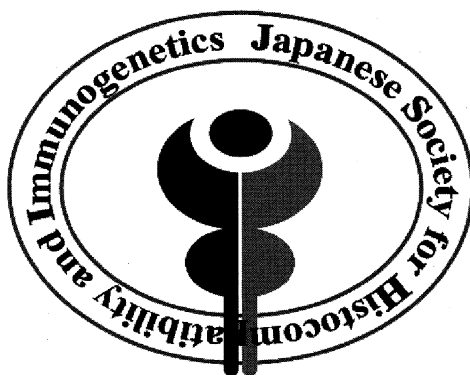


第 18 回 日本組織適合性学会大会

*The 18th Japanese Society for
Histocompatibility and Immunogenetics (JSHI)
Annual Meeting*

「HLA Revisited」



大会長 森島 泰雄 愛知県がんセンター中央病院

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 Fax. 052-683-7777

<http://www.ncvb.or.jp/ncc/>

大会事務局

愛知県がんセンター中央病院 血液・細胞療法部

〒464-8681 名古屋市千種区鹿子殿 1-1

TEL: 052-762-6111 (内線 3003), FAX: 052-764-2923

E-mail: jshi18@aichi-cc.jp

運営事務局

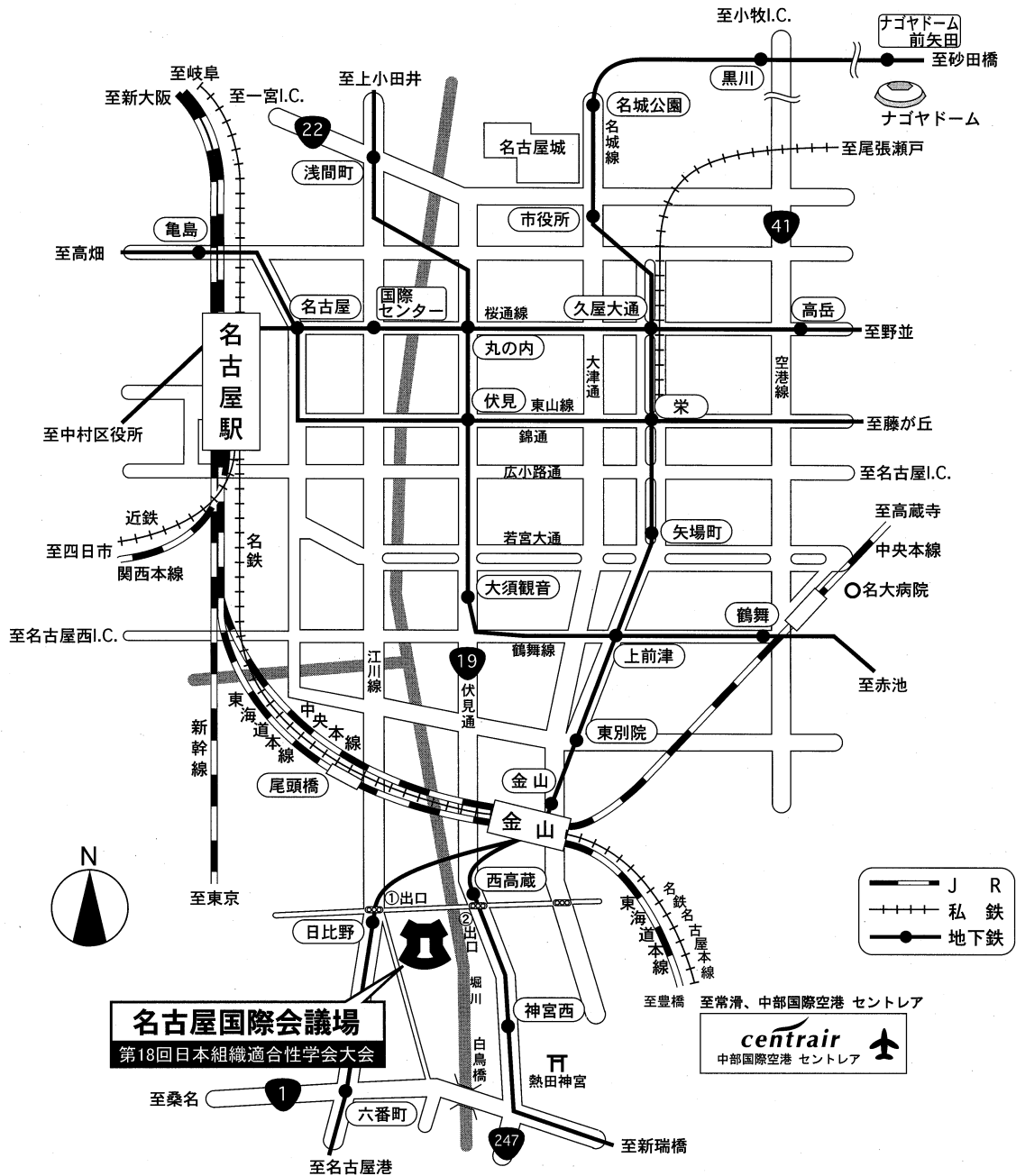
株式会社コングレ 中部支社

〒460-0004 名古屋市中区新栄町 2-13 栄第一生命ビルディング

TEL: 052-950-3369, FAX: 052-950-3370

E-mail: jshi18@congre.co.jp

会場案内図

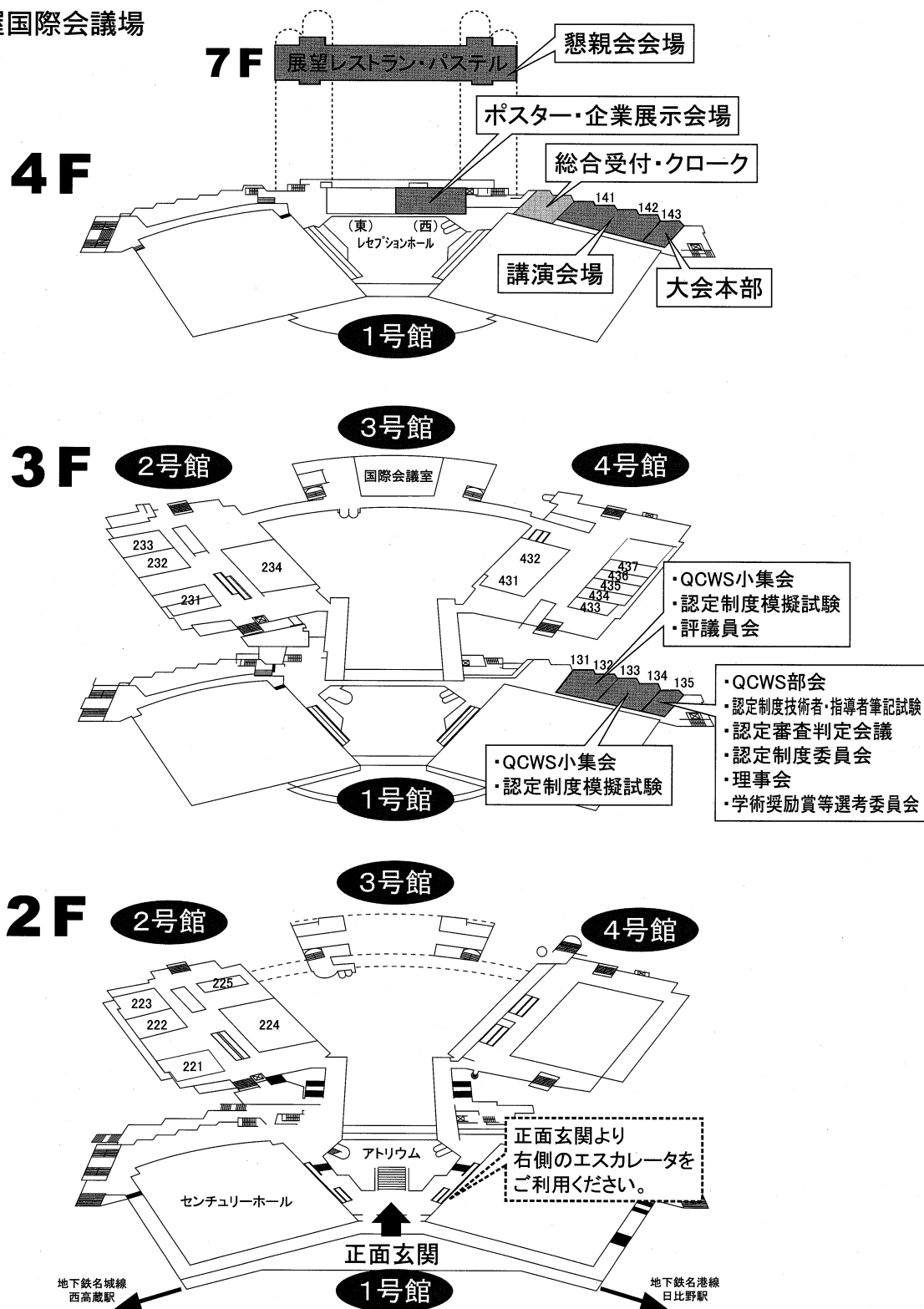


● 公共交通機関をご利用ください

名古屋駅より	中部国際空港 セントレアより
タクシー 約1,500円 	タクシー 空港定額タクシー 10,200円 (有料道路料金含まず)
地下鉄 230円 	空港線+
JR・名鉄 JR 160円 名鉄 180円 +地下鉄200円 	地下鉄

会場配置図

■名古屋国際会議場



ご案内

【学会・懇親会参加の皆様へ】

1. 参加登録

- 1) 総合受付は、名古屋国際会議場 1 号館 4 階です。
- 2) 受付時間
 - ◆ 9 月 25 日 (金) 12:00～16:30
 - ◆ 9 月 26 日 (土) 8:00～19:00
 - ◆ 9 月 27 日 (日) 8:00～14:00
- 3) 参加費

理事・評議員は 10,000 円、一般会員は 8,000 円です。

総合受付にて参加費をお支払いの上、参加証 (ネームカード) をお受け取りください。
- 4) 参加証は認定 HLA 検査技術者・認定組織適合性指導者の申請・更新の際に必要となります。
なお紛失の際の再発行は致しかねますのでご了承ください。
- 5) 学会にはこの抄録集 (本号) をお持ちください。学会期間中、総合受付にて一部 2,000 円で頒布もいたします。
- 6) 日本組織適合性学会への入会手続き、および年会費の納付は大会会場では行っておりません。

2. 懇親会

日 時: 9 月 26 日 (土) 19:20～21:00

会 場: 名古屋国際会議場 1 号館 7 階「パステル」

参加費: 2,000 円

懇親会参加費は総合受付にてお支払ください。多数のご参加をお待ちしております。

3. クローク

場 所: 名古屋国際会議場 1 号館 4 階に設置いたします。

開設時間: 9 月 25 日 (金) 12:00～17:30

9 月 26 日 (土) 8:00～19:20

9 月 27 日 (日) 8:00～16:15

【演者の皆様へ】

1. 発表時間

- 1) 指定演題は、座長より指定された発表時間を厳守してください。
- 2) 一般口演発表は、発表 8 分、討論 3 分です。
- 3) ポスター発表は、発表 5 分、討論 3 分です。

2. 口演発表

- 1) 口演発表は液晶プロジェクターの使用のみに限定します。
- 2) PC アプリケーションは、Microsoft Power Point 2003, 2004, 2007 を使用ください。

- 3) OS は、Windows (XP, Vista 対応)、Macintosh (MacOS9, X 対応) です。
- 4) USB メモリーで受け付けますが、Macintosh の場合、画格のズレや不具合がありますので PC を持ち込みください。
- 5) 発表データファイル名は、「【演題番号】【氏名】」としてください。
- 6) 発表 30 分前までに PC 受付をお済ませください。PC 受付は 1 号館 4 階ロビーにあります。
- 7) 朝最初のセッションでの発表者は、前日中に PC 受付をお済ませください。
- 8) 提出後のデータ変更は出来ません。

3. ポスター発表

- 1) 会場は、名古屋国際会議場 1 号館 4 階 レセプションホール (西) です。
- 2) 演題番号は事務局で掲示します。
- 3) 演題名、所属、氏名は演者が用意ください (縦 20 cm, 横 70 cm)。
- 4) ポスターパネルのサイズは、縦 180 cm, 横 90 cm です。
- 5) ポスター掲示用ピンは、ポスターパネルに設置しております。
- 6) ポスター貼付・撤去は、下記の時間内にお願いいたします。
会場前のポスター受付で演者用リボンをお渡ししますので、発表時にご着用ください。所定時間内に撤去されないポスターは大会事務局にて処分いたします。
◆ポスター貼付：9 月 26 日 (土) 8:30～12:00
◆ポスター撤去：9 月 27 日 (日) 15:00～16:00
- 7) ポスター発表は 9 月 26 日 (土) 18:10～19:10 に行います。
演者は所定の発表時間帯に、ご自身のポスター前で待機してください。
演題の要点を述べ、その後討論・質疑応答を行ってください。
座長の指示に従い、時間厳守をお願いいたします。

【座長の皆様へ】

1. 発表時間

- 1) 指定演題の発表、討論時間は座長に一任いたします。
- 2) 一般口演発表は、発表 8 分, 討論 3 分です。
- 3) ポスター発表は、発表 5 分, 討論 3 分です。

2. 口演発表

- 1) ご担当セッション開始 15 分前までに講演会場右手前方の次座長席にご着席ください。

3. ポスター発表

- 1) 会場は、名古屋国際会議場 1 号館 4 階 レセプションホール (西) です。
- 2) ポスター発表は 9 月 26 日 (土) 18:10～19:10 に行います。
座長は指示棒と座長用リボンをお渡ししますので、ポスター受付へお越しください。
演者に演題の要点を述べさせ、その後討論・質疑応答を行ってください。
時間厳守の進行をお願いいたします。

【お願い】

1. 発表時間、質疑応答時間を遵守してください。
2. 会場内では携帯電話の電源を切るかマナーモードにしてください。
3. 会員へのメッセージは全て掲示板で行います。

【QCWS 集会】

日 時： 9月25日(金)【全体集会】12:45～14:45, 【小集会】15:00～16:15

会 場： 名古屋国際会議場 1号館

【全体集会】4階 会議室 141-142

【小集会】4階 会議室 141-142: タイピング (各タイピング方法)

3階 会議室 131-132: 抗体 (FMC による抗体検査)

3階 会議室 133-134: 抗体 (Luminex による抗体検査)

参加費：集会参加には、学会参加証(ネームカード)が必要です。QCWS 事前振込をされている方は、総合受付で学会参加費をお支払いいただき参加証(ネームカード)をお受け取り後、受付で QCWS 参加証をお受け取りご入場ください。集会のみ参加の方は、QCWS 当日参加費 1,000 円をお支払いの上ご入場ください。

QCWS 参加証、参加領収書は認定 HLA 技術者、認定指導者の申請・更新の際に必要となります。再発行いたしませんので紛失にご注意ください。

【認定制度技術者・指導者筆記試験】

日 時： 9月25日(金) 16:20～17:20

会 場： 名古屋国際会議場 1号館 3階 会議室 135

【認定制度模擬試験】

日 時： 9月25日(金) 16:30～17:30

会 場： 名古屋国際会議場 1号館 4階 会議室 141-142

1号館 3階 会議室 131-132, 会議室 133-134

【認定 HLA 検査技術者講習会(教育講演)】

日 時： 9月26日(土) 9:00～11:00

会 場： 名古屋国際会議場 1号館 4階 会議室 141-142

テキスト代： 1,000 円

参加者は総合受付にて出席確認を済ませてからご入場ください。

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

内 容： 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)

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 検査部 検査三課)

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 (名古屋大学医学部 泌尿器科)

【認定制度指導者講習会】

第 18 回日本組織適合性学会大会中の下記，特別講演 1～2，教育講演（認定 HLA 検査技術者講習会），シンポジウム 1～3 の合計 6 講演のうちから 4 講演以上の聴講をもって，指導者新規申請および更新申請に必要な講習を受講したものと認めます。

会場入口に用意されている，受講者記帳名簿へのサインをもって受講証明といたします。

会場はいずれも，名古屋国際会議場 1 号館 4 階 会議室 141-142 です。

1. 特別講演 1: 9 月 26 日 (土) 11:10～12:00
「The Transplantation Barrier: Unraveling the Genetics of the Major Histocompatibility Complex」(Effie W. Petersdorf)
2. 特別講演 2: 9 月 27 日 (日) 11:30～12:20
「Clonal deletion followed by a new protocol: DAWN (Drugs Added When Needed), for living donor kidney transplants」(Paul I. Terasaki)
3. 教育講演 (認定 HLA 検査技術者講習会): 9 月 26 日 (土) 9:00～11:00
「ES/iPS 細胞を利用した医療と組織適合性」
「HLA DNA タイピングの実際」
「臓器移植と組織適合性: HLA 検査から臨床への架け橋」
4. シンポジウム 1: 9 月 26 日 (土) 13:00～15:30
「造血幹細胞移植と組織適合性抗原」
5. シンポジウム 2: 9 月 27 日 (日) 9:00～11:30
「HLA Revisited」
6. シンポジウム 3: 9 月 27 日 (日) 13:30～16:00
「移植医療における抗体検査の重要性」

【認定証授与の案内】

認定試験合格者ならびに更新者は 9 月 26 日 (土) 13:00 に掲示板に張り出します。

認定証は 9 月 26 日 (土) 13:20 から 9 月 27 日 (日) 16:00 までの間に随時授与いたしますので，大会本部（名古屋国際会議場 1 号館 4 階 会議室 143）までお越しください。

【学術奨励賞授与】

学術奨励賞受賞者は 9 月 27 日 (日) 8:00 に掲示板に告知いたします。

授与式は 9 月 27 日 (日) 12:30 からの総会にて執り行います。

【会議等日程】

1. QCWS 部会 9 月 25 日 (金) 11:00～12:00
名古屋国際会議場 1 号館 3 階 会議室 135
2. 認定審査判定会議 9 月 25 日 (金) 17:45～19:15
名古屋国際会議場 1 号館 3 階 会議室 135
3. 認定制度委員会 9 月 25 日 (金) 19:35～20:25
名古屋国際会議場 1 号館 3 階 会議室 135
4. 理事会 9 月 26 日 (土) 7:30～8:50
名古屋国際会議場 1 号館 3 階 会議室 135

5. 学術奨励賞等選考委員会 9月26日(土) 17:00～18:00
名古屋国際会議場 1号館3階 会議室 135
6. 評議員会 9月27日(日) 8:00～8:50
名古屋国際会議場 1号館3階 会議室 131-132
7. 総会・学術奨励賞表彰 9月27日(日) 12:30～13:20
名古屋国際会議場 1号館4階 会議室 141-142
※昼食をご用意いたします。

【企業展示】

日 時: 9月26日(土) 9:00～19:10

9月27日(日) 9:00～16:00

会 場: 名古屋国際会議場 1号館4階 レセプションホール(西)

【交通・宿泊のご案内について】

学会参加のための交通・宿泊については各自にて手配をお願いいたします。

第18回日本組織適合性学会大会 日程表

【第1日目】9月25日(金)

会場名	フロア	7:00	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00	16:00	17:00	18:00	19:00	20:00	21:00
講演会場 【会議室141-142】	1号館4階								QCWS全体集会 12:45~14:45		QCWS小集会 【中心/後方/後方】 15:00~16:15	認定制度 模擬試験 16:30~17:30				
【会議室131-132】										QCWS小集会 【後方/中心/後方】 15:00~16:15	認定制度 模擬試験 16:30~17:30					
【会議室133-134】	1号館3階									QCWS小集会 【後方/中心/後方】 15:00~16:15	認定制度 模擬試験 16:30~17:30					
【会議室135】						QCWS部会 11:00~12:00						認定制度 模擬試験 16:30~17:30		認定審査判定会議 17:45~19:15	認定制度 委員会 19:35~20:25	

【第2日目】9月26日(土)

会場名	フロア	7:00	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00	16:00	17:00	18:00	19:00	20:00	21:00
講演会場 【会議室141-142】	1号館4階						特別講演1 11:00~12:00	ランチョン セミナー 12:00~12:50	シンポジウム1 造血幹細胞移植と組織適合性抗原 13:00~15:30	学術奨励賞候補口演/一般口演 15:40~18:00						
ポスター・企業展示会場 【セブションホール(西)】					教育講演 (認定HLA検査技術講習会) 9:00~11:00	ポスター貼付				ポスター閲覧						
【会議室135】	1号館3階									企業展示						
懇親会【バステル】	1号館7階					理事会 7:30~8:50										懇親会 19:20~21:00

【第3日目】9月27日(日)

会場名	フロア	7:00	8:00	9:00	10:00	11:00	12:00	13:00	14:00	15:00	16:00	17:00	18:00	19:00	20:00	21:00
講演会場 【会議室141-142】	1号館4階							特別講演2 11:30~12:20	シンポジウム3 移植医療における抗体検査の重要性 13:30~16:00							
ポスター・企業展示会場 【セブションホール(西)】								総会 学術奨励賞 12:30~13:20	ポスター閲覧							
【会議室131-132】	1号館3階								企業展示							

プログラム

特別講演 1**9月26日(土) 11:10~12:00****座長** 森島 泰雄(愛知県がんセンター中央病院)

- SL-1 The Transplantation Barrier: Unraveling the Genetics of the Major Histocompatibility Complex
 Effie W. Petersdorf Fred Hutchison Cancer Research Center, USA

特別講演 2**9月27日(日) 11:30~12:20****座長** 佐治 博夫(特定非営利活動法人 HLA 研究所)

- SL-2 Clonal deletion followed by a new protocol: DAWN (Drugs Added When Needed), for living donor kidney transplants
 Paul I. Terasaki Terasaki Foundation Laboratory, USA

教育講演(認定制度講習会)**9月26日(土) 9:00~11:00****(JSHI 認定制度委員会・教育部会)****座長** 西村 泰治(熊本大学大学院医学薬学研究部)

- EL-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
 EL-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 検査部 検査三課
 EL-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 名古屋大学医学部 泌尿器科

シンポジウム 1**9月26日(土) 13:00~15:30****「造血幹細胞移植と組織適合性抗原」****(日本造血細胞移植学会 合同シンポジウム)**

座長 赤塚 美樹(愛知県がんセンター研究所 腫瘍免疫学部)
 村田 誠(名古屋大学医学部附属病院 血液内科)

- S1-1 JMDP における骨髄データセンターの役割
 田中 秀則 日本赤十字社 中央血液研究所 中央骨髄データセンター
 S1-2 非血縁者間骨髄移植における HLA 適合効果
 川瀬 孝和 愛知県がんセンター研究所 疫学予防部

- S1-3 臍帯血移植における HLA 適合性効果
甲斐 俊朗 兵庫医科大学輸血部
- S1-4 同種移植後の不適合 HLA を標的とした CTL クローン解析
村田 誠 名古屋大学医学部附属病院 血液内科
- S1-5 非血縁者間造血幹細胞移植における NK 細胞受容体解析
屋部登志雄 東京都赤十字血液センター製剤部
- S1-6 同種造血幹細胞移植とマイナー組織適合性抗原
赤塚 美樹 愛知県がんセンター研究所腫瘍免疫学部, 愛知県がんセンター中央病院血液・細胞療法部
- S1-7 ゲノム関連解析による GVHD 関連多型の探索
小川 誠司 東京大学医学部附属病院がんゲノミクスプロジェクト

シンポジウム 2

9 月 27 日 (日) 9:00~11:30

「HLA Revisited」

座長 笹月 健彦 (国立国際医療センター)
森島 泰雄 (愛知県がんセンター中央病院)

- S2-1 HLA 領域の遺伝子構造解析と疾患関連解析
猪子 英俊 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学
- S2-2 HLA ハプロタイプと急性 GVHD
森島 聡子 愛知県がんセンター中央病院 血液・細胞療法部
小川 誠司 東京大学医学部附属病院 がんゲノミクスプロジェクト
- S2-3 疾患のゲノムワイド関連分析 (GWAS) と HLA
徳永 勝士 東京大学医学系研究科人類遺伝学分野
- S2-4 HLA と癌の免疫療法
西村 泰治 熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学分野
- S2-5 NK 細胞レセプターによる MHC クラス I と非 MHC クラス I 分子の認識
松本 直樹 東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻

シンポジウム 3

9 月 27 日 (日) 13:30~16:00

「移植医療における抗体検査の重要性」

座長 小林 孝彰 (名古屋大学医学部 免疫機能制御学)
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)

- S3-1 骨髄移植における HLA 抗体の意義

- 一戸 辰夫 京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学
- S3-2 臍帯血移植における抗 HLA 抗体の影響
高梨 美乃子 東京都赤十字血液センター
- S3-3 腎移植における抗体検査の重要性
杉谷 篤 藤田保健衛生大学 臓器移植再生医学
- S3-4 心臓移植における抗体検査の重要性
中谷 武嗣 国立循環器病センター 臓器移植部
- S3-5 肝移植における alloantibody の臨床的意義
江川 裕人 朝日大学附属村上記念病院 外科
- S3-6 検査の現場からみた抗体検査の問題点 ～HLA 抗体検査, FCXM 検査～
橋口 裕樹 福岡赤十字病院 検査部
- S3-7 QCWS における HLA 抗体検査の現状と課題
田中 秀則 日本赤十字社 中央血液研究所 中央骨髄データセンター

ランチョンセミナー

9月26日(土) 12:10～12:50

「造血細胞移植における HLA 抗体および KIR」

共催：株式会社ベリタス

座長 小川 公明 (株式会社ベリタス)

- LS-1 KIR 遺伝子多型解析と移植成績
屋部 登志雄 東京都赤十字血液センター製剤部製剤三課
- LS-2 造血細胞移植における HLA 抗体検査の意義
佐藤 壯 特定医療法人北楡会札幌北楡病院 臨床検査科

会員研究発表 I

学術奨励賞候補口演

9月26日(土) 15:40~16:25

座長 木村 彰方(東京医科歯科大学難治疾患研究所)

G-1 ウシの種分化および品種形成における MHC クラス II DQA1 遺伝子の多様性解析

○竹嶋 伸之輔, 陳 晶, 三木 晶未, 加堂 真由, 間 陽子
理化学研究所・分子ウイルス学特別研究ユニット

G-2 HLA 領域のパーソナルゲノム解析法の開発

○細道 一善¹⁾, 猪子 英俊¹⁾, 河田 寿子²⁾, 井ノ上 逸朗¹⁾, 椎名 隆¹⁾
1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学
2) 東海大学伊勢原研究推進部教育・研究支援センター

G-3 慢性血栓塞栓性肺高血圧症の疾患感受性は microRNA-759 によって制御される

○陳 智勇^{1,2)}, 中島 敏晶^{1,3)}, 田邊 信宏⁴⁾, 井上 芳徳²⁾, 木村 彰方^{1,3)}
1) 東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子病態分野
2) 同・大学院医歯学総合研究科・血管応用外科学
3) 同・大学院疾患生命科学研究部・ゲノム多様性
4) 千葉大学・大学院医学研究院・加齢呼吸器病態制御学

会員研究発表Ⅱ(口演)

口演 1

9月26日(土) 16:25~17:10

座長 池田 久實(北海道赤十字血液センター)

- O-1 真性過眠症候群を対象とした HLA-DRB1*1501-DQB1*0602 ハプロタイプと *CPT1B* 遺伝子および *CHKB* 遺伝子の間に位置する多型の関連解析

○宮川 卓¹⁾, 本多 真^{2,3)}, 川嶋 実苗^{1,4)}, 嶋多 美穂子¹⁾, 田中 進²⁾,
本多 裕³⁾, 徳永 勝士¹⁾

- 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
- 2) 東京都精神医学総合研究所 睡眠障害プロジェクト
- 3) 財団法人神経研究所附属睡眠学センター
- 4) スタンフォード大学 ナルコレプシーセンター

- O-2 アカゲザル MHC クラス I 多様性と SIV (simian immunodeficiency virus) ワクチン効果

○成瀬 妙子¹⁾, 山下 知子¹⁾, 森 一泰²⁾, 陳 智勇¹⁾, 齋藤 祐介³⁾, 俣野 哲朗⁴⁾, 木村 彰方^{1,3)}

- 1) 東京医科歯科大学・難研・分子病態
- 2) 国立感染症研究所エイズ研究センター
- 3) 東京医科歯科大学大学院・疾患生命科学研究部
- 4) 東京大学医科学研究所

- O-3 HLA-DQ トランス型二量体形成能と安定性の解析

○宮寺 浩子, 徳永 勝士

東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学分野

- O-4 HLA クラス I と Killer cell Immunoglobulin-like Receptor (KIR) の多型が規定するヒト NK 細胞の “missing-self response”

○八幡 真人¹⁾, 八幡 信代¹⁾, Monia Draghi¹⁾, Fotini Partheniou²⁾, Ann-Margaret Little^{2,3)}, Peter Parham¹⁾

- 1) Stanford University School of Medicine
- 2) The Anthony Nolan Trust Histocompatibility Laboratories
- 3) The Royal Free Hospital Department of Haematology

口演 2

9月26日(土) 17:10~18:00

座長 前田 平生(埼玉医科大学総合医療センター)

- O-5 HIV 感染後 AIDS 発症の個体差と KIR 遺伝子多型, HLA 遺伝子多型との関連

○小西 真紀子¹⁾, 柳田 梨沙¹⁾, 成瀬 妙子²⁾, 中島 敏晶^{1,2)}, 照沼 裕³⁾,
三間 屋純一⁴⁾, 木村 彰方^{1,2)}

- 1) 東京医科歯科大学大学院生命情報科学教育部 ゲノム多様性
- 2) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態
- 3) 日本バイオセラピー研究所
- 4) 静岡こども病院

O-6 抑制性サイトカイン IL-10 遺伝子プロモーター多型と非血縁者間骨髄移植成績との関連

○平安 恒幸^{1,2)}, 柏瀬 貢一¹⁾, 峯元 睦子¹⁾, 鬼塚 真仁³⁾, 小川 篤子¹⁾,
高梨 美乃子¹⁾, 猪子 英俊³⁾, 佐治 博夫⁴⁾, 小川 誠司²⁾, 笹月 健
彦⁵⁾, 徳永 勝士²⁾, 森島 泰雄⁶⁾, 佐竹 正博⁷⁾, 中島 一格¹⁾, 屋部 登
志雄¹⁾

- 1) 東京都赤十字血液センター
- 2) 東京大学医学部
- 3) 東海大学医学部
- 4) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
- 5) 国立国際医療センター
- 6) 愛知県がんセンター
- 7) 東京都西赤十字血液センター

O-7 HLA 抗体保有者から得られたモノクローナル抗体を用いた HLA エピトープ解析

○宮崎 孔¹⁾, 阪川 久子¹⁾, 佐藤 進一郎¹⁾, 笹島 知大²⁾, 加藤 俊明¹⁾,
池田 久實¹⁾

- 1) 北海道赤十字血液センター
- 2) 札幌マタニティ・ウイメンズホスピタル

O-8 HLA 抗体産生の不思議

○丸屋 悦子¹⁾, 北脇 城²⁾, 大沼 豪¹⁾, 二神 貴臣¹⁾, 小島 裕人¹⁾, 辻
野 貴史¹⁾, 林 晃司¹⁾, 楠木 靖史¹⁾, 吉田 喬¹⁾, 河賀 泰子¹⁾, Nori
Sasaki³⁾, 赤座 達也¹⁾, 佐治 博夫¹⁾

- 1) NPO. HLA 研究所
- 2) 京都府立医科大学産婦人科
- 3) One Lambda Research II

会員研究発表Ⅲ (ポスター)

「動物MHC」

9月26日(土) 18:10~18:50

座長 太田 正徳 (信州大学医学部法医学教室)

P-1 抗病性育種の選抜家系における SLA タイプの特徴—世代間のアリル出現率の比較と羊赤血球抗体価に相関するアリル—

○安藤 麻子¹⁾, 河田 寿子²⁾, 重成 敦子¹⁾, 柴田 千尋³⁾, 鈴木 英作³⁾,
鈴木 啓一⁴⁾, 北川 均⁵⁾, 猪子 英俊¹⁾, 上西 博英⁶⁾

- 1) 東海大学・医学部
- 2) 東海大学・伊勢原研究推進部・教育・研究支援センター
- 3) 宮城県畜産試験場・種豚家きん部
- 4) 東北大学大学院・農学研究科
- 5) 岐阜大学・応用生物学部
- 6) 農業生物資源研究所・動物科学研究領域

P-2 カニクイザル3集団における MHC クラス I 遺伝子 (Mafa-A) の多型性の比較

○北 夕紀¹⁾, 田中 景子¹⁾, 細道 一善¹⁾, 小笠原 一誠²⁾, 鳥居 隆三³⁾,
猪子 英俊¹⁾, 椎名 隆¹⁾

- 1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学
- 2) 滋賀医科大学病理学講座
- 3) 滋賀医科大学動物生命科学研究センター

P-3 フンボルトペンギン属4種における遺伝的関係

○吉川 枝里¹⁾, 津田 とみ^{1,2)}, 炭山 大輔^{1,6)}, 成瀬 妙子³⁾, 福田 道雄⁴⁾, 栗田 正徳⁵⁾, 津田 道雄¹⁾, 村田 浩一⁶⁾, 猪子 英俊¹⁾

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

P-4 ペンギン MHC—ペンギン目ペンギン科6属17種の進化と分類

○津田 とみ^{1,2)}, 吉川 枝里¹⁾, 炭山 大輔¹⁾, 成瀬 妙子³⁾, 福田 道雄⁴⁾,
栗田 正徳⁵⁾, 津田 道雄¹⁾, 村田 浩一⁶⁾, 猪子 英俊¹⁾

- 1) 東海大学医学部分子生命科学
- 2) 徳島文理大学人間生活学部
- 3) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野

- 4) 東京都葛西臨海水族園
- 5) 名古屋港水族館
- 6) 日本大学生物資源学部

「HLA 型」

9月26日(土) 18:10~19:10

座長 柏瀬 貢一(東京都赤十字血液センター)

P-5 新しいアリル (HLA-A*1101V, DRB1*1202K) について

- 小島 裕人¹⁾, 大沼 豪¹⁾, 小川 貴裕²⁾, 二神 貴臣¹⁾, 辻野 貴史¹⁾,
林 晃司¹⁾, 楠木 靖史¹⁾, 吉田 喬¹⁾, 前川尻 真司²⁾, 松下 正毅²⁾, 丸
屋 悦子¹⁾, 佐治 博夫¹⁾
- 1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
 - 2) 湧永製薬株式会社

P-6 HLA-DRBI が異なる DR 抗原 0 ミスマッチの MLR

- 安尾 美年子¹⁾, 石塚 敏¹⁾, 菊野 晃¹⁾, 寺岡 慧²⁾
- 1) 東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター 移植免疫研究室
 - 2) 同・腎臓外科

P-7 HLA-DQ “blank” アリルとして見出された *HLA-DQA1*0107* の発現解析

- 宮寺 浩子¹⁾, 徳永 勝士¹⁾, Bouke G. Hepkema²⁾
- 1) 東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学分野
 - 2) Medisch immunoloog, Transplantation Immunology EA51,
UMCG, The Netherlands

P-8 DR53 グループ (DRB1*0406) であるにもかかわらず Micro SSP 法で DRB4 が検出されなかつた一症例

- 李 悦子¹⁾, 瀧本 朋美¹⁾, 西岡 朋美¹⁾, 渡邊 博文¹⁾, 尾崎 修治¹⁾, 石
井 博之²⁾, 福森 泰雄²⁾, 益尾 清恵³⁾, 香美 祥二¹⁾
- 1) 徳島大学病院 輸血部
 - 2) 大阪府赤十字血液センター
 - 3) 株式会社ベリタス

P-9 WAKFlow HLA 抗体クラス I (MR) における「血清処理試薬」の有用性

- 関根 みゆき, 寺木 佳子, 市原 孝浩, 梅津 昭子, 栗田 裕子, 橋
本 正美, 藤原 孝記, 柏瀬 貢一, 内川 誠, 中島 一格
東京都赤十字血液センター

P-10 プラスチック基板上での等温増幅反応による HLA タイピング

○奥平 裕子¹⁾, 光永 滋樹¹⁾, 山口 香織¹⁾, 吉川 枝理²⁾, 岡 晃¹⁾, 猪子 英俊¹⁾

1) 東海大学 医学部 基礎医学系 分子生命科学

2) 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

「HLA ハプロタイプ」

9月26日(土) 18:10~19:10

座長 中島 文明 (日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所)

P-11 腎不全患者の HLA ハプロタイプ推定

○酒巻 建夫, 岡村 康子, 高橋 千尋, 大西 民子

国立病院機構千葉東病院・研究検査科 HLA 検査室

P-12 京阪さい帯血バンクにおける母子タイピングから求めた 6,102 例の HLA-A, -B, -C, -DRB1 ハプロタイプ分布について (第2報)

○小野 明子¹⁾, 齋藤 順¹⁾, 石井 博之¹⁾, 福森 泰雄¹⁾, 吉村 敬次¹⁾, 中埜 肅¹⁾, 柴田 弘俊²⁾, 正岡 徹²⁾

1) 大阪府赤十字血液センター

2) 京阪さい帯血バンク

P-13 日本人列島人の HLA-A, C, B, DRB1, DQB1, DPB1 アリル型ハプロタイプ頻度=家系調査に基づくカウント法による=

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

特定非営利活動法人 HLA 研究所

P-14 血液腫瘍患者および家族の HLA 組み換え率が高いか?

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

特定非営利活動法人 HLA 研究所

P-15 骨髄バンク登録ドナーから検出された HLA 新アリのハプロタイプ分析と考察

○中島 文明¹⁾, 盛山 芳恵¹⁾, 清水 まり恵¹⁾, 加藤 和江¹⁾, 田中 秀則¹⁾, 柏瀬 貢一²⁾, 福森 泰雄³⁾, 岡崎 仁¹⁾, 佐竹 正博¹⁾, 田所 憲治¹⁾

1) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

2) 東京都赤十字血液センター

3) 大阪府赤十字血液センター

P-16 日本骨髓バンク登録ドナーにおける HLA-C 座遺伝子頻度について

○盛山 芳恵¹⁾, 中島 文明¹⁾, 清水 まり恵¹⁾, 加藤 和江¹⁾, 市原 孝浩²⁾, 峯元 睦子²⁾, 柏瀬 貢一²⁾, 内川 誠²⁾, 中島 一格²⁾, 小野 明子³⁾, 石井 博之³⁾, 福森 泰雄³⁾, 吉村 敬次³⁾, 中埜 肅³⁾, 田中 秀則¹⁾, 岡崎 仁¹⁾, 佐竹 正博¹⁾, 田所 憲治¹⁾

1) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

2) 東京都赤十字血液センター

3) 大阪府赤十字血液センター

「HLA抗体検査」

9月26日(土) 18:10~19:00

座長 荒木 延夫(兵庫県赤十字血液センター)

P-17 Luminex-Beads 法による抗体検査: PRA 法と Single Antigen beads 法の比較

○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, 河賀 泰子, 西川 美年子, 赤座 達也, 佐治 博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所

P-18 HLA 抗体検査法の比較—ELISA 法と精製抗原蛍光ビーズ法—

○橋本 志歩, 中島 文明, 岡崎 仁, 佐竹 正博, 田所 憲治
日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

P-19 ELISA 法による HLA 抗体検査: LAT-M (One Lambda 社) と AbScreen (Biotest 社) の比較検討

○丹羽 操¹⁾, 小原 節子²⁾, 水野 美紀子²⁾, 黒木 聖久²⁾, 片山 昭男³⁾, 植木 常雄³⁾, 長坂 隆治²⁾, 後藤 憲彦²⁾, 渡井 至彦²⁾, 打田 和治²⁾, 岩崎 研太¹⁾, 羽根田 正隆¹⁾, 小林 孝彰¹⁾

1) 名古屋大学医学部免疫機能制御学

2) 名古屋第二赤十字病院

3) 増子記念病院

P-20 HLA 適合血小板輸血のための Luminex 法 (LABScreen Single Antigen) 蛍光強度の指針

○荒木 延夫, 谷口 理香, 馬淵 理
兵庫県赤十字血液センター

P-21 HLA 抗体検出における ICFA 法と蛍光ビーズ法の比較検討

○高 陽淑¹⁾, 尼岸 悦子¹⁾, 稲葉 洋行¹⁾, 岡 綾子¹⁾, 西海 真弓¹⁾, 谷上 純子¹⁾, 福森 泰雄¹⁾, 吉村 敬次¹⁾, 中埜 肅¹⁾, 中島 文明²⁾

日本赤十字社 血液事業研究グループ 白血球ワークショップ

1) 大阪府赤十字血液センター

2) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

「移植と HLA 抗体」

9月26日(土) 18:10~19:10

座長 玉木 茂久 (山田赤十字病院)

P-22 感染を契機に抗体関連拒絶を併発し、graft loss となった一例

○錦 建宏¹⁾ 北田 秀久^{1,2)} 土井 篤¹⁾ 三浦 敬史¹⁾ 栗原 啓¹⁾ 宮本 京子³⁾ 升谷 耕介²⁾ 田中 雅夫¹⁾

1) 九州大学臨床・腫瘍外科

2) 九州大学病院腎疾患治療部

3) 九州大学病遺伝子細胞療法部

P-23 術前ドナー特異的抗 HLA 抗体 (DSA) と慢性抗体関連型拒絶反応 (chronic AMR) との関係について

○古澤 美由紀, 石田 英樹, 土岐 大介, 清水 朋一, 白川 浩希, 土屋 朋太, 田邊 一成

東京女子医科大学 泌尿器科

P-24 HLA 高感作症例の同定: Flow PRA と Luminex の比較検討

○土屋 朋大¹⁾, 平井 敏仁¹⁾, 公平 直樹¹⁾, 土岐 大介¹⁾, 時田 大輔¹⁾, 清水 朋一¹⁾, 白川 浩希¹⁾, 尾本 和也²⁾, 石田 英樹¹⁾, 田邊 一成¹⁾

1) 東京女子医科大学 泌尿器科

2) 保健医療公社大久保病院 移植外科

P-25 当科における血縁者間生体腎移植と夫婦間腎移植の比較検討

○土屋 朋大¹⁾, 平井 敏仁¹⁾, 公平 直樹¹⁾, 土岐 大介¹⁾, 時田 大輔¹⁾, 清水 朋一¹⁾, 白川 浩希¹⁾, 尾本 和也²⁾, 石田 英樹¹⁾, 田邊 一成¹⁾

1) 東京女子医科大学 泌尿器科

2) 保健医療公社大久保病院 移植外科

P-26 HLA 抗体陽性ドナーからの生体肝移植検査

○小野 智¹⁾, 菊地 正美¹⁾, 菅原 亜紀子¹⁾, 高崎 美苗¹⁾, 川畑 絹代¹⁾, 斎藤 俊一¹⁾, 安田 広康¹⁾, 大戸 斉¹⁾, 齋藤 拓朗²⁾, 後藤 満一²⁾

1) 福島医科大学病院 輸血・移植免疫部

2) 福島医科大学病院 消化器・一般外科

P-27 非血縁者間臍帯血移植における ICFA 法を用いた HLA 交差適合試験の検討

○藤原 孝記¹⁾, 柏瀬 貢一¹⁾, 内川 誠¹⁾, 高梨 美乃子¹⁾, 佐竹 正博^{2, 3)}, 中島 一格¹⁾

- 1) 東京都赤十字血液センター
- 2) 日本赤十字社中央血液研究所
- 3) 東京都西赤十字血液センター

「感染・免疫・疾患」

9月26日(土) 18:10~19:00

座長 笠原 正典(北海道大学大学院医学研究科分子病理学分野)

P-28 霊長類 SIV 感染を制御する TRIM5-alpha 遺伝子とヒト HIV 感染感受性・抵抗性との関連

○中島 敏晶^{1,2)}, 中山 英美³⁾, Gurvinder Kaur⁴⁾, 三間屋 純一⁵⁾, 照沼 裕⁶⁾, 大谷 仁志¹⁾, Narinder Mehra⁴⁾, 塩田 達雄³⁾, 木村 彰方^{1,2)}

- 1) 東京医科歯科大学 疾患生命科学研究部
- 2) 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態
- 3) 大阪大学 微生物病研究所 ウイルス感染制御分野
- 4) Department of Transplant Immunology and Immunogenetics, All India Institute of Medical Sciences
- 5) 静岡県立こども病院
- 6) 日本バイオセラピー研究所

P-29 炎症関連遺伝子多型および原爆放射線被曝が結腸・直腸発がんリスクに及ぼす影響

○林 奉権¹⁾, 森下 ゆかり¹⁾, 長村 浩子¹⁾, 牧 真弓¹⁾, 林 幾江²⁾, 吉田 健吾¹⁾, 楠 洋一郎¹⁾, 中地 敬¹⁾

- 1) 放射線影響研究所・放射線生物学 / 分子疫学部
- 2) 広島大学・歯学部中央研究室

P-30 固形癌患者における HLA アリルホモ接合頻度の検討

○佐藤 蘭子¹⁾, 佐藤 壯¹⁾, 小林 良二²⁾, 小笠原 正浩³⁾, 笠井 正晴³⁾

- 1) 特定医療法人北楡会札幌北楡病院・臨床検査科
- 2) 同・小児科
- 3) 同・血液内科

P-31 皮膚免疫に重要な役割を果たすと推定される新しい MHC クラス I 様分子の解析

○吉田 繁^{1,2)}, 富居 一範¹⁾, 梶川 瑞穂³⁾, 近藤 瑞穂¹⁾, 大塚 紀幸¹⁾, 前仲 勝実⁴⁾, 笠原 正典¹⁾

- 1) 北海道大学大学院医学研究科分子病理学分野
- 2) 北海道大学大学院保健科学研究院
- 3) 理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター
- 4) 九州大学生体防御医学研究所

P-32 ガーナ民族集団に見いだされた新しい低親和性 IgG 受容体 FcγRIIa バリエントアリル

○安波 道郎¹⁾, 山崎 朗子¹⁾, アマディン・ハッサン・オマール¹⁾, ギデオ
ン・ヘレシベ¹⁾, マイケル・オフォリ²⁾, バルトロメオ・アカモリ²⁾, 堀
江 仁美¹⁾, 柴田 宏樹¹⁾, 菊池 三穂子¹⁾, 平山 謙二¹⁾

1) 長崎大学 熱帯医学研究所

2) ガーナ大学 野口記念医学研究所

抄 録 集

特別講演

SL-1

The Transplantation Barrier: Unraveling the Genetics of the Major Histocompatibility Complex

Effie W. Petersdorf

University of Washington

Fred Hutchinson Cancer Research Center

Seattle, USA

The transplantation of hematopoietic stem cells from unrelated volunteer donors has increased exponentially over the last two decades. The increased safety and efficacy of the procedure have led to improved clinical outcomes. Definition of HLA factors of the transplantation barrier has significantly lowered transplant-related morbidity and mortality.

The availability of molecular technologies for tissue typing has been one of the most important advances in the field of histocompatibility. There is ample evidence that complete and precise donor matching of the classical class I and class II genes lowers risks of acute and chronic GVHD, albeit in some instances with a loss of graft-versus-leukemia (GVL) effects. Even with donor matching for five genetic loci (HLA-A, B, C, DRB1, DQB1), however, GVHD remains an important risk for most patients. The contribution of functional variation both within the MHC and elsewhere in the genome, can now be investigated with the availability of a complete sequence map of the human genome, and high throughput methods for single nucleotide polymorphism (SNP) mapping of novel transplantation determinants. For patients whose only option is an HLA mismatched transplant, a clearer definition of "permissible" HLA mismatches remains an important research initiative. Current data demonstrate that donor-recipient disparity for amino acid differences at key epitopes involved in T cell receptor binding and/or peptide binding, contribute to GVHD risk and provide new avenues for donor selection to lower risk.

With the exponential increase in the number of genetic factors that potentially impact transplant outcome, robust numbers of patients and transplant donors whose HLA genes have been accurately and completely typed and for whom complete clinical information is available, are needed to define the highly complex genetic pathways that influence transplant outcome. To this end, the International Histocompatibility Working Group (IHWG) in Hematopoietic Cell Transplantation was formed in 1996. Today, data for over 16,000 unrelated donor transplants have been deposited into the IHWG working group's database. This resource has provided the international scientific and clinical communities with a unique opportunity to test novel hypotheses in ethnically and racially diverse transplant populations. Five key concepts have emerged from the IHWG effort. First, the ethnic background of the recipient and donor plays a major role in defining overall clinical outcome. In an analysis of HLA matched unrelated donor transplants wherein the recipient and donor were of the same ethnic/racial background, clear differences in GVHD risk and survival are apparent. These data suggest that undefined genetic markers might differ between racially diverse populations, and might be responsible for undetected donor-recipient disparity, or might signal the presence of genes that confer biological function in transplantation. Secondly, the linkage of genes on haplotypes provides a powerful approach for mapping novel transplantation determinants. Third, permissible HLA mismatching is governed by the number of loci mismatched, the specific

locus that is mismatched, as well as the amino acid epitopes that differ between the recipient and donor. Fourth, HLA-DP functions as a classical transplantation antigen, provoking GVHD but also participating in GVL effects. Lastly, cytokine and immune response gene variation can modulate the risks of GVHD and transplant-related mortality.

The findings of the IHWG provide a platform for future investigation into the transplantation barrier, and illustrate the importance of international collaboration in deciphering the genetics of the MHC specifically, as well as variation encoded throughout the genome. The importance of the transplant recipient and donor's ethnic background in shaping transplant outcome is a sentinel finding that will provide a means to understanding the alleles and haplotypes that are shared among different populations, and that can be leveraged to increase the sharing of donors worldwide.

SL-2

Clonal deletion followed by a new protocol: DAWN (Drugs Added When Needed), for living donor kidney transplants

Paul I. Terasaki¹⁾, H.L. Trivedi²⁾, H. Kaneku¹⁾, M. Everly¹⁾

1) Terasaki Foundation Laboratory, USA

2) Institute of Kidney Diseases and Research Center, Ahmedabad, India

A new protocol by which kidney transplants could be performed from living donors was investigated. Patients were first immunized with donor specific transfusions, then the responding clones were deleted by bortizomib treatment. This later drug reacts to plasma cells. After transplantation, bortizomib treated patients were re-treated with the drug to further delete clones. The treatment plan was to add drugs one at a time as needed. To date, among 31 patients treated with bortizomib deletion, 15 are on low dose prednisone only, 8 on MMF, sirolimus and CNI, 4 on MMF and 4 with no immunosuppression. The longest survivor is 9 months. Patients are monitored often with single antigen beads for the development of antibodies. When formed, the antibodies were removed by bortizomib treatment. Then mean serum creatinine values were from 1.3 mg/dl monthly up to 1.5 mg/dl. no deaths or graft failures were noted thus far.

We believe that with this DAWN protocol, patients can be treated with the very minimum immunosuppression according to personal individual needs.

教育講演

EL-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

ES 細胞 (Embryonic Stem Cells, 胚性幹細胞) は、哺乳動物における個体発生のごく初期の段階、すなわち受精後 3-8 日後の段階である胚盤胞において、将来、胎児となる部分として存在する内部細胞塊から樹立される培養細胞である。この内部細胞塊は、動物個体を形成する 3 胚葉 (内胚葉, 外胚葉, 中胚葉) への分化が起こる以前の段階にあり、ここに含まれる個々の細胞は、あらゆる細胞に分化できる能力 (多能性) を有している。内部細胞塊の細胞に由来する ES 細胞も同様に多能性を有しており、このことは、マウスの ES 細胞を胚盤胞に戻してマウス子宮内で発育させることにより形成されるキメラマウスにおいて、あらゆる組織に ES 細胞由来の分化細胞が存在する、という観察結果から証明される。

ES 細胞は、多能性を有することに加えて、適切な環境で培養することにより、未分化な状態を保ったまま無限に増殖させることができる、という特性を有している。このような ES 細胞の特性を利用することにより、理論的には、人工的な操作により生体外であらゆる種類の細胞をいくらかでも作製できる、ということになる。10 年程前から、各国においてヒトの ES 細胞の株が数多く樹立されており、ヒト ES 細胞を用いた再生医療の実現を目指した研究が盛んに行われている。しかしながら、ヒト ES 細胞による再生医療の医療応用には、2 つの大きな問題がある。すなわち、その作製においてヒト胚を材料としている、という倫理的観点からの問題と、ヒト ES 細胞が材料となったヒト胚に由来する遺伝的背景を有していることによる組織適合性の問題であり、実用化を目指す上で大きな障壁であった。

2006 年の秋、成体内から分離した線維芽細胞のような体細胞に、数種類の遺伝子を導入して分化を逆行させる (初期化) ことにより、ES 細胞と同等の多能性と増殖能力を兼ね備えた iPS 細胞 (induced Pluripotent Stem Cells, 誘導性多能性幹細胞) を作製できることが報告された。ヒト iPS 細胞の作製にはヒト胚を必要としないため、その樹立および使用に際して、ES 細胞の場合と比較すると生命倫理的な障壁ははるかに低い。さらに、治療の対象となる患者自身の体細胞からも作製することが可能であるため、組織適合性の問題も解決される見込みとなった。

ヒト iPS 細胞を用いた再生医療については、iPS 細胞作製に関連して様々な改良が報告されてはいるものの、一人のドナーからの iPS 細胞の樹立に相当な費用と時間を必要とする、という問題がある。治療対象者全てについて個別に iPS 細胞を作製することは、医療経済的に成立しない可能性、また、iPS 細胞の作製に時間がかかりすぎて治療に必要なタイミングで細胞を供給できない可能性がある。このような問題の解決策として、各民族集団中等において頻度の高い HLA ハプロタイプホモ接合の方々にドナーになっていただいて iPS 細胞を作製し “iPS 細胞バンク” を設立する、という構想は非常に有用であろう。

EL-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 検査部 検査三課

HLA (Human Leukocyte Antigen) 型のタイピングは、従来から行われてきた血清学的タイピングから一転して DNA タイピングが主流となっている。多型の検出方法として、SSP 法, SSO 法, RFLP 法, SSCP 法, SBT 法など原理の異なる方法があり、これらを応用した DNA タイピング試薬が市販されている。特に骨髄移植、臍帯血移植等の造血細胞移植においては DNA タイピングを用いた高精度な HLA 型検査が適切なドナーの選択に貢献している。しかしながら、DNA タイピングの普及により新規アリルが年々増加し、すべてのアリルを識別することは不可能となり、明確な判定結果が得にくい状況になっているのも事実である。このような状況の中で、私たちタイピングに携わる者は、目的に合った正確なタイピング結果を臨床側に報告しなければならない。そのためには、タイピング方法の特徴や限界を理解するのはもちろん、アリル頻度やハプロタイプの知識等を有することは重要である。また、様々な原因により起こるタイピングミスを最小限にするための手順や対策も不可欠である。当施設では、輸血や骨髄バンク、臍帯血バンクにおけるドナーや患者の DNA タイピングを行っている。特に骨髄バンクドナーのタイピング件数は年間約 19,000 検体と多いため、検体血液の分注から DNA の抽出、PCR プレートチューブへの DNA 分注までの一連の工程をほぼ自動化して行っている。自動化はタイピング業務の効率化だけではなく、人的な過誤の減少にも効果的である。また試薬の品質試験や定期的に精度管理も行っており、タイピング結果の正確性を保っている。

本講習会では、骨髄バンクにおける HLA タイピングシステムや精度・品質管理の方法を紹介すると共に、当施設で経験した症例やトラブル等の事例に焦点を当て、DNA タイピングの問題解決の一助としたい。

EL-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

名古屋大学医学部 泌尿器科

近年、HLA を含む各種検査や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以前より重要な問題となってきている。その中で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、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たが、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、抗体陽性の患者では移植の成績が低下することなどを示した。このように HLA とその抗体による移植臓器の影響は以前から指摘されているが、依然として HLA は移植分野における重要な問題である。

更に近年では科学・技術の進歩により以前のような血清などを用いた検査から DNA 解析が行われるようになり、HLA の多型が数多く報告されるなど HLA の検査方法も変化してきた。また、DNA の分野のみではなく血清学的には、上述のように移植関連抗体の検査方法が進歩・改良され、移植における抗体の重要性が再認識されてきた。その結果、それら HLA 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。特に近年の報告をみると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となってきており、臓器移植前後または長期のフォローアップ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。

また、近年、HLA 関連の遺伝子の配列が解明されるにつれ、以前はクレグとして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。これは歴史的にみると以前に血清を用いて決定されてきた HLA が DNA を用いて決定するようになった結果起こってきた矛盾であるかもしれない。エピトープの概念は、この矛盾を解明するために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。この分野で遺伝子と抗体との関連の究明が進むことで、HLA の分野を通じて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 HLA やその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が、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いる。現在では 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 は現時点では Non-HLA 抗体とされているが、HLA の近傍にある遺伝子であり、HLA と同様に多様性がある。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 種類が報告されてきている。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。

このように移植と HLA は切っても切れない関係にあり、今後も科学・技術の進歩と共にその詳細が解明され、HLA 検査の重要性はますます増大すると考えられる。

シンポジウム

S1-1

JMDP における骨髄データセンターの役割

田中 秀則

日本赤十字社 中央血液研究所 中央骨髄データセンター

骨髄（造血幹細胞）移植による治療を成功させるためには、患者と造血幹細胞提供者（以下、ドナー）の主要組織適合性抗原である HLA（Human Leukocyte Antigen）の適合度を向上させることが必要で、一般的には HLA-A, -B, -DRB1 座の抗原または遺伝子型の適合度によりドナー候補者の選択が行われている。しかし、HLA が持つ多型性により患者とドナー間に個体差が生じ、非血縁者間での骨髄移植では、容易にドナーを得ることは困難である。そのため、骨髄移植希望者に対して骨髄ドナーを登録する必要がある、国内では平成 3 年 12 月に公的な骨髄バンク（日本骨髄バンク：JMDP）が設立された。

日本赤十字社は、国（旧 厚生省）からの依頼により、協力事業として骨髄データセンター業務を行うこととし、平成 4 年 1 月から全国の血液センターに骨髄データセンターを設置することにより、骨髄ドナー登録希望者の受付業務を開始した。公的骨髄バンク開始以来、平成 21 年までに 40 万人以上の方が骨髄ドナー希望者として登録され、現在（2009 年 5 月末）338,569 人が有効登録者として患者さんとの適合検索対象となっている。また、これまでに骨髄バンクに登録した患者数は 27,679 人となり、現在 2,592 人が有効患者として登録されている。国内患者への初回適合率は 90% 以上となり、骨髄バンクを介した骨髄移植症例数も、昨年 1 万例を超えた。

本シンポジウムでは、以下に示す骨髄データセンターの業務概要と今後のドナー候補の適合検索方法等についてご紹介したい。

【骨髄データセンター業務概要】

1) 骨髄データセンター業務：① 骨髄バンク登録希望者の受付および採血、② 登録者 HLA 型検査、③ 登録者の個人情報管理、④ 骨髄移植希望者との HLA 適合ドナー候補の検索、⑤ ドナー候補の個人情報提供

2) HLA 検査：HLA アリルの適合性が移植成績に影響することが判明したことから、当初、ドナー候補者の確認検査時に DNA タイピングを導入した。現在では、登録時 HLA 検査に蛍光ビーズによる DNA タイピング（r-SSO 法）を実施している。現在に実施している DNA では、HLA タイピング結果にアンビギュイ（ambiguity）が存在する可能性があることから、全米骨髄バンク（NMDP）で使用しているコード（NMDP コード）で管理し、適合検索に用いている。

3) 適合性の評価：骨髄移植希望者との適合評価は、3 座（HLA-A, -B, -DR 座）の抗原適合を基本とし、① HLA DNA 型（アリルまたは NMDP コード）の適合度、② 血液型、③ 体重、④ 年齢を追加の適合評価とした適合度の判定を行っている。適合度の高い順にドナー候補として選択し、コーディネートのための情報を骨髄移植推進財団に提供している。

4) ドナー候補の選択方法：現在 2 種類の選択方法を採用している。① 自動選択：適合度の高い 5 名を自動的にドナー候補として確定する方法、② 主治医選択：適合度の高い順に最高 50 名の登録者情報を提供し、その中からドナー候補として選択し、確定する方法。1 抗原ミスマッチ検索の場合は、主治医選択とする。

S1-2

非血縁者間骨髄移植における HLA 適合効果

川瀬 孝和

愛知県がんセンター研究所 疫学予防部

造血幹細胞移植は一部の血液疾患に治癒を望みうる治療法として確立されてきた。造血幹細胞移植の適応があるにも関わらず同胞に HLA 適合ドナーが存在しない場合、骨髄バンクに登録して非血縁者ドナーを探す事が選択肢の一つとなる。しかしながら、非血縁ドナー選択の際にも同胞ドナーの際と同様、HLA の適合度が重要なファクターとなる。我が国では 1998 年、厚生省（現厚生労働省）「組織適合性に関する研究班」が日本骨髄バンクを介した移植例、440 例をレトロスペクティブに解析・報告した。この解析では HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3, -DRB4, -DRB5, -DQA1, -DQB1, -DPA1, DPB1 と 11 の HLA 座の DNA 型のタイピングに基づき解析が行われた。単変量解析では HLA-A, -B, -C の不適合と 3 度以上の重症 GVHD の発症率に有意な相関を認めた一方、その他の座では有意な差を認めなかった。また、臨床的因子を補正した多変量解析では HLA-C ((適合 vs. 不適合) OR: 0.42; 0.26-0.70), HLA-A (OR: 0.48; 0.29-0.79) の適合が有意に急性 GVHD のリスクを下げる事が明らかとなった。2002 年には 1298 例に症例を増やし、HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 に対象を絞った詳細な解析結果が報告された。この解析では多変量解析において HLA-A (HR: 1.58; 1.20-2.09), HLA-B (HR: 1.43; 1.01-2.01), HLA-C (HR: 1.85; 1.42-2.41), HLA-DRB1 (HR: 1.42; 1.07-1.90) の各々の不適合により、有意な急性 GVHD 発症リスクの上昇が認められた。2007 年には白血病症例でさらに 1790 例を増やし、前回検討した HLA 座に加え HLA-DPB1, KIR リガンドの適合度を考慮した解析がなされた。この解析では多変量解析において、HLA-A, -B, -C の不適合が重症 (Grade III-IV) 急性 GVHD の発症リスクを有意に上昇させ、HLA-A, -B, -DQ 座の不適合が死亡リスクを有意に上昇させることが認められた。さらに、白血病の病型により HLA 不適合が移植後の白血病の再発を抑えること、すなわち移植片対白血病効果が認められることが判明した。このように現在では、日本骨髄移バンクを介して行った非血縁者間造血幹細胞移植における HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 allele の臨床的重要性が明らかにされており、その情報は HLA 一部不適合ドナー選択に活用されている。

今回は、このような過去の重要な知見に関してもう一度ご紹介し、まとめるとともに、最近の解析で明らかとなった HLA 不適合組合せと非血縁者間造血幹細胞移植の成績、その他最新の知見についても適宜解説する。

S1-3

臍帯血移植における HLA 適合性効果

甲斐 俊朗

兵庫医科大学輸血部

臍帯血は骨髓、末梢血幹細胞と同様に同種造血幹細胞移植の幹細胞源として広く用いられるようになってきた。臍帯血移植の利点の1つは臍帯血中のリンパ球の未熟性の故、ドナー・レシピエントの厳密な HLA の一致を必要とせず、重症移植片対宿主病の発症頻度も低いことである。また、HLA 不一致移植が許容されるため大きなドナープールがなくても多くの患者に臍帯血が見いだされる。現在、臍帯血の検索は厳密な allele レベルでの HLA 一致が要求される非血縁者間骨髓移植と異なり、わが国では HLA-A, B, DR の血清学的タイピング (あるいは low resolution typing)、欧米では HLA-A, B low, DRB1 high resolution typing の結果をもとに実施されており、allele レベルでみれば殆どの移植が HLA 不一致で行なわれている。しかし、ドナー検索や移植成績に及ぼす HLA 適合性の効果については十分明らかにされていないのが現状である。

現在までの臍帯血移植と HLA 適合性に関する知見をまとめてみると、HLA-A, B 血清学的、DRB1 allele typing の結果をもとに、1) 不一致数が多いと好中球や血小板の生着が遷延する、2) 一致例の AGVHD 発症頻度は高いが、不一致数と2度以上 AGVHD の発症頻度の相関は見られない、3) HLA クラス I+II 不一致が有ると3-4度 AGVHD の発症が有意に高くなる、4) 一致例の白血病再発率は不一致例よりも有意に高い、5) 不一致数が増えれば移植関連死亡率 (TRM) が有意に高くなるなどの報告がみられる。また、HLA 以外に移植細胞数が移植予後に大きな影響を与える因子として知られており、且つ細胞数と HLA は相互に影響し合っていることが明らかになっている。

近年は allele レベルでの適合性と移植成績、HLA-C の影響、抑制性 KIR リガンド不適合と移植成績との関連も報告されている。

本シンポジウムでは、これらの知見を紹介するとともに、JCBBN における成人および小児の AML, ALL における HLA 適合性の移植成績に及ぼす効果について報告したい。

S1-4

同種移植後の不適合 HLA を標的とした CTL クローン解析

村田 誠

名古屋大学医学部附属病院 血液内科

近年日本では、出生率の低下により同胞ドナーからの造血幹細胞移植が減少し、代わりに非血縁者間骨髓移植および臍帯血移植が増加している。我々は、これら非血縁者間移植後の T リンパ球による同種免疫応答に興味を持ち、実際に移植を受けた患者とドナーの血液細胞を用いて *in vitro* 解析を行っている。

HLA-A, B, DRB1 適合非血縁ドナーからの骨髓移植において、HLA-Cw の不適合は重症急性 GVHD の発症危険度を上昇させ、かつ白血病の再発率を低下させる。Cw 抗原は一般に細胞表面上の発現レベルが低く、従ってその抗原性は比較的低いと考えられている。事実、Cw 不適合移植を受けかつ実際に GVHD または GVL 効果を認めた患者における Cw 分子特異的 T リンパ球応答について、詳細に解析した報告はない。我々は、HLA-A, B, DRB1 適合、Cw1 座不適合の非血縁ドナーから骨髓移植を受け急性 GVHD を発症した急性リンパ性白血病患者の末梢血から、患者細胞を傷害しかつドナー細胞を傷害しない細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) クローンを分離し、解析を行った。全ての CTL クローンは、不適合 Cw 分子 (患者のみが有する Cw) を認識し、かつ不適合 Cw 特異的 T リンパ球応答と GVHD との関連を示唆するデータも得られた。さらには、これらの CTL クローンが GVL 効果にも関与した可能性を示唆するデータも得られた。以上の結果をお示しし、非血縁者間移植後の T リンパ球による同種免疫応答について考察してみたい。

また、このような不適合 HLA 分子に対する T リンパ球応答は、GVHD/GVL 方向に限らず HVG (拒絶) 方向にも作用すると考えられる。我々は、臍帯血移植後に拒絶を来した患者の拒絶時末梢血から、ドナー細胞を傷害しかつ患者細胞を傷害しない CTL クローンの分離にも成功した。そのクローンは患者由来の細胞であり、ドナーのみが有する HLA 分子を特異的に認識し、さらには移植前から患者末梢血中に存在していたことなどを確認した。これらの結果は、臍帯血移植における拒絶には、抗 HLA 抗体 (B リンパ球応答) 以外に、不適合 HLA 分子に対する T リンパ球応答も関与しうることを示すものであり、併せてご紹介したい。

S1-5

非血縁者間造血幹細胞移植における NK 細胞受容体解析

屋部 登志雄¹⁾, 平安 恒幸¹⁾, 峯元 睦子²⁾, 柏瀬 貢一²⁾

1) 東京都赤十字血液センター製剤部

2) 同・検査部

造血幹細胞移植では、患者とドナー間の組織適合性抗原、特に HLA 抗原型を適合させることが重要である。国内非血縁者間骨髄移植症例の解析から HLA クラス I 抗原の数百にも及ぶアレルレベルの違いが急性 GVH 病重症化や再発率に影響することが報告された(川瀬, 森島ら)。クラス I 抗原は T 細胞受容体やアロ抗体のみならず NK 細胞受容体 Killer Ig-like Receptor (KIR) や Leukocyte Ig-like receptor (LILR) から認識される。KIR はクラス I の個々のアレル特異性ではなく、複数のアレルに共通する抗原エピトープをリガンド (KIR リガンドと呼ばれる) として識別する。これまでに HLA-C 抗原は $\alpha 1$ ドメイン 80 番目のアミノ酸残基の差異により C1 と C2 特異性の 2 種類に分けられ、HLA-A, B 抗原では Bw4 特異性および A3, A11 特異性が明らかとなっている。一方 LILR は HLA-B27 や HLA-G 分子との結合が報告されている。さらに NKG2A/C 受容体が HLA-E を、NKG2D 受容体は MICA/B, ULBP (RAET) を認識する。NK 細胞はこうした受容体でリガンドを認識することにより感染細胞やがん細胞を排除する一方で、サイトカイン産生や他の細胞との相互作用などにより獲得免疫系の反応も調節している。KIR はクラス I 特異性を認識するので NK 細胞はアロ反応性を示す場合があり、GVL 活性、感染症抑制、GVH 病抑制など移植成績に有利な効果を発揮することが期待される。そこで移植症例において患者、ドナーの KIR リガンド特異性や KIR 遺伝子型を調べて移植成績への影響が検証された。欧州における血縁者間 HLA ハプロ不一致末梢血幹細胞移植や臍帯血移植では、KIR リガンド不適合 (患者がドナーのもつ抑制性 KIR リガンド特異性をもたないためドナーの NK が患者細胞に反応するような組み合わせ) 症例において、急性白血病 (特に AML 患者) における再発率の低下と生存率の向上が報告され、こうしたアロ NK 細胞効果を利用した DLI や細胞治療の治験も始まっている。一方国内非血縁者間骨髄移植症例や米国での解析からは、KIR リガンド不適合の組み合わせで白血病再発率低下が見られないばかりか、急性 GVH 病の重症化や生存率の低下といった成績悪化効果が報告された。相反する結果の原因には疾患の種類の違いに加えて GVHD 予防法、特に患者への ATG 投与、T 細胞除去、幹細胞精製など移植レジメの違いが大きく影響していると思われる。さらに患者ドナー間の KIR 遺伝子型やハプロタイプ型の相違や抑制型と活性化型 KIR の種類や数のバランスなども移植成績に関連することが報告されている。今回は我々が厚生労働研究班の中で行ってきた JMDP の国内非血縁者間骨髄移植成績への KIR 遺伝子型および KIR リガンド型の影響について紹介するとともに、海外の結果との相違点についても考察する。

S1-6

同種造血幹細胞移植とマイナー組織適合性抗原

赤塚 美樹^{1, 2)}

1) 愛知県がんセンター研究所腫瘍免疫学部

2) 愛知県がんセンター中央病院血液・細胞療法部

造血器腫瘍の治療成績は最近の分子標的薬や抗体医薬の進歩により向上したが、一旦治療抵抗性となった場合、同種造血細胞移植は根治を期待しうる唯一の治療法として重要である。同種移植はドナーリンパ球が患者を非自己とみなして起こす強力なアロ免疫反応を利用して、抗白血病・リンパ腫効果 (GVL 効果) を得る細胞免疫細胞療法である。大量放射線化学療法による直接の抗腫瘍効果も重要ではあるが、ミニ移植でも治癒をもたらす GVL 効果がみられることはアロ免疫反応の強力さを示唆している。また臨床的 GVHD が見られなくても再発が少ないことから、GVL 効果と GVHD が分離可能なのは明らかで、意図的に両者を分離するさまざまな試みがこれまでになされてきた。

GVL 効果の標的抗原として、不適合 HLA (HLA 不適合移植の場合)、不適合 HLA 以外のアロ抗原 (ドナーと患者間の遺伝子多型の差に由来するマイナー抗原が主体)、腫瘍抗原が挙げられる。これらを認識するのは主に T 細胞で、一部 NK 細胞・B 細胞等が関与する。純系マウスモデル実験では、免疫原性の強いマイナー抗原が 1 つだけ存在する条件で、GVHD を惹起することなく GVL 効果のみを得られる。しかし雑種であるヒト同士の移植では、患者ごとに多数のマイナー抗原の不適合がある上に、これらのマイナー抗原の組織分布がさまざまであるので、マウスモデルのようなシンプルな系は想定できない。従って GVHD を惹起せずに強い GVL 効果を得るための条件として、標的抗原が造血器腫瘍細胞を含む患者の造血系細胞にのみ限局して発現していることが挙げられる。この状況下では造血細胞特異的 CTL は血液系以外の細胞を傷害せず、GVL 効果を発揮する。実際、DLI 後に HA-1 や HA-2 に特異的な CTL が増加するにつれ、再発白血病が寛解に入ったとする報告がある。また再発例ではないが、我々が同定した ACC-1^Y, ACC-6, ACC-1^C マイナー抗原などの不適合がある移植症例では頻繁に特異的 T 細胞が移植後末梢血に検出された。ただ、これら既知のマイナー抗原に特異的な CTL を体外増幅し養子移入する細胞療法はいまだ実際に施行されていない。クローン化した T 細胞の体外増幅が不安定なこと、輸注後の体内生存が短いことが原因として挙げられる。米国で実施された、未同定のマイナー抗原特異的 CTL クローンをを用いた第 I 相臨床試験は一定の効果を出しているが課題も多い。なお我々は、マイナー抗原ペプチドワクチンによる移植後特異的免疫増強の可能性について臨床試験を開始している。

マイナー抗原は上述のように SNP などの遺伝子多型に基づいて形成されるものであり、単に既知のアミノ酸置換を伴う SNP 数から推定しても非常に多くのマイナー抗原が存在するはずである。細胞傷害性 T 細胞 (CTL) のパネル細胞に対する傷害パターンだけで規定されるマイナー抗原はおそらく全世界で 2-300 種類は存在するが、不適合が起きやすいことや血液系細胞特異的等の観点から実際に同定に至ったのは 20 種類もない。同定の遅れの他の原因は、手法の困難さにもある。我々は SNP が遺伝するものであることを利用した連鎖解析、そして最近では SNP アレイや、国際 HapMap 計画で収集された細胞とゲノムデータを利用したより迅速な方法を複数の施設と共同研究しつつ開発してきた。これらの手法はいずれマイナー抗原のみならず、その他の疾患感受性遺伝子多型の同定に結びつく可能性がある。本シンポジウムでは、こうしたマイナー抗原の同定法の解説と、今後の臨床展開について概説する。

S1-7

ゲノムワイド関連解析による GVHD 関連多型の探索

小川 誠司^{1,2)}, 松原 亜以子^{1,2)}, 鬼塚 真³⁾, 柏瀬 貢一⁴⁾, 真田 昌^{1,2)}, 加藤 元博^{1,2)}, 南谷 泰仁²⁾, 赤塚 美樹⁵⁾, 佐竹 正博⁴⁾, 千葉 滋⁶⁾, 佐治 博夫⁷⁾, 丸屋 悦子⁷⁾, 猪子 英俊³⁾, 森島 泰雄⁵⁾, 小寺 良尚⁸⁾, 笹月 健彦⁹⁾, 日本骨髄バンク

- 1) 戦略的創造推進研究事業 日本科学技術振興機構
- 2) 東京大学医学部附属病院がんゲノミクスプロジェクト
- 3) 東海大学
- 4) 東京赤十字血液センター
- 5) 愛知県がんセンター
- 6) 筑波大学血液内科
- 7) HLA 研究所
- 8) 愛知医科大学
- 9) 国立国際医療センター

移植片対宿主病 (GvHD) は, donor と recipient の遺伝学的な相違 (マイナー組織適合性抗原 mHAg の不適合) により発症し, GvHD 予防を含む環境要因とサイトカイン多型等もその発症に影響を及ぼすことが知られている。一方, GvHD の発症を規定するこれらの遺伝的基盤に関しては, 複数の多型との関連が報告されているものの, その全体像に関してなお明らかではない。今回我々は日本骨髄バンク (JMDP) を通じて行われた非血縁者間骨髄移植に関わる donor・recipient について約 50 万 SNP の SNP タイピングを行い, 全ゲノム関連解析により GvHD の発症に関与する遺伝子多型と不適合について網羅的な探索を行った。解析を行ったのは, HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 が DNA レベルで適合 (うち DPB1 不適合 1033 例) し, GvHD 予防として MTX + CyA/ FK506 が用いられ, かつ aGvHD に関する情報が得られた 1598 移植で, HapMap PhaseII データに基づく未観測 SNP の推測を行った後, 品質基準を満たす 1,276,699 SNP について, donor・recipient の遺伝子型, GvHD 不適合と, aGvHD, cGvHD, 再発, 全生存との関連解析を行った。全移植に対する不適合の解析では, HLA-DPB1 遺伝子座周辺の SNP が唯一の有意な遺伝子座として検出され (1.81×10^{-9}) たことから, 本方法論の有効性が確認された。一方, mHAg 不適合における HLA 拘束を考慮にいたした HLA サブグループ解析では, 12 番染色体短腕の rs17473423 ($P = 3.99 \times 10^{-13}$) および 9 番染色体長腕の rs9657655 (Chr9) ($P = 8.56 \times 10^{-10}$) を含む 6SNP が aGvHD の標的遺伝子座として同定された。また recipient の SNP において aGvHD と関連をもつ 2 候補が同定されたほか, cGvHD や再発と相関がある 4SNP も同定された。以上の結果より, 全ゲノム関連解析により allo-SCT の遺伝的基盤に関する新しい知見が得られることが示唆された。

S2-1

HLA 領域の遺伝子構造解析と疾患関連解析

猪子 英俊, 細道 一善, 椎名 隆, 井ノ上 逸郎

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

HLA 領域は、第 6 染色体短腕部 6p21.3 に位置し、3.78 Mb (378 万塩基対) の長大な領域である。HLA クラス I 抗原とクラス II 抗原遺伝子はそれぞれの領域にクラスターを形成しているが、両領域の間には、補体遺伝子、腫瘍壊死因子 TNF、などを含むクラス III 領域が存在する。我々は国際 MHC シークエンシングコンソーシアムに参加し、1999 年に HLA 全領域ゲノムの塩基配列を決定した。その後、それらの情報をもとに多くの研究グループにより、さまざまな構造解析と疾患遺伝子探索が精力的に行われた。その結果、1) HLA 領域は、計 253 個の多くの遺伝子 (それらのうち、132 遺伝子がタンパク質をコードしている) を含む、2) HLA-B 遺伝子の 1,178 個のアリル (対立遺伝子) をはじめ、HLA 全遺伝子について 3,500 個以上ものアリルを有するという、高度な多型性をしめす、3) 関連解析による詳細な遺伝子マッピングにより、自己免疫疾患を中心に 100 種以上の疾患の感受性遺伝子が存在する、など他のゲノム領域にはみられない極めて興味ある特徴が明らかにされた。

一方、HLA 内の座位間には強い連鎖不平衡が存在することから、特定の HLA 型との相関は必ずしもその HLA 自体が疾患の病因ないし病態に関連することを意味しない。すなわち、HLA 遺伝子それ自身が感受性遺伝子である場合と HLA 遺伝子に近傍に位置する未知の遺伝子が発症要因となる場合がある。後者の場合には、HLA 領域内に密に設定されたマイクロサテライトあるいは SNP (single nucleotide polymorphism: 一塩基多型) 多型を利用した網羅的な相関解析 (関連解析) が行われており、その結果 HLA 遺伝子に隣接する未知の遺伝子 (非 HLA 遺伝子) が感受性遺伝子として同定されつつある。この場合は、HLA それ自身が発症要因ではなく、染色体 (ゲノム) 上の HLA 領域内に疾患の発症に関与する遺伝子がたまたま存在するため、HLA と相関するが、実際には HLA 遺伝子と異なる遺伝子が発症要因となる。

HLA 遺伝子と相関する疾患の感受性遺伝子は相対危険度が 3.0~50 (最高値はナルコレプシーの 1,400) と極めて高いことが特徴的である。一方最近、精力的に行われている全ゲノム関連解析 (GWAS: genome-wide association studies) 見いだされている生活習慣病などの多因子性疾患の HLA 領域以外のゲノム領域の感受性遺伝子の相対危険度がたかだか 1.3~2.5 程度であることから、HLA 遺伝子領域が疾患発症に関わる重要性が再認識されつつあり、真の感受性遺伝子の同定とその発症機構の解析が HLA revisited における急務の課題となっている。

そこで、今後の目標として、日本人主要 HLA ハプロタイプにおける次世代シーケンサーを用いた HLA 全領域のリシーケンシングによるパーソナルゲノム解析が重要となる。すなわち、そのような解析により、HLA ハプロタイプの細分化、HLA 領域に存在する全ての変異、rare variant、多型の同定、塩基配列レベルの連鎖不平衡の実体とその分化などの情報が得られ、これらの情報にもとづく徹底的な疾患感受性多型の同定が可能となるであろう。

S2-2

HLA ハプロタイプと急性 GVHD

森島 聡子¹⁾, 小川 誠司²⁾

1) 愛知県がんセンター中央病院 血液・細胞療法部

2) 東京大学医学部附属病院 がんゲノミクスプロジェクト

非血縁者間骨髄移植 (UR-BMT) におけるドナーと患者の HLA locus のマッチングの意義については、日本骨髄バンク (JMDP) の解析においてもその臨床的な重要性が明らかにされてきている。しかし、造血幹細胞移植における HLA ハプロタイプ (HLA-HP) の臨床的意義については、これまで殆ど解明されていない。HLA-HP は、HLA allele や allele 以外の遺伝子の combination として解明され、長い領域で保存された HLA-HP は conserved extended haplotypes (CEHs) や ancestral haplotypes と称されている。CEHs は民族や種族特異的であり、特にヨーロッパ系で最も頻度の高い A1-B8-DR3 ハプロタイプは、様々な疾患感受性との関係が報告され、マイクロサテライトマーカーや multi-SNP 解析を用いて長い領域が保存されていることが解明されてきている。一方、日本人に頻度の高い HLA-HP については、HLA allele の遺伝子型の combination として明らかにされているが、これらの HLA-HP が HLA allele 以外の領域も含めてどの程度保存されているかは、まだ解明されていない。本研究では、JMDP を介して UR-BMT が施行されたドナーと患者の HLA 遺伝子型データと、Affymetrix GeneChip mapping 500 K array でタイピングした 6 番染色体短腕領域の multi-SNP データを用いて、日本人に頻度の高い HLA-HP の保存性及びこれらの HLA-HP が急性 GVHD に及ぼす影響を検討した。

解析は、日本人に頻度の高い 3 つの HLA-HP, HP-P1 (HLA-A*2402 -Cw*1202 -B*5201 -DRB1*1502 -DQB1*0601 -DPB1*0901), HP-P2 (HLA-A*3303 -Cw*1403 -B*4403 -DRB1*1302 -DQB1*0604 -DPB1*0401), HP-P3 (HLA-A*2402 -Cw*0702 -B*0702 -DRB1*0101 -DQB1*0501 -DPB1*0402) について行った。Multi-SNP 解析の結果より、これらの HLA-HP は、HLA-A から DPB1 までの 3.3 Mb は大多数で HLA allele 以外の領域も含めて保存されており、さらに保存されている領域は HLA-A の telomere 側に長く存在することが明らかとなった。

特定の HLA-HP が急性 GVHD grade2-4 発症に及ぼす影響について、HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 が完全一致したドナーから移植を施行された患者で多変量解析を行った。HP-P1(+) と HP-P1(-) の患者では発症リスクに差はなかったが、HP-P2(+) の患者は、HP-P2(-) に比べて有意に発症リスクが低く、一方 HP-P3(+) の患者は HP-P3(-) に比べてリスクが高い傾向を認めた。このことより、HLA-HP に由来する genetic background の違いが急性 GVHD 発症と関連する可能性が示唆された。

今後、これらの HLA-HP 上の遺伝子と GVHD 発症、あるいはその他の疾患感受性との関係を検討する際に、長く保存された HLA 領域を考慮した解析が重要である。

S2-3

疾患のゲノムワイド関連分析 (GWAS) と HLA

徳永 勝士

東京大学医学系研究科人類遺伝学分野

ゲノムワイド関連分析 (GWAS) による感受性遺伝子同定の加速化:

2007 年以降, 多因子疾患に関わる遺伝要因の探索研究は, 数十万 SNPs を用いたゲノムワイド関連分析 (GWAS) によって加速化されている。GWAS の成果が最もよく現れている疾患のひとつが 2 型糖尿病である。2007 年に複数の欧米のグループが 10 個以上の感受性遺伝子を同定したが, その半数以上が新規に見出された遺伝子であった。日本からも昨年 2 つの独立なグループが新規遺伝子 *KCNQ1* を報告し, 我々もその一方のグループにおいて SNP 解析の一部を担当した (Yasuda *et al.* Nat Genet 2008)。一方, 代表的な過眠症ナルコレプシーについても, 我々は昨年 GWAS によって新規感受性領域 *CPT1B/CHKB* を見出した (Miyagawa *et al.* Nat Genet 2008)。これらの成果より, 疾患感受性遺伝子の種類や頻度分布には集団間に共通性と異質性が存在することが明らかとなった。

GWAS によって見出された HLA- 疾患関連:

ナルコレプシーの GWAS によって 6 番染色体上の *HLA* 領域, 特に *HLA-DQB1* 遺伝子近傍の SNPs との極めて強い関連 ($p < 10^{-45}$) があらためて確認された。また我々は 1 型糖尿病の多施設共同研究グループにおいて GWAS を担当しており, *HLA* 領域との強い関連 ($p < 10^{-10}$) を認めている。最近, B 型慢性肝炎と *HLA-DPA1/DPB1* 遺伝子との強い関連が報告された (Kamatani *et al.* Nat Genet 2009)。我々も多施設共同研究において GWAS を担当しており, 同じ結果を観察した。この他, 関節リウマチ, 多発性硬化症, 全身性エリテマトーデスなどの免疫関連疾患についても *HLA* 領域との明瞭な関連が報告されている。

HLA と *nonHLA* 感受性遺伝子:

ナルコレプシーについて, 我々も参加する国際共同グループによる GWAS によって新規感受性遺伝子 *TCRA* (T cell receptor α) を報告した (Hallmayer *et al.* Nat Genet 2009)。*HLA* とナルコレプシーの強い関連を考え合わせると, その発症機序のひとつが自己免疫であることを支持する。我々はナルコレプシー類縁疾患である真性過眠症 (essential hypersomnia) においても, これまでに同定した感受性 SNPs の関連解析を行っている。これまでに, *HLA* と *CPT1B/CHKB* がともに関連することを確認し (Miyagawa *et al.* PLoS ONE 2009), また *HLA* と *TCRA* の相互作用を示唆する結果も得ている。

S2-4

HLA と癌の免疫療法

西村 泰治¹⁾, 中面 哲也²⁾, 古瀬 純司³⁾, 木下 平⁴⁾, 中村 祐輔⁵⁾, 山中 伸弥⁶⁾, 千住 覚¹⁾

1) 熊本大学大学院・医学薬学研究部・免疫識別学分野

2) 国立がんセンター東病院: 臨床開発センター 先端医療開発室

3) 肝胆膵内科

4) 上腹部外科

5) 東京大学医科学研究所・ゲノム解析センター

6) 京都大学再生医科学研究所・再生誘導研究分野

我々は、癌患者の HLA を考慮した個別医療としての癌抗原ペプチド免疫療法を開発し、臨床研究に発展させているので紹介する。まず我々は、ヒトの肝細胞癌 (HCC) 組織と正常組織における cDNA マイクロアレイ解析により、HCC に高発現する新規癌胎児性抗原 Glypican-3 (GPC3) を同定した。GPC3 は GPI アンカー膜蛋白質であり、HCC 患者の約 40% の血清中に検出され、腫瘍マーカーとして有用であった (*BBRC* 306: 16, 2003)。また、マウスに GPC3 ペプチドを負荷した樹状細胞を投与した後に、マウス GPC3 を発現させたマウス癌細胞株を移植すると、自己免疫現象を伴うことなく、著明な腫瘍の増殖抑制と生存期間の延長を誘導できた (*Clin. Cancer Res.* 10: 8630, 2004)。さらに、HLA-A2 トランスジェニックマウスや、HCC 患者の血液検体を利用して、HLA-A2 あるいは A24 によりヒト・キラー T 細胞に提示される GPC3 ペプチドを 2 種類同定した。これらのペプチドで刺激した癌患者のリンパ球より、GPC3 発現ヒト HCC 細胞株を傷害するキラー T 細胞を誘導できた (*Clin. Cancer Res.* 12: 2689, 2006)。これらの HLA 拘束性 GPC3 ペプチドを、現在までに HCC 進行癌患者 20 症例に接種したが、免疫局所の発赤、腫脹、掻痒感ならびに微熱以外には、特に重篤な有害事象は観察されず、ほぼ全例でペプチド特異的なキラー T 細胞の増加が観察され、2 症例では接種後に血清腫瘍マーカーの減少と腫瘍の増殖抑制が観察された。今後、術後患者に GPC3 ペプチドを投与して、癌再発の予防効果を検討するための、臨床第 2 相試験を開始する予定である。

樹状細胞 (DC) は、抗原特異的 T 細胞の活性化において、中心的な役割を果たしている抗原提示細胞である。我々は、マウスおよびヒトの ES 細胞から、*in vitro* で抗原提示能を有する樹状細胞 (ES-DC) を分化誘導する技術を開発した (*Blood* 101: 3501, 2003, *Stem Cells* 25: 2720, 2007)。さらに、癌抗原遺伝子を強制発現させたマウス ES-DC を用いて、マウスの *in vivo* における抗腫瘍免疫を強力に誘導し、癌の増殖を抑制するとともにマウスの生存期間を延長することに成功した (*J. Immunol.* 172: 776, 2004, *Cancer Res.* 66: 2414, 2006, *J. Immunol.* 181: 6635, 2008, *J. Immunotherapy* 32: 219, 2009)。

ES-DC 技術の臨床応用には、倫理的問題とヒト ES 細胞と治療を受ける患者との間の組織不適合性、という大きな障壁がある。これらの問題は、自己の iPS 細胞から樹状細胞 (iPS-DC) を誘導することにより回避できると予測される。そこで、マウス iPS 細胞を、マウスの ES-DC の作製法に準じて培養することにより、樹状細胞 (iPS-DC) を分化誘導させる方法を確立した。iPS-DC は、MHC クラス II, CD80, CD86 の発現、一次 MLR 反応の誘導、IL-12 等のサイトカイン産生、蛋白質抗原の提示能、など抗原提示細胞としての機能を有しており、マウス ES 細胞株よりも、より効率良く iPS-DC を誘導できた (*Stem Cells* 27: 1021, 2009)。今後は、cDNA マイクロアレイ解析で同定したヒト癌抗原遺伝子を強制発現させたヒト iPS-DC を樹立し、その抗腫瘍免疫の誘導能を検討し、臨床応用に発展させたいと考えている。

S2-5

NK細胞レセプターによるMHCクラスIと非MHCクラスI分子の認識

松本 直樹

東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻

NK細胞は、ある種のがん細胞を自発的に障害するリンパ球として発見された。NK細胞による標的細胞の認識には、活性化と抑制の正反対のシグナルを伝達する多数のレセプターが関与し、これらを通じたシグナルの正負のバランスにより、NK細胞が活性化されるか否かが決定される。また、これら多数の活性化レセプター、抑制性レセプターの発現の有無により、ヘテロな細胞集団として、NK細胞は生体内に存在することが明らかになって来た。

NK細胞による認識で特徴的なのは、抑制性レセプターの役割である。T細胞やB細胞が抗原受容体により“非自己”の構造を認識して活性化されるのに対し、NK細胞は抑制性レセプターにより“自己”の構造を認識し、その活性化が抑制される。このような“自己”の構造として、最初に同定されたものがMHCクラスIであり、NK細胞は“自己”を失った細胞を認識するという“missing self”仮説が提唱され、それを認識する実体として、ヒト Killer cell Ig-like receptors (KIR)、ヒト、マウス CD94/NKG2、マウス Ly49 分子群が次々に同定された。本講演では、これらレセプターによるMHCクラスI認識機構とその意義について討論する。また、NK細胞は、これらのMHCクラスIレセプターを用いて、自己と非自己の細胞を自己MHCクラスIの発現を指標に識別することが出来るが、その背後にあるメカニズムとして、NK細胞の自己寛容獲得がある。すなわち、あるNK細胞が発現するMHCクラスIレセプターは確率論的な過程で決定されるため、生体内では、常に自己MHCクラスIを認識するNK細胞レセプターを発現しないため、自己を認識できないNK細胞が生じてしまうが、これらの潜在的な自己反応性NK細胞は細胞傷害活性を有さない、寛容の状態にあることが示されている。これまでのところ、その詳細についてはまだ明らかにされていないが、現在提唱されているメカニズムについて紹介する。

NK細胞レセプターとして、これまで述べて来たMHCクラスIをリガンドとするものの他に、コラーゲンやカドヘリンのような非MHCクラスI分子をいわば“正常な自己の目印”として認識するものが、近年になり明らかにされた。本講演では、これらのレセプターについても述べる。

S3-1

骨髄移植における HLA 抗体の意義

一戸 辰夫¹⁾, 諫田 淳也^{1,4)}, 丸屋 悦子²⁾, 石丸 文彦³⁾, 平田 康司³⁾, 松尾 恵太郎⁴⁾, 佐治 博夫²⁾

1) 京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学

2) 特定非営利法人 HLA 研究所

3) 岡山県赤十字血液センター

4) 愛知県がんセンター 疫学・予防部

HLA 適合移植片の使用が標準的とされる造血幹細胞移植の領域においては、従来クロスマッチ試験の臨床的有用性は限定的なものと考えられてきた。しかし近年、HLA 不一致血縁者間移植や非血縁者間臍帯血移植の実施機会の増加に伴い、造血幹細胞移植においてもレシピエントが保有する HLA 抗体が移植片の生着に負の影響を与える可能性を示唆する報告が徐々に蓄積されつつある。最近では、米国骨髄バンク (National Marrow Donor Program, NMDP) を介する非血縁者間移植における症例対照研究が行われ、生着不全群においては対照群と比較してドナー特異的な HLA クラス I あるいはクラス II に対する HLA 抗体が検出される頻度が高く、特にドナー HLA-DP に対するクラス II 抗体の存在が生着不全のリスクの増加に強く関連していたことが報告されている。

われわれは、日本骨髄バンク (Japan Marrow Donor Program, JMDP) の検体保存事業に提供された試料を利用して、レシピエントが移植前に保有する HLA 抗体が本邦における非血縁者間骨髄移植後の生着不全に及ぼす影響を検討することを試みた。生着不全群として、移植後 21 日以上生存が得られているにもかかわらず移植片の生着が一度も確認できなかった例、あるいは一時的に生着が確認されたにもかかわらず移植後 100 日以内に二次生着不全を来した例を選択し (79 例)、その対照群として (症例: 対照比 1:3)、年齢階級・原疾患・HLA 適合性・移植細胞数の 4 項目をマッチングさせた例を無作為に抽出した (229 例)。これらの症例の移植前血漿中に存在する HLA 抗体を蛍光ビーズ法で測定したところ、クラス I 抗体の保有者は生着不全群 14 例 (18%)、対照群 41 例 (18%)、クラス II 抗体の保有者は生着不全群 2 例 (3%)、対照群 12 例 (5%) と両群間で HLA 抗体保有者の頻度には有意な差を認めなかった。また、ドナー反応性 HLA 抗体の保有者は生着不全群においては見出されず、対照群においても 6 例 (3%) のみであった。なお、興味深いことに NMDP における検討結果と異なり、HLA-DP に対する抗体の保有者は検出されなかった。

これらの結果は、JMDP を介する非血縁者間骨髄移植においては、生着不全に対する HLA 抗体の寄与危険度が低いことを示唆しているが、ドナー反応性の HLA 抗体の意義に関しては今後さらに検討が必要である。これらに加え、レシピエントの保有する MICA 抗体が生着に及ぼす影響に関する解析も行ったので、あわせて報告する。

S3-2

臍帯血移植における抗 HLA 抗体の影響

高梨 美乃子¹⁾, 藤原 孝記¹⁾, 熱田 由子²⁾, 幸道 秀樹³⁾, 甲斐 俊朗⁴⁾, 佐藤 博之⁵⁾, 神前 昌敏⁶⁾, 東 寛⁷⁾, 田中 秀則¹⁾, 小川 篤子¹⁾, 加藤 俊一⁸⁾, 中島 一格¹⁾

1) 東京都赤十字血液センター

2) 名古屋大学医学部造血細胞移植情報管理学

3) 東京さい帯血バンク

4) 兵庫さい帯血バンク

5) 福岡県赤十字血液センターさい帯血バンク

6) 京阪さい帯血バンク

7) 北海道さい帯血バンク

8) 東海大学さい帯血バンク

【目的】 臍帯血移植においては HLA 不適合を 2 抗原まで許容している。患者に抗 HLA 抗体がある場合、特に血小板輸血不応状態で PC-HLA を必要とするような場合においては、移植片が拒絶される危険性が指摘されていた。移植前患者血清中の抗 HLA 抗体が臍帯血移植へ与える影響を後方視的に評価した。

【方法】 複数の臍帯血バンクより患者検体を東京都赤十字血液センターへ送付し、抗 HLA 抗体について検討した。抗体検出法は FlowPRA (One Lambda) を用い、class I, class II とともに IgG 抗体を検出した。LABScreen を用いて抗体特異性を判断し、血液腫瘍性疾患、初回単一臍帯血移植 648 例について移植臍帯血 HLA 型に対応する抗体陽性群、対応しない抗体陽性群、抗体陰性群に分けて臍帯血移植の結果を解析した。

【結果】 155 例において抗 HLA 抗体陽性と判定した。陽性群は女性の比率が高く、また疾患では MDS と多系統異常を認める AML の比率が高かった。HLA 不適合は抗体陰性群では 0, 1, 2 抗原不適合 (拒絶方向) の割合がそれぞれ 10.1, 40.4, 49.1%, 抗体陽性群ではそれぞれ 11.0, 35.5, 53.5% であった。陽性群のうち 117 例はその抗体特異性に対応する抗原が臍帯血になく、38 例では抗体特異性が移植臍帯血の HLA 型に対応していた。好中球の累積生着率は抗体陰性群 79.2% (95% 信頼区間 [CI], 75.3–82.6%) に比して、移植臍帯血 HLA 型に対応しない抗体陽性群 69.4% (95% CI, 60.2–76.9%), 対応する抗体陽性群 50.0% (95% CI, 32.8–64.9%) であり、抗 HLA 抗体の影響は有意 ($p < 0.0001$, Gray's test) であった。血小板回復 ($20,000/\text{mm}^3$) についても、累積生着率は抗体陰性群 64.4% に比して、移植臍帯血 HLA 型に対応しない抗体陽性群 58.0%, 対応する抗体陽性群 43.1% であり、抗 HLA 抗体の影響は有意 ($p = 0.028$) であった。多変量解析では、好中球回復における Relative risk [RR] が抗体陰性群に比して、臍帯血に対応しない抗体陽性群は 0.75 (95% CI, 0.58–0.98, $p = 0.034$), 対応する抗体陽性群では $RR = 0.42$ (95% CI, 0.25–0.70, $p = 0.00081$), 血小板回復においては対応する抗体陽性群で $RR = 0.52$ (95% CI, 0.30–0.91, $p = 0.022$) であった。重症度 II–IV 度の急性 GVHD, 再発, 移植関連死, 粗死亡率および無病生存率においては抗 HLA 抗体の有意な影響は認められなかった。CD34+細胞数の中央値で分けた subgroup について多変量解析を行った。中央値より高値である群においては抗 HLA 抗体特異性が臍帯血抗原に対応していた場合に好中球生着 $RR = 0.45$ (95% CI, 0.22–0.93, $p = 0.032$) と有意に低かった。CD34+細胞数が中央値以下の群においては抗 HLA 抗体特異性が臍帯血抗原に対応していた場合に好中球生着 $RR = 0.36$ (95% CI, 0.18–0.69, $p = 0.0021$), 血小板生着 $RR = 0.39$ (95% CI, 0.17–0.90, $p = 0.026$) と有意な影響を認めた。

【結論】 臍帯血移植においては患者の移植前抗 HLA 抗体が陽性であると移植片生着に不利であり、特にその抗

体特異性が臍帯血抗原に対応する場合には強く影響された。移植前には抗 HLA 抗体の特異性を判定し、その抗体特異性に対応しないように臍帯血を選択することが望ましい。

S3-3

腎移植における抗体検査の重要性

杉谷 篤¹⁾, 岡部 安博¹⁾, 北田 秀久²⁾

1) 藤田保健衛生大学 臓器移植再生医学

2) 九州大学腎疾患治療部 臨床・腫瘍外科

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 を用いた抗体検出方法を重用している。腎移植医療における LCT, FCXM, Flow-PRA screening, Flow-PRA single antigen の測定方法と判定方法、抗 HLA 抗体、抗ドナー抗体の存在の意義、それらと臨床経過、腎生検との関係を、実例を示しながら紹介する。また、これらの問題点も考察したい。

4つの典型例は、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Class I陽性、術後はClass I, 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Class II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。

S3-4

心臓移植における抗体検査の重要性

中谷 武嗣¹⁾, 築瀬 正伸¹⁾, 村田 欣洋¹⁾, 加藤 倫子¹⁾, 山本 賢²⁾, 瀬口 周²⁾, 古田 賢二²⁾, 戸田 宏一³⁾, 藤田 知之³⁾, 植田 初江⁴⁾, 佐田 正晴⁵⁾

1) 国立循環器病センター 臓器移植部

2) 臨床検査部

3) 心臓血管外科

4) 病理

5) 再生医療部

【はじめに】 近年心臓移植後における抗体関連型拒絶反応 (antibody mediated rejection; AMR) が注目されるようになった。心臓移植前に HLA 抗体を有し %PRA が高値を示す症例は AMR ハイリスク群として管理することが重要である。わが国ではドナー数が少ないことより心臓移植待機期間が長くなり、Status 1 での待機が 2 年以上に及んでいる。このためこれまでの心臓移植施行例の 80% 以上が左心補助人工心臓 (LVAS) 装着例であった。このような LVAS 装着例では、装着術および術後管理において輸血を必要とし、同種抗原感作機会が多く HLA 抗体保有の危険性が高い。また、移植実施時期の予測が難しく移植前の脱感作療法も困難である。このため産生抗体の推移や既存抗体および特異性を把握することは心臓移植後管理に必須である。当センターでは第 1 例目から産生抗体および既存抗体をモニタリングし、移植後管理を行ってきたので、その経験を報告する。

【対象・方法】 当センターでの心臓移植施行例は 26 例 (男 19 例, 女 7 例) で、免疫抑制療法は、シクロスポリンまたはタクロリムス, ミコフェノール酸モフェチル, プレドニンの 3 剤併用療法を用いた。HLA 抗体スクリーニング検査は Flow PRA I & II Screening Test (One Lambda) を, HLA 抗体特異性検査は Flow PRA Class I Single Antigen (One Lambda) を用いた。また、移植直前および移植後の donor specific antibody (DSA) を検討した。分析機器は FACS Calibur を, 測定解析ソフトは Cell Quest を使用した。心筋生検は国際心肺移植学会の診断基準に従った。

【結果】 移植時平均年齢 41 歳, 待機期間は 29-2748 日であった。23 例は LVAS 装着例で, 装着期間 39-1444 日であった。1 例が 4 年 2 ヶ月後に感染症により死亡したが, 他の 25 例は生存し最長 10 年を超え外来フォロー中である。HLA 抗体保有例は 13 例 (移植前: 6 例, 移植後産生: 7 例), 抗体陰性例が 13 例であった。PRA 高値例においては血漿交換, γ グロブリン大量療法を行い, 心筋生検検査において免疫組織学的染色を追加し, 管理を行った。

【考察・結語】 心臓移植では AMR の回避および抑制することは重要である。このため Flow PRA による既存抗体やその特異性の把握は, AMR を早期に診断するための心筋生検施行時期や脱感作療法の治療効果判定において重要な情報を提供しえる。

S3-5

肝移植における alloantibody の臨床的意義

江川 裕人¹⁾, 宮川 文²⁾, 上本 伸二³⁾

1) 朝日大学附属村上記念病院 外科

2) 京都大学医学部附属病院 病理診断部

3) 京都大学医学部附属病院 臓器移植医療部

alloantibody の臨床的意義は腎移植・心移植では一定した認識が確立され治療にも反映されている。しかし、肝移植においては未だ定説はない。抗体の定量的評価も標準化されていない。当科でも術前に細胞障害性検査 (CDC) は行うが陽性の場合の具体的なプロトコールは設定していなかった。一方、当科でフローサイトメトリーによる検討で、急性拒絶反応の際に高頻度でクロスマッチ陽性になることが示され、急性拒絶反応における液性拒絶の関与を報告したがすべてステロイドパルスで軽快したため特別な対策をとっていなかった。今回、当科で集積した CDC 陽性症例を術前クロスマッチ陽性と術後陽性にわけて、それぞれに検討し、今後の方針を議論したい。

術前クロスマッチ陽性 当科では 2008 年 4 月までに CDC 法による術前クロスマッチ陽性症例を 64 例経験している。その中で成人血液型一致・適合症例において在院死への関与を検討したところ、多変量解析による有意な危険因子は、再移植 (OR: 4.209), 術前 CDC 陽性 (2.990), ICU 管理 (2.314), MELD 25 以上 (1.871) であった。さらに、組織学的に、C4d の門脈領域の間質と内皮における沈着が認められ抗体関連拒絶が関わっていることが示唆された。

術後陽性 小児 24 例・成人 1 例の 25 例において術後 CDC を検討した。うち 17 例において CDC 検査と同時に 26 回肝生検が施行され、残る 8 例は CDC のみ 8 回施行された。25 例中 7 例において術後 CDC 陽性となり、肝生検が施行された 6 例全例で C4d 陽性であり、最終的な病理所見は慢性胆管炎または胆管消失であった。術後 CDC 陽性例では陰性症例に比較し有意に在院死が多く、グラフト生着率、患者生存率ともに低かった。

結語 術前だけでなく術後も、alloantibody の定量評価に基づいた戦略を確立することが必要であると考えられた。

S3-6

検査の現場からみた抗体検査の問題点 ～ HLA 抗体検査, FCXM 検査～

橋口 裕樹¹⁾, 本山 健太郎²⁾, 中島 理恵¹⁾, 西中 優子¹⁾, 友松 哲夫¹⁾, 中島 豊^{1,3)}, 山元 啓文²⁾, 寺坂 禮治²⁾

1) 福岡赤十字病院 検査部

2) 同・外科

3) 同・病理部

現在、わが国において HLA 抗体検出の方法としてフローサイトメトリーを用いた方法が主流となっている。試薬もキット化され、比較的容易に入手可能になっている。この方法は施設内にフローサイトメトリーの機器が整備されていれば、比較的スムーズに検査が実施可能であると考えられる。しかし、新規で機器整備から開始しなければならない施設にとっては非常に垣根の高い検査となる。当院においては、移植医側からの HLA 抗体検査、フロークロスマッチ (FCXM) の導入に向けて積極的な協力が得られ、この度、機器導入となった。

今回、機器の導入から検査の立ち上げ、全くの素人が直面した問題点について挙げ、これからフローサイトメトリーを用いて検査を検討されている施設に、少しでも参考になればと考えている。

問題点

1) 検査機器整備の問題点

自施設にフローサイトメトリーの機器が無く、新規購入となる場合が特に問題となる。病院経営が厳しい現状で、高額機器をどう申請すればよいのか。

2) 検査料金の問題点

検査料金として試薬代と人件費が発生する。この検査料金を患者本人から負担すべきなのか、または施設負担にするのか。施設内で調整する必要がある。

3) マンパワーの問題点

検査を担当する人員が確保出来るか。24 時間対応可能か、施設において運用を検討する必要がある。

4) 検査方法の標準化, 精度管理参加

外部精度管理を学会で実施されてあるが、さらに標準化に向けてのマニュアル作成をお願いしたい。また、併せて技術講習会, 地方会開催の企画をお願いしたい。

5) 臓器移植ネットワークの検査センターとしての立場

臓器移植ネットワーク内の検査センターにおいては、HLA 抗体検査, ダイレクトクロスマッチ検査について足並みが揃っていないのが現状である。より正確で公平な検査を行う上で、どのように解決していけばよいのか。

S3-7

QCWS における HLA 抗体検査の現状と課題

田中 秀則

日本赤十字社 中央血液研究所 中央骨髓データセンター

【はじめに】 日本組織適合性学会の認定制度委員会では、認定技術者の HLA 検査技術の向上および HLA 検査の品質管理の一環として、年 1 回の HLA-QC ワークショップ (以下、QCWS) を開催している。QCWS は、12 年前 (平成 9 年) に DNA タイピングの QCWS (以下、DNA-QC) が開始され、5 年前 (平成 16 年) からは HLA 抗体法の変化に伴い HLA 抗体の QCWS (以下、抗体 QC) が開始されることとなった。

近年 HLA 検査方法の多様化、特に HLA 抗体検査は様々な方法が開発されたことに伴い、検査目的および精度が各臨床部門において異なった要求がされて来ている。そのため、今年度の QCWS (13thQCWS) より、新たな試みとして検査内容 (DNA または抗体) による参加区分に加え、臨床分野 (臓器移植、造血細胞、輸血関連、その他) での参加区分を設置し、各臨床部門での HLA 検査状況および問題点について討議を行う予定である。

本シンポジウムでは、提出された HLA 抗体検査の結果を解析し、各臨床部門での現状と問題点について紹介したい。

【13thQCWS の概要】 1) 抗体 QC 用試料の選定: 以下の 6 項目の選定要素を含む 4 検体を選択した。① HLA-C 座抗原に対する抗体特異性を有すること、② 許容抗原 (陰性となる抗原) が特定可能であること、③ 免疫グロブリンサブクラスの抗体検出の確認が可能であること、④ MIC 抗原に対する抗体特異性を有すること、⑤ 非特異的な反応性の処理が確認できること、⑥ クロスマッチ方法の妥当性が確認出来る弱陽性の抗体であること。

2) 日程: 参加施設への試料の配布は 4 月初旬に行い、結果提出の締め切りは 5 月末とした。6 月以降、各解析担当者が解析を行い、本学会大会期間中に開催される QCWS 集会で解析結果の報告が行われる。

3) 参加状況: 13thQCWS への参加施設数は 63 施設であった。各臨床部門別の参加施設数は、臓器移植が 44、造血細胞が 25、輸血関連が 32 施設であった (重複参加有)。また、抗体 QC および DNA-QC への参加施設は、それぞれ 36 (57%) および 55 (87%) 施設であった。各臨床部門での抗体 QC への参加率は、臓器移植で 57% (25/44)、造血細胞で 76% (19/25)、輸血関連では 78% (25/32) であった。

4) 検査法: 抗体 QC 参加施設中、約 90% 以上の施設で HLA 精製抗原を用いた検査が実施されており、補体依存性細胞障害による検査法 (LCT・AHG-LCT 法) だけの参加施設は、2 施設であった。また、各臨床部門での検査法は、臓器移植部門では、FlowPRA 法が 56% (14/25)、蛍光ビーズによる検査法が 48% (12/25) と多く、LCT・AHG-LCT 法が 16% (4/25) であった。造血細胞部門では、FlowPRA 法が 39% (7/18)、蛍光ビーズによる検査法が 56% (10/18)、LCT・AHG-LCT 法が 17% (3/18) であった。また、輸血部門では FlowPRA 法が 39% (7/25)、蛍光ビーズによる検査法が 56% (14/25)、LCT・AHG-LCT 法が 17% (4/25) であった。

學術獎勵賞候補演題口演

G-1

ウシの種分化および品種形成における MHC クラス II DQA1 遺伝子の多様性解析

○ 竹嶋 伸之輔, 陳 晶, 三木 晶未, 加堂 真由,
間 陽子

理化学研究所・分子ウイルス学特別研究ユニット

【目的】 細胞表面に発現するクラス II 分子をコードする MHC クラス II 領域は種を超えて保存性が高く、中でも DQ および DR 分子は大部分の哺乳動物に存在し、その多型性は自己免疫疾患や感染症に対する疾患感受性、ワクチンに対する免疫応答の個体差などを引き起こす原因とされている。今回我々はウシ DQ の中でも最も多型に富む DQA1 遺伝子に着目し、その多様性の解析を行った。

【方法】 我々の開発した PCR-SBT 法を用いて、ウシ MHC DQA1 遺伝子のタイピングを行った。アレル頻度からの遺伝距離の算出は Nei らの方法を用いた。品種毎のアミノ酸残基の多様性は Wu-Kabat の方法を用いて計算した。

【結果】 黒毛和種 (95 頭)、日本短角種 (102 頭)、ホルスタイン種 (91 頭) およびジャージー種 (64 頭) より既知の 17 アレルと 2 種類の新規 DQA1 アレルを同定した。アレル頻度に基づく系統樹は、ホルスタイン種と黒毛和種が他の 2 品種より近縁である事を示した。一方、品種毎に各アミノ酸残基の多様性を解析した結果、52-53 番および 65-66 番のアミノ酸残基はどの品種でも顕著に多型的であったが、特にホルスタイン種で高く、黒毛和種では比較的多様性が少ない事が示された。続いて、ヒツジ・ウシ・ブタ・ヤギ・スイギュウ・イヌの DQA アレルの系統樹を作成したところ、ウシ・スイギュウ・ヒツジが含まれるウシ属は一つの枝を形成し、他種とは異なる事が明らかとなった。さらに、アミノ酸配列の置換残基数の比較を行った結果、52-53 番および 65-66 番のアミノ酸残基は、ウシ属では他の哺乳類に比べて特に多型性に富む事が明らかとなった。これら二つの領域は、ペプチド収容溝の中央と端を構成しており、ペプチドの噛み込み様式を決定づけている可能性がある。この領域が品種の差異を特徴づけ、さらにウシ属で特に多型に富むことから、反芻動物が環境へ適応する上で、この 2 領域の多様性に基づく DQ 分子の多型性の維持が非常に重要である事を想像させる。

G-2

HLA 領域のパーソナルゲノム解析法の開発

○ 細道 一善¹⁾, 猪子 英俊¹⁾, 河田 寿子²⁾, 井ノ上 逸朗¹⁾, 椎名 隆¹⁾

1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

2) 東海大学伊勢原研究推進部教育・研究支援センター

【目的】 近年、次世代シーケンサーを駆使したパーソナルゲノムが続々と決定されており、個性に基づくテーラーメイド医療への本格的な実用化が目前である。HLA 領域は移植や疾患との密接な関連性から、テーラーメイド医療実用化のための最重要ゲノム領域の一つであると言える。そこで本報告では、HLA 領域 3.8 Mb を網羅する PCR 増幅システムの構築を含む HLA 領域ゲノム配列決定法の開発を目的とした。

【方法】 本研究には、5 種類の HLA ハプロタイプホモ接合体細胞株 (AKIBA: A24-B52-DR15, HOR: A33-B44-DR13, SA: A24-B7-DR1, LKT3: A24: B54-DR4 および TAB089: A2-B46-DR8) 由来のゲノム DNA を用いた。また HLA 領域の MOG 遺伝子~KIFC1 遺伝子の約 3.8 Mb を網羅する 403 カ所のプライマーセットを細胞株 PGF (A3-B7-DR15) のゲノム配列に基づいて設定した。PCR 増幅には KOD-FX (TOYOBO) を用い、アガロースゲル電気泳動にて PCR 産物の有無を確認した。

【結果および考察】 AKIBA を用いた PCR 増幅の結果、403 カ所のうち 400 カ所のプライマーセットに明瞭な PCR 産物が確認され、HLA 領域の約 99.2% を網羅することに成功した。現在、これら PCR 産物のシーケンシングを次世代シーケンサーにより進めている。他 4 ハプロタイプにも良好な PCR 増幅が認められたことから、PGF のゲノム配列より設定したプライマーセットが他ハプロタイプにも十分に適用可能であることが実証された。したがって、本 PCR 増幅システムと次世代シーケンサーの結合こそが、HLA 領域のパーソナルゲノム解析への優れたゲノム配列決定法であるとともに、究極の HLA タイピングの実現に向けて低コスト化を目指す。

G-3

慢性血栓塞栓性肺高血圧症の疾患感受性は microRNA-759 によって制御される

○ 陳 智勇^{1,2)}, 中島 敏晶^{1,3)}, 田邊 信宏⁴⁾, 井上 芳
徳²⁾, 木村 彰方^{1,3)}

1) 東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子病態分野

2) 同・大学院医歯学総合研究科・血管応用外科学

3) 同・大学院疾患生命科学研究部・ゲノム多様性

4) 千葉大学・大学院医学研究院・加齢呼吸器病態制御学

【目的】 慢性血栓塞栓性肺高血圧症 (CTEPH) は肺動脈の血栓・塞栓によって慢性肺高血圧症を来す難治疾患であるが, 凝固異常や深部静脈血栓 (DVT) に続発する場合のあることから, その病因に血栓形成・融解異常が関わりと推定される。我々は昨年の本学会で, 本症と fibrinogen alpha (FGA) 遺伝子の 3' UTR 多型 (28bp Del/Ins 多型) との有意な関連を報告した。本研究の目的は, CTEPH との関連を示す FGA 多型の機能的意義の解明である。

【方法】 患者および対照さらに増やして FGA 遺伝子 3' UTR 多型を検討した (患者総数 181 名, 対照総数 315 名)。FGA 遺伝子 3' UTR 多型領域に結合する候補をデータベースで検索した。また, miR-759 による FGA 発現制御機構を Luciferase (Luc) 法と RT-PCR 法で検討した。

【結果と考察】 CTEPH 患者群には Ins アリル頻度が健常対照群に比して有意に増加していた (56.6% vs 46.3%, OR = 1.51, P = 0.002)。FGA 遺伝子 3' UTR 多型領域に結合する候補をデータベース検索したところ, マウス microRNA 配列 (miR-759) がヒットした。さらなる解析により, miR-759 配列はマウスからヒトまで進化的によく保存されており, ヒトでは肝臓に特異的に発現することを見出した。また FGA が肝臓に強く発現することを確認した。ついで, Luc 遺伝子の下流に FGA 3' UTR 領域を挿入し, miR-759 または変異体と共に肝癌由来細胞株 SK-Hep1 に導入して検討した結果, (1) miR-759 は FGA 3' UTR 領域に依存して Luc 活性を抑制する, (2) 活性抑制は miR-759 配列に依存し, Ins 型で強く認める, (3) 活性抑制は mRNA 安定性の低下によることが判明した。また, 患者血清中フィブリノーゲン量は FGA 遺伝子 DD, ID, II 型の順に低かった。

【結論】 miR-759 は FGA 遺伝子 3' UTR 多型領域に作用し, FGA mRNA の安定性阻害を介して CTEPH 感受性に寄与すると考えられる。

口 演 発 表

O-1

真性過眠症候群を対象とした HLA-DRB1*1501-DQB1*0602 ハプロタイプと CPT1B 遺伝子および CHKB 遺伝子の間に位置する多型の関連解析

○ 宮川 卓¹⁾, 本多 真^{2,3)}, 川嶋 実苗^{1,4)}, 嶋多 美穂子¹⁾, 田中 進²⁾, 本多 裕³⁾, 徳永 勝士¹⁾

- 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
- 2) 東京都精神医学総合研究所 睡眠障害プロジェクト
- 3) 財団法人神経研究所附属睡眠学センター
- 4) スタンフォード大学 ナルコレプシーセンター

【目的】 我々は日本人ナルコレプシー患者のゲノムワイド関連解析を行い, CPT1B (carnitine palmitoyltransferase 1B) 遺伝子と CHKB (choline kinase beta) 遺伝子の間に位置する SNP rs5770917 がナルコレプシーと関連することを昨年報告した。また, ほぼ全ての日本人ナルコレプシー患者は HLA-DRB1*1501-DQB1*0602 ハプロタイプを保有することが知られている。真性過眠症候群はナルコレプシーと同様に日中の耐え難い眠気を主な症状とする過眠症であるが, 情動脱力発作を起こさない点がナルコレプシーとは異なる。今回我々は, SNP rs5770917 および HLA-DRB1*1501-DQB1*0602 ハプロタイプが真性過眠症候群と関連するか検討するために関連解析を行った。

【方法】 SNP rs5770917 の関連解析は, 真性過眠症候群患者 137 例とコントロール 569 例を用いた。HLA-DRB1*1501-DQB1*0602 ハプロタイプの関連解析に関しては, 真性過眠症候群患者 137 例とコントロール 516 例を用いた。

【結果考察】 真性過眠症候群はコントロールに比べ, SNP rs5770917 のリスクアレルの頻度が有意に高いことを確認した ($P=3.6 \times 10^{-3}$; OR = 1.56)。HLA-DRB1*1501-DQB1*0602 ハプロタイプの陽性率に関しても, 真性過眠症候群において有意に高かった ($P=9.2 \times 10^{-11}$; OR = 3.97)。また, SNP rs5770917 と HLA-DRB1*1501-DQB1*0602 ハプロタイプの間に相互作用は認められなかったことから, これら 2 マーカーは独立に疾患感受性に寄与していると考えられる。CPT1B, CHKB および HLA はナルコレプシーだけでなく真性過眠症候群の疾患感受性遺伝子であることが示唆される。

O-2

アカゲザル MHC クラス I 多様性と SIV (simian immunodeficiency virus) ワクチン効果

○ 成瀬 妙子¹⁾, 山下 知子¹⁾, 森 一泰²⁾, 陳 智勇¹⁾, 齋藤 祐介³⁾, 俣野 哲朗⁴⁾, 木村 彰方^{1,3)}

- 1) 東京医科歯科大学・難研・分子病態
- 2) 国立感染症研究所エイズ研究センター
- 3) 東京医科歯科大学大学院・疾患生命科学研究部
- 4) 東京大学医科学研究所

【目的】 HIV ワクチン開発ではアカゲザルが動物モデルとして用いられている。ヒトの HIV 感受性に個体差がみられるように, アカゲザルにおいてもワクチン接種後の SIV 感染制御に MHC クラス I (Mamu-A および Mamu-B) が深く関わっていることが知られているが, それらはインド産もしくは中国産のアカゲザルでの解析結果であり, わが国で用いられているビルマ・ラオス産アカゲザルでの検討は十分ではない。そこで我々は, わが国の実験的 SIV ワクチン接種個体の MHC クラス I 遺伝子群について多型解析を行い, ワクチン効果との関連を検討した。

【方法】 ビルマ・ラオス産アカゲザルについて, ワクチン接種群 11 頭と, 非接種群 7 頭を対象とした。ワクチン接種群は, SIV 感染制御効果が早期からみられた Early response 群と, 制御までに日数を要した Late response 群に大別された。PCR 増幅した Mamu-A, -B cDNA をクローニングし, ローカスごとに 30~70 クローンを選択して塩基配列 (約 1.1 Kb) を決定した。

【結果及び考察】 各個体において, Mamu-A では 2~4 種, Mamu-B では 2~9 種のアレルが検出され, うち 60% 以上が新規アレルであった。インド産アカゲザルで知られているワクチン効果が良好な (いわゆるエリート) アレルである Mamu-A1*001, -B*017 は検出されなかった。そこで, ヒトおよび霊長類における既知のエリートアレルとの配列比較を行なったところ, Late response 群に関連するアレルの一部が, MHC クラス I 分子の B・F ポケット, および KIR リガンドを構成する領域でエリートアレルと構造が類似していることを見いだした。以上より, Late response 群における SIV 防御効果には, MHC クラス I を介した CD8 免疫応答と NK 免疫応答の両者が関与すると推測された。

O-3

HLA-DQ トランス型二量体形成能と安定性の解析

○ 宮寺 浩子, 徳永 勝士

東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学分野

【目的】 HLA-DQ は様々な自己免疫疾患に関連することが知られている。HLA-DQ の α 鎖, β 鎖をコードする *DQA1*, *DQB1* は共に多型に富むため, 特定のハプロタイプのヘテロ接合ではトランスの組み合わせから成る $\alpha\beta$ ヘテロ二量体の形成が想定されている。また, 数種類のトランスの組合せと疾患との関連も報告されている。しかし, トランス型 $\alpha\beta$ ヘテロ二量体を形成しうる *DQA1*, *DQB1* アリルの組合せは, 大半のアリルについて不明である。我々は, HLA-DQ における二量体形成の全体像, 及び疾患との関連を明らかにする目的で, 主要な *DQA1*, *DQB1* アリルの $\alpha\beta$ ヘテロ二量体タンパク質発現量を定量的に測定し, その組合せを明らかにした。

【方法】 *DQA1* (10 アリル), および *DQB1* (13 アリル) を解析対象とした。各 *DQA1*, *DQB1* アリルの組み合わせをレトロウイルス発現系で NIH3T3 に導入し, 抗 HLA-DP, DQ, DR β 抗体 (WR18) を用いてフローサイトメトリーで細胞表面発現量を解析した。

【結果・考察】 我々は昨年度本大会で代表的なアリルについての結果を報告したが, 本大会では主要なアリル全てについての結果を報告する。 $\alpha\beta$ ヘテロ二量体は, 進化的・構造的に類似したサブグループ内 (*DQA1**01-*DQB1**05/*06, 及び *DQA1**02/*03/*04/*05/*06 - *DQB1**02/*03/*04) で形成されたが, 安定性はアリル間で顕著に異なり, 安定性指標値に最大 100 倍以上の差が認められた。また, 異なるサブグループ間での安定な二量体形成も観察された。アリル間配列比較から, 二量体の安定性にペプチド結合領域の非同義置換が大きく寄与していること, すなわちペプチド結合領域の多型がタンパク質安定性の多様性をも生み出していることが示唆された。

O-4

HLA クラス I と Killer cell Immunoglobulin-like Receptor (KIR) の多型が規定するヒト NK 細胞の “missing-self response”

○ 八幡 真人¹⁾, 八幡 信代¹⁾, Monia Draghi¹⁾, Fotini Partheniou²⁾, Ann-Margaret Little^{2,3)}, Peter Parham¹⁾

1) Stanford University School of Medicine

2) The Anthony Nolan Trust Histocompatibility Laboratories

3) The Royal Free Hospital Department of Haematology

【背景】 NK 細胞上の HLA クラス I 特異的受容体の発現は多様であり, 自己 HLA クラス I 特異的抑制型受容体を発現する NK 細胞のみが “missing-self” の応答を獲得することが明らかとなった (NK 細胞の「教育」)。HLA クラス I 特異的抑制型 NK 細胞受容体の中で KIR は最も遺伝的多型に富んでいる受容体群である。

【目的】 NK 細胞の多様性と, HLA クラス I・KIR の多型による NK 細胞の教育効果の解析。

【方法】 HLA クラス I と KIR の遺伝子多型を決定した 80 名の健康人ドナーの NK 細胞上に発現する主要な 6 つの HLA クラス I 特異的抑制型受容体の発現を高次元フローサイトメトリーを用いて解析した。さらに, 各 NK 細胞サブセットの missing-self 応答のレベルを IFN- γ の細胞内染色により解析した。

【結果】 64 種の NK 細胞サブセットが末梢血中に観察されたが, その頻度は個人差に富んでいた。HLA-C1 グループのアリル中で, HLA-Cw*0702 による 2DL3 発現 NK 細胞への教育レベルは高い一方, HLA-Cw*1402 による教育レベルは殆どみられず, KIR リガンド内で NK 細胞の教育効果に差があることがわかった。また, KIR3DL1 のアリル間で NK 細胞の教育に差がみられた。一方, NKG2A 受容体発現 NK 細胞は KIR-HLA リガンドの教育効果のほぼ中間レベルを示した。KIR3DL2, LILRB1 による NK 細胞に対する教育効果は見られなかった。リガンドの遺伝子座の数による効果が見られた。

【考察】 NK 細胞は HLA と KIR 多型の組み合わせにより多様な集団を形成していることがわかった。KIR リガンドグループ内の HLA クラス I アリルによる NK 細胞サブセットの免疫応答のレベルの多様化が明らかになったことで, KIR が関わる NK 細胞応答の研究に, 4 桁レベルの HLA クラス I アリル多型の情報が重要であると考えられる。

O-5

HIV 感染後 AIDS 発症の個体差と KIR 遺伝子多型, HLA 遺伝子多型との関連

○ 小西 真紀子¹⁾, 柳田 梨沙¹⁾, 成瀬 妙子²⁾, 中島 敏晶^{1,2)}, 照沼 裕³⁾, 三間屋 純一⁴⁾, 木村 彰方^{1,2)}

- 1) 東京医科歯科大学大学院生命情報科学教育部 ゲノム多様性
- 2) 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態
- 3) 日本バイオセラピー研究所
- 4) 静岡こども病院

【目的】 HIV の感染後, AIDS 発症に至る病態進行度には個体差があることが知られており, この個体差形成には免疫応答関連遺伝子群におけるゲノム多様性が関わると考えられる。ウイルス感染細胞の殺傷に関わる NK 細胞上には数々の免疫応答関連分子が発現しているが, このうち KIR には多型が存在する。また, HLA には KIR のリガンドとして機能するものがある。そこで HIV 感染後長期 AIDS 未発症と KIR3D 遺伝子多型, および KIR3DL1 のリガンドである HLA-Bw4 多型との関連を検討した。

【方法】 HIV 汚染血液製剤により HIV に感染した日本人血友病患者集団のうち長期未発症群 (long-term non-progressor: LTNP) 41 例, 緩徐進行群 (long-term slow progressor: LTSP) 39 例, 対照として日本人一般集団 234 例を対象とし, 抑制性 NK レセプターである KIR3DL1 およびその対立遺伝子である活性化 NK レセプター KIR3DS1 を PCR-SSP 法にて検出した。また, KIR3DL1 についてはシーケンス解析によりアリルタイピングを行い, 得られた結果を HLA-B タイピング結果と合わせて解析した。

【結果と考察】 LTNP 群には KIR3DL1 ホモ接合で HLA-Bw4 Ile80 陽性の頻度が高く, 一般集団と比較して統計学的に有意であった ($OR = 2.15, p = 0.036$)。解析した集団には 5 種の KIR3DL1 アリル (*001, *005, *007, *015, *020) が確認され, これらを高発現群 (*001, *015, *020), 低発現群 (*005, *007) に分けて解析を行った結果, この頻度上昇は KIR3DL1 の高発現アリルを有する場合に観察され, 高発現アリルがホモ接合で HLA-Bw4 Ile80 陽性の場合に顕著であった ($OR = 2.25, p = 0.073$)。このような関連は LTSP 群には観察されなかった。本研究で得られた日本人における KIR3DL1 と AIDS 発症遅延との相関は欧米人や黒人集団の解析で得られている結果と合致する。現在, インド人集団を対象として解析を行い日本人と同様の傾向が見られるか検証している。

O-6

抑制性サイトカイン IL-10 遺伝子プロモーター多型と非血縁者間骨髄移植成績との関連

○ 平安 恒幸^{1,2)}, 柏瀬 貢一¹⁾, 峯元 睦子¹⁾, 鬼塚 真仁³⁾, 小川 篤子¹⁾, 高梨 美乃子¹⁾, 猪子 英俊³⁾, 佐治 博夫⁴⁾, 小川 誠司²⁾, 笹月 健彦⁵⁾, 徳永 勝士²⁾, 森島 泰雄⁶⁾, 佐竹 正博⁷⁾, 中島 一格¹⁾, 屋部 登志雄¹⁾

- 1) 東京都赤十字血液センター
- 2) 東京大学医学部
- 3) 東海大学医学部
- 4) 特定非営利活動法人 HLA 研究所
- 5) 国立国際医療センター
- 6) 愛知県がんセンター
- 7) 東京都西赤十字血液センター

【目的】 造血幹細胞移植の合併症である急性 GVHD は炎症性のサイトカインストームにより重篤化することが示唆されている。IL-10 は抗炎症作用をもつ抑制性サイトカインであり, 患者の IL-10 遺伝子プロモーター多型が重症急性 GVHD 発症および無病生存率と関連することが米国での HLA 一致血縁者間造血幹細胞移植症例の解析で報告された (Lin ら, New Eng. J. Med., 2003)。そこで, 本研究では国内非血縁者間骨髄移植成績への IL-10 遺伝子プロモーター多型の影響について検討を行った。

【方法】 日本骨髄バンクを介した国内非血縁者間骨髄移植症例から, HLA-6 座 (A~DP) アリル一致移植ペアを選択し解析対象とした。IL-10 遺伝子プロモーター領域 3 箇所 (SNPs (-1082, -819, -592)) について蛍光ビーズ法により遺伝子型を決定した。ログランク検定により移植成績と IL-10 遺伝子プロモーター多型との関連を調べた。

【結果】 患者の -592 が C/C の場合, A/C, A/A に比べ重症急性 GVHD 発症率が有意に低かった ($P < 0.05$)。さらに, 患者の (-1082, -819, -592) SNP ハプロタイプが ACC の場合, 重症急性 GVHD 発症率が有意に低く ($P < 0.01$), 無病生存率が高い傾向にあった。

【考察】 国内非血縁者間造血幹細胞移植においても患者 IL-10 遺伝子プロモーター多型が移植成績に関連することが判明したが, 患者が -592A/A および SNP ハプロタイプ ATA の場合に重症急性 GVHD 発症率が低いとする米国の報告とは全く異なった結果である。今回調べていない SNP を含めた IL-10 プロモーター領域のハプロタイプ頻度が HapMap の JPT と CEU との間で異なっていることから, 今後さらに詳細なハプロタイプ解析を行う予定である。

O-7

HLA 抗体保有者から得られたモノクローナル抗体を用いた HLA エピトープ解析

○ 宮崎 孔¹⁾, 阪川 久子¹⁾, 佐藤 進一郎¹⁾, 笹島 知大²⁾, 加藤 俊明¹⁾, 池田 久實¹⁾

1) 北海道赤十字血液センター

2) 札幌マタニティ・ウイメンズホスピタル

【はじめに】 HLA は極めて多型に富んだ分子であり、抗体と反応する抗原エピトープも多数存在し、エピトープを共有する HLA 抗原は交差抗原グループ (CREG) として知られている。HLA 抗体検査の結果から抗体の特異性を推定すること、さらには血小板輸血不応患者に対する許容抗原を設定するためには、CREG およびエピトープ解析の情報が重要となる。我々は HLA class-I 抗体保有者のリンパ球からヒトモノクローナル抗体 (MoAb) 産生株を取得し、この抗体保有者が持つ HLA 抗体のエピトープ解析を行った。

【方法】 対象は NAIT が疑われた患児の母親で、抗 B7 + B13 + B48 + B60 + B61 を保有していた。この母親の末梢血リンパ球を用い、常法に従って EBV トランスフォームを行い抗体産生細胞株を取得した。抗体スクリーニング及び抗体の解析は、日本人由来のパネルリンパ球を用いた LIFT 法によって実施した。さらに一部の細胞株はマウスミエローマ細胞と細胞融合し、ハイブリドーマ株とした。

【結果】 計 768 の細胞株の中から HLA 抗体産生株が 13 個確認され、この中から B7 + B27, B7 + B48 + B60, B7 + B13 + B27 + B48 + B60 + B61, B7 + B67 に対する 4 種の抗体産生株が樹立できた。これらの MoAb はそれぞれ単一エピトープを認識すると考えられるが、母親血清中の HLA 抗体特異性を網羅することができた。

【考察】 4 種の MoAb の認識するエピトープの候補として、それぞれアミノ酸の [69A/71A/74D] + 163E, 177D/180E, 163E, [11SV/24S] + [67-74YKAQAQTD] が中心になっていることが予想された。HLA のエピトープ検索をする場合、抗血清では複数の抗体が混在している場合が多いため、正確に解析することは難しい。したがって、ヒト MoAb はヒトが認識する HLA エピトープを解析する試薬として非常に有用である。ただし、ヒト MoAb 産生株の作製は時間と手間がかかり、安定株を樹立できる確率も極めて低い等の欠点もある。今後は single antigen 試薬等を用いてさらに精度の高い MoAb の認識エピトープの解析を行う予定である。HLA エピトープ解析の積み重ねにより、抗体保有患者へのより有効な許容抗原の選択、並びにドナーの選択が可能になると考える。

O-8

HLA 抗体産生の不思議

○ 丸屋 悦子¹⁾, 北脇 城²⁾, 大沼 豪¹⁾, 二神 貴臣¹⁾, 小島 裕人¹⁾, 辻野 貴史¹⁾, 林 晃司¹⁾, 楠木 靖史¹⁾, 吉田 喬¹⁾, 河賀 泰子¹⁾, Nori Sasaki³⁾, 赤座 達也¹⁾, 佐治 博夫¹⁾

1) NPO. HLA 研究所

2) 京都府立医科大学産婦人科

3) One Lambda Research II

【はじめに】 昨年の本学会で、妊娠により産生された HLA-class I 抗体のエピトープ解析により、Immunogenic エピトープの解析をおこない、19 種の HLA-class I 抗原について immunogenic なアミノ酸 (aa) その位置について報告した。今回、これら 19 種の HLA 抗原の抗体産生能についての解析を実施した。

【方法】

- ・ 19 種の HLA 抗原の immunogenic aa について Responder (母) の HLA-class I 抗原との適合性と抗体産生能の関係を調べた (positional mismatch analysis)。
- ・ 同じミスマッチ抗原で免疫されるチャンスがあった母について、抗体産生者と非産生者が保有する HLA-class II 抗原を比較した。

【結果・考察】 positional mismatch analysis の結果を下記の表に示す。

The result of positional mismatch analysis of 19 mismatched antigens

Antigen	# of mismatched cases	Matched cases of amino acids of putative epitopes			Mismatched cases of amino acids of putative epitopes		
		total #	# of antibody positive sera	Antibody production rate	total #	# of antibody positive sera	Antibody production rate
B*54	6	2	0	0%	4	4	100.0%
B*51	18	7	0	0%	11	7	63.6%
B*52	14	4	0	0%	10	5	50.0%
B*55	2	0	0	0%	2	1	50.0%
B*60	5	1	0	0%	4	2	50.0%
Cw*01	15	13	0	0%	2	1	50.0%
A*02	21	8	0	0%	13	5	38.5%
B*48	8	0	0	0%	8	3	37.5%
A*26	14	0	0	0%	14	4	28.6%
A*24	20	0	0	0%	20	5	25.0%
B*59	4	0	0	0%	4	1	25.0%
Cw*0303	9	5	0	0%	4	1	25.0%
B*61	10	5	0	0%	5	1	20.0%
A*33	8	1	0	0%	7	1	14.3%
B*35	10	3	0	0%	7	1	14.3%
Cw*0702	7	0	0	0%	7	1	14.3%
B*62	12	3	0	0%	9	1	11.1%
A*31	11	1	0	0%	10	1	10.0%
A*11	11	0	0	0%	11	1	9.1%
Total	205	53	0	0%	152	46	30%

- ・ HLA 抗原のミスマッチがあっても、Responder がミスマッチ抗原と同じ Immunogenic aa を有する HLA 抗原

を持つ場合、抗体は産生されない。

- Immunogenic aa がミスマッチである Responder にも抗体産生者と非産生者があり、自己 HLA-class II アリルの違いによる影響が示唆された。
- 今後、臨床応用の可能性について検証したい。

ポスター発表

P-1

抗病性育種の選抜家系における SLA タイプ の特徴—世代間のアレル出現率の比較と羊 赤血球抗体価に相關するアレル—

○ 安藤 麻子¹⁾, 河田 寿子²⁾, 重成 敦子¹⁾, 柴田 千尋³⁾, 鈴木 英作³⁾, 鈴木 啓一⁴⁾, 北川 均⁵⁾, 猪子 英俊¹⁾, 上西 博英⁶⁾

- 1) 東海大学・医学部
- 2) 東海大学・伊勢原研究推進部・教育・研究支援センター
- 3) 宮城県畜産試験場・種豚家きん部
- 4) 東北大学大学院・農学研究科
- 5) 岐阜大学・応用生物科学部
- 6) 農業生物資源研究所・動物科学研究領域

【目的】 宮城県畜試では、疾患病変及び経済形質の育種価を用いた選抜により、抗病性に優れたブタの系統造成を行っている。本研究では、疾患感受性と SLA タイプとの関連性を明らかにするために、このブタ家系について、選抜に伴う SLA アレル出現率の世代間変化を検討するとともに羊赤血球接種後抗体価と SLA タイプとの相關解析を行った。

【方法】 豚マイコプラズマ肺炎の病変と増体量及び皮下脂肪厚の3形質の育種価により選抜を行った第1～第5世代までのランドレース種の系統造成豚、計283頭について、DRB1, DQB1 遺伝子タイピングを行い、各世代間のアレル出現率の比較を行った。また、これらのブタについて、2回の感作による羊赤血球抗体価を測定し、SLA クラス II 遺伝子型との相關解析を行った。

【結果】 第1～第5世代までの豚には、DRB1: 7種類、DQB1: 9種類の SLA アレルが見出された。さらに、第5世代では、第1世代に比べて、DRB1*1001, DQB1*0101, *0601 の有意な増加 ($P < 0.05$), DRB1*0201, *0602, *0901, DQB1*0501, *0801 の有意な減少 ($P < 0.05$) が認められた。また、羊赤血球抗体価とアレル出現率との関連については、高抗体価群 ($< \text{平均値} + 0.5\text{SD}$) で DRB1*0901 の有意な増加 ($P < 0.05$), 低抗体価群 ($< \text{平均値} - 0.5\text{SD}$) では DRB1*0403, *1001, DQB1*03, *0601 の増加傾向が認められた。

【考察】 本研究に用いたブタ実験家系では、マイコプラズマ性肺炎病変及び経済形質の3形質の選抜により、選抜形質に関連した特定のアレルの出現率が変化したことが示唆された。今後は、羊赤血球抗体価以外の免疫学的形質や選抜に用いた形質の育種価と SLA タイプとの関連性を明らかにする予定である。

P-2

カニクイザル 3 集団における MHC クラス I 遺伝子 (*Mafa-A*) の多型性の比較

○ 北 夕紀¹⁾, 田中 景子¹⁾, 細道 一善¹⁾, 小笠原 一誠²⁾, 鳥居 隆三³⁾, 猪子 英俊¹⁾, 椎名 隆¹⁾

- 1) 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学
- 2) 滋賀医科大学病理学講座
- 3) 滋賀医科大学動物生命科学研究センター

【目的】 実験動物として有用性の高いカニクイザルの MHC 多型を明確にすることは、再生医療、免疫療法および創薬分野の発展に重要な課題である。ところが、MHC クラス I 遺伝子座位の一つである *Mafa-A* の多型情報は、アカゲザルとの比較解析や集団ごとの多型解析にとどまっている。そこで本研究では、東南アジア3集団 (ベトナム、インドネシア、フィリピン) における *Mafa-A* の多型解析をおこない、集団間の遺伝的相違を明らかにすることを目的とした。

【材料および方法】 滋賀医科大学にて飼育されている83個体のカニクイザル (ベトナム: 28 個体, インドネシア: 27 個体, フィリピン: 28 個体) 末梢血より RNA を抽出し、これを鋳型として *Mafa-A* のエクソン1～7領域の RT-PCR をおこなった。塩基配列決定は PCR 産物のサブクローニング法および直接塩基配列決定法によった。その後、既知アレルと比較することにより新規アレルを決定し、集団間の遺伝解析をおこなった。

【結果および考察】 カニクイザル 83 個体より 83 種類の *Mafa-A* アレル (ベトナム: 36 アレル, インドネシア: 34 アレル, フィリピン: 16 アレル) を同定した。それらのうち、17 種類は既報の *Mafa-A* や他のマカク属のアレルと一致し、残りの 66 種類は新規アレルであった。とりわけ、3 集団における高頻度アレルは他マカク由来アレルと一致したことから *Mafa-A* 遺伝子はカニクイザルが種分岐前に生成され、これらのアレルが保持される一方、新しいアレルが環境変化とともに生成されてきたと考えられた。また、同定されたアレルのほとんどが各集団特有のものであったが、系統樹解析から、各集団が一様に混合した4つのクラスターを形成した。したがって、多型性に乏しいフィリピン産は、MHC ホモ接合体系統の作製や分子医学的研究に適すると考えられた。

P-3

フンボルトペンギン属 4 種における遺伝的関係

○ 吉川 枝里¹⁾, 津田 とみ^{1,2)}, 炭山 大輔^{1,6)}, 成瀬 妙子³⁾, 福田 道雄⁴⁾, 栗田 正徳⁵⁾, 津田 道雄¹⁾, 村田 浩一⁶⁾, 猪子 英俊¹⁾

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

【目的】 フンボルトペンギン属は 4 種 (フンボルト, マゼラン, ケープ, ガラパゴスペンギン) で構成され, 形態的に類似しているばかりでなく, 遺伝的に近縁で種間交雑も確認されている。フンボルトペンギン属には, 他種とは異なる地理的分布が認められ, 特異的種分化を遂げている可能性がある。しかし, フンボルトペンギン属における遺伝子多型に基づく分子系統学的解析についてはあまり行われていない。そこで, 本研究では, *MHC* 領域に位置する *DRB* 様遺伝子の解析を行うことにより, フンボルトペンギン属の種間関係および遺伝的多様性を明確にすることを目的とした。

【方法】 フンボルトペンギン属 4 種の *MHC* 領域 *DRB* 様遺伝子内 5'-UTR から第 3 インtron までの約 1.5 kb の塩基配列を決定し, Kimura 2-parameter 法を用いた近隣接合法 (Neighbor-Joining 法; NJ 法) による分子系統樹解析を行った。

【結果】 これまでの研究成果から, フンボルトペンギン属以外のペンギン類は, 分子系統樹では明確なクラスターを形成するのに対し, フンボルトペンギン属は 4 種が混在したクラスターを形成した。さらに, フンボルトペンギンとマゼランペンギンには共通した対立遺伝子が確認された。

【考察】 フンボルトペンギン属の遺伝子多型の共有から, 以下のことが考えられた。1) 異所的な分布にも関わらず, 遺伝的近縁度が高い。2) 平衡選択や近年の急速な種分化が原因でアليل共有が起こり, その後保持された。

このように, *DRB* 様遺伝子の塩基配列とアミノ酸配列の比較検討は, 遺伝的に近縁な属内の遺伝的多様性や種間関係をj知る上で有用であると考ええる。

P-4

ペンギン *MHC*—ペンギン目ペンギン科 6 属 17 種の進化と分類

○ 津田 とみ^{1,2)}, 吉川 枝里¹⁾, 炭山 大輔¹⁾, 成瀬 妙子³⁾, 福田 道雄⁴⁾, 栗田 正徳⁵⁾, 津田 道雄¹⁾, 村田 浩一⁶⁾, 猪子 英俊¹⁾

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

【目的と背景】 ペンギン目ペンギン科の 6 属全種と, 近縁とされる海鳥類 (ミズナギドリ目) も含め, それらの進化の過程と互いの近縁関係の解明を行うことを目的とし, 本研究を進めている。ペンギン類は, ジュラ紀後期の鳥類の祖先類が 6,500 万年前の KT 境界を経た後, 分岐と絶滅を繰り返し現生のペンギン類 6 属 17 種が残ったと考えられている。一方, 無顎類を除く全ての脊椎動物が備え持つ主要組織適合性抗原複合体 (Major Histocompatibility Complex: *MHC*) は, 免疫系における抗原提示機能という重要な任務を担っており, なかでも *MHC* クラス II 分子は外来抗原の多様性に適応しつつ高度な多型性を獲得してきたと考えられている。

我々はそのような高度な多型性を特徴とする *DRB1* 様遺伝子の塩基配列が, われわれの研究目的である進化・分類・識別・保全のために優れた指標となることを, ペンギン類 5 属を用いて明らかにし報告してきた。今回は, 分岐年代が不詳とされているキガシラペンギン属キガシラペンギンについて新たに多型を検索し, ペンギン類の類縁関係を解析した。

【結果および考察】 *MHC* クラス II *DRB1* 様遺伝子の, $\beta 1$ 領域のエクソン 2 の塩基配列を用いて, 系統樹を作成した。系統樹樹形から, フンボルトペンギン属 (1 属 4 種), アデリーペンギン属 (1 属 3 種), キガシラペンギン属 (1 属 1 種) など, 属により独立したクラスターが形成された。各々の属内ではアデリーペンギン属は 3 種が種による明確なクラスターを形成したが, フンボルトペンギン属ではお互いの種の近縁関係が見られる。今回の発表では, 他の分子生物学的指標や化石による形態学的分析から報告されているペンギン類 6 属 17 種の推定分岐年代とわれわれの結果との比較についても報告する予定である。

P-5

新しいアリル (HLA-A*1101V, DRB1*1202K) について

○ 小島 裕人¹⁾, 大沼 豪¹⁾, 小川 貴裕²⁾, 二神 貴臣¹⁾, 辻野 貴史¹⁾, 林 晃司¹⁾, 楠木 靖史¹⁾, 吉田 喬¹⁾, 前川尻 真司²⁾, 松下 正毅²⁾, 丸屋 悦子¹⁾, 佐治 博夫¹⁾

1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

2) 湧永製薬株式会社

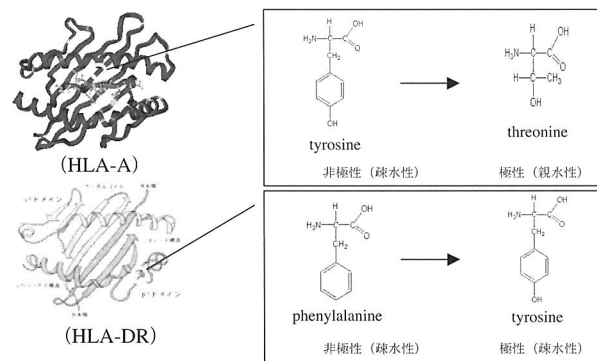
<はじめに> 近年の HLA タイピング技術や判定試薬の向上により, 新しいタイプの報告数は年々増加している。私達は通常業務として r-SSO 法を用いた HLA 遺伝子型タイピングを行なっているが, 今回, HLA-A, DR において新しいアリルタイプを発見し, その変異部位を特定した。

<材料・方法> 造血幹細胞移植ドナー検索を目的とした HLA 型家系検査依頼の 2 家系 (日本人家族 (3 名) と日系 3 世ペルー人家族 (7 名)) の DNA を用い HLA-A, DR 型検査を Luminex 法 (WAKFlow) で行った。日本人家系の HLA-A 座タイピング結果, 既存のアリル型に一致する反応パターンが検索されず, 1 プローブのミス反応で, 近縁のアリルが A*1101 と推察され, A*1101V と名づけた。日系ペルー人家族の HLA-DRB1 タイピングの結果, 国際標準アリル型パターンでは同定不能となる DNA (仮称: DRB1*1202K, DR15?) と, 家族内に 5 本のハプロタイプの出現を示唆するアリルを有する DNA が検出された。HLA-A*1101V についてクローニング後, exon 2, 3 の塩基配列を決定した。HLA-DR 同定不能 DNA について, グループ特異的プライマーで 1st PCR を行い, 2nd PCR にタイピングキットのプライマーを使用し, Luminex 法を実施した。1st PCR 産物については塩基配列の決定も実施した。

<結果・考察> (HLA-A) シークエンスの結果, 9 番目のコドンに変異 (Tyr → Thr) を検出した。WHO に登録し, A*1143 と命名された。この変異は HLA 分子のペプチド結合に影響を与えると考えられる。

(HLA-DR) グループ特異的な増幅産物を利用した Luminex-typing で, 既存のアリルと new アリルを分離し検査することで, new アリルの反応パターンが特定でき, 通常のタイピングでは家族内に 5 番目のハプロタイプの存在を示した DNA も new アリルを保有することが確定できた。シークエンスの結果, DRB1*1202K は 47 番目のコドンに変異 (Phe → Tyr) が検出された。現在 WHO に登録準備中である。HLA-DRB1 の新しい変異は対立遺伝子のグループが異なる場合, nested PCR を用いれば, New ア

リルの反応パターンの特定に有用である。精度の高いタイピングには家族検査が有用である。



P-6

HLA-DRBIが異なるDR抗原OミスマッチのMLR

○ 安尾 美年子¹⁾, 石塚 敏¹⁾, 菊野 晃¹⁾, 寺岡 慧²⁾

1) 東京女子医科大学 腎臓病総合医療センター 移植免疫研究室

2) 同・腎臓外科

【目的】 細胞性拒絶反応の強さを示すと考えられるリンパ球混合培養反応 (MLR) は HLA クラス II 抗原の違いにより生じる免疫反応であり, 組織適合性検査としては, レシピエントのリンパ球を反応細胞とし, 臓器ドナーのリンパ球を刺激細胞として混合培養し, 反応細胞の増殖の程度を測定するが, 腎移植の際には HLA 抗原型のミスマッチのみで適合性を判定する場合が多い。さらに, 近年では細胞性拒絶反応があまり問題とされなくなったことから, あまり行われていない検査である。しかし, DR 抗原のミスマッチが無い組み合わせでも MLR が高い場合があり, これが抗体産生につながることも推測されることから, 今回われわれは DRBI と MLR について再度検討した。

【対象および方法】 生体腎移植の組織適合性検査を実施した家族のうち, DR 抗原ミスマッチが無く MLR が高い組み合わせについて, DRBI が 1 ミスマッチであるものについて, アリル特異性の有無を検討した。MLR はドナー・レシピエントおよび第 3 者のリンパ球をそれぞれ 2 等分し, 一方をマイトマイシン処理して刺激細胞とし, 他方を反応細胞として各 1×10^6 個/ml の濃度で 96 ウェルの培養プレートに $50 \mu\text{l}$ ずつ分注し, 36.5°C 5% CO_2 インキュベータ内で 6 日間培養後測定した。HLA タイピングは RELI SSO 法を用いた。

【結果】 DR4 については日本人のもつアリルが多く知られていることから, その反応性の違いは以前にも報告したが, 今回はそれに加えて他の DR 抗原にも明らかな反応性の違いが認められるアリルの組み合わせが見られた。それらの傾向性について報告する。

P-7

HLA-DQ “blank” アリルとして見出された HLA-DQA1*0107 の発現解析

○ 宮寺 浩子¹⁾, 徳永 勝士¹⁾, Bouke G. Hepkema²⁾

1) 東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学分野

2) Medisch immunoloog, Transplantation Immunology EA51, UMCG, The Netherlands

【目的】 HLA-DQA1*0107 は, 血清タイピングが困難な “blank” アリル (HLA-DQA1*“LA”) として caucasoid 家系で同定された新アリルである。HLA-A2-B7-DR14-DR52 及び DQB1*050301 とのハプロタイプ形成が認められているが, 抗 DQ5 抗体を含む複数の抗 DQ 抗体で検出されない (Lardy, et al. Tissue Antigens 1997, 50: 334)。HLA-DQA1*0107 cDNA は HLA-DQA1*0104 の 304 番目塩基配列の非同義置換によるアミノ酸残基置換 (R79C) を生じている。血清タイピングで同定できない理由として, 非同義置換による抗体反応性の変化, 又はフォールディング過程の異常が想定された。そこで, 本研究では我々が既に確立した HLA クラス II α/β ヘテロ二量体の細胞表面発現測定系を用いて, HLA-DQA1*0107-DQB1*0503 の二量体形成能を解析した。

【方法】 DQA1*0107 全長 cDNA 配列をレトロウイルスベクター pMx-Ig に挿入後, DQB1*0503 及び他の数種類の DQB1 アリル安定発現株に導入した。抗 HLA-DP, DQ, DR β 抗体 (WR18) を用い, 細胞表面発現量をフローサイトメトリーで解析した。

【結果】 DQB1*0503 安定発現株へ DQA1*0107 を導入し, HLA-DQ の細胞表面発現量を測定したが, 発現は検出されなかった。一方, DQA1*0107 の下流に挿入された IRES 下の GFP 発現量は他のアリルと同等であった。したがって, DQA1*0107 は翻訳以降の何らかの過程が正常に行われていない null アリルであることが示唆された。

P-8

DR53 グループ (DRB1*0406) であるにもかかわらず Micro SSP 法で DRB4 が検出されなかった一症例

○ 李 悦子¹⁾, 瀧本 朋美¹⁾, 西岡 朋美¹⁾, 渡邊 博文¹⁾, 尾崎 修治¹⁾, 石井 博之²⁾, 福森 泰雄²⁾, 益尾 清恵³⁾, 香美 祥二¹⁾

1) 徳島大学病院 輸血部

2) 大阪府赤十字血液センター

3) 株式会社ベリタス

【はじめに】 HLA-DR 領域では DR51, 52, 53 グループは発現遺伝子としてそれぞれ DRB5, DRB3, DRB4 を持つことが知られており, これらは HLA タイピング時の確認補助としても用いられている。今回我々は, DR53 グループである DRB1*0406 と判定されたにもかかわらず, Micro SSP 法で DRB4 が検出されなかった症例を経験したので報告する。

【症例】 60 代女性。大動脈炎症候群疑いで疾患特異性診断の補助目的で HLA 型検査が提出された。EDTA 加末梢血より DNA を抽出し, 市販 DNA タイピングキット (結果に記載) を用い, HLA タイピングを行った。

【結果】 Micro SSP 法「ABCD RDQ Tray」(One Lambda 社) にて測定を行い, A*02, A*—, B*40, B*55, Cw*01, Cw*03, DRB1*04, DRB1*14, DRB3*0202, DQB1*03, DQB1*05 と判定され, DRB1*04 があるにもかかわらず, DRB4 が検出されなかった。RSSO 法 (MBL ジェノサーチ) では A*0201, A*—, B*4002, B*5502, Cw*0102, Cw*0304, DRB1*0406, DRB1*1401 と判定された。DNA の再抽出を行い, DRB4 領域の再検査として Micro SSP 法の「High Resolution Tray」と「DRDQ Tray」で再度測定を行ったが, いずれも DRB4 は検出されなかった。一方, SSO 法 (LAB type DR3, 4, 5 Typing Test) では DRB4*0101/02/03 が検出され, SSP 法 (DYNAL AllSet SSP DRB4) では DRB4*0103 が検出された。

【考察】 当患者は DRB4 領域に Micro SSP 法では検出されない何らかの変異や欠損があることが疑われ, 現在精査中である。このような例では一法で検出されない場合, 他法でも確認することが重要であると思われる。

P-9

WAKFlow HLA 抗体クラス I (MR) における「血清処理試薬」の有用性

○ 関根 みゆき, 寺木 佳子, 市原 孝浩, 梅津 昭子, 栗田 裕子, 橋本 正美, 藤原 孝記, 柏瀬 貢一, 内川 誠, 中島 一格

東京都赤十字血液センター

【はじめに】 WAKFlow HLA 抗体クラス I (MR) (以下, WAKFlow) は, 日本人の抗原頻度を基にパネル選択をした精製 HLA 抗原 (ヒト B 細胞株から抽出, 精製) を用いた HLA クラス I 抗体検査試薬である。Luminex システムで測定し, 専用ソフトウェアで解析するため, 大量検体を短時間で処理することが可能である。結果を解析する際に, 各ビーズの蛍光強度から Index 値を算出するため, 血清中にビーズと非特異的に結合する物質が存在すると, ビーズの蛍光強度が高値を示し, 解析に影響を与える場合がある。今回, 血清中のビーズに非特異的に結合する物質を取り除く WAKFlow 専用の「血清処理試薬」の有用性について検討を行った。

【対象検体】 WAKFlow で検査した結果, 血小板輸血不応患者の血清 223 例の内, バックグラウンドビーズの蛍光強度が 1000 以上の高値を示し, 判定不能となった 28 例を用いた。

【方法】 「血清処理試薬」2 μ L と血清 8 μ L を混和し, 室温で 30 分間攪拌し, 遠心後の上清を用いて WAKFlow で検査を再度実施した。さらに得られた結果について, LAB-Screen Single Antigen (以下, LABSA) を実施し比較検討を行った。

【結果】 28 例中, 27 例は, バックグラウンドビーズの蛍光強度が低下し (平均値にして, 試薬使用前 2753 から使用後 196) 判定が可能になった。1 例については, 非特異的な反応によるビーズの蛍光強度は「血清処理試薬」の使用前後で変化が見られなかった。判定可能となった 27 例については, 20 例が陰性, 7 例が陽性と判定され, いずれも LABSA の結果と一致した。「血清処理試薬」の使用前後で変化が見られなかった 1 例については, LABSA で検出された特異性は確認できなかった。

【考察】 今回の検討では, 判定不能であった 28 例中 27 例で判定が可能になり, 「血清処理試薬」は有用であった。効果がみられなかった 1 例は, 「血清処理試薬」では取り除くことができない原因物質が血清中に存在すると考えられる。

P-10

プラスチック基板上での等温増幅反応による HLA タイピング

○ 奥平 裕子¹⁾, 光永 滋樹¹⁾, 山口 香織¹⁾, 吉川 枝理²⁾, 岡 晃¹⁾, 猪子 英俊¹⁾

1) 東海大学 医学部 基礎医学系 分子生命科学

2) 財団法人ヒューマンサイエンス振興財団

【目的】 我々は等温増幅法のひとつである Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) を用いることにより, HLA-DRB1 の DNA タイピングが可能であること, また ambiguity の解決にも有効であることを報告してきた。しかし, 増幅の有無によりアリルまたはアリル・グループの存在を調べるものであるため, マルチプレックス化が難しいという問題があった。そこで複数のプローブ (プライマー) を固定したプラスチック基板上で LAMP を行うことによるマルチプレックス化を検討した。

【方法】 複数のプローブを固定した 96 ウェルプレートの各ウェル中で LAMP 反応を行い, 固定したプローブからの特異的伸長反応により biotin-dUTP を取り込ませた。その後, 酵素標識ストレプトアビジンを反応させ, 酵素活性を利用した発色反応により特異的伸長反応が起こったプローブを同定した。各ウェルでの反応は 10-20 ng の DNA を用いて 50 μ L の反応系で行った。プレートは「DNA 固定化用 96 ウェルプレート」(住友ベークライト) の角形ウェルプレートを用いた。

【結果および考察】 各ウェルに群特異的のプローブを固定し, 群特異的増幅を行うことにより, シングルプレックスでの HLA タイピングがほぼ可能であった。しかし, これを HLA-DRB1 (および DRB3) を増幅する系で行いマルチプレックス化を行ったところ, 一部の群特異的のプローブが他の群とも反応したので, プローブの Tm 等を変えてより特異性を上げる必要があることが分かった。現在, 各プローブの特異性向上を行っている。

用手法によりプローブを固定しているが, 各ウェルに 16 種類のプローブが固定可能で, 肉眼的にも容易に検出可能であった。本法は増幅反応に 1 時間, 発色による検出反応に 30 分の合計 1 時間半程度でタイピングが可能であり, また, 発色反応による可視化, マルチプレックス化も可能, 等温増幅であるので特殊な機器を必要としない, 等の特長があり優れた方法であると考えられた。

P-11

腎不全患者の HLA ハプロタイプ推定

○ 酒巻 建夫, 岡村 康子, 高橋 千尋, 大西 民子
国立病院機構千葉東病院・研究検査科 HLA 検査室

【目的】 腎移植ではリンパ球交差試験が重要であるが, 種々の理由から HLA 適合性を考慮に入れない夫婦間移植や ABO 不適合移植が広範に行われるようになった。しかし臓器の長期生着には組織適合性も重要である。正確な HLA タイピングの基本としてハプロタイプ (HT) の認識が不可欠である。幸いなことに 126,235 名の骨髄提供希望者の HLA 型 HT が解析され 352 通りの HT が公表されたので比較対象とすることが可能となった。

【方法】 献腎登録者, 生体腎移植希望家族, 膀胱移植希望患者, 生体膀胱移植希望家族, 献腎ドナーおよび職員を対象とした。解析には正常人 (腎) (CL) 群 299 名, I 型糖尿病群 (DM) 52 名, 腎不全群 (HD) 349 名と分類した。それぞれの群には家族検査により HT が確定した例が含まれている (健康人が 136 名, DMTI が 19 名, HD 群が 142 名)。A 座, B 座および DRB タイピングには Dynal-Reli キットを用い, 補足的な DRB1 と DQB1 タイピングには自家製 SSP キットを使用した。HT の推定には骨髄提供希望者の HLA 特異性や HT 頻度と連鎖不平衡値を参考に推定した。また 352 通り以外の HT についてはリスト外として取り扱った。

【結果と考察】 HLA-A*, B*, DRB1* 頻度は CL 群および HD 群では骨髄提供希望者の頻度と同様であった。家族検査で決定した HT の多様性は推定値よりもやや大きい傾向が認められた。このことは推定ではトランスカシスの位置が区別されないが家族検査では確実に違いが区別されるためと考えられた。DM 群では DRB1*0405, 0901, 0802 を含むハプロタイプが多く認められた。CL 群と HD 群ではほぼ骨髄提供希望者の HT と同様の頻度の傾向を示した。一部の HT 頻度では腎不全群や正常人群で増減が認められた。サンプル数が少なく意味のあるものか地域的な偏りなどによるものかは不明であった。短時間でタイピングを行う必要がある献腎ドナー検査には HT を意識した検査によりミスを減らせる可能性がある。

P-12

京阪さい帯血バンクにおける母子タイピングから求めた 6,102 例の HLA-A, -B, -C, -DRB1 ハプロタイプ分布について (第2報)

○ 小野 明子¹⁾, 齋藤 順¹⁾, 石井 博之¹⁾, 福森 泰雄¹⁾, 吉村 敬次¹⁾, 中埜 肅¹⁾, 柴田 弘俊²⁾, 正岡 徹²⁾

1) 大阪府赤十字血液センター

2) 京阪さい帯血バンク

【目的】 京阪さい帯血バンクでは平成 17 年 4 月より, DNA を用いた Luminex 法で, HLA タイピング (A, B, C, DRB1) を行っている。また, 母子免疫学的寛容の観点から母親のタイピング (A, B, C, DRB1) も実施していることから, ハプロタイプを推測することが可能であり, 日本人健康人集団のハプロタイプ分布を予測できるものと考え, われわれは第 15 回本学会で, 京阪さい帯血バンクの母子タイピングを利用した日本人ハプロタイプ頻度として報告した。これまで, 日本人健康人集団の HLA-A, -B, -C, -DRB1 の 4 桁レベルでのハプロタイプ分布調査の報告例は少なく, ドナー検索時に参考となるデータがないのが現状であった。今回, 検査対象家系統数が 2,000 例を超え, 新たなハプロタイプも見出したので, HLA 頻度と併せて報告する。

【対象および方法】 平成 17 年 4 月より, 平成 21 年 4 月までの約 4 年間に 2,034 家系, 4,068 名の検査を実施した。DNA 抽出試薬は, QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN 社) あるいは QuickGene DNA whole blood Kit (FUJIFILM 社), タイピング試薬は, ジェノサーチ HLA-A, B, C, DRB1 (医学生物学研究所) を用いた。

【結果および考察】 タイピング結果から 1 家系ずつハプロタイプを組み立て, 母子間での重複を排除した。4,068 名 6,102 例のハプロタイプから, A-B-C-DRB1 の 4 座においては, 1,755 種類ものハプロタイプが検出された。日本人では低頻度または存在しないとされていたアレルも検出された。血清学的検査法ではブランクの多かった HLA-C の 4 桁レベルの頻度, および HLA-A, -B, -C, -DRB1 の 4 桁レベルのハプロタイプ頻度が求められたことにより, 非常に有益な情報が得られた。HLA-B, C 間での強い連鎖は, HLA-B, C 間での新たなハプロタイプ分布が判明したことにより, HLA-C 未検査ドナーの HLA-C を推定できるようになった。ハプロタイプ分布の情報は, 造血幹細胞移植を必要とする患者にとってアレルレベルでのマッチの可能性の指標にもなり, 今後ドナー検索時に有効となることが期待される。

P-13

日本人列島人の HLA-A, C, B, DRB1, DQB1, DPB1 アリル型ハプロタイプ頻度 = 家系調査に基づくカウント法による =

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

【はじめに】 造血幹細胞移植において, HLA のタイプを一致させることだけではなく, ハプロタイプの一致も重要である。KIR のリガンドや移植成績の観点から JMDP への登録の際に HLA-C をタイプすることが導入された。また, HLA-DPB1 が移植予後に与える影響が重要視されている。HLA-A, B, DRB1 の 3 座アリル型ハプロタイプ頻度の報告はあるものの, C 座を加えた 4 座や, DQB1 と DPB1 を加えた 6 座のアリル型ハプロタイプ頻度の報告は少ない。造血幹細胞移植ドナー検索を目的とする受諾検査で日本列島人家系につき HLA-A, Cw, B, DRB1, DQB1, DPB1 のアリル型ハプロタイプ解析を行ったので報告する。

【材料・方法】 造血幹細胞移植ドナー検索を目的とした HLA タイピングを実施した家系

HLA-A, C, B, DRB1: 1,389 家系, HLA-A, C, B, DRB1, DQB1, DPB1: 727 家系

HLA タイピング方法: Luminex 法 (WAKFlow, LAB-Type)。統計的処理: 直接カウント法による

【結果・考察】 日本人, HLA-A-DR 座で 1,389 家系 (5,308 haplotypes, 1,552 種), HLA-A-DP 座で 727 家系 (2,826 haplotypes, 1,460 種) のアリル型ハプロタイプ頻度解析の結果, トップ 5 を表 1 (A-DR) と表 2 (A-DP) に示す。直接的な家系調査による遺伝子型ハプロタイプ頻度データでは最大であり, 日本骨髓データバンクから公開されている計算による遺伝子型ハプロタイプ頻度 (HLA-A-DR) と比較し, 高頻度ハプロタイプの種類・頻度はほぼ一致している。日本人を代表するデータとして使用可能と考えられる。当研究所のホームページにハプロタイプ頻度とアレル頻度を公開している。http://www.hla.or.jp/hapro/top.html. 今後もデータを蓄積し定期的に更新したい。

表 1 n=1389

順位	HLA-A, Cw, B, DRB1	頻度 (%)
1	*2402-*1202-*5201-*1502	8.57
2	*3303-*1403-*4403-*1302	4.31
3	*2402-*0702-*0702-*0101	3.50
4	*2402-*0102-*5401-*0405	2.43
5	*0207-*0102-*4601-*0803	1.98

表 2 n=727

順位	HLA-A, Cw, B, DRB1, DQB1, DPB1	頻度 (%)
1	*2402-*1202-*5201-*1502-*0601-*0901	6.90
2	*3303-*1403-*4403-*1302-*0604-*0401	2.83
3	*2402-*0702-*0702-*0101-*0501-*0402	2.62
4	*2402-*0102-*5401-*0405-*0401-*0501	1.98
5	*1101-*0102-*5401-*0405-*0401-*0501	0.92

P-14

血液腫瘍患者および家族の HLA 組み換え率は高いか？

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

特定非営利活動法人 HLA 研究所

〈目的〉 血液腫瘍（白血病など）細胞は高率に組み換えや転座などの染色体異常が認められる。これらの患者または家族は、遺伝子組み換え率が高い可能性が示唆される。患者を含む HLA 家族データからハプロタイプ頻度と、組み換え率、遺伝子間距離などを計算し、白血病患者および家族において HLA 座間組み換え率が高いかどうかを検証する。

〈方法〉 1, 血液腫瘍患者の家族データ（A-DRB1: 480 家系, A-DPB1: 401 家系）から得られたハプロタイプ頻度を、既報健常人群ハプロタイプ頻度と比較する。2, 座間組み換え率、遺伝子間距離（cM）を計算し、既報データと比較する。3, 患者 / 健常同胞間および卵子 / 精子間の組み換え率を比較する。

〈作業仮説（帰無仮説）〉 1, 血液腫瘍患者家族の HLA ハプロタイプ頻度は健常人群と異なる。2, 血液腫瘍患者家族の HLA 座間組み換え率は高い。3, 血液腫瘍患者はその同胞より HLA 座間組み換え率が高い。4, 精子と卵子の HLA 座間組み換え率は差がない。

〈結果〉（R = DRB1, Q = DQB1, P = DPB1）

- 1, A-Q ハプロタイプ頻度（別演題で提示）は既報健常人ハプロタイプと有意差ない。A-P, Q-P ハプロタイプ頻度は比較対象なく差違は不明である。
- 2 遺伝子距離（cM）: A-C: 0.47 (0.6–0.8), A-B: 0.57 (0.7–0.9), A-R (Q): 1.35 (1.5–2.0), A-P: 2.74 (2.7–3.1), C-B: 0.10 (0.1), B-R (Q): 0.78 (0.9–1.0), B-P: 2.06 (2.2–2.5), R (Q)-P: 1.28 (1.4–1.5)。既報値と有意差を認めない。（ ）内は既報値。
- 3, 患者 / 健常同胞 組み換え率 Odd ratio: A-P: 0.957 ($p=0.896$), A-R: 2.05 ($p=0.08$), R-P: 0.242 ($p=0.039$)。
- 4, 精子 / 卵子 組み換え率 Odd ratio: A-P: 0.33 ($p<0.001$), R-P: 0.10 ($p<0.001$)。

〈結論〉

- 1, 日本列島人に進化的に保存されている（頻度上位の）、HLA-A, C, B, R ハプロタイプ頻度は、既報健常人ハプロタイプ頻度と大差なく、仮説 1 は棄却される。よって、得られたハプロタイプ頻度は、日本列島人の

頻度として利用できる。ただし、Q-P ハプロタイプについては、既報健常人データがなく今後の課題となる。

- 2, 血液腫瘍患者家族群の HLA 座間遺伝子距離は、既報と差がなく (むしろ低値), 仮説 2 は棄却できる。
- 3, 血液腫瘍患者とその同胞間の A-P 組み換え率は差がない。仮説 3 は棄却される。ただし Q-P 組み換え率は、健常群において高い ($p < 0.05$)。今後の検討課題である。
- 4, 卵子は、精子より組み換え率が有意に高い ($p < 0.001$)。よって、仮説 4 は棄却され、HLA 座間組み換えハプロタイプは、母由来ハプロタイプに起こりやすい。

P-15

骨髄バンク登録ドナーから検出された HLA 新アレルのハプロタイプ分析と考察

○ 中島 文明¹⁾, 盛山 芳恵¹⁾, 清水 まり恵¹⁾, 加藤 和江¹⁾, 田中 秀則¹⁾, 柏瀬 貢一²⁾, 福森 泰雄³⁾, 岡崎 仁¹⁾, 佐竹 正博¹⁾, 田所 憲治¹⁾

1) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

2) 東京都赤十字血液センター

3) 大阪府赤十字血液センター

【目的】 昨年、本学会で報告した日本骨髄バンクのドナー登録で検出された 46 例の HLA 新アレルについて (43 例は WHO 登録済み, 3 例は精査中), それぞれどのようなハプロタイプを構成しているか分析し, 考察する。

【方法】 それぞれの新アレルについて, HLA-A, B, DRB1 のタイピング情報は存在するので, C, DQB1 を蛍光ビーズ法で追加する。日本人 HLA ハプロタイプ頻度を基準に, ハプロタイプ構成を推定し, 新アレルが既存のハプロタイプに抱合されると予測される場合は, 元のアレルと新アレルのアミノ酸置換の違いに着目して解析する。

【結果】 新アレルのほとんどが日本人特有のハプロタイプに組み込み可能と推定できた。アミノ酸置換は 38 例 (3 例は Silent mutation も含む) で認められ, クラス I で Codon116 が 5 アレル, Codon12, 114, 156 が 3 アレルなど, クラス II で codon37 と 57 で 2 アレルずつなど, ペプチド拘束力があるドメインに局在し抗原性を変化させる可能性が示唆された。

また, B*5415 と DRB1*1480 はすでに 3 例ずつ検出しており, これらも B*5401 と DRB1*1406 の特徴的なハプロタイプ上に存在することが推定された。

さらに, ユニークなアレルとして HLA-B7 と B62 のハイブリッドが認められ, B 座 exon2 と exon3 の間を境に A-C-B 座は B62, B-DR-DQ 座は B7 のハプロタイプで構成されていた (精査中につき WHO 未登録)。

【考察】 近年, 検査精度が格段に向上し, これまで検出困難な新アレルも確実に決定できるようになった。今回のハプロタイプ分析は推定であるが, 新アレルに対してユニークなハプロタイプを構成する例は稀で, ほとんどが認知されたハプロタイプ上の変異であることが推定された。言い換えると, 新アレルの多くは既存のハプロタイプ上で変異を生じた可能性が高い。このことから当初, 生体反応として抗原性の変化は大きくないと考えたが, アミノ酸置換の部位はホットスポットに集中していること, 同一アレルがすでに数例検出されていることから, 新アレルの識別は臨床上無視できないと認識した。

P-16

日本骨髄バンク登録ドナーにおける HLA-C 座遺伝子頻度について

○ 盛山 芳恵¹⁾, 中島 文明¹⁾, 清水 まり恵¹⁾, 加藤 和江¹⁾, 市原 孝浩²⁾, 峯元 睦子²⁾, 柏瀬 貢一²⁾, 内川 誠²⁾, 中島 一格²⁾, 小野 明子³⁾, 石井 博之³⁾, 福森 泰雄³⁾, 吉村 敬次³⁾, 中埜 肅³⁾, 田中 秀則¹⁾, 岡崎 仁¹⁾, 佐竹 正博¹⁾, 田所 憲治¹⁾

1) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

2) 東京都赤十字血液センター

3) 大阪府赤十字血液センター

【はじめに】 日本骨髄バンクでは登録ドナーの HLA 型検査を, HLA-A, B 及び DRB1 座について DNA 検査 (蛍光ビーズを用いた PCR-rSSO 法) で実施している。昨年, 開催された厚生科学審議会の造血幹細胞移植委員会において, 骨髄バンク登録ドナーの HLA 検査に HLA-C 座を追加することが承認され, 日本赤十字社では平成 21 年度中の検査導入に向け準備を行って来た。

これまで日本人における HLA-C 座遺伝子頻度の報告は, PCR-rSSO 法を用いた検査結果から算出されたものだけであった。今回, 骨髄バンク登録ドナーの HLA-C 座を PCR-SBT 法で検査し, 得られた結果から遺伝子頻度の算出を行ったので報告する。

【方法】 東京都及び大阪府センターで登録時 HLA 検査が終了したドナー検体を, 各々 285 検体無作為に抽出した。PCR-SBT 法 (Atria Genetics 社 AlleleSEQR HLA-C plus) を用いて, 合計 570 検体から得られた HLA-C 座タイプピングの結果から遺伝子頻度を算出した。

PCR-SBT 法で得られた結果でも, 多数の識別不可能な組合せ (以下, Ambiguity) が存在する。そのため, これまでに報告されているアレルの情報から, 日本人に多いと推測されるアレルについて遺伝子頻度を算出し, その頻度分布が適正であるか検定を行った。

【結果/考察】 570 検体中, 238 検体は Ambiguity がなくアレルが決定し, 残り 328 検体は Ambiguity が存在した。また, New アレルを 4 検体検出した。日本人に多いとされる HLA-C 座アレルから 16 種類が確認され, これらの遺伝子頻度分布は適正であった。

現在, Ambiguity 判定についてハプロイド DNA 自動化抽出 (キアゲン社 HaploPrep) で得た試料を用いて解析中である。今後, 骨髄バンクドナー登録時検査に HLA-C 座が導入され, データが蓄積された段階で A, B, DRB1 と同様に公開を予定している。

P-17

Luminex-Beads 法による抗体検査: PRA 法と Single Antigen beads 法の比較

○ 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, 河賀 泰子, 西川 美年子, 赤座 達也, 佐治 博夫
特定非営利活動法人 HLA 研究所

【はじめに】 今日, 造血幹細胞移植や臓器移植, 血小板輸血で HLA 抗体検査が必須となっている。現在, 高感度な抗体スクリーニング法は Luminex または Flow PRA 法, 特異性の同定には Single antigen beads 法が一般的な方法として実施されている。しかし抗体検査の cut off 値の統一基準はなく, スクリーニングや同定キットに対する評価もほとんどなされていない。我々は同一多数検体による各キットの有用性を比較し, 最適な抗体スクリーニング・同定法の検討をした。

【材料・方法】 材料: JSHI 抗体 QC 検体および非血縁者間造血間細胞移植後検体の 312 検体

方法: Luminex 法 (LABScreen PRA, LABScreen Single Antigen)

解析方法: モノクローナル (Mo) 抗体 (w6/32, IVA12) の蛍光値 (IFI) を beads 上の HLA 抗原量と推定し, 検体の IFI を Mo 抗体の IFI で割り反応 % とした。PRA では 2% を, Single beads 法は 10%, 30% を cut off 値とした。

【結果・考察】

Class I (N = 312)		Single Antigen Beads 法			
		cut off : 10% <		cut off : 30% <	
		+	-	+	-
PRA cut off 2% <	+	49 (83%)	17 (7%)	31 (86%)	35 (13%)
	-	10 (17%)	236 (93%)	5 (14%)	241 (87%)

Class II (N = 312)		Single Antigen Beads 法			
		cut off : 10% <		cut off : 30% <	
		+	-	+	-
PRA cut off 2% <	+	19 (83%)	124 (43%)	11 (79%)	132 (44%)
	-	4 (17%)	165 (57%)	3 (21%)	166 (56%)

HLA-class I 抗体について

・ PRA 法で実施した場合, Single beads 法と比べ, 15% 程

度の false negative が検出された。特異性は HLA-C 抗原に対する抗体で、IFI が 16,000 (80%) 程度の抗体も含まれた。

HLA-class II 抗体について

- ・PRA 法で実施した場合、Single beads 法と比べ、20% 程度の false negative が検出された。特異性は HLA-DQ, DP 抗原に対する抗体で、IFI が 8,000 (45%) 程度の抗体も含まれた。

抗体スクリーニングを PRA 法のみで実施した場合、HLA-C, DQ, DP 抗原に対する抗体を見逃す可能性がある。正確な抗体スクリーニングには Single Antigen beads 法の併用が必要である。

P-18

HLA 抗体検査法の比較—ELISA 法と精製抗原蛍光ビーズ法—

○ 橋本 志歩, 中島 文明, 岡崎 仁, 佐竹 正博, 田所 憲治

日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

【目的】 HLA 抗体検出法には幾つかあり、検出感度や利便性、試薬や機器のコスト等においてそれぞれ特徴がある。そこで、パネル細胞を用意することなく比較的安価で多量検体を処理することが可能な ELISA 法試薬の有用性を、精製抗原蛍光ビーズ法と比較し HLA class I 抗体に関して検討を行った。

【方法】 献血ドナー由来血清 727 検体を対象とした。男性 (M) 549 名で平均年齢 36 歳 (18~64 歳)、女性 (F) 178 名で平均年齢 33 歳 (18~58 歳) である。ELISA 法として AbScreen (AbS) (BIOTEST), 精製抗原蛍光ビーズ法として LABScreen Mixed (Mixed) (One Lambda), 確認検査として LABScreen PRA/Single Antigen (SA) (One Lambda) を使用した。二法の検出感度を比較するため Mixed の Cut off 値を段階的に設定し、リンパ球との反応を LIFT 法/AHG-LCT 法/ICFA 法で確認した。

【結果】 抗体の陽性率は ELISA 法の場合 4.4% (M 3.3%, F 7.8%) であった。精製抗原蛍光ビーズ法では、Mixed の Cut off 10 で 4.5% (M 3.1%, F 8.9%) であった。また、AbS (-) Mixed (+) 検体の 7 割以上が男性由来であり、女性由来の抗体であっても日本人低頻度抗原に対するものが多かった。検体 [AbS (-): Mixed (+): HLA-A2 抗体: SA 蛍光値 11,497] を LIFT 法で確認した結果非特異的な反応を示し、AHG-LCT 法・ICFA 法共に陰性、HLA-A2 (+) リンパ球で血清処理後も SA の蛍光値は 6,654 であった。

【考察】 AbS はヒト細胞由来 HLA 抗原を固相している事から非特異的な反応が抑えられ、検出した抗体は獲得免疫により産生された抗体を主に検出しているのではないかと推測される。一方、検出感度は精製抗原蛍光ビーズ法が遥かに高く、この方法のみで検出可能な抗体も存在する。抗体の検出は一法での判断は困難であり、他方の併用が望ましい。試験者は試験法の特徴を理解し、それぞれの目的に適した方法を選択し使用することが求められる。

P-19

ELISA 法による HLA 抗体検査: LAT-M (One Lambda 社) と AbScreen (Biotest 社) の比較検討

○ 丹羽 操¹⁾, 小原 節子²⁾, 水野 美紀子²⁾, 黒木 聖久²⁾, 片山 昭男³⁾, 植木 常雄³⁾, 長坂 隆治²⁾, 後藤 憲彦²⁾, 渡井 至彦²⁾, 打田 和治²⁾, 岩崎 研太¹⁾, 羽根田 正隆¹⁾, 小林 孝彰¹⁾

1) 名古屋大学医学部免疫機能制御学

2) 名古屋第二赤十字病院

3) 増子記念病院

【目的】 当研究室では腎移植後の慢性抗体関連型拒絶反応の早期発見を目的に年に 1 度, HLA 抗体のスクリーニング検査を ELISA 法にて実施してきた。新規に HLA 抗体 (とくに class II 抗体) が産生され, 長期間検出されると腎機能が悪化することが明らかになった。また, HLA 抗体を陰性化すると腎機能の悪化を阻止することが期待されている。慢性拒絶反応の治療のタイミングを考慮すれば, 移植後 follow up 患者全員の定期的なモニタリング検査が重要となる。そのため, HLA 抗体検査は, 簡便かつ経済的で, ある程度の感度が必要となる。今までは, One Lambda 社の LAT-M で Class I と Class II を検討してきた。今回は, 同一検体を LAT-M および Biotest 社の AbScreen を用いて比較検討した。

【方法】 対象は腎移植後外来通院中の 640 名であり 2008 年 10 月より 3 月までに採取した血清を用いた。LAT-M は用手法にて, AbScreen は全自動の Quick Step により, class I, II 抗体を ELISA リーダーを用いて測定した。

【結果】 Class I II の陽性例 (率) は LAT-M が 11 (1.7%), 32 (5%), AbScreen が 21 (3.3%), 46 (7.2%) であった。一致率は, class I が 97.2%, Class II が 96.1% と極めて良好であった。LAT-M 陽性 AbScreen 陰性は class I 4 例, class II 7 例 LAT-M 陰性 AbScreen 陽性は class I 8 例 class II 14 例であった。また, 血清によっては, 非特異的な結合により偽陽性となる例も存在した。不一致例に対しては Luminex, ELISA による特異性検査を実施する予定である。

【考察】 HLA 抗体検査は, クロスマッチ検査とともに移植前の適応判定には必須の検査であり, 移植後の慢性拒絶反応の早期診断にも有用性が認められている。HLA 抗体検査の特性および経済性を考慮して, 方法を選択すべきである。

P-20

HLA 適合血小板輸血のための Luminex 法 (LABScreen Single Antigen) 蛍光強度の指針

○ 荒木 延夫, 谷口 理香, 馬淵 理
兵庫県赤十字血液センター

【目的】 CREG (cross-reactive groups of HLA antigens) に基づき, ドナー選択を行い, HLA 適合血小板 (PC-HLA) 適合性試験である LCT 法, AHG-LCT 法が陰性の PC-HLA を供給してきた。しかし, PC-HLA の中には, 高感度の HLA 抗体検査法である LABScreen Single Antigen 法 (以下 SA 法) が陽性の症例がある。それらの症例の PC-HLA 輸血効果と SA 法の蛍光強度の関係を HLA visual Software により retrospective に解析し, PC-HLA 輸血のための SA 法の蛍光強度の指針を検討した。なお, HLA visual Software では陽性蛍光強度を 500 以上と規定している。

【方法, 結果】

症例 1. MDS, 男性, HLA-A24, A26, B51, B-, Cw1, Cw10。HLA 抗体特異性は広範囲特異性。B52 を許容抗原に選択し, PC-HLA を 3 回供給したが, 輸血効果は無効であった。SA 法による抗体解析は, B52 を含む広範囲特異性を確認 (B52 の蛍光強度 7,365)。B52(-) の PC-HLA 輸血 2 回は, 有効を示した。しかし, 3 ヶ月後, A31 を有する B51, B- の PC-HLA を 2 回供給したが, 無効となった。SA 法による抗体解析は, A31 の陽性を確認 (蛍光強度 12,589)。患者と完全適合の PC-HLA を 2 回供給したところ, 有効であった。なお, 3 ヶ月前採血検体は A31 に対して陽性 (蛍光強度 3,588) を示していたが, 有効であった。

症例 2. AML, 男性, HLA-A2, A24, B60, B75, Cw4, Cw9。HLA 抗体特異性は広範囲特異性。B35, B48, B61, B62 を許容抗原に選択し, PC-HLA を 6 回及び, AHG-LCT (λ) のみ陽性の PC (B35 のドナー選択) を 1 回の計 7 回供給したところ, 輸血効果はすべて有効であった。しかし, SA 法による抗体解析では B35, B48, B61, B62 を含む広範囲特異性でそれぞれの蛍光強度は 5,966, 5,625, 5,706, 3,760 を示した。

【考察】 SA 法の蛍光強度と輸血効果の解析より不適合抗原の蛍光強度が陽性値を示してもその蛍光強度が 5,000 以下の場合は PC-HLA の輸血効果が有効であることが示唆された。

P-21

HLA 抗体検出における ICFA 法と蛍光ビーズ法の比較検討

○ 高 陽淑¹⁾, 尼岸 悦子¹⁾, 稲葉 洋行¹⁾, 岡 綾子¹⁾,
西海 真弓¹⁾, 谷上 純子¹⁾, 福森 泰雄¹⁾, 吉村 敬
次¹⁾, 中埜 肅¹⁾, 中島 文明²⁾

日本赤十字社 血液事業研究グループ 白血球ワークショップ

1) 大阪府赤十字血液センター

2) 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

【目的】 日本赤十字社血液事業研究グループ白血球ワークショップ (研究グループ) では, HLA 適合血小板 (PC-HLA) 輸血時の高感度な交差試験法として導入予定である ICFA 法の検討を実施している。その中で我々は, HLA 抗体検出における蛍光ビーズ法の蛍光値と ICFA 法での結果について比較検討した。また, PC-HLA 輸血症例については ICFA 法による交差試験を実施し, その結果と抗体特異性検出時の蛍光値の比較, 輸血効果に関して調査した。

【対象】 研究グループで使用した 7 種類の HLA 抗体陽性検体 (共通検体) と PC-HLA 輸血を実施した患者血清およびドナー細胞。

【方法】 共通検体について, 研究グループで実施した ICFA 法による任意の交差試験の結果と, 蛍光ビーズ法である LABScreen Single antigen (One lambda) (以下, S.A.) で得た各々の特異性に対する蛍光値との関連性を解析した。また, PC-HLA 輸血症例について患者血清中の HLA 抗体特異性を S.A. にて検出し, その時の蛍光値と ICFA 法による交差試験の結果および輸血効果を比較した。ただし ICFA 法は Cut off 値 2.0 で判定した。

【結果】 共通検体での結果解析から, HLA 抗体に対する S.A. の蛍光値と ICFA 法の結果の関係は, ① A, B, C, ローカスいずれでも蛍光値が 1,000 以下なら ICFA 法陰性 ② A, B ローカス抗体では, 蛍光値が 1,000~3,000 なら ICFA 法が陽性・陰性と混在し, 3,000 以上なら陽性 ③ C ローカス抗体では蛍光値が 6,000 以上なら ICFA 法陽性であった。また, 輸血症例については S.A. の蛍光値と ICFA 法の結果の関係は同様の傾向を示したが, ICFA 法での交差試験結果が陽性であっても輸血効果を得た例があった。

【考察】 今回の解析では S.A. での蛍光値と ICFA 法の結果が相関していることを認めた。しかし, ICFA 法での交差試験の結果が輸血効果と一致しない例が存在することから, Cut off 値の設定に関しては検討の余地があると考え。

今後も輸血症例における検討を継続し, 蛍光ビーズ法による HLA 抗体特異性検出時に得た蛍光値と ICFA 法による交差試験の結果から, 輸血効果が推測できるような基礎データを集積して行きたいと考える。

P-22

感染を契機に抗体関連拒絶を併発し, graft loss となった一例

○ 錦 建宏¹⁾, 北田 秀久^{1,2)}, 土井 篤¹⁾, 三浦 敬史¹⁾,
栗原 啓¹⁾, 宮本 京子³⁾, 升谷 耕介²⁾, 田中 雅夫¹⁾

1) 九州大学臨床・腫瘍外科

2) 九州大学病院腎疾患治療部

3) 九州大学病遺伝子細胞療法部

症例: 62 歳男性

現病歴: 20 歳後半に IgA 腎症と診断。徐々に腎機能悪化し, 平成 16 年に透析導入。平成 20 年 6 月, 妻をドナーとする血型 B → O の ABO 不適合生体腎移植を施行した。術後経過は良好で, 術後 19 日目に退院となった。術後 96 日目, 39 度台の発熱を認め, 精査加療目的で入院となった。

経過: WBC: 25710/ μ L, CRP: 24, 54 と炎症所見の上昇, 胸腹部 CT で右上肺野にスリガラス陰影, 移植腎足側の液体貯留を認めた。カリニ肺炎を考え, バクタ開始し, 免疫抑制剤を減量, また, 移植腎足側の病変を穿刺したところ膿汁を認め, ドレナージ, 抗生剤の投与を行った。その後, CMV 感染, 薬疹を併発したが, 発熱落ち着き, 炎症所見も軽快しつつあった。術後 119 日目 Cr の上昇 (2.91 mg/dl), 腎生検では間質出血を認める高度な抗体関連拒絶を認めた。 γ グロブリンの投与, 血漿交換を行ったが, Cr はさらに上昇 (7.16 mg/dl) し, 血小板は 1.8 万/ μ L と減少, 救命を考え, 術後 122 日目に graftectomy を行った。

考察: 抗体関連拒絶反応を惹起した原因抗体は, Graftectomy 前後で抗 B 抗体の上昇を認めており, Flowcyto-PRA の動きはなく, 当初, 抗血液型抗体を考えていた。しかし, Graftectomy 9 ヶ月後の Flowcyto-PRA は激しく陽性を示していた。また, 術前の FCXM は強陽性であり, 抗ドナー非 HLA 抗体の可能性も否定できない。臨床経過, flowcyte-PRA の経時的変化など, 文献的考察を加え, 報告する。

P-23

術前ドナー特異的抗 HLA 抗体 (DSA) と慢性抗体関連型拒絶反応 (chronic AMR) との関係について

○ 古澤 美由紀, 石田 英樹, 土岐 大介, 清水 朋一, 白川 浩希, 土屋 朋太, 田邊 一成

東京女子医科大学 泌尿器科

【目的】 Chronic AMR は最新のバンフ分類 (Banff '05) で初めて認定された比較的新しい概念であり, 病理組織学的には慢性拒絶反応のうち傍尿細管毛細血管 (PTC) への C4d の沈着と peritubular capillaritis をその特徴とする拒絶反応である。一方, chronic AMR には C4d 沈着が PTC のみならず, 糸球体毛細血管 (GC) にも認められる症例があることが指摘されているが, これまで, その意義について詳細な検討はなされていない。今回われわれは, Chronic AMR における GC への C4d 沈着が, ドナー特異的 HLA 抗体 (DSA) と関連があるかどうかについて検討した。

【対象と方法】 対象は, 2000 年 1 月から 2006 年 5 月までに東京女子医科大学泌尿器科にて ABO 適合 (不一致を含む) 生体腎移植を施行し, Chronic AMR と診断された 12 例である。腎生検組織における PTC および糸球体への C4d 沈着と糸球体内皮細胞障害の有無について比較検討を行った。

【結果】 Chronic-AMR 12 例中で PTC に C4d 沈着を認めたものは 5 例, GC に C4d 沈着を認めたものは 10 例, PTC および GC ともに C4d 沈着を認めたものは 5 例あった。

【結論】 Chronic AMR において, PTC 同様 GC においても C4d 沈着が認められ, DSA と関連があると思われた。

P-24

HLA 高感作症例の同定: Flow PRA と Luminex の比較検討

○ 土屋 朋大¹⁾, 平井 敏仁¹⁾, 公平 直樹¹⁾, 土岐 大介¹⁾, 時田 大輔¹⁾, 清水 朋一¹⁾, 白川 浩希¹⁾, 尾本 和也²⁾, 石田 英樹¹⁾, 田邊 一成¹⁾

1) 東京女子医科大学 泌尿器科

2) 保健医療公社大久保病院 移植外科

【目的】 ABO 血液型適合生体腎移植においても HLA 高感作状態と考えられる場合には移植前脱感作療法が必要と考えられている。Flow PRA は非特異的に抗 HLA 抗体を検出できるが, Luminex は抗ドナー HLA 特異的抗体: DSA を直接認識することができる。今回我々は, Flow PRA, Luminex のそれぞれの検査が AR 発症をどこまで予測しえたか retrospective に検討した。

【方法】 2000 年から 2008 年に 232 例の ABO 適合生体腎移植が施行された。PRA は, 2004 年までの 134 例 (Group 1: G1) は Flow PRA で 10% 以上の場合を陽性とし, 2005 年以降の 98 例 (Group 2: G2) は Luminex にて DSA (または CREG) が認められた場合を陽性とした。PRA 陽性例は HLA 高感作と考え DFPP または rituximab 投与による術前脱感作療法を施行した。PRA 陰性で脱感作不要とされた際の AR 発症率を両群で比較検討した。

【結果】 PRA 陽性率は G1 28.8%, G2 23.5% であった。PRA 陰性群での AR 発症率は G1 で 48.1%, G2 14.7% ($p < 0.0001$), AMR 発症率は G1 11.5%, G2 0% であった ($p < 0.0001$)。

【考察】 Luminex はより高感度に, より特異的に AR 発症リスクを検知できることが示唆された。

P-25

当科における血縁者間生体腎移植と夫婦間腎移植の比較検討

○ 土屋 朋大¹⁾, 平井 敏仁¹⁾, 公平 直樹¹⁾, 土岐 大介¹⁾, 時田 大輔¹⁾, 清水 朋一¹⁾, 白川 浩希¹⁾, 尾本 和也²⁾, 石田 英樹¹⁾, 田邊 一成¹⁾

1) 東京女子医科大学 泌尿器科

2) 保健医療公社大久保病院 移植外科

【目的】 近年, 夫婦間移植の良好な生着率が報告されているがc未だ急性拒絶反応 (AR) 発症リスクは高いとする報告も認められ, 長期での移植腎機能障害が懸念される。我々は血縁者間移植症例と夫婦間移植症例について比較検討を行った。

【方法】 2000 年より 2008 年までに当科で行われた血縁者間移植 279 例と夫婦間移植 100 例を対象とし, AR 発症頻度について検討した。ABO 不適合移植や DSA 陽性例では術前に DFPP を併用し, 2005 年以降はこれに Rituximab (Rx) を加えた。

【結果】 全期間での AR 発症率は血縁者間, 夫婦間でそれぞれ 22.3% vs 37.0% ($p=0.0155$) で夫婦間移植の AR 発症リスクが高かった。Rx 導入前後で比較すると, 導入前の AR 発生率はそれぞれ 36.6% vs 53.1% ($p=0.019$) であったが, 導入後は 7.0% vs 21.6% ($p=0.0392$) であり, 両群とも著明に改善したが ($P<0.01$), 未だに夫婦間移植の方が高かった。夫婦間移植群を妻から夫への移植群と夫から妻への移植群に分けて検討したが, Rx 導入後には AR 発症率に有意差はなく, 現在のプロトコールでは夫から妻への移植も安全に施行できていた。

【結語】 夫婦間移植は AR 発症率が高かったが, Rx 導入によりそのリスクが有意に抑えられた。

P-26

HLA 抗体陽性ドナーからの生体肝移植検査

○ 小野 智¹⁾, 菊地 正美¹⁾, 菅原 亜紀子¹⁾, 高崎 美苗¹⁾, 川畑 絹代¹⁾, 斎藤 俊一¹⁾, 安田 広康¹⁾, 大戸 齊¹⁾, 齋藤 拓朗²⁾, 後藤 満一²⁾

1) 福島医科大学病院 輸血・移植免疫部

2) 福島医科大学病院 消化器・一般外科

【はじめに】 抗レシピエント HLA 抗体保有ドナーからの生体肝移植を経験した。

【症例】 患者は 1 歳の女兒, 胆道閉鎖症のため母親からの生体肝移植を予定した。HLA は患者 (A24, 31 B51, 71 DR8, -), ドナー (A31, - B51, 62 DR4, 8), ドナーは抗レシピエント HLA 抗体陽性 (抗 HLA-A24 方法: MPHA), リンパ球クロスマッチは主試験陰性, 副試験陽性 (力価: 8 倍, 方法: LCT) であった。

【経過】 移植後は免疫抑制剤 (タクロリムス, ステロイド) を投与。移植後早期の B-GVHD を考慮し, 移植後患者血清と移植前採取患者リンパ球を用いたリンパ球クロスマッチ (方法: AHG-LCT) を移植後 2 週間で計 4 回行った。また, HLA 抗体検査 (方法: AHG-LCT, MPHA) を移植後 2 週間毎に 1 回行ったが, いずれも陰性であった。移植後 84 日目で退院。

【考察】 生体肝移植では HLA ホモ接合ドナーとハプロタイプを共有するヘテロ接合レシピエント間で, GVHD の発生率が高いと報告されている。本症例は抗レシピエント HLA 抗体保有ドナーからの移植のため, 移植後早期の B-GVHD の発生が危惧されたが, 検査および臨床症状から B-GVHD と思われる所見は認めなかった。B-GVHD に発展しなかった理由は不明である。ドナー HLA のホモ接合体が 1 locus のみであったこととの関連も不明である。

【結語】 リンパ球クロスマッチ副試験陽性症例では, 移植後 HLA 抗体検査のフォローアップが必要と考えられた。

P-27

非血縁者間臍帯血移植における ICFA 法を用いた HLA 交差適合試験の検討

○ 藤原 孝記¹⁾, 柏瀬 貢一¹⁾, 内川 誠¹⁾, 高梨 美乃子¹⁾, 佐竹 正博^{2, 3)}, 中島 一格¹⁾

- 1) 東京都赤十字血液センター
- 2) 日本赤十字社中央血液研究所
- 3) 東京都西赤十字血液センター

【目的】 非血縁者間臍帯血移植ではその多くが HLA 不一致移植であり、骨髓移植と比較すると生着不全の危険性が高いとされている。昨年、本学会にて我々は、患者が HLA 抗体を保有し、その抗体が臍帯血の HLA 不一致抗原に反応する場合、生着不全を起こす可能性が高いことを報告した。より安全な臍帯血移植を行なうためには、移植前の HLA 抗体検査と共に HLA 交差適合試験を行う必要性が示唆される。今回、患者血清と検査用に保存されている臍帯血による HLA 交差適合試験について Immunocomplex capture fluorescence analysis (ICFA 法) を用いた検討を行った。

【方法】 検出する抗体のエピトープに対する各モノクローナル抗体 (HLA クラス I: w6/32, HLA クラス II: wR18,) および、ヒト IgG, BSA を結合させた 4 種類の蛍光ビーズを作製した。

パネル細胞として、生細胞数・CD34 陽性細胞数測定用に保存されている臍帯血を用いた。

96 プレートに臍帯血 5×10^5 個を加え、溶血・洗浄後、特異性既知の血清を $20 \mu\text{L}$ ずつ加えて 37°C , 30 分反応。洗浄後、lysis buffer にて可溶化し、蛍光ビーズを加えて室温で振盪しながら 20 分反応。遠心して上清を除去し、PE-抗ヒト IgG を加えて室温で振盪しながら 10 分反応。洗浄後、Luminex にて蛍光強度を測定して抗原抗体複合物を検出した。

【結果】 使用した血清と臍帯血が反応している場合、特異性に対応する抗原が結合するビーズに高い蛍光強度が認められた。検出感度は HLA クラス I・II 共に従来の間接蛍光抗体法より高く、非特異的な反応も認められなかった。また、臍帯血の生存率による影響を受けることなく解凍後、 4°C 保存で 2 週間後も交差適合試験に用いることが可能であった。

【考察】 ICFA 法を用いた HLA クラス I・II 抗体検査法は、検出感度、迅速性、全ての工程をプレートで行う操作性、判定の客観性などの点で有用な方法であった。検査用保存臍帯血を用いて検査が可能であることにより、臍帯血移植における HLA 交差適合試験に応用可能な方法と考えられる。

P-28

霊長類 SIV 感染を制御する TRIM5-alpha 遺伝子とヒト HIV 感染感受性・抵抗性との関連

○ 中島 敏晶^{1, 2)}, 中山 英美³⁾, Gurvinder Kaur⁴⁾, 三間 純一⁵⁾, 照沼 裕⁶⁾, 大谷 仁志¹⁾, Narinder Mehra⁴⁾, 塩田 達雄³⁾, 木村 彰方^{1, 2)}

- 1) 東京医科歯科大学 疾患生命科学研究部
- 2) 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態
- 3) 大阪大学 微生物病研究所 ウイルス感染制御分野
- 4) Department of Transplant Immunology and Immunogenetics, All India Institute of Medical Sciences
- 5) 静岡県立こども病院
- 6) 日本バイオセラピー研究所

【目的】 HIV-1 感染に対する防御機構として宿主細胞は免疫システム以外の多様な戦略を発達させている。TRIM5 α の抗ウイルス作用もそのひとつであり、霊長類 HIV-1 感染感受性の違いを決定する因子として知られている。本研究は TRIM5 α 多型と HIV 感染感受性の関わりについて明らかにすることを目的とする。

【方法】 日本人集団 (血友病 HIV 感染者 94 名, 一般健康者 487 名), インド人集団 (HIV 感染者 101 名, 一般健康者 99 名) を対象とする。PCR 直接シーケンス法により TRIM5 α exon 2 の塩基配列を決定し、TRIM5 α 多型と HIV 感染感受性との関わりについて検討する。また、同定された新規遺伝子多型 G110R および G176del の抗 HIV 活性を、変異型 TRIM5 α を発現させた MT4 および CEM-SS 細胞に HIV-1 NL43 株および HIV-2 GH123 株を感染させ、その感染抑制効果により検討した。

【結果】 HIV 感染感受性への関わりが報告されている H43Y 多型は、HIV-1 感染群において 43Y アリル頻度の低い傾向が、日本人 (OR=0.67, 95% CI; 0.43-1.05, P=0.095) およびインド人集団 (OR=0.52, 95% CI; 0.31-0.89, P=0.015) で認められた。また、新規多型 G110R および G176del について抗 HIV 活性を検討した結果、G110R は野生型に比べ抗 HIV-1 および抗 HIV-2 活性が低下していることが示された。一方、G176del は、共発現させた野生型 TRIM5 α の抗 HIV-1 活性を低下させることが示された。

【考察】 TRIM5 α 多型と HIV 感染感受性の関わりが示唆された。集団における頻度の高い H43Y 多型の関与に加え、頻度の低い 2 つの新規多型の関わりを明らかにした。疾患感受性遺伝子の解明には頻度の低い遺伝子多型も考慮する必要があると考えられる。

P-29

炎症関連遺伝子多型および原爆放射線被曝が結腸・直腸発がんリスクに及ぼす影響

○ 林 奉権¹⁾, 森下 ゆかり¹⁾, 長村 浩子¹⁾, 牧 真弓¹⁾, 林 幾江²⁾, 吉田 健吾¹⁾, 楠 洋一郎¹⁾, 中地 敬¹⁾

- 1) 放射線影響研究所・放射線生物学 / 分子疫学部
2) 広島大学・歯学部中央研究室

【目的】 原爆放射線への被曝は生存者の健康に長期的な影響を及ぼし、被曝線量の増加に伴いがんをはじめとする炎症関連疾患のリスクの上昇が観察されている。我々はこれまでに原爆放射線に関連した免疫機能の低下と炎症の亢進を見出し、被曝者におけるがん及びがん以外の疾患の発生にこの炎症の亢進が関与している可能性を報告してきた。本研究では、原爆被曝者コーホート内における症例対照研究により、放射線関連結腸・直腸発がんにおける炎症関連サイトカイン遺伝子多型の関与を検討した。

【方法】 放射線影響研究所の成人健康調査コーホートにおいて、1982年以降に大腸がん罹患した210症例（近位結腸70、遠位結腸88、直腸45、不明・境界7）とがんに罹っていないコーホートメンバーから対照群843名を無作為に選び、結腸および直腸がんのそれぞれについて放射線被曝および炎症関連遺伝子多型と発がんリスクの関係を検討した。炎症関連遺伝子（*IL1B*, *IL6*, *IL10*, *IL18*, *TNF* および *IFNG*）の多型部位の情報はデータベース検索で入手し、それらの遺伝子型はTaqMan 5' スクレアーゼ法により決定した。

【結果・考察】 *IL18* 遺伝子座ではプロモーター領域に存在する二つのhtSNPで形成される一つのハプロタイプブロック（*IL18-AT*と*IL18-CG*からなる二つの主要対立遺伝子）を同定した。重回帰モデルにより解析した結果、放射線によるリスクの増加は、結腸がんでは有意であったが（OR=1.33/Gy, 95% CI: 1.10-1.60）、直腸がんでは有意でなかった。*IL18*ハプロタイプ（*IL18-AT/AT*または*IL18-AT/CG* vs. *IL18-CG/CG*）の2カテゴリーと被曝線量の3カテゴリーを組み合わせ、対象者を6グループに分けたところ、*IL18-AT/AT*または*IL18-AT/CG*を持つ非被曝者に比べて、最も高い被曝線量カテゴリー（ ≥ 0.7 Gy）で*IL18-CG/CG*ホモ接合体を持つ被曝者の結腸発がんリスクが有意に増加していた（OR=3.58, 95% CI: 1.81-7.10）。この結果から、原爆被曝者の結腸発がんリスクは*IL18*ハプロタイプと被曝放射線量の双方に依存すると考えられた。今後、さらに結腸亜部位およびマイクロサテライト不安定性（染色体不安定性）を考慮して、結腸がんと放射線被曝との関係を調べる予定である。

P-30

固形癌患者におけるHLA アリルホモ接合頻度の検討

○ 佐藤 蘭子¹⁾, 佐藤 壯¹⁾, 小林 良二²⁾, 小笠原 正浩³⁾, 笠井 正晴³⁾

- 1) 特定医療法人北楡会札幌北楡病院・臨床検査科
2) 同・小児科
3) 同・血液内科

【目的】 当院は昨年12月に免疫細胞療法センターを開設、主に末期固形癌患者に対する免疫細胞療法を開始した。それに伴い、HLA-A*2402 および 0201 拘束性である WT1 ペプチドを用いた樹状細胞ワクチン療法の適応可否を検討するため、当科で患者のHLAタイピングを実施している。検査結果を集計したところ、対象患者にHLAアリルのホモ接合が目立つことからHLAアリルホモ接合頻度について健常者と比較、検討したので報告する。

【対象と方法】 対象は免疫細胞療法センターを受診しHLAタイピングを行った固形癌患者77人と健常者群として2000年以降に当院でHLAタイピングを行った患者家族520人。HLAタイピングにはマイクロSSP-JPN (ONE LAMBDA) を、統計学的解析にはDr. SPS IIを使用した。

【結果】 A, B, DR 各ローカスのホモ接合頻度は、固形癌患者で22.1%, 2.6%, 9.1% に対して健常者で18.1%, 4.6%, 11.0% とAローカスにおいてわずかに有意差を認めるのみであった。A, B, DR 各ローカスのうちいずれか2つのホモ接合頻度においても有意差は認められなかった。唯一、A, B, DR 全てのローカスがホモ接合の場合、すなわち同じハプロタイプのホモ接合だと頻度は固形癌患者で3.9%, 健常者で1.0%, $P=0.072$ となり有意差を認めた。

【考察】 同じハプロタイプのホモ接合が固形癌発症の危険因子となりうる可能性が示唆された。今後は例数を増やすとともに、タイピングの精度を4桁レベルに高めてさらに検討していきたい。

P-31

皮膚免疫に重要な役割を果たすと推定される新しいMHC クラスI様分子の解析

○ 吉田 繁^{1,2)}, 富居 一範¹⁾, 梶川 瑞穂³⁾, 近藤 瑞穂¹⁾, 大塚 紀幸¹⁾, 前仲 勝実⁴⁾, 笠原 正典¹⁾

- 1) 北海道大学大学院医学研究科分子病理学分野
- 2) 北海道大学大学院保健科学研究院
- 3) 理化学研究所 免疫・アレルギー科学総合研究センター
- 4) 九州大学生体防御医学研究所

【目的】 NK細胞の活性化受容体であるNKG2Dは感染や腫瘍化などのストレスによって発現誘導された自己分子(NKG2Dリガンド)と結合し, NK細胞による感染細胞, 腫瘍細胞の破壊をもたらす。ヒトNKG2DリガンドにはMICA/B, ULBP1-5, RAET1L, マウスではRae1 α - ϵ , H60a-c, MULT1が知られており, いずれも α 1,2または3ドメイン構造を有するMHCクラスI様分子である。H60cは, 最近われわれが同定した皮膚で優位な発現を示すマウスのNKG2Dリガンドである。本研究ではH60cの生化学的解析と皮膚免疫における役割を検討した。

【方法】 リコンビナントH60c蛋白とH60c強制発現細胞を還元, 非還元状態でSDS-PAGE, ウェスタンブロッティングをおこなった。C57BL/6マウスの皮膚と分離培養ケラチノサイトでのH60c発現をRT-PCR, FACS, 免疫染色にて確認した。二段階発癌でマウス皮膚に形成した腫瘍組織のH60c発現を免疫染色にて確認した。

【結果】 H60cはダイマーを形成するクラスI様分子であった。皮膚ケラチノサイトでH60c遺伝子と蛋白の発現が確認された。抗癌剤で刺激培養したケラチノサイトではH60c蛋白の発現誘導は見られなかった。二段階発癌により形成されたパピローマ組織の一部にH60cを発現すると思われる細胞が確認された。

【考察】 H60cはケラチノサイトに発現することから皮膚免疫に関わるNKG2Dリガンドであると推測された。最近H60cがマウス皮膚に常在するDETCs (dendritic epidermal T cells) の活性化に関わることが報告された。生体内においてもH60cはDETCsを活性化し, 皮膚における主要なNKG2Dリガンドとして機能していることが推測される。今後, H60cの皮膚腫瘍免疫, 感染免疫, ならびに炎症性疾患発症における役割を解析する予定である。

P-32

ガーナ民族集団に見いだされた新しい低親和性IgG受容体Fc γ R1aバリエーション

○ 安波 道郎¹⁾, 山崎 朗子¹⁾, アマディン・ハッサン・オマール¹⁾, ギデオ・ヘレシベ¹⁾, マイケル・オフォリ²⁾, バルトロメオ・アカモリ²⁾, 堀江 仁美¹⁾, 柴田 宏樹¹⁾, 菊池 三穂子¹⁾, 平山 謙二¹⁾

- 1) 長崎大学 熱帯医学研究所
- 2) ガーナ大学 野口記念医学研究所

【目的】 熱帯熱マラリアは年間200万余りの死亡原因であり, 人類にとって最大の生命の脅威となっている。ヘモグロビン異常症や赤血球膜異常, 酵素異常等, 本来生存には不利な遺伝子型がマラリア感染抵抗性をもたらすことで民族集団内でバランスをとって, ある程度の頻度で見いだされる。既報のもの以外にもマラリア感染抵抗性をもたらすゲノム多様性は数多く存在すると想定され, その発見は病態成立についての理解を深めるものと考えられる。本研究では, ガーナの首都Accra市近郊Dangme西地区における学童を対象としたマラリア原虫感染および発症状況把握を目的とするコホート研究を計画し, 当該集団におけるゲノム多様性を解析して感染・発症の宿主要因の探索を試みた。その一部として, 免疫複合体のクリアランスを担う細胞のオプソニン受容体として機能する低親和性IgG受容体Fc γ R1a遺伝子FCGR2Aの多型解析を行なった。

【方法】 2007年6月に5歳から15歳の学童429名より採血・採尿し, 以後マラリアの年次流行が一旦終結する2008年4月まで経時的に熱性疾患の発症を観察した。末梢血ゲノムDNAを調製後, FCGR2A遺伝子exon 4を含む領域をPCRで増幅の後にsequencingにより遺伝子型を決定した。

【結果】 細胞外ドメインに位置する131番目のアミノ酸残基がHisであるアリル(131H)とArgであるアリル(131R)の産物ではIgGサブクラスへの結合能が大きく異なっていることが知られているが, 本追跡集団で遺伝子型と発熱の間に関連は見られなかった。遺伝子型決定に際して, 細胞外ドメインに1アミノ酸残基の挿入のある未報告のバリエーションを見いだした(ヘテロ接合体17%)。

【考察】 新規バリエーションの保因者に特別な症状はみられなかったが, ホモ接合体は集団に見られず, 何らかの表現型を示す可能性が残された。

第18回日本組織適合性学会大会
協賛企業一覧

本大会開催に際し、企業展示、協賛金のご寄付を頂きました企業各社に対し、厚く御礼申し上げます。

アステラス製薬株式会社
株式会社医学生物学研究所
株式会社エスアールエル
株式会社キアゲン
サーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社
中外製薬株式会社
ノバルティスファーマ株式会社
バイオテスト株式会社
株式会社ベリタス
株式会社リプロセル
湧永製薬株式会社

(50音順, 2009年7月17日現在)