

MHC

日本組織適合性学会誌

Major Histocompatibility Complex

Vol. 13 No. 1, 2006

Contents

日本組織適合性学会からのお知らせ	
お知らせ	1
第15回日本組織適合性学会大会のご案内	2
平成18年度認定HLA検査技術者講習会のお知らせ	4
訂正	5
[シリーズ: MHCの比較ゲノム]	
MHCとゲノムパラロジ	笠原 正典 9
MHC偽遺伝子化の生物学的意義	颯田 葉子 19
第4回日本組織適合性学会近畿地方会抄録	25
〈日本組織適合性学会誌MHC投稿規定〉	49
編集後記	51

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

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
安波 道郎 長崎大学熱帯医学研究所
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 13 卷第 1 号 平成 18 年 5 月 31 日発行

日本組織適合性学会からのお知らせ

お知らせ	1
第 15 回日本組織適合性学会大会のご案内	2
平成 18 年度認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ	4
訂正	5
[シリーズ: MHC の比較ゲノム]	
MHC とゲノムパラロジ	笠原 正典 9
MHC 偽遺伝子化の生物学的意義	颯田 葉子 19
第 4 回日本組織適合性学会近畿地方会抄録	25
〈日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定〉	49
編集後記	51

お知らせ

日本組織適合性学会会員の皆様

日本組織適合性学会
会長 木村 彰方

先般ご案内のとおり会費徴収、会員管理、学会誌の発送などの学会事務局業務を一部委託していた(財)学会事務センターが倒産(平成16年8月9日)致しましたが、本学会の預け金約420万円は破産管財上の一般債権であったため、配当がありませんでした。その後、本件倒産によって被害を受けた232学会が一体となって学会事務センターの元理事長、元会長を始めとする一部の元理事らとの間で和解交渉を行い、本学会は約24万円の和解金を受け取りました。

本件被害は文部科学省所管の財団法人の倒産という前代未聞の不祥事に伴うものであり、学会執行部としても予期できなかったことではありますが、結果として本学会は約400万円の損害を被りましたため、遺憾ながら昨年度の会計に損金として計上致しました。

本学会事務局は、学会事務センター倒産以後、学会事務業務を外部委託せず事務局が担当して支出の削減をはかっていますが、依然学会運営費に余裕がない状況にあります。そこで昨年度の理事会、評議員会において、有志による学会への寄附を行うことと致しました。また、総会において一般会員の皆さまにも寄附をお願い致しましたところ です。

平成18年3月31日までに、以下の31名の方々より総額710,000円のご寄付を頂きました。ここにお名前を記して感謝の意を表します。

金額	氏名(敬称略, 五十音順)
100,000円	佐治 博夫
60,000円	赤座 達也
50,000円	木村 彰方, 佐田 正晴
30,000円	猪子 英俊, 片桐 一, 五條掘 孝, 笹月 健彦, 高原 史郎, 徳永 勝士, 西村 泰治, 十字 猛夫
20,000円	安藤 麻子, 大谷 文雄
10,000円	間 陽子, 石川 善英, 石谷 明子, 太田 正穂, 小幡 文弥, 柏木 登, 斉藤 敏, 白倉 良太, 高田 肇, 徳永 和夫, 中島 文明, 成瀬 妙子, 平野 哲夫, 平山 謙二, 福西 孝信, 丸屋 悦子, 森島 泰雄

以上

第 15 回日本組織適合性学会大会の御案内

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。今大会のテーマは、**組織適合性：その旧くて新しいテーマ (Histocompatibility revisited)**と致しますので、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・サポール
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
 - 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. 演題申し込み締め切り
2006 年 5 月 31 日(水)

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 九段支店※
 普通 1027291
 第15回日本組織適合性学会大会事務局 木村彰方

※前号の本誌上にてお茶の水支店とお知らせしましたが、支店統合により、店名が変更となりましたのでご留意願います。なお、口座番号の変更はありません。

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MHC前号および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、一般演題、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、学会HPおよび大会ホームページで随時更新致します。

大会HPのURLは以下の通りです。

http://www.tmd.ac.jp/mri/mri-mpath/JSHI2006_index.html

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) 17 時頃より(未定：詳細は次号/HP に掲載)

場 所：シェーンバッハ・サボー(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

訂 正

MHC vol. 12 No. 3, 2006 中の第9回 HLA-QC ワークショップレポートの著者名に誤植がありましたので、以下のように訂正致します。関係各位にご迷惑をおかけしましたこととお詫びします。(MHC 編集委員会)

p65-67

第9回 HLA-QC ワークショップレポート—全体経過—

著者；木村彰方，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#

#：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

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)}

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野，2) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部ゲノム多様性研究室，3) 信州大学医学部法医学，4) 東京都赤十字血液センター検査部，5) 日本薬科大学生物学，6) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室，7) 国立循環器病センター研究所，8) 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部，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

p68-70

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—

著者；柏瀬貢一，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#

#：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

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)}

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野，2) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部ゲノム多様性研究室，3) 信州大学医学部法医学，4) 東京都赤十字血液センター検査部，5) 日本薬科大学生物学，6) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室，7) 国立循環器病センター研究所，8) 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部，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

p70-76

第9回 HLA-DNA タイピング 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—

著者；小林 賢，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#

#：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

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)}

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野，2) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部ゲノム多様性研究室，3) 信州大学医学部法医学，4) 東京都赤十字血液センター検査部，5) 日本薬科大学生物学，6) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室，7) 国立循環器病センター研究所，8) 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部，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

p76-81

第9回 HLA-DNA タイピング QC ワークショップレポート —方法論別データ検討報告 (PCR-SSO)—

著者；酒巻建夫，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#

#：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

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)}

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野，2) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部ゲノム多様性研究室，3) 信州大学医学部法医学，4) 東京都赤十字血液センター検査部，5) 日本薬科大学生物学，6) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室，7) 国立循環器病センター研究所，8) 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部，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

p82-93

第9回 HLA-DNA タイピング QC ワークショップレポート 一生データ解析：いわゆる”Luminex 法—

著者；丸屋悦子，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#

#：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

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)}

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野，2) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部ゲノム多様性研究室，3) 信州大学医学部法医学，4) 東京都赤十字血液センター検査部，5) 日本薬科大学生物学，6) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室，7) 国立循環器病センター研究所，8) 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部，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

p94-96

第9回 HLA-DNA タイピング QC ワークショップレポート 一方法論別検討 SBT, RFLP, SSCP—

著者；成瀬妙子，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#

#：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

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)}

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野，2) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部ゲノム多様性研究室，3) 信州大学医学部法医学，4) 東京都赤十字血液センター検査部，5) 日本薬科大学生物学，6) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室，7) 国立循環器病センター研究所，8) 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部，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

p96-101

第9回 HLA-DNA タイピング 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—

著者；安波道郎，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#

#：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

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)}

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野，2) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部ゲノム多様性研究室，3) 信州大学医学部法医学，4) 東京都赤十字血液センター検査部，5) 日本薬科大学生物学，6) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室，7) 国立循環器病センター研究所，8) 日本赤十字社中央血液研究所研究

開発部, 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

p101-103

第9回 HLA-DNA タイピング 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)—

著者; 太田正穂, 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#

#: 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

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)}

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 2) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部ゲノム多様性研究室, 3) 信州大学医学部法医学, 4) 東京都赤十字血液センター検査部, 5) 日本薬科大学生物学, 6) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, 7) 国立循環器病センター研究所, 8) 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部, 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

p104-115

第9回 HLA-DNA タイピング QC ワークショップレポート —抗体部門報告—

著者; 中島文明, 赤座達也, 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#

#: 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

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)}

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 2) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部ゲノム多様性研究室, 3) 信州大学医学部法医学, 4) 東京都赤十字血液センター検査部, 5) 日本薬科大学生物学, 6) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, 7) 国立循環器病センター研究所, 8) 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部, 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

p116-124

第9回 HLA-DNA タイピング 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—

著者; 田中秀則, 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#

#: 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

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)}

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 2) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部ゲノム多様性研究室, 3) 信州大学医学部法医学, 4) 東京都赤十字血液センター検査部, 5) 日本薬科大学生物学, 6) 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, 7) 国立循環器病センター研究所, 8) 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部, 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

以上

● 総 説 ●

MHC とゲノムパラロジ

笠原 正典

北海道大学 大学院医学研究科

(平成 18 年 4 月 3 日受付)

要約: ヒトのゲノムを詳細に観察すると、ブロック重複によって形成されたと考えられる遺伝子の集団(クラスター)が2-4セット, 典型的には4セット, 異なる染色体上に存在する現象が認められる。この現象は、ゲノムパラロジとして知られている。過去10年にわたる研究により、1) ヒトの主要組織適合遺伝子複合体(MHC)である *HLA* 領域はゲノムパラロジを示す典型的な遺伝領域であること、2) *HLA* 領域とブロック重複によって分岐したと考えられる領域は、主として第1, 9, 19染色体上の限局された部位に存在すること、3) ブロック重複は有顎脊椎動物の共通祖先が出現するまでに、2回起きたと推定されること、4) このブロック重複はゲノム全体の重複(ゲノム重複)の一環として起きた可能性が高いこと、などが明らかになってきた。ここでは、この話題を中心にして、MHCというゲノム領域がどのようにして創成されたのかについて述べる。

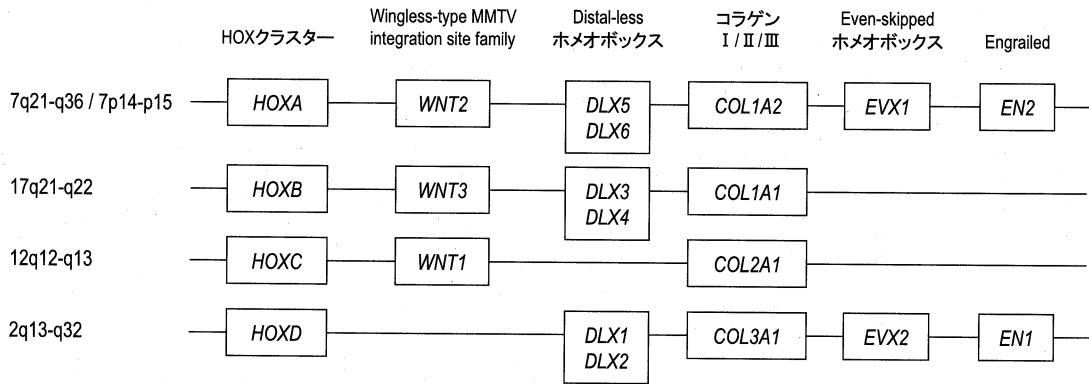
はじめに

主要組織適合遺伝子複合体(Major Histocompatibility Complex: MHC)について語る際に、どうしても避けて通ることのできない用語の一つに遺伝子重複 gene duplication がある。ヒトのMHCである *HLA* 領域には、*HLA-A*, *-B*, *-C* 遺伝子をはじめとする多くのクラスI遺伝子が存在するが、これらは遺伝子重複によって創られたものである。同様に、*HLA-DR*, *-DQ*, *-DP* などのクラスII α , β 鎖遺伝子も遺伝子重複の産物である。MHC遺伝子の歴史を遡ってみると、最初のクラスI, II遺伝子が誕生したのは、顎をもった脊椎動物(有顎類)の共通祖先の段階である。それ以来、MHC遺伝子は遺伝子重複によって数を増やし、偽遺伝子化によって数を減ずるというサイクルを幾度となく繰り返してきた。すなわち、新しい種が誕生し、新しい環境、病原体に適

応していく段階で、生存に有利なMHC遺伝子は選択され、重複によって数を増し、アイソタイプとして固定される。他方、旧種から引き継がれはしたものの、新種において有用性を失ったMHC遺伝子は偽遺伝子となり、ついには消滅する。Kleinらは、このようにMHC遺伝子が進化の過程で数を増やしたり、減じたりする現象をアコーディオンの蛇腹の伸縮に例えて、MHCはあたかもアコーディオンのように進化すると述べている(1)。また、Neiは、同様の現象を捉えて、MHC遺伝子は birth-and-death process によって進化すると述べている(2)。

さて、「MHCはアコーディオンのように進化する」といった時、われわれの念頭にあるのは、タンデムな遺伝子重複である。ところが、過去10年来の研究により、これとはまったく次元の異なる遺伝子重複がMHC領域の創成と誕生を語るうえで、不可

(A) HOXパラロゴン



(B) HLAパラロゴン

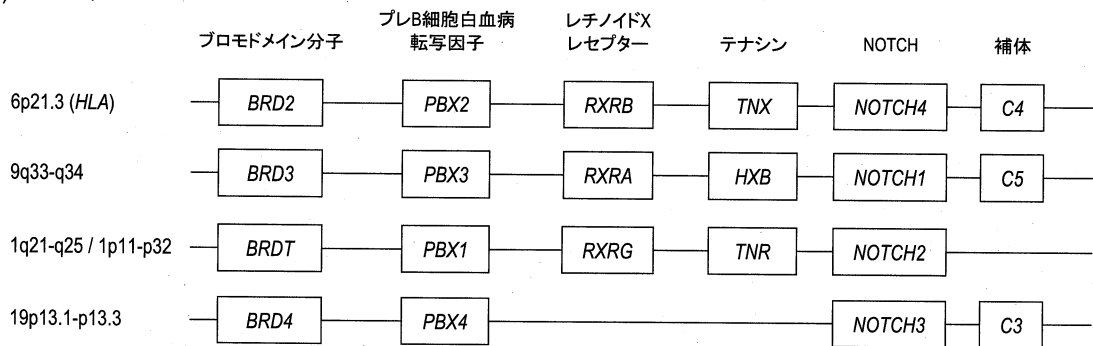


図1 ゲノムパラロジの典型例: HOXパラロゴンとHLAパラロゴン(文献10より改変)
 図は対応するパラロガス遺伝子が4個の異なる染色体上に密に連鎖して存在することを示す。

欠の役割を果たしたことが明らかになってきた。すなわち、脊椎動物進化の初期に起きたと推測されるMHC領域全体を巻き込んだ染色体重複あるいはゲノム重複である。ここでは、こちらの遺伝子重複に焦点を絞って、最近の研究成果を紹介する(3-6)。まず、本稿の表題にある「ゲノムパラロジ」の解説から始めたい。

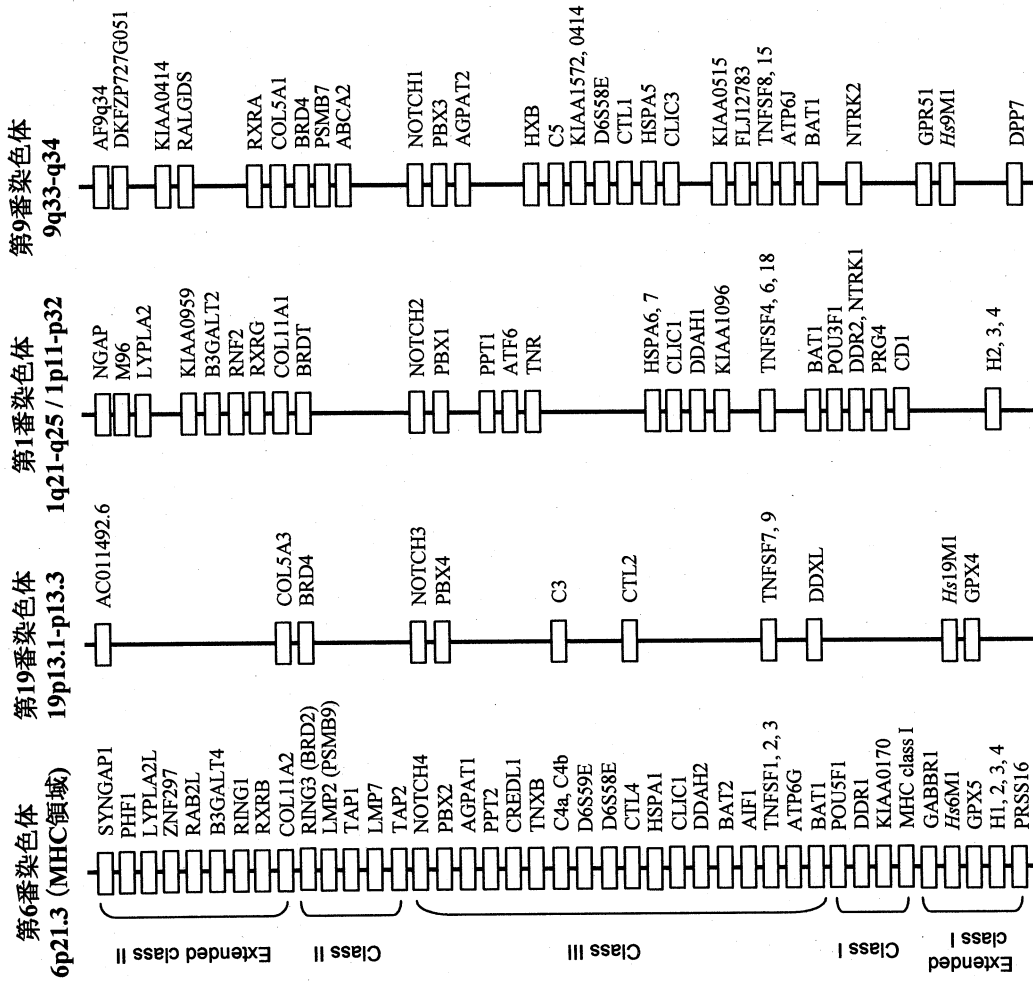
ゲノムパラロジとは？

遺伝子の相互関係は、基本的に、パラロガス paralogous な関係とオーソロガス orthologous な関係に分類される。例をあげると、HLAクラスIII領域には転写因子をコードするPBX2遺伝子が位置しているが、この遺伝子はPBXファミリーの一員であり、ヒトゲノムにはPBX1からPBX4まで4個のPBX遺伝子がある。「パラロガス」は、ヒトのPBX1, PBX2, PBX3, PBX4遺伝子のように、一つの種のゲノムに存在する重複遺伝子の関係を指す。それに対

し、「オーソロガス」はヒトのPBX2遺伝子とマウスのPbx2遺伝子のように種分化によって分かれた遺伝子の関係を指す。

ヒトのゲノムを観察すると、しばしばパラロガスな遺伝子の集団(クラスター)が2-4セット、典型的には4セット、異なる染色体上に存在する現象が認められる。これをゲノムパラロジ genome paralogy と呼んでいる。ゲノムパラロジを示す領域として特に有名なものは、HOX遺伝子クラスターである(図1)。ヒトゲノムには4個のHOX遺伝子のクラスターHOXA, HOXB, HOXC, HOXDがそれぞれ第7, 17, 12, 2染色体上に存在するが、各HOXクラスターの近傍を見ると、WNT (wingless-type MMTV integration site family), DLX (distal-less homeobox), EN (engrailed)などの遺伝子ファミリーのパラロガス・コピーも認められる(図1A)。これは、HOXクラスターのみが重複したのではなく、その近傍の遺伝子(WNT, DLX, ENなど)も含めて領域全体がブ

(A)



(B)

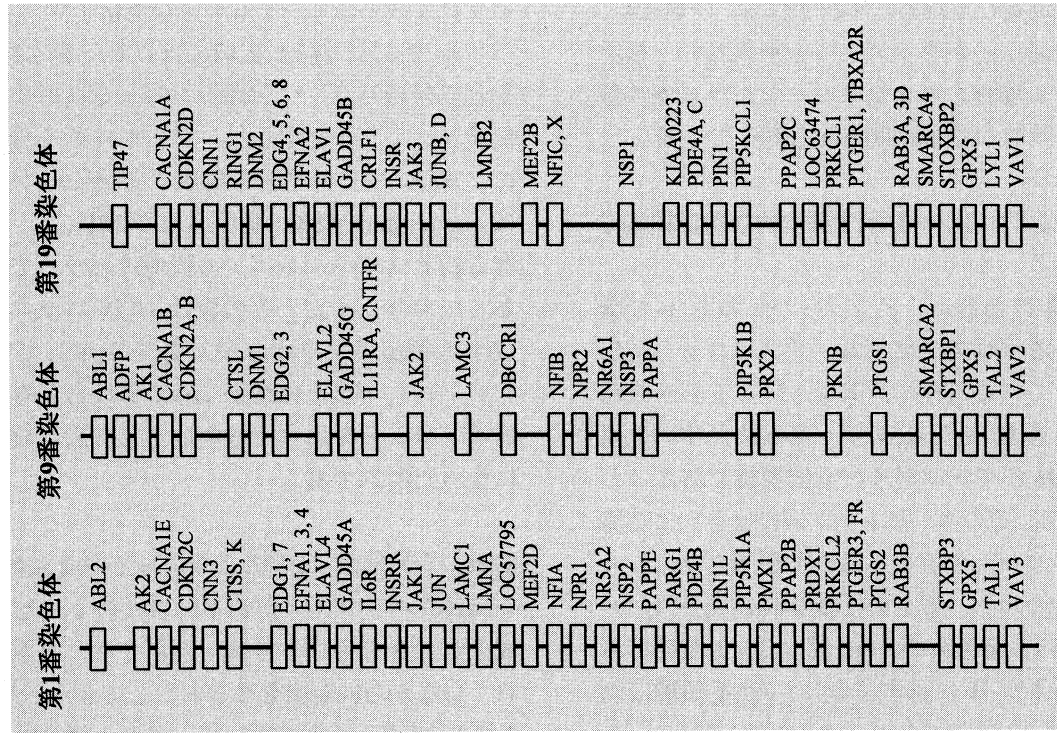


図2 HLAパラロゴンを構成する遺伝子ファミリー

(A) MHCとパラロガスな遺伝領域は、第1, 9, 19染色体上に存在する。対応するパラロガス遺伝子を横並びに示してある。HLA領域内の遺伝子は、動原体側(クラスII領域)の遺伝子からテロメア側(クラスI領域)の遺伝子まで、上から下に順に配置してある。(B) MHC領域にはコピーが存在しないが、それ以外のパラロガス領域間でコピーを共有する遺伝子群。対応するパラロガス遺伝子を横に並べて示しているため、各遺伝子群の並び順は実際の染色体上での配置とは異なる。なお、遺伝子記号についてはNCBIデータベースを参照。

ロックとして重複したためと解釈される。一般的に、パラロガスな遺伝子がクラスターを形成して、複数セット存在する場合、各クラスターをパラロガス領域あるいはパラロゴン *paralagon* と呼んでいる。

MHCはゲノムパラロジエを示す典型的な遺伝領域である

今から10年ほど前に、インターフェロン γ で発現が制御されるプロテアソーム・サブユニット遺伝子群を解析している過程で、筆者らはヒト第9染色体長腕33-34領域9q33-q34が、第6染色体に位置するHLA領域とパラロガスな遺伝領域であることを発見した(7)。その後、ヒトゲノムにはさらに2箇所、HLAパラロゴンが存在することが明らかになった(8-10)。すなわち、第1染色体の1q21-q25/1p11-p32領域と第19染色体の19p13.1-p13.3領域である。図1のパネルBに示すように、HLA領域にはPBX2, 補体第4成分(C4), テナシンX(TNX), レチノイドXレセプター β 鎖(RXRB)遺伝子が存在するが、1q21-q25領域にはPBX1, テナシンR(TNR), レチノイドXレセプター γ 鎖(RXRG)遺伝子, 9q33-q34領域にはPBX3, 補体第5成分(C5), テナシン(HXB), レチノイドXレセプター α 鎖(RXRA)遺伝子, 19p13.1-p13.3領域にはPBX4と補体第3成分(C3)遺伝子が位置している。すでに述べたように、PBX1-4遺伝子は共通の祖先PBX遺伝子に由来したパラロガス遺伝子であり、補体のC3, C4, C5遺伝子もC3様の祖先遺伝子に由来したパラロガス遺伝子である。また、3つのテナシン遺伝子と3つのレチノイドXレセプター遺伝子も、それぞれ祖先テナシン, 祖先レチノイドXレセプター遺伝子の重複によって創られたパラロガス遺伝子である。このように、ヒトゲノムにはHLA領域のパラロゴンが第1, 第9, 第19染色体上に存在している。

HLAパラロゴンがはじめて同定された1996年当時は、4つのパラロゴン間でコピーを共有する遺伝子ファミリーは、10にも満たない状況であった(7)。しかし、ヒトゲノム計画が終了した現在、HLAパラロゴンを構成する遺伝子ファミリーは、優に100個を超えている。図2のパネルAには、HLA領域に

パラロガス・コピーをもつ主な遺伝子ファミリーを、パネルBにはHLA領域にはコピーをもたないが、それ以外のパラロゴン間でコピーを共有する主な遺伝子ファミリーを示した。パネルAから分かるように、HLAパラロゴンを構成する遺伝子ファミリーは、extended MHC(拡張されたMHC)として知られる約8メガベースペアの領域にわたって広範に分布しており、また、その数はHOXパラロゴンを構成する遺伝子ファミリーの数を凌駕している(4, 11)。今日、HLA領域がHOX領域とともに、ゲノムパラロジエを示す典型領域として広く認知されるに至った所以である。

MHCパラロゴンはどのようにして形成されたのか?

MHCパラロゴンが基本的にどのような機序で形成されたかをめぐっては、大きく2つの説が提唱され、少なからぬ論議をまきおこしてきた。筆者らは、4つのMHCパラロゴンは、本来1個しかなかった遺伝子クラスターが染色体レベルで2回重複したことによって形成されたと考え、染色体重複説(MHCの染色体重複モデル)を提唱した(7, 9, 12)。この説では、染色体重複後、各パラロゴン内の遺伝子は次第に機能的な分化を遂げ、パラロゴンの1つがMHC領域となり、残り3つが1p11-p32/q21-q25, 9q33-q34, 19p13.1-p13.3領域になったと説明する。これに対して、Hughesらは、MHCパラロゴンを構成するパラロガス遺伝子の分岐年代が必ずしも一定でないことを根拠に、染色体重複(ブロック重複)ではなく、機能的な理由による遺伝子のクラスタリング(functional clustering)によって、4つのパラロゴンが形成されたとする説を提唱した(13)。機能的クラスタリング説には、特定の染色体領域に遺伝子の分配を可能にする遺伝的なメカニズムを想定することが困難であること、染色体重複(ブロック重複)によって形成されるパラロガス遺伝子の分岐年代は必ずしも同一である必要はないこと(10)など、さまざまな難点があったが、最近まで論争が続いていた。

この論争に決着をつけたのは、Pontarotti, 猪子グループによる無脊椎動物ナメクジウオの研究である(14)。この研究により、ナメクジウオゲノムには、

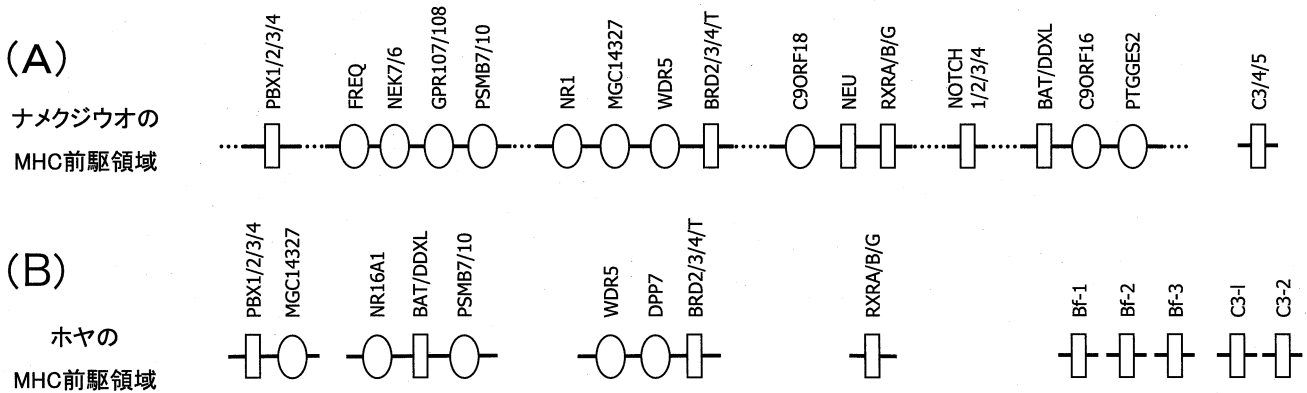


図3 無脊椎動物にみられる MHC 前駆領域

(A) ナメクジウオ(頭索類)の MHC 前駆領域。ヒトでは異なった染色体にコピーをもつパラログス遺伝子の重複前型(祖先型)と考えられる遺伝子が、ナメクジウオのゲノムでは、ひとつの領域上にある。各領域の連鎖は確認されているが、詳細な配置は不明である。(B) ホヤ(尾索類)の MHC 前駆領域。ナメクジウオの祖先型 MHC 領域と同様、ヒトでは異なった染色体に存在するパラログス遺伝子の祖先型遺伝子が連鎖している。実線で連結されていない領域が実際に連鎖しているかどうかは不明である。PBX1/2/3/4 は 4 つの PBX 遺伝子の祖先型を意味する。他の遺伝子についても同様。なお、遺伝子記号については NCBI データベースを参照。

ヒトの 4 個の MHC パラロゴンの重複前型と考えられる単一の領域(ただし、クラス I, II 遺伝子は含まない)が存在することが明らかになった(図 3A)。重複前型領域の存在は染色体重複説を支持する決定的な証拠である。したがって、これにより、MHC パラロゴンが染色体レベルでの重複によって形成されたことが実証された。

MHC パラロゴンを形成した染色体重複はいつおきたのか?

いったい、HLA パラロゴンはいつ形成されたのであろうか。すでに筆者らが報告したように、マウスゲノムにも MHC パラロゴンは認められる(12)。また、ゼブラフィッシュのような硬骨魚類のゲノムにも同様なパラロゴンが存在する。したがって、MHC 領域の形成に関与した染色体重複は哺乳類の起源よりはるかに古く、硬骨魚類が出現する以前の段階でおきたと考えられる。

今日、コンセンサスとして受け入れられているのは、すべての有顎類(軟骨魚類から哺乳類まで)は、MHC 領域を含めて基本的に 4 個の MHC パラロゴンをもっているが、それより原始的な動物には真の意味での MHC 領域は存在せず、上述の 4 つの MHC

パラロゴンに直接、対応するパラロゴンはもっていないということである(5)。ここで、「基本的に 4 個」という表現を用いたのは、硬骨魚類の中には、硬骨魚類の系統で独自に生じたゲノム重複のため、4 個以上の MHC パラロゴンをもっている種もあるからである。最近、無脊椎動物の一員であるホヤ(尾索類)の全ゲノム配列が決定されたが、この生物には MHC クラス I, II 遺伝子は存在せず、重複前型と考えられる MHC の祖先領域が存在することが明らかになった(15)(図 3B)。また、すでに述べたように、ナメクジウオ(頭索類)のゲノムにも同様の重複前型と考えられる単一の MHC の祖先領域が同定されている(14)(図 3A)。したがって、MHC 領域の形成に関与した 2 回の染色体重複は、ナメクジウオやホヤなどの無脊椎動物が出現してから、有顎類が出現するまでの間に生じたものと考えられる。

ナメクジウオやホヤなどの無脊椎動物と有顎類の間に位置する生物は、無顎類(ヤツメウナギ、メクラウナギに代表される円口類)である。最近、円口類では、leucine-rich repeat を構成単位として遺伝子再構成をおこなう遺伝子 VLR (variable lymphocyte receptor) が、抗原レセプターとして使用されている可能性がきわめて高いことが示された(16, 17)。この

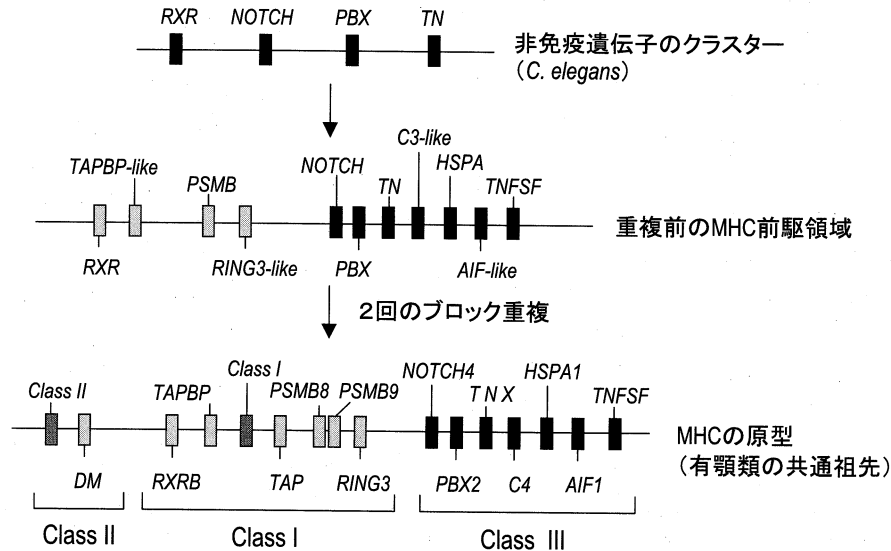


図4 MHCの染色体重複モデル

重複がおきる直前の段階までには、MHC パラロゴンにコピーをもつ遺伝子ファミリーの祖先遺伝子から成る単一の遺伝領域が形成された。これが2回、ブロックとして重複し、4個のパラロゴンが形成されたと考えられる。その1つがMHC領域となり、残り3つが1p11-p32/q21-q25, 9q33-q34, 19p13.1-p13.3領域になった。スペースの関係で、重複後に誕生したMHC以外の3領域は示していない。また、図には代表的な遺伝子座のみを示した。MHC領域に存在するTAP, PSMB8, PSMB9, TAPBPはクラスI分子による抗原提示に関与する抗原処理遺伝子である。無脊椎動物である線虫 *C. elegans* においても、RXR, NOTCH, PBX, TN 遺伝子は連鎖している。

ことは、無顎類からMHCクラスI, II分子、T細胞レセプター、免疫グロブリンを同定しようとする試みがすべて失敗に終わっていることと合致しており、無顎類にはクラスI, II遺伝子を含むMHC領域が存在しないことを強く示唆している。無顎類のゲノムに何個のMHCパラロゴンが存在するのかが興味深い問題であるが、現在のところ解答は得られていない。

以上述べたことを踏まえて、MHCパラロゴンの成立過程を概括すると図4のようになる。すなわち、まず、MHCの祖先ともいべき遺伝領域(MHC前駆領域)が形成され、そこに、現在、MHCパラロゴン間でコピーを共有する遺伝子ファミリーの祖先遺伝子が集まった。次に、この祖先領域が2回、ブロックとして重複し、MHC領域を含む計4個の領域を生み出した。基本的に、4個のMHCパラロゴンをもっているのは有顎類だけであり、無脊椎動物のゲノムには基本的に1個の重複前領域(MHC前駆領域)が存在する。クラスI, II遺伝子は2回のブ

ロック重複が起きた後の段階で、MHC領域内でアセンブリーされたか、あるいはMHC領域外でアセンブリーされた後にMHC領域内に転座したものと推測される。

MHCパラロゴンの形成に関与した染色体重複とゲノム重複との関係

今から35年ほど前に、大野 乾は、性決定機構に流動性がある魚類あるいは両生類が出現した段階で、1回から2回、ゲノム全体が倍数体化によって重複したとする仮説を提唱した(18)。最近になってゲノム重複によって都合よく説明できるデータが集積されるに及んで、この仮説はあらためて注目を集めている。現在、多くのゲノム重複説支持者によって最も確からしいとされているのは2R (two-round) 仮説である(10)。この説では、尾索類と無顎類の間、有顎類の共通祖先と無顎類の間に、それぞれ1回のゲノム重複を想定している(図5)。したがって、重複の時期と回数がMHCパラロゴンの形成に関与し

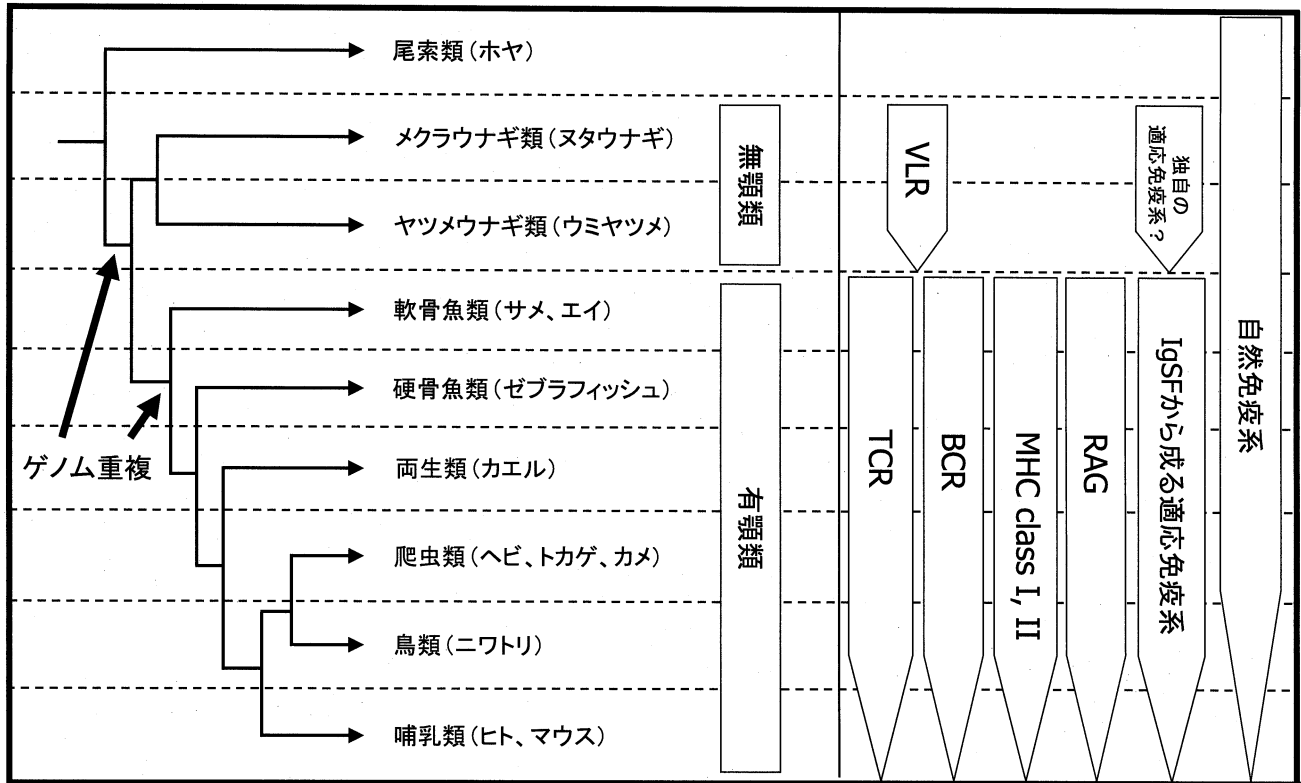


図5 脊索動物の系統関係と2R仮説

つい最近まで、脊椎動物に最も近縁な無脊椎動物は頭索類であると考えられていたため、2R仮説では、頭索類と無顎類の間、無顎類と有顎類の共通祖先の間に、それぞれ1回のゲノム重複を想定していた。本稿ならびに本図では、脊椎動物に最も近縁な無脊椎動物は尾索類であるとの最近の知見(22)に基づき、2R仮説を修正した。したがって、尾索類と無顎類の間、無顎類と有顎類の共通祖先の間に、それぞれ1回のゲノム重複を想定している。ちなみに1970年に出版された大野の著書では、魚類または両生類の段階で少なくとも1回、尾索類と頭索類の中間段階で1回のゲノム重複を想定している。後者の重複については、ゲノム重複と明言されていない。図の右半分には、免疫系の進化の概略を示した。MHC, B cell receptor (BCR), T cell receptor (TCR) のような immunoglobulin superfamily (IgSF) を中核とした適応免疫系の存在は有顎類に限られている。RAG, recombination activating gene; VLR, variable lymphocyte receptor

た染色体重複について想定されていることと一致している。このため、MHCパラロゴンもゲノムレベルでの倍数体化の一環として形成された可能性がある(3-5)。

これまで、HLA領域やHOXクラスターがゲノムパラロジを示す典型的な遺伝領域であることを述べてきた。これらの領域のように多くの遺伝子ファミリーが、しかも巨大な領域にわたってパラロゴンを形成する例はまれであるが、ゲノムパラロジは少数の遺伝領域に限って認められる特殊な現象ではない。ヒトゲノムのドラフト配列を決定したVenterら(19)によると、1,077個にもおよぶ領域が異なっ

た染色体間でのブロック重複によって形成されたと推測されるという。これらの領域はほぼゲノムの全域にわたって分布しており、1,077領域中の781個は5個以上の異なった遺伝子ファミリーのパラロガス・コピーを含んでいる。しかも、HLA領域やHOXクラスターなどの典型例を含めて、分子系統学的な解析がなされたパラロガス領域のほとんどは、ゲノム重複が起きたとされる脊椎動物進化の初期段階に形成されたものである。さらに、最近になって、Dehalら(20)は、脊椎動物進化の初期に形成されたと推測されるパラロガス遺伝子のヒトゲノムにおける分布を網羅的に調査することにより、2回のゲ

ノム重複が起きたのはほぼ確実であるとの結論を得ている。

ゲノム重複ではゲノムにあるすべての遺伝子が同時に重複するため、新機能をもった大量の新遺伝子が誕生しうる。したがって、ゲノム重複により、MHC 領域が創り出されただけでなく、適応免疫系を構成するさまざまな分子も創出された可能性がある(9)。ゲノム重複仮説には反論もあるが(21)、筆者はゲノムレベルでの倍数体化の一環として MHC パラロゴンが形成された可能性はきわめて高いと考えている。

おわりに

MHC は最も詳細に解析されたゲノム領域の 1 つとして、遺伝子動態やゲノム進化を理解するためのモデル領域としての役割を果たしてきた。しかし、脊椎動物の保有する遺伝子全体からみると、著しい多型性を示す古典的クラス I, II 遺伝子はきわめて特殊な存在である。また、MHC 領域の遺伝子動態も脊椎動物ゲノムの平均的なそれを反映しているとはいえない。さらに、MHC や *HOX* 領域のように、典型的なゲノムパラロジを示す遺伝領域はヒトゲノムを見渡してもまれである。この意味で、MHC はまことに特異な遺伝領域であるといえよう。しかし、前節で述べたように、ゲノムレベルでの倍数体化の一環として MHC パラロゴンが形成されたのであれば、MHC で顕著に認められるゲノムパラロジという現象はゲノム進化、そして、とりもなおさず、遺伝子進化全体を理解するうえできわめて本質的な鍵を提供しているといえる。今後、MHC 領域を手がかりとして、2R 仮説で想定されているゲノム重複時期が確定されることを期待したい。

最後に、どうして MHC パラロゴンが太古の染色体重複(ゲノム重複)の痕跡をかくもはっきりと留めているのだろうか? MHC 領域が特殊であるのはさておいても、第 1, 9, 19 染色体上のパラロゴンが重複の痕跡を留めるべき必然性はあったのだろうか? これらの疑問に関しても、将来、解答が得られることを期待したい。

参考文献

1. Klein J, Ono H, Klein D, *et al.*: Accordion model of Mhc evolution. *Progress in Immunology* (eds. Gergely J, Petransy G), Springer Verlag, p. 137–143, 1993.
2. Nei M: Evolution by the birth-and-death process in multigene families of the vertebrate immune system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **94** (15): 7799–7806, 1997.
3. Kasahara M: Genome paralogy: A new perspective on the organization and origin of the major histocompatibility complex. *Curr Top Microbiol Immunol* **248**: 53–66, 2000.
4. Flajnik MF, Kasahara M: Comparative genomics of the major histocompatibility complex: Glimpses into the evolution of the adaptive immune system. *Immunity* **15** (3): 351–362, 2001.
5. Kasahara M, Suzuki T, Du Pasquier L: On the origins of the adaptive immune system: novel insights from protochordates and cold-blooded vertebrates. *Trends Immunol* **25** (2): 105–111, 2004.
6. Kasahara M: MHC genomics: from the proteasome to genome evolution. *Antigen Processing-Mechanisms, Genomics, and Evolution*, (eds. Rammensee H-G, Dawkins RL), Wiley-VCH, in press, 2006.
7. Kasahara M, Hayashi M, Tanaka K, *et al.*: Chromosomal localization of the proteasome Z subunit gene reveals an ancient chromosomal duplication involving the major histocompatibility complex. *Proc Natl Acad Sci USA* **93** (17): 9096–9101, 1996.
8. Katsanis N, Fitzgibbon J, Fischer EMC: Paralogy mapping: Identification of a region in the human MHC triplicated onto human chromosomes 1 and 9 allows the prediction and isolation of novel PBX and NOTCH loci. *Genomics* **35** (1): 101–108, 1996.
9. Kasahara M, Nakaya J, Satta Y *et al.*: Chromosomal duplication and the emergence of the adaptive immune system. *Trends Genet* **13** (3): 90–

- 92, 1997.
10. Kasahara M: Polyploid origin of the human genome. *Nature Encyclopedia of the Human Genome*, (ed. Cooper DN), Nature Publishing Group, Vol. 4, p. 614–618, 2003.
 11. Horton R, Wilming L, Rand V, *et al.*: Gene map of the extended human MHC. *Nat Rev Genet* **5** (12): 889–899, 2004.
 12. Kasahara M: The chromosomal duplication model of the major histocompatibility complex. *Immunol Rev* **167**: 17–32, 1999.
 13. Hughes AL: Phylogenetic tests of the hypothesis of block duplication of homologous genes on human chromosomes 6, 9, and 1. *Mol Biol Evol* **15** (7): 854–870, 1998.
 14. Abi-Rached L, Gilles A, Shiina T, *et al.*: Evidence of en bloc duplication in vertebrate genomes. *Nat Genet* **31** (1): 100–1005, 2002.
 15. Azumi K, De Santis R, De Tomaso A, *et al.*: Genomic analysis of immunity in a basal chordate and the emergence of the vertebrate immune system: Waiting for Godot. *Immunogenetics* **55** (8): 570–581, 2003.
 16. Pancer Z, Amemiya CT, Ehrhardt GR, *et al.*: Somatic diversification of variable lymphocyte receptors in the agnathan sea lamprey. *Nature* **430** (6996): 174–180, 2004.
 17. Pancer Z, Saha NR, Kasamatsu J, *et al.*: Variable lymphocyte receptors in hagfish, the most basal vertebrates. *Proc Natl Acad Sci USA* **102** (26): 9224–9229, 2005.
 18. Ohno S: *Evolution by Gene Duplication*. Springer Verlag, 1970.
 19. Venter JC, Adams MD, Myers EW, *et al.*: The sequence of the human genome. *Science* **291** (5507): 1304–1351, 2001.
 20. Dehal P, Boore JL: Two rounds of whole genome duplication in the ancestral vertebrate. *PLOS Biol* **3** (10): e314, 2005.
 21. Panopoulou G, Poustka AJ: Timing and mechanism of ancient vertebrate genome duplications—the adventure of a hypothesis. *Trends Genet* **21** (10): 559–567, 2005.
 22. Delsuc F, Brinkmann H, Chourrout D, *et al.*: Tunicates and not cephalochordates are the closest living relatives of vertebrates. *Nature* **439** (7079): 965–968, 2006.

● 総 説 ●

MHC 偽遺伝子化の生物学的意義

颯田 葉子

総合研究大学院大学 葉山高等研究センター 先導科学研究科

(平成 18 年 4 月 12 日受付)

要約: 主要組織適合抗原 (MHC) は脊椎動物での獲得性免疫機構において T 細胞受容体, 免疫グロブリンとともに重要な役割を担う分子の一つである。いずれの分子も無限の抗原と結合する必要性から個体内での多様性が高い。MHC では限られた数の遺伝子座で高度な多型性を保つことにより多様性を維持している。ゲノムあたりの多型的 MHC 遺伝子座の数は, 遺伝子重複と偽遺伝子化のバランスによって保たれている。本稿では, ヒト MHC (HLA) の進化における遺伝子重複(それに続く遺伝的分化)と偽遺伝子化の過程を推定し, MHC の進化における偽遺伝子化の意義を論ずる。

1. はじめに

偽遺伝子は機能を失った遺伝子である。それゆえに「偽遺伝子化の意義」とはと不可解に思われるかもしれない。しかし最近では進化における偽遺伝子化の意義が少しずつ論じられるようになってきた(1-3)。ここでは MHC 遺伝子座の多様性の維持と偽遺伝子化の関連を探りたい。

2. MHC の多様性の特徴

MHC 遺伝子座が多くの脊椎動物のゲノム中で最も多型的な遺伝子座であることはよく知られている。

表 1 には現在までにデータベース (IMGT/HLA) に登録されているヒトの MHC (HLA) の塩基配列レベル, タンパク質レベルの対立遺伝子の数を示す。けれども, この対立遺伝子の数は驚くほど多いわけではない。たとえば, β -グロビン遺伝子座でも点突然変異による対立遺伝子は 1994 年の時点で 327 個知られている。 β -グロビンと HLA 遺伝子座での多様性の違いは, 対立遺伝子間の違いの程度にある。 β -グロビンの場合は対立遺伝子間の違いは平均して数塩基にすぎない。多くの場合は 1~2 個である。それに比して HLA では平均して 10 数塩基の違いが観

表 1 多型的 HLA 遺伝子座での対立遺伝子の数

HLA	A	B	C	DRA	DRB1	DQA1	DQB1	DPA1	DPB1
n	429	751	219	3	429	32	69	23	121
n _a	340	648	173	2	362	24	54	14	108

n: 塩基配列が異なる対立遺伝子の数

n_a: アミノ酸配列が異なる対立遺伝子の数

筆者連絡先 〒240-0193 神奈川県三浦郡葉山町(湘南国際村)
総合研究大学院大学葉山高等研究センター先導科学研究科
颯田 葉子

電話 046-858-1574
F A X 046-858-1544
E-mail satta@soken.ac.jp

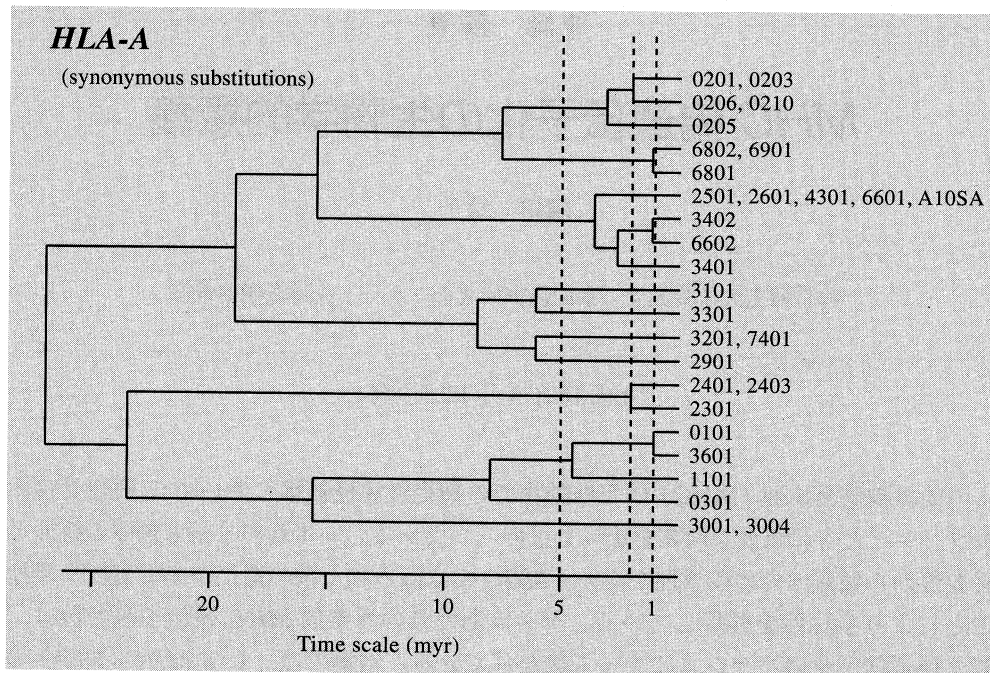


図1 *HLA* クラス IA 遺伝子座の系統樹
同義塩基置換数に基づいて UPGMA 法により作成した。

察される。対立遺伝子間の塩基の違いが大きいは即ち対立遺伝子が誕生してから長い間集団中に維持されてきたことを意味している。グロビン遺伝子を含む多くのヒトの核遺伝子の場合、対立遺伝子が集団中に維持される時間は平均的に 80 万年である(4,5)。一方、*HLA* の場合は 1000 万年を超える(6)。ヒトが最も近縁な霊長類であるチンパンジーと分岐したのが 500~700 万年である。ヒト集団の *HLA* 対立遺伝子の多くはヒトがチンパンジーと分岐するはるか前に誕生し、それがわれわれに伝えられていることがわかる(図 1)。

MHC の多様性について、もう 1 点強調するべきことがある。*MHC* には対立遺伝子系統というグループがある。遺伝子の系統関係を描いたときにできる系統樹上のクラスターで、配列上他よりも似た配列で形成されたグループである。多くの場合、系統が違うとペプチド結合に関与するペプチド結合領域(PBR)のアミノ酸配列の違いが大きい。異なる対立遺伝子系統に分類される分子は結合するペプチドの種類が異なり、機能的も大きく違っていると予測される。さて、上記のヒトの誕生前から存在する対立遺伝子というのは、正しくはこの対立遺伝子系統を指して

いる。この対立遺伝子系統のヒト集団内の頻度は、おしなべて 10% 前後となっている。他の多くの核遺伝子にみられるように、高頻度と低頻度な対立遺伝子からなる構成とは明らかに異なる。

MHC 遺伝子座では、対立遺伝子系統は非常に古くから集団中に存在し、しかもどの系統も中程度の頻度で存在している。このような多様性の特性は *MHC* の機能から予測される必然的な結果と考えられるかもしれない。しかし、もし結合するペプチドの多様性を維持することが大切ならば、なぜ、T 細胞受容体や、免疫グロブリンの様に遺伝子座の数を増やして多様性を維持するという方向に *MHC* の遺伝子座は進化しなかったのだろうか？

3. *MHC* の多様性の功罪

上記の疑問の答えには *MHC* 分子の機能の二面性が大変大きく関わっている。*MHC* の機能とは言うまでもなく、タンパク質が分解されたペプチドを結合することにある。このときのペプチドには自己タンパク質由来のものもあれば非自己由来のものもある。*MHC* はペプチドの由来を区別はできない。一個体での *MHC* 結合ペプチドの種類が多くなれば、非

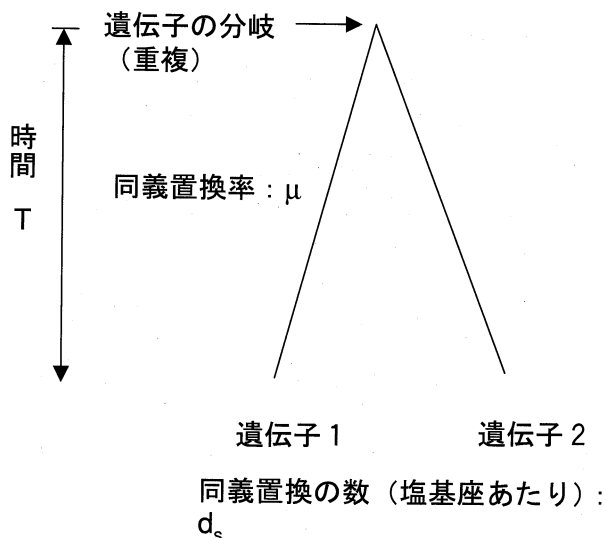


図 2(a) 遺伝子の分岐時間の推定

遺伝子が分岐後、遺伝子 1 と 2 はそれぞれ独立に塩基置換を置換率 μ で蓄積する。分岐点から経過している時間はどちらの遺伝子でも T なので、遺伝子 1 と 2 の違い d_s は $d_s = 2\mu T$ となる。

値を d_s という記号であらわす), 図 2(a) に示した様に比較した配列は $d_s/(2\mu)$ 年前に重複したと推定できる。偽遺伝子化の待ち時間は重複した時間から偽遺伝子化した時間を差し引くことで推定する。

偽遺伝子化した時間の推定には一般的な方法がある (13, 14)。偽遺伝子化とは突然変異により、タンパク質の読み枠の中に終止コドンが生じたり、読み枠がずれてしまい全く異なるアミノ酸配列が読まれてしまうことなどにより、タンパク質が機能を失ってしまうことである。一般に機能をもつタンパク質ではこのような機能や構造にとって致命的な変化が起きると、個体の生存力や、子孫を残す力(繁殖力あるいは妊性)に影響を及ぼすので、変異したタンパク質が進化の過程で生き残ることはない。このような進化的な力を負の自然選択と呼ぶ。負の自然選択が働くために、タンパク質のアミノ酸変化を伴う非同義置換はアミノ酸を換えない同義置換よりも遅い。しかし、何らかの理由でタンパク質の機能が不要となると(様々な理由があるが、詳しいことは文献 15 を参照), 機能を失った遺伝子には、無作為に突然変異が蓄積しはじめ、その蓄積の速度は同義置換と同程度になる。偽遺伝子化の時間推定には、この速度

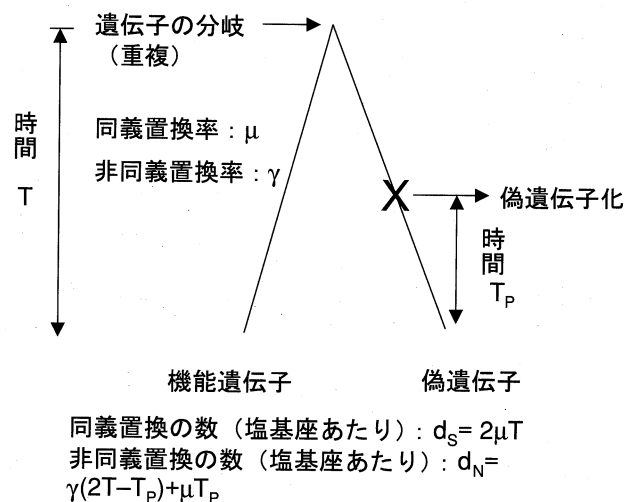


図 2(b) 偽遺伝子での塩基置換

偽遺伝子化すると、アミノ酸を変える塩基置換に機能的な制約がかからなくなるため、その置換速度は同義置換速度と同じになる。

の変化を利用する。非同義置換速度がいつスピードアップしたかを推定すればよい(図 2(b))。方法の詳しい手順については文献 14 を参照されたい。

しかし、MHC の偽遺伝子化の推定にはまだ問題が残っている。よく知られている様に、MHC の PBR は負の選択ではなく、正の自然選択を受けている。そのため、非同義置換速度は他の遺伝子とは異なり同義置換速度よりも早くなる (16)。そこで、偽遺伝子化の時期の推定には PBR を除いた領域を用いる。PBR 以外の領域には MHC 分子の構造を維持するために負の選択が働いている。このことはこの領域での同義・非同義の塩基置換率の比較から明白である (6, 16)。

図 3 には *HLA* クラス I の遺伝子座の系統関係を示した。これは、*HLA* の 4 つの偽遺伝子 (*HLA-L*, *-H*, *-J*, *-K*) の親遺伝子がどれであるかを特定するためである。この系統樹は、塩基置換の程度だけでなく、それぞれの遺伝子のイントロンや近接領域での SINE などの挿入因子の有無も手がかりとしている。それぞれの親遺伝子との分岐時間、偽遺伝子化の待ち時間は次のようになる。*HLA-L* は *HLA-B*, *C* の共通祖先と 5500 万年前に分岐(重複)し、1000 万年ほどして偽遺伝子化した。*HLA-H* は *HLA-A* と 2700 万年前に分岐し、2000 万年ほど経た後に偽遺伝子化し

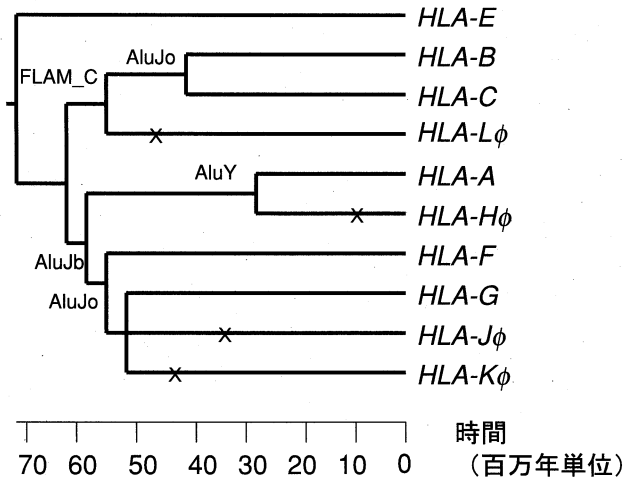


図3 HLA クラス I の遺伝子座の系統樹

偽遺伝子は遺伝子名のあとに ϕ がついている。

推定された偽遺伝子化の時期は枝の上に X で示した。

それぞれのクラスターを支持する SINE 転移因子がある場合は、それを枝の上、または下に示した。

た。HLA-J と -K は HLA-G と 5200 万年ほど前に分岐し、それぞれ、1000、あるいは 2000 万年ほど経てから偽遺伝子化している。

5. MHC 偽遺伝子化の生物学的意義

偽遺伝子化の時間推定、分岐時間の推定には大きな誤差が伴う。大きな誤差を持つ推定値に基づいた議論ではあるが、4つの偽遺伝子での待ち時間の推定がお互いによく似た値となった。さらに1000万年から2000万年という待ち時間のスケールが現在のHLAの対立遺伝子の分岐時間のスケールとほぼ等しいことも大変興味深い(例: 図1)。この推定値が正しいとすれば、MHCの偽遺伝子化の待ち時間の推定値は、MHCに二つの異なる進化的な力が働いていることを示していると言える。重複遺伝子に蓄積する変異は親遺伝子の多様性を超えない範囲では、T細胞受容体のブラインド・スポットの大きさという点で個体の生存力や繁殖力を低下させるようなことはないだろう。パーマネントヘテロ接合体となるので個体の免疫応答力という点ではむしろ優れているかもしれない。おそらくそのような有利さのために、MHC 重複遺伝子は集団全体へも比較的速やかに広がると予想される。しかし、重複遺伝子が更に置換を蓄積させ続けることは、T細胞受容体のブライン

ド・スポットを拡大してしまう。置換を蓄積しすぎた重複遺伝子は、個体にとってはないほうがよいのである。つまり偽遺伝子化の方が個体にとって有利となる状況が生まれると考えられる。

今後の課題としては、このような偽遺伝子化の待ち時間の推定値が偶然で得られるかどうかの検証が必要であろう。また他の遺伝子族で偽遺伝子化の待ち時間がどの様に分布しているのかの比較も興味のある課題である。このような検討をふまえて、MHC 遺伝子座での偽遺伝子化の生物学的意義をさらに検討してゆきたい。

謝 辞

本原稿の執筆にあたり、データを提供してくれた澤井裕美さん、コメントをくれた金慧琳さんに感謝します。

参考文献

1. Wang, X, Grus, WE, Zhang, J: Gene losses during human origins. *Plos Biol.* **4**: 366–377, 2006
2. 高畑尚之: 遺伝子の退化がヒトを生み出した。別冊日経サイエンス **146**: 64–71, 2005
3. Stedman, HH *et al.*: Myosin gene mutation correlates with anatomical changes in the human lineage. *Nature* **428**: 415–418, 2004
4. Takahata, N: Allelic genealogy and human evolution. *Mol Biol Evol* **10**: 2–22, 1993
5. Takahata, N, Lee, S-H, Satta, Y: Testing multiregionarity of modern human origins. *Mol Biol Evol* **18**: 172–183, 2001
6. Klein, J, Satta, Y, O'hUigin, C: The molecular descent of the major histocompatibility complex. *Ann Rev Immunol* **11**: 269–295, 1993
7. Celada, F, Seiden, PE: A computer model of cellular interactions in the immune system. *Immunol Today* **13**: 56–62, 1992
8. Takahata N: MHC diversity and selection. *Immunological Reviews* **143**: 225–247, 1995.
9. Wegner KM *et al.*: Parasite selection for immunogenetic optimality. *Science* **301**: 1343, 2003.
10. Hartle DL, Clark AG: principles of population

- genetics Sinauer Associates, Inc, Sunderland, USA, 1997
11. Parham P *et al.*: nature of polymorphism in HLA-A, -B, and -C molecules. *Proc Natl Acad Sci USA* **85**: 4005–4009, 1988
 12. Satta Y: *et al.*: The synonymous substitution rate of the major histocompatibility complex loci in primates. *Proc Natl Acad Sci USA* **90**: 7480–7484, 1993
 13. Miyata T, Yasunaga T: Rapidly evolving mouse alpha-globin-related psuedogene an its evolutionary history. *Proc Natl Acad. Sci USA* **78**: 450–453, 1981
 14. Oda M *et al.*: Loss of urate oxidase activity in hominoids and its evolutionary implications. *Mol Biol Evol* **19**: 640–653, 2002
 15. 颯田葉子 他: ゲノムから見た霊長類としてのヒト。蛋白質核酸酵素 **50**: 2078–2082, 2005
 16. Hughes AL, Nei M: Pattern of nucleotide substitution at major histocompatibility complex class I loci reveals overdominant selection. *Nature* **335**: 167–169, 1988

第4回日本組織適合性学会近畿地方会抄録

◆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)
 共 催: 財団法人 大阪腎臓バンク

● オープニングセミナー ●

Lessons from HLA-DNA Typing 骨髄バンクドナー HLA 型検査の DNA タイピング化

小野 明子

大阪府赤十字血液センター 検査二課

平成17年2月末まで、骨髄バンクドナー登録者のHLA検査(タイピング)は、HLA-A,B,Cが全国約40箇所の血液センターにおいて、LCT法による血清学的検査で、HLA-DRB1はPCR-MPH法を用いて全国7箇所の基幹センターで行われ、血清学相当(2桁レベル)の結果を得ていた。HLA-A,B,Cに対して行っている血清学的検査法では、ドナー血液からリンパ球を生細胞の状態で調整し、血液センター製のタイピングトレイ(日赤共通トレイ)を用い、その多くは手作業でHLA型を調べていた。そのため、精度も効率も悪く、また、全国的にも検査法等に違いがあり、検査法に統一性が無かった。さらに骨髄移植後の生着率全国集計の結果からも、アリルレベルの不一致が予後に影響することが明らかになり、DNAタイピングへの移行とタイピング精度の向上が求められていた。

それらの要請を受けて、平成17年3月1日より、骨髄バンクドナー登録時のHLA-A,BおよびDRB1のHLA型検査は、蛍光ビーズを用いたLuminex法によるDNAタイピングへの移行が行われた。Luminex法は、プローブを固相に付けたPCR-rSSO法のひとつであり、1本のチューブ内で多くのプローブとの反応が可能のため、簡便、正確かつ短時間で多検体処理が可能で新しい遺伝子多型判別法である。特徴は2種類の蛍光物質により各10段階に着色された100種類の色調となるポリスチレンビーズで、それぞれのビーズ表面に異なるプローブを吸着させ、蛍光ラベルしたPCR産物とのハイブリダイゼーションの有無を判定する。測定装置は2種類の検出用レーザーを有し、2種類のうち1種類のレーザーでビーズ表面の蛍光物質の色調によりビーズを特定し、もう1種類のレーザーで、ビーズ表面のプ

ローブにハイブリダイズした蛍光ラベルしたPCR産物(標識されたフィコエリスリン)の蛍光強度を数値データとして得ることができる。使用キットは、日本人集団において遺伝子頻度が0.1%以上でみられる対立遺伝子について判別が可能であること、最小陽性反応値と最大陰性反応値の比が3以上(交差反応があれば2以上)であることという条件等を基に、今年度はHLA-A,Bは湧永製薬のWAKFLow HLA-A,BをHLA-DRB1はワンラムダのLABTypeSSOを使用した。

また効率化のため、検体をバーコード管理し、DNA抽出についても、自動化を進め、ベックマンと富士フィルムが共同開発した96検体を一度に処理できる自動機器を導入した。PCRはABI9700を用い、タイピングは前述のLuminex法を実施し、これらのシステムを用いることにより、血液センターでの骨髄バンク事業の効率化も図ることが可能となり、これまで約40箇所で行っていた検査を東京都赤十字血液センターが関東以北16センター分および大阪府赤十字血液センターが中部以南31センター分を検査集約した。実際の検査工程では1週間に1回、各受入センターより検体が送付され、それらをシステムにより受け付け、1プレート96検体を1バッチとして検査を行った。1バッチ当たりの所要時間は、バーコードの読み取りからDNA抽出に約1.5時間、PCRに約1.5時間、蛍光ビーズ法の反応操作に約1時間、Luminex法での測定および判定に約1時間、計約5時間であった。3月から11月末までに、当センターでは、中部以南の31府県を対象とし、14,091本の検査を実施した。

まず、タイピング法をLuminex法に変更することにより、日本人集団において遺伝子頻度が0.1%以上でみられる対立遺伝子についての判別が可能となり、識別不能(Ambiguity)となる組み合わせを除き、

4桁レベルのタイピングがヘテロの組み合わせも含め、判別可能となった。4桁レベルの判定結果が得られるようになり、これまで日本人において、多型があまり無いと考えられていた型が存在したり、極めて稀だとされていた型の遺伝子頻度が解明され、また、検査された対立遺伝子頻度に東日本と西日本で有意差が認められた型もあった。

またDNAタイピングの精度を上げることで新たな問題も発生している。Luminex法は、多くのHLA型を一度に判定できるよう、PCRの段階で、複数のプライマーを含むマルチプレックスPCR反応となっている。PCR増幅の出来(すべてのPCR産物の均一な増幅)が非常に重要であり、その後の判定に多大な影響を及ぼすことを我々は経験した。しかしPCR反応の増幅効率、DNAの純度やヘテロの組み合わせが影響すること、また使用するサーマルサイクラーやその微妙な環境が増幅効率の違いをもたらすことが確認されている。特に、HLA-A遺伝子のexon2において特定の型のPCR増幅に不安定さを感じられた。また、96検体分を一度に増幅しているが、well間での増幅効率の違いも経験している。以上の経験より、精度の高いタイピングには安定したPCR反応を得ることが不可欠であり、大きな課題であると考えられる。

骨髄バンクドナーのHLA型検査が、Luminex法によりDNAタイピング化され、これまで行っていた血清学的検査法では不可能であった大量検体を効率的にタイピングすることが可能となり、また、これまでに得られていた2桁レベルの判定結果と比べ、高解像度のHLA型検査結果を得ることが可能になった。しかも、現在3万検体を越えるタイピングの結果から、頻度や稀なアレル、新しいアレルについて、新たな事象がわかってきた。

● 特別講演 ●

HLA の将来展望 (HLA, innate immunity, 骨髄移植)

十字 猛夫

日本赤十字社中央血液研究所所長

講演を依頼されたときに、なんの配慮もなく決めていただいた演題名の大きさに現在当惑いたしているところでもあります。そこで上記のような副題をつけさせていただきました。HLA 抗原は、現在も new alleles が日本人でも十数個発見されていて、それらを含めて、正しく検査できる検査体制を確立することは、大変困難な状況であります。骨髄バンクのドナー数も二十万人を超えた状況で、検査を行うと今まで日本人にはないと考えられていた HLA 抗原も百人レベルで保有者がいることも、明らかとなり、このような患者にも、適合ドナーを探すことも、バンクの新しい課題となっております。また現在のプローブを用いた検査法の宿命として、保有する抗原の組み合わせによっては、いわゆる ambiguity が生じて、確定できないことも、明らかとなり、革新的な技術の開発が待たれるところでもあります。DNA 検査が exon 2, exon 3, exon 4 の全域をカバーでき、骨髄移植の成績と付き合わせれば、どの領域が適合を無視していいか明らかとなる可能性もありうると思います。それにより、適合ドナー選択の幅も広がるでしょう。

約二十年前、白血病患者およびその家族、血液内科医、HLA typers の大きな夢であった骨髄バンクが

設立され十五年近くが過ぎました。ドナー登録も、昨年十月には、月間 7,000 近い数に上り、うれしい悲鳴をあげ、またバンクを介した骨髄移植数も、900 を超えると予測されています。しかしながら、HLA アリル適合の組み合わせでの白血病患者への骨髄移植も、長期無病生存率はなかなか 6 割を超えない、ことについて、NK 細胞と HLA-C 抗原の適合性、マイナー抗原の関与などが、想定され、それぞれについての研究が進められているところである。

近年 innate immunity についての研究がすすみ、おぼろげながら、徐々にその実像が伺える様になってきております。Collectin, ficolin, MBL, TLR, anti-microbial peptides, cathelicidin, defensin, NK receptor などを御紹介する。そのなかで、MBL (mannose binding lectin) の変異型が、MBL の血中濃度と関連し、低値型の個体は、好中球減少状態では、細菌感染に抵抗性がないことが、知られている。最近九大原田先生のグループは、骨髄移植症例において、MBL 低値変異型の患者に、不成功率が高いことを報告している。

今後、骨髄移植において、innate immunity の関与に配慮することも重要であると思われる。

●テクニカルセミナー&臨床に即応した抗体検査ワークショップ●

Luminex 法 (LABScreen Single Antigen) によって 検出された CREG に対する HLA 抗体と その PC-HLA 輸血効果の解析

河村久美子

兵庫県赤十字血液センター

【目的】

HLA 抗体による PTR に陥った患者に PC-HLA を供給する際、患者 HLA 抗体が広範囲特異性の場合、患者 HLA タイプの CREG (交差反応性抗原グループ) を考慮し、ドナー選択している。今回、CREG に基づき、ドナー選択し、PC-HLA 適合性試験である LCT 法、AHG-LCT (κ 法)、AHG-LCT (λ 法) の 3 法が陰性であったにもかかわらず PTR を引き起こした症例等を経験した。それらの症例について高感度で HLA 抗体特異性同定可能な Luminex 法 (LABScreen Single Antigen) を用いて解析したので報告する。

【方法, 結果】

症例 1. MDS, 男性, HLA-A24, A26, B51, B-, Cw1, Cw10. HLA 抗体特異性は Luminex 法 (LABScreen PRA Class I) の解析では 55 ビーズ(セル)中 55 ビーズ陽性の広範囲特異性。患者の B51 と交差反応性の B52 を持つドナーを許容抗原に選択し、LCT 法、AHG-LCT (κ 法)、AHG-LCT (λ 法) の 3 法が陰性の PC-HLA を 3 回供給した。CCI ($\times 10^4$; 24 時間値) はそれぞれ、0.48 (無効), 0.95 (有効), -0.63 (悪化) を示したため、LABScreen Single Antigen にて抗体を解析したところ、B52 を含む広範囲特異性 (B52 + B39 + B49 + B62 + B72 + B18 + B27 + B7 + B50 + B75 + B55 + B78 + B54 + B61 + B42 + B60 + B41 + B45 + B47 + B64 + B4005 + B48 + B35 + B71 + B76 + B81 + A11 + B13 + B8 + B44 + B67 + A3 + B56 + B57 + B73 + A66) を確認した。B51, B- の PC-HLA 輸血 (2 回) により、CCI (24 時間値) 2.06

(著効), 1.99 (著効) を得た。

症例 2. AML, 男性, HLA-A2, A24, B60, B75, Cw4, Cw9. HLA 抗体特異性は LABScreen PRA Class I の解析では 55 ビーズ中 55 ビーズ陽性の広範囲特異性。患者の B75 と交差反応性の B35 を持つドナーを許容抗原に選択。LCT 法, AHG-LCT (κ 法) の 2 法が陰性, AHG-LCT (λ 法) がスコア 8 の強陽性で反応したため, PC-HLA ではなく, 一般 PC の扱いで供給したところ, CCI (1 時間値) 2.63 (著効) を示した。LABScreen Single Antigen を用いた抗体の解析において, B75 の交差反応性抗原である B35, B62 そして, B60 の交差反応性抗原である B48, B61 を含む広範囲特異性 (B48 + B61 + B35 + B62 + B18 + B38 + B51 + B72 + B52 + B39 + B78 + B53 + B56 + B81 + B8 + B63 + B57 + B8201 + B58 + B50 + A11 + B49 + B73 + A30 + A31 + B4005 + B37 + B71 + B59 + B41 + A32 + A68 + B7 + A33 + A3 + B45 + B77 + B67 + A74 + B44 + B47 + A36 + B27) を確認した。B62 を含む 3 セルには, 1 セル目 (B*4002, B*1507) が LCT 法, AHG-LCT (κ 法) の 2 法が陰性, AHG-LCT (λ 法) がスコア 8 の強陽性, 2 セル目 (B*1501, B*1507) が LCT 法陰性, AHG-LCT (κ 法), (λ 法) の 2 法がスコア 8 の強陽性, 3 セル目 (B*1501, B60) が LCT 法, AHG-LCT (κ 法), (λ 法) の 3 法が陰性を示した。また, B61 (B*4002, B*4006) の 3 セル, B48 (B*4801, —) の 1 セルには, LCT 法, AHG-LCT (κ 法), (λ 法) の 3 法がすべて陰性を示した。

症例 3. 肺がん, 女性, HLA-A2, A24, B46, B61

(B*4002), Cw1, Cw10。HLA 抗体特異性は LAT1240 の解析では 28 ウェル中 11 ウェル陽性。患者の B61 と交差反応性の B60 を持つドナーを許容抗原に選択。B60 を含む 4 セルが LCT 法, AHG-LCT (κ 法) の 2 法が陰性, AHG-LCT (λ 法) がスコア 4~8 の陽性で反応した。LABScreen Single Antigen を用いた抗体の解析において, B61 の交差反応性抗原である B60 を含む特異性 (B60 + B7 + A31 + B55 + B42) を確認した。PC-HLA 適合性試験において陽性を示し, 該当製品の供給を行わなかったため, 輸血臨床効果は不明である。

症例 4. AML, 女性, HLA-A24, A—, B7, B46, Cw—, Cw—。HLA 抗体特異性は LABScreen PRA Class I の解析では 55 ビーズ中 50 ビーズ陽性の広範囲特異性。患者の B46 と交差反応性の B62 を持つドナーを許容抗原に選択。B62 を含む 4 セル (B62, B7) のうち, 3 セルについては LCT 法, AHG-LCT (κ 法), (λ 法) の 3 法で陰性を示した。また, 1 セルが LCT 法, AHG-LCT (κ 法) の 2 法が陰性, AHG-LCT (λ 法) がスコア 6 の陽性を示した。LABScreen Single Antigen を用いた抗体の解析において, B75 の交差反応性抗原である B35, B62 そして, B60 の交差反応性抗原である B48, B61 を含む広範囲特異性 (B62 + B39 + B60 + B50 + B61 + B4005 + B18 + B72 + B49 + B13 + B52 + B37 + B47 + B44 + A31 + B51 + B78 + B53 + B48 + B75 + A30

+ B41 + B38 + B45 + B76 + B54 + B71 + B64 + B77 + B35) を確認。確認した。PC-HLA 適合性試験において陽性を示し, 該当製品の供給を行わなかったため, 輸血臨床効果は不明である。

症例 5. MDS, 女性, HLA-A26, A33, B51, B58, Cw10, Cw—。HLA 抗体特異性は LABScreen PRA Class I の解析では 55 ビーズ中 55 ビーズ陽性の広範囲特異性。患者の A33 と交差反応性の A31 を持つドナーを許容抗原に選択。A31 を含む 4 セル (A31, A—) のうち, 3 セルについては LCT 法, AHG-LCT (λ 法) の 2 法が陰性, AHG-LCT (κ 法) がスコア 4~6 の陽性を示した。また, 1 セルは陰性を示した。LABScreen Single Antigen を用いた抗体の解析において, A33 の交差反応性抗原である A31 を含む広範囲特異性 (A31 + B60 + B55 + B62 + B61 + A24 + A2 + B49 + B7 + A31 + B50 + A30 + A2 + B27 + B4005 + B39 + B42 + B72 + B75 + B76 + A68 + A23 + B54 + B48 + B13 + A69 + B18 + B52 + B47 + B44 + B81 + B41 + B77 + B8201) を確認した。PC-HLA 適合性試験において陽性を示し, 該当製品の供給を行わなかったため, 輸血臨床効果は不明である。

【まとめ】

PC-HLA 適合性試験が陰性にもかかわらず PTR を引き起こした症例の原因究明に LABScreen Single Antigen は有用であると考えられる。

Luminex 法 (LABScreen) で HLA 抗体同定を行った PC-HLA 適応患者に対する、全血を用いた LIFT 法による交差試験の検討

小島 芳隆

大阪府赤十字血液センター

【はじめに】

我々は昨年の本学会にて蛍光ビーズを使用する LABScreen を HLA 抗体スクリーニングに使用した経験の報告をした。現在、われわれのセンターでは PC-HLA 対応患者の HLA 抗体スクリーニングを LABScreen を用いて行い、HLA 抗体を同定し、その結果を基にドナーを選択している。今回、PC-HLA 交差適合試験である AHG-LCT に代わりうる、全血を用いた LIFT 法(ここでは全血 LIFT 法と呼ぶ)による交差試験を考案し、AHG-LCT に対して、並行して全血 LIFT 法で交差試験を行い、両者の交差試験法の比較検討を行った。そこで、全血 LIFT 法の詳細と、全血 LIFT 法と現行法の比較結果等について報告する。

【対象と方法】

PC-HLA 交差適合試験 (AHG-LCT 法) 行った患者血清とドナー血液に対し、並行して、同じ検体で全血 LIFT 法を実施した。患者については事前に LABScreen を用いて、HLA 抗体スクリーニングを行い、HLA 抗体の同定を行っている。全血 LIFT 法は、ドナー EDTA 加血液 50 μ L と患者血清 25 μ L を混合、37 $^{\circ}$ C15 分反応させ、BSA-EDTA-PBS700 μ L で 3000rpm2min 遠心により 4 回洗浄後、FITC 標識 Goat Anti Human IgG (Jackson 社) 2000 倍希釈を 200 μ L と PE 標識 Donkey Anti Human IgM (Jackson 社) 2000 倍希釈を 200 μ L と PerCP 標識 CD3 (ベクトンデッキンソン社) を 1 μ L で 4 $^{\circ}$ C15 分反応させ、Lysing Solution (ベクトンデッキンソン社) 10

倍希釈を 500 μ L で室温 5min 溶血、遠心後、BSA-EDTA-PBS で 2 回遠心洗浄し、同液 200 μ L で浮遊させ、フローサイトメトリー (FACSCaliber, ベクトンデッキンソン社) で解析を行った。なお、解析データの Median 値(中央値)を基準として、患者血清を加えた場合の Median 値と陰性コントロール血清の Median 値の比が 2.0 以上を示したものを陽性とし、2.0 未満を陰性とした。

【結果】

結果を得るまでの検査時間は AHG-LCT 法の 3-4 時間に対し、全血 LIFT 法では 1-2 時間であった。948 例の両者の交差適合試験の結果、AHG-LCT 法陰性で、全血 LIFT 法陽性である症例が 27 例あった。それらの症例のうち 3 例(同一症例)において、LABScreen での HLA 抗体スクリーニングではバックグラウンドが高いため HLA 抗体として同定できなかった HLA 抗原に対する抗体が明らかとなった。つまり、全血 LIFT 法では陽性になり、その結果を基に許容抗原から削除し、ドナーを選択した。

【考察】

今回の全血 LIFT 法はクロスマッチにおいて、AHG-LCT に比べ、約 2 時間短縮可能で、また感度の点でも、高感度であり、有用性を確認できた。これらの症例のように LABScreen でバックグラウンドが高く、抗体同定が困難な場合、全血 LIFT 法での抗体同定検査を併用すればドナー選択にも有用ではないか考えた。

M-MPHA 法を用いた HLA クラス I 抗体スクリーニング —M-MPHA 法の血小板輸血における 交差適合試験法としての有用性—

斉藤 敏

長野県赤十字血液センター 検査課

磁性粒子を用いた MPHA 法 (M-MPHA 法) では、抗ヒト IgG 標識もしくは抗ヒト IgM 標識粒子に磁性粒子を用いること、低イオン強度食塩液 (Liss) を検体希釈液に用いることにより、判定までに 7 時間を要した従来法に比べ、1 時間以内に、より高感度に HLA クラス I 抗体を検出することが可能になった。血小板輸血不応状態 (PTR) 患者の IgG 型 HLA クラス I 抗体検出率において、M-MPHA 法を用いた場合は 26.4% で、LIFT 法を用いた場合と同じであった。一方 AHG-LCT 法では 19.4%、PIFT 法では 22.2%、FlowPRA 法では 30.1% であった。

血小板輸血における IgM 型 HLA クラス I 抗体 (IgM-HLA 抗体) の臨床的意義については、赤血球抗体同様に、低温反応性の HLA 抗体は臨床的に意味がないとの報告もあるが、当施設において輸血効果が検討できた 7 症例全例において輸血効果が得られなかったことから、IgM-HLA 抗体も多くの症例において PTR の原因となる可能性が高い。PTR 患者の IgM-HLA 抗体検出率において、M-MPHA 法を用いた場合は 39.7% で、高感度抗体検出法と考えられている FlowPRA 法の 28.9% より高かった。一方、ほとんどの IgM-HLA 抗体の検出が可能と考え

られていた AHG-LCT 法では、わずか 16.5% しか検出できなかった。

これまで、異型血小板輸血の交差適合試験に M-MPHA 法を用いた場合に、血小板上の A, B 抗原と患者の ABH 抗体により、しばしば陽性反応が起こると報告されていた。しかし、これら陽性反応を示す症例の交差適合試験結果と血小板輸血効果を検討したところ、交差適合試験が陽性の異型血小板輸血においては輸血効果が得られず、交差適合試験が陰性の異型血小板輸血において輸血効果が得ることが判明した。さらに、アフエレーシス由来の血小板上の A, B 抗原量は、保存日数の経過とともに増加することから、異型血小板輸血時には M-MPHA 法による交差適合試験を行うことが望ましい。

一方、M-MPHA 法を HLA 抗体スクリーニングとして用いる際には、ABH 抗体による上記陽性反応が起こる可能性もあることから、ABH 抗体の影響を受けないパネルを選択する必要がある。

以上より、M-MPHA 法を HLA 抗体スクリーニング、血小板輸血の際の交差適合試験に用いることで、PTR の原因解析と輸血効果の向上に貢献できる可能性がある。

JSHIKB “臨床に即応した抗体検査ワークショップ” サンプルについて

丸屋 悦子¹⁾, 斎藤 敏²⁾

- 1) NPO 法人 HLA 研究所
2) 長野県赤十字血液センター 検査課

前提: すべて患者検体です。血清量は 100 μ l です。
この量でできる限りの検査をお願いします(方法の選
択なども考慮頂けると幸甚です)。
各血清の背景と質問を以下に示します。

JSHIK001

再生不良性貧血, 34 歳, 女性, 妊娠歴輸血歴有り。
血小板輸血効果ない。将来の治療方針: 骨髄移植の
予定。

患者 HLA: A2 A26 B48 B61 Cw3 Cw8

質 問

1. HLA 抗体の有無
2. 抗体陽性の場合: 血小板輸血で許容されると考えられる抗原について (A 座・B 座・C 座)
3. ミスマッチ骨髄移植を余儀なくされた場合, 避けなければいけない HLA 抗原について

JSHIK002

81 歳, 男性, 疾患名: 不明

貧血と出血傾向あり。血小板輸血の必要性あり。

患者 HLA タイプ: A2 A33 B61 B44

質 問

1. 抗体の有無
2. 効果的な血小板輸血をおこなうためのアドバイス

JSHIK003

ミスマッチ骨髄移植を希望する患者の血清です。

患者 HLA タイプは A1101, 2402 B6701, 0702
Cw0702 DRB1*1501, 0101 で, ドナー候補 (A 型
+): HLA-A1101, 2402 B6701, 3501 Cw0702, 0303
DRB1*1501 である。

質 問

1. 患者血清中の HLA 抗体の有無
2. 患者はこの候補者をドナーとすることが可能か否かについてコメント

JSHIK004

43 歳女性 AML, O 型+, HLA タイプ: A26 A11
B13 B61

血小板輸血を必要とするが, 現在ランダム血小板輸
血で効果なし。

質 問

1. HLA 抗体の有無
2. 抗体陽性の場合: 血小板輸血で許容されると考えられる抗原について (A 座・B 座・C 座)
3. ミスマッチ骨髄移植を余儀なくされた場合, 避けなければいけない HLA 抗原について

● シンポジウム ●

「血縁 HLA 半合致移植において」

池亀 和博

大阪大学大学院医学系研究科 血液腫瘍内科学講座

造血細胞移植におけるトピックスの1つは、血縁者内、骨髄バンクともにHLA適合ドナーがない、あるいは骨髄バンクにあっても間に合わないときにするか、すなわち alternative donor からの移植である。現在可能な手段としては、臍帯血移植と血縁者からのHLA不適合移植がある。臍帯血移植においては、免疫能の未熟性を反映するためか、感染症や再発、拒絶が問題となる。一方HLA不適合移植では、重篤なGVHDが最大の障害となる。組織適合性と免疫抑制剤という観点からは、従来のHLA適合移植における免疫抑制療法はかなり確立してきたと考えられ、今後HLA不適合の壁をいかに乗り越えるかに興味もたれる。

近年様々な免疫抑制剤が開発され、移植の現場でもチャレンジングな試みが展開されているが、現在の進歩をもってしても両方のHLAハプロタイプが異なる場合の造血細胞移植は不可能である。そこで2本のHLAハプロタイプのうち、一方を共有し、もう一方が異なる血縁者ドナーからの移植(血縁HLA半合致移植)が行われつつある。血縁HLA半合致移植が可能となれば、親子間では100%、兄弟間では

75%で、移植ドナーが確保できることになる。本講演では、最初に血縁HLA半合致移植にまつわるいくつかの概念を確認し、議論の基盤を共有するようにしたい。その上で、血縁HLA半合致移植での従来型の移植(血縁HLA半合致フル移植)の話題と、ミニ移植への応用(血縁HLA半合致ミニ移植)について紹介する。ミニ移植は近年盛んに行われるようになった造血細胞移植の方法であり、「キメリズム」がキーワードになると考えられているので、それを中心に解説を加える。次に血縁HLA半合致フル移植と血縁HLA半合致ミニ移植を合わせた治療成績の解析を紹介する。最後にHLA半合致移植における免疫制御について、現時点での我々の考えを提示する。

HLA不適合、ミニ移植といった概念は、免疫の力を鮮明化し、その効果を如実に知らしめる結果となった。それにより、化学療法の延長としての移植から、免疫療法としての移植にパラダイムシフトをもたらした。今後ますます免疫学的な考察が臨床の場で必要となるであろう。そしてその鍵となるのが、やはり組織適合性ということになるだろう。

腎移植の免疫抑制療法

岸川 英史

兵庫県西宮病院泌尿器科

I. 生着率の向上: 腎移植の生着率は、過去 30 年間の免疫抑制療法の進歩によって飛躍的に向上した。日本移植学会の集計では、1983 年から 98 年までに施行された生体腎移植の 1 年生着率 92.5%, 5 年生着率 77.3%, 10 年生着率 58.35, 献腎移植では 1 年生着率 81.5%, 5 年生着率 62.8%, 10 年生着率 46.6% である。米国の UNOS (United network of Organ Sharing) 集計による最新の生着率は、生体腎移植の 1 年生着率 94.4%, 5 年生着率 78.7%, 献腎移植では 1 年生着率 88.4%, 5 年生着率 65.5%, である。

II. 最近の免疫抑制療法: 現在の免疫抑制療法は、① カルシニユリン阻害薬(シクロスポリン・ネオール), ② 代謝拮抗剤(ミコフェノール酸モフェチル, ミゾリピン, アザチオプリン), ③ ステロイド剤, の 3 剤併用療法である。さらに移植直後と 4 日目に IL2 レセプター (CD25) に対するモノクロナル抗体 (Basiliximab) を投与するが多い。ABO 血液型不適合移植の場合はさらに、移植前後の血漿交換と脾臓摘出手術が追加される。

III. 新しい免疫抑制剤: TOR 阻害剤 (IL2 レセプター刺激の下流の阻害剤) である、ラパマイシンおよ

びエベロリムスは欧米では既に腎移植の臨床で用いられている。また拒絶反応を起こすリンパ球の移植臓器への遊走を阻害する FTY720 が欧米と日本で臨床治験中である。Co-Stimulatory Signal を阻害するモノクロナル抗体も欧米では臨床治験中である。

IV. HLA 適合度と生着率: 免疫抑制療法が進歩しても依然として HLA 適合度は重要である。UNOS 集計による最新の献腎移植の生着率は、HLA 0 ミスマッチの 5 年生着率 77.0%, HLA 6 ミスマッチの 5 年生着率 63.6% である。また最近特に重要視されているのは PRA である。やはり UNOS 集計による最新の献腎移植の生着率は、PRA 0-9% の 5 年生着率 70.7%, PRA 80% 以上の 5 年生着率 58.7% である。

V. 適応拡大: 免疫抑制療法の進歩によって術前にクロスマッチ陽性であっても、血漿交換 + 免疫グロブリン大量投与, あるいは抗 CD20 抗体(リツキシマブ)の投与によって腎移植が可能な場合もある。また術後の液性拒絶反応に対しても同様の治療法によって拒絶反応を克服できる場合もある。

VI. 新たな問題: 術後の C4d 抗体陽性症例は明らかに生着率が悪い。しかし診断はできて治療法は確立していない。

肝移植

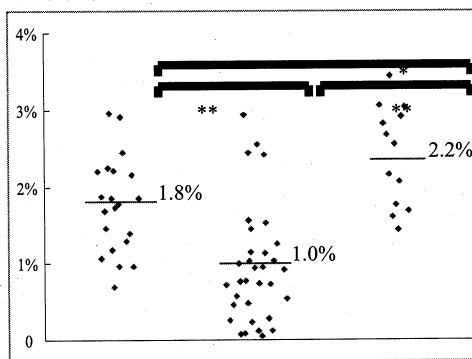
小柴 貴明

京都大学大学院医学系研究科・移植外科

これまで京都大学で施行された小児生体肝移植の患者 568 名のうち 55 名 (9.7%) の患者において、免疫抑制剤が完全に中止されたにもかかわらず拒絶が起きず安定した状態すなわち免疫寛容が維持されている。これらの免疫寛容患者の末梢血単核球の特徴をフローサイトメータにて網羅的に検討したところ、現在免疫抑制剤を使用中の患者、同年代の健常人に比較して、制御性 T 細胞とされる細胞分画 (CD4 + CD25^{high} 細胞) の割合、 $\gamma\delta$ 細胞のサブセット比 (V δ 1/V δ 2 比) が有意に増加していた。また、機能的解析により、CD4 + CD25^{high} 細胞はドナー抗原に対するリンパ球の増殖を抗原特異的に抑制した。一方、V δ 1/V δ 2 比はこれまで臓器移植の領域ではあまり着目されていなかったが、妊娠が正常に維持される場合には、子宮脱落膜中に V δ 1 細胞が増加する

こと、逆に、流産症例では V δ 1 細胞の増加が認められないことが報告されている。妊娠を胎児という異物の移植、妊娠の維持を胎児に対する免疫寛容との立場に立てば、われわれの見出した生体肝移植後の免疫寛容患者における V δ 1/V δ 2 比の上昇の意義が捉えやすい。生体肝移植後の免疫寛容患者の V δ 1 細胞の受容体 δ 鎖をコードする遺伝子の塩基配列を検討したところ、特定の配列を有するものが増加しており、ある特定の対応抗原を認識して V δ 1 細胞が増加していると考えられる。また、これらの V δ 1 細胞は細胞内に IL-10, パーフォリンを含有しており Th2 immune deviation, あるいは, Veto 機構を介して免疫寛容の維持に貢献している可能性が考えられる。

免疫寛容における CD4⁺CD25^{high} 細胞の増加

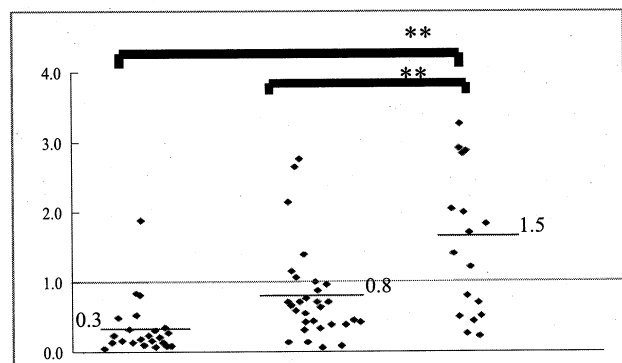


健常人 免疫抑制剤使用 免疫寛容

*p<0.05

**p<0.01

免疫寛容における V δ 1/V δ 2 比の上昇



健常人 免疫抑制剤使用 免疫寛容

**p<0.01

移植医療をめざした HLA 分子の発現制御

宮川 周士

大阪大学大学院医学系研究科・分子治療学講座・臓器移植分野

我々は、臨床での深刻な donor 不足を解消するために、異種(ブタ)からの臓器・細胞移植を研究している。異種移植は超急性拒絶反応のため、その原因究明がなされないまま殆ど放置されていた。我々はこれに 85 年より取り組み、この反応が宿主の補体と移植片の補体制御因子の種差による現象であることを明らかにした (Transplantation 1988; 46: 825)。この報告をヒントに世界でブタの臓器開発が始まった。我々も補体制御因子 (DAF) や糖転位酵素 (GnT-III) のトランスジェニック (TG) ブタを作成した (J.B.C. 2001, 276: 39310)。

さらに、TG ブタとは別に、異種移植での最大の障害である糖鎖抗原 α -Gal の knock out (KO) が争われ、米国で 2002 年 7 月にホモが生まれている。これに対して我々は、TG ブタ (DAF+GnT-III) 由来の線維芽細胞を使って α 1, 3-GT の KO に成功し、2004 年春ヘテロの仔ブタが産まれた (M.R.D. 2005; 71: 331)。

このように、DAF の TG ブタや糖鎖抗原の KO ブタの出現により、異種間での超急性拒絶反応に対する一定の制御方法が確立されつつあるが、次に、細胞性免疫による急性拒絶反応の制御が緊急の課題となっている。

これまでに我々は graft に HLA-G1 および HLA-E を発現させる事がヒト NK 細胞の抑制に有効であることを報告してきたが、HLA-G1 がブタ細胞に高発現するのに対し HLA-E の発現は 1/20 と非常に低く両者の間で発現に影響する分子的差違の存在が示唆される。そこで HLA-G1 と E との間で種々のアミノ酸配列置換分子を作製し発現性変化を検討した。方法は、各構築遺伝子を CHO- β あるいは PEC- β (それぞれ CHO cell あるいはブタ血管内皮にヒト β 2m 遺伝子導入した株) に導入し、選択培地にて培養後、細胞表面での発現を FACS で解析した。さらに、末梢血から磁気ビーズ法で精製したヒト NK 細胞を使い細胞傷害抑制性を ^{51}Cr により検討した。まず HLA-G1 と E の各ドメインの置換体を作製したところ高発現を得るには α 2 ドメインが重要であることが判明した。さらに HLA-E の α 2 ドメイン内に点変異を導入した。HLA-E 分子の 147 番目のアミノ酸をセリンからシステインに変換すると発現が大きく増加し、遺伝子導入株はヒト NK 細胞依存性細胞傷害を効果的に抑制した。改良遺伝子 HLA-Ev (147) は異種移植に有効な遺伝子であることが判明した。

● 一般演題 ●

日本人に希な allele のハプロタイプ解析—その 1—

二神 貴臣, 大沼 豪, 丸屋かおり, 宮崎 豊人, 小島 裕人, 丸屋 悦子, 赤座 達也, 佐治 博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所

はじめに

HLA 遺伝子型タイピングは造血幹細胞移植で、最も重要な検査のひとつである。最近 DNA タイピング方法およびタイピングキットの解像度の向上に伴い、4 桁レベルのタイピングが日常検査業務で実施可能となっている。当研究所で昨年 1 年間に実施した 651 家系の HLL タイピングデータより haplotype 解析を行い、日本人に希な allele として報告されている allele の haplotype について報告する。

材料・方法

造血幹細胞移植のためのドナー検索を目的とし HLA タイピング家系, 651。

HLA タイピング方法: Luminex 法 (WAKFlow,

LABtype)

統計的処理: 直接カウント法で HLA-A, B, DR の allele のうち日本人に希とされている allele について解析した。

結果・考察

日本人に希とされている HLA-A allele について haplotype を表に示す。A*2420 は希な allele とされているが、日本人の中で見つけられた A*2404, 2408 より検出頻度が高く、連鎖不平衡を示す haplotype は検出されなかった。A*2420 は進化的には A*2402 の祖先型である可能性がある。今後もタイピングデータを蓄積したい。

日本人に希な HLA-A allele の haplotype

No	A	C	B	DR	N	No	A	C	B	DR	N
1	A*2420	CW*0801	B*1518	DRB1*0901	1	1	A*0301		B*4402	DRB1*1301	6
2	A*2420		B*3501	DRB1*1101	2	2	A*0301		B*0702	DRB1*1501	1
3	A*2420		B*3501	DRB1*1501	1	1	A*0302		B*1302	DRB1*0701	1
4	A*2420	Cw*0303	B*3501	DRB1*0405	1	1	A*1102		B*2704	DRB1*1401	1
5	A*2420		B*3901	DRB1*1501	1	2	A*1102		B*5401	DRB1*0405	1
6	A*2420		B*4001	DRB1*0405	1	3	A*1102		B*5502	DRB1*1501	1
7	A*2420		B*4001	DRB1*0803	1	1	A*2901	Cw*1505	B*0705	DRB1*0803	1
8	A*2420		B*4002	DRB1*0802	1	1	A*3001		B*1302	DRB1*0403	1
9	A*2420		B*5401	DRB1*0405	1	2	A*3001		B*1302	DRB1*1406	1
10	A*2420		B*5502	DRB1*0901	2	3	A*3001		B*1302	DRB1*0405	1
11	A*2420		B*5502	DRB1*0405	3	4	A*3001		B*1302	DRB1*0701	1
12	A*2420		B*5502	DRB1*1406	1	1	A*2605	Cw*0803	B*4801	DRB1*1501	1
1	A*0218		B*4601	DRB1*0803	1	2	A*2605		B*5101	DRB1*0405	1

新しい HLA-A allele について

大沼 豪, 二神 貴臣, 丸屋かおり, 丸屋 悦子, 松下 正毅¹⁾, 前川尻真司¹⁾, 永田のぞみ¹⁾,
赤座 達也, 佐治 博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所
1) 湧永製薬株式会社

はじめに

遺伝子を用いた HLA タイピングが開発され約 10 年近く経過した。現在ではルーティーン検査として導入されるほど、タイピング法や判定試薬の改良がなされ精度の高いタイピングを実施することができる。我々は日常業務として r-SSO 法を用いた HLA 遺伝子タイピングをおこなっている。日常検査の中からプローブとの反応性の違いにより新しい HLA-A allele の存在を推定し、ダイレクトシーケンスとクローニングによりその変異を特定した。

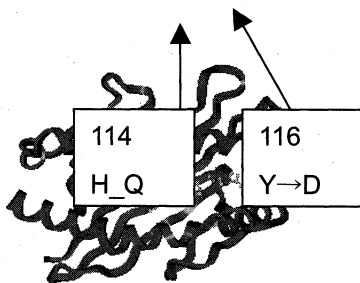
材料・方法

骨髄移植のドナー検索を目的とし、患者と妹の HLA タイピングを Luminex 法 (wak flow) でおこなった。患者と妹は haplotype 非共有の同胞であった。患者の HLA-A 座は homozygote と判定されたが、そのアレルの特異性を保有しない数個のプローブ (exon 3 の変異に特異的な) と強い反応を示すエ

クストラ反応が検出された。検体が血液腫瘍疾患患者であることより、LOH の有無を確認するため buccal 由来 DNA を用い再検査をおこなった。別種の kit (Lab type) を用い確認検査をおこなった。HLA-A 座 exon3 の増幅産物を用いダイレクトシーケンスをおこなった。exon2-exon3 を含む領域を増幅しクローニングを行い、21 種のクローンの塩基配列を決定した。

結果・考察

発見した new allele を A*2402V と命名した。クローニング後の塩基配列より、A*2402V は A*2402 の exon 3 で A*3101 との gene conversion で生じた new allele と考えられる。この変異はペプチドの結合に影響を与える部位であり、免疫応答に影響を与える可能性が高く、臨床データとの関わりも含め今後のデータの蓄積が重要と考える。



塩基配列比較 : A*2402 vs A*2402V vs A*3101 (exon 3)

Nuc. Pos.	100	390
Prot. Pos.		
A*010101	ATA ATG TAT GGC TGC GAC GTG GGG CCG GAC GGG CGC	
A*24020101	- G - - - T -	
A*2402V	- G - - - T -	
A*310102	- G -	
Nuc. Pos.	420	120
Prot. Pos.		
A*010101	TTC CTC CGC GGG TAC CGG CAG GAC GCC TAC GAC GGC	
A*24020101	- -	
A*2402V	- -	
A*310102	- -	
A3-6, A3-7, A3-9の隣性となる配列		
Nuc. Pos.	450	130
Prot. Pos.		
A*010101	AAG GAT TAC ATC GCC CTG AAC GAG GAC CTG CGC TCT	
A*24020101	- -	
A*2402V	- -	
A*310102	- -	

Luminex システムを用いたタイ人の HLA-A, B, C 座の DNA タイピング

福森 泰雄, Oytip NaThalang¹⁾, 石井 博之, 小野 明子, 松下 正毅²⁾, 吉村 敬次, 柴田 弘俊

大阪府赤十字血液センター

1) Department of Pathology, Phramongkutklao College of Medicine

2) 湧永製薬株式会社

【はじめに】

タイ人 114 名の HLA-A, B, C 抗原のタイピングを PCR-reverse SSOP 法の原理による Luminex システムを用いた蛍光マイクロビーズアレイシステム (WAKFLow HLA-A, B, C: 湧永製薬) を用いて行ったので, その結果を日本人との比較を含め報告する。

【材 料】

タイ人の DNA サンプルについては, バンコク近在住人の医療機関からの検査用血液を採取し, 通常法でゲノミック DNA を抽出した。

【方 法】

PCR は, WAKFLow HLA-A, B, C のマニュアルに従い, HLA-A, B, C 遺伝子ともに第 2, 第 3 エクソン領域をそれぞれビオチン標識した特異的プライマーを用いて増幅した。これらの増幅産物を, 特異的オリゴ DNA プローブを固相した蛍光ビーズに加えてハイブリダイズさせ, 次にビーズ表面にハイブリダイズされた増幅産物と, ストレプトアビジン標識フィコエリスリンとを反応させた。測定は Luminex100 を用いて行い, 専用の判定ソフトウェアにより HLA 遺伝子型の判定を行った。

【結 果】

タイ人 114 名の HLA タイピングにより得られた遺伝子型は, HLA-A 遺伝子が 25 種類, HLA-B 遺伝子が 45 種類, HLA-C 遺伝子が 20 種類であった。タイ人に優位な (5% 以上) HLA-A の遺伝子型とその頻度は, A*1101 (25.9%), A*2402 (13.2%), A*3301/A*3303 (13.2%), A*0203 (7.9%), A*0207 (7.5%) であった。また HLA-B 遺伝子型では, B*1502 (13.2%), B*4601 (11.4%), B*4001 (9.6%), HLA-C 遺伝子型では, Cw*0801 (15.4%), Cw*0102 (14.9%), Cw*0702 (14.9%), Cw*0304 (10.0%), Cw*0701 (6.6%), Cw*0302 (5.3%) が高い頻度で検出された。

【考 察】

タイ人と日本人の頻度を比較すると, タイで優位な HLA-A の遺伝子型が日本人では, A*1101 (9.0%), A*2402 (36.7%), A*3301/A*3303 (7.7%), A*0203 (0.04%), A*0207 (3.2%) であり, 同様に HLA-B 遺伝子型では, B*1502 (0.03%), B*4601 (4.5%), B*4001 (5.5%), HLA-C 遺伝子型では, Cw*0801 (10.9%), Cw*0102 (17.0%), Cw*0702 (11.3%), Cw*0304 (11.3%), Cw*0701 (0%), Cw*0302 (rare) と大きな差がみられた。

Luminex 法用 HLA-A, B タイピングキット (ジェノサーチ new version プロトタイプ)の検討

荒木 延夫¹⁾, 河村久美子¹⁾, 稲葉 洋行¹⁾, 能勢 義介¹⁾,
井本しおん¹⁾, 三戸 壽¹⁾, 甲斐 俊朗²⁾, 原 宏³⁾

1) 兵庫県赤十字血液センター

2) 兵庫医科大学輸血部

3) 樹徳会上ヶ原病院

【目的】

兵庫さい帯血バンクでは、DNA を凍結された ACD-A 液採取サンプル血液(血漿部分はウイルス検査用のため、除去されている)からチオシアン酸グアニジン法によって抽出し、Luminex 法用 HLA タイピングキット (G & G サイエンス社ジェノサーチ) を用いて、HLA-A, B, C, DRB1 遺伝子型の登録を実施している。このキットにおいて、特筆すべきことは、HLA-C タイピングキットは PCR 時に DNA サンプル中の PCR 阻害物質が存在してもその影響を受けにくく 100% 判定が可能(当センター 893 例実施)であるという点である。

しかし、A, B, DRB1 タイピングキットにおいては、DNA サンプル中に PCR 阻害物質がある場合、増幅不良を起こすサンプルがあり、判定不能となるため、DNA 再抽出を行う必要性があった。

今回、G & G サイエンス社において HLA-C タイピングキットと同様な DNA サンプル中の PCR 阻害物質の影響をほとんど受けにくいというジェノサーチ new version が開発された。そのプロトタイプの Luminex 法用 HLA-A, B タイピングキットを検討する機会を得たので報告する。

【方法】

従来法で増幅不良のため、判定不能であった DNA サンプル 11 種並びに、判定可能であった 5 種を用いて new version プロトタイプの検討を行った。また、サンプル DNA 濃度と PCR 増幅効率の検討を 8 種のサンプルについて実施した(従来法においては、上

記サンプル血液 150 μ L から抽出した DNA を 300 μ L の純水に溶解した DNA 溶解液を更に純水で 8 倍希釈したものを PCR 用の検体として用い、ほぼ安定した判定結果が得られている: 図の a レーンに従来法ジェノサーチ HLA-A, b レーンに従来法ジェノサーチ HLA-B の PCR 陽性バンドを示した)。

【結果】

増幅不良のため、判定不能であった DNA サンプル 11 種を含む 16 種すべてに new version プロトタイプで判定可能であった。

次に、DNA 溶解液を原液、5 倍希釈して PCR を行った結果、従来法では、原液、5 倍希釈で従来法ジェノサーチ HLA-A がそれぞれ、8 種中 1 種、8 種中 2 種が陽性バンドを示し(図: c, d レーン)、従来法ジェノサーチ HLA-B がそれぞれ、8 種中 0 種、8 種中 3 種が陽性バンドを示した(図: e, f レーン)。それと比較して new version のジェノサーチ HLA-A, B, そして、従来法ジェノサーチ HLA-C は原液、5 倍希釈の 8 種すべてに陽性バンドを示した(図: g, h, i, j, k, l レーン)。

【考察】

本法は、従来法の HLA-C タイピングキット同様、DNA サンプル中の PCR 阻害物質の影響を受けにくいため、100% の判定可能性が期待できることから、試薬のロスも無くなり、経済的にも有用である。また、DNA サンプル濃度が濃い状態 (PCR 阻害物質が濃い状態と推察) であっても PCR が増幅されるので、PCR 前にサンプルの DNA 濃度を測定する手

間が入らず、比較的幅広い濃度のサンプルを用いて検査を行うことが可能というメリットがある。同様の

の DRB1 キットの開発が望まれる。

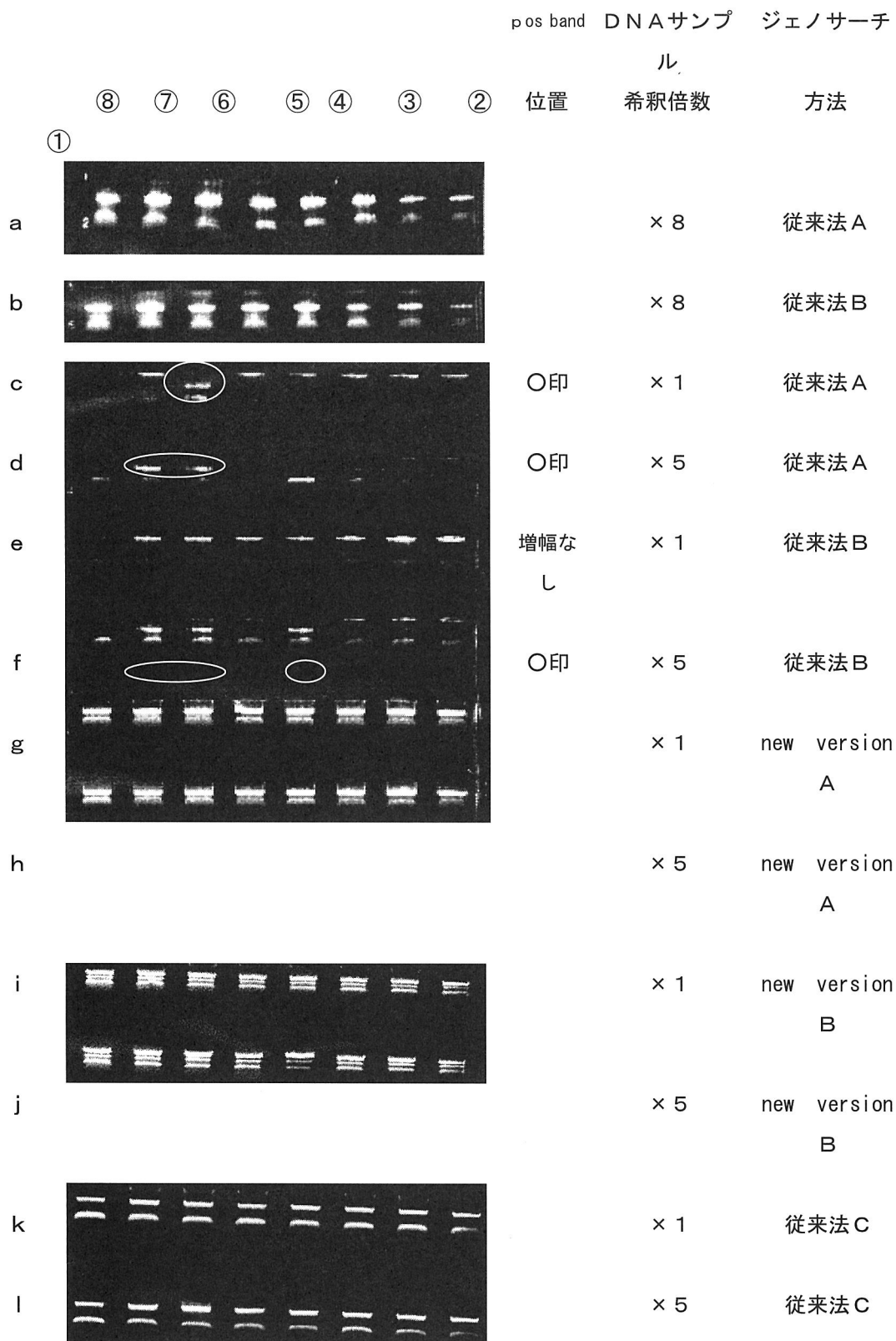


図. サンプル DNA 濃度と PCR 増幅効率の検討 (n = 8)

KIR リガンド HLA-C の日本人遺伝子頻度と そのタイピングの重要性

荒木 延夫¹⁾, 河村久美子¹⁾, 稲葉 洋行¹⁾, 能勢 義介¹⁾,
井本しおん¹⁾, 三戸 壽¹⁾, 甲斐 俊朗²⁾, 原 宏³⁾

- 1) 兵庫県赤十字血液センター
2) 兵庫医科大学輸血部
3) 樹徳会上ヶ原病院

HLA-Cは血清学的タイピングではその多くがブランクとされてきたが、最近の遺伝子タイピングの導入により、判定が可能となった。HLA-CはNK細胞免疫グロブリン様受容体(KIR; killer cell immunoglobulin-like receptor)のリガンドであり、NK活性を抑制することが示され、KIR2DL2/3のリガンドは、グループ1(Cw1, Cw3, Cw7, Cw8, Cw9, Cw10, Cw12, Cw14, Cw16), KIR2DL1のリガンドはグループ2(Cw2, Cw4, Cw5, Cw6, Cw15, Cw17, Cw18)に分類されている。JMDPの解析では、非血縁者間骨髄移植において、GVH方向にKIRリガンドとしてHLA-Cの不一致が存在する場合には、急性GVHDの発症率が増加し、生存率も低下するという結果が得られており、HLA-C適合の重要性が明らかにされつつある。そこで、兵庫さい帯血バンクでは、昨年開発されたLuminex法用HLA-Cタイピングキット(G&Gサイエンス社ジェノサーチHLA-C)を用い、HLA-C遺伝子型の登録を実施している。登録臍帯血893例中、グループ1はCw*0102が320例、Cw*0103が9例、Cw*0302が13例、Cw*0303が232例、Cw*0304が213例、Cw*0702が243例、Cw*0704が14例、Cw*0801が108例、Cw*0803が16例、Cw*1202が219例、Cw*1203が3例、Cw*1402が143例そして、Cw*1403が98例の計1631例(遺伝子頻度91.3%)を示した。また、グループ2はCw*0202が1例、

Cw*0401が76例、Cw*0501が8例、Cw*0602が16例そして、Cw*1502が48例の計149例(遺伝子頻度8.3%)を示し、日本人のほとんどは、グループ1に属する結果を得た。しかし、グループ2も抗原頻度で考えると14.7%存在するため、タイピングの重要性が示唆された。

登録臍帯血(N=893)のKIRリガンドHLA-C遺伝子頻度						
グループ1遺伝子(n=1631)			グループ2遺伝子(n=149)			
抗原名	アリル	n	抗原名	アリル	n	
Cw1	Cw*0102	320	Cw2	Cw*0202	1	
	Cw*0103	9				
Cw3	Cw10	Cw*0302	13	Cw4	Cw*0401	76
	Cw9	Cw*0303	232			
	Cw10	Cw*0304	213			
Cw7	Cw*0702	243	Cw5	Cw*0501	8	
	Cw*0704	14				
Cw8	Cw*0801	108	Cw6	Cw*0602	16	
	Cw*0803	16				
Cw12	Cw*1202	219	Cw15	Cw*1502	48	
	Cw*1203	3				
Cw14	Cw*1402	143	Cw17		0	
	Cw*1403	98				
Cw16		0	Cw18		0	
グループ1遺伝子頻度 91.3%			グループ2遺伝子頻度 8.3%			
グループ1抗原頻度 99.2%			グループ2抗原頻度 14.7%			
HLA-Cグループ1 ホモ			762例(85.3%)			
HLA-Cグループ1、グループ2 ヘテロ			124例(13.9%)			
HLA-Cグループ2 ホモ			7例(0.8%)			

白血球除去血液製剤使用患者に認められた HLA 抗体

峯 佳子¹⁾, 井手 大輔¹⁾, 菅野知恵美¹⁾, 伊藤 志保¹⁾, 麻田真由美¹⁾,
藤田 往子¹⁾, 金光 靖¹⁾, 芦田 隆司¹⁾²⁾, 金丸 昭久¹⁾²⁾

1) 近畿大学医学部附属病院輸血部

2) 近畿大学医学部血液内科

【はじめに】

当院では、副作用の軽減、同種免疫の防止などを目的として、頻回輸血患者に対して白血球除去血液製剤を用いている。また、2004年10月26日から日本赤十字血液センターは保存前白血球除去の成分採血由来血小板製剤の供給を開始している。今回、白血球除去血液製剤のみを使用した患者において、HLA抗体が認められた症例を経験したので報告する。

【症 例】

42歳，男性。診断は急性骨髄性白血病。輸血歴なし。2005年7月26日から寛解導入療法を開始した。8月5日から濃厚血小板10件（100単位），赤血球MAP（白血球除去フィルター使用）5件（10単位）の輸血が行われた。10月31日に使用した濃厚血小板により全身蕁麻疹，呼吸苦の副作用が出現し，血液センターに副作用報告を行った。精査の結果，LABScreenにてHLAクラスI抗体，特異性HLA-B17（57,58）が同定された。輸血前後の検体にて追加検査をおこなったところ，輸血前は陰性，9月20日の時点ではHLA-B17抗体が認められた。また

MPHA,M-MPHAでも同様の反応が認められた。9月20日までに輸血した濃厚血小板のうちHLA Typeの判明しているものの中にはB-17は存在しなかったが，HLA Type不明の製剤が3件含まれていた。

【考 察】

白血球除去は1Bagあたり残存白血球数 1×10^6 個以下で同種免疫が予防できると考えられている。しかし，保存前白血球除去血小板製剤において1Bagあたり 1×10^6 個以下の製剤は約95%であり，今回の抗体産生の原因ではないかと考えられた。血液内科においてHLA抗体産生率は1990年32.7%であったが白血球除去フィルター導入により2004年には5.2%と減少してきた。特に1996年の第三世代白血球除去フィルター（残存白血球数 1×10^5 個以下）導入によりHLA抗体産生は，感作歴のない患者では防止することができていた。しかし今後も本例のような症例が出現する可能性が示唆された。2006年12月より赤血球製剤についても保存前白血球除去製剤の導入が予定されている。今後も頻回輸血患者におけるHLA抗体産生について検討したいと考えている。

血小板抗体 (HLA 抗体) 陽性患者における抗体の推移

佐藤 壯, 山本 紗代, 南坂 雅美, 千野 瞳, 禿 蘭子

特定医療法人北楡会 札幌北楡病院 臨床検査科

【はじめに】

当院では、白血病などの血液疾患患者に対して化学療法や造血幹細胞移植を積極的に行っており、治療や移植によって血小板が減少した患者に対する血小板輸血は年間 3,800bag (2004 年) を超えている。このうち輸血によっても血小板数が上昇しない輸血不応患者も多く、その都度北海道赤十字血液センターに抗血小板抗体検査を依頼し、陽性患者に対しては HLA-PC の供給体制を取ってもらい、その数は年間 200bag 以上にのぼっている。今回、それら血小板抗体 (HLA 抗体) 陽性患者を対象に、治療や移植後の抗体の推移について検討したので報告する。

【対象と方法】

対象は、2003 年から 2005 年の間に、北海道赤十字血液センターにて血小板抗体陽性と判定された患者 31 人中、その後の経過を追跡可能な 15 人。疾患別の内訳では、AML 7 人・MM 2 人・Lymphoma 2 人・その他 4 人。経過としては治療中 4 人・自家移植 3 人・同種移植 5 人・経過観察中 3 人であった。方法は、HLA 抗体の有無については FlowPRA Screening Test (One Lambda) を用い、抗体特異性の同定には Class I および Class II Single Antigen Test (One Lambda) を使用した。また、Flowcytometry には FACScan (BECTON DICKINSON) を用い、解析には Cell Quest (BECTON DICKINSON)

を使用した。

【結果】

治療中の 4 人については抗体の大きな変動は見られず、経過観察中の 3 人も同様であった。自家移植の 3 人のうち 1 人は抗体が減弱化する傾向がみられたが、残り 2 人に変化はなかった。同種移植を受けた 5 人の内 2 人は抗体が徐々に減少し、移植 1 年後には抗体がほぼ消失した。また、1 人は化学療法後抗体が陰性化した。移植後ドナー由来と推測される Class II 抗体が陽性化した。

【考察】

血小板抗体 (HLA 抗体) 産生の原因は、①輸血、②出産、③移植の三つしかあり得ない。しかし、様々な要因によって血小板抗体 (HLA 抗体) 保有者は決して稀ではなくなっている。当院の経験でも、自家移植患者で移植後の血球減少時の血小板輸血で輸血不応性となり、初めて抗体陽性が判明した患者もおり、今後、自家・同種を問わず、造血幹細胞移植予定患者に対しては、血小板抗体 (HLA 抗体) の有無を事前に検索しておく必要があると考えられる。また、症例数が少ないので断定はできないが、同種移植によって血小板抗体 (HLA 抗体) が消失する可能性とドナー由来の血小板抗体が患者に持ち込まれる可能性が示唆された。

移植腎拒絶患者における HLA 抗体の特異性と交差反応性

佐藤 壯¹⁾, 千野 瞳¹⁾, 禿 蘭子¹⁾, 玉置 透²⁾, 久木田和丘²⁾,
目黒 順一²⁾, 米川 元樹²⁾, 川村 明夫²⁾

1) 特定医療法人北楡会 札幌北楡病院 臨床検査科
2) 同 外 科

【はじめに】

HLA 抗体は腎移植患者における慢性拒絶にも関与していると言われており、それらに関する報告もある。ただ、移植腎が機能している間は、donor specific antibody (DSA) はあまり同定されないことが多く、これは抗体が移植腎に吸着されているためだと推測されている。しかし、拒絶末期になると DSA が同定されるようになり、拒絶後や廃絶した移植腎を摘出した後にはよりはっきりと同定される。そこで、HLA 抗体の交差反応性を検討するために、移植腎拒絶患者における HLA 抗体の特異性を測定したので報告する。

【対象と方法】

対象は当院あるいは他院で腎移植を受け、その後拒絶された患者 8 人。このうち 2 人はその後再移植されている。移植時年齢は 19 歳から 52 歳。方法は、HLA 抗体の特異性の同定に Class I および Class II Single Antigen Test (One Lambda) を使用した。Flowcytometry には FACScan (BECTON DICKINSON) を用い、解析には Cell Quest (BECTON

DICKINSON) を使用した。

【結果】

Class I および Class II のいずれにおいても、ミスマッチ抗原やいわゆる CREG のみならず、その他の抗原にも広汎に交差反応していることが分かった。一方で、患者が DQ*0301 を保有し、ドナーとのミスマッチ抗原が DQ*0302 の場合、DQ*0302 と DQ*0303 に対する抗体はあるものの DQ*0301 に対する抗体はなく、きわめて特異性が高い場合も認められた。

【考察】

非自己に対する抗原抗体反応には、まだまだ不明な点が多い。ただ、今回の検討から出産によって産生される抗体の交差反応性と移植臓器に対して産生される抗体の交差反応性にはその機序に違いがある可能性が示唆された。また、Class II 抗原の交差反応性についてはこれまで十分な検討がなされていないのが現状である。今後は、検査方法の感度も含めて、さらに症例数を増やして検討していきたい。

ABO 不適合腎移植における脾臓摘出の 抗 HLA 抗体産生に対する影響の検討

難波 行臣¹⁾, 佐田 正晴²⁾, 史 屹¹⁾, 石黒 伸一¹⁾, 今村 亮一¹⁾, 市丸 直嗣¹⁾, 猪阪 善隆³⁾, 永谷 憲歳²⁾, 丸屋 悦子⁴⁾, 赤座 達也⁴⁾, 佐治 博夫⁴⁾, 高原 史郎³⁾, 奥山 明彦¹⁾

1) 大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学(泌尿器科)

2) 国立循環器病センター 臓器移植部

3) 大阪大学大学院医学系研究科 先端移植基盤医療学

4) NPO 法人 京都 HLA 研究所

【目的】

脾臓は B 細胞の分化, 成熟に重要な場所と考えられている。

そのため, ABO 不適合腎移植においては経験的に脾臓摘出が移植前に行われているが, 脾臓摘出の意義は未だに証明されていない。

近年, 抗 CD20 抗体と血漿交換を組み合わせることにより脾臓摘出を行わずとも良好な成績を得たとの報告がなされている。

今回我々は, 脾臓摘出の抗 HLA 抗体産生に対する影響を検討した。

【対象】

対象は 1999 年から 2004 年の間に大阪大学医学部附属病院にて施行した 18 症例である。

【方法】

保存血清を用いて LABScreen・Mixed を用いた Luminex 法により HLA class I/II 抗体の有無を測定

した。

【検討項目】

脾臓摘出施行及び免疫抑制剤投与状態である移植後の抗 HLA 抗体の変化(術前と術後 1 ヶ月)を検討した。

【結果】

術前に抗 HLA 抗体が認められたものは 3 例, 認められなかったものは 15 例であった。脾臓摘出された症例における抗 HLA 抗体産生に関して, 移植前の抗 HLA 抗体有無と移植後の抗体の変化には関連が認められなかった。(p=0.59)

【考察】

ABO 不適合腎移植における脾臓摘出の抗 HLA 抗体産生に対する抑制効果は認められなかった。ただし, 今回の結果は観察期間が短期であり, 症例数も少ないため, 今後さらなる検討が必要と思われる。

心臓移植における Flow PRA 法を用いた 抗 HLA 抗体検出の意義

山本 賢¹⁾, 佐藤 清¹⁾, 佐田 正晴²⁾, 永谷 憲歳²⁾, 中谷 武嗣³⁾

1) 国立循環器病センター臨床検査部

2) 同 再生医療部

3) 同 臓器移植部

【目的】

心臓移植待機患者は心臓移植ドナー発生までに、延命のための補助人工心臓装着を余儀なくされ、装着時に大量の輸血を必要とする場合も多く、そのため抗 HLA 抗体が産生される可能性が高い。また心臓移植後 1 年以内の主な死亡原因は急性拒絶と感染症となっており、移植後の拒絶反応に関連する抗 HLA 抗体のモニタリングが非常に重要となってくる。当センターでは心臓移植後、Flow PRA (以下 PRA) を用いたレシピエント血清中の抗 HLA 抗体の推移を治療の指標のひとつにしているため、心臓移植前後の PRA 陽性率の推移について検討したので報告する。

【対象および方法】

当センターにおいて心臓移植を施行した 15 例(男性: 13 例, 女性: 2 例)を対象とした。PRA 測定はフローサイトメータによる Flow PRA I & II Screening

Test (Flow PRA: One Lambda) を用い、分析機器は FACS Calibur, 測定解析ソフトは Cell Quest を使用した。

【結果】

心臓移植前に PRA 陽性が 3 例, 移植後 PRA の陽転化がそれぞれ 5 例, 残りの 7 例は陰性のまま推移した。移植前の Direct Crossmatch は全て陰性であった。

【考察・結語】

心臓移植前に前感作抗体を保有すること, また移植後同種抗体を産生することは臓器生着に大きく関与してくる。このため移植前後に PRA による抗 HLA 抗体スクリーニングを実施することで各患者の液性免疫能を評価することができ, 心筋バイオプシー検査やその他の検査を評価する上でも重要な指標となり, 適正な免疫療法をすすめる上で有用と考えられる。

HLA Class II とサルコイドーシスの臨床

立花 暉夫¹⁾, 石井 博之²⁾, 福森 泰雄²⁾, 谷 慶彦²⁾

- 1) 大阪簡易保険総合健診センター
2) 大阪府赤十字血液センター

【研究目的, 方法】

1. サルコイドーシス症例の HLA Class II DNA typing を実施し,
 - a) サルコイドーシス 146 症例を経過良好例, 経過不良例にわけて, サルコイドーシスの臨床経過と HLA Class II allele との関連性を検討した。
 - b) サルコイドーシスの肺, 肺門リンパ節, 眼, 皮膚, 心, 脳, 肝, などの全身性病変の中で最も重要な心病変と HLA Class II allele との関連性を検討した。
2. 2005 年国際サルコイドーシス会議で報告, 討論されたヨーロッパ各国, 米国のサルコイドーシスの臨床と HLA Class II allele との関連性の成績を検討した。
なお, ゲノム全域遺伝子解析の結果 BTNL2 遺伝子がサルコイドーシスに強い関連を認めたドイツ報告および英米の自験例解析に基づく討論も紹介する。

【成績】

1. a) HLA-DRB1*0803, HLA-DQB1*0601 は, サルコイドーシス経過不良例で経過良好例に比して高頻度, 重症例ではより高頻度に認め, HLA-DQB1*0601 はサルコイドーシス心病変あり症例, 重症例で特に高頻度に認めた。b) HLA-DRB1*0803-DQB1*0601-DPB1*0501 ハプロタイプは, 経過不良例で経過良好例に比して高頻度である。
2. 2005 年国際サルコイドーシス会議報告から,
 - a) HLA-DR17 は経過極めて良好な Sweden サルコイドーシス症例で, 対象群, 経過不良

例に比して高頻度に認め, 英国, オランダ症例では認めず。b) HLA-DQB1*0201 は経過良好の Sweden, 英国, オランダ症例で高頻度に認め, African American で認めず。c) HLA-DQB1*0602 は経過不良 African American, Sweden 症例で, 経過良好例に比し, また英国, ポーランド症例で対象群に比し高頻度。d) 英国症例で HLA-DR 12,14 が, チェコ症例で HLA-DR 14 が, ポーランド症例で HLA-DR15 が対象群に比し高頻度, HLA-DR 1,4,7 が低頻度は国別で相違あり。e) ドイツ報告, 第 6 染色体短腕上 BTNL2 遺伝子と本症との関連は, 米国では white で有意, African American で有意でなく, 英国でも有意でない。

【結論】

1. 我々の検討で, HLA-DRB1*0803, HLA-DQB1*0601 及び HLA-DRB1*0803-DQB1*0601-DPB1*0501 ハプロタイプが, サルコイドーシス経過不良例では, 良好例に比して高頻度, 重症例でより高頻度である。HLA-DQB1*0601 が, 心病変あり例で, 特に高頻度である。
2. 2005 年国際サルコイドーシス会議報告等から, サルコイドーシスの経過と関連して高頻度な特定の HLA-DR,DQ allele は人種差が明瞭である。サルコイドーシスで高頻度な特定の HLA-DR allele, サルコイドーシスの特定の病変に高頻度な HLA-DQB1*allele も人種差が明瞭である。欧米での本症関連の BTNL2SNP 遺伝子解析成績も人種差がある。

日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定

1. 投稿規定

1.1. 原稿様式

提出原稿がそのまま電算写植で印刷できるように、原稿は全て、コンピューターのフロッピーディスクとA4サイズ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、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

桜満開の本年3月30日に、福岡で開催された第106回日本畜産学会において、「家畜MHC研究の現状と将来—MHCによる抗病性家畜創出への新たな展開—」と題したシンポジウムが開かれました。これは、平成17年4月15日に開かれたシンポジウム「動物MHCのダイナミズムと機能—魚からヒトへ—」に続いて行われたものです。既に全塩基配列が決定されたHLA領域は、非常に多型性に富み、遺伝子密度も高く、疾患感受性遺伝子が集中的にマップされていることから、疾患の責任遺伝子の同定が進展しています。一方、ヒト以外の動物MHC領域にも、MHC遺伝子の他に、成長、泌乳量、繁殖性などの経済有用形質や乳房炎、牛白血病、マレック病などの抗病性に関与する遺伝子が多数マップされていますが、遺伝子解析の遅れから、遺伝子の同定には至っていないのが実情です。最近、動物のゲノム配列の解読が進展し、経済形質や疾患の責任遺伝子を同定するためのゲノム配列情報が整いつつあります。また、MHC領域は遺伝子密度が高いと同時に多様性に富む事から、進化的にも興味ある領域です。種を越えた比較ゲノム解析や遺伝子発現比較はMHC進化のメカニズムを解明する糸口を与えてくれることは間違いありません。このように、「動物MHC」に光を当てるために、2回の動物MHCシンポジウムが開催されたのです。さらに、本年1月、動物、すなわち産業動物、実験動物、愛玩動物、野生動物のMHC、並びにそれに関連した分子に関する学術研究・情報の交流を図り、その研究を推進することを目的に、動物MHC研究会が発足しました。時を同じくして、本誌でも前号(2006年1月発行)から、「シリーズ:MHCの比較ゲノム」の連載が始まりました。まさに、HLA研究者に、そしてMHC誌に

見守られての研究会の門出となったことに心から厚く感謝する次第です。すばらしい動物MHC研究が、日本から世界にむけて数多く発信される日がくるように心して頑張りますので、どうぞ、動物MHC研究にご支援を宜しく御願ひ致します。

私が編集委員になって3年が過ぎました。徳永編集委員長、編集委員の皆様と共に、「MHC誌」の発展に尽力していきたいと決意を新たにしています。

間 陽子

「MHC」バックナンバー

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

入・退会、所属・住所・連絡メールアドレス変更
各種の申請は、学会事務局で受け付けます。

日本組織適合性学会事務局

〒101-0062

東京都千代田区神田駿河台2-3-10

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態
分野内

電話 03(5280)8054

FAX 03(5280)8055

電子メール jshijimu.tis@mri.tmd.ac.jp

日本組織適合性学会ホームページ

学会活動に関する情報やHLA遺伝子の塩基配列情報が利用できます。

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

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

MHC

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

2006年5月31日発行 13巻1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