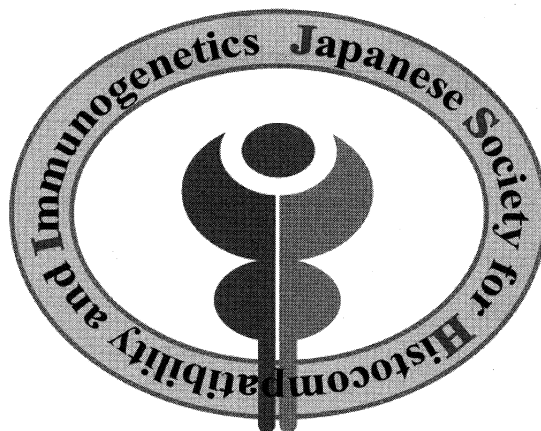


第20回 日本組織適合性学会大会

The 20th Annual Meeting of the Japanese Society for
Histocompatibility and Immunogenetics

MHC研究の将来を考える
—進化から臨床まで—



<http://www.aeplan.co.jp/hla2011/>

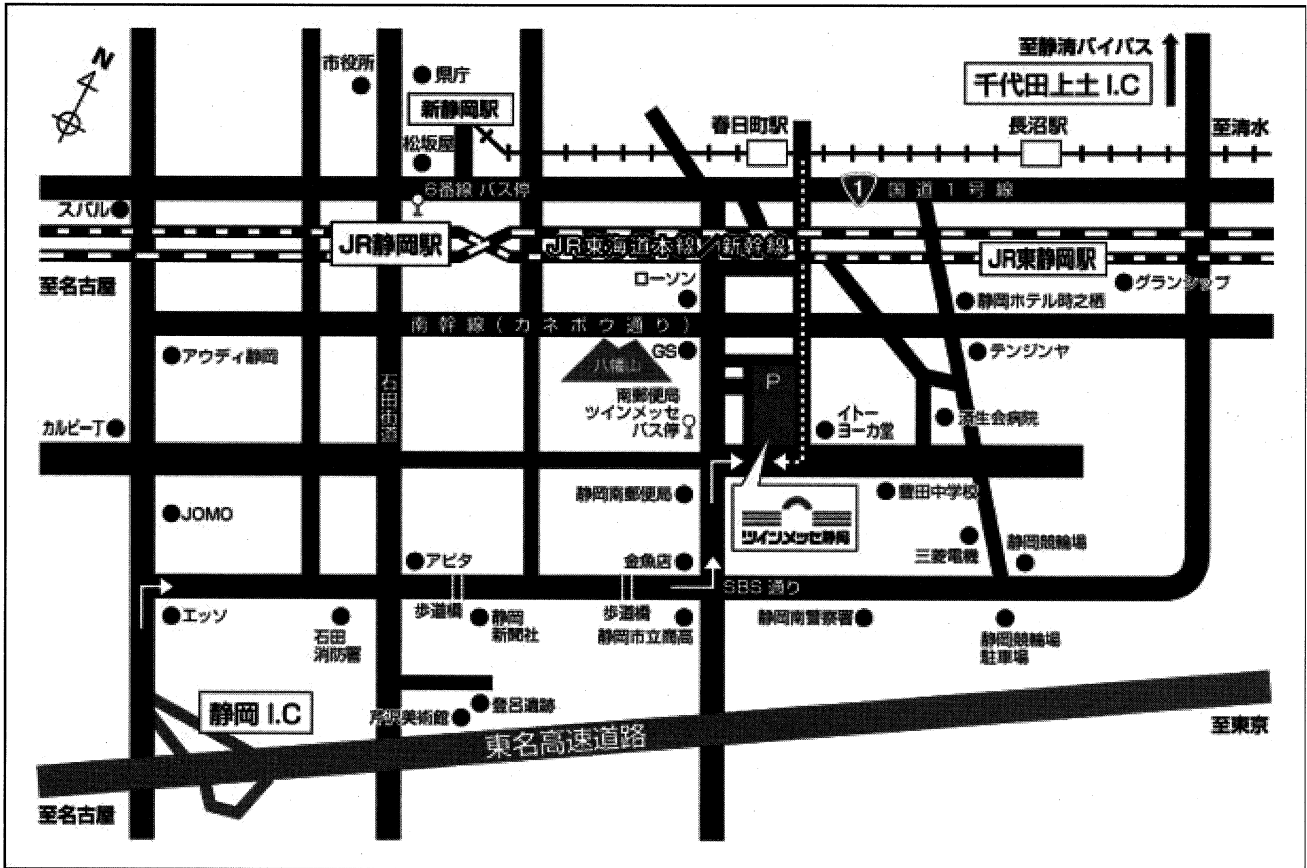
大会長 五條掘 孝 (国立遺伝学研究所 副所長)

会 期 2011年8月28日(日)～30日(火)

会 場 ツインメッセ静岡 北館および中央棟

〒422-8006 静岡県静岡市駿河区曲金3-1-10

会場案内図



〒422-8006 静岡市駿河区曲金3丁目1番10号

TEL. 054-285-3111 FAX. 054-283-4004

●バス

JR静岡駅北口6番乗り場から「登呂コープタウン行き」約10分
「南郵便局ツインメッセ前」下車

●タクシー

JR静岡駅南口から約7分

●静鉄電車

春日町駅下車、徒歩約12分

●東名高速道路

静岡インターから車で約15分

●ツインメッセ駐車場(有料)

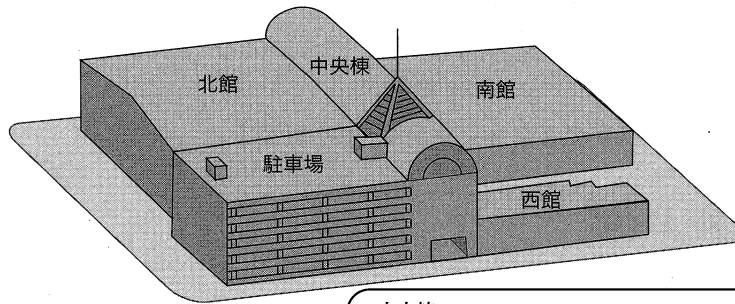
30分ごと100円

立体駐車場 2階から屋上まで 車高2.1m 全幅 1.8m 全長4.7m

1階大型車両専用 車高2.6m 全幅 1.8m 全長4.7m

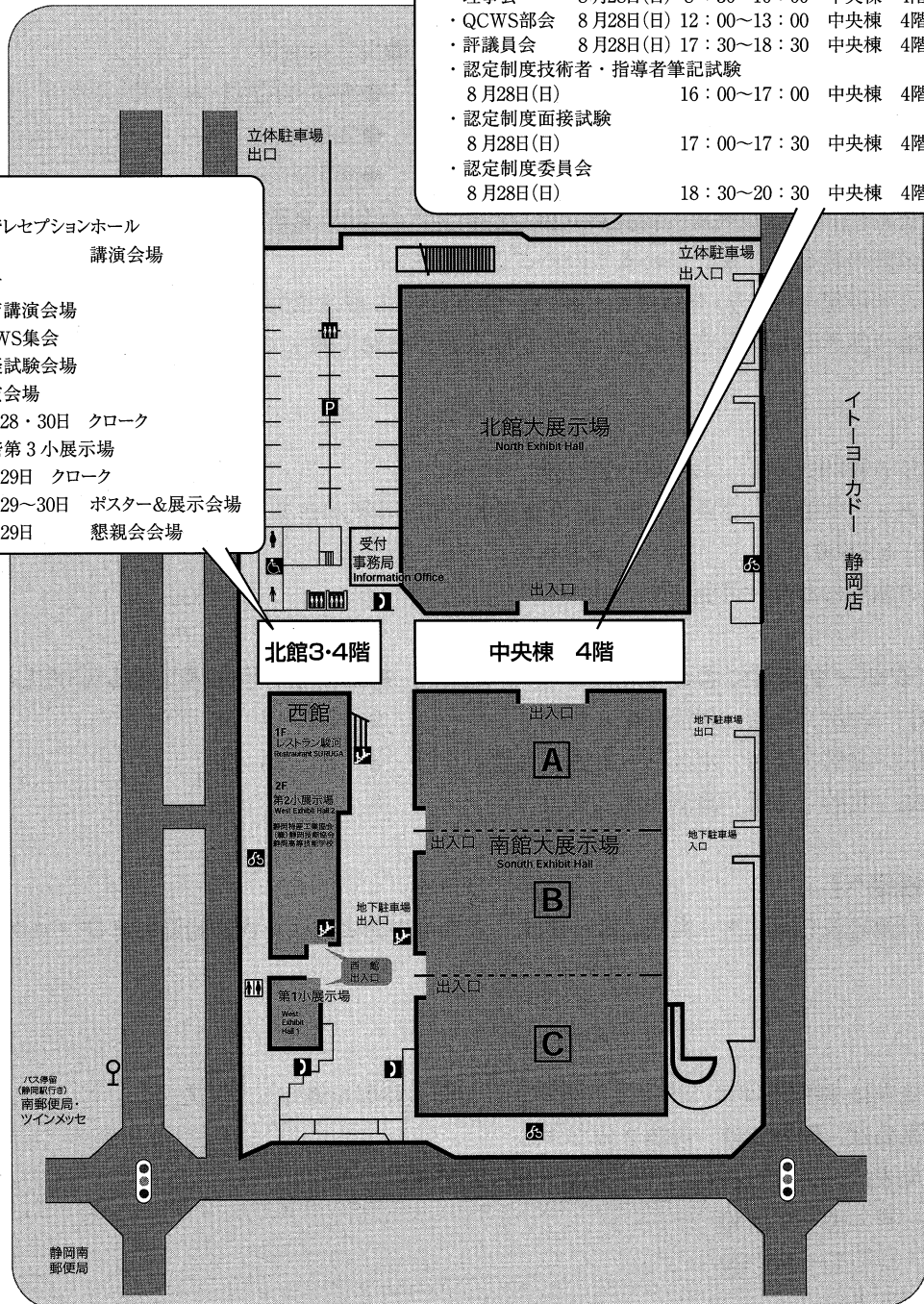
車高を落とした車(ローダウン車)は、車体をこする恐れがありますのでご注意ください。

会場案内



中央棟			
・理事会	8月28日(日) 8:30~10:00	中央棟 4階	409
・QCWS部会	8月28日(日) 12:00~13:00	中央棟 4階	409
・評議員会	8月28日(日) 17:30~18:30	中央棟 4階	409
・認定制度技術者・指導者筆記試験	8月28日(日) 16:00~17:00	中央棟 4階	407
・認定制度面接試験	8月28日(日) 17:00~17:30	中央棟 4階	407
・認定制度委員会	8月28日(日) 18:30~20:30	中央棟 4階	407

- 北館**
- ・4階レセプションホール
講演会場
 - ・受付
 - ・教育講演会場
 - ・QCWS集会
 - ・模擬試験会場
 - ・講演会場
 - 8月28・30日 クローク
 - ・3階第3小展示場
 - 8月29日 クローク
 - 8月29~30日 ポスター&展示会場
 - 8月29日 懇親会会場



イトーヨーカドー 静岡店

JICA静岡
(静岡駅行)
南郷便所・
ツインメッセ

静岡南
郵便局

ご案内

【学会・懇親会参加の皆様へ】

1. 参加登録

- 1) 総合受付は北館4階講演会場(レセプションホール)入り口です。
- 2) 受付時間
 - ◆ 8月28日(日) 9:30~17:00
 - ◆ 8月29日(月) 8:30~17:00
 - ◆ 8月30日(火) 8:30~14:30
- 3) 参加費

<ul style="list-style-type: none"> ● 事前参加費 (2011年7月28日まで) ◆ 理事・評議員・非会員…………… ¥10,000 ◆ 会員…………… ¥8,000 ◆ 学生…………… ¥5,000 	<ul style="list-style-type: none"> ● 当日参加費 ◆ 理事・評議員・非会員…………… ¥12,000 ◆ 会員…………… ¥10,000 ◆ 学生…………… ¥6,000
---	---
- 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下さい。
- 5) 学会にはこの抄録号(本号)をお持ち下さい。学会期間中、総合受付にて一部¥2,000で販売もいたします。
- 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に関しては大会会場では行なっておりません。

2. 懇親会

日 時：2011年8月29日(月) 19:00~20:30
 会 場：ツインメッセ静岡 3階「第3小展示場」(ポスター&展示会場)
 参加費：一般 ¥5,000 学生 ¥3,000
 当日の参加もお受け可能です。

3. クローク(クロークは日によって場所が変わります。毎日荷物の回収をお願いいたします。)

8月28日(日): 北館 4階 講演会場入り口	9:30~17:30
29日(月): 北館 3階 ポスター&展示会場入り口	8:30~20:30
30日(火): 北館 4階 講演会場入り口	8:30~16:15

【一般演者の皆様へ】

一般発表は口頭発表とポスター発表となります。ご自身の発表方法を採択通知およびプログラムにてご確認下さい。

1. 発表時間

- 1) 一般口頭発表は 指定時間は、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2分**です。
- 3) ポスター発表は、8月29日(月) 17:00~18:20です。
 - 奇数番号 17:00~17:40
 - 偶数番号 17:40~18:20
 となっております。

2. 口演発表

- 1) 発表の形式は全てPCプロジェクターを使用するため、発表者ご自身のノートパソコンをご持参いただきますようお願い申し上げます。
尚、事務局側ではバックアップ用にノートパソコンWindows XP(PowerPoint2003)をご用意しております。
ご持参いただくPCについては、以下をご確認ください。
 - ①スクリーンセーバー、省電力設定・パスワード等は必ず解除してください。
 - ②会場には電源をご用意しますので、電源アダプターを必ずお持ちください。
 - ③会場の液晶プロジェクターとご持参いただくノートパソコンとの接続は、ミニD-Sub15ピンケーブルでの接続となります。一部の機種では、ミニD-Sub15ピンケーブルとの接続に、パソコンの付属品のアダプターが必要となる場合がありますので、忘れずにご持参ください。
特にMacintoshをご使用の方は、プロジェクター接続のアダプターを必ずお持ち下さい。
 - ④画面の解像度は1024×768ピクセル(XGA)となります。このサイズより大きい場合は、スライドが切れてしまいます。
- 2) 発表15分前までに講演会場 前方の「PC接続席」までPCをご持参下さい。

3. ポスター発表

- 1) 会場は北館3階(第3小展示場)です。
- 2) ポスター発表者用のリボンをポスター掲示用のピンの容器の中に入れて起きますので、必ずご着用御願いたします
- 3) 演題番号は事務局にてご掲示します。
- 4) 演題名、所属、氏名は演者ご自身でご用意下さい。(タテ20cm ヨコ70cm)
- 5) ポスターパネルのサイズは、タテ180cm ヨコ90cmです。
- 6) 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。
- 7) ポスター貼付・撤去は、下記時間内をお願いいたします。
ポスター掲示用ピンと一緒に演者用リボンをご用意しておりますので、発表時にご着用下さい。
また、所定時間内に撤去されていないポスターは大会事務局にて処分させていただきます。ご了承下さい。
- ◆ポスター貼付：8月29日(月) 9:00～
- ◆ポスター撤去：8月30日(火) 15:10
- 8) ポスター発表は8月29日(月) 17:00～18:20に行ないます。

奇数番号 17:00～17:40

偶数番号 17:40～18:20

にポスター発表をお願いいたします。

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・質疑応答を行なってください。

座長の指示に従い、時間厳守をお願いいたします。

【一般口頭発表座長の皆様へ】

1. 発表時間

- 1) 一般口演発表は、発表 8分、討論 2分です。

2. 口演発表

- 1) ご担当のセッション開始15分前までに講演会場 前方の「次座長席」にご着席下さい。

【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ないます。

【シンポジウム演者の皆様へ】

1. 発表時間

- 1) シンポジウム発表は指定日時時間は、座長より指定された発表時間を厳守してください。

2. シンポジウム発表

- 1) 発表の形式は全てPCプロジェクターを使用するため、発表者ご自身のノートパソコンをご持参いただきますようお願い申し上げます。

尚、事務局側ではバックアップ用にノートパソコンWindows XP(PowerPoint2003)をご用意しております。

ご持参いただくPCについては、以下をご確認ください。

- ①スクリーンセーバー、省電力設定・パスワード等は必ず解除してください。
- ②会場には電源をご用意しますので、電源アダプターを必ずお持ちください。
- ③会場の液晶プロジェクターとご持参いただくノートパソコンとの接続は、ミニD-Sub15ピンケーブルでの接続となります。一部の機種では、ミニD-Sub15ピンケーブルとの接続に、パソコンの付属品のアダプターが必要となる場合がありますので、忘れずにご持参ください。

特にMacintoshをご使用の方は、プロジェクター接続のアダプターを必ずお持ち下さい。

- ④画面の解像度は1024×768ピクセル(XGA)となります。このサイズより大きい場合は、スライドが切れてしまいます。

- 2) 発表15分前までに講演会場 前方の「PC接続席」までPCをご持参下さい。

【シンポジウム座長の皆様へ】

1. 発表時間

- 1) 指定演題の発表時間は座長に一任いたします。
- 2) ご担当のセッション開始15分前までに講演会場 前方の「次座長席」にご着席下さい。

【教育講演】(認定HLA技術者講習会)

日 時：8月28日(日) 10:00~12:00

会 場：北館4階 講演会場(レセプションホール)

テキスト：テキストは、学会ホームページ上に掲載されています。会場でのテキストの販売はいたしませんので、必要に応じて印刷し、ご持参下さい。

受講証明書：認定制度に関わる受講証明用紙は、会場入口の受付にて受講者1人につき1枚を発行いたします。各自で所属、氏名を記入後、講習会終了時に回収いたします。途中退出、中途入場の場合は証明できませんので、ご注意ください。

- 内 容：1. 非古典的MHCクラスI分子の多様な機能
笠原 正典(北海道大学 大学院医学研究科 分子病理学分野)
2. 臓器移植でのHLA検査の現状と問題点
橋口 裕樹(福岡赤十字病院 検査部 HLA検査室)
3. iPS細胞バンク構想におけるHLAタイピング
木村 貴文(京都大学 iPS細胞研究所 規制科学部門)

従来のように事前登録を、していただく必要はありません。また大会参加者の皆様方には、自由に御聴講いただけます。

【QCWS集会】

日 時：8月28日(日) 13:00~16:00

会 場：北館4階 講演会場(レセプションホール)

参加費：無 料(集会参加には学会参加証が必要になります)

QCWS参加証明書の発行が必要な方は、7月29日(金)までにQCWS集会参加(参加証明書発行)の申し込み(参加費：2,000円)を事前にQCWS事務局までお申し込み下さい。

QCWS参加証は、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。

事前に申し込みされていない場合には、QCWS参加証明書を発行できない場合があります。

内 容：1、**タイピング結果解析** 進行：成瀬 妙子

- Luminex (SSO)法 石井 博之(大阪府血液センター)
- SBT法 吉川 枝里(東海大学 医学部)
- DNA検査法解析(Luminex、SBT以外) 安尾美年子(東京女子医大)
- 結果の表記法 橋口 裕樹(福岡赤十字病院)

2、**抗体検査結果解析** 進行：中島 文明

- FlowPRA法の検査状況の解析 石塚 敏(東京女子医大)
- Lab Screenによる抗体検査 宮崎 孔(北海道血液センター)
- WAK FlowおよびICFA法による抗体検査 平田 康司(岡山県血液センター)
- その他検査法およびクロスマッチ 中島 文明(中央血液研究所)

3、**部門別解析及び結果評価** 進行：田中 秀則

- DNAタイピング 田中 秀則(中央血液研究所)
- 抗体検査 高 陽淑(大阪府血液センター)

【認定制度技術者・指導者筆記試験】

日 時：8月28日(日) 16:00~17:00

会 場：中央棟 4階 407

【認定制度模擬試験】

日 時：8月28日(日) 16:00~17:00

会 場：北館4階 講演会場(レセプションホール)

【認定制度面接試験】

日 時：8月28日(日) 17:00~17:30

会 場：中央棟 4階 407

【認定制度指導者講習会】

第20回日本組織適合性学会大会中の下記、Plenary Lecture 3企画の内から1企画以上、ならびにシンポジウムⅠ~Ⅳおよび教育講演の5企画の内から3企画以上、合計4企画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。

1. 教育講演(認定HLA技術者講習会): 8月28日(日) 10:00~12:00
 1. 「非古典的MHCクラスI分子の多様な機能」 笠原 正典
 2. 「臓器移植でのHLA検査の現状と問題点」 橋口 裕樹
 3. 「iPS細胞バンク構想におけるHLAタイピング」 木村 貴文
2. Plenary Lecture-1: 8月29日(月) 9:00~9:35
「HLA研究への期待」 笹月 健彦
3. シンポジウムⅠ: 8月29日(月) 9:35~11:20
「MHCからみた種内多様性と進化」 佐藤 秋絵、野中 勝、椎名 隆
4. シンポジウムⅡ: 8月29日(月) 13:00~14:45
「ゲノム科学から切り拓く新時代のライフサイエンス」 颯田 葉子、小川 誠司、猪子 英俊
5. Plenary Lecture-2: 8月30日(火) 9:00~9:50
“A 100 year history of the humoral theory of transplantation.”
Paul Terasaki (University of California, Los Angeles)
6. Plenary Lecture-3: 8月30日(火) 9:50~10:25
“The era of next-generation sequencing: from HLA typing to better understanding of Host/Viral Interactions”
Silvana Gaudieri (University of Western Australia)
7. シンポジウムⅢ: 8月30日(火) 10:25~12:10
「MHCを見据えた臨床医学」 滝口 雅文、木村 彰方、太田 正穂
8. シンポジウムⅣ: 8月30日(火) 13:15~15:00
「HLAと創薬」 秋山 靖人、鎌谷 直之、平山 令明

【認定書授与の案内】

認定試験合格者及び更新者は、8月28日(日) 20:30頃～8月30日(火) 15:00に講演会場受付付近の掲示板上に貼り出します。また認定証の授与は、8月29日(日)12:00～13:00に大会事務局(北館4階 レセプションホール控室)で授与いたします。

【会議等日程】

1. 理事会 8月28日(日) 8:30～10:00
 中央棟 4階 409
2. QCWS部会 8月28日(日) 12:00～13:00
 中央棟 4階 409
3. 評議員会 8月28日(日) 17:30～18:30
 中央棟 4階 409
4. 認定制度委員会 8月28日(日) 18:30～20:30
 中央棟 4階 409
5. 総 会 8月29日(月) 11:20～12:00
 北館4階 講演会場(レセプションホール)

第20回日本組織適合性学会大会 日程表

8月28日(日)【第1日目】

会場	部 屋	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	北館4階 レセプションホール			開場	教育講演 10:00~12:00			QCWS集会 13:00~16:00		模擬試験 16:00~17:00					
受付	北館4階レセプションホール 入口						受付 9:30~17:00								試験結果掲示 8/28 20:30~8/30 15:00
展示会場	北館3階 第3小展示場							ポスター及び展示会準備							
認定試験会場	中央棟4階 407									認定試験 16:00~17:00					
QCWS委員室	中央棟4階 409										認定試験面接試験 17:00~17:30				
クローク	北館4階 レセプションホール入口		理事会 8:30~10:00				QCWS部会 12:00~13:00					評議員会 17:30~18:30		認定制度委員会 18:30~20:30	
															クローク

8月29日(月)【第2日目】

会場	部 屋	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	北館4階 レセプションホール		開場	シンポジウムⅠ 9:00~11:20 Plenary Lecture 9:00~9:35	総会 11:20~12:00			シンポジウムⅡ 13:00~14:45		一般口演 15:00~17:00					
大会事務局	北館4階 レセプションホール控室					認定書授与 12:00~13:00									
受付	北館4階 レセプションホール入口						受付 8:30~17:00								
展示会場	北館3階 第3小展示場							ポスター発表 奇数17:00~17:40 偶数17:40~18:20							
懇親会	北館3階 第3小展示場													懇親会 19:00~20:30	
クローク	北館3階 第3小展示場入口														クローク

8月30日(火)【第3日目】

会場	部 屋	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	北館4階 レセプションホール		開場	シンポジウムⅢ 9:00~12:10 Plenary Lecture 2 9:00~9:50 Plenary Lecture 3 9:50~10:25				シンポジウムⅣ 13:15~15:00		シンポジウムⅤ 15:00~16:00					
受付	北館4階 レセプションホール入口				受付 8:30~14:30										
展示会場	北館3階第 3小展示場							ポスター及び展示会							
クローク	北館4階 レセプションホール入口														クローク

プログラム

教育講演(認定制度講習会)**8月28日(日) 10:00~12:00**

座長 西村 泰治 熊本大学大学院・生命科学研究部

- EL-1 非古典的MHCクラスI分子の多様な機能
笠原 正典 北海道大学 大学院医学研究科 分子病理学分野
- EL-2 臓器移植でのHLA検査の現状と問題点
橋口 裕樹 福岡赤十字病院 検査部
- EL-3 iPS細胞バンク構想におけるHLAタイピング
木村 貴文 京都大学iPS細胞研究所

Plenary Lecture-1**8月29日(月) 9:00~9:35**

座長 徳永 勝士 東京大学医学系研究科人類遺伝学分野

- PL-1 HLA研究への期待
笹月 健彦 九州大学高等研究院

**シンポジウム I
「MHCからみた種内多様性と進化」****8月29日(月) 9:35~11:20**

座長 小見山 智義 東海大学医学部

- SI-1 A New Approach to the Study of MHC Variability: the Case of Darwin's Finches
佐藤 秋絵 鶴見大学 解剖・組織細胞学講座
- SI-2 メダカMHCゲノム領域の構造とPSMB8遺伝子の二型性の進化
野中 勝 東京大学大学院理学系研究科
- SI-3 カニクイザルMHC多型情報基盤と生物医学研究への展開
椎名 隆 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

**シンポジウム II
「ゲノム科学から切り拓く新時代のライフサイエンス」****8月29日(月) 13:00~14:45**

座長 井ノ上 逸朗 国立遺伝学研究所

- SII-1 PBRの機能とHLAの進化
颯田 葉子 総合研究大学院大学先導科学研究科

SII-2 iPS細胞におけるゲノム不安定性

小川 誠司 東京大学医学部附属病院 キャンサーボード がんゲノミクスプロジェクト

SII-3 次世代シーケンサーを用いたHLAゲノム領域の多様性解析—究極のHLAタイピングとHLAハプロタイプの塩基配列決定—

猪子 英俊 東海大学医学部

Plenary Lecture-2

8月30日(火) 9:00~9:50

座長 五條堀 孝 国立遺伝学研究所

PL-2 A 100 year history of the humoral theory of transplantation.

Paul Terasaki University of California, Los Angeles

Plenary Lecture-3

8月30日(火) 9:50~10:25

座長 間 陽子 理化学研究所

PL-3 The era of next-generation sequencing: from HLA typing to better understanding of Host/Viral Interactions

Silvana Gaudieri University of Western Australia

シンポジウムⅢ
「MHCを見据えた臨床医学」

8月30日(火) 10:25~12:10

座長 前田 平生 埼玉医科大学 医学部

SIII-1 HLA class I 分子へのHIV-1の適応

滝口 雅文 熊本大学エイズ学研究センター

SIII-2 進化医学的アプローチによるHIV/AIDS関連遺伝子の同定

木村 彰方 東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子病態分野

SIII-3 自己免疫性膵炎感受性遺伝子の解析

太田 正穂 信州大学医学部法医学教室

シンポジウムⅣ
「HLAと創薬」

8月30日(火) 13:15~15:00

座長 小林 孝彰 名古屋大学医学部 免疫機能制御学寄附講座

- SIV-1 HLA-ペプチドドッキング解析に基づいた免疫創薬的アプローチ
秋山 靖人 静岡がんセンター研究所
- SIV-2 疾病感受性遺伝子のゲノム同定と創薬
鎌谷 直之 理化学研究所ゲノム医科学研究センター
- SIV-3 HLAの機能を制御できる低分子化合物の*in silico*探索・創製の試み
平山 令明 東海大学医学部医学科基礎医学系分子生命科学

シンポジウムⅤ
「パネルディスカッション(20周年特別企画)
佐治博夫と語ろう ~HLAの不思議~」

8月30日(火) 15:00~16:00

メインパネリスト：佐治 博夫
パネリスト：若手研究者・若手HLAタイパー

会員研究発表(口演)

口演

8月29日(月) 15:00~17:00

口演1

座長 安藤 麻子 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

O-1 旧世界ザルにおけるULBP4/RAET1E 遺伝子の多様性

○成瀬 妙子¹⁾、奥田 裕紀子²⁾、森 一泰³⁾、明里 宏文⁴⁾、俣野 哲朗³⁾、木村 彰方^{1,2)}

1) 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態

2) 東京医科歯科大学大学院 疾患生命科学

3) 国立感染研究所 エイズ研究センター

4) 京都大学 霊長類研究所

O-2 コモンマーモセットMHC(Caja)-A/G/F重領域のゲノム構造解析

○河野 あづみ、椎名 隆、猪子英俊

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

O-3 牛白血病ウイルス感受性ウシMHCクラスII分子から得られた抗原ペプチドの同定および結合親和力解析

○金 智潤¹⁾、竹嶋 伸之輔¹⁾、沖本 憲明³⁾、山岸 純也^{3,4)}、

堂前 直⁴⁾、萩原 恭二¹⁾、間 陽子¹⁾

1) 理化学研究所・分子ウイルス学特別研究ユニット

2) 理化学研究所・ケミカルバイオロジー研究基盤施設バイオ解析チーム

3) 理化学研究所・計算分子設計研究グループ

4) 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 情報生命科学専攻

口演2

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

O-4 リンパ球クロスマッチと臍帯血移植

○小笹 亮太郎¹⁾、堀田雅章¹⁾、中西孝尚¹⁾、藤田真也¹⁾、山岡学²⁾、阿部操²⁾、宮地理彦¹⁾、森眞一郎¹⁾、野村昌作¹⁾

1) 関西医科大学附属枚方病院 血液・腫瘍内科

2) 関西医科大学附属枚方病院 輸血部

O-5 血清の非働化により腎移植前のDSA強陽性を判定しえた一症例

○万木 紀美子¹⁾、平位秀世¹⁾、菱田理恵¹⁾、大久保和俊²⁾、丹羽紀実¹⁾、竹川良子¹⁾、
三浦康生¹⁾、芦原英司^{1,3)}、兼松明弘⁴⁾、小川 修²⁾、前川 平¹⁾

- 1) 京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部
- 2) 京都大学医学部附属病院 泌尿器科
- 3) 京都府立医科大学 細胞生理学
- 4) 兵庫医科大学病院 泌尿器科

O-6 肺癌免疫療法に有用なHLA-A*02:01拘束性ヒトIMP-3由来CTLエピトープの同定

○富田 雄介^{1,2)}、原尾美智子¹⁾、千住覚¹⁾、今井克憲¹⁾、平田真哉¹⁾、入江厚¹⁾、井上光弘¹⁾、
白石健治³⁾、森 毅³⁾、野守裕明³⁾、興梠博次²⁾、西村泰治¹⁾

- 1) 熊本大学大学院 生命科学研究部 免疫識別学分野
- 2) 熊本大学大学院 生命科学研究部 呼吸器病態学分野
- 3) 熊本大学大学院 生命科学研究部 呼吸器外科学分野

O-7 抗体関連型拒絶反応の診断に苦慮した細胞障害性クロスマッチ陰性の生体肝移植後の1例

○吉澤 淳¹⁾、江川 裕人²⁾、菱田 理恵³⁾、万木 紀美子³⁾、宮川 文⁴⁾、前川 平³⁾、
羽賀 博典⁴⁾、上本 信二¹⁾

- 1) 京都大学医学部附属病院 肝胆膵・移植外科
- 2) 東京女子医科大学病院 消化器外科
- 3) 京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部
- 4) 京都大学医学部附属病院 病理診断部

O-8 長期の腎移植におけるHLA抗体

○水谷 一夫¹⁾、絹川恒郎²⁾、服部良平¹⁾、後藤百万¹⁾、ポール・テラサキ³⁾

- 1) 名古屋大学 医学部 泌尿器科
- 2) 中京病院 泌尿器科
- 3) テラサキ ファウンデーション

口演3

座長 坂巻 建夫 国立病院機構千葉東病院

O-9 日本人集団におけるHLAと生化学検査値の関連

○奥平 裕子¹⁾、奥平裕子¹⁾、光永滋樹¹⁾、成田暁¹⁾、柏瀬貢一²⁾、椎名豊³⁾、本間康彦³⁾、
井ノ上逸朗⁴⁾、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) 東京都赤十字血液センター検査一部
- 3) 東海大学医学部内科学系検診センター
- 4) 国立遺伝学研究所 人類遺伝学部門

O-10 慢性B型肝炎感受性・抵抗性に関連するHLA-DPの機能解析

○高柳 彩、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-11 骨髄バンク登録ドナーから検出したHLA新アリル111例の変異箇所分析

○清水 まり恵¹⁾、中島 文明¹⁾、盛山 芳恵¹⁾、加藤 和江¹⁾、柏瀬 貢一²⁾、
福森 泰雄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

O-12 日本人のMICAアリル頻度およびMICAを含むHLA-A座～DP座間の連鎖について

○楠木 靖史¹⁾、二神貴臣¹⁾、大沼豪¹⁾、小島裕人¹⁾、林晃司¹⁾、吉田喬¹⁾、藤井直樹¹⁾、
末上伸二¹⁾、西川美年子¹⁾、小川公明²⁾、丸屋悦子³⁾、赤座達也¹⁾、佐治博夫¹⁾

1) 特定非営利活動法人 HLA研究所

2) 特定非営利活動法人 白血病研究基金を育てる会

3) Terasaki Foundation Laboratory

会員研究発表(ポスター)

ポスター

8月29日(月) 17:00~18:20

コアタイム：奇数番号 17:00~17:40 偶数番号 17:40~18:20

- P1 生体腎移植術後にLABScreen検査で異常が見られた2例
 ○盛 和行、畠山真吾、工藤 茂将、米山 高弘、古家 琢也、神村 典孝、藤田 雄、
 鳴海 俊治、大山 力
 弘前大学大学院医学研究科
- P2 ドナーに対する高力価のHLA抗体を有したABO不適合腎移植症例
 ○平岡 朝子¹⁾、栗田絵美¹⁾、河野真由¹⁾、小松真由美¹⁾、山岡愛子¹⁾、
 広瀬祥子¹⁾、藤井輝久²⁾
 1) 広島大学病院診療支援部
 2) 広島大学病院輸血部
- P3 「腎臓移植の基準等に関する作業班」での「腎臓移植希望者選択基準」における組織適合性検査
 の考え方と問題点
 ○湯沢 賢治、湯沢 賢治
 国立病院機構 水戸医療センター 臓器移植外科
- P4 生体腎移植におけるFCXM法陽性症例の検討
 ○栗原 啓¹⁾、北田秀久¹⁾、岡部安博¹⁾、三浦敬史¹⁾、寺坂壮史¹⁾、加来啓三¹⁾、野口浩司¹⁾、
 川浪さやこ¹⁾、宮本京子²⁾、田中雅夫¹⁾
 1) 九州大学病院 臨床腫瘍外科
 2) 九州大学病院 遺伝子細胞療法部
- P5 ドナー特異的HLAクラスII抗体陽性腎移植例の術後抗体の推移
 ○酒巻 建夫¹⁾、高橋千尋¹⁾、岡村康子¹⁾、石川政志¹⁾、丸山通広²⁾、剣持敬²⁾
 1) 国立病院機構千葉東病院・臨床検査科HLA検査室
 2) 国立病院機構千葉東病院・外科
- P6 リコール対象となったReliキットの信頼性
 ○酒巻 建夫、石川 政志、高橋 千尋、岡村 康子
 国立病院機構千葉東病院・臨床検査科HLA検査室

P7 生体腎移植におけるFCXM T(+)B(+)
症例の検討

○寺坂 壮史¹⁾、北田秀久^{1,2)}、岡部安博¹⁾、三浦敬史¹⁾、栗原啓¹⁾、川浪さやこ¹⁾、
加来啓三¹⁾、野口浩司¹⁾、野口浩司¹⁾、宮本京子³⁾、土本晃裕²⁾、田中雅夫¹⁾

- 1) 九州大学病院 臨床・腫瘍外科
- 2) 九州大学病院 腎疾患治療部
- 3) 九州大学病院 遺伝子細胞療法部

P8 造血幹細胞移植後に類粘膜細胞がドナータイプに置き換わった一例

○辻野 貴史¹⁾、道下吉広²⁾、小島裕人¹⁾、二神貴臣¹⁾、大沼豪¹⁾、林晃司¹⁾、楠木靖史¹⁾、
吉田喬¹⁾、藤井直樹¹⁾、末上伸二¹⁾、西川美年子¹⁾、丸屋悦子³⁾、赤座達也¹⁾、佐治博夫¹⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA研究所
- 2) 秋田大学医学部附属病院
- 3) Terasaki Foundation Laboratory

P9 造血幹細胞移植における輸血・細胞治療センターの役割について

○藤原 孝記¹⁾、富山 秀和¹⁾、金子 強¹⁾、永友 ひとみ¹⁾、蟹井 はるか¹⁾、
笠井 英利¹⁾、難波 宏美¹⁾、大曾根 和子¹⁾、前島 理恵子¹⁾、脇本 信博¹⁾、
白藤 尚毅^{1,2)}

- 1) 帝京大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター
- 2) 帝京大学医学部 血液内科

P10 HLA不適合ハプロ半合致移植を目的としたHLA抗体検査

○林 晃司¹⁾、大沼豪¹⁾、藤井直樹¹⁾、二神貴臣¹⁾、小島裕人¹⁾、辻野貴史¹⁾、楠木靖史¹⁾、
吉田喬¹⁾、末上伸二¹⁾、西川美年子¹⁾、吉原哲²⁾、谷口享子²⁾、小川啓恭²⁾、丸屋悦子³⁾、
赤座達也¹⁾、佐治博夫¹⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA研究所
- 2) 兵庫医科大学病院
- 3) Terasaki Foundation Laboratory

P11 single antigen試薬での患者HLA抗体価と血小板輸血効果の関連について

○宮崎 孔、高橋大輔、阪川久子、松林圭二、佐藤進一郎、加藤俊明、池田久實、
東 寛
北海道赤十字血液センター

P12 LABScreen Single Antigenにみられる抑制反応の解析

○内田 みゆき、宮城徹、寺木佳子、梅津昭子、市原孝浩、礪波薫、柏瀬貢一、内川誠、
中島一格
東京都赤十字血液センター

- P13 B型肝炎の慢性化・ウイルス排除機構とHLA-DPとの関連
 ○澤井 裕美¹⁾、西田奈央^{1,3)}、田中靖人²⁾、松浦健太郎²⁾、伊藤清顕³⁾、溝上雅史³⁾、
 徳永勝士¹⁾
 1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野
 2) 名古屋市立大学大学院医学研究科病態医科学ウイルス学分野
 3) 国立国際医療センター国府台病院肝炎・免疫研究センター
- P14 成人T細胞白血病ウイルス感染者のT細胞表面におけるHLA-Fの発現についての検討
 ○吉岡 聡¹⁾、一戸 辰夫^{1,2)}、下嶋 典子³⁾、菱澤 方勝¹⁾、大森 勝之⁴⁾、
 Geraghty DE⁵⁾、石谷 昭子⁶⁾、高折 晃史¹⁾
 1) 京都大学大学院 血液・腫瘍内科
 2) 佐賀大学医学部内科学講座 血液・呼吸器・腫瘍内科
 3) 奈良県立医科大学 細菌学教室
 4) 京都大学医学部附属病院 検査部
 5) Fred Hutchinson Cancer Research Center
 6) 奈良県立医科大学 法医学教室
- P15 ナルコレプシー患者を対象としたゲノムワイドCNVの解析
 ○山崎 茉莉亜¹⁾、宮川卓¹⁾、豊田裕美¹⁾、Khor Seik Soon¹⁾、小池麻子²⁾、本田裕³⁾、
 本田真^{3,4)}、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教室
 2) 日立製作所中央研究所
 3) 財団法人神経研究所附属睡眠学センター
 4) 東京都医学総合研究所精神行動医学研究分野睡眠覚醒制御プロジェクト
- P16 ゲノムワイド関連解析によるナルコレプシー疾患感受性遺伝子の探索
 ○豊田 裕美¹⁾、宮川 卓¹⁾、Khor Seik Soon¹⁾、川嶋 実苗¹⁾、山崎 茉莉亜¹⁾、
 小池 麻子²⁾、本多 裕³⁾、本多 真^{3,4)}、徳永 勝士¹⁾
 1) 東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学分野
 2) 日立製作所中央研究所
 3) 財団法人神経研究所附属睡眠学センター
 4) 東京都医学総合研究所精神行動医学研究分野 睡眠覚醒制御プロジェクト
- P17 HLAクラスIIテトラマーの調製を目的としたHLA-DRA*01:01/DRB1*04:06の発現
 ○内田 優輝、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
- P18 ナルコレプシー感受性・抵抗性とHLA-DQトランス型二量体形成
 ○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

P19 Immunogenetic analysis of chronic Chagas disease in Bolivia

○平山 謙二¹⁾、Gissel García¹⁾、Florencia del Puerto²⁾、Ana B. Pérez¹⁾、
Beatriz Sierra¹⁾、Eglys Aguirre¹⁾、菊池三穂子²⁾、Lizet Sánchez¹⁾、平山謙二²⁾、
María G. Guzmán¹⁾

1) Department of Virology, Tropical Medicine Institute "Pedro Kouri,"
Habana, Cuba;

2) 長崎大学・熱帯医学研究所・免疫遺伝学分野

P20 17番染色体上の機能的及び位置的候補遺伝子と結核の関連解析

○中内 彩香¹⁾、Rika Yuli Wulandari¹⁾、Surakameth Mahasirimongkol¹⁾、野内英樹²⁾、
徳永勝士¹⁾

1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野

2) 結核予防会複十字病院臨床検査診断科

P21 NKG2Dリガンドの創傷治癒における役割の解析

○笠原 正典¹⁾、Rania Mohamed¹⁾、小泉 潤¹⁾、富居 一範¹⁾、大塚 紀幸¹⁾、吉田 繁^{1,2)}

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所

P22 抗原提示機能を有するHLA-DR4(HLA-DRA/HLA-DRB1*04:05)を発現するトランスジェニックマウスの樹立

○入江 厚¹⁾、矢津田 旬二¹⁾、道端 弥生¹⁾、原田 久美子¹⁾、富田 雄介¹⁾、
竹田 直樹²⁾、杉山 治夫³⁾、澁谷 功⁴⁾、十河 真司⁴⁾、西村 泰治¹⁾

1) 熊本大学大学院生命科学研究部免疫識別学分野

2) 熊本大学生命資源研究・支援センター動物資源開発研究部門

3) 大阪大学大学院医学系研究科機能診断科学

4) 大塚製薬(株)微生物研究所

P23 次世代シーケンサーを用いたHLAクラスI遺伝子タイピング法の開発

○鈴木 進悟、吉川枝里、重成敦子、光永滋樹、椎名隆、猪子英俊
東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

P24 フローサイトメトリッククロスマッチ(FCXM法)の判定結果に関わる反応条件の検討

○安尾 美年子¹⁾、石塚 敏¹⁾、二ツ山 和也¹⁾、吉野 敏栄¹⁾、中島 一朗²⁾、
瀧之上 昌平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) 東京女子医科大学腎臓病総合医療センター腎臓外科

- P25 HLAclass II-DRヒト型モノクローナル抗体(IMMU-114)を用いたLCT法クロスマッチによるHLA-DR抗体の判定
 ○安尾 美年子¹⁾、澤田登起彦²⁾、石塚 敏¹⁾、二ツ山和也¹⁾、村上徹³⁾、朴景華²⁾、窪田敬一²⁾、瀧之上昌平³⁾
 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) 獨協医科大学第二外科学
 3) 東京女子医科大学腎臓病総合医療センター腎臓外科
- P26 腎移植患者のクロスマッチ検査におけるFCM法とICFA法の比較検討
 ○黒木 聖久¹⁾、井藤聡美¹⁾、坂本慎太郎¹⁾、渡井至彦²⁾、打田和治²⁾、小林孝彰³⁾
 1) 名古屋第二赤十字病院 組織適合検査室
 2) 名古屋第二赤十字病院 移植外科
 3) 名古屋大学医学部免疫機能制御学
- P27 補体結合性HLA抗体検出試薬(C1qScreen)による抗体特異性の検討
 ○石塚 敏¹⁾、安尾 美年子¹⁾、二ツ山 和也¹⁾、吉野 敏栄¹⁾、中島 一朗²⁾、瀧之上 昌平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) 東京女子医科大学・腎臓病総合医療センター・腎臓外科
- P28 LABScreen(mixed,single antigen)を用いた腎移植後のHLA抗体検査
 ○井藤 聡美¹⁾、黒木 聖久¹⁾、坂本 慎太郎¹⁾、渡井 至彦²⁾、小林 孝彰³⁾、丹羽 操³⁾、打田 和治²⁾
 1) 名古屋第二赤十字病院 組織適合検査室
 2) 名古屋第二赤十字病院 移植外科
 3) 名古屋大学医学部免疫機能制御学
- P29 Luminex法におけるプロゾーン様現象
 ○小島 裕人¹⁾、藤井直樹¹⁾、二神貴臣¹⁾、大沼豪¹⁾、辻野貴史¹⁾、林晃司¹⁾、楠木靖史¹⁾、吉田喬¹⁾、末上伸二¹⁾、西川美年子¹⁾、小川公明²⁾、丸屋悦子³⁾、赤座達也¹⁾、佐治博夫¹⁾
 1) 特定非営利活動法人 HLA研究所
 2) 特定非営利活動法人 白血病研究基金を育てる会
 3) Terasaki Foundation Laboratory
- P30 抗体固定ビーズで検出するHLA抗原タイピング法の検討(第2報)
 ○中村 淳子、鎌田 裕美、清水 まり恵、橋本 志歩、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

- P31 ClqScreenを使用したHLA抗体特異性解析
○中島 文明、橋本志歩、鎌田裕美、中村淳子、清水まり恵、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
- P32 蛍光ビーズ抗体検査法におけるプロゾーン様現象への補体の影響と非働化による現象の抑制効果 - 第2報 -
○黒田 ゆかり¹⁾、田原大志¹⁾、浅尾洋次¹⁾、中山みゆき¹⁾、平田康司²⁾、井上純子¹⁾、永吉裕二¹⁾、大熊重則²⁾、迫田岩根¹⁾、清川博之¹⁾
1) 日本赤十字社 九州血液センター
2) 岡山県赤十字血液センター
- P33 HPA-5b抗体産生とDRB1*08:03との相関性
○黒田 ゆかり、田原大志、浅尾洋次、中山みゆき、井上純子、永吉裕二、迫田岩根、佐藤博行、清川博之
日本赤十字社 九州血液センター
- P34 抗病性育種の選抜家系におけるSLAタイプの特徴—SLAタイプと免疫関連形質との相関—
○安藤 麻子¹⁾、鈴木啓一²⁾、河田寿子³⁾、重成敦子¹⁾、柴田千尋⁴⁾、中條 満⁴⁾、中條 満⁴⁾、北川 均⁵⁾、猪子英俊¹⁾、上西博英⁶⁾
1) 東海大学 医学部
2) 東北大学大学院 農学研究科
3) 東海大学 伊勢原研究推進部・教育・研究支援センター
4) 宮城県畜産試験場 種豚家きん部
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
- P35 MHC固定ブタ末梢血単核球の活性化によるSLAクラス I 遺伝子の動態解析
○大島 志乃¹⁾、亀谷 美恵²⁾、北 夕紀¹⁾、椎名 隆¹⁾、神口 浩³⁾、猪子 英俊¹⁾、安藤 麻子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・医学部・基礎医学系・生体防御学
3) 東海大学伊勢原研究推進部・教育・研究支援センター

- P36 主成分分析および立体構造解析によるMHCの多様性に基づくウシMHCクラスII分子の機能予測
 ○竹嶋 伸之輔^{1,2)}、松本有生¹⁾、Guillermo Giovambattista³⁾、山岸純也^{4,5)}、沖本憲明⁴⁾、
 Mariluz Arainga-Ramirez^{1,2)}、宮坂卓¹⁾、間陽子^{1,2)}
 1) 理化学研究所 分子ウイルス学特別研究ユニット
 2) 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 メディカルゲノム専攻
 3) IGEVET- CCT LA PLATA - CONICET, FCV, UNLP
 4) 理化学研究所 計算分子設計研究グループ
 5) 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 情報生命科学専攻
- P37 絶滅危惧種ペンギン類のMHC多型
 ○津田 とみ^{1,2)}、吉川枝理¹⁾、小見山智義¹⁾、村田浩一³⁾、成瀬妙子⁴⁾、福田道雄⁵⁾、
 栗田正徳⁶⁾、津田道雄¹⁾、猪子英俊¹⁾
 1) 東海大学医学部
 2) 徳島文理大学人間生活学部
 3) 日本大学生物資源学部
 4) 日本医科歯科大学難治研
 5) 東京都葛西水族園
 6) 名古屋港水族館
- P38 フィリピン固有品種におけるウシMHCクラスII DRB3遺伝子の頻度解析
 ○大橋 未来¹⁾、竹嶋伸之輔^{1,2)}、宮坂卓¹⁾、松本有生¹⁾、Claro N.Mingala³⁾、小沼操¹⁾、
 間陽子^{1,2)}
 1) 独立行政法人理化学研究所 分子ウイルス学特別研究ユニット
 2) 東京大学新領域メディカルゲノム専攻感染 制御分子機能解析分野
 3) Philippine Carabao Center
- P39 霊長類における免疫グロブリンスーパーファミリー (IgSF) の分子進化
 ○中島 敏晶¹⁾、中島敏晶^{1,2)}、大谷仁志¹⁾、明里宏文³⁾、石田貴文⁴⁾、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) 京都大学霊長類研究所 比較免疫微生物領域
 4) 東京大学大学院 理学系生物学科

抄 録 集

特別講演

PL-1

HLA研究への期待

○笹月 健彦

九州大学高等研究院

免疫応答がその原因、病態、臨床経過、そして予防に深く関わっている疾病は、アレルギー疾患、自己免疫疾患、GvH病、感染症、がんなど多岐にわたっている。そしてその予防と治療は依然として困難を極めており、現代医学が解決すべき重要な課題である。

これらの疾患とHLAの統計学的相関が、病因の解明、ひいては治療法の開発への道を拓くと期待されてすでに40年が経過した。しかし、病因、病態におけるHLAの意義は多くの場合不詳のまま残されている。

一方、免疫システムは、実験動物、主にマウスを用いてその高次で複雑精緻な様相の解明が格段に進んだが、ヒトの免疫応答のダイナミズムの理解はこれからというのが現状である。

このような状況の中で、ゲノム科学技術、タンパク科学技術の進歩に加え、ヒトゲノム、ヒトタンパク、病原体ゲノムを初めとする各種データベースの充実、各種アルゴリズムの開発、さらには、マウスで得られた免疫学の数々の知見など、新たなHLA研究の推進に必要な環境が整えられつつある。

これらの技術と知識を集結して免疫関連疾患の解明と克服のためにも、ヒト免疫学 (human immunology) の新時代を築かねばならない。これまでにHLA研究で蓄えられた先人の努力の結晶を、今こそ花開かせ、実らせる時である。

HLA研究の目指すもの、そのための戦略について議論したい。

PL-2

A 100 year history of the humoral theory of transplantation.

○Paul Terasaki

University of California, Los Angeles

The origins of the humoral theory of transplantation, which states that allografts are rejected by antibodies (and not directly by cells) , can be traced back 100 years. This is when the method of detecting antibodies was first introduced. The methods for detection has become increasingly more sophisticated, permitting development of more specific proof of the hypothesis. Evidence has accumulated that antibodies cause : hyperacute rejection, acute rejection, and chronic rejection of grafts. Moreover, rejection of transplants of essentially all solid organs can now be associated with antibodies : kidneys, hearts, lungs, liver, and islets. Currently, new studies show that removal of antibodies leads to enhanced survival of transplants. If eventually, achievement of high graft survival rates result from antibody detection and removal, the humoral theory of transplantation can be considered to be validated..

PL-3

The era of next-generation sequencing: from HLA typing to better understanding of Host/Viral Interactions

○Silvana Gaudieri

University of Western Australia

Next-generation sequencing (NGS) technologies have revolutionised our ability to sample species' genomes due to the massively parallel nature of the sequencing reactions. Different groups have now demonstrated the ability of NGS to perform HLA typing in a cost-effective manner supporting a shift in technology platform from current Sanger-based sequence typing to NGS. However, the use of NGS is not restricted to host genomes and is currently used to identify clinically relevant low frequency viral strains in the setting of drug resistance and host/viral interactions. In this presentation, I will discuss the advantages and limitations of NGS in HLA genotyping and show how NGS can help to better understand the critical interaction between the host's immune response (driven by HLA-restricted T-cell responses) and viral adaptation to this response and its impact on viral infection outcome.

教育講演

EL-1

非古典的MHCクラスI分子の多様な機能

○笠原 正典

北海道大学 大学院医学研究科 分子病理学分野

主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラスI分子と言うと、通常、細胞傷害性T細胞に抗原ペプチドを提示する古典的クラスI分子を指している。しかし、クラスI分子ファミリー全体を見渡すと、古典的クラスI分子は少数であり、非古典的と称されるクラスI分子の方がはるかに多い。近年、非古典的クラスI分子の機能解析が進展し、その多様な機能が明らかになってきた。非古典的クラスI分子のなかには、特殊な抗原提示機能をもつもの、ナチュラルキラー細胞の活性を制御するもの、Fcレセプターとして機能するもの、脂質代謝や鉄輸送など免疫とは無関係な機能をもつものなどが知られている。本講演では、ヒトの非古典的クラスI分子に焦点を当てて、最近の知見を紹介する。

EL-2

臓器移植でのHLA検査の現状と問題点

○橋口 裕樹¹⁾、金本 人美¹⁾、中島 理恵¹⁾、西中 優子¹⁾、加藤 康男¹⁾、宗像 幹男^{1,3)}、中島 豊^{1,3)}、本山 健太郎²⁾、山本 恵美²⁾、寺坂 禮治²⁾

- 1) 福岡赤十字病院 検査部
- 2) 福岡赤十字病院 移植外科
- 3) 福岡赤十字病院 病理診断科

【はじめに】

平成22年7月に改正臓器移植法が施行され、全国的に脳死下での移植数が増え、移植検査センターとしての体制も一変した。この様な移植を取り巻く環境の変化に柔軟に対応し、かつ新たに発生した問題点を解決する事が責務であると考え。今回、我々検査センターが抱えている問題点を項目毎に報告し、解決の糸口が見つかればと考えている。

【HLAタイピング】

90年代後半よりLCT法(Lymphocyte cytotoxicity test)からDNAタイピング法に置き換わり試薬もキット化され、比較的容易に購入出来るようになった。SSP、SSO法が多くの施設で採用されている。LCT法に比べ技術的操作は簡便になったが、試薬の特性を把握しないとミスアサインにつながる恐れがある。またアンビグニティを考慮するなら原理の異なるキットを準備しておく事も必要である。但しそこには、コストの問題が発生する。

【クロスマッチ】

方法としてLCT法、AHG-LCT法、FCXM法、ICFA法等がある。脳死、献腎移植での条件としてネットワークでは腎臓移植は「リンパ球交叉試験(全リンパ球又はTリンパ球)陰性」、心、肺、脾では「リンパ球直接交差試験(ダイレクト・クロスマッチ)を検査し～」となっている。この直接の言葉を厳密に解釈すれば検査法としてはLCT法のみが当てはまる。しかし検査センターによってはAHG-LCT法、FCXM法を併用しており、現場と基準の隔たりを感じる。更に明確な結果判定の基準や形式が統一されていない。また方法別の感度など多くの問題点が残る。

【抗体検査】

HLA抗体が重要なファクターである事は、以前から知られているが患者の検査体制は構築されていない。検査センターが自前で検査を行っているのが現状である。費用、人力的問題があるのは承知しているが、抗体関連拒絶を考えるなる必須の検査項目であると考え。

【検査体制】

ネットワークが3支部制になり、54施設の検査センター内の統一した精度管理が実施されていない(西日本支部ではタイピング、抗体検査、クロスマッチを年1回実施)。現状は各センターが出した検査結果をフィードバックして検証を行う体制も構築されていない。検査センターの技術的な問題点も把握できず、大きな問題点である。

EL-3

iPS細胞バンク構想におけるHLAタイピング

○木村 貴文

京都大学iPS細胞研究所

最終分化を遂げた体細胞に4つの転写因子を導入すると、時計の針を戻すかのような初期化がおり、まるで胚性幹細胞 (embryonic stem cell、以下ES細胞) のように個体発生のもととなる細胞にまで先祖帰りするという報告は、世界中に大きな衝撃を与えた。人工多能性幹細胞 (induced pluripotent stem cell、以下iPS細胞) の誕生である。

iPS細胞は、難治性疾患の新たな治療戦略を切り拓くための強力なツールとして大いに期待されている。なかでも、再生医療で用いる移植細胞のソースとしての応用は最も強いインパクトを持つ。iPS細胞を用いた細胞治療として自家移植と同種 (他家) 移植が想定されるが、iPS細胞の樹立と品質試験終了までに要する数ヶ月以上の時間とコストを考慮すれば、iPS細胞を予め樹立しておいて必要な時に他家移植に用いるほうが有利と考えられる。その際には、移植細胞への拒絶反応を回避するためにHLA完全一致ドナー由来iPS細胞をソースとして用いることが理想的であるが、そのようなドナーを見いだす確立は非常に低い。細胞治療によって多くの患者を病気から救うためには、科学的な根拠にもとづくより現実的な対応が求められる。

非血縁者間同種造血細胞移植や臓器移植での数多くの経験から、HLA-A、-Bおよび-DRの3座における不一致が同種免疫反応に強く関与していることが分かっている。したがって、患者 (レシピエント) が持つ父方あるいは母方どちらかのハプロタイプに一致するHLA-A、-B、-DR型のドナーを見いだせば拒絶反応は回避可能となる。HLA-A、-B、-DRの3座において日本人で高頻度に見いだされるタイプのホモ・アレル・ドナーから体細胞を採取し、順次iPS細胞を作製してバンク化すれば、細胞治療を必要とする多くの国民の付託に応えることが可能となる。

iPS細胞自身は多能性であり、奇形種を形成するおそれのあることから移植片として用いることはできない。iPS細胞から分化誘導した組織細胞もしくは組織幹細胞を選択的に移植することがiPS細胞を用いた再生医療の本態である。出発点のドナー体細胞から最終製品の移植片にたどり着くまでには数ヶ月以上にわたる長い培養を経ることになる。このように複雑な過程を経て調製された細胞製剤の品質検査としてもHLAタイピングは重要である。樹立したiPS細胞がドナーのHLAと一致するか、あるいは移植前のiPS細胞由来組織細胞が患者に適合したHLAホモ・タイプであるか、などを確認してはじめて最終目標である移植片の生着とそれに続く十分な治療効果が期待できるからである。

以上のように本講では、再生医療用iPS細胞のバンクの構築とそれを利用した細胞治療の実施に必須のHLAタイピングの意義とその体制作りについて概説したい。

シンポジウム

S I -1

A New Approach to the Study of MHC Variability: the Case of Darwin's Finches

○佐藤 秋絵¹⁾、Colm O'hUigin²⁾

1) 鶴見大学 解剖・組織細胞学講座

2) Basic Science Program, SAIC-Frederick, Inc., Laboratory of Experimental Immunology

The two most characteristic genetic properties of the MHC are its complexity and variability. Complexity, the characteristic that gives the MHC its name, is manifested in the large number and types of loci in the MHC chromosomal regions. The variability is expressed by the polymorphism of these loci – the large number of alleles existing in the populations at some of the MHC loci. Since the polymorphism is a property that is directly related to the function of the MHC molecules and is also the property that is favored by natural selection, there is great interest in describing and using the MHC in species such as the Darwin Finches (DF) that play an important role in the elucidation of evolutionary mechanisms. The standard approach to the description of the MHC polymorphism used until now has been to describe first the MHC organization and so to identify the individual loci, and only then begin sorting out the MHC variation found in the populations of a given species. Not only is this approach laborious and time consuming, but in the case of endangered species, such as the DF, it is also complicated by the limited accessibility of the necessary material. We have therefore developed an alternative approach to the study of the MHC polymorphism for which the information about the MHC organization is not absolutely necessary. The essence of the approach is to define ranges of genetic variability in species in which both the organization and the polymorphism of the MHC loci are well characterized (e.g., human, mouse, and some bird species) , and then compare these with the ranges of MHC variability determined for populations of species whose MHC organization is not known (i.e., DF in our case) . We demonstrate that by this approach the intra-locus variability can be distinguished from the inter-locus variability in both the model and the test cases. Using these ranges we can, therefore, predict what the main loci in the DF are and define their polymorphism. From these results we draw inferences about the evolution of the MHC in the DF and their relatives, and about the nature of the speciation process in this group of birds.

S I -2

メダカMHCゲノム領域の構造とPSMB8遺伝子の二型性の進化

○野中 勝¹⁾、塚本 健太郎²⁾、藤戸 尚子¹⁾、坂内 英美¹⁾、野中 真弓¹⁾

1) 東京大学大学院理学系研究科

2) 藤田保健衛生大学総合医科学研究所

硬骨魚類のMHCゲノム領域は、軟骨魚類から哺乳類に至るまでの他の全ての有顎脊椎動物のものとは異なり、クラスIA遺伝子とクラスIIA,B遺伝子の間の連鎖が失われている点で特異であり、MHCの進化を理解するためには興味深い研究対象である。我々はゲノム情報、近交系、近縁種等が利用できるメダカを用いて、MHCゲノム領域の解析を行っている。クラスI,II遺伝子の網羅的解析により、4つの染色体に分かれて座乗する8つのクラスIA遺伝子と、これらとは重複しない5つの染色体に座乗する5組のクラスIIA,B遺伝子を確認した。このうち古典的機能を果たしていると思われるのは2つのクラスIA遺伝子、*UAA*と*UBA*、一組のクラスII遺伝子、*DAA*と*DAB*であった。硬骨魚類全体の系統解析により、クラスI,II遺伝子共に数億年以上に渡って維持されてきたlineageの存在が明らかになり、哺乳類とは異なる進化パターンが認められた。クラスI,II遺伝子が多くの染色体に分散するメダカにおいても、*UAA,UBA*とその抗原提示に直接関わる4つの免疫プロテアソームサブユニット遺伝子、*TAP2*遺伝子、*TAPBP*遺伝子は他の遺伝子の介在なしに緊密に連鎖し、メダカMHCクラスI領域を形成していた。約400 kbに及ぶこの領域の塩基配列を2種の近交系 (Hd-rR とHNI) 間で比較すると、MHCクラスI遺伝子 (*UAA*と*UBA*) と免疫プロテアソームサブユニット遺伝子 (*PSMB8*と*PSMB10*) を含む約100 kbの垂領域には、アラインする事も不可能なほどの著しい塩基配列の違いが認められた。d型 (Hd-rR型)、N型 (HNI型) の分布をメダカ野生集団で調べる為に、北日本集団、南日本集団、中国西韓集団に属する10地点からの1245個体の*PSMB8*遺伝子のタイピングを行った所、殆どの集団に両型が保持されていることが示された。どの地域集団においてもN型の頻度は0-27%と低く、*PSMB8*遺伝子の二型性はd型に偏った形でメダカの4集団の間の分岐が始まったとされる2500万年前から平衡淘汰によって保たれてきたことが明らかになった。更に*Oryzias*属のメダカ近縁種数種についても解析した結果、何れの種からもd型、N型が確認され、二型性の起源は*Oryzias*属内での種分化が始まったとされる6000-7000万年前以前に遡ることが示された。同様な*PSMB8*遺伝子の顕著な二型性は、軟骨魚類のサメ、両生類のツメガエルからも報告されていたが、系統解析の結果はこれらの二型性は独立に生じたことを示していた。しかし最近データベースに登録されている*PSMB8*遺伝子のEST配列を調べ直したところ、軟骨魚類と下位の硬骨魚類に共有される二つの系統の存在が明らかになった。この二系統はS1ポケットの形成に関与すると思われる成熟ペプチドの31番目の残基が側鎖の小さなアラニンか、側鎖の大きなフェニルアラニンであるかによってA系統とF系統と名付けられた。この二系統はサメ、下位の硬骨魚では4.5億年以上にわたって保存されてきており、メダカ、ツメガエルではF系統が失われた後、A系統から再度31番目の残基から判断してF系統と同等な特異性を示すと思われるアシルが独立に再生されていることが示された。数億年にわたって維持されてきた二型性の存在、及びその一方が失われた後残されたものからの複数回に及ぶ二型性の再確立は、極めて強力な平衡淘汰の存在を示しており、現在有顎脊椎動物における*PSMB8* 遺伝子の二型性の進化の全貌を明らかにすべく解析を進めている。

SI-3

カニクイザルMHC多型情報基盤と生物医学研究への展開

○椎名 隆

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

カニクイザルは形態、生理、知能ならびに疾患等においてヒトとの間に類似性または近似性が認められ、ヒトに最も近縁な実験動物の一種として、種々の生物医学研究に頻繁に利用されている。近年アメリカではアカゲザルからカニクイザルへの大規模な移行を進めており、日本国でも毎年7~8千頭が輸入されている。発生工学的手法を活用した室内計画的な人工繁殖技術の開発により、マウスやラット並みの微生物学的統御や環境学的統御が現実味を帯びてきたが、その生物医学研究基盤を圧倒的に弱めている唯一の問題点は遺伝子多型情報に基づく遺伝学的統御が全般的に考慮されていないことである。その基盤整備の必要性は国内外から熱望されていることから、より精度と再現性の高い生物医学研究を推進するためには、主要産地における遺伝子多型情報の収集、その情報を生物医学研究に活用するシステムの構築こそが急務の課題であると考えられる。

遺伝子多型情報の中でもカニクイザルMHC (*Mafa*) 遺伝子群における多型情報の基盤整備のニーズは国内外ともに高く、かつ緊急性を要する。再生医療分野、例えばサル*iPS*細胞やES細胞由来の分化細胞をサルに移植し、それらの有効性や臨床研究のための安全性を評価する際に、免疫拒絶を抑えるための*Mafa*全遺伝子 (*Mafa-A*, *-B*, *-DRA*, *-DRB*, *-DQA1*, *-DQB1*, *-DPA1*, *-DPB1*) ホモあるいはヘテロ接合体サルが必要とされている。また、開発された感染症やがんに対するペプチドワクチンの有効性を調べる場合もMHCテトラマーと同じMHC型を有する*Mafa*ホモあるいはヘテロ接合体サルが必要とされている。このような生物医学研究の推進を図るために、発表者らは*Mafa*領域のゲノム解析や*Mafa*遺伝子群の多型解析を通じて、フィリピン産はベトナム産やインドネシア産よりも比較的多型性に乏しく、*Mafa*ホモ接合体の特定に最適であることを明らかにした。そこでフィリピン産519頭における詳細な多型解析より、10種類の*Mafa-B*ハプロタイプならびに18種類の*Mafa-DRB*ハプロタイプを特定した。また、各*Mafa*遺伝子におけるDNAタイピング法や*Mafa*ホモあるいはヘテロ接合体サルの特定法を確立した。さらには、その手法を駆使して4頭のMHCホモ接合体を特定した。その1頭から*iPS*細胞がすでに作製され、種々の細胞への分化が試みられていることから、今後、*iPS*分化細胞におけるMHC遺伝子の発現解析を進めるとともに、*Mafa*ホモあるいはヘテロ接合体サルのさらなる検索と発生工学的手法を駆使した*Mafa*ホモ系統化の早期実現を目指している。

SⅡ-1

PBRの機能とHLAの進化

○颯田 葉子

総合研究大学院大学先導科学研究科

主要組織適合性抗体群 (MHC) あるいは、ヒト白血球抗原 (HLA) の進化研究は1980年代の後半から、1990年代の前半にかけての10年間で、大きな発展を遂げた。これには、結晶構造解析やPCの普及などが大きな要因となっているが、特に、分子生物学的技術、中でも塩基配列決定に自動化のプロセスが取り入れられたことが、分子進化学的研究の発展を大いに加速させたことは間違いない。この様な発展を遂げた時代から20年近くが経過し、最近再び、分子生物学技術の目覚ましい発達により、MHCやHLA研究での新たな発展が期待されるようになった。

最近20年でのHLAあるいはMHCの進化研究で注目すべき技術的な発展は、MHCの結合ペプチドの解析と次世代シーケンサー等による大量の塩基配列データである。これらの発展により、20年前には未解明であった問題を解決できる状況になっている。20年前に解決できなかった問題とは、ペプチド結合領域 (PBR) と結合ペプチドのレパトリーの広さとの関連、自然選択の様式、さらにハプロタイプの存在意義についてである。

HLAあるいはMHCの進化に働く自然選択の実体がウイルスや細菌などパラサイトであることは多くの進化研究者また、免疫学者のコンセンサスとなっていることは想像に難くない。しかし、パラサイトとペプチドの対応、そして、結合ペプチドのレパトリーと対立遺伝子のPBRの変化、そして、更に、各遺伝子座の存在意義についての研究は、これから発展すると期待される。対立遺伝子のペプチド結合領域 (PBR) と結合ペプチドのレパトリーの広さについては、1990年代から対立遺伝子の結合ペプチドについてはいくつかの報告があったが、最近では結合ペプチド予測のプログラムが開発され、それをういた結合ペプチドのレパトリーの予測の研究が盛んである。中には、対立遺伝子間でレパトリーがどの程度重複しているかを調べている研究もある。

このような研究に基づき、注目されるようになった自然選択の様式に関する仮説が、Divergent Allele Advantage Hypothesis (DAA仮説) である。この仮説は、1990年にフロリダ大学のWakeland教授のグループにより発表されたもので、対立遺伝子はlineage間のdivergenceが大きいほど有利であると主張している。この仮説が唱えていることは、PBRの配列が異なれば、その程度に応じて、結合ペプチドのオーバーラップが小さくなり、ヘテロ接合体ではより多くのパラサイトを認識できるという考え方であると推測される。しかし、自然選択の様式としてみると、DAA仮説は非対称の超優性選択のモデルであり、平衡選択に関する理論的な先行研究が示しているのは、非対称の超優性選択では、多くの対立遺伝子を維持することができないという結論である。

本講演では、HLAの進化に働く自然選択に関して、PBRのアミノ酸変化と結合ペプチドのレパトリーの広さについて調べた結果を報告する。HLAのクラスI遺伝子を例に、PBRのアミノ酸置換がどのように蓄積したか、また、結合ペプチドを測定した先行研究の結果から対立遺伝子と結合ペプチドレパトリーの広さの比較を行い、PBR進化と結合ペプチドのレパトリーの関連について議論する。

SⅡ-2

iPS細胞におけるゲノム不安定性

○小川 誠司、大津 真、中内 啓光

東京大学医学部附属病院 キャンサーボード がんゲノミクスプロジェクト

体細胞の初期化によるiPS細胞の樹立技術の確立は、医学・生物学研究、とくに再生医療の分野において、臨床応用を視野に入れた国内外の研究が急加速している。一方、iPS細胞の再生医療への臨床応用の可能性を踏まえて、その安全性の評価は重要な課題の一つとなっている。体外培養によって生ずる可能性のあるゲノムの不安定性の評価もこうした安全性に関わる重要な評価項目である。そこで我々は、42株の独立なiPS細胞株に由来する52種類のiPS細胞について、高密度SNPアレイを用いたゲノム変化の検討を行い、(1) 12細胞株において、200kbから91Mbに及ぶゲノムの増加、欠失が検出されたこと、(2) これらのゲノムの変異は比較的早期の継体培養(6代)においても確認され、(3) 複数のiPS細胞株で変化が認められる領域の中には、がんで繰り返し認められる領域も含まれていることが明らかとなった。以上の結果を踏まえて、現在、iPS細胞のゲノム異常の出現に関して、iPS細胞の樹立ソース、継体方法、継体回数に及ぼす影響について前方視的な検討が進行中である。本学会では、本検討のpreliminaryな結果に関して報告する。

S II-3

次世代シーケンサーを用いたHLAゲノム領域の多様性解析—究極のHLAタイピングとHLAハプロタイプの塩基配列決定—

○猪子 英俊¹⁾、鈴木 進悟¹⁾、細道 一善²⁾、河野 あづみ¹⁾、田中 景子¹⁾、北 夕紀¹⁾、吉川 枝里¹⁾、重成 敦子¹⁾、田中 政之¹⁾、林 英樹¹⁾、井ノ上 逸郎²⁾、椎名 隆¹⁾

1) 東海大学医学部

2) 国立遺伝学研究所

1日に20億塩基のDNA配列決定を可能にする次世代シーケンサーは、1分子のDNAを増幅し、その増幅産物について塩基配列を決定できることから、DNAビーズ法をはじめとする従来のHLA-DNAタイピング方法で問題となるphase ambiguity、すなわち二つの多型が染色体上のシスカ、トランスのどちらの位置関係にあるのかが不明なため決定できない多くのヘテロの組み合わせのambiguity問題を解消しうる。我々はこの次世代シーケンサーを用いて、ビーズ法に代わる究極のHLA-DNAタイピング法を開発した。この次世代シーケンサーは一度に多くの塩基配列を決定できることから、HLA遺伝子のプロモーター領域、エクソン、イントロンなど周辺領域を含む遺伝子全塩基配列の情報が得られ、かつnullアリルも判定しうる8桁レベルの究極のDNAタイピング法を実現する。

3.8 MbからなるHLAゲノム領域は多型に富むと同時にハプロタイプの多様性を有し、疾患感受性や移植に関係することから、HLAテラーメイド医療の確立には、まず個々のハプロタイプのHLAゲノム全領域を決定する必要がある。このような解析にもまた、次世代シーケンサーは大きな威力を発揮する。我々は、HLA領域より447のPCRプライマーセットを独自に設定、これを用いたHLA領域全体3.8 MbのロングPCR増幅を確立し、これらのPCR増幅産物を次世代シーケンサーにより、日本人集団で頻度の高い複数のHLAハプロタイプのリシーケンシングを進めている。ロングPCR法は次世代シーケンサーのみならずサンガー法による塩基配列の確認が可能であり、数kbまでの挿入欠失も検出可能であることに加え、シーケンシングによるHLA領域の疾患関連解析の研究デザインを自由に設計できるという利点も有している。また、このロングPCR法に、NimbleGen Sequence CaptureによるHLA領域のDNA濃縮法を組み合わせ、ハイスループットな実験系へと構築した。次世代シーケンサーであるイルミナ社Genome Analyzer IIxは片鎖300 bpのペアエンドシーケンシングやサンガー法による確認を行うことで塩基配列決定の精度を高めることが可能である。これまでに日本人に頻度の高い5種類のHLAハプロタイプのホモ接合体である7種類の細胞株、AKB、TOK、T182 (A24-B52-DR15)、HOR (A33-B44-DR13)、SA (A24-B7-DR1)、LKT3 (A24-B54-DR4)、TAB089 (A2-B46-DR8)の塩基配列を決定し、さらに白人のHLAホモ接合細胞株および胞状奇胎DNA (1倍体のみのゲノムを有するので、直ちにハプロタイプを決定できる)のリシーケンシングを行った。塩基配列の決定よりSNPデータベースに登録されていない新規の多型または変異を1ハプロタイプあたり数百カ所検出しており、ハプロタイプごとの多型情報として分析を進めている。特にAKB、TOK、T182間の比較から同一HLAハプロタイプ間において20 kb~40 kbに1カ所のSNPが存在することが確認され、HLAハプロタイプのさらなる細分化が可能であることが示唆された。我々はこのHLAハプロタイプの細分化への可能性をさらに追究するとともに、多型情報をデータベースとして蓄積し、将来的に移植やHLA関連疾患の診断および治療のための指針へと発展させることを目指している

SⅢ-1

HLA class I 分子へのHIV-1の適応

○滝口 雅文

熊本大学エイズ学研究センター

HIV-1 特異的細胞傷害T細胞は、HIV-1 感染細胞を認識し、その細胞を殺すことにより、HIV-1 の増殖はコントロールしている。一方、HIV-1 はこれらのT細胞が認識するエピトープ部位を変異させることで逃避することが知られている。我々はHIV-1 の変異すなわちHIV-1 の多様性の獲得に及ぼすHLAクラスI分子拘束性HIV-1 特異的CD8陽性T細胞の役割を明らかにする目的で、世界9か所の異なったコホートでの2800人以上のHIV-1 感染者のHLA抗原とHIV-1 のシーケンスを解析した。初めに強いHIV-1 増殖抑制能をもったHLA-B*51:01拘束性RT128-135特異的CTLが認識するエピトープ部位の解析をしたところ、このエピトープの逃避変異とHLA-B51との間に強い相関を見出した。さらに14個の免疫原性が強いエピトープに関して同様の解析をしたところ、逃避変異と拘束性のHLAとの間に強い相関がみられた ($p < 0.0001$)。一方、これらのエピトープの拘束分子をもっていない集団での逃避変異の頻度と、それぞれのコホートでのエピトープに拘束するHLAクラスIの頻度の間にも相関がみられたことから、これらの逃避変異は世界的レベルで集積していることが明らかになった。これらの研究結果は、HIV-1 はHLA抗原に適応するように進化していることを示している。HIV-1 が宿主の免疫に適応するように進化していることから、エイズワクチン開発の困難さが示唆される。エイズワクチンの今後の方向性についての議論もする予定である。

SⅢ-2

進化医学的アプローチによるHIV/AIDS関連遺伝子の同定

○木村 彰方

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子病態分野

Human immunodeficiency virus (HIV) 感染症はAcquired immune deficiency syndrome (AIDS) を引き起こす難治性新興感染症であり、1980年代半ばにその存在が認識されて以来、今なお感染が拡大している。抗ウイルス薬が開発された以降もHIV/AIDSは予後不良の疾患であり、その克服は現代医療の重要な課題である。HIV感染あるいはAIDS発症には個体差があるが、このようなHIV/AIDS感受性・抵抗性には宿主のゲノム多様性が関わると考えられる。一方、ウイルスの塩基配列比較から、HIVの起源は旧世界ザルに感染しているSimian immunodeficiency virus (SIV) であると推定されている。また、旧世界ザルは一般にSIV感染に抵抗性があること、チンパンジーはHIVに感染するがAIDS発症には抵抗性であることが知られている。

これまでのHLA (MHC) 研究から、特定のHLAクラスIアレル (HLA-B*57やB*27) を有する個体はHIV/AIDSに抵抗性であり、それぞれ特定のGagエピトープを効率よく提示することが明らかとなっている。また、チンパンジーはMHC (ChLA) クラスIの多様性がヒトに比較して小さいこと、チンパンジーに高頻度に認められるChLA-B*02やB*03が提示するGagエピトープはそれぞれHLA-B*57やB*27が提示するエピトープと類似していることが報告されている。これに対して、旧世界ザルであるアカゲザルやカニクイザルではMHCクラスI (Mamu-A, Mafa-Aなど) の多様性が極めて大きいこと、SIVワクチン後のSIV感染に抵抗性を示す個体が有するMafa-Aアレルは前述のHIV抵抗性HLA-Bアレルと類似したGagエピトープを提示することが我々を含めた研究者らによって明らかにされている。このようなMHC研究の成果は、HIV/AIDS抵抗性を規定するMHCクラスIアレルは進化的に共通した機能的特徴を示すこと、旧世界ザルのSIV感染抵抗性には感染関連遺伝子群のゲノム多様性の大きさが関与すること、チンパンジーにはSIV感染の蔓延によるボトルネックでゲノム多様性が小さくなった遺伝子群が関与することなどを示唆する。

我々はこのような観点に基づいて、霊長類の比較ゲノム解析によって、感染症・免疫関連遺伝子群の中から進化選択圧がかかったと推定される遺伝子群をピックアップし、それらについて、霊長類におけるゲノム多様性およびSIV感染ないしHIV/AIDSへの感受性・抵抗性との関連を検討している。本シンポジウムでは、このような進化医学的アプローチによって同定したHIV/AIDS関連遺伝子のいくつかを例にとって、研究の概要と現状および将来への展望を紹介する。

SⅢ-3

自己免疫性膵炎感受性遺伝子の解析

○太田 正穂¹⁾、川茂 幸²⁾

1) 信州大学医学部法医学教室

2) 信州大学総合健康安全センター

自己免疫性膵炎 (AIP: autoimmune pancreatitis) は 1) 膵管の不整狭細像、膵腫大、閉塞性黄疸など膵癌と臨床像が類似、2) 免疫グロブリン高値、リンパ球浸潤を伴う著名な線維化、ステロイドに対する良好な反応性などの自己免疫所見、3) 涙腺・唾液腺炎、硬化性胆管炎、後腹膜線維症などの様々な膵外病変の合併によって特徴づけられる特異な膵炎である。特にこの疾患では、健常人と比較して血清IgG4値が10倍以上の値を示し (Hamano et al, 2001: NEJM)、膵病変局所にIgG4陽性形質細胞の顕著な浸潤が認められることが特徴的である。このような所見は膵癌、通常の慢性膵炎、原発性胆汁性肝硬変、原発性硬化性胆管、リシェーグレン症候群患者では認められない。現在、自己免疫性膵炎はIgG4が関連する全身性疾患、「IgG4関連疾患 (IgG4-related disease)」の構成疾患と認識されている。しかし、この疾患の病態・発症機序の詳細については充分解析されていない。

これまで我々は自己免疫性疾患感受性の遺伝的要因を追求するために、HLAアレルとの相関解析を行った。その結果DRB1*04:05-DQB1*04:01に有意な感受性を示した (Kawa et al, 2002: Gastroenterology)。最近、DRB1*04:05アレルを導入したトランスジェニックマウスがAIPと類似した所見を多く示し、DRB1*04:05アレルが疾患感受性に関与していることを示唆した報告がある (Freitag et al, 2010: Gastroenterology)。我々は400種類のマイクロサテライトマーカーを用いた相関解析では、T細胞のCa²⁺のシグナリングや膜電位を制御し、T細胞増殖や活性化に重要なカリウムイオンチャンネル蛋白KCNA3 (Kv1.3) 遺伝子が感受性に関わる候補遺伝子として選出した (Ota et al, 2011: Disease Marker in press)。また、最近500K SNP array (Affimetrix 社) を用いたGWAS解析では、HLA遺伝子、ケモカイン遺伝子、免疫受容体シグナリング制御に関わる遺伝子等が疾患感受性候補遺伝子として選出されている。

AIPの有病率は人口10万人に1.34人と推定され、非常に稀な疾患である。本疾患をGWAS解析により客観的な結果を得るには、今後更なる症例数の解析が必要である。

SIV-1

HLA-ペプチドドッキング解析に基づいた免疫創薬的アプローチ

○秋山 靖人¹⁾、中村 洋路^{1,5)}、田井 祥子¹⁾、大下 千恵¹⁾、飯塚 明¹⁾、芦澤 忠¹⁾、齊藤 修治²⁾、山口 茂樹³⁾、
近藤 晴彦⁴⁾、山口 建¹⁾

- 1) 静岡がんセンター研究所
- 2) 済生会横浜市南部病院
- 3) 埼玉医科大学
- 4) 静岡がんセンター病院
- 5) 中央水産研究所

近年、ペプチドを用いたがんの免疫療法が盛んに臨床応用され、多くの臨床的な知見が得られているが、治療効果の高い機能的なエピトープペプチドを同定することは未だに困難を伴う場合が少なくない。現在、ワクチン療法に使用するペプチドの選定に最も利用されるのが、Bioinformatics and Molecular Analysis Section (BIMAS)などアミノ酸の一次配列に基づいた解析ツールであるが、予測の精度は十分とは言えない。今回、我々は、HLA-A24タンパクの3次元構造を基に計算機上にてHLAタンパクとペプチドのドッキングをシミュレーションするアルゴリズム (*in silico*ドッキングアッセイ)を開発し、実際にcarcinoembryonic antigen (CEA)やその他のタンパク由来の免疫エピトープ予測を行った。HLAタンパクの構造データは、蛋白質構造データバンク (PDB) より取得し、MODELLERとAUTODOCKソフトウェアを用いてHLAタンパクとペプチドのドッキングによる結合自由エネルギーの変化を結合安定性の指標とした。この場合、より安定な結合は負数で表わされることになる。これらのドッキングのデータと従来の予測ツールであるBIMAS,および実際の免疫学的な実験データ(各ペプチドのHLA結合安定化試験,CTL誘導活性など)を比較することにより、評価を行った。アッセイの陽性コントロールとしてHLA-A24とCMVpp65ペプチドの結合データを用いた。まずBIMASにて20以上のスコア値を示したトップ10個のCEA-A24ペプチドを合成し、実験に使用した。このうちCTL誘導活性を示したものは、主にCEA-6,9であった。これらは、HLA結合安定化試験、ドッキングともに中等度のアフィニティを示した。一方でドッキングアッセイで最もアフィニティの高かったCEA-3は、強いCTL誘導活性を示さなかった。

次にドッキングアッセイのバリデーションを目的に既知の16種類のHLA-A24ペプチドを用いてCEAペプチドと同様の検討を行った。ドッキングアッセイと各種免疫パラメーターとの比較では、HLA結合安定化試験と有意な相関を認めたが、BIMASはいずれのパラメーターとも相関を認めなかった。今回、我々が開発したHLA-A24ペプチドのドッキングアッセイは、タンパクの3次元構造を基に計算機上にて解析を行う新規のアプローチである。現時点では、従来のエピトープ予測プログラムであるBIMASよりは、有用である結果が得られたが、CTL誘導活性をもつエピトープを認識できない場合もあり、まだその正確性は十分ではなく今後予測精度の改良が必要である。

SIV-2

疾病感受性遺伝子のゲノム同定と創薬

○鎌谷 直之

理化学研究所ゲノム医科学研究センター

最近のゲノム研究ではゲノム多様性と表現型との関連の解析が盛んに行われている。しかも少数の遺伝子を対象とした「候補遺伝子アプローチ」からゲノム全体を対象とした「ゲノムワイドアプローチが主流となった」。まず、単一遺伝子病の原因座位検索において連鎖解析が極めて強力な手法を提供とし、更に最近になって多因子病や薬物反応性を対象としたゲノムワイド関連解析 (GWAS) が盛んに行われるようになった。即ち、理化学研究所から2002年に世界最初に発表されたGWAS/WGAは2004年までは日本の医学生物学界で高い評価を得られなかったが、2005年から海外でも行われるようになり、2007年からは急激に広がった。2010年のNature Geneticsの論文の55%が既にGWAS/WGAであり、世界の医学生物学研究の標準的手法となった。表現型も疾患に始まり、薬物の副作用、効果、身長などの身体的表現型、更には血液検査、心電図所見など様々な表現型を対象とするようになった。

薬理遺伝学的にも薬物と効果や副作用の関連について、GWASから画期的な例が相次いでいる。例えば、薬物による重症副作用の多くがHLA クラスII座位と強く関連している事が明らかになってきた。GWASの結果から創薬に結び付く例も出現しており、GWAS結果を創薬の参考にする手法 (ゲノムワイド創薬) を提唱する。欧米では治験でDNAを収集する事が日常的になっている。海外では投薬前に遺伝子検査が必須となる例も増えてきている。本邦でも医薬品機構におけるPGx・バイオマーカー相談の開始、JPDSによる日本人3000人のGWASコントロールデータの収集、ガイドラインの整備等、環境が整いつつある。日本は人類遺伝学が特に弱い国であると言われているが、これには「genetics」の訳語の問題がある。「遺伝学」のもととなっている英語は「genetics」であるが、これは国際的に「heredityとvariationの科学」と定義されている。ところが、日本の「遺伝学」は、訳語の問題もあり「遺伝 (heredity) の科学」と捉えられがちで、「variation: 多様性」の概念が抜け落ちている。そのため遺伝子やゲノムを対象とした多くの研究を取りこむ事ができず、日本では分子生物学が非常に大きくなっている。これは0か1かで対象を考えがちな日本社会の特徴の反映でもあり、医療等の行き詰まりの多くに関係している。日本で疾患や薬物反応性に関係するゲノム情報を応用するためには、このような状況を打破する必要がある。

SⅣ-3

HLAの機能を制御できる低分子化合物の*in silico*探索・創製の試み

○平山 令明

東海大学医学部医学科基礎医学系分子生命科学

HLAによるペプチド抗原の提示を制御できる低分子化合物が見出されれば、HLAが関連する多くの自己免疫疾患の発症や憎悪を抑制できる可能性がある。しかしながら、現在までに、そのような作用を示す低分子化合物は殆ど知られていない。探索・創製すべき化合物の化学構造に関する手がかりがない場合、従来の創薬法では適当な生物評価系をまず作成し、試行錯誤的に多様な分子を評価せざるを得なかった。この所謂ランダム・スクリーニングには非常に多くの資源と時間が必要になるため、その実行には極めて大きなリスクが伴い、相当な覚悟も必要となる。一方、分子標的の立体構造に基づき、標的分子と低分子化合物の相互作用を理論科学的にシミュレーションして結合親和性の高い分子を探索する*in silico*探索法は、多くの資源と時間を要することなく実行することが現在では可能である。しかも近年のコンピュータ科学の著しい進展により、*in silico*探索法は実験的な評価法に匹敵するほど正確になって来ている。現在我々は、HLAの機能制御が可能な低分子の*in silico*探索・創製を最終目的として、幾つかの研究を展開している。本講演ではクラスIIに属する2つのHLAに各々の責任ペプチドが結合する様式を*in silico*で推定した研究を中心に、HLAの構造機能相関を研究する上で*in silico*科学が果たすことのできる役割と可能性についても述べる。

1987年にDon WileyらがHLA-A 2の立体構造を初めて明らかにして以来、多くのHLAの立体構造が決定されており、その特異な立体構造には明確な共通性のあることが示されて来た。このように標的分子の立体構造が詳細に解明されていることから、HLA分子と相互作用可能な低分子を*in silico*探索することは現実的な問題であると言える。クラスIIに属するDP5およびDR53は各々スギ花粉症および橋本病の発症に深く関わっており、これらの疾病の治療薬ないし予防薬を研究・開発する上から、これらのHLAと強い相互作用ができる低分子の探索・創製研究は興味深い。

DP5およびDR53のX線解析はまだ行われていないので、それらの立体構造を予測することから研究を開始した。これまでに、クラスIIに属する複数のHLAの立体構造がX線解析されており、それらの立体構造は非常に類似していることが分かっている。立体構造既知のタンパク質とのアミノ酸配列の相同性を活用して、構造未知のタンパク質の立体構造を予測する方法はホモロジー・モデリング (HM) 法と呼ばれるが、近年その予測精度は大きく向上している。最近我々は、HM法を用いて、DP5およびDR53の最も妥当な立体構造を構築した。これまでに報告されているHLA-抗原ペプチド複合体の結晶構造において、HLAとの結合に関与する抗原ペプチド部分の主鎖の立体構造は非常に良く保存されている。そこで、主鎖の立体構造の保存性を仮定して、アミノ酸配列が報告されているDP5の責任ペプチド (*Tissue Antigens*47,485 (1996)) がどのようにHLAに結合するかを予測した。本研究で明らかになったDP5とその抗原ペプチドの相互作用様式は、スギ花粉症を抑える医薬分子の発見・創製を行う上で重要な手がかりの一つである。DP5とDR53の立体構造情報を活用して、これらのHLAに対する親和性が高い低分子化合物の*in silico*探索・創製研究を現在展開している。

本講演で述べる研究は科学研究費補助金・新学術領域研究 (22133012) の助成を受けて行っているものである。

口 演 発 表

O-1

旧世界ザルにおけるULBP4/RAET1E 遺伝子の多様性

○成瀬 妙子¹⁾、奥田 裕紀子²⁾、森 一泰³⁾、明里 宏文⁴⁾、
俣野 哲朗³⁾、木村 彰方^{1,2)}

- 1) 東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態
- 2) 東京医科歯科大学大学院 疾患生命科学
- 3) 国立感染症研究所 エイズ研究センター
- 4) 京都大学 霊長類研究所

【目的】ULBP (REAT1) はMICと共にレクチン型NK細胞レセプターNKG2Dのリガンド遺伝子ファミリーである。なかでもULBP4遺伝子は、ヒトULBP/RAET1遺伝子ファミリー中で最も多型に富む。我々はこれまでにアカゲザルULBP遺伝子領域がヒトと異なる遺伝子重複を起こしたことを報告してきたが、今回はアカゲザルおよびカニクイザルでULBP4多型を解析した。

【方法】ビルマ産アカゲザル7系統38個体、およびインドネシア、フィリピン、マレーシア産カニクイザル5系統24個体を対象とした。BLCL、または末梢血よりゲノムDNAを抽出し、ULBP4遺伝子 $\alpha 1, \alpha 2$ ドメインをコードするエクソン2-3のPCR産物をクローニングし、塩基配列を決定した。

【結果】アカゲザルではMamu-ULBP4*1.1~ULBP4*22の25種、カニクイザルではMafa-ULBP4*1.1~ULBP4*12の14種のアレルが検出された。Mamu-ULBP4*14の塩基配列は、Mafa-ULBP4*1.1と100%一致していた。また、Mamu-ULBP4*8はエクソン内に終始コドン、Mafa-ULBP4*6は1アミノ酸残基欠損を含んでいた。

【考察】有胎盤哺乳類ULBPは、MHCより分岐後、種独自に進化したと考えられている。ヒトULBP4には5種のアレルが報告されているが、アカゲザル、カニクイザルULBP4はさらに多型に富んでいた。系統樹解析ではアカゲザル、カニクイザルのULBP4アレルはそれぞれクラスターを形成しなかったことから、多型は旧世界ザルの分岐以前に獲得されたと考えられた。また、3Dモデル解析で、これらの多型のほとんどが α ヘリックス表面に存在せず、NKG2Dとの結合多様性への関与は少ないと推定された。

O-2

コモンマーモセットMHC(Caja)-A/G/F 亜領域のゲノム構造解析

○河野 あづみ、椎名 隆、猪子英俊
東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

【目的】新世界サルに属するコモンマーモセット(Callithrix jacchus)は、実験動物の一種として、創薬研究や疾患解析などの生物医学研究にてさらなる活用の可能性が期待されている。その一方、そのMHC(Caja)-B/C亜領域ならびにCaja-DR亜領域を除けば、Caja領域全般における遺伝子構成や多様性に関する報告は乏しい。そこで本研究では、CajaクラスI遺伝子の1種であるCaja-Gの遺伝的特徴を明らかにするために、Caja-A/G/F亜領域のゲノム構造解析をおこなうことを目的とした。

【材料および方法】CHORI259(BACPAC Resources)マーモセットBACライブラリーをもちいて、MOG遺伝子からRXRB遺伝子までの約4.2 Mbを網羅するBACコンテイングを作製し、Caja-A/G/F亜領域の塩基配列決定に最適な4個のBACクローンを選出した。これらの塩基配列は3130xl Genetic Analyzer(ABI)ならびにGS junior Bench Top System(Roche)にて決定した。

【結果および考察】4個のBACクローンの塩基配列決定より、MOG遺伝子からRNF39遺伝子までの約760 kbを網羅する塩基配列を決定した。その塩基数はヒトの419 kb、アカゲザルの955 kbに対して約1.8倍および0.8倍の長さをそれぞれ示した。また、この領域に19個のCaja-G様遺伝子が特定され、それらの中で4個はエクソン1から7(約1161 bp)にて発現可能な遺伝子構造を示した。さらに、既知MHC遺伝子を含めた分子系統樹は、これらの4個のCaja-G遺伝子がHLA-Gグループではなく、HLA-A、-B、-Cなどの古典的クラスI遺伝子グループに属する系統関係を支持した。演者らは、末梢血由来のRNAから複数のCaja-G様配列を検出していることから、4個のCaja-Gのすべて、あるいはその一部は古典的クラスI遺伝子の機能を有すると考えられた。

O-3

牛白血病ウイルス感受性ウシMHCクラスII分子から得られた抗原ペプチドの同定および結合親和力解析

○金 智潤¹⁾、竹嶋 伸之輔¹⁾、沖本 憲明³⁾、
山岸 純也^{3,4)}、堂前 直⁴⁾、萩原 恭二¹⁾、間 陽子¹⁾

- 1) 理化学研究所・分子ウイルス学特別研究ユニット
- 2) 理化学研究所・ケミカルバイオロジー研究基盤施設バイオ解析チーム
- 3) 理化学研究所・計算分子設計研究グループ
- 4) 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 情報生命科学専攻

【目的】 地方病性牛白血病は牛白血病ウイルス (BLV) により惹起されるウシの悪性リンパ腫である。BLVの病態進行はウシMHCクラスII DRB3 遺伝子の多型性により個体差が見られる。本研究では、実験と計算の手法を融合することで、白血病発症の感受性を規定するアリル (BoLA-DRB3*1601) を有する個体にTh1型細胞性免疫を誘導できるペプチドの開発を目指して、感受性MHC分子の立体構造の構築を試みた。

【方法】 感受性MHCアリルを発現するウシリンパ腫細胞株KU-1からイムノアフィニティークロマトグラフィー精製法を用いてMHC分子を単離した。さらに結合ペプチドを酸で抽出後、HPLCで分画し、そのアミノ酸配列をタンデムマスマスペクトロメトリーによって決定した。ペプチドの結合親和力は細胞直接結合アッセイ法によって行った。コンピュータシミュレーション (ホモロジーモデリング及び分子動力学シミュレーション) を用いて、感受性MHC分子と抗原ペプチド分子との複合体の立体構造予測を行った。

【結果および考察】 感受性ウシMHC分子から26種類の細胞由来の長さ8-20個の抗原ペプチドが同定された。これらの抗原ペプチドは以前に報告された他のアリルから得られたものとは異なっていた。次に、同定された8種類のペプチドのMHC分子に対する結合親和性を調べた結果、5種類のペプチドで結合が確認出来た。さらに、既知のヒトMHCクラスII分子の立体構造情報から抗原ペプチドと感受性ウシMHCクラスII分子の複合体構造をホモロジーモデリングにより構築した。これらの複合体構造を分子動力学シミュレーションによって構造最適化を行った。今後、計算により設計した感受性MHCクラスII分子の立体構造を用いて、高親和性を有し効果的にTh1型の免疫応答を誘導するBLV抗原ペプチドを計算機スクリーニングによって設計していく予定である。

O-4

リンパ球クロスマッチと臍帯血移植

○小笹 亮太郎¹⁾、堀田雅章¹⁾、中西孝尚¹⁾、藤田真也¹⁾、
山岡学²⁾、阿部操²⁾、宮地理彦¹⁾、森眞一郎¹⁾、野村昌作¹⁾

- 1) 関西医科大学附属枚方病院 血液・腫瘍内科
- 2) 関西医科大学附属枚方病院 輸血部

【症例】 26歳女性。25歳時に急性単球性白血病 (FAB分類M5a) と診断。難治例で早期の造血幹細胞移植が必要と判断した。同胞はHLAが適合せず、迅速に提供される臍帯血を移植源とした。事前のHLA抗体検査 (HLA Class-I) は陰性であった。1回目の臍帯血はHLAはリンパ球クロスマッチはClass-IIに対して陽性であったが、移植する臍帯血には対応する抗原は含まれていなかった。day18のキメリズム検査は完全レシピエント型で、day21の骨髓検査で生着不全と判断した。2回目の臍帯血移植を1回目の臍帯血移植から28日目に行った。2回目の臍帯血はリンパ球クロスマッチの反応の無いものを選択した。day18のキメリズム検査も完全レシピエント型であり、day26の骨髓検査で生着不全と判断。2回目の臍帯血移植から31日目に父親から同種末梢血幹細胞移植を施行した。前処置は抗リンパ球グロブリン2.5mg/kg×2日間とした。day11のキメリズム検査では2回目の臍帯血と父親の混合キメリズムであり、day16に好中球生着を認めた。

【考察】 抗リンパ球グロブリンの投与により強力な免疫抑制を追加したことで2回目の臍帯血の生着が促進されたことが示唆されることから、HLA抗体を保持しているレシピエントの臍帯血移植には従来の骨髓破壊的前処置に加えてさらなる免疫抑制の追加が必要と考える。

O-5

血清の非働化により腎移植前のDSA強陽性を判定しえた一症例

○万木 紀美子¹⁾、平位秀世¹⁾、菱田理恵¹⁾、大久保和俊²⁾、丹羽紀実¹⁾、竹川良子¹⁾、三浦康生¹⁾、芦原英司^{1,3)}、兼松明弘⁴⁾、小川 修²⁾、前川 平¹⁾

- 1) 京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部
- 2) 京都大学医学部附属病院 泌尿器科
- 3) 京都府立医科大学 細胞生理学
- 4) 兵庫医科大学病院 泌尿器科

【目的】ドナー特異HLA抗体 (DSA) 陽性の腎移植予定症例において、FFPによる血漿交換 (PE) 等を行い、その抗体除去効果をリコンビナントHLA抗原を固定化したビーズによるHLA抗体検査 (ルミネックス法、One Lambda社) とリンパ球クロスマッチフローサイトメトリー法 (FCXM) で検討した。2法のデータに乖離が認められたが、血清の非働化により検査結果が一致した症例を経験したので報告する。

【方法】症例は61歳女性、ルミネックス法で抗-A2抗体 (DSA) を検出し、FCXMでも陽性であった。平成23年1月から2月にかけて3回のPEを含む処置を実施し、同年3月の移植予定日前に各時点での抗体除去効果を確認するため2法で検討した。

【結果】ルミネックス法での抗-A2抗体のMedian Fluorescence Intensity (Median FI) 値は、初回のPE前では3,199、移植予定日直前では4,504と軽度の上昇であった。一方、FCXMのMean FI値は、初回PE前では372であったが、約1ヶ月後には11,240と高度に上昇していた。その後2回のPE等によっても上昇したMean FI値は低下せず、腎移植は中止した。ルミネックス法とFCXM法で乖離が認められた原因として、新鮮血清の使用があるのではないかと考え、検体血清の非働化を行って再検した。その結果、ルミネックス法による初回PE前のMedian FI値は非働化による大きな変化は認められなかったが、移植予定日直前のMedian FI値は非働化前の4,504から非働化により22,245と強陽性に転じ、FCXMの結果と一致した。

【考察】ルミネックス法ではSingle Antigen Beadsに抗-A2抗体が密に結合したため補体を活性化し、補体成分により2次抗体の結合が妨げられたことがデータ乖離の原因の一つと考えられた。

O-6

肺癌免疫療法に有用なHLA-A*02:01拘束性ヒトIMP-3由来CTLエピトープの同定

○富田 雄介^{1,2)}、原尾美智子¹⁾、千住覚¹⁾、今井克憲¹⁾、平田真哉¹⁾、入江厚¹⁾、井上光弘¹⁾、白石健治³⁾、森 毅³⁾、野守裕明³⁾、興梠博次²⁾、西村泰治¹⁾

- 1) 熊本大学大学院 生命科学研究部 免疫識別学分野
- 2) 熊本大学大学院 生命科学研究部 呼吸器病態学分野
- 3) 熊本大学大学院 生命科学研究部 呼吸器外科学分野

【目的】肺癌に高発現し、成人の正常組織には発現しない癌抗原を同定し、HLA-A2 (A*0201) 拘束性細胞傷害性T細胞 (CTL) が認識する癌抗原由来のペプチドを同定して、癌免疫療法への応用に資する。

【方法】正常組織および肺癌組織におけるcDNAマイクロアレイ解析により癌抗原を同定した。HLA-A2に結合すると推定される癌抗原ペプチド40種類を、HLA-A2 トランスジェニックマウス (HLA-A2 Tgm) に免疫後、IFN- γ ELISPOT法でペプチド特異的CTLの免疫応答を観察してCTLエピトープを同定した。健常人および肺癌患者のCD14陽性細胞由来DCに、これらのペプチドを負荷してCD8陽性T細胞を刺激し、ペプチド特異的CTLの誘導した。誘導したCTLを腫瘍細胞、あるいはIMP-3遺伝子を導入したHLA-A2陽性細胞と共培養し、CTLの免疫応答をIFN- γ -ELISPOT法およびCr放出試験により評価した。

【結果】肺癌に高発現する癌胎児性抗原としてIMP-3を同定した。IMP-3は、非小細胞肺癌12例中11例で癌部において高発現していたが、正常臓器では胎盤以外には、ほとんど発現を認めなかった。HLA-A2 Tgmを用いて、マウスCTLエピトープを3種類同定し、このうち1種類のペプチドが、健常人および肺癌患者のPBMCから、特異的HLA-A2拘束性CTLを誘導できた。さらに、ヒトでのみHLA-A2拘束性CTLを誘導できるペプチドを1種類同定した。これらのペプチドで誘導したCTLは、IMP-3とHLA-A2を共に発現する癌細胞株に細胞傷害活性を示し、これは抗HLA-A2抗体により抑制された。

【結論】IMP-3は、肺癌に対する免疫療法の標的抗原として有望であることが示唆された。現在、今回同定したIMP-3由来ペプチドを用いた癌免疫療法の臨床試験を計画中である。

O-7

抗体関連型拒絶反応の診断に苦慮した細胞障害性クロスマッチ陰性の生体肝移植後の1例

○吉澤 淳¹⁾、江川 裕人²⁾、菱田 理恵³⁾、万木 紀美子³⁾、
宮川 文⁴⁾、前川 平³⁾、羽賀 博典⁴⁾、上本 信二¹⁾

- 1) 京都大学医学部附属病院 肝胆膵・移植外科
- 2) 東京女子医科大学病院 消化器外科
- 3) 京都大学医学部附属病院 輸血細胞治療部
- 4) 京都大学医学部附属病院 病理診断部

【目的】今回、我々は術前術後に行った細胞障害性クロスマッチ (Lymphocyte Cytotoxicity Test : LCT) 陰性であったが、抗体関連型拒絶反応 (AMR) が疑われた症例を経験した。治療当時、AMRの診断に至らなかったが、AMRの有無を検討するためにretrospectiveに保存血清をSingle Antigen Beadsを用いたLuminex法で抗ドナー抗体 (DSA) の有無を検査し、肝生検組織の免疫化学染色を行って検討を行った。

【方法】症例は43歳、女性。原疾患は原発性胆汁性肝硬変、夫をドナーとする左葉グラフトを用いた生体部分肝移植を行った。血液型はA型の一一致症例であった。術前にLCTを行った。また、術後、AMRを疑い、LCTを行った。

後日、保存血清を用いて、Luminex法によりDSAの検出を行った。

術後、肝生検組織をC4dによる免疫科学染色を行って、抗体関連型拒絶反応の有無について評価を行った。

【結果】本症例は、術後5日目より大量腹水、門脈血流の低下を認め、術後6日目の肝生検で急性細胞性拒絶反応 (ACR) の所見を認めた。その後、免疫抑制療法を強化するが、血小板減少などを認めTMAを疑い、血漿交換療法を繰り返す。術後17日目の肝生検でsevere ACRおよび胆管炎の所見を認めた。AMRを疑い、術後13,14,19日目にLCTを行うが陰性であった。その後も、肝機能の悪化が進行し、感染症を伴って死亡した。

肝生検組織のC4dの免疫科学染色では術後6,17,32日目の肝生検は陰性、術後46,49日目は陽性であった。

RetrospectiveにLuminex法によるDSAの検出を行ったところ、術前および術後13日目の保存血清で蛍光強度10000以上の強陽性を示した。

【考察】本症例はドナーが夫であり、妊娠歴もあったため、術前にドナー抗原に感作されていた可能性があった。肝生検組織のC4d染色は肝機能悪化初期に陰性であり、繰り返し行ったLCTが陰性であったため、臨床的に肝生検の組織像、経過からAMRをうたがったが、治療当時、確定診断に至らなかった。

今回、retrospectiveにLuminex法を用いて、血清中のDSAの存在が示され、肝生検組織のC4d染色が示され、AMRの関与を証明しえた興味深い症例を経験した。

O-8

長期の腎移植におけるHLA抗体

○水谷 一夫¹⁾、絹川恒郎²⁾、服部良平¹⁾、後藤百万¹⁾、
ポール・テラサキ³⁾

- 1) 名古屋大学 医学部 泌尿器科
- 2) 中京病院 泌尿器科
- 3) テラサキ ファウンデーション

【目的】腎移植においてHLA適合性は以前より重要な問題であったが、近年HLA抗体検査の進歩により抗HLA抗体の詳細が判明し抗体関連拒絶反応が移植腎の長期予後のためには重要であることがわかってきた。しかし現在においても抗体関連拒絶反応に対する十分な治療方法が確立されていないのが実情である。また長期にわたるHLA抗体の影響についても解明されたい。今回、我々は名古屋大学泌尿器科移植関連施設の生体腎移植症例を用いてHLA抗体を検査し、特に長期にわたる生着率へ影響を与える要因について検討した。

【方法】1984年から1999年までの生体腎移植症例の中で移植時よりの血清が検査可能な症例50例を検討した。HLA検査はOne Lambda社のLABScreen Single Antigen testを使用した。【成績】検討した50例中機能廃絶症例は32例、移植腎生着症例は28例であった。生着症例の観察期間は94-274ヶ月 (平均170ヶ月) であった。機能廃絶症例中、HLA抗体は26例 (81%) が陽性であったが、移植腎生着症例は14例 (50%) が陽性で機能廃絶例はHLA抗体が有意に陽性であった。(p<0.05) Fluorescence intensity (FI) の比較ではFI 10000以上の症例が移植腎生着症例は6例 (21%) で機能廃絶例は15例 (47%) でありHLA抗体の強度も機能廃絶例では有意に増加していた。(p<0.05)

【結論】生体腎移植の生着においてHLA抗体の有無と強度の重要性が示された。

O-9

日本人集団におけるHLAと生化学検査値の関連

○奥平 裕子¹⁾、奥平裕子¹⁾、光永滋樹¹⁾、成田暁¹⁾、
柏瀬貢一²⁾、椎名豊³⁾、本間康彦³⁾、井ノ上逸朗⁴⁾、
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) 東京都赤十字血液センター検査一部
- 3) 東海大学医学部内科学系検診センター
- 4) 国立遺伝学研究所 人類遺伝学部門

【目的】HLAとの関連がよく知られている自己免疫疾患では、しばしば炎症性サイトカインの上昇が観察される。一方、肥満による慢性炎症が様々な疾患に関与していることが明らかとなってきている。そこで、肥満とも関連している7種類の生化学検査値とHLAとの関連を調べた。

【方法】文書によるインフォームドコンセントを得た1,616名の東海大学病院付属検診センター受診者を対象とした。このうちHLA-DRB1は全例で、他の遺伝子座は1,047例でLuminex法によりタイピングを行った。検査値の分布は正規分布ではなかったため、解析はMann-Whitney U test および基準値内と異常値に分けてFisher's exact testにより行った。

【結果】Mann-Whitney U testでは、女性集団でDPB1*03:01 がHbA1c ($p = 6.65E-05$) と、DRB1*14:03 ($p = 0.0015$) が総コレステロールと有意に関連しており、男性集団ではC*14:02 ($p = 0.0041$) が総コレステロールと有意に関連していた。Fisher's exact testでは、女性のDRB1*14:03は総コレステロール高値と関連しており ($p = 3.23E-4$, OR = 4.32, 95% CI = 1.83-10.36), 女性のDPB1*02:01はLDLコレステロール高値に対し抵抗性であった ($p = 0.0043$, OR = 0.41, 95% CI = 0.19-0.79)。

【考察】Mann-Whitney U testで検出した関連は必ずしもFisher's exact testでは検出できなかった。これは、基準値内高値の症例が異常値に移行するにはHLAだけではなく、他の遺伝要因や環境要因の関与が必要であるためと考えられる。

O-10

慢性B型肝炎感受性・抵抗性に関連するHLA-DPの機能解析

○高柳 彩、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】B型肝炎は東アジア地域で罹患率の高いウイルス性疾患である。B型肝炎ウイルス (HBV) の持続感染の罹患率は世界的に大きな地域差があり、アジア太平洋地域では全人口の10%以上に及ぶ。近年、日本人・タイ人集団を対象としたゲノムワイド関連解析において、B型肝炎慢性化とHLA-DPA1、DPB1遺伝子領域内の多型との間に顕著に高い関連が報告され、慢性B型肝炎感受性及び抵抗性アリルが同定された (Kamatani, Y. et al. 2009)。このことはHLA-DPアリル特異的なHBV由来のペプチド断片提示が、B型肝炎慢性化に関与していることを示唆する。この可能性を検証するため、本研究では慢性B型肝炎抵抗性及び感受性アリルを対象としてHLA-DPタンパク質を発現し、HBV由来のペプチド断片との結合能を、解析した。

【方法】HLA-DP cDNAのクローニングを行い、バキュロウイルス発現系でHLA-DP組換えタンパク質を発現した。

【結果・考察】細胞表面に発現しているHLA-DP組換えタンパク質に対するHBV由来のペプチド断片の結合能を、フローサイトメトリーを用いて測定した。今後はこれらの結果を基に、精製したHLA-DP組換えタンパク質を用いた結合アッセイにより、結合特異性及び親和性について詳細に検討する。

O-11

骨髄バンク登録ドナーから検出したHLA
新アリル111例の変異箇所分析

○清水 まり恵¹⁾、中島 文明¹⁾、盛山 芳恵¹⁾、
加藤 和江¹⁾、柏瀬 貢一²⁾、福森 泰雄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

【目的】日本骨髄バンクにおける登録ドナーから検出した新たなHLAアリル（以下、新アリル）と日本人で既知のアリルとの変異箇所を比較し、その多様性について集計し考察した。

【方法】2005年から2010年までに、PCR-SSOまたはPCR-SBT法を用いて行った登録ドナーより検出された新アリル111例（HLA-A：28例、B：47例、C：11例、DRB1：25例）を分析対象とした。

新アリルの変異箇所は、日本人で多くみられるHLAアリルおよびハプロタイプから比較アリルを選択して、その位置を分析した。これらのpoint mutationの変異箇所の多型を集計した。

【結果】新アリルの変異箇所は、コドン毎に局在がみられた。クラスIの変異箇所はコドン156のアリルが9例、コドン77,116,152が4例、コドン95,143,163が3例であった。クラスIIはコドン57,67が4例、コドン58が3例であった。

【考察】WHO登録時の新アリル命名では、日本人HLA分布と関連なく塩基配列を基本に決定されるため、日本人でみられるHLAアリルと再度比較し分析することが必要と思われた。局在のみられた変異箇所は、抗体特異性から解析したエピトープデータ（Nadim El-Awarら）と照合すると、同一の位置に多型が認められ、抗原性を変化させる可能性のある部位と推察される。検出頻度を比較すると、Nadimらのデータはコドン163が最も多く、我々はコドン156が最も多かった。他にも差がみられた。その差は調査対象のHLA頻度の影響も考えられた。今後この変異箇所の局在が日本人特有のエピトープ位置となり得るか詳細なデータの検討を進める。

これらのことから、新アリルの変異箇所は抗原性を変化させる可能性のある部位に多く存在し臨床上也重要な位置と思われその検出意義は高いと考える。

O-12

日本人のMICAアリル頻度およびMICAを
含むHLA-A座～DP座間の連鎖について

○楠木 靖史¹⁾、二神貴臣¹⁾、大沼豪¹⁾、小島裕人¹⁾、林晃司¹⁾、
吉田喬¹⁾、藤井直樹¹⁾、末上伸二¹⁾、西川美年子¹⁾、
小川公明²⁾、丸屋悦子³⁾、赤座達也¹⁾、佐治博夫¹⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA研究所
- 2) 特定非営利活動法人 白血病研究基金を育てる会
- 3) Terasaki Foundation Laboratory

【目的】MICA抗体はHLA抗体と同様に臓器移植時の拒絶に関わる重要なnon-HLA抗体のひとつと考えられている。テラサキらにより、移植患者のうち約10%がMICA/B抗体を有しており、HLA抗体保有患者と同様、生着率が悪いことが報告されている。造血幹細胞移植においてもMICA genotypeとMICA抗体がchronic GVHDと相関することが報告されているが、MICAアリル頻度の情報は少ない。我々は、日本人におけるMICAアリル頻度とMICAを含むHLA-A座～DP座間の連鎖不平衡についてのデータベース作りを目指し、122家系についてHLAとMICAのアリル型を検査したので報告する。

【方法】造血幹細胞移植のドナー検索を目的としたHLAタイピング家系：122家系、477人。

- ・HLA/MICAタイピング方法：Luminex法（WAKFlow/LABType）
- ・ハプロタイプ同定と頻度：直接カウント法
- ・家族検体の利点を利用しambiguityの絞り込みを行った。

【結果】MICAアリルの第一区域でも多くのambiguityが生じた。HLA-A座～DR座間で308種（HLA-A座～DP座間では361種）、487ハプロタイプが検出された。従来報告されたHLA-BとMICAアリルの連鎖が確認されたもの、および報告されている連鎖とは異なったMICAアリルがあった。

【考察】造血幹細胞移植におけるMICA抗体の意義を研究するとき、MICA抗体がDSAであるかの確認にもMICAのアリル型タイピングが重要になり、MIC/HLAハプロタイプ頻度表はそれに寄与できると期待するが、MICAタイピングキットのambiguityを解消する改良も望まれる。

ポスター発表

P1

生体腎移植術後にLABScreen検査で異常が見られた2例

○盛 和行、畠山真吾、工藤 茂将、米山 高弘、
古家 琢也、神村 典孝、藤田 雄、鳴海 俊治、
大山 力

弘前大学大学院医学研究科

【目的】当科では2006年から27例の生体腎移植を実施している。当初からFCXMを導入し、2010年9月からはFlow PRAを導入、2011年2月からはLABScreenを導入した。現在まで腎機能廃絶例はないが、LABScreenで術後に異常が見られた典型例2例について報告する。

【方法】症例①は2009年5月に術前FCXMを実施したABO不適合症例。術後に術前検体のPRA、術後検体のPRAとLABScreen、術前検体のLABScreenの順に検査を行った。症例②は2010年12月に術前FCXMを実施したABO不適合症例。術後に術前術後の検体のLABScreen検査を行った。

【結果】症例①はFCXM-B弱陽性の判定であったが、術前PRAもclass Iが69.3%で、術後も同値であった。術後LABScreenでnon-DSAではあるもののclass IのMFIが8000以上であったが、その後行った術前検体でも同様で、リツキサンを使用したが術前から抗体産生が全く抑えられていなかったことが明らかとなった。しかし、臨床的には安定している。症例②もFCXM-B弱陽性の判定であったが、MFIは1000以下であるが、術後にde novoに抗体産生が見られ、MICAも陽転していた。術後Crの軽度上昇が見られ、PEXを行い、現在は安定している。

【考察】LABScreenでの異常は将来的拒絶を予見できるとされている。我々の施設ではまだ腎機能廃絶は経験していないが、検査結果を元にした治療の指針は確定しておらず、今後も術後の定期的検査を行い、臨床症状との相関を解析していく方針である。

P2

ドナーに対する高力価のHLA抗体を有したABO不適合腎移植症例

○平岡 朝子¹⁾、栗田絵美¹⁾、河野真由¹⁾、小松真由美¹⁾、
山岡愛子¹⁾、広瀬祥子¹⁾、藤井輝久²⁾

1) 広島大学病院診療支援部

2) 広島大学病院輸血部

【目的】

以前に施行された血縁ドナーからの腎移植において腎廃絶した症例に、再移植が行われた。患者はドナーとABO血液型不適合、リンパ球クロスマッチ (LIFT) 陽性であったため、減感作療法が行われた。抗体モニターを行ったので報告する

【症例】

58歳、男性。1982年、慢性腎炎からの腎不全に対し弟をドナーとする腎移植が行われたが、1998年、移植腎廃絶となった。その後血液透析を行っていたが、2008年、妻をドナーとした腎移植を希望し来院した。

【検査】

レシピエント血液型BRhD+ HLA-A*24:02 A*31:01 B*40:02 B*54:01 C*01:02 C*03:04 DRB1*04:05 DRB1*08:02

ドナー血液型ARhD+ HLA-A*02:01 A*02:06 B*13:01 B*48:01 C*03:04 C*08:03 DRB1*12:02 DRB1*15:01

レシピエントは来院時検査にて、抗A抗体価 IgM32倍、IgG4倍、WAKFlowMR class I 陽性、class II 陰性、ドナーに対して行ったWAKFlowICFA class I 116.0、class II 0.9 (cutoff 2.0)、LIFT 陽性であった。

【経過】

リツキシマブ投与、ボルテゾミブ投与、二重濾過血漿交換、免疫グロブリン大量療法、血漿交換を行い、2011年腎移植術を施行した。術前検査では抗A抗体価IgM、IgGともに2倍、WAKFlowICFA class I 2.9、LIFT陰性であった。

術後は抗A抗体価IgM、IgGともに感度以下、WAKFlowICFA class I 0.9、LIFT陰性であった。以後検査が陽性化することはなかったが、術後27日、血中クレアチニン1.96と上昇、腎生検を行い、拒絶が疑われたが、ステロイドパルスにて軽快した。

【考察】

ドナーに対する高力価のHLA抗体がみられたが、減感作療法により徐々に低下した。今後も経過観察の必要がある。また検査の有用性についても検討して行きたい。

P3

「腎臓移植の基準等に関する作業班」での「腎臓移植希望者選択基準」における組織適合性検査の考え方と問題点

○湯沢 賢治、湯沢 賢治

国立病院機構 水戸医療センター 臓器移植外科

【目的】「臓器の移植に関する法律」の改定に伴い、提供された腎の配分のための「移植希望者選択基準」が改定された。この改定は厚生労働省「腎臓移植の基準等に関する作業班」（以下、作業班）で検討されたもので、作業班班員の1人として、組織適合性検査についての検討の経過を検証し、問題点を明らかにし、今後の再改定に資する。

【方法】作業班での検討内容と経過を整理し、決定された選択基準を諸外国の選択基準と比較し、問題点を明らかにする。

【結果】作業班は移植医3名、内科医、小児科医、病理医、感染症専門医の各1名で、4回の作業班で改定に至った。第1回作業班で、検討すべき項目を明らかにし、親族優先提供でABO血液型の一致のみでなく適合もOKとし、2010年1月の一部施行に間に合わせた。第2回から、小児への提供の増加、待機日数の短縮、リンパ球交差試験法(LCM)、C型肝炎抗体陽性ドナーの取扱い等を重点的に検討した。

小児に限らず未成年への提供増加のため16歳以上の未成年に点数をつけた。待機日数短縮のため、待機日数のポイントを下げ、計算式を変更、simulationしたが、解決できず、断念した。搬送時間、HLA適合度、待機日数の点数を同等にするためHLA適合度の点数を増やした。最終的に、HLA適合度による点数を1.15倍、16歳以上20歳未満の未成年に12点を加算、注として「・・・1年を目途に・・・、今後新たな医学的見地を踏まえ、PRA検査の取扱い等について適宜検討を行い、必要があれば、基準の見直しを行うこととする」と改定した。

【考察】LCMについて諸外国の状況を詳細に報告し、CDCからの改善を迫ったが、明確なエビデンスがないとの理由で却下、変更できなかった。世界標準のLCMに、あらためて論文は無かった。CDCしかできない検査施設が有ることも変更できない理由であった。日本組織適合性学会として、LCMの改善を求めるようアピールすることが必要である。日本臓器移植ネットワークでも検査施設の充実が必要である。

P4

生体腎移植におけるFCXM法陽性症例の検討

○栗原 啓¹⁾、北田秀久¹⁾、岡部安博¹⁾、三浦敬史¹⁾、寺坂壮史¹⁾、加来啓三¹⁾、野口浩司¹⁾、川浪さやか¹⁾、宮本京子²⁾、田中雅夫¹⁾

1) 九州大学病院 臨床腫瘍外科

2) 九州大学病院 遺伝子細胞療法部

【目的】当科では従来の細胞障害試験(CDC)に加え、高感度なフローサイトメトリッククロスマッチ(FCXM)を術前検査に導入している。術前FCXMでB cellのみ陽性の症例は陰性症例に比較して生着率が悪いという報告が散見されるが、B cell陽性症例に関する報告例は比較的少ないのが現状である。今回我々はFCXM B cell陽性症例の移植腎成績並びに拒絶反応への影響を明らかにすることを目的とし、当科での腎移植症例をレトロスペクティブに解析した。

【方法】2007年7月から2010年9月までの解析可能であった90例の成人腎移植症例をFCXM B cell陽性群18例とFCXM B cell陰性群72例の2群に分類した。免疫抑制プロトコルがことなることから血液型不適合症例、ダイレクトクロスマッチ陽性例、FCXM T cell陽性症例、2次移植症例を除外した。2群間で1)生存率2)生着率3)3ヶ月目及び1年目における病理組織学的に証明可能な拒絶反応発症率に関して検討を行った。

【結果】平均観察期間は15.9カ月であり、82症例において1年以上の観察が可能であった。観察期間中の生着率、生存率は100%であった。2群をあわせて23例の拒絶反応を認めた。3ヶ月目までの拒絶反応の発症率はB cell陽性群で22.2%、陰性群で4.1%であった。また1年目までの拒絶反応の発症率は33.3%と13.9%であった。

【考察】今回の検討により当科生体腎移植症例においてFCXM B cell陽性症例は陰性症例と比較して拒絶反応発症率が高い傾向がみられた。B cell陽性症例はHLAクラスII抗体や自己抗体などの抗体を有していること原因に挙げられる。腎移植において拒絶反応のリスクを軽減するためには、それらの抗体に関するより詳細な評価とともに適切な免疫抑制プロトコルが必要となる可能性がある。

P5

ドナー特異的HLAクラスII抗体陽性腎移植例の術後抗体の推移

○酒巻 建夫¹⁾、高橋千尋¹⁾、岡村康子¹⁾、石川政志¹⁾、丸山通広²⁾、剣持敬²⁾

1) 国立病院機構千葉東病院・臨床検査科HLA検査室

2) 国立病院機構千葉東病院・外科

【目的】 Tリンパ球クロスマッチ陽性の場合には拒絶反応のリスクが高いがBリンパ球陽性の場合には判断が分かれるところである。クラスII抗体のみ陽性の生体腎移植希望者に対し、千葉東病院では十分な説明と対策を講じた上で合意の得られた場合に移植を実施している。今回移植後数年が経過した2症例を報告する。【症例及び方法】 2症例とも夫から妻への移植で、ミスマッチ2-4、1-4であった。1症例目は20年以上前に腎移植を受け、数年で拒絶された再移植例である。今回、LCT及びFCXM法でT陰性、B陽性であった。PRA検査ではHLAクラスI抗体 (IgG) が65%、クラスII抗体 (IgG) が62%と高い値を示した。LAT法でミスマッチ抗原であるDR4に対するIgG抗体が検出された。症例2はPRA検査ではHLAクラスI抗体が78%、クラスII抗体が83%と高かったが、LCT及びFCXM法でT陰性、B陽性であったために移植可能と判断された。LAT法でミスマッチ抗原のDR52及びDR14抗体の存在が確認された。2例とも手術直前に脾摘及び血漿交換を実施した。免疫抑制剤はタクロリムス、ステロイド剤に加え、セルセプトを使用した。【結果と考察】 どちらの症例も移植直後はドナー特異的なクラスII抗体が検出されていた。症例1では移植後4年7ヶ月の時点で血清Cr値が0.8と安定している。症例2では移植後3年で血清中のクラスI及びII抗体が陰性化したのでセルセプトを減量した。するとPRA値は術前レベルに戻り、若干の血清Cr値の上昇(1.2から1.4)が認められた。この時点でシングルAgビーズによりドナー特異IgG抗体が確認された。セルセプトを元の量に戻すとHLA抗体が低下し始め、Cr値も1.2に戻った。このことから2症例では移植後免疫寛容やクロナルデリーションが誘導されたのではなく、抗体産生が抑えられていることが確認された。

P6

リコール対象となったReliキットの信頼性

○酒巻 建夫、石川 政志、高橋 千尋、岡村 康子
国立病院機構千葉東病院・臨床検査科HLA検査室

【目的】 本年3月発売元である日本ライフテクノロジー社からReliキットのオリゴ(プライマーおよびプローブ)に問題が生じたために製品の製造を中止したこと、在庫がないこと、製造再開の目処が立っていないことの連絡を受けた。さらに使用中の製品リコールまでに発展した。日本臓器移植ネットワークの多くのHLA検査施設では本キットを使用しているために在庫のない施設ではタイピングができないという事態に至った。他法に切り替えるためにはコスト効率面や機器の購入などに問題がある。一方、配布された文書ではタイピングの信頼性についても懸念があると記されていた。本キット結果で登録された希望者や生体腎移植患者がいることからあらためて本キットのタイピングと他法の結果を比較検討することにした。【方法】 当施設で昨年10月から今年4月までにReliキットを使用してHLA検査(A,B,DRB1)を実施した中から26検体を対象とした。内訳は献腎登録10、生体腎関係10、ドナー1、疾患関連1、QCWS検体4であった。比較方法はラボタイプ(HD)とWAKFlowとした。アレルの数はA座が11、B座が24、DRB1が23であった。市販3キットはそれぞれ精度が異なるためにアレルの細分化ができなくてもアレルグループが一致するかどうかを調べた。【結果と考察】 Reli法の結果はA座、B座、DRB1座において他の2法とHLA型でもアレル型でも一致した。このことからリコール対象キットでネットワークに登録済みの検体について再検査をする必要性はないと考えられた。長年Reliキットを使用し続けているラボが気づくことは発色の程度が多彩になってきていることである。タイピングの現場では一律の濃淡基準ではなくプローブごとに特徴を加味して判定を行ってきたのが現実である。

P7

生体腎移植におけるFCXM T(+)B(+) 症例の検討

○寺坂 壮史¹⁾、北田秀久^{1,2)}、岡部安博¹⁾、三浦敬史¹⁾、
栗原啓¹⁾、川浪さやこ¹⁾、加来啓三¹⁾、野口浩司¹⁾、
野口浩司¹⁾、宮本京子³⁾、土本晃裕²⁾、田中雅夫¹⁾

- 1) 九州大学病院 臨床・腫瘍外科
- 2) 九州大学病院 腎疾患治療部
- 3) 九州大学病院 遺伝子細胞療法部

【目的】免疫学的にハイリスクな症例において、リツキシマブ投与、血漿交換、γグロブリン静注療法を用いることで良好な成績を得ることができるとの報告がある。当科においても、FCXM T (+) B (+) 症例に上述の方法を用いて生体腎移植を施行し、これまで良好な成績を得ている。今回、生体腎移植におけるFCXM陽性症例の経過について検討し、その妥当性に付いて検証する。

【方法】FCXMを導入した2007年5月から2011年2月までの生体腎移植症例のうち、CDC陽性症例、血液型不適合移植、FCXM T (-) B (+) などを除いた78症例を対象とした。対象をFCXM T (-) B (-) 71例、FCXM T (+) B (+) 7例の2群に分類し、生存率、生着率、拒絶反応の発生率、感染症の発症率などについて比較検討した。前者については手術日の1週間前から免疫抑制剤3剤（タクロリムス、MMF、メチルプレドニゾロン）の内服を開始した。後者については手術日の2週間前からの免疫抑制剤3剤内服に加え、手術日の1週間前にリツキシマブ200mgの投与、術前3回の血漿交換、手術日から5日間のγグロブリン投与をプロトコールとした。

【結果】両群とも1年時点における生存率、生着率はいずれも100%であった。またFCMX T (-) B (-)、FCXM T (+) B (+) それぞれにおける拒絶反応の発生率は、術後3ヶ月以内で10.8%と0%、術後1年以内で14%と0%と、いずれもFCXM T (+) B (+) のほうが良好な結果となった。

感染症の発症率について、両群に差を認めなかった。

【考察】FCXM T (+) B (+) 症例は移植禁忌としている施設もあるが、適切な術前後の減感作療法を行うことで移植は可能であり、良好な予後が期待できると考えられる。ただし、今回の検討は短期の観察であり、今後の長期的な検討が必要である。

P8

造血幹細胞移植後に頬粘膜細胞がドナータイプに置き換わった一例

○辻野 貴史¹⁾、道下吉広²⁾、小島裕人¹⁾、二神貴臣¹⁾、
大沼豪¹⁾、林晃司¹⁾、楠木靖史¹⁾、吉田喬¹⁾、藤井直樹¹⁾、
末上伸二¹⁾、西川美年子¹⁾、丸屋悦子³⁾、赤座達也¹⁾、
佐治博夫¹⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA研究所
- 2) 秋田大学医学部附属病院
- 3) Terasaki Foundation Laboratory

【目的】すでに移植後検体において口腔内粘膜細胞と爪がドナータイプに置き換わる症例を経験した。今回、口腔内粘膜細胞がドナータイプに置き換わり、爪や毛髪についても確認し、以前と異なる結果が得られたので検査に与える影響も含めて紹介したい。

【方法】1.移植後キメリズム検査は14種のマイクロサテライトを用い、レシピエントの移植後day 50の末梢血・口腔内粘膜細胞、移植後day 72の爪・毛髪の多型性を確認した。2.ドナーのミスマッチアレルの検出のためにLuminex法（WAKFlow）を用いてDNAタイピングを行った。

【結果・考察】1.移植後day 50の末梢血と口腔内粘膜細胞、および移植後day 72の爪と毛髪は移植前の末梢血と14種類のマイクロサテライトの多型性が約95~100%同一であった。2.ミスマッチのあったHLA-C座、DR座は移植後の口腔内粘膜細胞、末梢血の検体において、ドナー由来タイプが検出された。3.体細胞がドナータイプに置き換わるのは人や組織・部位によって異なる。移植後の末梢血、口腔内粘膜細胞においては、移植ソースに含まれていた多能性幹細胞が分化したことを示唆する結果となった。前回・今回ともgraftは臍帯血であった。このような現象が臍帯血移植に特異的に起るか確認していきたい。

P9

造血幹細胞移植における輸血・細胞治療センターの役割について

○藤原 孝記¹⁾、富山 秀和¹⁾、金子 強¹⁾、永友 ひとみ¹⁾、
蟹井 はるか¹⁾、笠井 英利¹⁾、難波 宏美¹⁾、
大曾根 和子¹⁾、前島 理恵子¹⁾、脇本 信博¹⁾、
白藤 尚毅^{1,2)}

- 1) 帝京大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター
2) 帝京大学医学部 血液内科

造血幹細胞移植は白血病や再生不良性貧血などの難治性造血器疾患を対象とする治療法であり、移植する造血幹細胞により正常な血液細胞を造ろうとする有力な根治療法である。移植する造血幹細胞は、疾患・年齢・体重などにより適応が異なり、当院では悪性リンパ腫の場合、自家末梢血幹細胞移植、白血病の場合、血縁者間または非血縁者間骨髄移植、臍帯血移植について、年齢・体重・適合ドナー数によって移植法を選択している。

輸血・細胞治療センターは造血幹細胞移植において、造血幹細胞の濃縮・洗浄、末梢血幹細胞採取・保管管理、CD34陽性細胞数測定、HLAタイピング・HLA抗体検査、生着確認検査を行っている。今般、新たな役割として、適合ドナー数が少ない症例で行うHLA不一致移植に関するコンサルテーションを行っている。

コンサルテーションの概要：蛍光ビーズ法にて患者のHLA抗体検査を実施し、造血幹細胞適合検索サービスにてドナー検索を行う。1) 患者がHLA抗体を保有していない場合、全てのHLAタイプを不一致抗原に設定する。2) 患者がHLA抗体を保有している場合、患者のHLAタイプ・抗体特異性から許容抗原となるHLA不一致抗原を設定する。HLA不一致抗原と作成したドナーリストについて主治医に報告し、選択されたドナー候補をVirtual Crossmatch適合とする。

2010年度は、26例の依頼を受け、抗体陽性12例中3例にHLA不一致臍帯血移植の準備を行った。

現在、事前にHLA交差適合試験を実施し、陽性の際に移植を回避することは困難であり、HLA抗体を保有する患者がHLA不一致移植を実施する場合にはVirtual Crossmatchとして、抗体と反応しない造血幹細胞を選択する必要がある。HLA抗体の解釈や許容抗原の設定には専門性が必要であり、輸血・細胞治療センターによるコンサルテーションは、より安全な移植に寄与すると思われる。

P10

HLA不適合ハプロ半合致移植を目的としたHLA抗体検査

○林 晃司¹⁾、大沼豪¹⁾、藤井直樹¹⁾、二神貴臣¹⁾、
小島裕人¹⁾、辻野貴史¹⁾、楠木靖史¹⁾、吉田喬¹⁾、末上伸二¹⁾、
西川美年子¹⁾、吉原哲²⁾、谷口享子²⁾、小川啓恭²⁾、
丸屋悦子³⁾、赤座達也¹⁾、佐治博夫¹⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA研究所
2) 兵庫医科大学病院
3) Terasaki Foundation Laboratory

〔目的〕造血幹細胞移植におけるHLA抗体の重要性の認識は普及しつつあるが、検出されるHLA抗体の特異性や頻度についてはまだ不明な点が多い。HLA不適合ハプロ半合致移植を目的とした患者及びそのドナーのHLA抗体検査結果から、検出される抗体陽性率と抗体特異性についてまとめたので報告する。

〔方法〕対象：HLA不適合ハプロ半合致移植症例（患者：200例、ドナー：171例）の血漿又は血清、疾患：主にLeukemia、患者：男105・女95、ドナー：男83・女88、HLA適合度：one haplo identical、方法：LABScreen PRA, LAB Screen Single Antigenを使用、解析方法：上記IgG型抗体検査の結果を抗体の特異性とMFI (Median Fluorescent Intensity) で分類した。

〔結果〕MFI \geq 3,000で検出されたHLA抗体陽性率は患者：25.5% (n=51)、ドナー：17.5% (n=30)であった。移植前患者におけるDSA (Donor Specific Antibodies) 陽性率はHLA-classI遺伝子型：8.0% (抗原型：10.5%)、HLA-classII遺伝子型：5.0% (抗原型：9.0%)であった。

抗体陽性ドナーが移植された患者に移植後ドナー由来抗体が検出された症例は7例あり、全てMFI \geq 3,000の陽性ドナーからであった。

P11

single antigen試薬での患者HLA抗体価と血小板輸血効果の関連について

○宮崎 孔、高橋大輔、阪川久子、松林圭二、佐藤進一郎、加藤俊明、池田久實、東 寛
北海道赤十字血液センター

【目的】 LABScreen single antigen (LABSA) はHLA抗体の検出感度が極めて高い検査法であり、現在HLA抗体検査の事実上のスタンダードとなっている。しかし、この方法は明確な判定基準が設定されておらず、HLA抗体陽性と判定されても移植や血小板輸血に影響を与えない症例が散見されている。我々はLABSAで測定したHLA適合血小板輸血患者のHLA抗体価と輸血効果を比較し、LABSAの臨床的な有効性を検討したので報告する。

【方法】 LABSAで抗体検査を実施し、血小板輸血効果のデータが回収できた36例のHLA適合血小板輸血患者、計180例の血小板輸血例を解析対象とした。各患者の許容抗原はLIFT法陰性となるHLA抗原を設定し、この許容抗原を含む血小板の輸血効果と許容抗原に対するLABSAの蛍光値を比較した。輸血効果はCCI (1h) \geq 7,500、もしくはCCI (24h) \geq 4,500を効果ありと判定した。

【結果】 180例の輸血のうち、6名の患者の計18例はHLAミスマッチ血小板 (ランダムPC含む) を輸血し、輸血効果が認められなかった。この時のミスマッチ抗原に対するLABSAの蛍光値は6,431~20,311 (平均12,678)であった。それ以外の輸血のうち156例では輸血効果が認められた。156例のうち、LABSAの蛍光値が1,000以下 (陰性) のミスマッチを含む例は113例 (72%)であったが、10,000以上 (強陽性) のミスマッチを含む例も9例 (6%) 認められた。この9例のうち6例はC-locusに対する抗体の反応であった。一方、LIFTクロスマッチを実施した輸血不応例11例では全てクロス陽性で、S/Nは4.29~44.92 (平均16.85) を示したのに対し、輸血効果があった119例では111例がクロス陰性 (S/N<2.0) であった。

【考察】 今回の検討では、血小板輸血不応を示したHLA抗体は全てLABSAの蛍光値が6,000以上であった。しかし、10,000以上の蛍光値を示す抗体でも輸血効果が認められる例があるため、単純に蛍光値でLABSAのcutoffを決定するのは難しい。一方LIFTは輸血効果との相関が高く、S/N<4のHLA抗体ではほとんどが輸血効果が認められた。昨年14thQCWSのデータではLIFTの検出感度はLABSAの蛍光値5,000程度と報告されていることから、血小板輸血でのLABSAのcutoffは5,000前後が妥当と考える。

P12

LABScreen Single Antigenにみられる抑制反応の解析

○内田 みゆき、宮城徹、寺木佳子、梅津昭子、市原孝浩、礪波薫、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】 輸血・移植分野におけるHLA抗体検査で使用されている蛍光ビーズ法LABScreen Single Antigen (LS-SA) において、ビーズの反応が抑制されることがある。抑制反応を示したビーズが陰性と判定されることは、临床上不利益な結果をもたらす。これまでに、血清のDTT処理や非働化によって抑制反応が解消されることから、IgM抗体あるいは補体の関与を示唆する報告がある。今回、我々は抑制反応の原因について検討した。

【方法および結果】 対象検体として、A*24:02ビーズの反応が抑制された検体を使用した。

1) DTT処理、非働化、EDTA添加、EGTA添加を行ったそれぞれの血清についてLS-SAを実施した結果、すべての処理で抑制反応が解消された。

2) DTT処理によって抑制反応が解消された血清とビーズを反応させた後、ヒト新鮮血清 (HLA抗体陰性) を反応させた結果、抑制反応が復活した。

3) 未処理血清およびEDTA添加血清について、LS-SAのビーズを反応させた後、マウスモノクローナル抗ヒトC1qと反応させた。さらにPE標識抗マウスIgGを反応させ、蛍光強度を測定した。その結果、A*24:02ビーズの蛍光値は、EDTA添加血清では強陽性、未処理血清では弱陽性であった。

4) マウスモノクローナル抗ヒトC3dを用いて3)と同様の操作を行った結果、A*24:02ビーズの反応性は未処理血清では強陽性、EDTA添加血清では陰性であった。

【考察】 DTT処理血清とビーズを反応させた後、新鮮血清 (補体) を添加することによって再び反応が抑制されたことから、抑制反応にIgM抗体は関与していないことが示唆された。血清の非働化およびEDTA添加の結果から、抑制反応に補体成分が関与していることが考えられた。さらにEGTA添加によっても抑制が解消されたことから、古典経路が関与していることが示唆された。抑制反応を示す未処理血清でC3の結合が確認され、抑制反応を示さないEDTA添加血清ではC3の結合が確認されなかった。このことから、ビーズに結合した補体成分 (C3) が、二次抗体の結合を阻止することによりLS-SAの抑制反応が生じると考えられた。

P13

B型肝炎の慢性化・ウイルス排除機構とHLA-DPとの関連

○澤井 裕美¹⁾、西田奈央^{1,3)}、田中靖人²⁾、松浦健太郎²⁾、伊藤清顕³⁾、溝上雅史³⁾、徳永勝士¹⁾

- 1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野
- 2) 名古屋市立大学大学院医学研究科病態医学ウイルス学分野
- 3) 国立国際医療センター国府台病院肝炎・免疫研究センター

【目的】B型肝炎ウイルス (HBV) によって引き起こされるB型肝炎は、一過性感染に終息する急性肝炎と慢性肝炎に大別される。HBVに感染すると身体から排除されずキャリアとなり、キャリアの8~9割は無症候期、一過性の肝炎期、肝炎沈静期を経て、その後は無症候キャリアのまま経過する。しかし1~2割は慢性肝炎に移行し、さらに一部が肝硬変・肝臓癌となる。このようにHBV感染後の経過は非常に多岐に渡り、主にウイルス側の遺伝要因が各病態に関与すると考えられてきた。しかし近年では宿主側の遺伝要因の探索も進み、ゲノムワイド関連解析により、HBV持続感染へのHLA-DPA1、-DPB1の関与が示された (Kamatani et al. 2009)。本研究では、先行研究とは独立の検体によるゲノムワイド関連解析 (GWAS) を行うと共に、B型肝炎患者群とHBc抗体陽性群のGWASを行い、HBVを宿主体内から排除するシステムに関与する遺伝要因を探索する。

【方法】B型肝炎患者群181例と健常者184例を対象に、約90万の一塩基多型 (SNP) について遺伝子型を決定し、GWASを行った。また、HBc抗体陽性群185例についても同様に、B型肝炎患者群とのGWASを行った。

【結果】B型肝炎患者群と健常者のGWASの結果、ゲノムワイド有意水準 ($<5 \times 10^{-8}$) に達するSNPsがHLA-DPA1、-DPB1領域およびその周辺領域で5箇所検出され、先行研究の結果と一致した。B型肝炎患者群とHBc抗体陽性群のGWASの結果、健常者との比較同様にHLA-DP領域で比較的P値の低いSNPが見られたが、ゲノムワイド有意水準には達しなかった。そしてHLA-DP領域と同程度、またはよりP値の低いSNPが複数領域に渡って見られた。

【考察】B型肝炎の慢性化だけでなく、HBV排除機構にもHLA-DP領域がある程度関与している事が示唆された。しかし宿主によるHBV排除機構には、HLA-DP以外の複数の遺伝要因が関与している可能性があり、更に検討を進める必要がある。

P14

成人T細胞白血病ウイルス感染者のT細胞表面におけるHLA-Fの発現についての検討

○吉岡 聡¹⁾、一戸 辰夫^{1,2)}、下嶋 典子³⁾、菱澤 方勝¹⁾、大森 勝之⁴⁾、Geraghty DE⁵⁾、石谷 昭子⁶⁾、高折 晃史¹⁾

- 1) 京都大学大学院 血液・腫瘍内科
- 2) 佐賀大学医学部内科学講座 血液・呼吸器・腫瘍内科
- 3) 奈良県立医科大学 細菌学教室
- 4) 京都大学医学部附属病院 検査部
- 5) Fred Hutchinson Cancer Research Center
- 6) 奈良県立医科大学 法医学教室

【目的】HLA-Fは非古典的HLAクラスI分子の一つで、HLA-E、-G同様に多型性に乏しく、細胞表面への発現は胎盤トロホプラストと一部の活性化リンパ球にほぼ局限していることが知られている。その機能はまだ解明されていないが、最近、HLAクラスI重鎖open conformerに結合し、その細胞表面への発現に関与することが推測されている。我々は昨年当学会において、成人T細胞白血病ウイルス (HTLV-I) 感染細胞株の表面にHLA-Fが発現していることを報告した。今回成人T細胞白血病 (ATL) 患者及び無症候性HTLV-Iキャリアの検体を用いてHLA-Fの発現解析をおこなったので報告する。

【方法】対象は、本研究への参加に対する同意の得られたATL患者4例 (急性型2例、慢性型2例)、HTLV-Iキャリア2例の計6例。これらの症例から得た末梢血リンパ球分画におけるHLA-Fの発現を抗原認識部位の異なる3種類のHLA-Fに対する抗体 (3D11、4A11、4B4) を用いたフローサイトメトリーにより解析した。また、あわせてHLA-E、-Gの発現についても検討を行った。

【結果】HTLV-Iキャリア2例中の1例、慢性型ATLの2例において、末梢血CD3陽性細胞の一部にHLA-Fの表面発現を認めた。一方、急性型の2例においてはHLA-Fを発現する細胞分画は認められなかった。全例においてCD3陽性細胞分画のHLA-Eは陽性、HLA-Gは陰性であった。

【考察】HTLV-Iキャリアおよび慢性型ATLのT細胞の一部にHLA-Fの表面発現が認められたことより、HTLV-I感染T細胞あるいはHTLV-I関連抗原に対する細胞傷害性T細胞がHLA-Fを発現している可能性が想定される。今後さらに多数例での検討を重ねていくとともに、HLA-Fを発現するT細胞分画の詳細な免疫学的形質を解析していく予定である。

P15

ナルコレプシー患者を対象としたゲノムワイドCNVの解析

○山崎 茉莉亜¹⁾、宮川卓¹⁾、豊田裕美¹⁾、
Khor Seik Soon¹⁾、小池麻子²⁾、本田裕³⁾、本田真^{3,4)}、
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教室
- 2) 日立製作所中央研究所
- 3) 財団法人神経研究所附属睡眠学センター
- 4) 東京都医学総合研究所精神行動医学研究分野睡眠覚醒制御プロジェクト

【目的】ナルコレプシーは、睡眠発作、情動脱力発作、睡眠麻痺及び入眠時幻覚を主症状とする過眠症である。これまで、神経精神疾患（統合失調症、自閉症、ADHD）とCopy Number Variation (CNV) が関連していることが報告されている。本研究では、ナルコレプシーとCNVの関連を検討した。

【方法】先に、ナルコレプシー患者426名、対照健常者562名を対象にAffymetrix6.0を用いて、ゲノムワイドに存在する約180万のプローブのintensity dataを得た。このデータを活用しBirdSuite 及びPennCNVを用いて、ゲノムワイドにCNVを検出した。次に、頻度が1%以下でサイズが30kb以上のCNVに対して、患者群と健常者群でCNVの平均個数に差が見られるかを検討した（バーデン解析）。

【結果】BirdSuiteにより検出されたCNVのバーデン解析の結果、ナルコレプシー患者においてCNVの平均個数が増加していることがわかった（患者：3.38個/人、健常者：2.43個/人、 $P=4.09E-4$ ）。次に、PennCNVによりCNVの検出を行い、同様にナルコレプシー患者においてCNVの平均個数が増加する結果を得た（患者：3.27個/人、健常者：2.62個/人、 $P=0.02$ ）。次に、CNVとオーバーラップした遺伝子がどのパスウェイと関連しているか検討し（パスウェイ解析）、その結果についても紹介する。

【考察】CNVの検出は使用するソフトウェアの影響を受けることが知られている。本研究では、2種類のCNV検出ソフトウェアを用いて解析を行い、同様の結果を得た。このことより、本研究の結果は信頼性が高いと考えられ、ナルコレプシーはCNVと関連していることが示唆された。

P16

ゲノムワイド関連解析によるナルコレプシー疾患感受性遺伝子の探索

○豊田 裕美¹⁾、宮川 卓¹⁾、Khor Seik Soon¹⁾、
川嶋 実苗¹⁾、山崎 茉莉亜¹⁾、小池 麻子²⁾、本多 裕³⁾、
本多 真^{3,4)}、徳永 勝士¹⁾

- 1) 東京大学大学院医学系研究科 人類遺伝学分野
- 2) 日立製作所中央研究所
- 3) 財団法人神経研究所附属睡眠学センター
- 4) 東京都医学総合研究所精神行動医学研究分野 睡眠覚醒制御プロジェクト

【目的】ナルコレプシーは代表的な過眠症であり、日中の強い眠気と情動脱力発作（驚くなどの強い感情を契機とした脱力）を主徴とする。ナルコレプシーは複数の遺伝要因と環境要因により発症する多因子疾患として知られる。典型的なナルコレプシー患者の88~100%がHLA-DQB1*0602対立遺伝子をもつことが報告されている。しかしながら、HLA-DQB1*0602対立遺伝子は健常者でも高頻度で見られること（日本人12%、白人22%）、また、これまでの遺伝統計学的な解析からも、HLA領域以外の遺伝的素因の存在が強く示唆されている。そこで本研究では、ナルコレプシーの新たな遺伝的素因の同定を目的とし、ゲノムワイド関連解析を行った。

【方法】約90万個の一塩基多型（Single Nucleotide Polymorphism；SNP）について、日本人ナルコレプシー患者425名、健常者1626名の遺伝子型を決定し、関連解析を行った。解析に際して、Eigenstratにより、集団階層化のより少ない均質なサンプル群を抽出した。すでに強い関連が知られている6番染色体上のHLA領域は解析から除外した。さらに、関連解析により得られた候補SNPs周辺のゲノム領域の遺伝子型を、imputationにより推定した。

【結果および考察】遺伝子型が決定された90万のSNPsのうち、quality controlの基準を通過したSNPsは545144個であった。有意水準は、false positive report probabilityにより評価し、 $P=1.47E-05$ とした。Allelic, trend, dominant, recessive, genotype modelのいずれかにおいて有意水準に達したSNPsは48個、20領域であった。また、imputationにより、元のSNPと同程度、もしくは若干強い関連を示すSNPsが認められた。しかし、元のSNPと連鎖不平衡状態になく、かつ、疾患と強い関連を示すSNPsは認められなかった。今後、これら候補SNPsについて、異なる人種集団のサンプルを用いて追試し、周辺の連鎖不平衡構造を比較することで、新たな疾患感受性遺伝子を同定していく。

P17

HLAクラスIIテトラマーの調製を目的としたHLA-DRA*01:01/DRB1*04:06の発現

○内田 優輝、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】自己反応性CD4陽性T細胞の頻度はヒト末梢血中において非常に低く、フローサイトメトリーにより血中から直接同定することは困難であることが知られている。そこで我々は、より高感度に自己反応性CD4陽性T細胞を同定するため、リンパ球マイクロアレイ(Yamamura et al., 2005)の応用を試みている。本研究では、疾患感受性アレルおよび提示自己抗原ペプチドが既知であるインスリン自己免疫症候群(IAS)を対象として、リンパ球マイクロアレイに用いるDRB1*04:06テトラマーの調製を試みた。

【方法】可溶性組換えHLA-DRA*01:01/DRB1*04:06 cDNAを、哺乳類細胞で発現した。細胞内染色およびドットプロット法にてHLA-DRの発現・分泌を確認した。

【結果・考察】HLA-DRタンパク質を細胞培養上清からHisタグおよび抗HLA-DR α 抗体を用いて精製し、DR α およびDR β サブユニットの予測分子量に相当するサイズのタンパク質発現を確認した。今後はHLA-DRの大量発現・精製、ヒトインスリンペプチド(α 8-21)への結合能測定を行う。

P18

ナルコレプシー感受性・抵抗性とHLA-DQトランス型二量体形成

○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】ナルコレプシーに対する疾患感受性はDQA1*01:02-DQB1*06:02と非常に強い関連を示すが、その発症機序、関与する抗原ペプチドは不明である。我々は、これまでHLA-DQにおけるトランス型二量体形成能と各二量体のタンパク質安定性について網羅的解析を行い、感受性アレル産物DQA1*01:02-DQB1*06:02が顕著な高安定性を示すことを明らかにした。本研究では、これらの知見を基に、ナルコレプシー感受性ハプロタイプが様々なDQA1*01-DQB1*05, *06ハプロタイプとヘテロ接合の場合に形成されうるDQA1*01:02-DQB1*06:02タンパク質ヘテロ二量体の相対量を推定し、疾患感受性への寄与を考察した。

【方法】HLA-DQトランス型二量体形成能と各二量体のタンパク質安定性データを基に、各DQB1*05, *06-DQB1*06:02ヘテロ接合体で形成されうるDQA1*01:02-DQB1*06:02タンパク質の相対量を推定した。

【結果・考察】DQA1*01:02-DQB1*06:02タンパク質のヘテロ二量体形成量は、抵抗性ハプロタイプ(DQA1*01:03-DQB1*06:01, *06:03)とのヘテロ接合の場合に、他のハプロタイプとのヘテロ接合時と比較して低い可能性が示唆された。これらの結果は、DQA1*01:02-DQB1*06:02タンパク質ヘテロ二量体の量が、ナルコレプシー感受性・抵抗性のメカニズムに寄与していることを示唆する。

P19

Immunogenetic analysis of chronic Chagas disease in Bolivia

○平山 謙二¹⁾、Gissel García¹⁾、Florencia del Puerto²⁾、Ana B. Pérez¹⁾、Beatriz Sierra¹⁾、Eglys Aguirre¹⁾、菊池三穂子²⁾、Lizet Sánchez¹⁾、平山謙二²⁾、María G. Guzmán¹⁾

1) Department of Virology, Tropical Medicine Institute "Pedro Kouri," Habana, Cuba;

2) 長崎大学・熱帯医学研究所・免疫遺伝学分野

【目的】 Chagas disease is caused by the hemoflagellate parasite *Trypanosoma cruzi*, and affects to 8 million people in Latin-america. The infection rests with a long period of clinical latency, thirty percent of the patients develop complications as cardiopathy, megacolon or megaesophagus, 5-30 years after infection and the residual persons asymptomatic, so called indeterminate Chagas. Pathogenesis of those complications is still unknown. We have been reported association with HLA alleles and clinical forms of Chagas disease. In this study, to examine any relationship between parasitemia and the clinical forms of Chagas disease, using samples from chronic patients in Bolivia.

【方法】 Chagas patients were diagnosed by serology (IIF, HAA), ECG and colon X-ray examination in Bolivia. We analyzed HLA class I genes (A, B, MICA, MICB), class II (DRB1) and class III locus (TNF-alpha). The Real time PCR was carried out the T.c. specific primer (TCZ) and GAPDH as control.

【結果と考察】 The frequency of parasitemia/10 ml of blood extracted was categorised in three groups: 190 (63%) of undetectable level, 57 (19%) of low level (0.1 - 0.9) and 56 (18%) of high level (1- 100) respectively. The distribution of the frequencies was uniform between the clinical forms, Indeterminate, ECG+ and Megacolon patients. Association analysis of HLA class I and II alleles and the parasitemia levels was observed that the alleles B*51 and B*15 are significantly associated to high and MICA*24 is associated low parasitemia level. Here we concluded that the severity of the disease is not associated to the parasitemia level in the periphery blood of Chagas chronic patients.

P20

17番染色体上の機能的及び位置的候補遺伝子と結核の関連解析

○中内 彩香¹⁾、Rika Yuli Wulandari¹⁾、Surakameth Mahasirimongkol¹⁾、野内英樹²⁾、徳永勝士¹⁾
1) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野
2) 結核予防会複十字病院臨床検査診断科

【目的】 結核は世界三大感染症の一つである。世界人口の約1/3が病原菌の結核菌に感染しているが、生涯で発症に至るのはうち5-10%とされている。遺伝率は36-80%と推定され、現在までにゲノムワイド連鎖解析(GWLS)、候補遺伝子アプローチ、ゲノムワイド関連解析(GWAS)といった研究がなされたが、多くの場合、集団間で結果が再現されず、更なる研究が必要である。我々はタイ人を対象としてGWLSを実施し、17番染色体短腕および20番染色体上に若年発症との連鎖を示唆する結果を得た(Mahasirimongkol et al., 2009)。本研究では17番染色体上候補領域の絞り込みを行い、①免疫系転写因子の制御に関わる遺伝子上のSNP、および②未発表タイGWASデータを用いて選出した候補SNPに関して、インドネシア人若年患者集団と健常者の検体を用いて関連解析を行った。

【方法】 インドネシア人若年患者集団163例と健常者379例を対象に、TaqMan assayまたは直接シーケンス法を用いて、機能的候補遺伝子及び周辺のタグSNP、およびGWAS候補SNPについて遺伝子型を決定し、関連解析を行った。

【結果】 関連解析の結果、機能的候補遺伝子の上流に位置する1 SNPが女性若年集団においてアレルモデル及び劣性モデルで弱い関連を示した(それぞれ $p=0.016$, 0.012)。さらに本SNPに関して、女性の全年齢を対象としたところ同様の結果は確認されなかった(それぞれ $p=0.063$, 0.088)。

【考察】 本研究により、女性の結核若年発症に関連する遺伝子の候補が一個見いだされた。今後この遺伝子の上流域について一義的SNPの探索を行う予定である。

P21

NKG2Dリガンドの創傷治癒における役割の解析

○笠原 正典¹⁾、Rania Mohamed¹⁾、小泉 潤¹⁾、
富居 一範¹⁾、大塚 紀幸¹⁾、吉田 繁^{1,2)}

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所

【目的】NKG2Dリガンドは感染、腫瘍化、創傷などのストレスによって発現が誘導される非古典的MHCクラスI分子である。ヒトにおいてもマウスにおいても複数のNKG2Dリガンドが同定されているが、リガンドが複数存在することの意義はよくわかっていない。最近、ある種のリガンドは特定の組織において発現されることが明らかにされ、各リガンドが機能分化を遂げている可能性が指摘されている。H60cは最近われわれによって同定されたマウスのNKG2Dリガンドであるが、主に上皮・粘膜（皮膚表皮、角膜、生殖器粘膜等）に発現される。今回、H60cの発現が皮膚における創傷治癒に促進的に働いていることを示唆する結果を得たので報告する。

【方法】H60cに特異的なモノクロナル抗体を作成した。マウス皮膚に傷を作り、創傷局所に、1) H60cとNKG2Dの結合を特異的に阻害するH60c特異抗体、2) H60cに特異的に反応するが、H60cとNKG2Dとの結合を阻害しない抗体、3) コントロールIgGを投与し、経時的に創傷面積を計測することにより創傷治癒速度を比較した。

【結果と考察】H60cとNKG2Dの結合を特異的に阻害するH60c特異抗体の投与により、創傷治癒は有意に遅延した。H60cに特異的に反応するが、H60cとNKG2Dとの結合を阻害しない抗体を投与しても創傷治癒の遅延は見られなかった。マウス皮膚に常在するNKG2D陽性 γ/δ T細胞であるDETCs (dendritic epidermal T cells) の活性化は創傷治癒を促進することが示されている。したがって、組織損傷にともなって発現誘導されるNKG2DリガンドH60cがDETC細胞上のNKG2Dと結合することによって、DETCが活性化され、ケラチノサイト成長因子等のサイトカインの分泌を介して創傷治癒が促進される分子機序が示唆された。

P22

抗原提示機能を有するHLA-DR4 (HLA-DRA/HLA-DRB1*04:05)を発現するトランスジェニックマウスの樹立

○入江 厚¹⁾、矢津田 旬二¹⁾、道端 弥生¹⁾、
原田 久美子¹⁾、富田 雄介¹⁾、竹田 直樹²⁾、
杉山 治夫³⁾、澁谷 功⁴⁾、十河 真司⁴⁾、西村 泰治¹⁾

1) 熊本大学大学院生命科学研究部免疫識別学分野

2) 熊本大学生命資源研究・支援センター動物資源開発研究部門

3) 大阪大学大学院医学系研究科機能診断科学

4) 大塚製薬(株)微生物研究所

【目的】日本人の26%が所有するHLA-DR4 (HLA-DRA/HLA-DRB1*04:05)を発現するトランスジェニックマウスを作製し、HLA-DR4拘束性CD4+T細胞が認識する抗原ペプチドのスクリーニングに活用し、免疫療法の開発に資する。

【方法】Balb/cマウスのゲノムDNAを鋳型にしてPCRを繰り返し、H2-EdaおよびH2-Edb DNA断片(8.5kbおよび16kb)をクローニングした。HLA-DRAおよびHLA-DRB1*04:05 cDNAを鋳型にして、PCRによりそれぞれの第2エクソンに相当するDNA断片を得て、これらをH2-EdaおよびH2-Edbの第2エクソンと置換した。完成したEa/DRAおよびEb/DRB DNA断片をB6マウスの受精卵にマイクロインジェクションし、仮親を経て仔マウス(F0)を得た。末梢血細胞を採取し、抗HLA-DR抗体によるフローサイトメトリーおよびゲノムDNAを鋳型にしたPCRにより、トランスジーンの有無と発現を確認した。陽性マウスをB6マウスと交配してF1マウス、同様にF2マウス以下の子孫を得た。F1、F2マウスに、CMVあるいはHIV由来ペプチドを免疫し、HLA-DR4拘束性T細胞応答の誘導について検討した。

【結果】構築したトランスジーンのマウスL細胞への導入により、HLA-DRの細胞表面への発現が認められ、同細胞はHLA-DR4拘束性ヒトT細胞に対する抗原提示能力を有していた。2匹のオスのトランスジーン陽性F0マウスが得られ、うち1匹の子孫ではオスのみがHLA-DR陽性であり、HLA-DR4遺伝子がY染色体に導入されたものと判断した。CMVおよびHIV由来ペプチドの免疫により、同ペプチドに特異的なHLA-DR4拘束性T細胞の応答が誘導された。

【結論】HLA-DR4拘束性CD4+T細胞が認識するペプチドのスクリーニングに利用可能な、トランスジェニックマウスを樹立した。

*本文は800字以内

P23

次世代シーケンサーを用いたHLAクラス I 遺伝子タイピング法の開発

○鈴木 進悟、吉川枝里、重成敦子、光永滋樹、椎名隆、猪子英俊

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

【目的】PCR-SBT法やLuminex法によるHLAタイピング法では染色体上のシス・トランスの位置関係の不明な phase ambiguityにより、HLAタイピングが難しく、多くの場合推定タイピングをせざるを得ない。一方、次世代シーケンサーは1分子DNA由来の塩基配列を決定することから、ambiguityのない8桁レベルでの究極のHLAタイピングが可能である。そこで本報告では ambiguity排除を目指した次世代シーケンサーを用いたHLAタイピング技術の方法論の開発を目的とした。

【方法】HLAデータベース (IMGT-HLA) に登録されている塩基配列より、古典的HLAクラス I 遺伝子 (HLA-A、HLA-BおよびHLA-C) の全てのエクソンを含み、かつそれぞれの遺伝子を特異的に増幅させるプライマーを設計した。それらを用いてPCR増幅させ、その産物の塩基配列を次世代シーケンサーRoche GS Juniorにより決定した。

【結果および考察】HLA-A、HLA-BおよびHLA-Cにおいて、それぞれ5.5 kb、4.6 kbおよび4.8 kbを特異的に増幅するPCRプライマーを設計した。PCR条件の検討ならびにそれらPCR産物の塩基配列をサンガー法により決定した結果、既報と矛盾しないHLAアレルが得られたことから本PCR系はHLAタイピングに使用しうるものと考えられた。実際にHLA-B*40:02ホモ接合3検体ならびにHLA-B*40:02ヘテロ接合17検体を用いてHLA-B遺伝子由来のPCR産物をGS JuniorによりHLAタイピングをおこなった結果、全ての検体からHLA-B*40:02:01:01を検出し、ヘテロ接合17検体では15種類の既知アレルに加え、2種類の新規アレルを検出した。よって本法は、ambiguityのない8桁レベルのHLAタイピングを可能とするとともに、Nullアレルの原因となるプロモーターやイントロン内の塩基置換や挿入・欠失を効率よく検出するための優れたツールであると考えられた。

P24

フローサイトメトリークロスマッチ (FCXM法) の判定結果に関わる反応条件の検討

○安尾 美年子¹⁾、石塚 敏¹⁾、二ツ山 和也¹⁾、吉野 敏栄¹⁾、中島 一郎²⁾、瀧之上 昌平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) 東京女子医科大学腎臓病総合医療センター腎臓外科

(目的) 移植ドナー・レシピエント間のリンパ球クロスマッチテストには、従来法のLCT (CDC) 法とFCXM法があるが、近年、高感度であるFCXM法を重視する施設が多くなってきている。そのため、クロスマッチの条件を標準化する試みが進められており、当施設でも、ここ数年、より確かな判定を追求するためFCXMの条件検討を進めてきた。その結果、FCXMの感度 (蛍光強度) を上げ過ぎてもnon-HLAと思われる陽性反応が多く見られるようになり、他のHLA抗体検査を用いて確認しなければならない状況が多くなった。

そのため今回われわれは、これまで検討してきた中でも、とくに判定に影響を及ぼすと思われる条件についてまとめてみた。

(材料および方法) 材料にはLCT法でHLA抗体陽性となった患者血清と、このHLA抗体に反応するリンパ球を用いた。反応温度については37℃では非特異反応が生じ易いことから室温とし、リンパ球と血清の反応時間は30分とした。

はじめに、プロテアーゼ処理の有無による違いについて検討した。次にHLA抗体陽性血清を倍数希釈したもの、2次抗体の濃度は50倍~600倍希釈したものをそれぞれ用いて蛍光強度の変化を比較した。また、リンパ球洗浄液の温度 (室温・冷温)、LCT法との感度の違いについても検討した。

(結果) プロテアーゼ処理により、BcellのFCXM陰性・陽性の判定が容易になり、感度も

高くなった。2次抗体の濃度を薄めることにより、蛍光強度は低くなるが、最終濃度としては1000倍以上であっても、LCT法でBcellの陽性反応が認められる程度の抗体量であれば検出できた。

(考察) LCT法より高感度のFCXMではあるが、2次抗体の濃度などにより、感度にかかなりの差があることから、HLAに非特異的な反応をできるだけ回避できる条件が必要と考えられる。

P25

HLAclass II-DRヒト型モノクローナル抗体(IMMU-114)を用いたLCT法クロスマッチによるHLA-DR抗体の判定

○安尾 美年子¹⁾、澤田登起彦²⁾、石塚 敏¹⁾、ニツ山和也¹⁾、村上徹³⁾、朴景華²⁾、窪田敬一²⁾、瀧之上昌平³⁾

- 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) 獨協医科大学第二外科学
- 3) 東京女子医科大学腎臓病総合医療センター腎臓外科

【目的】 LCT法 (CDC法) リンパ球クロスマッチテストは臓器移植のドナー・レシピエント間のダイレクトクロスマッチとして、補体結合性HLA抗体の検出に用いられてきた。

リンパ球クロスマッチテストでTcell (Tw) の陽性反応はHLAclass I抗体と考えられ、移植前検査であればすぐには移植できない。しかし、Bcell (Bw) の陽性はclass II抗体とは限らず、class Iの弱い抗体である可能性もあり、血小板で吸収するか、Flow-PRAなどの検査法を用いないと区別ができない。今回われわれは、補体結合性が無くHLA-DR抗原をブロックすると考えられるヒト型モノクローナル抗体IMMU-114 (Immunomedics社) を用いて、Bw陽性の反応がHLA-DR抗体であるか否かを識別できたので報告する。

【方法】 DR抗原のブロックはヘパリン加滅菌血100 μ lにIMMU-114を15 μ l加え、攪拌して室温20分放置により行った。これを2回洗浄した後、リンパ球サブセット検査に用いているCD3/Anti-HLA-DR抗体を加え、4 $^{\circ}$ C 20分放置後に溶血し洗浄して、フローサイトメーターにてDR抗原が0%となることを確認する。HLA-DR4・DR9・DR15などを持つBcellとIMMU-114とを室温30分反応させ、2回洗浄したのち、対応するDR抗血清を用いて通常のテラサキプレートによりLCTを行った。

【結果】 IMMU-114はリンパ球サブセット検査用のモノクローナルHLA-DR抗体の結合をすべてブロックした。さらに、分離したBcellと反応させることにより、HLA-DR抗血清との反応をすべて阻害したが、HLA class I抗体との反応は阻害しなかった。

【結論】 IMMU-114は補体結合性の無いHLA-DR抗体であることから、LCT法のクロスマッチテストにおいてHLA抗体のHLAクラスを識別するのに有用と考えられた。

P26

腎移植患者のクロスマッチ検査におけるFCM法とICFA法の比較検討

○黒木 聖久¹⁾、井藤聡美¹⁾、坂本慎太郎¹⁾、渡井至彦²⁾、打田和治²⁾、小林孝彰³⁾

- 1) 名古屋第二赤十字病院 組織適合検査室
- 2) 名古屋第二赤十字病院 移植外科
- 3) 名古屋大学医学部免疫機能制御学

【目的】 現在、腎移植前の抗体検査は必要不可欠であり、クロスマッチ検査によりレシピエント血清中の抗ドナー抗体 (DSA) の有無をチェックしている。クロスマッチの方法としてリンパ球細胞障害試験 (LCT) が用いられるが、より感度が高く微量なDSAをとらえる事が可能なフローサイトメトリッククロスマッチ (FCM) 法が腎移植では標準法になってきている。しかしながらB cellFCMでは非特異的な抗体接着がみられ、評価が困難な場合がある。また脱感作療法の一部として用いられるリツキサン投与後の血清では、偽陽性となる。プロナーゼ処理は、これらを解決する手段として提唱されているが、リンパ球のclass I、II抗原の発現レベルを減少させ、抗体の反応性に影響をあたえるという報告もある。そこで、簡便な方法であるICFA (クラス I & II) を用いてFCM法との比較、有用性を検討した。

【方法】 2010年10月～2011年4月までの22例を対象としてFCM法T、B、ICFA法のclass I、IIを測定し、結果をFCM法はratio (2.0) 以上、ICFA法はCut Off (2.0) 以上を陽性とした。

【結果】 DSA陰性、FCM-B (+) でICFA (-) となったのは3例、リツキサン症例の2例では、FCM-B (+) でICFA (-) となった。またDSA陽性でFCM (+) はICFAでも陽性となった。FCM法でT、B (-) はICFA class I、IIでも (-) であった。

【考察】 今回の解析でFCM法とICFA法の検査結果では相関性があり、リツキサン症例や非特異的にB cellFCM陽性の場合に非常に有用な検査であると考えられる。今後件数を増やして比較検討していきたい

P27

補体結合性HLA抗体検出試薬 (C1qScreen)による抗体特異性の検討

○石塚 敏¹⁾、安尾 美年子¹⁾、ニツ山 和也¹⁾、
吉野 敏栄¹⁾、中島 一郎²⁾、瀧之上 昌平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) 東京女子医科大学・腎臓病総合医療センター・腎臓外科

【目的】抗体関連拒絶反応は、レシピエントが保有する抗体が生体内で移植臓器由来の組織適合性抗原 (HLA) などに反応することにより発生する。

臓器移植におけるドナー特異的抗体検出法には、LCT (CDC) 法、FCXM法などがあるが、LCT法は、ウサギ補体を用いるため補体結合性抗体のみ検出可能である。一方、FCXM法は、補体結合性および補体非結合性抗体の両方が検出可能である。そのため、検出法によって検出結果が必ずしも一致しない場合が生じる。

今回われわれは、LCT法とFCXM法およびPRA法 (FlowPRA,Luminex) において検出結果の乖離を認められた症例について補体結合性HLA抗体検出試薬 (C1qScreen) を用いて抗体特異性の検討を行った。

【材料および方法】材料は、LCT法とFCXM法およびPRA法でHLA抗体陽性となった患者血清と検出されたHLA抗体のそれぞれに反応性を示すドナーリンパ球を用いた。

方法は、LCT法、FCXM法、PRA法 (FlowPRA,Luminex) およびC1qScreenである。

【結果】FCXM法およびPRA法が陽性、LCT法およびC1qScreenが陰性であれば補体非結合性HLA抗体である可能性が認められた。

【考察】LCT法とFCXM法は、検出可能なHLA抗体特異性の相違があり、抗体検出感度の相違も問題視されてきた。今後C1qScreenによりそれぞれの検出法の有用な特性から総合的に判断することが可能になるとと思われる。

P28

LABScreen (mixed, single antigen) を 用いた腎移植後のHLA抗体検査

○井藤 聡美¹⁾、黒木 聖久¹⁾、坂本 慎太郎¹⁾、
渡井 至彦²⁾、小林 孝彰³⁾、丹羽 操³⁾、打田 和治²⁾

- 1) 名古屋第二赤十字病院 組織適合検査室
2) 名古屋第二赤十字病院 移植外科
3) 名古屋大学医学部免疫機能制御学

【目的】腎移植後のHLA抗体検査は、抗体関連型拒絶反応の早期診断に有効であるとされているが、試薬が高価であるため効率的な検査が求められている。ELISA法よりも感度が高く、大量検体の測定が可能なLuminexを用いて検討した。【方法】外来Follow UP腎移植患者 (1983年から2010年) を対象として、LABScreen mixedによるスクリーニングを行い、Normalized Back Ground (NBG) ratio 3.5以上に対して、SABによる特異性解析を行った (MFI>500を陽性)。【結果】Mixed Class Iは、642例中56例がNBG ratio >3.5であり、SAB解析で12例がDSA、38例がNDSA、6例はHLA抗体陰性であった。Class IIは、653例中86例が陽性であり、56例にDSA (DRB抗体7、DQB抗体35、DRB+DQB抗体14) が検出され、26例がNDSA、4例はHLA抗体陰性であった。2008年および2009年の腎移植161例のうち、1-2年後の血清の解析ではclass Iに対する de novo DSAは検出されず、NDSAは5例に認められた。Class IIでは de novo DSAは7例 (DRB+DQB: 3、DQB: 4) に検出されたが、抗体関連型拒絶反応、腎機能障害との関連は認められなかった。脱感作療法後に実施したDSA陽性移植 (全例生着) の1年後には、class I抗体は10例中7例が陰性化 (3例は微量) したが、class II抗体は7例中2例のみであり、DRB抗体は中等度に減少、DQB抗体は不変であった。【考察】メーカー推奨のカットオフ値2.2の場合、陽性例はclass Iで84例、class IIで53例増加する。NBG ratio 2以下でも低抗体価のDSAが検出される場合があり、Cutoff 値の設定は困難である。移植後は、class II抗体、とくにDQB抗体が産生されやすい。既存抗体症例の移植後は、class I抗体はほぼ消失するが、DRB抗体は軽度に減少、DQB抗体はほぼ不変であった。血管内皮細胞の発現量との関連が示唆された。DSAの臨床的な意義については、さらなる検討が必要である。

P29

Luminex法におけるプロゾーン様現象

○小島 裕人¹⁾、藤井直樹¹⁾、二神貴臣¹⁾、大沼豪¹⁾、
辻野貴史¹⁾、林晃司¹⁾、楠木靖史¹⁾、吉田喬¹⁾、末上伸二¹⁾、
西川美年子¹⁾、小川公明²⁾、丸屋悦子³⁾、赤座達也¹⁾、
佐治博夫¹⁾

- 1) 特定非営利活動法人 HLA研究所
2) 特定非営利活動法人 白血病研究基金を育てる会
3) Terasaki Foundation Laboratory

【目的】我々はLuminex法での抗体検査において、血清におけるプロゾーン様現象を経験した。この現象が補体C1qの物理的な反応阻害である作業仮説を立て、検討したので報告する。

【材料・方法】当研究所に抗体検査の依頼があり、抗体価が高かった8検体。Adsorbed out処理後、以下の処理をし、検査に用いた。

血清化（血漿の場合のみ）：2 M CaCl₂ 5 ul, 2 U Thrombin 1 ulを血漿 1 mlに加え、4℃で一晩放置し、析出したフィブリン塊を除去した。

EDTA処理：血清にEDTAを加えた（終濃度0.05M）。

DTT処理：血清にDTTを加え（終濃度 0.005M）、37℃,30min処理。

血清の非働化：血清を56℃,30min処理

抗体検査方法：Luminex法（LABScreen PRA, LABScreen Single Antigen (onelambda社), WAKFlow HLA抗体クラス I (MR) (湧永製薬))

C1q-抗体検査方法：Luminex法（C1qScreen, (onelambda社)）

【結果・考察】すべての検体において、血漿で蛍光値(MFI)が20,000程度の反応が血清では3,000近くになるなどのプロゾーン様現象、つまり抗体過剰域のMFI値低下が見られた。これはonelambda社、湧永製薬のどちらのキットでも同様の傾向であった。また、1.補体を非働化すること、2.Ca²⁺やMg²⁺の阻害(C1s-C1r dimerの不活化)、3.S-S結合の阻害(C1qの不活化)により改善されたことから、C1q活性が陽性の検体を用いてC1qによる阻害実験を試みたが、プロゾーン様現象はみられず、作業仮説は否定された。C1qでなく、補体C1の活性化がプロゾーン様現象に関与していると考え、今後の検討を行いたい。

P30

抗体固定ビーズで検出するHLA抗原タイプング法の検討（第2報）

○中村 淳子、鎌田 裕美、清水 まり恵、橋本 志歩、
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】2010年の本学会で、我々はモノクローナル抗体固定ビーズによるHLA抗原タイプング法を報告した。さらに検出方法、抗体の固定方法に検討を加え、新たなモノクローナル抗体固定ビーズを作成した。また、ヒト血清由来HLA抗体をLuminexビーズに固定することも可能としたので報告する。

【方法】Luminexビーズに各種HLAエピトープ認識抗体を固定し、HLA型既知の細胞膜可溶化液、蛍光標識HLA分子認識抗体と反応させ、Luminex装置で蛍光強度を測定する。検出ビーズの種類を充実するため、固定する抗体を抗イムノグロブリンで架橋して結合、抗体のProtein G処理、抗体特異性に対応するHLA型の細胞を用いた吸着解離処理などで有効な固定方法を検討した。検出系のビオチン化処理で検出シグナルの向上を検討した。

【結果】モノクローナル抗体のビーズ固定方法では、5種のIgM性抗体（特異性A2+B17等）は抗IgM、IgG性B22抗体は抗IgGの架橋、A11、Bw4抗体はProtein G処理、A9、B5抗体はビーズ固定試薬のpH変更により良好な反応が認められた。ヒト血清由来HLA抗体では、B40CREG、Cw3に対する抗血清の細胞吸着解離液を抗IgGに架橋することで、エピトープに対応する反応が認められた。ビオチン化処理では、バックグラウンドの蛍光強度が上昇し検出シグナルの向上は期待できなかった。これまで18種のHLAモノクローナル抗体と2種のヒト血清由来HLA抗体のビーズ固定に成功した。

【考察】血清中のHLA抗体のビーズ固定は困難と思われたが、いくつかの処理で可能となり、HLAクラスI分子を網羅し検出できる可能性を拡大した。HLA新アレルの登録では、抗原分子の発現を確認しないまま、塩基配列を基本に型決定される。新アレルが実際どのような抗原分類に属するか確認する必要性は高く、本タイプング法で検証できることを目指したい。

P31

C1qScreenを使用したHLA抗体特異性解析

○中島 文明、橋本志歩、鎌田裕美、中村淳子、清水まり恵、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】精製抗原によるHLA抗体検出試薬の利便性は極めて高いが、輸血及び移植免疫で重要となる補体結合性抗体の判別はできない。最近、C1q結合を検出できる補助試薬が入手可能となり、補体結合性抗体を判別する方法となりうるか検討を行った。

【方法】C1qScreen (OneLambda社) は、C1qとPE標識抗C1qから構成され、LABScreen Single Antigen試薬 (以下、LS-SA) などと組み合わせで使用。検討には、(1) LS-SAのみで明確な特異性を示す男性由来血清、(2) LCT及びLS-SAでHLA特異性を示す経産婦由来血清、(3) 同じく、含まれるHLA抗体がIgMのみである血清を使用した。データは、LS-SAとC1q検出系のインデックス値 (NBG Ratio) で比較し、LCT特異性を含めて解析した。

【結果】C1q検出系について、(1) は反応を認めなかった。(2) はLCT特異性を抱合する反応を示し、LS-SAで検出する広範囲特異性部分は反応を認めなかった。(3) は一部を除き、多くは反応を認めなかった。

【考察】(1) は、solid phase assayのみで検出する自然抗体と考えられる。(2) は、C1q検出系で検出可能な反応とそうでない反応が混在し、後者は補体結合しないHLA抗体の可能性が高い。頻回輸血など新たな感作で補体活性をともなう抗体に変化する可能性があり軽視できない。(3) の場合、多くはC1q検出系陰性であるが、LCTの反応が認められることから臨床的重要性は判断できなかった。C1qScreen は、C1q結合のみ検出するため、それ以降の生化学的カスケードが成立するか不明である。また、補体結合しないHLA抗体を重要視する場合は他のcell based assayを必要とする。ただし、C1q結合抗体を明確かつ容易に検出できる利点は高いと思われる。

P32

蛍光ビーズ抗体検査法におけるプロゾーン様現象への補体の影響と非働化による現象の抑制効果 - 第2報 -

○黒田 ゆかり¹⁾、田原大志¹⁾、浅尾洋次¹⁾、中山みゆき¹⁾、平田康司²⁾、井上純子¹⁾、永吉裕二¹⁾、大熊重則²⁾、迫田岩根¹⁾、清川博之¹⁾

1) 日本赤十字社 九州血液センター

2) 岡山県赤十字血液センター

【はじめに】蛍光ビーズを用いたLABScreen Single Antigen (以下SA) は移植を中心に有用な抗体同定試薬として多く用いられているが、我々はこれまで時折プロゾーン様現象が起きていること、その現象が非働化によって抑制され、原因に補体の関与が示唆されたこと等を報告した。今回、このことについて詳細な検証結果を得たので報告する。

【対象】HLA抗体保有者で高力価抗体保有の血液疾患患者2症例 (症例1,2) と肝細胞癌患者1症例 (症例3) および低力価抗体保有の健常人1症例 (症例4) の4症例を対象とした。

【方法】4症例の血清をそれぞれ非処理、希釈血清および56°C30分の非働化血清に分けてSAの反応性を比較した。非処理と非働化血清に差が認められた症例は非働化血清を、認められなかった症例は非処理血清を用いて、血清反応後に段階的に量を変えたウサギ補体およびヒトHLA抗体陰性新鮮血清を加え反応性を比較した。また、それらを非働化して加えた反応性も確認した。

【結果】症例1,2では非処理と非働化血清で蛍光値20000以上の差を認めた。症例3,4には大きな差は認めなかった。症例1,2の非働化血清反応後にウサギ補体やヒト新鮮血清を加えるとプロゾーン様現象が再現され、差が無かった症例3,4の非処理血清においても同現象が確認された。いずれも加える量が多くなると現象は起きやすく、非働化して加えると現象は抑制されていた。

【考察】分子量の大きい補体成分C1が二次抗体結合部位付近に結合するため反応が阻害されたと考える。試薬構成や機序から高力価の抗体保有血清でプロゾーン様現象が起きやすいと考えられるが、抗体価ではなく血清中の補体活性によって検査結果が変化することが分かった。添付文書には” Test serum or plasma should not be heat inactivated, because it may give a high background in the test.” とある。非働化を含め補体の影響を避ける検査検体について検討する必要があると考える。

P33

HPA-5b抗体産生とDRB1*08:03との相関性

○黒田 ゆかり、田原大志、浅尾洋次、中山みゆき、
井上純子、永吉裕二、迫田岩根、佐藤博行、清川博之
日本赤十字社 九州血液センター

【はじめに】輸血や妊娠によって産生されたHPA抗体は、時として輸血不応、輸血後紫斑や新生児血小板減少を引き起こす。以前、永尾らによってHPA-4b抗体産生とDR15との相関性が報告され、昨年の当学会において福森らによって再度報告された。それ以外の相関性についての報告はほとんど知られておらず、今回我々は当施設において比較的多く検出されたHPA-5b抗体産生とDRB1の相関性を調査した結果、DRB1*08:03との相関が認められたため報告する。

【対象】2003年4月から2011年4月までに、当施設で輸血不応患者検体およびNAIT疑いによってHPA抗体検査を実施した1973人を対象とした。

【方法】HPA抗体検査には、anti-HPA・MPHA・パネル（オリンパス、ベックマン・コールター）またはPAKPLUS（GTI）を実施した。HLA-A,B,C,DRタイピングには、WAKFlow-A,B,C, DRB1（湧永製薬株式会社）を用いた。既知のHPA遺伝子頻度あるいは推定抗原頻度とタイピング結果のDRB1の検出遺伝子頻度あるいは推測した抗原頻度について χ^2 検定を行った。

【結果】対象期間中にHPA抗体検査を実施した1973人中、HPA-5b抗体は14人（0.7%）に検出された。14人中8人においてHLA-A,B,C,DRタイピングが実施されていた。8人中の6人にDRB1*08:03遺伝子が認められ、 χ^2 検定によって有意差ありと判定された。

【考察】DRB1*08:03の遺伝子頻度は通常約8~9%であるのに対し、HPA-5b抗体保有者に検出されたDRB1*08:03の遺伝子頻度は37.5%と有意に高く、HPA-5b抗体産生とDRB1*08:03の間には相関が見られた。これらは抗体産生に対するリスクの把握にも役立つと考えられるが、今回の調査対象数が少ないこと、他のHPA抗体産生へのDRB1の関与の可能性もあることなどから全国的な情報集積を希望する。

P34

抗病性育種の選抜家系におけるSLAタイプの特徴—SLAタイプと免疫関連形質との相関—

○安藤 麻子¹⁾、鈴木啓一²⁾、河田寿子³⁾、重成敦子¹⁾、
柴田千尋⁴⁾、中條 満⁴⁾、中條 満⁴⁾、北川 均⁵⁾、
猪子英俊¹⁾、上西博英⁶⁾

- 1) 東海大学 医学部
- 2) 東北大学大学院 農学研究科
- 3) 東海大学 伊勢原研究推進部・教育・研究支援センター
- 4) 宮城県畜産試験場 種豚家きん部
- 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】ブタMHC（SLA）の育種マーカーとしての有用性を検討する目的で、疾患病変及び経済形質の育種価により選抜したブタ集団について、SLAタイピングを行い、特定のSLAハプロタイプが選抜されたことを示した（第19回本学会大会）。本研究では、さらに、この集団の免疫能に関係した形質とSLAハプロタイプとの関連性を解析した。

【方法】豚マイコプラズマ肺炎病変（MPS）、増体重量、皮下脂肪厚の3形質の育種価により、選抜した第1~5世代のランドレース種の系統造成豚283頭について、体重105 kg時のM. hyopneumoniae（MP）特異抗体価、血漿コルチゾール濃度、食細胞活性など8種類の免疫関連形質を測定し、11種類のSLAクラスII ハプロタイプにおけるこれらの形質の育種価の差を多重比較により検定した。

【結果と考察】クラスIIハプロタイプの中で、Hp-0.27（DRB1*0901, DQB1*0901）を持つブタは、MP特異抗体価が最も低く、最高値を示したHp-0.4（DRB1*0201, DQB1*0401）との間に有意差が見られた（ $P<0.05$ ）。さらにHp-0.27は、感染防御に関わる食細胞活性が低い傾向にあり、ストレス状態を示すコルチゾール濃度は、最低値を示したHp-0.4をはじめ他の10種のハプロタイプよりも有意に高かった（ $P<0.05$ ）。前回報告した選抜形質とSLAタイプとの相関の結果とこれらの結果を総合すると、MPS病変が重度で総合育種価が低く、世代を経て頻度が減少したHP-0.27は、MP感受性ハプロタイプである可能性が高く、MPS病変が軽度で高総合育種価のHp-0.4はMP抵抗性ハプロタイプであることが示唆された。以上の所見から、この集団ではSLAタイプが抗病性選抜の指標のひとつとして有用であると考えられる。

P35

MHC固定ブタ末梢血単核球の活性化によるSLAクラス I 遺伝子の動態解析

○大島 志乃¹⁾、亀谷 美恵²⁾、北 夕紀¹⁾、椎名 隆¹⁾、神口 浩³⁾、猪子 英俊¹⁾、安藤 麻子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・医学部・基礎医学系・生体防御学

3) 東海大学伊勢原研究推進部・教育・研究支援センター

【目的】ブタは、その生理・解剖学的性質がヒトに近いため、臓器移植モデルとして利用価値が高い。移植研究に主眼を置いて開発されたSLA固定ブタは、MHC発現調節機構を解明するためにすぐれたモデルを提供する。本研究ではこれを用いて末梢血単核球刺激によるSLAの発現動態をタンパク質およびmRNAレベルで比較解析した。

【方法】MHC固定クラウンミニブタ (Hp-16.16 /16.16 (C1/C1)) より末梢血を採取した。比重遠心法により単核球を採取し細胞刺激24時間、48時間、72時間培養を行った。刺激にはMHC発現を亢進するIFN- γ に加え、サイトカインストームを誘導する黄色ブドウ球菌外毒素であるTSST-1を用いた。これらの細胞を回収し、CD4, CD25, pan-specific class-I SLAに対する各モノクローナル抗体で染色し、T細胞の活性化とSLAの発現をフローサイトメトリーにより解析した。また、培養前後のこれらの細胞における3つのSLAクラスI遺伝子 (SLA-1, SLA-2, SLA-3) の遺伝子発現についてreal-time PCR法により定量解析した。

【結果と考察】MHC固定ブタの末梢血単核球は、TSST-1刺激によりヘルパーT細胞上の活性化抗原であるCD25の発現が亢進した。これに伴い、IFN- γ mRNAの発現が亢進し、IFN- γ 添加細胞群より高いレベルでSLAタンパク分子の発現が推移した。細胞表面のクラス I 分子の発現量は、両刺激で培養72時間まで継続して増加するが、mRNA量は、24時間後に最高値を示し、その後72時間まで減少を続けた。また、両刺激によるクラス I 遺伝子のmRNA量の動態は、3遺伝子ともに同様の変動パターンを示した。今後、TSST-1刺激によるSLA発現の亢進が、IFN- γ の発現のみに依存するのか否かについて、またタンパクレベルでの発現とmRNAレベルでの発現の相違がどのような機構によるのかについて明らかにする予定である。

P36

主成分分析および立体構造解析によるMHCの多様性に基づくウシMHCクラスII分子の機能予測

○竹嶋 伸之輔^{1,2)}、松本有生¹⁾、

Guillermo Giovambattista³⁾、山岸純也^{4,5)}、沖本憲明⁴⁾、Mariluz Arainga-Ramirez^{1,2)}、宮坂卓¹⁾、間陽子^{1,2)}

1) 理化学研究所 分子ウイルス学特別研究ユニット

2) 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 メディカルゲノム専攻

3) IGEVET- CCT LA PLATA - CONICET, FCV, UNLP

4) 理化学研究所 計算分子設計研究グループ

5) 東京大学大学院 新領域創成科学研究科 情報生命科学専攻

【目的】

ウシは主に温帯および寒冷地で飼育されているBos Taurusと亜熱帯および熱帯地域で飼育されているBos Indicusに大きく分類され、病気抵抗性や耐熱性、肉質、乳質の改善を目的とした品種改良により、各地に適応した品種が作成されている。そのため、気温や様々な病原体による感染等の選択圧が遺伝子へ強く働いていると考えられる。そのような遺伝子の一つとしてウシMHC (BoLA) 遺伝子が挙げられる。本研究では日本および南米の様々な地域より収集したウシを用いて、BoLAクラスIIの中で最も多型的で発現の強いDR分子の β 鎖をコードするDRB3遺伝子のタイピングを行い、多型性解析および分子シミュレーションを用いた構造解析によりクラスIIの機能予測を行った。

【材料と方法】

日本、ペルー、パラグアイ、ボリビア、アルゼンチンおよびチリの49牧場より14品種、2724頭について、当研究室で開発したPCR-Sequence Based Typing法によりBoLA-DRB3をタイピングした。続いてアレル頻度および多型残基の頻度を算出し主成分分析に用いた。ウシDR分子の構造解析には、ホモロジーモデリングおよび分子動力学計算により構築したMHC分子の立体構造を利用して行った。

【結果と考察】

各々の品種別にアレル頻度に基づいて主成分分析を行ったところ、Bos TaurusとBos Indicusでは、DRB3の特徴が大きく異なっていた。次に、飼養地域によるアレル頻度の差異を検出するために、各国のホルスタイン種の頻度を基に主成分分析を行ったところ、アレル頻度の特徴はほとんど検出されなかった。そこで、DRB3遺伝子が規定するアミノ酸配列を、DR分子の5つのペプチド収容溝を構成するアミノ酸残基に分類し、それぞれの頻度を牧場ごとに算出して主成分分析を行った。その結果、ポケット1および9の特徴が欧州原産の肉用種とホルスタイン種で異なることを見いだした。続いてそれらのポケット構造を、分子シミュレーションを用いて解析した結果、BoLA-DRに結合するペプチドの特徴が品種によって異なる事が強く示唆された。

P37

絶滅危惧種ペンギン類のMHC多型

○津田 とみ^{1,2)}、吉川枝理¹⁾、小見山智義¹⁾、村田浩一³⁾、
成瀬妙子⁴⁾、福田道雄⁵⁾、栗田正徳⁶⁾、津田道雄¹⁾、
猪子英俊¹⁾

- 1) 東海大学医学部
- 2) 徳島文理大学人間生活学部
- 3) 日本大学生物資源学部
- 4) 日本医科歯科大学難治研
- 5) 東京都葛西水族園
- 6) 名古屋港水族館

【背景】 国際自然保護連合IUCNでの調査対象となる生物約4万種のうち、絶滅の恐れのある種は2006年版で1万6千種あまりであったが、2010年版では1万8351種と増加している。ペンギン類6属17種のなかでも絶滅危惧種(EN)は、ガラパゴスペンギン、キガシラペンギン、シュレーターペンギンの3種とされていたが2010年版ではさらに2種が加わることとなった。鳥類は食物連鎖の上位に位置することから、棲息地の状況に加えて食餌状況による影響を受け、さらに感染症による死も種の絶滅の重大な要因となると推測できる。

【結果】 我々は、ペンギン類MHCクラスII DRB1様遺伝子のエクソン2を含むエクソン1からイントロン3領域の塩基配列を決定し、ペンギン類のMHC多型が、ペンギン類を含む海鳥の進化的探求、分類の未解決点の解明、血縁関係の識別等に極めて有用な指標であることを明らかにしてきた。これらの成果を踏まえて、棲息数が著しく減少しているガラパゴスペンギンやキガシラペンギンに着目し、MHC多様性の欠如がうかがわれる結果を昨年報告した。一方、軽度懸念種(LC)とされているエンペラーペンギンは比較的清潔な環境で棲息しているにもかかわらず近年コロニー数および棲息数の減少が懸念されるようになってきた種であるが、今回この種のMHC多型データも解析に加えることができた。本大会ではこれらMHC多型データの比較検討を発表する予定である。

【展望】 希少種の保全は、現在のところ主に棲息数調査や棲息域の状況調査を基本にして行われている。我々はそれらに加えてMHC遺伝子多様性が希少種の評価の良き指標となる根拠を築きたいと考えている。

P38

フィリピン固有品種におけるウシMHCクラスII DRB3遺伝子の頻度解析

○大橋 未来¹⁾、竹嶋伸之輔^{1,2)}、宮坂卓¹⁾、松本有生¹⁾、
Claro N.Mingala³⁾、小沼操¹⁾、間陽子^{1,2)}

- 1) 独立行政法人理化学研究所 分子ウイルス学特別研究ユニット
- 2) 東京大学新領域メディカルゲノム専攻感染制御分子機能解析分野
- 3) Philippine Carabao Center

【目的】

ウシMHC (BoLA) クラスII領域は、ヒトと異なり、DRおよびDQの2つの亜領域から構成されている。この領域に存在する遺伝子の中で最も多型に富むのが、DRB3遺伝子であり、現在までに119のアリルが確認されている。本研究では、解析が進んでいない、亜熱帯地域であるフィリピンで生育する耐熱性や病気抵抗性に強い固有品種および経済効果を高めるために使用された交雑種のDRB3遺伝子を解析した。さらに、そのアリル頻度を求め、日本の固有品種との比較を行い、その遺伝的特徴を明らかにした。

【方法】

フィリピンの固有品種(144頭)、Sahiwal種とHolstein種の交雑種(256頭)、固有品種とBrahman種の交雑種(91頭)および固有品種とさまざまなウシの交雑種またはその他の品種(7品種31頭)の計10品種566頭の血液サンプルよりDNAを精製し、当研究室で開発したPCR-SBT法によってBoLA-DRB3アリルのタイピングを行った。また、アリル頻度より系統樹を作成し、フィリピンの固有品種と黒毛和種及び日本短角種における品種間の遺伝的距離の測定も併せて行った。

【結果・考察】

399頭の解析の結果、固有品種より12種、固有品種 x Brahman種より11種、Sahiwal x Holstein種より20種、固有品種 x その他の品種およびその他の品種から16種のアリルが得られ、計69種の既知アリルが同定された。また固有品種、Sahiwal x Holstein種、固有品種 x Brahman種で最も頻度の高いアリルはそれぞれ、DRB3*0301、*0101、*3601であった。さらに566頭中167頭で新規アリルの存在が疑われたため、現在確認中である。続けて、ブートストラップ法にて日本の固有品種である日本短角種および黒毛和種と比較したところ、Holstein x Sawahil種は日本固有品種と似通っており、一方フィリピン固有品種および固有品種 x Brahman種は大きく異なっていることが示された。このことから、日本固有品種とフィリピン固有品種は遺伝的に遠い関係にあることが明らかとなった。

P39

霊長類における免疫グロブリンスーパーファミリー (IgSF) の分子進化

○中島 敏晶¹⁾、中島敏晶^{1,2)}、大谷仁志¹⁾、明里宏文³⁾、
石田貴文⁴⁾、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) 京都大学霊長類研究所 比較免疫微生物領域

4) 東京大学大学院 理学系生物学科

[目的] IgSFは、免疫、細胞接着、情報伝達など様々な機能に関わる、免疫グロブリンドメインを有する一群のタンパク質である。本研究では、IgSF遺伝子の配列比較により、霊長類の進化におけるIgSFと自然選択の関わりを明らかにする。

[方法] データベースよりヒトIgSF遺伝子を選出し、4種の霊長類(チンパンジー、オラウータン、アカゲザル、マーモセット)のオーソログ遺伝子配列を獲得する。coding領域の非同義(dn)および同義置換率(ds)を、BnBsおよびPAMLにより算出し、自然選択との関わりを検討する。

[結果] 249個のIgSF遺伝子を解析した。IgSF遺伝子を、gene ontologyの機能的分類に基づき、11のカテゴリーに分類した結果、免疫調節機構に関わる遺伝子群[immune system process (GO:0002376)、defense response (GO:0006952)、multi-organism process (GO:0051704)]では、他の機能カテゴリーに比べ、dn/ds比が高い傾向が認められた。また、免疫調節機構に関わる遺伝子群では、他の霊長類の系統に比べ、ヒト系統においてdn/ds比が低い傾向を認めた。さらに、各々の霊長類の系統進化とdn/ds比を検討した結果、11個の遺伝子(SIGLEC 5、SLAMF 6、CD33、CD 3 E、CEACAM 8、CD 3 G、FCER 1 A、CD48、CD 4、TIM 4、FCGR 2 A)では、いずれかの霊長類の系統において、正の自然選択との関わりが示唆された。

[考察] IgSF遺伝子群の分子進化には、その機能的な背景が密接に関わっている。本研究では、正の自然選択の影響下にあるIgSF遺伝子を明らかにしたが、その機能的な違いを霊長類間で比較検討することにより、霊長類の進化への理解を深めることができると考えられる。

第20回日本組織適合性学会 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。

株式会社医学生物学研究所

株式会社エスアールエル

株式会社ベリタス

ライフテクノロジーズ ジャパン株式会社

湧永製薬株式会社

(50音 2011年7月4日現在)