

# 日本組織適合性学会誌

第 22 卷第 2 号 平成 27 年 8 月 10 日発行

## 目 次

日本組織適合性学会からのお知らせ

第 14 回日本組織適合性学会・近畿地方会のご案内	71
認定 HLA 技術者講習会（大会教育講演を兼ねる）	72
認定制度指導者講習会	73

平成 27 年度認定 HLA 検査技術者講習会テキスト

リウマチ・膠原病と HLA	土屋 尚之, 川崎 綾, 岡 笑美, 古川 宏	74
次世代シーケンシングに基づく HLA ゲノム・遺伝子解析	椎名 隆	84
わが国の臓器移植, 膵島移植の現状と将来展望	剣持 敬	95

総説

次世代シーケンス用アレル判定プログラム (SeaBass) の開発とその検証	鈴木 進悟・尾崎 有紀・榊屋 安里・重成 敦子・光永 滋樹・猪子 英俊・椎名 隆	102
--	--	-----

日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定	108
編集後記	111

## 第 14 回日本組織適合性学会・近畿地方会のご案内

**会 期**：2016 年 2 月 6 日（土）9:30 ～ 17:00

**会 場**：大阪府赤十字血液センター 7 階会議室  
（大阪市城東区森之宮 2 丁目 4 番 43 号）

**世話人**：田中秀則 公益財団法人 HLA 研究所 副所長

**会 費**：正会員 2,000 円 学生 1,000 円

**共 催**：財団法人 大阪腎臓バンク

**抄 録**：2015 年 12 月 26 日 締め切り

**送付先**：〒 589-8511 大阪府大阪狭山市大野東 377-2  
近畿大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター  
日本組織適合性学会近畿支部事務局  
金光 靖 宛  
yuketsu@med.kindai.ac.jp

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

## 認定 HLA 技術者講習会（大会教育講演を兼ねる）

本講習会は、今後 HLA 検査技術者認定を取得あるいは更新しようとする方々を対象に実施されます。大会参加者は自由に参加することができます。受講に関しましては、事前登録をしていただく必要はございません。

**日 時：**平成 27 年 9 月 12 日（土曜日）8:30~10:30

**会 場：**第 24 回・日本組織適合性学会 大会会場  
ホテルレイクビュー水戸 2 階（飛天鳳凰）

**テキスト：**会場でのテキストの販売は、いたしません。学会ホームページに掲載されたテキストを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書は、会場入口の受付にて受講者 1 につき 1 枚を発行いたします。各自で所属、氏名を記入していただき、講習会終了時に回収致します。途中退出、中途入場の場合は受講証明書を発行できませんので、ご注意ください。

### 内 容：

(1) 「リウマチ・膠原病と HLA」

土屋 尚之

筑波大学医学医療系分子遺伝疫学研究室

(2) 「次世代シーケンシングに基づく HLA ゲノム・遺伝子解析」

椎名 隆

東海大学医学部分子生命科学

(3) 「わが国の臓器移植・臓器移植の現状と将来展望」

剣持 敬

藤田保健衛生大学医学部臓器移植科

## 認定制度指導者講習会

第24回日本組織適合性学会大会中の下記の教育講演，特別講演（Ⅰ，Ⅱ），シンポジウム，合計5企画から，3企画以上の受講をもって，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. シンポジウムⅠ（移植医療における抗体—現状と課題—）  
9月10日（木）15:30～17:30
2. 特別講演Ⅰ（移植医療におけるHLAラボの役割—アメリカの活動の具体例から—）  
岩城 裕一先生（南カリフォルニア大学医学部 泌尿器科学・外科学・病理学）  
9月11日（金）11:00～12:00
3. 特別講演Ⅱ（The 17th International HLA and Immunogenetics Workshop: New Technologies taking us to the Future）  
Steven J. Mack 先生（Children's Hospital Oakland Research Institute）  
9月11日（金）14:30～15:30
4. シンポジウムⅡ（MHC研究の新たな展開）  
9月11日（金）15:30～17:30
5. 教育講演（認定HLA技術者講習会を兼ねる）  
9月12日（土）8:30～10:30

## リウマチ・膠原病と HLA

土屋 尚之<sup>1)</sup>, 川崎 綾<sup>1)</sup>, 岡 笑美<sup>1,2)</sup>, 古川 宏<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup> 筑波大学・医学医療系・分子遺伝疫学研究室

<sup>2)</sup> 国立病院機構相模原病院・臨床研究センター

1973 年の強直性脊椎炎と HLA-B27 の関連の発見以来、40 年以上にわたり、HLA 遺伝子群は、リウマチ・膠原病において最も確立した病因の因子であり続けている。これまで、多くの関連研究や分子機構を探る研究が積み重ねられ、その時代の先端的解析法を駆使して、多くの知見が明らかになるとともに、それ以上の新たな疑問が産み出されてきた。本稿では、代表的なリウマチ性疾患・膠原病および類縁疾患について、日本人集団を中心に関連研究の成果をまとめるとともに、リウマチ性疾患に関する HLA 研究の最近の進歩について概説する。

**キーワード：**HLA, リウマチ性疾患, 膠原病, 日本人集団

### 1. はじめに

関節リウマチ (rheumatoid arthritis, RA) をはじめとする膠原病および膠原病類縁疾患は、全身の臓器、骨・関節、筋肉、皮膚、血管などにさまざまな組み合わせで炎症・機能障害をきたす疾患群であり、その多くにおいて自己抗体が検出されることから、自己免疫現象が病因あるいは病態形成に関与すると想定されるが、詳細は未解明である。これらの疾患にはあるていどの家族集積性が認められ、双生児法などの遺伝疫学的方法により、遺伝因子の関与が示唆されている。多くは、複数の遺伝要因と環境要因の複合により発症に至る多因子疾患 (complex diseases) と考えられる。

HLA とリウマチ性疾患の疾患感受性との関連が明確に示されたのは、1973 年の Brewerton ら<sup>1)</sup>, Schlossman ら<sup>2)</sup> による HLA-B27 と強直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis, AS) の関連の発見であろう。RA に関しては、これに先駆け、1969 年に, Astorga と Williams が、混合リンパ球反応において、RA と健常者のペアと比較して、RA 患者同士では、低反応性を示すペアが有意に多い現象を見

出している<sup>3)</sup>。1970 年代後半には、Stastny による一連の研究により、RA と HLA-DR4 との関連が明確に報告された<sup>4)</sup>。

その後、膠原病および類縁疾患を含む多くの免疫関連疾患において HLA との関連が報告された。ゲノムワイド関連研究 (genome-wide association study, GWAS) においても、多くの免疫関連疾患では、最も強い遺伝因子が MHC 領域内に存在することが示唆された。後述するように、最近では、サンプルサイズの増加、GWAS 等による単一塩基多型 (single nucleotide polymorphism, SNP) データから、連鎖不平衡を利用して HLA アリルを推定する HLA imputation 法による大規模関連研究、MHC 領域全体のスクリーニングと conditional analysis による原因的多型部位の特定、HLA アリルではなく個々のアミノ酸に注目した解析などから、新たな関連の知見も多数報告されている。

一方で、HLA と疾患との関連を説明しうる分子機構の解明は、当初の予想より難航しているものの、後述するように、近年、いくつかの興味深い知見が報告されている。

受付日：2015 年 6 月 10 日, 受理日：2015 年 6 月 10 日

代表者連絡先：土屋 尚之 〒305-8575 茨城県つくば市天王台 1-1-1 筑波大学医学医療系分子遺伝疫学研究室

E-mail: tsuchiya-ty@umin.net

表1 HLA-class I に強い関連を示すリウマチ・膠原病類縁疾患の日本人集団における HLA との関連

アレル	サンプルサイズ (患者 / 対照)	アレル保有率 (優性モデル)				文献
		患者群 (%)	対照群 (%)	オッズ比 (95% 信頼区間)	P <sup>b</sup>	
強直性脊椎炎 B*27	48/210	83.3	0.48	1045 (127.2-8587.0)	1.0 × 10 <sup>-37</sup>	5)
Behçet 病 B*51:01	180/170	61.7	15.9	8.52 (5.28-13.76)	4.1 × 10 <sup>-19</sup>	6)
高安動脈炎 <sup>a</sup> B*52:01	100/1000	60.0	23.2	3.27 (2.34-4.55)	2.6 × 10 <sup>-13</sup>	7)
B*67:01	100/1000	9.0	2.7	3.44 (1.60-7.43)	8.1 × 10 <sup>-4</sup>	7)

<sup>a</sup> 高安動脈炎におけるデータは、文献<sup>7)</sup>における first set のデータである。

<sup>b</sup> 多重比較の補正を行っていない P 値。

一部のデータは、論文に掲載されたデータをもとに再計算したものである。

本稿では、代表的なリウマチ性疾患、膠原病および類縁疾患について、特に日本人・アジア系集団を中心とした関連研究の知見を概説するとともに、分子機構に関する研究の一端を紹介する。

## 2. HLA-class I 関連疾患

### 1) 強直性脊椎炎, 反応性関節炎

前述のように、AS と HLA-B27 の強い関連は 1973 年に報告され<sup>1,2)</sup>、現在に至るまで、最も強い HLA と疾患の関連を示す疾患の一つとなっている。一般集団における HLA-B27 のアレル頻度は概ね数 % であるが、日本人集団ではきわめて低く (1% 以下)、逆に北欧やパプア・ニューギニアには 20% 以上に達する民族もある。AS 患者群の 90% 前後が HLA-B27 陽性であり、オッズ比は数十～1000 以上に到達する。

反応性関節炎は、主として消化器系や泌尿生殖器系感染症のあとに発症する関節炎である。原因となる病原微生物の種類により、やはり HLA-B27 との強い関連が認められる。

HLA-B27 にはアミノ酸配列の異なるアレル (サブタイプ) が 100 種類以上存在するが、ヨーロッパ系集団では B\*27:05 と B\*27:02、日本を含む東アジアでは B\*27:04 と B\*27:05、東南アジアでは B\*27:04 と B\*27:06 が主体を占める。疫学的検討に足る頻度で存在する B\*27 アレルのうちで、東南アジアに分布する B\*27:06 とサルジニア島に分布する B\*27:09 は AS 感受性が見られないことが報告されている。これらのアレルは、AS 感受性のアレルと比較して、position 114 あるいは 116 にアミノ酸置換を伴う<sup>8)</sup>。これらは抗原ペプチドを結合する D,

E あるいは F pocket を構成するアミノ酸の一部である。

AS と HLA-B27 の関連の分子機構については、40 年以上にわたり、多様な仮説が検討されてきたが、いまだに結論は得られていない。現在検討されている主な仮説には、以下の 3 つがある<sup>9)</sup>。

#### ① arthritogenic peptide 説

HLA-B27 が特異的に提示される抗原ペプチドが発症に重要であると考えられる。

#### ② misfolding 説

HLA-B27 は小胞体の中で misfolding を受けやすく、これが、活性酸素産生、サイトカイン誘導などの小胞体ストレス (ER stress) を引き起こすと考える<sup>10)</sup>。

#### ③ non-canonical HLA 分子説

HLA-B27 は、β<sub>2</sub>-microglobulin を結合しない free heavy chain (fHC)、fHC 同士が position 67 の unpaired Cys を介して dimer を形成する B27 dimer など、特異な構造をとって細胞表面に発現し、これらが KIR3DL2 や LILRB2 などの受容体のリガンドとなると考える<sup>11)</sup>。

①は HLA-B27 の抗原ペプチド結合ポケット構造の独自性、②、③はタンパク質としての安定性の独自性に基づくものである。いずれにおいても、B27 特異的ではないが、重要な特徴の一つである、unpaired 67Cys の存在が重要な役割を果たすと想定されている。

近年、GWAS 等により見出された HLA 以外の重要な AS 感受性遺伝子として、ERAP1, ERAP2 など、HLA-class I に結合する抗原ペプチドのサイズを、至適な 8-10 アミノ酸まで trimming することが機能の一つである分子があることが見出された。さらに興味深いことに、ERAP1 多型の関連は HLA-B27 陽性 AS においてのみ観

察されるという遺伝子間相互作用が存在し、ERAPI 活性低下型が AS に対して抵抗性となる<sup>12)</sup>。実際に、ERAPI 多型に伴い、“B27 結合 peptidome”が変化することが確認されている<sup>13,14)</sup>。上記の仮説の①はもちろんのこと、②、③においても、HLA-B27 heavy chain と抗原ペプチドとの結合が分子安定性に影響するものであることから、いずれも遺伝子間相互作用を説明しうるものである。また、①～③の仮説は相互排他的ではなく、いずれも分子機構に関与している可能性も指摘されている。

筆者らは、日本人集団における HLA-B27 陰性 AS および病態の類似性が認められる少関節型若年性特発性関節炎に、HLA-B39 の増加を見出した<sup>5)</sup>。B\*39:01 は B27 同様 67Cys を有し、抗原ペプチドレパートアの一部を共有する<sup>5,15)</sup>。残念ながら他集団では AS と B\*39 との関連は再現されていないが、最近、アイルランド集団を対象とした、AS との病態の類似性を有する乾癬性関節炎の研究で、B\*27 と B\*39:01 の関連が報告され<sup>16)</sup>、これらの分子の生物学的な類似性がこれらの疾患の分子機構に関連する可能性が支持された。

## 2) Behçet 病

Behçet 病 (Behçet's disease, BD) では、B\*51:01 との顕著な関連が検出され<sup>6)</sup> (表 1)、GWAS においても HLA-B 領域に最も強い関連が検出される<sup>17,18)</sup>。また、AS 同様、BD においても、ERAPI との遺伝子間相互作用が観察される<sup>18)</sup>。興味深いことに、BD においては、ERAPI の AS 抵抗性アリルがリスクアリルとなる<sup>18)</sup>。なお、ERAPI の BD リスクアリル (rs1748207T, 725Q) の日本人集団にお

けるアリル頻度 (8.3%) は、ヨーロッパ系集団 (24.6%) と比較して低い (NCBI dbSNP; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>)。

## 3) 高安動脈炎

高安動脈炎 (Takayasu arteritis) では、B\*52:01 の関連が確立している。従来、これ以外に B\*39 の関連が報告されていたが、近年の大規模研究では B\*39 の関連は確認されず、B\*67:01 が第 2 のリスクアリルとして報告されている<sup>7)</sup>。GWAS でも、HLA-B/MICA 領域に最も強い関連が検出されている<sup>19)</sup>。

## 3. HLA-class II 関連疾患

### 1) 関節リウマチ

前述のように、RA では、1970 年代後半から、HLA-DR4 の関連が知られていた。この関連は世界の多くの集団で確認されたが、一部の集団では異なるアリルの関連が観察されていた。主な DRB1 アリルのアミノ酸配列が明らかになった 1987 年、Gregersen らはこれらをアミノ酸配列レベルで再検討し、DRβ 鎖 position 70-74 に QKRAA, QRRRA, RRRRA のうちのいずれかの配列を有するアリルが RA のリスクアリルであることを発表し、このアミノ酸モチーフを“shared epitope”と呼んだ<sup>20)</sup>。K (Lys) と R (Arg) は塩基性アミノ酸であり、この 5 アミノ酸のうち 2～3 個の塩基性アミノ酸が含まれることと、酸性アミノ酸が含まれないことが特徴である。この知見はほとんどの集団で確認されている。

表 2 に日本人集団における筆者らのデータの抜粋を示

表 2 日本人集団における RA および健常対照群の主な HLA-DRB1 保有率 (陽性率)<sup>21)</sup>

DRB1	RA (n=1480)		健常対照群 (n=800)		P <sup>a</sup>	オッズ比 (95% 信頼区間)
	n	(%)	n	(%)		
Shared epitope (SE) をコードするアリル						
SE 全体	1035	(69.9)	315	(39.4)	$2.4 \times 10^{-45}$	3.58 (2.99-4.29)
*01:01	210	(14.2)	83	(10.4)	0.010	1.43 (1.09-1.87)
*04:01	84	(5.7)	17	(2.1)	$4.3 \times 10^{-5}$	2.77 (1.63-4.70)
*04:04	5	(0.3)	4	(0.5)	0.73	0.67 (0.18-2.52)
*04:05	738	(49.9)	185	(23.1)	$1.4 \times 10^{-36}$	3.31 (2.73-4.01)
*04:10	70	(4.7)	21	(2.6)	0.014	1.84 (1.12-3.02)
*10:01	25	(1.7)	2	(0.3)	0.0017	6.86 (1.62-29.02)
*14:02	2	(0.1)	0	(0.0)	0.54	2.71 (0.13-56.46)
*14:06	56	(3.0)	22	(2.8)	0.80	1.11 (0.66-1.86)
その他の注目すべきアリル						
*09:01	423	(28.6)	213	(26.6)	0.33	1.10 (0.91-1.34)
*13:02	107	(7.2)	126	(15.8)	$4.6 \times 10^{-10}$	0.42 (0.32-0.55)

<sup>a</sup> 多重比較の補正を行っていない P 値。

す<sup>21)</sup>。SE 全体では、RA の 69.9% が保有し、健常対照群 39.4% と比較して、オッズ比 3.58 で増加している。日本人では SE 保有アレルのうち最も多いのは *DRB1\*04:05* である。一方、*DRB1\*13:02* は有意に減少しており、他方のアレルに SE を保有する場合でも、*DRB1\*13:02* を保有する場合には疾患抵抗性となる<sup>21)</sup>。後述するように、*DRB1\*13:02* による疾患抵抗性は、全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus, SLE)<sup>22)</sup>、ANCA 関連血管炎 (ANCA-associated vasculitis, AAV) (Kawasaki et al., 投稿中)、皮膚筋炎・多発性筋炎<sup>23)</sup> においても観察される。また、*DRB1\*09:01* は全体では有意な関連を示さないものの、SE を除外して関連を検討すると (relative predispositional effect 法)、有意な関連が検出される<sup>21)</sup>。

RA には、疾患特異性の高い自己抗体である抗シトルリン化蛋白抗体 (anti-citrullinated protein antibody, ACPA) が存在する。ヨーロッパ系集団においても日本人においても、SE との関連は ACPA 陽性 RA において顕著であり、SE を 2 コピー有する場合は 1 コピー有する場合よりもリスクが上昇する量効果 (dosage effect) が認められる。一方、ACPA 陰性 RA 群では軽度である<sup>21)</sup> (表 3)。現在検討されている一つの仮説では、「RA の環境因子として確立している喫煙や歯周病等により、気道や口腔の蛋白のシトルリン化が誘導され、SE 陽性者では、シトルリン化ペプチドが抗原提示を受けやすいため、これに対する免疫応答が誘導される。次に、ウイルス感染、関節の過負荷や微小外傷等により、関節滑膜にシトルリン化が誘導されると、これを標的とした免疫反応が関節を舞台として成立し、炎症の結果としてさらにシトルリン化が誘導されるため、関節炎が慢性化する」とのシナリオが描かれている<sup>24)</sup>。

前述の *DRB1\*09:01* のように、SE は有しないものの、RA の疾患感受性に関連するアレルも存在する。このようなことから、SE をアップデートする試みが多数行われてきた。一方、MHC 領域全域の SNP タイピングの結果

表 3 日本人 RA における HLA-DRB1 shared epitope の関連

	ACPA 陽性 RA	ACPA 陰性 RA
SE+/+	9.55 (6.42-14.2)	1.54 (0.62-3.83)
SE+/-	3.76 (3.04-4.65)	1.60 (1.06-2.42)
SE-/-	1	1

ACPA : 抗シトルリン化蛋白抗体。オッズ比と 95% 信頼区間を示す。Oka ら<sup>21)</sup> のデータに基づき計算。ACPA 陽性 RA では、SE の強い関連と、量効果 (dosage effect) が認められる。

果から、MHC 領域には、*DRB1* 以外にも RA 発症に関連する多型部位が存在することが示唆されてきた。Raychaundhuri らは、MHC 全域にわたる GWAS の SNP タイピングデータを利用し、imputation 法により HLA アレルの大規模関連研究を行うとともに、conditional analysis により連鎖不平衡を調整した結果、ヨーロッパ系集団における ACPA 陽性 RA における MHC 領域の関連は、*DRB1* における position 11, 71, 74, *HLA-B* における position 9, *DPB1* における position 9 の計 5 個所のアミノ酸によって説明しうると報告した。これらはいずれもペプチド結合部位に位置するアミノ酸である<sup>25)</sup>。また、Okada らは、中国人、韓国人のデータを用いて同様の解析を行い、アジア系集団における ACPA 陽性 RA では、*DRB1* の position 11, 13, 57 あるいは 71, 74, *B* の position 9, *DPB1* の position 9 によって説明しうると報告した<sup>26)</sup>。実際に彼らのモデルを日本人 RA のデータに当てはめると、古典的 SE モデルと概ね一致するが、SE に当てはまらない *DRB1\*09:01* のリスクを説明しうる反面、SE を有し、一部の集団では RA との関連が証明されている *DRB1\*14:02* や *DRB1\*14:06* がハイリスク群に分類されてこないという違いがみられる。

発症のみならず、臨床経過、臨床症状、薬剤応答性に関しても RA と *HLA* の関連が報告されている。関節破壊の重症度は、以前から多くの研究で SE との関連が示されてきた。東京女子医大における inception cohort を用いた最近の研究でも、SE のコピー数と発症 5 年後の観察破壊の進行度との関連が確認されている<sup>27)</sup>。また、RA の生命予後を左右する重要な関節外症状として間質性肺疾患があるが、筆者らの検討では、間質性肺疾患合併 RA と非合併 RA を比較したとき、合併群において、DR2 アレルグループ (*DRB1\*15, \*16*) が有意に増加していた。意外なことに、RA 発症や関節破壊に対してはリスク因子である SE は、間質性肺疾患合併群では有意に減少していた<sup>28)</sup> (表 4)。

頻度は少ないが重要な関節外症状として、リンパ腫などのリンパ増殖性疾患がある。症例数が少ないために今後の検証を有する結果であるが、筆者らは、合併群に *DQB1\*06:01* の増加を検出している<sup>29)</sup>。

RA の治療上重要な問題が、抗リウマチ薬や生物学的製剤による有害事象である。多くの薬剤で間質性肺疾患の誘導が観察され、しばしば重篤となる。現在、RA 治

表4 日本人 RA における HLA と臨床病型、薬剤有害事象との関連

関節外症状, 薬剤有害事象	HLA	モデル	オッズ比 (95% 信頼区間)	P <sup>a</sup>	文献
間質性肺疾患	<i>DR2 (DRB1*15, *16)</i>	allele	1.78 (1.31–2.43)	$2.4 \times 10^{-4}$	28)
	Shared epitope	allele	0.69 (0.53–0.90)	$6.4 \times 10^{-3}$	28)
リンパ増殖性疾患	<i>DQB1*06:01</i>	carrier	4.39 (1.51–12.74)	$6.9 \times 10^{-3}$	29)
methotrexate 関連間質性肺疾患	<i>A*31:01</i>	allele	2.97 (1.80–4.88)	$8.06 \times 10^{-5}$	30)
methotrexate 関連リンパ増殖性疾患	<i>B*15:11</i>	allele	18.5 (1.9–183.4)	$9.7 \times 10^{-3}$	31)
bucillamine 関連尿蛋白	<i>DRB1*08:02</i>	carrier	25.17 (7.98–79.38)	$1.09 \times 10^{-6}$	32)

関節外症状あるいは薬剤関連有害事象を発症した RA とそれ以外の RA との比較。

<sup>a</sup> 多重比較の補正を行っていない P 値。

療のアンカードラッグとされている methotrexate (MTX) においても、投与患者のうちの 1% 前後に間質性肺疾患が出現するとされる。複数の治療手段が利用可能となった現在において、薬剤有害事象を予測するためのバイオマーカーを確立することができれば、RA の個別化医療の実現において、大きな意義がある。

筆者らの検討によれば、MTX 関連間質性肺疾患患者では、それ以外の RA と比較して、*A\*31:01* が有意に増加していた<sup>30)</sup> (表4)。また、MTX 投与中のリンパ増殖性疾患に関しては、京都大学から、*B\*15:11* との関連が報告されている<sup>31)</sup>。

Bucillamine (Buc) はわが国で開発された抗リウマチ薬であるが、しばしば有害事象として尿蛋白が出現する。筆者らの検討では、Buc 関連蛋白尿は、*DRB1\*08:02* と関連することが検出されている<sup>32)</sup> (表4)。このような知見が多くの抗リウマチ薬、生物学的製剤において確立されれば、安全な RA 診療の実現に大きく貢献することは間違いない。

## 2) 全身性エリテマトーデス

SLE においても、候補遺伝子およびゲノムワイドアプローチにより、約 70 領域の関連が示されているが、最も強い関連が見られるのは MHC 領域である。ヨーロッパ系集団では、複数の自己免疫疾患に共通の感受性ハプロタイプである *DRB1\*03:01* ハプロタイプに加え、*DRB1\*15:01* ハプロタイプの関連が認められる。日本人

集団では *DRB1\*03:01* は稀少であり、*DRB1\*15:01* が主な感受性アリルである。また、*DRB1\*13:02*, *\*14:03* が疾患抵抗性に関連する<sup>33)</sup> (表5)。

なお、台湾、タイなどの東南アジア集団では、*DRB1\*15:01* に加え、*DRB1\*15:02* と SLE との関連も検出される<sup>34)</sup>。日本人では、集団中の *DRB1\*15:02* 頻度が高いにもかかわらず、*DRB1\*15:02* の関連傾向は認められない。アフリカ系集団では、DR15 グループの主たるアリルである *DRB1\*15:03* と SLE との関連が検出される。

最近、韓国から、HLA imputation 法を用いたアミノ酸レベルでの解析が報告され、*DRB1* の position 11, 13, 26 の 3 個所のアミノ酸により、SLE における *DRB1* の関連をほぼ説明しうると結論されている<sup>35)</sup>。しかし、これら 3 個所のアミノ酸のみでは、実際のアリルタイピングによる関連研究で見出される感受性アリルとそうでないアリルが同じグループに分類されてくるため、その意義は今後の検証が必要と思われる。

SLE における MHC 領域の関連研究では、主に *DRB1* 座が注目されているが、ほかの HLA 座に加え、非 HLA 遺伝子群、なかでも、完全欠損では高率に SLE が発症する補体 *C4*, *C2* 遺伝子に留意する必要がある。*C4* には顕著なコピー数多様性が認められ、これと HLA 遺伝子との独立性についての検討が主としてヨーロッパ系集団において加えられているが<sup>36)</sup>、明確な結論に至るにはさらなる研究の蓄積が必要と考えられる。

表5 日本人集団における全身性エリテマトーデス感受性および抵抗性 HLA-DRB1<sup>33)</sup>

<i>DRB1</i> 保有率 (優性モデル)	SLE (%) (n=848)	健常対照群 (%) (n=849)	P	オッズ比 (95% 信頼区間)
*15:01	25.6	13.7	$5.48 \times 10^{-10}$	2.17 (1.69–2.79)
*13:02	8.1	16.1	$5.21 \times 10^{-7}$	0.46 (0.34–0.63)
*14:03	1.7	4.7	0.0004	0.34 (0.18–0.63)

### 3) 抗好中球細胞質抗体 (anti-neutrophil cytoplasmic antibody, ANCA) 関連血管炎

ANCA 関連血管炎 (ANCA-associated vasculitis) は、臨床症状により、顕微鏡的多発血管炎 (microscopic polyangiitis, MPA), 多発血管炎性肉芽腫症 (granulomatosis with polyangiitis, GPA), 好酸球性多発血管炎性肉芽腫症 (eosinophilic granulomatosis with polyangiitis, EGPA) の 3 群に、自己抗体の対応抗原により、myeloperoxidase (MPO)-ANCA 陽性群, proteinase 3 (PR3)-ANCA 陽性群に分類される。欧米においては GPA, PR3-AAV が多くを占めるのに対し、日本においては、MPA, MPO-AAV が大部分を占める。

ヨーロッパ系集団では、GWAS により、GPA, PR3-AAV では HLA-DP 領域に、MPA, MPO-AAV では DQ 領域に最も強い関連シグナルが検出され<sup>37,38)</sup>、アリルレベルでは、GPA と DPB1\*04:01 の関連が報告されている<sup>39)</sup>。

筆者らは、日本人 MPA, MPO-AAV において、DRB1\*09:01 との関連を報告した<sup>40-43)</sup> (表 6)。これらのアリルには集団差が存在し、DPB1\*04:01 はヨーロッパ系集団に多く東アジア集団に少ないアリルであり、逆に DRB1\*09:01 は東アジア集団に多くヨーロッパ系集団には少ない。集団におけるアリル頻度の違いが、AAV の各病型の、各集団における発症率の違いに結びついている可能性が考えられる<sup>41)</sup>。筆者らはさらに、日本人 PR3-AAV においても DPB1\*04:01 が疾患感受性であること、また、MPO-AAV において、前述の RA, SLE 同様、DRB1\*13:02 が疾患抵抗性に働くことを見出している (Kawasaki et al., 投稿中)。逆に、DRB1\*09:01 はアジア集団において複数の免疫疾患に共通の疾患感受性遺伝子である。このように、一見類似性に乏しい複数の疾患に共通する HLA の感受性・抵抗性アリルの分子機構について、今後の検討が必要と考えられる<sup>42)</sup>。

#### 4) その他の膠原病

全身性強皮症 (systemic sclerosis, SSc) においても、

表 6 日本人顕微鏡的多発血管炎, MPO-ANCA 陽性血管炎における DRB1\*09:01 の関連<sup>42)</sup>

	DRB1*09:01 保有率 (%)	P	オッズ比 (95% 信頼区間)
MPA	43.8	0.0087	1.90 (1.17-3.08)
MPO-AAV	45.7	0.0016	2.05 (1.31-3.23)
健常対照群	29.1		

MPO-AAV には MPA の大部分と GPA の約半数が含まれる。

ANCA 関連血管炎同様、臨床病型や自己抗体 (抗核抗体) のパターンによるサブセットごとに異なる HLA の関連が観察される<sup>44)</sup>。集団による違いも認められるが、DPB1\*13:01 は、集団を超えて、SSc 全体あるいは抗 topoisomerase I 抗体 (ATA) 陽性群との関連が検出される。アジア系集団では、ATA 陽性群において DRB1\*15:02, \*16:02 など DR2 アリルグループとの関連が認められるが、ヨーロッパ系集団では DR\*11 グループとの関連が認められる。抗セントロメア抗体陽性群では、DRB1\*01:01-DQB1\*05:01 の関連が検出される<sup>45-47)</sup>。

皮膚筋炎・多発性筋炎においても、自己抗体の種類や臨床病型との関連が検出される。日本人集団では、疾患全体では DRB1\*08:03 が、抗アミノアシル tRNA 合成酵素抗体陽性群では DRB1\*08:03 に加え、DRB1\*08:02, DRB1\*04:05 の関連が検出される<sup>23)</sup>。また、筋炎においても、DRB1\*13:02 と疾患抵抗性に関連が認められる<sup>23)</sup>。近年注目される、急速進行性間質性肺炎を合併しやすく筋症状の乏しい、抗 MDA5 抗体陽性のグループ (無筋炎型皮膚筋炎) では、DRB1\*01:01 および \*04:05 の関連が報告されている<sup>48)</sup>。

#### 4. 今後の展望

日本人集団・東アジア集団におけるデータを中心に、主なリウマチ・膠原病に関する HLA 関連研究を概説した。HLA-B27 関連疾患では、HLA-B27 の生物学的にユニークな特徴が注目され、抗原ペプチド結合以外の可能性が検討されている。一方、HLA-class II 関連疾患では、抗原ペプチドの提示を介する機序が推測されている。いずれにしても、いずれもまだ仮説の段階を出ていない。

最近、荒瀬らは、小胞体内で misfolding した蛋白が HLA-class II に結合した形で細胞表面に出出し、自己抗体産生を惹起する、という興味深い仮説を提唱した。HLA と自己抗体産生とをつなぐ新たな視点として、今後の研究の発展が期待される<sup>49)</sup>。

HLA-B27 と強直性脊椎炎の関連の発見から 40 年以上が経過した。多くの疾患において、GWAS により改めて MHC 領域の寄与度の大きさが再認識されたにもかかわらず、HLA と疾患とつなぐ分子機構は明らかになっていない。

そのようななかで、近年、GWAS や Immunochip によって得られる SNP データを活用した HLA imputation 法が

開発された。本法は各集団の MHC 領域の連鎖不平衡に依存するが、Okada らは、最近、日本人の reference panel を用い、4 桁のアリルタイピング結果と 91.5% の一致率を示す HLA imputation 法を報告した<sup>50)</sup>。また、HLA 遺伝子以外の SNP も対象として MHC 領域における第一義的多型部位を推測する数理的アプローチも進歩した。

他方では、次世代シーケンサーを駆使した HLA 遺伝子全長のシーケンスによる、「みなしタイピング」ではないアリルタイピングとハプロタイプ決定、さらには DNA メチル化解析、クロマチン免疫沈降 (ChIP) シーケンス解析、RNA シーケンス解析などの実験的アプローチによる“HLA omics”解析が可能となった<sup>51)</sup>。さらに、HLA が薬剤過敏症のバイオマーカーとして重要であることが明らかになり、個別化医療のキーワードとしても、今後の臨床への展開が期待される。

免疫系が関与する多因子疾患における最も強い疾患感受性遺伝子である HLA を対象とする疾患研究が、今後のゲノム医学、ゲノム医療の進むべき方向性を示すことが期待される。

## 文献

- 1) Brewerton DA, Hart FD, Nicholls A, *et al.*: Ankylosing spondylitis and HL-A 27. *Lancet* 1973; 1(7809), 904–7.
- 2) Schlosstein L, Terasaki PI, Bluestone R, *et al.*: High association of an HL-A antigen, W27, with ankylosing spondylitis. *N Engl J Med* 1973; 288, 704–6.
- 3) Astorga GP, Williams RC Jr.: Altered reactivity in mixed lymphocyte culture of lymphocytes from patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1969; 12, 547–54.
- 4) Stastny P: Association of the B-cell alloantigen DRw4 with rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 1978; 298, 869–71.
- 5) Yamaguchi A, Tsuchiya N, Mitsui H, *et al.*: Association of HLA-B39 with HLA-B27-negative ankylosing spondylitis and pauciarticular juvenile rheumatoid arthritis in Japanese patients. Evidence for a role of the peptide-anchoring B pocket. *Arthritis Rheum* 1995; 38, 1672–7.
- 6) Itoh Y, Inoko H, Kulski JK, *et al.*: Four-digit allele genotyping of the HLA-A and HLA-B genes in Japanese patients with Behçet's disease by a PCR-SSOP-Luminex method. *Tissue Antigens* 2006; 67, 390–4.
- 7) Terao C, Yoshifuji H, Ohmura K, *et al.*: Association of Takayasu arteritis with HLA-B\* 67:01 and two amino acids in HLA-B protein. *Rheumatology* 2013; 52, 1769–74.
- 8) Khan MA: Polymorphism of HLA-B27: 105 subtypes currently known. *Curr Rheumatol Rep* 2013; 15, 362.
- 9) McHugh K, Bowness P: The link between HLA-B27 and SpA—new ideas on an old problem. *Rheumatology* 2012; 51, 1529–39.
- 10) Colbert RA, Tran TM, Layh-Schmitt G: HLA-B27 misfolding and ankylosing spondylitis. *Mol Immunol* 2014; 57, 44–51.
- 11) Shaw J, Hatano H, Kollnberger S: The biochemistry and immunology of non-canonical forms of HLA-B27. *Mol Immunol* 2014; 57, 52–8.
- 12) The Australo-Anglo-American Spondyloarthritis Consortium1 (TASC), the Wellcome Trust Case Control Consortium 2 (WTCCC2). Interaction between ERAP1 and HLA-B27 in ankylosing spondylitis implicates peptide handling in the mechanism for HLA-B27 in disease susceptibility. *Nat Genet* 2011; 43, 761–7.
- 13) Chen L, Fischer R, Peng Y, *et al.*: Critical role of endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 in determining the length and sequence of peptides bound and presented by HLA-B27. *Arthritis Rheumatol* 2014; 66, 284–94.
- 14) Sanz-Bravo A, Campos J, Mazariegos MS, *et al.*: Dominant role of the ERAP1 polymorphism R528K in shaping the HLA-B27 Peptidome through differential processing determined by multiple peptide residues. *Arthritis Rheumatol* 2015; 67, 692–701.
- 15) Sobao Y, Tsuchiya N, Takiguchi M, *et al.*: Overlapping peptide-binding specificities of HLA-B27 and B39: evidence for a role of peptide supermotif in the pathogenesis of spondylarthropathies. *Arthritis Rheum* 1999; 42, 175–81.
- 16) Winchester R, Minevich G, Steshenko V, *et al.*: HLA associations reveal genetic heterogeneity in psoriatic arthritis and in the psoriasis phenotype. *Arthritis Rheum* 2012; 64, 1134–44.
- 17) Mizuki N, Meguro A, Ota M, *et al.*: Genome-wide association studies identify IL23R-IL12RB2 and IL10 as Behçet's disease susceptibility loci. *Nat Genet* 2010; 42, 703–6.
- 18) Kirino Y, Bertsias G, Ishigatsubo Y, *et al.*: Genome-wide association analysis identifies new susceptibility loci for Behçet's disease and epistasis between HLA-B\*51 and ERAP1. *Nat Genet* 2013; 45, 202–7.
- 19) Renauer PA, Saruhan-Direskeneli G, Coit P, *et al.*: Identification of susceptibility loci in IL6, RPS9/LILRB3, and an intergenic locus on chromosome 21q22 in Takayasu arteritis in a genome-wide association study. *Arthritis Rheumatol* 2015; 67, 1361–8.
- 20) Gregersen PK, Silver J, Winchester RJ: The shared epitope hypothesis. An approach to understanding the molecular genetics of susceptibility to rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1987; 30, 1205–13.
- 21) Oka S, Furukawa H, Kawasaki A, *et al.*: Protective effect of the HLA-DRB1\*13:02 allele in Japanese rheumatoid arthritis patients. *PLoS ONE* 2014; 9, e99453.
- 22) Furukawa H, Kawasaki A, Oka S, *et al.*: Human leukocyte antigens and systemic lupus erythematosus: a protective role for the HLA-DR6 alleles DRB1\*13:02 and \*14:03. *PLoS ONE* 2014; 9,

- e87792.
- 23) Furuya T, Hakoda M, Tsuchiya N, *et al.*: Immunogenetic features in 120 Japanese patients with idiopathic inflammatory myopathy. *J Rheumatol* 2004; 31, 1768–74.
  - 24) Klareskog L, Malmström V, Lundberg K, *et al.*: Smoking, citrullination and genetic variability in the immunopathogenesis of rheumatoid arthritis. *Semin Immunol*. 2011; 23, 92–8.
  - 25) Raychaudhuri S, Sandor C, Stahl EA, *et al.*: Five amino acids in three HLA proteins explain most of the association between MHC and seropositive rheumatoid arthritis. *Nat Genet* 2012; 44, 291–6.
  - 26) Okada Y, Kim K, Han B, *et al.*: Risk for ACPA-positive rheumatoid arthritis is driven by shared HLA amino acid polymorphisms in Asian and European populations. *Hum Mol Genet* 2014; 23, 6916–26.
  - 27) Suzuki T, Ikari K, Yano K, *et al.*: *PADI4* and *HLA-DRB1* are genetic risks for radiographic progression in RA patients, independent of ACPA status: Results from the IORRA cohort study. *PLoS ONE* 2013; 8, e61045.
  - 28) Furukawa H, Oka S, Shimada K, *et al.*: Association of human leukocyte antigen with interstitial lung disease in rheumatoid arthritis: A protective role for shared epitope. *PLoS ONE* 2012; 7, e33133.
  - 29) Furukawa H, Oka S, Shimada K, *et al.*: Human leukocyte antigen polymorphisms and personalized medicine for rheumatoid arthritis. *J Hum Genet* advance online publication, 23 April 2015: doi:10.1038/jhg.2015.36
  - 30) Furukawa H, Oka S, Shimada K, *et al.*: HLA-A\*31:01 and methotrexate-induced interstitial lung disease in Japanese rheumatoid arthritis patients: a multi-drug hypersensitivity marker? *Ann Rheum Dis* 2013; 72, 153–5.
  - 31) Yamakawa N, Fujimoto M, Kawabata D, *et al.*: A clinical, pathological, and genetic characterization of methotrexate-associated lymphoproliferative disorders. *J Rheumatol*. 2014; 41, 293–9.
  - 32) Furukawa H, Oka S, Shimada K, *et al.*: HLA-DRB1\*08:02 is associated with bucillamine-induced proteinuria in Japanese rheumatoid arthritis patients. *Biomarker Insights* 2014; 9, 23–28.
  - 33) Furukawa H, Kawasaki A, Oka S, *et al.*: Human leukocyte antigens and systemic lupus erythematosus: A protective role for the HLA-DR6 alleles DRB1\*13:02 and \*14:03. *PLoS ONE* 2014; 9, e87792.
  - 34) Sirikong M, Tsuchiya N, Chandanayingyong D, *et al.*: Association of HLA-DRB1\*1502-DQB1\*0501 haplotype with susceptibility to systemic lupus erythematosus in Thais. *Tissue Antigens* 2002; 59, 113–7.
  - 35) Kim K, Bang SY, Lee HS, *et al.*: The HLA-DR  $\beta$  1 amino acid positions 11-13-26 explain the majority of SLE-MHC associations. *Nat Commun* 2014 Dec 23; 5, 5902. doi: 10.1038/ncomms6902.
  - 36) Boteva L, Morris DL, Cortés-Hernández J, *et al.*: Genetically determined partial complement C4 deficiency states are not independent risk factors for SLE in UK and Spanish populations. *Am J Hum Genet* 2012; 90, 445–56.
  - 37) Lyons PA, Rayner TF, Trivedi S, *et al.*: Genetically distinct subsets within ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 2012; 367, 214–23.
  - 38) Xie G, Roshandel D, Sherva R, *et al.*: Association of granulomatosis with polyangiitis (Wegener's) with HLA-DPB1\*04 and SEMA6A gene variants: evidence from genome-wide analysis. *Arthritis Rheum* 2013; 65, 2457–68.
  - 39) Heckmann M, Holle JU, Arning L, *et al.*: The Wegener's granulomatosis quantitative trait locus on chromosome 6p21.3 as characterised by tagSNP genotyping. *Ann Rheum Dis* 2008; 67, 972–9.
  - 40) Tsuchiya N, Kobayashi S, Kawasaki A, *et al.*: Genetic background of Japanese patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: association of HLA-DRB1\*0901 with microscopic polyangiitis. *J Rheumatol*. 2003; 30, 1534–40.
  - 41) Tsuchiya N, Kobayashi S, Hashimoto H, *et al.*: Association of HLA-DRB1\*0901-DQB1\*0303 haplotype with microscopic polyangiitis in Japanese. *Genes Immun* 2006; 7, 81–4.
  - 42) Tsuchiya N: Genetics of ANCA-associated vasculitis in Japan: a role for HLA-DRB1\*09:01 haplotype. *Clin Exp Nephrol* 2013; 17, 628–30.
  - 43) 川崎 綾: ANCA 関連血管炎における集団差と HLA 領域の関連. *医学のあゆみ* 2014; 251, 299–301.
  - 44) 土屋尚之: 全身性強皮症の疾患感受性遺伝子解析. *医学のあゆみ* 2014; 251, 614–9.
  - 45) Kuwana M, Inoko H, Kameda H, *et al.*: Association of human leukocyte antigen class II genes with autoantibody profiles, but not with disease susceptibility in Japanese patients with systemic sclerosis. *Intern Med* 1999; 38, 336–44.
  - 46) Wang J, Guo X, Yi L, *et al.*: Association of HLA-DPB1 with scleroderma and its clinical features in Chinese population. *PLoS ONE* 2014; 9, e87363.
  - 47) He D, Wang J, Yi L, Guo X, *et al.*: Association of the HLA-DRB1 with scleroderma in Chinese population. *PLoS ONE* 2014; 9, e106939.
  - 48) Gono T, Kawaguchi Y, Kuwana M, *et al.*: Association of HLA-DRB1\*0101/\*0405 with susceptibility to anti-melanoma differentiation-associated gene 5 antibody-positive dermatomyositis in the Japanese population. *Arthritis Rheum* 2012; 64, 3736–40.
  - 49) Jin H, Arase N, Hirayasu K, *et al.*: Autoantibodies to IgG/HLA class II complexes are associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014; 111, 3787–92.
  - 50) Okada Y, Momozawa Y, Ashikawa K, *et al.*: Construction of a population-specific HLA imputation reference panel and its application to Graves' disease risk in Japanese. *Nat Genet* 2015 Jun 1. doi: 10.1038/ng.3310.
  - 51) Hosomichi K, Shiina T, Tajima A, *et al.*: The impact of next-

generation sequencing technologies on HLA research, J Hum Genet in press.

参考になる読み物

『HLA のブレイクスルー—臨床応用と疾患研究の進歩』  
医学のあゆみ 251 巻 4 号 2014 年 10 月 25 日刊, 医歯  
薬出版株式会社, 東京。

## HLA and autoimmune rheumatic diseases: association studies in Japan and recent progress in research

Naoyuki Tsuchiya<sup>1)</sup>, Aya Kawasaki<sup>1)</sup>, Shomi Oka<sup>1,2)</sup>, Hiroshi Furukawa<sup>1,2)</sup>

<sup>1)</sup>Molecular and Genetic Epidemiology Laboratory, Faculty of Medicine, University of Tsukuba

<sup>2)</sup>Clinical Research Center for Allergy and Rheumatology, Sagamihara Hospital, National Hospital Organization

Since the discovery of association between ankylosing spondylitis and *HLA-B27* in 1973, *HLA* genes have been the most established causal factors for autoimmune rheumatic diseases. Numerous association studies as well as studies on the molecular mechanisms using cutting-edge methodologies of the time revealed a large amount of information, and even larger amount of new questions. Here we review the association data in Japan, and also introduce recent progress in HLA research, on the major autoimmune rheumatic diseases.

**Key Words:** HLA, rheumatic diseases, Japanese

## 次世代シーケンシングに基づく HLA ゲノム・遺伝子解析

椎名 隆<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

数多くの医学的および生物学的興味を有する HLA 遺伝子群の全塩基配列が報告されてから 16 年が経過したが、その領域に位置する遺伝子情報や多型情報は常に更新されている。一方、近年に開発された次世代シーケンシング技術は、HLA 遺伝子群の多型解析にも活用されつつある。本稿では、最新の HLA ゲノム情報と次世代シーケンサーを用いたゲノム解析や DNA タイピング法について我々の知見を交えて概説する。

**キーワード：**HLA 遺伝子群，多型，次世代シーケンシング

### 1. はじめに

ヒト白血球抗原 (human leukocyte antigen; HLA) をコードする HLA 遺伝子群は、ヒト第 6 染色体短腕部 6p21.31 に位置し、移植の際のドナーとレシピエントの組織適合性の一致はもとより、その免疫学的機能と類まれなる遺伝的多型性から、疾患との関連解析、集団遺伝学研究、分子進化学研究などの幅広い研究分野に活用されている。1999 年に HLA 全遺伝子群 3.6 Mb (360 万塩基対) の塩基配列が決定されて以来 (The MHC sequencing consortium. Nature 1999)、マイクロサテライトマーカーや 1 塩基多型 (single nucleotide polymorphism; SNP) マーカーを用いたゲノム多様性解析が進められてきたが、複雑なゲノム構造を有するゆえにゲノムシーケンシングによる HLA 遺伝子群全領域のゲノム多様性解析を行った例は、Sanger Institute が実施したヨーロッパ人集団に頻度の高い 8 種類の HLA ハプロタイプ間の成果のみである (Allcock et al. Tissue Antigens, 2002; Stewart et al. Genome Res, 2004; Horton et al. Immunogenet, 2008)。一方、近年の次世代シーケンサーなどの塩基配列決定に関する技術開発の進展により、HLA 遺伝子群のゲノム多様性解析や HLA 遺伝子全領域の多型解析を比較的容易に進め

ることが可能となり、医学的ならびに生物学的興味に対するより詳細な理解が期待されている。本稿では、まず HLA 遺伝子群のゲノム構造や多型性の最新情報について概説し、次いで次世代シーケンサーを用いた HLA 遺伝子群のゲノム解析や HLA 遺伝子の DNA タイピング法について紹介したい。

### 2. HLA 遺伝子群のゲノム構造

図 1 は、NCBI のデータ (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gen/>) に基づく HLA 遺伝子領域における最新の遺伝子地図を示す。この領域は、遺伝子の機能や構造から、テロメア側よりクラス I、クラス III およびクラス II 領域の順に分けられる。また HLA 遺伝子群における遺伝学的特徴は、その近傍のゲノム領域にも及んでいることから、クラス I 領域のテロメア側は伸長されたクラス I 領域 (Extended クラス I 領域)、クラス II 領域のセントロメア側は伸長されたクラス II 領域 (Extended クラス II 領域) とそれぞれ呼称されている。Extended クラス I 領域や Extended クラス II 領域を除いたクラス I、クラス II およびクラス III 領域に限定した場合、127 個の発現遺伝子、35 個のタンパク質に翻訳されずに機能する RNA (non-coding RNA; ncRNA)、5 個の核小体低分子 RNA (small

受付日：2015 年 6 月 16 日，受理日：2015 年 6 月 16 日

代表者連絡先：椎名 隆 〒259-1143 神奈川県伊勢原市下糟屋 143 東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学

E-mail: tshiina@is.icc.u-tokai.ac.jp



表 1 HLA 遺伝子群に位置する遺伝子の分類

Gene type	protein coding	ncRNA	snoRNA	pseudo	total
Class I region	48	21	0	53	122
Class III region	61	11	5	8	85
Class II region	18	3	0	10	31
Total for all genes	127	35	5	71	238

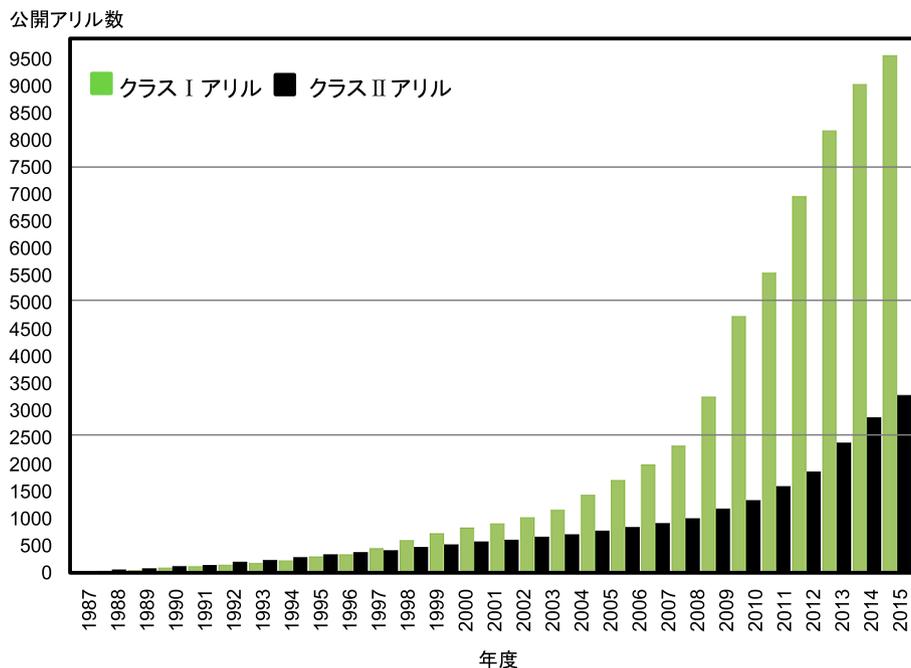
表 2 HLA 遺伝子群に位置する HLA と MIC 遺伝子の分類

	protein coding	ncRNA	snoRNA	pseudo	Total
HLA class I genes	6	0	0	13	19
HLA class II genes	13	0	0	5	18
MIC genes	2	0	0	5	7
Total for HLA-like genes	21	0	0	23	44

HLA-DQA2 と -DQB2 は膵臓のランゲルハンス島に特異的に発現することが報告されている (Lenormant et al. J Immunol, 2012)。MIC 遺伝子については、2 個の発現遺伝子 (MICA, MICB) と 5 個の偽遺伝子の計 7 個がクラス I に位置する。HLA 様遺伝子として、腸管細胞における鉄の輸送調節に関与し、遺伝性疾患であるヘモクロマトーシスの原因遺伝子でもある HFE 遺伝子が Extended クラス I 領域に位置する (表 2)。その他の遺伝子、ゲノム構造の特徴については既報の総説や NCBI のウェブサイト参照されたい (Horton et al. Nat Rev Genet, 2004; Shiina et al. J Hum Genet, 2009: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>)。

### 3. HLA 遺伝子群の多型性

図 2 は、IPD-IMGT/HLA データベース (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/>) にて毎年 4 月に更新されている累積アレル数の推移を示す。最新の Release 3.20 (2015 年 4 月更新) では、HLA クラス I 遺伝子に 9,749 アレル、クラス II 遺伝子に 3,274 アレルの計 13,023 アレルが公開されている (表 3)。特にこの 1 年間では、1,634 アレルが新規に公開されており、2009 年からの 7 年間でも年間あたり 1,000 アレル以上が加速的に増大している。これは、HLA 遺伝子の DNA タイピング法やシーケンシ



IPD-IMGT/HLAデータベースより引用

図 2 公開されている累積 HLA アレル数の推移

表3 IPD-IMGT/HLA データベースに公開されている HLA アリル数

Category	Locus	Allele Num.	Protein Num.	Null Allele Num.	Allele num. from promoter to 3'UTR
Class I	HLA-A	3107	2185	147	145
	HLA-B	3887	2870	124	234
	HLA-C	2623	1850	81	192
	HLA-E	17	6	1	11
	HLA-F	22	4	0	22
	HLA-G	50	16	2	27
	Pseudogene	43	0	0	37
	total	9749	6931	355	668
Class II	HLA-DRA	7	2	0	6
	HLA-DRB1	1726	1262	39	27
	HLA-DRB3	59	47	1	3
	HLA-DRB4	15	8	3	3
	HLA-DRB5	21	18	2	0
	HLA-DQA1	54	32	1	28
	HLA-DQB1	780	515	19	21
	HLA-DPA1	39	20	0	5
	HLA-DPB1	520	424	13	7
	HLA-DMA	7	4	0	5
	HLA-DMB	13	7	0	8
	HLA-DOA	12	3	1	7
	HLA-DOB	13	5	0	10
	Pseudogene	8	0	0	0
		total	3274	2347	79

ング技術が世界的に普及したことを反映すると考えられる。

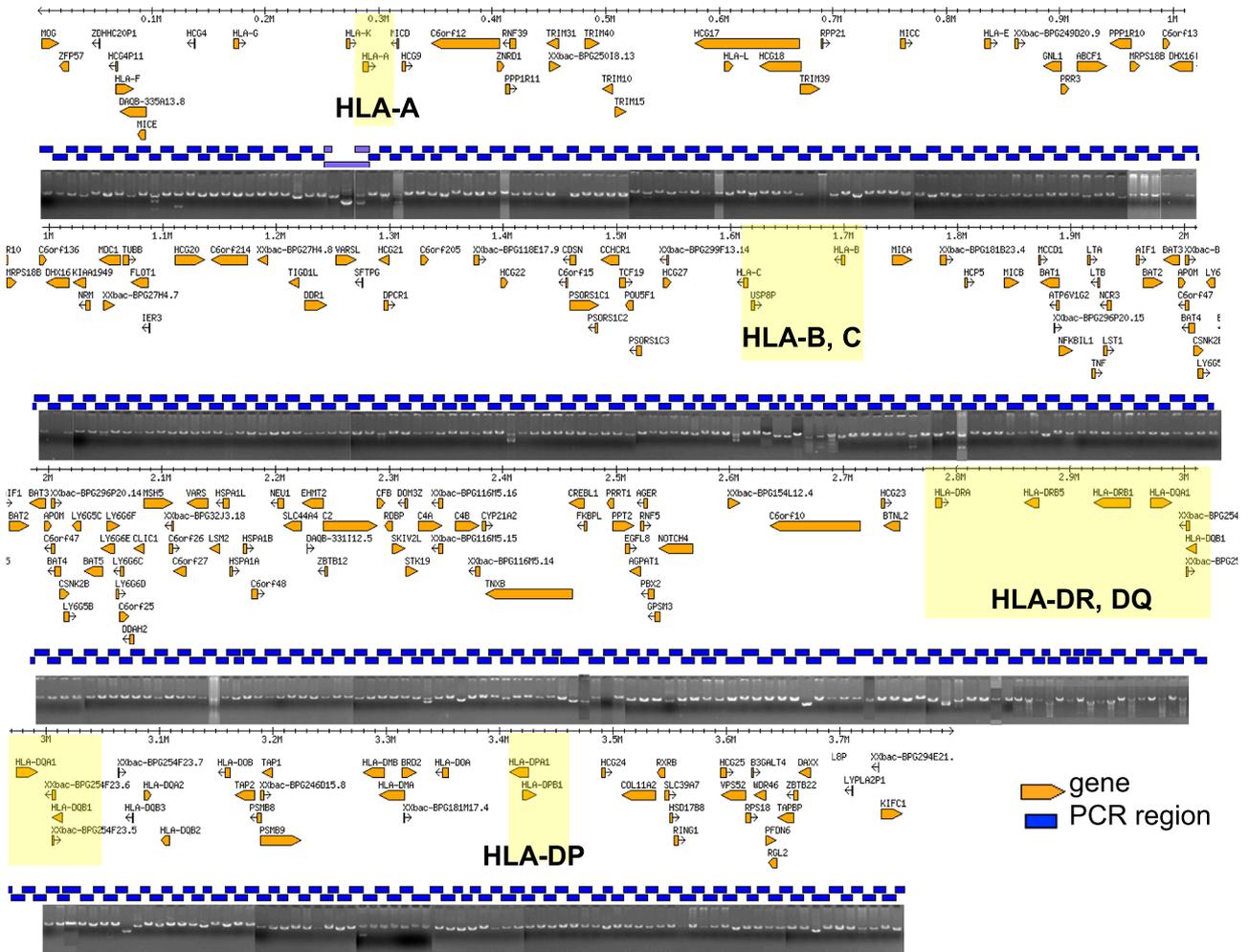
#### 4. 次世代シーケンサーを用いた HLA 遺伝子群のゲノム多様性解析

近年、従来のサンガー法によるシーケンシングに対してスループット性に優れた次世代シーケンサーを用いた HLA 遺伝子群のゲノム多様性解析が注目を浴びている。すなわち、決定できる塩基配列数に関しては、例えば次世代シーケンサーの一つである MiSeq (Illumina 社) は、300 bp のリード配列を 1 回のランで約 5000 万リード (15 Gb, ヒトゲノムの 5 倍に相当) を産出できるなど、HLA 遺伝子群や HLA 遺伝子全領域のシーケンシングの多検体処理が可能である。

我々は、まず HLA 遺伝子群のリシーケンシングを行うためにゲノム DNA から HLA 遺伝子群のみの DNA 断片の回収法を開発した。すなわち、HLA 遺伝子群 3.8 Mb を網羅するように設計した 440 種類のプライマーセットを用いた PCR 法 (図 3)、および HLA 遺伝子群 3.8 Mb を

網羅するビオチン標識したオリゴヌクレオチドを用いて、断片化した DNA 断片とハイブリダイゼーションをさせることにより、HLA 遺伝子群特異的な DNA 断片を回収するシーケンスキューピング法である (図 4)。これら方法を用いて我々は、日本人に最も頻度の高い A24-B52-DR15 (AKIBA, TOK, T182)、日本人に頻度の高い A24-B54-DR4 (LKT3)、ヨーロッパで頻度の高い A1-B8-DR3 (COX) など高頻度 HLA ハプロタイプのホモ接合細胞株を用いてゲノム塩基配列決定を進めている。例えば、AKIBA と COX との比較から 17,318 個の SNP (1000 塩基あたり平均 4.9 個の SNP の割合)、AKIBA と LKT3 との比較から 14,057 個の SNP (3.9 SNP/kb)、および TOK と T182 との比較から 25 個の SNP (0.004 SNP/kb) が検出されている。

図 5 は、例として A24-B52-DR15 (AKIBA) と A1-B8-DR3 (COX) との間、AKIBA と A24-B54-DR4 (LKT3) との間、A24-B52-DR15 内 (TOK と T182) の間のゲノム多様性を示す。これらのプロットから、同一の HLA ハプロタイプの起源は同一であり、その多型や変異は異



細道ら、医学のあゆみ、2010

図3 PCR法によるDNA断片の回収法

なる HLA ハプロタイプ間に比べて少ないこと、異なる HLA ハプロタイプ間では、HLA 遺伝子近傍に hitch-hiking 効果の影響と考えられる多くの variation (塩基配列の違い) が集積していることが読み取れる。

5. 次世代シーケンサーを用いた DNA タイピング

1) 従来の DNA タイピング法の問題点

HLA アリルを判定する DNA タイピング法は、移植の際のドナーとレシピエントの組織適合性の一致、生活習慣病や自己免疫疾患との関連、がん患者へのペプチドワクチン投与における HLA 拘束、造血幹細胞移植に伴う移植片対宿主病 (graft versus host disease; GVHD)、感染症における防御と重症化、薬剤感受性などとの関連解析に不可欠な検査技術である。現在、高解像度 DNA タイ

ピング法として、PCR-SSOP (sequence specific oligonucleotide probe) 法 (主として、Luminex 法) と SBT (sequence based typing) 法が主に利用されている。これら方法の問題点として、2つの多型部位が同一の染色体上 (cis) か、異なる染色体上 (trans) に位置するのかの位置情報が得られない、いわゆる phase ambiguity が生じること (図6)、また Luminex 法を含む PCR-SSOP 法では年々増加している新規 HLA アリルに対応するためのオリゴヌクレオチドプローブが不足していることが挙げられる。よって、これら方法による DNA タイピングの多くの場合では、いくつかの候補アリルが存在し、単一のアリルに絞り込むことができないため、日本人における HLA 遺伝子頻度を参照して頻度の高いアリルを最も可能性の高いアリルと判定する推定 (みなし) タイピングを行っ

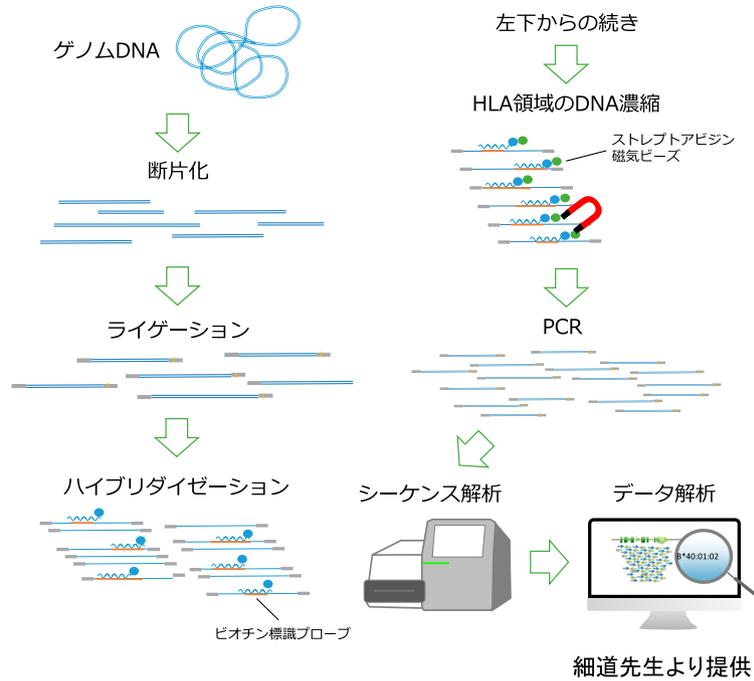
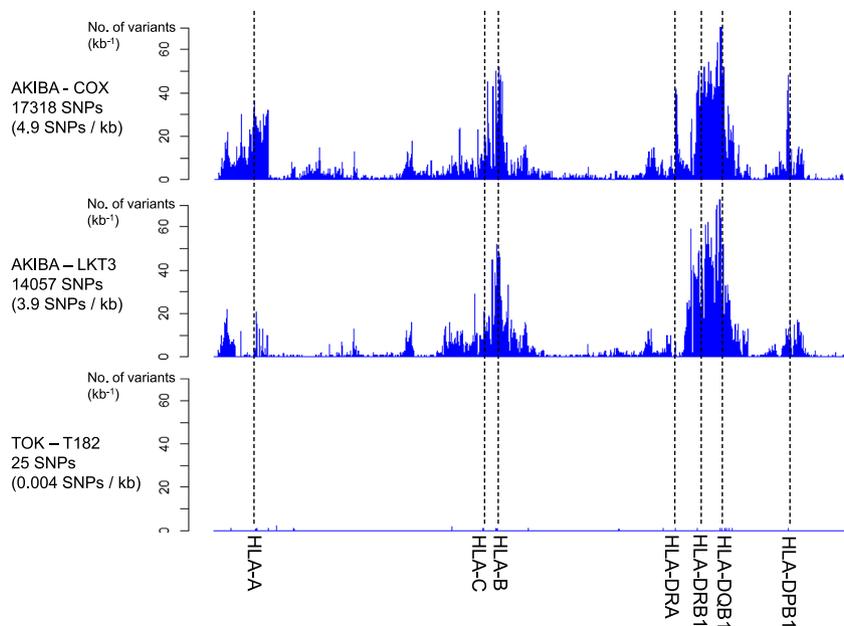


図4 シーケンスキャプチャ法による DNA 断片の回収法

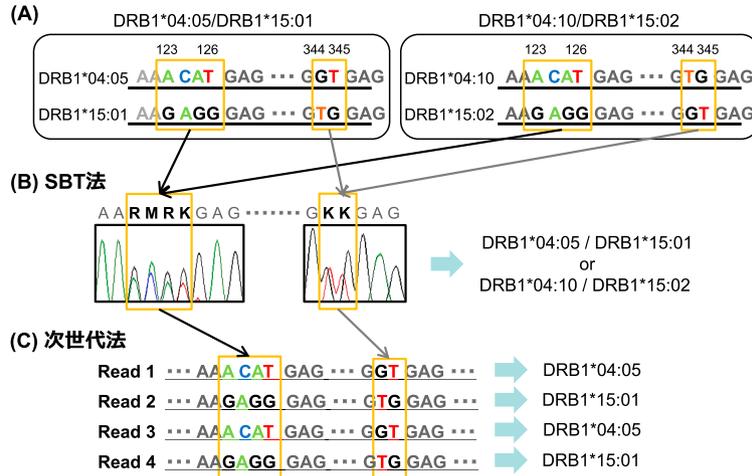


細道ら、医学のあゆみ、2010改変

図5 HLA ハプロタイプ間と内におけるゲノム多様性の比較

ているのが現状である。これら方法では多くの場合、多型に富む特定のエクソン（クラス I 遺伝子ではエクソン 2 と 3，クラス II 遺伝子ではエクソン 2）のみの第 1～2 区域レベルのアリル判定が行われていることから、HLA 発現が抑制される null アリルの原因となるエンハンサー・プロモーター領域，他エクソンおよび他イントロンにお

ける多型や変異の検出が不可能である。公開されている HLA アリルの内，null アリルは 3.3% も同定されているが，遺伝子全領域が決定されている HLA アリルはわずか 6.1% であることから，今後も未知の null アリルや新規アリルの検出が十分に考えられる(表 3)。したがって，プロモーター領域から 3' 側の非翻訳領域までの HLA 遺



椎名ら、医学のあゆみ、2013

図6 次世代シーケンサーを用いた phase ambiguity 解消の例

(A) DRB1\*04:05 と DRB1\*15:01 とを併せ持つ遺伝子型と DRB1\*04:10 と DRB1\*15:02 とを併せ持つ遺伝子型では、両アレル間の多型が 123 ~ 126 番目と 344, 345 番目の塩基に観察される。(B) ある検体を SBT 法により DNA タイピングを行うと、それら多型部位に両アレル由来のヘテロピークが生じるため、その検体が DRB1\*04:05 と DRB1\*15:01 とを併せ持つのか、DRB1\*04:10 と DRB1\*15:02 とを併せ持つのかを判定することができない。これが phase ambiguity 問題である。(C) 次世代シーケンシング法 (次世代法) では、PCR 産物由来の DNA 断片を 1 分子ずつ解読するため、例えば Read 1 では DRB1\*04:05 と一致する塩基配列、Read 2 は DRB1\*15:01 と一致する塩基配列のように、phase ambiguity なしに HLA アレルを明確に判定することができる。

伝子全領域におけるゲノム多様性を明らかにするためには、第 4 区域 (8 桁レベル、エクソンのみならずプロモーター領域、すべてのイントロン領域ならびに 3' 非翻訳領域など HLA 遺伝子全領域の多型を考慮する分類) レベルにおける高解像度 DNA タイピングこそが将来の目指すべき理想的な DNA タイピング法である。

## 2) 次世代シーケンサーを用いた DNA タイピング法の種類

次世代シーケンサーを用いた DNA タイピング法は、国内をはじめ国内外の研究機関や企業にて開発が進められており、いずれも PCR、次世代シーケンシング (NGS)、アレル判定の 3 つの主な工程から構成される (図 7)。PCR の工程では、PCR 産物の長さの違いから、short-range 系、middle-range 系および long-range 系に大別される。short-range 系は、多型に富む個々のエクソンを増幅させる方法であり、PCR 産物の長さが、1 エクソンあたり 270 bp 程度と短いことから多検体の DNA タイピングに最適である。その一方、例えば B\*15:01 と B\*35:01 あるいは B\*15:20 と B\*35:43 のようにイントロン内で組み換えが生じているアレルの組み合わせの場合、phase ambiguity を解消することが困難であり、みなしタイピングをせざるを得ない場合がある。Middle-range 系は、多型に富むエクソンとその間のイントロンを含む遺伝子領

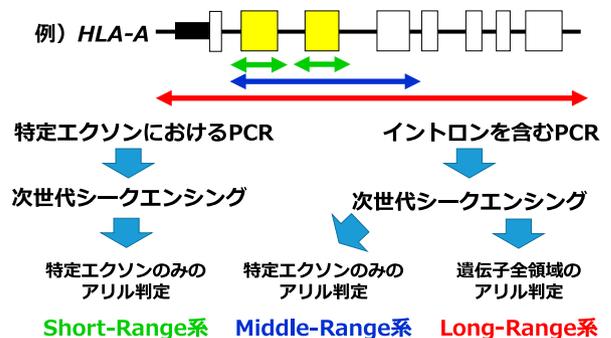
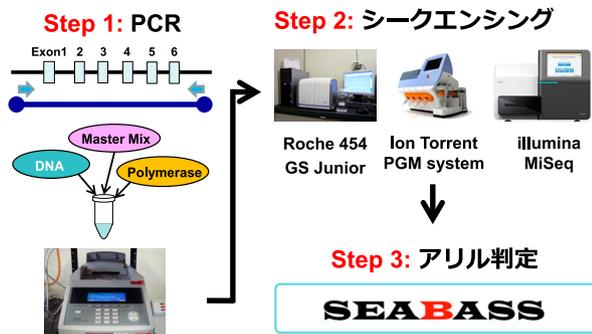


図7 次世代シーケンサーを用いた HLA タイピング法の種類  
遺伝子構造の黒色と黄色のボックスは、エンハンサー・プロモーター領域ならびに多型に富むエクソン (エクソン 2 と 3) をそれぞれ示す。

域を増幅させる方法であり、多型に富むエクソンの間のイントロンの塩基配列情報も得られることから、前述のイントロン内で組み換えが生じている場合でも phase ambiguity を解消することができる利点を持つ。この middle-range 系は、移植の際のドナーとレシピエントの組織適合性の一致に有力であると考えられており、各メーカーが競い合いながら製品化を進めている段階にある。Long-range 系は、エンハンサー・プロモーター領域からすべてのエクソンおよびイントロン領域を網羅する遺伝子全領域を PCR 増幅させる方法であり、これまでに検出されなかった遺伝子全領域の多型・変異と疾患との関



椎名ら、分子リウマチ治療、2015

図 8 SS-SBT 法の概略

連性との研究の進展が期待される。2017 年開催が予定されている 17th International HLA and Immunogenetics Workshop (IHIWS) でも、そのテーマの一つに「NGS of full length HLA genes」が掲げられている。

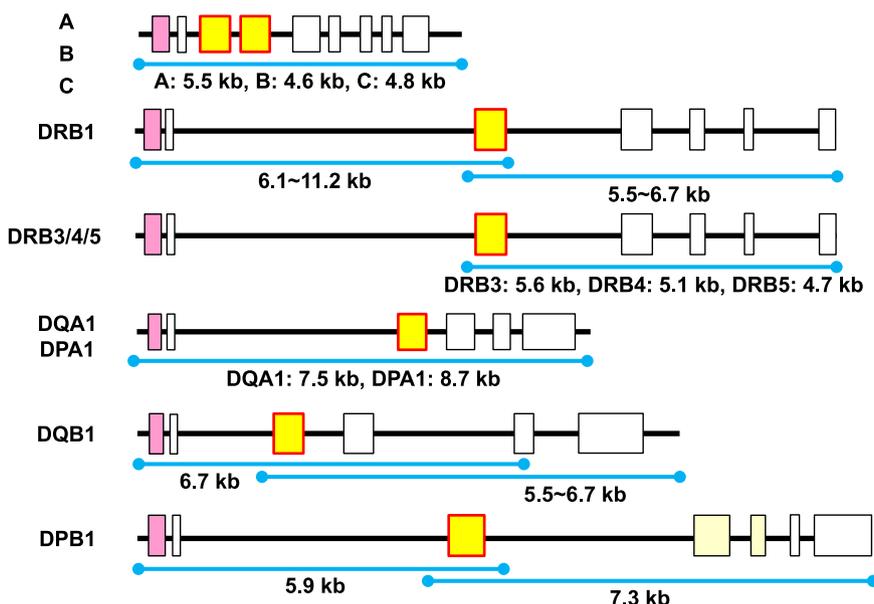
3) 次世代シーケンサーを用いた DNA タイピングの例

ここでは、我々が報告した超高解像度 DNA タイピング (Super high resolution Single molecule-Sequence Based Typing; SS-SBT) 法について概説する。図 8 は、SS-SBT 法の概略を示す。本法は、前述のように PCR、NGS およびアリル判定の 3 つの工程から構成される。

PCR の工程にて、我々は 2 種類の PCR 系を開発した。一方は、HLA 8 座 (HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQA1,

-DQB1, -DPA1 および -DPB1) のエンハンサーやプロモーター領域から 3' 側の非翻訳領域を含む遺伝子全領域 (4 ~ 16 kb) を個別に増幅させる long-range 系であり (図 9), これまでに検出されなかった遺伝子全領域の多型や変異の検出が期待される (Shiina et al. Tissue Antigens, 2012)。次世代シーケンシングの工程では、ベンチトップ型次世代シーケンサー (GS Junior system (Roche 社), Ion Torrent PGM system (Life Technologies 社), MiSeq system (Illumina 社) いずれとも SS-SBT 法に利用できることを確認している。アリル判定の工程では、新規に次世代シーケンシング用アリル判定プログラム (Sequence Alignment Based Assigning Software; SeaBass) を開発した。この方法は、IMGT-HLA データベースにて公開されている全 HLA アリル配列とリードデータとの類似性検索を BLAT プログラム (<http://genome.ucsc.edu/>) を用いておこない、各検体が有する HLA アリル配列を選定し、その HLA アリル配列とリードデータとをマッピングして、比較・検討することにより、アリル判定を行うプロセスを踏む。SeaBass は、新規多型や変異の検出にも優れており、HLA アリルの既知な検体を用いたこれまでの正解率は 99.9% 以上を誇る。

実際に、日本人に高頻度な HLA-A, -B, -C, -DRB1 および -DQB1 アリルを持つサンプルにおける SS-SBT を



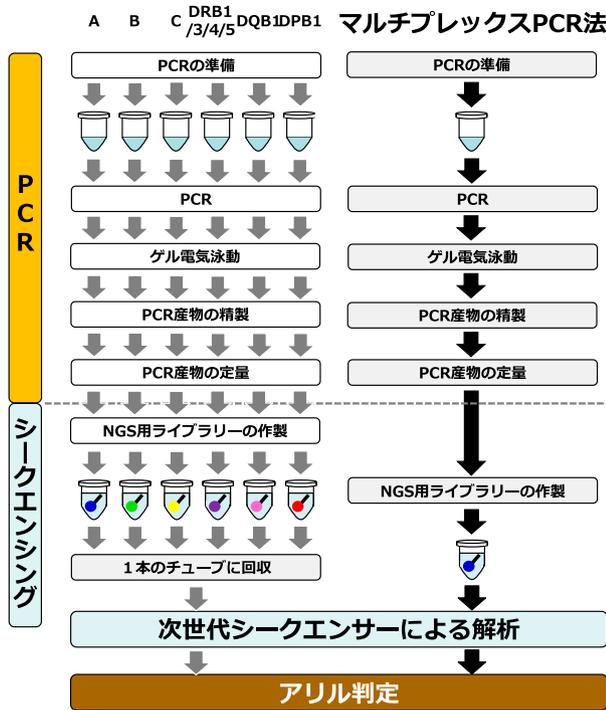
椎名ら、医学のあゆみ、2013

図 9 Long-range 系 SS-SBT 法のプライマーの位置

ピンク色と黄色のボックスは、エンハンサーやプロモーター領域、多型に富むエクソンをそれぞれ示す。

表 4 SS-SBT により検出した新規アレル

	A	B	C	DRB1	DQB1	計
解析アレル数	240	244	240	258	240	1222
第2区域 (4 桁) レベルのアレル数	19	37	18	31	15	120
日本人におけるアレル頻度の合計	99.6%	99.7%	99.8%	99.9%	100%	
第4区域 (8 桁) レベルのアレル数	23	42	23	48	30	166
新規あるいは伸長アレル数	7	15	5	46	17	90
翻訳領域に変異を持つ新規アレル数	0	3	1	1	1	6
→非同義置換	0	2	0	1	1	4
→同義置換	0	1	1	0	0	2



椎名ら、分子リウマチ治療、2015

図 10 Middle-range 系 SS-SBT 法における HLA 9 座マルチプレックス PCR 法の概略  
左側に従来の SS-SBT 法、右側に新規に開発した HLA 9 座マルチプレックス法における PCR の工程を示す。

行った結果、合計 166 種類の第 4 区域レベルのアレルを検出し、それらのうち、12 は新規アレルおよび 78 は第 2 区域レベルから第 4 区域レベルに更新したアレルであり、4 アレルは非同義置換を伴うものである(表 4)。よって本法は phase ambiguity の認められない HLA アレルを判定できたこと、イントロン領域の多型を新たに検出できたことから、第 4 区域レベルの究極の優れた HLA タイピング手法であると考えられるとともに、新規 HLA アレルや null アレルの検出、疾患関連解析および分子進化学的研究のための優れた手法であると考えられる。

他方は、HLA 9 座 (HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1/3/4/5, HLA-DQB1 および HLA-DPB1) について多型に富むエクソンとその間のイントロンを含む遺伝子領域を増幅させる middle-range 系である。この際、1 本のチューブで HLA 9 座を一度に増幅させるマルチプレックス PCR 法も開発した。この方法は、コストパフォーマンスに優れ、労力や操作時間の軽減につながることから、ルーチンタイピングに有用な現行法から次世代シーケンシング法への移行モデルであると考えられる (図 10)。詳細は Ozaki et al. BMC Genomics, 2015 を参照されたい。

#### 4) 次世代シーケンサーを用いた DNA タイピングの問題点と将来

アレル判定ソフトウェアが国内外で開発されているが、第 3 区域レベル (6 桁レベル) におけるタイピング精度は、当初の 95 ~ 97% 程度から徐々に精度が上がってきている。100% の正解率にならない理由として、特定のアレル由来の塩基配列数が他方よりも極端に少くなる現象 (allelic imbalance) が生じること、HLA-DRB1 の場合、類似性の高い HLA-DRB3/4/5 も同時に増幅してしまうことが挙げられ、これらが本来のアレルを正確に判定しない誤判定につながる場合が多い。また、ライブラリー作製など煩雑な操作が要求されるなど、いずれの工程も従来の PCR-SSO 法や SBT 法に比べると労力や時間を要することも問題の一つである。今後は、臨床現場における実用化のためのアレル判定精度の向上、簡略化、迅速化および自動化への取り組みが必要であろう。

しかし、表 5 に示したように PCR-SSO 法や SBT 法にて phase ambiguity が観察される検体であっても SS-SBT 法では明瞭なタイピング結果が得られていることから、本法は phase ambiguity を解消する DNA タイピング法と言える。さらに従来のタイピング法の限界にプレックス

表 5 SS-SBT 法によるタイピング結果の例

検体番号	PCR-SSO (Luminex) 法		SBT 法		SS-SBT 法	
	アレル 1	アレル 2	アレル 1	アレル 2	アレル 1	アレル 2
1	A*02:06/10/21/+	A*11:01/02/03/+	A*02:06/79/142	A*11:01/24/73	A*02:06:01	A*11:01:01
2	A*02:01/07/09/+	A*31:01/09/11/+	A*02:01/20/40/+	A*31:01/02/21/+	A*02:01:01:01	A*31:01:02
3	A*24:02/09/11/+	A*31:01/09/12/+	A*24:02/03/57/+	A*31:01/02/05/+	A*24:02:01:01	A*31:01:02
4	A*02:01/04/07/+	A*02:06/10/21/+	A*02:06:01	A*02:07	A*02:07	A*02:06:01
5	A*26:01/10/15/+	A*31:01/06/09/+	A*26:01/43/52	A*31:01/30/40	A*26:01:01	A*31:01:02
6	A*26:03/21/30	A*33:01/03/04/+	A*26:03/66:15	A*33:03/24	A*26:03:01	A*33:03:01
7	A*02:03/92:48	A*24:02/09/11/+	A*02:03/148/280	A*24:02/06/53	A*02:03:01	A*24:02:01:01
8	A*24:02/31:08/+	A*33:01/03/04/+	A*24:02/03/34	A*33:03/10/11	A*24:02:01:01	A*33:03:01
9	A*02:01/04/07/+	A*02:06/10/21/+	A*02:01:01/02L/03	A*02:06:01	A*02:01:01:01	A*02:06:01
10	A*11:01/02/03/+	A*31:01/02/09/+	A*11:01:01	A*31:01:02	A*11:01:01	A*31:01:02

赤色背景は phase ambiguity が存在することを示す。  
 椎名ら, 分子リウマチ治療, 2015

ルーをもたらし, プロモーター領域を含む全遺伝子領域における多型解析も可能にすることから, 特定エクソンの HLA 多型に基づいて進められてきたこれまでの疾患関連解析や移植研究に新たな知見を与えるものと考えられる。

おわりに

本教育講演では, HLA 遺伝子群や HLA 多型の最新情報と共に, 次世代シーケンサーを用いたゲノム多様性解析や DNA タイピングの経過について紹介した。HLA 遺伝子群には 100 以上の疾患と関連することが報告されているが, これらの多くは HLA 多型それ自身と関連するのか, それとも特定の HLA アレルと強い連鎖不平衡下にある非 HLA 遺伝子多型と関連するのかが不詳である。次世代シーケンサーを用いた新たな DNA 解析技術を取り入れた多様性解析がこの解決の一助となることを期待したい。

参考文献

- 1) 細道一善, 椎名 隆, 井ノ上逸朗, 猪子英俊: 次世代シーケンサーによる HLA 領域のターゲットリシーケンス, 医学のあゆみ 233: 1187-1191, 2010.
- 2) 細道一善, 井ノ上逸朗: シーケンシングの具体例 遺伝子診断応用を目指した HLA タイピング技術, 次世代シーケンサー目的別アドバンスメソッド (細胞工学別冊), 学研メディカル秀潤社, 2012.
- 3) 椎名 隆, 鈴木進悟, 尾崎有紀, 猪子英俊: HLA ゲノム構造と多型性, 血液フロンティア 23: 21-29, 2013.
- 4) 細道一善, 井ノ上逸朗: HLA 遺伝子の完全配列を決定する, 次世代シーケンス解析スタンダード~NGS のポテンシャルを活かしきる WET&DRY (実験医学別冊), 羊土社, 2014.
- 5) 椎名 隆: HLA DNA タイピング法のパラダイムシフト, 医学のあゆみ 251: 273-278, 2014.
- 6) 椎名 隆, 鈴木進悟, 尾崎有紀, 光永滋樹, 猪子英俊: 次世代シーケンサーは HLA ジェノタイプング法を変えるのか?, 分子リウマチ治療, 印刷中, 2015.

## Next generation sequencing based HLA genomic and polymorphism analyses

Takashi Shiina<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Molecular Life Science, Division of Basic Medical Science and Molecular Medicine, Tokai University School of Medicine

Although 16 years passed after a complete genomic sequence of the 3.6 Mb HLA gene region having lots of medical and biological interests was determined, gene and polymorphism information to be located in the domain are always updated. Recently next generation sequencing technologies is utilized for the polymorphism analyses of the HLA genomic region. Here, the latest HLA genome information and our experiences in the studies on the genomic diversity analyses of the HLA gene region and development of DNA typing method using the next generation sequencers are described.

**Key Words:** HLA, polymorphism, next generation sequencer

## 平成 27 年度認定 HLA 検査技術者講習会テキスト

# わが国の膵臓移植、膵島移植の現状と将来展望

剣 持 敬<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 藤田保健衛生大学医学部 臓器移植科

脳死膵臓移植は重症 1 型糖尿病の根治療法として 1960 年代に開始され、現在までに世界で 40,000 例以上の臨床例が行われている。80% 以上が膵・腎同時移植として行われ、成績も年々向上し、現在は腎移植と同様良好である。わが国でも脳死及び生体膵臓移植が実施され、臨床例は欧米に比較して少ないが、好成績が得られている。筆者は国立病院機構千葉東病院および藤田保健衛生大学で脳死、生体膵臓移植、膵島移植の臨床を行い、そのいずれも良好な成績を得ているが、膵島移植は未だインスリン離脱率が低く、今後の成績改善が必須である。今後は、糖尿病患者の病態、ニーズに合わせた適応決定、選択が重要である。

**キーワード：**1 型糖尿病、脳死膵臓移植、生体膵臓移植、膵島移植

### 1. はじめに

膵臓移植・膵島移植は重症糖尿病（特に 1 型糖尿病）に対する根治療法としてインスリンを分泌する  $\beta$  細胞を移植するもので、血管吻合法を用いて膵臓を移植する膵臓移植と膵臓から膵ランゲルハンス島細胞（膵島）を分離して移植する膵島移植に大別される。

膵臓移植の分類として、ドナーにより、脳死、心停止、生体膵臓移植に大別され、腎臓移植との関係により 3 つのカテゴリーに分類され、これらカテゴリーは脳死、心停止、生体いずれの場合にもあてはまる。すなわち膵・腎同時移植（SPK）、腎移植後膵臓移植（PAK）、膵臓単独移植（PTA）であるが、世界的にもわが国でも膵臓移植症例の約 80% が SPK である。一方膵島移植は、腎不全を呈する前の重症 1 型糖尿病患者に膵島単独移植が行われることが多い。

今回、わが国の膵臓移植、膵島移植の現状について、筆者の臨床経験を中心に紹介するとともに将来展望について考察する。

### 2. 膵臓移植、膵島移植の現況

膵臓移植は 1966 年に Minnesota 大学において世界で初めて実施され、現在世界で 40,000 例以上が施行されており、糖尿病治療法として確立している。わが国では 1997 年の臓器移植法施行前に 15 例の膵臓移植（脳死 1 例、心停止 14 例）が行われ、実施後は 2014 年 12 月 31 日までに、237 例の膵臓移植（脳死 208 例、心停止 2 例、生体 27 例）が施行されている。脳死・心停止膵臓移植は当院を含む 17 認定施設が実施している<sup>1)</sup>。膵臓移植の成績は年々向上しており、米国での SPK の解析では、患者生存率 1 年：95%、5 年 83%、膵臓 1 年生着率：86% と良好である。わが国の脳死・心停止膵臓移植成績は 2014 年 12 月集計データで、膵臓移植患者 5 年生存率は 95.8%、膵臓、腎臓の 5 年生着率は 70.4%、89.2% と、わが国では約 8 割がマージナルドナーすなわち条件の悪いドナーにも関わらず、米国を上回る良好な成績が得られている。

膵島移植は 1974 年ミネソタ大学で初の臨床例が行われたが、飛躍的な成績向上をもたらしたのは、アルバータ大学で実施された Edmonton protocol であり、世界で 800

受付日：2015 年 6 月 24 日、受理日：2015 年 6 月 24 日

代表者連絡先：剣持 敬 〒470-1192 愛知県豊明市杣掛町田楽ヶ窪 1-98 藤田保健衛生大学医学部 臓器移植科

E-mail: kenmochi@fujita-hu.ac.jp

例以上の臨床例がある。わが国では膵・膵島移植研究会主導で進められた臨床膵島移植は、2004年4月に開始され心停止ドナー膵島移植が18人(33回)に施行された。しかし、その成績に関しては満足できるものではなく、2回移植を受けた4名の内1名、3回移植を受けた6名の内2名がインスリン離脱を達成したがいずれも短期間であり、18名のほとんどの例では5年以降の血中Cペプチド値は感度以下となっている。2007年3月27日に膵島分離に必須の消化酵素(リベレース、ロッシュ社製)の精製過程にウシ脳の抽出物の使用が判明し、米国での膵島移植中止に伴い、わが国の厚生労働省も膵島移植の中断を決定した。以後は、ウシ脳の抽出物を製造過程に用いないGMPレベルのリベレースが開発され、膵島移植実施施設の代表者が集まり、この薬剤を用いてブタ膵島分離を行い、その活性を確認したうえで膵島移植再開に備えた。一方世界の膵島移植の動きは、2000年にカナダのアルバータ大学により報告されたEdmonton protocolが2002年より欧米9施設で他施設共同臨床研究が行われたが、1型糖尿病患者の内因性インスリン産生と血糖の安定性が回復されるものの長期のインスリン離脱は持続しないという結果であった。ミネソタ大学で免疫抑制の導入療法として抗胸腺細胞免疫グロブリンや抗TNF $\alpha$ 受容体制剤(エタネルセプト)を用いることにより、良好な成績が報告された。わが国の膵島移植再開にあたっては、安全な消化酵素の使用に加え、この新規免疫抑制療法を併用する方針とし、多施設共同研究(文部科学省・橋渡し研究支援推進プログラム)として開始され、当初高度医療、現在は先進医療Bで国内6施設が実施している。またわが国の最初のプロトコールでの成績不良の原因の一つとして、心停止ドナーを用いるため、膵臓のviabilityの低下が考えられたため、日本臓器移植ネットワーク、東西日本組織移植ネットワークとの調整を行い、脳死ドナー膵を膵島移植に用いることが可能となった。現在、臨床試験が進行中である。

### 3. 膵臓移植・膵島移植の適応基準と登録の流れ

1型糖尿病かつ血糖コントロールの不良症例が膵・膵島移植の適応となる。適応基準を表1に示す。インスリン枯渇の基準は、中央調整委員会の見解<sup>2)</sup>では、膵臓移植においては、空腹時血清Cペプチド0.3 ng/ml以下、かつグルカゴン負荷後血清Cペプチド0.5 ng/ml以下を目安とし、

表1 膵臓移植・膵島移植の適応基準

#### 膵臓移植の適応基準

(移植関係学会合同委員会：平成22年7月5日、一部省略)

##### 1. 対象

以下の(1)、(2)のいずれかに該当する者

- (1) 腎不全に陥った糖尿病であること
- (2) IDDM患者で、インスリン治療でコントロールが困難な者

##### 2. 年齢

原則として $\leq 60$ 才

##### 3. 合併症または併存症による制限

- (1) 糖尿病性網膜症
- (2) 活動性感染症、活動性肝機能障害、活動性消化性潰瘍
- (3) 悪性腫瘍
- (4) その他 地域移植適応検討委員会で不適当と判断

#### 膵島移植の適応基準

(膵・膵島移植研究会ワーキンググループ「膵島移植班」(2005/3/18))

##### 1. 適応

- 1) 内因性インスリンが著しく低下し、インスリン治療を必要とする
- 2) 糖尿病専門医の治療努力によっても、血糖コントロールが困難
- 3) 原則として75才以下
- 4) 膵臓移植、膵島移植につき説明し、膵島移植に関して、本人、家族、主治医の同意が得られている
- 5) 発症5年以上経過していること

##### 2. 禁忌

- 1) 重度の心疾患、肝疾患(心移植または肝移植と同時に進行場合には考慮する)
- 2) アルコール中毒
- 3) 感染症
- 4) 悪性腫瘍(5年以内に既往がないこと)
- 5) 重症肥満(BMI 25以上)
- 6) 未処置の網膜症
- 7) その他移植に適さないもの

透析導入、腎不全患者( $eGFR < 30$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>)ではグルカゴン負荷前後の血清Cペプチドの差が0.3 ng/ml以下を目安とする。さらに発症の仕方、ケトシス傾向の有無、使用インスリンの種類と量、血糖の不安定性の有無などの記載が不可欠である。膵島移植でもほぼ同様であるが、血清Cペプチドは0.1 ng/ml以下とさらに厳しい。

膵臓移植の希望者は、内科側から適応判定申請書を作成、中央調整委員会に送付する。移植実施施設(認定施設)も記入する(表2)。地域適応検討委員会で適応有の場合は日本臓器移植ネットワークに登録される。膵島移植では、同様に希望認定施設(表2)を含む適応判定申請書を作成、膵島移植班事務局に送付する。適応検討委員会で適応有の場合には事務局に登録される。

表 2 わが国の膵臓移植, 膵臓移植の実施施設一覧

## 膵臓移植認定施設 (17 施設)

北海道大学病院, 東北大学病院, 東京女子医科大学病院, 名古屋第二赤十字病院, 大阪大学医学部附属病院, 福島県立医科大学附属病院, 神戸大学医学部附属病院, 広島大学病院, 九州大学病院, 京都府立医科大学附属病院, 国立病院機構千葉東病院, 東京医科大学八王子医療センター, 新潟大学医歯学総合病院, 藤田保健衛生大学病院, 香川大学医学部附属病院, 獨協医科大学病院, 京都大学医学部附属病院

## 膵臓移植施設 9 施設 (下線は先進医療 B 実施 6 施設)

東北大学病院, 福島県立医科大学附属病院, 国立病院機構千葉東病院, 信州大学医学部附属病院, 京都大学病院, 大阪大学病院, 徳島大学病院, 福岡大学病院, 長崎大学病院

## 4. 藤田保健衛生大学における膵臓移植の現状と成績

藤田保健衛生大学は脳死・心停止膵臓移植認定施設として, 2015年6月現在までに44例の膵臓移植(脳死42例, 生体2例)を行っている。筆者が赴任した2012年8月以降の26例の脳死膵臓移植(SPK 21例, PAK 4例, PTA 1例)について報告する。レシピエントは長いインスリン治療歴を有するインスリンが枯渇した1型糖尿病患者で女性が多く, 21名が腎症IV期, V期のため膵・腎同時移植を施行した(表3)。ドナーは平均41.6歳で死因は脳血管障害と蘇生後脳症で全体の77%であった。また12例に心肺停止エピソードがあり, いわゆるマージナルドナーがほとんどであった(表3)。脳死ドナー

からの膵・腎摘出は肝臓摘出後に膵臓と2腎をen blockで摘出しバックテーブルにて分離した。レシピエント手術は先に左腸骨窩, 腹膜外に腎移植を行い, 膵臓移植は腹腔内に行う。移植片の動静脈を外腸骨動静脈に吻合し, 移植片の十二指腸をレシピエントの空腸に側々吻合した(図1)。移植後の免疫抑制剤はタクロリムス, ミコフェノール酸モフェチル, プレドニゾロン, バシリキシマブの4剤併用療法にて行った(図2)。術中よりヘパリンにて抗凝固療法を開始し, 10日間投与した。23例(88.5%)にインスリン離脱が得られ, SPKの全例が透析離脱した(表4)。移植後のS-CPRは1~4 ng/mlと高値で推移し, HbA<sub>1c</sub>も急速に正常化した。

表 3 脳死膵臓移植背景(藤田保健衛生大学医学部・臓器移植科 2012.8~2015.6)

レシピエント (n=26)	
年齢(歳)	43.7 ± 8.12 (31 ~ 65)
性	男 6名, 女 20名
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	20.4 ± 2.6 (16.3 ~ 29.1)
糖尿病発症(歳)	13.5 ± 5.7 (3 ~ 23)
インスリン治療歴(年)	30.7 ± 7.1 (17 ~ 49)
インスリン量 (units/day)	29.4 ± 12.2 (16 ~ 70)
腎症病期	I: 2名, II: 1名, III: 2名, IV: 1名, V: 20名
血清 C-peptide 値 (ng/ml)	<0.1; 21例, <0.2; 4例, >0.2; 1例
HbA <sub>1c</sub> (%)	7.2 ± 1.3 (5.3 ~ 11.1)
抗 GAD 抗体 (U)	陽性 16名, 陰性 10名
ドナー (n=26)	
年齢(歳)	41.6 ± 15.7 (10 ~ 66)
性	男 11名, 女 15名
死因	脳血管障害 12例 (46.2%) 蘇生後脳症 8例 (30.8%) 外傷・その他 6例 (23.1%)
心肺停止 Episode	有 12 (46.2%), 無 12 (46.2%), 不明 2 (7.7%)
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	22.0 ± 3.9 (15.9 ~ 29.2)
HbA <sub>1c</sub> (NGSP%)	5.33 ± 0.27% (4.9 ~ 5.8)
血清クレアチニン値 (mg/dl)	1.04 ± 1.11 (0.29 ~ 4.0)

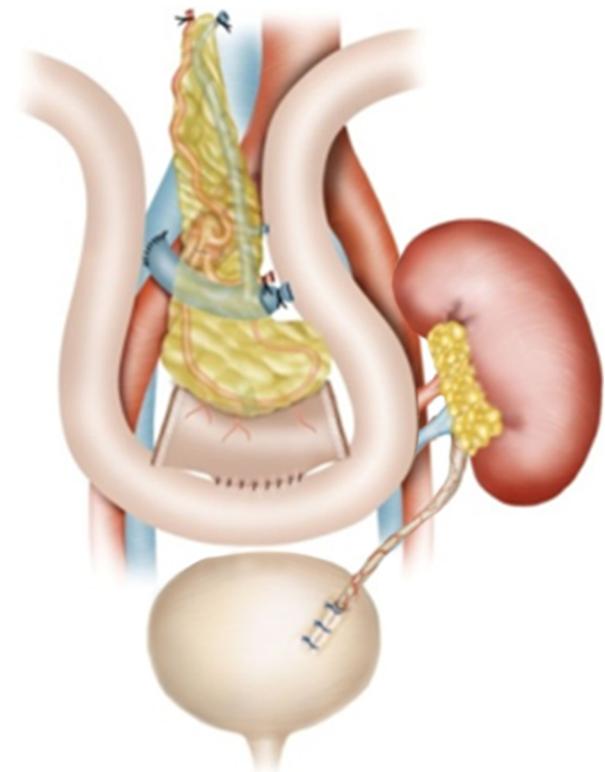


図 1 脳死膵臓移植(膵・腎同時移植)手術術式(藤田保健衛生大学医学部・臓器移植科)

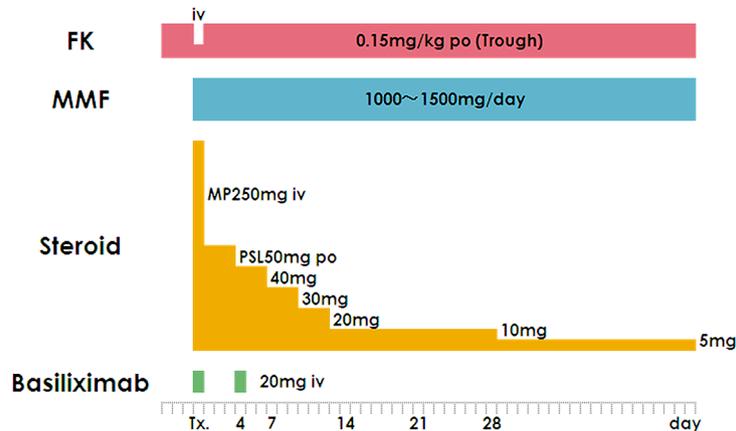


図2 脳死膵臓移植，膵・腎同時移植後免疫抑制法—藤田保健衛生大学医学部 臓器移植科—  
FK: tacrolimus, MMF: mycophenolate mofetil, MP: methylprednisolone, PSL: prednisolone

表4 脳死膵臓移植成績 (藤田保健衛生大学医学部・臓器移植科 2012.8 ~ 2014.12)

移植手術 (n=26)	
移植術式	膵・腎同時移植 21 例 (80.8%) 腎移植後膵臓移植 4 例 (15.4%) 膵臓単独移植 1 例 (3.8%)
膵液ドレナージ法	腸管ドレナージ (ED) 21 例 (100%)
膵重量 (g)	207 ± 44
腎重量 (g)	198 ± 31
総阻血時間 (分)	膵: 857 ± 134 腎: 659 ± 93.3
手術時間 (時間)	SPK: 7.5 ± 0.8, PAK&PTA: 3.8 ± 0.6
出血量 (g)	671 ± 373
輸血	無 17 例 (65.3%) 有 9 例 (34.6%)
移植後経過 (n=26)	
インスリン離脱	23/26 (88.5%)
透析離脱 (SPK 例)	21/21 (100%)
術後有害事象	移植腎周囲出血 1 例→止血術 イレウス 3 例→再手術 血栓によるグラフト廃絶 2 例→移植膵摘出 誤嚥性肺炎→ECMO 装着
退院前 HbA1C 値 (%)	5.28 ± 0.51 (4.3 ~ 6.1)
退院前血清クレアチニン値 (mg/dl)	1.08 ± 0.4 (0.58 ~ 1.91)
退院前血中 C-peptide 値 (ng/ml)	2.18 ± 0.79 (1.1 ~ 3.7)

### 5. 国立病院機構千葉東病院における生体膵・腎同時移植の成績

筆者が同院に在任中，2004 年 1 月わが国初の生体膵臓移植を行い<sup>3)</sup>，計 18 例施行した。うち 16 例が SPK である。レシピエントは年齢 25 ~ 48 歳 (34.2 ± 5.7)，男性 6 名，

女性 10 名。インスリン治療歴 14 ~ 31 年 (22.1 ± 4.8)，インスリン投与量 16 ~ 70 単位 (37.3 ± 14.1)，透析歴 0 (透析未導入) ~ 51 月 (17.4 ± 19.0)，S-CPR 値 <0.03 ng/ml (14 例)，0.14 ng/ml，0.11 ng/ml であった。ドナーは年齢 28 ~ 66 歳 (53.9 ± 11.8)，男性 6 名 (父 3，兄 1，弟 2)，女性 10 名 (母 9，妹 1)。血液型は一致 8 名，適合 2 名，不適合 6 名。75g-OGTT は全例正常型，HbA1c 5.12 ± 0.26%，HOMA-β 84.6 ± 56.0，Insulinogenic Index 1.07 ± 0.65，HOMA-R 1.20 ± 0.62 と膵内分泌機能は良好であり，Body Mass Index 22.8 ± 1.89 であり，わが国の生体膵臓移植ドナー適応基準を満たした<sup>4)</sup>。ドナー手術は Hand assisted laparoscopic surgery (HALS) で左腎，膵体尾部を摘出した。膵臓の切離と血管の切離は直視下で行った。レシピエント手術は左腸骨窩，腹膜外に腎移植を先行させ，右腸骨窩，腹膜外に膵臓移植を行った。膵液は膵・膀胱吻合を用いて膀胱にドレナージした (図 3)。免疫抑制法は脳死膵臓移植と同様であるが，ABO 血液型不適合の場合は，脱感作療法として，移植前 28 日間のミコフェノール酸モフェチル投与，移植前 2 週にリツキシマブ投与，二重濾過プラスマフェレーシスを 3 回，血漿交換を前日に 1 回行った。1 例が移植膵 primary nonfunction，1 例が静脈血栓症で膵臓摘出したが，他の 14 例 (87.5%) がインスリン離脱し，全例透析離脱した。移植後の S-CPR は 2 ~ 5 ng/ml，HbA1c も移植後 2 ヶ月以内に 4 ~ 5% 台となった。膵機能発現した 14 例全例 4 ~ 6 カ月後に施行した 75G-OGTT で正常型を示した<sup>5)</sup>。

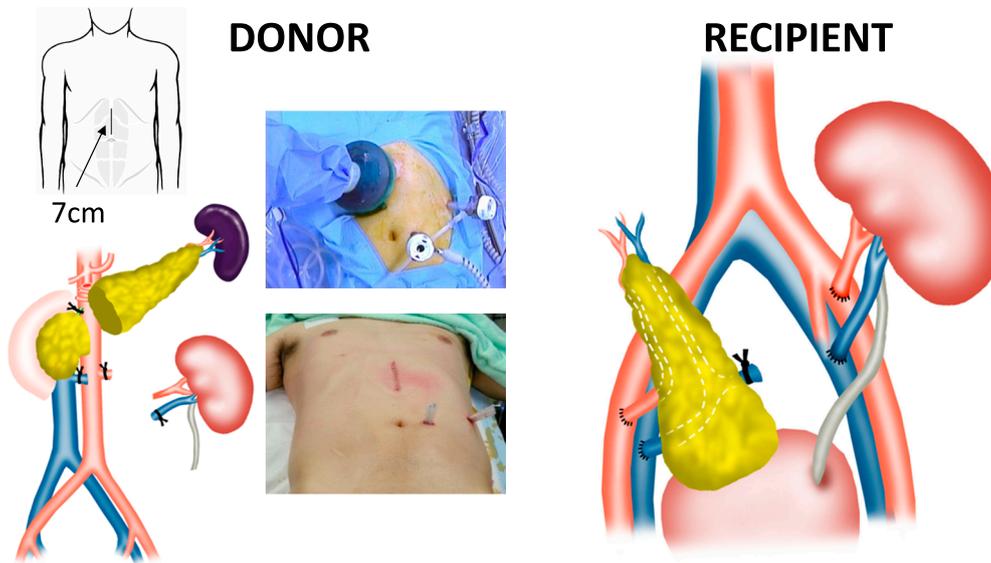


図3 生体膵・腎同時移植手術：ドナー手術（DONOR），レシピエント手術（RECIPIENT）—国立病院機構千葉東病院外科—

## 6. 国立病院機構千葉東病院における膵島移植症例

筆者が同院に在任中、4名の1型糖尿病患者に6回の膵島移植を実施した。心停止ドナーより膵島を分離し、膵島浮遊液を局所麻酔下でレシピエントの門脈内にカテーテルを留置し、点滴で行なった（図4）。年齢は16～33歳で男性1名、女性3名であった。2例が移植2回で他の2例は1回の移植であった。移植後の免疫抑制法は、導入療法として抗IL-2抗体製剤であるダクリズマブまたはバシリキシマブを使用し、維持療法は低用量タクロリムス、シロリムスまたはミコフェノール酸モフェチル性にて行った。ステロイドは使用していない。移植後3例で低血糖発作は消失し、他の1例も頻度は減少した。S-CPR値は移植前は<0.03 ng/mlであったのに対し、移植後は0.8, 0.6, 0.2, 0.6 ng/mlと陽性化した。インスリン投

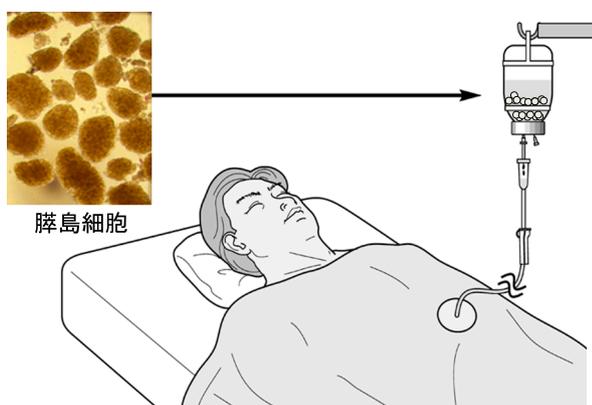


図4 膵島移植法—国立病院機構千葉東病院臨床研究センター—

与量も移植前の2/3～1/3に低下した。合併症としては、シロリムスの副作用である口内炎が3例（75%）にみられたのみであった。血糖値の安定化に伴いHbA1c値の低下がみられたが、S-CPR値は1～2年で陰性化し、再移植待機中である。

## 7. 膵・膵島移植の課題と今後の展望

1960年代に開始された膵臓移植も当初は移植手技や免疫抑制法などの点で問題点も多く、成績も不良であったが、手技の確立や免疫抑制法の開発に伴い、今日では症例数も増加し成績も安定し、1型糖尿病の根治療法として確立されてきた。またドナー、レシピエントの適応基準を設定することにより、生体膵臓移植も安全に施行されるに至っている。一方膵島移植は安全性では優れているものの、有効性の点で未だ改善すべき点が多い。しかし、膵島移植が本格的に臨床応用されてから未だ10数年しか経過しておらず、膵臓移植の数十年に比較して未だ実験的医療の段階であろう。しかし、患者さんのニーズと圧倒的な低侵襲性から、今後成績が向上すれば膵臓移植に代わる医療として成り立つ可能性も大きい。このように種々のオプションが1型糖尿病治療法の選択肢として存在する中、重要なことは、患者さんの希望のみではなく、医療側が内科的治療、膵臓移植、膵島移植につき、安全性、有効性といった医学的情報、移植医療システム、登録方法、経済面についても正確な情報を伝えることである。筆者は、膵臓移植、膵島移植の双方を行な

い、現時点での成績は膵臓移植が優れているが、安全性や低侵襲性といった膵島移植のメリットは十分大きいものと実感している。今後は、双方の適応について糖尿病内科医を中心とするチームで十分に検討して、患者さんに十分な Informed consent を行なった上で決定してゆくことが大事であると考えている。

#### 文献

- 1) 日本臓器移植ネットワークホームページ (<http://www.jotnw.or.jp/jotnw/about.html>)
- 2) 膵臓移植中央調整委員会ホームページ (<http://www.ptccc.jp/>)
- 3) 剣持 敬, 浅野武秀, 西郷健一, 他: わが国初の生体部分膵・腎同時移植の1症例. 移植 40: 466-472, 2005.
- 4) 生体膵臓移植ガイドライン. 日本移植学会 Web site ([http://www.asas.or.jp/jst/pdf/guideline\\_004.pdf](http://www.asas.or.jp/jst/pdf/guideline_004.pdf))
- 5) 剣持 敬: 19章 生体膵臓移植. 膵臓移植 糖尿病根治を目指して pp. 295-306, 伊藤壽記・寺岡 慧 編, シュプリンガー・ジャパン, 2009年3月6日, 東京.

## Current status of pancreas and islet transplantation in Japan

Takashi Kenmochi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Organ Transplant Surgery, Fujita Health University, School of Medicine

Since the first pancreas transplantation (PTx) was introduced for severe diabetic patients in 1960s, over 40,000 cases have, so far, been performed worldwide. More than 80% of the patients underwent simultaneous pancreas and kidney transplantation (SPK). 237 PTxs [208; from DBD donors, 2; DCD donors, 27; LD donors] were performed from 2000 to 2014 in Japan. 5-year recipient survival was 95.8%. 5-year pancreas and kidney graft survivals were 70.4% and 89.2%, which were comparable to the data of UNOS. Also, 27 PTxs from LD donors showed the good results as well as PTxs from DBD donors. Although, 18 patients underwent islet transplantation using the pancreas from DCD donors in Japan, insulin independency was highly limited and the new protocol of isle transplantation using newly designed immunosuppressant has been started using DBD donors.

**Key Words:** pancreas transplantation, brain dead donor, live donor, islet transplantation

## 次世代シーケンス用アレル判定プログラム (SeaBass) の開発とその検証

鈴木 進悟<sup>1)</sup>・尾崎 有紀<sup>1)</sup>・榎屋 安里<sup>1)</sup>・重成 敦子<sup>1,2)</sup>・光永 滋樹<sup>1,2)</sup>・猪子 英俊<sup>1,2)</sup>・椎名 隆<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

<sup>2)</sup> ジェノダイブファーマ株式会社

膨大な次世代シーケンスデータを用いるアレル判定法の開発は、HLA DNA タイピングの簡略化や迅速化のために必要である。筆者らは、次世代シーケンス用アレル判定プログラム (SeaBass) を開発し、極めて高い精度でアレル判定が可能であることを確認した。したがって、SeaBass は新規アレルや null アレルの検出のための優れたアレル判定ツールの一つであると考えられる。

**キーワード：**ヒト白血球抗原, DNA タイピング, アレル, 次世代シーケンサー

### 1. はじめに

HLA アレルを判定する DNA タイピングは、移植の際のドナーとレシピエントの組織適合性の一致や HLA と疾患との関連解析に必要不可欠である。これまでに 13,000 を超える HLA アレルが IMGT-HLA (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/>) データベースから公開されている<sup>1)</sup>。ところが、遺伝子全領域が決定されている HLA アレルは、わずか 5% にすぎず、未知の null アレルや新規 HLA アレルの存在が十分に考えられる。そこで筆者らは、A, B, C, DRB1, DRB3/4/5, DQA1, DQB1, DPA1 および DPB1 の遺伝子全領域ならびに A, B, C, DRB1, DRB3/4/5, DQB1 および DPB1 の多型に富むエクソンやその間のイントロンを含む領域をそれぞれ特異的に増幅させる PCR 条件の設定から、次世代シーケンシング (NGS)、塩基配列の編集およびアレル判定までの一連の過程を含む超高解像度 DNA タイピング (Super high resolution Single molecule-Sequence Based Typing; SS-SBT) 法を開発した<sup>5-9)</sup>。本法は、phase ambiguity を排除した第 4 区域までのアレル判定を可能とするが、その反面、従来の DNA タイピング法に対して複雑な操作過程を踏むこと

から、その簡略化、迅速化および自動化を考慮する必要がある。近年、次世代シーケンサーを用いた HLA アレル判定ソフトウェアが複数の学術機関や企業から報告されているが<sup>10,11)</sup>、それらの正解率は 95% ~ 98% 程度と未だ発展途上であるのが現状である。本稿では、超高精度次世代シーケンス用アレル判定プログラムとして Sequence Alignment Based Assigning Software (SeaBass) を開発したので、SS-SBT 法のワークフローや国内外の研究機関からの報告を交えて紹介したい。

### 2. 国内外における NGS に基づく HLA DNA タイピングの研究動向

次世代シーケンサーを用いた DNA タイピング法は、筆者らグループをはじめ国内外の研究機関や企業にて開発が進められており、PCR、次世代シーケンシング、アレル判定の 3 つの主な工程から構成される。これまでに少なくとも 14 件の NGS による HLA DNA タイピングに関する報告があり (表 1)、各報告にある次世代シーケンサーの種類、PCR 増幅長、解析対象とした HLA 座、アレル判定法について以下に概説する。なお、その他にもエクソーム解析により得られた塩基配列データからア

受付日：2015 年 6 月 23 日, 受理日：2015 年 7 月 27 日

代表者連絡先：鈴木 進悟 〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋 143 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学  
TEL: 0463-93-1121

表 1 次世代シーケンサーを用いた HLA DNA タイピングに関する論文報告

次世代シーケンサーの種類	PCR 情報		解析対象とした HLA 座	アレル判定法	引用文献
	増幅長	増幅長からの分類			
454 GS FLX	410–790 bp	Short-range 系	A, B, C, DRB1/3/4/5, DQA1, DQB1, DPB1	Conexio Assign ATF	12
454 GS FLX	400–900 bp	Short-range 系	A, B	GS-FLX amplicon variant analyzer	13
454 GS FLX	不明	Long-range 系	A, B, C, DRB1, DQB1	Conexio Assign-NG	19
454 GS FLX	410–790 bp	Short-range 系	A, B, C, DRB1/3/4/5, DQA1, DQB1, DPB1	Conexio Genomics ATF	14
454 GS FLX	381–537 bp	Short-range 系	A, B, C	SSAHA2	15
HiSeq2000, Miseq	2.7–4.1 kb	Long-range 系	A, B, C, DRB1	Alignment with IMGT/HLA data	20
<b>454 GS Junior, Ion PGM</b>	<b>4.6–11.2 kb</b>	<b>Long-range 系</b>	<b>A, B, C, DRB1, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1</b>	<b>SeaBass</b>	5
454 GS FLX, (or GS Junior)	410–790 bp	Short-range 系	A, B, C, DRB1/3/4/5, DQA1, DQB1, DPB1	Conexio Assign ATF 454	16
MiSeq	3.4–13.6 kb	Long-range 系	A, B, C, DRB1, DPB1, DQB1	BWA → Samtools → GATK → PerlScript	21
<b>454 GS Junior</b>	<b>5.1–5.6 kb</b>	<b>Long-range 系</b>	<b>DRB3, DRB4, DRB5</b>	SeaBass	8
MiSeq	250–270 bp	Short-range 系	A, B, C, DRB1, DPB1, DQB1	neXtype	17
MiSeq	250–270 bp	Short-range 系	DRB1/3/4/5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1	Genetics Management System	18
PacBio	不明	Long-range 系	A, B, DRB1	Bayes' theorem, NGSengine	11
<b>Ion PGM</b>	<b>4.0–7.2 kb</b>	<b>Middle-range 系</b>	<b>A, B, C, DRB1/3/4/5, DQB1, DPB1</b>	<b>SeaBass</b>	9

太字=筆者らの研究グループによる報告

アレル判定を試みた報告もあるが、ここでは示していない。

### (1) PCR

PCR 産物の長さの違いから、short-range 系<sup>12-18)</sup>、middle-range 系<sup>9)</sup>および long-range 系<sup>5,8,11,19-21)</sup>に大別される。short-range 系は、多型に富む個々のエクソンを増幅させる方法であり、PCR 産物の長さが、1 プライマーペアあたり 250 ~ 900 bp 程度と比較的短い。そのため、イントロン内で組み換えが生じているアレルの組み合わせの場合、phase ambiguity を解消することが困難であり、結局はみなしタイピングをせざるを得ない場合がある。Middle-range 系は、多型に富むエクソンとその間のイントロンを含む遺伝子領域を増幅させる方法であり、多型に富むエクソンの間のイントロンの塩基配列情報も得られることから、限られたイントロン内で組み換えが生じている場合でも phase ambiguity を解消することができる利点を持つ。Long-range 系は、エンハンサー・プロモーター領域からすべてのエクソンおよびイントロン領域を網羅する遺伝子全領域を PCR 増幅させる方法である。short-range 系および long-range 系ともに、A, B, C, DRB1/3/4/5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1 を増幅させるプライマーセットが開発されている。一方、middle-range 系では A, B, C, DRB1, DRB3/4/5, DQB1 および DPB1 についてのプライマーセットが開発されている。

### (2) NGS

NGS による HLA DNA タイピングの開発初期には、454 GS FLX (Roche 社) が用いられていたが、その後、ベンチトップ型次世代シーケンサーの普及により、GS

Junior system (Roche 社)、Ion Torrent PGM system (Life Technologies 社)、MiSeq system (illumina 社) などの次世代シーケンサーが用いられている。さらには、10 kb の DNA 断片の塩基配列決定が可能な Pacific Biosciences 社のシーケンサーを用いた報告もある。現時点では、いずれの NGS ともライブラリー作製など煩雑な操作が要求されるため、各メーカーにてこの過程の簡略化、迅速化および自動化が進められており、いずれはルーチンタイピングが容易にできる時代が到来することが期待される。

### (3) アレル判定

種々のアレル判定法が開発されているが、第 3 区域レベル (6 桁レベル) までのアレル判定の精度は、筆者らの経験から 95 ~ 98% 程度である。その理由として、一方のアレル由来の塩基配列数が他方よりも極端に少なくなる現象 (allelic imbalance) が生じることで、次世代シーケンサーから得られる塩基配列 (リード配列) 数が少なくなること、また HLA-DRB1 の場合、類似性の高い HLA-DRB3/4/5 が同時に増幅されることで、HLA-DRB1 のタイピング精度が下がることなどが挙げられ、これらが HLA アレルの誤判定につながると考えられる。したがって、PCR に用いるプライマーには、両染色体由来のアレルを偏りなく増幅させるように設計したものをを用いることが重要である。

## 3. SS-SBT 法のワークフロー

筆者らが報告した超高解像度 DNA タイピング (Super

high resolution Single molecule-Sequence Based Typing; SS-SBT) 法も前述のように、(1) PCR, (2) NGS, (3) アレル判定の3工程に分類される。特にPCRの工程については、middle-range系ならびにlong-range系の両PCR系を開発した。詳細はShiina *et al.* 2012, Ozaki *et al.* 2015をご参照頂きたい。

#### 4. 次世代シーケンス用アレル判定プログラム (SeaBass)

SeaBassは、①次世代シーケンサーから得られたリード配列のフォーマットの変換、②Blat解析、③候補HLAアレルの選定、④候補HLAアレル配列へマッピング、⑤被覆率(カバレッジ)の算出および⑥アレル判定の工程から成り、筆者らは①～⑤までの工程を自動化させたプログラムを作成した(図1)。

すなわち、この方法はIMGT-HLAデータベースにて公開されている全HLAアレル配列とリード配列との類似性検索をBlatプログラム(<http://genome.ucsc.edu/>)を用いてエクソンごとに行い、全エクソンとも一致する、あるいは高い類似性を示すHLAアレル配列を選定する。その候補アレル配列とリード配列とを、Reference Mapperソフトウェア(Roche社)を用いてアレルごとにマッピングさせ、被覆率の算出など比較・検討することによりアレル判定を行う手順を踏む(図1)。本法は、第3区域レベルのタイピングであってもイントロン内の組み

換え等も考慮することから、より正確なアレル判定が期待される。

SeaBassと市販されている2種類のソフトウェアとのタイピング結果を比較した結果、SeaBassではHLA6座(HLA-A, -B, -C, -DPB1, -DQB1, -DRB1)全てにおいて100%の正解率を示したのに対して、他のソフトウェアではHLA座により異なるが95～98%の正解率であった。よって、現時点では、SeaBassは他ソフトウェアよりも精度が高いと言える。さらに、HLAアレルの既知な検体を用いたSeaBassの正解率は99.2%(DRB3/4/5)以上であり、とりわけ日本人由来検体ではHLA11座全ての正解率が100%であった(表2)。一方、正解率が100%未満であった全検体のHLA5座(HLA-DRB1/3/4/5, -DPB1)には、リファレンスとして用いるアレル配列の中に一部のエクソンのみが公開されているものが存在し、これによりアレルの特定が出来ないことを明らかにしている。よって、それらHLA座のアレル配列が収集されれば、日本人由来検体のみならず様々な民族集団におけるアレル判定を正確に行うことが期待される。

さらには、本プログラムにて、phase ambiguityを解消した第4区域までのDNAタイピングの他に、市販のソフトウェアでは困難な新規アレルの検出(図2)<sup>22)</sup>やHLA座の重複により生じたトリアレルの検出、移植検体のキメラズム検査およびLOH解析が十分に可能であ

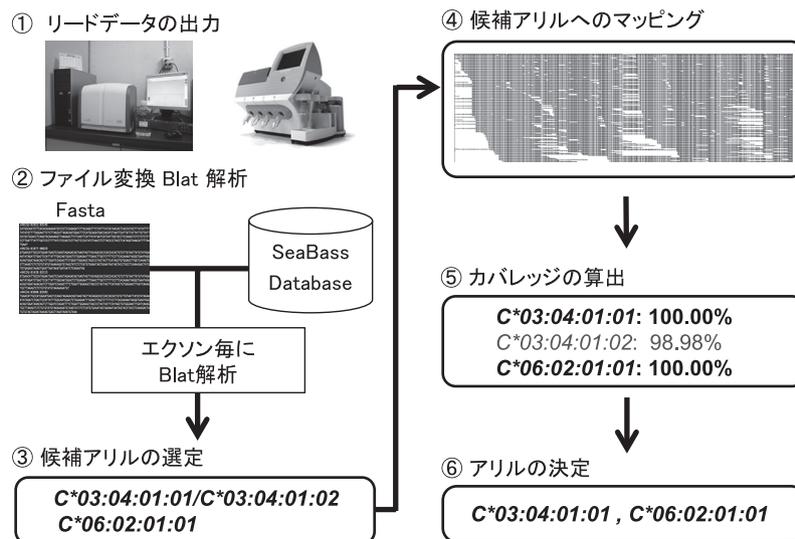


図1 SeaBassによる次世代シーケンスデータからアレル判定までの概略

例として、HLA-CにおけるSeaBassによるアレル判定の過程を示す。②のBlat解析よりC\*03:04:01:01, C\*03:04:01:02およびC\*06:02:01:01の3種類がアレル候補として絞り込まれる(③)。これら3種類のアレル塩基配列をリファレンス配列に対するマッピングならびにリファレンスに対するカバレッジの算出により(④と⑤)、C\*03:04:01:01およびC\*06:02:01:01についてのカバレッジが100%になることから、この検体のHLA-CはC\*03:04:01:01およびC\*06:02:01:01を有すると判定される。

表2 SeaBassによる各HLA座について解析した検体数とその正解率

全検体 (日本, ヨーロッパ, アフリカ, 中東, 南米, ユダヤ, 中国, ロシア, インドを含む)										
	Total	A	C	B	DRB345	DRB1	DQA1	DQB1	DPA1	DPB1
解析数	1,916	250	250	242	186	239	140	234	140	235
アレル数	3,832	500	500	484	372	478	280	468	280	470
正解率 (%)	99.8	100	100	100	99.2	99.6	100	100	100	99.6
日本人由来検体										
	Total	A	C	B	DRB345	DRB1	DQA1	DQB1	DPA1	DPB1
解析数	498	86	80	77	50	68	4	65	4	64
アレル数	996	172	160	154	100	136	8	130	8	128
正解率 (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100

正解率 = Luminex 法や SBT 法による HLA タイピングの結果との一致率を示す。

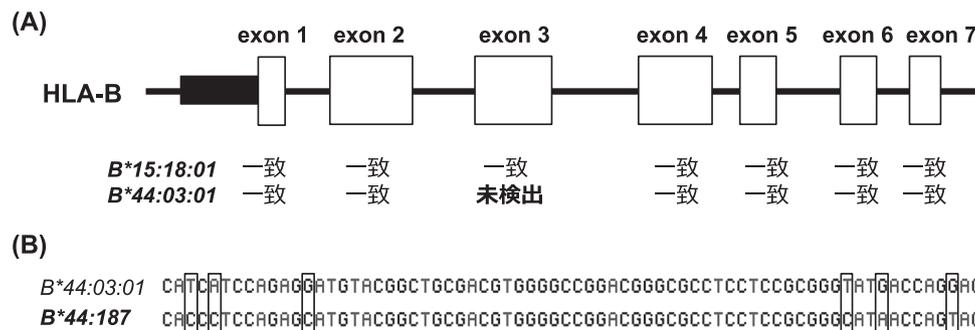


図2 SeaBassによる新規アレル検出の例

(A) 例に挙げた検体の HLA-B におけるエクソン毎の Blat 解析の結果を示す。B\*15:18:01 は全てのエクソンにおいて既知アレル配列と一致したことから、候補アレルの一方は、B\*15:18:01 であると考えられる。ところが、他方のアレルでは、エクソン 3 以外が B\*44:03:01 と 100% 一致したことから、B\*44:03:01 のエクソン 3 に多型を有する新規アレルである可能性がある。白色と黒色のボックスは、コーディングエクソンとエンハンサー・プロモーター領域をそれぞれ示す。

(B) エクソン 3 における B\*44:03:01 と新規アレル B\*44:187 との塩基配列の比較を示す。B\*44:03:01 のアレル配列をリファレンスとし、マッピングの条件を下げることで 6 塩基の新しい多型を検出した。その後サンガー法にてこれらの多型を確認し、B\*44:187 として IMGT-HLA データベースに登録されている<sup>22)</sup>。

ることを実証した (投稿準備中)。したがって、SeaBass は移植研究、疾患関連解析および分子遺伝学的研究のための優れたツールであると考えられた。

### 5. 今後の展望

SeaBass を用いた HLA 6 座におけるアレル判定の正解率は、日本人由来検体にてこれまでのところ 100% の精度を達成しているが、レアアレルを含めた多検体における検証を重ねていく必要がある。また、SeaBass を円滑に運用するためには、部分的に決定されているアレル配列の全長を決定することが必要であり、それらアレル配列が決定されれば、エクソンのみならずイントロンも含めた Blat 解析が可能となり、その結果プロモーター領域から 3' UTR までの HLA 遺伝子全領域における DNA タイピングが実現すると想定している。その時のために、第 4 区域レベルの DNA タイピングや新規アレルを効率

良く検出するアルゴリズムの検討をこれからも図りたい。さらには、他の NGS の過程、例えばライブラリー作製など煩雑な操作については、各メーカーにてこの過程の簡略化、迅速化および自動化が進められており、近い将来に次世代シーケンサーがルーチンタイピングに使用されることを期待したい。

### 引用文献

- 1) Robinson J, Halliwell JA, McWilliam H, et al.: The IMGT/HLA Database. *Nucleic Acids Research* (41): D1222–1227, 2013.
- 2) Santamaria P, Boyce-Jacino MT, Lindstrom AL, et al.: HLA class II "typing": direct sequencing of DRB, DQB, and DQA genes. *Hum Immunol* 1992; 33: 69–81.
- 3) Itoh Y, Mizuki N, Shimada T, et al.: High-throughput DNA typing of HLA-A, -B, -C, and -DRB1 loci by a PCR-SSOP-Luminex method in the Japanese population. *Immunogenetics* (57): 717–729, 2005.
- 4) Rozemuller E: Collection and analysis of SBT results data. 13th

- IHWS Technology Joint Report. Immunobiology of Human MHC Vol. 1 (ed. Hansen JA), p. 413–416, 2006.
- 5) Shiina T, Suzuki S, Ozaki Y, *et al.*: Super high resolution for single molecule-sequence-based typing of classical HLA loci at the 8-digit level using next generation sequencers. *Tissue Antigens* (80): 305–316, 2012.
  - 6) 鈴木進悟, 尾崎有紀, 椎名 隆, 他:次世代シーケンサーを用いたHLAクラスI遺伝子の超高解像度DNAタイピング (Super high resolution Single molecule-Sequence Based Typing; SS-SBT) 法の開発. *MHC学会誌* (20)1: 43–53, 2012.
  - 7) 尾崎有紀, 鈴木進悟, 椎名 隆, 他:次世代シーケンサーを用いたHLA-DRB1遺伝子の超高解像度DNAタイピング (Super high resolution Single molecule-Sequence Based Typing; SS-SBT) 法の開発. *MHC学会誌* 19(2): 211–222, 2012.
  - 8) Ozaki Y, Suzuki S, Shiina T, *et al.*: HLA-DRB1, -DRB3, -DRB4 and -DRB5 genotyping at a super-high resolution level by long range PCR and high-throughput sequencing. *Tissue Antigens* (83): 10–16, 2014.
  - 9) Ozaki, Y, Suzuki, S, Shiina, T. *et al.*: Cost-efficient multiplex PCR for routine genotyping of up to nine classical HLA loci in a single analytical run of multiple samples by next generation sequencing. *BMC Genomics* (16): 318, 2015.
  - 10) Major E, Rigó K, Juhos S, *et al.*: HLA typing from 1000 genomes whole genome and whole exome illumina data. *PLoS One* (8): e78410, 2014.
  - 11) Chang CJ, Chen PL, Chao KM, *et al.*: A fault-tolerant method for HLA typing with PacBio data. *BMC Bioinformatics* 15:296, 2014.
  - 12) Bentley G, Higuchi R, Höglund B, *et al.*: High-resolution, high-throughput HLA genotyping by next-generation sequencing. *Tissue Antigens* (74): 393–403, 2010.
  - 13) Gabriel C, Danzer M, Hackl C, *et al.*: Rapid high-throughput human leukocyte antigen typing by massively parallel pyrosequencing for high-resolution allele identification. *Hum Immunol* (70): 960–964, 2009.
  - 14) Holcomb CL, Höglund B, Anderson MW, *et al.*: A multi-site study using high-resolution HLA genotyping by next generation sequencing. *Tissue Antigens* (77): 206–217, 2011.
  - 15) Erlich RL, Jia X, Anderson S, *et al.*: Next-generation sequencing for HLA typing of class I loci. *BMC Genomics* (12): 42, 2011.
  - 16) Moonsamy PV, Williams T, Bonella P, *et al.*: High throughput HLA genotyping using 454 sequencing and the Fluidigm Access Array™ System for simplified amplicon library preparation. *Tissue Antigens* (81): 141–149, 2013.
  - 17) Lange V, Böhme I, Hofmann J, *et al.*: Cost-efficient high-throughput HLA typing by MiSeq amplicon sequencing. *BMC Genomics* (15): 63, 2014.
  - 18) Smith AG, Pyo CW, Nelson W, *et al.*: Next generation sequencing to determine HLA class II genotypes in a cohort of hematopoietic cell transplant patients and donors. *Hum Immunol* (75): 1040–1046, 2014.
  - 19) Lind C, Ferriola D, Mackiewicz K, *et al.*: Next-generation sequencing: the solution for high-resolution, unambiguous human leukocyte antigen typing. *Hum Immunol* (71): 1033–1042, 2010.
  - 20) Wang C, Krishnakumar S, Wilhelmy J, *et al.*: High-throughput, high-fidelity HLA genotyping with deep sequencing. *Proc Natl Acad Sci U S A* (109): 8676–8681, 2012.
  - 21) Hosomichi K, Jinam TA, Mitsunaga S, *et al.*: Phase-defined complete sequencing of the HLA genes by next-generation sequencing. *BMC Genomics* (14): 355, 2013.
  - 22) Wada A, Shiina, T, Michino J, *et al.*: A novel HLA-B allele, HLA-B\*44:184, identified by super high-resolution single-molecule sequence-based typing in a Japanese individual. *Tissue Antigens* 83: 198–199, 2014.

## Development of a new HLA allele assignment program, Sequence Alignment Based Assigning Software (SeaBass)

Shingo Suzuki<sup>1)</sup>, Yuki Ozaki<sup>1)</sup>, Anri Masuya<sup>1)</sup>, Atsuko Shigenari<sup>1,2)</sup>, Shigeki Mitsunaga<sup>1,2)</sup>, Hidetoshi Inoko<sup>1,2)</sup>, Takashi Shiina<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Molecular Life Science, Division of Basic Medical Science and Molecular Medicine, Tokai University School of Medicine

<sup>2)</sup>GenoDive Pharma, Inc.

Development of HLA allele assignment methods using numerous numbers of NGS data is necessary for simplification and acceleration of the NGS-based HLA genotyping. We developed a new HLA allele assignment program, Sequence Alignment Based Assigning Software (SeaBass) that has an extremely high accuracy. Therefore, the program is thought to be one of excellent allele assignment tools to detect new and null HLA alleles.

**Key Words:** human leukocyte antigen, DNA typing, allele, next generation sequencer

## 日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定

### I. 投稿について

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

**資 格**：著者（共著者を含む）は原則として本学会会員に限る。

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

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

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

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

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

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

### II. 原著執筆書式

#### 1. 執筆要項

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

で作成し、図、表、写真は Microsoft PowerPoint を使用する。原稿は全て CD ロムに保存し、CD ロムに A4 サイズでプリントアウトした原稿 3 部 を添えて編集長宛に送付する。

#### 2. 第1頁目

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

Susceptibility gene for non-obstructive azoospermia in the HLA class II region: correlations with Y chromosome microdeletion and spermatogenesis.

Tetsuya Takao<sup>1)</sup>, Akira Tsujimura<sup>1)</sup>, Masaharu Sada<sup>2)</sup>, Reiko Goto<sup>2)</sup>, Minoru Koga<sup>3)</sup>, Yasushi Miyagawa<sup>1)</sup>, Kiyomi Matsumiya<sup>1)</sup>, Kazuhiko Yamada<sup>2)</sup>, Shiro Takahara<sup>1)</sup>

1) Department of Urology, Osaka University Graduate School of Medicine, Suita, Osaka, Japan

2) Department of Regenerative Medicine, National Cardiovascular Center, Suita, Osaka, Japan

3) Department of Urology, Osaka Central Hospital, Osaka, Japan

心移植における FlowPRA 法を用いた HLA 抗体検出の意義

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

1) 国立循環器病センター臨床検査部

2) 国立循環器病センター再生医療部

3) 国立循環器病センター臓器移植部

#### 3. 本文一：日本語での投稿

・2頁目に400 words 以内の英文要旨（和文要旨必要なし）、日本語および英語のキーワード（5語以内）を記載する。尚、英文要旨作成については編

集委員会による対応も可能（希望の場合、400字以内の日本語要旨を記載しその旨明記）。

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

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

#### 4. 本文—2：英語での投稿

・2頁目に250 words以内の要旨、キーワード（5語以内）を記載する。

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

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

#### 5. 本文—3：略語一覧の作成【作成要項】

- ①略語はアルファベット順に並べる。
- ②略語の後に「:」を入れ、フルスペル（小文字）を記載する。例）LCT: lymphocyte cytotoxicity test
- ③商品名は略語一覧に入れない。

#### 6. 引用文献

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

1. Shi Y, Yoshihara F, Nakahama H, *et al.*: A novel immunosuppressant FTY720 ameliorates proteinuria

and alterations of intrarenal adrenomedullin in rats with autoimmune glomerulonephritis. *Regulatory Peptides* (127): 233–238, 2005.

2. Tongio M, Abbal M, Bignon JD, *et al.*: ASH#18: HLA-DPB1. *Genetic diversity of HLA Functional and Medical Implication* (ed. Charron D), Medical and Scientific International Publisher, p. 134–136, 1997.

3. 難波行臣, 今尾哲也, 石黒 伸 他: 既存抗体陽性生体腎移植後に生じた抗体関連型拒絶反応に対して血漿交換および免疫グロブリン大量療法 (IVIG) が奏効した1例. *血管外科* 17: 36–40, 2005.

4. 佐田正晴, 高原史郎: 腎移植—組織適合と拒絶反応. 新図説泌尿器科学講座6「腎疾患, 神経泌尿器科, 老年泌尿器科」(吉田 修 監), Medical View 社, p. 120–125, 2000.

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

#### 1. 執筆要項

400字詰め原稿用紙換算で15枚（刷り上がり6頁程度）以内とする。図, 表, 写真は1個につき原稿用紙1枚分に該当しタイトルを必ず記載し挿入箇所を本文に明記する。本文は Microsoft Word で作成し, 図, 表, 写真は Microsoft PowerPoint を使用する。原稿は全てCD-ROMに保存し, CD-ROM にA4サイズでプリントアウトした原稿3部を添えて編集長宛に送付する。

#### 2. 第1頁目

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

#### 3. 本文（日本語および英語での投稿）

・2頁目に, 英文要旨 (200 words 以内), キーワード (3語以内) を記載。

・3頁目以降は, 原著執筆書式3.の3頁目以降に準じる。

#### IV. 総説, シリーズその他

編集委員会からの依頼を原則とするが、会員からの投稿も大いに歓迎する。日本語を原則とする。総原稿枚数は編集委員会で指定し、原則的に原著執筆書式に準じる。

#### V. 原稿送付先

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

	総原稿枚数 (図表, 文献含む)	図表数	文献数	要旨	原稿タイトル 所属, 著者	キーワード 数	査読	著者 校正
原著	30 枚以内	5~10個 以内	20 個以内	英文原著 英文 250 words 以内 和文原著 英文 400 words 以内	和英併記	5 個	有り	1 回
短報, 症例報告	15 枚以内	5 個以内	10 個以内	和文、英文とも英文 200 words 以内	和英併記	3 個以内	有り	1 回
総説, その他	その都度指定	適宜	20 ~ 30 個前後	和文 400 字以内	和英併記	5 個	なし	1 回

## 編集後記

今年は、台風の発生が異例に早い上に数も多く、西日本の大雨、東日本の猛暑、あちこちで地震や火山の噴火もあるなど、まさに天変地異が続いているが、会員の皆様はこの夏をいかがお過ごしでしょうか？ さて、今号は Vol. 22, No. 2 であるが、MHC が Web 化されて早くも 8 号目を迎えた。冊子体であった当時の No. 2 は大会抄録を掲載する号であったが、MHC が Web 化された際に、抄録集は MHC とは分離して大会が冊子体として作製することとなった。一方、大会抄録を掲載しなくなった MHC は、その代わりに、従前は認定制度委員会が冊子体を作製していた認定組織適合性技術者講習会（認定 HLA 検査技術者講習会）テキストを掲載することとなっている。この技術者講習会は大会の教育講演も兼ねており、① HLA タイピング等の組織適合性検査に関わる講習、② HLA (MHC) を巡る基礎医学・生命科学に関する講習、③ 臨床医療における組織適合性に関する講習の 3 本柱で構成されるのが通例となっており、今年の講習会では①次世代シーケンシングに基づく HLA ゲノム・遺伝子解析、②リウマチ・膠原病と HLA、③ わが国の臓器移植、臓器移植の現状と将来展望がそれぞれのテーマとして取り上げられている。また、MHC は編集委員会が依頼した総説や、学術奨励賞受賞研究に関する総説を掲載することにしており、今号にも昨年の受賞者らによる次世代シーケンシング用アレル判定プログラムに関する総説が掲載されている。これらの講習会テキストや総説は、国立研究開発法人科学技術振興機構 (JST) が構築・運営している「科学技術情報発信・流通総合システム」(J-STAGE) にも掲載され、日本組織適合性学会の活動を広く社会に発信するシステムが出来ている。ただ一つ残念なことは、最近 MHC への原著論文の投稿が少ないことである。MHC の原著論文は J-STAGE や医中誌にも掲載されることになっており、オリジナルである学術研究の成果をより一層社会発信するために、会員の皆様には原著論文の投稿をお願いしたい。

木村 彰方

## 日本組織適合性学会ホームページ

学会活動に関する情報や HLA 遺伝子の塩基配列情報が利用できます。

<http://square.umin.ac.jp/JSHI/index.html>

<http://jshi.umin.ac.jp/index.html>

## 学会事務局からのお知らせ

平成 23 年度総会で承認されました通り、平成 24 年度より、学会事務の一部を外部委託することとなりました。

委託業務は以下の通りです。

入退会手続

届け出事項の変更手続き

年会費請求手続き

学会誌等の発送

平成 24 年 5 月より、ご自身で会員情報にアクセスするオンラインシステムの利用が可能となりました。各種申請については、日本組織適合性学会ホームページ URL : <http://jshi.umin.ac.jp/> より行えます。

詳しくは、学会ホームページ URL : <http://jshi.umin.ac.jp/> にアクセスの上、「学会事務局からのお知らせ」をご覧ください。

また、これらに関するお問い合わせ、届け出については、[学会事務支局 Email:jshi@nacos.com](mailto:jshi@nacos.com) にて取り扱います。

その他の学会業務に関するお問い合わせは、従来通り学会事務局にて受け付けます。

## 学会事務局

〒 860-8556

熊本市中央区本荘 1-1-1

熊本大学大学院生命科学研究部 免疫識別学分野内

電話 : 096-373-5313

FAX : 096-373-5314

E-mail : [jshijimu@kumamoto-u.ac.jp](mailto:jshijimu@kumamoto-u.ac.jp)

## 事務支局

〒 602-8048

京都市上京区下立売通東入ル

中西印刷株式会社 学会部内

日本組織適合性学会事務支局

電話 : 075-415-3662

FAX : 075-415-3661

Email : [jshi@nacos.com](mailto:jshi@nacos.com)