

2023 年度認定 HLA 検査技術者講習会テキスト

基礎知識：認定制度筆記試験の解説とポイント整理 —その参 by 音列（オンライン）—

成瀬 妙子¹⁾¹⁾ 長崎大学熱帯医学研究所 原虫学分野

1. はじめに

日本組織適合性学会では、組織適合性検査の技術、知識の向上、維持を目的とした認定制度を設けており、毎年大会時に認定のための筆記試験を実施している。併せて、大会プログラムにおいて教育公演として開催される技術者講習会では、大会参加者の任意参加による模擬試験での低正答率問題について、特に「難問」として解説している。しかしながら、直近の2年間はコロナ禍において大会開催形式の変更を余儀なくされたこともあり、筆記試験はオンライン開催に、また模擬試験は中止されたことから、本試験での低正答率問題を取り上げてきた。

2022年度の模擬試験も中止となったことから、本稿では2022年度実施の筆記試験の低正答率問題の中から、特に注意したい問題を取り上げ、出題の意図や正解を導

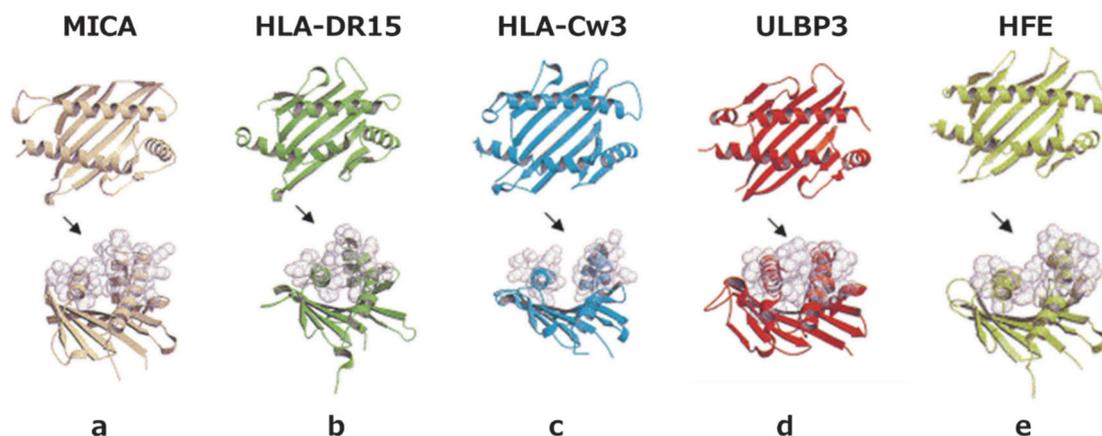
くためのポイントについて解説する。

2. 2022 年度認定制度試験 低正答率問題解説

2022年度の全試験問題と正解は、学会ホームページ¹⁾に、また難問とされた6題の低正答率問題については本誌に試験報告として解説を掲載している²⁾。今回はその中から以下の5問を取り上げ、詳述する。

問題2. 次の各模式図に相当する分子名のうち、誤っているものをa～eのうちから一つ選べ。ただし、各分子を上から見た模式図を上段に、側面から見た模式図を下段に示している。

正解：b（代表的な誤答：a, c）



Radaev S, et al. Immunity 15, 2001³⁾ より改変

受付日：2023年7月12日，受理日：2023年7月12日

代表者連絡先：成瀬 妙子 〒852-8523 長崎市坂本 1-12-4 長崎大学熱帯医学研究所 原虫学分野
TEL: 095-819-7838 E-mail: t-naruse@nagasaki-u.ac.jp

【解説】 a～e の各図は、MHC クラス I 分子 (c の HLA-Cw3) またはその関連分子の模式図である。ポイントは、HLA 分子の機能に対する理解である。

HLA 分子の重要な役割は「抗原提示」である (図 1)。すなわち、HLA 分子は両 α ヘリックスで構成されるペプチド収容溝に、クラス I ではウイルスなどの内因性抗原、クラス II では外来抗原由来ペプチドを挟んで T 細胞に提示する。そこで各模式図が示す分子構造から、選択肢のうち HLA の名称を示している分子について、その特徴に合致するか否かを観察するとよい。a～e の 5 つの選択肢の分子構造図上段には、一見見慣れたリボンダイアグラムが上から見た図として示されている。うち選択肢 b は、ペプチド収容溝が 5 つの中で最も狭く、ペプチド収容には不向きであると予想される。ヒントとして右隣に位置している、選択肢 c の HLA-Cw3 と比較しても、違いが明らかである。さらに、分子構造図下段の側面図を比較しても、選択肢の中で中央部ペプチド収容溝に十分なスペースが認められるのは選択肢 c のみであることから、c は HLA 分子と考えることができる。一方の選択肢 b は最も幅が狭く、ペプチドを挟み易い構造とは言い難い。このことから選択肢 b は HLA 分子 (HLA-DR15) ではないと判断される。

選択肢 b は実際には FcRn (胎児性 Fc 受容体) 分子の模式図である。FcRn のコード遺伝子である *FCGRT* (Fc fragment of IgG, receptor transporter, alpha) は第 19 染色体短腕 13.33 に位置しているが MHC とよく

似た分子構造をとることが知られている。このような相同性のある分子は偶然に存在するものではなく、ヒトゲノムの進化の産物であると考えられている。MHC クラス I 関連遺伝子はヒトゲノムの進化の過程で MHC 遺伝子領域の重複により生じたと考えられ、それらの遺伝子は第 6 染色体以外にも散在し、MHC に類似した遺伝子構造をとるが、構成される分子の機能は必ずしも同じではない。ここに挙げられた MHC と他の各分子の機能は異なっており、上図の a, b, d, e のいずれの分子も MHC 分子のような抗原提示能は有さない。従って、c (HLA-Cw3) の側面図に示すような、両 α ヘリックスで構成されるペプチド収容溝に見られるスペースは、他の分子には認められない。

- 問題 11. HLA クラス II 遺伝子の多型の機能的特徴として、もっとも適切な記述を a～e のうちから一つ選べ。
- a. HLA-DRA 多型は抗原ペプチド結合性に影響する。
 - b. HLA-DRB1 多型は S-S 結合親和性に影響する。
 - c. HLA-DQA1 多型は CD8 結合性に影響する。
 - d. HLA-DQB1 多型は細胞内ドメイン構造に影響する。
 - e. HLA-DPBI 多型は CD3 結合性に影響する。

正解：d (代表的な誤答：a)

【解説】 本問題のポイントは HLA 遺伝子多型の機能 (意義) に着目することである。HLA-クラス IIB 遺伝子は細胞外ドメインのエクソン 2 を中心に塩基配列多型がみられ、抗原ペプチド結合性に影響する。うち、*HLA-DQBI* 遺伝子多型は細胞内ドメインをコードする配列であるエクソン 4 や 5 にも非同義置換多型が比較的多く存在しており、エクソン 2 のみに塩基配列多型が集中している *DRBI* 遺伝子とは異なる特徴を示す。また、*HLA-DQBI*05*、*-DQBI*06* のエクソン 5 の塩基配列中には 24bp の挿入 / 欠失が存在しており、細胞内ドメインの構造に影響を及ぼす (図 2)。

代表的な誤答である選択肢 a の *HLA-DRA* 遺伝子における多型は、抗原ペプチド結合性に影響すると予想される $\alpha 1$ ドメインをコードするエクソン 2 の塩基配列においては、非同義置換多型は存在しない。選択肢 c および e については前述の図 1 を参照願いたい。

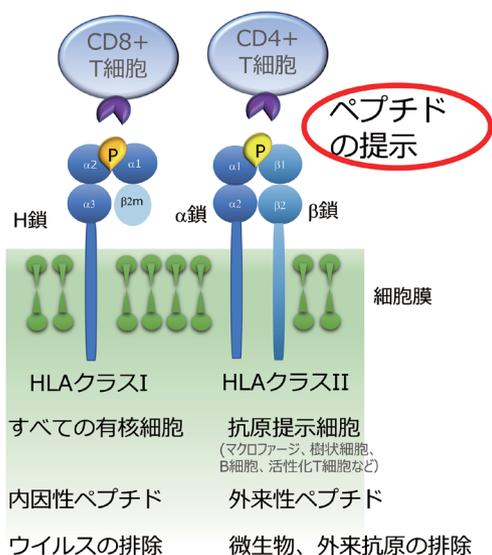


図 1 HLA クラス I, クラス II 抗原 (分子) の模式図. P: 提示されるペプチド

アレル	塩基配列
DQB1*06:01:01:01	GACCT CAAGG GCCTC CACCA GCAG
DQB1*06:01:01:02	GACCT CAAGG GCCTC CACCA GCAG
DQB1*06:01:01:03	GACCT CAAGG GCCTC CACCA GCAG
DQB1*06:01:01:04	GACCT CAAGG GCCTC CACCA GCAG
DQB1*06:01:01:05	GACCT CAAGG GCCTC CACCA GCAG
DQB1*06:01:01:06	GACCT CAAGG GCCTC CACCA GCAG
DQB1*06:01:02
DQB1*06:01:03	GACCT CAAGG GCCTC CACCA GCAG
DQB1*06:01:04
DQB1*06:01:05	GACCT CAAGG GCCTC CACCA GCAG
DQB1*06:01:06
DQB1*06:01:07
DQB1*06:01:08	GACCT CAAGG GCCTC CACCA GCAG
DQB1*06:01:09
DQB1*06:01:10	GACCT CAAGG GCCTC CACCA GCAG
DQB1*06:01:11	GACCT CAAGG GCCTC CACCA GCAG

図2 HLA-DQB1*06:01 遺伝子エクソン5における24bpの挿入/欠失部分塩基配列(例として一部のアレルについて示した)。図中.は塩基の欠失を示す。

問題 33. HLA 抗原とアレルの表記について、正しい記述を a～e のうちから一つ選べ。

- a. HLA-B*75 及び HLA-B*76 は、HLA-B15 抗原群のアレルである。
- b. HLA-B70, -75, -76 抗原は、HLA-B*15 アレルで表記

- される。
- c. HLA-B40 グループの抗原は、HLA-B*60 および B*61 アレルで表記される。
- d. HLA-Bw6 抗原のアレルは HLA-B*06 で表記される
- e. HLA-A*09 アレルは、HLA-A9 抗原群のアレルである。

正解：b (代表的な誤答：a, c)

【解説】被検者リンパ球の、既知特異性抗血清に対する反応性を基本として判定される血清学的分類では、HLA 学確立の過程で過去に同定、命名された抗原特異性が、後にそれぞれ別抗原として細分類されるという現象が起こった。それらは互いに異なる抗原特異性として認定され、新たな番号が付与された。このようにある抗原から細分化された抗原特異性を「スプリット抗原」と呼ぶ。その後 DNA による遺伝子型タイピングの普及で、各「スプリット抗原」に対応するアレルが同定され、アレル名(遺伝子型)が命名された。HLA 各抗原やアレル名の公認、命名は、WHO の HLA 命名委員会により行われている。

表1には現在用いられている抗原特異性とそのスプリット抗原、対応するアレル表記をまとめた。各スプリット抗原に対応するアレル表記については、概ねがスプリット抗原の表記に倣っているが、中には元々の抗原(オリジナル抗原とも呼ぶ)特異性に従って命名されているものがある。表中ハイライト部分(HLA-B14, -B15,

表1 HLA クラス I スプリット抗原とアレル表記の関係
(http://hla.alleles.org/antigens/broads_splits.html) より改編

HLA抗原特異性	スプリット抗原	アレル表記
A9	A23, A24	A*23, A*24
A10	A25, A26, A34, A66	A*25, A*26, A*34, A*66
A19	A29, A30, A31, A32, A33, A74	A*29, A*30, A*31, A*32, A*33, A74
A28	A68, A69	A*68, A*69
B5	B51, B52	B*51, B*52
B12	B44, B45	B*44, B*45
B14	B64, B65	B*14
B15	B62, B63, B75, B76, B77	B*15
B16	B38, B39	B*38, B*39
B17	B57, B58	B*57, B*58
B21	B49, B50	B*49, B*50
B22	B54, B55, B56	B*54, B*55, B*56
B40	B60, B61	B*40
B70	B71, B72	B*15
Cw3	Cw9, Cw10	C*03

-B40) がこれに相当し、アレル表記は元の抗原群の番号に従う。

表1にある通り、HLA-B70, -75, -76 抗原は HLA-B15 抗原より派生したスプリット抗原であることから、アレルは HLA-B*15 と表記される。その他の HLA-B15 スプリット抗原である HLA-B62, -B63, -B71, -B72, -B77 も HLA-B*15 アレルである。従って、代表的な誤答である選択肢 a. にあるような HLA-B*75 及び HLA-B*76 のような表記のアレルは存在しない。同様の理由で、選択肢 c. の HLA-B40 抗原より派生した HLA-B60 および -B61 抗原に属するアレルは、HLA-B*40 と表記される。これらの例外的表記に含まれる HLA-B15, -B40 抗原のスプリット抗原は日本人に日常的に認められ、臨床検査においてはアレル表記との対応知識が求められる場合もある。すでに小川による本誌総説にも詳述されている⁴⁾ので、これらの区別とアレル表記の対応についてぜひ参照されたい。

問題 43. 統計的仮説検定に関して正しい記述を a～e のうちから一つ選べ。

- 誤った帰無仮説を棄却しない誤りのことを第1種の誤り (Type I error) という。
- 有意水準 α は P 値から計算することができる。
- 第1種の誤り (Type I error) を減らすと、第2種の誤り (Type II error) も減る。
- 有意水準を α に設定すると、帰無仮説が正しいにもかかわらず誤って棄却する確率が α 以下になる。
- カイ二乗検定とは、帰無仮説が正しければ検定統計量が漸近的に負の2項分布に従うような統計的検定法の総称である。

正解: d (代表的な誤答: a, b, e)

【解説】 統計学関連の問題については、本問題の類似問題として過去にも多くの問題を出題、解説を行ってきた。特に本問で取り上げている「統計的仮説検定」については、一昨年の技術者講習会においても時間を割いて詳述⁵⁾し、昨年の30回大会においては統計をテーマとした講演も行われている。にもかかわらず統計関連の問題が低正答率を維持し続けている一因には、専門用語の理解不足も挙げられる。そこで、今回は各選択肢に登場する用

語について、簡単な説明も行いながら本問題を解説してみたい。

1) 問題タイトル

- ・統計的仮説検定: 統計学には「仮説」や「検定」という言葉が多出する。統計という手法を用いて導き出した観察データの有用性をどのように判断しようかと考える場合には、説を仮定し、それを検定することで仮説が正しいかどうかを判断する、という手法が用いられる。それが統計的仮説検定である。

2) 選択肢 a.

- ・帰無仮説と棄却: 「仮説」を立てる時に、正しいとしたい事柄の逆 (反対) 事象について検証し、それを「棄却」できれば正しいとする。つまり、最初から立てる仮説が無に帰することを期待して立てるので「帰無仮説」と呼ばれる。
- ・第1種の誤り (Type I error): 仮説が正しいにもかかわらず誤って棄却する誤りのこと。

3) 選択肢 b.

- ・有意水準: 対象とした標本観察の結果が有意な理由により起こったので仮説は正しくない、と棄却する (偶然ではない) 基準となる水準。
- ・P 値: 仮説に沿った検定の際、極端に偏った値が出る確率を、対象となる標本から計算で求めた際の値。

4) 選択肢 c.

- ・第2種の誤り (Type II error): 誤った仮説を承認してしまうこと。

5) 選択肢 e.

- ・カイ二乗検定: 帰無仮説が正しければ検定統計量が漸近的にカイ二乗分布に従うような統計的検定法の総称である。
- ・二項分布: 互いに独立した試行を何回か行ったときにある事象が起こる確率 (例: コイン投げ10回の時の裏表の回数など)

以上の説明を基に、選択肢 a～e の選択肢の内容を確認すると、正しいのは選択肢 d. のみである。有意水準 α には、実数を代入すると理解が容易である。例えば、有意水準を5%に設定した場合、この水準で帰無仮説の検定を行うことの意味は、結果が有意であるにもかかわらず誤って棄却する第1種の誤り (Type I error) が起こる確率が最大5%であることを指す。つまり、得られ

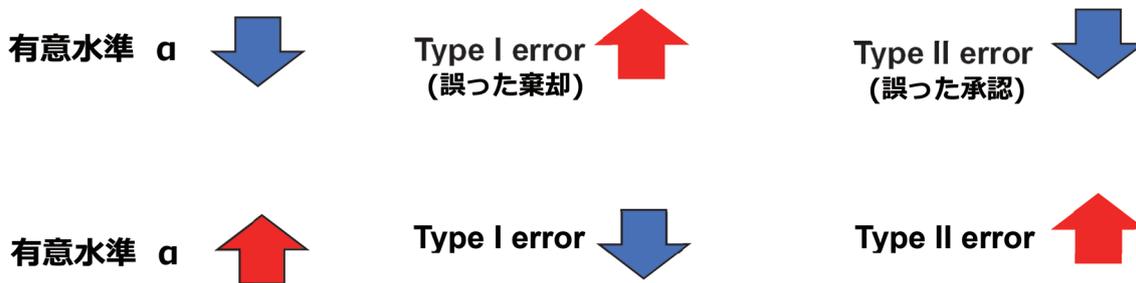


図3 有意水準と Type I error, Type II error との関係

た P 値が5%以下であれば有意であると判断できる。一方、代表的な誤答である選択肢 a. で述べられている事象は、第2種の誤り (Type II error) であることがわかる。選択肢 b. の有意水準 α は、P 値の棄却域として設定する範囲であるから、P 値による計算で求めることはできない。因みに、有意水準 α は自由に決めることができるが、一般的には5%が選択されることが多い。3%、1%などとする 것도 間違いではないが、P 値が小さくなれば判定が厳しくなり、仮説の棄却率が上がる。その結果、有意であるにもかかわらず誤って棄却する第1種の誤り (Type I error) の確率も上がることに留意が必要である。選択肢 c. は前述の逆で、第1種の誤り (Type I error) を減らすと、誤った仮説を承認してしまう第2種の誤り (Type II error) が増えることになる。選択肢 e. は、カイ二乗検定の説明の通り。

試験ではどうしても問題文章の読解に焦ってしまいがちであるが、専門用語の羅列に惑わされないことが肝要であろう。

問題 46. ライフサイエンスに関連して、遵守すべき法律

が定められている事項を a~e のうちから一つ選べ。

- a. ヒト受精卵からの ES 細胞 (ヒト ES 細胞) の樹立
- b. 動物性集合胚 (動物の胚にヒトの ES 細胞や iPS 細胞を注入したもの) の作製
- c. ヒト受精卵の遺伝子改変研究
- d. ヒトゲノム・遺伝子解析研究
- e. 遺伝子組換え生物の作製と使用

正解：e (代表的な誤答：d)

【解説】 遺伝子組換え生物の作製と使用については、生物多様性条約特別締約国会議再開会合において締結され

た「生物の多様性に関する条約のバイオセーフティに関するカルタヘナ議定書 (カルタヘナ議定書)」を受け、我が国においても 2004 年に「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 (カルタヘナ法)」が施行されている。ライフサイエンス研究に使用する試薬や材料については、市販されているものでも遺伝子組み換え生物体として規制対象となるものがあるので、使用には法律の順守が必要である。その他の選択肢についてはいずれも法律 (罰則を伴う) ではなく、指針 (ガイドライン) が制定されている。代表的な誤答である選択肢 d. については 2021 年に「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」と統合して、「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」が制定されており、それに伴って従前の「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」(旧指針) は廃止されている。新指針は 2023 年 3 月に一部改正されているので参照されたい

(参考 <https://www.mhlw.go.jp/content/001077424.pdf>)。

3. 終わりに

以上、2022 年度の試験問題の低正答率問題中から、今回は特に実務者や研究者に直結する問題を取り上げたが、認定技術者、教育者、指導者受験者のみならず、すでに認定をお持ちの皆様にも知識の整理としての一助になることを願っている。なお、倫理関連についてはアドバンスドステージの講演で別途取り上げられることから、問題解説については一部省略したが、出題は今後も行ってゆきたい。

参考文献

- 1) 2022 年度認定制度試験問題 (解答付き) (<https://drive>.)

google.com/file/d/1uRt6lZLt-2b02l1JbnWHtnqvJBVyaWZq/view)

- 2) 成瀬妙子, 一戸辰夫, 王寺典子, 大橋 順, 木村彰方, 椎名 隆, 土屋尚之, 西村泰治, 村田 誠, 湯沢賢治: 令和4年度 認定 HLA 検査技術者認定制度試験問題に関する報告. MHC 29: 155-157, 2022.
- 3) Radaev S, Rostro B, Brooks AG, Colonna M, Sun PD:

Conformational Plasticity Revealed by the Cocrystal Structure of NKG2D and Its Class I MHC-like Ligand ULBP3. *Immunity* 15: 1039-1049, 2001.

- 4) 小川公明: HLA 検査の基礎知識 2. *HHC* 23: 185-192, 2016.
- 5) 成瀬妙子: 基礎知識: 認定制度試験問題-解説とポイント整理-. MHC 28: 77-82, 2021.

Commentary on the JSHI Certification Paper Test 2022

Taeko K Naruse¹⁾

¹⁾ Dept. of Protozoology, Institute of Tropical Medicine, Nagasaki University

The HLA Technologist and Director Certification Program for Histocompatibility Testing of the Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics (JSHI) offers various programs and training opportunities for the members to be certified as the expert.

In this issue, I would like to highlight some of the more challenging written exam questions for the 2022 certification program, with a particular focus on important basic knowledge. I hope this will be a learning opportunity for everyone, not just those taking the exam.

©2023 日本組織適合性学会