

# 日本組織適合性学会誌

第31巻第3号 2024年12月20日発行

## 目次

### 総説

新規 Reverse vaccinology 手法による牛伝染性リンパ腫ウイルスに対するウイルス様粒子ワクチンの開発  
.....松浦 遼介, 間 陽子 ... 119

### 報告

令和6年度 認定HLA 検査技術者認定制度試験問題に関する報告  
.....成瀬 妙子, 王寺 典子, 木村 彰方, 黒田ゆかり,  
土屋 尚之, 橋口 裕樹, 藤井 明美, 西村 泰治 ... 135

令和6年度初心者講習会レポート ..... 141

—全体の経過— ..... 黒田ゆかり ... 141

—基礎講義— ..... 杉本 達哉 ... 144

—ワークショップ1 (HLA タイピング検査) —

..... 小山 暁史, 藤井 明美, 高山 智美, 石本 倫子, 杉本 達哉, 黒田ゆかり, 木村 彰方, 椎名 隆 ... 146

—ワークショップ2 (抗体検査)—

..... 石塚 敏, 内田みゆき, 前島理恵子, 栗田 絵美, 高 陽淑, 成瀬 妙子 ... 148

2024年度 認定HLA 検査技術者登録名簿 ..... 150

2024年度 認定HLA 検査技術者更新登録名簿 ..... 150

2024年度 認定組織適合性指導者更新登録名簿 ..... 150

2024年度 認定組織適合性検査施設更新登録名簿 ..... 150

日本組織適合性学会誌 MHC 投稿・執筆規定 ..... 151

Instructions to Authors ..... 157

編集後記 ..... 161

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

JSHI

## 総 説

新規 Reverse vaccinology 手法による牛伝染性リンパ腫ウイルスに対する  
ウイルス様粒子ワクチンの開発松浦 遼介<sup>1)</sup>・間 陽子<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 東京大学大学院農学生命科学研究科, 地球規模感染症制御学講座

牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) は地方病性牛伝染性リンパ腫 (EBL) の原因ウイルスであり, 世界中に蔓延している。経済被害は国内で年間 200 億円と試算されているように非常に大きい。一方で, 現在有効なワクチンや治療法は存在しない。ワクチン開発が難航している理由の一つにウシ主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) (*BoLA*) の多型により, BLV への疾患感受性が異なることが挙げられる。特に BLV に感受性の *BoLA* 多型を有する個体においては免疫応答の誘導が難しく, 十分なワクチン効果が得られない個体が多く, ワクチンの有効性を十分に判定できないことが課題である。そこで, 我々は MHC 多型と疾患感受性との関連を利用した新規 Reverse Vaccinology 手法により, BLV が感染している BLV 感受性牛の CD4 陽性 T 細胞の *ex vivo* 増殖試験において見いだされた主要なエピトープを BLV 感受性の *BoLA* 多型に人為的に適応させたペプチドワクチンを作製した。このペプチドワクチンの接種では, 通常ではワクチン効果の得られにくい BLV 感受性牛においても, BLV プロウイルス量の低減効果が認められた。さらに野生型の Gag タンパク質の全長と Env タンパク質である gp51 の全長に BLV 感受性の *BoLA* 多型に人為的に適応させたペプチドワクチンの配列のアミノ酸変異を加えることで, BLV 感受性牛だけでなく, BLV 中立牛や BLV 抵抗性牛でも同様に抗 BLV 抗体の産生が認められるウイルス様粒子 (VLP) ワクチンを作製した。これにより, BLV-VLP ワクチンが BLV 疾患感受性の個体差を克服していることが示唆された。本総説では, ワクチンと MHC の関係について概説し, これまでの BLV ワクチンの開発の状況と我々の新規 Reverse Vaccinology による BLV-VLP ワクチンの開発について紹介する。

キーワード: 牛伝染性リンパ腫ウイルス, ワクチン, 新規 Reverse Vaccinology, ウシ主要組織適合遺伝子複合体, ウイルス様粒子

## ワクチン開発の現状

ワクチンは病原体に対する免疫を賦与し, 病原体の感染や重篤な症状の発生を防ぐ, 病気を予防するための医薬品である。その起源は古く, 1798 年に Edward Jenner が牛痘を人為的に接種することにより, その後天然痘ウイルスに感染しても, 天然痘を発症しないことを発表したことに遡る<sup>1)</sup>。また, 1870 年代に Louis Pasteur が Edward Jenner の発見を他の病気に応用す

ることで, 狂犬病, ニワトリコレラ, 炭疽病等に対するワクチンを開発した<sup>2-4)</sup>。さらに, Max Theiler は黄熱病に対するワクチンを開発し, ノーベル生理学・医学賞を受賞したことを皮切りに様々な病原体に対するワクチンが開発されてきた<sup>5)</sup>。特に, 近年では, Karikó Katalin と Drew Weissman が「mRNA ワクチンを実現した修飾塩基の研究」の功績でノーベル生理学・医学賞を受賞するなど, ワクチンのプラットフォームに関する研究も盛んに行われている<sup>6)</sup>。

受付日: 2024 年 4 月 9 日, 受理日: 2024 年 9 月 12 日

代表者連絡先: 松浦遼介 〒153-0041 東京都文京区弥生 1-1-1 東京大学大学院農学生命科学研究科, 地球規模感染症制御学講座  
TEL: 03-5452-5762 FAX: 03-5452-5831 E-mail: matsura-ryosuke@g.ecc.u-tokyo.ac.jp

現在使用されているワクチンはその多くが生ワクチンと不活化ワクチンに分類される。種痘や麻疹ワクチン、風疹ワクチンなどに代表される生ワクチンには、毒性を弱めた微生物やウイルスが使用される。生ワクチンは、液性免疫と細胞性免疫の両者を誘導することができ、免疫持続期間が長いという利点を持つ。一方で稀にはあるが、ワクチン株による感染症の発症や病原性復帰などの副反応を起こす欠点を持つ。これに対して、インフルエンザウイルスワクチンや狂犬病ワクチンなどに代表される不活化ワクチンには、狭義には化学処理などで不活性化したウイルスや細菌が、広義にはそれに加え、培養・精製された抗原などが用いられる。不活化ワクチンは、生ワクチンと比較して、感染等の重大な副反応の危険がなく高い安全性を有するが、免疫誘導が弱く複数回の接種が必要などの欠点も有する。

近年研究が盛んに行われているワクチンのプラットフォームの一つとして、ウイルス様粒子 (VLP) ワクチンが挙げられる。VLP はウイルス粒子と同様の構造で、内部にウイルスゲノムを持たない中空粒子である。VLP はプラスミドやウイルスベクター、バクテリアベクターなどの遺伝子発現ベクターを用いて、ウイルス粒子を形成するタンパク質を培養細胞や酵母、大腸菌、植物、無細胞系等で発現させることにより作製され、その形状はタンパク質が由来するウイルスによって異なり、脂質二重膜を有するものやコアタンパク質からなるもの等がある (図 1)。ウイルス粒子と同様の構造と大きさを有する VLP はリンパ管へ効率良く侵入し、抗原提示細胞に効率的に取り込まれるため高い抗原性を有すると考えら

れている<sup>7)</sup>。一方で、VLP はウイルス粒子と異なり、ウイルスゲノムを持たないため、生ワクチンのような感染の危険はない。このことから、VLP ワクチンは有効で安全なワクチンとして期待され、実際にヒトパピローマウイルス (HPV) ワクチン、B 型肝炎ウイルス (HBV) ワクチン、E 型肝炎ウイルスワクチン、豚サーコウイルスワクチンとして実用化されている<sup>8,9)</sup>。特に HPV ワクチンでは、HPV6/11/16/18/31/33/45/52/58 型の L1 タンパク質を含有する 9 価 HPV ワクチンが実用化され、その高い有効性から広く使用されている<sup>10)</sup>。また、VLP ワクチンの大きな利点の一つに、比較的大きな抗原タンパク質を使用することにより、多くのエピトープを提示することができる点が挙げられる<sup>8)</sup>。VLP では構造タンパクの全長を用いることが可能なため、ペプチドワクチンと比較して抗原性が強くなることが想定される。また、粒子形成に必須のタンパク質に加えて、抗原性の強いタンパク質を選択的に加え、これらを VLP 粒子に取り込ませることができる。これにより、ワクチンの有効性が高まることに加えて、多価ワクチンの開発も容易となる。このように、生ワクチンと不活化ワクチンにはない利点を有する VLP ワクチンは、有望なワクチンのプラットフォームの一つである。

近年では、病気に対する予防のワクチンに加えて、治療用のワクチンの研究が癌治療分野において盛んに行われている。癌ワクチンは正常細胞と比較して癌細胞で高発現している癌関連抗原に対する免疫を高めることで、癌の進行を抑え、癌細胞を減らすためのワクチンであるが、現時点では臨床応用にまでは至っていない。現在のところ、我が国では、癌に対する免疫療法はサイトカイン療法やウシ弱毒製結核菌ワクチンを用いた治療、CD19 抗原を標的としたキメラ抗原受容体遺伝子導入 T 細胞療法、免疫チェックポイント阻害薬である抗 PD-1 (programed cell death-1) 抗体、抗 PD-L1 (programed cell death 1 ligand-1) 抗体および抗 CTLA-4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4) 抗体による免疫抑制の解除療法が癌治療として保険診療が認められている。これらの治療法が、多様な進行性悪性腫瘍への臨床応用に供され、大きな臨床効果がもたらされている。

また、ワクチンは病気を予防するだけでなく、ウイルスの根絶にも大きな役割を果たしている。実際に、1980 年に宣言された人類史において病気の根絶の唯一の成功



図1 VLPの作製方法

例である天然痘の根絶は、「患者を見つけ出し、患者周辺に種痘を行う」という、監視と封じ込めによってなされている<sup>11-12)</sup>。また、2020年8月にアフリカでの撲滅が宣言され、パキスタンとアフガニスタンを除き、清浄化が達成された野生型ポリオウイルスにおいても大規模なワクチン接種の功績は非常に大きい<sup>13)</sup>。このように、21世紀における人類の最も重要な課題の一つである感染症の克服には、ワクチンは欠かすことができない。

### 主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) とワクチンの関係

MHC分子は、脊椎動物に保存された細胞膜貫通型の糖タンパク質であり、T細胞による自己と非自己の識別及び、非自己の排除という生体にとって、重要な現象に関わっている。このMHC分子は、クラスI分子とクラスII分子に分類される。クラスI分子とクラスII分子はそれぞれ異なった構造をしているが、共にペプチド収容溝を有し、クラスI分子は一部の細胞を除いて、ほぼ全ての有核細胞に発現し、内因性のペプチドを主にCD8陽性T細胞へ、クラスII分子は抗原提示細胞などに発現し、外因性のペプチドを主にCD4陽性T細胞へ提示する。このようにMHC分子はペプチドのT細胞への抗原提示をつかさどるが、MHC分子の多型毎にペプチド収容溝の構造が異なることによって、抗原提示されるペプチドが大きく変化し、これが免疫応答の個体差をもたらす。

実際にSARS-CoV-2<sup>14)</sup>や結核菌<sup>15)</sup>、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)<sup>16-19)</sup>、ヒトT細胞白血病ウイルス(HTLV-1)<sup>20)</sup>、HBV<sup>21)</sup>、HPV<sup>22)</sup>、Epstein-Barrウイルス<sup>23)</sup>等様々な病原

体への感受性・抵抗性や抗体産生、病態進行がMHC多型と関連することが報告されている。特に、HIVにおいては、HIVの感染成立と体内ウイルス量(プロウイルス量)およびヒト免疫不全症候群の発症に至るまでの病態進行において、ヒトMHC(HLA)の多型が影響を及ぼすことが報告されている<sup>16-19)</sup>。

また、MHCによる抗原提示は、ワクチン効果にも大きな影響を及ぼす。事実、破傷風トキソイドに対する低応答性が特定のHLAクラスII(HLA-D)対立遺伝子と関連することが報告されている<sup>24)</sup>。また、HLA分子の多型が疾患感受性の形成に大きく関与するHBVにおいて、5-10%のヒトはワクチンを接種しても十分な抗体が産生されないことが知られており、このワクチン低応答性にはHLAの多型が関連することが報告されている<sup>25-26)</sup>。このように、特定のワクチンに対する応答性には個体差があり、その背景にはMHC分子の多型を含む遺伝的背景に関わっている。このことから、ワクチン開発において、MHCの多型がもたらす疾患感受性の個体差を考慮することは非常に重要であると考えられる。

### 新規 Reverse vaccinology 手法

そこで、我々はMHCの多型がもたらす疾患感受性の個体差を考慮したワクチン開発手法として、新規Reverse vaccinology手法を提案した(図2)。従来のReverse vaccinology手法は、2000年にRino Rappuoliによって提唱されたバイオインフォマティクスと逆薬理学の技術を用いたワクチン開発手法である<sup>27)</sup>。この手法では、まず病原体の全ゲノムシーケンスから発現可能

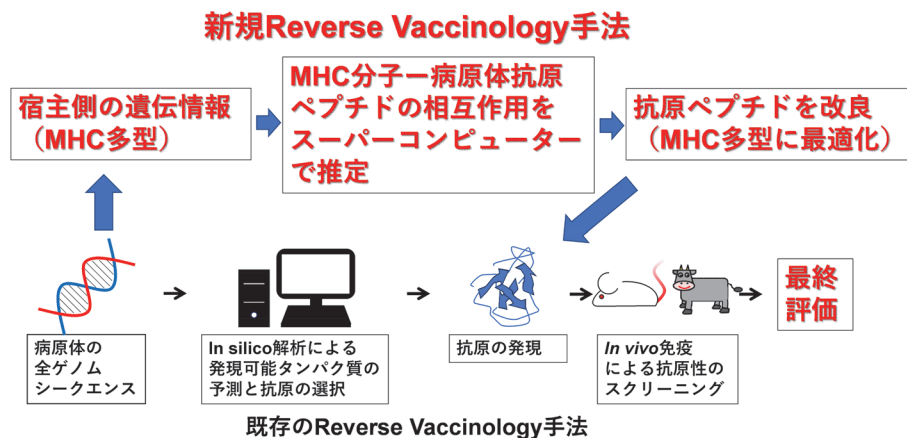


図2 新規 Reverse vaccinology 手法の概略

なタンパク質をオープンリーディングフレームなどの情報から予測する。次に、発現可能な全てのタンパク質の中から自己タンパク質と相同性が高く、交差反応により自己免疫現象を誘導する危険性が予測されるエピトープを除外する。また、病原性因子となるタンパク質および病原性微生物の構造や調節に関わる生活環に必須の遺伝子とタンパク質の機能などの情報や、そのタンパク質の発現量や病原性微生物および感染細胞における局在などの情報から各タンパク質の免疫原性を予測することにより、ワクチンに最適な抗原を選択する。病原性因子や病原体の生活環に関与するタンパク質の機能を考慮する理由は、ワクチンによって産生が誘導される抗体が、病原性因子と結合することにより無毒化されることが期待され、また、病原体の生活環に必須のタンパク質と結合することでウイルスの増殖を抑制することが期待されるからである。加えて、タンパク質の発現量を考慮することで、抗原提示の機会の多い発現量の高いタンパク質を選択することが出来る。さらに、タンパク質の局在の情報から、病原性微生物表面に存在するタンパク質や感染に必須のタンパク質に結合する高い中和活性を誘導する抗原の選択が可能となる。このようにして、選択された抗原を培養細胞や酵母、無細胞タンパク質発現系などを用いて発現させ、ワクチンを作製する。さらに、マウスなどの小動物を用いた *in vivo* のワクチン接種試験において、例えばワクチンによる抗体産生などの検出により抗原性のスクリーニングを行い、その効果や投与量・投与方法、使用するアジュバントなどを評価する。これにより、ワクチンに適した免疫原性の高い抗原を迅速に同定することが可能となり、ワクチン開発が難航している病気へのワクチン開発が可能となった。

この Reverse vaccinology 手法により開発された代表的なワクチンとして、B 群髄膜炎菌ワクチンが挙げられる。Reverse vaccinology 手法登場以前には、B 群髄膜炎菌ワクチンの開発は、主に 2 つの課題から難航していた。第一に表面に露出したタンパク質の配列の多様性により、適切な抗原の選択が難しかった点である。第二に、他のすべての病原性髄膜炎菌に対する従来のワクチンに使用されていた莢膜の多糖類が、ヒトの多くの組織に存在する  $\alpha$ 2-8 結合ポリシアル酸と化学的に同一であり、ヒトに対する交差反応性を有していた点である。Mariagrazin Pizza らは、Reverse vaccinology 手法を用

いて、殺菌性抗体反応を誘導するタンパク質を同定することにより、これらの問題を解決し、世界で初めて B 群髄膜炎菌ワクチンを実用化した<sup>28)</sup>。

我々が提案する新規 Reverse vaccinology 手法では、従来の Reverse vaccinology 手法を応用し、宿主の遺伝的背景を考慮したワクチンを開発するために、病原体の情報だけでなく、宿主側の情報、特に MHC 分子の多型の情報を加え、MHC 分子への病原体抗原ペプチドの結合親和性をスーパーコンピューターで推定する。これにより、MHC 分子の多型による抗原ペプチドの MHC 分子への結合能の違いを推定することができる。また、抗原にどのようなアミノ酸変異を加えることにより、より MHC 分子に結合しやすい形に変化するのかを推定することができる。そこで、抗原ペプチドに MHC 分子との結合親和性を高めるアミノ酸変異を加えて最適化することで、通常では免疫応答が弱い個体においても、免疫応答を誘導できるワクチンの開発が可能と考えられる。我々は本手法を用いて、後述するワクチン開発が難航している牛伝染性リンパ腫ウイルス (BLV) に対するワクチン開発を行った。

### BLV とそのワクチン開発について

地方病性牛伝染性リンパ腫 (EBL) は、MHC の多型が疾患感受性と関連する疾患の一つである。EBL は、BLV によって引き起こされるウシの悪性 B 細胞リンパ腫である<sup>29)</sup>。BLV はレトロウイルス科、デルタレトロウイルス亜科に属し、HTLV-1 に近縁なウイルスである。BLV はプラス鎖 single-strand RNA ウイルスであり、約 9000bp のゲノムの両端に Long terminal repeat (LTR) をプロモーターとして有する (図 3A)。また、レトロウイルスに共通なウイルス粒子を構成する *gag*, *pro*, *pol*, *env* のほかに、デルタレトロウイルス亜科に特徴的な pX 領域中を持ち、調節遺伝子である *tax* や *rex* とアクセサリ遺伝子である *R3* や *G4* 等を有する。BLV のウイルス粒子は直径約 100nm からなるエンベロープウイルスである (図 3B)。宿主細胞の細胞膜に由来する脂質二重膜からなるウイルス粒子の表面上には、Env タンパク質由来のレセプターと結合することで宿主細胞への感染を成立させる gp51 がスパイク状に存在し、同じく Env タンパク質由来の gp30 が gp51 をウイルス粒子の脂質二重膜にアンカーしている。また、脂質

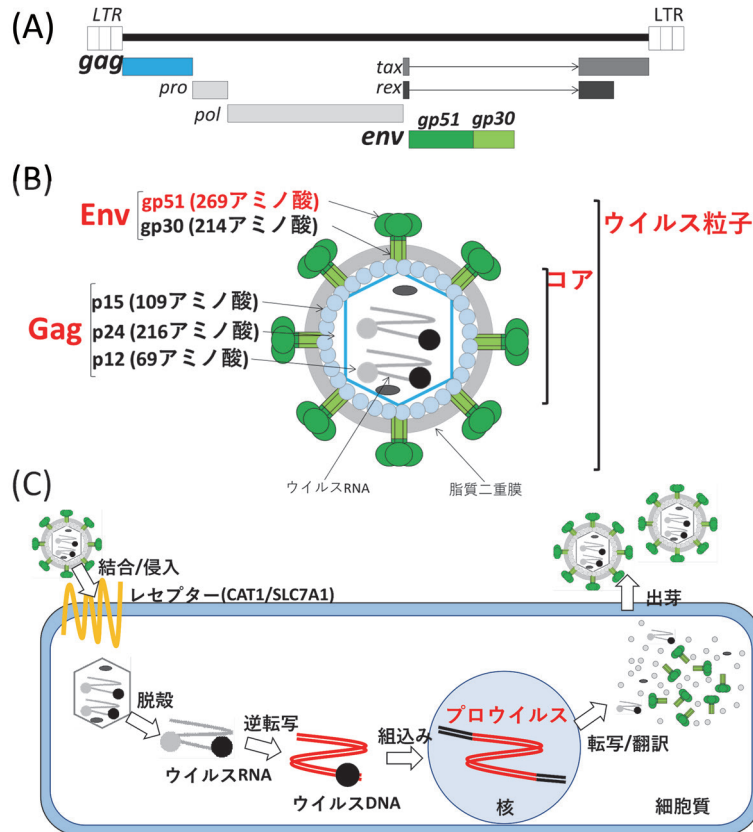


図3 BLVの遺伝子構造 (A) と粒子構造 (B) およびBLVの生活環 (C)

二重膜の内側ではGagタンパク質由来のマトリクスタンパク質 (p15) が脂質二重膜を裏打ちしており、同じくGagタンパク質由来のカプシドタンパク質 (p24) が正20面体のコアを形成している。このコアは内部に逆転写酵素やインテグラーゼ、Gagタンパク質由来のヌクレオカプシドタンパク質 (p12) に覆われたウイルスRNAを有する。Envタンパク質を介し、細胞内にコアが侵入したのちに、コアからウイルスRNA、逆転写酵素やインテグラーゼが細胞内に放出される (図3C)。その後、ウイルスRNAはウイルスDNAに逆転写され、最終的にインテグラーゼを介して核内の宿主ゲノムに組み込まれ、プロウイルスとなる (図3C)。

Envタンパク質とGagタンパク質は、ウイルス粒子中に特に多く含まれていることに加え、これまでの免疫学的解析から、Envタンパク質はCD4陽性T細胞エピトープやCD8陽性T細胞エピトープ、B細胞エピトープ、中和エピトープがあることや、Gagタンパク質はCD4陽性T細胞エピトープがあることが明らかとなっ

ている。また、生体内で、他のBLVのタンパク質と比較して、EnvやGagタンパク質に対する抗体が多く産生されることが分かっている。これらのことから、EnvやGagタンパク質は免疫応答の誘導に重要であると考えられる。

BLVは感染後にウイルス遺伝子がプロウイルスとして宿主遺伝子に組み込まれ、生涯にわたり持続感染し続け、30%が持続性リンパ球増多症を、また2~5%が5~10年の持続感染後にリンパ腫を発症する。この病態の進行には、体内のプロウイルス量が相関することが知られている<sup>30)</sup>。BLVの経済被害は非常に大きく、リンパ腫を発症することにより必ず死に至り、発症したウシは食肉とすることができず全廃棄となる。また、我が国においては、BLVに感染したウシの牛乳や牛肉の提供に法規制は存在しないが、一部の国や地域への輸出の規制が懸念されている。さらに、リンパ腫の発症に至らなくとも、BLVに感染することにより、妊娠できない期間の延長や産乳量の低下、産肉量の低下等の様々な経済

被害が報告されている。一方で、一度 BLV に感染をするとプロウイルスとして生涯にわたり感染し続け、完治することがないことや、感染牛を全て淘汰することが経済的に困難なことから、我が国における EBL の発生頭数と BLV の感染率は増え続け、実際に平成 21 年から 23 年までの全国調査においては、肉牛で 30%、乳用牛で 40% と高い感染率が報告されている<sup>31)</sup>。諸外国においても、経済的な支援を行い、厳しい摘発・淘汰を行ったデンマークやスウェーデンなどの EU 諸国では、BLV の清浄化を達成した国もあるが、米国やアルゼンチン等では、我が国と同様に BLV の高い感染率が報告されている。

現在、BLV に対するワクチンと根治療法はなく、そのため、表 1 に示すように様々なプラットフォームのワクチンが古くから研究されてきたが、今日に至るまで実用化に至ったワクチンはない<sup>31-73)</sup>。その理由として、レトロウイルスに共通するプロウイルスとして生涯にわたり持続感染する性質に加えて、ウシ MHC (*BoLA*) の多型の違いがもたらす免疫応答の個体差が挙げられる。我々はこれまでに *BoLA* の多型や、その接合が BLV のプロウイルス量や発症と相関することを報告している<sup>75-79)</sup>。

特に *BoLA-DRB3* 遺伝子は *BoLA* クラス II 遺伝子領域の中で最も多型に富んだ遺伝子であり、2024 年 8

月現在、385 のアレルが報告されている。この *BoLA-DRB3* 遺伝子は品種や地域によって、そのアレルが異なることが知られており、我が国において、代表的な乳用牛であるホルスタイン種では 18 のアレルが報告され、また、代表的な肉用牛である黒毛和種では 23 のアレルが報告されている<sup>80)</sup>。また、この *BoLA-DRB3* アレルは BLV のプロウイルス量とリンパ腫の発症に強く相関することが知られている。具体的には、我々は我が国においてはホルスタインでは *BoLA-DRB3\*002:01*、*BoLA-DRB3\*009:02* ならびに *BoLA-DRB3\*014:01:01* がプロウイルス量を低く維持する抵抗性アレルであること、*BoLA-DRB3\*012:01* ならびに *BoLA-DRB3\*015:01* がプロウイルス量を高く維持する感受性アレルであることを報告している<sup>76,77)</sup>。また、ホルスタインでは *BoLA-DRB3\*009:02*、*BoLA-DRB3\*010:01*、*BoLA-DRB3\*011:01* ならびに *BoLA-DRB3\*014:01:01* がリンパ腫の発症に対して抵抗性を示すアレルであることを報告している<sup>77)</sup>。このうち、プロウイルスに対して感受性を示す *BoLA-DRB3\*012:01* ならびに *BoLA-DRB3\*015:01* は我が国のホルスタインにおける頻度が 10% を超えるメジャーアレルである<sup>80)</sup>。同様に、黒毛和種においては、*BoLA-DRB3\*009:02* な

表 1 これまでに報告された BLV ワクチン

ワクチンプラットフォーム	引用文献
不活化ウイルス	32, 33, 34, 35, 36, 37, 38
ペプチドワクチン	39, 40, 41, 42, 43, 44, 45
精製 p24 抗原	46
精製 gp51 抗原	46, 47
ウイルスベクターワクチン	48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58
gp51 含有免疫刺激複合体	59
弱毒生ワクチン	60
Tax, Rex 欠損ウイルス	61
R3, G4 欠損弱毒化ウイルス	62, 63
EBL 腫瘍細胞生成物	64
EBL 腫瘍細胞	64
ホルマリン処理 BLV 発現細胞	65
散発性牛白血病由来細胞	66
ウイルス非生産 BLV 感染細胞	67, 68, 69
DNA ワクチン	70, 71, 72, 73, 74

らびに *BoLA-DRB3\*011:01* がプロウイルスに対して抵抗性を示すこと、*BoLA-DRB3\*016:01* がプロウイルスに対して感受性を示すこと、*BoLA-DRB3\*011:01* がリンパ腫の発症に対して抵抗性を示すこと、*BoLA-DRB3\*005:02* ならびに *BoLA-DRB3\*016:01* がリンパ腫の発症に対して感受性を示すことを報告している<sup>75,79)</sup>。このうち、プロウイルスとリンパ腫の発症に対して抵抗性を示す *BoLA-DRB3\*011:01* ならびに感受性を示す *BoLA-DRB3\*016:01* は、我が国の黒毛和種における頻度が10%を超えるメジャーアレルである<sup>80)</sup>。

我々は *BoLA-DRB3* 遺伝子の多型に注目をし、少なくとも一つの BLV 抵抗性の *BoLA-DRB3* アレルを有するウシを抵抗性牛と定義した。また、BLV 抵抗性の *BoLA-DRB3* アレルを持たず、少なくとも一つの BLV 感受性の *BoLA-DRB3* アレルを有するウシを感受性牛と定義し、それ以外のアレルを有するウシを中立牛と定義した。この定義を用いることで、これまでに BLV の効率的な清浄化対策や垂直感染防止対策等を報告している<sup>81)</sup>。

さらに、我々はヒツジを用いた先行研究において、この MHC 分子によるプロウイルス量の制御が CTL 誘導能の違いによる可能性を示している<sup>82-84)</sup>。具体的には、ヒツジ MHC (OLA)-DR $\beta$ 1 の 70 番目と 71 番目のアミノ酸残基がアルギニン-リジン (RK) モチーフである場合には、INF- $\gamma$  の発現が強く、*ex vivo* における BLV ウイルス粒子と合成ペプチドによる刺激により、CD4 陽性 T 細胞が活性化され、強いリンパ球増殖反応を示し、BLV 感染細胞数の減少とリンパ腫の発症を抑制することを明らかとしている<sup>83-84)</sup>。さらに、このリンパ球増殖反応は抗 OLA-DR 抗体あるいは抗 CD4 抗体によって、阻害されることを明らかとしている<sup>84)</sup>。このことから、ウイルス感染細胞を殺傷する特異的な CTL の誘導は確認できていないが、CD4 陽性 T 細胞を増殖させ、INF- $\gamma$  などの Th1 サイトカインを介した CTL の誘導が可能なワクチンは BLV 感染細胞の増殖を抑制し、リンパ腫の発症を抑制することが出来る有効なワクチンとなることが示唆される。

また、このヒツジの感染実験において、BLV 感染時の免疫応答が OLA によって異なることが示されたことは、BLV に対する免疫応答が MHC によって制御されていることによって、BLV のプロウイルス量とリンパ

腫の発症が制御されることを裏付けている。上述の事実は、BLV 感受性牛、BLV 中立牛および BLV 抵抗性牛に BLV を実験感染させると、BLV 感受性牛ではプロウイルス量が多く、BLV 抵抗性牛ではプロウイルス量が少なく、BLV 中立牛ではプロウイルス量がその中間を推移することを、我々は過去のデータにより明らかにした (論文準備中)。このことから、ウシにおいても実験感染時のプロウイルス量は MHC によって制御されていると考えられ、それは免疫応答が異なるためであると考えられる。これは、BLV 感受性牛は BLV の野生株に対して、免疫応答が弱いことを示唆する。一方で、これまでに研究が行われてきた BLV ワクチンは主に BLV の野生株を基に設計されている。例えば、不活化ワクチンは野生株の BLV から作製されてきた。また、ペプチドワクチンやウイルスベクターワクチンは野生株の BLV 配列を基に作製されてきた。しかし、BLV 感受性牛は BLV の野生株に対して、免疫応答が弱いと考えられることから、BLV 感受性牛は野生株の BLV を基に作製されたワクチンを接種しても、同様に免疫応答が弱い、つまり BLV 感受性牛はワクチン効果が得られにくいと考えられる。

動物用ワクチンの実用化においては、臨床試験において安全性と有効性を評価する必要がある。しかし、MHC 分子の遺伝的な多型性により、ワクチンを接種したウシにおいて免疫応答が大きく異なり、ワクチンの有効性を正確に評価することが難しいことが、BLV に対するワクチンの実用化を阻んでいる。加えて、BLV は悪性 B リンパ腫を惹起することから、BLV に対するワクチンは感染症に対するワクチンとガンに対するワクチンの二面性を有し、この点もワクチンの有効性の評価をさらに困難にしている。

## 新規 Reverse vaccinology 手法による牛伝染性リンパ腫ウイルスのワクチン開発

### 1) ペプチドワクチンの開発

そこで、我々は BLV の疾患感受性の個体差を克服し、全てのウシにおいて CD4 陽性 T 細胞を増殖させ、INF- $\gamma$  などの Th1 サイトカインを介して、CTL の誘導が可能なワクチンを開発するために、新規 Reverse vaccinology 手法によるワクチン開発を行った。まず、先行研究として、新規 Reverse vaccinology 手法を用



い、ペプチドワクチンの開発が行われた（論文作成中）。ペプチドワクチンの開発では、BLVの主要なエピトープの同定が行われた。具体的には、BLV感受性牛の末梢血リンパ球を用いたCD4陽性T細胞の増殖試験により、Gagタンパク質とEnvタンパク質の全長をカバーするオーバーラッピング・ペプチドを用いて、双方からBLV感受性牛のCD4陽性T細胞を活性化するエピトープを同定した。次にスーパーコンピューターを用いてBLV感受性のアレルである *BoLA-DRB3\*016:01* の立体構造をヒトMHCの立体構造から予測し、同定したエピトープペプチドとの結合親和力を計算により推定し、さらに結合親和力が高まるアミノ酸変異をGagタンパク質とEnvタンパク質由来のペプチドにおいて、それぞれ予測した。これらのアミノ酸変異を導入したペプチドを用い、再度、BLV感受性牛の末梢血リンパ球を用いた *ex vivo* におけるCD4陽性T細胞増殖試験を行い、変異導入前のペプチドと比較して、CD4陽性T細胞に特に強い増殖反応を誘導した21アミノ酸と20アミノ酸からなるペプチドをGagタンパク質とEnvタンパク質からそれぞれ一つずつBLV感受性牛のMHC分子に結合する『感受性牛適応型ペプチド』として選抜した。このBLV感受性牛適応型ペプチドをpHの変化によってリソソーム中で分解されるナノ粒子である炭酸アパタイトに固定化し、マウスに接種したところ遅延型皮膚反応が確認され、細胞性免疫を誘導することが示された。そこで、BLVを実験感染させたBLV感受性牛にBLV感受性牛適応型ペプチドを3度接種したところ、プロウイルス量が減少した。この結果から、通常では免疫応答が弱く、プロウイルス量を制御することができないと考えられるBLV感受性牛において、MHCクラスII分子を介したTh1細胞由来のサイトカインによるCTL誘導の増強によって、プロウイルスを有する感染細胞を排除可能な細胞性免疫を誘導することが可能と考えられるBLVワクチンの開発に成功したことが示された。加えて、これらの結果は、MHCによる疾患感受性を考慮した新規Reverse vaccinology手法は、遺伝的背景から免疫応答が弱いと考えられる個体にも効果のあるワクチン開発が可能であることを示唆する。

しかし、BLVを実験感染させたBLV抵抗性牛あるいはBLV中立牛に選抜したBLV感受性牛適応型ペプチドを接種したところ、プロウイルス量の減少は確認で

きなかった。これは、このペプチドワクチンにはBLV感受性牛適応型エピトープしか含まれていないため、BLV抵抗性牛およびBLV中立牛においては、ワクチンの接種による効果的なウイルス感染細胞の排除が起らなかったことが原因と考えられた。

## 2) VLP を用いた BLV 感受性牛に適合した BLV ワクチンの開発

そこで、我々は単一のエピトープのみを含むペプチドワクチンの欠点を克服し、MHC多型がもたらす疾患感受性の個体差をも克服できるワクチンを開発するために、BLV感受性牛に適合したエピトープに加えて、BLV抵抗性牛やBLV中立牛に免疫応答を引き起こすエピトープを多数組み込むことができるVLPを、ワクチンのプラットフォームとすることにした（論文作成中）。BLVのGagタンパク質は、単独で培養細胞に発現させることで、その他の構造タンパク質がなくとも、Gagタンパク質のみが集合してVLPを形成し、細胞から放出される（図4A）。そこで、BLV感受性牛適応型ペプチドのアミノ酸変異を加えた全長のGagタンパク質を用いてVLPを作製することにより、BLV感受性牛適応型ペプチドに加えて、野生型のGagタンパク質のCD4陽性T細胞エピトープ配列を抗原提示することが可能となった。さらに、野生型のCD4陽性T細胞エピトープ、CD8陽性T細胞エピトープ、B細胞エピトープおよび中和エピトープを有するEnvタンパク質のgp51にBLV感受性牛適応型ペプチドのアミノ酸変異を導入し、Gagタンパク質に融合させた。Gag-gp51融合タンパク質の遺伝子は、バキュロウイルスベクターに組み込み、昆虫細胞であるSF9細胞を用いて発現させた（図4B）。SF9培養上清を回収してWestern blot法や電子顕微鏡を用いて観察することにより、Gag-gp51融合タンパク質がBLV-VLPとしてSF9細胞から放出されていることが確認された。加えて、qNano法による粒子径の測定により、BLV-VLPの直径が $139 \pm 32.2\text{nm}$ と通常のBLV粒子と同等のサイズであることが明らかとなった。さらに、密度勾配遠心の結果から、BLV-VLPはBLV粒子と比べて、やや低密度であり、内部にゲノムを持たない中空粒子であることが示された。

BLV-VLPのワクチンとしての有効性を確認するために、BLV感受性牛を用いたワクチン接種試験を行っ

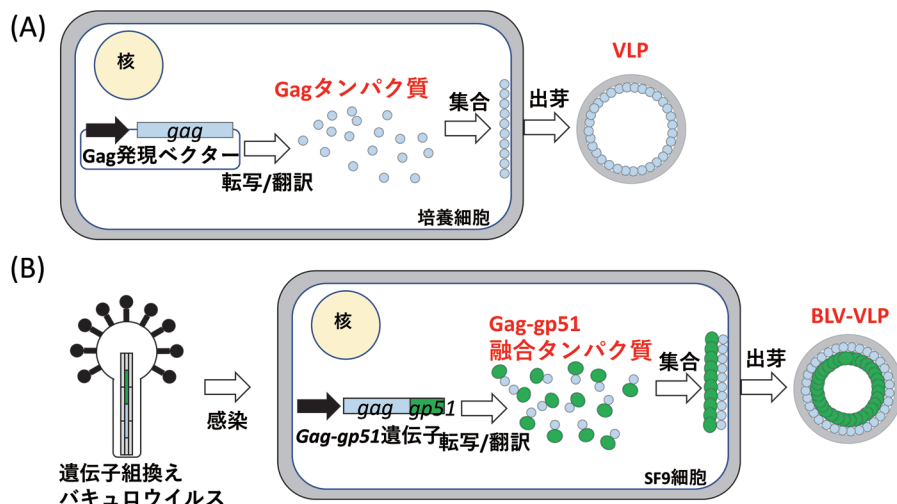
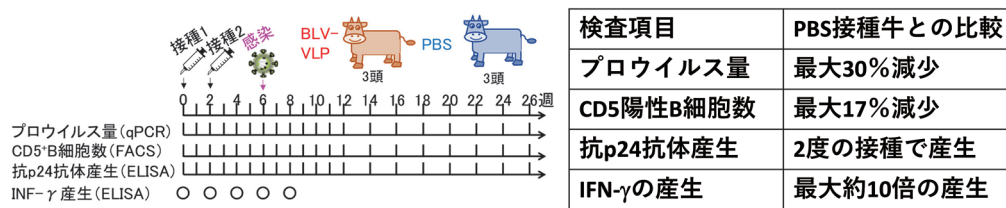


図4 Gag タンパク質による BLV-VLP の形成 (A) と我々が開発した Gag-Env 融合タンパク質による BLV-VLP (B)

た。試験に供した感受性牛は遺伝的な背景を揃えるために、これまでに、BLV の疾患感受性のマーカー遺伝子として知られている *BoLA-DRB3\*016:01* と *BoLA-DQA1\*10012* 対立遺伝子をホモ接合で有し、これに加えて、我々が過去に報告した3つの疾患感受性のマーカーである SNP (rs110616206, rs17872126, rs29026690) を全てホモ接合で有している雌ウシの卵子と、同様に全ての疾患感受性マーカー遺伝子をホモ接合で有している雄ウシの精子を人工授精し、BLV 陰性牛を代理母として BLV 陰性の感受性仔牛を作出した。この受精卵移植で作出した BLV 感受性仔牛を用いて、統計学的解析を可能とするために、BLV-VLP 接種群3頭と PBS 接種群3頭の2群に分け、ワクチン接種後にウイルスをチャレンジする試験(攻撃前接種試験)として BLV-VLP を2度接種し、その後 BLV を実験感染させ、試験開始12週間は毎週採血し、試験開始12週以降は26週にわたり2週間に1回の頻度で採血した(図5A)。試験期間中は、採血した血液を用いて、BLV の感染拡大の指標としてプロウイルス量を、病態進行の指標として BLV の感染標的細胞である CD5 陽性 B 細胞数を、液性免疫の指標として抗体産生を、細胞性免疫の指標として CD4+T 細胞の *ex vivo* における IFN- $\gamma$  の産生を測定した。各試験における統計学的な解析では、p 値が 0.05 未満を有意水準とし、検出力は Cohen の検出法を用いて事後検定で算出した。これにより、感受性牛

における BLV-VLP の感染防御効果、BLV 伝播の抑制効果、病態進行の抑制効果を検証した。その結果、プロウイルス量の推移から、BLV-VLP 接種牛において、実験感染を防御することはできなかったが、感染後のプロウイルス量が PBS 接種牛と比較して、最大 30% 減少し、試験期間中は低く維持され、いくつかの採血時点で有意に減少していた(検出力: 0.99 ~ 1.00)(図5A)。また、BLV の感染の標的細胞である CD5 陽性 B 細胞数も BLV-VLP 接種牛において、PBS 接種牛と比較して最大 17% と有意に減少し、試験期間中は低く維持されていた(検出力: 1.00)(図5A)。これらのワクチンによるプロウイルス量と CD5 陽性 B 細胞数の減少は、PBS 接種牛では BLV 感染後6週目以降に検出される抗体が、二度の BLV-VLP の接種によってウイルス感染前から産生されていたことにより、体内でのウイルスの感染拡大が抑制されたことが一因と考えられる(検出力: 0.91 ~ 1.00)(図5A)。加えてウシの末梢血リンパ球に BLV の Env タンパク質の複数の既知のエピトープ領域の合成ペプチドからなるペプチドプールを加えて培養した結果、BLV-VLP の接種によって PBS 接種牛と比較して、最大約 10 倍と有意に高い IFN- $\gamma$  の産生が誘導された(検出力: 0.56 ~ 0.58)(図5A)。このことから、液性免疫による感染の抑制だけでなく、細胞性免疫によって BLV 感染細胞が排除されたために、感染後のプロウイルス量と CD5 陽性 B 細胞数が減少したと考えられる。このよ

## (A)人工授精で作出したBLV感受性牛を用いたワクチン効果判定試験



## (B)BLV感受性・中立・抵抗性の野外飼育ウシを用いたワクチン効果判定試験

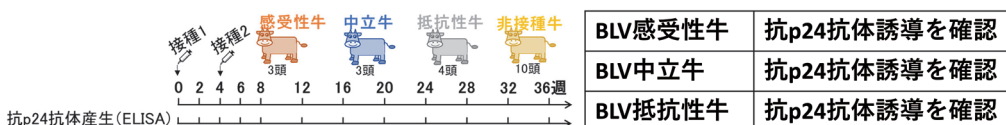


図5 新規 Reverse vaccinology 手法で作製した BLV-VLP のワクチン効果判定試験

(A) 人工授精で作出した感受性牛を用いたワクチン効果判定試験, (B) 感受性・中立・抵抗性の野外飼育ウシを用いたワクチン効果判定試験

うに, BLV-VLP は液性免疫と細胞性免疫の両者を誘導することにより, BLV 伝播の抑制効果と病態進行の抑制効果を示すことが明らかとなった。

本試験においては, ワクチンによる感染後のプロウイルス量の減少の効果を明確に判断するために, あえて過剰な量のプロウイルス量の感染細胞をチャレンジしている。一方で, BLV の最低感染量はいまだ不明であるが, サシバエやアブなどの口吻に付着した血液に含まれる感染細胞からも感染が起こればと考えられており, 少量の血液でも感染が成立すると考えられている。このことが, 本研究に供されたワクチン接種牛において, 感染防御ができなかった理由の一つであると考えられ, 今後は, ワクチン接種における感染防御効果を検証するために, BLV の最低感染量を明らかとしたうえで, より少ないプロウイルス量の感染細胞を用いたチャレンジ試験も必要であると考えられる。

ヒツジを用いた先行研究において, BLV 抵抗性ヒツジは INF- $\gamma$  の発現が強く, CD4 陽性 T 細胞を活性化し, 高いリンパ球増殖反応を示すことにより, BLV 感染細胞数の減少とリンパ腫の発症を抑制することが報告されている。本研究においても, BLV-VLP 接種牛の INF- $\gamma$  の産生が増強され, プロウイルス量及び CD5 陽性 B 細胞数が減少したことから, Th1 サイトカインを介した BLV 感染細胞の排除が示唆されたが, BLV 感染細胞特異的な CTL 反応が誘導されたか否かについては直接的には証明できていない。今後は, 実際に BLV 感染細胞

特異的な CTL 反応が誘導されているか否かを確認することも必要である。また, INF- $\gamma$  の産生については, 統計的検出力が低かったため, 今後はより多数のサンプルでの試験も必要であると考えられる。

BLV 感受性牛はワクチン効果が得られにくいと考えられることと『感受性牛適応型ペプチド』が BLV 感受性牛に有効なワクチン効果を示したことから, BLV-VLP においても, 『感受性牛適応型ペプチド』の配列を有していることが, BLV 感受性牛において, 有効な免疫誘導を行うことが出来た一因と考えられるが, 実験的には証明できていない。そこで, 新規 Reverse vaccinology 手法によって, 同定された『感受性牛適応型ペプチド』の配列の BLV-VLP 中における有効性を証明するために, 変異を導入していない BLV-VLP との比較などのさらなる試験が必要である。

## 3) BLV-VLP ワクチンの BLV 中立牛あるいは BLV 抵抗性牛における効果の発現

上記の結果から, BLV 感受性牛でのワクチン効果が確認されたが, BLV 中立牛や BLV 抵抗性牛でのワクチン効果を検証するために, さらに野外のウシを用いたワクチン効果試験を行った。そこで, 計 20 頭のウシを用意し, BLV の疾患感受性と *BoLA-DRB3* アレルの関連を基にウシを分類した。具体的には, 過去に我々が報告しているように, 抵抗性アレルである *BoLA-DRB3\*140:01:01* あるいは *BoLA-DRB3\*009:02* を 1 つ

以上有するものを BLV 抵抗性牛とし、抵抗性アレルを持たず感受性アレルである *BoLA-DRB3\*015:01* あるいは *BoLA-DRB3\*012:01* を1つ以上有するものを BLV 感受性牛とし、それ以外を BLV 中立牛として分類した<sup>81, 85)</sup>。そして、BLV-VLP を接種する牛として BLV 感受性牛 3 頭、BLV 中立牛 3 頭ならびに BLV 抵抗性牛 4 頭を用い、非接種群として BLV 感受性牛 5 頭、BLV 中立牛 3 頭ならびに BLV 抵抗性牛 2 頭を用いた。これらのウシに BLV-VLP を 2 度接種し、試験開始から 12 週間は 2 週間に 1 回の頻度で採血し、それ以降は 36 週にわたり、4 週間に 1 回の頻度で採血し、血液中の抗 p24 抗体量の測定を行い、免疫誘導能を確認した (図 5B)。統計学的な解析は、p 値が 0.05 未満を有意水準とし、検出力は Cohen の検出法を用いて事後検定で算出した。その結果、BLV 感受性牛、BLV 中立牛ならびに BLV 抵抗性牛のいずれにおいても、BLV-VLP の接種により、実験開始 6 週目あるいは 8 週目に抗 p24 抗体産生がピークに達し、非接種群と比較して有意に高い (検出力: 1.00) 抗 p24 抗体が検出された (図 5B)。また、その抗体価は 3 群において同様に 32 倍から 128 倍であった。この結果から、BLV-VLP は BLV 感受性牛だけでなく、BLV 中立牛や BLV 抵抗性牛においても、免疫を誘導することが明らかとなり、疾患感受性の個体差を克服している可能性が示唆された。

#### 4) 疾患感受性の個体差を克服した BLV-VLP ワクチン

これらの結果から、新規 Reverse vaccinology 手法で作製した BLV-VLP は、疾患感受性の個体差によらず、免疫応答の誘導が可能であり、液性免疫と細胞性免疫を共に誘導し、プロウイルス量と CD5 陽性 B 細胞数を減少させることが示され、BLV の伝播ならびにリンパ腫の発症の予防効果を有することが示唆された (図 6)。この研究成果は、今まで疾患感受性の個体差によりワクチンが有効なウシが限られていたことと、そのためにワクチンの効果が十分に立証できなかったことからワクチン開発が難航していた BLV に対するワクチン開発へのブレークスルーの一つである。一方で、本研究においては、BLV-VLP を接種した後に、BLV 抵抗性牛や BLV 中立牛に BLV を攻撃接種していない。そのため、BLV 抵抗性牛や BLV 中立牛において、BLV 感受性牛と同様に BLV-VLP の接種によって、プロウイルス量や CD5

BLV-VLP ワクチンの効果	
プロウイルス量	減少
CD5 陽性 B 細胞数	減少
抗体産生	誘導
IFN- $\gamma$ の産生	誘導
BLV 伝播の予防効果	あり
発症予防効果	あり
疾患感受性の個体差	克服

図 6 新規 Reverse vaccinology 手法で作製した BLV-VLP のワクチン効果

陽性 B 細胞が減少するかは不明である。今後は、BLV 抵抗性牛や BLV 中立牛においても、より詳細にワクチン効果を検証することで、実際に BLV-VLP が疾患感受性の個体差を克服しているかを明らかにする必要がある。

#### おわりに

オーダーメイド医療の需要が高まる現在、MHC などの遺伝子の多型による疾患感受性の個体差を考慮した、医薬品の開発は重要である。その中でも、ワクチンは感染症を予防するのみならず、感染症の根絶にも大きな役割を果たすことから、特に重要な医薬品の一つであると考えられる。したがって、疾患感受性の個体差を克服することができる新規 Reverse Vaccinology 手法は、今後ますます重要になると考えられる。また、我々はこれまでに BLV を対象として、ペプチドワクチンと VLP ワクチンの二つのプラットフォームを用いた、新規 Reverse vaccinology 手法によるワクチン開発の実証に成功してきた。しかし、新規 Reverse vaccinology 手法はそれ以外のプラットフォーム、例えば mRNA ワクチン等にも容易に応用が可能であり、今後のワクチンの技術の発展に伴い、ますます有効性が増すと考えられる。さらに、MHC に関する研究も今後ますます発展することが予想され、そのフィードバックを受けることにより新規 Reverse vaccinology 手法も進化して、より有効性の高いワクチンの開発が可能になることが期待される。

#### 利益相反

申告すべき事項なし

## 引用文献

- 1) Jenner, E. An Inquiry into the Causes and Effects of Variolae Vaccinae, a Disease Discovered in Some Western Counties of England. London: Sampson Low. 1798.
- 2) Pasteur, L. Sur les maladies virulentes, et en particulier sur la maladie appelee vulgairement cholera des poules. C. R. Acad. Sci. 1880; 90:249-248.
- 3) Pasteur, L., Chamberland, C., and Roux, E. Compte rendu sommaire des experiences faites a Pouilly-Le-Fort, pres de Melun, sur la vaccination charbonneuse. C. R. Acad. Sci. 1881; 92:1378-13831.
- 4) Pasteur, L. Methode pour prevenir la rage apres morsure. C. R. Acad. Sci. 185; 101:765-774.
- 5) Theiler M., Smith HH. THE USE OF YELLOW FEVER VIRUS MODIFIED BY IN VITRO CULTIVATION FOR HUMAN IMMUNIZATION. J Exp Med. 1937; 65(6):787-800.
- 6) The Nobel Prize in Physiology or Medicine 2023. NobelPrize.org. Nobel Prize Outreach AB 2024. <<https://www.nobelprize.org/prizes/medicine/2023/summary/>>
- 7) Bachmann MF., Jennings GT.: Vaccine delivery: a matter of size, geometry, kinetics and molecular patterns. Nat Rev Immunol. 2010; 10(11):787-96.
- 8) Kheirvari M., Liu H., Tumban E. Virus-like Particle Vaccines and Platforms for Vaccine Development. Viruses. 2023; 15(5):1109.
- 9) Guo J., Hou L., Zhou J., et al. Porcine Circovirus Type 2 Vaccines: Commercial Application and Research Advances. Viruses. 2022; 14(9):2005.
- 10) Gohil K. Pharmaceutical Approval Update. P T. 2015; 40(2):106-22.
- 11) Deria A., Jezek Z., Markvart K., Carrasco P., Weisfeld J. The world's last endemic case of smallpox: surveillance and containment measures. Bull WHO. 1980; 58(2):279-83.
- 12) Global eradication of smallpox. Bull WHO. 1980; 58: 161-163.
- 13) Global polio eradication initiative applauds WHO African region for wild polio-free certification. WHO., 2020. <<https://www.who.int/news/item/25-08-2020-global-polio-eradication-initiative-applauds-who-african-region-for-wild-polio-free-certification#:~:text=Support%20from%20national%20governments%20and,achieve%20a%20polio%2Dfree%20world&text=Today%2C%20the%20Africa%20Regional%20Certification,four%20years%20without%20a%20case.>>
- 14) Augusto DG., Murdolo LD., Chatzileontiadou DSM., et al. A common allele of HLA is associated with asymptomatic SARS-CoV-2 infection. Nature. 2023; 620(7972):128-136.
- 15) Qi H., Zhang YB., Sun L., et al. Discovery of susceptibility loci associated with tuberculosis in Han Chinese. Hum Mol Genet. 2017; 26(23):4752-4763.
- 16) Fellay J., Shianna KV., Ge D., et al. A whole-genome association study of major determinants for host control of HIV-1. Science. 2007; 317(5840):944-7.
- 17) McLaren PJ., Coulonges C., Bartha I., et al. Polymorphisms of large effect explain the majority of the host genetic contribution to variation of HIV-1 virus load. Proc Natl Acad Sci U S A. 2015; 112(47):14658-63.
- 18) Pereyra F., Jia X., McLaren PJ., et al. The major genetic determinants of HIV-1 control affect HLA class I peptide presentation. Science. 2010; 330(6010):1551-7.
- 19) McLaren PJ., Coulonges C., Ripke S., et al. Association study of common genetic variants and HIV-1 acquisition in 6,300 infected cases and 7,200 controls. PLoS Pathog. 2013; 9(7):e1003515.
- 20) Ma JJ., Nishimura M., Mine H., et al. HLA-DRB1 and tumor necrosis factor gene poly-morphisms in Japanese patients with multiple sclerosis. J Neuroimmunol. 1998; 92(1-2):109-12.
- 21) Nishida Y., Aida K., Kihara M., Kobayashi T. Antibody-validated proteins in inflamed islets of fulminant type 1 diabetes profiled by laser-capture microdissection followed by mass spectrometry. PLoS One. 2014; 9(10):e107664.
- 22) Chuang LC., Hu CY., Chen HC., et al. Associations of human leukocyte antigen class II genotypes with human papillomavirus 18 infection and cervical intraepithelial neoplasia risk. Cancer. 2012; 118(1):223-31.
- 23) Rubicz R., Yolken R., Drigalenko E., et al. A genome-wide integrative genomic study localizes genetic factors influencing antibodies against Epstein-Barr virus nuclear antigen 1 (EBNA-1). PLoS Genet. 2013; 9(1):e1003147.
- 24) Sasazuki T., Kohno Y., Iwamoto I., et al. Association between an HLA haplotype and low responsiveness to tetanus toxoid in man. Nature. 1978; 272(5651):359-61.
- 25) Hatae K., Kimura A., Okubo R., et al. Genetic control of nonresponsiveness to hepatitis B virus vaccine by an extended HLA haplotype. Eur J Immunol. 1992; 22(7):1899-905.
- 26) Nishida N., Sugiyama M., Sawai H., et al. Key HLA-DRB1-DQB1 haplotypes and role of the BTNL2 gene for response to a hepatitis B vaccine. Hepatology. 2018; 68(3):848-858.
- 27) Rappuoli R. Reverse vaccinology. Curr Opin Microbiol. 2000; 3(5):445-50.
- 28) Pizza M., Scarlato V., Maignani V., et al. Identification of vaccine candidates against serogroup B meningococcus by whole-genome sequencing. Science. 2000;

- 287(5459):1816–20.
- 29) Aida Y., Murakami H., Takahashi M., Takeshima SN. Mechanisms of pathogenesis induced by bovine leukemia virus as a model for human T-cell leukemia virus. *Frontiers in micro-biology*. 2013; 4:328.
- 30) Jimba M., Takeshima SN., Matoba K., et al. BLV-CoCoMo-qPCR: Quantitation of bovine leukemia virus proviral load using the CoCoMo algorithm. *Retrovirology*. 2010; 7:91.
- 31) Murakami K., Kobayashi S., Konishi M., et al. The recent prevalence of bovine leukemia virus (BLV) infection among Japanese cattle. *Vet Microbiol*. 2011; 148(1):84–8.
- 32) Portetelle D., Bruck C., Burny A., et al. Detection of complement-dependent lytic antibodies in sera from bovine leukemia virus-infected animals. *Ann Rech Vet*. 1978; 9(4):667–74.
- 33) Miller JM., Van Der Maaten MJ. Evaluation of an inactivated bovine leukemia virus preparation as an immunogen in cattle. *Ann Rech Vet*. 1978; 9(4):871–7.
- 34) Pătrașcu IV., Coman S., Sandu I., et al. Specific protection against bovine leukemia virus infection conferred on cattle by the Romanian inactivated vaccine BL-VACC-RO. *Virologie*. 1980; 31(2):95–102.
- 35) Miller JM., Van der Maaten MJ., Schmerr MJ. Vaccination of cattle with binary ethyl-enimine-treated bovine leukemia virus. *Am J Vet Res*. 1983; 44(1):64–7.
- 36) Parfanovich MI., Zhdanov VM., Lazarenko AA., et al. The possibility of specific protection against bovine leukaemia virus infection and bovine leukaemia with inactivated BLV. *Br Vet J*. 1983; 139(2):137–46.
- 37) Maruyama K., Fukushima T., Mochizuki S., et al. Elicitation of bovine antibody to BLV-gp51 by BLV-vaccination. *Leukemia*. 1988; 2(12 Suppl):216S-222S.
- 38) Fukuyama S., Kodama K., Hirahara T., et al. *J Vet Med Sci*. 1993;55(1):99–106.
- 39) Kabeya H., Ohashi K., Ohishi K., et al. An effective peptide vaccine to eliminate bovine leukaemia virus (BLV) infected cells in carrier sheep. *Vaccine*. 1996; 14(12):1118–22.
- 40) Ohishi K., Kabeya H., Amanuma H., Onuma M. Induction of bovine leukaemia virus Env-specific Th-1 type immunity in mice by vaccination with short synthesized peptide-liposome. *Vaccine*. 1996; 14(12):1143–8.
- 41) Ohishi K., Kabeya H., Amanuma H., Onuma M. Peptide-based bovine leukemia virus (BLV) vaccine that induces BLV-Env specific Th-1 type immunity. *Leukemia*. 1997; 11 Suppl 3:223–6.
- 42) Hislop AD, Good MF, Mateo L, et al. Vaccine-induced cytotoxic T lymphocytes protect against retroviral challenge. *Nat Med*. 1998; 4(10):1193–6.
- 43) Kabeya H, Ohashi K, Oyunbileg N., et al. Up-regulation of tumor necrosis factor alpha mRNA is associated with bovine-leukemia virus (BLV) elimination in the early phase of infection. *Vet Immunol Immunopathol*. 1999; 68(2-4):255–65.
- 44) Mateo L, Gardner J, Suhrbier A. Delayed emergence of bovine leukemia virus after vaccination with a protective cytotoxic T cell-based vaccine. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2001; 17(15):1447–53.
- 45) Chugh S, Swenson C, Yuzbasiyan-Gurkan V, Huang X. Design and Synthesis of Bovine Leukemia Virus-Associated Peptide-Based Q  $\beta$  Conjugate Eliciting Long-Lasting Neutralizing Antibodies in Mice. *ACS Infect Dis*. 2022; 8(5):1031–1040.
- 46) Onuma M, Hodatsu T, Yamamoto S, et al. Protection by vaccination against bovine leukemia virus infection in sheep. *Am J Vet Res*. 1984; 45(6):1212–5.
- 47) Burkhardt H, Rosenthal S, Wittmann W, et al. Immunization of young cattle with gp51 of the bovine leukosis virus and the subsequent experimental infection. *Arch Exp Veterinarmed*. 1989; 43(6):933–42.
- 48) Ohishi K, Maruyama T, Shida H, et al. Immunogenicity of a recombinant vaccinia virus expressing envelope glycoprotein of bovine leukaemia virus. *Vaccine*. 1988; 6(5):428–32.
- 49) Borisova GP, Berzins I, Pushko PM, Recombinant core particles of hepatitis B virus exposing foreign antigenic determinants on their surface. *FEBS Lett*. 1989; 259(1):121–4.
- 50) Portetelle D, Burny A, Desmettre P, et al. Development of a specific serological test and an efficient subunit vaccine to control bovine leukemia virus infection. *Dev Biol Stand*. 1990; 72:81–90.
- 51) Ohishi K, Suzuki H, Maruyama T, et al. Induction of neutralizing antibodies against bovine leukosis virus in rabbits by vaccination with recombinant vaccinia virus expressing bovine leukosis virus envelope glycoprotein. *Am J Vet Res*. 1990; 51(8):1170–3.
- 52) Portetelle D, Limbach K, Burny A, et al. Recombinant vaccinia virus expression of the bovine leukaemia virus envelope gene and protection of immunized sheep against infection. *Vaccine*. 1991; 9(3):194–200.
- 53) Ohishi K, Suzuki H, Yamamoto T, et al. Protective immunity against bovine leukaemia virus (BLV) induced in carrier sheep by inoculation with a vaccinia virus-BLV env recombinant: association with cell-mediated immunity. *J Gen Virol*. 1991;72 (Pt 8):1887–92.
- 54) Ohishi K, Suzuki H, Yasutomi Y, et al. Augmentation of bovine leukemia virus (BLV)-specific lymphocyte proliferation responses in ruminants by inoculation with BLV env-recombinant vaccinia virus: their role in

- the suppression of BLV replication. *Microbiol Immunol.* 1992;36(12):1317-23.
- 55) Okada K, Ikeyama S, Ohishi K, et al. Involvement of CD8+ T cells in delayed-type hypersensitivity responses against bovine leukemia virus (BLV) induced in sheep vaccinated with recombinant vaccinia virus expressing BLV envelope glycoprotein. *Vet Pathol.* 1993; 30(2):104-10.
  - 56) Gatei MH, Naif HM, Kumar S, Protection of sheep against bovine leukemia virus (BLV) infection by vaccination with recombinant vaccinia viruses expressing BLV envelope glycoproteins: correlation of protection with CD4 T-cell response to gp51 peptide 51-70. *J Virol.* 1993; 67(4):1803-10.
  - 57) Cherney TM, Schultz RD. Viral status and antibody response in cattle inoculated with re-combinant bovine leukemia virus-vaccinia virus vaccines after challenge exposure with bovine leukemia virus-infected lymphocytes. *Am J Vet Res.* 1996 Jun;57(6):812-8.
  - 58) Von Beust BR, Brown WC, Estes DM, Zarlenga DS, et al. Development and in vitro characterization of recombinant vaccinia viruses expressing bovine leukemia virus gp51 in combination with bovine IL4 or IL12. *Vaccine.* 1999; 17(4):384-95.
  - 59) Merza M, Söber J, Sundquist B, et al. Characterization of purified gp 51 from bovine leukemia virus integrated into iscom. Physicochemical properties and serum antibody response to the integrated gp51. *Arch Virol.* 1991;120(3-4):219-31.
  - 60) Kerkhofs P, Gatot JS, Knapen K, et al. Long-term protection against bovine leukaemia virus replication in cattle and sheep. *J Gen Virol.* 2000; 81(Pt 4):957-63.
  - 61) Boris-Lawrie K, Altanerova V, Altaner C, et al. In vivo study of genetically simplified bovine leukemia virus derivatives that lack tax and rex. *J Virol.* 1997;71(2):1514-20.
  - 62) Reichert M, Cantor GH, Willems L, Kettmann R. Protective effects of a live attenuated bovine leukaemia virus vaccine with deletion in the R3 and G4 genes. *J Gen Virol.* 2000; 81(Pt 4):965-9.
  - 63) Suárez Archilla G, Gutiérrez G, Camussone C, et al. A safe and effective vaccine against bovine leukemia virus. *Front Immunol.* 2022; 13:980514.
  - 64) Ristau E, Beier D, Wittmann W, Klima F. Protection of sheep against infection with bovine leukemia virus by vaccination with tumor cells or tumor cell preparations from lymph nodes of leukemic cattle. *Arch Exp Veterinarmed.* 1987; 41(2):185-96.
  - 65) Onuma M, Hodatsu T, Yamamoto S, et al. Protection by vaccination against bovine leukemia virus infection in sheep. *Am J Vet Res.* 1984; 45(6):1212-5.
  - 66) Roberts DH, Lucas MH, Sands J, Wibberley G. Protection against bovine leukosis virus infection in sheep with the BL 20 bovine lymphoblastoid cell line. *Vet Immunol Immuno-pathol.* 1982; 3(6):635-42.
  - 67) Altaner C, Bán J, Altanerová V, et al. Bovine leukemia virus: isolation and characterization of nonproducer cell clones. *Neoplasma.* 1987;34(6):641-52.
  - 68) Altaner C, Altanerova V, Ban J, et al. Cell-derived vaccine against bovine leukaemia virus infection. *Zentralbl Veterinarmed B.* 1988; 35(10):736-46.
  - 69) Altaner C, Ban J, Altanerova V, Janik V. Protective vaccination against bovine leukaemia virus infection by means of cell-derived vaccine. *Vaccine.* 1991; 9(12):889-95.
  - 70) Kucerova L, Altanerova V, Altaner C, Boris-Lawrie K. Bovine leukemia virus structural gene vectors are immunogenic and lack pathogenicity in a rabbit model. *J Virol.* 1999; 73(10):8160-6.
  - 71) Brillowska A, Dabrowski S, Ruška J, et al. Protection of cattle against bovine leukemia virus (BLV) infection could be attained by DNA vaccination. *Acta Biochim Pol.* 1999; 46(4):971-6.
  - 72) Usui T, Konnai S, Tajima S, et al. Protective effects of vaccination with bovine leukemia virus (BLV) Tax DNA against BLV infection in sheep. *J Vet Med Sci.* 2003; 65(11):1201-5.
  - 73) Altanerova V, Holicova D, Kucerova L, et al. Long-term infection with retroviral structural gene vector provides protection against bovine leukemia virus disease in rabbits. *Virology.* 2004; 329(2):434-9.
  - 74) Van den Broeke A, Oumouna M, Beskorwayne T, et al. Cytotoxic responses to BLV tax oncoprotein do not prevent leukemogenesis in sheep. *Leuk Res.* 2010; 34(12):1663-9.
  - 75) Miyasaka T, Takeshima SN, Jimba M, et al. Identification of bovine leukocyte antigen class II haplotypes associated with variations in bovine leukemia virus proviral load in Japanese Black cattle. *Tissue Antigens.* 2013; 81(2):72-82.
  - 76) Takeshima SN, Ohno A, Aida Y. Bovine leukemia virus proviral load is more strongly associated with bovine major histocompatibility complex class II DRB3 polymorphism than with DQA1 polymorphism in Holstein cow in Japan. *Retrovirology.* 2019; 16(1):14.
  - 77) Lo CW, Borjigin L, Saito S, et al. BoLA-DRB3 Polymorphism is Associated with Differential Susceptibility to Bovine Leukemia Virus-Induced Lymphoma and Proviral Load. *Viruses.* 2020; 12(3):352.
  - 78) Lo CW, Takeshima SN, Wada S, et al. Bovine major histocompatibility complex (BoLA) heterozygote advantage against the outcome of bovine leukemia virus infection. *HLA.* 2021; 98(2):132-139.

- 79) Lo CW, Takeshima SN, Okada K, et al. Association of Bovine Leukemia Virus-Induced Lymphoma with BoLA-DRB3 Polymorphisms at DNA, Amino Acid, and Binding Pocket Property Levels. *Pathogens*. 2021; 10(4):437.
- 80) Lo CW, and Aida Y. Association of BoLA-DRB3 with bovine leukemia virus. 2022; 29(3):158-167.
- 81) Borjigin L, Watanuki S, Hamada R, et al. Effectiveness of integrated bovine leukemia virus eradication strategies utilizing cattle carrying resistant and susceptible major histocompatibility complex class II DRB3 alleles. *J Dairy Sci*. 2023; 106(12):9393-9409.
- 82) Murakami K., Okada K., Ikawa Y., Aida Y. Bovine leukemia virus induces CD5- B cell lymphoma in sheep despite temporarily increasing CD5+ B cells in asymptomatic stage. *Virology*. 1994; 202(1):458-65.
- 83) Nagaoka Y., Kabeya H., Onuma M., et al. Ovine MHC class II DRB1 alleles associated with resistance or susceptibility to development of bovine leukemia virus-induced ovine lymphoma. *Cancer Res*. 1999; 59(4):975-81.
- 84) Konnai S., Takeshima SN., Tajima S., et al. The influence of ovine MHC class II DRB1 alleles on immune response in bovine leukemia virus infection. *Microbiol Immunol*. 2003; 47(3):223-32.
- 85) Nakatsuchi A., Bao A., Watanuki S., et al. Anti-BLV antibodies in whey correlate with bovine leukemia virus disease progression and BoLA-DRB3 polymorphism. *Front Vet Sci*. 2022; 9:1038101.

## 略語一覧

牛伝染性リンパ腫ウイルス：BLV  
地方病性牛伝染性リンパ腫：EBL  
主要組織適合遺伝子複合体：MHC  
牛主要組織適合遺伝子複合体：BoLA  
ウイルス様粒子：VLP  
ヒトパピローマウイルス：HPV  
B型肝炎ウイルス：HBV



## Development of a Virus-like Particle Vaccine for Bovine Leukemia Virus using Novel Reverse Vaccinology Method

Ryosuke Matsuura<sup>1)</sup>, Yoko Aida<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Laboratory of Global Infectious Diseases Control Science, Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo

Bovine leukemia virus (BLV) caused the enzootic bovine leucosis (EBL) which is a B-cell lymphoma in cattle. BLV has spread worldwide and caused large amounts of economic damage. This economic damage is due to not only lymphoma but also reduction in milk production, shortened longevity, high incidence of infectious disease due to immunosuppression, reproductive inefficiency and international trading problem. The rate of BLV infection and incidence of EBL in cattle is increasing. However, a vaccine against BLV is currently not available. One of the reasons why vaccine development has not succeeded is that immune response against BLV depends on polymorphisms of bovine major histocompatibility complex (MHC) (*BoLA*). Therefore, we have developed a virus-like particle that is effective even in BLV-susceptible cattle by adapting the main epitope to the BLV-susceptible *BoLA* using a “novel Reverse Vaccinology”. This virus-like particle (VLP) induced immune response regardless of MHC polymorphism and decreased proviral loads and CD5-positive B cells. In this review, we will outline the relationship between vaccines and MHC, and introduce the current status of BLV vaccine development and the development of BLV-VLP vaccines using “novel Reverse Vaccinology”.

**Key Words:** bovine leukemia virus, vaccine, novel reverse vaccinology, major histocompatibility complex, virus-like particle

令和6年度 認定HLA 検査技術者認定制度試験問題に関する報告

令和6年度 認定HLA 検査技術者認定制度試験問題に関する報告

成瀬 妙子<sup>1)</sup>・王寺 典子<sup>2)</sup>・木村 彰方<sup>3)</sup>・黒田 ゆかり<sup>4)</sup>・土屋 尚之<sup>5)</sup>・

橋口 裕樹<sup>6)</sup>・藤井 明美<sup>7)</sup>・西村 泰治<sup>8)</sup>

(認定制度委員会試験問題検討部会)

<sup>1)</sup> 長崎大学熱帯医学研究所

<sup>2)</sup> 奈良県立医科大学

<sup>3)</sup> 東京科学大学

<sup>4)</sup> 日本赤十字社九州ブロック血液センター

<sup>5)</sup> 筑波大学

<sup>6)</sup> 福岡赤十字病院

<sup>7)</sup> 県立広島病院

<sup>8)</sup> 令和健康科学大学

はじめに

日本組織適合性学会のHLA検査技術者・組織適合性指導者認定制度第19回認定制度試験を令和6年9月28日(土)に実施した。本稿では併せて開催した模擬試験での正答率の低い、いわゆる“難問“について解説を行う。

なお、令和6年度の試験問題と正解は、学会ホームページ (<https://jshi.smoozy.atlas.jp/ja/ninteikakomon>) に掲載しているので参照されたい。

認定制度試験概要

令和6年度の日本組織適合性学会HLA検査技術者・組織適合性指導者認定制度認定制度試験は第32回日本組織適合性学会大会会期中の9月28日、ウインクあいち18階会議室にて実施した。また、同時間帯に大会第2会場において同一問題を利用して模擬試験(受験者86名)を実施した。模擬試験については、今回よりペーパーレス試験を実施し、問題配布及び答案収集は全てGoogleフォームにて行った。本分析では、制限時間内に回答を送信した受験者の回答(86件)を対象とした。

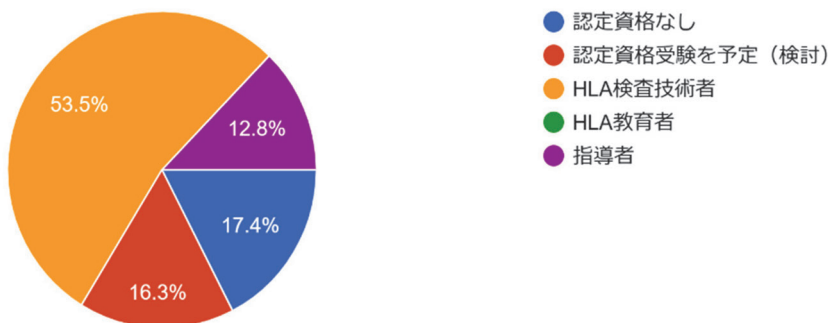
本年度の受験者数は前年度の1.7倍に増加したが、理

由としては、前大会がオンライン併催であったことが挙げられる。加えて本年より、認定制度有資格者の更新要件として、5年間で最低1回の模擬試験受験が必須になったことも一端であると考えられる。そのため、有資格者の割合が前年度49%から今年度は66.3%に増加した。内訳は図の通り。会員歴は5年未満が31.4%、5年以上10年未満37.2%、10年以上20年未満が24.4%、20年以上が7%であった。

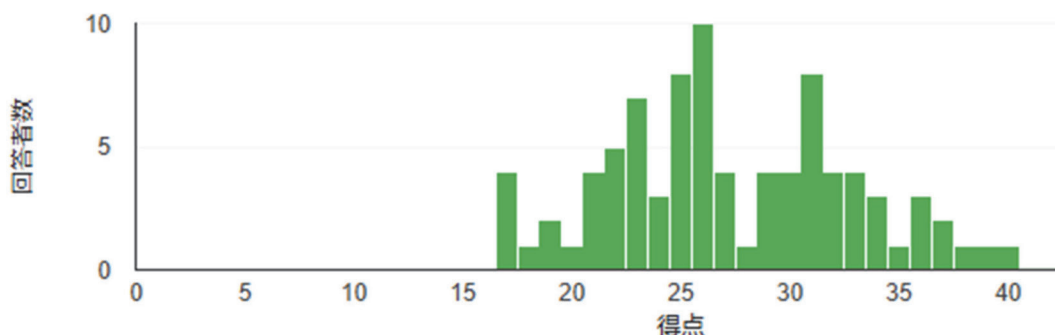
試験問題は全50問のうち1問を試験後に不適問題としたことから、全49問で49点満点として採点を行った。模擬試験の点数分布は図に示す通り、範囲17-40点、平均27.3点、中央値26点、標準偏差5.5点であった。

以下には今年度の試験問題のうち、正答率40%以下であった問題全12問の解説を示す。

保有している認定資格を選択してください  
86件の回答



模擬試験得点分布



模擬試験難問解説

問題 2. 連鎖不平衡に関して、もっとも適切な記述を a ~ e のうちから一つ選べ。

- a. 物理的に極めて近距離にあるアレル間では、常に連鎖不平衡が成立する。
- b. 連鎖不平衡とは、異なる座位のアレル間でランダムな組合せの頻度が一定であることをいう。
- c. 3座以上のアレル間での連鎖不平衡は存在しない。
- d. 連鎖不平衡の指標である  $D'$  や  $r^2$  が小さいほど、連鎖不平衡はより強いと言える。
- e. 連鎖不平衡の成立は、アレルの出現時期と関係している。

正解：e

正答率 26.7%，代表的な誤答：d.

解説：本問題は 2020 年(令和 2 年)度の試験問題の再出題、

いわゆる過去問である。2020 年においては COVID-19 感染拡大の影響により学会大会が中止となったことに伴い、模擬試験も中止を余儀なくされ本試験のみ実施した経緯があるが、本試験での低正答率問題として取り上げ、翌年の教育講演において本問の解説を行っている。よって詳細は当該テキストに譲ることとするが (MHC28: 77-82 を参照のこと)、今回は代表的な誤答として選択肢 d. が選択されている。連鎖不平衡の指標として用いられる  $D'$  や相関係数  $r^2$  の値は小さいほど理論値 (平衡状態) に近づくことから、選択肢 d. は正しくは、連鎖不平衡はより弱いと言える。

問題 4. 古典的 HLA クラス I 分子とその遺伝子構造についてもっとも適切な記述の組合せを a ~ e のうちから一つ選べ。

1.  $\alpha$ 鎖と $\beta$ 2ミクログロブリンが共に細胞膜を貫通している。
  2.  $\beta$ 2ミクログロブリンは、 $\alpha$ 鎖の $\alpha$ 3ドメインと非共有結合している。
  3. HLA-A, HLA-Cは8個のエキソン, HLA-Bは7個のエキソンにより構成されている。
  4. 糖鎖は、主に $\alpha$ 3ドメインに結合している。
  5.  $\beta$ 2ミクログロブリン分子内に、ジスルフィド結合はない。
- a. 1, 3    b. 1, 5    c. 2, 3    d. 2, 4    e. 4, 5

**正解：c**

正答率 29.1%, 代表的な誤答：d.

解説：選択肢3に述べられているとおり、古典的HLAクラスIである *HLA-A*, *-B*, *-C* の遺伝子は全て8個のエキソンより構成されているが、分子を構成する（タンパク質に翻訳される）コード配列（CDS: coding sequence）と呼ばれる部分を構成するエキソンは *HLA-A*, *-C* は8個, *HLA-B* は7個と, *HLA-B* では1つ少ない。これは細胞質ドメイン（CY: cytoplasmic region）タンパク質に相当するエキソンが, *HLA-A*, *-C* はエキソン 6, 7, 8 であるのに対し, *HLA-B* では 6, 7 と一つ少ないことに由来する。代表的な誤答である選択肢 4. については, 糖鎖が結合するのは $\alpha$ 1ドメインであり,  $\alpha$ 3ドメインに結合するのはCD8分子である。

**問題 7.** HLA-E の機能について誤っている記述を a ~ e のうちから一つ選べ。

- a. ウイルス由来のペプチドを提示する。
- b. HLA-A 分子のシグナルペプチドを結合する。
- c. TCR による認識を介して CD4 陽性 T 細胞を抗原特異的に活性化する。
- d. CD94/NKG2A による認識を介して NK 細胞を抑制する。
- e. CD94/NKG2C による認識を介して NK 細胞を活性化する。

**正解：c**

正答率 32.6%, 代表的な誤答：d.

解説：CD4 陽性 T 細胞は基本的に MHC クラス II 分子により活性化されるため, HLA クラス I 分子に分類される HLA-E は CD4 陽性 T 細胞を活性化しない。代表的な誤答である選択肢 d. を含めて他の選択肢はすべて正しい。

**問題 8.** *HLA-DRB1* 遺伝子のセントロメア側に位置する遺伝子を a ~ e から一つ選べ。

- a. *PSMB9*
- b. *POU5F1*
- c. *TNF*
- d. *C4*
- e. *HSPA1A*

**正解：a**

正答率 34.9%, 代表的な誤答：c.

解説：セントロメアとは染色体の長腕と短腕が交差する部位である。染色体の長腕および短腕の末端部にはテロメアと呼ばれる構造がある。HLA 領域は第6染色体短腕のテロメア側からセントロメア側に向かってクラス I, クラス III, クラス II 領域の順で位置している。選択肢 a ~ e のうちで *HLA-DRB1* 遺伝子（クラス II 領域にある）のセントロメア側に位置するのは a. *PSMB9* のみである。*PSMB9* はプロテアソームサブユニット $\beta$ -li タンパク質をコードする遺伝子で、この分子はクラス I 分子が提示する内因性抗原のペプチドプロセッシングに深くかかわっているが、遺伝子自体はクラス II 領域に存在することが広く知られている。代表的な誤答である選択肢 c. *TNF* 遺伝子や, d. *C4* および e. *HSPA1A* 遺伝子はいずれもクラス III 領域に位置し, b. *POU5F1* 遺伝子はクラス I 領域に位置する。

**問題 13.** MICA 分子に関連して、正しい記述を a ~ e のうちから一つ選べ。

- a. MICA 分子をコードする遺伝子は HLA クラス I 領域にマップされる。
- b. MICA 分子は正常な B 細胞に発現している。
- c. MICA 分子は NKG2D レセプターを介してマクロファージに認識され、活性化する。
- d. MICA 分子は Th1 細胞を活性化して細胞性免疫を引き起こす。
- e. MICA 分子と MICB 分子は非共有結合をして、抗原提示を行う。

**正解：a**

正答率 30.2%, 代表的な誤答：c.

解説：MICA とは MHC class I chain-related protein A の略で、日本語では MHC クラス I 様分子 A として、

非古典的クラス I 分子に分類される。MICA をコードする遺伝子 *MICA* はクラス I 領域内の *HLA-B* 遺伝子近傍 (セントロメア側) に位置する。半数近くの人が選択した代表的な誤答である選択肢 c. については、MICA 分子はリガンドとして NKG2D レセプターに直接認識され、NK 細胞機能を活性化し、このリガンドレセプターの相互作用にマクロファージは関与していないので誤りである。

**問題 14.** ナイーブ T 細胞をエフェクター T 細胞に活性化する細胞としてもっとも適切なものを a～e から一つ選べ

- B 細胞
- トロホプラスト
- 樹状細胞
- ヘルパー T 細胞
- NK 細胞

**正解：c**

正答率 32.6%，代表的な誤答：d.

解説：樹状細胞やマクロファージは HLA クラス II 分子を発現しており、取り込んだ病原体由来ペプチドをナイーブ CD4 陽性 T 細胞へ抗原提示することができる。TCR と抗原との結合や、樹状細胞やマクロファージから分泌されるサイトカインの刺激により、ナイーブ CD4 陽性 T 細胞が活性化すると、エフェクター T 細胞へと分化する。その後エフェクター T 細胞がサイトカイン刺激を受けて Th1, Th2, Th17 などのヘルパー T 細胞に分化するので、代表的な誤答である選択肢 d. は誤りである。

**問題 16.** 免疫系によるがん細胞の排除に関する記述のうち、誤っている記述の組合せを a～e のうちから一つ選べ。

- 免疫系によるがん細胞の排除には、がん細胞の表面に発現する HLA 分子が重要である。
- がん患者の体内で、がん細胞の排除に関わる主要な免疫細胞は T 細胞である。
- がん細胞の排除には、NK 細胞や NKT 細胞は関与しない。
- がん組織に浸潤するエフェクター免疫細胞は、多くの場合、機能不全状態に陥っている。

5. ノーベル賞の対象となったがん免疫療法は、免疫抑制分子に結合して、この分子を活性化する抗体を利用したものである。

- 1, 2
- 2, 3
- 3, 4
- 3, 5
- 4, 5

**正解：d**

正答率 32.6%，代表的な誤答：c.

解説：本問題も 2021 年に出題の過去問題である。2022 年度認定 HLA 検査技術者講習会テキスト (MHC29:99) に掲載・詳述されているので参照のこと。

**問題 17.** マラリア感染免疫における HLA の関与について、もっとも適切な記述を a～e のうちから一つ選べ。

- HLA-B53 保有者はマラリア感染後の重症化リスクが低い。
- HLA-B53 保有者はマラリアの感染リスクが低い。
- マラリア原虫は赤血球に感染するため、HLA は感染防御に関与しない。
- HLA 拘束性を利用したペプチドワクチンが実用化されている。
- アフリカ大陸では、各地域におけるマラリア浸淫度と HLA-B53 頻度が逆相関の関係にある。

**正解：a**

正答率 31.4%，代表的な誤答：b.

解説：マラリア感染免疫機序への HLA の関与については古くから解析が行われている。HLA-B53 に結合する多様なペプチドが溶出され、そのアミノ酸配列が同定されて、HLA-B53 に結合するペプチドの特徴が解明されている。この情報をもとにして 1992 年に、熱帯熱マラリアに感染既往があるアフリカ人リンパ球を用いて、HLA-B53 により細胞傷害性 T リンパ球に抗原提示され、これを活性化するリバーステージ (ヒト肝臓期) 特異的マラリア原虫抗原 -1 (LSA-1) 由来のペプチドが同定されている。HLA-B53 保有者はマラリアの重症化リスクが低いことが 1991 年に報告されているが、感染そのもののリスクについては特定の HLA との相関は認められていないので、選択肢 b. は誤りである。

**問題 19.** 日本人集団において薬剤の副作用としての皮膚疾患のリスクに関連する HLA アレルのうち、誤っている記述を a～e のうちから一つ選べ。

- アロプリノール (高尿酸血症治療薬)

- *HLA-B\*58:01*
- b. カルバマゼピン (抗てんかん薬) --- *HLA-B\*52:01*
- c. 解熱鎮痛薬 (眼症状を伴う薬疹) --- *HLA-A\*02:06*
- d. サルファ剤 (抗菌薬) --- *HLA-A\*11:01*
- e. DPP-4 阻害薬 (糖尿病治療薬)
- *HLA-DQB1\*03:01*

**正解 : b**

正答率 31.4%, 代表的な誤答 : c.

解説 : 日本人集団では, カルバマゼピンによる重症薬疹は *HLA-B\*15:11* および *-A\*31:01* と関連することが知られている。代表的な誤答である選択肢 c. は, スティーヴンス・ジョンソン症候群 (Stevens-Johnson syndrome : SJS, 皮膚粘膜眼症候群) のことを指しているが, アセトアミノフェン, イブプロフェンなどの解熱鎮痛剤により引き起こされることが多く, *HLA-\*02:06* との関連が報告されており, この記述は正しい。

**問題 44.** *HLA* 座位の組換えに関して, もっとも適切な記述を a~e のうちから一つ選べ。

- a. *HLA-A* 座と *HLA-B* 座の間では組換えは起こらない。
- b. *HLA-DQB1* 座と *HLA-DPBI* 座の間の組換え率は 0.5 程度である。
- c. 家系調査によって *HLA* 遺伝子座間の組換え率を推定することはできない。
- d. 2つの *HLA* 遺伝子座間の組換え率が高いほど, 当該遺伝子座間で強い連鎖不平衡が観察される。
- e. *HLA* ハプロタイプ頻度から *HLA* 遺伝子座間の組換え率を求めることはできない。

**正解 : e**

正答率 26.7%, 代表的な誤答 : d.

解説 : 本問題も 2021 年に出题の過去問題を一部改変したものである。*HLA* ハプロタイプの形成, つまり特定の *HLA* アレルの組み合わせ (ハプロタイプ) が比較的多く存在する現象 (連鎖不平衡) には組み換え頻度が影響するが, それぞれのアレルの出現時期が異なるため, ハプロタイプ頻度は遺伝子座間の距離と関連しない。代表的な誤答である選択肢 d. は, 2つの *HLA* 遺伝子座間の組換え率が高ければ, 当該遺伝子座間での連鎖不平衡は解消される方向に向かうので弱くなる。強い連鎖不平衡が観察されるという記述は誤りである。

**問題 45.** 多因子疾患における SNP アレイを用いたゲノムワイド関連研究 (GWAS) に関する記述のうち, もっとも適切なものを a~e のうちから一つ選べ。

- a. 有意水準として,  $\alpha = 0.05$  が用いられる。
- b. GWAS により, 対象疾患のすべての遺伝因子を検出しよう。
- c. 先行研究に基づく候補遺伝子に存在するバリエーションを解析対象とする。
- d. GWAS で検出される疾患関連バリエーションの大部分はアミノ酸置換を伴わない。
- e. *HLA* 遺伝子翻訳領域のバリエーションは, すべて解析対象としてマイクロアレイに搭載されている。

**正解 : d**

正答率 14%, 代表的な誤答 : c.

解説 : GWAS で検出される多因子疾患疾患関連バリエーション (DNA 配列における違い) の大部分は非翻訳領域に位置し, 遺伝子発現に与える影響が想定される。SNP アレイ (一塩基配列多型に対応するプローブが数万~数百万個固相化されているチップ) を用いる GWAS は, 先行研究や候補遺伝子情報には基づかない広範囲のスクリーニングを目的としているので, 選択肢 c. は誤りである。

**問題 50.** 過去の国際組織適合性ワークショップのテーマ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. 第 1 回 (1964 年) では, 「Hu-1」, 「LA」, 「Four」, 「HTC」が定義された。
- b. 第 4 回 (1970 年) では, 7 種類の *HLA-A* 座の特異性が定義された。
- c. 第 6 回 (1975 年) では, *HLA-A, B, C* 以外に DR 抗原が定義された。
- d. 第 8 回 (1980 年) では, MB (DQ) MT (DR52 / 53) が定義された。
- e. 第 11 回 (1991 年) では, *HLA* クラス I 遺伝子タイピングが定義された。

**正解 : d**

正答率 2.3%, 代表的な誤答 : c.

解説 : 1980 年に米国で開催された第 8 回国際組織適合性ワークショップ (大会長:PI Terasaki) では, MB (のちに DQ と命名された) 座, MT (同: DR52/53) 座

が同定された。その他は誤りである。前述のテキスト (MHC28: 77-82) 表 2 を参照されたい。

#### 不適問題に関する解説

**問題 46.** 天性副腎過形成症候群について、もっとも適切な記述を a～e のうちから一つ選べ。

- a. 常染色体顕性遺伝 (優性遺伝) 形式をとる遺伝病である。
- b. CYP21A 遺伝子 (*CYP21A1P*) の変異による酵素欠損が原因である。
- c. CYP21B 遺伝子 (*CYP21A2*) は CYP21A 遺伝子 (*CYP21A1P*) と隣接して存在する。
- d. わが国では、新生児マススクリーニングの対象疾患である。
- e. ステロイド 11 $\beta$  合成酵素の欠損症である。

本問は選択肢の記載に不備があったため、不適問題として扱った。理由について解説する。

作問において正解選択肢として想定した d. では、新生児マススクリーニングの対象疾患であると記載しているが、先天性副腎過形成症候群のうち、21 水酸化酵素欠損症のみがマススクリーニングの対象となっているので、厳密に言えば正確な記載ではなかった。また、先天性副腎過形成症候群の 90% 以上がステロイド 21 水酸化酵素欠損症であるが、その他の原因として、17 $\alpha$  水酸化酵素欠損症や 11 $\beta$  水酸化酵素欠損症がある。選択肢 e. ではステロイド「11 $\beta$  合成酵素」としており、誤答として扱っても問題はないが、水酸化=ステロイド合成経路でもあるため、本選択肢を必ずしも誤答と断言できない可能性がある。以上の 2 点を以て問題 46 を不適切問題とすることとした。

## 令和6年度初心者講習会レポート

# 令和6年度初心者講習会レポート —全体の経過—

黒田ゆかり<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日日本赤十字社九州ブロック血液センター  
一般社団法人日本組織適合性学会 教育委員会初心者教育部会\*

### 1. 初心者講習会の目的・概要

日本組織適合性学会教育委員会に属する初心者教育部会では、例年、HLA検査での経験が浅い方や今後携わる予定の方々を対象に、最低限必要な基礎知識の習得と、日頃の疑問を解決し相談できる先輩や仲間との交流を持つことを目的とした「初心者講習会」を大会期間中に開催している。

初心者講習会は、2014年の長崎大会で「QCWS ミニ集会」として第1回目を開催し、翌年以降は「初心者講習会」と名称を変更して開催してきた。2020年に予定されていた京都大会では、コロナ禍により大会開催が延期された中、参加者が少人数であるという利点を活かして初心者講習会をオンラインで開催した。今でこそ現地に赴くことなく参加可能なオンラインによる参加形式は有用なツールとして多用されているが、当時はオンライン参加方法を別途案内したり事前に練習会を開催したりと手探りの状況であった。その後、2021年、2022年もコロナ禍によりオンライン開催としたが、2023年、第11回となる2024年は現地開催とした。

### 2. 今年度の企画

基礎講義とワークショップ（以下、WS）2企画を開催し、WS参加者は基礎講義受講を必須とした。講師及び担当企画は以下の通り。なお、詳細な内容はそれぞれ

のレポートを参照いただきたい。

基礎講義：杉本達哉

WS1：小山暁史、藤井明美、高山智美、石本倫子、杉本達哉、黒田ゆかり、木村彰方、椎名隆

みんなで考えるHLAタイピング検査 ～基礎から日頃の疑問まで～

WS2：石塚敏、前島理恵子、内田みゆき、栗田絵美、高陽淑、成瀬妙子

エピトープについて学ぼう？話し合おう？エピトープを知ろう！

### 3. 今年度の経過

2024年5月27日に学会ホームページで参加者募集を開始し、同時に学会員向けのメール配信を行った。参加申し込みは、Google formsを利用して行い、講義内容の参考となるように実務経験年数の他に質問したいことなどを具体的に記載できるようにした。7月31日の応募締め切りまでに、基礎講義のみ3名、WS1が17名、WS2が9名の計29名から事前申込があった。参加枠や応募者の経験年数から、応募者全員が希望通りの企画に参加可能と判断し、8月7日にメールにて応募者へ参加可能であると通知を行った。9月17日には、参加者に事前配布資料として、有用な文献やサイトを記載しているリンク集、HLA用語集（入門編）Ver.1.5、これまで

\* 一般社団法人日本組織適合性学会 教育委員会初心者教育部会

黒田ゆかり<sup>1)</sup>、藤井明美<sup>2)</sup>、石塚敏<sup>3)</sup>、内田みゆき<sup>4)</sup>、木村彰方<sup>5)</sup>、高陽淑<sup>6)</sup>、小山暁史<sup>7)</sup>、椎名隆<sup>8)</sup>、杉本達哉<sup>9)</sup>、高山智美<sup>10)</sup>、成瀬妙子<sup>11)</sup>、前島理恵子<sup>12)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社九州ブロック血液センター、<sup>2)</sup> 県立広島病院、<sup>3)</sup> 東京女子医科大学、<sup>4)</sup> 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所、<sup>5)</sup> 東京科学大学、<sup>6)</sup> 日本赤十字社近畿ブロック血液センター、<sup>7)</sup> 東海大学医学部附属八王子病院、<sup>8)</sup> 東海大学医学部医学科基礎医学系分子生命科学領域、<sup>9)</sup> 東海大学医学部附属病院、<sup>10)</sup> 大阪急性期・総合医療センター、<sup>11)</sup> 長崎大学熱帯医学研究所、<sup>12)</sup> 帝京大学医学部附属病院



の開催で質問があったものに回答を付けた Q & A 集、WS2 参加者用の事前課題を配信した。

9月26日開催当日の参加者数は、体調不良により参加できなかったWS2の1名を除く事前申込者28名の他、当日受付の19名を合わせた計47名であった。なお、当日受付の受講者は基礎講義のみを受講可能としている。受講後には、9月30日を締め切りとして Google forms でアンケートを実施した。

#### 4. 初心者教育部会における準備

初心者教育部会では、2024年3月から企画立案や担当講師の決定を行い、その後8月まで企画毎の担当者でメール協議を重ねて資料作成を行った。9月8日には講師全員による事前打ち合わせ及びリハーサルを実施した。その後、資料の修正を重ねて9月26日の開催を迎えた。

#### 5. HLA 用語集（入門編）の作成と更新

初心者教育部会用語分科会では、2019年より初心者講習会の開催と並行して「HLA 用語集（入門編）」の作成を行っている。初心者講習会に参加した後のアンケートにおいて、追加してほしい語句を収集し、年に一度、用語や略語を追加してバージョンアップしている。

今年度は、学会誌 MHC 第30巻2号に掲載した「HLA 用語集（入門編）Ver.1.4」([https://www.jstage.jst.go.jp/article/mhc/30/2/30\\_78/\\_article/-char/ja](https://www.jstage.jst.go.jp/article/mhc/30/2/30_78/_article/-char/ja)) に複数の語句を追加した。また、最初のページには語句一覧を作成し語句とリンクさせて Ver.1.5 とした。なお、今回の用語集更新担当は以下の通り。

用語集更新担当：高山智美，黒田ゆかり，木村彰方

#### 6. アンケート結果

アンケートは、参加者全員を対象に、開催当日の9月26日から9月30日までに Google forms で行い、匿名で回答を収集した。事前申込者28名中27名（回答率96.6%）と当日参加の19名中6名（回答率31.6%）の計33名から回答を得た。主な回答内容を次に示す。

##### 1) WS 参加者 24 名の実務経験年数と参加回数

実務経験年数1年未満の参加者が9名（36.0%）で最多、次いで1年以上2年未満が6名（25.0%）であった。初めての参加者は18名（75.0%）で最多、次いで2回

目の4名（16.7%）あった。

##### 2) 講義時間、講義内容、講師の説明

###### ①基礎講義（回答者33名）

講義時間は「ちょうどよい」が23名（69.7%）次いで「やや短い」が8名（24.2%）、講義内容は「良かった」が30名（90.9%）、講師の説明は「大変わかりやすかった」が27名（81.8%）であった。

###### ② WS1（回答者17名）

講義時間は「ちょうどよい」が11名（64.7%）次いで「やや短い」が4名（23.5%）、講義内容は「良かった」が17名（100%）、講師の説明は「大変わかりやすかった」が16名（94.1%）であった。

###### ③ WS2（回答者7名）

講義時間は「ちょうどよい」が4名（57.1%）次いで「やや短い」が2名（28.6%）、講義内容は「良かった」が7名（100%）、講師の説明は「大変わかりやすかった」が7名（100%）であった。

##### 3) 良かった資料（回答者27名、重複回答あり）

事前配布した資料では、HLA 用語集（入門編）が22名（81.5%）で最多、次いで Q & A 集14名（58.3%）、リンク集13名（54.2%）であった。また、WS2における事前課題はWS2に参加した回答者7名全員（100%）が良かった資料として挙げていた。

##### 4) 同じような講習会があった場合に他の人に勧めるか（回答者33名）

参加者33名全員が勧める（100%）と回答した。

##### 5) 希望する開催形態（回答者33名、重複回答あり）

ハイブリッド型が24名（72.7%）、次いで集會型18名（54.5%）であり、勤務状況により現地参加や Web 参加を使い分けたいと考える意見があった。

##### 6) 全体評価（回答者33名）

「大変良い」が26名（78.8%）、「良い」が7名（21.2%）で概ね好評であった。

#### 7. まとめ

初心者教育部会は、認定組織適合性指導者を中心とし、長年 HLA 業務に携わってきた経験者の中で QCWS 解析や学会発表などの経験を積んだ講師などで構成している。そのような講師も初心者時代には HLA 分野の難しさを目の当たりにして気落ちした経験を持っているからこそ、初心者に寄り添った講義が出来るように長い時間

をかけて準備している。

学生時代に学ぶHLA情報は極めて少なく、社会人となってHLA検査業務に配属された場合に、基礎知識がほとんど無い状態で携わらなければならないことや、HLA検査のほとんどが自動化されておらず複数の工程を技術者自身が行うものであり技術を要するということが、判定には試薬、解析ソフト、HLAに関する知識や判断力が求められること、報告には結果を解釈するための知識や応用力が必要であるということなどから、「HLAは難しい」という感覚に陥ることがままある。さ

らに、多くの施設において、HLA検査は少人数の担当者で実施されており、同一部署内にHLA検査の知識や技術を備えた指導者がいないことも多い。初心者教育委員会では、初心者講習会において、日常業務に必要な基本的な知識を得る機会とすること、同じ環境の方との交流の機会とすること、日頃の疑問を直接聞くことができる機会とすることなど、参加者の皆様が今後も安心して業務に向き合うことができる環境づくりの一助となれば幸いである。

## 令和6年度初心者講習会レポート

### —基礎講義—

杉本 達哉<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学医学部付属病院

#### 1. 基礎講義の概要

今回、組織適合性検査の経験が浅い方、もしくは今後携わる予定の方を対象とし、「ヒト組織適合性抗原 (HLA) について」と題して、関連する基礎知識の講義を実施した。講義では、難しい言葉を使わず、詰め込みすぎないことを心がけ、また演者も一緒に勉強するイメージで進めた。講義内容は、MHCとHLAの違い、クラスI分子とクラスII分子の特徴、抗HLA抗体による臨床への影響について説明した。HLAを学ぶ際、専門用語で戸惑うことがあるかもしれない。その場合、HLA用語集(入門編) Ver.1.4 (MHC(日本組織適合性学会誌) 30(2): 78-91, 2023.)は大変有益であるので、参考にさせていただきたい。

#### 2. MHCとHLAの基本概念

MHCとは、major histocompatibility complex(主要組織適合性遺伝子複合体)の略語で、組織適合性を決定する主要な遺伝子複合体である。MHCは当初、マウスの移植適合性を決定する分子として発見された。1952年にフランスのDaussetが頻回輸血患者血清中に白血球凝集試験で反応する抗体を見出し、これに対応する抗原をMac抗原(現在のHLA-A2抗原)と命名した。これは「ヒト白血球抗原: Human Leukocyte Antigen」の発見であり、その頭文字からHLAと呼ばれるようになった。MHCと表現されている場合は、脊椎動物以上の生物すべてに共通したことがらを表す場合に使用され、H2やHLAと記している場合は、マウスやヒトに限定した内容のことを表す。動物種によってはH2やHLAなどが命名されていないことがあり、その場合は「動物名」の後にMHCをつけて表すことが多い。(例: アカゲザル

MHC: Mamu-MHC アカゲザル (Macaca mulatta) の学名に由来)

#### 3. HLA分子の構造と機能

HLAは分子構造と機能からHLAクラスI分子とHLAクラスII分子に大別され、特殊な細胞を除き基本的にあらゆる細胞で存在する。それぞれの機能として、HLAクラスI分子は細胞性免疫に、HLAクラスII分子は細胞性免疫のみならず、抗体産生の液性免疫に関与する。自己と非自己の認識における重要な動きとして、自己HLA分子と消化された抗原ペプチドとが結合して細胞膜上に提示されることが挙げられる。HLAクラスI分子は3つの $\alpha$ 鎖と $\beta$ 2ミクログロブリンを保有し、細胞膜を1回貫通する構造を有している。HLAクラスIIは $\alpha$ 鎖2つと $\beta$ 鎖2つを保有し、細胞膜を2回貫通する構造を有している。現在、HLAタイピング検査はDNAタイピングが主流となっており、HLAクラスIの検査する遺伝子領域は、 $a1$ と $a2$ ドメインの多型性を示す領域のエキソン2及びエキソン3を解析対象としている。HLAクラスIIを検査する遺伝子領域では、 $a1$ ないし $\beta$ 1の多型性を示す領域のエキソン2を検査対象領域としている。HLA遺伝子領域は第6染色体短腕部6p21.3に位置し、親から子へメンデルの遺伝の法則に従い、ハプロタイプで受け継がれる。減数分裂の際に相同染色体上で遺伝子が交換されることがあり、これを組換え、また交差やcrossing overと呼ぶ。

#### 4. 抗HLA抗体と臨床的影響

抗HLA抗体は非溶血性輸血反応を惹起することが知られている。血小板輸血不応症 (platelet transfusion

refractoriness : PTR) や臍帯血移植時の生着不全に関与することが明らかになっている。また抗 HLA 抗体などが原因と推定されている輸血関連急性肺障害 (Transfusion-related acute lung injury : TRALI) は非溶血性輸血反応の中でも重篤な副作用の一つである。

## 5. HLA 関連検査の重要性

HLA 関連検査には様々な方法が存在し、各種検査の特性を把握することが大切である。また、検査結果の解釈には専門知識を要する。HLA タイピング検査では、

ハプロタイプや HLA 頻度を考慮して検査を実施する必要がある。抗 HLA 抗体は様々な臨床への影響があるため、適切な検査が求められる。

## 6. まとめ

HLA 分子の構造、発現や遺伝の基礎を知ること、関連検査や臨床応用に役立つことがある。組織適合性検査を学ぶためには、基礎知識が極めて重要となり、その土台作りが大切である。本講義が、組織適合性検査に携わる方への支援となれば幸いである。

令和6年度初心者講習会レポート  
—ワークショップ1 (HLA タイピング検査)—  
「みんなで考える HLA タイピング検査 ～基礎から日頃の疑問まで～」

小山 暁史<sup>1)</sup>・藤井 明美<sup>2)</sup>・高山 智美<sup>3)</sup>・石本 倫子<sup>4)</sup>・杉本 達哉<sup>5)</sup>・  
黒田ゆかり<sup>6)</sup>・木村 彰方<sup>7)</sup>・椎名 隆<sup>8)</sup>

講師

<sup>1)</sup> 東海大学医学部附属八王子病院

<sup>2)</sup> 県立広島病院

<sup>3)</sup> 大阪急性期・総合医療センター

<sup>4)</sup> 高知県・高知市病院企業団立高知医療センター

<sup>5)</sup> 東海大学医学部附属病院

アドバイザー

<sup>6)</sup> 日本赤十字社九州ブロック血液センター

<sup>7)</sup> 東京科学大学

<sup>8)</sup> 東海大学医学部医学科基礎医学系分子生命科学領域

## 1. ワークショップ1の概要

初心者講習会ワークショップでは参加資格を原則、組織適合性検査の業務歴4年未満の方を対象としている。また、HLA タイピング検査未経験であるが、今後従事する予定の方も参加している。近年、HLA タイピング検査はDNA タイピングが主流となっているが方法は多岐にわたる。このような背景からワークショップ1では国内で多くの施設で導入されているPCR-SSO法とPCR-SSP法を中心として取り扱うことにした。企画の目標としては、参加者が日常業務ですぐに応用できる知識と経験をわかりやすく伝えることとした。

## 2. 今年度の企画内容と詳細

ワークショップ1では各検査方法の基礎原理から操作方法の注意点まで細かなポイントを含めた講義とした。HLA タイピング検査では測定結果の妥当性を評価することも重要であり、HLAの遺伝様式など検査精度向上に必要な知識の講義も含めた。今回のワークショップは

ひさびさの対面形式で開催され、対面のメリットを活かしたディスカッション形式 (Case Study) の講義を取り入れる形式とした。

実際の講義内容と担当者は次の通りである。

1) PCR-SSP法の概説：藤井先生

2) Luminex<sup>®</sup>を使用したHLAタイピング(PCR-rSSO法)測定の原理と方法：小山先生

3) HLAタイピングの基礎 (HLA分子の構造、遺伝子様式、頻度など)：高山先生

4) Case Study (1症例)：講師全員

### 1) PCR-SSP法の概説について

PCR-SSP法では検査方法の特徴や他法との相違点、各工程での注意点を詳細に説明した。SSP法では1ヶ所のバンドの判定差異が結果に影響を及ぼす点に言及し、バンドを判定する際の注意点や連鎖不平衡の重要性を解説した。

2) Luminex<sup>®</sup>を使用したHLAタイピング(PCR-rSSO法)測定の原理と方法について

PCR-SSO法では多くの施設で導入しているLuminex<sup>®</sup>を用いた蛍光ビーズ法について説明を行なった。SSO法ではHLAアレルの多型性を示す塩基配列にプライマーが設定されているが、その設定箇所は試薬によって異なる。またDNA抽出、PCR、ハイブリダイゼーションの各工程にも重要なポイントがあり、各工程の品質が、検査精度に影響を及ぼすこと解説した。

### 3) HLAタイピングの基礎(HLA分子の構造、遺伝子様式、頻度など)について

本講演では、各検査方法から得られる測定結果に対して妥当性評価に必要な知識を説明した。具体的にはハプロタイプやHLA頻度を活用することで、測定結果の精度を向上させることが可能であり、複数の事例を用いて妥当性評価のポイントや考え方を解説した。

### 4) Case Studyについて

近年、骨髄バンクではNGS法でHLAタイピングを実施している。NGS法では解析対象となる遺伝子領域がSSO法やSSP法と比べると飛躍的に多い。HLAアレルの多型はエキソン2, 3などに多く存在するが、イントロンや他のエキソンにも存在する。このため、同じ

検査対象でも方法の解像度の違いにより結果が異なることがある。

Case StudyではNGS法とSSO法で判定結果が異なった事例を紹介し、異なった理由や臨床に報告する際のポイントをディスカッション形式で進め解説した。

## 3. 今年度の所感

HLA検査は実施している施設や情報を得る機会も少なく、不安に感じる方が多いのではないかと考えていました。HLA検査の技術は日々進歩を遂げていますが、その解釈にはHLA基礎知識の理解が必須となります。そのような中で初心者講習会の存在意義はとても重要であり、今後もその必要性は高まると感じています。

今回ワークショップ1の取りまとめ役として参加しましたが、アンケート結果から当初の目標を概ね達成できたことに安堵しています。

最後になりますが、今回限られた時間の中でつつがなく講演を終えたことに、各講演を担当された先生およびアドバイザーの先生方には感謝申し上げます。

## 令和6年度初心者講習会レポート —ワークショップ2（抗体検査）— 「エピトープについて学ぼう？話し合おう？エピトープを知ろう！」

石塚 敏<sup>1)</sup>・内田みゆき<sup>2)</sup>・前島理恵子<sup>3)</sup>・栗田 絵美<sup>4)</sup>・高 陽淑<sup>5)</sup>・成瀬 妙子<sup>6)</sup>

講師

<sup>1)</sup> 東京女子医科大学

<sup>2)</sup> 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

<sup>3)</sup> 帝京大学医学部附属病院

<sup>4)</sup> 広島大学病院

アドバイザー

<sup>5)</sup> 日本赤十字社近畿ブロック血液センター

<sup>6)</sup> 長崎大学熱帯医学研究所

### 1. 講義内容

#### 1) 組織適合性抗原（HLA）について

HLA の概要説明、特に、HLA Class I について遺伝情報がコードされている部分（エキソン）の遺伝子構造と機能的に独立した部分（ドメイン）からなるタンパク分子構造との関係について説明し、更に、A\*01:01 をモデルとしてシグナルペプチドからのアミノ酸配列によるドメイン構造とエプレットの表記法について説明した。

#### 2) 交差反応性グループ（CREG）とエピトープについて

CREG とは、リンパ球と既知の HLA 抗血清を使用したリンパ球細胞毒性試験（LCT）により、実際の反応性から HLA の類似性をまとめた古典的な交差反応性グループを表す。また、近年新たに考案された HLA に類似した合成抗原ビーズと既知の HLA 抗血清を使用し蛍光ビーズ法により、反応したビーズの第二区域の遺伝子型から共通エプレットを推定解析する手順、更に、吸着解離試験を用いて実際の反応性から免疫原となる抗体（抗血清に含まれている抗体）を推定する方法を説明した。特に、エプレットとは、抗原が抗体と結合する中心的な部位（機能的エピトープ）を表し、構造的エピト

プとは、抗体との結合親和性を調節するため推定されたエプレット以外のアミノ酸も含んだエピトープを表す。更に、抗体が抗原と結合する部位をパラトープと表現し、抗原・抗体反応の最小単位がエプレット・パラトープであることを説明した。

#### 3) 抗 HLA 抗体検査について

輸血・造血・臓器移植についてそれぞれ抗 HLA 抗体検査の目的を説明し、特に、検査法の主流である蛍光ビーズ法の種類と特徴、そして、前処理のポイントなどを説明した。また、症例を提示して、特に Bw4 など抗 HLA 抗体検査結果の反応性から遺伝子座を共通するエピトープの推定、更に免疫原となる抗体の推定方法まで説明した。

#### 4) クロスマッチについて

レシピエント血清とドナーリンパ球を使用するクロスマッチの種類と前処理のポイントなどを説明した。また、臓器移植をモデルとした症例を提示し、レシピエントとドナーのミスマッチ HLA 遺伝子型と臓器移植後に産生された抗 HLA 抗体（ドナー特異的 HLA 抗体）を検索する仮想クロスマッチ（バーチャルクロスマッチ）についても説明した。更に、レシピエントとドナーの HLA

遺伝子型の第二区域からエピトープマッチングによるエプレット推定解析、レシピエント血清とHLAに類似した合成抗原ピーズを使用する蛍光ピーズ法により反応したピーズからエピトープを推定するツールとしてHLA Fusion Matchmaker アルゴリズムの使用方法についても説明した。

#### 5) グループディスカッションについて

今年度は、SNSを利用したエプレットの解析ソフトによる体験型グループディスカッションをワークショップとして初めて試みた。

ワークショップで使用する資料と参考となる解析ツールを事前に配布した。そして、当日は、学会PCにて説明を行い、ご自身の持参したPCで実際にエプレット解析を体験して頂いた。

## 2. 所感

今年度は、ワークショップ2（抗体検査）のリーダーとして参加させて頂きました。

ワークショップでは、限られた時間の中で参加された皆様がすべてをその場でご理解して頂くことは難しかったかもしれません。それでも、ワークショップに参加され少しでも得られた学問的・技術的な知識を自施設に持ち帰り、臨床応用して頂ければ初心者講習会の開催の意義があったと考えます。

今年度まで初心者講習会の講師として参加させて頂き、私自身にとって大変貴重な経験をさせて頂きました。

今後、皆様の益々のご活躍をお祈り申し上げます。



## 2024 年度 認定 HLA 検査技術者登録名簿 (敬称略)

認定番号	氏名	認定番号	氏名	認定番号	氏名
G24002	小林 美佳	G24003	大澤 眞輝	G24004	中嶋 萌夏
G24005	清川 知子	G24006	吉川 千尋	G24007	今西 唯
G24008	田中 文	G24009	佐瀬 千佳	G24010	見山 晋一
G24011	西山 陽香	G24013	市樂 佳代	G24014	細羽 恵美子
G24015	酒井 奨希朗	G24016	下北 希美		

## 2024 年度 認定 HLA 検査技術者更新登録名簿 (敬称略)

認定番号	氏名	認定番号	氏名	認定番号	氏名
G04001	古澤 美由紀	G08009	兵藤 理	G09003	太田 浩敏
G14001	石本 倫子	G14003	戸口 洋一	G19002	佐藤 美紗季
G19003	秋山 友里	G19004	吉丸 希歩	G19005	村井 良精
G19006	齋藤 和正	G19007	亀井 美沙	G19009	大塚 浩平
G19011	高橋 大輔	G19012	鎌田 裕美	G19013	東 史啓
G19015	大槻 郁子	G19020	小嶋 俊介	G19021	池田 亮

## 2024 年度 認定組織適合性指導者更新登録名簿 (敬称略)

認定番号	氏名	認定番号	氏名
S14001	高 陽淑	S19001	盛 和行

## 2024 年度 認定組織適合性検査施設更新登録名簿 (敬称略)

認定番号	施設名
T-1901	株式会社ビー・エム・エル BML 総合研究所

## 【投稿・執筆規定】(2022年11月29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、編集広報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、文部科学省等が定める関連倫理指針（「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」、「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、本学会が指定する様式を用いて、利益相反事項について開示しなければならない。下記、「6. 利益相反事項の開示」参照のこと。

**審査** : 投稿論文掲載の採否は編集広報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、特殊な加工を必要とする図等を掲載する場合に

は、著者の実費負担とする(特殊加工を希望の場合には、投稿原稿にその旨を明記すること)。

**別刷**：別刷は作成しない。

※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、編集広報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 Email 添付で、投稿レターを添えて広報編集委員会委員長に送付する(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 Takao<sup>1)</sup>, Akira Tsujimura<sup>1)</sup>, Masaharu Sada<sup>2)</sup>, Reiko Goto<sup>2)</sup>, Minoru Koga<sup>3)</sup>, Yasushi Miyagawa<sup>1)</sup>, Kiyomi Matsumiya<sup>1)</sup>, Kazuhiko Yamada<sup>2)</sup>, Shiro Takahara<sup>1)</sup>

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

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

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

心移植における FlowPRA 法を用いた HLA 抗体検出の意義

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

1) 国立循環器病センター臨床検査部

2) 国立循環器病センター再生医療部

3) 国立循環器病センター臓器移植部

### 3. 本文-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、編集広報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,  $\mu$ l, %, °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-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,  $\mu$ l, %, °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-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 (<https://jshi.smoozy.atlas.jp/ja/coi>) 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 (2022. 3. 20 制定))」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とし, 原稿とともに編集広報委員会委員長に送付すること (送付先は投稿・執筆規定の末尾を参照)。

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-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 Email 添付で投稿レターを

添えて編集広報委員会委員長に送付する（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

日本組織適合性学会 編集広報委員会  
委員長 黒田 ゆかり

E-mail: [mhc.edit.office@soubun.org](mailto:mhc.edit.office@soubun.org)

## **Instructions to Authors** (updated on November 29, 2022)

### **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 18<sup>th</sup> 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 (<https://jshi.smoosy.atlas.jp/ja/coi>). 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 special processing (please specify at submission if special processing is required).

Reprints: Reprints are not prepared, but pdf files could be obtained via the J-Stage platform (<https://www.jstage.jst.go.jp/>).

### **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 at the editorial office. If the authors would like to submit large size files (over 100 MB), 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 Takao<sup>1)</sup>, Akira Tsujimura<sup>1)</sup>, Masaharu Sada<sup>2)</sup>, Reiko Goto<sup>2)</sup>, Minoru Koga<sup>3)</sup>, Yasushi Miyagawa<sup>1)</sup>, Kiyomi Matsumiya<sup>1)</sup>, Kazuhiko Yamada<sup>2)</sup>, Shiro Takahara<sup>1)</sup>

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

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

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

### 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: Yukari Kuroda

Editorial office:

E-mail: [mhc.edit.office@soubun.org](mailto:mhc.edit.office@soubun.org)

## 編集後記

今年最後の「MHC」のお届けとなりました。

振り返ると、2024年は石川で最大震度7を観測した能登半島地震、羽田空港での日航機と海上保安庁の航空機の衝突炎上事故から始まりました。その後は、20年ぶりの新紙幣発行、日経平均株価がバブル期の史上最高値を更新、パリ・オリンピック/パラリンピック開催、能登豪雨、記録的猛暑、ドジャース大谷翔平選手の54本塁打&59盗塁、新内閣発足などの大きな出来事がありました。記憶に新しい出来事もありますが、改めて振り返ることで思い出されるものもあります。慌ただしい「師走」ではありますが、少しだけこの一年を振り返る時間をとってみたいかがでしょうか。

日本組織適合性学会においては9月から村田誠理事長が率いる新体制となりました。また、当学会では初めて行われた選挙により選出された評議員、理事及び監事で組織が構成され、各委員会も新体制となりました。新体制のもと、編集広報委員会では、皆様により多くの情報をお届けしたいと考えております。情報発信源となる会員の皆様からの原著論文や総説の投稿をお待ちしております。

さて、本号は総説の他、学会活動報告としての初心者講習会レポート及び認定制度試験問題・難問解説、認定制度資格新規取得者及び更新者名簿を掲載しました。認定制度試験問題については、模擬試験の受験が認定資格更新の要件となりました。認定有資格者は、知識の維持や新しい情報を得ることなどがが必要です。本号の解説などを参考にいただければ幸いです。

寒い日が続きますが、どうかお健やかに過ごしてください。

黒田ゆかり

## 学会事務局からのお知らせ

入退会手続等の会員管理、登録情報の変更および会費納入については、会員管理システム（SMOOSY）を用いて行っております。

その他の学会運営事項については、ホームページにQ&Aページを設けていますので、ご参照ください。

<https://jshi.moosy.atlas.jp/ja/FAQ2022>

事務所：

一般社団法人 日本組織適合性学会

〒601-8323 京都市南区吉祥院春日町 21-11