

# MHC

日本組織適合性学会誌

## Major Histocompatibility Complex

Vol. 14 No. 2, 2007

### Contents

#### 第 16 回日本組織適合性学会大会プログラム

ご案内 .....	88
プログラム .....	93
基調講演・特別講演・教育講演 .....	111
シンポジウム .....	117
会員研究発表 .....	131
平成 19 年度認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ .....	159
平成 19 年度認定組織適合性指導者講習会 .....	160
第 6 回日本組織適合性学会・近畿地方会のご案内 .....	161
[シリーズ: MHC の比較ゲノム]	
アライグマ MHC の地理的分布 .....	高田雄三, 的場洋平, 浅川満彦 163
[シリーズ: 移植医療と組織適合性]	
第 2 回	
同種造血幹細胞移植におけるマイナー組織適合性抗原の臨床的意義 .....	村田 誠 177
腎移植における抗 HLA 抗体の役割 .....	田邊一成 191
[原著論文]	
特発性血小板減少性紫斑病におけるヘリコバクター・ピロリ菌除菌療法と HLA クラス II アリルとの関係 .....	野村昌作 201
日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定 .....	209
編集後記 .....	212

# ● Contents ●

日本組織適合性学会誌 第 14 巻第 2 号 平成 19 年 8 月 10 日発行

## 第 16 回日本組織適合性学会大会プログラム

ご案内 .....	88
プログラム .....	93
基調講演・特別講演・教育講演 .....	111
シンポジウム .....	117
会員研究発表 .....	131
平成 19 年度認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ .....	159
平成 19 年度認定組織適合性指導者講習会 .....	160
第 6 回日本組織適合性学会・近畿地方会のご案内 .....	161
[シリーズ: MHC の比較ゲノム]	
アライグマ MHC の地理的分布 .....	高田雄三, 的場洋平, 浅川満彦 163
[シリーズ: 移植医療と組織適合性]	
第 2 回	
同種造血幹細胞移植におけるマイナー組織適合性抗原の臨床的意義 .....	村田 誠 177
腎移植における抗 HLA 抗体の役割 .....	田邊一成 191
[原著論文]	
特発性血小板減少性紫斑病におけるヘリコバクター・ピロリ菌除菌療法と	
HLA クラス II アリルとの関係 .....	野村昌作 201
日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定 .....	209
編集後記 .....	212

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

JSHI

## 日本組織適合性学会誌 MHC 編集委員会

### 編集委員長

高原 史郎

大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学

### 編集委員

赤座 達也

特定非営利活動法人 HLA 研究所

一戸 辰夫

京都大学医学部附属病院血液腫瘍内科

江川 裕人

京都大学医学部附属病院臓器移植医療部

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

佐治 博夫

特定非営利活動法人 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

下嶋 典子

奈良県立医科大学細菌学教室

椿 和央

近畿大学医学部奈良病院血液免疫内科

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

難波 行臣

兵庫県立西宮病院泌尿器科

### 編集協力者

安藤 麻子

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

石川 善英

日本赤十字社血液事業本部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

猪子 英俊

東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門

太田 正穂

信州大学医学部法医学教室

大谷 文雄

北里大学医学部免疫学講座

小河原 悟

福岡大学病院腎臓・膠原病内科

小幡 文弥

北里大学医療衛生学部免疫学

柏瀬 貢一

東京都赤十字血液センター検査部

小林 賢

日本薬科大学 生物学研究室

酒巻 建夫

国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室

杉谷 篤

九州大学大学院医学系研究科臨床腫瘍外科学分野

千住 覚

熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学分野

田中 秀則

東京都赤十字血液センター検査部

田邊 一成

東京女子医科大学泌尿器科

徳永 勝士

東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野

中島 文明

日本赤十字社中央血液研究所研究開発部

永尾 暢夫

神戸常盤短期大学衛生技術科

西村 泰治

熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学講座

平山 謙二

長崎大学熱帯医学研究所環境医学部門疾病生態分野

森島 泰雄

愛知県がんセンター中央病院

安波 道郎

長崎大学熱帯医学研究所国際連携研究戦略本部

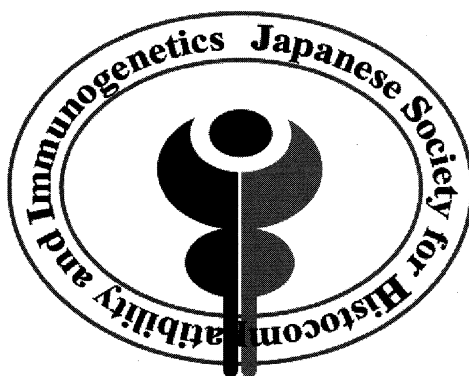
屋部登志雄

東京都赤十字血液センター製剤部

# 第 16 回 日本組織適合性学会大会

The 16th Japanese Society for  
Histocompatibility and Immunogenetics (JSHI)  
Annual Meeting

「MHC と HLA 抗体新時代—臨床への展開」



大会長 赤座 達也 特定非営利活動法人 HLA 研究所

会 期 2007 年 9 月 9 日(日)～9 月 11 日(火)

会 場 ぱるるプラザ京都

〒600-8216 京都市下京区東洞院通七条下ル東塩小路町 676 番 13

TEL: 075-352-7444 FAX: 075-352-7390

事務局 特定非営利活動法人 HLA 研究所

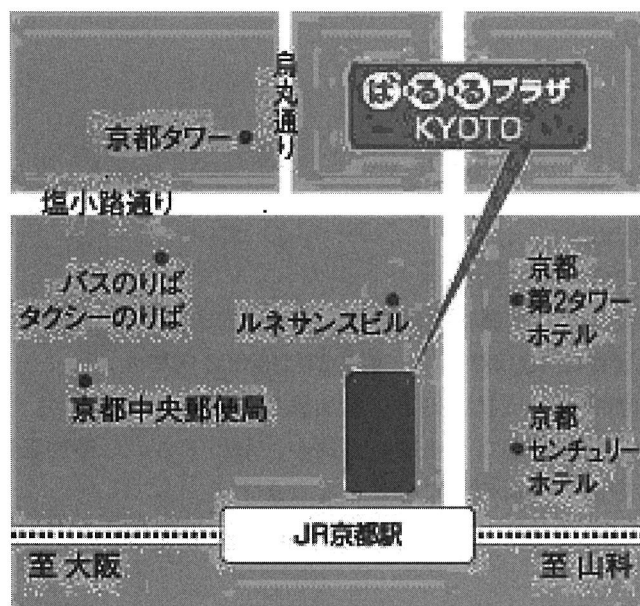
〒606-8396 京都市左京区川端通丸太町下ル下堤町 82

TEL: 075-762-5201 FAX: 075-762-5202

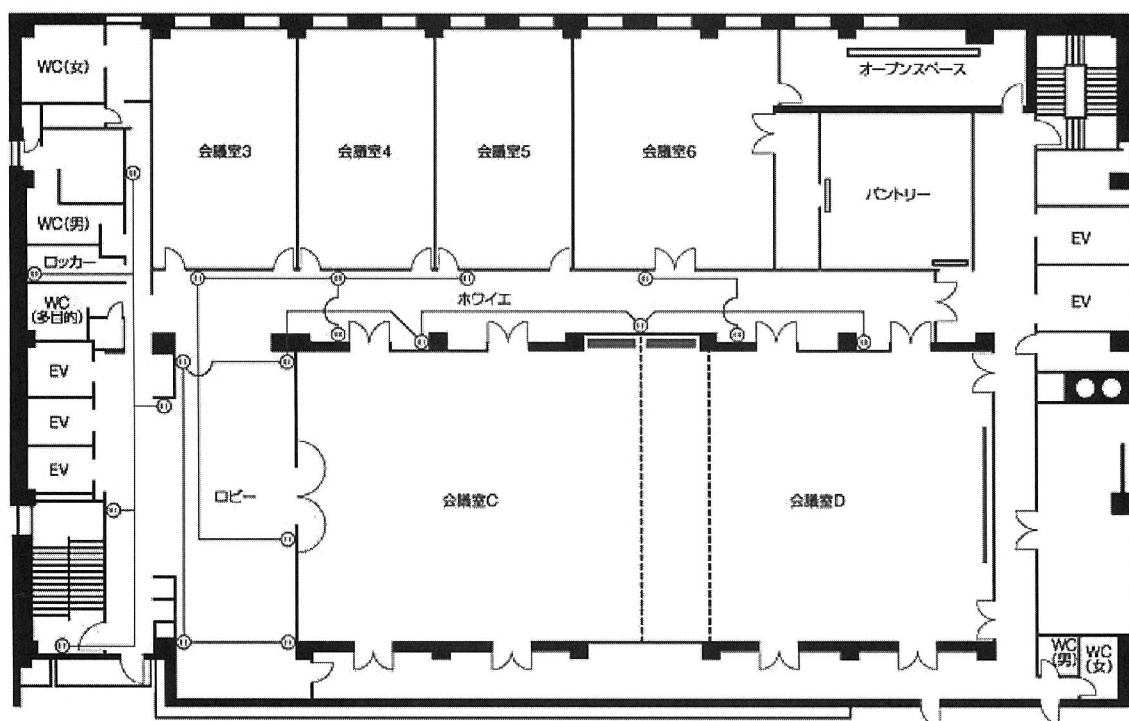
e-mail: 16jsHI-jimu@hla.or.jp



## 会場案内図



## 会場図(ぱるるプラザ 6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9日(日) 12:00~17:00

9月10日(月) 9:00~17:00

9月11日(火) 9:00~12:00

##### 2) 事前登録者: 事前登録受付にて受領書提示の上、参加証をお受け取り下さい。

##### 4) 当日参加費: 理事・評議員は 10,000 円、一般会員は 8,000 円です。

それぞれの受付にて参加費をお支払いの上、参加証をお受け取り下さい。

##### 5) ネームカードが参加証兼領収書となります。会期中、着用下さい。参加証は認定 HLA 検査技術者・認定組織適合性指導者の申請・更新の際に必要となります。

##### 6) 学会にはこの抄録集(本号)をお持ち下さい。学会期間中、総合受付にて一部 2,000 円にて頒布も致します。

##### 7) 日本組織適合性学会への入会手続きは大会会場では行っておりません。

#### 2 懇親会

日 時: 9月10日(月) 18:30~20:00

会 場: ぱるるプラザ京都 5 階(大会会場の下の階です)

参加費: 2,000 円

多くの皆様のご参加をお待ちしております。参加希望される方は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, ランチョンセミナーの発表者は、指定された時間内での発表をお願いいたします。

##### 2) ワークショップ (2), (3) の口演発表者は発表 8 分, 討論 4 分です。

##### 3) ポスター発表者は発表 6 分, 討論 4 分です。

#### 2 口演発表(講演, シンポジウム, ワークショップ, ランチョンセミナー)

##### 1) 発表は PC (パソコン) による発表のみにさせていただきます。

スライドは、使用できませんのでご注意ください。

原則として、ウインドウズ PowerPoint とし USB メモリーによるメディア持込みだけとさせていただきます。発表データに動画がある場合は事前に事務局とご相談ください。

◆発表データのファイル名は、「【演題番号】【氏名】」としてください。

◆会場では、演者ご自身で演台上の機材を操作していただきます。

◆提出後のデータの変更等は出来ません。

##### 2) 発表の 30 分前までに会場前のスライド受付にて、試写で確認した後、担当者にメモリをお渡しください。

#### 3 ポスター発表

##### 1) ポスター会場は、6 階会議室 D, 会議室 6 の 2 ヶ所です。指定された場所に掲示してください。

##### 2) パネルのサイズは、幅 90 cm, 高さ 210 cm です。演題番号は事務局で用意しますが、演題名, 所属, 氏

名は演者をご用意下さい。ポスター貼付用の画鋏は会場に置いてあります。

- 3) ポスター貼付・撤去は、下記の時間内にお願いします。所定時間内に撤去されない場合は事務局で処分させていただきますので、ご了承下さい。

◆貼付時間: 9月10日(月) 9:00-12:00

◆撤去時間: 9月11日(火) 16:00-17:00

- 4) 9月11日(火)13:30-16:00にポスター発表を行います。演者は所定の討論時間帯にポスター会場に待機して下さい。

お願い

- 1 発表時間、質疑応答時間を遵守下さい。
- 2 会場内での携帯電話のご使用はご遠慮下さい。
- 3 参加者の呼び出しはロビーの掲示板で行います。

### QC ワークショップ集会

日 時: 9月9日(日) 13:00-15:00

会 場: 6階 会議室 C

参加費: QCWS 参加者および集会のみ参加者で、既に参加費を振り込んでおられる方は受付にて参加証をお受け取り下さい。

当日、集会のみ参加希望の方は当日受付にて参加費 2,000 円をお支払い下さい。但し QC ワークショップ資料を受け取れないことがありますのでご了承下さい。

### 認定制度技術者講習会

日 時: 9月9日(日) 16:30-18:30

場 所: 6階 会議室 C

参加費: 2,000 円(テキスト代を含む)、既に参加費を振り込んでいる方は、受付にて出席確認を済ませてから御入場下さい。当日参加も可能ですが、講習会資料を受け取れないことがありますので御了承ください。

内 容: 臓器移植と HLA—組織適合性検査と HLA 抗体—

佐藤 壮 (札幌北楡病院 臨床検査科)

骨髄バンクにおける HLA 適合の考え方

加藤 和江 (日本赤十字社 中央骨髄データセンター)

造血幹細胞移植の臨床

日野 雅之 (大阪市立大学大学院医学研究科 血液病態診断学)

### 認定制度指導者講習会

第 16 回日本組織適合性学会大会中の下記の 5 題のうちから 3 題以上の聴講をもって、指導者認定あるいは認定更新に必要な講習を受講したものと認めます。なお、会場の入り口付近に準備してあります受講者記帳名簿へのサインをもって受講証明といたします。

1. 基調講演: P. I. Terasaki 「New evidence that *de novo* antibodies produced after transplantation causes chronic graft failure」
2. 特別講演: 木村 彰方「難治性循環器疾患の病因と病態形成機構の解明に向けて」
3. 教育講演: 徳永 勝士「HLA の多様性に学ぶ」

4. Terasaki: シンポジウム「HLA 抗体のエピトープ解析—妊娠・輸血・移植による HLA 抗体のエピトープとは」
5. ワークショップ: 「ようこそ組適塾へ!」

#### 認定制度技術者・指導者筆記試験

日 時: 9月9日(日)15:15-16:15

場 所: 6階 会議室 4

#### 認定制度指導者面接

日 時: 9月9日(日)16:15-16:30

場 所: 6階 会議室 4

#### 認定制度技術者筆記模擬試験

日 時: 9月9日(日) 15:15-16:15

場 所: 6階 会議室 C

#### 会議等日程

- |           |                                  |
|-----------|----------------------------------|
| 1 理事会     | 9月9日(日) 10:00-11:30<br>6階 会議室 4  |
| 2 評議員会    | 9月9日(日) 18:30-19:30<br>6階 会議室 4  |
| 3 総会      | 9月11日(火) 13:00-13:30<br>6階 会議室 C |
| 4 認定制度委員会 | 9月9日(日) 19:30-20:45<br>6階 会議室 4  |
| 5 QCWS 部会 | 9月9日(日) 11:45-12:45<br>6階 会議室 6  |

#### 機器展示

日 時: 9月10日(月) 9:00-17:00

9月11日(火) 9:00-16:00

会 場: 6階 会議室 D

#### 展示会社

株式会社医学生物学研究所

株式会社キアゲン

株式会社ベリタス

株式会社リプロセル

日立ソフトウェアエンジニアリング株式会社

プロメガ株式会社

ミネルバテック株式会社

湧永製薬株式会社

ワットマンジャパン株式会社

## 第16回日本組織適合性学会大会 スケジュール

第1日(9月9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
6階・会議室C						QCWS		模擬試験		技術者講習会			
6階・会議室D						展示搬入							
6階・会議室6					QC部会			スポンサー シンポジウム					
6階・会議室4			理事会					筆記試験	面接	採点	評議 員会	認定制度 委員会	

## 第2日(9月10日)

6階・会議室C	WS:臨床に関 わるHLA抗体	基調講演	ランチョン セミナー1	Terasakiシンポジウム	教育講演	WS ようこそ組適塾へ	
6階・会議室D	展示・ポスター						
6階・会議室6	ポスター						
5階							懇親会

## 第3日(9月11日)

6階・会議室C	WS 疾患とHLA	特別講演	ランチョン セミナー2	総会										
6階・会議室D	展示・ポスター				ポスター—討論									
6階・会議室6	ポスター—				ポスター—討論									
	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	
6階・会議室3	クローク				6階・会議室4				6階・会議室5				大会事務局	



# プログラム



---

**基調講演****9月10日(月)11:00~12:00**

---

**座長** 十字猛夫(日本赤十字社中央血液研究所名誉所長)KP 「New evidence that *de novo* antibodies produced after transplantation causes chronic graft failure」

Paul I. Terasaki      Terasaki foundation Laboratory

---

**特別講演****9月11日(火)11:00~12:00**

---

**座長** 西村泰治(熊本大学)

SL 「難治性循環器疾患の病因と病態形成機構の解明に向けて」

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

---

**教育講演****9月10日(月)15:15~16:15**

---

**座長** 猪子英俊(東海大学)

EL 「HLA の多様性に学ぶ」

徳永勝士      東京大学医学系研究科 人類遺伝学分野

---

**Terasaki シンポジウム****「HLA 抗体のエピトープ解析」****9月10日(月)13:00~15:00**

---

**座長** 赤座達也(HLA 研究所)

十字猛夫(日本赤十字社中央血液研究所名誉所長)

S1-1 「エピトープ解析の基礎」

中島文明      日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

S1-2 「妊産婦血の HLA 抗体エピトープ解析」

丸屋悦子      特定非営利活動法人 HLA 研究所

S1-3 「血小板輸血不応症例に見られた HLA 抗体のエピトープ解析

—広範囲の特異性を示す HLA 抗体の解析—」

田中秀則      東京都赤十字血液センター 検査部 検査三課

S1-4 「臓器移植分野における HLA 抗体 その特性とエピトープ解析」

佐藤 壮      特定医療法人北楡会 札幌北楡病院 臨床検査科

追加発言「HLA class I epitopes: 103 total epitopes to-date including the C locus」

Nadim El-Awar<sup>1)</sup>, Paul I. Terasaki<sup>2)</sup>.

1) One Lambda Inc.

2) Terasaki Foundation Laboratory.

---

## ワークショップ(1)

### 「ようこそ組適塾へ」

---

9月10日(月)16:30~18:30

コーディネーター 佐治博夫(HLA 研究所)

#### W1 話題提供

一戸辰夫 京都大学医学部付属病院血液腫瘍内科  
高原史郎 大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学

---

## ワークショップ(2)

### 「臨床に関する HLA 抗体」

---

9月10日(月)9:30~10:45

座長 前田平生(埼玉医科大学)  
小林孝彰(名古屋大学)

#### W2-1 リンパ球クロスマッチで検出できる non-HLA 抗体陽性症例と検出できない non-HLA 抗体陽性症例の移植予後について

○橋本光男, 木下朋子, 岸川英史, 濱部敦史, 山内洋子, 奥野綾子,  
藤井直彦, 有地直子, 徳川茂樹, 難波行臣, 西村憲二, 市川靖二  
兵庫県立西宮病院・腎疾患総合医療センター

#### W2-2 当科における腎移植後の抗体関連型拒絶と組織適合性検査の意義

○岡部安博, 杉谷 篤, 北田秀久, 吉田淳一, 土井 篤, 西岡泰信,  
升谷耕介, 鶴屋和彦, 宮本京子, 清島久美, 田中雅夫  
九州大学腎疾患治療部, 臨床・腫瘍外科  
同 遺伝子・細胞療法部

#### W2-3 NIMA 抗体陽性の児に対し rituximab と大量血小板輸血後, 母児間移植を行い生着を得た一例 —Flow PRA, Luminex 法における抗 HLA 抗体価の推移—

○谷口享子, 島崎千尋, 志村和穂, 松本洋典, 堀池重夫, 谷脇雅史,  
稲葉 亨, 丸屋悦子<sup>2)</sup>, 佐治博夫<sup>2)</sup>  
京都府立医科大学血液・腫瘍内科, 分子病態検査医学  
2) HLA 研究所

#### W2-4 非溶血性輸血副作用と HLA 抗体(1)

—日本人の HLA 抗原頻度で換算した反応陽性率(%PRA)について

中島文明, ○松田利夫, 橋本志歩, 鎌田裕美, 河村久美子, 岡崎 仁,  
田所憲治

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

## W2-5 非溶血性輸血副作用と HLA 抗体(2)

—精製抗原試薬で検出する微弱な HLA 抗体について

○中島文明, 橋本志歩, 鎌田裕美, 河村久美子, 松田利夫, 岡崎 仁,  
田所憲治

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

## ワークショップ(3)

## 「疾患と HLA」

9月11日(火)9:30~10:45

座長 石谷昭子(奈良医科大学)  
安波道郎(長崎大学)

## W3-1 IL-10 遺伝子多型と原爆放射線被曝の胃がん発症リスクに及ぼす影響

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

## W3-2 IKBL は選択的スプライシング効率に関与する

柴田宏樹, ○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

## W3-3 HLA-DQ におけるトランスダイマー形成パターンの解析とヒトナルコレプシー感受性への干与

○宮寺浩子, 徳永勝士

東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学教室

## W3-4 顕微鏡的多発血管炎(MPA)の疾患感受性と KIR-HLA 遺伝子多型

○宮下リサ<sup>1)</sup>, 土屋尚之<sup>2)</sup>, 屋部登志雄<sup>3)</sup>, 小林茂人<sup>4)</sup>, 橋本博史<sup>4)</sup>,  
尾崎承一<sup>5)</sup>, 徳永勝士<sup>1)</sup>

1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室

2) 筑波大学大学院社会環境医学専攻

3) 東京都赤十字血液センター

4) 順天堂大学膠原病内科

5) 聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科

## W3-5 HLA-DP 遺伝子は C 型肝炎ウイルス陽性肥大型心筋症と関連する

○志知大輔<sup>1)</sup>, 松森 昭<sup>2)</sup>, 高橋めぐみ<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態

2) 京都大学大学院医学研究科循環器内科学

3) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

---

スポンサードシンポジウム

9月9日(日)15:00~17:00

「既存抗体陽性症例と臓器移植—その診断・治療に対する有用性について—」

共催 三菱ウェルファーマ株式会社

株式会社ベネシス

---

座長 高原史郎(大阪大学)

佐田正晴(国立循環器病センター)

S2-1 オーバービュー

小林孝彰 名古屋大学医学部免疫機能制御学

S2-2 腎臓

田邊一成 東京女子医科大学泌尿器科

S3-3 肝臓

江川裕人 京都大学医学部付属病院臓器移植医療部

S4-4 心臓

佐田正晴 国立循環器病センター再生医療部

---

ランチョンセミナー(1)

9月10日(月)12:00~13:00

「抗体検査における Single Antigen による同定の重要性」

共催 株式会社ベリタス

---

座長 小川公明(株式会社ベリタス)

LS1-1 「LABScreen PRA 試薬で判定困難な検体の Single Antigen 試薬による同定の有用性」

松本佳子 株式会社ベリタス 技術営業部

LS1-2 「腎移植におけるフローサイトメトリーを使用した HLA 抗体検査」

宮本京子 九州大学病院 遺伝子・細胞治療部

---

ランチョンセミナー(2)  
「WAK Flow HLA 抗体について」

9月11(火)12:00~13:00

共催 湧永製薬株式会社

座長 加藤邦樹(湧永製薬株式会社)

LS2-1 「WAKFlow®HLA 抗体クラス I (MR) の紹介」

川井信太郎 湧永製薬株式会社 バイオ事業開発部

LS2-2 「Wak Flow HLA 抗体の使用経験」

宮崎 孔 北海道赤十字血液センター 検査部 検査3課

## 会員研究発表(ポスター)

---

### 臨床に関する HLA 抗体—1

9月10日(火)13:30~14:10

座長 永尾暢夫(神戸常盤短期大学)

- P1-01 抗 HNA-1a モノクローナル抗体 TAG1 と CLB-gran11.5 が認識するエピトープについて  
—顆粒球抽出抗原を用いたウエスタンブロッティング法による検討—

○荒木延夫<sup>1)</sup>, 川井信太郎<sup>2)</sup>, 西村千恵<sup>1)</sup>, 稲葉洋行<sup>1)</sup>, 南 裕史<sup>1)</sup>,  
井本しおん<sup>1)</sup>, 馬淵 理<sup>1)</sup>, 谷口菊代<sup>3, 4)</sup>

1) 兵庫県赤十字血液センター

2) 湧永製薬創薬研究所

3) 広島医学技術専門学校

4) 山陽女子短期大学

- P1-02 非溶血性輸血副作用と HLA 抗体(1)

—日本人の HLA 抗原頻度で換算した反応陽性率(%PRA)について

中島文明, ○松田利夫, 橋本志歩, 鎌田裕美, 河村久美子, 岡崎 仁,  
田所憲治

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

- P1-03 非溶血性輸血副作用と HLA 抗体(2)

—精製抗原試薬で検出する微弱な HLA 抗体について

○中島文明, 橋本志歩, 鎌田裕美, 河村久美子, 松田利夫, 岡崎 仁,  
田所憲治

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

- P1-04 自己 HLA 抗原のサブタイプに対する抗体が認められた症例

○関根みゆき<sup>1)</sup>, 藤原孝記<sup>1)</sup>, 峯元睦子<sup>1)</sup>, 市原孝浩<sup>1)</sup>, 柏瀬貢一<sup>1)</sup>,  
礪波 薫<sup>1)</sup>, 島野佳恵<sup>1)</sup>, 田中秀則<sup>1)</sup>, 内川 誠<sup>1)</sup>, 佐竹正博<sup>1)</sup>,  
谷川 宗<sup>2)</sup>, 中島一格<sup>1)</sup>

1) 東京都赤十字血液センター

2) 東京都立豊島病院 輸血科

---

### 臨床に関する HLA 抗体—2

9月10日(火)14:10~15:00

座長 杉谷 篤(九州大学)

- P1-05 リンパ球クロスマッチで検出できる non-HLA 抗体陽性症例と検出できない non-HLA 抗体陽性症例の移植予後について

○橋本光男, 木下朋子, 岸川英史, 濱部敦史, 山内洋子, 奥野綾子,  
藤井直彦, 有地直子, 徳川茂樹, 難波行臣, 西村憲二, 市川靖二  
兵庫県立西宮病院・腎疾患総合医療センター

P1-06 過去5年間の東北地区献腎移植希望登録者における HLA 抗体の陽性率とその推移

○小野 智, 菊地正美, 菅原亜紀子, 郡司陽子, 渡部和也, 齋藤勝治,  
安田広康, 大戸 斉  
福島県立医科大学附属病院 輸血・移植免疫部

P1-07 当科における腎移植後の抗体関連型拒絶と組織適合性検査の意義

○岡部安博, 杉谷 篤, 北田秀久, 吉田淳一, 土井 篤, 西岡泰信,  
升谷耕介, 鶴屋和彦, 宮本京子, 清島久美, 田中雅夫  
九州大学腎疾患治療部, 臨床・腫瘍外科  
同 遺伝子・細胞療法部

P1-08 術前 Flow-PRA Screening 検査結果と CAN (Chronic allograft nephropathy) の関係について

○古澤美由紀<sup>1)</sup>, 石田英樹<sup>2)</sup>, 石塚 敏<sup>1)</sup>, 安尾美年子<sup>1)</sup>, 白川浩希<sup>2)</sup>,  
尾本和也<sup>2)</sup>, 土岐大介<sup>2)</sup>, 田邊一成<sup>2)</sup>  
1) 東京女子医科大学腎臓病総合医療センター移植免疫  
2) 同 泌尿器科<sup>2)</sup>

P1-09 Flow Cytometry を用いた移植関連検査の課題

○宮本京子<sup>1)</sup>, 清島久美<sup>1)</sup>, 杉谷 篤<sup>2)</sup>, 北田秀久<sup>2)</sup>, 岡部安博<sup>2)</sup>,  
赤司浩一<sup>1)</sup>, 田中雅夫<sup>2)</sup>  
1) 九州大学病院 遺伝子・細胞療法部  
2) 同 臨床・腫瘍外科

---

臨床に関する HLA 抗体—3

9月10日(火)15:00~15:40

座長 玉木茂久(山田赤十字病院)

P1-10 腎移植後の HLA 抗体モニタリングの有用性

○小林孝彰<sup>1)</sup>, 小原節子<sup>2)</sup>, 水野美紀子<sup>2)</sup>, 三輪祐子<sup>1)</sup>, 丹羽 操<sup>1)</sup>,  
後藤憲彦<sup>3)</sup>, 長坂隆治<sup>3)</sup>, 植木常雄<sup>4)</sup>, 片山昭男<sup>1)</sup>, 打田和治<sup>3)</sup>  
1) 名古屋大学医学部免疫機能制御学  
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  
4) 増子記念病院

P1-11 腎移植において Rituximab が液性抗体検査法に与える影響について

○石塚 敏<sup>1)</sup>, 石田英樹<sup>2)</sup>, 古澤美由紀<sup>1)</sup>, 安尾美年子<sup>1)</sup>, 白川浩希<sup>2)</sup>,  
尾本和也<sup>2)</sup>, 土岐大介<sup>2)</sup>, 田邊一成<sup>2)</sup>

- 1) 東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター移植免疫
- 2) 同 泌尿器科

P1-12 NIMA 抗体陽性の児に対し rituximab と大量血小板輸血後, 母児間移植を行い生着を得た一例  
—Flow PRA, Luminex 法における抗 HLA 抗体価の推移—

○谷口享子, 島崎千尋, 志村和穂, 松本洋典, 堀池重夫, 谷脇雅史, 稲葉亨,  
丸屋悦子<sup>2)</sup>, 佐治博夫<sup>2)</sup>

京都府立医科大学血液・腫瘍内科, 分子病態検査医学

- 2) HLA 研究所

P1-13 血漿交換とステロイド療法に低容量 Rituximab 併用投与にて長期改善を認めた抗体関連型拒絶  
反応の一例

○吉田一成<sup>1)</sup>, 竹内康雄<sup>2)</sup>, 若井陽希<sup>1)</sup>, 馬場志郎<sup>1)</sup>, 小池淳樹<sup>3)</sup>, 小幡文弥<sup>4)</sup>

- 1) 北里大学医学部泌尿器科
- 2) 北里大学医学部腎臓内科
- 3) 聖マリアンナ医科大学医学部病理学
- 4) 北里大学医療衛生学部免疫学

---

疾患—1

9月11日(火)13:30~14:00

座長 大谷文雄(北里大学)

P2-01 HIV 感染と AIDS の進行における CCL3L1 遺伝子コピー数の関連

○中島敏晶<sup>1, 2)</sup>, 大谷仁志<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, 三間屋純一<sup>3)</sup>, 照沼 裕<sup>4)</sup>,  
木村彰方<sup>1, 2)</sup>

- 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) 静岡県立こども病院
- 4) 日本バイオセラピー研究所

P2-02 血友病患者の HIV 感染制御個体差と NK 細胞機能関連の免疫応答遺伝子群多型性

○成瀬妙子<sup>1)</sup>, 照沼 裕<sup>2)</sup>, 三間屋純一<sup>3)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>

- 1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所 分子病態
- 2) 日本バイオセラピー研究所
- 3) 静岡こども病院

P2-03 エイズウイルスワクチンに対する免疫応答に関わる Mamu-B 遺伝子多型の探索

○志知大輔<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, 日野原邦彦<sup>2)</sup>, 森 一泰<sup>3)</sup>, 俣野哲郎<sup>4)</sup>,  
本多三男<sup>5)</sup>, 保富康宏<sup>6)</sup>, 宮澤正顕<sup>7)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>

- 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生命情報科学教育部ゲノム多様性

- 3) 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター
- 4) 東京大学医科学研究所
- 5) 国立感染研究所エイズ研究センター
- 6) 三重大学医学部
- 7) 近畿大学医学部

## 疾患—2

9月11日(火)14:00~14:40

座長 小幡文弥(北里大学)

### P2-04 IL-10 遺伝子多型と原爆放射線被曝の胃がん発症リスクに及ぼす影響

○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

### P2-05 IKBL は選択的スプライシング効率に関与する

柴田宏樹, ○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

### P2-06 HLA-DQ におけるトランスダイマー形成パターンの解析とヒトナルコレプシー感受性への干与

○宮寺浩子, 徳永勝士  
東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学教室

### P2-07 Buerger 病疾患感受性における CD14,HLA-DR,-DP 遺伝子多型の相乗効果

○陳智勇<sup>1,2)\*</sup>, 高橋めぐみ<sup>2)\*</sup>, 成瀬妙子<sup>2)</sup>, 中島敏晶<sup>2,3)</sup>, 岩井武尚<sup>1)</sup>,  
木村彰方<sup>2,3)</sup>

- 1) 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
- 2) 同・難治疾患研究所・分子病態分野
- 3) 同・大学院疾患生命科学研究部・ゲノム多様性

## 疾患—3

9月11日(火)14:40~15:20

座長 平山謙二(長崎大学)

### P2-08 顕微鏡的多発血管炎(MPA)の疾患感受性と KIR-HLA 遺伝子多型

○宮下リサ<sup>1)</sup>, 土屋尚之<sup>2)</sup>, 屋部登志雄<sup>3)</sup>, 小林茂人<sup>4)</sup>, 橋本博史<sup>4)</sup>,  
尾崎承一<sup>5)</sup>, 徳永勝士<sup>1)</sup>

- 1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室
- 2) 筑波大学大学院社会環境医学専攻
- 3) 東京都赤十字血液センター
- 4) 順天堂大学膠原病内科
- 5) 聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科

P2-09 HLA-DP 遺伝子は C 型肝炎ウイルス陽性肥大型心筋症と関連する

○志知大輔<sup>1)</sup>, 松森 昭<sup>2)</sup>, 高橋めぐみ<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>

1) 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態

2) 京都大学大学院 医学研究科 循環器内科学

3) 東海大学医学部 基礎医学系 分子生命科学

P2-10 小児アレルギー疾患と HLA-DRB 遺伝子

○酒巻建夫, 飯田好江, 大西民子, 岡村康子

国立病院機構千葉東病院研究検査科 HLA 検査室

P2-11 2 型糖尿病および閉塞性動脈硬化症患者における HLA・NA・HPA の遺伝子タイピングによる解析

○野村昌作<sup>1)</sup>, 石井一慶<sup>1)</sup>, 松崎龍典<sup>2)</sup>, 山岡 学<sup>2)</sup>, 阿部 操<sup>2)</sup>,

細川美香<sup>2)</sup>, 生水 晃<sup>3)</sup>, 福原資郎<sup>4)</sup>

1) 市立岸和田市民病院 血液内科

2) 関西医科大学 輸血部

3) 済生会泉尾病院 糖尿病・内分泌科

4) 関西医科大学 第一内科

---

移植免疫—1

9 月 11 日(火) 13:30~14:00

座長 森嶋泰雄(愛知県がんセンター)

P3-01 HLA 遺伝子欠損: PBSCT 後の再発の原因として LOH が考えられる症例

○西村千恵<sup>1)</sup>, 稲葉洋行<sup>1)</sup>, 南 裕史<sup>1)</sup>, 荒木延夫<sup>1)</sup>, 井本しおん<sup>1)</sup>,

馬淵 理<sup>1)</sup>, 甲斐俊朗<sup>2)</sup>, 玉置広哉<sup>3)</sup>, 小川啓恭<sup>3)</sup>, 原 宏<sup>4)</sup>

1) 兵庫県赤十字血液センター

2) 兵庫医科大学病院輸血部

3) 兵庫医科大学病院血液内科

4) 樹徳会上ヶ原病院

P3-02 ヒト臍帯血造血幹細胞移入 NOG マウスの表現型の長期観察

山崎朗子, ○安波道郎, 高木明子, 石井一成, 菊池三穂子, 平山謙二

長崎大学・熱帯医学研究所・疾病生態分野

長崎大学・国際連携研究戦略本部

P3-03 造血幹細胞移植成績におよぼす薬剤代謝遺伝子多型の検討

○國井七絵<sup>1)</sup>, 鬼塚真仁<sup>2)</sup>, 安藤 潔<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>

1) 東海大学大学院医学研究科医科学専攻

2) 東海大学内科学系血液腫瘍内科

3) 東海大学基礎医学系分子生命科学

## 移植免疫—2

9月11日(火)14:00~14:30

座長 小河原悟(福岡大学)

### P3-04 腎移植後の抗体関連型拒絶反応に対する IVIG 療法

○角田洋一<sup>1)</sup>, 山口誓司<sup>1)</sup>, 阿部豊文<sup>2)</sup>, 今村亮一<sup>2)</sup>, 奥見雅由<sup>2)</sup>,  
市丸直嗣<sup>2)</sup>, 坂口勝彦<sup>3)</sup>, 吉岡俊昭<sup>3)</sup>, 京 昌弘<sup>4)</sup>, 久山芳文<sup>5)</sup>,  
佐田正晴<sup>6)</sup>, 永谷憲歳<sup>6)</sup>, 猪阪善隆<sup>7)</sup>, 高原史郎<sup>7)</sup>

- 1) 市立池田病院 泌尿器科・腎移植センター
- 2) 大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学(泌尿器科)
- 3) 住友病院 泌尿器科
- 4) 桜橋循環器クリニック
- 5) 大阪府立急性期・総合医療センター組織適合検査室
- 6) 国立循環器病センター研究所 再生医療部
- 7) 大阪大学大学院医学系研究科 先端移植基盤医療学

### P3-05 心臓移植後脱感作療法を施行した1症例

○山本 賢<sup>1)</sup>, 森 勝志<sup>1)</sup>, 佐藤 清<sup>1)</sup>, 佐田正晴<sup>2)</sup>, 眞野暁子<sup>4)</sup>,  
加藤倫子<sup>4)</sup>, 植田初江<sup>3)</sup>, 永谷憲歳<sup>2)</sup>, 鎌倉史郎<sup>1)</sup>, 中谷武嗣<sup>4)</sup>

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

### P3-06 HLA-C 遺伝子と抑制型 KIR 遺伝子の関係

○西村千恵<sup>1)</sup>, 稲葉洋行<sup>1)</sup>, 南 裕史<sup>1)</sup>, 荒木延夫<sup>1)</sup>, 井本しおん<sup>1)</sup>,  
馬淵 理<sup>1)</sup>, 甲斐俊朗<sup>2)</sup>, 原 宏<sup>3)</sup>

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

## 移植免疫—3

9月11日(火)14:30~15:00

座長 酒巻建夫(千葉東病院)

### P3-07 ミスマッチ HLA に対する免疫寛容を予測できるか?

○落合直也, 谷口亨子<sup>1)</sup>, 丸屋悦子, 赤塚美樹<sup>2)</sup>, 芦原英司<sup>3)</sup>, 前川 平<sup>3)</sup>,  
島崎千尋<sup>1)</sup>, 佐治博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所,

- 1) 京都府立医科大学血液内科
- 2) 愛知県がんセンター研究所腫瘍免疫学部

3) 京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部

P3-08 移植後キメリズム検査における興味深い症例について

—造血幹細胞移植片に多機能幹細胞が含まれるか?—

○大沼 豪, 二神貴臣, 小島裕人, 辻野貴史, 林 晃司, 落合直也,  
丸屋悦子, 赤座達也, 佐治博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所

P3-09 抗原提示機能を有するヒト ES 細胞由来の樹状細胞(ヒト ES-DC) の樹立

千住 覚<sup>1)</sup>, 末盛博文<sup>2)</sup>, 植村靖史<sup>1)</sup>, 平田真哉<sup>1)</sup>, 春田美和<sup>1)</sup>, 松吉秀武<sup>1)</sup>,  
福岡大喜<sup>1)</sup>, 福島 聡<sup>1)</sup>, 松永雄亮<sup>1)</sup>, 古谷正敬<sup>2)</sup>, 中辻憲夫<sup>3)</sup>, ○西村泰治<sup>1)</sup>

1) 熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学分野

2) 京都大学再生医科学研究所幹細胞医学研究センター

3) 京都大学再生医科学研究所発生分化研究分野

---

HLA 抗原・抗体検査法—1

9月11日(火)13:30~14:20

---

座長 小林 賢(日本薬科大学)

P4-01 蛍光ビーズを利用した A\*0215N 検出系の開発

○長門正貴<sup>1)</sup>, 松下正毅<sup>1)</sup>, 岡 孝紀<sup>1)</sup>, 柏瀬貢一<sup>2)</sup>

1) 湧永製薬(株)バイオ事業開発部

2) 東京都赤十字血液センター

P4-02 Luminex 法を用いたブタ MHC-DRB1, DQB1 タイピング法の開発

○安藤麻子<sup>1)</sup>, 重成敦子<sup>1)</sup>, 佐藤 崇<sup>2)</sup>, 島田和典<sup>2)</sup>, 河田寿子<sup>3)</sup>,  
太田正穂<sup>4)</sup>, 佐田正晴<sup>5)</sup>, 永谷憲歳<sup>5)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

1) 東海大・医・基礎医学系・分子生命科学

2) G&G サイエンス(株)・研究開発グループ

3) 東海大・伊勢原研究推進部・教育・研究支援センター

4) 信州大・医・法医学

5) 国立循環器病センター研・再生医療部

P4-03 等温増幅による HLA の DNA タイピング法の検討

○清水佐良子<sup>1, 2)</sup>, 吉川枝里<sup>1)</sup>, 平田浩司<sup>3)</sup>, 光永滋樹<sup>1, 2)</sup>, 森川 實<sup>1, 2)</sup>,  
猪子英俊<sup>1)</sup>

1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

2) ジェノダイブファーマ株式会社

3) 第一三共株式会社

P4-04 口腔細胞を検体とした骨髄データセンター HLA 型検査の検討

○中島文明<sup>1)</sup>, 橋本志歩<sup>1)</sup>, 加藤和江<sup>2)</sup>, 村 徹<sup>2)</sup>, 岡崎 仁<sup>1)</sup>, 田所憲治<sup>1,2)</sup>

1) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

2) 日本赤十字社血液事業本部中央骨髓データセンター

P4-05 SSO 法と SBT 法を使用した HLA タイピングの試み

Valerie Frasher<sup>1)</sup>, David Berman<sup>1)</sup>, ○斉藤克行<sup>1)</sup>, 益尾清恵<sup>2)</sup>, 小林俊太<sup>2)</sup>,  
小川公明<sup>2)</sup>

1) One Lambda, Inc., USA

2) 株式会社ベリタス

## HLA 抗原・抗体検査法—2

9月11日(火)14:20~14:50

座長 橋本光男(兵庫県立西宮病院)

P4-06 ビーズアレイを応用した高感度 HLA・HPA 抗体解析法の開発

—Intact Cell を用いた antigen capture 法—

○藤原孝記, 関根みゆき, 島野佳恵, 礪波 薫, 田中秀則, 内川 誠,  
佐竹正博, 中島一格

東京都赤十字血液センター

P4-07 蛍光ビーズを用いた HLA 抗体検査試薬の開発

○直原 寛<sup>1)</sup>, 川井信太郎<sup>1)</sup>, 岡 孝紀<sup>1)</sup>, 田中秀則<sup>2)</sup>, 藤原孝記<sup>2)</sup>,  
関根みゆき<sup>2)</sup>, 内川 誠<sup>2)</sup>, 佐竹正博<sup>2)</sup>, 中島一格<sup>2)</sup>, 宮崎 孔<sup>3)</sup>,  
佐藤進一郎<sup>3)</sup>, 加藤俊明<sup>3)</sup>, 池田久實<sup>3)</sup>, 橋本志歩<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>4)</sup>

1) 湧永製薬(株)

2) 東京都赤十字血液センター

3) 北海道赤十字血液センター

4) 中央血液研究所

P4-08 非溶血性輸血副作用と HLA 抗体(3)

—微弱な HLA 抗体を検出するための LIFT-FCM の高感度化—

○橋本志歩, 中島文明, 河村久美子, 鎌田裕美, 岡崎仁, 田所憲治  
日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

## MHC 多様性—1

9月11日(火)14:50~15:20

座長 田中秀則(東京都赤十字血液センター)

P5-01 骨髓バンク登録ドナーにおける都道府県別 HLA 型遺伝子頻度 (DNA 型)について

○加藤和江<sup>1)</sup>, 盛山芳恵<sup>1)</sup>, 中島文明<sup>1)</sup>, 村 徹<sup>1)</sup>, 田所憲治<sup>1)</sup>, 中島一格<sup>2)</sup>,  
柴田弘俊<sup>3)</sup>

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

P5-02 新たに見出された HLA-B 遺伝子型について

○重成敦子<sup>1)</sup>, 吉川枝里<sup>1)</sup>, 杉本達哉<sup>2)</sup>, 土田文子<sup>2)</sup>, 佐藤 薫<sup>2)</sup>,  
吉場史朗<sup>2)</sup>, 加藤俊一<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

- 1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学
- 2) 東海大学医学部細胞移植再生医療科 臍帯血バンク

P5-03 新しい HLA-B 座(48/60)と HLA-C 座(0304V) アリルについて

○二神貴臣<sup>1)</sup>, 大沼 豪<sup>1)</sup>, 小川貴裕<sup>2)</sup>, 小島裕人<sup>1)</sup>, 辻野貴史<sup>1)</sup>, 林 晃司<sup>1)</sup>,  
前川尻真司<sup>2)</sup>, 松下正毅<sup>2)</sup>, 落合直也<sup>1)</sup>, 丸屋悦子<sup>1)</sup>, 赤座達也<sup>1)</sup>,  
佐治博夫<sup>1)</sup>

- 1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
- 2) 湧永製薬株式会社

## MHC 多様性—2

9月11日(月)15:20~15:50

座長 太田正穂(信州大学)

P5-04 旧世界ザルにおける HLA-G, HLA-F ホモログの発現

○下嶋典子<sup>1)</sup>, Helen Garhwan<sup>2)</sup>, 清水慶子<sup>3)</sup>, 羽竹勝彦<sup>4)</sup>,  
Daniel E Geraghty<sup>2)</sup>, 石谷昭子<sup>4)</sup>

- 1) 奈良県立医科大学細菌学教室
- 2) Fred Hutchinson Cancer Research Center
- 3) 京都大学霊長類研究所分子生理研究部門
- 4) 奈良県立医科大学法医学教室

P5-05 DRB 様遺伝子を多型マーカーとしたペンギン類を含む海鳥類の系統解析

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

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

P5-06 MHC 多型解析によるペンギン類 6500 万年の進化の足跡—ガラパゴスペンギン DRB 様遺伝子多型

○津田とみ<sup>1, 2)</sup>, 吉川枝里<sup>1)</sup>, Gary Miller<sup>3)</sup>, 成瀬妙子<sup>4)</sup>, 炭山大輔<sup>1)</sup>,  
津田道雄<sup>1)</sup>, 福田道雄<sup>5)</sup>, 栗田正徳<sup>6)</sup>, 村田浩一<sup>7)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

- 1) 東海大学医学部
- 2) 徳島文理大学人間生活学部
- 3) New Mexico Univ., USA
- 4) 東京医科歯科大学難治疾患研究所
- 5) 東京都葛西臨海水族園
- 6) 名古屋港水族館
- 7) 日本大学生物資源科学部



# 抄 録 集

基調講演  
特別講演  
教育講演



KP

## New evidence that *de novo* antibodies produced after transplantation causes chronic graft failure

Paul Terasaki

Terasaki Foundation Laboratory, Los Angeles, CA

The field of tissue typing has contributed to the reduction in acute rejection and early graft failures through sensitive crossmatching. Histocompatibility can next help transplantation by improving the long-term graft survival of organ transplants, which remains poor at 50% in 10 years. We provide evidence here that detection of HLA antibodies post transplantation could help to improve long-term survival.

We tested 346 patients from 4 kidney centers and their 3,864 serial sera for HLA and MICA antibodies from time of transplant to graft loss. Donor specificity was analyzed using Single Antigen beads.

Among 93 patients who lost their grafts, 86% had HLA and/or MICA antibodies. Serial sera testing showed that *de novo* ab's appeared on an average 12 months after transplantation, which led to a rise in serum creatinine (SCr) of >2mg/dL by average of 29 months, then graft loss in roughly 44 months. Frequency of donor specific antibodies was significantly higher in patients who had graft loss compared to functioning graft (75% vs. 9% in one center). Incidence of HLA-DQ antibodies was surprisingly high; 33% of ones who failed with antibody had DQ ab's that were DSA. Patients who continually tested negative to antibodies had excellent graft survival; 149 out of 159 patients without antibodies had SCr <2.0mg/dL throughout follow-up.

Our multi-center longitudinal study showed that *de novo* antibodies were often detected in patients who had graft failure, and it took some months to cause severe enough damage observable by rise in SCr. Thus, if found early, we should be able to remove antibodies before they cause further damage. It is our hope that periodic post-transplant antibody monitoring will lead to a successful treatment and an improvement in the long-term outcome.

SL

## 難治性循環器疾患の病因と病態形成機構の解明に向けて

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

疾患の病因や病態形成には多かれ少なかれ遺伝要因が関与するが、この遺伝要因の本体は遺伝子の配列や発現の個体差に代表されるヒトゲノムの多様性である。このため個々人のもつゲノム多様性に応じて疾患の発症、病態、重症度、治療反応性などには個人差が生じることがある。したがって、疾患に関連するゲノム多様性(単因子遺伝病では病因変異、多因子疾患では疾患関連多型)を同定しその機能的意義を解明することは、個々人に応じた適切な医療を行う上で重要な意義を有すると考えられている。個々の疾患における疾患関連ゲノム多様性の意義は当該ゲノム多様性による疾患発症への寄与度に応じて異なるが、病因変異であれ疾患関連多型であれ、いずれにしても疾患関連ゲノム多様性を同定することは疾患発症のパスウェイの解明、ひいては得られた知見を応用した新たな治療法・予防法の開発につながる。この観点から我々は種々の致死性かつ難治性の循環器疾患を対象とした疾患関連ゲノム多様性の解明に努めている。例えば、突然死や難治性心不全を来す原因不明の心筋疾患である特発性心筋症を対象とした研究では、多数の新たな原因遺伝子の特定、病因変異の同定と機能解析を通じて、筋収縮のカルシウム感受性異常とストレッチ反応異常が疾患発症パスウェイに密接に関わることを示した。さらに最近、筋収縮のカルシウム感受性を人為的に制御した遺伝子改変マウスがヒトの特発性心筋症に酷似した病態を呈することを見出した。このことは筋収縮のカルシウム感受性異常が特発性心筋症の病態形成の基盤であること、ひいてはその制御が特発性心筋症の治療・予防に繋がることを強く示唆する。本講演では、疾患関連ゲノム多様性の特定とそれを応用した治療・予防法の開発戦略について、特発性心筋症を例にあげて概説する。

EL

## HLA の多様性に学ぶ

徳永勝士

東京大学医学系研究科人類遺伝学分野

ヒトゲノム全域にわたるシーケンシングが完了した後、その網羅的な多型解析が進んでいるが、HLA が高度の多型性を示す遺伝子群であるという特異な地位はゆらぎそうにない。HLA の多様性研究が明らかにしてきた様々な特徴について、私達の知見も交えながら眺めてみたい。

MHC 遺伝子群の著しい多型性の起源は大変古く、種の分岐以前に遡る (Klein: trans-species polymorphism)。私達はヒトとチンパンジーの DRB1 領域の塩基配列を解析して両種における突然変異率を推定したところ、DRB1 遺伝子の突然変異率が高くないことが確認されるとともに、種間差異があることもわかった (Ohashi et al. 2006)。

連鎖不平衡現象がヒトで最初に見出されたのは HLA 領域である。Cepellini はさらに haplotype という用語を生み出した。この現象の要因はいくつか考えられるが、最近私達はクラス II 分子の heterodimer 形成能の観点から考察した (宮寺ら, 本大会)。ヒトゲノム解析が進んだ現在、この現象はゲノム全域に観察され、疾患遺伝子探索の統計遺伝学的手法である関連分析法の基本原則となっている。私達はナルコレプシーなど数種の疾患についてゲノム全域にわたる関連分析を実施している (Kawashima et al. 2006 ほか)。

HLA が関与する医療はまさに「個人化医療 (personalized medicine)」の先駆けである。移植医療、輸血医療、免疫関連疾患発症における HLA の重要性はいうまでもない。近年はこれらに加えて、薬剤副作用にも関わることをわかってきた。私達も Stevens-Johnson 症候群と HLA-A 遺伝子の強い関連を報告した (Ueta et al. 2007)。

HLA の高度な多型を利用して、諸集団の遺伝的類縁関係を推定することができる。HLA haplotype を用いれば分集団構造や先祖集団の移動ルートも推定される (Tokunaga et al. 2001, 徳永 2003 ほか)。最近、ゲノム全域に分布する 5 万種の SNP (単一塩基多型) を用いたアジア・太平洋地域の 73 集団の多様性に関する共同研究の成果がまとまった (Jin et al. 投稿中)。



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



S1-1

## エピトープ解析の基礎

中島文明

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

エピトープは抗体が認識する抗原分子の特定の構造単位であり、通常の血液型の多くはその部分のアロ特異性の違いを抗原名としている。HLA の場合は、抗原分子をコードする遺伝子型と一対一で対応して、一つの抗原分子に複数のエピトープが存在することになる。それらは、複数の抗原(アリル)間で共通性を保ち、特定のグループを形成する。ただし、一つ一つのエピトープに国際的な共通認識に基づいた名称が設定されていない。さらに、エピトープ自体が十分に解明されていないため、抗原名を羅列する方法で抗体特異性を表現している。このことに関しては MHC Vol. 13 No. 2 に総説が掲載されているので、くわしくはそちらを参照されたい。

以前、LCT 法でタイピングしていた頃、タイピング用抗血清の確保に努めていた。タイピング用の抗血清であるため、その抗体特異性は明確である必要があった。当初は 2 桁レベルの抗原名で解析していたが、さらに詳しい情報を求め、反応させたリンパ球を遺伝子タイピングして 4 桁レベルの解析を行うようになった。ちなみに、この頃の DNA タイピングはまだ研究レベルで、現在のような市販試薬は存在しない。したがって、通常の HLA タイピングは血清学が主流であった。このような、遺伝子レベルのパネル情報で抗体解析を行うと、同じ抗原グループでありながら、反応が確認できるアリルとそうでないアリル(アリルと抗体が直接反応したという意味ではない)が存在することを多数発見した。アリル情報が存在するので、当然アミノ酸情報も得られ、ここからエピトープ解析が始まることになる。

一方、近年では、タイピングは DNA、抗体検出は精製抗原の高感度試薬が主流となり、それぞれが independent な状態で進行し、エピトープという概念が生まれにくい。HLA ビギナーが市販の精製抗原試薬を扱うと、カットオフ値以上で反応した抗原名を羅列した報告をするであろう。ここにエピトープ解析を加えるとその結果が見違えるようになる。抗体の変化を追跡するような調査ではなおさらのことである。

今回のシンポジウムでは、以上のような内容をデータで示しながら解説していく。

S1-2

## 妊産婦血の HLA 抗体エピトープ解析

丸屋悦子

特定非営利活動法人 HLA 研究所

妊娠は自然アロ免疫の代表である。児の父由来ハプロタイプ (IPA: inherited paternal antigens) と母 HLA の違いを母の液性免疫担当細胞である B リンパ球が BCR (B-cell receptors) により読み取り, HLA-class II 抗原に提示する。提示された抗原ペプチドが TCR により認識され, 活性化されたヘルパー T 細胞が細胞表面に CD40L を発現し, B 細胞上の CD40 を介して B 細胞の増殖分化を誘導し, 抗体産生を誘導する。このようにして HLA 抗体は産生されると考えられている。現在の HLA 抗原システムはこの抗体の特異性の解析を基礎に構築されたといえる。DNA タイピング法の開発に伴い血清学的タイピング法は衰退し, HLA 抗体の解析も共に衰退した。しかしながら Terasaki らにより, 腎移植における HLA 抗体の臨床的意義の再確認がなされ, かつ One Lambda により HLA antigen coated beads を用いた HLA 抗体検出技術の革新がなされた。さらに造血幹細胞移植での移植源と方法の多様化により, HLA ミスマッチ移植も実施されるようになり, HLA 抗体の臨床的意義が問われるようになった。このような背景をふまえ今回われわれは古くて新しいテーマである, 母子免疫による HLA 抗体産生につき, 128 組の家系からアロ HLA 抗体の特性をそのエピトープを中心に解析し, 臨床応用への提案をしたい。

S1-3

## 血小板輸血不応症例に見られた HLA 抗体のエピトープ解析 — 広範囲の特異性を示す HLA 抗体の解析 —

田中秀則

東京都赤十字血液センター 検査部 検査三課

血小板輸血および臓器移植患者の HLA 抗体検査は、LCT (lymphocyte cytotoxicity test) 法を基本に行われて来たが、臨床症状に影響する HLA 抗体を検出する検査法としては、不十分であった。近年、精製した HLA 抗原をビーズに結合させた試薬が開発され、高感度に HLA 抗体を検出することが可能となり、臨床症状と HLA 抗体との相関性が明確になって来ている。

輸血分野では、主に血小板輸血不応 (platelet transfusion refractoriness; PTR) および輸血副作用の原因調査を行なうために HLA, HPA, HNA 等の抗体検査を実施している。抗体による PTR 症例では、一部に HPA 抗体が認められるが、殆どの場合 HLA 抗体が起因となっており、広範囲の特異性を示す HLA 抗体 (以下、広範囲抗体) を保有している症例も少なくない。今回、広範囲抗体を保有する 33 症例について、患者 HLA タイプの分布および単一の HLA 精製抗原を蛍光ビーズに固定した試薬 LABScreen Single Antigen (One Lambda 社製) を用いることにより HLA 抗体のエピトープについて検討を行った。

患者 HLA タイプでは、約 64% の症例で HLA-B 座のタイプがホモまたは同一の交差抗原群 (以下、CREG) のヘテロ接合であった。また、HLA-B 抗原の代表的なエピトープである HLA-Bw4 および Bw6 抗原については、約 88% で Bw4 または Bw6 のホモ接合であり、日本人の一般的な抗原頻度から推定される約 55% と比較し高い頻度であった。

LABScreen Single Antigen を用いた HLA 抗体検査の結果、33 例中 32 例において HLA-A と HLA-B 両方の抗原に対する抗体が確認された。また、LABScreen Analysis Software による抗体特異性を CREG で解析した結果では、HLA-A2 関連の CREG である 2C1 (A2 + A28 + A9) および 2C2 (A2 + A28) が 10 例 (30%) に、HLA-A32 + A23 + A24 + Bw4 の CREG である INTL2 が 11 例 (33%) に見られた。また、HLA-B5 + B17 + B15CREG である 5C が 9 例 (27%) に、HLA-B7 + B17 + B22CREG である 22C が 6 例 (18%) に見られた。

今後、LABScreen Single Antigen (One Lambda 社製) のデータを用い、患者が保有する HLA 抗体のエピトープの詳細について解析を行なう予定である。

S1-4

## 臓器移植分野における HLA 抗体 その特性とエピトープ解析

佐藤 壯

特定医療法人北楡会 札幌北楡病院 臨床検査科

【はじめに】HLA 抗体検査は、従来、HLA 抗原を網羅できる多種類のパネルリンパ球を用いて、補体活性化による細胞障害を原理とする LCT 法で行われていた。しかし、この方法は鋭敏さに欠け、多くの労力と時間をかけても抗体の特異性を最終的に決定することは困難であった。新たな解析方法が開発されないまま HLA 抗体研究は永らく停滞していた。その break through となったのが microbeads を利用した HLA 抗体測定法 (FlowPRA, LABScreen) である。この方法により抗体の有無からその特異性まで詳細な解析が初めて可能となった。しかし、HLA 抗体の詳細が明らかになるについて、新たな疑問が生じた。単一のドナー特異的抗原にのみ感作された患者血清から donor specific antibody (DSA) だけではなく多様な donor non-specific antibody (DNSA) が見いだされたのである。何故 DNSA も産生されるのか、それを解明する試みがエピトープ解析であり、本発表では、以下の順序で HLA 抗体の本質に迫る。

【HLA 抗体の特性】ドナー特異的 HLA 抗体陽性患者が、腎移植を受けてから移植腎廃絶に至るまでの HLA 抗体同定の推移をたどることにより、HLA 抗体の特性がモノクローナルな抗体ではなく、ポリクローナルな抗体の集合であることを明らかにする。

【移植腎廃絶患者における HLA 抗体】当院における移植腎廃絶患者の HLA 抗体解析結果を基に、エピトープ解析ソフトを用いて、ターゲットとなったエピトープを特定し、あわせて日本人における組織適合性の特殊性についても検討する。

【複数の Immunogen に対して産生された HLA 抗体のエピトープ解析方法の検討】出産や輸血、複数回の移植の場合は、Immunogen は多様であり、そのエピトープ特異性を決定するのは難しい。そこで、FlowPRA Crossmatch の手法を応用して、エピトープの特異性を推定できないか検証する。

## S1-追加発言

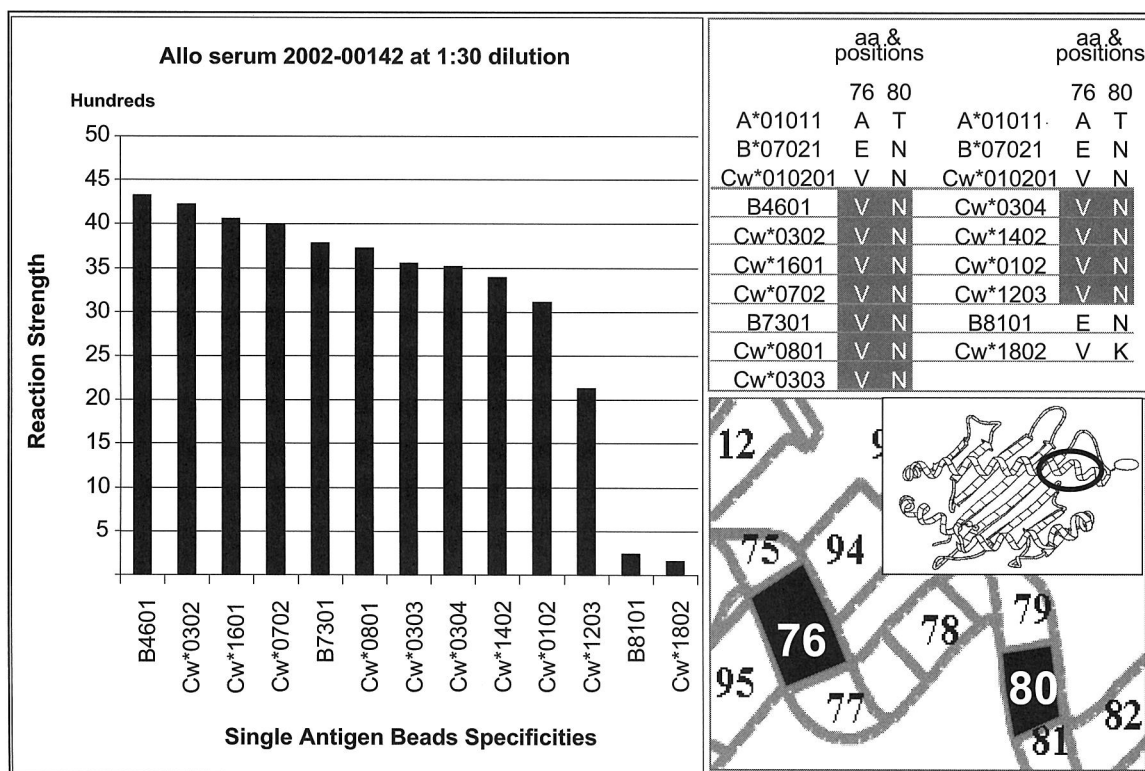
## HLA class I epitopes: 103 total epitopes to-date including the C locus

Nadim El-Awar<sup>1)</sup>, Paul I. Terasaki<sup>2)</sup>.<sup>1)</sup>One Lambda Inc., Canoga Park, CA, USA.<sup>2)</sup>Terasaki Foundation Laboratory, Los Angeles, CA, USA.

**Background.** The development of single antigen beads has made possible for the first time the identification of epitopes of HLA, which are the sites to which the antibodies bind. We are attempting to define all the epitopes that exist. In addition to the 90 epitopes of Class I A and B locus, we now extend the study to the C locus.

**Methods.** Allo antibodies absorbed onto then eluted from HLA single antigen cell lines and monoclonal antibodies were tested with a panel of 95 A-, B- and C- single antigen beads and the HLA specificities determined. Each epitope was defined by amino acids shared exclusively by the positive antigens for each antibody.

**Results.** We have identified 90 A, B or AB and 13 C,BC or ABC epitopes. The figure below illustrates a group of single antigens that share an epitope. The positive antibody reactions all share exclusively the amino acid (aa) valine (V) at position 76 and asparagine (N) at position 80. Both aa's are located in the alpha 1 domain of the HLA antigen and combined define the epitope. (Epitope 246, table below).



Listed in the table below nine examples of HLA A-, B- and C-Loci class I epitopes recognized by allosera or monoclonal antibodies.

Antibody / Serum tested	mAb(M)/ Allo(A)	rHLA <sup>a</sup> Cells used for adsorption	Single antigen <sup>a</sup> beads with positive reactions	Epitope no. assigned	Position and unique aa for possible epitope <sup>b</sup> Sites
AS264	A	A3601	A1,11,25,26,34,36,43,6601,80	241	65R+90D / 43Q+90D / 90D+138M
X9288.OO	A	A2402	A1,23,2402,80,B76	14	166D/ 167G
F760-5B5D8	M		A32,74,B8,18,37, 38,39,41,42,54,55,59,64,65,67	204	109L+163T
X0786.00	A	B5801/B5502	B7,27,42,54,55,56,57,58,63, 67,73,81, 82	224	69A+43P
Z7921.00 / A113	A	Cw0202 / Cw0303(Cw9)	Cw2,9,10,15	39	21H
A129	A	nn	Cw5,8	40	177K
A61	A	Cw1701	B73,Cw7,17	41	267Q
A4	A	Cw0202	A6602,B7,13,27,47,48,60,61,73,81, Cw2,Cw17	222	163E+166E/ 163E+167W
Z9016.00 / 2002-00142	A	Cw1802/ nn	B46,73,Cw1,7,8,9,10,12,14,16	246	76V+80N/ 73T+76V+ 79R

Abbreviations: aa = amino acids. nn = Absorption and elution were not needed.

<sup>a</sup> Alleles are designated only when other alleles of the same antigen did not react with the antibody.

<sup>b</sup> Possible alternative epitopes are separated by "/". A "+" sign designates that an epitopes is defined by more than a single position/aa.

**Conclusion.** Beads bearing single antigens tested with monoclonal or eluted allo antibodies proved very powerful in identifying epitopes shared among HLA antigens and for the first time C-locus epitopes are identified. Epitopes identified here explain many of the complex antibodies previously found in the sera of multiparous women, multi-transfused patients, and patients who had rejected an organ transplant. Screening for the presence of donor-specific antibodies in solid organ transplant patients often reveals that even a single 'antigen' mismatch can result in the production of antibodies to many other 'antigens'. This phenomenon can now be understood as the reaction to the epitope that was mismatched.

W1-1

## 話題提供

一戸辰夫

京都大学医学部付属病院血液腫瘍内科

W1-2

## 話題提供

高原史郎

大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学

W2-1 (抄録 P1-05 参照)

「リンパ球クロスマッチで検出できる non-HLA 抗体陽性症例と検出できない non-HLA 抗体陽性症例の移植予後について」

○橋本光男, 木下朋子, 岸川英史, 濱部敦史, 山内洋子, 奥野綾子, 藤井直彦, 有地直子,  
徳川茂樹, 難波行臣, 西村憲二, 市川靖二  
兵庫県立西宮病院・腎疾患総合医療センター

W2-2 (抄録 P1-07 参照)

「当科における腎移植後の抗体関連型拒絶と組織適合性検査の意義」

○岡部安博, 杉谷篤, 北田秀久, 吉田淳一, 土井 篤, 西岡泰信, 升谷耕介, 鶴屋和彦,  
宮本京子, 清島久美, 田中雅夫  
九州大学腎疾患治療部, 臨床・腫瘍外科, 同 遺伝子・細胞療法部

W2-3 (抄録 P1-12 参照)

「NIMA 抗体陽性の児に対し rituximab と大量血小板輸血後, 母児間移植を行い生着を得た一例 —Flow PRA, Luminex 法における抗 HLA 抗体価の推移—」

○谷口享子, 島崎千尋, 志村和穂, 松本洋典, 堀池重夫, 谷脇雅史, 稲葉 亨, 丸屋悦子<sup>2)</sup>,  
佐治博夫<sup>2)</sup>  
京都府立医科大学血液・腫瘍内科, 分子病態検査医学, 2) HLA 研究所

W2-4 (抄録 P1-02 参照)

「非溶血性輸血副作用と HLA 抗体(1)—日本人の HLA 抗原頻度で換算した反応陽性率(%PRA) について」

中島文明, ○松田利夫, 橋本志歩, 鎌田裕美, 河村久美子, 岡崎 仁, 田所憲治  
日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

W2-5 (抄録 P1-03 参照)

「非溶血性輸血副作用と HLA 抗体(2)—精製抗原試薬で検出する微弱な HLA 抗体について」

○中島文明, 橋本志歩, 鎌田裕美, 河村久美子, 松田利夫, 岡崎 仁, 田所憲治  
日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

## W3-1 (抄録 P2-04 参照)

## 「IL-10 遺伝子多型と原爆放射線被曝の胃がん発症リスクに及ぼす影響」

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

## W3-2 (抄録 P2-05 参照)

## 「IKBL は選択的スプライシング効率に関与する」

柴田宏樹, ○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

## W3-3 (抄録 P2-06 参照)

## 「HLA-DQ におけるトランスダイマー形成パターンの解析とヒトナルコレプシー感受性への干与」

宮寺浩子, 徳永勝士

東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学教室

## W3-4 (抄録 P2-08 参照)

## 「顕微鏡的多発血管炎 (MPA) の疾患感受性と KIR-HLA 遺伝子多型」

○宮下リサ<sup>1)</sup>, 土屋尚之<sup>2)</sup>, 屋部登志雄<sup>3)</sup>, 小林茂人<sup>4)</sup>, 橋本博史<sup>4)</sup>, 尾崎承一<sup>5)</sup>,  
徳永勝士<sup>1)</sup>

1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室, 2) 筑波大学大学院社会環境医学専攻

3) 東京都赤十字血液センター, 4) 順天堂大学膠原病内科

5) 聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科

## W3-5 (抄録 P2-09 参照)

## 「HLA-DP 遺伝子は C 型肝炎ウイルス陽性肥大型心筋症と関連する」

○志知大輔<sup>1)</sup>, 松森 昭<sup>2)</sup>, 高橋めぐみ<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>1) 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態, 2) 京都大学大学院 医学研究科 循環器内科学, 3) 東海大学医学部  
基礎医学系 分子生命科学

S2-1

## 「オーバービュー」

小林孝彰

名古屋大学医学部免疫機能制御学

S2-2

## 「腎臓」

田邊一成

東京女子医科大学泌尿器科

S3-3

## 「肝臓」

江川裕人

京都大学医学部付属病院臓器移植医療部

S4-4

## 「心臓」

佐田正晴

国立循環器病センター再生医療部

LS1-1

## 「LABScreen PRA 試薬で判定困難な検体の Single Antigen 試薬による同定の有用性」

松本佳子

株式会社ベリタス 技術営業部

LS1-2

## 「腎移植におけるフローサイトメトリーを使用した HLA 抗体検査」

宮本京子

九州大学病院 遺伝子・細胞治療部

## LS2-1

# 「WAKFlow®HLA 抗体クラス I (MR) の紹介」

川井信太郎

湧永製薬株式会社 バイオ事業開発部

HLA 抗体の検査は輸血や臓器移植分野で広く行われており、臨床成績の向上に役立っている。近年、精製した HLA 抗原を用いた検査法が開発され、高感度に HLA 抗体を検出ことが可能となり、臓器移植や血小板輸血不応における HLA 抗体と臨床症状との相関を確認出来る有用な検査法とされているが、いくつかの面で課題も残っている。

今回、我々は日本人の HLA 抗原頻度を考慮した HLA クラス I 抗体検査試薬『WAKFlow®HLA 抗体クラス I (MR)』を開発した。

我々は試薬開発に際して、以下の 3 つコンセプトを組み入れた。

- ① 日本人に報告されている抗原頻度 1% 以上の抗原をカバーする。
- ② 多数検体処理が容易なプラットフォームを利用する。
- ③ 判定の際に使用するソフトウェアは使いやすいものを構築する。

まず、HLA 分子を抽出精製するために、日本人の抗原頻度 1% 以上の A 抗原及び B 抗原を持つ 25 種類の日本人由来のヒト B 細胞セルライン(以後 BCL)を選択した。この BCL の選択には、日本人のハプロタイプも考慮した。さらに、抗体の特異性の同定を容易にするために、日本人に頻度の高い HLA ハプロタイプをホモ接合で保有する 10 種類の BCL を加えた。

多数検体処理が容易なプラットフォームとして、HLA の DNA タイピング試薬に用いているルミネックスシステムを選択し、あらかじめ抗体との結合活性を確認した精製 HLA 分子を、個々の蛍光ビーズに固定した。

アッセイ結果から HLA 抗体の特異性を判定するために、専用の解析ソフトウェアを開発した。この専用ソフトは、HLA の交差反応性を判定画面上に組み込み、検出した抗体の反応性及び交差反応性を視覚的に確認できるようにしている。

今後我々は、検査結果の信頼性を高めるとともに、日本人だけでなくアジアの民族を考慮した検査ができるよう、BCL をさらに充実させていく予定である。

今回のランチョンセミナーでは、上記の 3 つのコンセプトを中心に、日本赤十字社と共同開発した『WAKFlow®HLA 抗体クラス I (MR)』試薬を紹介したい。

## LS2-2

# 「Wak Flow HLA 抗体の使用経験」

宮崎 孔

北海道赤十字血液センター 検査部 検査 3 課

# **抄 録 集**

**会員研究発表**



## P1-01

# 抗 HNA-1a モノクローナル抗体 TAG1 と CLB-gran11.5 が認識するエピトープについて —顆粒球抽出抗原を用いたウエスタンブロッティング法による検討—

○ 荒木延夫<sup>1)</sup>, 川井信太郎<sup>2)</sup>, 西村千恵<sup>1)</sup>, 稲葉洋行<sup>1)</sup>, 南裕史<sup>1)</sup>, 井本しおん<sup>1)</sup>, 馬淵 理<sup>1)</sup>, 谷口菊代<sup>3,4)</sup>

1) 兵庫県赤十字血液センター

2) 湧永製薬創薬研究所

3) 広島医学技術専門学校

4) 山陽女子短期大学

【目 的】 FcRIIIb (CD16b) 上に存在する顆粒球抗原 HNA-1a を認識するモノクローナル抗体として TAG1, MG38, CLB-gran11.5 などがある。我々はすでに顆粒球抽出抗原を用いた EG-MPHA (MPHA using extracted granulocyte antigen solutions) 法の反応性で TAG1 と MG38 が違うエピトープを認識することを示唆した (TAG1 は顆粒球インタクト細胞に強陽性, 抽出抗原に弱陽性, MG38 は顆粒球インタクト細胞, 抽出抗原共に強陽性を示す)。今回, TAG1 と CLB-gran11.5 (MG38 と同じ反応性を EG-MPHA 法で確認: MG38 は現在, 入手不能) が認識するエピトープについて顆粒球抽出抗原を用いたウエスタンブロッティング法による検討を行ったので報告する。

【方 法】 ウエスタンブロッティングの際の 1 次抗体として, TAG1, CLB-gran11.5, TAG4 (HNA-2a: CD177), MEM-166 (HNA-2a: CD177), そして 3G8 (CD16) を用いた。2 次抗体は HRP 標識 anti mouse IgG を用い発光試薬は, ECLPlus (GE ヘルスケアバイオサイエンス) を用いた。尚, 顆粒球抽出抗原のコントロールとして, Recombinat human FCγRIIIb (HNA-1b 由来) を用いた。

【結果及び考察】 HNA-1a を認識する CLB-gran11.5, そして CD177 を認識する TAG4 及び MEM-166 に関しては, 顆粒球抽出抗原分画 (それぞれ, 37~50KD, 58~64KD), CD16 を認識する 3G8 に関しては顆粒球抽出抗原と Recombinat human FCγRIIIb 分画にバンドが確認できたが, TAG1 に対しては全くバンドが確認できなかった。TAG1 が認識する HNA-1a のエピトープは顆粒球抽出抗原には僅かしか存在しないか (自己融解酵素による破壊?) あるいは, 他の抗体より顆粒球抽出抗原に対するアフィニティが弱いのかかもしれない。

## P1-02

# 非溶血性輸血副作用と HLA 抗体(1) —日本人の HLA 抗原頻度で換算した反応陽性率 (%PRA) について

中島文明, ○松田利夫, 橋本志歩, 鎌田裕美, 河村久美子, 岡崎 仁, 田所憲治

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

【目 的】 非溶血性輸血副作用の原因調査では一定の割合で HLA 抗体が検出されるが明確な因果関係は解明できていない。これらの抗体は様々な特異性を示し, 輸血でどの程度抗原と反応する組合せになるか, 日本人の HLA 抗原頻度で換算した場合の反応陽性率 (以下 %PRA) を調べ, 輸血副作用原因調査の妥当性を検討するデータとする。

【方 法】 1997 年から 2007 年 4 月まで調査した 1,002 症例のうち, LABScreenPRA で検査し HLA 抗体特異性が得られた 391 件を対象とした。抗原は A, B, DR 座に限定し, ハプロタイプ頻度で算出した。これらを患者とドナー, クラス I と II に別けて解析した。

【結 果】 抗体陽性例から得られた %PRA の平均値は以下のとおりであった。

患者の抗体: 全体 50.1%, クラス I 36.6%, クラス II 62.7%, クラス I と II 80.8%

ドナーの抗体: 全体 45.6%, クラス I 33.8%, クラス II 54.1%, クラス I と II 76.5%

抗体検出率は患者側 28.6%, ドナー側 21.9% であった。症例別では発熱症例が患者側 (43.7%), TRALI 症例がドナー側 (40.7%) で高かったが, %PRA に差はなかった。

【考 察】 以上の結果から, 患者の 28.6% が抗体を保有し, 輸血を受けた場合 50.1% の確率で輸血血液中の HLA 抗原と反応する。発熱症例に限定すると, 患者の 43.7% が 50.1% で反応する。一方, 輸血血液中には, 21.9% に抗体が存在し, そのうち 45.6% の確率で患者 HLA 抗原と反応する。TRALI 症例では 40.7% の輸血血液が 45.6% で反応する。どちらも輸血は複数本に及ぶことが多いので, これらの確率はさらに高くなる。TRALI のように輸血血液が原因とされる重篤な副作用は患者の抗原を含め詳細な調査をする必要があるが, 発熱のような副作用では, 患者抗体が高率に輸血血液と反応するデータが得られたので, あえて抗体検査をする必要は無いと考える。

## P1-03

# 非溶血性輸血副作用と HLA 抗体(2) —精製抗原試薬で検出する微弱な HLA 抗体について

○ 中島文明, 橋本志歩, 鎌田裕美, 河村久美子, 松田利夫, 岡崎 仁, 田所憲治

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

**【目 的】** 非溶血性輸血副作用と HLA 抗体 (1) における解析では, 抗体を検出しているにもかかわらず, %PRA が 0% になる状況が存在する。これは, 引用したハプロタイプ頻度に抗体特異性とマッチする抗原が含まれていないことが原因である。精製抗原を用いた高感度な市販試薬を使用した結果, 日本人に存在しないか非常に稀な抗原に対する抗体を検出したことになる。また, 日本人に存在する抗原であっても, その反応性が非常に微弱な抗体も検出している。これらについてまとめる。

**【方 法】** 抗体特異性, 患者・ドナー別, 性別, 年齢, ABO 型, 輸血製剤, 原疾患, 副作用などについて調べ, 特徴を解析した。

**【結 果】** 検出された抗体はほとんどが単一特異性を示し, 稀な抗原に対しては A80 (5 例), A23 (3 例), A32, B8, B45, DR103 が 2 例ずつ, A29, A36, A68, B18, B49, B57, B76 が 1 例ずつあった。日本人に存在する抗原では A31 (5 例), B37 (4 例) などがあった。その他, A25 + A32 など特定のエピトープに対する抗体が数例あった。これらの特徴は以下ようになる。

1. 抗体特異性が極めて高い反面, 反応性が弱い。
2. 日本人集団で検出されない抗原に対する抗体が多い。
3. 男性にも多く検出された(製剤 22 例中 14 例が男性ドナー)。
4. 患者・ドナー・年齢・ABO 型に関係なく検出された。
5. 輸血製剤・原疾患・副作用症状に関連性は認められない。

**【考 察】** もっとも疑問と感じるのは, 男性ドナーから抗体が検出されたこと, 日本人集団で存在しないような抗原に対する特異性を示すことである。推測として, 外来微生物やある種のタンパクに対し産生した自然抗体で, 偶然, HLA エピトープに反応する特異性を保有した結果と考える。その由来を特定する術は無い。今後, これらが生体内で機能する抗体か, そもそも検出する必要がある抗体なのか検討してゆく。

## P1-04

# 自己 HLA 抗原のサブタイプに対する抗体が認められた症例

○ 関根みゆき<sup>1)</sup>, 藤原孝記<sup>1)</sup>, 峯元睦子<sup>1)</sup>, 市原孝浩<sup>1)</sup>, 柏瀬貢一<sup>1)</sup>, 礪波 薫<sup>1)</sup>, 島野佳恵<sup>1)</sup>, 田中秀則<sup>1)</sup>, 内川 誠<sup>1)</sup>, 佐竹正博<sup>1)</sup>, 谷川 宗<sup>2)</sup>, 中島一格<sup>1)</sup>

1) 東京都赤十字血液センター

2) 東京都立豊島病院 輸血科

HLA 抗体による血小板輸血不応症例の多くは, 頻回の血小板輸血を必要とする造血器疾患患者に多く見られ, このような症例では HLA タイプを適合させた濃厚血小板 HLA 「日赤」(以下, PC-HLA) が有効な製剤である。PC-HLA 製剤の最終的な適合検査として, 適合献血者リンパ球と患者血清との交差適合試験を実施している。今回, PC-HLA の交差適合試験において, 患者と同一の HLA 抗原 (HLA-B61) を保有する献血者リンパ球で陽性反応を示した症例において, HLA-B61 のサブタイプに対する抗体の存在が疑われたので報告する。

**【症例および検査方法】** 症例: 患者は 60 代女性, 急性骨髄性白血病, A 型 Rh(+), HLA-A2, A24, B35, B61, Cw9, -, 妊娠歴および輸血歴(有)。血小板輸血不応のため Flow PRA による HLA 抗体検査で HLA 抗体陽性と判定された。PC-HLA 供給時の交差適合試験で, 患者 HLA タイプと完全適合した献血者であるにも関わらず, AHG-LCT 法の κ 鎖で陽性反応が認められた。

**【検査方法】** 陽性反応を示した抗体の特異性を確認するために, AHG-LCT, LIFT, PIFT 法および LABScreen Single Antigen (以下, LAB SA) で追加検査を行なった。また, DNA タイピングによる患者 HLA タイプの再検査および LIFT, PIFT 法による自己血小板およびリンパ球との反応性についても確認を行なった。

**【結果・考察】** 特異性の確認検査で, LAB SA において HLA-B61 (B\*4002) 抗原に対する抗体が検出され, LIFT 法で一部の B61 抗原 (B\*4003) に反応を示さないことが確認された。また, 自己血清と自己リンパ球および血小板との反応は認められなかったこと, 患者の HLA-B61 抗原が HLA-B\*4029 でコードされていることから, HLA-B61 サブタイプに対する抗体である可能性が示唆された。しかし, 交差適合試験で陽性となった血小板製剤の輸血効果は有効であり, 今回検出された HLA-B61 サブタイプに対する抗体は血小板輸血効果に大きく関わらないことが推察された。

## P1-05

## リンパ球クロスマッチで検出できる non-HLA 抗体陽性症例と検出できない non-HLA 抗体陽性症例の移植予後について

○ 橋本光男, 木下朋子, 岸川英史, 濱部敦史, 山内洋子, 奥野綾子, 藤井直彦, 有地直子, 徳川茂樹, 難波行臣, 西村憲二, 市川靖二

兵庫県立西宮病院・腎疾患総合医療センター

腎臓移植の受者選択基準は早期移植腎廃絶を防ぐために、移植前の T リンパ球クロスマッチ (XM) が陰性であることが条件となっている。現在実施されている XM は LCT 法が一般的であるが、抗体の検出感度と検出抗体の特異性に問題があると指摘されている。我々は従来の LCT 法に加え、FCXM 法と Flow PRA を併用した XM を実施しているが、今回は non-HLA 抗体陽性症例と早期移植予後との関連を検討した。

【材料と方法】 1997 年 5 月から 2005 年末までに兵庫県下で移植された 136 例を対象とした。XM は LCT, FCXM, Flow PRA で行い、HLA と MICA 抗体の特異性は single antigen beads を用いた。

【結果と考察】 136 症例を LCT-T 細胞, FCXM-T 細胞と Flow PRA の反応パターンより、1 群: non-HLA 抗体陽性例を含む陰性症例 (89 例), 2 群: DSA (Donor Specific Abs) 以外の 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 DSA 陽性症例 (12 例) の 4 群に分類した。1 群の 89 症例の 1 年生着率は 96% で、1 ヶ月以内の移植腎廃絶例は 2 例だった。共に C4d 陽性で、non-HLA 抗体による抗体関連型拒絶反応が疑われた。2 群と 3 群は全例急性拒絶反応は認められず、1 年生着率は 100% だった。3 群は 8 例中 3 例が LCT-T 細胞陽性、5 例が FCXM-T 細胞陽性だったが、全例 Flow PRA 陰性で、Morris 等が提唱してきた non-HLA 抗体陽性群と考えられた。4 群の 12 症例の 1 年生着率は 90% で、1 例が B 型肝炎による死亡例だった。このうち 9 例の HLA 抗体の特異性を検討した結果、8 例が DSA 陽性だった。今回の検討により、リンパ球 XM では検出できない 1 群の non-HLA 抗体陽性症例は予後不良であったが、3 群の non-HLA 抗体陽性症例は XM 陽性でも移植予後は良好であった。

## P1-06

## 過去 5 年間の東北地区献腎移植希望登録者における HLA 抗体の陽性率とその推移

○ 小野 智, 菊地正美, 菅原亜紀子, 郡司陽子, 渡部和也, 齋藤勝治, 安田広康, 大戸 斉  
福島県立医科大学附属病院 輸血・移植免疫部

【目的】 腎移植レシピエントにおいて、移植後拒絶反応の原因となりうるドナー抗原と反応する抗体の有無を移植前に確認することは、臓器喪失を未然に防ぐために重要である。我々は献腎移植希望登録者を対象に PRA 検査を行ってきたが、HLA 抗体の推移を調査した。

【方法】 2002～2006 年度日本臓器移植ネットワークに登録していた東北地区献腎移植希望者 (青森県を除く) を対象とした。PRA 検査は、LCT (パネル: 20 名の T リンパ球) で評価した。リンパ球死細胞率が 20% 以上を HLA 抗体陽性とした。

LCT の検査結果を基に、陽性率、陽性者の推移について調査した。

感作歴 (輸血・妊娠) の有無と抗体産生の関係についての統計分析に  $\chi^2$  検定を用いた。

【結果】 2002～2006 年度 PRA 陽性率 (全体) は、年度別に 10.9% (72/658 名), 17.0% (100/589), 13.5% (85/629), 12.6% (73/579), 10.4% (56/536), 平均 12.9% であった。2006 年度の PRA 陽性率 (県別) は、岩手: 8.0% (8/100), 山形: 9.7% (9/93), 宮城: 15.2% (22/145), 秋田: 13.4% (9/67), 福島: 6.1% (8/131) であった。感作歴の有無による PRA 陽性率は、【感作歴あり 14.3% (39/273), なし 6.9% (17/248)】であった。感作歴を有する登録者で有意に陽性率が高値となった ( $P < 0.01$ )。

2002 年度から 2006 年度の 5 年間継続して登録した献腎移植希望者 349 名中 88 名が PRA 陽性となった。うち 5 年間抗体を保有した登録者は 28 名 (32%), 48 名 (55%) は次年度以降の検査で陰性化した。

【考察】 PRA 陽性者数は 2003 年度より年次減少傾向にあった。2006 年度の検査結果から、県別の陽性率に差を認めた。登録者の待機日数、感作歴の回数、HLA タイプなどの要因が考えられた。2002～2006 年度 PRA 陽性者の約 30% が HLA 抗体を 5 年間保有し続けていた。今後とも PRA 検査を継続する予定である。

## P1-07

## 当科における腎移植後の抗体関連型拒絶と組織適合性検査の意義

○ 岡部安博, 杉谷 篤, 北田秀久, 吉田淳一, 土井 篤,  
西岡泰信, 升谷耕介, 鶴屋和彦, 宮本京子, 清島久美,  
田中雅夫

九州大学腎疾患治療部, 臨床・腫瘍外科  
同 遺伝子・細胞療法部

免疫抑制剤の進歩によって腎移植の術後成績は飛躍的に向上したが, 我々は抗体関連型拒絶の診断と治療方針決定に, ベッドサイド所見, 検査所見, 腎生検所見とともに Flowcyte を重用している。4つの典型例を紹介し, その意義を考察する。1) 生体腎移植後, 早期に抗体関連型拒絶を繰り返し機能廃絶となった43歳女性。SLE から慢性腎不全となり実母をドナーとする生体腎移植を受けたが, 術後数日で尿量減少, 血清 Cr 上昇を認めた。血漿交換, IVIG 療法で軽快したが, その後拒絶を繰り返し, 3.5年後に透析再導入となった。HLA typing は 1 haplo 3Ag match, LCT は T, Bcell とともに陰性であったが, Tcell FCXM は術前から陽性, FlowPRA は術前 ClassI 陽性, 術後は ClassI, II とともに陽性となっていた。2) 生体腎移植3年後に, 抗体産生により拒絶を起こした53歳男性。妻から生体腎移植を受け, 移植直後の経過は良好であったが, 2年目頃から服薬が不十分であった。血清 Cr3.8mg/dl と上昇し, FlowPRA は ClassII が陽性で NDSA となっていた。3) 二次, 献腎移植で術前 FlowPRA 陽性であった51歳女性。FlowPRA 陽性は持続し, 血小板減少性の抗体関連型拒絶を併発したので, 血漿交換, リツキサン投与, 緊急脾摘で改善した。依然として NDSA は残存している。4) 二次, 献腎移植で High-risk と考え, 術前に血漿交換とリツキサン投与を行った47歳男性。尿量は少ないが, 腎生検では拒絶はなく軽度の抗体産生が見られる。Flowcyte を用いた検査は非常に有用であるが, 抗体を検知する感度は方法 (LCT, FCXM, FlowPRA) によって異なり, また状況によりかなり変化していることに注意して, 他の所見と共に治療方針を決定することが大切である。

## P1-08

## 術前 Flow-PRA Screening 検査結果と CAN (Chronic allograft nephropathy) の関係について

古澤美由紀<sup>1)</sup>, 石田英樹<sup>2)</sup>, 石塚 敏<sup>1)</sup>, 安尾美年子<sup>1)</sup>, 白川浩希<sup>2)</sup>, 尾本和也<sup>2)</sup>, 土岐大介<sup>2)</sup>, 田邊一成<sup>2)</sup>

1) 東京女子医科大学腎臓病総合医療センター移植免疫  
2) 同 泌尿器科

【目的】 Chronic allograft nephropathy (CAN) は, 長期の移植腎喪失の主な原因のひとつであるが, その機序は未だ十分に解明されていない。移植後, 抗 HLA 抗体を保持するレシピエントは, 保持していないレシピエントより移植腎の長期生着率が劣ると言われている。今回われわれは, 術前の抗 HLA 抗体の有無と移植後6ヶ月以降の Biopsy の結果を用いて CAN との関係について検討を行ったので報告する。

【対象および方法】 対象は, 解析が可能であった87症例 (男性: 29 症例, 女性: 58 症例) である。平均年齢は,  $38.8 \pm 13.1$  歳であった。血液型は適合47症例, 不一致15症例, 不適合25症例であった。方法は, 移植前の患者血清を用いて Flow-PRA の測定を行い, 抗 HLA 抗体の有無を確認した後, 移植後6ヶ月以降の Biopsy の結果との関係を検討した。

【結果】 術前 PRA 陰性症例は69%, PRA 陽性症例は31%であった。術前 PRA 陰性症例の移植後6ヶ月以降の Biopsy 結果は, Chronic AMR が15%に認められ, 術前 PRA 陽性症例の移植後6ヶ月以降の Biopsy 結果は, Chronic AMR が41%に認められた。

【結論】 術前 PRA が陽性であった症例では, 移植後6ヶ月以降の Biopsy にて Chronic AMR が高率に認められた。術前の PRA 陽性率は術後長期の生着率低下と深く関わっていると思われる。

## P1-09

## Flow Cytometry を用いた移植関連検査の課題

○ 宮本京子<sup>1)</sup>, 清島久美<sup>1)</sup>, 杉谷 篤<sup>2)</sup>, 北田秀久<sup>2)</sup>, 岡部 安博<sup>2)</sup>, 赤司浩一<sup>1)</sup>, 田中雅夫<sup>2)</sup>

1) 九州大学病院 遺伝子・細胞療法部

2) 同 臨床・腫瘍外科

【目 的】 近年, flow cytometry の普及に伴い, 移植関連検査においても FlowPRA (flow panel reactive antibody) や FCXM (flow cytometric crossmatch) などが急速に拡がってきている。このため検査の標準化が必要となり, 日本組織適合性学会による Flow PRA の精度管理が開始されている。当院においては, 2006 年より FlowPRA および FCXM を業務として開始しているが, これまでにいくつかの課題が明らかとなってきたので報告する。

【対 象】 当院で腎移植を行った症例で, FlowPRA を実施した 50 例および FCXM を実施した 11 例。

【結果ならびに考察】 Flow PRA の課題として, flow cytometry の compensation による判定誤差, コントロール血清やビーズのロットによる変動などがあり, FCXM の課題としては, 非特異反応やリツキサン投与時に必要とされる pronase 処理が判定に及ぼす影響などがあった。これらの影響により, 従来からの判定基準による一律の判定が困難な症例が, 少なからず存在する事が明らかとなった。また, FlowPRA 結果が弱陽性で判定困難であったが, 臨床症状と総合して拒絶反応と判断, 血漿交換等により状態が改善し, FlowPRA も陰性化した症例もあった。

このように従来の判定基準と臨床の状態が一致しない症例があるため, さらに症例を重ねて検査手技や判定基準などを検討することの重要性が明らかとなった。

【結 語】 Flow cytometry を用いた移植関連検査においては, 機器や試薬に対する習熟度や投与薬剤などが判定に影響を与えていることが明らかになった。また, 臨床状態との相関および検査感度や費用を考慮した検査法の標準化が必要であると考えられた。

## P1-10

## 腎移植後の HLA 抗体モニタリングの有用性

○ 小林孝彰<sup>1)</sup>, 小原節子<sup>2)</sup>, 水野美紀子<sup>2)</sup>, 三輪祐子<sup>1)</sup>, 丹羽 操<sup>1)</sup>, 後藤憲彦<sup>3)</sup>, 長坂隆治<sup>3)</sup>, 植木常雄<sup>4)</sup>, 片山昭男<sup>1)</sup>, 打田和治<sup>3)</sup>

1) 名古屋大学医学部免疫機能制御学

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

4) 増子記念病院

【目 的】 高感度の HLA 抗体検査が可能となり, 移植グラフトの予後予測因子として移植前だけでなく移植後のモニタリングが提唱されている。私どもは, ドナー特異性の検出は困難であるが, 新規 HLA 抗体産生例は血清 Cr 値 (Cr), 尿タンパク陽性率 (UP) が有意に高いことを報告した。今回, HLA 抗体の推移と臨床経過を解析し, 経時的モニタリングの意義について検討した。

【方 法】 1982 年 11 月から 2006 年 10 月までに施行し, 現在生着中の生体腎移植 359 例 (初回 332 例, 二次 27 例) を対象とした。血清中の HLA 抗体を ELISA, flow cytometry で測定し, 移植腎機能と比較検討した。そのうち 224 例は 2 年間の HLA 抗体と腎機能の推移を解析した。

【結 果】 HLA 抗体は, 359 例中 35 例が陽性 (9.7%) であり, class II 優位であった (class I のみ 7 例, II のみ 24 例, I+II は 4 例)。新規抗体産生例 (20 例) の Cr, UP は, 移植前から抗体陽性例 (15 例) と比較して有意に高い値を示した (Cr:  $1.89 \pm 1.27$  vs  $1.33 \pm 0.51$ , UP 60.0% vs 40.0%)。新規産生例のうち, Class II 抗体陽性例 (17 例) は class I 抗体陽性 (4 例) と比較して Cr が高かった ( $1.98 \pm 1.35$  vs  $1.41 \pm 0.39$ )。また, UP 陽性例 (12 例) の Cr 値は有意に高かった ( $2.37 \pm 1.46$  vs  $1.17 \pm 0.21$ )。この 2 年間の推移をみると follow up できた 241 例のうち, HLA 抗体が Neg?Neg (192 例) の Cr 1.45,  $\Delta$ Cr 0.08 であり, Neg?Pos (6 例) の Cr 1.37,  $\Delta$ Cr 0.02 とともに良好であった。Pos?Neg (9 例) の Cr 1.81,  $\Delta$ Cr -0.02 であり Cr の悪化はみられなかったが, Pos?Pos (17 例: Cr 2.01,  $\Delta$ Cr 0.39) のうち新規抗体産生例 (7 例) は Cr 2.85,  $\Delta$ Cr 0.83 と急速の腎機能悪化が認められた。

【考 察】 新規抗体産生例で class II に対する抗体, 尿タンパク陽性, 持続する抗体検出は, 予後不良と考えられた。HLA 抗体は, 尿タンパク, Cr 値の変化よりも早く検出できる可能性が示された。移植後の定期的な HLA 抗体測定検査は有用である。

# P1-11

## 腎移植において Rituximab が液性抗体検査法に与える影響について

石塚 敏<sup>1)</sup>, 石田英樹<sup>2)</sup>, 古澤美由紀<sup>1)</sup>, 安尾美年子<sup>1)</sup>, 白川浩希<sup>2)</sup>, 尾本和也<sup>2)</sup>, 土岐大介<sup>2)</sup>, 田邊一成<sup>2)</sup>

1) 東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター移植免疫  
2) 同 泌尿器科

【はじめに】 Rituximab は、マウスーヒトキメラ型 monoclonal 抗体でありヒト B 細胞表面に発現する CD20 抗原に結合し、補体依存性および抗体依存性に細胞傷害作用を起こす。しかしこれらの傷害作用は各種液性抗体検査法に影響を及ぼすため、Rituximab を術前投与した症例のクロスマッチテストの結果の判定には注意を要する。

今回われわれは、フローサイトメトリッククロスマッチテスト (FCXM) にて Rituximab の影響を回避する検出法の検討を行ったので報告する。

【対象および方法】 東京女子医科大学泌尿器科に生体腎移植希望で受診した患者のうち FCXM 法において抗 HLA 抗体が陰性および陽性症例である。

【結果】 FCXM 法において、術前に Rituximab を投与した全症例で B リンパ球クロスマッチテストが陽性転化した。また、T リンパ球クロスマッチテストでも陽性に転化しなかったものの通常では染色されない弱陽性の細胞集団を認めた。しかし、Protenase 処理法では、これらの細胞集団は完全に消失した

【結語】 今後、リツキシマブのような抗体を投与した移植患者の液性抗体検査法として Protenase 処理法は新しい検査法になりうると考えられた。

# P1-12

## NIMA 抗体陽性の児に対し rituximab と大量血小板輸血後、母児間移植を行い生着を得た一例 -Flow PRA, Luminex 法における抗 HLA 抗体価の推移-

谷口享子, 島崎千尋, 志村和穂, 松本洋典, 堀池重夫, 谷脇雅史, 稲葉 亨, 丸屋悦子<sup>2)</sup>, 佐治博夫<sup>2)</sup>

京都府立医科大学血液・腫瘍内科, 分子病態検査医学  
2) HLA 研究所

【目的】 HLA 不一致移植である腎移植, 心臓移植などでは, 抗 HLA 抗体の存在が急性期や慢性期拒絶に関わっていることが知られているが, 造血幹細胞移植における意義は明らかではない。今回我々は, 抗 HLA 抗体陽性患者に対し母をドナーとした母児間移植を行い抗体価の推移を FlowPRA 法及び Luminex 法で解析し興味ある所見を得たので報告する。

【方法】 29 歳 CMML の女性。骨髓バンクよりの同種骨髓移植後の再発に伴う拒絶に対し母をドナーとした末梢血幹細胞移植を施行。HLA は Recipient A 24/- B 59/54 C 1/- DR 9/4.1 donor A24/- B 52/54 C 1/12 DR 9/15 であり, GVHD, GVL 方向共に 2 座ミスマッチ。患者は classI に対する抗 HLA 抗体を広範囲に有しており, 特に B52 に対する抗体を強く発現していた。拒絶予防として day-10 に rituximab 190mg/m<sup>2</sup> と day -1 に HLA 抗体吸着目的に B52 を有する父, 妹より血小板計 40U を輸血した。輸注 CD34 + 細胞数は 7.6 × 10<sup>6</sup>/kg。前処置は Flu/Mel/TBI 4Gy。GVHD 予防は FK506 + short MTX。Flow PRA 法及び Luminex 法で経時的に抗 HLA 抗体を測定した。

【結果】 抗体価は rituximab 投与後, 10 日間で約 70% 程度に減少し, また血小板大量投与翌日には 30% と低下した。免疫抑制剤減量後 Day120 に grade IV の aGVHD を発症, 同時に抗体価はほぼ消失した。

【考察】 抗 donor HLA 抗体存在例においても Rituximab と大量血小板輸血により抗体価を減少させることで移植可能と考えられた。また GVHD 発症時に抗体価はほぼ消失し graft versus plasma cell 効果が出現したものと考えられた。

## P1-13

# 血漿交換とステロイド療法に低容量 Rituximab 併用投与にて長期改善を認めた抗体関連型拒絶反応の一例

○ 吉田一成<sup>1)</sup>, 竹内康雄<sup>2)</sup>, 若井陽希<sup>1)</sup>, 馬場志郎<sup>1)</sup>, 小池淳樹<sup>3)</sup>, 小幡文弥<sup>4)</sup>

1) 北里大学医学部泌尿器科

2) 北里大学医学部腎臓内科

3) 聖マリアンナ医科大学医学部病理学

4) 北里大学医療衛生学部免疫学

【症 例】 38 歳, 男性。

【臨床経過】 平成 4 年, 母親をドナーとして生体腎移植を受けたが平成 6 年, 透析再導入。平成 18 年, 献腎移植(二次移植)施行。術前クロスマッチ B cell warm 陽性。免疫抑制剤は導入時に抗 CD25 モノクローナル抗体 (mAb) を投与し, 維持療法としてステロイド, タクロリムス(血中トラフ値 10-12 ng/ml), MMF (1000 mg/日)にて加療された。術後, 尿量増加が得られず第 22 病日に腎生検施行。生検所見は移植糸球体炎, 傍尿細管毛細血管炎を認め, フローサイトメトリー法による血清中抗 HLA 抗体陽性所見等から抗体関連型拒絶反応 (AMR) と診断された。治療として血漿交換 (PE) 3 回施行後, 尿量増加し血清 Cr 1.5 mg/dl まで改善した。その後血清 Cr 2.7 mg/dl へと上昇したため第 62 病日に再度腎生検施行。再び AMR と診断されステロイドパルス療法, PE 5 回および Rituximab (抗 CD20 mAb) (100 mg) 点滴静注施行。腎機能は改善し第 90 病日に血清 Cr 1.4 mg/dl にて退院。現在まで腎機能悪化は認めず, 腎生検所見, 血清中抗 HLA 抗体は改善を示した。

【考 察】 低容量 Rituximab 投与と PE 併用は AMR の治療として有用と考えられた。

## P2-01

# HIV 感染と AIDS の進行における CCL3L1 遺伝子コピー数の関連

○ 中島敏晶<sup>1,2)</sup>, 大谷仁志<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, 三間屋純一<sup>3)</sup>, 照沼 裕<sup>4)</sup>, 木村彰方<sup>1,2)</sup>

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) 静岡県立こども病院

4) 日本バイオセラピー研究所

【背景と目的】 HIV 感染症・AIDS は最も深刻な感染症のひとつであり, 我が国においても大きな社会問題となっており, その治療法, 予防法の確立が急務である。HIV 感染および AIDS の進行には宿主の遺伝要因が深く関わっており, 我々もわが国の症例における HLA class I 多型の関与を報告してきている。近年, HIV レセプターである CCR5 の生体内リガンドである CCL3L1 遺伝子にコピー数多型があり, このコピー数が少ないことが AIDS 発症の感受性要因となることが報告されている。本研究では, 日本人症例における CCL3L1 遺伝子コピー数多型と HIV 感染および AIDS 進行と関連を明らかにすることを目的とした。

【方 法】 血友病 HIV 感染者 95 名, 一般健常者 205 名を対象として, TaqMan 法による定量 PCR 法により CCL3L1 遺伝子のコピー数を検討した。血友病 HIV 感染者を, 長期にわたって治療を必要としない予後良好群 47 名と, CD4+T 細胞数の低下により抗ウイルス剤の投与が必要となった抗ウイルス剤投与群 48 名に分類し, CCL3L1 遺伝子のコピー数を比較検討した。

【結果と考察】 CCL3L1 遺伝子のコピー数の平均は一般健常者  $5.00 \pm 0.22$ , 血友病 HIV 感染者  $3.35 \pm 0.24$  であり, 血友病 HIV 感染者において有意に ( $p < 0.0001$ , unpaired t test) コピー数が少なく, CCL3L1 遺伝子のコピー数多型が HIV 感染感受性を規定する宿主要因のひとつであることが示された。一方, 予後良好群  $3.68 \pm 0.37$ , 抗ウイルス剤投与群  $3.02 \pm 0.29$  と抗ウイルス剤投与群において CCL3L1 遺伝子のコピー数がより低い傾向を認めたが, 有意ではなかった。以上より, CCL3L1 遺伝子コピー数多型は, AIDS 発症の感受性ではなく, HIV 感染の感受性に密接に関わるものと考えられた。

## P2-02

## 血友病患者の HIV 感染制御個体差と NK 細胞機能関連の免疫応答遺伝子群多型性

成瀬妙子<sup>1)</sup>, 照沼 裕<sup>2)</sup>, 三間屋純一<sup>3)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>

1) 東京医科歯科大学難治疾患研究所 分子病態

2) 日本バイオセラピー研究所

3) 静岡こども病院

【目 的】 疾患への感受性の個体差は、種々の免疫応答関連遺伝子遺伝子群におけるゲノム多様性に規定されている。中でも NK 細胞は、ウイルス感染細胞を認識し、感染防御機構に深く関わっていることが知られる。そこで今回は、HIV ウイルス感染および AIDS 発症を制御する遺伝的要因の同定を目的として、NK レセプターおよびそのリガンド遺伝子群の多型解析を行った。

【方 法】 HIV 汚染血液製剤の使用によって感染後、10 年以上 AIDS 未発症の日本人血友病患者集団のうち、CD4 陽性細胞数が正常に保たれている長期末発症群 (long-term non-progressor: LTNP) 37 例、減少している緩徐進行群 (long-term slow progressor: LTSP) 38 例、対照として日本人一般集団 96 例を対象とし、レクチン型 NK レセプターである NKG2 レセプター遺伝子領域に 4 種、活性型サブタイプである NKG2D のリガンドである ULBP 遺伝子領域に 4 種の多型マイクロサテライト (MS) を選定し検討した。ULBP 遺伝子群の多型解析は各遺伝子のイントロン 1 および 4 に設定したプライマーで PCR を行い、増幅後に直接塩基配列決定法にて解析した。

【結 果】 MS による解析では、ULBP2 遺伝子近傍のマーカと LTNP 群、ULBP1 遺伝子近傍マーカと LTSP 群に有意な関連を認めた。ULBP1 および 3 について遺伝子多型を検索したところ、ULBP1 遺伝子では 1 箇所の同義置換多型、ULBP3 遺伝子では 1 箇所の同義置換と 2 箇所の非同義置換多型を新たに見出したが、いずれも LTNP/LTSP 群と対象群での頻度差は認めなかった。

【考 察】 我々は以前の本学会で、LTNP 群で HLA-B\*5401 の減少、LTSP 群での HLA-B\*4402、-B\*6701 の増加と -B\*5201 の減少を報告した。NK 細胞はウイルス感染などにより MHC クラス I の発現が低下した細胞に対し障害活性を示すことが知られており、同時に NK レセプターの多くは MHC クラス I およびその関連分子をリガンドとしている。このことから MHC 関連遺伝子や NK レセプターとそのリガンド多型の影響を明らかにすることは重要と考えられ、現在 ULBP2、ULBP4 遺伝子、さらに NKG2 遺伝子群多型についても解析を進めている。

## P2-03

## エイズウイルスワクチンに対する免疫応答に関わる Mamu-B 遺伝子多型の探索

○ 志知大輔<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, 日野原邦彦<sup>2)</sup>, 森 一泰<sup>3)</sup>, 俣野哲郎<sup>4)</sup>, 本多三男<sup>5)</sup>, 保富康宏<sup>6)</sup>, 宮澤正顕<sup>7)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>

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生命情報科学教育部ゲノム多様性

3) 医薬基盤研究所霊長類医学科学研究センター

4) 東京大学医科学研究所

5) 国立感染研究所エイズ研究センター

6) 三重大学医学部

7) 近畿大学医学部

【目 的】 アカゲザルはエイズワクチン開発に広く使われている。ワクチン開発においては、MHC 遺伝子の多様性が、宿主免疫応答の個体差を左右する遺伝的因子として重要な役割を担っている。アカゲザルの MHC 遺伝子の特徴は、遺伝子コピー数多型および各対立遺伝子が存在することが知られている。しかしながら、未だ包括的な各対立遺伝子の多様性に関する情報は乏しい。そこで本研究では、Mamu-B 遺伝子に着目し、その多型性を探索するとともに、その多様性がエイズウイルスワクチンに対する免疫応答能に関与し得るのか検討を行った。

【方 法】 ミャンマーおよびラオス産の 3 系由来のアカゲザルのうち、CTL 誘導性が低く中和抗体産生能が高い 1 個体 (B1)、高い CTL 誘導性を示すものの中和抗体産生能が低い 3 個体 (B2, B3, B4) を用いた。各個体の cDNA を PCR 法により増幅し、Mamu-B 遺伝子の Exon2 から Exon3 を含む産物のクローニングを行い、塩基配列を決定した。得られた配列は BLAST により既知アレルとの相同性検索を行い、クラスタリングを行った。

【結 果】 各個体について B1: 8 個、B2: 20 個、B3: 17 個、B4: 17 個のアレルが見出された。また、CTL 誘導性が高く中和抗体産生能の低い B2 と B3 において、CTL 誘導性が低く中和抗体産生能の高い B1 では観察されなかった Mamu-B\*09 と 94% の相同性を示したアレルが見出された。

【結 語】 特定の Mamu-B 遺伝子の多型性がエイズウイルスワクチンに対する免疫応答能に関与する可能性が示唆された。

## P2-04

## IL-10 遺伝子多型と原爆放射線被曝の胃がん発症リスクに及ぼす影響

○ 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】** 放射線影響研究所の疫学調査で、原爆被爆者の放射線量に依存した胃がんを含む特定のがんのリスクが、今日においても増加していることが明らかにされている。一方、我々の免疫学調査では、放射線被曝が被爆者の宿主免疫系に大きな影響を及ぼし、この集団における免疫機能、特に炎症応答と免疫学的宿主防御の変化が様々な癌発症に関わっている可能性が示唆されている。本研究においては、免疫関連遺伝子のうち、抗炎症・免疫抑制性サイトカインとして重要な役割を担っている *IL-10* 遺伝子の多型と胃がん発症との関連を調べるとともに、*IL-10* ハプロタイプの胃がんリスクが放射線被曝によってどのような影響を受けるかを調べた。さらに、この多型の機能的意義を *IL-10* の血漿中濃度を測定することにより検討した。

**【方法】** 成人健康調査コホート研究で見いだされた胃がん症例群 238 名と対照群 1,757 名による症例対照研究を行なった。*IL-10* 遺伝子の多型部位は、Taqman allelic discrimination 法を用いて調べた。血漿中 *IL-10* レベルは ELISA キットを用いて測定した。

**【結果および考察】** 4つの htSNP で形成される一つのハプロタイプブロック (*IL10-ATTA* と *IL10-GGCG*) を見出した。胃がんリスクは放射線非被曝群で *IL-10* ハプロタイプにより有意に異なり、放射線被曝群では全てのハプロタイプで胃がんリスクはさらに増加していた。また、喫煙群についても全ハプロタイプで胃がんリスクの増加を認めた。さらに、血漿中 *IL-10* 濃度、*IL-10* ハプロタイプおよび放射線被曝線量の関係を調べた結果、血漿中 *IL-10* 濃度は他のハプロタイプに比べて *IL10-GGCG/IL10-GGCG* で高く、被曝線量の増加に伴って有意に高値を示した。これらの結果は、血中 *IL-10* 濃度は遺伝的影響だけでなく放射線被曝の影響によっても増加し、胃がんリスクと密接に関係していると考えられ、将来の胃がん予防の有益な代用マーカーとなり得ることを示唆している。

## P2-05

## IKBL は選択的スプライシング効率に関与する

柴田宏樹, ○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

**【背景と目的】** 我々はこれまでに、慢性関節リウマチおよび高安動脈炎への疾患感受性がそれぞれ IKBLp\*01 および \*03 と関連すること、IKBLp\*01 および \*03 はそれぞれ IKBL 遺伝子の低発現および高発現と関連すること、IKBL タンパクは核スペckルに分布することを明らかにした。一方、IKBL 遺伝子の機能は不明であるが、骨髄 cDNA ライブラリーから酵母 2 ハイブリッド法により IKBL 結合タンパクの遺伝子群を探索し、gene 10 (IKBL 自身) および gene 24 を得た。そこで本研究では、IKBL の機能を明らかにする目的で、gene 24 の機能および IKBL との機能連関について解析した。

**【方法】** IKBL と gene 24 タンパクとの結合性を pull-down 法によって直接検討した。標識した gene 24 タンパクを用いて細胞内分布を検討した。gene 24 はスプライシングに関与することが知られているため、アデノウイルス E1A 遺伝子を指標として、IKBL 共在化でのスプライシング機能を検討した。

**【結果と考察】** IKBL および gene 24 を COS 細胞に導入し、これを用いて IKBL は IKBL それ自身および gene 24 タンパクと結合することを pull-down 法で確認した。標識した gene 24 タンパクは IKBL と同様に核スペckルに分布した。gene 24 は選択的スプライシングを促進する因子であるが、アデノウイルス E1A 遺伝子を用いた系により、IKBL は gene 24 によるスプライシング促進 (13S → 12S → 9S の促進) のパターンを変化させる (13S → 12S のみ促進。12S → 9S の抑制) ことが判明した。以上の結果は IKBL による疾患感受性制御に選択的スプライシングが関与することを示唆する。

## P2-06

## HLA-DQ におけるトランスダイマー形成パターンの解析とヒトナルコレプシー感受性への干与

宮寺浩子, 徳永勝士

東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学教室

【目 的】 HLA-DQ は様々な自己免疫疾患に関与しているが、なかでも、ヒトナルコレプシーに対する感受性は DQB1\*0602 と非常に強く関連しており、日本人患者のほぼ 100% がこのアリルを持つことが知られている。一方、特定の DQB1 アリルと DQB1\*0602 のヘテロ接合体は強い関連を示さないことが報告されている。しかし、ナルコレプシー発症のメカニズム、および、HLA-DQ の発症機構への関与は明らかにされていない。我々は HLA-DQ $\alpha$ , DQ $\beta$  分子間のトランスダイマー形成が疾患感受性に影響を与える可能性に着目し、さまざまな HLA-DQ $\alpha$ , DQ $\beta$  アリル産物間でのヘテロダイマー形成能を解析した。

【方 法】 昆虫細胞 (Drosophila S2) 発現系を用い、主要な HLA-DQA1, DQB1 アリルを可能なすべての組み合わせで発現し、ヘテロダイマー形成能をウェスタンブロットティングおよびフローサイトメトリーによって同定した。

【結果と考察】 HLA-DQ におけるトランスダイマー形成は、強い連鎖不平衡にある DQA1-DQB1 アリル間で起こることが先行研究において報告されているが (Kwok, et al. 1993), 本研究でも同様の結果が確認された。しかし、特定の DQA1, DQB1 アリルの組み合わせでは、これらのアリル間での連鎖不平衡が知られていないにも関わらず、ヘテロダイマーを形成しうることが示唆された。そこで、これらの結果を構造的な側面から理解するために、さまざまな HLA-DQ $\alpha$ , DQ $\beta$  キメラ分子を作成し、ヘテロダイマー形成において重要なアミノ酸残基を同定した。また、これらのヘテロダイマー形成パターンがヒトナルコレプシー感受性・抵抗性に与える影響について考察した。

## P2-07

## Buerger 病疾患感受性における CD14, HLA-DR, -DP 遺伝子多型の相乗効果

○ 陳 智勇<sup>1,2)\*</sup>, 高橋めぐみ<sup>2)\*</sup>, 成瀬妙子<sup>2)</sup>, 中島敏晶<sup>2,3)</sup>, 岩井武尚<sup>1)</sup>, 木村彰方<sup>2,3)</sup>

1) 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

2) 同・難治疾患研究所・分子病態分野

3) 同・大学院疾患生命科学部・ゲノム多様性

【目 的】 Buerger 病 (BD) は四肢動脈の血栓性閉塞を来す疾患であり、喫煙や歯周病がリスクファクターであることが知られている。最近、BD 患者の血管病理標本にはグラム陰性細菌が高率に検出されることが報告された。グラム陰性細菌はリポ多糖 (LPS) を産生するが、LPS レセプターである CD14 には多型があり、多型に依存して炎症反応の程度に個体差があることが知られている。我々は以前に BD と HLA-DRB1\*1501 および DPB1\*0501 との関連を報告したが、これらの因子の相互関連は明らかではない。

【方 法】 BD 患者 131 例、対照 227 例を対象とし、CD14 の -260T>C 多型および HLA-DP, -DR 多型を検討した。

【結 果】 BD 患者群には DRB1\*1501 陽性者 (34.4% vs. 13.2%,  $P_c = 4.4 \times 10^{-5}$ , OR = 3.44, 95% CI 2.06–5.73) および DPB1\*0501 陽性者 (79.4% vs. 55.1%,  $P_c = 4.7 \times 10^{-5}$ , OR = 3.14, 95% CI 1.93–5.11) 頻度が有意に高いことを確認した。一方、CD14 多型を検討した結果、TT 遺伝子型頻度が患者群に有意に高い ( $P = 0.008$  OR = 1.87, 95% CI 1.18–2.97) ことを見出した。階層解析を行ったところ、DRB1\*1501, DPB1\*0501, CD14-TT の 3 感受性因子のうち任意の 2 因子を持つ場合はいずれか 1 因子を持つ場合よりさらにリスクが高くなる (OR; 4.72 から 12.57) ことが示され、これらの感受性因子の間には相乗作用があると考えられた。

【考 察】 CD14 分子はグラム陰性菌由来 LPS のレセプターであるが、-260 T 型は分泌型 CD14 の産生量が多いこと、分泌型 CD14 は LPS による炎症反応を亢進することが報告されており、本研究結果はグラム陰性口腔細菌由来の LPS が BD の病態形成に深く関与することを示唆する。一方、DRB1\*1501 や DPB1\*0501 が BD 病態にいかに関与するかは明らかではないが、最近 BD 患者では歯周病菌に対する血中抗体価が高いことが報告されたため、今後抗体価とこれらの HLA アリルとの関連を検討する予定である。

## P2-08

## 顕微鏡的多発血管炎 (MPA) の疾患感受性と KIR-HLA 遺伝子多型

○ 宮下リサ<sup>1)</sup>, 土屋尚之<sup>2)</sup>, 屋部登志雄<sup>3)</sup>, 小林茂人<sup>4)</sup>, 橋本博史<sup>4)</sup>, 尾崎承一<sup>5)</sup>, 徳永勝士<sup>1)</sup>

- 1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室
- 2) 筑波大学大学院社会環境医学専攻
- 3) 東京都赤十字血液センター
- 4) 順天堂大学膠原病内科
- 5) 聖マリアンナ医科大学リウマチ・膠原病・アレルギー内科

**【背景・目的】** 顕微鏡的多発血管炎 (MPA) は、急速進行性腎炎や肺出血などの臓器障害を伴う稀少疾患である。病因はよく知られていないがウイルスや細菌感染との関連を示唆する報告があり、患者は高齢者に多い。KIR (killer cell immunoglobulin-like receptor) は NK 細胞や一部の T 細胞に発現する活性化型および抑制型分子群で、HLA-class I 分子を認識する。KIR 遺伝子には塩基配列レベルおよび遺伝子座の有無による多型が存在し、これまでに自己免疫疾患の感受性やウイルス感染症の臨床経過との関連が報告されている。本研究は、日本人集団における KIR と HLA の遺伝子型の組み合わせと MPA の疾患感受性との関連を検討した。

**【方 法】** MPA43 例、健常対照者 239 例につき、KIR14 遺伝子座の有無を PCR-SSP 法、HLA-B, C を PCR-MPH 法により決定し、各々疾患との関連を検討すると共にリガンド・受容体の組み合わせと疾患感受性との関連を検討した。

**【結 果】** KIR 遺伝子群、HLA-B, C ともに、単独では MPA との統計学的に有意な関連は観察されなかった。リガンド・受容体の組み合わせの解析では、HLA-Bw4 と KIR の組み合わせにおいて、最も抑制の強い組み合わせである HLA-Bw4(+)-KIR3DL1(+)/3DS1(-) の MPA における有意な増加が観察された ( $P=0.028$ ,  $OR=1.91$ )。

**【結 論】** KIR を介する NK 細胞・T 細胞の抑制が MPA 発症に関連する可能性が示唆された。

## P2-09

## HLA-DP 遺伝子は C 型肝炎ウイルス陽性肥大型心筋症と関連する

○ 志知大輔<sup>1)</sup>, 松森 昭<sup>2)</sup>, 高橋めぐみ<sup>1)</sup>, 成瀬妙子<sup>1)</sup>, 猪子 英俊<sup>3)</sup>, 木村彰方<sup>1)</sup>

- 1) 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態
- 2) 京都大学大学院 医学研究科 循環器内科学
- 3) 東海大学医学部 基礎医学系 分子生命科学

**【背 景】** C 型肝炎ウイルス (HCV) 感染に続発する肥大型心筋症 (HCV-HCM) が知られているが、その分子機序には不明な点が多い。ウイルス感染の自然史において HLA の多様性が宿主側の決定因子であることから、HCV-HCM 発症へと至る分子機序においても HLA は重要な役割を担っていると考えられる。これまで我々は HCV-HCM について、HLA 領域内でのマイクロサテライトによる感受性遺伝子マッピングを試みたが、候補領域の特定には至らなかった。そこで今回、HCV-HCM における HLA 遺伝子多型を解析した。

**【方 法】** HCV-HCM 38 例及び対 132 例を対象とし、古典的 HLA 遺伝子 7 種 (HLA-A, -B, -Cw, -DRB1, -DQA1, -DQB1, -DPB1) 及び非古典的 HLA 遺伝子 2 種 (HLA-DMA, -DMB) についてタイピングを行い、HCV-HCM との関連を検討した。さらに、関連が認められた HLA アリルを対象に、抗原結合領域のアミノ酸多型からなるリスクモチーフを探索した。

**【結 果】** HLA 遺伝子解析の結果、優性遺伝モデルでは DPB1\*0401 ( $P<0.028$ ,  $OR=3.94$ ), 劣性遺伝モデルでは DPB1\*0901 ( $P<0.007$ ,  $OR=9.85$ ) が、それぞれ HCV-HCM 発症リスクとの有意な関連を示した。さらに DP-2 ドメイン内でのアミノ酸多型の検討から、HLA 分子側の抗原ペプチド受容特異性を決めるアンカーポケットのアミノ酸残基の組み合わせが、HCV-HCM に対する感受性 (36A, 55A) あるいは抵抗性 (8L, 9F, 11G, 57E, 76M) を規定していることが推定された。

**【考 察】** HCV-HCM との関連を認めた DPB1\*0401 と DPB1\*0901 は、それぞれの抗原受容に関与するポケット構造に適した HCV 抗原エピートプを T 細胞に提示することで、免疫学的な観点から疾患への関与が考えられる。特に、P9 抗原受容ポケットを中心とした DP-2 ドメイン内のアミノ酸残基の相違が、DPB1\*0401 と DPB1\*0901 との間の HCV-HCM 感受性効果に差異をもたらしているとし唆された。

## P2-10

## 小児アレルギー疾患と HLA-DRB 遺伝子

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

**【目的】** 気管支喘息 (BA), アトピー性皮膚炎 (AD), 食物アレルギー (FA) は小児領域の主要なアレルギー疾患である。今回メカニズムを解析するために HLA 抗原を調べたところ DRB 遺伝子と関連する所見が得られたので報告する。

**【方法】** 3 疾患患者のうち少なくとも 1 つ以上に罹患している患者 91 名を対象とした。内訳は BA が 79 名, AD が 56 名, FA が 78 名であった。末梢白血球由来の DNA を使用した。DRB 及び DQB1 タイピングには Dynal-Reli キット, 自家製 SSP キットを使用した。DNA サンプルが少量検体は GenomiPhi (GE 社製) キットを用いて WGA 増幅してから HLA タイピング PCR を実施した。疾患に加え RAST 法により調べた血清中ダニ特異 IgE 抗体, 卵白特異 IgE 抗体も対象として, 出現頻度の高い DRB 遺伝子との関連を検討した。

**【結果】** まず抗ダニ IgE 抗体は 90 名中 86 名が陽性で, ダニ抗原自体がアレルギー発症に大きな役割を果たしていることは否定できない。卵白特異 IgE 抗体は 50 名が陽性であり, FA と強い正の相関を有していた。アレルギー疾患群の DRB1 遺伝子との関連では DRB1\*1101 や \*1403 の遺伝子頻度がそれぞれ 3.8%, 6.6% やや高い傾向が認められたが日本人一般集団での頻度とは有意差はなかった。FA 群では DRB1\*1201 + 1202 群が少なく, DRB1\*1501 + 1502 群が多くなっていた (有意差はカイ二乗検定で 5% 以下)。卵白特異 IgE 抗体についても DR15 群では同様の傾向が認められた。一方, 多重アレルギー患者 (3 種の疾患罹患と 2 種の抗体陽性) 34 名では DRB1\*0101 が少ないという傾向が認められた。

**【考察】** HLA 抗原のみによってアレルギー疾患感受性や抵抗性が決定されているわけではないが, 今回の所見は今後のエピトープ解析やサイトカイン産生の解析などに役立つものと考えている。(本研究は千葉大学大学院医学研究院小児病態学教室, 下条直樹との共同研究である。)

## P2-11

## 2 型糖尿病および閉塞性動脈硬化症患者における HLA・NA・HPA の遺伝子タイピングによる解析

○ 野村昌作<sup>1)</sup>, 石井一慶<sup>1)</sup>, 松崎龍典<sup>2)</sup>, 山岡 学<sup>2)</sup>, 阿部操<sup>2)</sup>, 細川美香<sup>2)</sup>, 生水 晃<sup>3)</sup>, 福原資郎<sup>4)</sup>

- 1) 市立岸和田市民病院 血液内科
- 2) 関西医科大学 輸血部
- 3) 済生会泉尾病院 糖尿病・内分泌科
- 4) 関西医科大学 第一内科

**【背景と目的】** 閉塞性動脈硬化症 (ASO) は, 動脈硬化を主体とした血管病変であり, 心筋梗塞や脳梗塞などのアテローム性血栓症の原因として重要である。ASO は, メタボリック・シンドロームとくに 2 型糖尿病を基盤として発症することが多く, 近年アジア地域においても増加の傾向がある。今回我々は, 2 型糖尿病に関連した ASO の遺伝的背景を検討する目的で, HLA・NA (好中球特異抗原)・HPA (血小板特異抗原) の解析を行った。

**【対象と方法】** 104 名の 2 型糖尿病患者 (Type2DM) (男性 67 名, 女性 37 名) と, 129 名の健常人を対象とした。また, 非糖尿病性 (NonDM) の ASO 患者を比較対照として用いた。HLA は, PCR-RFLP 法を用いて DRB1 を解析し, NA は PCR-PHFA 法にて NA1 と NA2 のジェノタイプを解析した。また, HPA については, ELMA 法にて HPA-1~6 を解析した。

**【結果と考察】** 104 名の Type2DM のうち, ASO は 28 名であった。DRB1\*1501 は, 健常人に比べて Type2DM, NonDM-ASO のいずれにおいても有意に高頻度であった (健常人 11.6%, Type2DM-ASO(-) 35.5%, Type2DM-ASO(+) 60.7%, NonDM-ASO(+) 52.9%)。また, ASO と非 ASO 患者を比較すると, ASO 患者において有意に高値であった。さらに NA のジェノタイプに関しては, NA2/NA2 が, ASO 患者において有意に高頻度であった (健常人 12.4%, Type2DM-ASO(-) 23.7%, Type2DM-ASO(+) 39.3%, NonDM-ASO(+) 41.2%)。一方, HPA については, HPA-5a/5b (Brb/Bra) の頻度が Type2DM では低く, 特に ASO 患者は糖尿病の有無にかかわらず, 全く検出されなかった。ASO の発症には脂質の異常をはじめとして多くの危険因子が関与している。そして, その発症メカニズムの中で重要な役割を果たしているのが, 白血球, 血小板および血管内皮細胞である。今回の我々の検討から, Type2DM に合併した ASO の病態を理解する上において, HLA・NA・HPA の解析が有用であることが示唆された。

## P3-01

## HLA 遺伝子欠損: PBSCT 後の再発の原因として LOH が考えられる症例

○ 西村千恵<sup>1)</sup>, 稲葉洋行<sup>1)</sup>, 南 裕史<sup>1)</sup>, 荒木延夫<sup>1)</sup>, 井本しおん<sup>1)</sup>, 馬淵 理<sup>1)</sup>, 甲斐俊朗<sup>2)</sup>, 玉置広哉<sup>3)</sup>, 小川啓恭<sup>3)</sup>, 原 宏<sup>4)</sup>

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

**【目的】** 免疫監視機構から逃れるためのメカニズムとして、HLA 遺伝子座の欠失が種々の固形腫瘍で知られており、最近では白血病での報告例もある。我々は、3 回の PBSCT 後の再発時に HLA 遺伝子座の LOH が考えられる AML (M1) の一例を経験したので報告する。

**【症 例】** 患者本人の HLA タイプ(血清学的検査)は A24, A11.1, B54, B70, DR1, DR4。1 回目と 3 回目の PBSCT のドナーを長男 (HLA-A24, A11, B51, B70, DR4, DR11) から、2 回目の PBSCT のドナーを次男 (HLA-A24, A11, B51, B70, DR4, DR11) からの 2 座 mismatch で移植したが再発。そこで、兵庫さい帯血バンクにさい帯血移植の依頼があり、患者の HLA 検査を実施した。

**【結果及び考察】** 患者の再発時の HLA 型は Luminex 法では A\*2402, A\*-, B\*1518, B\*-, Cw\*0704, Cw\*1502, DRB1\*0403, DRB1\*1101, PCR-SSP 法(通常 PCR サイクル)では A\*2402, A\*-, B\*1518, B\*-, Cw\*0704, Cw\*15, そして PCR-SSP 法(通常 PCR サイクル+3 サイクル)では A\*2402, A\*1101, B\*1518, B\*5101, Cw\*0704, Cw\*1502, DRB1\*0403, DRB1\*1101, DR52, DR53, DQ7, DQ8 を示し、患者本来の HLA 型を示さず、PCR サイクル数追加でドナー型を示した(長男の HLA 型は、Luminex 法では A\*2402, A\*1101, B\*1518, B\*5101, Cw\*0704, Cw\*1502, DRB1\*0403, DRB1\*1101, PCR-SSP 法(通常 PCR サイクル)では A\*2402, A\*1101, B\*1518, B\*5101, Cw\*0704, Cw\*1502, DRB1\*0403, DRB1\*1101, DR52, DR53, DQ7, DQ8)。次に、支配遺伝子が第 19 番目長腕部 (19q13.4) に存在する KIR (killer immunoglobulin-like receptor) のタイピングを Luminex 法で実施したところ、患者本人(再発時)が KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DP1, KIR2DS4, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DP1, 長男が KIR2DL1, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR2DP1, KIR2DS1, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DP1, KIR3DS1 を示した。長男のみに KIR2DS1,

KIR2DS5, KIR3DS1 が検出され、この結果より、患者の本来有する A\*1101-B54-DR1 のハプロタイプが脱落した患者由来の白血病細胞とドナー由来の細胞が混在する mixed chimera の状態であると推察され、ハプロタイプが脱落した白血病細胞が増殖し、結果として AML の再発に繋がったと考えられる。なお、この患者には、兵庫さい帯血バンクの臍帯血 (A\*2402, A\*1101, B\*1501, B\*5101, Cw\*0401, Cw\*1402, DRB1\*0403, DRB1\*0405) が移植された。移植成績についても併せて報告する。

# P3-02

## ヒト臍帯血造血幹細胞移入 NOG マウスの表現型の長期観察

山崎朗子, ○安波道郎, 高木明子, 石井一成, 菊池三穂子, 平山謙二

長崎大学・熱帯医学研究所・疾病生態分野

長崎大学・国際連携研究戦略本部

【目的と背景】 NOD の遺伝的背景を有し RAG2 遺伝子と IL2 受容体  $\gamma$  サブユニット遺伝子をノックアウトした NOG マウスでは, B リンパ球, T リンパ球および NK 細胞の機能的な発生分化が起こらず, ヒト造血幹細胞の移入によってこれらの生体防御系をヒト化した実験モデルが作製されている。本研究では幹細胞移入の時期を遅延させた際の移植片の生着状況を長期観察し, 新たな実験モデル作出の可能性を検討した。

【方 法】 12 週齢のメス NOG マウスに  $^{60}\text{Co}\gamma$  線を照射し 24-48 時間後に  $10^5$  個の CD34 陽性臍帯血細胞を経静脈的に移入した。以後経時的に末梢血 CD45 陽性細胞を種特異的に染色して末梢血有核細胞での移植片の生着状況を観察した。また, 赤芽球系, 骨髄球系, B および T リンパ球系の分化マーカーの発現も解析した。

【結 果】 CD34 陽性細胞を移入した 4 尾において, 移入後 6 週に少数のヒト CD45 陽性細胞が単球の散乱光パターンを示して現れ, 続いて 8 週にリンパ球の分画にも出現したが, 顆粒球の分画はマウス由来の細胞のままで経過した。12 週以降はヒト由来細胞の存在比は 10% 程度から 50% 程度まで異なるもののそれぞれの個体ではほぼ一定となった。また 12 週以降はヒト由来細胞の 50-70% は CD19 陽性の B リンパ球であった。CD3 陽性 T リンパ球は CD19 より遅れて出現し 10-30% の間で推移した。赤芽球系, 骨髄球系マーカー陽性のヒト細胞は全経過でほとんど検出されなかった。その後 18 週頃より末梢血有核細胞数が減少した。21 週前後に 2 尾が自然死し, 残る 2 尾も 22 週にヘマトクリットが 30% 未満の貧血を発症した。ヒト細胞の存在比の比較的高い個体ほど貧血の程度も重症であった。以上の観察から造血系が完全に成熟した後に NOG マウスにヒト臍帯血幹細胞移入を行なうと B リンパ球優位でリンパ球主体の移植片生着が起こるが, 晩発的に造血系抑制されると想定された。

# P3-03

## 造血幹細胞移植成績におよぼす薬剤代謝遺伝子多型の検討

○ 國井七絵<sup>1)</sup>, 鬼塚真仁<sup>2)</sup>, 安藤 潔<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>3)</sup>

1) 東海大学大学院医学研究科医科学専攻

2) 東海大学内科学系血液腫瘍内科

3) 東海大学基礎医学系分子生命科学

【背景と目的】 同種造血幹細胞移植における免疫抑制剤はサイクロスポリンあるいはタクロリムスといったカルシニューリン阻害剤が主に利用される。これらの薬剤は強力な免疫抑制効果を有する反面, 血中濃度の治療安全域が狭く血中濃度が高くなると容易に腎障害などの臓器障害が発症する。近年カルシニューリン阻害剤を代謝する CYP や MDR1 の遺伝子多型によりタクロリムスの代謝速度や毒性に違いがあることが明らかにされてきた。我々は, 同種造血幹細胞移植症例における CYP3A5 遺伝子と MDR1 遺伝子の遺伝子多型性がタクロリムス血中濃度や合併症発症に及ぼす影響を明らかにすることを目的とした。

【方 法】 東海大学医学部附属病院血液内科で行われた 2004 年以降の同種造血幹細胞移植症例のうち, タクロリムスを使用した 14 症例を対象とした。移植前の患者血液細胞からゲノム DNA を抽出した。タクロリムス血中濃度との関連の報告がある CYP3A5 の SNP と MDR1 の SNP に加え, HapMap のデータベースから日本人が有する CYP3A5 の SNP3 種類と MDR1 の SNP1 種類を追加選択した。以上の多型解析を PCR-RFLP 法, 直接塩基配列法, PCR-SSO 法により行い, その結果をタクロリムス投与後の初回血中濃度と比較検討した。

【結果と考察】 タクロリムス血中濃度が高値になる CYP3A5 の SNP rs776746G/G アリルを有する症例では, 血中濃度が高値である傾向を認めたが, 統計学的な有意差を認めなかった。しかし, 重篤な腎障害を発症した 3 症例はいずれも G/G アリルを有していた。この他の多型性は血中濃度に関連を認めなかった。CYP3A5 の遺伝子多型性はタクロリムス血中濃度に影響を与える可能性があり, さらに症例数を重ね, 他薬剤との相互作用, 投与方法も考慮し検討する必要があるように考えられた。

## P3-04

腎移植後の抗体関連型拒絶反応に対する  
IVIg 療法

用いた治療を行うことで救済可能であると考えられた。

○ 角田洋一<sup>1)</sup>, 山口誓司<sup>1)</sup>, 阿部豊文<sup>2)</sup>, 今村亮一<sup>2)</sup>, 奥見雅由<sup>2)</sup>, 市丸直嗣<sup>2)</sup>, 坂口勝彦<sup>3)</sup>, 吉岡俊昭<sup>3)</sup>, 京 昌弘<sup>4)</sup>, 久山芳文<sup>5)</sup>, 佐田正晴<sup>6)</sup>, 永谷憲歳<sup>6)</sup>, 猪阪善隆<sup>7)</sup>, 高原史郎<sup>7)</sup>

- 1) 市立池田病院 泌尿器科・腎移植センター
- 2) 大阪大学大学院医学系研究科 器官制御外科学(泌尿器科)
- 3) 住友病院 泌尿器科
- 4) 桜橋循環器クリニック
- 5) 大阪府立急性期・総合医療センター組織適合検査室
- 6) 国立循環器病センター研究所 再生医療部
- 7) 大阪大学大学院医学系研究科 先端移植基盤医療学

【目 的】 Intravenous Immunoglobulins (IVIg) は近年、腎移植の分野において脱感作療法や抗体関連型拒絶反応 (AMR) に対する治療法として使用されている。今回、腎移植後の AMR における抗体解析および IVIg を用いた治療成績について報告する。

【方 法】 対象は生体腎移植後に AMR を発症した 4 例。症例 1, 2 はクロスマッチ陽性腎移植, 症例 3 は妊娠・出産後, 症例 4 は輸血後であった。腎機能の悪化, 傍尿細管血管炎などの病理所見, C4d 陽性, Donor-specific antibody (DSA) の存在をもって AMR と診断した。Lymphocyte cytotoxicity test (LCT), Flow cytometry cross-match (FCXM), FlowPRA を全例測定し, DSA の解析には FlowPRA single antigen test を用いた。3 例は血漿交換 (PP) を併用し, 1 例は PP を併用せずに IVIg500mg/kg を投与した。症例 3 のみ rituximab を投与した。

【結 果】 症例 1 は LCT T 細胞クロスマッチ陰性, B 細胞クロスマッチ陰性, FCXM T 細胞陰性, B 細胞陽性, FlowPRA classI 陰性, classII 陽性。症例 2 は LCT T 細胞クロスマッチ陰性, B 細胞クロスマッチ陰性, FCXM T 細胞陰性, B 細胞陽性, FlowPRA classI 陰性, classII 陰性。症例 3 は LCT T 細胞クロスマッチ陰性, B 細胞クロスマッチ Bw 陽性, FCXM T 細胞陽性, B 細胞陽性, FlowPRA classI 陽性, classII 陽性。症例 4 は LCT T 細胞クロスマッチ陰性, B 細胞クロスマッチ陰性, FCXM T 細胞陽性, B 細胞陰性, FlowPRA classI 陽性, classII 陰性。DSA は 3 例に認められ, 症例 1 は DR11, DQ7, 症例 2 は DP5, 症例 3 は B7, DQ4 に対する抗体が認められた。症例 4 は CREG 陽性であった。腎機能は治療によって全例回復し, 1 年生着率は 100%であった。

【考 察】 AMR は治療抵抗性で移植腎廃絶にいたる確立が高いが, 抗体解析を用いた診断を早期に行い, IVIg を

## P3-05

## 心臓移植後脱感作療法を施行した 1 症例

○ 山本 賢<sup>1)</sup>, 森 勝志<sup>1)</sup>, 佐藤 清<sup>1)</sup>, 佐田正晴<sup>2)</sup>, 眞野 暁子<sup>4)</sup>, 加藤倫子<sup>4)</sup>, 植田初江<sup>3)</sup>, 永谷憲歳<sup>2)</sup>, 鎌倉史郎<sup>1)</sup>, 中谷武嗣<sup>4)</sup>

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

【はじめに】 当センターにおける心臓移植を受けた 21 例中 5 例(23.8%)は心臓移植前に HLA 抗体を保有していた。これは心臓移植待機中に左心室補助人工心臓 (LVAS) を装着しており, LVAS 装着時に大量の血液を必要とするため, 同種抗原に感作される機会が多い。したがって, 超急性拒絶反応あるいは急性拒絶反応に対し十分な観察が必要である。

今回, 移植後 %PRA が徐々に上昇傾向を示し, 心筋生検で IgM 抗体陽性であったため液性関連型拒絶反応を疑い, 脱感作療法を実施した症例について FlowPRA による術後管理について報告する。

【症例と方法】 対象は心臓移植を受けた 30 代女性。心臓移植の 1 年 2 ヶ月前に LVAS を装着。HLA 抗体スクリーニング検査は Flow PRA I & II Screening Test, HLA 抗体特異性検査は Flow PRA ClassI Single Antigen を用いた。心筋生検については ISHLT (The International Society for Heart & Lung Transplantation) の診断基準に従った。

【結 果】 心臓移植直前において %PRA classI は 13% であったが, 移植後 3 日目から徐々に上昇し, 7 日目に 82% となった。移植直前および移植後の HLA 抗体特異性検査では donor specific antibody (DSA) は認められなかった。8 日目の心筋生検で細胞性拒絶反応は ISHLT grade1R であったが, 免疫染色により毛細血管内皮細胞で IgM 抗体を認め, 液性関連型拒絶反応と診断された。このため血漿交換および高用量  $\gamma$  グロブリン療法を施行し %PRA は低下した。18 日目の心筋生検では grade1R で IgM 抗体が陰性となり脱感作療法の効果を認めた。その後, %PRA の有意な上昇は認めず, 現在も順調に経過している。

【考 察】 今回の症例のように, 心臓移植後に %PRA が高値を示す場合, たとえ DSA が認められなくとも, 急性液性拒絶反応を引き起こすリスクが高い。このため脱感作療法を実施した際の治療効果を観察するうえで FCM を用いた Flow PRA による HLA 抗体のモニタリングは有用であると思われる。

## P3-06

## HLA-C 遺伝子と抑制型 KIR 遺伝子の関係

○ 西村千恵<sup>1)</sup>, 稲葉洋行<sup>1)</sup>, 南 裕史<sup>1)</sup>, 荒木延夫<sup>1)</sup>, 井本 しおん<sup>1)</sup>, 馬淵 理<sup>1)</sup>, 甲斐俊朗<sup>2)</sup>, 原 宏<sup>3)</sup>

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

【目 的】 HLA-C は NK 細胞免疫グロブリン様受容体 (KIR; killer immunoglobulin-like receptor) のリガンドであり, NK 活性を抑制することが示され, KIR2DL2, KIR2DL3 のリガンドは, グループ 1: HLA-C S77/N80 (Cw1, Cw3, Cw7, Cw8, Cw9, Cw10, Cw12, Cw14, Cw16), KIR2DL1 のリガンドはグループ 2: HLA-C N77/K80 (Cw2, Cw4, Cw5, Cw6, Cw15, Cw17, Cw18) に分類されている。JMDP の解析では, 非血縁者間骨髄移植において, GVH 方向に KIR リガンドとして HLA-C の不一致が存在する場合には, 急性 GVHD の発症率が増加し, 生存率も低下するという結果が得られており, HLA-C 適合の重要性が明らかにされつつある。

HLA と KIR の遺伝子はそれぞれ第 6 番目短腕部 (6p21.3), 第 19 番目長腕部 (19q13.4) に分離独立しているため, リガンドが存在しない KIR 分子を表現する可能性がある。今回, HLA-C 遺伝子とその抑制型レセプター遺伝子 KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL1 の population study を実施した。

【方 法】 HLA-C 遺伝子の判明した 61 例について検討した。KIR の測定は Luminex 法で実施した。

【結 果】 グループ 1 ホモ 27 種に KIR2DL2 単独が 1 種 (3.7%), KIR2DL3 単独が 1 種 (3.7%), KIR2DL1/2 が 1 種 (3.7%), KIR2DL1/3 が 18 種 (66.7%), KIR2DL1/2/3 が 6 種 (22.2%)。グループ 2 ホモ 7 種に KIR2DL1/2 が 2 種 (28.6%), KIR2DL1/3 が 5 種 (71.4%)。グループ 1, 2 ヘテロ 27 種に KIR2DL1 が 1 種 (3.7%), KIR2DL1/2 が 6 種 (22.2%), KIR2DL1/3 が 18 種 (66.7%), KIR2DL1/2/3 が 2 種 (7.4%)。グループ 1, 2 ヘテロタイプにもかかわらず, KIR2DL2, KIR2DL3 が存在しない個体も 1 例存在したが, 個体のほとんどに KIR2DL1 (61 例中 59 例: 96.7%), KIR2DL3 (61 例中 50 例: 82.0%) が存在し, 抑制型 KIR に対するリガンドの欠如を観察した。

## P3-07

## ミスマッチ HLA に対する免疫寛容を予測できるか？

○ 落合直也, 谷口亨子<sup>1)</sup>, 丸屋悦子, 赤塚美樹<sup>2)</sup>, 芦原英司<sup>3)</sup>, 前川 平<sup>3)</sup>, 島崎千尋<sup>1)</sup>, 佐治博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所,

1) 京都府立医科大学血液内科

2) 愛知県がんセンター研究所腫瘍免疫学部

3) 京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部

【背景】 近年, 母児免疫寛容仮説に基づく血縁者間 HLA 不適合造血幹細胞移植が急速に普及しつつある。不適合 HLA に対する免疫寛容が存在する指標として, ドナー血液中の患者細胞マイクロキメリズムや不適合 HLA に対する HLA 抗体の有無が用いられているが, これらの結果が移植後の同種免疫反応を的確に予測するとは言い難く, ミスマッチ HLA に対する免疫寛容を予測する検査法の開発が必要である。

【方法】 ボランティアドナーから採取した末梢血単核球分画より MACS を用いて CD3 陽性細胞と CD19 陽性細胞を分離し, 前者を反応細胞, 後者を刺激細胞とし, 72 時間混合培養後, 抗-IFN- $\gamma$ 抗体を固相化したプレートに散布し, 一晚培養後サイトカイン ELISPOT 法にてサイトカイン産生細胞によるスポットを検出した。検出したスポットは ELISPOT Reader を用いて定量化した。

【結果】 CD3 陽性細胞において, 非遺伝母 HLA (NIMA) に対する反応は無関係のミスマッチ HLA と比較し抑制された。一方母親の児の遺伝父 HLA (IPA) に対する反応は無関係のミスマッチ HLA と比較し差を認めなかった。

【考察】 少数例での検討ではあるが, CD3 陽性細胞において NIMA に対する免疫寛容が存在し, これらを固相化サイトカイン ELISPOT 法により検出できる可能性が示唆された。母親の児 IPA に対する寛容の存在は本方法では明らかではなく, 症例によりばらつきが認められた。これらの結果は IPA/NIMA コンセプトに基づく血縁者間 HLA 不適合造血幹細胞移植の経験(母児間移植よりも児母間・MIMA 相補間移植において急性 GVHD が起こりにくい)とも一致し, NIMA に対する免疫寛容の存在と母親の児 IPA に対する寛容の不安定さを示唆すると考えられるとともに, 本方法による免疫寛容の予測の可能性を示すものと考えられた。

## P3-08

## 移植後キメリズム検査における興味深い症例について—造血幹細胞移植片に多機能幹細胞が含まれるか?—

○ 大沼 豪, 二神貴臣, 小島裕人, 辻野貴史, 林 晃司, 落合直也, 丸屋悦子, 赤座達也, 佐治博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所

【はじめに】 マイクロサテライト多型を利用し, 移植後のドナー/体細胞比率を DNA キメリズム解析として感度良く検出できる。我々は日常業務(移植後キメリズム検査)において移植前検体が無い場合, 患者口腔内粘膜(体細胞)を移植前としてキメリズム解析を行っている。そのような症例で口腔内粘膜由来 DNA のマイクロサテライト多型にドナータイプが検出された興味深い 7 症例を経験したので報告する。

【材料・方法】 症例 1: DR1 座ミスマッチ (Pt vs Do: DRB1\*1101 vs \*1401) の妹をドナーとして骨髄移植を施行し, 移植後 10 年の移植後キメリズム検査

症例 2: 重症多発性骨髄腫の患者, 子からの haploidentical, 同種末梢血幹細胞移植を施行, 移植後 9 ヶ月, 16 ヶ月の移植後キメリズム検査

症例 3: 姉をドナーとして造血幹細胞移植を施行 移植後キメリズム検査(移植後日数不明)

症例 4: 非血縁バンクドナーでの造血幹細胞移植を施行 移植後 90 日と 180 日の移植後キメリズム検査

症例 5: 子をドナーとして造血幹細胞移植を施行 移植後 77 日の移植後キメリズム検査

症例 6: (ドナー情報なし)造血幹細胞移植を施行 移植後 277 日の移植後キメリズム検査

症例 7: 非血縁ドナーでの造血幹細胞移植を施行 移植後 93 日の移植後キメリズム検査

—キメリズム解析方法—

ドナーとレシピエントのマイクロサテライト多型性を約 15 種検査し, Chimerism に informative な遺伝子を 2-3 種選択し, 移植後レシピエント PB/BM のマイクロサテライトを PCR で増幅後, 分子量多型性の差から, そのキメリズムを観察し, 蛍光強度より半定量をおこなった。

【結果・考察】 移植後の患者口腔内粘膜細胞中に検出されたドナー型の比率は約 90%~10% であった。確認のため採取した患者爪由来 DNA のマイクロサテライト多型は 100% 患者型であった。day90, day180 について口腔内粘膜細胞が得られた症例ではドナー型の比率が 7% から 46% へと増加していた。また移植後 9 ヶ月後の口腔内粘膜細胞にドナー型が 90% みられた患者が, その後再発し, 16 ヶ

月後の検査では口腔内粘膜細胞のドナー型は10%に減少していた。

造血幹細胞移植施行後の患者の口腔内粘膜細胞にドナー型を検出した7症例を経験した。

通常、移植前検体がない場合の代用とし患者口腔内粘膜細胞を使用する場合、数%のドナー細胞が検出される例はある。口腔内粘膜でのGVHD発症時のドナーリンパ球の浸潤と推定し、GVHDの診断としての価値を考えていた。今回、造血幹細胞移植のソースに多機能幹細胞が含まれることを示唆する実例を経験した。今後、移植後キメリズム検査時に患者体細胞検体も同時に検査することで、造血幹細胞移植におけるドナーの多機能幹細胞の動態と、その生着・分化を知る糸口を見つけたいと考える。

### P3-09

## 抗原提示機能を有するヒトES細胞由来の樹状細胞(ヒトES-DC)の樹立

千住 覚<sup>1)</sup>, 末盛博文<sup>2)</sup>, 植村靖史<sup>1)</sup>, 平田真哉<sup>1)</sup>, 春田美和<sup>1)</sup>, 松吉秀武<sup>1)</sup>, 福間大喜<sup>1)</sup>, 福島 聡<sup>1)</sup>, 松永雄亮<sup>1)</sup>, 古谷正敬<sup>2)</sup>, 中辻憲夫<sup>3)</sup>, ○西村泰治<sup>1)</sup>

1) 熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学分野

2) 京都大学再生医科学研究所幹細胞医学研究センター

3) 京都大学再生医科学研究所発生分化研究分野

樹状細胞は、T細胞機能の制御を介して生体内で免疫応答を調節している主要な抗原提示細胞であり、遺伝子の改変によりその機能を人為的に修飾した樹状細胞は、個体の免疫応答を抗原特異的制御するための手段として非常に有望であると考えられる。胚性幹(ES)細胞は、無限増殖能力に加えて多様な細胞系譜への分化能力を有しており、さらに、電気穿孔法によりウイルスベクターを使用することなく、容易に遺伝子改変を行うことが可能であるという特徴を有する。我々は、これまでにマウスとカニクイザルのES細胞から、抗原提示機能を有する樹状細胞(ES-DC)を作成する方法を開発している。さらに、各種の遺伝子改変を行ったマウスES-DCをマウス個体へ投与することにより、抗腫瘍免疫の誘導、あるいは、自己免疫疾患の予防と治療が可能であることを示している。今回、我々は、ES-DC技術の将来の臨床応用をめざした第一歩として、ヒトES細胞からES-DCの分化を誘導する培養プロトコルの開発を試みた。その結果、ヒトES細胞をマイトマイシンC処理を行った造血支持細胞(OP9細胞)と共培養し、さらに、GM-CSF, M-CSF, IL-4等のサイトカインを加えることにより、ヒトES-DCを分化誘導する方法を確立した。ヒトES-DCは、典型的な樹状細胞様の形態を有し、細胞表面にHLA-DR, CD80, CD86, CD83, CD40等の分子を発現していた。また、ヒトES-DCは、HLA-DR拘束性T細胞への抗原提示活性、および同種異系(アロ)T細胞に対する強い増殖応答刺激活性を有し、樹状細胞としての機能を備えていた。さらに、マウスのES細胞の場合と同様に、未分化なヒトES細胞に電気穿孔法により、抗原および免疫抑制分子の遺伝子を導入した後に遺伝子導入ES細胞クローンを単離して、これをES-DCに分化させることにより、抗原特異的なT細胞応答を誘導あるいは抑制できる遺伝子改変ヒトES-DCを樹立できた。

## P4-01

## 蛍光ビーズを利用した A\*0215N 検出系の開発

○ 長門正貴<sup>1)</sup>, 松下正毅<sup>1)</sup>, 岡 孝紀<sup>1)</sup>, 柏瀬貢一<sup>2)</sup>

1) 湧永製薬(株)バイオ事業開発部

2) 東京都赤十字血液センター

【目 的】 Null アリルは、遺伝子は存在するが完全な分子としての HLA 抗原が表現されないアリルである。DNA タイピングで Null アリルが特異的に検出されない場合、Null アリルを持つ検体は、骨髄移植のマッチングの上ではミスマッチとなってしまう。従って、DNA タイピングにおいて Null アリルを検出する重要性は高いと考えられる。

HLA-A の Null アリルである A\*0215N の塩基配列は、A\*0207 と exon2, 3 領域内は同じであり、exon4 領域で 1 塩基の置換が見られる。我々は、蛍光ビーズを利用した HLA タイピング試薬として、WAKFlow HLA タイピング試薬の開発を行っているが、本試薬では exon2, 3 の領域を増幅させるために、A\*0207 と A\*0215N を区別する事は出来ない。そこで、今回新規に HLA-A の exon4 を増幅させ、A\*0215N を検出する系の開発を行った。

【方 法】 A\*0207 と A\*0215N の多型部分を含む exon4 領域を増幅させるためのプライマーを設計した。また、シグナル検出のために、A\*0215N を特異的に検出するプローブを設計した。A\*0215N の検体として、PCR-SBT 法により遺伝子型既知のゲノム DNA を用い、PCR-rSSO 法によりタイピングを行った。PCR、アッセイ条件は WAKFlow HLA タイピング試薬の操作方法に従った。

【結果および考察】 PCR 増幅物の電気泳動による結果から、予想される exon4 のサイズの位置にバンドが確認された。また、PCR-rSSO 法の結果より、A\*0215N 検出用に設計したプローブが A\*0215N と特異的に反応したことから A\*0215N の検出が可能となった。A\*0207 は日本人集団において比較的頻度の高いアリルであることから、A\*0215N との区別が可能となった意義は大きいと思われる。

## P4-02

## Luminex 法を用いたブタ MHC-DRB1, DQB1 タイピング法の開発

○ 安藤麻子<sup>1)</sup>, 重成敦子<sup>1)</sup>, 佐藤 崇<sup>2)</sup>, 島田和典<sup>2)</sup>, 河田 寿子<sup>3)</sup>, 太田正穂<sup>4)</sup>, 佐田正晴<sup>5)</sup>, 永谷憲歳<sup>5)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

1) 東海大・医・基礎医学系・分子生命科学

2) G&amp;G サイエンス(株)・研究開発グループ

3) 東海大・伊勢原研究推進部・教育・研究支援センター

4) 信州大・医・法医学

5) 国立循環器病センター研・再生医療部

【目 的】 我々は同種、異種移植の際の免疫応答におけるブタ MHC (SLA) 抗原の関与、並びに SLA タイプと関連を示す疾患や SLA 領域周辺に連鎖を示す経済形質の解析を進めるために、SLA 遺伝子の多型性解析と SLA 領域のゲノム解析を行っている。本研究では、SLA クラス II-DRB1, -DQB1 遺伝子の簡便、迅速なタイピング法を開発するために、PCR-SSOP-Luminex 法を用いたタイピング法について検討を行った。

【方 法】 SLA-DRB1 遺伝子 15 アリル, DQB1 遺伝子 12 アリルをホモまたは、ヘテロに持つ 101 頭のブタゲノム DNA サンプルについて、エキソン 2 を増幅するビオチン標識プライマーを用いて、増幅を行った。得られた PCR 産物は、2 桁、及び一部のアリルは 4 桁レベルを識別するためのビーズに固相化したプローブ (DRB1 遺伝子: 14 種類, DQB1 遺伝子: 12 種類) とハイブリダイゼーションを行い、Luminex100 を用いた蛍光値の測定により、DRB1 と DQB1 タイプを判定し、PCR 産物の塩基配列解読のタイピング結果と比較した。

【結果と考察】 101 頭のブタサンプルの中で、増幅不良などにより、判定不能であった、DRB1 と DQB1 の各 4 サンプル及び、ヘテロの片側アリルのみしかタイピングできなかった DRB1 の 9 サンプル, DQB1 の 6 サンプルを除いて、Luminex 法によるすべての 2 桁もしくは 4 桁のタイピング結果は、PCR 産物の塩基配列解読による判定と一致する良好な結果を得た。したがって、PCR-SSOP-Luminex 法は、ブタ MHC-DRB1, DQB1 遺伝子の迅速、簡便なタイピング法として、優れていることが明らかになった。現在、特異性や ambiguity などの問題のあるプローブについては、設計を再検討している。

## P4-03

## 等温増幅による HLA の DNA タイピング法の検討

○ 清水佐良子<sup>1,2)</sup>, 吉川枝里<sup>1)</sup>, 平田浩司<sup>3)</sup>, 光永滋樹<sup>1,2)</sup>, 森川 實<sup>1,2)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

2) ジェノダイブファーマ株式会社

3) 第一三共株式会社

【目 的】 DNA タイピングには、個々の多型領域を検索し、その多型の組み合わせから判定する方法 (PCR-RFLP, PCR-SSO, PCR-SSP) や直接塩基配列を決定し判定する方法 (PCR-SBT) が広く用いられている。等温増幅の Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法は、6 領域からなる 4 プライマーを用いた極めて高い特異性、かつ PCR に比して高い増幅効率という特徴を示す。今回、我々は、LAMP 法により、同一 DNA 鎖上 (シス) に存在する複数の多型領域を同時に検索する DNA タイピングが可能であるかを、1) HLA クラス II 遺伝子および HLA クラス I 遺伝子におけるアリのルのグループ分け (Low resolution), 2) ある薬剤の副作用に関連する HLA アリのルの検出により、検討した。

【方 法】 1) 日本人にみられる HLA アリのルをほぼ 2 桁の精度レベルでのタイピングを目指して、各グループ特異的な多型領域について 5' 末端または 3' 末端に多型が位置するようにプライマーを設計した。2) 薬剤副作用に関連した HLA アリのルを特異的に検出するためのプライマーを同様に設計した。プライマー設計後、HLA アリのルが既知の DNA サンプルを用いて、リアルタイム等温増幅反応をおこない、増幅曲線による陽陰性の判定をおこなった。

【結果および考察】 1) 各 HLA 遺伝子の全てのグループ (HLA-DRB1 遺伝子は 11 群, HLA-DQB1 遺伝子は 9 群, HLA-A 遺伝子は 8 群) において、特異的な増幅が認められた。2) ある薬剤の副作用に関連する HLA-A\*3303, -B\*4403, -DRB1\*1302, -DQB1\*0604 遺伝子を特異的に検出することができ、このハプロタイプの有無の判定が可能であることが明らかとなった。以上のことから、本法は 65℃ 一定温度で増幅の有無が目視で判定可能な簡便な方法であり、HLA 遺伝子の DNA タイピングに有用であることが示唆された。現在、グループ分け後の high resolution レベルのタイピングの検討をおこなっている。

## P4-04

## 口腔細胞を検体とした骨髓データセンター HLA 型検査の検討

○ 中島文明<sup>1)</sup>, 橋本志歩<sup>1)</sup>, 加藤和江<sup>2)</sup>, 村 徹<sup>2)</sup>, 岡崎 仁<sup>1)</sup>, 田所憲治<sup>1,2)</sup>

1) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

2) 日本赤十字社血液事業本部中央骨髓データセンター

【目 的】 骨髓データセンターの HLA 型検査は全血 2ml 採血で行なっている。通常の新規登録に加え、HLA 適合登録者のうち過去の血清学的検査登録者の DNA リタイピングも実施しており、後者の検体採取を口腔細胞で検査可能か検討した。

【方 法】 口腔細胞採取はワットマン社製のアプリケーションターと FTA カードを使用し、職員ボランティア 15 名に依頼した。同時に採血し、QuickGene 全血キットで DNA 抽出して対象検体とした。また、Genomiphi DNA 増幅キットで全ゲノムの増幅も試みた。タイピングは湧永 HLA タイピング試薬の通常使用ロットを用い蛍光ビーズ法で測定した。

FTA カードからのサンプリング位置と大きさ、DNA ポリメラーゼ量、全ゲノム増幅について比較し、評価方法はタイピング時の蛍光値が対象検体に近い順にランク付けし、そのタイピング結果が一致したか、補正を必要としたかで評価した。

【結 果】 FTA カードからのサンプリングは 2mm 径で中心と周囲の 2 枚使用が最も効率が良かった。全ゲノム増幅は DNA が溶出できないタイプの FTA カードであったため効果はなかった。PCR 条件では DNA ポリメラーゼの量を増やしても効果はなかった。サンプリング時のクロスコンタミは認められなかった。口腔細胞採取に起因する個人差は認められた。

【考 察】 以上より、採取時の明解な説明書の整備とサンプリング方法の工夫で採血に替わる検体採取方法として実用と判断した。ただし、個人差で再検率は全血 DNA より高くなると予測される。アプリケーションターと FTA カードは郵送可能で採血行為が発生しないため、ドナーの負担は大幅に軽減される。また、FTA カードは常温保存が可能で、検査までの保管設備や採血・管理担当人員の削減が実現できる。今後は FTA カードからのサンプリングと洗浄操作の自動化を検討し、新規登録と同様に人為的過誤が介入できない検査システムを構築していく予定である。

## P04-05

## SSO 法と SBT 法を使用した HLA タイピングの試み

Valerie Frasher<sup>1)</sup>, David Berman<sup>1)</sup>, 斉藤克行<sup>1)</sup>, 益尾清恵<sup>2)</sup>, 小林俊太<sup>2)</sup>, 小川公明<sup>2)</sup>

1) One Lambda, Inc., USA

2) 株式会社ベリタス

既存の蛍光ビーズを使用した SSO 法は米国を始めイギリス, カナダ, ブラジル, などの主要骨髄ドナー検査センターなどで使用されている。その多検体処理能力と高頻度で起きる Cis/Trans Ambiguity に対応した特殊プローブの判別能力で従来の DNA タイピング法に比べ再検査数の低下などのコストダウンへの貢献を可能にした。現在, 増え続ける新アレルと現行の骨髄ドナースクリーニングでも望まれる High Resolution タイピングに対応するためのプローブの開発も活発に行われている。

High Resolution プローブの開発には通常保持している検体ではカバーしきれない新, またはレアアレル DNA が必要になってくる。合成アレルの使用も十分可能ではあるが, ゲノミック DNA と比べての反応性の違いを開発段階で把握することは困難であり, 開発されたプローブを常時 100% 品質管理することは難しい状態にあると言える。

その点 SBT 法はデータベースに存在する各アレルの塩基配列に合わせて設計されたプローブやプライマーを使用しないため, 上記の問題から大きく開放される。しかしコストと検査性などの面で一部のセンターを除き, ルーチン化されていないのが現実である。また, ヘテロで存在するアレルを同時に増幅する従来の SBT 法だけでは Cis/Trans Ambiguity を判別することは不可能であり, 特殊プローブを使用した SSO 法より低い解像結果になる可能性が多い。実際, 骨髄ドナースクリーニングセンターでは SSO 法や SBT 法の後で SSP 法を使用, 或いは二次増幅を組み合わせた SBT 法を行うなど, 各センター独自の手法で対応している。

今回我々は SBT 法を SSO 法のサプリメントとして使用した手法を試験的に開発したのでその結果を発表する。この手法では SSO 法で使った増幅産物をそのまま SBT 法で Sequencing 解析する系を実現化した。従って SBT 法で行う最初の増幅時間と操作を省き, 即 Sequencing 反応から始めることが出来る。また, プローブ反応結果と Sequencing 結果を合わせて解析できるソフトを試用し, 一部のタイピング結果で従来の SBT 法より高い Resolution と SSO 法だけでは不可能である新アレルへの対応性を得ることが出来たと考える。

## P4-06

## ビーズアレイを応用した高感度 HLA・HPA 抗体解析法の開発—Intact Cell を用いた antigen capture 法—

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

**【目 的】** 我々は, ビーズアレイにモノクローナル抗体を用いた antigen capture 法を応用し, 白血球や血小板上の複数のエピトープに対する反応を同時に検出して HLA・HPA 抗体を解析する方法を開発した。この方法は, 抗原パネルに白血球や血小板, セルラインなど Intact Cell を使用することから, 交差適合試験に用いることが可能で, 市販の試薬に含まれていない抗原の検査が出来るなどのメリットがある。今回, 抗原パネルに白血球を用いて交差適合試験および HLA 抗体検査に関する有用性について検討した。

**【方 法】** 蛍光ビーズ: HLA クラス I モノクローナル抗体 (w6/32), ヒト IgG, BSA を結合させた 3 種類の蛍光ビーズを作製した。被検血清: 低力価 IgG 抗体が検出された患者血清 30 例, HLA 抗血清 8 例を用いた。検査方法: 96 プレートに EDTA 加全血 50 $\mu$ l を加え, 溶血・洗浄後, 血清を 25 $\mu$ L ずつ加えて 37 $^{\circ}$ C, 30 分反応。洗浄後, lysis buffer にて可溶化し, 3 種類の蛍光ビーズおよび PE-抗ヒト IgG を加えて 37 $^{\circ}$ C, 30 分反応。洗浄後, Luminex にて蛍光強度を測定して抗原抗体複合物を検出した。判定: 蛍光強度から Index 値を算出し, 2 以上になった場合を陽性とした。

**【結 果】** 低力価 IgG 抗体が検出された 30 例は全て陽性であった。検出感度は AHG-LCT 法と比較して 4~8 倍高感度であった。検査所要時間を AHG-LCT 法と比較すると 30 分以上短縮することが可能であった。

**【考 察】** 今回開発した方法は, 検出感度, 検査所要時間, 全ての行程をプレートで行う操作性, 判定の客観性などの点で有用であり, AHG-LCT 法に変わる新しい交差適合試験法として期待できる。また, 抗原パネルに血小板やセルラインなどを用い, 蛍光ビーズを追加することで HLA や HPA 複合抗体の解析など幅広い応用が可能であった。

## P4-07

## 蛍光ビーズを用いた HLA 抗体検査試薬の開発

○ 直原 寛<sup>1)</sup>, 川井信太郎<sup>1)</sup>, 岡 孝紀<sup>1)</sup>, 田中秀則<sup>2)</sup>, 藤原孝記<sup>2)</sup>, 関根みゆき<sup>2)</sup>, 内川 誠<sup>2)</sup>, 佐竹正博<sup>2)</sup>, 中島一格<sup>2)</sup>, 宮崎 孔<sup>3)</sup>, 佐藤進一郎<sup>3)</sup>, 加藤俊明<sup>3)</sup>, 池田久實<sup>3)</sup>, 橋本志歩<sup>4)</sup>, 中島文明<sup>4)</sup>

1) 湧永製薬(株)

2) 東京都赤十字血液センター

3) 北海道赤十字血液センター

4) 中央血液研究所

【目 的】 HLA 抗体検査は輸血・移植分野で広く行われており、臨床成績を向上させる上で重要な検査の一つである。近年、高感度に HLA 抗体を検出する試薬が開発されているが、いくつかの面で課題も残る。我々は日本人の HLA 抗原頻度を基に HLA クラス I 抗体検査試薬の開発を行った。

【方 法】 日本人の抗原頻度 1% 以上の HLA-A 抗原及び B 抗原に対する HLA 抗体の検査を行うために、25 種類のヒト B リンパ球セルラインを選択した。選択したセルラインには特異性同定および許容抗原の決定を容易にするために、日本人において頻度の高い HLA ハプロタイプをホモ接合で保有するセルライン 10 種類を含めた。これらセルラインの細胞を培養し、膜画分を可溶化した後、アフィニティクロマトグラフィーによりクラス I 抗原を精製した。本試薬は同時多数項目検出が可能である Luminex システムを測定プラットフォームに選んだ。精製した HLA クラス I 分子を Luminex ビーズに固相化した後、被検血清を反応させ HLA 抗体の特異性を同定した。同定は、本試薬の専用ソフトで行った。専用ソフトは HLA の交差反応性を判定の画面上に組み込んでおり、画面上で検出した抗体の交差反応性を確認できるものである。

【結果と考察】 LCT 法で特異性を同定した血清を用いて本試薬の反応性について評価した結果、LCT 法で得られた結果と同様の特異性が確認された。また、他の精製抗原による検査法で陰性と判定した血清 149 例中 8 例において、HLA 抗体が検出され、特異性も単一抗原が固定された試薬の結果と一致した。以上の結果より本試薬の検出感度が十分高いことが示され、今後、さらに抗体の特異性を正確に判定できるようにパネル細胞の充実を図りたい。

## P4-08

非溶血性輸血副作用と HLA 抗体(3)  
—微弱な HLA 抗体を検出するための LIFT-FCM の高感度化

○ 橋本志歩, 中島文明, 河村久美子, 鎌田裕美, 岡崎 仁, 田所憲治

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

【目 的】 精製抗原 HLA 抗体試薬は反応性が極めて微弱な抗体も検出する。これらが精製抗原の HLA エピトープに反応を示したことは事実だが、生体内の HLA 分子と結合し免疫反応に至るかどうかは不明である。これを検証する手段として、精製抗原試薬 (LABScreen) の検出感度を目標に、生体材料を使用した LIFT-FCM の高感度化を試みる。

【方 法】 LIFT-FCM で用いる生体材料はリンパ球 B 細胞に限定し、Fc レセプターによる非特異反応を抑制する目的で Pronase 処理をした。CD19 で細胞標識し、二次抗体は抗ヒト IgG を用いた。被検血清は LABScreen で特異性を決定し、ClassII 測定の際は血小板吸収をした。Pronase の濃度、反応温度、検体の濃度、洗浄回数について最適条件を検討した。判定にはピーク値を用い、反応の有無は陰性血清 3 本の平均値 + 3SD 以上を陽性とし、反応の比較は被検血清を陰性血清の平均値で割った値で評価した。

【結 果】 Pronase の使用により非特異反応を抑制できた。また、一次反応の温度を 4℃ および 37℃ で検討したところ、4℃ では非特異反応を起こしたが、Pronase の使用で抑制できた。血清の希釈を 4 倍から 2 倍にし、反応後の洗浄を 2 回から 4 回に増やすことにより、陽性血清の反応のみを増強する事が可能であり、Single 試薬で Median 860.5 だった抗体も検出できた。

【考 察】 非特異の抑制と、蛍光強度の増強で、陰性と陽性の反応の差を広げることができた。LABScreen で検出された微弱でかつ特異性の高い抗体は、Single 試薬で Median 1000 以上の値であり、今回の高感度化した LIFT-FCM は同等の抗体を検出した。検出感度が精製抗原試薬により近づいたと言え、微弱な抗体の検証に有用性が認められた。今後は副作用原因調査で検出するような抗体について検証していく。

## P5-01

## 骨髄バンク登録ドナーにおける都道府県別 HLA 型遺伝子頻度 (DNA 型) について

○ 加藤和江<sup>1)</sup>, 盛山芳恵<sup>1)</sup>, 中島文明<sup>1)</sup>, 村 徹<sup>1)</sup>, 田所憲治<sup>1)</sup>, 中島一格<sup>2)</sup>, 柴田弘俊<sup>3)</sup>

1) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

2) 東京都赤十字血液センター

3) 大阪府赤十字血液センター

【はじめに】 日本骨髄バンクのドナー登録時の HLA 検査は、平成 17 年 3 月に従来の血清学的検査法から DNA 検査法 (PCR-rSSO 法) に移行し、解像度の高い (middle resolution) データが得られるようになった。これらのデータを用いて都道府県別 HLA 型遺伝子頻度及びハプロタイプ頻度を算出したので報告する。

【方 法】 DNA 抽出試薬は富士フィルム社製試薬 (QuickGene), HLA タイピング試薬は湧永製薬社製 (WakFlowHLA-A, -B, -DRB1) 及びワンラムダ社製試薬 (LABType SSO DRB1 Typing Test) を使用して検査を行い、頻度が非常に低いアリルは PCR-SBT 法にて確認した。これらの方法で平成 17 年 3 月から平成 19 年 3 月に HLA 検査を実施した約 85,000 件のデータを用いて解析を行った。

【結果・考察】 都道府県別の遺伝子頻度、ハプロタイプ頻度は HLA 型によって遺伝子頻度に差が見られた。HLA 型の地域分布は HLA 型の適合するドナーの見つからない患者さんのためのドナーリクルートにおいて役立つと考えられる。登録者数が少ない都道府県については、解析に用いたデータ数が少ないため、今後さらにデータを蓄積し信頼性の高いデータを得る必要がある。また、DNA 検査の導入により当該検査で判定可能な Null アリルの頻度が判明したことは臨床的な意義が大きい、しかし一方では検出可能範囲が限られているため、特定領域以外の Null アリルが判別できないことについては試薬の改良を含め今後の検討課題である。

## P5-02

## 新たに見出された HLA-B 遺伝子型について

○ 重成敦子<sup>1)</sup>, 吉川枝里<sup>1)</sup>, 杉本達哉<sup>2)</sup>, 土田文子<sup>2)</sup>, 佐藤薫<sup>2)</sup>, 吉場史朗<sup>2)</sup>, 加藤俊一<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>1)</sup>

1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

2) 東海大学医学部細胞移植再生医療科 臍帯血バンク

【目 的】 現在、我々の病院内で提供される臍帯血について、HLA-A, -B, -DRB1 の HLA タイピング検査を PCR-SSO (Luminex) 法と SBT (sequencing based typing) 法で行い臍帯血バンクに登録を行っている。今回、提供された 2 サンプルで HLA-B 遺伝子において判定不能の、新たな遺伝子型が見出された。そこで我々は、塩基配列を決定し、アミノ酸の変異の有無や既知のアリルとの相同性を比較したので報告をする。

【方 法】 新たな遺伝子型の疑いがある臍帯血とその母親の末梢血を用いて、HLA-B 遺伝子のサブクローニングを行い、塩基配列を決定し解析を行った。

【結果および考察】 解析の結果、HLA-B 遺伝子のイントロンを含む第 2, 3 エキソン (約 1 kb) の新たな遺伝子型の塩基配列を決定した。これらは、臍帯血およびその母親と同様の配列が得られた。相同性解析の結果、IMGT のデータベース上には一致するものがなく新たな遺伝子型であることが明らかになった。

1 ケース目は、B\*5401 と比較して第 2 エキシソンの塩基配列上に 1 塩基置換が認められ、コドン 21 のアミノ酸が変異していた。2 ケース目は、B\*4801 と比較して第 2 エキシソンの塩基配列上に 5 塩基の置換が認められ、コドン 80 からコドン 83 の 4 ケ所のアミノ酸が変異していることが分かった。

これらの新しく見出された HLA-B の遺伝子型をもとに形成されるそれぞれの  $\alpha 1$  ドメインの  $\beta$  シートと、 $\alpha$  ヘリックスの変換領域に位置していた。さらに、これらは少なくとも 2 世代にわたり遺伝していることも確認された。

1 ケース目の新たな遺伝子型は、B\*5413 と命名され、2 ケース目については現在登録中である。

## P5-03

## 新しい HLA-B 座 (48/60) と HLA-C 座 (0304V) アリルについて

○ 二神貴臣<sup>1)</sup>, 大沼 豪<sup>1)</sup>, 小川貴裕<sup>2)</sup>, 小島裕人<sup>1)</sup>, 辻野貴史<sup>1)</sup>, 林 晃司<sup>1)</sup>, 前川尻真司<sup>2)</sup>, 松下正毅<sup>2)</sup>, 落合直也<sup>1)</sup>, 丸屋悦子<sup>1)</sup>, 赤座達也<sup>1)</sup>, 佐治博夫<sup>1)</sup>

1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

2) 湧永製薬株式会社

【はじめに】我々は造血幹細胞移植におけるドナー検索を目的として、日常業務で Luminex 法をもちいた家族の HLA 型検査(4 桁レベル)を実施している。2 家系で従来のアリルでは判定不能となる反応パターンを示す DNA を発見した。これらの解析結果について報告する。

【材料・方法】患者とその家族の末梢血および口腔内粘膜細胞由来 DNA を用い Luminex 法 (Wak Flow, Lab Type) により HLA-A, B, C, DR typing を実施した。非特異反応を示した DNA につき, SBT 法により確認検査を実施した。変異部位を含む exon の増幅産物をクローニング後, 塩基配列を決定した。

【結果・考察】〈Luminex 法による反応〉家系 1: 患者と両親・同胞・血縁者(計 10 人)の HLA-A, B, DR タイピングの結果, 患者と父・叔父・従兄弟計 5 人の HLA-B 座の判定が不能となった。母と同胞のタイピング結果と遺伝関係より, 患者と父が保有するであろう HLA-B allele (B\*5201) を推定し, 反応パターンの再確認をおこなった。陽性反応を示したプローブは B\*5201 を完全に包括し, exon2 は B\*4801/02 に適合するプローブであり, exon3 は B\*4059 と反応するプローブが主で, B\*1401 や B\*3701 と反応するものも含まれた。B 座アリルを仮に B48/60 と名づけた。家系 2: 患者と弟の HLA-A, B, C, DR 型検査の結果, 両者は haploidentical で, 共有する haplotype の C 座アリル判定が不能となった。強いエクストラ反応を示すプローブが exon3 に検出され, この反応を陰性と判定すれば Cw\*0304 と判定されることより, Cw\*0304V と名づけた。

〈クローニング後の塩基配列〉B48/40 系アリル: exon2 は B\*4801 と一致し, exon3 について一致する既知アリルはなく, 113 番目, 114 番目, 116 番目にアミノ酸変異が検出された。変異部位が分子の内側に位置し, ペプチドモチーフに重要な部分であり, 細胞性免疫応答に影響を与える可能性が高く, 液性免疫には影響は少ないと考えられる。

Cw0304V: Cw\*0304V は Cw\*0304 の 173 番目 (K → E) のアミノ酸に変異があった。この new アリルは Cw\*0304

が Cw\*0102 と gene conversion 起こした結果生じたアリルと考えられる。変異部位がヘリックス上にあり, かつ変異アミノ酸が塩基性から酸性へと変わることより細胞性免疫にも液性免疫にも影響を及ぼす可能性が考えられる。

## P5-04

## 旧世界ザルにおける HLA-G, HLA-F ホモログの発現

下嶋典子<sup>1)</sup>, Helen Garhwan<sup>2)</sup>, 清水慶子<sup>3)</sup>, 羽竹勝彦<sup>4)</sup>,  
Daniel E Geraghty<sup>2)</sup>, 石谷昭子<sup>4)</sup>

- 1) 奈良県立医科大学細菌学教室
- 2) Fred Hutchinson Cancer Research Center
- 3) 京都大学霊長類研究所分子生理研究部門
- 4) 奈良県立医科大学法医学教室

**【目的】** 我々はこれまで HLA class Ib 遺伝子である HLA-E, -F, -G の解析を行い, これらすべてがヒト胎盤に発現することを報告してきた。このうち HLA-E, -G は, 妊娠維持に機能していることが明らかにされているが, HLA-F については, 活性化した単核球, あるいは後期胎盤に強く発現することを示したが, その機能は未だ解明されていない。

そこで我々は HLA-F の機能解析の一環として, MHC 遺伝子が詳細に解析され, HLA-G, -F のホモログを持つことが知られているサルにおいて, HLA-F, -G ホモログの発現を解析した。

**【方法】** カニクイザル末梢血単核球を活性化し, 抗 HLA-F 抗体 (3D11) を用いて FACS 解析を行った。分娩後のカニクイザル胎盤 2 例, ニホンザル胎盤 2 例につき, 抗 HLA-G 抗体 (87G) および 3D11 を用いて, 免疫染色を行った。

**【結果】** カニクイザル単核球を活性化したところ, 抗 HLA-F 抗体に反応する細胞が検出された。さらにカニクイザルおよびニホンザル胎盤の extravillous trophoblasts (EVTs) に反応する細胞が見出された。抗 HLA-G 抗体は, いずれの胎盤においても EVTs に不均一に反応し, さらに絨毛トロホブラストの最外層にある syncytiotrophoblast (ST) に反応していた。

**【考察】** サルの活性化単核球および胎盤における HLA-F ホモログの発現は, ヒトと同様の HLA-F の機能が保持されているのではないかと推測される。HLA-G はヒト胎盤の EVTs に均一な発現を示すのに対し, サルの HLA-G ホモログの発現は EVTs に不均一で, さらに ST にも発現しており, サルの妊娠免疫における HLA-G ホモログの機能は, ヒトとは若干異なっていることが示唆された。

## P5-05

## DRB 様遺伝子を多型マーカとしたペンギン類を含む海鳥類の系統解析

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

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

鳥類の中でも特化した外部形態をもち, 赤道直下から南極圏という幅広い地域に適応放散しているペンギン類は, 鳥類における系統分類学的位置や種内における生息分布に興味をもたれている。これまでに, 形態学や行動学など様々な研究領域で, 本生物種群に対する解析がなされてきた。しかしながら, ペンギン類の起源については, 現在でも不明な点が多く, 種分類においても未だ統一した見解が得られていない。また, 鳥類間の系統関係においては, コウノトリ目と近縁であると考えられているが, 詳細については一致した見解が得られていない。

我々は本分類群の系統分類学的位置を明らかにするため, ペンギン類を含む海鳥類において未だ研究されていない主要組織適合性抗原複合体 Major Histocompatibility Complex: MHC) に着目し, 解析に取り組んだ。MHC 領域には, 免疫応答に関与する遺伝子や進化的に保存性の高い遺伝子が多く認められており, さらにさまざまな生物種の塩基配列情報が蓄積されているため, ゲノム進化を追求するうえでは最適な領域と考える。これまで我々は, ペンギン種内の系統解析を報告してきた。今回では, 海鳥類に属するミズナギドリ, アホウドリ, グンカンドリの MHC 領域の解析を行い, ペンギン類を含む鳥類間における系統関係を比較検討したので報告する。

P5-06

MHC 多型解析によるペンギン類 6500 万  
年の進化の足跡—ガラパゴスペンギン DRB  
様遺伝子多型

津田とみ<sup>1,2)</sup>, 吉川枝里<sup>1)</sup>, Gary Miller<sup>3)</sup>, 成瀬妙子<sup>4)</sup>, 炭山  
大輔<sup>1)</sup>, 津田道雄<sup>1)</sup>, 福田道雄<sup>5)</sup>, 栗田正徳<sup>6)</sup>, 村田浩一<sup>7)</sup>,  
猪子英俊<sup>1)</sup>

1) 東海大学医学部

2) 徳島文理大学人間生活学部

3) New Mexico Univ., USA

4) 東京医科歯科大学難治疾患研究所

5) 東京都葛西臨海水族園

6) 名古屋港水族館

7) 日本大学生物資源科学部.

鳥類は 9000 種にもおよぶ多種が繁栄している。その祖先はジュラ紀後期(1 億 5000 万年前)に棲息していた始祖鳥で、現在の鳥類は約 6500 万年前の大量絶滅を免れた真鳥類から進化してきたと考えられている。現在のペンギン類はその鳥類の仲間で、1 目 1 科 6 属 17 種からなる海鳥のグループに属し、新鳥上目のうち水鳥の仲間が多様化し種が分岐したと考えられている。しかし、進化の道筋や現存する種の分類にはまだ未解決の課題が多い。一方無顎類を除くすべての脊椎動物が備え持つ主要組織適合性抗原複合体 (Major Histocompatibility Complex: MHC) は、生物の進化に伴い進化を遂げてきた。われわれは MHC 遺伝子の多様性が、ペンギン類の進化の解明と分類上の問題点の検討などを進めるうえで優れた指標であることを報告してきた。

我々は現在までにペンギン類 6 属 17 種のうちほとんどの種と、ペンギン類との類縁関係が強く推定されているミズナギドリなど海鳥類の DNA 試料を入手し、MHC クラス II 抗原 DRB 様遺伝子多型を指標とした系統解析を進展させている。本発表では、ガラパゴス諸島のみに棲息する絶滅危惧種で、稀少価値のあるフンボルト属ガラパゴスペンギンの DRB 様遺伝子エクソン 2 の塩基配列を決定したので、その情報をもとにガラパゴスペンギンと属内の他の 3 種との近縁関係や、他の属との比較を報告する。またすでに報告されている、形態学的方法や、MHC 領域以外の DNA の指標による研究結果との比較も行いたい。

## 組織適合性検査技術者認定制度 平成 19 年度・認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ

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

日 時: 平成 19 年 9 月 9 日(日曜日) 16 時 30 分～18 時 30 分

場 所: パルププラザ京都(京都市下京区東洞院通七条下ル東塩小路町, JR 京都駅前)

参加費: 2,000 円(テキスト代を含む)

内 容: 各講習とも質疑応答を含めて, 35 分を予定しています。なお講習のタイトルは, 今後, 若干変更される可能性があります。

(1) 臓器移植と HLA —組織適合性検査と HLA 抗体—

佐藤 壯 先生 (札幌北楡病院・臨床検査科)

(2) 骨髄バンクにおける HLA 適合の考え方

加藤 和江 先生 (日本赤十字社 中央骨髄データセンター)

(3) 造血幹細胞移植の臨床

日野 雅之 先生 (大阪市立大学大学院医学研究科 血液病態診断学)

この講習会は, 今後 HLA 検査技術者認定を取得, あるいは更新しようとする者を対象に実施されますが, それ以外の者であっても自由に参加することができます。受講希望者には, 以下の申込書に必要事項を記入し, 熊本大学大学院医学薬学研究部・免疫識別学分野宛に FAX (096-373-5314) で平成 19 年 7 月 31 日(月)までに送付してください。あるいは, E メールで件名を「HLA 講習会」とし, 申込書の必要事項を書き込んで「midorifu@kaiju.medic.kumamoto-u.ac.jp」宛に, 上記締め切り日までに送信してください。テキストは, 申込数に応じて作成し, 申込者に優先して配布します。そのため当日の申し込み者については, テキストの配布を受けられない場合がありますことを, あらかじめご了承ください。なお参加費は平成 19 年 8 月 31 日(木)までに, 指定の郵便振替口座(口座番号: 00160-7-482142, 口座名称: 組織適合性技術者認定制度委員会)に振込んでください。振替用紙の通信欄に, 受講(予定)者の所属, 氏名とともに, 「平成 19 年度認定 HLA 検査技術者講習会受講料」と記載してください。参加費前納者には, 事前に講習会資料を送付させていただきます。なお受講申し込みをされ参加費を振り込まれた方で, 当日欠席された方には返金できませんことを御了承ください。

### 平成 19 年度認定 HLA 検査技術者講習会 受講申込書

(学会ホームページからダウンロードできますので, そちらも御利用ください。)

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

氏 名:

所 属:

住 所: 〒

電 話 番 号:

FAX 番 号:

E メールアドレス:

HLA 検査技術者認定取得予定 ☐なし ☐あり → 平成 年度を予定

**組織適合性検査技術者認定制度**  
**平成 19 年度・認定組織適合性指導者講習会の御案内**

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

平成 19 年 9 月 10 日, 11 日に開催されます, 第 16 回日本組織適合性学会大会中の下記のシンポジウム 1 題, 特別講演 1 題, 教育講演 1 題およびワークショップ 1 題の合計 4 題のうちから **Terasaki シンポジウムを含む 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準備いたします, 受講者記帳名簿へのサインをもって受講証明といたしますので, お忘れなく御記帳ください。

9 月 10 日(月) 11:00-12:00

Terasaki シンポジウム

○基調講演: P. I. Terasaki (Terasaki Foundation Laboratory)

“New evidence that *de novo* antibodies produced after transplantation causes chronic graft failure”

9 月 10 日(月) 13:00-15:00

Terasaki シンポジウム

○シンポジウム(シンポジスト 4 名)

『HLA 抗体のエピトープ解析: 妊娠・輸血・移植による HLA 抗体のエピトープとは?』

9 月 10 日(月) 15:15-16:15

教育講演: 徳永勝士先生(東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野)

『HLA の多様性に学ぶ』

9 月 10 日(月) 16:30-18:30

ワークショップ: 『ようこそ組適塾へ!』

クイックレスポンスによる移植症例(造血幹細胞移植と腎移植)検討会

9 月 11 日(火) 11:00-12:00

特別講演: 木村彰方先生(東京医科歯科大学・難治疾患研究所・難治病態研究部門)

『難治性循環器疾患の病因と病態形成機構の解明に向けて』

## 第6回日本組織適合性学会・近畿地方会のご案内

会 期: 2008年2月2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: 石谷昭子(奈良県立医科大学法医学講座)  
iakiko@naramed-u.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  
抄 録: 11月30日 締め切り  
送付先: 〒634-8521 橿原市四条町 840  
奈良県立医科大学法医学講座  
石谷昭子  
iakiko@naramed-u.ac.jp

本会参加は、JSHI 認定技術者・指導者の新規および更新時の単位となります。



## ● 総 説 ●

# [シリーズ: MHC の比較ゲノム] アライグマ MHC の地理的分布

高田 雄三<sup>1,2)</sup>, 的場 洋平<sup>3)</sup>, 浅川 満彦<sup>3)</sup>

1) 防衛医科大学校法医学講座

2) 東邦大学大学院理学研究科

3) 酪農学園大学獣医学部感染・病理部門

**要約:** 輸送技術の発展や生活の豊かさの向上などから移入し野生化した生物, すなわち移入種が近年問題となっている。移入種による経済被害や生態系の攪乱, 感染症媒介による健康被害への懸念が深刻化するなか, 全国レベルでの移入種問題に対する調査と対策が進められている。その一環としてアライグマの DNA 分析による捕獲個体調査が実施されている。現在まで 12 道府県で約 4,000 個体のサンプルからミトコンドリア DNA 多型を決定し, 母系の動態調査を行ってきた。さらに, 移入種の起源や詳細な動態調査を行うため MHC 遺伝子分析より得られた結果は, 遺伝的多様性, 個体群の遺伝的独立性や遺伝子流動の評価を可能とした。このことは MHC がアライグマの捕獲駆除や遺伝的保全, 生態系保全において有効利用できるアイテムであるといえる。

**キーワード:** アライグマ, *PrLA-DRB1*, MHC, ミトコンドリア DNA, 移入種

## はじめに

輸送技術の発展や生活の豊かさの向上などから, 生物の国内外への移動が活発化している。生物は自己の能力を超えて本来生息していなかった地域へ生物の意志に関わらず人為的に導入されている。そして意図的・非意図的に移入された生物は野生化し増加している。我が国において約 104 種の陸棲ほ乳類が生息しており, 日本固有種はその内の 39 種である<sup>1)</sup>。また, 明治以降に定着し繁殖が確認されている移入ほ乳類は 23 種あり, 第二次世界大戦以後に移入し定着した種はアライグマをはじめとする 7 種である<sup>2)</sup>。このような生物種は, 移入種または外来種と呼ばれ, なかには古くから家畜として用いられ, 長い時間をかけて生活や文化に浸透し共存したものもあるが, 在来種の捕食, 競合や交雑による遺伝的攪乱,

農林水産業への影響, 人の生命や身体への危害など様々な影響を及ぼすものもあり, 大きな問題が生じている。2004 年 6 月には「特定外来生物による生態系等に係る被害の防止に関する法律」が公布され, 全国レベルで移入種問題に対する早急な対策が進められてきた。特にアライグマもノヤギ, タイワンリス, ハクビシンと同様に緊急の調査と対策が必要とされている。このような状況のなか, アライグマの生息を確認すると共に今後の危害予測と対応方針について捕獲調査を実施し, 分布拡大の経緯や被害状況, 密度分布などより詳細な情報の収集が行われた。その一環として DNA 分析による捕獲個体調査が実施されている<sup>3)</sup>。なお, 北海道のデータは本文がそのオリジナルデータを公表する。

代表者連絡先 〒359-8513 埼玉県所沢市並木 3-2  
防衛医科大学校法医学講座  
高田 雄三

電 話 04-2995-1583  
F A X 04-2996-5198  
E-mail fmmatsu@ndmc.ac.jp

## アライグマ

アライグマ（英名: common raccoon, 学名: *Procyon lotor*）は、食肉目（*Carnivora*）、イヌ亜目（*Caniformia*）、アライグマ科（*Procyonidae*）、アライグマ属（*Procyon*）の一種とされ、アライグマ属は25亜種が知られている<sup>4)</sup>。また、本来はカナダ南部、アメリカ合衆国、中央アメリカにかけて生息するが、日本をはじめとしアジア、ヨーロッパやロシアなどにも移入されている。さまざまな環境に生息する最もよく見られる動物であり、北海道、神奈川県、岐阜県、愛知県など日本各地で野生化している。同属のカニクイアライグマ（*Procyon cancrivorus*）も国内で野生化しているとされているが輸入記録等の確証は得られていない（図1）。実際に当大学で譲り受けたことがあるアライグマ、あるいは神奈川県で捕獲されているアライグマには2種類存在していた。正しいか否かは別として当方ではこの2種類をタヌキ顔、キツネ顔で分類している（図2）。日本国内にお

けるアライグマの移入・野生化は、1962年愛知県犬山市で動物展示施設飼育個体が逃亡し、岐阜県可児市に定着したのが最初とされる。1979年には北海道恵庭市で10頭ほどの飼育個体が逃亡、以後道内各地で逃亡・遺棄による野生化が多発し、2004年には道内の半数以上の市町村にまで分布を拡大している。神奈川県鎌倉市では1990年に初めて観察され、繁殖が確認されている<sup>5)</sup>。また、和歌山県・東京都・京都府・大阪府・兵庫県などからも野生での繁殖情報が続出し、1994年度より狩猟獣となった。現在は、一時的な保護等を含めると福島県・島根県・愛媛県・佐賀県・鹿児島県を除く42都道府県から捕獲・保護情報が得られている。生態系被害に関しては、北海道における希少性の高い節足動物や脊椎動物などの補食<sup>6-8)</sup>、アオサギ営巣地の襲撃、フクロウ類の営巣木の乗っ取り、キタキツネ・エゾタヌキとの競合などがいわれており、今後シマフクロウ・タンチョウなどへの影響が危惧されている。また、神奈川県で

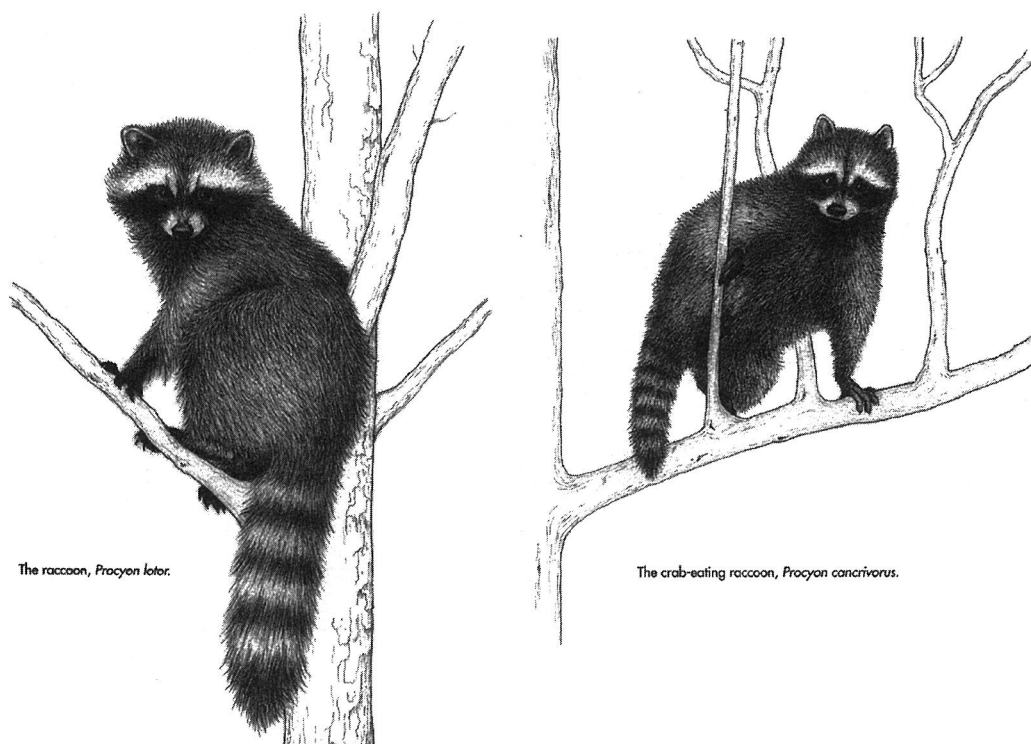


図1 アライグマ

左: アライグマ, 右: カニクイアライグマ

アライグマはカニクイアライグマに比べて全体的にふっくら、尻尾が太く長く、顔つきも横広である。  
 (Raccoons, Zeweloff SI より引用)



図2 神奈川県自然環境保全センターから譲り受けたアライグマ

両者を比べると全体の毛並み、尻尾の長さや太さ、顔つきなどが異なる。神奈川県で捕獲されたアライグマにはこの両者のタイプが存在する。便宜上、左をタヌキ顔、右をキツネ顔と呼んでいる。

はアカテガニ・アシハラガニ・トウキョウサンショウウオの捕食やホンダタヌキとの競合などが報告されている。その他、水鳥をはじめとする鳥類全般への影響(食卵を含む)、ウミガメの卵の捕食、マスカットなどへの影響等が報告されているが、基本的に雑食であるためにあらゆる生物相への影響が危惧される。農業等被害に関しては、コーン・スイカ・メロン等の商品作物や畜牛・養魚場・養鶏場への被害がでており、北海道の農業等被害額は毎年約3,000万円で推移しているほか、和歌山県でも被害金額は1,000万円以上にのぼる(タヌキを含む)<sup>9)</sup>。アライグマが野生化した場合、その動物が保有している病原体(寄生体)がヒト、飼育動物あるいは自然生態系に生息する在来種への感染という問題が指摘されていることから、1995年から北海道を中心にこれら疫学研究を実施している。なお、病原体研究は多様な共同により、対象も多岐にわたっているため、個別のオリジナル文献を明示することは避け、浅川・池田の解説で紹介しているものを参照されたい<sup>10)</sup>。北海道を含め国内で野生化したアライグマからは、もっとも警戒すべき寄生蠕虫類であるアライグマ蛔虫 *Baylisascaris procyonis* の寄生が認められてはいない。このほかの北海道で見つかった蠕虫類としては、*Metagonimus* 属吸虫、ネコ条虫 *Taenia taeniaeformis*、胞状条虫 *T. hydatigena*、旋毛虫 *Trichinella* T9、タヌキ蛔虫 *Toxocara tanuki*、毛様線虫

*Molineus legerae* などが見つかったが、多くはヒトや飼育動物を含む宿主域が広く注意が必要である。和歌山では、佐藤ら<sup>11-14)</sup>が精力的に調査を進め、アライグマ糞線虫や胃虫の一種(当初、ラーラ胃虫とされていたが *Physaloptera sp.* と訂正)、それと他種の鉤頭虫類(いずれも野鳥を本来の宿主とするという)などが報告されている。このほかの寄生虫あるいは症例としては、タヌキマダニなどマダニ類・チマダニ類、センコウヒゼンダニによる疥癬などが認められた。ダニ類は血液原虫、リケッチアなどの細菌、そしてウイルスなどの媒介者としての側面もあり、警戒が必要である。原虫類については *Eimeria procyonis* 類似のオーシストが検出されており、アライグマの原産地から、原産地の(=アライグマ固有の)原虫種を持ち込んでいることが疑われた。それが決定的になったのが、アライグマ特有の血液原虫類 *Babesia microti* グループが北海道のアライグマから発見されたことである。ウイルス・細菌の疫学では、狂犬病ウイルス、ボルナ病ウイルス、コロナウイルス、イヌジステンパーウイルス、レプトスピラなどのおもに血清疫学が実施され、原産地の北米では非常に高い抗体保有率を示す狂犬病ウイルスおよびジステンパーウイルスは、北海道で陰性、他のウイルスはイヌあるいは牛などの飼育動物とほぼ同じレベルであったという。ヨーロッパ・ロシアにおける移入・野生化は、ドイツのヘッセン州での野生化に端

表1 ミトコンドリア遺伝子型の地域分布(高田, 未発表)

	ミトコンドリア遺伝子型																	合計
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
北海道	0	214	563	187	237	105	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1311
長野	0	28	0	0	0	0	0	11	2	0	0	0	0	0	0	0	0	41
群馬	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	3
千葉	1	0	1	0	2	0	0	8	0	57	0	0	0	0	0	61	1	131
神奈川	561	14	10	16	9	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	614
三重	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3
奈良	0	2	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	4
和歌山	0	28	194	0	0	0	866	0	9	0	2	1	0	0	0	0	0	1100
大阪	2	124	191	0	1	0	0	3	5	0	0	244	0	1	6	0	0	577
兵庫	0	37	55	0	0	0	10	0	0	0	0	27	0	0	30	0	0	159
鳥取	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
長崎	0	3	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	14
合計	565	450	1014	203	259	109	880	24	22	57	2	272	1	2	36	61	1	3958

を發し、フランス・オランダ・ポーランドにまで生息域が拡大している。特にロシアでは毛皮目的で1936年から各地で放逐され、ウクライナ・コーカサス・ベラルーシ・キルギス・ウズベク・沿海州などに定着した。狩猟鳥への影響については、特にベラルーシ東部のポレシエ沼沢地でホオジロガモ減少の要因とされている。西インド諸島では、1932年にフロリダから導入したアライグマが、ピーナッツやトウモロコシに被害をあたえている<sup>3)</sup>。

### ミトコンドリア DNA 多型

アライグマのミトコンドリア DNA タイプは現在まで(2006 年末)に、12 道府県、約 4,000 頭の検査で 17 タイプ確認されている(表 1)。日本各地での分布は、北海道でタイプ 3 が最も多く、次いでタイプ 2, 4, 5 がほぼ同数存在している。神奈川県ではタイプ 1 が 9 割以上を占めている。和歌山県ではタイプ 7 が最も多く、次いでタイプ 3 が多い。隣接する大阪府ではタイプ 12 が最も多く、次いでタイプ 2 と 3 がほぼ同数存在している。兵庫県ではタイプ 3 が最も多く存在するものの、タイプ 2, 7, 12, 15 も多く比較的分散している。千葉県ではタイプ 10, 16 がほぼ同数存在し全体を占めている。検査数が 100 件以上について述べたが、その他の地域においても分布するタイプに地域差が認められる。隣接する地域ではアライグマの移動があるものの、各地域で個別にアライグマの移入があり定着・繁殖していると考えられる。

### PrLA-DRB1 遺伝子多型

捕獲処分の対象となったアライグマの脾臓を一部採取し、RNA 抽出・cDNA 合成・PCR により増幅産物が得られた。この産物からクローニング後、プライマー領域を除いた塩基配列を決定すると、異なる 2 種類の配列が得られた。これらの配列を BLAST により相同性検索すると、哺乳類の MHC クラス II *DRB1* 遺伝子と相同性が認められた。CLUSTAL W を用いた多重整列解析による相同性は、塩基配列でネコと 87%, イヌと 87~88%, ヒトと 83~84% を示し、アミノ酸配列ではネコ (*FLA-DRB\*05072*) と 83%, イヌ (*DLA-DRB (Dw8)*) と 80~81%, ヒト (*HLA-DRB1\*09012*) と 79% を示したことから、アライグマから検索された遺伝子は *DRB1* 遺伝子 (*PrLA-DRB1*) であると推定された。イヌの *DLA-DRB* 塩基配列を基に推定されるコード領域は 801 bp, 266 aa であった<sup>15)</sup>。推定された *PrLA-DRB1* アミノ酸配列と哺乳類 14 種の *DRB* 遺伝子データから分子系統樹を作成すると、ウマとウシあるいはヒツジの分岐年代が 5,400 万年前<sup>16)</sup>、ラットとマウスの分岐年代が 1,000~2,500 万年前<sup>17)</sup>に起こったと仮定した場合、アライグマとイヌあるいはネコとの分岐年代は約 2,000 万年前に起こったと推定された。アライグマ類は食肉目、イヌ亜科に属しており、漸新世頃にイヌ科の根元的なものから離れ進化したといわれ、現世のアライグマは、それとは別に第三紀後期に出現したといわれている<sup>18)</sup>(図 3)。多重整列解析の結果は、これら形態学的分類と類似した結果を示

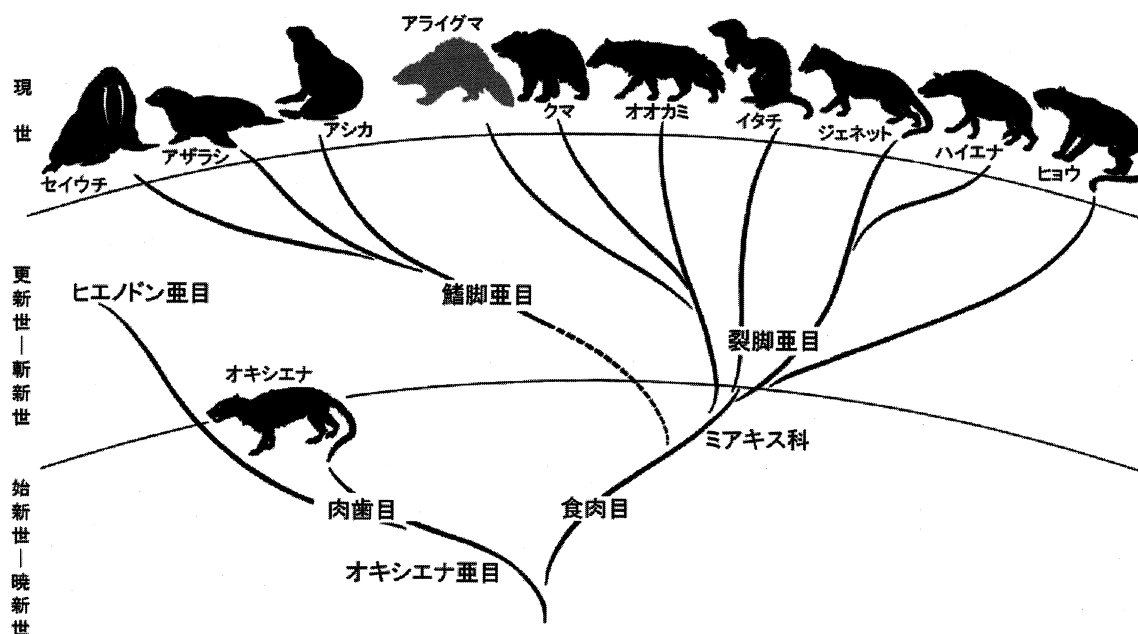


図3 肉食性胎盤類の主なグループの進化とその類縁関係

アライグマはイヌ科の根源的なミアキス科から系統が生じ、獲物を追い詰めかみ殺すという習性から遠ざかり、雑食性と木によじ登る生活への適応に至った系統である。

(脊椎動物の進化, Colbert EH and Morales M より引用一部改変)

していた(図4)。

アライグマ 277 頭のエクソン 2 のアミノ酸配列を推定した結果、12 のアリルに分類された(図5)。アリルの出現率は 01 が 9.2% (51/554), 02 が 3.6% (20/554), 03 が 10.5% (58/554), 04 が 17.5% (97/

554), 05 が 16.8% (93/554), 06 が 0.9% (5/554), 07 が 0.5% (3/554), 08 が 35.0% (194/554), 09 が 3.1% (17/554), 10 が 2.2% (12/554), 11 が 0.4% (2/554), 12 が 0.4% (2/554) であった。これら、エクソン 2 のアミノ酸配列を比較すると、イヌ (*DLA-DRB1*) とは 72~77%, ネコ (*FLA-DRB1*) とは 68~73%, ヒト (*HLA-DRB1*) とは 67~73% の相同性を示した。イヌ、ネコとのエクソン 2 における多重整列解析の結果を図に示す(図6)。また、アライグマがもつ *PrLA-DRB1* 遺伝子型は 01/01 (アリル 01 のホモ)~12/12 まで 37 タイプ検出された(表2)。それらはホモが 45% (124/277), ヘテロが 55% (153/277) であった(表3)。

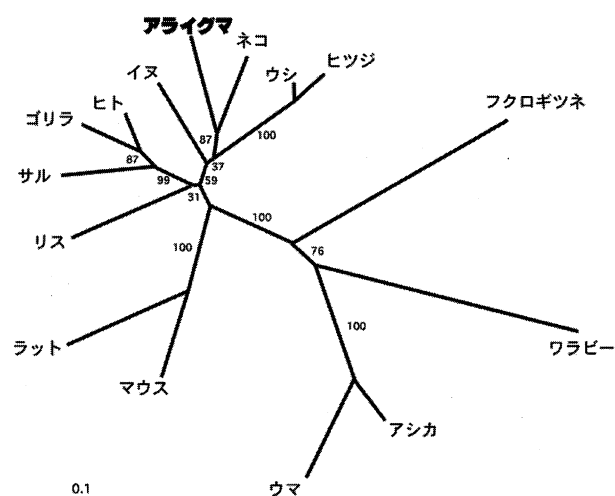


図4 アライグマの系統分類学的位置

*PrLA-DRB1* のアミノ酸配列を基に NJ 法で作成したものの。

#### 遺伝子多型の地理的分布

北海道で捕獲されたアライグマ 244 頭からアリルは 8 タイプ検出された(表4)。アライグマの捕獲された地域別にアリルを比較すると、全ての地域でアリル 08 が捕獲されている。また、ほとんどの地域でアリル 08 は最も多く存在し、複数頭捕獲されている地域では多いところで約半数を占めている。アリル

1	PHFLRLFKFECHFTNGTERVRLLRDIYNREEYVRYDSVGEHRAVTELGRQIAEYWSQKDFMEQRRAEVDTCRHNHYGVGESFTVQRRX
02	...Y.V.....Y.....GR.D..F.....F.....PD.Q.....K..A.....V.....
03	...Y.V.....Y...V.....F.....F.....PS.Q.....K..A.....
04	...Y.V.....Y...V.....F.....F.....PS.Q.....K..A.....F..A....
05	...Y.V.....Y...V...GR.D..F.....FQ.....PD.Q.....VV..K..A.....
06	...Y.V.....Y...V...GR.D..F.....F.....PS.Q.....K..A.....
07	...Y.V.....Y...V...GR.D..F.....F.....PD.Q.....VV..K..A.....
08	...Y.V.....Y...V...GR.D..F.....F.....PD.Q.....K..A.....V.....
09	...Y.....N...GQ.F.....L.....R.....
10	...Y.....N...GQ.....PD.Q.....R.....F..A....
11	...Y.....N...GQ.D.....PD.Q.....R.....F..A....
12	...Y.....N...GQ.D.....PD.Q.....L..R.....

図5 PrLA-DDRB1 エクソン 2 アミノ酸配列

アライグマ 277 頭より検出されたアリル。

表3 PrLA-DRB1 アリルの地域別ホモ接合度(高田, 未発表)

表2 PrLA-DRB1 遺伝子型分布(高田, 未発表)

	PrLA-DRB1アリル												合計
	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	
01	8	4		5	10	1	12	2	1				43
02		3	2	2	3			3					13
03			14	7	10	2		9					42
04				18	14		1	31		1			65
05					16		1	20	1	2			40
06						1		1					2
07													
08								55	6	2			63
09									4				4
10										3			3
11											1		1
12												1	1
合計	8	7	16	32	53	4	14	121	12	8	1	1	277

地域	PrLA-DRB1アリル		
	ホモ(%)	ヘテロ(%)	ホモ/ヘテロ(数)
北海道 岩見沢	20	80	1/4
江別	50	50	12/12
追分	33	67	8/16
北広島	47	53	22/25
栗沢	38	62	3/5
札幌	43	57	21/28
苫小牧	42	58	10/14
長沼	17	83	1/5
南幌	100	0	1/0
早来	63	37	5/3
穂別	36	64	4/7
鷗川	39	31	9/4
夕張	50	50	12/12
神奈川 鎌倉	45	55	15/18

表4 PrLA-DRB1 アリルの地域分布(高田, 未発表)

地域	個体数	PrLA-DRB1アリル												合計
		01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	
北海道 岩見沢	5		1		2	3			4					10
江別	24	5		1	8	11			23					48
追分	24	8	2	5	7	3			23					48
北広島	47	6	2	14	14	20	2		36					94
栗沢	8	3	1	2	3	2			5					16
札幌	49	2	2	29	21	23			21					98
苫小牧	24	2		1	16	7	1	1	20					48
長沼	6	2	4		4				2					12
南幌	1								2					2
早来	8	7			3				6					16
穂別	11	4	3	1	3	4		1	6					22
鷗川	13	5	4	1	3	6	2	1	4					26
夕張	24	2	1	4	10	8			23					48
神奈川 鎌倉	33	5			3	6			19	17	12	2	2	66
合計	277	51	20	58	97	93	5	3	194	17	12	2	2	554

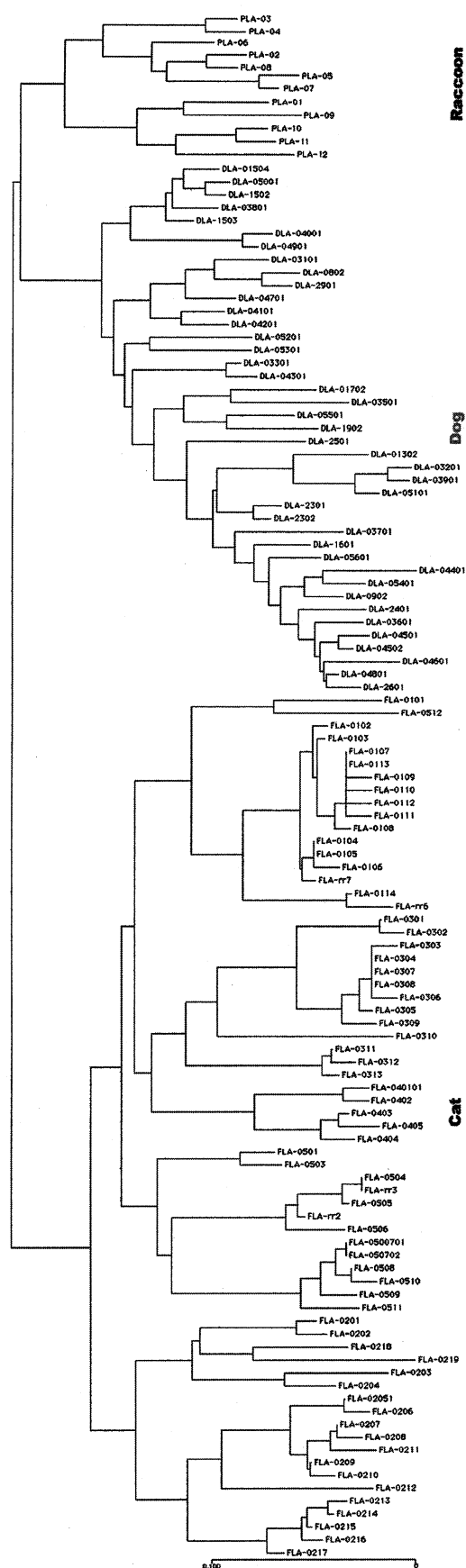


図6 *PrLA-DRB1* アリルの系統分類学的位置

*PrLA-DRB1* エクソン2のアミノ酸配列を基にNJ法で作成し、イヌ・ネコと比較したもの。

数が8タイプ検出されたことは、北海道への移入初期に少なくとも4頭の雌雄が存在していたといえる。神奈川県鎌倉市で捕獲されたアライグマ33頭はアリル数が8タイプ検出された。そのタイプは01, 04, 05, 08~12である(表4)。分析数は少ないもの、鎌倉でも北海道同様に移入初期に少なくとも4頭の雌雄が存在していたといえる。アリル数のみから考えると両地域は同一な動態を示しているようにも思われる。しかし、両地域の大きな違いとして、北海道で見られるアリルのうち神奈川県で見られないもの、あるいはその逆のものが存在していることである(図7)。

ミトコンドリアDNAタイプ別にアリルを比較すると、北海道、鎌倉共にアリル数は8タイプと同数であるが、鎌倉のミトコンドリアタイプは単一のタイプ1であるのに対し、北海道では6タイプ存在している。北海道の各地域で比較しても、複数頭捕獲されている地域では2~5タイプ存在している(図8)。アリル数を比較するため鎌倉と同様にミトコンドリアタイプが単一で30頭程度分析されている単一地域を設定すると、111頭分析されているミトコンドリアタイプ3の北広島や札幌が対象となった。北広島のアリル数は7タイプ(32頭)、札幌は6タイプ(22頭)と鎌倉に比べアリル数が少ないように思われる。つまり、北海道と鎌倉のアライグマを単一の母系で比較することで、北海道のアライグマは移入初期のアリル数が鎌倉のそれより少なかったことが考えられる。

*PrLA-DRB1* 遺伝子型を比較すると、ホモ接合度は北広島では44%、札幌では45%と鎌倉の45%とは差が認められなく、江別では62%と明らかにホモが優位であった。ミトコンドリアタイプ3全体でのホモ接合度は50%とほぼ半数であった(表5)。また、*PrLA-DRB1* 遺伝子型数は北海道で26タイプ、鎌倉では16タイプ確認された(表6)。比較するアライグマの頭数が異なるため、北海道では地域のタイプ数

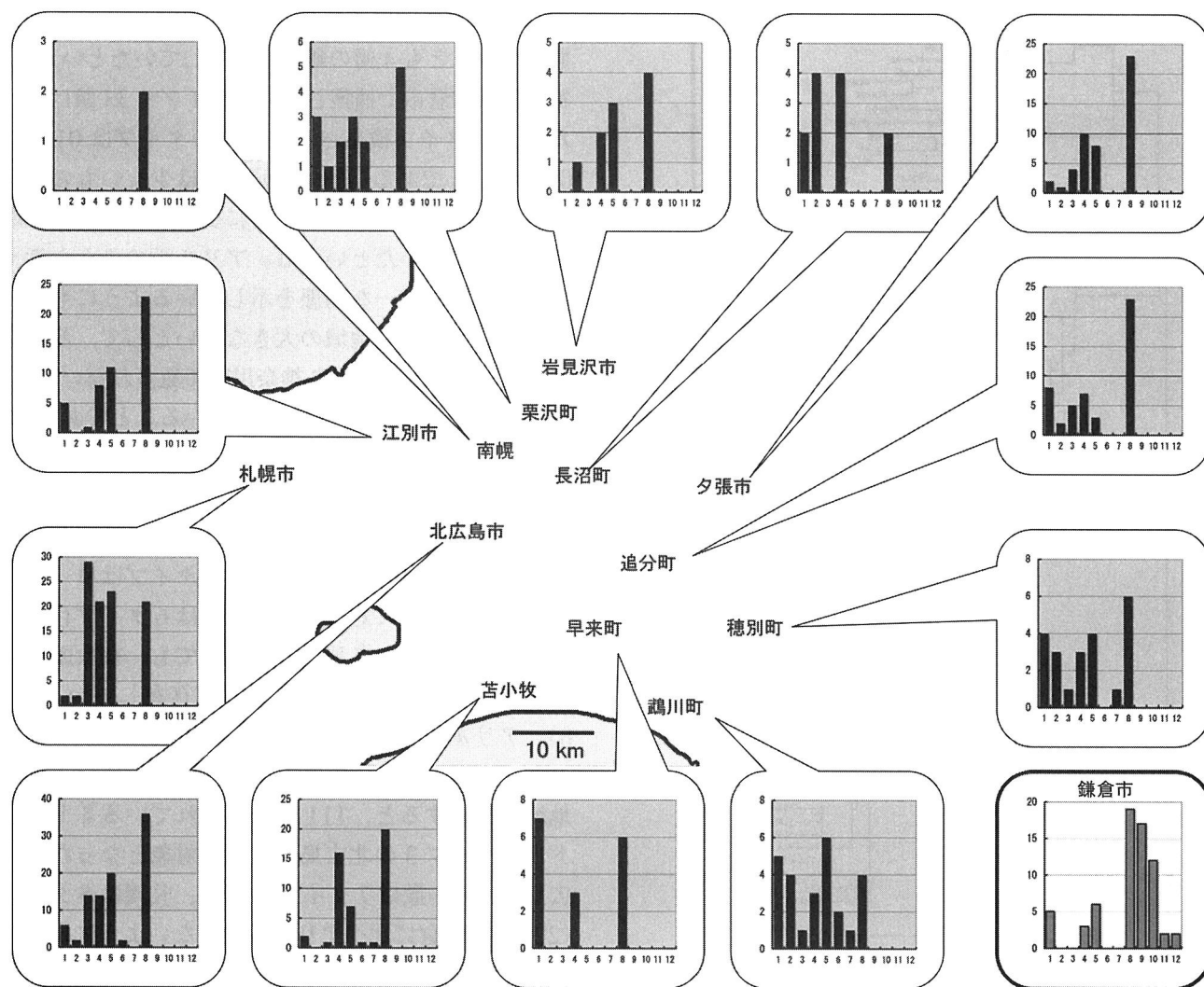


図7 *PrLA-DRB1* アリルの地域分布(高田, 未発表)

検出されたアリルは北海道(01~08)と神奈川県(01, 04, 05, 08~12)で地域差がみられる。

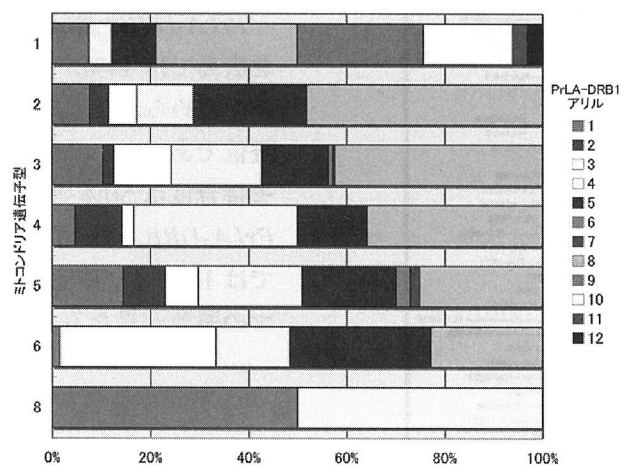


図8 ミトコンドリア遺伝子型別に応じた *PrLA-DRB1* アリル分布(高田, 未発表)

ミトコンドリア遺伝子型別に検出される *PrLA-DRB1* アリルの分布に差がみられる。

ミトコンドリア 遺伝子型		PrLA-DRB1アリル		
		ホモ(%)	ヘテロ(%)	ホモ/ヘテロ(数)
1	鎌倉	45	55	15/18
2		42	58	11/15
3		50	50	56/55
	北広島	44	56	14/18
	札幌	45	55	10/12
	苫小牧	50	50	8/8
	追分	50	50	7/7
	江別	62	38	8/5
	早来	67	33	4/2
	穂別	40	60	2/3
	鶴川	100	0	2/0
	夕張	100	0	1/0
4		24	76	5/16
5		40	60	21/31
6		48	52	16/17
8		0	100	0/1

地域	個体数	PLA-DRB1遺伝子型												合計																			
		01/01	01/02	01/04	01/05	01/07	01/08	01/09	01/10	02/02	02/03	02/04	02/05		03/03	03/04	03/05	03/06	04/04	04/05	04/07	04/08	04/10	05/05	05/07	05/08	06/08	06/09	08/10	09/08	10/10	11/11	12/12
北海道	岩見沢	5										1						1			1					1							5
	江別	24				4	1												2		4			2			8						24
	追分	24	1		1		5	1		1									3	1	5				2		4						24
	北広島	47	1		1		1	3											2	4			4		6		1	10					47
青森県	栗沢	8	1																1							2							8
	札幌	49			2																		4		4		5						49
	苫小牧	24				1	1												4	5	4			1		3							24
	長沼	6			1						1								4	1		6											6
岩手県	南郷	1																									1						1
	早来	8			1																					2							8
	穂別	11			1		2	1			1									1							3						11
	霞川	13	2	1						1		1												2	1			2					13
山梨県	夕張	24	1			1	1				1								2	1	2	5		2			7						24
	神奈川	33			1	1		2	1		1												2		2		6						33
	八雲	32			1	1	1	1			1												1	1	1	5	6						32
	八雲	32			1	1	1	1			1												1	1	1	5	6						32

表6 *PrLA-DRB1* 遺伝子型の地域分布  
(高田, 未発表)

の雄が繁殖媒体となり各地域から分布が拡大し他地域間での交雑が行われ、鎌倉では1頭の雌を中心に3頭の雄が繁殖媒体となり分布を拡大したと考えられる。アライグマは今後、遺伝子多様性を獲得するの否か、あるいは更なる繁殖を示すの否か、MHC 遺伝子を調査することで評価の一助となるであろう。これらの点を解明するために更なる追跡調査の必要性があり、今後の検討課題としたい。

### アライグマ対策

アライグマの全国的な対策としては、1994年度より狩猟獣に指定されているが、北海道では2001年に「北海道動物の愛護及び管理に関する条例」で特定移入動物に指定し飼育を届け出制としている。動物販売業者に対しては、販売実績の記録の保管義務や飼い主に対する十分な情報提供を義務付け、飼い主に対しては知事への届出義務及び適切な飼育や不妊手術といった遵守事項を規定している。2003年には野外からの排除を最終目標とする「アライグマ対策基本方針」を策定し、以後毎年計画案を策定し、学術捕獲調査を継続している点は注目すべきであろう。本文で用いた北海道各地のアライグマ個体はその調査で得られたものが用いられている。なお、1995年から2002年までは酪農学園大学獣医学部が独自に捕獲あるいは死体回収なども実施し、道の事業のものを含めると、2007年3月までに約2,200個体が搬入された<sup>20)</sup>。和歌山県では第9次鳥獣保護事業計画で有害鳥獣にアライグマの項目を新設し、対策費を予算化している。田辺市は「アライグマ対策会議」を組織し、捕獲事業を進めている。そのほか、神奈川県では鎌倉市など各市で有害鳥獣駆除による対応、愛知県は対策マニュアル作成のための情報収集を開始、大阪府でも2004年度から大阪府アライグマ被害対策検討委員会を設置するなど各地でアライグマの被害対策に着手している。対策を進めるにあたって、①アライグマの飼育を放棄し放逐しない、②在来生態系保護のための外来種管理、③捕獲駆除における法整備、④在来種の混獲を防ぐ手法の開発などに留意する必要がある<sup>9)</sup>。

和歌山県田辺市はアライグマの駆除を行い、かつ遺伝子分析を継続中の地域である。2002～2006年に

かけて約500頭(和歌山県では1,000頭)のミトコンドリア多型分析を行ったところ、3タイプのミトコンドリアタイプが確認されている。このうちタイプ7は鎌倉のタイプ1と同様に和歌山県内の繁殖の中心的母系を示しており、タイプ2は1頭のみしか確認されていない。タイプ3は田辺市で捕獲される約1割のタイプであり、年々その分布範囲を広げている。しかし、雌雄別、年齢別にその分布を調べると他の地域に比べ雌が多く、またこの雌は特定地域でのみ捕獲されている。つまりタイプ3の雌は分布の拡大を行っていないのである。その他の地域に分布するタイプ3を調べると雄の幼獣が分布を広げていた。すなわち田辺市においてはタイプ3を指標にした場合、雌の分布拡大を抑制していることが考えられ、田辺市における捕獲駆除の有効性が示されているといえる<sup>21), 22)</sup>(図9)。一方、和歌山県と同様に隣接する大阪府や兵庫県、奈良県、三重県などのデータが蓄積されてきており、アライグマ母系の移入経路の推定が可能となってきた。分析データは現在のところミトコンドリアDNA多型しか行っていないが、*PrLA-DRBI*をはじめとする他のMHC遺伝子マーカーの導入・検査が整備されれば、捕獲駆除の強力なアイテムになると確信する。

### おわりに

様々な生物が今までに絶滅しており、ようやく人間は生物保存の重要性に気がつき始めた。生物種の絶滅速度は恐竜の生息していた時期には1,000年に1種であったが20世紀末では100万種が絶滅するといわれていた。生物多様性の減少は、生息域の破壊・悪化・分断、乱獲、移入種や病気であり、相乗効果や相互作用がさらなる減少をもたらす。ドーローが絶滅した原因は、ヒトの移入による生息地域の破壊・悪化・乱獲が初期要因となり、ネコやイヌの移入種がとどめをさしたと考えられている<sup>23)</sup>。いったん移入種が定着した場合に駆除・根絶・コントロールするコストは、移入してから時間が経過するほど増大していく。また、地球温暖化が進むなかで在来種の生息条件は劣悪していくばかりであり、移入種に対する競争力も低下していく。そして今まで移入されたが定着できなかった生物種に対して、

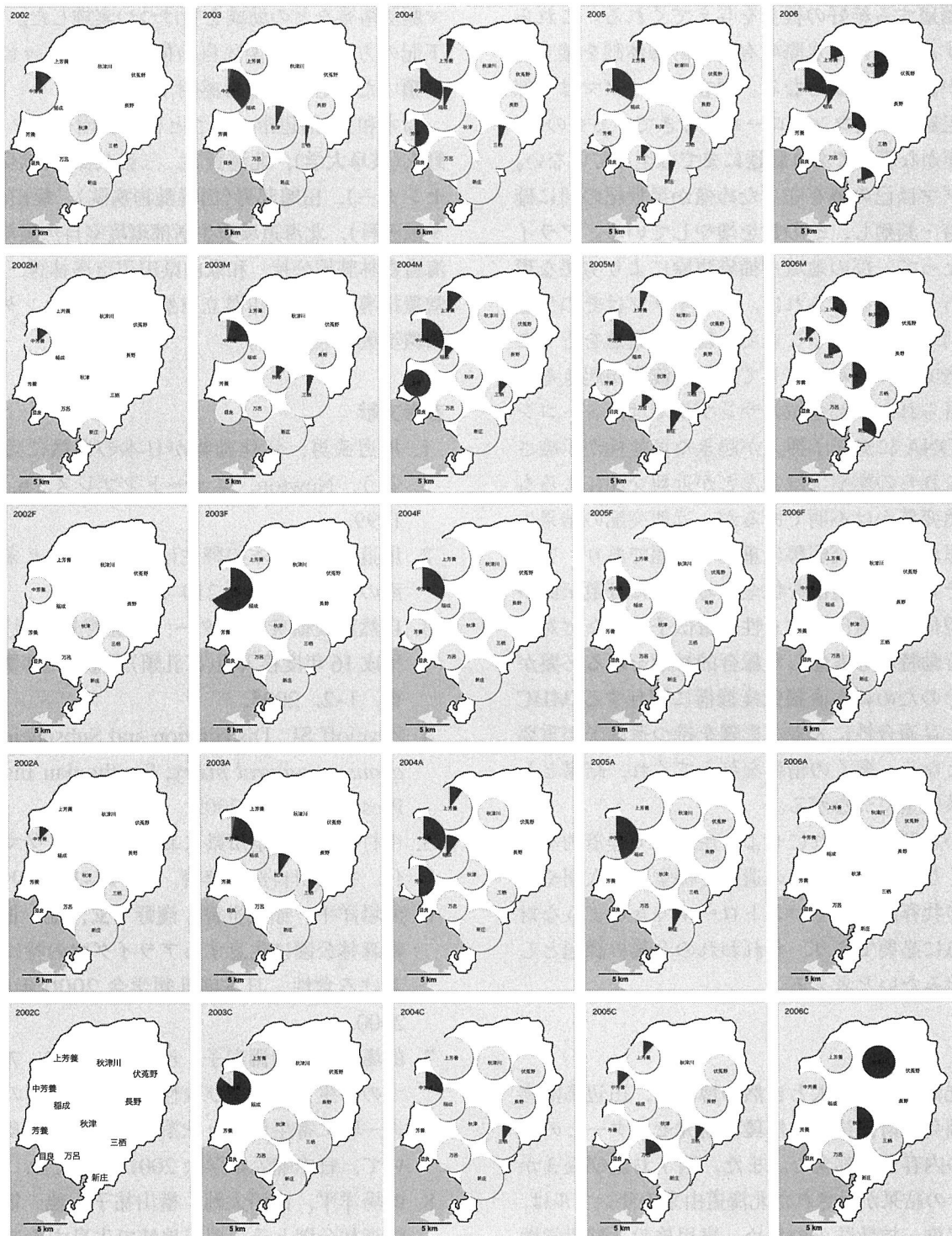


図9 和歌山県田辺市におけるミトコンドリア遺伝子型の年次推移(高田, 田辺鳥獣害調査研究報告書)

雌のタイプ3は中芳養のみに局限している。成獣のタイプ3は中芳養を中心に、そして幼獣のタイプ3は年と共に分散していく傾向にある。つまりタイプ3の雌を局所に押さえ込んでおり、他の地域で雌の成獣が確認されていないことから捕獲駆除の有効性が示されている。

円グラフの色の薄い部がミトコンドリアタイプ7、濃い部がタイプ3、この両者でほぼ99.8%を占めている。また、左上部の数字は西暦を示し、その後に来る M は雄、F は雌、A は成獣、C は幼獣を示す。各円グラフの地域名は図左下の 2002C を参照。

定着・繁殖する絶好の機会を与えてくれる。これらを防止するためには水際の有効な防御体制を確立することが極めて重要となる。現在アライグマは一部地域で定着・繁殖コントロールはできているものの、それは僅かな範囲であり駆逐にまでは至っていない。アライグマは己の種を守るため僅か半世紀の間に確実に定着・繁殖し、その数を増やしている。アライグマにとって一部の地域が捕獲駆除により劣悪な環境にさらされるのであれば、アライグマはその生息条件を別地域に向けることで、新たな繁殖を行うことが可能であり、結果として遺伝子流動が起きる。

最近得られた一部地域のサンプルでは、ミトコンドリア DNA に遺伝子挿入が起きた可能性が示唆された。これらの繁殖はほとんどが近親交配によるものか突然変異かは不明であるが、近親交配の結果生じるとされる近交弱勢は重要な問題であり、アライグマそのものの遺伝を保全するためには遺伝的多様性、個体群の遺伝的独立性や遺伝子流動など対象動物の行動特性も考慮した総合的対策を取る必要がある。そのためにも直接免疫機構に関与する MHC など、生存適合性に大きな影響を持つ遺伝子が重要な指標となり、多くの情報を与えてくれ、結果として生態系保全につながる。

駆逐か共存か、何れにせよ、生態系や経済的な被害をなくし、アライグマの遺伝を保全し、人間や在来種との共存が上手くコントロールできるような対策が早急に必要であり、われわれの今後の課題として取り組みたいと考える。

## 謝 辞

本研究は兵庫県立人と自然の博物館、田辺鳥獣害対策協議会、財団法人自然環境研究センターとの共同研究の内容を一部含む。また、図 7 および表 3 から 6 でその結果が示された北海道由来のサンプルは、病原体感染・拡散防止のため、専用施設「酪農学園大学野生動物医学センター」(<http://www.rakuno.ac.jp/dep19/wildanimal/wildanimal.htm>)で、文部科学省ハイテクリサーチ研究助成費(酪農学園大学)、同省科学研究助成費(Nos. 14560271, 18510205)、環境省地球環境研究総合推進費、同省環境技術開発等推進事業基礎研究開発費および北海道庁アライグ

マ駆除事業などの助成を受けつつ実施した。さらに、下記の方々および関係自治体・団体の方々に協力して頂いたことを心から感謝する。

鈴木和男(田辺市ふるさと自然公園センター)、浅野玄(岐阜大学)、北浦賢次、三谷奈保(自然環境研究センター)、田嶋邦男(田嶋動物病院)、蛭田眞(ヒルタ獣医科)、北海道環境生活部環境室自然環境課、北海道森林整備公社、和歌山県田辺市農林課、JA 紀南営農指導課、神奈川県立自然環境保全センター、大和環境興業(敬称略)

## 参考文献

1. 川道武男: 帰化動物が日本の自然に猛威をふるう。Newton, ニュートンプレス, p. 80-87, 1999.
2. 川道武男: 日本の野生ほ乳類: 現状と未来。畜産の研究, **54**(1): 219-224, 2000.
3. 自然環境研究センター: 調査背景と調査内容。平成 16 年度移入種(ほ乳類)生息状況等調査報告書, 1-2, 2005.
4. Zeweloff SI.: Distribution and Subspecies. *Raccoons: a natural history*, Smithsonian Institution Press, p. 75-89, 2002.
5. 中村一恵: 神奈川県におけるアライグマの野生化。神奈川自然誌資料, **12**: 17-19, 1991.
6. 的場洋平, 赤松里香, 浅野 玄, 他: 北海道野幌森林公園に生息するアライグマの特に夏期における食性。日本哺乳類学会 2000 年度大会, 2000.
7. 的場洋平, 増淵寿子, 浅野 玄, 他: アライグマの寄生虫相および食性に関する調査の中間報告—特に寄生原虫と秋期および冬の食性について。日本哺乳類学会 2001 年度大会, 2001.
8. 的場洋平, 山田大輔, 横山祐子, 他: 北海道野幌森林公園とその周辺地域で生息するアライグマの個体分析—特に食性と寄生蠕虫に関する調査の中間報告。日本哺乳類学会 1999 年度大会, 1999.
9. 自然環境研究センター: アライグマの生物学的特徴と国内の移入状況。平成 16 年度移入種(ほ乳類)生息状況等調査報告書, 3-7, 2005.

10. 浅川満彦, 池田 透: 北海道で野生化したアライグマ (*Procyon lotor*) の病原体疫学調査開始から12年の総括: 外来種対策における感染症対策の一具体例として. 野生生物保護学会フォーラム, 投稿中.
11. 佐藤 宏: 人畜共通感染症としての回虫症—アライグマ回虫を中心に—. モダンメディア, **51**(8): 177–178, 2006.
12. Sato H, Suzuki K, Osanai A, et al.: Identification and characterization of the threadworm, *Strongyloides procyonis*, from feral raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *J Parasitol* **92**(1): 63–68, 2006.
13. Sato H, Suzuki K.: Gastrointestinal helminths of feral raccoons (*Procyon lotor*) in Wakayama Prefecture, Japan. *J Vet Med Sci* **68**(4): 311–318, 2006.
14. Sato H, Suzuki K, Uni S, et al.: Recovery of the everted cystacanth of seven acanthocephalan species of birds from feral raccoons (*Procyon lotor*) in Japan. *J Vet Med Sci* **67**(12): 1203–1206, 2005.
15. 高田雄三, 今井利夫, 向田政博: アライグマにおけるMHC遺伝子領域の解析. DNA多型 **13**: 120–125, 2005.
16. Romero-Herrera AE, Lehmann H, Joysey KA, et al: Molecular evolution of myoglobin and the fossil record: A phylogenetic synthesis. *Nature* **246**: 389–395, 1978.
17. Britten RJ: Rats of DNA sequence evolution differ between taxonomic groups. *Science* **231**: 1393–1398, 1986.
18. Colbert EH, Morales M: 肉齒類と食肉類. 脊椎動物の進化(田隅本生監訳), 築地書館, p. 375–402, 1994.
19. 牧野 敬, 橋井秀雄: 神奈川県自然環境保全センターに搬送されたアライグマの記録. 自然情報, **1**: 1–6, 2002.
20. 的場洋平, 谷山弘行, 浅川満彦: 酪農学園大学野生動物医学センターで登録された獣医哺乳類学標本(第1報): 1995年から2005年までに搬入された野生アライグマ (*Procyon lotor*). 酪農学園大学紀要 自然科学 **1**: 55–70, 2006.
21. 松崎雄三: DNA分析における母系解析. 田辺市におけるアライグマ調査報告書, 33–44, 2005.
22. 高田雄三: DNA分析におけるアライグマの母系解析. 田辺鳥獣害調査研究報告書, 68–79, 2008.
23. 堂本暁子: 生物多様性はなぜ守らなければならないか, 移入・外来・侵入種生物多様性を脅かすもの(川道美枝子, 岩槻邦夫, 堂本暁子編), 築地書館, p. 1–13, 2001.



## ● 総 説 ●

# [シリーズ：移植医療と組織適合性]

## 第 2 回

### 同種造血幹細胞移植における マイナー組織適合性抗原の臨床的意義

村田 誠

名古屋大学医学部附属病院 血液内科

**要約：**マイナー組織適合性抗原とは、患者細胞表面の HLA 上に提示される細胞内タンパク由来のペプチドのうち、遺伝子多型により患者とドナー間で異なるアミノ酸配列をもち、非自己の T リンパ球に認識されるものをいう。ヒトでは 20 数個のマイナー組織適合性抗原が分子レベルで同定されている。マイナー組織適合性抗原に対する T リンパ球応答は、HLA 一致ドナー同種造血幹細胞移植後の移植片対宿主病の発症や移植片対腫瘍効果の発現に関与している。

**キーワード：**T リンパ球, HLA, 移植片対宿主病, 移植片対白血病効果, 移植片対腫瘍効果

#### 1. はじめに

悪性腫瘍に対する同種造血幹細胞移植は、大量の抗癌剤や放射線による前処置に続いてドナーの造血幹細胞を移植し、生着したドナー由来の免疫担当細胞により残存腫瘍細胞を根絶する治療法である<sup>1)</sup>。この移植後免疫反応による抗腫瘍効果のことを移植片対白血病 (graft-versus-leukemia: GVL) 効果あるいは移植片対腫瘍 (graft-versus-tumor: GVT) 効果と呼ぶ。一方、ドナー由来免疫担当細胞が患者正常細胞を攻撃することもあり、その結果皮膚、肝臓、腸管などを主とする移植片対宿主病 (graft-versus-host disease: GVHD) が発症する<sup>2)</sup>。

移植片から T リンパ球を除去すると、GVHD 発症の危険度は低下するが同時に GVL 効果や GVT 効果も減弱してしまう<sup>3,4)</sup>。すなわち、GVHD の発症や GVL/GVT 効果の発現にはドナー由来 T リンパ

球が強く関与している。

T リンパ球は細胞表面上の主要組織適合性抗原(ヒトでは HLA) とペプチドの複合体を認識する。患者とドナーが異なる HLA を有する場合、ドナー T リンパ球は患者 HLA 分子を非自己として認識し強く反応する。しかし同種造血幹細胞移植は通常 HLA 一致ドナーから実施するため、ドナー T リンパ球が患者細胞を非自己として認識することができるのは主として HLA 分子と結合しているペプチドの違いによる、ということになる。

移植患者細胞の HLA 分子には、ウイルスタンパク由来のペプチドや腫瘍タンパク由来のペプチドなど、本来正常細胞が提示していないはずのペプチドも結合しているが、もちろん細胞内に元々存在する正常タンパク由来のペプチドも結合している。この細胞内タンパク由来のペプチドは同種移植を行わな

連絡先 〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65  
名古屋大学医学部附属病院 血液内科  
村田 誠

電話 052-744-2145  
FAX 052-744-2161  
E-mail mmurata@med.nagoya-u.ac.jp

ければ抗原とはならないが、移植を行った結果患者とドナーの生まれ持った個人差のため抗原として働くものがある。それがマイナー組織適合性抗原(以下マイナー抗原)である。

## 2. マイナー抗原とは

改めて、マイナー抗原とは患者細胞表面の HLA 分子上に提示される細胞内タンパク由来のペプチドのうち、遺伝子多型により患者とドナー間で異なるアミノ酸配列をもち、その結果非自己(患者からみればドナー、ドナーからみれば患者)の T リンパ球に認識されるものである<sup>5)</sup>。

例をあげて説明する。遺伝子には個人差があり、それぞれの遺伝子の塩基配列には異なる部位が存在する。塩基一つの違いを一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) と呼び、具体的には約 1000 塩基対中に 1 塩基の頻度で存在する。SNP には、その結果異なるアミノ酸が翻訳される場合 (non-

synonymous SNP) と、同じアミノ酸が翻訳される場合とがあるが、ここで問題になるのは前者の non-synonymous SNP である。

患者とドナーとの間で non-synonymous SNP の存在する遺伝子を想像して頂きたい(図 1)。患者細胞内で作られるこの遺伝子由来のタンパクには、ドナー細胞内で作られる同じ遺伝子 DNA 由来のタンパクと一部異なるアミノ酸配列が存在する。タンパクは細胞質にあるプロテアゾームという小器官によりペプチドに分断され、そのペプチド断片は transporter associated with antigen processing (TAP) を介して endoplasmic reticulum (ER) の中に取り込まれる。ER の中でペプチドは HLA 分子と複合体を形成し、その複合体は Golgi を通って細胞表面上に提示される<sup>6)</sup>。そしてそのペプチドがちょうどアミノ酸多型部位を含むとき、ドナー T リンパ球から非自己として認識される。それがすなわちマイナー抗原である。

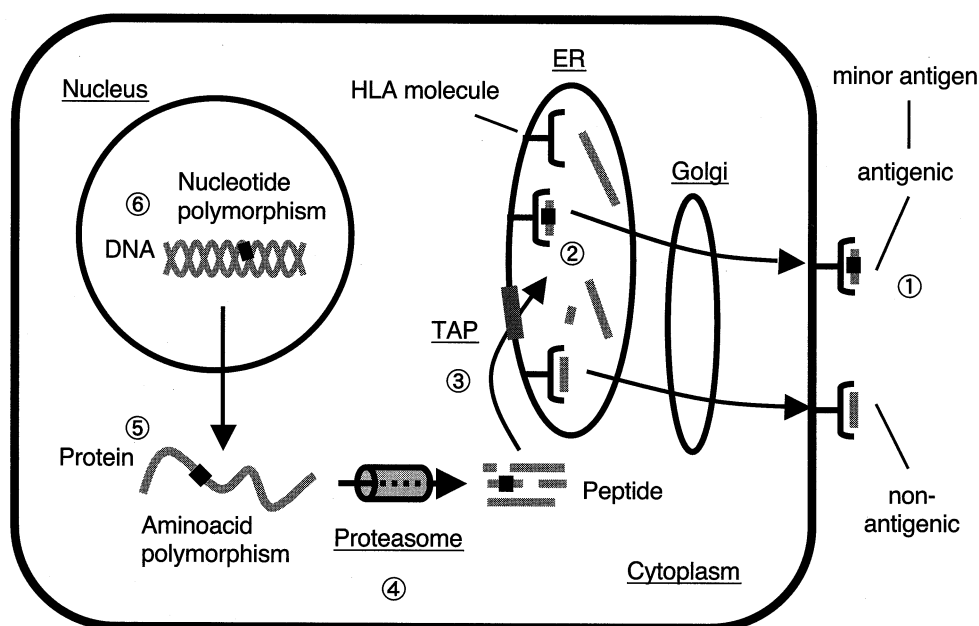


図 1 HLA クラス I によるマイナー抗原の提示経路

細胞内で合成されたタンパクはプロテアゾームによって分断されてペプチド断片となる。ペプチドは TAP を介して ER へ取り込まれ、ER の中でクラス I の HLA 分子と複合体を形成し、ゴルジを通して細胞表面へ運ばれる。遺伝子多型により、患者細胞表面上に提示されたペプチドが対応するドナーのペプチドと異なるアミノ酸配列を有するとき、ドナー T リンパ球はそれを非自己として認識する。図中の ① から ⑥ は本文中 4-1 から 4-6 を参照のこと。

表1 Minor antigens encoded by Y chromosome genes

Gene	HLA restriction	Peptide	X-homologue gene	Corresponding peptide
<i>SMCY</i> <sup>(7)</sup>	B7	SP <u>S</u> VDKAR <u>A</u> EL	<i>SMCX</i>	SPA <u>V</u> DKAQAEL
<i>SMCY</i> <sup>(8)</sup>	A*0201	FID <u>S</u> YICQ <u>V</u>	<i>SMCX</i>	FIE <u>S</u> YVCRM
<i>UTY</i> <sup>(9)</sup>	B8	LPHN <u>H</u> TDL	<i>UTX</i>	LPHN <u>R</u> TNL
<i>UTY</i> <sup>(10)</sup>	B60	RESEEE <u>S</u> VS <u>L</u>	<i>UTX</i>	GESEEE <u>A</u> SPSL
<i>DDFRY</i> <sup>(11)</sup>	A*0101	IVD <u>C</u> LTEMY	<i>DDFRX</i>	IVD <u>S</u> LTEMY
<i>DDX3Y</i> <sup>(12)</sup>	DQ5	HIEN <u>F</u> SDIDMGE	<i>DDX3X</i>	HIE <u>S</u> FSDVEMGE
<i>RPS4Y</i> <sup>(13)</sup>	DRB3*0301	<u>V</u> IKVN <u>D</u> TYQI	<i>RPS4X</i>	<u>L</u> IKVN <u>D</u> TIQI
<i>TMSB4Y</i> <sup>(14)</sup>	A*3303	EVLL <u>R</u> PGLHFR	<i>TMSB4X</i>	ETL <u>F</u> L <u>P</u> GLHFR

Mismatched amino acids between minor antigens and their X-homologue peptides are underlined.

以下、Y染色体由来のマイナー抗原と常染色体由来のマイナー抗原に分けて説明していく。

### 3. Y染色体由来マイナー抗原

Y染色体上の6つの遺伝子 *SMCY*, *UTY*, *DDFRY*, *DDX3Y*, *RPS4Y*, *TMSB4Y* から8個のペプチド(マイナー抗原)が同定されている(表1)。*SMCY*からはHLA-B7上に提示されるペプチドとA\*0201上に提示されるペプチドの計2個が、*UTY*からもB8上に提示されるペプチドとB60上に提示されるペプチドの計2個が、その他の遺伝子からはそれぞれ1個ずつのペプチドが、マイナー抗原として同定されている<sup>7-14)</sup>。

これらY染色体上の遺伝子はそれぞれX染色体上に相同遺伝子を有する。それら対となる遺伝子から作られたタンパクのアミノ酸配列は互いに近似しているが、しかし一部異なるアミノ酸配列を有する。自己と全く同一のアミノ酸配列を有するペプチドは非自己とはみなさないはずであり、事実今までに同定された全てのY染色体遺伝子由来マイナー抗原は、対応するX相同遺伝子由来ペプチドとの間で異なるアミノ酸部位を必ず含んでいる(表1)。

### 4. 常染色体由来マイナー抗原

常染色体上の13個の遺伝子から、16個のペプチドがマイナー抗原として同定されており<sup>15-30)</sup>、それ

らを表2にまとめた。*KIAA0223*, *BCL2A1*, *CTSH*からは2個ずつのマイナー抗原が同定されており、また*UGT2B17*からは複数のHLA上に提示される単一のマイナー抗原が同定されている。その他の遺伝子からは1個ずつマイナー抗原が同定されている。

これら常染色体由来マイナー抗原の分子学的抗原機序は多彩であり、以下のように整理した。

#### 4-1. T細胞受容体に認識される部位のアミノ酸に多型が存在する結果抗原性が生まれるペプチド(図1の①)

クラスI HLA上に提示されるペプチドは、両端または両端近くのアミノ酸がアンカー(いかり)としてHLA分子に深くはまり込み結合している。そのアンカーとアンカーの間のアミノ酸は外側に向かって張り出し、その突出した部分がHLA分子とともにT細胞受容体に認識される。

HLA-B60上に提示される*KIAA0223*由来マイナー抗原KECVLHDDLを例にとる。*KIAA0223*遺伝子にはSNPによりHA-1<sup>H</sup>とHA-1<sup>R</sup>の2種類のアリルが存在する。抗原ペプチドKECVLHDDLはHA-1<sup>H</sup>に由来し、HA-1<sup>R</sup>由来の対応するペプチドはKECVLRDDLである。すなわちこれらのペプチドは、ちょうど相手のT細胞受容体に認識されやすいペプチド中ほどの位置に互いに異なるアミノ酸を

表 2 Minor antigens encoded by autosomal genes

Gene	Minor antigen	HLA restriction	Peptide	Corresponding peptide(s)#
<i>KIAA0223</i> <sup>(15)</sup>	HA-1 <sup>H</sup>	A*0201	VL <u>H</u> DDLLEA	VL <u>R</u> DDLLEA
<i>KIAA0223</i> <sup>(16)</sup>	HA-1 <sup>H</sup>	B60	KECVL <u>H</u> DDL	KECVL <u>R</u> DDL
<i>Class I myosin</i> <sup>(17,18)</sup>	HA-2 <sup>V</sup>	A*0201	YIGEVLVS <u>V</u>	YIGEVLVS <u>M</u>
<i>LBC</i> <sup>(19)</sup>	HA-3 <sup>T</sup>	A1	VTEPGTAQY	VMEPGTAQY
<i>KIAA0020</i> <sup>(20)</sup>	HA-8	A*0201	<u>R</u> TLDKVLEV	<u>P</u> TLDKVLE <u>L</u> / <u>P</u> TLDKVLEV
<i>HB-1</i> <sup>(21)</sup>	HB-1 <sup>H/Y</sup>	B44	EEKRGSL <u>H</u> VW	EEKRGSL <u>Y</u> VW
<i>BCL2A1</i> <sup>(22)</sup>	ACC-1 <sup>Y/C</sup>	A24	DYLQYVLQI	DYLQCVLQI
<i>BCL2A1</i> <sup>(22)</sup>	ACC-2 <sup>D/G</sup>	B44	KEFED <u>D</u> IINW	KEFED <u>G</u> IINM
<i>CTSH</i> <sup>(23)</sup>	ACC-3 <sup>R</sup>	A*3101	ATLPLLCAR	ATLPLLCAG
<i>CTSH</i> <sup>(23)</sup>	ACC-4 <sup>R</sup>	A*3303	WATLPLLCAR	WATLPLLCAG
<i>UGT2B17</i> <sup>(24,25)</sup>	UGT2B17	A29/B44	AELLNIPFLY	-----
<i>P2X5</i> <sup>(26)</sup>	LRH-1	B7	TPNQRQNVC	TPTSGRTSV
<i>PANE1</i> <sup>(27)</sup>	7A7	A3	RVWDLPGVLK	-----
<i>ECGF1</i> <sup>(28)</sup>	LB-ECGF-1H	B7	RPH <u>A</u> IRRLAL	RPR <u>A</u> IRRLAL
<i>SP110</i> <sup>(29)</sup>	SP110 <sup>R</sup>	A2	SLPRGTSTPK	SLP <u>G</u> GTSTPK
<i>ADIR</i> <sup>(30)</sup>	LB-ADIR-1F	A2	SVAPALAL <u>F</u> PA	SVAPALAL <u>S</u> PA

#Corresponding peptide(s) encoded by other allele(s)

持っている。

このように、T 細胞受容体に提示される部位にアミノ酸多型が存在する結果抗原性を持つものとして、他には B44 上に提示される *HB-1*、A24 上に提示される *BCL2A1*、B7 上に提示される *ECGF1*、A2 上に提示される *SP110* などが挙げられる。なかでも、*HB-1* 遺伝子からは当初 HB-1<sup>H</sup> アリルから作られるペプチド EEKRGSLHVW がマイナー抗原として同定されたが、のちに HB-1<sup>Y</sup> アリルから作られるペプチド EEKRGSLYVW も B44 上に提示され抗原となることが報告されている<sup>31)</sup>。

#### 4-2. アンカーとなるアミノ酸の多型により HLA への結合性に差が生じるペプチド(図 1 の②)

HLA-A\*0201 上に提示される *KIAA0223*、*Class I myosin*、A\*3101 および A\*3303 上に提示される

*CTSH* がこれに相当する。

例えば *Class I myosin* 遺伝子には SNP により HA-2<sup>V</sup> と称するアリルと HA-2<sup>M</sup> と称するアリルが存在する。抗原ペプチド YIGEVLVSV は HA-2<sup>V</sup> に由来し、HA-2<sup>M</sup> 由来のこれに対応するペプチドは YIGEVLVSM である。HLA-A2 分子には、アンカーとなる C 末端に V (バリン) を持つペプチドが結合しやすい。即ち A2 分子上に YIGEVLVSV は提示されやすいが YIGEVLVSM は提示されにくい。この差が抗原性を生み出す。

#### 4-3. アミノ酸多型により ER への取り込みが変化するペプチド(図 1 の③)

HLA-A\*0201 上に提示される *KIAA0020* には SNP により 3 種類のアリルが存在し、その内の 1 つのアリルから抗原ペプチド RTLDKVLEV が同定さ

れている。他の2つのアリル由来のこれに相当するペプチドはPTLDKVLELとPTLDKVLEVであり、いずれも抗原性を持たない。

後二者のうち、PTLDKVLELが抗原性を持たない理由は、最後のアミノ酸がV(バリン)からL(ロイシン)へ変わることによりペプチドのA2分子への結合性が低下することによる。もう1つのPTLDKVLEVは、最後のアミノ酸は抗原ペプチドと同じV(バリン)でありA2分子への結合性は保たれているものの、このアミノ酸配列はTAPとの親和性が低くERへ取り込まれず結局HLAと複合体を形成できないことが示されている。

#### 4-4. アミノ酸多型によりプロテアゾームによるアミノ酸切断点に変化するペプチド(図1の④)

LBC遺伝子にはSNPによりHA-3<sup>T</sup>と称するアリルとHA-3<sup>M</sup>と称するアリルが存在する。抗原ペプチドVTEPGTAQYはHA-3<sup>T</sup>に由来し、このペプチドに相当するHA-3<sup>M</sup>由来のペプチドはVMEPGTAQYである。

タンパクは細胞質のプロテアゾームで分断されてペプチドとなる。HA-3<sup>M</sup>から作られるタンパクはVMEPGTAQYのMのうしろでプロテアゾームによって分断されてしまう。つまりタンパクのアミノ酸配列としてはVMEPGTAQYと続くが、実際にはこのようなペプチドは作られない。

#### 4-5. 塩基多型によりタンパク発現量に差が生じる結果抗原性を持つペプチド(図1の⑤)

1つはHLA-A3上に提示されるPANE1由来マイナー抗原RVWDLPGVLKである。このペプチドは塩基配列-CGA-GTG-TCG-GAC-TTG-CCT-GGT-GTG-CTC-AAG-から作られるが、PANE1にはもう1つのアリルがあり対応する塩基配列は-TGA-GTG-TCG-(以下同じ)となっている。最初のC→TのSNPにより停止コドンが生じ、これより下流のアミノ酸はつくられない。従って、患者がペプチドRVWDLPGVLKを作り出すアリルを少なくとも1本持ち、ドナーが2本とも停止コドンのアリルを持つ場合、患者細胞表面上のペプチドRVWDLPGVLKはドナーTリンパ球から抗原とし

て認識されることになる。

もう1つはHLA-B7上に提示されるP2X5由来マイナー抗原TPNQRQNVKである。このペプチドは塩基配列-ACC-CCC-AAC-CAG-CGG-CAG-AAC-GTC-TGT-から作られるが、P2X5にはもう1つ別のアリルがあり対応する塩基配列は途中のCが一つ少ない-ACC-CCA-ACC-AGC-GGC-AGA-ACG-TCT-GTG-である。その結果frame shiftを起こし、それ以降作られるアミノ酸は全く異なるもの(TPTSGRTSV)となる。

#### 4-6. 遺伝子欠損によりタンパク発現量に差が生じる結果抗原性を持つペプチド(図1の⑥)

UGT2B17遺伝子からはHLA-A29とB44のいずれのHLA上にも提示されるマイナー抗原AELLNIPFLYが同定されている。このマイナー抗原を同定した際、UGT2B17遺伝子にはほぼ全長に渡る欠損型が存在することが発見され、同時に健常人において一定の頻度で欠損していることも示された。患者がAELLNIPFLYを作り出すアリルを少なくとも1本持ちドナーが2本とも欠損型を持つ場合、ドナーのTリンパ球は患者のペプチドAELLNIPFLYを抗原として認識する。

### 5. マイナー抗原とGVHDおよびGVL効果

同種造血幹細胞移植後のGVHDとGVL効果は表裏一体の関係にあると考えられていることは既に述べた。しかし、GVHDを発症してもGVL効果の得られない(再発してしまう)患者もいれば、GVHDを全く認めないにも関わらず再発しない患者もいる。即ち、GVHDとGVL効果は表裏一体とは言うものの、完全には一致しない。

ある遺伝子から作られるタンパクの量は、体内のどの細胞においても同じではない。例えば、解毒作用を担う代謝酵素タンパクは肝などで高く発現しているし、細胞増殖に関与するタンパクは分裂増殖の著しい造血細胞などで高く発現している。即ち、タンパクおよびその一部分であるマイナー抗原ペプチドは、細胞(組織)によって発現量が異なるということになる。

現在のところ、白血病細胞を含む造血細胞で高発

表3 Tissue distribution of the genes encoding minor antigens

Hematopoietic cells	Ubiquitous
<i>KIAA0223</i>	<i>UGT2B17</i>
<i>BCL2A1</i>	<i>KIAA0020</i>
<i>Class I myosin</i>	<i>LBC</i>
<i>HB-1</i>	<i>CTSH</i>
<i>P2X5</i>	<i>SMCY</i>
<i>PANE1</i>	<i>UTY</i>
<i>ECGF1</i>	<i>DFFRY</i>
<i>SP110</i>	<i>DDX3Y</i>
<i>ADIR</i>	<i>RPS4Y</i>
	<i>TMSB4Y</i>

現しておりかつその他の上皮細胞での発現が低いまたは無いタンパクに由来するマイナー抗原に対するTリンパ球応答は、GVHDを伴わないGVL効果を誘導すると考えられている<sup>32)</sup>。また上皮細胞で高発現しているタンパク由来のマイナー抗原に対するTリンパ球応答はGVHDを誘導すると考えられている。

これまでに同定されたヒト・マイナー抗原遺伝子を発現組織分布に従って分類した(表3)。果たして、造血細胞中心に発現しているマイナー抗原は本当にGVHDではなくGVL効果のみと関連するのだろうか。また上皮細胞に広く発現しているマイナー抗原は本当にGVHDと関連するのだろうか。比較的解析の進んでいるマイナー抗原を中心に考察してみた。

#### 5-1. 造血細胞で高発現している KIAA0223 (HA-1)

HA-1は造血細胞で高発現しており、その臨床的意義についてはこれまでに多くの検討がなされている。

HA-1陰性ドナーからの移植後に再発を来したHA-1陽性白血病患者に対し、ドナーリンパ球輸注を行ったところ再寛解に至った。この患者の末梢血中

のHA-1特異的Tリンパ球の推移を、A2/HA-1テトラマーを利用して経時的に解析したところ、ドナーリンパ球輸注前には検出感度以下だったHA-1特異的Tリンパ球は、ドナーリンパ球輸注後一過性に増加し、それと時期を同じくして腫瘍量は減少し再寛解に入ったことが確認された<sup>33)</sup>。また同様な経過を示した患者の末梢血から分離したHA-1特異的Tリンパ球が試験管内で患者白血病細胞に対して傷害活性を示すことも報告された<sup>34)</sup>。

また皮膚とTリンパ球の共培養実験で、HA-1陽性の男性皮膚組織をHA-1特異的Tリンパ球と共培養した場合、(男性マイナー抗原特異的Tリンパ球と共培養した場合に比べて)皮膚組織へのリンパ球浸潤は軽度だったことから、HA-1特異的Tリンパ球は皮膚GVHDを来さない可能性が示された<sup>35)</sup>。

しかし一方で、末梢血中HA-1特異的Tリンパ球は、GVHD発症時に一致して増加することも確認されており<sup>36)</sup>、また実際の移植臨床データを統計学的に解析すると、患者・ドナー間でHA-1が不適合(HA-1陰性ドナーからHA-1陽性患者への移植)の場合、移植後GVHDの発症率が有意に上昇するとの結果も相次いで報告されている(表4)。

果たして、患者体内で発生したHA-1特異的Tリンパ球応答が本当にGVHDを伴わずにGVL効果のみを誘導するのか、まだ十分明らかにはされていない。

#### 5-2. 造血細胞で高発現しているその他の常染色体由来マイナー抗原

BCL2A1も造血細胞で高発現しており、BCL2A1不適合移植患者(BCL2A1陰性ドナーから移植を受けたBCL2A1陽性患者)の移植後末梢血から分離したBCL2A1特異的Tリンパ球が、試験管内でBCL2A1陽性白血病細胞を傷害することも確認された<sup>23)</sup>。しかしHLA一致非血縁者間骨髓移植320例を対象とした解析において、BCL2A1のGVL方向への不適合移植患者における白血病再発率は、他の患者の再発率と比べ何ら差はなかった(Odds ratio, 1.04; 95% confidential interval, 0.51–2.14)<sup>44)</sup>。

その他にも造血細胞中心に高発現しているマイナー抗原はあるが、患者・ドナー間で不適合となる

表 4 Clinical association between HA-1 disparity and acute GVHD

N	Incidence of grade II-IV acute GVHD		Odds ratio	P value	Reference
	HA-1 incompatible*	HA-1 compatible#			
115	85%	51%	5.4 (1.0-5.6) <sup>§</sup>	0.05	37
235	65%	43%	2.5 (1.2-5.2)	0.04	38
60	19%	0%	---	0.10	39
46	80%	45%	2.8 (1.3-10.4)	0.05	40
160	57%	38%	4.6 (1.4-1.7)	0.04	41
565	56%	49%	1.5 (0.9-2.6)	0.14	42
94	33%	18%	---	0.10	43

\* HA-1 positive patients transplanted from HA-1 negative donors

# All other patients except HA-1 incompatible patients

§ 95% confidential interval

頻度が低いことや、あるいはまだ同定されて間もないこともあり、十分な解析がなされていない。

### 5-3. 上皮細胞で高発現している常染色体由来マイナー抗原

UGT2B17 は急性 GVHD の標的臓器である肝や腸、および樹状細胞などの抗原提示細胞で高発現している<sup>24)</sup>。マウスの実験で、ホストの抗原提示細胞がドナー T リンパ球に対し同種抗原を提示することが GVHD の発症に重要であることが示されており<sup>45)</sup>、このマイナー抗原は GVHD の発症に関与すると考えられている。しかし HLA 一致非血縁者間骨髄移植 425 例(様々な HLA を含む)を対象とした解析において、UGT2B17 の GVHD 方向への不適合移植患者における急性 GVHD の発症率はその他の患者における発症率と比べ何ら差はなかった<sup>46)</sup>。

HA-8 も様々な上皮細胞で発現している<sup>20)</sup>。HLA 一致同胞間移植 577 例を対象とした解析で、HA-8 の GVHD 方向への不適合は急性 GVHD grade II-IV の発症率と相関を認めたが (Odds ratio, 1.8; 95% confidential interval, 1.0-3.1), 治療関連死亡率に影響を与えるほどではなかった<sup>47)</sup>。

その他 LBC や CTSH も広範な上皮細胞に発現し

ているが、これまでのところそれらマイナー抗原の不適合と GVHD 発症率との有意な相関を示した報告はない。

### 5-4. Y 染色体由来マイナー抗原

少なくともこれまでに同定されているすべての Y 染色体マイナー抗原遺伝子は広範な組織で発現しており、GVHD 関連マイナー抗原と考えられている。最近 3000 例を超える HLA 一致同胞間移植症例を対象とした解析が行われ、女性ドナーから移植を受けた男性患者では急性 GVHD の発症率が有意に高いことが確認された<sup>48)</sup>。同時に、女性ドナーから移植を受けた男性患者では GVHD による影響から独立した GVL 効果が存在することも確認された。すなわちこのことは、(未知のものも含めた)Y 染色体由来マイナー抗原の中には GVHD は誘導せず GVL 効果のみを誘導するマイナー抗原が存在することを示唆する。

例えば、UTY は上皮細胞で発現しているが、UTY 特異的細胞傷害 T リンパ球は造血細胞を傷害し、皮膚線維芽細胞や骨髄ストローマ細胞は傷害しない<sup>9)</sup>。UTY 特異的 T リンパ球が GVHD を誘導せず GVL 効果を誘導するのかさらに検討を加える必要がある。

## 6. あるマイナー抗原の移植後免疫応答における重要性は患者・ドナーの組み合わせに毎に異なる可能性がある

以上述べてきたように、発現する組織分布から GVL 関連マイナー抗原または GVHD 関連マイナー抗原であると推定されたにもかかわらず、多数の移植症例を対象として解析を行うと必ずしも相関を示さないのはなぜだろうか。この問いに対する一つの答えが、オランダの研究グループからの報告の中にある<sup>34)</sup>。

彼らは、移植後白血病再発に対してドナーリンパ球輸注を行った3人の患者の末梢血から、インターフェロンガンマ (IFN- $\gamma$ ) を放出している T リンパ球クローンを複数分離し、その中に HA-1, HA-2, SMCY マイナー抗原に特異的な T リンパ球がいくつか含まれているのかテトラマーを用いて確認した。患者1はドナーとの間で HA-1 が不適合, HA-2 と SMCY が適合の関係にあった。この患者の末梢血からは66個の IFN- $\gamma$  放出 T リンパ球クローンが分離され、そのうち HA-1 特異的クローンは19個 (29%) を占めた。患者2はドナーとの間で HA-1 と SMCY の2つが不適合, HA-2 が適合の関係にあった。11個の T リンパ球クローンが分離されたが、HA-1 特異的クローンはわずか1個 (9%) で、SMCY 特異的クローンが4個 (36%) を占めた。患者3はドナーとの間で HA-1 と HA-2 が不適合, SMCY が適合の関係にあった。58個の T リンパ球クローンが分離され、HA-1 特異的クローンはわずか1個 (2%) で、HA-2 特異的クローンが17個 (29%) を占めた。

これらの結果は、あるマイナー抗原に対する T リンパ球応答は、同時に存在するその他のマイナー抗原の存在によって相対的に変化しうることを意味している。恐らく、あるマイナー抗原に対する T リンパ球応答が一旦強く起きると、その他のマイナー抗原に対する T リンパ球応答は相対的に弱くなるのだろう。そしてこのことは、移植後免疫応答においてどのマイナー抗原が重要性を持つのかは患者・ドナーの組み合わせ毎に異なる可能性を示している。

## 7. マイナー抗原の臨床への応用

これまで考察してきたのは、患者体内で能動的に

発生したマイナー抗原特異的 T リンパ球応答についてである。では体外で培養した GVL 関連マイナー抗原に特異的な T リンパ球を患者に投与した場合には(受動的免疫療法)、どのような反応がみられるのだろうか。あるいは GVHD 関連マイナー抗原に特異的な T リンパ球を移植片から除去して移植を行うと、GVHD は発症しないのだろうか。以下のような試みが進められている。

### 7-1. GVL 関連マイナー抗原

腫瘍細胞(±血液細胞)で高発現し上皮細胞では低発現または発現していないマイナー抗原に特異的な T リンパ球を体外で樹立、増幅し、輸注することで、移植後再発を治療する養子免疫療法の開発が試みられている。

オランダ・ライデン大学では、ドナー末梢血から HA-1 特異的 T リンパ球(ライン)を誘導し輸注する試験を行った<sup>49)</sup>。しかし、抗原特異的 T リンパ球の誘導効率が低く、またラインゆえの特異的な細胞傷害活性の低さも問題となった。そこで彼らは、HA-1 や HA-2 に特異的な T 細胞受容体をレトロウイルスベクターに組み込み、それをサイトメガロウイルスまたは EB ウイルスに特異的な細胞傷害性 T リンパ球に遺伝子導入して、それらを輸注する臨床研究を計画している<sup>50)</sup>。患者体内でウイルスから刺激を受けることにより、結果的にマイナー抗原に対する細胞傷害活性も高かつ長く持続するはずである、との仮説を立てている。

アメリカ・フレッドハッチンソン癌研究所では、移植後患者末梢血から造血系細胞に対してのみ傷害性を示す T リンパ球クローンを患者毎に分離し、増幅して輸注する試験が行われた<sup>51)</sup>。結果は評価可能6例中4例で白血病の再寛解導入に成功したが、4-15ヶ月後には全例再発した。また3例で輸注後早期の急性肺障害を合併し、1例で GVHD を合併した(私信)。一時的とはいえマイナー抗原特異的 T リンパ球の輸注により GVL 効果が得られたことは確認されたが、一方で患者毎の T リンパ球クローンの分離、増幅にあたり煩雑かつ高度な技術、培養細胞の安全性の確認、GMP 基準の管理コストなど解決すべき課題も多く残されている。

その問題を解決するべく、マイナー抗原の合成ペプチドを用いたワクチン療法も計画されている<sup>52)</sup>。しかし、受動的免疫療法(養子免疫療法)ならば輸注したTリンパ球は1-2週以内に体内で死滅するため、たとえTリンパ球が皮膚、肝臓、腸管などの組織を攻撃したとしてもその反応はやがて消退するはずだが、ワクチン療法のような能動的免疫療法の場合は、そのまま自律的にGVHDが誘導されてしまう可能性がある。

また、そもそもマイナー抗原はエスケープ現象を起こさないのだろうか。患者の腫瘍細胞がGVL関連マイナー抗原を発現しかつその抗原性が高ければ、その患者の再発の危険性は低いはずである。それにも関わらず再発してしまった患者に対し、そのマイナー抗原を標的とした免疫療法が本当に有効なのだろうか。上記臨床試験の結果が待たれる。

## 7-2. GVHD 関連マイナー抗原

GVHD 関連マイナー抗原の同定を臨床の現場に還元する一つの方法は、ドナー選択であろう<sup>53)</sup>。すなわち、移植前にドナーと患者のマイナー抗原のタイピングを行うことで、GVHD 関連マイナー抗原が不適合の関係になってしまうドナーを避けることが可能となる。

またマウスを用いた実験で、GVHD 関連マイナー抗原に特異的なTリンパ球クローンを移植片からあらかじめ除去しておくことで、移植後のGVHDの発症率が有意に減少し、しかもGVL効果は減弱しなかったことが確認された<sup>54)</sup>。

しかし、ある特定のGVHD 関連マイナー抗原に着目してドナー選択を行ったり、あるいはそのマイナー抗原特異的Tリンパ球を移植片から除去したりしても、別のGVHD 関連マイナー抗原の抗原性が優位に立ち、結局Tリンパ球応答が発生しGVHDが発症してしまうかもしれない。こちらも今後の研究結果が待たれる。

## 8. おわりに

ヒト・マイナー抗原の臨床的意義を明らかにすることは、GVL効果を利用した再発予防・治療法の開発や、GVHDの発症予防・治療法の開発に貢献する

と考えられ、新規マイナー抗原の同定と組織発現分布の検討が精力的になされてきた。しかし、これまでに報告されたマイナー抗原は欧米人移植患者から同定されたものが多く、日本人で頻度の高いHLA-A2, A11, A24, A26, B44, B51, B52, B61などのうち、欧米人でも頻度の高いA2を除けば、これらのHLA上に提示されるマイナー抗原はまだわずしか同定されていない。今後は日本人で頻度の高いHLA上に提示されるマイナー抗原の同定が望まれる。

最近同定されたマイナー抗原SP110は、SP110タンパク上の離れた位置にある4アミノ酸ペプチド断片と6アミノ酸ペプチド断片が、本来のタンパク中における順序を入れ替えて結合し、新たな10アミノ酸ペプチドを形成することにより作られる<sup>29)</sup>。マイナー抗原は腫瘍抗原ではない。従って、この報告は正常細胞の中でもこのようなペプチド・スプライシングが発生することを発見したことになる。このようにマイナー抗原を分子レベルで同定することは、移植免疫学のみならずときに分子遺伝学の発展にも寄与することがある。

## 参考文献

1. Appelbaum FR: Haematopoietic cell transplantation as immunotherapy. *Nature*. **411**(6835): 385-389, 2001.
2. Deeg HJ, Storb R. Graft-versus-host disease: pathophysiological and clinical aspects. *Annu Rev Med*. **35**: 11-24, 1984.
3. Horowitz MM, Gale RP, Sondel PM, *et al.*: Graft-versus-leukemia reactions after bone marrow transplantation. *Blood*. **75**(3): 555-562, 1990.
4. Childs R, Chernoff A, Contentin N, *et al.* Regression of metastatic renal-cell carcinoma after nonmyeloablative allogeneic peripheral-blood stem-cell transplantation. *N Engl J Med*. **343**(11): 750-758, 2000.
5. Goulmy E. Human minor histocompatibility antigens: new concepts for marrow transplantation and adoptive immunotherapy. *Immunol Rev*. **157**: 125-140, 1997.

6. Klein J, Sato A. The HLA system. First of two parts. *N Engl J Med.* **343**(10): 702–709, 2000.
7. Wang W, Meadows LR, den Haan JM, *et al.* Human H-Y: a male-specific histocompatibility antigen derived from the SMCY protein. *Science.* **269**(5230): 1588–1590, 1995.
8. Meadows L, Wang W, den Haan JM, *et al.* The HLA-A\*0201-restricted H-Y antigen contains a posttranslationally modified cysteine that significantly affects T cell recognition. *Immunity.* **6**(3): 273–81, 1997.
9. Warren EH, Gavin MA, Simpson E, *et al.* The human UTY gene encodes a novel HLA-B8-restricted H-Y antigen. *J Immunol.* **164**(5): 2807–2814, 2000.
10. Vogt MH, Goulmy E, Kloosterboer FM, *et al.* UTY gene codes for an HLA-B60-restricted human male-specific minor histocompatibility antigen involved in stem cell graft rejection: characterization of the critical polymorphic amino acid residues for T-cell recognition. *Blood.* **96**(9): 3126–3132, 2000.
11. Pierce RA, Field ED, den Haan JM, *et al.* Cutting edge: the HLA-A\*0101-restricted HY minor histocompatibility antigen originates from DFFRY and contains a cysteinylated cysteine residue as identified by a novel mass spectrometric technique. *J Immunol.* **163**(12): 6360–6364, 1999.
12. Vogt MH, van den Muijsenberg JW, Goulmy E, *et al.* The DBY gene codes for an HLA-DQ5-restricted human male-specific minor histocompatibility antigen involved in graft-versus-host disease. *Blood.* **99**(8): 3027–3032, 2002.
13. Spierings E, Vermeulen CJ, Vogt MH, *et al.* Identification of HLA class II-restricted H-Y-specific T-helper epitope evoking CD4+ T-helper cells in H-Y-mismatched transplantation. *Lancet.* **362**(9384): 610–615, 2003.
14. Torikai H, Akatsuka Y, Miyazaki M, *et al.* A novel HLA-A\*3303-restricted minor histocompatibility antigen encoded by an unconventional open reading frame of human TMSB4Y gene. *J Immunol.* **173**(11): 7046–7054, 2004.
15. den Haan JM, Meadows LM, Wang W, *et al.* The minor histocompatibility antigen HA-1: a diallelic gene with a single amino acid polymorphism. *Science.* **279**(5353): 1054–1057, 1998.
16. Mommaas B, Kamp J, Drijfhout JW, *et al.* Identification of a novel HLA-B60-restricted T cell epitope of the minor histocompatibility antigen HA-1 locus. *J Immunol.* **169**(6): 3131–3136, 2002.
17. den Haan JM, Sherman NE, Blokland E, *et al.* Identification of a graft versus host disease-associated human minor histocompatibility antigen. *Science.* **268**(5216): 1476–1480, 1995.
18. Pierce RA, Field ED, Mutis T, *et al.* The HA-2 minor histocompatibility antigen is derived from a diallelic gene encoding a novel human class I myosin protein. *J Immunol.* **167**(6): 3223–3320, 2001.
19. Spierings E, Brickner AG, Caldwell JA, *et al.* The minor histocompatibility antigen HA-3 arises from differential proteasome-mediated cleavage of the lymphoid blast crisis (Lbc) oncoprotein. *Blood.* **102**(2): 621–629, 2003.
20. Brickner AG, Warren EH, Caldwell JA, *et al.* The immunogenicity of a new human minor histocompatibility antigen results from differential antigen processing. *J Exp Med.* **193**(2): 195–206, 2001.
21. Dolstra H, Fredrix H, Maas F, *et al.* A human minor histocompatibility antigen specific for B cell acute lymphoblastic leukemia. *J Exp Med.* **189**(2): 301–308, 1999.
22. Akatsuka Y, Nishida T, Kondo E, *et al.* Identification of a polymorphic gene, BCL2A1, encoding two novel hematopoietic lineage-specific minor histocompatibility antigens. *J Exp Med.* **197**(11): 1489–1500, 2003.
23. Torikai H, Akatsuka Y, Miyazaki M, *et al.* The

- human cathepsin H gene encodes two novel minor histocompatibility antigen epitopes restricted by HLA-A\*3101 and -A\*3303. *Br J Haematol.* **134**(4): 406–416, 2006.
24. Murata M, Warren EH, Riddell SR. A human minor histocompatibility antigen resulting from differential expression due to a gene deletion. *J Exp Med.* **197**(10): 1279–1289, 2003.
  25. Terakura S, Murata M, Warren EH, *et al.* A single minor histocompatibility antigen encoded by UGT2B17 and presented by human leukocyte antigen-A\*2902 and -B\*4403. *Transplantation.* **83**(9): 1242–1248, 2007.
  26. de Rijke B, van Horssen-Zoetbrood A, Beekman JM, *et al.* A frameshift polymorphism in P2X5 elicits an allogeneic cytotoxic T lymphocyte response associated with remission of chronic myeloid leukemia. *J Clin Invest.* **115**(12): 3506–3516, 2005.
  27. Brickner AG, Evans AM, Mito JK, *et al.* The PANE1 gene encodes a novel human minor histocompatibility antigen that is selectively expressed in B-lymphoid cells and B-CLL. *Blood.* **107**(9): 3779–3786, 2006.
  28. Slager EH, Honders MW, van der Meijden ED, *et al.* Identification of the angiogenic endothelial-cell growth factor-1/thymidine phosphorylase as a potential target for immunotherapy of cancer. *Blood.* **107**(12): 4954–4960, 2006.
  29. Warren EH, Vigneron NJ, Gavin MA, *et al.* An antigen produced by splicing of noncontiguous peptides in the reverse order. *Science.* **313**(5792): 1444–1447, 2006.
  30. van Bergen C, Kester M, Jedema I, *et al.* Multiple myeloma reactive T cells recognize an activation induced minor histocompatibility antigen encoded by the ATP dependent interferon responsive (ADIR) gene. *Blood.* **109**(9): 4089–4096, 2007.
  31. Dolstra H, de Rijke B, Fredrix H, *et al.* Bi-directional allelic recognition of the human histocompatibility antigen HB-1 by cytotoxic T lymphocytes. *Eur J Immunol.* **32**(10): 2748–2758, 2002.
  32. Riddell SR, Berger C, Murata M, *et al.* The graft versus leukemia response after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood Rev.* **17**(3): 153–162, 2003.
  33. Marijt WA, Heemskerk MH, Kloosterboer FM, *et al.* Hematopoiesis-restricted minor histocompatibility antigens HA-1- or HA-2-specific T cells can induce complete remissions of relapsed leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **100**(5): 2742–2747, 2003.
  34. Kloosterboer FM, van Luxemburg-Heijs SA, van Soest RA, *et al.* Direct cloning of leukemia-reactive T cells from patients treated with donor lymphocyte infusion shows a relative dominance of hematopoiesis-restricted minor histocompatibility antigen HA-1 and HA-2 specific T cells. *Leukemia.* **18**(4): 798–808, 2004.
  35. Dickinson AM, Wang XN, Sviland L, *et al.* In situ dissection of the graft-versus-host activities of cytotoxic T cells specific for minor histocompatibility antigens. *Nat Med.* **8**(4): 410–414, 2002.
  36. Mutis T, Gillespie G, Schrama E, *et al.* Tetrameric HLA class I-minor histocompatibility antigen peptide complexes demonstrate minor histocompatibility antigen-specific cytotoxic T lymphocytes in patients with graft-versus-host disease. *Nat Med.* **5**(7): 839–842, 1999.
  37. Goulmy E, Schipper R, Pool J, *et al.* Mismatches of minor histocompatibility antigens between HLA-identical donors and recipients and the development of graft-versus-host disease after bone marrow transplantation. *N Engl J Med.* **334**(5): 281–285, 1996.
  38. Tseng LH, Lin MT, Hansen JA, *et al.* Correlation between disparity for the minor histocompatibility antigen HA-1 and the development of acute graft-versus-host disease after allogeneic

- marrow transplantation. *Blood*. **94**(8): 2911–291, 1999.
39. Murata M, Emi N, Hirabayashi N, *et al.* No significant association between HA-1 incompatibility and incidence of acute graft-versus-host disease after HLA-identical sibling bone marrow transplantation in Japanese patients. *Int J Hematol*. **72**(3): 371–375, 2000.
  40. Socie G, Loiseau P, Tamouza R, *et al.* Both genetic and clinical factors predict the development of graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation*. **72**(4): 699–706, 2001.
  41. Gallardo D, Arostegui JI, Balas A, *et al.* Disparity for the minor histocompatibility antigen HA-1 is associated with an increased risk of acute graft-versus-host disease (GvHD) but it does not affect chronic GvHD incidence, disease-free survival or overall survival after allogeneic human leucocyte antigen-identical sibling donor transplantation. *Br J Haematol*. **114**(4): 931–936, 2001.
  42. Lin MT, Gooley T, Hansen JA, *et al.* Absence of statistically significant correlation between disparity for the minor histocompatibility antigen HA-1 and outcome after allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood*. **98**(10): 3172–3173, 2001.
  43. Nesci S, Buffi O, Iliescu A, *et al.* Recipient mHag-HA1 disparity and aGVHD in thalassemic-transplanted patients. *Bone Marrow Transplant*. **31**(7): 575–578, 2003.
  44. Nishida T, Akatsuka Y, Morishima Y, *et al.* Clinical relevance of a newly identified HLA-A24-restricted minor histocompatibility antigen epitope derived from BCL2A1, ACC-1, in patients receiving HLA genotypically matched unrelated bone marrow transplant. *Br J Haematol*. **124**(5): 629–635, 2004.
  45. Shlomchik WD, Couzens MS, Tang CB, *et al.* Prevention of graft versus host disease by inactivation of host antigen-presenting cells. *Science*. **285**(5426): 412–415, 1999.
  46. Terakura S, Murata M, Nishida T, *et al.* A UGT2B17-positive donor is a risk factor for higher transplant-related mortality and lower survival after bone marrow transplantation. *Br J Haematol*. **129**(2): 221–228, 2005.
  47. Akatsuka Y, Warren EH, Gooley TA, *et al.* Disparity for a newly identified minor histocompatibility antigen, HA-8, correlates with acute graft-versus-host disease after haematopoietic stem cell transplantation from an HLA-identical sibling. *Br J Haematol*. **123**(4): 671–675, 2003.
  48. Randolph SS, Gooley TA, Warren EH, *et al.* Female donors contribute to a selective graft-versus-leukemia effect in male recipients of HLA-matched, related hematopoietic stem cell transplants. *Blood*. **103**(1): 347–352, 2004.
  49. Mutis T, Verdijk R, Schrama E, *et al.* Feasibility of immunotherapy of relapsed leukemia with ex vivo-generated cytotoxic T lymphocytes specific for hematopoietic system-restricted minor histocompatibility antigens. *Blood*. **93**(7): 2336–2341, 1999.
  50. Heemskerk MH, Hoogeboom M, de Paus RA, *et al.* Redirection of antileukemic reactivity of peripheral T lymphocytes using gene transfer of minor histocompatibility antigen HA-2-specific T-cell receptor complexes expressing a conserved alpha joining region. *Blood*. **102**(10): 3530–3540, 2003.
  51. Riddell SR, Bleakley M, Nishida T, *et al.* Adoptive transfer of allogeneic antigen-specific T cells. *Biol Blood Marrow Transplant*. **12**(1 Suppl 1): 9–12, 2006.
  52. Spierings E, Goulmy E. Expanding the immunotherapeutic potential of minor histocompatibility antigens. *J Clin Invest*. **115**(12): 3397–3400, 2005.
  53. Dickinson AM, Middleton PG. Beyond the HLA typing age: genetic polymorphisms predicting

transplant outcome. *Blood Rev.* **19**(6): 333–340, 2005.

54. Kappel BJ, Pinilla-Ibarz J, Kochman AA, *et al.*

Remodeling specific immunity by use of MHC tetramers: demonstration in a graft-versus-host disease model. *Blood.* **107**(5): 2045–2051, 2006.

---

## Clinical Significance of Minor Histocompatibility Antigens in Allogeneic Stem Cell Transplantation

Makoto Murata

Department of Hematology and Oncology, Nagoya University Graduate School of Medicine

**Summary:** Minor histocompatibility antigens consist of HLA-bound peptides derived from cellular proteins encoded by polymorphic genes that differ between transplant donor and recipient. More than 20 of human minor histocompatibility antigens have been molecularly characterized. In HLA-matched hematopoietic stem cell transplantation, donor T cell recognition of recipient minor histocompatibility antigens is responsible for graft-versus-host disease and the graft-versus-tumor effect.

**Keywords:** T lymphocyte, HLA, graft-versus-host disease, graft-versus-leukemia effect, graft-versus-tumor effect



## ● 総 説 ●

# [シリーズ：移植医療と組織適合性]

## 第2回

### 腎移植における抗HLA抗体の役割

田邊 一成

東京女子医科大学 泌尿器科

**要約：** Terasaki らがリンパ球ダイレクトクロスマッチテスト陽性症例の移植腎生着率が有意に悪いことを報告して以来40年弱の時が経過しようとしている。これ以降クロスマッチ陽性例を腎移植適応としないことにより、いわゆる超急性拒絶反応の発生は大幅に減少したことが報告された。その後、強力な免疫抑制剤、タクロリムスやミコフェノール酸モフェチルなどのため細胞性拒絶反応は激減し、拒絶反応といえば抗体関連拒絶反応が目立つようになった。さらにこの時期、抗HLA抗体の検出キットが開発され検査が行いやすくなったこともあり、抗HLA抗体の腎移植における役割がより明確になってきたのである。抗HLA抗体陽性例、特にドナー特異的抗体を持つ症例では移植腎の予後が有意に悪いことが明らかにされつつある。

**キーワード：** 抗HLA抗体、クロスマッチ、腎移植、抗体関連拒絶反応、高感作症例

## まえがき

1969年 Terasaki らがリンパ球ダイレクトクロスマッチテスト (complement-dependent cytotoxic crossmatch test, 以下 CDC と略する) 陽性症例の移植腎生着率が有意に悪いことを報告して以来40年弱の時が経過しようとしている<sup>1)</sup>。さらにこれらの所見をもとに CDC 陽性を腎移植適応としないことにより、いわゆる超急性拒絶反応の発生は大幅に減少したことが報告された<sup>2)</sup>。

その後、拒絶反応の主体がTリンパ球により惹起される細胞性拒絶反応であることが研究により明らかにされた。また時を同じくして1980年台初頭から臨床応用されるようになったTリンパ球増殖抑制効果の強いサイクロスポリンの登場により腎移植の成績は飛躍的に向上したこともあり、細胞性拒絶反応が臓器移植の拒絶反応の主体として研究されること

になったのである。このようなT細胞の時代、抗体研究のためのツールが少なかったこともあり抗体の関与については議論されることは少なくなっていた。

しかしながら1990年台後半から臨床応用されるようになった強力な免疫抑制剤、タクロリムスやミコフェノール酸モフェチルなどのため細胞性拒絶反応は激減した。このころから拒絶反応といえば抗体が関連したと考えられる拒絶反応が目立つようになり(細胞性拒絶反応が減って目立ちはじめたということであるが)、Bリンパ球、形質細胞が主体となる抗HLA抗体の関与する拒絶反応の研究の機運が高まった<sup>3-5)</sup>。

さらにこの時期、抗HLA抗体の検出キットが開発され研究が行いやすくなったことも背景となり、抗HLA抗体の腎移植における役割がより明確になってきたのである<sup>3-5)</sup>。

筆者連絡先 〒162-8666 東京都新宿区河田町 8-1  
東京女子医科大学 泌尿器科  
田邊 一成

電話 03-3353-8111 内線(37414)  
FAX 03-5269-7353  
E-mail tanabe@kc.twmu.ac.jp

表1 患者背景

Sex (Male / Female)	63 / 28
Recipient Age (yr, mean $\pm$ SD)	37.6 $\pm$ 13.5
Donor Age (yr, mean $\pm$ SD)	55.0 $\pm$ 9.6
Number of Transplantation	1 <sup>st</sup> : 91 2 <sup>nd</sup> or 3 <sup>rd</sup> : 0
HLA-AB mismatch	1.8 $\pm$ 1.0
HLA-DR mismatch	0.9 $\pm$ 0.6

表2 患者背景

Sex (Male / Female)	42/ 20
Recipient Age (yr, mean $\pm$ SD)	38.6 $\pm$ 13.1
Donor Age (yr, mean $\pm$ SD)	54.8 $\pm$ 10.9
Number of Transplantation	1 <sup>st</sup> : 62 2 <sup>nd</sup> or 3 <sup>rd</sup> : 0
HLA-AB mismatch	1.8 $\pm$ 0.9
HLA-DR mismatch	0.9 $\pm$ 0.6

この分野のデータは最近増加傾向にはあるものの詳細なデータは未だ多くはない。よって総説ではあるがわれわれのデータをもとに、最近の抗 HLA 抗体研究の動向について概説する。

#### (1) 術前抗 HLA 抗体と術後拒絶反応について

術前の抗 HLA 抗体の存在が術後の移植成績にどのように影響するかは最も重要な課題のひとつである。91 名の患者を対象に術前抗 HLA 抗体の有無と術後の経過について検討した<sup>6)</sup>。

患者背景は表 1 に示した。術前抗 HLA 抗体が高率に検出され、classI 抗体は 19% にドナー特異的抗体(以下 DSA)、9% に CREG を有していた。65% はドナー非特異的抗体(以下 NDSA)であった。一方、classII 抗体は 13% にドナー特異的抗体を、29% に CREG を認めた(図 1)。

これら抗 HLA 抗体陽性例における術後 6 ヶ月以内の拒絶反応発生頻度を検索すると図 2 に示したように classI DSA ないし CREG 陽性例では 67% に血管型拒絶反応 (AVR) ないし抗体関連拒絶反応

(AMR) を認めたが、NDSA ないし抗体を有しない群では 19% のみであり有意差をもって抗体陽性群で AVR/AMR の頻度が高かった。

ClassII についても同様の所見であった。さらに術後 6 ヶ月以降の拒絶反応の発生頻度についてみると有意差をもって DSA ないし CREG 陽性例に慢性移植腎症 (CAN) ないし慢性拒絶反応 (CAN/CR) の頻度が高いことが判明した(図 3)。

このように拒絶反応の発生頻度に大きな差を認めたものの 5 年目までの移植腎生着率には大きな差を認めなかった(図 4)。

#### (2) 術前および術後の抗 HLA 抗体の出現と移植腎予後について

タクロリムス/セルセプト/ステロイドを免疫抑制剤として使用した 62 症例で検討を加えた(表 2)。<sup>6)</sup>

術前、術後の flow PRA をもとに移植腎の予後について解析した。術前、術後ともに PRA 陰性であったものは 34 例(55%)であったが、術前後ともに陽性であったものは 11 例(16%)であった。一方 7 例

表3 患者背景

	RIT- (n=14)	RIT+ (n=16)
Male / female	10/4	8/8
Recipient age (yr, mean $\pm$ SD)	37.2 $\pm$ 11.9	42.1 $\pm$ 13.6
Donor age (yr, mean $\pm$ SD)	55.4 $\pm$ 12.1	56.1 $\pm$ 9.6
Donor source		
Parents(Father/mother)	3/6	1/6
Siblings	2	1
Others	3	8
HLA-AB mismatch	1.9 $\pm$ 1.1	1.9 $\pm$ 0.9
HLA-DR mismatch	1.0 $\pm$ 0.6	0.9 $\pm$ 0.8

(11%)は術後初めて抗 HLA 抗体が出現した、いわゆる *de novo* 症例であった。

これらの症例における術後6ヶ月以内と6ヶ月以降における拒絶反応の発生頻度を示したのが図5, 6である。症例数が少なく必ずしも有意差を見出せなかったものの、抗 HLA 抗体陽性例に AVR, AMR, CAN/CR が頻発する傾向が認められた。

同様の所見は Zhang ら<sup>7)</sup>の報告にも認められており、ほとんど同じ結果となっていることは興味深い。すなわち術前後で抗 HLA 抗体陽性例で、有意に液性拒絶反応の発生頻度が高くなっている。

### (3) 抗 HLA 抗体陽性者に対する脱感作療法について

現在、抗 HLA 抗体陽性例ないしクロスマッチ陽性例に対する脱感作療法について確立されたスタンダードな治療法は報告されていない。我々も含め米国の3-4施設からの報告が主なものである。Mayo Clinic のチームはクロスマッチ陽性例に対しリツキシマブ投与、血漿交換、IVIGなどを併用したいくつかの脱感作療法をトライしている<sup>8)</sup>。IVIG単独での脱感作率はリツキシマブ投与、血漿交換療法併用群に比べ悪いことが報告された。

さらに彼らは術後 DSA を厳重にモニタリングし、DSA が陽性化した場合には直ちに血漿交換を追加し拒絶反応の大幅な低下を認めたと報告している<sup>8)</sup>(図7)。しかしながら移植時クロスマッチ陽性であった症例の予後は不良であり、50%の症例で移植腎喪失にいたっている。移植腎生着率はクロスマッチ陽性

例にしては比較的良好であると考えられた(図8)。

また John-Hopkins チームでも同様の報告をしている<sup>9)</sup>。彼らの脱感作療法のプロトコルを図9に示す。基本的には Mayo Clinic のプロトコルと同じである。すなわち、移植10日前よりプログラフ、セルセプトを投与し同時に血漿交換と低容量 IVIG を併用している。また術前にリツキシマブ 375mg/m<sup>2</sup>を2回投与し、術中、後に抗 CD25 抗体の投与を行っている。拒絶反応の発生頻度は高いものの長期の移植腎成績も比較的良好であることが報告されている(図10)。

我々も2005年以来、術前タクロリムス/セルセプト/ステロイド併用の免疫抑制を7日前から開始し、3-4回のDFPPを行い、リツキシマブ 200mg/body の投与を行うプロトコルにて脱感作療法を行った(図11)<sup>6)</sup>。

2005年以来14名の抗 HLA 抗体陽性例にこの治療プロトコルを適用した(表3)<sup>6)</sup>。その結果、リツキサン投与を行った群で有意な拒絶反応発生率の低下を認めた。6ヶ月以内の拒絶反応の発生率はリツキサン非投与例で53%にAVRないしAMRを認めているが、リツキサン投与群は全く認めていない(図12)。さらに術後6ヶ月以降の拒絶反応もリツキサン非投与群で有意にCAN, CAN/CR, 移植腎喪失例が多いことが判明した。

また興味深いことに術後の DSA の保有率をみるとリツキサン非投与群で64%であるのに対し、リツキサン投与群では25%のみであった。この現象が何を意味するのかは現時点では不明であるが

Terasaki ら<sup>10)</sup>の humoral theory に従えば、リツキサン投与群での長期成績はリツキサン非投与群より良好となることが予想される。

このように脱感作療法の基本戦略は血漿交換による抗体除去、免疫抑制剤投与による抗体産生抑制が基本であり、リツキサンが大きな役割を占めていることが示唆された。

しかしながらこのようなプロトコールの成果については長期成績を含めた検討が必要であり、評価確定には時期尚早と思われる。今後の長期成績を含めた成果に期待したい。

#### おわりに

抗 HLA 抗体の腎移植における役割についてわれわれの知見をもとに概説した。

#### 参考文献

1. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med* 1969; 280: 735–739.
2. Iwaki Y, Terasaki PI. Primary non-function in human cadaver kidney transplantation: evidence of hidden hyperacute rejection. *Clin Transplant* 1987; 1: 125.
3. Muro M, Llorente S, Martin L, Moya-Quiles MR, Gonzalez-Soriano MJ, Prieto A et al. Acute vascular rejection mediated by HLA antibodies in cadaveric kidney recipients: discrepancies between FlowPRA, ELISA, and CDC vs. Luminex screening. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 223–226.
4. Terasaki PI. Humoral theory of transplantation. *Am J Transplant* 2003; 3: 665–673.
5. Ishida H, Tanabe K, etc.; Evaluation of flow cytometric panel reactive antibody in renal transplant recipients-examination of 238 cases of renal transplantation-; *Transplant Int.* 2005; 18–2; 163–168.
6. Tanabe K, Ishida H, Omoto K, Shimizu T, Shirakawa H. Antibody-mediated rejection: A single center experience at Tokyo Women's Medical University. *Clin Transplant* (in press).
7. Zhang Q, Liang LW etc.; Development of post-transplant Antidonator HLA Antibodies is associated with acute humoral rejection and early graft dysfunction; *Transplantation*; 2005; 79–5; 591–598.
8. Stegal MD Gloor J, Winters JL, Moore SB DeGoey S; A comparison of plasmapheresis versus high-dose IVIG desensitization in renal allograft recipients with high levels of donor specific alloantibody; *American Journal of Transplantation* 2005; 6–2; 346–351.
9. Christopher J Sonnenday, Daniel S Warren, Cooper M Samaniego M, Haas M King KE, Shirey RS Christopher E Simpkins and Robert A Montgomery; Plasmapheresis, CMV Hyperimmune Globulin, and anti-CD20 allow ABO-incompatible renal transplantation without splenectomy; *American Journal of Transplantation* 2004; 4–8; 1315–1322.
10. Tatsuya Akaza, Nadim El-Awar, Anh Nguyen, Jo Kitawaki, Paul Terasaki; HLA class 1 Epitopes: C-Locus; *Clinical Transplants* 2006; 95–102.

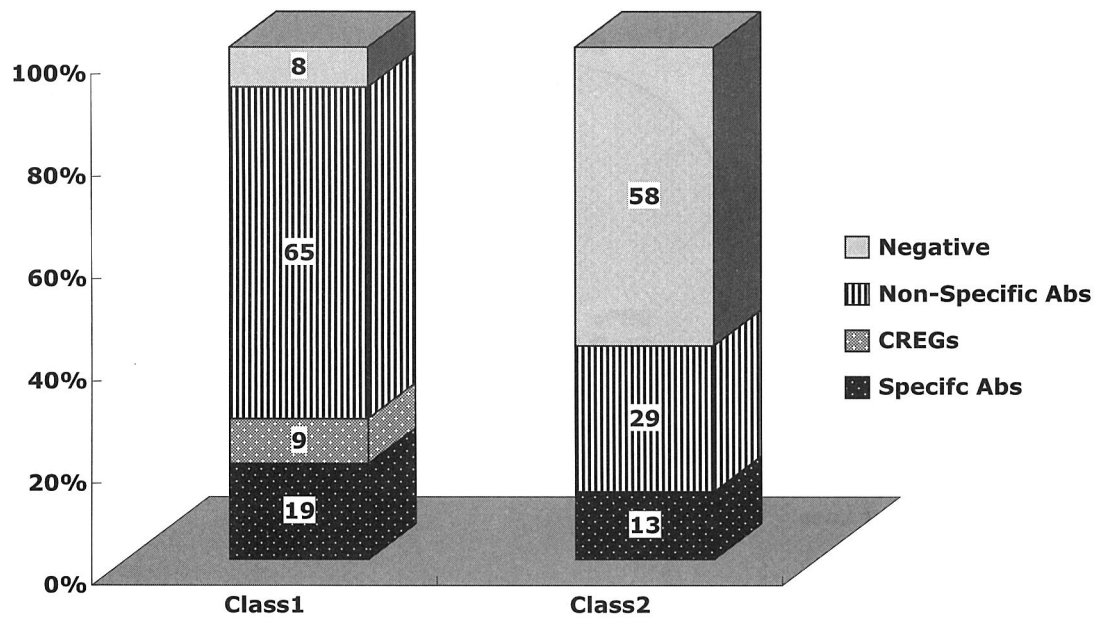


図1 LABScreen single 法による抗 HLA 抗体の出現について

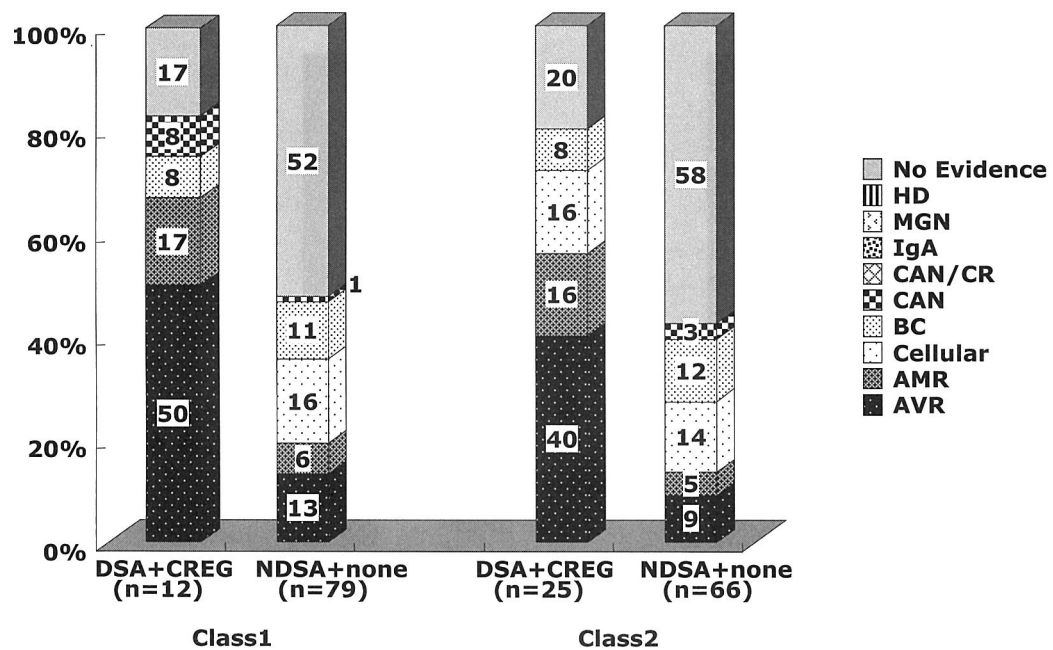


図2 移植後6ヶ月以内の拒絶反応

DSA ないし CREG 陽性者は陰性者に比べ AVR や AMR が有意に多い。

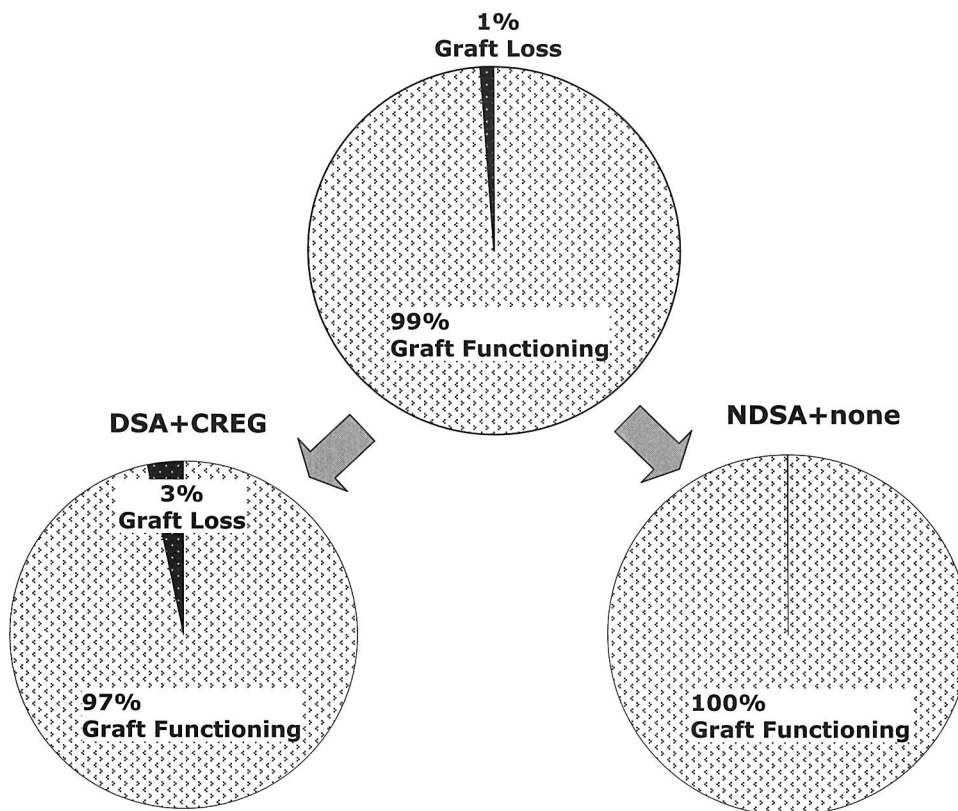


図3 移植後6ヶ月以降の拒絶反応  
DSA ないし CREG 陽性者は陰性者にくらべて有意に CAN ないし CAN with CR が多い。

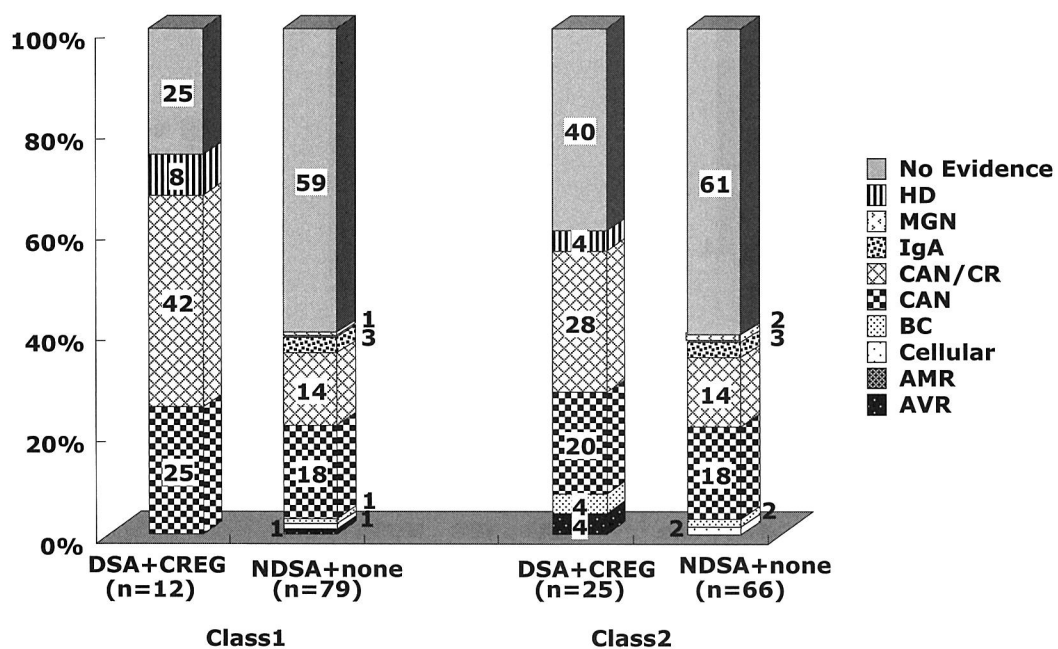


図4 5年移植腎生着率

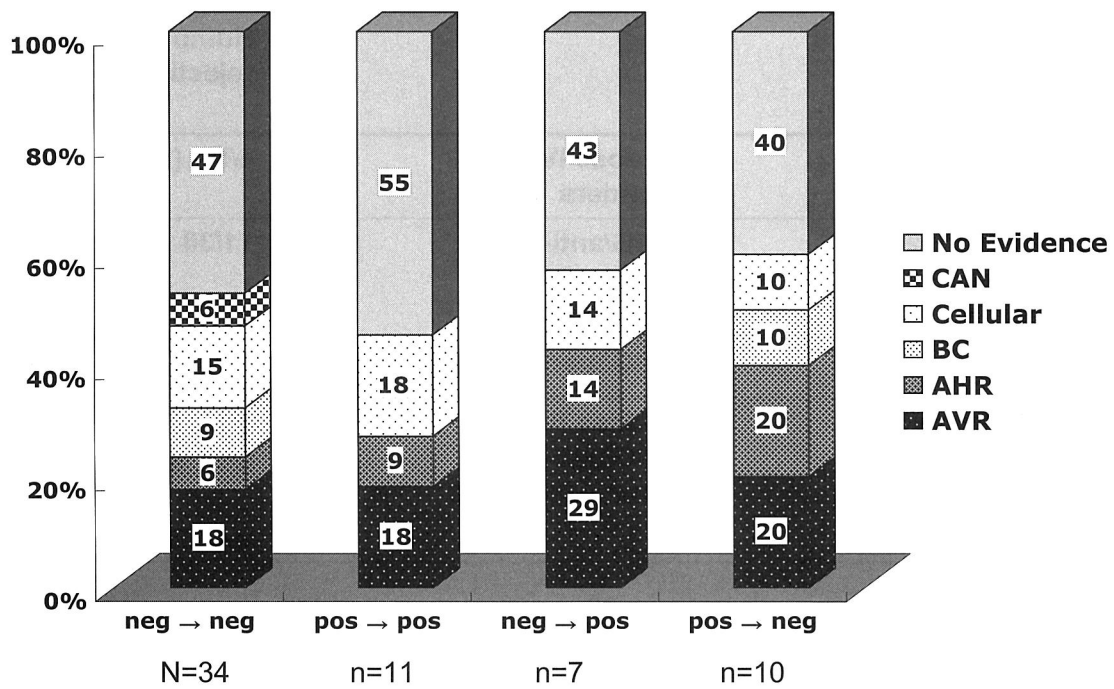


図5 移植後6ヶ月以内の拒絶反応

PRA 陽性者は AVR, AMR が多い傾向にあった。

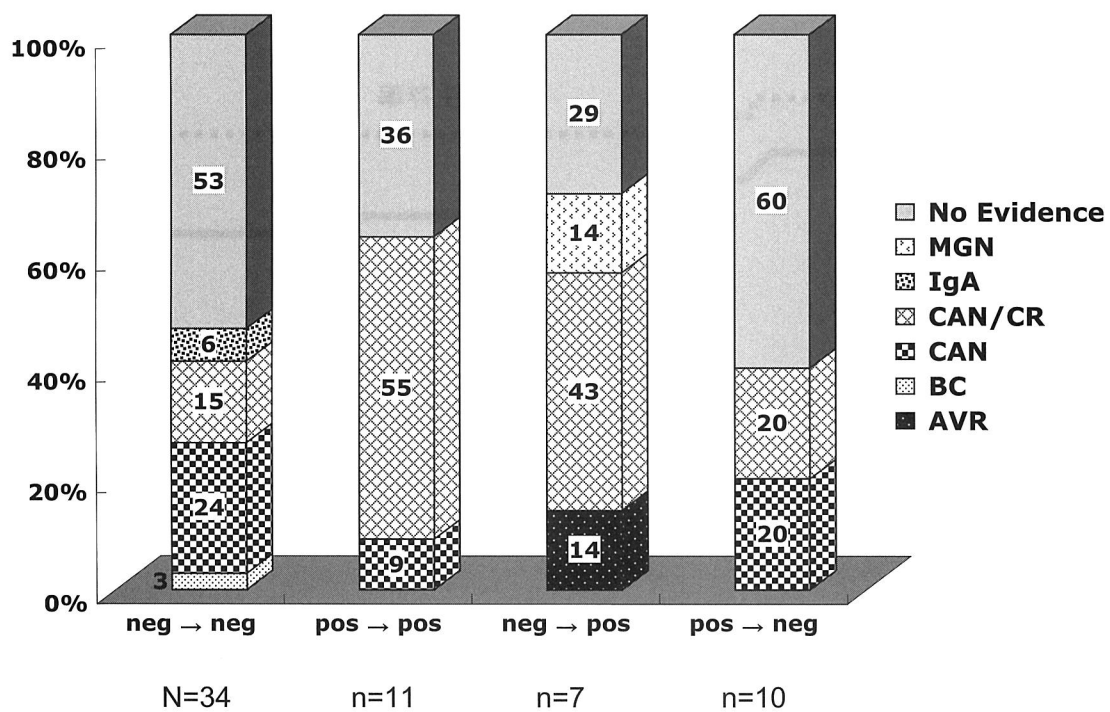


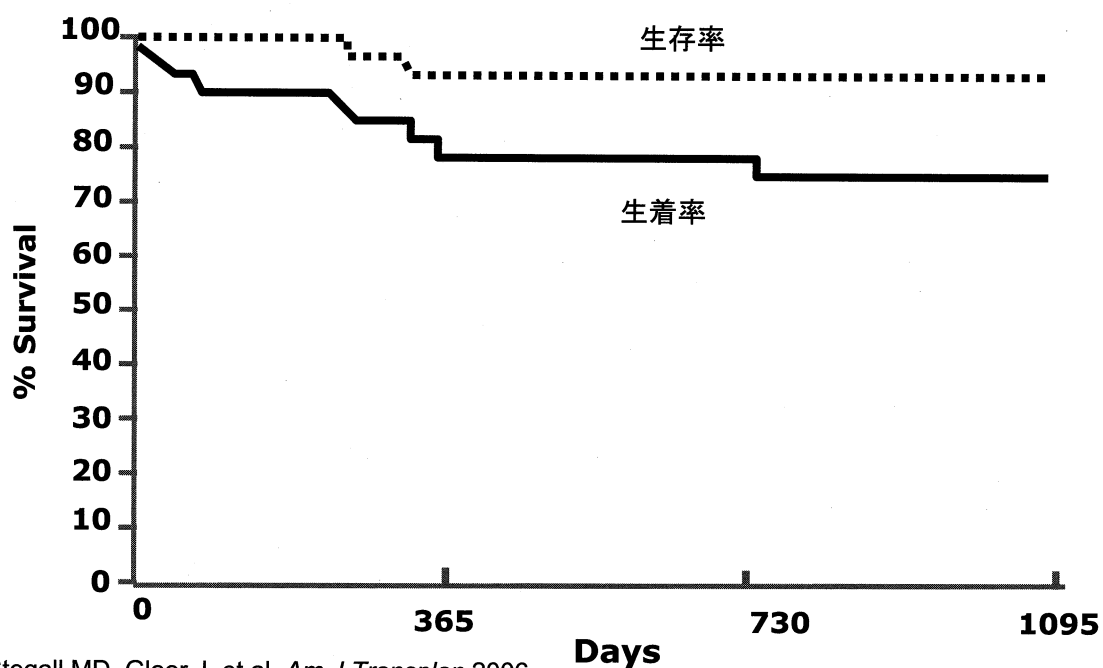
図6 移植後6ヶ月以降の拒絶反応

PRA 陽性者は慢性拒絶反応が多い傾向にある。

Negative crossmatch at transplant		N	Humoral rejection
	High-dose IVIG responders	5	4/5 (80%)
	PP/IVIG/anti-CD20 (Includes 3 IVIG nonresponders )	30	11/30 (37%)
	PP/IVIG/monitoring	14	4/14 (29%)
Positive crossmatch at transplant	High-dose IVIG, PP/IVIG/anti-CD20 nonresponders	10	7/10 (70%) 5/10 allograft loss (50%)

Stegall, MD, Gloor J, et al. *Am J Transplan* 2006

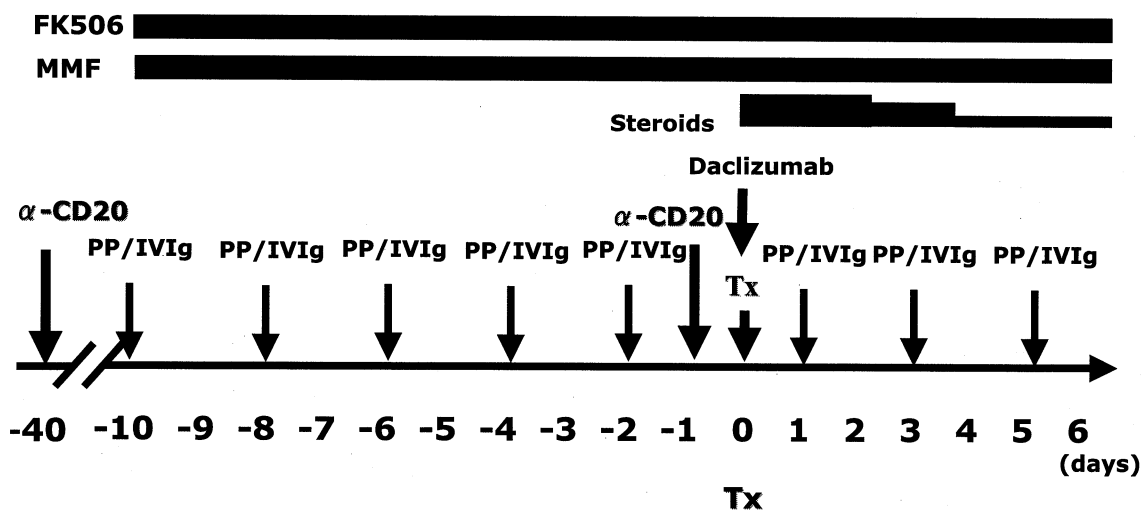
図7 メイヨークリニックにおける免疫抑制法



Stegall MD, Gloor J, et al. *Am J Transplan* 2006

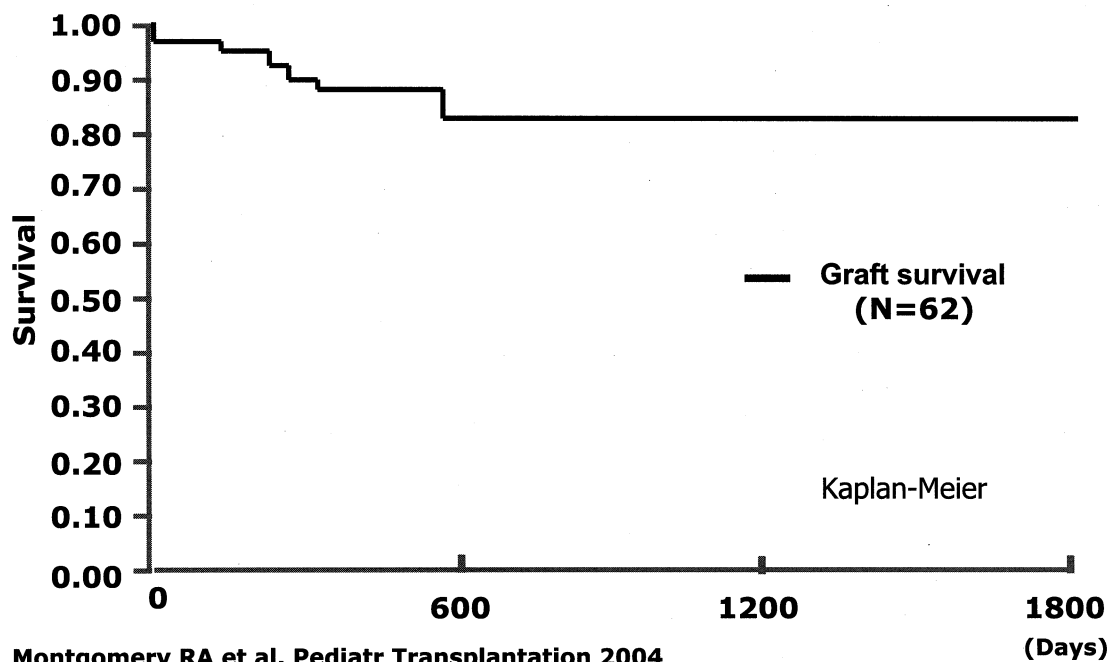
図8 メイヨークリニックにおける成績

## PP/IVIg/anti-CD20 for CMX+ recipients



Montgomery RA et al. Pediatr Transplantation 2004

図9 ジョンス・ホプキンス大学における免疫抑制法



Montgomery RA et al. Pediatr Transplantation 2004

図10 ジョンス・ホプキンス大学での移植腎生着率

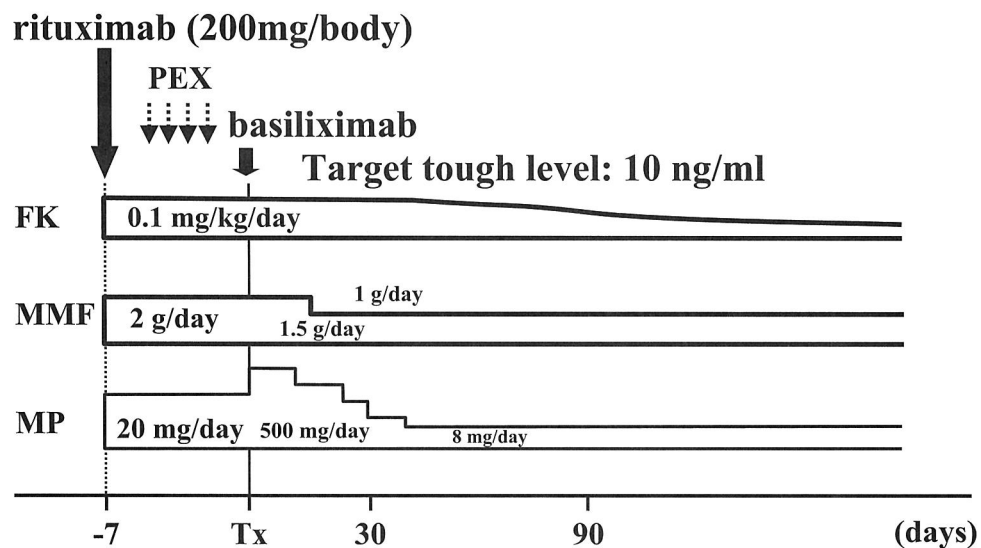


図 11 東京女子医大におけるプロトコール

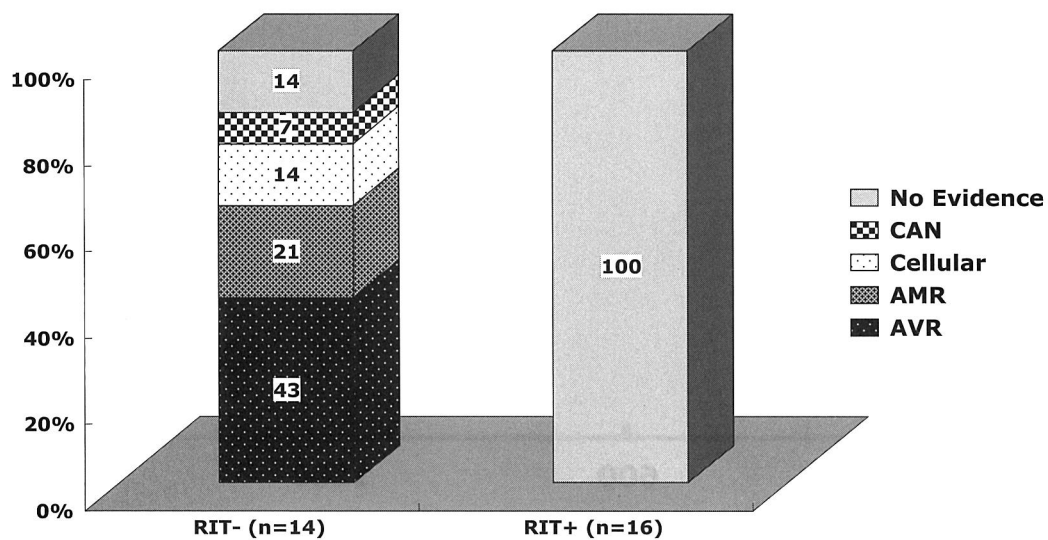


図 12 リツキシマン投与群で有意な拒絶反応の減少を認めた

## ● 原著論文 ●

# 特発性血小板減少性紫斑病におけるヘリコバクター・ピロリ菌除菌療法と HLA クラス II アリルとの関係

野村 昌作<sup>1)</sup>, 石井 一慶<sup>1)</sup>, 松崎 龍典<sup>2)</sup>, 山岡 学<sup>2)</sup>,  
阿部 操<sup>2)</sup>, 細川 美香<sup>2)</sup>, 福原 資郎<sup>3)</sup>

1) 市立岸和田市民病院 血液内科

2) 関西医科大学 輸血部

3) 同 第一内科

(平成 19 年 1 月 31 日受付)

**要約:** 特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) は, 血小板膜に反応する抗血小板抗体によって引き起こされる疾患であり, 最近, ヘリコバクターピロリ菌と ITP の関連性について指摘されつつある。そこで今回ピロリ菌に関連した ITP の病態を解明する目的で, 72 例の ITP 症例につき, ピロリ菌感染と HLA クラス II アリルの関係を検討した。46 例 (63.9%) がピロリ菌陽性であり, 除菌治療によって 26 例 (56.5%) が血小板数の改善を示した。HLA の解析では, ピロリ菌陽性群において DRB1\*0405, DRB1\*0410 および DQB1\*0401, DQB1\*0402 の頻度が陰性群よりも有意に高く, また DRB1\*0901 と DQB1\*0303 は逆にピロリ菌陰性群において高い頻度を示した。さらに, DQB1\*0301 は, 除菌効果が有効であった ITP 例において高頻度であった。以上より ITP 症例におけるピロリ菌除菌効果は, 一部の症例では特定の HLA クラス II アリルと関連している可能性が示唆された。

**キーワード:** 特発性血小板減少性紫斑病, ヘリコバクターピロリ菌, 除菌, HLA クラス II アリル

## はじめに

特発性血小板減少性紫斑病 (idiopathic thrombocytopenic purpura: ITP) は, 血小板膜に反応する抗血小板抗体によって引き起こされる自己免疫疾患のひとつである<sup>1)</sup>。ITP の成因については不明のままであるが, 遺伝的要因と環境的要因の両者が関与していると考えられる<sup>2,3)</sup>。以前に我々は日本人 ITP と HLA との相関について検討を行い, その疾患感受性に DRB1\*0410 が関与している可能性を報告している<sup>4,5)</sup>。一方, Emilia ら<sup>6)</sup>は ITP 患者におけるヘリコバクターピロリの感染が高頻度であること, および

ピロリ菌の除菌後の血小板数増加が顕著であることを報告している。また, Veneri ら<sup>7,8)</sup>は, ITP 患者における DRB1\*11 と DRB1\*14 がピロリ菌陽性患者で高頻度であり, 逆に DRB1\*03 はピロリ菌陰性の患者において有意に高値であったと報告するとともに, ピロリ菌除菌療法の有効性と DQB1\*03 との間の有意な相関性を示した。そこで今回我々は, 日本人 ITP 患者における HLA class II アリルとヘリコバクターピロリの関係, およびピロリ菌除菌療法との関連性について検討を行った。

代表者連絡先 〒596-8501 大阪府岸和田市額原町 1001 番地  
市立岸和田市民病院 血液内科  
野村 昌作

電話 072-445-1000  
FAX 072-441-8809  
E-mail shosaku-n@mbp.ocn.ne.jp

## 対 象

対象は慢性 ITP 72 例で、ITP の診断は、いずれも厚生省特定疾患特発性造血障害調査研究班の診断基準に従った。年齢は 18~76 (中央値 53) 歳で、性別では男性 22 例、女性が 50 例である。なお、HLA 解析の健常人コントロールには、関西医大輸血部で検査された健常人の骨髓移植ドナーのデータを使用した。

## 材料と方法

**HLA の解析:** まず末梢血から比重遠心法によりリンパ球を分離した。スマイテスト DNA 抽出キット (住友金属) を用い、添付書に準じて DNA を抽出後、DNA タイピングはスマイテスト遺伝子型判定キット (住友金属) を用いて、PCR-RFLP 法で遺伝子型 (DRB1 と DQB1) を決定した<sup>9)</sup>。なお、プライマーと制限酵素は既報<sup>9)</sup>のものをを用い、統計的な解析は  $\chi^2$  検定を実施し、最終的に補正した P 値 (Corrected P) での検定を行った。

**ヘリコバクター・ピロリの解析:** 尿素呼気テストによりピロリ菌の感染を決定した。ピロリ菌の除菌は、オメプラゾール 40 mg, アモキシシリン 1,500 mg, クラリスロマイシン 800 mg をそれぞれ 7 日間投与した。除菌の効果判定は、除菌治療後 3 ヶ月以内に、血小板数が  $100 \times 10^9/l$  以上に増加したものを完全寛解 (CR) とし、血小板数が前値に比べて  $50 \times 10^9/l$  以上の増加を認め、CR に達しないものを部分寛解 (PR) とした。

## 結 果

HLA-DRB1 の解析結果では、DRB1\*0410 の検出率がコントロールに比較して ITP 患者で有意に高値であった (コントロール 2.4% vs. ITP 14.6%,  $p < 0.01$ ) (表 1)。一方、HLA-DQB1 の解析結果では、ITP とコントロール群の間で有意な差はみられなかった (表 2)。

今回の検討で、ITP 72 例中 46 例においてピロリ菌が陽性であった。ピロリ菌陽性の ITP 例では、DRB1\*0405, DRB1\*0410, DQB1\*0401, DQB1\*0402 がピロリ菌陰性群に比較して有意に高値であった (DRB1\*0405; HP(-) 7.7% vs. HP(+) 17.4%,  $p <$

0.05; DRB1\*0410; HP(-) 7.7% vs. HP(+) 18.5%,  $p < 0.05$ ; DQB1\*0401; HP(-) 5.8% vs. HP(+) 26.1%,  $p < 0.01$ ; DQB1\*0402; HP(-) 1.9% vs. HP(+) 6.5%,  $p < 0.05$ )。一方、ピロリ菌陰性の ITP 例では、DRB1\*0901, DQB1\*0303 がピロリ菌陽性群に比較して、有意に高値であった (DRB1\*0901; HP(+) 4.3% vs. HP(-) 26.9%,  $p < 0.01$ ; DQB1\*0303; HP(+) 8.7% vs. HP(-) 28.8%,  $p < 0.05$ )。

ピロリ菌除菌後の治療効果の結果を表 3 に示す。血小板数増加効果は 28 例 (CR 12 例, PR 16 例) で認められ、観察期間の最終評価では、26 例 (CR 10 例, PR 16 例) に有効性が認められた。ピロリ菌除菌療法に対する反応性を、有効群と無効群の 2 群に分けて HLA の解析を行った結果、両群に有意差が認められたものは DQB1\*0301 のみであった (図 1)。

## 考 察

これまでに、ITP とヘリコバクターピロリとの関連性について、いくつかの施設から報告が行われている<sup>6, 10, 11)</sup>。いずれも ITP におけるピロリ菌陽性の頻度が高いことを示しており、しかもピロリ菌の除菌によって血小板数の改善が認められている。ヘリコバクターピロリの感染と ITP 発症のメカニズムとの関係はまだよくわかっていないが<sup>12)</sup>、もともと ITP は自己免疫疾患であることから、両者の間には共通の免疫学的異常の存在が推測される。Veneri ら<sup>7, 8)</sup>は、ITP 患者における DRB1\*11, DRB1\*14, DQB1\*03 がピロリ菌陽性患者で有意に高値であり、逆に DRB1\*03 はピロリ菌陰性の患者において有意であったと報告しており、これは ITP とピロリ菌感染の関係をみる上で興味ある報告である。今回の我々の検討では DQB1\*0303 の頻度がピロリ菌陰性群で増加しており、これは Veneri らの報告と全く逆であり、対象症例としての人種差 (イタリア人と日本人) が、その原因のひとつであると考えられた。さらに今回の検討では、DRB1\*0901 もピロリ菌陰性例で高頻度であったことから、DQB1\*0303 と DRB1\*0901 の両者が日本人のピロリ菌感染における ITP 発症の抵抗因子の可能性を示唆している。一方、DRB1\*0405, DRB1\*0410, DQB1\*0401, DQB1\*0402 の各アレルはピロリ菌陽性例で高頻度

表 1 Allele frequencies at the DRB1 locus in controls and ITP patients

Allele DRB1*	Controls n <sup>a</sup> (%)	All ITP cases n <sup>a</sup> (%)	HP(-) ITP n <sup>a</sup> (%)	HP(+) ITP n <sup>a</sup> (%)
0101	20 (7.9)	2 (1.4)	1 (1.9)	1 (1.1)
0301	1 (0.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
0401	1 (0.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
0403	2 (0.8)	1 (0.7)	0 (0.0)	1 (1.1)
0404	1 (0.4)	1 (0.7)	1 (1.9)	0 (0.0)
0405	27 (10.7)	20 (13.9)	4 (7.7)	16 (17.4) <sup>2*</sup>
0406	17 (6.7)	12 (8.3)	3 (5.8)	9 (9.8)
0407	2 (0.8)	1 (0.7)	1 (1.9)	0 (0.0)
0410	6 (2.4)	21 (14.6) <sup>1*</sup>	4 (7.7)	17 (18.5) <sup>2*</sup>
0802	18 (7.1)	2 (1.4)	0 (0.0)	2 (2.2)
0803	24 (9.5)	15 (10.4)	6 (11.5)	9 (9.8)
0804	3 (1.2)	1 (0.7)	1 (1.9)	0 (0.0)
0901	27 (10.7)	18 (12.5)	14 (26.9)	4 (4.3) <sup>3*</sup>
1001	1 (0.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
1101	3 (1.2)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
1201	7 (2.8)	10 (6.9)	3 (5.8)	7 (7.6)
1202	0 (0.0)	3 (2.1)	1 (1.9)	2 (2.2)
1301	5 (2.0)	1 (0.7)	0 (0.0)	1 (1.1)
1302	16 (6.3)	2 (1.4)	1 (1.9)	1 (1.1)
1401	6 (2.4)	5 (3.5)	1 (1.9)	4 (4.3)
1402	1 (0.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
1403	5 (2.0)	1 (0.7)	1 (1.9)	0 (0.0)
1405	6 (2.4)	1 (0.7)	0 (0.0)	1 (1.1)
1406	4 (1.6)	1 (0.7)	1 (1.9)	0 (0.0)
1407	1 (0.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
1501	15 (6.0)	7 (4.9)	2 (3.8)	5 (5.4)
1502	28 (11.1)	14 (9.7)	6 (11.5)	8 (8.7)
1601	2 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)
1602	3 (1.2)	5 (3.5)	1 (1.9)	4 (4.3)
Total n	252	144	52	92

n<sup>a</sup> : number of allelesHP: *Helicobacter pylori*<sup>1\*</sup> : p < 0.01 (Controls vs. All ITP)    <sup>2\*</sup> : p < 0.05 (HP (-)ITP vs. HP(+) ITP)<sup>3\*</sup> : p < 0.01 (HP (-)ITP vs. HP(+) ITP)

であった。我々は ITP 以外のピロリ菌感染者・非感染者においてこれらのアレルの増減があるかどうかを確認することができなかったものの、これらのアレルは日本人のピロリ菌感染における ITP 発症の感受性因子である可能性を示唆している。ただし、DQB1\*0303 と DRB1\*0901, DRB1\*0405 と DQB1\*0401 および DRB1\*0410 と DQB1\*0402 の

それぞれのアレルに関しては、日本人において強い遺伝的な連鎖傾向が認められるので、それぞれのペアのうちいずれか片方のアレルが原因遺伝子である可能性は否定できず、今後の検討課題であると考えられた(図2)。

ヘリコバクターピロリは、もともと胃潰瘍や胃癌の病因として注目されてきた<sup>13, 14)</sup>。ピロリ菌の感染

表 2 Allele frequencies at the DQB1 locus in controls and ITP patients

Allele DQB1*	Controls n <sup>a</sup> (%)	All ITP cases n <sup>a</sup> (%)	HP(-) ITP n <sup>a</sup> (%)	HP(+) ITP n <sup>a</sup> (%)
0301	29 (11.5)	16 (11.1)	6 (11.5)	10 (10.9)
0302	25 (9.9)	18 (12.5)	6 (11.5)	12 (13.0)
0303	38 (15.1)	23 (16.0)	15 (28.8) <sup>1*</sup>	8 (8.7)
0401	33 (13.1)	27 (18.8)	3 (5.8)	24 (26.1) <sup>2*</sup>
0402	13 (5.2)	7 (4.9)	1 (1.9)	6 (6.5) <sup>3*</sup>
0501	16 (6.3)	3 (2.1)	1 (1.9)	2 (2.2)
0502	6 (2.4)	2 (1.4)	0 (0.0)	2 (2.2)
0503	10 (4.0)	3 (2.1)	1 (1.9)	2 (2.2)
0601	48 (19.0)	30 (20.8)	11 (21.2)	19 (20.7)
0602	16 (6.3)	10 (6.9)	6 (11.5)	4 (4.3)
0604	18 (7.1)	5 (3.5)	2 (3.8)	3 (3.3)
Total n	252	144	52	92

n<sup>a</sup> : number of allelesHP: *Helicobacter pylori*<sup>1\*</sup> : p < 0.05 (HP (+)ITP vs. HP(-) ITP)    <sup>2\*</sup> : p < 0.01 (HP (-)ITP vs. HP(+) ITP)<sup>3\*</sup> : p < 0.05 (HP (-)ITP vs. HP(+) ITP)表 3 Characteristics and response to eradicating therapy in 46 patients with ITP and *Helicobacter pylori* infection

Median age (years, range)	54.5 (18-76)
Males	16
Females	30
HP eradicated patients (percentage)	45 (97.8)
Platelet count before HP therapy (×10 <sup>9</sup> /l)	31.5 ± 12.3
Platelet count after HP therapy (×10 <sup>9</sup> /l)	95.2 ± 18.6
Platelet response after HP therapy	28 (12 CR; 16PR)
Platelet response at the end of follow-up (12 months)	26 (10 CR; 16PR)

HP: *Helicobacter pylori*

CR: complete remission

PR: partial response

は胃粘膜局所に強い免疫反応を惹起し、種々の炎症性サイトカインや抗胃粘膜細胞自己抗体の産生を介して、胃粘膜障害を引き起こすものと考えられている<sup>15, 16)</sup>。一方、胃癌と HLA およびピロリ菌の関係をみた報告では、その関連性について意見が分かれ

ている。もともと胃癌の発生とよく関連するアリルとして知られているのは、DQB1\*0301 である<sup>17)</sup>。しかし、台湾人における解析では、DQB1\*0602 がピロリ菌陽性の胃癌患者で高頻度に検出され、DQB1\*0301 はむしろ抵抗性因子として報告されて

いる<sup>18)</sup>。また、ドイツ・イタリアにおける報告では、癌の危険因子として、HLA とピロリ菌の間に相関性がないとされ<sup>19)</sup>、日本人では、DRB1\*1501, DQA1\*01021, DQB1\*0602 が抵抗性因子として報告されている<sup>20)</sup>。このように、胃癌産生における

HLA とピロリ菌の関係は、人種差によって全く一定しておらず、また ITP の結果とも大きく異なっていた。

今回我々は、ピロリ菌の除菌効果と HLA の関係についても検討を行った。結果は、除菌に対する有効群

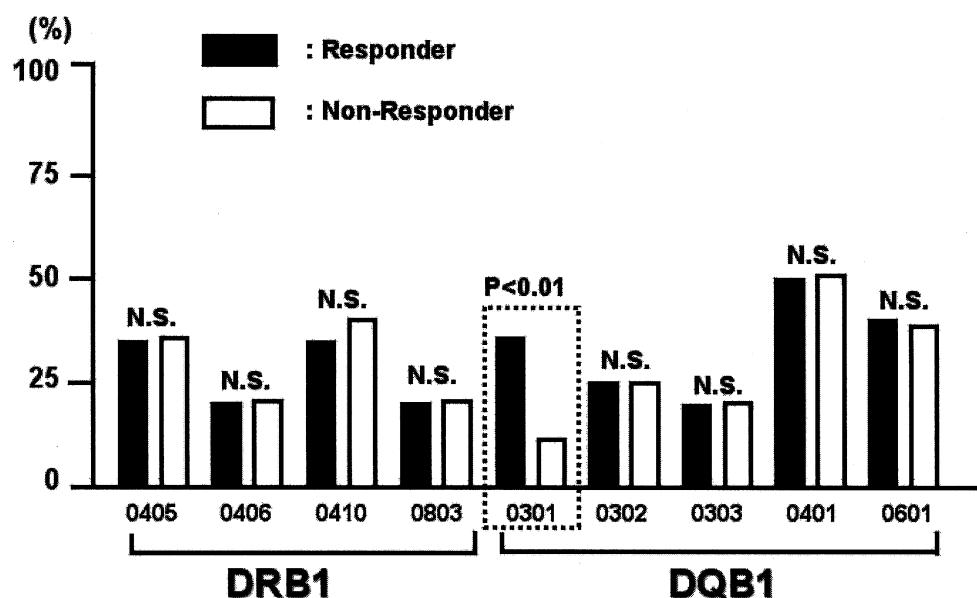


図1 ピロリ菌除菌療法に対する反応性の HLA による解析  
縦軸(%)は、各アレルの全症例に対する占有率を示す(一人あたり2つのアレルをもつことから%の合計は200%となる)

<i>DQB1</i>	<i>DQA1</i>	<i>DRB1</i>
0201	0201	0701 0301 0302
0301	0501	1101 1201 1202
0302		0403 0406 0407 0808
0303		0901
0401	03	0405
0402	0401	0410 0802
0501	0101	0101 1001
0502		1401
0503		1405
0601	0103	1502 0803
0602	0102	1501
0603		
0604	0102	1302
0605		

図2 日本人における HLA の遺伝的連鎖関係

と無効群で有意差が認められたのは、DQB1\*0301のみであった。Veneri らの最近の報告<sup>8)</sup>では、DQB1\*03 パターンが有効群で高値であったと報告しており、我々の結果も一部これに合致している。しかし先に述べたように、DQB1\*0301 は胃癌とピロリ菌との感受性を示すアリルであり<sup>17)</sup>、ITP に関連するかどうか不明である。以前我々は、ITP に早期胃癌を合併したピロリ菌陽性の 2 症例を経験しているが、いずれの症例も DQB1\*0301 が検出された<sup>21)</sup>。このように、今回の結果のみから ITP 症例におけるピロリ菌除菌の有効性と DQB1\*0301 の関連性を決定付けることは困難であり、今後さらに症例を重ねた検討が必要と考えられた。

#### 参考文献

- Karparkin S.: Autoimmune (idiopathic) thrombocytopenic purpura. *Lancet* **349**: 1531–1536, 1997.
- 野村昌作, 福原資郎: 特発性血小板減少性紫斑病: 発症の機序, 血液・腫瘍科, **36**: 113–119, 1998.
- Gaiger A, Neumeister A, Heinzl H, *et al.*: HLA class I and II antigens in chronic idiopathic autoimmune thrombocytopenia. *Ann Hematol* **68**: 299–302, 1994.
- 松崎龍典, 野村昌作, 石田萌子ら: 免疫性血小板減少症 (ITP) と HLA の相関について, MHC, **2**: 16–18, 1995.
- Nomura S, Matsuzaki T, Ozaki Y, *et al.*: Clinical significance of HLA-DRB1\*0410 in Japanese patients with idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* **91**: 3616–3622, 1998.
- Emilia G, Long G, Luppi M, *et al.*: Helicobacter pylori eradication can induce platelet recovery in idiopathic thrombocytopenic purpura. *Blood* **97**: 812–814, 2001.
- Veneri D, Gottardi M, Guizzardi E, *et al.*: Idiopathic thrombocytopenic purpura, Helicobacter pylori infection, and HLA class II alleles. *Blood* **100**: 1925–1926, 2002.
- Veneri D, De Matteis G, Solero P, *et al.*: Analysis of B- and T-cell clonality and HLA class II alleles in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura: Correlation with Helicobacter pylori infection and response to eradication treatment. *Platelets* **16**: 307–311, 2005.
- 大西浩史, 飯田淳子, 田中 博ら: スマイテスト HLA タイピングシステム-PCR-RFLP 法を用いた HLA クラス II 抗原の DNA タイピング, 今日の移植, **7**: 37–41, 1994.
- Gasbarrini A, Franceschi F, Tartaglione R, *et al.*: Regression of autoimmune thrombocytopenia after eradication of Helicobacter pylori. *Lancet* **352**: 878, 1998.
- Kohda K, Kuga T, Kogawa K, *et al.*: Effect of Helicobacter pylori eradication on platelet recovery in Japanese patients with chronic idiopathic thrombocytopenic purpura and secondary autoimmune thrombocytopenic purpura. *Br J Haematol* **118**: 584–588, 2002.
- Nomura S, Inami N, Kanazawa S.: The effects of Helicobacter pylori eradication on chemokine production in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Eur J Haematol* **72**: 304–305, 2004.
- Howden CW.: Clinical expression of H. pylori infection. *Am J Med* **100**: s27–34, 1996.
- Dixon MF.: Commentary: role of Helicobacter pylori on gastric mucosal damage, gastric cancer, and gastric MALT lymphoma. *Gastroenterology* **113**: s65–66, 1997.
- Claeys D, Faller G, Appelmelk BJ, *et al.*: The gastric H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase is a major autoantigen in chronic Helicobacter pylori gastric with body mucosa atrophy. *Gastroenterology* **115**: 340–347, 1998.
- Gasbarrini A, Franceschi F.: Autoimmune diseases are Helicobacter pylori infection. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **53**: 223–226, 1999.
- Lee JE, Lowy AM, Thompson WA, *et al.*: Association of gastric adenocarcinoma with the HLA class II gene DQB1\*0301. *Gastroenterology* **111**:

- 426–432, 1996.
18. Wu MS, Hsieh RP, Huang SP, *et al.*: Association of HLA-DQB1\*0301 and HLA-DQB1\*0602 with different subtypes of gastric cancer in Taiwan. *Jpn J Cancer Res* **93**: 404–410, 2002.
  19. Perri F, Piepoli A, Quitadamo M, *et al.*: M. HLA-DQA1 and -DQB1 genes and *Helicobacter pylori* infection in Italian patients with gastric adenocarcinoma. *Tissue Antigens* **59**: 55–57, 2002.
  20. Kunstmann E, Hardt C, Tretz H, *et al.*: In the European population HLA-class II genes are not associated with *Helicobacter pylori* infection *Eur J Gastroenterol Hepatol* **14**: 49–53, 2002.
  21. 山岡 学, 松崎龍典, 阿部 操ら: ITP に早期胃癌を合併した2例のHLA解析, *MHC*, **12**: 39, 2005.

**Correlation with HLA class II alleles and eradication treatment for *Helicobacter pylori* infection in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura**

Shosaku Nomura<sup>1)</sup>, Kazuyoshi Ishii<sup>2)</sup>, Tatsunori Mastuzaki<sup>2)</sup>, Manabu Yamaoka<sup>2)</sup>,  
Misao abe<sup>2)</sup>, Mika Hosokawa<sup>2)</sup>, Shirou Fukuhara<sup>3)</sup>

1) Division of Hematology, Kishiwada City Hospital

2) Division of Blood Transfusion, Kansai Medical University

3) First Department of Internal Medicine, Kansai Medical University

**Summary:** Idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) is a disease caused by circulating autoantibodies that react with platelet membrane. Many authors have recently found a positive correlation between *Helicobacter pylori* infection and ITP. In order to clarify the pathogenic mechanism of *Helicobacter pylori* -associated ITP, we have investigated 72 ITP patients for *Helicobacter pylori* infection and HLA class II alleles. Forty-six ITP patients (63.9%) were infected by *Helicobacter pylori* and bacterium eradication was accompanied by a long-term platelet response in 26 (56.5%) of them. The ITP patients with *Helicobacter pylori* infection showed DRB1\*0405, DRB1\*0410, DQB1\*0401, DQB1\*0402 frequencies significantly higher and DRB1\*0901, DQB1\*0303 frequencies significantly lower than in *Helicobacter pylori* -negative patients. Moreover, an DQB1\*0301 was associated with a higher probability of platelet response to eradication treatment. These results suggest that the response to eradication in some ITP patients are likely to associate with HLA class II allele.

**Key Words:** ITP, *Helicobacter pylori*, eradication, HLA class II alleles



# 日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定

## I. 投稿について

**内 容:** MHCに関する基礎研究から臨床研究まで全てを対象にし、未発表の論文、他誌に投稿中でないものに限る。

**資 格:** 著者(共著者を含む)は原則として本学会会員に限る。

**倫 理:** ヒトおよびヒトの試料を用いた臨床研究・基礎研究の場合、1980年ヘルシンキ宣言(第18回World Medical Assemblyにて採択)に基づくと共に、当該施設の倫理委員会の承諾を得たものでなければならない。また動物を用いた研究については「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」(1980年日本学術会議決議)などを遵守し行われた研究でなければならない。

**種 類:** 原著、総説、シリーズ、短報(研究速報、技術速報などを含む)、症例報告などとし、日本語、英語を問わない。

**審 査:** 投稿論文掲載の採否は当誌編集委員会において決定し、審査は複数の査読制で行う。審査の結果を踏まえ修正、削除、加筆などをお願いする場合がある。

**著作権:** 本誌に掲載された論文などの著作権は日本組織適合性学会が有し、インターネットを通じて電子配信されることがある。

**掲載料:** 掲載は無料であるが、カラー写真など特別印刷に関わる経費は著者の実費負担とする(カラー印刷を希望の場合にはその旨明記)。

**別 冊:** 別冊は有料とし、その経費は別冊部数やページ数による(別冊希望の場合は著者校正の際にその旨明記)。

## II. 原著執筆書式

### 1. 執筆要項

400字詰め原稿用紙30枚(刷り上がり12頁程度)以内とする。図、表、写真は1個につき原稿用紙1枚分に該当しタイトルを必ず記載し挿入箇所を本文に明記する。本文はMicrosoft Wordで作成し、図、

表、写真はMicrosoft PowerPointを使用する。原稿は全てCD-ROMに保存し、CD-ROMにA4サイズでプリントアウトした原稿1部を添えて編集長宛に送付する。

### 2. 第1頁目

表紙とし「原著」を明記し、日本語と英語でタイトル、著者全員の氏名と所属を記し、脚注として連絡責任者の住所、氏名、電話、FAX、E-mailアドレスを記載する。タイトル、著者名、所属は下記の形式に従う。

Susceptibility gene for non-obstructive azoospermia in the HLA class II region: correlations with Y chromosome microdeletion and spermatogenesis. Tetsuya Takao<sup>1)</sup>, Akira Tsujimura<sup>1)</sup>, Masaharu Sada<sup>2)</sup>, Reiko Goto<sup>2)</sup>, Minoru Koga<sup>3)</sup>, Yasushi Miyagawa<sup>1)</sup>, Kiyomi Matsumiya<sup>1)</sup>, Kazuhiko Yamada<sup>2)</sup>, Shiro Takahara<sup>1)</sup>

- 1) Department of Urology, Osaka University Graduate School of Medicine, Suita, Osaka, Japan
- 2) Department of Regenerative Medicine, National Cardiovascular Center, Suita, Osaka, Japan
- 3) Department of Urology, Osaka Central Hospital, Osaka, Japan

心移植におけるFlowPRA法を用いたHLA抗体検出の意義

山本 賢<sup>1)</sup>, 佐藤 清<sup>1)</sup>, 佐田 正晴<sup>2)</sup>, 永谷 憲歳<sup>2)</sup>, 中谷 武嗣<sup>3)</sup>

- 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

### 3. 本文—1: 日本語での投稿

• 2頁目に400字以内の英文要旨、日本語および英語のキーワード(5語以内)を記載する。尚、英文要旨作成については編集委員会による対応も可能(希望の

場合、400 字以内の日本語要旨を記載しその旨明記)。

• 3 頁目より、「はじめに」、「材料と方法」、「結果」、「考察」、「引用文献」の順に記載する。

- ① 専門用語以外は常用漢字、新かなづかいに従い記述する。
- ② 本文中の英単語は固有名詞を除き全て小文字で統一する。
- ③ 地名、人名、学名は原語のまま用い、薬品名は一般名を用い商品名は括弧内に記す。
- ④ 単位、数量は国際単位 (cm, ml, g, Kg, pg,  $\mu$ l, %,  $^{\circ}$ C など) を、数字はアラビア文字を用いる。

#### 4. 本文—2: 英語での投稿

• 2 頁目に 400 字以内の要旨、キーワード(5 語以内)を記載する。

• 3 頁目より、「Introduction」、「Materials and Methods」、「Results」、「Discussion」、「References」の順に記載する。

- ① 地名、人名、学名は原語のまま用い、薬品名は一般名を用い商品名は括弧内に記す。
- ② 単位、数量は国際単位 (cm, ml, g, Kg, pg,  $\mu$ l, %,  $^{\circ}$ C など) を、数字はアラビア文字を用いる。

#### 5. 引用文献

引用文献は本文中の引用箇所の右肩に片カッコ付きで番号を付し、引用順に一括し記載する。著者名、編集者名は筆頭者から 3 名まで列記し、他または et al. とする。

1. Shi Y, Yoshihara F, Nakahama H, *et al.*: A novel immunosuppressant FTY720 ameliorates proteinuria and alterations of intrarenal adrenomedullin in rats with autoimmune glomerulonephritis. *Regulatory Peptides* (127): 233–238, 2005.
2. Tongio M, Abbai M, Bignon JD, *et al.*: ASH#18: HLA-DPB1. *Genetic diversity of HLA Functional and Medical Implication* (ed. Charron D), Medical and Scientific International Publisher, p. 134–

136, 1997.

3. 難波行臣, 今尾哲也, 石黒 伸 他: 既存抗体陽性生体腎移植後に生じた抗体関連型拒絶反応に対して血漿交換および免疫グロブリン大量療法 (IVIG) が奏効した 1 例. *腎移植・血管外科* 17: 36–40, 2005
4. 佐田正晴, 高原史郎: 腎移植—組織適合と拒絶反応. 新図説泌尿器科学講座 6「腎疾患, 神経泌尿器科, 老年泌尿器科」(吉田 修 監), Medical View 社, p. 120–125, 2000.

### III. 短報(研究速報, 技術速報などを含む), 症例報告執筆書式

#### 1. 執筆要項

400 字詰め原稿用紙 15 枚(刷り上がり 6 頁程度)以内とする。図, 表, 写真は 1 個につき原稿用紙 1 枚分に該当しタイトルを必ず記載し挿入箇所を本文に明記する。本文は Microsoft Word で作成し, 図, 表, 写真は Microsoft PowerPoint を使用する。原稿は全て CD-ROM に保存し, CD-ROM に A4 サイズでプリントアウトした原稿 1 部を添えて編集長宛に送付する。

#### 2. 第 1 頁目

表紙とし「短報」「症例報告」を明記し, 日本語と英語でタイトル, 著者全員の氏名と所属を記し, 脚注として連絡責任者の住所, 氏名, 電話, FAX, E-mail アドレスを記載する。タイトル, 著者名, 所属は「原著」の形式に従う。

#### 3. 本文(日本語および英語での投稿)

- 短報, 症例報告には要旨は不要。
- 2 頁目以降は, 原著執筆書式 3. の 3 頁目以降に準じる。

### IV. 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。総原稿枚数は編集委員会で指定し, 原則的に原著執筆書式に準じる。

## V. 原稿送付先

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2  
 大阪大学大学院医学系研究科 J8  
 先端移植基盤医療学  
 日本組織適合性学会誌 MHC  
 編集長 高原 史郎  
 担当 谷本 佳澄 (E-mail: [tanimoto@att.med.osaka-u.ac.jp](mailto:tanimoto@att.med.osaka-u.ac.jp))  
 Tel: 06-6879-3746 Fax: 06-6879-3749

	総原稿枚数 (図表, 文献含む)	図表数	文献数	要旨	原稿タイトル 所属, 著者	キーワード数	査読	著者校正
原著	30 枚以内	5~10 個以内	20 個以内	英文 400 字以内	和英併記	5 個	有り	1 回
短報, 症例報告	15 枚以内	5 個以内	10 個以内	なし	和英併記	なし	なし	1 回
総説, その他	その都度指定	適宜	20~30 個前後	和文 400 字以内	和英併記	5 個	なし	なし

## 編集後記

この原稿の締め切りは6月22日ということで書いています。発行されて会員の皆様のお手元に届くのが、お盆の前になるのか後になるのか心配しています。というのは、この号には、第16回大会のプログラムが載せられているからです。今大会は9月9日から11日と、例年に比べて2週間ほど早く開催することになっていますが、それは開催地の京都は秋には観光客で混むのと、今年の9月は3連休が多いためです。前々号の「MHC」13巻3号の今大会のご案内には、4月28日を演題抄録の締め切りとしていましたが、締切日が来ても20題ほど集まっただけでした。そこで締め切りを5月18日まで延長して、追加募集したところ、例年並みの47題となり、主催者としてほっとしているところです。しかし、主催者が慣れないため、抄録の整理に手間取り、編集予定が1週間ほど遅れてしまい、発行がお盆の後になるかどうか心配しているしだいです。

毎年大会の主催者は、演題が集まるかどうか心配されるようです。締め切りを遅くすれば集まるとは言えませんが、最新のデータまで抄録に載せられるようになり、抄録集として充実することが期待されます。学会誌「MHC」の発行が年3回の当学会にとっては締切時期と抄録の発行時期を決めることは微妙な関係となりますが、来年以降はうまくやっていただけることを期待いたします。

赤座 達也

## 「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

2007年8月10日発行 14巻2号, 2007

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 高原 史郎)

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 木村 彰方)

〒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