

日本組織適合性学会誌

第 29 卷第 1 号 2022 年 4 月 28 日発行

目 次

日本組織適合性学会からのお知らせ

第 30 回 日本組織適合性学会大会のご案内	1
2022 年度の学会賞ならびに学術奨励賞候補者の公募について	3
組織適合性検査技術者認定制度 令和 4 年度 認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ	6
初心者講習会の開催及び参加希望者募集について	7
令和 3 年度 認定 HLA 検査技術者講習会アンケート集計結果	8
日本組織適合性学会認定制度委員会委員 名簿	11

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート

—全体経過および QCWS 試料の総合結果—	高 陽淑	12
—試料説明 DNA-QC—	奥平 裕子	16
—総合解析 (表記含む) DNA-QC—	奥平 裕子	17
—検査方法別解析 DNA タイピング SSP 法—	石本 倫子	19
—検査方法別解析 DNA タイピング SSO 法 (LABType) —	竹ノ内博之	21
—検査方法別解析 DNA タイピング SSO 法 (WAKFlow, GenoSearch) —	下北 希美	23
—検査方法別解析 DNA タイピング SBT 法—	高田慎之介	25
—試料説明 抗体 QC—	高橋 大輔	27
—総合解析 抗体 QC—	高橋 大輔	28
—検査方法別解析 抗体検査 FCM (FlowPRA) 法—	藤田 龍司	30
—検査方法別解析 抗体検査 ルミネックス (WAKFlow) 法—	栗田 絵美	31
—検査方法別解析 抗体検査 ルミネックス (LABScreen) 法—	成海 仁在	33
—検査方法別解析 抗体検査 ルミネックス法 (LIFECODES) —	万木紀美子	35
—検査方法別解析 抗体検査 仮想クロスマッチ—	宮城 徹	36
—日本移植学会連携 全血クロスマッチ—	橋口 裕樹, 佐藤 滋	38

日本組織適合性学会 推定アレル一覧表 (2022 年版) について	39
-----------------------------------	----

総説

免疫原性血栓性血小板減少性紫斑病と HLA	酒井 和哉, 桑名 正隆, 田中 秀則, 細道 一善, 宮寺 浩子, 松本 雅則	42
-----------------------	--	----

追悼の言葉 猪子英俊先生のご逝去を悼んで

猪子 英俊 先生を偲んで	安藤 麻子	52
「猪子 英俊 先生を偲んで」	太田 正穂	56
花とおじさん —猪子 英俊 先生 追悼写真—	成瀬 妙子	58

第 20 回日本組織適合性学会近畿地方会 抄録集	64
--------------------------	----

日本組織適合性学会誌 MHC 投稿・執筆規定	83
------------------------	----

Instructions to Authors	87
-------------------------	----

編集後記	91
------	----

第 30 回日本組織適合性学会大会 演題募集要項

第 30 回日本組織適合性学会大会
大会長 江川 裕人
(東京女子医科大学 外科学講座 肝胆膵外科学 教授)
副大会長 石田 英樹
(東京女子医科大学 移植管理科 教授)

【演題募集期間】

2022 年 4 月 15 日 (金) ～ 2022 年 5 月 31 日 (火)

【応募方法】

大会ホームページからのオンライン登録のみとさせていただきます。

【応募資格】

- ・ 筆頭演者は日本組織適合性学会会員に限ります
- ・ 非会員の方は学会ホームページ (<http://jshi.umin.ac.jp/application/index.html>) をご参照いただき、予めご入会いただき演題申込みをお願いいたします。
- ・ 演題登録数の制限はございません。

【採否通知】

演題採否のご連絡は、ご登録いただきました筆頭演者のメールアドレス宛に 2022 年 7 月頃にご通知いたします。

【発表形式】

シンポジウム・一般演題口演・一般演題ポスター (デジタルポスター併用)

【抄録の公開】

採用されました演題抄録は 2022 年 8 月頃、大会 Web ページにて公開されます。

【学術奨励賞】

本大会では、優れた演題に学術奨励賞の授与が行われます。

ホームページの学術奨励賞のページをご参照いただき、応募資格と応募方法をご確認の上、演題登録時に「学術奨励賞応募」欄で「応募する」を選択してください。

【抄録作成】

- ・ 演題名は全角 100 文字以内 (スペースを含む)
- ・ 抄録本文は全角 800 文字以内を厳守し、【目的】 【方法】 【結果・考察】 の順にてご作成ください。
- ・ 演題、共同演者名 (最大 20 名)、所属 (最大 10 施設)、抄録本文は指定文字に収まるように登録してください。

- 図表の使用はできません。
- 英数字は半角文字を使用し、2文字で1字としてカウントしてください。

【カテゴリー】

臓器移植	疾患
造血幹細胞移植	免疫
細胞・組織移植	技術・方法
再生医療	疫学・統計解析
抗体関連拒絶	動物 MHC
血液型不適合	その他

※その他詳細は大会ホームページをご参照ください。

大会事務局・運営事務局

第 30 回日本組織適合性学会大会事務局

〒162-8666 東京都新宿区河田町 8-1 東京女子医科大学 中央検査部
事務局長 石塚 敏

TEL: 03-3353-8112 (内線 25256)

学術集会運営事務局：合同会社 RIMC

〒162-0063 東京都新宿区市ヶ谷薬王寺町 61 405 合同会社 RIMC 内

TEL: 03-6260-7171 FAX: 03-6260-7172

E-mail: jshi30@rimc.co.jp

大会ホームページ： <https://rimc.co.jp/jshi2022/>

2022年3月15日

2022年度の学会賞ならびに学術奨励賞候補者の公募について

一般社団法人 日本組織適合性学会
理事長 一戸 辰夫
学術担当理事 徳永 勝士

学会員の皆様方へ

日本組織適合性学会では2014年（平成26年）度より、高い権威をもつ「学会賞」と、若手学会員の学術研究を奨励する「学術奨励賞」を設けております。本学会の定める「学会賞」ならびに「学術奨励賞」の候補者の資格や選考規定により、学会賞は「組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野において顕著な業績をあげ、本会の発展に特筆すべき功績を残した者を表彰し、もってその栄誉をたたえること」を目的とし、一方、学術奨励賞は「組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野における、秀でた学術的研究を若い学会員に奨励するために優れた若手研究者を表彰し、もって当該分野の発展に寄与すること」を目的としております。

つきましては、本規定に則り、2022年度の日本組織適合性学会の学会賞ならびに学術奨励賞の候補者を、以下の要領で公募いたしますので、奮ってご応募ください。

1. 助成内容

組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野において顕著な業績をあげ、本会の発展に特筆すべき功績を残した学会員または名誉会員（年齢制限なし）に学会賞を授与いたします。また、2022年度学術集会大会（第30回日本組織適合性学会大会、大会長：江川裕人）に、学術奨励賞の受賞候補者として応募された一般演題の中から、特に優秀と認められた演題の筆頭演者（原則として2022年4月1日時点で満45才以下）に学術奨励賞を授与いたします。授与件数は学会賞1名（賞金10万円）、学術奨励賞若干名（賞金5万円、あるいはそれ以下）を予定しております。

2. 応募資格

(1) 学会賞

本学会の正会員として5年以上の会員歴があり、以下の条件を満たす者とする。

- 1) 組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野において顕著な業績をあげ、組織適合性学会の発展に特筆すべき功績を残した実績を有すること。
- 2) 本学会の正会員または名誉会員であること
- 3) 正会員である場合は、当該年度の会費を納入済みであること。

(2) 学術奨励賞

本学会の正会員（当該年度大会までに正会員となる者を含む）であり、以下の条件をすべて満たす者とする。

- 1) 組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野に関する学術研究において、その内容が優れていること。
- 2) 当該年度の会費を納入済みであること、または当該年度の学術集会大会までに正会員として会費を納入すること。
- 3) 学術奨励賞を受賞した者は、原則として次年度以降も正会員を継続すること。
- 4) 当該年度の学術集会大会に、筆頭演者として演題を応募すること。

- 5) 応募しようとする演題の内容において、応募者が中心的な役割を果たしていること。
- 6) 応募しようとする演題の内容が、本学会に未発表であること。
- 7) 受賞後にMHCへ原著論文あるいは総説を執筆できること。
- 8) 過去3年間に学術奨励賞を受賞していないこと。
- 9) 学術奨励賞の応募者は当該年度の4月1日において、原則として45才以下であること。

3. 応募・推薦方法

(1) 学会賞

学会賞は自薦または他薦とし、2022年の4月末までに、候補者に関する以下の書類を日本組織適合性学会 広島事務支局 (e-mail: jshihiroshima@gmail.com) あてにメール添付で提出する。なお、他薦の場合には、推薦者は正会員であることが必要です。

1) 履歴書

書式は自由とし、A4用紙にて1枚程度とする。連絡先住所、電話番号、FAX、e-mailアドレス、生年月日、年齢を記入する。

2) 業績概要

書式は自由とし、A4版用紙にて2～3枚程度とする。

3) 論文業績リスト

書式は自由とし、代表的な論文3編について、別冊（コピーも可）各1部を添付する。

4) 応募の動機（他薦の場合は推薦書）

書式は自由とし、学会賞への応募理由（他薦の場合は推薦理由）をA4版用紙1枚に記載する。

(2) 学術奨励賞

学術奨励賞に応募しようとする会員は、学術集会大会の一般演題申込み締切り日までに、以下の書類を学術集会大会事務局あてに提出する。

1) 抄録

一般演題に応募した抄録

2) 応募ファイル

1頁目に、演題名、演者（全員）、所属（全員）、および応募者（筆頭演者）の連絡先住所、電話番号、FAX、e-mailアドレス、生年月日、年齢を記入する。2頁目以降に、応募した(1)研究の背景、(2)研究の意義、(3)日本組織適合性学会との関わり（これまでの関わりと、今後の方針・計画など）を、項目ごとに300–400字程度にまとめる。

4. 選考および結果通知について

(1) 学会賞

評議員の中から評議員による選挙で選ばれた選考委員により構成される、学会賞選考委員会が選考を行う。委員会は、応募・推薦のあった学会賞受賞候補者より、1名を受賞候補者として選考した後に、これを理事会に推薦するものとする。なお、委員は密接な利害関係がある候補者の審査には、加わらないものとする。理事会は、学会賞選考委員会から推薦された受賞候補者1名について審議し、受賞者を決定した後に、評議員会の承認を経て総会に報告するものとする。

(2) 学術奨励賞

理事長、学術賞担当理事、学会賞選考委員、ならびに学術賞担当理事が選考した若干名を含む評議員によっ

て構成される，学術奨励賞選考委員会が選考を行う。委員会は，応募があった奨励賞受賞候補者の中から，当該年の学術集会大会中の各候補者の口頭発表内容の評価等を参考にして，奨励賞選考委員会にて若干名を受賞候補者として選考した後に，これを理事長に推薦し承認を得る。なお，応募者が多い場合には，委員会が応募書類の書面評価を基にして，学術集会大会中の受賞候補者口演の演者を選考する。委員は密接な利害関係がある候補者の審査には，加わらないものとする。当該年の学術集会大会中に選考結果を公表し，表彰式を実施する。

5. 受賞者にかかる義務について

(1) 学会賞

学会賞受賞者は，原則として受賞年度に開催される学術集会大会期間中に，受賞講演を行う。

(2) 学術奨励賞

- 1) 学術奨励賞受賞者は，助成が行われた研究課題に関する報告書（様式は別途通知します）を，日本組織適合性学会 広島事務支局 (jshihiroshima@gmail.com)あてに提出する。
- 2) 受賞後原則として3ヶ月以内に，受賞課題に関する原著論文あるいは総説をMHCへ投稿する。

6. 助成金の使途

使途について特に制限はないが，学会賞・学術奨励賞であることの趣旨をご理解のうえ，適切に使用しなければならない。なお，学術奨励賞受賞者については使途と，その内訳を前述の報告書に記載する。

7. 問い合わせ先

本件に関する問い合わせは，日本組織適合性学会 広島事務支局 (e-mail: jshihiroshima@gmail.com)あてに，お願いいたします。

**組織適合性検査技術者認定制度
令和4年度・認定HLA検査技術者講習会のお知らせ**

組織適合性検査技術者認定制度委員会
委員長 橋口 裕樹
組織適合性学会教育委員会
委員長 椎名 隆

日時：令和4年9月19日（月曜日・祝日）
時刻：9時00分～11時00分（予定）

会場：第30回日本組織適合性学会 大会会場
日本教育会館
〒101-0003 東京都千代田区一ツ橋2-6-2（TEL: 03-3230-2831）

テキスト：テキストは、学会誌MHC第29巻2号（令和4年8月発行予定）に掲載しますので各自、御参照ください。会場でのテキストの販売はいたしません。

受講証明書：認定制度に関わる受講証明の受領を希望される方には、会場入口の受付にて、1人につき1枚を発行いたします。

内容：各講習とも質疑応答を含めて40分間を予定しています。

- (1) HLAに関する基礎医学的な講演
成瀬 妙子 先生（長崎大学熱帯医学研究所）
「認定制度筆記試験の解説とポイント整理 ーその弐ー」
- (2) HLA タイピングあるいは抗HLA抗体検査に関する講演
藤原 孝記 先生（帝京大学医療技術学部）
「HLA以外に求められる移植関連検査について」
- (3) 移植医療に関する講演
村田 誠 先生（名古屋大学大学院医学系研究科）
「造血幹細胞移植と組織適合性抗原」

この講習会は、今後HLA検査技術者認定を取得、あるいは更新しようとする者を対象に実施されますが、それ以外の大会参加者であっても自由に参加することができます。事前に受講希望届けを提出し、事前登録していただく必要はございません。

初心者講習会の開催及び参加希望者募集について

日本組織適合性学会教育委員会
委員長 椎名 隆
教育委員会初心者教育部会
部会長 黒田ゆかり

日本組織適合性学会では、学会大会プログラムにおいてQCワークショップや技術者講習会を開催し、学会員の組織適合性検査に関わる知識や技術の向上を目指しております。しかし一方では、組織適合性検査に関する基礎的な知識の習得や日常業務に役立つポイントなどの情報交換ができる時間を大会プログラムにおいて十分に確保することは難しい状況があります。そこで、今年度も下記の通り、HLA および HLA 検査に関する基礎的な内容の知識習得と教育訓練を目的とした「初心者講習会」(複数企画を予定)を大会期間中に開催する事と致しました。

記

- 1, 対 象 : 大会参加者
(組織適合性検査の初心者で、HLA の基礎的な内容の教育訓練を希望する方)
- 2, 日 時 : 日本組織適合性学会第 30 回大会期間中
2022 年 9 月 17 日 (土) 18:00 ~ 20:20 (予定)
- 3, 会 場 : 日本教育会館
- 4, 企 画 : 基礎講義およびワークショップ (WS) (予定)
(基礎講義)「HLA の基礎知識」
(WS-1) タイピングに関する内容 (実務経験 0 ~ 3 年向け)
概要 : PCR-SSP 法を中心にタイピングに必要な基礎を学ぶ
(WS-2) 抗体検査に関する内容 (実務経験 0 ~ 3 年向け)
概要 : Luminex による抗体検査を中心に必要な基礎を学ぶ
- 5, 定 員 : 基礎講義は 50 名程度, WS-1 及び WS-2 は各 20 名程度 (予定)
(定員数を超える場合は、初心者教育部会で選考を行う場合があります。)
- 6, 参加費 : 無料
- 7, その他 : 申し込みに関する詳細は 6 月中旬に日本組織適合性学会のホームページに掲載致します (応募締め切りは 7 月末を予定しています)。なお、上記内容は大会の開催形態などの状況により変更する場合があります。

以上

令和3年度・認定HLA検査技術者講習会アンケート集計結果

開催日時：令和3年9月5日（日）9：00～11：00

会 場：第29回日本組織適合性学会大会 Web会場

回答者総数：163名（以下の全項目に回答）

1. 参加者に関する集計結果

(1) HLA検査・研究に携わっている職場（複数回答可）

①	病院	33名（18.4%）
②	大学病院	55名（30.7%）
③	血液センター	22名（12.3%）
④	検査センター	24名（13.4%）
⑤	大学（国公立，私立）	13名（7.3%）
⑥	民間企業	25名（14.0%）
⑦	その他	7名（3.9%）

(2) HLA検査・研究に携わっている職務（複数回答可）

①	臨床医	3名（1.4%）
②	臨床検査業務	102名（48.1%）
③	検査受託業務	37名（17.5%）
④	製造業関連業務	18名（8.5%）
⑤	製品開発業務	6名（2.8%）
⑥	教育業務	7名（3.3%）
⑦	研究業務	29名（13.7%）
⑧	その他	10名（4.7%）

(3) 日本組織適合性学会の会員歴

① 1～3年：42名（25.8%） ② 4～10年：65名（39.9%） ③ 11年以上：56名（34.3%）

(4) 認定資格の取得状況および取得への希望

① 取得済み：93名（57.1%） ② 取得する予定：61名（37.4%）

③ 予定なし：7名（4.3%） ④ その他：2名（1.2%）

2. 講習会に関する集計結果

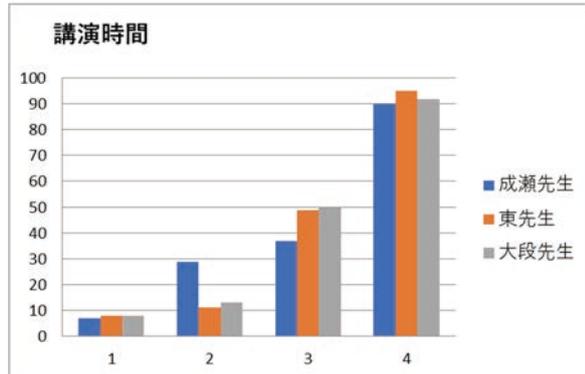
(1) 講習会テキストの事前確認の有無

① あり：135名（82.8%） ② なし：28名（17.2%）

(2) 講習科目の種類は適切であったか？

すべての科目において適切であった	146名 (89.6%)
一部の科目に問題があったが、ほぼ適切であった	12名 (7.4%)
約半数の科目は適切であった	4名 (2.5%)
多くの科目について不適切であった	1名 (0.6%)

(3) 講習時間は量的に適切であったか？



評価基準

4. 適切であった
3. ほぼ適切であった
2. もう少し長くてもよかった
1. もう少し短くてもよかった

(4) 講習会の開催通知は適切であったか？

① 適切であった	152名 (93.3%)
② あやうく見落とすところであった	9名 (5.5%)
③ 他の人から情報を得るまで気づかなかった	2名 (1.2%)

(5) WEB開催の音声・画像の品質について

① 終始良好だった	120名 (73.6%)
② 一時的に途切れる、乱れることはあったが視聴に問題はなかった	35名 (21.5%)
③ 視聴できない状態が何回かあった	2名 (1.2%)
④ 終始不良だった	0名 (0%)
⑤ その他	6名 (3.7%)

その他の内訳：視聴側の問題、演者の音声不明瞭

(6) 今後の講習会で習得したい内容について

基礎に関する内容

- ✓ 統計解析
- ✓ 基礎免疫学
- ✓ 認定試験問題の解説
- ✓ リキッドバイオプシー
- ✓ 基礎と最新情報から構成される講演

検査に関する内容

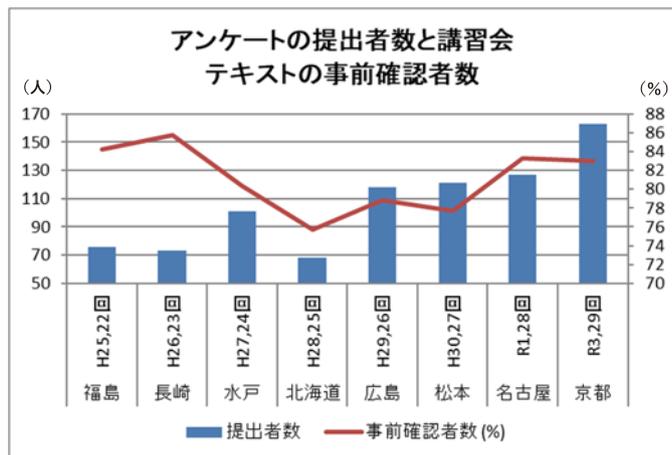
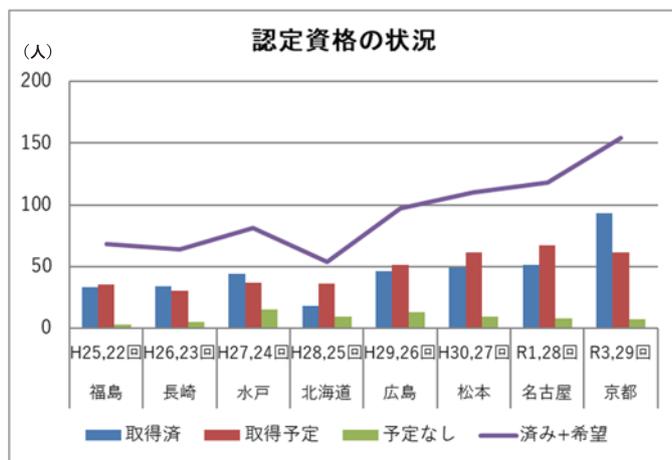
- ✓ 血清タイピング法
- ✓ 移植におけるHLA抗体の考え方

- ✓ FCXM
- ✓ エピトープ解析
- ✓ B細胞エピトープとT細胞エピトープ
- ✓ NGS-SBTの最近動向やアレル判定
- ✓ 検査手技や解析におけるポイント
- ✓ タイピング解析のポイントや頻度から推測される注意点
- ✓ HLA, HLA抗体検査の実際の検査例からの結果の解釈

臨床に関する内容

- ✓ 疾患感受性と移植予後
- ✓ 造血幹細胞移植とHLA適合性関連
- ✓ COVID19とOS1多型
- ✓ 臨床現場におけるHLA検査の必要性
- ✓ 臨床データから基礎研究に繋がる内容

(7) 第22回(H25)～第29回(R3)における認定資格状況、アンケート提出者数および講習会テキストの事前確認者数



日本組織適合性学会認定制度委員会委員 名簿

組織適合性技術者認定制度委員会						
委員長	橋口 裕樹		副委員長		清水 まり恵	
委員	石塚 敏	一戸 辰夫	大橋 順	木村 彰方	黒田 ゆかり	高 陽淑
	椎名 隆	田中 秀則	中島 文明	成瀬 妙子	藤井 明美	宮寺 浩子
	湯沢 賢治					
資格審査部会 (※施設認定担当)						
部会長	石塚 敏		副部会長		藤井 明美※	
部員	清水 まり恵	田中 秀則※	成瀬 妙子	橋口 裕樹※	安尾 美年子	
教育委員会 (教育部会)						
部会長	椎名 隆		副部会長		大橋 順	
部員	石塚 敏	太田 正穂	大貫 優子	木村 彰方	黒田 ゆかり	高 陽淑
	清水 まり恵	土屋 尚之	成瀬 妙子	平山 謙二	村田 誠	森島 聡子
試験問題検討部会						
部会長	成瀬 妙子		副部会長		木村 彰方	
部員	一戸 辰夫	王寺 典子	大橋 順	椎名 隆	土屋 尚之	西村 泰治
	平山 謙二	湯沢 賢治				
QCワークショップ部会						
部会長	高 陽淑		副部会長		黒田 ゆかり	石塚 敏
部員	一戸 辰夫	内田 みゆき	奥平 裕子	木村 彰方	高橋 大輔	中島 文明
	橋口 裕樹	藤原 孝記	宮崎 孔	湯沢 賢治		
ワーキンググループ						
ワーキンググループ	リーダー		メンバー			
抗HLA抗体WG	杉本 達哉		禿 蘭子	白水 隆喜	吉田 雅弥	
表記法WG	黒田 ゆかり		石塚 敏	木村 彰方	田中 秀則	
評価方法検討WG	石塚 敏		黒田 ゆかり	高 陽淑	田中 秀則	中島 文明

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —全体経過および QCWS 試料の総合結果—

高 陽淑¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社 近畿ブロック血液センター

日本組織適合性学会 組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会[#]

1. ワークショップの経過

第 25 回ワークショップの開催案内は、2020 年 12 月には公式サイトに、2021 年 1 月には学会誌に掲載され、同時に QCWS 事務局より前回の参加施設代表者宛にメールにより通知した。また、申込方法については、従来のメール送信による方法から専用フォームを用いた形式に変更し、作業の効率化を図った。

第 25 回の参加施設は 87 施設となり、昨年よりも 1 施設減少した (表 1)。

87 施設の参加内容内訳は、DNA-QC に 77 施設、抗体-QC に 69 施設、日本移植学会連携クロスマッチを含むクロスマッチに 47 施設であった (重複参加を含む)。

QCWS 部会で決定した基本方針に従い、DNA および抗体サンプルの担当者が協議して選択した QCWS サンプルは、4 月 6 日に参加施設宛に発送、QCWS 結果入力シートは、解析の方針に対応して前年度からの改訂版を作成して参加施設代表宛にメールで配信した。

さらに、第 22 回から判定結果に適用されている新表記法についても、標準化委員会を中心に内容が見直され、「HLA 推定アレル一覧表 (JSHI) 2021 年度版」として更新した。

第 25 回 QCWS の結果提出は 5 月 31 日を締め切りとし、6 月中に事務局による提出データの内容確認とデータ集

約作業を終了して 6 月 21 日に解析担当者に共有した。

これまではメールによる送受信で実施していた解析に関する情報共有やディスカッションは、今年度から Microsoft Teams を利用することとし、関連する情報が一ヶ所に集中するようにした。

解析については、参加申し込み時に各施設が記入した臨床部門 (輸血、臓器移植、造血幹細胞移植、その他) 分類に従った部門別、また各施設が用いた検査方法別に、それぞれ比較検討されている。

DNA および抗体の解析担当者は 7 月～8 月の期間に各自で詳細な解析実施し、その後はリーダーを中心としたグループ内でのメールディスカッションを重ねて解析報告集を作成した。また、同時に一昨年まで CD で配布していた全データ集を完成させ、昨年と同様に解析報告集と共に ZIP 形式にまとめて、参加施設がダウンロードできる形式で 8 月 30 日に公式サイトに掲載した。

QCWS 集会については、第 29 回大会が WEB 形式となった事に伴い、9 月 5 日にオンライン集会を開催した。また、QCWS 集会参加証明書の発行については、QCWS 申込と同様に専用フォームによる事前登録および、オンライン集会当日に参加していたことをログで確認できた場合、大会のマイページからダウンロードできるような仕様とした。

集会後のアンケート調査についても、専用フォーマッ

[#] 日本組織適合性学会 組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会員

高 陽淑¹⁾、石塚 敏²⁾、黒田ゆかり³⁾、一戸辰夫⁴⁾、内田みゆき⁵⁾、奥平裕子⁶⁾、木村彰方⁷⁾、高橋大輔⁸⁾、中島文明⁹⁾、橋口裕樹⁸⁾、藤原孝記⁹⁾、宮崎 孔⁵⁾、湯沢賢治¹⁰⁾

¹⁾ 日本赤十字社 近畿ブロック血液センター、²⁾ 東京女子医科大学 中央検査部 移植関連検査室、³⁾ 日本赤十字社 九州ブロック血液センター、⁴⁾ 広島大学 原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野、⁵⁾ 日本赤十字社 血液事業本部 研究開発部、⁶⁾ ジェノダイブファーマ株式会社 ゲノム解析部門 HLA 検査課、⁷⁾ 東京医科歯科大学、⁸⁾ 日本赤十字社 福岡赤十字病院、⁹⁾ 帝京大学 医学部附属病院 輸血部、¹⁰⁾ 国立病院機構水戸医療センター 臨床研究部 移植医療研究室

表 1 第 25 回 HLA-QCWS 参加施設

1	福岡赤十字病院	移植センター
2	長崎大学病院	細胞療法部
3	NHO 米子医療センター	臨床検査科
4	東京医科歯科大学医学部附属病院	輸血・細胞治療センター
5	大阪急性期・総合医療センター	移植支援検査センター
6	九州大学病院	遺伝子・細胞療法部
7	千葉大学医学部附属病院	輸血・細胞療法部
8	日本赤十字社 近畿ブロック血液センター	検査部検査三課
9	株式会社 ビー・エム・エル	第三検査部 ゲノム検査課
10	大阪市立大学医学部附属病院	輸血部
11	ジェノタイプファーマ株式会社	
12	東京女子医科大学	中央検査部移植関連検査室
13	名古屋第二赤十字病院	組織適合検査室
14	大分県立病院	輸血部
15	京都府立医科大学附属病院	輸血・細胞医療部
16	国立病院機構 岡山医療センター	臨床検査科
17	金沢医科大学病院	HLA検査センター
18	藤田医科大学病院	輸血部
19	市立札幌病院	検査部
20	札幌北楡病院	臨床検査科
21	大阪大学医学部附属病院	輸血部
22	株式会社 L S I メディエンス	遺伝子解析部 遺伝子検査グループ
23	北海道大学病院	検査・輸血部
24	鹿児島大学病院	輸血・細胞治療部
25	JCHO中京病院	検査部
26	札幌医科大学附属病院	検査部
27	信州大学医学部附属病院	輸血部
28	獨協医科大学病院	臨床検査センター
29	日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所	研究開発部
30	日本赤十字社北海道ブロック血液センター	品質部検査一課
31	岡山大学病院	輸血部
32	佐賀大学医学部附属病院	検査部
33	東邦大学医療センター大森病院	輸血部
34	湧永製薬株式会社	試薬・診断事業部
35	東海大学医学部付属病院	臨床検査技術科輸血室
36	公益財団法人HLA研究所	技術部 検査課
37	株式会社 医学微生物学研究所	信頼性保証部 品質管理室
38	香川県立中央病院	中央検査部
39	北里大学病院	輸血部
40	亀田総合病院	臨床検査部
41	株式会社ベリタス	バイオサイエンス本部 技術グループ
42	福島県立医科大学附属病院	輸血・移植免疫部

(受付順)

43	山形県立中央病院	輸血部
44	がん・感染症センター 都立駒込病院	輸血・細胞治療科
45	熊本赤十字病院	検査部
46	日本赤十字社東海北陸ブロック血液センター	品質部 検査三課
47	広島大学病院	輸血部
48	SUBARU健康保険組合 太田記念病院	臨床検査部
49	三重大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
50	宮崎大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
51	自治医科大学附属病院	輸血・細胞移植部
52	JCHO仙台病院	検査部
53	県立広島病院	臨床研究検査科
54	岩手医科大学附属病院	中央臨床検査部
55	山形大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
56	株式会社リプロセル	メディカル部
57	旭川医科大学病院	臨床検査・輸血部
58	松江赤十字病院	検査部
59	関西医科大学附属病院	輸血・細胞療法部
60	愛媛県立衛生環境研究所	衛生研究課微生物試験室疫学情報科
61	弘前大学医学部附属病院	泌尿器科
62	日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター	検査部 検査三課
63	中四国ブロック血液センター	品質部検査一課
64	国立研究開発法人 国立循環器病研究センター	臨床検査部 輸血管理室
65	東北ブロック血液センター	品質部検査一課
66	公益財団法人 鷹揚郷腎研究所弘前病院	HLA検査部
67	帝京大学医学部附属病院	輸血・細胞治療センター
68	京都大学医学部附属病院	検査部 輸血部門
69	宇和島徳洲会病院	検査課
70	沖縄県立中部病院	検査科
71	徳島大学病院	輸血・細胞治療部
72	株式会社エスアールエル	MUQSラボ (ゲノム解析課)
73	日本赤十字社九州ブロック血液センター	品質部 検査二課
74	東京大学医学部附属病院	輸血部
75	富山大学附属病院	検査・輸血細胞治療部
76	秋田大学医学部附属病院	腎疾患先端医療センター
77	東京医科大学八王子医療センター	中央検査部
78	高知医療センター	2階検体検査室
79	静岡県立総合病院	検査部
80	関東甲信越ブロック血液センター埼玉製造所	品質部 検査三課
81	伊勢赤十字病院	医療技術部 臨床検査課 輸血検査室
82	熊本大学病院	中央検査部
83	愛知医科大学医学部	外科学講座腎移植外科
84	宮崎県立宮崎病院	臨床検査科

トによる回答としたが、過去最多の回収数 (152 件) であり、今回のようなWEB形式に賛同するご意見も多かった。その他の設問も含めて、それらの分析結果はQCWS部会内で共有し今後のQCWSに役立てる。

2. QCWSのテーマおよび試料選定について

前述のとおりQCWS部会で決定した第25回QCWSテーマ(以下に記載)に従って、DNAおよび抗体ともにサンプル担当間で協議し決定している。

DNAのテーマは①DNAタイピングが適正な操作過程に基づき正確に行えること、②表記法に従いタイピング結果の表記を正しく記述できること、③DNAタイピング結果に対応したHLA抗原型を正確に読み替えること、の3点である。

これらのテーマに適合するサンプルとして、細胞バンクから購入済みの細胞から使用履歴の無い細胞を中心に

レアアレル、読替え、ホモタイプなどの課題となるアレルを含んでいる細胞を選択した。

サンプル調整については、例年通り、培養した選定細胞から抽出したDNAを濃度非公開で100µL(SSP実施施設は200µL)、SSO法を対象とした陰性コントロール(DNase free water)50µL、をそれぞれ参加施設に配付した。

一方、抗体のテーマは、①抗体検査が適正な操作過程に基づき正確に行えること、②エピトープと許容抗原により正確な抗体特異性解析が行えること、③検査結果から導かれる総合判定結果を正しく報告できること、の3点である。

本学会からの依頼により日本赤十字社が保管管理している献血者由来の在庫検体から、以上のテーマに適合するサンプルとして4本選択し、その全てを抗体有無の検査対象に、4本中1本を仮想クロスマッチ対象サンプル、

別の 1 本を移植学会連携全血クロスマッチ対象サンプルとして抗体特異性同定検査対象（計 2 本）とした。

サンプル調整は例年通り、血清化処理後、4 種類のサンプルを参加施設に 1 mL 配布した。

クロスマッチについては、抗体-QC と DNA-QC の測定結果から正しく適合判定ができることをテーマとした仮想クロスマッチとし、日本移植学会連携の全血クロスマッチについては、抗体-QC の対象サンプルから 1 本を共用して、これまでと同様に実施した。

3. 解析報告と担当者

今回の解析担当者は、DNA-QC では資料説明・総合解析と SBT 法は継続、それ以外は新任で担当し、抗体-QC でも抗体ルミネックス法①と仮想クロスマッチ・移植学会連携全血クロスマッチについては継続、それ以外は新任と、全体的に新しい担当者の構成となった（担当者一覧を以下に示す）。

解析結果については、1. ワークショップの経過で述べたとおり、個々の担当別に実施した一次解析の結果を元にグループ内でディスカッションを重ねて作成した解析データ集と、参加施設の全データ集とを公式サイトに掲載し、本学会誌へのレポート投稿により公表している。

解析の方針や詳細については、これらの内容を参照されたい。

【DNA タイピング結果解析】

・試料説明，総合解析

ジェノダイブファーマ 奥平 裕子

・SSP 法 高知医療センター 石本 倫子

・SSO ルミネックス法①[※]

宮崎大学医学部附属病院 竹ノ内博之

・SSO ルミネックス法②[※]

近畿ブロック血液センター 下北 希美

・SBT (Sanger, NGS) 法

日本赤十字社中央血液研究所 高田慎之介

【抗体検査結果解析】

・試料説明，総合解析

日本赤十字社中央血液研究所 高橋 大輔

・FCM (FlowPRA) 法 東京女子医大 藤田 龍司

・抗体ルミネックス法①[#] 宇多野病院 成海 仁在

・抗体ルミネックス法②[#] 広島大学病院 栗田 絵美

・抗体ルミネックス法③[#]

京都大学医学部附属病院 万木美紀子

・その他の検査 (MPHA)

近畿ブロック血液センター 高 陽淑

表 2 第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート：DNA サンプルの総合結果

HLA-Class I	HLA-A		HLA-B		HLA-C	
Q25D1	A*02:10 A210	A*26:01:01:01 A26	B*39:01:03 B3901	B*40:06:01 B61	C*07:02:01 Cw7	C*08:01:01:02 Cw8
Q25D2	A*33:03:01:01 A33	- -	B*44:03:01:10 B44	- -	C*14:03:01 Cw14	- -
Q25D3	A*26:01:01:01 A26	A*26:02:01 A26	B*39:01:01 B3901	B*51:01:01 B51	C*07:02:01:15 Cw7	C*14:02:01 Cw14*
Q25D4	A*02:06:01:01 A2	A*24:02:01:01 A24	B*15:01:01:01 B62	B*48:01:01:01 B48	C*08:22:01 Cw8	C*15:02:01:01 Cw15*
HLA-Class II	HLA-DR		HLA-DQ		HLA-DP	
Q25D1	DRB1*08:02:01 DR8	DRB1*09:01:02 DRB4*01:03:02 DR9 DR53	DQA1*03:02:01:01 DQB1*03:03:02 DQ9	DQA1*04:01:01 DQB1*04:02:01:04 DQ4	DPA1*01:03:01 DPB1*02:01:02 (DPB1*414:01:01)# DPw2	DPA1*02:02:02 DPB1*05:01:01 (DPB1*744:01)# DPw5
Q25D2	DRB1*13:02:01 DRB3*03:01:01 DR13 DR52	- -	DQA1*01:02:01:08 DQB1*06:04:01:01 DQ6	- -	DPA1*02:02:02 DPB1*02:01:02 DPw2	- -
Q25D3	DRB1*08:02:01 DR8	DRB1*08:03:02 DR8	DQA1*01:03:01 DQB1*06:01:01 (DQB1*06:01:15)# DQ6	DQA1*04:01:01 DQB1*04:02:01 DQ4	DPA1*01:03:01 DPB1*02:01:02 (DPB1*105:01:01)# DPw2	DPA1*01:03:01 DPB1*04:02:01 (DPB1*416:01:01)# DPw4
Q25D4	DRB1*04:07:01:02 DRB4*01:03:01 DR4 DR53	DRB1*15:01:01 DRB5*01:01:01:02 DR15 DR51	DQA1*03:01:01:01 DQB1*03:02:01 (DQB1*03:289/416)# DQ8	DQA1*01:02:01 DQB1*06:02:01 DQ6	DPA1*01:03:01 DPB1*02:01:02 (DPB1*105:01:01)# DPw2	- DPB1*04:02:01 (DPB1*416:01:01)# DPw4

上段 (斜体): HLA 遺伝子型
下段 (太字): HLA型

※このアレルに対応するHLA型が判明していないためアレル名の第1区域で表記
#NGSで解消できなかったアンビグイティ(参考)

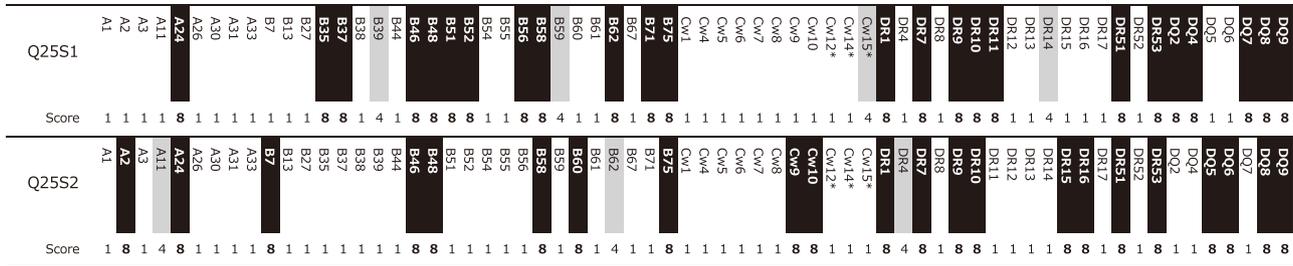
表 3 第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート：抗体サンプルの総合結果

抗体検出

	HLA class I 抗体				HLA class II 抗体			
	Q25S1	Q25S2	Q25S3	Q25S4	Q25S1	Q25S2	Q25S3	Q25S4
Score 8	98.6%	98.6%	97.1%	98.6%	98.5%	98.5%	13.6%	98.5%
Score 4	1.4%	1.4%	1.4%	1.4%	1.5%	1.5%	1.5%	1.5%
Score 1	0.0%	0.0%	1.4%	0.0%	0%	0%	84.8%	0%

抗体特異性

＜日本人集団におけるHLA遺伝子頻度0.1%以上の抗原に対する反応＞



抗体QC参加施設の総合判定結果を基準とした
 Score8：陽性=2/3以上の参加施設が陽性判定した抗原
 Score4：保留=陽性・陰性どちらも2/3に達しない抗原
 Score1：陰性=2/3以上の参加施設が陰性判定した抗原
 * 暫定的なHLA抗原名（WHO未公認）

- ・ 仮想クロスマッチ

関東甲信越ブロック血液センター 宮城 徹

- ・ 移植学会連携全血クロス

福岡赤十字病院 橋口 裕樹

※ SSO ルミネックス法 ① LABType, ② WAKFlow/Genosearch,

抗体ルミネックス法 ① LABScreen, ② WAKFlow, ③ LIFECODES

4. QCWS 試料の総合結果

今回の QCWS 全サンプルの総合解析結果を表 2, 3 に示した。

DNA サンプル (表 2) については、主に参加施設の

結果より総合的にリアサインした。

なお、表記は本学会標準化委員会作成『HLA タイピング結果のアレル表記法と結果報告の原則 (2017 年版)』に従っている (表 2)。

抗体サンプルについては、『HLA 推定アレル一覧表 (JSHI) 2021 年度版』において、HLA 遺伝子頻度 0.1% 以上の抗原 * を対象に参加施設が決定した総合判定結果を集計して、Consensus (各施設の判定結果の 2/3 以上のスコア) を求めた。ただし、Consensus が得られない抗原 (各施設の判定結果の集計が 2/3 に達しない) はスコア 4 と表示している (表 3)。

参加施設が、これらの結果を日常検査における精度管理に活用されることを期待する。

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —試料説明 DNA-QC—

奥平 裕子¹⁾

¹⁾ ジェノダイブファーマ株式会社

1. 使用する試料について

日本組織適合性学会の HLA-QC ワークショップでは、市販品もしくは細胞バンクより入手した匿名化試料を保管して、DNA-QC の試料として使用している。その中から HLA-A, B, C, DRB1 のタイピング結果と QCWS 集会でのアンケート調査結果を参考に、以下のポイントを課題として本年度の試料を選定した。

2. 第 25 回 DNA-QC 細胞選定のポイント

本年度は HLA 型読替えの知識が必要である、レアアレルである、ホモタイプである等、課題となるアレルを含むように 4 検体の選定を行った。1 つ目の Q25D1 は仮想クロスの対象であり、HLA 型読替えの知識が必要となる。2 つ目の Q25D2 は HLA-A, B, C, DRB1 がホモタイプ、3 つ目の Q25D3 は Q25D1 と同様 HLA 型読替えの知識が必要かつ、HLA-A, DRB1 において HLA 型が

同一のアレル違い、最後 4 つ目の Q25D4 においては HLA-C がレアアレルとなっていることが選定理由である。

3. 配布試料

本年度も昨年同様、選定した 4 つの DNA 試料の濃度を非公開とすることとした。各タイピング法に適した濃度で検査が実施されているかを図る目的である。またこの他に第 21 回 QCWS からデータ提出が必須となっている、SSO 法で同時測定するための陰性コントロールの配布も引き続き行うこととした。配布開始当初から陰性コントロールにも関わらず反応がみられる施設が多数あり、コンタミネーションが疑われるため課題となっていた。

以上より濃度非公開の 4 検体と SSO 法用の陰性コントロール (DNase free Water) 1 検体の計 5 つを配布試料とした。

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —総合解析（表記含む） DNA-QC—

奥平 裕子¹⁾

¹⁾ ジェノダイブファーマ株式会社

1. 概要

DNA-QC の参加施設数は昨年の 77 施設同様、今年度も 77 施設の参加であった。部門別では臓器部門が 57 施設、輸血部門は 38 施設、造血部門は 35 施設、およびその他が 8 施設（重複有）の参加であり、ここ 5 年間では臓器部門の増加が著しい。方法別では輸血、造血部門で SSO 法が 90% を超えたのに対し、臓器部門では SSO 法は 70% に留まり、SSP 法が他方との併用を含めて 32% を占めていた。評価対象遺伝子は、例年同様 HLA-A, B, C, DRB1 とし、その他の DRB3, 4, 5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1 は評価対象外とした。

2. 総合結果評価

1) 判定結果の評価

評価項目は以下の 2 点とした。1 点目「各タイピング法での判定が正しいこと」、2 点目「各タイピング法の結果が、総合判定と齟齬がないこと」、この 2 点について○と×の二段階（60 点満点）で評価を行った。全施設の評価平均は 59.7 点を示し、概ね良好な結果であった。詳細については、各方法別解析を参考にさせていただきたい。

2) 結果表記の評価

学会の規定する表記法「HLA タイピング結果のアルル表記法と結果報告の原則（2017 年版）」の改訂が 2021 年 4 月 1 日に行われた（2 版）。以前の 1.1 版では「N」などの文字は付記しないとしていたが、2 版では「N」などの文字も付記するに改訂された。結果表記の評価項目は以下の 3 点としており、1 点目「アンビギュイティ（Ambiguity）の表記」、2 点目「HLA 型への読替え」、3 点目「その他の DNA タイピング結果表記について」、

これらについて正、一部不備（減点なし）、誤（減点あり）の三段階（40 点満点）で評価を行った。先に述べたように、今回の改訂から記入が必須である「N」の記入漏れのある施設が目立ち、第 24 回 QCWS では評価平均が 39.6 点であったのに対し、第 25 回では評価平均は 38.8 点と前年より悪化傾向にあった。4 月に行われる表記法の改訂の周知徹底が希まれる結果となった。

3) HLA タイピング結果評価点

評価基準で定義されている評価は、1) 判定結果の評価（60 点満点）と 2) 結果表記の評価（40 点満点）を合わせて HLA タイピング結果評価点（100 点満点）とし、100 点＝評価 A、60 点以上 100 点未満＝評価 B、60 点未満＝評価 C の三段階で総合評価を行った。その平均は 98.5 点を示した。第 24 回 QCWS では評価 A の施設が全体の約 70% を占めていたが第 25 回では 53.2% とその割合を大きく落とした。評価 C の施設は該当なし、残りの半数近く（46.8%）が評価 B という結果であった。これは結果表記の評価に起因していた。

3. 試験結果の評価（試験法別評価）

試験結果の評価は、使用試薬での結果の妥当性を評価するものである。提出データにおいて A（不備無し）、B（一部の不備）、C（全体的な不備）の 3 段階評価を行い、タイピング結果に影響を与えるようなデータの不備がないかを確認した。A 評価が 84 施設、B は 6 施設、C は該当施設なしであった。B 評価であった施設は、2 施設が SSO 法、4 施設が SSP 法であった。共通する B 評価理由は反応不良による疑陽性、疑陰性が挙げられ、誤判定の原因となる施設もあった。SSO 法独自の B 評価理由としては Sample Empty が見られた。詳細については、各方法別解析を参考にさせていただきたい。

4. まとめ

1) 第 24 回 QCWS で明らかになった課題の達成状況

SSO 法では数年に渡って引き続いての課題となっている、陰性コントロールにてコンタミネーションが疑われる誤反応や、根拠のないカットオフ変更が第 25 回でも同様に見られた。次回第 26 回 QCWS では結果入力シートにカットオフ変更の有無を記載する欄を設け、さらなる注意喚起となることを期待している。

また、SSP 法や SSO 法では誤判定をしている施設が数施設ではあるが見られた。その原因は反応不良と誤表記である。しかし、結果表記の評価で減点があった施設の多くは SSP 法でタイピングを行っている施設であり、

低解像度の検査法に学会の表記法が見合っていないのではないかという課題も見えてきた。

2) 濃度非公開の DNA 配布

濃度測定は 78% の施設で行われていた。測定結果も配布時とほぼ同濃度であり良好な結果であった。正確な DNA タイピングを行う上で、至適濃度で検査を行うことはとても重要である。また PCR 法を原理としている検査法全てにおいて、DNA の質も重要なポイントとなりうる。濃度測定と検査結果の関連は今回の配布検体では見られなかったが、日常検査でも DNA の濃度を測定し、どのような量と質の検体であるのかを知った上での検査を推奨したい。

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 DNA タイピング SSP 法—

石本 倫子¹⁾

¹⁾ 高知県・高知市病院企業団立高知医療センター 医療技術局

1. 概要

1) 参加状況

SSP 法では昨年と同様の 23 施設を対象にデータ解析を行った。このうち 21 施設は臓器移植部門のある施設であり、SSP 法において臓器移植部門の参加が多い傾向は続いていた。SSP 法単独の参加は昨年より 2 施設増加し 19 施設であった。

2) 使用試薬

MicroSSP (One Lambda 社) の使用が多く (22 施設)、中でも MicroSSP JPN の使用が 19 施設と最も多かった。

3) DNA サンプルの濃度測定状況

配付試料の DNA 濃度を測定した施設は昨年の 13 施設 (59%) と同程度の 14 施設 (61%) であり、適宜希釈調製して検査されていた。

2. 解析方法

以下の項目について解析を行った。

- 1) 反応データ
- 2) アレル判定
- 3) 結果の表記法

詳細は、学会公式サイトの第 25 回 QCWS 解析結果報告集をご参照いただきたい。

3. 解析結果および考察

1) 反応データについて

反応の不備 (false negative および false positive) による判定ミスが 3 施設あり、ミスアサインにつながっていた。電気泳動像の陽性バンド、解析ソフトへの入力データ、機器の動作状況の確認、検査手技の見直しなど原因の究明が必要である。

インターナルコントロールバンドが出現していない反応のまま判定を行った施設が 1 施設あった。このような場合には結果が無効であるうえ、誤判定につながるため、原因の究明に加えて再検査を実施する必要がある。

また、反応パターンを入力ミスが疑われる施設が 1 施設あった。結果の提出前にダブルチェックを行うなど再確認する必要がある。

2) アレル判定について

反応パターンに問題はないが解析ソフトで ambiguity として挙がっていたアレルを見逃し、ミスアサインにつながった施設が 1 施設あった。解析ソフトで得られた結果の解釈だけでなく、第 1 区域に ambiguity がある場合の表記法を確認していただきたい。

3) 結果の表記法について

ア. 第 1 区域

第 1 区域の表記について、6 施設で表記ミスを認めたものの、「第 1 区域に ambiguity がある場合」の正答割合は昨年度 47% に比べ今年度は 68% と高くなっており、全体としては理解が進んでいると考えられた。しかし上記アレル判定の項でも触れたが、第 1 区域に ambiguity がある場合、4 種類以上の推定アレルを示す「+」に含まれているアレルの存在を示すため、3 種類までのアレルを全て 4 桁表記する必要がある組み合わせがあるのでミスのあった施設は確認していただきたい。

イ. 第 2 区域

第 2 区域の表記ミスは 13 施設あり、各施設で推定アレルの表記に難渋したと思われる。アレル表記の過不足がみられ、その中でも「第 1 区域は同じで第 2 区域が異なる組み合わせ」では、両カラムへそれぞれ異なる推定アレルを表記するところを片方のカラムに「-」表記され「第 1 区域第 2 区域とも同じ組み合わせ」になってい

た施設を複数認めた。日本人頻度順でないアレル表記も認めた。

改善には、表記法の理解、解析ソフトの設定が適切か、早見表のみによる判定となっていないかなどに加えて、表記に含まれる推定アレルの組み合わせも理解しておくが良いと思われた。

ウ. その他 (Null など)

「HLA タイピング結果のアレル表記法と結果報告の原則 (2017 年版)」が 2021 年 4 月 1 日に改訂されたことによる、Null アレルの「N」表記がもれている施設が 10 施設あった。その他の表記ミス (座名, *, 「N」を「Null」と表記, カラム記載順など) もみられた。

4. まとめ

反応の不備やアレル判定のミスにより 4 施設でミスアサインを認めた。該当施設は原因の究明が必要である。全体では、反応パターンは概ね良好であったが、表記ミスが多くみられ特に第 2 区域の表記にばらつきがあった。第 1 区域に ambiguity がある場合の表記は理解が進んでいた。

SSP 法では ambiguity があるため、複数の推定アレルを表記することとなる。表記ミスの改善には、表記法の理解、解析ソフトの設定確認などと併せて、推定アレルの組み合わせを理解しておくことも必要と考えられた。

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート — 検査方法別解析 DNA タイピング SSO 法 (LABType) —

竹ノ内博之¹⁾

¹⁾ 宮崎大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部

1. 概要

1) 参加状況

LABType の参加施設は、昨年度の 9 施設から 7 施設へ減少していた。参加施設に占める LABType の割合は、全 DNA タイピング参加 77 施設の 9.1% (昨年: 11.6%)、SSO 法 (Luminex) 参加 58 施設の 12% (同 15%) であった。

2) 試薬キットおよびローカス測定状況

各施設の試薬キット使用状況およびローカス測定状況についての詳細は、学会公式サイトでの第 25 回 QC ワークショップ報告集を参照いただきたい。

2. 解析方法

各施設から提出された報告書およびデータを基に、以下の項目について解析を行った。

- 1) 解析ソフト (Fusion) での再解析と判定トレース
- 2) 陽性コントロールビーズの蛍光値 (平均とバラツキ)
- 3) Class I での PCR 増幅効率の比較 (Exon 2 vs. Exon 3)
- 4) 陰性コントロールサンプルの蛍光値

詳細は、学会公式サイトでの第 25 回 QC ワークショップ報告集を参照いただきたい。

3. 解析結果・考察

1) 解析ソフト (Fusion) での再解析と判定トレースについて

ビーズカウントについては、Low Beads を認めた施設は無かった。

判定に関して、一部施設で Null アレルの取り扱いに起因する表記の誤りを認めるも、解析について大きな問題は無かった。なお、カットオフ値の変更は原則避ける

べきではあるが、再現性のある False 反応に関しては、根拠を持って変更する事で正しく判定できる場合がある。その為にも検査原理や解析方法に関する知識・技術を備える必要がある。

今回、報告書のコメント欄を有効に利用し、False 反応を認めたサンプルでのカットオフ変更状況やその解釈、Beads Info. の内容、別試薬での再検結果などを記載していた施設が 3 施設あった。また、再検査データを全て送付していた施設もあった。これら参加施設からの情報提供は、報告書送付の際に手間ではあるが、報告データを解析する際の結果判定トレースや、その後の詳細解析を行う上で大変有用である為、多くの参加施設から同様の情報提供がなされることを期待する。

2) 陽性コントロールビーズの蛍光値について

各陽性コントロールビーズの蛍光値の平均とバラツキ (%CV) については、特に Class I の A ローカスで差を認めたため、その一因について追加解析を行った。Class II については、1 施設で増幅低値を認めており、PCR 機器のメンテナンスが必要ではないかと推察された。

3) Class I での PCR 増幅効率の比較 (Exon 2 vs. Exon 3)

QC 検体の Class I において、特に Q25D1 と Q25D2 の A ローカスに False 反応 (False Positive; FP) を認めた。この FP は、参加施設間で一部再現性を認めており、特定の試薬 Lot やビーズ、アレルに由来することが推察された。しかし、FP を認めない施設も有る事から、PCR 増幅効率の影響も考えられた。そこで、陽性コントロールの増幅と FP との関係性について調べたところ、陽性コントロールの Exon 2 と 3 の増幅率に 20% 近い差を認める場合、FP が出やすいの傾向を認めた ($p < 0.05$)。

4) 陰性コントロールサンプルの蛍光値について

陰性コントロールサンプルの蛍光値比較から、いくつかの施設でコンタミネーションを認めた。また、B ローカスでは特定のビーズの幾つかで、バックグラウンドとなる蛍光値が共通して高く出る傾向があり、試薬の特性であることが推察された。

今回はコンタミネーションが結果判定にどの程度影響したかまでは検証出来ていないが、コンタミネーションは、ハイブリダイゼーション工程での手技が結果に影響する要因の一つであり、慎重操作を心がけることが求められる。

4. まとめ；SSO で正しい判定をするために

SSO は検査の特性上、自動判定で変更なく結果判定

が出て、それが正しい反応に由来しているかを検証する必要がある。既存検体を内部精度管理検体として同一バッチ内で測定し、判定結果やコントロールビーズの蛍光値を比較するのも一つの検証手段であろう。また、False 反応を疑いカットオフ変更する際は、安易に変更するのではなく、ビーズ情報を参照し、該当ビーズのプロープがレアアレルを対照としていないかや、FP/FN になりやすいことが示されていないか等を確認し、変更する事が妥当であるかを検討した上でメーカー QC を参考に変更する事が望まれる。その他、判定時の注意事項や判定困難事の対応については、第 24 回の本ワークショップレポートに詳しい解説があるため、参考にさせていただきたい。

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 DNA タイピング SSO 法 (WAKFlow, GenoSearch) —

下北 希美¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社 近畿ブロック血液センター

1. 概要

1) 参加状況

全参加施設 77 施設中 SSO (Luminex) 法での参加施設は 58 施設 (75.3%) であった。このうち、試薬キット WAKFlow の使用が 48 施設 (62.3%) で昨年より 1 施設増加しており、GenoSearch の使用が 4 施設 (5.1%) で昨年と同様であった。また、SSO 法の他の試薬キットまたは SSP 法および SBT 法を併用していた施設が WAKFlow で 6 施設、GenoSearch で 2 施設であった。

2) 対象ローカス

WAKFlow を使用した 48 施設では、HLA-A は全施設で実施されており、HLA-B : 47 施設、HLA-C : 43 施設、HLA-DRB1 : 44 施設、HLA-DQB1 : 28 施設、HLA-DPB1 : 12 施設、HLA-DQA1 : 1 施設で実施されていた。

GenoSearch を使用した 4 施設では、全施設で HLA-A、-B、-C、-DRB1 が実施されていた。また、どちらの試薬キットも複数のロットが使用されていたが、明らかなロット間差は認められなかった。

3) DNA サンプルの使用状況

DNA 濃度測定については、多くの施設が DNA 濃度を測定していた。しかし、未実施、また濃度調整 (希釈) を行わずに使用していた施設が複数あった。判定結果への影響は見られなかったが、サンプルの状態を知ることが重要であり試薬キットに応じた至適濃度で使用することを推奨する。

2. 解析項目

以下の項目について解析を行った。

- 1) 陰性コントロールの蛍光値 (平均とばらつき)
- 2) 陽性コントロールビーズの蛍光値 (平均とばらつき)

3) ビーズカウント (平均とばらつき)

4) P/N 比 (Pmin/Nmax)

詳細は、学会公式サイトの第 25 回 QC ワークショップ報告集をご参照いただきたい。

3. 解析結果

1) 陰性コントロールの蛍光値 (平均とばらつき)

今回 WAKFlow を使用した 48 施設中、23 施設でカットオフ値を超える反応がみられた。その多くの施設が HLA-A 陽性コントロールプローブ A4°C5 の反応であり、プライマーダイマーによる非特異反応の可能性が推察された。しかし、複数のローカスでコンタミネーションが疑われる施設がみられた。陰性コントロールに陽性反応が認められた場合には、試験検査の妥当性・信頼性が疑われるため再検査の実施が望ましい。

2) 陽性コントロールビーズの蛍光値 (平均とばらつき)

蛍光値のばらつきによって %CV が高値を示した施設、蛍光値の低い施設が見られた。原因は、試験操作 (手技や手順) による影響が大きいと推察され、誤判定に繋がる危険性がある。判定の際には、陽性コントロールビーズの反応を確認し、低値あるいはアンバランスなどの反応性に問題がある場合には、再検査の実施を推奨する。

3) ビーズカウント (平均とばらつき)

ビーズカウント不足 (Sample Empty) の状態で判定されていた施設があった。試薬または装置に問題がある可能性があり、このような状態で試験を実施しても信憑性のある測定データとはいえず、正しい判定ができない。原因を調査・改善し、再発防止のために日常的に試薬・測定装置の適正な管理が必要である。また、特定できない場合は各メーカーに問い合わせることを推奨する。

4) P/N 比（陽性の最低値と陰性の最高値の比）

すべての施設で P/N 比 3.0 以上と概ね良好な結果であった。しかしながら、反応不良による誤判定をした施設、またカットオフ値を変更した施設の増加がみられた。P/N 比は、反応のメリハリが少なく、陽性と陰性の差が不明瞭な場合に低くなる。反応性を見極める指標のひとつであるため、判定の際には確認していただきたい。

4. まとめ

判定結果については多くの施設で良好であったが、誤判定やカットオフ値を変更した施設など、反応不良が疑われるまま判定した施設の増加が認められた。陽性コントロールのバランスや、蛍光値、P/N 比等の測定データをみることにより判定できるかではなく、正しく反応しているかを確認し判断する必要がある。

また、カットオフ値を変更する場合には、その根拠を明らかにし安易なカットオフ値変更は避けるべきであ

る。誤判定だけでなく、レアアレルや新規アレルを見落としてしまう可能性がある。反応が疑わしい場合には再検査を実施し、判定に迷う場合には無理に判定せず、他の検査法で確認することを考慮していただきたい。

陰性コントロールの陽性反応については、今後も課題になると思われる。陰性コントロールの意義は、コンタミネーションの有無を確認することができ、正しく試験操作を実施した裏付けになる。このような反応を無視することは誤判定に繋がる危険性があるため、原因の調査を行い、その原因に応じて対応・改善（使用器具や作業環境の清掃、試験操作手順の見直し等）し、再検査の実施を推奨する。

信頼性の高い結果を報告するためには、適正に管理された試薬・装置を使用し、正確で安定した手技の下で得られた検査データを、正しく判定できるよう心掛けることが必要である。

第25回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 DNA タイピング SBT 法—

高田慎之介¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所

1. 概要

1) 参加状況

全 77 施設中 Sanger 法での参加施設は昨年度同様 3 施設 (3.9%)、NGS 法での参加施設は 1 施設減の 4 施設 (5.2%) であった。

2) 試薬キット (判定ソフト) および検査対象領域

Sanger 法では SeCore (uTYPE7.3) が 2 施設, AlleleSEQR (Assign-SBTv4.7) が 1 施設であった。SeCore を用いた 2 施設の検査対象領域は, HLA-A では exons 2-4 または exons 1-5 を, -B では exons 1-4 または exons 1-5 を, -C では exons 2-6 または exons 1-7 をそれぞれ対象としており, -DRB1 では exons 2-3 を, -DQB1 では exons 2-3 を, -DPB1 では exons 2-4 を両施設ともに対象としていた。AlleleSEQR を用いた施設は HLA-A, -B, -C 共に exons 2-4 を, -DRB1, -DPB1 は exon 2 を, -DQB1 は exons 2-3 を対象としていた。

NGS 法では AllType NGS (TypeStream Visual) が 3 施設, ScisGo HLA (GeMS-UI) が 1 施設であった。AllType NGS を使用していた施設では A, B, C, DQA1, DPA1 については Full gene を対象としており, 他の DRB1/3/4/5, DQB1, DPB1 については exon 2 から 3' UTR までを対象としていた。ScisGo HLA を用いた施設では A, B, C が exons 1-7 を, DRB1/3/4/5, DQB1, DPB1 および DQA1 が exons 1-4 を, また DPA1 のみ exons 2-4 を対象としていた。

3) 参照配列

Sanger 法では 3 施設のうち 2 施設が最新の参照配列 (2021 年 6 月時点; IMGT version report 3.43.0) を用いていたが, AlleleSEQR を用いた 1 施設のみ IMGT version report 3.29.0 であった。これは AlleleSEQR のメーカーサ

ポートが終了しているためである。

NGS 法では AllType NGS を用いた 3 施設が IMGT version report 3.43.0 を使用していた。ScisGo HLA を用いた 1 施設は IMGT version report 3.39.0 を使用していたが, 2021 年 6 月当時の Sciscloud は 3.39.0 が最新版であった。AlleleSEQR を除き各施設とも, リリースされている最新の参照配列を用いていた。

2. 解析項目

以下の項目について解析を行った。

- 1) Quality Value (Trace Score) -Sanger 法と NGS 法
- 2) リードデプス -NGS 法
- 3) AllType Lot 間差 -NGS 法
- 4) カバー率・アレルバランス -NGS 法

詳細は, 学会公式サイト の第 25 回 QCWS 解析結果報告集をご参照頂きたい。

3. 結果と考察

1) Sanger 法における Quality Value (以下, QV) は, 大部分の sequence data で $QV \geq 20$ であることを認めたものの, 一部の sequence data (HLA-B exon1 forward primer および DRB1 exon2 forward primer) に $QV \leq 20$ を認めた。HLA-B exon1 forward primer に対する原因はシーケンスの読み始め (primer3' 末端から数十ベース) の分離不良によるもの, DRB1 exon2 forward primer に対する原因は反応物の精製が不十分であった可能性が考えられた。

NGS 法における各検体の QV は, Ion S5 を用いた 2 施設では $QV \geq 20$ の reads 割合が 88.4% 以上, miseq を用いた 2 施設では $QV \geq 30$ の reads 割合が 81.6% 以上であることを認めた。また Ion S5 を用いた 2 施設

設では、1 検体当たりの総リード数に最大 5.7 倍の差を認めたが、これは 1 run に対するサンプル数の違いによるものであった。

- 2) リードデプスは各施設全ての検体で Average read depth ≥ 250 を認めており、key Exon のベースコールは十分な coverage をもって判定できたと考える。また ScisGo 試薬では検体間の Average read depth のバラツキが軽微である一方、AllType 試薬では DRB1, DRB3/4/5 でバラツキが大きくなる特性が認められた。
- 3) AllType 試薬 Lot14 は Lot13 と比べ、一部のローカスに 1st PCR primer が追加されている。この primer の追加に伴う、検体間のリード数とローカスごとのリード数の割合の調査を行ったが、双方で同程度の値を示し Lot 間差を認めなかった。なお、Lot 間差の解析結果は今回配布された検体のみに有効である。

- 4) 各施設のすべての検体でカバー率は 98% 以上、アレールバランスは 0.3 以上を認める良好なデータであった。

4. まとめ

Sanger 法では全施設で適切な判定結果であった。QV が低値を示すシーケンスデータについては、再検査を行い信頼性の高いデータで型判定を行うことを推奨する。

NGS 法では全施設で良好なクオリティデータであり、適切な判定結果であった。また各施設共にサンプル間のデータ品質が均一であったことから、安定した手技の下でライブラリーが作製されたと推測する。AllType 試薬は、二次解析においてサンプル間における平均リードデプスがバラツキやすいことを認めた。このような状況の時ほど statistical data の確認を推奨する。

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —試料説明 抗体 QC—

高橋 大輔¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所

1. 使用した抗体 QC サンプルについて

参加施設に配布した抗体 QC サンプルは、日本組織適合性学会から日本赤十字社へ譲渡依頼に承諾して頂き保管されている抗血清を対象サンプルとした。

選定要件は、日本人に通常検出される抗体であること、一部の試料には HLA-C, -DP, -DQ 座に対する抗体、IgM 性抗体、HLA 以外の非特異的反応を示す場合がある抗血清を含むサンプルの中から選定した。また、今回は選択基準に過去の QCWS で使用履歴があるサンプルを含め、抗血清の特異性や在庫量などを考慮し担当者間で選定を行った。

2. 配布サンプル処理について

- 1) 血漿 50 mL にトロンビン 500 μ L 加えて転倒混和後、静置 (4°C/1 h)。
- 2) 竹串でフィブリン塊を取り除く。
- 3) 2) にトロンビン (1,000 U/mL) 250 μ L, 窒化ソーダ (10%) 500 μ L, フェノール・レッド (1%) 500 μ L を加えた。
- 4) 転倒混和後、静置した (4°C/Over night)。
- 5) 竹串でフィブリン塊を壊したのちに遠心した (2,000 g/5 min)。
- 6) フィルター (ミリポア : Millex-GV SLGV 033 RS PVDF 0.22 μ m) と 10 mL シリンジを使用して濾過後、

サンプルチューブに分注して発送した

3. 抗体 QC サンプル選定時のポイント

- 1) 抗体スクリーニングは、今年度は 4 サンプルとし、適正な操作に基づき正確に検査できること、検査結果から導かれる総合判定結果を正しく報告できることに重点をおいた。特に Q25S3 は過去に使用履歴があるサンプルを選定した。
- 2) 抗体特異性同定は、HLA Class I・Class II の判定がともに明確な特異性を示す 2 サンプルを選定した。
- 3) 仮想クロスマッチは、DNA-QC (Q25D1) と抗体 QC (Q25S1) をサンプルとして選定した。今年度はドナーのタイピング結果 (アレルレベル) を記入し、同定試薬におけるドナーアレルビーズの反応と考慮すべきアレルビーズの反応を記入し、最終的に細胞との反応予想を回答する形式とした。
- 4) 全血クロスマッチ (日本移植学会連携) は、日本移植学会から配布された ACD 液添加のヒト血液と抗体 QC (Q25S2) サンプルを選定し、特に配布されたヒト血液中の B 細胞に対する特異性を示す抗血清を選定した。

参加施設は、学会公式サイトに掲載した第 25 回 QCWS 解析報告集と全データを収納した ZIP ファイルを合わせて参照して頂きたい。

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —総合解析 抗体 QC—

高橋 大輔¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所

1. 参加状況

1) 参加施設の内訳

今年度の抗体 QC は、施設情報非公開であった 3 施設を除外して、病院・大学に属する施設 49 施設、血液センター 9 施設、検査センター・その他 8 施設であり、全体の 74% が病院・大学に属する施設であった。

部門別では、輸血関連部門 45 施設、臓器移植部門 44 施設、造血細胞移植部門 34 施設、その他 4 施設（すべての部門で重複あり）であった。また、総参加施設は昨年度と同じ 69 施設であったが、継続参加施設は 65 施設（94%）であり、多くの施設が継続的に参加している状況であった。

2) 抗体スクリーニングおよび抗体特異性同定試験の内訳

抗体スクリーニング（抗体有無）は、FlowPRA Screening 20 施設、LABScreen Mixed・Multi 31 施設、LABScreen PRA 8 施設、WAKFlow Screen 6 施設、WAKFlow MR 14 施設、LIFECODES LMX2 施設の参加であった（施設によって重複あり）。

抗体特異性同定は、LABScreen Single antigen（+Supplement・ExPlex）49 施設、WAKFlow 特異性同定 6 施設、LIFECODES LSA 1 施設の参加であった（施設によって重複あり）。

2. 評価基準

日本人の HLA 遺伝子頻度 0.1% 以上の HLA 抗原について各施設から提出された結果が共通になるような割合を基準値と定義し現段階では 0.67（2/3）とした。

基準値以上の構成比率を示す判定スコアを Consensus Result とし採点基準は、判定 Score が Consensus Result

と一致すれば 1 点、Consensus Result 「8」の場合に「4」であれば 0.5 点とした。抗体スクリーニングおよび抗体特異性同定評価は、それぞれ共に評価 A（評価点範囲 80-100）・評価 B（評価点範囲 40-80>）・評価 C（評価点範囲 0-40>）とした。

3. 参加施設の集計結果

1) 抗体スクリーニング（抗体有無）

全部門での抗体スクリーニング（抗体有無）結果の一致率は、Class I では概ね一致した結果であった（Q25S1: 98.6%, Q25S2 98.6%, Q25S3: 97.1%, Q25S4: 98.6%）。また、Class II では Q25S3 以外は概ね良好な結果であった（Q25S1: 98.5%, Q25S2 98.5%, Q25S3: 84.8%, Q25S4: 98.5%）。

2) 抗体特異性同定

全部門での抗原別による抗体特異性同定結果の一致率は、全体にほぼ良好であったと思われるが、一部の抗体で Consensus Result が保留（0.67 以下）であった。

Q25S1 において Consensus Result が保留であった抗原は、HLA Class I B39, B59, Cw15, HLA Class II DR14 であり、一致率はそれぞれ 65.4%, 57.7%, 61.5%, 57.1% であった。Q25S2 では、HLA Class I A11, B62, HLA Class II DR4 で一致率がそれぞれ、65.4%, 61.5%, 51.0% であった。また、同一 allele でもメーカー間で反応性が異なる場合があり、試薬の差が最終判定の差異に繋がるケースが散見された。さらに、クラス II（DQ）において、Q25S1 では多くの施設が DQB1 の反応性から特異性を DQ2+DQ4+DQ7+DQ8+DQ9 とした一方で、一部の施設では α 鎖を加味し、DQA1 抗体の存在が否定できないと判断し、スコアを 4 としていた。同様に、Q25S2 の DQ5+6 についても、DQA1 に対する抗体の存在が否定

できなかったため、スコアを 4 とした施設を認めた。

4. 評価結果

1) 抗体スクリーニング (抗体有無)

抗体スクリーニングは、69 施設中 68 施設で評価 A (98.5%)、評価 B が 1 施設 (1.5%) であった。

2) 抗体特異性同定

抗体特異性同定は、52 施設中すべての施設で評価 A であり、そのうち 5 施設が評価点 100 であった。

5. まとめ

抗体スクリーニングは、抗 HLA 抗体の有無を確認するための検査法であり、全施設が一致率 100% になるべき項目であろうと思われる。Q25S3 において、一致率が低かった要因は、LABScreen Mixed においてみられた弱い反応の解釈が施設間で異なっていたことが主な原因と考えられる。また、Q25S3 は、過去に使用したサンプルであったため、以前の結果と比較を行ったところ、クラス II は前回の結果においても一致率がやや低い傾向で

あった。前回の不一致の原因は、特異性同定試薬を用いて抗体の有無を判断していたことにより生じていたのに対して、今回はスクリーニング試薬での不一致と考えられ、その理由は異なっていると考えられた。今後は、スクリーニング試薬における差を是正していくために、再現性の確認や内部精度管理の強化といった方策を考えていく必要があると考える。

抗体特異性同定は、全体の一致率においてほぼ良好であったが、一部の抗体で Consensus Result が保留であった。一致率の低かった抗原は、その多くが蛍光強度 3,000 以下の弱い反応であり、また反応強度のばらつきも大きかったことから、各施設での判断の差が生じ易かったためと考えられる。また、抗体特異性解析において、クラス II の α 鎖の多型を考慮し判定すべきか否かは今後の課題と考える。

参加施設は、学会公式サイトに掲載した第 25 回 QCWS 解析報告集と全データを収納した ZIP ファイルと合わせて参照して頂きたい。

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 抗体検査 FCM (FlowPRA) 法—

藤田 龍司¹⁾

¹⁾ 東京女子医科大学 中央検査部 移植関連検査室

1. 参加状況

FlowPRA Screening の参加施設は Class I & II 両方ともに 20 施設であった。参加部門の内訳は、輸血関連が 7 施設、臓器移植関連が 18 施設、造血幹細胞関連が 8 施設であった。他方との併用状況は、特異性同定検査、FlowPRA Screening 検査、MPHA スクリーンを行う施設が 12 施設あった。併用の記載が無い施設が 8 施設あった。

2. 測定機器と試薬ロット

試薬 Lot は Class I が Lot18, Lot19, Class II が Lot21, Lot22 であった。使用機器は Beckman Coulter が 12 施設、Becton Dickinson and Company が 8 施設であった。二次抗体 Lot は Lot43 と Lot44 であった。陰性対照血清は Lot27, Lot28, Lot29, 自家調整試薬であった。陽性対照血清は Class I & II でメーカー純正、自家調整試薬（以前の QCWS 検体）などであった。使用する試薬等に関して期限が過ぎているものはなかった。

3. 解析方法

各施設の提出データからヒストグラムの波形、NC マーカー設定位置、%PRA、血清処理、試薬の種類を確認した。各施設の提出データを抽出し、QCWS プロトコルに遵守した再解析を FlowJo™ で行い、マーカー設定や %PRA の施設間差を確認した。

4. 解析結果

判定スコアは提出データと再解析データで一致率 100% であった。具体的判断基準はヒストグラムで判断している施設がほとんどであった。血清処理はほとんど

の施設が遠心と凍結融解を行い、追加で非特異反応吸着処理、EDTA 添加、DTT 添加、熱非働化を行っていた。

Class I %PRA に関して、提出データと再解析データを比較したところ、提出データの方が再解析データに比べて %PRA が上昇傾向にあった。2つ考えられることがある。一つ目は Negative Control マーカー設定位置にゆとりを持たせた場合と厳しく設定した場合で %PRA が変化すること。2つ目はマーカー設定位置を左にずらしているため %PRA 値が引き上げられていることが考えられた。

Class II %PRA は提出データと再解析データに相違はなかったが、陽性領域の設定マーカー範囲を変えている施設があった。

報告データの解析方法に QCWS プロトコル以外の方法が 3 パターン確認された。

- ① Negative Control のマーカー設定より左の位置にマーカーをずらしている 6 施設。
- ② Sample の反応に応じてマーカーの長さを調節している 1 施設。
- ③ Negative Control の山のピークが重なり合っているわけではない Sample にて 1 つ目の谷間にマーカーを設定している 2 施設であった。

5. まとめ

解析方法が QCWS プロトコルを含めると 4 パターン存在していたことが確認された。QCWS の %PRA 国内統一化を目指すためには、Control にメーカー純正品を使用したうえでマーカー設定位置を決める必要がある。メーカーを交えて施設間でディスカッションを行い、解析方法の統一化を図る必要があると示唆される。

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 抗体検査 ルミネックス (WAKFlow) 法—

栗田 絵美¹⁾

¹⁾ 広島大学病院 診療支援部 臨床検査部門 輸血・細胞療法グループ

1. 概要

抗体-QC 参加 69 施設中 WAKFlow 参加施設は 19 施設 (27.5%) であり、スクリーニング検査では WAKFlow Screen (SCR) 6 施設、MR Class I が 14 施設、MR Class II が 6 施設、特異性同定検査では WAKFlow 特異性同定 (HR) Class I, II がともに 6 施設であった。参加部門の内訳は、輸血関連 16 施設、臓器移植 7 施設、造血幹移植 12 施設、企業 1 施設であった (重複あり)。他法との併用状況は、SCR を単独で使用していた施設が 4 施設、SCR と他のスクリーニング試薬を併用している施設が 2 施設、MR 単独使用が 7 施設、MR と他のスクリーニング試薬との併用が 7 施設、HR 単独使用が 3 施設、HR と他の特異性同定試薬との併用が 3 施設であった。

2. 解析方法

検査状況シートより、測定条件 (血清前処理、試薬 Lot、二次抗体、陰性対照の有無、測定機器と精度管理、判定基準) の確認を行った。データファイルより、各コントロールビーズの施設間差や、SCR 及び MR では各ビーズの Median 値と Index 値、HR では各ビーズの Median 値と Calmed 値の施設間差を検証した。また判定結果について、SCR 及び MR では抗体の有無、HR では抗体特異性について解析を行った。

3. 解析結果

血清前処理について、WAKFlow 標準プロトコルで必須とされている遠心の実施率は 76.7% であり、SCR 及び HR で必須とされている検体処理液添加の実施率は 66.7% であった。また、血清処理試薬使用時に陰性対照

をおくことが必須であるが、全例実施されていた。試薬 Lot は、SCR 及び HR では全施設共通であり、MR については 2 種の Lot が使用されていた。二次抗体は、1 施設のみ他試薬の二次抗体が使用されており、それ以外の施設ではキット付属品が用いられていた。測定機器に Luminex を使用していた 18 施設の精度管理について、7 日以内に Calibration を実施していたのは 7 施設 (38.9%)、測定日に Control を実施していたのは 4 施設 (22.2%) であった。施設の判定基準について、ソフトのデフォルトカットオフ値で判定 7 施設、エピトープや交差反応等を考慮したカットオフ値変更を行い判定 7 施設、記載なし 5 施設であった。

1) SCR

バックグラウンドビーズ (BB-1, BB-2) は全ての施設で基準範囲内であったが、陽性コントロールビーズ (PB) は基準値以下の施設がみられた。当該施設は、BB 値も低いため Index 値は高値を示していたが、全体的に Median 値が低値であったことが誤判定に繋がったと思われる。今年度より検体使用量が増加し、前年度の BB の Median 値と比較して上昇傾向にあったが、デフォルトカットオフ値が「Median500<, Index1.5<」から「Median750<, Index2.0<」に変更されており、問題なく判定されていた。判定結果は、PB が基準値以下の施設において Q24S3 の Class I 抗体が陰性と判定されたことを除き、他の全施設の総合判定結果は一致していた。

2) MR Class I (MR I), MR Class II (MR II)

全施設がバックグラウンドビーズ (BB) の Median 値が 1000 未満、陽性コントロールビーズ (PB) の Median 値が 8000 以上であり基準範囲内であった。再検が推奨される BB の Median 値が 500 以上の施設が、MR I では 3 施設、MR II では 1 施設あり、そのうち 1 施設で血清

処理試薬を用いた再検査が実施されていた。試薬の Lot 間差と思われる Median 及び Index 値の差がみられるピーズが存在したが、結果への影響は認めなかった。カットオフ値は、MR I が 1.54 ~ 5.43, MR II が 1.26 ~ 4.47 と各施設やサンプルによりばらつきを認めた。また各ピーズの反応は、MR II に比べて MR I の方が施設間差が大きい傾向にあった。MR のキット付属の二次抗体は IgG+IgM だが、他試薬の IgG を使用した S25064 では Index 値が高値傾向であった。S25054 は、他施設と比較して陰性対照の Median 値が高くなっており、そのため Index 値が低値となっているピーズが散見された。BB, PB が基準範囲内であっても、反応に矛盾したピーズが存在する場合には、陰性対照の各ピーズの Median 値を確認することをお勧めする。総合判定結果は、MR I・MR II とともに全施設一致していた。

3) HR Class I (HR I), HR Class II (HR II)

バックグラウンドピーズ (BB), 陽性コントロールピーズ (PB) は全ての施設で基準範囲内であった。各施設の Calmed 値が 500 ~ 2500 となるようなピーズの反応では、判定結果に施設間差を認めたが、Calmed 値が 500 以下または 2500 以上の反応の場合は、判定結果が全て一致しており施設間差を認めなかった。抗原別判定一致率は、HR I の Q25S1 が 94.6%, Q25S2 が 98.4%, HR II の Q25S1 が 100%, Q25S2 が 96.4% であり、高い判定一致率であった。判定不一致がみられた class I 抗原は Q25S1 が A24, B7, B13, B48, B61, Cw9, Cw10, Cw14, Q25S2 が A1, B37, B75, Cw9, Cw10 であり、class II 抗原は Q25S1 が DQ2, DQ4, DQ7, DQ8, DQ9,

Q25S2 が DR7, DR53, DQ5, DQ6 であった。判定結果が異なった要因として、①カットオフ付近の弱い反応の場合、陰性または陽性の判定が分かれたため②アレルによる反応差があり、施設により判定の解釈に相違があったため③ HR のみの施設と他法と併用している施設とで判定結果の導き方に差異がみられたため④ DQ の α 鎖の反応性を加味した結果解釈に差異がみられたため、と考えられた。

4. まとめ

血清前処理について、標準プロトコル通りに実施されていない施設がみうけられた。再度標準プロトコルを確認して確実に実施頂き、検査状況シートへの記載も正確にお願いしたい。コントロールピーズが再検基準を満たしていない施設や、ピーズカウント不足 (Sample Empty) の状態で判定されていた施設が存在した。解析画面で必ずエラー表示を確認し、試薬や手順、環境などを点検して再検査を行うことが、正しい結果を得るために重要と考える。また、サンプル番号が未入力のまま測定されていた施設が存在したが、サンプル番号を正確に入力して測定しなければ解析不可となるため、十分な注意が必要である。

WAKFlow 実施施設の総合判定結果において、S25114 の Class I の Q25S3 は LowPB のため検査不成立であったこと、S25010 の Class II の Q25S3 は SCR の結果では一致していたが他法の結果を加味して不一致になったこと、を除くと全施設一致しており、良好な結果であった。

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 抗体検査 ルミネックス (LABScreen) 法—

成海 仁在¹⁾

¹⁾ 国立病院機構 宇多野病院 臨床検査科

1. 概要

抗体検査部門の参加施設 69 施設中 49 施設 (約 71%) が LABScreen を使用した。部門別では輸血関連が 26 施設, 臓器移植が 35 施設, 造血幹細胞移植は 27 施設, その他の部門での参加が 4 施設であった。(部門重複を含む)

使用試薬の内訳はスクリーニング試薬では LABScreen Mixed は 30 施設, LABScreen Multi が 1 施設, LABScreen PRA は 8 施設であり, LABScreen Mixed を使用した施設がやや増加した。特異性同定検査試薬では LABScreen Single Antigen が 49 施設 (Class I のみ実施が 3 施設), LABScreen Single Antigen Supplement は 22 施設であり, 両試薬ともに前回よりもやや増加した。

2. 解析結果

1) 内部精度管理

今回の QCWS 抗体部門解析においても各施設のキャリブレーション実施状況, コントロール測定状況を比較した。多くの施設がメーカー推奨基準を満たしていたが, 未実施もしくは基準外の施設も見られた。内部精度管理の実施は正確な検査結果に必要であるため, メーカー推奨基準に沿った運用を検討して欲しい。

2) その他の施設間差について

(1) 血清前処理方法

血清前処理方法は各施設により未処理も含め, 多種多様であったが, 各試薬の NC 値に大きな差異は見られなかった。QCWS 参考プロトコルでは凍結融解, 超遠心が基本的な処理としてあるため, ほとんどの施設が処理を実施していた。しかしながら, どちらか片方のみを実施した施設や未処理の施設があった。また一部未記入の

施設もあったため, 実施した処理について検査状況シートへの記入の徹底をお願いしたい。なお, 未実施の施設は QCWS 参考プロトコルの順守を合わせてお願いしたい。

(2) Luminex 測定装置の機器間差

Luminex 法で抗 HLA 抗体を測定する際に使用する装置には, Luminex100/200 と FLEXMAP 3D があるため, それらの機器間差について解析した。LABScreen Single Antigen nMFI ≥ 500 の範囲における nMFI 値では, 測定装置による機器間差は見られなかった。

3) LABScreen Mixed, Multi

(1) Negative control serum, 各検体の Negative control Beads, positive control Beads

陰性コントロール血清の NC 値, PC 値はメーカー推奨の再検基準を満たさない施設はなく, 良好な結果であったが, 各検体の Negative control Beads, positive control Beads の値は施設間差が大きかった。

(2) 各検体の測定結果

各サンプルの測定結果は各 NC 値, PC 値と同じように施設間差が大きかったが, 各施設基準の Cutoff 値 (NBG Ratio $\leq 1.5 \sim 9.1$) を使用した抗体有無一致率は Q25S1, Q25S2, Q25S4 で Class I, Class II ともに 100% であった。しかしながら, Q25S3 は Class I の抗体有無一致率が 100% であったが, Class II では 74% であった。Q25S3 の Class II の NBG Ratio は各施設設定付近であったことや NBG Ratio のバラつきが原因であることが推察される。この結果より, カットオフ値付近の NBG Ratio は再現性の確認が必要であることが考察された。

4) LABScreen PRA

(1) Negative control serum, 各検体の Negative control Beads, positive control Beads

陰性コントロール血清の NC 値, PC 値はメーカー推奨の再検基準を満たさない施設はなく, 良好な結果であったが, ビーズカウントエラーを含んだデータや NC 血清を使用せずに H₂O を使用した施設があった。各検体の Negative control Beads, positive control Beads の値は施設間差が大きかった。

(2) 各検体の測定結果

各サンプルの測定結果は各 NC 値, PC 値と同じように施設間差が大きかったが, 各施設基準の Cutoff 値 (nMFI \leq 500 ~ 1000) を使用した抗体有無一致率は Q25S1, Q25S2, Q25S3, Q25S4 で Class I, Class II とともに 100% であった

5) LABScreen Single Antigen, Supplement, Explex

(1) Negative control serum, 各検体の Negative control Beads, positive control Beads

陰性コントロール血清の NC 値, PC 値はメーカー推奨の再検基準を満たさない施設はなく, 良好な結果であったが, NC 血清を使用しなかった施設があった。各検体の Negative control Beads, positive control Beads の値は施設間差が大きかったが, メーカー推奨の再検基準を満たさない施設はなく, 良好な結果であった。

(2) 各検体の測定結果

各サンプルの抗体有無一致率は Q25S1, Q25S2 において Class I, Class II とともに 100% であった。Q25S2 の Class I において未提出データがあった。LABScreen Single Antigen の nMFI と CV% を解析した結果では, 多く

のビーズ (HLA 抗原) において nMFI が高値になるほど CV% は低値になっていく傾向を示したが, Class II では nMFI が高値であったとしても CV% が高値のままのビーズがあった。

3. まとめ

LABScreen は抗体 QC 参加 69 施設中 49 施設 (約 71%) が使用しており, 臨床にも数多く報告されている試薬である。試薬 Lot, 血清処理, 判定基準, カットオフ値の記載について検査シートへの記載がない施設や正しく入力されていない施設が多数認められた。各施設での入力確認や検査状況シートの改善が必要と思われる。ソフトウェアの判定による場合でも判定基準の入力は必要である。

解析結果では特異性同定検査試薬だけでなく, スクリーニング試薬においても各施設による様々なカットオフ値が見られた。カットオフ値付近のデータや nMFI で示される検査結果については各試薬の特性を十分に理解した上で取り扱うことが必要である。一部施設ではメーカー推奨再検基準を満たさないデータも含まれたが, 多くの施設が再検基準を満たす良好な測定データであった。

良好な測定データを得るためには, 各試薬, 測定装置の内部精度管理を実施することだけでなく, 試薬管理にも留意しなければならないと考える。各施設においては QCWS 参考プロトコルに沿った検査手技の確認とともに適切な検査状況シートへの記載の確認も合わせてお願いしたい。

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート — 検査方法別解析 抗体検査 ルミネックス法 (LIFECODES) —

万木紀美子¹⁾

¹⁾ 京都大学医学部附属病院 検査部

1. はじめに

今回の参加施設は 2 施設、内訳は LIFECODES Life Screen Deluxe (LMX) 抗体スクリーニング: 2 施設、LIFECODES LSA Single Antigen (LSA): 1 施設のみであった。結果解析が行えないため LMX について 2 施設の比較をおこなった。

2. 参加状況

今回 LIFECODES の参加施設の QCWS 参加部門は、①輸血関連・造血細胞・臓器移植の 3 部門に対応している施設と、②企業であった。

LIFECODES は洗浄方法に特徴があるが、推奨洗浄方法であるフィルタープレート+吸引ポンプを使用されていた。2 次抗体はキット付属の 2 次抗体 (IgG) を使用していた。

また、LMX、LSA 試薬には NC 血清と PC 血清が試薬中に含まれており検査毎に使用することが推奨されているが、いずれの施設も NC 血清、PC 血清の同時測定を実施していた。

3. LMX2 施設比較結果

2 施設いずれも NC 血清は適切な値で維持されていた。また、PC 血清の nMFI 値が比較的高い施設において QC サンプルの nMFI 値が高い傾向にあった。nMFI 値が高いプローブにおいてより nMFI 値の差が大きくなるが、同等の nMFI 値であっても QC サンプルによって nMFI 値の差が大きく異なった。具体的には Q25S1 はプローブによっては nMFI 値に 5,000 以上の差が認められたが、Q25S2、Q25S3 ではその差が小さくなり、Q25S4 については 2 施設の nMFI 値が同等の値であった。

4. まとめ

LMX 参加施設 2 施設、LSA1 施設であり、試薬ロットも異なっており施設間差を見る事はできなかった。LIFECODES は陽性コントロール試薬が添付されており、LMX の添付文書中に Observed Ranges というアッセイの妥当性評価の目安が示されている。他の検査法にも応用することにより日々の精度管理に役立つものと思われる。

第 25 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査方法別解析 抗体検査 仮想クロスマッチ—

宮城 徹¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

1. はじめに

仮想クロスマッチは、ドナーの HLA 型とレシピエントの HLA 抗体特異性同定検査（以下、同定検査）の結果から、細胞を用いたクロスマッチの結果を予測するものである。過去の当ワークショップにおいて、ドナーのアレルが同定検査試薬に含まれない場合や、同じ抗原型でもアレルによって反応性が異なる場合の回答について施設間で違いが見られたが、判定基準の違いに起因するものだけでなく、回答方法の解釈の違いによるものも混在していた。また、仮想クロスマッチの目的についての理解不足も見受けられた。

そのため、昨年より判定記入表が変更された。まずドナーのタイピング結果をアレルレベルで記入し、次いで同定試薬におけるドナーアレルピーズの反応、およびその他考慮すべきアレルピーズの反応などを記入し、最終的に細胞との反応予想を回答する形式とし、抗原型回答欄は廃止された。さらに、臓器移植・造血幹細胞移植・輸血において、重要となる抗原がそれぞれ異なることから、回答の前提となる分野を明示する欄が設けられた。これらの変更により総合判定の根拠がより明確に示されるようになった。しかし、ambiguity がある場合や連鎖不平衡を考慮して判定した場合、DQ や DP のように α 鎖にも多型がある場合の回答方法などに課題が残ったため、本年はさらに改良が加えられた。ドナーアレルピーズの回答欄は廃止され、反応予測の根拠としたアレルピーズを列挙する形式となった。連鎖不平衡による予想の回答欄も設けられた。また、参加施設からの要望を受け、任意項目として抗原型回答欄が復活した。

2. 解析方法

回答内容について施設間で比較し、不一致があった場合には同定検査の結果等からその原因を解析した。

3. 結果と考察

1) タイピング結果

HLA タイピング結果はほぼ一致していた。使用したタイピング試薬の種類により、ambiguity の有無に違いがあった。

2) ドナー細胞上の各抗原との反応予測

反応性の予測はおおむね一致していた。使用した試薬の感度および特異性やカットオフ設定の違いに起因すると考えられる相違はなかった。B および C 抗原において、ドナーアレルのピーズが陰性で、同じ抗原型の別アレルが陽性の場合に回答が分かれた。例えば、ドナー HLA 型 B*39:01（同定試薬で該当ピーズは陰性）に対し、30 施設が陰性と回答したのに対し、2 施設は B*39:02 および *39:13 のピーズが陽性だったことを根拠に陽性とした。また、ambiguity が存在する場合の対応でも回答が分かれ、例えば、タイピング結果が C*08:01/22 であった 22 施設のうち、19 施設が陰性としたのに対し、3 施設が C*08:22 ピーズが同定試薬に含まれないことを根拠に保留 / 判定不能とした（C*08:01 ピーズは陰性）。

3) ドナー細胞の反応予測（総合判定）

クラス I で不一致が見られた。全 32 施設のうち、26 施設が陰性としたのに対し、3 施設が陽性、3 施設が保留 / 判定不能とした。不一致の原因は、前項で述べた同抗原型別アレルピーズと同定試薬に含まれないアレルの扱い方の違いであった。クラス II は回答のあった全 29 施設で陽性であった。回答のなかった 3 施設は輸血分野であった。

4) 判定記入表の変更について

変更により、総合判定の根拠がより明確に示されるようになった。回答時および QCWS 集会において改善要望は出されていない。

4. 今後の課題

1) 同一抗原型の別アレルの扱い

ドナーのアレルが同定試薬に含まれない場合の対応、および同じ抗原型の別アレルで反応性が異なる場合の対応についてコンセンサスを形成していく必要がある。エピトープ解析が一助となると期待されるが、より簡便な解析ツールが必要である。

2) 判定基準と試薬

施設によって同定検査の判定基準が異なることや試薬

の違いによる結果の乖離については、仮想クロスマッチにおける課題として挙げられてきている。今回の検体では問題とならなかったが、引き続きデータの蓄積を通じて対応について検討する必要がある。

3) DP および DQ の判定

DP および DQ 抗原は α 鎖と β 鎖の両方に多型があり、細胞上ではそれぞれ最大 4 通りの組合せで存在していると考えられる。 α 鎖のタイピングを実施できる施設はまだ少数であるし、タイピングしたとしても同定試薬のビーズは全ての組合せを網羅していない。また、組合せによって安定性が異なるとの報告もあり、他抗原と比べて判定が難しい。今回の検体では、他抗原の反応が明確であったこともあり総合判定には影響しなかったが、今後検討すべき課題である。

第25回 HLA-QC ワークショップレポート —日本移植学会連携 全血クロスマッチ—

橋口 裕樹^{1,3)}, 佐藤 滋^{2,3)}

¹⁾ 福岡赤十字病院 移植センター 移植細胞研究課

²⁾ 秋田大学医学部附属病院 腎疾患先端医療センター

³⁾ 日本移植学会 移植関連検査委員会

1. 概要

日本組織適合性学会と日本移植学会が連携し、実施する全血クロスマッチ精度管理は今回で9回目となった。例年同様に全血サンプルとQCWSで使用する血清を用いてクロスマッチを実施する精度管理である。昨年より、ABO血液型抗体価の精度管理を追加したが、ここでは詳細については割愛する。

2. 経過

今回、47施設からの参加があり例年とほぼ同じ参加数であった。参加施設内訳は、臓器移植ネットワークの検査施設が25施設、移植関連病院が15施設、血液センター3施設、検査センター3施設、試薬メーカー1施設であった。日本移植学会で準備した全血は、日本組織適合性学会の血清配布後に東京より各施設に発送した。全血サンプル(ACD-A液)8mlは、翌日、翌々日には各施設に到着し細胞の生存率も概ね良好であった。8月下旬に集計結果を各施設にメールで配信、予定されていた学会大会(京都)はWEB開催に変更になり、ライブ配信での報告となった。同様に9月に開催された第57回日本移植学会総会(ハイブリット)でもライブ配信での報告を行った。今後は令和4年2月に開催予定の第55回日本臨床腎移植学会(東京)において報告予定である。

3. 試料選択および検査方法

ドナー候補(全血)は日本移植学会で準備し、日本人

に高頻度なHLAタイプを準備した。レシピエント(血清)は、Q25S2を選択し、抗体特異性内はA*02:01(18,581), A*02:06(18,308), DRB1*15:02(18,175), DRB5*01:02(9,245), DQB1*06:01(7,627)がドナー特異的抗体 Donor Specific Antibody ; DSA となる想定であった。()内の数値はnMFIを示す。検査方法は、FCXMが最も多く全体の7-8割の施設で実施され、CDCは4-5割程度、ICFAは3割であった。プロトコルに関しては、各施設での日常のプロトコルで実施して頂いた。各参加施設のプロトコルはアンケート調査を行いまとめたので参照して頂きたい。

4. 結果

CDCにおいては全施設において陽性で一致した結果であった。FCXMもほぼ全施設で陽性で一致した結果であった。ICFAにおいては、Class II, DR, DQにおいて一致率がやや低くindexにばらつきを認めた。

5. まとめ

今回、サンプル選定として強陽性になる組み合わせを準備し、多くの施設においては良好な結果であった。クロスマッチ検査は一度限りの検査であり、移植の可否に関わる重要な検査である。各施設において、内部精度管理に加え、外部精度管理に継続参加し精度維持に努めて頂きたい。

日本組織適合性学会 推定アレル一覧表（2022年版）について

日本組織適合性学会 HLA 標準化委員会※

日本組織適合性学会では、HLA タイピング結果の表記について「HLA タイピング結果のアレル表記法と結果報告の原則」（2017年度版）（2021年4月1日改訂2版）（以下、表記法）に基づいて行うこととしている。

表記法に使用する「推定アレル一覧表」は、毎年更新を行うこととしており2022年度版に更新したので、以下の一覧表を示す。

HLA class I 推定アレル一覧表（JSHI）2022年度版

HLA class II 推定アレル一覧表（JSHI）2022年度版

参考 URL：

- 1) HLA-A,B,C,DRB1 座：日本骨髄バンク（2022年2月掲載資料）
URL: https://www.bs.jrc.or.jp/bmdc/donorregistrant/m2_03_00_statistics.html
- 2) HLA-DRB345,DP,DQ 座：公益財団法人 HLA 研究所（2022年2月掲載資料）
URL: https://hla.or.jp/med/frequency_search/ja/allele/
- 3) HLA タイピング結果のアレル表記法と結果報告の原則（2017年版）（2021年4月1日改訂2版）
URL: <http://jshi.umin.ac.jp/standardization/file/JSHI-hyoki-2017-2.pdf>

※ HLA 標準化委員会 委員

田中 秀則¹⁾、黒田ゆかり²⁾、一戸 辰夫³⁾、吉川 枝里⁴⁾、木村 彰方⁵⁾、高 陽淑⁶⁾、椎名 隆⁷⁾、清水まり恵⁸⁾、杉本 達哉⁹⁾、中島 文明¹⁰⁾、成瀬 妙子¹¹⁾、橋口 裕樹¹²⁾、藤原 孝記¹³⁾、細道 一善¹⁴⁾、湯沢 賢治¹⁵⁾

¹⁾ 公益財団法人 HLA 研究所、²⁾ 日本赤十字社 九州ブロック血液センター、³⁾ 広島大学 原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科学研究分野、⁴⁾ 東海大学 医学部 血液腫瘍内科、⁵⁾ 東京医科歯科大学、⁶⁾ 日本赤十字社 近畿ブロック血液センター、⁷⁾ 東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学、⁸⁾ 日本赤十字社 中央血液研究所、⁹⁾ 東海大学医学部付属病院、¹⁰⁾ ジェノダイブファーマ株式会社、¹¹⁾ 長崎大学熱帯医学研究所原虫学分野、¹²⁾ 日本赤十字社 福岡赤十字病院、¹³⁾ 帝京大学 医学部付属病院 輸血部、¹⁴⁾ 東京薬科大学 生命科学部 ゲノム情報医科学研究室、¹⁵⁾ 国立病院機構水戸医療センター 臨床研究部 移植医療研究室

HLA classI 推定アレル一覧表 (JSHI) 2022年度版

HLA-A			
推定アレル	対象アレル	AF(%)	HLA型
A*01:01	A*01:01:01	0.441%	A1
A*02:01	A*02:01:01	11.219%	A2
A*02:03	A*02:03:01	0.056%	A203
A*02:05	A*02:05:01	0.003%	A2
A*02:06	A*02:06:01	9.437%	A2
A*02:07	A*02:07:01	3.243%	A2
A*02:10		0.427%	A210
A*02:11	A*02:11:01	0.001%	A2
A*02:15N		0.008%	Null
A*02:18		0.060%	A2
A*02:28		0.002%	A2
A*02:42	A*02:42:01	0.002%	A2
A*02:53N		0.008%	Null
A*02:59		0.001%	A2
A*02:72		0.001%	A2
A*03:01	A*03:01:01	0.434%	A3
A*03:02	A*03:02:01	0.083%	A3
A*11:01	A*11:01:01	8.906%	A11
A*11:01	A*11:01:05		A11
A*11:02	A*11:02:01	0.163%	A11
A*11:13		0.001%	A11
A*23:01	A*23:01:01	0.004%	A23
A*24:02	A*24:02:01	36.268%	A24
A*24:03	A*24:03:01	0.001%	A2403
A*24:04		0.019%	A24
A*24:05	A*24:05:01	0.001%	A24
A*24:07	A*24:07:01	0.012%	A24
A*24:08		0.026%	A24
A*24:10	A*24:10:01	0.002%	A2403
A*24:20	A*24:20:01	0.768%	A24
A*24:25		0.007%	A24
A*24:28		0.001%	A24
A*24:46		0.006%	A24
A*25:01	A*25:01:01	0.001%	A25
A*26:01	A*26:01:01	7.602%	A26
A*26:02	A*26:02:01	1.861%	A26
A*26:03	A*26:03:01	2.507%	A26
A*26:04		0.001%	A26
A*26:05		0.064%	A26
A*26:06		0.014%	A26
A*29:01	A*29:01:01	0.016%	A29
A*29:02	A*29:02:01	0.003%	A29
A*30:01	A*30:01:01	0.178%	A30
A*30:02	A*30:02:01	0.002%	A30
A*30:04	A*30:04:01	0.013%	A30
A*31:01	A*31:01:02	8.639%	A31
A*31:11	A*31:11:01	0.003%	A31
A*32:01	A*32:01:01	0.030%	A32
A*33:01	A*33:01:01	0.002%	A33
A*33:03	A*33:03:01	7.388%	A33
A*33:08		0.001%	A33
A*34:01	A*34:01:01	0.009%	A34
A*68:01	A*68:01:02	0.017%	A68

N=618,644(A*02:15Nは407,341)

HLA-B			
推定アレル	対象アレル	AF(%)	HLA型
B*07:02	B*07:02:01	5.466%	B7
B*07:05	B*07:05:01	0.017%	B7
B*08:01	B*08:01:01	0.017%	B8
B*13:01	B*13:01:01	1.182%	B13
B*13:02	B*13:02:01	0.275%	B13
B*14:01	B*14:01:01	0.013%	B64
B*14:02	B*14:02:01	0.005%	B65
B*15:01	B*15:01:01	7.923%	B62
B*15:02	B*15:02:01	0.045%	B75
B*15:03	B*15:03:01	0.001%	B72
B*15:05	B*15:05:01	0.002%	B62
B*15:07	B*15:07:01	0.621%	B62
B*15:11	B*15:11:01	0.946%	B75
B*15:12	B*15:12:01	0.001%	B76
B*15:13	B*15:13:01	0.002%	B77
B*15:17	B*15:17:01	0.002%	B63
B*15:18	B*15:18:01	1.567%	B71
B*15:21	B*15:21:01	0.003%	B75
B*15:25	B*15:25:01	0.008%	B62
B*15:26N		0.004%	Null
B*15:27	B*15:27:01	0.106%	B62
B*15:28		0.028%	B62
B*15:35		0.005%	B62
B*15:38	B*15:38:01	0.009%	B15
B*15:46		0.001%	B72
B*18:01	B*18:01:01	0.008%	B18
B*18:02	B*18:02:01	0.001%	B18
B*27:04	B*27:04:01	0.205%	B27
B*27:05	B*27:05:02	0.066%	B27
B*27:06	B*27:06:01	0.002%	B27
B*27:11		0.001%	B27
B*35:01	B*35:01:01	8.378%	B35
B*35:02	B*35:02:01	0.002%	B35
B*35:03	B*35:03:01	0.009%	B35
B*35:05	B*35:05:01	0.011%	B35
B*35:08	B*35:08:01	0.003%	B35
B*35:11	B*35:11:01	0.001%	B35
B*35:51	B*35:51:01	0.001%	B35
B*35:64	B*35:64:01	0.002%	B35
B*37:01	B*37:01:01	0.517%	B37
B*38:01	B*38:01:01	0.007%	B38
B*38:02	B*38:02:01	0.264%	B38
B*39:01	B*39:01:01	3.393%	B3901
B*39:01	B*39:01:03		
B*39:02	B*39:02:01	0.305%	B3902
B*39:02	B*39:02:02		
B*39:04		0.228%	B39
B*39:05	B*39:05:01	0.001%	B39
B*39:23		0.030%	B39
B*40:01	B*40:01:02(注)	5.555%	B60
B*40:02	B*40:02:01	7.808%	B61
B*40:03	B*40:03:01	0.441%	B61
B*40:06	B*40:06:01	4.804%	B61
B*40:07		0.007%	B60
B*40:11	B*40:11:01	0.001%	B61
B*40:50	B*40:50:01	0.012%	B61
B*40:52		0.001%	B60
B*41:01	B*41:01:01	0.001%	B41
B*44:02	B*44:02:01	0.418%	B44
B*44:03	B*44:03:01	6.659%	B44
B*44:03	B*44:03:02		
B*45:01	B*45:01:01	0.001%	B45
B*46:01	B*46:01:01	4.505%	B46
B*48:01	B*48:01:01	2.891%	B48
B*48:03	B*48:03:01	0.001%	B48
B*49:01	B*49:01:01	0.003%	B49
B*50:01	B*50:01:01	0.005%	B50
B*51:01	B*51:01:01	8.742%	B51
B*51:02	B*51:02:01	0.224%	B5102
B*51:03		0.007%	B5103
B*51:06	B*51:06:01	0.001%	B51
B*52:01	B*52:01:01	11.019%	B52
B*53:01	B*53:01:01	0.001%	B53
B*54:01	B*54:01:01	7.578%	B54
B*54:21		0.001%	B54
B*55:01	B*55:01:01	0.003%	B55
B*55:02	B*55:02:01	2.472%	B55
B*55:04		0.150%	B55
B*55:10		0.002%	B55
B*55:12		0.002%	B55
B*56:01	B*56:01:01	0.914%	B56
B*56:03		0.185%	B56
B*56:04	B*56:04:01	0.001%	B56
B*56:05	B*56:05:01	0.002%	B56
B*57:01	B*57:01:01	0.013%	B57
B*58:01	B*58:01:01	0.666%	B58
B*59:01	B*59:01:01	2.012%	B59
B*67:01	B*67:01:01	1.132%	B67
B*67:01	B*67:01:02		

N=618,644

(注)日本列島人におけるB*40:01のほぼ全例がB*40:01:02と判明しているため

HLA-C			
推定アレル	対象アレル	AF(%)	HLA型
C*01:02	C*01:02:01	17.233%	Cw1
C*01:03	C*01:03:01	0.342%	Cw1
C*01:55		0.003%	Cw1
C*02:02	C*02:02:02	0.037%	Cw2
C*03:02	C*03:02:01	0.676%	Cw10
C*03:03	C*03:03:01	13.780%	Cw9
C*03:04	C*03:04:01	12.191%	Cw10
C*03:04	C*03:04:04		
C*03:23N		0.020%	Null
C*03:28		0.001%	Cw10
C*03:29		0.002%	Cw3
C*03:43	C*03:43:01	0.003%	Cw3
C*04:01	C*04:01:01	4.317%	Cw4
C*04:03	C*04:03:01	0.016%	Cw4
C*05:01	C*05:01:01	0.410%	Cw5
C*06:02	C*06:02:01	0.820%	Cw6
C*07:01	C*07:01:01	0.065%	Cw7
C*07:02	C*07:02:01	12.703%	Cw7
C*07:02N	C*07:02:01:17N	0.001%	Null
C*07:04	C*07:04:01	0.979%	Cw7
C*08:01	C*08:01:01	7.377%	Cw8
C*08:02	C*08:02:01	0.018%	Cw8
C*08:03	C*08:03:01	1.450%	Cw8
C*08:39		0.001%	Cw8
C*12:02	C*12:02:02	10.999%	Cw12
C*12:03	C*12:03:01	0.087%	Cw12
C*12:04	C*12:04:01	0.001%	Cw12
C*14:02	C*14:02:01	6.852%	Cw14
C*14:03	C*14:03:01	6.494%	Cw14
C*15:02	C*15:02:01	3.062%	Cw15
C*15:05	C*15:05:01	0.016%	Cw15
C*15:10	C*15:10:02	0.005%	Cw15
C*16:01	C*16:01:01	0.004%	Cw16
C*16:02	C*16:02:01	0.001%	Cw16
C*17:01	C*17:01:01	0.002%	Cw17

N=443,120

HLA classII 推定アレル一覧表 (JSHI) 2022年度版

HLA-DRB1			
推定アレル	対象アレル	AF(%)	HLA型
DRB1*01:01	DRB1*01:01:01	5.654%	DR1
DRB1*01:02	DRB1*01:02:01	0.004%	DR1
DRB1*01:03	DRB1*01:03:01	0.001%	DR103
DRB1*03:01	DRB1*03:01:01	0.136%	DR17
DRB1*04:01	DRB1*04:01:01	1.034%	DR4
DRB1*04:02	DRB1*04:02:01	0.001%	DR4
DRB1*04:03	DRB1*04:03:01	3.126%	DR4
DRB1*04:04	DRB1*04:04:01	0.199%	DR4
DRB1*04:05	DRB1*04:05:01	13.406%	DR4
DRB1*04:06	DRB1*04:06:01	3.283%	DR4
DRB1*04:07	DRB1*04:07:01	0.506%	DR4
DRB1*04:08	DRB1*04:08:01	0.002%	DR4
DRB1*04:09		0.002%	DR4
DRB1*04:10	DRB1*04:10:01 DRB1*04:10:03	2.116%	DR4
DRB1*04:11	DRB1*04:11:01	0.001%	DR4
DRB1*07:01	DRB1*07:01:01	0.355%	DR7
DRB1*08:01	DRB1*08:01:01	0.004%	DR8
DRB1*08:02	DRB1*08:02:01	4.290%	DR8
DRB1*08:03	DRB1*08:03:02	7.925%	DR8
DRB1*08:09	DRB1*08:09:01	0.044%	DR8
DRB1*08:23		0.003%	DR8
DRB1*09:01	DRB1*09:01:02	14.600%	DR9
DRB1*10:01	DRB1*10:01:01	0.478%	DR10
DRB1*11:01	DRB1*11:01:01	2.491%	DR11
DRB1*11:04	DRB1*11:04:01	0.006%	DR11
DRB1*11:06	DRB1*11:06:01	0.002%	DR11
DRB1*11:08	DRB1*11:08:01	0.001%	DR11
DRB1*11:19	DRB1*11:19:01	0.002%	DR11
DRB1*11:23	DRB1*11:23:01	0.001%	DR11
DRB1*12:01	DRB1*12:01:01	3.678%	DR12
DRB1*12:02	DRB1*12:02:01	1.692%	DR12
DRB1*12:05		0.004%	DR12
DRB1*13:01	DRB1*13:01:01	0.587%	DR13
DRB1*13:02	DRB1*13:02:01	6.335%	DR13
DRB1*13:03	DRB1*13:03:01	0.001%	DR13
DRB1*13:07	DRB1*13:07:01	0.021%	DR13
DRB1*13:12	DRB1*13:12:01	0.003%	DR13
DRB1*14:02	DRB1*14:02:01	0.028%	DR14
DRB1*14:03	DRB1*14:03:01	1.628%	DR1403
DRB1*14:04	DRB1*14:04:01	0.005%	DR1404
DRB1*14:05	DRB1*14:05:01	2.141%	DR14
DRB1*14:06	DRB1*14:06:01	1.542%	DR14
DRB1*14:07	DRB1*14:07:01	0.106%	DR14
DRB1*14:12	DRB1*14:12:01	0.029%	DR14
DRB1*14:29		0.015%	DR14
DRB1*14:45		0.001%	DR14
DRB1*14:54	DRB1*14:54:01	3.491%	DR14
DRB1*15:01	DRB1*15:01:01	7.883%	DR15
DRB1*15:02	DRB1*15:02:01	10.274%	DR15
DRB1*15:04		0.001%	DR15
DRB1*16:01	DRB1*16:01:01	0.001%	DR16
DRB1*16:02	DRB1*16:02:01	0.817%	DR16

N=618,644

DRB345			
推定アレル	対象アレル	AF(%)	HLA型
DRB3*01:01	DRB3*01:01:02 DRB3*01:01:05	4.59%	DR52
DRB3*02:02	DRB3*02:02:01 DRB3*02:02:04	10.54%	DR52
DRB3*03:01	DRB3*03:01:01 DRB3*03:01:03	8.38%	DR52
DRB4*01:01	DRB4*01:01:01	0.41%	DR53
DRB4*01:02		1.08%	DR53
DRB4*01:03	DRB4*01:03:01 DRB4*01:03:02	35.41%	DR53
DRB5*01:01	DRB5*01:01:01	9.19%	DR51
DRB5*01:02	DRB5*01:02:01	7.70%	DR51
DRB5*02:02	DRB5*02:02:01	0.54%	DR51

N=370

HLA-DQB1			
推定アレル	対象アレル	AF(%)	HLA型
DQB1*02:01	DQB1*02:01:01	0.13%	DQ2
DQB1*02:02	DQB1*02:02:01	0.37%	DQ2
DQB1*03:01	DQB1*03:01:01	11.43%	DQ7
DQB1*03:02	DQB1*03:02:01	9.59%	DQ8
DQB1*03:03	DQB1*03:03:02	15.54%	DQ9
DQB1*04:01	DQB1*04:01:01	12.90%	DQ4
DQB1*04:02	DQB1*04:02:01	4.21%	DQ4
DQB1*05:01	DQB1*05:01:01	6.58%	DQ5
DQB1*05:02	DQB1*05:02:01	2.64%	DQ5
DQB1*05:03	DQB1*05:03:01	3.94%	DQ5
DQB1*06:01	DQB1*06:01:01	19.08%	DQ6
DQB1*06:02	DQB1*06:02:01	7.15%	DQ6
DQB1*06:03	DQB1*06:03:01	0.60%	DQ6
DQB1*06:04	DQB1*06:04:01	5.18%	DQ6
DQB1*06:09	DQB1*06:09:01	0.57%	DQ6

N=1,483

HLA-DPB1			
推定アレル	対象アレル	AF(%)	HLA型
DPB1*02:01	DPB1*02:01:02 DPB1*02:01:12	24.11%	DPw2
DPB1*02:02	DPB1*02:02:01	3.41%	DPw2
DPB1*03:01	DPB1*03:01:01	3.98%	DPw3
DPB1*04:01	DPB1*04:01:01	5.06%	DPw4
DPB1*04:02	DPB1*04:02:01	9.78%	DPw4
DPB1*05:01	DPB1*05:01:01	38.40%	DPw5
DPB1*06:01	DPB1*06:01:01	0.57%	DPw6
DPB1*09:01	DPB1*09:01:01	9.95%	DPw9
DPB1*13:01	DPB1*13:01:01	1.96%	DPw13
DPB1*14:01	DPB1*14:01:01	1.48%	DPw14
DPB1*17:01	DPB1*17:01:01	0.14%	DPw17
DPB1*19:01	DPB1*19:01:01	0.74%	DPw19
DPB1*36:01		0.14%	DPw36
DPB1*38:01		0.07%	DPw38
DPB1*41:01	DPB1*41:01:01	0.10%	DPw41

N=1,483

HLA-DQA1		
推定アレル	対象アレル	AF(%)
DQA1*01:01	DQA1*01:01:01	6.61%
DQA1*01:02	DQA1*01:02:01 DQA1*01:02:02	13.41%
DQA1*01:03	DQA1*01:03:01	19.17%
DQA1*01:04	DQA1*01:04:01	4.69%
DQA1*01:05	DQA1*01:05:01	0.55%
DQA1*02:01	DQA1*02:01:01	0.36%
DQA1*03:01	DQA1*03:01:01	11.07%
DQA1*03:02	DQA1*03:02:01	14.42%
DQA1*03:03	DQA1*03:03:01	16.50%
DQA1*04:01	DQA1*04:01:01	2.83%
DQA1*05:01	DQA1*05:01:01	0.07%
DQA1*05:03	DQA1*05:03:01	2.77%
DQA1*05:05	DQA1*05:05:01	4.43%
DQA1*05:06	DQA1*05:06:01	0.33%
DQA1*05:08		0.78%
DQA1*06:01	DQA1*06:01:01	2.02%

N=1,536

HLA-DPA1		
推定アレル	対象アレル	AF(%)
DPA1*01:03	DPA1*01:03:01	40.30%
DPA1*02:01	DPA1*02:01:01 DPA1*02:01:02	16.02%
DPA1*02:02	DPA1*02:02:02	43.52%
DPA1*04:01	DPA1*04:01:01	0.13%

N=1,536

免疫原性血栓性血小板減少性紫斑病と HLA

酒井 和哉¹⁾, 桑名 正隆²⁾, 田中 秀則³⁾, 細道 一善⁴⁾, 宮寺 浩子⁵⁾, 松本 雅則¹⁾

¹⁾ 奈良県立医科大学輸血部

²⁾ 日本医科大学リウマチ・膠原病内科

³⁾ HLA 研究所

⁴⁾ 金沢大学医薬保健研究域医学系革新ゲノム情報学分野

⁵⁾ 筑波大学遺伝医学

免疫原性血栓性血小板減少性紫斑病 (immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura: iTTP) は, von Willebrand 因子切断酵素である ADAMTS13 に対する自己抗体産生によって発症する極めて稀な血栓症である。2010 年代前半に, ヨーロッパ系集団において *DRB1*11* が iTTP の疾患感受性 HLA の 1 つであることが報告され, その後アレル拘束性 T 細胞エピトープ (ADAMTS13 ペプチド) の探索が進められた。一方, 我々はヨーロッパ系集団と遺伝的背景が異なる日本人集団において *DRB1*08:03* が iTTP の疾患感受性 HLA であることを同定した。更にヨーロッパ系および日本人集団における iTTP 疾患感受性 HLA 分子について, in vitro 実験系である MHC density assay を用いてアレル拘束性 T 細胞エピトープ候補領域を探索した。

キーワード : 免疫原性血栓性血小板減少性紫斑病, ADAMTS13, 自己免疫性疾患, 疾患感受性 HLA アレル, アレル拘束性 T 細胞エピトープ

英 略 語 : ADAMTS13: A disintegrin and metalloproteinase with a thrombospondin type 1 motif, member 13; CD: Cluster of differentiation; CUB: Complement C1r/C1s, six sea urchin epidermal growth factor, and bone morphogenetic protein domain; GM-CSF: Granulocyte macrophage colony-stimulating factor; GP1b: Glycoprotein 1b; HLA: Human leukocyte antigen; IL-4: interleukin-4; iTTP: Immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura; PBMC: Peripheral blood mononuclear cell; Pc: Corrected P value; PCR: Polymerase chain reaction; RFLP: Restriction fragment length polymorphism; SSO: Sequence specific oligonucleotide; SSOP: Sequence specific oligonucleotide probes; SSP: Sequence specific primer; TMA: Thrombotic microangiopathy; TTP: Thrombotic thrombocytopenic purpura; ULVWFM: Ultra-large von Willebrand factor multimer, VWF: von Willebrand factor.

はじめに

血栓性血小板減少性紫斑病 (thrombotic thrombocytopenic purpura: TTP) は指定難病でもある極めて稀な致死性の血栓症である。TTP 患者では von Willebrand 因子 (von Willebrand factor: VWF) 切断酵素である ADAMTS13 が

著減することで, 微小血管内に病的な血小板血栓が多発し, 全身性の虚血性臓器障害を来す。免疫原性 TTP (immune-mediated TTP: iTTP) は ADAMTS13 に対する自己抗体産生がトリガーとなって発症する自己免疫性疾患である。多くの自己免疫性疾患において特定の HLA アレルが, 疾患発症の独立したリスク因子 (疾患感受性

受付日: 2021 年 10 月 19 日, 受理日: 2022 年 2 月 17 日

代表者連絡先: 酒井 和哉 〒634-8522 奈良県橿原市四条町 840 奈良県立医科大学輸血部
TEL: 0744-22-3051 (内線 3288) FAX: 0744-29-0771 E-mail: ks13122@narmed-u.ac.jp

HLA) として同定されている。iTTP においても 2010 年代前半にヨーロッパ系集団 iTTP 患者を対象とした疾患感受性 TTP の同定が進み、更には *in vitro* での基礎研究が進行中である。その一方で、遺伝的背景が大きく異なる日本人 iTTP 患者における HLA 解析は未実施であった。我々は日本人 iTTP 患者を対象とした HLA タイピングを行い、ヨーロッパ系集団とは異なる疾患感受性 HLA の同定に成功し、さらにアレル拘束性 T 細胞性エピトープの *in silico* 予測および *in vitro* 実験系による探索を行った。本稿ではヨーロッパ系集団および日本人 iTTP 患者における疾患感受性 HLA 解析および、アレル拘束性 T 細胞エピトープの探索研究について概説する。

TTP の病態

我々が、ふと階段でつまずき、膝を擦りむき血が滲んできたとする。大抵の場合、数分もすれば勝手に止血し、数日すれば「かさぶた」ができてくるであろう。この生理現象は血中の止血因子である VWF が重要な働きを担っており、先天的に VWF の質的量的異常をきたす von Willebrand 病では損傷部位の出血の止血困難が知られている¹⁾。VWF はマルチドメイン構造を有するサブユニットが多量体を形成しており、血小板 GP1b (A1 ドメイン)、第 VIII 因子 (D' ドメイン)、コラーゲン (A1・A3 ドメイン) と結合することができる²⁾。VWF は血管損傷部位において露出したコラーゲンと結合し、さらに循環中の血小板を巻き込むことで止血血栓を形成し、生理的な止血反応に貢献する。健常人では VWF による過剰な血栓形成を防ぐために、特異的切断酵素である ADAMTS13 が VWF サブユニットの重合度 (= 血栓形成能) を調整し、適切な血栓形成能を維持している。しかしながら、先天的な遺伝子異常³⁾ および後天的な自己抗体産生^{4,5)} によって ADAMTS13 活性が著減すると、たちまち重合度の高い超高分子 VWF マルチマーが血中に残存し、微小血管内に病的血栓が形成される⁶⁻⁸⁾ (図 1)。これが TTP の病態であり、その 9 割以上を後天性の iTTP が占める。標準的な iTTP の治療として、新鮮凍結血漿を用いた血漿交換⁹⁾ およびステロイドによる免疫抑制療法が実施される。近年では再発難治症例に対して抗 CD20 モノクローナル抗体である rituximab が用いられるようになった¹⁰⁾。

自己免疫性疾患における疾患感受性 HLA

自己免疫性疾患には様々な発症のリスク因子が存在しており、性別、妊娠、感染症など多岐に渡る。特定の HLA (疾患感受性 HLA) の保有は独立した自己免疫性疾患の発症リスク因子として非常に重要であり、疾患感受性 HLA を有しない集団と比較した場合に数倍以上に発症しやすいことが知られている。疾患感受性 HLA の同定については極めて稀な疾患の場合には統計学的有意差を示すために必要なサンプルサイズを確保することが困難であるケースがほとんどである。実際に iTTP は罹患率が年間 100 万人あたり 4 人程度の極めて稀な致死性血栓症であり、診断に至らずに致死的な転帰を迎える症例を加味すると、単一施設において 50 例以上の iTTP 患者の HLA タイピングを実施することは現実的ではない。後述するように iTTP の HLA 研究は各国の iTTP 症例を集積する専門施設 (iTTP reference center) においてのみ実施されてきた。

ヨーロッパ系集団における iTTP 疾患感受性 HLA の解析研究

2010 年頃にヨーロッパ系集団における iTTP 患者と健常人とのアレル頻度を比較した研究結果が 3 施設より報告された (表 1)。イギリスの Scully らは 50 人のヨーロッパ系集団の iTTP 患者を対象に PCR-SSP/SSOP 法を用いた *HLA-DRB1*, *-DQB1* 座のタイピング結果より、*DRB1*11* および *HLA-DRB3*, *DQB1*03:01* のアレル頻度が健常人に比して有意に高いことを示した¹¹⁾ (それぞれ 44% vs. 12% [Pc=0.0024], 84% vs. 58% [Pc=0.024], 58% vs. 34.5% [Pc=0.048])。一方、*DRB1*04* および *HLA-DRB4* の頻度は健常人よりも有意に低く、これらの HLA が iTTP 発症に防御的に働く想定された (10% vs. 35% [Pc=0.0096], 26% vs. 61.5% [Pc=0.0024])

Coppo らは French TMA コホートに登録されかつ単核細胞が利用可能であった 61 人のヨーロッパ系集団 iTTP 患者を対象に PCR-rSSO/SSP/RFLP 法を用いて *HLA-A*, *-B* および *HLA-DRB1*, *-DQB1* の 4 座についてアレル頻度を健常人と比較し、同じく *DRB1*11* の頻度が高いことを報告した¹²⁾ (62% vs. 23% [Pc<10⁻⁷])。また *DRB1*04* は iTTP においてアレル頻度が低かった (10% vs. 28% [Pc=0.05])。

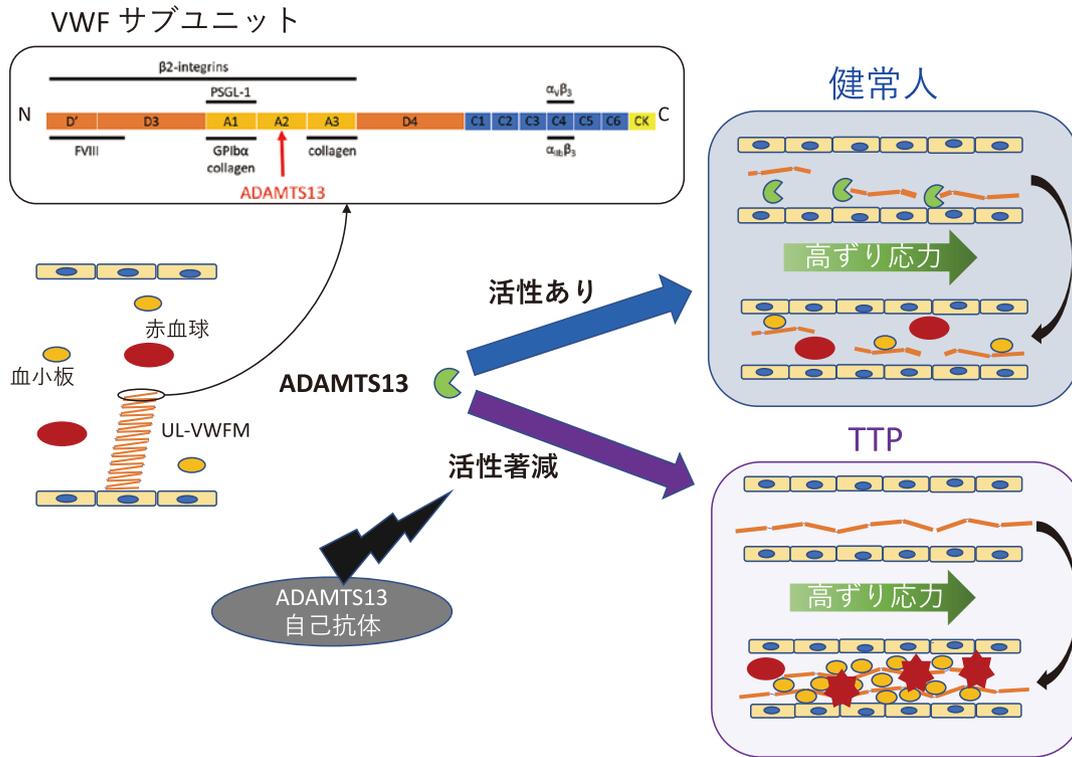


図1 TTPの病態 (筆者作成)

VWFはマルチドメイン構造を有するサブユニットをもち、複数のサブユニットがN末端同士、C末端同士でジスルフィド結合によって折りたたまれている (ultra-large VWF multimer: UL-VWFM)。血管内皮から放出されたばかりの UL-VWFM は、折りたたまれたまま大血管から末梢の最小血管まで循環する。血管径が細くなるにつれて、UL-VWFM が受けるずり応力 (shear stress) が増大し、次第に各ドメインが露出した伸展構造へと変化する。ADAMTS13 活性が正常であれば、適切な分子量に UL-VWFM を切断するため、過剰な血小板血栓は形成されない。しかし、ADAMTS13 自己抗体による ADAMTS13 活性著減があれば、伸展した UL-VWFM が残存し、循環中の血小板と反応して過剰な血小板血栓を形成する。その結果、血小板数は消耗性に低下し、血管内腔の狭小化により赤血球の破壊が生じる。

表1 ヨーロッパ系集団における iTTP 疾患感受性 HLA の解析研究

	Scully M et al. ¹¹⁾	Coppo P et al. ¹²⁾	John ML et al. ¹³⁾
症例数	50人	61人	54人
対照群 (健康人)	200人	172人	骨髄バンクデータ
HLA解析方法	PCR-SSP PCR-SSOP	PCR-rSSO PCR-SSP/RFLP PCR-SSP PCR-RFLP	PCR-SSP PCR-SSO
対象HLA	<i>HLA-DRB, -DQB1</i>	<i>HLA-A, -B, -DRB, -DQB1</i>	<i>HLA-DRB1, -DQB1</i>
疾患感受性HLA	<i>DRB1*11</i> (44% vs 12%) <i>HLA-DRB3</i> (84% vs 58%) <i>DQB1*03:01</i> (58% vs 34.5%)	<i>DRB1*11</i> (62% vs 23%)	<i>DQB1*02:02</i> (20% vs 1.2%) <i>DRB1*11</i> (48.1% vs 23.5%)
疾患抵抗性HLA	<i>DRB1*04</i> (10% vs 35%) <i>HLA-DRB4</i> (26% vs 61.5%)	<i>DRB1*04</i> (10% vs 28%)	<i>DRB1*04</i> (7.4% vs 24.6%)

3つの異なる研究グループより、ヨーロッパ系集団の iTTP において *DRB1*11* が疾患感受性 HLA、*DRB1*04* が疾患抵抗性 HLA と同定された。

John らはドイツ人の iTTP 患者 54 名を対象に PCR-SSP/SSO 法による *HLA-DRB1*, *-DQB1* 座のタイピングを行い、患者群で *DQB1*02:02* および *DRB1*11* の頻度は健常人コントロールと比して有意に高いことを示した¹³⁾ (20% vs. 1.2% [P<0.001], 48.1% vs. 23.5% [P<0.003])。また、*DRB1*04* が保護因子である傾向があると示し (7.4% vs. 24.6% [P<0.064]) これらの結果より、*DRB1*11* が iTTP における疾患感受性 HLA であり、*DRB1*04* が疾患抵抗性 HLA であると認知されるようになった。なお、*DRB1*11* の内訳は Coppo らは *DRB1*11:01* および一部 *DRB1*11:04* と報告している。

Martino らのグループは 2016 年にアフリカ系集団の iTTP 患者を対象とした HLA 解析を行い、アフリカ系集団の iTTP と健常人の間にはヨーロッパ系集団で相関が見られた *DRB1*11*, *DRB1*04*, *DQB1*03* ではアレル頻度に統計学的有意差がみられなかったと報告している¹⁴⁾。興味深いことに、ヨーロッパ系集団とアフリカ系集団の健常人でアレル頻度を比較したところ、ヨーロッパ系集団で疾患抵抗性 HLA とされる *DRB1*04* の頻度は有意にアフリカ系集団で低値であった。

ヨーロッパ系集団におけるアレル拘束性 T 細胞エピトープの探索

ヨーロッパ系集団 iTTP 患者を対象とした HLA タイピング研究より、疾患感受性 HLA である *DRB1*11* (*DRB1*11:01* および一部 *DRB1*11:04*) が iTTP 発症の独立した遺伝的なリスク因子と認知されるようになった。一般に、我々の生体内では T 細胞前駆細胞は胸腺において自己/非自己を正しく認識し、非自己の抗原タンパクやこれを発現・提示する自己組織は排除するが自己の抗原タンパクを提示する自己組織は排除しないという教育を受けている。しかし、この免疫寛容の仕組みが破綻することによって、一部の自己抗原タンパクに対しても非自己の抗原タンパクと同様の免疫学的攻撃が加わり、自己免疫性疾患が発症する。この流れから、疾患感受性 HLA である *DRB1*11* によって効率よくヘルパー T 細胞に抗原提示される ADAMTS13 ペプチドを同定することで iTTP 発症の解明が進むと想定され、アレル拘束性 T 細胞エピトープの探索が行われた。

2013 年にはオランダの Sorvillo らが HLA タイピング済の健常人 17 人から採取した末梢血単核細胞 (peripheral

blood mononuclear cell: PBMC) を用いた HLA 溶出ペプチドの質量分析の結果を報告した¹⁵⁾。まず分離した PBMC から IL-4 および GM-CSF にて未熟樹状細胞を分化させ、全長の ADAMTS13 と共培養し、細胞破砕物より HLA-DR- ペプチド複合体を精製した。その後、HLA-DR ペプチド複合体からペプチドを溶出し質量分析によってアミノ酸配列を同定した。*DRB1*11* および *DRB1*04* 陽性者では低濃度 (100 nM) の ADAMTS13 抗原刺激において CUB2 ドメイン内 FINVAPHAR および ASYLIRD を含むペプチドが HLA-DR- ペプチド複合体から検出された。さらに高濃度 (500 nM) では様々な ADAMTS13 ドメインに由来するペプチドが同定された。

2016 年には同グループの Verbij らが、2 名の iTTP 患者の PBMC を用いた T 細胞アッセイの結果を報告した¹⁶⁾。患者はそれぞれ *DRB1*11* および *DRB1*03* を有していた。患者の PBMC を採取し、上述の CUB2 ドメインの ADAMTS13 ペプチド (FINVAPHAR および ASYLIRD) と共培養した。CD40L はヘルパー T 細胞が MHC-ペプチド複合体より抗原提示された際に発現するヘルパー T 細胞活性化の指標である。Verbij らは CD40L 発現量をフローサイトメトリーで確認したところ、それぞれの患者の急性期 PBMC は既知のアレル拘束性 T 細胞エピトープである FINVAPHAR もしくは ASYLIRD との共培養によって CD40L の発現量が上昇することを示した。

一方、2017 年にはフランスの Gilardin らは *DRB1*01:01* 遺伝子導入マウスを用いて ADAMTS13 反応性 CD4⁺T 細胞ハイブリドーマを作成し、in silico 解析より推測される ADAMTS13 ペプチドのうち CUB1 ドメイン内の GDMLLLWGRLTWRKM (1239-1253) が *DRB1*01:01* アレル拘束性 T 細胞エピトープであることを示した¹⁷⁾。そして、この ADAMTS13 ペプチドは *DRB1*11:01* を有する 2 人の iTTP 患者より分離した CD4⁺T 細胞も活性化することが証明された。同研究では、先行研究で同定されているアレル拘束性ペプチドである FINVAPHAR は *DRB1*11:01* 陽性 iTTP 患者由来の CD4⁺T 細胞を活性化しなかった。

以上の研究結果より、いくつかの CUB ドメイン内ペプチドがヨーロッパ系集団の iTTP 患者においてアレル拘束性 T 細胞エピトープとして同定された。しかしながら、解析に用いた個体の数が非常に限られていること

から、今後更なる T 細胞アッセイが必要と考えられる。ただし、これらの解析には希少疾患の急性期での新鮮な PBMC が必要となるため、研究遂行難易度が極めて高いことが大きな課題である。

日本人集団における iTTP 疾患感受性 HLA の解析研究

前述のように欧州では 2010 年以降に iTTP 疾患感受性 HLA の同定および、関連する HLA とペプチドとの研究が少数の報告に留まるが実施されてきた。しかし、ヨーロッパ系集団とは遺伝的背景が大きく異なる日本人集団においては、同様の HLA 解析研究は実施されていなかった。我々は 2017 年 9 月より 2019 年 3 月までに日本国内の 19 施設の医療機関を受診した日本人の iTTP 患者 52 名を対象とした HLA 解析を実施した。次世代シーケンサー (Miseq®, illumina) による 11 座位の同定を行い、そのアレル頻度を既報の日本人集団のアレル頻度と比較した。解析結果より *DRB1*08:03*, *DQA1*01:03*, *DQB1*06:01* のアレル頻度が健常人に比して iTTP 患者で有意に高頻度となった。また *DRB3/4/5* アレルを有しない頻度が健常人よりも高かった (表 2)。これら有意に高頻度となったアレルは、日本人集団では *DRB1*08:03* に連鎖するハプロタイプ *DRB1*08:03-DQA1*01:03-DQB1*06:01* (頻度: 約 4%) を形成していることから、*DQA1*01:03* および *DQB1*06:01* も有意に高頻度となった可能性もある。また、*DQA1*01:03* および *DQB1*06:01* は他の *DRB1* アレルともハプロタイプを形成していることから、*DRB1*08:03* を日本人集団にお

ける iTTP 疾患感受性のアレルと結論づけた¹⁸⁾。一方、iTTP 患者では *DRB1*15:01*, *DRB5*01:01* のアレル頻度が健常人よりも低く、iTTP 発症に対して保護的に働くと推測された。なお、予想に反してヨーロッパ系集団 iTTP において報告されている *DRB1*11* および *DRB1*04* は日本人集団においては健常人群と iTTP 患者群で有意差が認められなかった。以上より、日本人とヨーロッパ系集団では iTTP の疾患感受性 HLA が異なることを見出した。

日本人集団におけるアレル拘束性 T 細胞エピトープの同定研究

引き続き我々は日本人集団における疾患感受性 HLA から発現される HLA 分子がどのような ADAMTS13 ペプチドと MHC- ペプチド複合体を形成し、CD4⁺T 細胞に抗原提示されるかを検討した。まず、世界的に最も使用されている MHC- ペプチド結合予測ツールである NetMHCIIpan (ver 3.2)¹⁹⁾ による in silico 解析を実施した。HLA-DR 分子は *HLA-DRA/DRB* 遺伝子から発現される DRα/DRβ 鎖より構成されるヘテロダイマー構造をとるが、*DRA* の遺伝子多型が極めて乏しいため、実質 *DRB* 遺伝子による影響を大きく受けている。はじめに日本人およびヨーロッパ系集団における iTTP 疾患感受性 HLA (*DRB1*08:03* 分子と *DRB1*11:01* 分子) について、予想されるペプチド結合モチーフを比較した。図 2 に示すように特に結合に重要とされる P1, 4, 6, 7, 9 は両 DR 分子で大きく異なっていた。次に、既知の AD-

表 2 日本人における iTTP 患者と健常人のアレル頻度の比較結果

HLA アレル	iTTP における アレル頻度 (%) n=52	健常人における アレル頻度 (%) n=516	補正 p 値	オッズ比 (95% 信頼区間)
HLA-DRB1				
<i>DRB1*08:03</i>	17.3%	6.4%	0.005	3.06 (1.63-5.51)
<i>DRB1*15:01</i>	2.9%	11.6%	0.076	0.23 (0.05-0.70)
HLA-DRB3/4/5				
blank	27.9%	14.3%	0.007	2.30 (1.40-3.72)
<i>DRB5*01:01</i>	2.9%	11.6%	0.034	0.23 (0.05-0.70)
HLA-DQA1				
<i>DQA1*01:03</i>	29.8%	15.9%	0.006	2.25 (1.38-3.60)
HLA-DQB1				
<i>DQB1*06:01</i>	29.8%	14.9%	0.003	2.41 (1.48-3.88)
ヨーロッパ系集団				既報より
<i>DRB1*11</i>	4.81%	3.68%	有意差なし	iTTP 感受性
<i>DRB1*04</i>	22.1%	24.4%	有意差なし	iTTP 抵抗性

赤字のアレルは日本人 iTTP において健常コントロールに比してアレル頻度が高かったものを示す。ヨーロッパ系集団で疾患感受性 HLA および疾患抵抗性 HLA と同定されている *DRB1*11* および *DRB1*04* は日本人患者と健常人の間でアレル頻度に差が見られなかった。

AMTS13 のアミノ酸配列を用いて、各 DR 分子と高親和性を示す 15 アミノ酸残基を網羅的に検索した。同解析では %Rank と呼ばれる指標を用いて、2% 未満のものを Strong binder と定義している。表 3 に各 DR 分子の Strong binder を示す。いずれの DR 分子も複数の ADAMTS13 ドメインにおいて Strong binder の存在が示唆された¹⁸⁾。このうち、DRB1*08:03 における GCRLFINVAPHARIA (1324-1339) および DRB1*11:01 における CRLEINVAPHARIAI (1325-1339) に注目すると、わずか 1 アミノ酸残基ずれた配列であることが分かる。一方で、図 2 の結果からはこれらの HLA 分子はペプチド結

合モチーフが異なることが予測されているため、興味深いことにこれらの HLA 分子は共通のコア配列である FINVAPHA 中の異なるアミノ酸残基をアンカーとして結合していると考えられた。すなわち、ヨーロッパ系集団の in vitro 検討で検証されているように、日本人集団においても CUB ドメインが抗原提示において重要な役割を果たしている可能性が示された。

我々は次に in silico 予測結果の妥当性を示すために、in vitro の実験系を用いた追加検証を実施した。in silico 予測は溶出ペプチド解析、MHC- ペプチド結合データベースを基にした予測アルゴリズムであり、DR 分子の

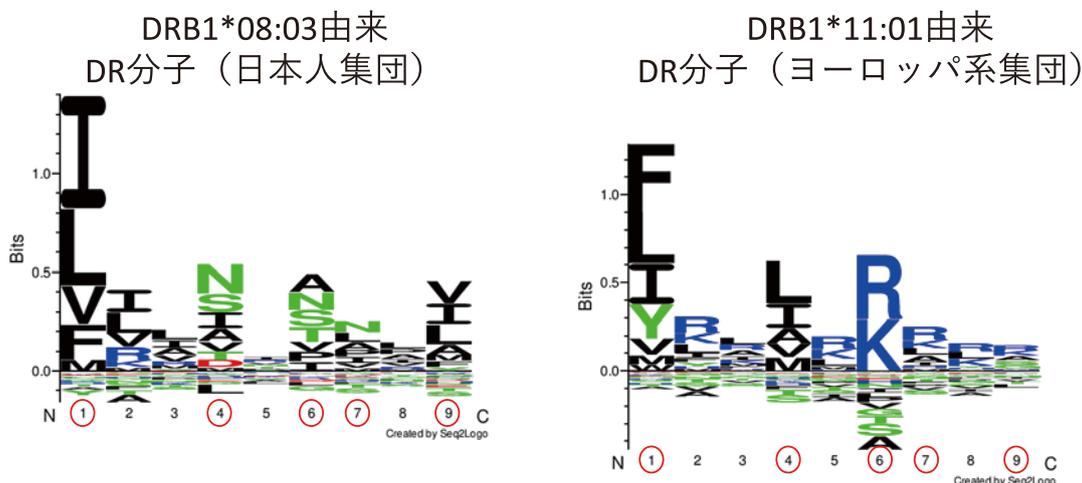


図 2 DRB1*08:03 および DRB1*11:01 分子のペプチド結合モチーフの比較 (文献 18 より引用・筆者改変)

NetMHCIIpan の Motif viewer による Logos を示す。横軸の数字はポケットモチーフの番号であり、一般に結合に重要なポケットは 1, 4, 6, 7, 9 番と考えられている。また、アルファベットはアミノ酸残基の略称を示し、青・赤・緑色のアミノ酸はそれぞれ塩基性・酸性・中性アミノ酸を表す。文字の高さは各ポケットとの親和性である。DRB1*08:03 と DRB1*11:01 分子は異なるポケットモチーフを有している。

表 3 DR 分子に対する高親和性 ADAMTS13 ペプチドの予測

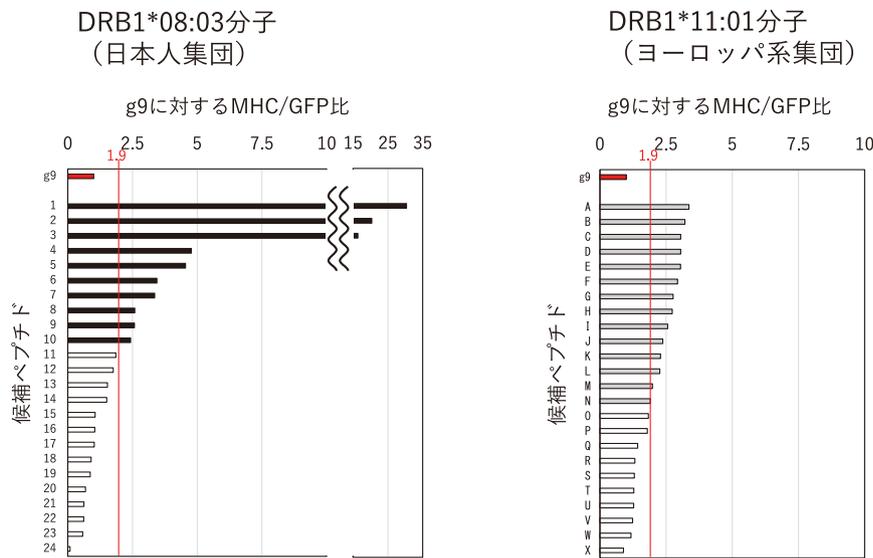
DR molecules	ADAMTS13 peptide	ADAMTS13 Domain*	Sequence (Core Sequence)	%Rank
DRB1*08:03	1 101-115	M	ERYVLTNLNIGAELL	1.9
	2 570-584	S	YLTFLTVPNLTSVY	1.1
	3 914-928	T5	ELRFLCMSALRVPV	1.7
	4 1324-1338	CUB2	GCRLFINVAPHARIA	0.3
	5 1334-1348	CUB2	HARIAIHALATNMGA	1.6
DRB1*11:01	1 267-281	M	RRQLLSLSAGRARC	0.6
	2 589-603	S	RPLFTHLARIGGRY	1.7
	3 1246-1260	CUB1	GRLTWRKMCRKLLDM	0.3
	4 1325-1339	CUB2	CRLEINVAPHARIAI	1.1

*M: metalloprotease, S: spacer, T: thrombospondin-1

NetMHCIIpan における高親和異性 ADAMTS13 ペプチドの予測結果を示す。上段に日本人の疾患感受性 HLA である DRB1*08:03, 下段にヨーロッパ系集団の疾患感受性 HLA である DRB1*11:01 の結果を示す。15 mer のペプチド長に対して、アルゴリズムにて HLA 分子との結合に重要な役割を果たしていると予測された 9 mer を Core sequence として下線で示した。%Rank が 2% 未満のものが高親和性ペプチドとして抽出された。

アレルの種類によって学習データ量が異なるため、予測精度も異なる可能性がある。そのため、ヨーロッパ系集団では稀なアレルである *DRB1*08:03* においては特に *in vitro* 実験系が不可欠であると考えた。しかしその一方で、*DRB1*08:03* 陽性 iTTP 患者の PBMC を用いた T-cell アッセイや溶出ペプチドの質量分析については、疾患の稀少性より iTTP 患者の急性期サンプルを確保することが困難であった。我々は抗原提示細胞質内の HLA- ペプチド安定性が、細胞表面の HLA- ペプチド複合体発現量に相関する原理を用いた MHC-density assay²⁰⁾ を用いて、既報の *DRB1*11:01* アレル拘束性 T 細胞エピトープおよび 2020 年にデータベースが更新された NetMHCIIpan (ver 4.0)²¹⁾ の高親和性 ADAMTS13 ペプチドの中から選出した計 24 ペプチドと各 DR 分子の結合の強さを検討した (未公開データ)。コントロールペプチド (g9: 9 mer のグリシン) との結合度を 1 とした場合の各ペプチドの相

対的な結合度を算出し、比率が一定値 (1.9) 以上の場合にアレル拘束性 T 細胞エピトープの候補と見なした。図 3 に示すようにいずれの DR 分子とも複数の領域について結合性を示し、それらは ADAMTS13 の複数のドメインにまたがって存在することが明らかになった。また、*DRB1*08:03* 分子に特異的かつ非常に強く提示される領域が Spacer ドメインに存在することが示された。なお、*in silico* 予測で日本人集団の iTTP 疾患感受性 HLA (*DRB1*08:03*) 分子の Strong binder として予測された GCRLFINVAPHARIA (1324-1339) は、今回の *in vitro* 解析では強い結合は認められなかった。今後、可能であれば iTTP 患者の PBMC を利用した T 細胞アッセイを実施することでこれらの結果を検証することが望ましいと考えている。また、同一の分子内において自己抗体が認識する B 細胞エピトープと HLA に提示される T 細胞エピトープは、通常、同一領域ではないが、日本人および



DRB1*08:03
 → M (1), Sp (3), T5 (1), T6 (1), CUB1 (2), CUB2 (2)
 DRB1*11:01
 → M (3), Sp (2), T3 (1), T6 (1), CUB1 (3), CUB2 (4)

図 3 DRB1*08:03 および DRB1*11:01 分子とエピトープ候補ペプチドとの結合評価 (筆者作成)

既報の *DRB1*11:01* のアレル拘束性 T 細胞エピトープおよび NetMHCIIpan (ver 4.0) の高親和性 ADAMTS13 ペプチドより 24 種類の候補ペプチドを選出した。本 Assay の T 細胞エピトープの閾値 (コントロールペプチドに対する結合比率) は 1.9 と推測された。*DRB1*08:03* 分子では 10 種類の、*DRB1*11:01* 分子では 14 種類の ADAMTS13 ペプチドがアレル拘束性 T 細胞エピトープとして同定された。

S: signal peptide domain, P: propeptide domain, M: metalloprotease domain, D: disintegrin-like domain, T: thrombospondin type 1 repeats domain, C: Cystein-rich domain, Sp: spacer domain, CUB: six sea urchin epidermal growth factor, and bone morphogenetic protein domain.

注: 未公開データであるため、それぞれの HLA 分子 (*DRB1*08:03*, *DRB1*11:01*) について親和性の高いものから順に 1, 2, 3, , および A, B, C, と記載した。これらは便宜的に与えた記号であり、対応していない。

ヨーロッパ系集団の iTTP 患者において Cysteine-rich/Spacer ドメインが自己抗体の標的部として最も頻度が高いことが示されており^{22,23)}、今回の一連の解析から iTTP においても B 細胞エピトープと T 細胞エピトープが必ずしも一致しない可能性が示唆された。一方で、日本人とヨーロッパ系集団とでは T 細胞エピトープの多様性や提示効率が異なることが示唆された。

まとめ

iTTP は ADAMTS13 に対する自己抗体を産生する自己免疫性疾患であることが明らかとなり、発症リスクとしての疾患感受性 HLA の同定が欧州を中心に進められてきた。さらに HLA 結合ペプチド溶出と質量分析による抗原ペプチドの探索や、iTTP 患者 PBMC を用いた T 細胞アッセイなどによりアレル拘束性 T 細胞エピトープの探索が進んでいる。我々は日本人 iTTP における HLA 解析研究を行い、日本人集団ではヨーロッパ系集団と異なる疾患感受性 HLA が存在することを同定した。さらには DRB1*08:03 および DRB1*11:01 分子を対象とした in silico 予測結果を裏付けすべく in vitro 結合解析を実施した。その結果、各アレル拘束性 T 細胞エピトープが複数の ADAMTS13 ドメインに存在する可能性を示した。これらの研究は iTTP 患者における発症メカニズムの解明に貢献するものと考えられる。

謝 辞

当研究について患者登録にご協力いただいた全国の主治医の先生方ならびに研究を実施するにあたり研究費のサポートをいただいた厚生労働科学研究費補助金 難治性疾患政策研究事業血液凝固異常症等に関する研究班 (旧班長 村田満先生) および公益財団法人先進医薬研究振興財団 (血液医学分野一般研究助成) にこの場を借りてお礼申し上げます。

利益相反事項の開示

酒井和哉：武田薬品工業株式会社 (Takeda Japan Medical Office Funded Research Grant 2021) その他の著者：開示すべき COI はありません。

引用文献

1) Leebeek FW, Eikenboom JC: Von Willebrand's Disease. *N Engl*

J Med. 375(21): 2067–2080, 2016.

- 2) Lenting PJ, Casari C, Christophe OD, et al.: von Willebrand factor: the old, the new and the unknown. *J Thromb Haemost.* 10(12): 2428–2437, 2012.
- 3) Levy GG, Nichols WC, Lian EC, et al.: Mutations in a member of the ADAMTS gene family cause thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nature.* 413(6855): 488–494, 2001.
- 4) Tsai HM, Lian EC: Antibodies to von Willebrand factor-cleaving protease in acute thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med.* 339(22): 1585–1594, 1998.
- 5) Furlan M, Robles R, Solenthaler M, et al.: Acquired deficiency of von Willebrand factor-cleaving protease in a patient with thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 91(8): 2839–2846, 1998.
- 6) Kremer Hovinga JA, Coppo P, Lammle B, et al.: Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Nat Rev Dis Primers.* 3: 17020, 2017.
- 7) Sadler JE: Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 130(10): 1181–1188, 2017.
- 8) Joly BS, Coppo P, Veyradier A: Thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 129(21): 2836–2846, 2017.
- 9) Rock GA, Shumak KH, Buskard NA, et al.: Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Canadian Apheresis Study Group. *N Engl J Med.* 325(6): 393–397, 1991.
- 10) Scully M, McDonald V, Cavenagh J, et al.: A phase 2 study of the safety and efficacy of rituximab with plasma exchange in acute acquired thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood.* 118(7): 1746–1753, 2011.
- 11) Scully M, Brown J, Patel R, et al.: Human leukocyte antigen association in idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura: evidence for an immunogenetic link. *J Thromb Haemost.* 8(2): 257–262, 2010.
- 12) Coppo P, Busson M, Veyradier A, et al.: HLA-DRB1*11: a strong risk factor for acquired severe ADAMTS13 deficiency-related idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura in Caucasians. *J Thromb Haemost.* 8(4): 856–859, 2010.
- 13) John ML, Hitzler W, Scharrer I: The role of human leukocyte antigens as predisposing and/or protective factors in patients with idiopathic thrombotic thrombocytopenic purpura. *Ann Hematol.* 91(4): 507–510, 2012.
- 14) Martino S, Jamme M, Deligny C, et al.: Thrombotic thrombocytopenic purpura in black people: impact of ethnicity on survival and genetic risk factors. *PLoS One.* 11(7): e0156679, 2016.
- 15) Sorvillo N, van Haren SD, Kaijen PH, et al.: Preferential HLA-DRB1*11-dependent presentation of CUB2-derived peptides by ADAMTS13-pulsed dendritic cells. *Blood.* 121(17): 3502–3510, 2013.
- 16) Verbij FC, Turksma AW, de Heij F, et al.: CD4+ T cells from patients with acquired thrombotic thrombocytopenic purpura recognize CUB2 domain-derived peptides. *Blood.* 127(12): 1606–

- 1609, 2016.
- 17) Gilardin L, Delignat S, Peyron I, et al.: The ADAMTS13 (1239–1253) peptide is a dominant HLA-DR1-restricted CD4(+) T-cell epitope. *Haematologica*. 102(11): 1833–1841, 2017.
 - 18) Sakai K, Kuwana M, Tanaka H, et al.: HLA loci predisposing to immune TTP in Japanese: potential role of the shared ADAMTS13 peptide bound to different HLA-DR. *Blood*. 135(26): 2413–2419, 2020.
 - 19) Jensen KK, Andreatta M, Marcatili P, et al.: Improved methods for predicting peptide binding affinity to MHC class II molecules. *Immunology*. 154(3): 394–406, 2018.
 - 20) Miyadera H, Ohashi J, Lernmark A, et al.: Cell-surface MHC density profiling reveals instability of autoimmunity-associated HLA. *J Clin Invest*. 125(1): 275–291, 2015.
 - 21) Reynisson B, Barra C, Kaabinejadian S, et al.: Improved Prediction of MHC II Antigen Presentation through Integration and Motif Deconvolution of Mass Spectrometry MHC Eluted Ligand Data. *J Proteome Res*. 19(6): 2304–2315, 2020.
 - 22) Soejima K, Matsumoto M, Kokame K, et al.: ADAMTS-13 cysteine-rich/spacer domains are functionally essential for von Willebrand factor cleavage. *Blood*. 102(9): 3232–3237, 2003.
 - 23) Kangro K, Roose E, Joly BS, et al.: Anti-ADAMTS13 autoantibody profiling in patients with immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura. *Blood Adv*. 5(17): 3427–3435, 2021.

Immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura and HLA

Kazuya Sakai¹⁾, Masataka Kuwana²⁾, Hidenori Tanaka³⁾, Kazuyoshi Hosomichi⁴⁾, Hiroko Miyadera⁵⁾,
Masanori Matsumoto¹⁾

¹⁾Department of Blood Transfusion Medicine, Nara Medical University

²⁾Department of Allergy and Rheumatology, Nippon Medical School

³⁾HLA Foundation Laboratory

⁴⁾Department of Bioinformatics and Genomics Graduate School of Medical Sciences, Kanazawa University

⁵⁾Department of Medical Genetics, Faculty of Medicine, University of Tsukuba

Thrombotic thrombocytopenic purpura (TTP) is an ultra-rare and fatal thrombotic disease characterized by systemic ischemic organ damage due to peripheral capillary occlusion by microthrombi. An acquired form of TTP, immune-mediated TTP (iTTP), is caused by the production of auto-antibodies against von Willebrand cleaving protease, also known as ADAMTS13. At the beginning of the 2010s, three independent groups in Europe reported that *DRB1*11* was one of the strongest susceptible alleles to develop iTTP among European population. Several in silico predictions for the allele-restricted ADAMTS13 epitopes against T-cell are performed, followed by in vitro experiments to validate their functional implications, including mass spectrometry analysis of eluted peptides and T-cell assay. However, these analyses had not been performed in Japanese population so far. Here, we performed HLA typing for 52 patients with iTTP from 19 institutes across Japan, using the next-generation sequencing method. Our analysis revealed that *DRB1*08:03* was associated with iTTP among the Japanese population while there were no statistical differences of the allele frequency of *DRB1*11* between iTTP and healthy control. Subsequently, we predicted the strong binders for DRB1*08:03 molecules using NetMHCIIpan and found ADAMTS13 peptides in several domains had the possibility to bind to the molecule. To confirm this prediction, we performed in vitro MHC-density assay that evaluated the binding strength of the candidate peptides to DR molecules. This article reviews the current status of genetic and immunological studies on iTTP and our findings for iTTP in Japanese population.

Key Words: immune-mediated thrombotic thrombocytopenic purpura, ADAMTS13, autoimmune disorder, susceptible HLA allele, allele-restricted T-cell epitopes

猪子 英俊 先生を偲んで

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学
安藤 麻子

長年日本組織適合性学会の発展と組織適合性研究に多大な寄与をされました 元会長（理事長）であり、学会役員（理事・監事）としても長らくご尽力された猪子英俊先生（ジェノダイブファーマ社社長・東海大学名誉教授）が2022年1月3日にご逝去されました。ここに慎んで、お悔やみ申し上げます。

猪子先生は、1970年京都大学を卒業後、1975年に京都大学理学研究科を修了され、1976年に理学博士の資格を取得されました。1976年から慶應義塾大学医学部分子生物学教室で助手としてカイコの走光性行動の分子遺伝学的研究を行った後、1982年から厚生省の「疾患の宿主要因に関する研究」の研究班においてHLA遺伝子のcDNAクローニングと遺伝子構造解析についての研究を開始されました。1980年代、HLAタイピングは国内外ともに血清学的方法とMLRなどの細胞学的方法が主流でした。一方、海外では1970年後半から、cDNAクローニングによるHLA遺伝子の構造解析の報告が散見されていましたが、国内ではHLA遺伝子の研究を行っていたのは、猪子先生を中心とした慶應義塾大学医学部分子生物学教室のみで、同教室に在籍していた私はHLA遺伝子のcDNAクローンの分離と同定の仕事に参加させていただきました。当時、HLA遺伝子のクローニングとHLA領域の遺伝子構造解析に関する研究は、海外が先行しているので、今更国内で開始しても追いつかないし、無駄が多い、という声も周囲の一部の研究者から聞こえました。しかし、猪子先生は精力的にクローニングとゲノム構造解析の研究を進め、現在知られているほとんど全てのHLA遺伝子のcDNAクローンの分離と同定に成功し、欧米の研究者と肩を並べることができたのみならず、1980年代末までに世界に先駆けてDOAやDQB3遺伝子等の新規HLA遺伝子の同定について報告し、HLA遺伝子研究の先駆者として、大きな成果を数多く挙げられました。

1984年には、東海大学医学部移植学教室に講師として移籍し、1986年東海大学医学研究科より医学博士を授与された後、1988年同教室の助教授に昇格されました。この頃はHLA遺伝子のクローニングとゲノム構造解析の研究の知見を駆使して臓器移植や骨髄移植におけるHLA遺伝子の適合性と予後との関連性、並びに乾癬、T細胞白血病、ナルコレプシー等の各種疾患とHLA遺伝子との関連性に関する研究を進められました。この間1986～1987年には、英国The Imperial Cancer Research Fund (ICRF)のJohn Trowsdale博士の研究室にVisiting Research Fellowとして留学され、HLA遺伝子のcDNAおよびゲノムクローニングとパルスフィールド電気泳動法を用いたHLA領域の構造解析に関する研究を進められました。

1992年、東海大学医学部分子生命科学部門の教授に昇格され、翌年から同大学医学部分子生命科学系・系長を務められました。その後、同大学の医学部長、理事・評議員（2006～2010年）、同大学総合医学研究所所長（2007～2012年）、2013年より同大学名誉教授を務められ、大学内の研究、運営に長年大きく貢献されました。HLA遺伝子の多型検出法の開発については、1980年代に同定されたHLA cDNAクローンやゲノムクローンの断片をプローブとして用いたGenomic hybridizationを開始されました。1980年代後半には、PCR法による増幅後の制限酵素切断パターンによりアレル判定を行うPCR-RFLP法についてクラスII遺伝子を中心に取組み、さらに、タイピングの精度や簡便化の向上を目指して、遺伝子座あるいはアレルグループ特異的プライマーを用いたPCR増幅産物と蛍光標識ビーズに固定したプローブの反応性に基づくPCR-SSOP-Luminex法も開発されました。2000年代からは、次世代シーケンサーを活用しphase ambiguityを排除したSS-SBT法を開発されました。すなわち、猪子先生はHLA-DNAタイピング法の黎明期から現在に至るタイピング法の変遷の歴史の中で、常に世界をリードする先進的なHLAタイピング法の開発に尽力され、数多くの重要な論文発表や特許の取得をなさいました。

1980年代から開始されたHLA遺伝子のクローニングについては、1998年にコスミド、YAC、BACクローンを用いたクラスI全領域1.8 Mbの物理的地図を完成されました。さらに、1999年にはサンガー研究所、ワシントン大学、フレッ

ドハンチンソンがん研究所と共同で3.6 MbのHLA領域の全ゲノム塩基配列決定を完了され、日本におけるヒトゲノムの解読4チームの一つとして、2003年のヒトゲノム全塩基配列決定に大きく貢献されました。その後、ポストゲノムシーケンシングプロジェクトとして、3万個のマイクロサテライトを用いてゲノムワイドな相関解析法を独自に確立され、生活習慣病などの多因子性疾患やベーチェット病、関節リウマチ、尋常性乾癬など数多くの疾患の感受性遺伝子やヒト複合形質の支配遺伝子並びに、移植関連遺伝子、薬剤応答性関連遺伝子、薬剤副作用関連遺伝子の同定に成功されました。

また、MHCの進化や染色体形成過程におけるMHCの役割等についても興味を広げて、HLA領域と他の動物種のMHC領域の比較ゲノム解析に取り組み、チンパンジー、アカゲザル、カニクイザル、ブタ、ラット、ウズラ、ニワトリ、ニジマス、サメ、ナメクジウオ等のゲノム塩基配列決定により、MHCの進化と形成の分子機序、ゲノム倍化の過程の解明に数多くの重要な知見を明らかにされました。さらに、脊椎動物の染色体の形成と進化の過程に重要な役割を担ったと考えられるMHC領域と相同性を示す染色体領域も検出されました。

一方、MHC遺伝子の新たな機能の解明を目指し、脳におけるMHC遺伝子の機能にも着目されていました。実際、マウスの脳にMHCクラスIb遺伝子の一部が発現していることを明らかにされ、この事実は脳内におけるMHC遺伝子の新機能の解明に展開しうることを示されました。

以上述べたように、HLA遺伝子とHLA領域の構造解析から開始された猪子先生のMHC研究は、HLA-DNAタイピング法の開発、組織適合性と移植後との関連性、疾患との相関解析と疾患関連遺伝子の同定、MHC領域の比較ゲノム解析、MHC領域の形成と進化の過程の解明、脳・神経系におけるMHC遺伝子の発現解析、行動や性格等の高次機能とMHC遺伝子との関連性の解析等、極めて幅広い分野に広がっており、常にこれらすべての分野を牽引して、国際的に優れた多くの成果を成し遂げられ、発表された論文数は600を超えています。

2002年には、これまでに培ってきたゲノム解析の実績と知見に基づき、東海大学発のバイオベンチャーとしてジェノダイブファーマ株式会社を設立され、迅速、正確なHLA-DNAタイピング検査やKIRタイピング検査、HLA抗体検査、Liquid Biopsyによる腫瘍の早期診断検査、ウシ白血病ウイルス遺伝子コピー定量とウシMHC遺伝子タイピングの受託検査等を国内外の医療機関や大学・研究所等の研究機関に提供なさいました。

国内外の学会の運営にも長年に渡り、多大な貢献をされました。本学会では、1993年の第7回大会（箱根）と2003年の第12回大会（軽井沢）の大会長、2001年～2005年まで理事長、2014年まで理事を務められました。2003年の第12回大会は、第7回アジア・オセアニア組織適合性学会との合同大会として大会長を務められ、国際組織適合性学会、アジア・オセアニア組織適合性学会のInternational Counselorとしても長年尽力なさいました。

また、後進の研究者の育成にも常に力を注ぎ、研究に意欲を持って猪子先生の元を訪ねた国内外の若い研究者に研究



写真① 1979年慶應義塾大学医学部分子生物学教室（後列左側：猪子先生，前列中央：ガーナからの研究生）



写真② 1984年9th International Histocompatibility Workshop and Conference参加者とミュンヘンのレストラン（左から2番目：猪子先生）



写真③ 1985年 東海大学医学部移植学教室員と大学近くの弘法山にてお花見（右から2番目：猪子先生、右端：辻先生）



写真④ 2016年 第25回日本組織適合性学会大会（札幌）参加者とサッポロビール園（前列中央：猪子先生）

室の扉を閉ざしたことがなく、できる限り研究の機会を提供されました。さらに、HLA 研究者や臨床、検査の現場において、次の時代を担う若手に育成の場を提供するために、関東 HLA 研究会の設立（2016年）に尽力され、初代の代表世話人を務められました。

学会では、会場での発表を聴く以外にロビーでの活動も非常に重要というお考えをお持ちでした。ロビーでは、知り合いの参加者間での情報交換はもちろん重要ですが、面識のない発表者でも発表後に会場からロビーに出られた時を捉えて、質問すると会場では話されなかったことを話して頂けることもあり、貴重な新情報や裏話that得られる場合や、こちらの研究に興味を持っていただいた場合はそこから共同研究が始まる場合もあり、特に若い参加者には学会時のロビーでの活動は重要です、という趣旨のことをよく仰っていました。私も若い頃は猪子先生のこの教えにしたがって学会のロビーで国内外の面識のない何人かの研究者と知り合うことができ、貴重な情報をいただく機会となった場合や、その後の共同研究に繋げることができたことがありました。コロナ禍以来、学会はWeb開催が増え、対面での開催が困難な状況が多い昨今ですが、この猪子先生のお考えは、学会や研究会が良い情報交換の場であり、また若手にとって良い育成の場であることを常に願っておられたことを示していると思います。

HLA の遺伝子研究を始められた慶応大時代から東海大の助教授時代頃まで、猪子先生は、早朝から深夜まで、腰に手ぬぐいを下げた独特のスタイルで連日精力的に実験をなさっていました。「オートクレーブ後の熱い試薬を持つときや実験中の色々な場面でのこの腰手ぬぐいは一番便利」とよく仰っていましたが、研究室の他の方達にはこのスタイルは継承されず、このスタイルの猪子先生をご存知の方は、残念ながら今では私の周辺にほとんどいらっしゃいません。ICRFへ留学された猪子先生は、ロンドンを始めヨーロッパ各地の洗練されたファッションの影響を受けられたようで、おしゃれになって帰国され、トレードマークの腰手ぬぐいは消えました。帰国後は、猪子先生の指導を希望される学生や研究者の方々が国内外から続々と集まるようになり、研究室の実験スペースは常に足りない状況でした。猪子先生はこれらの方々の指導を始め、医学部学生の授業、学会活動、研究論文や依頼原稿の執筆等で以前にも増して多忙を極めるようになり、多くの仕事を抜群の集中力で連日精力的に行っておられました。頻繁な電話や来客への対応の後、見事な頭の切り替えで中断していた論文や原稿の執筆を瞬時に再開され、猛スピードで書き進められていた姿は大変印象的でした。

猪子先生の HLA 研究を始めとする科学研究に対する幅広い興味と探求心は、仕事以外の場でも大いに発揮され、興味を持ったことには、何事でも熱心に集中して精力的に楽しむという姿勢を常に貫かれていました。スポーツではゴルフや野球、山登りがお好きだったのは有名な話で、東海大学に移籍された当初、医学部内の各研究室対抗のソフトボール大会があり、猪子先生は移植学教室でチームを結成され、監督と打者として活躍されました。さらにこのチームが準優勝した年には研究室の皆で乾杯し、猪子先生を中心に大変楽しく盛り上がったことを今でも懐かしく思い出します。持ち前の好奇心と行動力から、国内外の学会出張などの際には、学会場での講演や座長等で終始活発に活躍される上に、

少しの空き時間でもじっとして過ごすということはまずなく、連日昼夜、精力的に動き回られるので、同行した時は各地で次々と大変楽しい経験ができましたが、猪子先生の元気さと活動量について行くには相当の体力が要求されました。

音楽では、時代により様々なレパートリーでカラオケを楽しまれた他、バイオリンを5歳から始められ、慶応大時代には、当時お住まいの町田市の町田フィルハーモニー交響楽団の第1バイオリンを担当されていたという腕前で、「昔はプロの道に進もうと思ったこともあった」と、お聞きしたことがあり、その多才な能力に感服するとともに、演奏をお聞きする機会がなかったことはとても残念です。

このように、猪子先生の楽しい思い出は尽きませんが、まとまりのない追悼の文章を書いているとちょっとお茶目に笑いながら「気合が入っていない文章じゃない？ それより、しっかり気合を入れて良い論文を早く書いたら！」という先生からの叱咤激励の声がどこからか聞こえてきそうですので、この辺りで筆をおきます。

猪子先生、長い間大変お世話になりました。心より感謝申し上げます。

「猪子英俊先生を偲んで」

信州大学医学部第二内科特任教授
太田 正穂

2022年3が日の明けた1月4日、携帯に思いもよらない悲報が届いた。30年来の友人である猪子先生の訃報である。2020年1月に松本でお会いして以来2年間コロナ禍で、お会い出来なかったことが心残りではない。先生は忙しい時間をやり繰りして信州を訪れ、冬はスキー、春夏秋はゴルフ等で、私達と楽しいひとときを分かち合っていたが、これからはそれが叶わなくなると思うとひととき寂しさと悲しさがこみ上げて来ます。

眼をつむれば、長年の先生との懐かしい思い出、ハプニングが数知れず浮かび上がってきます。先生との最初の出会いは、1987年プリンストン・ニューヨークで開催された10th IHWCでした。当時HLAタイピングは血清学的検査が主流であったが、先生はSouthern blottingを用いたHLA-DNAタイピング法開発の先端を走っていました。この学会では、1985年に開発されたPCR法を用いたHLA-DNAタイピングの原型が紹介されました。この方法は、増幅された多型HLAエクソンをアレル特異的オリゴヌクレチドでハイブリダイゼーション後、多型配列モチーフを判定して遺伝子型を決定する方法（PCR-SSO）でした。帰国後先生と私達は、早速SSO法とは異なる独自のタイピング法（PCR-RFLP）の開発を試み1991年にその成果を報告しました。現在の様な通信環境が整っていなかった時に、ファックスや電話で情報をやりとりして成し遂げた苦勞がいまでも鮮明に思い出されます。それから今日まで、先生のお陰で幾多の業績を残させて頂いた事に感謝しております。

顕著な多型性を示すHLA遺伝子は、多くの疾患と相関を示す疾患感受性遺伝子として知られておりました。先生は多因子性遺伝性疾患の、HLA以外の疾患感受性遺伝子検索にマイクロサテライトを用いた方法の開発を試みました。当時マイクロサテライトは、法医学で個人識別に用いるマーカーとして脚光を浴びておりましたが、使用されていたのは特定の遺伝子に局在する限られた数でした。先生は持ち前のパワーとアイデアでゲノム規模にわたるマイクロサテライトを検索し、27,000種以上のマイクロサテライトでゲノムワイド関連解析を行いました。先見の明に長けた先生は、次世代シーケンサーを用いた超高解像度DNAタイピング（SS-SBT）法の開発をいち早く行い実用化させました。勿論猪子先生はHLA-DNAタイピングだけではなく、HLA遺伝子のcDNAクローニング、HLAゲノム全領域3.6 Mbの完全塩基配列、HLA多型の機能的解析、HLA多型と疾患の相関の分子基盤の解明など、多くの業績を世界に発信し、HLA学に多大な貢献をなされてきた世界的なリーダーの一人でありました。これまで私を共同研究者として多くの研究課題に加担させて頂いたことに改めて感謝する次第です。

先生との思い出は語りつくせない程あります。毎年開かれる海外の学会（ASHI, EFI）、研究会、ストラスブール大学 Seiamak Bahram 教授との9年間におよぶ日仏共同研究事業への参加に、お誘いして頂き同行したことがつい最



写真1 10th IHWC (1987年, Princeton)
左より：太田、猪子先生、右端：大谷先生



写真2 Prof. Seiamak Bahram 研究室にて (1999年, Strasbourg)
左より猪子先生, Bahram 先生, 太田

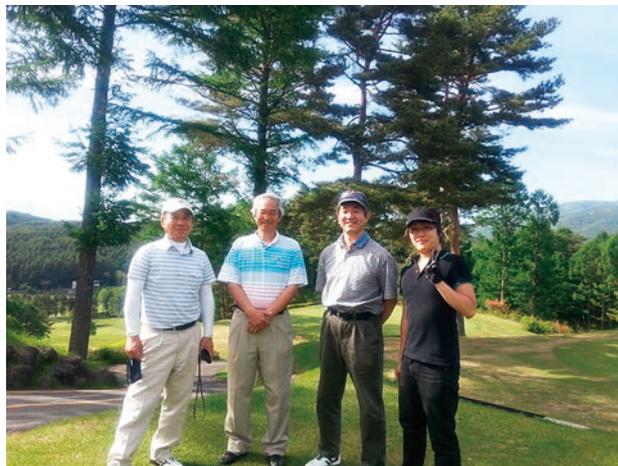


写真3 ゴルフ場にて (2013年, 信州)
右より鈴木先生, 椎名先生, 猪子先生, 太田



写真4 Roche Tower 屋上にて (2016年, Basel)
猪子先生, 太田

近の出来事の様です。先生はロンドンの英国がん研究所 (Cancer Reserch UK, ICRF) に留学されていたことから、ヨーロッパではレンタカーを借りることが多く、さまざまな目的地まで得意げに運転され、私はナビゲーターとして助手席で先生が用意してあった地図をひたすら眺めていたことが、楽しかったひと時として懐かしく思い出されます。あらゆる面において先生の行動力に感服されましたが、今となっては笑い話となるハプニングも多かったです。その一つに2016年にStrasbourgを訪問している時、かつて猪子先生の研究室に来ていた日本人研究員がバーゼルのロッシュ本社とノバルティス本社に出向しているので、会いに行こうと誘われ、日帰りでバーゼルに行った帰りに起きたハプニングがあります。バーゼル駅で発車をまっていたのですが、突然先生はコーラを飲みたいと言い、ベンディン

グーマシンを探しに電車から降りてしまいました。その直後、私一人が電車に残され、電車はストラスブールに向かって発車してしまいました。時は21時過ぎだったと思います。発車後、後部席にいた2人の女性に、あなたの友人が電車から降りてしまったのだが、どうしたのですか、大丈夫ですかと言われ、ハット気付いたのです。先生は私に切符・パスポート・携帯電話が入ったハンドバッグを預けて降りてしまったのです。しかも、電車はストラスブールへの直行便としては最終便でした。私は大変焦り途方に暮れていましたが、さすが先生です、持ち前の機転と行動力でその夜1時頃ホテルに戻ってきておりました。

猪子先生とは「学」よりはむしろ「遊」で密につながっていたのではと感じるもので、より一層「唯一無二の友」を失った寂しさが募ります。2020年1月末「信州大」にSeiamakと来て頂いた後も、何度か信州でゴルフをする計画がありましたが、コロナ禍でキャンセルされてしまったのが誠に残念です。お亡くなりになるひと月前LINEで送った北アルプスの山々の写真を嬉しく眺め、春には信州でお会いしたいと返事を頂いたのが最後でした。

猪子先生、日本組織適合性学会と多くの研究者の育成に御尽力いただきましてありがとうございました。

長年のご厚誼に感謝し、謹んでご冥福をお祈りします。

花とおじさん —猪子 英俊 先生 追悼写真—

長崎大学熱帯医学研究所 原虫学分野
成瀬 妙子

私が東海大学医学部の猪子ラボを訪れたきっかけは、もちろん HLA である。当時兵庫県赤十字血液センターで HLA タイピングに従事していた私は、上司である能勢義介先生のもとで HLA-DP 抗原遺伝子の DNA タイピングに着手していた。当時は DP 抗原に関する情報がほぼ無いと言ってもよい状況で、次々に現れる新規アレルについては同定の仕様もないほどだった。そこで能勢先生が猪子先生に相談すると、「うちでクローニング&シーケンスをやればいいんじゃないの?」ということで、度々神奈川県までお邪魔していたのであるが、その後ミイラ取りがミイラになった。HLA に取りつかれたまま、私は今日に至る。

そのような訳で猪子教室での日々には多くの思い出があるが、今日は私が在籍した 1994～2004 年の写真で猪子先生を追悼したい。

第 12 回 国際組織適合性ワークショップ（フランス）（1996 年）



写真 1 パリからサンマロまでの 500 キロの道のりを、レンタカーで行こう! という猪子先生の提案で、太田正穂先生と筆者の 3 名で各地を回った。シャンポール城近くのレストランにて休憩中。



写真2 サンマロのシーフードレストランで、HLA 仲間と牡蛎とロブスターを頂く。酔っぼらって活ロブスターの水槽に“ご飯”と称してパンくずを与えた猪子先生は、店員に注意されていた。

第7回日本組織適合性学会大会（箱根・湯本富士屋ホテル）（1998年）

本大会は猪子先生が大会長を務められ、熱望されていた箱根での開催となった。



写真3 特別講演お越し下さった故大野 乾先生（前列左2番目）、根井正利先生（同右2番目）との記念撮影。



写真4 筆者は幹事を拝命したものの、観光温泉ホテルでの開催にはいろいろな障壁があり、あれこれ手探りであった。打ち上げでは教室員の皆様からの心のこもった表彰状を、猪子先生より頂いた。

長野オリンピックドーピングコントロールチーム参加（1998年）



写真5 ほとんどがアルペンスキー競技に配属だったが、なぜか猪子先生はクロスカントリー競技担当になり、宿舎も離れていた。が、夜には毎晩集まってにぎやかに。ある夜の白馬にて。

インド組織適合性学会大会（ISHI）（デリー）（2001年）



写真6 以前から交流のあるインドの Narinder K Mehra 先生主催の第1回 ISHI ミーティングにお招きいただいた。



写真7 All India Institute of Medical Sciences 所長の Narinder K Mehra 先生（右2番目）のオフィスで。

第7回アジア・オセアニア組織適合性ワークショップ（7th AOH）（2003年）

軽井沢プリンスホテルにて開催された本大会で猪子先生は大会長を務められた。筆者はまたも幹事を拝命、準備に3年間を費やした。

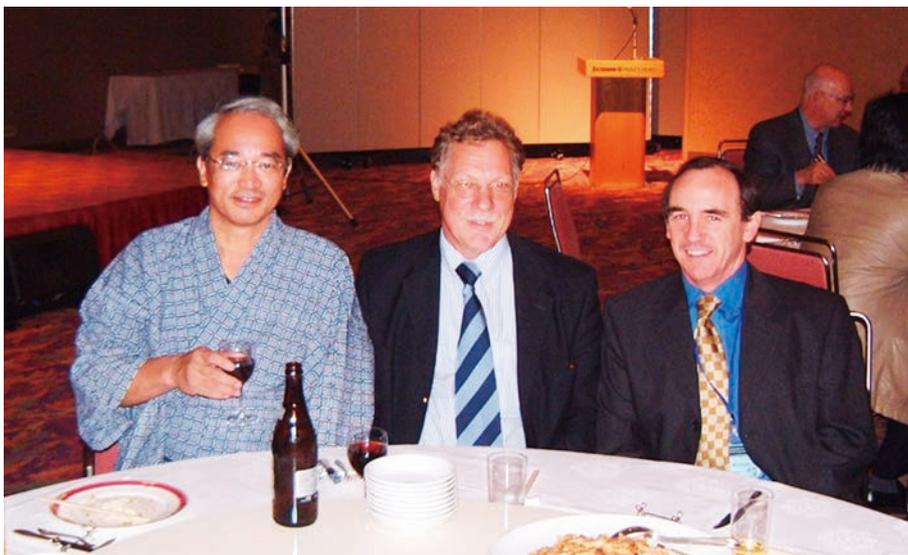


写真8 懇親会で。Mercel Tiranus 先生、オーストラリアの James McCluskey 先生と。猪子先生の浴衣はホテル寝まきではなく、自前である。



写真9 京都人である猪子先生のたつての希望で、懇親会ではNIPPONキモノカルチャー普及?のため浴衣&盆ダンス。曲もまたご本人の強い希望でなぜか炭坑節。歌：木村 彰方 先生（福岡人）、筆者（神戸人）。

番外編

猪子先生はヤキニク大好き、野菜大嫌いによく肉食獣とも言われていたが、本写真はパリ郊外の高速パーキングのカフェでなんと野菜を食べているという貴重な写真である。「フランスの野菜は素朴な味だから好き」とご本人がその理由を述べられていたことが印象的であった。



写真10 パリ的高速道路バイキングレストランにて（1996年）。お皿には自ら盛った生野菜が。

他にも猪子先生の好きなものとして有名なものはゴルフ、カラオケ、赤ワイン、クラブ活動等であるが、あまり知られていないのは「花好き」であること。特に赤いポピーは大好きだそうで、パリからの移動中にポピーの花を見つけると駆け寄って、「ねえ、写真撮って!」と言ってポーズをされ、「これは、花とおじさん」とタイトルまでお付けになった。その後長く机にも飾っておられた。それがこの写真である。

私は、在籍中の猪子先生からの言葉で今でも実践していることが2つある。1つは、旧姓使用である。結婚することを報告に行ったとき、すでに英語の論文業績が20ほどあったので、「日本は名字が変わってしまうと研究者としては不利になるから、論文を含めて名字は変えない方がいいよ」と旧姓使用を勧められた。当時はまだ旧姓使用が浸透してい



写真 11 花とおじさん

なかった時期であるが、私はこの時から旧姓使用を選択して現在に至っている。猪子ラボでは、在職中 60 余りの英雑誌論文に筆頭、共著としてかかわることができ、感謝申し上げる次第である。もう一つの言葉は、「人間、良いことも悪いことも、やったことは全て自分に還ってくる」である。この言葉は事ある毎に心で繰り返し唱えて過ごしている。猪子先生のご冥福を心よりお祈り致します。

第 20 回日本組織適合性学会近畿地方会 抄録集

- 会 期：2022 年 3 月 19 日（土）
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
TEL 06-6962-7001
- 世話人：諫田 淳也
京都大学医学部附属病院 血液内科
〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54
TEL 075-751-3111（代表）
- 事務局：近畿大学病院 輸血・細胞治療センター
芦田隆司，金光 靖
〒589-8511 大阪狭山市大野東 377-2
- 共 催：財団法人 大阪腎臓バンク

【開催方法】

Zoom によるオンライン配信

【参加費】

無 料

【会場地図】

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
TEL 06-6962-7001



📍 施設の詳しい地図



JR 環状線・地下鉄中央線・地下鉄長堀鶴見緑地線，森ノ宮駅下車東へ 350 m

プログラム

2022 年 3 月 19 日 (土) 大阪府赤十字血液センター 7 階会議室

ハイブリッド開催 (Zoom によるオンライン配信)

9 時 30 分～11 時 00 分 HLA 基礎講習会 (事前登録者対象) Zoom による配信

講師：高 陽淑, 田中秀則, 荒木延夫, 黒田ゆかり, 高山智美, 保井一太

11 時 30 分～11 時 35 分

開会の挨拶

11 時 35 分～12 時 00 分

オープニングセミナー

座長：荒木延夫 (兵庫さい帯血バンク)

2021 ASHI 報告

横沢佑弥 (株式会社ベリタス)

12 時 00 分～12 時 45 分

一般演題 3 題

座長：木村貴文 (近畿ブロック血液センター)

1. DSA により申し込み臍帯血が中止となった症例の LABScreen Single Antigen 閾値について
佐藤 匠 (特定非営利活動法人 兵庫さい帯血バンク)
2. さい帯血バンク登録時 HLA 検査における ambiguity 判定不能例に対する NGS 法の有用性
谷原知香 (特定非営利活動法人 兵庫さい帯血バンク)
3. チロシンキナーゼ阻害剤は CD155-DNAM1 シグナルの増強により NK 細胞免疫を賦活する
加藤安梨沙 (京都大学大学院 生命科学研究所)

12 時 45 分～13 時 30 分

世話人会 (この間、学会用 URL は一時的に閉鎖します。)

13 時 30 分～13 時 45 分

総 会

14 時 00 分～15 時 30 分

シンポジウム ー移植における HLA エピトープ解析ー

座長：諫田淳也 (京都大学医学部附属病院 血液内科), 田中秀則 (HLA 研究所)

- 1) HLA エピトープという新規アプローチ ～臓器移植後抗体関連拒絶での解析～
平田真章 (京都大学 肝胆膵・移植外科)
- 2) 非血縁者間骨髄移植における B 細胞エピトープ適合度の意義

岩崎 惇 (京都大学 血液内科)

3) 腎移植における T 細胞および B 細胞エピトープ解析の臨床的意義

坂本慎太郎 (愛知医科大学 移植外科)

15 時 30 分～17 時 30 分

特別講演 一移植成績の向上を目指して一

15 時 30 分～16 時 30 分 特別講演-1

座長：谷 慶彦 (大阪府赤十字血液センター)

同種造血幹細胞移植における HLA の意義

森島聡子 (琉球大学大学院医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病内科学 (第二内科))

16 時 30 分～17 時 30 分 特別講演-2

座長：吉澤 淳 (関西電力病院 外科)

日本臓器移植の現状と組織適合性検査の重要性

江川裕人 (東京女子医科大学 肝胆膵外科学 日本移植学会 理事長)

17 時 30 分～17 時 35 分

閉会の挨拶

講演時間のご案内

一般演題：質疑応答含め 15 分

シンポジウム：質疑応答含め 30 分

特別講演：質疑応答含め 60 分

(11 : 35 ~ 12 : 00)

オープニングセミナー

座長：荒木延夫
(兵庫さい帯血バンク)

2021 ASHI 報告

横沢佑弥, 藤原千恵, 山本 希, 益尾清恵
株式会社ベリタス バイオサイエンス本部 技術グループ

2021 ASHI 報告

○横沢佑弥, 藤原千恵, 山本 希, 益尾清恵

株式会社ベリタス バイオサイエンス本部 技術グループ

ASHI (アメリカ組織適合性学会, American Society of Histocompatibility and Immunology) の第 47 回大会はハイブリッド開催となった。今回, オンライン参加から得られた幾つかの知見を紹介する。

ASHI はテクノロジーの変化に伴い様々な新しい手技や臨床における知見が紹介, そして議論がされる学会である。今年は NGS やエピトープなどの議論がある中で, 2019 年から世界中に拡大した新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) に関するコンテンツが例年とは異なる点であった。COVID-19 感染と HLA タイプの関係性や, またそのメカニズムに加えて, パンデミックによる移植医療への影響なども発表がされていた。

またあるセッションでは “The HLA Lab of Tomorrow (land): One-stop shopping for immunological assessments” のタイトルの元に今後の HLA 検査の展望などについて

議論されていた。そこでは HLA の発現量の違いによる免疫反応リスクや, エピトープ解析, 更には尿中に含まれる cell-free DNA を用いた移植後モニタリングや昨今話題になっている Non-HLA 抗体などを臨床に活用していく可能性が示されていた。どれも以前からあった話ではあるが情報が更新されていたため, それらも併せて報告する予定である。

次の ASHI は 2022 年 10 月にラスベガスで開催される予定だが, その前に 2022 年 5 月には EFI (European Immunogenetics and Histocompatibility Conference) と第 18 回 IHIW (International HLA & Immunogenetics Workshop) と同時開催がオランダ/アムステルダムで開催予定である。そこでは昨今話題になっている Immunogenic Epitope など含めたトピックスも紹介されるため非常に興味深いものである。

(12 : 00 ~ 12 : 45)

一般演題

座長：木村貴文
(近畿ブロック血液センター)

演題番号 1～3

1) DSA により申し込み臍帯血が中止となった症例の LABScreen Single Antigen 閾値について

○佐藤 匠, 谷原知香, 柏木駿吾, 栃本香澄, 吉富壮平, 蘆田和也, 荒木延夫, 甲斐俊朗

特定非営利活動法人 兵庫さい帯血バンク

【目的】臍帯血移植は HLA-A, B, DR の抗原不一致が 2 抗原まで許容されるため, 拒絶の主因が抗 HLA 抗体であることが明らかであり, 当バンクでは, 日本赤十字社近畿ブロック血液センター (以下, 日赤) に医療機関より抗 HLA 抗体検査依頼があった移植予定患者について検査委託をしている。検査法は抗体スクリーニングが LABScreen Mixed, DSA 検査については, LABScreen Single Antigen (以下 SA) で実施されている。しかし, SA による DSA の判定については, 医療機関側の nMFI 値, Rxn 値の閾値設定によって移植の中止が決定される。そこで, 当バンクにおいて DSA 陽性と判定され移植中止となった症例の閾値について報告する。

【方法】解析ソフト HLA Fusion の SA のデフォルト設定では Rxn6 以上を陽性とするに対して日赤基準では, Rxn4 以上を抗体特異性と判定し, 移植予定臍帯血のアレルが含まれている場合を原則 DSA としている。また, 医療機関の判断も尊重できるように HLA Fusion から出力される数値データを添付して報告している。そこで DSA 陽性による移植中止例の Rxn 値, nMFI 値について分析した。

【結果】2019 年度～2021 年度 (12 月時点) で 512 例の移植申し込みがあり, 16 件が DSA 陽性で中止となっ

た。その内 7 件は医療機関側による検査, 9 件は日赤検査の SA のデータを基に医療機関側の判断に於いて DSA 陽性となり中止となった。日赤検査の 9 件中, nMFI 値 500 未満は 3 件 (Rxn4:2 件, Rxn6:1 件), 500 以上 1,000 未満は 2 件 (Rxn4) であったが, その内 2 件を示すと症例 1 は患者が HLA-A*01:01, A*26:01, B*37:01, B*40:02, C*03:04, C*06:02, 臍帯血が HLA-A*01:01, A*26:01, B*37:01, B*15:07, C*03:03, C*06:02 で, C*03:03 に対して DSA 陽性 (Rxn4, nMFI=147.2) を示した。また, 患者自身の C*03:04, C*06:02 についてもそれぞれ Rxn4, nMFI=198.67, 237.29 を示した。症例 2 は患者が HLA-A*11:01, A*26:01, B*40:01, B*51:01, C*07:02, C*14:02, 臍帯血が HLA-A*11:01, A*26:01, B*40:01, B*51:01, C*03:04, C*14:02 で, C*03:04 に対して DSA 陽性 (Rxn4, nMFI=162.43) を示した。また, 患者自身の C*07:02, C*14:02 についてもそれぞれ Rxn4, nMFI=227.45, 124.56 を示した。

【考察】本 2 症例を含む 4 件は nMFI 値も低く, 移植に問題無いと考えられるが, DSA 陽性の判断は医療機関側が決定する。医療機関側における SA 特性の問題点の認識が必要と考える。

2) さい帯血バンク登録時 HLA 検査における ambiguity 判定不能例に対する NGS 法の有用性

○谷原知香, 佐藤 匠, 柏木駿吾, 栃本香澄, 吉富壮平, 蘆田和也, 荒木延夫, 甲斐俊朗

特定非営利活動法人 兵庫さい帯血バンク

【目的】

臍帯血基準省令のガイドラインには、移植に用いる臍帯血の HLA 検査については、DNA タイピング検査を行うこととあり、当バンクは、日本赤十字社近畿ブロック血液センターに検査委託している。検査法は Luminex 法による PCR-SSOP 法で HLA-A, B, C, DRB1 について実施されているが、PCR-SSOP 法は年々増加する新規 HLA アレルに対応するためのオリゴヌクレオチドプローブ不足や null アレルを含む ambiguity により判定不能のケースがある。今回、phase ambiguity による判定不能例について NGS 法による HLA タイピングを行う機会を得たのでその有用性について報告する。

【対象と方法】

当バンクの保存臍帯血 2 件に phase ambiguity による判定不能例があり、2 件共に A*02:15N, A*24:02 または A*02:07, A*24:183N の候補が存在する結果となった。この場合、抗原型は前者が A24, A -, 後者が A2, A - となる。A*02:07 と A*02:15N, そして A*24:02 と A*24:183N の exon2, exon3 はそれぞれ同じ塩基配列を

示し、A*02:15N と A*24:183N は exon4 の同一場所での塩基置換 (257 番目の codon が TAC → TAA で stop codon となる) で null アレルとなり判定不能となる (図参照)。そこで、Scisco Genetics NGS タイピングワークショップ (2019 年 11 月 9 日) に参加し、その 1 件について NGS 法検査を実施した。

【結果】

臍帯血は A*02:15N, A*24:02:01 と判定された。また、他座のアレルは、B*46:01:01, B*54:01:01, C*01:02:01, C*01:02:01, DRB1*08:03:02, DRB1*08:03:02, DQA1*01:03:01, DQA1*01:03:01, DQB1*06:01:01, DQB1*06:01:01, DPA1*01:03:01, DPA1*02:02:02, DPB1*04:01:01, DPB1*05:01:01 であった。

【考察】

臍帯血登録時に HLA 検査が判定不能となった場合は、その臍帯血は不適となる。本症例のような PCR-SSOP 法における phase ambiguity による判定不能例となった場合について NGS 検査法の導入がさい帯血バンクに望まれる。

	244	245	246	247	248	249	250	251	252	253	254	255	256	257
A*24:02:01:01	TGG	GCA	GCT	GTG	GTG	GTA	CCT	TCT	GGA	GAG	GAG	CAG	AGA	TAC
A*02:15N	TGG	GCG	GCT	GTG	GTG	GTG	CCT	TCT	GGA	CAG	GAG	CAG	AGA	TAA
A*02:07:01:01	TGG	GCG	GCT	GTG	GTG	GTG	CCT	TCT	GGA	CAG	GAG	CAG	AGA	TAC
A*24:183N	TGG	GCA	GCT	GTG	GTG	GTA	CCT	TCT	GGA	GAG	GAG	CAG	AGA	TAA

図 A*02:15N, A*24:02 または A*02:07, A*24:183N の exon4 における塩基配列 codon

3) チロシンキナーゼ阻害剤は CD155-DNAM1 シグナルの増強により NK 細胞免疫を賦活する

○加藤安梨沙¹⁾, 進藤岳郎²⁾, 高折晃史²⁾

京都大学大学院 生命科学研究所¹⁾, 京都大学医学部附属病院 血液内科²⁾

背景：慢性骨髄性白血病（CML）においてチロシンキナーゼ阻害剤（TKIs）の中止後にも長期寛解（TFR）を維持する症例が知られ，NK 細胞免疫が重要とされる。今回 TKIs の 1 つイマチニブが NK 細胞を活性化する機序として CD155-DNAM-1 シグナルに注目し細胞株で検証した。

方法：4 種類の CML 細胞株（親株）に加え，各株の *bcr-abl* にイマチニブ耐性変異 T315I を導入した細胞（変異株）を用いた。変異株は CRISPR-Cas9 技術ないし低濃度イマチニブへの長期曝露で作製した。各株とヒト健康人単核球を共培養し，ヒト NK 細胞活性として CD107a 脱顆粒と細胞傷害能および IFN- γ /TNF- α の産生能をフローサイトメトリーで測定した。

結果：第 1 に KBM5 親株は NK 細胞を活性化しないが，KBM5 変異株は強い NK 細胞活性を惹起した。KBM5 親株は CD155 陰性，同変異株は CD155 陽性であることから，CD155 を介したシグナルが NK 細胞の活性化に重要と考えられた。

第 2 に KBM5 変異株を含む CD155 陽性細胞株と PBMCs の共培養における NK 細胞活性は抗 TIGIT 阻害

抗体の添加で不変であったが，抗 DNAM-1 阻害抗体や抗 CD155 阻害抗体で抑制された。CD155 陽性細胞株との共培養でヒト NK 細胞の DNAM-1 発現が低下したが，その低下は抗 CD155 阻害抗体の添加で解除された。一方同じ共培養で NK 細胞の TIGIT 分子発現は不変であった。よって CD155 と DNAM-1 の会合による NK 細胞の活性化は CD155 と TIGIT の会合による NK 細胞の抑制に比して優越性を持つと考えられた。

第 3 に DNA 損傷応答（DDR）に関連した蛋白質の発現をウェスタンブロット法で解析すると KBM5 親株・変異株とも ATR 蛋白を発現していたが，リン酸化 ATR は親株では検出されず，変異株でのみ認められた。すなわち低濃度イマチニブの長期曝露により KBM5 親株で ATR-Chk1 経路の活性化を生じた可能性がある。

結論：イマチニブの作用で KBM5 親株の ATR-Chk1 経路が活性化されて CD155 の発現亢進を来した可能性がある。そして CD155 と NK 細胞の DNAM-1 との会合により，NK 細胞による抗腫瘍免疫が賦活化されたと考えられる。本機序は CML の治療のみならず，造血幹細胞移植後の NK 細胞賦活にも有用となる可能性がある。

(14 : 00 ~ 15 : 30)

シンポジウム

「移植における HLA エピトープ解析」

座長：諫田淳也（京都大学医学部附属病院 血液内科）

田中秀則（HLA 研究所）

- 1) HLA エピトープという新規アプローチ ～臓器移植後抗体関連拒絶での解析～
平田真章（京都大学 肝胆膵・移植外科）
- 2) 非血縁者間骨髄移植における B 細胞エピトープ適合度の意義
岩崎 惇（京都大学 血液内科）
- 3) 腎移植における T 細胞および B 細胞エピトープ解析の臨床的意義
坂本慎太郎（愛知医科大学 腎移植外科）

1) HLA エピトープという新規アプローチ ～臓器移植後抗体関連拒絶での解析～

○平田真章¹⁾, 進藤岳郎²⁾, 八木真太郎³⁾, 伊藤孝司¹⁾, 万木紀美子⁴⁾, 菱田理恵⁴⁾, 波多野悦朗¹⁾

京都大学 肝胆膵・移植外科¹⁾, 京都大学 血液・腫瘍内科²⁾, 金沢大学 肝胆膵・移植外科³⁾, 京都大学医学部附属病院 検査部輸血部門⁴⁾

臓器移植における HLA の重要性を明らかにした最大の功労者 Paul Terasaki (1929–2016) は「液性免疫こそ移植免疫の主役である」と提唱した。臓器移植後の長期生着には抗 HLA 抗体, ひいては液性免疫の制御が求められる。近年, 抗 HLA 抗体の標的となる抗原決定基 (エピトープ) が明らかとなった。エピトープは HLA 分子上で数個のアミノ酸から成る構造単位で, 抗 HLA 抗体の多様な交差反応, HLA 分子のアミノ酸配列や三次元構造解析に基づいて推定されている。

最近では, ドナー・レシピエント間の HLA エピトープの不適合数で腎臓, 肝臓, 肺移植における抗ドナー特異的 HLA 抗体 (DSA) の発生を予測できるとする報告が相次いでいる。本アプローチは移植前の拒絶リスク予測やドナー選定, 移植後の個別化免疫抑制戦略の構築に

有用となる可能性もある。しかしエピトープ不適合数の少ない移植でも DSA 陽性となる例は存在し, その予測には限界がある。また, エピトープ以外の DSA 発生因子との関連も不明である。さらには, DSA 発生が必ずしも抗体関連拒絶や移植臓器不全につながるとは限らないことから DSA の機能的解析も必要とされる。

我々は, 京都大学病院で施行された肝移植, 肺移植, 腎移植レジストリを用いて臓器横断的にエピトープ解析を行ってきた。本講演では肝移植での解析を中心にエピトープ適合度の DSA 産生への影響, DSA の移植臓器への影響, そして今後に向けての課題について報告する。

2) 非血縁者間骨髄移植における B 細胞エピトープ適合度の意義

岩崎 惇

京都大学 血液内科

HLA 抗原・アレルの不一致は、造血幹細胞移植後の予後に影響を与える事が知られており、HLA 抗原・アレルの不一致数、及び不一致抗原・アレルが存在する遺伝子座に関しては、ドナーを選択する際の重要な因子である。しかし、抗原・アレルの不一致数や遺伝子座が同じでも、移植後に起こる免疫反応が異なる事が知られており、個々の不一致 HLA の組み合わせによる違いに関して研究が進められてきた (Kawase et al., 2007, 2009; Morishima et al., 2016)。近年、不一致 HLA の組み合わせから HLA 由来のエピトープを推定する方法が開発されている (Elsner et al., 2004; Otten et al., 2013; Kramer et al., 2020)。B 細胞が産生する抗体が認識するエピトープを推定するソフトウェアとして、HLAMatchmaker (HLAMM) があり、臓器移植領域を中心にその意義が検討されてきた (Duquesnoy, 2001; Duquesnoy et al., 2014)。造血幹細胞移植領域では、近年、エフェクター T 細胞を抑制し、強い移植片対宿主病 (GVHD) 予防効果を持つ移植後シクロフォスファミド (PTCy) を用いた移植が、HLA ハプロ半合致血縁者間移植において広く実施されており、同移植法に関して HLAMatchmaker で推定したエピトープの意義を検討した研究が複数報告されているが、その意義には議論の余地がある (Rimando et al., 2018; Zou et al., 2020, 2021)。非血縁者間移植においては、HLAMatchmaker で推定したエピトープの不一致は移植後予後と優位な相関を認めない事が報告されている (Duquesnoy et al., 2008)。

しかし、HLA アレルの分布は地域による多様性が大きい事が知られており、特に本邦における HLA アレル頻度分布は、他のアジア地域やアメリカにおける黄色人種の分布とも異なる事が知られている (Nakaoka and Inoue, 2015)。更に、ドナー選択の際にはリスクの高い不一致 HLA の組み合わせは避けられる傾向にあるため、実際の移植症例における不一致 HLA の組み合わせの分布を考慮して結果を解釈する必要がある。そこで我々は、抗体が認識する HLA エピトープを検討する事で、HLA

アレル不一致症例間における移植後免疫反応の違いを明らかにする事を目的とした。

Transplant Registry Unified Management Program (TRUMP) に登録されている、2000 年から 2018 年に造血器腫瘍に対して非血縁者間骨髄移植を実施した、HLA-A, -B, -C, -DRB1 タイピング情報が存在する 9,857 症例を後方視的に解析した。DQB1 タイピング情報のない 4,771 症例に関しては、HLA 研究所のハプロタイプ情報を基に最頻アレルを選択するアルゴリズムで推定した (タイピング・推定一致率: 94.3%)。5 座アレル情報を基に、HLAMM を用いて HLA 由来の抗体エピトープを推定した。

患者年齢中央値は 48 歳 (16-77 歳)、6,141 症例が HLA8/8 アレル一致、2,622 症例は HLA7/8 アレル一致、1,094 症例は HLA2 アレル以上不一致のドナーからの移植症例であった。HLA 8/8 アレル一致症例 (A 群)、及び GVH 方向 HLA class I アレル不一致・エピトープ一致症例 (B 群: n=2,061) と比較し、アレル不一致・エピトープ不一致症例 (C 群: n=1,655) は、グレード III 以上の重症急性 GVHD の発症率が有意に高値であった (B 群/A 群: adjusted hazard ratio (aHR) 1.02, 95%CI 0.83-1.27; C 群/A 群: aHR 1.78, 95%CI 1.27-2.49; C 群/B 群: aHR 1.71, 95%CI 1.30-2.26)。特に、GVH 方向の HLA-C 座におけるアレル不一致・エピトープ不一致症例 (n=2,153) は、アレル不一致・エピトープ一致症例 (n=1,563) と比較して重症急性 GVHD の発症率が高値であった (aHR: 1.89, 95%CI 1.30-2.75)。GVH 方向 HLA class II アレル不一致・エピトープ不一致症例 (n=2,140) は、HLA 8/8 アレル一致症例と比較し、重症急性 GVHD 発症率に有意差を認めなかった (aHR: 1.14, 95%CI 0.77-1.67)。

非血縁者間骨髄移植において、GVH 方向の HLA class I エピトープ不一致のドナーは、重症急性 GVHD 発症リスクが高く、抗体が認識する HLA エピトープを考慮したドナー選択が有用である可能性が示された。GVHD 予防法としては、T 細胞を抑制する治療が中心的に用い

られているが、本研究における知見は、GVHD 発症に B 細胞が関わることを示唆している。抗体エピトープ不一致症例における T 細胞エピトープの影響や、PTCy を始めとした異なる GVHD 予防法やドナーソースを用いた移植においての抗体エピトープの影響を今後検討していく必要があると考える。

3) 腎移植における T 細胞および B 細胞エピトープ解析の臨床的意義

○坂本慎太郎¹⁾²⁾, 友杉俊英³⁾, 岩崎研太⁴⁾, 後藤憲彦³⁾, 鳴海俊治³⁾, 渡井至彦³⁾, 小林孝彰²⁾

日赤赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院 組織適合検査室¹⁾, 愛知医科大学 腎移植外科²⁾, 日赤赤十字社愛知医療センター名古屋第二病院 移植内科・移植外科³⁾, 愛知医科大学 腎疾患・移植免疫学寄附講座⁴⁾

従来、移植予後の評価法として HLA タイピングミスマッチが用いられてきた。確かに、組織適合性検査や免疫抑制療法の進歩、患者管理技術の向上などにより、移植成績はかなり向上した。しかし、ドナー特異的 HLA 抗体 (DSA: donor specific HLA antibody) による慢性抗体関連型拒絶反応 (antibody-mediated rejection: ABMR) には、現在のところ効果的な治療法はない。したがって、移植後に新規に産生される DSA (de novo DSA) をいかに高感度で効率的に検出するかが、移植片の長期生着にとって重要なポイントとなる。

近年、より詳細な評価法として B 細胞エピトープ分析が注目されている。この概念に基づく HLA エピトープマッチングの結果は、従来の HLA マッチングから得られたものよりも優れていると報告されている。

一方、T 細胞エピトープ、特にレシピエント抗原提示細胞上の HLA クラス II によって提示されるドナー由来 HLA 分子に関連するエピトープ (PIRCHE-II) も注目されつつある。抗原提示細胞によるドナー HLA 由来抗原ペプチドの提示は、de novo DSA 産生の最初のプロセスであり、より抗体産生の起源に近いと考えられる。

このように B 細胞、T 細胞エピトープはそれぞれ注目

されつつあるが、両者の関係を調べた研究はほぼ無い。我々は、B 細胞、T 細胞エピトープの両評価法の関係性を見出すことで、より詳細に de novo DSA 産生リスクを予測できるかを検討した。

対象の生体腎移植後患者を de novo DSA 産生群と非産生群に分けて解析を行うと、従来の HLA マッチングでは両群に有意差は見られなかったが、T 細胞エピトープ (PIRCHE score) と B 細胞エピトープ (エプレットミスマッチ) の両指標は、両群に有意差が見られた。また、多変量解析の結果からも、両指標は de novo DSA 産生リスクが有意に高いことが判明した。次に両指標を低値、高値の群に分けて解析を行うと、両指標とも高値の群の de novo DSA 産生リスクが有意に高いという結果になった。PIRCHE score とエプレットミスマッチの間には弱い正の相関関係が見られた。

以上より、B 細胞エピトープと T 細胞エピトープの両解析法は、de novo DSA 産生予測に関して、従来法よりも優れていることが示唆された。両解析法を用いることで、より正確に de novo DSA 産生リスクを予測することができ、移植後の維持免疫抑制療法に対する有益な情報を提供し、個別化医療の実現が期待される。

(15 : 30 ~ 16 : 30)

特別講演 1

座長：谷 慶彦
(大阪府赤十字血液センター)

同種造血幹細胞移植における HLA の意義

森島聡子
琉球大学大学院医学研究科
(内分泌代謝・血液・膠原病内科学 (第二内科))

同種造血幹細胞移植における HLA の意義

森島聡子

琉球大学大学院医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病内科学（第二内科）

同種造血幹細胞において最適なドナーである HLA の一致した同胞が得られない場合は、代替ドナーからの移植を考慮する。代替ドナーからの移植の成功を妨げる移植片対宿主病（GVHD）のリスクを軽減するためには、患者とドナーの HLA を考慮した適切なドナー選択が重要である。

造血細胞移植の HLA 研究は、大規模なドナーと患者の HLA と臨床情報に基づく後方視的な解析により、臨床サイドから基礎研究に情報を発信してきた。これらの研究は、日本及び欧米においても患者とドナーの HLA アレルのデータが整備された非血縁者間造血幹細胞移植（UR-HSCT）を主体に行われ、本邦においては日本骨髄バンク（JMDP）の検体保存事業によりレトロスペクティブに HLA タイピングが実施されたデータが解析され、臨床に還元される有用な知見が報告されている。その後、日本造血・免疫細胞療法学会と日本造血細胞移植データセンターが構築した造血細胞移植登録一元管理プログラム（TRUMP）に登録された大規模なデータを用いた研究が実施されるようになり、臍帯血移植や血縁者間移植における HLA 研究も数多く報告されている。

近年次世代シーケンシング（NGS）による HLA タイピング法の開発が進み、JMDP を介した UR-HSCT においても患者の確認検査に導入された。NGS によって得られた詳細な HLA タイピングの結果と移植成績との関連は、今後症例を蓄積して解析していく必要がある。

HLA クラス I 分子は、CD8T 細胞への抗原提示だけではなく、NK 細胞受容体のリガンドとして NK 細胞応答性を制御する働きを持つ。造血幹細胞移植においても、HLA クラス I の NK 細胞受容体リガンドとしての意義や KIR 遺伝子・KIR ハプロタイプの意義を探索する研究が数多く報告されている。

近年、NK 細胞が強い免疫応答をするためには HLA クラス I 分子を介して抑制型受容体からライセンシングを受ける必要があるという概念が示されている。欧米からは造血細胞移植における NK 細胞ライセンシングの意義が報告されており、ドナー選択において考慮すべき新たな知見となる可能性がある。

本講演では、造血幹細胞移植における HLA の意義について、近年アップデートされた知見も含めて紹介する。

(16 : 30 ~ 17 : 30)

特別講演 2

座長：吉澤 淳
(関西電力病院 外科)

日本臓器移植の現状と組織適合性検査の重要性

江川裕人
東京女子医科大学 肝胆膵外科学
(日本移植学会 理事長)

日本臓器移植の現状と組織適合性検査の重要性

江川裕人

日本移植学会 理事長

日本では、腎臓、肝臓、心臓、肺、膵臓（膵島）、小腸の移植が実施されている。腎・膵・肝・肺の生体移植、腎・膵の心停止後臓器提供移植、腎・肝・心・肺・膵臓（膵島）・小腸の脳死下臓器提供移植が保険診療として実施されている。日本における心停止後・脳死下臓器提供は、人口 100 万人あたりの提供数で見ると先進国のなかで最下位である。一方で、移植患者さんの術後成績は、世界で抜きん出て優秀である。日本移植学会は、科学技術と社会制度整備に注力してきた。特に、この 6 年間は抗体関連型拒絶克服を目指し新たな治療を患者さんに届けるために、基礎研究に始まり臨床研究を経て保険収載までの工程を様々な方面で展開してきたので紹介する。

献体移植において、公平性・透明性・実効性を担保するために、レシピエント選択は、前提条件や優先条件などが厳密に決められている。血液型、年齢、感作なし、HLA 適合度などが、臓器ごとに定められている。肝臓以外はドナーに感作されていないことが前提条件とされ

ている。現在、全国に散らばる移植患者候補の組織適合性検査結果を、救急現場での初期情報から脳死判定終了までに確実に揃えている。待機患者の血清保存、ドナー候補患者の血液送付、夜を徹しての検査、万に一つの間違ひも許されない情報伝達と、関係者の寝食を忘れた貢献は広く顕彰されるべきである。

術後の抗体検査も平成 30 年に保険適応になった。通常のスクリーニングは年に 1 回、拒絶を疑えば年に 2 回まで追加できる。スクリーニングで陽性であれば、シングルビーズで同定検査が可能であり、治療の効果を見るために 2 回まで同定検査が可能である。

令和 4 年の見直しで PRA を申請したが、承認されなかった。血液型不適合と HLA 抗体合わせて抗体関連拒絶の治療のための血漿交換は承認された。リツキサンや IVIG などの脱感作使用と同時に承認されると予想している。

【日本組織適合性学会 MHC 投稿・執筆規定】 (2019年2月12日改訂)

I. 概要

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（もしくは掲載予定）でないものに限る。

資格: 筆頭著者および責任著者は本学会会員であり、その他の共著者も、原則として、本学会会員に限る。ただし、MHC 編集委員会が非会員に執筆を依頼した総説については、その限りでない。

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、ヘルシンキ宣言（「ヒトを対象とする医学研究の倫理的原則」、1964年第18回世界医師会ヘルシンキ総会採択、2013年フォルタレザ総会修正）に基づき、文部科学省が定める関連倫理指針（「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」、「ヒト ES 細胞の分配及び使用に関する指針」、「ヒト iPS 細胞又はヒト組織幹細胞からの生殖細胞の作成を行う研究に関する指針」等）に従うと共に、所属施設等の倫理委員会の審査を経て、施設長による承認を得たものでなければならない。また、遺伝子組換え実験は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（いわゆるカルタヘナ法）」、動物を用いた研究については動物愛護管理法に基づく「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」（2006年環境省告示）などを遵守し、それぞれ所属施設における関連委員会等にて所定の手続きによる審査・承認のもとに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。

利益相反の開示: MHC に原著論文もしくは総説を掲載する場合には、利益相反事項について開示しなければならない。

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、加筆などを求める場

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。とくに、原著、総説については、原則として科学技術振興機構（JST）が運営する電子ジャーナル配信サイト（J-STAGE）にて配信される。

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、投稿原稿にその旨を明記すること）。

別刷: 別刷（抜き刷り）は有料とし、その経費は別冊部数やページ数による（別冊希望の場合には、著者校正の際にその旨を明記すること）。

※論文の構成や形式等について疑問や不安等がある場合には、MHC 編集委員会がアドバイス等に対処可能であるため、投稿規定の末尾にある連絡先まで連絡されたい。

II. 原著執筆書式

1. 執筆要項

12,000字（刷り上がり12頁程度）以内とする。ただし、図、表、写真は、1点につき概ね400字に該当するものとし、それぞれに表題を記載し、挿入箇所を本文に明記する。また、図説は本文の最後に記載する。本文は Microsoft Word で作成し、表は Microsoft Word もしくは Microsoft PowerPoint、図、写真は Microsoft PowerPoint を使用する。原稿は記憶媒体（CDR等）に保存もしくはEmail添付で、投稿レターを添えて編集長に送付する（送付先は投稿・執筆規定の末尾を参照）。

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に加えて、責任著者（連絡責任者）の住所、氏名、電話番号、FAX

番号, E-mail アドレスを記載する。なお, タイトル, 著者名, 所属の記載は下記の形式に従う。

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

Tetsuya Takao¹⁾, Akira Tsujimura¹⁾, Masaharu Sada²⁾, Reiko Goto²⁾, Minoru Koga³⁾, Yasushi Miyagawa¹⁾, Kiyomi Matsumiya¹⁾, Kazuhiko Yamada²⁾, Shiro Takahara¹⁾

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

心移植における FlowPRA 法を用いた HLA 抗体検出の意義

山本 賢¹⁾, 佐藤 清¹⁾, 佐田 正晴²⁾, 永谷 憲歳²⁾, 中谷 武嗣³⁾

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

3. 本文一1：日本語での投稿

・2 頁目から, 和文要旨 (400 字以内) および 250 words 以内の英文要旨, キーワード (日本語および英語, それぞれ 5 語以内) を記載する。なお, 英文要旨について, 著者グループのみでは作成が難しい場合には, 編集委員会による対応も可能であるので, 投稿レターにその旨を明記すること。

・ページ替えて, 「はじめに」, 「材料と方法」, 「結果」, 「考察」, 「謝辞」, 「利益相反事項の開示」, 「引用文献」, 「図説」の順に記載する。

- ①専門用語以外は常用漢字, 新かな遣いに従い記述する。
- ②本文中の英単語は固有名詞を除き全て小文字で統一する。
- ③地名, 人名, 学名は原語のまま用い, 薬品名は

一般名を用い商品名は括弧内に記す。

- ④単位, 数量は国際単位 (cm, ml, g, Kg, pg, μ l, %, $^{\circ}$ C など) を, 数字はアラビア文字を用いる。単位と数字の間には半角スペースを入れる。
- ⑤遺伝子名 (シンボル) はイタリックで表記する。例えば, *HLA-DRB1* (タンパク名として用いる場合はイタリックにしない)

4. 本文一2：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」, 「Acknowledgements」, 「Disclosures」, 「References」, 「Legend to Figures」の順に記載する。

- ①地名, 人名, 学名は原語のまま用い, 薬品名は一般名を用い商品名は括弧内に記す。
- ②単位, 数量は国際単位 (cm, ml, g, Kg, pg, μ l, %, $^{\circ}$ C など) を, 数字はアラビア文字を用いる。単位と数字の間には半角スペースを入れる。
- ③遺伝子名 (シンボル) はイタリックで表記する。例えば, *HLA-DRB1* (タンパク名として用いる場合はイタリックにしない)

5. 本文一3：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 (先頭のみ大文字とし, 他は小文字とする) 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. 利益相反事項の開示 (日本語, 英語いずれの場合とも)

学会 HP にある取り扱い (<http://jshi.umin.ac.jp/coi/index.html>) に掲載されている「COI があるとして申告する範囲に関する規則 (JSHI_COI 規則)」を必ず参照し, 申告すべき利益相反事項がある場合には, COI 申告_様式 2 を用いて申告すること。また, 論文等では本文の末尾で引用文献の前に, 以下を明記すること。

*申告すべき利益相反事項がない場合
(和文) 利益相反: 申告すべき事項なし
(英文) Disclosures: none to declare

*申告すべき利益相反事項がある場合 (事項に応じて記載する。以下は例示)

(和文) 利益相反: 以下の利益相反事項があります。

本論文の内容に関連して、著者〇〇が△△社より受けた講演料 (□円)

本論文に記載した研究は、〇〇社から受けた研究費 (□円) による。

(英文) Disclosures:

〇〇(著者名) received a reward for lecture from (営利企業名)

This study was conducted by a research fund from (営利企業名)

7. 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、引用順に一括して、以下の例に従って、著者名、論文名、雑誌 (もしくは書名 (英文の場合はイタリック表記)、巻 (号)、最初と最後のページ、発表年を記載する。著者名、編集者名は筆頭者から3名まで列記し、4名以上は他または *et al.* とする。なお、引用論文の (号) については、原則として記載するものとするが、存在しないあるいは不明な場合には不記載を可とする。

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(1-3): 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(1): 36-40, 2005.

4. 佐田正晴, 高原史郎: 腎移植一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 監修), 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

6,000字 (刷り上がり6頁程度) 以内とする。ただし、図, 表, 写真は, 1点につき概ね400字に該当するものとし, それぞれに表題を記載し, 挿入箇所を本文に明記する。また、図説は本文の最後に記載する。本文は Microsoft Word で作成し、表は Microsoft Word もしくは Microsoft PowerPoint、図, 写真は Microsoft PowerPoint を使用する。原稿は記憶媒体 (CDR 等) に保存もしくは Email 添付で投稿レターを添えて編集長に送付する (送付先は投稿・執筆規定の末尾を参照)。

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、連絡責任者の住所、氏名、電話番号、FAX番号、E-mail アドレスを記載する。タイトル、著者名、所属等の記載は「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

日本語、英語のいずれも可とする。概ね 6,000 ~ 12,000字 (刷り上がり6 ~ 8頁) 程度とし、利益相反事項の開示を含めて、上記の原著執筆書式に準じるが、本文構成の一部 (「材料と方法」, 「結果」, 「考察」等) については、適宜変更することも可とする。

V. 原稿送付先

〒 311-3193 茨城県東茨城郡茨城町桜の郷 280
 国立病院機構水戸医療センター
 臨床研究部 移植医療研究室 気付
 日本組織適合性学会 編集広報委員会
 委員長 湯沢賢治

Tel: 029-240-7711

Fax: 029-240-7788

E-mail: kyuzawa@aol.com

	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

Instructions to Authors (updated on Feb. 19, 2019)

Submission

MHC is the official journal of the Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics (JSHI). The aim of this journal is to serve as a forum for the scientific information in the form of original and high quality papers in the field of major histocompatibility complex (MHC) and immunogenetics. Manuscripts, from basic to clinical research relating to MHC or immunogenetics, are accepted with the understanding that they are original unpublished work and are not being submitted elsewhere. Manuscripts should be written in Japanese or English. First author and corresponding author must be members of JSHI, while it is preferable for the other co-authors also to be JSHI members.

Ethics: Clinical and basic studies using human subjects and specimens obtained from humans must adhere to the 1980 Helsinki Declaration (adapted by the 18th World Medical Assembly) and must be approved by the ethics review board of each participating institution. Furthermore, animal studies must adhere to such guidelines.

Conflict of interest: All the authors must clearly declare any conflicts of interest according to the guideline of JSHI (<http://jshi.umin.ac.jp/coi/index.html>). Further information is available upon request.

Types of papers published: Original articles, reviews, series, short communications (including research and technical bulletins) and case reports are acceptable.

Review: The editorial board is responsible for the acceptance of all submitted papers based on a review by multiple referees. Based on the outcome of the review, the board may request corrections, omissions, or additions for publication in MHC.

Copyright: Papers that are accepted for publication become copyright of JSHI and will be made available electronically via the J-Stage platform (<https://www.jstage.jst.go.jp/>).

Fees: There is no fee for publication. However, authors will be responsible for the costs incurred for color photographs and special prints (please specify at submission if color printing is required).

Reprints: Costs incurred for reprints will be charged based on the number of copies and pages (please specify the number of reprints at the time of proofing).

Manuscript (in English)

1. Original articles

Summary

Articles are limited to 4,000 words. Each figure, table, and photograph must be included on separate manuscript pages and must include a title. The location of tables and figures in the manuscript must be clearly stated in the main text. The main text must be submitted as a Microsoft Word file, tables as a Microsoft Word, Excel, or PowerPoint files, and figures and photographs as PowerPoint files. All files must be electronically sent as attached files via email to the editor-in-chief. If the authors would like to submit large size files (over 30 MB), the files should be saved on a CD-ROM, which is to be submitted by mail to the editor-in-chief with one printed copies of the manuscript. Alternatively, the large size files may be submitted via a high volume file transfer service. In that case, the authors must contact the editorial office (indicated on the last page of this instruction) before submission.

First page

The first page is the title page, which must clearly state that the submitted article is an "Original article" and include titles, and the name and affiliation of each author. Include the address, name, telephone number, fax number, and email address of corresponding author at the bottom of the title page. Follow the example shown below for the title, author names, and affiliations:

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

Tetsuya Takao¹⁾, Akira Tsujimura¹⁾, Masaharu Sada²⁾, Reiko Goto²⁾, Minoru Koga³⁾, Yasushi Miyagawa¹⁾, Kiyomi Matsumiya¹⁾, Kazuhiko Yamada²⁾, Shiro Takahara¹⁾

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

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

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

Main text

- The second page must contain an "Abstract" no more than 250 words in length, followed by key words (no more than five).

- Starting on the third page, the main text begins with the "Introduction" and is followed by the "Materials and Methods", "Results", "Discussion", "Acknowledgments", "Conflict of Interest", and "References" sections, in this order.
- Geographic, human, and scientific names are listed in their original languages. Use generic names for drugs with commercial names in parentheses.
- Indicate units and quantities using Arabic numbers followed by international units (cm, ml, g, kg, pg, l, %, °C, etc.).

References

References should include names of authors (last names first); title of article; title of journal (abbreviate according to the style of *Index Medicus*) or book; volume number; location and name of publishing company (book only); first page, year of publication. For references with more than three authors, list the first three, followed by "et al.". See the examples below:

Journal.

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.

Book.

Katz DH: *Lymphocyte Differentiation, Recognition, and Regulation*. New York, Academic Press, 1997

Chapter in a book.

Tongio M, Abbal M, Bignon JD, et al. ASH#18 : HLA-DPB1.

Charron D (ed): *Genetic diversity of HLA Functional and Medical Implication*. Paris, EDK, 1997

2. Short communications (including research and technical bulletins) and Case reports

Summary

Short communications are limited to 1,500 words. For other information, please see "Summary" section of "Original articles" described before.

First page

The first page is the title page, which must clearly state that the submitted article is a "Short Communication" or "Case report" and include titles and the name and affiliation of each author. Include the address, name, telephone number, fax number, and e-mail address of the corresponding author at the bottom of the title page. Follow the example shown below for the title, author names, and affiliations:

Main text

- Short communications and case reports do not require an abstract.
- After the second page, follow the same guidelines for the third and subsequent pages of original articles as described.

3. Reviews, Series, and Others

As a general rule, reviews and series are written by invitation from the editorial board; however, submission by JSHI members is strongly encouraged. The editorial board determines the total number of pages, but in general a manuscript of no more than 3,000 words is preferable. As a general rule, reviews and series follow the format for original articles.

Editorial Office and Mailing Address

Manuscripts should be submitted to the Editor-in-Chief at the Editorial office:

Editor-in-Chief: Kenji Yuzawa, M.D., Ph.D.

Editorial office:

The Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics Journal, MHC

c/o Department of Transplantation Surgery

National Hospital Organization Mito Medical Center

280 Sakuranosato, Ibaraki-machi, Higashiibaraki-gun,

Ibaraki-ken, 311-3193 Japan

E-mail: kyuzawa@aol.com

Tel: +81-29-240-7711

Fax: +81-29-240-7788

編集後記

地球温暖化の影響もあろうが、東京では例年より桜の開花が早く、4月中旬にはすっかり葉桜になってしまった。新型コロナウイルス感染症との闘いは3年目を迎え、第7波の流行の兆しも見えている。また、最近では日本各地で地震が頻発していることも気がかりである。海外に目を向ければ、ロシアによるウクライナ侵攻は、民間人にも多くの犠牲を生じており、生物化学兵器や核兵器の使用が懸念されるなど、世界大戦にも発展しかねない状況を生んでいる。この世界はいったいどこへ向かおうとしているのかと心を痛めるが、さまざまな事態において的確・適切に対処するには、あらかじめリスクを把握しておくことと、対応法の原理原則について検討しておくことが求められるように思う。

さて、2022年に入って最初の学会誌（MHC 第29巻1号）をお届けする。第30回大会の案内には、種々の企画が並んでおり、技術者講習会、初心者講習会、QCWS 集会を含めて、3年ぶりとなる対面開催が楽しみである。また、昨年のQCWS レポートや、今年のQCWS での報告様式とも関連するHLA 推定アレル一覧表、さらには、昨年の学術奨励賞受賞者らによる総説が掲載されている。それらに加えて、年初に逝去された猪子英俊先生の追悼文が寄稿されているため、ご一読いただければ幸いである。

最後に、会員の皆様には、組織適合性や免疫遺伝学に関連する原著論文、短報、総説などを本誌に投稿されることをお願いしたい。それらは国立研究開発法人科学技術振興機構（JST）が運営する、日本の学術ジャーナルを発信するプラットフォームである J-STAGE（<https://www.jstage.jst.go.jp/browse/-char/ja/>）を通じて国内外の読者に届けられるため、会員個人々人としても、学会全体としても貴重な情報発信ツールであると考えます。

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

法人化に伴い学会事務局を移転いたしました。入退会手続等の会員管理・名簿登録事項の変更・会費納入・学会の会計業務については、中西印刷株式会社を学会事務局として委託しております。その他の一般学会業務や認定制度関連業務については広島事務支局にお問い合わせください。詳しくは日本組織適合性学会のホームページ（<http://jshi.umin.ac.jp/>）を御参照ください。

事務所：

一般社団法人 日本組織適合性学会

〒113-0033 東京都文京区本郷二丁目27番地16
大学通信教育ビル5階

京都事務局：

（入退会・登録内容ご変更・年会費納入）

〒602-8048 京都市上京区下立売通小川東入ル
中西印刷株式会社内

FAX：075-415-3662 E-mail：jshi@nacoss.com

広島事務支局：

（認定制度関連、その他の本学会全体に関する事項）

〒734-8553 広島市南区霞一丁目2-3

広島大学原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍
内科研究分野内

FAX：082-256-7108 E-mail：jshi-hiroshima@
umin.ac.jp