

# 日本組織適合性学会誌

第 31 卷第 1 号 2024 年 4 月 20 日発行

## 目 次

### 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート

—全体経過及び QCWS 試料の総合結果—	高 陽淑	1
—試料説明 DNA-QC—	内田みゆき	4
—試料説明 抗体 QC—	内田みゆき	5
—総合解析 DNA-QC—	小林 洋紀	6
—検査法別解析 DNA タイピング SSP 法—	石本 倫子	7
—検査法別解析 DNA タイピング SSO (LABType) 法—	竹ノ内博之	8
—検査法別解析 DNA タイピング SSO (WAKFlow, Genosearch) 法—	下北 希美	9
—検査法別解析 DNA タイピング SBT (Sanger, NGS) 法—	木野 佑亮	10
—総合解析 抗体 QC—	高橋 大輔	11
—検査法別解析 抗体検査 FCM (FlowPRA) 法—	亀井 美沙	12
—検査法別解析 抗体検査 ルミネックス (WAKFlow) 法—	栗田 絵美	13
—検査法別解析 抗体検査 ルミネックス (LABScreen) 法—	伊藤 誠	14
—検査法別解析 その他検査法及びクロスマッチ—	中野 学	15
—日本移植学会連携 全血クロスマッチ—	金本 人美	16

日本組織適合性学会 推定アレル一覧表 (2024 年度版) について	17
------------------------------------	----

### 総説

抗原提示補助シグナル分子の遺伝的バリエーションに起因する自己免疫疾患の発症機序	人見 祐基	20
イヌ MHC 遺伝子群の多型性と犬種内および犬種間における DLA ハプロタイプの特異性	宮前 二郎, 岡野 雅春, 片倉 文彦, 森友 忠昭, 椎名 隆	29

日本組織適合性学会誌 MHC 投稿・執筆規定	41
------------------------	----

Instructions to Authors	47
-------------------------	----

編集後記	51
------	----

## 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート

# 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート —全体経過及び QCWS 試料の総合結果—

高 陽淑<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>日本赤十字社 近畿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精度管理委員会<sup>#</sup>

### 1. ワークショップの経過

第 27 回 QC ワークショップの参加施設 (表 1) 数は、昨年より 1 施設少ない 84 施設で、参加の内訳は、DNA-QC に 75 施設、抗体-QC に 66 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 43 施設であった (重複参加含む)。4 月 10 日にサンプルを配付、データ提出期限を 5 月 31 日として、その後解析を行い、9 月 18 日に参集およびオンラインのハイブリッド形式による QCWS を開催した。

終了後に収集したアンケート回答は昨年と同程度の 180 件にのぼり、複数の意見や要望を頂くことができた。今後の参考としたい。

### 2. 今回の QCWS のテーマと試料選定について

DNA-QC のテーマは① DNA 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、③ DNA 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 点であり、抗体-QC 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反応性からの確に抗体特異性解析を行い、総合判定結果を

正しく報告できること、③ CREG やエピトープなどの知識を基に正確な抗体特異性解析ができること、の 3 点である。これらのテーマに基づき選定されたサンプルのうち、DNA および抗体部門から仮想クロスマッチ対象を、抗体部門からは移植学会連携全血クロスマッチ対象のサンプルを、厳選している。

### 3. 解析報告と担当者

解析報告と担当者については、この後に続く内容で把握されたい。

### 4. QCWS 試料の総合結果について

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ており、表記については、本学会の精度管理委員会作成『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)』に従った。

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。

<sup>#</sup> 一般社団法人日本組織適合性学会 精度管理委員会

高 陽淑<sup>1)</sup>、石塚 敏<sup>2)</sup>、高橋大輔<sup>3)</sup>、石本倫子<sup>4)</sup>、内田みゆき<sup>3)</sup>、大橋 順<sup>5)</sup>、金本人美<sup>6)</sup>、木村彰力<sup>7)</sup>、黒田ゆかり<sup>8)</sup>、清水まり恵<sup>3)</sup>、田中秀則<sup>9)</sup>、西川晃平<sup>10)</sup>、前島理恵子<sup>11)</sup>、村田 誠<sup>12)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社近畿ブロック血液センター、<sup>2)</sup> 東京女子医科大学、<sup>3)</sup> 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所、<sup>4)</sup> 高知医療センター、<sup>5)</sup> 東京大学、<sup>6)</sup> 日本赤十字社福岡赤十字病院、<sup>7)</sup> 東京医科歯科大学、<sup>8)</sup> 日本赤十字社九州ブロック血液センター、<sup>9)</sup> 公益財団法人 HLA 研究所、<sup>10)</sup> 三重大学、<sup>11)</sup> 帝京大学医学部附属病院、<sup>12)</sup> 滋賀医科大学

表 1 第 27 回 HLA-QCWS 参加施設

1 県立広島病院	臨床研究検査科	41 宇和島徳洲会病院	検査科
2 公財) 鷹揚腎研究所	HLA検査部	42 シェンダイブファーマ株式会社	HLA検査課
3 大阪公立大学医学部附属病院	輸血部	43 株式会社 医学生物学研究所	伊那研究所第二生産棟 品質管理室
4 九州大学病院	遺伝子・細胞療法部	44 徳島大学病院	輸血・細胞治療部
5 山形大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部	45 信州大学医学部附属病院	輸血部
6 東京女子医科大学	中央検査部 移植関連検査室	46 長崎大学病院	細胞療法部
7 東京医科大学八王子医療センター	中央検査部	47 近畿ブロック血液センター	検査三課
8 株式会社ベリタス	バイオサイエンス本部 技術グループ	48 亀田総合病院	臨床検査部
9 熊本大学病院	輸血・細胞治療部	49 北里大学病院	輸血部
10 獨協医科大学病院	臨床検査センター 遺伝子・HLA検査室	50 株式会社リプロセル	メディカル部
11 大阪大学医学部附属病院	輸血部	51 香川県立中央病院	中央検査部
12 国立病院機構 岡山医療センター	臨床検査科 輸血管理室	52 日本赤十字社東北ブロック血液センター	品質部検査一課
13 JCHO中京病院	検査部	53 公益財団法人HLA研究所	技術部検査課
14 米子医療センター	臨床検査科	54 熊本赤十字病院	検査部
15 帝京大学医学部附属病院	輸血・細胞治療センター	55 旭川医科大学病院	臨床検査・輸血部 輸血・細胞療法部門
16 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	56 宮崎県立宮崎病院	輸血管理室
17 東海大学医学部付属病院	臨床検査技術科 輸血室	57 伊勢赤十字病院	医療技術部 臨床検査課 輸血検査室
18 東邦大学医療センター大森病院	輸血部	58 都立駒込病院	輸血・細胞治療科
19 三重大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部	59 弘前大学医学部附属病院	泌尿器科
20 千葉大学医学部附属病院	輸血・細胞療法部	60 富山大学附属病院	検査・輸血細胞治療部
21 金沢医科大学病院	北陸腎移植HLA検査センター	61 中四国ブロック血液センター	検査一課
22 北海道大学病院	検査・輸血部	62 株式会社エスアールエル	遺伝子病理部 遺伝子解析課 DNA解析係 HLA
23 鹿児島大学病院	輸血・細胞治療部	63 岩手医科大学附属病院	中央臨床検査部 輸血検査室
24 福岡赤十字病院	移植センター	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
25 東京医科歯科大学病院	輸血・細胞治療センター	65 宮崎大学医学部附属病院	輸血・細胞治療部
26 岡山大学病院	輸血部	66 静岡県立総合病院	検査部 血液管理室
27 佐賀大学医学部附属病院	検査部	67 松江赤十字病院	輸血管理室
28 福島県立医科大学附属病院	輸血・移植免疫部	68 関西医科大学附属病院	輸血・細胞療法部
29 東京大学医学部附属病院	輸血部	69 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
30 株式会社 ビー・エム・エル	総研第三検査部 ゲノム検査課	70 京都大学医学部附属病院	検査部輸血部門
31 日本赤十字社 東海北陸ブロック血液センター	検査三課	71 大阪急性期・総合医療センター	移植支援検査センター
32 日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所	研究開発部 白血球担当	72 湧永製薬株式会社	試薬診断事業部
33 広島大学病院	輸血部	73 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
34 札幌北楡病院	臨床検査技術科	74 愛媛県立衛生環境研究所	衛生研究課 疫学情報科
35 日本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	75 琉球大学病院	検査・輸血部 輸血検査室
36 高知医療センター	2F検体検査室	76 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
37 大分県立病院	輸血部	77 市立札幌病院	検査部検体検査課輸血検査係
38 自治医科大学附属病院	輸血・細胞移植部	78 日本赤十字社北海道ブロック血液センター	品質部検査一課二係
39 札幌医科大学附属病院	検査部	79 京都府立医科大学附属病院	輸血・細胞医療部
40 藤田医科大学病院	輸血部	80 JCHO仙台病院	統括診療部臨床検査科診療部
		81 沖縄県立中部病院	検査科 (輸血)

表 2 第 27 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	
<b>Q27D1</b>	A*02:03:01	A*24:02:01	B*38:02:01	B*54:01:01	C*01:02:01	C*07:02:01
	<b>A203</b>	<b>A24</b>	<b>B38</b>	<b>B54</b>	<b>Cw1</b>	<b>Cw7</b>
<b>Q27D2</b>	A*24:02:01	A*26:01:01	B*15:27:01	B*46:01:01	C*01:02:01	C*04:01:01
	<b>A24</b>	<b>A26</b>	<b>B62</b>	<b>B46</b>	<b>Cw1</b>	<b>Cw4</b>
<b>Q27D3</b>	A*11:01:01	A*24:02:01	B07:02:01	B*67:01:01	C*07:02:01 <sup>#</sup>	C*07:02:01 <sup>##</sup>
	<b>A11</b>	<b>A24</b>	<b>B7</b>	<b>B67</b>	<b>Cw7</b>	<b>Cw7</b>
<b>Q27D4</b>	A*24:02:01	A*26:03:01	B*35:01:01	B*52:01:01	C*03:03:01	C*12:02:02
	<b>A24</b>	<b>A26</b>	<b>B35</b>	<b>B52</b>	<b>Cw9</b>	<b>Cw12*</b>

HLA-Class II	HLA-DR		HLA-DQ		HLA-DP	
<b>Q27D1</b>	DRB1*04:03:01	DRB1*08:03:02	DQA1*01:03:01	DQA1*03:01:01	DPA1*02:01:01	DPA1*02:07:01
	DRB4*01:03:01	-	DQB1*03:02:01	DQB1*06:01:01	DPB1*13:01:01	DPB1*19:01:01
	<b>DR4</b>	<b>DR8</b>				
	<b>DR53</b>	-	<b>DQ8</b>	<b>DQ6</b>	<b>DPw13*</b>	<b>DPw19*</b>
<b>Q27D2</b>	DRB1*08:03:02	DRB1*09:01:02	DQA1*01:03:01	DQA1*03:02:01	DPA1*02:01:01	DPA1*02:02:02
	DRB4*01:03:01	-	DQB1*03:03:02	DQB1*06:01:01	DPB1*05:01:01	DPB1*14:01:01
	<b>DR8</b>	<b>DR9</b>				
	<b>DR53</b>	-	<b>DQ9</b>	<b>DQ6</b>	<b>DPw5</b>	<b>DPw14*</b>
<b>Q27D3</b>	DRB1*01:01:01	DRB1*16:02:01	DQA1*01:01:01	DQA1*01:02:02	DPA1*01:03:01	-
	DRB5*02:02:01	-	DQB1*05:01:01	DQB1*05:02:01	DPB1*02:02:01	DPB1*04:02:01
	<b>DR1</b>	<b>DR16</b>				
	<b>DR51</b>	-	<b>DQ5</b>	<b>DQ5</b>	<b>DPw2</b>	<b>DPw4</b>
<b>Q27D4</b>	DRB1*15:01:01	DRB1*15:02:01	DQA1*01:02:01	DQA1*01:03:01	DPA1*02:01:01	DPA1*02:02:02
	DRB5*01:01:01	DRB5*01:02:01	DQB1*06:01:01	DQB1*06:02:01	DPB1*02:01:02	DPB1*09:01:01
	<b>DR15</b>	<b>DR15</b>				
	<b>DR51</b>	<b>DR51</b>	<b>DQ6</b>	<b>DQ6</b>	<b>DPw2</b>	<b>DPw9*</b>

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  
#C\*07:02:01:01 or C\*07:02:01:107  
##C\*07:02:01:03  
UTR3-894(C/T),UTR3-911(A/G)





## 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート — 試料説明 DNA-QC —

内田みゆき<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社血液事業本部研究開発部

### 1. 使用する試料について

DNA-QC の試料として、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使用している。その中から HLA-A, -B, -C, -DRB1 の HLA タイプと QCWS 集会でのアンケート調査結果を参考に 4 種類の試料を選定した。

### 2. 第 27 回 DNA-QC 細胞選定のポイント

今回の選定のポイントは次の通りである。日常遭遇する可能性があるレベルの低頻度アレルを選択し、稀なタイプを判定できることを課題とした。また、遺伝子型の第 1 区域と HLA 型が異なるタイプを有するものを選

択し、アソシエート抗原を含む HLA 型の知識を課題とした。Q27D3 の A\*11:01-C\*07:02-B\*67:01-DRB1\*16:02 は日本人集団で典型的なハプロタイプであるが、A\*11:01-C\*07:02N-B\*67:01-DRB1\*16:02 の可能性もあり得ることを認識し、検査法によっては C\*07:02 と C\*07:02N のアンビギュイティとなることを考慮して正しく表記できるかを課題とした。

### 3. 配布試料について

濃度非公開の DNA 試料 4 検体に SSO 法用に陰性コントロール (DNase free Water) 1 検体を加え 5 検体を配布試料とした。

# 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート — 試料説明 抗体 QC —

内田みゆき<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社血液事業本部研究開発部

### 1. 使用する試料について

抗体-QC の試料として、日本組織適合性学会から日本赤十字社への譲渡依頼に基づいて保管している抗血清を対象として、目的に応じた 4 種類を選択した。従来からの要件として、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などがあげられる。その中から、過去の QCWS で使用履歴があるサンプルも含め、抗血清の特異性を考慮して選定を行った。

### 2. 第 27 回 抗体-QC 抗血清選定のポイント

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を主眼とし、従来通り 4 サンプルを選定した。いずれも明確な特異性を示すものであり選定時には、Q27S1, S2, S3 は HLA class I & II ともに陽性、S4 は HLA class I のみ陽性 (HLA class II 極めて弱い反応あり) であった。

抗体スクリーニングに加え、S1 と S2 は特異性解析の対象とした。仮想クロスマッチは、DNA-QC (Q27D4) と抗体 QC (Q27S1) をサンプルとして選定し、ドナーのタイピング結果 (アレルレベル) と同定試薬におけるドナーアレルピーズの反応と考慮すべきアレルピ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。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 液添加のヒト血液中の T 細胞, B 細胞と反応し得る抗体 QC (Q27S2) をサンプルとして選定した。

### 3. 配布試料について

試料は、トロンビン処理後、窒化ソーダ (10%), フェノール・レッド (1%) を加え、静置 (4°C /Over night) し、竹串でフィブリン塊を除去したのち、遠心 (2,000g/20min) とフィルター (ミリポア :Millex-GV SLGV 033 RS PVDF 0.22μm) により清浄化後、分注し各施設に配布した。

# 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート —総合解析 DNA-QC—

小林 洋紀<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

### 1. 概要

DNA-QC の参加施設数は 75 施設であった。部門別では臓器部門が 55 施設、輸血部門は 37 施設、造血部門は 38 施設、その他が 10 施設（重複有）の参加であった。方法別では SSO 法が 67 施設、SSP 法は 18 施設、SBT 法は 7 施設（重複有）であった。

なお SSP 法を使用している施設の多くは臓器部門であった。評価対象遺伝子は、例年同様 HLA-A、-B、-C、-DRB1 とし、その他の HLA-DRB3、4、5、-DQA1、-DQB1、-DPA1、-DPB1 は評価対象外とした。

### 2. 総合評価結果

評価基準で定義されている評定は、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 = 評定 A、60 点以上 100 点未満 = 評定 B、60 点未満 = 評定 C の三段階で総合評価を行うことが定められている。今回、評価点の平均は 99.4 点であったが、判定 A の施設は昨年度の 68.9% に対し 58.7% と低下していた。低下した要因は、判定結果の評価で 60 点未満が 8 施設と昨年より増加していたことと、結果表記の評価で「N」を含めた ambiguity の表記ミスが多くの施設に見られたためである。DNA-QC のテーマである「正確な DNA タイピング」を達成するためには、検査技術・精度の向上はもちろんだが表記法の理解など総合的に妥当性が高い判定結果が求められる。

### 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 2 施設であり今回 C 評価の施設はなかった。非常に良い結果であり、試薬の特性を理解し検査技術が向上している傾向が見受けられた。

### 4. まとめ

これまで、SSO 法での陰性コントロール測定の実施など 5 項目を課題としているが、今回クリアされた課題はなく、今後も引き続きの課題であることが判明した（詳細は方法別解析を参照）。また、今回は近年の知見（C\*07:02/02N についての情報）を学習することを目的としたサンプルが選択されていたが、情報の浸透にはまだ時間が必要と思われた。学会 HP で案内されている 2021 年 4 月 1 日改訂 2 版を再度確認いただきたい。表記ミスや反応不良は年々減少している傾向ではあるが、まだまだ向上できる可能性は十分ある。表記方法の理解や検査方法・反応を熟知することが正しい判定結果を導き出すために必要であることを参加者のみなさんが意識され、この QCWS の解析報告を有益に活用されることを期待したい。

# 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 DNA タイピング SSP 法—

石本 倫子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 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

昨年と同様の 18 施設を対象にデータ解析を行った。このうち 17 施設は臓器移植部門のある施設であった。全施設で MicroSSP (One Lambda 社) が使用されており、MicroSSP JPN の使用が 15 施設、次いで MicroSSP ABDR が 3 施設であった。配付試料の DNA 濃度を測定した施設は昨年の 11 施設と同程度の 10 施設であり、適宜希釈調製して検査されていた。

### 2. 解析方法

反応データ、アレル判定、結果の表記法について解析を行った。

### 3. 解析結果および考察

- 1) 反応データについて false negative を 1 施設で認めた。解析ソフトへの入力ミスの可能性が考えられた。
- 2) アレル判定について DNA 型のミスアサインを 4 施設で認め、そのうち 2 施設は HLA 型のミスアサインも認めた。全て、「第 1 区域に ambiguity がある場合」の組み合わせであった。
- 3) 結果の表記法について  
ア. 第 1 区域 5 施設で推定アレルの組み合わせが漏れており表記ミスを認めた。「第 1 区域に

ambiguity がある場合」の正答割合は昨年度の 98% から今年度は 67% へ低下していた。

- イ. 第 2 区域 アレル表記が少ないものが 3 施設、頻度順でないものが 3 施設あった。早見表によると思われるミスは認めなかった。
- ウ. その他 (Null など) Null アレルがもれているものが 4 施設あり、原因は解析ソフト結果の追記もれと考えられた。C\* 07:02N は解析ソフトの設定によっては表示されないため追記が必要となる。その他の表記ミス (カラム記載順, 「\*」もれ, 「\*」と「:」の誤入力など) もみられた。

### 4. まとめ

表記ミスが昨年に比べ増加しており、それらがミスアサインに繋がっている施設を認めたが、SSP 法の結果は概ね良好であった。毎年散見されていた早見表によると思われるミスはなくなっており、全施設で解析ソフトを併用して適切に解析されたと思われた。

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。実臨床でのミスアサインを防ぐために、該当施設は表記法の理解が必要であると考えられた。また、基本的なことではあるがダブルチェック等によりケアレスミスを防止することも大切である。

# 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 DNA タイピング SSO (LABType)法—

竹ノ内博之<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 宮崎大学医学部附属病院 輸血・細胞治療部

### 1. 概要

LABType の参加状況は 75 参加施設中 11 施設 (14.7%) であり、昨年度より 3 施設の増であった。HLA-A, B, C, DR の参加内訳では、LABTypeXR が 4 施設から 7 施設と増えており、LABTypeCWD と LABTypeSSO はそれぞれ 3 施設、1 施設と昨年同様であった。また、LABTypeSSO を用いた HLA-DQ, DP の参加が年々増加傾向にあり、DQA1/DQB1 の参加施設数は第 25 回の 3 施設から 6 施設と倍増していた。

### 2. 解析方法

各施設から提出された結果入力シート報告及び測定データから、①判定結果とその表記法②解析ソフト (HLA Fusion) での解析内容③各 locus での陽性コントロールピーズ (PCB) の nMFI 値の解析 (平均とバラツキ; %CV) ④陰性コントロール検体 (Q27DC) 測定データからコンタミネーションの有無等の解析・評価を行った (BG 解析)。

### 3. 解析結果および考察

各施設とも測定結果については概ね良好であったが、今回も一部施設で学会の推奨するアレル表記と異なる記載をしている施設があり、特に Null アレルに関して表記と読み替えが正しく行えていない施設が見受けられた。

HLA Fusion 解析については、結果入力シートの記載内容を基に CSV データから各施設で行った解析をト

レースし、他法を含めた再検査の実施やピーズ情報などから総合的に解析を実施している状況が確認できた。その中で、無理なカットオフ値の変更により miss assign となった施設については、本 WS の報告などを参考に、自施設の解析基準の再考をお願いしたい。

各 locus での PCB の nMFI 値から測定法毎の %CV を比較したところ、ほとんどのバッチで 20% を下回っていたが、C locus の Exon3 は平均 24% と若干高くなっていた。Q27DC 検体を用いた BG 解析では、コンタミネーションが懸念されるバッチの程度は減少していた。また、BG が高めに出ている施設では、再検査で少なくとも改善していることが確認できており、参加施設全体でみると検査技術の向上が伺えた。

### 4. まとめ

今回のタイピング解析では、HLA Fusion 解析及び表記に関する問題点が未だに多いことや、試薬情報収集の重要性が再認識された。HLA-QCWS はデータの解析に留まらず、これら試薬情報および学会情報の提供や、検査法に特有の問題点などについても広く収集・解析・提供を行っており、QCWS 解析集は新規項目導入検討時や職員教育などに有益な情報を手軽に参照できる優れたツールである。参加施設においては、報告内容および解析集を単に QC 結果の答え合わせで終えることなく活用し、試薬メーカーからの詳しい試薬情報なども収集しながら今後の業務改善などに役立てていただきたい。

# 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 DNA タイピング SSO (WAKFlow, Genosearch) 法—

下北 希美<sup>1)</sup>

日本赤十字社 近畿ブロック血液センター

### 1. 概要

WAKFlow での参加状況は昨年度より 3 施設減り 46 施設 (61%), GenoSearch は過去 4 年増減なく 4 施設 (5%) となった。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 5 施設、GenoSearch で 2 施設であった。

### 2. 解析方法

- ・配布試料の DNA 濃度測定と濃度調整状況
- ・陰性コントロール (Q27DC) の測定状況
- ・陽性コントロールの平均値とばらつき
- ・ビーズカウント
- ・Pmin/Nmax 値の比率
- ・カットオフ値変更と再検査の実施状況

以上 6 項目について解析を行った。

### 3. 解析結果および考察

配布試料の DNA 濃度の調整状況は、3 施設で濃度未測定であったがほとんど施設で濃度測定と試薬にあった濃度調整が行われていた。陰性コントロール (Q27DC) については、すべての施設で測定されていた。しかし、7 施設においてカットオフ値を超える反応が認められた。その中には複数のプローブに反応し、同時に測定したサンプルと同様の反応パターンがみられコンタミネーションが疑われる施設があった。Pmin/Nmax 比ではすべての施設で 3.0 以上であり、ビーズカウントについても概ね良好な結果となった。カットオフ値の変更につ

ては、Q27D2 HLA-C, Q27D1 HLA-DRB1 について各 1 施設で実施していた。しかし、カットオフ値変更を実施する施設は年々減少傾向にあり、再検査の実施によるデータの改善や技術の向上によると推察される。

判定結果では、Q27D3 HLA-B において 1 プローブの弱反応により誤判定をした施設があった。また、判定結果は正しく記載されていたが反応性に問題がある施設もあった。解析ソフトで自動判定ができていたとしても、測定データ・判定結果に疑いがある場合は再検査を実施し再現性の確認が必要である。正しい判定結果を導くために、陽性コントロールの exon 毎のバランスや蛍光値、データ全体の反応性を確認することは重要なポイントであり推奨される。

### 4. まとめ

WAKFlow, GenoSearch ともに概ね良好な結果であった。陰性コントロールの陽性反応やカットオフ値変更をした施設が減少し、操作技術の向上が窺える。しかし、反応不良が疑われるデータで判定をした施設もあり、レアアレルや新規アレルを見逃す可能性もあるため、測定データをみて異常な反応に気付くことが重要である。また、誤判定をした施設については、日常の検査でも誤った判定をしている可能性があるため早急な改善や対策が必要である。

今後もさらなる精度向上のために安定した技術習得を目指し、判定に必要な知識・情報の収集に努めていただきたい。



# 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 DNA タイピング SBT (Sanger, NGS) 法—

木野 佑亮<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 公益財団法人 HLA 研究所

### 1. 概要

SBT 法の参加状況は、全 75 施設中 Sanger 法では昨年度同様 2 施設 (2.7%)、NGS 法では昨年度から 1 施設増加し 5 施設 (6.7%) であった。検査方法として、Sanger 法では 2 施設とも同じ機種シーケンサーを、検査試薬は SeCore と AlleleSEQR がそれぞれ用いられた。NGS 法で用いられたシーケンサーは、Illumina 系、Ion 系共に 1 機種であり、検査試薬は AllType NGS、AllType FASTplex、ScisGo HLA の 3 種類 (参考データ除く) であった。NGS 法では試薬とシーケンサーの組み合わせパターンは 5 施設中 4 種類で、同じ方法を用いた施設は 2 施設のみであった。

### 2. 解析方法

試薬キット、測定機器の組合せが多様であるため、解析は個々の精度確認を主体とした。Sanger 法では DNA 濃度と Quality Value (Quality Score) を、NGS 法では Sanger 法の 2 項目に加え、リードデプス、カバー率およびアレルバランスの確認を行った。

### 3. 解析結果および考察

Sanger 法の判定結果は 2 施設とも適切な回答であった。また QV は概ね良好な値を認めたが、一部シーケンスデータの Forward Primer 側において、一定間隔で分離したシングルピークの形成が崩れており、QV20 以下となる分離不良の発生を認めた。Reverse Primer 側では規則正しいピークが形成されており、QV20 以下を示したいずれのケースにおいても Reverse Primer 側で

のシーケンス結果が Forward Primer 側の分離不良域をカバーできていたため、検査結果への影響は少なかったと推察される。

NGS 法の判定結果は、1 施設で Q27D3 HLA-C の表記ミスがあったものの、それ以外は全ての方法で適切な回答であった。また Q Score は、Illumina 系で平均 30 以上、Ion 系で平均 20 以上とサンプル間のデータ品質も同程度であり全施設で良好な結果であった。HLA-DRB1 のアレルバランスは他のローカスに比べ低い傾向にあったが、試薬特性が原因であり、判定結果への影響は軽微であると考えられる。補足事項として、備考欄に第 4 区域までの判定結果を記載していた施設があり、HLA-DQA1 にて反復配列の塩基数の違いによる第 4 区域の Ambiguity が認められたため、記載する場合は特性を踏まえた上で注意が必要であると考えられる。

### 4. まとめ

Sanger 法、NGS 法共にアレル判定結果は一致しており、一部のローカスで表記ミスがあったものの、概ね適切な判定結果であった。表記ミスについては「HLA タイピング結果のアレル表記法と結果報告の原則 (V-2-1)」を再度参照いただきたい。

本解析では判定結果に影響するようなシーケンスデータは認められなかった。安定した手技、プロトコルの遂行が伺えるが、無理な判定を未然に防止するためには、アレル判定前に各サンプルのクオリティの確認実施を推奨する。

# 第 27 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<sup>1)</sup>

日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所

### 1. 概要

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 46 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 70% 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 34 施設、臓器移植部門 42 施設、造血幹細胞移植部門 37 施設、その他 5 施設であった（重複あり）。総参加施設は 66 施設と昨年度から 1 施設減少したが、継続参加施設は 65 施設（92%）と高く、ほとんどの施設が継続的に参加している状況であった。

### 2. 解析方法

抗体スクリーニングは、各施設から提出された総合判定結果を集計し、サンプルごとに一致率を算出した。抗体特異性同定については、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（現段階では 0.67 (2/3)）し、抗原・アレル毎に判定一致率を算出した。

### 3. 解析結果および考察

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 は全施設で一致、Class II では Q27S4 以外は全施設で一致した結果であった（Q27S4: 76.2%）。不一致を認めた Q27S4 血清は、配布前に LS-Multi により陰性となることを確認したが、FlowPRA を使用した 15 施設のうち、10 施設で陽性が認められた。

陰性と判定した 5 施設についても、再解析により 4 施設が陽性となり、使用試薬による判定の不一致を認めたことから、本サンプルは評価対象外とした。抗体特異性同定結果では、Q27S1 で、HLA-Cw5, DR14 の一致率がそれぞれ 63.6%, 51.9%, Q27S2 で HLA-A26, Cw7, DR14 の一致率がそれぞれ 50.9%, 54.5%, 57.7% と一部の特異性で Consensus Result が保留（0.67 以下）であったものの、全体的な一致率は良好であった。一致率の低かった抗体特異性の蛍光強度は、いずれも 1,000 程度の弱い反応性であり、施設によってその判断（解釈）が異なっているため生じたと考えられた。また、一部のケースでは、同一抗原でも試薬メーカーによって含まれるアレルが異なる場合や同一アレルでもメーカーによって反応性が異なる場合、あるいは Supplement ビーズ使用の有無が最終判定の差異に繋がるケースであった。

### 4. まとめ

今回、使用した抗血清の一部では、使用する試薬によりスクリーニング結果が異なった。試料選定は熟慮を重ねて検討しているが、参加者が困惑するような血清を選択しないよう、より一層注意したい。抗体スクリーニングや特異性同定試験は、ほとんどの施設で良好な結果であり、今後は内部・外部精度管理による検査精度の維持に注力すべきと考える。一方で、仮想クロスマッチの参加施設は、抗体特異性試験を実施した施設の 60% 程度にとどまっており、多くの施設の参加を期待したい。

# 第 27 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—

亀井 美沙<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 九州大学病院

### 1. 概要

FlowPRA 参加施設は Class I・Class II とともに 15 施設であった。参加部門（重複あり）の内訳は、輸血関連 7 施設、臓器移植関連 12 施設、造血幹細胞移植関連 8 施設、その他 1 施設であった。FlowPRA 単独での参加は 5 施設、他法を併用しての参加は 10 施設であった。測定機器は Beckman Coulter, Inc 製が 8 施設、Becton, Dickinson and Company 製が 7 施設であった。

### 2. 解析方法

検査状況記入表を元に、各施設の血清処理、試薬ロットおよび使用期限、判定基準、判定スコア、%PRA などを確認した。また、ヒストグラムのオーバーレイ画像を元に、マーカー M1 および M2 の設定位置を確認した。さらに、FlowJo™ 解析用ソフトウェアを用いて「QCWS 参考プロトコル 抗 HLA 抗体検査 (FlowPRA™) 2023 年度版」に従い、NC 血清、PC 血清、QCWS サンプルについて、測定データの再解析を行った。

### 3. 解析結果および考察

血清処理に関して、遠心・凍結融解は QCWS 参考プロトコルにて必須処理となっているが、凍結融解の記載が無い施設が 2 施設認められた。また、試薬に関して、ビーズや 2 次抗体は使用期限が守られていたが、対照血清については期限切れのロットを用いていると考えられる施設が 2 施設認められたため、該当する施設は確認いただきたい。

判定スコアに関して、Class I は全サンプル全施設スコア 8（陽性）と判定していた。Class II では Q27S1～Q27S3 は全施設スコア 8（陽性）と判定していたが、Q27S4 はスコア 8（陽性）が 10 施設、スコア 1（陰性）が 5 施設と判定が分かれた。

データの再解析では、機器設定（蛍光補正）が不適切な施設が 1 施設認められた。また、NC 血清を基準に、陽性領域と陰性領域を決定するマーカー M1 がやや不適切な位置に設定されていたため、%PRA が一部外れ値となっていた施設が 1 施設認められた。

さらに、ヒストグラム右側の小さい山や膨らみに対するマーカー M2 の再設定が無く、Q27S4 Class II をスコア 1（陰性）と判定していた施設が 4 施設認められた。

### 4. まとめ

各施設の判定スコアおよび %PRA は、一部を除いて、概ね一致していた。

判定が分かれた Q27S4 Class II については、ビーズ表面の HLA 抗原の密度や弱陽性の抗 HLA 抗体の存在が原因となり、カットオフ付近の反応を示していた可能性も考えられるが、マーカー M2 の再設定についても、該当する施設は確認いただきたい。

各種操作や機器設定・マーカー設定（M1 および M2）の見直し、測定機器のキャリブレーションやマイクロピペットの定期点検、最新のメーカー資料の収集による試薬間差やロット間差の把握を行っていくことで、より良好な結果が目指せると考えられた。

# 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 抗体検査 ルミネックス (WAKFlow) 法—

栗田 絵美<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 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

WAKFlow 参加施設は、昨年から 1 施設増え 20 施設であった。抗体スクリーニング (抗体有無) は WAKFlow Screen (SCR) 9 施設, MR Class I 12 施設, Class II 4 施設であり, 抗体特異性同定は WAKFlow 特異性同定 (HR) Class I, Class II ともに 8 施設の参加であった。参加部門の内訳は, 輸血関連 16 施設, 臓器移植 8 施設, 造血幹細胞移植 13 施設, その他 1 施設であった (重複あり)。

### 2. 解析方法

各検査試薬における蛍光ビーズの Median 値の 2SD を算出し, SCR 及び MR は Index 値, HR は Calmed 値の施設間差を検証した。SCR 及び MR では抗体の有無, HR では抗体特異性同定結果について判定一致率を確認し, 不一致の要因を解析した。

### 3. 解析結果および考察

各施設の SCR 及び MR の Index 値, HR の Calmed 値は, 一部の施設を除き判定に影響するような差は認めなかった。抗体有無の判定一致率は, Class I は全てのサンプルで 100%, Class II の Q27S1 ~ Q27S3 は 100% であったが, Q27S4 のみ 84.6% であった。ほとんどの施設 (13 施設中 11 施設) で判定結果を陰性とされており, 陽性と判定された 2 施設についても, SCR は陰性であったが併用した FlowPRA が陽性であったため判定結果陽性, MR のデフォルト判定では陰性であったが施設判定

基準により陽性とされていた。抗体特異性同定の判定一致率は, Q27S1 では Class I 83.7%, Class II 73.9%, Q27S2 では Class I 79.1%, Class II 73.9% であった。Median 値が低値傾向の施設 (SCR 及び HR 実施) があり, SCR は判定結果への影響はなかったが, HR では判定不一致の原因となっていた。また Q27S2 の Class I で外れ値を認めた施設があった。HR の判定不一致の主要因として, 試薬特性による差異, カットオフ付近の反応による判定の解離, 他法のアレルの反応性を加味した結果解釈の差異, 施設のアソシエート抗原に対する判断基準の相違などが考えられた。

### 4. まとめ

WAKFlow 参加施設の抗体有無及び抗体特異性同定の判定一致率は, 例年に引き続き概ね良好であった。Median 値が低値傾向の施設については, 洗浄操作不良, 二次抗体の分注不良や希釈ミス, ピペットや測定機器のメンテナンス不足などの原因が考えられるため, 操作手順や環境の再確認をお願いしたい。外れ値が認められた施設について, 原因の特定には至らなかったが, 信頼性の高い結果を導き出すために, 機器・試薬の適切な管理や検査手技の見直しが必要と考える。また測定時にリージョンのズレがないかを確認することを推奨する。継続的に QCWS に参加することにより, 他施設と比較して著しく逸脱していないことや自施設の傾向を確認するといった外部精度管理として役立てていただきたい。

## 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 抗体検査 ルミネックス (LABScreen) 法—

伊藤 誠<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 北海道大学病院

### 1. 概要

抗体-QC 参加 66 施設中 LABScreen 参加施設は 53 施設であった。使用試薬の内訳は、抗体検出では LABScreen Mixed は 33 施設、LABScreen Multi は 1 施設、LABScreen PRA は 7 施設、抗体特異性では LABScreen Single Antigen Class I は 49 施設、Class II は 46 施設、LABScreen Single Antigen Supplement / ExPlex Class I は 25 施設、Class II は 25 施設であった。参加部門の内訳は、輸血 25 施設、臓器移植 33 施設、造血幹細胞移植 30 施設、その他 4 施設であった。

### 2. 解析方法

LABScreen 各検査試薬の各施設で用いられているカットオフ値の比較を行った。抗体検出では LABScreen 各検査試薬における判定一致率を算出した。抗体特異性では、LABScreen Single Antigen における抗原別判定一致率が 80% 未満となった要因について解析を行った。

### 3. 解析結果および考察

【LABScreen Mixed】各施設で用いられているカットオフ値は NBG ratio:1.5 ~ 6.0 および自動判定であった。評価点の対象外となった Q27S4 Class II を除く Q27S1, Q27S2, Q27S3, Q27S4 Class I において判定一致率

100% となった。

【LABScreen PRA】各施設で用いられているカットオフ値は nMFI:500 ~ 1000 および自動判定であった。評価点の対象外となった Q27S4 Class II を除く Q27S1, Q27S2, Q27S3, Q27S4 Class I において判定一致率 100% となった。

【LABScreen Single Antigen】各施設で用いられているカットオフ値は nMFI:500 ~ 2000 および自動判定であった。抗原別判定一致率が 80% 未満となった要因として、各施設設定のカットオフ値付近の nMFI, Supplement / ExPlex 使用の有無が考えられた。

### 4. まとめ

抗体検出、抗体特異性ともに概ね良好な結果であったが、LABScreen Mixed において NC 血清が参加施設平均より高値のため NBG ratio が低値となった施設があった。また、LABScreen Single Antigen において、測定結果と判定結果に不一致を認めた施設があった。これらの施設においては、QCWS 参考プロトコル等を参照し、測定ステップや判定手順の見直しをしていただきたい。

LABScreen Single Antigen では各施設設定のカットオフ値付近の nMFI, Supplement / ExPlex 使用の有無によって、施設間の総合判定の差異に繋がっていた。



# 第 27 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 その他検査法及びクロスマッチ—

中野 学<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社 北海道ブロック血液センター

### 1. 概要

抗体 QC 参加 66 施設中、32 施設が参加した。各施設で実施した HLA 抗体特異性同定検査結果とタイピング結果で仮想クロスマッチを実施し、判定を行った。31 施設がクラス I 陽性、26 施設がクラス II 陽性と判定した。クラス I およびクラス II の判定結果は概ね一致したが、クラス II では一部の施設が保留や判定不能と判断した。1 施設のみクラス I およびクラス II を陰性と判定していた。

### 2. 解析方法

参加施設は自施設で実施した Q27D4 の DNA タイピング結果と Q27S1 の HLA 抗体特異性同定検査結果から仮想クロスマッチを実施した。クラス I は A, B, Cw ローカス、クラス II は DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DQ, DP ローカスを解析対象とした。特異性同定検査の表記には蛍光強度 (nMFI) を用いて各施設の基準に従って判定をした。

### 3. 解析結果および考察

A ローカスの判定結果は陰性であり概ね一致していた。A\*23:01 を陽性と判定しており、A23 と A24 は A9 の CREG と判断したため、仮想クロスマッチを判定保留とした施設があった。B ローカスでは B\*35:01 を陰性と判定しているものの、B5 グループの B\*51:01, B\*51:02 を陽性であったため、判定保留としている施設があっ

た。B35 と B51 は CREG に該当するが、血清学的に異なるため陰性と判定することが妥当と考えられた。DRB3/4/5 の仮想クロスマッチの判定結果は全施設で陽性と判定していた。抗体特異性は DR51 のアレルである DRB5\*01:01 と DRB5\*02:02 の nMFI が約 20,000 であった。DRB5\*01:02 は supplement にしかないが、DR51 のアレルの一つとして仮想クロスマッチ陽性と判定していた。

DQ は 1 施設を除き陽性判定で一致していた。判定不能とした 1 施設は WAKFlow HR の Calmed が 8,000~10,000 で保留としていた。十分な蛍光強度であるため、陽性と判定することが妥当と考えられた。蛍光強度の読み違いによる判定やアレル違いによる抗体特異性が検出された場合の対応が各施設で異なることによって仮想クロスマッチの結果が乖離してしまうケースがあった。

### 4. まとめ

仮想タイピング結果は概ね全施設で一致した。しかしながら、nMFI が 10,000 を超えているにもかかわらず陰性と判定している施設があり結果判定には慎重になる必要がある。また、仮想クロスマッチの結果とダイレクトクロスマッチの結果の整合性についても検証する必要があると考えられる。アレル違いや CREG 内の HLA 抗体について、どのように解析するかを示し、合理的な説明が可能な仮想クロスマッチの結果の解釈につなげていきたい。



# 第27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—

金本 人美<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 福岡赤十字病院 移植センター 移植細胞研究課

### 1. 概要

今年で11回目となる全血クロスマッチは、今回43施設からの参加があり例年とほぼ変わりはない。参加施設内訳は、臓器移植ネットワークの検査施設が23施設、移植関連病院が14施設、血液センター2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。9月に集計結果を各施設にメールで送信し、第31回日本組織適合性学会大会ではライブ配信で報告となった。同様に9月に開催された第59回日本移植学会総会(京都)でも報告を行った。今後は令和6年2月に開催予定の第57回日本臨床腎移植学会において報告予定である。

### 2. 試料説明

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Q27S2を選択し、A\*02:01(8,359), A\*02:06(5,688), DRB1\*14:03(17,038), DRB5\*01:02(15,360), DQB1\*06:01(21,288)等がドナー特異的抗体 Donor Specific Antibody ; DSA となりクロスマッ

チで検出できるであろうと想定されるものであった。( )の数値は試料選定時の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。方法ごとの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。

### 3. 結果

CDCはT細胞、B細胞共に約8割の一致率で、前年度と比較して低い一致率だった。FCXMは2施設がFCXM-Tを陰性と判定、FCXM-Bは全施設陽性で一致した結果であった。ICFAにおいてはClass I, II共に結果にばらつきを認めCDCやFCXMとの結果の乖離を認めた。

### 4. 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。しかし、方法別で比較すると判定に乖離を認める方法があった。各施設において、プロトコルや手技の見直しなどを今一度行い、今後も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いただければと思う。

## 日本組織適合性学会 推定アレル一覧表（2024年度版）について

日本組織適合性学会 精度管理委員会\*

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2024年版に更新したので、以下の一覧表を示す。

HLA class I 推定アレル一覧表（JSHI）2024年版

HLA class II 推定アレル一覧表（JSHI）2024年版

### 参考 URL：

- 1) HLA-A,B,C,DRB1 座：日本骨髄バンク（2024年3月掲載資料）  
URL: [https://www.bs.jrc.or.jp/bmdc/donorregistrant/m2\\_03\\_00\\_statistics.html](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（2024年3月掲載資料）  
URL: [https://hla.or.jp/med/frequency\\_search/ja/allele/](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: <https://drive.google.com/file/d/1U9TXuuMTAHcre29-KciE-ueHBvpoX0du/view>

---

\* 精度管理委員会 委員

高 陽淑<sup>1)</sup>、高橋大輔<sup>2)</sup>、石塚 敏<sup>3)</sup>、石本倫子<sup>4)</sup>、内田みゆき<sup>2)</sup>、大橋 順<sup>5)</sup>、金本人美<sup>6)</sup>、木村彰方<sup>7)</sup>、黒田ゆかり<sup>8)</sup>、清水まり恵<sup>2)</sup>、田中秀則<sup>9)</sup>、西川晃平<sup>10)</sup>、前島理恵子<sup>11)</sup>、村田 誠<sup>12)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社 近畿ブロック血液センター、<sup>2)</sup> 日本赤十字社 中央血液研究所、<sup>3)</sup> 東京女子医科大学病院、<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> 東京大学、<sup>6)</sup> 日本赤十字社 福岡赤十字病院、<sup>7)</sup> 東京医科歯科大学、<sup>8)</sup> 日本赤十字社 九州ブロック血液センター、<sup>9)</sup> 公益財団法人 HLA 研究所、<sup>10)</sup> 三重大学、<sup>11)</sup> 帝京大学医学部附属病院、<sup>12)</sup> 滋賀医科大学

HLA classI 推定アレル一覧表 (JSHI) 2024年版

HLA-A			
推定アレル	対象アレル	AF(%)	HLA型
A*01:01	A*01:01:01	0.442%	A1
A*02:01	A*02:01:01	11.227%	A2
A*02:03	A*02:03:01	0.059%	A203
A*02:05	A*02:05:01	0.003%	A2
A*02:06	A*02:06:01	9.415%	A2
A*02:07	A*02:07:01	3.236%	A2
A*02:10		0.426%	A210
A*02:11	A*02:11:01	0.001%	A2
A*02:15N		0.007%	Null
A*02:18		0.061%	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	0.436%	A3
A*03:02	A*03:02:01	0.084%	A3
A*11:01	A*11:01:01	8.907%	A11
	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	0.014%	A24
A*24:08		0.027%	A24
A*24:10	A*24:10:01	0.002%	A2403
A*24:20	A*24:20:01	0.769%	A24
A*24:25		0.008%	A24
A*24:28		0.001%	A24
A*24:33		0.001%	A2403
A*24:46		0.005%	A24
A*25:01	A*25:01:01	0.001%	A25
A*26:01	A*26:01:01	7.590%	A26
A*26:02	A*26:02:01	1.864%	A26
A*26:03	A*26:03:01	2.508%	A26
A*26:04		0.001%	A26
A*26:05		0.065%	A26
A*26:06		0.014%	A26
A*29:01	A*29:01:01	0.017%	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	8.635%	A31
A*31:11	A*31:11:01	0.003%	A31
A*32:01	A*32:01:01	0.03%	A32
A*33:01	A*33:01:01	0.002%	A33
A*33:03	A*33:03:01	7.406%	A33
A*33:08		0.001%	A33
A*34:01	A*34:01:01	0.01%	A34
A*68:01	A*68:01:02	0.018%	A68
A*68:02	A*68:02:01	0.001%	A68

N=688,469(A\*02:15N(≠477,216))

HLA-B			
推定アレル	対象アレル	AF(%)	HLA型
B*07:02	B*07:02:01	5.492%	B7
B*07:05	B*07:05:01	0.018%	B7
B*08:01	B*08:01:01	0.017%	B8
B*13:01	B*13:01:01	1.187%	B13
B*13:02	B*13:02:01	0.276%	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	7.911%	B62
B*15:02	B*15:02:01	0.047%	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	0.623%	B62
B*15:11	B*15:11:01	0.950%	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	0.001%	B63
B*15:18	B*15:18:01	1.558%	B71
B*15:21	B*15:21:01	0.003%	B75
B*15:25	B*15:25:01	0.009%	B62
B*15:26N		0.004%	Null
B*15:27	B*15:27:01	0.109%	B62
B*15:28		0.028%	B62
B*15:35	B*15:35:01	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	0.204%	B27
B*27:05	B*27:05:02	0.068%	B27
B*27:06	B*27:06:01	0.002%	B27
B*27:11		0.001%	B27
B*35:01	B*35:01:01	8.339%	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	0.012%	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	0.516%	B37
B*38:01	B*38:01:01	0.007%	B38
B*38:02	B*38:02:01	0.267%	B38
B*39:01	B*39:01:01		
	B*39:01:03	3.382%	B3901
B*39:02	B*39:02:01		
	B*39:02:02	0.305%	B3902
B*39:04		0.229%	B39
B*39:05	B*39:05:01	0.001%	B39
B*39:23		0.031%	B39
B*40:01	B*40:01:02(注)	5.559%	B60
B*40:02	B*40:02:01	7.801%	B61
B*40:03	B*40:03:01	0.445%	B61
B*40:06	B*40:06:01	4.808%	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	0.421%	B44
B*44:03	B*44:03:01		
	B*44:03:02	6.672%	B44
B*45:01	B*45:01:01	0.001%	B45
B*46:01	B*46:01:01	4.498%	B46
B*48:01	B*48:01:01	2.895%	B48
B*48:03	B*48:03:01	0.001%	B48
B*49:01	B*49:01:01	0.002%	B49
B*50:01	B*50:01:01	0.005%	B50
B*51:01	B*51:01:01	8.748%	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	2.479%	B55
B*55:04		0.149%	B55
B*55:10		0.002%	B55
B*55:12		0.002%	B55
B*56:01	B*56:01:01	0.911%	B56
B*56:03		0.184%	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	0.669%	B58
B*59:01	B*59:01:01	2.005%	B59
B*67:01	B*67:01:01		
	B*67:01:02	1.132%	B67

N=688,469

(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	17.218%	Cw1
C*01:03	C*01:03:01	0.34%	Cw1
C*01:55		0.003%	Cw1
C*02:02	C*02:02:02	0.037%	Cw2
C*03:02	C*03:02:01	0.681%	Cw10
C*03:03	C*03:03:01	13.723%	Cw9
C*03:04	C*03:04:01		
	C*03:04:04	12.201%	Cw10
C*03:23N		0.019%	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	4.321%	Cw4
C*04:03	C*04:03:01	0.016%	Cw4
C*05:01	C*05:01:01	0.415%	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	12.712%	Cw7
C*07:02N	C*07:02:01:17N	0.001%	Null
C*07:04	C*07:04:01	0.968%	Cw7
C*08:01	C*08:01:01	7.381%	Cw8
C*08:02	C*08:02:01	0.018%	Cw8
C*08:03	C*08:03:01	1.445%	Cw8
C*12:02	C*12:02:02	11.015%	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	6.863%	Cw14
C*14:03	C*14:03:01	6.526%	Cw14
C*15:02	C*15:02:01	3.054%	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	0.002%	Cw16
C*17:01	C*17:01:01	0.001%	Cw17

N=688,469

HLA classII 推定アレル一覧表 (JSHI) 2024年版

HLA-DRB1			
推定アレル	対象アレル	AF(%)	HLA型
DRB1*01:01	DRB1*01:01:01	5.675%	DR1
DRB1*01:02	DRB1*01:02:01	0.004%	DR1
DRB1*01:03		0.001%	DR103
DRB1*03:01	DRB1*03:01:01	0.138%	DR17
DRB1*04:01	DRB1*04:01:01	1.030%	DR4
DRB1*04:02	DRB1*04:02:01	0.001%	DR4
DRB1*04:03	DRB1*04:03:01	3.13%	DR4
DRB1*04:04	DRB1*04:04:01	0.201%	DR4
DRB1*04:05	DRB1*04:05:01	13.400%	DR4
DRB1*04:06	DRB1*04:06:01	3.277%	DR4
DRB1*04:07	DRB1*04:07:01	0.508%	DR4
DRB1*04:08	DRB1*04:08:01	0.002%	DR4
DRB1*04:09	DRB1*04:09:01	0.002%	DR4
DRB1*04:10	DRB1*04:10:01	2.117%	DR4
	DRB1*04:10:03		
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	4.279%	DR8
DRB1*08:03	DRB1*08:03:02	7.927%	DR8
DRB1*08:09	DRB1*08:09:01	0.044%	DR8
DRB1*08:23		0.004%	DR8
DRB1*09:01	DRB1*09:01:02	14.618%	DR9
DRB1*10:01	DRB1*10:01:01	0.478%	DR10
DRB1*11:01	DRB1*11:01:01	2.492%	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	3.674%	DR12
DRB1*12:02	DRB1*12:02:01	1.701%	DR12
DRB1*12:05		0.004%	DR12
DRB1*13:01	DRB1*13:01:01	0.588%	DR13
DRB1*13:02	DRB1*13:02:01	6.339%	DR13
DRB1*13:03	DRB1*13:03:01	0.001%	DR13
DRB1*13:07	DRB1*13:07:01	0.022%	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	1.623%	DR1403
DRB1*14:04	DRB1*14:04:01	0.005%	DR1404
DRB1*14:05	DRB1*14:05:01	2.146%	DR14
DRB1*14:06	DRB1*14:06:01	1.535%	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	3.485%	DR14
DRB1*15:01	DRB1*15:01:01	7.857%	DR15
DRB1*15:02	DRB1*15:02:01	10.278%	DR15
DRB1*15:04		0.001%	DR15
DRB1*16:01	DRB1*16:01:01	0.001%	DR16
DRB1*16:02	DRB1*16:02:01	0.821%	DR16

N=688,469

DRB345			
推定アレル	対象アレル	AF(%)	HLA型
DRB3*01:01	DRB3*01:01:01	4.59%	DR52
	DRB3*01:01:05		
DRB3*02:02	DRB3*02:02:01	10.54%	DR52
	DRB3*02:02:04		
DRB3*03:01	DRB3*03:01:01	8.38%	DR52
	DRB3*03:01:03		
DRB4*01:01	DRB4*01:01:01	0.41%	DR53
DRB4*01:02		1.08%	DR53
DRB4*01:03	DRB4*01:03:01	35.41%	DR53
	DRB4*01:03:02		
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	24.11%	DPw2
	DPB1*02:01:12		
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	13.41%
	DQA1*01:02:02	
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	16.02%
	DPA1*02:01:02	
DPA1*02:02	DPA1*02:02:01	43.52%
DPA1*04:01	DPA1*04:01:01	0.13%

N=1,536



## 総説

抗原提示補助シグナル分子の遺伝的バリエントに起因する  
自己免疫疾患の発症機序人見 祐基<sup>1)</sup><sup>1)</sup> 国立国際医療研究センター研究所疾患ゲノム研究部

自己免疫疾患は、自己抗原に対する免疫応答を回避するトレランス（免疫寛容）の破綻を原因とし、その発症には遺伝的要因と環境要因の総合的な寄与が想定されている。これまでに、ゲノムワイド関連解析（GWAS）などの網羅的なゲノム解析手法が実施され、多数の疾患感受性遺伝子領域が同定されてきた。この中で、ヒト白血球抗原（HLA）からT細胞抗原受容体（TCR）への抗原提示において重要な役割を担う補助シグナル分子をコードする遺伝子の多くは、複数の自己免疫疾患に共通する疾患感受性遺伝子領域である。*in silico* 解析やゲノム編集技術のCRISPR/Cas9を活用したpost-GWAS解析を駆使することによって、*CD80*・*ICOSLG*・*CD40*・*CD58*・*CD28*・*CTLA4*・*PDCDI*が特定の遺伝的バリエントに起因して自己免疫疾患の病態へ関与することが明らかとなった。

キーワード：自己免疫疾患、抗原提示補助シグナル分子、ゲノムワイド関連解析（GWAS）、疾患感受性、遺伝的バリエント

## 1. はじめに

リンパ球の一種であるT細胞は、主要組織適合性複合体（major histocompatibility complex; MHC）から提示された抗原ペプチドをT細胞抗原受容体（T cell receptor; TCR）にて認識する「抗原提示」を契機として、T細胞の活性化や細胞増殖・サイトカインの産生・細胞傷害作用などの免疫応答における中心的な役割を担う。この抗原提示の際、T細胞はあらゆる病原体由来の抗原に対応できるように、遺伝子再構成によって理論上 $10^{18}$ 種類を超えるTCRの多様性を有する。ただし、その中には自己抗原に対するものも含まれることから、中枢リンパ器官および末梢リンパ器官のそれぞれにおいて、自己抗原に対する免疫応答を回避するトレランス（免疫寛容）というシステムが備わっている<sup>1)</sup>。

しかしながら、何らかの原因によってトレランス

が破綻した場合、自身の組織に対する免疫応答により損傷を引き起こし、自己免疫疾患の発症へとつながる。自己免疫疾患は、関節リウマチ（rheumatoid arthritis; RA）や全身性エリテマトーデス（systemic lupus erythematosus; SLE）などの全身に渡り影響がおよぶ全身性自己免疫疾患と、一型糖尿病（type 1 diabetes; T1D）や原発性胆汁性胆管炎（primary biliary cholangitis; PBC）などの特定の臓器に対する自己免疫反応が起こる臓器特異性自己免疫疾患に大別される。これらの自己免疫疾患のほとんどは、遺伝的要因と環境要因の総合的な寄与により発症する「多因子疾患」であると考えられており、一部の遺伝的要因は複数の自己免疫疾患において共通している<sup>2)</sup>。

本稿においては、自己免疫疾患の発症に寄与する遺伝的要因について概説するとともに、特に抗原提示補助シグナル分子をコードする遺伝子を対象として、遺伝的バリエ

受付日：2023年11月21日，受理日：2024年1月30日

代表者連絡先：人見 祐基 〒162-8655 東京都新宿区戸山1-21-1 国立国際医療研究センター研究所疾患ゲノム研究部  
TEL: 03-3202-7181 E-mail: yhitomi@ri.ncgm.go.jp

バリエーションに起因する自己免疫疾患の発症機序について紹介する。

## 2. 自己免疫疾患発症に寄与する遺伝的要因

ヒトゲノム DNA 配列における 1～数塩基の置換・挿入・欠失や、数百～数万塩基の逆位・転座・重複・欠失などの個人間の違いは、疾患への罹りやすさ（疾患感受性）や薬剤の効果・副作用に対する個人差に影響を与える。疾患発症に関わる遺伝的要因の特徴として、単一遺伝子疾患（メンデル遺伝病）に対しては「集団中の頻度が低く発症リスクが極めて高い 1 か所～数か所の遺伝的バリエーション（rare variant）」が主に寄与する一方で、多因子疾患に対しては「集団中の頻度が高く発症リスクの低い多数の遺伝的バリエーション（common variant）」が主に寄与するとされる（Common disease common variant 仮説<sup>3)</sup>。そのため、遺伝的要因を探索するうえで、それぞれの疾患において最適な方法を選択する必要がある。

多因子疾患の遺伝的要因を網羅的に探索する場合、ゲノム全域にわたり疾患感受性と関連する遺伝子領域を探索する遺伝統計学的手法である「ゲノムワイド関連解析（Genome-wide association study; GWAS）」が一般的に用いられる。これは、ヒトゲノム全体に散在する遺伝的バリエーションのうち、連鎖不平衡を加味して選定された約 100 万か所を対象として、健常群と患者群の遺伝子型頻度をそれぞれ比較する手法である。自己免疫疾患においては、現在までに 596 報の GWAS 論文が発表され、延べ 7,070 か所の疾患感受性遺伝子領域が同定されてきた（2023 年 11 月時点<sup>4)</sup>：自己免疫疾患における主な疾患感受性遺伝子領域を表 1 に示す）。著者らもまた、PBC を対象とした GWAS を実施し、ヒトの MHC であるヒト白血球抗原遺伝子（*human leukocyte antigen; HLA*）をはじめとする日本人の疾患感受性遺伝子領域を同定したほか<sup>5-7)</sup>、日本とイギリスを中心とする国際共同研究によって、各集団に共通する約 70 か所の疾患感受性遺伝子領域を同定した<sup>8,9)</sup>（図 1）。

ただし、GWAS を用いて同定されたそれぞれの疾患感受性遺伝子領域を詳細に分析すると、最も有意性が高い関連を示したバリエーション（GWAS-lead variant）だけではなく、複数の遺伝子に跨る近傍の多数の遺伝的バリエーションもまた、GWAS-lead variant と同程度の関連を示すことが多い（図 2）。これは連鎖不平衡の影響によ

るものであり、これら一群の有意性が高い関連を示すバリエーションの中に、発症に直接寄与する機能的なバリエーション（causal variant）が含まれる。そのため、GWAS-lead variant そのものが発症に寄与すると短絡的に考えるのは誤りである。一方、非同義置換やフレームシフトによって該当遺伝子産物のアミノ酸配列を変えるバリエーションが causal variant である場合もあるが、非翻訳領域（untranslated region; UTR）やエクソン外の発現制御領域に位置し、mRNA レベルの遺伝子発現制御（転写および mRNA 安定性の制御）に寄与するバリエーションが causal variant である場合が圧倒的に多い。ただ、転写制御においては、DNA が高次構造を取ることによって、物理的距離が離れた遺伝子領域同士の会合が見られる。そのため、疾患感受性との関連を示すバリエーションが位置する遺伝子領域（mapped gene）から数十万塩基以上離れた別の遺伝子（target gene）の発現が制御される例も散見される<sup>10, 11)</sup>（図 3）。例えば、約 40% の PBC 感受性遺伝子領域において、GWAS-lead variant は mapped gene 以外の遺伝子発現量と有意に相関していた<sup>12)</sup>。つまり、疾患感受性遺伝子領域に起因する疾患への寄与を説明する際、GWAS-lead variant や mapped gene から短絡的に機能を推察するだけでは解釈のミスリードへとつながるため、正確に causal variant と target gene を同定するための更なる post-GWAS 研究が必要となる。post-GWAS 研究の詳細については、著者らによる他の総説をご参照いただきたい<sup>12, 13)</sup>。

## 3. 自己免疫疾患と抗原提示補助シグナル分子

抗原提示による T 細胞の活性化・増殖・分化には、MHC から TCR への抗原特異的なシグナルだけではなく、抗原に特異性の無い別のシグナル（補助シグナル、第二シグナル、共刺激などと称される）が同時に伝わるのが必須であり、抗原提示補助シグナル分子がその役割を担う。つまり、抗原提示補助シグナル分子は、トランスを維持し自己免疫疾患を回避するための重要なキープレイヤーであると言える。これまでに、T 細胞や抗原提示細胞の表面に発現する様々な抗原提示補助シグナル分子が報告されており、それぞれがペアとなるリガンドと結合することによって、TCR への抗原提示シグナルを正または負に制御する<sup>14)</sup>。

そのような抗原提示補助シグナル分子をコードする



表 1 自己免疫疾患における主な疾患感受性遺伝子領域

染色体	Mapped gene <sup>a</sup>	自己免疫疾患 (ゲノムワイド有意水準: $P < 5.0 \times 10^{-8}$ ) <sup>b</sup>
1p36.13	<i>OTUD3</i>	潰瘍性大腸炎
1p31.3	<i>IL23R</i>	クローン病、潰瘍性大腸炎、強直性脊椎炎、他
1p13.3	<i>VAV3</i>	橋本病
1p13.2	<i>PTPN22</i>	関節リウマチ、橋本病、全身性エリテマトーデス、他
1p13.1	<i>CD58</i>	多発性硬化症、原発性胆汁性胆管炎、全身性エリテマトーデス
1q25.1	<i>TNFSF4</i>	全身性エリテマトーデス、関節リウマチ
1q25.3	<i>NCF2</i>	全身性エリテマトーデス、セリアック病
2p15	<i>RN7SL51P</i>	強直性脊椎炎、乾癬、クローン病、他
2q32.2-q32.3	<i>STAT4</i>	全身性エリテマトーデス、橋本病、関節リウマチ、他
2q33.2	<i>CTLA4</i>	橋本病、関節リウマチ、一型糖尿病、他
2q37.1	<i>ATG16L1</i>	クローン病
3p21.31	<i>MST1</i>	潰瘍性大腸炎、クローン病
5p13.1	<i>TTC33</i>	クローン病、多発性硬化症、一型糖尿病、他
5q15	<i>ERAP1</i>	強直性脊椎炎、乾癬、ベーチェット病
5q31.1	<i>IRF1</i>	クローン病、全身性エリテマトーデス、一型糖尿病
6p21.32	<i>HLA</i>	強直性脊椎炎、関節リウマチ、多発性硬化症、他
6q23.3	<i>TNFAIP3</i>	全身性エリテマトーデス、関節リウマチ、乾癬、他
7p12.2	<i>IKZF1</i>	全身性エリテマトーデス、クローン病、関節リウマチ、他
7q11.23	<i>NCF1</i>	全身性エリテマトーデス、シェーグレン症候群、関節リウマチ、他
7q32.1	<i>IRF5</i>	全身性エリテマトーデス、関節リウマチ、原発性胆汁性胆管炎、他
8p23.1	<i>BLK</i>	全身性エリテマトーデス、川崎病、関節リウマチ、他
9q22.33	<i>PTCSC2</i>	橋本病
9q32	<i>TNFSF15</i>	クローン病、原発性胆汁性胆管炎
9q34.3	<i>CARD9</i>	クローン病、潰瘍性大腸炎
10p15.1	<i>RBM17</i>	多発性硬化症、全身性エリテマトーデス、一型糖尿病、他
10q21.2	<i>LINC02929</i>	クローン病、潰瘍性大腸炎、多発性硬化症
10q24.2	<i>LINC01475</i>	クローン病、潰瘍性大腸炎、橋本病
11q13.5	<i>EMSY</i>	クローン病、潰瘍性大腸炎、一型糖尿病
11q24.3	<i>LINC02098</i>	全身性エリテマトーデス、関節リウマチ、原発性胆汁性胆管炎
12q24.12	<i>SH2B3</i>	橋本病、一型糖尿病、セリアック病、他
16p11.2	<i>ITGAM</i>	全身性エリテマトーデス
16q12.1	<i>NOD2</i>	クローン病
21q22.2	<i>LINC02940</i>	潰瘍性大腸炎、強直性脊椎炎、原発性胆汁性胆管炎、他
Xq28	<i>IRAK1</i>	全身性エリテマトーデス、関節リウマチ

<sup>a</sup>Mapped gene: 各遺伝子座において、疾患感受性との最も有意性が高い関連を示すバリエーションが位置する遺伝子

<sup>b</sup>太字: 該当する遺伝子領域との非常に有意性が高い関連 ( $P < 5.0 \times 10^{-50}$ ) を示した疾患

ヒト遺伝子の中で、抗原提示細胞側に発現する *CD80*・*ICOSLG*・*CD40*・*CD58*、および、T細胞側に発現す

る *CD28*・*CTLA4* は、複数の自己免疫疾患に共通して疾患感受性との有意な関連が報告されている<sup>4)</sup> (図4)。

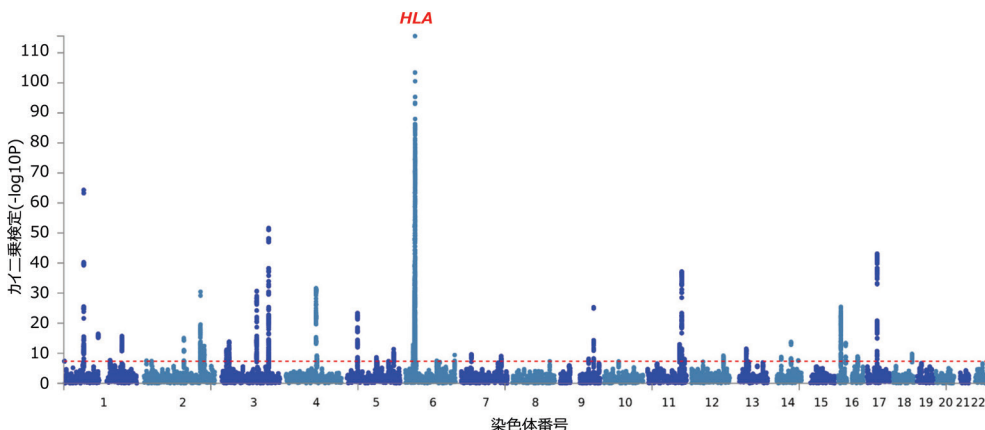


図1 GWAS (国際共同研究) にて同定された原発性胆汁性胆管炎 (PBC) 感受性遺伝子領域 (文献8 改変) 日本・イギリス・イタリア・カナダ・中国における PBC 患者 (10,516 例) と健常対照者 (20,772 例) を用いたメタ GWAS の結果を示す。横軸：それぞれのバリエントにおける染色体上の位置を示す。縦軸：それぞれのバリエントにおける P 値の対数を負で表したもので ("10" は  $P=1.0 \times 10^{-10}$  を示す)、ゲノムワイド有意水準 (赤点線:  $P=5.0 \times 10^{-8}$ ) よりも強い関連を示すバリエントが存在する領域を疾患感受性遺伝子領域という。

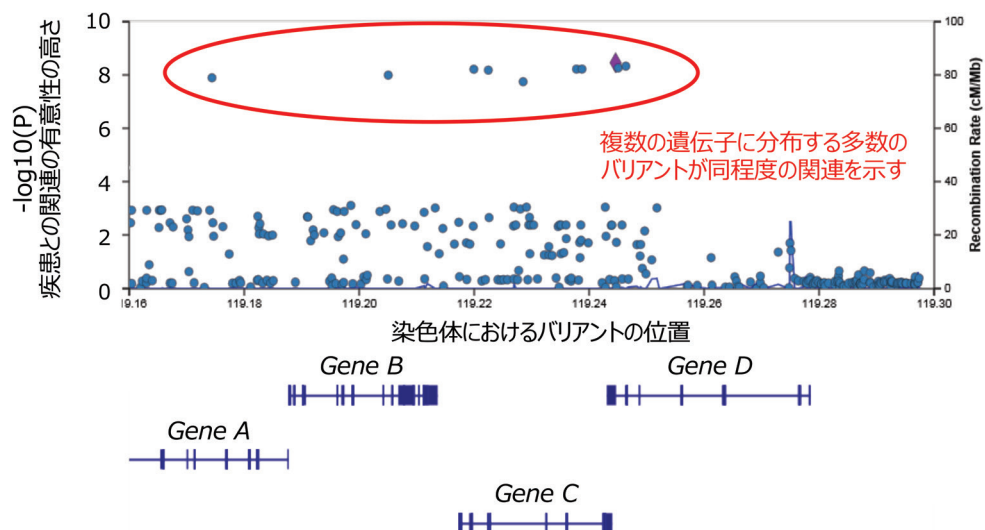


図2 疾患感受性遺伝子領域のバリエントにおける連鎖不平衡の影響

疾患感受性遺伝子領域内は、連鎖不平衡の影響によって、複数の遺伝子に分布する多数のバリエントが同程度の疾患感受性との関連を示す場合がある。そのため、GWAS 単独では、どのバリエントが causal variant であるのか判別できない。

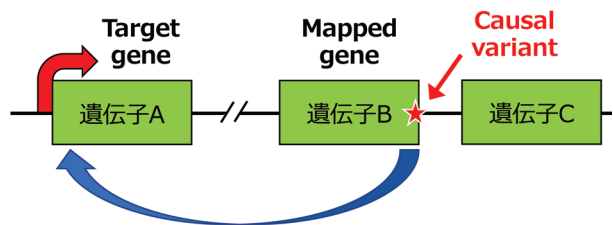


図3 Mapped gene 以外の遺伝子の発現制御 (文献12 改変) 疾患感受性の原因となる causal variant は、必ずしもそれ自身が位置する mapped gene を制御するわけではなく、遠く離れた遺伝子 (target gene) の発現制御を担う場合も散見される。

*In silico* でのバリエント機能予測、および、これまでの知見により、これら6か所の遺伝子において特定された causal variant は、それぞれの mapped gene のタンパク機能 (*ICOSLG*・*CTLA4*)、mRNA 発現量 (*CD58*・*CD80*)、Kozak 配列を介した翻訳量 (*CD40*)、選択的スプライシング効率 (*CD28*) に影響を与えていた (文献15-17、および未発表データ)。特に、*CD28* および *CD58* については、この後の項目にて詳細を示す。

その一方で、抗原提示シグナルを負に制御すること

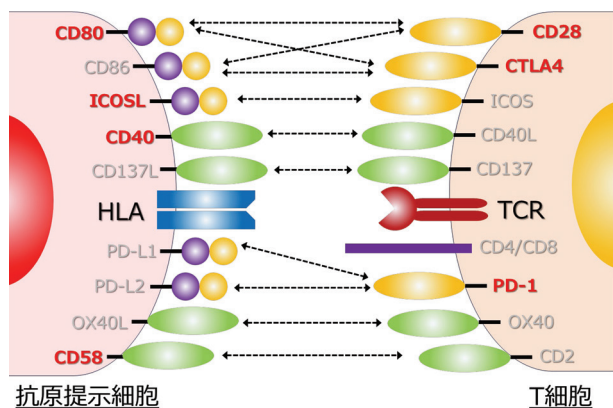


図4 複数の自己免疫疾患との関連を示す抗原提示補助シグナル分子

抗原提示補助シグナル分子をコードする遺伝子の中で、*CD80*・*ICOSLG*・*CD40*・*CD58*・*CD28*・*CTLA4*は、自身が有するバリエントの影響により、遺伝子発現量・スプライシング・タンパク機能への影響を受ける。*PDCDI*は、自己免疫疾患感受性遺伝子領域 *D2HGDH* に位置するバリエントにより、発現制御を受ける。

によって免疫の過剰応答や自己反応性 T 細胞による組織破壊を抑制する Programmed death 1 (PD-1) は<sup>18)</sup>、*PDCDI* によってコードされるが、*PDCDI* 自身は自己免疫疾患との関連は報告されていない。ただ、D-2-ヒドロキシグルタル酸デヒドロゲナーゼをコードする遺伝子 (*D2HGDH*) は複数の自己免疫疾患との関連を示すが、発現量的形質遺伝子座 (e-QTL) 解析の結果、*D2HGDH* の GWAS-lead variant が最も有意性が高い相関を示す遺伝子は、*D2HGDH* ではなく *PDCDI* であった<sup>19)</sup>。このように、疾患感受性遺伝子領域による発症への寄与が mapped gene ではなく target gene によって説明できる例が、この抗原提示補助シグナル分子においても観察された。

#### 4. CD28

CD28 は、T 細胞上に発現する抗原提示補助シグナル分子の一つである。抗原提示細胞に発現する CD80 (別称: B7-1) および CD86 (別称: B7-2) との会合により、CD28 はナイーブ T 細胞の活性化において重要な役割を担う。CD28 の細胞内に位置する YMNМモチーフおよび PYAP モチーフは NFAT・AP-1・NF- $\kappa$ B を介した IL-2 発現亢進に関わり、抗原提示において CD28 と CD80/CD86 との会合による補助シグナルが欠落した場合、IL-2 産生が失われ、その T 細胞はアナジー (不応

答) に陥る<sup>20)</sup>。CD28 が活性化シグナル伝達分子である一方で、活性化した T 細胞には、抑制型シグナル伝達分子である CTLA4 が新たに表面発現する。CTLA4 は CD28 と比べて、CD80/CD86 との約 20 倍もの親和性を有しているため、CTLA4 は CD28 から CD80/CD86 を奪い取る形で、CD28 からの活性化シグナルを適切に抑制制御する<sup>21)</sup>。*Cd28* ノックアウトマウスにおける胚中心形成不全、*ctla4* ノックアウトマウスにおける T 細胞の過剰な活性化および自己免疫様表現型、CD80/CD86 過剰発現と自己免疫との関連など、CD28 ファミリーメンバーは自己免疫疾患に寄与することが多くのエビデンスから明らかとなっている。また、*CD28* 遺伝子や *CTLA4* 遺伝子が位置するヒト 2 番染色体長腕 33.2 は、多発性硬化症 (multiple sclerosis; MS)・RA・PBC・橋本病・セリアック病などの様々な自己免疫疾患に共通する疾患感受性遺伝子領域として報告されている (表1)<sup>4)</sup>。

著者らは、この遺伝子領域における causal variant・target gene の同定、および、ヒト 2 番染色体長腕 33.2 に起因する自己免疫疾患共通の発症機序の解明を目的として、以下の研究を行った。まず、各疾患を対象にこれまでに実施された GWAS における GWAS-lead variant の情報を GWAS catalog より抽出し<sup>4)</sup>、すべての GWAS-lead variant との強い連鎖不平衡を示すバリエント (すなわち、すべての自己免疫疾患に対して疾患感受性との強い連鎖を示すバリエント) として rs4675362 および rs2013278 を同定した。ただし、これらのバリエントは、いずれもヒストン修飾状態 (H3K27Ac など) やオープンクロマチン状態 (DNase 高感受性部位など) に特徴づけられる発現制御領域に位置するものではなかった。その一方、rs2013278 は、スプライシング制御に寄与する Rbfox binding motif 上に位置していた。また、T 細胞には、全長型 CD28、Exon2 の一部が欠落した CD28i、Exon2 の全域が欠落した CD28 $\Delta$ ex2 という、3 種類の CD28 選択的スプライシングアイソフォームが豊富に発現していた。そこで、CRISPR/Cas9 を利用し、rs2013278 の各アレルを細胞株にノックインしたゲノム編集株における CD28 選択的スプライシングアイソフォームの内発性発現量を比較したところ、自己免疫疾患リスクアレル (rs2013278-A アレル) をノックインした細胞株において、全長型 CD28 アイソフォームの有意な発現亢進が観察された。また、3 種類の CD28 選択

的スプライシングアイソフォームのうち、CD28 $\Delta$ ex2 はタンパクレベルでの発現が見られず、CD28i はリガンドである CD86 との結合能を欠損していたことから、CD28i および CD28 $\Delta$ ex2 は機能欠損型アイソフォームであることが判明した (図5)。

以上より、rs2013278 の自己免疫疾患抵抗性アレルでは、機能欠損型アイソフォームの発現を亢進させて CD28 による補助シグナルを阻害することにより、自己免疫性 T 細胞のアナジーを誘導する可能性が示唆された<sup>15)</sup>。

### 5. CD58

CD58 は、免疫細胞や上皮細胞に発現する、抗原提示補助シグナル分子の一つである。抗原提示の際、細胞間の結合を強固にする大規模かつ一過性の分子集合体である「免疫シナプス」が形作られるが、CD58 はそのリガンドである CD2 とともにその役割を担う。機能欠損型 *Cd2* を発現するマウスでは胚中心 B 細胞数が減弱することや、CD58 の過剰発現がヒト自己免疫疾患と関わることなど、CD58 および CD2 もまた、自己免疫疾患に寄与することが明らかになっている。また、ヒト *CD58* 遺伝子領域は、MS・SLE・PBC に共通する疾患感受性遺伝子領域として報告されている (表1)<sup>4)</sup>。

*CD58* 遺伝子領域に位置する全てのバリエントは、*CD58* 以外の遺伝子を含まない約 50kb という範囲で、非常に強い連鎖不平衡状態にあった。この狭い連鎖不平衡ブロック内のすべてのバリエントの中で、すべての GWAS-lead variant との強い連鎖不平衡を示すバリエントは 35 か所存在しており、発現制御領域に位置する rs10924104 は転写因子 ZNF35 (別称: ZFP105) との結合を制御する causal variant であることが判明した。CRISPR/Cas9 を利用し、rs10924104 の各アレルを細胞株にノックインしたゲノム編集株における *CD58* 内在性発現量を比較したところ、自己免疫疾患リスクアレル (rs10924104-A アレル) をノックインした細胞株において、*CD58* の有意な発現亢進が観察された。これは、健康者のヒト末梢 B 細胞および単球において観察された rs10924104 遺伝子型と内在性 *CD58* 発現量との相関パターンと一致する結果であった (図6)<sup>19)</sup>。

以上より、rs10924104 の自己免疫疾患リスクアレルでは、CD58 による補助シグナルを増強することにより、自己免疫性 T 細胞に対する抗原提示を亢進させる可能性が示唆された<sup>16)</sup>。

### 6. おわりに

本稿では、抗原提示補助シグナル分子に焦点を当て、

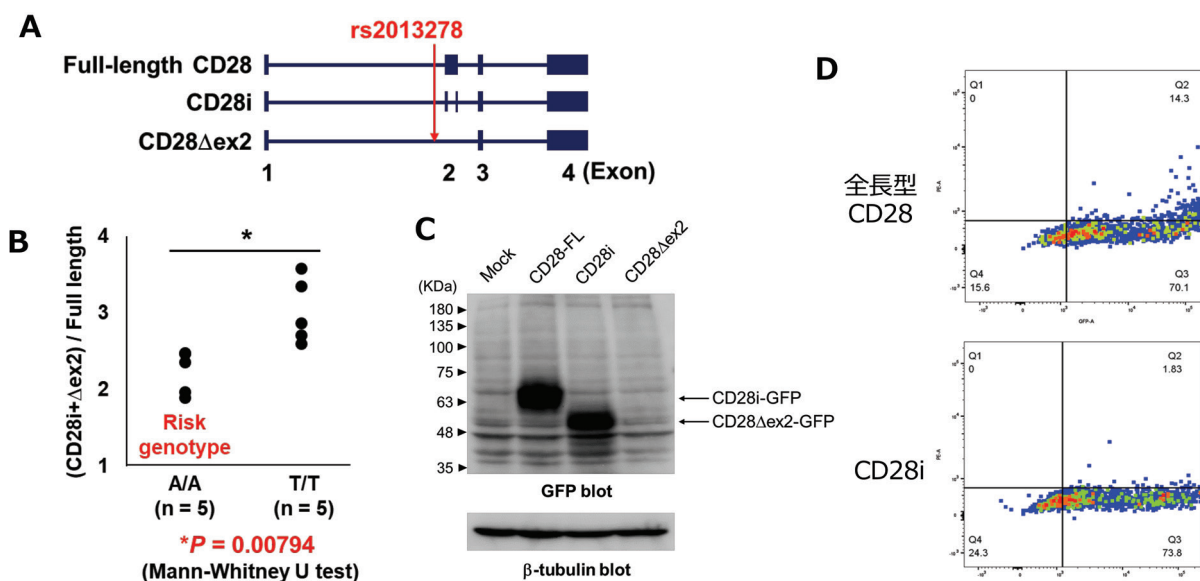


図5 rs2013278 による CD28 スプライシングへの影響 (文献 19 改変)

A: ヒト T 細胞には、3 種類の CD28 選択的スプライシングアイソフォームが存在する。B: CRISPR/Cas9 にて作製した rs2013278 アレルノックイン株では、自己免疫疾患リスクアレルにて CD28 全長型の発現が亢進する。C: CD28 $\Delta$ ex2 は、タンパクレベルで発現しない。D: CD28i は、リガンド結合能を欠損する。



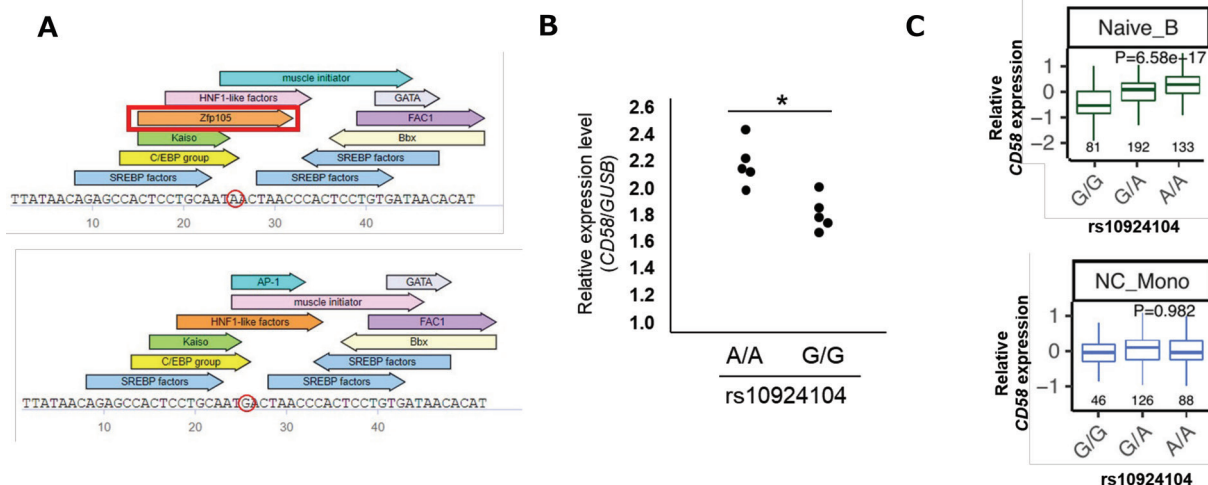


図6 rs10924104によるCD58発現量への影響(文献20 改変)

A: 自己免疫疾患リスクアリル (A アリル) には、転写因子 ZFP105(ZNF35) が特異的に結合する。B: CRISPR/Cas9 にて作製した rs10924104 アリルノックイン株では、自己免疫疾患リスクアリルにて CD58 発現が亢進する。C: 健常者の B 細胞および単球において、rs10924104 と CD58 発現量が強く相関する。

GWAS を用いて同定された自己免疫疾患に共通する疾患感受性遺伝子領域と、そこから想定される病態への関与について紹介した。

自己免疫疾患も含め、多因子疾患を対象とした GWAS は世界中で実施されてきた。最近、数十万から数百万のバリエントの組み合わせをスコア化した指数であるポリジェニックリスクスコア (PRS) の発症予測への活用など、臨床応用を目指して GWAS を活用する研究が加速しつつある。その一方で、mapped gene と target gene が異なる疾患感受性遺伝子領域が予想以上に多い点や<sup>12)</sup>、mRNA 発現レベルとタンパク発現レベルが相関する遺伝子が予想以上に少ない点も浮き彫りになりつつあり<sup>22)</sup>、GWAS の成果を病態解明や創薬へと展開するのは容易ではなく、一筋縄では行かない現状がある。

プロテオームも含めたオミックス解析や AI などの高度な情報解析技術に加え、HLA を中心として長年に渡って蓄積されてきた免疫遺伝学的知見を幅広く有効活用することは、現代の研究者が見落としているかもしれないヒト自己免疫疾患の本質を見抜く鍵となる可能性があり、更なる研究の進展が期待される。

## 7. 謝辞

本稿に記載した一連の研究を遂行するにあたり、徳永勝士博士 (国立国際医療研究センター)、中村稔博士 (長

崎医療センター)、長崎正朗博士 (九州大学) をはじめとして、常日頃よりご指導ご鞭撻いただいている共同研究者の先生方に心からの感謝を申し上げる。

## 8. 利益相反の開示

本研究に関して、開示すべき利益相反は無い。

## 引用文献

- 1) Pishesha N, Harmand TJ, Ploegh HL: A guide to antigen processing and presentation. *Nat Rev Immunol* 22(12): 751-764 (2022).
- 2) Cho JH, Gregersen PK: Genomics and the Multifactorial Nature of Human Autoimmune Disease. *N Engl J Med* 365(17): 1612-1623 (2011).
- 3) Goldstein DB, Chikhi L: Human migrations and population structure: what we know and why it matters. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 3: 129-152 (2002).
- 4) GWAS Catalog. <https://www.ebi.ac.uk/gwas/> (2023年11月時点)
- 5) Nakamura M, Nishida N, Kawashima M, et al: Genome-wide association study identifies TNFSF15 and POU2AF1 as susceptibility loci for primary biliary cirrhosis in the Japanese population. *Am J Hum Genet* 91(4): 721-728 (2012).
- 6) Kawashima M, Hitomi Y, Aiba Y, et al: Genome-wide association studies identify PRKCB as a novel genetic susceptibility locus for primary biliary cholangitis in the Japanese population. *Hum Mol Genet* 26(3): 650-659 (2017).

- 7) Hitomi Y, Ueno K, Kawai Y, et al: POGUT1, the putative effector gene driven by rs2293370 in primary biliary cholangitis susceptibility locus chromosome 3q13.33. *Sci Rep* 9(1): 102 (2019).
- 8) Cordell HJ, Fryett JJ, Ueno K, et al: An international genome-wide meta-analysis of primary biliary cholangitis: Novel risk loci and candidate drugs. *J Hepatol* 75(3): 572-581 (2021).
- 9) Asselta R, Paraboschi EM, Gerussi A, et al: X Chromosome Contribution to the Genetic Architecture of Primary Biliary Cholangitis. *Gastroenterology* 160(7): 2483-2495 (2021).
- 10) Hitomi Y, Aiba Y, Kawai Y, et al: rs1944919 on chromosome 11q23.1 and its effector genes COLCA1/COLCA2 confer susceptibility to primary biliary cholangitis. *Sci Rep* 11(1): 4557 (2021).
- 11) Hitomi Y, Kojima K, Kawashima M, et al: Identification of the functional variant driving ORMDL3 and GSDMB expression in human chromosome 17q12-21 in primary biliary cholangitis. *Sci Rep* 7(1): 2904 (2017).
- 12) Hitomi Y, Nakamura M: The Genetics of Primary Biliary Cholangitis: A GWAS and Post-GWAS Update. *Genes (Basel)* 14(2): 405 (2023).
- 13) Hitomi Y, Tokunaga K: Significance of functional disease-causal/susceptible variants identified by whole-genome analyses for the understanding of human diseases. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* 93(9): 657-676 (2017).
- 14) Smith-Garvin JE, Koretzky GA, Jordan MS: T cell activation. *Annu Rev Immunol* 27: 591-619 (2009).
- 15) Hitomi Y, Aiba Y, Ueno K, et al: rs2013278 in the multiple immunological-trait susceptibility locus CD28 regulates the production of non-functional splicing isoforms. *Hum genomics* 16(1): 46 (2022).
- 16) Hitomi Y, Ueno K, Aiba Y, et al: rs10924104 in the expression enhancer motif of CD58 confers susceptibility to human autoimmune diseases. *Hum Genet* 143(1): 19-33 (2024).
- 17) Sun T, Zhou Y, Yang M, et al: Functional genetic variations in cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 and susceptibility to multiple types of cancer. *Cancer Res* 68(17): 7025-7034 (2008).
- 18) Francisco LM, Sage PT, Sharpe AH: The PD-1 pathway in tolerance and autoimmunity. *Immunol Rev* 236: 219-242 (2010).
- 19) Ota M, Nagafuchi Y, Hatano H, et al: Dynamic landscape of immune cell-specific gene regulation in immune-mediated diseases. *Cell* 184(11): 3006-3021 (2021).
- 20) Esensten JH, Helou YA, Chopra G, et al: CD28 costimulation: from mechanism to therapy. *Immunity* 44(5): 973-988 (2016).
- 21) Engelhardt JJ, Sullivan TJ, Allison JP: CTLA-4 overexpression inhibits T cell responses through a CD28-B7-dependent mechanism. *J Immunol.* 177(2): 1052-1061 (2006).
- 22) Schwanhäusser B, Busse D, Li N, et al: Global quantification of mammalian gene expression control. *Nature* 473(7347): 337-342 (2011).



## Pathogenesis of autoimmune diseases caused by genetic variants of co-stimulatory molecules for antigen presentation

Yuki Hitomi

Department of Human Genetics, Research Institute, National Center for Global Health and Medicine

Autoimmune diseases are caused by a breakdown in the tolerance that evades immune responses to self-antigens, and it is assumed that genetic and environmental factors collectively contribute to their development. To date, numerous disease susceptibility gene loci have been identified using comprehensive genome analysis methods such as genome-wide association studies (GWAS). Among these, genes encoding co-stimulatory molecules that play an important role in antigen presentation from Human Leukocyte Antigen (HLA) to T cell antigen receptor (TCR) have relatively many disease susceptibility gene loci common to multiple autoimmune diseases. It has been revealed that *CD80*, *ICOSLG*, *CD40*, *CD58*, *CD28*, *CTLA4*, and *PDCDI*, are involved in autoimmune diseases because of specific genetic variants by the post-GWAS analyses using *in silico* analyses and the genome editing technologies such as CRISPR/Cas9.

**Key Words:** Autoimmune diseases, Co-stimulatory molecule for antigen presentation, Genome-wide association study (GWAS), Disease susceptibility, Genetic variant

総説

## イヌ MHC 遺伝子群の多型性と犬種内および犬種間における DLA ハプロタイプの特徴

宮前 二期<sup>1)</sup>・岡野 雅春<sup>2)</sup>・片倉 文彦<sup>3)</sup>・森友 忠昭<sup>3)</sup>・椎名 隆<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 岡山理科大学獣医学部 獣医免疫学講座

<sup>2)</sup> 日本大学歯学部 法医学講座

<sup>3)</sup> 日本大学生物資源科学部 獣医学科

<sup>4)</sup> 東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学領域

イヌは小動物臨床における最も重要な伴侶動物の一種である。イヌの主要組織適合性複合体 (Dog leukocyte antigen, DLA) 遺伝子群の多型情報の整備は、疾患関連解析の実施や、造血幹細胞や体性幹細胞の他家移植による再生医療やがん免疫療法などを含む先端獣医療の発展に向けて必須である。これまで DLA class II 遺伝子群については大規模な多型解析が実施されていたが、DLA class I 遺伝子群の多型解析は極めて少なく、多型性は不明であった。筆者らはこれまでに 59 犬種 829 頭の日本国内のイヌについて DLA 多型解析を実施した。本稿では、筆者らが解明した DLA class I 遺伝子領域の新規構造多型や DLA class I 遺伝子群の多型性に加え、DLA class I および class II 遺伝子を含む犬種内および犬種間の DLA ハプロタイプの特徴性について最新の情報を概説する。

キーワード：イヌ, イヌ MHC (DLA) 遺伝子, 多型解析, ハプロタイプの特徴性

### I. はじめに

イヌ (*Domestic dog, Canis lupus familiaris*) は人間の最も主要な伴侶動物の一つであり、小動物臨床における重要な対象動物である。近年の獣医療の発展により、イヌの平均寿命は年々延び続けており、現在 14 歳以上となっている。これに伴い、生活習慣病、自己免疫疾患およびがんなどの加齢性・難治性疾患の症例数が増加しており、これら疾病の原因究明や治療法の開発は小動物臨床の最重要課題の一つとなっている。特に、幹細胞移植による再生医療やがん免疫療法などを含む先端獣医療への注目度は高く、研究開発が盛んに行われている。イヌ主要組織適合性複合体 (Dog leukocyte antigen, DLA) 遺伝子群は疾患関連解析、幹細胞他家移植によ

る再生医療およびがん免疫療法の研究開発と密接に関連することから、その多型情報の整備は小動物臨床のさらなる発展に必須の知見であり、DLA 研究のニーズは国内外で高まっている。また、現在、ケンネルクラブの国際的な包括団体である国際畜犬連盟 (<https://www.fci.be/en/>) には 356 犬種が登録されており、これら各犬種内および犬種間の遺伝学的・免疫学的多様性を理解する上でも DLA 多型情報の整備は重要課題の一つである。

本稿では DLA 遺伝子領域のゲノム構造、DLA 遺伝子群の多型解析の現状、犬種内および犬種間の DLA ハプロタイプの特徴性について、我々の研究データを中心に海外の研究データと比較しながら概説する。

受付日：2023 年 12 月 13 日, 受理日：2024 年 3 月 28 日

代表者連絡先：宮前 二期 〒794-8555 愛媛県今治市いこいの丘 1-3 岡山理科大学獣医学部 獣医免疫学講座  
TEL: 0898-52-9126 (内線 8377) E-mail: j-miyamae@ous.ac.jp

## II. DLA 遺伝子領域のゲノム構造

1990年代にイヌの complementary DNA (cDNA) ライブラリーから、DLA class II 遺伝子である *DLA-DRA*, *DLA-DRB1*, *DLA-DQA1* および *DLA-DQB1*<sup>1-4)</sup> および DLA class I 遺伝子である *DLA-88*, *DLA-12*, *DLA-64* および *DLA-79*<sup>5,6)</sup> の計 8 座の塩基配列がそれぞれ同定された。その後、2004年にバクテリア人工染色体 (Bacterial Artificial Chromosome, BAC) クローンを用いた DLA class II 領域のシーケンス解析が行われ<sup>7)</sup>, さらに、2005年にイヌの全ゲノム配列が決定されたことにより DLA 全領域のゲノム構造が解明された<sup>8)</sup>。また Yuhki らは、DLA 領域とヒト MHC (Human leukocyte antigen, HLA) 領域との詳細な比較ゲノム解析から、DLA 領域は class I 領域の *TRIM26* と *TRIM39* の間で分断され、第 12 染色体上および第 35 染色体上に分かれて位置していることを報告した<sup>9)</sup>。具体的には、第 12 染色体上にはテロメアからセントロメア方向に class I 領域の一部、class III 領域および class II 領域を含む約 2.3 Mb の DLA 領域が位置しており、残りの約 0.1 Mb の class I 領域は第 35 染色体上のテロメア近傍に位置する。これらを合計すると DLA 領域は約 2.4 Mb であり、これは HLA 領域 (約 3.4 Mb) と比

較すると約 1.0 Mb も短い。また、DLA class I 遺伝子の一つである *DLA-79* は第 18 染色体上に位置する。これらの各染色体における DLA 領域の特徴を、HLA 領域のゲノム構造と比較しながら以下に記載した (図 1)。

### 1) 第 35 染色体上の DLA 領域

第 35 染色体上には *TRIM26* よりテロメア側の DLA class I 領域が位置する。この領域には *HLA-A*, *HLA-F* および *HLA-G* に隣接するオーソログ遺伝子 (*ZFP57* および *POLR1H*) が位置しているものの、*HLA-A*, *HLA-F* および *HLA-G* に相当するゲノム領域は欠落しており、DLA class I 遺伝子は認められない。

### 2) 第 12 染色体上の DLA 領域

第 12 染色体上にはテロメア側から、*TRIM39* より上流の DLA class I 領域、class III 領域および class II 領域の順に位置している。*HLA-E* が位置するゲノム領域 (*RPP21-GNL1* 間) には DLA class I 遺伝子は認められないが、*HLA-B* および *HLA-C* が位置するゲノム領域 (*POU5F1-MCCD1* 間) には発現遺伝子として *DLA-88*, *DLA-12* および *DLA-64* が位置する。DLA class II 遺伝子領域については、*HLA-DR*, *HLA-DQ*, *HLA-DM* および *HLA-DO* 領域と同様の位置に *DLA-DR*, *DLA-DQ*, *DLA-DM* および *DLA-DO* 領域が存在し、MHC

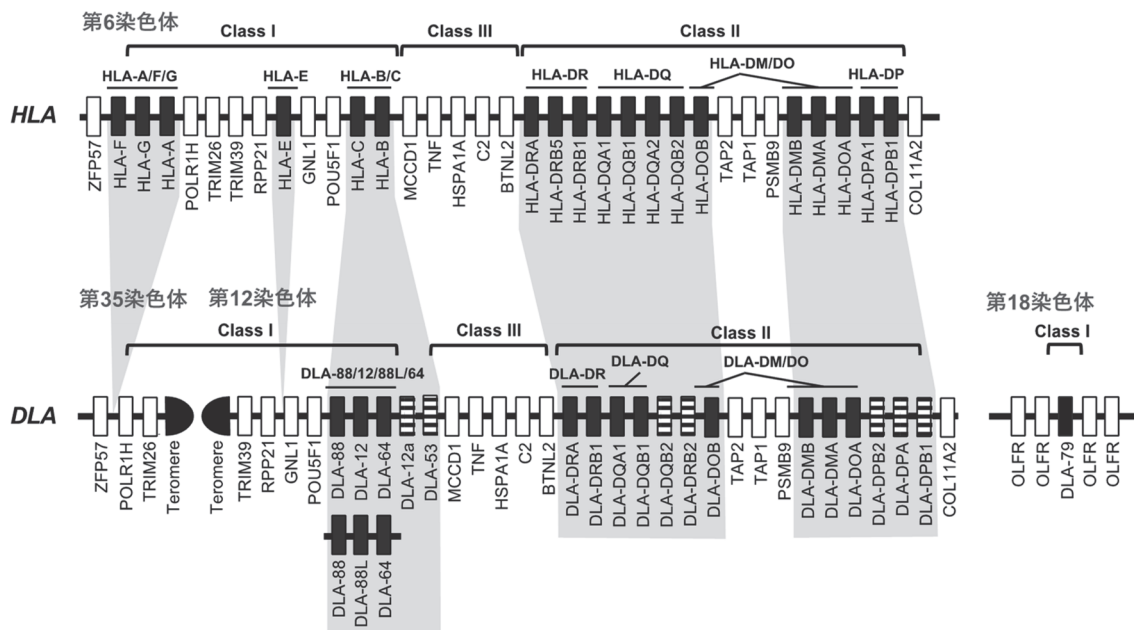


図 1 HLA 領域と DLA 領域のゲノム構造の比較

黒のボックスは MHC 遺伝子、白のボックスは MHC 遺伝子領域に位置する MHC 遺伝子以外の発現遺伝子の一部、横縞のボックスは偽遺伝子をそれぞれ示す。HLA 領域は発現遺伝子のみ示した。作図に用いたゲノム塩基配列は NC\_00006.12 (ヒト), NC\_006594.3 および NC\_00660.3 (イヌ) をそれぞれ参照した。

分子の  $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖をコードする遺伝子 (*DLA-DRA* と *DLA-DRB1*, *DLA-DQA1* と *DLA-DQB1*, *DLA-DMA* と *DLA-DMB*, *DLA-DOA* と *DLA-DOB*) が発現遺伝子として位置する。一方で, *HLA-DP* が位置するイヌ相同ゲノム領域には *DLA-DPA*, *DLA-DPBI* および *DLA-DPB2* が位置するが, いずれも遺伝子構造に不備のある明らかな偽遺伝子であり, イヌでは機能的な DP 遺伝子は認められない<sup>7)</sup>。

### 3) 第 18 染色体上の DLA 領域

第 18 染色体上には嗅覚受容体の遺伝子群 (OLFRs) と連鎖して *DLA-79* が発現遺伝子として位置する。この領域については HLA 領域とのシテニーは認められないことから, *DLA-79* と HLA class I 遺伝子とのオーソログ関連は不明である。

## III. DLA 遺伝子群の多型解析の現状

### 1) DLA class I 遺伝子群 (*DLA-88*, *DLA-12*, *DLA-64* および *DLA-79*) の多型性

1990 年代に DLA 遺伝子群の塩基配列が同定されて以降, ポリメラーゼ連鎖反応 (Polymerase chain reaction, PCR) 法に基づく Sequence-based typing (PCR-SBT) 法が開発され, それに基づく各 DLA class I 遺伝子の多型解析が欧米を中心に進められた<sup>10)</sup>。ところが, 筆者らが DLA 遺伝子群の多型解析に着手した 2015 年時点では, *DLA-79* については約 400 頭の解析から多型性に乏しいことが報告されていたが<sup>11)</sup>, *DLA-88*, *DLA-12* および *DLA-64* については 100 頭程度の解析で停滞していた<sup>12, 13)</sup>。それらの多型解析から, *DLA-88* は最も多型性に富む DLA class I 遺伝子であるのに対して, *DLA-12* および *DLA-64* は *DLA-79* と同様に多型性に乏しい DLA class I 遺伝子とされていたが, 結論付けるには不十分な状況が長年続いていた。また, *DLA-88* については 1 個体から 1~4 アレルが検出されており, 2005 年に解明された DLA 領域のゲノム構造とは異なる未知の構造多型が存在することが示唆されていた<sup>10, 13, 14)</sup>。個体あたり 3~4 アレルを保有する場合, PCR-SBT 法によりアレル判定を行うことは不可能であるため, この事実も DLA class I 遺伝子の多型解析が大幅に遅れた理由であろう。

#### ① DLA class I 遺伝子の新規構造多型の解明

筆者らは, DLA class I 領域に存在する未知の構造多型を解明すべく, *DLA-88*, *DLA-12* および *DLA-*

*64* が位置する約 95 kb のゲノム領域を, Long-range PCR と次世代シーケンサー技術 (Next generation sequencing, NGS) を用いたターゲットリシーケンス解析により詳細に解析した。その結果, IPD-MHC データベースで *DLA-88* のアレルとして分類されていた *DLA-88\*029:01* が実際には *DLA-12* のゲノム領域に位置していることを見出し, この DLA class I 遺伝子を *DLA-88* および *DLA-12* と区別するため *DLA-88-like* (*DLA-88L*) と命名した<sup>15)</sup> (図 2A)。また, *DLA-88*, *DLA-12* および *DLA-88L* において, それぞれ 27, 10 および 4 アレルの全長配列を決定し, それらの比較により各 DLA class I 遺伝子間の塩基配列の差異を詳細に解析した。その結果, *DLA-88L* の塩基配列の大半は *DLA-12* と高い類似性を示したが, 5' 非翻訳領域~イントロン 2 の少なくとも 850 bp は *DLA-88* と高い類似性を示す塩基配列に置き換わっていた<sup>16)</sup> (図 2B)。さらに DLA class I 遺伝子領域には, 2005 年に解明された *DLA-88 - DLA-12 - DLA-64* ハプロタイプの他に, *DLA-88* と *DLA-12* 間の遺伝子変換により生じたと考えられる *DLA-88 - DLA-88L - DLA-64* という新規のハプロタイプが存在することが明らかとなった<sup>16)</sup> (図 1 および図 3C)。従って, それらハプロタイプには, *DLA-12* アレルのホモもしくはヘテロ接合体, *DLA-88L* アレルのホモもしくはヘテロ接合体の他に, *DLA-12* および *DLA-88L* アレルのヘテロ接合体が存在するため, 筆者らは *DLA-12* および *DLA-88L* が位置するゲノム領域を *DLA-12/88L* と定義した<sup>16)</sup>。その後の 829 頭を用いた多型解析では, これまでに少なくとも 20 種類の *DLA-88 - DLA-88L* ハプロタイプを同定しており, これらの *DLA-88 - DLA-88L* ハプロタイプのホモまたはヘテロ接合体からは *DLA-12* は検出されていない<sup>15, 17)</sup>。また, 既報にて *DLA-88* が 3~4 アレル検出されていた個体については, 多型解析に使用した *DLA-88* を増幅するプライマーセットが実際には *DLA-88L* も増幅しており, *DLA-88L* 由来のアレルを *DLA-88* アレルと誤判定していたことが原因であることも明らかとなった<sup>15)</sup>。

近年, NGS を用いたアンプリコンシーケンシング解析による *DLA-88* および *DLA-12/88L* の多型解析の結果が海外から報告された<sup>18)</sup>。この研究では, *DLA-88*, *DLA-12* および *DLA-88L* に共通なプライマーセットを用いて PCR 増幅した後, NGS により解析し, 得られたリー



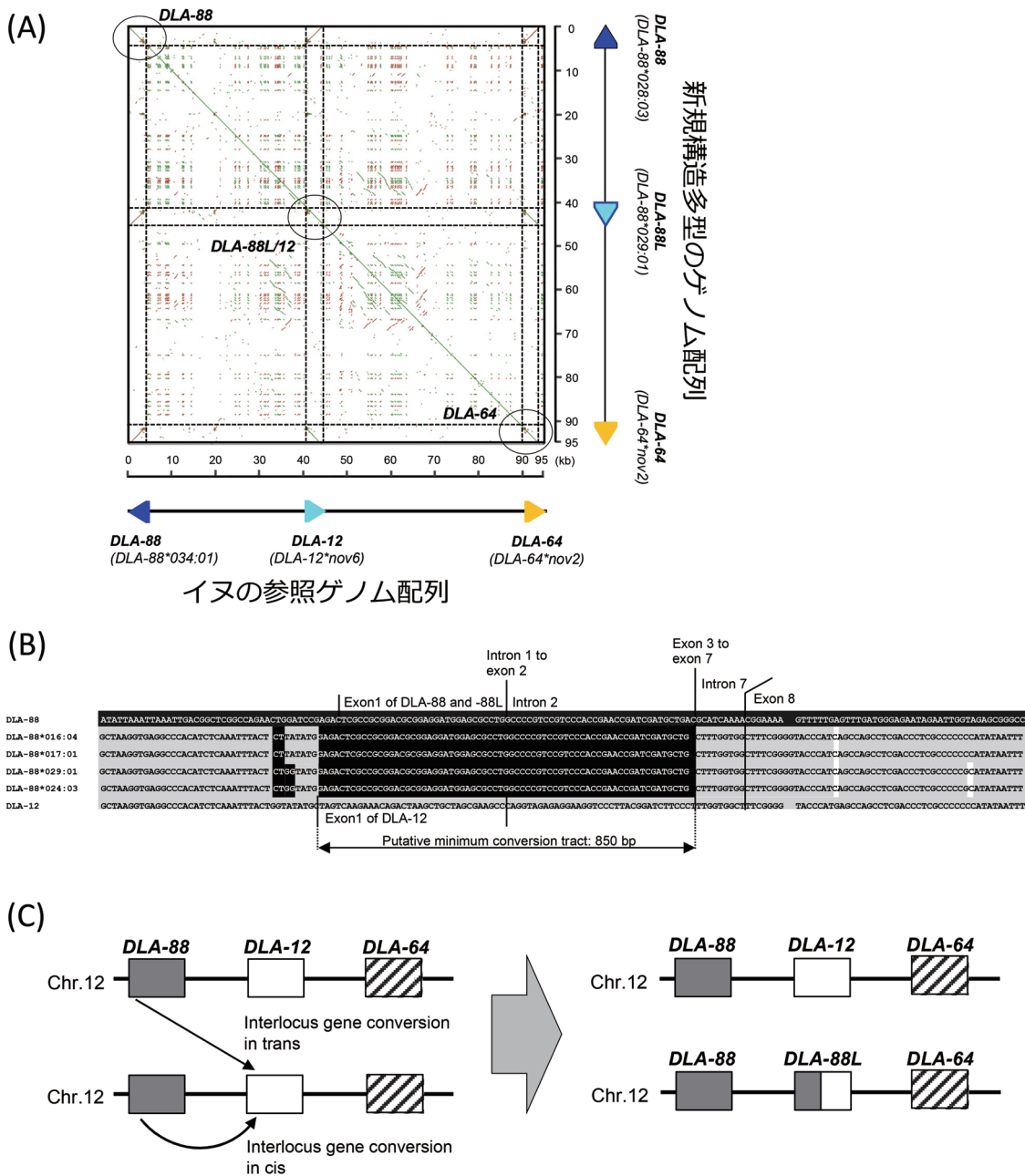


図 2 (A) *DLA-88 - DLA-12 - DLA-64* (NC\_006594) および *DLA-88 - DLA-88L - DLA-64* (LC271133) のドットマトリックス解析 (Miyamae et al, 2018 より改変引用)。 (B) *DLA-88* および *DLA-12* 間の遺伝子変換による推定組換え領域 (Miyamae et al. 2022 より改変引用)。27, 10 および 4 種類の *DLA-88*, *DLA-12* および *DLA-88L* のアレル全長配列をアライメントした後, *DLA-88* アレル間の共通箇所と *DLA-12* アレル間の共通箇所を比較し, 両者の中で異なる箇所の塩基配列を抜き出した。2~5 番目の配列はいずれも *DLA-88L* に由来するアレルを示す。黒背景は *DLA-88* と *DLA-12* の配列を比較した際に, *DLA-88* にのみ認められた塩基配列, 灰色背景は *DLA-12* に特異的な塩基配列をそれぞれ示す。 (C) DLA class I 領域に存在する構造多型の模式図。

ドデータと既知の DLA アレル塩基配列を比較することにより, 各個体が有するアレルを判定している。NGS による解析結果も筆者らの結果と同じく, *DLA-88 - DLA-88L* ハプロタイプのホモまたはヘテロ接合体では, *DLA-12* アレルは検出されていない。しかし, 非常に興

味深いことに, *DLA-88* もしくは *DLA-88L* に由来するアレルを最大で 5 アレル保有する個体が 286 頭中 4 頭検出されており, 未だ解明されていない DLA class I 領域内の新規構造多型や, DLA class I 領域外に転座している未知の DLA class I 遺伝子が存在している可能性が示唆



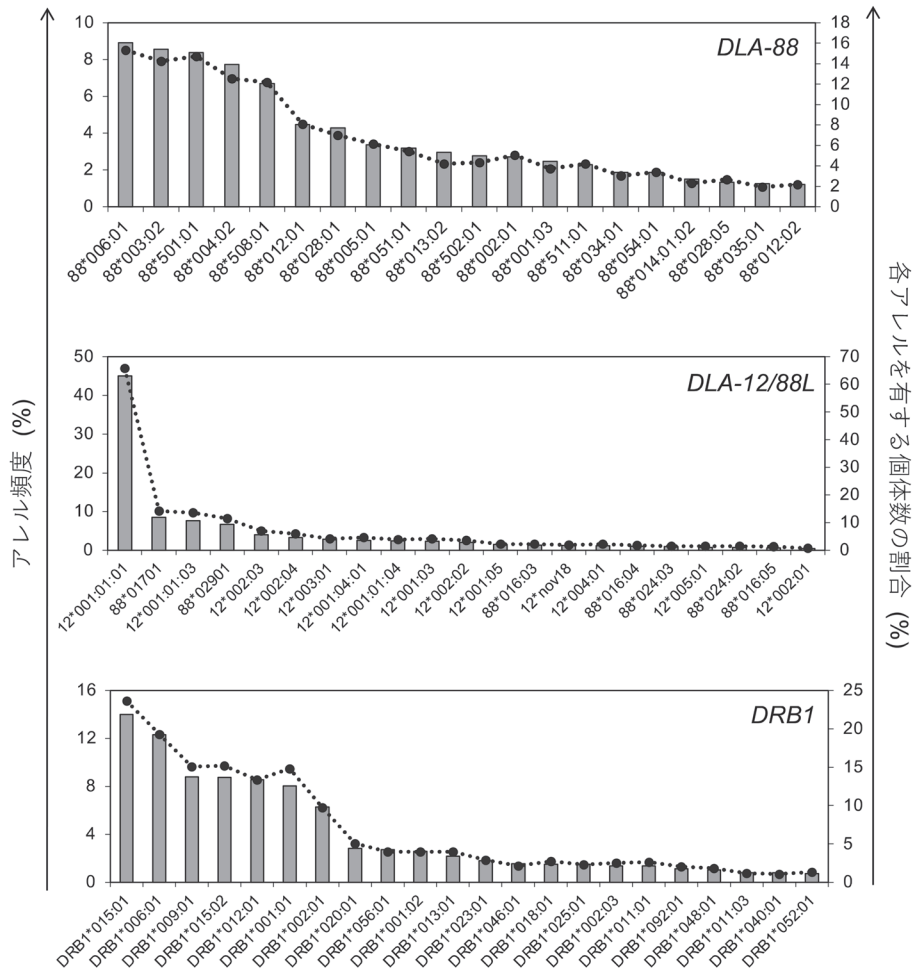


図3 59犬種829頭にて検出された頻度の高い上位20位までの *DLA-88*、*DLA-12/88L* および *DLA-DRB1* アレル (Miyamae et al, 2023 より改変引用)。各アレルのアレル頻度および保有頭数の割合をそれぞれ棒グラフおよび折れ線グラフで示す。

されている。

## ② *DLA class I* 遺伝子 (*DLA-88*, *DLA-12/88L* および *DLA-64*) の多型性

筆者らは、*DLA-88*、*DLA-12/88L* および *DLA-64* において、未知の発現遺伝子が存在する可能性を考慮し、404頭のcDNAサンプルを用いたサンガーシーケンス解析とPCR産物のサブクローニングを併用しながら多型解析を実施した。ところが、cDNAを用いた場合、*DLA-88*と*DLA-88L*を分離して解析することが困難であり、決定したアレル塩基配列がどちらのclass I遺伝子に由来するかを判定することが困難であった。そこで筆者らは、ゲノムDNAサンプルを用いて、*DLA-88*および*DLA-88L*を完全に分離可能なLong-range PCRによるDNAタイピング法を開発した<sup>17)</sup>。本方法を用い

て、*DLA-88*および*DLA-12/88L*については新たに425頭、合計で59犬種829頭の多型情報を得た。すなわち、*DLA-88*には89種類、*DLA-12*には25種類、*DLA-88L*には18種類および*DLA-64*には7種類のアレルが同定され、多型性が乏しいと考えられていた*DLA-12*には、*DLA-88*に次ぐ多型性が観察された<sup>15, 17)</sup>。59犬種829頭において検出されたアレル頻度上位20位までの*DLA-88*アレルおよび*DLA-12/88L*アレルを図3に示した。

筆者らの解析と並行して海外でも約700頭において*DLA-88*と*DLA-88L*を対象とした多型解析が報告されており、計40種類の新規アレルが検出されている<sup>18, 19)</sup>。しかし、これらの研究では、検出された新規アレルが*DLA-88*もしくは*DLA-88L*のどちらに由来するかは判定されていない。また、犬種ごとのタイピングデータは

公開されていないため、現在のところ筆者らが発表した多型情報のみが入手可能である<sup>17)</sup>。

以上の複数施設における多型解析により、DLA-88には139種類、DLA-12には17種類、DLA-64には9種類およびDLA-79には8種類のアレルがIPD-MHCデータベース(Release 3.11.0.0)から公開されている。DLA-88Lアレルについては遺伝子名に“DLA-88”が付与されており、IPD-MHCデータベース上ではDLA-88アレルと区別できないが、前述の多型解析法を用いてDLA-88とDLA-88Lのアレルを完全に分離して解析した結果、139種類中少なくとも13種類がDLA-88L由来であることが判明している<sup>17)</sup>。一方、NCBIデータベース(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)からもDLA class Iアレル配列が公開されているが、IPD-MHCデータベースにofficial alleleとして登録されていない少なくとも60種類以上のアレル配列が存在していることから、今後もDLA class I遺伝子のアレル配列数はさらに増加すると考えられる。

## 2) DLA class II 遺伝子 (DLA-DRA, DLA-DRBI, DLA-DQAI および DLA-DQB1) の多型性

DLA class II 遺伝子については、DLA class I 遺伝子よりも先にサンガーシーケンス解析に基づく多型解析が欧米で進められてきた。その結果、DLA-DRAについてはこれまで1アレルのみが検出されており、多型性は極めて乏しいと考えられている<sup>4, 14)</sup>。これに対して、DLA-DRBI、DLA-DQAI および DLA-DQB1については、200犬種以上の約10,000頭に及ぶ非常に大規模な多型解析が2012年までに行われており、各DLA class II 遺伝子の多型情報や各犬種のDLA class II ハプロタイプの多様性情報が整備されている<sup>14, 20, 21)</sup>。これまでに、DLA-DRBIには161種類、DLA-DQAIには30種類およびDLA-DQB1には79種類のアレル配列がIPD-MHCデータベース(Release 3.11.0.0)から公開されている。筆者らもDLA-DRBIのPCR-SBTを前述の59犬種829頭を用いて実施し、61種類のDLA-DRBIアレルをこれまでに検出している<sup>17)</sup>。欧米での多型解析結果と概ね一致しており、全個体中で最も頻度の高いアレルはDLA-DRBI\*015:01であった<sup>21)</sup>(図3)。

### ①同一犬種における DLA-DRBI アレルの日本—欧米間の比較

イヌの国内外間移動や輸送により、同一犬種であって

も遺伝的に異なる亜集団が形成されることが知られている<sup>22)</sup>。そこで、日本—欧米間の同一犬種におけるDLA遺伝子の多様性の差異を調査するため、筆者らや欧米からのいずれにおいても解析頭数が12頭以上の10犬種(ビーグル、ボーダーコリー、ダックスフンド、ゴールデンレトリバー、ラブラドルレトリバー、ミニチュアシュнауザー、シーズー、アメリカンコッカースパニエル、キャバリアキングチャールズスパニエルおよびヨークシャーテリア)を対象に、検出された各DLA-DRBIアレルを有する個体の割合を比較解析した<sup>17, 21)</sup>。その結果、ビーグルおよびボーダーコリーを除く8犬種においては、各DLA-DRBIアレルの保有頭数に強い相関(相関係数 $r=0.782 \sim 0.975$ )が観察されたが、ビーグルでは中程度の相関( $r=0.453$ )、ボーダーコリーでは相関が無い( $r=-0.159$ )結果が得られた。ビーグルについては、DLA-DRBI\*006:01を有する個体が欧米の74.6%に対して日本国内のビーグルでは10.8%、DLA-DRBI\*001:01を有する個体が日本国内の35.1%に対して欧米では11.9%と大きな頻度差が認められた。また、ボーダーコリーについては、日本および欧米の解析から計12種類のDLA-DRBIアレルが検出され、それらのうちの8種類が日本と欧米で共有されていたが、各アレルの保有個体数の割合が日本—欧米間で大きく異なっていた(表1)。

筆者らの研究結果と同様に、同一犬種におけるDLA遺伝子の多様性の国間の違いが複数の研究から報告されている<sup>23-25)</sup>。例えば、米国のイタリアングレーハウンドにおいては、繁殖に用いる個体が限定された結果、欧州に比べDLA領域のホモ接合率が有意に高まっていることが報告されている<sup>24)</sup>。さらに、自己免疫疾患との関連が報告されているDLAアレルまたはハプロタイプのホモ接合率の増加により、自己免疫疾患の発症リスクが上昇していることも示唆されている<sup>24)</sup>。これらの結果から、各犬種のDLA遺伝子の多様性を正確に把握するには、様々な国や地域間におけるDLA多型情報をさらに蓄積する必要があると考えられる。そして、同一犬種において、地域間でDLA遺伝子の多様性に大きな偏りが認められる場合は、それを是正するブリーディングを進めることで、遺伝学的・免疫学的多様性の向上に加え、自己免疫疾患の制御にも繋がることが期待される。

### ②柴犬と他のイヌ科動物との DLA-DRBI アレルの比較

DLA class II 遺伝子については既に200犬種以上で

表 1 日本—欧米間における各 *DLA-DRB1* アレルの保有頭数の比較

<i>DLA-DRB1</i> *	各アレルの保有頭数の割合 (%)			
	ビーグル ( $r=0.453$ ) <sup>1</sup>		ボーダーコリー ( $r=-0.159$ ) <sup>1</sup>	
	日本 (n=37)	欧米 (n=67)	日本 (n=19)	欧米 (n=22)
<i>001:01</i>	35.1	11.9	31.6	18.2
<i>001:02</i>	51.4	40.3		
<i>002:01</i>	5.4	13.4	36.8	22.7
<i>002:02</i>		4.5		
<i>006:01</i>	10.8	74.6		
<i>008:01</i>		3.0		
<i>009:01</i>			15.8	4.5
<i>012:01</i>			10.5	4.5
<i>013:01</i>	2.7	1.5	5.3	27.3
<i>015:01</i>	29.7	19.4		54.5
<i>015:02</i>	2.7		47.4	9.1
<i>018:01</i>			15.8	4.5
<i>020:01</i>				4.5
<i>023:01</i>	5.4		5.3	22.7
<i>028:01</i>	5.4			
<i>048:01</i>	5.4			
<i>054:01</i>				4.5
<i>095:01</i>			15.8	
<i>novL</i> <sup>2</sup>	2.7			
<b>検出アレル数</b>	<b>11</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>11</b>

<sup>1</sup>  $r$  は各アレルを有する個体数の割合を日本と欧米で比較した際の相関係数を示す。

<sup>2</sup> *novL* は IPD-MHC データベースに登録されていない新規アレルの暫定的なアレル名を示す。

解析されていたにも関わらず、本国でポピュラーな柴犬の多型性は筆者らの研究により初めて明らかにされた。すなわち、柴犬で最も頻度の高いアレルは *DLA-DRB1\*056:01* (アレル頻度: 55.4%) であり、次いで *DLA-DRB1\*092:01* (18.9%) の頻度が高かった。これらのアレルはこれまで他の犬種からは検出されていないことから、柴犬特異的なアレルであると考えられる<sup>21, 26)</sup>。一方、興味深いことに、フィンランドおよびロシアに生息するハイイロオオカミからは 4.0% および 2.9% の頻度で *DLA-DRB1\*056:01* が、カナダとクロアチアに生息するハイイロオオカミからはそれぞれ 6.0% と 11.0% の頻度で *DLA-DRB1\*092:01* がそれぞれ検出されている<sup>27-29)</sup>。近年、ニホンオオカミの全ゲノムシーケンズ解析が行われ、ニホンオオカミはハイイロオオカミ

よりもイヌと遺伝的に近縁であることが報告された<sup>30)</sup>。Gojobori らの研究によると、イヌの祖先がニホンオオカミの祖先と分岐した後、日本犬・オーストラリアに生息する dingo・パプアニューギニアに生息する new guinea singing dog (NGSD) などを含む“東アジアのイヌ”とニホンオオカミとの間で遺伝的交流があったことが分かっている。一方、“欧州やアフリカのイヌ”とニホンオオカミ間の遺伝的交流は認められず、その結果、“東アジアのイヌ”と“欧州やアフリカのイヌ”は系統学的に異なることが示されている<sup>30)</sup>。dingo や NGSD は他のイヌ科動物とあまり交雑することなく各系統が純系に近い形で残存してきた<sup>31)</sup>。しかし、dingo と NGSD の *DLA* 多型解析の結果、これら 2 種からは *DLA-DRB1\*056:01* と *DLA-DRB1\*092:01* は検出され

ていない<sup>32)</sup>。これらの結果を踏まえると、柴犬は他の犬種やイヌ科動物とは異なる形で、DLA 領域を含むゲノム配列をオオカミと共有している稀有な犬種であることが DLA 多型情報を整備することで明らかとなってきた。

日本犬保存会 (<https://www.nihonken-hozonkai.or.jp/>) および石州犬研究室 (<https://sekishuken.jimdofree.com/>) のウェブサイトに掲載されている柴犬系統図によると、柴犬は父系 1 頭および母系 4 ないし 5 頭の祖犬から始まっている。現在では年間 5,000 ~ 10,000 頭が登録される人気犬種となっているものの、祖犬頭数が少ないことから、創始者効果により遺伝的多様性は比較的限定されていると考えられる。実際に、筆者らの解析ではこれまで柴犬からは計 7 種類の *DLA-DRB1* アレルが検出されており、これは柴犬の祖犬頭数からも矛盾しないアレル数である<sup>17)</sup>。遺伝的多様性が限定されることは、その種の生物学的な適応度の低下に繋がりがうるが、柴犬の系統が現在まで保たれてきたことで“欧州やアフリカのイヌ”とは異なる柴犬独自のゲノム配列が維持されてきたのであろう。

#### IV. 各犬種における *DLA-88 - DLA-12/88L - DLA-DRB1 (88-12/88L-DRB1)* ハプロタイプの多様性

DLA class II 遺伝子 3 座のハプロタイプ (DRB1 - DQA1-DQB1) の多様性は詳細に調査されてきた<sup>14, 21)</sup>。その一方で、DLA class I および class II 遺伝子を含むハプロタイプの多様性についてはジャーマンシェパードで報告されているのみであり<sup>33)</sup>、他犬種については情報が全くなかった。そこで、筆者らは、59 犬種 829 頭の多型解析データに基づき、88-12/88L-DRB1 ハプロタイプの推定を行なった。その結果、計 131 種類のハプロタイプが少なくとも 2 回以上検出された<sup>17)</sup>。88-12/88L-DRB1 ハプロタイプのホモ接合率は 23.8% であり、既に報告されている DRB1-DQA1-DQB1 ハプロタイプのホモ接合率 (35%) よりも低かった<sup>14)</sup>。*DLA-DRB1* と *DLA-DQB1* の間の距離は約 100 kb であるのに対し、*DLA-88* と *DLA-DRB1* は約 1.0 Mb 離れている。よって、DRB1-DQA1-DQB1 ハプロタイプは 88-12/88L-DRB1 ハプロタイプよりも組換えが起こりにくく、その結果、ホモ接合率が高い値となったと考えられる。

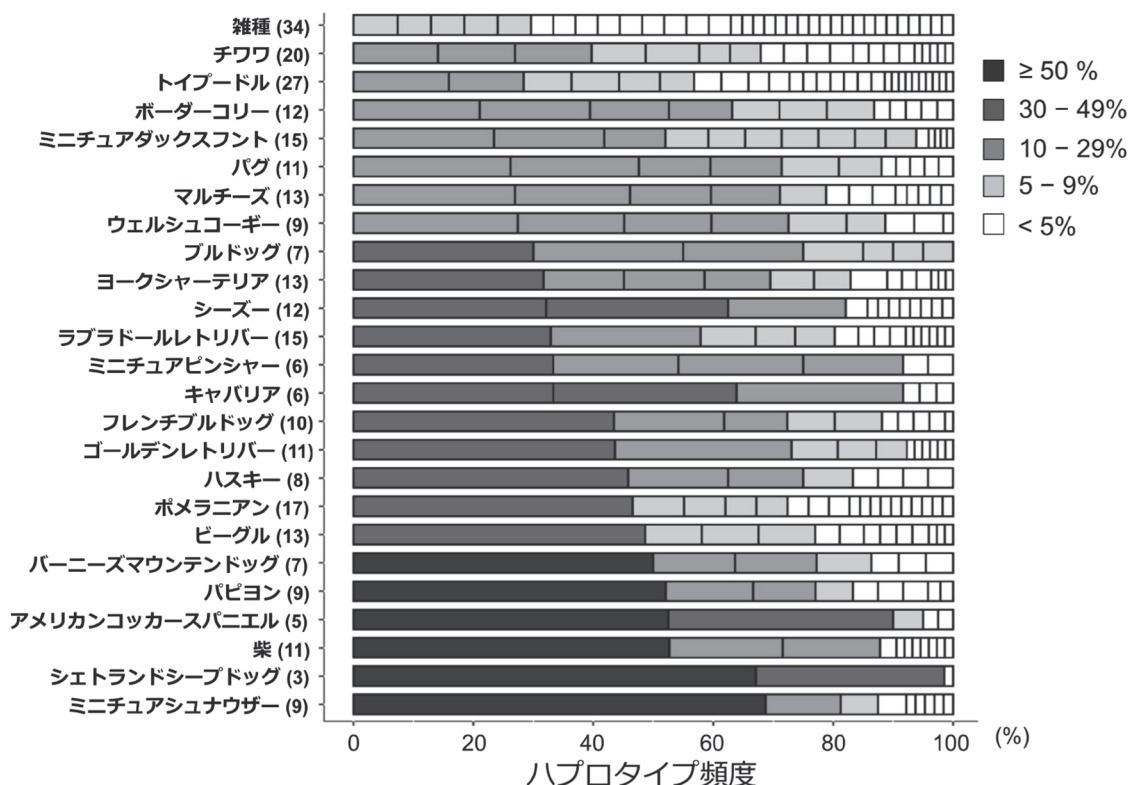


図 4 24 犬種および雑種において検出された *DLA-88 - DLA-12/88L - DLA-DRB1* ハプロタイプの種類および各ハプロタイプの頻度 (Miyamae et al, 2023 より改変引用)。各犬種名に続く数字は、各犬種および雑種で検出されたハプロタイプの種類を示す。



次に、10 頭以上解析された 24 犬種および雑種における DLA ハプロタイプの種類とその頻度を比較解析した (図 4)。検出されたハプロタイプの種類はシェトランドシープドッグの 3 種類からトイプードルの 27 種類と犬種により大きな差異が観察され、その平均ハプロタイプ数は 12.6 種類であった。24 犬種中 5 犬種で 15 種類以上のハプロタイプが検出されたが、その他の 10 犬種ではハプロタイプが 10 種類以下と比較的少なかった。また、24 犬種中 11 犬種が 1 種類で 40% 以上の頻度を占める優勢的なハプロタイプを有し、犬種間で保有するハプロタイプ頻度に大きな偏りが確認された。過去の DRB1-DQA1-DQB1 ハプロタイプの解析においても、同様に 42 犬種中 15 犬種が 40% 以上の頻度を占める優勢的なハプロタイプを有していることが報告されている<sup>14)</sup>。

これら 24 犬種から検出されたハプロタイプは計 115 種類であり、これらのうちの 66 種類は 1 犬種のみで確認された。残りの 49 種類は 2 ~ 10 犬種で共有していたが 5 犬種以上で共有しているハプロタイプはわずか 10 種類であった。また、8 犬種間 (ビーグル, ブルドッグ, ゴールデンレトリバー, 柴犬, シェトランドシープドッグ, ミニチュアピンシャー, ミニチュアシュナウザー, パピヨン) では共通のハプロタイプは一つも確認されなかった。犬種間で共有されているハプロタイプについても、その頻度に大きな差が認められる。例えば 88-88L-DRB1 ハプロタイプの一つである *DLA-88\*003:02 - DLA-88\*017:01 - DLA-DRB1\*002:01* は 4 犬種 (シェトランドシープドッグ, ボーダーコリー, ウェルシュコーギー, パーニーズマウンテンドッグ) で検出されるが、シェトランドシープドッグでは 67.1% と高頻度である一方で、他の 3 犬種では 4.5 ~ 13.1% と比較的低頻度であった。

以上の結果から、DLA ハプロタイプの多様性が高い犬種も存在するが、全体的に犬種内の多様性は比較的限制的である一方で、犬種間では検出されるハプロタイプの種類や頻度に大きな違いが認められ、多様性が高かった。DRB1-DQA1-DQB1 ハプロタイプにおいても同様な傾向が認められており、各犬種を維持するための人為的・選択的なブリーディングプロセスの結果、多くの犬種で特定の DLA ハプロタイプが濃縮され高頻度となり、その一方で犬種間の DLA ハプロタイプの違いが明確化したのであろう<sup>14, 20)</sup>。

## V. 今後の展望

現在、DLA 多型と疾患との関連解析は 30 報以上あるが、DLA class I 遺伝子群を含んだ解析はわずか 2 報と極めて少ない<sup>33, 34)</sup>。これは、DLA class I 遺伝子で最も多型性の高い *DLA-88* 特異的なタイピング法が確立されていなかったことが大きな要因であろう。筆者らが開発したタイピング法は *DLA-88*, *DLA-I2* および *DLA-88L* を完全に分離して解析できることから、DLA class I 遺伝子群を含めた疾患関連解析を促進する有用なツールとなりうる。また、DLA class I 遺伝子群の多型情報はがんワクチンの開発や、幹細胞他家移植による再生医療の発展においても必須の知見となる。特に移植医療については、DLA ハプロタイプのホモ接合率が極めて高いことや犬種内の多様性が比較的限定的であることから、DLA 型適合ドナーの入手が容易であることが予想され、ドナーの選択という観点からイヌでは DLA 適合移植を実施しやすいと考えられる。近年、米国では B 細胞リンパ腫のイヌに DLA 型適合ドナー由来の骨髄を移植することで、9 頭中 8 頭で 4 年以上の生存が認められており、今後、小動物臨床においても移植医療が有用な治療法として定着する可能性は高い<sup>35)</sup>。

我々は世界で初めて各犬種の DLA class I 遺伝子群の多様性を明らかにしてきたが、これまで解析した 829 頭のうち 568 頭 (68.5%) が日本で登録数上位 20 位の犬種で構成されている。そのため、例えば米国で登録数の多いジャーマンシェパードやロットワイラーなどについてはほとんど解析できていない状況である。従って、犬種内および犬種間の DLA の多様性をより正確に評価するためには、解析頭数の少ない犬種についてさらなる多型解析が必要であろう。また、本研究では、収集した各犬種のサンプルが単一のコロニー (ブリーダー) 由来なのか、または複数のコロニー由来なのかについては把握できていない。もし単一のコロニー由来である場合、本研究データはそのコロニー内の限定的な多様性のみを反映し、その犬種全体の多様性は評価できていない可能性がある。さらに、血縁関係にあるサンプルが含まれている場合、遺伝的多様性にバイアスが生じることになるが、本研究では各サンプル間の血縁関係の有無についても調査できていない。よって、DLA 多型情報の整備を進める上で、収集したサンプルが由来するコロニーやブリーダーの情報に加え、各サンプル間の血縁関係の情報を追



跡調査することも今後の重要な課題である。

#### 利益相反

申告すべき事項なし。

#### 引用文献

- 1) Sarmiento UM, Storb R. Nucleotide sequence of a dog DRB cDNA clone. *Immunogenetics*. 1990;31(5-6):396-9.
- 2) Sarmiento UM, DeRose S, Sarmiento JI, Storb R. Allelic variation in the DQ subregion of the canine major histocompatibility complex: I. DQA. *Immunogenetics*. 1992;35:416-20.
- 3) Sarmiento UM, DeRose S, Sarmiento JI, Storb R. Allelic variation in the DQ subregion of the canine major histocompatibility complex: II. DQB. *Immunogenetics*. 1993;37:148-52.
- 4) Wagner J, DeRose S, Burnett R, Storb R. Nucleotide sequence and polymorphism analysis of canine DRA cDNA clones. *Tissue Antigens*. 1995;45(4):284-7.
- 5) Sarmiento UM, Storb R. Nucleotide sequence of a dog class I cDNA clone. *Immunogenetics*. 1990;31(5-6):400-4.
- 6) Burnett R, DeRose S, Wagner J, Store R. Molecular analysis of six dog leukocyte antigen class I sequences including three complete genes, two truncated genes and one full - length processed gene. *Tissue Antigens*. 1997;49(5):484-95.
- 7) Debenham SL, Hart EA, Ashurst JL, Howe KL, Quail MA, Ollier WE, et al. Genomic sequence of the class II region of the canine MHC: comparison with the MHC of other mammalian species. *Genomics*. 2005;85(1):48-59.
- 8) Lindblad-Toh K, Wade CM, Mikkelsen TS, Karlsson EK, Jaffe DB, Kamal M, et al. Genome sequence, comparative analysis and haplotype structure of the domestic dog. *Nature*. 2005;438(7069):803-19.
- 9) Yuhki N, Beck T, Stephens R, Neelam B, O'Brien SJ. Comparative genomic structure of human, dog, and cat MHC: HLA, DLA, and FLA. *Journal of Heredity*. 2007;98(5):390-9.
- 10) Graumann M, DeRose S, Ostrander E, Storb R. Polymorphism analysis of four canine MHC class I genes. *Tissue Antigens*. 1998;51(4):374-81.
- 11) Venkataraman GM, Geraghty D, Fox J, Graves SS, Zellmer E, Storer BE, et al. Canine DLA - 79 gene: an improved typing method, identification of new alleles and its role in graft rejection and graft - versus - host disease. *Tissue Antigens*. 2013;81(4):204-11.
- 12) Wagner J, Hayes - Lattin B, Works J, Storb R. Molecular analysis and polymorphism of the DLA - DQB genes. *Tissue Antigens*. 1998;52(3):242-50.
- 13) Ross P, Buntzman AS, Vincent BG, Grover EN, Gojanovich GS, Collins EJ, et al. Allelic diversity at the DLA - 88 locus in Golden Retriever and Boxer breeds is limited. *Tissue Antigens*. 2012;80(2):175-83.
- 14) Kennedy LJ, Ollier WE, Marti E, Wagner JL, Storb RF. *Canine immunogenetics. The genetics of the dog*: CABI Wallingford UK; 2012. p. 91-135.
- 15) Miyamae J, Suzuki S, Katakura F, Uno S, Tanaka M, Okano M, et al. Identification of novel polymorphisms and two distinct haplotype structures in dog leukocyte antigen class I genes: DLA-88, DLA-12 and DLA-64. *Immunogenetics*. 2018;70:237-55.
- 16) Miyamae J, Okano M, Nishiya K, Katakura F, Kulski JK, Moritomo T, et al. Haplotype structures and polymorphisms of dog leukocyte antigen (DLA) class I loci shaped by intralocus and interlocus recombination events. *Immunogenetics*. 2022:1-15.
- 17) Miyamae J, Okano M, Katakura F, Kulski JK, Moritomo T, Shiina T. Large-Scale Polymorphism Analysis of Dog Leukocyte Antigen Class I and Class II Genes (DLA-88, DLA-12/88L and DLA-DRB1) and Comparison of the Haplotype Diversity between Breeds in Japan. *Cells*. 2023;12(5):809.
- 18) Pyo CW, Harkey MA, Torok - Storb B, Storb R, Wang R, Thomas AS, et al. Genotyping of canine MHC gene DLA - 88 by next - generation sequencing reveals high frequencies of new allele discovery and gene duplication. *Hla*. 2022;100(5):479-90.
- 19) Venkataraman GM, Kennedy LJ, Little MT, Graves SS, Harkey MA, Torok - Storb BJ, et al. Thirteen novel canine dog leukocyte antigen - 88 alleles identified by sequence - based typing. *Hla*. 2017;90(3):165-70.
- 20) Kennedy LJ, Barnes A, Happ G, Quinell R, Bennett D, Angles J, et al. Extensive interbreed, but minimal intrabreed, variation of DLA class II alleles and haplotypes in dogs. *Tissue antigens*. 2002;59(3):194-204.
- 21) Kennedy L, Barnes A, Short A, Brown J, Lester S, Seddon J, et al. Canine DLA diversity: I. New alleles and haplotypes. *Tissue antigens*. 2007;69:272-88.
- 22) Lampi S, Donner J, Anderson H, Pohjoismäki J. Variation in breeding practices and geographic isolation drive subpopulation differentiation, contributing to the loss of genetic diversity within dog breed lineages. *Canine Medicine and Genetics*. 2020;7(1):1-10.
- 23) Angles J, Kennedy L, Pedersen NC. Frequency and distribution of alleles of canine MHC - II DLA - DQB1, DLA - DQA1 and DLA - DRB1 in 25 representative American Kennel Club breeds. *Tissue antigens*. 2005;66(3):173-84.
- 24) Pedersen NC, Liu H, Leonard A, Griffioen L. A search

- for genetic diversity among Italian Greyhounds from Continental Europe and the USA and the effect of inbreeding on susceptibility to autoimmune disease. *Canine genetics and epidemiology*. 2015;2:1-16.
- 25) Gershony LC, Belanger JM, Short AD, Le M, Hytönen MK, Lohi H, et al. DLA class II risk haplotypes for autoimmune diseases in the bearded collie offer insight to autoimmunity signatures across dog breeds. *Canine genetics and epidemiology*. 2019;6(1):1-13.
- 26) Kang M, Ahn B, Youk S, Cho H-s, Choi M, Hong K, et al. High Allelic Diversity of Dog Leukocyte Antigen Class II in East Asian Dogs: Identification of New Alleles and Haplotypes. *Journal of Mammalian Evolution*. 2021;28:773-84.
- 27) Kennedy LJ, Angles JM, Barnes A, Carmichael LE, Radford AD, Ollier WE, et al. DLA-DRB1, DQA1, and DQB1 alleles and haplotypes in North American gray wolves. *Journal of Heredity*. 2007;98(5):491-9.
- 28) Arbanasić H, Huber Đ, Kusak J, Gomerčić T, Hrenović J, Galov A. Extensive polymorphism and evidence of selection pressure on major histocompatibility complex DLA - DRB1, DQA1 and DQB1 class II genes in Croatian grey wolves. *Tissue antigens*. 2013;81(1):19-27.
- 29) Niskanen A, Kennedy L, Ruokonen M, Kojola I, Lohi H, Isomursu M, et al. Balancing selection and heterozygote advantage in major histocompatibility complex loci of the bottlenecked Finnish wolf population. *Molecular Ecology*. 2014;23(4):875-89.
- 30) Gojobori J, Arakawa N, Xiayire X, Matsumoto Y, Matsumura S, Hongo H, et al. The Japanese wolf is most closely related to modern dogs and its ancestral genome has been widely inherited by dogs throughout East Eurasia. *bioRxiv*. 2021:2021.10.10.463851.
- 31) Larson G, Karlsson EK, Perri A, Webster MT, Ho SY, Peters J, et al. Rethinking dog domestication by integrating genetics, archeology, and biogeography. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2012;109(23):8878-83.
- 32) Runstadler J, Angles J, Pedersen N. Dog leucocyte antigen class II diversity and relationships among indigenous dogs of the island nations of Indonesia (Bali), Australia and New Guinea. *Tissue Antigens*. 2006;68(5):418-26.
- 33) Tsai KL, Starr-Moss AN, Venkataraman GM, Robinson C, Kennedy LJ, Steiner JM, et al. Alleles of the major histocompatibility complex play a role in the pathogenesis of pancreatic acinar atrophy in dogs. *Immunogenetics*. 2013;65:501-9.
- 34) Friedenbergs SG, Buhrman G, Chdid L, Olby NJ, Olivry T, Guillaumin J, et al. Evaluation of a DLA-79 allele associated with multiple immune-mediated diseases in dogs. *Immunogenetics*. 2016;68:205-17.
- 35) Gareau A, Sekiguchi T, Warry E, Ripoll AZ, Sullivan E, Westfall T, et al. Allogeneic peripheral blood haematopoietic stem cell transplantation for the treatment of dogs with high - grade B - cell lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*. 2022;20(4):862-70.

## Characterization of the polymorphisms of dog MHC genes and intra- and interbreed DLA haplotype diversity

Jiro Miyamae<sup>1)</sup>, Masaharu Okano<sup>2)</sup>, Fumihiko Katakura<sup>3)</sup>, Tadaaki Moritomo<sup>3)</sup>, Takashi Shiina<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> Faculty of Veterinary Medicine, Okayama University of Science

<sup>2)</sup> Department of Legal Medicine, Nihon University School of Dentistry

<sup>3)</sup> Department of Veterinary Medicine, College of Bioresource Science, Nihon University

<sup>4)</sup> Department of Molecular Life Science, Division of Basic Medical Science and Molecular Medicine, Tokai University School of Medicine

The domestic dog (*Canis lupus familiaris*) is one of the main target animals for small animal clinical medicine. Consolidation of the polymorphism information of Dog MHC (Dog leukocyte antigen: DLA) genes is necessary for discovering disease-associations and developing advanced veterinary medicine of dogs such as regenerative medicine by allo-transplantation of somatic or hematopoietic stem cells and cancer immunotherapy. We have so far conducted polymorphism analysis of the DLA genes in 829 dogs of 59 breeds collected in Japan. In this review, we outlined the current information of the DLA polymorphisms including our research findings such as haplotype structures of the DLA class I loci, estimation of the DLA haplotypes composed of the DLA class I and class II loci, and characteristics of intra- and inter-breed DLA diversity.

**Key Words:** Domestic dog, Dog MHC(DLA) genes, Polymorphism analysis, Haplotype diversity

## 【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

3月は季節の変化を感じさせる天候に見舞われ、桜の開花は例年より遅くなりました。

そんな季節の中、親しかった先輩や上司が職場を卒業した寂しさを感じる間もなく、新たな仲間との出会いに期待感を抱く方もいらっしゃるはずです。

ヒトを含む生物の進化を学ぶ上で、また、最先端の移植医療にも、MHCへの探求は欠かせません。「個」としての成長だけでなく、チームや組織が一丸となって、新たな発見に何かしら寄与できたら、どんなに素晴らしいでしょう。

さて、2024年の第1号は、昨年の学術奨励賞を受賞された先生方の論文が掲載されます。また、精度管理委員会からは、推定アレル一覧表（2024年版）と、第27回QCWSレポートの報告があります。

基礎研究から、医療現場に直結する検査技術のトピックまで、同じナンバーに掲載されるのは、MHCの特徴とも言えるのではないのでしょうか。

今年もその多様性を楽しみましょう！

高 陽淑

日本組織適合性学会ホームページが新しくなりました。

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。

<https://jshi.smoosy.atlas.jp/ja>

## 学会事務局からのお知らせ

本会では会員管理システムを変更いたしました。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.smoosy.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