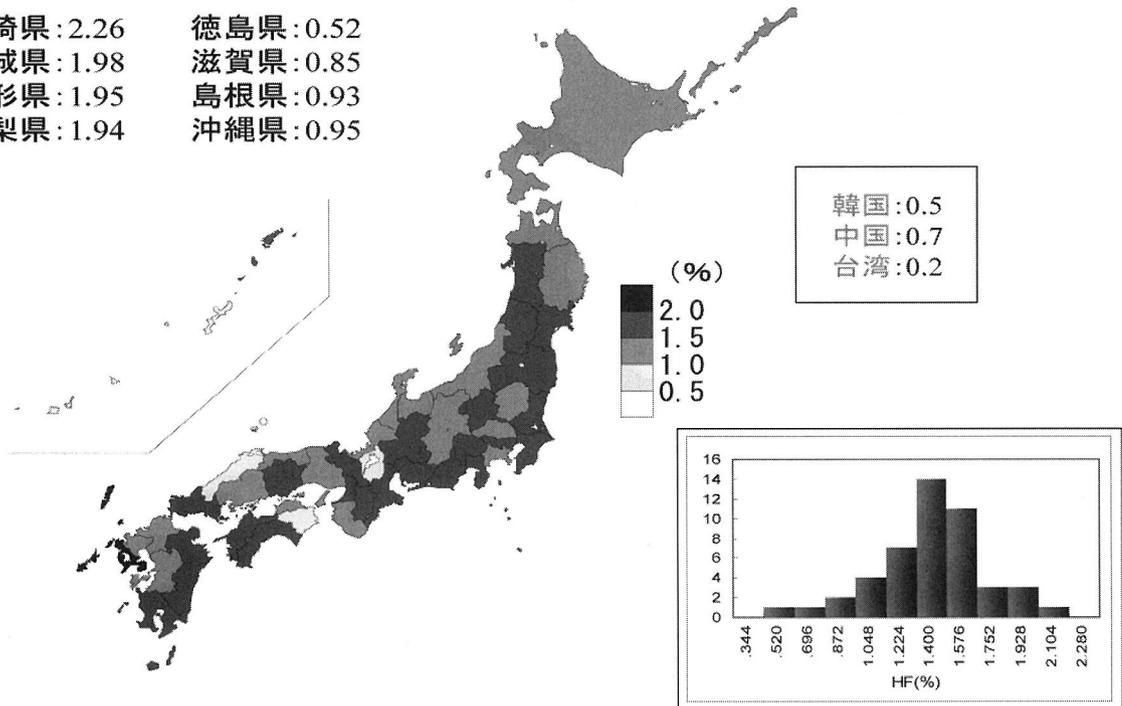
7.A11-B62-DR4 全国:1.60

福島県:2.39 愛媛県:0.79
 山形県:2.18 高知県:0.81
 石川県:2.10 長崎県:0.84
 新潟県:2.02 鹿児島県:0.97
 長野県:1.92 宮崎県:1.04



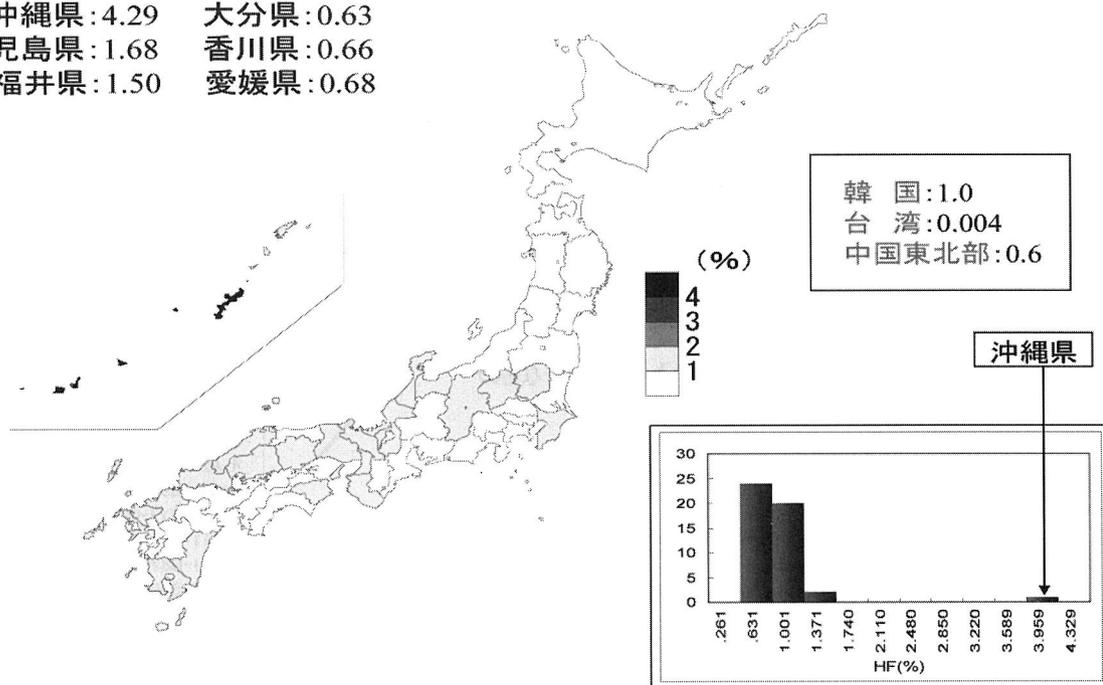
8.A24-B61-DR9 全国:1.55

長崎県:2.26 徳島県:0.52
 宮城県:1.98 滋賀県:0.85
 山形県:1.95 島根県:0.93
 山梨県:1.94 沖縄県:0.95



9.A24-B59-DR4 全国:1.12

沖縄県:4.29 大分県:0.63
 鹿児島県:1.68 香川県:0.66
 福井県:1.50 愛媛県:0.68



10.A11-B54-DR4 全国:1.07

高知県:2.43 山梨県:0.53
 和歌山県:1.58 新潟県:0.64
 鹿児島県:1.48 宮城県:0.69

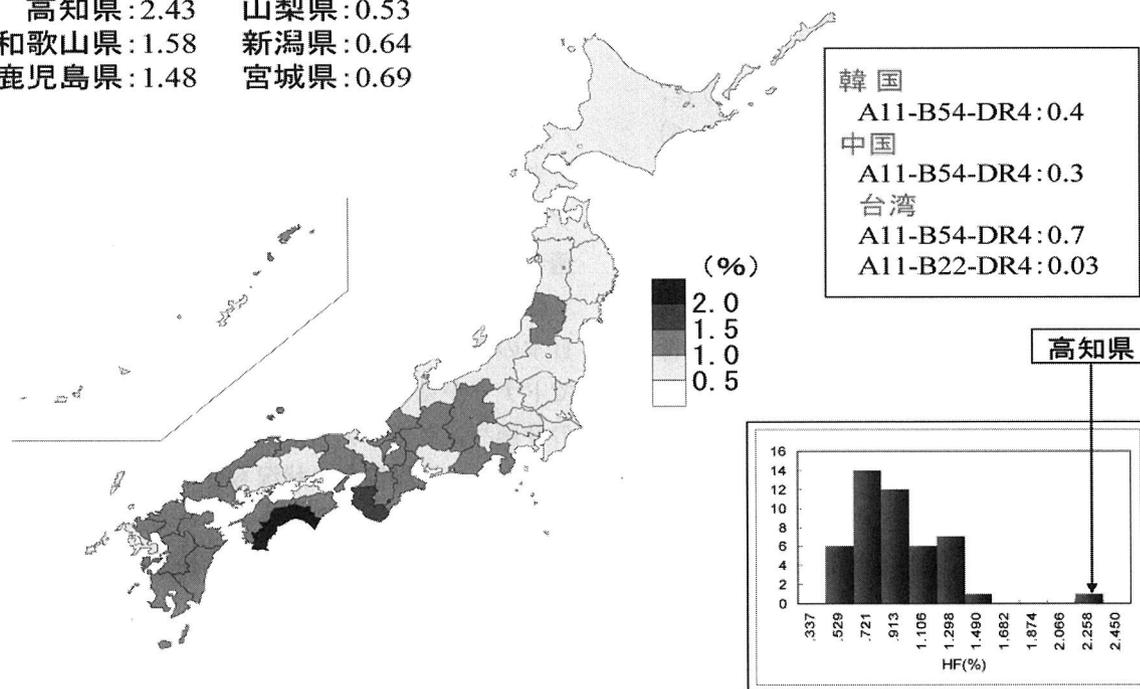


図2 ハプロタイプ頻度(%)の都道府県分布地図

日本・韓国・台湾・中国・中国東北部のハプロタイプ頻度比較

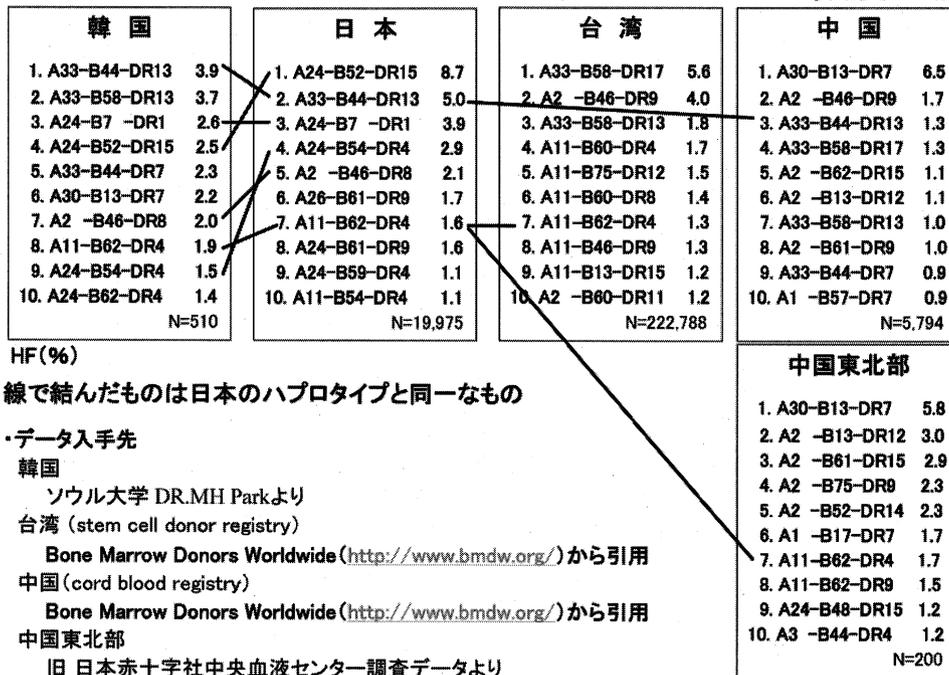


図3 他国との比較

われわれ日本人がどこから移住してきたか考える上で、近隣の国々の人々との HLA ハプロタイプの共有性を検討するのは、意義のあることと思われる。今回の解析結果で、日本の頻度順上位 10 位以内の HLA ハプロタイプのうち、6 ハプロタイプを韓国と共有している事実は、以前から言われているように、日本人と韓国人が極めて近縁関係にあること (5, 6) が示され、弥生時代初期にかなりの数の人々が朝鮮半島から日本列島に渡来してきたことを裏付けている。今回の解析では、日本に存在していて、韓国に存在しない HLA ハプロタイプ (つまり縄文文化人由来) が、どこから来たかについては、残念ながら解析できなかった。都道府県別ハプロタイプ頻度を算出した目的の 1 つは、希なハプロタイプがどの都道府県に多く分布するかを知り、その地方を中心にドナーを集め、希なハプロタイプを保有する患者 (適合ドナーが見つからない方) に適合者を見つけることが容易になるであろうと考えて行った。今回のドナー結果 (表 3) からは、A32-B44-Cw5-DR4 が近畿に多くみられたが、少ないデータからの推測であるので確実ではないが、今後データが蓄積され本当に近畿

に多いことがわかれば、その地域のドナーを増やし、希なハプロタイプを集めることが可能になる。現在日本骨髓バンクでは、初回検索適合率は年々上昇し (2004 年 10 月末現在の適合率: 92.4%)、日本に普通に存在する HLA 型であれば、ほぼ初回検索で適合者が見つかる。今後、必要となるのは、希なハプロタイプのドナーを集中的に集めることである。将来、登録ドナーデータに希な HLA ハプロタイプを持つ登録者が蓄積され、全ての患者に適合者が見つかることが理想である。

韓国と日本のハプロタイプが似ていることから、日本の患者が日本のバンクでなく韓国の骨髓バンクでドナーが見つかるケース、逆に韓国の患者が日本の骨髓バンクでドナーが見つかるケースは少なくない。現在の国際協力の状況も日本から韓国へ骨髓が提供されるのが一番多くなっている。現在ドナーが見つからない患者のためにも今後も国際協力が必要であると考えている。

参考文献

1. 今西規, 徳永勝士, 赤座達也ら: 日本人集団に

- における HLA 遺伝子の対立遺伝子頻度とハプロタイプ頻度(第 10 回日本 HLA ワークショップ共同報告), 今日の移植 VOL. 4 SUPPL. 2: 147-185 1991.
2. Imanishi, T., Akaza, T., Kimura, A., *et al.*: Estimation of allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci. in HLA 1991: Proceedings of the Eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference. Vol. 1. New York Oxford University Press, 1992, p. 76-79.
 3. 赤座達也, 今西規, 藤原孝記ら: 日本人集団における HLA の遺伝子頻度とハプロタイプ頻度, 今日の移植 VOL. 7 SUPPL: 87-101 1994.
 4. Imanishi, T., Akaza, T., Kimura, A., *et al.*: Allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci in various ethnic groups. in HLA 1991: Proceedings of the Eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference. Vol. 1. New York Oxford University Press, 1992, p. 1065-1220.
 5. 今西規: HLA 遺伝子の多様性とヒトの進化, MHC, Vol. 1 No 2: 130-134, 1994.
 6. 徳永勝士: MHC と人類遺伝—過去から現在, そして将来へ, MHC, Vol. 10 No. 1: 55-56, 2004.

Analysis of HLA gene frequencies and HLA haplotype frequencies for bone marrow donors in Japan

Yoshie Moriyama, Kazue Kato, Toru Mura, Takeo Juji

Japanese Red Cross Society

Summary: We have analyzed HLA gene frequencies and HLA haplotype (HLA-A, -B, -DR) frequencies of the registered donors in the Japanese unrelated bone marrow donor registry. Simultaneously, HLA gene frequencies, and haplotype frequencies of HLA-A, -B, and -DR antigens in the donors who registered in 47 different prefectures were calculated, and examined that any distribution differences of HLA gene frequencies, and the frequencies of HLA haplotypes might exist. In some prefectures, the frequencies of some HLA haplotypes were shown to be distributed more frequently than the other prefectures. When we compared Japanese HLA haplotypes with those in the populations in the our neighborhood countries, it was disclosed that Japanese and Korean shared 6 haplotypes in the most popular 10 haplotypes. This evidence indicates that Japanese and Korean have the common genetic back ground.

Key words: HLA gene frequency, haplotype frequency

● 総 説 ●

[シリーズ: MHC の比較ゲノム]
 ネコおよびイヌ科の主要組織適合抗原遺伝子座
 ゲノムショットガンおよび
 BAC シークエンス解析に基づく
 MHC 構造比較

柚木 直也

米国国立癌研究所
 ゲノム多様性研究所

(平成 17 年 12 月 20 日受付)

2005 年は私達の研究室 (Laboratory of Genomic Diversity) にとって記念すべき年であった。ひとつには、オブライエン博士らにより、チーターの皮膚移植実験を用いたこの種における MHC 多様性の欠如がサイエンス誌に発表されて 20 周年にあたることによる (1)。さらに、私達のグループにより、家ネコ科の MHC シークエンスがほぼ完了し、9 月 21 日には Agencourt / Broad Institute / NHGRI により、ネコの全ゲノムショットガンシークエンス (2 倍ゲノムサイズ) が完了した。これらにより MHC 領域の比較が可能になった。もうひとつ特筆すべきは、イヌのゲノムシークエンス (7.5 倍ゲノムサイズ) が完了して一年、その成果がネイチャー 12 月号に発表された事が挙げられよう (2)。私達はブロード研究所からイヌ MHC 全シークエンスを得、その解析とネコ MHC との構造比較を行った。今回、この雑誌の場を借りてこれらの成果を比較発表させて頂く。

ネコおよびイヌ科の MHC 比較研究の意義

ネコおよびイヌ科の動物は種の保存と進化を研究

する意味において重要な位置を占めており、これは一つにはその種の進化が詳細に研究されている事による。ことにネコ科は、37 の種から成り、その進化および集団遺伝学的解析が私達の研究室により発表されている (3)。さらに、家ネコは、少なくとも三つの RNA ウィルスの研究の動物モデルとして確立されており、その一つはネコエイズウィルス (Feline Immunodeficiency Virus, 以下 FIV と表記) で、ヒトエイズウィルス (HIV) と同様、CD4T 細胞減少の伴う免疫不全症を引き起こす。私達の研究室では様々なネコ科獣の血清において FIV に反応する免疫グロブリンを検出している。その結果と PCR 法を用いた検出・シークエンス解析により、少なくとも 11 種のネコ科獣において FIV の感染が見られること、家ネコにおける FIV 感染の歴史は他のライオンやピューマの FIV より比較的新しいこと、を結論づけている (4, 5)。このような結果は、ヒトを含めたサル科の SIV/HIV との研究比較において、HIV 進化とヒトでの発症の歴史を研究する上で重要な類似性を示している。また、イヌ科においては様々な自

Staff Scientist Laboratory of Genomic Diversity National
 Cancer Institute at Frederick Bldg560, Room 2175
 Frederick, Maryland 21701-1201 USA
 Naoya Yuhki, Ph.D.

Telephone: (301) 846-5295
 Fax: (301) 846-1909
 E-mail: yuhki@ncifcrf.gov

己免疫疾患のモデルとしての位置を確立しており、興味深いことは、イヌ科においてレトロウイルス疾患(エイズ・白血病)が報告されておらず、何らかの免疫メカニズムが働いていると憶測されることだ(6-8)。

ネコ科 MHC 研究の歴史

家ネコ MHC の研究は皮膚移植実験に始まり、その移植拒否反応の欠如から、当初、MHC 多様性の欠如が予想された。その後、ウインクラー等による系統だった移植実験と、その血清と補体を用いた 51Cr リリーステストにより、MHC の多様性が証明されるに至った(9)。私達は分子生物学的手法を用い、家ネコの MHC cDNA および PCR 産物のシーケンスを解析した(10, 11)。その結果、ネコ MHC 領域には、少なくとも二つのクラス I と二つずつのクラス II DRB/DRA 遺伝子座が存在し、このうちクラス I とクラス II DRB 遺伝子座はヒト HLA 同様高い多様性を示した。また、多様性は、ペプチド認識及び T 細胞受容体被認識領域をコードするエクソン 2 (及びエクソン 3: クラス I 遺伝子)において最も高かった。しかも、アミノ酸置換変異率対非置換変異率(dN/dS)の割合は MHC クラス I 抗原 3 次構造のペプチド認識部位、および T 細胞受容体被認識部位において 1 以上を示し、反対に、アルファ鎖形成に不可欠な部位では低い数値を示した。これらの結果は MHC 遺伝子座の進化にとって重要な意義、すなわち一つの分子をコードする遺伝子、しかもその狭い領域で正(ポジティブ)および負(ネガティブ)の選択、が共に行われていることを示す(12)。この領域、特に第 1 アルファ鎖をコードするクラス I 遺伝子のエクソン 2 部分では三つの短いシーケンスモチーフがモザイク様構造を成している。これらのモチーフがクラス I 遺伝子座間あるいは対立遺伝子間で交換されることによって MHC 多様性が向上、維持されていると思われる。興味深いことに、類似モチーフはチーターやオセロット MHC でも見つかった(13)。この事実により、このような免疫機構に関与する短いシーケンスモチーフは種の進化上長い間保存されていると思われる。

ネコ科 MHC の構造

ネコ科 MHC の構造は、PAC (P1 Artificial Chromosome) および BAC (Bacterial Artificial Chromosome) DNA ライブラリーよりヒトおよびマウス MHC 遺伝子断片をプローブとしてクローン化したおよそ 300 のクローンの解析に基づくマップから推測された(14, 15)。私達はさらに、ラディエーションハイブリッド法および蛍光 In-situ ハイブリダイゼーション法によってもこの結果を確認した。大部分のネコ MHC はネコ染色体 B2 の長腕セントロメア近くにクラス II-III-I という順序で(テロメアからセントロメア)配列する。しかし、TRIM 39 と呼ばれる遺伝子からセントロメア側はヒト HLA との相同性を失い、直接垂セントロメア部分(あるいは近傍)に連絡し、残りの TRIM 26 以降のクラス I 部分とヒト HLA -A に相当する部分(少なくとも骨格遺伝子を含む 400 Kbp)は染色体断裂とインバージョンによりテロメア側に移動し、直接(あるいはすぐ近傍の)垂テロメア部分に逆向きに位置している(図 1, 図 2)。

ネコクラス I 遺伝子座領域

ネコ MHC には、16 のクラス I 遺伝子がヒト HLA -B/C 領域 (BAT 1 と OCT 3 間)に、2 つのクラス I 遺伝子(そのうち一つはクラス I 遺伝子断片)がヒト HLA 92 領域に存在し、そのうち二つあるいは三つの遺伝子座が古典的クラス I 抗原をコードしていると思われる。これは、BAC シーケンスとクラス I cDNA との比較により遺伝子断片かどうか、アミノ酸配列において完全な長さを持っているかどうか、古典的クラス I 抗原に特有でしかも種を越えて保存されているアミノ酸を持っているか、により推測した(図 3)。この 18 のクラス I 遺伝子の半分は遺伝子断片のみ発見された。興味深いことに多くの遺伝子座の近傍に BAT 1 と呼ばれる遺伝子の断片が見つかった(図 4)。このような事実はイヌおよび今までに発表された他種でのクラス I シーケンスでは見つからない。ヒト HLA においてはクラス I 遺伝子の近傍には MIC 遺伝子が存在することが報告されており、クラス I-MIC ユニット重複によりクラス I 遺伝子が進化したと推測されている(16)。した

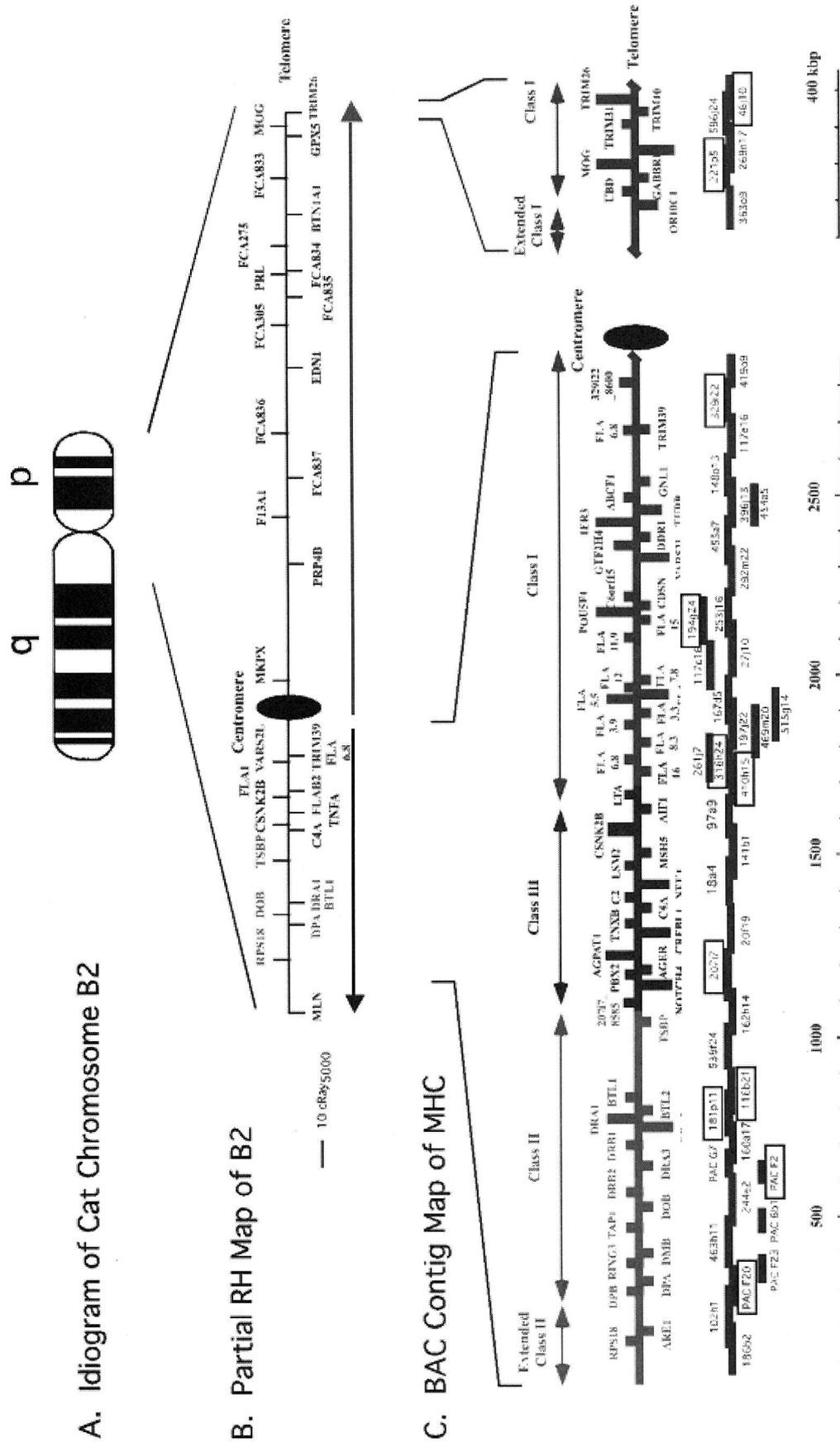


図1 ネコ MHC の構造
 (A) ネコ MHC の B2 染色体の位置
 (B) ラディエーションハイブリッド (RH) 法による遺伝子配列
 (C) BAC シークエンスによる遺伝子配列
 (D) BAC クローニングの順序

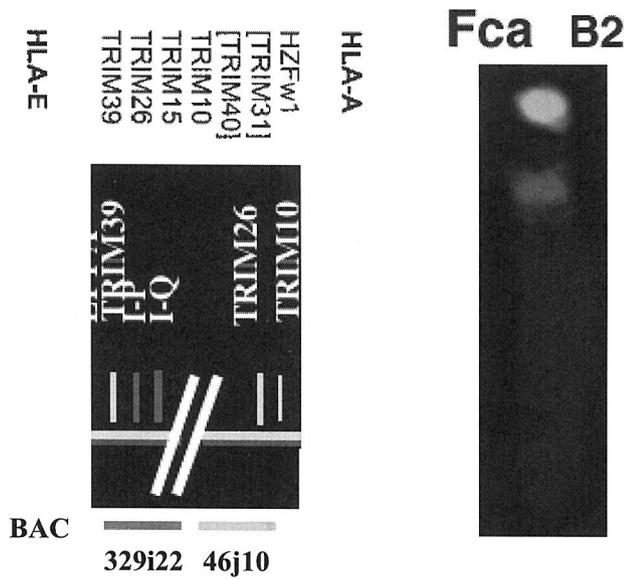


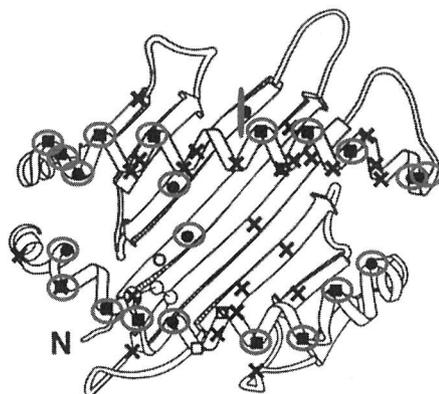
図2 2種の蛍光色素を用いた In Situ ハイブリダイゼーション法によるネコ MHC の B2 染色体上における位置
TRIM 39 をコードする BAC および TRIM 26 をコードする BAC DNA をプローブとして用いた。

がって、ネコ MHC においてはクラス I-BAT 1 断片ユニットが重複して進化し、その時期はイヌ科とネコ科の祖先が分かれた後 (5000-5500 万年前) であろう。しかもこのような BAT 1 断片はクラス I 遺伝子断片近傍にも見つかることから、クラス I 偽遺伝子化はユニット重複化の起こった後と思われた。

ネコ MHC クラス II 遺伝子座領域

HSET 遺伝子座から BTL II 遺伝子座までのクラス II 領域の長さは、ヒト HLA (約 1000 Kbp) とマウス H2 (約 500 Kbp) のその中間(約 750 Kbp) にあたる。また、ヒト HLA で機能的な DQ 領域は欠損し、しかも DP 領域の A, B 遺伝子とも偽遺伝子化されていることがわかった。それを補足するために DR 領域では遺伝子重複が行われており、それぞれ三つづつの機能的と思われる A および B 遺伝子座 (DRA 1, 2, 3 / DRB 1, 3, 4) が発見された(図5)。私達はこの結果を基にして、ネコ DRA/DRB 遺伝子座は一对の A および B 遺伝子が 5' 側を隣り合わせにした形(ヘッド-ヘッド)をユニットにした遺伝子重

FLA Class I Antigens



○ conserved residues among classical class I antigens in HLA & FLA

図3 ネコ MHC クラス I cDNA 解析による高度に保存されたアミノ酸(黒点, 黒三角点)と多様性を示すアミノ酸 (X) の位置
ヒト HLA-A2 クラス I 抗原のアルファ 1, 2 ドメイン付近の三次元構造を示す。赤丸はヒト古典的クラス I 抗原およびネコクラス I 抗原での高度に保存されたアミノ酸の位置を示す。

16 FLA Class I Genes

- ▶ 3 Classical Class I Genes
- ▶ 6 Non Classical Class I Genes
- ▶ 7 Pseudogenes/Gene Fragments

FLA Class I Region (I-A to I-Q: 16 GENES)

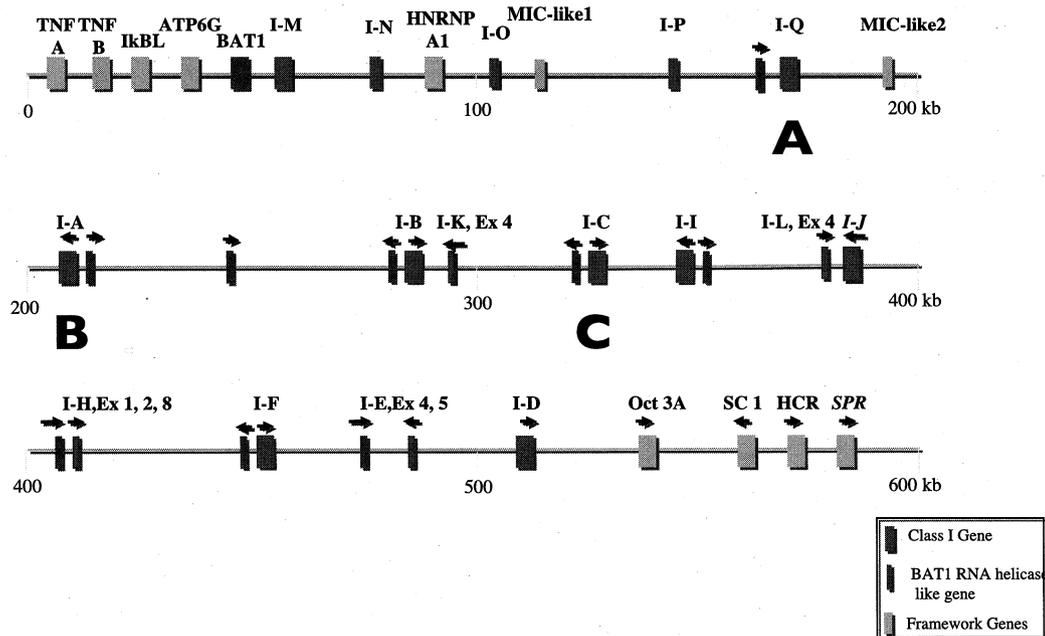


図4 ネコクラスI抗原をコードする遺伝子領域の模式図

オレンジはクラスI遺伝子, 紫はBAT1とその断片, 黄色は骨格遺伝子, 緑はMIC遺伝子の位置を示す。古典的クラスI抗原をコードすると思われる三つの遺伝子はA, B, Cで示した。

複により進化したものと推測している(17)(図6)。

ネコMHC領域のSNP頻度

MHCクラスIおよびクラスII抗原遺伝子座は非常に高い多様性を示すことが多くのMHCにおいて知られている。私達は、ネコMHCにおいて約60の対立遺伝子座がクラスII DRB遺伝子にあることを、cDNAおよびエクソン2領域のPCRシーケンスと進化的解析により示してきた(11)。英国サンガーセンターのグループによる4.75 Mbに及ぶヒトHLAハプロタイプシーケンス解析では、SNP(シングルヌクレオチドポリモルフィズム-単独核酸置換多様性)の率がHLAにおいては3倍以上平均より高く、HLA-DP, -DQ, -DR遺伝子座, HLA-B, -C, -A, -G遺伝子座を含む狭い領域で20-50倍高い(18)。これらの事実より、多様性を示すMHC遺伝子とその近傍では正の選択及びヒッチハイク効果によりSNP率が高まり、その結果領域全体での率も高まっているものと思われる。私達はネコMHCにおいて同様の解析を行った(図7)。詳しくは別の

機会を得て述べることにするが、ネコMHC SNP率はNQS(ネイバーフッドクオリティースタンダード)を満たしたシーケンス正読率の非常に高い部位、私達の場合、合計約2.4 Mbpにおける領域で1 Kbp当たり3.69とヒトHLAと同様の値(1 Kbp当たり3.37 SNPS)を示した。さらにそれより2倍以上多いピークは、クラスI領域ではクラスI遺伝子が存在する一部と嗅覚受容体遺伝子領域、クラスII領域ではNOTCH4遺伝子が存在すると思われる部分に認められた。クラスII領域のSNP率はDR領域のみに高い、平均より5倍以上の持続したピークがあることが認められた。この事実はネコMHCに三つ存在するDRB遺伝子のうち二つのDRB遺伝子(DRB1及びDRB3)にのみ認められた。DRB1およびDRB3遺伝子ではアミノ酸をコードする全領域にわたって高いSNPピークが認められるのに対して、DRB4遺伝子では正の選択の標的であると思われるエクソン2領域のみにピークは限られていた。これらの結果はDRB遺伝子の進化と多様化の起源、そしてその維持と言う点で興味深い。

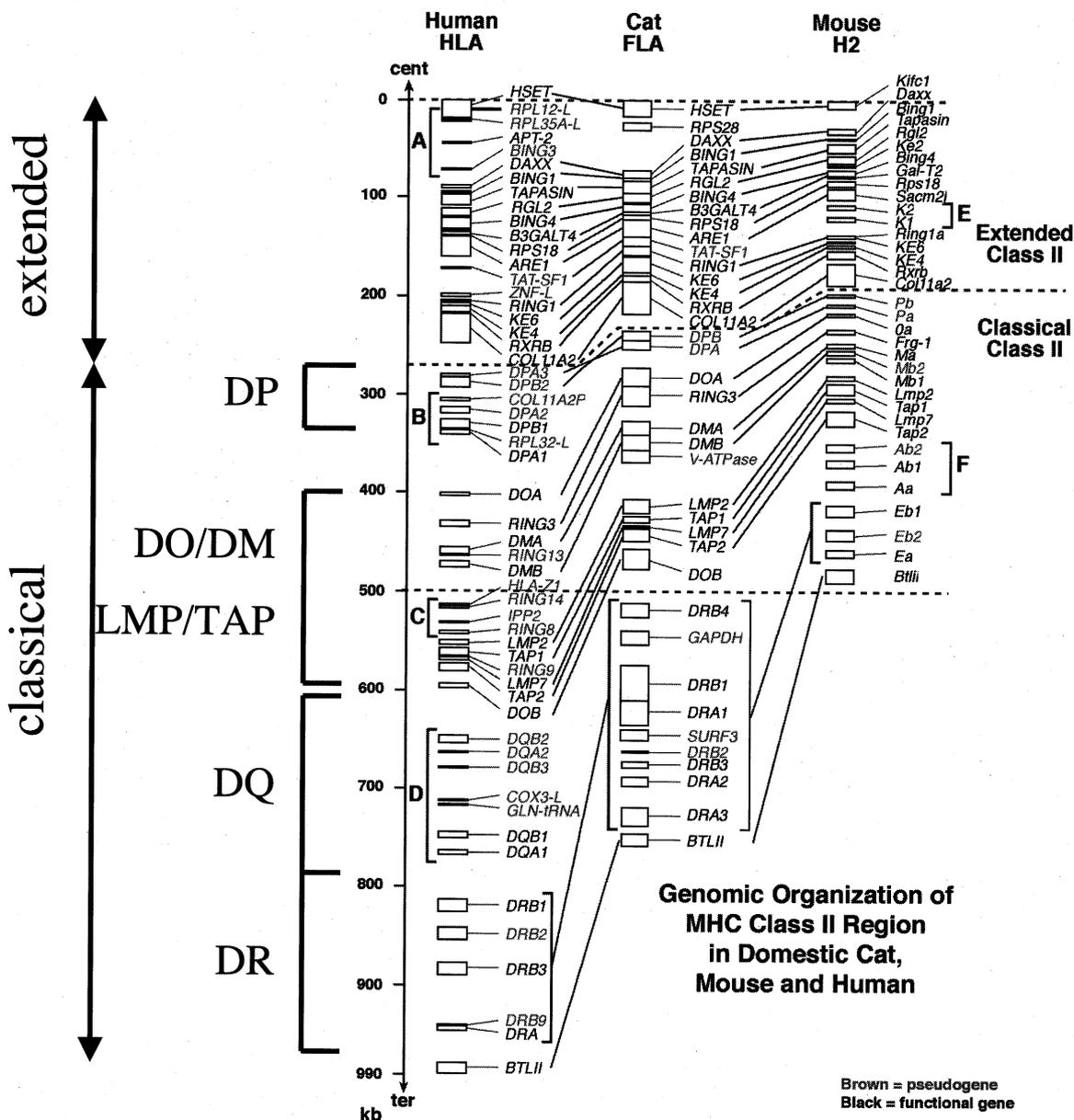


図5 ヒト、ネコ、マウス MHC のクラス II 領域の比較
茶色は偽遺伝子、黒字は機能を持つと思われる遺伝子を示す。

イヌ MHC 領域

イヌの全ゲノムシーケンス解析は、ターシャと言う名のボクサー犬の DNA から全ゲノムショットガン法により決定された 7.5 倍ゲノムサイズシーケンスを用いて行われた。その結果が 2005 年 12 月のネイチャー誌に発表されたことは記憶に新しい(2)。私達はブロード研究所から全 MHC 領域を含むと思われる二つのシーケンスを得、それらの解析を行った。ドットプロットを用いた解析によると、

ヒト HLA 領域 4.6 Mbp に相当する部分はイヌ MHC では 2.9 Mbp と 1.0 Mbp の二つの領域にあたり、しかもこれらは二つの染色体上 (Cfa 12 と Cfa 35) に存在する。詳細な遺伝子地図作成の結果、イヌ MHC はネコ MHC 同様 TRIM 遺伝子群と呼ばれるクラス I 領域の同じ部分で (TRIM 39 と TRIM 26 の間) 切断され二つに分かれて存在する。イヌ MHC 2.9 Mbp 断片 (Cfa 12) は、ネコ MHC 同様、クラス II, III, クラス I の一部を含みこの順にセントロメア近

Class II DR Region in domestic cat

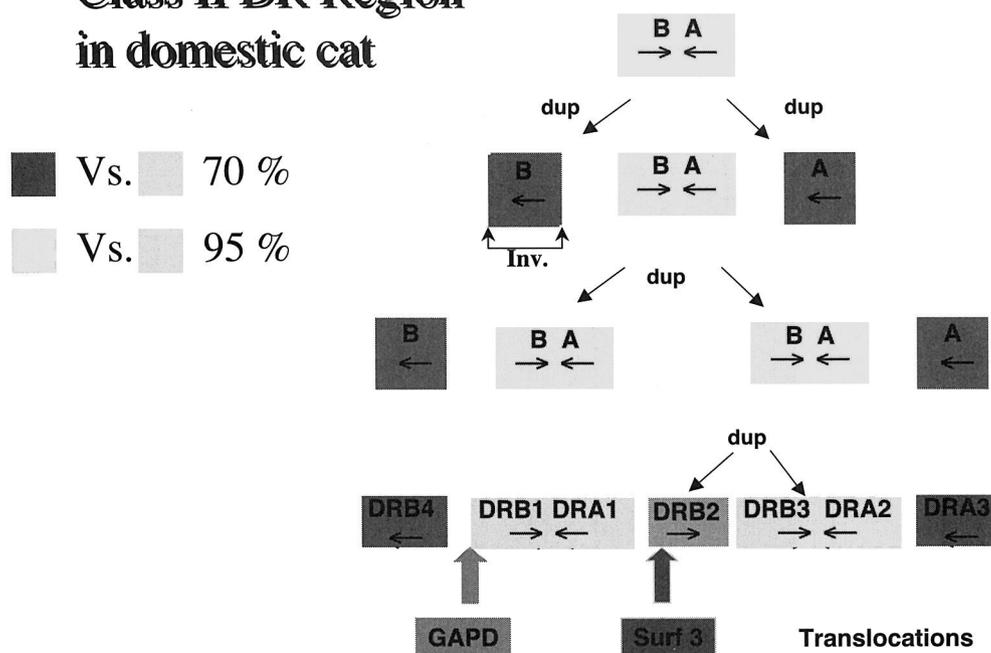


図6 ネコ MHC クラス II DR 領域の進化

傍に存在する。イヌ 1.0 Mbp 断片 (Cfa 35) は、またネコ MHC 同様、クラス I 領域の残りの部分を含みテロメア近傍に存在することが示された。しかもこのイヌ、ネコの MHC は同じ遺伝子領域配列(共に、II-III-I の一部—セントロメア, I の残り—テロメア)を示した。この事実と、染色体 G バンドパターンの類似性(ネコ B2 染色体短腕とイヌ第 35 染色体, ネコ B2 染色体長腕セントロメア付近とイヌ第 12 染色体)から、私達はネコおよびイヌ科の祖先において一つの染色体(ヒト第 6 染色体祖先型)が MHC クラス I TRIM 39 と TRIM 26 との間で二つに断裂し、しかも染色体逆転により短腕テロメア側に転位(ネコ型染色体 B2)し、そしてさらに、あるいはほぼ同時に、二つの染色体に分離してイヌ型染色体 12 及び 35 に進化したと推測した(図 8)。

イヌ MHC クラス I 遺伝子座

ターシャでは、少なくとも四つのイヌ MHC クラス I 遺伝子座がヒト HLA-B, -C 領域 (BAT 1 と OCT-3 との間)に認められた。これらの遺伝子シーケンスと今までに報告されたイヌクラス I 遺伝子シーケンスの相同性から (19), このうちのの一つは

ヒト HLA-B, -C 抗原同様高い多様性を示すことが明らかとなった。残りの三つのクラス I 遺伝子の多様性は非常に低いかあるいは解明されていない。興味深いことには、中程度の多様性を示すクラス I 遺伝子がイヌ第 18 染色体上に、また偽クラス I 遺伝子がイヌ第 7 染色体上に発見された。これらの機能、あるいはヒト HLA およびネコ MHC クラス I 遺伝子座との関連は不明である(図 9, 図 10)。

イヌ MHC クラス II 遺伝子座

私達の解析結果は、ビンズらが発表した結果と同じく、イヌには一対ずつの A および B 鎖をコードする遺伝子座が DQ および DR 領域に存在することを示した。また、DP 領域の A および B 鎖をコードする遺伝子座は、ネコ MHC において認められたように共に偽遺伝子であろうと思われる。そして、一つの DRB 偽遺伝子はネコのそれと同じ位置に存在し、その偽遺伝子化はイヌとネコの共通祖先において 5500 万年以上前に行われたと推測された (20)。

終わりに

主にヒトおよびマウスにおいて発展してきた

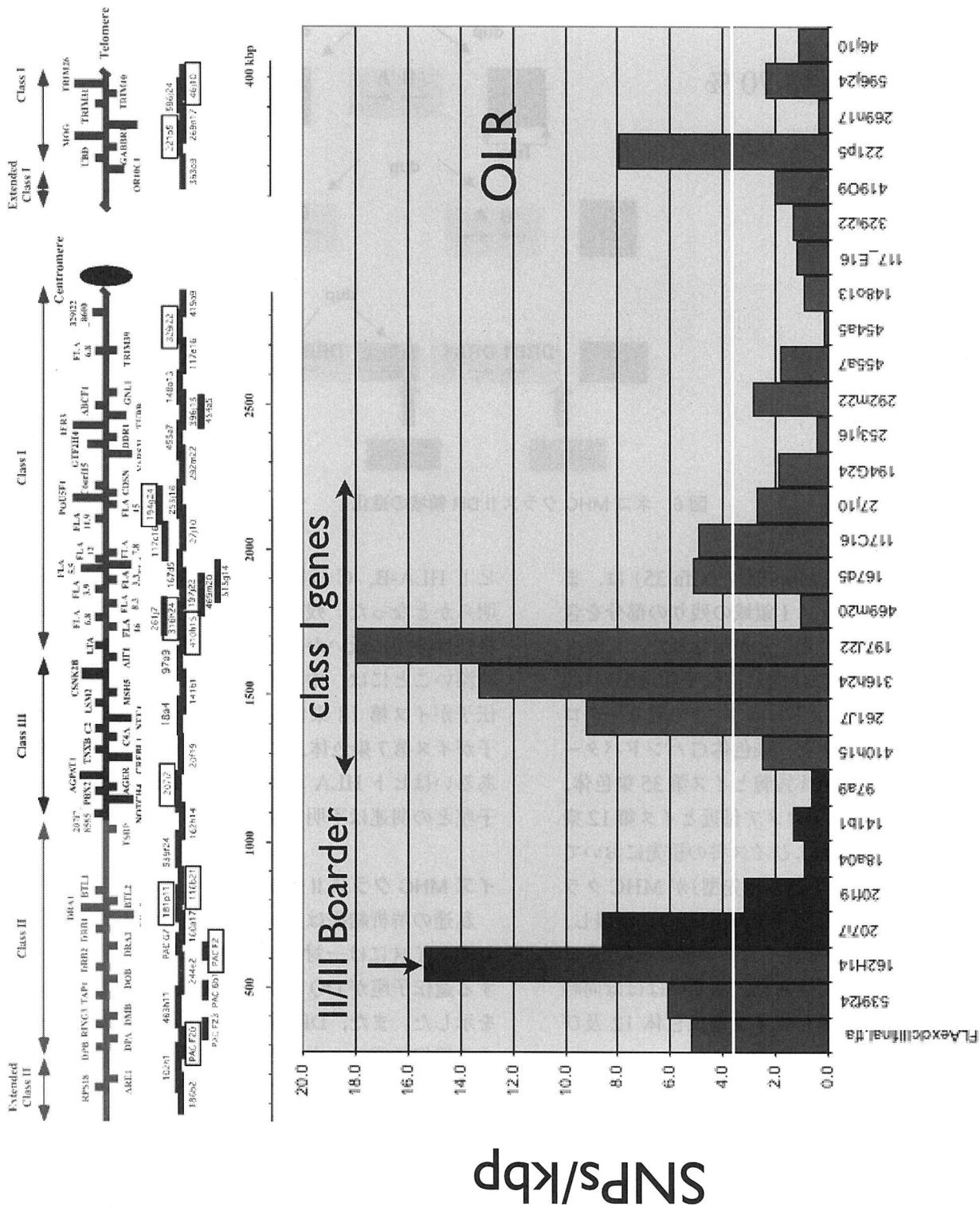


図 7 BAC クローンごとの SNP 値

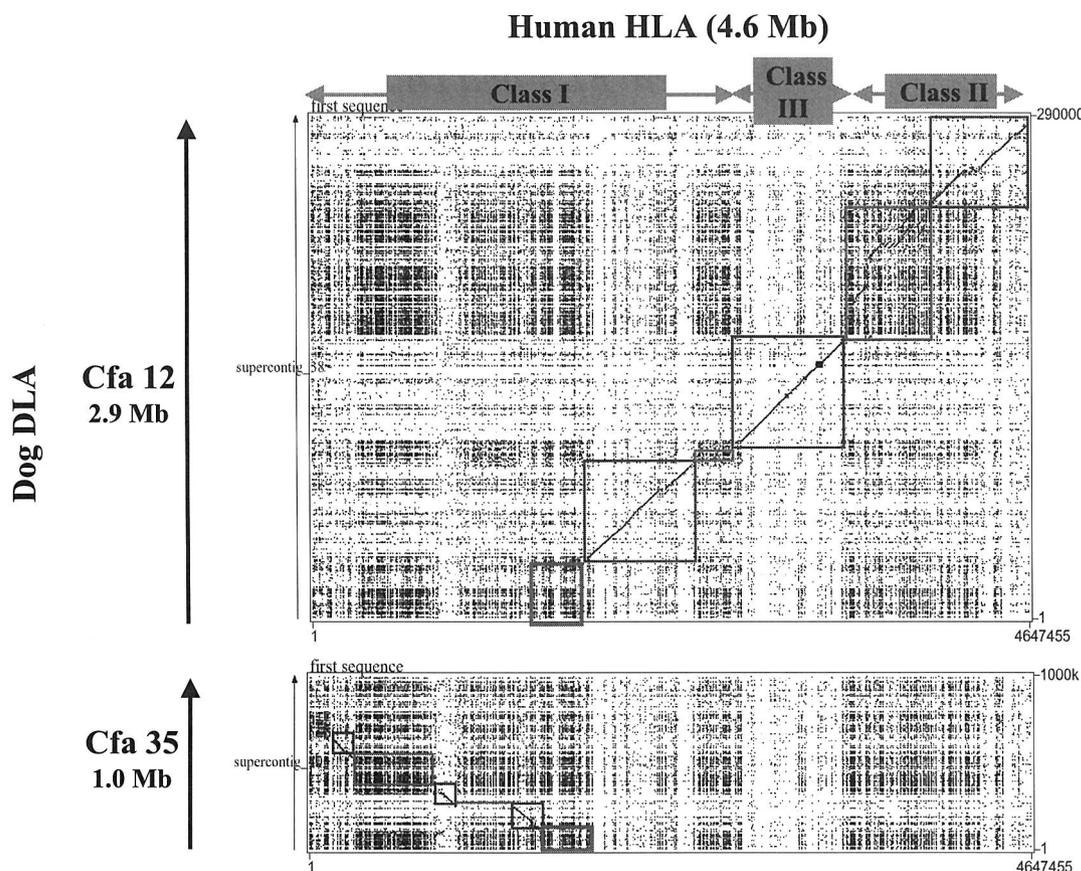


図8 ヒト HLA (4.6 Mbp) とイヌ MHC (2.9 Mbp と 1.0 Mbp) のドットプロット法による比較
保存領域は青で多様性部分は赤で示した。

DOG MHC Class I Genes

▶ DLA 88	Ch12	56 Alleles	DLA A
▶ DLA 79	Ch18	11 Alleles	DLA G
▶ DLA 12	Ch12	3 Alleles	DLA D
▶ DLA 64	Ch12	3 Alleles	DLA E
▶ DLA 12a	Ch12	Pseudo	DLA B
▶ DLA 53	Ch12	?	DLA C
▶ Ctpg 26	Ch 7	Processed	DLA F

図9 イヌクラスI抗原と染色体位置, 対立遺伝子の数および遺伝子座

MHC の研究は, 近年の分子生物学とゲノム研究の発展により他種での迅速で詳細な研究が可能な段階を迎えようとしている。皮膚移植実験から始まったネコ MHC の研究は MHC 全領域のシーケンスが

ほぼ決定され, しかも全ゲノムショットガン法によるネコゲノムプロジェクト (21) の進展により, 部分的ではあるが二つのハプロタイプの比較が可能になった。また, イヌゲノムプロジェクトが完成し, 食肉科種の中で最も古い種進化での分岐点(約 5500 万年前)を持つと思われるイヌとネコの MHC を比較することによって, 食肉科種全体の MHC 比較進化研究が可能になった。

ネコ MHC では DR クラス II 抗原と三つの HLA -B/-C (遺伝子マップ上で)に相当するクラス I 抗原が T 細胞にペプチドを提示する可能性を持つ。さらには, 嗅覚受容体発現に何らかの関与があると報告された (22) マウスの非古典的クラス I 抗原遺伝子群 (H-2M1-10) が存在するヒト HLA 92 領域に, 少なくとも一つの全アミノ酸をコードすると思われるネコ MHC クラス I 遺伝子が存在する。この部分から残りのクラス I 領域はネコ第 6 染色体再編成部分と

Comparison of Gene Organization in MHC Class I Region between FLA and DLA

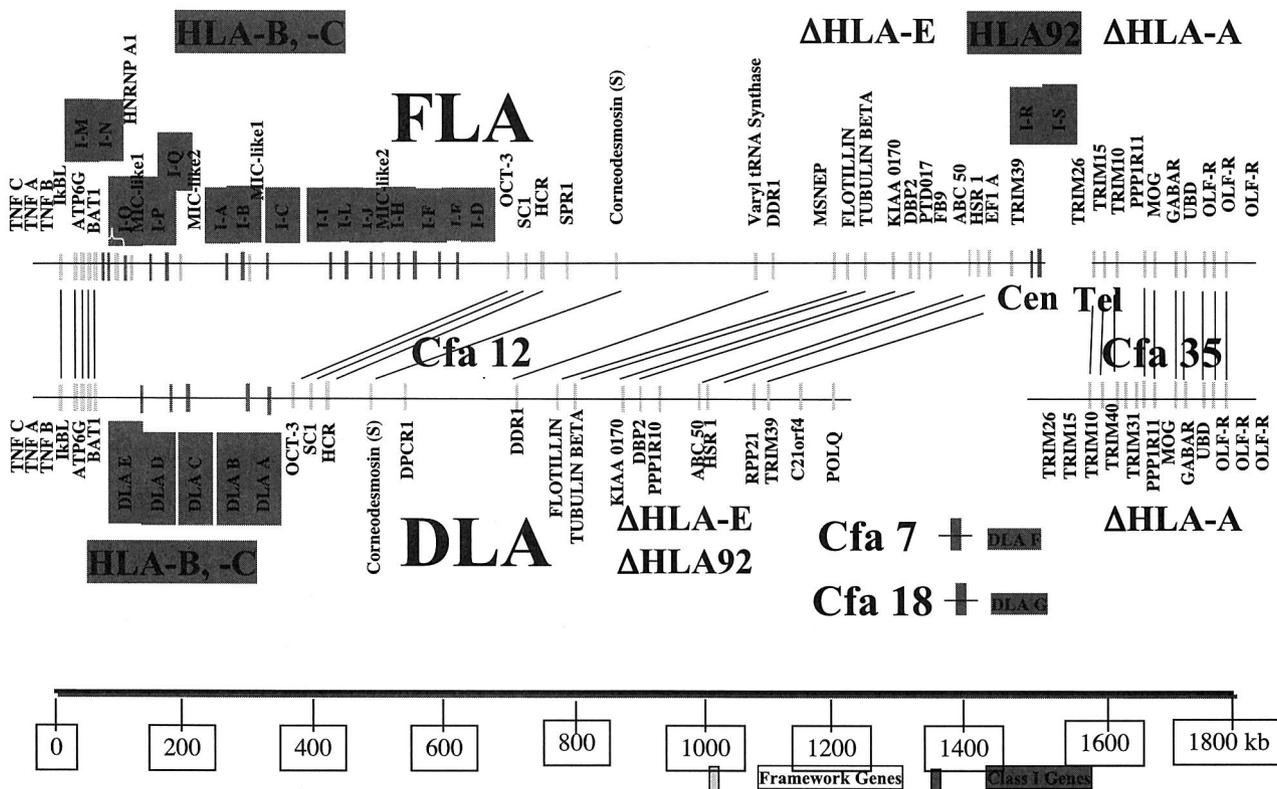


図 10 ネコとイヌ MHC のクラス I 領域の比較

亜セントロメア領域に属し、また、クラス I 延長領域に近い部分は(亜)テロメア領域に属することから、このクラス I 部分(ヒト HLA 92 に相当する部分)の詳細な解析は難しい。しかしながら、全ゲノム解析が高いレベル(7.5 倍ゲノムシーケンス)で行われたイヌでは、この領域にはクラス I 遺伝子は存在しない。しかもネコ MHC 同様、HLA-A 相当領域にはクラス I 遺伝子は見つからなかった。さらに、少なくとも一つづつのクラス I 遺伝子が異なった染色体に存在する。この事実は、ネコにおいてもこのような孤児クラス I 遺伝子がゲノムのどこかに存在する可能性を示唆している。今後の詳しいゲノムシーケンスが必要であろう。

ネコおよびイヌの免疫機構においては共に明らかな NK 細胞活性が報告されていない。この事実と、ヒトおよびマウスで報告されている多様性を持った

NK 細胞受容体多遺伝子群(ヒトでは KIR と呼ばれる免疫グロブリン様受容体、マウスでは Ly 49 と呼ばれる C-レクチン様受容体)がネコおよびイヌゲノムで認められないこと、これらの受容体のリガンドがヒトおよびマウスでは MHC クラス I 抗原である事実(23)から、ネコおよびイヌ MHC クラス I 抗原遺伝子座の進化機構はヒト、マウスのそれとは少し異なっているのかも知れない。

ヒトゲノムプロジェクトに始まったゲノム解析学という分野は様々な畜産ならびにペット動物のゲノム解析に広がり、その結果はそれぞれの種の保存とその効率的な生産に使われようとしている。MHC 領域研究ではこれらのゲノム研究に先駆けて詳細な解析が行われてきた。私達はこのような努力がゲノム他領域においても行われ、さらに、これらの基本種ゲノムに基づく野生保護種(例えばバイソンで行

われたように)のゲノム研究に広がると予想している。これら保護動物ゲノムプロジェクトとその動物に寄生する細菌、ウイルス等のシーケンス決定は5年以内に行われるであろう。その成果は、全ての動物の保護、進化、および将来起こり得るであろうヒトでの新しい感染症(例えば新しいインフルエンザ, SARS, エボラウイルス症, エイズ等)の迅速な診断と治療に応用されるものと思われる。

感謝の辞

渡米から20年が過ぎた。米国で始めたMHC研究も同じ年月が経った。この記念すべき年に、理研の間陽子先生ならびに東海大の猪子英俊先生から理研MHC比較シンポジウムに招待して頂いた。2005年4月のことである。ワシントンDCでの桜見物の後、日本でもう一度桜を楽しませて頂いた。深く感謝する次第である。

MHC研究を始めてから、ヨーロッパやアメリカの各地で、イアン・クライン博士とそのグループによるMHC進化研究会に参加した日本人の先生方にお会いする機会を得た。今年、日本でその方々にまたお会いできたことは私にとって非常に喜びであった。このようなMHC研究会が世界各国で開催され続けるよう努力していきたい。

この研究は長年の上司であるNCIのステイブ・オブライエン博士の協力による部分が多い。この場を借りて深く感謝する。

この文章はクリスマスを一週間後にひかえた日曜日の午後に書いている。息子は数日前にミシガンより帰省し、モンリオールで科学を学んでいる娘も後二日で帰ってくる。平和で穏やかな午後である。このような日々が来年世界各国で続くよう祈念して止まない。どうか良い戌年をお過ごし下さい。

最後にこの機会を与えて下さった東大、徳永勝士先生および日本語のタイピングおよび校正を手伝ってくれた妻、祐子に深く感謝する。

参考文献

1. O'Brien SJ, Roelke ME, Marker L et al. Genetic basis for species vulnerability in the cheetah. *Science*. 1985 Mar 22; 227(4693): 1428-34.

2. Lindblad-Toh K, Wade CM, Mikkelsen TS. et al. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*. 2005 Dec 8; 438(7069): 803-19.
3. O'Brien SJ, Johnson WE. Big cat genomics. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2005; 6: 407-29.
4. Carpenter, M. A., and S. J. O'Brien. Coadaptation and immunodeficiency virus: lessons from the Felidae. *Curr. Opin. Genet. Dev*. 5: 739-745. 1995.
5. Troyer JL, Pecon-Slattery J, Roelke ME et al. Patterns of Feline Immunodeficiency Virus Multiple Infection and Genome Divergence in a Free-Ranging Population of African Lions. *J Virol*. 2004 Apr; 78(7): 3777-3791.
6. Ostrander EA, Galibert F, Patterson DF. Canine genetics comes of age. *Trends Genet*. 2000 Mar; 16(3): 117-24.
7. Patterson DF. Companion animal medicine in the age of medical genetics. *J Vet Intern Med*. 2000 Jan-Feb; 14(1): 1-9.
8. Sargan DR. Inherited diseases in dogs: web-based information for canine inherited disease genetics. *Mamm Genome*. 2004 Jun; 15(6): 503-6.
9. Winkler C, Schultz A, Cevario S, et al. Genetic characterization of FLA, the cat major histocompatibility complex. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1989 Feb; 86(3): 943-7.
10. Yuhki, N., Heidecker, G.F. and O'Brien, S.J. Characterization of major histocompatibility complex cDNA clones in the domestic cat: Diversity and evolution of MHC class I genes. *J. Immunol*. 142: 3676-3682, 1989.
11. Yuhki, N. and O'Brien, S.J. Nature and origin of polymorphism in feline major histocompatibility complex (MHC) class II DRA and DRB genes. *J. Immunol*. 158: 2822-2833, 1997.
12. Yuhki, N. and O'Brien, S.J. DNA recombination and natural selection pressure sustains genetic

- sequence diversity of the feline MHC class I genes. *J. Exp. Med.* 172: 621–630, 1990.
13. Yuhki, N. and O'Brien, S.J. Exchanges of short polymorphic DNA segments predating speciation in feline major histocompatibility complex class I genes. *J. Mol. Evol.* 39: 22–33, 1994.
 14. Beck, T.W., Menninger, J., Voight, G., et al. Comparative Feline Genomics: A BAC/PAC contig map of the major histocompatibility complex class II region. *Genomics* 71: 282–295, 2001.
 15. Beck, T., Menninger, J., Murphy, W.J. et al. The Feline Major Histocompatibility Complex Is Rearranged by Inversion with a Breakpoint in the Distal Class I Region. *Immunogenet.* 2005 Jan; 56(10): 702–9.
 16. Shiina T, Tamiya G, Oka A. et al. Molecular dynamics of MHC genesis unraveled by sequence analysis of the 1,796,938-bp HLA class I region. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1999 Nov 9; 96(23): 13282–7.
 17. Yuhki, N., Beck, T., Stephens, R.M. et al. Comparative genome organization of human, murine and feline major histocompatibility complex class II region. *Genome Res.* 13: 1169–79, 2003.
 18. Stewart CA, Horton R, Allcock RJ. et al. Complete MHC haplotype sequencing for common disease gene mapping. *Genome Res.* 2004 Jun; 14(6): 1176–87.
 19. Wagner JL, Palti Y, DiDario D. et al. Sequence of the canine major histocompatibility complex region containing non-classical class I genes. *Tissue Antigens.* 2005 Jun; 65(6): 549–55.
 20. Debenham SL, Hart EA, Ashurst JL. et al. Genomic sequence of the class II region of the canine MHC: comparison with the MHC of other mammalian species. *Genomics.* 2005 Jan; 85(1): 48–59.
 21. O'Brien SJ., Lander ES., Haskins ME. et al. Sequencing the genome of the Domestic Cat *Felis catus*. NHGRI White Paper October 10, 2002. <http://www.genome.gov/Pages/Research/Sequencing/SeqProposals/CatSEQ.pdf>
 22. Loconto J, Papes F, Chang E. et al. Functional expression of murine V2R pheromone receptors involves selective association with the M10 and M1 families of MHC class Ib molecules. *Cell.* 2003 Mar 7; 112(5): 607–18.
 23. Kelley J, Walter L, Trowsdale J. Comparative genomics of natural killer cell receptor gene clusters. *PLoS Genet.* 2005 Aug; 1(2): 129–39.

[シリーズ: HLA 研究者の個人史]

私の HLA 研究史

片桐 一

旭川医科大学

1. 生命科学研究への誘い

生命科学研究に目を向け、興味を持つようになったのは、北海道大学大学院博士課程で医学部病理第一講座の諸先生に指導を受けたことに始まります(1963-1966)。大学院生時代、生命科学への関心は強く、それは1962年度のノーベル賞の内容を知ったことが大きく関わっていると思われます。図1の写真は授賞で集った世界の研究をリードする研究者で、二重ラセン(タイム・ライフ社、1968)に掲載されているものです。

右端の J. D. ワトソンと二番目の H. C. クリックは、ケンブリッジ大学のキャヴェンディッシュ研究所で、DNA 二重ラセン構造モデルを完成し、ノーベル賞を授賞しました。ワトソンはその時 25 歳でした。このモデルは遺伝に関心を持つ生物学者と生物

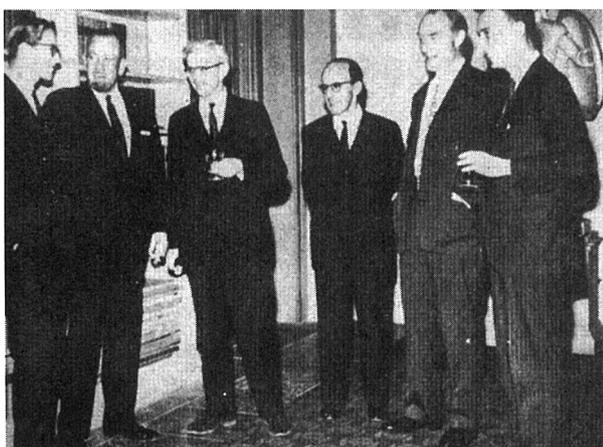


図 1

に関心を持つ生物学者の協力によるもので、今日の分子遺伝学の基盤となっています。左から3番目の J. C. ケンドルーはミオグロブリンの立体構造を明らかにし、4番目の M. ペルツはヘモグロビンの立体構造を明らかにしました。物理学者が生物学に関心を持ち、その成果は構造生物学の基盤を築いた時代でした。

このような学際的研究に刺激され、北海道大学相沢幹教授のもとでラットを用いた移植実験を行い、皮膚移植が成功するか否かを左右する生物学的機構、移植抗原の性状を解析しました。

第一病理学講座では、武田勝男教授が退官をひかえ、腫瘍免疫研究のまとめの時期でした。武田勝男先生、菊池浩吉先生(後の札幌医科大学学長)、菊池由生子先生は、世界に先駆けて自家腫瘍移植を用いて腫瘍免疫の存在とその性状を解析しており、新しい概念を作り、証明していく研究の世界に接し感動しました。新しく教授に就任された相沢幹先生と板倉克明先生(後の旭川医科大学教授、北海道大学医学部癌研究施設教授)はラットの移植抗原を解析していました。この頃には、マウス主要組織適合遺伝子複合体(マウス MHC, H-2 complex)の基本が明らかにされていました。英国の P. A. Gorer は、ヒト血清や免抗マウス赤血球血清が、マウス系統に特徴的に赤血球を凝集し、そしてこれらの赤血球凝集反応がマウス腫瘍移植の成否に対応することを明らかにしていました(1936)。そしてこれらの赤血球凝集反応抗原は、米国ジャクソン研究所の G. Snell, C.

Little 等が明らかにしていた皮膚移植抗原と同じであることが明らかになり、ここで H-2 complex の第一歩が確立されました (1948)。そして H-2 complex には複数の組織適合抗原遺伝子があり、それぞれの抗原分子には複数の抗原特異性が存在すること (HLA では 1 個の抗原に 1 つの特異性としているのと異なった考え方) が明らかにされていました。

院生の時期には、マウス以外の動物の MHC 研究が始められかけたときで、ラット MHC の研究を始めました。私が手を動かして実験している横に板倉克明先生が来られ、新しい H-2 complex に関する知見とこれまでの研究の由来を教授して下さい、Snell の移植の法則等組織適合性の概念、自己と非自己の概念等を学びました。私の当時の主な趣味は、赤血球凝集反応で検出される抗原と移植抗原が同一であるかを生化学的に解析することでした。そしてラットの主要組織適合抗原は蛋白質であるとのまとめで大学院を終えました。

2. HLA クラス I 分子の構成鎖構造の解析

HLA 分子は、マウス、ラット等の MHC 分子でも同様ですが、構造上の違い、機能上どのような種類の T 細胞を活性化するかによって、クラス I 分子とクラス II 分子に分けられます。両分子とも 2 つの構成鎖からなるヘテロダイマーとして細胞膜に存在する糖蛋白で、両分子ともよく似た立体構造を有しています。私はクラス I 分子の生化学的解析の初期に関わりました。

1971 年、ナイアガラの南に位置するバッファロー市にありますロズウェル・パーク記念研究所 (RPMI) の D. Pressman 先生が主宰する免疫化学部門にまいりまして、谷垣信行先生の指導のもとに HLA クラス I 分子の分離、精製、構造の解析を行いました。当時、RPMI には、G. E. Moore, J. Minowada 等により築かれたヒト細胞の素晴らしい培養施設を有し、ヒトリンパ芽球様細胞をタンク内で大量培養していました。谷垣研究室では、これらのうちの数種類を培養し、培養細胞から膜性成分を分離し、次いで HLA 分子を可溶化し、そして分子サイズと荷電の違いを指標にして精製していました。当時の HLA 研究は、HLA 遺伝子領域には複数 HLA 遺伝子座があ

り、「LA」座に属する抗原群、「Four」座に支配される抗原群の新しい抗原の発見に力がそそがれていました。MHC 分子の生化学的解析は、S. G. Nathanson 等が H-2 クラス I 分子の解析を行っており、HLA 分子についてはほとんど行われていませんでした。

まず、HLA クラス I 分子について、標識可溶化 HLA 抗原と抗体とのラジオイムノアッセイにより可溶化 HLA クラス I 分子の性状を解析しました。その当時作製したスライドを図 2 に示してありますが、クラス I 分子はサイズが 44,000 ダルトンの H 鎖 (α 鎖) と 12,000 ダルトンのスモールコンポーネントの 2 鎖より構成されることをあきらかにしました。マウス及びラットの MHC クラス I 分子についても検討し、同様に 2 鎖構造であることを明らかにしました。そしてこの部分のアロ抗原性を決める部分は、H 鎖の先端部分にあるだろうと推測して RPMI での仕事を終わりました。

これらの研究過程で、スモールコンポーネントと呼んだものは、実はカドミウム中毒とか、その他腎の尿細管吸収不全患者の尿中から分離され、そしてすでにアミノ酸配列が決められていた β_2 -ミクログロブリン (I. Berggard, A. G. Bearn, 1968) であることを一緒に研究しておりました大阪大学出身の中室博士が始めて明らかにしました。 β_2 -ミクログロブリンのアミノ酸配列は、免疫グロブリン定常部のそれに似ており、そして免疫グロブリンのスーパーファミ

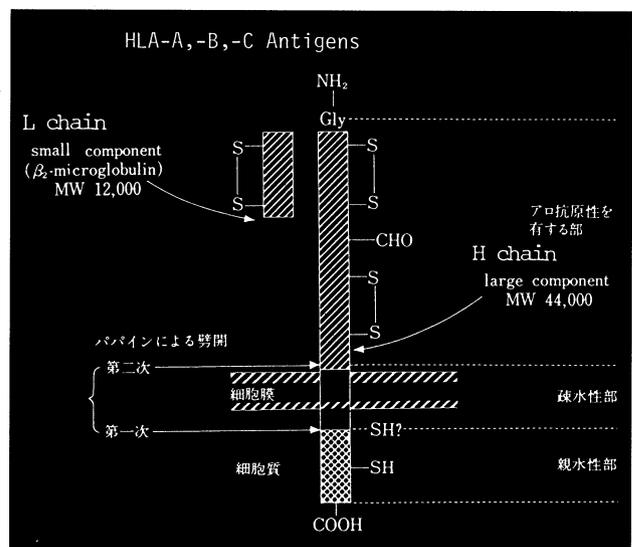


図 2

リーに属しています。その後 MHC 分子は免疫グロブリンのスーパーファミリーに属することが話題になりました。

3. HLA ホモ接合体 B 細胞を用いた HLA クラス II 分子の研究

マウスを用いた研究で、H-2 クラス I 遺伝子座の近傍 (K 座と D 座の間) に免疫応答遺伝子領域 (I 領域) が存在し、その一部は抗血清を用いて血清学的に検出されることが報告されました (C. S. David et al, 1973, D. Gotze et al, 1973, V. Hauptfeld et al, 1973, D. H. Sachs et al, 1973)。

旭川医科大学に赴任したとき (1974) として、このような報告に刺激され、ヒトのクラス I 遺伝子の近傍に存在する遺伝子にコードされ、HLA-A, -B, -C とは異なる HLA クラス II 分子の解析を板倉克明教授が主催する第二病理学教室で始めました。その頃、HLA-A, -B, -C 抗原系とは別に、リンパ球混合培養反応で決められる HLA-D 抗原系が明らかにされ、それらの反応の一部は妊婦血清により阻止され、そしてこれらの血清は主にリンパ球のうちの B 細胞と反応することが報告され、B 細胞アロ抗原、HLA-DR 抗原と呼ばれました。この HLA-DR 抗原を含む B 細胞アロ抗原の生化学的解析を行いました。

HLA 遺伝子領域に関してホモ接合体の培養 B 細胞 (HLA-D タイピング用リンパ球を EB ウィルスでトランスフォームした細胞) から細胞膜蛋白を可溶化し、HLA クラス II 分子を多く含む成分を精製し、解析に用いました。

HLA-DR 分子は、図 3 に示したように分子サイズが大きい α 鎖と小さい β 鎖から構成されており、両側とも膜に結合しています。HLA ホモ接合体の B 細胞にこのような 2 鎖構造を有する分子が幾種類存在するかを解析し、DR 分子以外に少なくとも 3 種類存在しました。

図 4 示した EBV-Wa 細胞は、HLA-DR4 ホモ接合体細胞です。この細胞には HLA-DR4 分子以外に当時 Hon7, Hon5 及び 9C4 と呼び、そして HLA-DR4 特異性と異なるアロ抗原性を有する HLA クラス II 分子が存在していました。このような分子について他の研究室からも報告され、その後国際ワーク

ショップ等を経て、DQ 抗原系、DP 抗原系が整理されました。Hon7 分子は DR53 分子に、Hon5 分子

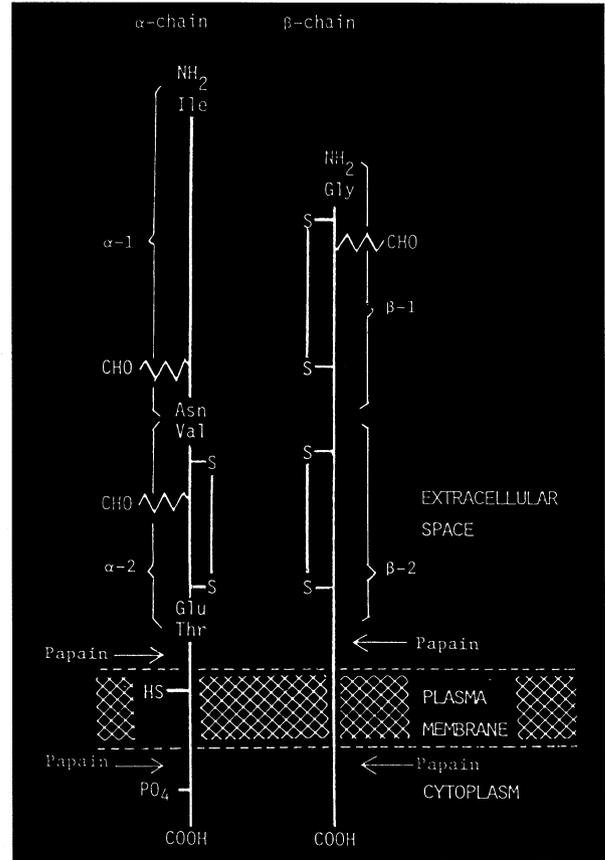


図 3

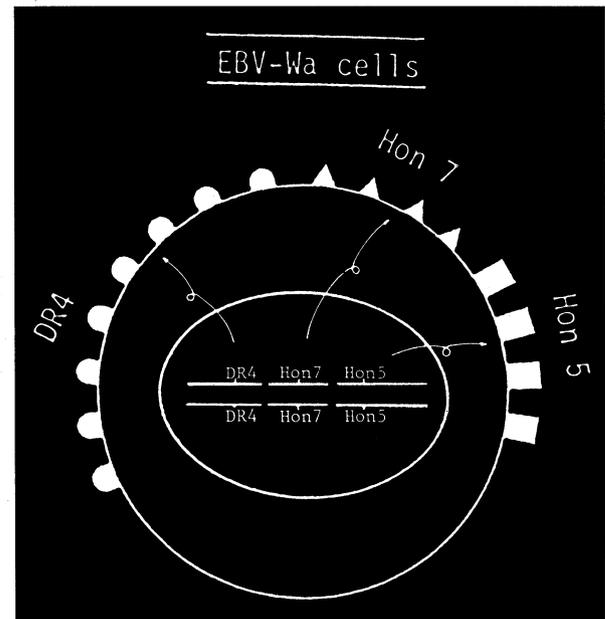


図 4

は DQ4 分子に相当します。

図5は第9回国際組織適合ワークショップ(ミュンヘン於, 1984)で生化学的解析を発表したときの写真です(左から2人目は, RPMIの谷垣博士, 他は旭川医大の発表者です)。

その後の遺伝子レベルの解析により, HLA 領域の全ての遺伝子が決定され, そして HLA の DNA タイピングが簡単におこなわれている現在, 研究の進歩のすさまじさに圧倒され, 蛋白の分子レベルでの解析が懐かしく思い出されます。

4. 病因性ペプチドの HLA-DR 分子結合モチーフ

HLA-DR, Hon7, Hon5 等の HLA クラス II 抗原をラジオイムノアッセイで容易に検出され得ました。これらの抗原分子はマウスの Ia 抗原に相当するものであり, ヒト免疫応答に密接に関わるとみなされました。そこで, これ迄に HLA クラス I 抗原と相関を示すことが明らかにされていた Vogt-小柳-原田病(原田氏病), インスリン依存性糖尿病 (IDDM) について, そして北海道等の寒冷地に見られる白樺花粉症について, それらの発症と HLA クラス II 抗原との相関を調べました。

図6の□内に示したように, 原田氏病, IDDM は DR4, DR53, DQ4 と強く相関し, これらの分子が発症に関わっている可能性が推測されました。又, 白樺花粉症の発症は, 弱いながら HLA-DR9 と相関が認められました。これらの疾患と HLA との相関が, どのような分子機構に基づいているかと思いを巡らしていたときに, HLA-A2 分子 (P. J. Bjorkman, 1987) と HLA-DR1 分子 (J. H. Brown, 1993) の結晶解析による立体構造が報告されました。両分子とも同じような立体構造を有し, 細胞外側の先端部には, 底面をストランド構造, 両側をヘリックス構造で囲まれた溝(深さ 11 Å, 幅 10 Å, 長さ 25 Å)が検出されました。そしてこの溝の中には, HLA 分子と異なるペプチドが結合していました。それ迄は, T 細胞の活性化に MHC の一致と抗原エピートプ刺激の2つのシグナルの必要が明らかにされており, これらの立体構造が明らかにされたことにより, HLA 分子に結合したペプチドと T 細胞レセプターの3分子が結合して T 細胞が活性化されるとみなされまし

た。

HLA クラス I 分子の溝には, アミノ酸9個からなるペプチド, クラス II 分子の溝にはアミノ酸9~15個のペプチドを結合しており, そして HLA 分子の溝の型(アロ抗原特異性)に対応したアミノ酸配列



図5

HLA と疾患の相関

疾患	相関する HLA	抗原頻度 (%)		相対危険率
		患者	健康者	
白樺花粉症	DR9	67	38	2.1
	DQ3	71	42	2.1
重症筋無力症 (小児)	DR9	79	27	9.9
	DQ3	98	51	52.7
インスリン依存性糖尿病 (IDDM)	DR4	61	39	2.6
	DR9	42	26	2.1
	DR53	83	55	3.9
	DQ4	74	32	6.0
Graves 病	DR5	30	5	7.5
Vogt-小柳-原田病	DR4	90	32	19.2
	DR53	100	53	74.6
Behcet 病	B51	61	21	5.8
潰瘍性大腸炎	DR2	70	33	4.9
Crohn 病	DR4	62	37	3.0
	DQ3	68	52	2.0
高安病	DR2	77	35	6.0
	DQ1	96	70	9.9
Burger 病	DR2	84	35	9.8
	DQ1	100	70	19.0
尋常性乾癬	Cw6	36	4	11.5
尋常性天疱瘡	A26	42	17	3.4
	DR4	49	32	2.0
強直性脊椎炎	B27	67	0	305.6
慢性関節リウマチ	DR4	71	42	3.5
ナルコレプシー	DR2	100	34	358.1

図6

を有するペプチドが結合していることが次々と明らかにされました。われわれは、日本人の多くにみられ、そして疾患感受性と関係する HLA-DR4 分子そして HLA-DR9 分子から、それぞれの分子に結合しているペプチドを分離し、アミノ酸配列を決め、そしてそれぞれのペプチドのアミノ酸配列に共通するアミノ酸残基(モチーフ)を検討しました。DR9 結合ペプチドでは、アミノ末端側の 1 番目を疎水性アミノ酸にした場合に、4 番目にはセリン、アラニン等の小さいアミノ酸であること(アリル特異的結合モチーフ)が明らかになりました(図 7)。

HLA クラス II 分子の結晶解析によると、溝の左端に疎水性アミノ酸を入れる大きなポケットがあり、その右方に浅く小さいポケットが 4 個存在すると報告されています。DR9 分子結合モチーフであるセリン、アラニンは第 2 ポケットに対応すると考えられます。DR9 分子では第 2 ポケット周囲にアルギニン及びグルタミン酸が存在し、これらのアミノ酸の荷電の影響でポケットが小さくなり、小さなアミノ酸を第 2 アンカーとしているとみなされます。また、DR4 結合ペプチドでは、アミノ酸末端側 1 番目に疎水性アミノ酸とすると、9 番目にアスパラギン酸とかグルタミン酸の酸生アミノ酸が結合性に重要であることが明らかになりました。

次に、HLA と相関を示す疾患について、病因性ペプチドの HLA 分子結合モチーフを解析しました。5 月になると北国では白樺の花が咲きます。花は毛虫のような形でぶら下がっているもので、これが風に吹かれて黄色い花粉を飛び散らします。図 8 に示したように、旭川医科大学病院耳鼻科を訪れる花粉症患者さんの約 40% は、白樺花粉アレルギーです。

この白樺花粉症を惹起するアレルゲンを解析し、白樺花粉症は HLA-DR9 と弱い相関がありますので、その相関の分子機構を抗原性ペプチドと HLA-DR9 分子との結合性を中心に解析しました。

花粉から分離しました分子サイズ 17 kDa のフラグメントが、患者の IgE と反応しました。そしてこのフラグメントのアミノ酸配列は北欧で花粉症抗原としてすでにアミノ酸配列が報告されておりました Bet v1 に一部を除いて一致するものでした(図 9)。この 17 kDa フラグメントの 160 個のアミノ酸から

なる配列を基にして、約 100 種類のオーバーラッピングペプチドを作り、そして患者さんの T 細胞との反応を検討しました。そうしますと、HLA-DR9 を有するヒトのリンパ球は 80 番目~87 番目、109 番

DR 分子	結合に重要なアミノ酸残基			
	1	4	6	9
DR 9 (DRB1*0901)	YFWL	AS		
DR 4 (DRB1*0405)	Y	TAVL	TV	D
DR 1 (DRB1*0101)	LIVI			LIVFA
DR 1 (DRB1*0101)	YF	ML	AGS	LMA
DR 3 (DRB1*0301)	LIVY	NKET	KRH	
DR 3 (DRB1*0301)	LIV	DE		
DR 4 (DRB1*0401)	WY	MAVL	TS	LQMN
DR 7 (DRB1*0701)	YF	QNL	LI	
DR11 (DRB1*1101)	W	MVL	RK	

図 7

旭川医大病院耳鼻咽喉科を受信した
花粉症患者のアレルギー惹起抗原

アレルギー惹起抗原	例数	花粉症患者の頻度
I イネ科 (カモガヤ, チモシー)	127	58.0%
II カバノキ科 (シラカバ)	85	38.8%
III キク科 (ヨモギ, タンポポ, キク)	84	38.4%

総花粉症患者数 219名

図 8

白樺花粉の 17 kDa フラグメント (Bet v1) のアミノ酸配列

1	Met	Gly	Val	Phe	Asn	Tyr	Glu	Thr	Glu	Thr	10	Thr	Ser	Val	Ile	Pro
	Ala	Ala	Arg	Leu	20	Phe	Lys	Ala	Phe	Ile	Leu	Asp	Gly	Asp	Asn	Leu
	Phe	Pro	Lys	Val	Ala	Pro	Gln	Ala	Ile	Ser	40	Ser	Val	Glu	Asn	Ile
	Glu	Gly	Asn	Gly	50	Gly	Pro	Gly	Thr	Ile	Lys	Lys	Ile	Ser	Phe	Pro
	Glu	Gly	Phe	Pro	Phe	Lys	Tyr	Val	Lys	Asp	70	Arg	Val	Asp	Glu	Val
	Asp	His	Thr	Asn	80	Phe	Lys	Val	Ile	100	Val	Ile	Glu	Gly	Gly	
	Pro	Ile	Gly	Asp	100	Thr	Leu	Glu	Lys	Ile	110	Ser	Asn	Glu	Ile	Lys
	Val	Ala	Thr	110	120	130	140	150	160	170	Ser	Ile	Leu	Lys	Ile	120
	Tyr	His	Thr	Lys	Gly	Asp	His	Glu	Val	Lys	130	Ala	Glu	Gln	Val	Lys
	Ala	Ser	Lys	Glu	Met	Gly	Glu	Thr	Leu	Leu	140	Arg	Ala	Val	Glu	Ser
	Tyr	Leu	Leu	Ala	His	Ser	Asp	Ala	Tyr	Asn	160					

図 9

目～117番目のペプチドと反応すること、そしてこれらのペプチドはHLA-DR9分子と結合することが明らかになりました。そこには、先程DR9分子に結合しやすいペプチドの性質として疎水性アミノ酸を1番目にしたら、そこから4番目にSerineまたはGlycineの極小アミノ酸が来るということを説明しましたが、それに全く一致する配列が存在していました。

白樺花粉の17 kDaフラグメントには、IgE産生に促進的に働くT細胞を活性化するアミノ酸配列が存在し、そこにはDR9分子結合モチーフが存在するためにHLA-DR9分子に結合しやすく、従ってDR9を有する人は白樺花粉症を惹起しやすいと考えました。同様の解析をVogt-小柳-原田病について行いました。

Vogt-小柳-原田病(原田氏病)は、眼の肉芽腫性ブドウ膜炎、皮膚の白斑形成をきたし、そしてHLA-DR4と強い相関を示す疾患です。

この疾患はメラノサイトに対する自己免疫疾患であります。そこでメラニン合成に関わるTyrosinaseに注目し、Tyrosinaseペプチドによる患者リンパ球の反応を解析しました。その結果、Tyrosinaseには患者リンパ球を活性化する部分が少なくとも3カ所あり、それらのアミノ酸配列にはHLA-DR4結合モチーフが存在していました。このHLA分子と病原性ペプチドとの結合性がこのHLAと疾患との相関の分子機構として関わっていると考えております。

これらのペプチド解析は、ペプチドによる治療、がん免疫に関わるペプチドを用いた治療へ応用されていくものと期待しています。

5. おわりに

組織適合性の概念の習得に始まり、組織適合性抗原分子の構造の解析、HLA分子に結合しT細胞を活性化するペプチドの解析、ペプチド解析を基にしたHLA分子の疾患感受性への関わり等を研究してきました。

30余年間の紆余曲折した研究を振り返ると、研究(知の創造)と教育(知の伝達)を使命とする大学において、片方の研究についての役割は果たせたと思っています。教育については、教育改革を進めた学部



図 10

第2回日本組織適合性学会大会

会 期：平成5年7月21日(水) 18時30分～23日(金) 18時
会 場：ニュー北海道ホテル(旭川市5条6丁目 TEL.0166-24-3111)

- 特別講演
「HLAによる免疫制御」
笹月 健彦(九州大学)
- 教育講演
「HLA領域の新しい遺伝子とその機能」
猪子 英俊(東海大学)
- 教育講演
「主要組織適合遺伝子複合体の分子進化」
笠原 正典(北海道大学)
- シンポジウム
「抗原提示細胞のMHC結合ペプチド」
司会 西村 泰治(熊本大学)



写真：西真隆 前田真三氏

21日 18時30分～
● イブニングレクチャー

「HLAタイピングの現状と将来」
司会 内藤 説也(福岡大学)

- ・ 血清学的タイピング 佐治 博夫(京都第十血液センター)
- ・ DNAタイピング 木村 彰方(九州大学)
- ・ 血清学的タイピングとDNAタイピングの比較・応用
菅 永 謙 士(日赤中央血液センター)

大会長 片桐 一(旭川医科大学)

お問い合わせ先：〒076 旭川市西4条4丁目5番地
旭川医科大学 第2棟5階内
第2回日本組織適合性学会大会 事務局
TEL 0166-24-3111 FAX 0166-24-3112

図 11

教育の成果を見るには時間がかかりますが、共に研究した大学院生は皆、それぞれの分野で活躍し、発展している様子は誇りに思えます。私が新しい知見を求めて、全力で研究し続け得た源として、若い時期に優秀な研究者に出会えたこと、そして研究会及び学会での交流を通じて刺激と研究の楽しみを享受出来たことによります。

日本組織適合性研究会当時の交流(図 10. 第 3 回アジアオセアニア HLA ワークショップ, 札幌, 1986),
そして旭川で開催した第 2 回日本組織適合性学会大

会 (1993 年) (図 11. 大会ポスター)を通じて広く交流を深め得たこと等に感謝申し上げます。

第9回 HLA-QC ワークショップレポート

第9回 HLA-QC ワークショップレポート —全体経過—

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

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

1. ワークショップ集会までの経過

今回で通産9回目を迎えたHLA-QCワークショップ(QCWS)は、昨年度に引き続き認定制度委員会の主催で実施された。平成16年9月にQCWS部会において今年度のQCWSの大まかな方針が討議された。特に、従来から行われているDNAタイピングQC(DNA-QC)に加えて、昨年度に大会主催で抗体ワークショップとして行われた抗体を用いたQC(抗体QC)を、本年度から学会主催で実施することとした。これに伴ってQCWS部会をDNA-QC部門と抗体QC部門の2部門構成とした。平成16年11月にMHC誌上と学会ホームページ上にQCWS案内が出され、平成16年3月の締め切りまでに181名(70施設)から参加申し込みがあった。参加申し込み、参加者との連絡のいずれについても原則としてインターネットを利用(HPからの申し込み、電子メール連絡)することとして運営した。参加者数が確定した4月に、QCWS部会において、具体的なサンプルの選定、QCWSのテーマ(後述)の決定と電子媒体を用いたデータ収集の方法を決定した。ついで、4月に施設単位としてサンプルを発送した。平成16年7月のデータ送付締め切りまでに、69施設から解析

データが収集された。それらのデータは各解析担当者へ送付され、8月末まで解析された。9月初旬に解析データを取りまとめ、QCWS集会で用いる資料を作成した(表1)。

2. QCWSのテーマ

組織適合性技術者認定制度の主旨にそったQCWSのテーマを設定することとして、今回のQCWSのテーマをQCWS部会で検討した結果、DNA-QC部門は(1)正確なタイピング、(2)少量試料からのタイピング、(3)タイピング精度と血清対応型への読み替え、抗体QC部門は(4)方法論による特異性、精度に関する比較をテーマとした。医療業務(臨床検査など)以外で行われるヒト試料解析は、研究の範疇に入るため、国が定める種々の研究指針に従って行わなければならないが、そのためには解析を行う各施設であらかじめそれぞれの倫理審査委員会に研究計画を申請し承認を受けておくか、適切な組織によって全体の研究計画の倫理審査を受ける必要がある。そのため、日本組織適合性学会内に倫理問題検討委員会を設置し、これら試料を用いた研究計画の倫理的側面を検討いただいた。また、今回のQCWS

表1 第8回 QCWS の実施経過

平成16年9月	QCWS 部会において第9回 QCWS の方針決定 DNA-QC 部門; 1) 日常的に遭遇しない珍しいタイプ、2) 新技術、 3) タイピング精度と血清対応型への読み替え 抗体 QC 部門; 4) 方法論による特異性、精度に関する比較
平成16年11月	第9回 QCWS 案内の作成、 「MHC」およびHPへの掲載
平成17年1月	倫理問題検討委員会において、実施計画について審議
平成17年3月	参加申し込み; 70施設(181名) 8th QCWS よりの継続参加施設: 66、新規参加施設: 4 DNA-QC 参加: 65施設、抗体 QC 参加: 44施設
平成17年4月-5月	QCWS 部会内各部門において具体的なサンプルの決定: 1) 外国人由来の細胞株、2) 細胞を貼布したろ紙の使用、 3) A2、B15 サブタイプの使用、4) 市販抗血清の使用(25本の候補からLCTによるプレスクリーニングにより選定) QCWS 部会(H17.5.2)にて解析担当者の決定、QCWS 集会の方針決定
平成17年4月下旬-5月中旬	QCWS サンプルの配布、 倫理問題検討委員会での審議に基づき、同意書を取得
平成17年7月上旬-中旬	データ回収締め切り
平成17年7月-8月	QCWS データ解析
平成17年9月12日	QCWS 集会での発表データに関する打ち合わせ会
平成17年9月中旬	QCWS 集会用資料配布: 70施設(181名)

表2 使用した細胞株とその HLA 型

Cell ID	A	B	C	DRB1
Cell#1	2403, 1101	1502 (B75), 5502	08, 1203	nd
Cell#2	0203, 2901	1519 (B76), 0702	0401, 15	nd
Cell#3	0204	5101	1502	1602
Cell#4	0216, 0301	5101	0704, 15	1104, 1201
Cell#5	0201	1801	0701	1201
Cell#6	2402	0702	0702	0101

表3 QCWS サンプル(抗体部門)の特異性

サンプルID	形状	特異性	LCT 力価	備考
SH1701	抗血清	A2 A203 A210	x1	x2→A2
SH1702	抗血清	B8	x1-2	
SH1703	抗血清	B57 B58	x1	
SH1704	抗血清	(-)		flowPRA Scr. class I (+)class II(+)
SH1705	抗血清	B7 B48 B60 B81	x1-16	
SH1706	抗血清	B13 B60 B61	x1	

では、研究倫理指針の対象外とされるヒト試料(これまでによく研究され、学術的な価値が明らかであり、かつ研究者が容易に手に入れられるもの)を用いることとした。具体的には、国際 HLA ワークショップ解析で広く用いられ、種々の細胞バンクに登録されている B リンパ芽球様細胞株(表2)および市販抗血清(表3)を用いた。

なお、用いた血清は、25本の血清につき、LCT法

でプレスクリーニングして6本を以下のような基準で選定したものである。① 単一特異性、② IgM 抗体が期待できる、③ LCT 法で不明な抗体、④ 似通った抗原エピトープを認識している抗体2種類、⑤ DNA サンプルの細胞との反応が期待できる抗体。

配布したサンプルは DNA-QC、抗体 QC いずれも6種類ずつであり、DNA-QC のサンプルは表4、抗体 QC のサンプルは表3のとおりである。

表4 QCWS サンプル(DNA 部門)の構成

サンプルID	形状	構成
H1701	DNA	Cell#1 より 50ng/microL に調製
H1702	DNA	Cell#2 より 50ng/microL に調製
H1703	DNA	Cell#3 より 50ng/microL に調製
H1704	DNA	Cell#4 より 50ng/microL に調製
H1705	細胞	Cell#5 をろ紙 (FTA カード) に付着
H1706	細胞	Cell#6 をろ紙 (FTA カード) に付着

3. 参加者・参加施設

参加者は総数 181 名であり、以下の 70 施設に所属していた。参加者数、参加施設数とも昨年とほぼ同程度であった。

参加施設名

札幌北楡病院, 岩手医科大学附属病院, 鷹揚郷腎研究所弘前病院, 北海道大学医学部附属病院, 北海道赤十字血液センター, 東京医科歯科大学難治疾患研究所, 株式会社ベリタス, One Lambda, 東京大学医学系研究科, 日本赤十字社中央血液センター, 東京都赤十字血液センター, 東京女子医大腎臓病総合医療センター, 株式会社三菱化学ビーシーエル, 株式会社エスアールエル八王子 2 ラボ, 北里大学医学部, 横浜市立大学医学部附属病院, 神奈川県赤十字血液センター, 東海大学医学部附属病院, 東海大学医学部(部署 1), 東海大学医学部(部署 2), 国立病院機構千葉東病院, 千葉県赤十字血液センター, 自治医科大学附属病院, 株式会社ビー・エム・エル, 防衛医科大学校, 信州大学医学部, 静岡県立総合病院, 名古屋第二赤十字病院, 愛知県赤十字血液センター, 岐阜赤十字病院, 三重大学医学部附属病院, 三重県赤十字血液センター, 大阪赤十字血液センター(部署 1), 大阪赤十字血液センター(部署 2), 大阪府立急性期・総合医療センター, 国立循環器病センター, 特定非営利活動法人 HLA 研究所, 京都大学医学部附属病院, 兵庫県赤十字血液センター, 大阪市立大学医学部附属病院, 松江赤十字病院, 岡山県赤十字血液センター, 広島赤十字センター, 広島大学病院,

湧永製薬(株)創薬研究所, 山口県赤十字血液センター, 香川県立中央病院, 徳島大学医学部附属病院, 高知医療センター, 愛媛県立衛生環境研究所, 福岡大学医学部, 福岡赤十字病院, 福岡県赤十字血液センター, 佐賀県立病院好生館, 長崎大学熱帯医学研究所, 独立行政法人国立病院機構長崎医療センター, 熊本県赤十字血液センター, 大分県立病院, 県立宮崎病院, 金沢医科大学病院, 石川県赤十字血液センター, 富山医科薬科大学附属病院, 立川メディカルセンター立川総合病院, 新潟市民病院, 新潟県赤十字血液センター, G&Gサイエンス株式会社, 福島県立医科大学医学部附属病院, 宮城県赤十字血液センター, 仙台社会保険病院, 山形県立中央病院(以上のべ 70 施設, 郵便番号順)

4. まとめ

QCWS は組織適合技術者認定制度委員会の担当となったため、昨年度に引き続き、認定制度の主旨にそった試料の構成や選択を行い、QCWS 集会の前に試料の構成を公表し、参加者自身が QCWS 集会までに結果を自身で検討できるようにした。また、あらかじめ解析資料を CDR で送付することによって、参加者が全体解析の結果も集会前に知ることを可能とした。HLA タイピング技術を向上させる上では、いかなるサンプルをどのようにタイピングするかなど、種々異なる条件を考慮してタイピング方法を選択し、タイピング結果を評価することが必要であるため、今後も認定制度の主旨を生かした QCWS を行っていく。

第9回 HLA-DNA タイピング QC ワークショップレポート

—クラス I およびクラス II 総合判定データ解析—

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

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

1. はじめに

昨年までは、総合判定データ解析をクラス I とクラス II を分けて解析を行っていたが、今回の QC のワークショップより一つにまとめて行った。本稿では A, B, C および DRB1 ローカスの正解率を中心として検討を行った。なお、参加施設、DNA ソースの情報等は他の稿を参考願いたい。

2. 検討方法

以下の項目について解析を行った。

- 2.1. 検査方法別の検査結果報告施設数
- 2.2. ローカス別の検査結果報告施設数
- 2.3. 検査方法およびローカス別の検査結果報告施設数
- 2.4. 使用検査方法数別の検査結果報告施設数
- 2.5. クラス I の正解率
- 2.6. クラス II の正解率

3. 結果および考察

3.1. 検査方法別の検査結果報告施設数

表 1 に検査方法別の報告数を示した。データを提出した 65 施設の内、49 の施設が SSO 法を使用していた。SSP 法は 27 施設により使用されていたが、その内 5 施設はろ紙検体について、「未記入」または「判定不能」と記されていた。なお、昨年まで RSCA

法を用いた施設があったが、今年はゼロであった。

3.2. ローカス別検査の結果報告施設数

表 2 にローカス別の報告数を示した。データを提出した 65 施設すべてが DRB1 の検査を行っていた。A ローカスおよび B ローカスの両方を行っていた施設は 63 施設であった。また、DQB1 および DPB1 はそれぞれ 5 および 4 施設であった。

表 1 検査方法別

検査方法	報告数
SSO	49
SSP	27
SBT	8
RFLP	5
SSCP	2

表 2 ローカス別

ローカス	報告数
AB	63
C	36
DRB1	65
DRB3/4/5	31
DQA1	5
DQB1	28
DPB1	4

表3 検査方法およびローカス別

ローカス 検査方法	AB C DRB1 DRB3/4/5 DQA1 DQB1 DPB1	AB C DRB1 DRB3/4/5 DQB1	AB C DRB1 DQA1 DQB1 DPB1	AB C DRB1 DQA1 DQB1	AB C DRB1 DQB1 DPB1	AB C DRB1 DQB1	AB C DRB1	AB DRB1 DRB3/4/5 DQB1	AB DRB1 DRB3/4/5	AB DRB1	DRB1	合計
SSP		6				3		1	3			13
SSO		1	1		1	3	7		11	7	1	32
SBT						2	1		1		1	5
SSP+SSO		3					1	1	1	1		7
SSO+RFLP		1							1			2
SSO+SBT							1					1
SSP+SSO+SBT			1			1						2
SSP+SSO+SBT +RFLP				1								1
SSP+SSO+SSC P+RFLP	1											1
SSP+SSO+SBT +SSCP+RFLP				1								1
合計	1	11	2	2	1	9	10	2	17	8	2	65

3.3. 検査方法およびローカス別の検査結果報告施設数

表3に検査方法およびローカス別の報告数を示した。データを提出した65施設の内、11施設がSSOを用いA, B, DRB1, DRB3/4/5の検査を行っていた。また、ローカスの組み合わせでは、A, B, DRB1, DRB3/4/5が17施設と最も多かった。

3.4. 使用検査方法数別の検査結果報告施設数

表4に使用検査方法別の報告数を示した。1法だけ行っている施設が48と最も多く、5法を用いて検査を行った施設が1施設あった。

表4 使用検査方法数別

使用検査方法数	報告数
1法	48
2法	12
3法	2
4法	2
5法	1

3.5. クラスIの正解率

表5から表7にクラスIの正解率を示した。AおよびBローカスにおいては、H1702のBローカス(low resolutionの72.4%)を除いてすべて90%以上の正解率が得られた。H1702はB*1519を保有するサンプルで本来は2桁をB15と記載すべきところをB62となっているケースが多かった。Cローカスのlow resolutionにおいて6サンプル中4サンプルが70%台の正解率であった。ミスアサインのほとんどがSSPによるものであった。

3.6. クラスIIの正解率

表8にクラスIIの正解率を示した。H1704のhigh resolutionを除きすべてのサンプルにおいて90%以上の正解率が得られた。H1704のミスアサインの

表5 Aローカス・正解率

QCID	HLA型	DNA型	Low			High/Middle		
			報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率
H1701	A2403 (A24) A11	*2403 *1101	58	57	98.2	51	51	100
H1702	A203(A2) A29	*0203 *2901	58	54	93.1	52	49	94.2
H1703	A2 -	*0204 -	57	56	98.2	50	47	94.0
H1704	A2 A3	*0216 *0301	58	55	94.8	50	45	90.0
H1705	A2 -	*0201 -	46	45	97.8	44	42	95.5
H1706	A24 -	*2402 -	45	45	100	43	43	100
合計および平均			322	312	96.9	290	277	95.5

内、RELIを用いたケースが多かった。

以上、各項目について解析を行ったが、紙面の関係上詳細については方法別やテーマ別の解析データ

表6 Bローカス・正解率

QC ID	HLA型	DNA型	Low			High/Middle		
			報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率
H1701	B75(B15) B55	*1502 *5502	58	55	94.8	51	51	100
H1702	B7 B76(B15)	*0705 *1519	58	42	72.4	53	50	94.3
H1703	B51	*5101 -	57	54	94.7	50	49	98.0
H1704	B51 -	*5101 -	58	57	98.3	51	51	100
H1705	B18 -	*1801 -	46	46	100	44	44	100
H1706	B7 -	*0702 -	45	45	100	42	42	100
合計および平均			322	299	95.9	291	287	98.6

表7 Cローカス・正解率

QC ID	(HLA型)	DNA型	Low			High/Middle		
			報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率
H1701	Cw8 (Cw12)	*0801 *1203	9	7	77.8	27	25	92.6
H1702	Cw4 (Cw15)	*0403 *1505	7	5	71.4	29	26	89.7
H1703	(Cw15)	*1502 -	9	7	77.8	26	26	100
H1704	Cw7 (Cw15)	*0704 *1502	7	5	71.4	29	28	96.6
H1705	Cw7 -	*0701 -	3	3	100	21	21	100
H1706	Cw7 -	*0702 -	3	3	100	19	19	100
合計および平均			38	30	78.9	151	145	96.0

を参考願いたい。今年も表記によるミスアサインと思われるケースも少なくなかった。造血幹細胞移植などにHLAタイピングが重要な検査として位置づけられている現状から、検査の正確性を高めることは必須と考えられる。いかに正解率を100%に近づけるか、未だ課題が残されていると思われる。

表8 DRB1・正解率

QC ID	HLA型	DNA型	Low			High		
			報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率
H1701	14 (6) 15 (2)	*1405 *1501	58	57	98.2	55	54	98.2
H1702	10 15 (2)	*1001 *1502	58	57	98.2	55	53	96.4
H1703	16(2) -	*1602 -	57	52	91.2	56	53	94.6
H1704	11 (6) 12 (5)	*1104 *1201	57	52	91.2	52	43	82.7
H1705	12 -	*1201 -	45	43	95.6	44	41	93.2
H1706	1 -	*0101 -	45	45	100	43	43	100
合計および平均			320	306	95.6	305	287	94.1

第9回 HLA-QC ワークショップレポート 方法論別データ検討報告—SSP法—

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

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

1. はじめに

今年度のQCワークショップにおけるPCR-SSP法の解析については、昨年度と同様にキット別で実施した。また、同じキットで2施設以下しか実施していない場合には、評価が難しいためにそのキット

を解析から除外した。本年度のデータを見ると、昨年度と同一のロットがかなりの施設で使用されていることから、昨年度との比較検討も必要に応じて行うことにした。

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

このキットを使用して QC ワークショップに参加されたのは 8 施設であったが、かなりの施設で偽陰性や偽陽性反応を示していた。8 施設で使用された 29 トレー中に偽反応が全くなかったのが 19 トレーで、偽陰性または偽陽性が一つ以上あったのが 10 トレーであった。すなわち、3 回検査するとその内の 1 回に偽反応が見られるという計算になる。One Lambda 社から提供されているデータによれば、このキットに含まれるプライマーセットは偽陰性反応も偽陽性反応も示さないことになっている。しかしながら、何故か QC ワークショップにおいて毎回のようにこのキットでは他のキットに比べて、このような偽反応が多く見かけられる。このキットは、一枚のトレーで HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ のすべてがタイプできるように設計されている。そのため、他のキットに比して無理な設計になっていることから、一種類のプライマーセットだけでアレルタイプを決めなければならないという特性をもっている。そのことから、一つの偽反応によって、本来は存在しないアレルが同定されたり、存在するはずのアレルが同定されなかったり、ということが生じることになる。今回の QC ワークショップにおいてもクラス I で 11 アレル、クラス II で 4 アレルが同定されなかったり、余分に同定されたりしていた。そのなかでも特徴的なのがサンプル H1704 の HLA-DRB1*1201 が 7 施設中 4 施設で同定できていなかった(一施設は別のキットを使用しているため同定されていたが、反応は陰性であった)。ここで使用されているプライマーセットは、Micro SSP 2L や Micro SSP ABDR のものと同一であると考えられるが、これらのキットにおいては偽陰性反応が全く見られなかった。これらのことをまとめてみると、このキットを使用している人々には、技術的な問題を抱えている方がいるのではないかと思われた。

このキットは日本人に特化してつくられているため、サンプル H1702 の HLA-A*2901 のようなアレルを同定するためのプライマーセットが用意されていないという弱点がある。

判定表に記載することが難しいかもしれないが、サンプル H1701 と H1703 の C 遺伝子座については、2 種類の組み合わせが考えられるので、そのような記載またはコメントを行うべきであると思われた。サンプル H1701 は反応パターンから、Cw*0801/02/03/+ と Cw*1202/1404/+ のヘテロの組み合わせか、Cw*0805 と Cw*0603/1205/+ のヘテロの組み合わせの 2 通りが考えられるので、アレルを同定する場合は、他の方法論を使用して区別させる必要がある。また、サンプル H1703 は反応パターンから、Cw*1502/05/06/+, - という場合と、Cw*1502/05/06/+ と Cw*0314 のヘテロという場合が考えられる。現在の PCR-SSP 法による HLA アレルの同定は反応パターンがかなり複雑化しているので、できる限り正しいアレルを判定するためにコンピューターを使用することが望まれる。

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

偽陰性や偽陽性反応がかなり見られたが、何れも共通する施設から提出されたものであり、プライマーセットの問題というより、技術的な問題の方が大きいのではないかと思われる。それ以外に問題となるような反応は見あたらなかった。また、今年度と昨年度で同一のロットが使用されていたが、昨年度多く見られた偽反応は今年度みられず、反応性が遙かに向上していた。

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

このキットについては、偽反応がなく、アレルの同定も全く問題点が見られなかった。このキットについては昨年度も反応性に問題点がみられていない。このキットはクラス II 専用であり、クラス I に比してクラス II の反応条件が緩やかなことから PCR 反応に無理がなく、このような結果を生み出しているのかもしれない。

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

このキットについては、偽反応がなく、アレルの

Micro SSP Japanese HLA Class I and II ABCDRDQ DNA Typing Tray (Micro SSP JPN)

Lab #	Lot #	Reactions												HLA-A	HLA-B	HLA-C	Local determination		HLA-DRB1	HLA-DQB1
		D1	A1	A2	B3	F4	E4	D5	C5	B5	H6	H7	H9				subtyp	subtyp		
D-004	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	15	unknown	HLA-DQB1
D-009	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	14	unknown	HLA-DQB1
D-011	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	14	unknown	HLA-DQB1
D-019	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	15	unknown	HLA-DQB1
D-035	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	15	unknown	HLA-DQB1
D-047	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	15	unknown	HLA-DQB1
D-048	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	15	unknown	HLA-DQB1
D-054	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	15	unknown	HLA-DQB1
D-058	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	15	unknown	HLA-DQB1

Lab #	Lot #	Reactions												HLA-A	HLA-B	HLA-C	Local determination		HLA-DRB1	HLA-DQB1
		D1	A1	A2	B3	F4	E4	D5	C5	B5	H6	H7	H9				subtyp	subtyp		
D-004	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	10	unknown	HLA-DQB1
D-006	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	10	unknown	HLA-DQB1
D-019	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	10	unknown	HLA-DQB1
D-035	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	10	unknown	HLA-DQB1
D-047	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	10	unknown	HLA-DQB1
D-048	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	10	unknown	HLA-DQB1
D-054	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	10	unknown	HLA-DQB1
D-058	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	10	unknown	HLA-DQB1

Lab #	Lot #	Reactions												HLA-A	HLA-B	HLA-C	Local determination		HLA-DRB1	HLA-DQB1
		D1	A1	A2	B3	F4	E4	D5	C5	B5	H6	H7	H9				subtyp	subtyp		
D-004	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	16	unknown	HLA-DQB1
D-006	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	16	unknown	HLA-DQB1
D-019	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	16	unknown	HLA-DQB1
D-035	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	16	unknown	HLA-DQB1
D-047	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	16	unknown	HLA-DQB1
D-048	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	16	unknown	HLA-DQB1
D-054	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	16	unknown	HLA-DQB1
D-058	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	16	unknown	HLA-DQB1

Lab #	Lot #	Reactions												HLA-A	HLA-B	HLA-C	Local determination		HLA-DRB1	HLA-DQB1
		D1	A1	A2	B3	F4	E4	D5	C5	B5	H6	H7	H9				subtyp	subtyp		
D-004	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	11	unknown	HLA-DQB1
D-009	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	11	unknown	HLA-DQB1
D-019	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	11	unknown	HLA-DQB1
D-035	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	11	unknown	HLA-DQB1
D-047	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	11	unknown	HLA-DQB1
D-048	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	11	unknown	HLA-DQB1
D-054	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	11	unknown	HLA-DQB1
D-058	003	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	11	unknown	HLA-DQB1

Figure 1 Micro SSP Japanese Class I and Class II ABCDRDQ DNA Typing Tray (Micro SSP JPN)

Micro SSP Generic HLA Class I DNA Typing Tray (Micro SSP 1L)

HL701		Reactions												Local determinations							
Lab #	Lot #	8	9	15	29	41	45	47	55	57	59	61	78	80	86	89	90	91	HLA-A	HLA-B	HLA-C
D-040	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*1101	B*1502	Cw*08	Cw*1203
D-041	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*1101/02/03/4	B*15	Cw*08	Cw*12
D-048	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*1101/02/03/4	1502	0801/02/03/4	1203/04/05/4
D-056	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*1101/02/03/4	1502	Cw*08	Cw*12
D-065	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*1101/02/03/4	B*1502	0701/02/03/4-0801/02/03/4	1203/04/06
D-037	04A	8	8	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	A*11	B*1502	Cw*0801/02/03/4	Cw*1203/04/05/4
		Recommended notations: A*1101/02/03/4												B*1502	Cw*0801/02/03/4	Cw*1203/04/06/4					

HL702		Reactions												Local determinations							
Lab #	Lot #	4	16	31	32	41	42	43	48	60	74	78	82	84	85	86	93	HLA-A	HLA-B	HLA-C	
D-009	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*0203	B*0705	Cw*0401	Cw*15
D-011	005	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0201/02/03/4	0705/06	0401/02/03/4	1504/05/06/4
D-040	005	4	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*02	B*07	Cw*04	Cw*15
D-041	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0201/02/03/4	0705/06	0401/03/04/4	1504/05/06/4
D-048	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*0201/02/03/4	B*0705/06	Cw*0401/03/04/4	Cw*1504/05/06/4
D-054	005	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0201/02/03/4	*0705/06	*0401/03/04/4	*1504/05/06/4
D-056	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0201/02/03/4	0702/04/07/4	0401/02/03/4	1504/05/06/4
D-065	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*0201/02/03/4	B*0705/06	Cw*0401/03/04/4	Cw*1504/05/06/4
D-037	04A	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*02	B*07	Cw*0401/03/04/4	Cw*1504/05/06/4
		Recommended notations: A*0201/02/03/4												B*0705/06	Cw*0401/03/04/4	Cw*1504/05/06/4					

HL703		Reactions												Local determinations		
Lab #	Lot #	4	26	27	28	29	60	77	82	93	96	HLA-A	HLA-B	HLA-C		
D-009	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*0204	B*5101	Cw*1502		
D-011	005	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	0201/02/03/4	5101/03/07/4	1502/05/07/4		
D-040	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*02	B*51	Cw*15		
D-041	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0201/02/03/4	nd	1502/04/05/4		
D-048	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*0201/02/03/4	B*5101/03/07/4	Cw*15		
D-056	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0201/02/03/4	5101/03/07/4	1502/07/08		
D-065	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*0201/02/03/4	B*5101/03/07/4	Cw*1502/07/08		
		Recommended notations: A*2010/02/03/4												B*5101/03/07/4	Cw*1502/07/08/4	

HL704		Reactions												Local determinations							
Lab #	Lot #	4	6	25	26	27	28	29	33	34	60	77	82	83	90	93	96	HLA-A	HLA-B	HLA-C	
D-011	005	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	A*02016	B*5101	Cw*0704	Cw*15
D-040	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*02	B*51	Cw*0704	Cw*15
D-041	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0201/02/03/4	5101/02/03/4	0704/11/12	1502/07/08
D-048	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*0201/02/03/4	B*5101/03/07/4	Cw*0704/11/12	Cw*1502/07/08/4
D-056	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0201/02/03/4	5101/03/07/4	0701/02/03/4	1502/07/08
D-065	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*0201/02/03/4	B*5101/03/07/4	Cw*0704/11/12	Cw*1502/07/08/4
		Recommended notations: A*2010/02/03/4												B*5101/03/07/4	Cw*0704/11/12	Cw*1502/07/08/4					

Micro SSP Generic HLA Class I DNA Typing Tray (Micro SSP 1L)

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

H1701	Reactions								Local determinations					
	Lab #	Lot #	4	15	22	23	25	26	27	HLA-DRB1		HLA-DQB1		
		E1	B2	C3	B3	H4	G4	F4	unknown	DRB3/4/5		unknown		
D-065	004	8	8	8	8	8	8	8	DRB1*1402/05/06/4	DRB1*1501/02/03/+	DRB5*01/02/03	DRB5*01/02	DQB1*0501/02/03/+	DQB1*0601/02/03/+
D-017	005	8	8	8	8	8	8	8	*1402/05/06/+	*1501/02/03/+	B3*01/02/03	B5*01/02	*0501/02/03/+	*0601/02/03/+
D-041	05A	8	8	8	8	8	8	8	1402/05/06/+	1501/02/03/+	DRB3*0101/02/03/+	DRB5*0101/02/03/+	0501/02/03/+	0601/02/03/+
D-048	05A	8	8	8	8	8	8	8	DRB1*1402/05/06/4	DRB1*1501/02/03/+			DQB1*0501/02/03/+	DQB1*0601/02/03/+
D-056	05A	8	8	8	8	8	8	8	1402/15/06/+	1501/02/03/+	DRB3*01/02/03	DRB5*0101/02/03/+	0501/02/03/+	0601/02/03/+
Recommended notation									DRB1*1402/05/06/+	DRB1*1501/02/03/+	DRB3*01/02/03	DRB5*0101/02/02/+	DQB1*0501/02/03/+	DQB1*0601/02/03/+

H1702	Reactions								Local determinations					
	Lab #	Lot #	4	21	22	26	G4		HLA-DRB1		HLA-DQB1			
		E1	D3	C3	B3	C3	G4	unknown	DRB3/4/5		unknown			
D-065	004	8	8	8	8	8	8	DRB1*1001	DRB1*1501/02/03/+	DRB5*01/02	DRB5*01/02/03/+	DQB1*0501/02/03/+	-	
D-017	005	8	8	8	8	8	8	*1001	*1501/02/03/+	B5*01/02	B5*01/02/03/+	*0501/02/03/+	-	
D-041	05A	8	8	8	8	8	8	1001	1501/02/03/+	DRB3*0101/02/03/+	DRB5*0101/02/03/+	0501/02/03/+	-	
D-048	05A	8	8	8	8	8	8	DRB1*1001/01/02	DRB1*1501/02/03/+			DQB1*0501/02/03/+	-	
D-056	05A	8	8	8	8	8	8	1001	1501/02/03/+	DR5*0101/02/03/+	DR5*0101/02/03/+	0501/02/03/+	-	
Recommended notation									DRB1*1001	DRB1*1501/02/03/+	DRB3*0101/02/02/+	DRB5*01/02	DQB1*0501/02/03/+	-

H1703	Reactions								Local determinations				
	Lab #	Lot #	5	22	29	D4		HLA-DRB1		HLA-DQB1			
		D1	C3	D4	D4	D4	unknown	DRB3/4/5		unknown			
D-065	004	8	8	8	8	8	DRB1*1602	DRB1*1601/02/03/+	DRB5*01/02	DRB5*01/02/03/+	DQB1*0301/04/09/+	-	
D-017	005	8	8	8	8	8	*1601/02/03/+	*1601/02/03/+	B5*01/02	B5*01/02/03/+	*0301/04/09/+	-	
D-041	05A	8	8	8	8	8	1601/02/03/+	1601/02/03/+	DRB3*0101/02/03/+	DRB5*0101/02/03/+	0301/04/09/+	-	
D-048	05A	8	8	8	8	8	DRB1*1601/02/03/+	DRB1*1601/02/03/+			DQB1*0301/04/09/+	-	
D-056	05A	8	8	8	8	8	1601/07/08	1601/07/08	DRB3*0101/02/03/+	DRB5*0101/02/03/+	0301/04/09/+	-	
Recommended notation									DRB1*1601/02/03/+	DRB3*0101/02/02/+	DRB5*01/02	DQB1*0301/04/09/+	-

H1704	Reactions								Local determinations					
	Lab #	Lot #	10	11	12	23	29	HLA-DRB1		HLA-DQB1				
		G2	F2	E2	B3	D4	D4	DRB1*1104	DRB1*1201	DRB3/4/5		unknown		
D-065	004	8	8	8	8	8	8	DRB1*1104	DRB1*1201/02/03/+	DRB3*01/02/03	DRB5*01/02/03	DQB1*0301/04/09/+	-	
D-017	005	8	8	8	8	8	8	*1101/04/06/+	*1201/02/03/+	B3*01/02/03	B3*01/02/03	*0301/04/09/+	-	
D-041	05A	8	8	8	8	8	8	1101/04/06/+	1201/02/05/+	DRB3*0101/02/03/+	DRB5*0101/02/03/+	0301/04/09/+	-	
D-048	05A	8	8	8	8	8	8	DRB1*1101/04/06/+	DRB1*1201/02/03/+			DQB1*0301/04/09/+	-	
D-054	05A	8	8	8	8	8	0	*1101/04/06/+	*1201/02/03/+	B3*01/02/03	B3*01/02/03	0301/04/09/+	-	
D-056	05A	8	8	8	8	8	8	1101/04/06/+	1201/02/03/+	DRB3*01/02/03	DRB5*01/02/03	0301/04/09/+	-	
Recommended notation									DRB1*1101/04/06/+	DRB1*1201/02/03	DRB3*01/02/03	DRB5*0101/02/01/+	DQB1*0301/04/09/+	-

Figure 3 Micro SSP Generic HLA Class II DNA Typing Tray (Micro SSP 2L)

Micro SSP HLA Class I and II ABRD DNA Typing Tray

H1701	Reactions																Local Determinations												
	7	8	14	28	39	43	45	52	55	57	73	76	87	93	94	96	HLA-DRB1												
Lab #	B1	A1	C2	E4	B5	F6	D6	E7	B7	H8	H10	E10	B11	D12	C12	A12	A1101	HLA-A				HLA-B				HLA-DRB1			
D-059	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*11	A*2403				B*5502				unknown			
D-061	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*24	A*2403/03/04/+				B*55				DRB1*15			
D-066	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	1101/02/03/+	2402/03/04/+				5502/07/12				1402/03/05/+			
																	1101/02/03/+	2402/03/04/+				5502/07/12/+				1402/03/05/+			
																	Recommended notations	A*1101/02/03/+				B*5502/07/12				DRB1*1402/03/05/+			
																		A*2402/03/04/+				B*5502/07/12				DRB1*1501/02/03/+			
																		A*2402/03/04/+				B*5502/07/12				DRB1*1501/02/03/+			

H1702	Reactions																Local Determinations									
	4	15	30	31	39	40	41	46	56	69	73	76	92	93	HLA-DRB1											
Lab #	E1	B2	C4	B4	B5	A5	H6	C6	A7	D9	H10	E10	E12	D12	HLA-A				HLA-B				HLA-DRB1			
D-059	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*2901				B*0705				unknown			
D-061	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*02				B*15				DRB1*15			
D-066	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0201/02/03/+				1512/14/19				1501/02/03/+			
															2901/02/03/+				0705/06				1501/02/03/+			
															2901/02/03/+				0705/06				1501/02/03/+			
															A*2901/02/03/+				B*0705/06				DRB1*1001			
															A*2901/02/03/+				B*0705/06				DRB1*1501/02/03/+			

H1703	Reactions																Local Determinations				
	4	25	26	27	28	56	72	77	93	HLA-DRB1											
Lab #	E1	H4	G4	F4	E4	A7	A9	D10	D12	HLA-A				HLA-B				HLA-DRB1			
D-059	005	8	8	8	8	8	8	8	8	A*0204				B*5101				DRB1*1602			
D-061	005	8	8	8	8	8	8	8	8	A*02				B*51				DRB1*16			
D-066	005	8	8	8	8	8	8	8	8	0201/02/03/+				5101/03/07/+				1601/02/03/+			
										0201/02/03/+				5101/03/07/+				1601/02/03/+			
										A*0201/02/03/+				B*5101/03/07/+				DRB1*1601/02/03/+			
										A*0201/02/03/+				B*5101/03/07/+				DRB1*1601/02/03/+			

H1704	Reactions																Local Determinations								
	4	5	24	25	26	27	28	56	72	82	83	84	94	HLA-DRB1											
Lab #	E1	D1	A3	H4	G4	F4	E4	A7	A9	G11	F11	E11	C12	HLA-A				HLA-B				HLA-DRB1			
D-059	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*0301				B*5101				DRB1*1104			
D-061	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	A*03				B*51				DRB1*11			
D-066	005	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8	0201/02/03/+				5101/03/07/+				1201/02/03/+			
														0301/03/04/+				5101/03/07/+				1201/02/03/+			
														0201/02/03/+				5101/03/07/+				1201/02/03/+			
														A*0301/03/04/+				B*5101/03/07/+				DRB1*1201/02/03/+			
														A*0301/03/04/+				B*5101/03/07/+				DRB1*1201/02/03/+			

4 Micro SSP HLA Class I and Class II ABRD DNA Typing Tray (Micro SSP ABRD)

同定も全く問題点が見られなかった。このキットについては昨年度も反応性に問題点がみられていない。

6. まとめ

全体的には、昨年度の QC ワークショップに比して、反応性が向上し、正しいタイプが同定できているようであった。しかしながら、いくつかの施設で

多くの偽反応を示しており、それらの施設においてはさらなる技術的向上が求められる。アリの判定については昨年よりも向上が見られたが、「検査結果（ワークシート）記載法と結果報告書表記法の原則（2003年度版）」がまだ理解されていない施設がみかけられた。今後、アリの表記法が完全に理解され、正しく記載されることを期待する。

第9回 HLA-QC ワークショップレポート —方法論別生データ検討（PCR-SSO）—

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

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

1. 参加施設

SSO法を使用した施設は49施設あり全参加65施設の75.4%であった。昨年は51施設で70.8%であったので2施設減少しているが他の方法と比較すると相対的には増加している。

2. SSOキットの使用状況

個々の使用 SSO 法キットについては重複使用を含めダイナルリライが24施設で49%, 湧永 MPH が9施設で18.4%, ルミネックスビーズ法が18施設で36.7%, INNO-LIPA が2施設で4.1%あった。この1年でリライと MPH キット使用が減少しルミネックスビーズ法の使用が増加している。ルミネックスビーズ法については別途丸屋が解析し、報告する。

単独使用について見るとリライ単独が21施設18/24(75%), 全65施設中では27%, MPH 単独使用が3施設で3/9(33.3%), 全体のなかで4.6%, ルミネックス法が11施設で11/18(61.1%), 全体のなか

では16.9%であった。参考として SSP 法単独使用は11施設で11/27(40.7%), 全体のなかで16.9%, SBT 法は3施設で3/8(37.5%), 全施設中で4.6%であった。以上のことからリライヤルミネックス法はその方法のみで結果が出せる方法として採用されていることを示している。

報告書のスペースの関係上並び替えた生データ表は参加施設に CD-R で配布しているため記載を省略した。

3. ダイナルリライキットの分析

リライキットを使用した施設は D-001, 003, 005, 006, 010, 013, 014, 016, 017, 018, 020, 021, 022, 026, 030, 033, 034, 036, 039, 042, 045, 049, 053, 054 の24施設(アンダーラインは単独使用施設)であった。

HLA-A 座については、24施設すべてが解答を寄

せた。キット仕様ごとの施設数では35プローブキット使用施設が3、40プローブキット使用施設が5、41プローブキット使用施設が2、最新の43プローブキット使用施設が14であった。新しいキットではプローブが追加されるので、最新の43プローブに個々の35プローブと40プローブがどのように対応するかを表1に示した。同様に表2にはB座、表3にはDRBの新旧プローブ対応表を示した。分析のために生データも43プローブに対応するように並び替えた。生データ表でnpと表示したものは古いキットでは最新版のプローブに対応していないことを示している。生データスコアやアリの表示などで問題がある場合にはセルに色付けをした。同様にB座、DR座キットについても並び替えを行った。

A座では全般的に良好な反応を示し、タイピングも2桁レベルで一致を認められた。しかしながら1報告に不一致が認められた。H1705検体でA2ブランクの例であったがこのD-030施設の報告ではA24と反応する複数のプローブと反応がみられた。H1705とH1706の検体は今回フィルターに細胞を貼付した形で配布し、各ラボがフィルターを切断後抽出するという作業が必要であった。H1706の検体がA24ブランクの検体であることを考えるとH1705の検体に謝ってH1706の検体が混入した可能性(フィルターが2枚入ってしまった?)や日本人でのA24ブランクの頻度が高いことを考慮すると外部から何らかの過程でこのような検体の混入したことも考えられる。

H1706検体の生データ報告でタイピング結果記入の特異性から見てD-014施設ではプローブ#1と#3を間違えて記入した可能性が高い。

プローブ自体に問題があると思われる例としてH1703の検体で示された。表4に示すようにA*0204かA*0201かの判定が#23プローブの判定により区別される(陽性の場合には0201)が、スコア1とした施設が17、スコア2とした施設が3、スコア4とした施設が2、スコア6とした施設が2であった。一方、H1705の検体はA*0201であるが#23の判定はすべて陽性(スコア4が1施設、スコア6としたのが1施設、他はスコア8であった。本キットには対立遺伝子であるA*0204アリの

表1 ダイナリライ、プローブ対応表 HLA-A

43プローブキット	40プローブキット	35プローブキット
1	1	—
2	2	1
3	3	2
4	4	3
5	5	4
6	6	5
7	7	6
8	8	7
9	9	8
10	10	9
11	11	10
12	12	11
13	13	12
14	14	13
15	15	14
16	16	15
17	17	16
18	18	—
19PC	19PC	17PC
20	20	—
21	21	18
22	22	19
23	23	20
24	24	21
25	25	22
26	26	23
27	27	24
28	28	25
29	29	26
30	30	27
31	31	28
32	32	29
33	33	—
34	34	30
35	35	31
36	36	32
37	37	33
38	38	—
39	39	34
40	—	—
41	—	—
42PC	40PC	35PC
43AC	—	—

に対応するプローブの設定はされていない。以上のことから#23のプローブは他のプローブに比較し偽陽性が出やすいプローブであることが判明し、判定時に注意が必要である。#23プローブの改良が望まれる。

HLA-B座については、B座用のキットとしてほとんどの施設が62プローブキットを使用していたが、一部の施設では56プローブキットを使用してい

表2 ダイナルリライ, プローブ対応表 HLA-B

62プローブキット	61プローブキット	56プローブキット
1	1	1
2	2	2
3	3	3
4	4	4
5	5	5
6	6	6
7	7	7
8	8	8
9	9	9
10	10	10
11	11	11
12	12	—
13	13	—
14	14	12
15	15	13
16	16	14
17	17	15
18	18	16
19	19	17
20	20	18
21	21	19
22	22	20
23	23	21
24	24	22
25	25	23
26	26	24
27	27	25
28	28	26
29PC	29PC	27PC
30	30	28
31	31	29
32	32	30
33	33	31
34	34	32
35	35	33
36	36	34
37	37	35
38	38	36
39	39	37
40	40	38
41	41	39
42	42	40
43	43	41
44	44	42
45	45	43
46	46	44
47	47	45
48	48	46
49	49	47
50	50	48
51	51	49
52	52	50
53	53	—
54	54	51
55	55	—
56	56	—
57	57	52
58	58	53
59	59	54
60	60	55
61PC	61PC	56PC
62AC	—	—

た。偽陽性や偽陰性の反応が少なくおおむね良好な結果を示した。H1702の検体の結果では生データスコアが他の施設と同じであるにもかかわらず、D-020の施設ではB*1512/19ではなくB*1501との判定であった。読み替えでは前者がB76であるのに対してB62となってしまうので明らかなアサインミスと考えられた。

反応パターン表(マップ), 使用するキット, 解析プログラムの新旧によってもアレル表示が異なっている。たとえばH1701の検体ではB*1502かB*1502/88と記載されるかは使用したマップやプログラムによって異なる結果となる。現在も新しいアレルが発見されて登録数が増加しているが、新しいタイプになるということは可能性としてゼロではないとしてもきわめて頻度が低い。アレルまで記載するとすると、実際上HLAタイプの2桁レベルを目標としているタイピング現場としては大きな混乱を招く結果となる。

HLA-C座については、D-003, 018, 022, 034の4施設が参加した。キットはポジティブコントロールを含め37プローブで判定するようになっていた。生データでは偽陽性と偽陰性が1つずつ認められた。アレルの結果はほぼ一致していた。D-018ラボではH1703検体について、ホモザイゴウトと考えられる検体に対して、Cw15アレル2つに分割して報告しているが、これだけのデータでは分けられないと考えられる。

HLA-DRB座についてはmプローブ数36のキットから54のキットまで多彩な使用状況になっていた。最新のキットではジェネリックな増幅プライマーに加えてDRB1*3/11/13/14のみが増幅されるプライマーが添付されており、2施設(D-045, 049)がこれを利用した。

DRB1のアレル報告はしていてもDRB3-5遺伝子の報告が空白や2桁レベルの報告しかなされてなかった。

H1701の検体についてDRB1*1501と1405, DRB3とDRB5の4遺伝子がジェネリックなプライマーで増幅されるために、最新のアレルデータ

表3 ダイナルリライ, プローブ対応表 HLA-DRB

54プローブキット	45プローブキット
1	1
2	2
3	3
4	4
5	5
6	6
7	7
8	8
9	9
10	10
11	11
12	12
13	13
14	14
15	15
16	16
17	17
18	18
19	19
20	20
21	21
22	22
23	23
24	24
25	25
26	26
27	27
28	28
29	29
30	30
31	31
32	32
33	33
34	34
35	35
36	36
37	37
38	-
39	-
40	-
41	-
42	-
43	-
44	-
45	-
46	39
47	40
48	42
49	43
50	38
51	41
52	44
53PC	45PC
54AC	-

ベースを盛り込んだ解析ソフトでは2桁レベルの特異性も決めることができない。たとえば DR11 と DR15 または DR14 と DR15 としてアリの組み合わせを列挙してくる。プローブ数36までのキットでは DR15, 16 の区別も行われない。このようなときに DRB3 遺伝子増幅がなく DRB1*3/11/13/14 のみが増幅されるプライマーで PCR 増幅をかけると明瞭な結果が得られる。

H1702 検体では DRB1*1001 と DRB1*1502 が出題されたが、おおむね正解であったが DRB1*-1502 が含まれないような回答を寄せたところが1施設認められた。

H1703 では DRB1*1602, - の出題であった。D-021 の施設は DRB1*0901 もあると解答したが、#7 プローブ発色も弱く DRB4 遺伝子の反応 (#21 プローブ陽性)が認められないことから無理があると考えられる。#7 プローブ以外にも2つの偽陽性が認められているので判定や技術的な問題を再度点検する必要があろう。

H1704 の検体は DRB1*1201 と DRB1*1104 の特異性であったが、ジェネリックナ増幅のみでは DR12 と DR3, または DR12 と DR11, あるいは DR12 と DR14 などの組み合わせがあり、判定が困難な検体であった。これも DRB1*03/11/13/14 のみが増幅されるプライマーで PCR 増幅をかけることにより問題は解決される。

H1705 の検体は DRB1*1201, - の検体であったがアリのアサインでは DRB1*1201 に加えていくつかの施設では DR8 や DR4 を加えたところがあった。DR4 については DRB4 遺伝子が増幅されていないことから可能性がきわめて低いですが DR8 をとるかについては、もし採るとすると DRB1*0825 という稀なタイプがアサインされることになる。A座B座ともホモザイゴウトと考えられるので、DRB1 についてもブランクの部分に稀な型を考えるよりブランクとした方がよいと考えられる。

H1706 の検体については日本人に見られる典型的な DR1 を示すハプロタイプであり、ホモザイゴウトであるので A, B, DR とも1アリが検出される。1施設を除いて生データは完全に一致しているが、アリの表記ではバラツキが認められた。DR4 の可能

性はDRB4 遺伝子が増幅されていないことを考慮すると否定される。A, B, DR のハプロタイプを見るとDRB1*0101 がもっとも考えられるが、可能性としては0105などの可能性も完全には否定できない。

HLA-DQB1については、D-003, 018, 022, 034の4施設が参加した。DQBは日本人に通常認められるDRB1との連鎖が異なるものが含まれていたが正しく判定されていた。D-018の施設では生データの記載ミスがあると思われた。偽陰性と取れる箇所もあった。

リライキットのまとめとして、以下のことが示された。

- 1) 生データを解析すると概ね各施設間のバラツキも少なく、良好な反応を示していた。
- 2) 一部の施設に限り偽陽性や偽陰性が多く認められ、マニュアルや判定に習熟する必要があると思われた。
- 3) HLA型(血清型)への読替には問題がないが、最終的なアレルの決定では施設間(判定者)にバラツキが認められた。生データは同じでもアサインされた結果が異なる場合も認められた。
- 4) DRBキットでは新抗原の発見によりジェネリック増幅ではDR52関連抗原が明確に区別されない例もあるため、確定のためにはDR3, 11, 13, 14抗原遺伝子のみを増幅するプライマーの使用が必要である。
- 5) ろ紙検体に対しても対応ができていた。
- 6) 判定プログラム自体にも問題があり、更新や改良が必要と思われた。

4. ワクナガ MPH-2 キットの分析

MPH-2 キットを使用した施設はD-015, 019, 028, 040, 044, 050, 052, 055, 060の9施設(アンダーラインは単独使用施設)であった。D-019の施設は生データの報告がされなかった。

昨年と同様に生データの報告形式がOD値, 100倍OD値とあり、スコア化データの添付が2施設程度しか行われていないためにプローブの陽性、陰

表4 H1703とH1705検体のダイナルリライA座キット #23 プローブの反応性

HLA-A*	93	94	95	96	97	98	プローブ	反応アレル
0201	CAC	ACC	gTC	CAG	AGG	ATG	#23	(*0203,*0216も)
0204	CAC	ACC	gTC	CAG	ATG		#なし	
H1703検体 (A*0204)				H1705検体 (A*0201)				
スコア-1と判定	17	施設	スコア-1と判定	0	施設			
スコア-2と判定	3	施設	スコア-2と判定	0	施設			
スコア-4と判定	2	施設	スコア-4と判定	1	施設			
スコア-6と判定	2	施設	スコア-6と判定	1	施設			
スコア-8と判定	0	施設	スコア-8と判定	22	施設			

表5 Dynal Reli プローブ対応

Allele	反応プローブ
A*2402	1,7,11,16,19,25,26,31,36,39,42,43
A*2405	1,7,11,16,19,26,31,36,39,42,43
A*2423	1,7,11,16,19,25,26,31,36,42,43

アサインパターン

2402,-
2402,2405/23
2405,2423

表6 Dynal Reli プローブ対応

Allele	反応プローブ
B*0702	1,7,13,15,20,28,29,32,39,50,54,56,60,61,62
B*0703	1,7,13,15,28,29,32,39,50,54,56,60,61,62
B*0717	1,7,13,15,20,28,29,32,50,54,56,60,61,62
B*0733	1,7,13,15,20,28,29,32,39,50,54,56,61,62

アサインパターン

0702, -
0702,0703/17/33
0703,0717/33
0717,0733

性の判定が不明であった。発色のOD値が各施設間で大きくばらつき、メーカー側の基準としているカットオフ値では偽陽性や偽陰性が多く認められ単純に判定できない状況であった。すなわち施設によりカットオフ値が異なっているものがある。MPH法ではまずジェネリックな増幅を行い24プローブにより判定し必要があればスペシフィックな増幅を行い別のプローブに当てて判定するという方法が用いら

表7 Dynal Reli プローブ対応

Allele	反応プローブ
DRB1*0101	1,30,38,40,46,48,49,53
DRB1*0104	1,30,38,40,46, , ,53
DRB1*0111	1,30,38,40,46, ,49,53

アサインパターン

0101, -

0101,0104/11

れている。そのためにジェネリックな増幅だけでは二桁レベルの区別がうまく行われていない検体もあった。

A 座では D-015 施設が H1702 検体について A*2907 として他の施設とは異なる解答を寄せた。

B 座では B15 関連を細分化しないまま報告している施設が多く、B7 や B51 についても同様の傾向が認められた。D-028 の施設は H1703 および H1704 検体のホモザイゴウト検体のアサインができていなかった。

C 座では D-040 の施設では 2 桁レベルのアサインができていなかった。

DR 座では D-028 の施設は H1703 検体の DR16 ホモザイゴウトの検体が DR15 と DR16 のヘテロザイゴウトと報告していた。同施設では H1704 検体で DR11 と DR12 のヘテロザイゴウトの検体が正しくアサインされていなかった。D-015 の施設は

H1705 検体の DR12 のホモザイゴウトを DR15 と DR12 のヘテロザイゴウトのヘテロザイゴウトと判定していた。

DQB1 では D-050 施設のホモザイゴウトの記載方法が徹底されていなかった。

5. INNO-LIPA キットの分析

このキットを使用した施設は D-027 と 055 の 2 施設であった。前者は DR のみの使用で後者は他法との併用であった。参加施設が少ないために生データ分析の対象からは除外した。本キットのプローブ数はリライと同様に多く、結果報告の精度も同等であった。

6. SSO キットにおけるホモザイゴウトタイピングの問題点

SSO キットではすべてのアレルに対応するようにプローブがセットされているわけではないのでプローブとの反応が空欄となる場合が存在する。リライキットを例にとると表 5-7 に示すように今回の H1706 の検体では A 座, B 座, DR 座の反応パターンからホモザイゴウトの可能性のほか, ヘテロザイゴウトの組み合わせとして幾通りかが考えられる。細胞株がどの人種由来であるのか示されていないので, 学会 QCWS としてはすべての可能性を考慮しなければならないところであるが, 実際のタイピングの現場としては人種やハプロタイプの頻度を考慮して可能性の高いタイピングを報告するというのが実用的な方法と考えられる。

第9回 HLA-QC ワークショップレポート —生データ解析：いわゆる“Luminex 法”—

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

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

1. はじめに

Luminex 法は一度に 100 種類のプローブを使用し, 4 桁タイピングを可能にする究極に近い r-SSO 法として期待されている。このような方法での HLA タイピングで最も重要なポイントは次の 2 点と考えられる。

- (1) PCR の増幅効率(増幅領域を過不足なく増幅する)
- (2) プローブの反応性

現在使用可能な HLA-typing kit は 3 社 (★・◆・▲) あり, これらの kit を用いて提出された QC 生データを用い, 上記 2 点を中心に解析した。

2. 使用キットによるグループ化と判定結果の比較

参加施設を使用 kit 別に分類(表 1) し, kit 別の判定結果を表 2-4 に示す。今回配布されたサンプルは日本人に希または今のところ見つかっていないアリルを保有するものが主であった。提出された判定結果から施設間差が最も少なかった kit は◆社製

を使用した施設群の結果であった。▲社製 kit 使用施設群で, sample H1703, H1704 につき, B*5101 と B*5103 の分離が不能であるとの判定が大半をしめた。日本人の HLA-B 座タイピングについて, B*5101 と B*5103 の分離は必須であり, プローブの改良が望まれる。

3. 増幅効率の比較

テンプレートが DNA 溶液である sample の代表として H1701 を, フィルター付着細胞である sample の代表として H1706 をもちいた。Locus 別・施設別に, 各 kit の陽性コントロール probe の蛍光値を比較し, 各 kit のプライマーによる増幅効率を推測する目安とした (Fig. 1-8)。

3.1 HLA-class I 陽性コントロールについて

★および▲ kit は exon 2 に 1 つの陽性 probe と exon 3 に 1 つの陽性 probe が設定されている。◆ kit は exon 2 に 2 つの陽性 probe (増幅された sense 側の配列と反応する probe と anti-sense 側の配列と反

表 1 参加施設 Lab Code

KIT name	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	計	
	D007	D023	D025	D029	D046	D051	D057	D002	D062	D032	D037	D044	D018	D041	D043	D050	D063	D012		
▲	○	○	○	○	○	○	○	○	○										○*	10
★								○	○	○	○	○	○	○	○					8
◆								○	○	○	○	○				○	○			7

○* : 生の蛍光値の判別ができなかったため解析から除外した。

表2 QC Sample 判定結果 (★ Kit)

DNA No	Lab Code	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	DRB1	DRB1	DQB1	DQB1
H1701	D002	A*1101/03/04/+	A*2403/10/22/+	B*1502	B*5502/12/16	not tested	not tested	DRB1*1405/45	DRB1*1501/06/13	not tested	not tested
	D018	A*1101/03/04/+	A*2403/10/22/+	B*1502	B*5502/12/16	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07/+	DRB1*1405/45	DRB1*1501/06/13	DQB1*0503	DQB1*0601
	D032	A*1101/03/04/+	A*2403/10/22/+	B*1502	B*5502/16	not tested	not tested	DRB1*1405/45	DRB1*1501/06/13	DQB1*0503	DQB1*0601
	D037	A*11	A*24	B*1502	B*55	not tested	not tested	DRB1*14	DRB1*15	not tested	not tested
	D041	A*1101/02/03/+	A*2403/10/22/+	B*1502	B*5502/12/16	C*0801/08	Cw*1203/06/07/+	DRB1*1405/45	DRB1*1501/06/13	DQB1*0503	DQB1*0601
	D043	A*1101/02/03/+	A*2403/10/22/+	B*1502	B*5502/12/16	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07/+	DRB1*14	DRB1*15	not tested	not tested
	D044	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	DRB1*14	DRB1*14	not tested	not tested
D062	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	DRB1*1405/45	DRB1*1501/06/13	not tested	not tested	
H1702	D002	A*0203	A*2901/02/04/+	B*0705/06	B*1512/19	not tested	not tested	DRB1*1001	DRB1*1502/08/14	not tested	not tested
	D018	A*0203	A*2901/01N/02/+	B*0705/06	B*1512/19	Cw*0403	Cw*1505/06/09	DRB1*1001	DRB1*1502/08/14	DQB1*0501	-
	D032	A*0203	A*2901/01N/02/+	B*0705/06	B*1512/19	not tested	not tested	DRB1*1001	DRB1*1502/08/14	DQB1*0501	DQB1*0502
	D037	A*02	A*29	B*07	B*1512/19	not tested	not tested	DRB1*10	DRB1*15	not tested	not tested
	D041	A*0203	A*2901/01N/02/+	B*0705/06	B*1512/19	Cw*0403	Cw*1505/06/09	DRB1*1001	DRB1*1502/08/14	DQB1*0501	DQB1*0502
	D043	A*0203	A*2901/01N/02/+	B*0705/06	B*1512/19	Cw*0403	Cw*1505/06/09	DRB1*1001	DRB1*15	not tested	not tested
	D044	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	DRB1*1001	DRB1*15	not tested	not tested
D062	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	DRB1*1001	DRB1*1502/08/14	not tested	not tested	
H1703	D002	A*0204/17	-	B*5101/11N/12/+	-	not tested	not tested	DRB1*1602/03/05	-	not tested	not tested
	D018	A*0204/17	-	B*5101/11N/12/+	-	Cw*1502/05/06/+	Cw*1502/03/05/+	DRB1*1602	DRB1*1602/03/05	DQB1*0301/09/13	-
	D032	A*0204/33/58	-	B*5101/11N/12/+	-	not tested	not tested	DRB1*1602/03/05	-	DQB1*0301/09/13	-
	D037	A*02	-	B*51	-	not tested	not tested	DRB1*16	-	not tested	not tested
	D041	A*0201/04/17/+	-	B*5101/03/04/+	-	Cw*1502/03/05/+	-	DRB1*1602/03/05	-	DQB1*0301/09/13	-
	D043	A*0201/04/17/+	-	B*5101/03/04/+	B*5101/03/04/+	Cw*1502/03/05/+	-	DRB1*1602	-	not tested	not tested
	D044	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	DRB1*1602	-	not tested	not tested
D062	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	DRB1*1602	DRB1*1602/03/05	not tested	not tested	
H1704	D002	A*0216	A*0301/01N/04/+	B*5101/11N/12/+	-	not tested	not tested	DRB1*1104/06/18/+	DRB1*1201/02/03/+	not tested	not tested
	D018	A*0216	A*0301/01N/04/+	B*5101/11N/12/+	-	Cw*0704/11	Cw*1502	DRB1*1104/06/18/+	DRB1*1201/02/03/+	DQB1*0301/09/13	-
	D032	A*0216	A*0301/03N/04/+	B*5101/11N/12/+	-	not tested	not tested	DRB1*1104/06/18/+	DRB1*1201/02/03/+	DQB1*0301/09/13	-
	D037	A*02	A*03	B*51	-	not tested	not tested	DRB1*11	DRB1*12	not tested	not tested
	D041	A*0216	A*0301/01N/04/+	B*5101/03/04/+	-	Cw*0704/11	Cw*1502	DRB1*1104/06/18/+	DRB1*1201/02/03/+	DQB1*0301/09/13	-
	D043	A*0216	A*0301/01N/04/+	B*5101/03/04/+	-	Cw*0704/11	Cw*1502	DRB1*11	DRB1*12	not tested	not tested
	D044	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	DRB1*11	DRB1*12	not tested	not tested
D062	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	DRB1*1104/06/18/+	DRB1*1201/02/03	not tested	not tested	
H1705	D002	A*0201/04/09/+	-	B*1801/02/03/+	-	not tested	not tested	DRB1*1201/06/07/+	-	not tested	not tested
	D018	not assigned	-	B*1801/03/05/+	B*1801/02/03/+	not assigned	not tested	DRB1*1201/06/07/+	-	not tested	not tested
	D032	A*0201/04/09/+	-	B*1801/03/05/+	-	not tested	not tested	DRB1*1201/06/07/+	-	DQB1*0301/09/13	-
	D037	A*02	-	B*18	-	not tested	not tested	DRB1*12	-	not tested	not tested
	D041	A*0201/01L/04/+	-	B*1801/02/03/+	-	Cw*0701/06/18/+	-	DRB1*1201/06/07/+	-	DQB1*0301/09/13	-
	D043	A*0201/01L/04/+	-	B*1801/02/03/+	-	Cw*0701/06/18/+	-	DRB1*12	-	not tested	not tested
	D044	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	DRB1*12	-	not tested	not tested
D062	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	DRB1*1201/06/07/+	DRB1*1201/06/07/+	not tested	not tested	
H1706	D002	A*2402/05/09N/+	-	B*0702/03/10/+	-	not tested	not tested	DRB1*0101/05/07/+	-	not tested	not tested
	D018	not assigned	-	B*0702/15/17/+	B*0702/03/10/+	not assigned	not tested	DRB1*0101/05/07/+	-	not tested	not tested
	D032	A*2402/03/05/+	-	B*0702/10/15/+	-	not tested	not tested	DRB1*0101/05/07/+	-	DQB1*0501	-
	D037	A*24	-	B*07	-	not tested	not tested	DRB1*01	-	not tested	not tested
	D041	A*2402/05/09N/+	-	B*0702/10/15/+	-	Cw*0702/05/13/+	-	DRB1*0101/05/07/+	-	DQB1*0501	-
	D043	A*2402/05/09N/+	-	B*0702/10/15/+	-	Cw*0702/05/13/+	-	DRB1*01	-	not tested	not tested
	D044	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	DRB1*01	-	not tested	not tested
D062	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	DRB1*0101/05/07/+	DRB1*0101/05/07/+	not tested	not tested	

施設の判定結果が大部分の施設の判定結果と相違する場合、その判定結果を斜体で示した。
判定結果で記載上の誤りのある判定について□で囲った。

応する probe) が設定されている。また型判定に用いる各 probe にも sense 側を認識するものであるか、anti-sense 側を認識するものであるかの表示がなされている。型判定に用いる probe が実際に反応する増幅産物の増幅を確認できるコントロール probe の存在は精度の高い判定をおこなうために有用である。(Figure には便宜上、★・▲ kit のコントロール probe を sense 側の probe として表記したが実際は不明である)。テンプレートが DNA の場合、大多数

の施設で陽性コントロール probe の蛍光値は 1,000 以上であり良好な増幅が得られていた。Exon 2 と exon 3 の陽性コントロール probe の蛍光値に大きな偏りがある(片方のコントロールがほとんど反応していない)施設は、使用している PCR 機の温度の確認、PCR 条件設定の確認、ハイブリザイゼーション温度の確認などが必要である。テンプレートが filter である場合、各陽性コントロールの蛍光値は DNA の場合よりやや低くはあるが、1,000 以下を示す施設は

表 3 QC Sample 判定結果 (◆ Kit)

DNA No	Lab Code	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	HLA-C	HLA-C	DRB1	DRB1
H1701	D002	A*1101/03/04/+	A*2403/10/22/+	B*1502/88	B*5502/16	C*0801/08	C*1203/06/07	C*1203/06/07	not tested	not tested	not tested
	D032	A*1101/03/04/+	A*2403/10/22/+	B*1502	B*5502/16	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07	Cw*1203/06/07	not tested	not tested	not tested
	D037	A*11	A*24	B*1502	B*55	not tested	not tested	not tested	DRB1*14	DRB1*15	DRB1*15
	D044	A*11	A*24	B*15	B*55	Cw*08	Cw*12	Cw*12	not tested	not tested	not tested
	D050	A*1101/03/04/+	A*2403/10/22/+	B*1502/88	B*5502/16	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07	Cw*1203/06/07	not tested	not tested	not tested
	D062	A*1101/03/04/+	A*2403/10/22/+	B*1502/88	B*5502/16	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested
H1702	D063	A*1101/03/05/+	A*2403/22/23/+	B*1502/88	B*5502/16	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07	Cw*1203/06/07	DRB1*1405/43/45	DRB1*1501/03/06/+	DRB1*1501/03/06/+
	D002	A*0203	A*2901	B*0705 / 4805/ +	B*1501/12/14/+	Cw*0403/06	Cw*1505	Cw*1505	not tested	not tested	not tested
	D032	A*0203	A*2901	B*0705/06	B*1512/19	Cw*0403/06	Cw*1505	Cw*1505	not tested	not tested	not tested
	D037	A*02	A*29	B*07	B*1512/19	not tested	not tested	not tested	DRB1*10	DRB1*15	DRB1*15
	D044	A*0203	A*2901	B*07	B*15	Cw*04	Cw*1505	Cw*1505	not tested	not tested	not tested
	D050	A*0203	A*2901	B*0705/06/09	B*1501/12/14/+	Cw*0403/06	Cw*1505	Cw*1505	not tested	not tested	not tested
H1703	D062	A*0203	A*2901	B*0705/06/09/+	B*1501/12/14/+	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested
	D063	A*0203	A*2901	B*0705 /1576/+	B*1501/ 4805/+	Cw*0403/06	Cw*1505	Cw*1505	not tested	not tested	not tested
	D002	A*0204/17/58/+	-	B*5101/11N/12/+	-	Cw*1502/04/07/+	-	-	not tested	not tested	not tested
	D032	A*0204/33/58	-	B*5101/11N/12/+	-	Cw*1502/04/07/+	-	-	not tested	not tested	not tested
	D037	A*02	-	B*51	-	not tested	not tested	not tested	DRB1*16	-	-
	D044	A*02	-	B*51	-	Cw*15	-	-	not tested	not tested	not tested
H1704	D050	A*0204/17/58/+	A*0204/17/58/+	B*5101/11/12/+	B*5101/11/12/+	Cw*1502/04/07/+	Cw*1502/04/07/+	Cw*1502/04/07/+	not tested	not tested	not tested
	D062	A*0204/17/58/+	A*0204/17/58/+	B*5101/11/12/+	B*5101/11/12/+	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested
	D063	A*0204/17/58/+	A*0204/17/58/+	B*5101/11/12/+	B*5101/11/12/+	Cw*1502/04/07/+	Cw*1502/04/07/+	Cw*1502/04/07/+	DRB1*1504/1601/+	DRB1*1508/1601/+	DRB1*1508/1601/+
	D002	A*0216	A*0301/03N/04/+	B*5101/11N/12/+	-	Cw*0704/11/12	Cw*1502/03	Cw*1502/03	not tested	not tested	not tested
	D032	A*0216	A*0301/03N/04/+	B*5101/11N/12/+	-	Cw*0704/11/12	Cw*1502/03	Cw*1502/03	not tested	not tested	not tested
	D037	A*02	A*03	B*51	-	not tested	not tested	not tested	DRB1*11	DRB1*12	DRB1*12
H1705	D044	A*0216	A*03	B*51	-	Cw*07	Cw*15	Cw*15	not tested	not tested	not tested
	D050	A*0216	A*0301/03/04/+	B*5101/11/12/+	B*5101/11/12/+	Cw*0704/11/12	Cw*1502/03	Cw*1502/03	not tested	not tested	not tested
	D062	A*0216	A*0301/04/1/+3	B*5101/11/12/+	B*5101/11/12/+	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested
	D063	A*0216	A*0301/03/04/+	B*5101/11/12/+	B*5101/11/12/+	Cw*0704/11/12	Cw*1502/03	Cw*1502/03	not tested	not tested	not tested
	D002	A*0201/04/09/+	-	B*1801/02/03/+	-	Cw*0701/06/16/+	-	-	DRB1*103/1354/+	DRB1*1201/02/04/+	DRB1*1201/02/04/+
	D032	A*0201/04/09/+	-	B*1801/03/05/+	-	Cw*0701/06/16/+	-	-	not tested	not tested	not tested
H1706	D037	A*02	-	B*18	-	not tested	not tested	not tested	DRB1*12	-	-
	D044	A*02	-	B*18	-	Cw*07	-	-	not tested	not tested	not tested
	D050	A*0201/04/09/+	A*0201/04/09/+	B*1801/02/03/+	B*1801/02/03/+	Cw*0701/06/16/+	Cw*0701/06/16/+	Cw*0701/06/16/+	not tested	not tested	not tested
	D062	A*0201/04/09/+	A*0201/04/09/+	B*1801/02/03/+	B*1801/02/03/+	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested
	D063	A*0201/04/09/+	A*0201/04/09/+	B*1801/02/03/+	B*1801/02/03/+	Cw*0701/06/16/+	Cw*0701/06/16/+	Cw*0701/06/16/+	DRB1*1201/02/03/+	DRB1*1201/02/03/+	DRB1*1201/02/03/+
	D002	A*2402/03/05/+	-	B*0702/09/10/+	-	Cw*0702/03/05/+	-	-	not tested	not tested	not tested
H1706	D032	A*2402/03/05/+	-	B*0702/10/15/+	-	Cw*0702/03/05/+	-	-	not tested	not tested	not tested
	D037	A*24	-	B*07	-	not tested	not tested	not tested	DRB1*01	-	-
	D044	A*24	-	B*07	-	Cw*07	-	-	not tested	not tested	not tested
	D050	A*2402/03/05/+	A*2402/03/05/+	B*0702/09/10/+	B*0702/09/10/+	Cw*0702/03/05/+	Cw*0702/03/05/+	Cw*0702/03/05/+	not tested	not tested	not tested
	D062	A*2402/03/05/+	A*2402/03/05/+	B*0702/09/10/+	B*0702/09/10/+	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested	not tested
	D063	A*2402/03/05/+	A*2402/03/05/+	B*0702/09/10/+	B*0702/09/10/+	Cw*0702/03/05/+	Cw*0702/03/05/+	Cw*0702/03/05/+	DRB1*0101/04/05/+	DRB1*0101/04/05/+	DRB1*0101/04/05/+

施設の判定結果が大部分の施設の判定結果と相違する場合、その判定結果を斜体で示した。
判定結果で記載上の誤りのある判定について□で囲った。

表4 QC Sample 判定結果 (▲ Kit)

DNA No	Lab Code	HLA-A	HLA-A	HLA-B	HLA-B	HLA-C	HLA-C	DRB1	DRB1
H1701	D002	A*1101/04/05/+	A*2403/10/33	B*1502	B*5501/02/07	Cw*0801/08	Cw*1203/06/11	DRB1*1405	DRB1*1501/03/06/+
	D007	A*1101/04/05/+	A*2403/10/33	B*1502	B*5501/02/07	Cw*0801/08	Cw*1203/06/11	DRB1*1405	DRB1*1501/03/06/+
	D012	A*1101/05/07/+	A*2403/10/33	B*1502	B*5501/02/07	Cw*0801/08	Cw*1203/06/11	DRB1*1405	DRB1*1501/03/06/+
	D023	A*11	A*24	B*1502	B*55	Cw*08	Cw*12	DRB1*14	DRB1*15
	D025	A*1101/04/05/+	A*2403/10/33	B*1502	B*5501/02/07	not tested	not tested	DRB1*1405	DRB1*1501/03/06/+
	D029	A*1101	A*2403	B*1502	B*5502	Cw*0801	Cw*120301	DRB1*140501	DRB1*150101
	D046	A*1101/04/05/+	A*2403/10/33	B*1502	B*5501/02/07	not tested	not tested	DRB1*1405	DRB1*1501/03/06/+
	D051	A*1101/05/07/+	A*2403/10/33	B*1502	B*5501/02/07	Cw*0801/08	Cw*1203/06/11	DRB1*1405	DRB1*1501/03/06/+
	D057	A*1101/04/05/+	A*2403/10/33	B*1502	B*5501/02/07	Cw*0801/08	Cw*1203/06/11	DRB1*1405	DRB1*1501/03/06/+
D062	not tested	not tested	not tested	not tested	Cw*0801/08	Cw*1203/06/11	not tested	not tested	
H1702	D002	A*0203	A*2901/02/04/+	B*0705/06/09/+	B*1501/12/14/+	Cw*0403	Cw*1505	DRB1*1001	DRB1*1502
	D007	A*0203	A*2901/02/04/+	B*0705/06/09/+	B*1501/12/14/+	Cw*0403	Cw*1505	DRB1*1001	DRB1*1502
	D012	A*0203	A*2901/02/04/+	B*07	B*15	Cw*0403	Cw*1505	DRB1*1001	DRB1*1502
	D023	A*02	A*29	B*07	B*15	Cw*04	Cw*15	DRB1*1001	DRB1*15
	D025	A*0203	A*2901/02/04/+	B*0705/06/09/+	B*1501/12/14/+	not tested	not tested	DRB1*1001	DRB1*1502
	D029	A*0203	A*2901	B*0705	B*150101	Cw*0403	Cw*1505	DRB1*100101	DRB1*150201
	D046	A*0203	A*2901/02/04/+	B*0705/06/09/+	B*1501/12/14/+	not tested	not tested	DRB1*1001	DRB1*1502
	D051	A*0203	A*2901/02/04/+	B*0705/06/09/+	B*1501/12/14/+	Cw*0403	Cw*1505	DRB1*1001	DRB1*1502
	D057	A*0203	A*2901/02/04/+	B*0705/06/09/+	B*1501/12/14/+	Cw*0403	Cw*1505	DRB1*1001	DRB1*1502
D062	not tested	not tested	not tested	not tested	Cw*0403	Cw*1505	not tested	not tested	
H1703	D002	A*0204/17	-	B*5101/09/11N/+	-	Cw*1502/03	-	DRB1*1511/1602	-
	D007	A*0204/17	A*0204/17	B*5101/03/09/+	B*5101/03/09/+	Cw*1502/03	Cw*1502/03	DRB1*1602	DRB1*1511/1602
	D012	A*0204/17	-	B*51	-	Cw*1502/03	-	DRB1*1516	-
	D023	A*02	-	B*51	-	Cw*15	-	DRB1*1602	-
	D025	A*0204/17	-	B*5101/03/09/+	B*5101/03/09/+	not tested	not tested	DRB1*1601/02/05	-/DRB1*1511
	D029	A*0204	-	B*5101	-	Cw*1502	-	DRB1*160201	-
	D046	A*0204/17	A*0204/17	B*5101/03/09/+	B*5101/03/09/+	not tested	not tested	DRB1*1602	DRB1*1511/1602
	D051	A*0204/17	-	B*5101/03/09/+	-	Cw*1502/03	-	not tested	not tested
	D057	A*0204/17	-	B*5101/09/11N/+	-	Cw*1502/03	-	DRB1*1602	DRB1*1511/1602
D062	not tested	not tested	not tested	not tested	Cw*1502/03	Cw*1502/03	not tested	not tested	
H1704	D002	A*0216	A*0301/03N/04/+	B*5101/09/11N/+	-	Cw*0704/11/12	Cw*1502/03	DRB1*1104/18/41/+	DRB1*1201/02/03/+
	D007	A*0216	A*0301/03N/04/+	B*5101/03/09/+	B*5101/03/09/+	Cw*0704/11/12	Cw*1502/03	DRB1*1104/06/18/+	DRB1*1201/02/03/+
	D012	A*0216	A*0301/03/04/+	B*51	-	Cw*0704/11/12	Cw*1502/03	DRB1*11	DRB1*12
	D023	A*02	A*03	B*51	-	Cw*07	Cw*15	DRB1*11	DRB1*12
	D025	A*0216	A*0301/03/04/+	B*5101/03/09/+	-	not tested	not tested	DRB1*1104/06/18/+	DRB1*1201/02/03/+
	D029	A*0216	A*030101	B*5101	-	Cw*0704	Cw*1502	DRB1*110401	DRB1*1201
	D046	A*0216	A*0301/03N/04/+	B*5101/03/09/+	B*5101/03/09/+	not tested	not tested	DRB1*1104/06/18/+	DRB1*1201/02/03/+
	D051	A*0216	A*0301/03/04/+	B*5101/03/09/+	-	Cw*0704/11/12	Cw*1502/03	DRB1*1104/06/18/+	DRB1*1202/03/06/+
	D057	A*0216	A*0301/03N/04/+	B*5101/09/11N/+	-	Cw*0704/11/12	Cw*1502/03	DRB1*1104/06/18/+	DRB1*1201/02/03/+
D062	not tested	not tested	not tested	not tested	Cw*0704/11/12	Cw*1502/03	not tested	not tested	
H1705	D002	A*0201/04/09/+	-	B*1801/02/05/+	-	Cw*0701/06/18/+	-	DRB1*1201/06/08	-
	D007	A*0201/04/09/+	A*0201/04/09/+	B*1801/02/05/+	B*1801/02/05/+	Cw*0701/06/18/+	Cw*0701/06/18/+	DRB1*1201/06/08	DRB1*1201/06/08
	D012	A*02	-	B*18	-	Cw*07	-	DRB1*1201/06/08	-
	D023	A*02	-	B*18	-	Cw*07	-	DRB1*12	-
	D025	A*0201/04/09/+	-	B*1801/02/05/+	-	not tested	not tested	DRB1*1201/06/18/+	-
	D029	A*020101	-	B*1801	-	Cw*0701	-	DRB1*1201	-
	D046	A*0201/04/09/+	A*0201/04/09/+	B*1801/02/05/+	B*1801/02/05/+	not tested	not tested	DRB1*1201/06/08	-
	D051	A*0204/17	-	B*1801	-	Cw*0701/06/18/+	-	DRB1*1201/06/08	-
	D057	A*0201/04/09/+	-	B*1801/02/05/+	-	Cw*0701/06/18/+	-	DRB1*1201/06/08	-
D062	not tested	not tested	not tested	not tested	Cw*0701/06/18/+	Cw*0701/06/18/+	not tested	not tested	
H1706	D002	A*2402/05/07/+	-	B*0702/15/21/+	-	Cw*0702/05/08/+	-	DRB1*0101/08	-
	D007	A*2402/05/07/+	A*2402/05/07/+	B*0702/15/21/+	B*0702/15/21/+	Cw*0702/05/08/+	Cw*0702/05/08/+	DRB1*0101/08	DRB1*0101/08
	D012	A*24	-	B*07	-	Cw*07	-	DRB1*0101/08	-
	D023	A*24	-	B*07	-	Cw*07	-	DRB1*01	-
	D025	A*2402/05/07/+	-	B*0702/15/21/+	-	not tested	not tested	DRB1*0101/08	-
	D029	A*2402	-	B*070201	-	Cw*0702	-	DRB1*0101	-
	D046	A*2402/05/07/+	A*2402/05/07/+	B*0702/15/21/+	B*0702/15/21/+	not tested	not tested	DRB1*0101/08	-
	D051	not assigned	-	not assigned	-	not assigned	-	DRB1*0101/08	-
	D057	A*2402/05/07/+	-	B*0702/15/21/+	-	Cw*0702/05/08/+	-	DRB1*0101/08	-
D062	not tested	not tested	not tested	not tested	Cw*0702/02/08/+	Cw*0702/02/08/+	not tested	not tested	

施設の判定結果が大部分の施設の判定結果と相違する場合、その判定結果を斜体で示した。

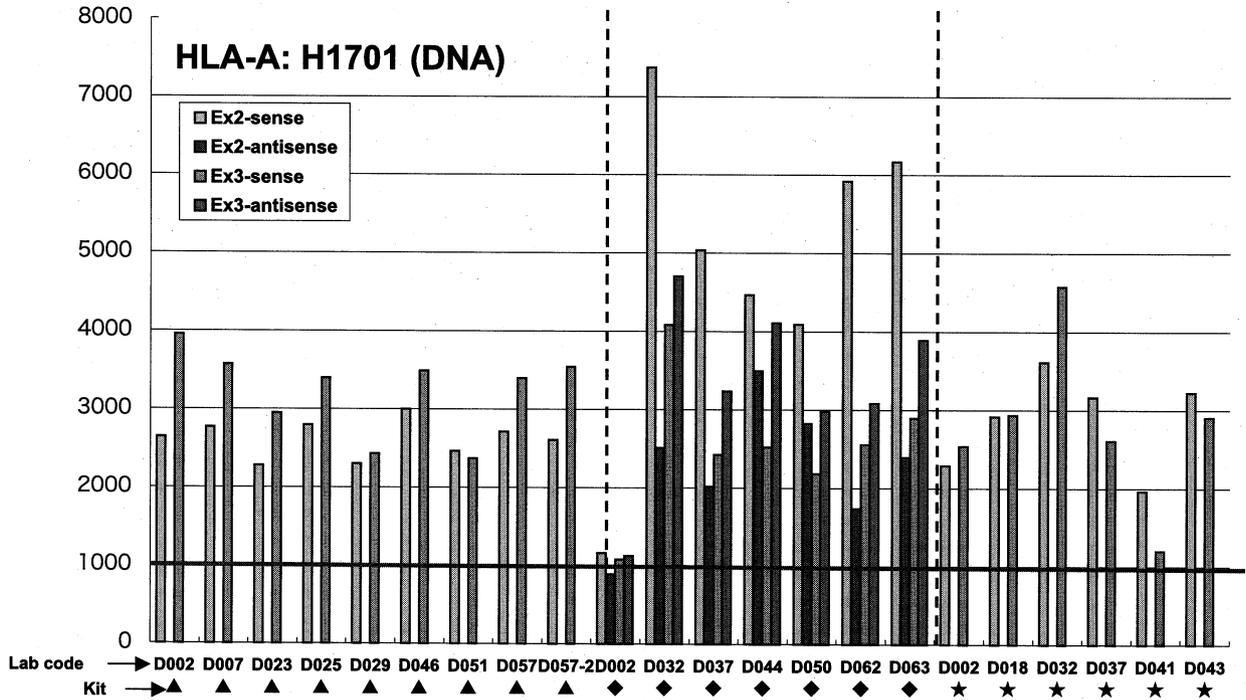


Fig. 1 Comparison of positive control intensity between institutions in HLA-A typing using specimen H1701

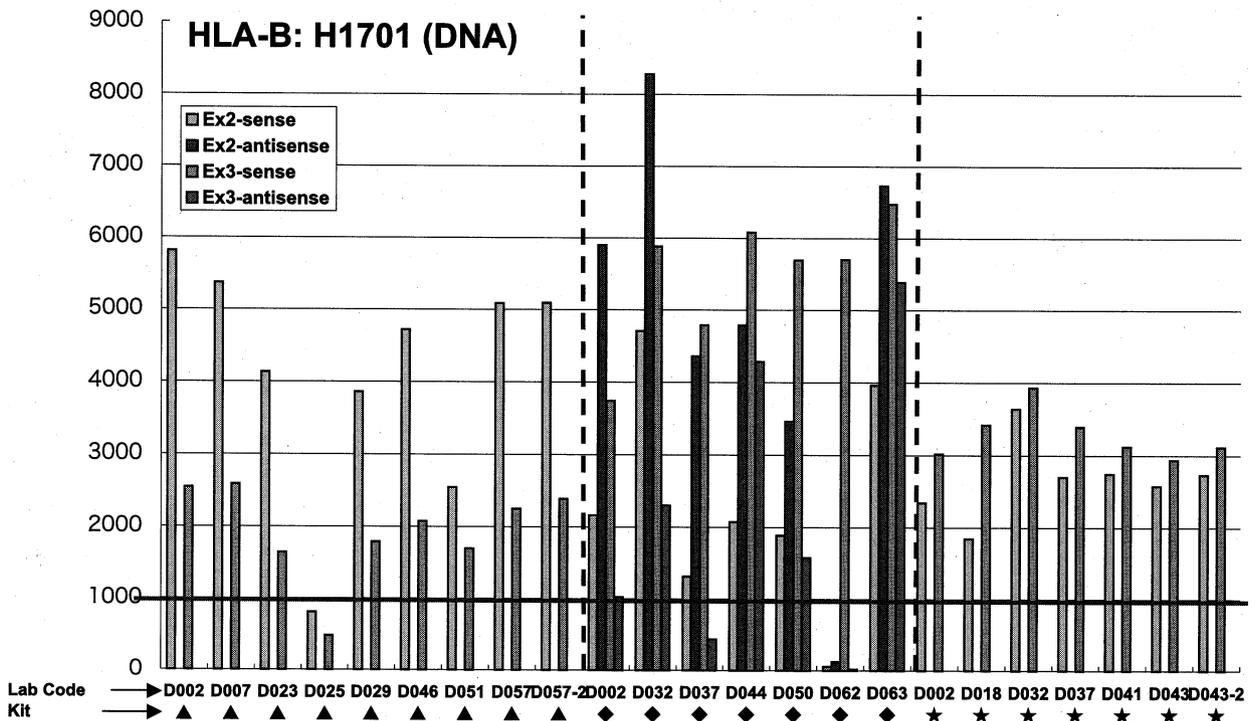


Fig. 2 Comparison of positive control intensity between institutions in HLA-B typing using specimen H1701

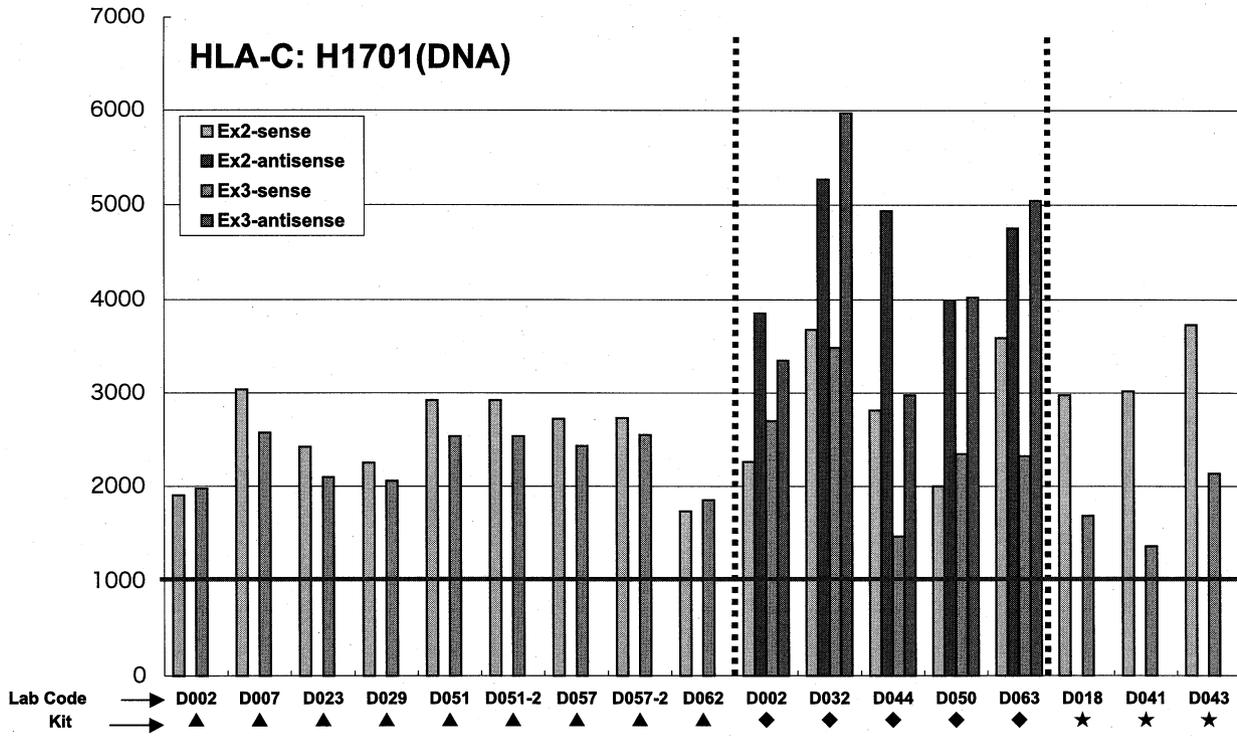


Fig. 3 Comparison of positive control intensity between institutions in HLA-C typing using specimen H1701

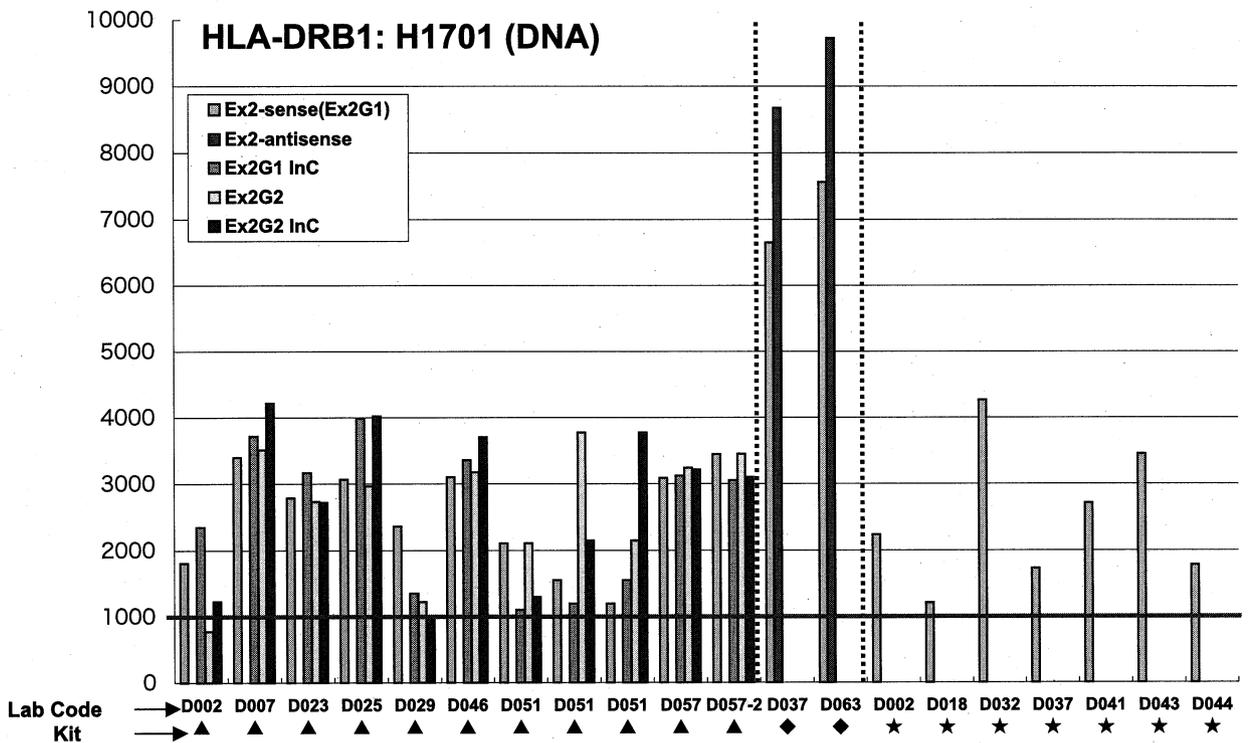


Fig. 4 Comparison of positive control intensity between institutions in HLA-DR typing using specimen H1701

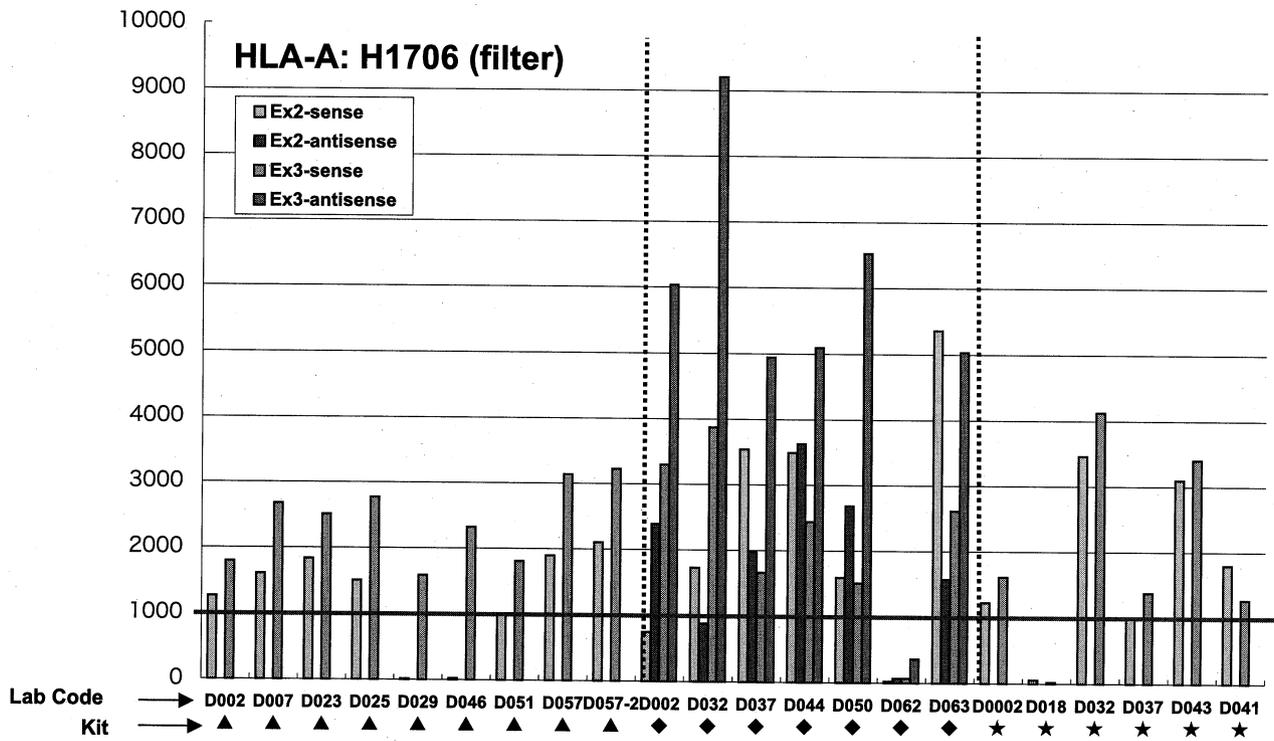


Fig. 5 Comparison of positive control intensity between institutions in HLA-A typing using specimen H1706

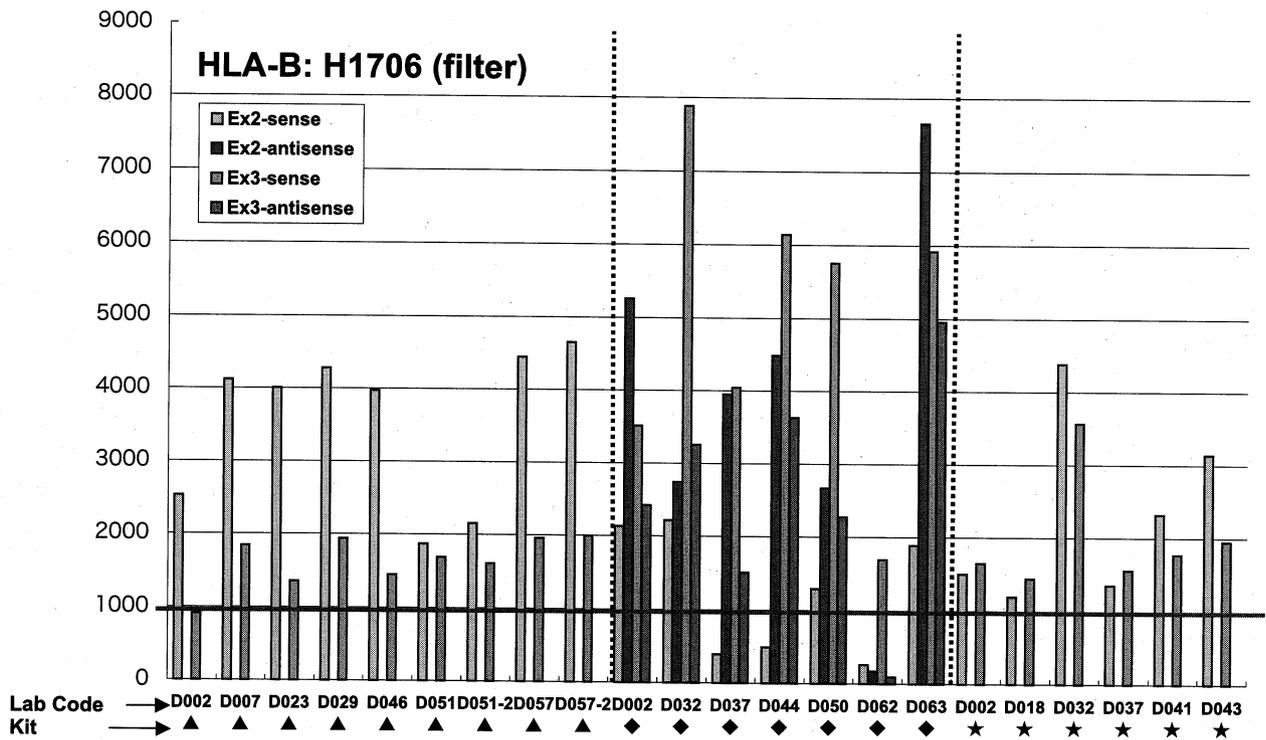


Fig. 6 Comparison of positive control intensity between institutions in HLA-B typing using specimen H1706

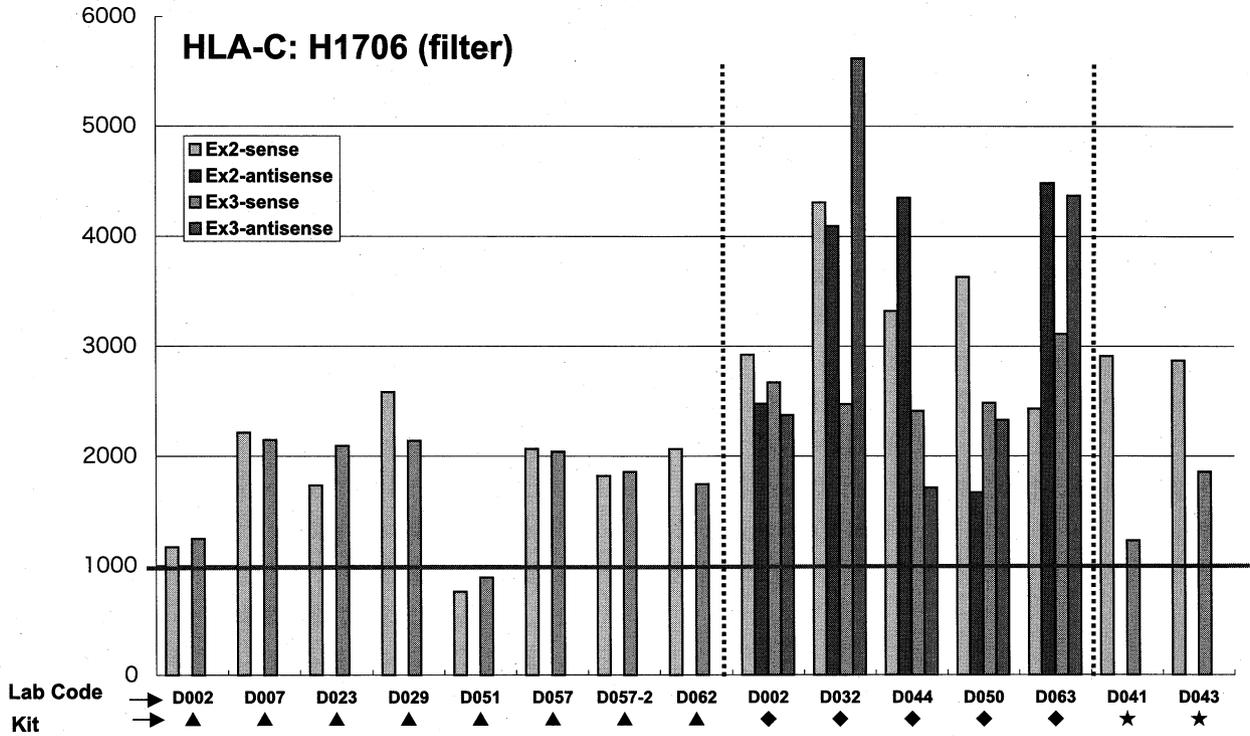


Fig. 7 Comparison of positive control intensity between institutions in HLA-C typing using specimen H1706

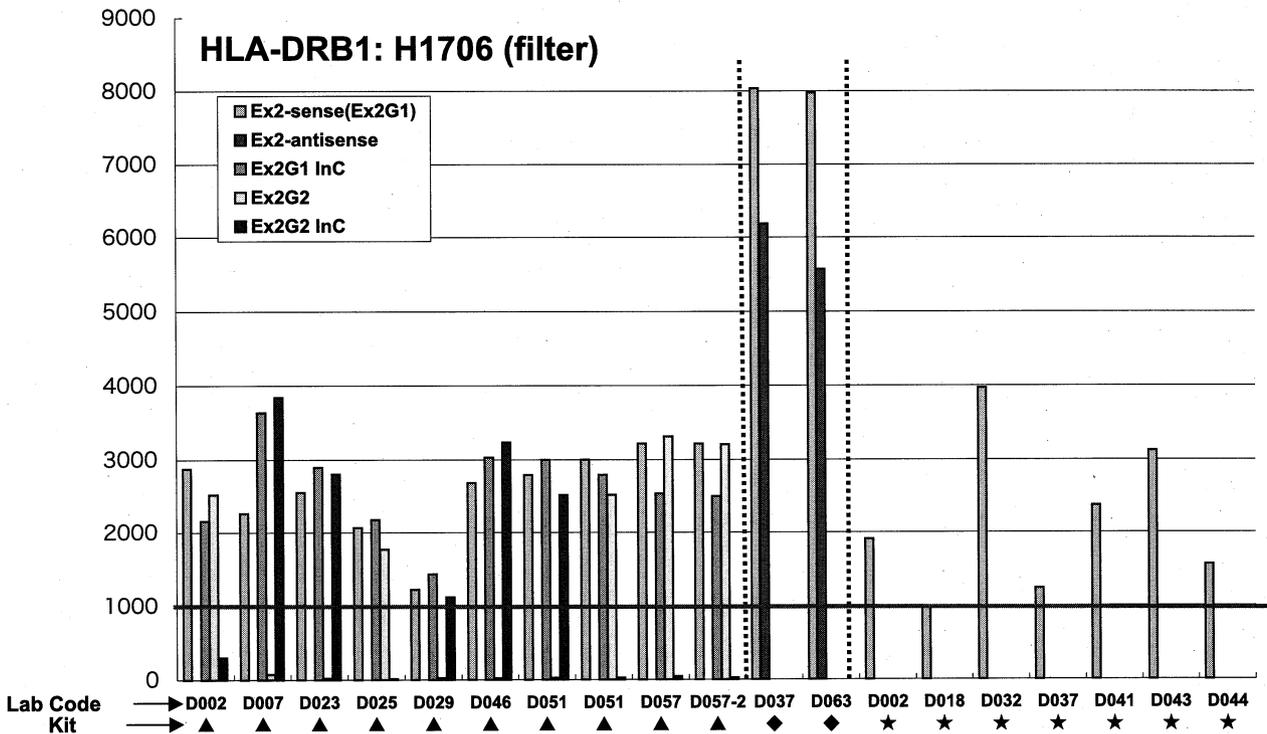


Fig. 8 Comparison of positive control intensity between institutions in HLA-DRB1 typing using specimen H1706

ほとんどなくテンプレートによる増幅効率の違いは見られなかった。

3.2 HLA-class II 陽性コントロールについて

▲ kit は group specific な増幅をおこなっているため、exon 2 で 4 つの陽性コントロールが設定されている。◆ kit は exon 2 に sense と antisense の陽性コントロールが設定されている。★ kit は exon 2 に 1 つの陽性コントロールが設定されている。Figure では便宜上 exon 2 の sense 側のコントロールとして記載している。HLA-DRB1 についても HLA-class I と同様、テンプレートの差 (DNA 対 filter) による極端な増幅効率の差はほとんど見られなかった。陽性コントロールについて、すべての sample についてのデータがワークショップデータ CD に記載している。

4. タイピング用 probe の評価

多種類の probe を用いるタイピングでは、できる限り多くの probe が同一のハイブリダイゼーション条件で陰性・陽性の区別が明瞭なことが望まれる。Probe ごとに独自の cut off 値が設定されているが、sample ごとに増幅効率・反応性の違いなどにより、cut off 値の変更を余儀なくされる場合もある。Probe の評価方法として、使用する probe が陰性と判定される蛍光値の最大値と陽性と判定される蛍光値の最小値の比 (P/N 比) による評価をおこなった。P/N 比が大きい probe ほど反応性が明瞭な安定した良い probe である。Kit 別、locus 別、施設別に P/N 比を計算し、比較した。さらに Kit 別に全使用施設のデータによる P/N 比をもとめ、総合評価をおこなった。P/N 比の計算式を示す。

$$\text{P/N 比} = \frac{\text{生データの中で陽性と判定されたデータの最小値}}{\text{生データの中で陰性と判定されたデータの最大値}}$$

各 kit に使用されているすべての probe が評価対象となるのではなく、今回の QC sample で陽性反応と陰性反応を示した probe のみが評価対象となる。また kit による lot 差により使用される probe が異なる probe は評価対象から除外した。P/N 比を次の 3 種類に分類した。

P/N = < 1

P/N = 1-5

P/N = > 5

1. のカテゴリーに属する probe は、増幅効率の違いや反応性の違いにより、ある sample では陰性と判定される蛍光値が別の sample では、それ以下の値でも陽性と判定される場合がある probe を意味し、判定には要注意を要する probe である。
2. のカテゴリーに属する probe は陰性と判定される蛍光値が陽性と判定される値より常に小さく、陽性 probe は最大陰性値の 5 倍強い蛍光値を示す。
3. のカテゴリーに属する probe は反応性も安定し、判定が容易な優れた probe である。

施設別 P/N 比の評価

HLA-class I kit に使用されている probe について、施設ごとに評価した場合、カテゴリー 1 に属する probe はほとんどなく良好な結果であった。HLA-class II kit では ▲ kit 使用施設の半数にカテゴリー 1 と評価される probe が少数みられた。施設間差による可能性がある (Fig. 9-12)。

P/N 比の総合評価

HLA-class I と II typing kit を各 kit 別に使用総施設データをもとに P/N 比を解析し比較した結果 (Fig. 13)、カテゴリー 1 の probe を含まない優秀な kit を以下に示す。

A locus kit: ★ kit

B locus kit: ◆ kit

C locus kit: ◆ kit と ▲ kit

DR locus kit: ◆ kit と ▲ kit

DQ locus kit: ★ kit

各カテゴリーの probe が各 kit に含まれるパーセントを Fig. 14 に示す。

5. まとめ

Luminex 法を用いる施設の増加に伴い、同一のテンプレートによる多施設の生データを比較検討することが可能となった。自施設と他施設のデータを比較検討し、各施設が独自で検査環境の精度管理がおこなえるばかりでなく、kit メーカーに、より良い kit 作成に向けての改良点の提起をも可能とした。

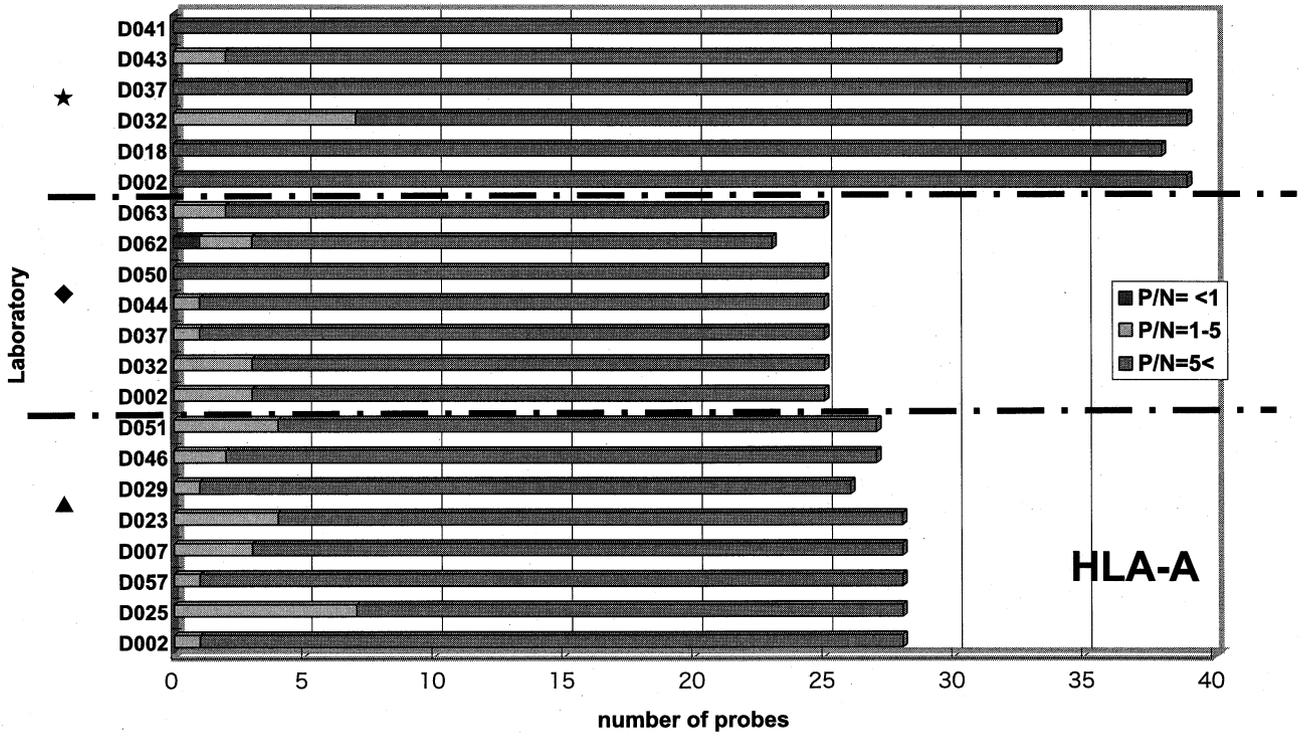


Fig. 9 The number of probes classified into three categories of P/N ratio in HLA-A typing Kits

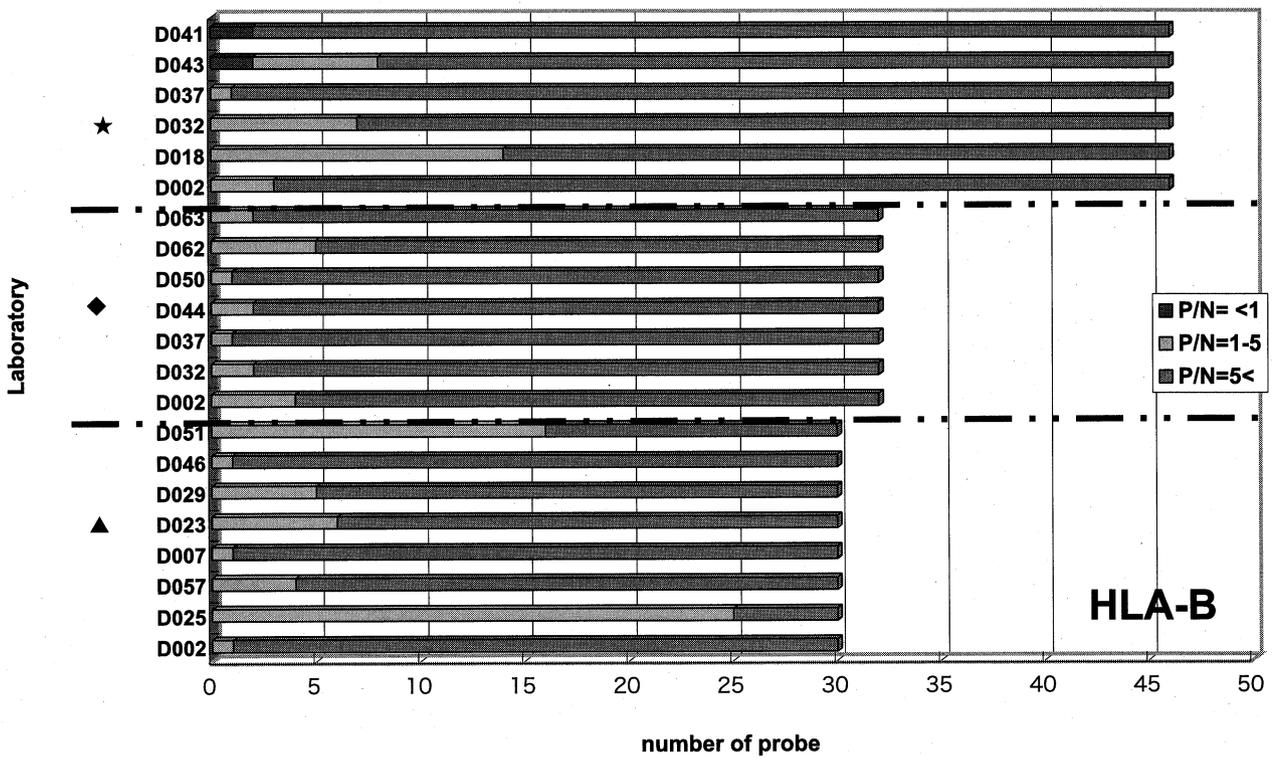


Fig. 10 The number of probes classified into three categories of P/N ratio in HLA-B typing Kits

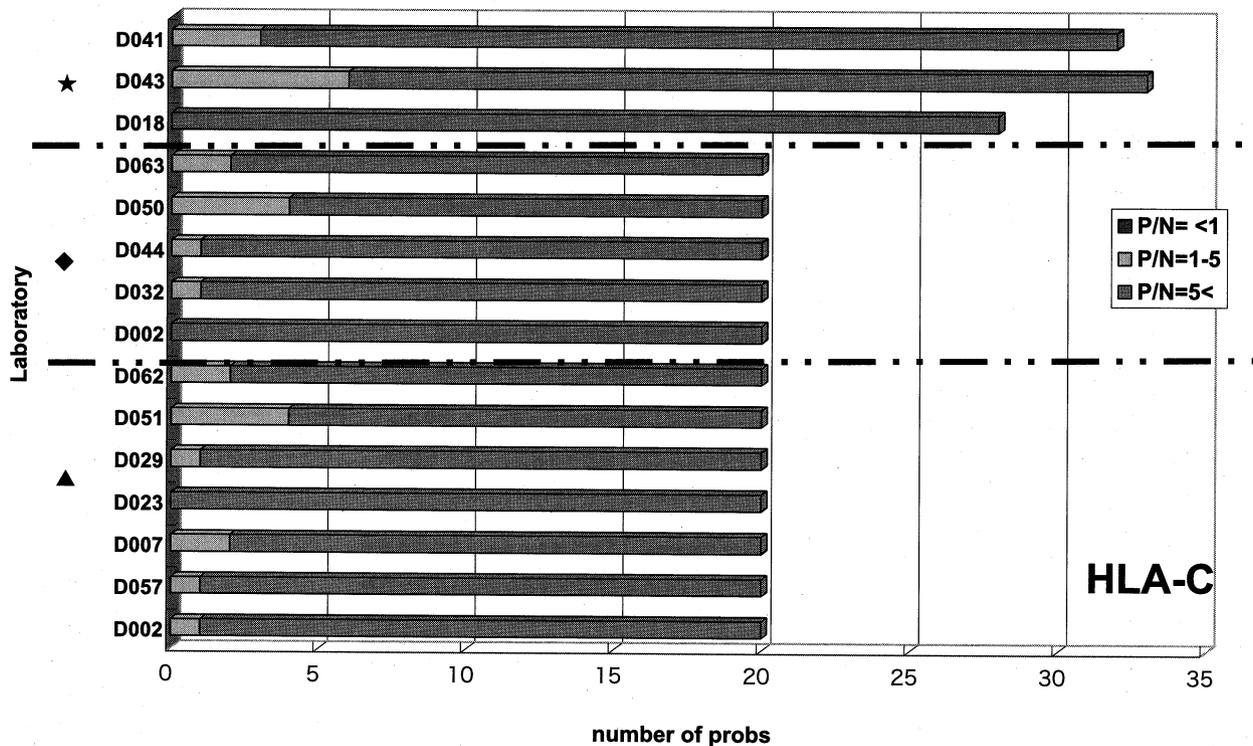


Fig. 11 The number of probes classified into three categories of P/N ratio in HLA-C typing Kits

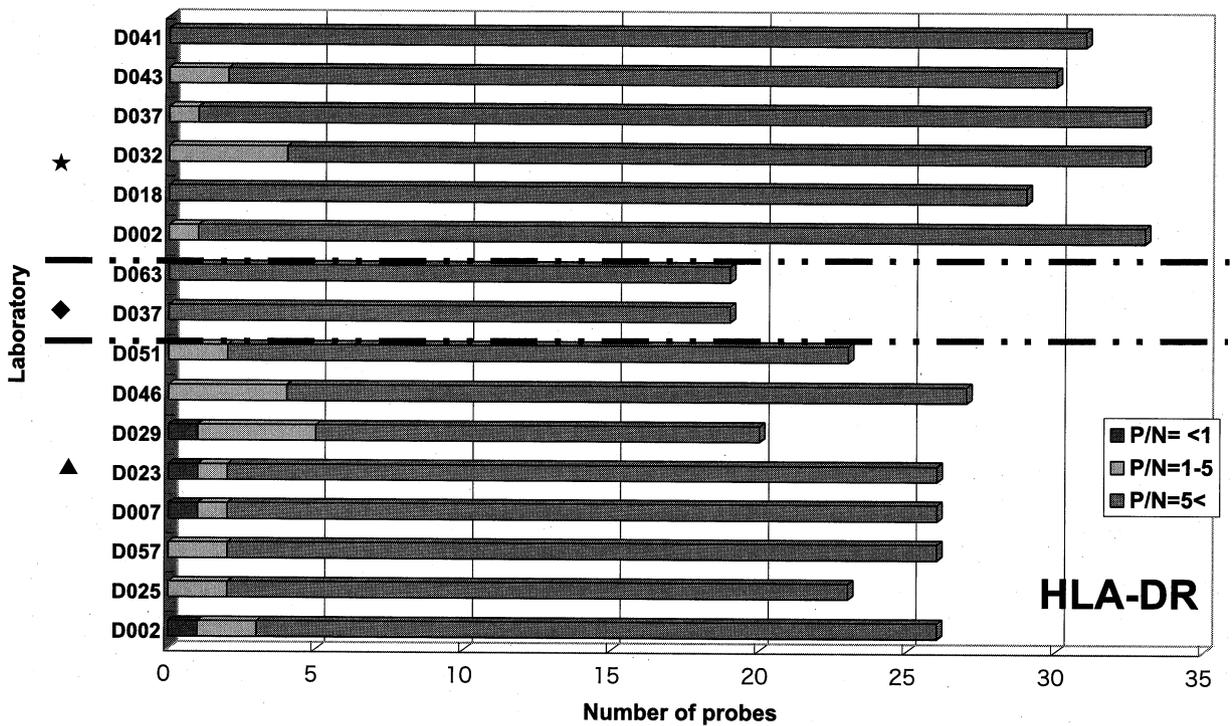


Fig. 12 The number of probes classified into three categories of P/N ratio in HLA-DR typing Kits

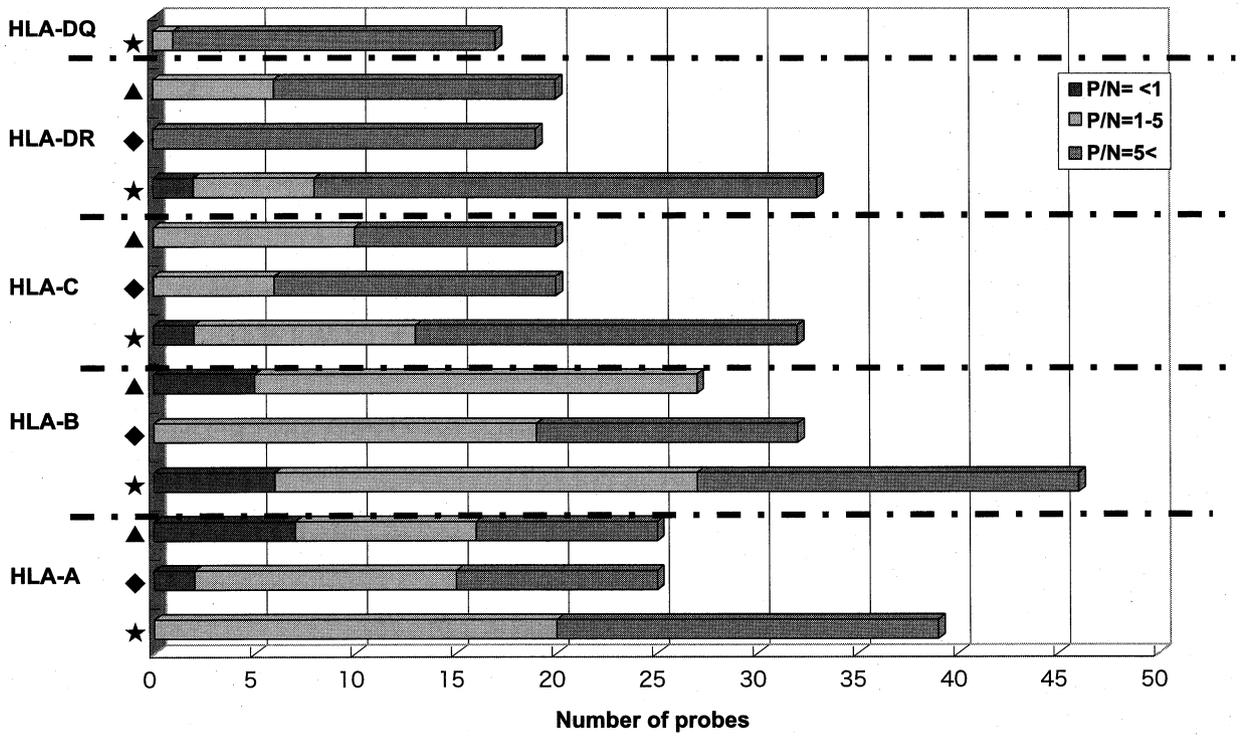


Fig. 13 The number of probes classified into three categories of P/N ratio in HLA-Typing Kits

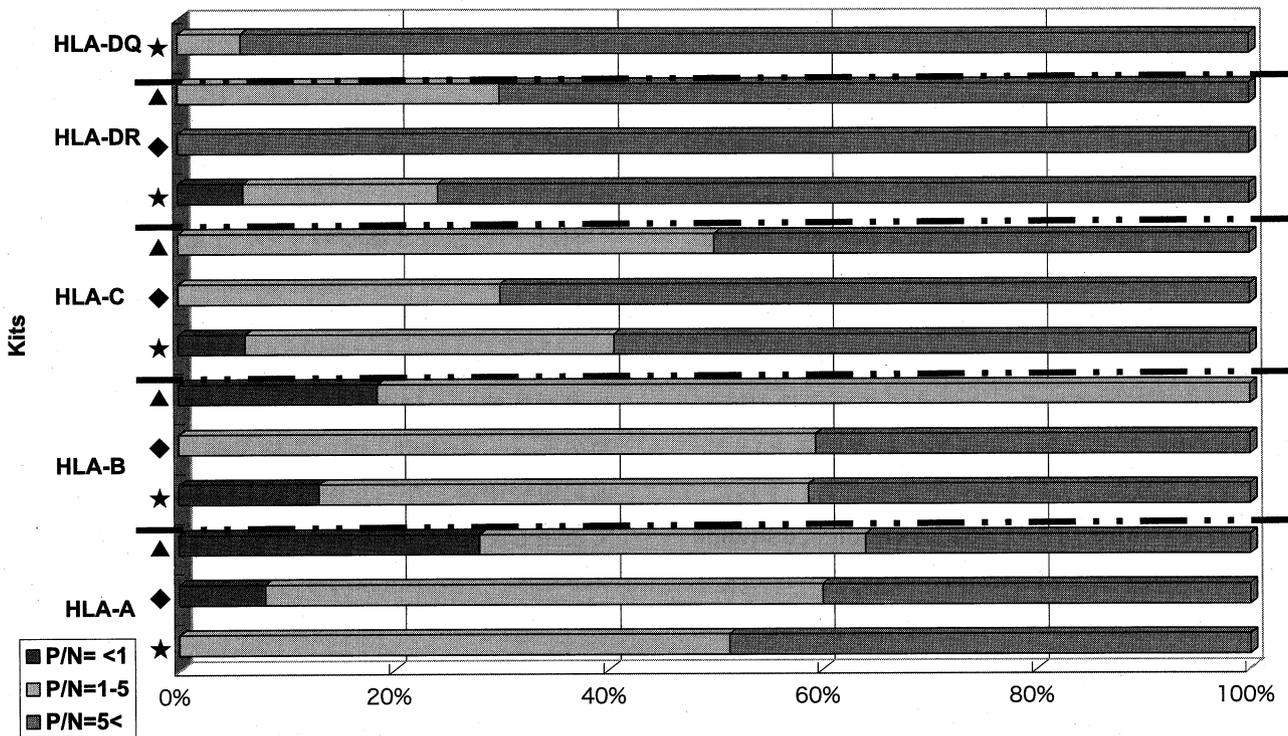


Fig. 14 Percentage of probes classified into three categories of P/N ratio in each Kit

第9回 HLA-QC ワークショップレポート —方法論別検討 SBT, RFLP, SSCP—

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

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

1. はじめに

本項ではその他の方法として, SBT (Sequencing based typing), RFLP (restriction fragment length polymorphisms), SSCP (single strand conformation polymorphisms) の各方法での結果について述べる。それぞれの方法論については既に前回までのワークショップレポート等に述べられているのでそれらを参照願いたい。

2. 参加施設・方法の採用状況

今回のワークショップで回答が寄せられた解析方法の内訳を表1に示した。(各方法をクラス I, クラス II に分けて記載した。) SBT 法ではクラス I, II を共に採用している施設がほとんどであったが, RFLP, SSCP 法ではほとんどの施設でクラス II のみの採用となっていた。これは, RFLP 法や SSCP 法が, 対立遺伝子数の多いクラス I では操作が煩雑で, 識別不能な組み合わせが多く存在するという, 効率の悪さを反映しているものと思われる。さらに, 昨年1施設が採用していた RSCA (reference strand-mediated conformation analysis) 法は, 今年度採用

の施設はなかった。

3. 方法別結果と考察

3.1 SBT 法

3.1.1 概況

SBT 法は, 結果を提出した8施設全てで DRB1 遺伝子の解析が行われていたが, その他のクラス II 遺伝子については1施設のみ解析を行っていた。逆にクラス I では A, B 遺伝子が7施設, C 遺伝子が5施設となっており, やはり対立遺伝子が多く解析が複雑なクラス I においては, SBT 法が活用されるようである。

SBT に参加の8施設のうち, 5施設は他法と併用して用いており, SSO 法 (Luminex を含む) と RFLP 法での識別不可能な組み合わせの確認や, ホモとヘテロの区別の補助としての使用も多く見られた。次に参加施設での試薬の使用状況を表2に示した。複数のキットを使用している施設が2施設あったが, 既に販売中止となったキットを保存し, 必要に応じて使用していた。これは主に各キットにより用いるプライマーのデザインが異なる, つまり標的として

表1 解析方法(単位: 施設)

SBT		RFLP		SSCP		その他	
クラスI	クラスII	クラスI	クラスII	クラスI	クラスII	クラスI	クラスII
7	8	1	5	0	2	0	0

昨年度2施設で採用されていたRSCAは0であった。

いる遺伝子の増幅領域が異なるためであり、キットの使い分けにはそうした情報を頭に入れておくことが肝要である。

3.1.2 解析結果

クラス I の A, B, C 遺伝子については、各施設からの解答は、使用したキットに依存して、(1) 6 桁表記と 4 桁表記に分かれる、(2) 識別可能な対立遺伝子が異なる、(3) 識別可能な組み合わせが異なるなどの特徴がみられたが、判定結果は全施設で一致していた。特に、他法では 4 桁での識別が難しい B*1519, B*510101 などの対立遺伝子が、SBT 法では区別が可能であった。

しかし、ろ紙サンプルである 5 番, 6 番については、十分な量の DNA が得られず、PCR での増幅が上手く行われないなどの理由により検出不能となっていた施設もみられた。

クラス II では、DRB1 遺伝子の解答において、表 3 のように判定結果に不一致が見られた。不一致の解答はラボ 8 に集中してみられ、さらに対立遺伝子

の片方を検出できていないなどの問題が見られた。この施設では自家製試薬を使用していたが、既知対立遺伝子型 DNA を用いるなどの十分な検討を行わずに QC サンプルへの使用を行ったためこのような結果となった。さらに判定は SBT のみで行っていた。今回、自家製試薬を使用している 3 施設のうち 2 施設は SBT 法単独の使用であった。ラボ 1 は自家製試薬を使用し、SBT 法のみで判定を行っていたが、解答は他施設と一致していた。

3.2 RFLP 法

RFLP 法への参加は 5 施設で、クラス I への参加はなかった。内訳は DQB1 が 4 施設, DRB1 が 2 施設, DQA1, DPB1 がそれぞれ 1 施設となっていた。これらはすべて自家製の試薬よりタイピングされていた。結果は概ね他法での結果と一致していたが、1 施設が H1702 のサンプルにおいて、DQB1*0501, 0502 が *0501, 0503 と assign していた。原因はヘテロのバンドパターンの単純な見誤りであった。この施設は RFLP 法には熟達していたが、判定の際のダブルチェックで見逃しされていた。

3.3 SSCP 法

今回の参加は 2 施設のみであったが、うち 1 施設は DRB1, DRB3/4/5, DQB1, DPB1 遺伝子について実施されていた。2 施設が参加した DQB1 遺伝子における施設間でのデータはよく一致しており、残りの遺伝子座についても他法の結果とよく一致していた。

4. まとめ

いずれの方法も参加施設が多くはなく、詳細な解

表 2 SBT キットの使用状況

Forensic	2
VISIBLE	1
ABI	1
DAYNAL	1
ABOTTO	4
自家製	3

(単位: 施設 ローカスごとに集計のため
施設内での重複あり)

表 3 DRB1 遺伝子タイピング解答 (SBT 法)

Lab.	QCサンプル					
	H1701	H1702	H1703	H1704	H1705	H1706
ラボ 1	1501, 1405	1502, 1001	1602, -	1104, 1201/06	1201/06, -	0101/07, -
ラボ 2	150101, 1405	150201/100101	160201, -	1104/18, 1201/02/06	1201/06, -	0101, -
ラボ 3-1	150101, 1405	150201/100101	160201, -	110401, 1201/06		
ラボ 3-2	150101, 1405	150201/100101	160201, -	1104/18, 1201/02/06	1201/06, -	0101, -
ラボ 4	1501/05, 1405/45	150201/100101	1360/ 1602	1104/06/18, 1201/02/03+	1201/06/10, -	0101/07, -
ラボ 5	150101, 140501	150201/100101	160201, -	1104/18, 1201/02	120101, -	010101, -
ラボ 6	1501/05, 1405/45	150201/100101	160201, -	1104/06/18, 1201/02/03+	1201/06/10, -	0101/07, -
ラボ 7	1501/05, 1405/45	150201/100101	1360/ 1602	1104/06/18, 1201/02/03+	1201/06/10, -	0101/07, -
ラボ 8	1501, nt	1502	1602	0301, 1306	0301, 0804	0101, -

析を行うことは難しいが、得られた結果の一致度は高かった。RFLP法、SSCP法ではクラス II 遺伝子の確認検査法としては簡便で高精度であることの裏付けではないかと考えられる。しかし、SBT法、RFLP法でみられたミスタイピングは、ともにそれ

ぞれの方法を単独で使用していたことから誤判定を避けなかったとみられることから、やはりどのような方法も、少なくとも2法を併用して判定を行うことが望ましいと思われる。

第9回 HLA-QC ワークショップレポート テーマ別データ検討報告 —HLA-A*02 および B*15 アリル群について—

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

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

1. はじめに

社会一般の国際化が進み、医療・組織適合検査の現場でも検体が日本人に限らなくなると、データを解釈して型判定する際に試料の民族的な由来を考慮する必要が生じてくることが予想される。HLA-A*02 および B*15 アリル群には、いずれも 100 を超えるアリルが登録されているが、民族によってどのアリルがどのくらいの頻度で分布しているかに違いがある。HLA-A*02 アリル群は 2 桁精度のタイピングの一致では拒絶反応を惹起する可能性があり、

表1 A*02 アリル群, B*15 アリル群を有する検体

	検体 ID	アリル
A*02 アリル群	H1702	A*0203
	H1703	A*0204
	H1704	A*0216
	H1705	A*0201
B*15 アリル群	H1701	B*1502
	H1702	B*1519

また B*15 アリル群についてはその血清対応型が複雑であることから、高精度タイピングの実施が求められる状況にあるため、今回のテーマとしてこれらのアリルを有する検体を採用し、採用する方法論の問題点とデータ解釈における問題点を検討することとした。

2. 検体

第9回 HLA-QC ワークショップでは日本組織適合性学会倫理問題検討委員会の指針に基づき、すでに学術論文に記載されているか、あるいは公的な細胞バンクから公開されている細胞株を採用し、細胞名を伏せた形で使用した。A*02 アリル群, B*15 アリル群を有する検体を表1に示す。

3. 各施設のタイピングデータ

DNA-QC ワークショップに参加した施設のうち、63 施設からの A 座, B 座の総合判定の結果を表2

表2 各施設の総合判定とタイピング方法

施設コード	A*02 アリル群				B*15 アリル群		タイピング方法	注釈
	A*02 of H1702	A*02 of H1703	A*02 of H1704	A*02 of H1705	B*15 of H1701	B*15 of H1702		
D-001	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/04/07/+	B*1502	B*1512/19	SSO	
D-002	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/04/07/+	B*1502	B*1512/19	SSO	B
D-003	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/04/07/+	B*1502	B*1501/12/19	SSO	A
D-004	A2	A2	A2	ND	B75	B62	SSP	
D-005	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/07/09/+	B*1502	B*1501/12/19	SSO	A
D-006	A*0203	A*0201/04/07/+	A*0216	A*0201/04/07/+	B*1502	B*1501/12/19	SSO	A
D-007	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/04/09/+	B*1502	B*1501/12/14/+	SSO	B
D-008	A*0203	A*0204	A*0216	A*0201	B*1502	B*1512/19	SBT	
D-009	0201/02/03/+	0201/02/03/+	0201/02/03/+	ND	B*1502	B*1512/14/19	SSP	
D-010	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/04/09/+	B*1502/88	B*1512/19	SSO	
D-011	A2	A2	A2	ND	B75	B76	SSP	
D-012	A*0203	A*0204	A*0216	A*020101	B*1502	B*1519	SBT+SSO	B
D-013	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/07/15/+	B*1502	B*1512/19	SSO	
D-014	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/07/09/+	B*1502	B*1512/19	SSO	
D-015	A*0203	A*0204	A*0201/09/11/+	A*0201/07/09/+	B*1502/13/31	B*1501/04/12/+	SSO	
D-016	A*0203	A*0201/04/07/+	A*0216	A*0201/04/07/+	B*1502	B*1512/19	SSO	
D-017	A*0203	A*0204	A*0216	A*0201/04/07/+	B*1502	B*1512/19	SSO (+SSP)	
D-018	A*0203	A*0204/17	A*0216	A2	B*1502	B*1512/19	SSO	B
D-019	A*0203	A2	A2	ND	B*1502	B*1501/04/07/+	SSP(+SSO)	
D-020	A*0203	A*0201/07	A*0201/07/18/+	A*0201/07	B*1502	B*1501	SSO	
D-021	A*0203	A*0201/07/+	A*0216	A*0201/07/+	B*1502	B*1512/19	SSO	
D-022	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/07/09/+	B*1502/88	B*1512/19	SSO	
D-023	A2	A2	A2	A2	B*1502	B*1512/19	SSP+SSO	
D-024	A2	A2	A2	ND	B*15(B75)	B*15(B76)	SSP	
D-025	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/04/09/+	B*1502	B*1501/12/14/+	SSO	B
D-026	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/07/15N/+	B*1502/88	B*1512/19	SSO	
D-028	A2	A2	A2	A2	B*15(B75)	B*15(B62)	SSO	
D-029	A*0203	A*0204	A*0216	A*020101	B*1502	B*150101	SSO	B
D-030	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/07/15/+	B*1502	B*1512/19	SSO	
D-031	A*0203	A*0204	ND	A*020101	B*1502	B*1519	SBT	
D-032	A*0203	A*0204/33/58	A*0216	A*0201/04/09/+	B*1502	B*1512/19	SSO	B
D-033	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/07/09/+	B*1502	B*1512/19	SSO	
D-034	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/04/07/+	B*1502	B*1512/19	SSO+SSP	
D-035	A2	A2	A2	ND	B*1502	B*1501/04/07/+	SSP	
D-036	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/07/09/+	B*1502/88	B*1512/19	SSO	
D-037	A2	A2	A2	A2	B*1502	B*1512/19	SSO(+SSP)	B
D-039	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/07/09/+	B*1502	B*1512/19	SSO	
D-040	A*0203	A*0204	A*0201/07/09/+	A*0201/07/09/+	B*1502/13/31	B*1501/04/12/+	SSP+SSO	
D-041	A*020301	A*0204	A*0216	A*0201/01L/04/+	B*1502	B*1519	SSO+SBT	B
D-042	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/04/07/+	B*1502	B*1512/19	SSO	
D-043	A*0203	A*0201/04	A*0216	A*0201/01L/04/+	B*1502	B*1512	SSO+SSP	B
D-044	A*0203	A*02	A*0216	A*02	B*15	B*15	SSO	B
D-045	A*0203	A*0201/04/07/+	A*0216	A*0201/04/07/+	B*1502	B*1512/19	SSO	
D-046	A*020301	A*0204	A*0216	A*020101	B*1502	B*1519	SBT+SSO	B
D-047	A2	A2	A2	ND	B75	B62	SSP	
D-048	A*02	A*02	A*02	A*02	B*1502	B*1512/14/19	SSP	
D-049	A*0203	A*0201/07/09/+	A*0216	A*0201/07/09/+	B*1502/88	B*1512/19	SSO	
D-050	A*0203	A*0204/17/58/+	A*0216	A*0201/04/09/+	B*1502/88	B*1501/12/14/+	SSO	B
D-051	*0203	*0204/17	*0216	*0204/17	B*1502	B*1501/12/14/+	SSO	B
D-052	A*020301	A*0204	A*0216	A*020101	B*1502	B*1519	SBT+SSO	
D-053	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/07/09/+	B*1502	B*1512/19	SSO	
D-054	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/04/07/+	B*1502	B*1512/19	SSO+SSP	A
D-055	A*0203	A*0204	A*0216	A*0201	B*1502	B*1512/19	SSO+SSP	
D-056	A2	A2	A2	ND	B*1502	B*1512/14/19	SSP	
D-057	A*0203	A*0204/17	A*0216	A*0201/04/09/+	B*1502	B*1501/04/12/+	SSO	B
D-058	A*02	ND	A*23	ND	B*1502	B*1501/04/07/+	SSP	
D-059	A2	A2	A2	A2	B*15(B75)	B*15(B76)	SSP	
D-060	A*02	A*02	A*02	A*02	B*15	B*15	SSO	
D-061	A2	A2	A2	ND	B*1502	B*1512/14/19	SSP	
D-062	A*020301	A*0204	A*0216	A*020101	B*1502	B*1519	SBT+SSO	B
D-063	A*0203	A*0204/17/58/+	A*0216	A*0201/04/09/+	B*1502/88	B*1501/4805/+	SSO	B
D-065	A2	A2	A2	ND	B*1502	B*1512/14/19	SSP	
D-066	A2	A2	A2	ND	B*1502	B*1512/14/19	SSP	

提出データの「総合判定」欄に記載されたDNA型（一部血清対応型）より転記した。

ND：未検。

方法的に問題があったものに薄く、判定に問題があると思われるものに濃く色づけした。

括弧（ ）内のタイピング方法は補助的に施行されたもの。

注釈 A：ラインプローブを用いたSSOで、古いversionのプローブ使用、 B：ビーズアレイによるSSO (Luminex法)。

にまとめた。

A座での2桁レベル(粗分別または血清対応型)の誤り(A*02>A*23)は、型判定の際の問題と考えられた。また、施行した方法では決定できないはずの精度までの高精度の型判定をした施設、逆に高精度の型判定可能な方法を採用しているにも拘らず2桁レベルの型判定をした施設が見受けられた。(詳細は「方法論別解析」のそれぞれの項を参照。)方法論の限界としてSSPの一般向けあるいは日本人用キット単独使用の場合には、A*02アレル群を細分化はできないものがあり、ラインプローブを用いたSSOの古いversionのものやビーズアレイを用いたSSO(いわゆるLuminex法)の一部のキットでは、B*15アレル群の中で異なる血清対応型のを区別できていない点に注意が必要である。

4. HLA-A*02 および B*15 アレル群の頻度分布

2005年7月12日付けで更新されたIMGT database (release 2.10)では、Aアレルの総登録数396のうちA*02アレル群は103アレル(A*02010101からA*0286まで)、Bアレル699のうちB*15アレル群は109アレル(B*15010101からB*9504まで)を占めている。2002年のHLA nomenclature [1]で8桁の数でアレル表記することになった際に3桁目と4桁目で、血清型を保ったままの非同義置換を100種まで命名可能にするように割り当て、それを越えた際には、A*02アレル群にはA*9201から始まる番号を、B*15アレル群にはB*9501から始まる番号を割り振るよう決められていた。2005年3月22日に、B*15アレル群の新規アレルにB*9501

表3 日本人のA*02群アレル、B*15群アレルの頻度

アレル 頻度(%)		
A*02 群	A*0201 10.71	(2n=1046)
	A*0206 8.99	
	A*0207 2.87	
	A*0210 0.76	
B*15 群	B*1501 9.37	(2n=1046)
	B*1507 0.36	
	B*1511 0.96	
	B*1518 1.72	

(文献[2]より抜粋)

が割り当てられ、2005年4月8日更新のデータベース (release 2.9) で上2桁が95でのB*15アレル群が初めて現れることとなった。

日本人集団のHLA-A*02およびB*15アレル群の頻度分布 [2] を表3に、世界諸地域での頻度分布を表4に示す。日本人で両群ともに表3に示すもの以外のアレル頻度は0.1%以下であると見込まれる。

5. HLA-A*02 および B*15 アレル群の血清型

これまでに登録されているHLA-A*02およびB*15アレル群の血清型を表5に示す(詳細は文献[3]参照)。アレル名の末尾が“N”であるものは、HLA分子が細胞表面に発現しないため血清型は「ブランク」である。

6. 結語

HLA-A*02およびB*15アレル群にはそれぞれ100種を超えるアレルが登録され、その数は今後も増加すると思われる。日本人であることを想定して型判定をすると、それぞれ4つのアレルのいずれかをアサインしてしまうことになるが、世界の各民族集団ではその頻度分布が異なっていることを念頭にいれ、タイピングデータとしてはありうるすべての可能性を包含した表記法を採用し、そのデータを解釈する際に試料の民族的な由来を考慮に入れるようにすべきと思われる。

参考文献

- [1] Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF, Bontrop RE, Dupont B, Erlich HA, Hansen JA, Mach B, Mayr WR, Parham P, Petersdorf EW, Sasazuki T, Schreuder GMTh, Strominger JL, Svejgaard A, Terasaki PI: Nomenclature for factors of the HLA system, 2002. *European Journal of Immunogenetics* (2002) 29: 463–517, *Human Immunology* (2002) 63: 1213–1268, *Tissue Antigens* (2002) 60: 407–464
- [2] 中島文明, 中村淳子, 横田敏和「日本人の4桁レベルのHLAハプロタイプ分布」MHC, 8巻1号, 2001年
- [3] Schreuder GMTh, Hurley CK, Marsh SGE, Lau

表 4 世界諸地域での HLA-A*02 および B*15 アリル群の頻度分布

HLA-A	オーストラリア		ヨーロッパ		北アメリカ		北アメリカ		東アジア		オセアニア		その他の地域		南アメリカ		東南アジア		西アジア		サハラ以南のアフリカ	
	Zn=810	Zn=3657	Zn=1084	Zn=1058	Zn=388	Zn=1089	Zn=480	Zn=5847	Zn=734	Zn=3617	Zn=810	Zn=3657	Zn=1084	Zn=1058	Zn=388	Zn=1089	Zn=480	Zn=5847	Zn=734	Zn=3617	Zn=810	Zn=3657
A*0201	103	0.127	103	0.127	103	0.127	103	0.127	103	0.127	103	0.127	103	0.127	103	0.127	103	0.127	103	0.127	103	0.127
A*0202	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001
A*0203	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0204	42	0.011	42	0.011	42	0.011	42	0.011	42	0.011	42	0.011	42	0.011	42	0.011	42	0.011	42	0.011	42	0.011
A*0205	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001
A*0206	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001
A*0207	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0208	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001
A*0210	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001
A*0211	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002
A*0212	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001
A*0213	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002
A*0214	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002	2	0.002
A*0216	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001
A*0217	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0219	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0220	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001
A*0224	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001
A*0225	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0226	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0228	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0233	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0234	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0236	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0240	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0244	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0245	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*0246	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
A*7.1.1	810	1.000	810	1.000	810	1.000	810	1.000	810	1.000	810	1.000	810	1.000	810	1.000	810	1.000	810	1.000	810	1.000
B*1501	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004
B*1502	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001	1	0.001
B*1503	5	0.001	5	0.001	5	0.001	5	0.001	5	0.001	5	0.001	5	0.001	5	0.001	5	0.001	5	0.001	5	0.001
B*1504	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004	3	0.004
B*1505	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001
B*1506	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001
B*1507	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001	3	0.001
B*1508	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001
B*1509	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001	4	0.001
B*1510	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001	2	0.001
B*1511	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003
B*1512	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002
B*1513	86	0.106	86	0.106	86	0.106	86	0.106	86	0.106	86	0.106	86	0.106	86	0.106	86	0.106	86	0.106	86	0.106
B*1515	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
B*1516	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
B*1517	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003	11	0.003
B*1518	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002	9	0.002
B*1520	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
B*1521	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
B*1523	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
B*1524	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
B*1525	34	0.042	34	0.042	34	0.042	34	0.042	34	0.042	34	0.042	34	0.042	34	0.042	34	0.042	34	0.042	34	0.042
B*1527	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
B*1528	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
B*1529	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000	1	0.000
B*1530	1	0.000	1	0.000																		

表5 HLA-A*02 および B*15 アリル群の血清型[§] (脚注参照)

A*02アリル群					
アリル	血清型	アリル	血清型	アリル	血清型
A*02010101	2	A*022002	2	A*0255	2/28
A*02010102L	2	A*0221	2	A*0256	2
A*020102	2	A*0222	2	A*0257	2
A*020103	2	A*0224	2	A*0258	2
A*020104	2	A*0225	2	A*0259	2
A*020105	2	A*0226	2	A*0260	2
A*020106	2	A*0227	2	A*0261	2
A*020107	2	A*0228	2	A*0262	2
A*020108	2	A*0229	2	A*0263	2
A*020109	2	A*0230	2	A*0264	2
A*020110	2	A*0231	2	A*0265	unknown
A*020111	2	A*0232N	<blank>	A*0266	unknown
A*0202	2	A*0233	2	A*0267	unknown
A*020301	2	A*0234	2	A*0268	unknown
A*020302	2	A*023501	2	A*0269	unknown
A*0204	2	A*023502	2	A*0270	unknown
A*0205	2	A*0236	2	A*0271	unknown
A*020601	2	A*0237	2	A*0272	unknown
A*020602	2	A*0238	2	A*0273	unknown
A*020603	2	A*0239	2	A*027401	unknown
A*0207	2	A*0240	2	A*027402	unknown
A*0208	2	A*0241	2	A*0275	unknown
A*0209	2	A*0242	2	A*0276	unknown
A*0210	2	A*0243N	<blank>	A*0277	unknown
A*0211	2	A*0244	2	A*0278	unknown
A*0212	2	A*0245	2	A*0279	unknown
A*0213	2	A*0246	2	A*0280	unknown
A*0214	2	A*0247	2	A*0281	unknown
A*0215N	<blank>	A*0248	2	A*0282N	<blank>
A*0216	2	A*0249	2	A*0283N	<blank>
A*021701	2	A*0250	2	A*0284	unknown
A*021702	2	A*0251	2	A*0285	unknown
A*0218	2	A*0252	2	A*0286	unknown
A*0219	2	A*0253N	<blank>		
A*022001	2	A*0254	2		

B*15アリル群					
アリル	血清型	アリル	血清型	アリル	血清型
B*15010101	62	B*1530	62	B*1568	70
B*15010102N	<blank>	B*1531	62/75	B*1569	70
B*150102	62	B*1532	62	B*1570	62
B*150103	62	B*1533	62	B*1571	62
B*150104	62	B*1534	62	B*1572	70
B*150105	62	B*1535	62	B*1573	62
B*1502	75	B*1536	13/62/77	B*1574	70
B*1503	70	B*1537	70	B*1575	62
B*1504	62	B*1538	62	B*1576	15
B*1505	62	B*1539	62	B*1577	62
B*1506	62	B*1540	62	B*1578	62
B*1507	62	B*1542	62	B*1579N	<blank>
B*1508	62/75	B*1543	62	B*1580	unknown
B*1509	70	B*1544	75	B*1581	unknown
B*1510	70	B*1545	62	B*1582	unknown
B*151101	62/75	B*1546	70	B*1583	unknown
B*151102	62/75	B*1547	70	B*1584	unknown
B*1512	62/76	B*1548	62	B*1585	unknown
B*1513	77	B*1549	70	B*1586	unknown
B*1514	62/76	B*1550	62	B*1587	unknown
B*1515	62/75	B*1551	70	B*1588	unknown
B*1516	63	B*1552	70	B*1589	unknown
B*15170101	63	B*1553	70	B*1590	unknown
B*15170102	63	B*1554	70	B*1591	unknown
B*151702	63	B*1555	75	B*1592	unknown
B*1518	70	B*1556	62	B*1593	unknown
B*1519	62/76	B*1557	62	B*1594N	<blank>
B*1520	62	B*1558	62	B*1595	unknown
B*1521	75	B*1560	62	B*1596	unknown
B*1523	70	B*1561	70	B*1597	unknown
B*1524	62	B*1562	70	B*1598	unknown
B*1525	62	B*1563	62	B*1599	unknown
B*1526N	<blank>	B*1564	70	B*9501	unknown
B*1527	62	B*1565	62	B*9502	unknown
B*1528	62	B*1566	62	B*9503	unknown
B*1529	70	B*1567	63	B*9504	unknown

(IMGTおよびNMDPのデータベースより抜粋)

§アリルとその血清対応型の対応表ではなく、これらのアリルが実際に血清学でどうアサインされているかを示す。たとえばB*1519の血清対応型はB76であるが、B*1519を有する細胞の血清学ではB62とアサインされたものとB76とアサインされたものがあることを示す。(62/75)

M, Fernandez-Vina M, Noreen HJ, Setterholm M, Maiers M: The HLA dictionary 2004: a summary of HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5 and -DQB1 alleles and their association with serologically defined HLA-A, -B, -C, -DR and -DQ

antigens. Tissue Antigens (2005) 65: 1–55, Human Immunology (2005) 66: 170–210, International Journal of Immunogenetics (2005) 32: 19–69

第9回 HLA-QC ワークショップレポート —テーマ別検討(濾紙付着細胞について)—

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

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

1. はじめに

3年継続して濾紙に添付したサンプルからの HLA-DNA タイピングを行い, QCWS に参加した各ラボのタイピング結果をもとに HLA タイピング用試料としての妥当性と有用性について検討した。本年度は, 細胞添付・輸送用には昨年度使用したものと異なり, Whatman 社製の FTA カードを用いた。このカードに細胞を直接添付すると, 細胞が破壊され, DNA がカード上に固定される。さらに, 長年室温保存した DNA 固定カードからでも直接ゲノム DNA を PCR で増幅可能であることが報告されている。今回は, この FTA カードに 1.5×10^4 個 / spot の細胞を添付したサンプルからの HLA-DNA タイピング結果を解析した。

2. 検査試料・DNA 抽出法

参加施設には, FTA® カードに細胞を 2 spots (1.5×10^4 個 / spot) 添付した 2 種類の試料 (H1705 と H1706) を配付した。H1705 には HLA タイプが A*0201,- Cw*0701,- B*1801,- DRB1*1201,- の細

胞を, H1706 には HLA タイプが A*2402,- Cw*0702,- B*0702,- DRB1*0101,- の細胞がスポットされている。

DNA 抽出は QCWS 担当部会で推奨した標準プロトコル(表 1)に従って行うことを依頼し, タイピングの手技は参加施設で行われている方法に従った。

3. 結果と考察

3.1 判定に参加した施設数と判定一致率

3.1.1 サンプル H1705

サンプル H1705 に参加した検査室と検査結果の適合率を表 2 に示した。今回 DNA タイピング QCWS に参加した施設は 65 施設であったが, その中で本テーマに検査結果を提出した施設数は, タイピングした遺伝子座により異なっており, 最も多くの検査結果を提出したローカスは DRB1 で 52 施設 (80%), つづいて A, B ローカスで 51 施設 (78%) であった。提出された検査結果は各施設がルーチン検査に行っている項目を反映していると考えられる。また提出

表1 FTA カードからの DNA 抽出法

1. 円の内部 (濾紙表面のピンク色が白色化したところ) から、清潔なカッター(1mm²) またはパンチ(φ1.2mm)で切り取り、滅菌した容器 (1.5mlチューブ) に入れる。
2. チューブに200 μlの洗浄液 (TE_{0.1}緩衝液) を加え、軽く混合し、5分間静置後、洗浄液を除去する。
3. (2) の操作を更に4回繰り返す。
4. 切り抜いたカード片を乾いた濾紙またはキムワイブ上に移し、水分を取り除く。
5. 水分を除去したカード片をPCR増幅反応溶液に入れ、PCRを行う。
TE_{0.1}緩衝液 (10mM TrisHCl, 0.1mMEDTANa₂, pH8.0)

表2 検査結果提出施設数と一致率 (H1705)

遺伝子座	結果提出施設数		コンセンサス 遺伝子型	Low/Medium		High		総合一致率(%)
	N=65	(%)		使用数 (%)	一致率 (%)	使用数 (%)	一致率 (%)	
HLA-A	51	78	*0201	43/51 (84)	41/43 (95)	8/51 (16)	8/8 (100)	49/51 (96)
HLA-B	51	78	*1801	45/51 (88)	45/45 (100)	6/51 (12)	6/6 (100)	51/51 (100)
HLA-C	25	38	*0701	24/25 (96)	24/24(100)	1/24 (4)	1/1(100)	25/25 (100)
HLA-DRB1	52	80	*1201	44/52 (85)	38/44 (86)	8/52 (15)	8/8 (100)	46/52 (88)
HLA-DRB3/4/5	20	31	B3*0202	15/20 (75)	15/15 (100)	5/20(25)	5/5(100)	20/20 (100)
HLA-DQA1	3	5		2/3 (67)		1/3 (33)		
HLA-DQB1	15	23	*0301	11/15 (73)	11/11 (100)	4/15 (27)	4/4 (100)	15/15 (100)
HLA-DPB1	1	2				1/1 (100)		

されたタイピング結果のコンセンサス遺伝子型との一致率は high resolution level で 100% であり, low / medium レベルでは A (95%), DRB1 (86%) を除いていずれも 100% と高い一致率を示した。これは、今回のサンプルが HLA ホモ接合体であることが判定結果の一致率を高めたと考えられる。

3.1.2 サンプル H1706

サンプル H1706 も各座 1 抗原を表現するホモ接合体の細胞をカードに添付したものである。サンプル H1705 で示された結果と同様、本サンプルの各施設からの判定結果はコンセンサス遺伝子型とずれも高い一致率 (100%, 但し DRB1 は 96%) を示した (表3)。また、本サンプルの結果提出施設は、H1705 サンプルの結果提出施設数とほとんど同数であった。これは、各参加施設において検査した遺伝子座が、両サンプルに共通していたことによるのであろう。

3.2 タイピングに用いた検査方法と施設数

全血以外からの DNA 試料で、しかも微量な DNA から HLA-DNA タイピングを施行するには検査法の

選択が必要とされる。DNA サンプルの長期保存が可能で、他施設への輸送も可能と報告されている市販の FTA® カードに添付した H1705, H1706 サンプルのタイピングに各施設で用いた方法の結果を表4に示した。尚、本 QCWS で行われた他の 4 サンプル (H1701~H1704) はいずれも DNA 溶液 (50 ng/ml) でタイピングをしている。表に示されるように、H1705, H1706 サンプルのタイピングには、SSO 法を基準にしたタイピング法が最も多くの施設で用いられている (90% 以上)。SSP 法を用いた施設は数施設 (6% 以下) であった。一方、全サンプル (H1701~H1706) では、SSO 法を用いて検査している施設が最も多かったが (75%), SSP 法を使用した施設も相当数見られた (25%)。この結果は、多くの施設でルーチン検査に用いられている簡便な SSP 法は、微量試料からの HLA-DNA タイピングには適法でないことや検査不可能で結果を提出していないことが原因と考えられる。

HLA-DNA タイピングを SSP 法で行うには、一般に充分かつ良質な DNA が必要とするが、今回の

表 3 検査結果提出施設数と一致率 (H1706)

遺伝子座	結果提出施設数		コンセンサス 遺伝子型	Low/Medium		High		総合一致率(%)
	N=65	(%)		使用数 (%)	一致率 (%)	使用数 (%)	一致率 (%)	
HLA-A	50	77	*2402	44/50 (88)	44/44 (100)	6/50 (12)	6/6 (100)	50/50 (100)
HLA-B	49	75	*0702	42/49 (86)	42/42 (100)	7/49 (14)	7/7 (100)	49/49 (100)
HLA-C	24	37	*0702	19/24 (79)	19/19 (100)	5/24 (21)	5/5 (100)	24/24 (100)
HLA-DRB1	52	80	*0101	39/52 (75)	37/39 (95)	13/52 (25)	13/13 (100)	50/52 (96)
HLA-DQA1	3	5		3/3 (100)				
HLA-DQB1	15	23	*0501	2/15 (13)	2/2 (100)	13/15 (87)	13/13 (100)	15/15 (100)
HLA-DPB1	1	2				1/1 (100)		

表 4 検査報告数と検査方法

検査方法	報告数						
	A locus		B locus		DRB1 locus		H1701~H1706
	H1705	H1706	H1705	H1706	H1705	H1706	
SSO	47	46	47	46	47	47	49
SBT	6	6	6	5	7	7	8
SSP	3	3	3	3	4	4	27
RFLP					3	3	5
SSCP					2	2	2
	(n=51)	(n=50)	(n=51)	(n=49)	(n=52)	(n=52)	(n=65)

ワークショップでは SSP 法を用いて 4 ローカス (A, Cw, B, DRB1) のタイピングを正確に報告している施設が見られた。その施設は、最初に FTA カードから抽出した whole DNA について GenomiPhi DNA Amplification Kit (Amersham Biosciences Co.) を用いて遺伝子増幅を行い、その増幅産物を SSP 法でタイピングしていた。この Phi29 DNA polymerase を用いた whole genome DNA 増幅キットは医学分野では広く使われており (1-3), HLA-DNA タイピングにおいても、その有用性について本 QVWS でも検討する必要があると考えられる。

4. まとめ

今回の QCWS で行った血液以外の微量試料 (FTA カードに附着した細胞) からの HLA-DNA タイピング結果は、高い正解率を示し参加施設の検査技術の良さが伺われた。さらに、データの解析結果から、今回用いたカードからの DNA 抽出や、サンプル輸送について大きな問題は認められなかったことから、

血液輸送が困難であっても今回用いた手法で HLA タイピングが可能であることが示唆された。

参考文献

- 1) Lage JM, Leamon JH, Pejovic T, et al.: Whole genome analysis of genetic alterations in small DNA samples using hyperbranched strand displacement amplification and array-CGH. *Genome Res*, 13(2): 294-307, 2003.
- 2) Rook MS, Delach SM, Deyneko G, et al.: Whole genome amplification of DNA from laser capture-microdissected tissue for high-throughput single nucleotide polymorphism and short tandem repeat genotyping. *Am J Pathol*, 164(1): 23-33, 2004.
- 3) Gunderson KL, Steemers FJ, Mendoza LG, et al.: A genome-wide scalable SNP genotyping assay using microarray technology. *Nature Genet*, 37(5): 549-554, 2005.

第9回 HLA-QC ワークショップレポート —抗体部門報告—

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

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

1. はじめに

今日の HLA 抗体検査は従来法 (LCT 法) と市販試薬として入手可能な各種方法が混在する。また、血小板抗体関連の試薬でも HLA 特異性は検出可能である。さらに、クロスマッチを行った場合は使用した細胞特有の因子も考慮する必要が生じるなど、それぞれの手法でデータが持つ意味をどのように解釈するかが重要である。輸血・移植・妊娠などで産生された HLA 抗体は、時間の経過とともに簡単に变化する。したがって、抗体検査がひとりの対象者に複数回におよぶこともタイピング検査と大きく異なる点として認識しなければならない。

このような状況に加え、医療業務の要求として輸血関連では適合が目的であり、移植関連では患者抗体の監視が目的でありと施設により様々である。方法論もクロスマッチを主体とするか、PRA (Panel-reactive antibody) 検査を強化して行うか、あるいは双方を必要とするかこれもまた様々である。

以上のことから、それぞれ施設によってゴールとするところが異なるが、方法論や施設間でその整合性を欠いてはならない。特に現在は LCT 法から高感度な各種方法に移行する時期にあり、誤った解釈・判断で進まぬよう十分に検証する必要がある。よってここに抗体 QC ワークショップを実施する意義が存在すると思われる。

2. 企画と実施内容

2.1 目的

HLA 抗体検査の理解と普及。

同一検査法の結果を比較し、検査レベルを比較できるようにする。

異なる検査法の判定結果を同一手法で比較・解析できるようにする。

これらの目的達成の手段として①できるだけ生データを集める。②測定結果をスコア表記で統一する。③判定結果(特異性)は、対応抗原ごとにスコアで表記する。といったことを考え、統一形式のデータファイル収集と判定スコア化を図った。

2.2 サンプルの選択と配布

使用するサンプルは倫理審査で問題が生じないよう市販のヒト由来 HLA 抗血清を用いた。取扱い業者から 24 本の試用品を少量譲り受け LCT 法のプレスクリーニングで 6 本を選択し、これらを必要量購入し原液のまま各施設に 0.5 ml ずつ配布した。参加施設においてはサンプルの受領書とこれの取扱いに関する誓約書の返送を義務付けた。

これら 6 本の選択基準は以下のとおりで、別表に内容を示す。(表 1)

LCT 法で単一特異性の抗体 (SH1701, SH1702, SH1703)

IgM 抗体特異性が期待できるもの (SH1702)

LCT 法で特異性不明な抗体 (SH1704)

類似した抗原エピトープの認識が推測される抗体 (SH1705, SH1706)

DNA 部門との連携において DNA サンプルとの反応が期待できる抗体 (SH1701, SH1705)

2.3 データ収集方法

Microsoft Excelで統一形式の検査方法別入力シートを以下の内容で配布し回収した。これに加え FlowPRA はヒストグラムなどの画像データファイル, LABScreen は測定機器のアウトプットファイルを別途提出。

提示した基準にしたがって方法別に測定値スコアを入力する。(表2)

方法によっては2次抗体, 試薬ロット, 使用機器などを記入。

判定結果として各検査方法別判定と施設の総合判定を入力する。

検査方法間の比較を見やすくするため, 指定した抗原リストファイルに判定スコアとして陽性(8, 6),

保留(4), 陰性(1), 未実施(0)に分けて入力する。(表3)

3. 解析結果

3.1 参加施設の検査方法別内わけ

参加申込みは48施設で, 内訳は血液センター: 18, 大学: 12, 病院: 11, 企業: 6, 他: 1であるが, データを提出したのは44施設であった。

参加施設別に検査方法, パネル形態, HLA クラス, 2次抗体の種類などを集計した。パネル形態は Screening (HLA 抗体検出に必要な抗原を混合したスクリーニング用パネル), Specific (HLA 特異性同定用の細胞単位のパネル), Single antigen (HLA 特異性同定用単一抗原パネル)に分かれる。44施設が22種類の方法で検査し, 全体で176系統の反応データが回収できた。

検査方法1種類は21施設, 2~3種類は20施設, 4種類以上は3施設であった。各施設の採用は主に LCT法, LAT, FlowPRA, LABScreenですみわけ

表1 配布したQCサンプル(全てヒト由来 HLA 抗血清)

抗体QC-ID	LCT法力価	LCT法特異性	備 考
SH1701	x1	A2 A203 A210	x2→A2のみ
SH1702	x1-2	B8	
SH1703	x1	B57 B58	
SH1704	-	(-)	FowPRA Scr. class I (+)/II (+)
SH1705	x1-16	B7 B48 B60 B81	
SH1706	x1	B13 B60 B61	

上記6本をこのQC IDで原液のまま0.5ml ずつ配布

表2 測定値スコアの方法別一覧表(基準)

スコア	判定	LCT AHG-	MPHA	PAK PLUS	LAT (機器)	LAT (目視)	Flow PRA	LAB Screen
8	強陽性	80%	++	+	80%	+	80%	20
6	陽性	40%	+		50%		50%	10
4	弱陽性	20%		±	W	20%	W	20%
2	疑陽性	10%	-		-	10%	-	10%
1	陰性	0%		-		0%		0%
0	未検査	NT	NT	NT	NT	NT	NT	NT

(NBGRatio)

表3 判定スコアの基準

判定スコア	判定	スコア化の基準
8	強陽性	確実にその抗原との反応が陽性的の場合
6	弱陽性	
4	保留	判定が確定できない場合*
1	陰性	確実にその抗原との反応が陰性的の場合
0	未検査	検査に使ったパネルにない抗原

*他の抗体特異性などで反応が隠れてしまうような場合

表4 参加施設の検査方法別一覧

検査方法	抗原形態	パネル形態	測定方法	クラスI					クラスII					備考		
				施設数	パネル数	総数	A	B	Cw	施設数	パネル数	総数	DR		DRs	DQ
LCT	リンパ球	Specific	目視, 数値	17	7-58	545	19	43	15	4	7-26	50	12	3	7	含Cell Tray, クロス2施設
AHG-LCT		Specific		14	6-55	90	12	30	11	1	16	16	9	3	2	
MPHA	血小板抽出抗原	Screening	目視	G6	3	-	3	6	4	×					自家製1施設, パネル重複あり	
		Specific		M1/G8	3-18	84	7	16	7	×						
PAKPLUS	血小板糖蛋白	Screening	数値	M1/G4	1	-	-	-	-	×					GMミックスあり	
LAT	培養リンパ球精製抗原	Screening	目視, 数値	*G4	46	-	21	43	15	*G4	33	-	15	3	7	パネル総数は同一 キットで重複あり
		Specific		*G4	28-56	256	21	43	15	*G4	12-36	88	15	3	7	
		Single antigen		G1	88		20	43	0	×						
FlowPRA	培養リンパ球精製抗原	Screening	パターン	M6/G20	29	-	20	42	14	M4/G15	30	-	15	3	7	↑
		Specific		M1/G2	32	20	40	14	M1/G1	32	15	3	7			
		Single antigen		G3	32-56	184	15	40	0	G3	32-36	136	15	3	7	
LABScreen	培養リンパ球精製抗原	Screening	数値	*M1/G7	35	-	21	39	15	*M1/G7	24	-	15	3	7	↑
		Specific		*M2/G9	55	20	42	14	*M2/G9	35	315	15	3	7		
		Single antigen		M1/G6	78-80	968	21	43	0	×						
LIFT	リンパ球	Specific	パターン	G2	10-39	49	7	23	10	×					クロス1施設	

M: 2次抗体IgM, G: 2次抗体IgG (数字: データ提出施設数, ×: データなし, *: クラスI/II 同時検査)

されている傾向があった。

Screening では FlowPRA が最も多くの施設で使用されていた。一方, Specific, Single antigen の同定用パネルは LABScreen の方が多い。これらはパネル総数でも LCT 法の数を超えている。また, 血小板抗体試薬は輸血関連施設で使用され, 自家製パネルを使用する施設はクロスマッチの必要性があるものと推測される。(表4)

3.2 HLA 抗体の検出(有無)

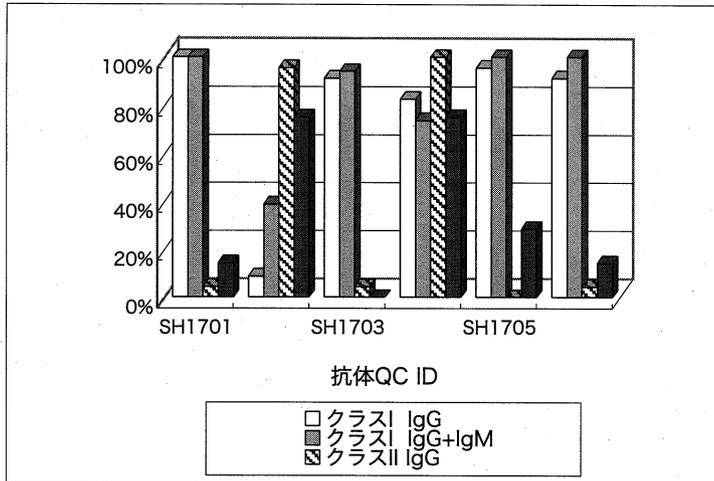
3.2.1 総合判定による抗体検出率

ここでは, 抗体が検出できたか否かを解析した。総合判定の抗体検出率を施設単位でサンプル別・HLA クラス別・2次抗体別にまとめた。全体像を観察するため LCT 法の結果は IgG + IgM に加えてある。クラス I では SH1702 が IgG でほとんど検出されていない。また, クラス II は SH1702 と 1704 で

検出されている。(グラフ1)

3.2.2 検査方法別の抗体検出率

次に, 検査方法別の抗体検出率をみると, クラス I では LCT 法で SH1702-1704 の検出率が低い。FlowPRA と LABScreen はほぼ 100% の検出率であるが, LAT がこれよりやや低い。MPHA 法, PAKPLUS, LIFT 法はほぼ同等の検出率であるが, PAKPLUS で SH1704 が検出できていない点は混合された抗原種類の問題あるいは感度が疑われる。SH1702 は IgM 抗体と推測され 2次抗体に IgG を使用する方法が多いことが影響して全体的に低い。同じ検体において LCT 法もパネル内容が不十分で検出率が低い。クラス II では, SH1702 と 1704 は FlowPRA と LABScreen で 100% 検出できている。おなじく LCT 法はほとんどのサンプルで中途半端な検出に留まり, クラス I 特異性が未吸収の反応と非特異反応の双方でこのような結果になっている可



グラフ1 抗体検出率(総合判定)

HLAクラス +2次抗体	クラスI IgG	クラスI IgG+IgM	クラスII IgG	クラスII IgG+IgM
SH1701	100%	100%	4%	14%
SH1702	9%	39%	96%	75%
SH1703	91%	94%	4%	0%
SH1704	83%	74%	100%	75%
SH1705	96%	100%	0%	29%
SH1706	91%	100%	4%	14%
施設数	23	21	23	8

能性がある。

この分野の検査で抗体特異性は別として抗体そのものが検出できるかできないかは最も重要なことである。HLA の場合その多型性ゆえに準備すべき抗原の種類が極めて多く、種類不足で抗体を見逃すようなことがあってはならない。また、抗体の性状(Igサブクラスや補体依存性)によっても結果が左右するので注意したい。抗体の有無をスクリーニングして検出した場合はさらに抗体特異性の同定に進むケースも多いと考えられる。したがって、この段階で見逃してしまうとどうにもならない。SH1705と1706のクラスIはLCT法で通常検出できるような抗体と考えられるが、MPHA法とLATのスクリーニング用試薬で検出率が100%に達しておらず問題である。MPHA法は本来血小板抗体検出用なのでいいとしても、LATは市販のHLA抗体専門試薬であるから検出漏れがあってはならない。(グラフ2)

3.3 HLA 抗体の特異性解析

各種方法を解析して得られた総合的な抗体特異性をサンプル別に示す。解析は専用プログラムによる判定、Q値解析、セログラフ、各反応データ、抗原エピトープ(アミノ酸配列)の検証、FlowPRAヒストグラムの確認などを行った。また、Cローカスの抗体特異性が不十分と考えられたのでFlowPRA Single AntigenのクラスI・サブプリメント(Cローカス)で追加試験を行った。(表5)

3.3.1 SH1701

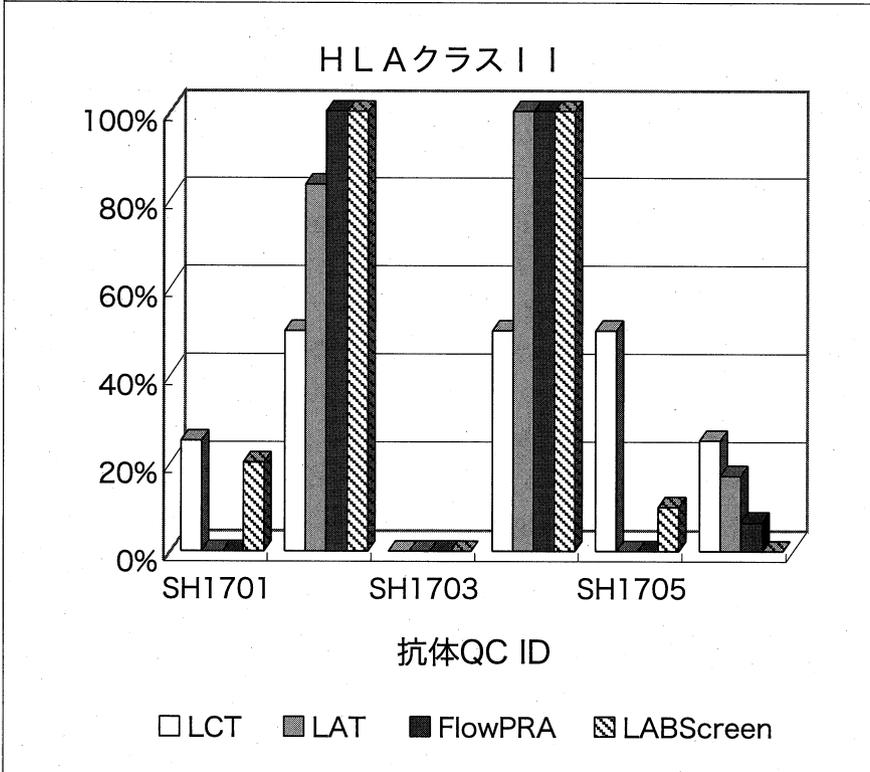
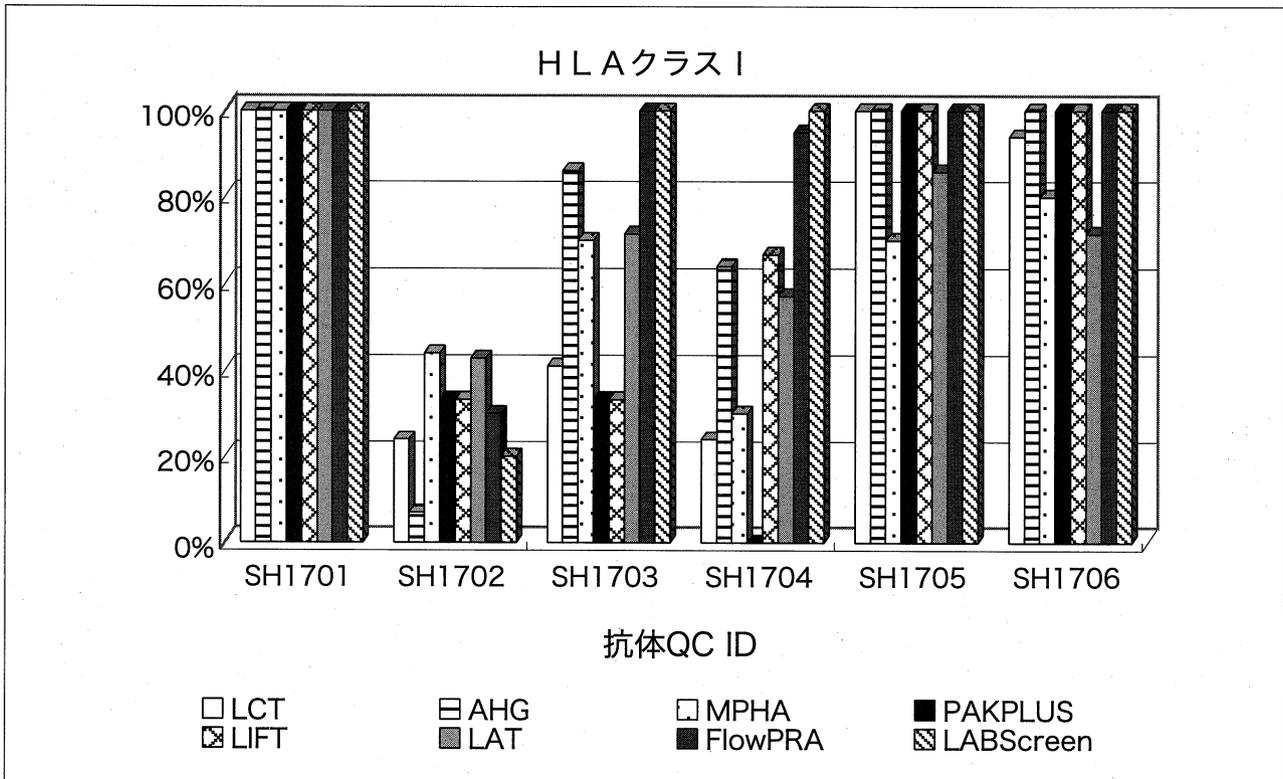
SH1701はLCT法でHLA-A2の単一特異性抗体に見えたが、実際にはHLA-A3, A9, A28, B17などを含む抗体で、IgGは複数の抗原エピトープに対する抗体特異性が推測できる。FlowPRAのヒストグラムでも4~5個のピークが認められ推測したエピトープの数とほぼ一致している。IgMも同様であるが、クラスII特異性の検出は認められなかった。

3.3.2 SH1702

SH1702はクラスI IgG(-) IgM(+)抗体でHLA-B8の特異性であることから、LCT法などでは日本人にまれなHLA-B8のパネル細胞が含まれずに陰性と判定されている例が多い。また、市販試薬では標準添付の2次抗体がほとんど抗IgG抗体のためこのような抗体は見逃すことになる。FlowPRAのヒストグラムも2峰性で右側のピークは小さい。クラスIIはIgG, IgMともにDR8+の特異性が認められた。

3.3.3 SH1703

SH1703はクラスIでIgGとIgMで全く異なる抗体特異性を持つ。LCT法とIgMの結果が一致しているため、LCT法で検出できない結合抗体をIgGで検出したことになる。このIgG特異性はABCローカスにすべて見られ、一見何の共通性も無いようにみられるが、90番目のアミノ酸A→Dの置換と見事に一致している。これに加えCローカスの73番目のアミノ酸T→A置換のエピトープも抗体特異性に含まれる。クラスII特異性は検出されていない。



グラフ 2 抗体検出率(検査方法別)

表5 HLA 抗体の特異性：サンプル別の総合的な解析結果

QC-ID	anti HLA class-I specificity			anti HLA class-II specificity	
	LCT	IgG	IgM	IgG	IgM
SH1701	A2	A2 A3 A11 A23 A24 A25 A26 A32 A68 A69 B57 B58 <u>Cw14</u>	A2 A3 A23 A24 A68 A69	-	-
SH1702	B8	-	B8	DR8 DR12	DR8
SH1703	A2 B57 B58	A1 A11 A25 A26 A34 A36 A43 A66 A80 B73 Cw7 <u>Cw4</u> <u>Cw6</u> <u>Cw12</u> <u>Cw17</u> <u>Cw18</u>	A2 B57 B58	-	-
SH1704	?	B18 B35 B38 B39 B51 B52 B53 B56 B67 B78 <u>Cw15</u>	A31?	DR1 DR7 DR9 DR10 DR11 DR14 DR51 DR53 DQ8 DQ9 DP	-
SH1705	B7 B48 B60 B81	B7 B8 B41 B42 B48 B60 B81	B38 B39 B73 Cw17	-	-
SH1706	B13 B60 B61	A66 B7 B13 B27 B41 B44 B45 B47 B48 B49 B50 B60 B61 B4005 B81 <u>Cw2</u> <u>Cw17</u>	-	-	-

(図1)

3.3.4 SH1704

SH1704 はプレスクリーニング LCT 法で反応が弱く特異性も明確でないが、FlowPRA でクラス I と II に反応が認められたサンプルである。クラス I は SH1703 と同じく IgG と IgM で全く異なり、IgM は高感度な方法でも明確な特異性はつかめていない。クラス II は IgG のみで DR 特異性の他 HLA-DR51, 53 に加え DQ, DP の特異性も認めた。

3.3.5 SH1705 と SH1706

SH1705 と 1706 は LCT 法では B40 関連の類似した抗体である。両サンプルともクラス II 特異性は認められない。クラス I において SH1705 は 1703, 1704 と異なり LCT 法と IgG の 2 次抗体検査法で一致している。FlowPRA のヒストグラムもきれいな 2 峰性を示し、ひとつの抗原エピトープに向かっていることが理解できる。IgM の 2 次抗体検査法でも検出できたが LCT 法や IgG とは全く異なった結果で補体依存性を示さない IgM 抗体である。どちらもひとつの抗原エピトープで説明可能な抗体特異性である。

SH1706 も LCT 法と IgG の 2 次抗体検査法が一致しており、IgM は検出されない。こちらの IgG はより多くの抗原エピトープに対する複合抗体と考え

られる。

これら両サンプルは HLA-B40 を中心とした交差反応性を示す抗体群であるが、同じ B40 関連でも SH1705 が HLA-B61 と SH1706 が HLA-B13 と全く反応しないことがアミノ酸配列の検証から明確に理解できる。(図2)

3.4 検査方法別の検討

3.4.1 LCT 法関連

LCT (AHG-LCT) 法は補体依存性の抗体しか検出しない。他の方法は全て 2 次抗体に依存した Binding assay である。したがって、LCT 法は IgG や IgM の区別なく検出するが、他法は 2 次抗体や感作粒子に左右される。さらに、LCT 法は多くの場合が自家製パネル細胞で検査され、含まれる抗原種類が不十分な場合当然その抗体特異性を見逃すことになる。よって同一条件でこれらの感度比較をするには多少無理がある。少なくとも LCT 法で検出できた抗体特異性は他法でも検出できているので、LCT 法と同等かそれ以上の感度があることは確かである。

LCT 法はほとんどが自家製パネルであるが、1 施設が市販品を使用していた。Lambda Cell Tray (略して LCT) の 30 パネルタイプで凍結細胞がテラサキトレイに分注されたものであり、LCT 法の水準を

維持した反応が認められた。

クラス II の場合、クラス I 特異性を吸収除去してあるかどうか施設により異なり、我々の手落ちでその情報を入力する枠組みが欠落していたため、十分な解析ができなかった。また、AHG-LCT 法でクラス II の検査を行っていた施設があったが、この場合陰性細胞でも反応が亢進するので通常は行わない。ただし、そのデータは予想外にきれいであった。

3.4.2 血小板抗体検査法関連

MPHA 法は血小板抗体検出用なので HLA 用としては抗原種類が限定され、抗体特異性が抜けることもある。今回の結果では、AHG-LCT 法と同等の検出感度が認められるが、FlowPRA や LABScreen の検出水準には達していない。PAKPLUS は HLA 抗体の有無にしか対応していないので、特異性別比較は不可能である。

MPHA 法のクロロキン処理では多少反応が認められたが明確な特異性はなく、また、PAKPLUS の血小板グリコプロテイン分画では全く反応がみられなかったため、今回の 6 サンプルの血小板特異抗体は陰性と判断した。

3.4.3 LIFT (Lymphocyte Immunofluorescence Test) 法

LIFT 法は自家製パネル細胞の反応となるので一部特異性が抜けるが、検出感度は LAT と同等と考えられる。ただし、LIFT 法の場合実施する施設によってプロトコールが一定していない現状がある。細胞の状態、細胞固定のタイミング、標識 MoAb の使い方、反応温度・時間、測定機器、データ取込条件等まちまちであり検出感度としては他法より幅があると考えられる。

3.4.4 HLA 精製抗原検査試薬関連

LAT, FlowPRA, LABScreen は基本的に使用されている抽出抗原ソースは同一であるが、組み合わせで多少異なる。これらは市販試薬でありそれぞれ Screening, Specific, Single antigen タイプのパネル形態が揃っている。

テラサキプレートを用いて ELISA 法で行う LAT はポリスチレン・ビーズを用いてフローサイトメトリックに測定する他の 2 法に比べ抗体特異性検出感度はやや低い。LAT は検体希釈率に誤解があり、プ

ロトコールにある 1:2 は 2 倍希釈、1:3 は 3 倍希釈が正しい。LAT Specific で 1:3 を 4 倍希釈した施設で一部検出できていない。また、目視判定で擬陰性、擬陽性が生じた例も認められた。

全ての検査方法のなかで最も検出感度が高いのは FlowPRA と LABScreen である。測定方法とスコア計算方法が異なり結果として FlowPRA の方が鋭敏な印象を受ける。操作の簡便性は LABScreen が圧倒的に優れているが、一部の血清で特定のビーズに対し非特異反応が観察される。FlowPRA は通常のフローサイトメーターで測定できるが正確なデータ取込設定が要求され、一方 LABScreen は専用の測定装置を必要とする反面やっかいな機器設定はほとんどない。それぞれ含まれる抗原種類は血清学レベルでは満たされているが、抗体特異性同定において Single antigen タイプのアリルレベルではまだ不十分な面がある。(表 6)

FlowPRA Screening ではヒストグラムのパターン解析で次のような幾つかの誤判定が認められた。① Optimization か Region の設定が不適切なためヒストグラム上でテーリング反応が擬似的に認められ陽性と判定した。② ヒストグラム上の微小ピークを見逃したために陰性と判定した。③ ピークが崩れた形を呈し保留あるいは陽性と判定した。④ 誤判定につながっていないが同一サンプル・複数の施設で異なったテーリング形状を示していた。洗浄操作の差かサンプルの非特異反応か原因不明である。

同じく FlowPRA Screening の %PRA 値を施設別・機種別に比較した。クラス I (IgG) において、SH1703, 1704 など反応の弱い抗体サンプルで施設別に大きなバラつきが認められた。クラス II (IgG) では問題なかった。IgM ではクラス I・II とも特定の機種で反応が不安定であった。もともと 2 次抗体のメーカーは機種ごとに一定していないので、洗浄操作か機器構造に起因する差か不明である。

LABScreen は機器設定による差はほとんどないので、試薬ロットとコントロール血清あるいはビーズ固有の非特異反応が結果を左右していると考えられる。① LABScreen Mixed (Screening) のクラス I (IgG) では試薬ロットが 3 種類混在し最新ロットだけが陽性カットオフ値を僅かに上回り陽性と判定さ

れた。このロットのみビーズ番号と結合しているパネル抗原の組み合わせが異なり、ビーズ非特異反応の可能性もある。② 使用した陰性コントロールのロットで特定のビーズとの反応が異なり、結果として陽性と判定された。③ ロットは異なるがパネル構成、ビーズ構成は他と同一でありながら陰性のところ陽性と判定した。洗浄など操作上の問題が考えられる。④ 技術的問題ではないが、指定したカットオフ値と異なった値での誤判定が一例と判定結果の記入ミスが一例あった。

以上、FlowPRA や LABScreen は高感度であるがゆえに、操作方法、機器設定、試薬管理、データ解析を厳密に行わないとデータの再現性は確実に損なわれるということを今回の QC データは示している。

また、全体的に IgM を 2 次抗体とした場合の結果が不安定であり 2 次抗体の種類、洗浄操作、反応温度で何らかの影響を受けていると考えられる。市販

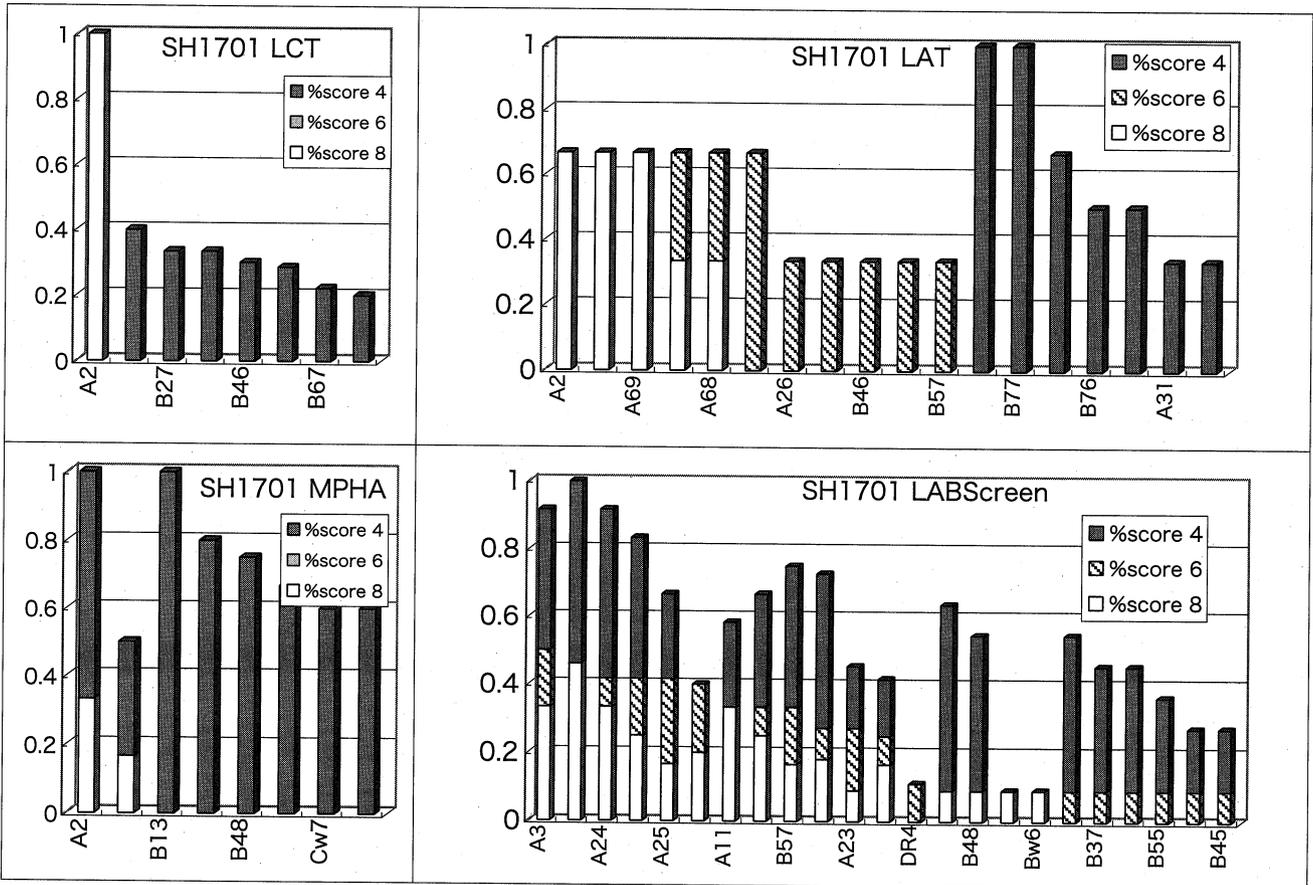
試薬は元来 IgM 抗体を考慮していない場合が多く、コントロールとの反応など IgG の条件設定でマッチしない部分が存在し不安定な結果につながったと考えられる。

3.5 判定スコアの導入とその解析

今回、各種検査方法や検査施設を越えて同一の次元で評価可能な方法として「判定スコア」の導入を試みた。従来のデータはパネル単位の反応状態を数値化(スコア化)した手法で解析してきたが、判定スコアは抗原単位で数値化する手法である。したがって、検査方法単位や施設単位などまとまった反応からスコア化することになる。

考え方は、陽性反応が確定した抗原をスコア 8 (6)、陰性反応が確定した抗原をスコア 1、反応が確定していない抗原がスコア 4、反応に含まれていない抗原がスコア 0 と判定する。

検査結果入力シートに判定スコア入力枠を設けた



グラフ 3 検査方法別の判定スコア(サンプル: SH1701)

表7 クロスマッチと血清学タイピングで確認できた HLA 抗原

DNA QC-ID	HLAクラスI						HLAクラスII					
	A*		B*		Cw*		DRB1*		DRB		DQB1*	
H1701	2403	1101	1502	5502	0801	1203	1405	1501	3*0202	5*0101	0503	0601
	A2403	A11	B75	B55	Cw8							
H1702	0203	2901	0705	1519	0403	1505	1001	1502	5*0102	-	0501	0502
	A203	A29	B7	B76	Cw4		DR10					
H1703	0204	-	5101	-	1502	-	1602	-	5*0202	-	0301	-
	A2		B51		Cw15							
H1704	0216	0301	5101	-	0704	1502	1104	1201	3*0202	-	0301	-
	A2	A3	B51		Cw7	Cw15						
H1705	0201	-	1801	-	0701	-	1201	-	3*0202	-	0301	-
	A2		B18		Cw7		DR12					
H1706	2402	-	0702	-	0702	-	0101	-	-	-	0501	-
	A24		B7		Cw7		DR1					

が、考え方が十分浸透していなかったようで確実な集計・解析に至らなかった。提出されたデータを無駄にしないために、検査方法別に抗原単位で判定スコア値の頻度を求め高スコア順にソートしたグラフを例として示す。高感度法に向かうほど確定した抗原が増えていることが容易に読み取れる。これは検査方法別であるが、データのくくり方によってはさまざまな解析が期待できる。(グラフ3)

問題点は測定データ(スコア)から判定スコア化するプロセス、ルールが参加施設に確実に浸透していない点と、いわゆる反応の長い抗体特異性は判定スコアの多くが4になることが予測される点で、これらについて対応策を講じて次回に望みたい。

4. DNA 部門と抗体部門の連携

HLA・QC ワークショップはタイピングを中心として9回目になるが、今回から抗体部門が新設されたことから、双方の連携を企画した。

DNA 部門のサンプルはEBV 株化 B リンパ芽球様細胞から DNA を抽出している。その細胞を培養して、抗体部門のサンプルであるヒト由来 HLA 抗血清との反応を測定し、DNA 部門で解析された HLA 遺伝子型に対応した HLA 抗原の存在を確認することを目的とした。なおこの企画は東京医科歯科大学難治疾患研究所、神奈川県赤十字血液センター、東京都赤十字血液センター、日本赤十字社中

央血液研究所の協力のもと実施された。

方法は双方の反応(クロスマッチ)は LCT 法と LIFT 法を行った。また、生細胞があるので LCT 法血清学タイピングも行った。データの詳細は省略するが、確認できた抗原を表に示す。(表7)

これによって、DNA 部門で使用した細胞の HLA クラス I 抗原のほとんどとクラス II 抗原の一部を検出できた。そして、DNA 部門のアリルタイピングの結果と抗原との対応に相違がないことを確認できた。

5. まとめ

今回は極めて多彩に富んでいるサンプルを配布することができた(というより、行ってみて多彩な内容であることが判ったといった方が正しい)。これにより、通常使われている検査試薬の特徴を十分探ることができた。データの入力方法についてはなお改善が必要であり、データ提出方法のマニュアルなども必要と考える。また、集まったデータのリアサインを実施してより正確な集計・解析へと持っていければと考えている。今後、QC という枠を越えた部分の話になるかもしれないが、臨床成績との関連付けを企画していくことも重要である。本稿は各施設から提出された多数のデータから作成しており、誌面の関係で全てを示すことが不可能である。学会ホームページに詳細データを掲載予定であるのでそちらを参照されたい。

第9回 HLA-QC ワークショップレポート —DNA タイピング結果表記と HLA 型表記—

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

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

1. はじめに

日本組織適合性学会では, DNA タイピング結果および HLA 型 (HLA 抗原型) の表記は, HLA 標準化委員会から示されている「検査結果(ワークシート)記載法と結果報告書表記法およびアンビギュイティ (ambiguity) の取扱いの原則 (2003 年度版)」(以下, 表記法)に従って行なうこととしており, QC ワークショップにおける結果報告についても, この表記法に従って結果表記する必要がある。ここでは, 今回の HLA-QC ワークショップにおける各施設から報告された結果を基に, 結果表記の問題点について検討を行なったので報告する。

2. 結果および考察

2.1 結果の集計

結果の集計を行うため, 以下の内容について提出された結果の表記を変更した。ローカス名がある場合となない場合があるため, 今回は削除して集計した。アレルを意味する “*” (アスタリスク) についても, 記載された結果とされない結果があるため, 今回は削除して集計を行なった。結果表記法では, 「アレルが1つしか検出されなかった場合は, 後ろのカラムに“-”(ハイフン)を記載すること」とされているが, 提出されたデータでは, 空欄と“—”が混在していることから, 空欄に統一して集計を行なった。判定不能, 判定不可は, N.D. とした。DNA 型が未入力で, HLA 型にだけ入力されていた DNA 型を未入

力として集計した。2つのカラムに同じアレルを記載することは, 表記法では間違っており, 正しくは「一方のカラムに結果を記載し, 他方(後ろ)のカラムに“-”(ハイフン)を入力する」表記である。しかし, 今回は集計のために, 一方を空欄として処理した。以上の内容で, 提出された結果の変更(修正)を行い, ローカスごとに集計を行った。表記法に従っていない表記および QC ワークショップのデータとして相応しくない表記については, 表中に網掛けで示した(表 1~6)

2.2 アレル表記の問題点

① HLA 型(抗原型)での表記

DNA タイピング結果のアレル表記を, HLA 型で表記した例(例: B*62, B*75, DRB1*7)が見られた。2桁レベルのタイピングキットを使用した結果を HLA 型に変換し, 結果を記載したと思われる。HLA 型が, B62 および B75 であれば, B*15 のアレルを結果に表記する必要があり, 表記する内容はタイピングレベルに応じ「アンビギュイティ (ambiguity) の取扱いについて」に従って行なう必要がある。

② “/”(スラッシュ)によるアレルの表記

例として, DRB1*07, DRB1*11 など2桁による結果の表記が見られたが, 2桁レベル(粗分別, low resolution)でタイピングを行なった結果を記載していると思われる。表記法において「2桁レベル(粗分別, low resolution)でタイピングを実施した場合は,

表1 HLA-A ローカス表記の集計

Sample :H1701				
Allele:A*1101		Allele:A*2403		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 11	9	1 24	9	
2 1101	5	2 2402/03/04	1	
3 1101/02	2	3 2402/03/04/+	7	
4 1101/02/03/+	24	4 2403	4	
5 1101/02/07	1	5 2403/10	4	
6 1101/02/07/+	4	6 2403/10/22/+	13	
7 1101/03/04/+	2	7 2403/10/23/+	1	
8 1101/03/05/+	1	8 2403/10/33	5	
9 1101/04	3	9 2403/10/33/+	1	
10 1101/04/05/+	4	10 2403/22	1	
11 1101/04/05/+	1	11 2403/22/23/+	1	
12 1101/05/07/+	1	12 2403/33	10	
13 110101	2	13 240301	2	
14 N.T.	3	14 N.T.	3	
15 未入力	2	15 未入力	2	

Sample :H1702				
Allele:A*0203		Allele:A*2901		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 02	7	1 29	7	
2 0201/02/03/+	8	2 2901	12	
3 0203	40	3 2901/02/+	1	
4 020301	4	4 2901/02/03/+	5	
5 N.T.	3	5 2901/02/04	3	
6 未入力	2	6 2901/02/04/	1	
		7 2901/02/04/+	20	
		8 2901/02/06	1	
		9 290101	4	
		10 29010101	1	
		11 2907	1	
		12 N.T.または-	6	
		13 未入力	2	

Sample :H1703				
Allele:A*0204		blankまたは-		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 02	9	1 blankまたは-	56	
2 0201/02/03/+	7	2 0204	1	
3 0201/04	1	3 ?	1	
4 0201/04/07/+	2	4 N.T.	4	
5 0201/07	1	5 未入力	2	
6 0201/07/+	1			
7 0201/07/09/+	1			
8 0204	13			
9 0204/17	20			
10 0204/17/58/+	2			
11 0204/33/58	1			
12 N.T.	4			
13 未入力	2			

Sample :H1704				
Allele:A*0216		Allele:A*0301		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 02	7	1 03	9	
2 0201/02/03/+	7	2 0301	4	
3 0201/07/18/+	1	3 0301/01N/11N/+	1	
4 0201/09/11/+	2	4 0301/02/03/+	4	
5 0215	1	5 0301/03/04/+	24	
6 0216	39	6 0301/03N/04/+	6	
7 2301/02/03/+	1	7 0301/03N/04/+	1	
8 N.T.	4	8 0301/04	1	
9 未入力	2	9 0301/04/07/+	1	
		10 0301/04/11/+	1	
		11 030101	3	
		12 03010101	1	
		13 0308	2	
		14 N.T.	4	
		15 未入力	2	

Sample :H1705				
Allele:A*0101		blankまたは-		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 02	7	1 blankまたは-	48	
2 0201	2	2 2404	1	
3 0201/01L/04/+	2	3 ?	1	
4 0201/02/03/+	1	4 N.D.	2	
5 0201/04/07/+	9	5 N.T.	11	
6 0201/04/09/+	7	6 未入力	1	
7 0201/07	1			
8 0201/07/+	1			
9 0201/07/09/+	9			
10 0201/07/15/+	2			
11 0201/07/15N	1			
12 0201/09/11/+	1			
13 020101	5			
14 02010101	1			
15 0204/17	1			
16 N.D.	2			
17 N.T.	11			
18 未入力	1			

Sample :H1706				
Allele:A*240201		blankまたは-		
Local Assignment	件数	Local Assignment	件数	
1 24	7	1 blankまたは-	48	
2 2402	3	2 ?	1	
3 2402/03/05/+	5	3 N.D.	3	
4 2402/05/07/+	3	4 N.T.	11	
5 2402/05/09/+	7	5 未入力	1	
6 2402/05/09N/+	3			
7 2402/05/11N/+	1			
8 2402/07/09/+	1			
9 2402/07/09N/+	1			
10 2402/09/11/+	8			
11 2402/09/20/+	1			
12 2402/09N/+	1			
13 2402/09N/11N/+	1			
14 2402/20	2			
15 2402/32/34/+	1			
16 240201	3			
17 24020101	1			
18 N.D.	3			
19 N.T.	11			
20 未入力	1			

表2 HLA-B ローカス表記の集計

Sample :H1701				
Allele:B*1502			Allele:B*5502	
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	15	5	1 55	9
2	1502	46	2 5501/02/05	3
3	1502/13/31	2	3 5501/02/05/+	16
4	1502/88	6	4 5501/02/07	4
5	75	1	5 5502	12
6	N.T.	3	6 5502/01/05/+	1
7	未入力	2	7 5502/04	1
			8 5502/07/12	2
			9 5502/07/12/+	1
			10 5502/12	2
			11 5502/12/13	2
			12 5502/12/13/+	3
			13 5502/16	4
			14 N.T.	3
			15 未入力	2

Sample :H1702				
Allele:B*0705			Allele:B*1519	
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	07	9	1 15	6
2	0702/04/07/+	1	2 1501	1
3	0702/05	1	3 1501/04/07/+	2
4	0705	3	4 1501/04/12/+	2
5	0705/06	39	5 1501/12/14/+	5
6	0705/06/09	1	6 1501/12/19/+	3
7	0705/06/09/+	5	7 1501/4805/+	1
8	0705/1576/+	1	8 150101	1
9	N.T.	3	9 1512	1
10	未入力	2	10 1512/14/19	6
			11 1512/19	24
			12 1519	6
			13 62	1
			14 B1501/04/07/+	1
			15 N.T.	3
			16 未入力	2

Sample :H1703				
Allele:B*510101			blankまたは-	
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	51	9	1 blankまたは-	56
2	5101	6	2 18	1
3	5101/02/03/+	11	3 5301/02/03/+	1
4	5101/03/07/+	5	4 ?	1
5	5101/03/09/+	5	5 N.T.	4
6	5101/07/09/+	1	6 未入力	2
7	5101/09/11/+	9		
8	5101/09/11N/+	2		
9	5101/11/12/+	2		
10	5101/11N/12/+	1		
11	5101/11N/24/+	1		
12	5101/28/30/+	1		
13	510101	6		
14	N.T.	4		
15	未入力	2		

Sample :H1704				
Allele:B*510101			blankまたは-	
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	51	9	1 blankまたは-	59
2	5101	5	2 ?	1
3	5101/02/03/+	12	3 N.T.	3
4	5101/03/07/+	5	4 未入力	2
5	5101/03/09/+	5		
6	5101/03/30	1		
7	5101/07/09/+	1		
8	5101/09/11/+	9		
9	5101/09/11N/+	2		
10	5101/11/12/+	2		
11	5101/11N/12/+	1		
12	5101/11N/24/+	1		
13	5101/28/30/+	1		
14	510101	6		
15	N.T.	3		
16	未入力	2		

Sample :H1705				
Allele:B*180101			blankまたは-	
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	18	7	1 blankまたは-	50
2	1801	5	2 ?	1
3	1801/02/03/+	5	3 N.D.	1
4	1801/02/05/+	4	4 N.T.	12
5	1801/03/05/+	23	5 未入力	1
6	1801/05/06/+	1		
7	1801/05/11/+	2		
8	1801/17	1		
9	1801/17N	2		
10	180101	1		
11	N.D.	1		
12	N.T.	12		
13	未入力	1		

Sample :H1706				
Allele:B*070201			blankまたは-	
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	07	8	1 blankまたは-	49
2	0702	3	2 N.D.	2
3	0702/03/07/+	1	3 N.T.	13
4	0702/03/10/+	9	4 未入力	1
5	0702/04/09+	1		
6	0702/04/09/+	2		
7	0702/09/10/+	2		
8	0702/10/15/+	3		
9	0702/10/18/+	1		
10	0702/10/21/+	1		
11	0702/15/21/+	4		
12	0702/21/22/+	9		
13	070201	4		
14	07021/022/023	1		
15	N.D.	2		
16	N.T.	13		
17	未入力	1		

表3 HLA-C ローカス表記の集計

Sample :H1701					
Allele:Cw*080101			Allele:Cw*120301		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	blankまたは-	1	1	06/12	1
2	08	5	2	0805	1
3	0801	5	3	12	7
4	0801/02/03/+	4	4	12/14	1
5	0801/02/04/+	1	5	1202/03/04/+	3
6	0801/03/04/+	3	6	1202/03/04/+, 1404	1
7	0801/03/09	1	7	1203	3
8	0801/04/08	1	8	1203/04/05/+	1
9	0801/08	9	9	1203/06	1
10	080101	2	10	1203/06/07	6
11	0808	1	11	1203/06/07/+	4
12	8	2	12	1203/06/11	3
13	N.D.	1	13	120301	4
14	N.T.	28	14	N.T.	28

Sample :H1702					
Allele:Cw*0403			Allele:Cw*1505		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	04	3	1	0314	1
2	0401/02/03/+	2	2	15	6
3	0401/03/04/+	4	3	1502/03/05/+	2
4	0401/09/11/+	1	4	1502/05	1
5	0403	18	5	1502/05/08/+	1
6	0403/06	5	6	1502/05/09	1
7	4	3	7	1503	1
8	N.T.	28	8	1504/05/06/+	3
			9	1505	14
			10	1505/06	3
			11	1505/06/09	2
			12	1505/09	1
			13	N.T.	28

Sample :H1703					
Allele:Cw*150201			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	15	8	1	blankまたは-	33
2	1502	2	2	03/15	1
3	1502/03	3	3	1502	1
4	1502/03/05	1	4	N.T.	29
5	1502/03/05/+	2			
6	1502/04/07/+	3			
7	1502/05	1			
8	1502/05/06/+	6			
9	1502/05/07/+	1			
10	1502/05/09	1			
11	1502/07/08	1			
12	1502/11	1			
13	1502/13	1			
14	150201	4			
15	N.T.	29			

Sample :H1704					
Allele:Cw*0704			Allele:Cw*150201		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	blankまたは-	1	1	0314	1
2	07	4	2	15	6
3	0704	2	3	1502	6
4	0704/11	7	4	1502/03	7
5	0704/11/12	18	5	1502/03/05/+	2
6	0704/11/12/+	1	6	1502/05	1
7	7	3	7	1502/05/06/+	3
8	N.T.	28	8	1502/05/08	1
			9	1502/05/09	1
			10	1502/07/08	1
			11	1502/07/08/+	1
			12	1502/11	2
			13	1502/13	1
			14	150201	3
			15	N.T.	28

Sample :H1705					
Allele:Cw*0701			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	07	3	1	blankまたは-	25
2	0701	1	2	N.D.	2
3	0701/02/03/+	3	3	N.T.	37
4	0701/05/06	1			
5	0701/05/06/+	2			
6	0701/06	4			
7	0701/06/16	1			
8	0701/06/16+	1			
9	0701/06/16/+	2			
10	0701/06/18	1			
11	0701/06/18/+	6			
12	N.D.	2			
13	N.T.	37			

Sample :H1706					
Allele:Cw*070201			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	07	2	1	blankまたは-	22
2	0701/02/03/+	5	2	?	1
3	0702	3	3	N.D.	3
4	0702/03/05/+	3	4	N.T.	38
5	0702/05/08/+	3			
6	0702/05/13/+	3			
7	0702/08/10	1			
8	0702/10/17/+	1			
9	070201	1			
10	07020101	1			
11	N.D.	3			
12	N.T.	38			

表 4 HLA-DRB1 ローカス表記の集計

Sample :H1701					
Allele:DRB1*140501			Allele:DRB1*150101		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	0317/1405/+	1	1	15	8
2	1152/1405	1	2	1501	14
3	14	8	3	1501/02	2
4	1401/02/05/+	4	4	1501/02/03/+	7
5	1402/03/05/+	2	5	1501/02/04/+	11
6	1402/05/06/+	2	6	1501/02/05/+	1
7	1405	20	7	1501/03/06/+	5
8	1405/08/14/+	7	8	1501/04/05/+	3
9	1405/08/23/+	1	9	1501/05	2
10	1405/08/34/+	1	10	1501/05/06/+	1
11	1405/08/43	1	11	1501/06/07/+	3
12	1405/08/45	2	12	1501/06/13	2
13	1405/14/23/+	1	13	150101	3
14	1405/23	1	14	15011	1
15	1405/37/43/+	1	15	未入力	2
16	1405/43	1			
17	1405/43/45	1			
18	1405/45	5			
19	140501	2			
20	N.T.	1			
21	未入力	2			

Sample :H1702					
Allele:DRB1*100101			Allele:DRB1*150201		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	blank	1	1	15	8
2	10	5	2	1501/02	3
3	1001	48	3	1501/02/03/+	6
4	100101	7	4	1501/02/04/+	10
5	100101/0102	1	5	1501/02/05/+	1
6	10011/012	1	6	1501/04/05/+	1
7	未入力	2	7	1502	17
			8	1502/02/03/+	1
			9	1502/03/06/+	1
			10	1502/06/11/+	1
			11	1502/08/11/+	2
			12	1502/08/14	1
			13	1502/11/14	3
			14	1502/14	1
			15	150201	7
			16	未入力	2

Sample :H1703					
Allele:DRB1*160201			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	1504/1601/+	1	1	blankまたは-	53
2	16	6	2	-/1511	1
3	1601/02/03	1	3	09012	1
4	1601/02/03/+	11	4	15	1
5	1601/02/05	1	5	1511/1602	2
6	1602	34	6	1602/05	1
7	1602/03/05	1	7	1605/07	2
8	1602/1360	1	8	?	1
9	160201	5	9	N.T.	1
10	16021	1	10	未入力	2
11	N.T.	1			
12	未入力	2			

Sample :H1704					
Allele:DRB1*110401			Allele:DRB1*120101		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	03/11/13/+	1	1	blankまたは-	3
2	03/11/14	1	2	1102/02/04/+	1
3	0301	1	3	12	7
4	11	7	4	1201	9
5	1101	2	5	1201(1206)	1
6	1101/	1	6	1201/02/03+	1
7	1101/02/03/+	1	7	1201/02/03/+	17
8	1101/02/04/+	3	8	1201/02/03/06/08/10	1
9	1101/04/06/+	6	9	1201/02/04/+	1
10	1101/04/12/+	2	10	1201/02/06	1
11	1101/12/15/+	1	11	1201/02/06/+	1
12	1101/1307	1	12	1201/04/05/+	3
13	1101/1307/+	1	13	1201/04/06/+	2
14	1101/15/24/+	1	14	1201/06	11
15	1103/1354/+	1	15	1201/08	1
16	1104	9	16	120101	1
17	1104/06	1	17	1202/03/06/+	1
18	1104/06/18	3	18	1306	1
19	1104/06/18/+	5	19	未入力	2
20	1104/06/18/43/44/47	1			
21	1104/06/25/+	2			
22	1104/16/25/+	1			
23	1104/18	1			
24	1104/18/43	1			
25	1104/35/38/+	1			
26	1104/43/46	3			
27	110401	3			
28	14	1			
29	N.D.	1			
30	未入力	2			

Sample :H1705					
Allele:DRB1*120101			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	0804	1		blankまたは-	46
2	12	6		0301	1
3	1201	7		04/08/12	2
4	1201(1206)	1		0825	1
5	1201/02/03/+	8		0825/1201	1
6	1201/02/06/+	1		1501/02	1
7	1201/03/08	1		N.D.	1
8	1201/04/05/+	2		N.T.	11
9	1201/06	11		未入力	1
10	1201/06/07	1			
11	1201/06/07/+	2			
12	1201/06/08	4			
13	1201/06/08/+	1			
14	1201/06/10	3			
15	1201/06/18/+	1			
16	1201/08/09	1			
17	120101	1			
18	N.D.	1			
19	N.T.	11			
20	未入力	1			

Sample :H1706					
Allele:DRB1*010101			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	01	8	1	blankまたは-	49
2	0101	12	2	01/04	1
3	0101/02/04/+	15	3	01/0449	1
4	0101/04/05/+	2	4	N.D.	1
5	0101/05/07/+	1	5	N.T.	11
6	0101/07	3	6	undef	1
7	0101/08	20	7	未入力	1
8	0101/09/11	2			
9	010101	1			
10	N.D.	1			
11	N.T.	6			
12	未入力	1			

表 5 HLA-DRB3/4/5 および DQA1 ローカス表記の集計

Sample :H1701					
Allele:DRB3*0202			Allele:DRB5*0101		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DRB3	1	1	DRB5	1
2	DRB3*01	1	2	DRB5*01	4
3	DRB3*01/02/03	5	3	DRB5*01/02	5
4	DRB3*0101/02/03/+	2	4	DRB5*0101	6
5	DRB3*02	2	5	DRB5*0101/02/03/+	3
6	DRB3*02/03	1	6	DRB5*0101/05	2
7	DRB3*0201/02/03+	1	7	DRB5*0101/05/09	3
8	DRB3*0201/02/03/+	6	8	DRB5*0101/05/09/+	5
9	DRB3*0201/0302/+	1	9	N.T.	33
10	DRB3*0202	6	10	未入力	2
11	DRB3*0202/01/03/+	1			
12	DRB3*0202/10/11/+	1			
13	DRB3*0202/12	1			
14	N.T.	33			
15	未入力	2			

Sample :H1702					
Allele:DRB5*0102			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DRB5	1	1	blankまたは-	26
2	DRB5*01	1	2	B3*0101	1
3	DRB5*01/02	8	3	N.T.	35
4	DRB5*0101/02/03/+	3	4	未入力	2
5	DRB5*0102	4			
6	DRB5*0102/0203/+	1			
7	DRB5*0102/03	1			
8	DRB5*0102/03/08	1			
9	DRB5*0102/03/08/+	5			
10	DRB5*0102/10	1			
11	DRB5*0103	1			
12	N.T.	35			
13	未入力	2			

Sample :H1703		Sample :H1704			
Allele:DRB5*0202		Allele:DRB3*0202			
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DRB5	1	1	DRB3	1
2	DRB5*01	1	2	DRB3*01	1
3	DRB5*01/02	8	3	DRB3*01/02/03	4
4	DRB5*0101/02/03/+	3	4	DRB3*0101/02/03/+	2
5	DRB5*0102/03/08/+	1	5	DRB3*02	2
6	DRB5*0110/0202/+	1	6	DRB3*0201/02/03/+	5
7	DRB5*02	2	7	DRB3*0202	7
8	DRB5*0202	3	8	DRB3*0202/01/03/+	1
9	DRB5*0202/03	1	9	DRB3*0202/03/04/+	1
10	DRB5*0202/03/04	1	10	DRB3*0202/10/11/+	2
11	DRB5*0202/03/04/+	1	11	DRB3*0202/12	1
12	DRB5*0202/04	6	12	N.D.	1
13	N.T.	33	13	N.T.	34
14	未入力	2	14	未入力	2

Sample :H1705		
Allele:DRB3*0202		
	Local Assignment	件数
1	DRB3	1
2	DRB3*01/02/03	1
3	DRB3*02	3
4	DRB3*0201/02/03/+	7
5	DRB3*0201/10/11/+	1
6	DRB3*0202	4
7	DRB3*0202/01/03/+	1
8	DRB3*0202/10/11/+	1
9	DRB3*0202/12	1
10	N.D.	1
11	N.T.	42
12	未入力	1

Sample :H1701					
Allele:DQA1*0102			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	01	1	1	blankまたは-	4
2	0101/02/04	1	2	0104	1
3	0101/02/04+	1	3	N.T.	59
4	0101/02/04/+	1			
5	0102	1			
6	N.T.	59			

Sample :H1702					
Allele:DQA1*0101			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	01	1	1	blankまたは-	4
2	0101	1	2	0105	1
3	0101/02/04	1	3	N.T.	59
4	0101/02/04+	1			
5	0101/02/04/+	1			
6	N.T.	59			

Sample :H1703					
Allele:DQA1*0501			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	05	1	1	blankまたは-	4
2	0501	1	2	0401	1
3	0501/02/03+	1	3	N.T.	59
4	0501/03/05	1			
5	0505	1			
6	N.T.	59			

Sample :H1704					
Allele:DQA1*0501			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	05	1	1	blankまたは-	4
2	0501	1	2	0401	1
3	0501/02/03+	1	3	N.T.	59
4	0501/03/05	1			
5	0505	1			
6	N.T.	59			

Sample :H1705					
Allele:DQA1*0501			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	0501	1	1	blankまたは-	3
2	0501/02/03+	1	2	N.T.	61
3	0501/03/05	1			
4	N.T.	61			

Sample :H1706					
Allele:DQA1*0201			blankまたは-		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	0101/02/04	1	1	blankまたは-	3
2	0101/02/04+	1	2	N.T.	61
3	0101/02/04/+	1			
4	N.T.	61			

表6 HLA-DQB1 および DPB1 ローカス表記の集計

Sample :H1701				
Allele:DQB1*050301		Allele:DQB1*0601		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	05	3	1 06	3
2	05/01/02/03/+	1	2 0601	17
3	0501	1	3 0601/02/03/+	4
4	0501/02/03/+	4	4 0601/02/04/+	1
5	0503	14	5 0601/07/08+	1
6	050301	3	6 N.T.	36
7	N.T.	36	7 未入力	2
8	未入力	2		

Sample :H1702				
Allele:DQB1*0501		blankまたは-		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	05	3	1 blankまたは-	9
2	0501	15	2 0303	1
3	0501/02/03/+	5	3 0502	14
4	050101	2	4 050201	2
5	0503	1	5 N.T.	36
6	N.T.	36	6 未入力	2
7	未入力	2		

Sample :H1703				
Allele:DQB1*0301		blankまたは-		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	03	4	1 blankまたは-	25
2	0301	6	2 N.T.	37
3	0301/04/05+	1	3 未入力	2
4	0301/04/09/+	6		
5	0301/09	2		
6	0301/09/13	5		
7	030101	1		
8	N.T.	37		
9	未入力	2		

Sample :H1704				
Allele:DQB1*0301		blankまたは-		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	03	4	1 blankまたは-	26
2	0301	6	2 N.T.	36
3	0301/04/05+	1	3 未入力	2
4	0301/04/09/+	7		
5	0301/09	2		
6	0301/09/13	5		
7	030101	1		
8	N.T.	36		
9	未入力	2		

Sample :H1705				
Allele:DQB1*0301		blankまたは-		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	03	1	1 blankまたは-	15
2	0301	3	2 N.T.	48
3	0301/04/05+	1	3 未入力	1
4	0301/04/09/+	1		
5	0301/09	2		
6	0301/09/13	6		
7	030101	1		
8	N.T.	48		
9	未入力	1		

Sample :H1706				
Allele:DQB1*0501		blankまたは-		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	05	5	1 blankまたは-	15
2	0501	8	2 N.T.	48
3	0501/02/03/+	4	3 未入力	1
4	050101	1		
5	050102	7		
6	N.T.	1		
7	未入力	2		

Sample :H1701				
Allele:DPB1*0501		blankまたは-		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0501	4	1 blankまたは-	4
2	N.T.	60	2 N.T.	60

Sample :H1702				
Allele:DPB1*0201		Allele:DPB1*0301		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0201	2	1 0301	1
2	020102	1	2 0301/7801	1
3	57/70	1	3 030101	1
4	N.T.	60	4 57/70/84	1
			5 N.T.	60

Sample :H1703				
Allele:DPB1*0402		blankまたは-		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	04/77/82/94	1	1 blankまたは-	3
2	0402	2	2 04/77/82	1
3	0402/7701/8201/9401	1	3 N.T.	60
4	N.T.	60		

Sample :H1704				
Allele:DPB1*0201		Allele:DPB1*0402		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0201	3	1 04/77/82	1
2	020102	1	2 0402	2
3	N.T.	60	3 0402/7701/8201	1
			4 N.T.	60

Sample :H1705				
Allele:DPB1*0201		blankまたは-		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0201	1	1 blankまたは-	3
2	0201/9401	1	2 N.T.	61
3	020102	1		
4	N.T.	61		

Sample :H1706				
Allele:DPB1*0402		blankまたは-		
	Local Assignment	件数	Local Assignment	件数
1	0402	2	1 blankまたは-	3
2	0402/7701/8201/9401	1	2 N.T.	61
3	N.T.	61		

2桁でアリルを表記するものとし、4桁レベルでアリルを表記してはならない」とされている。そのためからか、2桁での結果の表記が多いのではないかと思われるが、試薬の特性を知ることからも「アンビギュイティ (ambiguity) の取扱いについて」に従い、区分できないアリルを“/” (スラッシュ) を用いて、表記することが好ましいと思われる。

③ “/” (スラッシュ) によるアリル記載法の間違い
“/” (スラッシュ) を用いた区分不可能なアリルの表記として間違っていた例を以下に示す。3種類のアリルを記し、最後に“/+”とするとところを、4種類以上のアリルを表記した例 (DRB1*1201/02/03/06/08/11)。区分不可能なアリルを2桁で表記するところを、3桁で表記した例 (DRB1*0101/021/04/+)。2種類のアリル表記“/+”を用いていた例 (A*0201/07/+、タイプされたアリルが2種類だけなら“/+”は不要となる。3種類のアリルを記し、最後に記載する“/” (スラッシュ) が抜けている例 (DRB1*0101/02/04N+ → DRB1*0101/02/04/+))。

④ 5桁目以降の区分出来ないアリルの表記

表記法では、「5桁以上の細分化が知られているアリルで、5桁以上でアリルが特定できた場合にのみ、その桁数でアリルを記載する」とされており、5桁目以降の区分出来ないアリルがある場合は、4桁で表記するとなっている。そのため、B*070201/022/023 および DRB1*100101/0102 は、表記法では B*0702 および DRB1*1001 と表記することが正しい。また、新しい命名法では、同義置換のアリルを区分するために、5桁目以降の2桁を使用しているが、旧命名法 (5桁以降の1桁で同義置換を区分) で表記している例 (DRB1*15011 等) が見られた。

⑤ N (null) および L (low) の表記

表記法の「アンビギュイティ (ambiguity) の取扱い」では、区分出来ないアリルの表記は、最初アリルを4桁で、それ以降2桁で表記することになっており、nullを意味する“N” および low expressionを意味する“L”は、表記しない方が正しい (例: A*0301/03N/04/+, B*5101/11N/12/+, A*0201/01L/04/+ 等の結果表記では、“N” または “L” を表記しない)。

⑥ 判定不能, N.D., nd の表記

前回の QCWS 集会において、判定不能の場合の結果表記として、判定が出来なかったことを意味する undefined の略である、undef を結果として表記し、判定出来ない内容をコメント欄で説明することとされた。しかし、この表記法が未だに周知されていないようで、今回の QCWS では N.D. および判定不能が多く使われていた。また、“nd”の表記については、表記法で「判定されたアリルが一つで、それ以外に明らかに異なるアリルの存在が疑われるが、そのアリルが特定出来ない場合に、“nd”と記載しても良い」とされており、一部施設の結果に使用されていた。

⑦ () または ? 付き表記

判定結果が明確でないことを意味していると思われる“()” (カッコ) または“?”を付けた表記が見られた (例: DRB1*1201(1206))。これらの場合、アンビギュイティを意味する“()” または“?”であれば、表記法に従い、“/”を用いた表記をする必要がある。また、一方のアリルが特定出来ない場合であれば“nd”を、判定不能であれば“undef”を用いた結果表記が必要となる。

⑧ 遺伝子座の表記 (HLA 型だけの表記)

HLA-DRB3, DRB4 および DRB5 遺伝子座における結果表記として、遺伝子座の数字を対立遺伝子 (アリル) として表記している例 (例: 3, 4, 5) が見られた。HLA-DRB3, DRB4 および DRB5 遺伝子座の有無が確認出来るレベルでのタイピングを行なったことから、このような結果表記となったと思われるが、当然、区分不可能なアリルも含まれることから、それぞれ「アンビギュイティ (ambiguity) の取扱いについて」に従い、アリル表記をする必要がある。

⑨ アリル未入力

アリル記載欄に何も結果表記をせずに、HLA 型 (抗原型) だけを表記した施設が一部に見られた。表記法において、以下の記載「2桁レベル (粗分別, low resolution) でタイピングのみを実施した検査の場合、a. 粗分別タイピングのみを実施した場合は、原則的に2桁レベルで報告するものとするが、「HLA 型」で結果を報告してもよい。」を参考にして「HLA

型」で結果表記をしたと思われるが、QCWS では DNA タイピングの結果に従いアリルを表記し、タイピング結果に従って対応する HLA 型を表記すべきである。

2.3 HLA 型の表記の問題点

HLA 型 (DNA タイピング結果から推定される HLA 抗原型)の表記について、17 施設で HLA 型が表記されておらず、3 施設でアリル欄に表記が無く、HLA 型だけが表記されていた。QCWS では、DNA タイピングを行ない、対応する HLA 型との関係を理解するために、両方の表記を行なうようにしており、DNA タイピングの結果を十分に理解し、対応する HLA 型を決定することが必要となる。

HLA-A 座の HLA 型表記において、A*2403 および A*0203 については、対応する HLA 型が公認された A2403 および A203 であることから、A24、A2 という HLA 型の表記は厳密には間違いである。

HLA-B 座の HLA 型表記では、アリルが B*15 と

表記されているにも関わらず、HLA 型は B75 や B62 と表記されている結果が多く見られた。B15 グループのアリルと HLA 型の関係は複雑であるが、少なくとも HLA 型を B75 または B62 と表記することが可能であるならば、アリル表記を B*15 とすることは間違っており、これらの HLA 型が特定出来る DNA タイピング結果の記載が必要となる。

HLA-DRB1 座の HLA 型表記では、アリルが DRB1*1502 または DRB1*1602 と特定されているにも関わらず、DR2 と表記された例が見られた。それぞれ DR15 および DR16 と表記する必要がある、DRB1*15 と *16 が区分出来ない場合は、DR2 と表記する必要がある。

HLA-DRB3, DRB4, DRB5 座の HLA 型の表記では、遺伝子座に使われている数字 “3, 4, 5” を使った HLA 型の表記が数多く見られた。HLA-DRB3, DRB4, DRB5 はあくまでも遺伝子座であり、対応する HLA 型は、それぞれ DR52, DR53, DR51 であることを十分認識する必要がある。

平成 17 年度 HLA 検査技術者認定試験に関する報告

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

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

日本組織適合性学会 HLA 検査技術者, 組織適合性指導者認定制度による第 2 回の認定試験が, 平成 17 年 10 月 2 日, 第 13 回日本組織適合性学会大会のなかで行われた。

第 1 回の認定試験(平成 16 年 9 月 23 日)と同様, 問題の難易度を評価し, 合格ラインの参考にするため, 学会大会の中で, 学会参加者に協力をお願いし, 無記名で模擬試験を行った。指導者認定試験は今回初めてであるが, 技術者, 指導者とも同じ試験問題とし, 合格点を技術者では 6 割程度, 指導者では 7 割程度と想定していた。53 名参加による模擬試験の結果は表 1 のとおりである。

50 問のうち, 2 問は記述が不正確であったため, 全員正解とした。

以下に正解率の低かった問題について解説した。試験問題を参照しながら確認していただきたい。

問 14 は HLA 多型の維持のメカニズムについての質問であるが, 正解の「1. マラリア流行地域では鎌状赤血球遺伝子の頻度が高い」とほぼ同数の受験者が「4. 多種に渡る抗生物質の多様が多剤耐性菌を生んだ」を選択していた。

HLA 多型維持のメカニズムとしてとしてみっともよく受け入れられているのは平衡選択(超優性)であり, これと同じメカニズムで説明できるのは 1 である。4 は組換え, 遺伝子の水平伝達と正の自然選択がそのメカニズムである。多剤耐性には多くの遺伝子座が関与しており, 特定の耐性遺伝子を持って

るかどうかがその細菌の有利さを決める(正の自然選択)。HLA 遺伝子, 多剤耐性遺伝子, 鎌状赤血球遺伝子ともにその遺伝子により抵抗性を持つ(正の自然選択)という点では共通であるが, HLA 遺伝子と鎌状赤血球遺伝子はヘテロ接合性であることが生存に有利である(平衡選択)ことが多剤耐性遺伝子とは異なる。問題にある鎌状赤血球症遺伝子はホモ接合体では溶血性貧血症となり, 短命であるが, ヘテロ接合体ではマラリアに抵抗性を示す。つまり, この遺伝子は, 薬剤耐性遺伝子のように持っているかどうかではなく, ヘテロ接合の状態であることが重要である。

表 1 模擬試験の成績

職種別成績			
	検査技術者	研究者	学生
受験者数	38	13	2
平均点	31	33	38
最高点	43	44	43
最低点	11	17	33

資格別成績

	指導者	技術者	一般
受験者数	6	23	24
平均点	35	31	31
最高点	43	43	44
最低点	22	17	11

問 17 は HLA クラス I 分子の構造についての問題であるが、約 3 割の人が「 α 鎖とペプチドのヘテロ二量体」を選択して不正解になっていた。正しくは α 鎖 + β 2 ミクログロビン + ペプチドの複合体である。HLA 分子のみに着目しても、 α 鎖と β 2 ミクログロブリンのヘテロ 2 量体である。

問 26 は個人識別の原理に関する質問であるが、約 4 割の受験者が「ミトコンドリア多型で父親方の兄弟との関連性を検索できる」を選択していた。もちろんミトコンドリアは母系遺伝するため、父方の関連は検索できない。

問 27 ではゲノム創薬に不必要な情報として、「HLA 分子の血清学的な抗原情報」を正解の「HLA 領域のゲノムの長さの情報」とほぼ同数の受験者が選択していた。

ゲノム創薬とはゲノム情報をもとにした産物の違いを利用あるいは標的とした創薬であるため、産物に直接関係しない HLA 領域のゲノムの長さの情報は必要としない。血清学的に識別できるという情報

があれば、創薬の標的として利用できる。

問 33 のタイピングに使用する抗血清の選択基準については「交差反応性抗原と反応しない」よりも「交差反応性抗原と時々反応する」を選んだ人が圧倒的に多かった。「交差反応性抗原と常に反応する」抗血清であれば使い様はあるが、時々反応するのであれば誤判定の原因となる。

問 49 は腎移植における急性拒絶反応に関する質問であるが、正解の「細胞性免疫によるリンパ球浸潤を認める」と不正解の「既存の HLA 抗体が関与する」がほぼ同数選択されていた。HLA 抗体の関与も完全には否定できないが、確実に関与しているのは「リンパ球浸潤」である。

今回の試験問題は第 1 回 (MHC 11(3): 299-311, 2005) とはすべて異なる問題を用意した。2 回分を合わせれば、組織適合性技術者に求められる知識のかなりの部分が含まれている。本試験問題の解説が、今後認定資格を目指す方に限らず、組織適合性検査に関わっている方の参考になれば幸いである。

平成 17 年度 認定 HLA 検査技術者試験問題

問 1. ヒトの HLA 系に相当するマウスの主要組織適合性抗原系はどれか。

1. H1
2. H2
3. MLA
4. MIC
5. MoLA

(正解: 2, 正解率: 72%)

問 2. ヒトの染色体について, 正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 第 1 染色体は全染色体の中で最も大きい。
 - b. 46 対で合計 92 本ある。
 - c. 体細胞の分裂期 (M 期) では細胞当たりの染色体数は 2 倍になっている。
 - d. 減数分裂では細胞当たりの染色体数が 1/4 になる。
 - e. 男性は X 染色体をもたない。
1. a, c 2. a, e 3. b, c 4. c, d 5. d, e

(1, 57%)

問 3. ヒトにおける, RNA からタンパク質への翻訳について, 間違っている記述はどれか。

1. 翻訳されるのはエクソン部分のみである。
2. 翻訳の開始コドンは通常 AUG (メチオニン) である。
3. 翻訳直後の N 末端にあるシグナルペプチドは, 成熟タンパク質になる段階で除かれる。
4. 1 塩基置換があると翻訳の際にフレームシフトを起こす。
5. 翻訳終止コドンは 3 種類存在する。

(4, 51%)

問 4. 親子や兄弟などの血縁者の間では, ゲノムの多くの部分が共有されている。次のうち正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 母親がもつ 2 つの HLA 対立遺伝子の両方が娘に伝わる。
- b. 性染色体は父親から娘には遺伝しない。
- c. 母親と娘の間では核ゲノムの 1/2 を共有している。
- d. 同じ父親をもつ兄と弟は, 同一の Y 染色体をもつ。
- e. ミトコンドリア DNA は必ず父親から子に遺伝する。

1. a, b 2. a, c 3. c, d 4. c, e 5. d, e

(3, 87%)

問 5. 遺伝的多型とは, 集団中に複数の対立遺伝子が高頻度で存在する状態をいう。次のうち, 遺伝的多型について, 正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. ABO 血液型は日本人集団で遺伝的多型を示す。
- b. 遺伝的組換え (recombination) によって新しい対立遺伝子が生じることがある。
- c. 多数の民族が混じり合った集団の HLA 遺伝子には, ほとんど遺伝的多型がみつからない。
- d. 突然変異が高頻度で起こると, 遺伝的多型が急速に消滅する。
- e. 小さな集団や隔離された集団では, 遺伝的多型が起こりやすい。

1. a, b 2. b, c 3. b, d 4. c, d 5. c, e (1, 51%)

問 6. HLA ワークショップについて、間違っている記述の組み合わせはどれか。

- a. HLA ワークショップでは、血清学的検査法や DNA タイピング法の評価がおこなわれる。
- b. HLA ワークショップに参加することは、HLA に関する最新の情報や知識を知る上で重要である。
- c. 国際ワークショップでは、世界の HLA 研究者が提出した抗血清の、特異性評価が行なわれていた。
- d. HLA 抗原の対立遺伝子は国際ワークショップで公認される。
- e. 国際 HLA ワークショップで許可された方法のみが、HLA タイピング法として使用できる。

1. a, b 2. a, e 3. b, c 4. c, e 5. d, e (5, 51%)

問 7. HLA 抗原名の表記において、C 座抗原に W がついているのは何故か。

(例: HLA-A26, B35, DR9, DQ4, Cw1)

- 1. C 座抗原はリンパ球表面の発現量が低いことから、血清学で正確にタイピングできないため。
- 2. C 座抗原名はワークショップのみで認められ、WHO の命名委員会で公認されていないため。
- 3. C 座抗原は臨床的にはあまり意味がないため。
- 4. C 座抗原は免疫原性が低く、抗体ができにくいいため。
- 5. 補体成分の C1, C3 等との混同を避けるため。

(5, 81%)

問 8. HLA の A 座で対立遺伝子が 0201 の場合、正しい表記法はどれか。

- 1. HLA-A0201
- 2. HLA*0201
- 3. HLA A*0201
- 4. HLA-A*0201
- 5. HLA-0201

(4, 85%)

問 9. 次の HLA 遺伝子領域に関する次の記述のうち、間違っただ組み合わせはどれか。

- a. ヒトの MHC である HLA は第 6 染色体上に存在する。
- b. セントロメア側から順に、クラス I, クラス II, クラス III 領域に分けられる。
- c. クラス I 領域には古典的クラス I 遺伝子として、HLA-A, HLA-B, HLA-C が存在する。
- d. HLA-E 遺伝子は非古典的クラス I 遺伝子に分類されるが、クラス II 領域に存在する。
- e. クラス III 領域には免疫関連遺伝子だけでなく、免疫との関連が不明な遺伝子も多数存在している。

1. a, b 2. a, e 3. b, d 4. c, d 5. c, e (3, 85%)

問 10. HLA クラス I 分子を発現していない細胞はどれか。

- 1. 成熟赤血球
- 2. 顆粒白血球
- 3. リンパ球
- 4. 単球
- 5. 血小板

(1, 85%)

- 問 11. HLA-DR 遺伝子ハプロタイプについて、間違っている記述の組み合わせはどれか。
- HLA-DRA 遺伝子と HLA-DRB1 遺伝子は、すべての HLA-DR ハプロタイプに存在する。
 - HLA-DR1 ハプロタイプと HLA-DR8 ハプロタイプは、パブリック抗原をコードする HLA-DRB 遺伝子をもたない。
 - HLA-DR2 (DR15, 16) ハプロタイプのパブリック抗原は、HLA-DRB52 である。
 - HLA-DRB9 遺伝子は、すべての HLA-DRB ハプロタイプに見られる偽遺伝子である。
 - HLA-DR4, 7, 9 ハプロタイプに発現する HLA-DRB 遺伝子は、1 個である。
1. a, c 2. a, e 3. b, d 4. b, e 5. c, e (5, 40%)
- 問 12. HLA クラス II 遺伝子の多型の特徴として、正しい記述はどれか。
- HLA_DRA 遺伝子座は、HLA_DRB1 遺伝子座より対立遺伝子の数が多い。
 - HLA_DQA1 遺伝子座は、HLA_DQB1 遺伝子座より対立遺伝子の数が多い。
 - HLA_DPA1 遺伝子座は、HLA_DPB1 遺伝子座より対立遺伝子の数が多い。
 - HLA_DRB 遺伝子座には、HLA-DRB1 から DRB9 までの複数の遺伝子が存在する。
 - HLA_DPA1 遺伝子座には多型が見つからない。
- (4, 62%)
- 問 13. HLA 遺伝子のハプロタイプ頻度について、間違っている記述の組み合わせはどれか。
- ハプロタイプはメンデルの法則にしたがって次世代へ伝達される。
 - 民族や集団によるハプロタイプ頻度の違いは観察されない。
 - 一般に、ある集団で HLA 遺伝子頻度が判れば、ハプロタイプ頻度が推定可能である。
 - 直接カウント法でハプロタイプ頻度を求めるには、家系調査が必要である。
 - 連鎖不平衡値はハプロタイプ頻度の実測値と連鎖平衡状態から期待される値の差である。
1. a, b 2. b, c 3. c, d 4. c, e 5. d, e (2, 64%)
- 問 14. さまざまな霊長類の MHC 遺伝子の系統関係をしらべると、ヒト同士の配列よりもヒトとチンパンジー、あるいはヒトとゴリラが近いという結果がしばしば観察される。これは HLA の高度な多型性と密接に関連している。この HLA 多型の維持に必要なメカニズムと同じ働きにより説明できる最も適当な現象はどれか。
- マラリア流行地域では鎌形赤血球症遺伝子の頻度が高い。
 - Rh 血液型は組み合わせにより母子不適合が起こることがある。
 - ハウスダストは様々なアレルギー症状の原因となる。
 - 多種にわたる抗生物質の多用が多剤耐性菌を産んだ。
 - エイズウイルスの有効なワクチンができない。
- (1, 36%)
- 問 15. HLA-クラス II 分子について、正しい記述の組み合わせはどれか。
- MHC 拘束性を担う。
 - キラー T 細胞の CD8 分子と結合する。
 - サイトカインのレセプターとして作用する。
 - T 細胞レセプターの構成成分の一つとして機能する。
 - 樹状細胞、マクロファージ、B 細胞による抗原提示に関与する。
1. a, c 2. a, e 3. b, c 4. c, d 5. c, e (2, 60%)

問 16. 非古典的クラス I 分子に関する次の記述のうち、正しい組み合わせはどれか。

- a. HLA-G は選択的スプライシングにより一つの遺伝子から数種類の isoform を産生する。
 - b. HLA-G には可溶性抗原も存在する。
 - c. HLA-E は他のクラス I 分子と同様に、細胞内の各種タンパク質由来のペプチドを結合し、抗原提示する。
 - d. HLA-F は多型性に富んでいる。
 - e. HLA-E の発現は胎盤に限られている。
1. a, b 2. b, c 3. b, d 4. c, d 5. d, e (1, 42%)

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

- a. 細胞表面に発現している HLA クラス I 分子は、 α 鎖とペプチドとのヘテロ二量体である。
 - b. 腫瘍細胞上には、HLA クラス I 分子の発現は全く見られない。
 - c. HLA クラス I 分子は糖鎖をもっている。
 - d. CD4 陽性 T 細胞は、細胞上に発現している HLA クラス I 分子を認識する。
 - e. NK 細胞は、標的細胞上の HLA クラス I 分子を認識する。
1. a, b 2. a, c 3. b, c 4. c, d 5. c, e (5, 42%)

問 18. 免疫反応における抗原提示細胞の役割について、間違っている記述はどれか。

- 1. 外来性タンパク質をリソソーム内で分解し、抗原ペプチドを産生する。
 - 2. HLA 遺伝子産物と抗原ペプチドとを会合させる。
 - 3. T 細胞の活性化に必要な補助シグナルを供給する。
 - 4. HLA クラス II 分子と会合する抗原ペプチドを B 細胞に提示する。
 - 5. 抗原ペプチド-HLA 複合体を適当な受容体をもつ T 細胞に提示する。
- (4, 45%)

問 19. 細胞傷害性 T 細胞の機能について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. CD8 陽性の T 細胞はすべて細胞傷害活性をもっている。
 - b. パーフォリンはエフェクター分子として標的細胞に穴を開ける。
 - c. ウイルス感染細胞を変質した自己として認識し破壊する。
 - d. CD8 陽性 T 細胞の T 細胞レセプターの多様性は CD4 陽性 T 細胞のそれよりも低い。
 - e. マラリアなどの原虫そのものに対しても細胞傷害性を示す。
1. a, b 2. b, c 3. c, d 4. d, e 5. a, e (2, 58%)

問 20. T 細胞の分化について、間違った記述はどれか。

- 1. T 細胞の前駆細胞は、骨髄造血幹細胞に由来する。
 - 2. T 細胞の分化は、胸腺でおこる。
 - 3. T 細胞の分化過程で、自己反応性 T 細胞が除去される。
 - 4. T 細胞の分化過程で、自己の HLA に結合した非自己ペプチドを認識する T 細胞が選択される。
 - 5. 分化を遂げた成熟 T 細胞の多くは、CD4 と CD8 の両方を同時に発現する。
- (5, 66%)

問 21. 自己(抗原)に対する免疫寛容(トレランス)について、間違った記述はどれか。

- 1. 免疫寛容の破綻により、自己免疫疾患が発症する。

2. 制御性(レギュラトリー) T細胞は、免疫寛容の維持において重要な役割を果たしている。
3. 胎児期あるいは新生児期に感染したウイルス抗原に対して免疫寛容が獲得され、ウイルスを排除できずにキャリアとなる場合がある。
4. 感染が引き金となって自己に対する免疫寛容が破綻することがある。
5. 体内に自己反応性 T細胞が存在すると、必ず自己免疫疾患を発症する。 (5, 89%)

問 22. 移植の分類で間違っている記述はどれか。

1. 自家移植は自分自身の組織や造血幹細胞を自分に移植することである。
2. 同系移植は遺伝的背景が全く同一な個体間での移植である。
3. 同種移植は一卵性双生児を含む血縁者間移植である。
4. 同種移植は夫婦間や異なる民族間で行う移植も含む。
5. 異種移植はサルからヒト、サルからブタのような移植の総称である。 (3, 79%)

問 23. HLA が関与する輸血副作用について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 溶血性副作用に関与する。
 - b. 非溶血性副作用に関与する。
 - c. 輸血後 GVHD に関与しない。
 - d. TRALI (輸血関連急性肺障害)に関与しない。
 - e. 血小板輸血不応状態に関与する。
1. a, b 2. b, d 3. b, e 4. c, d 5. d, e (3, 89%)

問 24. 同種造血幹細胞移植の適応となる疾患として、正しい組み合わせはどれか。

- a. 慢性骨髄性白血病
 - b. 大腸がん
 - c. 先天性免疫不全症
 - d. 地中海性貧血(サラセミア)
 - e. 小細胞性肺がん
1. a, b, c 2. a, c, d 3. b, c, d 4. b, d, e 5. c, d, e (2, 87%)

問 25. 腫瘍免疫について、間違っている記述はどれか。

1. HLA クラス I 分子を欠損した癌細胞は、細胞傷害性 T細胞からの攻撃を受けにくい、NK細胞からの攻撃を受けやすくなる。
2. 癌に対するエピトープ(ペプチド)ワクチンは HLA クラス I 分子の型に応じて作製され、細胞傷害性 (CD8) T細胞を誘導できる。
3. 癌の発症は HLA のタイプと連鎖している。
4. HLA クラス I 分子を十分発現していても、接着分子や補助刺激分子を発現していないため、免疫防御からエスケープする癌もある。
5. 樹状細胞は HLA クラス I およびクラス II 分子に加えて、補助刺激分子を強く発現しているため、これに癌特異抗原を取り込ませる抗腫瘍ワクチンの試みが行われている。 (3, 77%)

問 26. 個人識別に関する次の記述のうち、正しい組み合わせはどれか。

- a. 記憶喪失者や重度の認知症患者などの身元確認も個人識別という。
- b. 個人識別に使う HLA 遺伝子は HLA-DPB1 が最も適している。
- c. HLA から性別判断が可能である。
- d. ミトコンドリア多型で父親方の兄弟との関連性を検査できる。
- e. 個人識別に使う遺伝マーカーはヘテロ接合度 (HZ 値) の高いものが良い。

1. a, c 2. a, e 3. b, c 4. c, d 5. d, e

(2, 53%)

問 27. HLA 領域のゲノム創薬を考えた場合 (HLA 遺伝子領域の情報をもとに医薬品を開発する場合)、必要でない情報はどれか。

- 1. HLA 領域のゲノム塩基配列情報
- 2. HLA 遺伝子の多型情報
- 3. HLA 分子の血清学的な抗原情報
- 4. HLA 領域の遺伝子の発現情報
- 5. HLA 領域ゲノムの長さの情報

(5, 45%)

問 28. 削除

問 29. HLA タイピング技術について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 血清学的タイピングは、DNA タイピングが適用不可の場合に用いられる。
- b. 現在行なわれている HLA タイピング法の中でもっとも新しいのは、リンパ球混合培養を利用した細胞学的検査法である。
- c. 信頼性の高い HLA タイピングには、方法の選択や手技の熟達に加え、抗原型や遺伝子型の知識も必要である。
- d. 血清学的タイピングと DNA タイピングの結果が一致しない時は、DNA タイピングの結果が正しい。
- e. クオリティコントロールを行なうことは、HLA タイピング技術の向上につながる。

1. a, b 2. b, c 3. b, e 4. c, d 5. c, e

(5, 96%)

問 30. 血清学的 HLA タイピング (LCT 法) に必須でないものはどれか。

- 1. 抗血清
- 2. 補体
- 3. リンパ球
- 4. フローサイトメーター
- 5. 位相差顕微鏡

(4, 91%)

問 31. 通常、血清学的 HLA タイピング (LCT 法) の検査対象とならない抗原はどれか。

- 1. HLA-A 抗原
- 2. HLA-B 抗原
- 3. HLA-DR 抗原
- 4. HLA-DQ 抗原
- 5. HLA-DP 抗原

(5, 94%)

問 32. B リンパ球分離法について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. B 細胞がナイロンウールに付着する性質を利用して、T 細胞, B 細胞を分離する。
 - b. T 細胞がトロンビン処理により凝集する性質を利用して、T 細胞, B 細胞を分離する。
 - c. B 細胞と T 細胞の比重の差を利用して 1.077 の比重液により T 細胞, B 細胞を分離する。
 - d. T 細胞, B 細胞と特異的に結合する抗体をコーティングしたビーズにより、T 細胞, B 細胞を分離する。
 - e. T 細胞, B 細胞は分離することができない。
1. a, b 2. a, d 3. b, c 4. c, d 5. d, e (2, 85%)

問 33. タイピングに使用する抗血清について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 交差反応性抗原と反応しない。
 - b. 交差反応性抗原と時々反応する。
 - c. 力価の高い。
 - d. 偽陽性があっても偽陰性のない。
 - e. 偽陰性があっても偽陽性のない。
1. a, b 2. a, c 3. b, c 4. c, d 5. d, e (2, 26%)

問 34. PCR-RFLP 法について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. ジデオキシ法を用いる。
 - b. ヘテロ接合の場合、切断断片と非切断断片が観察される。
 - c. 2 種類の制限酵素を用いる場合がある。
 - d. 1 本鎖 DNA の立体構造が塩基配列に依存することに基づく。
 - e. 電気泳動は不要で簡便である。
1. a, b 2. a, c 3. b, c 4. b, d 5. d, e (3, 74%)

問 35. PCR-SSCP 法について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. ポリアクリルアミドゲルには尿素を入れない。
 - b. PCR 産物を変性して 1 本鎖 DNA にした後に泳動する。
 - c. クマシーブルーで染色する。
 - d. 通常、1 アリルに対して 1 本のバンドが得られる。
 - e. 泳動断片の長さが分かるように DNA マーカーを利用する。
1. a, b 2. a, e 3. b, c 4. c, d 5. c, e (1, 43%)

問 36. DNA タイピング法について、間違っている記述の組み合わせはどれか。

- a. PCR-SSOP 法は多数検体に適した方法である。
 - b. PCR-SBT 法はクローニングを必要とする。
 - c. PCR-SSCP 法は未知の対立遺伝子を検出するのに適している。
 - d. PCR-SSP 法は制限酵素を必要とする。
 - e. PCR-PHFA 法の原理はホモデュプレックス形成である。
1. a, b 2. a, d 3. b, c 4. b, d 5. c, e (4, 72%)

問 37. Luminex システムを用いた DNA タイピング法について、間違っただ記述はどれか。

1. 1 本のチューブあるいはウエル毎に、1 種類のプローブを用いる。
2. ビーズは 2 種類の蛍光色素の含有量の違いにより識別される。
3. ビーズにプローブを結合させておくことで、DNA タイピングが可能である。
4. 蛍光値はフローサイトメトリーを原理とする機器により測定される。
5. 赤色レーザーでビーズの識別を、緑色レーザーでビーズ表面の蛍光物質を測定する。 (1, 72%)

問 38. DNA 抽出試薬でタンパク質変性剤として使用される薬剤として、正しい組み合わせはどれか。

- a. 塩酸
 - b. クエン酸
 - c. フェノール
 - d. エタノール
 - e. クロロホルム
1. a, b 2. a, d 3. c, d 4. c, e 5. d, e (4, 66%)

問 39. PCR における非特異的増幅の対処法として、間違っただ記述の組み合わせはどれか。

- a. アニーリング温度を上げる。
 - b. 鋳型 DNA 濃度を上げる。
 - c. DNA ポリメラーゼ量を下げる。
 - d. サイクル数を上げる。
 - e. プライマーデザインを変える。
1. a, b 2. b, c 3. b, d 4. c, e 5. d, e (3, 74%)

問 40. PCR において DNA の混入を防止する方法として、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. エアロゾル防止フィルター付きのピペットチップを用いる。
 - b. PCR 産物を取り扱う場所を隔離する。
 - c. 部屋の換気をよくする。
 - d. ホットスタート法を使う。
 - e. 伸長反応の時間を長くする。
1. a, b 2. a, c 3. b, d 4. c, d 5. d, e (1, 96%)

問 41. 対立遺伝子の同定と判定について、間違っただ記述の組み合わせはどれか。

- a. PCR-SSCP 法で電気泳動のバンドパターンが一致していれば同一の対立遺伝子である。
 - b. PCR-SSP 法の判定には増幅された DNA のサイズも考慮する必要がある。
 - c. PCR-SBT 法の判定には *cis/trans* を考慮する必要はない。
 - d. PCR-SSOP 法の判定にはクロスハイブリダイゼーションを考慮する必要がある。
 - e. PCR-RFLP 法の判定には部分切断を考慮する必要がある。
1. a, b 2. a, c 3. b, d 4. c, d 5. d, e (2, 70%)

問 42. HLA 遺伝子と抗原型の関係について、間違っただ記述の組み合わせはどれか。

- a. HLA 型(血清対応型)とは HLA 遺伝子型から推定した HLA 抗原型のことである。

- b. 同義置換のみ異なる2種類の対立遺伝子のHLA抗原型は同一である。
- c. 区別できない2種類以上の対立遺伝子の組み合わせが存在する場合をアンビギュイティという。
- d. あるHLA遺伝子が検出できれば、必ずそれに対応したHLA抗原が存在する。
- e. HLA遺伝子タイピングを4桁レベルまで行わないとHLA型(血清対応型)を決定できない。

1. a, c 2. a, e 3. b, c 4. b, d 5. d, e (5, 64%)

問43. 削除

問44. LCTおよびAHG-LCT法について、間違った記述の組み合わせはどれか。

- a. AHG(抗ヒト免疫グロブリン抗体)を使用し、反応を増強させるLCT法をAHG-LCT法という。
- b. 試験結果の判定は、生細胞の割合で判定する。
- c. 患者血清とドナーリンパ球を使用して、交差適合試験を行う。
- d. 非特異的反応の原因の一つとして薬剤が考えられる。
- e. LCTは、leukocytes cytotoxicity testの略語である。

1. a, b 2. b, d 3. b, e 4. c, d 5. d, e (3, 38%)

問45. Flow-PRA法について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 精製したHLA抗原を用いてHLA抗体を検査する方法である。
- b. 抗原抗体反応を酵素抗体法(EIA)で検出する。
- c. PRAは、Panel Reactive Antibodyの略語である。
- d. HLAタイプを決定することができる。
- e. 血清とリンパ球を反応させて抗体を検出する方法である。

1. a, c 2. a, e 3. b, c 4. b, d 5. c, e (1, 62%)

問46. Luminexシステムを用いた抗体検査法について、間違った記述の組み合わせはどれか。

- a. 他の方法と比較し、すべてのHLA抗体において検出感度が高い。
- b. 1本のチューブあるいはウェル内で、多種類の抗原に対する抗体の検査が可能である。
- c. 測定原理は細胞傷害性試験と同じである。
- d. クラスIおよびクラスIIの抗体が同時に検出できるシステムも開発されている。
- e. 抗原を結合した蛍光ビーズを用いて抗体の検出が可能である。

1. a, b 2. a, c 3. b, c 4. c, d 5. d, e (2, 64%)

問47. MLC法について、正しい記述の組み合わせはどれか。

- a. 主にクラスII抗原の適合性を検出する検査法である。
- b. ドナーとレシピエントのHLAタイプが一致する場合は、リンパ球の増殖が起こる。
- c. 血小板輸血等の際にドナーと患者の適合性を判断する場合に行う。
- d. MLCは、T細胞増殖反応の定量により判定を行う。
- e. クラスI抗原のHLAタイプを決定する検査法である。

1. a, b 2. a, d 3. b, c 4. b, e 5. d, e (2, 38%)

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

- マイナー組織適合性抗原の検査は HLA と同様に抗体を用いて検査する。
- マイナー組織適合性抗原の検査には必ず CTL クローンを使用する。
- マイナー組織適合性抗原の検査法には DNA を用いる方法がある。
- マイナー組織適合性抗原の検査法として確立している方法はない。
- マイナー組織適合性抗原の検査法で CTL クローンを用いる方法は熟練と特別な装置を必要とし、ルーティン検査として一般化するのは困難である。

1. a, c 2. a, e 3. b, d 4. c, e 5. d, e

(4, 64%)

問 49. 腎移植後の急性拒絶反応に関する記述のうち、正しいのはどれか。

- 移植後 3 ヶ月以降に発症する。
- 既存の HLA 抗体が関与する。
- 血管内膜の肥厚を認める。
- 免疫抑制剤に抵抗性である。
- 細胞性免疫によるリンパ球浸潤を認める。

(5, 38%)

問 50. ある疾患と対立遺伝子 A との関連を検討すべく患者・対照研究を行ったところ、次のような 2x2 分割表が得られた。この場合に、オッズ比は次のどの式で与えられるか。

分割表

	患者集団 (a+c 人)	健康対照集団 (b+d 人)
対立遺伝子 A をもつ	a	b
対立遺伝子 A をもたない	c	d

- $(a \times d) / (b \times c)$
- $(a \times b) / (c \times d)$
- $(a \times c) / (b \times d)$
- $(a + c) / (b + d)$
- $(a + b) / (c + d)$

(1, 45%)

平成 17 年度認定組織適合性指導者登録名簿 (敬称略)

(平成 17 年 10 月 2 日から平成 22 年 10 月 1 日)

認定番号	氏 名
S05001	小川 公明

平成 17 年度認定 HLA 検査技術者登録名簿 (敬称略)

(平成 17 年 10 月 2 日から平成 22 年 10 月 1 日)

認定番号	氏 名
G05001	丸山美津子
G05002	小西真里恵
G05003	平岡 朝子
G05004	飯田 和子
G05005	長尾 栄子
G05006	阿部 千尋
G05007	佐久真正弘
G05008	泉澤 康弘
G05009	小島 薫
G05010	谷藤えみ子

日本組織適合性学会
平成 16 年度 決算報告書

自 平成 16 年 4 月 1 日
至 平成 17 年 3 月 31 日

(収入の部)	予 算	決 算	差 異
会 員 年 会 費	3,200,000	3,519,300	319,300
学 会 誌 広 告 費	1,000,000	580,000	-420,000
学 会 誌 販 売	150,000	76,405	-73,595
寄 付 (T F B)	500,000	500,000	0
利 息	500	28	-472
当 期 収 入 合 計	4,850,500	4,675,733	-174,767
前 年 度 繰 越 金	6,862,126	6,862,126	0
収 入 合 計	11,712,626	11,537,859	-174,767

(支出の部)	予 算	決 算	差 異
大 会 援 助 金	2,000,000	2,000,000	0
学 会 誌 作 成 費	2,500,000	2,879,925	-379,925
TFB 賞 金	500,000	500,000	0
旅 費	100,000	0	100,000
通 信 費	250,000	301,055	-51,055
会 議 費	50,000	4,640	45,360
事 務 委 託 費	0	163,000	-163,000
事 務 費	250,000	147,484	102,516
当 期 支 出 合 計	5,650,000	5,996,104	(448,620)
次 期 繰 越 金	6,062,626	5,541,755	520,871
支 出 合 計	11,712,626	11,537,859	174,767
当 期 収 支 差 額	-799,500	-1,320,371	520,871

(繰越内訳 振替口座: 805,000 普通預金: 410,614 現金: 101,818)

平成 16 年度日本組織適合性学会会計を監査し、適正であったことを認めます。

平成 17 年 9 月 30 日 日本組織適合性学会 監事

片桐 一
笹月 健彦

日本組織適合性学会
平成 16 年度 認定制度決算報告書

自 平成 16 年 4 月 1 日
至 平成 17 年 3 月 31 日

(収入の部)	予 算	決 算	差 異
QC ワークショップ	600,000	430,000	170,000
講習会参加費	5,000	154,000	-149,000
申請料	80,000	105,000	-25,000
利息	30	23	7
当期収入合計	685,030	689,023	-3,993
前年度繰越金	3,746,280	3,746,280	0
収入合計	4,431,310	4,435,303	-3,993
(支出の部)	予 算	決 算	差 異
事業経費	100,000	75,915	24,085
実技研修費委託費	50,000	0	50,000
会場費	100,000	0	100,000
講師費	200,000	80,000	120,000
QC ワークショップ	200,000	306,106	-106,106
会議費	60,000	19,632	40,368
旅費	200,000	47,820	152,180
通信費	20,000	34,400	-14,400
事務費	30,000	4,242	25,758
当期支出合計	960,000	568,115	391,885
次期繰越金	3,471,310	3,867,188	-395,878
支出合計	4,431,310	4,435,303	-3,993
当期収支差額	-274,970	120,908	-395,878

(繰越内訳 振替口座: 168,000 普通預金: 3,698,751 現金: 437)

平成 16 年度日本組織適合性学会認定制度会計を監査し、適正であったことを認めます。

平成 17 年 9 月 30 日

日本組織適合性学会 監事

片桐 一

笹月 健彦

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,

枚数は特に指定しないが、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。原稿の内容は以下に従って記載し、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。

日本語で投稿する場合、内容は二頁目よりはじめ、要約、はじめに、材料と方法、結果、考察、参考文献の順に記載する。また、要約の末尾に日本語のキーワード(5語以内)を加える。脚注は適宜、設けてもよい。本文の末尾に別項で英語のタイトル、著者名、所属(様式は上述に従う)、次の項に英語の要約と Key words (5語以内)をつける。

英語で投稿する場合、内容は二頁目よりはじめ、Summary, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Referencesの順に記載する。Summaryの末尾に英語の Key words (5語以内)を加える。脚注は適宜、設けてもよい。本文の末尾に別項で日本語のタイトル、著者名、所属、次の項に日本語の要約とキーワード(5語以内)をつける。

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.の通りにしたがい、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。英語で投稿する場合にも、日本語でタイトル、著者名、所属、要約、5語以内のKeywordを加える。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

移植医療, HLA タイピング技術, 抗 HLA 抗体の臨床的な意味, HLA と関連するゲノムの多様性など, 会員の皆様のかかわる領域は, HLA を中心に多岐にわたっていますが, その HLA の起源はヒトにいたる進化の過程で, いつ頃にでき, どのように変わってきたのでしょうか? 本号より総説「MHC の比較ゲノム」シリーズが始まります。昨年(平成 17 年)の 4 月 15 日に理化学研究所(埼玉県和光市)で「動物 MHC のダイナミズムと機能—魚からヒトへ」と題してひらかれたシンポジウムで議論された MHC のゲノムの種間比較研究の話題を, 広く会員の皆様に提供できるようにシンポジウムで講演された先生方に解説いただく企画です。MHC の進化を解明するという純粋に学術的な問題とともに, 生物資源として有用な動物の利用に際してその動物の MHC の特徴を知ることがいかに重要であるか, わかってくることでしょう。日頃は HLA とだけ付き合っている方も, その親戚である動物の MHC がどういう風にできあがっていて, どんな働きをしているのかという研究の結果に触れてみてください。比べることで HLA についても何か新しい見え方がするかも知れません。 安波 道郎

「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

2006 年 1 月 31 日発行 12 巻 3 号, 2006

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