

# MHC

日本組織適合性学会誌

## Major Histocompatibility Complex

Vol. 16 No. 1, 2009

### Contents

日本組織適合性学会からのお知らせ

第 18 回日本組織適合性学会大会のご案内.....	1
平成 21 年度・認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ.....	5
組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿 (2009).....	6

第 12 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, 石井博之, 石井博之, 安波道郎, 田中秀則, 中島文明, 寺木佳子, 佐藤一弘, 宮崎 孔, 田中秀則, 佐藤 壯, 高陽 淑	7
--------------------------------	--	---

[シリーズ: 患者と組織適合性]

第 3 回

ナルコレプシー.....	宮川 卓, 徳永勝士	39
--------------	------------	----

第 7 回日本組織適合性学会・近畿地方会抄録集.....	49
日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定.....	79
編集後記.....	82

● Contents ●

日本組織適合性学会誌 第 16 巻第 1 号 平成 21 年 4 月 30 日発行

日本組織適合性学会からのお知らせ

第 18 回日本組織適合性学会大会のご案内	1
平成 21 年度・認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ	5
組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿 (2009)	6

第 12 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, 石井博之, 石井博之, 安波道郎, 田中秀則, 中島文明, 寺木佳子, 佐藤一弘, 宮崎 孔, 田中秀則, 佐藤 壯, 高陽 淑	7
---------------------------	--	---

[シリーズ: 患者と組織適合性]

第 3 回

ナルコレプシー	宮川 卓, 徳永勝士	39
---------	------------	----

第 7 回日本組織適合性学会・近畿地方会抄録集	49
日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定	79
編集後記	82

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

JSHI

## 日本組織適合性学会誌 MHC 編集委員会

### 編集委員長

高原 史郎 大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学

### 編集委員

赤座 達也 特定非営利活動法人 HLA 研究所  
一戸 辰夫 京都大学医学部附属病院血液腫瘍内科  
江川 裕人 京都大学医学部附属病院臓器移植医療部  
木村 彰方 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野  
佐治 博夫 特定非営利活動法人 HLA 研究所  
佐田 正晴 国立循環器病センター研究所再生医療部移植外科  
下嶋 典子 奈良県立医科大学細菌学教室  
椿 和央 近畿大学医学部奈良病院血液免疫内科  
成瀬 妙子 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野  
難波 行臣 医誠会病院腎臓内科

### 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 藤田保健衛生大学医学部臓器移植再生医学講座  
千住 覚 熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学分野  
田中 秀則 東京都赤十字血液センター検査部  
田邊 一成 東京女子医科大学泌尿器科  
徳永 勝士 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野  
中島 文明 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部  
永尾 暢夫 神戸常盤短期大学衛生技術科  
西村 泰治 熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学講座  
平山 謙二 長崎大学熱帯医学研究所環境医学部門疾病生態分野  
森島 泰雄 愛知県がんセンター中央病院  
安波 道郎 長崎大学熱帯医学研究所国際連携研究戦略本部  
屋部登志雄 東京都赤十字血液センター製剤部

## 第 18 回日本組織適合性学会大会のご案内

第 18 回日本組織適合性学会大会  
大会長 森島 泰雄  
(愛知県がんセンター中央病院)

皆様におかれましては益々ご清祥のこととお喜び申し上げます。

第 18 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「HLA Revisited」をテーマに、MHC 研究の最新の進歩とその臨床応用について討議し、MHC の展望を見据えたいと考えております。組織適合性の基礎・臨床に関わる多数の方々のご参加をお待ちいたしております。

会 期: 2009 年 9 月 25 日 (金)～9 月 27 日 (日)

会 場: 名古屋国際会議場  
〒456-0036 名古屋市熱田区熱田西町 1-1  
TEL: 052-683-7711  
<http://www.ncvb.or.jp/ncc/>

### [大会ホームページ]

<http://www.congre.co.jp/jshi18/> ※一般演題にご応募する方は、必ずご覧ください。

### [大会内容 (予定)]

特別講演 1 「Hematopoietic stem cell transplantation and histocompatibility」  
Effie Petersdorf, M.D (Fred Hutchison Cancer Research Center)

特別講演 2 「HLA antibody and organ transplantation (仮題)」  
Paul Terasaki, M.D (Terasaki Foundation)

シンポジウム 1 「造血幹細胞移植と組織適合性抗原」

シンポジウム 2 「HLA Revisited」

シンポジウム 3 「移植医療における抗体検査の重要性」

一般演題, 2009 年度学術奨励賞発表

QC ワークショップ集会, 教育講演 (認定技術者講習会)

ランチョンセミナー, モーニングセミナー

[一般演題募集要項]

1. 発表形式

口演またはポスターでの発表です。

発表形式(口演またはポスター)の決定に関しては、プログラム委員会にご一任ください。

2. 応募資格

筆頭演者は本学会員であることが必要です。

非学会員の方は、日本組織適合性学会ホームページ (<http://jshi.umin.ac.jp/>) から入会手続きを行ってください。

3. 申込方法

1) 演題の申し込みは E-mail でのみ受け付けます。

・ E-mail の件名は「18JSHI 一般演題」としてください。

・ ①演題申込書, ②抄録の2つのファイルを添付し, [jshi18@congre.co.jp](mailto:jshi18@congre.co.jp) 宛にお送りください。

2) 演題申込書ファイルの作成

・ 第18回日本組織適合性学会大会ホームページ ([www.congre.co.jp/jshi18/](http://www.congre.co.jp/jshi18/)) から「演題申込書」をダウンロードし, 必要事項(演題カテゴリー番号, 演題名, 演者, 所属, 代表者の連絡先住所, 電話番号, FAX, E-mail アドレス)を記載してください。

・ ファイル名は「応募者演題申込書.xls」としてください。(例 森島 泰雄演題申込書.xls)

・ 演題カテゴリー(それぞれ基礎および臨床を含みます)

番号	カテゴリー
1	臓器移植
2	造血幹細胞移植
3	細胞・組織移植
4	再生医療
5	疾患
6	免疫
7	技術・方法
8	疫学・統計解析
9	動物 MHC
10	その他

3) 抄録形式

・ 抄録は, Microsoft Office の Word 形式で保存し, ファイル名は, 「応募者抄録.doc」としてください。(例 森島 泰雄抄録.doc)

・ 下記の記載例をご参照の上, 「演題名, 演者, 所属, 本文」の順で記載してください。

➢ 演者は, 発表者に○印を付けてください。また, 各演者名の後に上付き文字で所属番号を入れてください。

➢ 所属の正式名称が長い場合は, 省略所属名で記載してください。

➢ 本文は, MS 明朝 11 ポイントで作成してください。

800 文字以内を厳守し、目的、方法、結果考察などに分類して記載してください。

英数字は半角文字を使用し、2 文字で 1 字とします。

(ご注意)

ご本人が入力したデータをそのまま抄録集に使用しますので、タイプミスがあってもそのまま印刷されます。ご注意ください。

抄録の修正は、締切日以降に受け付けすることができませんので、ご注意ください。

・抄録 記載例

## 腎移植後の抗体関連型拒絶反応に対する IVIG 療法

○森島 泰雄<sup>1)</sup>, □□ □□<sup>2)</sup>, □□ □□<sup>2)</sup>, □□ □□<sup>3)</sup>, □□ □□<sup>3)</sup>

1) 愛知県がんセンター中央病院血液・細胞療法部, 2) □□□□大学□□学, 3) □□□□大学□□学

[目的] Flow cytometry crossmatch (FCXM) や FlowPRA を腎移植 . . .

[方法] 移植前に FCXM, FlowPRA により既存抗体陽性症例に . . . . .

[結果] HLA-DP 抗体症例を機能廃絶群と機能維持群にわけ . . . . .

[考察] IVIG または Rituximab を移植前に投与すれば AMR を . . . . .

#### 4. 演題申込締切

**2009 年 5 月 29 日 (金) 必着**

締め切り延長などは、第 18 回日本組織適合性学会大会ホームページおよび日本組織適合性学会ホームページで随時更新します。

#### 5. 演題受理通知および採択通知

演題受付後 7 日以内に、E-mail にて演題受理を通知いたします。

演題発表形式 (口演/ポスター) および発表日時につきましては、2009 年 8 月上旬頃に、E-mail にて連絡代表者へ通知いたします。

#### [参加登録費]

理事・評議員	会員
¥10,000	¥8,000

本大会では事前参加登録を行いませんので、大会当日に参加受付にてお支払いください。

#### [懇親会]

日 時: 2009 年 9 月 26 日 (土) 19:00~(予定)

会 場: 名古屋国際会議場 7 階 「パステル」

参加費: ¥2,000

多数のご参加をお待ちしております。

**[宿泊・交通のご案内]**

本大会の宿泊・交通に関しましては、各自でご手配をお願いいたします。

**[2009年度学術奨励賞]**

第18回日本組織適合性学会大会の一般演題に応募された中から、特に優秀と認められた演題の筆頭演者に学術奨励賞が授与されます。応募希望者は別途の手続きが必要です。詳細は日本組織適合性学会ホームページおよびMHC誌 Vol. 15 No. 3に掲載されている「2009年度学術奨励賞の募集について」をご参照ください。

**[大会事務局]**

〒464-8681 名古屋市千種区鹿子殿 1-1  
愛知県がんセンター中央病院 血液・細胞療法部 内  
第18回日本組織適合性学会大会 大会事務局  
TEL: 052-762-6111 (代表) 内線 3003 FAX: 052-764-2923  
E-mail: jshi18@aichi-cc.jp

**[運営事務局]** (演題登録、運営に関するお問い合わせ先)

〒460-0004 名古屋市中区新栄町 2-13 栄第一生命ビルディング 8F  
株式会社コングレ 中部支社 内  
第18回日本組織適合性学会大会 運営事務局  
TEL: 052-950-3369 FAX: 052-950-3370  
E-mail: jshi18@congre.co.jp

**組織適合性検査技術者認定制度**  
**平成 21 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 21 年 9 月 26 日（土曜日）9 時～11 時

場 所：名古屋国際会議場（名古屋市熱田区熱田西町 1-1）

テキスト代金：1,000 円（認定申請の際に必要な受講証明と領収書をテキストに綴じ込みますので、認定技術者の申請あるいは更新を希望される方は、会場で代金を支払って、テキストを購入してください。）

内 容：各講習とも質疑応答を含めて、40 分を予定しています。

- (1) ES/iPS 細胞を利用した医療と組織適合性  
千住 覚（熊本大学 大学院医学薬学研究部 免疫識別学分野）
- (2) HLA DNA タイピングの実際  
石井 博之（大阪府赤十字血液センター 検査三課）
- (3) 臓器移植と組織適合性：HLA 検査から臨床への架け橋  
水谷 一夫（名古屋大学大学院 医学研究科 泌尿器科学）

この講習会は、今後 HLA 検査技術者認定を取得、あるいは更新しようとする者を対象に実施されますが、それ以外の大会参加者であっても自由に参加することができます。受講希望者は、平成 21 年 7 月 31 日（金）までに、件名を「HLA 講習会」とし、以下の申込書の必要事項を書き込んだ E-mail を熊本大学大学院医学薬学研究部・免疫識別学分野宛（miohta@kumamoto-u.ac.jp）に送付してください。E-mail を使用できない場合は、下記申込書を FAX（096-373-5314）にて、上記締め切り日までに送信してください。認定申請の際に必要な受講証明と領収書を綴じこんだテキストを、事前受講申込者数に応じて印刷し、事前申込者に優先して当日配布します。そのため当日の申込者が非常に多数になった場合については、受講証明書と領収書は差し上げますが、テキストの配布を受けられない場合がありますことを、あらかじめ御了承ください。なおテキストは講習会終了後の 10 月上旬には、学会ホームページに掲載する予定です。テキスト代金は当日受付にて、お支払い下さい。

**平成 21 年度・認定 HLA 検査技術者講習会 受講申込書**  
 （学会ホームページからダウンロードできますので、そちらも御利用ください。）

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

氏 名：

所 属：

住 所：〒

電話番号：

FAX 番号：

E メールアドレス：

HLA 検査技術者認定取得予定 なし あり →平成\_\_年度を予定

## 組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿 (2009)

### 組織適合性技術者認定制度委員会

委員長: 佐田 正晴

副委員長: 小林 賢

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

### 資格審査部会

部会長: 小林 賢

副部会長: 田中 秀則

部員: 柏瀬 貢一, 中島 文明, 成瀬 妙子

### 教育部会

部会長: 西村 泰治

副部会長: 成瀬 妙子

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

### 試験問題検討部会

部会長: 太田 正穂

副部会長: 石川 善英

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

### QCワークショップ部会

部会長: 木村 彰方

副部会長: 成瀬 妙子

DNA 部門長: 酒巻 建夫

DNA 副部門長: 安波 道郎

抗体部門長: 赤座 達也

抗体副部門長: 中島 文明

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

# 第12回 HLA-QC ワークショップレポート

## 第12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<sup>1,2)</sup>，赤座達也<sup>10)</sup>，太田正穂<sup>3)</sup>，柏瀬貢一<sup>4)</sup>，小林賢<sup>5)</sup>，酒巻建夫<sup>6)</sup>，佐田正晴<sup>7)</sup>，田中秀則<sup>4)</sup>，中島文明<sup>8)</sup>，成瀬妙子<sup>9)</sup>，丸屋悦子<sup>10)</sup>，安波道郎<sup>2,11)</sup>（所属：<sup>1)</sup>東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野，<sup>2)</sup>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，<sup>3)</sup>信州大学医学部法医学，<sup>4)</sup>東京都赤十字血液センター検査部，<sup>5)</sup>日本薬科大学生物科学部，<sup>6)</sup>国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室，<sup>7)</sup>国立循環器病センター研究所，<sup>8)</sup>神奈川県赤十字血液センター検査部，<sup>9)</sup>東海大学医学部分子生命科学系，<sup>10)</sup>特定非営利活動法人 HLA 研究所，<sup>11)</sup>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 (表 1)

認定制度委員会が主催する HLA-QC ワークショップ (QCWS) は、今回で通算 10 回 (大会長主催を含めると通算 12 回) となった。平成 19 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 19 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 20 年 3 月の締め切りまでに 165 名 (64 施設) から参加申し込みがあった。参加申し込み、参加者との連絡のいずれについても原則としてインターネットを利用 (HP からの申し込み、電子メール連絡) することとして運営した。参加者数が確定した 4 月に QCWS 部会を開催し、昨年度のアンケート結果を参考にして具体的なサンプルの選定、QCWS のテーマ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発送

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 63 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各解析担当者に送付され、8 月下旬まで解析された。前回と同様に、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。

### 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) 日本人に存在しない抗原に対する日本人由来単一特異性抗体 (non-HLA 抗体)、(2) 測定時のバックグラウンドが高値を示す抗体と対策、(3) 高感度法でも微弱な反応性の抗体、(4) 前回

表 1 第 12 回 QCWS の実施経過

平成 19 年 9 月	QCWS 部会において第 1 2 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 19 年 11 月	第 1 2 回 QCWS 案内の作成、 「MHC」および HP への掲載
平成 20 年 3 月	参加申し込み; 64 施設 (165 名) DNA-QC 参加: 57 施設、抗体 QC 参加: 35 施設
平成 20 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 20 年 4 月上旬-中旬	同意・誓約書を取得した上で、QCWS サンプルの配布
平成 20 年 5 月上旬	データ入力フォーマット送付
平成 20 年 6 月上旬	データ回収締め切り
平成 20 年 6 月-8 月	解析担当者によるデータ解析
平成 20 年 8 月中旬-下旬	QCWS 部会 HP に解析結果の掲載

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
H2001	ゲノム DNA 溶液	4ug (80ul)
H2002	ゲノム DNA 溶液	4ug (80ul)
H2003	ゲノム DNA 溶液	4ug (80ul)
H2004	WGA DNA 溶液	1ug (20ul)
H2005	ろ紙付着細胞	3x10 <sup>5</sup> 細胞
H2006	ろ紙付着細胞	3x10 <sup>5</sup> 細胞

表 3 QCWS サンプル (抗体部門) の特異性

サンプル ID	抗体特異性	抗体性状	コメント
SH2001	B15+B5, DR9	HLA クラス I/II-IgG	
SH2002	B44+B45+B76	HLA-クラス I-IgM	抗体力価 (LCT 法) ×4 ↑
SH2003	Non-HLA, MICA19	MICA-IgG	HLA(-), high background LABScreen BNV=4,000 ↑
SH2004	DR7	HLA クラス II-IgG	LCT 法(-) LABScreen BNV=1,500 前後
SH2005	B15	HLA クラス I-IgG	
SH2006	A locus multi, DR52	HLA クラス I/II-IgG, IgM?	24homo(-) 抗体力価 (LCT 法) ×32 ↑

提出したサンプル, (5) エピトープ解析, (6) 許容抗原解析の検討をテーマとした。用いたサンプルは表2 (DNA 部門) および表3 (抗体部門) に示すとおりであった。なお, 今年度のデータ解析においては, QCWS 部会メンバー以外に広く参加を求めるとした。

### 3. 参加者・参加施設

参加者は総数 208 名 (QCWS 試料配布は 61 施設) であった。なお, 移植学会と同時開催であったためと考えられるが, QCWS 集会のみの当日参加が 43 名あり, 臨床移植医の関心の高さが窺えた。

参加施設名: 徳島大学病院・輸血部, 三菱化学メディアエンス遺伝子検査部, (株)エスアールエル・遺伝子検査課, 福岡大学医学部・腎臓・膠原病内科, (株)ビー・エム・エル特殊分析部 特殊技術課, 北海道大学病院検査・輸血部, 関西医科大学附属病院 輸血部, 福島県立医科大学 輸血・移植免疫部, 北海道赤十字血液センター検査部検査三課, 富山大学付属病院, 特定非営利活動法人HLA 研究所, (株)ベリタス, (株)リプロセス, 大阪市立大学医学部附属病院・輸血部, 岡山県赤十字血液センター・検査課, 大阪府立急性期・総合医療センター組織適合性検査室, 佐賀県立病院好生館・検査科, 日本赤十字社・中央血液研究所, 千葉県赤十字血液センター検査二課, 東京都赤十字血液センター・検査部検査三課, 広島県赤十字血液センター検査課, 国立循環器病センター 臨床検査部, 静岡県立総合病院・血液管理室, 札幌北楡病院・臨床検査課, 宮城県赤十字血液センター検査課, 東海大学医学部附属病院・細胞移植再生医療科, 日本赤十字社九州血液センター検査二課, 大分県立病院 臨床検査技術部, 湧永製薬(株)バイオ開発事業部, 愛知県赤十字血液センター検査二課, 名古屋第二赤十字病院・HLA, 岐阜大学病院 検査部, 大阪府赤十字血液センター・検査二課, 千葉東病院 HLA 検査室, 東京女子医大腎センター移植免疫, 虎ノ門病院 輸血部, Conexio Genomics Pty Ltd, 仙台社会保険病院・検査部, 横浜市立大学附属病院輸血部, 三重県赤十字血液センター 学術, 高知医療センター MCM ラボ, 香川県立中央病院・中央検査部, 信州大学医学部法医学教室, 熊本県赤十

字血液センター・技術課, 財団法人鷹揚郷腎研究所 弘前病院・HLA 検査室, 立川総合病院・臨床検査科, 東海大学医学部教育研究支援センター, 自治医科大学 輸血・細胞移植部, 保険科学研究所 特殊分析センター, 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学, 新潟市民病院 輸血室, 北里大学病院・臨床検査部, 金沢医科大学病院 (北陸腎移植 HLA 検査センター), 岩手医科大学付属病院・中央臨床検査部, 京都大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部, 山形県立中央病院・輸血部, 福岡赤十字病院・検査部, (株)医学生物研究所・応用技術部, 広島大学病院・輸血部, 岐阜赤十字病院 検査課, 国立病院機構長崎医療センター, 広島県赤十字血液センター 製剤課, 国立国際医療センター検査部, 東京医科歯科大学難治疾患研究所 (以上のべ 66 施設)

### 4. 解析担当者

今年度のデータ解析担当者 (所属) と分担項目は以下の通りである。

#### (1) DNA-QC

1. 平田康司 (岡山県赤十字血液センター): 総合判定
2. 酒巻建夫 (千葉東病院): SSO 法
3. 丸屋悦子 (HLA 研究所): ルミネックス法
4. 石井博之 (大阪府赤十字血液センター): SSP 法および RFLP 法
5. 石井博之 (大阪府赤十字血液センター): SBT 法
6. 安波道郎 (長崎大学熱帯医学研究所): WGA 法
7. 田中秀則 (日赤中央血液研究所): 表記法およびハプロタイプ解析

#### (2) 抗体 QC

1. 中島文明 (日赤中央血液研究所): 総合解析
2. 寺木佳子 (東京都赤十字血液センター): LCT・AHG-LCT
3. 佐藤一弘 (宮城県赤十字血液センター): MPHA・PAKPLUS・LAT
4. 宮崎孔 (北海道赤十字血液センター): LIFT
5. 田中秀則 (日赤中央血液研究所): WAKFlow
6. 佐藤壯 (札幌北楡病院): FlowPRA

7 高陽淑 (大阪府赤十字血液センター): LAB-Screen

## 5. まとめ

QCWS は組織適合技術者認定制度委員会が主催したため、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。昨年度に立

ちあげたQCWS 部会のホームページに解析結果を掲載することでQCWSに参加していない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。

今年度をもって認定制度委員会が主催するQCWSは10回を数えたため、これを一区切りとし、次年度からはQCWS 部会メンバーを一新すると共に、新しい枠組みでQCWSに取り組むこととする。

# 第12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)

## 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, Cw および DRB1 の正解率を中心として検討を行った。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・方法数およびローカス別の検査結果報告施設数

2.2 検査方法・方法数および検査ローカス項目の検査結果報告施設数

2.3 ローカス別の正解率

## 3. 結果および考察

3.1 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1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。データを提出した57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と同様であった。本年はSSCP法を用いた施設はなかった。使用されている検査方法の比率もほぼ昨年と同様であった。また、ローカス別ではAローカス57施設、Bローカス57施設、Cwローカス36施設、DRB156施設の報告であった。A, B, Cw 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。この傾向もほぼ昨年と同様であった。



表5 Cw ロークラス・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	H2001	(Cw7) (-)	Cw*0702 (Ambiguity: Cw*0750(EX2,3)) -	34	34	100.0%	32	30	93.8%
	H2002	(Cw4) (Cw8)	Cw*0401 (Ambiguity: ※2 (EX2,3)) Cw*0801 (Ambiguity: ※2 (EX2,3))	35	35	100.0%	34	33	97.1%
	H2003	(Cw9) (Cw12)	Cw*0303 (Ambiguity: Cw*0320(EX2,3)) Cw*1202	35	34	97.1%	34	34	100.0%
	H2004	(Cw4) (Cw8)	Cw*0401 (Ambiguity: ※2 (EX2,3)) Cw*0801 (Ambiguity: ※2 (EX2,3))	32	32	100.0%	31	31	100.0%
	H2005	(Cw7) (Cw14)	Cw*0702 (Ambiguity: ※3 (EX2,3)) Cw*1402 (Ambiguity: ※3 (EX2,3))	25	23	92.0%	22	21	95.5%
	H2006	(Cw4) (Cw8)	Cw*0401 (Ambiguity: ※2 (EX2,3)) Cw*0801 (Ambiguity: ※2 (EX2,3))	25	25	100.0%	23	23	100.0%
	平均						98.2%		

※2: Cw\*0409/28/30, Cw\*0801 Cw\*0429, Cw\*0810  
 ※3: Cw\*0750, Cw\*1402 Cw\*0737, Cw\*1406

表6 DRB1 ロークラス・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	H2001	DR1	DRB1*0101 -	56	54	96.4%	52	52	100.0%
	H2002	DR4 DR9	DRB1*0406 (Ambiguity: ※4) DRB1*0901 (Ambiguity: ※4)	56	55	98.2%	53	51	96.2%
	H2003	DR4 DR9	DRB1*0405 DRB1*0901	56	56	100.0%	54	53	98.1%
	H2004	DR4 DR9	DRB1*0406 (Ambiguity: ※4) DRB1*0901 (Ambiguity: ※4)	55	54	98.2%	52	52	100.0%
	H2005	DR8 DR14	DRB1*0802 (Ambiguity: ※5) DRB1*1406 (Ambiguity: ※5)	44	41	93.2%	35	31	88.5%
	H2006	DR4 DR9	DRB1*0406 (Ambiguity: ※4) DRB1*0901 (Ambiguity: ※4)	47	46	97.9%	45	45	100.0%
	平均						97.3%		

※4: DRB1\*0420, DRB1\*0906 (SSCP, RCGA 区別可能?)  
 ※5: DRB1\*1347, DRB1\*1452 (SSCP, RCGA 区別可能?)

### 3.2 検査方法・方法数および検査ロークラス項目の検査結果報告施設数

表2に検査方法・方法数および検査ロークラス項目の検査結果報告施設数を示した。A, B, DRB1の組合せにCw, DQB1およびDRB3/4/5をそれぞれ組合せた施設が多く、ルーチン検査で必要とされているロークラスの組合せ(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。あるいは、Cw, DQB1およびDRB3/4/5のデータ情報をもとにハプロタイプを推定し、A, B, DRB1の検査結果を確認しているとも考えられる。

### 3.3 ロークラス別の正解率

表3, 表4, 表5および表6にA, B, Cwおよび

DRB1の各ロークラス別の正解率を示した。すべてのロークラスにおいてほぼ90%以上の正解率を示したが、H2003のB\*1528のアサインミスが多い結果となった(正解率: 77.8%)。この結果は特定の試薬(施設)において多い傾向がみられた。また、H2005においてはDRB1\*1406のアサインミスがみられた。一方、PCR増幅不良によるものと思われるアサインミスおよび記入ミスも散見された。

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。

# 第12回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —SSO 法—

酒巻建夫 (千葉東病院 HLA 検査室)

## 1. SSO 法参加施設

QCWS DNA 部門でエントリー 58 施設中で 57 施設が解答を寄せた。SSO 法のうちワクナガの MPH-2 キットでの参加は 2 施設 (3.5%) であった。ダイナル社リライキットを使用した施設は A 座と B 座 19 施設 (33.3%), C 座は 4 施設 (7%), DR 座は 19 施設 (33.3%), DQ 座は 2 施設 (3.5%) であった。参加した 19 施設すべてが臓器移植ネットワークのタイピングを担当する施設であった。DNA 溶液検体, WGA 検体, ろ紙検体にも対応していた。参加施設が少なかったため MPH-2 とリライキットの DQB1 生データ解析は省略した。

## 2. 報告書の記入について

方法別に判定アレルを記入していない施設, 4 桁ではなく 6 桁で記入していた施設, アレルを表す '\*' が記入されていなかった施設, Null アレル場合には N を省いて記載するところを記入した施設, DRB3-4 アレル記入をしていない施設などが認められた。該当施設は D002, D006, D024, D030, D032, D047 であった。アレル判定が他の施設と異なるものと生データスコアが他の施設と異なるものと合わせ, 注意を喚起する目的で集計データセル背景を黄色にして表示した。

また今回のサンプルの中には B15 関連抗原があり, B\*9507, B\*9509 などが候補に含まれ, B 座の結果記入に際し 4 桁 / 2 桁 / 4 桁表記など解決されていない問題が生じた。

## 3. キットの使用状況

A 座では 48 プローブキットを使用した施設が 15, 43 プローブキットを使用したのは 4 施設であった。

43 プローブキットの生データは 48 プローブの位置に並び替えて表示した。

B 座についてはすべての施設が 61 プローブキットを使用していた。

C 座については 37 プローブキットを使用していた。

DR 座については 18 施設が DRB キット (DRB1, DRB3-5) を使用し 1 施設が DRB1 キットを使用した。DRB キットは 54 プローブ構成であり, DRB1 キットは 60 プローブ構成になっていて, プローブ設定部位が大幅に異なっているため同じ集計表には入れないで別扱いにした。H2005 検体に対し 3 施設が追加的に DR3,11,13,14 プライマーを用いてプローブ発色を実施していた。

施設間で使用ロットが共通のものや異なるものが認められたがロット間による差異は認められなかった。

## 4. 生データスコア

A 座の生データスコアではほぼ全施設で一致していた。もっとも施設間でばらついたのはポジティブコントロールプローブ # 21 と # 47 であった。

集計結果から A 座 # 4 プローブには問題のあることが判明した。このプローブは A\*0201/07 では陽性に, A\*0206 や A\*2402 では陰性に出る重要なプローブである。スコア 1, 2 を陰性, スコア 4 以上を陽性として集計すると明らかに偽陽性が出やすいことがわかった。

H2001 は A\*2402 のホモザイゴウトであり陰性になるところであるが, 3 施設で偽陽性が出ていた。H2002, H2004 でも偽陽性が出ていた。このことから # 4 プローブが偽陽性になりやすいプローブと考

表1 A座プローブ#4の反応性

サンプル	十→十	十→-	-→十	-→-	N
H2001	0	0	3	16	19
H2002	0	0	2	17	19
H2003	19	0	0	0	19
H2004	0	0	2	17	19
H2005	15	1	0	0	16
H2006	0	0	0	18	18

えられる。

B座については生データスコアは#29, #60のコントロールプローブを除くとほぼ全施設が一致していた。

C座については4施設が解答を寄せた。生データと判定が概ね一致していた。1施設では判定結果の記載があったが生データスコアの記入が漏れていた。

DRBキットでは生データスコアはほぼ一致していた。しかしその中で#30プローブの反応性に問題があると考えられた。DRB1\*0101 (H2001) や DRB1\*1402/06 (H2005) の場合には強く陽性に反応するが、

DRB1\*0405/10 (H2003) の場合には本来陽性に出るものが弱く陽性反応でもスコア4-8とばらついていた。H2003検体では2施設が陰性と判定したためにDRB1\*0411と誤ったタイピングとなった。このことはDR4遺伝子のPCR反応が十分ではない可能性より十分なPCR産物があるにもかかわらずアッセイ反応液中でのPCR産物の立体構造がプローブとの反応を弱くしている可能性を考慮した方がよいかもしれない。いずれにしてもDR4が関係する場合(#4プローブと#42プローブが陽性)には#30プローブの判定には十分に注意を払う必要がある。

## 第12回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —ルミネックス法—

丸屋悦子 (特定非営利活動法人 HLA 研究所)

### 1. はじめに

今回のレポートは前年度との比較を中心にまとめる。ワークショップ参加者(施設)が1年間の技術の向上とその持続を評価するための参考資料と、typing kitの継続的な品質の評価の参考資料になることを目的とする。

評価方法: 昨年と同様。

QC用検体: 昨年と検体は異なるが、コンセプトは

同様。

### 2. 参加施設と使用 typing kit について

Luminex法を用いる施設の増加(3割程度)。typing kitは昨年度最優秀kitの使用が増加。

### 3. 施設別評価

HLA-class I: Table 1-1にHLA class Iの全参加

施設の成績を示す。最優秀 Lab: D005, D046, D049  
HLA-A locus

PCR 精度: ■キットを使用した施設で極端な施設間差があった。総合的に判断すると, exon 2,3 の増幅効率にアンバランスが起き易いキットと考えられる。

Typing Technique: 施設別に極端なバラツキはなかった。PCR 精度は極端に悪いが, Typing Technique は最高得点であった2施設が特徴的であった。

HLA-B locus

PCR 精度: ■キットで A locus と同じ特徴を示した。

Typing Technique: 施設別に極端なバラツキはなかった。

HLA-C locus

PCR 精度: 使用キットによる特別な傾向はない。

Typing Technique: 施設別に極端なバラツキはなかった。

HLA-class II: Table 1-2 に HLA class II の全参加

施設の成績を示す。最優秀 Lab: D045, D046, D058  
HLA-DR locus

PCR 精度: ■キットを使用した施設はすべて満点であった。

Typing Technique: ■キットを使用した施設を比較すると, 施設間差がみられ, 技術的な改良の余地がみられた。その他のキットを使用した施設は PCR 精度と Typing Technique の評価はほぼ相関していた。

HLA-DQ and DP locus

参加数は少ないが, 施設・キット共に優秀な成績であった。

総合評価: Table1-3 に本年度の Luminex による HLA typing の総合評価を示す。最優秀 Lab: D046

#### 4. キット別評価

Table 2 に参加施設により使用された3種のキットについて, template の種類別の総合評価を示す。HLA-class I で, 最優秀は▲, class II で■, 総合で

Table 1. Luminex 法による HLA-class I and II typing, 施設別成績

Table 1-1. HLA-class I

施設ID	kit	HLA-A			HLA-B			HLA-Cw			Class I			評価(PCR 精度1)	評価(PCR 精度2)
		P/N	PCR精度1	PCR精度2	P/N	PCR精度1	PCR精度2	P/N	PCR精度1	PCR精度2	P/N	PCR精度1	PCR精度2		
D005	●	3.8	5.0	4.8	4.2	5.0	4.2				4.0	5.0	4.5	8.2	8.2
	▲	3.1	4.0		3.4	4.3		3.6	3.7		3.3	4.0			
D046	●	3.9	5.0	4.5	4.1	5.0	3.7	3.1	3.7	4.3	3.7	4.6	4.2	8.2	7.8
D049	●	3.3	4.7	4.7	3.7	4.7	4.0				3.5	4.7	4.3	8.2	7.8
D016	●	3.6	5.0	4.8	4.1	4.7	3.0	3.3	3.3	4.7	3.7	4.3	4.2	8.0	7.8
D020	●	3.6	5.0	4.8	4.1	4.7	4.2	3.7	2.7	4.2	3.8	4.1	4.4	7.9	8.2
D007	●	2.8	5.0	4.5	3.7	5.0	3.8	3.8	3.0	4.3	3.4	4.3	4.2	7.8	7.6
D013	●	3.7	5.0	4.8	3.9	4.3	4.2	3.1	3.0	2.7	3.5	4.1	3.9	7.7	7.4
	▲	3.3	5.0		3.6	4.3		3.4	3.7		3.4	4.3			
D025	■	3.3	4.3		3.5	4.7		3.1	4.3		3.3	4.4	3.8	7.7	
D041	●	3.8	4.3	4.8	3.7	4.7	3.8	4.0	2.7	2.8	3.8	3.9	3.8	7.7	7.7
D045	■	4.2	2.2		3.9	3.5		4.3	5.0		4.1	3.6		7.7	
D050	▲	3.3	4.7		3.4	4.3		3.3	3.7		3.3	4.2		7.6	
D055	▲	3.1	4.7		3.2	4.3		3.5	4.0		3.2	4.3		7.6	
D054	▲	2.7	4.7		2.9	4.7					2.8	4.7		7.5	
D042	●	3.3	4.7	4.2	4.1	4.0	4.0	3.8	2.3	3.5	3.7	3.7	3.9	7.4	7.6
D023	●	3.1	5.0	4.7	3.6	4.7	3.8	3.3	2.0	3.0	3.4	3.9	3.8	7.2	7.2
D052	■	4.3	1.0		3.8	4.0		3.4	5.0		3.9	3.3		7.2	
D039	▲	2.7	4.0		3.0	3.3		3.0	4.0		2.9	3.8		6.7	
D022	■	3.9	1.3		3.6	2.7		3.3	4.7		3.6	2.9		6.5	
D044	■	4.1	2.0		3.8	3.0					4.0	2.5		6.5	
D058	■	3.9	2.7		3.3	2.3					3.6	2.5		6.1	
D035	■	3.9	1.5		3.7	2.3		3.5	2.7		3.7	2.2		5.9	
D051	■	3.5	1.3		3.2	2.0		3.4	4.0		3.4	2.4		5.8	
D048	■	3.1	2.3		3.4	2.0					3.3	2.2		5.4	
avg		3.5	3.8	4.7	3.6	3.9	3.9	3.5	3.5	3.7	3.5	3.8	4.1	7.2	7.7

Table 1-2. HLA-class II

施設ID	kit	HLA-DRB1		HLA-DQB1		HLA-DPB1		Class II		
		P/N	PCR精度	P/N	PCR精度	P/N	PCR精度	P/N	PCR精度	評価
D045	■	4.1	5.0	4.2	5.0	3.8	5.0	4.0	5.0	9.0
D046	●	4.6	5.0	4.0	4.8	5.0	3.6	4.5	4.5	9.0
D058	■	4.0	5.0					4.0	5.0	9.0
D035	■	3.8	5.0	4.2	4.8	3.9	5.0	4.0	4.9	8.9
D041	●	4.6	4.3					4.6	4.3	8.9
D051	■	3.6	5.0	4.0	5.0			3.8	5.0	8.8
D022	■	3.4	5.0	4.1	5.0			3.7	5.0	8.7
D052	■	3.5	5.0	3.7	5.0			3.6	5.0	8.6
D049	●	4.3	4.0					4.3	4.0	8.3
D016	●	3.7	4.0	4.0	4.8	4.3	3.7	4.0	4.2	8.2
D048	■	3.2	5.0					3.2	5.0	8.2
D007	●	3.9	4.0					3.9	4.0	7.9
D025	■	2.9	5.0					2.9	5.0	7.9
D044	■	2.9	5.0					2.9	5.0	7.9
D055	▲	3.2	4.7					3.2	4.7	7.9
	●	3.6	3.0					3.6	3.0	
D005	▲	3.5	5.0					3.5	5.0	7.6
								3.6	4.0	
	●	3.5	2.7					3.5	2.7	
D013	▲	3.8	5.0					3.8	5.0	7.5
								3.6	3.8	
D023	●	3.1	4.0					3.1	4.0	7.1
D020	●	3.8	2.7					3.8	2.7	6.4
D042	●	3.4	3.0					3.4	3.0	6.4
D039	▲	3.0	2.7					3.0	2.7	5.6
D054	▲	3.3	2.3					3.3	2.3	5.6
D050	▲	3.2	2.3					3.2	2.3	5.5
avg		3.6	4.1	4.0	4.9	4.3	4.3	3.6	4.1	7.8

Table-1-3. 総合評価

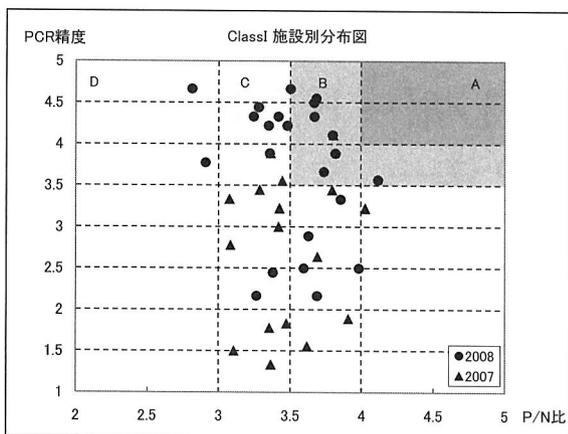
施設ID	kit	総合評価	
		PCR精度1	PCR精度2
D046	●	17.2	16.8
D045	■	16.7	
D041	●	16.6	16.5
D049	●	16.4	16.1
D016	●	16.2	16.0
D052	■	15.8	
D005	●▲	15.7	15.7
D007	●	15.6	15.5
D025	■	15.6	
D055	▲	15.5	
D022	■	15.3	
D013	●▲	15.2	14.8
D058	■	15.1	
D035	■	14.8	
D051	■	14.6	
D023	●	14.4	14.3
D044	■	14.4	
D020	●	14.3	14.6
D042	●	13.8	14.0
D048	■	13.7	
D050	▲	13.1	
D054	▲	13.1	
D039	▲	12.3	
avg		15.0	15.5

Table 2. Luminex 法による HLA-class I and II typing, キット別成績

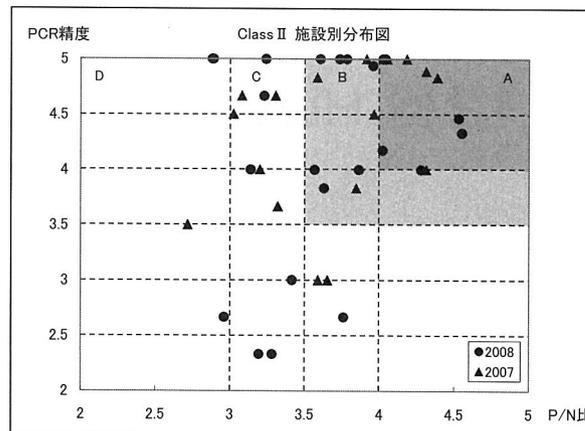
kit	template	A					B					Cw				Class I			評価		
		P/N比	PCR精度1	PCR精度2	評価		P/N比	PCR精度1	PCR精度2	評価		P/N比	PCR精度1	PCR精度2	評価						
●	total	2.1	4.9	4.7	7.0	6.8	2.8	4.7	3.9	7.4	6.6	2.1	2.8	3.7	4.9	5.8	2.3	4.1	4.1	6.5	6.4
	DNA	2.4	4.9	4.7	7.3	7.1	3.0	4.8	4.1	7.8	7.2	2.3	3.2	4.1	5.5	6.4	2.6	4.3	4.3	6.9	6.9
	filter	2.3	4.8	4.7	7.1	6.9	2.4	4.4	3.4	6.8	5.8	2.6	2.6	3.4	5.2	6.0	2.4	3.9	3.8	6.4	6.2
■	total	2.8	2.1		4.9		2.6	2.9		5.5		2.5	4.3		6.8		2.6	3.1		5.7	
	DNA	3.1	2.1		5.2		2.7	3.2		5.9		2.9	4.1		7.0		2.9	3.1		6.0	
	filter	3.0	1.8		4.8		2.9	2.1		5.0		2.8	3.7		6.5		2.9	2.5		5.4	
▲	total	2.4	4.5		6.9		2.6	4.2		6.8		2.7	3.8		6.5		2.6	4.2		6.8	
	DNA	2.6	4.7		7.3		2.9	4.3		7.2		2.7	3.7		6.4		2.7	4.2		7.0	
	filter	2.3	4.4		6.7		2.7	4.1		6.8		3.0	3.8		6.8		2.7	4.1		6.8	

kit	template	DRB1			DQB1		DPB1		Class II		評価
		P/N比	PCR精度	評価	P/N比	PCR精度	P/N比	PCR精度	P/N比	PCR精度	
●	total	2.3	3.7	6.0	4.6	4.0	3.4	4.7	3.4	4.1	7.5
	DNA	3.0	3.4	6.4	4.8	3.5	4.0	5.0	4.0	4.0	7.9
	filter	2.4	2.9	5.3	4.8	4.0	4.0	4.0	3.7	3.6	7.4
■	total	2.4	5.0	7.4	3.6	5.0	3.5	5.0	3.1	5.0	8.1
	DNA	2.4	4.6	6.9	3.5	4.9	4.4	5.0	3.4	4.8	8.2
	filter	2.8	4.2	7.0	3.7	4.7	3.6	5.0	3.4	4.6	8.0
▲	total	3.0	3.7	6.6					3.0	3.7	6.6
	DNA	3.1	3.5	6.6					3.1	3.5	6.6
	filter	3.1	3.7	6.8					3.1	3.7	6.8

kit	template	総合評価	
		total	filter
●	total	14.0	13.9
	filter	14.8	14.8
	DNA	13.8	13.6
■	total	13.9	
	filter	14.3	
	DNA	13.4	
▲	total	13.4	
	filter	13.5	
	DNA	13.6	



	2007年▲	2008年●	点
A	0	0	80
B	1	8	75
C	8	7	60
D	9	8	



	2007年▲	2008年●	点
A	5	6	80
B	4	7	75
C	7	4	60
D	2	6	

Fig. 1 Luminex 法で HLA-class I and II typing 成績の比較 (2007 v.s 2008)

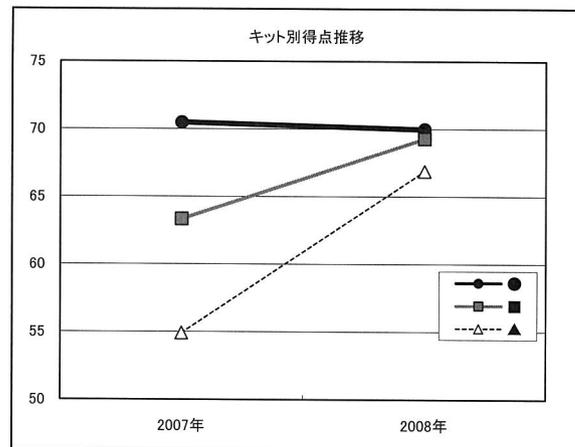
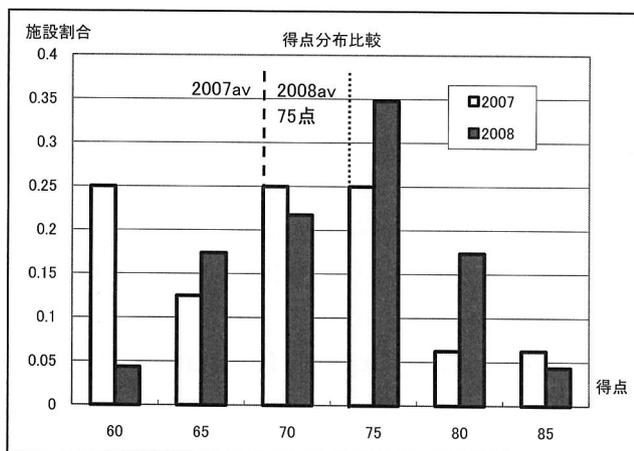


Fig. 2 施設別, キット別 Luminex 法による HLA-class I and II typing の総合得点の比較 (2007 v.s 2008)

は●であり、3種のキットともに良い評価であった。

### 5. 前年度と今年度の比較

Fig. 1 に 2007 年度と 2008 年度の QC の成績を比較した。横軸は P/N 比での得点, 縦軸は PCR 精度の得点を示す。

HLA-class I は, 昨年度の成績と比較し, 75 点以上の得点を示す施設の増加 (5% → 35%) がみられ, Luminex 法による HLA-class I typing の精度向上がみられた。しかしながら PCR 精度と Typing Technique が共に 80 点以上を示す施設はなかった。今後の目標となる。

HLA-class II は両年度ともに 80 点以上の高得点を示す施設があり, かつ今年度はその増加が見られた。年度ごとの着実な typing 精度の向上がみられ, 今後もその継続が望まれる。

Fig 2 に施設とキット別に総合評価の比較を示した。施設では昨年に比べ平均点で 5 点増加しかつ全体的な右よりのシフトがみられた。キットでは昨年最優秀キットは使用施設の増加にもかかわらずその精度の持続がみられ, その他のキットは優秀なキットに近づく改良がなされていることが分った。今後もこの傾向の持続が望まれる。

## 第12回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —SSP 法, RFLP 法—

石井博之 (大阪府赤十字血液センター)

### 1. 概況

SSP 法の参加施設は、19 施設で、昨年より 4 施設減少した。SSP 法のみでの報告はクラス I, II でそれぞれ 11 施設であった。その他の施設は他の方法の補助として SSP 法を使用していた。使用キットについては、ほとんどの施設が One Lambda 社製の Micro SSP を使用しており、Pel-Freez 社製の UNITRAY, 自家製がそれぞれ 1 施設であった。また、SSP 法は他の方法に比べて、使用する DNA 量が多いため、ろ紙試料の H2005, H2006 は、タイピングを避けた施設が多くみられた。今回は、WGA 法の使用状況を各施設に問い合わせ調査したところ 2 施設で使用されていた。1 施設は H2004~H2006, もう一方の施設はすべての検体について WGA 法を使用していた。RFLP 法については、2 施設の参加があり試薬は自家製であった。

### 2. 解析結果

#### 2.1 SSP 法

解析については、複数施設において採用されているキットについてのみ行った。

##### 1) Micro SSP HLA class I and II ABDR DNA Typing Tray, Lot#006

3 施設の参加があった。このキットについては、偽反応がなく、スコアの転記ミスも少なかった。また結果の表記も各施設共にほぼ一致しており、問題点はみられなかった。

##### 2) Micro SSP Japanese class I and II ABCDRDQ DNA Typing Tray, Lot#003

7 施設の参加があったが、1 施設は偽陽性、3 施設が偽陰性反応によるタイピングミスがあった。偽反応については、ローカスおよびサンプルに共通なも

のではなく、キットの問題はないと考えられる。また、同一の施設、複数の検体で誤判定と考えられるタイピングミスが 4 件もみられた。

##### 3) Micro SSP Generic HLA class I DNA Typing Tray, Lot#006

参加 4 施設中 2 施設において、偽陽性または偽陰性反応がみられた。また、検体 H2005

と H2006 を取り違えたと考えられるタイピングミスが 1 件あった。この施設は SSP 法単独での参加で、他のキットの結果も H2005 と H2006 は逆になっていた。この施設は WGA 法をすべての検体について行っており、その段階で検体を取り違えたか、またはろ紙試料から DNA を抽出する際に取り違えた可能性が考えられる。

##### 4) Micro SSP Generic HLA class II DNA Typing Tray

前述のクラス I のキットと同一施設がセットで使用していた。このキットにおい

ても、偽陽性または偽陰性反応がクラス I と同じ施設にみられ、技術的な問題がある

のではないかと考えられる。

##### 5) Micro SSP Allele Specific HLA Class I, II DNA Typing Tray

A\*24, B\*15, DRB1\*04 のキットについてのみ解析を行った。A\*24 のキットについては、参加全施設問題なくタイピングできていた。B\*15 のキットでは、検体 H2003 (B\*1528) において B\*1528 のプライマーセットの反応が参加 3 施設中 2 施設が偽陰性となっていた。DRB1\*04 のキットでは、判定時のミスによるタイピングミスが 1 件みられた。

## 2.2 RFLP 法

データの解析は、2施設のみ参加で試薬も自家製のため、実施していないが、タイピング結果については、他法の結果とよく一致していた。

## 3. まとめ

SSP 法では、判定ミスやスコアの転記ミス、検体の取り違い等、初歩的なミスが多いように思われた。また偽反応も多くみられた。SSP 法では1つのプラ

イマーセットでアレルタイプが決まることが多く、偽反応があった施設においては、技術的な見直しが必要であると考えられる。タイピング結果の表記法については、施設間でかなり異なっていた。実際その施設で運用している表記法があると思われるが、QCWS では「検査結果の記載法と結果報告書表記法およびアンビギュイティの取扱い原則（2003年度）」に従い報告することが望まれる。

# 第12回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —SBT 法—

石井博之 (大阪府赤十字血液センター)

## 1. 概況

SBT 法の参加施設は、全 10 施設 (昨年と同様) あり、クラス I で 9 施設、クラス II では 7 施設であった。10 施設中、3 施設は SBT 法のみ、他は SSO 法との併用が多く見られた。使用キットはほとんどの施設が AlleleSEQR を使用しており、SeCore、自家製がそれぞれ 1 施設であった。

## 2. 解析結果

### 2.1 SBT 法

今回、多施設で増幅不良による検査不能な検体があった。検体 H2001 の HLA-A が参加 9 施設中 6 施設が増幅不良のため検査不能になっていた。同一検体の HLA-B は 3 施設、HLA-C は 2 施設が検査不能であった。HLA-DRB1 については全施設問題なくタイピングできていた。各ローカスの PCR 後のフラグメントサイズを見てみると、Allele SEQR の HLA-A は 2 kb と他のローカス (B:1.2+1.5 kb, C:1.2 kb, DRB1:300b) と比較して長く、増幅しにくかったと考えられ、DNA 検体自体に何らかの問題があったと思われる。SBT 法以外の方法での検査状況も確認し

たが、特に問題はなさそうであった。また、ろ紙試料である H2005, H2006 についても、十分な DNA 量が得られないためか特にクラス I での増幅不良による検査不能となった施設が数施設みられた。

タイピング結果については、おおむね一致していたが、HLA-A で 2 件、HLA-DRB1 で 1 件の不一致が見られた。不一致の見られた 3 件については、生データを各施設の協力により確認することができた。HLA-A の 1 件については、H2003 で、(A\*0201/04/12/+, A\*2402/03/13/+) が (A\*0212/36, A\*2413/33) と判定されていた。この 2 つの組合せは、エクソン 2, 3 の判定では識別不能であり、エクソン 4 での判定ミスによるものと考えられた。もう 1 件については、H2005 で、(A\*0201/04/12/+, A\*2402/03/13/+) が (A\*0212/36/87/+, A\*2403/13/28/+) と判定されていたが、当施設で生データを確認したところ問題なく (A\*0201/04/12/+, A\*2402/03/13/+) と判定できた。当該施設から、判定用ソフトのバグの可能性があると連絡があり、今後注意が必要である。上記の 2 件については、SBT 法と SSO 法の併用であったが、SSO 法では上記のアレルは識別不

能であった。HLA-DRB1 の不一致 1 件については、H2005 で、(DRB1\*0802, DRB1\*1406) が (DRB1\*0802, -) と判定されていた。生データを確認したが多型部分がまったくなく (DRB1\*0802, -) の判定結果となった。各塩基のシグナル値を確認したところ、通常の 1/10 程度しかなく増幅不良により、DRB1\*1406 が検出できなかった可能性がある。この検体の他のローカスの結果を確認したところ、HLA-A, B, C すべて増幅不良により検査不能であった。

### 3. まとめ

SBT 法については、判定用ソフトや用いるデータベース等により、若干の表記の違いがあると考えられるが、参加全施設で 4 桁、6 桁レベルで遺伝子型の同定ができており、他法と比べ高精度な遺伝子型の同定に有効な方法であることが確認された。しかしながら、特にクラス I の増幅領域が他法に比べ長く、用いる DNA の状態によっては増幅がうまく行かないことがあり、SBT 法単独でタイピングを行う場合は十分な注意が必要である。

## 第 12 回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —WGA 法—

安波道郎 (長崎大学・熱帯医学研究所 免疫遺伝学分野)

全ゲノム増幅法 (Whole genome amplification, 以下 WGA 法) は、限られた量の DNA 検体から DNA ポリメラーゼを用いて正確に複製して十分量の DNA を得るもので、 $\phi$  29 フェージ由来 DNA ポリメラーゼを使用した multiple strand displacement 法に基づくものがキット化され市販されている。過去数年の HLA-QC ワークショップの結果、HLA タイピングにおいては誤った結果が導かれる原因にはならないようであるが、個々の反応性は増幅前と整合しないこともある。

検体 DNA 量が十分に得られる輸血・移植検査の現場ではほとんど適用されてなく、2008 年 8 月に今回の HLA-QC ワークショップ DNA 部門に参加した 57 施設を対象に聞き取り調査したところ、回答 42 施設中 1 施設のみが日常的に施行しており、7 施設は「経験あるが日常的には施行していない」、34 施設 (81%) は「WGA 法の経験ない」という状況であった。

### WGA 法の HLA タイピング結果に及ぼす影響

第 12 回 HLA-QC ワークショップ配布試料 H2004 は、H2002 として DNA 溶液の形態で配布されたもとの細胞を検体保存用紙「FTA Elute」に付着させた試料である H2006 から Qiagen 社の「REPLI-G キット」を使用して WGA 法により調製したものである。したがって、WGA 法の HLA タイピングに及ぼす影響は、H2002 と H2004 の結果の一致度から評価できる。解析結果と総合判定の諸項に記述されているように、WGA 法を適用した H2004 の方が劣るということではなかった。

個々の反応性については、SSP 法 SSO 法ともに H2002 と H2004 間での不一致がわずかながら散見され、それによる方法論毎のアサインメントに不一致 (不正解) を生じているようである。しかし、この不一致は H2002 にも見られ、WGA 法を適用した H2004 の方が高頻度ということではなかった。

## ワークショップ参加者の WGA 法についての印象・評価

前述の聞き取り調査で、実施状況にあわせて、WGA 法に問題があるかを問い合わせたところ、経験施設のほとんどが、「概ね問題はないが若干の問題はある」と回答した。「問題」の内容としては、「ア

リル間で同等に増幅されず偏ってしまう」、「元試料の質（および量）によっては信頼性が落ちる」、「SSP でエクストラな反応が出る」などであったが、①元試料の質に配慮すること、②複数の方法で確認することの2点でほとんど問題は解決できるととらえられていた。

# 第12回 HLA-QC ワークショップレポート (DNA 部門) —NA タイピングおよび HLA 型結果表記法および検体の HLA ハプロタイプについて—

田中秀則 (日本赤十字社 血液事業本部 中央骨髄データセンター)

## 1. はじめに

日本組織適合性学会では、HLA-QC ワークショップ (以下、QCWS) における DNA タイピングの結果表記を「検査結果 (ワークシート) 記載法と結果報告書表記法およびアンビギュイティ (ambiguity) の取扱いの原則 (2003 年度版)」(以下、表記法) に従い結果の表記を行うこととしている。また、結果の提出時に、DNA タイピング結果に対応する HLA 抗原型 (以下、HLA 型) についても結果を報告することとしている。

これまで、過去 5 回の QCWS 結果表記の解析法として、提出された結果表記例を集計し、結果表記の問題点について報告を行ってきた。今回は、各参加施設から報告された結果表記を採点し、各参加施設における結果表記の問題点を明らかにした。また、今回配布された検体が日本人由来の検体であることから、各検体の HLA ハプロタイプの国内における分布および頻度について検討を行った。

## 2. 方法

結果表記の採点は、以下の 5 項目①ローカス名の表記、②アスタリスクの表記、③アンビギュイティ

(ambiguity) の表記、④ HLA 型の表記、⑤その他の表記 (undef, ブランク表記等) について採点を行い、正しい結果が表記された場合は、30 点となる採点を行った (配点等は QCWS ホームページ参照、以下 HP)。

## 3. 結果および考察

採点の結果、57 施設中正しく結果が表記された施設は、約半数の 28 施設であった。また、結果表記に一部不備あった施設 14 施設 (採点結果: 25~29 点) を含めると、約 7 割の施設で概ね結果表記法に大きな問題点がない状況であった。

採点の対象となった 5 項目の表記の不備については、HP にその詳細が掲載してあるので参考にして頂きたい。

また、HLA ハプロタイプについては、今回配布された検体で、3 検体 (H2002, H2004, H2006) が同一細胞由来の検体であることから、4 検体 (H2001, H2002, H2003, H2005) の HLA ハプロタイプについて解析を行った。これら 4 検体の HLA タイプから 7 種類の HLA ハプロタイプが推測され、4 種類のハプロタイプが 0.01% 以上の頻度で、残り 3 種類は

0.01% 未満の頻度で日本人に存在すると推測された (HP 参照)。また、それぞれのハプロタイプの分布に

も特徴があると推察された (HP 参照)。

## 第 12 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)

### 1. はじめに

平成 17 年から開始された抗体部門は 4 回目となり、今回は解析方法と配布サンプルに工夫を施した。目的は従来どおり一貫しているが、施設間における結果の整合性を強化する狙いで、検査方法別グループ解析を取り入れた。検査方法別の解析リーダーを設定し、電子メールを主体とした、参加者双方のやりとりで技術的問題点や解析精度の向上を目指した。

これまで配布サンプルは 4 本で、参加施設の現状に見合った結果を集積してきた。今回は、6 本に増やし HLA 抗体が検出できたかどうかについて結果を求めた。抗体特異性については、指定した 2 本について、検査可能な施設は実施していただいた。

### 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在例年どおりの日程であったため、ほぼスケジュールに沿って実行できた。新たにグループ解析を導入したため、解析期間がもう少し充当できるよう、配慮する必要があった。

#### 2.2. サンプルの選択と配布

使用するサンプルは前年に続き、赤十字血液センターから提供されたものを使用した。抗体検出に重点を置いたことから、必ず検出できるサンプルの他、バックグラウンド成分の高いもの、抗体性状が市販試薬で検出しづらいもの、Non-HLA の疑いのある微

弱な抗体など日常遭遇すると考えられるサンプルを選択した。最近、HLA 抗体検出試薬の一部では、MICA 抗体が同時に検出可能となっており、HLA 抗体陰性で MICA 抗体を保有するサンプルも配布した。

参加施設には 1 ml ずつ配布し、取扱いに関する誓約書の返送を義務付けた。同時に問い合わせに関する事項も同意を求め、検査方法別のグループ解析に備えた。

#### 2.3. データ収集

データの収集は前回と同様に Microsoft Excel で作成した統一形式の入力ファイルを配布した。一つのファイルに方法別のシートを作成し、メニュー形式で入力可能としてある。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収集時の混乱を防ぐため、ファイル名のネーミングを一定のルールで統一した。

#### 2.4. 参加施設と検査方法別集計

参加施設が例年約一割ずつ減少している傾向は変わらず、血液センターの減少が主原因である。方法別で、LCT と MPHA が減少していることも同じ理由による。他の方法については、この 4 年間ほとんど変化ない。

#### 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。前述のごとく検査方法別のグループ解

析を導入し、ワークショップ集会での報告は、使用頻度の高いFlowPRAとLABScreenに絞り、時間を十分取れるようにした。他の方法については、解析結果のホームページ掲載と学会誌報告という形をとった。

### 3. 総合解析

ここでは、全体的な解析について述べ、検査方法別の解析は検査方法別各論を参照されたい。

#### 3.1. HLA 抗体検出率

SH2001とSH2005とSH2006は、LCTでも高力価を示す抗体であり、検出率100%を達成する予測であった。しかし、そのLCTの結果が一部施設で十分でなかったため、それぞれ97%に留まった。他の検査法ではクラスI (IgG) で100%検出できた。

SH2002は、LCTで検出可能なIgM性の抗体で、二次抗体に抗IgM抗体を使用した施設は、100%検出できていた。IgGは陰性であるため、全体の検出率は36%に留まるが、その数字は、各施設の検出目的によって変動するので意味がない。

SH2003は、バックグラウンド・レベルの高いHLA抗体陰性かつMICA抗体陽性のサンプルである。FlowPRAやLABScreenのような高感度な試薬は、判定を誤る可能性があり、実際に数施設が陽性判定をしていた。

SH2004は、Non-HLA反応の疑いのある微弱なクラスII抗体である。抗体特異性が鋭敏な反面、反応強度は微弱である。その検出率は全体で59%であった。このような反応は、施設の検出目的によって判断されるところであろうが、今のところ、本来のHLA免疫による抗体反応であるか、何らかのクロス反応であるか明確に識別する方法がない。

#### 3.2. HLA 抗体特異性

##### 3.2.1 SH2005

抗体特異性は、どの抗原と反応しているか判定すればいいのだが、HLA抗原は各ローカスでヘテロ接合の状態であり、反応する抗体も複数ローカスにおよぶと、実際、どの抗原と反応しているか確定困難である。今回の、SH2005とSH2006は、抗体陽性

率が80%以上で、その特異性決定は困難である。このような場合、許容抗原(血清に反応しない抗原)解析からその糸口を見つける方法が有効である。

SH2005の許容抗原はHLA-A24, A33, B54, Cw1, Cw8などで、ここに本人タイプも含まれ、A24-B54-Cw1のハプロタイプが推測できる。したがって、これ以外の抗原に抗体特異性が含まれることになる。LABScreen Single antigen 試薬では、HLA-A10, A11, B5, B15, B40, Cw3, Cw7などの特異性が確認できるが、このような高価な試薬を使用しなくても、許容抗原とその交差反応性である程度の推測は可能である。

##### 3.2.2 SH2006

SH2006は、LCTでHLA-A9以外のAローカス抗原と反応する抗体を有している。精製抗原による高感度法でみると、HLA-B15, B35などの反応も確認できる。

A9抗原に関しては、A\*2301, A\*2402との反応は陰性であるが、A\*2403とは強く反応する。これらのアミノ酸配列を比較すると、166-167番目に相違が認められる。前者は<sup>166-167</sup>DG、後者は<sup>166-167</sup>EWの配列を形成しており、この差を抗体が識別していると推測される。ところが、<sup>166-167</sup>EWはBローカスにおいてはコンセンサス配列であり、この抗体と反応しないHLA-B7, B40関連抗原もこの配列を有しているので矛盾が生じる。視点を変えて、他のアミノ酸配列を調べると、138番目にローカス特異的な配列が存在する。Aローカスは<sup>138</sup>M、Bローカスは<sup>138</sup>Tであり、これらを含めた何ヶ所かのアミノ酸とその相違に起因する抗原分子の構造変化をエピトープと認識して、反応が成立していると推測される。

この抗体が反応すると推測される<sup>138</sup>M、<sup>166-167</sup>EWの特異性はLCTの結果と一致する。精製抗原のみで確認できる特異性は、別の部位をエピトープとして認識しているものと考えられる。さらに、HLA-B16やCw6, Cw7などの微弱な反応も含まれ、それらの特異的な配列は、抗原決定基とは考えにくい位置に存在するため、Non-HLA反応の可能性が高い。

表 1 検体別 HLA 抗体特異性

	サンプル ID	HLA			MICA
		LCT	IgG	IgM	IgG
HLA Class I MICA	SH2001	B15+Cw3+A10+	B15+B35+Cw3+A10+A11+A2+	B15+B35+Cw3+A10+A11+A2+	(-)
	SH2002	B12+B76	(-)	B12+B76	(-)
	SH2003	(-)	(-)	(-)	MICA19(+04)
	SH2004	(-)	(-)	(-)	(-)
	SH2005	B15	B15+B35+Cw3+A10+A11+	(-)	MICA19+17(+02)
	SH2006	A Locus multi	A Locus multi+B15+B35+	(-)	(-)
HLA Class II	SH2001	DR9	DR9+DR53+DQ3+	DR9+DR53	
	SH2002	(-)	(-)	(-)	
	SH2003	(-)	(-)	(-)	
	SH2004	(-)	DR7	(-)	
	SH2005	(-)	(-)	(-)	
	SH2006	DR52	DR52+DQ7	(-)	

#### 4. まとめ

今回は、Broad specific 抗体から、抗体特異性を見出す手法として、許容抗原解析、本人タイプ、エピトープ解析 (交差反応性含む) などの情報を活用する例を示し、解析精度の向上を示した。表には、各サンプルの抗体特異性をまとめた。

一方、各論で述べられる検査方法別解析では、使用頻度の高い FlowPRA と LABScreen を重点的に取り上げ、前者は機器設定の適切性、後者は操作に起

因するコントロール値の変動に、結果が乖離する原因が確認できた。

さらに、その施設が輸血関連であるか、移植関連であるかによって結果の取り上げ方で方向性が異なることも考えられ、今後は、分野別の解析を導入していく必要性を感じた。参加各施設はこれらのデータを検証し、自施設の各設定や条件を改善し、施設間で同一の結果が得られる環境を目指したい。

## 第 12 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 (東京都赤十字血液センター 検査部 検査三課)

#### 1. 概要

今回のワークショップにおいて LCT 法での参加施設は、クラス I が 6 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 160 パネル、クラス II が 11 パネルであった。AHG-LCT 法 (クラス I のみ) での参加施設は 2 施設で、提出され

たパネル細胞は 143 パネルであった。参加施設数、提出パネル数とも表 1 に示したように、前回ワークショップに引き続き減少していた。

判定結果提出のあった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、SH2001, SH2002, SH2005 はい

ずれも1施設を除き抗体陽性と判定された。SH2003およびSH2004は全施設が陰性、SH2006は全施設が陽性と判定していた。

AHG-LCT法では、SH2001, SH2002, SH2005, SH2006が陽性、SH2003およびSH2004が陰性の判定であり、参加2施設の結果は一致していた。

なお、クラスII抗体については、提出されたパネル細胞が11パネル、アサインされていた抗原がDRローカス6抗原のみであったため、今回は解析を行うことができなかった。

## 2. 解析

クラスI抗体陽性と判定された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。LCT法については特定施設のパネルで弱反応が認められたため、施設を選択して最終的な解析を行った。

SH2001: LCT法でCw9, B62, B71, B75抗原に

対する良好な反応を認めた。また、A2, A26, A11, B35抗原とも一部反応が認められた。AHG-LCT法では、LCT法で反応の弱かったA2, A26, A11抗原を有するパネルとも良好な反応を示し、さらにA25, B52, B59抗原に対する反応も認められた。

SH2002: LCT法でB44, B45抗原と反応を認めた。AHG-LCT法ではB45抗原を有するパネルの提出がなかったため反応性を確認することができなかったが、B44抗原に対する反応はLCT法と同様であった。QCワークショップ部会で事前に確認されていたB76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。IgM単独抗体であったため、他の検査方法と比べ、LCTおよびAHG-LCT法での反応が良好であった。

SH2005: LCT法でB62, B75, B71抗原と良好な反応を示し、B35抗原とも弱い反応を認めた。AHG-LCT法ではLCT法で認められた特異性に加えB51, B52, Cw4, Cw9, Cw10抗原と強く、B44, B46, A1,

表1 参加施設数および提出パネル数

	第12回 HLA・QCWS		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	参加施設数	提出パネル数
LCT法 クラスI	6	160	11	388	16	584
LCT法 クラスII	2	11	2	6	4	47
AHG-LCT法	2	143	10	345	14	576

表2 報告された判定結果

クラスI

サンプルID	LCT法判定 (6施設)	AHG-LCT法 判定(2施設)	抗体特異性
SH2001	陽性: 4 陰性: 1	陽性: 2 陰性: 0	Cw9 B62 B71 B75 B35 A26 A25 A11 A2 A68
SH2002	陽性: 4 陰性: 1	陽性: 2 陰性: 0	B44 B45
SH2003	陽性: 0 陰性: 5	陽性: 0 陰性: 2	陰性
SH2004	陽性: 0 陰性: 5	陽性: 0 陰性: 2	陰性
SH2005	陽性: 4 陰性: 1	陽性: 2 陰性: 0	B62 B71 B75 B35 B46 Cw9 Cw10 Cw4 B51 B52 B44 A1 A3 A11
SH2006	陽性: 5 陰性: 0	陽性: 2 陰性: 0	A2 A68 A25 A26 A11 A30 A31 A33 B62 B71 B75 B52
	未判定施設: 1		

クラスII

サンプルID	LCT法判定 (2施設)
SH2001	陽性: 1 陰性: 0
SH2002	陽性: 1 陰性: 0
SH2003	陽性: 0 陰性: 1
SH2004	陽性: 0 陰性: 1
SH2005	陽性: 1 陰性: 0
SH2006	陽性: 1 陰性: 0
	未判定施設: 1

A3, A11 抗原とは弱く反応を示した。

SH2006: LCT 法で A2, A68, A25, A26, A11, A30, A31, A33 抗原と良好な反応を認めた。AHG-LCT 法では B62, B71, B52 抗原とも一部反応が認められた。

### 3. まとめ

今回のワークショップにおいて、LCT 法で凍結細

胞のみを用いてデータ提出を行なった 1 施設でサンプル SH2001, SH2005 について、提出パネル数の少なかった 1 施設でサンプル SH2002 についてクラス I 抗体が検出されていなかった。参加施設数、提出パネル数とも減少してきている傾向から、施設間差と相まって、今後、LCT 法および AHG-LCT 法での詳細な解析が難しくなってくるのが考えられる。

## 第 12 回 HLA-QC ワークショップレポート (抗体部門) —MPHA 法・PAKPLUS 法, LAT 法—

佐藤一弘 (宮城県赤十字血液センター)

### 1. はじめに

MPHA, PAKPLUS, LAT の原理および各法の特徴を表 1 に示す。すなわち MPHA は混合受身凝集法, PAKPLUS および LAT は ELISA 法を測定原理とし HLA 抗体を検出する。

それぞれの検査法を用いた参加施設を表 2 に示す。第 12 回 QCWS には全国から 36 の施設が参加しており、そのうち MPHA (オリビオ II) 5 施設, MPHA (パネル) 5 施設, PAKPLUS 3 施設, LAT が 4 施設の参加で、前回ワークショップとほぼ同数の参加であった。また、3 法で参加した殆どの施設が追加検査として Flow-PRA 法や LABScreen などの高感度検査法を併用し実施していた。なお、検査法の特徴よりクラス II 抗体の解析は省略する。

### 2. 結果

HLA 抗体の有無に関しては 3 法とも全ての施設において不一致は認められなかった (表 3)。しかし、IgM 性抗体である SH2002 は抗ヒト IgG 抗体感作セル (MPHA), Alkaline Phosphatase-Conjugated Anti-Human IgG (LAT) を用いた施設での抗体検出は認められず、IgM 標識抗体を用いた PAKPLUS で

のみ HLA 抗体が検出された。例数が少ないが同じ PAKPLUS でも IgG/A/M 標識抗体で抗体検出できなかったのは二次抗体の量が関与している可能性が高いと考えられる。

また、抗体の有無に関して施設間の相違は認められなかったものの、詳細な反応をみると MPHA, LAT においてそれぞれ相違が認められた。MPHA で異なる結果を示した例を表 4, 5 に示す。表 4 はクロロキン処理の結果が 4 施設とも全て異なっており検出される抗体特異性に違いが生じている。要因としてクロロキン処理方法の技術的な問題が示唆される。表 5 は未処理においても異なる結果となった例である。MPHA の場合特別な機器を必要としない、そのため検査試薬の Lot が同じで、かつ感作時間等に違いがないにも関わらず結果が異なる要因として、① 技術的な問題 (特に洗浄操作), ② 凝集像の判断の違いによる 2 点が考えられる (表 6)。

技術的な問題は PAKPLUS でも同様に洗浄不良で二次抗体が中和された場合期待される結果とはならないし、LAT においてもテラサキトレーでの洗浄操作に繊細な操作が求められ、また発色の判定も目視と機器で行うのでは最終的な結果は異なってくる。

表1 MPHA/PAKPLUS/LAT 検査法の特徴

	MPHA	PAKPLUS	LAT
標的抗体	HLA 抗体 HPA 抗体	HLA 抗体 HPA 抗体	HLA 抗体
測定原理	凝集法	ELISA 法	ELISA 法
使用抗原	血小板	血小板 GP	抽出抗原
クラス I/II	クラス I	クラス I	クラス I & II
HLA 抗体 特異性決定	劣る	不向き	やや劣る

表2 MPHA/PAKPLUS/LAT 検査法での参加施設

	MPHA		PAKPLUS	LAT (判定)	その他の検査法
	オリビオII	パネル			
20S007	○	○			
20S009	○				LIFT、WAKFlow
20S014	○				FlowPRA
20S018		○	○	○ (機械)	FlowPRA、LABScreen
20S021		○	○		FlowPRA
20S023				○ (目視)	
20S025		○	○		FlowPRA、WAKFlow
20S027	○				FlowPRA、WAKFlow
20S030	○	○			LABScreen、WAKFlow
20S031				○ (目視)	FlowPRA、LABScreen
20S034				○ (目視)	FlowPRA
実施施設	5/36	5/36	3/36	4/36	

表3 MPHA/PAKPLUS/LAT 法検査結果一覧 (HLA 抗体の有無)

## ●MPHA (オリビオII クロロキン未処理)

	Lot	感作セル	2001	2002	2003	2004	2005	2006
20S007	70912	IgG	8	1	1	1	8	8
20S014	80514	IgG	8	1	1	1	8	8
20S027	70719	IgG	8	1	1	1	8	8
20S030	80410	IgG	8				8	8

## ●MPHA (パネル クロロキン未処理)

	Lot	感作セル	2001	2002	2003	2004	2005	2006
20S007	80213	IgG	8	1	1	1	8	8
20S021		IgG	8	1	1	1	8	8
20S025		IgG	8	1	1	1	8	8
20S030		IgG	8	1	1	1	8	8

## ●PAKPLUS

	Lot	二次抗体	2001	2002	2003	2004	2005	2006
20S018	051007-PPB	IgG	8	1	1	1	8	8
		IgM	4*	8	4*	4*	4*	4*
20S021	012507-PP	IgG/M/A	8	1	1	1	8	8
20S025	121207-PP	IgG/M/A	8				8	8

\*判定不能

## ●LAT

	Lot	二次抗体	2001	2002	2003	2004	2005	2006
20S018	Mix:10 Single:6	IgG	8	1	1	1	8	8
20S023	Single:6	IgG	8	1	1	1	8	8
20S031	Mix:11	IgG	8	1	1	1	8	8
20S034	#004	IgG	8	1	1	1	8	8

表4 MPHA (パネル) における判定結果不一致について (その1)

2001		80213						20S007		20S021		20S025		20S030	
No	使原抗原	A(1)	A(2)	B(1)	B(2)	C(1)	C(2)	処	未	処	未	処	未	処	未
1	A	24	26	54	61	1	10	1	8	1	8	1	8	1	8
2	B	24		54	62	1	9	1	8	1	8	1	8	1	8
3	C	2	33	51	58	10	14	6	8	6	8	8	8	2	8
4	D	24	26	7	35	7	9	6	8	1	8	6	8	1	8
5	E	2	24	7	51	7	15	2	8	1	8	2	8	1	8
6	F	2		46	48	1	9	8	8	1	8	8	8	2	8
7	G	2	11	35	39	7	8	6	8	2	8	6	8	1	8
8	H	2		35		9		8	8	8	8	8	8	2	8

表5 MPHA (パネル) における判定結果不一致について (その2)

2005		80213						20S007	20S021	20S025	20S030
No	使原抗原	A(1)	A(2)	B(1)	B(2)	C(1)	C(2)	未	未	未	未
1	A	24	26	54	61	1	10	6	1	6	1
2	B	24		54	62	1	9	8	8	8	8
3	C	2	33	51	58	10	14	8	8	8	8
4	D	24	26	7	35	7	9	8	8	8	8
5	E	2	24	7	51	7	15	8	8	8	8
6	F	2		46	48	1	9	8	8	8	8
7	G	2	11	35	39	7	8	8	8	8	8
8	H	2		35		9		8	8	8	8

表6 MPHA 各施設の分析条件

	試薬 Lot	処理時間	感作時間
20S007	80213	2 時間	Overnight
20S021	80213	2 時間	Overnight
20S025	80213	2 時間	Overnight
20S030	80213	2 時間	Overnight

同一血清、同一 Lot、同一条件に関わらず判定結果が異なる

原因：①手技（特に洗浄）  
②目視判定による違い  
（目視の不確かさ）

### 3. まとめ

同一試薬 Lot で検査し感作時間等も同じであるなら結果も同じとならなければならない。異なる結果が出ることは臨床側でのその後の対応に違いが出ることを示唆し誰も望むことではない。手技・技術的な要因や目視判定の不確かさによる結果の相違につ

いては、施設間差をなくするためのテクニカルワークショップ開催が望まれる。また、結果に相違が認められる現段階においては、1法のみで結果を求めるのではなく、可能な範囲内で原理の異なる他法の併用が望ましいと考えられる。

## 第12回 HLA-QC ワークショップレポート (抗体部門) —LIFT 法—

宮崎 孔 (北海道赤十字血液センター)

LIFT 法は本年度は2施設のみの参加で、いずれも HLA class-I 抗体検査のみであり、1施設 (20S009) は抗体スクリーニング (SH2001~SH2006) と抗体特異性の確認 (SH2005, SH2006)、もう1施設 (20S015) は抗体特異性の確認 (SH2005, SH2006) のみの参加である。また、施設 20S009 は IgG と IgM を別々に測定、施設 20S015 は IgG と IgM を合わせて測定した結果となっている。参加施設が少ないため施設間差は評価できなかった。

提出された検体の HLA class-I 抗体の有無は正しく判定されていたが、IgM 抗体 (施設 20S009 のみ) については SH2002 は検出できていたものの、SH2001, SH2006 では検出できていなかった (表 1)。これは検出感度の低さに起因するものと考えられた。抗体特異性の解析においては概ね LABScreen Single Antigen (SA) 試薬と一致した結果であったが、一部に明らかな乖離が認められた (表 2, 表 3)。この原因として以下の理由が考えられる。

(1) 検出感度の差 【LIFT 陰性 (または判定保留), SA 試薬弱陽性】

SH2005: B55, B67, (B13, B27, B61, Cw10)

SH2006: B55, Cw7, (B39, B46)

(2) パネルリンパ球の抗原性 【1施設で LIFT 法陰性, 他施設の LIFT 法, SA 試薬陽性】

SH2005: A11, B7

SH2006: A33

(3) LIFT 法の非特異反応 【1施設で LIFT 法陽性, 他施設の LIFT 法, SA 試薬陰性】

SH2005: A3

SH2006: B13, B59

(4) 生リンパ球と精製抗原での HLA 抗体の反応性の差? 【2施設で LIFT 法陽性, SA 試薬陰性】

SH2005: A31, A33

SH2006: B44

上記 (1) については SA 試薬の非特異反応の可能性を否定できないが、今のところ確認する手段がな

表 1 LHA class-I 抗体スクリーニング

施設	Ig class	SH2001	SH2002	SH2003	SH2004	SH2005	SH2006
20S009	IgG	8	8	1	1	8	8
20S009	IgM	1	8	1	1	1	1
20S015	IgG+IgM					8	8

スコア

8: 陽性

4: 判定保留

1: 陰性

blank: 未検査

■ LIFT陰性 / FlowPRA, LABScreen 陽性

表2 LHA 抗体特異性 SH2005

抗原	20S009	20S015	SA
A1	4	4	8
A2	1	1	1
A3	4	8	1
A11	8	1	8
A24	1	1	1
A26	4	8	8
A30		8	4
A31	8	8	1
A33	8	8	1

抗原	20S009	20S015	SA
Cw1	1	1	1
Cw2			8
Cw4	4	4	8
Cw5			8
Cw6		4	8
Cw7	1	1	1
Cw8	4	4	1
Cw9	4	4	8
Cw10	4	1	8
Cw12			1
Cw14			1
Cw15	4		8

抗原	20S009	20S015	SA
B7	8	1	8
B13	4	1	8
B27	4	1	8
B35	4	8	8
B37	4	4	8
B38	4	8	8
B39	8	8	8
B44	8	8	8
B46	8	4	8
B48	4	8	8
B51	8	8	8
B52	8	8	8
B54	1	1	1
B55	1	1	8
B56	4	1	8
B58	4	4	8
B59	8	4	8
B60	4	8	8
B61	4	1	8
B62	4	8	8
B67	1	1	8
B71	8	8	8
B75	4	4	8

 LIFTのみ陰性  
 LIFTのみ陽性

SA : LABScreen  
Single Antigen

使用パネル数  
20S009 : 85  
20S015 : 50

表3 LHA 抗体特異性 SH2006

抗原	20S009	20S015	SA
A1	4	4	8
A2	8	8	8
A3	4	4	8
A11	8	8	8
A24	1	1	4
A26	8	8	8
A30		4	8
A31	8	8	8
A33	8	1	8

抗原	20S009	20S015	SA
Cw1	1	1	1
Cw2			1
Cw4	4	4	1
Cw5			1
Cw6		4	4
Cw7	1	1	4
Cw8	1	4	1
Cw9	4	1	1
Cw10	1	1	1
Cw12			1
Cw14	1		1
Cw15	1		1

抗原	20S009	20S015	SA
B7	1	1	1
B13	8	4	1
B27	4	1	1
B35	8	8	8
B37	4	4	4
B38	4	4	4
B39	4	1	4
B44	8	8	1
B46	4	1	4
B48	1	1	1
B51	8	8	8
B52	8	8	8
B54	1	1	1
B55	1	1	4
B56	4	4	8
B58	8	4	8
B59	8	1	1
B60	1	1	1
B61	1	1	1
B62	8	8	8
B67	1	1	1
B71	8	8	8
B75	8	4	8

 LIFTのみ陰性  
 LIFTのみ陽性

SA : LABScreen  
Single Antigen

使用パネル数  
20S009 : 90  
20S015 : 61

い。LIFT法の結果で許容抗原を設定する場合、検出感度の問題から患者血清と反応する可能性のあるドナーを選択する場合がある。ただし、ほとんどはSA試薬でのindex値が低い弱陽性であり、この場合、血小板輸血では輸血効果にさほど影響しない可能性もある。

上記(2)、(3)、(4)については結果の乖離の原因を特定することは難しい。LIFT法は、施設によってプロトコールが若干異なるため、施設間で結果が異なっている(2)、(3)についてはプロトコールによる差である可能性もある。(2)の1施設でのみ陰性を

示した抗原については、許容抗原として選択された場合、血小板輸血不応を起こす可能性が高い。LIFT法のHLA抗体検出能は使用するパネルリンパ球に依存するため、正確な結果を出すためには数多くのパネルを用意する必要がある。この点はHLA抗体スクリーニング法としてFlowPRAやLABScreen試薬に比べて大きな欠点となる。

上記のように検査法により結果が不一致となる例については、今後臨床データを収集し、その抗体の意義について検証することが必要である。

## 第12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 & II 抗体 (MR))—

田中秀則 (日本赤十字社 血液事業本部 中央骨髄データセンター)

### 1. はじめに

日本人に多く見られるHLA抗原およびHLAハプロタイプを保有するパネル細胞(EBVトランスフォーム細胞)から抽出した精製HLA抗原を使用し、蛍光ビーズ上でHLA抗体を検出する試薬であるWAK Flow HLA クラス I & II 抗体 (MR) から得られた結果について検討を行った。

HLAクラスI抗体検出用試薬に用いたパネル細胞は、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、①HLA-B抗原型の組合せが、同じ交差反応抗原群(例: B54とB55, B60とB61等)であること、②HLAハプロタイプがホモ接合(例: A24-B52-Cw12ホモ接合等)であることを考慮し、日本人の遺伝子頻度が1%以上のHLA抗原が網羅出来るように選択を行った(QCワークショップホームページ参照, 以下HPと表記)。また、HLAクラスII抗体検出用試薬に用いたパネル細胞は、①HLAタイプがホモ接合であること、②

HLA-DR抗原のサブタイプ(例: DR4.1とDR4.2等)が区分出来ることを条件に選択を行った(HP参照)。

### 2. 結果および考察

今回のHLA-QCワークショップ(以下、QCWS)の参加施設は、クラスI抗体が9施設、クラスII抗体が7施設であった。抗体検出に使用した二次抗体は、全施設で添付品(抗heavy chain & light chain)を使用しており、1施設で抗IgM抗体を二次抗体に用いた結果が提出された。また、クラスI抗体で4施設、クラスII抗体でも4施設で非特異反応の吸収を目的とした吸収操作を行ったデータが提出された(HP参照)。

提出された蛍光値(Luminex測定データのmedian値)のデータおよび蛍光値から算出されるIndex値(Negative Background Ratio)をFig. 1~Fig. 28にグラフで示した(HP参照)。

検体 SH2001 は、非特異的が疑われ 4 施設で吸収操作が行われた結果、吸収および未吸収検体での Index 値の平均が大きく異なっており (HP の Fig.3 および Fig.16 参照)、吸収操作が HLA 抗体検出に有効な例であった。

### 2.1. クラス I 抗体

蛍光値での施設間差は見られたが、Index 値での施設差は殆ど認められなかった。しかし、検体 SH2002 で施設番号 20S18 と 20S28 の Index 値が若干低い傾向にあった。陽性となった検体の抗体特異性は、SH2001, SH2005, SH2006 で広範囲の抗体特異性が、SH2002 で HLA-B44 の特異性が検出された。(HP の Table1 参照)

### 2.2. クラス II 抗体

検体 SH2003 と SH2005 は、他法の結果からクラ

ス II 抗体陰性であったが、施設番号 20S018 と 20S029 の Index 値が一部のビーズで 2.0 以上となり、偽陽性反応を示した。反応が見られた蛍光ビーズの抗原から SH2001 は DR9+DR7 が、SH2006 は DR52+DR8.2 の特異性が推察された (HP の Table1 参照)。また検体 SH2004 は、他法で DR7 の特異性が確認されている男性由来の検体であるが、本法では HLA 抗体は検出されなかった。

### 2.3. IgM 抗体

1 施設から IgM の HLA 抗体に関するデータが提出されており、検体 SH2001 と SH2002 にクラス I 抗体が、SH2001 にクラス II 抗体が検出された (特異性等について HP を参照)。また、それぞれの抗体特異性は、SH2001 が HLA-B15 関連抗原に、SH2002 が HLA-B44 抗原に対する抗体であった。

## 第 12 回 HLA-QC ワークショップレポート (抗体部門) —FlowPRA 法—

佐藤 壯 (札幌北楡病院)

### 1. はじめに

今回 FlowPRA 解析を担当するにあたり、従来の QCWS における報告用ファイルの情報 (判定スコア、陽性率、ヒストグラム) だけでは十分な解析が難しいと考え、QCWS 部会の了解を得て参加施設に解析の基礎データである FCS ファイル (LABScreen 法における CSV ファイルと同様のファイル) 及びネガティブコントロール (以下 NC)、ポジティブコントロール (以下 PC) データの追加提供を依頼した。紆余曲折はあったものの、最終的に参加 22 施設中 19 施設からデータを提供していただくことができた。この場を借りて担当者の方々のご協力に感謝申し上げます。なお、次回の QCWS データ提出に際しては FCS ファイル添付を必須とする方向で計画している。

### 2. 参加施設と測定項目・機器

参加施設を大学・病院、血液センター関連、検査会社に大別して測定項目毎に表示したのが表 1 である。IgM 抗体に関してはその測定意義が必ずしも明確にはなっていないが、一般に抗原感作によって最初に IgM 抗体が産生されその後 IgG 抗体が産生されることから、ランダム血小板輸血によって産生される HLA 抗体を早期に同定する目的のためか、測定しているのはすべて血液センター関連である。

測定機器はベクトン・ディッキンソン社 (以下 BD) が 12 施設、ベックマン・コールター社 (以下 BC) が 9 施設、オーソ社が 1 施設だった。

### 3. 測定結果

#### 1) Screening Test (以下 SC)

今回の配布検体は6種類で、陽性検体を8あるいは6と判定、陰性検体を1と判定したものを一致と見なして集計したのが表2である。IgG抗体に関してはclass IがSH2003, class IIはSH2004の一致率が悪かった。表には示していないがclass I, IIを合わせた12項目すべてにおいて一致していたのはわずか8/19施設で半分に満たなかった。IgM抗体についても一致率はあまり良くなかった。

## 2) Single Antigen (以下 SA)

当然のことながらIgG抗体がターゲットで、対象となった検体はSH2005とSH2006, このうちSH2005はclass I抗体のみが陽性である。参加施設は9施設で、class I, class IIのみ解析が各1施設、両者解析が7施設。ただ、多くはgroup1から4までで、class Iのgroup1から10まで解析したのは1施設のみであった。詳細はホームページ上の解析結果を参照していただきたいが(以下HP参照)、解析結果の評価以前にCompensation不良のプロットが数多く認められた。残念ながら的確な解析が可能なのはわずか2,3施設程度であろう。

## 4. 考察

今回ポイントとなったのは、①バックグラウンドが高い検体を陰性と判定できるか(SH2003), ②DR7特異的な抗体のみの検体を陽性と判定できるか(SH2004)の二点である。

前者についてはシングルピークのヒストグラムがNCより右にシフトしているのを陽性と判定したのが

1施設、保留としたのが3施設そして陰性としたのが4施設であった。残る14施設はわずかに右にシフトしているものの多くはカットオフラインの左側に収まっている。そのような違いが生じたのは大会で報告したように設定条件の問題(図1)も考えられる。一般にflowcytometryを操作している技師の場合、NCをできるだけ低く設定する傾向にある。BDでは101, BCでは100程度に。ただそうするとその位置ではわずかの違いを拾ってしまうことになりかねない。添付文書にもあるとおりBDでは102, BCでは101程度に設定することにより非特異反応による影響を回避するのも有効だろう。また、あるいは洗浄操作の違いが影響しているかもしれない。これについては次回以降の課題である。

ただ、それ以前の基本的な問題はシングルピークのままNCより右にシフトした検体をどう判定するかである。確かにOne Lambdaの添付文書には“The positive sera may generate a single shifted peak or multiple peaks on the FL1 histogram.”という記載がある。しかしこの前半部分はやはりおかしい。SCは30種類のセルラインから抽出されたHLA抗原をコーティングしたビーズの混和物である。各アリのほぼすべての抗原を網羅できるような組み合わせが選択されており、したがって各ビーズはOne Lambdaが販売しているPC血清ですらマルチプルピークを作ることから分かるおとり各々異なった反応を示す。この30種類のビーズが一様にシフトするとすれば、それはHLA抗原に対するモノクローナル

表1

		大学・病院	血液センター	検査会社	
SC	IgG	Class I	12	8	2
		Class II	11	6	2
	IgM	Class I	-	7	-
		Class II	-	3	-
Single Antigen		5	3	1	

表2

		SH2001	SH2002	SH2003	SH2004	SH2005	SH2006	完全一致施設
IgG	Class I	100%(22/22)	95.5%(21/22)	81.8%(18/22)	100%(22/22)	100%(22/22)	100%(22/22)	77.3%(17/22)
	Class II	94.7%(18/19)	100%(19/19)	100%(19/19)	52.6%(10/19)	100%(19/19)	100%(19/19)	52.6%(10/19)
IgM	Class I	100%(7/7)	100%(7/7)	100%(7/7)	100%(7/7)	71.4%(5/7)	42.9%(3/7)	28.6%(2/7)
	Class II	66.7%(2/3)	100%(3/3)	100%(3/3)	33.3%(1/3)	33.3%(1/3)	100%(3/3)	33.3%(1/3)

抗体が非特異反応以外には考えられない。

後者については、参加施設が使用したロット 13 と 14 には DR7 がコーティングされているビーズは 5 種類しかない。すなわち 5/30 だから陽性率はどんなに高くとも 17% 弱である。不一致となった 9 施設中明らかに機器設定に問題があると考えられたのは 3 施設で残りの 6 施設ははっきりと陽性ピークが認められるが陽性率の低さに躊躇されたようだ。これも添付文書にある “If the percent PRA is less than 10%, carefully examine the histogram.” に惑わされたのかもしれない。

以前赤座達也氏にヒストグラム合成ソフトウェアを作っていただいた。これは 1 種類のビーズが作るヒストグラムは正規分布曲線と同じであることから、30 の正規分布曲線を累計して一つのヒストグラムに

するエクセルマクロファイルである。抗体が陰性であれば、個々のビーズが作る正規分布曲線の中央値自体も正規分布に従った分散を示すはずであるから、合成されるヒストグラムも正規分布と似たものになる。ただし class I の場合は抗原の種類が class II よりはるかに多いため、それだけ分散した裾野の広いヒストグラムとなる。5つのビーズをずらして描いたのが図 2 である。実際の解析結果とほぼ同じである。極端な場合たった一つのビーズがシフトしてもそれは陽性である。その際の陽性率は 1/30 であるからわずかに 3% 強に過ぎない。

今回 FCS ファイルを提供していただき、取り込み Event 数についても比較することができた (HP 参照)。図 3 のようにこの解析担当者は「ピークにスパイクが見られたため、陰性とは判定できず」保留と

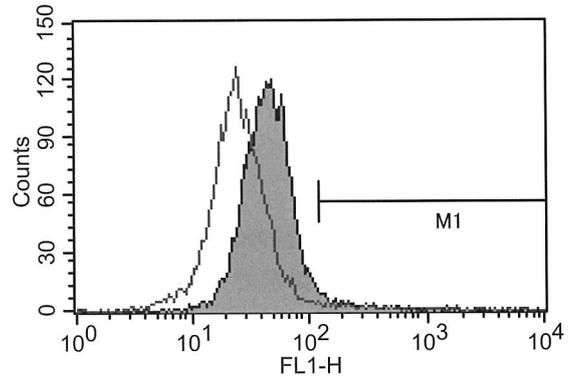
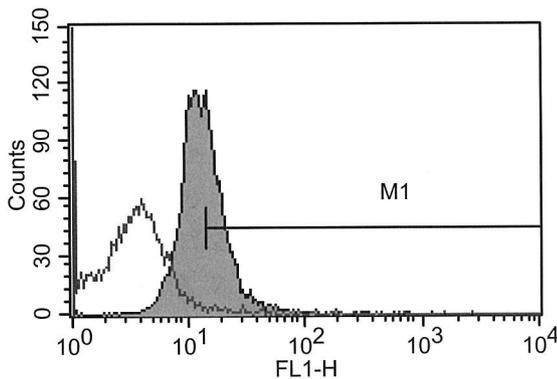


図 1 Amp gain の変更によるヒストグラムの違い

赤い外枠線のヒストグラムが negative control, 黒枠で内部が緑のヒストグラムが SH2003。

左が報告された結果, 右が Amp gain を強くして再測定した結果。

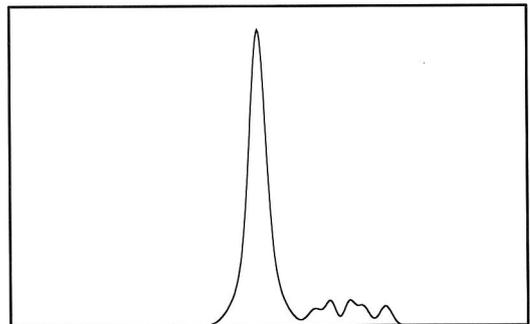
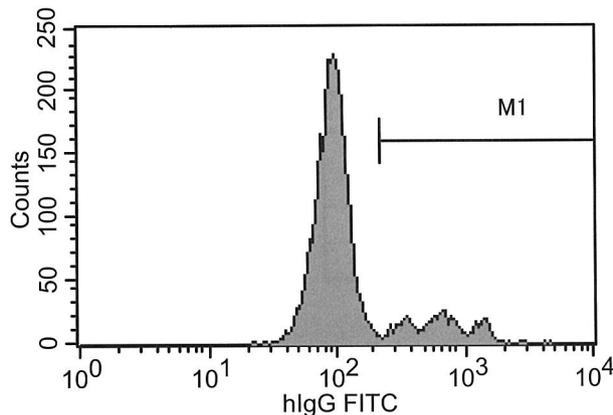


図 2 ヒストグラムのシュミレーション

左が SH2004 のヒストグラム, 右がヒストグラム合成ソフトウェアの結果。

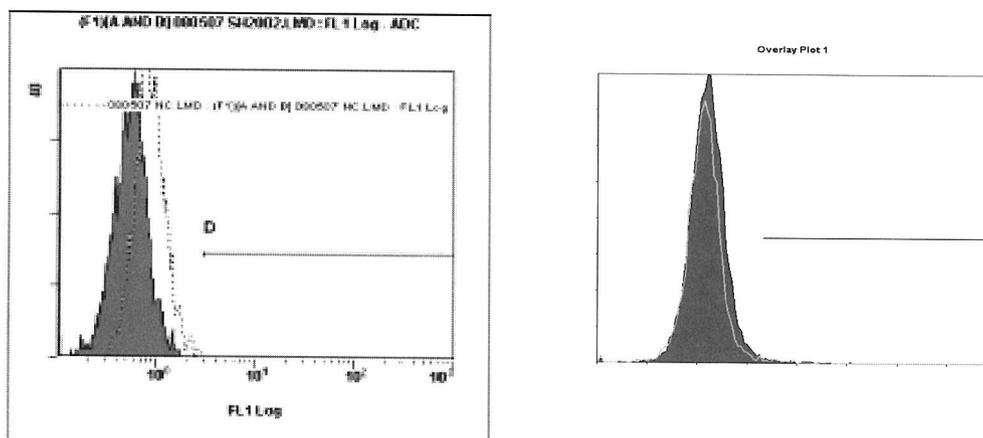


図3 Event数によるヒストグラムの違い  
 左はEvent数4,500で判定は4(保留),  
 右はEvent数29,000で判定は1(陰性)。

しているが、取り込みEvent数が少ないほどヒストグラムはスパイクピークが多くなることは当然である。多ければ多いほどいいというものではないが、これまでの例から見てEvent数10,000を超えればかなり滑らかなヒストグラムが得られるはずである。その点、添付文書に載っているヒストグラムはあまり良くない見本である。

FL-1 (FITC) と FL-2 (PE) の Compensation に関しては、SC ではよほどのことがない限り解析には支障はないが、FL-1 (FITC) の蛍光が多量に FL-2 (PE) に漏れ込む場合には、コントロールビーズの集団とかぶってしまい、gating が難しくなる場合がある。望ましいのは NC と PC のデータを gating 画面として使用する FSC×FL-2 (PE) のプロットで変化がないか比較することである。SA についても同様に NC と PC のデータを FL-1 (FITC)×FL-2 (PE) のプロットで比較するのが有用である。特に最も PE 蛍光の最も強いビーズと最も弱いビーズが影響を受けやすい (HP 参照)。これらのことについても残念ながら添付文書では触れられていない。

また、各施設から送付された FCS ファイルを解析して明らかとなったのは、BD と BC の機器では基本的な FSC×SSC のプロットが異なるということである (HP 参照)。BD では FSC で class I > class II となっているが、BC では逆である。これは BC の担当者によれば FSC (forward scatter) のフィルターの

違いによるということである。添付文書には BD のプロットしか掲載されておらず、機器の違いがプロットの違いにも影響する可能性があり、今後留意する必要があると考えられる。

## 5. まとめ

今回の検体は、FlowPRA 法の問題点を確認する上でもきわめて有用であったと考えられる。特に SH2003 に関しては、ヒストグラムがシフトした施設でコントロール血清として利用していただき、正しい機器設定等の条件を確立していただければ、Quality Control の役目を十分に果たしたことになる。

FlowPRA を扱うためには Flowcytometry にある程度習熟している必要があるが、添付文書を読む限りでは One Lambda 社が Flowcytometry に関して十分な知識を有しているとは残念ながら言い難いし、日本におけるディストリビューターであるベリタスも同様である。

幸いなことに BC は積極的に FlowPRA に取り組んでおり、サポート窓口としてメールでは cytometry@beckman.com、電話は 0120-826-777 を設けてユーザーからの問い合わせに対応している。BD は担当者が一昨年の学会に出席して、対応できる体制を検討するとのことであったが、残念ながらまだ進んではない。個々の担当者が対応してくれる場合もあるが、組織としてサポートする体制にはなっ

いない。当面は筆者が個別に BD ユーザーからの問い合わせに対応して行ければと考えている。

最後になるが FlowPRA や LABScreen で HLA 抗体を測定する上で、担当者が最も頭を悩ませるのはカットオフラインをどこに設定するかであろう。少なくとも現時点で言えるのは絶対的なラインは存在しないということである。臓器移植においては移植前の組織適合性検査と移植後のモニタリングでは尺度が異なる。輸血領域でも別な尺度が必要である。なぜなら血液センターが血小板抗体検査を依頼される

のはほとんどがランダム血小板不応性の患者血清だからである。そこでは臓器移植後と同様に抗体の吸着の可能性をどう判断するかが求められる。

それともう一つ。今回の QCWS には、A\*2402 には反応しないが A\*2403 には反応する検体が含まれていた。もうそろそろ血清学的 2 桁レベルから抗原としての 4 桁レベルに移行する時期に来ているのではないだろうか。アサインする側も臨床側も含めてであるが。

## 第 12 回 HLAQC ワークショップレポート (抗体部門) —LABScreen 法—

高陽 淑 (大阪府赤十字血液センター)

### 1. 抗体の有無の結果比較

今回 LABScreen 法の検討に参加したのは 11 施設で、そのうち 2 施設は抗体同定 (SH2005, SH2006) のみの参加であったが、9 施設は抗体の有無の結果 (SH2001~2004) についても回答していた。また、抗体スクリーニングの目的で用いた試薬の比較につ

いて第 11 回 QCWS を対象に調査したところ PRA を用いた施設の割合は減少し、Mixed を用いた割合が増加していた (図 1)。この現象の原因としては抗体の有無のみを求める検体は Mixed のみの測定結果で判定していた施設があったことと、Mixed が Lot.12 から MICA が測定可能になり、Lot.14 から

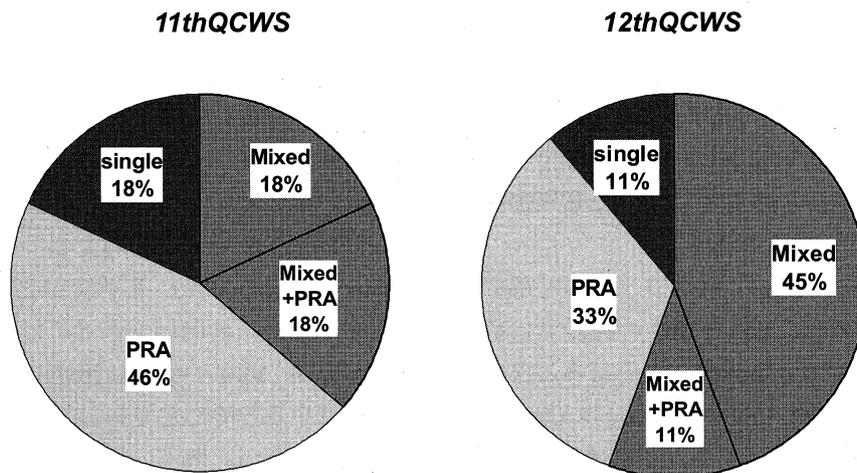


図 1 スクリーニングの目的で用いた試薬の比較

は beads 数が 17 種類 (class I が 12beads, class II が 5beads) に増加するなど改良されてきたことが考えられた。次に抗体の有無の結果を比較するとクラス I では SH2002~2004 について、クラス II では SH2005 についての結果が 100% 一致にはならなかった。その原因はスクリーニングの検査として用いる試薬によって違いがある。Mixed を用いた場合では Cut off Ratio の設定や判定後の再検の有無が、single antigen を用いた場合では試薬のロット間差が反映していると考えられた (各試薬の反応性比較に関するデータはホームページ掲載の図表を参照)。

## 2. 施設間での判定結果比較

SH2005, SH2006 の検体について、抗原別反応値の一覧表に記載のある A~C ローカスまでの 81 種類の HLA 抗原に対する判定スコアを比較したところ施設間の判定が一致していた抗原は両方の検体ともに 90% 程度で、残りの 10% は陽性と陰性の判定が混在していた。そこで結果が不一致であった抗原について single antigen を実施した 10 施設の測定値 (BNV) および判定結果の比較を行った。その結果、判定結果が不一致の原因としては、single antigen のロット間差、反応性および判定基準の施設間差などが考えられた (詳細なデータはホームページ掲載の図表を参照)。

## 3. 施設間での反応条件の比較

同一検体で同一ロットの試薬を用いた測定での BNV 値に施設間差がみられたことから Control bead の Raw date について施設間で比較を行ったところ、図 2 に示すとおり非常にバラツキがあることが判明した。そこで、その原因を調べるために各施設の反応条件 (前処理, サンプル量, 反応の温度・状態・時間, 洗浄) についてアンケート調査を実施した (表 1)。施設間で大きな違いは見られなかったことから、洗浄後のフリッキングの具合, 二次抗体 (PE-IgG) の保存管理状態, Luminex のメンテナンスなど、今回のアンケート調査では明らかに出来なかった点に要因があると推測された。

## 4. 参加施設によるグループ解析と各施設の判定基準

各施設が提出したデータから得られた大まかなまとめを参加施設にメール配信し、自施設と他施設の判定結果が一致していないデータの見直しおよび、その原因について各施設での考察を依頼した。また、同時に各施設の判定基準についてもアンケート調査を実施した (回答の詳細についてはホームページ掲載のまとめを参照)。アンケート調査の結果から陽性判定の基準を大別すると、以下に示す 2 種類のパターンに分類できるようであった。

① BNV 値が 1,000 前後を示した beads の判定か

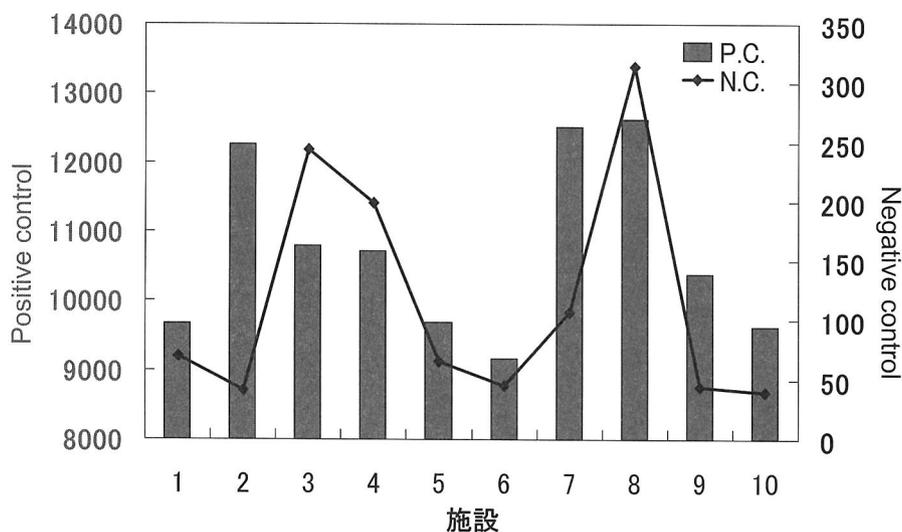


図 2 control bead の反応性比較 (クラス I: SH2006)

表 1 反応条件のまとめ

		最多回答	回答の範囲
前処理	回転数	10,000rpm	13,000～15,000rpm
	時間	10分	3～60分
反応量	検体	20 $\mu$ L	5～20 $\mu$ L
	Beads	5 $\mu$ L	1.25～5 $\mu$ L
反応	形態	プレート	2施設はチューブ
	温度	25 $^{\circ}$ C	18～25 $^{\circ}$ C
	状態	ミキシングしながら反応	シェーカーあるいはVoltexを使用
	時間	一次・二次反応ともに30分(全施設一致)	
一次後 洗浄	回数	3回	1施設のみ4回
	液量	1回目150 $\mu$ L、2,3回目200 $\mu$ L	100～200 $\mu$ L(1施設は1,000)
二次後 洗浄	回数	2回	1～3回
	液量	200 $\mu$ L	100～200 $\mu$ L(1施設は1,000)

ら明確な抗体特異性が検出できること。

② 解析プログラム (HLA Visual) の自動判定結果。

ただ、いずれの基準であっても HLA 抗原の交差反応性や抗原の出現頻度など結果の解釈に必要な知識やリファレンスデータの蓄積が必要であると思われる。

## 5. 今後の課題

参加施設による解析から導かれた今後の課題として、次の2点が挙げられる。

① アッセイにおける技術の向上

具体的には、同一ロットによる同一検体の BNV 値には大きな施設間差がないこと、さらに HLA に関する知識と各施設でのデータ蓄積を行い正確に判定結

果の解釈を行うこと。

② 判定基準の統一化

具体的には、検査の目的(移植か輸血か、など)によっても違いはあるものの最低限の基準は統一化するべきであるということ。

## 6. 次回の QCWS に関する提案

① LABScreen での判定基準を明確にした上で Flow PRA 等の他法との比較を行う。

② 判定済みの CSV を他施設で再度判定し、その結果を比較し合う。

③ 施設の事情(輸血関連か移植関連かなど)を考慮した解析を行う。

## ● 総 説 ●

# [シリーズ: 疾患と組織適合性]

## 第3回

### ナルコレプシー

宮川 卓, 徳永 勝士

東京大学 大学院医学系研究科 国際保健学専攻 人類遺伝学分野

**要約:** ナルコレプシーは代表的な過眠症であり、遺伝素因や環境素因といった複数の因子が作用し、発病に至る多因子疾患である。これまでのナルコレプシー研究において注目すべき点は、日本人ではほぼ全てのナルコレプシー患者が *HLA-DRB1\*1501-DQB1\*0602* ハプロタイプを保有すること、およびオレキシン神経系の機能低下がナルコレプシーの病態に関わることである。しかしながら、依然として不明な点が多く残されているため、我々はナルコレプシーの新たな遺伝素因を解明すべく、研究を進めており、その内容についても本稿で紹介する。

**キーワード:** ナルコレプシー, HLA, オレキシン, ゲノムワイド関連解析

#### ナルコレプシーについて

ナルコレプシーは、睡眠発作、情動脱力発作(カタプレキシー)、睡眠麻痺および入眠時幻覚を主症状とする過眠症である。睡眠発作は耐え難い眠気により、通常であれば居眠りをしないような場面(例えば、試験中や歩行中など)で眠り込む発作である。情動脱力発作は、笑い、興奮、驚きなど急激な情動の変化を契機に筋緊張が突然喪失する発作である。頬が緩む、舌が回らない、膝が崩れるなど症状の程度は様々である。睡眠発作および情動脱力発作は、症状の持続時間が短い点に共通した特徴がある。睡眠麻痺は、睡眠時に全身の力が抜け、体が動かせなくなる症状であり、入眠時幻覚は、眠りぎわに起こる強い恐怖感を伴う視覚性、体感性の幻覚であり、同時に睡眠麻痺を伴うことがある。

ナルコレプシーの症状の背景として、睡眠・覚醒の中枢機構における二つの障害が考えられる。一つは、睡眠・覚醒リズムの多相化である。ヒトの睡眠

パターンは夜1回睡眠の単相性睡眠を示すが、ナルコレプシー患者では睡眠相が分断化(多相化)し、覚醒レベルを維持できなくなる。これにより、日中に眠気が繰り返し患者を襲う。もう一つは、覚醒からREM(rapid eye movement)睡眠への移行が容易に起こるというREM睡眠発現様式の異常である。情動脱力発作は、REM睡眠の特徴である筋緊張消失により引き起こされる。また、通常入眠後約90分経過したところで出現するREM睡眠が、ナルコレプシー患者では入眠後5~10分程度で出現(入眠時REM睡眠)する場合がある。REM睡眠期は筋弛緩が起こり夢を見る生理的な状態であることから、入眠時幻覚や睡眠麻痺といった症状も入眠時REM睡眠が関連すると推察されている。

ナルコレプシーの治療については、薬物療法が効果的であり、適切な治療により社会生活に支障をきたす症状のコントロールが可能となる。日中の眠気に対しては、精神刺激薬が有効である。日本ではメ

代表者連絡先 〒113-0033 東京都文京区本郷7-3-1  
東京大学 大学院医学系研究科 国際保健学専攻 人類遺伝学分野  
宮川 卓

電話 03-5841-3692  
FAX 03-5802-8619  
E-mail miyagawa-taku@umin.ac.jp

チルフェニデート、ペモリンおよびモダフィニルが中心となる。情動脱力発作、睡眠麻痺および入眠時幻覚に対しては、REM睡眠抑制作用を持つ三環系抗うつ薬(クロミプラミンなど)が有効である。しかし、頻脈などの副作用や緑内障などの禁忌に相当する場合は、セロトニン再取り込み阻害薬(SSRI)やセロトニン・ノルアドレナリン再取り込み阻害薬(SNRI)を用いる。また、夜間睡眠の障害が認められる場合は、睡眠導入剤(ベンゾジアゼピン系および非ベンゾジアゼピン系)を用いる。また、非薬物療法として、規則正しい生活習慣、夜間の睡眠時間の確保および短時間の計画的昼寝が効果的である。特に計画的昼寝は有効であるが、これを学校や職場で実行するためには、環境を整えるべく、患者本人だけでなく周囲の人間がナルコレプシーについて正しい認識を持つ必要がある。現在、社会的啓蒙活動および会員相互の親睦など、患者の社会生活面の向上を図ることを目的とした患者会「なるこ会」(<http://www2s.biglobe.ne.jp/~narukohp/>)が運営されている。

ナルコレプシーは10歳代に発病することが多く、性差は認められない。ナルコレプシーの有病率は日本では0.16~0.18%、欧米では0.02~0.04%と推定されている<sup>1)</sup>。ナルコレプシーの遺伝学的素因に関する知見については、一卵性双生児一致率は20~30%、第一近親発症率は1~2%と報告されていることから<sup>1,2)</sup>、ナルコレプシーは遺伝素因や環境素因といった複数の因子が複雑に作用し合って、発病に至る多因子疾患であると考えられている<sup>1)</sup>。

### ナルコレプシーとHLAとの関連

これまでのナルコレプシー研究において注目すべき点は、ナルコレプシーとヒト白血球抗原(human leukocyte antigen; HLA)との強い関連性である。1984年、全ての日本人ナルコレプシー患者がHLAクラスII抗原のDR2陽性であることが、日本人グループによって見出された<sup>3)</sup>。その半年後、ヨーロッパ系集団においても、全ての患者がDR2陽性であることが確認された<sup>4)</sup>。その後、HLAの遺伝子型のタイピングが行われ、日本人ナルコレプシー患者のほぼ100%、ヨーロッパ系集団患者の約90%が、*DRB1\*1501-DQB1\*0602*ハプロタイプを保有してい

ることが判明した<sup>5)</sup>。しかしながら、日本人集団の約12%、ヨーロッパ系集団の約22%が*DRB1\*1501-DQB1\*0602*ハプロタイプを保有すること、ヨーロッパ系集団には*DRB1\*1501-DQB1\*0602*ハプロタイプを持たないナルコレプシー患者がいること、および統計遺伝学による計算の結果から、HLA領域以外の遺伝子の関与が示唆される<sup>5)</sup>。

また、HLAとの関連から、ナルコレプシーの病態に一過性の自己免疫反応が関与していることが想定されている。実際、発症後まもない症例に対して、免疫抑制療法<sup>6)</sup>やγグロブリン静注<sup>7)</sup>が行われ、効果が認められたとの報告がある。しかしながら、HLAとの関連が見つかったから25年以上経過しているが、様々な検討にも関わらず、現状では自己免疫の直接的な証拠を解明するに至っていない<sup>8-11)</sup>。

### ナルコレプシーとオレキシン神経系の機能低下

1999年、HLAや自己免疫とは異なる方向から、ナルコレプシーに関する注目すべき発見があった。1970代に見つかった自然発症のイヌのナルコレプシーは長年その原因が不明であったが、常染色体劣性遺伝を示す系統が樹立され、その原因としてオレキシン(ハイポクレチン)-2受容体遺伝子の変異が同定された<sup>12)</sup>。同時期に、オレキシン前駆体欠損マウスも情動脱力発作に類似した行動を示すことが報告された<sup>13)</sup>。オレキシンは脳の視床下部などで発現し、食欲、睡眠および覚醒を制御する神経ペプチドであり、正常な睡眠・覚醒パターンに必須であると考えられている<sup>14)</sup>。そして、ヒトのナルコレプシーにおいても約90%の患者で、脳脊髄液中のオレキシン濃度が健常人に比べ著しく低下していることが確認された<sup>15,16)</sup>。ナルコレプシーの死後脳を用いた研究においても、オレキシンの遺伝子発現やタンパク発現が顕著に減少していた<sup>17,18)</sup>。これらのことから、オレキシン神経系の機能低下がナルコレプシーの病態に関わることが判明した。また、オレキシン濃度の低下はナルコレプシー発症時から認められ、ナルコレプシーの一卵性双生児不一致例の健常同胞ではオレキシン濃度が正常値であることから、オレキシン神経系の障害は先天性なものではなく、発症前に急速に進行するものと推定される。

イヌのナルコレプシーは浸透率 100% の遺伝病であるが、ヒトのナルコレプシーは多因子疾患であり、遺伝様式が異なる。症状に関しても、イヌのナルコレプシーは情動脱力発作が生まれてすぐに始まり、頻度も高く、その状態が一生続くのに対し、ヒトのナルコレプシーは睡眠発作が主で、情動脱力発作は何年かすると治ることがある。実際、ヒトのナルコレプシーでは、1 例の早期発症重症例を除き<sup>17)</sup>、オレキシン遺伝子およびオレキシン受容体遺伝子内にオレキシン産生や構造に影響を与えうる変異は見つかっておらず<sup>19,20)</sup>、オレキシン神経系の障害の原因に関しては、依然として不明な点が多く残されている。

#### マイクロサテライト多型を用いたナルコレプシーのゲノムワイド関連解析

以上のことから、HLA 以外のナルコレプシー関連遺伝子が存在する可能性が示唆されるため、当研究室ではそれらの探索を目的として、ゲノムワイド関連解析を行ってきた。

近年、検出力が高く、ゲノム全域を探索できる方法として、ゲノムワイド関連解析 (GWAS) が実施されるようになった。関連解析において、疾患との有意な関連を見出すためには、多型マーカーが疾患感受性遺伝子と連鎖不平衡の状態になればならないため、多数の多型マーカーによって高密度にゲノム全域をカバーする必要がある。そのような多型マーカーとして SNP (単一塩基多型) とマイクロサテライト多型が考えられる。SNP を用いたゲノムワイド関連解析は中村らによって<sup>21)</sup>、マイクロサテライト多型を用いたゲノムワイド関連解析は猪子らによって<sup>22)</sup>、世界に先駆けた研究が本邦で行われた。

当研究室においても、マイクロサテライト多型を用いたナルコレプシーのゲノムワイド関連解析が行われた<sup>23)</sup>。日本人のナルコレプシー患者試料 (ケース) 110 例および健常者試料 (コントロール) 210 例のゲノム DNA を等量ずつ混合した pooled DNA を 2 セットずつ作製し (合計検体数: ケース 220 名, コントロール 420 名), 約 23,000 個のマイクロサテライトマーカーのフラグメント解析 (1 次・2 次スクリーニング) を行った。1 次・2 次スクリーニングを

通して有意差を示したマーカーのうち、再現性の高かったマーカーを 30 個選別した。

pooled DNA を用いた解析では、PCR (polymerase chain reaction) による影響や、繰り返し数の違いによる増幅効率の差が、偽陰性・偽陽性を増加させる可能性がある。そこで、これら 30 個のマーカーに対して、1 次・2 次スクリーニングにおいて使用した検体の個別試料タイピングを行ない、両スクリーニングにおいて検出された関連の確からしさを検証した。その結果、11 個のマーカーが有意差に至り、pooled DNA 法による偽陽性を取り除くことに成功した。これら 11 個のマーカーの内、マーカー D21S0241i 周辺領域を詳細に解析するため、新たにマイクロサテライトマーカーおよび SNP を設定し、それらを用いた関連解析を行った (ケース: 190 名, コントロール: 190 名)。その結果、ナルコレプシーの新規候補領域を見出し、この領域を NLC1 (narcolepsy candidate region 1) と名付けた (図 1-A および図 1-B)。NLC1 内には既知の遺伝子は存在しないものの、予測遺伝子が 3 つ存在する (NLC1-A, -B, -C)。次に、これら 3 つの遺伝子のエクソン、イントロン、プロモーター領域 (3 kb 上流) の多型解析を行い、そこで検出された多型を用いて関連解析を行った。関連解析の結果、マイクロサテライトマーカー D21S0012 m および SNP (rs13046884) がナルコレプシーと強い関連を示すことを確認した (図 1-C)。また、rs13046884G アリル、rs13048981T アリルは強い連鎖不平衡状態にあるため、rs13048981 で観察された疾患との関連はその影響によるものと考えられる。D21S0012 m および rs13046884 は、それぞれ NLC1-A のプロモーター領域 (D21S0012 m) およびイントロン (rs13046884) に存在する (図 1-C)。そこで、これら多型が遺伝子発現に影響を与えるか、レポータージーンアッセイを用いて解析した。その結果、ナルコレプシーの抵抗性アリルとして強い関連を示したアリル (D21S0012 m: (AC) 10, rs13046884: G) において転写レベルが他のアリルを所有する場合に比べて有意に低いことがわかった。以上のことから、NLC1-A はヒトのナルコレプシーの発症や病態に関与する遺伝要因である可能性が示唆された。

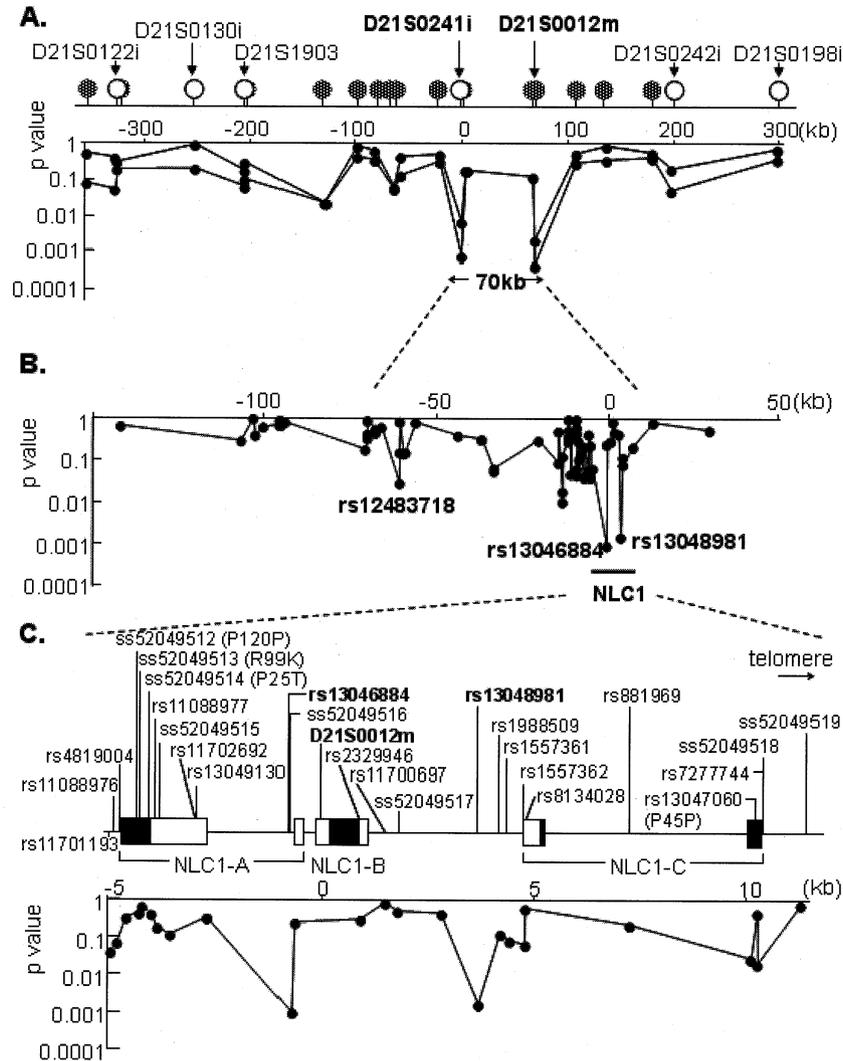


図1. マイクロサテライトマーカー及び SNP を用いた高密度マッピング  
 A, 白丸: 1次・2次スクリーニングにおいて使用したマーカー, 黒丸: 新たに設定したマーカー  
 B, 高密度マッピングに用いた SNP  
 C, NLC1 内の変異解析によって検出された SNP  
 白ボックス: コーディング領域, 黒ボックス: 非転写領域  
 P 値はフィッシャーの直接検定法により算出した

### SNP を用いたナルコレプシーのゲノムワイド関連解析

SNP を用いたゲノムワイド関連解析は十万から百万 SNP のタイピング作業を必要とするが, 2つのマーカーが実用的な技術を開発し<sup>24,25)</sup>, 大規模な SNP タイピングキットが2005年より市販された。これにより飛躍的な労力およびコスト削減が可能になり, 巨額な予算のない研究グループにおいても SNP

を用いたゲノムワイド関連解析を行うことが可能となった。

当研究室においても, 新たなナルコレプシー関連遺伝子を探索するために SNP を用いたゲノムワイド関連解析を行った<sup>26)</sup>。対象として日本人のナルコレプシー患者試料 (ケース) 222 例および健常者試料 (コントロール) 389 例を用いて, 50 万 SNP の遺伝子型のタイピングを行った。この際, 大規模 SNP タ

イピングキットを用いてタイピングを行うが、最新の技術をもってしても全ての SNP が正確にタイピングされているとは限らないことが知られている。そのような不正確な SNP の情報を排除する必要がある(データクリーニング)。我々は種々の条件を検討した結果<sup>27)</sup>, 各 SNP の call rate (95% 以上), ハーディ・ワインベルク平衡 (P 値 0.001 以上) およびマイナーアレル頻度 (5% 以上) の条件を満たした約 25 万 SNP を選別した。各 SNP に対する統計検定の結果 (図 2), および SNP の周辺の遺伝子情報等を参考にし, 疾患に関連し得ると予想される新規候補 SNP を 30 個選別した。なお, ナルコレプシーは, 既に 6 番染色体上の HLA 領域との強い関連が知られているため, HLA 領域の SNP は今回の解析から除外したが, 予想通り極めて強い関連が認められた (図 3) (最も関連の強かった SNP の P 値は  $4.7 \times 10^{-47}$  であった)。これら新規候補 SNP の再現性を確認するために, 独立の日本人サンプルセット (ケース: 159 例, コントロール: 190 例) を用いて, Replication Study を行った。その結果, 22 番染色体 (22q13.33) に位置する SNP (rs5770917) で再現性を確認した。ゲノ

ムワイド関連解析における rs5770917 (T/C) の C アレルの頻度はナルコレプシー患者 25.9%, 健常者 16.8% ( $P=1.4 \times 10^{-4}$ , オッズ比 1.74), Replication study ではナルコレプシー患者 24.2%, 健常者 13.9% ( $P=5.2 \times 10^{-4}$ , オッズ比 1.97) であり, ナルコレプシー患者において有意に増加していた (表 1)。両解析を統合した結果の P 値は  $4.4 \times 10^{-7}$  (オッズ比 1.79) となった (表 1)。さらに, 韓国人サンプルセット (ケース: 115 例, コントロール: 309 例) を用いた関連解析を行い, 同様にナルコレプシー患者において C アレルが有意に増加していることを確認した (ナルコレプシー患者 24.8%, 健常者 19.1%,  $P=0.03$ , オッズ比 1.40) (表 2)。東アジア系集団 (日本人および韓国人データ) によるメタ解析を行った結果, P 値が  $1.4 \times 10^{-7}$  (オッズ比 1.68) となった。本研究では, 25 万 SNP を対象にゲノムワイド関連解析を行ったことから, 多重検定を考慮しなければならない。最も厳しい補正法である Bonferroni 補正法を用いた場合, 有意水準 0.05 を維持するためには, 0.05 を 250,000 で割った値,  $\alpha=2.0 \times 10^{-7}$  を採用することとなる。本研究で認められた関連 ( $P=1.4 \times 10^{-7}$ ) は

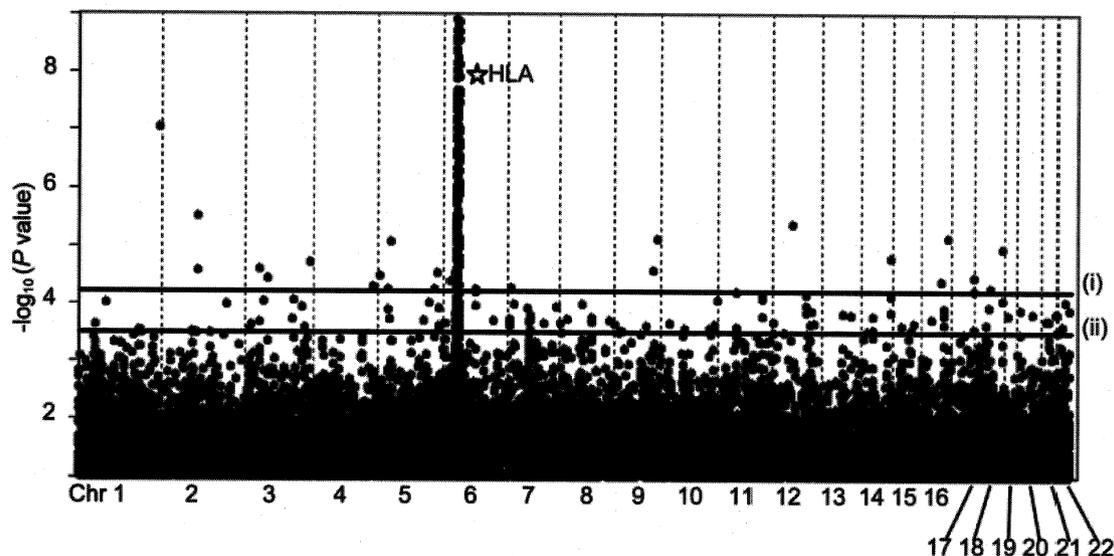


図 2. SNP を用いたゲノムワイド関連解析の結果

P 値はアレル頻度に基づいて計算した (カイ二乗検定, 両側検定)

有意水準は false positive report probability により算出。(i) 候補遺伝子や候補領域に存在する SNP:  $P < 0.00032$ , (ii) その他の SNP:  $P < 0.000064$

☆: HLA 領域

$P < 1 \times 10^{-9}$  の SNP は図中に表示していない

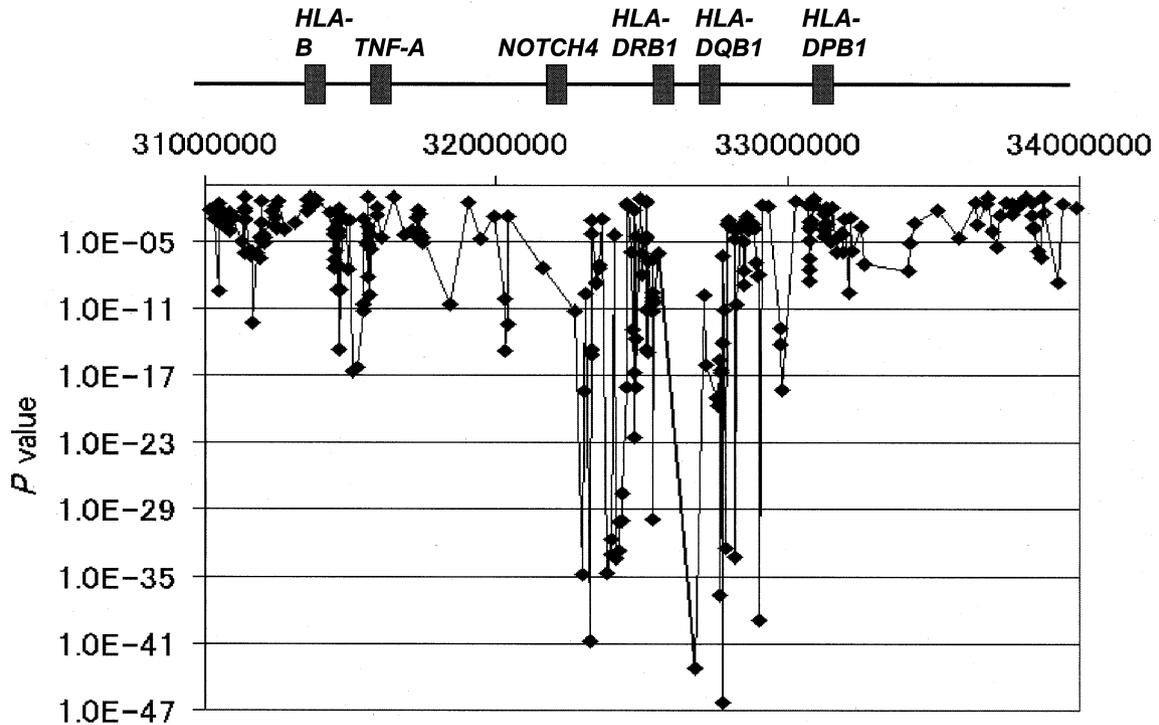


図3. ナルコレプシーにおける HLA 遺伝子領域の SNP を用いた関連解析の結果  
 P 値はアレル頻度に基づいて計算した (カイ二乗検定, 両側検定)  
 Nucleotide position: NCBI Build 35

表 1. ナルコレプシーと SNP rs5770917 との関連

ゲノムワイド関連解析					Replication study				統合した結果	
MAF (case)	MAF (control)	Risk allele	OR (95% c.i.)	$P_{allele}$	MAF (case)	MAF (control)	OR (95% c.i.)	$P_{allele}$	OR (95% c.i.)	$P_{allele}$
0.259	0.168	C	1.74 (1.31-2.31)	$1.4 \times 10^{-4}$	0.242	0.139	1.97 (1.34-2.90)	$5.2 \times 10^{-4}$	1.79 (1.43-2.25)	$4.4 \times 10^{-7}$

$P_{allele}$  はアレル頻度に基づいて計算した (カイ二乗検定、両側検定)

(MAF : マイナーアレル頻度、OR : オッズ比、95% c.i. : 95%信頼区間)

補正後の有意水準よりも低いP値を示すことから、ゲノムワイドに有意であった。ヨーロッパ系集団およびアフリカ系集団については、健常者で4%以下とCアレルの頻度が低いため有意差は認められなかったが、東アジア系集団と同様にCアレルの頻度が患者群で高かった(表2)。全4集団におけるメタ解析の結果は、P値が $5.9 \times 10^{-8}$ (オッズ比1.63)となった。

rs5770917の周辺の連鎖不平衡構造を明らかにす

るために、周辺に存在する多型(主にtagSNP)を用いて、さらに解析を行った。その結果、rs5770917を含む連鎖不平衡ブロック内には、*CPT1B* 遺伝子および*CHKB* 遺伝子の二つの遺伝子が存在することを確認した(図4)。次に、連鎖不平衡ブロック内に存在するSNPを用いてハプロタイプ解析を行い、rs5770917又はそれと強い連鎖不平衡にある多型が、一義的な感受性変異であることを明らかにした。

次に、rs5770917と*CPT1B* 遺伝子および*CHKB*

表 2. 日本人集団以外におけるナルコレプシーと SNP rs5770917 との関連

	No. of cases / No. of controls	MAF (case)	MAF (control)	OR (95% c.i.)	$P_{\text{allele}}$
韓国人集団	115 / 309	0.248	0.191	1.40 (0.97-2.00)	0.03
ヨーロッパ系集団	388 / 397	0.053	0.040	1.33 (0.83-2.13)	0.12
アフリカ系集団	86 / 98	0.047	0.026	1.86 (0.60-5.81)	0.14

$P_{\text{allele}}$  はアレル頻度に基づいて計算した (カイ二乗検定、片側検定)

(MAF : マイナーアレル頻度、OR : オッズ比、95% c.i. : 95%信頼区間)

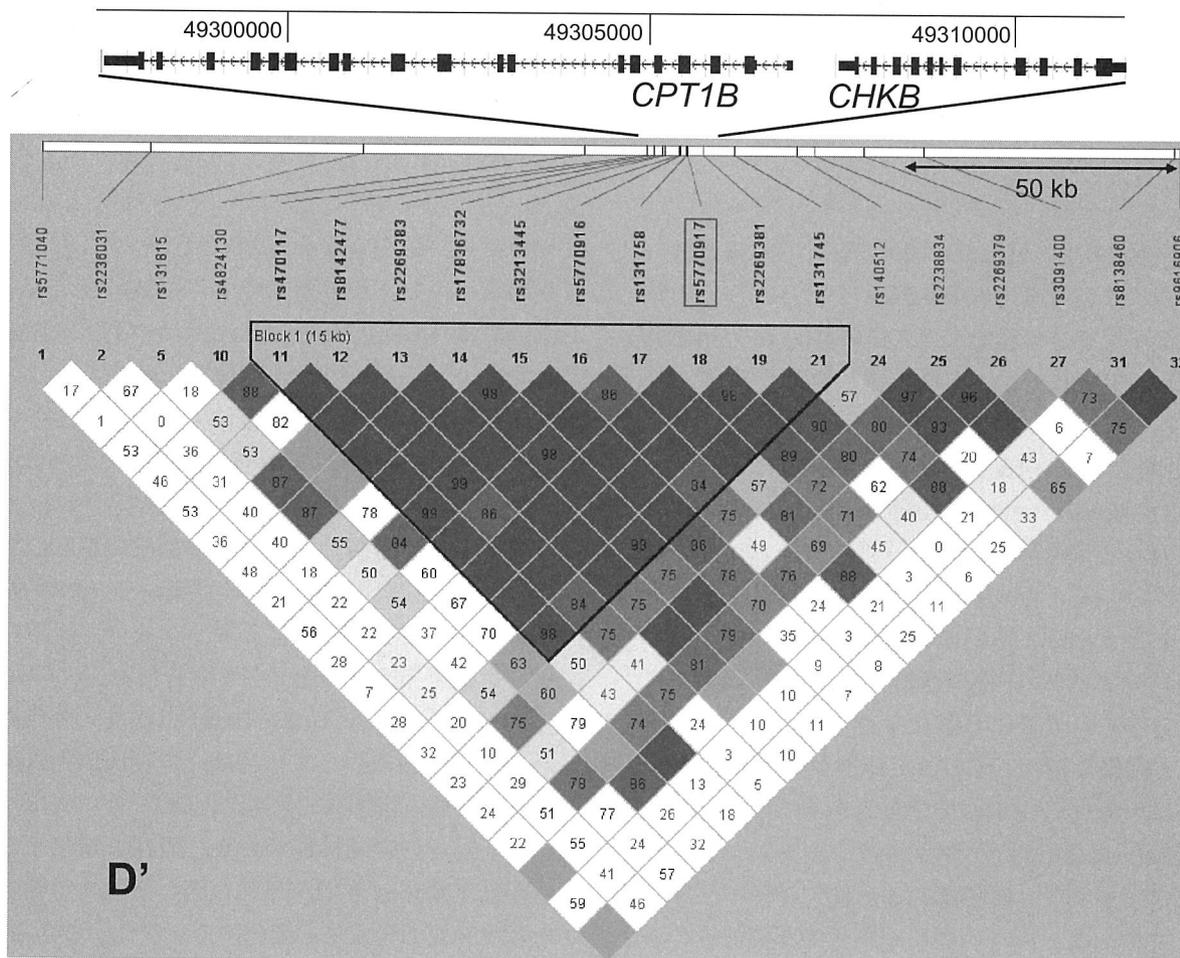


図 4. SNP rs5770917 を含む領域の連鎖不平衡ブロック  
連鎖不平衡係数は  $D'$  を用いて計算した Nucleotide position: NCBI Build 35

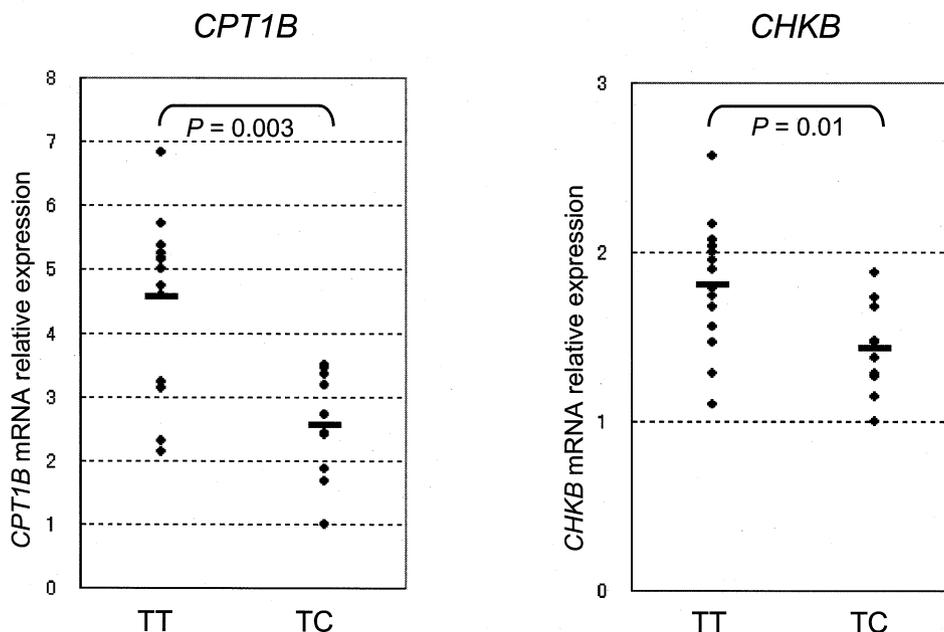


図5. *CPT1B* 遺伝子および *CHKB* 遺伝子の発現量と SNP rs5770917 の遺伝子型 (TT および TC) との関連

健康者の末梢血白血球から抽出した mRNA を用いて、それぞれの遺伝子の発現量をリアルタイム RT-PCR 法によって測定した

図中の線は平均値を示している

統計検定は Mann-Whitney の U 検定を用いた

遺伝子の mRNA の発現量に関連が認められるか検討するためにリアルタイム RT-PCR を行った。その結果、C アリルを持つ群でこの二つの遺伝子の mRNA 発現量が、有意に低いことを確認した (図 5)。

#### CPT1B および CHKB とナルコレプシー

CPT1B (carnitine palmitoyltransferase 1B) は  $\beta$  酸化に関わる律速酵素であり、脂肪酸から生成されたアシル-CoA とカルニチンを結合させ、アシルカルニチンとする<sup>28)</sup>。脂肪酸はアシルカルニチンの形でミトコンドリアの内膜を通過し、マトリックスに移動する。これまでに  $\beta$  酸化やカルニチンシステムが睡眠の制御に関わるといった報告がなされている。絶食時に全身性のカルニチン欠乏を起こす Juvenile visceral steatosis (JVS) マウスは、睡眠および覚醒の分断化を示す<sup>29)</sup>。興味深いことに、神経ペプチドのオレキシンはナルコレプシー患者で脳髄液中の濃度が低下することで知られているが、絶食させた JVS マウスでもオレキシン神経の活性の低下および

オレキシンの発現量の抑制を示す<sup>29,30)</sup>。また、 $\beta$  酸化の第一段階を担う酵素である短鎖アシル Co-A 脱水素酵素 (Acads) を欠損したマウスは、REM 睡眠の特徴である海馬  $\theta$  波が徐波化していた。このマウスに脂肪酸の代謝異常を緩和することが知られているアセチル L-カルニチンを経口投与したところ、徐波化していた  $\theta$  波が回復することが示され、 $\beta$  酸化は  $\theta$  波周波数を調節する物質的基盤のひとつであることが判明した<sup>31)</sup>。これらの事実から、*CPT1B* 遺伝子の発現量の低下が、オレキシンを介して REM 睡眠に影響を与える可能性が考えられる。

CHKB (choline kinase beta) はコリンの代謝に関わる酵素である<sup>32)</sup>。コリンは、神経伝達物質のアセチルコリン、脳循環・代謝改善薬の一つである CDP-コリンなどの合成材料である。*CHKB* 遺伝子の発現量が低下することで、これら脳の活動に重要な働きを示す物質の合成量が変化する可能性が考えられる。

今後、*CPT1B* および *CHKB* の詳細な解析を行い、ナルコレプシーの病態を明らかにしたいと考えてい

る。

## 文 献

1. Mignot E. Genetic and familial aspects of narcolepsy. *Neurology* 1998; 50(2 Suppl 1): S16–22.
2. Khatami R, Maret S, Werth E, et al. Monozygotic twins concordant for narcolepsy-cataplexy without any detectable abnormality in the hypocretin (orexin) pathway. *Lancet* 2004; 363(9416): 1199–200.
3. Juji T, Satake M, Honda Y, Doi Y. HLA antigens in Japanese patients with narcolepsy. All the patients were DR2 positive. *Tissue Antigens* 1984; 24(5): 316–9.
4. Langdon N, Welsh KI, van Dam M, Vaughan RW, Parkes D. Genetic markers in narcolepsy. *Lancet* 1984; 2(8413): 1178–80.
5. Mignot E, Lin L, Rogers W, et al. Complex HLA-DR and -DQ interactions confer risk of narcolepsy-cataplexy in three ethnic groups. *Am J Hum Genet* 2001; 68(3): 686–99.
6. Hecht M, Lin L, Kushida CA, et al. Report of a case of immunosuppression with prednisone in an 8-year-old boy with an acute onset of hypocretin-deficiency narcolepsy. *Sleep* 2003; 26(7): 809–10.
7. Lecendreux M, Maret S, Bassetti C, Mouren MC, Tafti M. Clinical efficacy of high-dose intravenous immunoglobulins near the onset of narcolepsy in a 10-year-old boy. *J Sleep Res* 2003; 12(4): 347–8.
8. Scammell TE. The frustrating and mostly fruitless search for an autoimmune cause of narcolepsy. *Sleep* 2006; 29(5): 601–2.
9. Tanaka S, Honda Y, Inoue Y, Honda M. Detection of autoantibodies against hypocretin, hcrt1, and hcrt2 in narcolepsy: anti-Hcrt system antibody in narcolepsy. *Sleep* 2006; 29(5): 633–8.
10. Black JL, 3rd, Avula RK, Walker DL, et al. HLA DQB1\*0602 positive narcoleptic subjects with cataplexy have CSF IgG reactive to rat hypothalamic protein extract. *Sleep* 2005; 28(9): 1191–2.
11. Smith AJ, Jackson MW, Neufing P, McEvoy RD, Gordon TP. A functional autoantibody in narcolepsy. *Lancet* 2004; 364(9451): 2122–4.
12. Lin L, Faraco J, Li R, et al. The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. *Cell* 1999; 98(3): 365–76.
13. Chemelli RM, Willie JT, Sinton CM, et al. Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation. *Cell* 1999; 98(4): 437–51.
14. Hagan JJ, Leslie RA, Patel S, et al. Orexin A activates locus coeruleus cell firing and increases arousal in the rat. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96(19): 10911–6.
15. Nishino S, Ripley B, Overeem S, Lammers GJ, Mignot E. Hypocretin (orexin) deficiency in human narcolepsy. *Lancet* 2000; 355(9197): 39–40.
16. Mignot E, Lammers GJ, Ripley B, et al. The role of cerebrospinal fluid hypocretin measurement in the diagnosis of narcolepsy and other hypersomnias. *Arch Neurol* 2002; 59(10): 1553–62.
17. Peyron C, Faraco J, Rogers W, et al. A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains. *Nat Med* 2000; 6(9): 991–7.
18. Thannickal TC, Moore RY, Nienhuis R, et al. Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy. *Neuron* 2000; 27(3): 469–74.
19. Hungs M, Lin L, Okun M, Mignot E. Polymorphisms in the vicinity of the hypocretin/orexin are not associated with human narcolepsy. *Neurology* 2001; 57(10): 1893–5.
20. Olafsdottir BR, Rye DB, Scammell TE, Matheson JK, Stefansson K, Gulcher JR. Poly-

- morphisms in hypocretin/orexin pathway genes and narcolepsy. *Neurology* 2001; 57(10): 1896–9.
21. Ozaki K, Ohnishi Y, Iida A, et al. Functional SNPs in the lymphotoxin-alpha gene that are associated with susceptibility to myocardial infarction. *Nat Genet* 2002; 32(4): 650–4.
  22. Tamiya G, Shinya M, Imanishi T, et al. Whole genome association study of rheumatoid arthritis using 27 039 microsatellites. *Hum Mol Genet* 2005; 14(16): 2305–21.
  23. Kawashima M, Tamiya G, Oka A, et al. Genome-wide association analysis of human narcolepsy and a new resistance gene. *Am J Hum Genet* 2006; 79(2): 252–63.
  24. Matsuzaki H, Loi H, Dong S, et al. Parallel genotyping of over 10,000 SNPs using a one-primer assay on a high-density oligonucleotide array. *Genome Res* 2004; 14(3): 414–25.
  25. Oliphant A, Barker DL, Stuelpnagel JR, Chee MS. BeadArray technology: enabling an accurate, cost-effective approach to high-throughput genotyping. *Biotechniques* 2002; Suppl: 56–8, 60–1.
  26. Miyagawa T, Kawashima M, Nishida N, et al. Variant between CPT1B and CHKB associated with susceptibility to narcolepsy. *Nat Genet* 2008.
  27. Miyagawa T, Nishida N, Ohashi J, et al. Appropriate data cleaning methods for genome-wide association study. *J Hum Genet* 2008; 53(10): 886–93.
  28. McGarry JD, Brown NF. The mitochondrial carnitine palmitoyltransferase system. From concept to molecular analysis. *Eur J Biochem* 1997; 244(1): 1–14.
  29. Yoshida G, Li MX, Horiuchi M, et al. Fasting-induced reduction in locomotor activity and reduced response of orexin neurons in carnitine-deficient mice. *Neurosci Res* 2006; 55(1): 78–86.
  30. Kuwajima M, Fujihara H, Sei H, et al. Reduced Carnitine Level Causes Death from Hypoglycemia: Possible Involvement of Suppression of Hypothalamic Orexin Expression During Weaning Period. *Endocr J* 2007.
  31. Tafti M, Petit B, Chollet D, et al. Deficiency in short-chain fatty acid beta-oxidation affects theta oscillations during sleep. *Nat Genet* 2003; 34(3): 320–5.
  32. Aoyama C, Liao H, Ishidate K. Structure and function of choline kinase isoforms in mammalian cells. *Prog Lipid Res* 2004; 43(3): 266–81.

## 第7回日本組織適合性学会・近畿地方会抄録集

会 期：2009年2月7日(土)

会 場：参天製薬株式会社

大阪市東淀川区下新庄3-9-19

TEL: 06-6321-7000

世話人：玉木 茂久

山田赤十字病院 第4内科(血液内科)

〒516-0805 三重県伊勢市御菌町高向810

TEL: 0596-28-2171 FAX: 0596-27-5020

E-mail: [stamaki@carrot.ocn.ne.jp](mailto:stamaki@carrot.ocn.ne.jp)

共 催：財団法人 大阪腎臓バンク

### 【参加費】

1. 正会員：2,000円
2. 学 生：1,000円
3. 世話人：3,000円

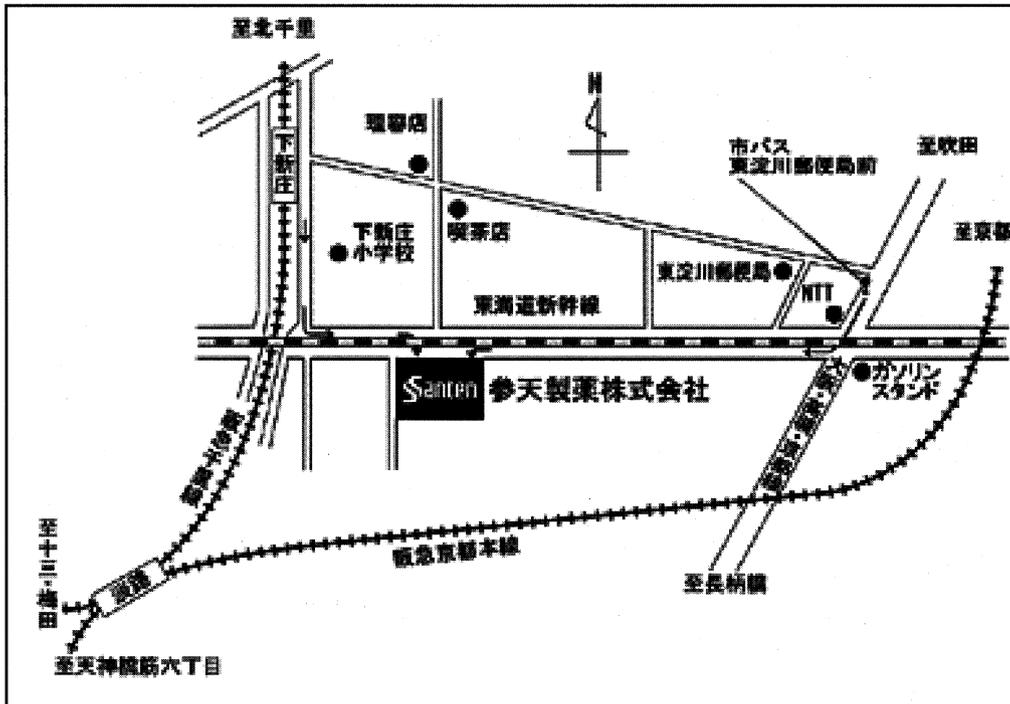
### 【会議等】

1. 総 会：2月7日(土) 12:45~13:00
2. 世話人会：2月7日(土) 12:00~12:45
3. 意見交換会：2月7日(土) 18:00~

【会場地図】

参天製薬株式会社 本社案内図

大阪市東淀川区下新庄 3-9-19 TEL 06-6321-7000



新大阪駅より (所要時間: 約 30 分)

地下鉄御堂筋線・新大阪駅よりなかもず行きに乗車し、一駅目の西中島南方駅で下車。阪急千里線に乗換え、南方駅より北千里行きに乗車、下新庄駅下車。下新庄駅から徒歩 5 分。

地下鉄堺筋線日本橋、北浜方面より (地下鉄と阪急が相互乗り入れ)

北千里行きに乗車し、下新庄駅下車。下新庄駅から徒歩 5 分。

JR 大阪駅、阪神・地下鉄・阪急 梅田方面より

阪急電車・梅田駅から北千里行きに乗車し、下新庄駅下車。下新庄駅から徒歩 5 分。

# プログラム

9時30分

受付開始

【午前の部】

10時～10時40分

## オープニングセミナー

座長：椿 和央

(近畿大学医学部奈良病院血液内科)

### 「HPA (human platelet antigen) の臨床的意義」

森田 庄治 (埼玉県赤十字血液センター)

10時40分～11時25分

### 一般演題 (1)

座長：谷 慶彦

(大阪赤十字血液センター研究部)

#### 1. 当院における妊娠後期 HLA 抗体・HPA 抗体スクリーニング

○峯 佳子<sup>1)</sup>, 山田 枝里佳<sup>1)</sup>, 井手 大輔<sup>1)</sup>, 菅野 知恵美<sup>1)</sup>, 伊藤 志保<sup>1)</sup>, 藤田 往子<sup>1)</sup>, 金光靖<sup>1)</sup>,  
芦田 隆司<sup>1)2)</sup>, 金丸 昭久<sup>1)2)</sup>, 椿 和央<sup>3)</sup>, 塩田 充<sup>4)</sup>

近畿大学医学部附属病院 輸血部<sup>1)</sup> 近畿大学医学部 血液内科<sup>2)</sup>

近畿大学医学部奈良病院 血液内科<sup>3)</sup> 近畿大学医学部 産婦人科<sup>4)</sup>

#### 2. M-MPHA 法を用いた血小板クロスマッチが有用であった 1 例

○丸山 美津子<sup>1)</sup>, 葛西千枝子<sup>1)</sup>, 田中 由美<sup>1)</sup>, 西尾 緑<sup>1)</sup>, 阿部 久美子<sup>1)</sup>, 大石 晃嗣<sup>1)</sup>, 今井 重美<sup>2)</sup>,  
柿沼 幸利<sup>3)</sup>, 小林 由美<sup>3)</sup>

三重大学医学部附属病院輸血部<sup>1)</sup>, 三重県赤十字血液センター<sup>2)</sup>, オリnpas株式会社<sup>3)</sup>

3. Flow-PRA 陰性, LIFT 陽性となった2症例における抗 HLA 抗体の反応性について

○岩崎 香織, 今井 重美, 森 美貴, 小島 精  
三重県赤十字血液センター

4. HLA の液性免疫応答性について (エピトープの視点から)

○丸屋 悦子, 大沼 豪, 二神 貴臣, 林 晃司, 小島 裕人, 辻野 貴史, 楠木 靖史, 吉田 喬,  
赤座 達也, 河賀 泰子, Nori Sasaki<sup>1)</sup> Nadim EI-Awar<sup>1)</sup>, Paul I. Terasaki<sup>2)</sup>, 佐治 博夫  
特定非営利活動法人 HLA 研究所  
One Lambda Inc<sup>1)</sup>  
Terasaki Foundation Laboratory<sup>2)</sup>

11 時 25 分～12 時 10 分

一般演題 (2)

座長: 永尾暢夫

(神戸常盤短期大学衛生技術科)

5. Micro-Antibody Monitoring System を用いたダイレクトクロスマッチの試み

○楠木 靖史, 大沼 豪, 二神 貴臣, 小島 裕人, 辻野 貴史, 林 晃司, 吉田 喬, 丸屋 悦子,  
赤座 達也, 河賀 泰子, 佐治 博夫  
特定非営利活動法人 HLA 研究所

6. 京阪さい帯血バンクで出庫前検査として実施している交差試験の現状

○小島 芳隆, 高 陽淑, 谷上 純子, 松本 加代子, 福森 泰雄, 平山 文也, 谷 慶彦, 柴田 弘俊  
大阪府赤十字血液センター

7. リツキシマブ製剤投与が交差試験に与える影響, 及び残存量の確認検査

○小島 芳隆, 高 陽淑, 谷上 純子, 松本 加代子, 福森 泰雄, 平山 文也, 谷 慶彦, 柴田 弘俊  
大阪府赤十字血液センター

12 時 10 分～12 時 55 分

昼食・世話人会

12 時 55 分～13 時 10 分

総会

【午後の部】

13時10分～14時

### 一般演題 (3)

座長：丸屋 悦子  
(HLA 研究所)

8. 腎移植における IVIG を用いた脱感作療法と抗体関連型拒絶反応に対する治療成績  
○角田 洋一<sup>1)</sup>, 阿部 豊文<sup>1)</sup>, 奥見 雅由<sup>1)</sup>, 市丸 直嗣<sup>1)</sup>, 猪阪 善隆<sup>2)</sup>, 高原 史郎<sup>2)</sup>, 佐田 正晴<sup>3)</sup>  
大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学 (泌尿器科)<sup>1)</sup>  
同先端移植基盤医療学<sup>2)</sup>  
国立循環器病センター研究所再生医療部<sup>3)</sup>
9. 日本人 1,376 家系の HLA-A, Cw, B, DR, アリル型ハプロタイプ頻度について  
○小島 裕人, 二神 貴臣, 大沼 豪, 辻野 貴史, 林 晃司, 楠木 靖史, 吉田 喬, 丸屋 悦子,  
赤座 達也, 河賀 泰子, 西川 美年子, 佐治 博夫  
特定非営利活動法人 HLA 研究所
10. 日本人 636 家系の HLA-A, Cw, B, DR, DQ, DP アリル型ハプロタイプ頻度について  
○二神 貴臣, 大沼 豪, 小島 裕人, 辻野 貴史, 林 晃司, 楠木 靖史, 吉田 喬, 丸屋 悦子,  
赤座 達也, 河賀 泰子, 西川 美年子, 佐治 博夫  
特定非営利活動法人 HLA 研究所

14時～18時

### シンポジウム & 特別講演

#### 「移植医療と液性免疫」

#### 【第一部】

#### 「造血細胞移植と液性免疫」

座長：玉木 茂久  
(山田赤十字病院内科)

1. 「抗 MICA 抗体と臍帯血移植」  
荒木 延夫 (兵庫県血液センター)
2. 「同種造血幹細胞移植における液性免疫応答の役割」  
一戸 辰夫 (京都大学大学院医学系研究科血液腫瘍内科)

3. 「造血幹細胞移植における HLA 抗体の役割」  
吉原 哲 (兵庫医科大学血液内科)

【第二部】

「臓器移植と液性免疫」～MICA 抗体を含めて～

座長：佐田 正晴  
(国立循環器病センター)

1. 「臓器移植と液性免疫」～MICA 抗体を含めて～ (特別講演)  
水谷 一夫 (名古屋大学医学部泌尿器科)
2. 「腎移植における抗体検査の有用性と意義」  
小林 孝彰 (名古屋大学医学部免疫機能制御学)
3. 「腎移植における FCXM と拒絶診断・治療法について」  
杉谷 篤 (藤田保健衛生大学臓器移植再生医学)

18時～

懇親会

(10:00~10:40)

## オープニングセミナー

座長：椿 和央  
(近畿大学医学部奈良病院血液内科)

### 「HPA (human platelet antigen) の臨床的意義」

森田 庄治  
埼玉県赤十字血液センター

# 「HPA (Human platelet antigen) の臨床的意義」

森田 庄治

埼玉県赤十字血液センター

## 【はじめに】

血小板にも固有の血小板型 (human platelet antigen: 以下 HPA) が存在する。HPA 型が原因で惹起される病態として、新生児同種免疫性血小板減少症 (neonatal alloimmune thrombocytopenia: 以下 NAIT) や血小板輸血不応状態 (platelet transfusion refractoriness: 以下 PTR) それに輸血後紫斑病 (Post-transfusion purpura: 以下 PTP) の関与が知られている。

## 1. NAIT の発症予測頻度と抗体特異性

妊娠後期婦人 20,333 人について、プロスペクティブに HPA 抗体スクリーニングを実施した結果、5 例の NAIT (血小板数  $10 \text{ 万}/\mu\text{l}$  以下) と 3 例の NAITP が確認された。その発症予測頻度は NAIT が約  $1/4,000$ 、NAITP が約  $1/7,000$  分娩の確率で発症している可能性が推定された。年間出生数を約 100 万人として試算するとそれぞれの発症予測頻度は NAIT が約 250 人、NAITP が約 143 人程度となる。1986 年の HPA-4b 抗体の発見を契機に 22 年間 (1986～2008) に検出された HPA 抗体について集計した結果、117 例を確認している。内訳は HPA-4b 抗体が 61 例と最も多く、次に HPA-3a 抗体 17 例、5b 抗体 12 例、HPA-4a 抗体 8 例、HPA-6b 抗体 7 例、Nak<sup>a</sup>5 例が主たる原因抗体である。脳内出血例は 117 例中 7 例に見られ、その大半は HPA-3a (3b) 抗体に多く認められる。

## 2. PTR と HPA-2b 抗体

わが国では HPA-2b 抗体は 80 年代後半～90 年代に PTR 患者から多く検出され、HLA 抗体に次いで重要視されてきた。しかし、近年、HPA-2b 抗体は当初に比べて、減少傾向にあることがわかってきた。PTR と NAIT の 2 つの異なる病態から、検出される HPA-2b 抗体の検出頻度には明らかに差が認められ、NAIT から HPA-2b 抗体はほとんど見つからない。わが国では HPA-2b 抗体は PTR 患者特有に検出される抗体と位置づけられ、臨床的に重要な HPA 抗体とされてきた。このように PTR と NAIT で検出頻度に著しい偏りを認める HPA 抗体は他の HPA 抗体には見られない。HPA-2b 抗体が産生される背景には血小板輸血が関係し、血小板製剤の製法の過程で生じる血小板の活性化が重要な一因と推定される。

## 3. PTP の背景と病態

輸血後約 1 週間に著明な血小板減少と出血傾向を呈する遅延型輸血副作用。殆どの患者は女性で妊娠歴があり HPA-1a 抗体を保有している。HPA-1a 陽性の血小板が輸血されると自身の血小板 (HPA-1a 陰性) をも巻き込んで重篤な血小板減少をきたす。HPA-1a 以外に HPA-1b, 3a, 3b, 4a, 5b 抗体による発症例が報告されているがメカニズムは不明。わが国での報告例はない。輸血製剤中に HPA 抗体が存在して患者の血小板が減少する病態も報告されている。治療として免疫グロブリン、交換輸血。

(10:40~11:15)

## 一般演題 (1)

座長：谷 慶彦  
(大阪赤十字血液センター研究部)

演題番号 1~4

# 1. 当院における妊娠後期 HLA 抗体・HPA 抗体スクリーニング

○峯 佳子<sup>1)</sup>, 山田 枝里佳<sup>1)</sup>, 井手 大輔<sup>1)</sup>, 菅野 知恵美<sup>1)</sup>, 伊藤 志保<sup>1)</sup>, 藤田 往子<sup>1)</sup>,  
金光靖<sup>1)</sup>, 芦田 隆司<sup>1)2)</sup>, 金丸 昭久<sup>1)2)</sup>, 椿 和央<sup>3)</sup>, 塩田 充<sup>4)</sup>

近畿大学医学部附属病院 輸血部<sup>1)</sup> 近畿大学医学部 血液内科<sup>2)</sup>  
近畿大学医学部奈良病院 血液内科<sup>3)</sup> 近畿大学医学部 産婦人科<sup>4)</sup>

**【はじめに】** HLA 抗体・HPA 抗体は妊婦でしばしば認められ、同種免疫性新生児血小板減少症 (Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia: NAIT) の原因となる臨床上重要な抗体である。HPA 抗体の関与する NAIT の発症頻度は約 1/1400 例とされている。血小板型不適合により産生された IgG 抗体は胎盤を通過し児の血小板と反応し、単球貪食系により破壊され血小板減少を引き起こす。点状出血、紫斑などの臨床症状を伴う場合は新生児血小板減少性紫斑病 (Neonatal Alloimmune Thrombocytopenic purpura: NAITP) と診断される。必要に応じγ-グロブリンの投与や、適合血小板輸血などの治療がおこなわれる。重篤な場合は、頭蓋内出血、水頭症を起こす場合もあり、妊婦におけるスクリーニング検査は重要であると考えられる。また HLA 抗体による NAIT については、母血清中より移行した抗体は胎盤や胎児組織によりそのほとんどは中和されると考えられているが、胎盤機能不全や胎児仮死がある場合、NAIT が発症する事があり注意が必要である。当院では 1991 年より妊娠後期 28 週前後での血小板抗体スクリーニ

ングを導入している。抗体の検出頻度および経験した症例について報告する。

**【対象・方法】** 1991 年 8 月～2008 年 9 月、当院において妊婦検診を実施した 4935 名を対象とした。方法は日本血小板・顆粒球型ワークショップでスタンダードにおこなわれている Mixed Passive Hemagglutination test (MPHA) を用い、HLA・HPA 抗体の鑑別のためクロロキン処理法を併用した。抗原パネルは自家製 5～7 種類と、オリンパス社 anti-PLT・オリビオ・MPHA II を組み合わせて使用した。

**【結果】** HPA 抗体は 30 例 (0.6%)、HLA 抗体は 642 例 (13.0%) で陽性であった。HPA 抗体陽性症例のうち 3 例で HPA-4b による NAIT が発症し、2 例で HPA-5b 抗体による NAIT が疑われた。また 9 例で HLA 抗体による NAIT が疑われた。

**【考察】** 妊婦の HLA・HPA 抗体スクリーニングをおこなうことにより、出生時の NAIT の危険性を予測することができ、発症後の迅速な対応が可能である。また NAIT を経験したことのない産科医師も多く、臨床へ関与し貢献していくことは重要である。

## 2. M-MPHA 法を用いた血小板クロスマッチが有用であった 1 例

○丸山 美津子<sup>1)</sup>, 葛西 千枝子<sup>1)</sup>, 田中 由美<sup>1)</sup>, 西尾 緑<sup>1)</sup>, 阿部 久美子<sup>1)</sup>,  
大石 晃嗣<sup>1)</sup>, 今井 重美<sup>2)</sup>, 柿沼 幸利<sup>3)</sup>, 小林 由美<sup>3)</sup>

三重大学医学部附属病院輸血部<sup>1)</sup>, 三重県赤十字血液センター<sup>2)</sup>

オリンパス株式会社<sup>3)</sup>

**【はじめに】** 抗血小板抗体や抗HLA抗体の検出においてM-MPHA (magnetic-mixed passive hemagglutination) 法はAHG-LCT (anti human globulin-lymphocyte cytotoxicity test) 法より高感度であると報告されている。しかし、血液センターから当院に供給されるHLA適合血小板製剤 (HLA-PC) はLCT法およびAHG-LCT法による血小板クロスマッチが陰性の製剤である。今回、抗HLA抗体保有患者に対して供給されたHLA-PCに対してM-MPHA法による血小板クロスマッチ (オリンパス社の試作キット使用) を施行し、その臨床的有用性が確認できた症例を経験したので報告する。

**【症例】** 54歳女性、出産歴2回。輸血歴なし。2007年6月、急性骨髄性白血病にて当院血液内科に入院し、寛解導入療法を施行。治療開始早期より血小板輸血不応のためHLA-PCの供給を受けた。同年7月25日から10月12日までに供給されたHLA-PC 255単位 (クロスマッチ数24件)、ランダムドナー由来

PC 90単位 (9件) を対象に、M-MPHA法による血小板クロスマッチを実施し、輸血24時間後の血小板数が得られた28件について補正血小板増加数 (CCI値,  $4500/\mu\text{l}$  以上を有効) を検討した。

**【結果】** HLA-PCとのクロスマッチでは21件で陰性 (-: 19件, ±: 2件), 3件で陽性 (1+: 2件, 2+: 1件) であった。ランダムPCとのクロスマッチでは9件すべてで陽性 (2+) であった。このうち輸血24時間後の血小板数が得られた28例に対してCCI値を検討したところ、M-MPHA法によるクロスマッチ陽性であったHLA-PCあるいはランダムPCのすべてで (合計11件) 輸血効果は認められなかった。

**【考察】** LCT法, AHG-LCT法で陰性, M-MPHA法で陽性と判定されたPCを輸血しても輸血効果は認められなかった。この結果は血小板のクロスマッチにおけるM-MPHA法の有用性を示すものである。

### 3. Flow-PRA 陰性, LIFT 陽性となった 2 症例における抗 HLA 抗体の反応性について

○岩崎 香織, 今井 重美, 森 美貴, 小島 精,

三重県赤十字血液センター

**【はじめに】** 抗 HLA 抗体の検出は蛍光ビーズ法の導入により検査時間の短縮と高感度化が図られ, 臨床の場で多用されている。今回, 我々は蛍光ビーズ法である Flow-PRA 陰性, LIFT-FCM 陽性となる 2 症例を経験し, この抗体の反応性について若干の知見を得たので報告する。

**【症例および結果】** 症例 1, は, 赤血球濃厚液を使用し, 輸血後に悪寒, 戦慄, 胸苦を示した患者さんである。AHG-LCT および Flow-PRA によるスクリーニングでは, HLA クラス I, クラス II ともに陰性であったが, LIFT-FCM では陽性であり, グロブリンクラスは IgG であった。LABScreen Single Antigen でも陽性となり, 抗体の特異性は B44, B45 であった。

症例 2, は血小板製剤使用により, 輸血後じんましんを発生した患者さんで, AHG-LCT および Flow-PRA によるスクリーニングでは, HLA クラス I, クラス II ともに陰性であったが, 対象製剤とのクロスマッチは MPHA で陽性となり, LIFT-FCM でも陽性であった。グロブリンクラスは IgG であり, LAB-

Screen Single Antigen でも陽性となり, 抗体の特異性は A11, B54 であった。

**【考察】** 今回我々は, Flow-PRA 陰性, LIFT-FCM 陽性の患者検体 2 件に遭遇し, LIFT-FCM の結果は LABScreen Single Antigen と良く相関することを確認した。Flow-PRA は抗 HLA 抗体検査において LIFT-FCM より高感度とされており, 自施設でも 305 例の検体を測定し確認しているが, 本症例のように抗体の特異性によっては検出できないものがある可能性があり, すべての抗体を検出するには LABScreen Single Antigen または LIFT-FCM の併用する必要があるのかもしれない。しかしながら, LABScreen Single Antigen は高価であることや, LIFT-FCM ではパネルリンパ球が必要であることを考えると臨床でのスクリーニングにルーチン検査として導入する事は困難と考えられる。この事から, Flow-PRA 検査を実施する前に, 試薬の抗体特異性に対する反応性を確認したうえで使用することが重要であり, より精度の高い抗 HLA 抗体のスクリーニングを行うためには必須であると考えられる。

## 4. HLA の液性免疫応答性について (エピトープの視点から)

○丸屋 悦子, 大沼 豪, 二神 貴臣, 林 晃司, 小島 裕人, 辻野 貴史, 楠木 靖史, 吉田 喬,  
赤座 達也, 河賀 泰子, Nori Sasaki<sup>1)</sup>, Nadim EI-Awar<sup>1)</sup>, Paul I. Terasaki<sup>2)</sup>, 佐治 博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所, One Lambda Inc.<sup>1)</sup>  
Terasaki Foundation Laboratory<sup>2)</sup>

**【はじめに】** HLA を血清学でタイピングしていた当時, 世界中が猛烈な勢いで良い抗血清の検索に励んでいた。検索の対象は主に妊婦血清・経産婦血清・胎盤抽出液などで, 母子免疫反応の結果生じた抗体であった。HLA 抗体の陽性率は 30% 程度であった。HLA 抗原ごとの抗体陽性率の差は, ホストの免疫応答性の違い (responder と non responder) や HLA の Immunogenicity の差である, という作業仮説を検証するため, 128 組の夫婦とそのベビーの検体を用い, HLA に対する液性免疫応答性について検討した。

**【材料・方法】** 128 組の父・母・ベビーの血液より DNA を抽出後, HLA-A, Cw, B, DR, DQ, DP のアレル型タイプし, haplotype 解析を行った。

128 組の母の妊娠 3 ヶ月後, 8 ヶ月後, 出産後の血清を採取し, Lab Screen PRA と Single Antigen Coated Beads 法を用い, HLA-class I 抗体の検索をおこなった。陽性が確定された血清につき, 免疫原によるエピトープ解析をおこない, エピトープ候補を推測した。推測されたエピトープ候補の中で, 複

数のアミノ酸からなるエピトープ候補は, アミノ酸間の最大距離が 28Å 以下であることを条件とした。ミスマッチ抗原ごとに抗体応答があった抗体から推定されたエピトープ候補のアミノ酸の位置をそのミスマッチ抗原 (アレル) の液性免疫に関する重要なアミノ酸部位と仮定し, 抗体産生群と非産生群で, 免疫原とホスト HLA のアミノ酸部位の適合性を比較した。

**【結果・考察】** 母子間に 39 種のミスマッチ抗原 (A: 7, B: 18, Cw: 14) が検出され, 液性免疫応答がみられたミスマッチ抗原はそのうちの 19 種 (A: 6, B: 10, Cw: 3) であった。免疫原による epitope 解析の結果, 38 種の epitope 候補が推定され, そのアミノ酸部位は主にアルファヘリックス上で, ペプチド周辺のアミノ酸が関与していることが分かった。ミスマッチでも抗体産生の無い母は, 推定した epitope を構成するアミノ酸にミスマッチが存在しないことが分かった。日本人において, 液性免疫における免疫原性の最も高い抗原は B54 であった。

(11:15~11:50)

## 一般演題 (2)

座長：永尾 暢夫  
(神戸常盤短期大学衛生技術科)

演題番号 5~7

## 5. Micro-Antibody Monitoring System を用いた ダイレクトクロスマッチの試み

○楠木 靖史, 大沼 豪, 二神 貴臣, 小島 裕人, 辻野 貴史, 林 晃司,  
吉 田喬, 丸屋 悦子, 赤座 達也, 河賀 泰子, 佐治 博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所

【はじめに】 移植医療で、液性免疫の重要性、抗体検査の必要性は周知のことである。我々が日常検査で用いている Luminex 法は、高感度で、迅速性に優れた方法であるが、検定できる抗原やアリルは限られている。ドナーリンパ球と患者血清を直接反応させるダイレクトクロスマッチ法（以下 DCM と略す）は患者/ドナー間の反応性をより詳細に探ることを可能とする。Micro-Antibody Monitoring System (kit) を用いて DCM 法を検討した結果を報告する。

### 【材料・方法】

- ・ 検討用 sample: 移植患者血清, 陰性・陽性コントロール血清, ドナー血液。
- ・ Micro-Antibody Monitoring System (kit): MICROAMS (Biotest 社)。

Luminex 法で陽性を示す検体について、リンパ球を可溶化し、HLA-class I または class II モノクローナル抗体付着トレー中で固相化させる。洗浄後、被検血清を 37°C で反応させ、洗浄後、酵素標識抗ヒト

IgG 血清と反応させる。発色後、OD 値を測定する。Kit の評価は操作性と感度でおこなった。

### 【結果・考察】

Kit の操作性: 検査所要時間は 4 時間 (事前準備を含めると 6 時間) とやや長めではあるが、許容範囲であり、高価な器具・機材なしで実施可能である。

#### HLA-class I:

- ・ Kit 仕様より各ステップの洗浄回数を増すことで非特異的反応が抑えられた。
- ・ Single antigen beads 法で強い反応 (> 10,000) を示す検体は MICROAMS で容易に判定可能であるが、弱い反応 (1,000 程度) を示す検体では陰性との識別が困難であった。MICROAMS による HLA-class I 抗体のクロスマッチは可能であるが、その使用は臨床目的に応じ選択する必要がある。

#### HLA-class II:

プロトコル通りの操作により期待される結果が得られず、改良の余地がある。

	検査前準備(h)	検査時間(h)	操作性	1plate 検査可能数	費用/検体
Luminex	0.5	3	○	96 検体	60,000 円
MICROAMS	2	4	△	12 検体	12,500 円

## 6. 京阪さい帯血バンクで出庫前検査として実施している交差試験の現状

○小島 芳隆, 高 陽淑, 谷上 純子, 松本 加代子,  
福森 泰雄, 平山 文也, 谷 慶彦, 柴田 弘俊

大阪府赤十字血液センター

**【はじめに】** さい帯血バンクを介したさい帯血移植ではHLA-A, B, DRの6座中, 血清検査で2座不一致まで許容され, その多くがHLA不適合移植である。そのため患者がHLA抗体を保有する場合, 生着不全等, 影響を与える可能性が指摘されている。京阪さい帯血バンクでは出庫前確認検査の一環として, さい帯血バンクでは初めてとなるフローサイトメトリー (FCM) を使用した患者血清とさい帯血リンパ球 (T, Bリンパ球) のクロスマッチ試験, または患者のHLAクラスI, II抗体スクリーニングを2007年4月より実施し, 医療機関に情報提供している。その実施状況の詳細について報告する。

**【材料・方法】** 2007年4月から2008年10月までの間に出庫前検査としてクロスマッチ試験, あるいはHLA抗体スクリーニングを実施した出庫さい帯血を対象とした。クロスマッチ試験はFCMを使用し死細胞検出用試薬 (7-AAD) とT, B細胞検出用試薬 (CD3, CD19 & 20) を組み合わせた大阪センターで考案したクロスマッチ法により実施した。7-AAD試薬に関しては, さい帯血は凍結細胞のため解凍時, 死細胞が混入するため使用した。患者血清のHLA抗体

スクリーニングは, LABScreen PRAI&II (ワンラムダ社) による検査を実施した。

**【結果】** 2007年4月から2008年10月までの間に261例の出庫前検査を行った。その内訳はクロスマッチ211例, HLA抗体スクリーニング45例, 両方とも実施が5例であった。クロスマッチ陽性は21例, うち14例はリツキサン投与により影響を受けB細胞のみ陽性と判定され, 残りの7例がクロスマッチ陽性であった。抗体スクリーニングは50例中12例が陽性と判定された。その内訳は, クラスIは4例, クラスIIは1例, クラスI&IIが7例であった。

**【考察】** リツキサン投与の場合を除き, クロスマッチ陽性となった7例中5例のさい帯血は移植にはいならず, また, クロスマッチ陽性で移植が実施された2例中1例は患者早期死亡で評価不能, もう1例は1年以上生存である。現時点での交差試験の臨床効果は不明である。しかし, 近年, 医療機関や移植医により, 移植にかかわる交差試験の重要性が指摘されており, 臨床的意義が認知されつつあると考えており, 引き続きこれらの試験を実施し, データを収集して行きたいと考えている。

## 7. リツキシマブ製剤投与が交差試験に与える影響、及び残存量の確認検査

○小島 芳隆, 高 陽淑, 谷上 純子, 松本 加代子,  
福森 泰雄, 平山 文也, 谷 慶彦, 柴田 弘俊

大阪府赤十字血液センター

**【はじめに】** 近年, 悪性リンパ腫の治療薬として「リツキサン」(一般名: リツキシマブ)がB細胞リンパ腫の治療に使用されている。この製剤はヒトCD20抗原を認識するマウス由来のIgGの可変部とヒトIgGの定常部とを遺伝子工学的に切り貼りして作製したキメラ抗体である。この抗体がヒトB細胞表面に発現されるCD20抗原に結合し, 補体依存性細胞傷害作用, 抗体依存性細胞介在性細胞傷害作用により, 抗腫瘍効果を示すと考えられている。この製剤を使用すると血清中にリツキサンが残存し, フローサイトメトリー (FCM) による交差適合試験実施時にドナーB細胞をCD20抗体で確認できなくなるばかりでなく, 試験結果が陽性となる。しかし, 逆にこのことを利用して体内中のリツキサン量が測定可能であり, 血清中のリツキサン量の定量法について検討したので報告する。

**【材料・方法】** リツキサン投与歴を持つ患者19例を対象とし, ドナーとの交差適合試験, 及び患者血清中のリツキサン残存量を測定した。交差適合試験は

さい帯血クロスマッチ試験の方法により実施した。また, リツキサン残存量は患者血清を段階的に希釈し抗ヒトIgG, CD20抗体の蛍光強度を測定することにより測定した。

**【結果】** リツキサン投与患者の交差適合試験はすべて, T細胞陰性, B細胞陽性であった。なお, LAB Screen PRA IIにより患者血清中にクラスII抗体が存在しないことを確認した。また, 残存量測定では投与後の期間と残存量の間に負の相関が見られ, B細胞に交差適合試験結果が影響を及ぼさなくなるのに投与後約6ヵ月かかると推測された。

**【考察】** リツキサン投与歴を持つ患者の場合, 交差適合試験で, B細胞に対する検査結果が陽性となり, クラスII抗体保有の疑いももてることとなり, 別法でHLAクラスII抗体の有無を確認する必要がある。また, リツキサンはいままでわれわれが経験した他の薬剤より長期にわたり交差適合試験に影響を与えることがわかった。さらに, リツキサン最終投与後はほぼ経時的に減少することが確認できた。

(14:10~15:45)

### 一般演題 (3)

座長：丸屋悦子  
(HLA 研究所)

演題番号 8~10

## 8. 腎移植における IVIG を用いた脱感作療法と抗体関連型拒絶反応に対する治療成績

○角田 洋一<sup>1)</sup>, 阿部 豊文<sup>1)</sup>, 奥見 雅由<sup>1)</sup>, 市丸 直嗣<sup>1)</sup>,  
猪阪 善隆<sup>2)</sup>, 高原 史郎<sup>2)</sup>, 佐田 正晴<sup>3)</sup>

大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学 (泌尿器科)<sup>1)</sup>, 同先端移植基盤医療学<sup>2)</sup>  
国立循環器病センター研究所再生医療部<sup>3)</sup>

近年, lymphocyte cytotoxicity test に加え, flow cytometry crossmatch や flow cytometry panel reactive antibody test を腎移植前に行うことで抗体関連型拒絶反応の頻度は減少したと考えられる。また, 血漿交換や intravenous immunoglobulins (IVIG), 抗 CD20 抗体であるリツキシマブ, 脾臓摘出などが脱感作療法や抗体関連型拒絶反応に対する治療として用いられ良好な成績が報告されている。我々の施設においても, 2004 年 12 月から IVIG 療法を抗体関連型拒絶反応の治療として 10 例に, 脱感作療法として 7 例に対し施行した。IVIG 単独または血漿交換との併用による抗体関連型拒絶反応の治療成績は有効率 90% であり, 抗体価は低下し腎機能は回復し

た。治療有効例における治療後 1 年目の生着率は 100% であった。10 例中 1 例は治療抵抗性であり移植腎は廃絶した。脱感作療法は既存抗体陽性 4 例, ABO 血液型不適合 3 例に対して施行した。ABO 血液型不適合に対しては術前に血漿交換施行が困難であった症例, 抗 B 抗体 IgG が非常に高力価 (16384 倍) であった症例, 先天性肝線維症による門脈圧亢進のために脾臓摘出が困難であった症例に対して血漿交換と併用して使用した。脾臓摘出を回避した症例においてはリツキシマブを併用した。7 例とも移植後に抗体関連型拒絶反応を発症することなく経過良好であり, 1 年生着率は 100% であった。実際の臨床経過を含めて治療成績を報告する。

## 9. 日本人 1,376 家系の HLA-A, Cw, B, DR, アリル型ハプロタイプ頻度について

○小島 裕人, 二神 貴臣, 大沼 豪, 辻野 貴史, 林 晃司, 楠木 靖史, 吉田 喬,  
丸屋 悦子, 赤座 達也, 河賀 泰子, 西川 美年子, 佐治 博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所

【はじめに】 造血幹細胞移植では HLA の型を一致させることだけでなく, ハプロタイプの一致が重要である。特に HLA-A, B, DR ハプロタイプが重要と

されているが, 近年 KIR リガンドや移植成績の観点から JMDP への登録の際, HLA-Cw をタイプする検討がなされている。しかしながら日本人の HLA-A,

表 1. ハプロタイプ top15

順位	HLA-A,Cw,B,DRハプロタイプ	頻度	
		今回 (N=1376)	Nakajimaら (N=294)
1	*2402-*1202-*5201-*1502	8.18%	8.50%
2	*3303-*1403-*4403-*1302	4.07%	4.42%
3	*2402-*0702-*0702-*0101	3.34%	3.06%
4	*2402-*0102-*5401-*0405	2.34%	1.70%
5	*0207-*0102-*4601-*0803	1.87%	1.02%
6	*1101-*0401-*1501-*0406	1.24%	1.36%
7	*2402-*0102-*5901-*0405	1.04%	1.36%
8	*1101-*0102-*5401-*0405	0.73%	1.02%
9	*2601-*0304-*4002-*0901	0.73%	0.68%
10	*2402-*1402-*5101-*0901	0.69%	0.34%
11	*2402-*0801-*4006-*0901	0.65%	0.34%
12	*3101-*1402-*5101-*0802	0.64%	0.34%
13	*2402-*0102-*4601-*0803	0.53%	0.34%
14	*0206-*0801-*4006-*0901	0.51%	0.34%
15	*1101-*0702-*3901-*0803	0.51%	0.34%

Cw, B, DR アリル型ハプロタイプの頻度調査の報告例は少なく、ドナー検索の際に参考となるデータがないのが現状である。当研究所に依頼のあった1,376家系の日本人のHLA-A, Cw, B, DRB1 アリル型ハプロタイプ頻度を求めたので報告する。

#### 【材料・方法】

- ・造血幹細胞移植のドナー検索を目的としたHLAタイピング家系, 1,376家系。
- ・HLAタイピング方法: Luminex法 (WAKFlow)。
- ・統計的処理: アリル型ハプロタイプ頻度の解析は直接カウント法で行った。

【結果・考察】 日本人1,376家系のハプロタイプ頻度解析の結果をNakajimaらが2004年に報告したハ

表 2. 日本人にまれな HLA-Cw におけるハプロタイプ

HLA-Cw	HLA-A,Cw,B,DRハプロタイプ
Cw*0202	*0201-*0202-*4002-*1101
	*1101-*0202-*2705-*0403
	*2618-*0202-*2705-*0404
	*3101-*0202-*2705-*0803
Cw*1203	*3301-*0202-*4403-*0701
	*1101-*1203-*5502-*0405
Cw*0343	*2420-*1203-*3901-*1501
Cw*0701	*0206-*0343-*1511-*0901
Cw*0715	*3303-*0701-*4403-*0701
Cw*1505	*2402-*0715-*0702-*0101
	*3001-*1505-*0705-*0405

表 3. 頻度の違い

HLA-A,Cw,B,DRハプロタイプ	頻度	
	Nakajimaら (N=294)	今回 (N=1376)
*24-*0304-*4002-*0901	1.70%	0.33%
*0206-*0702-*3901-*1501	1.36%	0.25%
*11-*0801-*4801-*09012	1.36%	0.02%
*01-*0602-*3701-*1001	1.02%	0.05%
*2601-*0801-*4006-*0901	1.02%	0.07%
*3101-*1402-*5101-*0405	1.02%	0.27%
*33-*1403-*44031-*1401	1.02%	0.11%
*24-*0102-*5502-*0405	1.02%	0.11%
*02-*0102-*4601-*0803	0.68%	1.87%

プロタイプ (294家系, 199種類のhaplotype) と比較し、頻度順に並べた結果を表1.に示した。また、以前の報告と頻度の違いがみられるものの一部を表3.に示した。この違いは、対象家系数の違いや地域差に由来するものと考えられる。

今回、HLA-Cw 遺伝子型で新たに Cw\*0202 (0.11%), Cw\*0343 (0.02%), Cw\*0715 (0.02%) が検出され、Cw\*0202はB\*2705との連鎖不平衡がみられた。日本人にまれなHLA-C座遺伝子型とHLA-A, B, DRB1の連鎖を表2.に示した。

今後、これらのデータベースがドナー検索に役立つことが望まれる。

## 10. 日本人 1,376 家系の HLA-A, Cw, B, DR, アリル型ハプロタイプ頻度について

○二神 貴臣, 大沼 豪, 小島 裕人, 辻野 貴史, 林 晃司, 楠木 靖史, 吉田 喬,  
丸屋 悦子, 赤座 達也, 河賀 泰子, 西川 美年子, 佐治 博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所

【はじめに】 昨今, 造血幹細胞移植において HLA-DP が移植の予後に与える影響が重要視されている。HLA-A 座から DQ 座の遺伝子型ハプロタイプ頻度データの報告はあるが, HLA-A 座から DP 座の遺伝子型頻度の調査データは報告されていない。当研究所で実施した造血幹細胞移植ドナー検索 636 家系を用い A-Cw-B-DR-DQ-DP の遺伝子型ハプロタイプ解析を行った。

【材料・方法】 造血幹細胞移植ドナー検索を目的とした HLA タイピング家系, 636 家系

HLA タイピング方法: Luminex 法 (WAKFlow, LABType)

統計的処理: 直接カウント法

【結果・考察】 日本人 636 家系の遺伝子型ハプロタイプ解析の結果, トップ 5 を表 1 示す。HLA-DPB1 遺伝子型が 19 種類検出された。その頻度を表 2 に示す。HLA-DPB1 遺伝子型の多様性は DRB1 より低く DQB1 と同程度であった。日本人に高頻度に出現する HLA-A 座から DQ 座の遺伝子型ハプロタイプに連鎖する DPB1 遺伝子型を表 3 に示す。

表 1. ハプロタイプ トップ 5

	ハプロタイプ	頻度
1	*2402-*1202-*5201-*1502-*0601-*0901	6.974%
2	*3303-*1403-*4403-*1302-*0604-*0401	2.846%
3	*2402-*0702-*0702-*0101-*0501-*0402	2.766%
4	*2402-*0102-*5401-*0405-*0401-*0501	1.964%
5	*1101-*0102-*5401-*0405-*0401-*0501	0.962%

表 2. DPB1 遺伝子型頻度

	遺伝子型	頻度
1	*0501	38%
2	*0201	25%
3	*0901	10%
4	*0402	10%
5	*0401	5%
6	*0301	4%
7	*0202	4%
8	*1301	2%
9	*1401	1%
10	*1901	1%
11	*0601	0.6%
12	その他	0.6%

表 3. HLA-A-Cw-B-DR-DQ の高頻度ハプロタイプに連鎖する DPB1 遺伝子型

	ACBRQP	頻度
1	*2402-*1202-*5201-*1502-*0601-*0901	6.974%
2	*2402-*1202-*5201-*1502-*0601-*0201	0.842%
3	*2402-*1202-*5201-*1502-*0601-*0501	0.401%
4	*2402-*1202-*5201-*1502-*0601-*0401	0.200%

	ACBRQP	頻度
1	*3303-*1403-*4403-*1302-*0604-*0401	2.846%
2	*3303-*1403-*4403-*1302-*0604-*0501	0.561%
3	*3303-*1403-*4403-*1302-*0604-*0201	0.441%

1	*2402-*0702-*0702-*0101-*0501-*0402	2.766%
2	*2402-*0702-*0702-*0101-*0501-*0501	0.601%
3	*2402-*0702-*0702-*0101-*0501-*0201	0.321%

今後, 解析を進め, Web 上に公開し, データを追加更新したい。

(14:00~16:00)

## シンポジウム & 特別講演

### 「移植医療と液性免疫」

#### 【第一部】

座長： 玉木 茂久  
(山田赤十字病院 内科)

### 「造血細胞移植と液性免疫」

1. 「抗 MICA 抗体と臍帯血移植」  
荒木 延夫 (兵庫県血液センター)
2. 「同種造血幹細胞移植における液性免疫応答の役割」  
一戸 辰夫 (京都大学大学院医学系研究科血液腫瘍内科)
3. 「造血幹細胞移植における HLA 抗体の役割」  
吉原 哲 (兵庫医科大学血液内科)

# 1. 抗 MICA 抗体と臍帯血移植

○荒木 延夫

兵庫県赤十字血液センター

**【目的】** MHC class I chain-related gene A (MICA) は HLA クラス I とクラス III 遺伝子の間に位置し (図 1), HLA 遺伝子同様, 非常に多型性に富む (表 1)。MICA 抗原はストレス誘導分子であるが, 腎移植において抗 MICA 抗体が拒絶反応の原因となる可能性が示唆されている。今回, 抗 MICA 抗体陽性患者の臍帯血移植成績について検討した。

**【材料・方法】** 臍帯血移植 107 症例について, Luminex 法 (LABScreen Mixed: 表 2, PRA) を用いて, 移植前の患者の抗 HLA クラス I, HLA クラス II, MICA 抗体の陽性率そして, 抗 MICA 陽性群, 陰性群の移植生着率を解析した。

**【結果】** 107 例中抗 HLA クラス I が 11 例 (10.3%), 抗 HLA クラス II が 6 例 (5.6%), 抗 HLA クラス I + II が 1 例 (0.9%), 抗 MICA が 19 例 (17.8%), 抗 HLA クラス I + MICA が 5 例 (4.7%), 抗 HLA クラス I + II + MICA が 1 例 (0.9%) を示し, 抗

MICA 陽性例は 25 例 (23.4%) を示した (図 2)。次に, 移植成績が得られた 89 例 (HLA クロスマッチ適合) 中 21 例の抗 MICA 陽性群において生着が 14 例 (66.7%), 拒絶が 4 例 (19.0%), 評価不能が 3 例 (14.3%) を示した。また, 68 例の抗 MICA 陰性群は生着が 43 例 (63.2%), 拒絶が 12 例 (17.6%), 自己回復が 3 例 (4.4%), 評価不能が 10 例 (14.7%) を示した。

**【考察】** 今回の解析は抗 MICA の特異性解析及び, レシピエント, 臍帯血の MICA 抗原タイプを実施していないが, 日本人の HLA-B 座と MICA の連鎖不平衡の関係 (表 3) から抗 MICA 陽性群の生着 14 例中 10 例が MICA 適合, 拒絶 4 例中 4 例が MICA 不適合と推察された (表 4)。造血細胞移植における抗 MICA 抗体と拒絶の関係について今後の更なる解析が必要と考える。



## 2. 同種造血幹細胞移植における液性免疫応答の役割

○一戸 辰夫

京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科

同種造血幹細胞移植における生着不全や移植片対宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) の発症には、同種抗原に対する細胞性免疫応答が中心な役割を果たすことが知られているが、液性免疫応答の関与については従来十分な知見が得られていなかった。臨床的な経験からは、レシピエントの保有する同種抗体が、移植後の血小板輸血不応や生着不全に関与する可能性が示唆されていたが、最近、蛍光ビーズ法を用いた網羅的な HLA 抗体の解析が行なわれるようになり、HVG 方向の不一致クラス I あるいはクラス II 抗原に反応する HLA 抗体が (donor-reactive antibody) 生着不全のリスクを高めることを確認でき

た、とする報告が相次いで行われている。一方、主に Y 染色体にコードされる DBY などの H-Y 抗原に対する免疫応答の解析を通じて、レシピエントが発現する同種抗原に対するドナーの液性免疫応答が、慢性 GVHD や移植片対白血病 (graft-versus-leukemia) 効果の指標になり得ることが報告されている。さらに、移植後あるいはドナーリンパ球輸注 (donor lymphocyte infusion) 後に有効な GVL 効果が得られた症例に由来する血清を用いて、腫瘍抗原をスクリーニングする試みも行われており、同種造血幹細胞移植のさまざまな局面における液性免疫応答の役割が明らかにされつつある。

## 3. 造血幹細胞移植における HLA 抗体の役割

○吉原 哲

兵庫医科大学血液内科

近年、少子化に伴い HLA 適合同胞がドナーとして得られる確率が低くなってきたこともあり、HLA 不適合血縁者間移植および臍帯血移植が増加してきている。これにより、従来この分野ではあまり重視されてこなかった、HLA 抗体の重要性が認識されるようになってきた。

HLA 抗体が生着に不利に働くことについては、特に臍帯血移植においてデータが蓄積されつつある。一方、HLA 抗体の標的となっている HLA を持つド

ナーから移植を行わざるを得ない場合、どのような方法により確実に生着を得られるかについては、明らかとなっていない。

我々は、HLA 不適合血縁者移植症例について移植前にレシピエントおよびドナーの HLA 抗体を検査し、陽性症例については、Luminex 法により経時的な抗体強度の定量を行っている。我々の施設におけるデータを含め、造血細胞移植における HLA 抗体の役割についてディスカッションしたい。

(16:00~18:00)

## シンポジウム & 特別講演

### 「移植医療と液性免疫」

#### 【第二部】

座長：佐田 正晴  
(国立循環器病センター)

#### 「臓器移植と液性免疫」～MICA 抗体を含めて～

1. 「臓器移植と液性免疫」～MICA 抗体を含めて～ (基調講演)  
水谷 一夫 (名古屋大学医学部泌尿器科)
2. 「腎移植における抗体検査の有用性と意義」  
小林 孝彰 (名古屋大学医学部免疫機能制御学)
3. 「腎移植における FCXM と拒絶診断・治療法について」  
杉谷 篤 (藤田保健衛生大学臓器移植再生医学)

# 1. 「臓器移植と液性免疫」～ MICA 抗体を含めて～ (基調講演)

○水谷 一夫

名古屋大学医学部 泌尿器科

近年、免疫抑制剤の進歩と共に臓器移植における急性拒絶反応は低下し、移植の成績は向上してきている。しかし、長期の臓器移植の成績の改善は急性期における成績の改善ほど大きくなく、慢性期における拒絶反応は臓器移植において一番重要な問題となってきた。テラサキらは以前に臓器移植において HLA の適合性の問題を指摘し、HLA の適合性を向上させることで移植の成績が向上することを示し、近年は臓器移植した患者の約 20-30% の患者に HLA 抗体が出現することと、抗体陽性の患者では移植の成績が低下することを示した。このように HLA とその抗体による移植臓器の影響はかなり以前から指摘されているものの現在でも解明されていない部分があり、長期における移植成績の向上のためには抗体による拒絶反応の解明と治療はさけては通れない問題である。近年、移植における抗体の重要性が再認識されると同時に移植関連抗体の検査方法が進歩・改良され、その結果、抗体に対する新しい治療法も報告されるようになってきている。

また、近年、HLA 関連の遺伝子の配列が解明されるにつれ、以前はクレッグと呼ばれていたグループの反応に加えて、エピトープと呼ばれる新しい概念がでてきた。これはある抗体反応を遺伝子配列のグループで説明しようとする試みであり様々なグループの反応が報告されている。このように遺伝子と抗体との関連の究明が進むことで、今後ドナー特異抗原の意義や認識が変化していく可能性があり、

移植における抗体の検査の重要性が増してくるものと考えられる。

更に、科学の進歩と共に今まで検査されてきた HLAA, B, DR という抗体のみでなく、他の HLA-DP/DQ という他の HLA 抗体も測定できるようになり HLA 抗体の数も増加してきている。同時に HLA 抗原以外を抗原とする様々な抗体の存在も報告されてきた。現在では Non-HLA 抗体として MICA/MICB (Major-histocompatibility-complex class I-related chain A/B) 抗体や抗血管内皮抗体などが報告されているが、その多様性から MICA, MICB は HLA につぐ抗原として近年注目されてきている。MICA/MICB は HLA の近傍にある遺伝子で、HLA と同様に多様性があり、現在 MICA は遺伝子として現在 65 種類、MICB は 30 種類が、蛋白としてはそれぞれ 55 種類、19 種類が報告されている。この MICA/B は NKG2D を介した免疫反応の一部に携わるのみならず、その多様性から HLA 抗体と同様、その抗体により移植臓器に拒絶反応を引き起こし、移植の成績を低下させると報告されている。また MICA/B 抗体は腎のみならず他の移植にも関係するという報告もあり、今後臓器移植における注目すべき抗体のひとつとして扱われている。

このように臓器移植前後で移植関連抗体を検査・モニターすることは移植成績の向上のためには必須の検査方法のひとつであると考えられる。

## 2. 腎移植における抗体検査の有用性と意義

○小林 孝彰

名古屋大学医学部免疫機能制御学

抗ドナー抗体のチェックは腎移植前に行わなければならない必須検査の一つである。ドナーに対する抗体がレシピエント血中に存在する腎移植では80%が移植直後に拒絶される (N. Engl. J. Med. 1969; 280: 735-9) と報告され、現在ではクロスマッチ検査は腎移植において不可欠な検査としてとして広く普及している。Flow cytometry クロスマッチの応用、HLA 抗原を coating したマイクロビーズ、プレート (ELISA) の開発により、検査の精度、感受性が向上した。ドナーに反応する抗体の有無、またそれが HLA 抗体であるかどうか容易に判別できるようになった。このような抗体検査方法の進歩により、移植前の適応判定をより正確に行い、拒絶反応のハイリスク腎移植を回避したり、特別な治療法 (抗体除去、脾臓摘出、リツキシマブ、免疫グロブリン投与などの脱感作療法) を用いることによりクロスマッチ陽性移植を執行している。長期的には課題が残されているものの短期的には良好な成績が報告されている。

一方、HLA 抗体は過去の輸血、妊娠、移植において産生されると考えられていたが、検査感度を上げれば感作歴のない健常人にも HLA 抗体は検出され、HLA に反応する自然抗体が存在する可能性が報告さ

れた。この抗体の臨床的な意義については、まだ明確になっていない。また、HLA 抗体以外にも、MICA など内皮細胞に対する抗体と拒絶反応との関連も報告されている。

抗体検査の意義として、移植前の適応判定 (抗体関連型拒絶反応のハイリスク診断・免疫抑制療法選択)、移植後のモニタリング (急性および慢性拒絶反応診断、治療効果判定) がある。ドナーに反応する HLA 抗体の存在がすべて拒絶反応ハイリスクとなるか、脱感作療法により移植可能となる抗ドナー HLA 抗体は量的にはどこまで許容されるか、nonHLA 抗体として何が重要であるか、移植後のモニタリングはどのように行うのが効率的か、など研究レベルではなく臨床応用するために明らかにすべき課題が多い。これらの課題を解決するためには多施設検討が必要があり、全国検査施設での検査レベルの統一、検査方法の標準化、精度管理による正確なデータの解析が望まれる。

移植予後に影響を与える抗体を解析する検査室は重大な役割を担っている。安全かつ有効な移植医療を提供し、腎移植の長期成績を向上させることが、移植数の増加、低迷している移植医療の活性化に繋がることが期待する。

### 3. 「腎移植における FCXM と拒絶診断・治療法について」

○杉谷 篤, 星長 清隆, 岡部 安博, 北田 秀久, 土井 篤, 宮本 京子

藤田保健衛生大学, 臓器移植再生医学  
九州大学腎疾患治療部, 臨床・腫瘍外科, 遺伝子・細胞療法部

免疫抑制剤の進歩によって腎移植の術後成績は飛躍的に向上したが、我々は抗体関連型拒絶の診断と治療方針決定に、ベッドサイド所見, 検査所見, 腎生検所見とともに Flowcyte を重用している。4つの典型例を紹介し, 診断方法, 治療法を考察する。

1) 生体腎移植後, 早期に抗体関連型拒絶を繰り返し機能廃絶となった43歳女性。SLEから慢性腎不全となり実母をドナーとする生体腎移植を受けたが, 術後数日で尿量減少, 血清Cr上昇を認めた。血漿交換, IVIG療法で軽快したが, その後拒絶を繰り返し, 3.5年後に透析再導入となった。HLA typingは1 haplo 3Ag match, LCTはT, Bcellともに陰性であったが, Tcell FCXMは術前から陽性, FlowPRAは術前ClassI陽性, 術後はClassI,IIともに陽性となっていた。

2) 生体腎移植3年後に, 抗体産生により拒絶を起こした53歳男性。妻から生体腎移植を受け, 移植直

後の経過は良好であったが, 2年目頃から服薬が不十分であった。血清Cr3.8 mg/dlと上昇し, FlowPRAはClassIIが陽性でNDSAとなっていた。

3) 二次, 献腎移植で術前FlowPRA陽性であった51歳女性。FlowPRA陽性は持続し, 血小板減少性の抗体関連型拒絶を併発したので, 血漿交換, リツキサン投与, 緊急脾摘で改善した。依然としてNDSAは残存している。

4) 二次, 献腎移植でHigh-riskと考え, 術前に血漿交換とリツキサン投与を行った47歳男性。尿量は少ないが, 腎生検では拒絶はなく軽度の抗体産生が見られる。

Flowcyteを用いた検査は非常に有用であるが, 抗体を検知する感度は方法(LCT, FCXM, FlowPRA)によって異なり, また状況によりかなり変化していることに注意して, 他の所見と共に治療方針を決定することが大切である。

<協賛企業>

協和発酵キリン株式会社  
大日本住友製薬株式会社  
大鵬薬品工業  
中外製薬株式会社  
テルモ株式会社  
ノバルティスファーマ株式会社  
バイエル薬品株式会社  
ブリストルマイヤーズ株式会社  
ベリタス株式会社  
湧永製薬株式会社

(五十音順)

# 日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定

## I. 投稿について

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

**資格:** 著者(共著者を含む)は原則として本学会会員に限る。

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

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

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

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

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

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

## II. 原著執筆書式

### 1. 執筆要項

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

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

### 2. 第1頁目

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

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

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

心移植における FlowPRA 法を用いた HLA 抗体検出の意義

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

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

### 3. 本文—1: 日本語での投稿

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

場合、400字以内の日本語要旨を記載しその旨明記)。

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

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

#### 4. 本文—2: 英語での投稿

• 2頁目に400字以内の要旨、キーワード(5語以内)を記載する。

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

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

#### 5. 引用文献

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

1. Shi Y, Yoshihara F, Nakahama H, *et al.*: A novel immunosuppressant FTY720 ameliorates proteinuria and alterations of intrarenal adrenomedullin in rats with autoimmune glomerulonephritis. *Regulatory Peptides* (127): 233–238, 2005.
2. Tongio M, 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指定し, 原則的に原著執筆書式に準じる。

## V. 原稿送付先

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

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

2009年4月号をお届けします。

好評のMHC誌総説シリーズ「疾患と組織適合性」の第2回として「ナルコレプシー」を取り上げ、宮川卓先生、徳永勝士先生に執筆いただきました。ナルコレプシーの患者さんにはHLA-DQB1\*0602/DRB1\*1501が100%の人に検出されることがわかっていて、HLAタイピングが疾患の確定診断に寄与しているもっとも典型的なものです。わが国では多くの施設で確定診断につかわれていますが、健保に採用されておりません。当学会としても当局へ働きかけるべき時期かもしれません。

癌は中高齢者の半分が罹患し、国民の1/3がこれを死因とする時代になりました。癌の治療は副作用との闘いといわれるぐらい、癌の治療は患者さんに大いなる負担をかけます。近頃、大阪大学と東京大学医科学研究所から「癌ペプチドワクチン療法」が提案され、治験が進んでいます。ペプチドワクチンはHLA拘束性があります。ワクチンの適応を決めるにはまずHLAをタイピングしなければなりません。わが国のHLAタイピングの問題点は、体外診断薬としてつかえる実用的なキットがなく、コストが国試的に非常に高価であることです。学会として検討すべき時期と思います。

第18回日本組織適合性学会大会は森島泰雄先生を大会長として名古屋で開催されます。森島先生は、造血幹細胞移植とHLA適合性に関して、世界で3本の指に入る有名人で、その実績は高く評価されています。厚生労働省の「造血幹細胞移植」に関連する研究班の合同班会議が平行して開催されます。HLAの臨床応用の最先端の報告が期待されますので、奮ってご参加ください。

みなさま、原著の投稿を切にお願いします。原著がない学術雑誌はクリープを入れないコーヒーのようなものです。

佐治 博夫

### 「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

〒113-8510

東京都文京区湯島1-5-45

医歯学総合研究棟(II)22F

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(5803)4906

FAX 03(5803)4907

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

2009年4月30日発行 16巻1号, 2009

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(事務局担当理事 木村 彰方)

〒113-8510 東京都文京区湯島1-5-45 医歯学総合研究棟(II)22F

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