

MHC

日本組織適合性学会誌

Major Histocompatibility Complex

Vol. 14 No. 3, 2008

Contents

日本組織適合性学会からのお知らせ

会告	213
第 17 回日本組織適合性学会大会のご案内	214
学術奨励賞について	215
第 12 回 HLA-QC ワークショップのご案内	217
平成 20 年度・認定 HLA 検査技術者講演会のお知らせ	222
認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則の変更について	223
認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則	230
平成 20 年度認定 HLA 検査技術者認定試験申請要領	236
平成 20 年度認定組織適合性指導者資格認定試験申請要領	238
平成 20 年度認定組織適合性指導者および認定 HLA 検査技術者認定証更新申請要領	240
第 11 回 HLA-QC ワークショップレポート	木村彰方, 平田康司, 酒巻建夫, 丸屋悦子, 安波道郎, 成瀬妙子, 太田正穂, 田中秀則, 中島文明, 寺木佳子, 平田康司, 橋本志歩, 山本 賢, 高陽 淑, 田中秀則
平成 19 年度認定 HLA 検査技術者登録名簿	313
平成 19 年度認定 HLA 検査技術者更新登録名簿	314
平成 19 年度認定組織適合性指導者更新登録名簿	315
平成 19 年度 HLH 検査技術者認定試験に関する報告 ... 太田正穂, 石川善英, 石谷昭子, 大橋 順, 小河原 悟, 柏瀬貢一, 木村彰方, 小林 賢, 高原史郎, 田中秀則, 徳永勝士, 中島文明, 西村泰治, 平山謙二, 丸屋悦子, 屋部登志雄	317
第 6 回日本組織適合性学会・近畿地方会のご案内	329
[シリーズ: MHC の比較ゲノム]	
魚類 MHC の多様性と機能	乙竹 充 331
ペンギン類 MHC MHC 多型解析によるペンギン類 6500 万年の進化の足跡	津田とみ, 猪子英俊 345
[シリーズ: 移植医療と組織適合性]	
第 3 回	
臓器移植における免疫寛容の基礎と臨床	村上 徹, 河合達郎 359
非血縁者間造血幹細胞移植における HLA 適合性	森島泰雄 367
日本組織適合性学会 平成 18 年度決算報告書	377
日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定	379
編集後記	382

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

● Contents ●

日本組織適合性学会誌 第 14 巻第 3 号 平成 20 年 1 月 31 日発行

日本組織適合性学会からのお知らせ

会告	213	
第 17 回日本組織適合性学会大会のご案内	214	
学術奨励賞について	215	
第 12 回 HLA-QC ワークショップのご案内	217	
平成 20 年度・認定 HLA 検査技術者講演会のお知らせ	222	
認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則の変更について	223	
認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則	230	
平成 20 年度認定 HLA 検査技術者認定試験申請要領	236	
平成 20 年度認定組織適合性指導者資格認定試験申請要領	238	
平成 20 年度認定組織適合性指導者および認定 HLA 検査技術者認定証更新申請要領	240	
第 11 回 HLA-QC ワークショップレポート	木村彰方, 平田康司, 酒巻建夫, 丸屋悦子, 安波道郎, 成瀬妙子, 太田正穂, 田中秀則, 中島文明, 寺木佳子, 平田康司, 橋本志歩, 山本 賢, 高陽 淑, 田中秀則	243
平成 19 年度認定 HLA 検査技術者登録名簿	313	
平成 19 年度認定 HLA 検査技術者更新登録名簿	314	
平成 19 年度認定組織適合性指導者更新登録名簿	315	
平成 19 年度 HLH 検査技術者認定試験に関する報告	太田正穂, 石川善英, 石谷昭子, 大橋 順, 小河原 悟, 柏瀬貢一, 木村彰方, 小林 賢, 高原史郎, 田中秀則, 徳永勝士, 中島文明, 西村泰治, 平山謙二, 丸屋悦子, 屋部登志雄	317
第 6 回日本組織適合性学会・近畿地方会のご案内	329	
[シリーズ: MHC の比較ゲノム]		
魚類 MHC の多様性と機能	乙竹 充	331
ペンギン類 MHC MHC 多型解析によるペンギン類 6500 万年の進化の足跡	津田とみ, 猪子英俊	345
[シリーズ: 移植医療と組織適合性]		
第 3 回		
臓器移植における免疫寛容の基礎と臨床	村上 徹, 河合達郎	359
非血縁者間造血幹細胞移植における HLA 適合性	森島泰雄	367
日本組織適合性学会 平成 18 年度決算報告書		377
日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定		379
編集後記		382

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	京都大学医学部付属病院血液腫瘍内科
江川 裕人	京都大学医学部付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

会 告

学会長 木村彰方

平成 19 年度の大会時に開催された総会において、以下のとおり学会運営に関する変更が承認されましたので、お知らせします。

1. 学会会計について

学会運営を円滑に行うため、平成 20 年度より学会会計と認定制度委員会会計を一本化する。

2. 理事の定年制について

理事選挙時における被選挙人(理事候補者)の年齢は満 65 歳以下とするものとし、次回の理事選挙から実施する。なお、監事および評議員には定年制を設けないものとする。

3. 学会賞の創設について

平成 20 年度より学会賞を設ける。

第17回 日本組織適合性学会大会のご案内

第17回 日本組織適合性学会大会
大会長 佐田 正晴

早春の候、皆様におかれましては益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。

第17回日本組織適合性学会大会を下記要領にて開催いたします。本大会は「MHCの臨床応用：移植医療から再生医療へ(仮題)」をメインテーマに第44回日本移植学会総会(会長：大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学講座・教授 高原 史郎)との同時開催とすると共に、両学会会員の相互理解を深めるため共同シンポジウムの企画や相互聴講を計画しています。また「World for Organ Donation and Transplantation (世界移植デー)」(WHO, 日本移植学会, 厚生労働省主催), 「Osaka Kidney Transplantation Forum 2008」も共同開催されます。多くの皆様の参加をお待ちしております。

会 期： 2008年9月19日(金)～9月21日(日)
会 場： 大阪国際会議場(グランキューブ大阪)
〒530-0005 大阪市北区中之島 5-3-51
Tel. 06-4803-5555 Fax. 06-4803-5620
<http://www.gco.co.jp/japanese.html>

大会内容

以下の学術プログラムを予定しています。

1. 特別講演・教育講演(仮題)
 - 再生医療の現状 -auto から allo への展開
 - HLA 技術の変遷と臨床応用
 - エピトープによる抗体特異性解析
 - 医用ミニプタ-移植実験から疾患モデル
2. シンポジウム・ワークショップ(予定)
 - 既存抗体と臓器移植-脱感作療法と拒絶治療への応用
 - 抗体関連検査
 - MHC と造血幹細胞・臍帯血移植
3. QC ワークショップ
4. 一般演題, 2008 年度学術奨励賞発表
5. ランチョンセミナー, その他

一般演題募集要項, 参加登録費, その他については, MHC 誌 Vol. 15, No. 1, 2008 に詳細を掲載するとともに日本組織適合性学会ホームページにアップします。

学術奨励賞について

学術奨励賞選考委員会
委員長 木村彰方

- 1) 厳正な審査の結果、2007 年度の学術奨励賞は該当なしとしました。
- 2) 2008 年度の学術奨励賞を以下のとおり募集しますので、奮って応募ください。

2008 年度学術奨励賞の募集について

会員の皆様

研究助成を目的とした日本組織適合性学会学術奨励賞を以下の要領で募集します。

1. 助成内容

2008 年度学術集会大会(第 17 回大会)に応募された一般演題の中から、特に優秀と認められた演題の筆頭演者(応募者)に学術奨励賞を授与します。授与件数は若干件で、助成金授与を予定しております。なお、本年度より選考方式が変更されていますので、ご注意ください。

2. 募集分野

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

3. 応募資格

助成金応募にあたっては、以下の条件のすべてを満たしていることが必要です。

- 1) 応募者は本学会の正会員であり、かつ 2007 年度までの会費を納入済であること
- 2) 応募者は応募しようとする演題の筆頭演者であること
- 3) 応募しようとする演題の内容において、応募者が中心的な役割を果たしたこと
- 4) 応募しようとする演題の内容が、本学会にふさわしく、かつ未発表であること
- 5) 応募者は 2008 年 9 月 20 日時点で満 45 才未満であること。ただし、技術応用系については年齢制限はありません。

4. 応募方法

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

必要書類

1) 抄録

一般演題に応募した抄録

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

2) 応募ファイル

1 頁目に、演題名、演者(全員)、所属(全員)、応募分野(基礎研究系、臨床研究系、技術応用系のいずれかひとつ)、および応募者(筆頭演者)の連絡先住所、電話番号、FAX、e-mail アドレス、生年月日、年令を記入する。

2 頁目以降に、応募した(1) 研究の背景、(2) 研究の意義、(3) 応募の動機、(4) 日本組織適合性学会との関わり(これまでと今後の方針・希望など)を、各項目ごとに 300-400 字程度でまとめる。

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

5. 応募締め切り

2008 年 5 月 31 日(必着)

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

6. 選考および結果通知について

第 17 回大会期間中に実施される「学術奨励賞応募演題セッション」において発表を行っていただきます。数名の評価委員が発表内容の評価を行います。その評価結果を参考にして学術奨励賞選考委員会にて選考を行います。第 17 回大会期間中に選考結果を公表し、表彰式を実施します。

7. 助成金の使途

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

8. 受賞者にかかる義務について

1) 受賞者は、助成が行われた研究課題についての報告書(様式は別途通知します)を学会宛に提出して頂きます。

9. 助成が行われた研究課題の成果発表について

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

10. 問い合わせ先

本件に関する問い合わせは学会事務局をお願いします。

日本組織適合性学会事務局

〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台 2-3-10

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野内

Tel; 03-5280-8054, Fax; 03-528-8055, Email; jshijimu.tis@mri.tmd.ac.jp

第 12 回 HLA-QC ワークショップのご案内

日本組織適合性学会

認定制度委員会

委員長 佐田正晴

QC ワークショップ部会長 木村彰方

2008 年度 QC ワークショップ(第 12 回 QCWS)を開催致しますので、下記の通り案内致します。これまでと同様、DNA タイピング QC (DNA-QC) と抗体検査 QC (抗体 QC) を実施します。別紙の QCWS 概要説明書をよく読んだ上で、参加申込書と同意誓約書を提出していただきますが、同意誓約書の提出がない場合には QC サンプルを送付出来ませんのでご注意ください。

記

1. スケジュール(すべて予定ですので、今後変更があり得ます)
 - 平成 20 年 4 月中旬 DNA サンプル, 抗体サンプル配布(原則として, ラボ単位で配布)
 - 平成 20 年 5 月下旬 データ提出締切り(原則として, 電子媒体による)
 - 平成 20 年 9 月上旬 解析結果公表(原則として, QCWS 部会 HP による)
2. QC ワークショップ集会
 - 日時: 平成 20 年 9 月 19 日(土)もしくは 20 日(日), 時間未定
 - 場所: 第 17 回日本組織適合性学会(大阪)にて
3. 参加費 (QC ワークショップ集会のみの参加も同様)
 - 認定制度との関連で, 参加は原則として個人を対象とします。
 - QC ワークショップにかかる資料代等の実費として, 一名 2,000 円を申し受けます。
 - DNA-QC, 抗体 QC のどちらか一方に参加, どちらにも参加, 集会のみに参加のいずれも, 参加費は同一です。
4. 参加申し込み
 - QC ワークショップ部会専用 HP (<http://www.tmd.ac.jp/mri/mri-mpath/jshiqcws.htm>) から申し込み様式をダウンロードし, 必要事項を記入した後に, 参加申込書はメール添付で, 同意誓約書はファックスまたは郵送で, QC ワークショップ部会まで送付ください。
 - なお, QCWS 集会だけの参加者は参加申込書のみの送付で結構です。
 - 参加費の払い込みをもって参加申し込みの完了と致しますので, 参加費は以下の口座に振込んでください。
 - 原則として, 振込の控えをもって領収書とさせていただきます。集会のみの参加の場合も同様です。参加申し込み(参加費払い込み)の期限は, 平成 20 年 3 月 7 日(金)とします。
5. 振込口座
 - 郵便振替口座 00160-7-482142
 - 組織適合技術者認定制度委員会
 - 振替用紙の通信欄に, 「第 12 回 QCWS 参加費」および参加者氏名を必ず記載してください。

第 12 回 HLA-QC ワークショップ参加申込書

(QC ワークショップ集会のみ参加する場合も、同様に申し込んでください)

参加申し込み締め切り(参加費払い込みを含む)は平成 20 年 3 月 7 日(金)です。

参加申込書は必ず電子メールでお送りください。

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

以下の通り、第 12 回 HLA-QC ワークショップに参加致します

1) 参加者

代表*	参加者氏名	参加内容&	所属施設・部署	E メールアドレス#

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

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

#; 問い合わせや案内に用いますので、代表者のみの記入で結構です。

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

QC ワークショップ集会のみの参加の場合は記入不要です

住所(郵便番号): (〒 -)

施設名: _____

所属部署: _____

氏名: _____

E-mail: _____, 電話: _____

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

参加申込書は必ずメールでお送りください

日本組織適合性学会 QCWS への参加について(説明文書)

目的

日本組織適合性学会では、認定制度委員会 QCWS 部会が担当して、HLA タイピングや抗体検査などの組織適合性関連検査および組織適合性関連検査研究(以下、組織適合性関連検査・研究)に携わる実務者や研究者を対象とし、種々の方法論に基づく検査・研究の技術や精度の維持、向上をはかる目的で、年に1度ずつ QCWS (クオリティコントロールワークショップ)を実施しています。

実施方法と概要

QCWS の実施内容と予定は学会誌や HP 上に公表され、それに対して参加希望者は認定制度委員会 QCWS 部会事務局に参加申し込み(登録)を行います。QCWS 部会事務局では匿名化されたヒト由来試料 (DNA および抗体)を参加者(施設)に配布し、それを用いて各参加者がそれぞれの施設で行っている手法による DNA タイピングや抗体検査などの組織適合性関連検査・研究を実施します。一方、QCWS 部会長は参加施設に施設 ID を割り振り、この施設 ID を用いて以後のデータ収集、解析、結果の公表が行われます。各参加者は、得た結果(データ)を施設ごとにまとめてエクセルファイルに入力し、施設名を符号化した上で電子媒体(メールなど)により QCWS 部会事務局に送付します。ついで、QCWS 部会委員が分担してこれらのデータを集計、比較解析し、検査者間の相違のみならず、検査手法の特徴や精度の相違を検討します。さらに、データとその集計・解析結果は電子媒体 (MO や CDR など)を用いて、参加施設に配布されます。その後、参加者が一同に会する QCWS 集会において、この検討結果に基づいて参加者全員で討論することで、組織適合性関連検査・研究に関する最新情報を参加者が共有できることになります。また、QCWS で得られた結果は、集計データとして、個々の参加者が特定されない形式で学会誌 (MHC) に公表します。

ヒト由来試料の取り扱いについて

QCWS において配布するヒト由来試料は、市販品ないしバンクなどに寄託され連結不可能匿名化された試料、あるいは抗体検査目的で収集された試料を連結不可能匿名化した上で日本組織適合性学会が入手したものを利用します。これらのヒト由来試料は、いずれも連結不可能匿名化されたものですので試料提供者に不利益を与えることはないと考えられますが、組織適合性関連検査・研究の目的に限って使用するものとし、参加者より「組織適合性関連の検査・研究目的に限って、適正に管理・使用する。他の目的には転用しない」旨の同意書を得ることとします。QCWS 試料を受け取った場合には、検査結果を所定の期日までに QCWS 部会あてに提出してください。検査結果を提出しない場合は、その理由等を記載した理由書(形式自由)を QCWS 部会あてに提出することとします。なお、QCWS における検査後の残存試料の取り扱いについては、これらの試料が多数の施設において種々の方法論で検査されることに鑑みて、組織適合性関連検査・研究の標準試料として使用することが出来るものとします。

参加者情報の取り扱い

QCWS への参加は参加者の自由意思によるものですが、日本組織適合性学会による組織適合性検査技術者、指導者の認定には QCWS 集会への参加が義務付けられています。参加者の氏名、住所、所属などの情報は QCWS 部会事務局において保管されます。データ提出にあたっては、前述のように参加施設ごとに割り振られた施設 ID を利用しますので、どの施設がいかなるデータを提出したのかは、データ解析を担当する解析担当者や QCWS 部会委員にも分からないようになっています。ただし、参加者が同意した場合に限って、解析を行

う上で必要な場合には参加施設名が解析者に伝えられ、直接連絡することも可能とします。

知的財産について

QCWS によって得られた結果から特許などの知的財産が派生したとしても、個々の参加者および参加施設には知的財産権は帰属しません。

費用負担について

QCWS および QCWS 集会への参加費として 1 名 2,000 円を徴収します。ヒト由来試料の配布、集計データの配布にかかる費用は認定制度委員会 QCWS 部会事務局が負担しますが、組織適合性関連検査・研究に要した費用は個々の参加者(施設)の負担とします。

本件に関する問い合わせ先

不明な点があれば下記の QCWS 事務局あてに問い合わせてください。

〒101-0062 千代田区神田駿河台 2-3-10

東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野内

日本組織適合性学会認定制度委員会 QCWS 部会

部会長 木村 彰方

Tel; 03-5280-8056, Fax; 03-5280-8055, E-mail; jshiqcws.tis@mri.tmd.ac.jp

以上

日本組織適合性学会認定制度委員会 QCWS 部会構成員 (H19. 4. 1 現在)

木村彰方(部会長), 成瀬妙子(副部会長), 酒巻建夫 (DNA 部門長), 安波道郎 (DNA 副部門長), 赤座達也 (抗体部門長), 中島文明(抗体副部門長), 太田正穂, 小林賢, 柏瀬貢一, 斎藤敏, 佐田正晴, 田中秀則, 丸屋悦子

日本組織適合性学会 QCWS への参加同意ならびに誓約について(同意誓約書)

私(達)は、日本組織適合性学会 QCWS に参加することに関して、以下のことを十分理解した上で、組織適合性関連検査を実施することに同意します。また、ヒト由来試料の取り扱いについては、これを適正に管理し、目的外使用をしないことを誓約します。

(理解した□にチェックを入れてください)

- ☐ QCWS への参加は任意であること
- ☐ QCWS の目的
- ☐ QCWS の実施方法と概要
- ☐ QCWS で得られた結果の取り扱いと公表
- ☐ QCWS で配布されるヒト由来試料の取り扱い(組織適合性関連検査および研究目的に限って、適正に管理し、使用する。他の目的には転用しない。QCWS 後のヒト由来試料は責任をもって廃棄または標準試料として保管、使用する。)
- ☐ QCWS で配布されるヒト由来試料を用いた検査結果を提出すること(提出出来ない場合には、理由書を提出すること)
- ☐ QCWS 参加者情報の取り扱い
- ☐ QCWS から生じる知的財産権の帰属
- ☐

平成 年 月 日

QCWS への参加(参加部門に応じて□にチェックを入れてください)

- ☐ DNA-QC のみ, ☐ 抗体 QC のみ, ☐ DNA-QC と抗体 QC の両方

データ解析に必要な場合、解析担当者に施設情報を伝える(□にチェックしてください)

- ☐ 同意します(必要な場合には解析担当者と直接コンタクトします)
- ☐ 同意しません(解析担当者とは直接コンタクトしません)

施設名 _____

参加代表者(署名) _____

参加者(署名) _____

参加者(署名) _____

参加者(署名) _____

参加者(署名) _____

参加者(署名) _____

同意誓約書はファックスまたは郵送してください

組織適合性検査技術者認定制度 平成 20 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 20 年 9 月 20 日(土)あるいは 21 日(日)の予定(詳細は次号ならびに学会ホームページにて御案内いたします。)

場 所：大阪国際会議場(グランキューブ大阪)

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) HLA-DNA タイピングから個人の全ゲノム情報解読の時代へ

安波 道郎(長崎大学・国際連携研究戦略本部)

(2) HLA 抗体検出テクニックについて

中島 文明(日赤中央血液研究所・研究開発部)

(3) 腎移植とクロスマッチ・HLA 抗体検査：臨床側からの要望

小林 孝彰(名古屋大学医学部免疫機能制御学寄附講座)

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 20 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@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 20 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 20 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 20 年度・認定 HLA 検査技術者講習会 受講申込書

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

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

氏 名：

所 属：

住 所：〒

電 話 番 号：

FAX 番 号：

E メールアドレス：

HLA 検査技術者認定取得予定 ☐なし ☐あり → 平成 年度を予定

認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則の変更について

組織適合性技術者認定制度委員会

委員長 佐田 正晴

会員各位

平成 19 年 9 月 11 日の総会において、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則の一部変更が承認されましたのでお知らせします。

以下に規則の全文(変更箇所は下線で示す)を掲載します。

認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則

(目的)

第 1 条 この制度は、組織適合性に関する専門知識並びに精度の高い検査の施行を通じて、医療及び社会へ貢献できる認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者の育成を目的とする。

(定義)

第 2 条 認定 HLA 検査技術者とは、HLA 検査に関する基礎的な知識を有し、HLA 検査を正確に行える技能を有する者をいう。

(1) 認定 HLA 検査技術者の英語名称は、Certified HLA Technologist (JSHI) とする。

(2) 認定 HLA 検査技術者の英語略称は、HT/JSHI とする。

2 認定組織適合性指導者とは、HLA 検査に関する広範な知識を有し、かつ指導的立場に立てる者をいう。

(1) 認定組織適合性指導者の英語名称は、Certified Director for Histocompatibility (JSHI) とする。

(2) 認定組織適合性指導者の英語略称は、DH/JSHI とする。

(組織適合性技術者認定制度委員会)

第 3 条 組織適合性技術者認定制度委員会(以下「委員会」という。)は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度に関する必要事項を審議する。

2 委員会は、第 1 条の目的を達成するために、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者を認定する。

3 委員会の組織、運営については別に定める。

(指定履修課程)

第 4 条 委員会は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者育成のために、認定 HLA 検査技術者認定制度指定履修課程(以下「技術者履修課程」という。)及び認定組織適合性指導者認定制度指定履修課程(以下「指導者履修課程」という。)を別に定める。

(認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設)

第 5 条 認定 HLA 検査技術者育成のために、適当と認めた施設を認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設

(以下「指定施設」という。)として認定する。

- 2 委員会は、認定した施設に対して、「認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設認定証」を交付する。ただし、認定証の有効期間は 5 年とする。
- 3 指定施設は、5 年ごとに更新の手続きをしなければならない。
- 4 指定施設は、次の場合に認定が解除される。
 - (1) 第 5 条第 1 項に該当しなくなったとき。
 - (2) 指定施設の認定を辞退したとき。
 - (3) 更新手続きを行わなかったとき。

(認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設の基準)

第 6 条 指定施設は、次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 認定組織適合性指導者または HLA 検査技術者が勤務し、組織適合性検査に関する教育指導体制がとられていること。
- (2) 研修に関する要員、設備等が十分であること。
- (3) 備えるべき組織適合性検査の内容については別に定める。
- 2 外国における施設については委員会が別に定める。

(指定施設の認定及び認定更新)

第 7 条 指定施設の認定及び認定更新については、委員会の審議による。

(認定 HLA 検査技術者の認定試験受験資格基準及び申請手続き)

第 8 条 認定 HLA 検査技術者の認定試験受験資格基準は、申請の前年度までに次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 日本組織適合性学会(以下「学会」という。)の会員歴が通算して 3 年以上あること。
- (2) 組織適合性検査に関する業務経験が 3 年以上あること。
- (3) 5 年間で技術者履修課程に定められた講習の受講歴があること。
- (4) 別表により、5 年間で資格審査基準が 30 単位以上あること。但し、当学会の大会への参加が 5 単位以上含まれていなければならない。
- 2 認定 HLA 検査技術者の認定試験の受験を申請しようとする者は、次の各項の書類を委員会事務局に所定の期日までに提出しなければならない。
 - (1) 認定 HLA 検査技術者認定試験受験申請書(別記様式第 1)
 - (2) 資格・更新審査基準証明書(別記様式第 2)
 - (3) 講習修了証の写し
- 3 認定 HLA 検査技術者の認定試験の受験を申請する者は、受験料を委員会事務局に所定の期日までに納入しなければならない。
 - (1) 受験料は、15,000 円とする。

(認定 HLA 検査技術者申請者の認定資格審査、研修、試験及び登録)

第 9 条 委員会は、年 1 回申請書類に基づき申請者の資格審査を行う。

- 2 資格基準を満たす申請者は、委員会が定めた技術者履修課程に基づき指定施設で所定の実技等の研修を受講しなければならない。

- 3 研修の日時、場所等は資格審査終了後に各申請者に文書で通知する。
- 4 委員会は、実技等の研修が修了した者に対して、年1回試験(実技試験を含む)を行う。但し、実技試験はQCワークショップの参加歴がある場合には免除される。
- 5 認定試験に不合格の場合、研修歴は翌年の試験まで有効とする。
- 6 委員会は、認定HLA検査技術者としての適否を審査し、適格者を認定HLA検査技術者として「認定HLA検査技術者認定登録原簿」に登録する。

(認定HLA検査技術者の認定効力)

第10条 認定HLA検査技術者の資格は認定登録原簿に登録後発効する。

- 2 登録者には登録時に「認定HLA検査技術者認定証」を学会の会長から交付する。
- 3 登録者は、日本組織適合性学会誌に公告する。
- 4 認定証の有効期間は、登録した日から5年目の年末日までとする。

(認定HLA検査技術者の認定登録更新資格基準及び申請手続き)

第11条 認定HLA検査技術者の認定更新を申請する者は、更新申請日までに次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 認定証の登録年から更新申請時までの5年間に別表により資格審査基準が30単位以上あること。但し、当学会の大会への参加が5単位以上含まれていなければならない。
- (2) 更新申請日前の2年間に技術者履修課程に定められた講習を1回以上受講していること。
- (3) 更新申請日前の5年間に学会が主催するQCワークショップ集会への参加があること。
- 2 登録更新の申請をする者は、認定証の有効期間満了の1年前から半年前までの間に委員会事務局に次の各項の書類を提出しなければならない。
 - (1) 認定HLA検査技術者認定登録更新申請書(別記様式第3)
 - (2) 資格・更新審査基準証明書(別記様式第2)
 - (3) 講習修了証の写し
- 3 認定HLA検査技術者の認定更新を申請する者は、登録更新料を委員会事務局に所定の期日までに納入しなければならない。
 - (1) 登録更新料は、15,000円とする。

(認定組織適合性指導者の認定試験受験資格基準及び申請手続き)

第12条 認定組織適合性指導者の認定試験受験資格基準は、申請の前年度までに次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 認定HLA検査技術者として登録された年度から3年を経過した者。
- (2) 学会の会員歴が通算して7年以上あること。
- (3) 組織適合性検査に関する業務経験が7年以上あること。
- (4) 5年間で指導者履修課程に定められた講習の受講歴があること。
- (5) 5年間で学会が主催するQCワークショップ集会の参加歴があること。
- (6) 別表により、5年間で資格審査基準が70単位以上あること。但し、当学会の大会への参加が10単位以上含まれていなければならない。
- 2 認定組織適合性指導者の認定試験の受験を申請しようとする者は、次の各項の書類を委員会事務局に所定の期日までに提出しなければならない。

- (1) 認定組織適合性指導者認定試験受験申請書(別記様式第 4)
 - (2) 資格・更新審査基準証明書(別記様式第 2)
 - (3) 講習修了証の写し
- 3 認定組織適合性指導者の認定試験の受験を申請する者は、受験料を委員会事務局に所定の期日までに納入しなければならない。
- (1) 受験料は、30,000 円とする。

(認定組織適合性指導者認定申請者の認定資格審査、試験及び登録)

第 13 条 委員会は、年 1 回申請書類に基づき申請者の資格審査を行う。

- 2 委員会は、資格基準を満たす申請者に対して、年 1 回試験を行う。
- 3 委員会は、認定組織適合性指導者としての適否を審査し、適格者を認定組織適合性指導者として「認定組織適合性指導者認定登録原簿」に登録する。

(認定組織適合性指導者の認定効力)

第 14 条 認定組織適合性指導者の資格は認定登録原簿に登録後発効する。

- 2 登録者には登録時に「認定組織適合性指導者認定証」を学会の会長から交付する。
- 3 登録者は日本組織適合性学会誌に公告する。
- 4 認定証の有効期間は、登録した日から 5 年目の年末日とする。

(認定組織適合性指導者の認定登録更新資格基準及び申請手続き)

第 15 条 認定組織適合性指導者の認定更新を申請する者は、更新申請日までに次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 認定証の登録年から更新申請時までの 5 年間に別表により更新資格審査基準が 70 単位以上あること。
但し、日本組織適合性学会誌における原著論文、総説、または学会の大会における発表が 15 単位以上含まれていなければならない。また、原則として、当学会の大会への参加が 15 単位以上含まれていなければならない。
 - (2) 更新申請日前の 2 年間に指導者履修課程に定められた講習会を 1 回以上受講していること。
 - (3) 更新申請日前 5 年間に学会が主催する QC ワークショップ集会への参加歴があること。
- 2 登録更新の申請をする者は、認定証の有効期間満了の 1 年前から半年前までの間に委員会事務局に次の各項の書類を提出しなければならない。
- (1) 認定組織適合性指導者認定登録更新申請書(別記様式第 5)
 - (2) 資格・更新審査基準証明書(別記様式第 2)
 - (3) 講習修了証の写し
- 3 認定組織適合性指導者の認定更新を申請する者は、登録更新料を委員会事務局に所定の期日までに納入しなければならない。
- (1) 登録更新料は、30,000 円とする。

(認定組織適合性指導者の認定更新基準を満たさない場合の措置)

第 16 条 第 15 条第 1 項の更新申請資格基準を満たさない者であっても、第 11 条第 1 項の更新申請資格基準を満たしている場合には認定 HLA 検査技術者として更新することができる。

- 2 申請手続きは、第 11 条第 2 項及び第 3 項に従う。

- 3 次回の更新時に認定組織適合性指導者の更新申請資格基準を満たしていれば、認定組織適合性指導者へ認定変更することができる。

(認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定証の記載事項変更手続き)

第 17 条 認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定証の記載事項に変更が生じた者は、すみやかに委員会事務局に認定証記載事項変更申請書(別記様式第 6)を提出しなければならない。

- 2 変更手数料は、2,000 円とする。

(認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定証の再交付手続き)

第 18 条 認定証を紛失、破損などにより認定証の再交付を申請しようとする者は、別記様式第 7 でそれを気が付いた日から 30 日以内に申請しなければならない。

- 2 再交付手数料は、1,000 円とする。

(認定の取り消し)

第 19 条 認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者は次の各項の事由によりその資格を取り消される。

- (1) 認定 HLA 検査技術者又は認定組織適合性指導者の認定更新をしなかったとき。
- (2) 学会を退会したとき。
- (3) 認定 HLA 検査技術者又は認定組織適合性指導者としてふさわしくない行為があったとき。2 前項(3)の判定は、委員会が審議に基づき、これを行う。

(規則の変更)

第 20 条 この規則の変更は、委員会及び学会の理事会並びに評議員会の議決を経たのち、学会の総会の承認を得なければならない。

(細則)

第 21 条 この規則の実施に関し必要事項は、委員会の議決を経たのち、学会の理事会及び評議員会の承認を得て別に定める。

附 則

この規則は、平成 13 年 11 月 2 日から施行する。

平成 14 年 9 月 25 日改正

平成 19 年 9 月 11 日改正

この規則が施行された日から 2 年間に限り、認定組織適合性指導者の認定は、別に定める資格特例認定実施要領によって実施する。

平成 14 年度の認定 HLA 検査技術者の認定試験は、別に定める認定 HLA 検査技術者認定試験実施要領によって実施する。

(平成 14 年 9 月 25 日追加)

平成 15 年度の認定 HLA 検査技術者の認定試験は、別に定める認定 HLA 検査技術者認定試験実施要領によっ

て実施する。

(平成 19 年 9 月 11 日追加)

病気、出産などやむを得ない事情により更新資格基準を満たすことが出来なかった認定 HLA 検査技術者および認定組織適合性指導者は、理由書を添えて更新延長を申請することが出来るものとする。但し、認定有効期間は更新延長申請の有無によらず認定証に記載された期日までとする。

別表（第8条，第11条，第12条及び第15条関係）

種 類	単 位 数	備 考
原 著 論 文	筆頭者は一つにつき 15 単位とする。	日本組織適合性学会誌に限る。
	共著者は一つにつき 10 単位とする。	
	筆頭者は一つにつき 10 単位とする。	上記以外の組織適合性に関連するものに限る。
	共著者は一つにつき 7 単位とする。	
著 書・総 説	筆頭者は一つにつき 10 単位とする。	組織適合性に関連するものに限る。
	共著者は一つにつき 7 単位とする。	
学 会 発 表	筆頭者は一つにつき 10 単位とする。	日本組織適合性学会大会に限る。
	共著者は一つにつき 7 単位とする。	
	筆頭者は一つにつき 7 単位とする。	日本組織適合性学会地方会，米国組織適合性学会大会，欧州組織適合性学会大会，国際組織適合性ワークショップ及びアジア・オセアニア組織適合性ワークショップ，オーストラリア・東南アジア組織適合性検査学会に限る。
	共著者は一つにつき 5 単位とする。	
	筆頭者は一つにつき 5 単位とする。	上記以外の組織適合性に関連するものに限る。但し，抄録記録があるもの。
	共著者は一つにつき 3 単位とする。	
学 会 参 加	一回につき 5 単位とする。	日本組織適合性学会大会に限る。
	一回につき 3 単位とする。	日本組織適合性学会地方会，米国組織適合性学会大会，欧州組織適合性学会大会，国際組織適合性ワークショップ及びアジア・オセアニア組織適合性ワークショップ，オーストラリア・東南アジア組織適合性検査学会に限る。
	一回につき 2 単位とする。	上記以外の組織適合性に関する学会に限る。但し，5 年間で 10 単位を限度とする。
実技研修参加	一回につき 5 単位とする。	但し，認定 HLA 検査技術者の更新時において更新資格審査基準が規定単位数に達しない場合に限り 5 単位まで認める。
講 習 会 参 加	一回につき 5 単位とする。	日本組織適合性学会または組織適合性技術者認定制度委員会が主催するものに限る。
	一回につき 2 単位とする。	日本組織適合性学会または組織適合性技術者認定制度委員会が主催する以外の講習会で委員会が承認したものに限り，5 年間で 10 単位まで認める。但し，認定 HLA 検査技術者に限る。
QC ワークショップ 集 会 参 加	一回につき 5 単位とする。	

認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度規則

(目的)

第 1 条 この制度は、組織適合性に関する専門知識並びに精度の高い検査の施行を通じて、医療及び社会へ貢献できる認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者の育成を目的とする。

(定義)

第 2 条 認定 HLA 検査技術者とは、HLA 検査に関する基礎的な知識を有し、HLA 検査を正確に行える技能を有する者をいう。

(1) 認定 HLA 検査技術者の英語名称は、Certified HLA Technologist (JSHI) とする。

(2) 認定 HLA 検査技術者の英語略称は、HT/JSHI とする。

2 認定組織適合性指導者とは、HLA 検査に関する広範な知識を有し、かつ指導的立場に立てる者をいう。

(1) 認定組織適合性指導者の英語名称は、Certified Director for Histocompatibility (JSHI) とする。

(2) 認定組織適合性指導者の英語略称は、DH/JSHI とする。

(組織適合性技術者認定制度委員会)

第 3 条 組織適合性技術者認定制度委員会(以下「委員会」という。)は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度に関する必要事項を審議する。

2 委員会は、第 1 条の目的を達成するために、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者を認定する。

3 委員会の組織、運営については別に定める。

(指定履修課程)

第 4 条 委員会は、認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者育成のために、認定 HLA 検査技術者認定制度指定履修課程(以下「技術者履修課程」という。)及び認定組織適合性指導者認定制度指定履修課程(以下「指導者履修課程」という。)を別に定める。

(認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設)

第 5 条 認定 HLA 検査技術者育成のために、適当と認めた施設を認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設(以下「指定施設」という。)として認定する。

2 委員会は、認定した施設に対して、「認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設認定証」を交付する。ただし、認定証の有効期間は 5 年とする。

3 指定施設は、5 年ごとに更新の手続きをしなければならない。

4 指定施設は、次の場合に認定が解除される。

(1) 第 5 条第 1 項に該当しなくなったとき。

(2) 指定施設の認定を辞退したとき。

(3) 更新手続きを行わなかったとき。

(認定 HLA 検査技術者認定制度指定施設の基準)

第 6 条 指定施設は、次の各項のすべてを備えていなければならない。

(1) 認定組織適合性指導者または HLA 検査技術者が勤務し、組織適合性検査に関する教育指導体制がとら

れていること。

- (2) 研修に関する要員、設備等が十分であること。
- (3) 備えるべき組織適合性検査の内容については別に定める。

2 外国における施設については委員会が別に定める。

(指定施設の認定及び認定更新)

第 7 条 指定施設の認定及び認定更新については、委員会の審議による。

(認定 HLA 検査技術者の認定試験受験資格基準及び申請手続き)

第 8 条 認定 HLA 検査技術者の認定試験受験資格基準は、申請の前年度までに次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 日本組織適合性学会(以下「学会」という。)の会員歴が通算して 3 年以上あること。
 - (2) 組織適合性検査に関する業務経験が 3 年以上あること。
 - (3) 5 年間で技術者履修課程に定められた講習の受講歴があること。
 - (4) 別表により、5 年間で資格審査基準が 30 単位以上あること。但し、当学会の大会への参加が 5 単位以上含まれていなければならない。
- 2 認定 HLA 検査技術者の認定試験の受験を申請しようとする者は、次の各項の書類を委員会事務局に所定の期日までに提出しなければならない。
- (1) 認定 HLA 検査技術者認定試験受験申請書(別記様式第 1)
 - (2) 資格・更新審査基準証明書(別記様式第 2)
 - (3) 講習修了証の写し
- 3 認定 HLA 検査技術者の認定試験の受験を申請する者は、受験料を委員会事務局に所定の期日までに納入しなければならない。
- (1) 受験料は、15,000 円とする。

(認定 HLA 検査技術者申請者の認定資格審査、研修、試験及び登録)

第 9 条 委員会は、年 1 回申請書類に基づき申請者の資格審査を行う。

- 2 資格基準を満たす申請者は、委員会が定めた技術者履修課程に基づき指定施設で所定の実技等の研修を受講しなければならない。
- 3 研修の日時、場所等は資格審査終了後に各申請者に文書で通知する。
- 4 委員会は、実技等の研修が修了した者に対して、年 1 回試験(実技試験を含む)を行う。但し、実技試験は QC ワークショップの参加歴がある場合には免除される。
- 5 認定試験に不合格の場合、研修歴は翌年の試験まで有効とする。
- 6 委員会は、認定 HLA 検査技術者としての適否を審査し、適格者を認定 HLA 検査技術者として「認定 HLA 検査技術者認定登録原簿」に登録する。

(認定 HLA 検査技術者の認定効力)

第 10 条 認定 HLA 検査技術者の資格は認定登録原簿に登録後発効する。

- 2 登録者には登録時に「認定 HLA 検査技術者認定証」を学会の会長から交付する。
- 3 登録者は、日本組織適合性学会誌に公告する。
- 4 認定証の有効期間は、登録した日から 5 年目の年末日までとする。

(認定 HLA 検査技術者の認定登録更新資格基準及び申請手続き)

第 11 条 認定 HLA 検査技術者の認定更新を申請する者は、更新申請日までに次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 認定証の登録年から更新申請時までの 5 年間に別表により資格審査基準が 30 単位以上あること。但し、当学会の大会への参加が 5 単位以上含まれていなければならない。
 - (2) 更新申請日前の 2 年間に技術者履修課程に定められた講習を 1 回以上受講していること。
 - (3) 更新申請日前の 5 年間に学会が主催する QC ワークショップ集会への参加があること。
- 2 登録更新の申請をする者は、認定証の有効期間満了の 1 年前から半年前までの間に委員会事務局に次の各項の書類を提出しなければならない。
- (1) 認定 HLA 検査技術者認定登録更新申請書(別記様式第 3)
 - (2) 資格・更新審査基準証明書(別記様式第 2)
 - (3) 講習修了証の写し
- 3 認定 HLA 検査技術者の認定更新を申請する者は、登録更新料を委員会事務局に所定の期日までに納入しなければならない。
- (1) 登録更新料は、15,000 円とする。

(認定組織適合性指導者の認定試験受験資格基準及び申請手続き)

第 12 条 認定組織適合性指導者の認定試験受験資格基準は、申請の前年度までに次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 認定 HLA 検査技術者として登録された年度から 3 年を経過した者。
 - (2) 学会の会員歴が通算して 7 年以上あること。
 - (3) 組織適合性検査に関する業務経験が 7 年以上あること。
 - (4) 5 年間で指導者履修課程に定められた講習の受講歴があること。
 - (5) 5 年間で学会が主催する QC ワークショップ集会の参加歴があること。
 - (6) 別表により、5 年間で資格審査基準が 70 単位以上あること。但し、当学会の大会への参加が 10 単位以上含まれていなければならない。
- 2 認定組織適合性指導者の認定試験の受験を申請しようとする者は、次の各項の書類を委員会事務局に所定の期日までに提出しなければならない。
- (1) 認定組織適合性指導者認定試験受験申請書(別記様式第 4)
 - (2) 資格・更新審査基準証明書(別記様式第 2)
 - (3) 講習修了証の写し
- 3 認定組織適合性指導者の認定試験の受験を申請する者は、受験料を委員会事務局に所定の期日までに納入しなければならない。
- (1) 受験料は、30,000 円とする。

(認定組織適合性指導者認定申請者の認定資格審査、試験及び登録)

第 13 条 委員会は、年 1 回申請書類に基づき申請者の資格審査を行う。

- 2 委員会は、資格基準を満たす申請者に対して、年 1 回試験を行う。
- 3 委員会は、認定組織適合性指導者としての適否を審査し、適格者を認定組織適合性指導者として「認定組織適合性指導者認定登録原簿」に登録する。

(認定組織適合性指導者の認定効力)

第14条 認定組織適合性指導者の資格は認定登録原簿に登録後発効する。

- 2 登録者には登録時に「認定組織適合性指導者認定証」を学会の会長から交付する。
- 3 登録者は日本組織適合性学会誌に公告する。
- 4 認定証の有効期間は、登録した日から5年目の年末日とする。

(認定組織適合性指導者の認定登録更新資格基準及び申請手続き)

第15条 認定組織適合性指導者の認定更新を申請する者は、更新申請日までに次の各項のすべてを備えていなければならない。

- (1) 認定証の登録年から更新申請時までの5年間に別表により更新資格審査基準が70単位以上あること。
但し、日本組織適合性学会誌における原著論文、総説、または学会の大会における発表が15単位以上含まれていなければならない。また、原則として、当学会の大会への参加が15単位以上含まれていなければならない。
- (2) 更新申請日前の2年間に指導者履修課程に定められた講習会を1回以上受講していること。
- (3) 更新申請日前5年間に学会が主催するQCワークショップ集会への参加歴があること。
- 2 登録更新の申請をする者は、認定証の有効期間満了の1年前から半年前までの間に委員会事務局に次の各項の書類を提出しなければならない。
 - (1) 認定組織適合性指導者認定登録更新申請書(別記様式第5)
 - (2) 資格・更新審査基準証明書(別記様式第2)
 - (3) 講習修了証の写し
- 3 認定組織適合性指導者の認定更新を申請する者は、登録更新料を委員会事務局に所定の期日までに納入しなければならない。
 - (1) 登録更新料は、30,000円とする。

(認定組織適合性指導者の認定更新基準を満たさない場合の措置)

- 第16条** 第15条第1項の更新申請資格基準を満たさない者であっても、第11条第1項の更新申請資格基準を満たしている場合には認定HLA検査技術者として更新することができる。
- 2 申請手続きは、第11条第2項及び第3項に従う。
 - 3 次回の更新時に認定組織適合性指導者の更新申請資格基準を満たしていれば、認定組織適合性指導者へ認定変更することができる。

(認定HLA検査技術者及び認定組織適合性指導者認定証の記載事項変更手続き)

- 第17条** 認定HLA検査技術者及び認定組織適合性指導者認定証の記載事項に変更が生じた者は、すみやかに委員会事務局に認定証記載事項変更申請書(別記様式第6)を提出しなければならない。
- 2 変更手数料は、1,000円とする。

(認定HLA検査技術者及び認定組織適合性指導者認定証の再交付手続き)

- 第18条** 認定証を紛失、破損などにより認定証の再交付を申請しようとする者は、別記様式第7でそれを気が付いた日から30日以内に申請しなければならない。
- 2 再交付手数料は、2,000円とする。

(認定の取り消し)

第 19 条 認定 HLA 検査技術者及び認定組織適合性指導者は次の各項の事由によりその資格を取り消される。

- (1) 認定 HLA 検査技術者又は認定組織適合性指導者の認定更新をしなかったとき。
- (2) 学会を退会したとき。
- (3) 認定 HLA 検査技術者又は認定組織適合性指導者としてふさわしくない行為があったとき。2 前項(3)の判定は、委員会が審議に基づき、これを行う。

(規則の変更)

第 20 条 この規則の変更は、委員会及び学会の理事会並びに評議員会の議決を経たのち、学会の総会の承認を得なければならない。

(細則)

第 21 条 この規則の実施に関し必要事項は、委員会の議決を経たのち、学会の理事会及び評議員会の承認を得て別に定める。

附 則

この規則は、平成 13 年 11 月 2 日から施行する。

平成 14 年 9 月 25 日改正

この規則が施行された日から 2 年間に限り、認定組織適合性指導者の認定は、別に定める資格特例認定実施要領によって実施する。

平成 14 年度の認定 HLA 検査技術者の認定試験は、別に定める認定 HLA 検査技術者認定試験実施要領によって実施する。

(平成 14 年 9 月 25 日追加)

平成 15 年度の認定 HLA 検査技術者の認定試験は、別に定める認定 HLA 検査技術者認定試験実施要領によって実施する。

(平成 19 年 9 月 11 日追加)

病気、出産などやむを得ない事情により更新資格基準を満たすことが出来なかった認定 HLA 検査技術者および認定組織適合性指導者は、理由書を添えて更新延長を申請することが出来るものとする。但し、認定有効期間は更新延長申請の有無によらず認定証に記載された期日までとする。

別表 (第8条, 第11条, 第12条及び第15条関係)

種 類	単 位 数	備 考
原 著 論 文	筆頭者は一つにつき 15 単位とする。	日本組織適合性学会誌に限る。
	共著者は一つにつき 10 単位とする。	
	筆頭者は一つにつき 10 単位とする。	上記以外の組織適合性に関連するものに限る。
	共著者は一つにつき 7 単位とする。	
著 書・総 説	筆頭者は一つにつき 10 単位とする。	組織適合性に関連するものに限る。
	共著者は一つにつき 7 単位とする。	
学 会 発 表	筆頭者は一つにつき 10 単位とする。	日本組織適合性学会大会に限る。
	共著者は一つにつき 7 単位とする。	
	筆頭者は一つにつき 7 単位とする。	日本組織適合性学会地方会, 米国組織適合性学会大会, 欧州組織適合性学会大会, 国際組織適合性ワークショップ及びアジア・オセアニア組織適合性ワークショップ, オーストラリア・東南アジア組織適合性検査学会に限る。
	共著者は一つにつき 5 単位とする。	
	筆頭者は一つにつき 5 単位とする。	上記以外の組織適合性に関連するものに限る。但し, 抄録記録があるもの。
	共著者は一つにつき 3 単位とする。	
学 会 参 加	一回につき 5 単位とする。	日本組織適合性学会大会に限る。
	一回につき 3 単位とする。	日本組織適合性学会地方会, 米国組織適合性学会大会, 欧州組織適合性学会大会, 国際組織適合性ワークショップ及びアジア・オセアニア組織適合性ワークショップ, オーストラリア・東南アジア組織適合性検査学会に限る。
	一回につき 2 単位とする。	上記以外の組織適合性に関する学会に限る。但し, 5 年間で 10 単位を限度とする。
実技研修参加	一回につき 5 単位とする。	但し, 認定 HLA 検査技術者の更新時において更新資格審査基準が規定単位数に達しない場合に限り 5 単位まで認める。
講 習 会 参 加	一回につき 5 単位とする。	日本組織適合性学会または組織適合性技術者認定制度委員会が主催するものに限る。
	一回につき 2 単位とする。	日本組織適合性学会または組織適合性技術者認定制度委員会が主催する以外の講習会で委員会が承認したものに限り, 5 年間で 10 単位まで認める。但し, 認定 HLA 検査技術者に限る。
QC ワークショップ 集 会 参 加	一回につき 5 単位とする。	

平成 20 年度 認定 HLA 検査技術者認定試験申請要領

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

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

平成 21 年度に受験を予定している人は、今年度までに講習会のみを受講しておく必要があります。また、平成 22 年度以降に受験を予定している人も講習会の受講は可能です。なお、講習会の詳細については本誌別頁に記載の「平成 20 年度認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ」をご覧ください。

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

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

なお、(2)の業務とは、組織適合性に関する検査、研究および教育をいいます。

資格審査基準の詳細については、本号別項に記載された規則または学会ホームページ <http://jshi.umin.ac.jp/certification/> をご覧ください。

2 申請書提出期限: 平成 20 年 4 月 19 日(金)までに到着するよう簡易書留で下記の事務局へ送付してください。

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

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

- (2) 申請料振り込み用紙の写し
- (3) 80 円切手を貼った受験票をお送りするための返信用封筒(申請者へ送れるように住所・氏名などを記載しておいてください。)

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

資格審査結果については、6月中旬以降にメールで通知する予定です。

申請書類のファイルは、学会のホームページ <http://jshi.umin.ac.jp/certification/> からダウンロードできます。

5 申請料: 15,000 円

振込先

郵便振替口座: 00160-7-482142

口座名義: 組織適合性認定制度委員会

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

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

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

実施日時としては、7月中の2ないし3日間(施設によって異なります)を予定しています。なお、開催都市は、東京と京都を予定しています。5月下旬頃、資格審査結果と同時に実施施設と日時についてのアンケートをメールでお送りいたします。

7 実技・筆記試験: 実技試験、筆記試験の日時および会場は未定です。

MHC 誌次号に掲載するとともに HP にアップします。

試験の日時および会場については本人に郵送で8月下旬ごろ通知する予定です。但し、実技試験は規則第9条4項により、QC ワークショップの参加歴がある場合、免除されます。

平成 20 年度 認定組織適合性指導者資格認定試験申請要領

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

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

平成 21 年度に受験を予定している人は、今年度までに講習会のみを受講しておく必要があります。また、平成 22 年度以降に受験を予定している人も講習会の受講は可能です。なお、認定組織適合性指導者講習会は、2008 年 9 月 19 日から 21 日に開催される第 17 回日本組織適合性学会大会(大阪)の講演などの受講をもって代えます。詳細については本誌別頁に記載の「平成 20 年度認定組織適合性指導者講習会のお知らせ」をご覧ください。

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

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

なお、(2)の業務とは、組織適合性に関する検査、研究および教育をいいます。

資格審査基準の詳細については、本号別項に記載された規則または学会ホームページ <http://jshi.umin.ac.jp/certification/> をご覧ください。

2 申請書提出期限: 平成 20 年 4 月 19 日(金)までに到着するよう簡易書留で下記の事務局へ送付すること。

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

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

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

資格審査結果については、6月中旬以降にメールで通知する予定です。

申請書類のファイルは、学会のホームページ <http://jshi.umin.ac.jp/certification/> からダウンロードできます。

5 申請料: 30,000 円

振込先

郵便振替口座: 00160-7-482142

口座名義: 組織適合性認定制度委員会

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

6 試験: 試験日時および会場は未定です。

MHC 誌次号に掲載するとともに HP にアップします。

試験内容、日時、会場については、本人に郵送で8月下旬ごろ通知する予定です。

平成 20 年度 認定組織適合性指導者および認定 HLA 検査技術者認定証更新申請要領

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

平成 15 年度 (2003 年度) に認定を受けられた方は、来年度 (平成 20 年度) に更新を迎えられます。下記の更新基準を満たしているかをご確認いただき、必要書類を提出して更新手続きを行ってください。

1 申 請 資 格:

(認定 HLA 検査技術者)

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

(認定組織適合性指導者)

- (1) 認定証の登録年度から 5 年間に更新資格審査基準が 70 単位以上あること。但し、日本組織適合性学会誌における原著論文、総説、または学会の大会における発表が 15 単位以上含まれていなければならない。また、原則として当学会の大会への参加が 15 単位以上含まれていなければならない。
- (2) 認定証の有効期間満了前の 2 年間に指導者履修課程に定められた講習会を 1 回以上受講していること。
- (3) 認定証の登録年度から 5 年間に学会が主催する QC ワークショップ集会への参加歴があること。資格審査基準の詳細については、本号別項に記載された規則または学会ホームページ <http://jsbi.umin.ac.jp/certification/> をご覧ください。

2 申請書提出期限: 平成 19 年 4 月 19 日 (金) までに到着するよう簡易書留で下記の事務局へ送付してください。

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

- 4 提出書類:
- (1) 認定 HLA 検査技術者の場合
認定 HLA 検査技術者認定更新申請書 (様式第 4) および様式第 2 の 1 から 2 の 6
 - (2) 認定組織適合性指導者の場合
認定組織適合性指導者更新申請書 (様式第 5) および様式第 2 の 1 から 2 の 6
 - (3) 申請料振り込み用紙の写し

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

資格審査結果については、6月中旬以降にメールで通知する予定です。

申請書類のファイルは、学会のホームページ <http://jshi.umin.ac.jp/certification/> からダウンロードできます。

5 申請料: 認定 HLA 検査技術者 15,000 円

認定組織適合性指導者 30,000 円

振込先

郵便振替口座: 00160-7-482142

口座名義: 組織適合性認定制度委員会

郵便振替用紙の通信覧に、「認定 HLA 検査技術者登録更新料」または「認定組織適合性指導者登録更新料」と記入し、その下に、「申請者名」を必ず書き込んでください。

6 認定証交付: 認定証の交付は、第17回大会の2日目(9月20日)に大会事務局にて行います。大会当日に受け取れない方は、120円切手を貼付したA4用紙が入る封筒(申請者へ送れるように住所・氏名などを記載しておいてください)を同封してください。

平成 20 年度認定 HLA 検査技術者認定試験受験申請書

認定 HLA 検査技術者認定試験の受験を申請します。

※受験番号

平成 年 月 日申請			
フリガナ			性別
受験者氏名 (日本語名)	印		男・女
受験者氏名 (英語名)	First name	Second name	
生年月日	(歳)		
本籍地 (都道府県名)			
フリガナ			
現住所			
電話	()	ファックス	()
フリガナ			
勤務先名			
フリガナ			
勤務先住所			
電話	()	ファックス	()
電子メール	@		

写真を貼付

申請日前 6 ヶ月以内に撮影されたもので
大きさは 4×3 cm

平成 年 月 日撮影

※受付日

※書類の不備

※受験の出欠

※合否判定

平成 20 年度認定 HLA 検査技術者認定試験受験票

※受験番号

フリガナ			性別
受験者氏名			男・女
生年月日	(歳)		
本籍地 (都道府県名)			
フリガナ			
現住所			

写真を貼付

申請日前 6 ヶ月以内に撮影されたもので
大きさは 4×3 cm

平成 年 月 日撮影

注 太枠内の必要事項を楷書で記入すること。※欄は記入しないこと。

(別記様式第2の1)

資格審査基準証明書

申請日：平成 年 月 日

申請者名			
生年月日	昭和 年 月 日		
勤務先			
勤務先住所			
電話番号			
1 日本組織適合性学会会員歴	年 月加入	申請日までの会員歴通算	年
2 QCワークショップ参加歴		申請日までの参加歴通算	年
3 組織適合性関連業務歴 (内訳)		申請日までの業務歴通算	年
4 講習会参加歴	平成 年 月参加		
5 総取得単位数			単位
(内訳)	原著論文	単位	
	著書	単位	
	学会発表	単位	
	学会参加	単位	
	講習会	単位	
	QCワークショップ集会参加	単位	
	実技研修会	単位	
以上、相違ないことを証明します。			
平成 年 月 日			
申請者名			印

切り取り線

(別記様式第2の2)

単位内訳書 (原著論文・総説)

申請者名

番号	著者名	題名	発表雑誌名	巻	ページ	発行年

(別記様式第2の3)

単位内訳書 (著書・総説)

申請者名

番号	著者名	題名	本名	出版社名	ページ	発行年

(別記様式第2の4)

番号	発 表 者 名	題 名	学 会 名	開 催 地	抄 録	巻	ペー ジ	発行年

貼 付 用 台 紙

(この用紙に学会参加証及び講習会参加証を貼付してください。)

単位内訳書・学芸会等の参加)

名
著
請
申

[illegible]

平成20年度認定組織適合性指導者認定試験受験申請書

認定組織適合性指導者認定試験の受験を申請します。

※受験番号

平成 年 月 日申請

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

※受付日

※書類の不備

※受験の出欠

※合否判定

平成20年度認定組織適合性指導者認定試験受験票

※受験番号

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

注 太枠内の必要事項を楷書で記入すること。※欄は記入しないこと。

平成20年度認定HLA検査技術者認定更新申請書

認定HLA検査技術者の認定更新を申請いたします。

				平成 年 月 日申請	
フリガナ			性別		写真を貼付 申請日前6ヵ月以内に撮影されたもので 大きさは4×3cm
申請者氏名	㊟		男・女		
フリガナ	First name	Second name			
受験者氏名 (英語名)					
生年月日	(歳)				
本籍地 (都道府県名)					平成 年 月 日撮影
フリガナ					
現住所					
電話	()	ファックス	()		
認定証番号					
発行年月日	平成 年 月 日				
フリガナ					
勤務先名					
フリガナ					
勤務先住所					
電話	()	ファックス	()		
電子メール	@				

注 太枠内の必要事項を楷書で記入すること。※欄は記入しないこと。

※受付日

※書類の不備

※更新認定証番号・発行日

平成20年度認定組織適合性指導者認定更新申請書

認定組織適合性指導者の認定更新を申請いたします。

				平成 年 月 日申請	
フリガナ			性別		写真を貼付 申請日前6ヵ月以内に撮影されたもので 大きさは4×3cm
申請者氏名	㊟		男・女		
フリガナ	First name	Second name			
受験者氏名 (英語名)					
生年月日	(歳)				
本籍地 (都道府県名)					平成 年 月 日撮影
フリガナ					
現住所					
電話	()	ファックス	()		
認定証番号					
発行年月日	平成 年 月 日				
フリガナ					
勤務先名					
フリガナ					
勤務先住所					
電話	()	ファックス	()		
電子メール	@				

注 太枠内の必要事項を楷書で記入すること。※欄は記入しないこと。

※受付日	※書類の不備	※更新認定証番号・発行日

第11回 HLA-QC ワークショップレポート

第11回 HLA-QC ワークショップレポート —全体経過—

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),
日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会#

#: 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会構成員: 木村彰方^{1,2)}, 赤座達也¹⁰⁾, 太田正穂³⁾, 柏瀬貢一⁴⁾, 小林賢⁵⁾, 酒巻建夫⁶⁾, 佐田正晴⁷⁾, 田中秀則⁴⁾, 中島文明⁸⁾, 成瀬妙子⁹⁾, 丸屋悦子¹⁰⁾, 安波道郎^{2,11)} (所属: ¹⁾東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, ²⁾東京医科歯科大学大学院疾患生命科学部ゲノム多様性研究室, ³⁾信州大学医学部法医学, ⁴⁾東京都赤十字血液センター検査部, ⁵⁾日本薬科大学生物学, ⁶⁾国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室, ⁷⁾国立循環器病センター研究所, ⁸⁾神奈川県赤十字血液センター検査部, ⁹⁾東海大学医学部分子生命科学系, ¹⁰⁾特定非営利活動法人 HLA 研究所, ¹¹⁾長崎大学熱帯医学研究所免疫遺伝学)

1. ワークショップ集会までの経過

今回で通産 11 回目を迎えた HLA-QC ワークショップ (QCWS) は, 昨年度に引き続き認定制度委員会の主催で実施された。平成 18 年 9 月に QCWS 部会において今年度の QCWS の大まかな方針が討議されたが, 学会に設置した研究倫理審査委員会による検討と承認を受けた運営方法に従って, DNA タイピング QC (DNA-QC) と抗体を用いた QC (抗体 QC) を実施している。平成 18 年 11 月に MHC 誌上と学会ホームページ上に QCWS 案内が出され, 平成 19 年 3 月の締め切りまでに 171 名(67 施設)から参加申し込みがあった(後日, 抗体 QC に 1 施設 1 名の追加があった)。参加申し込み, 参加者との連絡のいずれについても原則としてインターネットを利用 (HP からの申し込み, 電子メール連絡) することとして運営した。参加者数が確定した 4 月に, QCWS 部会において具体的なサンプルの選定, QCWS のテーマ(後述)の決定と電子媒体を用いたデータ収集の方法を決定した。ついで, 4 月上旬から中旬にかけて, 同意書・誓約書を得た後に施設を単位としてサンプルを送付した。5 月上旬にデー

タ入力フォーマットを送付し, 6 月上旬のデータ送付締め切りまでに 67 施設からデータが回収された。それらの生データはとりまとめた上で 8 月上旬に参加者に配布されるとともに各解析担当者に送付され, 8 月下旬まで解析された。今年度から, 解析結果を参加者に直接配布するのではなく, QCWS 部会の HP 上に解析が終了した項目ごとに順次掲載し, 参加者が必要に応じてダウンロード出来る形式とした(表 1)。さらに, 今後の QCWS 運営の参考とするために, QCWS 集会当日に参加者へのアンケート調査を実施した。

2. QCWS のテーマ

組織適合性技術者認定制度の主旨にそった QCWS のテーマを設定することとして, 今回の QCWS のテーマを QCWS 部会で検討した結果, DNA-QC 部門は, (1) 日常的に遭遇しない珍しいタイプ, (2) ろ紙サンプル, (3) 全ゲノム増幅 (WGA) サンプル, (4) タイピング精度(再現性)の検討をテーマとし, 抗体 QC 部門は, (1) 明確な抗体特異性を有する IgM 抗体, (2) 明確な抗体特異性を有する IgG 抗体, (3)

表 1 第 11 回 QCWS の実施経過

平成 18 年 9 月	QCWS 部会において第 11 回 QCWS の方針決定 DNA-QC 部門；1) 日常的に遭遇しないタイプ (主に A, B 座)、2) ろ紙付着細胞サンプル、3) 全ゲノム増幅サンプル、4) タイピング精度 (再現性) 抗体 QC 部門；1) 明確な抗体特異性を有する IgM 抗体、2) 明確な抗体特異性を有する IgG 抗体、3) 広範囲に抗体特異性を有するサンプル、4) C ローカス抗原に対する抗体、5) HLA クラス II 抗原に対する抗体
平成 18 年 11 月	第 10 回 QCWS 案内の作成、 「MHC」および HP への掲載
平成 19 年 3 月	参加申し込み；67 施設 (171 名) DNA-QC 参加：62 施設、抗体 QC 参加：40 施設
平成 19 年 3 月-4 月	QCWS 部会内各部門において具体的なサンプルの決定： QCWS 部会にて解析担当者の決定、QCWS 集会の方針決定
平成 18 年 4 月上旬-中旬	倫理審査委員会での審議に基づき、同意・誓約書を取得した上で、QCWS サンプルの配布
平成 18 年 5 月上旬	データ入力フォーマット送付
平成 18 年 6 月上旬	データ回収締め切り
平成 18 年 6 月—8 月	参加者への生データ送付、解析担当者によるデータ解析
平成 18 年 8 月中旬—下旬	QCWS 部会 HP 開設、解析結果の掲載

表 2 QCWS サンプル (DNA 部門) の形態と容量

サンプル ID	形態	容量
H1901	ゲノム DNA 溶液	4ug
H1902	ゲノム DNA 溶液	4ug
H1903	WGA DNA 溶液	2ug
H1904	ゲノム DNA 溶液	4ug
H1905	ろ紙付着細胞	3x10 ⁵ 細胞
H1906	ろ紙付着細胞	3x10 ⁵ 細胞

表 3 QCWS サンプル (抗体部門) の特異性

サンプル ID	形状	抗体特異性 (LCT 法)	抗体力価 (LCT 法)	抗体性状
SH1801	抗血清	A3 A11 A32 A74	x1	HLA クラス I-IgM
SH1802	抗血清	B18 B35 B37 B51 B5102 B52 B53	x8~32	HLA クラス I-IgG
SH1803	抗血清	A32 Bw4 B46 Cw9 Cw10	不明	HLA クラス I-IgG HLA クラス I-IgM?
SH1804	抗血清	Cw1	x1	HLA クラス I-IgG HLA クラス II-IgG

広範囲に抗体特異性を有するサンプル、(4) C ローカス抗原に対する抗体、(5) HLA クラス II 抗原に対する抗体の検討をテーマとした。医療業務 (臨床検査など) 以外で行われるヒト試料の解析は国が定める種々の研究指針に従って行わなければならないため、

日本組織適合性学会研究倫理審査委員会によって倫理的側面を検討し、承認された運営方法に従った。今回の QCWS では、研究倫理指針の対象外とされるヒト試料 (これまでによく研究され、学術的な価値が明らかであり、かつ研究者が容易に手に入れられ

るもの)を用いることとし、具体的には、国際 HLA ワークショップ解析で広く用いられ、種々の細胞バンクに登録されている B リンパ芽球様細胞株(表 2)および市販抗血清(表 3)を用いた。さらに研究試料の目的外使用の禁止、各施設から寄せられたデータを解析することの承諾を含めて、参加者から同意誓約書の提出を受けた上で試料を配布した。

3. 参加者・参加施設

参加者は総数 172 名であり、以下の 68 施設に所属していた。参加者数、参加施設数とも昨年より微減であった。なお、当日集会のみの参加が 29 名あった。

参加施設名：札幌北楡病院 臨床検査部、岩手医科大学付属病院 免疫血清検査室、鷹揚郷腎研究所 弘前病院 HLA 検査室、北海道大学病院 検査部、北海道赤十字血液センター 検査部検査三課、株式会社ベリタス 技術営業部、日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所 研究開発部 研究三課、東京都赤十字血液センター 検査部 検査三課、東京女子医大 腎センター移植免疫研究室、東京女子医科大学 泌尿器科、株式会社 三菱化学ビーシーエル 遺伝子検査部、株式会社 エスアールエル 遺伝子検査課、北里大学病院 臨床検査部 DNA 検査室、公立大学法人 横浜市立大学付属病院 輸血部、株式会社 保健科学研究所 特殊分析センター 染色体遺伝子関連・細免検査グループ、神奈川県赤十字血液センター 検査部検査一課、東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学、東海大学医学部 教育研究支援センター、東海大学医学部付属病院 細胞移植再生医療科、千葉東病院 HLA 検査室、千葉県赤十字センター 検査二課、自治医科大学付属病院 輸血・細胞移植部、株式会社ビー・エム・エル 特殊分析部 特殊技術課、防衛医科大学校病院 検査部研究室、長野赤十字病院 検査部、信州大学医学部 法医学教室、株式会社 医学生物研究所 応用技術部、静岡県立総合病院検査部、名古屋第二赤十字病院 組織適合検査室、愛知県赤十字血液センター 検査二課、岐阜大学病院 検査部、三重大学医学部付属病院 輸血部、大阪府赤十字センター 検査二課、

大阪市立大学医学部付属病院 輸血部、大阪府立急性期・総合医療センター 組織適合検査室、国立循環器病センター・臨床検査部、関西医科大学病院輸血部、NPO 法人 HLA 研究所、京都大学医学部付属病院 輸血細胞治療部、兵庫県赤十字センター検査一課検査三係、岡山県赤十字血液センター 検査課、広島県赤十字血液センター 技術検査課、県立広島病院 臨床研究検査科、広島大学病院 輸血部、湧永製薬(株)バイオ事業開発部 製品開発グループ、香川県立中央病院 中央検査部、徳島大学病院 輸血部、徳島赤十字病院検査部、高知医療センター 三菱化学 BCL ラボ、愛媛県立衛生環境研究所 疫学情報科、福岡大学医学部 内科学第四、福岡赤十字病院 HLA 検査室、福岡県赤十字血液センター検査二課、佐賀県立病院好生館 検査科、長崎大学国際連携研究戦略本部、国立病院機構 長崎医療センター 輸血管理室、熊本県赤十字センター 検査課、大分県立病院 輸血部、金沢医科大学病院 中央臨床検査部、富山大学付属病院 輸血・細胞治療部、立川総合病院 臨床検査科、新潟市民病院 臨床検査課、新潟県赤十字血液センター 技術部 検査課、福島県立医科大学付属病院 輸血・移植免疫部、宮城県赤十字血液センター 検査課、仙台社会保険病院 検査部、山形県立中央病院 輸血部(以上のべ 68 施設、郵便番号順)

4. QCWS に関するアンケート調査

QCWS 集会時に参加者へのアンケートを実施した。有効回答数は 41 であり、以下の通りの結果であった。

Q1 あなたについてお聞かせください

1. 所属組織

病院 48.3%，血液センター 24.4%，大学 19.5%，受託検査センター 7.3% 他

2. 職種

実務者 80.5% 他

3. HLA との関わり

8 年以上 51.2%，4-7 年 29.3%，1-3 年 19.5%

4. QCWS (実技)参加

4-7 回 46.3%，1-3 回 34.1%，初めて 7.3% 他

5. QCWS (集会)参加

4-7 回 46.3%, 1-3 回 26.8%, 初めて 17.1% 他

Q2 DNA-QC についてお聞かせください

1. 今年度 DNA-QC

参加 70.7%, 不参加 22.0%, 以前参加・今年度不参加 7.3%

2. DNA-QC の数

ちょうどいい 75.6%, 少ない 7.3%

3. DNA-QC のサンプル数

ちょうどいい 61.0%, 多い 17.1%, 少ない 4.9%

4. DNA-QC のサンプル

日本人にありふれたタイプ 61.0%, 外国人にありふれたタイプ 61.0%, 日本人で珍しいタイプ 58.5%, 極めて珍しいタイプ 4.9%

Q3 抗体 QC についてお聞かせください

1. 今年度の抗体 QC に

参加した 48.8%, 参加していない 31.7%, 以前参加・今年度不参加 14.6%

2. 抗体 QC は年に 1 度だけですが, この数は?

ちょうどいい 58.5%, 少ない 9.8%

3. 抗体 QC のサンプルは例年 6 本ですが, この数は?

ちょうどいい 58.5%, 多い 7.3%

4. 抗体 QC のサンプルとして今後使用して欲しいものは? (複数回答可)

日本人にありふれた抗原に対する抗血清 51.2%, 移植患者由来の抗血清 36.6%, 日本人で珍しい抗原に対する抗血清 31.7%, HLA 以外の移植関連抗原に

対する抗血清 14.5%, 外国人にありふれた抗原に対する抗血清 12.2%, きわめて珍しい抗原に対する抗血清 4.9%

Q4 今後の QCWS についてお聞かせください

1. 今後 QCWS に参加されますか?

今後とも参加 80.5%, 未定 14.5%

5. まとめ

QCWS は組織適合技術者認定制度委員会の担当となったため, 昨年度までと同様, 認定制度の主旨にそった試料の構成や選択を行い, QCWS 集会の前に試料の構成を公表し, 参加者自身が QCWS 集会までに結果を自身で検討できるようにした。また, あらかじめ生データ資料を CDR で送付することによって, 参加者が全体の解析も自身で可能とした。さらに, 今年度から QCWS 部会のホームページを立ち上げ, ここに解析結果を掲載することで QCWS 集会に参加していない集会でも全体の解析結果を閲覧可能とした。HLA タイピング技術を向上させる上では, いかなるサンプルをどのようにタイピングするかなど, 種々異なる条件を考慮してタイピング方法を選択し, タイピング結果を評価することが必要である。また, 今回初めて参加者へのアンケート調査を実施した。有効回答数は 41 と少なかったが, 今後に関する希望等を含めある程度の意見が得られたため, 試料取扱いの倫理的側面を考慮しつつ, 認定制度の主旨を生かした QCWS を行っていく上での参考とする予定である。

第 11 回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —クラス I およびクラス II 総合判定データ解析—

平田康司 (岡山県赤十字血液センター検査課), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

1. はじめに

昨年同様, 今年度も総合判定データ解析をクラス I

およびクラス II を一つにまとめて行い, 検査報告数の多かった A, B, C および DRB1 の正解率を中心と

表1 検査方法別およびローカス別の検査結果報告施設数

	ローカス									
	A	B	C	DRB1	DRB3/4/5	DQA1	DQB1	DPA1	DPB1	
提出データ数(全62施設)	61	61	40	61	35	3	27			5
SSO	45	45	25	45	22	1	12			3
SP	18	19	15	20	14	1	13			
SBT	8	8	8	10			2			3
RFLP				2	1	1	2			2
SSCP				1	1	1	1			

表2 検査方法・方法数およびローカス別の検査結果報告施設数

[illegible]

表3 検査方法・方法数およびローカス項目の検査結果報告施設数

ローカス組 検査方法	ローカス組												合計	検査方法数
	ABC DRB1 DRB3/4/5 DQB1 DPB1	ABC DRB1 DRB3/4/5 DQB1	ABC DRB1 DQA1 DQB1 DPB1	ABC DRB1 DQB1 DPB1	ABC DRB1 DQB1	ABC DRB1 DQB1	ABC DRB1 DRB3/4/5	ABC DRB1	AB DRB1 DRB3/4/5 DQB1	AB DRB1	ABC	DRB1		
SSO			1	1						11	4		27	43
SSP		7							4		1		13	
SBT									2(1)			1	3	
SSO+SSP		3	1						1	1			9	17
SSO+SBT	1												5	
SSO+RFLP	1			2					1				2	
SSP+SBT	1												1	2
SSO+SSP+SSCP	1												1	
SSO+SSP+RFLP													1	
合計	1	14	1	1	3	6	3	10	1	16	4	1	62	62

WGA(whole genome amplification)を使用した施設数を()にて示した。

表4 A ローカス・正解率

	QC ID	HLA型	DNA型	Low			High/Middle		
				報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率
A	H1901	A24	A*2402 (A*24)	60	60	100.0%	54	54	100.0%
	H1902	A1	A*0101 (A*01)	61	59	96.7%	54	54	100.0%
	H1903	A24	A*2402 (A*24)	61	60	98.4%	54	54	100.0%
	H1904	A11 A29	A*1101 (A*11) A*2901 (A*29)	61	53	86.9%	52	52	100.0%
	H1905	A24	A*2402 (A*24)	46	46	100.0%	45	45	100.0%
	H1906	A11 A2403	A*1101 (A*11) A*2403 (A*24)	44	41	93.1%	40	37	92.5%
合計および平均				333	319	95.8%	299	296	99.0%

表5 B ローカス・正解率

	QC ID	HLA型	DNA型	Low			High/Middle		
				報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率
B	H1901	B48 B77	B*4801 (B*48) B*1513 (B*15)	59	58	98.3%	52	49	94.2%
	H1902	B41	B*4101 (B*41)	58	57	98.3%	51	51	100.0%
	H1903	B48 B77	B*4801 (B*48) B*1513 (B*15)	60	58	96.7%	52	50	96.1%
	H1904	B7 B61	B*0705 (B*07) B*4002 (B*40)	60	60	100.0%	54	53	98.1%
	H1905	B48 B77	B*4801 (B*48) B*1513 (B*15)	44	44	100.0%	44	41	93.1%
	H1906	B75(B15) B55(B56)	B*1502 (*9521) (B*15) (B*95) B*5502 (*5601) (B*55) (B*56)	42	42	100.0%	41	41	100.0%
合計および平均				323	319	98.8%	294	285	96.9%

表6 Cw ローカス・正解率

	QC ID	HLA型	DNA型	Low			High/Middle		
				報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率
Cw	H1901	Cw8	Cw*0801 (Cw*08)	38	37	97.3%	32	32	100.0%
	H1902	(Cw17)	Cw*1701 (Cw*17)	37	34	91.9%	31	31	100.0%
	H1903	Cw8	Cw*0801 (Cw*08)	37	35	94.6%	30	30	100.0%
	H1904	(Cw15)	Cw*1502/13 (Cw*15) Cw*1505	38	38	100.0%	32	31	96.9%
	H1905	Cw8	Cw*0801 (Cw*08)	25	25	100.0%	24	24	100.0%
	H1906	Cw8 (Cw12)	Cw*0801 (Cw*08) Cw*1203 (Cw*12)	24	23	95.8%	22	21	95.5%
合計および平均				199	192	96.5%	171	169	98.8%

表7 DR ローカス・正解率

	QC ID	HLA型	DNA型	Low			High/Middle		
				報告数	正解数	正解率	報告数	正解数	正解率
DR	H1901	DR12 DR15	DRB1*1202 (DRB1*12) DRB1*1502/19 (DRB1*15)	60	60	100.0%	55	50	90.9%
	H1902	DR11	DRB1*1101 (DRB1*11)	61	59	96.7%	53	53	100.0%
	H1903	DR12 DR15	DRB1*1202 (DRB1*12) DRB1*1502/19 (DRB1*15)	61	60	98.4%	55	51	92.7%
	H1904	DR10 DR11	DRB1*1001 (DRB1*10) DRB1*1106 (DRB1*11)	61	61	100.0%	56	55	98.2%
	H1905	DR12 DR15	DRB1*1202 (DRB1*12) DRB1*1502/19 (DRB1*15)	48	48	100.0%	47	43	91.5%
	H1906	DR14 DR15	DRB1*1405 (DRB1*14) DRB1*1501 (DRB1*15)	47	47	100.0%	45	45	100.0%
合計および平均				338	335	99.1%	311	297	95.5%

して検討を行った。なお、各施設より提出された総合判定にコンセンサスアリル(2桁レベルおよび4桁レベル)と同様の表記が含まれるものを正解とし、正解率を算出した。

なお、参加施設、DNAソースの情報等は他の稿を参考願いたい。

2. 検討方法

以下の項目について解析を行った。

- 2.1 検査方法別およびローカス別の検査結果報告施設数
- 2.2 検査方法・方法数およびローカス別の検査結果報告施設数
- 2.3 検査方法・方法数および検査ローカス項目の検査結果報告施設数
- 2.4 ローカス別の正解率

3. 結果および考察

3.1 検査方法別およびローカス別の検査結果報告施設数

表1に検査方法別およびローカス別の検査結果報告施設数を示した。データを提出した62施設の内、SSO法を使用している施設が最も多く、次いでSSP法が多く使用されていた。SBT法およびRFLP法を用いている施設数はほぼ昨年度と同様であった。本年度はSSCP法を用いた施設は1施設であった。また、ローカス別ではAローカス61施設、Bローカス61施設、Cローカス40施設、DRB161施設の報告であった。

3.2 検査方法・方法数およびローカス別の検査結果報告施設数

表2に検査方法・方法数およびローカス別の検査結果報告施設数を示した。A, B, CおよびDRB1のいずれにおいても1法のみで検査結果を報告した施設が最も多く、2法の方法を用いた施設では、SSO法とSSP法もしくはSSOとSBT法の組合せで検査を行った施設が多かった。

3.3 検査方法・方法数および検査ローカス項目の検査結果報告施設数

表3に検査方法・方法数および検査ローカス項目の検査結果報告施設数を示した。本QCWSに参加されている施設として検査施設が多く、ルーチン検査で必要とされているローカスの組合せ(あるいは試薬)の選択がなされている傾向があらわれているようである。

3.4 ローカス別の正解率

表4, 表5, 表6および表7にA, B, CおよびDRB1の各ローカス別の正解率を示した。すべてのローカスにおいてほぼ90%以上の正解率を示したが、これまでと同様にA*2901の検出不可によるアサインミスがみられた(H1904)。DRB1においてはDRB1*1502のアサインミスがみられた(H1901(H1903, H1905))。

以上、総合判定において各項目について解析を行ったが、検査方法(試薬)、検査結果の「理解・解釈」および結果表記方法については今後の検討課題であるように思われた。

第11回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門)

—方法論別生データ検討

(いわゆるルミネックス法を除く) PCR-SSO 法—

酒巻建夫(国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

1. SSO 法キットと参加施設

PCR-SSO 法を使用した施設は 45 施設あり解答を寄せた 62 施設の 73% であった。SSO 法のうちルミネックス法を除くと 26 施設がエントリーした。その内訳はダイナルリライキットが **19D001, 002, 003, 008, 011, 012, 018, 020, 023, 026, 027, 032, 046, 047, 048, 053, 054, 055, 057, 058, 061, 062** の 22 施設であった。その中で単独使用(**太字**で表示)は 15 施設, 7 施設は他法との併用であった。ワクナガの MPH2 キットは 19D014, 029, 038, 060 の 4 施設で, 高精度キットまたは他法の併用であった。イノジェネ社のイノリパキットは 19D014 が使用し, 他法との併用であった。SSO 法では多量のテンプレート DNA を必要とする SSP 法に比較し少量のテンプレート DNA で実施できるのでろ紙サンプルや whole genome amplification (WGA) サンプルなどを含め多くの施設が H1901 から H1906 までタイピング結果報告していた。

2. 分析方法

各施設から送られた生データスコアと HLA タイプを比較した。ワクナガキットとイノジェネキットの参加施設が少ない為に解析からは除外した。リライキットでは A 座は従来の 43 プローブキットに加え最新の 48 プローブキットを使用した施設があった。そのままでは比較ができないので 48 プローブの順に 43 プローブスコアを移動した。43 プローブと 48 プローブの対応表は表 1 に示した。報告書のスペースの関係から, すべての生データは参加施設に送付した CD-R に載せ, 今回の報告書には記載を省

表 1 Dynal Reli HLA-A probe 対応

部位aa#	48 Probe kit	43 probe kit
5	1	なし
5	2	1
5	3	2
6	4	3
21	5	なし
54	6	4
59	7	5
60	8	6
58	9	7
59	10	8
59	11	9
62	12	10
67	13	11
67	14	12
71	15	13
70+70	16	14
74	17	15
74	18	16
74	19	17
75	20	18
All Exon 2	21	19
92	22	20
93	23	21
94	24	22
93	25	23
93	26	24
96	27	なし
104	28	なし
141	29	25
149	30	26
147	31	27
149	32	28
174	33	29
153	34	30
154	35	31
152	36	32
160	37	33
161	38	34
161	39	35
159	40	36
159	41	37
164	42	38
164	43	39
162	44	40
60+79	45	41
161+168	46	なし
Intensity control probe	47	42
Assay control probe	48	43

略した。

3. スコアー化生データの相違

HLA-A, B, DRB, DQB アリルのタイピングにおいて、特異的プローブとの反応スコアーは陽性(スコアー 4-8)と陰性(1-2)ではおおむね一致していた。しかし施設間でもっともスコアーにバラツキがみられたのは内部に設定してある基準プローブのスコアーであった。スコアー 1 から 8 まで大きな開きがあった。本キットでは基準コントロールプローブの発色強度がスコアー 4 程度に設定され、その基準よりも濃いものを陽性と判定するように調整されている。特異的プローブも内部コントロールプローブもロットにより若干強度が異なることがあるが、この原因としてはプローブの配列そのものを変更していないとすればメーカー側の原因としてストリップに結合してあるプローブの多少による影響がある。今回の参加施設においてはいくつかの施設で同一のロットを使用しているのでロット間の差異を考慮せずに施設間の差異を比較することが可能であった。施設によりプローブの発色とバックグラウンドから絶対的なスコアー化の基準はないと考えられるが、同一ロットでも基準プローブがきわめて強く発色する場合と逆にほとんど発色がみられない場合などから検査を実施する側に原因があると考えられる。PCR 産物量、発色時の温度設定や反応時間、振とうの有無、使用している洗浄液そのものなどが異なると発色程度にバラツキが起こる。内部コントロールプローブの発色が濃く出たり薄く出たりしている施設ではプロトコール通り行われているか再度チェックする必要がある。

4. アサインについて

発色プローブからタイプを出すに当たりほとんどの施設ではコンピュータ解析プログラムを使用していると考えられる。HLA 型(血清対応型)に読み替えることについてはほぼ間違えることなく行われていた。プローブとの反応が同じでも DNA (型) が異なっていた。DNA 型の表記法では本学会の標準化委員会での提唱に即した方法による記載が行われていない例が多く認められた。さらに HLA クラス II ア

リルについて日本人に認められる連鎖不平衡によるアリルのみ考慮に入れたタイプを選択するなど誤る例が認められた。

5. HLA-A 座について

A 座では 22 施設が解答を寄せた。48 プローブキット、43 プローブキットともに全般的に陽性プローブ、陰性プローブに対して良好な反応を示した。H1901, 1903, 1905 検体は同一検体であった。19D055 と 19D061 施設では 48 プローブキットで 4 番目に対する反応が擬陽性となっていたが、本来このプローブはスコアー 8 で強く反応するので、過剰に判定したと考えられた。多くの施設がこのプローブの反応について陰性の場合にもスコアー 2 としているので、交差性があるプローブと考えられる。H1906 検体については 19D062 では多数の偽陰性や擬陽性のプローブ反応が見られたが、PCR 増幅がうまく行われなかった可能性を示している。このことは試料として送られたる紙から各施設が抽出をした DNA に何らかの問題があることを示唆するものである。43 番目のプローブを陽性と判定した施設 (19D020, 047, 048) が A*2403 とアサインしたりしているが、このプローブが陽性ならば A*2402 と判定すべきであろう。44 番目のプローブを陰性と判定した 1 施設 (19D054) は 42 番目のプローブも陰性として A*1115 とアサインしているが 42 番目を陽性として A*1104 も含めてアサインすべきだろう。

6. HLA-B 座について

B 座には 22 施設が解答を寄せ、全施設が 62 プローブキットを使用していた。全般的に偽陽性や偽陰性の反応が少なくおおむね良好な結果を示した。19D020 の施設では H1901, 1903, 1905 検体で B*1513 ではなく B*1502/88 とアサインしていた。原因は 27 番目のプローブを陰性と誤って判定したため、他に同じロットを使用した施設が 2 つあり、ともに陽性と判定している。日本人では希なタイプが出たために陰性と判定したと考えられる。19D055 施設では 31 番目のプローブを陽性、32 番目プローブを陰性としているがタイプは B*4803 ではなく B*4801 としているので、スコアーの記載ミスと思

われる。同様に 19D054 施設ではスコア 18 と記入していたが結果報告するときに見直しをしていないのではないかと推測された。

7. HLA-C 座について

D-003, 012, 020, 027, 046, 047 の 6 施設が参加した。キットはポジティブコントロールを含め昨年同様に 37 プローブで判定するようになっていた。生データは各施設ともほぼ一致していた。H1906 の検体にたいし 19D012 の施設では 1 プローブの擬陰性があり 1 アリルの特異性が抜けていた。

8. HLA-DRB について

DRB 座については 22 施設が参加し、全例プローブ数 54 のキットを使用していた。相変わらず DRB1 のアリル報告はしていても DRB3-5 遺伝子の結果報告をしない施設が認められた。DRB3-5 アリルについてはマニュアル判定になるためと考えられる。DRB1-DRB3, 4, 5-DQB1 連鎖から正確なタイピングが可能となるのでは非、常にアサインするように心がけるべきだろう。DRB1 遺伝子に加え、DRB3 や DRB5 遺伝子が増幅されるような例ではアサインアリルの組み合わせが増加し判定が難しくなる。

リライの判定プログラムでは 86 番目のアミノ酸がクリシンかバリンによるグループとして可能性のアリルを表示しているが、キット使用では実際に区別できる例は少ない。H1901, 1903, 1905 検体では DRB5 遺伝子が 0101 アリルになるので日本人ではほとんど例外なく DRB1*1501 になるために、QCWS の H1901 検体についても日本人の連鎖を考えて DRB1*1501 グループのみを正解として記載した施設が多く認められた。実際には DRB1*1502 が正解で、連鎖として DRB5*0101 と DQB1*0502 になっていた。86 番目のコドンが区別できないもので DRB1*1501/02/04/+ と表記すべきであろう。DR15,

DR16 関連では日本人に強く見られる連鎖はむしろ例外的で世界的にはこのような組み合わせが多数存在する。この検体では B77 抗原が見られることから日本人由来の検体ではないと気がつけば正解率も向上すると思われる。H1903, H1905 の検体について生データ上は H1901 と遜色なく反応していた。

H1902 検体と H1904 についてはほぼ問題なくアサインされていた。

H1906 の検体は H1701 と同一の検体であり、2 年前には DRB1*1405 と 1501 の特異性が決定できたが、最新のアリルの登録からリライキットではジェネリック増幅プライマーでは DRB1*1152 と DRB1*1405 が区別できない。このケースでは DR3, 11, 13, 14 用のプライマーを使用しても区別はできない。ただしこの検体では 1 アリルのみが増幅されるので 86 番目のグリシンとバリンの判定が行われる。リライのキットでは 16 番目のアミノ酸に対するプローブが入れてないために DRB1*1405 の区別がつかない。しかしながら多くの施設では DRB1*1405 を採用したのは希なタイプではなく頻度が高く確率的に可能性のあるアリルを選択したと考えられる。今後も個人レベルの SNP を新抗原として認定されるようになると 2 桁レベルの区別ができないようなことが頻発すると考えられる。

9. HLA-DQB1 について

DQB1 座に対しては 19D003, 012 の 2 施設が参加した。プローブの反応は一部で不一致が認められた。

10. リライキットのまとめ

生データを比較すると各施設間のバラツキも少なく、良好な反応を示していた。通常の DNA 検体であれ、WGA 産物であれ、ろ紙付着細胞サンプルであれ、十分に対応していた。HLA 型(血清型)への読替には問題がないが、最終的なアリルの記載ではルールを守らない施設間が多く、課題が残った。

第11回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —生データ解析：いわゆる“Luminex 法”—

丸屋悦子(特定非営利活動法人HLA 研究所), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

1. はじめに

第11回 QCW は昨年度に比べ Luminex 法を使用した施設の減少(10% 減)が見られ, 使用されたキット(今年は●・■・▲で表記する)は昨年と同じメーカーで, 使用 Lab 数はメーカーにより減少がみられた(表1)。今年度は各施設別, キット別の解析評価のレベルアップをおこない, キット別・タイピング座位別の検定可能プローブの評価をおこなった。参加施設の多い HLA-A, C, B, DR について報告する。

評価方法

1. PCR の増幅効率と精度(増幅領域を過不足なく増幅する)

2. プローブの反応性(実験条件の整備状況の把握)

上記2点について, 使用された HLA-typing kit は3社(●・■・▲), これらの kit を用いて提出された生データ (CSV file) から蛍光値を用い解析し, 総合的な評価を試みた。

2. 配布 DNA 6 種の HLA typing (A, B, C, DR) 判定結果の比較

今回配布された6種の DNA は4種の細胞由来

(H1901 = H1903 = H1905, H1902, H1906)である。H1901, H1903, H1905 については同一細胞由来で, 細胞から分離した DNA, ろ紙に付着させたもの, WGA (whole genome amplification) により増幅した DNA であった。同一細胞から異なった方法でえられたテンプレートがタイピングに及ぼす影響の有無を検証する目的で配布された。参加施設のタイピング結果を使用 kit 別に分類し座位別に比較した(表2-5)。

HLA-A 座

1 施設で検体の取り違いと思われる記載があった。その他については表記法や細部の判定結果などにバラツキはみられたものの大きな問題点はなかった。同一細胞由来の3検体についても A 座タイピング結果は施設ごとに完全に一致(1 施設のみフィルターで検査不能)していた。

HLA-B 座

同一細胞由来の3検体について, 1 施設の判定が他施設と一致しなかった (HLA-B77 vs B75)。その原因は日本人にまれな抗原型またはアリル型の場合,

表1 使用キット別参加施設一覧

施設名	1 D004	2 D005	3 D006	4 D009	5 D010	6 D015	7 D017	8 D021	9 D025	10 D028	11 D030	12 D034	13 D036	14 D037	15 D041	16 D049	17 D056	18 D059	Total
●	○										○	○		○	○	○			6
■	○	○	○			○	○	○				○		○				○	9
▲				○	○				○	○	○		○					○	7



CSV fileの提出が無かった。

表 2 HLA-A 座判定結果一覧

HLA-A locus		H1901		H1902		H1903		H1904		H1905		H1906	
使用キット	#	Lot	施設コード	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型
●	1	F003A	19D004	A*2402+	-	A*0101+	-	A*2402+	-	A*1101+	A*2901+	A*1101+	A*2403+
	2	F003A	19D030	A*2402/03/05+	-	A*0101/02/03+	A*0136	A*2402/03/05+	-	A*1101/03/06+	A*2901/12	A*1101/03/04+	A*2403/22/23+
	3	F003A	19D034	A*2402/03+	-	A*0101/02+	-	A*2402/03+	-	A*1101/03	A*2901/12	A*1101/03+	A*2403/10+
	4	F003A	19D049	A*2402/03/05+	-	A*0101/3604+	-	A*2402/03/05+	-	A*1101/03/06+	A*2901/12	A*1101/03/04+	A*2403/10/22+
	5	F004A	19D037	A*2402/05/09+	-	A*0101/02/04+	-	A*2402/05/09+	-	A*1101/03/07+	A*2901/02/04+	A*1101/03/05+	A*2403/22/23+
	6	F004A	19D041	A*2402/09/11+	-	A*0101/04/08+	-	A*2402/09/11+	-	A*1101/03/06+	A*2901/12/15+	A*1101/03/04+	A*2403/10/22+
■	1	8	D005	A*2402/05/09N+	-	A*0101/01N/04N+	-	A*2402/05/09N+	-	A*1101/01N/02+	A*2901/02/03+	A*2402/05/09N+	-
	2	8	D015	A*2402/05/09N+	A*2402/09N/11N+	A*0101/01N/02+	A*0101/01N/04N+	A*2402/05/09N+	A*2402/09N/11N+	A*1101/02/03+	A*2901/01N/02+	A*1101/02/03+	A*2403/10/22+
	3	8	D021	A*2402/05/09N+	-	A*0101/01N/02+	-	A*2402/05/09N+	-	A*1101/02/03+	A*2901/01N/02+	A*1101/02/03+	A*2403/10/22+
	4	8	D056	A*2402/09/11+	A*2402/05/09+	A*0101/04/09+	A*0101/04/09+	A*2402/09/11+	A*2402/05/09+	A*1101/02/03+	A*2901/02/04+	-	-
▲	5	3JPN	D006	A*2402/05/09+	-	A*0101/02/04+	-	A*2402/05/09+	-	A*1101/03/07+	A*2901/04/06+	A*1101/03/07+	A*2410
	6	3JPN	D037	A*2402/05/09+	-	A*0101/02/04+	-	A*2402/05/09+	-	A*1101/03/07+	A*2901/02/04+	A*1101/03/05+	A*2403/22/23+
	1	003	19D009	A*24	-	A*01	-	A*24	-	A*11	A*29	A*11	A*24
	2	003	19D025	A*2402/05/09N+	-	A*0101/03/04N+	-	A*2402/05/09N+	-	A*1101/03/05+	A*2901/02/04+	A*1101/03/04+	A*2403/10/22+
	3	003	19D030	A*2402/05/07+	-	A*0101/03/04N+	-	A*2402/05/07+	-	A*1101/03/05+	A*2901/02/04+	A*1101/03/04+	A*2403/22/23+
	4	002	19D010	A*2402/05/07+	-	A*0101/03/04+	-	A*2402/05/07+	-	A*1101/03/05+	A*2901/02/04+	A*1101/03/04+	A*2403/10/22+
	5	002	19D028	A*2402/05/07+	-	A*0101/03/04N+	-	A*2402/05/07+	-	A*1101/03/05+	A*2901/02/04+	A*1101/03/05+	A*2403/22/23+
	6	002	19D036	A*2402/05/09N+	-	A*0101/03/04N+	-	A*2402/05/09N+	-	A*1101/03/05+	A*2901/02/04+	A*1101/03/04+	A*2403/10/22+
	7	001	19D059	A*2402/05/07+	-	A*0101/09/09+	-	A*2402/05/07+	-	A*1101/03/05+	A*2901/02/04+	A*1101/03/04+	A*2403/10/22+

表 3 HLA-B 座判定結果一覧

HLA-B locus		H1901		H1902		H1903		H1904		H1905		H1906			
使用キット	#	Lot	施設コード	H1901		H1902		H1903		H1904		H1905		H1906	
				DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型		
●	1	F003B	19D004	B*1513	B*4801/04/09/11	-	B*4101/05/06/+	B*1513	B*4801/04/09/11	B*0705/+	B*4002/+	B*1513	B*4801/04/09/11	B*1502/88	B*5502/16/19
	2	F003B	19D030	B*1513	B*4801/04/09/+	-	B*4101/05/06/+	B*1513	B*4801/04/09/+	B*0705/06/40	B*4002/27/35/+	B*1513	B*4801/04/09/+	B*1502	B*5502
	3	F003B	19D034	B*1502/88	B*4801/04/+	-	B*4101/05/+	B*1502/88	B*4801/04/+	B*0705/06/+	B*4002/27/+	B*1502/88	B*4801/04/+	B*1502/88	B*5502/16/+
	4	F003B	19D037	B*1513	B*4801/09/11	-	B*4101/05/06/+	B*1513	B*4801/09/11	B*0705/06/17	B*4002/09/27/+	B*1513	B*4801/09/11	B*1502	B*5502/12/16/+
	5	F003B	19D049	B*1513	B*4801/04/09/+	-	B*4101/05/06/+	B*1513	B*4801/04/09/+	B*0705/06/40	B*4002/27/35/+	B*1513	B*4801/04/09/+	B*1502/88	B*5502/16/19
	6	F004B	19D041	B*1513	B*4801/04/09/+	-	B*4101/05/06/+	B*1513	B*4801/04/09/+	B*0705/06/40	B*4002/27/40/+	B*1513	B*4801/04/09/+	B*1502/9521	B*5502/5601/+
■	1	11	D005	B*1513	B*4801/09/11	-	B*4101/05/07	B*1513	B*4801/09/11	B*0705/06/17	B*4002/04/09/+	増幅不良		B*1502/9512	B*5502/12/16/+
	2	11	D015	B*1513	B*4801/09/11	B*4101/06/07	B*4101/05/06/+	B*1513	B*4801/09/11	B*0705/06/17	B*4002/04/09/+	B*1513	B*4801/09/11	B*1502/9512	B*5502/12/16/+
	3	11	D021	B*1513	B*4801/09/11	-	B*4101/05/06/+	B*1513	B*4801/09/11	B*0705/06/17	B*4002/04/09/+	B*1513	B*4801/09/11	B*1502/9512	B*5502/12/16/+
	4	11	D056	B*1513	B*4801/09/11	B*4101/06/07	B*4101/05/06/+	B*1513	B*4801/09/11	B*0705/06/17	B*4002/04/09/+				
▲	5	3JPN	D006	B*1513	B*4801/09/11	-	B*4101/05/06/+	B*1513	B*4801/09/11	B*0705/06/17	B*4002/09/27/+	B*1513	B*4801/09/11	B*1502	B*5502/12/16/+
	6	3JPN	D037	B*1513	B*4801/09/11	-	B*4101/05/06/+	B*1513	B*4801/09/11	B*0705/06/17	B*4002/09/27/+	B*1513	B*4801/09/11	B*1502	B*5502/12/16/+
	1	001	19D059	B*1513	B*4801/09	-	B*4101/05/06	B*1513	B*4801/09	B*0705/06/28	B*4002/09/27/+	B*1513	B*4801/09	B*1502/88	B*5501/02/05/+
	2	002	19D010	B*1513	B*4801/09	-	B*4101/05/06	B*1513	B*4801/09	B*0705/06/28	B*4002/09/27/+	B*1513	B*4801/09	B*1502/88	B*5501/02/05/+
	3	002	19D028	B*1513	B*4801/09	B*4101/05/06	-	B*1513	B*4801/09	B*0705/06/28	B*4002/09/27/+	B*1513	B*4801/09	B*1502/88	5501/02/05/+
	4	003	19D009	B*1513	B*4801/09	B*4101/05/06	B*4101/05/06	B*1513	B*4801/09	B*07	B*40	B*1513	B*4801/09	B*15	B*55
	5	003	19D025	B*1513	B*4801/09	-	B*4101/05/06	B*1513	B*4801/09	B*0705/06/28	B*4002/09/27/+	B*1513	B*4801/09	B*1502/88	B*5501/02/05/+
	6	003	19D030	B*1513	B*4801/09	-	B*4101/05/06	B*1513	B*4801/09	B*0705/06/28	B*4002/09/27/+	B*1513	B*4801/09	B*1502/88	B*5501/02/05/+
	7	003	19D036	B*1513	B*4801/09	-	B*4101/05/06	B*1513	B*4801/09	B*0705/06/28	B*4002/09/27/+	B*1513	B*4801/09	B*1502/88	B*5501/02/05/+

表 4 HLA-C 座判定結果一覧

HLA-C locus		H1901		H1902		H1903		H1904		H1905		H1906	
使用キット	#	Lot	施設コード	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型
●	1	F003C	19D034	Cw*0801/04+	-	Cw*1701/02/03+	-	Cw*1502/05	Cw*1505/13	Cw*0801/04+	-	Cw*0804	Cw*1203
	2	F003C	19D037	Cw*0801/04/08/+	-	Cw*1701/02/03/+	-	Cw*1505	Cw*1502/13	Cw*0801/04/08/+	-	Cw*0801/08	Cw*1203/06/12/+
	3	F003C	19D041	Cw*0801/04/08/+	-	Cw*1701/02/03/+	-	Cw*1502/13	Cw*1505	Cw*0801/04/08/+	-	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07/+
	4	F003C	19D049	Cw*0801/04/08/+	-	Cw*1701/02/03/+	-	Cw*1502/05/13	-	Cw*0801/04/08/+	-	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07/+
■	1	6	D006	Cw*0801/08	-	Cw*1701/02/03	-	Cw*1502/03/05/+	-	Cw*0801/08	-	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07/+
	2	6	D021	Cw*0801/08	-	Cw*1701/02/03/+	-	Cw*1502/03/05/+	-	Cw*0801/08	-	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07/+
	3	7	D005	Cw*0801/08	-	Cw*1701/02/03/+	-	Cw*1502/03/05/+	-	Cw*0801/08	-	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07/+
	4	7	D015	Cw*0801/08	-	Cw*1701/02/03/+	-	Cw*1502/05/06/+	Cw*1502/03/05/+	Cw*0801/08	-	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07/+
▲	1	001	19D036	Cw*0801/08	-	Cw*1701/02/03	-	Cw*0801/08	-	Cw*0801/08	-	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07/+
	2	002	19D025	Cw*0801/08	-	Cw*1701/02/03	-	Cw*0801/08	-	Cw*0801/08	-	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07/+
	3	002	19D028	Cw*0801/08	-	Cw*1701/02/03	-	Cw*0801/08	-	Cw*0801/08	-	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07/+
	4	002	19D030	Cw*0801/08	-	Cw*1701/02/03	-	Cw*0801/08	-	Cw*0801/08	-	Cw*0801/08	Cw*1203/06/07/+
	5	003	19D009	Cw*0801/08	Cw*0801/08	Cw*1701/02/03	Cw*0801/08	Cw*0801/08	Cw*0801/08	Cw*0801/08	Cw*0801/08	Cw*08	Cw*12

表 5 HLA-DR 座判定結果一覧

HLA-DR locus		H1901		H1902		H1903		H1904		H1905		H1906	
使用キット	#	Lot	施設コード	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型	DNA型
●	1	F003D	19D004	DRB1*1502/11/14	DRB1*101/05/08/+	-	DRB1*1502/11/14	DRB1**202	DRB1**1001	DRB1**1502/11/14	DRB1**1202	DRB1**1405/43/45	DRB1**1501/03/06/+
	2	F003D	19D030	DRB1*1502/11/14	DRB1**101/05/08/+	DRB1**11/13	DRB1**1202	DRB1**1502/11/14	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/11/14	DRB1**1405/43/45	DRB1**1501/03/06/+
	3	F003D	19D034	DRB1*1502/11/+	DRB1**101/05/+	-	DRB1**1202	DRB1**1502/11/+	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/11/+	DRB1**1405/43/+	DRB1**1501/03/+
	4	F003D	19D037	DRB1*1502/08/14	DRB1**101/05/12/+	-	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14	DRB1**1405/45	DRB1**1501/13/16
	5	F003D	19D049	DRB1*1502/11/14	DRB1**101/1307/+	-	DRB1**1202	DRB1**1502/11/14	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/11/14	DRB1**1405/43/45	DRB1**1501/03/06/+
	6	F004	19D041	DRB1*1502/14/19	DRB1**101/1346/+	-	DRB1**1202/13	DRB1**1502/14/19	DRB1**1001	DRB1**1202/13	DRB1**1502/14/19	DRB1**1405/43	DRB1**1501/03/06/+
■	1	11	D005	DRB1*1502/08/14	DRB1**101/05/12/+	-	DRB1**1202/13	DRB1**1502/08/14	DRB1**1001	DRB1**1202/13	DRB1**1502/08/14	DRB1**1405/45	DRB1**1501/13/16/+
	2	11	D015	DRB1*1502/08/14	DRB1**101/12/15/+	DRB1**101/05/12/24/+	DRB1**1202/13	DRB1**1502/08/14	DRB1**1001	DRB1**1202/13	DRB1**1502/08/14	DRB1**1405/45	DRB1**1501/13/16
	3	11	D021	DRB1*1502/08/14	DRB1**101/05/12/+	-	DRB1**1202/13	DRB1**1502/08/14	DRB1**1001	DRB1**1202/13	DRB1**1502/08/14	DRB1**1405/45	DRB1**1501/13/16/+
	4	11	D056	DRB1*1502/08/14	DRB1**101/12/15/+	DRB1**101/05/12/24/+	DRB1**1202/13	DRB1**1502/08/14	DRB1**1001	DRB1**1202/13	DRB1**1502/08/14	DRB1**1405/45	DRB1**1501/13/16/+
	5	5JPN	D004						DRB1**1001	DRB1**1502/11/14	DRB1**1202		
	6	5JPN	D006	DRB1*1502/08/14	DRB1**101/05/12/+	-	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14	DRB1**1405/45	DRB1**1501/13/16
▲	7	5JPN	D037	DRB1*1502/08/14	DRB1**101/05/12/+	-	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14	DRB1**1405/45	DRB1**1501/13/16
	1	001	19D025	DRB1*1502/08/14/+	DRB1**101/05/11/+	-DRB1*0309/17/+	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1405/45	DRB1**1501/03/06/+
	2	001	19D028	DRB1*1502/08/14/+	DRB1**101/05/11/+	-	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1405/45	DRB1**1501/03/06/+
	3	001	19D036	DRB1*1502/08/14/+	DRB1**101/05/11/+	-DRB1*0309/17/+	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1405/45	DRB1**1501/03/06/+
	4	001	19D059	DRB1*1502/08/14/+	DRB1**101/05/11/+	-DRB1*0309/17/+	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1405/45	DRB1**1501/03/06/+
	5	003	19D009	DRB1*1502/08/14/+	DRB1**11	-	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1405/45	DRB1**1501/03/06/+
	6	003	19D030	DRB1*1502/08/14/+	DRB1**03/11	DRB1**11/13/15	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1405/45	DRB1**1501/03/06/+
	7	200	19D010	DRB1*1502/08/14/+	DRB1**101/05/11/+	-	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1001	DRB1**1202	DRB1**1502/08/14/+	DRB1**1405/45	DRB1**1501/03/06/+

表 6 1probe の反応性の違いにより生じた抗原型不一致 ; HLA-B 座

HLA-B座の問題点: probe B2~27の反応性				probe B2~27の蛍光値		
施設ID	lot No	allele結果		H1901	H1903	H1905
19D004	F003B	B*1513	B*4801/04/09/11	1435	686	890
19D030	F003B	B*1513	B*4801/04/09/+	856	582	434
19D034	F003B	B*1502/88	B*4801/04/+	394	469	435
19D037	F003B	B*1513	B*4801/09/11	1105	625	670
19D049	F003B	B*1513	B*4801/04/09/+	967	523	781
19D041	F004B	B*1513	B*4801/04/09/+	997	1000	775

タイピングキット●使用施設における1施設のアリル型判定不一致例である。日本人用のKitでまれな抗原型の判定であり、

抗原を区別するprobeが1probeの場合の悲劇である。

Cut off 周辺の反応性の違いによりHLA-B77がHLA-B75と判定された。

1probe のみが判定のキーになる場合があり、その probe の反応性が弱いすなわち P/N 比が低い結果、cut off 値を僅かに下回る蛍光値を陰性と判断したためであった(表6)。同一細胞由来の3検体についてB座タイピング結果は施設ごとに完全に一致(1施設のみフィルターで検査不能)していた。

HLA-C and DR 座

特記する問題点はなかった。また同一細胞由来の3検体についてC, DR座タイピング結果は施設ごとに完全に一致(1施設のみフィルターで検査不能)していた。

3. 施設別総合評価

表7に施設別総合評価を示す。評価項目はPCR精度と Hybridization 法の精度を用いた。

【PCR 精度】

HLA-class I の場合, exon 2 と 3 を増幅し, タイピングに用いる。多型を検出する probe は両領域に散在し, sense または anti-sense の塩基配列をターゲットとする。ゆえに増幅は両 exon とそれぞれの sense, anti-sense がバランス良くおこなわれることが必須である。バランスの良い PCR をおこなう技術が精度の高さに反映される。増幅効率のバランス(R)を以下の計算式で求め, 各施設に得点を与えた。

$$R = (\text{exon 2 positive control (PC) の蛍光値}) / (\text{exon 3 PC の蛍光値})$$

各 exon の sense, anti-sense に対する positive con-

trol を有するキット(精度管理をおこなうために非常に有用なコントロールである)は以下の二通りの計算式により, R, Rex2, Rex3 を求めた。

$$R = [\text{exon2 (sense PC+ anti-sense PC)} / \text{exon3 (sense PC+ anti-sense PC)}]$$

$$\text{Rex2} = (\text{exon2 sense PC} / \text{exon2 anti-sense PC})$$

$$\text{Rex3} = (\text{exon3 sense PC} / \text{exon 3 anti-sense PC})$$

R, Rex2, Rex3 の値が 0.8–1.2 = 5 点, 0.49 < 0.79 = 3 点, 1.21 < 1.51 = 3 点, それ以外を 1 点とした。施設ごとに検体ごとの得点を加算し, 実施検体数で割った得点を施設得点とした。表7のPCR精度*の欄に示す得点は Rex2 と Rex3 を用いて計算した場合の得点である。正確な PCR 精度を評価するには sense, anti-sense それぞれに対する common probe (PC) を有するキットが望ましい(●キットのコントロールがこれに該当する)。

HLA-class II の場合 exon2 の増幅産物のみを用いるため, 各キットともに PC は 1 種類である。よって同一キットを使用した施設の PC の蛍光値の平均値と各施設 PC の比 (R) を求め, $R > 1 = 5$ 点, $1 - 0.5 = 3$ 点, $0.5 \geq 1$ 点と評価した。検体ごとの得点を加算し, 実施検体数で割った得点を施設得点とした。

【Hybridization 法の精度】

数多くの probe を同一の hybridization 温度でおこなうには, hybridization 温度の調節や洗浄技術などが検査精度を左右する因子である。総合的な影響が probe の反応性として現れる。いわゆる probe の

表7 施設別総合評価(第11回 QCW DNA 部門)

施設ID	A		B		Cw		Class I		DRB1		DOB1		DPB1		Class II		評価
	Kit	P/N 比	PCR 精度*	P/N 比	PCR 精度*	P/N 比	PCR 精度*	P/N 比	P/N 比	PCR 精度*	P/N 比	PCR 精度*	P/N 比	PCR 精度*	P/N 比	PCR 精度*	
D049	●	4.1	3.7	3.8	3.3	5.0	4.0	4.1	3.7	2.5	3.8	4.1	3.4	7.9	7.2		
	●	3.4	4.0	4.0	3.3	4.0	3.5	3.7	3.3	2.8	3.5	3.8	3.4				
D037	■	3.4	4.3		3.1	3.7					3.2	4.0		7.3	7.1		
	総合										3.4	3.9	3.7				
D041	●	4.2	3.7	4.3	4.0	3.7	3.0	4.0	2.3	3.8	4.0	3.2	3.7	7.2	7.7		
D006	■	4.0	3.3		3.9	4.3		3.5	2.7		3.8	3.4		7.2			
D021	■	3.4	3.0		3.7	4.3		3.2	3.3		3.4	3.6		7.0			
D015	■	3.2	3.0		3.4	4.0		3.2	3.3		3.3	3.4		6.7			
D034	●	3.3	3.0	3.5	3.0	3.7	4.3	4.0	3.0	4.2	3.4	3.2	4.0	6.6	7.4		
D056	■	3.4	4.0		3.5	2.0					3.4	3.0		6.4			
D004	●	3.1	1.7	3.2	3.0	5.0	2.7				3.1	3.3	2.9	6.4	6.0		
	●	4.2	3.3	3.7	3.5	3.0	4.0				3.9	3.2	3.8				
D030	▲	3.6	1.0		3.4	2.7		3.6	2.7		3.5	2.1		6.3	6.7		
	総合										3.7	2.6	3.0				
D005	■	3.7	3.7		2.5	2.0		3.0	2.7		3.1	2.8		5.9			
D028	▲	4.2	1.0		3.9	2.3		3.6	2.3		3.9	1.9		5.8			
D010	▲	3.5	1.3		3.5	2.3					3.5	1.8		5.3			
D036	▲	3.7	1.0		3.5	1.3		3.7	2.3		3.6	1.6		5.2			
D009	▲	3.4	1.0		3.2	1.7		3.5	2.7		3.4	1.8		5.1			
D025	▲	3.6	1.0		3.1	1.0		3.4	2.0		3.4	1.3		4.7			
D059	▲	3.0	1.0		3.2	2.0					3.1	1.5		4.6			

評価法

PCR精度: HL A-class Iの場合 exon 2, 3のPCR産物をタイピングに用いる。Probeの反応部位は両領域に存在し、

かつsense側またはanti-sense側をターゲットとしている。精度良い検査を行うには両exonのsense側、

anti-sense側共にバランスよく増幅されることが重要である。PCRの精度の評価としてexon2/exon3の

陽性コントロール比を用いた(sense, anti-sense)に対するコントロールが含まれるキットは次の計算式を用いた:

exon2 (sense+antisense) ÷ exon 3 (sense+antisense)。得られた比が0.8-1.2 =5点、0.49< >0.79=3点、

1.21< >1.51=3点、それ以外を1点とし、施設ごとに得点を計算し加算後、実施検体数で割り施設の得点とした。

PCR精度: Sense, anti-senseに対するコントロールがあるキットでは各exonのsenseとanti-senseの比による得点から

上記と同様の方法で施設得点を計算した。TotalはPCR精度*P/N比による総合評価を示している。

HL A-class IIはexon2の増幅産物を使用するため、同一キット使用施設の陽性コントロール量の平均値との比で評価した。

P/N: Hybridization法の評価のため、施設ごとに使用キットのP/N (計算法は前年度と同様、全検査後体で陽性と

陰性を示したprobeが評価可能なprobeとなる。(陽性と判定された蛍光値の最小値) ÷ (陰性と判定された蛍光値

の最大値) = P/N) 値を算出し、P/N) 100 =5点、100-50 =4点、50-10 =3点、10-3 =2点、3< >1点

とした。施設ごとに評価できるprobeのP/Nの得点を加算し、平均値を施設得点とした。

施設ID	DRB1		DOB1		DPB1		Class II		評価	
	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N比	PCR 精度		
D034	Kit	4.5	5.0					4.5	5.0	total
	●							4.3	4.7	
	■			4.3	5.0	4.2	4.3	4.3	4.7	
	総合							4.4	4.8	9.2
D006	■	4.2	4.7	4.2	5.0	4.5	5.0	4.3	4.9	9.2
D049	●	4.2	5.0					4.2	5.0	9.2
D030	●	4.4	5.0					4.4	5.0	9.1
	▲	3.7	5.0					3.7	5.0	
	総合							4.1	5.0	
D010	▲	3.9	5.0					3.9	5.0	8.9
D005	■	3.8	5.0			4.2	4.0	4.0	4.5	8.5
D021	■	3.4	4.7	3.8	5.0			3.6	4.8	8.4
D041	●	4.3	4.0					4.3	4.0	8.3
D009	▲	3.3	4.7					3.3	4.7	8.0
D004	●	4.0	4.7					4.0	4.7	7.7
	■	3.7	3.0					3.7	3.0	
	総合							3.8	3.8	
D059	▲	3.1	4.7					3.1	4.7	7.7
D037	●	3.1	4.7					3.1	4.7	7.5
	■	3.0	4.3					3.0	4.3	
	総合							3.0	4.5	
D028	▲	3.2	4.0					3.2	4.0	7.2

施設ID	DRB1		DOB1		DPB1		Class II		評価	
	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N比	PCR 精度		
D034	Kit	4.5	5.0					4.5	5.0	total
	●							4.3	4.7	
	■			4.3	5.0	4.2	4.3	4.3	4.7	
	総合							4.4	4.8	9.2
D006	■	4.2	4.7	4.2	5.0	4.5	5.0	4.3	4.9	9.2
D049	●	4.2	5.0					4.2	5.0	9.2
D030	●	4.4	5.0					4.4	5.0	9.1
	▲	3.7	5.0					3.7	5.0	
	総合							4.1	5.0	
D010	▲	3.9	5.0					3.9	5.0	8.9
D005	■	3.8	5.0			4.2	4.0	4.0	4.5	8.5
D021	■	3.4	4.7	3.8	5.0			3.6	4.8	8.4
D041	●	4.3	4.0					4.3	4.0	8.3
D009	▲	3.3	4.7					3.3	4.7	8.0
D004	●	4.0	4.7					4.0	4.7	7.7
	■	3.7	3.0					3.7	3.0	
	総合							3.8	3.8	
D059	▲	3.1	4.7					3.1	4.7	7.7
D037	●	3.1	4.7					3.1	4.7	7.5
	■	3.0	4.3					3.0	4.3	
	総合							3.0	4.5	
D028	▲	3.2	4.0					3.2	4.0	7.2

施設ID	DRB1		DOB1		DPB1		Class II		評価	
	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N比	PCR 精度		
D034	Kit	4.5	5.0					4.5	5.0	total
	●							4.3	4.7	
	■			4.3	5.0	4.2	4.3	4.3	4.7	
	総合							4.4	4.8	9.2
D006	■	4.2	4.7	4.2	5.0	4.5	5.0	4.3	4.9	9.2
D049	●	4.2	5.0					4.2	5.0	9.2
D030	●	4.4	5.0					4.4	5.0	9.1
	▲	3.7	5.0					3.7	5.0	
	総合							4.1	5.0	
D010	▲	3.9	5.0					3.9	5.0	8.9
D005	■	3.8	5.0			4.2	4.0	4.0	4.5	8.5
D021	■	3.4	4.7	3.8	5.0			3.6	4.8	8.4
D041	●	4.3	4.0					4.3	4.0	8.3
D009	▲	3.3	4.7					3.3	4.7	8.0
D004	●	4.0	4.7					4.0	4.7	7.7
	■	3.7	3.0					3.7	3.0	
	総合							3.8	3.8	
D059	▲	3.1	4.7					3.1	4.7	7.7
D037	●	3.1	4.7					3.1	4.7	7.5
	■	3.0	4.3					3.0	4.3	
	総合							3.0	4.5	
D028	▲	3.2	4.0					3.2	4.0	7.2

施設ID	DRB1		DOB1		DPB1		Class II		評価	
	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N比	PCR 精度		
D034	Kit	4.5	5.0					4.5	5.0	total
	●							4.3	4.7	
	■			4.3	5.0	4.2	4.3	4.3	4.7	
	総合							4.4	4.8	9.2
D006	■	4.2	4.7	4.2	5.0	4.5	5.0	4.3	4.9	9.2
D049	●	4.2	5.0					4.2	5.0	9.2
D030	●	4.4	5.0					4.4	5.0	9.1
	▲	3.7	5.0					3.7	5.0	
	総合							4.1	5.0	
D010	▲	3.9	5.0					3.9	5.0	8.9
D005	■	3.8	5.0			4.2	4.0	4.0	4.5	8.5
D021	■	3.4	4.7	3.8	5.0			3.6	4.8	8.4
D041	●	4.3	4.0					4.3	4.0	8.3
D009	▲	3.3	4.7					3.3	4.7	8.0
D004	●	4.0	4.7					4.0	4.7	7.7
	■	3.7	3.0					3.7	3.0	
	総合							3.8	3.8	
D059	▲	3.1	4.7					3.1	4.7	7.7
D037	●	3.1	4.7					3.1	4.7	7.5
	■	3.0	4.3					3.0	4.3	
	総合							3.0	4.5	
D028	▲	3.2	4.0					3.2	4.0	7.2

施設ID	DRB1		DOB1		DPB1		Class II		評価	
	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N比	PCR 精度		
D034	Kit	4.5	5.0					4.5	5.0	total
	●							4.3	4.7	
	■			4.3	5.0	4.2	4.3	4.3	4.7	
	総合							4.4	4.8	9.2
D006	■	4.2	4.7	4.2	5.0	4.5	5.0	4.3	4.9	9.2
D049	●	4.2	5.0					4.2	5.0	9.2
D030	●	4.4	5.0					4.4	5.0	9.1
	▲	3.7	5.0					3.7	5.0	
	総合							4.1	5.0	
D010	▲	3.9	5.0					3.9	5.0	8.9
D005	■	3.8	5.0			4.2	4.0	4.0	4.5	8.5
D021	■	3.4	4.7	3.8	5.0			3.6	4.8	8.4
D041	●	4.3	4.0					4.3	4.0	8.3
D009	▲	3.3	4.7					3.3	4.7	8.0
D004	●	4.0	4.7					4.0	4.7	7.7
	■	3.7	3.0					3.7	3.0	
	総合							3.8	3.8	
D059	▲	3.1	4.7					3.1	4.7	7.7
D037	●	3.1	4.7					3.1	4.7	7.5
	■	3.0	4.3					3.0	4.3	
	総合							3.0	4.5	
D028	▲	3.2	4.0					3.2	4.0	7.2

施設ID	DRB1		DOB1		DPB1		Class II		評価	
	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N比	PCR 精度		
D034	Kit	4.5	5.0					4.5	5.0	total
	●							4.3	4.7	
	■			4.3	5.0	4.2	4.3	4.3	4.7	
	総合							4.4	4.8	9.2
D006	■	4.2	4.7	4.2	5.0	4.5	5.0	4.3	4.9	9.2
D049	●	4.2	5.0					4.2	5.0	9.2
D030	●	4.4	5.0					4.4	5.0	9.1
	▲	3.7	5.0					3.7	5.0	
	総合							4.1	5.0	
D010	▲	3.9	5.0					3.9	5.0	8.9
D005	■	3.8	5.0			4.2	4.0	4.0	4.5	8.5
D021	■	3.4	4.7	3.8	5.0			3.6	4.8	8.4
D041	●	4.3	4.0					4.3	4.0	8.3
D009	▲	3.3	4.7					3.3	4.7	8.0
D004	●	4.0	4.7					4.0	4.7	7.7
	■	3.7	3.0					3.7	3.0	
	総合							3.8	3.8	
D059	▲	3.1	4.7					3.1	4.7	7.7
D037	●	3.1	4.7					3.1	4.7	7.5
	■	3.0	4.3					3.0	4.3	
	総合							3.0	4.5	
D028	▲	3.2	4.0					3.2	4.0	7.2

施設ID	DRB1		DOB1		DPB1		Class II		評価	
	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N比	PCR 精度		
D034	Kit	4.5	5.0					4.5	5.0	total
	●							4.3	4.7	
	■			4.3	5.0	4.2	4.3	4.3	4.7	
	総合							4.4	4.8	9.2
D006	■	4.2	4.7	4.2	5.0	4.5	5.0	4.3	4.9	9.2
D049	●	4.2	5.0					4.2	5.0	9.2
D030	●	4.4	5.0					4.4	5.0	9.1
	▲	3.7	5.0					3.7	5.0	
	総合							4.1	5.0	
D010	▲	3.9	5.0					3.9	5.0	8.9
D005	■	3.8	5.0			4.2	4.0	4.0	4.5	8.5
D021	■	3.4	4.7	3.8	5.0			3.6	4.8	8.4
D041	●	4.3	4.0					4.3	4.0	8.3
D009	▲	3.3	4.7					3.3	4.7	8.0
D004	●	4.0	4.7					4.0	4.7	7.7
	■	3.7	3.0					3.7	3.0	
	総合							3.8	3.8	
D059	▲	3.1	4.7					3.1	4.7	7.7
D037	●	3.1	4.7					3.1	4.7	7.5
	■	3.0	4.3					3.0	4.3	
	総合							3.0	4.5	
D028	▲	3.2	4.0					3.2	4.0	7.2

施設ID	DRB1		DOB1		DPB1		Class II		評価	
	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N 比	PCR 精度	P/N比	PCR 精度		
D034	Kit	4.5	5.0					4.5	5.0	total
	●							4.3	4.7	
	■			4.3	5.0	4.2	4.3	4.3	4.7	
	総合							4.4	4.8	9.2
D006	■	4.2	4.7	4.2	5.0	4.5	5.0	4.3	4.9	9.2
D049	●	4.2	5.0					4.2	5.0	9.2
D030	●	4.4	5.0					4.4	5.0	9.1
	▲	3.7	5.0					3.7	5.0	
	総合									

メリハリぐわいを評価するため、昨年同様 P/N 比を求め、昨年度よりも厳しい(より詳しい)評価点を与えた。すなわち $P/N > 100 = 5$ 点, $100-50 = 4$ 点, $50-10 = 3$ 点, $10-3 = 2$ 点, $3 > = 1$ 点とした。施設ごとに評価できる probe の P/N 比の得点を加算し、その平均値を施設得点とした。

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

HLA-class I typing では D041, D034, D049 が優秀な成績で、70 点以上の施設は 5 施設(29%)であった。一方、60 点に満たない施設が 7 施設(41%)あった。これらの施設についてはタイピングをおこなう環境の見直し(PCR や Hybridization 温度の再調整など)と整備が必要と考えられる。

HLA-class II typing では D006, D034, D006, D030 が優秀な成績で、70 点以上の施設は 14 施設(82%)と良好であった。

今年度の HLA-class I・II の総合評価で最優秀施設は D049 で 86 点、80 点以上の施設は D006, D034, D041 であった。各施設が最低 60 点は確保できることが望ましい。

4. キット別総合評価

表 8 にキット別総合評価を図 1~4 に今回の検体で検定された probe の P/N 比の分布を示す。評価方法は施設別の場合と同様の方法でおこなった。PCR 精度評価からはキットで使用されているプライマーの設計や PCR 条件設定の良・不良がわかる。Hybridization 法の精度評価から probe の設計や Hybridization 条件設定および実験の操作性の良・不良がわかる。HLA 座ごとの結果をまとめる。

➤ HLA-A typing キット：●キットが最高得点(65 点)で、■キットの 62 点と続くが、残念なことに▲キットは 34 点と低得点で、特に PCR 精度についての得点数が低かった。▲メーカーにはプライマーの設計や PCR 条件について多くの施設が良い条件で

使用可能なキットの開発が望まれる。

➤ HLA-B typing キット：●キットが最高得点(64 点)であり、■キットが 56 点、▲キット 45 点であった。HLA-A typing キットと同様の結果で、▲メーカーには HLA-A typing キットへのコメントと同様。

➤ HLA-C typing キット：●キットが最高得点(64 点)、▲キットが 54 点、■キットが 52 点であり、HLA-C typing キットについてはメーカーごとに大差はなかった。

HLA-class I キット全体で最高得点は●キットであり、複数の施設が使用しても施設間差がでにくい良好なキットと思われる。今後さらに安定した精度の高いキットの製造にむけて、切磋琢磨を 3 社にお願いしたい。

➤ HLA-DRB1 typing キット：●キットが最高得点の 78 点であった。次に■キットの 70 点、▲キットの 65 点であった。HLA-class I 同様●キットが複数施設使用でも最高の得点を示し、現時点で一番信頼性の高いキットと評価される。

HLA-class I と class II ともに●キットが今回の QC では最良のキットと評価された。各キットの評価可能プローブの P/N 比の分布グラフ(図 1~4)から、キット別にプローブの P/N 比の分布状況が一覧できる。最高得点を得たキットは全体的に使用プローブの P/N 比が右より(高い P/N 比のプローブの数が多)の分布を示している。

5. まとめ

昨年の QC の評価基準より、キットに使用されているプローブの P/N 比の評価を厳しくおこなった。結果として施設間差やキット差が明確になった。全参加施設が 60 点を超えるような検査環境の整備が望まれる。

年 1 回、数種類の検体によるタイピング結果の一致率での評価は精度管理としては不十分であるが、Luminex 法による PCR 精度や P/N 比による評価をおこなうことにより各施設の検査環境の検定にもなり有用と考える。

表 8 kit 別総合評価(第 11 回 QCW DNA 部門)

kit		A			B			Cw			Class I			評価	
		P/N比	PCR 精度	PCR 精度*	P/N比	PCR 精度	PCR 精度*	P/N比	PCR 精度	PCR 精度*	P/N比	PCR 精度	PCR 精度*	total	total*
●	Total	2.7	3.2	3.8	2.8	4.1	3.6	3.1	3.1	3.3	2.9	3.5	3.6	6.3	6.4
	filter	3.0	3.7	3.5	2.6	3.0	3.6	2.5	2.0	3.0	2.7	2.9	3.4	5.6	6.1
	DNA	2.8	3.0	3.9	3.0	4.6	3.6	3.7	3.6	3.5	3.1	3.7	3.7	6.9	6.8
■	total	2.6	3.6		2.2	3.4		2.2	3.0		2.4	3.3		5.7	
	filter	2.5	3.2		2.7	3.2		3.0	2.3		2.7	2.9		5.6	
	DNA	3.1	3.7		2.5	3.6		2.8	3.4		2.8	3.5		6.3	
	DNA*	3.3	3.6		2.5	3.9					2.9	3.8		6.7	
▲	total	2.4	1.0		2.6	1.9		3.0	2.4		2.7	1.8		4.5	
	filter	2.7	1.0		2.9	2.0		2.7	1.4		2.7	1.5		4.2	
	DNA	2.5	1.1		2.9	1.9		3.1	2.9		2.9	1.9		4.8	

kit		DRB1		DQB1		DPB1		Class II		評価
		P/N比	PCR 精度	P/N比	PCR 精度	P/N比	PCR 精度	P/N比	PCR 精度	
●	total	3.1	4.7					3.1	4.7	7.8
	filter	3.2	4.5					3.2	4.5	7.7
	DNA	3.4	4.8					3.4	4.8	8.3
■	total	2.2	4.0	2.0	4.6	3.6	4.4	2.6	4.4	7.0
	filter	2.1	4.3	2.3	4.3	4.0	4.3	2.8	4.3	7.1
	DNA	2.7	4.0	3.4	4.8	4.2	4.5	3.4	4.4	7.8
	DNA*	2.9	4.2					2.9	4.2	7.1
▲	total	2.2	4.3					2.2	4.3	6.5
	filter	2.6	4.0					2.6	4.0	6.6
	DNA	2.7	4.4					2.7	4.4	7.1

kit		総合評価	
●	total	14.1	14.2
	filter	13.3	13.8
	DNA	15.1	15.1
■	total	12.7	
	filter	12.7	
	DNA	14.2	
	DNA*	13.7	
▲	total	11.0	
	filter	10.8	
	DNA	11.9	

評価法

PCR精度: HLA-class Iの場合exon 2、3のPCR産物をタイピングに用いる。Probeの反応部位は両領域に存在し、

かつsense側またはanti-sense側をターゲットとしている。精度良い検査を行うには両exonのsense側、anti-sense側共にバランスよく増幅されることが重要である。PCRの精度の評価としてexon2とexon3の

陽性コントロール比を用いた[sense、anti-senseに対するコントロールが含まれるキットは次の計算式を用いた:

exon2 (sense+antisense)÷exon 3 (sense+antisense)〕。得られた比が0.8-1.2 =5点、0.49< 0.79=3点、

1.21<1.51=3点、それ以外を1点とした。施設ごとに得点を計算し加算後、実施検体数で割り施設の得点とした。

PCR精度*: Sense、anti-senseに対するコントロールがあるキットでは各exonのsenseとanti-senseの比による得点から

上記と同様の方法で施設得点を計算した。Total*はPCR精度*とP/N比による総合評価を示した。

HLA-class IIはexon2の増幅産物を使用するため、同一キット使用施設の陽性コントロール値の平均値との比で評価した。

P/N: Hybridization法の評価のため、施設ごとに使用KitプローブのP/N〔計算法は前年度と同様、全検査検体で陽性と

陰性を示したprobeが評価可能なprobeとなる。(陽性と判定された蛍光値の最小値)÷(陰性と判定された蛍光値

の最大値)=P/N値を算出し、P/N>100 =5点、100-50 =4点、50-10 =3点、10-3 =2点、3> =1点

とした。施設ごとに評価できるprobeのP/Nの得点を加算し、平均値を施設得点とした。

Templateの違いによるP/N比の評価: DNA溶液とろ紙フィルター付着DNAをTemplateとした場合ではP/N比に

違いが生じるかいないかを検定した。

DNA*: filter データを提出していない施設のみのデータである。

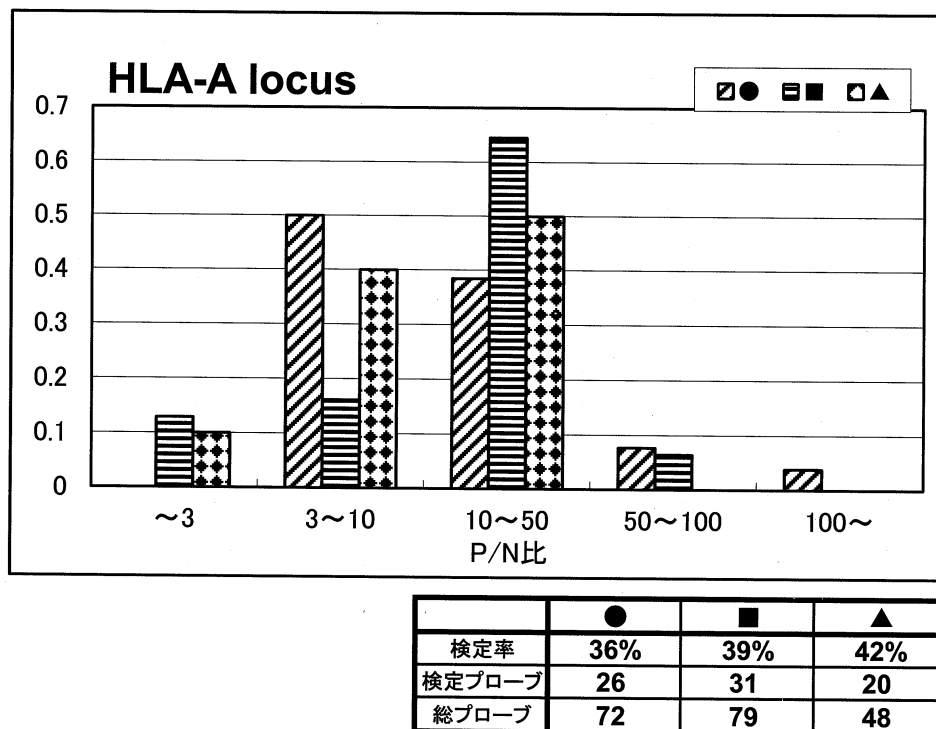


図1 A座検定プローブのP/N比分布; Kit別比較

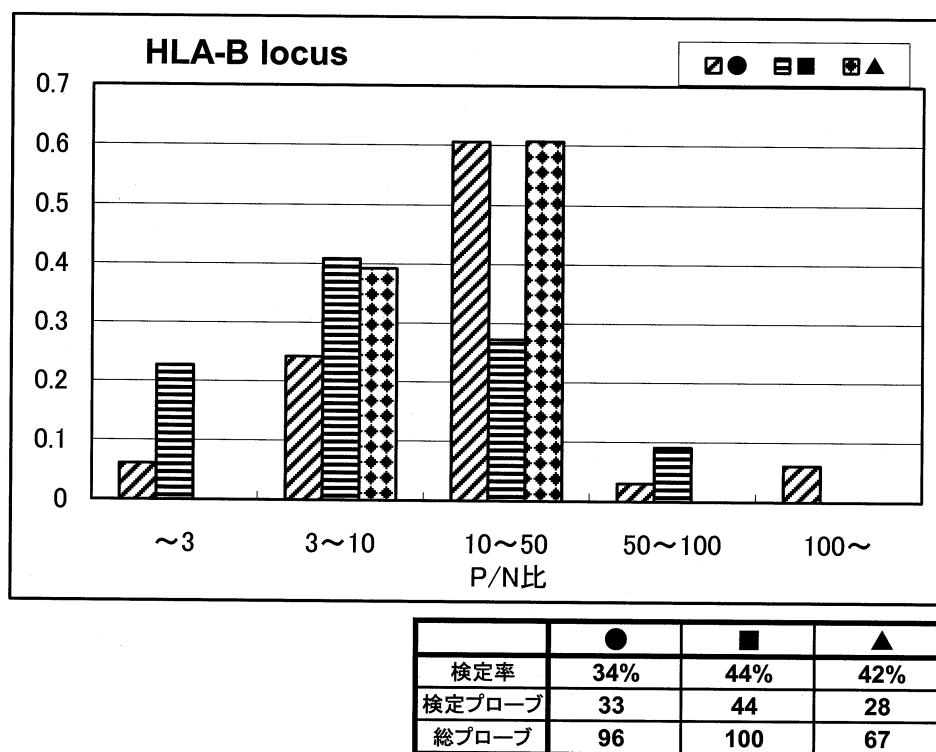


図2 B座検定プローブのP/N比分布; Kit別比較

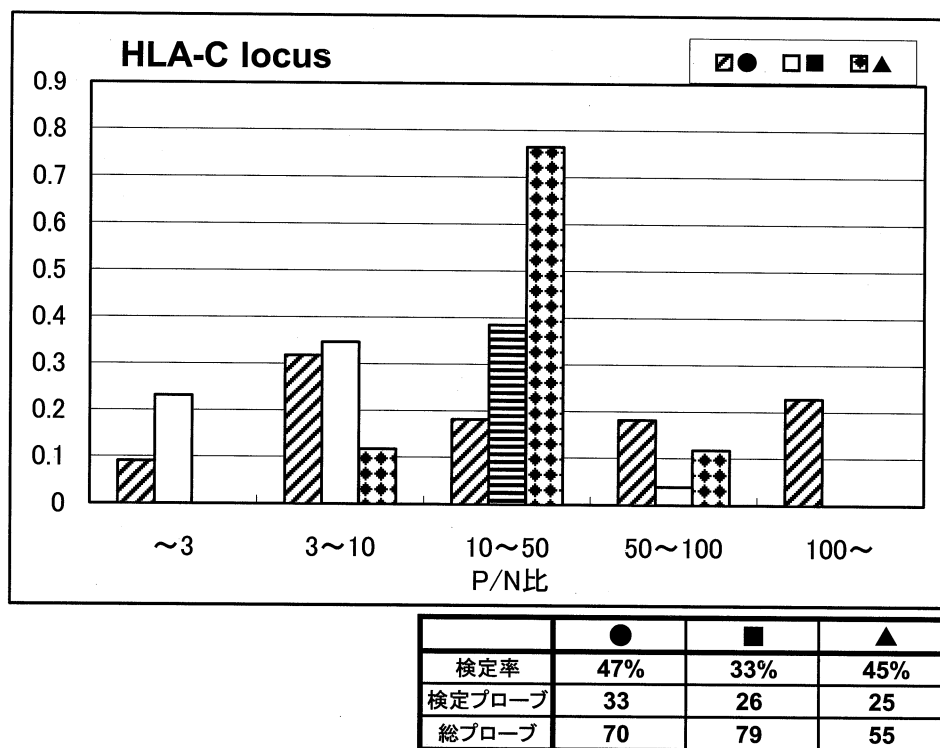


図3 C座検定プローブのP/N比分布; Kit別比較

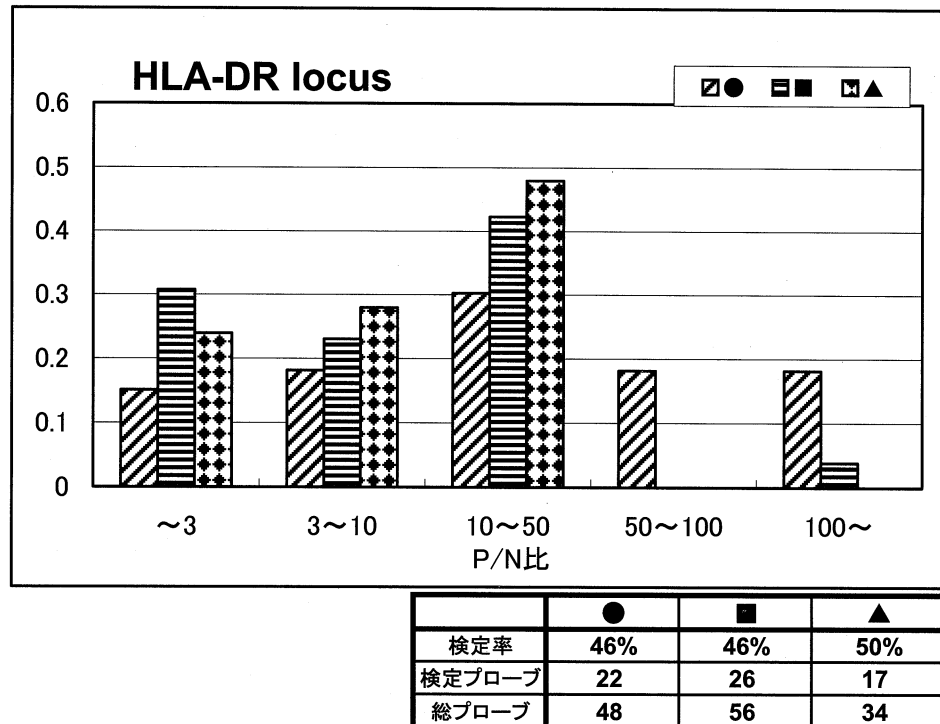


図4 DR座検定プローブのP/N比分布; Kit別比較

第11回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —方法論別検討 (SSP)—

安波道郎(長崎大学熱帯医学研究所), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

SSP 法は PCR 法にて増幅される DNA 断片をアガロースゲル電気泳動法で検出するという, 特別な設備を必要としない方法であることから, 小規模の検査施設においても採用される機会が多く, またそのような設備では, 本法単独で型判定を余儀なくされることもあると思われる。今回のワークショップにおいても SSP 法の採用は参加施設中 23 施設から報告されたが, その使用目的としては

①主なタイピング法として 16 施設

と, 近年減少しつつあるものの, 単独の方法論に頼らざるを得ない状況の施設からのデータを比較することができ, いくつかの陥りやすい誤りに遭遇できた。また,

②他の方法の補助として, とくにアリルタイピングのため 7 施設

については, 他の方法でのタイピング結果の精度をあげることを目的としており, タイピングデータ自体, 別法の結果との整合がすでにチェックされているため問題となる例はなかった。

採用されているキットは

Class I + Class II のキットでは

One Lambda 社 MicroSSP Japanese (Lot #003)
7 施設

One Lambda 社 MicroSSP ABDR (Lot #006)
3 施設

Pel-Freez 社 ABDR SSP UNITRAY (Lot #31
他) 1 施設

Class I のキットでは

One Lambda 社 MicroSSP 1L (Lot #006) 5
施設

Pel-Freez 社 ABC SSP UNITRAY (Lot #34)
1 施設

Class II のキットでは

One Lambda 社 MicroSSP 2L (Lot #05A) 4
施設

の報告があった。

複数施設において採用されているキットについてその生データを比較したところ, 少数の偽陽性・偽陰性, またはデータの写し取りの間違いと思われる他施設の結果との不一致が 1 施設でみられた(ワークショップ集会資料として, 配布・提示済)。機器の動作を正しく管理し, メーカーの指定するキットの使用方法を遵守すれば, 偽陽性・偽陰性は完全に防止可能と思われた。ろ紙試料の検体については, 鋳型 DNA 量が限られることと, DNA がろ紙片に固着して多数の反応を行なうことが困難であることから, タイピングを避けた施設が多かったが, 全ゲノム増幅などの補助手技を用いることで SSP 法であってもほぼ確実なタイピングが可能と考えられた。また, タイピングの実施以降の問題としては, データの写し取りの間違い, 反応パターンの読み取りの間違い, 表記法の間違いなどが見受けられ, これらについては, SSP 法に限らず, 今後過誤を防止する努力を期待したい。

第11回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —方法別検討 SBT その他—

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), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

1. はじめに

QC ワークショップも第11回を迎え, SBT (sequencing based typing), RFLP (restriction fragment length polymorphisms) の2法については参加者(施設)数も安定してきた(図1)。一方, SSCP (single strand conformation polymorphisms) 法は昨年姿を消したが今年度再び復活を果たしている。本稿ではこれら各方法での解析結果について述べる。なお, 各方法の概要, 操作法等については学会ホームページ, 各種関係書籍を参照願いたい。

2. SBT 法

2.1 概況

参加施設は全10施設で, クラスII は昨年より1施設増加した。昨年同様, クラスI ではほとんどの

表1 SBT 法参加施設と他法との選択状況

ID	Class I	Class II
19D006	SBT+SSO	SBT+SSO
19D007	SBT	SBT
19D009	SBT+SSO+SSP	SBT+SSO+SSP
19D010	SBT+SSO	SBT+SSO
19D014		SSO+SSCP
19D015	SBT+SSO	SBT+SSO+RFLP
19D016	SBT	SBT
19D017	SBT+SSO	SBT+SSO
19D024		SSP+SBT
19D027		SSO+RFLP
19D037	SBT+SSO	SBT+SSO
19D046		SSO+RFLP
19D051		SBT

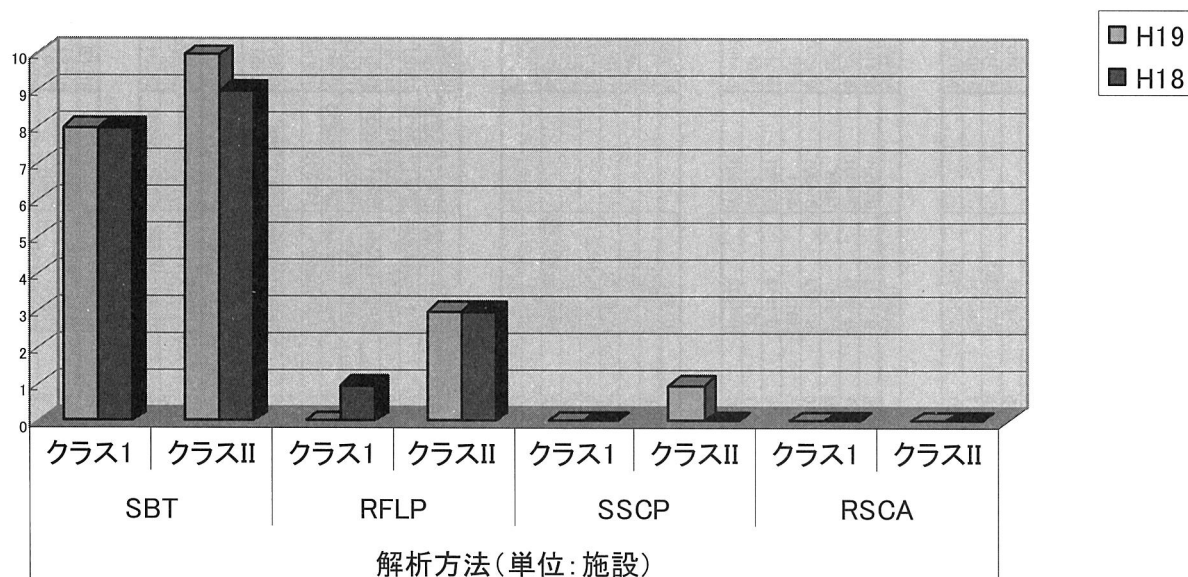


図1 H18, H19年度の参加施設数の推移

表 2 各施設におけるSBT 法判定結果回答

A									
ID	H1901	H1902	H1903	H1904	H1905	H1906	H1907	H1908	H1909
19D006	A*2402/05/09/+	A*0101/02/04/+	A*2402/05/09/+	A*2901/04/06/+	A*2402/05/09/+	A*2402/05/09/+	A*2402/05/09/+	A*2402/05/09/+	A*2402/05/09/+
19D007	A*2402/01/01	A*0101/01/01	A*2402/01/01	A*2901/01/01	A*2402/01/01	A*2402/01/01	A*2402/01/01	A*2402/01/01	A*2402/01/01
19D009	A*2402/01	A*0101/01	A*2402/01	A*2901/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01
19D010	A*2402/01/01	A*0101/01	A*2402/01/01	A*2901/01/01	A*2402/01/01	A*2402/01/01	A*2402/01/01	A*2402/01/01	A*2402/01/01
19D015	A*2402/01	A*0101/01	A*2402/01	A*2901/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01
19D016	A*2402/01	A*0101/01	A*2402/01	A*2901/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01
19D017	A*2402/01	A*0101/01	A*2402/01	A*2901/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01
19D037	A*2402/01	A*0101/01	A*2402/01	A*2901/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01	A*2402/01
B									
ID	H1901	H1902	H1903	H1904	H1905	H1906	H1907	H1908	H1909
19D006	B*1513	B*4101	B*1513	B*4002	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513
19D007	B*1513	B*4101	B*1513	B*4002	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513
19D009	B*1513	B*4101	B*1513	B*4002	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513
19D010	B*1513	B*4101	B*1513	B*4002	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513
19D015	B*1513	B*4101	B*1513	B*4002	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513
19D016	B*1513	B*4101	B*1513	B*4002	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513
19D017	B*1513	B*4101	B*1513	B*4002	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513
19D037	B*1513	B*4101	B*1513	B*4002	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513	B*1513
C									
ID	H1901	H1902	H1903	H1904	H1905	H1906	H1907	H1908	H1909
19D006	Cw*0801	Cw*1701/02/03	Cw*0801	Cw*1502/05/13	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*1203
19D007	Cw*0801	Cw*1701/02/03	Cw*0801	Cw*1502/05/13	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*1203
19D009	Cw*0801	Cw*1701/02/03	Cw*0801	Cw*1502/05/13	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*1203
19D010	Cw*0801	Cw*1701/02/03	Cw*0801	Cw*1502/05/13	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*1203
19D015	Cw*0801	Cw*1701/02/03	Cw*0801	Cw*1502/05/13	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*1203
19D016	Cw*0801	Cw*1701/02/03	Cw*0801	Cw*1502/05/13	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*1203
19D017	Cw*0801	Cw*1701/02/03	Cw*0801	Cw*1502/05/13	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*1203
19D037	Cw*0801	Cw*1701/02/03	Cw*0801	Cw*1502/05/13	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*0801	Cw*1203
DRB1									
ID	H1901	H1902	H1903	H1904	H1905	H1906	H1907	H1908	H1909
19D006	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1501/05
19D007	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1501/05
19D009	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1501/05
19D010	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1501/05
19D015	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1501/05
19D016	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1501/05
19D017	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1501/05
19D024	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1501/05
19D037	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1501/05
19D051	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1201/02	DRB1*1502/15	DRB1*1501/05
DQB1									
ID	H1901	H1902	H1903	H1904	H1905	H1906	H1907	H1908	H1909
19D009	DQB1*0301/01	DQB1*0502/01	DQB1*0301/01	DQB1*0502/01	DQB1*0301/01	DQB1*0502/01	DQB1*0301/01	DQB1*0502/01	DQB1*0501/01
19D010	DQB1*0301/01	DQB1*0502/01	DQB1*0301/01	DQB1*0502/01	DQB1*0301/01	DQB1*0502/01	DQB1*0301/01	DQB1*0502/01	DQB1*0501/01
DPB1									
ID	H1901	H1902	H1903	H1904	H1905	H1906	H1907	H1908	H1909
19D006	DPB1*0501	DPB1*1401	DPB1*0501	DPB1*1401	DPB1*0501	DPB1*1401	DPB1*0501	DPB1*1401	DPB1*0501
19D009	DPB1*0501	DPB1*1401	DPB1*0501	DPB1*1401	DPB1*0501	DPB1*1401	DPB1*0501	DPB1*1401	DPB1*0501
19D010	DPB1*0501	DPB1*1401	DPB1*0501	DPB1*1401	DPB1*0501	DPB1*1401	DPB1*0501	DPB1*1401	DPB1*0501

施設が A, B, C 遺伝子にて採用していたが、クラス II では DRB1 遺伝子に集中していた。

採用状況は全 9 施設のうち 3 施設が単独での使用で、他は SSO (主に Luminex) 法, RFLP 法との併用であった(表 1)。RFLP 法は, SBT での識別不可能な組み合わせの区別に用いられていた。試薬(キット)はほとんどの施設が AlleleSEQR を用いていた。販売元が変更になったこともありロットは異なっていたが、同一人物の管理する企業からの提供であるので、会社間で品質に大きな差はないと思われる。

2.2 結果

各施設から寄せられた A, B, C, DRB1 遺伝子タイピングの回答を表 2 に示した。表記や記載は回答のままとした。

本年度はすべてのラボで 4 桁, 6 桁レベルでの対立遺伝子の同定(特定)がなされた。SBT 法の特徴を活かすという部分においては、ようやくタイピング法として定着したことの表われであろう。一致率も高く、SBT 法が高精度タイピングに極めて有効であることが改めて確認された。しながら、H1901 の C 遺伝子座にみられた誤判定は、SBT 法が判定時に精査が必要であることを示唆している。C*050101 と C*080101 はエクソン 2 および 3 に 6 箇所の多型が存在する。H1901 はホモ接合対であることから、バックグラウンドが通常程度であれば、判定は比較的容易に行なえると思われる。

濾紙サンプルについては昨年同様、SBT に用いるに十分な DNA 量が得られず、PCR で増幅の増幅不良、判定不能、参加断念などがみられた。ろ紙抽出サンプルについては、全ゲノム増幅法を利用するの

も一案である。

H1906 は一昨年の H1701 と同一のサンプルである。そこで H1701 での回答と比較したところ、両者共に結果は良好であった。

3. RFLP 法および SSCP 法

3.1 概況

RFLP 法への参加は 3 施設で、ほとんどの遺伝子座で他法、特に SSO 法との併用により、一部の遺伝子や組み合わせを識別するために使用されていた。試薬は全施設が自家製であった。SSCP 法は、SSO 法との併用で、DRB1, DRB3/4/5, DQB1 遺伝子座の一部の遺伝子を識別するために使用された。

3.2 結果

解析に十分な数を得ることは出来なかったが、回答は他法での結果とよく一致していた。両方法とも、タイピング法としては既に確立しており、

4. まとめ

本年度もまた繰り返しのようになってしまいが、2 つある対立遺伝子のうち 1 つのみを目的にタイピングし、片方みの結果を解答欄に記入して、もう片方が空欄となっている施設が、SBT, SSCP 法の回答にみられたことは残念である。せっかくの判定も報告としては不十分となってしまうので、もう片方を nd で表すなど、データ提出前には表記を今一度確認していただきたい。SBT 法は高精度タイピング法として有効なタイピング法で、RFLP 法, SSCP 法もピンポイントでタイピングには実用的なタイピング法である。

第11回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —テーマ別検討 (WGA, ろ紙サンプル)—

太田正穂(信州大学医学部法医学), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

1. はじめに

HLA-DNA 検査は、通常新鮮な血液から得られた良質の DNA を用いて行われるのが好ましい。しかし、日常の検査ではこのような試料を使用できないことが稀に遭遇する。そこで血液以外の試料(毛髪, 爪, 唾液, 口腔粘膜細胞, パラフィン切片)からでも検査可能な DNA 抽出キットが数多く発売され利用されている。さらに、微量試料からでも DNA タイピングを可能な全ゲノム増幅法 (WGA) も開発され利用されている。

ここでは、昨年度(第10回ワークショップ)から始まった WGA 産物からの HLA-DNA タイピング解析を本年度も試行したのでその結果について記載する。また、今回で5回目の試行となる濾紙に附着した試料からの HLA-DNA タイピング解析結果も報告する。

2. 検査試料・DNA 抽出法

WGA 産物サンプル (H1903) と濾紙サンプル (H1905, H1906) の調整は昨年の HLA-QC ワークショップと同様の方法で作成された (MHC, 13: 58-63, 2007)。濾紙サンプルからの DNA 抽出は QCWS 担当部会で推奨した標準プロトコールに従うことを前提に、タイピングは各参加施設で用いている手技に従った。

3. 結果と考察

1) 検査方法と施設数

a) WGA 産物サンプル (H1903)

H1903 サンプルのタイピングに用いた方法と施設数を表1に示した。ここには A, B, C, DRB1 座のタイピングについて示す。タイピング報告施設数は A

座 60, B 座 59, C 座 38, DRB1 座 60 で、多くの施設 (A: 73%, B: 72%, C: 65%, DRB1: 73%) は SSO 法に基づいた手技でタイピングを行っている。また、その内訳は表に示した通りである。次に報告例の多い方法は SSP 法であり、SBT 法は各遺伝子座につき 2~3 施設であった。さらに、2 法を用いてタイピングを行い、結果を提出した施設は A 座 8 施設, B 座 9 施設, C 座 8 施設, DRB1 座 12 施設であった。用いたタイピング法の多くは SSO 法であった。

b) 濾紙サンプル (H1905, H1906)

濾紙サンプル (H1905, H1906) のタイピングに参加した施設は、WGA に比べ少なく A 座 45, 42 施設, B 座 44, 40 施設, C 座 25, 26 施設, DRB1 座 47, 45 施設であった(表1)。濾紙サンプルでは、過去報告されたように感度の良い SSO 法を用いた手法が大多数であり(例, H1905: A 座 88%), そのなかで最も多く利用していたのは RELI 法であり、次は Luminex 法であった。

2) 判定結果一致率

a) WGA サンプル H1903

サンプル H1903 の検査結果提出施設数と検査結果の適合率を表2に示した。結果を提出した施設は 61 施設であり、最も多かったのは A 座と DRB1 座の 60 施設(98%)であり、次は B ローカスであった 59 施設(97%)。タイピング一致率は high resolution level では DQB1 ローカス以外総てのローカスで 100% であった。また、low/medium レベルでは A (98%), B (91%), DRB1 (98%) であり。いずれのローカスも高い一致率を示した。

タイピング結果が一致しなかった原因としては、誤判定、表記ミスであった(表2)。

表1 タイピング方法と使用施設数
(H1903)

Locus

A

(H1905)

(H1906)

検査方法	+					施設数	検査方法	+					施設数	検査方法	+					
	SBT	MPH	SSP	RFLP	SSCP			SBT	MPH	SSP	RFLP	SSCP			SBT	MPH	SSP	RFLP	SSCP	
SSO	44					22	SSO	40				22	SSO	37						
RELI					2	19	RELI					17	RELI							1
Luminex						6	Luminex					6	Luminex							
G&G		1	1			7	G&G					5	G&G							1
One		3				6	One					6	One							2
Waku		1				3	Waku					1	Waku							
MPH							MPH						MPH							
SSP							SSP						SSP							
One							One						One							
Pel							Pel						Pel							
SBT							SBT						SBT							
	2					12		1				3		2						
						2														
																				</

B

検査方法	施設数	施設数					検査方法	施設数	施設数					検査方法	施設数	施設数				
		SBT	MPH	SSP	RFLP	SSCP			SBT	MPH	SSP	RFLP	SSCP			SBT	MPH	SSP	RFLP	SSCP
SSO	43						SSO	39						SSO	37					
RELI	22			2			RELI	22				1		RELI	19				1	
Luminex	19						Luminex	16						Luminex	17					
G&G	6	1	1				G&G	6			1			G&G	6			1		
One	7	4					One	4			3			One	5			3		
Waku	6	1					Waku	6						Waku	6					
MPH	2						MPH	1						MPH	1					
SSP	14						SSP	4						SSP	2					
One	12						One	3						One	2					
Pel	2						Pel	1						Pel	0					
SBT	2						SBT	1						SBT	1					
		59							44							40				

表1 つづき

Locus

(H1903)

(H1905)

(H1906)

C	(H1903)		(H1905)		(H1906)	
	検査方法	施設数	検査方法	施設数	検査方法	施設数
	SSO	25	SSO	22	SSO	22
	RELI	8	RELI	7	RELI	6
	Luminex	14	Luminex	14	Luminex	15
	G&G	5	G&G	5	G&G	5
	One	5	One	4	One	5
	Waku	4	Waku	5	Waku	5
	MPH	3	MPH	1	MPH	1
	SSP	10	SSP	2	SSP	2
	One	9	One	2	One	2
	Pel	1	Pel		Pel	
	SBT	3	SBT	1	SBT	2
		38		25		26

DRB1

DRB1	(H1903)		(H1905)		(H1906)	
	検査方法	施設数	検査方法	施設数	検査方法	施設数
	SSO	44	SSO	39	SSO	38
	RELI	22	RELI	21	RELI	20
	Luminex	19	Luminex	17	Luminex	17
	G&G	6	G&G	6	G&G	6
	One	7	One	5	One	5
	Waku	6	Waku	6	Waku	6
	MPH	3	MPH	1	MPH	1
	SSP	13	SSP	4	SSP	3
	One	12	One	3	One	3
	Pel	1	Pel	1	Pel	
	SBT	3	SBT	4	SBT	4
		60		47		45

表 2 結果提出施設数とタイピング一致率 (H1903)

遺伝子座	結果提出施設数 N=61 (%)		コンセンサス DNA型	コンセンサス HLA型	Low/Medium		High		総合一致率(%)
					結果(%)	一致率(%)	結果(%)	一致率(%)	
HLA-A	60	98	*2402,*-	A24,A-	53/60 (88)	52/53 (98)	7/60 (12)	7/7 (100)	59/60 (98)
HLA-B	59	97	*1513,*4801	B77(15), B48	46/59 (78)	42/46 (91)	13/59 (22)	13/13 (100)	55/59 (93)
HLA-C	38	62	*0801,*-		10/25 (40)	9/10 (90)	15/25 (60)	15/15 (100)	24/25 (96)
HLA-DRB1	60	98	*1202,*1502	DR12, DR15	50/60 (83)	49/50 (98)	10/60 (17)	10/10 (100)	59/60 (98)
HLA-DRB3/4/5	33	54	B5*0101,B3*0301	DR51, DR52	29/33 (88)	24/29 (83)	4/33 (12)	4/4 (100)	28/33 (85)
HLA-DQA1	2	3	*01, *06		2/2 (100)	2/2 (100)			2/2 (100)
HLA-DQB1	24	39	*0502,*0301	DQ5, DQ7	19/24 (79)	17/19 (89)	5/24 (21)	4/5 (80)	21/24 (88)
HLA-DPB1	4	7	*0501,*1401				4/4 (100)	4/4 (100)	4/4 (100)

low, highは解析結果に示されたタイプに基づく

コメント

A座:誤判定(A*2402/03/04/+, A*2609)

B座:表記ミスとB75(B*1502/88)

C座:誤判定(Cw*0208, Cw*0801/02/03/+)

DRB1座:アリルdrop out

DRB3/4/5座:表記ミス(B3*表記なし, *なし, B3*0101/02/03/+)

DQB1座: 表記ミス

表 3 結果提出施設数とタイピング一致率 (H1905)

遺伝子座	結果提出施設数 N=61 (%)		コンセンサス DNA型	コンセンサス HLA型	Low/Medium		High		総合一致率(%)
					結果(%)	一致率(%)	結果(%)	一致率(%)	
HLA-A	45	74	*2402,*-	A24,A-	42/45 (93)	41/42 (98)	3/45 (7)	3/3 (100)	44/45 (98)
HLA-B	44	72	*1513,*4801	B77(15), B48	35/44 (80)	33/35 (94)	9/44 (20)	8/9 (89)	41/44 (93)
HLA-C	25	41	*0801,*-		20/25 (80)	19/20 (95)	5/25 (20)	5/5 (100)	24/25 (96)
HLA-DRB1	47	77	*1202,*1502	DR12, DR15	39/47 (83)	38/39 (97)	8/47 (17)	8/8 (100)	46/47 (98)
HLA-DRB3/4/5	23	38	B5*0101,B3*0301	DR51, DR52	19/23 (83)	23/23 (100)	4/23 (17)	4/4 (100)	23/23 (100)
HLA-DQA1	2	3	*01, *06		2/2 (100)	2/2 (100)			2/2 (100)
HLA-DQB1	14	23	*0502,*0301	DQ5, DQ7	10/14 (71)	8/10 (80)	4/14 (29)	3/4 (75)	11/14 (79)
HLA-DPB1	5	8	*0501,*1401				5/5 (100)	5/5 (100)	5/5 (100)

low, highは解析結果に示されたタイプに基づく

コメント

A座:誤判定(A*2402/33, A*1101/02/03/+)

B座:表記ミスとB75(B*1502/88), 誤判定(B*1502, B*5502/13/16/+); B*4803

C座:誤判定(Cw*0801/02/03/+, Cw*1203/04/06/+), *表記なし

DRB1座:誤判定(DRB1*1501/02/03/+, DRB1*1402/05/06/+)

DRB3/4/5座:*なし

DQB1座: 表記ミス(DQB1*0301, DQB1*0301), 誤判定(DQB1*0501/02/03/+, DQB1*0601/02/03/+). アリルdrop out

表 4 結果提出施設数とタイピング一致率 (H1906)

遺伝子座	結果提出施設数 N=61 (%)		コンセンサス DNA型	コンセンサス HLA型	Low/Medium		High		総合一致率(%)
					結果(%)	一致率(%)	結果(%)	一致率(%)	
HLA-A	42	69	*1101,*2403	A11, A24	41/42 (98)	38/41 (93)	1/42 (2)	1/1 (100)	39/42 (93)
HLA-B	40	67	*1502,*5502	B75(15), B55	33/40 (83)	33/33 (100)	7/40 (17)	7/7 (100)	40/40 (100)
HLA-C	26	43	*0801,*1203		19/26 (73)	18/19 (95)	7/26 (27)	5/7 (71)	23/26 (88)
HLA-DRB1	45	74	*1405,*1501	DR14, DR15	38/45 (84)	38/38 (100)	7/45 (16)	7/7 (100)	45/45 (100)
HLA-DRB3/4/5	21	34	B5*0101,B3*0202	DR51, DR52	17/21 (81)	16/17 (94)	4/21 (19)	3/4 (75)	19/21 (90)
HLA-DQA1	2	3	*01, *06		1/2 (50)	1/2 (50)			1/2 (50)
HLA-DQB1	13	21	*0502,*0601	DQ5, DQ6	3/13 (23)	2/3 (67)	10/13 (77)	10/10 (100)	12/13 (92)
HLA-DPB1	5	8							

low, highは解析結果に示されたタイプに基づく

コメント

A座:誤判定(A*2410, A*1115); アリルdrop out; ?= A*240301/02/2433 B座: 62と表記; B55 or B56; B15, B55/B56

C座:誤判定(Cw*0801, Cw*1604; Cw*0804, Cw*1203; Cw*0805/08, Cw*0808) DRB1座:DRB1*140501/08/45

DRB3/4/5座:1誤判定(DRB3*0301, DRB5*0101; B30215, B50101/02/03/+) DQB1座: 誤判定(DQB1*03, DQB1*05)

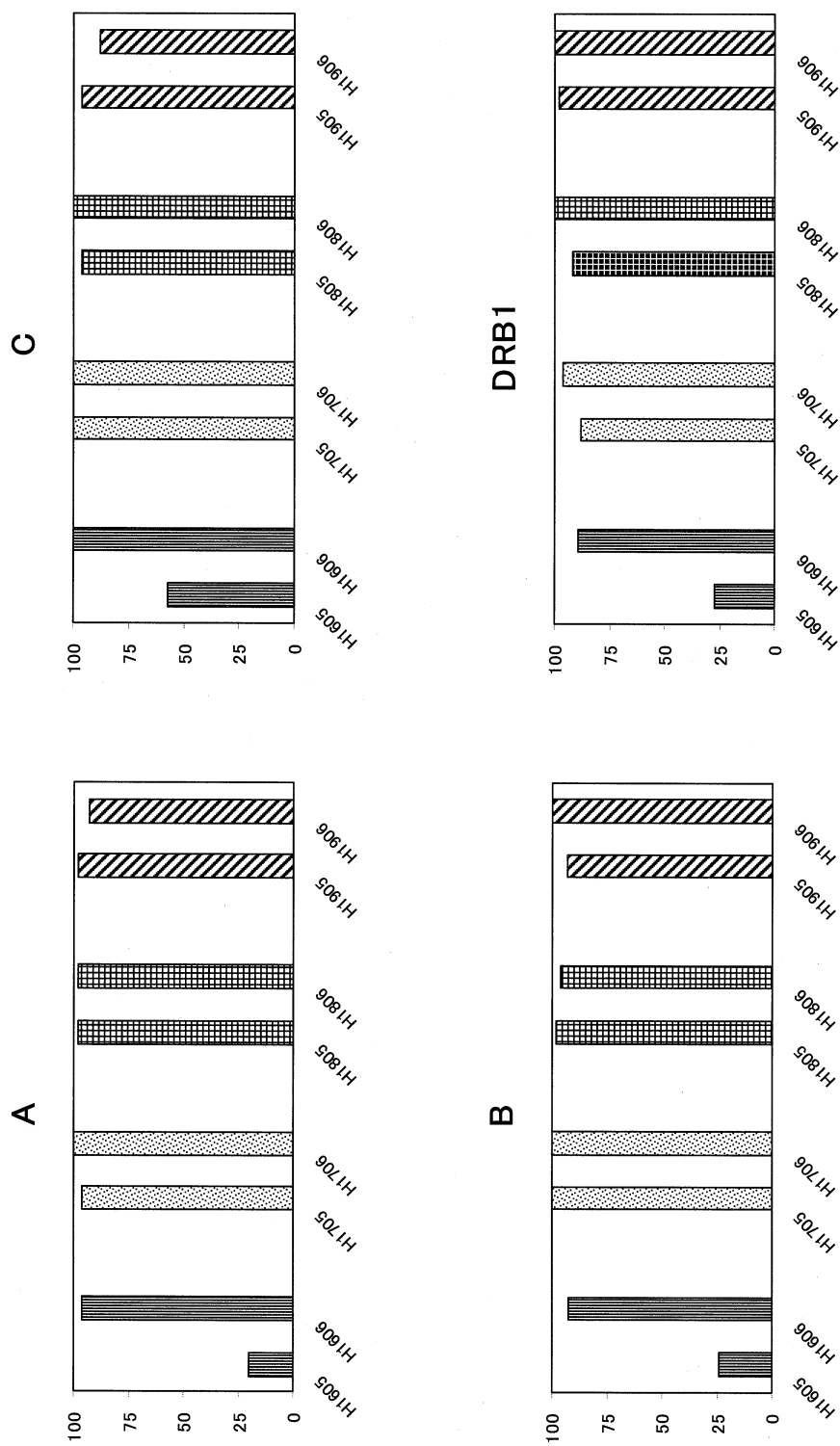
b) 濾紙サンプル H1905

サンプル H1905 の検査を表 3 に示した。ワーク
ショップ解析参 61 施設のうち、最も多く解析結果を
提出したのは DRB1 座の 47 施設(77%)であり、次
は A ローカスの 45 施設(74%)であった。参加施設
においてタイピングを試みたローカスは DRB1, B,

A, が多く(> 70%), C, DQB1 が次に多い。DQA1
と DPB1 については極端に少なかった(< 10%)。こ
の傾向は検査施設で日常の検査に用いているキット
や手法に準じているものと思われる。

タイピング結果の型一致率は high resolution level
では B, DQB1 ローカス以外の総てのローカスで

図1 HLA-DNA タイピング正答率の推移 (平成16年~19年)



100%であった。B, DQB1 でのミス回答は何れも 1 施設だった。また, low/medium レベルでは A, B, C, DRB1 の一致率が 100% ではなかったが, ミス報

告をしたのは参加施設中 1 施設であった。ミス報告の原因は, WGA での報告と同様誤判定, 表記ミスによるものであった(表 3)。

c) 濾紙サンプル H1906

サンプル H1906 の検査を表 4 に示した。ワークショップ解析参 61 施設のうち、最も多く解析結果を提出したのは DRB1 座の 47 施設(74%)であり、次は A ローカスの 45 施設(69%)であり、サンプル H1905 での報告結果と同じであった。タイピング結果の型一致率は high resolution level で C ローカスに 2 施設のミス報告が見られたが、A, B, DRB1 ローカスでは 100% であった。例えば、A ローカスでのミス報告は、A*2401 を A*2410 と記述、ヘテロのタイプであるのに Homozygote と報告、4 桁と 6 桁が混合した記述をしていた(表 4)。このようにミス判定の原因を表 4 に記載した。

濾紙に附着させた培養細胞からの HLA-DNA タイピングは今回が 5 回目の試みである。本年を含め過去 4 年間の A, B, C, DRB1 ローカスにおける総合的

(high と low/medium) タイピング一致率の推移を見ると(図 1), H16 年度は成績が良くないサンプルが見られたが、H17~H19 年度においてはどれも 90% を超える成績を示している。濾紙からの DNA 回収と HLA-DNA タイピングに関しては、参加施設の手法が概ね完成度の高いレベルに達していると考えられる。今後の課題としては、ワークショップに使用する試料をこれまで配布した培養細胞からの DNA ではなく、出来る限り日常業務で扱う日本人の血液が使用できるかである。

WGA は微量試料からのタイピングには有効な手法である。この手法と HLA-DNA タイピングを組み合わせた真の有効性を見るには、今後、今までワークショップで行って来た手順とは異なり、微量サンプルを各施設の WGA 操作で増幅し、提出されたタイピング結果を解析することが必要であろう。

第 11 回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —DNA タイピング結果表記と HLA 型表記—

田中秀則(東京都赤十字血液センター検査部), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

1. はじめに

日本組織適合性学会では、DNA タイピングの結果表記法について「検査結果(ワークシート)記載法と結果報告書表記法およびアンビギュイティ (ambiguity) の取扱いの原則(2003 年度版)」(以下、表記法)で提示しており、HLA-QC ワークショップにおいても、これらの原則に従って結果を表記することとなっている。今回の HLA-QC ワークショップ(以下、QCWS)における各施設からの結果報告を基に、結果表記の問題点について検討を行なったので報告する。

2. 結果および考察

遺伝子座名および対立遺伝子を意味するアスタリスク “*” の付記は、DNA タイピングの結果表記の基本である。しかし、HLA-A 座の DNA タイピングを実施した 59 施設の結果では、9 施設(15.3%)で遺伝子座およびアスタリスクの両方が記載されておらず、6 施設(10.2%)で遺伝子座名が記載されていなかった。また、アンビギュイティの表記を含め、正しく表記されていた施設は 35 施設(59.3%)であった(表 1 参照)。

提出された結果で、全角文字の場合、全角と半角文字が混在している場合、アスタリスクが“※”(米印)で入力されている場合などが見られた。また、

表1 結果表記集計例 (Sample: H1901, HLA-A locus)

No.	結 果	施設数	*	Locus	ambiguity
1	2402/03/04/+	1	×	×	○
2	2402/05/09/+	1	×	×	○
3	2402/05/07/+	1	×	×	○
4	2402/07/09/+	1	×	×	○
5	2402/09/11/+	2	×	×	○
6	2402/09N/+	1	×	×	×
7	2402/20	1	×	×	○
8	240201	2	×	×	○
9	*24	1	○	×	△
10	*2402/03/04/+	2	○	×	○
11	*2402/05/09N/+	1	○	×	×
12	*2402/09/11/+	2	○	×	○
13	*2402/09N/11N/+	1	○	×	×
14	*240201	1	○	×	○
15	* 24	1	△	×	△
16	※2402/05/09/+	1	×	×	○
17	A*24	3	○	○	△

No.	結 果	施設数	*	Locus	ambiguity
18	A*2402/+	1	○	○	×
19	A*2402/03/04/+	6	○	○	○
20	A*2402/05/07/+	1	○	○	○
21	A*2402/05/09/+	6	○	○	○
22	A*2402/05/09/+	1	○	○	○
23	A*2402/05/09N/+	2	○	○	×
24	A*2402/05/11/+	1	○	○	○
25	A*2402/07/09/+	2	○	○	○
26	A*2402/09/11/+	6	○	○	○
27	A*2402/09/20/+	1	○	○	○
28	A*2402/17/20/+	1	○	○	○
29	A*2402/32/34/+	1	○	○	○
30	A*2402/34/35/+	1	○	○	○
31	A*240201	2	○	○	○
32	A*24020101	2	○	○	○
33	HLA-A*2402/03/+	1	○	○	×
34	HLA-A*2402/03/05/+	1	○	○	○

対象施設数:59施設 表記パターン:34種類

正しく結果表記が出来た施設数:35施設 (59.3%)

表2 結果集計に伴うデータ変更

	変更の対象	変更した内容
1	ローカス名および“*”(アステリスク)の追加	例:*020101→A*020101 例:020101→A*020101
2	空 欄 処 理	
	①結果が片方にカラムに入力されている場合	①空欄にブランクを意味する “-”(ハイフン)を入力した
	②結果が両方のカラムに入力がされていない場合	②変更は行わず、“空欄”として集計した。(本来はN.T.の入力が必要)
3	判定不能、判定不可、undf、増幅しない	undefに変更
4	未検査 および nt	N.T.に変更

ローカス名では、以下の表記(入力)間違いが見られ、結果提出の際に十分な確認が必要である。

- ①Cw → C または CW, ②DRB1 → DRB または DR,
③DRB3 → 3 または B3

2.1. アリル表記の結果集計および問題点

提出された結果の表記パターンが多いため、表記

結果の集計には一部の結果表記を変更し(表2 参照)集計を行った。集計はローカスごとに行い、表記法に従っていない結果表記、またはタイピング結果が間違っている結果表記について、表中に網掛けで示した(表3~8)。

① 区分出来ないアリルの表記

HLA-A*24, A*11, B*48, B*41, Cw*08, Cw*07,

表3 HLA-A ローカス表記の集計

Sample :H1901(N=61)					
Allele:A*24020101					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	A*24	5	1	-	57
2	A*2402/+	1	2	A*2402/03/04/+	1
3	A*2402/03/04/+	9	3	A*2402/05/09/+	1
4	A*2402/05/07/+	2	4	N.T.	2
5	A*2402/05/09/+	9			
6	A*2402/05/09N/+	3			
7	A*2402/05/11/+	1		(以下左欄からの続き)	
8	A*2402/07/09/+	3	15	A*2402/32/34/+	1
9	A*2402/09/11/+	10	16	A*2402/34/35/+	1
10	A*2402/09/20/+	1	17	A*240201	5
11	A*2402/09N/+	1	19	A*24020101	2
12	A*2402/09N/11N/+	1	19	HLA-A*2402/03/+	1
13	A*2402/17/20/+	1	20	HLA-A*2402/03/05/+	1
14	A*2402/20	1	21	N.T.	2

Sample :H1902 (N=61)					
Allele:A*010101					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	A*01	4	1	A*01	58
2	A*0101	2	2	A*0101/02/03/+	1
3	A*0101/+	1	3	A*0101/04/09/+	1
4	A*0101/02/03/+	11	4	A*0201/02/03/+	1
5	A*0101/02/04/+	3			
6	A*0101/03/04N/+	4			
7	A*0101/04/08/+	3			
8	A*0101/04/09	4		(以下左欄からの続き)	
9	A*0101/04/09/+	13	15	A*010101	6
10	A*0101/04N/+	1	16	A*01010101	1
11	A*0101/04N/09/+	1	17	A*1	1
12	A*0101/08/09/+	1	18	HLA-A*0101/02/+	1
13	A*0101/09	1	19	HLA-A*0101/3604/+	1
14	A*0101/11/16/+	1	20	N.T.	1

Sample :H1903 (N=61)					
Allele:A*24020101					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	A*24	5	1	-	57
2	A*2402/+	1	2	A*2402/03/04/+	1
3	A*2402/03/04/+	8	3	A*2402/05/09/+	1
4	A*2402/05/07/+	2	4	A*2609	1
5	A*2402/05/09/+	10	5	N.T.	1
6	A*2402/05/09N/+	3			
7	A*2402/05/11/+	1		(以下左欄からの続き)	
8	A*2402/07/09/+	3	15	A*2402/32/34/+	1
9	A*2402/09/11/+	11	16	A*2402/34/35/+	1
10	A*2402/09/20/+	1	17	A*240201	5
11	A*2402/09N/+	1	18	A*24020101	2
12	A*2402/09N/11N/+	1	19	HLA-A*2402/03/+	1
13	A*2402/17/20/+	1	20	HLA-A*2402/03/05/+	1
14	A*2402/20	1	21	N.T.	1

Sample :H1904 (N=61)					
Allele:A*110101			Allele:A*29010101		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	A*11	5	1	-	7
2	A*110//02/03/+	1	2	A*1102/03/04/+	1
3	A*1101	1	3	A*2901	3
4	A*1101/+	1	4	A*2901/+	1
5	A*1101/02	1	5	A*2901/02/+	1
6	A*1101/02/+	1	6	A*2901/02/03/+	8
7	A*1101/02/03/+	30	7	A*2901/02/04/+	28
8	A*1101/03/05/+	5	8	A*2901/04/06/+	1
9	A*1101/03/06/+	2	9	A*2901/12/15/+	2
10	A*1101/03/07/+	2	10	A*290101	5
11	A*1101/21	2	11	A*29010101	1
12	A*1101/21/22	1	12	HLA-A*2901/12	2
13	A*110101	5	13	N.T.	1
14	A*1102/03/04/+	1			
15	HLA-A*1101/03	1			
16	HLA-A*1101/03/06/+	1			
17	N.T.	1			

Sample :H1905 (N=61)					
Allele:A*24020101					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	9	1	空欄	9
2	A*2402/+	1	2	-	46
3	A*2402/03/04/+	3	3	N.T.	3
4	A*2402/05/07/+	3	4	undef	3
5	A*2402/05/09/+	9			
6	A*2402/05/09N/+	3			
7	A*2402/05/11/+	1		(以下左欄からの続き)	
8	A*2402/07/09/+	1	16	A*2402/32/34/+	1
9	A*2402/09/11/+	11	17	A*2402/34/35/+	1
10	A*2402/09/20/+	1	18	A*240201	2
11	A*2402/09N/+	1	19	A*24020101	1
12	A*2402/09N/11N/+	1	20	HLA-A*2402/03/+	1
13	A*2402/11N/40N	1	21	HLA-A*2402/03/05/+	1
14	A*2402/17/20/+	1	22	N.T.	3
15	A*2402/20	1	23	undef	4

Sample :H1906 (N=56)					
Allele:A*110101			Allele:A*2403		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	10	1	空欄	10
2	-	1	2	-	1
3	A*11	1	3	A*24	1
4	A*1101/+	1	4	A*2401/03/04/+	1
5	A*1101/02/+	1	5	A*2402/03/04/+	1
6	A*1101/02/03/+	20	6	A*2402/03/05/+	2
7	A*1101/02/07/+	1	7	A*2402/05/09/+	1
8	A*1101/03/04/+	6	8	A*2402/09/11/+	1
9	A*1101/03/05/+	2	9	A*2403	1
10	A*1101/03/07/+	1	10	A*2403/+	1
11	A*1101/04	3	11	A*2403/10	2
12	A*1101/21/22	1	12	A*2403/10/22/+	14
13	A*110101	1	13	A*2403/10/23/+	1
14	A*1115	1	14	A*2403/10/33	1
15	HLA-A*1101/03/+	1	15	A*2403/22/23	1
16	HLA-A*1101/03/04/+	1	16	A*2403/22/23/+	2
17	N.T.	4	17	A*2403/22/33	1

表4 HLA-B ローカス表記の集計

Sample :H1901 (N=61)				
Allele:B*4801			Allele:B*1513	
	Local Assignment	件数		Local Assignment 件数
1	空欄	2	1	空欄 2
2	B*48	5	2	- 1
3	B*4801	14	3	B*15 3
4	B*4801/03/04/+	1	4	B*1502/88 1
5	B*4801/04	2	5	B*1513 49
6	B*4801/04/09/+	2	6	B*1513/89 2
7	B*4801/04/09/11	1	7	B*530102 1
8	B*4801/07	1	8	HLA-B*1502/88 1
9	B*4801/09	5	9	HLA-B*1513 1
10	B*4801/09/10/+	14		
11	B*4801/09/11	10		
12	B*4803	1		
13	HLA-B*4801/04/+	1		
14	HLA-B*4801/04/09/+	1		
15	undef	1		

Sample :H1902 (N=61)				
Allele:B*4101				
	Local Assignment	件数		Local Assignment 件数
1	空欄	1	1	空欄 1
2	B*1577	1	2	- 57
3	B*41	5	3	B*4101/03/06 1
4	B*4101	10	4	B*4101/06/07 1
5	B*4101/02/03/+	1	5	B*4501/03/04/+ 1
6	B*4101/03/05/+	1		
7	B*4101/03/06	1		
8	B*4101/03/06/+	6		(以下左欄からの続き)
9	B*4101/04/05/+	1	14	B*4101/06 2
10	B*4101/05/06	6	15	B*4101/07 2
11	B*4101/05/06/+	17	16	HLA-B*4101/05/+ 1
12	B*4101/05/06/07	1	17	HLA-B*4101/05/06/+ 1
13	B*4101/05/07/+	1	18	undef 3

Sample :H1903 (N=61)				
Allele:B*4801			Allele:B*1513	
	Local Assignment	件数		Local Assignment 件数
1	空欄	1	1	空欄 1
2	B*48	5	2	- 1
3	B*4801	14	3	B*15 3
4	B*4801/03/04/+	1	4	B*1502/88 1
5	B*4801/04	2	5	B*1513 48
6	B*4801/04/09/+	2	6	B*1513/89 3
7	B*4801/04/09/11	1	7	B*530102 1
8	B*4801/07	2	8	HLA-B*1502/88 1
9	B*4801/07/09/+	1	9	HLA-B*1513 1
10	B*4801/09	5	10	undef 1
11	B*4801/09/10/+	1		
12	B*4801/09/10/+	15		
13	B*4801/09/11	8		
14	HLA-B*4801/04/+	1		
15	HLA-B*4801/04/09/+	1		
16	undef	1		

Sample :H1904 (N=61)				
Allele:B*070501			Allele:B*400201	
	Local Assignment	件数		Local Assignment 件数
1	空欄	1	1	空欄 1
2	B*07	5	2	- 1
3	B*0702/03/04/+	1	3	B*40 5
4	B*0702/04	1	4	B*4002 4
5	B*0705	2	5	B*4002/+ 1
6	B*0705/+	1	6	B*4002/03/04/+ 1
7	B*0705/06	25	7	B*4002/03/08+ 1
8	B*0705/06/17	11	8	B*4002/03/08/+ 2
9	B*0705/06/17/+	3	9	B*4002/04/09/+ 2
10	B*0705/06/28	4	10	B*4002/08/09/+ 6
11	B*0705/06/40	3	11	B*4002/09/27/+ 3
12	B*070501	1	12	B*4002/09/27/+ 1
13	HLA-B*0705/06/+	1	13	B*4002/16/19/+ 1
14	HLA-B*0705/06/40	1	14	B*4002/27/29/+ 14
15	undef	1	15	B*4002/27/35/+ 4
			16	B*4002/27/40/+ 2
			17	B*4002/29 1
	(以下右欄からの続き)		18	B*4002/35/37 1
21	HLA-B*4002/27/+	1	19	B*4002/56/57 2
22	HLA-B*4002/27/35/+	1	20	B*400201 6

Sample :H1905 (N=57)				
Allele:B*4801			Allele:B*1513	
	Local Assignment	件数		Local Assignment 件数
1	空欄	9	1	空欄 9
2	B*4801	10	2	- 2
3	B*4801/03/04/+	1	3	B*1502/88 1
4	B*4801/04	2	4	B*1513 39
5	B*4801/04/09/+	2	5	B*1513/89 2
6	B*4801/04/09/11	1	6	HLA-B*1502/88 1
7	B*4801/09	5	7	HLA-B*1513 1
8	B*4801/09/10/+	15	8	N.T. 3
9	B*4801/09/11	5	9	undef 3
10	B*4803	1		
11	HLA-B*4801/04/+	1		

Sample :H1906 (N=57)				
Allele:B*1502			Allele:B*550201	
	Local Assignment	件数		Local Assignment 件数
1	空欄	10	1	空欄 10
2	B*1502	14	2	- 2
3	B*1502//88	1	3	B*5501/02/+ 1
4	B*1502/88	20	4	B*5501/02/05+ 2
5	B*1502/88/9512/+	1	5	B*5501/02/05/+ 20
6	B*1502/9512	1	6	B*5502 6
7	B*1502/9521	2	7	B*5502/07/12/+ 1
8	HLA-B*1502/88	2	8	B*5502/12 1
9	N.T.	5	9	B*5502/12/16/+ 1
10	undef	5	10	B*5502/13/16/+ 1
			11	B*5502/16 1

表5 HLA-C ローカス表記の集計

Sample :H1901 (N=59)					
Allele:Cw*0801					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	20	1	空欄	20
2	Cw*08	5	2	-	37
3	Cw*0801	3	3	Cw*0801/02/03/+	1
4	Cw*0801/02/03/+	6	4	N.T.	1
5	Cw*0801/03/04/+	5			
6	Cw*0801/04/08	1			
7	Cw*0801/04/08/+	4			
8	Cw*0801/06	1			
9	Cw*0801/08	4			
10	Cw*080101	7			
11	HLA-Cw*0801/04+	1			
12	HLA-Cw*0801/04/08/+	1			
13	N.T.	1			

Sample :H1902 (N=38)					
Allele:Cw*17					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	19	1	空欄	19
2	Cw*0202/03/04/+	1	2	-	35
3	Cw*07	2	3	Cw*1201/02/03/+	1
4	Cw*07/12/17	1	4	Cw*1701/02/03	1
5	Cw*17	1	5	N.T.	1
6	Cw*1701	1	6	undef	2
7	Cw*1701/02/03	16			
8	Cw*1701/02/03/+	13			
9	HLA-Cw*1701/02/+	1			
10	HLA-Cw*1701/02/03/+	1			
11	N.T.	1			
12	undef	2			

Sample :H1903 (N=59)					
Allele:Cw*080101					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	21	1	空欄	21
2	Cw*08	5	2	-	35
3	Cw*0801	3	3	Cw*0208	1
4	Cw*0801/02/03/+	5	4	Cw*0801/02/03/+	1
5	Cw*0801/03/04/+	5	5	N.T.	1
6	Cw*0801/04/06/+	1			
7	Cw*0801/04/08	1			
8	Cw*0801/04/08/+	3			
9	Cw*0801/06	1			
10	Cw*0801/08	4			
11	Cw*080101	7			
12	HLA-Cw*0801/04+	1			
13	HLA-Cw*0801/04/08/+	1			
14	N.T.	1			

Sample :H1904 (N=59)					
Allele:Cw*150201			Allele:Cw*1505		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	19	1	空欄	19
2	Cw*15	4	2	-	20
3	Cw*1502	2	3	Cw*03/15	1
4	Cw*1502/03/05	5	4	Cw*1502/05/06/+	1
5	Cw*1502/03/05/+	2	5	Cw*1502/13	1
6	Cw*1502/04/05/+	3	6	Cw*1505	8
7	Cw*1502/05	1	7	Cw*1505/06	1
8	Cw*1502/05/06/+	5	8	Cw*1505/13	5
9	Cw*1502/05/13	1	9	Cw*150501/0502/0503	1
10	Cw*1502/07/08/+	2	10	HLA-Cw*1505/13	1
11	Cw*1502/11/13/+	3	11	N.T.	1
12	Cw*1502/13	2			
13	Cw*150201	5			
14	Cw*1505	1			
15	Cw*1512	1			
16	HLA-Cw*1502/05	1			
17	HLA-Cw*1502/05/13	1			
18	N.T.	1			

Sample :H1905 (N=59)					
Allele:Cw*080101					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	28	1	空欄	28
2	Cw*0801	2	2	-	27
3	Cw*0801/02/03/+	2	3	N.T.	4
4	Cw*0801/02/04/+	1			
5	Cw*0801/03/04/+	4			
6	Cw*0801/04/08/+	4			
7	Cw*0801/08	5			
8	Cw*080101	4			
9	HLA-Cw*0801/04+	1			
10	HLA-Cw*0801/04/08/+	1			
11	N.T.	4			
12	undef	3			

Sample :H1906 (N=59)					
Allele:Cw*080101			Allele:Cw*120301		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	27	1	空欄	27
2	Cw*0801	2	2	-	1
3	Cw*0801/02/03/+	1	3	Cw*0808	1
4	Cw*0801/03/04/+	4	4	Cw*1203	1
5	Cw*0801/04/08/+	1	5	Cw*1203/03/07/+	1
6	Cw*0801/08	9	6	Cw*1203/04/06/+	1
7	Cw*0801/08/09	1	7	Cw*1203/06/07	1
8	Cw*080101	4	8	Cw*1203/06/07/+	12
9	Cw*0805/08	1	9	Cw*1203/06/12/+	1
10	HLA-Cw*0801/08	1	10	Cw*120301	4
11	HLA-Cw*0804	1	11	Cw*1604	1
12	N.T.	4	12	HLA-Cw*1203	1
13	undef	3	13	HLA-Cw*1203/06/07/+	1
			14	N.T.	4
			15	undef	2

表6 HLA-DRB1 ローカス表記の集計

Sample :H1901 (N=61)				
Allele:DRB1*120201			Allele:DRB1*150201	
Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1 空欄	2	1 空欄	2	
2 DRB1*12	4	2 DRB1*15	4	
3 DRB1*1201/02/03/+	11	3 DRB1*1501	1	
4 DRB1*1201/02/06/+	2	4 DRB1*1501/02	1	
5 DRB1*1202	15	5 DRB1*1501/02/03/+	8	
6 DRB1*1202/07	6	6 DRB1*1501/02/04/+	9	
7 DRB1*1202/07/13	9	7 DRB1*1501/04/05/+	4	
8 DRB1*1202/07/13/+	1	8 DRB1*1502	7	
9 DRB1*1202/13	3	9 DRB1*1502/08/11/+	2	
10 DRB1*1202/13/15	2	10 DRB1*1502/08/14	1	
11 DRB1*120201	3	11 DRB1*1502/08/14/+	7	
12 DRB1*120201/0202/07	1	12 DRB1*1502/11/14	1	
13 HLA-DRB1*1202	2	13 DRB1*1502/11/14/+	2	
		14 DRB1*1502/14	1	
		15 DRB1*1502/14/19	2	
(以下右欄からの続き)		16 DRB1*1502/15	2	
19 HLA-DRB1*1502/11/+	1	17 DRB1*1502/19	2	
20 HLA-DRB1*1502/11/14	1	19 DRB1*150201	3	

Sample :H1902 (N=61)				
Allele:DRB1*110101				
Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1 空欄	1	1 空欄	1	
2 DRB1*11	4	2 -	51	
3 DRB1*11/13/14	2	3 DRB1*03/04/11/+	2	
4 DRB1*1101	10	4 DRB1*0309/17/+	2	
5 DRB1*1101/02/+	1	5 DRB1*0412/15	1	
6 DRB1*1101/02/03/+	2	6 DRB1*1101/02/04/+	1	
7 DRB1*1101/02/04/+	2	7 DRB1*1101/05/12/+	1	
8 DRB1*1101/03	1	8 DRB1*110101/0106	1	
9 DRB1*1101/03/04/+	1	9 DRB1*1405/37/43/+	1	
10 DRB1*1101/04/05/+	2			
11 DRB1*1101/04/06/+	2	(以下左欄からの続き)		
12 DRB1*1101/04/12/+	1	20 DRB1*1101/27/37/+	1	
13 DRB1*1101/05/08/+	1	21 DRB1*1101/30	2	
14 DRB1*1101/05/11/+	3	22 DRB1*1101/37/39	3	
15 DRB1*1101/09/10/+	3	23 DRB1*1101/51	1	
16 DRB1*1101/12/15/+	8	24 DRB1*110101	2	
17 DRB1*1101/12/27/+	1	25 DRB1*110101/0106	1	
18 DRB1*1101/1346/+	2	26 HLA-DRB1*1101/05/+	1	
19 DRB1*1101/23/27/+	2	27 HLA-DRB1*1101/1307/+	1	

Sample :H1903 (N=61)				
Allele:DRB1*120201			Allele:DRB1*150201	
Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1 空欄	1	1 空欄	1	
2 -	1	2 DRB1*15	4	
3 DRB1*12	4	3 DRB1*1501/02	1	
4 DRB1*1201/02/03/+	9	4 DRB1*1501/02/03/+	8	
5 DRB1*1201/02/06/+	2	5 DRB1*1501/02/04/+	11	
6 DRB1*1202	14	6 DRB1*1501/04/05/+	4	
7 DRB1*1202/07	7	7 DRB1*1502	7	
8 DRB1*1202/07/13	11	8 DRB1*1502/08/11/+	2	
9 DRB1*1202/07/13/+	1	9 DRB1*1502/08/14	1	
10 DRB1*1202/13	3	10 DRB1*1502/08/14/+	7	
11 DRB1*1202/13/15	2	11 DRB1*1502/11/14	1	
12 DRB1*120201	3	12 DRB1*1502/11/14/+	2	
13 DRB1*120201/0202/07	1	13 DRB1*1502/14	1	
14 HLA-DRB1*1202	2	14 DRB1*1502/14/19	2	
		15 DRB1*1502/15	2	
		16 DRB1*1502/19	2	
(以下右欄からの続き)		17 DRB1*150201	3	
19 HLA-DRB1*1502/11/14	1	18 HLA-DRB1*1502/11/+	1	

Sample :H1904 (N=61)				
Allele:DRB1*100101			Allele:DRB1*110601	
Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1 空欄	1	1 空欄	1	
2 DRB1*10	4	2 DRB1*11	4	
3 DRB1*10/11	1	3 DRB1*1101/02/04/+	3	
4 DRB1*1001	46	4 DRB1*1101/03/04/+	1	
5 DRB1*1001/02	1	5 DRB1*1101/04/05/+	1	
6 DRB1*100101	6	6 DRB1*1101/04/06/+	4	
7 HLA-DRB1*1001	2	7 DRB1*1101/12/15/+	1	
		8 DRB1*1104/06/18/+	3	
		9 DRB1*1104/06/25/+	2	
		10 DRB1*1106	18	
		11 DRB1*1106/07	1	
		12 DRB1*1106/27	1	
		13 DRB1*1106/47	12	
		14 DRB1*110601	6	
		15 DRB1*110601/0602/47	1	
		16 HLA-DRB1*1106	2	

Sample :H1905 (N=61)				
Allele:DRB1*120201			Allele:DRB1*150201	
Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1 空欄	7	1 空欄	7	
2 DRB1*1201/02/03/+	4	2 -	1	
3 DRB1*1201/02/06/+	3	3 DRB1*1501/02	2	
4 DRB1*1202	15	4 DRB1*1501/02/03/+	4	
5 DRB1*1202/03/15	1	5 DRB1*1501/02/04/+	9	
6 DRB1*1202/07	6	6 DRB1*1501/04/05/+	4	
7 DRB1*1202/07/13	10	7 DRB1*1502	6	
8 DRB1*1202/13	3	8 DRB1*1502/08/11/+	2	
9 DRB1*120201	2	9 DRB1*1502/08/14	1	
10 DRB1*120201/0202/07	1	10 DRB1*1502/08/14/+	5	
11 HLA-DRB1*1202	2	11 DRB1*1502/11/14	1	
12 N.T.	3	12 DRB1*1502/11/14/+	1	
13 undef	4	13 DRB1*1502/14	1	
		14 DRB1*1502/14/19	2	

Sample :H1906 (N=61)				
Allele:DRB1*140501			Allele:DRB1*150101	
Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1 空欄	7	1 空欄	7	
2 DRB1*11/14	1	2 -	1	
3 DRB1*1152/1405/+	4	3 DRB1*1501	8	
4 DRB1*1401/02/05/+	1	4 DRB1*1501/02	2	
5 DRB1*1402/03/05/+	1	5 DRB1*1501/02/03/+	2	
6 DRB1*1402/05/06/+	1	6 DRB1*1501/02/04/+	11	
7 DRB1*1405	9	7 DRB1*1501/03/04/+	4	
8 DRB1*1405/08	1	8 DRB1*1501/03/06/+	4	
9 DRB1*1405/08/14/+	2	9 DRB1*1501/04/05/+	5	
10 DRB1*1405/08/23/+	2	10 DRB1*1501/05	2	
11 DRB1*1405/08/45/+	1	11 DRB1*1501/06/07/+	1	
12 DRB1*1405/23	3	12 DRB1*1501/06/13/+	1	
13 DRB1*1405/23/37/+	1	13 DRB1*1501/13/16/+	1	
14 DRB1*1405/43	2	14 DRB1*1501/16/20/+	1	
22 N.T.	4	23 undef	4	

表 7 HLA-DRB3, 4, 5 および DPB1 ローカス表記の集計

Sample :H1901 (N=59)					
Allele:DRB3*0301			Allele:DRB5*0101		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	24	1	空欄	24
2	DRB3*01/02/03	9	2	DRB5*01	2
3	DRB3*0101/02/03/+	3	3	DRB5*01/02	9
4	DRB3*02	1	4	DRB5*0101	5
5	DRB3*03	1	5	DRB5*0101/02/03/+	3
6	DRB3*0301	8	6	DRB5*0101/04/05/+	1
7	DRB3*0301/03	12	7	DRB5*0101/05	3
8	N.T.	1	8	DRB5*0101/05/06/+	10
			9	DRB5*0102/03/08N	1
			10	N.T.	1

Sample :H1903 (N=59)					
Allele:DRB3*0301			Allele:DRB5*0101		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	24	1	空欄	24
2	DRB3*01/02/03	8	2	DRB5*01	2
3	DRB3*0101/02/03/+	3	3	DRB5*01/02	8
4	DRB3*02	1	4	DRB5*0101	4
5	DRB3*03	1	5	DRB5*0101/02/03/+	3
6	DRB3*0301	8	6	DRB5*0101/04/05/+	1
7	DRB3*0301/03	13	7	DRB5*0101/05	4
8	N.T.	1	8	DRB5*0101/05/06/+	11
			9	DRB5*0102/03/08N	1
			10	N.T.	1

Sample :H1905 (N=59)					
Allele:DRB3*0301			Allele:DRB5*0101		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	29	1	空欄	29
2	DRB3*01/02/03	2	2	DRB5*01	1
3	DRB3*0101/02/03/+	1	3	DRB5*01/02	2
4	DRB3*03	1	4	DRB5*0101	5
5	DRB3*0301	8	5	DRB5*0101/02/03/+	1
6	DRB3*0301/03	12	6	DRB5*0101/04/05/+	1
7	N.T.	4	7	DRB5*0101/05	3
8	undef	2	8	DRB5*0101/05/06/+	10
			9	DRB5*0102/03/08/+	1
			10	N.T.	4
			11	undef	2

Sample :H1901 (N=7)					
Allele:DPB1*0501			Allele:DPB1*1401		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DPB1*0501	3	1	DPB1*1401	3
2	HLA-DPB1*0501	1	2	HLA-DPB1*1401	1
3	N.T.	3	3	N.T.	3

Sample :H1903 (N=7)					
Allele:DPB1*0501			Allele:DPB1*1401		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DPB1*0501	3	1	DPB1*1401	3
2	HLA-DPB1*0501	1	2	HLA-DPB1*1401	1
3	N.T.	3	3	N.T.	3

Sample :H1905 (N=7)					
Allele:DPB1*0501			Allele:DPB1*1401		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DPB1*0501	3	1	DPB1*1401	3
2	HLA-DPB1*0501	1	2	HLA-DPB1*1401	1
3	N.T.	3	3	N.T.	3

Sample :H1902 (N=59)					
Allele:DRB3*0202					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	23	1	空欄	23
2	DRB3*01/02/03	9	2	-	34
3	DRB3*0101/02/03/+	3	3	DRB1*11	1
4	DRB3*02	2	4	DRB3*0101/02/03/+	1
5	DRB3*0201/02/03/+	12	5		
6	DRB3*0202	5			
7	DRB3*0202/03/05/+	1			
8	DRB3*0202/03/06/+	1			
9	DRB3*0202/10/11/+	3			
10	DRB3*0215	1			
11	N.T.	1			
12					

Sample :H1906 (N=59)					
Allele:DRB3*0202			Allele:DRB5*0101		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	空欄	29	1	空欄	29
2	DRB3*01/02/03	1	2	DRB5*01	1
3	DRB3*02	1	3	DRB5*01/02	1
4	DRB3*0201/02/03/+	12	4	DRB5*0101	5
5	DRB3*0202	5	5	DRB5*0101/02/03/+	1
6	DRB3*0202/10/11/+	2	6	DRB5*0101/04/05/+	1
7	DRB3*0202/11/12/+	1	7	DRB5*0101/05	4
8	DRB3*0215	1	8	DRB5*0101/05/09/+	10
9	N.T.	5	9	N.T.	5
10	undef	2	10	undef	2

Sample :H1902 (N=7)					
Allele:DPB1*1001					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DPB1*1001	3	1	-	4
2	HLA-DPB1*1001	1	2	N.T.	3
3	N.T.	3			

Sample :H1904 (N=7)					
Allele:DPB1*0201			Allele:DPB1*1901		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DPB1*0201	1	1	-	1
2	DPB1*020102	2	2	DPB1*0802/1901	1
3	HLA-DPB1*0201//+	1	3	DPB1*1901	1
4	N.T.	3			

Sample :H1906 (N=7)					
Allele:DPB1*0501					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DPB1*0501	3	1	-	4
2	HLA-DPB1*0501	1	2	N.T.	3
3	N.T.	3			

表 8 HLA-DQA1, DQB1 ローカス表記の集計

Sample :H1901 (N=5)					
Allele:DQA1*0102			Allele:DQA1*0601		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQA1*0101/02/04/+	1	1	DQA1*0601	2
2	DQA1*0102	1	2	N.T.	3
3	N.T.	3			

Sample :H1903 (N=5)					
Allele:DQA1*0102			Allele:DQA1*0601		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQA1*0101/02/04/+	1	1	DQA1*0601	2
2	DQA1*0102	1	2	N.T.	3
3	N.T.	3			

Sample :H1905 (N=5)					
Allele:DQA1*0102			Allele:DQA1*0601		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQA1*0101/02/04/+	1	1	DQA1*0601	1
2	N.T.	3	2	N.T.	3
3	undef	1	3	undef	1

Sample :H1901(N=26)					
Allele:DQB1*030101			Allele:DQB1*050201		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQB1*03	3	1	DQB1*05	4
2	DQB1*0301	6	2	DQB1*0501//02/03/+	1
3	DQB1*0301/04/09/+	6	3	DQB1*0501/02/03/+	5
4	DQB1*0301/09	4	4	DQB1*0502	9
5	DQB1*0301/09/13/+	2	5	DQB1*0502/05	3
6	DQB1*0301/16	1	6	DQB1*050201	2
7	DQB1*030101	2	7	HLA-DQB1*0502	1
8	HLA-DQB1*0301/09	1	8	N.T.	1
9	N.T.	1			

Sample :H1903 (N=25)					
Allele:DQB1*030101			Allele:DQB1*050201		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQB1*03	3	1	DQB1*05	4
2	DQB1*0301	6	2	DQB1*0501//02/03/+	1
3	DQB1*0301/04/09/+	5	3	DQB1*0501/02/03/+	4
4	DQB1*0301/09	4	4	DQB1*0502	9
5	DQB1*0301/09/13/+	2	5	DQB1*0502/05	3
6	DQB1*0301/16	1	6	DQB1*050201	2
7	DQB1*030101	2	7	HLA-DQB1*0502	1
8	HLA-DQB1*0301/09	1	8	N.T.	1
9	N.T.	1			

Sample :H1905 (N=19)					
Allele:DQB1*030101			Allele:DQB1*050201		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQB1*0301	4	1	DQB1*0501/02/03/+	2
2	DQB1*0301/04/09/+	2	2	DQB1*0502	7
3	DQB1*0301/09	3	3	DQB1*0502/05	1
4	DQB1*0301/09/13/+	1	4	DQB1*050201	1
5	DQB1*030101	1	5	HLA-DQB1*0502	1
6	HLA-DQB1*0301/09	1	6	N.T.	4
7	N.T.	4	7	undef	3
8	undef	3			

Sample :H1902 (N=5)					
Allele:DQA1*040101?			Allele:DQA1*05		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQA1*040101	1	1	DQA1*040101	1
2	-	1	2	DQA1*0505/08	1
3	N.T.	3	3	N.T.	3

Sample :H1904 (N=5)					
Allele:DQA1*01			Allele:DQA1*05		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQA1*0101/02/04/+	1	1	DQA1*0501/03/05	1
2	N.T.	3	2	N.T.	3
3	undef	1	3	undef	1

Sample :H1906 (N=5)					
Allele:DQA1*01					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQA1*0101/02/04/+	1	1	-	1
2	N.T.	3	2	N.T.	3
3	undef	1	3	undef	1

Sample :H1902 (N=26)					
Allele:DQB1*030101					
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQB1*03	3	1	-	23
2	DQB1*0301	5	2	DQB1*0301/04/09/+	1
3	DQB1*0301/04/09/+	6	3	undef	1
4	DQB1*0301/09	1	4	N.T.	1
5	DQB1*0301/09/13/+	7			
6	DQB1*030101	2			
7	HLA-DQB1*0301/09	1			
8	N.T.	1			

Sample :H1904 (N=26)					
Allele:DQB1*030101			Allele:DQB1*050101		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQB1*03	3	1	DQB1*05	4
2	DQB1*0301	6	2	DQB1*0501	12
3	DQB1*0301/04/09/+	6	3	DQB1*0501//02/03/+	1
4	DQB1*0301/09	4	4	DQB1*0501/02/03/+	5
5	DQB1*0301/09/13/+	3	5	DQB1*050101	2
6	DQB1*030101	2	6	N.T.	1
7	HLA-DQB1*0301/09	1			
8	N.T.	1			

Sample :H1906 (N=20)					
Allele:DQB1*050301			Allele:DQB1*060101		
	Local Assignment	件数		Local Assignment	件数
1	DQB1*0501/02/03/+	2	1	DQB1*0601	9
2	DQB1*0503	9	2	DQB1*0601/02/03/+	2
3	DQB1*050301	1	3	DQB1*060101	1
4	HLA-DQB1*0503	1	4	HLA-DQB1*0601	1
5	N.T.	4	5	N.T.	4
6	undef	3	6	undef	3

DRB1*12, DRB1*15 などの 2 桁による結果表記が数多く見られ、粗分別 (low resolution, 2 桁レベル) でのタイピングの結果表記だと思われるが、試薬の特性を知るためにも、区分できないアレルについて、表記法の「アンビギュイティ (ambiguity) の取扱いについて」に従い、結果を表記することが必要である。

② “/” (スラッシュ) を用いた区分不可能なアレルの表記

例年のことであるが、“/” (スラッシュ) を用いた区分不可能なアレルの表記について、以下の間違いがあった。

- ・3 種類のアレルを表記し、最後に “/+” とするところを、4 種類以上のアレルによる結果表記 (例: B*4801/04/09/11)
- ・3 種類のアレルを表記し、最後に “/+” とするところを、1 種類または 2 種類のアレルの後に “/+” を付けた結果表記 (例: A*2402/+, A*2901/02/+, Cw*0801/04+, DRB1*1101/02/+)。
- ・3 種類のアレルを表記し、最後に “/+” とするところを、“+” だけで付けた結果表記 (例: B*4002/03/08+, B*5501/02/05+)

③ N (null) および L (low) の表記

null を意味する “N” および low expression を意味する “L” などを含めた結果表記 (例: A*2402/09N/11N/+, A*0101/03/04N/+) が多く見られたが、表記法ではこれらの記号を結果に表記しないこととされている。

④ 5 桁目以降の区分出来ないアレルの表記

表記法では、「5 桁以上の細分化が知られているアレルで、5 桁以上でアレルが特定できた場合にのみ、その桁数でアレルを記載する」とされており、5 桁目以降の区分出来ないアレル (例: Cw*150501/0502/0503, DRB1*120201/0202/07, DRB1*110101/0106) について、4 桁で表記する必要がある。

⑤ 判定不能、判定不可、判定保留および “nd” の表記

判定不能や判定不可の結果表記は、undefined の略

として undef と結果を表記し、判定出来ない内容をコメント欄で説明することとされている。しかし、undef の使用については、表記法で「判定されたアレルが一つで、それ以外に明らかに異なるアレルの存在が疑われるが、そのアレルが特定出来ない場合に、“nd” と記載しても良い」という “nd” の表記とは、使用用途が異なるため、使用する際には十分注意をすることが必要である。

⑥ アレルがひとつしか検出されない場合の表記

表記法において、アレルがひとつしか検出されなかった場合、同一のアレルを後ろのカラムに表記せず、後ろのカラムには、「—」を記載することとなっているが、2 施設で同じアレルが入力され、3 施設で後ろのカラムが空欄であった。

2.2. HLA 型の表記の問題点

HLA 型 (HLA 抗原型) 表記の基本的な問題として、ローカス名が記載されていない施設が 21 施設あった。また、DNA タイピング結果は入力されているが、HLA 型が表記されていない施設が 2 施設、HLA 型にアレルを意味するアスタリスク “*” を付記していた施設が、1 施設あった。

HLA-A ローカスの HLA 型表記では、A*2403 に対応する HLA 型が公認抗原である A2403 であることから、A24 でなく A2403 と表記する必要がある。

HLA-B ローカスの HLA 型表記では、B40 および B15 抗原群のアレルと HLA 型の関係は複雑である。今回の QCWS では、B*1513 とタイピングされた場合の HLA 型は B77 であるが、2 施設で HLA 型を B15 と表記しており、B15 抗原群でのアレルと HLA 型の対応を習熟する必要がある。

HLA-DRB3, DRB4, DRB5 ローカスに対応するそれぞれの HLA 型は、HLA-DR52, DR53, DR51 であり、アレル名または遺伝子座名で HLA 型を表記はしない (例: DRB3 3, DRB5 1, DRB3, DRB5 等)。

HLA-DQB1 ローカスの HLA 型の表記として、DQB1*03 を DQ7 としていたが、DQ7 は DQB1*0301 とタイプされた場合だけで、DQB1*03 に対応する HLA 型は DQ3 が適切である。

第11回 HLA-QC ワークショップレポート（抗体部門） —企画と実施内容・総合解析—

中島文明(日本赤十字社中央血液研究所), 赤座達也(特定非営利活動法人 HLA 研究所), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

1. はじめに

本ワークショップ抗体部門の目的は DNA 部門と基本的に同じである。それは、検査方法の理解と普及であり、各参加者は技術と知識の向上を目指す。そして、自施設の結果を全体の結果と比較し、改善していく。さまざまな方法が混在し、施設によって採用する方法も異なる抗体部門は、ワークショップを通じて、各施設における結果の整合性を維持し、標準化を目指すことにある。

平成 17 年から始まった抗体部門は今回が三回目であり、実施上で幾つかの改善を試みた。また、解析においてはエピトープを推定する解析ソフトを用いて、より客観的な解析を可能とした。

2. 企画と実施内容

2.1. 実施経過

本年はワークショップ集会が例年より 1 ヶ月ほど早目の開催であったため、スケジュールもそれを見越して計画され、概ねそのとおり実行できた。同意書の収集に手間取ったが、改善可能な部分である。(表 1)

表 1 実施経過

平成19年1月	日赤血液センターに抗血清譲渡依頼
平成19年2月24日	参加申込み締切り
平成19年3月～	サンプルの選定・抗体反応性確認・分注
平成19年4月5日	同意書送付
平成19年5月7日	抗体QCサンプル配布
平成19年5月17日	データ入力シート配布
平成19年6月10日	データ提出締切り
平成19年6月～	抗体QCデータ解析・発表者選定
平成19年8月8日	全データ・集計データ送付
平成19年9月9日	QCワークショップ集会

2.2. サンプルの選択と配布

使用するサンプルは前年までの市販抗血清から、血液センターへの譲渡依頼で提供できるようにした。これにより、選択範囲が格段に広がり、すでにある LCT 法のデータを参考に精製抗原試薬で確認し、その中から 4 本を選択した。参加施設に 1ml ずつ配布し、同時に昨年と同じく、取扱いに関する誓約書の返送を義務付けた。これらの選択基準と内容は別表に示す。(表 2)

2.3. データ収集

データの収集は Microsoft Excel で作成した統一形式の入力ファイルを配布した。今回から、方法別であったファイルの一つにまとめ、メニュー形式で入力可能とした。追加される画像データファイル、測定データファイルなども事務局での混乱を防ぐため、ファイル名の付け方を一定のルールで統一して収集した。

2.4. 参加施設と検査方法別集計

参加施設は例年約一割ずつ減少しているが、血液センターが徐々に減っていることが原因である。(表 3) 方法別では、LCT と MPHA が減少した。血液センターの参加が減った影響である。精製抗原各法では Single antigen 試薬（以下、SA）が増加し、また、新たに国産試薬が加わった。(表 4)

2.5. 解析

収集したデータは事務局で一旦まとめ、各施設に再配布した。各解析担当者は、これまでの人選から可能な限り一新し、新たな視点での解析を目指した。

3. 総合解析

ここでは、全体的な総合解析について述べるこ

表2 配布した HLA 抗体サンプルと選定理由

サンプルID	カラーコード	抗体力価 (LCT法)	抗体特異性 (LCT法)	抗体性状	選別理由
SH1901	red	x1	A3 A11 A32 A74	HLAクラスI-IgG? HLAクラスI-IgM	エピトープ解析用
SH1902	blue	x8~32	B18 B35 B37 B51 B5102 B52 B53	HLAクラスI-IgG	エピトープ解析用
SH1903	yellow	不明	A32 Bw4 B46 Cw9 Cw10	HLAクラスI-IgG HLAクラスI-IgM? HLAクラスII-IgG?	患者サンプルを想定
SH1904	green	x1	Cw1	HLAクラスI-IgG HLAクラスII-IgG HLAクラスII-IgM?	Cローカス抗体の検出を方法別に確認

1. 明確な抗体特異性を有するIgM抗体 → SH1901
2. 明確な抗体特異性を有するIgG抗体 → SH1902
3. 広範囲に抗体特異性を有するサンプル → SH1903
4. Cローカス抗原に対する抗体 → SH1903/1904
5. HLAクラスII抗原に対する抗体 → SH1904

血液センター保管の抗血清から譲渡を受け、これら4検体を1mlずつ配布。

表3 参加施設と内訳(これまでの比較)

	9th.QCWS (2005)		10th.QCWS (2006)		11th.QCWS (2007)	
	n	%	n	%	n	%
血液センター	17	35.4%	16	37.2%	12	30.0%
大学病院	12	25.0%	11	25.6%	12	30.0%
検査・輸血部	11	22.9%	9	20.9%	8	20.0%
検査センター	4	8.3%	3	7.0%	5	12.5%
研究施設	2	4.2%	3	7.0%	2	5.0%
その他	2	4.2%	1	2.3%	1	2.5%
(Total)	48		43		40	
データ提出	44	91.7%	39	90.7%	37	92.5%

とする。

3.1. HLA 抗体の検出(有無)

クラス I 抗体は 4 本ともすべて検出できた。SH1901 と 1902 は抗体特異性が明確で、エピトープ解析用として選択した。それぞれ対照的に前者が IgM 抗体、後者が IgG 抗体である。そのため、SH1901 は方法に依存し、検出率は 4 割程度であった。クラス II 抗体はどれも微弱で SH1901 と 1904 でかろうじて検出できていた。方法別では二次抗体に IgM を使用しない場合は SH1901 が全く検出できない。逆に IgG を使用しない場合は SH1902 が検出できない。そのような中、AHG-LCT 法のクラ

ス I は 100%検出できている。(表 5)

3.2. HLA 抗体の特異性解析

3.2.1. SH1901

LABScreen (PRA; 1 施設, SA; 2 施設)の蛍光値を抗体特異性に比較すると、①A3+A11+A32+A74 が 12,000~9,000 前後、②A1+A36 が 5,000~2,000 前後、③A25 が 1,400 程度で、少なくともこれら 3 種の抗体特異性を含んでいると考えられる。この情報をもとにエピトープ解析をすると、①は 67 番目アミノ酸がバリリン (V) に置換しているときの特異性が A3+A11+A32+A74、②は 62~63 番目アミノ酸がグルタミン・セリン (QE) に置換しているときの特異

表4 参加施設の検査方法別一覧(前回との比較)

			10th.QCWS (2006)				11th.QCWS (2007)				
総合判定提出 / データ提出施設数			24/39				37/37				
方 法			クラスⅠ		クラスⅡ		クラスⅠ		クラスⅡ		
LCT			16 (584)		4 (47)		11 (388)		2 (6)		
AHG-LCT			14 (576)				10 (345)				
方 法		パネル形態	クラスⅠ				クラスⅠ				
			IgG		IgM		IgG		IgM		
MPHA	オリビオ(スクリーニング用)		7				5				
	anti HPAパネル		5				6		1		
	自家製パネル		1 (8)				1 (4)				
PAKPLUS			3		1		3				
方 法		パネル形態	抗原 グループ	クラスⅠ	クラスⅡ	クラスⅠ	クラスⅡ	クラスⅠ	クラスⅡ	クラスⅠ	クラスⅡ
				IgG		IgM		IgG		IgM	
LAT	Mixed		3				2				
	LAT		1				1				
FlowPRA	Screening		24	20	8	4	22	19	7	6	
	Specific		2				1				
	Single antigen	1-4	6	5			8	5			
		5-10	3				4				
LABScreen	Mixed		5		1		4		1		
	PRA		8	6	2	2	7	7	1	1	
		1 (4)	7	5	2	1	9	7	2	2	
		2 (4)	6		2		8		2		
		3 (4)	3				7		2		
LIFT			2 (93)				3(345)				
WAKFlow		PRA						6			

数字は参加施設数, ()内の数字は反応させたパネル数

表5 施設別抗体検出率(有無)

Lab ID	2次 抗体	検査方法	ClassI					ClassII				
			SH1901	SH1902	SH1903	SH1904	施設数	SH1901	SH1902	SH1903	SH1904	施設数
検査方法別 (施設単位)		LCT	91%	82%	91%	100%	11	50%	100%	50%	100%	2
		AHG	100%	100%	100%	100%	10					
		LIFT	100%	100%	100%	100%	1					
	IgG	MPHA	0%	71%	100%	71%	7					
		PACPLUS	0%	100%	100%	100%	3					
		LIFT	100%	100%	100%	100%	2					
		LAT	0%	50%	100%	50%	2					
		FlowPRA	13%	87%	100%	96%	23	11%	0%	0%	0%	19
		LABScreen	18%	100%	100%	100%	11	80%	0%	10%	50%	10
	IgM	MPHA	0%	0%	0%	0%	1					
		LIFT	100%	0%	0%	0%	2					
		FlowPRA	100%	0%	100%	60%	5	0%	0%	0%	33%	3
		LABScreen	100%	0%	100%	100%	2	0%	0%	0%	50%	2
	2次抗体別 (方法累計)	IgG	13%	88%	100%	92%	32	33%	0%	3%	17%	25
		IgM	90%	0%	78%	56%	7	0%	0%	0%	40%	4
総合判定			43%	92%	97%	95%	37	41%	7%	7%	26%	27

性がA3+A11+A32+A74+A1+A36, ③は76~77番
目アミノ酸がグルタミン酸・セリン(ES)に置換し
ているときの特異性がA25+A32であり, 3種の抗体
の複合であることが推定された。このうち, LCT法
で検出できるのは①の部分だけである。

3.2.2. SH1902

LABScreen (PRA; 6施設, SA; 7施設)の蛍光値
を抗体特異性別に比較すると, B51+B35+B53がSA
で9,000前後であったが, その他の特異性やPRAの
結果では明確なクラスターが認められなかった。全

体的な特異性である B51+B35+B53+B78+B18+B37+B52+B58 をもとにエピトープ解析すると、45 番目アミノ酸がトレオニン (T) に置換した場合この特異性に一致することが認められた。これはベータ・シート上のアミノ酸で、結合したペプチドの影響で反応が認められるものと考えられる。これ以外に 67 番目アミノ酸がフェニルアラニン (F) に置換した時の特異性である B51+B35+B53+B78 との相乗効果が推測され、この部分が SA で高い蛍光値を示したのであろう。実際に 67 番目アミノ酸にフェニルアラニンを持たない B52 や B37 では、LCT 法の反応は非常に弱い。

3.2.3. SH1903

抗体特異性が広範囲におよぶサンプルである。LCT 法では、A9 を含む Bw4 の特異性に Cw3 が隠れている。しかし、精製抗原試薬では非常に多くの特異性を示す。この場合、抗体特異性とは逆に、反応しない抗原解析、すなわち許容抗原を調べた。A ローカスは A2, A10, A19, B ローカスは B40 関連と B7 関連, C ローカスは Cw4 と Cw7 であり、これら以外の抗原とは反応している。また、これらの許容抗原の中に、本抗体保有者の HLA 型が存在するともいえる。

3.2.4. SH1904

LCT 法で Cw1 単独特異性を示すサンプルである。精製抗原試薬では、B22 関連のほか多数の抗体特異性を示し、C ローカスも Cw1 以外の多くと反応している。ただし、A ローカス特異性は認めない。やはり、血小板を材料とした MPFA 法や PAKPLUS は反応が弱い。以外にも、LIFT や PRA タイプの精製抗原試薬では、Cw1 との反応がさほど強くない。しかし、SA では、LCT 法と同じく強陽性を示した。これは、パネル形態上の抗原分子量の差を忠実に反映した結果と考えられる。LCT 法は、一旦細胞傷害が進行すると、抗原分子量に関係なく強陽性を示している。このサンプルは、各検査方法の特徴を端的に観察することができた。(表 6)

4. まとめ

これまで三回の抗体 QC ワークショップを行ってきて各検査方法の特徴、HLA 抗体そのものの性状が

表 6 検査方法別の HLA 抗体特異性比較

SH1901: Class I (IgM)									
LCT	A3	A11	A32						
AHG—LCT	A3	A11	A32	-	-	-	-	-	-
MPHA(M)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
LIFT(M)	A3	A11	-	-	-	-	-	-	-
FlowPRA(M)	A3	A11	A32	A74	A66	A1	A36	A25	
LABScreen(M)	A3	A11	A32	A74	A66	A1	A36	A25	

SH1902: Class I (IgG)									
LCT	B35	B51	B52	-	-	-			
AHG—LCT	B35	B51	B52	B37	-	-	-		
MPHA(G)	B35	B51	-	-	-	-			
LIFT(G)	B35	B51	B52	B37	-	-	-		
LAT(G)	B35	B51	B52	B37	B18	B53	B78		
FlowPRA(G)	B35	B51	B52	B37	B18	B53	B78		
LABScreen(G)	B35	B51	B52	B37	B18	B53	B78	B58	

SH1903: Class I (IgG)									
LCT	A24	B4	B46	Cw9	Cw10				
AHG—LCT	A24	B4	B46	Cw9	Cw10				
MPHA(G)	A24	B4	-	Cw9	Cw10				
LIFT(G)	A24	B4	B46	Cw9	Cw10				
LAT(G)	A24	B4	B46	-	-			他ABCw多数	
FlowPRA(G)	A24	B4	B46	Cw9	Cw10			他ABCw多数	
LABScreen(G)	A24	B4	B46	Cw9	Cw10			他ABCw多数	

SH1904: Class I (IgG)									
LCT	Cw1	B56	B55						
AHG—LCT	Cw1	B56	B55						
MPHA(G)	Cw1								
LIFT(G)	Cw1	B56						他BCw多数	
FlowPRA(G)	Cw1	B56	B55	B54	B59			他BCw多数	
LABScreen(G)	Cw1	B56	B55	B54	B59			他BCw多数	

(G) 2次抗体IgG (M) 2次抗体IgM  強陽性反応

かなり明確になってきた。検査方法に関しては、量的な感度差として、単純に感度の違いで拾える抗体特異性に違いがあること。質的な感度差として、方法論に依存した、例えば細胞傷害と二次抗体の種類、パネルの形態による違いがあることが確認できた。また、HLA 抗体の性状では、一つのサンプルの抗体特異性はほとんどの場合複数存在すること、それらの多くはローカスを超えて共通のエピトープを認識していること、さらに、免疫グロブリン・サブタイプの違いで明確に特異性を分類できることなどが判明してきた。

今後は、このような知見のもとにワークショップを進め、検査方法の違いや施設間で結果に整合性が保たれる機能を持たせたい。例えば、抗体検出に限っても、すべての施設が同一の結果になるべきところが、現在のところ 100% 一致していない。100% 一致していないということは、施設によって臨床側などが受け取る報告に差があることを証明している。このような状況を具体的に打開していくに

は、詳細な手技や機器設定について検査方法別グループでの討議を取り入れる、あるいは必要であれば

テクニカル・ワークショップなども視野に入れ検討していきたい。

第11回 HLA-QC ワークショップレポート（抗体部門） —LCT・AHG-LCT 法—

寺木 佳子(千葉県赤十字血液センター 検査二課), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

1. 概要

今回のワークショップにおいてLCTおよびAHG-LCT法での参加施設は、クラスⅠが11施設、クラスⅡが2施設であった。提出されたパネル細胞は、クラスⅠが388パネル、クラスⅡが6パネルであった。表1に示したように、前回ワークショップと比

較すると参加施設数、提出パネル数とも約30%少なくなっていた。

各施設から提出されたクラスⅠ抗体判定結果の概要を表2に示した。

LCT法において、SH1901、SH1902、SH1903はいずれも1施設を除き抗体陽性と判定された。

表1 参加施設数、提出パネル数

	第11回 HLA・QCWS		第10回 HLA・QCWS	
	参加施設数	提出パネル数	参加施設数	提出パネル数
LCT法 クラスⅠ	11	388	16	584
LCT法 クラスⅡ	2	6	4	47
AHG-LCT法	10	345	14	576

表2 報告さ

サンプルID	LCT法 (11施設)	AHG-LCT法 (10施設)	抗体特異性
SH1901	陽性: 10 陰性: 1	陽性: 9 未検査: 1	A11 A3 A32
SH1902	陽性: 10 陰性: 1	陽性: 10 陰性: 0	B51 B35 B5102 B52 B37
SH1903	陽性: 10 陰性: 1	陽性: 10 陰性: 0	Cw9 Cw10 B46 Bw4 (B51 B52 B5102 B44 B59 B37 B38 B27 B13)
SH1904	陽性: 11 陰性: 0	陽性: 10 陰性: 0	Cw1 B54 B55 B67

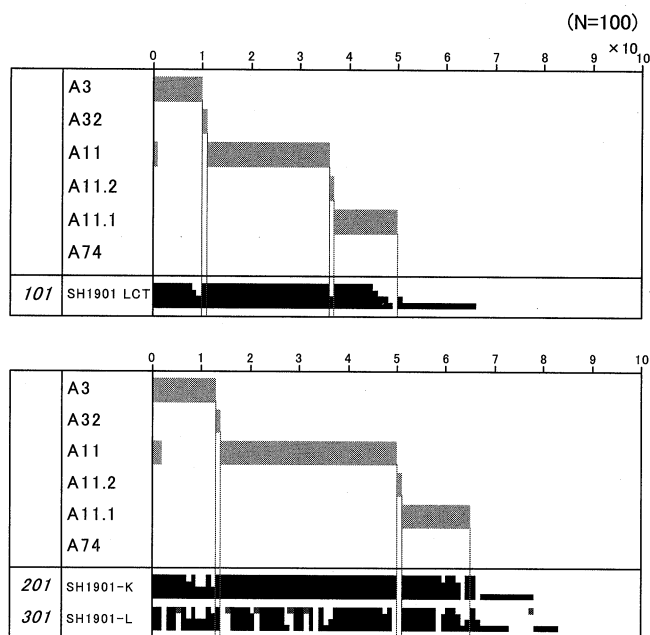


図1 SH1901 セログラフ

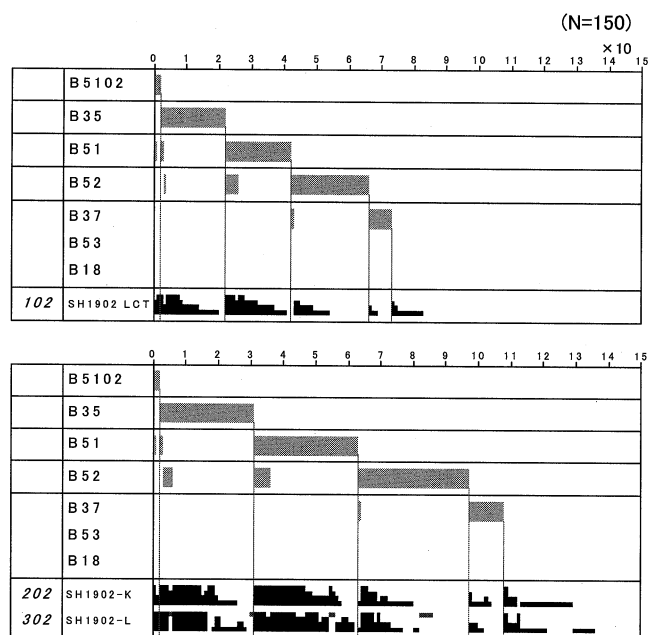


図2 SH1902 セログラフ

SH1904 は全施設が陽性と判定していた。

AHG-LCT 法では、全てのサンプルとも全施設で抗体を検出していた。

なお、クラス II 抗体については提出パネルがわずか 6 パネルと大変少なかったため、今回は解析を行うことができなかった。

2. 解析

各サンプルの反応性について、提出されたデータを用いてセログラフを作成し解析を行った。

SH1901: LCT 法, AHG-LCT 法とも A3, A32, A11 抗原に対する反応が認められた。AHG-LCT 法では LCT 法で一部反応の弱かった A11 パネルとも良好な反応を示した。QC ワークショップ部会で事前に確認されていた A74 抗原に対する反応は、今回パネルの提出がなかったため検出されなかった。(図 1)

SH1902: LCT 法で B35, B51, B5102, B52 抗原と弱い反応を認めた。AHG-LCT 法では B35, B51 は LCT 法に比べ反応が強くなったが、B52 パネルの反応性は LCT 法と同様であった。また、AHG-LCT 法では、B37 パネルとも弱い反応が認められた。SH1902 でも事前に確認されていた B18, B53 抗原

に対する反応は、パネルの提出がなかったため検出されなかった。(図 2)

SH1903: SH1903 と SH1904 は C ローカス抗原に対する反応を含むサンプルであった。いくつかの施設で、C ローカスのタイプ未記入のパネルデータがあったが、こうしたパネルでは陽性反応全てが A, B ローカス抗原に対する反応とされてしまうため、SH1903 及び SH1904 の解析からは除外した。

SH1903 は LCT 法で Cw9, Cw10, Cw3, B46 さらに B51, B52 抗原と良好な反応を示し、B44 抗原とも弱い反応を認めた。AHG-LCT 法では全パネルの約 90% が陽性となる広範囲な反応を示した。LCT 法で認められた特異性に加え Bw4 グループの B ローカス抗原 B37, B38, B59 と強く、B13, B27 とは弱く反応を示した。さらに B35, B62, B55, B56, B67, B48 抗原とも反応が認められた。データ提出のあった他の B ローカス抗原をセログラフに加えたところ、B39, B60, B61 抗原とは反応が認められなかった。(図 3, 4, 5)

SH1904: SH1904 は LCT 法で Cw1 抗原と強く、B55, B56 抗原と弱く反応を認めた。AHG-LCT 法では B55, B56 抗原との反応が強くなり B67 抗原とも反応を認めた。(図 6)

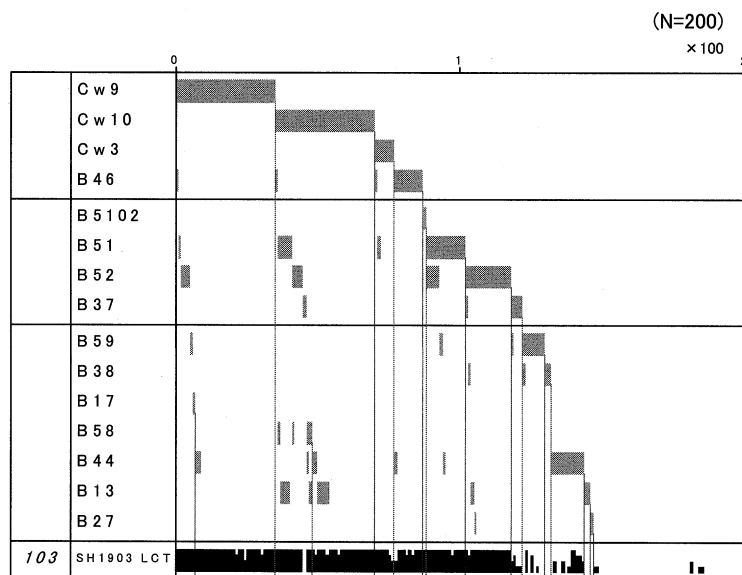


図3 SH1903 LCT セログラフ

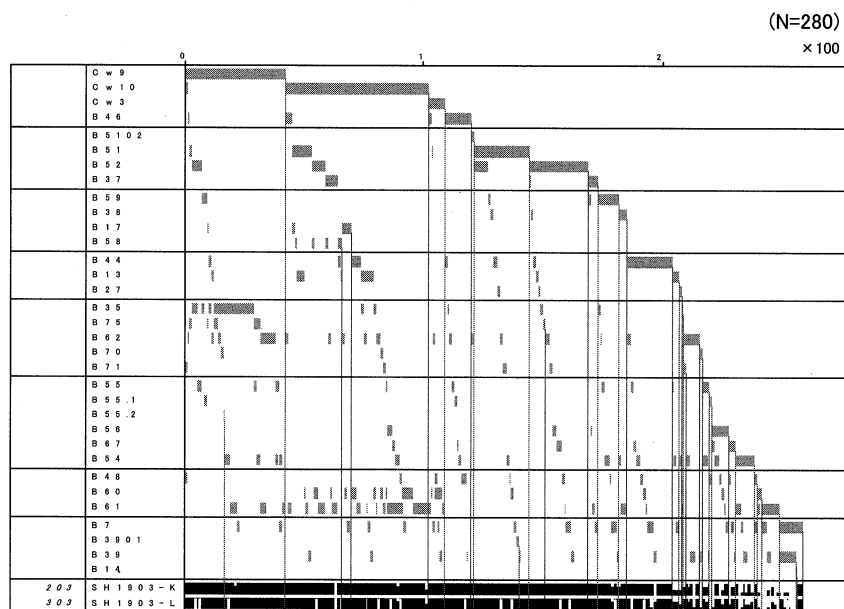


図4 SH1903 AHG-LCT セログラフ

3. まとめ

今回の解析から、提出パネルのタイピングデータ表記(特にCローカス)に統一が必要であると考えられた。また、LCT法は他方法に比べ感度が低いとされているが、今回のサンプルSH1904におけるCw1

抗原に対する反応は、精製抗原を用いた高感度法(Single Antigen)と同様大変良好でありLCT法での検査が有効であるケースもあることが示された。(図7)

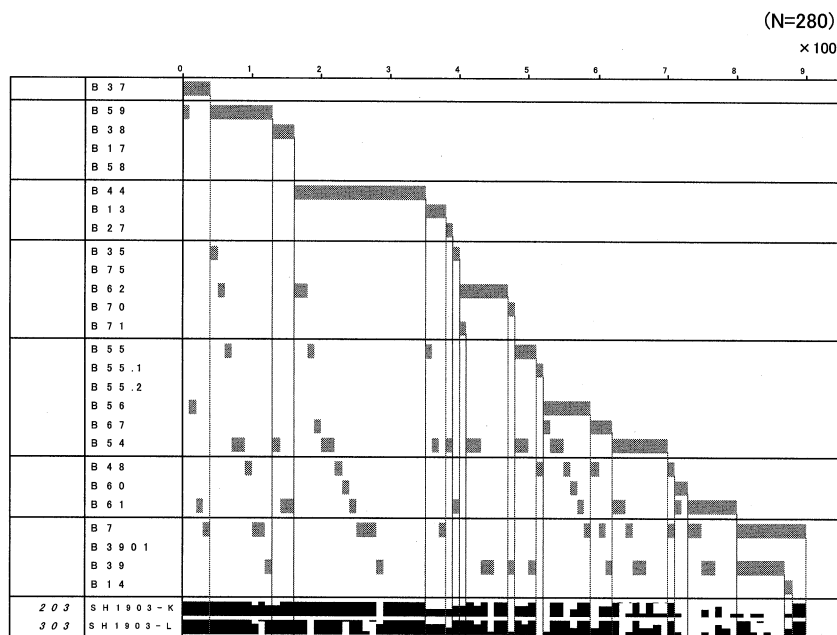


図 5 SH1903 AHG-LCT セログラフ

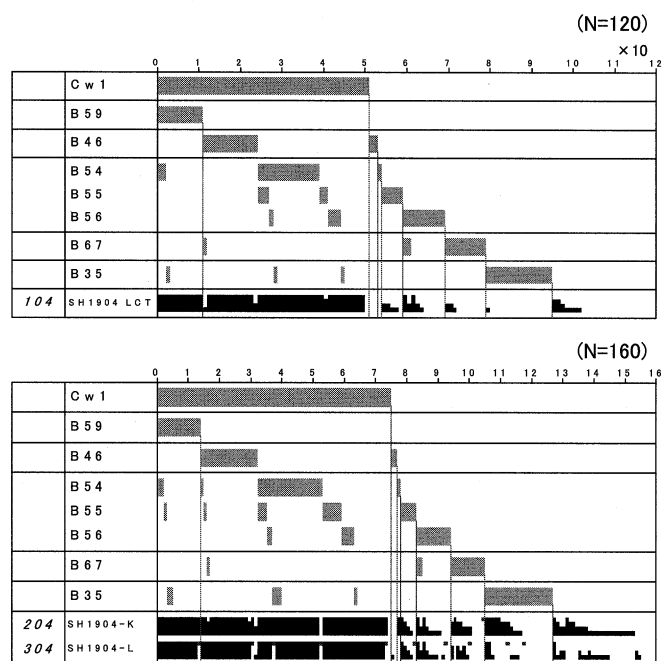


図 6 SH1904 セログラフ

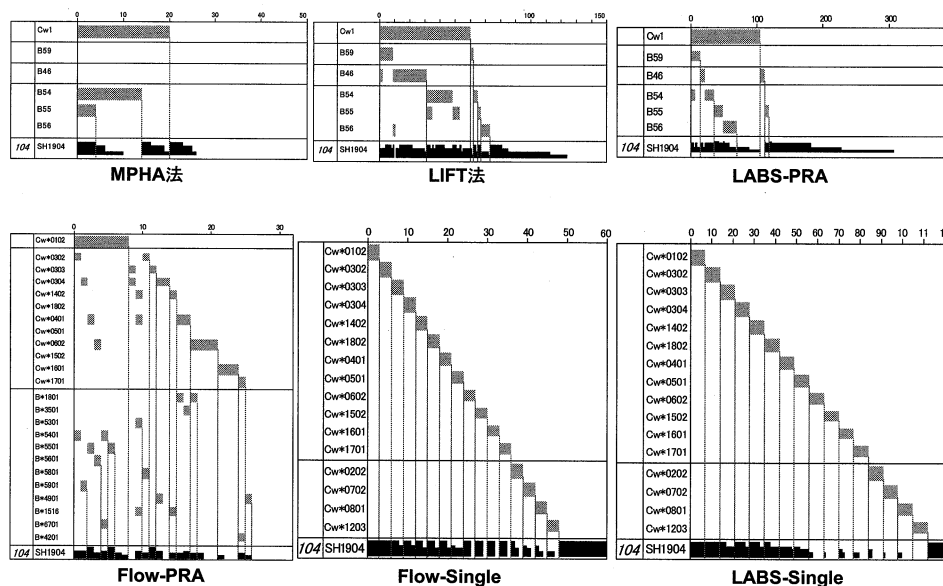


図7 他方法との比較 ～SH1904～

第11回 HLA-QC ワークショップレポート (抗体部門) —方法論別検討 (LIFT 法)—

平田康司(岡山県赤十字血液センター検査課), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

LIFT 法は、リンパ球抗原とサンプル抗体の反応性を蛍光標識二次抗体で検出する方法で、フローサイトメーターを用い測定される。

本年度は、下に示す概要のとおり、3施設より LIFT 法のデータが提出されており、測定はクラス I 抗体の検出のみであった。この3施設のうち、2施設は抗体の検出および特異性同定を、1施設は(他法で示された抗体特異性の)抗原反応性の確認として LIFT 法が行われたようである。二次抗体はいずれの施設でも IgG および IgM 抗体の検出が可能であり、そのうち1施設では IgG, IgM それぞれの抗体特異性の同定が行われていた。表1および表2に3施設より報告されたそれぞれのサンプルの抗体特異性および LIFT 法による抗体特異性を示した。今回 LIFT

法は、Flow-PRA や LABScreen のような高感度検査に近い抗体特異性が示されていた。しかしながら、LIFT 法はパネル細胞を用いるため、サンプル 1903 および 1904 のように、複数の抗体特異性を示すものや異なるローカスにおいて反応性がみられるものの場合、多くの種類のパネル細胞を必要とし、使用するパネル細胞の HLA 型を十分考慮しなければならない。一方、精製抗原試薬とは異なり LIFT 法は生体材料を抗原としているので、生体における抗体反応性により近い現象を捉えられていることが推測される。今後、操作方法の統一および精度管理について検討し、本方法の臨床的妥当性についてデータの蓄積がされることが望まれる。

表 1 報告されたサンプルの抗体特異性

施設	サンプルID		IgG		
	HLA	SH1901	SH1902	SH1903	SH1904
19S003	陽性抗原	A11(11.1)	non	A24	non
	A 陰性抗原	※	A2, 3, 11, 24, 26, 30, 31, 33	A2, 11	※
	保留	non	A1	A1, 3, 26, 30, 31, 33	non
	陽性抗原	non	B35, 37, 51, 52	Bw4(27, 38, 51, 52, 59), 35, 46, 56, 62, 71	B13, 35, 51, 54, 55, 56, 59, 67
	B 陰性抗原	※	※	B7, 39, 48, 54, 55, 60, 61, 67	B7, 27, 37, 38, 39, 44, 48, 52, 60, 61, 62, 71, 75
	保留	non	non	B13, 37, 44, 58, 75	B46, 58
	陽性抗原	non	non	Cw9, 10	Cw1
19S027 (G+M)	陰性抗原	※	※	Cw1, 7	Cw4, 6, 7, 9, 10
	保留	non	non	Cw4, 6, 8	non
	陽性抗原	A11	non		non
	A 陰性抗原	※	※		※
	保留	A30	A1	all	A3, A30, A33
	陽性抗原	non	B35, 51, 52		non
	B 陰性抗原	※	※		※
19S032	保留	non	B13, 27, B37, 56, 71	all	B13, 35, 38, 39, 44, 46, 54, 55, 56, 59, 67, 71
	陽性抗原	non	non		Cw1
	陰性抗原	※	※		※
	保留	Cw6	non	all	Cw6
	陽性抗原	non	non		non
	A 陰性抗原	A2	A2		A26, 33
	保留	A24, 26, 31			A2, 11, 24, 31
19S032	陽性抗原	non	non		non
	B 陰性抗原	B61			B39, 44
	保留	B35, 51, 52			B35, 46, 48, 52, 61, 67
	陽性抗原	non			※
	陰性抗原	Cw8, 10			Cw7
	保留	※			※
	抗体特異性 (consensus)	A11(w)	B35, B37(w), B51, B52(w)	A24+Bw4(B27, 38, 51, 52, 59), 35, 46, 56, 62, 70(71)+Cw9,10	Cw1 (+B13, 35, 54, 55, 56, 59, 67) *
コメント				* Cw抗原の反応性が寄与している可能性有り	

※: 省略

表 2 LIFT 法による抗体特異性

施設	サンプルID		IgM			
	HLA		SH1901	SH1902	SH1903	SH1904
19S003	A	陽性抗原	A3, 11(11.1,11.2)	non	non	non
		陰性抗原	※	※	※	※
		保留	non	non	non	non
	B	陽性抗原	non	non	non	non
		陰性抗原	※	※	※	※
		保留	non	non	non	non
	Cw	陽性抗原	non	non	non	non
		陰性抗原	※	※	※	※
		保留	non	non	non	non
19S027 (G+M)	A	陽性抗原				
		陰性抗原				
		保留				
	B	陽性抗原				
		陰性抗原				
		保留				
	Cw	陽性抗原				
		陰性抗原				
		保留				
19S032	A	陽性抗原	non			
		陰性抗原	A26			
		保留	A1, 3, 11, 24, 31			
	B	陽性抗原	non			
		陰性抗原	B44			
		保留	B7, 13, 27, 37, 54, 60, 61			
	Cw	陽性抗原	non			
		陰性抗原	Cw9			
		保留	Cw1, 4, 6, 7, 10, 12			
抗体特異性 (consensus)		A3, 11				
コメント						

※: 省略

(1) 実施施設: 3 施設(19S003, 19S0027, 19S032*
クラス I 抗体のみ

(2) 各施設における LIFT 法

19S003 (G+M 同一系), 2 次抗体 IgG (PE, Jack-
son), IgM (FITC, Jackson), 196 パネル

19S027 (G+M 同一系), 2 次抗体 IgG (FITC,
Beckman Coulter), IgM (FITC, KPL), 131 パネル
19S032 (G, M 選択系), 2 次抗体 IgG (FITC,
DAKO), IgM (FITC, DAKO), 18 パネル

サンプル別 パネル数

	19S003		19S027		19S032	
	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
SH1901	91	87	73		8	
SH1902	93		49		4	
SH1903	121		57			
SH1904	136		65		6	

第11回 HLA-QC ワークショップレポート (抗体部門) —MPHA/PAKPLUS/LAT 法—

橋本志歩(日本赤十字社中央血液研究所), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部
会

1. はじめに

市販試薬である MPHA 法キット—オリビオ II 及びパネル: オリンパス社—(以下 MPHA) と PAKPLUS: GTI 社は血小板抗体検出法であるが、同時に HLA 抗体の検出も可能である。測定原理には、MPHA が混合受身凝集法を、PAKPLUS は酵素免疫測定法 (ELISA 法) を使用している。

また、LAT: One Lambda 社は HLA 抗体検出用の市販試薬であり、測定原理は ELISA 法である。

そこで、今回は MPHA と ELISA に分け、測定原理別に解析を行った。

2. MPHA

MPHA は 8 施設(オリビオ II: 5 施設; パネル: 6 施設)で実施された。(表 1)

血清 SH1902 と SH1904 の結果に違いが見られたので、その 2 種類の検体に関して解析を行った。

表 1 MPHA 参加施設と判定結果

No.	Lab.	SH1901	SH1902	SH1903	SH1904	オリビオ	パネル
1	19S036	1	8	8	8	60913	
2	19S012	1	1	8	1	61023	60902
3	19S032	1	8	8	1	61023	
4	19S039	1	8	8	8	61023	61218
5	19S019	1	8	8	8	70205	61218
6	19S028	1	1	8	8		60902
7	19S038	1	8	8	8		61218
8	19S005	1	8	8	8		61218

表2 MPHA-オリビオ II 判定結果

Lab.	SH1902	SH1904	Lot.No
19S036	6	2	60913
19S012	6	2	61023
19S032	6	1	61023
19S039	6	6	61023
19S019	8	1	70205

Lot. No.	HLA type					
	A		B		Cw	
60913	24	33	44	52	12	14
	11	-	7	39	7	-
	2	11	62	71	4	8
61023	24	31	52	59	1	-
	2	11	13	62	1	7
	2	24	35	58	8	10
70205	24	31	51	54	1	14
	24	-	7	39	7	-
	31	33	44	51	14	-

1) SH1902-特異性：B18, B35, B37, B51, B5102, B52, B53 (表2, 表3)

オリビオ II では全ての施設において陽性と判定しており、全ロットのプレートにB5 関連の抗原がコートされてあった。

しかし、パネルプレートでは2施設が陰性判定をしていた。これは、陰性判定をした施設はLot.60802を使用しており、このプレートにはB52しかコートされていなかったためである。B53やB51と比較してB52に反応する抗体の反応性が弱く、Lot.61218のプレートでもB52をコートしたウェルは陰性となっている。

2) SH1903-特異性：Cw1 (表2, 表3)

MPHAでは、Cw1に対する抗体を検出することは出来なかった。

オリビオ II・パネルいずれもCw1抗原をコートしているが、オリビオ II に関しては1施設のみ陽性反応を示した。パネルプレートに関しては反応しているウェルとそうでないウェルが存在し、これは

Cw1 以外の抗原に対する反応であると思われる。

市販MPHAは血小板抗体検出用の試薬であり、オリビオ II は3種類のパネル由来の抗原が混在するスクリーニング用キット、パネルはオリビオ II とは異なる8パネルがそれぞれ8個のウェルにコーティングされている同定用キットである。しかし、これは血小板抗体用であるため、他のHLA抗体検出試薬のように「Screening 試薬が陽性であっても、同定試薬のパネルで陰性であったら陰性」という判定には出来ない。

また、MPHAに関しても他の試薬と同様にCローカスの抗原に対する抗体の検出率は良くなかった。

3. ELISA 法

測定原理としてELISA法を使用している市販試薬はPAKPLUSとLATである。今回PAKPLUSは3施設、LAT (LAT-Mixed: 2施設; LAT-1HD: 1施設)は2施設で行われた。LAT-Mixedはスクリーニング試薬で、LAT-1HDは1ウェルに1抗原がコーティングされている同定用試薬である。LATに関し

表3 MPHA-パネル判定結果

Lot	No	使用抗原	HLA						SH1902				SH1904			
			A(1)	A(2)	B(1)	B(2)	Cw(1)	Cw(2)	S005	S019	S038	S039	S005	S019	S038	S039
61218	1	A	24	33	44	51	14	—	8	8	8	8	1	1	1	1
	2	B	24	31	52	61	10	12	1	1	1	1	1	1	1	1
	3	C	11	33	62	—	1	4	1	1	2	1	8	6	8	6
	4	D	24	26	54	55	1	—	1	1	2	1	8	8	8	8
	5	E	11	33	48	51	8	14	8	8	8	8	1	1	1	1
	6	F	2	—	35	61	9	10	8	8	8	8	1	1	2	1
	7	G	2	24	54	61	1	8	1	1	1	1	2	1	6	1
	8	H	2	26	62	67	7	—	1	1	1	1	8	6	8	8

Lot	No	使用抗原	HLA						SH1902		SH1904	
			A(1)	A(2)	B(1)	B(2)	Cw(1)	Cw(2)	S012	S028	S012	S028
60802	1	A	24	31	60	—	4	10	1	2	1	1
	2	B	24	31	52	61	10	12	1	2	1	6
	3	C	11	33	62	—	1	4	1	2	2	6
	4	D	2	24	54	52	1	12	1	2	2	2
	5	E	31	33	58	62	4	10	1	2	1	1
	6	F	26	—	39	54	1	7	1	2	2	6
	7	G	2	24	54	62	1	8	1	2	1	1
	8	H	2	—	39	—	7	—	1	1	1	1

ては判定が2施設とも目視で行われていたため、解析担当の方で追試を行い OD 値を測定した。

スクリーニング用2試薬についての使用パネルは以下の通りである。

○PAKPLUS…各100名以上のCaucasian, Hispanic, African American 由来の血小板を均等な割合で混合。

○LAT-Mixed…A ローカス20種類, B ローカス43種類, C ローカス15種類 (A43は含まない)。

この2試薬に関して, IgGクラスClassI抗体陽性の三検体の OD 値を比較した場合, SH1902とSH1904の反応の強弱に違いが見られた。(表4) PAKPLUSはSH1902の方が強く反応しているのに対して, LATではSH1904の方が強く反応しており, FlowPRAと同様の反応を示していた。ちなみに, LAT-Mixedにおいて反応にバラツキが見られるが, それはテラサキトレーを使用しているため繊細な操作が必要となり, 洗浄等でバックグラウンドが上

昇した為だと考えられる。

試薬間で反応に違いが見られたのは, 使用している抗原の種類に依存した結果と考えられる。PAKPLUSでは欧米人由来の抗原が使用されているため, 欧米で抗原頻度の低いB54・B59・B67等の抗体検出に期待できないことが予測される。

今回の血清SH1904にはB54・B59・B67に対する抗体が含まれていた。そのため, LAT-Mixedでは強かった反応がPAKPLUSでは弱くなり, 相対的にSH1902とSH1904の反応が入れ替わったのではないだろうか。LATとFlowPRAの反応が類似している結果からもこの様なことが予測された。(表5)

表4 ELISA法の蛍光強度

【PAKPLUS】

		N.C	1901	1902	1903	1904	Lot No
19S005	OD値	0.122	0.102	0.583	1.703	0.260	091306-PP
19S028	OD値	0.135	0.163	0.505	1.983	0.332	
19S012	OD値	0.125	0.110	0.266	1.358	0.258	081606-PP

SH1904<SH1902<SH1903

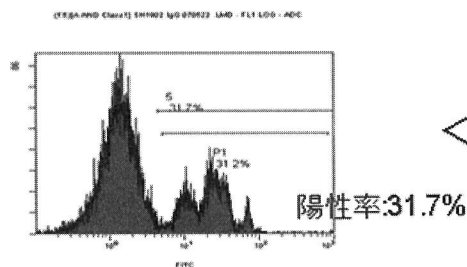
【LAT-Mixed】

	判定	1901	1902	1903	1904
19S017	目視 判定スコア	2	6	8	2
19S018		1	2	8	6
解析担当	OD値	0.016	0.145	0.575	0.320
	判定スコア	1	4	8	6

SH1902<SH1904<SH1903

【参考:FlowPRA】

SH1902



SH1904

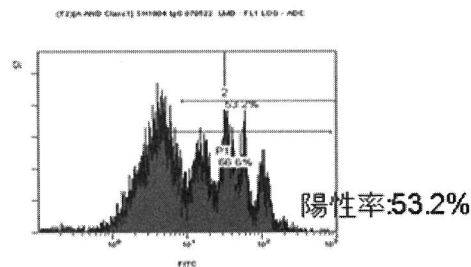


表5 LAT-1HDの判定結果

【LAT-1HD】

	強陽性	陽性
SH1902	B18,B35,B37,B51, B52,B53,B73	
SH1904	B53,B55,B63 <u>B67</u>	B13,B18,B35,B39,B51, <u>B54</u> B56,B58 <u>B59</u> B71, B72,B78

欧米人に低い頻度の抗原・・・B54,B59,B67

第11回 HLA-QC ワークショップレポート (抗体部門) —検査方法別解析 (FlowPRA 法)—

山本賢(国立循環器病センター), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

1. はじめに

今回, FlowPRA Screening 参加施設は 22 施設で, うち FlowPRA Single Antigen は 15 施設であり, Single Antigen の参加施設が昨年と比べ倍近く増加しており, 抗体特異性の必要性が高まっていると思われる。HLA 抗体 QCWS の提出血清 4 種類(1901, 1902, 1903, 1904)について Screening と Single Antigen の解析を行った。

2. FlowPRA Screening における解析(表 1)

1) IgG 抗体 (HLA-classI: 22 施設, HLA-classII: 19 施設)

HLA-classI 抗体: 4 種類の血清について, 抗体有無の一致率は 1901, 1902 がそれぞれ 91%, 96%, 1903, 1904 については結果が一致していた。

HLA-classII 抗体: 1901 で 95% であったが, それ以外について結果は一致していた。

また 1 施設において判定結果は一致していたが, ヒストグラム (HG) の全体が確認できず, 機器設定が正しくできていないと思われる。

2) IgM 抗体 (HLA-classI: 7 施設, HLA-classII: 5 施設)

HLA-classI 抗体: 全血清で結果はすべて一致していた。

HLA-classII 抗体: 1903, 1904 で 80% であったが, 1901, 1902 は一致していた。

3. FlowPRA Single Antigen における解析

HLA-classI IgG 抗体特異性: 1902 の判定結果はほぼ一致していたが, 1903 は A locus, 1904 は B locus で検出された抗体の特異性にばらつきが認められた(図 2, 3)。

4. まとめ

HLA 抗体の有無において, IgG および IgM でそれぞれ 4, 2 施設で判定結果が不一致であった。現状, HLA 抗体の有無について, 全参加施設の結果が全て一致となっていない。この原因として, 毎年指摘されている, ①カットオフの設定, ②測定機器の設定, の 2 点である。いまだに, 各施設においてカットオフおよび機器設定は異なっており, 共通の基準が決まってない。また HLA 抗体特異性についても同様である。このため, 早急に共通の基準(暫定的に)を決めるなどし, 判定基準などの検討を行い, 各施設統一した基準を決定する必要があると思われる。

表 1 HLA 抗体有無の一致率

IgG 抗体

血清	HLA class I	HLA class II
1901	90. 9%(20/22)	94. 7%(18/19)
1902	95. 5%(21/22)	100%(19/19)
1903	100%(22/22)	100%(19/19)
1904	100%(22/22)	100%(19/19)

IgM 抗体

血清	HLA class I	HLA class II
1901	100%(7/7)	100%(5/5)
1902	100%(7/7)	100%(5/5)
1903	100%(7/7)	80. 0%(4/5)
1904	100%(7/7)	80. 0%(4/5)

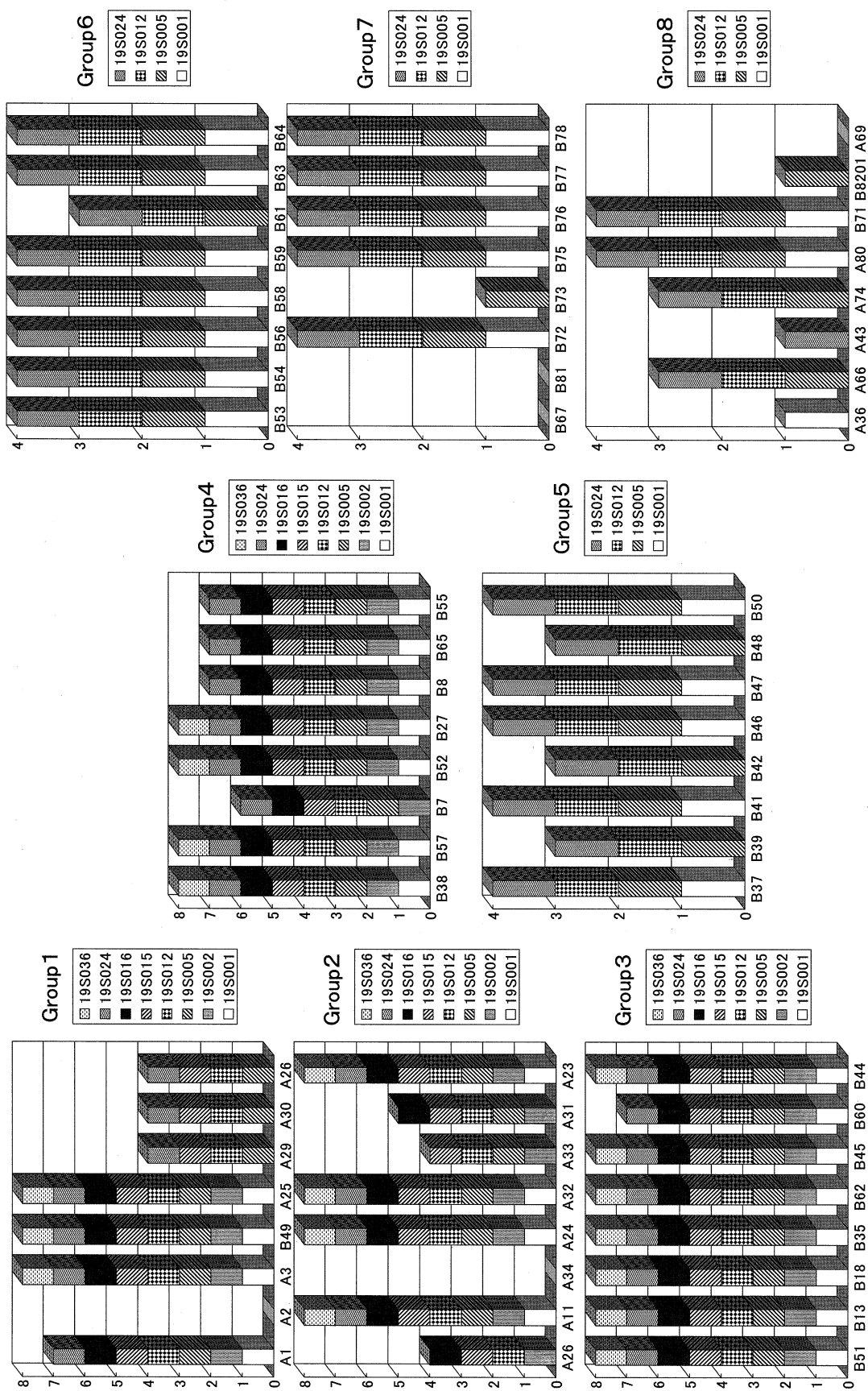


図1 FlowPRA Single Antigen の抗体特異性 (1903)

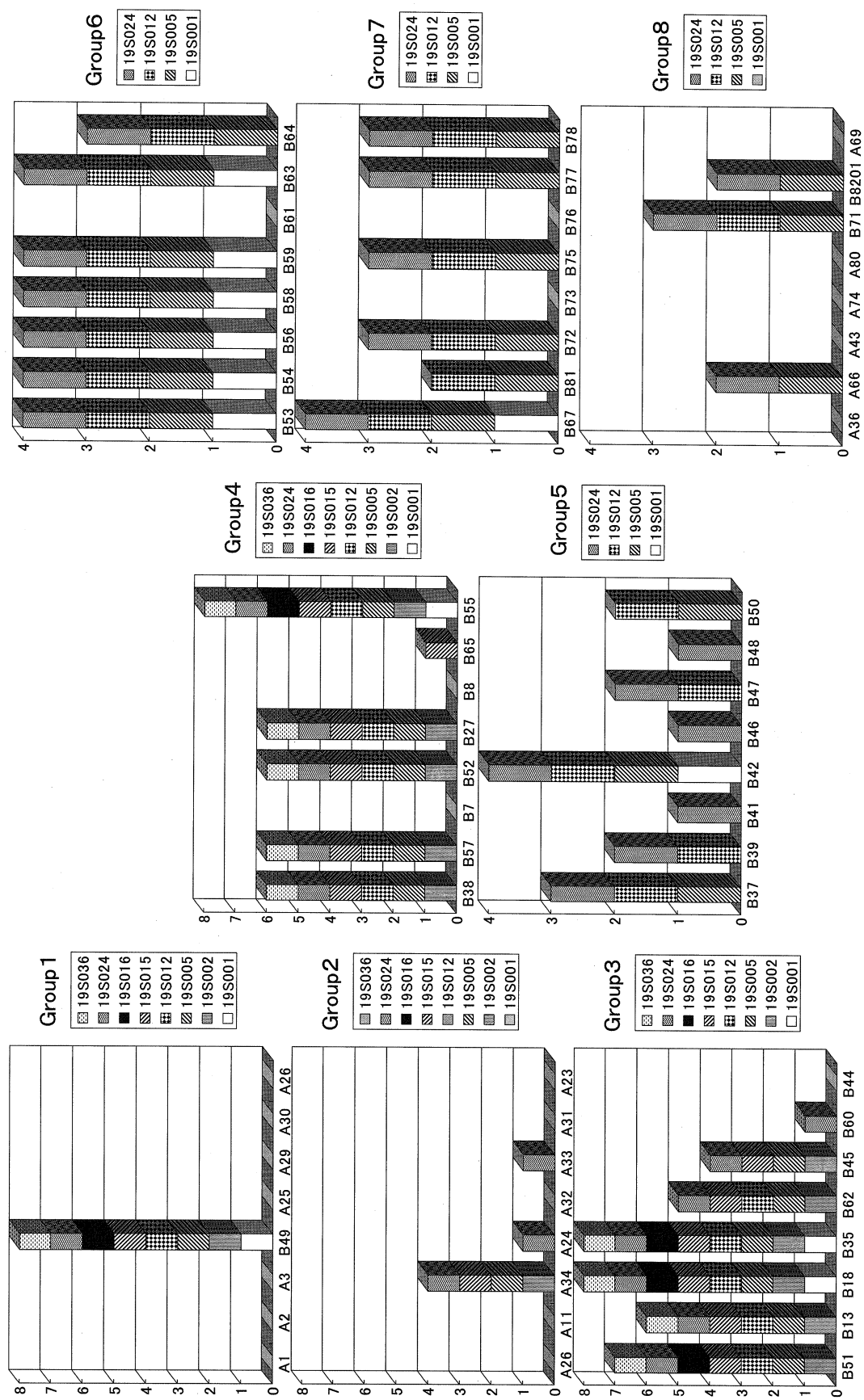


図 2 FlowPRA Single Antigen の抗体特異性 (1904)

第11回 HLA-QC ワークショップレポート (抗体部門) —方法論別検討 (LABScreen 法)—

高陽淑(大阪府赤十字血液センター), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

1. LABScreen による抗体の有無の結果比較 今回 LABScreen 法による検査実施施設は 11 施設

であった。各施設が使用した LABScreen 検査試薬と、各サンプルの検査結果を表 1 (クラス I), 2 (ク

表 1 検査方法と抗体検出の有無(クラス I)

施設 コード	クラス I				検査方法および備考
	1901	1902	1903	1904	
S026	1	8	8	8	P, S (G1&2&3:Lot.6)
S025	1	8	8	8	P, S (G1&2:Lot.6)
S021	1	8	8	8	P
S019	1	8	8	8	S(G1:Lot.7)
S013	1	8	8	8	M, S(G1&2:Lot.6)
S009	4	8	8	8	M
S008	8*	8	8	8	P, S(G4:Lot.1) *A11&25抗原に対して抗体陽性
S007	8*	8	8	8	P, S(G4:Lot.1) *A11&25抗原に対して抗体陽性
S006	1	8	8	8	S (G4:Lot.1)
S005	1	8	8	8	M, P, S (G4:Lot.1)
S004	1	8	8	8	M, P, S(G1&2&3:Lot.7)

1:抗体なし 4:保留 8:抗体有り M:Mixed, P:PRA, S:Single antigen(ロットNo.)

表 2 検査方法と抗体検出の有無(クラス II)

施設 コード	クラス II				検査方法および備考
	1901	1902	1903	1904	
S026	8	1	1	8	P, S (Lot.3 * 1901,1904のみ実施)
S025	1	1	1	1	P
S021	8	1	1	4	P
S013	8	1	1	1	M, S (Lot.3 * 1901のみ実施)
S009	8	1	1	1	M
S008	8	1	1	8	P, S (Lot.4)
S007	8	1	1	8	P, S (Lot.4)
S006	1*	1*	1*	1*	P, S (Lot.2) *singleのRatioが低い
S005	8	1	8*	8	P, S (Lot.4) *DR1&4抗原に対して抗体陽性と判定
S004	8	1	1	8	P, S (Lot.4)

1:抗体なし 4:保留 8:抗体有り M:Mixed, P:PRA, S:Single antigen(ロットNo.)

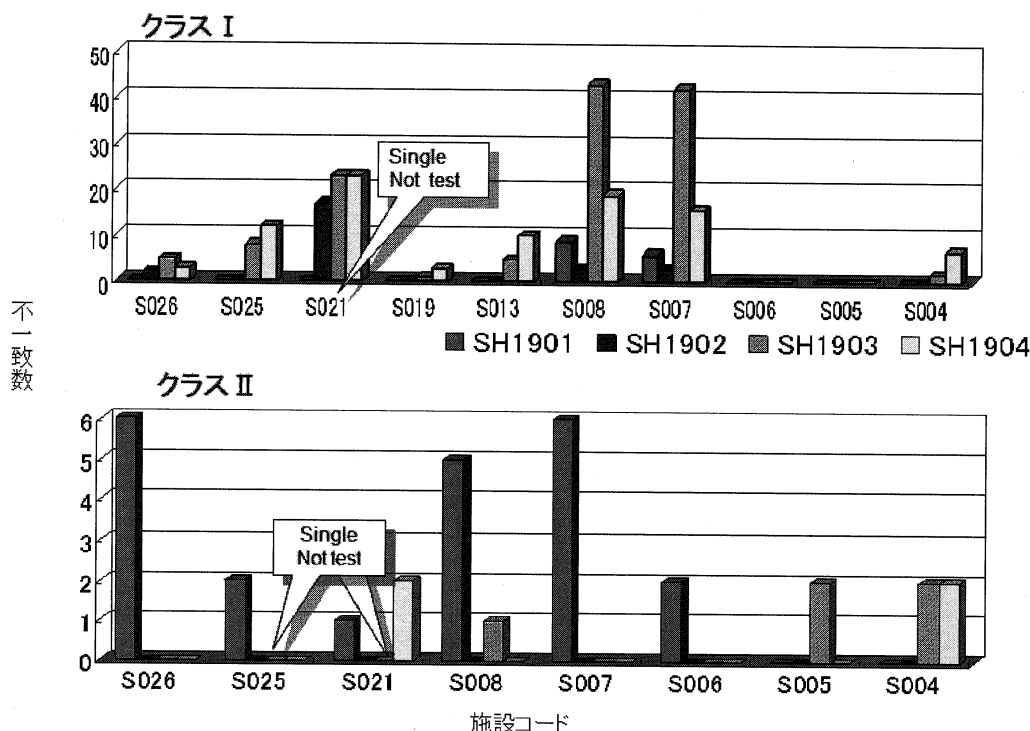


図1 施設別判定スコア不一致数

ラス II) に示す。クラス I での一致率は SH1901 が 72.7% であったが、それ以外は 100% であった。また、クラス II に関しては SH1902 以外の検体では 100% の一致率を得られなかった。そこで今回は LABScreen を実施した施設間の比較・解析を行い、最終判定に不一致が生じる原因の究明を試みた。

2. 判定結果の比較

判定スコアが未記入であった 1 施設を除外し、10 施設の各サンプルの HLA 抗原別判定スコアを比較した。自施設のスコアが他の 8~9 施設と違う場合を不一致と定義してその数を検体ごとに棒グラフで示した。その結果、クラス I の判定スコアに他施設との食い違いが多いのは偏った施設であったが、クラス II での判定スコアは全体的にばらついていた(図 1)。Single antigen が未実施である施設は判定スコアに他施設との食い違いが多く、個々の抗原に対する判定を PRA のみで行うことは困難であると思われる。また single antigen を実施しても判定基準の違いや試薬のロット間差が判定結果に反映している事が示唆された (4. single antigen による解析の項

参照)。

3. 同一 Lot での PRA 反応性の比較

PRA を実施した 7 施設の使用ロットが同一ロット (Lot. 10) であったので反応性の施設間差について解析した。但し、陰性血清のデータが無い 1 施設はこの解析からは除外している。検体別に施設間での一致率を全ビーズの測定値について折れ線グラフで表した(図 2)。クラス I では SH1904 が、クラス II では SH1901 のばらつきが大きいようであった。SH1904 の例を図 3 に示す。これは PRAI の 55 種類のビーズのうち測定値の一致率が低かった 22 種類のビーズについて陰性血清および SH1904 での Median 値の比較を行ったものである。陰性血清に比較して SH1904 で Median 値のばらつきは大きく、全体に値が高め、あるいは低めと施設によって Median 値に傾向があることも判明した。またこの傾向は SH1904 以外の検体においても同様であった。原因としては測定に用いる二次抗体を含めた試薬の保存状態や Luminex 機器の特性等が関係しているのではないかと推測する。

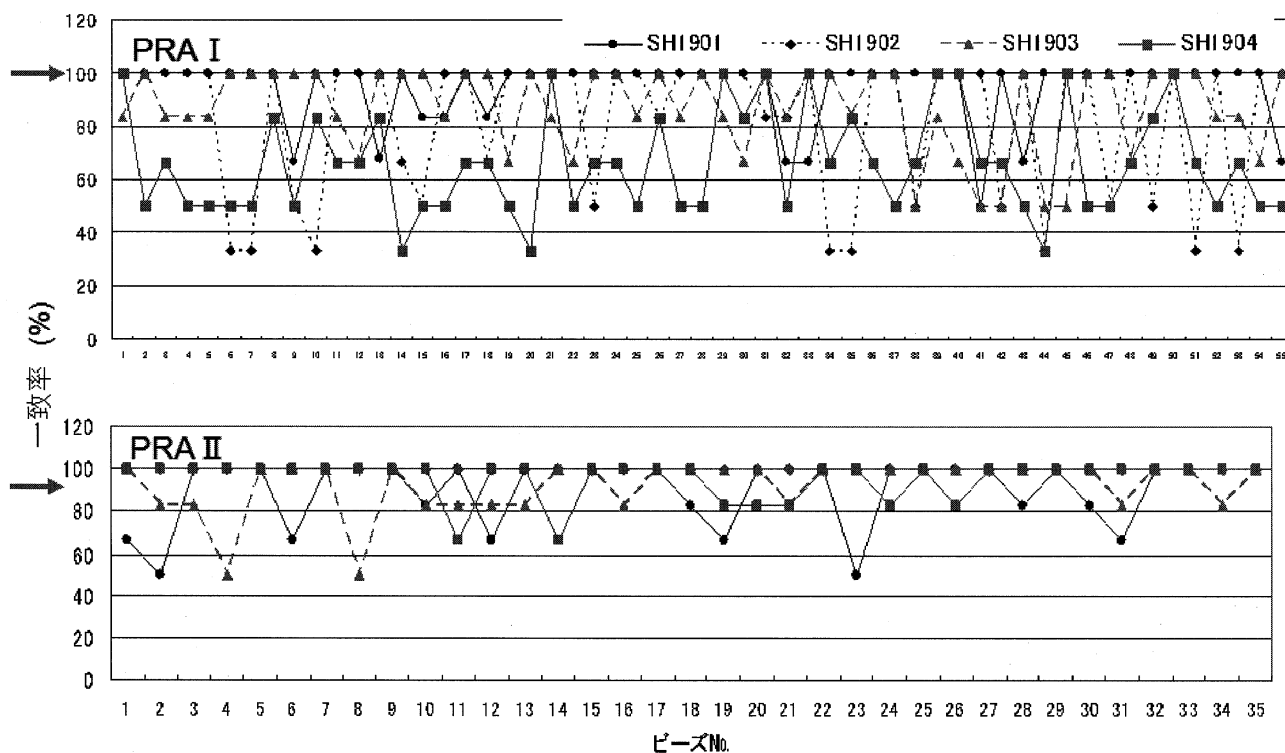


図2 PRA 各ビーズ測定値の一致数

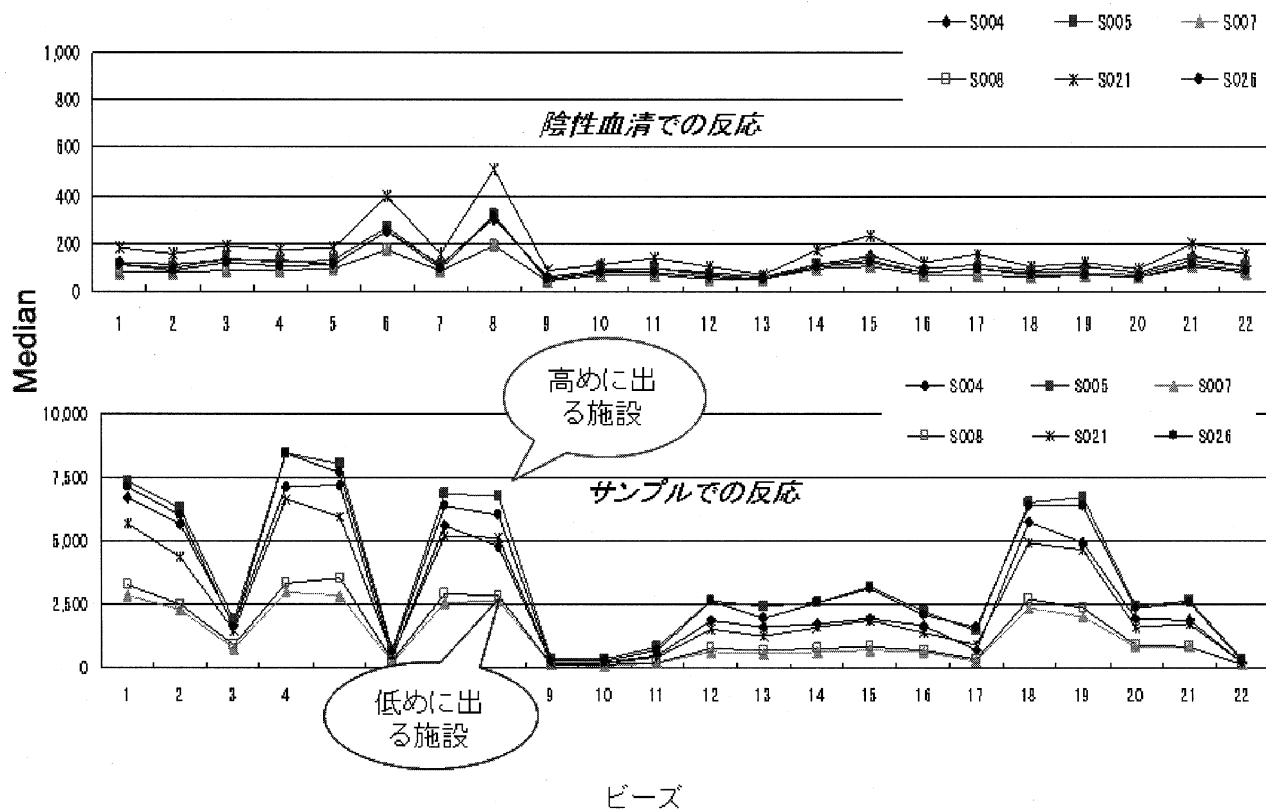


図3 一致率が低いビーズでの反応性の比較(SH1904)

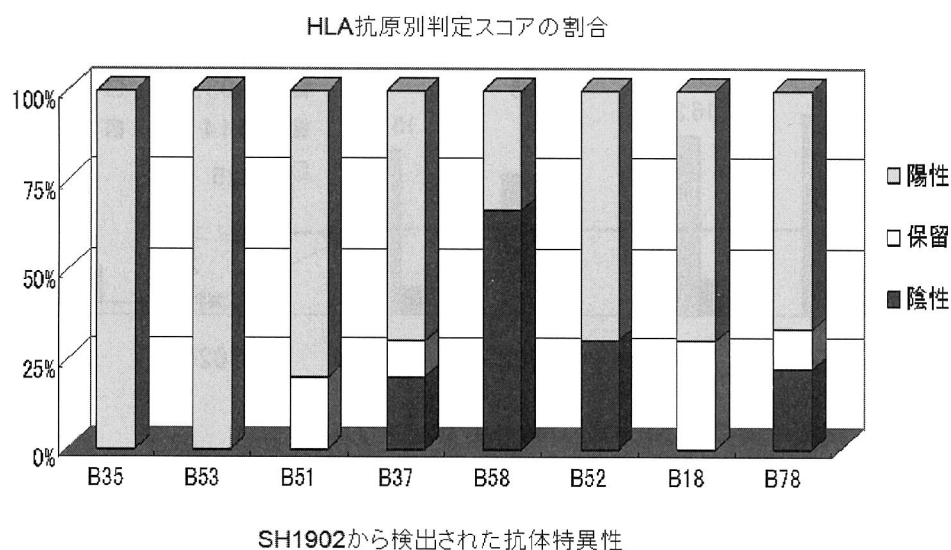


図4 判定結果不一致原因の検証(SH1902: クラス I)

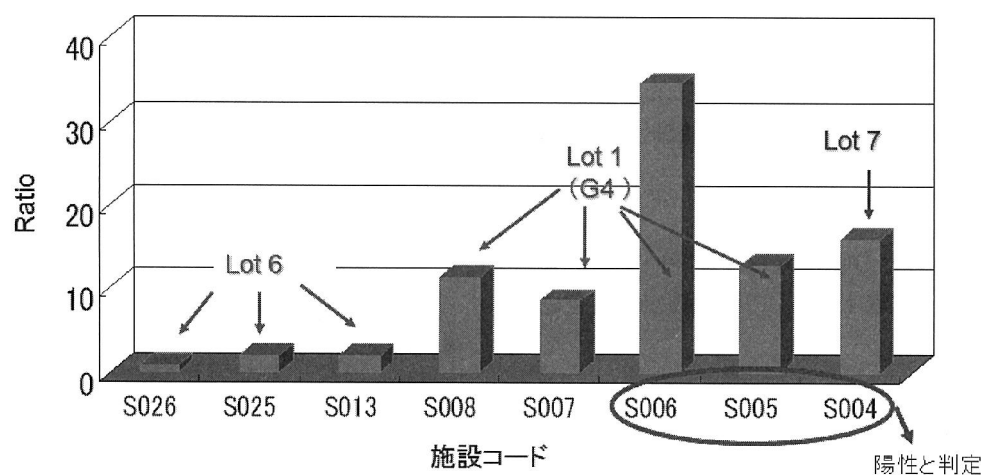
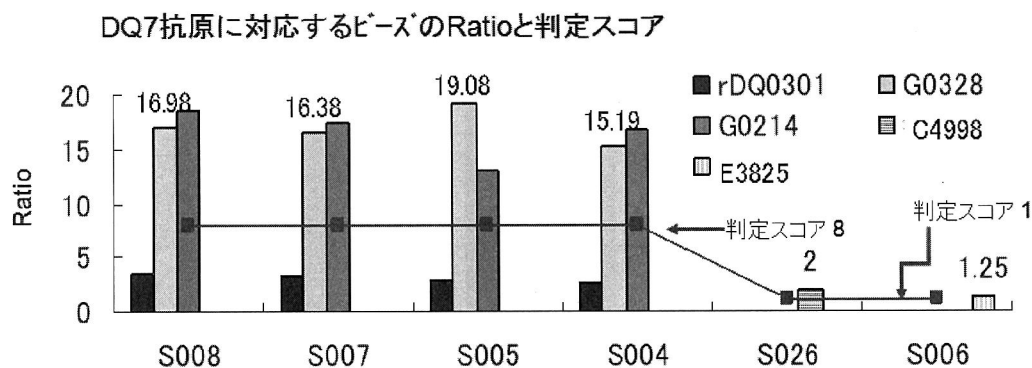


図5 B*5801 ビーズにおける Ratio 比較(施設別)

4. Single antigen による解析

判定スコアの決定にあたってその根拠となるデータは Single antigen での検査結果であろう。そこで最終判定に不一致が生じる原因を調査する為に、各検体において不一致率の高い抗原の Single antigen での反応性を比較した。その一例として SH1902 の場合を示す(図4)。図の X 軸は SH1902 から LABScreen によって検出されたクラス I の抗体特異性で、棒グラフは実施した 10 施設の各抗原に対する判定スコアの偏りを表している。B58 以外は 75% 以上の施設がこれらの特異性を検出できた。またこれらの特異性が導き出せなかったのは一部の施設に偏っており、その原因は single antigen が未実施で

あるか、あるいは判定基準の差異によるものと推測された。次に、陰性と判定した施設が 50% 以上あった B58 抗原に対する反応性を比較した(図5)。図は提出された CSV ファイルから HLA Visual を用いて得た Ratio の比較であるが、ロットによる反応性の差異が結果判定に食い違いを起こした要因であろうと考える。この傾向はその他の検体においても同様であった。またクラス II においても同様の事例を一例示す(図6)。これは DQ7 抗原に対応するビーズのロット毎の antigen ID とそのアリルをまとめたものであるが、ロットによって含まれるビーズの種類と反応性に差異があり、それが判定スコアの食い違いに反映していると考えられた。この図に示したの



DQ7抗原に対応するビーズのAntigen IDとアレルタイプ

Lot	Antigen ID	DQB1	DQA1	使用施設
4	rDQ0301	*0301	*0301	S008,S007, S005,S004
	G0328DQ0301	*0301	*0303/0505	
	G0214DQ0301	*0301	*0601	
3	C4998DQ7	*0301	*05	S026
2	E3825DQ7	*0301	*0401/0505	S006

図6 判定結果不一致原因の検証(SH1904: クラス II)

はDQ7の例であるが、DQ8、DQ9、についても、またSH1901の例ではDRについても同様の現象を認めた。

5. IgM 性抗体の検出

IgM 性抗体の検出に関しては実施施設が2施設であったが、両者のデータ比較を行った。抗体の有無ではSH1904のクラス II 以外は全て一致していたが、個々の抗原に対する判定スコアには大きな差異を認めた。この原因としては各抗原に対するビーズの反応性の差が判定スコアに反映したものと考えられる。但し参加施設が少なく、今後はプロトコール等を見直した上で3施設以上のデータで検討する必

要があると考ええる。

6. まとめ

PRAについては、同一ロットであっても反応性に施設間差がみられたことから、自施設のプロトコール、Luminexのメンテナンスや試薬の管理方法等の見直しが必要と考える。

Single antigenについては、ロットによる反応性の差異を認めたことからその切換え時にはロット間でのデータ検定を行う等の管理も必要であろう。その上で、標準化に向けて今後は判定基準の統一を図っていく事が重要課題であると考ええる。

第11回 HLA-QC ワークショップレポート (抗体部門) —HLA 抗体検出試薬 (WAK Flow HLA クラス I 抗体 MR)—

田中秀則(東京都赤十字血液センター検査), 日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会

1. はじめに

蛍光ビーズ (Luminex システム) を用いた HLA 抗体検査試薬は、高感度に HLA 抗体を検出する試薬とし市販されており、使用している精製 HLA 抗原(パネル細胞由来)は、WHO 公認抗原を網羅し抗体同定用として主に用いられている。

血液センターでは、HLA 抗体が原因となる血小板輸血不応 (PTR) 症例に対して HLA 適合血小板製剤を供給しており、事前に HLA 抗体スクリーニングおよび HLA 抗体陽性症例の許容抗原 (HLA 抗体陰性抗原) 確認検査を行う必要がある。日赤では、これらの HLA 適合血小板製剤の供給に伴う検査を効率良く行うために、日本人に多く見られる HLA 抗原および HLA ハプロタイプを有するパネル細胞 (EBV トンラフォーム細胞) から抽出した精製 HLA 抗原を用い、蛍光ビーズによる HLA 抗体検出試薬 (注)を開発した。

開発した試薬に用いたパネル細胞(精製 HLA 抗原)は、許容抗原確認を容易にすることおよび抗体検出感度を高めることを目的として ① HLA-B 抗原型の組み合わせが同じ交差反応抗原群(例: B54 と B55, B60 と B61 等)であること ② HLA ハプロタイプがホモ接合であること(例: A24-B52-Cw12, A33-B44-Cw14 のホモ接合等)とし、日本人における遺伝子頻度が 1% 以上の HLA 抗原を網羅するように選択した(表 1 参照)。

今回の HLA-QC ワークショップでは、IgG 抗体について 7 施設からデータが提出され、全施設で添付品の二次抗体 (抗 heavy chain & light chain) を使用しており、1 施設で他社 (Jackson) の二次抗体 (抗ヒト IgG 抗体) を使用したデータが提出された。IgM 抗体については、2 施設からデータが提出され、19S005 では 3 種類の二次抗体 (抗ヒト IgM 抗体) を用いたデータが提出された(表 2)。提出されたデー

表 1 WAKFlow HLA 抗体クラス I (MR) 使用パネルセル

No.	B.No.	A-1	A-2	B-1	B-2	Cw-1	Cw-2	Cw-3	Cw-4	Cw-5	Cw-6	Cw-7	Cw-8	Cw-9	Cw-10	Cw-11	Cw-12	Cw-13	Cw-14	Cw-15	Cw-16	Cw-17	Cw-18	Cw-19	Cw-20	Cw-21	Cw-22	Cw-23	Cw-24	Cw-25	Cw-26	Cw-27	Cw-28	Cw-29	Cw-30	Cw-31	Cw-32	Cw-33	Cw-34	Cw-35	Cw-36	Cw-37	Cw-38	Cw-39	Cw-40	Cw-41	Cw-42	Cw-43	Cw-44	Cw-45	Cw-46	Cw-47	Cw-48	Cw-49	Cw-50	Cw-51	Cw-52	Cw-53	Cw-54	Cw-55	Cw-56	Cw-57	Cw-58	Cw-59	Cw-60	Cw-61	Cw-62	Cw-63	Cw-64	Cw-65	Cw-66	Cw-67	Cw-68	Cw-69	Cw-70	Cw-71	Cw-72	Cw-73	Cw-74	Cw-75	Cw-76	Cw-77	Cw-78	Cw-79	Cw-80	Cw-81	Cw-82	Cw-83	Cw-84	Cw-85	Cw-86	Cw-87	Cw-88	Cw-89	Cw-90	Cw-91	Cw-92	Cw-93	Cw-94	Cw-95	Cw-96	Cw-97	Cw-98	Cw-99	Cw-100	Cw-101	Cw-102	Cw-103	Cw-104	Cw-105	Cw-106	Cw-107	Cw-108	Cw-109	Cw-110	Cw-111	Cw-112	Cw-113	Cw-114	Cw-115	Cw-116	Cw-117	Cw-118	Cw-119	Cw-120	Cw-121	Cw-122	Cw-123	Cw-124	Cw-125	Cw-126	Cw-127	Cw-128	Cw-129	Cw-130	Cw-131	Cw-132	Cw-133	Cw-134	Cw-135	Cw-136	Cw-137	Cw-138	Cw-139	Cw-140	Cw-141	Cw-142	Cw-143	Cw-144	Cw-145	Cw-146	Cw-147	Cw-148	Cw-149	Cw-150	Cw-151	Cw-152	Cw-153	Cw-154	Cw-155	Cw-156	Cw-157	Cw-158	Cw-159	Cw-160	Cw-161	Cw-162	Cw-163	Cw-164	Cw-165	Cw-166	Cw-167	Cw-168	Cw-169	Cw-170	Cw-171	Cw-172	Cw-173	Cw-174	Cw-175	Cw-176	Cw-177	Cw-178	Cw-179	Cw-180	Cw-181	Cw-182	Cw-183	Cw-184	Cw-185	Cw-186	Cw-187	Cw-188	Cw-189	Cw-190	Cw-191	Cw-192	Cw-193	Cw-194	Cw-195	Cw-196	Cw-197	Cw-198	Cw-199	Cw-200	Cw-201	Cw-202	Cw-203	Cw-204	Cw-205	Cw-206	Cw-207	Cw-208	Cw-209	Cw-210	Cw-211	Cw-212	Cw-213	Cw-214	Cw-215	Cw-216	Cw-217	Cw-218	Cw-219	Cw-220	Cw-221	Cw-222	Cw-223	Cw-224	Cw-225	Cw-226	Cw-227	Cw-228	Cw-229	Cw-230	Cw-231	Cw-232	Cw-233	Cw-234	Cw-235	Cw-236	Cw-237	Cw-238	Cw-239	Cw-240	Cw-241	Cw-242	Cw-243	Cw-244	Cw-245	Cw-246	Cw-247	Cw-248	Cw-249	Cw-250	Cw-251	Cw-252	Cw-253	Cw-254	Cw-255	Cw-256	Cw-257	Cw-258	Cw-259	Cw-260	Cw-261	Cw-262	Cw-263	Cw-264	Cw-265	Cw-266	Cw-267	Cw-268	Cw-269	Cw-270	Cw-271	Cw-272	Cw-273	Cw-274	Cw-275	Cw-276	Cw-277	Cw-278	Cw-279	Cw-280	Cw-281	Cw-282	Cw-283	Cw-284	Cw-285	Cw-286	Cw-287	Cw-288	Cw-289	Cw-290	Cw-291	Cw-292	Cw-293	Cw-294	Cw-295	Cw-296	Cw-297	Cw-298	Cw-299	Cw-300	Cw-301	Cw-302	Cw-303	Cw-304	Cw-305	Cw-306	Cw-307	Cw-308	Cw-309	Cw-310	Cw-311	Cw-312	Cw-313	Cw-314	Cw-315	Cw-316	Cw-317	Cw-318	Cw-319	Cw-320	Cw-321	Cw-322	Cw-323	Cw-324	Cw-325	Cw-326	Cw-327	Cw-328	Cw-329	Cw-330	Cw-331	Cw-332	Cw-333	Cw-334	Cw-335	Cw-336	Cw-337	Cw-338	Cw-339	Cw-340	Cw-341	Cw-342	Cw-343	Cw-344	Cw-345	Cw-346	Cw-347	Cw-348	Cw-349	Cw-350	Cw-351	Cw-352	Cw-353	Cw-354	Cw-355	Cw-356	Cw-357	Cw-358	Cw-359	Cw-360	Cw-361	Cw-362	Cw-363	Cw-364	Cw-365	Cw-366	Cw-367	Cw-368	Cw-369	Cw-370	Cw-371	Cw-372	Cw-373	Cw-374	Cw-375	Cw-376	Cw-377	Cw-378	Cw-379	Cw-380	Cw-381	Cw-382	Cw-383	Cw-384	Cw-385	Cw-386	Cw-387	Cw-388	Cw-389	Cw-390	Cw-391	Cw-392	Cw-393	Cw-394	Cw-395	Cw-396	Cw-397	Cw-398	Cw-399	Cw-400	Cw-401	Cw-402	Cw-403	Cw-404	Cw-405	Cw-406	Cw-407	Cw-408	Cw-409	Cw-410	Cw-411	Cw-412	Cw-413	Cw-414	Cw-415	Cw-416	Cw-417	Cw-418	Cw-419	Cw-420	Cw-421	Cw-422	Cw-423	Cw-424	Cw-425	Cw-426	Cw-427	Cw-428	Cw-429	Cw-430	Cw-431	Cw-432	Cw-433	Cw-434	Cw-435	Cw-436	Cw-437	Cw-438	Cw-439	Cw-440	Cw-441	Cw-442	Cw-443	Cw-444	Cw-445	Cw-446	Cw-447	Cw-448	Cw-449	Cw-450	Cw-451	Cw-452	Cw-453	Cw-454	Cw-455	Cw-456	Cw-457	Cw-458	Cw-459	Cw-460	Cw-461	Cw-462	Cw-463	Cw-464	Cw-465	Cw-466	Cw-467	Cw-468	Cw-469	Cw-470	Cw-471	Cw-472	Cw-473	Cw-474	Cw-475	Cw-476	Cw-477	Cw-478	Cw-479	Cw-480	Cw-481	Cw-482	Cw-483	Cw-484	Cw-485	Cw-486	Cw-487	Cw-488	Cw-489	Cw-490	Cw-491	Cw-492	Cw-493	Cw-494	Cw-495	Cw-496	Cw-497	Cw-498	Cw-499	Cw-500	Cw-501	Cw-502	Cw-503	Cw-504	Cw-505	Cw-506	Cw-507	Cw-508	Cw-509	Cw-510	Cw-511	Cw-512	Cw-513	Cw-514	Cw-515	Cw-516	Cw-517	Cw-518	Cw-519	Cw-520	Cw-521	Cw-522	Cw-523	Cw-524	Cw-525	Cw-526	Cw-527	Cw-528	Cw-529	Cw-530	Cw-531	Cw-532	Cw-533	Cw-534	Cw-535	Cw-536	Cw-537	Cw-538	Cw-539	Cw-540	Cw-541	Cw-542	Cw-543	Cw-544	Cw-545	Cw-546	Cw-547	Cw-548	Cw-549	Cw-550	Cw-551	Cw-552	Cw-553	Cw-554	Cw-555	Cw-556	Cw-557	Cw-558	Cw-559	Cw-560	Cw-561	Cw-562	Cw-563	Cw-564	Cw-565	Cw-566	Cw-567	Cw-568	Cw-569	Cw-570	Cw-571	Cw-572	Cw-573	Cw-574	Cw-575	Cw-576	Cw-577	Cw-578	Cw-579	Cw-580	Cw-581	Cw-582	Cw-583	Cw-584	Cw-585	Cw-586	Cw-587	Cw-588	Cw-589	Cw-590	Cw-591	Cw-592	Cw-593	Cw-594	Cw-595	Cw-596	Cw-597	Cw-598	Cw-599	Cw-600	Cw-601	Cw-602	Cw-603	Cw-604	Cw-605	Cw-606	Cw-607	Cw-608	Cw-609	Cw-610	Cw-611	Cw-612	Cw-613	Cw-614	Cw-615	Cw-616	Cw-617	Cw-618	Cw-619	Cw-620	Cw-621	Cw-622	Cw-623	Cw-624	Cw-625	Cw-626	Cw-627	Cw-628	Cw-629	Cw-630	Cw-631	Cw-632	Cw-633	Cw-634	Cw-635	Cw-636	Cw-637	Cw-638	Cw-639	Cw-640	Cw-641	Cw-642	Cw-643	Cw-644	Cw-645	Cw-646	Cw-647	Cw-648	Cw-649	Cw-650	Cw-651	Cw-652	Cw-653	Cw-654	Cw-655	Cw-656	Cw-657	Cw-658	Cw-659	Cw-660	Cw-661	Cw-662	Cw-663	Cw-664	Cw-665	Cw-666	Cw-667	Cw-668	Cw-669	Cw-670	Cw-671	Cw-672	Cw-673	Cw-674	Cw-675	Cw-676	Cw-677	Cw-678	Cw-679	Cw-680	Cw-681	Cw-682	Cw-683	Cw-684	Cw-685	Cw-686	Cw-687	Cw-688	Cw-689	Cw-690	Cw-691	Cw-692	Cw-693	Cw-694	Cw-695	Cw-696	Cw-697	Cw-698	Cw-699	Cw-700	Cw-701	Cw-702	Cw-703	Cw-704	Cw-705	Cw-706	Cw-707	Cw-708	Cw-709	Cw-710	Cw-711	Cw-712	Cw-713	Cw-714	Cw-715	Cw-716	Cw-717	Cw-718	Cw-719	Cw-720	Cw-721	Cw-722	Cw-723	Cw-724	Cw-725	Cw-726	Cw-727	Cw-728	Cw-729	Cw-730	Cw-731	Cw-732	Cw-733	Cw-734	Cw-735	Cw-736	Cw-737	Cw-738	Cw-739	Cw-740	Cw-741	Cw-742	Cw-743	Cw-744	Cw-745	Cw-746	Cw-747	Cw-748	Cw-749	Cw-750	Cw-751	Cw-752	Cw-753	Cw-754	Cw-755	Cw-756	Cw-757	Cw-758	Cw-759	Cw-760	Cw-761	Cw-762	Cw-763	Cw-764	Cw-765	Cw-766	Cw-767	Cw-768	Cw-769	Cw-770	Cw-771	Cw-772	Cw-773	Cw-774	Cw-775	Cw-776	Cw-777	Cw-778	Cw-779	Cw-780	Cw-781	Cw-782	Cw-783	Cw-784	Cw-785	Cw-786	Cw-787	Cw-788	Cw-789	Cw-790	Cw-791	Cw-792	Cw-793	Cw-794	Cw-795	Cw-796	Cw-797	Cw-798	Cw-799	Cw-800	Cw-801	Cw-802	Cw-803	Cw-804	Cw-805	Cw-806	Cw-807	Cw-808	Cw-809	Cw-810	Cw-811	Cw-812	Cw-813	Cw-814	Cw-815	Cw-816	Cw-817	Cw-818	Cw-819	Cw-820	Cw-821	Cw-822	Cw-823	Cw-824	Cw-825	Cw-826	Cw-827	Cw-828	Cw-829	Cw-830	Cw-831	Cw-832	Cw-833	Cw-834	Cw-835	Cw-836	Cw-837	Cw-838	Cw-839	Cw-840	Cw-841	Cw-842	Cw-843	Cw-844	Cw-845	Cw-846	Cw-847	Cw-848	Cw-849	Cw-850	Cw-851	Cw-852	Cw-853	Cw-854	Cw-855	Cw-856	Cw-857	Cw-858	Cw-859	Cw-860	Cw-861	Cw-862	Cw-863	Cw-864	Cw-865	Cw-866	Cw-867	Cw-868	Cw-869	Cw-870	Cw-871	Cw-872	Cw-873	Cw-874	Cw-875	Cw-876	Cw-877	Cw-878	Cw-879	Cw-880	Cw-881	Cw-882	Cw-883	Cw-884	Cw-885	Cw-886	Cw-887	Cw-888	Cw-889	Cw-890	Cw-891	Cw-892	Cw-893	Cw-894	Cw-895	Cw-896	Cw-897	Cw-898	Cw-899	Cw-900	Cw-901	Cw-902	Cw-903	Cw-904	Cw-905	Cw-906	Cw-907	Cw-908	Cw-909	Cw-910	Cw-911	Cw-912	Cw-913	Cw-914	Cw-915	Cw-916	Cw-917	Cw-918	Cw-919	Cw-920	Cw-921	Cw-922	Cw-923	Cw-924	Cw-925	Cw-926	Cw-927	Cw-928	Cw-929	Cw-930	Cw-931	Cw-932	Cw-933	Cw-934	Cw-935	Cw-936	Cw-937	Cw-938	Cw-939	Cw-940	Cw-941	Cw-942	Cw-943	Cw-944	Cw-945	Cw-946	Cw-947	Cw-948	Cw-949	Cw-950	Cw-951	Cw-952	Cw-953	Cw-954	Cw-955	Cw-956	Cw-957	Cw-958	Cw-959	Cw-960	Cw-961	Cw-962	Cw-963	Cw-964	Cw-965	Cw-966	Cw-967	Cw-968	Cw-969	Cw-970	Cw-971	Cw-972	Cw-973	Cw-974	Cw-975	Cw-976	Cw-977	Cw-978	Cw-979	Cw-980	Cw-981	Cw-982	Cw-983	Cw-984	Cw-985	Cw-986	Cw-987	Cw-988	Cw-989	Cw-990	Cw-991	Cw-992	Cw-993	Cw-994	Cw-995	Cw-996	Cw-997	Cw-998	Cw-999	Cw-1000	Cw-1001	Cw-1002	Cw-1003	Cw-1004	Cw-1005	Cw-1006	Cw-1007	Cw-1008	Cw-1009	Cw-1010	Cw-1011	Cw-1012	Cw-1013	Cw-1014	Cw-1015	Cw-1016	Cw-1017	Cw-1018	Cw-1019	Cw-1020	Cw-1021	Cw-1022	Cw-1023	Cw-1024	Cw-1025	Cw-1026	Cw-1027	Cw-1028	Cw-1029	Cw-1030	Cw-1031	Cw-1032	Cw-1033	Cw-1034	Cw-1035	Cw-1036	Cw-1037	Cw-1038	Cw-1039	Cw-1040	Cw-1041	Cw-1042	Cw-1043	Cw-1044	Cw-1045	Cw-1046	Cw-1047	Cw-1048	Cw-1049	Cw-1050	Cw-1051	Cw-1052	Cw-1053	Cw-1054	Cw-1055	Cw-1056	Cw-1057	Cw-1058	Cw-1059	Cw-1060	Cw-1061	Cw-1062	Cw-1063	Cw-1064	Cw-1065	Cw-1066	Cw-1067	Cw-1068	Cw-1069	Cw-1070	Cw-1071	Cw-1072	Cw-1073	Cw-1074	Cw-1075	Cw-1076	Cw-1077	Cw-1078	Cw-1079	Cw-1080	Cw-1081	Cw-1082	Cw-1083	Cw-1084	Cw-1085	Cw-1086	Cw-1087	Cw-1088	Cw-1089	Cw-1090	Cw-1091	Cw-1092	Cw-1093	Cw-1094	Cw-1095	Cw-1096	Cw-1097	Cw-1098	Cw-1099	Cw-1100	Cw-1101	Cw-1102	Cw-1103	Cw-1104	Cw-1105	Cw-1106	Cw-1107	Cw-1108	Cw-1109	Cw-1110	Cw-1111	Cw-1112	Cw-1113	Cw-1114	Cw-1115	Cw-1116	Cw-1117	Cw-1118	Cw-1119	Cw-1120	Cw-1121	Cw-1122	Cw-1123	Cw-1124	Cw-1125	Cw-1126	Cw-1127	Cw-1128	Cw-1129	Cw-1130	Cw-1131	Cw-1132	Cw-1133	Cw-1134	Cw-1135	Cw-1136	Cw-1137	Cw-1138	Cw-1139	Cw-1140	Cw-1141	Cw-1142	Cw-1143	Cw-1144	Cw-1145	Cw-1146	Cw-1147	Cw-1148	Cw-1149	Cw-1150	Cw-1151	Cw-1152	Cw-1153	Cw-1154	Cw-1155	Cw-1156	Cw-1157	Cw-1158	Cw-1159	Cw-1160	Cw-1161	Cw-1162	Cw-1163	Cw-1164	Cw-1165	Cw-1166	Cw-1167	Cw-1168	Cw-1169	Cw-1170	Cw-1171	Cw-1172	Cw-1173	Cw-1174	Cw-1175	Cw-1176	Cw-1177	Cw-1178	Cw-1179	Cw-1180	Cw-1181	Cw-1182	Cw-1183	Cw-1184	Cw-1185	Cw-1186	Cw-1187	Cw-1188	Cw-1189	Cw-1190	Cw-1191	Cw-1192	Cw-1193	Cw-1194	Cw-1195	Cw-1196	Cw-1197	Cw-1198	Cw-1199	Cw-1200	Cw-1201	Cw-1202	Cw-1203	Cw-1204	Cw-1205	Cw-1206	Cw-1207	Cw-1208	Cw-1209	Cw-1210	Cw-1211	Cw-1212	Cw-1213	Cw-1214	Cw-1215	Cw-1216	Cw-1217	Cw-1218	Cw-1219	Cw-1220	Cw-1221	Cw-1222	Cw-12
-----	-------	-----	-----	-----	-----	------	------	------	------	------	------	------	------	------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	-------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	-------

表2 参加施設および使用二次抗体

—WAKFlow HLA クラス I 抗体 (MR)—

参加施設数: 7 施設

Lab No.	IgG	二次抗体*		IgM	二次抗体*	備 考
		添付品	その他			
19S003	○	○	—	—		
19S005	○	○	JA	○	SE, BI, CE	
19S006	○	○	—	○	JA	
19S021	○	○	—	—		
19S026	○	○	—	—		
19S027	○	○	—	—		吸収操作有
19S032	○	○	—	—		

○:データ提出有り、—:データ提出無し

* 二次抗体: メーカー名 JA(Jackson)、SE(Serotec)、BI(Biosource)、CE(CellLab)

表3 WAKFlow HLA 抗体クラス I (MR) 測定データの解析

・Index値(NBG Ratio)での判定

陰性血清との反応データに基づき、検体の測定データを指数化(Negative Background Ratio)し、各ピーズでの反応性を判定する。

・Index値の計算方法(蛍光強度:Meidenを使用)

$$\text{Index値} = \frac{\text{検体と\#ピーズとのシグナル} \div \text{検体とBlank ピーズとのシグナル}}{\text{NS*と\#ピーズとのシグナル} \div \text{NS*とBlank ピーズとのシグナル}}$$

NS:negative serum

・Cutoff 値: 検体毎に交差反応性等を考慮し決定する必要がある。

(弱陽性の例では、indexが2以上で陽性と判定可能であった)

タ(蛍光値:Luminexの測定データであるmedian)および蛍光値から算出されるIndex値(Negative Background Ratio, 表3参照)から、各ピーズとの反応性を比較することにより、HLA抗体の有無およびHLA抗体の特異性を各検体について考察した。

2. 結果および考察

2.1. IgG抗体

二次抗体が添付品または抗ヒトIgG抗体の蛍光値を図1に示す。試薬の添付品である二次抗体を用いた場合の蛍光値では、施設間での大きな違いは見られず、安定した結果が得られた。S05-2は、添付品以外の抗ヒトIgG抗体を二次抗体として用いた結果であり、添付品での二次抗体の蛍光値と比べ高い値

を示した。蛍光値から算出されたIndex値を、図2にグラフで示した。添付品以外の抗ヒトIgG抗体では高い蛍光値を示したが、Index値では添付品でのIndex値と大きな違いは見られなかった。

SH1901は、各ピーズおよびバックグラウンドピーズ共に高い蛍光値(約4,300-6,400)を示し、全ピーズでIndex値も2以下となり、非特異的な反応が否定出来ない検体であった。他の3検体のIndex値は高い値を示し、クラスI抗体陽性と判定された。SH1902は、カットオフ値を2前後で設定することによりPc17, Pc21, Pc07, Pc10のピーズに対して陽性と判定され、B5+B35の特異性が推察された(各ピーズのHLAタイプは、表1参照)。SH1903は全てのピーズに反応を示し、許容抗原も見出せなかつ

図1 HLA-QCWS 各検体での蛍光値 (IgG 抗体)

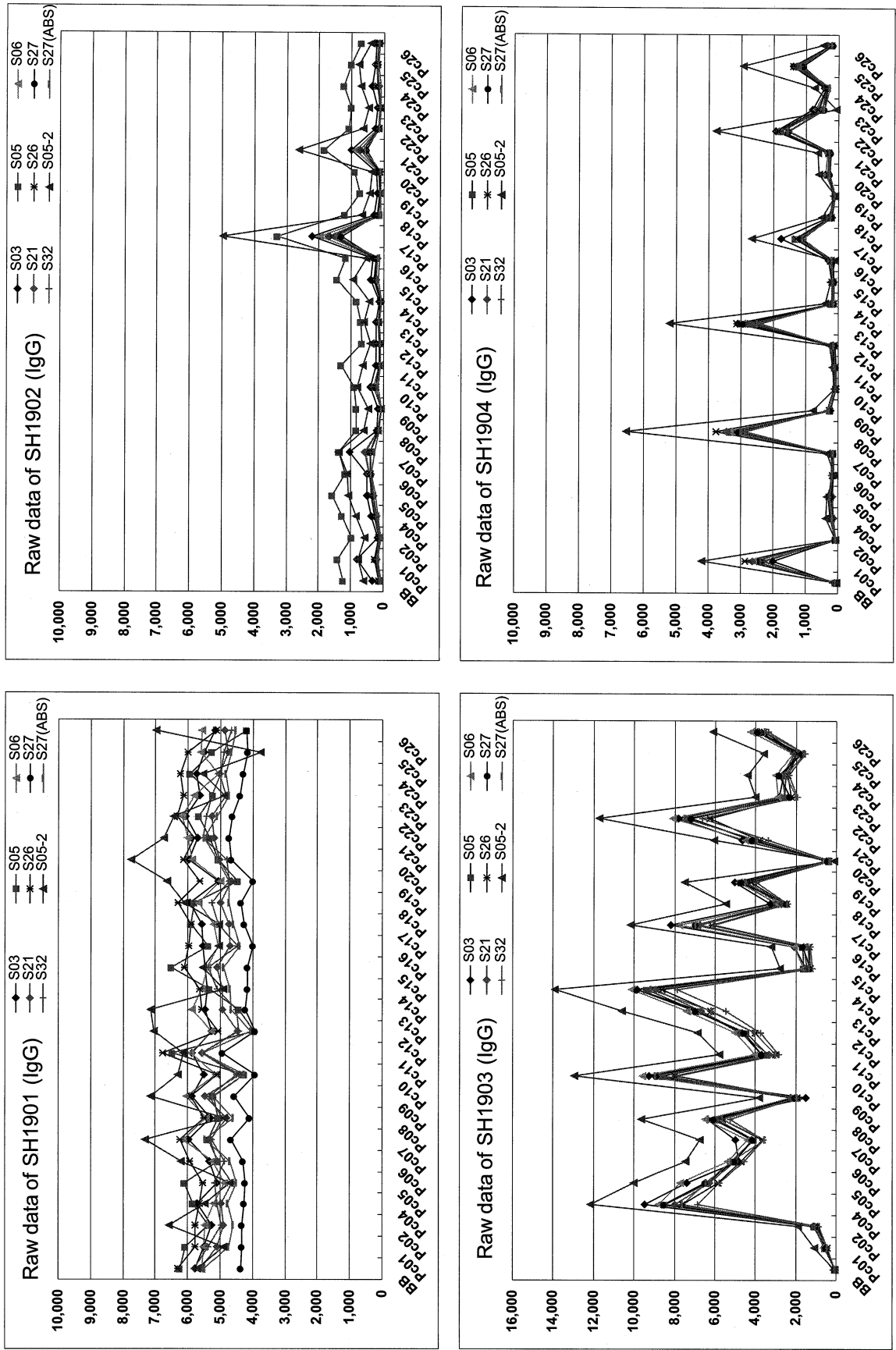


図2 HLA-QCWS 各検体での Index 値 (IgG 抗体)

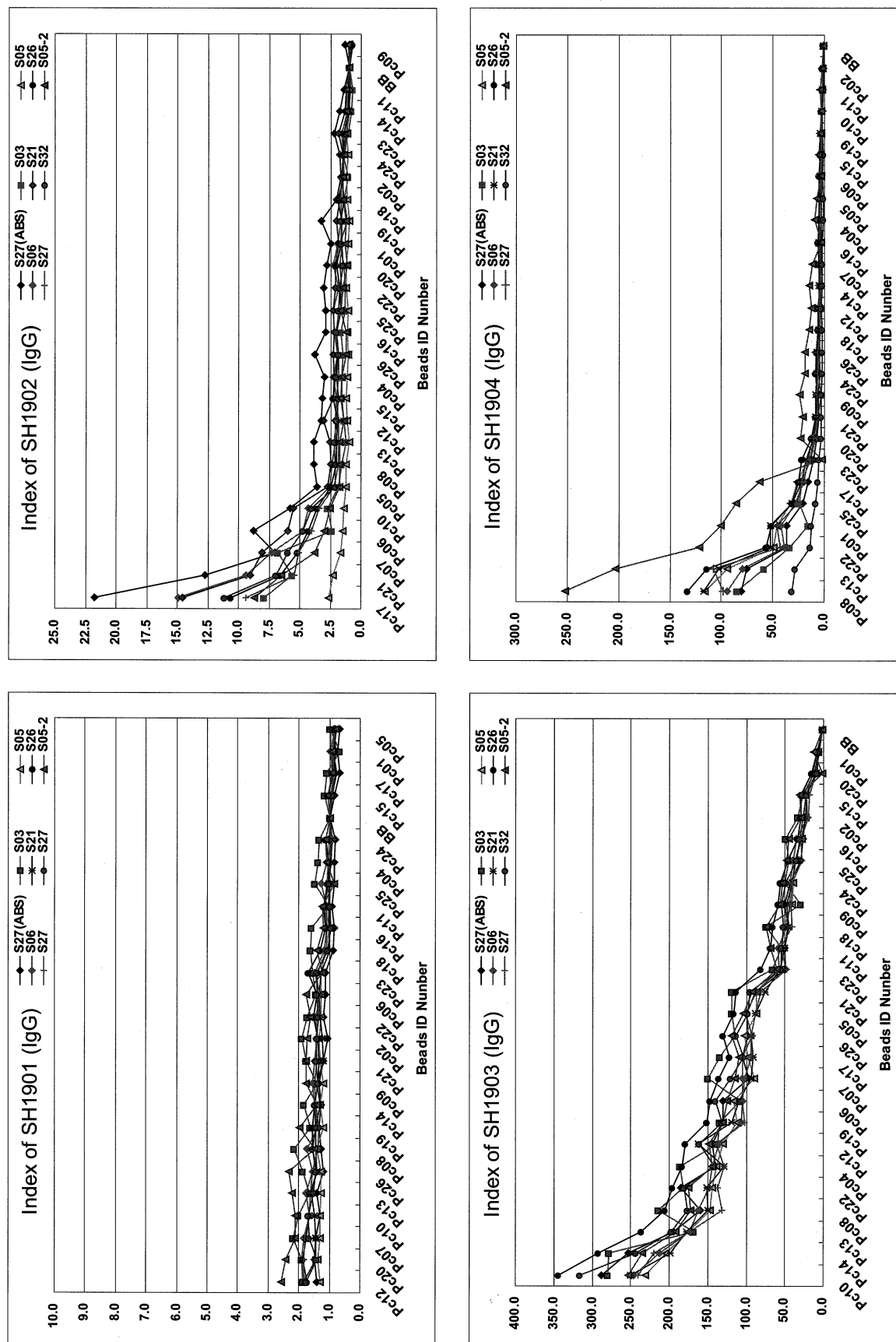


図 3 HLA-QCWS 各検体での蛍光値 (IgM 抗体)

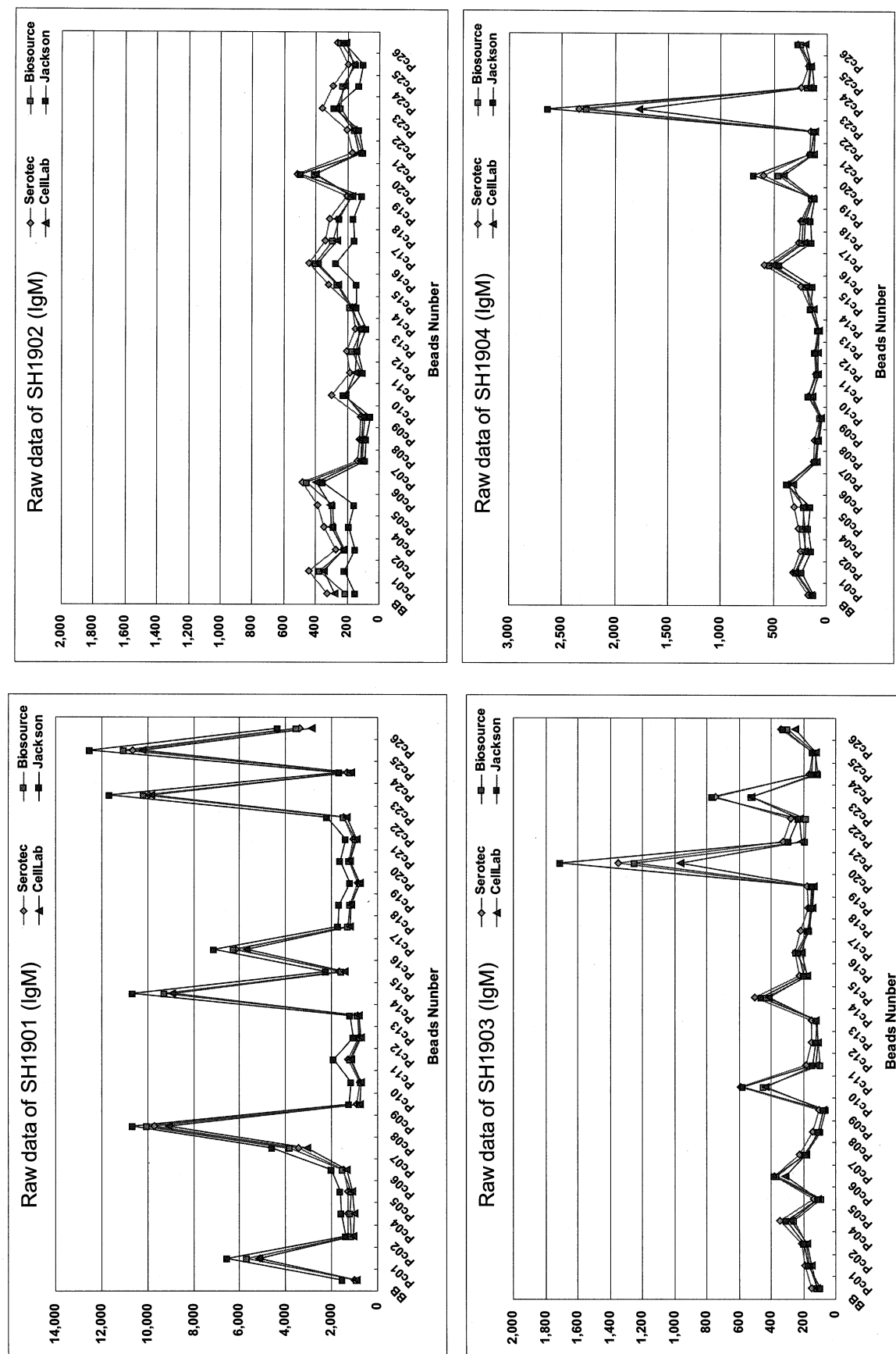
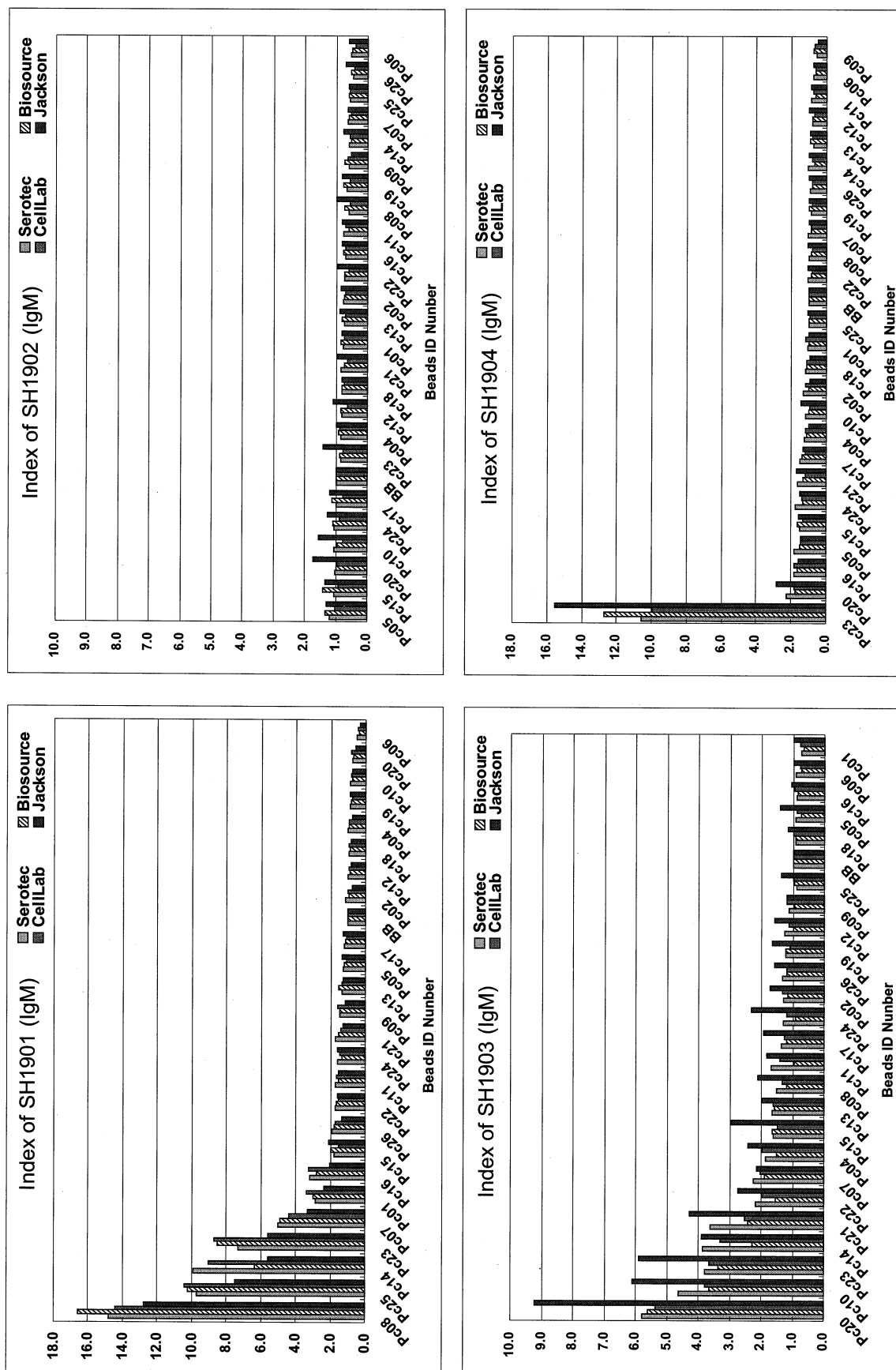


図4 HLA-QCWS 各検体での Index 値 (IgM 抗体)



た。SH1904 は、ビーズ番号 Pc08, Pc13, Pc22, Pc01, Pc25 に対して強い反応を示し、Cw1 の特異性が推察されたが、他のビーズにも反応が認められたことから、Cw1 以外の特異性もあると思われる。Pc10, Pc19, Pc15, Pc11, Pc02 に反応は認められないことから、HLA-A24, A26, A2, A31, A33, B44, B48, B60, B61, B52 抗原に対する抗体は認められず、このことは LABScreen Single Antigen でも同様であった。

施設 No. S27 では、バックグラウンドを抑えるための吸収操作を各検体について行っているが、何れの検体において吸収操作による蛍光値および Index 値に大きな変化は認められなかった(図 1 および 2 の S27 (ABS) を参照)。

2.2. IgM 抗体

IgM 抗体の検出では、使用された二次抗体による蛍光値の大きな違いは見られなかったが、Cell Lab で低値を、Jackson で高値を示す傾向にあった(図 3 参照)。Index 値でも大きな違いは見られず、二次抗体が Jackson の場合 SH1901 では低く、他の 2 検体 (SH1903 および SH1904) では高くなっていた。

SH1901 では、ビーズ番号が Pc08, Pc25, Pc23, Pc14, Pc07, Pc01, Pc15, Pc16 に反応が見られ、

HLA-A1, A3, A11, A26 抗原に対する抗体特異性が推察された。SH1902 は Index 値も 2 以下であり陰性と判定された。SH1903 は、陰性と判定は出来ないが、特異性は明確ではなく、LABScreen Single Antigen でも HLA-B15, B35, B5 関連抗原に対する反応は見られたが、強い反応ではなかった。SH1904 はビーズ番号 Pc23, Pc20, Pc16 に反応を示し、HLA-A3 抗原に対する抗体特異性が確認された。

3. まとめ

施設間の差が認められず良好な結果が得られた。広範囲の特異性を有する検体では、明確な特異性の確認は出来なかったが、許容抗原 (HLA 抗体陰性抗原) の確認は可能であった。また、IgM 抗体も二次抗体に抗ヒト IgM 抗体を使用することにより、検出が可能であることが確認された。

注：開発した HLA 抗体検出試薬は、日本赤十字社血液事業研究課題「蛍光ビーズ (Luminex) を用いた、白血球 (HLA・顆粒球) および血小板抗原に対する抗体検査法の開発」において、湧永製薬との共同研究において開発された試薬である。

平成 19 年度認定 HLA 検査技術者登録名簿（敬称略）

（2007 年 9 月 10 日から 2012 年 12 月 31 日）

認定番号	氏 名
G07001	上野 寿行
G07003	泰田 直美
G07004	伊達 英子
G07005	徳竹佐智夫
G07007	中山みゆき

平成 19 年度認定 HLA 検査技術者更新登録名簿 (敬称略)

(2007 年 9 月 10 日から 2012 年 12 月 31 日)

認定番号	氏 名	認定番号	氏 名
G02001	樺澤 憲治	G02033	石井 博之
G02002	藤野 恵三	G02034	門伝 一江
G02004	小原 節子	G02035	高原 勝行
G02006	土田 文子	G02037	石川登志子
G02007	山岡 学	G02038	木原 正明
G02008	佐藤 一弘	G02039	堀切 順子
G02009	加茂谷邦磨	G02040	高 陽淑
G02010	道野 淳子	G02041	小野 明子
G02011	橋口 裕樹	G02042	吉武 俊一
G02012	李 悦子	G02043	中村 淳子
G02013	安田 広康	G02044	弓指佳津江
G02014	男山 順子	G02045	清水まり恵
G02015	浅尾 洋次	G02046	市原 孝浩
G02016	久山 芳文	G02047	今井 重美
G02018	飯田 好江	G02050	松下 正毅
G02019	山崎 正明	G02051	河野 節美
G02020	平田 康司	G02052	山口恵津子
G02022	大久保光夫	G02053	平田 蘭子
G02023	伊藤八重子	G02054	今井 厚子
G02024	吉本 千尋	G02056	河田 寿子
G02025	岸野 光司	G02058	内田 純子
G02027	中條 聖子	S02004	松崎 龍典
G02028	小川 公明	S02019	安尾美年子
G02030	関 佐織	S02015	加藤 道
G02032	白鳥 滋久	S02013	大熊 重則

平成 19 年度認定組織適合性指導者更新登録名簿（敬称略）

（2007 年 9 月 10 日から 2012 年 12 月 31 日）

認定番号	氏 名
S02002	大田 智
S02003	木村 彰方
S02007	小林 孝彰
S02009	小林 賢
S02010	阿藤みや子
S02011	太田 正穂
S02012	益尾 清恵
S02017	赤座 達也
S02018	徳永 勝士
S02020	酒巻 建夫
S02024	猪子 英俊
S02027	中島 文明
S02029	柏瀬 貢一
S02030	安藤 麻子
S02031	川井信太郎
S02032	前田 平生
S02033	佐田 正晴
S02034	福森 泰雄
S02035	成瀬 妙子
S02036	佐治 博夫
S02037	丸屋 悦子

平成 19 年度 HLA 検査技術者認定試験に関する報告

太田正穂¹⁾, 石川善英²⁾, 石谷昭子³⁾, 大橋 順⁴⁾, 小河原悟⁵⁾, 柏瀬貢一⁶⁾, 木村彰方^{7),8)},
 小林 賢⁹⁾, 高原史郎¹⁰⁾, 田中秀則⁶⁾, 徳永勝士⁴⁾, 中島文明²⁾, 西村泰治¹¹⁾,
 平山謙二¹²⁾, 丸屋悦子¹³⁾, 屋部登志雄⁶⁾
 (日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会試験問題検討部会)

- 1) 信州大学医学部法医学, 2) 日本赤十字中央血液研究所研究開発部, 3) 奈良県立医科大学法医学, 4) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野, 5) 福岡大病院第4内科, 6) 東京都赤十字血液センター, 7) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野, 8) 東京医科歯科大学大学院疾患生命科学研究部ゲノム多様性研究室, 9) 日本薬科大学生物学, 10) 大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学, 11) 熊本大学大学院医学系研究科免疫識別学教室, 12) 長崎大学熱帯医学研究所環境医学部門, 13) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

日本組織適合性学会 HLA 検査技術者, 組織適合性指導認定制度による第4回の認定試験が, 第16回日本組織適合性学会大会中の平成19年9月9日に行われた。

過去3回の試験と同様, 試験問題の難易度を評価し, 合格ラインの参考にするため, 学会参加者に協力をお願いし無記名で模擬試験を行った。本年度の模試試験参加者は昨年(65名参加)に比べ43人と少なかった。その結果は図1に示す通りである。50問の平均点は25.7点, 標準偏差は7.8であった。本模擬試験受験者の内訳は技術者33人, 研究者9人, 学生1人であった。また, 職種別の平均値は, 技術者23.6, 研究者33.4, 学生25.0であり, HLA実務経験年数で比較すると5年以下では22.7, 5年以上10年以下では24.9, 10年以上では31.3であった。さらにHLA認定制度の資格保有の有無で比較すると, 資格なしは23.1, 技術者・資格ありでは27.0, 指導者・資格ありでは38.3を示した。本年度の試験問題の平均値は, 昨年までの問題と比べ低く, 問題の質に疑問が持たれた。しかしここで示したように職種別, 経験年数別, および認定資格の有無で推移を比較すると職種や, 経験年数, 認定資格の有無に相応して平均値が異なり, 試験結果はHLAに関する認識度や知識度と各項目との関連性を反映していると考えられ, 今回の問題構成は妥当であると思われる。

本年度の問題には不適切問題も正解率10%以下の問題も見られなかった。しかし, 正解率10%代の問題が問23(14.0%)と問44(18.6%)の2題生じた。問23は, 補体遺伝子C2, C4に関する問題であり, この遺伝子はHLAクラスIII遺伝子領域に存在し, 遺伝子の欠損がいずれもSLE(全身性エリトマーズ)患者に多くみられることが報告されている(移植・輸血検査学; 講談社サイエンティフィク: pp175)。問44はPLT(primed lymphocytes typing)法に関する問題であり, DNAタイピング法が紹介される以前, DP抗原を調べる方法として用いられていた。この方法には, HTC(homozygote typing cell)の保有や感作抗原既知のPLT細胞の保有が必要であり, その上

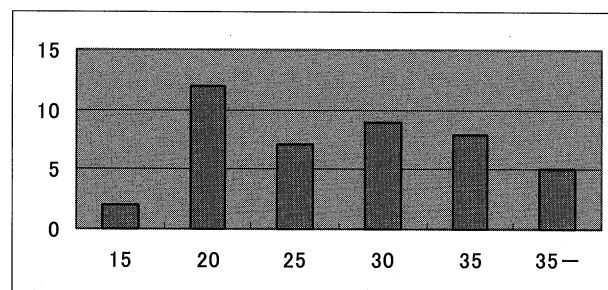


図1 正解者のヒストグラム

縦軸: 人数,
 横軸: 点数, $15 \leq 15$, $15 < 20 \leq 20$, $20 < 25 \leq 25$,
 $25 < 30 \leq 30$, $30 < 35 \leq 35$, $35 - > 35$

操作が複雑なことから現在では利用されなくなっている。しかし、細胞学的検査を代表する検査法の一つである PLT 法は、HLA 検査の歴史やこの検査法が意味する生物学的意義を知る上でも重要である。

本年度も過去に用いた試験問題を 5 題採用した。問 9 (86% vs 81% H17 年度), 問 13 (79% vs 72%

H18 年度), 問 22 (56% vs 53% H18 年度), 問 32 (70% vs 79% H17 年度), 問 41 (79% vs 70% H18 年度)と各問題の正答率は問 32 を除き僅かに高いことを示したが、HLA に関する顕著な知識の改善は見られなかった。

平成 19 年度 認定組織適合性指導者および認定 HLA 検査技術者試験問題

問 1 MHC の進化について誤りはどれか。

- a. MHC 領域は軟骨魚類には存在せず、硬骨魚類以降の動物種に認められる。
- b. MHC 領域は獲得免疫に関与する T 細胞レセプター、B 細胞レセプター、RAG 遺伝子と同時期に形成された。
- c. MHC クラス II 領域はクラス I 領域に比べて動物種間におけるゲノム基本構造の保存性が高い。
- d. HLA 対立遺伝子の多くはヒトとチンパンジーが分岐した 500-700 万年前より遙かに古くから存在する。
- e. MHC 遺伝子は遺伝子重複によって数を増やし、偽遺伝子化によって数を減ずるというサイクルを繰り返して進化してきた。

(正解 a, 正解率 30.2%)

問 2 正しいのはどれか。

- a. HLA 遺伝子コーディング領域の変異は血清学的に区別可能である。
- b. 抗原特異性の異なる HLA 分子は HLA 遺伝子コーディング領域の配列に違いがある。
- c. HLA 分子に結合している抗原ペプチドは抗 HLA 抗体の反応性とは無関係である。
- d. HLA 分子の発現量は、主に HLA 遺伝子コーディング領域の配列により決まる。
- e. HLA 非発現型の原因は HLA 遺伝子の欠失である。

(正解 b, 正解率 65.1%)

問 3 遺伝学用語について誤りはどれか。

- a. 遺伝子型頻度とは、所定の表現型をもつ個体の集団中に占める割合をいう。
- b. 遺伝的多型とは、正常な個体間で表現型、染色体、タンパク質分子、DNA の塩基配列などに遺伝的な変異がみられる現象をいう。
- c. 遺伝子座とは、染色体上に占める遺伝子の位置をいう。
- d. 対立遺伝子とは、特定の遺伝子がとりうるあらゆる型のことをいう。
- e. 連鎖とは、1 対の相同染色体上の 2 個以上の遺伝子が組になって遺伝する現象をいう。

(正解 a, 正解率 32.6%)

問 4 連鎖不平衡の強さを表す尺度として、よく使われる尺度は次のどれか。

- a. A'
- b. B'
- c. C'
- d. D'
- e. R'

(正解 d, 正解率 30.2%)

問 5 連鎖不平衡について正しいのはどれか。

- 1. 連鎖不平衡が生じる確率やその程度は、遺伝子組換えが起こる頻度に依存する。
- 2. 注目する遺伝子座のすべてが淘汰的に中立のとき、連鎖不平衡の絶対値は最大となる。
- 3. 連鎖不平衡の値は、その期待値としての分散が一般に大きいので、平均値だけで議論するときは注意を要する。
- 4. 連鎖不平衡は、ひとつの遺伝子座だけに注目した量なので、同じ染色体上の近隣に位置する他の遺伝子

座のことは考慮に入れる必要はない。

5. 異なる染色体に位置する遺伝子座間では、一般に強い連鎖不平衡が観察される。

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

(正解 b, 正解率 51.2%)

問 6 HLA 遺伝子群に関して正しいのはどれか。

1. 5 個の遺伝子(座)により構成される。
2. 哺乳類のみに類似の遺伝子群が認められる。
3. 21 番染色体上に位置する。
4. 臓器移植の適合性を決める最も重要な遺伝子群である。
5. 大多数は細胞膜上に発現されるタンパク質をコードする。

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

(正解 e, 正解率 83.7%)

問 7 HLA ワークショップについて正しいのはどれか。

1. 国際組織適合性ワークショップは、血清学的なタイピング法における HLA 抗原名の統一化するために必要であった。
2. 共通の HLA 抗血清を使用した反応データを共有することで、様々な HLA 抗原型(タイプ)の区分が可能であった。
3. 新しい HLA 抗原型の公認は、ワークショップの血清学的データにおいて他の HLA 抗原型と区分されることが必要であり、最終的には NIH 命名委員会が公認する。
4. 様々な民族の HLA タイピングを行うことから、民族調査のデータとして有用である。
5. 新たな HLA 対立遺伝子(アレル)は、ワークショップ参加施設において再度検査を行い、公認される。

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

(正解 b, 正解率 41.9%)

問 8 HLA 対立遺伝子(アレル)分類について正しいのはどれか。

1. HLA-A の後につく* (アステリスク)は抗血清で検査したことを意味する。
2. HLA-に続くアルファベット(例: A, B, DRB1 等)は、HLA 遺伝子座を意味する。
3. HLA-DQ 分子のβ鎖は、HLA-DQB1 座のアレルによってコードされている。
4. アレル名に使用される最初の数字の 2 桁は、アレルがコードする HLA 抗原に対応する。
5. HLA-DR 分子のβ鎖は、HLA-DRA1 座のアレルによってコードされている。

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

(正解 c, 正解率 90.7%)

問 9 HLA 抗原名の表記において、C 座に W がついている理由はどれか。

(例: HLA-A26, B35, DR9, DQ4, Cw1)

- a. リンパ球表面の発現量が低いため、血清学で正確にタイピングできないため。
- b. ワークショップのみで認められ WHO の命名委員会で公認されていないため。
- c. 臨床的にはあまり意味がないことから W をつけることに決められた。
- d. 臨床的に大変重要であることから W をつけることに決められた。
- e. 補体成分の C1, C3 等との混同を避けるため C 座抗原には W をつけることに決められた。

(正解 e, 正解率 86.0%)

問 10 HLA 遺伝子領域の構成について正しいのはどれか。

1. セントロメア側からクラス I, III, II 領域の順で位置する。
 2. セントロメア側からクラス II, III, I 領域の順で位置する。
 3. HLA クラス I 領域はその他の領域よりも遺伝子重複の痕跡を多く含む。
 4. HLA クラス II 領域はその他の領域よりも発現遺伝子を多く含む。
 5. HLA クラス III 領域はその他の領域よりも偽遺伝子を最も多く含む。
- a) 1, 2 b) 1, 3 c) 2, 3 d) 3, 4 e) 4, 5

(正解 c, 正解率 44.2%)

問 11 HLA 領域内にマップされない遺伝子はどれか。

- a. トランスポーター遺伝子 (*TAP1*, *TAP2*)
- b. $\beta 2$ ミクログロブリン遺伝子 (*B2M*)
- c. リンフォトキシン遺伝子 (*LTA*, *LTB*)
- d. MIC 遺伝子 (*MICA*, *MICB*)
- e. テネイシン X 遺伝子 (*TNXB*)

(正解 b, 正解率 48.8%)

問 12 HLA 分子の多型性について基本的には正しいのはどれか。

- a. HLA-A 分子では、主に $\alpha 1$ ドメインのみに集中する。
- b. HLA-B 分子では、主に $\alpha 3$ ドメインのみに集中する。
- c. HLA-C 分子では、主に $\alpha 2$ ドメインのみに集中する。
- d. HLA-DR 分子では、主に $\beta 1$ ドメインのみに集中する。
- e. HLA-DQ 分子では、主に $\alpha 2$ ドメインのみに集中する。

(正解 d, 正解率 46.5%)

問 13 HLA クラス II 分子を発現している細胞はどれか。

1. 赤血球
2. 単球
3. トロホプラスト
4. 樹状細胞
5. 好中球

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

(正解 c, 正解率 79.1%)

問 14 HLA-DRB 遺伝子ハプロタイプについて正しいのはどれか。

1. DR2 (DR15, DR16) ハプロタイプは、DRB52 遺伝子を発現している。
 2. DR3, DR5, DR6 ハプロタイプのパブリック抗原は、DR53 である。
 3. DRB3, DRB4, DRB5 の 3 遺伝子には、多型性が見つからない。
 4. DR1, DR8, DR10 ハプロタイプに発現する DRB 遺伝子は、一般に 1 個である。
 5. DR4, DR7, DR9 ハプロタイプに発現する DRB 遺伝子は、通常 DRB1 と DRB4 遺伝子である。
- a) 1, 3 b) 1, 5 c) 2, 4 d) 3, 5 e) 4, 5

(正解 e, 正解率 48.8%)

問 15 HLA 分子の遺伝的多型の特徴として正しいのはどれか。

- a. HLA クラス I 遺伝子には多数の対立遺伝子があるが、クラス II 遺伝子にはほとんどない。
- b. ヒトとチンパンジーの間で類似した対立遺伝子が複数存在する。

- c. HLA クラス I とクラス II の遺伝子座はヒト 6 番染色体の上で連鎖しているので、多型対立遺伝子の数は同じである。
- d. HLA クラス II 遺伝子の多型は、抗原特異的な免疫反応とは関連しない。
- e. 非古典的クラス I 遺伝子には多型が見つかっていない。 (正解 b, 正解率 90.7%)

問 16 次のうち、日本人で通常観察される HLA 抗原はどれか。

- 1. HLA-B45
 - 2. HLA-B46
 - 3. HLA-B47
 - 4. HLA-B48
 - 5. HLA-B49
- a) 1, 3 b) 1, 5 c) 2, 4 d) 3, 5 e) 4, 5 (正解 c, 正解率 79.1%)

問 17 獲得免疫系の起原について正しいのはどれか。

- a. 多細胞生物が誕生した時に出来上がった。
- b. 生物が陸上に進出した時に獲得された。
- c. 哺乳類だけが持つ特殊な仕組みである。
- d. 哺乳類と昆虫にだけ発達した。
- e. 顎をもつ脊椎動物に発達した。 (正解 e, 正解率 32.6%)

問 18 HLA 結合ペプチドについて正しいのはどれか。

- 1. 古典的 HLA クラス I (A, B, C) 結合ペプチドは 8-9 個のアミノ酸からなる。
 - 2. 古典的 HLA クラス I (A, B, C) 結合ペプチドは 10-30 個のアミノ酸からなる。
 - 3. 古典的 HLA クラス II (DR, DQ, DP) 結合ペプチドは 8-9 個のアミノ酸からなる。
 - 4. 古典的 HLA クラス II (DR, DQ, DP) 結合ペプチドは 10-30 個のアミノ酸からなる。
 - 5. 古典的 HLA クラス I, クラス II ともに通常はペプチドを結合していない。
- a) 1, 3 b) 1, 4 c) 2, 3 d) 3, 4 e) 4, 5 (正解 b, 正解率 39.5%)

問 19 非古典的クラス II 分子 (HLA-DM および HLA-DO) について正しいのはどれか。

- 1. NK 細胞レクチン様受容体のリガンドとなりその細胞傷害活性を増強する。
 - 2. 古典的クラス II 分子とは異なって二量体を形成しない。
 - 3. 一部の体細胞に限って発現する。
 - 4. 抗原提示細胞において古典的クラス II 分子に抗原ペプチド鎖を結合させる働きを担っている。
 - 5. 骨髄移植の成否には分子のマッチングが重要である。
- a) 1, 3 b) 1, 4 c) 2, 3 d) 3, 4 e) 4, 5 (正解 d, 正解率 37.2%)

問 20 古典的 HLA クラス II 分子とペプチドの複合体形成について正しいのはどれか。

- a. TAP が特に重要である。
- b. Ii 鎖が特に重要である。
- c. タパシンが特に重要である。
- d. プロテアソームが特に重要である。

e. ベータ 2 ミクログロブリンが特に重要である。 (正解 b, 正解率 20.9%)

- 問 21 妊娠において母児の接点である胎盤トロフォブラスト上に発現する HLA について正しいのはどれか。
1. HLA-G の主たる機能は、各種細胞内たんぱく質由来のペプチドを T 細胞に抗原提示することである。
 2. HLA-E の主たる機能は、各種細胞内たんぱく質由来のペプチドを T 細胞に抗原提示することである。
 3. HLA-G の主たる機能は、母体 NK 細胞の傷害活性を抑制することである。
 4. HLA-E の主たる機能は、母体 NK 細胞を活性化させサイトカインを分泌させることである。
 5. HLA-E の主たる機能は、母体 NK 細胞の傷害活性を抑制することである。
- a) 1, 3 b) 1, 4 c) 2, 3 d) 3, 4 e) 4, 5 (正解 d, 正解率 23.3%)

- 問 22 NK (ナチュラルキラー)細胞について誤りはどれか。
1. NK 細胞は、がん細胞や感染細胞を傷害する。
 2. NK 細胞は、同種細胞を傷害しない。
 3. HLA-C, HLA-E や MICA 抗原は、NK 細胞受容体に認識される。
 4. HLA クラス I 抗原を消失した細胞は、NK 細胞から攻撃される。
 5. HLA クラス II 抗原を消失した細胞は、NK 細胞から攻撃される。
- a) 1, 2 b) 2, 3 c) 2, 5 d) 3, 4 e) 4, 5 (正解 c, 正解率 55.8%)

- 問 23 補体遺伝子について正しいものはどれか。
1. 補体 C2 遺伝子欠損は、SLE (全身性エリテマトーデス)様の症状を呈することが知られている。
 2. 補体 C4 遺伝子欠損は、SLE (全身性エリテマトーデス)様の症状を呈することが知られている。
 3. 補体 C2 遺伝子はクラス II 領域内に存在する。
 4. 補体 C4 遺伝子はクラス II 領域内に存在する。
 5. 補体 C4 遺伝子と補体 C2 遺伝子は同じ遺伝子のアリル(対立遺伝子)である。
- a) 1, 2 b) 2, 3 c) 2, 5 d) 3, 4 e) 4, 5 (正解 a, 正解率 14.0%)

- 問 24 遺伝子の再構成 (rearrangement) によって形成される抗原レセプターを発現する細胞はどれか。
1. マクロファージ
 2. 樹状細胞
 3. ナチュラルキラー (NK) 細胞
 4. T 細胞
 5. B 細胞
- a) 1, 2 b) 2, 3 c) 2, 5 d) 3, 4 e) 4, 5 (正解 e, 正解率 39.5%)

- 問 25 T 細胞に抗原の存在を知らせる機能を有する免疫担当細胞の分子はどれか。
- a. 補体
 - b. 免疫グロブリン
 - c. T 細胞レセプター
 - d. 主要組織適合抗原
 - e. CD4 分子
- (正解 d, 正解率 53.5%)

問 26 免疫グロブリン(抗体)のアイソタイプ(クラス)のうち、消化管や気道の粘膜、ならびに乳汁の中に分泌されて、体外で抗原の排除に関わるものはどれか。

- a. IgG
- b. IgA
- c. IgM
- d. IgD
- e. IgE

(正解 b, 正解率 55.8%)

問 27 正しいものを2つ選べ

- 1. 抗原提示細胞には樹状細胞 (DC), マクロファージ, B 細胞などがある
- 2. 抗原提示細胞は HLA 分子に結合した抗原ペプチドを T 細胞に認識させる
- 3. 抗原提示細胞は抗体分子と結合した抗原を T 細胞に認識させる
- 4. 抗原提示細胞には T 細胞, NKT 細胞などがある
- 5. 抗原提示細胞には NK 細胞, 肥満細胞などがある

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

(正解 a, 正解率 65.1%)

問 28 T 細胞の分化に関して正しいのはどれか。

- a. 自己 MHC + 内在ペプチド複合体に強く反応する T 細胞だけが胸腺で生き残る。
- b. 自己 MHC + 内在ペプチド複合体に全く反応しない T 細胞は胸腺で死滅する。
- c. MHC class I + 内在ペプチド複合体に親和性を持つ細胞は CD4 陽性細胞になる。
- d. $\alpha\beta$ 型 T 細胞は、骨髄内で MHC 拘束性を獲得する。
- e. $\gamma\delta$ 型 T 細胞は、MHC 拘束性を獲得する。

(正解 b, 正解率 30.2%)

問 29 移植片拒絶反応におけるアロ抗原認識で誤りはどれか。

- a. 移植臓器拒絶反応には MHC class I も class II も関与する。
- b. キラー T 細胞はアロ MHC class II + ペプチド複合体を認識する。
- c. ヘルパー T 細胞はアロ MHC class II + ペプチド複合体を認識する。
- d. Direct recognition では感染免疫応答より多種多様な T 細胞が関わる。
- e. Indirect recognition では自己 MHC + アロ抗原ペプチド複合体が認識される。

(正解 b, 正解率 48.8%)

問 30 正しいのはどれか。

- 1. HLA クラス I 欠損症は特に真菌感染に対する感受性が高い。
- 2. 不活化(または死菌)ワクチンは、HLA クラス I およびクラス II 経路を介して細胞性免疫を誘導する。
- 3. 生ワクチンは HLA クラス II 経路に乗りにくいいため、細胞性免疫の誘導には適さない。
- 4. ベアリンパ球症候群では HLA クラス II 分子の発現が認められず、全ての感染症に対して感受性が高い。
- 5. サイトメガロウイルスは宿主細胞の HLA クラス I 分子の発現を抑制することにより、細胞傷害性 (CD8) T 細胞の攻撃からエスケープする。

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

(正解 e, 正解率 44.2%)

問 31 いわゆる「癌ワクチン」で期待している免疫反応はどれか。

- a. マクロファージ活性化反応
- b. 抗体反応
- c. 細胞傷害性 T 細胞反応
- d. NK 細胞反応
- e. 制御性 T 細胞反応

(正解 c, 正解率 41.9%)

問 32 移植の分類で誤りはどれか。

- a. 自家移植は自分自身の組織や造血幹細胞を自分に移植することをいう。
- b. 同系移植はドナーとレシピエントの遺伝的背景が全く同一な移植である。
- c. 同種移植は一卵性双生児を含む血縁間移植である。
- d. 同種移植は夫婦間や異なる人種間で行う移植も含む。
- e. 異種移植はサルからヒト, サルからブタのような移植の総称である。

(正解 c, 正解率 69.8%)

問 33 臓器移植について正しいのはどれか。

- 1. 世界で移植症例数が多いのは, 心臓, 肝臓, 腎臓の順である。
- 2. 免疫抑制療法の進歩により臓器別生着率の差はなくなった。
- 3. 年間移植症例数は移植待機数の 1/10 以下である。
- 4. 非血縁間移植の過半数は夫婦間移植である。
- 5. 日本では臓器提供意思カードを持っていない人はドナーになれない。

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

(正解 d, 正解率 58.1%)

問 34 死体腎移植のレシピエント選択に関する HLA の取り扱いで正しいのはどれか。

- a. クラス I, クラス II とも同等でドナーとレシピエントの適合数が多いものを上位とする。
- b. クラス I 抗原よりクラス II 抗原を優先し, ドナー側のミスマッチ数が少ないものを上位とする。
- c. クラス I 抗原よりクラス II 抗原を優先し, ドナーとレシピエントの適合数が多いものを上位とする。
- d. クラス II 抗原よりクラス I 抗原を優先し, ドナーとレシピエントの適合数が多いものを上位とする。
- e. クラス II 抗原よりクラス I 抗原を優先し, ドナー側のミスマッチ数が少ないものを上位とする。

(正解 b, 正解率 34.9%)

問 35 死体腎移植希望者が, 1 年に 1 度リンパ球クロスマッチ用の血清を更新している理由はどれか。

- 1. 血液透析中に自己抗体が産生されやすいため。
- 2. 1 年間保存すると血清が変性し使用できなくなるため。
- 3. 透析するとアルブミンが減り免疫グロブリンが増加するため。
- 4. 輸血を受けて抗 HLA 抗体が産生されるおそれがあるため。
- 5. 抗 HLA 抗体を保持している人の抗体が減少することがあるため。

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

(正解 e, 正解率 58.1%)

問 36 HLA 抗体を産生している患者に血小板製剤を輸血する場合の対応として正しいのはどれか。

- a. HLA 抗体に反応しない血小板製剤を選択する。
- b. HLA クラス II 抗原型を遺伝子レベル(アリルレベル)で適合させる。

- c. 血小板を洗浄し、血漿を除いて輸血する。
- d. O 型の血小板製剤を選択する。
- e. 血小板製剤はあきらめ、全血輸血で対応する。 (正解 a, 正解率 86.0%)

問 37 造血幹細胞移植におけるドナー選択について誤りはどれか。

- a. ドナー選択時には、レシピエントとの HLA-A, HLA-B, HLA-DR 抗原の適合性を評価する。
- b. ドナー・レシピエント間における HLA の不一致は移植片対宿主病 (GVHD) 発症の危険因子である。
- c. ドナー・レシピエント間における ABO 血液型の主不適合は許容されない。
- d. ドナー・レシピエント間における ABO 血液型の副不適合は許容される。
- e. レシピエントが RhD 抗原陰性の場合、RhD 抗原陽性のドナーを選択してもよい。 (正解 c, 正解率 67.4%)

問 38 同種末梢血幹細胞移植について誤りはどれか。

- 1. 骨髄移植と比較して、一般に生着は速やかである。
- 2. 骨髄移植と比較して、慢性移植片対宿主病 (GVHD) の発症リスクが高い。
- 3. ドナーに発生する有害事象は骨髄提供時より少ない。
- 4. わが国においては、HLA 一致血縁者間においてのみ実施されている。
- 5. 海外においては非血縁者間においても実施されている。
- a) 1, 2 b) 2, 3 c) 2, 5 d) 3, 4 e) 4, 5 (正解 d)

問 39 正しい組み合わせはどれか。

- 1. 日本臓器移植ネットワークが幹旋する臓器は、腎臓、肝臓、膵臓、心臓である。
- 2. 日本のドナー・コーディネーター(プロキュアメント・コーディネーター)には、日本臓器移植ネットワークに所属し、死体からの全ての臓器移植を担当するコーディネーターと、都道府県の腎臓バンクに所属し、主に献腎移植を担当する都道府県コーディネーターの 2 種類がある。
- 3. 日本のドナー・コーディネーターの多くは医療職(看護師)である。
- 4. レシピエント・コーディネーターとは、臓器移植前後のケアを行う職種であり、多くは看護師である。
- 5. 日本の献腎移植ドナーは、心臓停止後の摘出よりも脳死下での摘出症例が多い。
- a) 1, 2, 3 b) 1, 2, 4 c) 2, 3, 4 d) 2, 4, 5 e) 3, 4, 5 (正解 c, 正解率 34.9%)

問 40 誤りはどれか

- a. 先天性免疫不全症の原因のひとつに TAP 遺伝子異常がある。
- b. ヘモクロマトーシスの原因遺伝子 (HFE) は鉄 (Fe) 代謝に関与する。
- c. Bare Lymphocyte Syndrome 患者では主に HLA クラス II 遺伝子の発現が欠損する。
- d. 遺伝性非ポリポーシス大腸がんでは HLA クラス I 遺伝子の発現増強が認められる。
- e. 白血病細胞では HLA 領域のヘテロ接合性消失を認めることがある。 (正解 d, 正解率 53.5%)

問 41 前感作抗体の検出に有効な PRA (Panel reactive antibody) 検査について誤りはどれか。

- a. 検出には HLA がタイプされたリンパ球を用いることがある。
- b. 検出には特異性が同定された抗血清を用いる。
- c. 輸血、妊娠後などに陽性になることがある。

- d. 自己抗体を検出することがある。
- e. PRA 検査陽性者は移植予後が悪い。 (正解 b, 正解率 79.1%)

問 42 HLA 対立遺伝子の DNA タイピング法について誤りはどれか。

- 1. タイピング法の選択は、目的に応じて必要時間、難易度、費用などを考慮して行う。
 - 2. 現在使用されているほとんどの DNA タイピング法は、それぞれの遺伝子多型が集中している第 3, および第 4 エクソンを PCR (polymerase chain reaction) 法にて DNA 増幅している。
 - 3. 異なる 2 法間で判定に食い違いが出た場合には、簡便な方法での結果を優先する。
 - 4. タンパク質が過剰混入した DNA を用いた場合、PCR の増幅効率が低下するので注意する。
 - 5. SBT (sequencing based typing) 法は、識別不可能なアリル(対立遺伝子)もある。
- a) 1, 2 b) 2, 3 c) 2, 5 d) 3, 4 e) 4, 5 (正解 b, 正解率 88.4%)

問 43 LCT に使用する補体について正しいのはどれか。

- 1. 補体活性はロットが変わってもそれほど変わらないので、ロットごとに検定を行う必要はない。
 - 2. 補体のロットが変わった際には、数種類のリンパ球により、対応する陽性と陰性血清を用い、補体の力価検定を行う必要がある。
 - 3. 細胞障害性試験はヒトのリンパ球を用いる検査なので、補体はヒト由来のものが最も反応性が良い。
 - 4. 補体活性を損なわずに解凍するためには、4°C で解凍することが望ましい。
 - 5. 補体活性を損なわずに解凍するためには、37°C で解凍することが望ましい。
- a) 1, 2 b) 2, 3 c) 2, 5 d) 3, 4 e) 4, 5 (正解 c, 正解率 65.1%)

問 44 PLT 試験で誤りはどれか。

- 1. 2 次刺激反応による検査である。
 - 2. DNA 合成をアイソトープで検出する
 - 3. 2 次反応は 1 次反応より速やかにおこる
 - 4. 感作リンパ球は不活性化された刺激細胞である
 - 5. 感作リンパ球は HLA クラス I 抗原により刺激される
- a) 1, 2 b) 2, 3 c) 2, 5 d) 3, 4 e) 4, 5 (正解 e, 正解率 18.6%)

問 45 家系内で混合リンパ球反応を行った所、両親の細胞は共にこの両親から生まれた子供の細胞を刺激するのに対し、子供の細胞はどちらの両親の細胞も刺激しなかった。この結果からわかることは何か。

- a. この両親は HLA-DR 型が同一である。
- b. この子供の HLA-DR 型は両親のいずれか一方と同一である。
- c. 両親と子供の HLA-DR 型がすべて同一である。
- d. 両親と子供の HLA-DR 型がすべて異なる。
- e. この子供は HLA-DR 型ホモ接合体である。 (正解 e, 正解率 69.8%)

問 46 蛍光ビーズを用いた PCR-SSOP 法による HLA タイピング法で正しいのはどれか。

- 1. 各マイクロ・ビーズは識別のため、蛍光色素で段階的に着色されている。
- 2. 通常のプロトタイプで容易に測定できる。
- 3. PCR 増幅した測定領域の全塩基配列が決定できる。

4. 各ビーズに結合させたプローブ毎にカットオフ値が設定されている。
5. ビーズ識別蛍光値を除いた、反応陰性ビーズの蛍光実測値は 0 (ゼロ)である。
a) 1, 3 b) 1, 4 c) 2, 3 d) 3, 4 e) 4, 5 (正解 b, 正解率 72.1%)

問 47 HLA DNA タイピング法について誤りはどれか。

- a. PCR-SPP 法は、SSP 法と SSOP 法を組み合わせた方法である。
- b. PCR-PHFA 法は、標準 DNA とのホモデュプレックス形成で判定する方法である。
- c. PCR-RSCA 法は、RFLP 法の電気泳動をシーケンサーで測定する方法である。
- d. 蛍光ビーズ法は、ルミネックス・ビーズを専用機で測定する方法である。
- e. PCR-SBT 法は、ジデオキシ法を用いて塩基配列を決定する方法である。 (正解 c, 正解率 37.2%)

問 48 マイナー組織適合性抗原検査について正しいのはどれか。

- a. マイナー組織適合性抗原検査は、DNA を解析する方法が簡便である。
- b. マイナー組織適合性抗原検査は、HLA 同様、LCT 法で検査できる。
- c. マイナー組織適合性抗原検査は、造血幹細胞移植では必須の検査である。
- d. マイナー組織適合性抗原検査は、臨床的には応用されない検査である。
- e. マイナー組織適合性抗原検査は、生きた細胞を必ず必要とする検査である。 (正解 a, 正解率 51.2%)

問 49 献腎移植ドナーが発生したとき、レシピエント選択基準にないものはどれか。

1. 登録待機期間
2. HLA-DQ 適合度
3. 透析年数
4. ドナー発生県
5. ABO 血液型
a) 1, 2 b) 2, 3 c) 2, 5 d) 3, 4 e) 4, 5 (正解 b, 正解率 46.5%)

問 50 腎臓移植において、以下のクロスマッチ条件の中で「移植絶対禁忌」となるのはどの組み合わせか。

1. LCT 法で抗 ClassI 抗体陽性
2. LCT 法で抗 ClassII 抗体陽性
3. FACS 法で抗 ClassI 抗体陽性、かつ LCT 法で抗 ClassI 抗体陰性
4. FACS 法で抗 ClassII 抗体陽性、かつ LCT 法で抗 ClassII 抗体陰性
a) 1 b) 1, 2 c) 1, 2, 3 d) 1, 2, 4 e) 1, 2, 3, 4 (正解 a, 正解率 25.6%)

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)

会 費：正会員 2000 円, 学生 1000 円(懇親会費を含む)

共 催：財団法人 大阪腎臓バンク

演 題：12月17日 締め切り 抄 録：1月10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

e-mail: 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)

プログラム

9 時 30 分	受付開始
10 時～10 時 30 分	オープニングセミナー： 「HNA (顆粒球抗原)の種類と検査方法，その臨床的意義について」 荒木延夫(兵庫県赤十字血液センター)
10 時 30 分～12 時	一般演題
12 時～12 時 45 分	昼食・世話人会
12 時 45 分～13 時	総会
13 時～14 時	一般演題
14 時～14 時 20 分	教育講演：「HLA はおもしろい」 佐治博夫 (HLA 研究所)
14 時 20 分～16 時 20 分	シンポジウム：座長 一戸辰夫，島崎千尋 「造血幹細胞移植における組織適合性を見直す」 1) HLA アリル型適合性の立場から 2) KIR 適合性の立場から 3) ABO 血液型適合性の立場から 4) 臍帯血移植の立場から
16 時 20 分～16 時 30 分	休憩
16 時 30 分～17 時	特別講演：「KIR gene Typing」 Daniel E. Geraghty (Fred Hutchinson Cancer Research Center)
17 時～18 時	特別講演： 「造血幹細胞移植における免疫寛容」 豊嶋崇徳(九州大学病院遺伝子細胞療法部)
18 時～	懇親会

● 総 説 ●

[シリーズ: MHC の比較ゲノム] 魚類 MHC の多様性と機能

乙竹 充

水産総合研究センター 養殖研究所 病害防除部

要約: ニジマスを中心に、魚類の MHC について下記項目を概説する。

1. 魚類 MHC 研究の歴史
2. 古典的および非古典的 MHC 遺伝子 (Ia と Ib)
3. わが国のニジマスの Ia
4. ニジマス Ia の遺伝子座の同定
5. ニジマス MHC クラス I の発現様式
6. 感染による MHC 発現量の変化
7. Ia 型と移植片拒絶との関連
8. Ia 型と細胞障害活性との関連
9. Ia 型と疾病抵抗性との関連
10. 行動や成長と MHC 型との関連

キーワード: 硬骨魚類, *Oncorhynchus mykiss*, 比較免疫, ゲノム育種, 疾病抵抗性

社会的に関心を集めている「食の安全性」とも関連し、水産養殖業における根本的な病害防除対策として、産業界、消費者および行政から最近強く期待されているのが、養殖魚における抗病性系統の樹立である。家畜および農作物では、品種改良による抗病性系統の樹立が行われており、疾病の予防対策として大きな成果を上げている。ところが、魚類においては、疾病抵抗性と強い関連性を持つ有用な遺伝子の指標はこれまでにほとんど報告されていない。そのため、抗病性系統の開発は畜産分野に比べると水産分野では遅れている。一方で魚類は、哺乳類と比べて遙かに多産であり、雌性発生(雌のみから次世代を作る)、クローン作成、偽雄(染色体型は雌であ

るが、受精可能な精子を作る)作成の各技術が既に確立されている等、魚類は育種素材として哺乳類より優れている点も多い。

このような状況下で、我々のグループでは魚類の疾病抵抗性の遺伝子マーカーとして MHC 遺伝子に着目し、藤田保健衛生大学の黒沢先生の研究室と共同研究を開始した。今から約 20 年前のことである。魚類でも古くから移植片の急性拒絶反応、胸腺依存性の抗体産生応答が報告されており、MHC の存在が示唆されていた¹⁾。そのため、下等脊椎動物からの MHC の単離を目指して、哺乳類の MHC に対する抗体との交差反応を期待した免疫化学的な手法、あるいは、哺乳類の MHC の DNA プローブとのハイ

代表者連絡先 〒519-0423 三重県度会郡玉城町昼田 224-1
水産総合研究センター 養殖研究所 病害防除部
健康管理研究グループ 乙竹 充

電 話 0596-58-6411
F A X 0596-58-6413
E-mail ototake@affrc.go.jp

ブリダイゼーションを期待した分子生物学的な手法が当時盛んに試みられていたが、これらは失敗に終わっていた。

1990年、黒沢研究室の Hashimoto らは PCR を用いてコイ *Cyprinus carpio* から MHC クラス I およびクラス II 遺伝子の単離に成功した²⁾。そして、これ以来、下等脊椎動物の MHC に関する研究は大きく進展した。これまでに 30 種以上の硬骨魚類および軟骨魚類(図 1) から、クラス I α 鎖、クラス II α , β 鎖および $\beta 2$ ミクログロブリンをコードする遺伝子が単離されている³⁾。なお、無顎類や無脊椎動物では、免疫グロブリンや T 細胞レセプターと同様に、今のところ MHC の存在は報告されていない。

1. 魚類 MHC 研究の歴史

当初硬骨魚類のコイで発見されたのは非古典的 MHC クラス I (Ib) とクラス II で、その 2 年後には軟骨魚類で Ib とクラス II が^{4, 5)}、引き続いて肺魚な

どの肉鰭類(図 1) において Ib が見出された。魚類における古典的 MHC クラス I (Ia) 遺伝子の発見は大西洋サケ *Salmo salar* において行われた⁶⁾。一方、古典的 MHC クラス II 遺伝子の記載は硬骨魚類ではゼブラフィッシュ *Danio rerio*⁷⁾、軟骨魚類では天竺サメ類⁸⁾ が最初と思われる。魚類における Ia の対立遺伝子多型の本格的な研究はドチザメ *Triakis scyllium* が最初で⁹⁾、この時初めて哺乳類と同程度の多型が魚類の Ia にも存在することが示された。さらに、2002 年にニジマス *Oncorhynchus mykiss* においてクラス Ia 遺伝子が極めて多様に分化していることが報告された¹⁰⁾。硬骨魚類におけるクラス I, II 遺伝子の連鎖については、両者が連鎖していないことが 1997 年にゼブラフィッシュで初めて報告され¹¹⁾、その後他の硬骨魚類においても確認された¹²⁾。一方、軟骨魚類においては、四足動物と同様に両クラスの遺伝子は連鎖して存在することが 2000 年に報告された¹³⁾。このクラス I と II との連鎖については後

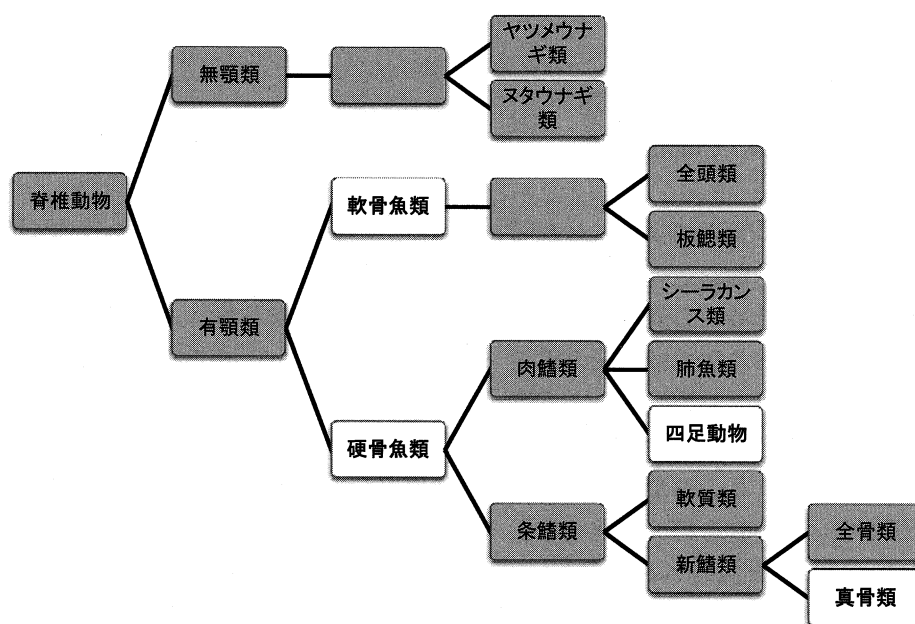


図 1 脊椎動物の分類

本文中のドチザメと天竺サメは軟骨魚類の板鰐類に、肺魚類は肉鰭類に属する。本文中のそれ以外の魚類(サケ科魚類(ニジマス, 大西洋サケ), コイ科魚類(コイ, ゼブラフィッシュ), マダイ, ヒラメ, ターボット, イトヨ, トラフグ, ミドリフグ, メダカ)は一番下の真骨類に属する。なお、慣用表現として「硬骨魚類」には四足動物(哺乳類, 鳥類, 爬虫類, 両生類)は含めない(本分類は, 「Joseph S. Nelson 著, “Fishes of the world” John Wiley & Sons 社 1994 年」に準ずる)。

述する。魚類において MHC 研究が最も研究が進んでいるのはサケ科魚類とコイ科魚類である。また、メダカ *Oryzias latipes* における研究にも特筆すべきものがある¹⁴⁾。

2. 古典的および非古典的 MHC 遺伝子

古典的 MHC クラス I (Ia) および非古典的 MHC クラス I (Ib) の区別は、ペプチド結合に参与する Key アミノ酸の有無によって決まる。これまで最も良く調べられている魚類の MHC クラス I は、硬骨魚類に特有の U lineage と呼ばれるものである¹⁵⁾。硬骨魚類の U lineage は、哺乳類や軟骨魚類と同様に $\alpha 1$ 領域の糖鎖結合部位にアルギニンが存在する。サケ科魚類、ゼブラフィッシュおよびメダカのゲノムには、U lineage は 1 個あるいは 2 個の Ia 遺伝子座と複数の Ib 遺伝子座として存在する¹⁶⁾。もう一つの魚類特有の MHC クラス I lineage は Z/ZE lineage であり、広く肺魚¹⁷⁾を含む硬骨魚類より報告されており、哺乳類の同分子との関連性が示唆される。Z 分子は明らかに Ib と考えられるが、ZE 分子は幾つかの点では Ia の特徴を示す¹⁸⁾。しかし、この ZE lineage の機能や多型性については十分な報告が無いことから、ZE 遺伝子を Ia と判断するのは早計であろう。前述のように、これらの Ia および Ib はクラス II と連鎖していないと考えられている。

最近、Dijkstra らは硬骨魚類においてクラス II と連鎖している新しい MHC クラス I lineage を見出し、Link の L にちなみ L lineage と名付けた¹⁹⁾。この lineage はゼブラフィッシュとニジマスから単離され、少なくともゼブラフィッシュにおいては MHC クラス II との連鎖が確認されている。この lineage は、主要な Key アミノ酸の多くを欠くことから、明らかに Ib と思われる。L lineage はゼブラフィッシュやサケ科魚類には存在するが、公開されているゲノム情報を検索したところ、メダカやスズキ目魚類(トラフグ *Takifugu rubripes*, ミドリフグ *Tetraodon fluviatilis*, イトヨ *Gasterosteus aculeatus*)には存在しないようである。

以上のように、魚類の MHC クラス I には、U, Z/ZE, L の 3 種類の lineage が存在する。最もよく調べられているニジマスでは、U lineage (図 2) に

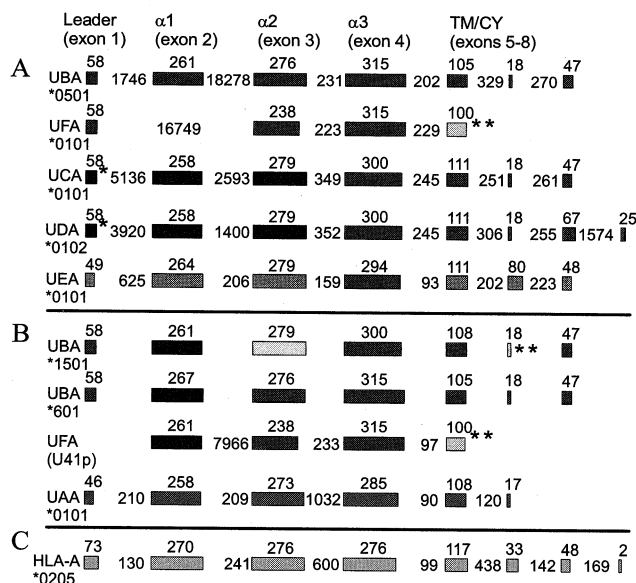


図2 ニジマスの MHC クラス IU lineage のイントロン・エクソン構造

四角の部分はエクソン、その間の空白部分はイントロンを表す。数字は塩基数。同一色は、領域毎に相同性が 75% 以上であることを示す(領域間に相同性は無い)。A: BAC ライブラリーの解析による。B: その他の解析による。C: ヒトの代表的な古典的クラスニジマスの MHC クラス I 遺伝子の $\alpha 1$ 領域の演繹アミノ酸配列と相同性

含まれる Onmy-UAA, UBA, UCA, UDA, UEA, UFA, UGA, UHA, ULA の 9 座, Z/ZE lineage に含まれる Onmy-ZE が 1 座, L lineage に含まれる Onmy-LAB, LBA, LCA, LDA, LEA の 5 座の、合計 15 座の MHC クラス I 遺伝子座がこれまでに報告されている。このうち、前述の通り、Onmy-UBA のみが Ia であり¹⁰⁾、その他は Ib と考えられる。各 Ib の機能は調べられていないが、アミノ酸配列、遺伝子構造、発現部位はそれぞれ特徴的であり、興味深い。中でも、Onmy-UCA と UDA については、多型であると同時に、いくつかのハプロタイプを持つことなどが報告されている²⁰⁾。なお、Onmy-UAA は、アミノ酸配列が他の座とかなり異なっており、将来は Ib の範疇から外れるかもしれない(図 2)¹⁹⁾。

Ia と Ib のいずれをも含めた複数の MHC クラス I lineage の存在は、軟骨魚類においても報告されている。多様化、転座、重複および欠落を含めた MHC 遺伝子の劇的な進化は、系統分類学的に離れたグループ間において、各分子のオーソログの決定を困

難にしている。例えば哺乳類の Ib の CD1 のオースログを、魚類において見出すのは現在のところ難しい。

一方、MHC クラス II では、古典的分子と非古典的分子の違いは対立遺伝子の多型性および機能によって決まるが、多型性も機能も著者が知る限り魚類のクラス II では十分な検討がなされていない。そのため、魚類の MHC クラス II について、古典的分子と非古典的分子を明確に区別することはむづかしいと思われる。しかし、クラス I と同様に、同一魚種から極めて塩基配列の異なった MHC クラス II 遺伝子座が見つかったことから²¹⁾、各遺伝子座が多様な機能を持つことが予想される。

3. わが国のニジマスの Ia

我々は外来魚であるニジマスの Ia について、長野県で作成されたホモクローン魚 8 系統、養殖研究所日光支所で継代している日光系、ドナルドソン系、アルビノ系、無斑系、スチールヘッド系ニジマス、本所玉城分室で飼育している田丸系、ウェストラリアン系ニジマス、並びに、ニジマス生産県 11 県の 20 系統を用いて解析を行った。そして、U lineage に属する 26 種類の塩基配列の異なるニジマス Ia (Onmy-UBA) の cDNA を新たに単離・同定し、前述したように魚類で初めてその多型性を示した^{10, 22)}。興味深いことに、Onmy-UBA にはコイ科魚類や他のサケ科魚類の配列が含まれていた。Hansen ら²³⁾は、ニジマスのクラス I 遺伝子の $\alpha 2$ 領域が他のサケ科魚類よりもむしろコイ科魚類に高い相同性を示すことを報告しているが、我々は Hansen らが報告した対立遺伝子以外にも $\alpha 2$ 領域が他のサケ科魚類に高い相同性を持つ対立遺伝子を見出している。詳しく解析してみると、 $\alpha 2$ 領域だけでなく $\alpha 1$ 領域においてもコイやゼブラフィッシュなどのコイ科魚類の配列が認められる。このように“trans-species polymorphism”として哺乳類で知られている現象が魚類にも当てはまると思われた。ニジマスの Ia にコイ科魚類の同遺伝子の配列が含まれているということは、これらの遺伝子はサケ科魚類とコイ科魚類が分化する以前に存在していたことを示唆している。また、 $\alpha 1$, $\alpha 2$ 領域に見られるモザイク様の組み合わせは、

“domain shuffling”による領域間の混合・置換により形成されたことを示唆するものであると考えられる。Onmy-UBA の $\alpha 1$ と $\alpha 2$ エクソンの間には 18 Kb の巨大なイントロンが存在する¹⁶⁾。さらに興味深いことに、Onmy-UBA の $\alpha 3$ 領域の末端部の配列には、カラフトマス、ブラウントラウト、大西洋サケなどのサケ科魚類の配列が含まれているなど、哺乳類では多型性を示さない $\alpha 3$ 領域、膜貫通・細胞内領域および 3' 非翻訳領域においても、ニジマス Ia では多くの変異が認められた²⁴⁾。

なお、得られたニジマス Ia の cDNA の演繹アミノ酸配列から、Ia の基本的な構造は高等脊椎動物の同分子と同じで、例えば、抗原ペプチドと結合する $\alpha 1$, $\alpha 2$ 領域は多型性に富むが、抗原ペプチドを挟み込む溝の側面となる α ヘリックス構造、溝の底面となる β シートそして立体構造の鍵となるアミノ酸は保存されている。さらに、ペプチドとの結合に必要と考えられている $\alpha 1$, $\alpha 2$ 領域の Key アミノ酸配列をすべて有していた。また、本遺伝子上流域約 1 kb の推定プロモーター領域には、TATA box, enhancer B および X2, Interferon Stimulated Response Element (ISRE), Gamma Activated Sequence (GAS) など、哺乳類の古典的 MHC 遺伝子と共通な調節モチーフが認められた²⁵⁾。

新たに単離した塩基配列および既報のサケ科魚類の MHC クラス I の塩基配列を基に、 $\alpha 1$ 領域を 6 種類、 $\alpha 2$ 領域を 3 種類、 $\alpha 3$ 領域を 3 種類に分別した。各領域の型の組み合わせにより、MHC の cDNA は 18 個のグループ (A-K, P-V) に大別された。そして各グループには対立遺伝子が 1-11 個含まれた。なお、 $\alpha 1$ 領域の各型と $\alpha 2$ 領域の各型との間には関連は認められなかったが、 $\alpha 2$ 領域の型と $\alpha 3$ 領域の型の間には特定の組み合わせのみが認められた。また興味深いことに、各 MHC グループの遺伝子頻度はニジマスの系統間で互いに異なった²²⁾。すなわち、グループ A および E は日光系統に認められるがドナルドソン系統には存在せず、逆に、グループ C はドナルドソン系統のみに存在した。このように、わが国に導入された代表的な系統に特徴的な対立遺伝子が認められたことから、今後、わが国におけるニジマス集団の構造解析にも役立つものと

期待される。なお、各グループは PCR により判別することができる。また、ゲノム構造が解明されたことにより、ゲノム DNA から MHC 型の判別が可能になった²⁴⁾。このため、ニジマスについては、DNA が保存されている個体をはじめとして、死亡後に保存されている個体についても、現在 MHC 型を判別することができる。

4. ニジマス Ia の遺伝子座の同定

これまでに 30 種類を超える魚類から MHC クラス I 遺伝子断片が単離され、その塩基配列が解析されている。しかし各魚種において、遺伝子座の数が不明であるため、各遺伝子断片が互いに対立遺伝子であるのか、あるいは、異なる遺伝子座に存在する遺伝子群であるのかが不明であり、多型性の解析および MHC 型の判別は多くの魚種で行われていない。

話が前後して恐縮だが、我々のニジマス MHC の研究においても、当初得られた塩基配列は、「すべてのホモ接合体クローン魚から MHC クラス I の cDNA が 1 個のみ単離される」、すなわち、遺伝子座が単一であるという仮説を示唆する結果と、「ホ乳類等では定常領域とされている $\alpha 3$ 領域、膜貫通領域にも比較的大きな変異がある」という複数の遺伝子座の存在を示唆する結果が同時に得られた。そこで、サケ科魚類で報告されている同遺伝子の塩基配列を基に、上述した供試魚を用いて本遺伝子を精力的に単離した。その結果、ヘテロ接合体からは 1 個または 2 個、ホモ接合体からは単一の cDNA の塩基配列のみが認められた。また、ゲノム遺伝子のサザン解析でも同様な結果が得られた。どちらの実験系も、Ia のみならず新たな複数の Ib をも検出できたことから、用いた手法の検出感度は十分高いと思われ、各個体において Ia 遺伝子群を見落としている危険性は極めて低いと考えられた。そこでこれらの結果を根拠として、ニジマスにおいて発現している Ia の遺伝子座はただ 1 つ、Onmy-UBA のみであるとの仮説を提唱した²⁶⁾。その後、親子の遺伝子型を解析し、B, D, E, F 型のグループに含まれる遺伝子がそれぞれメンデルの分離の法則に従うことから、同一の遺伝子座にある対立遺伝子であることが裏付けられた。すなわち、哺乳類では各遺伝子座における定常部位と考えられ

ている $\alpha 3$ 領域が異なる型の遺伝子群が、同一遺伝子座に存在することが再確認され、本遺伝子の遺伝子座が 1 つであるとの仮説が裏付けられた。その後、本仮説は広く受け入れられているが^{27, 10)}、今後は、Onmy-ZE の研究の進展に注目しなければならない。

ニジマスの染色体は、ヒトやマウスに比べて小さくて数が多いため、染色体の番号付けをすることは難しかった。近年になり、染色体試料の作成方法の改良等により、番号付けが再現性良くできるようになった²⁸⁾ので、Onmy-UBA*501 について、染色体上の物理的な位置を FISH 法により解析したところ、ニジマスでは本遺伝子座が 18 番染色体長腕基部にあることが示唆された²⁹⁾。同様な手法により、Ib のうち Onmy-UCA, UDA, UEA, UFA は連鎖して 14 番染色体短腕基部にあることが示唆されている(図 3)¹⁶⁾。

5. ニジマスの MHC クラス I の発現様式

$\alpha 2$ 領域をプローブとしたクローンニジマスのノーザン解析においては、筋肉や肝臓には mRNA の発現はわずかししか認められなかったが、腎臓、脾臓、心臓、生殖腺において発現が認められ、特に鰓や腸に強い発現が認められた³⁰⁾。組換えニジマス Ia (Onmy-UBA*501) を抗原として作成したモノクローナル抗体を用いた蛍光抗体法によっても、内皮細胞、上皮細胞及びリンパ系の細胞に強い発現が認められた。さらに、ウエスタン解析により、赤血球を含むすべての有核細胞の膜上に MHC クラス I 分子が発現していること^{30, 31)}が明らかとなるとともに、ニジマスの Ia 分子 Onmy-UBA*501 の分子量は約 45 kDa と推定された³⁰⁾。クローンギブナにおいて赤血球を標的細胞とした細胞傷害活性が成立することから、我々は魚類の赤血球上に本分子が分布することを以前から予想していたが³²⁾、本結果によりこの仮説が裏付けられた。このことは、おそらく魚類の赤血球が、哺乳類とは異なり有核であることと関連しているものと考えられる。有核赤血球での MHC 分子の発現については、鳥類や両生類でも報告されている。ニジマスにおいて、赤血球における発現量は、白血球における発現量に比べかなり低いようである³⁰⁾。

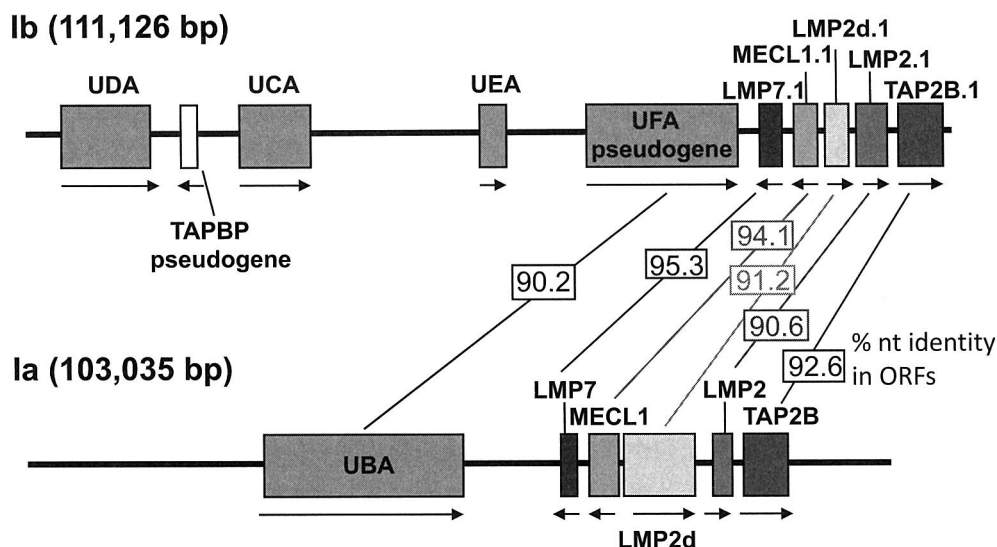


図3 古典的 MHC クラス I (Ia) 領域と非古典的領域 (Ib) の比較

両領域には、相同な遺伝子が同じ順番で、同じ方向で存在した。数字は核酸レベルの相同性(%)。Ia 領域は 18 番染色体長腕基部、Ib 領域は 14 番染色体短腕基部に存在すると思われる。

次に、発生過程におけるクラス I の発現様式であるが、前述のモノクローナル抗体を用いた免疫染色における陽性細胞はふ化 6 日後から胸腺で、15 日後には頭腎で、24 日後には鰓で、39 日後に脾臓で、45 日後に腸でそれぞれ初めて観察された³²⁾。消化管における発現の遅れは、ニワトリでも報告されている。ニジマス、鶏ともに大きな卵黄を持ち、受精後数週間にわたって栄養を卵黄に依存しているためかもしれない。個体発生に伴う発現様式において、最も興味深いのは神経細胞における発現である。延髄ではふ化 9~21 日後に、脳ではふ化 12 と 15 日後および 29 日後に成魚よりも強い発現が一時的に認められ、他の時期は陰性であった。哺乳類でも長い間、神経細胞には MHC クラス Ia は発現していないと考えられてきたが、1998 年に Corrival ら³⁴⁾は哺乳類において神経系の再構成の過程で神経ニューロンに Ia の発現が認められることを見出した。また、Ia を細胞表面に発現できない $\beta 2$ ミクログロブリンをノックアウトしたマウスにおいて、脳の形態³⁵⁾や性行動³⁶⁾に異常が認められるという報告がある。特に、ニジマスにおいて発生の初期にニューロンにおいて発現しているのは興味深い。

6. 感染による MHC 発現量の変化

硬骨魚の MHC クラス I はウイルス感染により発現が増強することが報告されている³⁷⁾。このことは本分子のプロモーター領域の配列が、魚類と哺乳類を通じて保存されていることとつじつまが合うとともに、本分子が免疫機能に関与していることを示している。ニジマスでも IHNV に感染させた RTG-2 細胞において、Ia および $\beta 2$ ミクログロブリン遺伝子の発現が著しく増強することを観察している³¹⁾。一方、クラス II については、ニジマスの IHN³⁷⁾、マダイ *Chrysophrys major* のビブリオ病³⁸⁾、ヒラメ *Paralichthys olivaceus* の寄生虫 (Neoheterobothrium) 症³⁹⁾、腹水症⁴⁰⁾ また、ターボット *Scophthalmus maximus* のビブリオ病⁴¹⁾では感染に伴う発現量の減少が、ニジマスの白点病⁴²⁾では発現量の増大が、それぞれ報告されている。これらの発現量の増減には、宿主の免疫応答とこの免疫応答をかわそうとする病原体の戦略が関わっているものと思われる。報告例は多く無いが、不活化した病原体を用いたワクチンの投与については、MHC クラス I⁴³⁾ およびクラス II⁴⁴⁾ 遺伝子の発現がともに増加することが、サケ科魚類で報告されている。これは、両遺伝子の調節領域に ISRE の調節モチーフが存在すること²⁵⁾とも関連しているかもしれない。

7. Ia 型と移植片拒絶との関連

ドチザメにおいて Ia と皮膚移植片の拒絶が密接に関連していることが示されている⁴⁵⁾。本試験では、ドチザメ 12 尾(一腹仔 3 組, ドチザメは胎生である)の Ia 型を明らかにした後, 兄弟間で皮膚移植を行い, 実体顕微鏡により拒絶反応を観察した。なお, 拒絶の判定は, 従来の手法にならい組織片上の色素胞の崩壊を指標に行った。その結果, 拒絶による皮膚の壊死は移植された組織片の周囲から始まり, 次第に組織片の中央部に進んだ(図 4)。そして, 拒絶に要する期間と宿主と移植片の MHC 型の一致・不一致との間には, 有意な関連が認められた。すなわち, 移植片と宿主の MHC 型が不一致の場合には平均 4 週間で拒絶が完了したが, MHC 型が一致する場合には拒絶には平均 9 週間を要した。なお, 同一個体内での皮膚移植では, 全く拒絶は生じなかった。なお, 軟骨魚類ではクラス I とクラス II が連鎖していることが知られている。そのため, 一腹子を用いた本試験では, クラス I でなくクラス II あるいは MHC 領域の他の多型な遺伝子が拒絶と関与している可能性がある。

ニジマスでは移植片として赤血球を用いて, 拒絶

と Ia 型との関連が報告されている³¹⁾。本試験では, Ia 型 Onmy-UBA*701 (以下 D と略す) / Onmy-UBA*4901 (以下 F と略す)の親魚(雌雄とも D/F 型)から作成した F1 (D/D, D/F, F/F 型)が供試された。D/D 型の個体から赤血球を分離し生体染色用の赤色蛍光色素 (PKH-26) で, FF 型の個体から赤血球を分離し生体染色用の緑色蛍光色素 (PKH-2) で染色して, 等量に混合した。混合した血球を, D/D 型および F/F 型他個体の血管内に注射して移植した後, 6 週間にわたり拒絶を解析した。その結果, 移植された D/D 型および F/F 型の赤血球は, 移植 2 週間後まではどちらも拒絶されず等量存在したが, 移植 3 週間後からは宿主の MHC 型と異なる MHC 型を持つ赤血球は拒絶され, 割合が減少した。ただし個体によっては, 移植 6 週間後にも異なる MHC 型を持つ(移植片)赤血球を明確に拒絶しない例も観察された。この試験では, 赤血球の拒絶には前もって感作しておく必要があり, 拒絶と CD8 の活性化とが同期していることから, 細胞障害性 T 細胞 (CTL, 次段落参照)の関与が示唆されている。ニジマス以外の硬骨魚類では, 北米原産のカダヤシ科のタツプミノ⁴⁶⁾について鱗移植とクラス II が関与しているこ

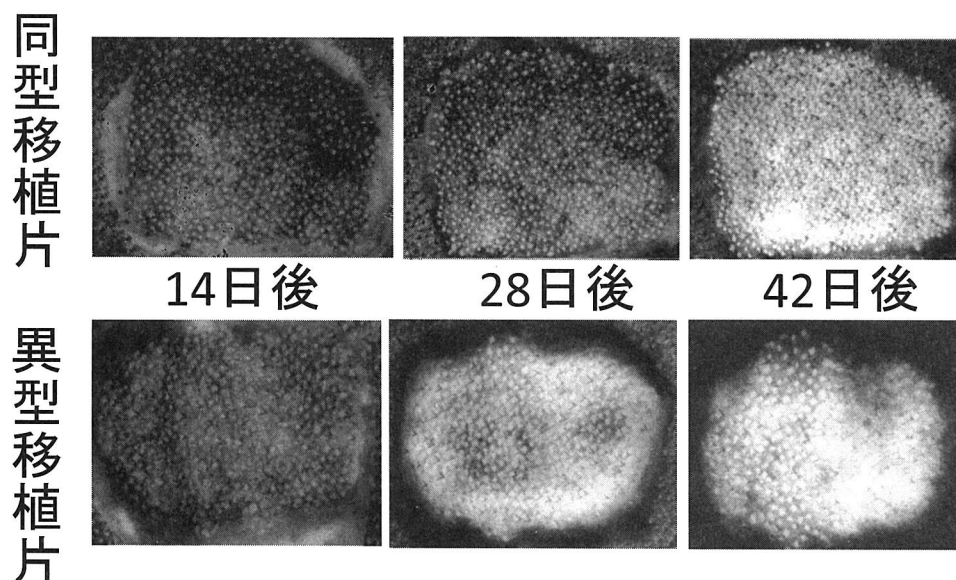


図 4 ドチザメにおける移植片の拒絶の過程

左から右に進む。白色の部位が拒絶された部分。異型移植片は 28 日後にはほぼ全て拒絶されたが, 同種移植片の場合は同時期でも, 全ての部分が生着している。各系統における Ia 遺伝子の各グループの頻度

とが、アメリカナマズ⁴⁷⁾では Ia linkage グループと NK 細胞活性との関連が示唆されている。

8. Ia 型と細胞障害活性との関連

哺乳類では、ウイルス感染に対する初期防御においてはナチュラルキラー (NK) 細胞が、ウイルスの再感染に対する防御においては細胞障害性 T 細胞 (CTL) が、それぞれ必須の役割を演じていることが知られている。CTL によるウイルス感染細胞に対する細胞障害活性は、MHC クラス I 拘束性を示す。Somamoto ら^{48, 49)}は、クローンギンブナとその系統から作成した株化細胞を用いて、ギンブナ造血器壊死症ウイルス (CHNV) 感染細胞に対する CTL 活性について検討した。そして、CHNV により予め感作したギンブナより採取したリンパ球は、他系統のクローンギンブナ由来の株化細胞に対しては、たとえウイルス感染を受けていても細胞障害活性を示さず、同系の感染した株化細胞に対してのみ細胞障害活性を示すことを見出した。このことは、MHC クラス I の関与を直接証明するものではないが、魚類においても CTL 活性に MHC 拘束性が存在することを示唆するものと考えられる。

一方、我々はニジマス Ia の多型解析を進めていく中で、偶然クローンニジマス (C25 クローン、ホモ接合体) とニジマス株化細胞 (RTG-2) が、同じ Ia (Onmy-UBA*501) を共有することを見出した。そこで、このクローン魚と株化細胞を用いて、魚類においてもウイルス感染細胞に対する細胞障害活性に MHC クラス I 拘束性が認められるかどうかを検討した。先ずリンパ球を採取するドナーとなる C25 クローンニジマスに対して、伝染性造血器壊死症ウイルス (IHNV) の G タンパクをコードする遺伝子を含むプラスミド DNA を筋肉内に数回注射して感作した。そして、最終感作後リンパ球を採取し IHNV に感染した標的細胞と混合したところ、異なった MHC クラス I 対立遺伝子 (Onmy-UBA*101) を持つニジマス株化細胞株 (RTE) に対して障害活性は認められず、RTG-2 細胞に対してのみ傷害することが観察された⁵⁰⁾。ウイルスに感染していない細胞に対して細胞障害活性は認められなかった。この結果から、ニジマス Ia は哺乳類の同分子と同様に、CTL 活

性における MHC 拘束性に関与していることが示された。

9. Ia 型と疾病抵抗性との関連

戻し交配家系を利用した、ニジマスの疾病抵抗性に関する QTL (quantitative trait loci) 解析において、MHC クラス Ib や MHC クラス II の遺伝子座が重要な QTL の近傍にあることが報告されている。

すなわち、ニジマスで最も重要な感染症である伝染性造血器壊死症 (IHN) についてはクラス Ib 遺伝子とクラス II 遺伝子^{51, 52)}が、同じくウイルス症である伝染性脾臓壊死症 (IPN) については MHC クラス Ib 遺伝子⁵³⁾が最も重要な QTL と一致する。一組の親から千尾以上の次世代が作製できる魚類は、QTL 解析の材料として適している。また、QTL 解析は行われていないが、サケ科魚類では細菌症のせつそう病^{54, 55)}、シュードモナス症⁵⁶⁾、ウイルス症の伝染性サケ貧血症⁵⁵⁾、IHN⁵⁷⁾、アメーバー性鰓病⁵⁸⁾について、イトヨでは寄生虫症^{59, 60, 61)}について、MHC クラス II マーカーが疾病抵抗性の linkage グループと関連していることが報告されている。一方、大西洋サケにおいては MHC クラス Ib が MHC クラス II よりも疾病抵抗性に関連している⁶²⁾。一方、Ia と疾病抵抗性との関連については、大西洋サケにおいて弱い相関が報告されているが^{55, 63)}、相関が認められない場合が多いようである。多くの場合統計学的な有意性は低い。これについては、疾病抵抗性の評価が攻撃試験に対する防御に基づいており、免疫記憶に基づいたものではないことによるものかもしれない。この観点からは、サケ科魚類において MHC クラス Ib ハプロタイプが疾病抵抗性のマーカーとして見出された⁶²⁾ことは驚くべきことでは無い。何故ならこれらのハプロタイプは機能的な MHC クラス Ib の数において大きく異なっており、しかも、哺乳類においては、多くの MHC クラス Ib 分子が感染初期の防御に関与する NK 細胞の活性を制御していることが報告されているからである。

10. 行動や成長と MHC 型との関連

前述したが、ニジマスでは仔魚期のニューロンにおいて MHC クラス I が発現することが報告されて

いる。もし、哺乳類のように、MHC クラス I が神経系の再構成に関与しているのであれば、ニジマスにおける膨大な MHC クラス I 対立遺伝子の変異あるいはハプロタイプの変異は、神経系の違いに反映されていると思われる。そこで、水槽に「隠れ家」を設置してニジマスを入れ、「隠れ家」から最も遠い位置に、不十分な量の餌を蒔いて観察し、Ia 型と攻撃性の関連について検討した⁶⁴⁾。その結果、Onmy-UBA*401 は餌場のそばに縄張りを作り成長が早く、一方、Onmy-UBA*4901 は隠れ家に追いやられる場合が多く成長が劣ることが示された。成長の違いは統計学的に有意であり、主として攻撃性(図 5)に端を発した個体間の摂餌量の差によって生じたものと思われたが、両者の遊泳行動にも違いが見られており代謝量の違いも影響しているのかもしれない。攻撃的か友好的か、慎重か勇敢か等、同じ魚種内で

あっても各個体には様々な性格的な特徴が認められる。神経系の再構成を介して、この性格の多様性と MHC の多型性が結びつくのであれば、大変興味深い。

哺乳類でも知られているが、魚類でも臭いに基づいた MHC 型と行動との関連が報告されている。サケ科魚類において群れ(一緒に泳ぐ仲間)を作る時には MHC クラス II 型が一致した相手を選び^{65, 66, 67)}、繁殖行動(配偶者選択)の時にはクラス II 型がより異なる相手を選ぶ⁶⁸⁾ことが報告されている。こうした現象は哺乳類と同様に、体外に排泄されている微量の MHC 結合ペプチドを、嗅覚により判別するためと考えられる。繁殖の相手として MHC 型が異なった相手を選ぶ現象は、イトヨ^{69, 70)}においても報告されている。著者らは「メスはより多くの MHC クラス II 遺伝子が一致しないオスを選ぶ」と主張してい

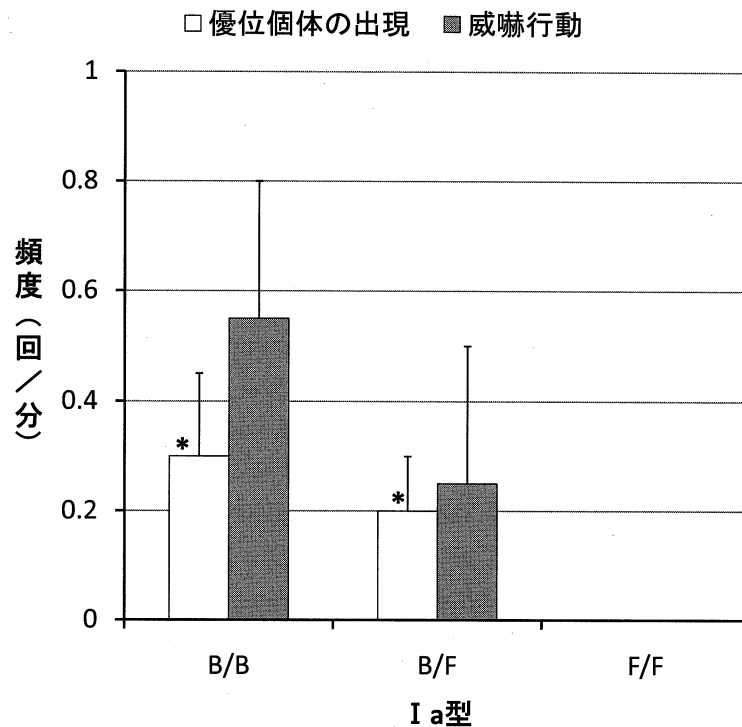


図 5 古典的 MHC クラス I (Onmy-UBA) 型と攻撃性の関連

ニジマス 3 種類 (B/B 型, B/F 型, F/F 型) の Ia 型別に選別したのち、各 10 尾を別々の 3 水槽に収容して、優位個体の出現頻度および威嚇行動の頻度を測定した。その結果、F/F 型を収容した水槽では優位個体の出現、威嚇行動共に観察されなかったが、B/B 型および B/F 型では、両行動が観察された。B: Onmy-UBA*401, F: Onmy-UBA*4901。*: F/F 型に比べ危険率 5% 以下で有意差あり。縦棒は標準誤差。

る。さらに、「MHCの判別には水に溶け出した4種類の9アミノ酸からなるペプチドが関連している」と述べているが、残念ながら各個体のMHC型とこれらのペプチドとの関連は具体的に示されていない。また、これらのペプチドがMHCクラスIIでは無くMHCクラスI由来である可能性も否定されていない。

終わりに

魚類のMHCは、20年前にはその存在すら不確かであった。しかし現在では、魚類MHCは哺乳類の同分子と同様に多型であり、(少なくともマーカー遺伝子として)移植片の拒絶や抗病性に関与することがほぼ明らかとなり、さらに、繁殖行動や性格への関与も示唆されている。ニジマスでは、発現しているIaの遺伝子座が1座であり、IaとクラスIIが連鎖しておらず、そして、多産であること等、Ia型と各種の表現形質との関連を調べるのには理想的な条件が整っており、今後のさらなる研究の発展が楽しみである。一方で、分子の立体構造、ペプチドとの結合能などが未だに不明である。今後は、このような基本的な事象についても、地道に明らかにしていく必要がある。

謝 辞

ニジマスのMHCに関する我々の研究の多くは、生物系特定産業技術研究推進機構の「新技術・新分野創出のための基礎研究推進事業」により行われた。クローンニジマスを提供していただいた長野県水産試験場、ニジマスの各系統をご提供頂いた、宮城県内水面水産試験場、栃木県水産試験場、埼玉県農林総合研究センター水産支所、東京都水産試験場奥多摩分場、山梨県水産技術センター忍野支所、岐阜県淡水魚研究所、静岡県水産試験場富士養鱒場、愛知県内水面漁業研究所、兵庫県水産試験場内水面漁業センター、岡山県魚病指導センター、および中央水産研究所内水面利用部の皆様に、厚く感謝の意を表す。

文 献

1. Iwama G, Nakanishi T: The fish immune system.

Academic Press, San Diego, 1996.

2. Hashimoto K, Nakanishi T, Kurosawa Y: Isolation of carp genes encoding major histocompatibility complex antigens. *Proc Natl Acad Sci USA*, **87**: 6863-7, 1990.
3. Stet R, Dixon B, van Erp SHM, *et al.*: Interference of structure and function of fish major histocompatibility complex (MHC) molecules from expressed genes. *Fish & Shellfish Immunol*, **6**: 305-18, 1996.
4. Hashimoto K, Nakanishi T, Kurosawa Y.: Identification of a shark sequence resembling the major histocompatibility complex class I alpha 3 domain. *Proc Natl Acad Sci USA*, **89**: 2209-12, 1992.
5. Kasahara M, Vazquez M, Sato K, *et al.*: Evolution of the major histocompatibility complex: isolation of class II A cDNA clones from the cartilaginous fish. *Proc Natl Acad Sci USA*, **89**: 6688-92, 1992.
6. Grimholt U, Hordvik I, Fosse VM, *et al.*: Molecular cloning of major histocompatibility complex class I cDNAs from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Immunogenetics*, **37**: 469-73, 1993.
7. Ono H, Klein D, Vincek V, *et al.*: Major histocompatibility complex class II genes of zebrafish. *Proc Natl Acad Sci USA*, **89**: 11886-90, 1992.
8. Kasahara M, McKinney EC, Flajnik MF, *et al.*: The evolutionary origin of the major histocompatibility complex: polymorphism of class II alpha chain genes in the cartilaginous fish. *Eur J Immunol*, **23**: 2160-5, 1993.
9. Okamura K, Ototake M, Nakanishi T, *et al.*: The most primitive vertebrates with jaws possess highly polymorphic MHC class I genes comparable to those of humans. *Immunity*, **7**: 777-90, 1997.
10. Aoyagi K, JM Dijkstra, C Xia, *et al.*: Classical MHC class I genes composed of highly divergent sequence lineages share a single locus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J*

- Immunol*, **168**: 260–73, 2002.
11. Bingulac-Popovic J, Figueroa F, Sato A, *et al.*: Mapping of Mhc class I and class II regions to different linkage groups in the zebrafish, *Danio rerio*. *Immunogenetics*, **46**: 129–34, 1997.
 12. Sato A, Figueroa F, Murray BW, *et al.*: Non-linkage of major histocompatibility complex class I and class II loci in bony fishes. *Immunogenetics*, **51**: 108–16, 2000.
 13. Ohta Y, Okamura K, McKinney EC, *et al.*: Primitive synteny of vertebrate major histocompatibility complex class I and class II genes. *Proc Natl Acad Sci USA*, **97**: 4712–7, 2000.
 14. Tsukamoto K, Hayashi S, Matsuo MY, *et al.*: Unprecedented intraspecific diversity of the MHC class I region of a teleost medaka, *Oryzias latipes*. *Immunogenetics*, **57**: 420–31, 2005.
 15. Stet RJ, Kruiswijk CP, Dixon B, *et al.*: Major histocompatibility lineages and immune gene function in teleost fishes: the road not taken. *Crit Rev Immunol*, **23**: 441–71.
 16. Shiina T, Dijkstra JM, Shimizu S, *et al.*: Interchromosomal duplication of major histocompatibility complex class I regions in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*), a species with a presumably recent tetraploid ancestry. *Immunogenetics*, **56**: 878–93, 2005.
 17. Sato A, Sultmann H, Mayer WE, *et al.*: Mhc class I gene of African lungfish. *Immunogenetics*, **51**: 491–5, 2000.
 18. Miller KM, Li S, Ming TJ, *et al.*: The salmonid MHC class I: more ancient loci uncovered. *Immunogenetics*, **58**: 571–89, 2006.
 19. Dijkstra JM, Katagiri T, Watanabe A, *et al.*: A third broad lineage of major histocompatibility complex (MHC) class I in teleost fish; MHC class II-linkage and processed genes. *Immunogenetics*, **59**: 305–21, 2007.
 20. Dijkstra JM, Kiryu I, Yoshiura Y, *et al.*: Polymorphism of two very similar MHC class Ib loci in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Immunogenetics*, **58**: 152–67, 2006.
 21. Sultmann H, Mayer WE, Figueroa F, *et al.*: Organization of MHC class-II b-genes in the zebrafish (*BrachyDanio-rerio*). *Genomics*, **23**: 1–14, 1994.
 22. Xia C, Kiryu I, Dijkstra JM, *et al.*: Differences in MHC class I between strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunol*, **12**: 287–301, 2002.
 23. Hansen JD, Strassburger P, Du Pasquier L: Conservation of an alpha 2 domain within the teleostean world, MHC class I from the rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Dev Com Immunol*, **20**: 417–25, 1996.
 24. Kiryu I, Dijkstra JM, Sarder RI, *et al.*: New MHC class Ia domain lineages in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) which are shared with other fish species. *Fish & Shellfish Immunology*, **18**: 243–54, 2005.
 25. Dijkstra JM, Yoshiura Y, Kiryu I, *et al.*: The promoter of the classical MHC class I locus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol*, **14**: 177–85, 2003.
 26. Dijkstra JM, Koellner B, Fischer U, *et al.*: The rainbow trout classical MHC class I molecule Onmy-UBA*501 is N-glycosylated and expressed in similar cell types as mammalian classical MHC class I molecules. *Dev Com Immunol*, **24**: S75, 2000.
 27. Shum BP, Guethlein L, Flodin LR, *et al.*: Modes of salmonid MHC class I and II evolution differ from the primate paradigm. *J Immunol*, **166**: 3297–308, 2001.
 28. Fujiwara A, Nishida-Umehara C, Sakamoto T, *et al.*: Improved fish lymphocyte culture for chromosome preparation. *Genetica*, **111**: 77–89, 2001.
 29. Fujiwara A, Kiryu I, Dijkstra JM, *et al.*: Chromosome mapping of MHC class I in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish & Shellfish Immunol*, **14**: 171–5, 2002.

30. Dijkstra JM, Kollner B, Aoyagi K, *et al.*: The rainbow trout classical MHC class I molecule Onmy-UBA*501 is expressed in similar cell types as mammalian classical MHC class I molecules. *Fish Shellfish Immunol*, **14**: 1–23, 2003.
31. Sarder MR, Fischer U, Dijkstra JM, *et al.*: The MHC class I linkage group is a major determinant in the in vivo rejection of allogeneic erythrocytes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Immunogenetics*, **55**: 315–24, 2003.
32. Fischer U, Ototake M, Nakanishi T: In vitro cell-mediated cytotoxicity against allogeneic erythrocytes in gibel carp and goldfish using a non-radioactive assay. *Dev Comp Immunol*, **22**: 195–206, 1998.
33. Fischer U, Dijkstra JM, Kollner B, *et al.*: The ontogeny of MHC class I expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish Shellfish Immunol*, **18**: 49–60, 2005.
34. Corriveau RA, Huh GS, Shatz CJ: Regulation of class I MHC expression in the developing and mature CNS by Neural activity. *Neuron*, **21**: 505–20, 1998.
35. Huh GS, Boulanger LM, Du H, *et al.*: Functional requirement for class I MHC in CNS development and plasticity. *Science*, **290**: 2155–9, 2000.
36. Loconto J, Papes F, Chang E, *et al.*: Functional expression of murine V2R pheromone receptors involves selective association with the M10 and M1 families of MHC class Ib molecules. *Cell*, **112**: 607–18, 2003.
37. Hansen JD, La Patra S: Induction of the rainbow trout MHC class I pathway during acute IHNV infection. *Immunogenetics*, **54**: 654–61, 2002.
38. Chen SL, Zhang YX, Xu MY, *et al.*: Molecular polymorphism and expression analysis of MHC class II B gene from red sea bream (*Chrysophrys major*). *Dev Comp Immunol*, **30**: 407–18, 2006.
39. Matsuyama T, Fujiwara A, Nakayasu C, *et al.*: Microarray analyses of gene expression in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* leucocytes during monogenean parasite *Neoheterobothrium hirame* infection. *Dis Aquat Organ*, **75**: 79–83, 2007.
40. Matsuyama T, Fujiwara A, Nakayasu C, *et al.*: Gene expression of leucocytes in vaccinated Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) during the course of experimental infection with *Edwardsiella tarda*. *Fish Shellfish Immunol*, **22**: 598–607, 2007.
41. Zhang YX, Chen SL: Molecular identification, polymorphism, and expression analysis of major histocompatibility complex class IIA and B genes of turbot (*Scophthalmus maximus*). *Mar Biotechnol (NY)*, **8**: 611–23, 2006.
42. Sigh J, Lindenstrom T, Buchmann K: The parasitic ciliate *Ichthyophthirius multifiliis* induces expression of immune relevant genes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J Fish Dis*, **27**: 409–17, 2004.
43. Koppang EO, Press C McL, Ronningen K, *et al.*: Expression of MHC class I mRNA in tissues from vaccinated and non-vaccinated Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish & Shellfish Immunol*, **8**: 577–87, 1998.
44. Koppang EO, Lundin M, Press C McL, *et al.*: Differing levels of MHC class II β chain expression in a range of tissues from vaccinated and non-vaccinated Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish & Shellfish Immunol*, **8**: 183–96, 1998.
45. Ototake M, Okamura K, Hashimoto K, *et al.*: The function of the most primitive MHC class I. *Dev Comp Immunol*, **24**: S79–80, 2000.
46. Cardwell TN, Sheffer RJ, Hedrick PW: MHC variation and tissue transplantation in fish. *J Hered.*, **92**: 305–8, 2001.
47. Quiniou SM, Wilson M, Bengten E, *et al.*: MHC RFLP analyses in channel catfish full-sibling families: identification of the role of MHC molecules in spontaneous allogeneic cytotoxic responses. *Dev Comp Immunol.*, **29**: 457–67, 2005.
48. Somamoto T, Nakanishi T, Okamoto N: Specific

- cell-mediated cytotoxicity against a virus-infected syngeneic cell line in isogeneic gibel carp. *Dev Comp Immunol*, **24**: 633–40, 2000.
49. Somamoto T, Nakanishi T, Okamoto N: Role of specific cell-mediated cytotoxicity in protecting fish from viral infections. *Virology*, **297**: 120–7, 2002.
 50. Fischer U, Dijkstra JM, Aoyagi K, *et al.*: MHC class I restricted cytotoxicity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Dev Com Immunol*, **24**: S76–7, 2000.
 51. Khoo SK, Ozaki A, Nakamura F, *et al.*: Identification of a novel chromosomal region associated with infectious hematopoietic necrosis (IHN) resistance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Pathology*, **39**: 95–101, 2004.
 52. Rodriguez MF, LaPatra S, Williams S, *et al.*: Linkage maps of rainbow trout: genetic markers associated with resistance to infectious hematopoietic necrosis. *Aquaculture*, **241**: 93–115, 2004.
 53. Ozaki A, Sakamoto T, Khoo S, *et al.*: Quantitative trait loci (QTL) associated with resistance/susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Mol Genet Genomics*, **265**: 23–31, 2001.
 54. Langefors A, Lohm J, Grahn M, *et al.*: Association between Mhc class II B alleles and resistance to *Aeromonas salmonicida* in Atlantic salmon. *Proc R Soc Lond B*, **268**: 479–85, 2001.
 55. Grimholt U, Larsen S, Nordmo R, *et al.*: MHC polymorphism and disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*); facing pathogens with single expressed major histocompatibility class I and class II loci. *Immunogenetics*, **55**: 210–9, 2003.
 56. Wedekind C, Walker M, Portmann J, *et al.*: MHC-linked susceptibility to a bacterial infection, but no MHC-linked cryptic female choice in whitefish. *J Evol Biol*, **17**: 11–8, 2004.
 57. Palti Y, Nichols KM, Waller KI, *et al.*: Association between DNA polymorphisms tightly linked to MHC class II genes and IHN virus resistance in backcrosses of rainbow and cutthroat trout. *Aquaculture*, **194**: 283–9, 2001.
 58. Wynne JW, Cook MT, Nowak BE, *et al.*: Major histocompatibility polymorphism associated with resistance towards amoebic gill disease in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Fish & Shellfish Immunol*, **22**: 707–17, 2007.
 59. Wegner KM, Reusch TB, Kalbe M: Multiple parasites are driving major histocompatibility complex polymorphism in the wild. *J Evol Biol*, **16**: 224–32, 2003.
 60. Wegner KM, Kalbe M, Kurtz J, *et al.*: Parasite selection for immunogenetic optimality. *Science*, **301**: 1343, 2003.
 61. Kurtz J, Kalbe M, Aeschlimann PB, *et al.*: Major histocompatibility complex diversity influences parasite resistance and innate immunity in sticklebacks. *Proc Biol Sci*, **271**: 197–204, 2004.
 62. Miller KM, Winton JR, Schulze AD, *et al.*: Major histocompatibility complex loci are associated with susceptibility of Atlantic salmon to infectious hematopoietic necrosis virus. *Environ Biol Fishes*, **69**: 307–16, 2004.
 63. Kjolglum S, Larsen S, Bakke HG, *et al.*: How specific MHC class I and class II combinations affect disease resistance against infectious salmon anaemia in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Shellfish Immunol*, **21**: 431–41, 2006.
 64. Azuma T, Dijkstra JM, Kiryu I, *et al.*: Growth and behavioral traits in Donaldson rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cosegregate with classical major histocompatibility complex (MHC) class I genotype. *Behav Genet*, **35**: 463–78, 2005.
 65. Olsen KH, Grahn M, Lohm J, *et al.*: MHC and kin discrimination in juvenile Arctic char, *Salvelinus Alpinus* (L.). *Animal Behaviour*, **56**: 319–27, 1998.
 66. Olsén KH, Grahn M, Lohm J: Influence of MHC on sibling discrimination in Arctic charr, *Salve-*

- linus alpinus* (L). *J Chemical Ecol*, **28**, 783–95, 2002.
67. Rajakaruna RS, Brown JA, Kaukinen KH, *et al.*: Major histocompatibility complex and kin discrimination in Atlantic salmon and brook trout. *Mol Ecol*, **15**: 4569–75, 2006.
68. Landry C, Garant D, Duchesne P, *et al.*: Good genes as heterozygosity: the major histocompatibility complex and mate choice in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, **268**: 1279–85, 2001.
69. Reusch TB, Haberli MA, Aeschlimann PB, *et al.*: Female sticklebacks count alleles in a strategy of sexual selection explaining MHC polymorphism. *Nature*, **414**: 300–2, 2001.
70. Milinski M, Griffiths S, Wegner KM, *et al.*: Mate choice decisions of stickleback females predictably modified by MHC peptide ligands. *Proc Natl Acad Sci USA*, **102**: 4414–8, 2005.

● 総 説 ●

[シリーズ: MHC の比較ゲノム] ペンギン類 MHC MHC 多型解析によるペンギン類 6500 万年の進化の足跡

津田 とみ^{1,2)}, 猪子 英俊²⁾

1) 徳島文理大学人間生活学部

2) 東海大学医学部

要約: 現存のペンギン類は、9,000 種にもおよぶ多種の鳥類のなかで、陸上を移動するときの動作の特色ばかりでなく、成鳥が空を飛ばないことや、ヒナは親の保護に完全に依存して成長する就巢性であることなど、の特色を有する。ペンギン類の棲息地は南半球に限られている。約 5,000 万年前から現在に至るまで分岐と進化を重ね、極寒の南極から、赤道直下のガラパゴス諸島まで、厳しい自然環境に適応しつつ進化してきたことが推測されている。

一方、主要組織適合遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex; MHC) は脊椎動物の免疫応答において外来抗原を捕捉し T 細胞に提示するという重要な役割を担い、遺伝的多型性を獲得してきたことがよく知られている。ペンギン類は極域から熱帯域へと分布が広く、外来抗原とのかかわりも他の動物種とは異なりその結果、特徴的な MHC 多型を持つであろうと私たちは予測した。

MHC 遺伝子の多型解析はヒト、マウスなどで近年急速に進み、特にヒトでは疾患感受性との関連など応用範囲を広げている。しかし鳥類での MHC 解析は、ニワトリおよびウズラでは MHC の B 領域の全配列が決定されたが、他の鳥での報告はまだ稀である。私たちは、ペンギン類を含む海鳥類の MHC 遺伝子多型解析がペンギン類の進化を系統的に検討するための有効な手段になることを報告し、現在までにアデリーペンギン属の 3 種やフンボルトペンギン属の 2 種、他の属についても、MHC クラス II 第 2～第 3 エクソン領域のゲノム塩基配列の解析をすすめてきた。

本稿では、ペンギン MHC の全容を述べることは果たせないが、ペンギン MHC (SpLA) を興味ある、そして価値ある研究対象として紹介したい。

キーワード: ペンギン類, ペンギン MHC, クラス IIDRB 様遺伝子, 進化

1. はじめに

現在栄えている鳥類は、進化を繰り返した結果、地球上の様々な環境で棲息している。数の上では小

型で空を飛ぶものが多数をしめる。しかし、飛ばずに陸上で歩行したり、あるいは水辺や水中で棲息するものもいる。多くは棲息環境に適応し現在まで繁栄

代表者連絡先 〒770-8514 徳島県徳島市山城町西浜
徳島文理大学人間生活学部
津田 とみ

電 話 088-602-8091
F A X 088-622-3217
E-mail tomitt@tokushima.bunri-u.ac.jp

を続けてきたのであろうが、環境の変化に順応しきれず絶滅した種も少なくはない。

9,000 種にもなる鳥類の中でも海鳥といえる種は、ペンギン目、ミズナギドリ目、ペリカン目、チドリ目などの仲間、総計 300 種ほどである。そのうちペンギンの仲間は、南半球のみに分布し、現在 6 属 17 種が棲息している。南極大陸で棲息するエンペラーペンギンとアデリーペンギンの個体数は多く、種の保存としては今のところ問題はないが、赤道直下のガラパゴスペンギンや亜南極のシュレーターペンギンやキガシラペンギンは絶滅危惧種 (I 類の EN; 表 4 参照) である。今後の地球環境 (温度や外来抗原暴露) の変化にペンギン類はどの程度適応し、進化を続けることができるだろうか、興味ある問題であるとともに注意を喚起しなければならない課題である。

2. ペンギン類の分類

分類、ペンギン類は何種か?

現存するペンギン類は 1 目 (ペンギン目) 1 科 (ペン

表 1 ペンギンの分類

界 Kingdom:	動物界 Animalia
門 Phylum:	脊索動物門 Chordata
亜門 Subphylum:	脊椎動物亜門 Vertebrata
綱 Class:	鳥綱 Aves
目 Order:	ペンギン目 Sphenisciformes
科 Family:	ペンギン科 Spheniscidae

属 Genes

エンペラーペンギン属
アデリーペンギン属
マカロニペンギン属
キガシラペンギン属
フンボルトペンギン属
コガタペンギン属

鳥類は 9,000 種にも及ぶ多種である。しかしその中でも海鳥の仲間は、ペンギン目、ミズナギドリ目、ペリカン目、チドリ目の 4 目、約 300 種のみである。ペンギンは 1 目 1 科 6 属 17 種である。属と種は表 2 に示す。

ギン科) 6 属である (表 1) (表 2)。6 属 17 種というのが現在最も良く用いられている分類である。これは、コガタペンギン属でハネジロペンギン (表 2 ▲▲印) をコガタペンギンに含め、マカロニペンギン属でロイヤルペンギン (表 2 ▲印) を種とみなして 17 種としている (表 2 ◎印の合計)。

もし、マカロニペンギン属のロイヤルペンギン (表 2 ▲印) を種とみなさずマカロニペンギンに含めれば 16 種ということにもなる。

ペンギン類の亜種

亜種の存在はコガタペンギン属ハネジロペンギンとマカロニペンギン属ロイヤルペンギンのみではなく、他にも認められている。例えばマカロニペンギン属イワトビペンギンの北方亜種と南方亜種、エンペラーペンギン属キングペンギンの北方亜種と南方亜種、アデリーペンギン属ジェンツーペンギンの 2～3 の亜種などが有力な亜種候補者である。またコガタペンギンは亜種が多く 5 群の亜種とハネジロペンギンとの計 6 群の亜種が認められている。

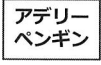
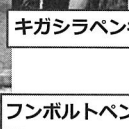
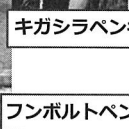
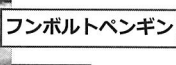
従来の種および亜種の分類には生態や形態、例えば棲息地、体長や身体部位のサイズの違いなどが主な根拠とされてきた^{1,2,3,4)}。近年、この分野でのゲノム DNA 情報など新たなデータを根拠とした解析の有用性が注目されてきた。ペンギン類は何種存在しているのか、また亜種は何種類なのかという議論は、亜種の特定に関する問題とも関連し、将来に続く課題である。

化石の記録

化石の記録からはおよそ 17 属 40 種が存在していたことが推定されている。ニュージーランドではペンギン類の化石が多数発見されている。例えば、絶滅種であるプロトペンギンは化石のみで確認される大型のペンギン類である^{5,6)}。

現在では南半球に広く分布しているペンギン類も、初期にはニュージーランド近辺のみに棲息し、それ以降分布域を広げつつ進化と分岐が進行したが、そのうちのあるものは絶滅し、現存の 6 属 17 種になったと考えられている^{1,4,7)}。

表2 ペンギンの種類

ペンギンの種類(6属17種)	棲息地	Conservation status	
●エンペラーペンギン属			
◎エンペラーペンギン	○	stable	
◎キングペンギン	・	stable	
●アデリーペンギン属			
◎アデリーペンギン	○	stable	
◎ヒゲペンギン	・	stable	
◎ジェンツーペンギン	・	near threatened	
●マカロニペンギン属			
◎イワトビペンギン	・	vulnerable	
◎フィヨルドランドペンギン	・	vulnerable	
◎スネアーズペンギン	・	vulnerable	
◎シュレーターペンギン	・	endangered	
◎マカロニペンギン	・	vulnerable	
◎ロイヤルペンギン /▲	・	vulnerable	
●キガシラペンギン属			
◎キガシラペンギン	□	endangered	
●フンボルトペンギン属			
◎フンボルトペンギン	□	vulnerable	
◎マゼランペンギン	□	near threatened	
◎ケープペンギン	□	vulnerable	
◎ガラパゴスペンギン	□	endangered	
●コガタペンギン属			
◎コガタペンギン	□	stable or decreasing	
ハネジロペンギン /▲▲	□	endangered	

[6属17種] コガタペンギン属でハネジロペンギン(表中▲▲印)をコガタペンギンに含め、マカロニペンギン属ロイヤルペンギン(表中▲印)を種とみなすと6属17種である(表中◎印で示す)、これが現在最もよく用いられている分類である。表4-aも17種として扱われている。

[棲息地] ○印: 南極大陸, ・印: 南極半島および亜南極, □印: その他固有の棲息地。

3. シブリーのタペストリー

ペンギン類を含む海鳥の進化

鳥類の祖先はジュラ紀後期(1億5,000万年前)に棲息していた始祖鳥で、現在の鳥類は約6,500万年前の大量絶滅を逃れた新鳥類から進化してきたと考えられている。最も初期のトリから、まずダチョウ目(平胸類)、次にキジ・カモ目が分岐し(図1)、9,000種にもおよぶ多様な鳥類に分岐したと考えられている^{8,9)}。ペンギン類の祖先はおよそ4,700万年前、海鳥の仲間から分岐したと推察されていた¹⁰⁾。

シブリーのタペストリー

DNAで多種の生物の類縁関係の遠近を証明しようとする最初の試みとして、DNA/DNAハイブリダイゼーションという、DNAの二重鎖が加熱により1本鎖に分離し冷却によりふたたび二重に巻き戻すという現象を利用した実験方法が用いられた。その膨大な成果の記録は“シブリーのタペストリー”と呼ばれている¹¹⁾。

それによると、 ΔT_{50H} が1°Cを示す距離を450万年として計算し、ペンギン類の分岐については、4,680万年前に海鳥の仲間からペンギン科が分岐し、2,610万年前にエンペラーペンギン属、その後アデ

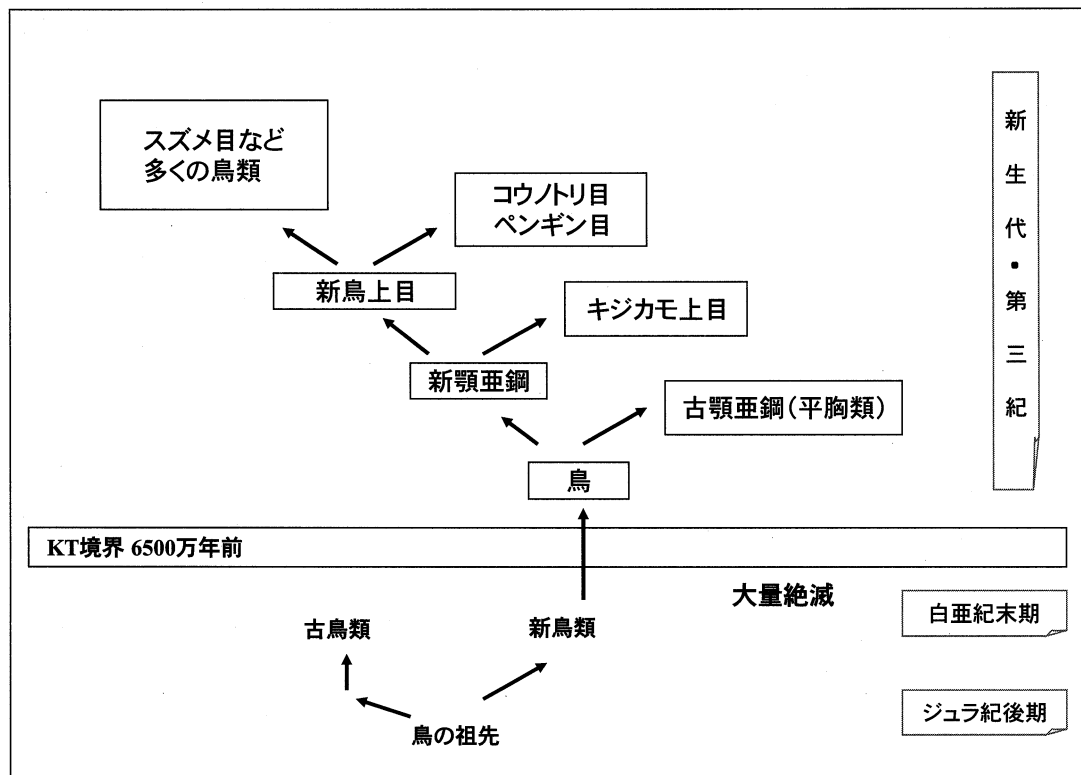


図1 始祖鳥から鳥類へ

始祖鳥から6,500万年前の間に、まずダチョウ目、次にキジ・カモ目が分岐した、と考えられている。

リーペンギン属が分岐したとされる。

シブリーのタペストリーには論議をよぶ箇所もある、と後年評されている。しかし、シークエンス技術が普及する前にこの膨大な仕事が遂行されたことは評価に値するであろう。

4. ペンギン類、棲息してきた環境

南極の寒冷化

2～3億年前の地球上にはゴンドワナ大陸と呼ばれる大陸の塊(超大陸)があった。その頃、現在の南極大陸となる領域は緯度が低く温暖な気候であったと考えられている。

ドイツの気象学者アルフレッド・ウエゲナーが提唱した大陸移動説¹²⁾によると、1億8,000万年前にゴンドワナ大陸内部に何本かの割れ目が生じ、その割れ目がやがて拡大しアフリカ、南アメリカ、オーストラリア、インド、南極大陸へと分裂した。第三紀(6,500万年前～180万年前)の3,600万年前頃、南極半島と南米大陸の南端がほぼ分離し、現在の状態に

近づいたと考えられている。

その結果、海流が南極大陸の周囲を一周するようになり、南極海流が誕生した。その結果、南極大陸から暖流が遠ざかることとなり、南極収束線以南の海水温は2～3℃低下し、南極の氷床が発達した結果、地球上の海水面が数十cmは下降したようである。

隔離と地域群個群

この南極海流の発生と、海水面の低下とが、ペンギン類の進化と分岐に大いに関わりがあったと想像できる。そのような観点から、ペンギンの進化の過程を次のように推測することができる。

ニュージーランド近辺に限られていた棲息域から、高速の南極海流に飲まれ遠隔地へ流される個体がまたまたたしとしよう。やがて、その個体は海面下から姿を現し始めた島々に漂着した。そこを新たな棲息地として個体数が増し、地域個体群が形成された。海流は南極大陸の周囲を環流しており、その環流に

流される固体が存在し、亜南極の各地へ海流の流れに沿って分布域が拡大し、種が分化していった。また、海流が枝分かれし南米大陸西岸を北上するペルー海流(フンボルト海流とも言う)に乗って北上した個体がフンボルトペンギンとガラパゴスペンギン、東岸はマゼランペンギンの祖先である可能性が考えられる。

現在の棲息域

ペンギン類は海鳥のなかでも特に潜水能力が発達した仲間である。それらのうち生理学的に寒冷地に適応した7~8種が南極半島および亜南極に分布している。ただし南極大陸に棲息する(南極大陸で繁殖する)種はエンペラーペンギンとアデリーペンギンの2種のみである。他種は温帯、さらには赤道直下のガラパゴスペンギンまでさまざまな緯度に分布している。

5. ペンギン類 MHC 遺伝子多型解析

免疫系の進化

無顎類を除くすべての脊椎動物が有する主要組織適合遺伝子複合体(Major Histocompatibility Complex; 以下 MHC と略す)は生体の免疫応答として、外来抗原由来ペプチドを結合し、T 細胞に抗原提示することにより T 細胞の活性化を誘導するという重要な役目を担っている分子であり、MHC 遺伝子は環境要因の多様性を反映して、生物の進化に伴い多型性を獲得してきたと考えられている。

ペンギン類の進化のなぞをとくために

6,500 万年の間、ペンギンはどのように進化の過程をたどったのだろうか。形態学的あるいは生態学的解析だけでなく、ゲノム DNA の塩基配列に刻まれた遺伝情報を解析して種間で比較することにより、より真実に近い姿が見えてくるのではないだろうか、と考えペンギンの MHC 解析に挑戦しようと考えた。

MHC は、脊椎動物の免疫反応の誘導において自己と非自己の識別をし、タンパク分解酵素でプロセッシングされた抗原ペプチドを MHC (クラス II) のホモダイマーの溝にはさみ、それを外来抗原として T 細胞へ提示する役割を担っている^{13,14)}。MHC

分子はそのような機能を反映して、さまざまな抗原に対応できるよう多くの遺伝的多型を獲得したと考えられている。各種の動物で、抗原を認識し提示する機能を持つクラス II 抗原 β 鎖(全長 7 kb)のなかでも $\beta 1$ ドメインを含む第 2 エクソンが多型性に富んでいることがよく知られている。

ペンギン類でも、進化の過程で棲息域の環境変化が著しく、外来抗原とのかかわりも一様ではないことから、クラス II の $\beta 1$ ドメイン近辺に特徴的な MHC 多型を持つことを予測した。

材料の収集

材料はペンギン類または海鳥類の血液または組織を用い、DNA を抽出した。飼育下の試料も用いたが野生のサンプル収集にも力を注いだ(図 2)。現在までに、種としてはほぼ全種にちかい 14 種のペンギンのサンプルを収集した。それらは、エンペラーペンギン、キングペンギン、アデリーペンギン、ヒゲペンギン、ジェンツーペンギン、イワトビペンギン、マカロニペンギン、シュレーターペンギン、キガシラペンギン、フンボルトペンギン、マゼランペンギン、ケーブペンギン、コガタペンギン、そしてガラパゴスペンギンである。野生の個体あるいは飼育下の個体の、主として血液を採取あるいは組織片を提供していただいた。マカロニペンギン属の 3 種のみが未収集である。

その他ペンギン類と類縁関係が強いと推定されている海鳥として、ミズナギドリ(ミズナギドリ目)をはじめアホウドリ(ミズナギドリ目)、ゲンカン鳥(ペリカン目)などを研究対象とした。

多型解析

本研究の初期には、MHC 領域クラス II 抗原 DRB 様遺伝子のうち多型性に富む第 2 エクソンを PCR (polymerase chain reaction) 増幅し、直接塩基配列決定法により、あるいは PCR 増幅産物をサブクローニングして塩基配列を決定した。

それらの塩基配列情報をもとに現在では、DRB 様遺伝子第 2 および第 3 エクソンそれぞれを増幅させるプライマーを用いて第 2 から第 3 エクソン全体を含む領域を PCR 増幅して、増幅産物をクローニン

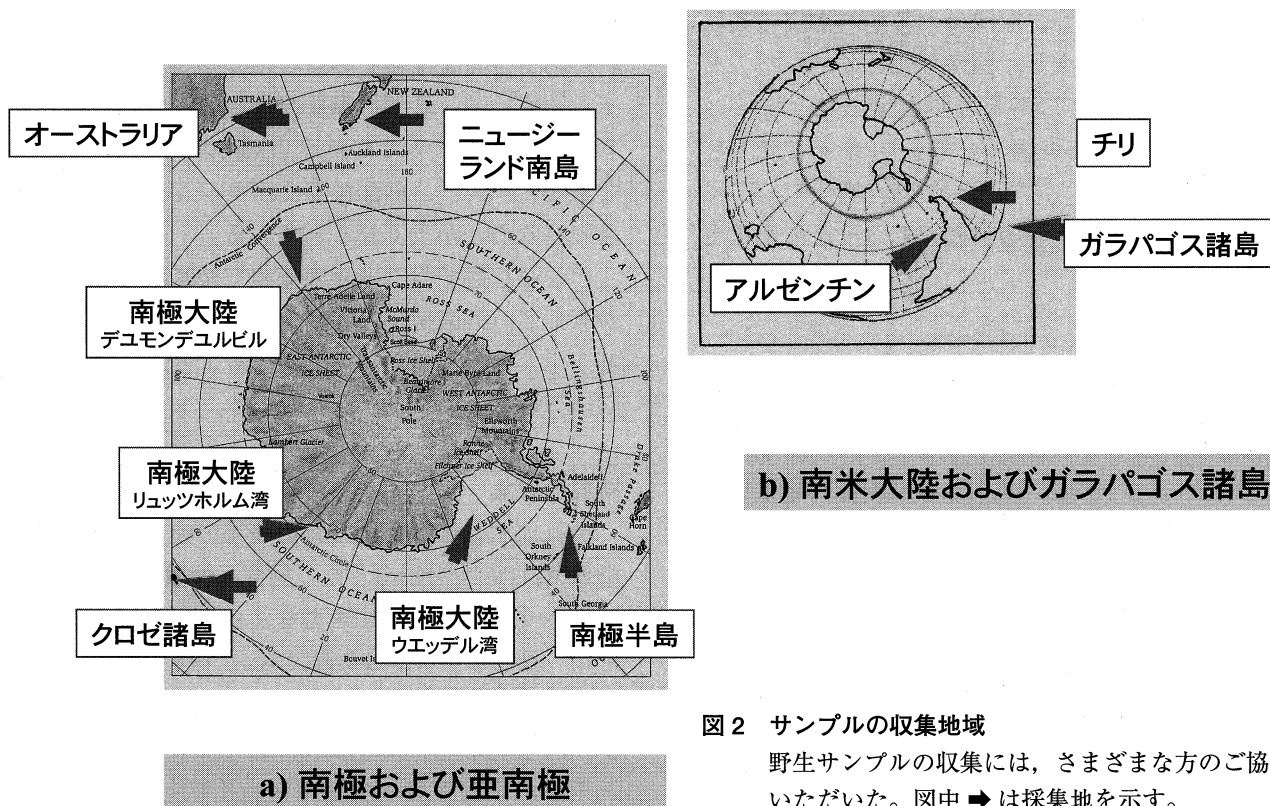


図2 サンプルの収集地域

野生サンプルの収集には、さまざまな方のご協力をいただいた。図中 ➡ は採集地を示す。

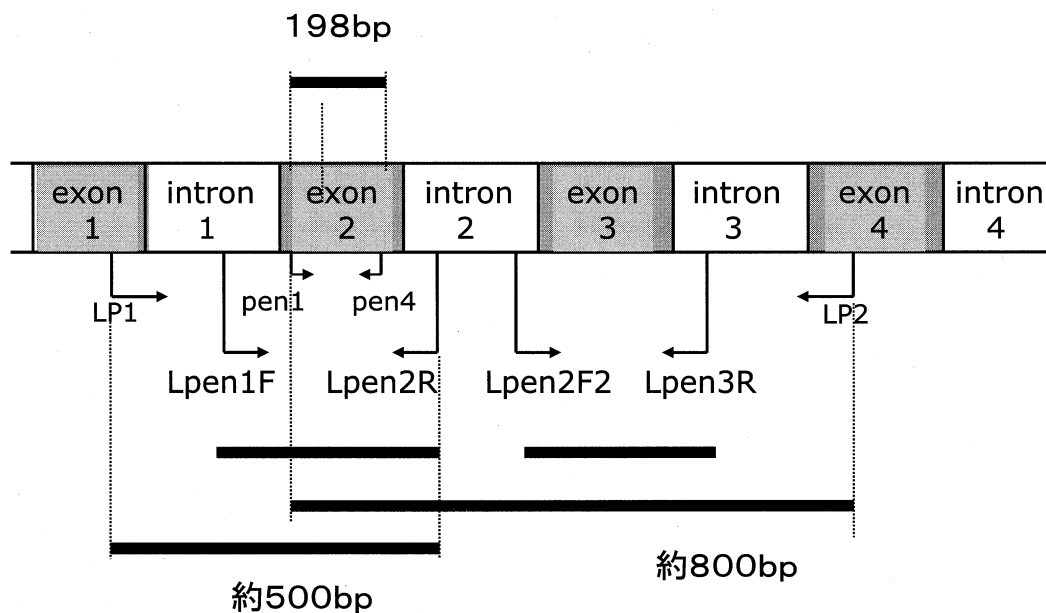


図3 プライマー

グシ、塩基配列を決定している(図3, 図4)。なお、RT-PCR 法にて、この領域が偽遺伝子でなく発現遺伝子であることを確認した。その結果、ペンギン MHC クラス II 抗原 DRB 様遺伝子の第1エクソン

から第3イントロンまでの約 1,400 bp の塩基配列を決定することができた^{15, 16, 17, 18, 19}。

現在までに、フンボルトペンギン、マゼランペンギン、ケーペンギン、コガタペンギン、アデリー

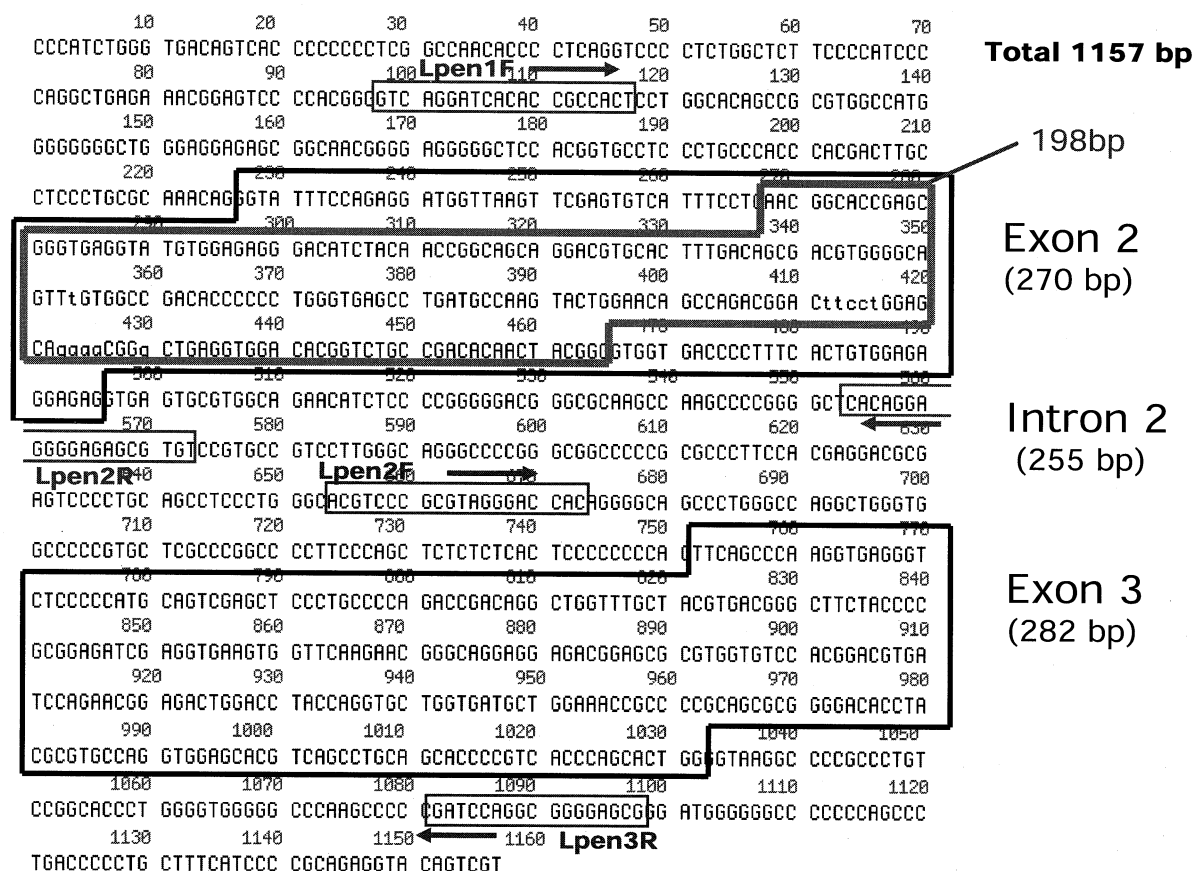


図4 シークエンス

ペンギン、キガシラペンギン、を解析し、種に特異な塩基配列や属に特有の配列を決定した。すでに多くの脊椎動物で報告されているように、ペンギンにおいてもクラス II 抗原遺伝子 $\beta 1$ ドメインが高度な多型性に富むこと、さらにはペンギン類に特徴的な塩基配列(アリル)が存在することをみだし、さらに詳細な解析を進めている²⁰⁾。なお、エクソンのみでなくイントロン内にも多型がみだされている。

MHC が語るペンギン類の進化

得られた塩基配列を用い近隣結合法 (NJ 法) により系統解析²¹⁾を行った。ニワトリとブラックバードと比較した系統樹を NJ 法にて描いたのが図 5 である。同様の解析で、海鳥のなかでもペンギン類に近縁種とされているミズナギドリを含めた系統樹では、コガタペンギンとミズナギドリが近い位置をしめた。

6. 展 望

ペンギンとトリ、DNA の比較

ニワトリなど鳥類の染色体は、微小染色体から構成され、性染色体については哺乳類と異なりホモが雄性、ヘテロが雌性であるという特徴を持つ。また鳥類のゲノムサイズは哺乳類より小さいことが知られている(表 3)。

ニワトリやウズラでは MHC 領域の全ゲノム塩基配列が解読され、ヒトなど哺乳動物と比較し著明に小さい MHC 領域のサイズおよび比較的単純な遺伝子構造が明らかにされた(図 6)^{22, 23, 24)}。他のトリ MHC についても多くのゲノム情報が蓄積されているが^{25, 26, 27, 28)}、トリのなかでも種によりゲノム領域の長さは差異が存在し、ニワトリは最も小さく MHC の B 領域サイズは 92 kb であり(19 個の遺伝子)、ウズラでのそれに相当する遺伝子領域は 180 kb である²⁴⁾。なお、MHC の遺伝情報はヒトでは第 6 染色体、ニワトリでは第 16 染色体に位置している(図

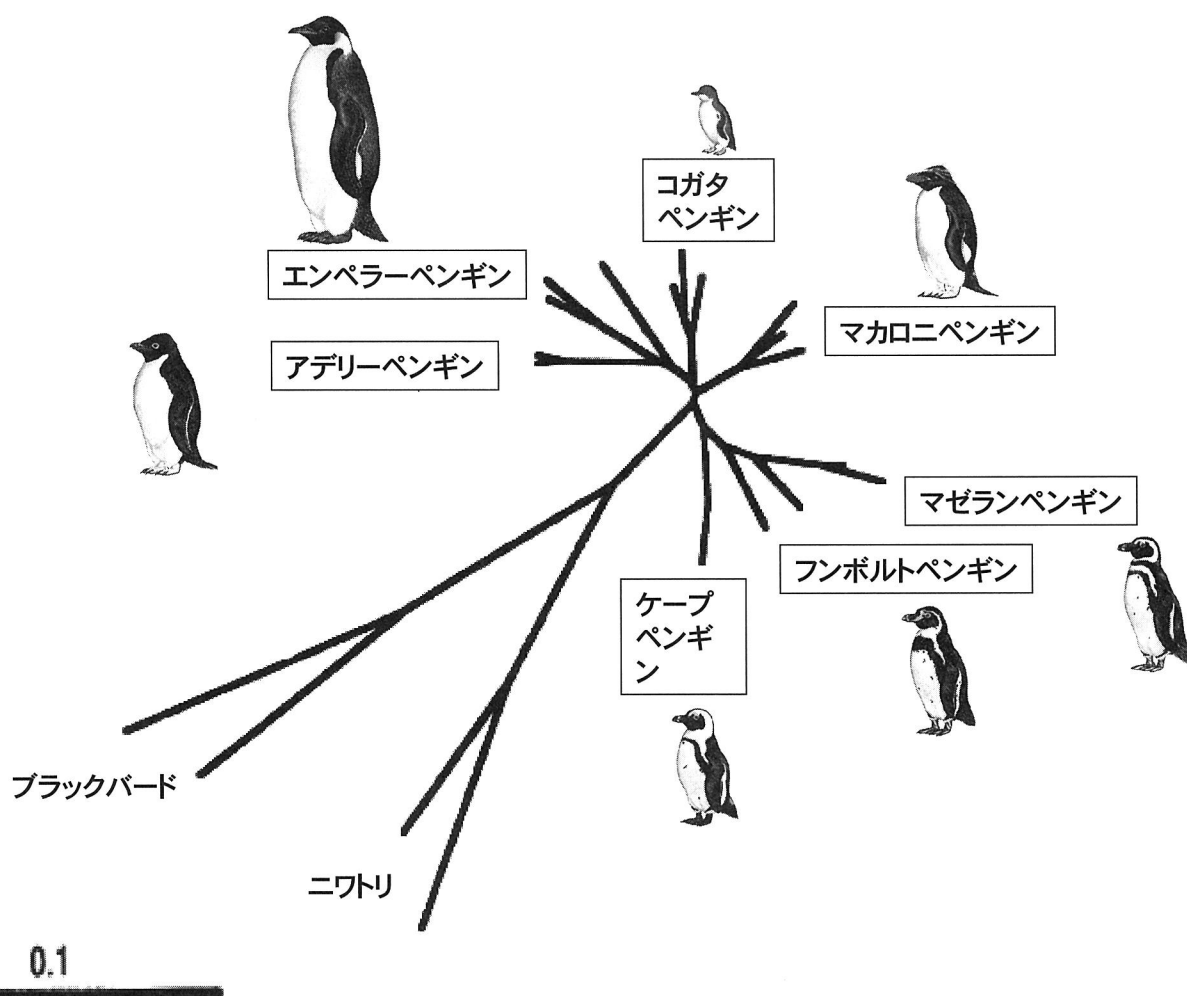


図5 系統樹

NJ 法(近隣結合法)にて、ニワトリやブラックバード(ハゴロモガラス)とペンギン類の仲間を比較した。

(挿絵：福武 忍)

7)。

ペンギン類では MHC 領域の遺伝子地図はいまだ明らかにされていないが、ニワトリなどの例を参考にペンギンの遺伝子地図を構築していく予定である。ニワトリでは、MHC の遺伝子座として、古典的 MHC 領域である MHC-B 領域に、3つの遺伝子重領域 BF, BLB, BG が知られている。遺伝子としては2個の BF (クラス I 遺伝子)と2個の BLB (クラス II 遺伝子)が存在し、それらクラス I 遺伝子とクラス II 遺伝子が互いに近接しているという特徴がある。またそれらより離れた位置に(図中 Y 領域)非古典的 YF と YL が存在することが報告されている(図3)²³⁾。哺乳類ではクラス II DR 抗原は α 鎖 (34kDa) と β 鎖 (29kDa) のヘテロダイマーであることから、

トリでも同様に DR 抗原を形成していると推測されるが、 α 鎖遺伝子についての報告は現在までのところなされていない。

このように、われわれはペンギン MHC 領域のクラス II 領域 DRB 様遺伝子の解析を開始し、ペンギン類特有のゲノム塩基配列情報 (MHC 遺伝子地図) を明らかにしつつある。その成果は、ペンギン類進化の解明(と遺伝子地図の構築と)に貢献するであろう。

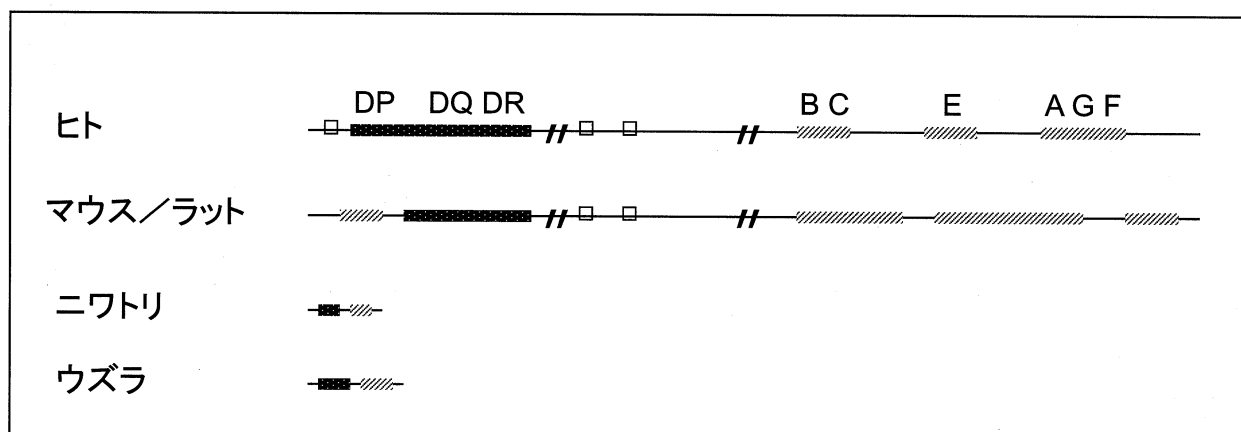
MHC 遺伝子を指標とする個体識別

進化の過程で高度な多型性を獲得してきた遺伝子群である MHC 領域の塩基配列は、ヒトでは個体識別の指標として特に法医学の分野での親子鑑定に利

表3 哺乳類と鳥類、染色体の比較

	ゲノム サイズ	染色体数 (2n)	MHC が位置する 染色体	性染色体 オス メス	
ヒト	30 Gb	46	第 6 染色体	XY	XX
マウス	33 Gb	40	第 17 染色体	ヘテロ	ホモ
ニワトリ	10 Gb	78	第 16 染色体	ZZ ホモ	ZW ヘテロ

ニワトリのゲノムサイズはヒトやマウスの 1/3 である。染色体数 (2n) は 78 本であるが、11 対の大型染色体と 28 対の小型染色体から成っている。ペンギのゲノムサイズ、MHC 領域サイズは不明である。トリ類の性染色体は ZW 型である。



■ : クラス II ▨ : クラス I

図6 トリと哺乳類、MHC 領域のサイズ比較

用されている。ペンギン類においても個体識別や親子鑑定を可能にするに十分に豊富な多型性を持つことがわかってきた。

多型性に富む MHC 遺伝子の多型解析は、進化の研究に有用であり、さらに個体識別、分類の問題、種の保全などへの応用に広がる有用な研究である。

さまざまな生物でミトコンドリア DNA 塩基配列を指標とした研究も盛んに行われてはいるが²⁹⁾、ミトコンドリア DNA で得られる情報は母系であることから、母系のみには偏らない遺伝情報としての MHC 塩基配列に関する解析は重要な知見を提供するであろう。

このように MHC 解析は個体識別や親子関係、特

に父親の判定に有用であることから、飼育下での応用が期待される。また、飼育群の遺伝的偏りを避け多様性を維持するための良い遺伝マーカーとなるので、飼育施設での応用の実用化を図っていく予定である。現在、いくつかの動物園水族館が共同で(日本動物園水族館協会)ペンギン類の戸籍簿(血統登録台帳)を作成している。一番早く手がけられたのはフンボルトペンギンである。1992 年、日本動物園水族館協会の種族保存委員会が、フンボルトペンギンを種別調整種と定め、1993 年より血統登録台帳、すなわち家系図作りが開始され、現在では全ての個体の戸籍が整えられている。その後対象種が拡大され、これまでのところジェンツーペンギン、マゼランペン

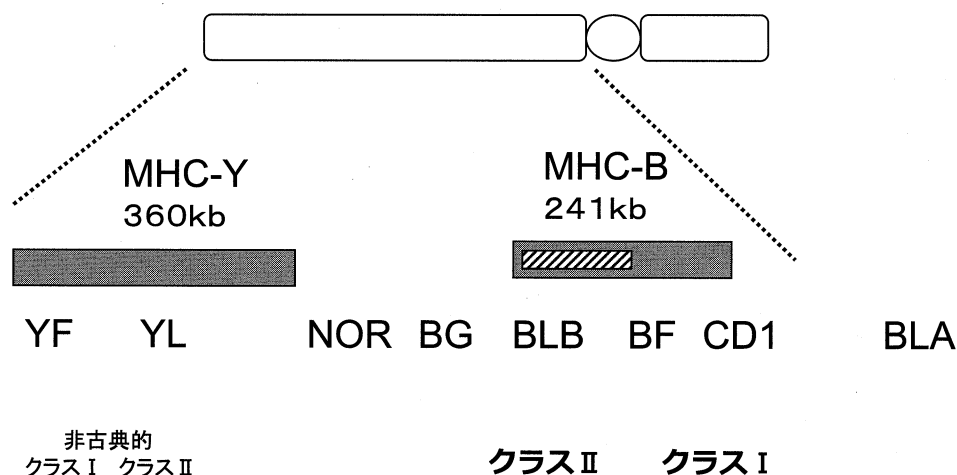


図7 ニワトリ MHC は第 16 番染色体に
ペンギンでは未だ明らかにされていない。

ギン、ケープペンギン、イワトビペンギン、キングペンギンなどの戸籍簿が整えられている。

このような記録は、従来は飼育観察に依存するところが大きかったが、近年 DNA 情報の必要性が認識されつつあり、母系の血統管理にはミトコンドリア DNA、父系と母系両者の系統管理には核 DNA の指標である MHC の貢献が期待されている。

ペンギン類の保全

ペンギン 6 属 17 種のなかでレッドデータブックで棲息状況が比較的安定とされているのは 5 種である(表 4-a, 表 4-b)。

生息数の減少が危機的なもの「絶滅危惧 I 類 (EN; endangered)」(キガシラペンギン, ガラパゴスペンギン, シュレーターペンギン) や危惧されている種「絶滅危惧 II 類 (VU; vulnerable)」(フンボルトペンギン, ケープペンギン, イワトビペンギン, スネアーズペンギン, フィヨルドランドペンギン, マカロニペンギン, ロイヤルペンギン) については、棲息数の減少を防ぐための環境保全や保護活動が行われている。

低リスクで比較的安定とされている軽度懸念 (LC; least concern) とされているエンペラーペンギン, キングペンギン, アデリーペンギン, ヒゲペンギン, コガペンギンや、低リスクでも準絶滅危惧 (NT; near threaten) とされているジェンツーペンギンとマゼラ

ンペンギンなどについても個体数は多くても、その群れ内での遺伝的多様性については不明である。遺伝的多様性は将来の種の存続の難易を予測する上では重要な指標であり、その意味においても MHC 遺伝子多型の研究は興味ある課題である。

謝 辞

我々のペンギン研究は、いまだ道半ばであるがこれまでに本研究を支援してくださった多くの方々に感謝いたします。

本研究を行うにあたり、材料収集は、日本動物園水族館協会種保存委員会ペンギン類別調整委員会日本動物園水族館協会種保存委員会ペンギン類別調整委員会 (JAZGA; Japanese Association of Zoological Gardens and Aquariums, Taxon Advisory Group) とそのメンバーである各地の動物園水族館(東京都葛西臨海水族園, 東京都恩賜上野動物園, 名古屋港水族館, 神戸市立王子動物園, 下田海中水族館, アドベンチャーワールド, 豊橋総合動植物公園, 京急油壺マリンパーク, 神戸市立須磨海浜水族園, 鴨川シーワールド, 財団法人志摩マリンランド, 寺泊町立水族博物館, 新潟市水族館マリニア日本海, 稚内市立ノシャップ寒流水族館)の協力をいただいた。南半球の様々な地域の野生個体の材料収集には、国立極地研究所, 国立環境研究所, 水産庁遠洋水産研究所などの団体・研究機関, および世界各地のペン

表 4-a 「絶滅のおそれのある生物種のレッドリスト」によるペンギン類の現状

絶滅危惧 I B (EN)	シュレーターペンギン キガシラペンギン ガラパゴスペンギン
絶滅危惧 II 類 (VU)	イワトビペンギン マカロニペンギン フィヨルドランドペンギン スネアーズペンギン ロイヤルペンギン フンボルトペンギン ケーブペンギン
準絶滅危惧 (NT)	ジェンツーペンギン マゼランペンギン
軽度懸念 (LC)	エンペラーペンギン キングペンギン アデリーペンギン ヒゲペンギン コガタペンギン

国際自然保護連合 International Union for Conservation of Nature and Natural Resources) の種の保存委員会 SSC による「絶滅のおそれのある生物種のレッドリスト」によるカテゴリーで示した。絶滅危惧 I B (EN) は「近い将来に野生絶滅の危険性が高い」、絶滅危惧 II 類 (VU) は「絶滅の危険が増大している種」、準絶滅危惧 (NT) は「存続基盤が脆弱な種」、軽度懸念 (LC) は「懸念が軽度」

表 4-b [参考の表] レッドリスト

絶滅	Extinct (EX)	
野生絶滅	Extinct in the wild (EW)	
絶滅危惧	Threatened	
絶滅危惧 I A	Critically Endangered (CR)	ごく近い将来に野生絶滅の危険性が極めて高い
絶滅危惧 I B	Endangered (EN)	近い将来に野生絶滅の危険性が高い
絶滅危惧 II 類	Vulnerable (VU)	絶滅の危険が増大している種
準絶滅危惧	Near Threatened (NT)	存続基盤が脆弱な種
軽度懸念	Least Concern (LC)	
情報不足	Data Deficient (DD)	

国際自然保護連合 (IUCN) 種の保存委員会 (SSC) による「絶滅のおそれのある生物種のレッドリスト, 2001」による。

ギン研究者の協力をいただいた。ご協力いただきました内藤靖彦, 柴田康行, 南浩史, 清田雅史, Lloid Davis, Rory P. Wilson, Yvon LeMaho, Jerzy K. Kulski, Belinda Cannell, Gary D. Miller の各博士に深く感謝します。有益な意見交換をいただいた馬場芳之博士, 渡辺麻衣子博士, 岡田典弘博士, 村田浩一博士と故青柳昌宏氏, 協同研究者である津田道雄博士, 福田道雄氏, 栗田正徳氏, 成瀬妙子各氏, とくに多型解析では吉川枝里氏に深く感謝します。表2写真 青柳昌宏氏, 図5挿絵は福武忍氏にお礼申し上げます。

参考文献

1. Reilly P: Penguins of the world. Oxford University Press, Australia, South Melbourne. 164pp, 1995.
2. エトアルアイスフィールド: ウイロー教授のペンギン学特論. SEG 出版, 東京. 214 pp, 1995.
3. 青柳昌宏: ペンギンたちの不思議な生活. 講談社, 東京. 211 pp, 1997.
4. Sparks T, Soper T: Penguin. David & Charles Publishers, London. 246 pp, 1987.
5. Fordyce RE. and Jones CM: Penguin history and new fossil material from New Zealand. In: Penguin Biology eds. by Davis LS and Darby JT, Academic Press, San Diego. 419–446, 1990.
6. Ksepka, DT, Bertelli S, Giannini NP: The phylogeny of the living and fossil Sphenisciformes (penguins). Cladistics, 22: 412–441, 2006.
7. Jouventin P: Visual and Vocal signals in Penguins, their Evolution and Adaptive characters. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg. 295 pp, 1982.
8. Feduccia A: Explosive evolution in Tertiary birds and mammals. Science, 267: 637–638, 1995.
9. Feduccia A: The origin and evolution of birds. Yale University Press, New Haven and London. 420 pp, 1996.
10. Storer RW: Evolution in the diving birds. Proceedings of the Twelfth International Ornithological Congress, 694–707, 1960.
11. Sibley CG, Ahlquist JE: Phylogeny and Classification of Birds, A Study in Molecular Evolution. Yale University Press, New Haven and London. 976 pp, 1990.
12. Wegener A: The origin of continents and ocean. (Die Entstehung der Kontinente und Ozeane. 1929. Translated by Biram J) Dover Publications Inc, New York. 246 pp, 1966.
13. 安藤麻子, 猪子英俊: HLA 領域の遺伝子構成. 蛋白質核酸酵素, 増刊号「ゲノム解析研究」, 38: 392–402, 1993.
14. 西村泰治: T 細胞に抗原を認識させる主要組織適合抗原の構造と機能. 蛋白質核酸酵素, 45: 1205–1218, 2000.
15. Tsuda TT, Tsuda M, Naruse T, et al.: Phylogenetic analysis of penguin (*Spheniscidae*) species based on sequence variation in MHC class II genes. Immunogenetics, 53: 712–716, 2001.
16. 津田とみ, 津田道雄, 河田寿子ら: MHC 遺伝子多型によるペンギン類の進化と系統解析. DNA 多型, 9: 115–119, 2001.
17. 津田とみ, 猪子英俊: シリーズ異種の MHC・ペンギン. 日本組織適合性学会誌, 8: 47–52, 2001
18. 津田とみ, 吉川枝里, 成瀬妙子ら: DNA 多型でみるペンギン進化のあしあと——ペンギンの MHC 遺伝子解析. DNA 多型, 12: 34–38, 2004.
19. Kikkawa EF, Tsuda TT, Naruse TK, et al.: Analysis of the sequence variations in the MHC DRB1-like gene of the endangered Humboldt penguins (*Spheniscus humboldti*). Immunogenetics, 57: 99–107, 2005.
20. 吉川枝里, 炭山大輔, 津田道雄ら: ペンギン類を含む海鳥類の MHC 領域における系統解析. DNA 多型, 15: 77–80, 2007
21. 宮田隆: 分子進化—解析の技法とその応用—. 共立出版, 東京. 196 pp, 1998.
22. Kaufman J, Milne S, Gobel TWF, et al.: The chicken B locus is a minimal essential major histocompatibility complex. Nature, 401: 923–925, 1999.
23. Miller MM, Bacon LD, Hala K et al.: Nomen-

- clature for the chicken major Histocompatibility (B and Y) complex. *Immunogenetics*, **56**: 261–279, 2004.
24. Shiina T, Shimizu S, Hosomichi K et al.: Comparative genomic analysis of two avian (quail and chicken) MHC regions. *J. Immunol*, **172**(11): 6751–63, 2004
 25. Edwards SV, Gasper J, March M: Genomics and polymorphism of Agph-DAB1, a Mhc classII B gene in red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*). *Mol Biol Evol*, **15**: 236–250, 1998.
 26. Sato A, Figueroa F, Mayer WE et al.: Mhc class II genes of Darwin's Finches: divergence by point mutations and reciprocal recombination. In: Kasahara M (ed) *Major histocompatibility complex*. Springer, Tokyo, 518–541, 2000
 27. Hess CM, Edwards SV: The evolution of the major histocompatibility complex in birds. *BioScience*, **52**: 423–431, 2002.
 28. Ekblom R, Grahn M, Hoglund J: Patterns of polymorphism in the MHC classII of a non-passerine bird, the great snipe (*Gallinago media*). *Immunogenetics*, **54**: 734–741, 2003.
 29. Mindell DP: *Avian Molecular Evolution and Systematics*. Academic Press, Sandiego. 382 pp, 1997.

● 総 説 ●

[シリーズ：移植医療と組織適合性]

第 3 回

臓器移植における免疫寛容の基礎と臨床

村上 徹, 河合 達郎

マサチューセッツ総合病院外科ハーバード大学医学部

要約：移植医療において、移植臓器に免疫寛容を誘導することは究極の目標といえる。これまでマウスなど小動物の基礎実験をもとに、大動物でも寛容導入の試みが様々な方法を用いて行われてきた。最近、ようやくサルで免疫寛容誘導の報告もみられるようになり、ドナー骨髄細胞移植による mixed chimerism を基礎とした方法では臨床での寛容誘導の成功例もみられるようになった。今後はさらに多様な方法で免疫寛容誘導が臨床で試みられるようになると予測される。

キーワード：免疫寛容, ドナー骨髄細胞移植, mixed chimerism, 臨床応用

1. はじめに

過去 20 年の間に、効果的な免疫抑制薬の開発に伴い、移植臓器の短期生着率は飛躍的に向上してきた¹⁾。しかし、慢性拒絶反応に対する効果的な予防や治療方法が存在しないことや、免疫抑制薬そのものの副作用により、長期成績は未だ満足できるものとなっていない²⁾。このため免疫寛容の誘導は免疫抑制法がこれほど進歩した現在でも、移植医療の究極の目標として捉えられている。

免疫寛容とは個体の免疫抑制を行うことなく、移植片だけが特異的に拒絶されず、感染症などに対する生体の防御機能は正常に保たれている状態をいう。1953 年の Medawar らによる先駆的な実験³⁾以来、多くの免疫寛容誘導の成功例が、おもにマウスを使った研究において報告されてきたが、大動物とくに霊長類での成功は非常に限られている。本稿では霊長類を使用した免疫寛容研究の現況をその臨床での試みもあわせて概説したい。

2. 免疫寛容導入へのアプローチ

これまでのサルにおける移植臓器の寛容導入のアプローチとしては、a) 全リンパ組織への放射線照射 (total lymphoid irradiation, 以下 TLI), b) costimulatory blockade, c) 高度な T 細胞の除去, d) 制御性 T 細胞の導入, e) ドナー骨髄細胞を利用したものなどがあげられる。

2.1 TLI

TLI による寛容導入の研究は 1980 年代、シクロスボリンが開発される以前から大動物、とくにヒヒを用いて精力的に行われ、臨床治験も試みられている。スタンフォードのグループは犬を用いた実験で総量 2800 から 4500 cGy の TLI を投与し腎移植の生着延長を示したが⁴⁾、Myburgh らはヒヒを用いた腎および肝移植モデルで総量 1600 cGy まで照射量を減らしても TLI で臓器生着が延長することを示した⁶⁾。彼らはドナー骨髄細胞の輸注も一部の動物に行った

Department of Surgery, Massachusetts General Hospital
55 Fruit Street, WHT 510B, Boston, MA 02114, USA
Tatsuo Kawai, M.D.

T E L 617-724-0289
F A X 617-726-9322
E-mail tkawai@partners.org

が、生着延長に関連性は認められなかった。さらにスタンフォードのグループは総量 2000 cGy の TLI を臨床腎移植に適用し、3 症例において免疫抑制薬の中止に成功したと報告した⁷⁾。しかし、最終的にそのうち 2 例の移植腎はそれぞれ尿管狭窄と慢性拒絶反応で機能不全に陥っていたことが後の報告で明らかにされている⁸⁾。このプロトコルでの 1 年生着率は 76% と報告されているが⁹⁾、通常な免疫抑制薬での生着率と比較しかなり低いという、免疫抑制薬を完全に中止できる見込みもないことから、この TLI による臨床治験はその後試みられていない。スタンフォードのグループは後述するように、現在ではドナー骨髄移植と TLI を併用することで免疫寛容の誘導を試みている。

2.2 Costimulatory blockade

リンパ球の活性化には T 細胞レセプターを介しての抗原特異的なシグナルだけでなく、細胞表面上に発現されているさまざまな costimulatory molecule からの補助的なシグナルが必要とされる。このセカンドシグナルが遮断されると抗原特異的不応答状態 (clonal anergy) が誘導されることを利用して、costimulatory blockade が寛容導入の方法として用いられている。臓器移植における免疫調節として報告されてきた重要な経路として CD80,86-CD28 経路と CD40-CD154 (CD40L) 経路とがある。これまでのサルの実験では、モノクローナル抗体を用い、この 2 つのシグナル遮断が試みられてきた。このうち、CD80,86 の遮断は有意な効果がみられていないが¹⁰⁾、ヒト化抗 CD40L 抗体 (humanized 5c8) を用いた CD40-CD154 (CD40L) 経路の遮断は免疫抑制薬を中止した後でも、著しい臓器生着延長効果がサルの腎移植で報告された^{11,12)}。しかしサルの実験結果に反して、その臨床治験では 7 例中 5 例において拒絶反応がみられた¹³⁾。さらに、この抗体の副作用と考えられる血栓合併症が頻発したことより、現在、抗 CD40L 抗体を用いた臨床治験はすべて中止されており、再開のめども立っていない。

Leukocyte common antigen である CD45 は、T 細胞活性化に関するさまざまなサイトカイン (IL-2, INF- α , TNF- α などの) の細胞内シグナル伝達に関

連している。この分子の blockade が拒絶反応に有効であることは、以前よりマウスの腎移植モデルで示されてきたが、最近では CD45RB にたいするモノクローナル抗体を利用した試みもサル腎移植モデルで行われている¹⁴⁾。この研究では抗 CD45RB 抗体 (6G3) を 14 日間短期間投与することで 8 例中 5 例のサルで臓器生着の延長が認められ、そのうち 2 例の移植腎は 200 日以上にもおよび拒絶反応がみられず生着している。しかし、予想に反し、ヒト化された抗 CD45RB 抗体 (humanized 6G3) ではあまり効果は見られず、CD45RB 陽性細胞が末梢血から十分除去されているにもかかわらず、移植後 43 日までに移植腎は拒絶されている。タクロリムスとの併用での抗 CD45RB 抗体の有用性は明らかと云えるが、免疫寛容導入に対しての効果についてはさらなる検討が必要と思われる。

一方、サルのモデルで単独使用ではさほど効果が認められなかった CTLA4Ig^{15,16)} は、一部のアミノ酸構造を改変し CD80 や CD86 分子への結合性を高めることにより、サルのみでなく臨床の腎移植においても長期的で効果的な免疫抑制効果が報告されている^{17,18)}。しかし、この抗体による免疫寛容の誘導はサルの実験においても明らかに示されておらず、臨床治験においても投与の完全な中止は計画されていない。臨床症例においては CD4CD25 陽性 T 制御性細胞の expansion がみられず、LEA29Y そのものの効果により寛容を得られるかどうかには疑問が持たれている¹⁹⁾。

これまでに、さまざまな costimulatory molecule の単独、もしくは複数経路同時の遮断や、他の免疫抑制剤との併用投与などによる免疫寛容の誘導が小動物から大動物に至るまで、数多く発表されてきた。しかしながら、メモリー T 細胞が多く存在するサル、ヒトなどの大動物においては costimulatory molecule の遮断によってアロ反応性メモリー T 細胞の完全不活化は困難であり、生着延長効果は認められても、costimulatory blockade だけで寛容を誘導するのは難しいと考えられる。

2.3 高度な T 細胞除去

高度な T 細胞除去による免疫寛容の誘導は

Knechtle, Thomas などによる抗 CD3 immunotoxin (IT) を使用したサルの実験により示されてきた²⁰⁾。これらの実験では IT 投与により末梢血の T 細胞の高度な除去が可能となり、移植腎の著しい生着延長効果が認められた。ドナー特異的な皮膚移植の生着延長も示されたが、最終的にドナーに対する抗体の産生は抑制できず、結果的には液性免疫による拒絶反応により腎臓は拒絶されている²¹⁾。また Calne らは、T 細胞をはじめ B 細胞、単球細胞、NK 細胞、樹状細胞などの血液細胞に広く発現している CD52 抗原に対するヒト化モノクローナル抗体 alemtuzumab (Campath-1H) を臨床で使用し、低用量のシクロスポリン投与との組み合わせで、Prope (almost) Tolerance と表現できるほどの免疫抑制剤の減量に成功した²²⁾。また Starzl らも Campath-1H によるリンパ球除去のほか、抗胸腺細胞抗体である Thymoglobulin の投与によるリンパ球除去による効果を臨床腎移植 90 症例について報告している²³⁾。これらの報告では免疫抑制剤の減量が限られた症例で可能であったが、結果的にはこれまでの成績と比較して生着率、生存率に改善はなく、chronic allograft nephropathy (CAN) の発生も同程度に認められており²⁴⁾、このアプローチにおける臨床的意義は疑問視されている。

また、Contreras らは IT をサルで使用したが Knechtle らが報告したような効果を再現することはできなかった²⁵⁾。このグループはその後 Deoxyspergualin (DSG) を IT に加えることにより、IT 投与後に合併する vascular leak syndrome を抑制することに成功し、DSG 投与例のうち 87% においてグラフトの長期生着が得られたことを報告した²⁶⁾。このプロトコルでは、DSG が nuclear factor- κ B (NF κ B) の活性を阻害することにより IFN- γ が抑制され、IL-4 は高く維持され Th2 に反応が偏ることにより免疫寛容が誘導されたと推論されている。Kirk らはこのプロトコルを臨床腎移植にまで応用しているが、Campath-1H に DSG を加えても Campath-1H 単独投与となんらの差異は認められず、同様な頻度で拒絶反応も発生している²⁷⁾。

2.4 制御性 T 細胞の導入

最近、寛容導入の機構で、制御性 T 細胞の関与が重要であることが示されている²⁸⁾。サルを使った実験で、Bashuda らは初めてドナー抗原反応性 T 細胞に対し特異的な抑制作用を有する制御性 T 細胞を体外で誘導しレシピエントに再度戻すことによりドナー特異的な免疫寛容導入を試み、6 例中 3 例のサルにおいて成功している²⁹⁾。これまでの T 細胞除去を中心とした方法とは異なり制御性細胞を利用した新たなアプローチとして期待される。

2.5 ドナー骨髄細胞の輸注・移植

ドナー骨髄細胞を用いた寛容導入は、microchimerism によるものと mixed chimerism を誘導するものの 2 つのアプローチに大別できる。microchimerism による免疫寛容では、通常の免疫抑制法のもとドナー骨髄細胞を輸注し、PCR でのみ確認できるほどの非常に微量(ドナー由来細胞が 0.1% 以下)な chimera を誘導する³⁰⁾。一方、mixed chimerism では T 細胞の除去に加え放射線照射などを併用しドナー骨髄中の血液幹細胞を一時的にでも定着させ、ドナー血液細胞を分化させることにより flow cytometry でも存在が確認できる程度の高い chimera を誘導する。悪性腫瘍の治療に適用される骨髄移植ではレシピエントの骨髄細胞を完全に破壊できる量の放射線照射または化学療法剤が投与されるが、移植臓器の寛容誘導における骨髄移植では、低容量の放射線照射または化学療法が前処置として施される。この場合、たとえドナー骨髄細胞が生着しなかった場合でもレシピエントの骨髄は回復する。Mixed chimerism による免疫寛容は、ドナー樹状細胞が胸腺に移住することにより、ドナーの MHC と強く結合する TCR を持った T 細胞クローンが除去されることにより誘導される³¹⁾。

3. microchimerism

Monaco らによるマウスの研究³²⁾をもとに、Thomas らは rabbit 抗胸腺抗体とドナー骨髄細胞輸注によるプロトコルをサルの腎移植モデルで試み、レシピエントの半数に 1 年以上のグラフト生着が得られたと報告している³³⁾。このプロトコルでは免疫

寛容の誘導に chimerism は必要な条件ではなかったが、ドナー骨髄細胞の一部にある Veto 機能(細胞の直接コンタクトによりドナー反応性のレシピエントリンパ球を除去する)によりグラフトの長期生着を誘導するものと推論されている³⁴⁾。

一方、1992 年 Starzl らは肝および腎移植長期生着患者 30 症例を対象に組織染色、PCR により、末梢血における micro chimerism が検出されることを証明した²³⁾。彼らは、移植後ドナー細胞とレシピエントの細胞が混在し、お互いに反応しあい消耗することで、徐々にドナー反応性が消失するという clonal exhaustion³⁰⁾ をその免疫寛容の機序として提唱している。この仮説をもとに種々の臨床臓器移植においてドナー骨髄の輸注を通常の免疫抑制プロトコルに加えて、免疫寛容を誘導する試みが行われてきた^{35, 36, 37, 38)}。しかしながら結果的には急性拒絶反応の発症率の減少や免疫抑制薬のある程度までの減量は示されたものの、免疫寛容を誘導できるまでには至っていない^{35, 36, 37, 39)}。

4. mixed chimerism

4.1 サルにおける前臨床研究

マウスでの実験^{40, 41)}をもとに、筆者らの施設では、ドナー骨髄移植による mixed chimerism の導入と免疫寛容について研究を重ねてきた^{4, 42, 43)}。初期のプロトコルは、150 cGy2 回の全身照射と 700 cGy の胸腺照射、そして抗胸腺細胞抗体の投与で前処置を行った後、ドナー骨髄腎同時移植と脾摘をおこない、術後 1 ヶ月間 Cyclosporin A を投与するというものである。このプロトコルで、サル 13 例中 11 例にリンパ球系、骨髄球系の multilineage chimerism が見られ、うち 9 例にドナー特異的な寛容導入が得られ、最長腎生着期間は 13 年となっている⁴³⁾。また、最近ではプロトコルを改変し、脾臓摘出の代わりに抗 CD40L 抗体を術後、短期間投与することにより、全例で安定した chimerism が誘導可能となり、約半数のサルに寛容が導入されている⁴⁴⁾。このサルでの chimerism は、マウスの結果とは異なり、一過性のものであるにもかかわらず、移植腎の免疫寛容は保たれており、chimerism 消失後になんらかの末梢性の機構が関与しているものと考えられる^{4, 42, 43)}。

前述のプロトコルは移植に先立ち約 1 週間の期間が前処置に必要であり、移植の予定が計画できる生体間での移植でしか適用できないという問題がある。このためドナー骨髄移植を臓器移植の数ヶ月あとにおこなう delayed protocol をサル腎移植モデルで試みている。この方法では、ドナー骨髄細胞を凍結保存することにより、臓器移植後に待機的に骨髄移植ができる。この delayed protocol では先行する腎移植によりレシピエントがドナー抗原に感作され、後に移植される骨髄細胞が拒絶される可能性が高まるのではないかという問題点がある。我々の最近の研究では、この delayed protocol での chimerism 誘導、寛容導入には CD8 陽性メモリー細胞の抑制が必要で、メモリー細胞の制御が今後、臨床応用への重要な鍵であると考えている⁴⁵⁾。

4.2 臨床応用

多発性骨髄腫に合併した腎不全に対する

HLA 適合ドナーからの腎骨髄同時移植

多発性骨髄腫に続発した腎不全患者には、腎不全のため十分な化学療法ができず、また腎移植も基礎疾患が悪性腫瘍であるためその適応は禁忌とされる。そこで筆者らの施設では、難治性の多発性骨髄腫に合併した末期腎不全患者に対して骨髄腫の治療および移植腎寛容誘導を目的として HLA 適合ドナーからの生体間腎骨髄同時移植を試みている^{46, 47, 48)}。これまで 6 例に対して cyclophosphamide 60 mg/kg の 2 回投与、700 cGy の胸腺照射、抗胸腺細胞抗体投与、移植後 2 ヶ月間のシクロスポリン投与のプロトコルを試みた。

全ての患者において、移植後 mixed chimerism 誘導が確認されたが、うち 2 例(1 例は自発的に、また 1 例は追加のドナーリンパ球輸注後に)は完全にドナー血液細胞に置き換えられた (full chimerism)。また 6 例中 4 例は誘導された mixed chimerism が移植後 4 ヶ月までに消失し検出できなくなったが、早期に骨髄腫が再発した 1 例を除き、3 例において骨髄腫の安定した寛解が得られ、一過性の chimerism でも graft versus leukemia 効果があることが示唆された。このプロトコルでは、骨髄腫に対する化学療法や GVHD を抑制するための免疫抑制剤投与など

で、移植腎に対する寛容導入の評価は単純ではないが、最終的に6例中4例において免疫抑制剤投与の中止が可能であった。これら4症例のうち3例は2年以上、正常腎機能を維持しており、最長生着は8年以上になっている⁴⁸⁾。残る1例は、免疫抑制剤中止後も移植腎に対する拒絶反応は見られなかったが、骨髄腫が1年後に再発し、2回目の骨髄移植が施され full chimerism が誘導された。このため現在は、GVHD のコントロールのため tacrolimus が投与されている。免疫抑制薬の中止ができなかった2例は、1例が full chimerism に移行したため GVHD に対し Mycophenolate mofetil とステロイドの2剤を投与、またもう1例は chimerism 後の早期の骨髄腫再発により移植腎機能が失われた。

このように、HLA の適合したドナーからの骨髄移植と腎移植を組み合わせた方法は、他の治療方法が存在しない腎不全を合併した骨髄腫症例において非常に有効な治療手段になりうると考えられる。

通常の腎不全に対する HLA 不適合ドナーからの腎骨髄同時移植

Medawar らの実験³⁾からまもない1960年に Murray らによって臨床腎移植で免疫寛容の誘導はすでに試みられている⁴⁹⁾。当時は有効な免疫抑制剤がなかったため、250 から 700 cGy の全身照射による治療を腎移植患者に適用したが、6例中5例は、感染症のために死亡している。その後、移植免疫での関心はより効果的で安全な免疫抑制薬の開発に移行し、ドナー骨髄細胞を利用した寛容導入は最近まで試みられることはなかった。

スタンフォードのグループは、小動物^{50, 51)}や臨床^{7, 8)}での経験をもとに TLI による骨髄移植を利用した寛容導入の試みを HLA 不適合の臨床腎移植症例に対して適用した⁵²⁾。このプロトコルでは腎移植後に抗胸腺細胞抗体 (rabbit) を投与、また計 1220 から 2000 cGy の TLI を行い、その後 CD34 陽性ドナー骨髄細胞を移植した。この臨床応用においては、4例中3例において一過性の chimerism が誘導されたが、免疫抑制薬中止後に拒絶反応の発症がみられ、最終的には免疫寛容導入には失敗であったと結論されている⁵³⁾。

これに対し、現在筆者らの施設では、悪性腫瘍を伴わない通常の腎不全患者に対し前述の骨髄腫患者に対するプロトコルと同様なアプローチにより、HLA 不適合のドナーからの腎骨髄同時移植を行い免疫寛容の誘導を試みている。これらの移植では、骨髄腫患者に対しての骨髄移植とは異なり、軽微な GVHD でも許されない。このプロトコルでは、GVHD の発症が皆無であった、MGH での血液腫瘍における one-haplotype 不適合ドナーからの骨髄移植の治験結果を参考に⁵⁴⁾、ATG をより強い T 細胞除去能のある抗 CD2 抗体を使用した。これまで5例の患者に対し HLA one haplotype 不適合ドナー(親、兄弟)からの腎骨髄同時移植を行った。全例に一過性(最長術後21日目まで)の chimerism が誘導され、4例で術後9-14ヶ月目までに免疫抑制薬を完全に中止することが可能で、最長の免疫抑制フリーの生着期間は4年が経過しようとしている (Kawai T et al. N. Engl. J. Med 2008, manuscript in press)。

5. まとめ

サルを中心とした動物実験での結果と、臨床における寛容導入について述べてきた。これまで非常に困難であった、免疫寛容の臨床への適用が、mixed chimerism を基礎としたプロトコルでの成功により現実のものとなってきている。今後さらに臨床での応用が安全で確実なものとなるために寛容導入の機序についての詳細な検討、解明が必要と考えられる。

参考文献

1. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, et al.: Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am J Transplant* 4(3): 378-83. 2004
2. Pascual M, Theruvath T, Kawai T, et al.: Strategies to improve long-term outcomes after renal transplantation. *N Engl J Med*. 346(8): 580-90. 2002
3. Billingham RE, Brent L, Medawar PB.: Actively acquired tolerance of foreign cells. *Nature*.

- 172(4379): 603–6. 1953
4. Kawai T, Cosimi AB, Colvin RB, et al.: Mixed allogeneic chimerism and renal allograft tolerance in cynomolgus monkeys. *Transplantation*. **59**(2): 256–62. 1995
 5. Slavin S, Gottlieb M, Strober S, et al.: Transplantation of bone marrow in outbred dogs without graft-versus-host disease using total lymphoid irradiation. *Transplantation*. **27**(2): 139–42. 1979
 6. Myburgh JA, Smit JA, Stark JH, et al.: Total lymphoid irradiation in kidney and liver transplantation in the baboon: prolonged graft survival and alterations in T cell subsets with low cumulative dose regimens. *J Immunol*. **132**(2): 1019–25. 1984
 7. Strober S, Dhillon M, Schubert M, et al.: Acquired immune tolerance to cadaveric renal allografts. A study of three patients treated with total lymphoid irradiation. *N Engl J Med*. **321**(1): 28–33. 1989
 8. Strober S, Benike C, Krishnaswamy S, et al.: Clinical transplantation tolerance twelve years after prospective withdrawal of immunosuppressive drugs: studies of chimerism and anti-donor reactivity. *Transplantation*. **69**(8): 1549–54. 2000
 9. Saper V, Chow D, Engleman ED, et al.: Clinical and immunological studies of cadaveric renal transplant recipients given total-lymphoid irradiation and maintained on low-dose prednisone. *Transplantation*. **45**(3): 540–6. 1988
 10. Kirk AD, Tadaki DK, Celniker A, et al.: Induction therapy with monoclonal antibodies specific for CD80 and CD86 delays the onset of acute renal allograft rejection in non-human primates. *Transplantation*. **72**(3): 377–84. 2001
 11. Kirk AD, Harlan DM, Armstrong NN, et al.: CTLA4-Ig and anti-CD40 ligand prevent renal allograft rejection in primates. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **94**(16): 8789–94. 1997
 12. Kirk AD, Burky LC, Batty DS, et al.: Treatment with humanized monoclonal antibody against CD154 prevents acute renal allograft rejection in nonhuman primates. *Nat Med*. **5**(6): 686–93. 1999
 13. Kirk AD, Preliminary results of the use of humanized anti-CD154 in human renal allotransplantation *Am J Transplant* 2001, **1**: S191
 14. Chen G, Luke PP, Yang H, et al.: Anti-CD45RB monoclonal antibody prolongs renal allograft survival in cynomolgus monkeys. *Am J Transplant*. **7**(1): 27–37. 2007
 15. Levisetti MG, Padrid PA, Szot GL, et al.: Immunosuppressive effects of human CTLA4Ig in a non-human primate model of allogeneic pancreatic islet transplantation. *J Immunol*. **159**(11): 5187–91. 1997
 16. Krieger NR, Yuh D, McIntyre WB, et al.: Prolongation of cardiac graft survival with anti-CD4Ig plus hCTLA4Ig in primates. *J Surg Res*. **76**(2): 174–8. 1998
 17. Larsen CP, Pearson TC, Adams AB, et al.: Rational development of LEA29Y (belatacept), a high-affinity variant of CTLA4-Ig with potent immunosuppressive properties. *Am J Transplant*. **5**(3): 443–53. 2005
 18. Vincenti F, Larsen C, Durrbach A, et al.: Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Engl J Med*. **353**(8): 770–81. 2005
 19. Chavez H, Beaudreuil S, Abbed K, et al.: Absence of CD4CD25 regulatory T cell expansion in renal transplanted patients treated in vivo with Belatacept mediated CD28-CD80/86 blockade. *Transpl Immunol*. **17**(4): 243–8. 2007
 20. Knechtle SJ, Vargo D, Fechner J, et al.: FN18-CRM9 immunotoxin promotes tolerance in primate renal allografts. *Transplantation*. **63**(1): 1–6. 1997
 21. Knechtle SJ, Kirk AD, Fechner JH Jr, et al.: Inducing unresponsiveness by the use of anti-CD3 immunotoxin, CTLA4-Ig, and anti-CD40 ligand. *Transplant Proc*. **31**(3B Suppl): 27S–28S. 1999

22. Calne R, Friend P, Moffatt S, et al.: Prope tolerance, perioperative campath 1H, and low-dose cyclosporin monotherapy in renal allograft recipients. *Lancet*. **351**(9117): 1701–2. 1998
23. Starzl TE, Murase N, Abu-Elmagd K, et al.: Tolerogenic immunosuppression for organ transplantation. *Lancet*. **361**(9368): 1502–10. 2003
24. Shapiro R, Basu A, Tan H, et al.: Kidney transplantation under minimal immunosuppression after pretransplant lymphoid depletion with Thymoglobulin or Campath. *J Am Coll Surg*. **200**(4): 505–15. 2005
25. Contreras JL, Wang PX, Eckhoff DE, et al.: Peritransplant tolerance induction with anti-CD3-immunotoxin: a matter of proinflammatory cytokine control. *Transplantation*. **65**(9): 1159–69 1998
26. Thomas JM, Contreras JL, Jiang XL, et al.: Peritransplant tolerance induction in macaques: early events reflecting the unique synergy between immunotoxin and deoxyspergualin. *Transplantation*. **68**(11): 1660–73. 1999
27. Kirk AD, Hale DA, Mannon RB, et al.: Results from a human renal allograft tolerance trial evaluating the humanized CD52-specific monoclonal antibody alemtuzumab (CAMPATH-1H). *Transplantation*. **76**(1): 120–9. 2003
28. Lee I, Wang L, Wells AD, et al.: Recruitment of Foxp3+ T regulatory cells mediating allograft tolerance depends on the CCR4 chemokine receptor. *J Exp Med*. **201**(7): 1037–44. 2005
29. Bashuda H, Kimikawa M, Seino K, et al.: Renal allograft rejection is prevented by adoptive transfer of anergic T cells in nonhuman primates. *J Clin Invest*. **115**(7): 1896–902. 2005
30. Starzl TE, Demetris AJ. Transplantation tolerance, microchimerism, and the two-way paradigm. *Theor Med Bioeth*. **19**(5): 441–55. 1998
31. Tomita Y, Khan A, Sykes M. Role of intrathymic clonal deletion and peripheral anergy in transplantation tolerance induced by bone marrow transplantation in mice conditioned with a nonmyeloablative regimen. *J Immunol*. **153**(3): 1087–98. 1994
32. Monaco AP, Wood ML. Studies on heterologous antilymphocyte serum in mice. VII. Optimal cellular antigen for induction of immunologic tolerance with antilymphocyte serum. *Transplant Proc*. **2**(4): 489–96. 1970
33. Thomas JM, Neville DM, Contreras JL, et al.: Preclinical studies of allograft tolerance in rhesus monkeys: a novel anti-CD3-immunotoxin given peritransplant with donor bone marrow induces operational tolerance to kidney allografts. *Transplantation*. **64**(1): 124–35 1997
34. Thomas JM, Carver FM, Kasten-Jolly J, et al.: Further studies of veto activity in rhesus monkey bone marrow in relation to allograft tolerance and chimerism. *Transplantation*. **57**(1): 101–15. 1994
35. Barber WH, Mankin JA, Laskow DA, et al.: Long-term results of a controlled prospective study with transfusion of donor-specific bone marrow in 57 cadaveric renal allograft recipients. *Transplantation*. **51**(1): 70–5. 1991
36. Ciancio G, Burke GW, Garcia-Morales R, et al.: Effect of living-related donor bone marrow infusion on chimerism and in vitro immunoregulatory activity in kidney transplant recipients. *Transplantation*. **74**(4): 488–96. 2002
37. Tryphonopoulos P, Tzakis AG, Weppler D, et al.: The role of donor bone marrow infusions in withdrawal of immunosuppression in adult liver allotransplantation. *Am J Transplant*. **5**(3): 608–13. 2005
38. Light J, Salomon DR, Diethelm AG, et al.: Bone marrow transfusions in cadaver renal allografts: pilot trials with concurrent controls. *Clin Transplant*. **16**(5): 317–24. 2002
39. Delis S, Burke GW 3rd, Ciancio G. et al.: Bone marrow-induced tolerance in the era of pancreas and islets transplantation.) *Pancreas*. **32**(1): 1–8 2006

40. Tomita Y, Khan A, Sykes M. Role of intrathymic clonal deletion and peripheral anergy in transplantation tolerance induced by bone marrow transplantation in mice conditioned with a nonmyeloablative regimen. *J Immunol.* **153**(3): 1087–98. 1994
41. Sharabi Y, Sachs DH. Mixed chimerism and permanent specific transplantation tolerance induced by a nonlethal preparative regimen. *J Exp Med.* **169**(2): 493–502. 1989
42. Kimikawa M, Sachs DH, Colvin RB, et al.: Modifications of the conditioning regimen for achieving mixed chimerism and donor-specific tolerance in cynomolgus monkeys. *Transplantation.* **64**(5): 709–16. 1997
43. Kawai T, Poncelet A, Sachs DH, et al.: Long-term outcome and alloantibody production in a non-myeloablative regimen for induction of renal allograft tolerance. *Transplantation.* **68**(11): 1767–75. 1999
44. Kawai T, Sogawa H, Boskovic S, et al.: CD154 blockade for induction of mixed chimerism and prolonged renal allograft survival in nonhuman primates. *Am J Transplant.* **4**(9): 1391–8. 2004
45. Koyama I, Nadazdin O, Boskovic S, et al.: Depletion of CD8 memory T cells for induction of tolerance of a previously transplanted kidney allograft. *Am J Transplant.* **7**(5): 1055–61. 2007
46. Spitzer TR, Delmonico F, Tolkoff-Rubin N, et al.: Combined histocompatibility leukocyte antigen-matched donor bone marrow and renal transplantation for multiple myeloma with end stage renal disease: the induction of allograft tolerance through mixed lymphohematopoietic chimerism. *Transplantation.* **68**(4): 480–4. 1999
47. Buhler LH, Spitzer TR, Sykes M, et al.: Induction of kidney allograft tolerance after transient lymphohematopoietic chimerism in patients with multiple myeloma and end-stage renal disease. *Transplantation.* **74**(10): 1405–9. 2002
48. Fudaba Y, Spitzer TR, Shaffer J, et al.: Myeloma responses and tolerance following combined kidney and nonmyeloablative marrow transplantation: in vivo and in vitro analyses. *Am J Transplant.* **6**(9): 2121–33. 2006
49. MURRAY JE, MERRILL JP, DAMMIN GJ, et al.: Study on transplantation immunity after total body irradiation: clinical and experimental investigation. *Surgery.* **48**: 272–84. 1960
50. Hayamizu K, Lan F, Huie P, et al.: Comparison of chimeric acid and non-chimeric tolerance using posttransplant total lymphoid irradiation: cytokine expression and chronic rejection. *Transplantation.* **68**(7): 1036–44. 1999
51. Lan F, Hayamizu K, Strober S. Cyclosporine facilitates chimeric and inhibits nonchimeric tolerance after posttransplant total lymphoid irradiation. *Transplantation.* **69**(4): 649–55. 2000
52. Millan MT, Shizuru JA, Hoffmann P, et al.: Mixed chimerism and immunosuppressive drug withdrawal after HLA-mismatched kidney and hematopoietic progenitor transplantation. *Transplantation* **73**(9): 1386–91. 2002
53. Millan MT Studies of tolerance and chimerism after combined blood stem cell and kidney transplantation in humans *Am J Transplant* 2005, **5**: 544
54. Spitzer TR, McAfee SL, Dey BR, et al.: Non-myeloablative haploidentical stem-cell transplantation using anti-CD2 monoclonal antibody (MEDI-507)-based conditioning for refractory hematologic malignancies. *Transplantation.* **75**(10): 1748–51. 2003

● 総 説 ●

[シリーズ：移植医療と組織適合性]

第 3 回

非血縁者間造血幹細胞移植における HLA 適合性

森島 泰雄

愛知県がんセンター中央病院 血液細胞療法部

要約：非血縁者間造血幹細胞移植では HLA 適合と言っても、HLA 遺伝子型などが異なっている場合が多い。この HLA の違いが移植免疫反応にどのように影響しているかを解析することにより、HLA の適合度の良いドナーの選択が可能になり、移植成績が向上する。ここでは、日本骨髄バンクにおける非血縁者間骨髄移植症例の解析を中心に、最近の成果につき概説する。HLA 座の違いに加えて、不適合 HLA 型の違いや HLA エピトープの急性 GVHD への効果が明らかになり、HLA 解析は新たな段階に入っている。

キーワード：非血縁者間骨髄移植，HLA，GVHD，日本骨髄バンク

1. はじめに

同種造血細胞移植は、造血器腫瘍やその他の血液疾患・免疫不全症の治療を期待できる治療法として確立されてきた。特に造血器腫瘍においてはドナー由来の免疫担当細胞による GVL (graft versus leukemia) 効果が、その治療をもたらすのに重要であると考えられている。同種移植には拒絶や GVHD (graft versus host disease) などによる非再発死亡などのリスクが伴うが、HLA が一致したドナーから移植をすることで、それらのリスクが減少する¹⁾。したがって同種造血幹細胞移植のドナーを選択する際に、第一選択となるのは HLA の完全一致した同胞であるが、同胞ドナーが得られない場合には、HLA の一致した非血縁者間骨髄移植 (UR-BMT) が腫瘍のタイプや病期によっては標準的な治療法として近年数多く施行されている^{2,3)}。日本骨髄バンク (Japan Marrow Donor Program: JMDP) が 1992 年に設立され、2006 年 12 月現在 27 万人のドナープールとな

り、7966 例の UR-BMT が JMDP を介して実施されており、2006 年には 949 例と年々その数が増加している。日本さい帯血バンクネットワークは 1997 年に設立され、2007 年 2 月までに 3598 例 (2006 年には 694 例) の非血縁者間さい帯血移植 (UR-CBT) が実施されるようになってきた。

ここでは、これら非血縁移植においてドナーと患者との組織的適合性、とくに HLA の違いが移植免疫反応にいかに関与をあたえ、患者の予後を左右しているかについて、JMDP を介した UR-BMT の成績を主に示し、最適なドナー選択のための指針となっていることを概説する。

2. 日本骨髄バンク (JMDP) における HLA 研究のあゆみとその成果

JMDP 設立と同時に厚生労働科学研究班が組織され、血清学的 HLA-A, B, DR 座が適合した移植ドナーと患者のペアにつき、HLA 遺伝子型を後方視

連絡先 〒464-8681 名古屋市千種区鹿子殿 1 番 1 号
愛知県がんセンター中央病院 血液・細胞治療部
森島 泰雄

電 話 052-762-6111
F A X 052-764-2923
E-mail ymorisim@aichi-cc.jp

的に同定し、HLA 型の違いと移植成績との関連が解析されてきた。現在までに得られた成果とこれに基づくドナー選択と HLA 検査導入につき年代順に以下にまとめた。

第 1 期 (–1996 年): 最初の 440 例のドナーと患者の HLA-A, B, C, DRA1, DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1 型が同定され、(1) HLA-A, B の遺伝子型の違いが急性 GVHD の発症頻度を高め、生存を悪くする。(2) HLA-C の違いが急性 GVHD の発症頻度を高めるが、生存には有意差は認められない。白血病の再発は HLA-C 不適合で低率になる傾向がある。(3) HLA-DRB1 は影響しないことが判明した。これらの結果は、欧米での常識を覆すものであったが、1998 年に New England Journal of Medicine 誌に掲載⁴⁾され、クラス 1 抗原の重要性を最初に示すことができた。これら結果に基づき JMDP はドナー確認検査に HLA-A, B DNA タイピングを世界に先駆けて導入した。

第 2 期 (–2000 年): 1298 例につき HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 型を解析し、HLA-C + HLA-DRB1 の 2 座不適合も生存を悪くすることが判明し、HLA-C をオプション確認検査として導入した。また、複数座の不適合、慢性 GVHD、拒絶との関連も明らかになった⁵⁾。

第 3 期 (–2002 年): 2423 例につき解析し、HLA-C 不適合の中でも NK 細胞レセプターの一つである KIR2DL のリガンド不適合が急性 GVHD の頻度をさらに高くし、生存を悪化させることが明らかになった。2005 年にはドナーの登録時検査に HLA-A, B, DRB1 の遺伝子型タイピング(蛍光ビーズ法)が導入された。

第 4 期 (–2006 年): HLA-DPB1 も同定し、急性リンパ性白血病で HLA-C 不適合が、慢性骨髄性白血病で HLA-DPB1 不適合が白血病の移植後再発を低下させることが明らかになった⁶⁾。

第 5 期 (–2007 年): 約 6000 例につき HLA-A, B, C, DRB1, DPB1, DQB1 を同定し、HLA 型不適合の組み合わせのなかに、許容できない HLA 型の組み合わせ(と許容できる組み合わせ)があることが初めて明らかになり、より詳細なドナー選択が可能になってきた⁷⁾。これら解析は他国の追従を許さないも

のになっている。

次項以降に最新の JMDP を介した UR-BMT の解析結果を示す。

3. UR-BMT における HLA 適合度

JMDP におけるドナー選択基準は原則として HLA-A, B, DR の血清型が適合したドナーで、現在では HLA-A, B, DR の血清型 1 座不適合ドナーも選択できるようになっている。

HLA 血清型の中には HLA 型が数種の遺伝子型 (genotype) に分かれる。したがって、HLA-A, B, DR 血清型適合ドナーを選択してもその遺伝子型が異なっている可能性があり、さらに、HLA-A, B, DR 座以外は適合検査の対象になっていないので、HLA-C 座、HLA-DQ 座、HLA-DP 座が異なっている可能性がある。

5210 症例の解析⁷⁾では、HLA-A, B, DR 血清型適合症例において、その遺伝型が異なるペアの割合 (GVH 方向)は HLA-A 13.4%, HLA-B 6.4%, HLA-C 29.2%, HLA-DRB1 19.6%, HLA-DQB1 22.5%, HLA-DPB1 65.7% であり、HLA-C の約 30%, HLA-DPB1 の約 45%は不適合であった。

4. HLA 座の違いが重症 GVHD 発症と生存に与える影響

上記した 5210 症例の解析結果を示す⁷⁾。T 細胞非除去 GVHD 予防法を用いた急性リンパ性白血病 1301 例、急性骨髄性白血病 1405 例、慢性骨髄性白血病 887 例、骨髄異形性症候群 597 例、悪性リンパ腫 453 例、再生不良性貧血 302 例で、多変量解析 (Cox regression model) を用い、臨床的な因子を変数として用いた解析(表 1)では、

① HLA-A, B, C の遺伝子型の違いがそれぞれ独立して重症 GVHD と生存(死亡)に関与している。

② HLA-DRB1 の遺伝子型の違いは GVHD と生存に関与していない。

③ HLA-DPB1 の違いは急性 GVHD に有意に関与しているが、生存への影響はクラス I 抗原ほどではない。

表1 JMDPにおける非血縁者間骨髄移植と HLA 座適合度との関連

HLA-A, B, DR血清型適合移植5210症例の臨床因子も含めた多変量解析の結果				
	重症急性GVHD(Ⅲ度以上)		死亡	
HLA座適合度	HR (95% CI)	p	HR (95% CI)	p
A-1 locus mismatch	1.41 (1.20-1.66)	<0.001	1.31 (1.18-1.47)	<0.001
A-2 locus mismatch	1.79 (1.03-3.13)	0.038	1.62 (1.08-2.43)	0.019
B-1 locus mismatch	1.50 (1.22-1.84)	<0.001	1.30 (1.12-1.51)	0.001
B-2 locus mismatch	1.90 (0.58-6.21)	0.282	1.44 (0.52-3.94)	0.476
C-1 locus mismatch	1.93 (1.69-2.21)	<0.001	1.25 (1.14-1.36)	<0.001
C-2 locus mismatch	1.78 (1.27-2.49)	0.001	1.40 (1.11-1.76)	0.004
DRB1-1 locus mismatch	1.08 (0.88-1.32)	0.424	1.03 (0.90-1.18)	0.624
DRB1-2 locus mismatch	1.20 (0.69-2.11)	0.507	0.96 (0.63-1.45)	0.858
DQB1-1 locus mismatch	1.10 (0.91-1.33)	0.315	1.08 (0.95-1.23)	0.195
DQB1-2 locus mismatch	1.61 (1.02-2.54)	0.040	1.33 (0.95-1.86)	0.089
DPB1-1 locus mismatch	1.25 (1.09-1.45)	0.001	1.11 (1.01-1.21)	0.021
DPB1-2 locus mismatch	1.29 (1.08-1.54)	0.005	1.09 (0.97-1.22)	0.127

5. 日本と欧米における HLA 抗原と移植成績の違い

非血縁者間骨髄移植において JMDP では上記したようにクラス I 抗原 (HLA-A, B, C) の違いが重要であるとは明らかであるが、欧米では HLA-DRB1 の違いも重要であるとの相反する成績が報告されている。これらの報告^{4,6,8-16)}を表2にまとめた。この中で2004年のBloodに発表された米国骨髄バンク(NMDP)の報告¹¹⁾では、HLAクラスIとしてHLA-Cの不適合の重要性を指摘している。この結果にもとづきNMDPではHLA-Cを確認検査に導入している。また、イギリスからHLA-DPB1の不適合の成績が最近報告されている¹⁶⁾。

2002年5月にシアトルで第13回国際組織適合性抗原ワークショップ(IHWG)が開催され、世界の25以上の骨髄バンクあるいはHLAラボが参加し2399症例のHLA遺伝子型のデータが解析された¹⁷⁾。この結果、HLA遺伝子型の違いは45%に見られた¹⁸⁾。生存率をJMDPとJMDP以外の国(主に白人)の症例に分けて解析することにより、両者ではHLAのバリエーションが異なることが明らかになった¹⁸⁾(表2)。JMDPではHLA-A座の違いが有意な因子であるのに対し、JMDP以外ではHLA-CとHLA-DRB1が有意な因子であることが示された。

日本人と欧米の白人とでは民族的にHLA抗原型が異なっており、このことが人種によるHLA座の

バリエーションの違いが生じる理由の一つであろうと考えられている。たとえば、両者で頻度の高いHLA-A2の主なDNA型を調べると、JMDPではHLA-A*0201, 0206, 0207, 0210であり、A2の遺伝子型不適合がA2血清型適合症例の45%に認められるが、non-JMDPではA2はほとんどがHLA-A*0201で0205もあるが、0206, 0207, 0210は認められない。したがって、HLA-A型の違いと言ってもJMDPとnon-JMDPではその遺伝子型の組み合わせは異なっており(表4)、このことによりGVHDなどの移植免疫反応、生存への影響が異なる可能性が考えられている。予備的な解析結果ではあるが、A*0201-A*0206の不適合の組み合わせは生存率を低下させるが、A*0201-A*0205の不適合の組み合わせでは低下させないことが判明した^{18,19)}。このように、共通の許容できる、できないHLA型不適合の組み合わせが明らかになれば、国際間の非血縁ドナー選択に役立つものと考えられる。最近、JMDP症例を用いた詳細な解析がなれたので第6,7項で紹介する。

6. 不適合 HLA 型の違いが急性 GVHD と生存に与える影響

JMDPでは第3項で示したHLA-A, B, DR血清型適合5210例につき多変量解析(Cox regression model)を実施した⁷⁾。その結果、表3に示すように

表2 非血縁者間骨髄移植と HLA 適合度に関する主な報告 (1998 年以降)

報告 文献 (年)	疾患 GVHD 予 防法	症 例 数	解析 HLA	急性 GVHD 発症 に有意な HLA	生着	生存(死亡) [再発]
Sasazuki (Ref. 4). JMDP 1998	CML AL AA etc. (n-TCD)	440	A B C DRB1 DRB3 DRB4 DRB5 DQA1 DQB1 DPA1 DPB1	A B C	not reported	A B
Morishima (Ref. 5) JMDP 2002	CML AL AA etc. (n-TCD)	1298	A B C DRB1 DQB1	A B C A/B+C A/B+DRB1 C+DRB1 A/B+C+DRB1	class I	A B A/B+C A/B+DRB1 C+DRB1 A/B+C+DRB1
Morishima (Ref. 6) JMDP 2007	AML ALL CML (n-TCD)	1790	A B C DRB1 DQB1 DPB1	A B C DPB1	KIR2DL ligand	A B DQB1 KIR2DL ligand [relapse] C DPB1
Petersdorf (Ref. 8) FHCRC 1998	CML (n-TCD)	300	A B C DRB1 DQB1	class I + II single class II (p=0.06)	multiple class I	Multiple class I C lass I + class II
Davis (Ref. 9) NMDP 2000	CML AL AA et al. (n-TCD, TCD)	5246	A* B* DRB1		DRB1, A*/B*	
Petersdorf (Ref. 10) NMDP 2001	CML (n-TCD, TCD)	831	A* B* DRB1 DQA1 DQB1 DPA1 DPB1	DRB1 in A* and B* match 1CP case	no associations	DRB1
Flomenberg (Ref. 11) NMDP 2004	CML AL AA et al. (n-TCD, TCD)	1874	A B C DRB1 DQA1 DQB1 DPA1 DPB1	A B* DRB1	Not reported	A B* C DRB1 DRB1+class I
Petersdorf (Ref. 12) FHCRC 2001	CML (n-TCD)	471	A B C DRB1 DQB1 DPB1	not reported	Class I single antigen (not single allele)	not reported
Petersdorf (Ref. 13) FHCRC 2001	CML (n-TCD)	205	A B C DRB1 DQB1 match DPB1	2DPB1		
Loiseau (Ref. 14) France 2002	AL CML AA etc. (n-TCD; CD34**)	57	A B C DRB1 DQB1 DPB1 DRB3	2 DPB1 mismatch	not reported	2 DPB1 mismatch
Shaw (Ref. 15) UK 2003	CML AL etc. (TCD)	143	A B C DRB1 DQB1 match DPB1	DPB1	no association	DPB1
Shaw (Ref. 16) UK 2006	(TCD)	423	A B C DRB1 DQB1 DPB1	DPB1		DPB1 [relapse] DPB1

*serological type **CD34positive selection n-TCD: non-T cell depletion

HLA-A で 4 組, HLA-B で 1 組, HLA-C で 7 組, HLA-DRB1 で 1 組, DRB1/DQB1 で 1 組, HLA-DPB1 で 2 組の HLA 不適合な組み合わせが適合症例に比べ重症 GVHD を有意に ($p < 0.005$) 高めていることが明らかになった。

これらの組み合わせを仮に許容できない HLA 不適合組み合わせとすると, この許容できない組み合わせを有する症例と, HLA 不適合な組み合わせを有するが許容できないものではない症例 (zero nonpermissive mismatch), HLA が完全適合の症例とに分

表3 HLA 適合度と移植後の死亡リスクの国際間比較
(13th International Histocompatibility Working Group での解析¹⁷⁾)

Match Status (n)	HR	95% CI	p-value
<i>JMDP</i>			
Matched (264)	1	---	---
Single A (86)	1.53	1.11-2.11	<.0001
Single C (82)	1.03	0.73-1.46	.96
<i>Non-JMDP</i>			
Matched (817)	1	---	---
Single A (99)	1.08	0.80-1.46	.61
Single B (57)	1.52	1.07-2.16	.02
Single C (257)	1.52	1.26-1.84	<.0001
Single DRB1 (29)	1.72	1.10-2.70	.02
Single DQB1 (65)	1.36	0.96-1.91	.06

けて重症 GVHD 発症曲線と移植後の生存曲線を図1に示した。Zero nonpermissive mismatch の急性 GVHD 発症率と生存率は完全適合症例と比べ有意差が認められなかった。One nonpermissive mismatch と Two or more nonpermissive mismatch では完全適合症例に比べ明らかに重症 GVHD の頻度は高く、生存率は低下していた。

HLA 型不適合ドナーを選択する場合、上記した許容できない HLA 型の組み合わせのドナーを避けることにより重症 GVHD の発症を抑えることができるようになってきた。今後、HLA 不適合でも許容できる HLA 型の組み合わせを明らかにすることで、移植可能なドナーを増加させることが可能になる。

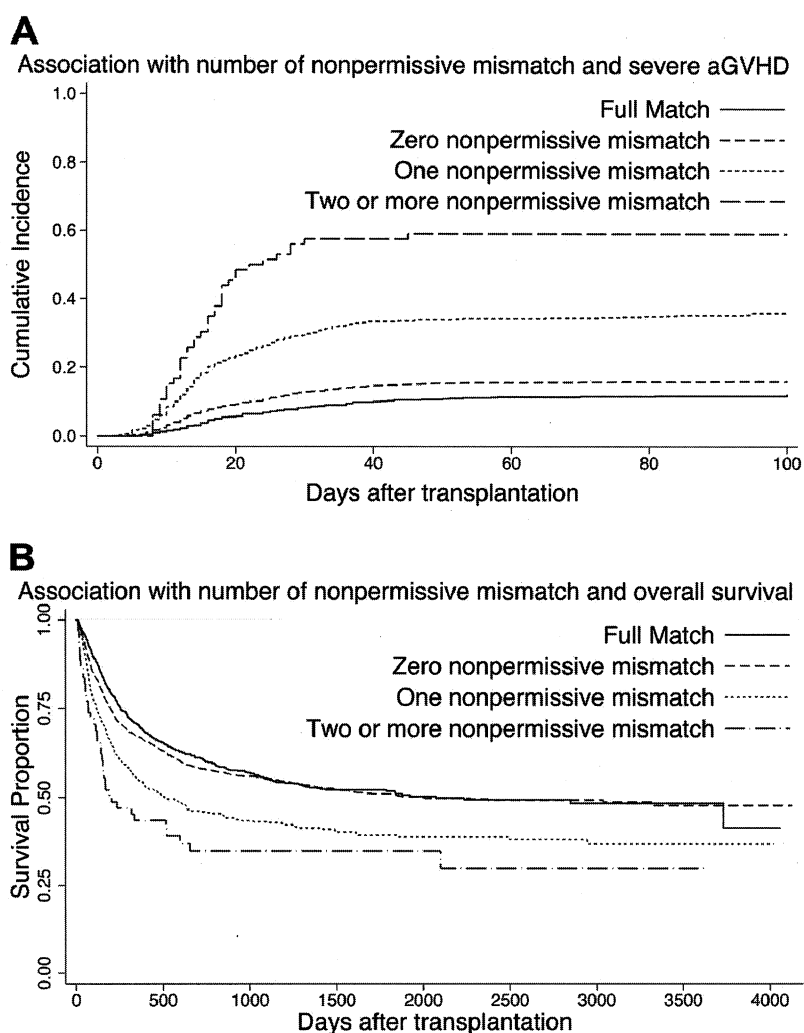


図1 重症 GVHD ハイリスクな組み合わせ (nonpermissive mismatch) の数と移植成績

表4 HLA-A2 不適合遺伝子型の組み合わせの国際間比較
(13th International Histocompatibility Working
Group での解析¹⁸⁾)

Mismatched Alleles	JMDP	non- JMDP
0201-0206	44	5
0201-0207	10	
0201-0210	2	
0206-0207	6	
0206-0210	3	
0201-0202		2
0201-0205		13
0220-0201		1

表6 HLA クラス I 抗原分子のアミノ酸置換部位と重症
GVHD のリスクの多変量解析結果

アミノ酸置換と その部位 (ドナー-患者)	HS*	N	Event	HR** (95% CI)	P
HLA-A locus					
Tyr9A-Phe9A	4.1	163	64	1.66 (1.19-2.32)	.003
Asn116A-Asp116A	0	32	15	2.25 (1.26-4.01)	.005*
HLA-C locus					
Tyr9C-Ser9C	0.5	146	59	1.66 (1.23-2.25)	.001
Asn77C-Ser77C	2.7	205	90	1.87 (1.46-2.39)	< .001
Lys80C-Asn80C	0.4	205	90	1.87 (1.46-2.39)	< .001
Tyr99C-Phe99C	4.1	146	59	1.64 (1.21-2.22)	.001
Leu116C-Ser116C	4.6	53	30	3.40 (2.20-5.25)	< .001
Arg156C-Leu156C	8.3	251	88	1.48 (1.15-1.90)	.002

*HS:hydropathy scale. **HR:hazard ratio

7. 急性 GVHD に関与する HLA エピトープの同定

HLA 型不適合な組み合わせでは、ドナーと患者で HLA 分子のアミノ酸の位置とアミノ酸の種類が数箇所異なっている。この異なりを第5項と同様の症例を用いて多変量解析することにより HLA-A, C 分子上の特定の部位の特定のアミノ酸の違いがあると重症 GVHD が高率に生じることが明らかになった。表6にその結果を、図2に HLA 上の位置を示した。

HLA エピトープの大規模な解析は JMDP 以外見られていないが、Ferrara らは、アミノ酸は同定していないが、HLA クラス I 抗原の position 116 の置換が急性 GVHD のリスクを高めることを報告して

表5 重症 GVHD ハイリスクな HLA 型の組み合わせ

Mismatch combination, N (donor-patient)	HR (95% CI)	P
A0206-A0201	131 1.78 (1.32-2.41)	< .001
A0206-A0207	27 3.45 (2.09-5.70)	< .001
A2602-A2601	21 3.35 (1.89-5.91)	< .001
A2603-A2601	35 2.17 (1.29-3.64)	.003
B1501-B1507	19 3.34 (1.85-5.99)	< .001
C0303-C1502	25 3.22 (1.75-5.89)	< .001
C0304-C0801	69 2.34 (1.55-3.52)	< .001
C0401-C0303	42 2.81 (1.72-4.60)	< .001
C0801-C0303	80 2.32 (1.58-3.40)	< .001
C1402-C0304	23 3.66 (2.00-6.68)	< .001
C1502-C0304	27 3.77 (2.20-6.47)	< .001
C1502-C1402	50 4.97 (3.41-7.25)	< .001
DR0405-DR0403	53 2.13 (1.28-3.53)	.003
(DR1403-DQ0301)	19 2.81 (1.44-5.51)	.002
-(DR1401-DQ0502)		
DP0301-DP0501	49 2.41 (1.49-3.89)	< .001
DP0501-DP0901	71 2.03 (1.30-3.16)	.002

HR indicates hazard ratio; CI, confidence interval.

いる²⁰⁾。T 細胞の認識機構の基本である HLA 分子のアミノ酸配列や minor HA などのペプチドとの結合など分子レベルで解析することにより^{21, 22)}, HLA 不適合移植における急性 GVHD 発症の機序の解明に役立つものと考えられる。

2008 年9月にブラジルで開催される International Histocompatibility Working Group on Hematopoietic Cell Transplantation では JMDP 以外の UR-HSCT 症例も含めてこのエピトープ解析が計画されており、JMDP で得られた結果が non-JMDP 症例でも確認できるかが検討される。

8. NK 細胞受容体リガンド適合度が移植免疫反応に与える影響

HLA 不適合の移植免疫反応への影響のなかにヒト

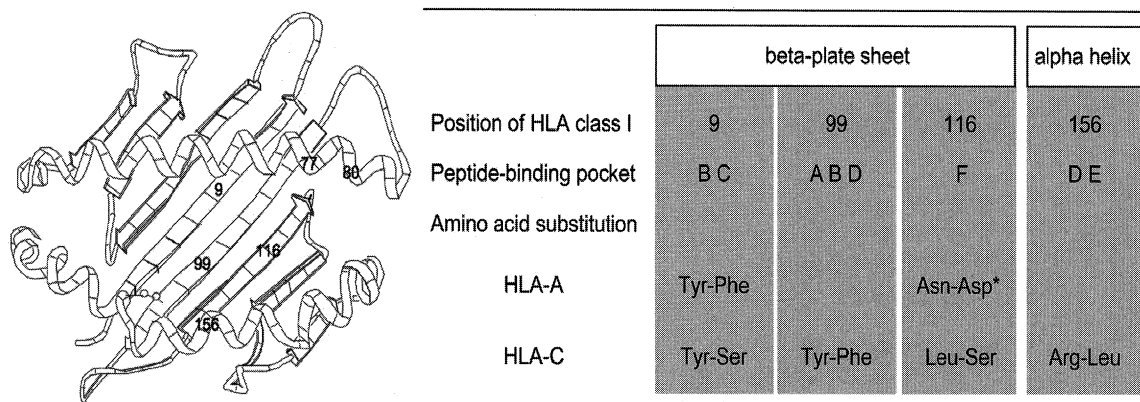


図2 重症 GVHD を生じる HLA 分子上のアミノ酸置換部位

の NK 細胞受容体が関与していることが明らかになってきた²³⁾。NK 細胞受容体の一部ではそのリガンド(結合部位)が HLA 抗原 (HLA-C や HLA-B など)の決められたエピトープであることが判明している^{24, 25)}。このため、同種移植では HLA 型が不適合な組み合わせで、NK 細胞を介した移植免疫反応が生じ、移植に影響を与える可能性が考えられた²⁶⁾。当初、イタリアからの HLA ハプロタイプ不適合ドナーからの純化造血幹細胞移植において NK 細胞受容体リガンド不適合 AML 症例で GVL 効果が認められるとの報告²⁷⁾以降、NK 細胞受容体と移植に関する報告が数多くなされている。非血縁者間造血幹細胞移植症例でも、JMDP や欧米の骨髄バンクなどから報告がなされているが、急性 GVHD や再発、生存に関するデータには相違が見られており、現在その違いが何によって生じているのかが議論になっている。

ここでは、JMDP を介した UR-BMT における KIR2DL リガンド適合度の解析結果⁶⁾を示す(表4)。T 細胞除去法を用いない白血病症例で HLA-A, B, DR 血清学的適合ドナーからの 1790 例の HLA 型不適合度と臨床データを変量とした多変量解析の結果では、GVH 方向の KIR2DL のリガンド不適合は明らかに急性 GVHD の頻度を高めていた。不適合の 2-4 度の急性 GVHD のリスクは、適合にくらべて 1.70 ($p < 0.001$)であり、3-4 度の重症 GVHD のリスクは 2.35 ($p < 0.001$)であった。HLA-C 不適合症例に限った解析でも、KIR2DL リガンド不適合の重症急性 GVHD 発症率は 40.3% とリガンド適合症

例の 25.8% に比べ有意に ($p = 0.011$) 高かった。

白血病の再発は、KIR2DL リガンドの不適合があると、ALL では再発率が高くなり、AML と CML では適合と不適合との間に差が認められていない。

拒絶は、KIR2DL が拒絶方向に不適合の場合、2 次的生着不全、すなわち生着後の拒絶のリスクは、不適合例は適合例に比べ 4.39 ($p = 0.012$) と有意に高かった(表4)。1 次的生着不全と適合度は関連がなかった。

移植後の生存は、KIR2DL リガンド不適合 (GVH 方向)症例の移植後の死亡リスクは適合に比し 1.80 と有意に高かった。

JMDP の最新の解析²⁷⁾では、上記急性 GVHD の結果は GVHD 予防法で ATG の使用の有無やドナーが活性型 KIR2DS を有するかどうかの影響していることが判明しており、海外の解析結果の違いの一部がこれで説明できると考えられる。

9. おわりに

非血縁者間移植における HLA 適合に関する解析で得られた成果は、骨髄バンクを介したドナー選択と GVHD 予防法などの移植法の選択に生かされている。今後、上記した JMDP の HLA 型の不適合な組み合わせが、許容できない組み合わせであるのか、許容できる組み合わせであるかを、急性 GVHD だけでなく、生存や GVL で検証することが必要であり、このためにはさらに多数例の解析がなされなければならない。また、国際間の比較も重要であろう。

非血縁者間移植の同様な解析は、HLA のバリアー

表7 HLA 座とNK細胞レセプター KIR2DL リガンド適合度が急性GVHD、慢性GVHD および拒絶（2 次的生着不全）に与える影響（JMDP 白血病 1790 症例の多変量解析結果）

	acute GVHD (gr.2-4) (n=1751)			acute GVHD (gr.3-4) (n=1751)			chronic GVHD (n=1109)			rejection (n=1664)		
	HR*	95% CI	p-value	HR	95% CI	p-value	HR	95% CI	p-value	HR	95% CI	p-value
HLA-A	1.22	(1.02-1.46)	0.034	1.44	(1.11-1.86)	0.006	1.41	(1.08-1.85)	0.013	0.72	(0.24-2.14)	0.555
HLA-B	1.43	(1.28-1.82)	0.003	1.40	(1.00-1.95)	0.05	1.00	(0.65-1.52)	0.991	1.16	(0.32-4.16)	0.82
HLA-C	1.29	(1.08-1.55)	0.006	1.39	(1.06-1.83)	0.017	1.38	(1.07-1.78)	0.014	1.87	(0.72-4.86)	0.201
HLA-DRB1	1.15	(0.90-1.47)	0.254	1.09	(0.77-1.54)	0.644	0.91	(0.63-1.31)	0.607	0.49	(0.10-2.33)	0.366
HLA-DQB1	1.02	(0.81-1.29)	0.871	1.13	(0.81-1.59)	0.465	1.20	(0.85-1.69)	0.288	0.62	(0.07-5.16)	0.536
HLA-DPB1	1.39	(1.19-1.63)	<0.001	1.26	(1.00-1.60)	0.053	0.86	(0.70-1.05)	0.138	1.08	(0.59-2.41)	0.843
KIR2DL-G**	1.70	(1.28-2.26)	<0.001	2.35	(1.62-3.40)	<0.001	1.13	(0.68-1.87)	0.64	0.62	(0.07-5.16)	0.655
KIR2DL-R***	1.04	(0.77-1.42)	0.78	1.33	(0.88-2.02)	0.18	0.88	(0.55-1.42)	0.603	4.39	(1.38-13.96)	0.012
* Hazard ratio of mismatch with match as a reference adjusted for patient age, donor age, sex-matching, disease, GVHD prophylaxis, total body irradiation, transplanted cell dose, risk status and other matching status of HLA and KIR ligand.												
HLA matching in GVH direction for acute GVHD and chronic GVHD, and HLA matching in HVG direction for rejection.												
** KIR2DL ligand mismatching in GVH direction.												
*** KIR2DL ligand mismatching in HVG direction.												

が異なると考えられる非血縁臍帯血移植の成績向上のために不可欠なものであろう。

さらに、HLA 以外の組織適合性抗原などの同種細胞免疫反応への関与の研究も精力的に進められている。JMDP のデータと試料を用いたマイクロサテライト解析、サイトカインレセプターの多型解析や whole genome SNPs 解析が進行中であり、その結果が期待される。

参考文献

1. GVHD 予防・治療マニュアル。森島泰雄(編)南光堂 2005 年 10 月。
2. Kodaera Y, Morishima Y, Kato S, et al. Analysis of 500 bone marrow transplants from unrelated donors (UR-BMT) facilitated by the Japan Marrow Donor Program: confirmation of UR-BMT as a standard therapy for patients with leukemia and aplastic anemia. Bone Marrow Transplant 1999; 24: 995-1003.
3. Kernan NA, Bartsch G, Ash RC, et al. Analysis of 462 transplantations from unrelated donors facilitated by the National Marrow Donor Program. N Engl J Med 1993; 328: 593-602.
4. Sasazuki T, Juji T, Morishima Y, et al. Effect of matching of class I HLA alleles on clinical outcome after transplantation of hematopoietic stem cells from an unrelated donor: Japan Marrow Donor Program. N Engl J Med 1998; 339: 1177-1185.
5. Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, et al. The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors. Blood 2002; 99: 4200-4206.
6. Morishima Y, Yabe T, Matsuo K, et al. Effects of HLA allele and killer immunoglobulin-like receptor ligand matching on clinical outcome in leukemia patients undergoing transplantation with T-cell-replete marrow from an unrelated donor. Biol Blood Marrow Transplant 2007; 13:

- 315–328.
7. Kawase T, Morishima Y, Matsuo K, et al. High-risk HLA allele mismatch combinations responsible for severe acute graft-versus-host disease and implication for its molecular mechanism. *Blood* 2007, 110: 2235–2242.
 8. Petersdorf EW, Gooley TA, Amasetti C, et al. Optimizing outcome after unrelated marrow transplantation by comprehensive matching of HLA class I and II alleles in the donor and recipient. *Blood* 92: 3515–3520, 1998.
 9. Davies SM, Kollman C, Anasetti C, et al. Engraftment and survival after unrelated-donor bone marrow transplantation: a report from the National Marrow Donor Program. *Blood* 96: 4096–4102, 2001.
 10. Petersdorf EW, Kollman C, Hurley CK, et al. Effect of HLA class II gene disparity on clinical outcome in unrelated donor hematopoietic cell transplantation for chronic myeloid leukemia: the US National Marrow Donor Program Experience. *Blood* 98: 2922–2929, 2001.
 11. Flomenberg N, Baxter-Lowe LA, Confer D, et al. Impact of HLA-class I and class II high resolution matching on outcomes of unrelated donor BMT. *Blood* 104: 1923–1930, 2004.
 12. Petresdorf EW, Hansen JA, Martin PJ, et al. Major-histocompatibility-complex class I alleles and antigens in hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* 345: 1794–1800, 2001.
 13. Petersdorf EW, Gooly T, Malkki M, et al. The biological significance of HLA-DP gene variation in haematopoietic cell transplantation. *Brit J Haematol* 2001, 112: 988–994.
 14. Loiseau P, Esperou H, Busson M, et al. DPB1 disparities contribute to severe GVHD and reduced patient survival after unrelated donor bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002, 30: 497–502.
 15. Shaw BE, Potter MN, Mayor NP, et al. The degree of matching at HLA-DPB1 predicts for acute graft-versus-host disease relapse following haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2003, 31: 1001–1008.
 16. Shaw BE, Marsh SGE, Mayer NP, et al. HLA-DPB1 matching status has significant implications for recipients of unrelated donor stem cell transplants. *Blood* 2006, 107: 1220–1226.
 17. Petersdorf EW, Gooley T, Malkki M, et al. Impact of donor-recipient HLA matching on survival after myeloablative hematopoietic cell transplantation from unrelated donor. J. Hansen ed. *Immunology of the Human MHC. Vol. I* IHWG Press, Seattle, P1336–1350, 2007.
 18. Morishima Y, Tanaka T, Malkki M, et al. HLA-A2 allele compatibility and its effect to clinical outcome in hematopoietic cell transplantation (HCT) from unrelated donors.: Analysis of HCT component in the 13th International Histocompatibility Workshop. J. Hansen ed. *Immunology of the Human MHC. Vol. I* IHWG Press, Seattle, P1336–1350, 2007.
 19. Morishima Y, Kawase T, Malkki M, et al. Effect of HLA-A2 allele disparity on clinical outcome in hematopoietic cell transplantation from unrelated donors. *Tissue Antigens* 69 (Suppl 1): 25–30, 2007.
 20. Ferara GB, Bacigalupo A, Lamparelli T, et al. Bone marrow transplantation from unrelated donors: the impact of mismatches with substitutions at position 116 of the human leukocyte antigen class I heavy chain. *Blood* 98, 3150–3155, 2001.
 21. Zino E, Frumento G, Marktel S, et al. A T-cell epitope encoded by a subset of HLA-DPB1 alleles determines nonpermissive mismatches for hematologic stem cell transplantation. *Blood* 2004; 103: 1417–1424.
 22. Fleischhauer K, Locatelli F, Zecca M, et al. Graft rejection after unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation for thalassemia is associated with nonpermissive HLA-DPB1 disparity in host-versus-graft direction. *Blood* 2006; 107:

- 2984–2992.
23. 森島泰雄. 同種造血幹細胞移植における KIR リガンドの意義. 血液・腫瘍科 55 巻 6 号(平成 19 年).
24. Moretta L and Moretta A. Killer immunoglobulin-like receptors. *Curr Opin Immunol.* 2004; 16: 626–633.
25. Parham P. MHC class I molecules and KIRs in human history, health and survival. *Nature Rev Immunol.* 2005; 5: 201–214.
26. Dupont B and Hsu KC. Inhibitory killer Ig-like receptor genes and human leukocyte antigen class I ligand in hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Immunol.* 2004; 16: 634–643.
27. Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science.* 2002; 295: 2097–2100.
28. Yabe T, Matsuo K, Hirayasu K, et al. Donor killer immunoglobulin-like receptor (KIR) genotype-patient cognate KIR ligand combination and antithymocyte globulin preadministration are critical factors in outcome of HLA-C-KIR ligand-mismatched T cell-replete unrelated bone marrow transplantation. *Biol. Blood Marrow Transplant.* (in press)

日本組織適合性学会
平成 18 年度 決算報告書

自 平成 18 年 4 月 1 日
至 平成 19 年 3 月 31 日

(収入の部)	予 算	決 算	差 異
会 員 年 会 費	3,500,000	3,469,000	-31,000
寄 付		30,000	30,000
学 会 誌 広 告 費	1,000,000	580,000	-420,000
学 会 誌 販 売 等	100,000	113,289	13,289
学 会 誌 掲 載 料		255,449	255,449
利 息	30	337	307
当 期 収 入 合 計	4,600,030	4,448,075	-151,955
前 年 度 繰 越 金	1,779,741	1,779,741	0
収 入 合 計	6,379,771	6,227,816	-151,955

(支出の部)	予 算	決 算	差 異
大 会 援 助 金	1,000,000	1,000,000	0
学 会 誌 作 成 費	2,700,000	2,701,777	-1,777
学 術 奨 励 賞 金	205,000	200,643	4,357
倫 理 委 員 会	100,000	3,927	96,073
旅 費	100,000	0	100,000
事 務 局 費	300,000	368,000	-68,000
事 務 費	150,000	186,477	-36,477
当 期 支 出 合 計	4,555,000	4,460,824	94,176
次 期 繰 越 金	1,824,771	1,766,992	-57,779
支 出 合 計	6,379,771	6,227,816	-151,955
当 期 収 支 差 額	45,030	-12,749	-57,779

(繰越内訳 振替口座: 1,487,271 普通預金: 213,319 現金: 66,402)

平成 18 年度日本組織適合性学会会計を監査し、適正であったことを認めます。

平成 19 年 8 月 22 日 日本組織適合性学会 監事 笹月 健彦
 日本組織適合性学会 監事 十字 猛夫

日本組織適合性学会
平成 18 年度 認定制度決算報告書

自 平成 18 年 4 月 1 日
至 平成 19 年 3 月 31 日

(収入の部)	予 算	決 算	差 異
QC ワークショップ	400,000	482,000	82,000
講 習 会	150,000	228,000	78,000
申 請 料	100,000	90,000	-10,000
利 息	30	242	212
当 期 収 入 合 計	650,030	800,242	150,212
前 年 度 繰 越 金	3,611,549	3,611,549	0
収 入 合 計	4,261,579	4,411,791	150,212

(支出の部)	予 算	決 算	差 異
QC ワークショップ	300,000	86,120	213,880
事 業 経 費	250,000	263,470	-13,470
実技研修費委託費	50,000	0	50,000
会 場 費	100,000	0	100,000
講 師 費	100,000	0	100,000
技 術 奨 励 賞 金	100,000	100,000	0
旅 費	150,000	141,100	8,900
学 会 誌 掲 載 料		255,449	-255,449
事 務 局 費	200,000	216,000	-16,000
事 務 費	60,000	53,143	6,857
当 期 支 出 合 計	1,310,000	1,115,282	194,718
次 期 繰 越 金	2,951,579	3,296,509	-344,930
支 出 合 計	4,261,579	4,411,791	-150,212
当 期 収 支 差 額	-659,970	-315,040	344,930

(繰越内訳 振替口座：3,058,496 普通預金：230,880 現金：7,133)

平成 18 年度日本組織適合性学会認定制度会計を監査し、適正であったことを認めます。

平成 19 年 8 月 22 日 日本組織適合性学会 監事 笹月 健彦
 日本組織適合性学会 監事 十字 猛夫

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 Takao¹⁾, Akira Tsujimura¹⁾, Masaharu Sada²⁾, Reiko Goto²⁾, Minoru Koga³⁾, Yasushi Miyagawa¹⁾, Kiyomi Matsumiya¹⁾, Kazuhiko Yamada²⁾, Shiro Takahara¹⁾

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

- 1) 国立循環器病センター臨床検査部
- 2) 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」、「参考文献」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, μ 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, μ 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, Abbal 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〉

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

新しいMHCをお届けする。この後記を書き始めようと思ったら、第15回国際組織適合性ワークショップまであと10ヶ月、というメールが届いた。光陰に閑守なし、というが、前回メルボルンでの新知見さえまだ十分に掌握できていないというのに、あっという間に今度は太平洋とアンデス山脈を越えてブラジルはブジオスに集合の号令である。それにしても、国際会議としては家庭的ともいえる規模のミーティングであるにもかかわらず、そのプログラムの充実振りにはいつも圧倒されてしまう。さて本号では、第17回大会、第6回近畿地方会の概要を掲載した。両会とも、大きなアジェンダとして、移植医療における実際的な組織適合性の問題を取り扱う予定となっており、国際ワークショップと同様に、基礎研究者と臨床実地家との有機的学際的融合を可能とするプラットフォームとして、ますます発展していくことが強く期待されている。連載シリーズも力作の目白押しであり、組織適合性に関心を持つ者にとって無二の情報源として、本誌がさらに多くの愛読者を獲得していくことを祈念する。

一戸 辰夫

「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

2008年1月31日発行 14巻3号, 2008

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