

MHC

日本組織適合性学会誌

Major Histocompatibility Complex

Vol. 13 No. 2, 2006

Contents

第15回日本組織適合性学会大会プログラム	
御案内	56
プログラム	61
特別講演、招待講演	75
シンポジウム	81
学術奨励賞受賞者講演	95
会員研究発表	99
平成18年度・認定HLA検査技術者講習会のご案内	127
平成18年度・認定組織適合性指導者講習会のご案内	128
認定組織適合性指導者および認定HLA検査記述者認定証の更新について	129
第5回日本組織適合性学会・近畿地方会のご案内	130
[総説]	
HLA抗体の解析手法	中島文明 131
[シリーズ: MHCの比較ゲノム]	
MHC領域の比較ゲノム解析	椎名 隆 139
[シンポジウム印象記]	
第2回動物MHCシンポジウム「家畜MHC研究の現状と将来」を振り返って	中西照幸 157
〈日本組織適合性学会誌MHC投稿規定〉	161
編集後記	163

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巻第2号 平成18年8月31日発行

第15回日本組織適合性学会大会プログラム	
御案内	56
プログラム	61
特別講演、招待講演	75
シンポジウム	81
学術奨励賞受賞者講演	95
会員研究発表	99
平成18年度・認定HLA検査技術者講習会のご案内	127
平成18年度・認定組織適合性指導者講習会のご案内	128
認定組織適合性指導者および認定HLA検査記述者認定証の更新について	129
第5回日本組織適合性学会・近畿地方会のご案内	130
[総説]	
HLA抗体の解析手法	中島文明 131
[シリーズ: MHCの比較ゲノム]	
MHC領域の比較ゲノム解析	椎名 隆 139
[シンポジウム印象記]	
第2回動物MHCシンポジウム「家畜MHC研究の現状と将来」を振り返って	中西照幸 157
〈日本組織適合性学会誌MHC投稿規定〉	161
編集後記	163

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

JSHI

第 15 回 日本組織適合性学会大会

The 15th Japanese Society for
Histocompatibility and Immunogenetics (JSHI)
Annual Meeting

組織適合性: その旧くて新しいテーマ
(Histocompatibility Revisited)

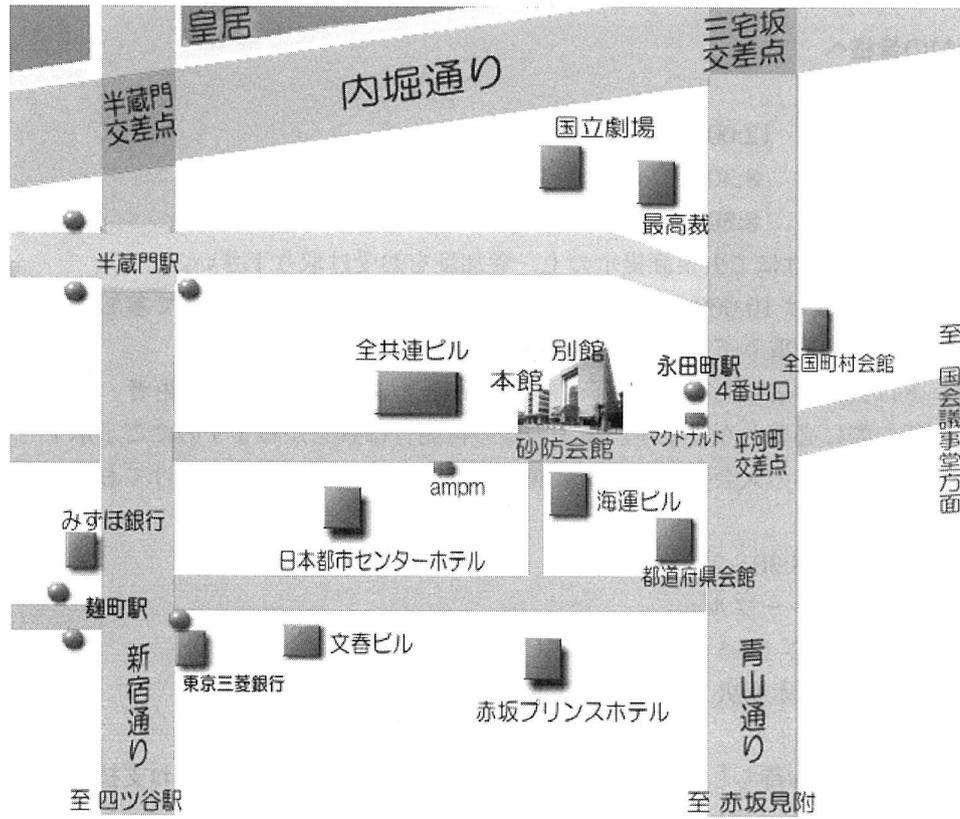
大会長 木村 彰方 東京医科歯科大学難治疾患研究所・分子病態分野 教授

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
東京都千代田区平河町 2-7-5
TEL: 03-3261-8386 FAX: 03-3261-5449

事務局 東京医科歯科大学難治疾患研究所・分子病態分野
〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台 2-3-10
TEL: 03-5280-8054 FAX: 03-5280-8055
e-mail: naruse.tis@mri.tmd.ac.jp

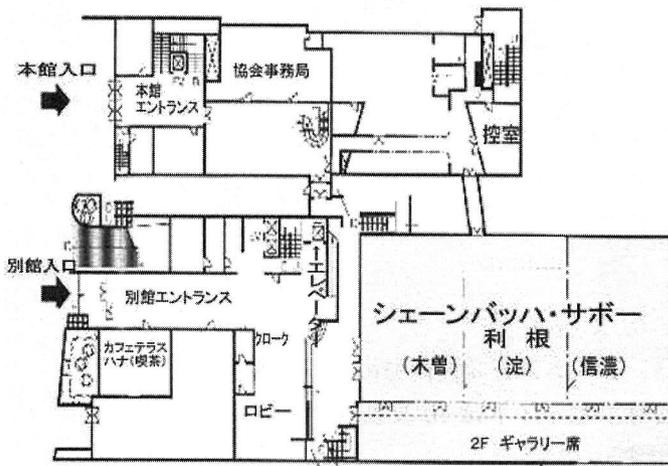
会場案内図



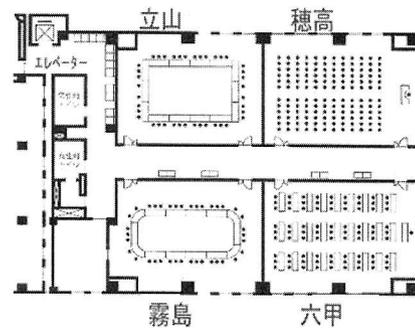
地下鉄 永田町駅(有楽町線・半蔵門線・南北線)4番出口徒歩1分
 (詳細な交通案内につきましては、学会ホームページの大会案内をご参照下さい。)

会場図

1 階



3 階



御案内

学会・懇親会参加の皆様へ

1. 登録

- 1) 受付時間 9月24日 12:00～17:00
9月25日 8:30～17:00
9月26日 8:30～14:00
- 2) 事前登録者: 受け付けにて引換証提示の上、参加証をお受け取り下さい。
- 3) 当日参加者: 評議員は10,000円、一般会員は8,000円です。受け付けにて参加費をお支払いの上、領収証と参加証をお受け取り下さい。
- 4) ネームカードは会期中着用してください。また参加証は認定 HLA 検査技術者・認定組織適合性指導者の申請・更新の際に必要となります。紛失の際の再発行は致しかねますのでご了承下さい。
- 5) 日本組織適合性学会への入会手続き、年会費の納付は大会会場では受け付けておりません。

2. 懇親会

日 時: 9月25日(月) 18:30～21:00

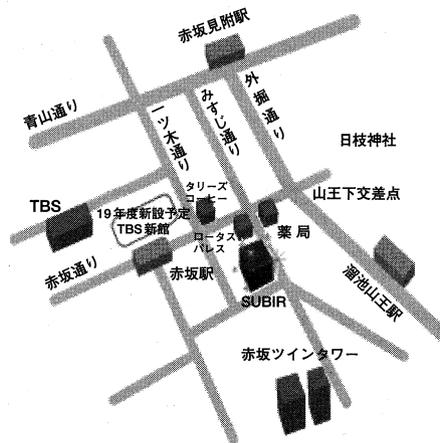
会 場: 赤坂シュビア・シーブルー

東京都港区赤坂2-14-5 プラザミカドビル B1

(地下鉄千代田線赤坂駅2番出口徒歩1分、学会場より徒歩約15分)

参加費: 3,000円

多数のご参加をお待ちしております。参加者は登録受付にて参加費をお支払いの上、参加証をお受け取り下さい。



演者の皆様へ

1. 発表時間

- 1) シンポジウム、ワークショップ発表者は、指定された時間内での発表をお願い致します。
- 2) 一般口演発表者は発表7分、討論3分です。スライドは10枚以内をお願い致します。
- 3) ポスター発表者は発表5分、討論2分です。

2. スライド

- 1) 口演発表は液晶プロジェクターを使用してください。アプリケーションはマイクロソフト Power Point で Windows, Macintosh いずれも可能です。
- 2) 特別講演, シンポジウム, ワークショップ演者は PC をお持ち込みください。セッション開始の 30 分前までにスライド受付で試写のうえ, 発表時刻の 10 分前までに会場内前方オペレーターにお渡し下さい。
- 3) 一般口演演者は, USB メモリのみ受付いたします。ファイル名は演題番号—氏名とし, セッション開始の 30 分前までにスライド受付にて試写の後, メモリを係にお渡し下さい。

3. ポスター

- 1) ポスターパネルは縦 210 cm 横 90 cm です。ポスター発表者は 9 月 25 日(月)午前中までに指定の場所に掲示してください。
- 2) 9 月 26 日(火) 13:00 より, ポスター発表をおこないます。演者は掲示ポスター前にて待機願います。
- 3) ポスターの撤去は 9 月 26 日(火) 15:00~17:00 をお願いします。

QC ワークショップ集会

日 時: 9 月 24 日(日)12:45~15:15

会 場: シェーンバツハ・サボー 1 階 利根

参加費: QCWS 参加者, または集会のみ参加者で, すでに参加費を振り込んでいる方は受付にて参加証をお受け取り下さい。集会のみ参加の方は, 当日受付にて参加費 2,000 円をお支払いの上ご参加下さい。

認定制度技術者筆記試験

日 時: 9 月 24 日(日) 15:20~16:20

会 場: シェーンバツハ・サボー 3 階 穂高

認定制度模擬試験

日 時: 9 月 24 日(日) 15:20~16:20

会 場: シェーンバツハ・サボー 1 階 利根

認定制度技術者講習会

日 時: 9 月 24 日(日) 16:30~18:30

会 場: シェーンバツハ・サボー 1 階 利根

テキスト代: 2,000 円

参加者は受付にて出席確認を済ませてから御入場ください。

本講習会は事前申し込み制です。当日参加も可能ですが, テキスト数に余裕がある場合にのみ購入可能です。

- 内 容:
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)

会議等日程

- | | | |
|------------|---------------------|----|
| 1. 理事会 | 9月24日(日)10:00~11:15 | |
| | シェーンバッハ・サボー 3階 | 穂高 |
| 2. 評議員会 | 9月24日(日)18:30~19:30 | |
| | シェーンバッハ・サボー 3階 | 穂高 |
| 3. 総会 | 9月25日(月)13:00~13:30 | |
| | シェーンバッハ・サボー 1階 | 利根 |
| 4. 認定制度委員会 | 9月24日(日)19:30~20:30 | |
| | シェーンバッハ・サボー 3階 | 立山 |
| 5. QCWS 部会 | 9月24日(日)11:30~12:30 | |
| | シェーンバッハ・サボー 3階 | 穂高 |

ポスター・機器展示

シェーンバッハ・サボー 1階 木曾

交通・宿泊のご案内について

学会参加のための交通・宿泊については各自にてお手配をお願い致します。

第15回日本組織適合性学会大会スケジュール

9月24日(日)	9時	10時	11時	12時	13時	14時	15時	16時	17時	18時	19時	20時	21時
会場													
利根	QCワークショップ集会												
木曾	展示搬入												
穂高	理事会	QCWS部会										模擬試験	技術者講習会
立山											認定技術者筆記試験	評議員会	認定制度委員会

9月25日(月)

利根	一般演題 移植I (O-1~O-4) 移植II (O-5~O-9)	シンポジウム 組織適合性: 臨床から望むもの	ランチョンセミナー 共催: (株)パネンス 三菱ウエルファーマ	総会	ワークショップ 組織適合性と 生命倫理	一般演題 移植III (O-10~O-12) HLA (O-13~O-15)	特別講演 医学におけ る ELSI
木曾	ポスター・機器展示						
シュビア	懇親会						

9月26日(火)

利根	一般演題 疾患II (O-20~O-22) 疾患III (O-23~O-26)	学術奨励賞 受賞者講演	招待講演 Brian	ランチョンセミナー 共催: (株)ペリタス	一般演題 異種MHC (O-27~O-30) 疾患IV (O-31~O-33)
木曾	ポスター・機器展示				ポスター発表

プログラム

特別講演

9月25日(月) 17:00~18:00

座長 片桐 一(旭川医科大学)

SL-1 医学における ELSI (ethical-legal-social issues) —私の小説から—

帚木蓬生 (森山 成林・通谷メンタルクリニック)

招待講演

9月26日(火) 11:00~12:00

座長 十字猛夫(中央血液研究所)

SL-2 HLA, Immunogenetics and Transplantation — looking back and the road ahead —

Brian D. Tait Victorian Transplantation and Immunogenetic Service
Australian Red Cross Blood Service**シンポジウム**

9月25日(月) 10:30~12:00

「組織適合性: 臨床から望むもの」モデレーター 高原史郎(大阪大学大学院)
水谷修紀(東京医科歯科大学大学院)

S-1 Overview

佐田正晴(国立循環器病センター研究所)

S-2 臓器移植(特に腎臓移植)におけるクロスマッチ検査と新しい診断・治療法の普及について

杉谷 篤(九州大学大学院)

S-3 日本移植学会・日本組織適合性学会 共同ワーキング

江川裕人(京都大学大学院)

S-4 臍帯血移植に関連して

高橋 聡(東京大学医科学研究所附属病院)

S-5 公的バンクに望むこと—移植医へのアンケート結果から

松崎道男(虎ノ門病院 輸血部)

追加発言: より詳細な HLA 適合検索の必要性~ある臨床の現場から

富澤大輔, 梶原道子, 長澤正之, 森尾友宏, 水谷修紀
(東京医科歯科大学大学院)**ワークショップ**

9月25日(月) 13:30~15:00

「組織適合性と生命倫理」座長 猪子英俊(東海大学)
西村泰治(熊本大学大学院)

- W-1 検査センター(登録衛生検査所)の立場から
小川公明(特定非営利活動法人 白血病基金を育てる会)
- W-2 ドナー登録の立場から
三田村真(NPO 法人 全国骨髄バンク推進連絡協議会)
- W-3 移植コーディネーターの立場から
菊地耕三(社団法人 日本臓器移植ネットワーク)
- W-4 医師の立場から
森島泰雄(愛知県がんセンター中央病院)
- W-5 研究者の立場から
徳永勝士(東京大学大学院)

ランチョンセミナー I

9月25日(月) 12:00~13:00

共催: 株式会社ベネシス, 三菱ウェルファーマ株式会社

座長 高原史郎(大阪大学大学院)

- L-1 「既存抗体陽性患者に対する腎移植」
演者 石田英樹(東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター)

ランチョンセミナー II

9月26日(火) 12:00~13:00

共催: 株式会社ベリタス

- L-2 「HLA サポート製品のご紹介」
演者 松本佳子(ベリタス技術営業部)
谷口貴信(ベリタス技術営業部)

会員研究発表

学術奨励賞受賞者講演

9月26日(火) 10:10~11:00

座長 木村彰方

- G-1 *LILRA3* 遺伝子にみる東アジア特異的な自然淘汰
 ○平安恒幸^{1,2)}, 大橋 順¹⁾, 田中秀則²⁾, 柏瀬貢一²⁾, 高梨美乃子²⁾,
 佐竹正博²⁾, 徳永勝士¹⁾, 屋部登志雄²⁾
 1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学
 2) 日本赤十字社東京都赤十字血液センター
- G-2 家族性肥大型心筋症 (FHCM) の新しい原因遺伝子座は HLA 領域にマップされる
 ○大谷仁志^{1,2)}, 安波道郎^{1,2)}, 有村卓朗²⁾, 寺崎文生³⁾, 北浦 泰³⁾,
 清水賢巳⁴⁾, 木村彰方^{1,2)}
 1) 東京医科歯科大学生命情報科学教育部バイオ情報学
 2) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態
 3) 大阪医大第三内科
 4) 金沢大学医学部第二内科
- G-3 PCR-PHFA 法と Luminex システムを応用した HLA 遺伝子解析技術の開発
 ○小川貴裕¹⁾, 松下正毅¹⁾, 川井信太郎¹⁾, 岡 孝紀¹⁾, 柏瀬貢一²⁾,
 佐竹正博²⁾
 1) 湧永製薬株式会社バイオ事業開発部
 2) 日本赤十字社東京都赤十字血液センター

口演

移植 I

9月25日(月) 9:00~9:40

座長 酒巻 建夫

- O-1 Flow PRA における Adsorb Out の使用意義について
 ○山本 賢¹⁾, 佐藤 清¹⁾, 佐田正晴²⁾, 永谷憲歳²⁾, 鎌倉史郎¹⁾,
 中谷武嗣³⁾
 1) 国立循環器病センター臨床検査部
 2) 国立循環器病センター再生医療部
 3) 国立循環器病センター臓器移植部
- O-2 フローサイトメトリー (FCM) 法によるリンパ球交差試験の検討
 ○飯田好江, 酒巻建夫, 大西民子, 岡村康子
 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室

O-3 腎移植クロスマッチ陽性症例の抗体解析と臨床経過

○木下朋子¹⁾, 橋本光男¹⁾, 有地直子^{1,2)}, 藤井直彦^{1,3)}, 岸川英史^{1,2)}, 市川靖二^{1,2)}

- 1) 兵庫県立西宮病院 腎移植センター
- 2) 兵庫県立西宮病院泌尿器科
- 3) 兵庫県立西宮病院内科

O-4 腎移植における HLA 抗体測定の有用性とその限界

○小林孝彰¹⁾, 小原節子²⁾, 長尾栄子²⁾, 水野美紀子²⁾, 三輪祐子¹⁾,
丹羽 操¹⁾, 長坂隆治³⁾, 片山昭男³⁾, 打田和治³⁾, 中尾昭公¹⁾

- 1) 名古屋大学大学院医学系研究科病態制御外科(第二外科)
- 2) 名古屋第二赤十字病院組織適合検査室
- 3) 名古屋第二赤十字病院移植外科

移植 II

9月25日(月) 9:40~10:30

座長 前田平生

O-5 液性急性拒絶における HLA 抗体の推移

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

- 1) 医)北榆会 札幌北榆病院 臨床検査科
- 2) 医)北榆会 札幌北榆病院 外科

O-6 Mycophenolate mofetil による HLA 抗体抑制効果

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

- 1) 医)北榆会 札幌北榆病院臨床検査科
- 2) 医)北榆会 札幌北榆病院外科

O-7 HLA DP 抗原に対する既存抗体により移植後抗体関連型拒絶反応を認めた 1 例

○難波行臣¹⁾, 佐田正晴²⁾, 高原史郎³⁾, 市丸直嗣⁴⁾, 小角幸人⁵⁾,
佐治博夫⁶⁾, 丸屋悦子⁶⁾, 赤座達也⁶⁾, 久山芳文⁷⁾, 永谷憲歳²⁾

- 1) 国家公務員共済組合連合会大手前病院泌尿器科
- 2) 国立循環器病センター再生医療部
- 3) 大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学
- 4) 大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科(泌尿器科)
- 5) 公立学校共済組合近畿中央病院泌尿器科
- 6) NPO 法人 HLA 研究所
- 7) 大阪府立急性期総合医療センター組織適合検査室

O-8 心臓移植患者における HLA 抗体の推移

○山本 賢¹⁾, 佐藤 清¹⁾, 佐田正晴²⁾, 永谷憲歳²⁾, 鎌倉史郎¹⁾, 中谷武嗣³⁾

- 1) 国立循環器病センター臨床検査部
- 2) 国立循環器病センター再生医療部
- 3) 国立循環器病センター臓器移植

O-9 造血幹細胞移植における液性抗体(その1)

○丸屋悦子¹⁾, 海田勝仁²⁾, 玉木茂久³⁾, 島崎千尋⁴⁾, 木村秀夫⁵⁾,
上田恭典⁶⁾, 落合直哉⁷⁾, 松尾恵太郎⁸⁾, 一戸辰夫⁹⁾, 赤座達也¹⁾,
佐治博夫¹⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
- 2) 兵庫医科大学付属病院血液腫瘍内科
- 3) 山田赤十字病院血液内科
- 4) 京都府立医科大学付属病院血液内科
- 5) 北福島医療センター血液内科
- 6) 倉敷中央病院血液内科
- 7) Terasaki Foundation Laboratory
- 8) 愛知県ガンセンター
- 9) 京都大学医学部付属病院血液腫瘍内科

移植 III

9月25日(月) 15:15~15:45

座長 佐治博夫

O-10 IL-10 Promoter SNP の haplotype および IL-10 の Receptor SNP と急性 GVHD の相関—急性 GVHD の重症化を予測できるか? 日本人の GVHD 発症率はなぜ低い?

○丸屋悦子¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 大沼 豪¹⁾, 小島裕人¹⁾, 落合直也¹⁾,
一戸辰夫²⁾, 玉木茂久³⁾, 鬼塚真仁⁴⁾, 赤座達也¹⁾, 佐治博夫¹⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
- 2) 京都大学医学部付属病院
- 3) 山田赤十字病院
- 4) 東海大学医学部付属病院

O-11 前処置軽減臍帯血移植 (RI-CBT) における HLA 適合度の意義

○松野直史, 和気 敦, 内田直之, 高木伸介, 加登大介, 山本久史,
松橋佳子, 瀬尾幸子, 増岡和宏, 宮腰重三郎, 松崎道男, 谷口修一
国家公務員共済組合連合会虎の門病院血液科

O-12 東アジア地域の骨髄バンクと非血縁間移植の近況—コラボレーションが必要なわけ

○佐治博夫, 丸屋悦子
特定非営利活動法人 HLA 研究所

HLA

9月25日(月) 15:45~16:15

座長 赤座達也

- O-13 日本人非血縁3家系における HLA-A 欠失アレルの解析
 ○高須美和¹⁾, 林 律子²⁾, 丸屋悦子³⁾, 伊村公良²⁾, 向後勝成²⁾,
 小林千恵⁴⁾, 浅井 善²⁾, 太田正穂⁵⁾, 佐治博夫³⁾, 石川善英⁶⁾, 徳永勝士¹⁾
 1) 東京大学大学院医学研究科人類遺伝
 2) 静岡県赤十字血液センター
 3) 特定非営利法人 HLA 研究所
 4) 茨城県立こども病院小児科
 5) 信州大学医学部法医学
 6) 日本赤十字社中央血液研究所
- O-14 アフリカ系アメリカ人に特有な HLA-A*8001 に対する抗体を有する日本人男性症例について
 ○西村千恵, 稲葉洋行, 荒木延夫, 能勢義介, 井本しおん, 三戸 壽
 兵庫県赤十字血液センター
- O-15 輸血・移植歴のない男性健常者の IgG 型 HLA クラス I 抗体, 赤血球抗体陽性頻度——抗体特異性と抗体保有者の HLA クラス I 型
 ○大田 智, 斉藤 敏, 玉木啓子, 平林盛人, 小松政義, 中澤由貴,
 酒井里枝, 荻原琴恵, 水野由美子, 有賀理砂, 瀬下秀幸, 清水 寿
 長野県赤十字血液センター

疾患 I

9月25日(月) 16:15~16:55

座長 太田正穂

- O-16 HLA 領域内バージャー病感受性遺伝子のマッピング
 ○中島敏晶^{1,2)}, 高橋めぐみ²⁾, 陳 智勇³⁾, 太田正穂⁴⁾, 勝山善彦⁴⁾,
 成瀬妙子²⁾, 岩井武尚³⁾, 木村彰方^{1,2)}
 1) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性
 2) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態
 3) 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科血管応用外科学
 4) 信州大学医学部法医学
- O-17 HLA 領域内における自己免疫性膵炎感受性遺伝子の解析
 ○太田正穂¹⁾, 川茂 行²⁾, 勝山善彦³⁾, 浜野英明⁴⁾, 木村彰方⁵⁾, 福島弘文¹⁾
 1) 信大医学部法医学教室
 2) 信州大健康安全センター
 3) 信州大病院薬剤部

- 4) 信大医学部第二内科
- 5) 東京医歯大難治疾患研究所

O-18 慢性肺血栓性肺高血圧症の臨床像と HLA との関連

○小南聡志^{1,2)}, 田邊信宏¹⁾, 高橋めぐみ²⁾, 柴田宏樹²⁾, 安波道郎³⁾,
勝山善彦⁴⁾, 太田正穂⁵⁾, 栗山喬之¹⁾, 木村彰方^{2,3)}

- 1) 千葉大学 大学院医学研究院加齢呼吸器病態制御学
- 2) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態
- 3) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性
- 4) 信州大学病院薬剤部
- 5) 信州大学医学部法医学

O-19 グレーブス病の治療予後は初診時の TBII と関連する

○高橋めぐみ¹⁾, 安波道郎^{1,2)}, 窪田純久³⁾, 玉井一³⁾, 木村彰方^{1,2)}

- 1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態
- 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
- 3) 隈病院内科

疾患 II

9月26日(火) 9:00~9:30

座長 石谷昭子

O-20 習慣性流産における HLA-G および HLA-E 多型の意義

○吉川枝里¹⁾, 假野隆司²⁾, 森 崇英³⁾, 割田貴之¹⁾, 河田寿子¹⁾,
鬼塚真仁⁴⁾, 高橋めぐみ⁵⁾, 成瀬妙子⁵⁾, 木村彰方⁵⁾, 猪子英俊¹⁾

- 1) 東海大学医学部分子生命
- 2) 假野クリニック
- 3) 醍醐渡辺クリニック不妊センター
- 4) 東海大学付属病院血液内科
- 5) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態

O-21 MLR-Blocking 検査と抗 HLA 抗体の比較検討

○土田文子¹⁾, 佐藤 薫¹⁾, 善方菊夫²⁾, 和泉俊一郎²⁾, 吉場史朗¹⁾,
加藤俊一¹⁾

- 1) 東海大学医学部付属病院細胞移植再生医療科
- 2) 東海大学医学部付属病院産婦人科

O-22 リンパ球移植が有効な同種免疫異常不育症における HLA-E, G allele の夫婦共有性と夫特異性

○假野隆司¹⁾, 古殿正子¹⁾, 渡辺浩彦²⁾, 田村 出²⁾, 吉川枝里³⁾,
猪子英俊³⁾, 木村彰方⁴⁾, 森 崇英²⁾

- 1) 医療法人假野クリニック

- 2) 醍醐渡辺クリニック不妊センター
- 3) 東海大学 医学部 分子生命
- 4) 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態

疾患 III

9月26日(火) 9:30~10:10

座長 徳永勝士

O-23 関節リウマチと花粉症の感受性遺伝子の相反性—KIR 3DL1 およびHLA-B 遺伝子について—

○中西真理¹⁾, 芦田恒雄²⁾, 村田紀和³⁾, 井手 武⁴⁾, 下嶋典子¹⁾
大村素子¹⁾, 佐田正晴⁵⁾, 益尾清恵⁶⁾, 羽竹勝彦¹⁾, 石谷昭子¹⁾

- 1) 奈良医大法医学
- 2) 芦田耳鼻咽喉科
- 3) 協和会病院リウマチセンター
- 4) 奈良医大化学
- 5) 国立循環器病センター
- 6) 株式会社ベリタス

O-24 蛍光ビーズ法を用いた新規タイピングシステムによる *IL-10* 遺伝子プロモーター多型とリウマチ性疾患との関連の検討

○江原幸和¹⁾, 松下正毅²⁾, 土屋尚之¹⁾, 柏瀬貢一³⁾, 宮城 徹²⁾,
松多邦雄⁴⁾, 草生真規雄⁵⁾, 深沢 徹⁵⁾, 橋本博史⁵⁾, 高崎芳成⁵⁾,
佐竹正博³⁾, 岡 孝紀²⁾, 徳永勝士¹⁾

- 1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学
- 2) 湧永製薬株式会社バイオ事業開発部
- 3) 日本赤十字社東京都赤十字血液センター
- 4) 松多内科医院
- 5) 順天堂大学膠原病内科

O-25 関節リウマチ感受性遺伝子 *NF- κ B inhibitor like 1 (NFKBIL1)* の *NF- κ B* 情報伝達系における機能の解析

浅井非常章, ○猪子英俊
東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

O-26 NFKBIL1 (IKBL) 遺伝子の機能解析

○柴田宏樹¹⁾, 安波道郎^{1,2)}, 中島敏晶^{1,2)}, 木村彰方^{1,2)}

- 1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態
- 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

異種 MHC

9月26日(火) 14:00~14:40

座長 宮澤正顯

O-27 ほ乳類 MHC 領域の比較ゲノム解析

- 椎名 隆, 細道一善, 柳谷和代, 佐野和美, 二橋夕紀, 渡辺 舞,
河野あづみ, 森山直樹, 倉田里穂, 安西達也, 猪子英俊
東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

O-28 新しいブタ近交系デュロック種の特徴と多型解析による SLA ハプロタイプの決定

- 安藤麻子¹⁾, 今枝紀明²⁾, 牛島稔大³⁾, 吉岡 豪²⁾, 酒井謙司⁴⁾,
大場恵典⁵⁾, 河田寿子⁶⁾, 重成敦子¹⁾, 上西博英⁷⁾, 猪子英俊¹⁾,
北川 均⁵⁾
- 1) 東海大学医学部分子生命
 - 2) 岐阜県畜産研究所養豚研究部
 - 3) 化血研
 - 4) 岐阜県畜産研
 - 5) 岐阜大応用生物科学
 - 6) 東海大伊勢原研究推進部教育・研究支援センター
 - 7) 農業生物資源研動物科学研究領域

O-29 ビルマ産アカゲザル MHC class II 領域のハプロタイプ構成と組換えの解析

- 宮澤正顯¹⁾, 北口大輔¹⁾, 湯浅貴恵^{1,2)}, 坂本真由美¹⁾, 小原栄³⁾,
俣野哲朗⁴⁾, 森 一泰⁵⁾, 木村彰方⁶⁾
- 1) 近畿大学医学部免疫学教室
 - 2) (株)ファーマフーズ
 - 3) (株)新日本科学薬物代謝分析センター
 - 4) 東京大学医科学研究所感染症国際研究センター
 - 5) 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター
 - 6) 東京医科歯科大学難治疾患研究所 分子病態

O-30 ヒトおよび実験動物サルにおける NKG2 レセプター関連遺伝子群の遺伝子解析

- 成瀬妙子¹⁾, 安波道郎¹⁾, 俣野哲郎²⁾, 森 一泰³⁾, 本多三男⁴⁾,
保富康宏⁵⁾, 宮澤正顯⁶⁾, 木村彰方¹⁾
- 1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態
 - 2) 東京大学医科学研究所感染症国際研究センター
 - 3) 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター
 - 4) 国立感染研究所エイズ研究センター
 - 5) 三重大学医学部病理
 - 6) 近畿大学医学部免疫

疾患 IV

9月26日(火) 14:40~15:10

座長 平山謙二

O-31 デングウイルス感染症の HLA 解析

○Nguyen T. P. Lan¹⁾, 菊池三穂子^{1,2)}, Vu T. Q. Huong³⁾, Vu T. T. Ngu³⁾,
Hoang N. Dao³⁾, Vo D. Tham⁴⁾, Tran V. Dat⁵⁾, Do Q. Ha³⁾,
小山寿文¹⁾, 森田公一⁶⁾, 安波道郎^{1,2)}, 平山謙二¹⁾

- 1) 長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学
- 2) 長崎大学国際連携戦略本部
- 3) Arbovirus laboratory Pasteur Institute HCMC, Vietnam
- 4) Pediatric Hospital No. 2 HCMC, Vietnam
- 5) Center for Preventive Medicine, Vinh Long Province, Vietnam
- 6) 長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学

O-32 HLA クラス I 分子によりキラー T 細胞に提示される SARS ウイルス抗原ペプチドの解析

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

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

O-33 遺伝子多型の地理的分布と感染因子による選択圧

○安波道郎^{1,2)}, 菊池三穂子^{1,2)}, 奥田尚子¹⁾, 塚原高広³⁾,
佐藤智生¹⁾, 松尾 恵¹⁾, Ratawan Ubalee¹⁾, Koji J. Lum⁴⁾,
金子 明⁵⁾, 平山謙二¹⁾

- 1) 長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学
- 2) 長崎大学国際連携研究戦略本部
- 3) 東京女子医科大学 国際環境熱帯医学
- 4) Department of Anthropology, Binghamton University, Binghamton, New York
- 5) Malaria Research Laboratory, Karolinska University Hospital, Stockholm, Sweden

ポスター

異種 MHC

9月26日(火) 13:00~

座長 安藤麻子

P-1 ウシ MHC (BoLA)-DQA1 遺伝子の品種間の多様性の解析

○間 陽子, 陳 晶, 竹嶋伸之輔
理化学研究所中央研究所

- P-2 ブタ MHC (SLA) の異なるハプロタイプ間における遺伝子構造の差異
 ○上西 博英¹⁾, 田中 麻衣子²⁾, 安藤麻子³⁾, 鈴木恒平²⁾, 栗田 崇¹⁾
 1) 農業生物資源研究
 2) STAFF 研究所
 3) 東海大学医学部

- P-3 哺乳類における主要組織適合抗原 (MHC) クラス II DR 分子の進化的解析
 竹嶋伸之輔, 皿井明倫, 齊藤成也, ○間 陽子
 理化学研究所中央研究所

移植・疾患

9月26日(火) 13:00~

座長 小河原悟

- P-4 ABO 適合 HLA 不一致生体肝移植における抗 HLA クラス I 抗体陽性例の予後の検討
 ○辻 博昭¹⁾, 芦原英司¹⁾, 坂下裕美²⁾, 万木紀美子¹⁾, 竹川良子¹⁾,
 菱田理恵¹⁾, 江川裕人³⁾, 羽賀博典²⁾, 木村晋也¹⁾, 眞鍋俊明²⁾,
 前川 平¹⁾
 1) 京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部
 2) 京都大学医学部附属病院病院病理部
 3) 京都大学医学部附属病院移植外科
- P-5 腎移植患者における抗 HLA 抗体の変動に関する解析—第 2 報
 ○比佐華菜子¹⁾, 吉田一成²⁾, 竹内康雄³⁾, 遠藤忠雄⁴⁾, 馬場志郎²⁾,
 小幡文弥¹⁾
 1) 北里大学医療衛生学部免疫学
 2) 北里大学医学部泌尿器科学
 3) 北里大学腎臓内科
 4) 武蔵村山病院
- P-6 糖尿病発症リスクに及ぼす放射線被曝と HLA 遺伝子タイプの影響
 ○森下ゆかり, 長村浩子, 林 奉権
 放射線影響研究所放射線生物学 / 分子疫学部
- P-7 原爆被爆者における胃がんリスクは HLA クラス I 遺伝子型により異なる
 ○長村浩子, 森下ゆかり, 林 奉権
 放射線影響研究所放射線生物学 / 分子疫学部
- P-8 マイクロサテライトマーカーを用いたヒト第 22 番染色体領域における急性 GVHD 関連遺伝子の探索
 ○菊地智樹^{1,2)}, 鬼塚真仁³⁾, 佐藤昇志¹⁾, 猪子英俊²⁾

- 1) 札幌医科大学医学部第1病理学
- 2) 東海大学医学部分子生命科学
- 3) 東海大学医学部血液リウマチ内科学

HLA

9月26日(火) 13:00~

座長 中島文明

P-9 臍帯血バンクにおける母子タイピングから求めた HLA ハプロタイプとその頻度(4桁 HLA-A, B, C, DRB1)

- 小野明子¹⁾, 池田通代¹⁾, 齋藤 順¹⁾, 石井博之¹⁾, 福森泰雄¹⁾
谷 慶彦¹⁾, 柴田弘俊¹⁾, 正岡 徹²⁾
- 1) 大阪府赤十字血液センター
 - 2) 京阪臍帯血バンク

P-10 Luminex 法における判定ソフトを改良して得られた韓国人集団の HLA 型遺伝子頻度

- 福森泰雄¹⁾, 松下正毅²⁾, 池田通代¹⁾, 小野明子¹⁾, 石井博之¹⁾,
Sung Ha Kang³⁾, 谷 慶彦¹⁾, 柴田弘俊¹⁾
- 1) 大阪府赤十字血液センター
 - 2) 湧永製薬株式会社
 - 3) Department of Clinical Pathology, Hallym University College of Medicine

P-11 骨髄バンク登録ドナーにおける HLA 型遺伝子頻度について

- 池田通代¹⁾, 小野明子¹⁾, 齋藤 順¹⁾, 石井博之¹⁾, 福森泰雄¹⁾, 谷 慶彦¹⁾,
市原孝浩²⁾, 峯元睦子²⁾, 清水まり恵²⁾, 柏瀬貢一²⁾, 田中秀則²⁾,
佐竹正博²⁾, 中島一格²⁾, 柴田弘俊¹⁾, 田所憲治³⁾, 十字猛夫⁴⁾
- 1) 大阪府赤十字血液センター
 - 2) 東京都赤十字血液センター
 - 3) 日本赤十字社中央血液研究所
 - 4) 日本赤十字社血液事業本部

抄 録 集

特別講演
招待講演

SL-1

医学における ELSI (ethical-legal-social issues)

—私の小説から—

帯木蓬生

森山成彬・通谷メンタルクリニック

医師として歩み始めた翌年に作家としてデビューし、ようやく四半世紀を越えました。その間に書いた小説は21作で、うち半数が医学に題材をとっています。医学の場そのものに、いかに面白くためになる問題が見出せるかの証拠でしょう。

デビュー作の『白い夏の墓標』(1979)では、細菌を融合させて強力な生物兵器をつくるプロジェクトを描き、最新刊の『受命』(2006)では、ボツリヌス毒素を使つての金正日暗殺をとりあげています。『カシスの舞い』(1983)には、薬品を使つて統合失調症の人間モデルを作る医師、『アフリカの蹄』(1992)には、白人の子弟にのみ天然痘のワクチンを射つたあと、天然痘ウイルスを散布して黒人の子供だけを病死させる南アの白人医師が登場します。その続編である『アフリカの瞳』(2004)では、エイズ治験薬対象者に黒人を用いる製薬会社の陰謀をとりあげました。人工的に生ませた無脳症児を移植の道具とするのは『臓器農場』(1993)の医師団であり、『安楽病棟』(1999)では老人病棟の担当医が、重篤な認知症の患者を自分なりに次々と安楽死させていきます。

そして現在、何より私の興味をそそるのが、遺伝子診断と再生医学です。『受精』(1998)で、主人公は出生前診断や遺伝子スクリーニング、DNA データバンクの是非を論じます。『エンブリオ』(2002)に登場する腕利きの産婦人科医は、自分の病院を中絶工場と化して、胎児組織を培養し、人工子宮をつくり、男性に妊娠させる実験までしてしまいます。

こうした ELSI の眼で見ると、医学・医療は〈進歩〉すればするほど、小説の題材にこと欠かない副産物を生み出してくれ、同時代に生きる作家としての幸運を感じます。

SL-2

HLA, Immunogenetics and Transplantation — looking back and the road ahead

Brian D. Tait

Victorian Transplantation and Immunogenetic Service

Australian Red Cross Blood Service

The impetus for research into the major histocompatibility complex (MHC) and the HLA genes in particular arose from the development of transplantation as a method for treating end stage renal failure (ESRD). Several seminal papers in the early 1960's from Paul Terasaki and colleagues established the importance of both HLA class 1 matching as a means of improving overall survival and also most importantly the role of the lymphocyte crossmatch as a way of detecting donor specific sensitisation and hence the avoidance of hyperacute rejection. In the intervening 40 years there have been dramatic improvements in clinical care particularly with improved immunosuppression and in the treatment of rejection which has reduced but not eliminated the impact of HLA matching. In recent years the introduction of solid phase assays such as ELISA and Luminex have allowed more accurate definition of donor specific pre-sensitisation which has shifted the emphasis towards avoidance of the damaging effect of these antibodies rather than attempting to achieve high levels of HLA matching. Recent developments have also challenged the notion that a positive crossmatch was a permanent contraindication to transplantation. The use of intravenous immunoglobulin and plasma exchange combined with other strategies such as the anti-CD20 B cell depleting drug Rituximab have enabled patients to be converted from crossmatch positive to crossmatch negative and successfully transplanted with living related or unrelated donor kidneys. It remains to be seen whether these approaches can be used to treat chronic rejection which has been shown to be associated with the presence of donor specific HLA antibodies. The above approaches combined with other strategies such as ABO incompatible and paired exchange transplants have made transplantation an option for most patients with ESRD. The other area of active development is the definition of non -HLA antibodies such as MIC-A and endothelial specific antibodies and understanding their role in transplant rejection.

Haematopoietic stem cell transplantation (HSCT) using unrelated donors has presented a formidable challenge since its inception 33 years ago due to the demand for HLA allele level matching to avoid the life threatening complications of Graft versus Host Disease (GVHD). However rapid advances have been made in this field with the use of the GVHD response as a tool for eradicating residual tumour cells — the so called Graft versus Leukaemia effect. There have also been important advances in the definition and genetic typing of non HLA antigens (minor antigens) and understanding their role in GVHD. The discovery of the Killer Immunoglobulin-like Receptor (KIR) genes has opened up a new era in the study of non -HLA gene contribution to graft success. This complex genetic cluster contains multiple inhibitory and activatory genes the products of which are expressed on natural killer cells (NK cells) and a minor population of T cells. Acting via their ligands which include some HLA class 1 molecules these receptors can influence alloresponses. The combination of KIR genes in both donor and recipient have been shown to influence HSCT outcome. Future challenges include the definition of the allelic diversity at each of the KIR genes and the role these may play in determining transplant outcome.

Finally the application of the field of pharmacogenetics in transplantation is likely to be a fertile area of research. The identification of genes and polymorphisms which influence how drugs are metabolised open up the possibility of tailoring immunosuppressive drugs for individual patients and thereby maximising their therapeutic effect.

抄 録 集

シ ン ポ ジ ウ ム
ワ ー ク シ ョ ッ プ
ラ ン チ ョ ン セ ミ ナ ー

S-1 Overview

佐田正晴

国立循環器病センター・再生医療部

遺伝子工学の進歩は、移植領域における組織適合性検査にも多大な恩恵をもたらし、従来法の限界を凌駕する検査法の開発と移植医療への積極的応用など大きな変革点を迎えている。組織適合性検査は、ドナーおよびレシピエントの HLA 抗原同定による適合度の検討とレシピエントが産生する HLA 抗体の検出と解析に大別される。HLA 抗原の同定は、LCT 法により行われてきたがドナー B 細胞の性状や反応性の問題から必ずしも正確な同定がなされているとは言い難かった。高分子 DNA を用いた HLA DNA typing 法の開発により、ドナー class II 抗原の同定がより正確となり最適な HLA 抗原の組み合わせによる臓器移植が施行出来るようになった。造血幹細胞移植においても、抗原レベルのマッチングからより詳細なアレルレベルでのマッチングが可能となり生着率は著しく向上してきた。移植前にレシピエントが保有している前感作抗体は、超急性拒絶や液性拒絶の誘因抗体であるが、LCT 法から感度の高いフローサイトメーターを用いた FCXM に移行しつつある。移植後に産生される HLA 抗体のスクリーニングは、リアルタイムに検出可能な FlowPRA 法や Luminex 法が導入され拒絶反応の診断や治療の効果判定に応用されつつある。脳死法案の改定も目前に迫った現在、検査法の多様化に伴う技術の QC や臨床側からの要望を的確に把握することは検査現場にとって急務である。昨年、現況を把握しより良い移植医療の推進を目的に、日本移植学会と本学会との間で共同作業部会が成立した。本シンポジウムでは、臨床側からの要望に対する検査側の対応について討論する。

S-2

臓器移植(特に腎臓移植)におけるクロスマッチ検査と新しい診断・治療法の普及について

杉谷 篤

九州大学大学院腎疾患治療部

現在, わが国の臓器移植(特に腎臓移植)におけるクロスマッチ検査は LCT 法から FACS に移行しつつある。2006 年 1 月の時点での主な腎臓移植施設での FACS 実施率は 10% 以下であったが 5 月の時点では 30% 以上である。FLOW-PRA の普及も急速であり, やはり 2006 年 1 月の時点での実施率は 5% 以下であったが 5 月の時点では 30% 以上である。また, FLOW-PRA (single antigen) はほとんど行われていなかったが, 2006 年 5 月の時点では, 特定の症例にのみであるが 10% 以上の施設で行われるようになった。

このように過去 10 年間ほとんど普及していなかった FACS クロスマッチおよび FLOW-PRA が急速に用いられるようになったのは以下の二つの臨床的な進歩によってである。

- ① 一部のクロスマッチ陽性症例での腎移植が可能になったこと
 - ② 術後のクロスマッチ検査と予後との関連が明確になったこと
- 今回のシンポジウムでは上記の新しい臨床的知見について紹介する。

S-3

日本移植学会・日本組織適合性学会 共同ワーキング

江川裕人

京都大学 臓器移植医療部

現在日本では、腎臓移植の施設数 140 以上、肝臓移植の施設数は 120 以上である。これらの移植施設におけるクロスマッチ検査の標準化と精度管理を目的として、日本移植学会と日本組織適合性学会は 2005 年 10 月に共同ワーキングを発足させた。具体的には、① 上記の移植施設に日本組織適合性学会の QC ワークショップ参加させること、② その結果を各施設の検査実施担当者にフィードバックさせるだけでなく、医師にも周知させ、結果的に自施設のクロスマッチ検査法の標準化と高い精度維持を達成すること、を目的とする。

第一段階として、腎臓移植施設 144 施設、肝臓移植施設 127 施設を対象として QC ワークショップ参加のアンケート調査を行い、同時に不参加施設には参加を促した。

このアンケート結果および 2006 年 9 月時点でのクロスマッチ検査の標準化および精度を評価し、あわせて今後、移植施設をどのように指導するか?を提言する。

S-4

臍帯血移植に関連して

高橋 聡

東京大学医科学研究所 先端医療研究センター

臍帯血移植では臨床上における利点の中に、①多くはHLA不一致移植にもかかわらずGVHD(移植片対宿主病)の発症頻度が低く重症化しにくいこと、②そのためHLAが厳密に一致していなくても移植が可能であるため相対的に少ないドナープールで多くの移植適応患者をカバーできる点、が含まれる。一方で、③生着の不確実性、および④造血回復の遅延、は臍帯血移植における最大の問題点となっている。最近の米国からの報告では、「HLA一致度」が造血回復のスピードや生存率と相関があると報告されているが、我々の施設における成人臍帯血移植100例の解析では、「移植細胞数」が造血回復速度に与えるような明らかな相関は認めていない。

また、造血幹細胞移植における拒絶のメカニズムに関しては未だに解明されていない部分が多い。これまで、再生不良性貧血患者に対する骨髄移植やHLA不一致移植の場合では、HLA抗体陽性が生着や生存に与えるリスクについて、いくつか報告されており、液性免疫の拒絶への関与が示唆されている。当施設での経験では、100例中3例が移植前にHLA抗体が陽性であり、そのうち1例では生着不全(自己造血の回復)をきたした。他の2例は移植後5年以上の経過で予後としては順調であるが、好中球 $500/\text{mm}^3$ および血小板 $5\text{万}/\text{mm}^3$ までの回復日数は、それぞれ25日と31日、および88日と133日と、全体の中央値22日および46日に比べ、明らかに遅延した。現時点では、HLA不一致グラフトが多数を占める臍帯血移植の適応を検討する際に、HLA抗体陽性患者の場合は慎重に検討をおこない、原則的にはHLA一致骨髄ドナーを探す方針としている。

本シンポジウムでは、成人患者に対する臍帯血移植における臨床現場における現状を報告させて頂き、HLAに関する問題点の整理を試みる。

S-5

公的バンクに望むこと —移植医へのアンケート結果から

松崎道男

虎の門病院 輸血部

現在のように移植医療が発展し、臓器移植ネットワーク、骨髄バンク、臍帯血バンクなどができたのも、HLAの研究と臨床応用を支えている研究者および日本組織適合性学会の尽力によるところが大きい。今回、発表の機会をいただいたので、移植医にアンケートをとり、HLA検査にかかわる要望をまとめ当日発表する予定である。

以下に現時点で私自身が、HLA検査に関連した要望を列記する。

- 1) 臓器移植ネットワークの検査について: 現在、HLA検査センターまで患者が来院し、採血検査、登録をしなければならない仕組みであるが、患者および移植医にとって不便である。外注先に委託するかブロック単位で検査センターを1つつくり、そこに採血したものを郵送することにした方がよいと思われる。
- 2) ネットワークおよび臍帯血バンクの検査: 検査法および試薬など統一されていない検査による結果で患者登録をしている。移植医としては、最も感度がよく費用が安いもので統一してもらいたい。
- 3) HLA抗体の臨床応用: 近年、HLA抗体の精度があがり、ダイレクトクロスマッチで見出させないものも検出できるようになっている。移植希望患者の抗HLA抗体検査は、必須と思われる。ドナーの善意には、移植成績の向上で答える必要がある。

HLA検査が進歩した現在では研究と業務は切り離して考えるべきである。移植の公的バンクは、集約化し効率的で感度がよい検査法に統一すべきである。患者は常に最新で信頼性が高く、かつ負担が少ない検査を望んでいる。今後の移植医療の発展のために公的バンク業務およびHLA検査にたずさわる方たちと移植医は、より緊密な連携をとる必要がある。

追加発言

より詳細な HLA 適合検索の必要性～ある臨床の現場から

富澤大輔，梶原道子，長澤正之，森尾友宏，水谷修紀

東京医科歯科大学 発達病態小児科学

【背景】 わが国において非血縁者間同種骨髄移植 (UBMT) は幅広く行われているが、移植片対宿主病 (GVHD) を中心とした移植関連合併症 (TRT) は依然大きな問題である。今回我々の施設において HLA6/6 抗原一致ドナーより UBMT を施行したにも関わらず、TRT により不幸な転帰をたどった 3 症例を報告し、現在の HLA 適合検索に関する問題点につき提起したい。

【症例 1】 慢性活動性 EB ウイルス感染症の 19 歳女性。ドナーは 6/6 抗原一致非血縁者、前処置は TBI/CY/VP-16 で UBMT を施行した。Day + 15 に生着、day + 20 に急性 GVHD (grade II) を発症したもののステロイド治療に良好に反応し、順調な経過であった。Day + 120 頃より慢性 GVHD 及び閉塞性細気管支炎 (BO) を発症した。原病は寛解していたが、その後呼吸不全、TMA に伴う腎不全を合併し、day + 273 に死亡した。

【症例 2】 慢性骨髄性白血病(慢性期)の 19 歳男性。6/6 抗原一致非血縁ドナー、前処置は TBI/CY で UBMT を施行した。Day + 44 に急性 GVHD (grade III) を発症したがステロイド治療により軽快した。その後 CMV 抗原血症や出血性膀胱炎を認め、徐々に免疫抑制剤を減量していたところ、day + 328 より出血性ショックを伴う消化管出血を繰り返すようになった。ステロイド治療に反応するものの減量すると再燃し、ステロイド依存性であった。最終的には細菌及び真菌感染症を繰り返したことにより、敗血症・多臓器不全で day + 460 に死亡した。

【症例 3】 骨髄異形性症候群の 14 歳男性。6/6 抗原一致非血縁ドナー、前処置は BU/CY/L-PAM で UBMT を施行した。移植後早期に CMV 感染症、急性 GVHD (grade III)、TMA を合併したが、各種治療により軽快、day + 21 に生着し、その後の経過は良好であった。Day + 150 頃より BO を発症し、呼吸困難が急激に増悪したため人工呼吸管理となった。その後も各種治療抵抗性で、腎不全、二次性生着不全も合併し、多臓器不全にて day + 335 に死亡した。

【結語】 移植前の状態が良好かつ、良好な条件のドナーから非血縁者間同種移植を施行したにも関わらず、治療抵抗性の GVHD や BO を発症し、不幸な転帰を辿った症例を提示した。近年 HLA-C 抗原の一致が GVHD 発症に関して重要であるとされており、これらを含めたより詳細な HLA 適合検索が必要と考えられた。

W-1

検査センター(登録衛生検査所)の立場から

小川公明

特定非営利活動法人 白血病研究基金を育てる会

検査センター(登録衛生検査所)において受託するHLA検査は、医学的に確立されている臨床検査として、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」等の対象外とされている。しかし、検査センターにおいては、医療法、臨床検査技師・衛生検査技師等に関する法律、個人情報保護法、等の様々な法律により守秘義務等その運用は、すでに厳重に縛られている。

HLA検査は、臨床医、または研究者より依頼されるが多くの場合、病院内の中央検査部を経由してくるため検査目的等は、なかなか検査センターには伝わってこない。また日本には数百社の検査センターが存在するが、HLA検査の実施は、大手数社だけであり中小検査センターは、これら大手に再外注している。このように臨床現場との大きな隔たりが存在するのが現実である。このため検査センターでは、依頼されたHLA検査の正確な報告を提出すること、また、検査後の残DNAや如何なる個人情報も社外に漏れ出さないことを最大の責務と考えて厳重な体制を整えている。

しかし、HLA検査の結果は、疾患感受性等のリスク診断や、親子関係の否定等確定診断として解釈できるのも事実である。検査センターとしても、HLA結果の解釈について臨床医より問い合わせに対応することもあるが、重要な生命倫理問題を内在している事の説明を忘れてはならない。

検査センターも医療の一員として臨床医の患者に対する適切かつ心有的対応に協力する意識性を有していくことは重要な事と考える。

W-2

ドナー登録の立場から

三田村真

NPO 法人全国骨髄バンク推進連絡協議会 理事・元事務局長

(財)骨髄移植推進財団 PBSCT 開始判断小委員会委員長, 元ドナー安全委員

有限責任中間法人 日本造血細胞移植学会 評議員・ドナー委員

骨髄バンク事業における、ドナー登録には二つの重要な点がある。善意の健常人ドナーの存在によって成り立つ市民参加型医療制度の実現という点と、もう一つはドナーに対して肉体的・時間的にもドナーを拘束し、侵襲を与える医療行為を経て実施される移植医療という観点とである。そのため、ドナー安全の確保は事業にとっての至上課題であり、高いレベルでの説明責任も要求されている。

現在、日本骨髄バンクの状況は1992年の事業開始以来、ドナー登録者数248,340人、移植症例数7,388例を越えている(2006.5月末現在)また昨年度の移植件数は908件と過去最高を記録し順調に推移していると言える。また、ドナー登録の歴史はHLA検査法の発展の歴史とも言える。当初血清学的検査+最終検査としてのMLC検査により適合確認を行っていたが、その後DNAタイピングが導入され、さらにケタ数が増加し、より適合する検査法へと進化発展を遂げてきた。いずれマイナー抗原のタイピング実施の可能性も含めて、更なる移植成績向上に繋げる研究が継続されると推察される。

現状の日本骨髄バンクのドナー登録における検討課題を以下列挙する。

- (1) 採取可能施設の不足並びに地域偏在の課題。
- (2) ドナー登録目標30万人達成後のレジストリーのあり方について。
- (3) 登録者数拡大よりも、コーディネート過程における応諾率、移植率を如何に向上させるか。
- (4) 我が国における非血縁者間PBSCTを実施するか、否かの判断、準備。
- (5) ドナーの自己決定権について。

すなわち、事業の伸展、遺伝子解析技術の進歩、個人情報保護法の施行により新たな展開が生じ、ドナー(市民)に対して、十分な説明と理解が得られることを最大の課題として今後も患者救命に寄与したいと考える。

W-3

移植コーディネーターの立場から

菊地耕三

社団法人日本臓器移植ネットワーク

移植医療における組織適合性検査には、臓器提供者、およびレシピエントの HLA タイピング、リンパ球直接交差試験などがある。HLA タイピングの目的は、臓器提供者の HLA に合うレシピエントを選定することにより、拒絶反応を抑え、長期にわたって良好な移植予後を目指すものである。一方、リンパ球直接交差試験はレシピエントの急性拒絶反応を防ぐことを目的とするものであり、いずれもその検査目的は移植成績の向上に集約される。HLA タイピングは臓器提供者とレシピエントの HLA ミスマッチ度が脾臓、および腎臓のレシピエント選定の指標となり、リンパ球直接交差試験は、臓器提供者とレシピエントの検査結果が陰性であることが、肝臓と小腸以外のレシピエント選択基準に規定されている。

移植コーディネーターから見た、移植医療における組織適合性検査の倫理的問題は、臓器提供者の遺伝子解析とその結果を用いた研究に関する規範にある。本来、解析の結果は、血液などの材料を提供した本人のものであることから、特異な結果や研究利用に関しては、本人に伝え、了承を得た上で研究などに用いるものであると考えられるが、臓器提供者の場合、材料の提供時には脳死の状態にあり、解析後の研究利用については十分な説明と同意が得られない。臓器提供に関する説明時に血液の保存と遺伝子解析などの研究利用を家族に伝え承諾をいただくことも方法の一つと考えるが、大切な人を亡くした家族の心情を配慮すると、研究利用などの話は持ち出しにくいのが現状である。

W-4

医師の立場から

森島泰雄

愛知県がんセンター中央病院 血液・細胞療法部

組織適合性が関与する医療として同種造血幹細胞移植がある。1976年以來この移植の臨床に取り組んできた医師の立場から生命倫理に関わる以下に示す諸点につき討議したい。

1. 真に移植が必要な患者さんに適切な移植を実施しているか。
多様化する移植(自家末梢血幹細胞移植・HLA 適合同胞間移植・HLA 不適合血縁者間移植・骨髄バンクドナーからの非血縁者間骨髄移植・さい帯血バンクからの非血縁移植・HLA ハプロ不適合血縁者間移植・骨髄非破壊的前治療を用いた移植など)といっても、疾患・病期によって第一選択の治療法として確立している移植法から未だ治療による安全性や有効性のデータが明らかでない実験的移植法までが混在し、その認識が十分でないまま、日本では practice として実施される傾向にある。また、移植以外の有効な治療法が開発されつつある現状のなかで、治療選択指針 (decision tree) の作成が必要不可欠である。
2. ドナーと患者の HLA 適合度と非血縁者間骨髄移植との関連が研究として明らかになりつつある現在、ドナー選択時に用いるべきエビデンスは何か?
3. 移植を実施しても 10% 以下の長期生存しか望めない患者さんに移植を勧めるべきか。
4. 同種移植の健常ドナーさんにいかに説明し同意を得るべきか。

W-5

研究者の立場から

徳永勝士

東京大学医学系研究科人類遺伝学分野

私は HLA 遺伝子群をはじめ、ヒトゲノム中のさまざまな遺伝子の多様性に関して、疾患感受性との関連やアジア系集団の近縁性などを研究してきた。一方で、いくつかの研究機関や学会の研究倫理委員会にも関わっている。このような経験から、研究倫理、特にその審査について考えてきたことを述べる。

まず、検査と研究の境界領域についての判断の難しさである。組織適合性検査自体は診療の一部として確立しているものの、その検査技術の向上のための工夫や検査からたまたま見出される興味深い現象、検査結果と臨床成績が蓄積されることによって明らかとなる関連などについては、どのように研究へのインフォームドコンセントを受ければよいのか？ どこまで検査の範囲とみなしてよいのか？ そしてどのように研究倫理審査を行えばよいのであろうか？

また、HLA のように多様性に富む遺伝子群について国際ドナーネットワークや国際共同研究の意義は大きい。しかし、国によってしばしば倫理規範が異なる。ゆるやかな規範をもつ国のグループと厳しい規範をもつ国のグループ間の国際共同研究に求められる倫理規範はどうあるべきか？ より厳しい規範に従えばよいのだろうか？

現在、「個の医療」時代の到来が唱えられているが、輸血・移植医療はその先駆けともいえる。最近、薬の処方方を決定するにあたって薬剤代謝遺伝子の多型検査が診療に導入され始めたが、HLA 遺伝子も薬剤過敏症に関連することがわかってきた。また将来の発展が予想される再生医療においては、各種幹細胞の移植医療にどのような組織適合性検査がふさわしいのだろうか？ このような将来の医療に向けた検査・研究の倫理も議論の対象となるであろう。

L-1

抗体関連型拒絶反応への対策

石田英樹

東京女子医科大学 泌尿器科

免疫抑制剤の著しい進歩とともに細胞性拒絶反応を中心とした大半の移植後拒絶反応は克服された一方で、抗体関連型拒絶反応に関してはこれを有効に抑制する方法が無かったといえる。

抗体関連型拒絶反応において問題となる抗体は多くの場合、抗 HLA 抗体である。抗 HLA 抗体は輸血、妊娠、過去の移植などによって引き起こされることがわかっており、特に夫から妊娠歴のある妻への移植の場合には注意を要する。抗 HLA 抗体を検出する方法として Terasaki らが PRA 法を開発してからすでに 20 年あまりが経過した。われわれが同方法を臨床の場に応用するようになって 5 年が経過したが、PRA 法で陽性に検出される患者に抗体関連型拒絶反応が起こりやすいことが判明し、これらの患者が慢性化しやすいことも次第に判明してきた。

このような、抗 HLA 抗体を移植前に保有する患者および術後に抗体関連型の拒絶反応を起こした患者に対しては、1) 術前免疫抑制剤の長期内服、2) 血漿交換療法、3) γ グロブリン大量療法、などを行ってきた。最近では抗 CD20 抗体を投与している。

抗体を検出する方法も PRA 法以外にさまざまあり、抗体をより特異的にかつ簡便に検出する方法が開発されている。

本発表では、これらの抗 HLA 抗体の検出法および、抗体関連型拒絶反応の対策について述べてみたい。

抄 録 集

学術奨励賞受賞者講演

G-1

LILRA3 遺伝子にみる東アジア特異的な自然淘汰

○ 平安恒幸^{1,2)}, 大橋順¹⁾, 田中秀則²⁾, 柏瀬貢一²⁾, 高梨美乃子²⁾, 佐竹正博²⁾, 徳永勝士¹⁾, 屋部登志雄²⁾

- 1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学,
2) 東京都赤十字血液センター

【目的】 Leukocyte Ig-like receptor (*LILR*) 遺伝子群は、11 種類の機能的な遺伝子座から構成されており、免疫細胞に幅広く発現している。*LILRA1*, -*B1*, -*B2* はリガンドとして HLA クラス I を認識するが、他の *LILR* のリガンドは未知である。*LILR* 遺伝子群の中でも唯一 *LILRA3* 遺伝子には、エクソン 1 からエクソン 6 までを欠く遺伝子欠失型のアレルが多型として存在している。我々は先行研究において、日本人の欠失型アレル頻度が 71% にも及ぶことを報告した (Hirayasu *et al.* Hum. Genet. 2006)。さらに、未成熟終止コドンに伴う非機能型 *LILRA3* アレルを新規に見出した。そこで本研究では、*LILRA3* アレルの東アジアにおける地理的頻度分布を調べるとともに、その分子進化的意義について検討した。

【方法】 東アジア集団(中国朝鮮族, 満族, モンゴル人, プリヤート人)および HapMap プロジェクトの検体 (JPT, CHB, CEU, YRI) について *LILRA3* 遺伝子型を PCR-SSP 法およびダイレクトシーケンス法により決定した。また、HapMap データベースを用いて、*LILR* 遺伝子群が位置する 19 番染色体上の約 4 万 SNPs に対して F_{ST} を計算した。

【結果と考察】 これまでに報告されているアフリカ人, ヨーロッパ人, および南アジア人と比較して, 東アジア集団で *LILRA3* 欠失型アレルが高頻度に観察された(中国朝鮮族 84%, 満族 79%, モンゴル人 56%, プリヤート人 76%)。 F_{ST} の度数分布から, *LILRA3* 欠失型アレルが東アジア集団 (JPT と CHB) と他集団 (CEU と YRI) との間で有意に分化している (JPT 78%, CHB 70%, CEU 17%, YRI 7%) ことが判明した。また, 非機能型 *LILRA3* アレルは東アジア集団特異的に観察された。以上の結果は, *LILRA3* に対して東アジアで特異的な自然淘汰が働いた可能性を示唆している。

G-2

家族性肥大型心筋症 (FHCM) の新しい原因遺伝子座は HLA 領域にマップされる

○ 大谷仁志^{1,2)}, 安波道郎^{1,2)}, 有村卓朗²⁾, 寺崎文生³⁾, 北浦泰³⁾, 清水賢巳⁴⁾, 木村彰方^{1,2)}

- 1) 東京医科歯科大学・生命情報科学教育部・バイオ情報学
2) 東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子病態
2) 大阪医大・第三内科
4) 金沢大学・医学部・第二内科

【背景と目的】 家族性肥大型心筋症 (FHCM) は、左心室の肥大と拡張障害を主徴とし、若年者の突然死や心不全を来す常染色体性優性遺伝性疾患である。これまでの分子遺伝学的研究でミオシン重鎖遺伝子等の 15 種類の FHCM 原因遺伝子が判明したが、それらに変異が見出される FHCM 患者は約 60% に過ぎず、さらに別の原因遺伝子が存在すると考えられる。本研究の目的は新たな原因遺伝子座を同定することにある。

【方法】 発端者にミオシン重鎖遺伝子等のサルコメア構成要素に変異が見出されなかった FHCM1 家系の罹患者 7 名(うち 1 名は心電図異常のみ, 他 6 名は心肥大と心電図異常)および非罹患者 5 名について, 400 座位のマイクロサテライトマーカー (MS) をタイピングし, HCM との連鎖を検討した。単点解析で有意に高いロッドスコア (> 1.5) を示した MS の周辺に新たなマーカーを設定し, それらを用いた多点解析を行った。

【結果と考察】 連鎖解析により, 本家系はサルコメア構成要素以外にも Z 帯構成要素遺伝子群などを含めた既知の HCM 原因遺伝子のいずれとも連鎖しないことが判明した。単点解析では ch6p21 上の D6S1583 で最大ロッドスコア 1.91 ($\theta=0$) が得られた。ついでその周辺に新たなマーカーを設定し多点解析とハプロタイプ解析を行ったところ, D6S464 から D6S1583 に至る領域にロッド値のピークを認め, 領域周辺に組換えを観察したことから, 新規の FHCM 原因遺伝子座は 9.8 Mb の範囲にマップした。この領域は HLA 領域と完全にオーバーラップするが, 心筋に強く発現する遺伝子を候補として変異検索を行うことで新たな FHCM 原因遺伝子が特定できると考えられ, 現在 ZNF184, TRIM31, NOTCH4 を始めとする候補遺伝子を解析している。

【結論】 FHCM 原因遺伝子座は HLA 領域を含む 9.8 Mb にマップされる。

G-3

PCR-PHFA 法と Luminex システムを応用した HLA 遺伝子解析技術の開発

小川貴裕¹⁾, 松下正毅¹⁾, 川井信太郎¹⁾, 岡孝紀¹⁾, 柏瀬貢一²⁾, 佐竹正博²⁾

1) 湧永製薬(株)バイオ事業開発部

2) 日本赤十字社 東京都赤十字血液センター

【目的】 ヒトの組織適合性抗原であるヒト白血球抗原 (HLA) 遺伝子のタイピングは、これまで PCR-SBT 法や、PCR-SSO 法、PCR-SSP 法が主に使用されてきた。しかしこれらの方法は、複数箇所の多型の組合せによる両義性 (ambiguity) のため、検体のアリルを確定できない場合がある。そこで我々は、PCR-PHFA (Preferential Homoduplex Formation Assay) 法により、ambiguity を識別可能な HLA 遺伝子タイピング系の構築を試みた。PCR-PHFA 法は、熱変性された DNA の 2 本鎖を徐冷してアニーリングしたときに、配列が完全に相補的な 2 本鎖が優先して再形成される性質を利用しており、標準 DNA と検体 DNA の塩基配列の違いを検出することができる方法である。しかしながら、従来法は 1 種類の標準 DNA と検体 DNA の反応を 96 穴マイクロプレートで検出するため、多検体処理には適していなかった。そこで我々は、同時に多検体処理が可能な PHFA 法の確立を目指した。

【方法および結果】 まず、多検体処理を可能にするため、PCR-PHFA 法とビーズアレイ技術を組合せ、複数の標準 DNA に対する PHFA 反応を同時に解析可能な系を構築した。次に、この系を用い PCR-SSO 法で見られる HLA-B 遺伝子の ambiguity の識別を試みた。識別に必要な複数の標準 DNA と検体 DNA による解析の結果、検討したすべての ambiguity を識別可能であった。さらに、日本人に高頻度な 32 種類の HLA-DRB1 遺伝子のアリルタイピングを行ったところ、すべてのアリルを特定可能であった。

【まとめ】 PCR-PHFA 法とビーズアレイ技術を組合せて、従来よりも高スループットな多型解析システムを構築した。さらに、本法を HLA の ambiguity 解析および遺伝子タイピングに応用し、十分実用可能であることを確認した。本法と既存の方法を使用することで、より精度の高い HLA タイピングが可能になると期待される。また本法は、遺伝子多型のハプロタイプ解析に有用であり威力を発揮するものと思われる。

抄 録 集

会員研究発表

O-1

Flow PRA における Adsorb Out の使用意義について

○ 山本賢¹⁾, 佐藤清¹⁾, 佐田正晴²⁾, 永谷憲歳²⁾, 鎌倉史郎¹⁾, 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

【はじめに】 日常, Flow PRA 測定において, ヒストグラムがシングルピークを示すにもかかわらず, 右にシフトし %PRA も 10% 以上と陽性となり, さらにコントロールビーズのヒストグラムも同様に右にシフトしている場合, 非特異反応と判定することがある。しかしこのような場合, バックグラウンドが高いため, HLA 抗体がマスクされ検出されない可能性がある。今回われわれは心臓移植前後で非特異反応を示した検体を Adsorb Out で非特異吸着させ, 再度 Flow PRA を実施し HLA 抗体が検出できた症例を経験したので報告する。

【対象と方法】 心臓移植患者で, 非特異反応と判定した移植前, 移植後 2, 4, 7, 8 日目および若干 2 峰性を示した 9 日目の 6 検体について, Adsorb Out (One Lambda) 処理後 Flow PRA の測定を行った。HLA 抗体スクリーニングは Flow PRA I&II Screening Test (One Lambda), 特異性は Flow PRA Class I Single Antigen (One Lambda) を用いた。分析機器は FACS Calibur, 測定解析ソフトは Cell Quest を使用した。

【結果】 Adsorb Out 処理により移植後 2, 4, 7, 8 日目についてはバックグラウンドが抑えられたために, 明らかな 2 峰性を示したが, 直前の検体に変化は認められなかった。

【考察】 従来, 明らかにヒストグラムがシングルピークで %PRA が 10% 以上の場合, 非特異反応によるものと判定していたが, 今回これらの検体を Adsorb Out 処理することで隠れていた HLA 抗体を検出することができた。HLA 抗体のモニタリングを移植後の拒絶診断や治療効果判定に応用する場合, 正確な HLA 抗体有無と特異性の把握は必須である。非特異反応を認める症例では Adsorb Out を使用する際のクライテリアの確立が急務と思われる。

O-2

フローサイトメトリー (FCM) 法によるリンパ球交差試験の検討

○ 飯田好江, 酒巻建夫, 大西民子, 岡村康子
国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室

【目的】 腎移植では HLA 適合性に加えてドナーリンパ球に対する交差試験陰性が急性拒絶反応の回避のために重要である。従来法として細胞障害性試験 (LCT 法) が用いられているがドナーリンパ球のバイアビリティの影響や細胞分離に熟練を要するなどいくつかの問題点があった。今回フローサイトメーターを導入し, 細胞調整, 反応条件などを検討したので報告する。

【方法】 対象は生体腎移植希望 (7 件) と献腎移植希望 (34 件) に対して LCT 法と FCM 法を実施した。比重遠心法にてリンパ球を採りトロンビン処理後, ナイロンウールカラムで T・B リンパ球に分離した。FCM 法は, ドナーリンパ球と患者血清を混合, 30 分反応させ, Cell WASH で洗浄後, FITC 標識-抗ヒト IgG 抗体を 30 分反応させ, PE-CD3 と APC-CD19 で氷上 30 分反応させ洗浄後, Cell FiX にて固定し FACS (FACS Caliber) で解析した。

【結果】 トロンビン処理をして血小板や単球などを除くと B リンパ球数は 40% 程度減少した。従って FCM 法ではトロンビン処理は行わないこととした。血小板を取り除くためにコラーゲン結合試験管を試用したが, B リンパ球が減少した。最終的には遠心条件を変えて血小板をできるだけ除去し, パスツールピペットを溶液中に留置し好中球などを除く方法にした。B リンパ球は加齢により減少し, 生体腎移植のドナーが多い 50-60 歳代では 5-10% であるためにデータ取り込み数を 2 万個に増やし, 時間短縮のためリンパ球濃度を約 5×10^5 個にした。また反応血清量も 50 μ L にした。当初血清との反応温度は室温だったが B リンパ球の反応が LCT 法の BW と乖離例が出たために 37°C で実施したところ一致したので以後 37°C に変更した。T リンパ球の反応では室温でも 37°C でも 2 法すべて一致した。

【結論】 FCM 法の反応条件が決定し LCT 法と同等, あるいはそれ以上の精度で判定できることが分かった。室温のみで陽性に出た例は免疫複合物や自己抗体などの影響が考えられ, 今後検討する必要がある。

O-3

腎移植クロスマッチ陽性症例の抗体解析と臨床経過

○ 木下朋子¹⁾, 橋本光男¹⁾, 有地直子^{1,2)}, 藤井直彦^{1,3)}, 岸川英史^{1,2)}, 市川靖二^{1,2)}

1) 兵庫県立西宮病院・腎移植センター

2) 兵庫県立西宮病院・泌尿器科

3) 兵庫県立西宮病院・内科

【目的】 腎移植において長期の移植成績を向上させる要因のひとつに早期移植腎廃絶を防ぐことが挙げられる。その目的のために、移植前にLCT法によるクロスマッチが実施されている。しかし、LCT法によるクロスマッチの結果と移植予後とは必ずしも相関しないことが報告されている。我々はこの問題をLCT法による抗体の検出感度と検出される抗体の特異性として捉え、検出感度の高いFCXM法とHLA抗体を特異的に検出するFlowPRAを併用してクロスマッチを行い、検出された抗体と早期移植予後との関連性を検討した。

【方法】 1997年5月から2005年12月までに兵庫県下で移植された136症例を解析の対象とした。クロスマッチはLCT法、FCXM法、FlowPRAで行い、HLA抗体の特異性はシングル抗原ビーズを用いて検討した。

【結果】 136症例をLCT-T、FCXM-T、FlowPRAの反応パターンより、1群: 陰性症例(89例)、2群: 非特異的HLA抗体陽性症例(27例)、3群: non HLA抗体陽性症例(8例)、4群: 低力価特異的HLA抗体陽性症例(12例)の4群に分類した。1群の89症例のうち2例が1ヶ月以内に移植腎廃絶に陥った(1年生着率96%)。2群と3群は全例急性拒絶反応がみられず予後良好である(100%)。4群のうち8症例についてシングル抗原ビーズを用いてHLA抗体の特異性を検討したところ、5例がドナー特異的HLA抗体陽性であった(クラスI抗体: 4例, クラスII抗体: 1例)。この5例は急性拒絶反応が認められたが、血漿交換等の処置により改善した(90%)。

【考察】 今回、クロスマッチ陽性症例の抗体の特性と臨床経過を検討した。non HLA抗体によるクロスマッチ陽性症例は予後良好であり、低力価抗体陽性症例は抗体除去と抗体産生を抑制する治療が必要であることが示唆された。これらの結果を踏まえ献腎移植時の受者選択基準について提言する。

O-4

腎移植におけるHLA抗体測定の有用性とその限界

○ 小林孝彰¹⁾, 小原節子²⁾, 長尾栄子²⁾, 水野美紀子²⁾, 三輪祐子¹⁾, 丹羽操¹⁾, 長坂隆治³⁾, 片山昭男³⁾, 打田和治³⁾, 中尾昭公¹⁾

1) 名古屋大学大学院医学系研究科病態制御外科(第二外科)

2) 名古屋第二赤十字病院組織適合検査室

3) 名古屋第二赤十字病院移植外科

【目的】 ELISA, flow cytometry を用い微量のHLA抗体が測定可能となり、移植前には液性拒絶反応のハイリスク症例を事前に判別できるようになった。さらに、移植後のHLA抗体産生と腎機能廃絶との関連が報告され、慢性拒絶反応のモニタリングとしてHLA抗体測定の有用性が示されている。今回、自験例においてHLA抗体測定の意義とその限界について検討した。

【方法】 移植後6ヶ月から21年経過し、外来follow up中の生体腎移植243例を対象として、ELISA, flow cytometryによりHLA class I及びclass II抗体を測定し、臨床経過と比較した。抗体陽性例には、移植前のHLA抗体を測定し、さらに、LABScree(class I, II panel)を用いたHLA特異性解析によりドナー特異的抗体の有無について検査した。

【結果】 HLA抗体は、243例中27例が陽性(11.2%)であった(class Iのみ9例, IIのみ14例, I+IIは4例)。27例のうち12例は再移植例であった。抗体陽性27例と陰性216例では、急性拒絶反応発現率、血清Cr、尿タンパク陽性率に差を認めなかった。しかし、抗体陽性27例を新規にHLA抗体が産生された12例と移植前から陽性であった15例と比較すると血清Cr(1.98±0.70 vs 1.48±0.58)、尿タンパク陽性率(58.3% vs 6.7%)で有意差がみられ、新規HLA抗体産生例で明らかな腎機能低下が認められた。HLA特異性解析の結果、移植腎機能廃絶後には50%(6/12)にドナー特異的HLA抗体が検出されたが、移植腎機能が維持されていれば、7.7%(2/26)しか検出できなかった。

【考察】 移植後の新規HLA抗体産生例では、血清Cr値、尿タンパク陽性率は有意に高く、活発な免疫反応が示唆された。移植後のHLA抗体モニタリングは、免疫抑制療法を適正化するのに有用な情報を提供すると考えられた。しかし、グラフトへの抗体吸着のためドナー特異的抗体が検出されない場合が多く、移植前からHLA抗体が陽性の場合には、モニタリング方法を工夫する必要がある。

O-5

液性急性拒絶における HLA 抗体の推移

○ 佐藤壯¹⁾, 玉置透²⁾, 坂田博美²⁾, 堀江卓²⁾, 久木田和
丘²⁾, 目黒順一²⁾, 米川元樹²⁾, 川村明夫²⁾

- 1) 医)北榆会 札幌北榆病院・臨床検査科
2) 同・外科

【はじめに】 献腎移植患者で、移植中にドナー特異的 HLA 抗体陽性が判明し、移植後も乏尿状態が継続、結果的に液性拒絶により移植腎を摘出した症例を経験したので、報告する。

【症例】 患者は、他院で透析中の 58 歳男性、透析歴 25 年。20 年以上前に献腎登録し、2006 年 1 月献腎ドナーに対し、HLA 3 mismatch で第 3 候補となったが、上位者が辞退、ダイレクト・クロスマッチ試験の結果、陰性で正式に候補となり、1 月 13 日献腎移植手術を行った。

【移植の経過】 移植当日に当院で術前透析。その後採血された保存検体から、FlowPRA screening Test を行ったところ、Class I 陽性。すでに移植手術は開始されていたが、mismatch antigen に対する FlowPRA single antigen Test で 2/3 が陽性と判明した。血管吻合後、移植腎血流も順調、1 hour biopsy でも虚血性変化以外の有意な所見は認められなかったが、乏尿状態が持続した。POD1 の血清では、ドナー特異的、非特異的 HLA 抗体のほとんどが陰性化した。POD 7 で再び HLA 抗体陽性となるが、同定された抗体はドナー非特異的抗体だった。しかし、その後も乏尿状態が持続、POD 14 と POD 21 の biopsy で急性細胞性拒絶と診断され、抗拒絶療法を行うも腎機能は改善しなかった。POD 33 の biopsy で初めて C4d 陽性となり液性拒絶の所見が得られたが、骨髄抑制、CMV Antigenemia 陽性となり、抗拒絶療法を継続することが困難となり、移植腎の炎症の激しく、POD 41 で腎摘出となった。

【考察】 本症例においては、血清学的所見と病理学的所見に乖離が見られ、液性拒絶の場合、病理所見では十分に腎機能及び移植腎の状況を把握できない可能性が示唆された。また、移植後に、ドナー特異的、非特異的抗体も含めて移植腎に吸着される機序については、今後さらに検討する必要があると考えられる。

O-6

Mycophenolate mofetil による HLA 抗体抑制効果

○ 佐藤壯¹⁾, 玉置透²⁾, 坂田博美²⁾, 堀江卓²⁾, 久木田和
丘²⁾, 目黒順一²⁾, 米川元樹²⁾, 川村明夫²⁾

- 1) 医)北榆会 札幌北榆病院・臨床検査科
2) 同・外科

【目的】 Mycophenolate mofetil (以下 MMF) は FK506 や CyA などの Calcineurin inhibitor と併用して臓器移植患者に投与されており、従来の薬剤と比較しても細胞性拒絶の割合を有意に減らすことがすでに知られている。その作用機序は de novo プリン合成阻害で、リンパ球全般の増殖を阻害することから細胞性免疫だけではなく液性免疫を抑制する可能性が以前から指摘されていた。当院では従来から腎移植患者について定期的に HLA 抗体のモニタリングを行ってきたが、一部 MMF 投与症例において、HLA 抗体が減少していることが確認されたことから、MMF の HLA 抗体産生抑制効果について検討したので報告する。

【対象と方法】 対象は、当院において腎移植を受け、移植前から HLA 抗体陽性あるいは移植後に HLA 抗体陽性となった 11 例中現在も生着中の 8 例。MMF 投与の有無については、移植時から投与継続中 2 例、途中で投与中止 1 例、途中から投与 2 例、未投与 3 例だった。これらの症例について FlowPRA Screening Test と Class I および Class II Single Antigen Test (One Lambda) を用いて HLA 抗体の推移を検討した。さらに MMF 投与症例については一部血中濃度測定(エミット法)も行った。

【結果】 MMF 投与中および投与中止の計 5 例すべてにおいて HLA 抗体の減弱化が認められ、減少の度合いは Class II 抗体よりも Class I 抗体の方が強かった。特に、移植後 Class I HLA 抗体が陽性化した症例では、直ちに MMF の投与を開始したところ、半年以内に減少が認められ、2 年後にはほぼ消失していた。一方、未投与例では、大きな変化はなかった。

【考察】 MMF によって HLA 抗体の産生が減少する可能性が示唆されたが、今後は、さらに症例数を増やして、併用している Calcineurin inhibitor による違いなどについても検討していきたい。

O-7

HLA DP 抗原に対する既存抗体により移植後抗体関連型拒絶反応を認めた 1 例

○ 難波行臣¹⁾, 佐田正晴²⁾, 高原史郎³⁾, 市丸直嗣⁴⁾, 小角幸人⁵⁾, 佐治博夫⁶⁾, 丸屋悦子⁶⁾, 赤座達也⁶⁾, 久山芳文⁷⁾, 永谷憲歳²⁾

- 1) 国家公務員共済組合連合会大手前病院泌尿器科
- 2) 国立循環器病センター再生医療部
- 3) 大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学
- 4) 大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科(泌尿器科)
- 5) 公立学校共済組合近畿中央病院泌尿器科
- 6) NPO 法人 HLA 研究所
- 7) 大阪府立急性期総合医療センター組織適合検査室

症例は 56 歳男性, A 型 Rh+。

妻 (O 型 Rh+) をドナーとして ABO 血液型不適合生体腎移植術を施行。

術前検査では, HLA タイピングは, 5 抗原ミスマッチ, リンパ球クロスマッチ T 細胞, Bw 細胞ともに陰性であった。術前の flow cytometric cross match (以下 FCXM) は T 細胞陰性, B 細胞陽性であったが, flow panel reactive antibody (以下 Flow PRA) は class I, II ともに陰性であった。

導入療法は Basiliximab, Tacrolimus, Mycophenolate Mofetil と steroid を用いて行ったが, 利尿が得られないため Spergualin, IVIG 療法を行い FCXM B 細胞の陰性化を達成したのち血清クレアチニン(以下 sCr)は 1.3 mg/dl 前後にて安定化した。治療後の腎生検所見(37 日目)では明らかな抗体関連型拒絶反応の所見は得られなかった。

その後, 再度 sCr の上昇と FCXM B 細胞の陽性化が認められたため腎生検(252 日目)を施行し, 光顕および C4d 染色にて抗体関連型拒絶反応の所見を得た。上記の結果を得たため HLA DP の typing を施行し, さらに Flow PRA 法での Single Antigen を用いて精査した結果, ドナー特異的 DP 抗原に対する抗体を認め, 術前保存血清からも同様にドナー特異的 DP 抗原に対する抗体を認めた。

ドナー特異的 DP 抗体が関与すると考えられる抗体関連型拒絶反応を経験したので, 組織像とともに報告させていただく。

O-8

心臓移植患者における HLA 抗体の推移

○ 山本賢¹⁾, 佐藤清¹⁾, 佐田正晴²⁾, 永谷憲歳²⁾, 鎌倉史郎¹⁾, 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

【はじめに】 当センターでは心臓移植患者の液性免疫能を評価するため, Flow PRA を用いて抗 HLA 抗体の推移をモニタリングしている。しかしながら, 現在, HLA 抗体のスクリーニングのみで抗体の特異性については未検査であった。このため, 今回 Flow PRA Class I Single を導入する目的で, 心臓移植前後で Flow PRA が陽性であった症例について %PRA および HLA 抗体の特異性について retrospective に検討したので報告する。

【対象と方法】 対象は心臓移植を受けた 40 代男性。心臓移植の 3 年前に LVAS を装着。HLA 抗体スクリーニングは Flow PRA I & II Screening Test (One Lambda), 特異性は Flow PRA Class I Single Antigen (One Lambda) を用いた。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 Class I の %PRA が 30% 以上示したが, 移植翌日から 10% 以下になり陰性化した。しかし, 5 日目以降から %PRA が 100% 近くまで上昇した。一旦は下がったが, 再び 100% 近くまで上昇し, その後徐々に低下し, 移植後 170 日目陰性化した。

【考察】 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, HLA 抗体スクリーニングおよび特異性を把握することは重要であると考えられた。現在, 特異性については測定中であるため, 発表時に詳細を報告する予定である。

O-9

造血幹細胞移植における液性抗体(その1)

○ 丸屋悦子¹⁾, 海田勝仁²⁾, 玉木茂久³⁾, 島崎千尋⁴⁾, 木村秀夫⁵⁾, 上田恭典⁶⁾, 落合直哉⁷⁾, 松尾恵太郎⁸⁾, 一戸辰夫⁹⁾, 赤座達也¹⁾, 佐治博夫¹⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
- 2) 兵庫医科大学付属病院血液腫瘍内科
- 3) 山田赤十字病院血液内科
- 4) 京都府立医科大学付属病院血液内科
- 5) 北福島医療センター血液内科
- 6) 倉敷中央病院血液内科
- 7) Terasaki Foundation Laboratory
- 8) 愛知県ガンセンター
- 9) 京都大学医学部付属病院血液腫瘍内科

【はじめに】

移植前あるいは移植後の同種造血幹細胞移植レシピエントに検出される液性抗体(HLA 抗体・MIC 抗体など)の存在と移植片拒絶・慢性 GVHD 発症の相関を検討し、移植後の GVH 反応を指標とし、移植ペアの炎症反応に関わるサイトカイン遺伝子多型を明らかにすべく、多施設共同研究を 2004 年度より開始した。約 2 年経過後の結果について報告する。

【対象・方法】

HLA 一致血縁間移植(15 例)、血縁間 HLA ミスマッチ移植(35 例)のペアを対象とし、ドナー、移植前レシピエント +day 30, +day 90, +day 180, +day 270, +day 360 で採血を行い、HLA 抗体の経時的な抗体検出を Luminex 法で行なった。移植片の生着状況・急性または慢性 GVHD の有無・その治療内容など臨床情報の収集を行なった。

【結果】

1. 生着: HLA 一致血縁間移植(15 例)および血縁間 HLA ミスマッチ移植(35 例)において、それぞれ 1 例の生着不全が見られた。
2. HLA 抗体産生: HLA 一致血縁間移植(15 例)の場合; 移植前レシピエント血清中の HLA 抗体は陰性で移植後抗体が検出された 4 例 (HLA class I 抗体 3 例, HLA-class II 抗体 1 例)あった。そのうち抗体の検出時に生着不全が確認された 2 例 (50%), 残りは c-GVHD (limited) を発症した。
3. HLA 抗体産生: 血縁間 HLA ミスマッチ移植(35 例)の場合; (A) 移植前レシピエント血清に HLA 抗体が検出された 4 例では移植後も抗体が検出され、3 例は死亡、1 例は生存中である。(B) 移植後 HLA 抗体が検出された 3 例で一過性に抗体が見られた 2 例は cGVHD 陰性で無病生存中で、継続した抗体が見られた 1 例は extensive な c-GVHD がみられ、on disease

で生存中である。

【考察】

HLA 一致・ミスマッチ血縁間移植における液性抗体(HLA 抗体)の移植成績との関わり、特に c-GVHD や生着について試みたが、症例数が少なく十分な解析ができなかった。しかしながら液性抗体が移植成績になんらかの影響を及ぼす傾向がみられた。今後、検討に必要な症例数を確保できるまで研究期間を延長し、研究目的を達成したい。

O-10

IL-10 Promoter SNP の haplotype および IL-10 の Receptor β SNP と急性 GVHD の相関—急性 GVHD の重症化を予測できるか？ 日本人の GVHD 発症率はなぜ低い？

○ 丸屋悦子¹⁾, 二神貴臣¹⁾, 大沼豪¹⁾, 小島裕人¹⁾, 落合直也¹⁾, 一戸辰夫²⁾, 玉木茂久³⁾, 鬼塚真仁⁴⁾, 赤座達也⁵⁾, 佐治博⁵⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
- 2) 京都大学医学部付属病院
- 3) 山田赤十字病院
- 4) 東海大学医学部付属病院

【はじめに】 GVHD の重症化を予測することができれば、GVHD 予防プロトコルを加減でき、GVHD 重症化と GVL 効果の低減を避けることが可能になる。Lin らはサイトカイン合成阻害因子である IL-10 の promoter 領域 SNP(-592, A/C) において、Recipient が C (low producer) のとき重症 GVHD が高頻度に起こること(2003)、Donor の IL-10 のレセプター・ベータ遺伝子 (cDNA 238: IL-10 RB/c238) の SNP (A/G) が、G のとき a-GVHD 重症化を軽減すると報告した(2005)。日本人 HLA 一致同胞間移植ペアについて IL-10 の promoter 領域 SNP (-1082, -819, -592) および IL-10RB/c238 の SNP を調べ追試した。

【対象と方法】 ① IL-10 のプロモーター (-1082, -819, -592) 多型と a-GVHD の相関: HLA 一致同胞移植ペア, 101 組につき解析した。haplotype 別に a-GVHD の発症頻度を比較した。

② 同じ群について、IL-10 RB c238 SNP を PCR-RFLP 法で検査し、a-GVHD との相関をしらべた。

【結果と考察】 ① IL-10 promoter 多型と a-GVHD 発症との相関を次表に示す。

		>1		>2		
PT-IL-10	n	%a-GVHD(n)	RR(Odd)	%a-GVHD(n)	RR(Odd)	
G-C-C	+	12	33(4)	1.79(2.18)	17(2)	3.6(4.1)
	-	86	19(16)	N.S	4.7(4)	N.S
A-C-C	+	45	13(6)	0.5(0.4)	4(2)	0.6(0.6)
	-	53	26(14)	N.S	7.5(4)	N.S
A-T-A	+	88	18(16)	0.45(0.33)	3.4(3)	0.1(0.08)
	-	10	40(4)	N.S	30(3)	p<0.05
		>1		>2		
D-IL-10	n	%a-GVHD(n)	RR(Odd)	%a-GVHD(n)	RR(Odd)	
G-C-C	+	11	18(2)	1.1(1.1)	18(2)	4(4.6)
	-	87	16(14)	NS	4.6(4)	NS
A-C-C	+	45	13(6)	0.5(0.4)	4.4(2)	0.6(0.6)
	-	53	26(14)	NS	7.5(4)	NS
A-T-A	+	13	23(3)	1.1(1.2)	7.6(1)	1.3(1.3)
	-	85	20(17)	NS	5.8(5)	NS

② IL-10 RB c238 多型と a-GVHD 発症との相関を次表に示す。

IL-10RB/c238					
Recipient	n	a-GVHD>1	%	G の有無と a-GVHD	
G/G	26	7	27	RR=2.3	Odds=2.6
A/G	52	10	19	P<0.05	
A/A	21	2	0.5		
99					
IL-10RB/c238					
donor	n	a-GVHD>1	%	G の有無と a-GVHD	
G/G	27	8	30	RR=3.2	Odds=3.8
A/G	57	10	18	p<0.05	
A/A	15	1	7		
99					

重篤な GVHD は、レシピエントの IL-10 promoter SNP haplotype A-T-A のとき、C/C に比して起こりにくい。日本人集団において、GVHD 重症化に関わる -592 (C/C) の頻度は 13% であり、アメリカ人の 50% に比して有意に低い。日本人の造血幹移植において、欧米人より a-GVHD の発症が少ない (Oh ら: 2005) 理由のひとつといえる。IL-10RB/ c238 genotype G は a-GVHD と相関がみられ、Lin らの報告とは反対の結果が得られた。今後、例数を増やしこの現象の確認を行なうと共に、HLA ミスマッチ移植の場合、どのような相関関係があるかを検討する。

O-11

前処置軽減臍帯血移植 (RI-CBT) における HLA 適合度の意義

○ 松野直史, 和気敦, 内田直之, 高木伸介, 加登大介, 山本久史, 松橋佳子, 瀬尾幸子, 増岡和宏, 宮腰重三郎, 松崎道男, 米山彰子, 谷口修一
国家公務員共済組合連合会 虎の門病院 血液科

【目的】 臍帯血移植は急性 GVHD の程度が軽く, HLA2 抗原不適合移植まで可能とされる。一方, 移植後の生着不全率は高い。当院で施行している Fludarabine/L-PAM/TBI 4Gy を主体とした前処置軽減臍帯血移植 (RI-CBT) において, HLA 適合度が生着, 急性 GVHD, および生存率に及ぼす影響を後方視的に検討する。

【方法】 対象は, 2002年1月から2005年12月までに当院で RI-CBT を施行した, 移植早期死亡例(28日未満)と移植前の活動性感染症を有する例を除く初回移植 152 例。生着判定は, 異性間 FISH, あるいは STR 検出をもって行い, 好中球数 $> 500 / \mu\text{l}$ を生着日とした。生着例について, 急性 GVHD の Grade を重症度分類に基づき判定した。生存率は全生存率を Kaplan-Meier 法で算定した。

【結果】 年齢中央値は 55 歳 (17-79)。男 90 例, 女 62 例。観察期間中央値は 508 日 (28-1304)。疾患は AML/MDS 67, ALL 23, ML 32, ATL 13, CML 6, MM 2, SAA 5, その他 4。疾患リスクは標準リスク 34 例, 高リスク 118 例。GVHD 予防は CsA 単独 75 例, FK506 単独 77 例。HLA 適合度は, 血清型 GVH 方向で 6/6 が 10 例, 5/6 が 43 例, 4/6 が 99 例で, HVG 方向で 6/6 が 6 例, 5/6 が 40 例, 4/6 が 106 例。一次性生着不全は全 152 例中 18 例 (11.8%) で, GVH 方向 5-6/6 は 3 例 (5.7%), 4/6 は 15 例 (15.2%) に認めた。生着までの期間の中央値は GVH 方向 5-6/6 で 18 日, 4/6 で 23 日であった。Grade II-IV 急性 GVHD は 49.6% にみとめ, 血清型 GVH 方向 6/6, 5/6, 4/6 一致でそれぞれ 44.4%, 52.5%, 48.3% と差を認めなかった。3 年全生存率 39.3% (95% CI: 30.4-48.1) であった。Risk factor 解析では, 生着に関して, GVH 方向の一致度 (6/6, 5/6 vs 4/6) で単変量 ($p < 0.0001$), 多変量 ($p < 0.0001$) とも 4/6 群で有意に生着が不良だったのに対し, HVG 方向の HLA 一致度は生着に関与しなかった。急性 GVHD や全生存率に関しては, 両方向とも明らかな関与はなかった。

【考察】 我々の RI-CBT 152 例の解析において, HLA 血清型の GVH 方向の一致度が有意に生着と関連していた。今後, 生着前免疫反応, allele 一致度も含めた詳細な検討を要する。

O-12

東アジア地域の骨髄バンクと非血縁間移植の近況—コラボレーションが必要なわけ

○ 佐治博夫, 丸屋悦子
特定非営利活動法人 HLA 研究所

BMDW (Bone Marrow World Wide: ライデン大学) に登録されているドナー数はついに 1000 万人を超えた。東アジアには日本 (JMDP) をはじめ, 韓国バンク (KMDP), 台湾バンク (BTCSCC), 香港バンク, 中国バンク (CMDP) などがある。

主に, CMDP と KMDP の現状と, それらの非血縁間移植の成績について述べる。

〈CMDP〉

CMDP は中国紅十字会が国家予算を得て運営しており, 各省 (チベットを除く) にドナーセンターがある。HLA ラボは 23 箇所, high resolution typing ラボが 2 箇所ある。2002 年に創立以来, すでに 37 万人 (5 月現在) の登録を達成し, 2010 年に 100 万人の登録を目指している。漢民族 Recipient の 80-85% に 1 名以上の HLA 抗原型適合者を得るために必要な登録数である。54 ある少数民族の登録数は 3% に満たない。漢民族も北方と南方ではハプロタイプ頻度に違いが見られる。移植は 400 例 (5 月現在) 行われていて, そのうちの 200 例弱の症例の OS は 50-80% であるが, 施設による差異が大きい。CML への移植が最も多く, AML, ALL の順である。一人っ子政策の影響か, 家族間の Haploidentical ミスマッチ移植に力を入れており, 成績も非常によい。国際協力の拡大を目指していて, 5 月に NMDP と協定の調印を行った。

〈KMDP〉

KMDP は 1994 年の発足で, 1999 年に JMDP と, 2005 年に NMDP と, 2006 年に BTCSCC (台湾) と協約を結んでいる。赤十字社とカソリックおよび仏教団体の支援の下にあり, KMDP とは別にカソリック医科大学が独自にバンクを持っている。登録数は 84,000 (KMDP) と 27,000 (CUDR) 合計 11 万人 (5 月現在) である。移植数はちょうど 1,000 人を超えたところで, OS は全体で 57% ($n = 614$) と好成績である。AML ($n = 309$), ALL (228), CML (157), SAA (124), MDS (75) などが対象である。

〈結語〉

東アジアの骨髄バンクは急成長しており, 最大の CMDP は国際コラボレーションをはじめている。KMDP は順調に進展している。移植成績は欧米を凌駕し, 日本と比肩する成績である。アジア人の遺伝的背景は欧米人と異なるためと思われる。日本の造血幹細胞移植は欧米に学ん

で進展したが、遺伝的背景のよく似た、東アジア諸国との
コラボレーションを図るべきである。

O-13

日本人非血縁 3 家系における HLA-A 欠失 アレルの解析

○ 高須美和¹⁾, 林律子²⁾, 丸屋悦子³⁾, 伊村公良²⁾, 向後勝
成²⁾, 小林千恵⁴⁾, 浅井善²⁾, 太田正穂⁵⁾, 佐治博夫³⁾, 石
川善英⁶⁾, 徳永勝士¹⁾

- 1) 東京大・院医・人類遺伝
- 2) 静岡県赤十字血液センター
- 3) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
- 4) 茨城県立こども病院小児科
- 5) 信州大・医・法医学
- 6) 日本赤十字社中央血液研究所

【目的】 現在, WHO HLA 命名委員会に HLA-A 非発
現型アレルは 36 種類登録されており, これら非発現型ア
レルのほとんどが 1 塩基置換, あるいは小規模な挿入や欠
失に起因する。我々は昨年の本学会において, 新生児血小板減少症患者の家系調査から見出された HLA-A 非発現個
体において, HLA-A 遺伝子全長を含む約 14kb が欠失し
たアレルを報告した。今回は, 昨年丸屋らが報告した骨髓
移植の家系調査から見出された 2 家系を加えて, 同様の方
法で解析するとともに, 切断点周辺のゲノム構造を明らか
にしたので報告する。

【方法】 ゲノム DNA は, HLA-A 非発現型検体より樹
立した EBV 細胞株または末梢血から抽出した。切断点領
域を絞込むために, HLA-A 遺伝子より約 24kb セントロ
メア側にある HCG9 遺伝子および約 14kb テロメア側
にある HCG4P6 遺伝子の間にある多型に富む領域を 9 箇所
選択してプライマーを設計し, PCR-ダイレクトシーケン
シングを行った。切断点周辺部分については, HLA-A
欠失アレル由来の切断点を挟んだ PCR 産物を TA ベクター
にクローニング後, シーケンシングにより塩基配列を解
析した。

【結果および考察】 HLA-A~HCG9 および HLA-A~
HCG4P6 遺伝子間 9 箇所の DNA 塩基配列を解析したと
ころ, ヘテロ接合またはヘミ接合と判定された領域は 3 家
系ともに一致し, また HLA-A 欠失アレル由来の塩基配列
はすべての領域で完全に一致した。切断点近傍領域を決定
したところ, 3 家系ともに共通して 300bp 以内に限定され
た。さらに, この HLA-A 欠失アレルは両切断点の間に約
1.5 kb の配列が挿入されており, TA クローニングを用い
て塩基配列を解析したところ約 900 bp が決定され, 興味
深いことに, GC 含量が高いレトロトランスポゾンと思わ
れる配列が挿入されていることが分かった。

O-14

アフリカ系アメリカ人に特有な HLA-A*8001 に対する抗体を有する日本人男性症例について

○ 西村千恵, 稲葉洋行, 荒木延夫, 能勢義介, 井本しおん, 三戸壽
兵庫赤十字血液センター

【目的】 今回, 日本人男性からアフリカ系アメリカ人に特有な HLA-A*8001 に対する単一特異性抗体(IgG タイプ)を検出したので報告する。

【方法, 結果】 症例は, 男性, 胆道閉鎖症, 輸血歴なし, 26歳, O型, Rho+, HLA-A*0201, A*3101, B*5101, B*5601, Cw*0702, Cw*1402, DRB1*1101, DRB1*1501. LABScreen PRA ClassI, ClassII による HLA 抗体スクリーニングでは ClassI 抗体が 55 ビーズ中 3 ビーズ (C5009: A1, A80, B18, B50, Cw2, Cw6, E19553: A30, A80, B42, B72, Cw2, Cw7, E5668: A2, A80, B7, B57, Cw7, Cw8) にそれぞれスコア 6 の陽性(蛍光値: C5009; 1099.5, E19553; 1106.5, E5668; 890.5, 陽性対照蛍光値: 5148.0, 陰性対照蛍光値: 97.0)を示した。また, Class II 抗体は陰性を示した。陽性反応を示した 3 ビーズが共に A80 を有することから, 抗 HLA-A80 の存在が示唆された。そこで, LABScreen Single Antigen を用いて抗体を解析したところ RA80001 (A*8001) にのみ陽性(スコア 8; 蛍光値: 4686.5, 陽性対照蛍光値: 12126.0, 陰性対照蛍光値: 44.0)で, HLA-A*8001 と同定された。

【考察】 HLA-A*8001 抗原はアフリカ系アメリカ人の 2% に検出され, 白人, 日本人には検出されていない。HLA-A*8001 は HLA-A1/A3/A11 family 遺伝子座と密接に関連しているが, 今回の解析では HLA-A1/A3/A11 family には陰性を示し, HLA-A*8001 のみに陽性を示した。免疫源は不明である。

O-15

輸血・移植歴のない男性健常者の IgG 型 HLA クラス I 抗体, 赤血球抗体陽性頻度—抗体特異性と抗体保有者の HLA クラス I 型

○ 大田智, 斉藤敏, 玉木啓子, 平林盛人, 小松政義, 中澤由貴, 酒井里枝, 荻原琴恵, 水野由美子, 有賀理砂, 瀬下秀幸, 清水寿
長野赤十字血液センター

【はじめに】 輸血・移植歴のない男性において, 抗 HLA-A2, -A3, -B8 等の IgM 型 HLA クラス I 自然抗体が約 1% に検出されること, 抗 P₁, 抗 M, 抗 Le^a などの自然抗体が 0.25% に検出され, 特異性の性差は Rh 系抗体を除き, ないことが報告されている。

輸血・移植歴のない男性健常者における IgG 型 HLA クラス I 抗体陽性頻度, 間接抗グロブリン試験 (IAT) 陽性頻度, 抗体の特異性および抗体保有者の HLA クラス I 型について解析した。

【方法】 当施設の平成 17 年度における献血者の IAT 陽性者数と抗体特異性を集計するとともに, 再来所した IAT 陽性男性献血者および IAT 陰性の男性職員を対象に, HLA クラス I タイピングを LCT 法, HLA クラス I 抗体スクリーニングを FlowPRA 法, HLA クラス I 抗体の同定を FlowPRA single 法により実施した。

【結果】 男性献血者 57,278 人中 68 人 (0.12%) において, IAT により抗体の特異性が同定された。内訳は, 抗 Fy^b: 22 例, 抗 Le 系: 19 例, 抗 M: 13 例, 抗 Rh 系: 4 例, 抗 Xg^a: 4 例, 抗 P₁: 3 例, 抗 Jk^a: 1 例, 抗 Dib: 1 例, 抗 N: 1 例であった。

抗体保有者の男女比において, 抗 Fy^b, 抗 Le 系, 抗 M, 抗 Xg^a では男性が 80% 以上を占めていた。

抗 Le 系, 抗 M 保有男性の HLA クラス I 型に偏りは見られなかったが, 抗 Fy^b 保有男性には, 日本人で最も遺伝子頻度が高い HLA-B52 がなく, 抗 E 保有男性では, 全員が HLA-A2, Cw1, B46 を有していた。

輸血・移植歴のない男性における HLA クラス I 抗体陽性率は, IAT 陽性者が 15%, 陰性者が 16% と差は認められず, 44% に抗 HLA-B35 が, 33% に抗 HLA-B8 が同定された。

【考察】 報告されている輸血・移植歴のない男性健常者の HLA クラス I 抗体は全て IgM 型であり, 陽性頻度は 0.1-1% と考えられていたが, FlowPRA 法を用いることにより, IgG 型 HLA クラス I 抗体陽性率が 10% を超えることが判明した。このことから, 輸血歴のない男性の血

血小板輸血・骨髄移植に際しても HLA 抗体スクリーニングを行うべきと考える。また、海外において報告例のある HLA-B8 自然抗体が、HLA-B8 のほとんど存在しない日本人において検出されたこと、赤血球抗体の特異性により産生者の HLA クラス I 型に偏りが存在したことは大変興味深い。今後、例数を増やすとともに、HLA クラス II との関連についても解析を行う必要がある。

O-16

HLA 領域内バージャー病感受性遺伝子のマッピング

- 中島敏晶^{1,2)}, 高橋めぐみ¹⁾, 陳智勇³⁾, 太田正穂⁴⁾, 勝山善彦⁴⁾, 成瀬妙子¹⁾, 岩井武尚³⁾, 木村彰方^{1,2)}
- 1) 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
 - 2) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態
 - 3) 東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科血管応用外科学
 - 4) 信州大学医学部法医学

【背景と目的】 バージャー病は四肢の中小動脈に血栓性閉塞を来す原因不明の疾患である。本症は以前より HLA との関連が指摘されており、我々も本症と HLA-B*5401 および DRB1*1501 との関連を報告している。しかしながら、HLA 領域内の感受性遺伝子座位の詳細なマッピングは行われていない。そこで、マイクロサテライトマーカーを用いて LA に連鎖したバージャー病感受性遺伝子のマッピングを試みた。

【方法】 バージャー病患者 93 名、一般健常者 249 名を対象として、HLA 領域内外のマイクロサテライトマーカー 20 種および HLA 遺伝子群 (A, B, DRB1, DPB1) の多型を解析した。アレル陽性率の 2 × 2 比較によってオッズ比を算出し、カイ二乗検定で得られた p 値をアレル数で補正した pc 値が 0.05 未満の場合を有意とした。

【結果と考察】 DPB1*0501 (82.8% vs 55.2%, OR = 3.90, pc = 0.00003), DRB1*1501 (30.1% vs 13.5%, OR = 2.75, pc = 0.004), C3-2-11*213 (33.3% vs 14.5%, OR = 2.94, pc = 0.002) で疾患感受性との有意な関連が認められた。これらの 3 マーカーを指標にした階層解析を行うと、いずれも互いに相乗的に感受性を増加することが判明した。以上より、HLA 領域内には少なくとも 3 箇所の感受性遺伝子座が存在すると考えられた。前 2 者の責任遺伝子は DPB1 及び DRB1 そのものと考えられるが、C3-2-11 近傍の責任遺伝子同定するために、さらに詳細なマイクロサテライト解析及び SNP 解析を実施している。また、p 値を補正すると有意ではないが、TNFd から C1-2-5 までの広い範囲に渡って関連が認められた (例えば、HLA-B*5401 は 26.9% vs 13.7%, OR = 2.31, p = 0.004, pc = 0.075) ため、現在サンプル数を増やして関連を検証中である。

O-17

HLA 領域内における自己免疫性膵炎感受性遺伝子の解析

○ 太田正穂¹⁾, 川茂行²⁾, 勝山善彦³⁾, 浜野英明⁴⁾, 木村彰方⁵⁾, 福島弘文¹⁾

- 1) 信大医学部法医学教室
- 2) 信州大健康安全センター
- 3) 信州大病院薬剤部
- 4) 信大医学部第二内科
- 5) 東京医歯大難治疾患研究所

【目的】

自己免疫性膵炎は膵管の不整狭細像, 膵腫大, 閉塞性黄疸, 血清 IgG 高値, リンパ球浸潤を伴う著明な線維化, ステロイドに対する良好な反応性, に特徴づけられる特異な慢性膵炎である。われわれは本疾患患者で, 病態の活動性に血清 IgG 値の高率 (90%), 特異的な上昇が反映していることと, HLA DRB1*0405-DQB1*0401 の頻度が有意に高いことを報告した。本研究は, HLA 領域内におけるクラス II 遺伝子以外の感受性遺伝子の検索をマイクロサテライトによる相関解析で行った。

【材料と方法】

本疾患患者 43 名と健常人 213 名から得た DNA を解析に用いた。相関解析に用いたマーカーは 25 種類のマイクロサテライト, TNFA と IKBL1 遺伝子プロモーター領域の SNPs である。本研究は信州大学医学部倫「遺伝子解析専門倫理委員会」で承認され, 各人の研究協力同意を得た後に行った。

【結果と考察】

今回設定したマイクロサテライトと SNPs による相関解析から, 患者群に DRB1 (DRB1*0405, OR = 3.20, p = 0.00063) -DQB1 遺伝子と近辺のマイクロサテライト D6S2444, T16SCAR, DQ-CAR のアレルと, クラス I 領域の C3-2-11 (allele 219, OR = 2.96, p = 0.0091) に有意な相関が認められた。疾患感受性について DRB1*0405 遺伝子と C3-2-11 の allele219 両遺伝子の連鎖不平衡による影響は認められなかった。C3-2-11 座の 121 Kb セントロメア側にはタンパク合成や炎症行程の促進に関与する ABCF1 (ATP-binding cassette, subfamily F) 遺伝子が存在しており, 本遺伝子の疾患への関与が示唆された。以上から本疾患感受性遺伝子として, HLA 領域内では DRB1*0405-DQB1*0401 遺伝子と ABCF1 遺伝子の存在が示唆された。

O-18

慢性肺血栓塞栓性肺高血圧症の臨床像と HLA との関連

○ 小南聡志^{1,2)}, 田邊信宏¹⁾, 高橋めぐみ²⁾, 柴田宏樹²⁾, 安波道郎³⁾, 勝山善彦⁴⁾, 太田正穂⁵⁾, 栗山喬之¹⁾, 木村彰方^{2,3)}

- 1) 千葉大学大学院医学研究院加齢呼吸器病態制御学
- 2) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態
- 3) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性
- 4) 信州大学病院薬剤部
- 5) 信州大学医学部法医学

【背景】慢性肺血栓塞栓性肺高血圧症 (CTEPH) は, 肺動脈の血栓性塞栓により肺高血圧症を来す原因不明の疾患である。臨床的には塞栓の場所によって中枢型(肺動脈の主幹に塞栓)と末梢型に分類される。欧米では深部静脈血栓 (DVT) をともなうことが多いが, 本邦例では DVT の合併率は高くない。我々は以前に CTEPH 患者の HLA 領域の解析を行い, HLA-B*5201 及び HLA-DPB1*0202 との関連を報告している。

【目的】CTEPH の発症機序を明らかにするために, 症例数を増加し, DVT の有無で群別して HLA との関連を検討した。また, CTEPH 関連 HLA アレルの有無で臨床像に差異が存在するかを検討した。

【方法】CTEPH 140 例および対照 240 名について, HLA-A, B, DRB1, DPB1, IKBL 遺伝子及び HLA 領域内の 14 マイクロサテライトマーカーをタイピングした。

【結果と考察】CTEPH 症例の内訳は DVT 陰性例 93 例, 陽性例 47 例であった。群分けして解析したところ, DVT 陰性例においてのみ, HLA-DPB1*0202 (OR = 4.88, Pc = 0.0002), TAP*192 (OR = 1.94, Pc = 0.05), TNF-A*119 (OR = 2.08, Pc = 0.03), IKBL-p*03 (OR = 2.23, Pc = 0.007), C1-2-A*238 (OR = 2.55, Pc = 0.002, MIB*326 (OR = 2.18, Pc = 0.03), HLA-B*5201 (OR = 2.35, Pc = 0.01), C1-2-5*208 (OR = 2.26, Pc = 0.02) 及び C3-2-11*207 (OR = 2.18, Pc = 0.04) との有意な関連を認めた。OR 及び Pc 値の検討から, DVT 陰性 CTEPH 感受性遺伝子は DPB1 座と C1-2-A 座にマップされると考えられたため, DPB1*0202 と IKBL*03 をそれぞれの疾患感受性アレルとして臨床データを比較した。その結果, IKBL*03 は中枢型と関連すること, DPB1*0202 は混合静脈酸素分圧がより低い病型と関連することが判明した。このことから, HLA 内の感受性遺伝子はそれぞれ異なるメカニズムで DVT 陰性 CTEPH の発症に関わると考えられた。

O-19

グレーブス病の治療予後は初診時の TBII と関連する

○ 高橋めぐみ¹⁾, 安波道郎^{1,2)}, 窪田純久³⁾, 玉井一³⁾, 木村 彰方^{1,2)}

- 1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態
- 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
- 3) 隈病院内科

【背景と目的】 グレーブス病 (GD) は甲状腺 TSH レセプターに対する自己抗体のために甲状腺機能亢進を来たす臓器特異的自己免疫疾患である。我々は以前に GD と HLA-A*02 および DPB1*0501 との関連を報告した。TSH レセプターに対する自己抗体は一般に TSH 結合阻害免疫グロブリン (TBII) として測定されているが, GD 患者では通常初診時に TBII が陽性 (TBII 陽性例) であり, 甲状腺ホルモンレベルの正常化と TBII の陰性化が薬剤治療効果の目安となっている。一方, 初診時より TBII が低値を示す GD 症例 (TBII 陰性例) がおり, これは HLA-A*02 および DPB1*0202 と関連する。本研究では, GD の TBII 陽性例と陰性例で HLA-A*02 アリル分布に差があるか, また治療効果に差があるかを検討した。

【方法】 TBII 陽性 GD 142 例, TBII 陰性 GD 97 名, 一般健常者 513 名を対象として, HLA-A および DPB1 多型頻度を比較した。TBII 陽性 GD 43 名と TBII 陰性 GD 37 名について, 治療開始後 2 年目の予後を比較した。

【結果と考察】 TBII 陽性例では A*0206 頻度のみが有意に増加 (26.8% vs 14.4%, OR = 2.17, p = 0.001) していた。一方, TBII 陰性例では A*0201 (34.0% vs 19.3%, OR = 2.16, p = 0.002) 及び A*0207 (17.5% vs 6.2%, OR = 3.19, p = 0.0007) 頻度が増加しており, TBII 群とは異なっていた。このことから, これら 2 群の GD は HLA-A 及び DPB1 いずれにおいても異なる遺伝的背景と関連すると考えられた。臨床予後の比較では, 甲状腺ホルモンレベルの正常化率は TBII 陰性例 70.3% vs 陽性例 60.5% であり, 統計学的に有意ではないが, 陰性例の予後がより良好な傾向 (OR = 1.55, p = 0.053) を認めた。また, 甲状腺ホルモンレベル正常化までの薬剤投与期間は TBII 陰性例では 2.03 ± 1.58 年であり, 陽性例の 5.65 ± 2.61 年に比較して有意 (p = 0.0000004) に短かった。一方, 治療期間と DPB1 アリルには明確な関連は認められなかった。以上より, DPB1 は TBII として検出される自己抗体の産生に関与すること, TBII 陰性 GD は TBII 陽性 GD とは異なる疾患カテゴリーに属することが示唆された。

O-20

習慣性流産における HLA-G および HLA-E 多型の意義

○ 吉川枝里¹⁾, 假野隆司²⁾, 森崇英³⁾, 割田貴之¹⁾, 河田 寿子¹⁾, 鬼塚真仁⁴⁾, 高橋めぐみ⁵⁾, 成瀬妙子⁵⁾, 木村 彰方⁵⁾, 猪子英俊¹⁾

- 1) 東海大学医学部分子生命
- 2) 假野クリニック
- 3) 醍醐渡辺クリニック不妊センター
- 4) 東海大学付属病院血液内科
- 5) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態

【背景と目的】 習慣性流産 (RSA) では母体自己抗体や胎児染色体異常などの誘因なく妊娠初期に流産を繰り返すことから, RSA には免疫機序が関与すると考えられている。これまでに RSA 妻における HLA-G 遺伝子の解析が行われ特定のアリル, 3'UTR 多型やプロモーター多型との関連が報告されているが, 必ずしも見解は一致せず, LT 治療効果との関連も明らかでない。本研究では RSA における LT 治療効果と HLA-G 及び -E 多型との関連を検討した。

【対象と方法】 LT 治療を実施した RSA (3 回以上の流産) 女性 40 名とコントロール (正常妊娠分娩) 女性 23 名を対象として, HLA-G 及び HLA-E の遺伝的多型をビーズ法, SBT 法, PCR-SSP 法, PCR-SSCP 法を組み合わせで検討した。統計学的有意性は Fisher の直接検定法で検討した。

【結果と考察】 LT 治療後経過は, 8 名は未妊娠であるが, 9 名は妊娠後流産 (LT 無効群) し, 23 名は妊娠継続 (LT 有効群) した。RSA 全体での HLA-E 及び HLA-G 多型頻度はコントロールとの間に有意差はなかったが, LT 治療効果で分類すると, LT 無効群では G*010401 陽性頻度が 100% であり, LT 有効群 (47.8%) 及びコントロール群 (56.5%) のいずれに対しても有意 (それぞれ p = 0.01 及び 0.03) に多かった。また, 未妊娠群の G*010401 陽性頻度は 87.5% であった。以上より, G*010401 陽性の場合には LT 治療効果が小さいことが推定されたが, 通常はリンパ球上にほとんど発現していない HLA-G が LT 治療効果を直接誘導するとは考えがたく, G*010401 と連鎖不平衡にある遺伝子の関与が示唆される。日本人では A*24 及び A*33 が G*010401 と完全連鎖不平衡にあるため, LT 治療効果の誘導には HLA-A が関与する可能性がある。

O-21

MLR-Blocking 検査と抗 HLA 抗体の比較検討

○ 土田文子¹⁾, 佐藤薫¹⁾, 善方菊夫²⁾, 和泉俊一郎²⁾, 吉場史朗¹⁾, 加藤俊一¹⁾

1) 東海大学医学部付属病院細胞移植再生医療科

2) 東海大学医学部付属病院産婦人科

【目的】 当院では、不妊免疫療法の評価方法として MLR-Blocking 検査を行っている。今回妻の血清中の抗 HLA 抗体を Luminex で検査し、MLR-Blocking 検査の結果と比較検討したので報告する。

【方法】 免疫は夫のリンパ球 4×10^7 個を 15 Gy 放射線照射し、妻に 2~3 週間毎に 3 回静注した。妻からは免疫前にリンパ球と血清を保存した。最終免疫の 2~3 週間後に MLR-Blocking 検査を行った。検査はプール血清 10% と妻免疫前血清 10% を加えた系を対照とし、免疫後に採血した妻血清を加えた系と比較し、Blocking Factor (%) (以下 BF) を計算した。BF は 20% 以上を陽性とした。妻の血清中の抗 HLA 抗体検査は LABscreen Mix で検査し、Ratio 2.5 以上を陽性とした。

【結果】 23 組の症例について検討した。抗 HLA 抗体と BF 両方が陰性であったのは 3 組であった。抗 HLA class I 抗体のみ陽性であったのは 7 組で、うち BF が陽性となったのは 2 組で 28.6% であった。抗 HLA class II 抗体が陽性であったのは 13 組で、うち BF が陽性となったのが 10 組で 76.9% であった。抗 HLA class II 抗体陽性で BF が陰性となった妻血清では抗 HLA 抗体の Ratio が 15 以下と低かった。なお 14 組中 9 組に妊娠継続が認められた。

【考察】 BF が陽性の症例において抗 HLA class II 抗体が関係していることが示唆された。しかし Ratio が低い場合、MLR の Blocking がかからず、Ratio の値が BF に関与していると考えられた。抗 HLA 抗体検査は短時間で結果が得られ、また採血量が少なく患者負担が軽減される。MLR-Blocking 検査は手技の熟練が結果に影響を与えやすいが、抗 HLA 抗体検査は簡便で技術的影響が少ない。以上のように抗 HLA 抗体検査が免疫療法の評価に有意義であることが示唆された。

O-22

リンパ球移植が有効な同種免疫異常不育症における HLA-E, G allele の夫婦共有性と夫特異性

○ 假野隆司¹⁾, 古殿正子¹⁾, 渡辺浩彦²⁾, 田村出²⁾, 吉川枝里³⁾, 猪子英俊³⁾, 木村彰方⁴⁾, 森崇英²⁾

1) 医療法人假野クリニック

2) 醍醐渡辺クリニック不妊センター

3) 東海大学医学部分子生命

4) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態

【研究目的】 リンパ球移植が有効な同種免疫異常不育症を診断するために有効例と無効例の夫婦間の HLA-E, G allele の夫婦共有性と夫特異性を検討する。

【対象と方法】 3 回以上の初期流産を繰り返し HLA classical II 抗原 (DR, DQ; 血清タイピング) sharing 2 個以上で one-way リンパ球混合培養試験の抑制効果 22% 以下を根拠に同種免疫異常と診断した症例のなかで抗核抗体、抗リン脂質抗体が陰性の原発性不育症(夫婦染色体正常、妻の甲状腺機能は正常で子宮形態異常を認めない)に夫リンパ球移植を行ない、妊娠が成立して生児分娩に成功した 18 例と流産に終わった 8 例(胎児染色体は 46,XX または 46,XY に限定)の HLA-non classical I 抗原 (E, G allele; PCR 産物塩基直接配列決定法; 遺伝子タイピング)の夫婦 sharing, 夫固有数を検討した。尚、上記の検査治療は対象夫婦に目的、方法を説明して同意を得たうえで行なった。

【結果】 Sharing 平均数は G allele が流産群で有意 (1.0 vs 0.50, $P < 0.05$; Students-*t*) に多く、夫固有平均数は G allele が生児獲得群で有意 (0.50 vs 1.17, $P < 0.01$) に多かった。0, 1, 2 個毎の検定 (Mann Whitney U) でも有意 ($P < 0.05$) に多かった。生児分娩例の固有 allele のなかで最も高率に認められたのは G*010102 (10 例; 55.6%) であり、1 個固有の 11 例中 9 例 (81.8%) の固有 allele は同 allele であった。

【考察】 リンパ球移植は全ての同種免疫異常不育症に有効ではない。有効症例は夫の HLA-G 抗原の固有数が多い症例で、とりわけ G*010102 保有が重要である。

【結論】 リンパ球移植の有効機序は絨毛に表出する夫固有の HLA-G allele の母体の T あるいは N-K 細胞の G 受容体結合を契機とした cell mediated immunotropic な胎児の拒絶抑制作用と推測された。

O-23

関節リウマチと花粉症の感受性遺伝子の相反性—KIR 3DL1 および HLA-B 遺伝子について—

○ 中西真理¹⁾, 芦田恒雄²⁾, 村田紀和³⁾, 井手武⁴⁾, 下嶋典子¹⁾, 大村素子¹⁾, 佐田正晴⁵⁾, 益尾清恵⁶⁾, 羽竹勝彦¹⁾, 石谷昭子¹⁾

- 1) 奈良医大・法医学
- 2) 芦田耳鼻咽喉科
- 3) 協和会病院リウマチセンター
- 4) 奈良医大・化学
- 5) 国立循環器病センター
- 6) 株式会社 ベリタス

【はじめに】 これまで関節リウマチと花粉症の疾患感受性遺伝子の検索を行ってきた中で、両疾患の感受性遺伝子の中に相反する関係にあるものが見出された。Killer Immunoglobulin-like Receptor (KIR) 3DL1 遺伝子がリウマチと相関することを以前に報告したが、この解析に用いた健常対照群を各種花粉, ダニ等に対する IgE 抗体陽性 (+) と陰性 (-) に分類して相関解析したところ, IgE(-) では有意差が見られないか, 弱い, IgE(+) あるいは, 花粉症患者群を対照とした場合は有意差が大きく, 強い相関が見られた。このことに関して, HLA 遺伝子をも含めて検討した。

【方法】 試料は, 健常対照群 183 名, スギ花粉症患者群 167 名, 関節リウマチ患者群 114 名で, 健常対照群, スギ花粉症患者群においては, スギ, イネ科, キク科, ダニの 4 種の抗原特異的 IgE 抗体を RAST 法により測定した。KIR 遺伝子 3DL1B の allele typing は, Gardiner らの方法に従った。HLA 型は PCR-SSO 法により決定した。

【結果】 特異的 IgE は, 対照群の 86 人が陽性で他の 97 人は陰性であった。リウマチ群は KIR 3DL1*005 について, IgE(-) 群を対照とした場合 $\chi^2 = 4.22$ $P = 0.04$ であったが, IgE(+) を対照としては $\chi^2 = 9.53$ $P = 0.002$, 花粉症を対照としては $\chi^2 = 10.77$ $P = 0.001$ と有意差が大きく増加した。HLA 遺伝子については, リウマチは B44 において IgE(-) に対して有意の差は見られなかったが, IgE(+) に対しては $\chi^2 = 11.13$ $P = 0.0008$ と強い相関が見られた。

【考察】 KIR 3DL1 は NK 活性抑制遺伝子であるが, *005 はリガンドとの親和性が低く, この allele の増加は NK の抑制が不十分であると考えられ, これがリウマチ発症の一要因となる可能性がある。本結果は, KIR 遺伝子の IgE 抗体産生に関わる遺伝子への何らかの関わりを示唆していると考えられる。

O-24

蛍光ビーズ法を用いた新規タイピングシステムによる IL-10 遺伝子プロモーター多型とリウマチ性疾患との関連の検討

○ 江原幸和¹⁾, 松下正毅²⁾, 土屋尚之¹⁾, 柏瀬貢一³⁾, 宮城徹²⁾, 松多邦雄⁴⁾, 草生真規雄⁵⁾, 深沢徹⁵⁾, 橋本博史⁵⁾, 高崎芳成⁵⁾, 佐竹正博³⁾, 岡孝紀²⁾, 徳永勝士¹⁾

- 1) 東京大学大学院 医学系研究科 人類遺伝学教室
- 2) 湧永製薬株式会社 バイオ事業開発部
- 3) 東京都赤十字血液センター
- 4) 松多内科医院
- 5) 順天堂大学 膠原病内科

【目的】 リウマチ性疾患において重要な機能を果たすと考えられている IL (interleukin)-10 の遺伝子多型と疾患感受性との関連研究に関する報告はこれまで数多くなされているものの, 確立した見解は得られていない。本研究では, Luminex システムを用いた新規タイピング法を構築し, 日本人集団における IL-10 遺伝子プロモーター多型 (-1082A > G, -819T > C, -592A > C) と関節リウマチ (rheumatoid arthritis, RA) 及び全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus, SLE) の疾患感受性との関連の有無を検討した。

【方法】 RA 310 名, SLE 275 名, 健常対照者 277 名から採取したゲノム DNA をビオチン標識したプライマーで増幅後, PCR 産物を Luminex ビーズに結合した特異的なプローブとハイブリダイズさせ, ストレプトアビジン標識フィコエリスリンを加え, Luminex 100 により測定し, 遺伝子型及びディプロタイプ型を決定した。

【結果】 これら 3 箇所の多型部位により, 3 種類のハプロタイプ GCC, ACC, ATA が形成され, 健常者における頻度はそれぞれ 6%, 25%, 69% であった。RA, SLE 群全体では, いずれの多型部位においても, 有意な関連は認められなかった。HLA-DRB1*0405 陽性 RA 群において, 同アレル陽性の健常対照群と比較して, ACC/ACC ディプロタイプ頻度の上昇が認められた (RA 10.3%, 健常群 1.8%, Fisher's exact test $P = 0.046$)。

【考察】 日本人集団において, IL-10 プロモーター多型と HLA-DRB1*0405 陽性 RA との関連が示唆された。

O-25

関節リウマチ感受性遺伝子 *NF- κ B inhibitor like 1 (NFKBIL1)* の NF- κ B 情報伝達系における機能の解析

浅井常章, ○猪子英俊

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

【目的】 我々がHLA領域内に見出したリウマチ感受性遺伝子NFKBIL1が産生する蛋白質は、蛋白質間の相互作用に重要なアンキリン反復配列を持つ。その配列はNF- κ B転写因子p52の前駆体で、NF- κ B inhibitor 活性も持つ蛋白質p100に存在する同様の配列と高い相同性を示す。しかしNFKBIL1のNF- κ B情報伝達系における機能は不明である。本研究では分子生物学的手法を用いその解明を試みた。

【方法・結果】 NFKBIL1をHeLa細胞内で過剰発現させマイクロアレイ解析を行ったところ、NF- κ B転写因子により発現が誘導されるmRNAの量が減少した。同じ細胞内でNFKBIL1に結合する蛋白質をtandem affinity purificationと質量分析を用いて解析した結果、脱ユビキチン化酵素USP9Xが同定された。USP9Xは、NF- κ B-inducing kinase (NIK)の活性化に依存してp100に結合することが知られている。そこでNFKBIL1とp100との相互作用を免疫沈降法で調べたところ、NFKBIL1もNIK活性化に依存してp100と共沈する事が判明した。同条件下でNFKBIL1はNF- κ B転写因子二量体p52とRelBとも共沈する事が示された。さらにRNAiを用いてNFKBIL1の発現を抑制した場合、NIKにより誘導されるNF- κ B依存性転写活性の上昇がリポーター解析により明らかになった。

【考察】 NIK/p100の関与するNF- κ B情報伝達系は、破骨細胞分化に関連するreceptor activator of NF- κ B (RANK)受容体の下流に位置する。従ってNFKBIL1はRANK依存性情報伝達系を負に制御する事により、破骨細胞分化を阻害し関節リウマチに対して抑制的に働くと考えられる。この知見は感受性SNPがNFKBIL1遺伝子発現を減少させる知見と一致する。

O-26

NFKBIL1 (IKBL) 遺伝子の機能解析

○柴田宏樹¹⁾, 安波道郎^{1,2)}, 中島敏晶^{1,2)}, 木村彰方^{1,2)}

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態

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

【背景と目的】 NFKBIL1 (IKBL) 遺伝子は慢性関節リウマチ (RA) 及び高安動脈炎 (TA) の疾患感受性遺伝子座に存在し、アンキリンリピートを有するタンパクをコードする。我々はプロモーター多型解析でIKBLp*01~*05の5種のアリルを同定し、*01及び*03アリルがそれぞれRA及びTAへの疾患感受性と関連することを報告した。本研究では、IKBL遺伝子による疾患感受性制御の分子機構を解明するために、IKBLpアリルの発現性及びIKBLタンパクの機能解析を行った。

【方法】 IKBLp*01と*03は-263位A/Gのみが違う。そこで-263を中心とする20塩基配列のエンハンサー活性及び*01~*05(-1182~+82領域)のプロモーター活性を検討した。また、IKBLホモ接合体Bリンパ芽球様細胞株各3種でIKBL遺伝子mRNAを定量比較した。一方、酵母2ハイブリッド法(Y2H)を用いてIKBLタンパクに結合する遺伝子を単離し、pull-down法によってタンパク間の結合性を検証した。また、GFPあるいはFlagを付加した融合タンパクを用いて細胞内分布を検討した。

【結果と考察】 -263周辺配列のエンハンサー活性では、*01型は*03型より有意に低かった。プロモーター活性の比較では、*01がもっとも低く*03がもっとも高かった。また、B細胞株におけるIKBL遺伝子発現量は、*01のみが他のアリルより低かった。以上より、IKBL遺伝子の低発現がRA感受性、高発現がTA感受性に関連すると考えられた。Y2Hで得られたIKBL結合クローンとして最多はIKBL自身であったが、それ以外にスプライシング関連タンパク(SP, 仮称)との結合が認められた。IKBLのホモダイマー形成およびIKBLとSPとの結合性はpull-down法で確認出来た。さらに、融合タンパクを用いた細胞内分布の検討で、IKBLおよびSPはいずれも核speckleに存在することが判明した。以上より、IKBLはスプライシングに関連することが示唆された。

【結論】 NFKBIL1 (IKBL) 遺伝子はスプライシングに関与し、その低発現はRA、高発現はTA疾患感受性とそれぞれ関連する。

O-27

ほ乳類 MHC 領域の比較ゲノム解析

○ 椎名隆, 細道一善, 柳谷和代, 佐野和美, 二橋夕紀, 渡辺舞, 河野あづみ, 森山直樹, 倉田里穂, 安西達也, 猪子英俊

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

【目的】 演者らはこれまでのMHC領域の比較ゲノム解析から, 生物種間における基本的な遺伝子構造は大まかには保存されているが, それぞれの生活環境に適応するためのMHCやMHC関連遺伝子のbirth and deathにより形成されてきたこと, MHC遺伝子の誕生は脊椎動物の誕生時期と一致することなど数多くの知見を報告した。さらに, ヒトMHC領域にマップされる疾患感受性遺伝子はMHC遺伝子近傍ゲノム領域に影響を及ぼしたヒッチハイキング効果や平衡選択のみならず, MHC遺伝子と非MHC遺伝子との位置関係や安定性などのゲノム構造の差異もヒトMHC領域が数多くの疾患感受性を規定するようになった要因の一つであると考えられた。そこで本研究ではMHC領域における種間のゲノム相違を明確にするために, 決定したほ乳類ゲノム配列に既知配列情報を含めて, 比較ゲノム解析に必要な遺伝情報を抽出することにより, MHC領域の進化形成過程ならびにMHC領域に位置する各遺伝子における種間差を明確にすることを目的とする。

【材料および方法】 BACライブラリーには演者らが作成あるいは譲渡を受けたものを使用する。スクリーニング, BACコンティグの作成, ゲノム配列決定は既報に準じる。その後の比較ゲノム解析として, 塩基置換速度や挿入/欠失, 遺伝子重複, 系統樹による遺伝的距離の推定や多塩基配列間の多様性を表示する多様性プロファイルによる相同性解析などの分子進化学的解析を実行する。

【結果】 ヒトからオポッサム(有袋類)の間に位置する10生物種における比較ゲノム地図を作成した結果, 各種はそれぞれ140~160個の発現遺伝子あるいは遺伝子候補を有すること, MHCクラスI領域における遺伝子の種間差はMHCクラスII領域のそれよりも大きいことを確認した。

O-28

新しいブタ近交系デュロック種の特徴と多型解析によるSLAハプロタイプの決定

○ 安藤麻子¹⁾, 今枝紀明²⁾, 牛島稔大³⁾, 吉岡豪²⁾, 酒井謙司⁴⁾, 大場恵典⁵⁾, 河田寿子⁶⁾, 重成敦子¹⁾, 上西博英⁷⁾, 猪子英俊¹⁾, 北川均⁵⁾

- 1) 東海大・医,
- 2) 岐阜県畜産研・養豚研究部
- 3) 化血研
- 4) 岐阜県畜産研
- 5) 岐阜大・応用生物学
- 6) 東海大・伊勢原研究推進部・教育・研究支援センター
- 7) 農業生物資源研・動物科学研究領域

【目的】 ブタMHC(SLA)遺伝子型が固定された近交系ブタは, 臓器移植実験や免疫抑制剤の効果判定などの検討に有用な実験動物であることから, すでにNIH(MGH)やクラウンなどのミニブタが開発されているが, 高価であるため, 国内ではあまり用いられていない。今回我々は, 産業用豚を用いてSLAタイプが固定した近交系(以下, IDL)を作出し, 豚丹毒生ワクチンに対する反応性や形態的な特徴などについて検討した。

【方法】 IDLは, デュロック種, 雄雌各1頭を始祖として, 得られた産子の兄妹交配を繰り返して作出した。IDLのSLAハプロタイプは, SLAクラスI, IIの5遺伝子座のDNAタイピングとSLA領域の36種類のマイクロサテライトマーカーを用いた多型解析により決定した。豚丹毒生ワクチンは, 生後10週に, IDLと同条件で飼養されている非近交系のデュロック種に接種し, 10週齢と20週齢に, 血清抗体価を生菌凝集試験とELISA法により測定した。

【結果および考察】 IDLの第7世代の近交係数の理論値は73.4%であり, 形態学的な奇形は観察されていない。分枝頭数は, 世代間の有意差は認められなかった。SLA領域の多型解析により, 第3世代以降のブタには, NIH, クラウン, NIBSのミニブタの計6種のハプロタイプ及び, SLAホモ接合体(H01~H38)の13種のハプロタイプとは異なるd1とd2の2つの新しいSLAハプロタイプが認められ, 少なくとも4世代目にはこれらのホモまたはヘテロに固定されていた。豚丹毒生ワクチン接種後のIDLの血清抗体価は, 非近交系デュロック種と比較して低く, さらにIDLのSLAハプロタイプ別の抗体価は, d1が低い傾向を示した。このIDLは, 産業用であるため安価に供給できるばかりでなく, 新しいSLAハプロタイプを有するため, 各種移植実験や免疫応答性実験などの広範な利用が期待できる。

O-29

ビルマ産アカゲザル MHC class II 領域のハプロタイプ構成と組換えの解析

○ 宮澤正顕¹⁾, 北口大輔¹⁾, 湯浅貴恵^{1,2)}, 坂本真由美¹⁾, 小原栄³⁾, 俣野哲朗⁴⁾, 森一泰⁵⁾, 木村彰方⁶⁾

- 1) 近畿大学医学部免疫学教室
- 2) (株)ファーマフーズ
- 3) (株)新日本科学薬物代謝分析センター
- 4) 東京大学医科学研究所感染症国際研究センター
- 5) 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター
- 6) 東京医科歯科大学難治疾患研究所難治病態研究部門

【目的】 アカゲザル SIV 感染系はエイズモデルとして有用であるが、宿主の MHC タイピングが十分でない。アカゲザル DRB 座は多重性に富み、ヒトより複雑なハプロタイプ構成を示す。一方、ヒトでは DR に並び、DP, DQ 多型と疾患感受性との相関が知られているが、アカゲザル DP, DQ 遺伝子座の研究は遅れている。そこで我々は、我が国に保有されるアカゲザル個体群の MHC class II 遺伝子型とそのハプロタイプ構成を網羅的に解析した。

【方法】 末梢血から B リンパ芽球を樹立、総 RNA を抽出後高忠実度 RT 反応で得た cDNA と、ゲノム DNA を解析に用いた。各 class II 遺伝子座特異的なプライマーで cDNA 全長のクローニングを行い、アリルあたり複数クローンの塩基配列を決定した。DRB の多重性解析には、exon 2 増幅産物を変性剤濃度勾配ゲルで分離してクローニング、全長の遺伝子型と対比した。DPA, DPB, DQA, DQB については、既知の exon 2 配列を元に RACE により 5' および 3' 端配列を決定、全長クローニング用プライマーを設計した。マイクロサテライト遺伝子型は、蛍光標識プライマーを用いたサイズ解析により決定した。

【結果と考察】 ビルマ系アカゲザルに特有な、多数の新規 DRB アリル及びハプロタイプを見出した。ラオス産由来家系では、染色体当たり最大 6 遺伝子座の産物が発現していた。DPA, DPB, DQA, DQB の各遺伝子座は、染色体あたり一アリルが発現していた。開始コドンが GTG に変異しており、18 塩基対下流に in-frame の ATG コドンが存在する新規 DPA アリルを見出した。親子関係から class II 全体のハプロタイプ構成を推定すると、DP-DQ 領域間に乗り換えが生じたと考えられるハプロタイプが複数見出され、それらはゲノムレベルのマイクロサテライト解析で確認された。

O-30

ヒトおよび実験動物サルにおける NKG2 レセプター関連遺伝子群の遺伝子解析

○ 成瀬妙子¹⁾, 安波道郎¹⁾, 俣野哲郎²⁾, 森一泰³⁾, 本多三男⁴⁾, 保富康宏⁵⁾, 宮澤正顕⁶⁾, 木村彰方¹⁾

- 1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所
- 2) 東京大学医科学研究所
- 3) 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター
- 4) 国立感染研究所エイズ研究センター
- 5) 三重大学医学部
- 6) 近畿大学医学部

【目的】 NK レセプターとそのリガンドは各々遺伝子ファミリーを形成し、個々の遺伝子は MHC と同様な遺伝子多型の存在が報告されているが、それら多型の免疫学的、機能的意義については不明な点が多い。我々は NK レセプターのうち、NKG2 レセプターを支配する遺伝子群、および NKG2D のリガンドである RAET1 (ULBP) 遺伝子群における遺伝的多型の生物学的を解明することを目的として、ヒトと実験動物サルを対象として、NKG2 レセプター群を中心とした遺伝子領域のマイクロサテライト (MS) 多型を検討した。

【方法】 NKG2 レセプター遺伝子群を含む約 450 kb の領域に 5 種、RAET1 遺伝子領域の約 180 kb に 4 種の MS マーカーを選定し、日本人一般集団 96 名、およびミャンマー産、ラオス産アカゲザル 6 系統由来の 48 個体より抽出した DNA を用いて、各マーカーにおける多型を検討した。

【結果】 NKG2 レセプター遺伝子領域に設定した MS マーカー 5 種は、ヒトではいずれも 6 個の多型が認められた。同一のプライマーをアカゲザルに用いたところ、領域の両端に位置するマーカーは増幅されず、3 種のみ多型を認め、特に X54870 では 8 個の多型が検出された。RAET1 遺伝子領域の MS では、ヒトでは 3~11 個の多型が見いだされたが、アカゲザルでは全く増幅することができなかった。

【考察】 免疫応答の個体差はエイズを含めた感染症や自己免疫疾患の発症や予後に大きく関与している。疾患モデル動物としてのアカゲザルが、ヒトと同様な NKG2 遺伝子群を構成していることが予想されたが、MS 多型の分布パターンが異なっていた。現在、NKG2D と RAET1 遺伝子、さらに NKG2A, C, E のリガンドである HLA-E 遺伝子についても比較検討している。

O-31 デングウイルス感染症の HLA 解析

○ Nguyen T. P. Lan, 菊池三穂子, Vu T. Q. Huong, Vu T. T. Ngu, Hoang N. Dao, Vo D. Tham, Tran V. Dat, Do Q. Ha, 小山寿文, 森田公一, 安波道郎, 平山謙二
免疫遺伝学熱帯医学研究所長崎大学
国際連携戦略本部長崎大学
ウイルス学熱帯医学研究所長崎大学,
Arbovirus Laboratory, Pasteur Institute HCMC,
Pediatric Hospital No. 2 HCMC,
Center for Preventive Medicine, Vinh Long Province, Vietnam

【目的】 デングウイルスはネッタイシマカの吸血によってヒトに感染し、発熱症状を来すデング熱 (DF)、血小板減少を伴った易出血性を呈するデング出血熱 (DHF)、さらに血漿の血管外漏出による虚脱症状まで加わるより重症型のデングショック症候群 (DSS) と、その感染後の経過は多彩である。本研究ではデングウイルス感染後の重症化メカニズムの解明を目的として、ベトナムの主な民族集団であるキン族を対象に、感染後の重症度と HLA の関連を解析した。

【方法】 ベトナム南部ホーチミン市の第二小児病院、および近郊のビンロン県予防医学センター小児病院にて、2002 年～2005 年に発症した患者: DF 群 114 名, DHF 群 206 名, DSS 群 413 名を収集した。また、0 歳～15 歳の健常対照群 193 名をビンロン県住民から収集した。HLA-A および DRB1 DNA タイピングはジオチン化オリゴヌクレオチドを用いた SSO 法, HLA-B タイピングは, rSSO 法キット (One Lambda 社) によった。また一部の患者について採血時の末梢血中ウイルスゲノム RNA を DEN1 から DEN4 の血清型特異的 RT-PCR 法で検出した。HLA と症状との関連は Pearson の χ^2 法, 階層別のトレンドを Mantel-extension 法で解析した。

【結果】 HLA-A*2402 陽性者が DSS 群でオッズ比 2.23 ($p < 0.0001$) と多く, 階層順 (DF < DHF < DSS) トrend解析で $p = 0.0001$ と有意な増加傾向を認めた。また, HLA-DRB1*0901 陽性者が DSS 群でオッズ比 0.46 ($p < 0.0001$) と少なく, 階層順trend解析では $p = 0.0001$ と有意な減少傾向を認めた。デングウイルス血清型が判定できた 100 例中 52 例 (52%) に DEN2 を検出し, DEN2 陽性者には HLA-DRB1*0901 陽性率が低かった (オッズ比 0.35, $p = 0.0087$)。

【考察および結論】 デングウイルス感染後重症化の感受性と抵抗性のそれぞれに HLA-A*2402 と DRB1*0901 との関連が見いだされた。また重症化の抵抗性要因である

HLA-DRB1*0901 は比較的高病原性の DEN2 に対する血清型特異的な抵抗性を介した効果であることが示唆された。

O-32

HLA クラス I 分子によりキラー T 細胞に提示される SARS ウイルス抗原ペプチドの解析

○ Chen Yu-Zhen¹⁾, 千住覚¹⁾, Gang Liu²⁾, 松井政則³⁾, 西村泰治¹⁾

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

【目的】 本研究は新興感染症である SARS に関して、SARS コロナウイルス (SARS-CoV) 抗原に対する T 細胞応答の感染免疫における意義を解明すると共に、SARS のワクチン開発に資する情報を提供することを目的とする。このために、細胞傷害性(キラー) T 細胞が SARS-CoV 感染細胞を認識して傷害する際に識別する、HLA 分子により提示される SARS-CoV 抗原ペプチドを、迅速に同定するシステムを構築する。

【方法と結果】 SARS-CoV の S, M および N 抗原のアミノ酸配列の中から、HLA-A2 (A*0201) 結合モチーフを有するペプチドを、既存のコンピューターソフトウェアを利用した検索により推定した。その中から 43 種類のペプチドを合成して、TAP-1 欠損 T-2 細胞株に、ヒト HLA-A2 (A*0201) 遺伝子を発現させた細胞を用いて、HLA-A2 分子に結合するペプチドを 26 種類同定した。日本には SARS 患者がいないので、HLA トランスジェニックマウス (Tgm) を用いた *in vivo* 動物実験により、これらのペプチドに対する T 細胞応答を解析した。つまり HLA-A2 (A*0201) を発現する Tgm に、上記の合成ペプチドをマウス骨髄由来樹状細胞にパルスして腹腔内に投与した後に、脾臓を摘出して脾細胞より CD8⁺ キラー T 細胞を分離し、これと免疫した合成ペプチドを *in vitro* で共培養した。その後、ELISPOT 法により IFN γ を産生するキラー T 細胞を検出することにより、HLA-A2 分子によりマウス・キラー T 細胞に提示される、SARS ウイルス抗原ペプチドを 6 種類同定した。

【結論と考察】 HLA-A2Tgm を利用して、HLA-A2 拘束性 SARS 抗原ペプチドを迅速に同定するシステムを確立した。このようにして得た情報を中国人研究者に提供することにより、SARS-CoV 感染既往者を対象とした、HLA-A2 分子によりヒト・キラー T 細胞に提示される SARS-CoV 抗原ペプチドの同定に関する研究を支援している。本研究は、アジア地域における新興感染症に対する国際共同研究体制の構築にも貢献するものである。

O-33

遺伝子多型の地理的分布と感染因子による選択圧

○ 安波道郎, 菊池三穂子, 奥田尚子, 塚原高広, 佐藤智生, 松尾恵, Ratawan Ubalee, Koji J. Lum, 金子明, 平山謙二

- 長崎大学・熱帯医学研究所・免疫遺伝学
長崎大学・国際連携研究戦略本部
東京女子医科大学・国際環境・熱帯医学
Department of Anthropology, Binghamton University,
Binghamton, New York,
Malaria Research Laboratory, Karolinska University Hospital,
Stockholm, Sweden

【目的】 現在全世界で年間約 270 万人の死亡原因となっているマalariaは、蚊に媒介される原虫感染症であるが、人類の進化上では比較的最近にヒトに感染するようになったもので、諸民族集団が形成される前後の時代の新興感染症と位置づけられる。いくつかの赤血球の遺伝的異常は宿主にはある程度有害であっても、マalaria原虫の寄生・増殖を抑制するためにマalariaの流行地においては宿主の生存に有利に働くと考えられる。アフリカ集団での鎌状赤血球症、東南アジアの α サラセミアなどは、マalaria選択圧によってそれぞれの民族集団に固定したものと考えられる。バヌアツ諸島はパプアニューギニアの南東に位置し、マalaria媒介蚊の生息域を規定するバクストン線の内外に亘る 80 余りの島からなる。約 4000 年前に移動した民族がそのまま定住しており、元々同一の起源の民族がマalariaのためにゲノム多様性にどのような影響を受けたかを解析できる。本研究では免疫関連遺伝子にマalariaの選択圧が存在するかを遺伝子近傍のマイクロサテライト多型を用いて解析した。

【方法】 小学校就学児を対象としたマalaria感染調査時に紙採血し、マalariaの流行状況が異なる 6 島から各島 95 検体を全ゲノム増幅して解析に用いた。各島のアルル頻度を算出し、マalaria感染頻度あるいは α サラセミア遺伝子頻度との相関を解析した。

【結果】 FasL, ACP1, CR1, STAT1, TLR2, HFE, TNFA 近傍のマイクロサテライト多型のうち TLR2 と TNFA 近傍の座位でサラセミア遺伝子頻度、及びマalaria感染頻度と有意な相関を観察した。また、ACP1 と HFE 近傍の座位にもマalaria感染頻度と弱い相関を示すアルルを見いだした。

【考察・結論】 免疫関連遺伝子群にもマalaria選択圧の存在が示唆された。今後、周辺多型との連鎖不平衡解析から、この相関が遺伝子機能の相違を反映するものであるか

を、また患者—対照研究により疾患の重症度に関連するかを検証する計画である。

P-1

ウシ MHC (BoLA)-DQA1 遺伝子の品種間の多様性の解析

○ 間陽子・陳晶・竹嶋伸之輔
理化学研究所・中央研究所

【目的】 ウシにおいて、細胞表面に発現するクラス II 分子はクラス IIa 領域内にマップされている DRA, DRB3, DQA1-5 および DQB1-5 にコードされている。我々はこれまで、この中で特に多型に富む DRB3 (103 アリル) および DQA1 (31 アリル) の PCR-sequence based typing (SBT) 法を世界に先駆けて開発し、これらが地方病性牛白血病および乳房炎発症の個体差の生成に相関する事を明らかとした。そこで本実験では、日本で飼育されている主要な 4 品種の DQA1 を我々の開発した PCR-SBT 法を用いてタイピングし、アリルの分布を調査し、疾患の予防・診断・治療のための基盤情報を得ることを目的とした。

【方法】 日本全国より無作為に抽出したジャージー種 60 頭、ホルスタイン種 91 頭、日本短角種 100 頭、黒毛和種 82 頭の DNA を使用し、BoLA-DQA1 の PCR-SBT 法によりアリルを決定した。

【結果】 4 品種 333 頭より 666 の DQA1 アリルを同定し、16 種類のアリルが検出された。それぞれ、ジャージー種より 12 種、ホルスタイン種より 12 種、日本短角種より 10 種及び黒毛和種より 10 種類のアリルが見いだされた。これらの品種のアリル頻度を計算したところ、大きな分布の違いが認められた。さらに、ヘテロ接合度を計算したところ、いずれの品種も推定ヘテロ接合度より低い接合度を示した。特に、日本短角種と黒毛和種は推定ヘテロ接合度が 85% 及び 74% であるのに対し、いずれも実測値は 50% 程度であった。

【総括】 本研究では世界で初めて品種ごとの DQA1 アリル頻度を解析し、MHC と疾患との相関解析を行う基盤となるデータを得る事ができた。また、日本短角種と黒毛和種で DQA1 のヘテロ接合度が著しく低下していた。この事実は感染症等に対する抗病性の低下を引き起こしている可能性があり、注意が必要である。

P-2

ブタ MHC (SLA) の異なるハプロタイプ間における遺伝子構造の差異

○ 上西博英¹⁾, 田中麻衣子²⁾, 安藤麻子³⁾, 鈴木恒平²⁾, 粟田崇¹⁾

- 1) 農業生物資源研
2) STAFF 研
3) 東海大・医

【目的】 ブタ MHC (SLA) 領域は、ヒト等他動物種の MHC と同様に、疾患に対する抵抗性等の免疫学的形質との関連が考えられている。SLA 全領域の塩基配列は、特定の 1 ハプロタイプにおいて決定されているが、以前より、SLA 領域中のハプロタイプ間のゲノム構造の差異、特に古典的クラス I 遺伝子をコードする領域における異なるハプロタイプ間の遺伝子座位数の相違が想定されていた。今回我々は、異なるハプロタイプの SLA のゲノム塩基配列を比較して、SLA 遺伝子構造のハプロタイプ間での相違について検証を行った。

【方法】 SLA 領域中に開発したマイクロサテライトマーカーにより、既に塩基配列の明らかになっているハプロタイプ (H01) の SLA と異なるゲノム構造の SLA を持つことが示唆されたランドレース種ブタ個体 (L14-216) を用いて BAC ライブラリーを構築し、SLA 中の多型性の高い領域のクローニングと塩基配列の決定を行った。

【結果と考察】 L14-216 個体を用いて構築した BAC ライブラリーより、古典的クラス I あるいはクラス II 遺伝子を含むクローンを単離し、その塩基配列を解読してゲノム構造を明らかにした。H01 ハプロタイプでは、古典的クラス I 遺伝子座位は 7 つと想定されているが、今回我々が解読したハプロタイプでは少なくとも 9 つの遺伝子座位が存在することが確認された。即ち、1 つのハプロタイプでは SLA-1 (あるいは SLA-3) と SLA-9 の重複がみられ、もう一方のハプロタイプでは SLA-1 と SLA-5 の重複が検出された。クラス II 領域においても、H01 ハプロタイプと比較して DRB 遺伝子の繰り返し回数が増加していることが明らかになった。これらの知見は、SLA と抗病性形質との関連性の解析、また移植実験動物としてのブタの利用において、SLA ハプロタイプを検討する際に有用であると考えられる。

P-3

哺乳類における主要組織適合抗原 (MHC) クラス II DR 分子の進化学的解析

竹嶋伸之輔, 皿井明倫, 斉藤成也, ○間陽子
理化学研究所・中央研究所

【目的】 主要組織適合抗原 (MHC) クラス II 領域は大変によく保存されている分子である。しかし、ヒトと比較すると DQ や DP の欠落や発現する DRB, DQA および DQB 遺伝子が異なることなど、様々な違いも明らかとなっている。しかし、クラス II 分子の中でも DR 分子は哺乳類間で多くの種で共通して存在している。これらの分子は立体構造上ほぼ同じであり、種間の機能が異なるかどうかは全く明らかとされていない。そこで、本研究では MHC-DR 分子のペプチド収容溝を形成する β 1 ドメインに注目し、進化学的手法を用いて 6 種の哺乳類の DR β 鎖の機能比較を行ったので報告する。

【方法】 イヌ DLA-DRB1 50 種, ネコ FLA-DRB1 67 種, ブタ SLA-DRB1 62 種, ウシ BoLA-DRB3 96 種, ヒツジ OLA-DRB1 106 種およびヒト HLA-DRB1 230 種のアリルを IMGT/HLA データベースより取得し、同義・非同義置換数を計算した。また、個別のアミノ酸配列にかかる自然選択圧の推定は Suzuki-Gojobori 法で計算した。

【結果】 6 種の DRB の同義・非同義置換数を、抗原認識部位 (ARS) とそれ以外の部位に分けて計算した。ネコ・ブタでは負の選択圧が強いのにに対し、ウシ・イヌでは正の選択圧が強かった。その原因を探るために、個別のアミノ酸配列にかかる自然選択圧を推定した。その結果、ウシ・イヌでは ARS で正の選択圧のかかっている残基が多いのにに対し、ブタ・ネコ・ヒトは負の選択圧がかかっている残基が多く、さらにブタ・ネコはその場所も同じである傾向を示した。

【総括】 本研究の結果、種によって DRB の機能が異なることが示唆された。今後、これらの類似性がどのような免疫応答や疾患と関連するかを検証してゆく予定である。

P-4

ABO 適合 HLA 不一致生体肝移植における抗 HLA クラス I 抗体陽性例の予後の検討

○ 辻博昭¹⁾, 芦原英司¹⁾, 坂下裕美²⁾, 万木紀美子¹⁾, 竹川良子¹⁾, 菱田理恵¹⁾, 江川裕人³⁾, 羽賀博典²⁾, 木村晋也¹⁾, 眞鍋俊明²⁾, 前川平¹⁾

- 1) 京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部
- 2) 同 病院病理部
- 3) 同 移植外科

【目的】 生体肝移植において抗 HLA 抗体の存在は急性拒絶や慢性拒絶に関与するといわれている。今回われわれは、京都大学医学部附属病院で 1996 年から 2005 年の間に行われた生体肝移植症例中リンパ球クロスマッチ陽性であった症例について、患者血清中の抗 HLA クラス I 抗体（ドナーに対する抗体）と移植後の予後との関連性について検討した。

【対象と方法】 1996 年から 2005 年に行った 804 例の生体肝移植のうち、ABO 適合 HLA 不一致症例 585 例（72.7%）を対象とした。性別：男 276 例，女 309 例。年齢：中央値 18 歳。血液型は A 型：248 例，B 型：125 例，AB 型：27 例，O 型：185 例であった。生体肝移植前に患者血清とドナーリンパ球のダイレクトクロスマッチを行い、抗 HLA クラス I 抗体（抗ドナー抗体）の有無による移植後の予後の検討を行った。

【結果】 585 例中、クロスマッチ陰性群は 571 例，クロスマッチ陽性群は 14 例で、クロスマッチ陽性例は 2.4% であった。年齢，性別，血液型では二群間に有意な差はなかった。移植後の生存率は、陰性群は 77.3%，陽性群は 57.1% であり、陽性群で有意に低かった。また成人（18 歳以上）例では、陰性群，陽性群の生存率はそれぞれ 70.2%，44.4% と陽性群で有意に低かったが、小児（18 歳未満）では差を認めなかった。また性別による検討では女性症例における陰性群，陽性群の生存率は、それぞれ 80.8%，40% と陽性群で有意に低かったが、男性症例では差を認めなかった。

【考察】 リンパ球クロスマッチ陽性例は、陰性例と比べて予後は不良であり、特に成人，女性のリンパ球クロスマッチ陽性例は生体肝移植のハイリスク群になると考えられた。今後はリンパ球クロスマッチ陽性例に対して、抗体価の測定，同定など適切な移植前の治療や、移植後の定期的抗体検査が重要であると考えられた。

P-5

腎移植患者における抗 HLA 抗体の変動に関する解析—第 2 報

○ 比佐華菜子¹⁾, 吉田一成²⁾, 竹内康雄³⁾, 遠藤忠雄⁴⁾, 馬場志郎²⁾, 小幡文弥¹⁾

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

【目的】 腎移植患者が産生する抗 HLA 抗体の種類（抗 class I, 抗 class II, IgG, IgM）と血清クレアチニン値の変動について、経過観察継続症例および新規症例を含めた解析結果を昨年引き続き報告する。

【方法】 北里大学病院で手術を受けた腎移植患者 64 例を対象に、1 年間隔で 3 年にわたり血清を採取し、抗 HLA class I および class II 抗体を Flow PRA Screening Test により検出した。2 次抗体としては FITC 標識ヤギ抗ヒト IgG 抗体および抗ヒト IgM 抗体を用いた。

【結果】 26 例では、3 年間どの抗 HLA 抗体も検出されなかった。これらの患者では、血清クレアチニン値は低値あるいは高値を維持した。抗体陽性患者のうち、6 例では抗体の種類（抗 class I, class II, IgG, IgM）は変わらず保たれていたが、そのうち IgG 保持患者では血清クレアチニン値の増悪傾向が見られた。抗体陽性から陰性に転じたのは 19 例（抗 class II IgG 消失 4 例および抗 class I または II IgM 抗体消失 15 例）であり、これらの患者の多くは血清クレアチニン値が低値あるいは高値を維持した。一方、抗体が陰性から陽性化したのは 13 例（抗 class I IgG 6 例, class II IgG 2 例, class I + II IgG 2 例; および抗 class I, class II, class I + II IgM 各 1 例）であった。これらの患者のうち抗 class I IgG 出現患者および抗 class II IgM 出現患者では血清クレアチニン値が高値維持あるいは増悪傾向が見られた。

【結論】 抗 HLA 抗体保持例では抗体の種類は変わらず保たれていた。そのうち IgG 抗体保持例および陽性転換例では血清クレアチニン値が増悪する症例が見られた。一方、抗 HLA 抗体陰性維持例および陰性転換例では、血清クレアチニン値は低値あるいは高値を維持した。

P-6

糖尿病発症リスクに及ぼす放射線被曝と HLA 遺伝子タイプの影響

○ 森下ゆかり, 長村浩子, 林奉権

放射線影響研究所・放射線生物学/分子疫学部

【目的】 放影研成人健康調査により, 広島若年被曝者において, 糖尿病有病率と放射線被曝線量との間に有意な正の相関が認められるという予備の結果が得られている。本研究では, 広島原爆被曝者の *HLA-DRB1* と *HLA-DQA1* 対立遺伝子タイプを調べることにより, *HLA* 遺伝子タイプが放射線による糖尿病の増加と関係しているか否かを検討した。また, 炎症指標(IL-6, TNF- α , CRP など)との関連も調べた。

【対象・方法】 広島原爆被曝者(111名の糖尿病患者と774名の対照者)について, *DRB1* と *DQA1* 対立遺伝子タイプを PCR-SSO 法, PCR-SSCP 法, および PCR-SBT 法によって調べた。各炎症指標は ELISA 法 (IL-6, TNF- α) およびラテックス免疫法 (CRP) により調べた。

【結果・考察】 全対象者における糖尿病有病率は線量依存的に上昇していたが (Trend $p < 0.001$), 特に, *DRB1*08-DQA1*0401* 又は *DRB1*09-DQA1*0301* のハプロタイプを有する高線量被曝者群の糖尿病のリスクが非被曝者群に比べて有意に高かった (Trend $p = 0.0003$)。これに対して, 他のハプロタイプを有する被曝者集団においては被曝線量に伴った糖尿病有病率の上昇は認められなかった。また, IL-6, TNF- α , および CRP の血中レベルは被曝線量に伴って増加していたが, この特定のハプロタイプを有しこれら炎症指標の高レベル群は特に糖尿病有病率が高い傾向を認めた。以上の結果から, 糖尿病発症における放射線の影響が *HLA* クラス II 遺伝子のタイプにより異なり, 炎症が深く関与している可能性が考えられた。

P-7

原爆被曝者における胃がんリスクは HLA クラス I 遺伝子型により異なる

○ 長村浩子, 森下ゆかり, 林奉権

放射線影響研究所・放射線生物学/分子疫学部

【目的】 免疫学的宿主防御はウイルスに関連したがんのみならず, 発がん全体においても重要な役割を果たす。本研究の目的は, 発がん感受性の個人差を免疫学的宿主防御に関与する遺伝子の多型によって明らかにすることである。放射線被曝は宿主の免疫系に大きな影響を与えることから, 原爆被曝者を対象とした発がん研究は免疫学的発がん感受性と放射線感受性の交点としての意義を持つ。今回, 我々は, 種々のがんの発症に重要な役割を果たす *HLA* クラス I (*HLA-A*, *-B*, *-C*) 遺伝子多型に基づいて個人の胃がん感受性に対する放射線被曝の影響について調べた。

【対象・方法】 本研究は胃がん患者 150 名と対照者 300 名を対象としており, これは当研究所が原爆被曝者において実施した前向きコホート研究の対象者である。対象者からインフォームドコンセントを得て末梢血細胞から DNA を抽出した。*HLA* タイピングは PCR-SBT 法を用いて行った。

【結果・考察】 原爆放射線に被曝していない対照者(つまり非被曝対照者)の *HLA* 遺伝子型の分布は, 日本人の一般集団の分布とほぼ一致した。被曝していない胃がん患者と対照者では *HLA-B* および *HLA-C* 遺伝子型のいずれについても, 胃がんリスクとの間に統計的に有意な関連性は観察されなかったが, *HLA-A* 遺伝子型の中で *HLA-A*2601* の頻度が対照者 (10.6%) に比べ症例 (1.9%) において有意に低かった。被曝した胃がん患者と対照者では, 胃がん患者(放射線量平均値 0.8 Gy)における *HLA-A*2601* の頻度 (9.9%) は対照者 (8.4%) とほぼ同等であった。以上の結果から, *HLA-A*2601* は放射線に被曝していない人における胃がんリスクの減少に関与していること, および *HLA-A*2601* 対立遺伝子を有する個人では, 放射線被曝により胃がんリスクが増加する可能性が示唆された。

P-8

マイクロサテライトマーカーを用いたヒト第22番染色体領域における急性GVHD関連遺伝子の探索

○ 菊地智樹^{1,2)}, 鬼塚真仁³⁾, 佐藤昇志¹⁾, 猪子英俊²⁾

1) 札幌医科大学医学部第1病理学

2) 東海大学医学部分子生命科学

3) 東海大学医学部血液リウマチ内科学

【背景と目的】 造血幹細胞移植においてHLA一致症例においても急性GVHD (graft-versus-host disease) を発症する場合は報告されている。この原因としてHLA以外にも免疫反応に関与する(1)マイナー組織適合抗原 (minor histocompatibility antigen, mHa) の差異や(2)ドナー、レシピエント側それぞれの遺伝子多型が原因と考えられている。しかし現在までmHaに関する研究は細胞傷害性T細胞クローンを使用した方法が主であるため、ペプチド同定が困難な場合も多く、またサイトカインをはじめとする遺伝子多型も少数の遺伝子が検討されているのみである。そのため複雑な急性GVHDの病態を考えると、そのほかにも関連した遺伝子多型が多数存在する可能性が高い。今回我々はマイクロサテライトマーカーを用いて、mHaをはじめとする新たな急性GVHD関連遺伝子を同定することを試みている。

【方法】 日本骨髄バンクを介して非血縁者間骨髄移植が行われたHLA一致症例70組を対象に、第22番染色体の長腕領域に存在する約150種のマイクロサテライトマーカーを用いて多型を検索し、(1)ドナー側、レシピエント側のそれぞれマイクロサテライト多型と急性GVHD発症度の関係、および(2)ドナーとレシピエント間の多型の一一致、不一致と急性GVHD発症度との関係を解析した。

【結果と考察】 (1)ドナー側に2種、レシピエント側に3種、急性GVHD発症と相関のあるマーカーが認められた。(2)多型の不一致と急性GVHD発症と正の相関があるマーカーが3種、また5種に負の相関が認められた。よってこれらの近傍領域に急性GVHDの発症に関与する遺伝子多型が存在する可能性が示唆された。今後は、症例数の蓄積とマーカー付近のSNP解析を行い、候補遺伝子の同定を行う予定である。

P-9

臍帯血バンクにおける母子タイピングから求めたHLAハプロタイプとその頻度(4桁HLA-A, B, C, DRB1)

○ 小野明子¹⁾, 池田通代¹⁾, 齋藤順¹⁾, 石井博之¹⁾, 福森泰雄¹⁾, 谷慶彦¹⁾, 柴田弘俊¹⁾, 正岡徹²⁾

1) 大阪府赤十字血液センター

2) 京阪臍帯血バンク

【目的】 京阪臍帯血バンクでは、平成17年4月より、DNAを用いたLuminex法で、HLAタイピング(A, B, C, DRB1)を行っている。対象HLAローカスはHLA-A, B, DRB1のみでなく、抑制型NK細胞受容体のリガンドであることからHLA-Cの検査も行っている。また、母子免疫学的寛容の観点から母親のタイピング(A, B, C, DRB1)も実施している。母親と臍帯血のHLA型を検査していることから、ハプロタイプを推測することが可能であり、これは、日本人集団のハプロタイプ頻度を予測できるものであると考えられ、HLA頻度と併せて報告する。

【対象および方法】 平成17年4月より、平成18年4月までの約1年間に474家系、948人の検査を実施した。DNA抽出試薬は、QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN社)、タイピング試薬は、ジェノサーチHLA-A, B, C, DRB1 (G&Gサイエンス社)を用いた。

【結果および考察】 タイピング結果から1家系ずつハプロタイプを組み立て、母子間での重複を排除した。948人1,422例のハプロタイプから、656種類ものハプロタイプが検出された。日本人では低頻度または存在しないとされていたアリルも検出された。これまでに行われていた血清学的検査法ではブランクの多いHLA-Cの4桁レベルの頻度、およびHLA-A, B, C, DRB1の4桁レベルのハプロタイプ頻度が求められたことにより、非常に有益な情報が得られた。以前よりHLA-B, C間での連鎖はかなり強いことがわかっていたが、今回HLA-Cのブランク部分が決定されることによりHLA-B, C間での新たなハプロタイプ頻度が判明し、HLA-Cのタイピングの必要性は、HLA-Bのアリルに依存することが示唆された。ハプロタイプ頻度の情報は、造血幹細胞移植を必要とする患者にとってアリルレベルでのマッチの可能性の指標にもなる。今後さらなる検査結果の蓄積が重要であると考えられる。

P-10

Luminex 法における判定ソフトを改良して得られた韓国人集団の HLA 型遺伝子頻度

○ 福森泰雄¹⁾, 松下正毅²⁾, 小野明子¹⁾, 池田通代¹⁾, 石井博之¹⁾, Sung Ha Kang³⁾, 谷慶彦¹⁾, 柴田弘俊¹⁾

- 1) 大阪府赤十字血液センター
- 2) 湧永製薬株式会社
- 3) Department of Clinical Pathology, Hallym University College of Medicine

【はじめに】 Luminex 法は、簡便、正確かつ短時間で多検体処理が可能な高解像度 HLA タイピング法である。検査対象が日本人の場合には、遺伝子頻度が 0.1% 以上にみられる allele において、専用ソフトの使用により 4 桁レベルのタイピングが可能である。しかし、対象が他の集団の場合、膨大な数の識別不能 (Ambiguity) があり、タイプ決定が困難な例が多くなるのが現状である。今回我々は、すでに報告されている韓国人 HLA アリル頻度を基に、韓国人仕様のパターンファイルを専用判定ソフト用に作製し、韓国人検体において Ambiguity なく型判定が可能であるかを検討した。

【材料】 韓国人 293 名の DNA サンプル、ゲノミック DNA は通常法により抽出した。

【方法】 タイピング試薬: WakFlow HLA-A, -B, -C (湧永製薬社製)

判定ソフト: 湧永製薬社製, Lee らの報告 (Tissue Antigens 65: 437-447, 2005) を基にパターンファイルを作製, 判定を行った。

【結果】 韓国人 293 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 23 種類、HLA-B 遺伝子が 37 種類、HLA-C 遺伝子が 20 種類であった。今回の韓国人パターンファイルを用いて、Cw*0801, Cw*0802 を含む 3 例を除き判別可能であった。

【考察】 Lee らの報告と今回のアリルとその頻度を比較したが、まれなアリルを除き、差はみられなかった。また、新たなプローブを追加することで、Ambiguity を解決することが可能なアリルの組み合わせもあった。今後、更に実施数の増やし、パターンファイルの改訂を行い、検査結果の信頼性を高めることが可能である。また、韓国のみならず、他の集団においても、その集団において報告されている HLA アリル頻度を基に、パターンファイルを作製し、同様な方法でタイピングが可能である。

P-11

骨髄バンク登録ドナーにおける HLA 型遺伝子頻度について

○ 池田通代¹⁾, 小野明子¹⁾, 齋藤順¹⁾, 石井博之¹⁾, 福森泰雄¹⁾, 谷慶彦¹⁾, 市原孝浩²⁾, 峯元睦子²⁾, 清水まり恵²⁾, 柏瀬貢一²⁾, 田中秀則²⁾, 佐竹正博²⁾, 中島一格²⁾, 柴田弘俊¹⁾, 田所憲治³⁾, 十字猛夫⁴⁾

- 1) 大阪府赤十字血液センター
- 2) 東京都赤十字血液センター
- 3) 日本赤十字社中央血液研究所
- 4) 日本赤十字社血液事業本部

【はじめに】 平成 17 年 3 月より、骨髄バンクドナー登録時の HLA-A, B および DRB1 の HLA 型検査を、蛍光ビーズを用いた DNA タイピングによる検査に変更し、東京都赤十字血液センターおよび大阪府赤十字血液センター (以下東京 C および大阪 C) の 2 箇所で行っている。そこで今回、骨髄バンク登録ドナーにおける HLA 型遺伝子頻度について算出したので報告する。

【方法】 採血: EDTA 入り 2 mL 試験管で採血後、送付まで 4°C で保存。検体送付: 検体は週に一度各センターより東京 C あるいは大阪 C に送付。DNA 抽出: Biomek NX (ベックマンコールタ社) を用いて、バーコード化された検査番号の読み取りから DNA 抽出の工程を自動で行った。PCR 及びタイピング: A, B 座は湧永製薬社製, DRB1 はワンラムダ社製の蛍光ビーズ法を原理としたタイピングキットを用いて検査を実施した。蛍光ビーズの測定には、LABScan100 (ワンラムダ社) を用い、HLA 型の判定は専用の判定ソフト (湧永製薬社) を用いた。また蛍光ビーズ法によるタイピングで遺伝子頻度が 0.01% 以下のまれなタイプであった場合は、SBT 法 (AlleleSEQR HLA キット, アボット社) で確認した。

【結果およびまとめ】 H18 年 3 月末時点で総計 47,177 検体を検査し、HLA-A: 67 アリル, HLA-B: 109 アリル, DRB1: 64 アリルを検出した。その内新たに見つかったアリルの数は HLA-A: 12 アリル, HLA-B: 15 アリル, DRB1: 8 アリルであった。骨髄バンク登録ドナーの HLA 型検査が、DNA タイピング化され、高解像度化が可能になり、ドナー選択時に非常に有用な効果をもたらす結果になった。また今回解析したデータ数は 4 万件を超えており、ほぼ日本人集団の頻度として扱ってよいと考えられる。

第15回日本組織適合性学会大会
協賛企業一覧

企業展示, 協賛金のご寄付を頂きました企業各社に対し, 厚く御礼申し上げます。

- アボットジャパン
- 医療法人社団 三光会 三光クリニック
- 大塚製薬株式会社
- オリエンタル技研工業株式会社
- 株式会社 医学生物研究所
- 株式会社 バイオシス
- 株式会社 日立製作所
- 株式会社 ベリタス
- 三共株式会社
- 塩野義製薬株式会社
- 正晃株式会社
- 岸本医科学研究所
- ナルジェヌンクインターナショナル株式会社
- 日本ジェネティクス株式会社
- ノバルティスファーマ株式会社
- バイオユニバース株式会社
- 万有製薬株式会社
- 日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社
- ブリストル・マイヤーズ株式会社
- ベックマン・コールター株式会社
- レノバサイエンス株式会社
- 湧永製薬株式会社

50 音順

認定 HLA 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御案内

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) 16:30～18:30

場 所：シェーンバッハ・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) 事前に参加費を振り込んでおられる方には、受付にて出席確認を済ませてから御入場ください。当日参加も可能ですが、講習会資料の数に限りがありますので御了承ください。

内 容：各講習とも質疑応答を含めて 25 分を予定しています。なお講習タイトルは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方を対象に実施されますが、それ以外の方であっても自由に参加することができます。来年度から認定 HLA 検査技術者の更新時期を迎えられる方がおられます。「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」では、「認定証の有効期間満了前の 2 年間に、技術者履修課程に定められた講習を 1 回以上受講していること」が更新の条件となっております。来年度に更新を迎えられる方で昨年度の講習を受講されていない場合は、必ず今年度の講習を受講してください。また、平成 20 年度に更新を迎えられる方は、今年度あるいは来年度の講習を受講してください。なお、すでにメキりを過ぎておりますが、受講希望者は以下の申込書に必要事項を記入し、熊本大学大学院医学薬学研究部・免疫識別学分野宛に FAX (096-373-5314) で送付してください。あるいは、E メールで件名を「HLA 講習会」とし、申込書の必要事項を書き込んで「midorifu@kaiju.medic.kumamoto-u.ac.jp」宛に送信してください。なお参加費は平成 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)に振り込んでください。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。8 月 31 日(木)までに参加費を振り込まれた方には、事前に講習会資料を送付させていただきます。なお、受講申し込みをされ参加費を振り込まれた方で、当日欠席された方には返金できませんことを御了承ください。また、テキストの印刷部数は事前申込者数に応じて決定され、事前申込者に優先してテキストを配布します。このため当日参加者にはテキストを配布できない場合がありますことを、あらかじめご了承ください。なお、講習会資料は、講習会の 1~2 ヶ月後に学会ホームページに掲載される予定です。

平成 18 年度認定 HLA 検査技術者講習会 受講申込書

(申込書は学会ホームページからダウンロードできます)

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

氏 名:

所 属:

住 所: 〒

電 話 番 号:

FAX 番 号:

E メールアドレス:

HLA 検査技術者認定取得予定 なし あり → 平成 年度を予定

認定組織適合性指導者認定制度 平成 18 年度・認定組織適合性指導者講習会の御案内

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

第 15 回日本組織適合性学会大会中の下記の特別講演 1 題，招待講演 1 題，シンポジウム 1 題およびワークショップ 1 題の合計 4 題のうちから，B. D. Tait 博士の招待講演を含む 3 題以上の聴講をもって，指導者認定あるいは認定更新に必要な講習を受講したものと認めます。なお，会場の入り口付近に受講者記帳名簿を準備しますが，受講者記帳名簿へのサインをもって受講証明といたしますので，受講されましたらお忘れなく御記帳ください。来年度から認定組織適合性指導者の更新時期を迎えられる方がおられます。「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」では，「認定証の有効期間満了前の 2 年間に，指導者履修課程に定められた講習会を 1 回以上受講していること」が更新の条件となっております。つきましては，来年度に更新を迎えられる方で，昨年度に受講をされていない方には，必ず上記の今年度の指導者講習を受講してください。また，平成 20 年度に更新を迎えられる方は，今年度あるいは来年度の指導者講習を受講してください。

9 月 25 日(月)

- 10 時 30 分～ 12 時 ○ シンポジウム「組織適合性：臨床から望むもの」
- 1) Overview 佐田 正晴(国立循環器病センター研究所)
 - 2) 臓器移植(特に腎臓移植)におけるクロスマッチ検査と新しい診断・治療法の普及について 杉谷 篤(九州大学大学院医学研究院)
 - 3) 日本移植学会・日本組織適合性学会 共同ワーキング
江川 裕人(京都大学大学院医学研究科)
 - 4) 臍帯血移植に関連して 高橋 聡(東京大学医科学研究所附属病院)
 - 5) 公的バンクに望むこと；移植医へのアンケート結果から
松崎 道男(虎ノ門病院 輸血部)
 - 6) 追加発言：より詳細な HLA 適合検索の必要性；ある臨床の現場から
富澤 大輔(東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科)
- 13 時 30 分～ 15 時 ○ ワークショップ「組織適合性と生命倫理」
- 1) 検査センター(登録衛生検査所)の立場から 小川 公明(白血病基金を育てる会)
 - 2) ドナー登録の立場から 三田村 真(NPO 法人全国骨髄バンク推進連絡協議会)
 - 3) 移植コーディネーターの立場から 菊地 耕三(日本臓器移植ネットワーク)
 - 4) 医師の立場から 森島 泰雄(愛知県がんセンター中央病院)
 - 5) 研究者の立場から 徳永 勝士(東京大学大学院医学研究科)
- 17 時～18 時 ○ 特別講演
帯木 蓬生(森山 成林・通谷メンタルクリニック)
医学における ELSI (ethical-legal-social issues) —私の小説から—

9 月 26 日(火)

- 11 時～12 時 ○ 招待講演
Brian D. Tait (Victorian Transplantation and Immunogenetic Service,
Australian Red Cross Blood Service)
HLA, Immunogenetics and Transplantation -looking back and the road ahead-

認定組織適合性指導者および認定 HLA 検査技術者認定証の更新について(お知らせ)

組織適合性技術者認定制度委員会

委員長 佐田 正晴

平成 14 年度(2002 年度)に認定を受けられた方は、来年度(平成 19 年度)に更新を迎えられます。下記の更新基準を満たしているかをご確認ください。

認定 HLA 検査技術者の更新資格は、

- (1) 認定証の登録年度から 5 年間に資格審査基準が 30 単位以上あること。但し、当学会の大会への参加が 5 単位以上含まれていなければならない。
- (2) 認定証の有効期間満了前の 2 年間に技術者履修課程に定められた講習を 1 回以上受講していること。
- (3) 認定証の登録年度から 5 年間に学会が主催する QC ワークショップ集会への参加があること。

となっています。

また、認定組織適合性指導者の更新資格は、

- (1) 認定証の登録年度から 5 年間に別表により更新資格審査基準が 70 単位以上あること。但し、日本組織適合性学会誌における原著論文、総説、または学会の大会における発表が 15 単位以上含まれていなければならない。また、原則として当学会の大会への参加が 15 単位以上含まれていなければならない。
- (2) 認定証の有効期間満了前の 2 年間に指導者履修課程に定められた講習会を 1 回以上受講していること。
- (3) 認定証の登録年度から 5 年間に学会が主催する QC ワークショップ集会への参加歴があること。

となっています。

来年度に更新を迎えられる方で、昨年度の講習を受講されていない方は必ず今年度の講習を受講してください。また、認定証交付から昨年度までに QC ワークショップ集会に参加されていない方も今年度の QC ワークショップ集会に必ず参加してください。なお、講習会と QC ワークショップ集会の詳細については本誌の大会案内をご参照ください。

また、平成 20 年度に更新を迎えられる方は、今年度または来年度の講習を必ず受講しておいてください。QC ワークショップ集会についても上記と同様に参加されていない場合は、今年度または来年度に参加しておいてください。

上記の講習の受講歴および QC ワークショップ集会の参加歴がない場合には、認定証の更新ができませんので、呉々もご注意ください。

第5回日本組織適合性学会・近畿地方会のご案内

会 期：2007年2月3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：甲斐 俊朗(兵庫医科大学輸血部)

kai@hyo-med.ac.jp

会 費：正会員 2,000円, 学生 1,000円

共 催：財団法人 大阪腎臓バンク

● 総 説 ●

HLA 抗体の解析手法

中島 文明

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所研究開発部

(平成 18 年 7 月 14 日受付)

要約: HLA 抗原は対立遺伝子型そのものであり、他の血液型のように一つ一つのアロ特異性に名称が規定されていない。HLA 抗原分子上にも当然いくつかのエピトープが存在するが、HLA 抗体特異性の表現は、反応する抗原名を列挙する方法で行われる。抗原名の表記は HLA 発展の過程で、スプリット抗原として入れ子状態となり、解釈を困難にしている。アロ血清中には複数のエピトープに対する抗体が混在し、一方、異なる抗原間では共通エピトープが存在することから、HLA 抗体の解析は必然的に難解となる。本稿では、従来の血清学的解析手法から近年の高感度試薬に対応可能な解析法に至るまで解説する。

キーワード: エピトープ, アミノ酸配列, アロ特異性, Single antigen

はじめに

HLA タイピングは DNA 検査が定着し正確性・再現性で申し分ない段階に達した。ここに至って HLA 抗体の重要性が高まり、市販試薬も充実してきたが、その解析手法にとまどいを感じている状況も見受けられる。HLA 抗体の解析手法は最近の高感度試薬であっても、基本的に血清学的手法と同じであり、血清学的検査の経験がないと理解に苦しむことになる。

HLA 抗体の検出は輸血・移植分野で広く行われ、臨床成績の向上に役立っている。その検出結果が正しく解析・評価されているか、また、臨床側に正確に伝え理解されているか疑問も残る。その理由は他の血液型と異なる独特の HLA システムと、多くの検出方法が混在することに原因があると考えられる。

1. HLA システムと他の血液型との違い

ある抗体検出結果について、例えば報告者 A は B12 + B13 + B21 + B40, 報告者 B は B13 + B44 + B45 + B49 + B50 + B60 + B61 と報告した場合これ

らが同じ結果であると臨床側に伝えるには説明する方も説明される側も相当な労力を必要とする。また、HLA の抗体特異性はなぜこのような多くの抗原に対する反応が存在するのかと質問された場合さらに何倍ものエネルギーを必要とする。

このことを説明するには、HLA システムの理解が必要である。他の血液型で例えば血小板抗原の場合、HPA-1 の *ITGB3* 遺伝子がコードする GP_a (CD61) 分子の 33 番目のアミノ酸がロイシンなら HPA-1a, プロリンなら HPA-1b というエピトープすなわちアロ特異性が規定されている。現在のところ *ITGB3* 遺伝子は *ITGB3*001* から *ITGB3*010* まで判っており、*ITGB3*002* と *ITGB3*008* が HPA-1b, それ以外の 8 種類の対立遺伝子は HPA-1a のエピトープを発現する配列を持っている。また、この遺伝子には HPA-4 のエピトープもコードされており GP_a 分子の 143 番目のアミノ酸がアルギニンなら HPA-4a, グルタミンなら HPA-4b である。対立遺伝子では *ITGB3*005* が HPA-4b である以外はすべて HPA-

HLA-B5103 は HLA-B51 のアソシエート抗原(関連抗原)となる。HLA-B51 からみた HLA-B5 はブロード抗原(親抗原)という(図1)。前述の報告者 A と B の違いはここにある。B12 は B44 と B45, B21 は B49 と B50, B40 は B60 と B61 のブロードタイプであり, 表現が異なるだけで内容は同一である(5)。このようなことは, HLA 学発展の歴史的な経過がもたらした弊害といえる。

2. HLA 抗体検出結果の解釈が困難な理由

これまでの説明で HLA システムは型からみると対立遺伝子=抗原となるのでシンプルで判りやすい。これを逆に抗体特異性からみると一転して難解になる。前述のように, 一つの HLA 対立遺伝子が発現する抗原エピトープは複数あり, 別の対立遺伝子では一部が共通で, さらに別の対立遺伝子では別の部分が共通であるというように, それぞれに共通エピ

トープとして重なり合っている。例えば, HLA-B7, B48, B60 は 178 番目のアミノ酸がリジンを共通にもつが, HLA-B7, B27, B60, B61, B13 は 163 番目のアミノ酸がグルタミン酸を共通にもつ。この二つの抗原エピトープに対する抗体は日本人で通常検出され, 前者を HLA-B7 + B48 + B60, 後者を HLA-B7 + B27 + B60 + B61 + B13 というように表現する。HLA 抗体特異性が多くの抗原に対する反応になってしまうことの答えがここにある。

同じ HLA-B7 抗原に反応する抗体でも反応部分は異なっており, 間違っていないが, 正しい解釈を得るには誤解を招くような表現方法でもある。他の血液型のように一つ一つのエピトープに名前が規定されていればそれも解決されようが, そうすると抗原名との関係が判らなくなってしまう。HLA 検査を行う重要な意義の一つとしてマッチングがある。移植などで異なった個体の HLA 抗原どうしのマッ

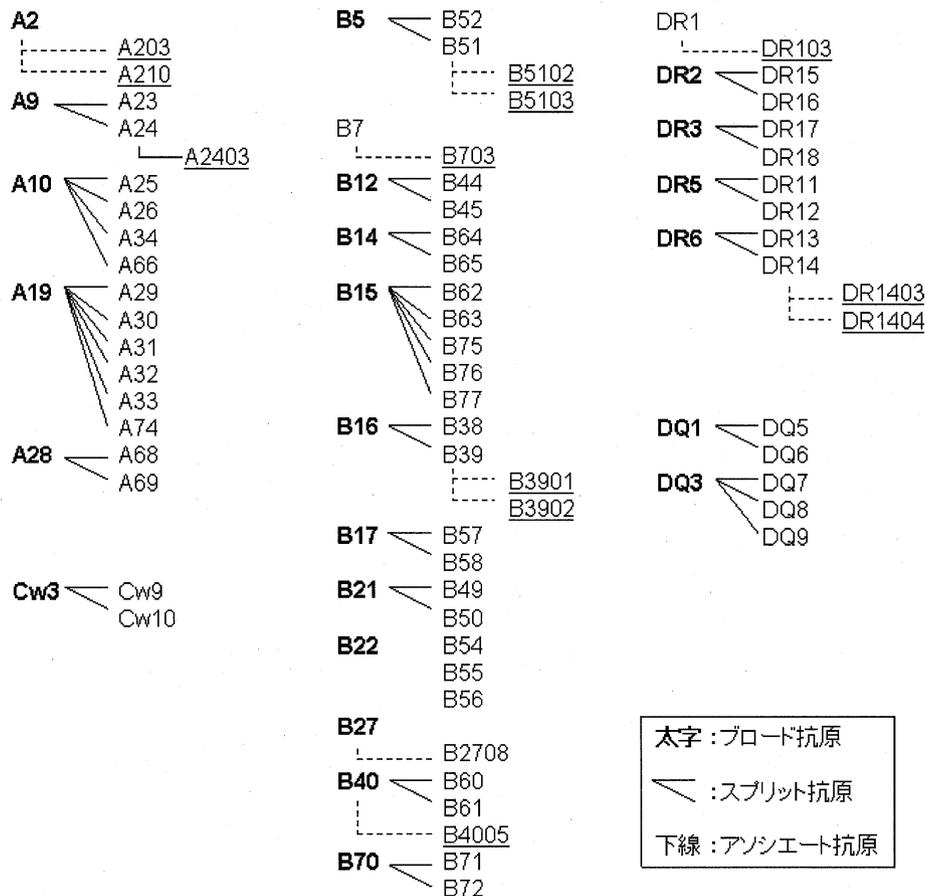


図1 HLA のブロード抗原とスプリット抗原とアソシエート抗原の関係

ングもあれば、輸血などで HLA 抗原と HLA 抗体のマッチングもある。後者の場合、抗原名と抗体名が比較できるような表現方法をとらないと判断が難しくなる。この点が HLA の持つ宿命で拭いきれないジレンマでもある。

さらに厄介なことに、我々が日常扱う検体はアロ抗体であり、複数の抗原エピトープに対する抗体が混在した状態が普通である。前述の 2 種類が混在していれば、その特異性は HLA-B7 + B27 + B48 + B60 + B61 + B13 ということになる。逆に、この特異性であれば 2 種類の抗体が混在したものと断定できるかというところではなく、B7 + B27 や B13 単独など、これに含まれる別のエピトープに対する抗体も否定できない。

3. HLA 抗体の解析手法

HLA 抗体の検査結果は、抗体が存在するかかどうかという点と抗体特異性が何であるかという点で評価される。前者は、HLA の持つ抗原エピトープが漏れなく網羅されていないと抗体を見逃すことになる。後者はそれに加え、重なり合う抗体特異性が隠れないようなパネルの組み合わせでないと、十分な検出結果に至らない。現実的にはそのようなパネルを揃えることは不可能で、このような HLA 抗体検査の状況に対し、さまざまな工夫がされてきた。

3.1. %PRA

PRA とは Panel-Reactive Antibody の略で、細胞や精製抗原パネルに反応する抗体(血清)のことである。%PRA はある抗体が、反応させたパネルのうち何パーセントと反応しているか評価する手法である。用意されたパネルに含まれる HLA 抗原の種類や数が均一でない状態での評価のため、非常に大雑把な表現方法といえる。

3.2. 相関係数

一つの抗体に複数のパネルを反応させた結果、ある抗原の反応パネル数を True positive (a), False positive (b), False negative (c), True negative (d) に分け、カイ二乗値を求める手法である。 $a + c = A$, $b + d = B$, $a + b = C$, $c + d = D$ として相関係数 $r = \frac{ad + bc}{\sqrt{ABCD}}$ で表される。相関係数は 1 に近いほど相関が高いことになり、ある抗原をもつパ

ネルがその抗体に 100% 反応し、それ以外のその抗原を持たないパネルが 100% 反応していない状態が相関係数 = 1 となる。反応パネル数が多いほど信頼度は高くなる。

3.3. SI

SI とは Strong index の略で、ある抗原に対する反応スコアの平均値である。SI = 8 ならばその抗原の反応スコアはすべて 8 である。

3.4. セログラフ

抗体と抗原の反応をグラフ化し視覚的に反応状態を把握できる方法である。縦軸に抗体、横軸にパネル(抗原)を置き、それぞれのパネルに対する抗体の反応スコアを横棒グラフの太さで表現する。いろいろな抗原を指定してソートすると、抗体の特異性が見えてくる(図 2)。

3.5. 交差反応性

抗原名の血清学的なグループ分けと抗原エピトープから、交差反応性抗原 (CREG: Cross Reactive Group Antigens) という、大まかな分類を行い、抗体特異性を把握する手段として利用してきた。日本人で HLA-B ローカスの場合、B5-CREG, B15-CREG, B16-CREG, B22-CREG, B40-CREG の 5 分類は抗体特異性を把握するために時には有用である。ただし、人種が異なると抗原頻度がまったく違うため同一のグループ分けでは対応できない(図 3)。

3.6. HLA-Bw4 と Bw6

B ローカスにおいて、Bw4 と Bw6 という分け方があり人種差は関係ない。これは 77 番から 83 番目のアミノ酸配列で 2 大別されるが、実際には Bw4 抗体が HLA-B13 で反応しない、Bw6 抗体で HLA-B46 が反応しないなどの点や、HLA-A9, A25, A32 は Bw4 抗体で反応しアミノ酸配列も有していることから A ローカスなのに Bw4 に分類されるという妙な展開に至ってしまい、もはや意味を喪失している。

3.7. 許容抗原

頻回輸血を繰り返した患者では本人型以外すべての抗原に反応する抗体を検出することはよくあり、そのような状態ではエピトープ云々では語れない。そこで抗体特異性を裏返して許容抗原という表現手段をとった。これは、その患者抗体と反応しないこ

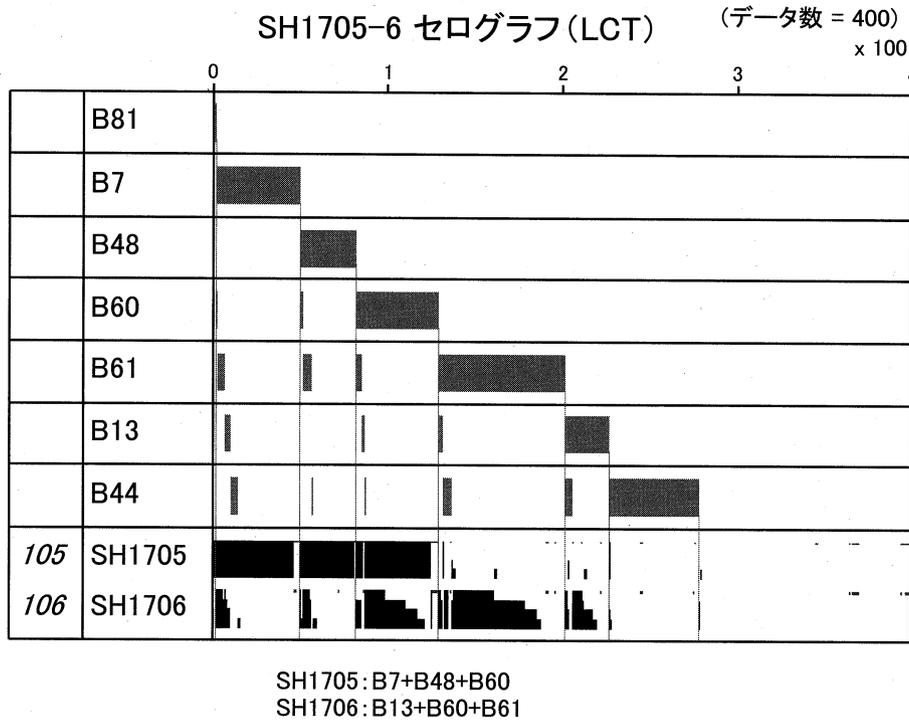


図2 セログラフの例(2005年組織適合性学会認定制度委員会・抗体QCワークショップより)

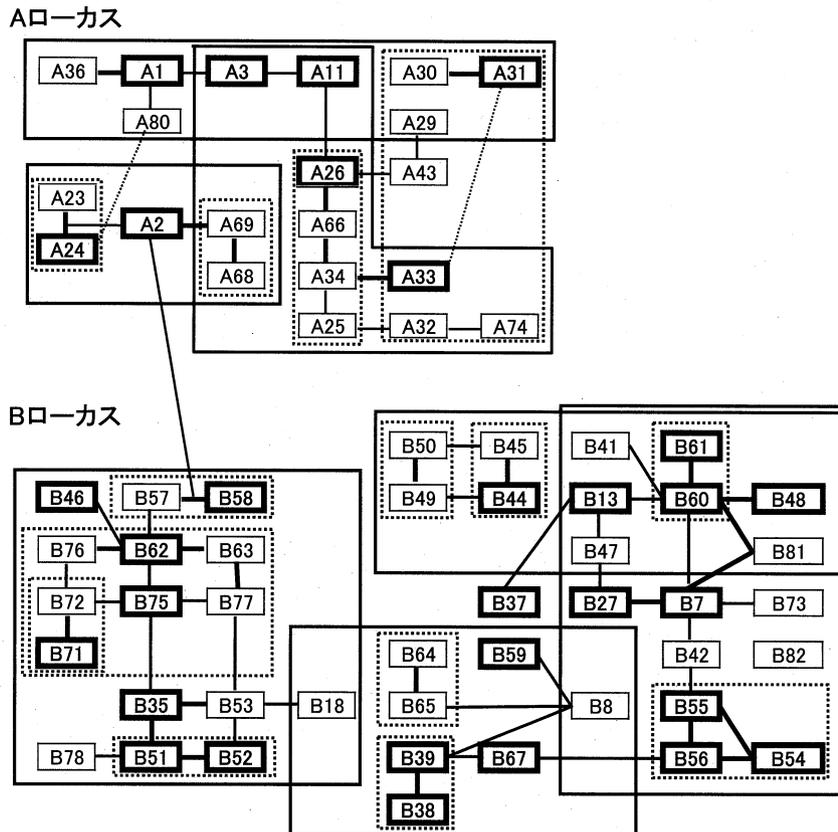


図3 交差反応性: AローカスとBローカスにおける各抗原間の関係図(太字は日本人に検出される抗原, 線の太さは関係の強さを表す)

とを確認できた抗原で適合させる考え方である。その瞬間は適合しているが、次の輸血などで患者とHLA抗原が一致していない刺激を与えることで、抗体は簡単に変化する可能性がある。また、近年の高感度試薬の登場で抗体検出感度は新旧で相当差があり、検査法で許容範囲は変化してしまう(6,7)。

3.8. 遺伝子レベルのパネル情報とエピトープ解析
 抗原レベルのパネル情報を遺伝子レベルまでに細分化して、抗体との反応をより詳細に解析する手法である。かつて、我々は赤十字血液センター内のワークショップでこの手法を用いて、タイピング用抗血清の評価を行い骨髄バンク登録者などのタイピングに役立ててきた。遺伝子レベルのパネル情報は抗原分子のアミノ酸配列に正確に置き換えることが可能で、A*0210に反応しないA2抗体やA*218に反応しないA2抗体、あるいはA*2408に反応する

A2抗体など、抗原名だけでは不可能な解析をしてきた(図4)。また、ある抗体が反応していると推測される抗原エピトープが判明すると、その抗原パネルが含まれていなくても反応する抗原を推測可能である。また、遺伝子レベルのパネル情報は関連する他ローカスの情報もほぼ正確に推定可能で、B51やB7の一部と反応する抗体がB*5101, B*0705というパネル情報でCw15の特異性にたどり着けたこともある。しかしながら、反応性が明確な抗体であるにもかかわらず、共通するアミノ酸配列がまったく見つからない例も多くあり、エピトープ解析ですべての抗体特異性は説明できない。

3.9. 判定スコア

2005年の組織適合性学会認定制度委員会・抗体QCワークショップで提唱した概念で、十分に確立されていない。通常どの方法で測定しても、その測

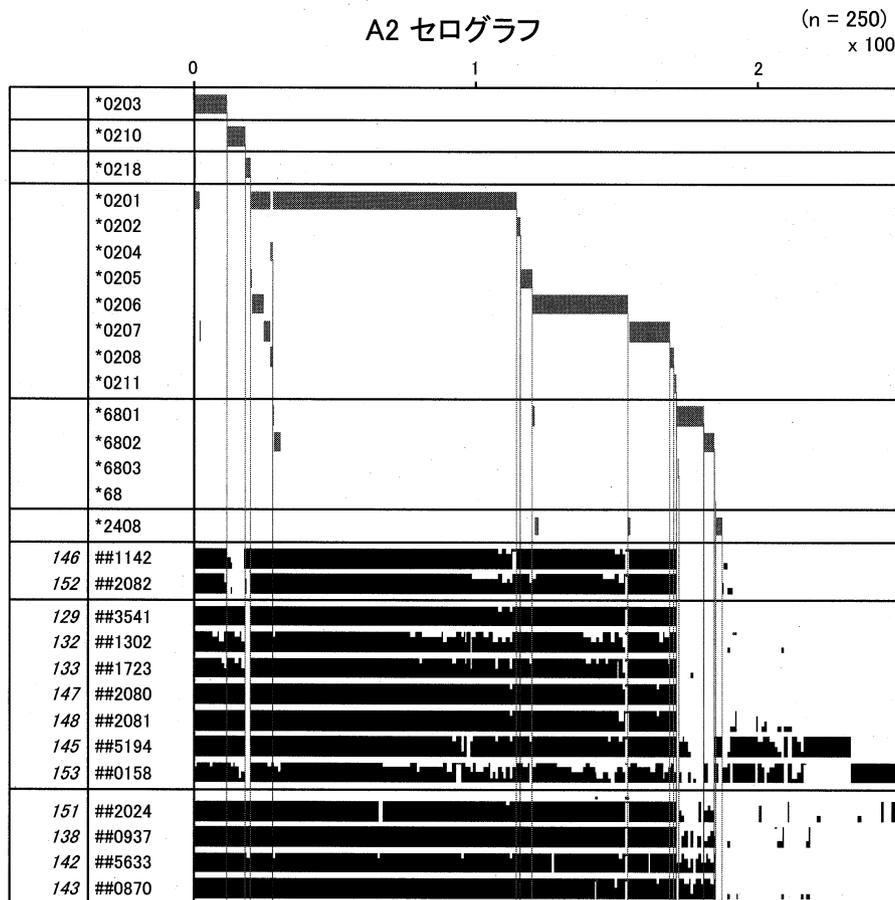


図4 遺伝子レベルのパネル情報とHLA-A2抗体特異性に関連したセログラフ(平成13年度東京都赤十字血液センター地域内HLAワークショップより)

定結果を同一の土俵上で評価するために、一定の基準でスコア化する。ここでなされたスコア値はパネルに対する数値である。パネルには各ローカスが含まれ、どの抗原との反応結果であるかは判らない。そこで、各抗原についてスコア化を試みこれを判定スコアと呼ぶことにした。その抗原との反応が確定されれば判定スコア=8, 反応していないことが確定されれば判定スコア=1, 反応が未確定の場合は判定スコア=4, 反応系に含まれていない抗原は判定スコア=0で表す。

抗体特異性が多くの種類に渡ると、ほとんどの抗原の判定スコアは4になってしまう。また、同じ抗原を含むパネルで測定スコアが異なり判定スコア化できないなどの問題点が残されている(7)。

3. 10. Sigle antigen 試薬

これは解析方法ではないが、これまで述べた解析手法をすべて払拭する画期的な方法である。遺伝子導入により1種類の抗原のみを発現した培養細胞(transfected HLA-deficient human lymphoid cell lines)から抽出した精製抗原をパネルとしている。反応したパネル=抗体特異性であり余計なことを考える必要はまったくない。Sigle antigen 試薬においては、前述の判定スコア=4は存在しない。市販試薬として入手可能であるが、非常に高価である。また、蛍光ビーズ法において他方と比較したところ、一部の検体でビーズ非特異反応が認められ改良が待たれるところである(8)。

おわりに

輸血や移植の分野に限っても、HLA抗体検出の目的はさまざまである。組織適合性学会認定制度委員会・抗体QCワークショップに参加される施設は血液センター、輸血部、造血細胞移植や臓器移植の医療機関、研究施設、試薬開発企業など目的を異にする。HLA抗体検出の評価方法もおのずと異なるであろうが、それらを超えて同一の精度は保たれるべきである。

最近の高感度な市販試薬は非常に利便性が高いが、その検出結果に対するサポートは不十分といえる。一部では判定ソフトも利用可能であるが、その結果は理解しづらい。高感度であるがゆえに、判定結果

も多くの特異性が列挙され、臨床現場で判断しやすいとは言いがたい。

HLA抗体の解析では、エピトープ解析においても、マッチするものもあれば、まったく関係がないものもあり解析手法の研究は展開されているものの中々糸口がつかめない状況である。男性健常者で明確な特異性を示すIgG性のHLA(様)抗体が検出される事実もあり、今後は、臨床的に重要な抗体はどのような種類であるかということにも比重を置いていかなければならないと考える。

参考文献

1. Metcalfe P, Watkins NA, Ouwehand WH, *et al.*: Nomenclature of human platelet antigens. *Vox Sanguinis* **85**, 240-245, 2003.
2. Lucas GF, Metcalfe P: Platelet and granulocyte glycoprotein polymorphisms. *Transfusion Medicine* **10**, 157-174, 2000.
3. Marsh SGE, Albert ED, Bodmer WF, *et al.*: Nomenclature for factors of the HLA system, 2004. *Tissue Antigens* **65**, 301-369, 2005.
4. Schreuder GMT, Hurley CK, Marsh SGE, *et al.*: 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* **65**, 1-55, 2005.
5. 大谷文雄「移植・輸血検査学」(猪子英俊, 笹月健彦, 十字猛夫編), 講談社サイエンティフィク, 29-32, 2004.
6. 斉藤敏, 太田正穂, 勝山善彦ら: 抗HLAクラスI抗体の方法別検出感度と血小板輸血患者における方法別抗体検出率 AHG-LCT, LIFT, PIFT, M-MPHA および FlowPRA の比較, 日輸血会誌, **50**(6): 753-760, 2004.
7. 中島文明, 赤座達也, 木村彰方ら: HLA抗体QCワークショップレポート, 日本組織適合性学会誌, **12**: 262-273, 2006.
8. 中島文明: 移植における抗体検出法, 今日の移植, **19**: 135-142, 2006.

● 総 説 ●

MHC 領域の比較ゲノム解析

椎名 隆

東海大学基礎医学系医学部分子生命科学

(平成 18 年 7 月 10 日 受付)

要約: MHC 抗原はどのくらい前に誕生し、悠久の時を経てどのように現型を獲得してきたのだろうか、また、完成度の高い MHC システムを有する動物は何であろうか。これらの疑問に答えるために、筆者らは様々な動物における MHC 領域のゲノム配列を決定し、それらの配列の間の詳細な比較解析を進めている。本稿では、MHC 領域の比較ゲノム解析の構想とこれまでに得られた知見について概説した。

キーワード: 比較ゲノム解析, HLA, MHC, 進化

はじめに

2004 年にヒトゲノム配列が決定されて以来、そのゲノム構造や配列付加情報に関する急速なデータの集積から、ヒトゲノムの全体像が明確にされた(1)。このポストシーケンスの大きな課題の一つとして、遺伝子群、さらにはその総合である生物のゲノム進化に対する全体像的な分子進化的解析が挙げられており、現在ヒトゲノムとその他の生物種との比較ゲノム解析が国内外の研究機関にて盛んに進められている。筆者のグループにおいても、MHC 領域が形成された進化過程の全体像を明確にすることを目的にして、主要組織適合遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex; MHC) 領域の比較ゲノム解析を遂行している。MHC 領域はヒトの場合、極めて高い遺伝子密度を有すること、進化学上保存されている遺伝子を数多く含むこと、免疫学上重要な遺伝子を含むこと、遺伝子重複の痕跡が数多く観察されることなどの重要な特徴を数多く有しており、比較ゲノム解析には最適なゲノム領域である(2, 3)。また、このような MHC 領域の重要性から、その他の

生物種においても MHC 領域のゲノム配列データはその他のゲノム領域よりも充実していることも比較ゲノム解析に有利な点である。

比較ゲノム解析とは、詳しく後述するが、種々の生物種の中のゲノム配列や発現パターンを比較し、それらの相違からゲノムの動態や多様性を効率良く理解する手法であり、MHC 領域の場合、MHC 抗原の誕生時期やその進化過程を考察することを可能とする。したがって、本法はヒト MHC (HLA) 領域を客観的に捉えて進めるため、完成度の高い MHC システムを有する動物は何か？ HLA 領域の完成度はどのくらいか？ さらにはヒトとはどのような生き物なのか？ という生物学における根本的な問いにも答える可能性を秘めている。究極の比較ゲノム解析はヒトから大腸菌までの進化的に重要な位置に存在する生物種的全ゲノムを決定し、比較解析することであるが、これには莫大な時間や労力がかかること、解析手法が不十分であることから現時点では現実的な方法とは言い難い。そこで、筆者らは MHC 領域に焦点を絞り、可能な限り多くの生物種

筆者連絡先 〒259-1143 神奈川県伊勢原市下糟屋 143
東海大学基礎医学系医学部分子生命科学
椎名 隆

電話 0463-93-1121 (内 2582)
F A X 0463-94-8884
E-mail tshiina@is.icc.u-tokai.ac.jp

における MHC 領域および MHC 関連領域のゲノム配列を決定すると同時に、今後の比較ゲノム解析に必要な解析ツールを開発する方針である。具体的な生物種として、脊椎動物の直系の祖先と考えられているナメクジウオ(頭索類), サメ(軟骨魚類), ニジマス(硬骨魚類), ニワトリ, ウズラ(鳥類), ラット, ブタ, イルカ, キツネザル, マーモセット, アカゲザル, カニクイザル, チンパンジー, ヒト(ほ乳類)の各種 MHC または MHC 祖先領域について、約 18.5 Mb のゲノム配列情報をこれまでに得ている(表 1)。さらに、ゼブラフィッシュ, フグ, カエル, オポッサム, マウス, ネコ, イヌ, ウシのゲノム配列は公的データベースに登録されており、MHC 領域のゲノム構造がほぼ明らかにされていることから、筆者らは合計 22 生物種における比較ゲノム解析を進めている。

本稿では、これまでに得られた筆者らの知見、とりわけ種間における比較ゲノム地図ならびに多様性を中心に紹介し、MHC 領域における比較ゲノム解析の意義と将来への展望について述べる。

MHC 領域の比較ゲノム解析の戦略

比較ゲノム解析の概念は、対象となる様々な生物種の直系(オーソログス)あるいは側系(パラログス)領域のゲノム配列を決定し、2 種あるいは多種間の

ゲノム配列の比較から得られる莫大な情報に、進化的解析, 集団遺伝学的解析, 生物学的解析, さらに生物種の分岐年代に起きたであろう地球規模の変動に関する情報を加えて、ゲノム構造の相違や進化の過程を明確にする解析法である(図 1)(4)。この解析に必須なゲノム配列決定の意義は以下の 3 点に集約される。1) 遺伝子情報の獲得: HLA 領域の遺伝子情報に限ると、ゲノム配列の決定前には、132 個の遺伝子が同定されていたが、決定後には 239 個の遺伝子(130 個の発現遺伝子, 17 個の遺伝子候補, 4 個のアミノ酸翻訳領域を持たない配列および 88 個の偽遺伝子)が同定されたこと(3), 2) 遺伝子周辺情報の獲得: 遺伝子周辺の反復配列や短い遺伝子重複の痕跡などの遺伝情報も抽出可能であること, 3) 個々の遺伝子の断片的な解析よりも、現在ではむしろコスミド, BAC, PAC などのゲノムクローンの配列を決定する方が短時間にかつ明快な結果が得られることである。したがって、比較ゲノム解析はシーケンシング技術や解析プログラムの進歩によりはじめて可能となった手法であると言えよう。

決定したゲノム配列およびその配列付加情報からの具体的な手法としては、比較ゲノム地図や多様性プロファイルの作成は必須であるが、特に最近形成されたであろう遺伝子重複領域間あるいは近縁種間の比較には、長大なゲノム領域の相同性解析に最適

表 1 MHC 関連領域におけるシーケンシングの進行状況

	生物種	決定塩基数	進行状況	決定領域
ほ乳類	ヒト	4586 kb	終了	MHC 全領域
	チンパンジー	1750 kb	終了	クラス I 領域
	アカゲザル	3285 kb	終了	クラス I 領域
	カニクイザル	15 kb	進行中	MHC 全領域*
	マーモセット	324 kb	進行中	MHC 全領域*
	キツネザル	251 kb	進行中	MHC 全領域*
	ブタ	2400 kb	終了	MHC 全領域
	イルカ	0 kb	進行中	MHC 全領域*
	ラット	3828 kb	終了	MHC 全領域
	鳥類	ニワトリ	601 kb	進行中
ウズラ		220 kb	終了	古典的 MHC 領域
魚類	ニジマス	311 kb	終了	クラス I 遺伝子近傍
	サメ	421 kb	進行中	古典的 MHC 領域*
頭索類	ナメクジウオ	511 kb	終了	MHC 祖先領域
合計		18.5 Mb		

*はシーケンシングの目標を示す。

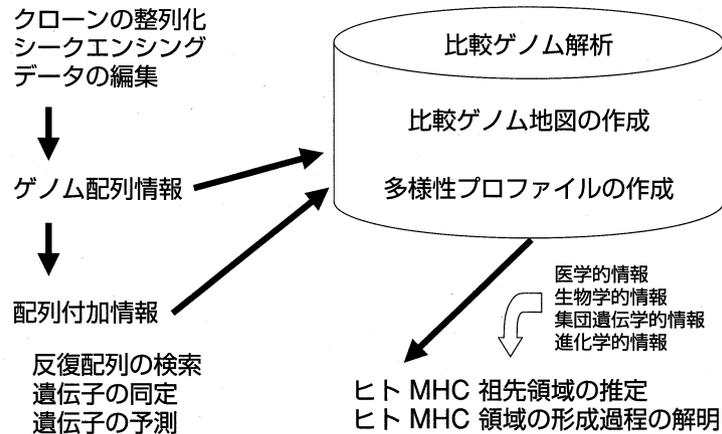


図1 MHC 領域における比較ゲノム解析の流れ

なドットマトリックス解析や反復配列情報を用いた分子進化学的解析などが有効である。これに対して、遠縁種間あるいはパラログ領域間の比較には、構造的あるいは機能的保存領域における分子進化学的解析などが有効である。次項以降では、これらの方法を用いて実際に解析した結果の一部を紹介する。

ゲノム配列を用いた進化過程の推定の例～遺伝子重複ユニット間の比較～

筆者らは比較ゲノム解析の予備的研究として、まず遺伝子重複の痕跡が数多く見られる HLA-A/-G/-F 領域、300 kb における形成過程モデルを作成した。その結果、この領域は (HCGII)-(MHC クラス I)-(HCGIV)-(P5)-(3.8-1)-(HCGIX)-(MIC) から構成される重複基本ユニットを出発点として、少なくとも 8 回の遺伝子重複を繰り返しながら形成したと推定した (2, 5)。この予測を裏付けるため、まず一般的なゲノム領域に位置する各高度反復配列 (Alu, LINE, LTR) を用いて作成した系統樹から、それぞれのサブタイプ (AluY, Sq, F など) が誕生した時期を推定し、これらの推定誕生時期に基づいてそれぞれの重複ユニットの重複時期を割り出した。その結果、前述の進化過程とは全く矛盾しないこと、この領域は約 1 億年前から形成されてきたことが示唆された。さらに、その進化過程をより明確なものにするために、チンパンジーならびにアカゲザルの MHC クラス I 領域のゲノム配列 (6, 7) を加えて、再度この領域の進化過程を推定した結果、その進化過程を

完全に示唆するものであった (8)。これらの知見は、比較ゲノム解析により現在のゲノムからその進化を遡ることが十分に可能であることを示すことから、筆者らは本格的に MHC 領域の比較ゲノム解析に着手した。

ヒトとチンパンジーの MHC クラス I 領域における比較ゲノム解析

チンパンジーの MHC (Patr) クラス I 領域約 1.7 Mb における HLA 領域との大きな差異は、ヒトでは MHC 様遺伝子の一種である MICB と MICA 遺伝子の間の長さは 95 kb であるが、チンパンジーではその領域が欠落していることである。この欠落により、チンパンジーの MIC 遺伝子はヒトの MICA と MICB 遺伝子の融合遺伝子 (fusion gene あるいは hybrid gene) となっている (6)。さらに、短い欠失や挿入を除けば、HLA 領域の遺伝子構造とほぼ一致しており、その多様度の平均値は 1.4% である (図 2)。とりわけ、古典的クラス I 遺伝子の MHC-A, -B, -C 領域では 2.1%~2.3% の高い多様度を有することから、これらの領域は、正の選択 (positive selection) により MHC 遺伝子特有の多様性が増大する方向に進化してきたと考えられる。一方、非古典的クラス I 遺伝子の MHC-G, -F 領域では 0.9%~1.3% の低い多様度を有することから、これらは、負の選択 (negative selection) により遺伝子の機能が保存される方向に進化してきたと考えられる。これらに対して、MHC-E 領域の多様度の平均値は 1.7%

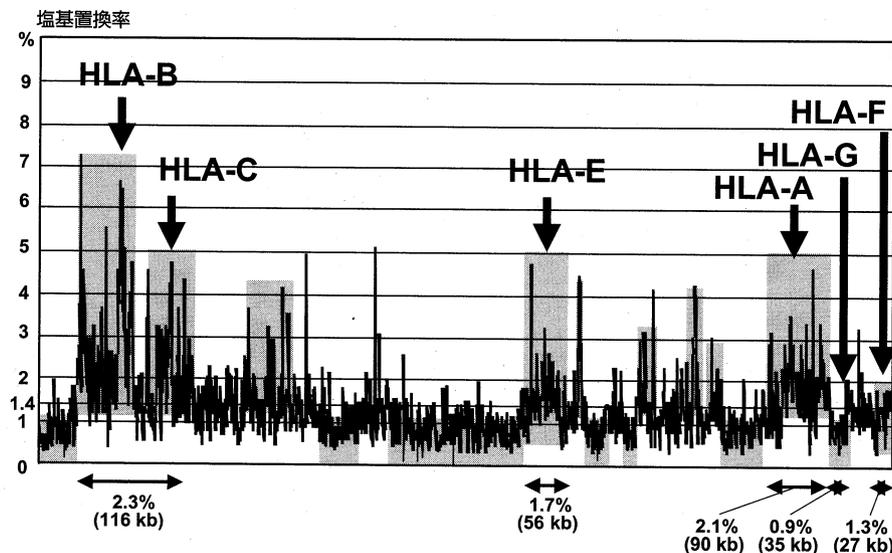


図2 ヒトとチンパンジー間のMHCクラスI領域における多様性プロファイル

と前者らの中間の多様度を示す。実際、HLA-Eには多型がほとんど認められないのに対して、アカゲザルやカニクイザルでは極めて高度な多型を有する(9: 椎名ら未発表)ことから、MHC-Eはマカカ属との種分岐前後に選択圧の変化が起きた遺伝子と推測される(6)。チンパンジーは、種々のヒト感染ウイルスが共通して感染する唯一のモデル動物であることが知られており、MHC領域との相関が認められるヒト感染ウイルスには、HCV(C型肝炎ウイルス)をはじめ、ヒトとチンパンジー間で同様の症状を示すものとHIV(ヒト免疫不全ウイルス)のように感染はするものの、その後の発症経過が異なるものがある。これらのウイルスに対する感受性の一部はMHC領域が規定していると考えられる。したがって、今後Patr領域の多型解析を進め、HLA領域と比較することは、このようなウイルス感染に対する免疫能の差異や発症過程における機序の考察を可能とするだろう。

霊長類のMHCクラスI領域における比較ゲノム解析

(1) HLA, Patr, Mamu クラスI領域の構造と多様性

東南アジアに幅広く分布するアカゲザルはヒトの祖先と2700万年前に種分化した旧世界ザルに属しており、臓器移植や骨髄移植ならびに疾患の生成機序

の解明などの医学的研究における実験動物として有用な生物種である。まず、アカゲザルのMHC(Mamu)クラスI領域3.3 Mbのゲノム配列を用いて、ヒトおよびチンパンジーとの比較ゲノム地図を作成したところ、ヒトでは1.8 Mbに18個のクラスI遺伝子(偽遺伝子を含む)、チンパンジーでは1.7 Mbに17個のクラスI遺伝子がそれぞれ存在するのに対して、アカゲザルでは3.2 Mbに64個もの極めて多数のクラスI遺伝子が存在した(図3)。とりわけ、ヒトやチンパンジーのMHC-B/-C領域は200 kb~300 kbから構成されているのに対して、アカゲザルではMamu-B遺伝子の縦列重複により1,000 kbから構成される。また、ヒトやチンパンジーのMHC-A/-G/-F領域は300 kbから構成されているのに対して、アカゲザルではMamu-A, -AG, -G, -80などの複雑な重複により800 kbから構成される(8)。一方、MHC-B/-C領域とMHC-A/-G/-F領域の間の非MHC遺伝子が密集する約1,000 kbについては3者間にてよく保存されている(図3)。ちなみに、アカゲザルの近縁種であるカニクイザルのMHCクラスI領域の構造はアカゲザルよりも概ね単純である(10)。次いで、3者間の多様性プロファイリングをおこなった結果、ヒトMHCハプロタイプ間における塩基置換のみの多様度の平均値は0.14%、挿入あるいは欠落(インデル)を含む多様度の平均値は0.53%であったのに対して、ヒト/チン

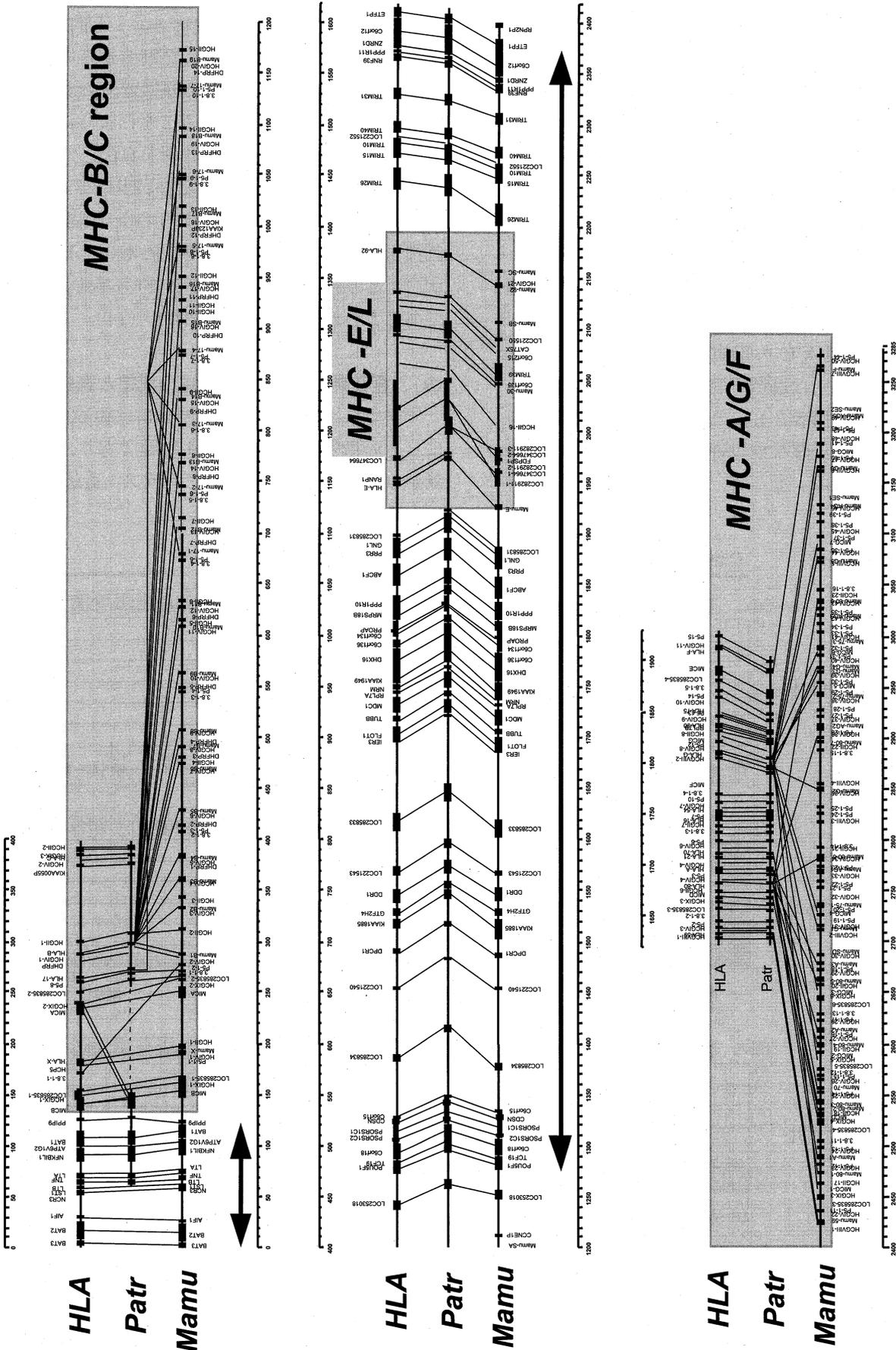


図3 ヒト, チンパンジー, アカゲザル間のMHCクラスI領域における比較ゲノム地図

パンジー間およびヒト/アカゲザル間における塩基置換のみの多様度の平均値はそれぞれ 1.29%, 6.55% であり, インデルを含む多様度の平均値はそれぞれ 6.90%, 29.40% であった(図 4)。これらの値は, 配列付加情報に基づく解析から, 遺伝子の機能や密度および反復配列などの影響を受けて大きく異なる(7)。

(2) MHC-B/-C および MICA/B の遺伝子重複時期の推定

HLA-B と HLA-C の重複時期の推定にはそれら遺伝子自体あるいは遺伝子近傍の SINE 配列が用いられてきたが, 両者ともにそれぞれの選択圧が働いていることから正確な重複時期を推定することは難しいと考えられる。そこで, HLA-B と HLA-C お

よび MICA と MICB の重複ユニット内に位置し, ヒトとアカゲザルの祖先の種分岐前から中立な選択圧を受けていると考えられる複数個所の LINE 配列を選別し, これらを使用することにより, MHC-B/-C および MICA/B の重複時期を算出した。その結果, HLA-B と HLA-C の重複時期は 2230 万年前, MICA と MICB の重複時期は 1410 万年前とそれぞれ推定され, いずれの重複時期ともに, ヒトとアカゲザルとの種分岐時期である 2700 万年前よりも最近であることが明確となった(図 5) (11)。

(3) 霊長類 MHC-B/-C 領域の構造と進化

マダガスカルに生息する原猿類は約 6000 万年前にヒトの祖先と種分岐した生物種であり, 前述の知見から, ほぼ同時期に MHC クラス I 遺伝子と MIC

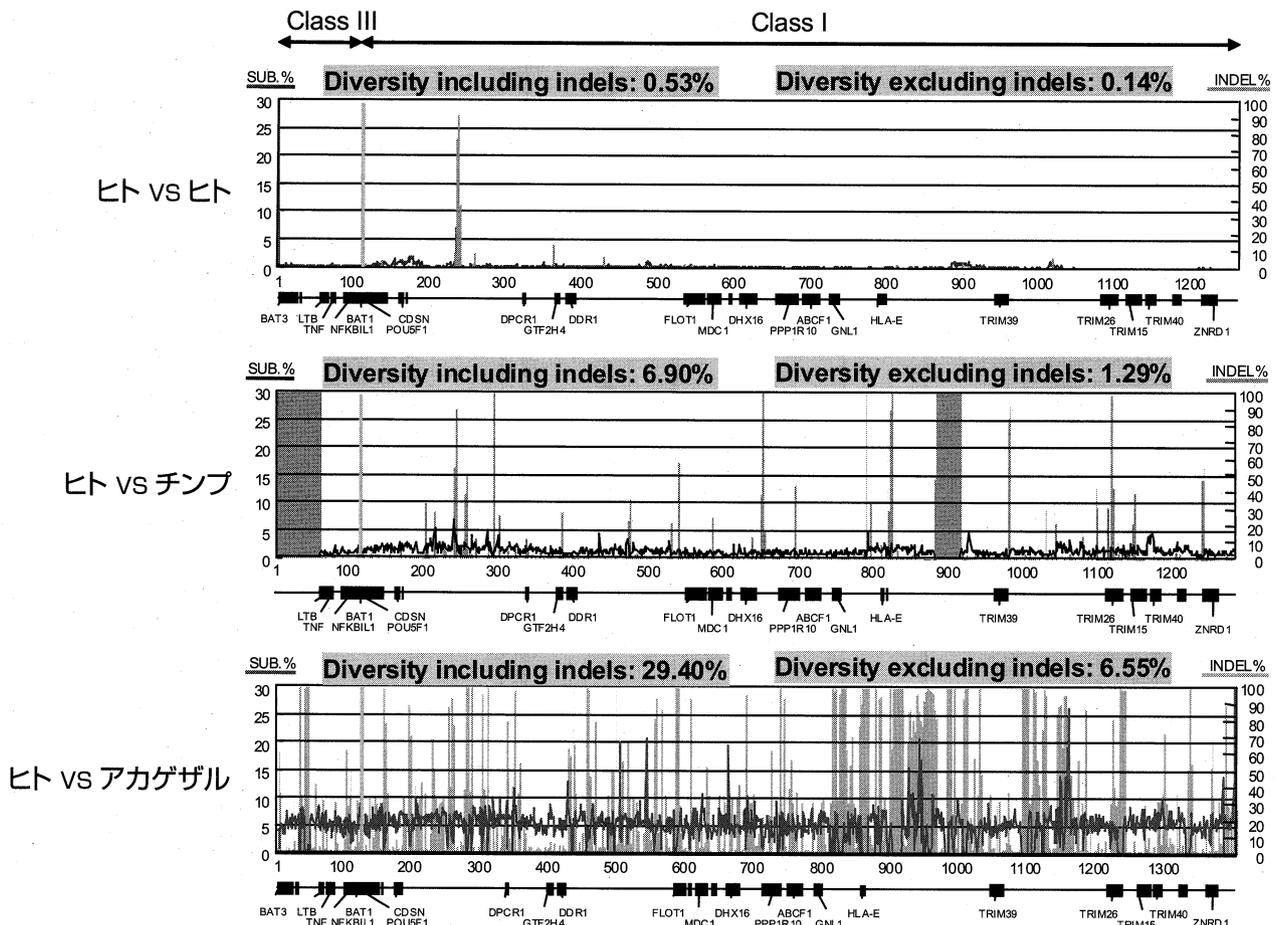


図 4 ヒト, チンパンジー, アカゲザル間の MHC クラス I 領域における多様性プロファイル

ヒト vs チンパンジー, ヒト vs アカゲザルにおける濃灰色の線は塩基置換率を示す。また, 薄灰色の背景はインデルを示す。

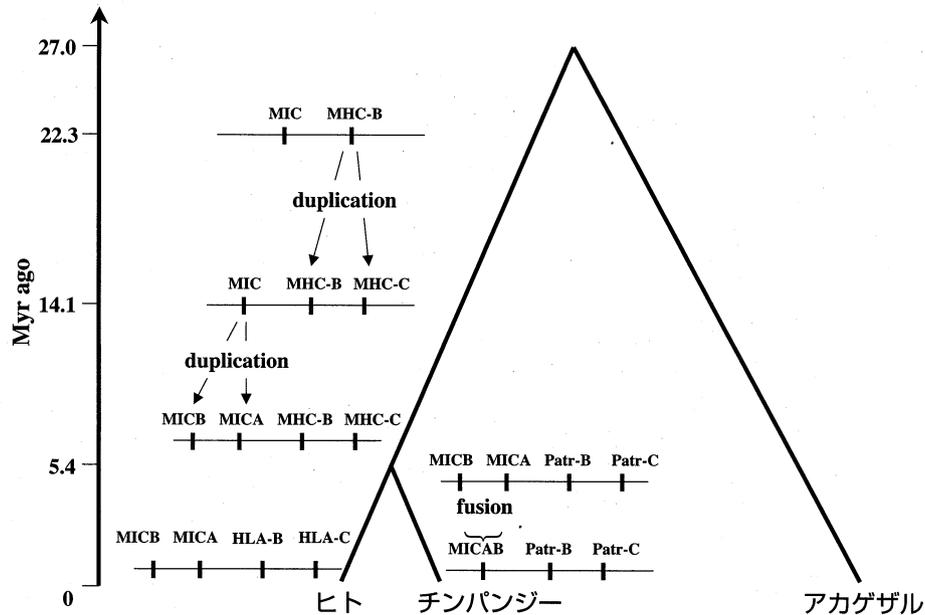


図5 MHC-B/-C 領域の進化形成過程

遺伝子が現在の HLA-B/-C 領域に誕生した可能性が高い。もし両者間の種分化直前にこれらの遺伝子が誕生したのであれば、原猿類のゲノムは原始的な MHC-B/-C 祖先領域を保持していると考えられる。そこで、原猿類に属するハイロネズミキツネザル (レムール) の MHC-B/-C 領域 200 kb の塩基配列を決定し、ヒト、チンパンジー、アカゲザルを含む霊長類間にて比較解析することにより MHC-B/-C 領域の進化形成過程を推定した。まず、前述のように、アカゲザルには、MHC-B/-C に相当し、かつ遺伝子重複の産物であると考えられる 19 個の *Mamu-B* が同定された。これらの遺伝子重複は約 70 kb を 1 ユニットとして縦列的に重複しており、各重複ユニットの末端には LTR 配列の 1 種である *MLT1* あるいは *MLT2* が存在した。これらの LTR はヒトの遺伝子重複領域にも分布することから、MHC 領域における遺伝子重複の原動力である可能性がある。一方、レムールの MHC-B/-C 領域に相当する *BAT1* と *POU5F1* の間の 122 kb には、1 個ずつのクラス I 遺伝子と *MIC* 遺伝子のみが同定されたが、いずれの遺伝子とも構造に不備のある偽遺伝子であった (図 6)。したがって、レムールは MHC クラス I 遺伝子と *MIC* 遺伝子が MHC-B/-C 領域に誕生した後に、ヒトの祖先と種分岐したことが明確となった。とこ

ろが、MHC-B/-C とゲノム構造が類似する HLA-L (HLA-92) に複数個のクラス I 遺伝子が存在することから、レムールではこれらが MHC-B/-C の機能を担うと考えられている (12)。さらに、霊長類間の系統樹解析から、レムールが保持する原始的な MHC-B/-C 祖先領域は、ヒトとアカゲザルとの種分化前の 2700 万年前まで、クラス I 遺伝子の数を増す方向に進化したが、その後は逆に数を減らしながら現在の MHC-B/-C 領域を形成したと推察された (椎名ら未発表)。

ほ乳類 MHC 領域の比較ゲノム解析

図 7 は MHC 領域のゲノム配列が完全あるいはほぼ決定されており、かつ公的データベースに登録されているほ乳類 11 種の比較ゲノム地図を示す。この地図における顕著な特徴の一つとして、オポッサムを除く 10 種では MHC クラス II 領域の構造はよく保存されているのに対して、MHC クラス I 領域は種に特有な構造を有することが挙げられる。当初、ほ乳類では古くからヒトとマウスのみ MHC 領域の遺伝子地図が知られていたため、その他のほ乳類にも各クラス I 亜領域 (MHC-A/-G/-F 領域, MHC-E/-L 領域, MHC-B/-C 領域) にクラス I 遺伝子を有すると考えられていた。ところが、驚くべきことに、

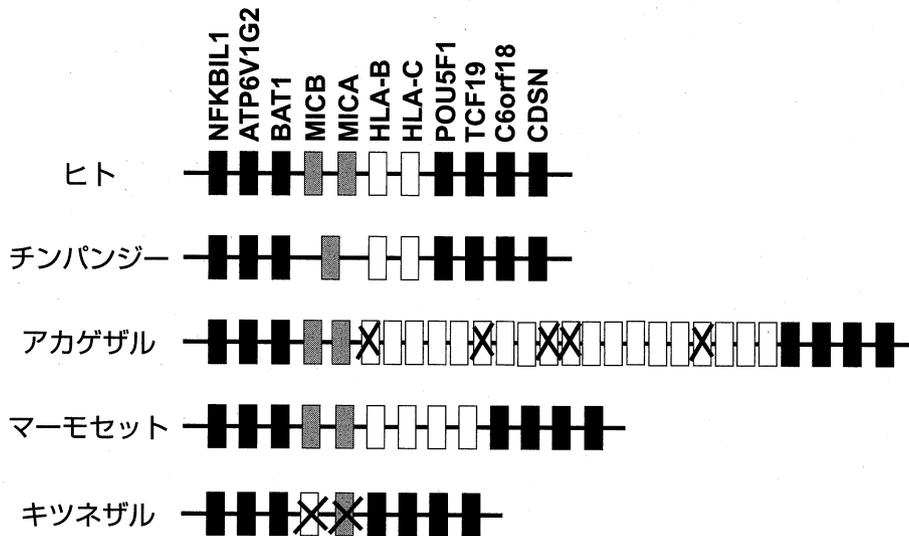


図6 霊長類における MHC-B/-C 領域の遺伝子地図の比較

白色と灰色の遺伝子はクラス I 遺伝子，MIC 遺伝子をそれぞれ示す。×印は明らかな偽遺伝子を示す。

ブタ，ウシ，イヌ，ネコの MHC-A/-G/-F 領域には発現クラス I 遺伝子は認められないことから，元々この領域にはクラス I 遺伝子は存在せずに，後にマウス，ラットや霊長類にクラス I 遺伝子が誕生したと推定される。また，各クラス I 亜領域におけるクラス I 遺伝子の機能も種間により異なる。二番目の特徴として，ほ乳類の MHC 領域内に動原体や転座点が観察されることが挙げられる。すなわち，ブタではクラス II 領域とクラス III 領域の境界に，ネコではクラス I 領域の TRIM26 遺伝子近傍にそれぞれ動原体が存在し，イヌでは同じく TRIM26 遺伝子近傍に転座点が存在する。霊長類のレムールにおいても，この TRIM26 遺伝子近傍を境に他の染色体上への転座が認められるが，動原体形成や転座を引き起こす配列や構造は不明である。これらに対して，約 120 個の非 MHC 遺伝子については種間にてよく保存されている。

ウズラとニワトリにおける比較ゲノム解析

(1) ニワトリ MHC 領域のゲノム構造

鳥類における MHC 領域の研究はニワトリを中心におこなわれてきており，ニワトリの MHC 領域においても，古くから種々の免疫機能，疾病抵抗性ならびに経済形質を規定することが報告されている。

ニワトリの MHC 領域 (Gado) は第 16 番染色体に位置し，約 150 個の rRNA 遺伝子領域を挟み，一方では適応免疫ならびに固有免疫 (intrinsic immunity) を担う Gado-B 領域，他方では自然免疫を担う Gado-Y 領域が位置する (図 8)。Gado-B 領域を網羅する 240 kb のゲノム配列には，2 個の古典的 MHC クラス I 遺伝子 (BF1, BF2)，2 個の古典的クラス II 遺伝子 (BLB1, BLB2) を含む 48 個の遺伝子が位置し，これらのうち，23 個は HLA 領域に位置する遺伝子の直系あるいは側系遺伝子である (13, 14)。特に 2 個の CD1 遺伝子は古典的 MHC クラス I 遺伝子と約 50 kb の極めて隣接した位置に同定されたことから，CD1 の起源は鳥類の可能性がある。一方，Gado-Y 領域における 360 kb のゲノム配列には，19 個の非古典的クラス I 遺伝子，5 個のクラス II 遺伝子，19 個の C 型レクチン様遺伝子の合計 43 個の遺伝子が同定され，今後のシーケンシングの進展により，さらに多くの MHC 遺伝子が同定されると思われる。興味深いことに，この領域には，Gado-B 領域に位置する TAP1, TAP2, RING3 などの種間にてよく保存されている遺伝子のホモログがこれまでに認められないことから，Gado-Y 領域はクラス I 遺伝子，クラス II 遺伝子，C 型レクチン様遺伝子を基本ユニットとした度重なる重複により

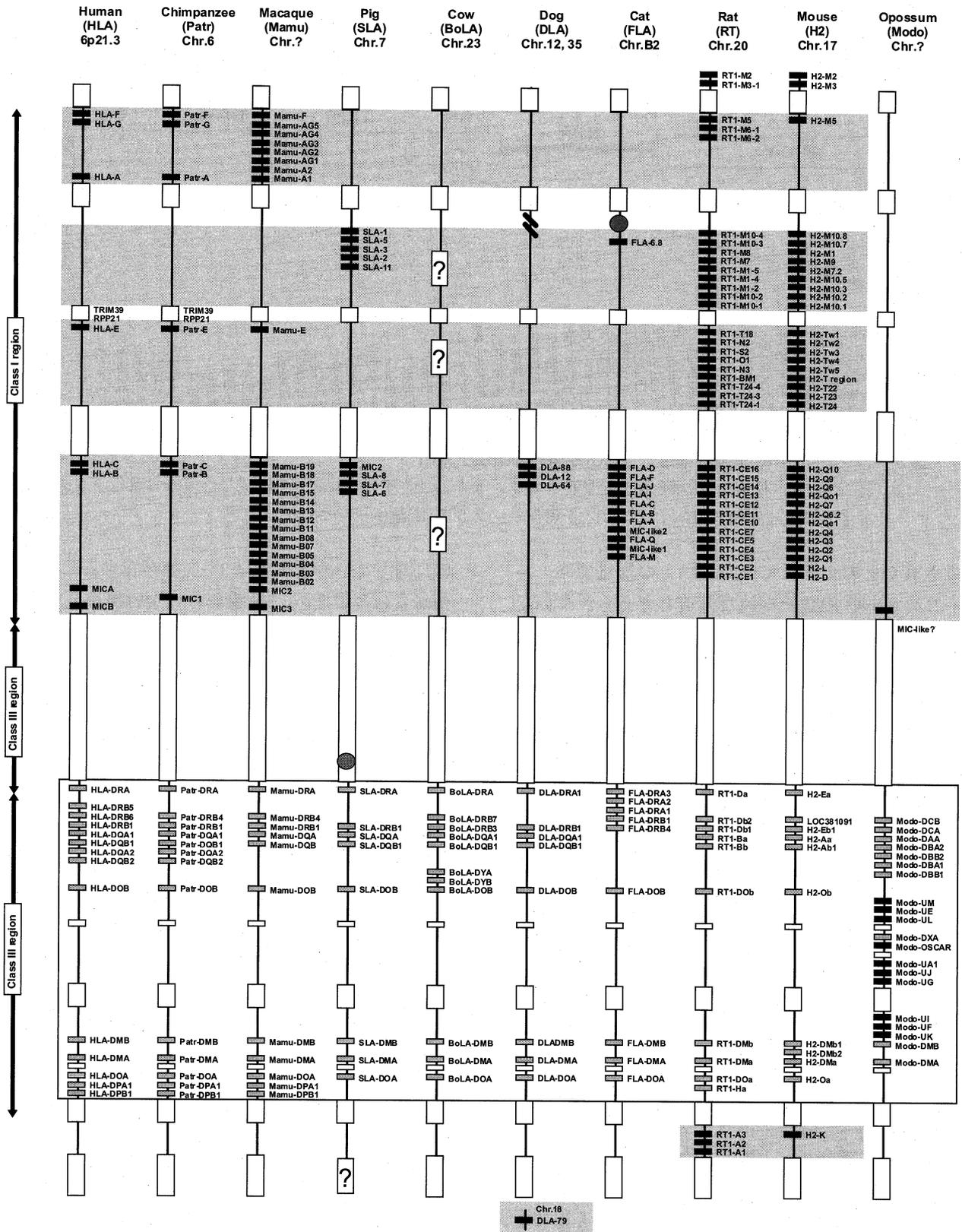


図7 ほ乳類 MHC 領域の比較ゲノム地図

灰色の背景は各クラス I 亜領域を示す。黒色と灰色の遺伝子はクラス I 遺伝子、クラス II 遺伝子をそれぞれ示す。ブタ、ネコに見られる灰色の丸印は動原体の位置を、またイヌに見られる斜線は転座点を示す。

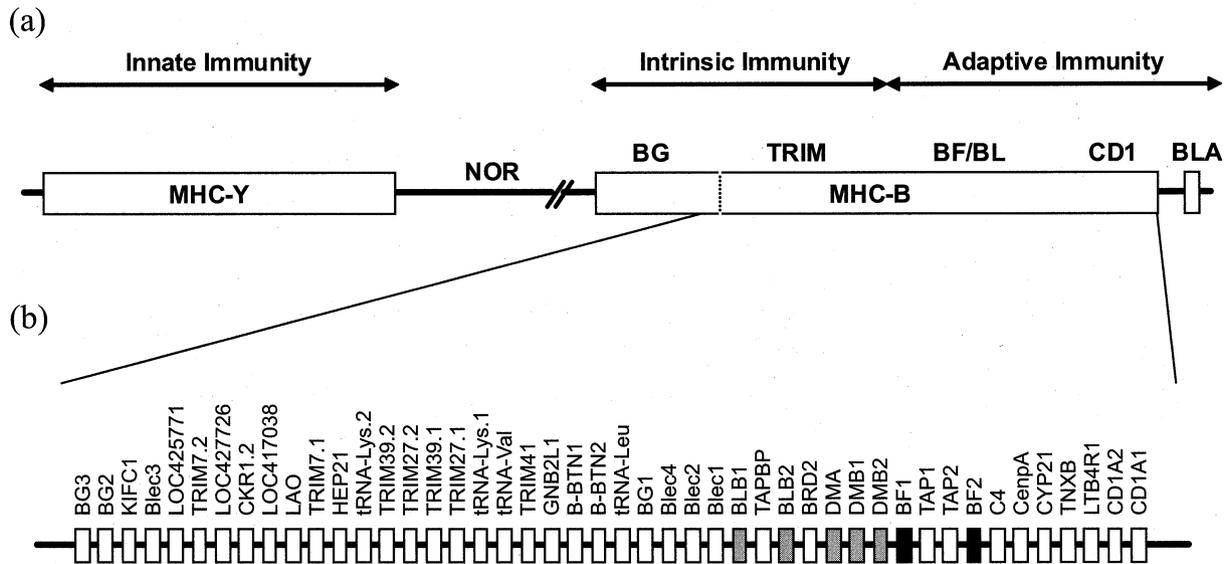


図8 ニワトリ MHC 領域の構造と MHC-B 領域の遺伝子地図

(a) はニワトリ第 16 番染色体の全体像を示す。また、(b) はゲノム配列を決定した領域の遺伝子地図を示す。黒色と灰色の遺伝子はクラス I 遺伝子、クラス II 遺伝子をそれぞれ示す。

形成されたと考えられている。以上の知見より、ニワトリの MHC 領域は単純な構造と考えられていたが、実は複雑なゲノム構造を有しており、古典的な MHC 遺伝子である BF および BL 遺伝子の解析は進められているものの、そのゲノム構成に関する最終的結論は未だ得られていないのが現状である。

(2) ウズラ MHC 領域のゲノム構造とニワトリとの比較

ニワトリとの属間雑種やキメラ生物の作成が可能な程近縁であるウズラの MHC 領域 (Coja) の遺伝子構成を明らかにするために、ニワトリの Gado-B 領域 92 kb に相当する 180 kb のゲノム配列を決定した。図9は Coja 領域のゲノム構造を示しており、35 個の遺伝子 (4 個のクラス I 遺伝子、7 個のクラス IIB 遺伝子、6 個のレクチン様遺伝子、4 個の NK 細胞レセプター遺伝子など) が同定された (15)。Gado-B 領域では、92 kb 内に 2 個のクラス I 遺伝子、2 個のクラス IIB 遺伝子、1 個のレクチン様遺伝子および 1 個の NK 細胞レセプター遺伝子のみ有することから (16)、Coja 領域は Gado-B 領域よりも複雑な重複過程を経て構成されている。とりわけ、Tapasin と BRD2 遺伝子の間に位置するクラス IIB 遺伝子の数はニワトリではハプロタイプに関係なく 1 個な

のに対して、ウズラでは 1~3 個存在すること、この領域にはニワトリには認められない組換えモチーフ配列を多数有することから、Coja 領域は Gado-B 領域よりも高度な多様性産生能力を有すると考えられる (17)。ウズラ以外の鳥類の MHC 領域の構造は、スズメやアヒルについて明らかにされており、いずれともウズラのような重複 MHC 遺伝子が認められる (18, 19)。従来、ニワトリの古典的な MHC 遺伝子である B-F および B-L 遺伝子は必要最低限の数を有すると言われてきたが、実は他の鳥類と比較することにより、ニワトリはむしろ特殊な古典的 MHC 領域を有すると思われる。では、なぜニワトリの MHC 領域は単純な構造なのであろうか？ この問いに対する明確な解答はこれまでに得ていないが、ウズラ、スズメ、アヒルは野生の鳥類であるのに対して、ニワトリは約 1 万年前よりヤケイから家畜化されてきたが、この過程における人為的な育種選抜で必要最低限の MHC 遺伝子のみ有する方向に固定されてきたと考えられる (20)。今後さらに比較ゲノム解析を進めていけば、この家畜化の痕跡が何らかの形でより具体的に見いだされるであろう。

魚類間の比較ゲノム解析

硬骨魚類のサケマス科はその他の硬骨魚類よりも

ウズラ Coja 領域 (184 kb)

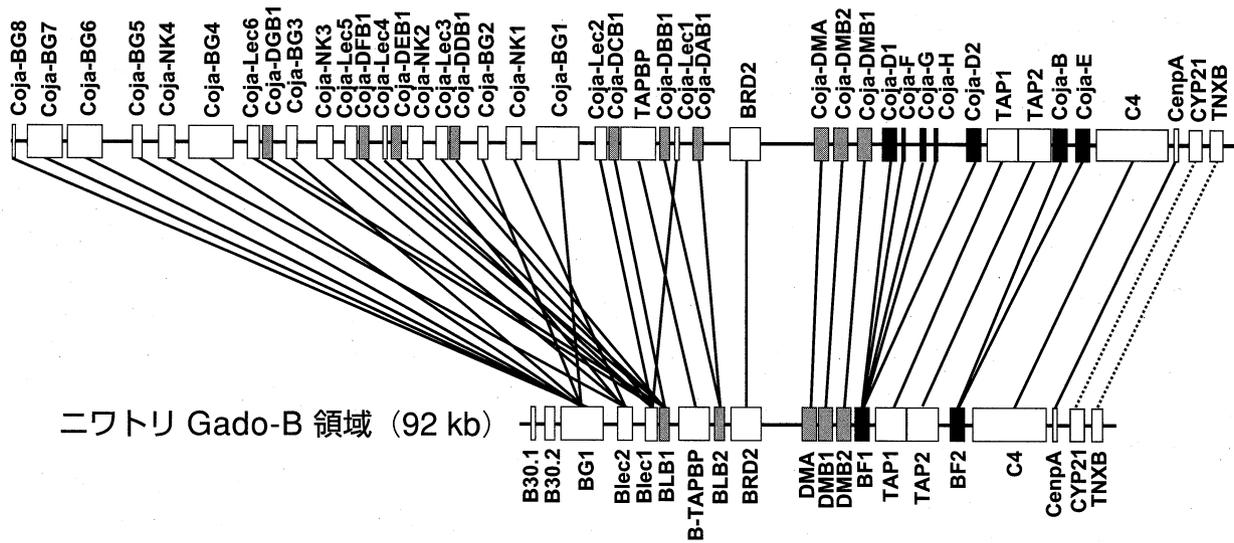
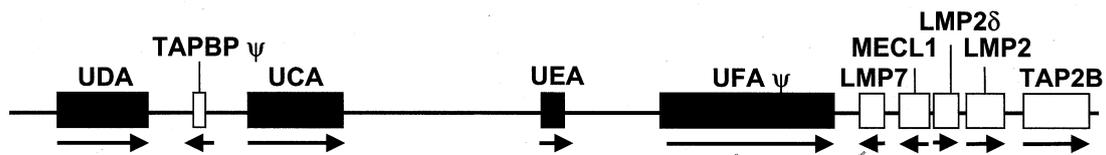


図9 ニワトリとウズラ MHC 領域の比較ゲノム地図
 黒色と灰色の遺伝子はクラス I 遺伝子, クラス II 遺伝子をそれぞれ示す。

Chr.14 *Onmy-IB* (110,760 bp)



Chr.18 *Onmy-IA* (103,035 bp)



図10 異なる染色体上に位置するニジマス MHC クラス I 領域
 黒色の遺伝子はクラス I 遺伝子を示す。

1 回多くのゲノム倍化が起きたが、ゲノムレベルにおける証拠は得られていなかった。そこでニジマスの MHC (*Onmy*) クラス I 領域のゲノム配列を決定したところ、第 14 番染色体上の *Onmy-IB* 領域に 4 個のクラス I 遺伝子と LMP 遺伝子や TAP 遺伝子が同定されたのに対して、第 18 番染色体上の *Onmy-IA* 領域に 1 個のクラス I 遺伝子と LMP 遺伝子や

TAP 遺伝子が同定された (図 10)。LMP7, MECL1, LMP2, TAP2B は両領域に位置しており、それらのパラログ遺伝子間の相同性は 93%~97% とよく保存されている (21)。一方、*Onmy-IB* 領域に位置する *Onmy-UDA*, *-UCA*, *-UEA* は非古典的 MHC クラス I 遺伝子であるが、*Onmy-IA* 領域に位置する *Onmy-UBA* は古典的クラス I 遺伝子である。この事実、

ゲノム倍化後のクラス I 遺伝子の機能の決定を探索上でとても興味深い知見である。次いで、データベース上に登録されている魚類間における比較解析の結果、MHC 遺伝子あるいは MHC 関連遺伝子の数は種間にて異なるが、基本的な MHC 領域の構造は硬骨魚類の間でよく保存されていた(図 11) (22)。

ヒトの祖先と 4.4 億年前に種分岐した軟骨魚類は MHC 抗原の発現が確認されている最も古い有顎動物であり、原始的と思われる MHC 領域のゲノム構造を明確にするために、筆者らはコモリザメの MHC (Gici) 領域のゲノム配列決定を進めている。これまでに、古典的クラス I 遺伝子、TAP1, TAP2, LMP, BRD2 は硬骨魚類と同様に観察されたが、興味深いことに MHC クラス I 抗原と結合する $\beta 2$ ミクログロブリン分子をコードする遺伝子もこの領域に位置するようである。さらに、調査したすべての遺伝子の長さはヒトと比べて 5~7 倍長い特徴を有する(図 12)。一方、ニワトリやウズラの遺伝子の長さはヒトの 1/3 程度であることから、遺伝子サイズにも進化の方向性があると思われる。

ナメクジウオの MHC 祖先領域の構造とヒトとの比較解析

HLA 領域の大量シーケンシングと構造解析を進めていく過程で同定した遺伝子のなかで、MHC, TAP, LMP, HSP70 など少なくとも 15 個の遺伝子と相同性を有するパラログス遺伝子が、ヒト第 1 染色体 1q21-25, 第 9 染色体 9q33-34, 第 19 染色体 19p13.3 の 3 領域にも見いだされた (23)。この画期的な事実は、この 4 つの領域が起源を一にし、ゲノム進化の過程で 2 回の genome duplication (倍化) によって形成されたことをしめしている。この倍化は、様々な進化学的な証拠から脊椎動物誕生時、つまり 4.4 億年から 5.15 億年前に起きた、全ゲノムの 2 回の倍化による 4 倍化に相当すると考えられる。すなわち、MHC 領域は MHC 抗原の抗原提示としての機能に必要な TAP, LMP, HSP70 などを含む遺伝子をリクルートしながら、MHC 遺伝子を誕生させ無脊椎動物と脊椎動物が分岐した時期にゲノム倍化した結果、進化、形成したと予想される。したがって、無脊椎動物と脊椎動物の境界時期に、ヒトの祖先と分岐した生物種のゲノムには、MHC 領域の進化を明らかにする何らかの痕跡が刻まれているはず

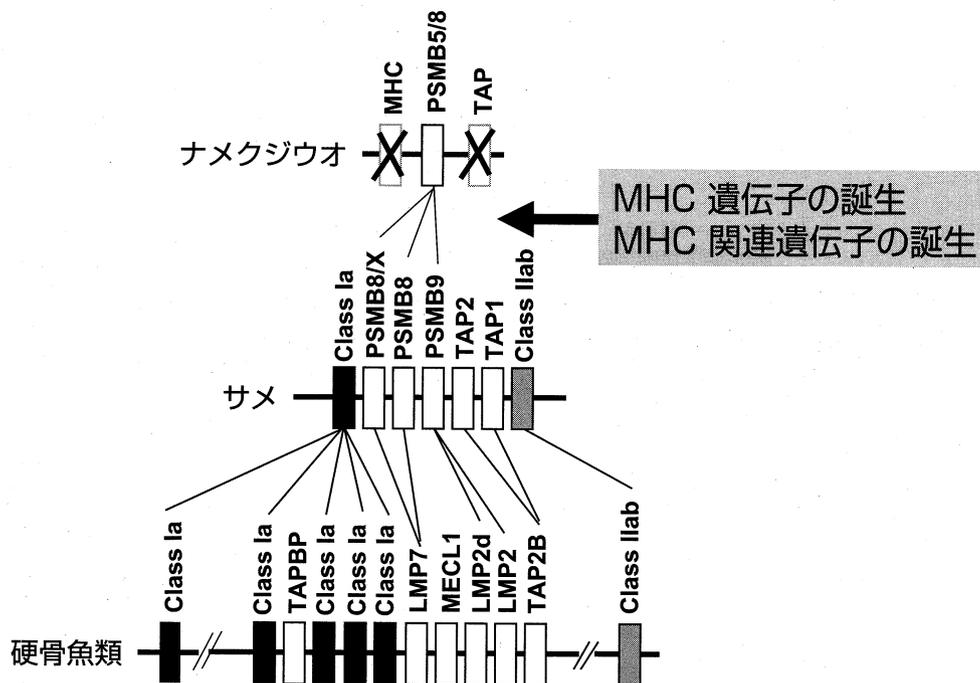


図 11 魚類 MHC コア領域の比較

黒色と灰色の遺伝子はクラス I 遺伝子、クラス II 遺伝子をそれぞれ示す。

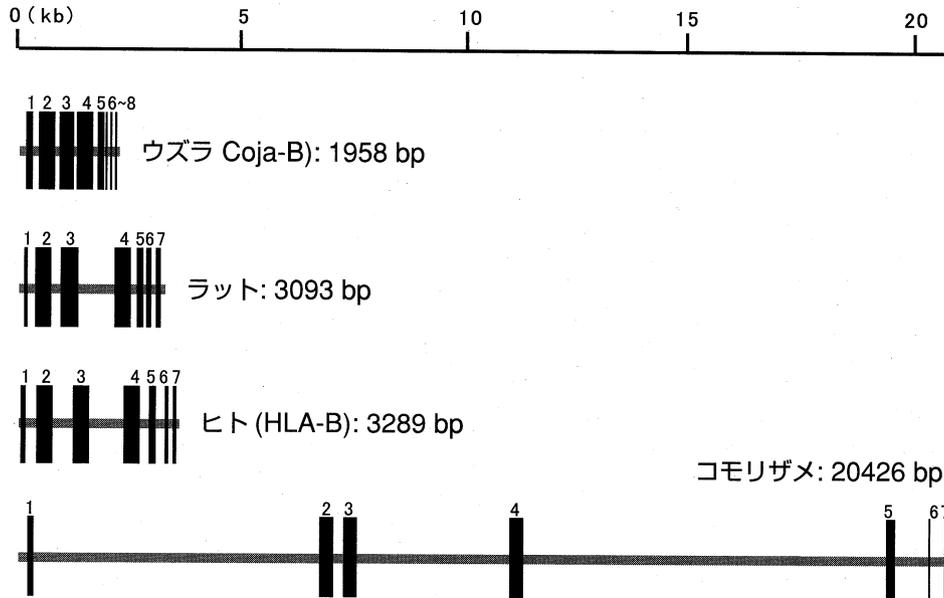


図 12 MHC クラス I 遺伝子サイズの比較

である。そこで、筆者らはゲノム倍化直前のゲノム構造を保持した脊椎動物の祖先または原型を留めたゲノムを有すると考えられている頭索動物のナメクジウオにおける MHC 祖先領域のゲノム配列 511 kb を決定した (24)。その結果、合計 41 個の遺伝子が新たに同定された。そこで、9 個の遺伝子についてヒトやマウスを含む既知の遺伝子を用いて系統樹解析をおこなったところ、ゲノム重複は頭索類と脊椎動物との種分化の後の 7.66 億年前から軟骨魚類とその他の脊椎動物との種分化の前の 4.2 億年前に限定された。新たに同定された 32 個の遺伝子の内、10 個については機能不明な遺伝子であったが、残りの 22 個の遺伝子についてはヒト遺伝子のアミノ酸配列と相同性を有するものであった。特筆すべきことは、この 22 個のうちの 16 個とアンカー遺伝子 9 個の合計 25 遺伝子についてはヒトの MHC パラロガス領域のいずれかの領域に存在するものであったことである (図 13a)。そして、ヒトの MHC パラロガス領域の起源は一であり、7.66 億年前から 4.2 億年前までの期間に 2 回の大規模なゲノム重複を経て形成されたことが強く示唆された。ヒトの MHC パラロガス領域について、ナメクジウオのゲノム塩基配列に見い出された遺伝子の分布を調べたところ、ヒトの第 1, 6, 9, 19 番染色体のうち、第 9 番染色体は他の

染色体よりもよく遺伝子が保存されていることから、第 9 番染色体が最も重複前のゲノム構造を保持していることが示唆された。さらに、3 つ以上の MHC パラロガス領域に存在する 6 遺伝子族について、それらの保存性や多様性をみたところ、第 1, 6, 19 番染色体については進化の過程で欠落したと思われる遺伝子族 (C3/C4/C5, CACNA1A/B/E, RXRA/B/G) が存在すること、各遺伝子族の進化速度は第 9 番染色体に存在する遺伝子が最も遅いが、その他の染色体に存在する遺伝子はまちまちであることも示唆された (図 13b)。したがって、これらの違いこそが重複後に新たな機能を有する遺伝子を誕生させ、その機能を発達させることにより高度な機能を有する様々な脊椎動物を誕生させてきたのだろう。

MHC ゲノム領域の進化論

MHC 領域の進化過程をまとめると、MHC 遺伝子は MHC 抗原の発現が認められていない頭索類 (ナメクジウオ) とヒトの祖先との種分化後の 4.4 億年から 5.15 億年前に起きた全ゲノムの 2 回のゲノム重複による倍化により無脊椎動物と脊椎動物が分岐したほぼ同時期に誕生したと推測される。この MHC 遺伝子を含む単純な MHC 領域の構造は魚類、鳥類に見られるのに対して、ほ乳類では 3~4 Mb と長大で複

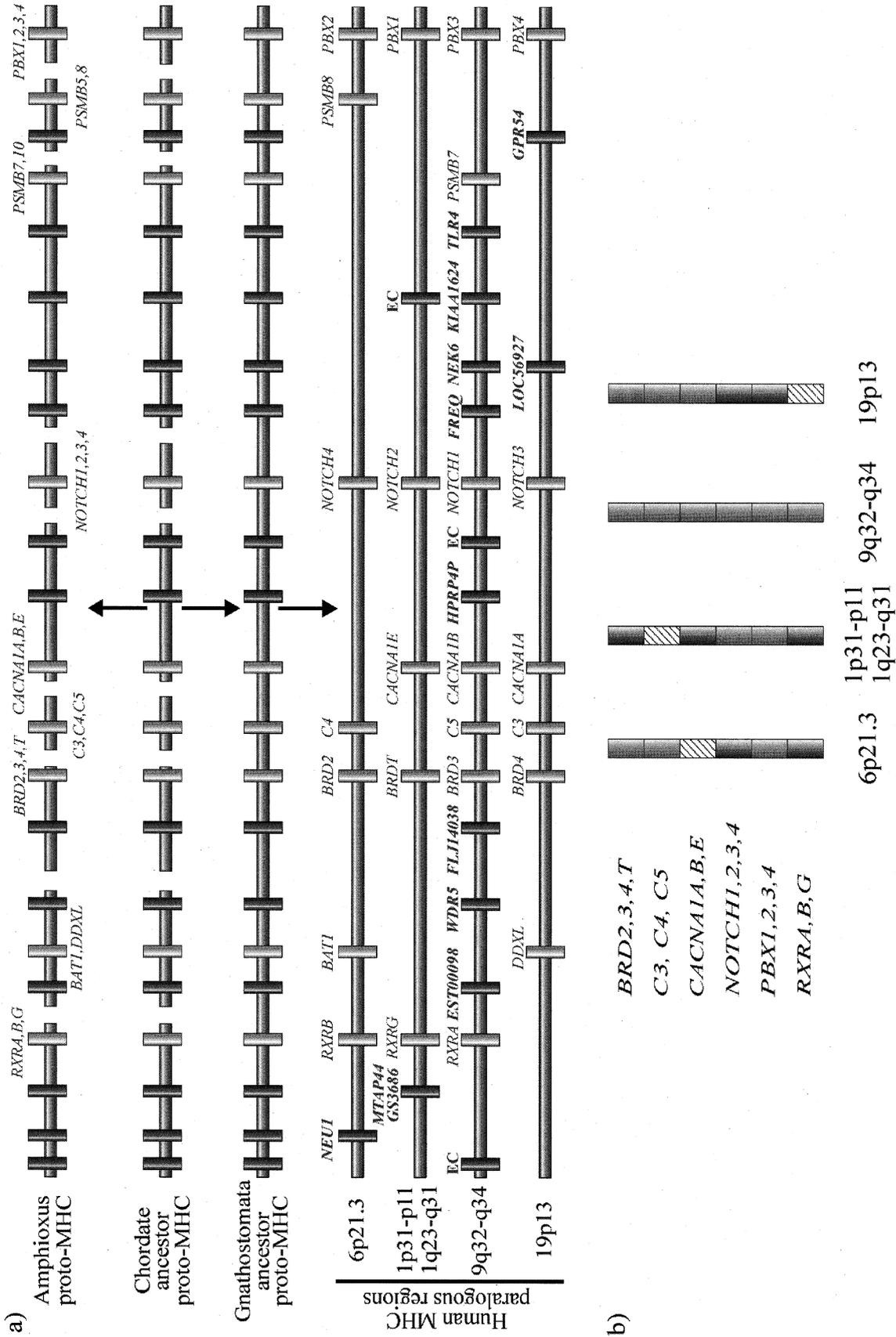


図 13 MHC 祖先ゲノム領域の遺伝子構成

(a) はナメクジウオのゲノム構成と進化過程の推定を示し、(b) はヒト MHC パラログス遺伝子間における進化速度の相対的な速さを示す。すなわち、薄灰色は相対的に進化速度が相対的に遅いことを示し、濃灰色は進化速度が相対的に速いことを示す。斜線はその染色体上に遺伝子が存在しないことを示す。

雑な構造を有する。当初はほ乳類誕生の時期にゲノム再編成により複雑な MHC 領域が形成されたと推定されていたが、最近アフリカツメガエルの MHC 領域の遺伝子構成はほ乳類のそれとよく類似することが報告された(25)。したがって、ほ乳類の MHC 領域に見られる遺伝子セットのほとんどがアフリカツメガエルとの種分岐前にはすでに完成しており、硬骨魚類や鳥類ではむしろそれぞれの遺伝子が他ゲノム領域に分散したと考えられる。

特に MHC クラス I 遺伝子とクラス II 遺伝子に限定した場合、それらが隣接する構造は魚類、両生類および鳥類などの非ほ乳類のみならず、ほ乳類のオポッサムにも認められるが、その他のほ乳類はクラス II 遺伝子とクラス I 遺伝子が独立して位置する(図 7)。ほ乳類のクラス I 領域の多様性はクラス II 領域よりも大きいことを考えると、その他のほ乳類が誕生した時期に、ゲノム構造を保持する方向に働くクラス II 遺伝子と多様性を持たせる方向に働くクラス I 遺伝子との間に選択圧の軋轢が生じ、その結果、クラス I 遺伝子が適切な多様性を得ることのできる位置に移動し、多様な機能を有する現存のクラス I 遺伝子を誕生させたのではないかと考えられる。実際、HLA クラス II 領域には HLA-Z というクラス I 遺伝子の偽遺伝子が存在するが、これはクラス I 遺伝子がかつてクラス II 領域に位置していた名残のようである。また、ヒトの MHC クラス I 領域は約 1 億年前から形成されてきたと前述したが、これはまさにクラス I 遺伝子がクラス I 領域に移動した時期と一致する。

その後、MHC クラス I 領域に移動した MHC クラス I 遺伝子の数を種間にて比較すると、その数はまちまちであることがわかる(図 7)。これらに対して、クラス II 遺伝子や非 MHC 遺伝子は種間にてよく保存されている。したがって、種間における基本的な遺伝子構成は大まかには保存されているが、MHC クラス I 遺伝子は birth and death 進化により、病原体をはじめとするそれぞれの生活環境に適應するゲノム構造を保持するようになったと考えられる。では、完成度の高い MHC システムを有する動物は何だろうか？ この問いに対する解答は各生物種における多型情報が必要であるが、現時点のゲノム構

造から推測すれば、筆者はほ乳類の中で、アカゲザル、ネコ、マウス、ラットを挙げたい。なぜなら、世界的に分布するこれらの動物は数多くのクラス I 遺伝子を有するからである。もちろん、すべてのクラス I 遺伝子が発現すると免疫上の不都合を生じるので、クラス I 遺伝子のコピーを蓄えておき、必要に応じてそれらを直接的に、あるいは機能を変えて使用するシステムを有する動物こそが生物進化の成功者なのかもしれない。ほ乳類以外でもウズラはニワトリよりも MHC 遺伝子のコピーを多く有するが、実際筆者の経験からウズラはニワトリよりも病気に強い印象がある。ではヒトはどうであろうか？ ヒトと比較的近縁であるアカゲザルがクラス I 遺伝子を増幅させる方向に進化しているのに対して、ヒトは進化過程でクラス I 遺伝子の欠落、偽遺伝子化の方向に進化しており、クラス I 遺伝子のコピーを持たない。ところが、ヒトは世界的に分布することから、おそらくヒトの祖先は新しい生活環境に出会った際に平衡選択などの正の淘汰圧により HLA-A、-B、-C 遺伝子に多型を急激に蓄積させることで、その環境に適応できたのであろう(7)。ところが、このような急激な SNP の蓄積は HLA 領域に規定される疾患の原因となりうることから、HLA 領域は脆弱な構造を有すると思われる。

おわりに

本稿では、これまでに得られた比較ゲノム解析による MHC 領域の進化に関する知見について概説した。現在のゲノムからその進化を遡ることが可能であること、さらには、ナメクジウオのように MHC 祖先領域の構造を保持する生物種も現存することがわかってきた。しかしながら、実際に調べる生物種は現存するものであって、ヒトの祖先と分岐した当時のゲノム構造を反映したものではない。この点をいかなる手法を用いて当時のゲノムを再現できるかが、この解析を成功させる鍵となるであろう。そのために、筆者らグループでは種間におけるオーソログ関係をしっかりさせた上で、それぞれの遺伝子の系統関係、選択圧、機能的あるいは構造的モチーフの保存性などの一段階先の比較ゲノム解析にチャレンジする予定である。

謝 辞

筆者が本研究を目指したのは Trowsdale (1995) の総説に掲載された 1 枚の比較ゲノム地図との出会いである (26)。その頃はヒトゲノムプロジェクトに携わっていたが、いずれは様々な動物の MHC 領域の構造を比較したいと希望を持っていた。その夢が今実現したのである。この機会を与えていただいた猪子英俊先生、国内外の諸先生方、他研究員が疾患解析に流れていく中、筆者の研究に携わってくれた研究室の皆様にこの場を借りて深く感謝する。

文 献

1. Imanishi T, et al: Integrative annotation of 21,037 human genes validated by full-length cDNA clones. *PLoS Biol.* **2**: e162, 2004.
2. 椎名隆, 猪子英俊, HLA 領域のゲノムシーケンシングの完了とその意義, *MHC*, **7**: 75–81, 2000.
3. Shiina T, Inoko H, Kulski JK: An update of the HLA genomic region, locus information and disease associations: 2004. *Tissue Antigens* **64**: 631–649, 2004.
4. Kulski JK, Shiina T, Anzai T, Kohara S, Inoko H: Comparative genomic analysis of the MHC: the evolution of class I duplication blocks, diversity and complexity from shark to man. *Immunol Rev.* **190**: 95–122, 2002.
5. Shiina T, Tamiya G, Oka A, Takishima N, Yamagata T, Kikkawa E, Iwata K, Tomizawa M, Okuaki N, Kuwano Y, Watanabe K, Fukuzumi Y, Itakura S, Sugawara C, Ono A, Yamazaki M, Tashiro H, Ando A, Ikemura T, Soeda E, Kimura M, Bahram S, Inoko H: Molecular dynamics of MHC genesis unraveled by sequence analysis of the 1,796,938-bp HLA class I region. *Proc Natl Acad Sci USA.* **96**: 13282–13287, 1999.
6. Anzai T, Shiina T, Kimura N, Yanagiya K, Kohara S, Shigenari A, Yamagata T, Kulski JK, Naruse TK, Fujimori Y, Fukuzumi Y, Yamazaki M, Tashiro H, Iwamoto C, Umehara Y, Imanishi T, Meyer A, Ikeo K, Gojobori T, Bahram S, Inoko H: Comparative sequencing of human and chimpanzee MHC class I regions unveils insertions/deletions as the major path to genomic divergence. *Proc Natl Acad Sci USA.* **100**: 7708–7713, 2003.
7. Shiina T, Ota M, Shimizu S, Katsuyama Y, Hashimoto N, Takasu M, Anzai T, Kulski JK, Kikkawa E, Naruse T, Kimura N, Yanagiya K, Watanabe A, Hosomichi K, Kohara S, Iwamoto C, Umehara Y, Meyer A, Wanner V, Sano K, Macquin C, Ikeo K, Tokunaga K, Gojobori T, Inoko H, Bahram S: Rapid evolution of MHC class I genes in primates generates new disease alleles in man via hitchhiking diversity. *Genetics* In press, 2006.
8. Kulski JK, Anzai T, Shiina T, Inoko H: Rhesus macaque class I duplicon structures, organization, and evolution within the alpha block of the major histocompatibility complex. *Mol Biol Evol.* **21**: 2079–2091, 2004.
9. Alvarez M, Martinez-Laso J, Varela P, Diaz-Campos N, Gomez-Casado E, Vargas-Alarcon G, Garcia-Torre C, Arnaiz-Villena A: High polymorphism of Mhc-E locus in non-human primates: alleles with identical exon 2 and 3 are found in two different species. *Tissue Antigens* **49**: 160–167, 1997.
10. Watanabe A, Shiina T, Shimizu S, Hosomichi K, Yanagiya K, Soeda E, Torii R, Ogasawara K, Kulski JK, Inoko H: A BAC based contig map of the cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*, *Mafa*) major histocompatibility complex (MHC) genomic region. Submitted, 2006.
11. Fukami-Kobayashi K, Shiina T, Anzai T, Sano K, Yamazaki M, Inoko H, Tateno Y: Genomic evolution of MHC class I region in primates. *Proc Natl Acad Sci USA.* **102**: 9230–9234, 2005.
12. Sawai H, Kawamoto Y, Takahata N, Satta Y: Evolutionary relationships of major histocompatibility complex class I genes in simian primates. *Genetics* **166**: 1897–1907, 2004.

13. Shiina T, Hosomichi K, Hanzawa K. Comparative genomics of poultry Mhc region. *Animal Science Journal* **77**: 151–162, 2006.
14. Shiina T, Goto RM, Hosomichi K, Yanagiya K, Shimizu S, Inoko H, Miller MM: Complete sequence for the MHC-B region affecting Marek's disease resistance reveals recombination breakpoints among genes devoted to innate, intrinsic and adaptive immunity. Submitted, 2006.
15. Shiina T, Shimizu S, Hosomichi K, Kohara S, Watanabe S, Hanzawa K, Beck S, Kulski JK, Inoko H: Comparative genomic analysis of two avian (quail and chicken) MHC regions. *J Immunol.* **172**: 6751–6763, 2004.
16. Kaufman J, Milne S, Gobel TW, Walker BA, Jacob JP, Auffray C, Zoorob R, Beck S: The chicken B locus is a minimal essential major histocompatibility complex. *Nature* **401**: 923–925, 1999.
17. Hosomichi K, Shiina T, Tanaka M, Suzuki S, Shimizu S, Hara H, Yoshida Y, Hanzawa K, Kulski JK, Inoko H: Quail major histocompatibility complex (MHC) class II segment has a flexible genome structure to generate MHC diversity than chicken one. Submitted, 2006.
18. Westerdahl H, Wittzell H, von Schantz T: Mhc diversity in two passerine birds: no evidence for a minimal essential Mhc. *Immunogenetics* **52**: 92–100, 2000.
19. Moon DA, Veniamin SM, Parks-Dely JA, Magor KE: The MHC of the duck (*Anas platyrhynchos*) contains five differentially expressed class I genes. *J Immunol.* **175**: 6702–6712, 2005.
20. 椎名隆, トリの MHC, *MHC*, **4**: 146–154, 1998.
21. Shiina T, Dijkstra JM, Shimizu S, Watanabe A, Yanagiya K, Kiryu I, Fujiwara A, Nishida-Umehara C, Kaba Y, Hirono I, Yoshiura Y, Aoki T, Inoko H, Kulski JK, Ototake M. Interchromosomal duplication of major histocompatibility complex class I regions in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), a species with a presumably recent tetraploid ancestry. *Immunogenetics* **56**: 878–893, 2005.
22. Matsuo MY, Asakawa S, Shimizu N, Kimura H, Nonaka M: Nucleotide sequence of the MHC class I genomic region of a teleost, the medaka (*Oryzias latipes*). *Immunogenetics* **53**: 930–940, 2002.
23. Kasahara M, Hayashi M, Tanaka K, Inoko H, Sugaya K, Ikemura T, Ishibashi T: Chromosomal localization of the proteasome Z subunit gene reveals an ancient chromosomal duplication involving the major histocompatibility complex. *Proc Natl Acad Sci USA.* **93**: 9096–9101, 1996.
24. Abi-Rached L, Gilles A, Shiina T, Pontarotti P, Inoko H: Evidence of en bloc duplication in vertebrate genomes. *Nat Genet.* **31**: 100–105, 2002.
25. Ohta Y, Goetz W, Hossain MZ, Nonaka M, Flajnik MF: Ancestral organization of the MHC revealed in the amphibian *Xenopus*. *J Immunol.* **176**: 3674–3685, 2006.
26. Trowsdale J: “Both man & bird & beast”: comparative organization of MHC genes. *Immunogenetics* **41**: 1–17, 1995.

● シンポジウム印象記 ●

第2回動物 MHC シンポジウム 「家畜 MHC 研究の現状と将来」を振り返って

中西 照幸

日本大学生物資源科学部

平成 18 年 3 月 30 日、「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、第 2 回目の動物 MHC シンポジウムが第 106 回畜産学会のシンポジウムとして九州大学箱崎キャンパスにおいて開催された。今年は例年になく寒い日が続き、3 月末にも拘わらず福岡においても桜が未だつぼみのままであった。会場には暖房が入っておらず震えながらのシンポジウムではあったが 80 名以上の参加者が集い熱い討議が行われた。

昨年理化学研究所において開催された第 1 回目の

シンポジウムは、いわば動物 MHC 研究会の旗揚げ式のようなもので、我が国における各生物種の MHC 研究者が一堂に会して、最新情報の交換と相互の理解を深めることを目的として開催された (MHC Vol. 12, No. 1, p. 59–61 にシンポジウム印象記として紹介されている)。一方、今回のシンポジウムでは家畜の MHC 研究に焦点を当て、育種や抗病性解析に寄与するために今後の家畜 MHC 研究の方向性と戦略について討論することを目的とした。

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—プログラム

座長： 国枝哲夫(岡山大学), 中西照幸(日本大学)

1. シンポジウムの開催にあたって(理化学研究所 間陽子)
2. ヒト MHC 遺伝子群の特徴(東京医科歯科大学 木村彰方)
3. ブタ MHC 領域のゲノム解析と畜産学分野における応用(東海大学 安藤麻子)
4. ウシ MHC 領域の構造、機能と抗病性(理化学研究所 竹嶋伸之輔・間陽子)
5. マウス MHC とレトロウイルス感染抵抗性(近畿大学 宮澤正顕)

座長： 向山明孝(日本獣医生命科学大学), 上西博英(農業生物資源研究所)

6. ニワトリおよびウズラ MHC 領域のゲノム構造と多様性(東海大学 細道一善)
7. 魚類 MHC の構造および機能と抗病性との関連(日本大学 中西照幸・水産総合研究センター養殖研 乙竹充)
8. 家畜 MHC 領域の比較ゲノム解析(東海大学 椎名隆)

座長： 木村彰方(東京医科歯科大学), 間 陽子(理化学研究所)

9. 総合討論

まず、動物 MHC 研究会会長の理化学研究所間陽子先生より、家畜の MHC 領域には多くの経済有用

形質や抗病性関連遺伝子が多数マップされているが、これらの形質や疾患の責任遺伝子の同定には至って

筆者連絡先 〒252-8510 神奈川県藤沢市亀井野 1866
日本大学生物資源科学部獣医学科魚病学研究室
中西 照幸

電話 0466-84-3383
F A X 0466-84-3380
E-mail tnakanis@brs.nihon-u.ac.jp

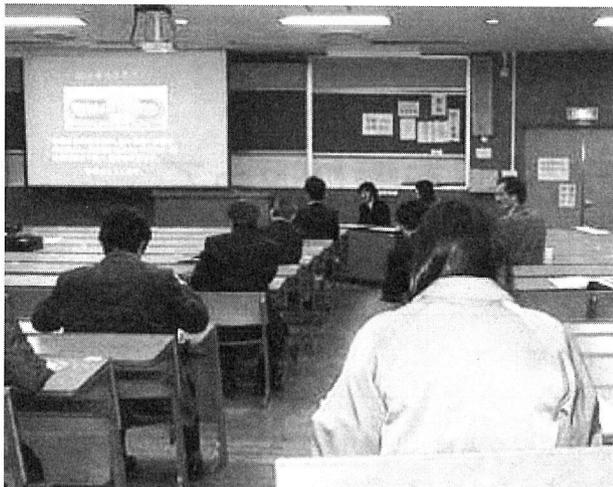


写真1 活気溢れるシンポジウムの風景

いない。しかし、最近、家畜のゲノム配列解読が進展し、経済形質や疾患の責任遺伝子を同定する展望が出てきたという本シンポジウムの開催の趣旨が述べられた。

前半のセッションの最初のスピーカーは東京医科歯科大学木村彰方先生で、ヒト MHC 遺伝子群の特徴について話された。MHC 研究の歴史から説き起こして最近のマイクロサテライトマーカーを用いた疾患感受性遺伝子の同定、HLA super type と HIV、MHC クラス I ハプロタイプと SIV に対する抵抗性あるいは感受性との関連、HLA-ABC 等は CD8 陽性 T 細胞や NK 細胞の機能に関与しているが、HLA 以外の分子もこれらの免疫担当細胞の機能に関与していることなど、大変興味深い話をして下さった。

次に、ブタ、ウシ、マウスなどの哺乳類における MHC 領域の構造、機能と抗病性に関する講演が行われた。東海大学安藤麻子先生より、ブタ MHC 領域のゲノム解析と畜産学分野における応用と題して、1) ブタの MHC (SLA) には疾患に対する抗病性や各種の経済形質がマップされ畜産学分野の育種において重要である。2) ヒトへの異種移植ドナーとして注目されるとともに肥満や糖尿病などの疾患モデル動物として多用されている。3) SLA 全領域のゲノム塩基配列解読が完了し、2.4 Mb の SLA 領域には 151 個の遺伝子が同定され、ヒト HLA 領域と同様に高い遺伝子密度を示すことが報告された。最後に、マイクロサテライトマーカーなど抗病性品種の選択

や経済形質に関連した有用な多型マーカーの分離を目指した解析が紹介された。

引き続き、ウシ MHC 領域の構造、機能と抗病性について理化学研究所竹嶋伸之輔氏より話題提供がなされた。先ずウシ、ヤギおよびヒツジでは、ヒトやマウスに存在する *DPA* および *DPB* 遺伝子の代わりに *DYA* および *DYB* 遺伝子を有し、クラス II 領域がクラス IIa と IIb 領域の 2 つに大きく分断されているという反芻動物の MHC の特徴が述べられた。次に、ウシ MHC (BoLA) クラス II 遺伝子について正確・迅速にアレルのタイピングを可能にする手法を開発し、品種におけるアレル頻度を明らかにし、これに基づいたウシ品種間の系統的解析、地方病性牛白血病 (EBL) の発症と BoLA クラス II の相関、疾患感受性の個体差の生成機構に関する最近の研究成果が報告された。

前半のセッションの最後に、近畿大学宮澤正顕先生よりマウス MHC とレトロウイルス感染抵抗性と題して、MHC 遺伝子型と疾患感受性との関係が病因抗原に対する T リンパ球応答制御の面から分子レベルで明らかになったことが述べられた。その中で特に、1) クラス II 遺伝子型は CD4 陽性 T 細胞によるウイルス抗原エピトープ認識に直接影響するが、クラス I は CD8 陽性 T 細胞によるウイルス抗原エピトープ認識に必要であるが、細胞傷害性 T リンパ球による感染細胞排除はウイルス感染防御に必須ではない、2) クラス I 遺伝子型が T 細胞からのサイトカイン産生を制御している可能性がある、3) SLE において DR そのものではなく DR と連鎖不平衡にある補体が重要である、4) クラス Ib は NK 細胞活性の制御を介して、フレンドウイルス感染抵抗性に影響を及ぼしている、など大変興味深い知見が紹介された。

後半のセッションでは、鳥類および魚類の MHC の構造及び機能と抗病性との関連について話題提供がなされた。東海大学細道一善氏より、ニワトリおよびニホンウズラ MHC 領域の多様性解析と題して、1) 現在ゲノム解析が進んでいるニワトリ MHC 領域について古典的 MHC (B) 領域と非古典的 MHC (Y) 領域合わせて 600 kb のゲノム配列が決定し 90 個の遺伝子を同定されたこと、2) Y 領域に位置する

MHC-I, MHC-IIb, C型レクチン様遺伝子は不規則な遺伝子重複により形成されており、単純と考えられていたニワトリのMHC領域は実は複雑なゲノム構造を有していること、3) MHCクラスI遺伝子近傍にヒッチハイキング効果の影響を受けていると考えられる遺伝子が認められることなどが報告された。また、ウズラMHC-IやMHC-IIb領域において高度な遺伝子重複が認められ、ニワトリではみられない遺伝子が存在し複雑な遺伝子構造を有するなど、ニワトリとウズラにおいて相違が認められることが紹介された。

筆者は、魚類MHCの構造及び機能と抗病性との関連について話題提供し、1) 硬骨魚類の場合クラスI, クラスIIおよび補体遺伝子における連鎖がみられず複合体を形成していないが、軟骨魚類においては両生類以上の脊椎動物と同様に連鎖している、2) 魚類のレベルでもクラスI遺伝子が多型性に富み、多様性是对立遺伝子間における著しい組み換えにより生じている、3) サケ科魚類において抗病性とMHCとの関係が最近いくつか明らかになってきたことなどを報告した。また、魚類において最近注目されている、仲間相互の識別、雌雄間におけるパートナーの選択、摂餌行動や攻撃行動等とMHCの関係を紹介した。

後半のセッションの最後に、東海大学椎名隆先生が家畜MHC領域の比較ゲノム解析と題して、1) ヒトゲノムの進化形成過程ならびに疾患感受性遺伝子の生成機序解明のモデル領域としてMHC領域が好都合であること、2) ヒトのMHC領域の特徴(遺伝子密度が極めて高く、免疫関連遺伝子が多く含まれ、100を超える疾患感受性を規定し、最大の多型性を示し、遺伝子重複の痕跡がみられる)を理解するには、MHCの起源に遡って進化学的な見地から解析することが重要であることを幾つかの比較ゲノム解析例を示して述べられた。また、これまでvariationとしてしか捉えきれなかった遺伝子の変異について、ゲノム解析により遺伝子座の同定に基づいた対立遺伝子のPolymorphismとして解析出来るようになり、家畜におけるMHCと疾病抵抗性との関連に関する研究において、新しい地平が切り開かれつつあることが述べられた。

最後の総合討論においては、1) 遺伝子重複の様相が種によってかなり異なり、構造的な類似性(対比)からだけでは機能を推論できない。それぞれの遺伝子について機能を調べる必要がある、2) 抗体産生等においてMHC以外の遺伝子が抗病性に関与していることが判っている、3) MHCが多型に富むために多く記載されてきたが、先ずMHCと疾患との関連を解析した上で他の疾患感受性遺伝子を同定すべきである。4) MHCと疾患との相関は結果であって原因ではない。機能を調べるべきである、などの意見が出された。また、5) ヒトやマウスの後追いをするのはなく、種の特異性を生かして新しい分野を切り拓いて行くべきである。

実を云うと、今回のシンポジウムにおける講演や総合討論に参加するまでは、家畜におけるMHCと抗病性に関する研究は、産業動物においてもゲノム解析が進んできたことから、ヒトHLAにおける研究に倣って進めていけば良いものと考えていた。しかし、講演や総合討論の中で指摘されたように、MHC領域の構造や遺伝子の機能が種によってかなり異なることから、家畜を含めた動物MHC研究を進めていく上では、むしろ種の特異性を生かした研究が重要であることを知り、あらためて動物MHC研究の独自性と意義を悟った次第である。また、今回のシンポジウムにおいてMHC領域以外の免疫関連遺伝子に多型が認められ疾患感受性あるいは抵抗性と関連していることが指摘され、MHC領域に留まらずゲノムワイドな解析の重要性を認識した。



写真2 シンポジウム後の懇親会の風景

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 Lin²⁾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

個人的な研究の歴史の話で恐縮ですが、私の疾患関連遺伝子を見つける研究は、疾患遺伝子の宝庫である HLA 領域を対象に、1985 年の HLA 遺伝子のクローニング以来、長年行ってきました。しかし、2001 年頃より、ヒトゲノムの塩基配列の決定をはずみに、HLA 領域から、より網羅的に、より多くの疾患遺伝子を求めて海のように広大なゲノムワイドに向けて探索をはじめました。ご存知のようにゲノムワイドな研究は膨大な人手と研究費を費やすものの、HLA 遺伝子に匹敵するような疾患発症に強く関わる疾患関連遺伝子は、いまだにたまりません。なんとかして、疾患関連遺伝子を捕まえても、疾患発症への寄与は HLA に比べて弱く、またその機能や疾患発症機序を探るのはさらに多くの努力を要し、結局は機能不明遺伝子としてそれ以上解析が困難な場合がしばしばです。したがって、ポストゲノムのゴールである、疾患関連遺伝子から至適な標的を選別し、ゲノム創薬を目指すことができるのはまだまだ多くの年月を要しそうです。その点、HLA はさまざまな疾患発症に関与し、その機能は免疫応答分子としておおまかにはわかっていますし、疾患発症 HLA アリルに対する薬などの低分子設計についても、HLA の立体構造もよくわかっていますので、困難な作業ではないように思います。なによりも、ある HLA アリルに対する低分子設計に成功したら、他の疾患感受性 HLA アリルを設計できるのも容易なことは強みです。疾患動物モデルの構築、低分子設計、設計した低分子の機能検証実験、動物モデルを用いた前臨床試験、さらにその後の最終的な創薬へ

のハードルも低いように思えます。いかに、HLA 系がポストゲノムや臨床医学として優れた対象であるかが、伺われます。HLA 学の深さ、美しさ、魅力に惹かれて、惚れ直す喜びを味わいつつ、船出した母港に戻りつつある心境です。

猪子英俊

「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 8 月 31 日発行 13 巻 2 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