

# 日本組織適合性学会誌

第 21 巻第 1 号 平成 26 年 4 月 20 日発行

## 目 次

### 日本組織適合性学会からのお知らせ

第 23 回日本組織適合性学会大会のご案内	1
2014 年度学会賞ならびに学術奨励賞の募集について	2
組織適合性検査技術者認定制度 平成 26 年度認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ	5
QCWS ミニ集会の開催および参加希望者募集の案内について	6
平成 25 年度認定 HLA 検査技術者講習会アンケート集計結果	7
日本組織適合性学会認定制度委員会 QCWS 部会名簿 (2014 年)	10

### 第 17 回 HLA-QC ワークショップレポート

—全体経過およびサンプルの総合結果—	田中秀則, 中島文明	11
—検査法別解析 DNA タイピング Luminex 法—	黒田ゆかり	15
—検査法別解析 DNA タイピング SSO 法 (INNO-LiPA) —	安尾美年子	17
—検査法別解析 DNA タイピング SSP 法—	藤井 明美	19
—検査法別解析 DNA タイピング SBT 法—	重成 敦子	20
—検査法別解析 DNA HLA タイピング表記法—	橋口 裕樹	23
—検査法別解析 抗体検査 FlowPRA 法—	石塚 敏	25
—検査法別解析 抗体検査 LABScreen—	二神 貴臣	27
—検査法別解析 抗体検査 WAK&ICFA 法—	高橋 大輔	28
—検査法別解析 その他検査法およびクロスマッチ—	中島 文明	30
—検査法別解析 DNA-QC および結果評価—	石井 博之	31
—部門別解析および結果評価 (抗体部門) —	高 陽淑	33
【追加発言】血液を用いた「クロスマッチ」の実施報告—日本組織適合性学会 QCWS との連携—	橋口 裕樹	35

### 総説

HLA 遺伝子多型からみた日本人集団の混合的起源	中岡 博史, 細道 一善, 光永 滋樹 猪子 英俊, 井ノ上逸朗	37
--------------------------	-------------------------------------	----

第 12 回日本組織適合性学会近畿地方会 抄録集	45
--------------------------	----

日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定	79
----------------------	----

編集後記	82
------	----

## 第 23 回日本組織適合性学会大会のご案内

第 23 回日本組織適合性学会大会  
大会長 平山謙二  
長崎大学熱帯医学研究所 免疫遺伝学  
副大会長 江口 晋  
長崎大学大学院 移植・消化器外科

向春の候、皆様におかれましては益々ご清祥のことと思います。第 23 回大会は「MHC 最前線一人体差の科学と先端医療」をテーマとして、MHC の生物学的な意味を掘り下げるとともに、とくに移植や再生医療など MHC を基盤とした臨床での最前線の成果を取り上げたいと準備しています。会場（長崎大学坂本（医学部）キャンパス）は浦上駅から直ぐで交通便の良いところにあります。多数のご参加をお待ち致しております。なお QCWS, 認定試験, 教育講演は 13 日（土）を予定しております。

**会 期：**平成 26 年 9 月 13 日（土）～ 15 日（月・祝）  
**会 場：**長崎大学医学部キャンパス（坂本キャンパス）  
〒 852-8523 長崎市坂本 1-12-4  
TEL 095-819-7820

### 大会内容（予定）

#### 1. 特別講演

James McCluskey FAA

Professor Microbiology and Immunology, Deputy Vice Chancellor Research, The University of Melbourne, Australia

笹月健彦

九州大学 高等研究院 特別主幹教授

Kyung-Suk Suh

Professor Department of Surgery, Seoul National University College of Medicine, Seoul, Korea

#### 2. シンポジウム 2 題

#### 3. 一般演題・学会賞・学術奨励賞候補者発表

#### 4. QC ワークショップ, QCWS ミニ集会, 認定技術者講習会（大会・教育講演を兼ねる）

#### 5. ランチョンセミナー, その他

### 大会事務局

本大会に関するお問い合わせは、下記の大会事務局にお願いいたします。

〒 852-8102 長崎市坂本 1-7-1

長崎大学大学院 移植・消化器外科

第 23 回 日本組織適合性学会大会 事務局（高槻光寿）

E-mail: jshi23@nagasaki-u.ac.jp

※一般演題募集要項, 参加費, プログラムの詳細, その他については、日本組織適合性学会ホームページで順次お知らせします。なお、演題登録期間は 2014 年 4 月 16 日～ 5 月 30 日を予定しています。

## 2014 年度学会賞ならびに学術奨励賞の募集について

### 会員の皆様

日本組織適合性学会においては、これまで学術奨励賞をもうけて、若手の学会員の奨励に努めてまいりましたが、このたびより権威のある高い賞として位置づけた学会賞も新たに設けることとしました。

この学会賞は組織適合性分野において顕著な業績をあげられた学会員に学会賞として、表彰するものです。その趣旨からいえば、学会を代表する学会員を選ぶ慎重を要する作業であり、推薦された候補者について、公平かつ十分な審議をへて、受賞者を決定すべきものと考えられます。そこでこの機にあたり、学術奨励賞も含めて、各賞候補の資格や選考の手続きなどを明確にした、規定を作成いたしました。本規定において、学会賞は組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野において顕著な業績をあげ、本会の発展に特筆すべき功績を残した者を表彰し、もってその栄誉をたたえることを目的とし、一方学術奨励賞は組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野における秀でた学術的研究を若い会員に奨励するために優れた若手研究者を表彰し、もって組織適合性分野の発展に寄与することを目的としています。

本規定に則り、2014 年度日本組織適合性学会賞並びに学術奨励賞を以下の要領で募集します。従来の学術奨励賞についても若干の変更がありますので、以下の要領にしたがい、ふるってご応募ください。

### 1. 助成内容

組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野において顕著な業績をあげ、本会の発展に特筆すべき功績を残した学会員または名誉会員（年齢制限無し）を授与します。また、2014 年度学術集会大会（第 23 回大会）に応募された一般演題の中から、特に優秀と認められた演題の筆頭演者（応募者）に学術奨励賞（原則として 2013 年 9 月 16 日時点で満 45 才未満）を授与します。授与件数は学会賞 1 名（賞金 10 万円）、学術奨励賞若干名（賞金 5 万円、あるいはそれ以下）を予定しています。

### 2. 応募資格

#### (1) 学会賞

本学会の正会員として、5 年以上の会員歴があり、以下の条件を満たす者とする。

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

#### (2) 学術奨励賞

本学会の正会員であり、以下の条件をすべて満たす者とする。

- 1) 組織適合性ならびに免疫遺伝学の分野に関する学術研究において、その業績が優れていること。
- 2) 当該年度の会費を納入済みであること、または当該年度の大会までに正会員として会費を納入すること。
- 3) 学術奨励賞を受賞した者は、原則として次年度以降も正会員を継続すること。
- 4) 当該年度の大会に、筆頭演者として演題に応募すること。
- 5) 応募しようとする演題の内容において、応募者が中心的な役割を果たしたこと。
- 6) 応募しようとする演題の内容が、本学会にふさわしく、かつ未発表であること。

- 7) 受賞後に、受賞対象となった研究の内容について、MHC へ原著論文あるいは総説を執筆すること。
- 8) 過去 3 年間に学術奨励賞を受賞していないこと。
- 9) 学術奨励賞の応募者は当該年度の 4 月 1 日において、原則として 45 才以下であること。

### 3. 応募・推薦方法

#### (1) 学会賞

学会賞は自薦または他薦とし、前年度の 3 月末までに、候補者に関する以下の書類を日本組織適合性学会事務局 (e-mail: mxnishim@gpo.kumamoto-u.ac.jp) にメール添付で提出する。なお、他薦の場合には、推薦者は正会員であることが必要です。

##### 1) 履歴書

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

##### 2) 業績概要

書式は自由とし、A4 版用紙にて 2～3 枚程度とする。

##### 3) 論文業績リスト

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

##### 4) 応募動機 (他薦の場合は推薦書)

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

#### (2) 学術奨励賞

学術奨励賞に応募しようとする会員は、演題申込み締切りまでに、以下の書類を日本組織適合性学会事務局 (e-mail: mxnishim@gpo.kumamoto-u.ac.jp) にメール添付で提出する。

##### 1) 抄録

一般演題に応募した抄録

##### 2) 応募ファイル

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

### 4. 選考および結果通知について

#### (1) 学会賞

会長および学術賞担当理事と、会長が推薦し理事会が承認した 5 名の評議員により構成される学会賞選考委員会が選考を行う。委員会は、応募・推薦のあった学会賞受賞候補者より、1 名を受賞候補者として選考した後に、これを理事会に推薦するものとする。なお、委員は密接な利害関係者の審査に加わらない。理事会は、学会賞選考委員会から推薦された受賞候補者 1 名について審議し、受賞者を決定した後に、評議員会の承認を経て総会に報告するものとする。

#### (2) 学術奨励賞

学術奨励賞学術賞担当理事により推薦された若干名の評議員によって構成される学術奨励賞選考委員会が選考を行う。委員会は、応募のあった奨励賞受賞候補者の中から、第 23 回大会中の各候補者の口頭発表内容の評価等を参考にして、奨励賞選考委員会にて若干名を受賞候補者として選考した後、これを

会長に推薦し、承認を得る。なお、委員は密接な利害関係者の審査に加わらない。第 22 回大会期間中に選考結果を公表し、表彰式を実施する。

## 5. 受賞者にかかる義務について

### (1) 学会賞

学会賞受賞者は、原則として受賞年度に開催される大会期間中に、受賞講演を行う。

### (2) 学術奨励賞

学術奨励賞受賞者は、助成が行われた研究課題についての報告書（様式は別途通知します）を学会宛に提出する。

## 6. 助成金の使途

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

## 7. 問い合わせ先

本件に関する問い合わせは学会事務局（Tel: 096-373-5310, Fax: 096-373-5314, e-mail: jshijimu@kumamoto-u.ac.jp 及び mxnishim@gpo.kumamoto-u.ac.jp）または学術奨励賞担当理事 猪子英俊（e-mail: hinoko@is.icc.u-tokai.ac.jp）にお願いします。

**組織適合性検査技術者認定制度  
平成 26 年度 認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ**

組織適合性検査技術者認定制度委員会

委員長 田中 秀則

組織適合性検査技術者認定制度委員会教育部会

部会長 太田 正穂

**日 時**：平成 26 年 9 月 13 日（土曜日）時刻：10 時～12 時の予定

**会 場**：第 23 回・日本組織適合性学会 大会会場  
長崎大学医学部キャンパス（坂本キャンパス）の予定  
日時と会場は確定次第，学会ホームページに掲載します。

**テキスト**：テキストは講習会の約 1 ヶ月前に，学会ホームページ上に掲載しますので各自，御参照ください。  
会場でのテキストの販売は，いたしません。

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

**内 容**：各講習とも質疑応答を含めて，35 分を予定しています。

**(1) HLA に関する基礎医学的な講演**

徳永 勝士（東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野・教授）  
「HLA 遺伝子群の多型データの活用」

**(2) HLA タイピングあるいは抗 HLA 抗体検査に関する講演**

小島 裕人（公益財団法人 HLA 研究所）  
「16th IHWS と 39th ASHI からみた HLA 検査の現状」

**(3) 臓器移植の臨床医学に関する講演**

湯沢 賢治（国立病院機構水戸医療センター・臓器移植外科医長）  
「腎移植の現況と組織適合性検査のかかわり」

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

## QCWS ミニ集会の開催および参加希望者募集の案内について

認定制度委員会 QCWS 部会

日本組織適合性学会では、組織適合性検査実施施設の検査精度の維持および向上を目的とする QCWS（クオリティコントロールワークショップ）と大会期間中の QCWS 集会を、認定制度委員会 QCWS 部会の担当で年 1 回実施しております。

しかし、現状の QCWS 集会では、組織適合性検査の初心者や各検査法に関する基礎的な情報の修得を要望する会員に、十分な説明を行う時間を確保できない状況があります。

そこで下記の通り、HLA および HLA 検査に関する基礎的な内容の教育訓練を目的として、「QCWS ミニ集会」を大会期間中に開催することに致しました。

### 記

1. 対 象：学会員および大会参加者  
(組織適合検査の初心者で、HLA の基礎的内容の教育訓練を希望する方)
2. 日 時：日本組織適合性学会・第 23 回大会期間中  
平成 26 年 9 月 14 日午前：QCWS ミニ集会 1 (HLA の基礎知識)  
平成 26 年 9 月 15 日午前：QCWS ミニ集会 2 (移植における HLA の基礎)
3. 会 場：ポンペ会館 (第 23 回大会会場：長崎大学医学部キャンパス内)
4. 定 員：各集会ともに 20 名程度  
(定員数を超える場合は、QCWS 部会で選考を行う場合があります。)
5. 参加費：無料
6. その他：申し込みに関する詳細は 6 月中旬に、日本組織適合性学会のホームページ (<http://jshi.umin.ac.jp/>) に掲載致します (応募締め切りは、7 月末を予定しています)。

以上

## 平成 25 年度認定 HLA 検査技術者講習会アンケート集計結果

開催日時：平成 25 年 9 月 14 日（土）10:00～12:00

会 場：第 22 回・日本組織適合性学会 大会会場

コラッセふくしま 多目的センター A・B（4F）

（福島県産業振興センター：福島市三河町 1 番 20 号）

### 1) 旅費・滞在費の財源について 回答者 76 名

① 私費	12 名 (15.8%)
② 職場からの支援	63 名 (82.9%)
③ その他	1 名 (1.3%)

③その他の内訳：研究費から 2 名，①と②を半額ずつ 2 名

### 2) 職場・職務について

職場 回答者 76 名

① 病院	35 名 (46.1%)
② 血液センター	14 名 (18.4%)
③ 検査センター	10 名 (13.2%)
④ 大学（国公立，私立）	9 名 (11.8%)
⑤ 民間企業	6 名 (7.9%)
⑥ その他	2 名 (2.6%)

職務 回答者 81 名

① 臨床医	2 名 (2.5%)
② 臨床検査業務	52 名 (64.2%)
③ 検査受託業務	8 名 (9.9%)
④ 製造業関連業務	5 名 (6.1%)
⑤ 製品開発業務	2 名 (2.5%)
⑥ 教育業務	1 名 (1.2%)
⑦ 研究業務	8 名 (9.9%)
⑧ その他	3 名 (3.7%)

### 3) 参加者の認定制度への関わりについて

認定資格の取得状況および取得への希望 回答者 71 名

①資格取得済み 33 名 (46.5%) ②資格取得希望 35 名 (49.3%) ③資格取得希望しない 3 名 (4.2%)

取得済みまたは取得を希望する資格 回答者 45 名

①認定技術者 44 名 (97.8%) ②認定指導者 1 名 (2.2%)

4) 学会ホームページに掲載された、講習会テキストの事前確認の有無 回答者 76 名  
あり 64 名 (84.2%) なし 12 名 (15.8%)

5) 講習科目の種類は適切であったか? (数値は 5 点満点の平均点)

平均点 4.7

評価の基準：5：すべての科目において適切であった。  
4：一部の科目に問題があったが、ほぼ適切であった。  
3：約半数の科目は適切であった。  
2：多くの科目について不適切であった。  
1：すべての科目について不適切であった。

6) 講習内容のレベルならびに講習テキストは適切であったか? (数値は 5 点満点の平均点)

	講演評価	テキスト評価
平均点	3.8	3.8

評価の基準：5：すべて理解できた。  
4：一部は難解であったがほぼ理解できた。  
3：約半分は理解できた。  
2：多くの内容について難解であった。  
1：すべての内容が難解であった。

7) 講習時間は量的に適切であったか? (数値は 5 点満点の平均点)

時間評価平均点	その他 要望
4.0	複雑な内容なので講演時間を長くしてほしい。 内容が難しく理解に時間がかかる。 アロ HLA 抗原の内容はとても興味深かった。 免疫学の授業を学生の時に受けられたらよかったと思うほどおもしろかった。 難しい分野だがわかりやすかった。 スライドコピーかメモ等を配布してほしい。 HLA 抗体検査の話が分かりやすく聴講しやすかった。 テキスト印刷がわかりにくい。

評価の基準：5：適切であった。  
4：ほぼ適切であった。  
3：もっと長時間の講習を受けたかった。  
2：講習時間はもう少し短くてもよかった。  
1：その他

## 8) 講習会の開催通知は適切であったか？（数値は 5 点満点の平均点）

平均点 4.8

評価の基準：5：適切であった。
4：あやうく見落とすところであった。
3：他の人から情報を得るまで気が付かなかった。
2：その他

情報の入手経路	回答数
ホームページ	17 名 (89%)
メール	2 名 (11%)

## 9) その他の意見

## ①講習・テキストについて

- ・各先生方の話は詳しく解りやすくまとめてあり、また貴重な資料・テキストであった。
- ・抄録集を前もって郵送してほしい。
- ・テキストをもうすこし早く掲載してほしい。
- ・学会誌を復活してほしい。

## ②会場及び開催時期について

- ・時間帯：遠方からの参加者が集会しやすい時間帯にしてほしい。
- ・短時間で良いので途中休憩をいれてほしい。
- ・福島は遠すぎる。
- ・開催日程を木・金・土にしてほしい。
- ・宿泊施設が豊富で、交通の便の良い所で開催してほしい。
- ・開催地は大多数の人が行きやすい交通事情の良い所にしてほしい。
- ・今回宿泊ホテルの予約が取れにくかったのでホテルの沢山あるところにしてほしい。
- ・開催時間が早すぎる。遠方からだと出席できないので午後からの開始にしてほしい。

## 日本組織適合性学会認定制度委員会 QCWS 部会名簿 (2014 年)

担 当	氏 名	所 属
部 会 長:	田中秀則	日本赤十字社 中央血液研究所 中央骨髄データセンター
副 部 会 長:	中島文明	日本赤十字社 中央血液研究所 研究開発部
副 部 会 長:	成瀬妙子	東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態分野
・ 企画解析部門		
臓器移植分野:	湯沢賢治	国立病院機構水戸医療センター 臨床研究部移植医療研究室
造血幹移植分野:	一戸辰夫	広島大学 原爆放射線医科学研究所 血液・腫瘍内科研究分野
輸血分野:	高陽淑	日本赤十字社 近畿ブロック血液センター 検査三課
・ 試料管理部門		
DNA-QC 担当:	安波道郎	長崎大学 熱帯医学研究所
抗体-QC 担当:	中島文明	日本赤十字社 中央血液研究所 研究開発部
・ 部 会 員:		
	石塚 敏	東京女子医科大学 中央検査部 移植関連検査室
	太田正穂	信州大学 医学部 法医学教室
	吉川枝里	東海大学 医学部基礎医学系分子生命科学
	木村彰方	東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態分野
	小林孝彰	名古屋大学 移植免疫学寄附講座
	宮崎 孔	日本赤十字社 北海道ブロック血液センター 検査一課
	森島泰雄	愛知県がんセンター研究所 疫学・予防部
	橋口裕樹	福岡赤十字病院
	山本 賢	国立病院機構 大阪医療センター 臨床検査部

事務局：日本赤十字社 血液事業本部内

## 第17回 HLA-QC ワークショップレポート

# 第17回 HLA-QC ワークショップレポート —全体経過およびサンプルの総合結果—

田中秀則<sup>1)</sup>・中島文明<sup>1)</sup>

日本組織適合性学会組織適合性技術者認定制度委員会QCWS部会<sup>#</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

### 1. ワークショップの経過

平成25年1月にQCWS開催及び参加申込みの案内を、学会誌および学会ホームページ（以下、学会HP）に掲載し、平成25年2月までに72施設（DNA-QC:67施設、抗体QC:50施設）からの参加申し込みがあった（表1）。参加施設への連絡およびデータ収集は、電子メールで行った。

DNA-QCおよび抗体QCに用いる試料の選択は、第21回大会会期中に開催したQCWS部会で協議した基本的な方針に従った。

また、各施設から提出された結果の解析は、検査法別と臨床部門別に解析を行うこととし、臨床部門（以下4部門、輸血、臓器移植、造血幹細胞移植、その他（研究等））については、参加申込書の記載に従った。

4月3日に試料を発送し、4月8日にQCWS結果入力用のシートファイルをメールの添付ファイルとして参加施設に配布し、結果提出の締切りを5月11日とした。最終的には57施設（DNA-QC:53施設、抗体QC:37施設）から結果が提出された。5～6月中旬に生データの取りまとめ、6月25日に各解析担当者にデータが配布され、解析が行われた。各検査法別の解析結果を7月20日に締め切り、8月上旬までの間、各検査法解析担当者間で解析結果の取り纏めについてメールでのディス

カッションを行い、解析結果の公表内容を統一化した。平成25年8月中旬までに、最終報告データを作成し、解析結果をホームページで公開し、参加者が必要に応じてダウンロード出来るようにした。また、解析結果はQCWS集会での報告及び本学会誌（MHC）への掲載を行った。

### 2. QCWSのテーマおよび試料選択について

DNA-QCのテーマは、①正確なDNAタイピングが出来ることおよび第2区域まで判定されること、②DNAタイピング結果の表記を正しく記述できること、③学会の表記法に従い正確に表記すること、④DNAタイピング結果に対応したHLA抗原型に正確に読替えること、⑤日本人集団におけるambiguityとなるアリのルの解説の5点とした。

また、試料については、前年度のQCWS部会で協議した「日本人由来の細胞で高頻度に検出されるHLA型であること」、「日本人由来で稀なHLAアリルであること」の要件に合う細胞を4種類購入し、抽出したDNAの配布を行った。

抗体QCのテーマは、①抗体検出が正確に行えること、②エピトープと許容抗原により正確な抗体特異性解析が行えること、③検査結果から導かれる総合判定結果を正しく報告できることの3点とし、テーマに沿った4検体

<sup>#</sup> 日本組織適合性学会 組織適合性技術者認定制度委員会 QCWS 部会員

田中秀則<sup>1)</sup>、中島文明<sup>1)</sup>、成瀬妙子<sup>2)</sup>、一戸辰夫<sup>3)</sup>、石塚 敏<sup>4)</sup>、太田正穂<sup>5)</sup>、吉川枝里<sup>6)</sup>、木村彰方<sup>2)</sup>、高 陽淑<sup>7)</sup>、小林孝彰<sup>8)</sup>、橋口裕樹<sup>9)</sup>、宮崎 孔<sup>10)</sup>、森島泰雄<sup>11)</sup>、安波道郎<sup>12)</sup>、山本 賢<sup>13)</sup>、湯沢賢治<sup>14)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社中央血液研究所、<sup>2)</sup> 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野、<sup>3)</sup> 東京女子医科大学中央検査部移植関連検査室、<sup>4)</sup> 広島大学原爆放射線医学研究所血液・腫瘍内科研究分野、<sup>5)</sup> 信州大学医学部、<sup>6)</sup> 東海大学医学部生命科学、<sup>7)</sup> 日本赤十字社近畿ブロック血液センター、<sup>8)</sup> 名古屋大学移植免疫学寄附講座、<sup>9)</sup> 福岡赤十字病院、<sup>10)</sup> 日本赤十字社北海道ブロック血液センター、<sup>11)</sup> 愛知県がんセンター研究所疫学・予防部、<sup>12)</sup> 長崎大学熱帯医学研究所、<sup>13)</sup> 国立病院機構大阪医療センター臨床検査部、<sup>14)</sup> 国立病院機構水戸医療センター臨床研究部移植医療研究室

を選択し、配布することとした。また、配布する検体は、「日本人に通常検出される HLA 抗体」を保有する検体で、一部の試料では、HLA-C 座抗原に対する抗体、IgM 性抗体、HLA 以外の分子に対して非特異的な反応を示す場合もある。

また、交差適合試験については、クロスマッチ試験の現状把握のため、以下の2通りで試行することとし、参加申込みの受付を行った。

①配布した抗体 QC の検体と各施設で準備した細胞でのダイレクトクロスマッチ

②抗体 QC 試料と DNA-QC 試料の測定結果による仮想クロスマッチ

3. 解析方法

検査法別解析は、DNA-QC では① Luminex (SSO 法)、② イノリパ (SSO 法)、③ SSP 法、④ SBT 法および⑤結果の表記法について、抗体 QC では、① FlowPRA 法、

② Lab Screen、③ WAK Flow および ICFA 法、④その他検査法およびクロスマッチの4法について解析を行った。

部門別解析は、各検査法別の解析結果から、各参加部門(輸血・臓器移植・造血幹細胞移植)での検査実施状況の解析および「HLA-QC ワークショップ結果評価の基準」に従った提出結果の評価を行い、その状況について解析した。各解析分担項目と解析担当者(所属)は、以下のとおりである。

1) タイピング結果解析

Luminex (SSO 法) について

九州ブロック血液センター 黒田ゆかり

イノリパ (SSO 法) について

東京女子医科大学中央検査部 安尾美年子

SSP 法について

県立広島病院臨床研究検査科 藤井 明美

SBT 法について

東海大学医学部 重成 敦子

表1 第17回 QCWS 参加施設

(受付日付順)

1	北里大学病院	臨床検査部 DNA検査室	37	公立大学法人 横浜市立大学附属病院	輸血・細胞治療部
2	関西医科大学附属枚方病院	輸血・細胞療法部	38	大分県立病院	輸血部
3	株式会社ビー・エム・エル	第三検査部 ゲノム検査課	39	筑波大学	消化器外科研究室
4	福島県立医科大学附属病院	輸血・移植免疫部	40	東京女子医科大学	中央検査部 移植関連検査室
5	仙台社会保険病院	検査部	41	金沢医科大学病院	北陸腎移植HLA検査センター
6	日本赤十字社 中央血液研究所	研究開発部	42	広島大学病院	輸血部
7	富山大学附属病院	輸血・細胞治療部	43	国立病院機構 岡山医療センター	臨床検査科
8	北海道大学病院	検査・輸血部	44	岐阜大学病院	検査部
9	熊本大学医学部附属病院	中央検査部	45	虎の門病院	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	46	九州ブロック血液センター	検査二課
11	中四国ブロック血液センター	検査一課	47	伊勢赤十字病院	臨床検査部 輸血検査室
12	NPO法人腎泌尿器疾患研究所		48	京都府立医科大学附属病院	移植・一般外科(腎移植センター)
13	近畿ブロック血液センター	検査部 検査三課	49	徳島大学病院	輸血部
14	松江赤十字病院	検査部 輸血管理室	50	札幌北楡病院	臨床検査科
15	香川大学医学部附属病院	輸血部	51	京都大学 医学部附属病院	iPS細胞臨床開発部
16	がん・感染症センター 都立駒込病院	輸血・細胞治療科	52	社会保険中京病院	検査部
17	東北ブロック血液センター	品質部 検査一課	53	山形県立 中央病院	輸血部
18	東海大学医学部附属病院	診療技術部 移植免疫	54	三菱化学メディエンス株式会社	遺伝子分析研究部 遺伝分析グループ
19	香川県立中央病院	中央検査部	55	高知医療センター	SRL検査室
20	鷹揚郷研究所 弘前病院	HLA検査室	56	県立広島病院	臨床研究検査科
21	京都大学医学部附属病院	輸血細胞治療部	57	東海大学	医学部基礎医学系 分子生命科学
22	国立循環器病研究センター	臨床検査部 輸血管理室	58	旭川医科大学病院	臨床検査・輸血部
23	東海北陸ブロック血液センター	検査三課	59	株式会社 医学生物学研究所	品質保証部
24	株式会社 ベリタス	技術推進部	60	北海道ブロック血液センター	検査一課
25	市立札幌病院	HLA検査室	61	国立病院機構千葉東病院	臨床検査科
26	福岡赤十字病院	検査部 HLA検査室	62	大阪府立急性期・総合医療センター	移植支援検査センター
27	岩手医科大学附属病院	中央臨床検査部 免疫血清検査室	63	湘南鎌倉総合病院	検査部
28	医療法人 立川が 医療センター 立川総合病院	HLA検査室	64	関東甲信越ブロック血液センター	検査部 検査三課
29	大阪市立大学医学部附属病院	輸血部	65	公益財団法人 HLA 研究所	
30	株式会社 保健科学研究所	精度保証室	66	静岡県立病院機構 静岡県立総合病院	検査部 輸血・細胞治療科
31	帝京大学医学部附属病院	輸血・細胞治療センター	67	兵庫県立西宮病院	腎移植センター
32	湧永製薬株式会社	試薬・診断薬事業部	68	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
33	株式会社 リプロセル	技術部	69	株式会社 エスアールエル	遺伝子染色体解析センター 遺伝子検査課
34	自治医科大学附属病院	輸血・細胞移植部	70	名古屋第二赤十字病院	組織適合検査室
35	独立行政法人 国立病院機構 米子医療センター	臨床検査科	71	愛媛県立衛生環境研究所	疫学情報科
36	信州大学医学部	法医学教室	72	沖縄県立中部病院	検査科

HLA タイピング結果の表記法

福岡赤十字病院検査部 橋口 裕樹

2) 抗体検査結果解析

FlowPRA 法の検査状況の解析

東京女子医科大学中央検査部 石塚 敏

Lab Screen による抗体検査

一般財団法人 HLA 研究所 二神 貴臣

WAK Flow および ICFA 法について

北海道ブロック血液センター 高橋 大輔

その他検査法およびクロスマッチ

日本赤十字社中央血液研究所 中島 文明

3) 部門別解析及び結果評価

DNA タイピング

近畿ブロック血液センター 石井 博之  
抗体検査

近畿ブロック血液センター 高 陽淑  
全血クロスマッチについて (追加発言)

福岡赤十字病院 橋口 裕樹

5. QCWS サンプルの総合結果

配布した DNA 及び抗体サンプルについて、本ワークショップで解析された総合結果を示す。DNA サンプルについては、日本赤十字社中央血液研究所で精査した結果を加え、総合的にリアサインした。各ローカスは、1本鎖 DNA に分離してから塩基配列を確定し、可能な限り Ambiguity を回避した。参照ライブラリーは、HLA-A, B, C, DR が IMGT/HLA 3.12 (2013-04), HLA-DQB1, DPB1 が 3.11 (2013-01) である。表記は本学会 HLA 標準化委員会のアレル表記法と結果報告の原則 (2010 年版 改訂 1.1 版) に従い記載した (表 2)。抗体サンプルは、日本人 HLA 遺伝子頻度 0.1% 以上の抗原に対する反応と 0.1% 未満の抗原に対する反応に分けて示した。スコア「8」は 3 分の 2 以上の参加施設が陽性判定した抗原、スコア「1」は 3 分の 2 以上の参加施設が陰性判定した抗原、スコア「4」はどちらも 3 分の 2 に達しない抗原で表している (表 3)。これらの結果が各施設の精度管理、技術向上に役立つことを期待する。

表 2 第 17 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>H2501</b>	A*33:03:01 <b>A33</b>	A*24:02:01:01 <b>A24</b>	B*44:03:01 <b>B44</b>	B*51:02:01 <b>B5102</b>	C*14:03 <b>Cw14</b> ※	C*15:02:01 <b>Cw15</b> ※
<b>H2502</b>	A*24:02:01:01 <b>A24</b>	A*02:03:01 <b>A203</b>	B*52:01:01:01 <b>B52</b>	B*56:01:01 <b>B56</b>	C*12:02:02 <b>Cw12</b> ※	C*01:02:01 <b>Cw1</b>
<b>H2503</b>	A*03:01:01 <b>A3</b>	A*24:02:01:01 <b>A24</b>	B*44:02:01:01 <b>B44</b>	B*07:02:01 <b>B7</b>	C*05:01:01:01 <b>Cw5</b>	C*07:02:01:01 <b>Cw7</b>
<b>H2504</b>	A*31:01:02 <b>A31</b>	A*26:02 <b>A26</b>	B*39:02:02 <b>B3902</b>	B*15:01:01:01 <b>B62</b>	C*07:02:01:01 <b>Cw7</b>	C*03:03:01 <b>Cw9</b>

HLA-Class II	HLA-DR		HLA-DQ		HLA-DP	
<b>H2501</b>	DRB1*13:02:01 DRB3*03:01:01 <b>DR13</b> <b>DR52</b>	DRB1*09:01:02 DRB4*01:03:01 <b>DR9</b> <b>DR53</b>	DQA1*01:02/08/09 DQB1*06:04:01 <b>DQ6</b>	DQA1*03:01/02/03 DQB1*03:03:02 <b>DQ9</b>	DPA1*01:03 DPB1*02:01:02 <b>DPw2</b>	- DPB1*04:01:01 <b>DPw4</b>
<b>H2502</b>	DRB1*15:02:01 DRB5*01:02 <b>DR15</b> <b>DR51</b>	DRB1*13:12:01 DRB3*02:02:01 <b>DR13</b> <b>DR53</b>	DQA1*01:03 DQB1*06:01:01 <b>DQ6</b>	DQA1*05:03/07 DQB1*03:01:01 <b>DQ7</b>	DPA1*02:02 DPB1*05:01 <b>DPw5</b>	DPA1*02:01 DPB1*09:01:01 <b>DPw9</b> ※
<b>H2503</b>	DRB1*04:03:01 DRB4*01:03:01 <b>DR4</b> <b>DR53</b>	DRB1*01:01:01 - <b>DR1</b> -	DQA1*03:01/02/03 DQB1*03:02:01 <b>DQ8</b>	DQA1*01:01/04/05 DQB1*05:01:01 <b>DQ5</b>	DPA1*01:03 DPB1*04:02:01 <b>DPw4</b>	- - -
<b>H2504</b>	DRB1*14:54:01 DRB3*02:02:01 <b>DR14</b> <b>DR52</b>	DRB1*14:06:01 DRB3*02:02:01 <b>DR14</b> <b>DR52</b>	DQA1*01:01/04/05 DQB1*05:03:01 <b>DQ5</b>	DQA1*05:03/07 DQB1*03:01:01 <b>DQ7</b>	DPA1*02:02 DPB1*05:01 <b>DPw5</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



# 第 17 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 Luminex 法—

黒田ゆかり<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社 九州ブロック血液センター

### 1. 概要

Luminex 法の参加施設は、今年 DNA-QC に参加した 66 施設中 38 施設 (57.6%) であり、昨年から 7 施設増えていた。使用キットは、OneLambda 社製 LABType が 12 施設、LABType HD が 10 施設、湧永製薬株式会社製 WAKFlow が 20 施設、医学生物学研究所製ジェノサーチが 5 施設であった。LABType 使用の 12 施設中 6 施設は、同試薬を HLA-DP または DQ 座のタイピングにのみ使用しており、HLA-A, B, C, DR 座のタイピングには、LABType HD や WAKFlow を使用していた。

タイピング実施ローカスは、全施設が HLA-A, B のタイピングを実施しており、その他 HLA-C (32 施設, 84.2%), HLA-DRB1 (37 施設, 97.4%), HLA-DRB3/4/5 (2 施設, 5.3%), HLA-DQA1 (9 施設, 23.7%), HLA-DQB1 (18 施設, 47.4%), HLA-DPA1 (5 施設, 13.2%), HLA-DPB1 (11 施設, 28.9%) の報告があった。

### 2. 解析方法

解析は、HLA-A, B, C, DRB1 座の結果を対象とし、以下の 3 項目について行った。

- 1) 結果の表記
- 2) 反応データ
  - ・陽性コントロールビーズ蛍光値の平均値とばらつき (%CV)
  - ・各プローブの Pmin/Nmax 値 (P/N 値) の比較
  - ・各施設のカットオフ値の変更状況
- 3) アサインミスとその原因

詳細なデータについては、学会ホームページに掲載の「第 17 回 QC ワークショップ報告集」を参照いただきたい。

### 3. 結果と考察

1) 表記については、年々増加するアリルにより複雑化してきたが、ambiguity として可能性のある全アリルを対象とし、表記法の原則に基づいた記入が必要である。

2) 反応データの確認には、各施設から提出していただいた CSV ファイルを用いた。陽性コントロールビーズは、4 検体 (H2501 ~ H2504) において同等の蛍光値が期待され、ばらつきが少ないことが基本であるが、HLA-C Exon3 において %CV が 54.6% と大きくばらついている施設があった。それ以外にも %CV が 40% 以上の施設が 4 施設あり、ばらつきが大きい施設は他施設と比較すると蛍光値が低い傾向にあった。

Pmin/Nmax 値については、大きな施設間差はなかったが、小さな数値を示している場合には、反応のメリハリが少なくなり、カットオフ値の適切な設定が困難になることが考えられる。

また、カットオフ値については、変更が必要であった施設数が、全く変更しなかった施設数を上回った。カットオフ値は、変更プローブ数が多くなるほどアサインミスに繋がる可能性が高くなるため、安定した技術が求められる。今回、多数の偽陰性 (False Negative) が見られ判定が困難で明らかに再検査が必要であったと思われた施設や、陽性時の反応に近い蛍光値を示した偽陽性 (False Positive) が見られた施設などもあり、それらの施設では技術的な改善のみならず解析時の判断基準の見直しも必要であると思われた。

QCWS では、匿名化した各施設のデータが全参加施設に CD-ROM で配布されており、自施設のデータを他施設と比較することが可能であることから、是非配布されたデータを活用し改善に繋げていただきたい。

3) アサインミスとして、記入や転記によるミスと明らかな誤判定とがあった。記入ミスの中には、ハプロタイプを確認することにより、ミスの回避が可能であったと思われる事例があり、HLAに関する知識を持ち総合的に判定することが必要である。

誤判定は、2施設で3種類の検体に認められ、いずれもカットオフ値変更の判断ミスであった。技術的に不安定なことから、偽陽性 (False Positive) や偽陰性 (False Negative) の見極めが困難であった。また、複数のプローブに対する偽陽性 (False Positive) が見られているにも関わらず、一部のカットオフ値のみを変更し判定が行われており、各プローブの反応性を十分に確認されていないことが示唆された。

他の施設では、頻度の高いタイプに判定を合わせて、明らかな陰性反応を陽性に変更し判定しており、誤判定に繋がっていた。

#### 4. まとめ

---

臨床において、タイピング結果は移植成績に大きな影響を与える。正しいタイピングには、「安定した技術」、「解析における的確な判断」および「HLAに関する知識」が必要である。タイピングミスがあった施設のみならず、各施設において再度自施設のデータを確認し改善すべき点があれば対応していただきたい。また、不明な点などはQCWS事務局や解析担当者へご確認いただきたい。

# 第 17 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 法 (INNO-LiPA) —

安尾美年子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京女子医科大学 中央検査部 移植関連検査室

## 1. はじめに

INNO-LiPA は Dynal RELI に替わる SSO 法のタイピングキットであるが、今年はまだこの方法による参加施設数はそれほど増えていない。理由として考えられるのは、手技が少々煩雑で所要時間も長いことから、まだこのタイピング法の手技や判定に慣れないことなどがある。

昨年、INNO-LiPA の解析ソフトによる判定について、日本人に多いアレルを優先しなければ、抗原型も決定できない可能性が高くなると報告したが、この問題は他のキットでも同様である。

QCWS ではこのような事実を理解したうえで、日常検査において日本人に多く見られるアレルを優先したタイピング結果を報告していることを再確認するためにも、来年度 (第 18 回) からは方法別の結果判定では、日本人に多くみられるアレルを優先するのではなく、学会の表記法に従い、判定されたすべてのアレルを対象とすることとした。

## 2. 解析結果

参加 7 施設のうち 1 施設は SSP の補助としての使用であり、HLA-C および DQ ローカスのデータ提出施設は 1 施設だけであった。また、HLA-DR ローカスの DRB3/4/5 が判定できる decoder キットを使用した施設も 1 施設だけであった。

### 1) 結果判定

クラス I については、記載ミス以外には特に問題はなかったが、同一キットの使用でも第 2 区域の ambiguity に違いが見られた。また、H2504 では ambiguity の無いアレルがあったが、判定ソフトで日本人に多くみられるアレルの組み合わせを選んだ場合、6 桁の ambiguity の

みであることから、4 桁で ambiguity 無しの場合も正解とした。

クラス II については、decoder キットを使用した場合は、タイピング用プローブが追加されることとなるため、結果判定の ambiguity は異なってくる。誤判定は 1 件、その他は ambiguity が無い・記載ミス・表記ミスが各 1 件見られた。誤判定の原因は、弱い false positive 反応を陽性と判定したためである。

### 2) Ambiguity の違いについて

同一キットであるにも関わらず ambiguity の表記方法が異なっていた。その要因として、判定ソフトで反応パターンと一致するアレル候補の選択範囲が異なっていたためと推察される。一方は、日本人アレルが含まれる組み合わせでの ambiguity を表記し、他方は、全アレル候補での ambiguity を表記だった。今回までは表記の基準を明確にしていなかったため両方が混在しているが、次回からは出来る限り全アレルから ambiguity を選んでいただきたい。

### 3) 反応状態について

スコア 4 のバンドが多い施設があった。PCR の増幅が不良と考えられるため、原因を調べる必要がある。False negative は、判定結果に影響がなく、一部の施設 (25D26) に特異的に見られたことから入力ミスの可能性もある。False positive については、1 ヶ所を除いては判定には影響がなく、多くが弱いスコアであるため、発色時間の長さが原因と考えられた。

## 3. おわりに

今回は全体に大きな問題は無く判定出来たと考えている。

低・中解像度の HLA タイピング試薬を用いた検査を

実施している施設は少なくない。また、公認されるアレルが急増している現状では、日常での HLA タイピングは、日本人に多く見られるアレルの中から、可能性の高いアレルを推察し、HLA のタイピング結果としているのが実情である。

次回から方法別では日本人に多いアレルは考慮せずに、判定ソフトで得られる候補となるアレル全てからの Ambiguity の表記が必要となることは、現状のタイピングレベルを知るためには有用と考える。

# 第 17 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—

藤井 明美<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 県立広島病院

## 1. 概要

### 1) 参加状況

SSP 法での参加施設は 31 施設（全参加施設の約 46%）であり、昨年と比べると 4 施設増えていた。このうち SSP 法のみでの参加施設は 22 施設（昨年度比 4 施設増）、その他のタイピング法を併用していた施設は 9 施設であった。

### 2) 参加部門

SSP 法での参加 31 施設中、24 施設は臓器移植部門または臓器移植部門と輸血関連、造血幹細胞移植部門との複数参加であった。また、臓器移植部門のみでの参加施設では、SSP 法のみでの参加が多い傾向にあった。

### 3) 使用試薬

今回使用されていた試薬は、低解像度（low resolution）試薬 5 種類、中解像度（medium resolution）試薬 2 種類であった。なお、medium resolution 試薬使用施設はすべて、他の検査方法との併用参加であった。また、Micro SSP（OneLambda 社）の使用施設が多く、中でも日本人向けに開発販売された Micro SSP JPN の使用施設は 22 施設（SSP 法参加の 71%）と年々増加傾向にある。

## 2. 解析結果および考察

解析は QCWS 部会で把握している Consensus Allele 情報を基に、結果の評価項目である、1. 判定が正しいこと、2. SSP 法の結果が総合判定と齟齬がないこと、3. 相対的に反応データに、偽陽性（以下、false positive という。）または偽陰性（以下、false negative という。）がないことでチェックを行った。

その他、表記の不備等により結果の解析が困難であった報告を「解析困難」として示した。ただし、これら「解析困難」と示したものは評価においては対象外である。

結果の詳細は、学会ホームページに掲載しているのをご参照していただきたい。

### 1) 判定ミス（miss assign）

判定ミスの主な要因は、①反応の不備（false positive）、②ambiguity が正しく判定されていないであった。①の反応不備による判定ミスは、同施設で複数検体報告されており検査方法の見直しや再確認等原因の究明が必要と思われる。②の ambiguity が正しく判定されていない場合の判定ミスとなった原因の多くは、解析ソフトの未使用またはバージョン違いと考えられる。解析ソフトは必ず使用すること、及びバージョンアップ等により最新のデータを採用する必要がある。

### 2) 相対的反應データの不備

反応データに不備が認められた 8 施設では false positive が多くみられ、そのうち 6 施設で判定ミスが認められた。他の 2 施設では、判定は正しく行われていたが記載ミスが一部で認められた。

## 3. まとめ

本年度は昨年度より参加施設が増加し、新規の参加施設が増えたためか、判定間違い及び反応データの不備が散見された。特に false positive により判定間違いをした施設は、早急に検査方法および判定方法の再確認をおこなう必要がある。また、反応データのスコア化に不慣れた施設もあり、今後スコア化のマニュアルを提示することが必要であると思われた。

SSP 法によるタイピング結果の判定が困難を来す要因として、SSP 法で使用する試薬のほとんどが、低解像度試薬（第 1 区域までの判定試薬）であることが挙げられている。結果報告や解析を円滑に行うために、今後も随時検討が必要と思われる。

# 第 17 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 法—

重成 敦子<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東海大学医学部

### 1. はじめに (HP 掲載結果: 図 1)

今年度の参加施設数は 7 施設で、SBT 法を用いた 6 施設と、今年度初めて次世代シーケンサーによる SS-SBT 法を用いた 2 施設からの参加があった。

SBT 法で使用されたキットは、AlleleSEQR HLA typing kits (CELERA) が 6 施設で、その中の 1 施設で SeCore Sequencing Kits (Invitrogen) と SBT RESOLVER (CONEXIO) を併用していた。データ解析は、全ての施設が Assign 解析ソフトを使用していた。

SS-SBT 法で使用された次世代シーケンサーと試薬は 2 施設で異なっており、1 施設では GS Junior と GS Junior Titanium sequencing Kit (Roche)、他 1 施設では Ion PGM と Ion PGM 200 Sequencing Kit (Life Technologies) を使用していた。データ解析は、Omixon Target, Automated NGS data processing system (Suzuki 法)、Assign MPS を使用していた。

### 2. 使用キットについて

今回の QCWS で使用されていたタイピングキットは 3 種類 (AlleleSEQR HLA typing kits (CELERA), SeCore Sequencing Kits (Invitrogen), SBT RESOLVER (CONEXIO)) あり、何れも HLA-A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1 座のタイピングが可能であるが (図 2)、タイピングとして解析される HLA 遺伝子領域は異なっている。

全施設で使用されていた AlleleSEQR と比べ、SeCore DPB1 Locus Sequencing Kits はエクソン 2, 3, 4 領域のシーケンシングプライマーが含まれており、より長い領域の解析が可能である。

また、SBT RESOLVER kits は、他の試薬よりさらに長い領域が解析可能であり、特に HLA-C は、エクソン

1～7 領域までの解析が可能である。

さらに、AlleleSEQR typing kits の補足試薬 (別購入) を使用しアンビグニティーを解消した施設があった。また、SeCore DPB1 Locus Sequencing Kits を使用し、アンビグニティーを減らした施設もあった。

### 3. 結果及び考察

#### 1) SBT 法での解析結果と考察

今回、全施設で AlleleSEQR HLA typing kits (CELERA) と、Assign 解析ソフトを使用していた為、QCWS を行った時点での最新のリファレンス (IMGT/HLA 3.11, 2013-01-17) を使用し、Assign 3.6+ で解析した結果を正解回答とした (図 3)。本レポートでは、各施設で判定したタイピング結果の異なる部分に注目して解析を行った (図 4)。

##### ① アリルの絞り込み (図 5)

HLA-DRB1 のタイピングキットには 3 種類のシーケンシングプライマー (エクソン 2 Forward, エクソン 2 Reverse, Codon86) が添付されている。この Codon86 プライマーは、HLA-DRB1 のコドン 86 番目の GTG モチーフのシーケンシングプライマーである。

Assign 解析ソフトで解析する際に、コドン情報を設定することで Codon86 (GTG) プライマーで得られる配列の有無や、その配列情報によりアリルを絞り込むことが可能な場合もある。今回の QCWS のサンプルでは、H2503 が Codon86 の配列決定により、HLA-DRB1\*01:01/50, DRB1\*04:03:01 とさらに絞り込みが可能であった。

##### ② 表記ミス

SBT 法は、high resolution のタイピング法なので、第 2 区域までの表記が必要である。また第 3 区域、第 4 区

域までのアレル特定できた場合は、特定できた領域までのアレルを表記する(図6)。H2503のHLA-Cでは、第1区域アンビグニティーのアレルが機械的にバラバラに並ぶ場合、アレルをまとめて表記する(図7)。これは、「HLA タイピング結果のアレル表記法と結果報告の原則」のII.1(2)に相当するため、C\*05:01/08:02/+, C\*07:02/17/37/+と表記する。

また、H2503とH2504のHLA-DPB1のタイピングで、第1区域に異なるアレルが存在して他方のアレルも同じアレル場合は、片方のアレルに集約が出来るので、ホモ接合体のアンビグニティーになるため、H2503はHLA-DPB1\*04:02/105:01,-となり、H2504はHLA-DPB1\*05:01/135:01,-と表記する(図8)。また、SeCore DPB1 Locus Sequencing Kitsを使用し、アレルの絞り込めた施設もあった。

H2504のHLA-DRB1のタイピングでは、DR14とDR14のアンビグニティーで、Codon86(GTG)プライマーを使用しても絞り込むことは出来なかった(図9)。このように、第1区域に同じアレルが存在する場合の表記は、DR14に集約すると、ホモ接合体のアンビグニティーを意味することになるので、アレルの数字が小さい順に記載する。この場合、HLA-DRB1\*14:01とDRB1\*14:06の移植における適合性判定の便宜性を考慮し、アレルを並び替えて表記することが理想的と思われる。

## 2) SS-SBT法での解析結果と考察

今年度のQCWSで初めてSS-SBT法による解析結果の報告が2施設からあった。SS-SBT法は、遺伝子の全領域(5'UTRから3'UTRまで)を増幅し解析する(DRB3/4/5は、エクソン2からの領域を解析する)ことが出来る。GS Junior (Roche)の次世代シーケンサーを使用し、QCWSを行った時点での最新のリファレンス(IMGT/HLA 3.11, 2013-01-17)にもとづき、解析ソフト(Omixon Target, Automated NGS data processing system (Suzuki法), Assign MPS)を使用した結果、アンビグニティーがなく、一部のサンプルでアレル表記が第4区域まで絞り込むことが可能であった(図10)。本レポートでは、2施設で判定したタイピング結果の異なる部分に注目して解析を行った(図11)。

### ①表記ミス(図12)

SS-SBT法は、high resolutionのタイピング法なので、

少なくとも第2区域までの表記が必要である。またタイピングの結果から第3区域、第4区域までのアレル特定できた場合は、特定できた領域までのアレルを表記する。

ヘテロ接合体の場合は、数字の小さい順に表記する。また、片方のアレルに集約が出来るホモ接合体のアンビグニティーで、第1区域で判別が出来ないアレルが複数存在する場合は、第2区域まで記載し「/(スラッシュ)」でつなぐ表記する。

### ②SS-SBT法での問題点

今年度QCWSのSS-SBT法で、1施設からH2504のHLA-Bに1塩基の同義置換が認められたと報告があった(図13)。このような新規アレルの表記は、“undefined”とし、コメントでその違いを記載することが必要である。

また、H2504のHLA-DRB1のタイピングでDRB1\*14:54のみしか検出できない解析結果であった(図13)。しかし、SBT法ではDRB1\*14:01グループと、DRB1\*14:06グループのアンビグニティーと結果が得られている。これにより、SS-SBT法のHLA-DRB1ではDRB1\*14:06グループのPCR増幅が認められなかったと考えられる。その後、SS-SBT法のDRB1のプライマー改良が行われ、DRB1\*14:06グループのPCR増幅が可能になったことが確認されている。

さらに、SS-SBT法を行った2施設で、H2503のHLA-CでHLAタイピング結果が異なる判定をしていた(図14)。このH2503はSBT法の結果より、HLA-BはB\*07:02:01, HLA-B\*44:02:01:01であり、HLA-CはC\*05:01:01:02, C\*07\*02:01:03である。

すなわち、HLA-C\*05:03は判定ミスである。今回のSS-SBT法で使用するプライマーや解析方法は同じなため、異なる原因として考えられるのは、この2施設で使用していた次世代シーケンサーの違いと考えられた。

次世代シーケンサーと試薬組み合わせは、1施設でGS Junior (Roche)とGS Junior Titanium sequencing kitを、他1施設ではIon PGM (Lifetechnologies)とIon PGM 200 bp sequencing kitを使用していた。これらの次世代シーケンサーで得られる配列の長さは、GS Juniorの平均は約500 bpで、Ion PGM 200 bp Kitの平均は約150 bpであった。結果が異なったさらなる原因としては、H2503のHLA-BとHLA-Cのアレルの組み合わせが関係していた(図15)。

今回のSS-SBTの解析では、H2503のHLA遺伝子の

PCR産物を全て混ぜて1つのサンプルとして解析している。それぞれの塩基配列を調べてみると、B\*44:02:01:01とC\*05:03でエクソン4領域の始めから154 bpが完全に一致していた。GS Juniorからの塩基配列が約500 bpと長いのでHLA-C\*05:03とミス判定されないが、Ion PGMから得られた塩基配列の平均が150 bpと短いためにC\*05:03とミス判定になったと思われる。

今後、シーケンサーとキットの改良により長い塩基配列が読めるようになると、この問題は解決すると考えられる。

#### 4. まとめ

今年度のSBT法の不正解の理由は、表記ミスであった。SBT法を行う際には、きれいなシーケンスデータを得ることを心がけ、リファレンスとアンビグイティーの表記に注意する必要がある。正確で精度の高い解析が出来たとしても、正しく表記し報告することが必

要である。しかし、毎年アリの登録が増加している。これにより、アンビグイティーの表記だけでは分かりにくい部分も出てきているため、コメントの記載の必要性もあると思われる。また、必要に応じて補足試薬などを使用し、アンビグイティーを減らすことも考慮しなければならない。

今年度初めてSS-SBT法による参加があった。このSS-SBT法により、新規アリが見つかる可能性があり、アンビグイティーをなくす方法としては最適と考えられる。しかしながら、問題点も多く見付き、今後、次世代シーケンサーの改良によりこれらの点を解決し、さらに長い塩基配列が得られることにより、得られた情報を正しく判定することが必要と考えられる。

このように、QCワークショップに積極的に参加することで、施設の精度を保持または、確認することができると思われる。

# 第17回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 DNA HLA タイピング表記法—

橋口 裕樹<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>福岡赤十字病院

### 1. 概要

第17回 QCWS 参加施設は、66 施設あり、結果の表記は例年通り A, B, C, DRB1 を評価対象とし、DRB3/4/5, DQB1, DPB1, DQA1, DPA1 は評価対象外とした。ローカス別での参加数は、HLA-A, B 座、全 66 施設 (100%)、DRB1 は 65 施設 (98.5%)、C は 54 施設 (81.8%) であった。今回の解析も学会が規定する表記法 (HLA タイピング結果のアリル表記法と結果報告の原則 (2010 年度版), 改訂 1.1 版) をもとに評価を行った。表記法、改訂 1.1 版の主な改訂箇所を下記に示す。また表記法の詳細は、学会のホームページを参照して頂きたい。

### 2. 表記法の改訂と注意点

「HLA タイピング結果のアリル表記法と結果報告の原則 (2010 年度版)」の改訂部分の抜粋と改訂に伴う表記の注意点を以下に示す。

#### 2-1. 改訂箇所 (1)

「HLA タイピング結果のアリル表記法と結果報告の原則 (2010 年度版)」の「II. アンビギュイティ (ambiguity) の結果表記について」の「2. 第 2～4 区域で判別できないアリルが複数存在する場合の表記」について、以下の改訂が行われた。

第 2 区域で判別できないアリルが複数存在する場合、最も数字の小さいアリルを最初に記し、その後「/ (スラッシュ)」を入れ、判別できない他のアリルの第 2 区域の数字を小さい順に記す。「/ (スラッシュ)」で表記するアリルは、最大 3 種類までとし、4 種類以上の場合、最後に「+ (スラッシュ, プラス)」を付記することとされた。

この改訂に伴う注意点としては、使用する試薬がどこまでの分解能 (Resolution) があるのかを確認し、表記する内容を判断する必要がある。例えば、低解像度 (Low Resolution) の試薬により、日本人で高頻度という理由等で、安易に 4 桁レベルの高解像度 (High Resolution) での表記は混乱を招く原因となる。試薬の分解能にあわせた表記が必要である。

#### 2-2. 改訂箇所 (2)

「IV. 血清学的 HLA 型の結果表記について」、複数の HLA 型表記について、以下の内容を追加する。DNA タイピング結果から複数の HLA 型の可能性がある場合、最も数字の小さい HLA 型から順番に記し、各 HLA 型は「/ (スラッシュ)」区切る。

今回の H2501 を使った表記例は、以下のとおりになる。

- アリル表記を A\*24:02/03/04/+ とした場合は、HLA 型は A24/2403 と表記する。
- アリル表記を A\*24:02/11/20/+ とした場合は、HLA 型は A24 と表記する。
- アリル表記を A\*24:02 とした場合は、HLA 型は A24 と表記する。

HLA アリル型から HLA 型を表記する場合、普段は HLA 型を 2 桁のみで省略して記載している施設もあるが、学会の表記の原則では、複数の HLA 型の可能性がある場合、最も数字の小さい HLA 型から順番に記すことになっているので注意が必要である。表 1 に示すアリル型を HLA 型に表記する時は特に注意が必要である。

#### 2-3. 改訂箇所 (3)

「IV. 血清学的 HLA 型の結果表記について」、HLA-C 座の HLA 型表記について、以下の内容が追加された。WHO 命名委員会と日本組織適合性学会 HLA 標準化委員会の何れでも HLA 型が不明な場合は、第 1 区域で分類され

表1 HLA アリルから HLA 型への読替え

HLA アリル型	HLA 型
A*02:03	A203
A*02:10	A210
A*24:03	A2403
A*24:10	A2403
A*24:23	A2403
A*24:33	A2403
B*39:01	B3901
B*39:02	B3902
B*51:02	B5102
B*51:03	B5103
DRB1*01:03	DR103
DRB1*14:03	DR1403
DRB1*14:04	DR1404

る HLA 型で表記する。また、HLA-C 座のアリル HLA-C\*12 から C\*18 に対応する HLA 型は公認されていないが、第1区域を用いて HLA 型とする。これらの場合、備考欄に「このアリルに対応する HLA 型が判明していないため、アリル名で表記している」等の説明を付記してもよい。

この改訂に伴い、HLA-C 座のアリル HLA-C\*12 から C\*18 に対応する HLA 型は公認されていないが、空白でなく第1区域を用いて HLA 型を表記する必要がある。今回のサンプルを使った表記例は、以下のとおりになる。

- H2501 アリル表記を C\*14:02 とした場合は、HLA 型は Cw14 と表記する。
- H2502 アリル表記を C\*12:02 とした場合は、HLA 型は Cw12 と表記する。

表2 誤りのアリル表記

誤表記	誤表記例
“L” を付記 (-15)	A*24:02/02L/03/+
“N” を付記 (-15)	A*24:02/09N/10/+
“:” コロンなし (-5)	A*2402
“:” が全角 (-5)	A*24 : 02/03/04/+
“*” の表記なし (-5)	A24:02/03/04/+
“*” が全角 (-5)	A*24:02/03/04/+
ローカス名なし (-5)	*24:02/03/04/+

表3 誤りの HLA 表記

誤表記	誤表記例
小さい順に表記されていない (-10)	A203/2
小さい順に表記されていない、/の後ろには HLA 型は表記しない (-10)	B62/B15
第1区域を用いて表記していない (-10)	Cw12 を blank や - を記載
“0” をつけて表記している (-10)	Cw07
Cw の “W” が大文字 (-10)	CW1
Cw の “w” を表記していない (-10)	C7

### 3. 減点対象例

表記における減点項目と減点数は表2および表3のとおりである。

### 4. 考察

今回も例年同様に、HLA アリルから HLA 型への読替えでの誤りが目立った結果となった。再度、学会ホームページ上にある表記の原則を熟読されて、自施設での表記の問題点を明確にし、次年度の QCWS に備えて頂きたい。

## 第 17 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 抗体検査 FlowPRA 法—

石塚 敏<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 東京女子医科大学 中央検査部 移植関連検査室

### 1. 概要

第 17 回 HLA-QCWS で FlowPRA 法による HLA 抗体検査を実施した施設は、22 施設であった。FlowPRA Screening test の実施施設数は、HLA Class I 抗体が 22 施設、HLA Class II 抗体が 21 施設であった。内訳は、輸血関連が 8、臓器関連が 17、造血関連が 5 施設（重複施設を含む）であった。FlowPRA Single Antigen test は、HLA Class I 抗体が 4 施設で、HLA Class II 抗体が 3 施設（すべて臓器関連施設）で実施されていた。

また、分析機器として Becton, Dickinson and Company10 施設、Beckman Coulter12 施設であった。

### 2. 解析方法

各施設から提出して頂いた FCS ファイルを解析ソフト（FlowJo: Tree Star, Inc. USA）を用いて、試薬メーカーがある程度提示している解析基準に沿って統一した条件設定による再解析を行った。そして、各施設の提出用ファイルに添付されているデーターとの比較解析を行った。

FlowPRASingle Antigen test は、各施設の提出用ファイルデーターから判定保留を除外し、参加施設の判定スコアから陽性率・陰性率、一致率を求めた。

FlowPRA 法の解析について詳細な集計データー等は、学会ホームページに記載されている概要資料を参考にしたい。

### 3. FlowPRA Screening test 解析結果

今回配布された 4 種類の QCWS の試料は、HLA Class I 抗体すべて陽性・HLA Class II 抗体 SH2501・SH2502・SH2504 陽性、SH2503 陰性を示した Sample であった。

各施設から報告して頂いた判定スコアによる解析で

は、HLA Class I 抗体一致率 100%、HLA Class II 抗体も一致率 100% であった。

各施設から報告して頂いた陽性率 % による解析では、HLA Class I・II 抗体の最大・最小値において施設間差を認める結果であった。しかし、再解析した結果と各施設から報告して頂いた陽性率 % には、ほとんどの施設で相違は認められなかった。

今回、各施設から報告して頂いたデーターのうち再確認が必要であると思われる事例は、Negative control ヒストグラム of Anti-Human IgG-FITC である横軸との接点を count 軸側（左側）にカットオフ位置として設定されている施設、分析機器の設定不良により Negative control のヒストグラムデーターが一部欠損している施設、測定法には特に問題はなさそうであるが再解析の結果と比較して Anti-Human IgG-FITC の反応性が弱い施設、そして SH2502 の Sample にのみ Control Beads の右方シフトである非特異的反応を認めた 6 施設があった。Control Beads の右方シフトについては、施設によって Adsorb-Out など非特異的反応処理済であるとコメント欄に記載があり、今後、有効な方法が必要であると思われる。

再度、分析機器の初期設定や陰性・陽性領域のマーカー設定・Sample の非特異的反応処理および Anti-Human IgG-FITC の力価等について再確認して頂きたい。

### 4. FlowPRASingle Antigen test 解析結果

各施設から提出して頂いたドットプロットデーターと再解析データーを比較すると施設によって分析機器の設定基準に相違があることが認められた。その要因として考えられるのは、使用されている Negative Control Serum の違いではないかと思われる。

4 施設中 2 施設がメーカー純正の Negative Control

Serum, 1 施設が Donor Serum, 1 施設が Negative Control を使用せず, 以前に設定されたポジションで判定しているようであった。そのため, 施設によっては, 分析機器の設定不良によりデータの反応性に相違を認めている可能性が考えられる。また, 各施設によって陰性・陽性領域のマーカー設定基準に相違があることも若干結果の乖離が生じている原因であると思われる。

SH2502 の QC Sample は, FlowPRA Screening test と同様に Control Beads の右方シフトである非特異的反応が認められる施設があった。しかし, 施設によっては Adsorb-Out など非特異的反応処理済であるとコメント欄に記載があり, FlowPRA Screening test と同様に今後, 有効な方法が必要であると思われる。

## 5. まとめ

本年度の解析結果から昨年度と同様に FlowPRA Screening test では, 陽性率%において最大・最小値に施設間差を認める結果であった。そのため, 来年度に向けた施設間差を小さくする共通化したプロトコールなどの取り組みが必要であると考えられる。

FlowPRA Single Antigen test は, 分析機器の設定基準を共通化するにはメーカー純正の Negative Control Serum を使用して分析機器調整することが望ましいと考えられる。そして, 来年度に向けて陰性・陽性領域のマーカー設定基準の検討が必要であると考えられる。

# 第 17 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 抗体検査 LABScreen—

二神 貴臣<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 公益財団法人 HLA 研究所

### 1. はじめに

LABScreen による抗体検査を実施した施設数は、30 施設（輸血：19，臓器：17，造血：18，その他：1）であった。LABScreen Mixed によるスクリーニングのみを実施した施設は 1 施設であった。LABScreen Mixed，Multi・PRA 法のいずれかまたは複数の試薬を用いたスクリーニングの後に LabScreen Single Antigen（以下，SA）で同定を実施した施設は 10 施設，SA で同定のみを行った施設は 19 施設であった。スクリーニング検査に Mixed を用いた施設は 6 施設で，PRA は 5 施設，Multi を用いた施設も 1 施設あった。判定ソフトは 1 施設（自家製）を除いたすべての施設で HLA Fusion が使用された。

### 2. 結果の解析および考察

#### 1) 判定の不一致

抗体有無の判定について Class I は全施設が陽性と判定し一致していた。Class II では SH2403 に乖離が見られた。SH2403 Class II は陰性 23 施設，陽性 3 施設であった。Cutoff 付近の抗原であることと，蛍光値（MFI）に施設間差があり，その結果乖離したものが多いと考えられる。

#### 2) cut off の設定について

ほぼ全ての施設が HLA Fusion を使用して判定をしているが，cut off の設定は施設により様々であった。MFI1,000 程度を cutoff としている施設が多く見られた。また，ある施設では 2,000 を超える値を陰性と判定し，別の施設では 600 程度を陽性と判定しているケースもあり，施設によって判定基準が異なっていた。

#### 3) 実測値のバラツキ

各施設の Positive Control Beads を比較すると施設毎に大きく差があることがわかる。もっとも大きな差がある

ところでは MFI にして 10,000 程度差があった。また，陽性反応の beads だけを集め，その平均値を比較したところ，差が大きいところでは 3,000 程度の差が見られ，例年の QCWS と同様であった。施設間のバラツキは検体の前処理方法や洗浄の仕方など技術的な要因や施設の環境に影響しているものと考えられる。

#### 4) その他の判定不一致

検査時にビーズの入れ忘れと思われる例が 1 例とコンタミが疑われる例が 1 例あった。ビーズの入れ忘れは直前の検体の残ビーズだけを読み込んでしまい，誤判定につながる。判定時には MFI だけでなく，ビーズカウントも含めて全体を見ることが求められる。また，コンタミ防止は検査時に最も気をつけなければならない技術的問題である。当該施設は自施設の検査手順を見直し，必要に応じて改訂する必要があると考える。

### 3. まとめ

LABScreen による HLA 抗体スクリーニングの結果には施設間でいくつかの乖離がみられた。乖離の原因は施設間/検査手技に起因する実測値のバラツキと cutoff の設定の違いによるもので，弱陽性抗体の判定に影響した。強陽性抗体についてはいずれの施設も検出していた。実測値についてはある程度のバラツキは仕方がないが，他の施設よりも大きく差があった施設については検査手順等を見直す必要があるかもしれない。判定の際には cutoff のみに捉われず交差反応やエピトープを考慮に入れて総合的に判定するとより精度の高い判定が可能になる。また，SA はリコンビナント抗原を用いているため，細胞には反応せず，SA にのみ反応する抗体も検出することがある。臨床的に意義のある抗体かどうかを見極めるためにも PRA などの細胞由来 HLA 抗原を用いた検査との併用が望ましいと考える。

# 第 17 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 抗体検査 WAK&ICFA 法—

高橋 大輔<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 北海道ブロック血液センター

## 1. はじめに

WAKFlow HLA 抗体検出試薬（以下、WAKFlowMR）での参加施設数は、クラス I で 13 施設と前年より 3 施設増加しており、微増傾向であった。クラス II は 8 施設と前年より 2 施設増加していたが、ほぼ横ばいであった (Fig. 1)。クラス I の試薬ロットは、3 施設で N0A を、それ以外の施設は M0B を使用していた。血清処理を行っている施設は、7 施設であり、未処理は 6 施設であった。一方、クラス II の試薬ロットは、1 施設で L0A を、7 施設で M0A を使用していた。また、2 施設においてのみ血清処理が行われていた (Table 1)。

解析結果の詳細は、学会ホームページ「第 17 回 QC ワークショップ報告集」の HLA 抗体「WAKFlow による解析結果」を参照されたい。

## 2. WAKFlow-MR クラス I

バックグラウンドビーズ (BB) ポジティブビーズ (PB) の蛍光強度の施設間差について、Fig. 2 の赤丸で示した施設 (施設番号 10) の被検血清全て、青丸で示した施設 (施設番号 20) の SH2503 と SH2504 血清の 2 血清において、他施設と比較して明らかな蛍光強度の低下を認めた。また、パネルビーズの反応性は、ほとんどの施設において差を認めなかったが、BB、PB で蛍光強度の低下が認められた 2 施設では、パネルビーズの蛍光強度においても全体的に低値を示した (Fig. 3 ~ Fig. 6 上段)。しかしながら、ビーズ全体で蛍光強度の低下を認めたため、判定に用いる Index 値においては他施設との大きな差を認めなかった (Fig. 3 ~ Fig. 6 下段)。このような極端なシグナルの低下の原因は、機器、あるいは操作手技の問題等が考えられることから、検査環境含めた検査手

順の再点検が必要と思われる。

### 1) 判定結果について

抗体の有無については、全施設で一致していた (Table 2)。Table 3 ~ 6 に、各施設のパネルビーズ毎の Index 値を、Table 7 ~ 10 に抗原ごとの判定結果を示す。LAB-Screen Single Antigen (LS-SA) で BNV 10,000 以上の強陽性となった抗原名をオレンジ色、5,000 ~ 10,000 の中等度陽性を緑色、2,000 ~ 5,000 の弱陽性を青色で示した。Table 3 ~ 6 に示す通り、各施設の Index 値は大きな差を認めなかったが、抗原毎の判定スコアに明らかな乖離を認めた (Table 7 ~ 10 の青枠部)。このような乖離の主因として、施設ごとのカットオフ値の設定の違い、あるいは判定の不備が挙げられる。また、Table 7 ~ 10 中の赤枠で示したように、ビーズセットに入っていない抗原について判定を行っている、あるいはビーズセットに入っている抗原の判定漏れといった単純なミスによる判定不一致例も多く認めた。

### 2) 判定不一致例について

判定スコアの不一致例について、いくつか例をあげて示す。Fig. 7 は施設ごとのスコア 8、つまり特定の抗原に対する抗体を陽性と判定した数を示しているが、赤枠で囲った 2 施設 (施設番号 S28, S48) で突出していた。これらの施設では、判定スコア 4 をスコア 8 と判定しているなど、判定の方法が不適切であったと推測される。同様に、判定方法に不備があると思われるケースを Table 11 ~ 14 に示す。これらの表はビーズに対する各施設の Index 値、および抗原の判定スコアをまとめた表である。赤で示したセルが各施設で設定したカットオフ値上回っているパネルビーズであることを示している。また抗原名の色は LS-SA の BNV に応じて色分けしている。赤枠で示した施設において、種々の要因 (カットオフ

値の考え方、ビーズの反応性の違い、記入ミス)により他施設との明らかな乖離が認められた。

### 3) 判定方法の再確認

今回の解析において、抗原表の見落としやパターンマッチングの勘違いと考えられる不一致を多く認めたことから、基本的な判定方法の再確認について述べる。

たとえば Table 15 のようなビーズの反応性がみられた場合、WAKFlow などのパターンマッチングによる判定方法は、まず各施設で設定したカットオフ値以下のビーズに含まれる抗原をスコア 1 と判定する (表中青部分)。次に、カットオフ値以上となったビーズのうちスコア 1 と判定された抗原を除外していき、反応が確認できた抗原のみをスコア 8 とする (表中赤部分)。判定不能と考えられる抗原が複数存在する場合 (表中緑部分) は、このパネルビーズのうちどの抗原と反応しているのか不明であることから、これらの抗原はすべてスコア 4 と判定すべきである。このように各ビーズの反応性とパネルビーズの抗原情報を丹念に見ていくことで各抗原に対する特異性の判定ミスや判定漏れなどを防ぐことができると考えられる。

### 4) HLA-C- ローカスに対する抗体検出の注意点

WAKFlow class I は HLA-C ローカスに対する抗体の検出感度が HLA-A 及び B ローカスと比較して低いことが以前から指摘されており、今回提出された血清においても同様の傾向がみられた。Table 16 は、HLA-C ローカスの特異性を持つ血清 SH2503 の施設ごとの反応パターンを表しているが、LS-SA において HLA-Cw6 及び 7 は BNV で 15,000 以上、HLA-Cw4 は 8,000 の力価の高い抗体であったが、WAKFlow MR class I では、ほとんどの施設において各施設で設定したカットオフ値を下回り検出が困難であった。しかし、一部の施設 (赤枠部) においては、カットオフ値を 2 付近まで下げることで、こういった HLA-C ローカスに対する抗体や弱い抗体の一部を検出できる可能性が示唆された。

このように、カットオフ値を下げることで弱い抗体の取りこぼしなどを最小限にすることが可能かもしれない。ただし、カットオフ値を下げることは、偽陽性を増加させる、つまり感度を上げることで特異度を犠牲にしているという側面があることに注意が必要と考えられる

## 3. WAKFlow-MR クラス II

クラス II においても抗体の有無についてはクラス I と同様に施設間の不一致は認めなかった (Table 17)。バックグラウンドビーズ (BB) ポジティブビーズ (PB) の蛍光強度の施設間差については、Lot. L0A を使用した施設 (施設番号 46) において BB の明らかな低値を認めておりロット差が疑われた (Fig. 8)。また、ビーズ毎の反応性、および Index 値も施設間差は認められなかったが、Index においては一部の施設で明らかな低下を認めた (Fig. 9 ~ 11)。また、抗原毎の判定結果においても判定スコアの明らかな乖離や判定ミスが認められた (Table 18)。詳細については学会ホームページを参照されたい。

## 4. まとめ

蛍光値の施設間差はほとんど見られなかったものの一部の施設で蛍光値が著しく低く、測定機器を含めた手技の点検が必要と思われた。

抗体スクリーニング結果は全施設で一致したが、特異性評価において、判定スコアに施設間差を認めた。これらの要因として、ビーズの反応性と判定スコアの整合性に不備があるケースが多く見受けられた。また、抗原表に記載のない抗原に対して判定を行っているなどの単純なミスも散見されており、抗原表から得られる情報を十分吟味し判定することが重要と考えられる。

カットオフ値の設定は、感度および特異度を勘案しながら、各施設の目的にあった判断を行うことが重要と考えられる。

# 第 17 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 その他検査法およびクロスマッチ—

中島 文明<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 日本赤十字社 血液事業本部 中央血液研究所

## 1. その他検査法

ここでは、フロービーズを用いた LABScreen, FlowPRA 以外について報告する。LCT (AHG-LCT) 法 (3 施設), ICFA 法 (2 施設), MPHA 法 (4 施設) の 3 法を解析した。これらは、判定スコアに基づく評価は困難なため、測定データから反応パターンで解析した。LCT (AHG-LCT) 法は、C1qScreen (中央血液研究所で測定) の結果とほぼ一致していたが、一部で非特異反応が認められた。ICFA 法は LABScreen シングル抗原試薬 (各施設の測定結果) の検出感度と同等であった。測定条件の違いでは、MPHA 法の反応結果の差異が感作時間に関係すると思われた。

現在ではシングル抗原試薬が容易に使用できることから、これらセル・ベース・アッセイは不利な検査法と思われるが、個々の反応は検出感度に応じて実用性を認めた。これらは、クロスマッチに必要な不可欠な検査法であるため、今後も、高い技術水準を維持したい。

## 2. クロスマッチ

例年どおり、ダイレクトクロスマッチ (19 施設) と仮想クロスマッチ (16 施設) で実施した。参加施設は、毎年着実に増加している。

ダイレクトクロスマッチは、指定した抗体サンプル (SH2501) と各施設が準備する抗原細胞で検査し、LCT (AHG-LCT) 法 (6 施設), FCM 法 (7 施設), ICFA 法 (11 施設) の 3 法を解析した。前項「その他検査法」と同様な解析を行い、特に測定条件や測定基準の違いが結果に影響を与えるかどうか比較した。LCT (AHG-LCT) 法は、

判定基準が施設間で微妙に異なり、結果への影響が考えられるが、操作過程を評価する情報を得ていないため確実な解析はできなかった。FCM 法は、測定時のパラメータと判定基準が不統一なこともさることながら、細胞分離方法、散乱光ドットプロットの描き方、細胞測定数の違いに懸念を抱かせる。そこで、各施設の測定データを統一したパラメータ (GeoMean 値で SN 比を算出しスコア化) で再解析した。検出した抗体特異性はほぼ一致していたが、スコアに差異が認められ、これはグレーゾーンの抗体検出結果に影響することが十分予測された。ICFA 法は、測定条件や判定基準が高水準で統一化されているため、データの信頼性も高い。LABScreen シングル抗原試薬の特異性及び検出感度との一致性も高かった。

仮想クロスマッチは抗体サンプル (SH2501) に対して、2 本の DNA サンプル (H2503, H2504) を指定した。SH2501 × H2503 は、全て陽性判定で一致しているが、想定する反応抗原で数施設が異なる結果を示していた。SH2501 × H2504 は、判定結果に違いがあり、標的抗原に対する抗体の強さが十分でないことが結果に表れた。また、それが今回の狙いでもある。どちらも、DNA サンプルのタイピング結果に問題はないため、クロス判定結果や想定する反応抗原の違いは、明らかに抗体検査の精度に左右されたこととなる。以上、仮想クロスマッチはクロスマッチ自体の操作技術は介在しないが、そこに至るタイピングや抗体検査の精度を見事に反映している。今回の QC ワークショップ参加状況から、あと 17 施設が仮想クロスマッチに参加可能なことを付け加えておく。

# 第 17 回 HLA-QC ワークショップレポート —検査法別解析 DNA-QC および結果評価—

石井 博之<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 近畿ブロック血液センター検査三課

## 1. はじめに

DNA-QC の参加施設については、66 施設あり、昨年 (53 施設) より増加した。部門別の参加施設数は臓器移植部門 41 施設、輸血部門 28 施設、造血幹細胞移植部門 26 施設、その他が 9 施設であり、そのうち 26 施設で重複がみられた。使用した 4 種類の試料については、「日本人由来の細胞で高頻度に検出される HLA 型 (アリル) であること」、「日本人で稀な HLA アリルであること」の要件に合う細胞から抽出した DNA を配布した。

以下に部門別解析および各施設の結果評価について概説する。なお、詳細については、学会ホームページ「第 17 回 QC ワークショップ報告集」の参加部門別「DNA タイピング (表記法を含む)」を参照されたい。

## 2. 使用タイピング法について

使用タイピング方法については、SSP 法、SSO 法 (INNO-LIPA, Luminex)、SBT 法 (SS-SBT 法を含む) での参加があった。臓器移植部門では、SSP 法が 56.1% と一番高く、輸血、造血幹細胞移植、その他の各部門では SSO 法 (Luminex) の使用比率が高い状況であった。また、各タイピング法の参加部門別の占有率は、臓器移植部門で SSO 法 (INNO-LIPA) が 100% を占めていた。HLA ローカス別タイピング実施状況については、何れのタイピング方法においても、HLA-A, B 座は 100% 実施されていた。SSP 法、SSO 法 (INNO-LIPA) では、HLA-A, B, DRB1 座が 100%、SBT 法では HLA-A, B, C, DRB1 座が 100% 実施されていた。

## 3. 結果評価

### 3.1 概要

結果の評価については、「HLA-QC ワークショップ結果評価の基準」に基づき、①判定結果 (各タイピング方法での判定結果、総合判定結果)、②結果表記 (アリル表記、HLA 型への読替えと HLA 型の表記)、③試験・検査状況 (結果の妥当性、反応データ) の 3 項目について、HLA-A, B, C, DRB1 座を対象に評価を行った。

### 3.2 判定結果の評価

「判定結果」の評価点は、平均が 57.8 点 (基本評価点: 60 点) であり、昨年 (56.5 点) より高くなった。各施設の点数の分布を見ると、減点なしの 60 点の施設が 72.2% となっており、昨年より 10% 以上増加した。また、タイピング方法別の平均値もすべての方法で昨年を上回る結果となり、特に SBT 法については、平均 59.5 点と良好な成績であった。参加部門別で比較すると、輸血部門への単独参加施設では全体的に減点が多く平均 54.1 点、臓器部門単独参加の施設平均が 56.8 点と全体の平均値を下回っていた。

### 3.3 結果表記の評価

「結果表記」の評価点は、平均 38.7 点 (基本評価点: 40 点) であり、昨年と同じ点数であった。しかし、各施設の点数の分布を見ると 36 ~ 40 点の施設の割合が 89.4% と 16th QCWS の 94.3%、17th QCWS の 94.1% と比較して約 5% 減少しており、その分 31 ~ 35 点の施設の割合が増加していた。

### 3.4 試験・検査状況の評価

「試験・検査状況の評価」では「HLA タイピング実施時にみられた試験結果 (反応データ) が適切であること、また判定が適切に行われていること」を A, B, C で評価

している。

今回の評価結果と昨年の評価結果を比較すると、Luminex法のGenoSearchおよびSBT法以外の方法では、A評価が6～20%減少し、一部の反応データに不備が認められるB評価の割合が増加している。逆にSBT法については、すべての施設がA評価となった。またC評価と判定された施設は、昨年に引き続きなかった。B評価と判定された原因については、一部の反応データに不備（偽陽性や偽陰性等）があったためであるが、反応データの不備はアサインミス等の原因となるため改善が必要である。

#### 4. 総合評価

総合評価点（判定結果の評価点+結果表記の評価点）の平均は96.6点とであり、昨年の平均点である95.3点を上回った。総合的な判定区分である総合評価点は、100点を「A：良好」、60～100点未満を「B：要確認」、0～60点未満を「C：要改善」と評価している。A評価が34施設と50%を超えB評価は32施設であった。要改善が必要なC評価の施設はなかった。

総合評価点については、年々上向きであり、参加部門間の差も少なくなってきている。特に今回のQCWSは、参加施設が昨年より13施設も増加していることを考えると良好な成績であったと考える。

# 第 17 回 HLA-QC ワークショップレポート —部門別解析および結果評価（抗体部門）—

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

## 1. 部門別解析

### 1.1 概要

抗体 QC への参加は、輸血部門 27 施設、臓器移植部門 29 施設、造血幹細胞移植部門 21 施設（全て重複あり）で、昨年（16th）より 12 施設多い 49 施設（このうち初参加は 13 施設）となり大幅な増加を認めた。部門別参加の割合は、臓器、輸血、造血幹の順で多くこれまでの傾向と同様であったが、参加施設の構成については医療機関の参加率が著しく上昇し今年の 1.5 倍に増えた。これらの要因としては、クロスマッチにおいて臓器移植学会との共同企画があったことや、移植関連施設への広報活動による影響だと思われる。

また、抗体検査実施状況については、49 施設中 46 施設（93.9%）で蛍光ビーズ法による抗体検査を 2 法以上実施していた。また、昨年までの傾向と同じく試薬の使用状況が特定の部門に偏らない「均一化」の傾向が認められた。

### 1.2 部門別解析

全部門での総合判定から抗体検出（抗体有無）結果の一致率を見た。昨年度（16th）は、IgM 抗体の特異性を有するサンプルが含まれていたこともあり 83.0%～100% と一致率にバラツキを認めたが、本年度は SH2503 のクラス II 抗体を除くすべてが一致率 100% と非常に良好な成績であった。一致率が 100% ではなかった SH2503 のクラス II 抗体の検出では、Consensus が抗体無（スコア 1）であるのに対して、2 施設が抗体有（スコア 8）としていた。これらの施設は抗体の有無についても LABScreen single antigen のみを用いて検査を実施したと考えられ、抗体検出における試薬の選択は慎重にしなければならない。

抗体特異性同定の部門別実施率（実施数／部門別参加数×100）を比較すると、Class I 抗体では造血幹細胞移植部門および臓器移植部門が 100% であるのに対して輸血部門は 74.0%、Class II 抗体では臓器移植部門 96.6%、造血幹細胞移植部門 95.2% であるのに対して輸血部門が 92.6% と、一昨年と同様に輸血部門の抗体同定検査の実施率が低い傾向となった。

## 2. 結果評価

### 2.1 抗体 QC 結果評価について

これまでと同様に、参加施設から提出された結果が共通となる割合を表した「基準値（現段階では 0.67）」を基に、それ以上の構成比率を示す抗原を対象として評価点を算出した（それ以下の構成比率を示す抗原は対象外）。その他、詳細な評価点基準設定の根拠および算出法については HP 掲載の解析結果を参照されたい。

### 2.2. 評価結果

1) 抗体検出については、A 評価（80 点以上）が 47 施設（95.9%）、B 評価（40～80 点未満）0 施設、C 評価（40 点未満）2 施設（4.1%）であった。ただし C 評価の 2 施設は「結果の記入漏れ」である可能性が高く、それを除けば全体的に良好な結果であった。一方、クラス II 抗体の検出について SH2503 が 100% 一致とならなかった原因は、抗体有と判定した 2 施設が抗体スクリーニングに LABScreen single antigen を用いたことで他法では検出されない微弱な反応を抗体陽性として判断したと考えられる。

2) 抗体特異性同定検査を実施した 37 施設中、評価 A が 28 施設（75.7%）、評価 B が 4 施設（10.8%）、評価 C が 5 施設（13.5%）となり、昨年よりも評価 A および B の施設が増加し、評価 C の施設が減少するという結果

であった。ただし、今年度より判定記入シートの内容を若干変更したこと、また初参加施設においては記入方法の理解不足が否めないことから本来の実力を発揮できていない可能性もあり次回以降の結果が期待される。

3) 今回、特異性同定の評価抗原について部門間での一致率をローカス別に比較した。A ローカスについては各部門とも100%一致していたが、B, C ローカスについては95～97%の一致率であった。特にC ローカス抗体の検査結果は他部門に比較して臓器部門で若干のばらつきを認めた。これは、技術的な差異というよりは、選択する試薬（C ローカス抗原が含まれないなど）によるものであり、部門による必要性（優先度）の違いを反映していると考えられた。クラスII抗体についてはDR・DQ ローカス共に一致抗原数に大差を認めなかった。

4) 抗体特異性同定検査の共通となる結果（Consensus Result）を比較対象として、各施設の結果の一致状況を検討した。結果が不一致となるパターンは、Consensus Result がスコア1であるのに対してスコア8である場合（暫定的に偽陽性とする）、その逆でConsensus Result がスコア8であるのに対してスコア1である場合（暫定的に偽陰性とする）の2通りを比較すると、部門には偏らず全体的に偽陰性のパターンが散見されており昨年とは逆の傾向を認めた。

5) 抗体特異性同定まで行った35施設中34施設（97.1%）はHigh resolution 試薬であるLABScreenやFlow PRAのsingle antigen, またはそれに準ずるWAKFlowを用いており、これら試薬の結果の違いが抗原別判定結果に影響していると考えられる。そこで今年度は方法別の結果比較を試み、以下に各試薬の特徴を踏まえた留意点を列記する。

① LABScreenの結果は参加施設内でよく一致しており、さらに総合判定の結果ともほぼ合致していた。その反面、総合判定結果の根拠となるので評価点を意識したスコアリングになる傾向も否めない。QCWSの本来の目的（検査精度の自己管理）に適うためにも特に陽性カットオフ付近のグレーゾーンでは日常的に自施設で用いる判断基準で判定し、その結果を他施設と比較するべきである。

② WAKFlowでの抗原別判定結果の一致率はほとんどのサンプルで70%以上と良好であった。ただし、Cロー

カス抗体については「1」と判定されやすい傾向がみられた。A, B ローカス抗体と複合で存在するC ローカス抗体の反応は、より慎重に判定する必要があるため自施設の判定方法についても再確認が必要である。

③ Flow PRAではsingle antigenを用いる施設数が少ないため特異性同定の一致率が低くなる傾向があった。C ローカス抗体については全施設で未検査であった。これらの施設はすべて臓器部門の単独参加であり、部門の特徴を反映していると考えられた。

### 3. 結語

17th QCWSの結果を総合的に判断すると、16th QCWSから引き続き参加施設の全体的な水準は一定レベルで維持されていると考えられた。ただ、部門間の結果には特筆すべき差異は認めないものの臓器部門は他部門と比較して評価点に若干のばらつきを認めた。また、18th QCWSに向けて再認識を要する事項を以下に挙げる。

#### 1) 結果記入シート記載および提出についての注意事項

① 判定シートのスコアは全て集計される事を念頭において入力する。（選択した方法で判定不可能なものは入力しない。）

② 未使用シートの削除、測定データの添付、期限内の提出（差替えは受理しない）など日常的に成績書を提出するのと同様の姿勢で臨む。

#### 2) 継続的参加の重要性

① 過去の結果との比較から全体的な検査精度は向上している。継続的に参加することで自施設の恒常的な精度管理が可能と考える。

② 同様の検査目的を持った他施設との結果比較ができる機会として活用されることが望ましい。

冒頭でも述べたとおり今年度はQCWS抗体部門史上で最も多い参加数であり、特に初参加の割合が26.5%と今後期待できる結果となった。参加施設数が増加するに伴いその解析結果はより現状を反映するものとなる。そこで結果評価の方法に関しても基準値（Consensus）の算出方法や、現状では明確な差異が認められない「部門別」という切り分け方などを今後の検討事項として協議し、参加施設と解析担当の相互的努力でさらに日常業務の指標となるようなQCWSを目指したいと考える。

# 第 17 回 HLA-QC ワークショップレポート【追加発言】 血液を用いた「クロスマッチ」の実施報告 —日本組織適合性学会 QCWS との連携—

橋口 裕樹<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 福岡赤十字病院 検査部 移植・輸血検査課

### 1. 概要

日本移植学会では、統一した全血サンプル由来のリンパ球を用いた交差試験（以下、「クロスマッチ」という。）の精度管理が必要だと思慮し、平成 25 年 4 月に日本組織適合性学会との連携により、試行的に実施する事となった。

### 2. 経過

日本組織適合性学会が開催する第 17 回 QCWS 参加施設は 72 施設で、その中 39 施設からの全血クロスマッチ参加申し込みがあった。使用したサンプルは平成 25 年 4 月 2～5 日に日本組織適合性学会 QCWS より配布された血清 4 本中、2 本を使用した。

その後、日本移植学会移植関連検査委員会より ACD-A 液入全血 7 ml を参加施設に配布した。到着後、直ちに T 細胞を分離し、クロスマッチを実施した。ACD-A 液入全血の発送には、宅配便（常温）で発送、全国の参加施設には翌日、翌々日には到着し、細胞分離に関して大きな影響は無かった。集計結果は各施設にメールにて報告し、9 月に開催された第 49 回日本移植学会、日本組織適合性学会第 17 回 QCWS で報告を行った。

### 3. 検査方法および試料選択について

検査方法は各施設で日常的に行っている方法を選択可とした。日本組織適合性学会 QCWS より配布されたサンプル血清の内、抗体の特異性より #2502 をクロスマッチ陽性、#2504 をクロスマッチ陰性になるように選択した。#2502 陽性検体は感度の一番低い CDC 法でも陽性になるよう設定した。検査方法を見ると CDC 法（27 施設）、AHG-CDC 法（7 施設）、FCXM（25 施設）、ICFA 法（11 施設）を使用し、半数以上の施設で複数の検査方法を使用しての結果報告であった。

### 4. 検査結果

一部の検査法を除き 90% 近い結果の一致率であった。不一致の原因はサンプル取違い、誤入力、判定保留があった。全体として概ね良好な結果であった。

### 5. まとめ

今回、初の試みとして全国規模の統一した全血サンプル由来のリンパ球を用いたクロスマッチを、日本組織適合性学会の協力のもと実施した。次年度も引き続き同様の形式の精度管理を予定、準備を進めている。これと併せて臓器移植検査に関わる検査方法の統一、マニュアル整備等も行う事が急務であると考えられる。



## HLA 遺伝子多型からみた日本人集団の混合的起源

中岡 博史<sup>1)</sup>・細道 一善<sup>1)</sup>・光永 滋樹<sup>2)</sup>・猪子 英俊<sup>2)</sup>・井ノ上逸朗<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 国立遺伝学研究所 総合遺伝研究系 人類遺伝研究部門

<sup>2)</sup> 東海大学医学部 基礎医学系 分子生命科学

HLA 領域の遺伝的多型は医学分野のみならず、人類の移住、混合、自然選択や遺伝的適応といった進化過程を推測する集団遺伝学においても重要なツールとして用いられている。日本人の起源については諸説あるが、約 30,000 年前の後期旧石器時代に日本列島へと移住してきた狩猟採集民である縄文人と、紀元前 1,000 年から西暦 300 年頃に朝鮮半島から日本列島へと移住してきた弥生人の祖先が混血して、現在の日本人集団の起源になったとする“混合モデル”が有力であると考えられている。本稿では、日本人集団の混合的起源を支持する遺伝的知見について概説するとともに、HLA 遺伝子多型から日本人の祖先集団を推測する遺伝的痕跡の探索について、最新の研究を紹介したい。

**キーワード：**日本人集団、ヒト白血球抗原、混合モデル、移住、進化

### はじめに

HLA 領域はヒト第 6 染色体短腕の 3.6 Mb にわたる主要組織適合遺伝子複合体に相当する領域である。HLA 領域は免疫機能に関わる多数の遺伝子を有し、ヒトゲノムで最も多型性に富む領域である<sup>1)</sup>。タイピング技術の向上に伴い、IMGT/HLA データベースに登録される HLA アレル数は急速に増加し、現在では 8,000 を越えるアレルが報告されている<sup>2)</sup>。ヒトの集団遺伝学において、HLA 領域は、移住、混合、自然選択や遺伝的適応といったヒトの進化過程を推測する重要なツールとして用いられている<sup>3)</sup>。

現代日本人集団の起源については諸説あるが、アジア大陸から少なくとも二回の大規模な移住があったとされる。約 30,000 年前の後期旧石器時代に縄文人の祖先が日本列島へと移住してきた。縄文人は狩猟採集民であり、世界的にも最古の部類に属する土器（縄文土器）を製作する文化を築いた。次いで、紀元前 1000 年から西暦

300 年頃に朝鮮半島から日本列島へと移住してきた弥生人の祖先が日本に水稲耕作文化を伝えたとされる。これらの祖先集団を基礎として現代日本人集団が形作られた過程について、三つの異なるモデルが提唱されている。i) 縄文人を弥生人が追い出して定着したとする“置換モデル”，ii) 弥生人は現在の日本人集団に遺伝的な寄与をしておらず、縄文人が徐々に変化したとする“変形モデル”，iii) 縄文人と弥生人が混血して現在の日本人集団の起源になったとする“混合モデル”である。現在では形態学的研究や遺伝学的研究から、混合モデルが有力と考えられている。

本稿では、日本人集団の混合的起源を支持する遺伝的知見について概説するとともに、HLA 遺伝子多型から日本人の祖先集団を推測する遺伝的痕跡の探索について、最新の研究を紹介したい。

### 日本人集団の混合的起源を支持する遺伝学的知見

埴原は歯や頭蓋の形態学的研究から、日本人集団の二

受付日：2013 年 11 月 14 日，受理日：2014 年 1 月 28 日

代表者連絡先：中岡 博史 〒411-8540 静岡県三島市谷田 1111 国立遺伝学研究所総合遺伝研究系人類遺伝研究部門  
TEL: 055-981-6795 E-mail: hnakaoka@nig.ac.jp

重構造仮説（混合モデル）を提唱し、初期の移住集団が東南アジア系、後期の移住集団が北アジア系と推測した<sup>4)</sup>。混合モデルについて検証した初期の研究では、分子系統学的解析により、日本人集団が東アジア集団、特に朝鮮人集団と近縁であること、日本の本土集団が縄文人の遺伝的背景を受け継いでいると考えられるアイヌ・沖縄集団と弥生人の祖先の遺伝的背景を受け継いでいると考えられる朝鮮人集団の中間に位置することを示し、遺伝学的見地から混合モデルが妥当であると論じている<sup>5)</sup>。

広範なアジア集団における Y 染色体のハプログループの頻度分布を調査した結果、日本人集団で顕著に認められるハプログループ D に属するサブグループ D-P37.1 は、チベットで高頻度に認められるサブグループを祖先型として新たな変異を蓄積したものであった<sup>6)</sup>。また、ハプログループ O-M122, OP-31 が朝鮮集団、東南アジアに共通することが明らかになった。これらのことから、縄文人の祖先は北・中央アジア由来、弥生人の祖先は東南アジア由来という仮説が提示された。さらに、これらハプログループについて日本地域集団での頻度分布を比較してみると、沖縄から九州、徳島、青森、北海道（アイヌ）にわたって、D-P37.1 は U 字型の曲線を、O-M122, O-P31 は逆 U 字型の曲線を描くことが分かった（図 1）。このことは、縄文人由来と推測されるハプログループ D-P37.1 の頻度は沖縄とアイヌで高く、弥生

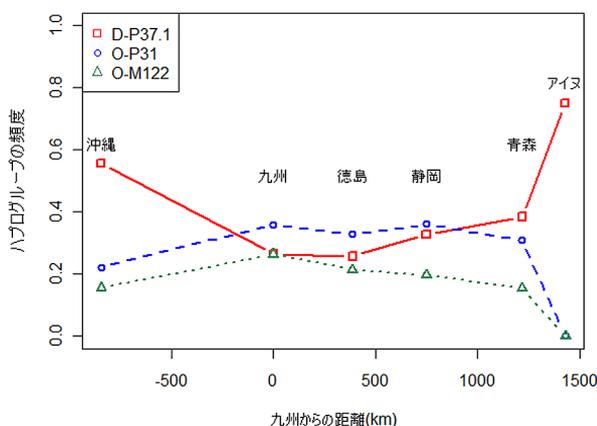


図 1 日本地域集団における Y 染色体ハプログループの頻度。Y 染色体ハプログループの頻度を九州からの距離に従ってプロットした。データは Hammer ら<sup>6)</sup>の論文の表 1 と図 5 を参照して作成した。論文中に九州およびアイヌの都市名が記載されていないため便宜的に福岡および日高として距離を算出した。

人の祖先と縄文人の混合が進んだ本土では O-M122, O-P31 の頻度が高くなっていることを示している。弥生人との混合の指標である O-M122, O-P31 がアイヌで認められなかったことは、弥生時代の渡来人の遺伝的影響がアイヌにまでは及んでいないことを示唆している。ミトコンドリア DNA 配列に基づく研究でも、ハプログループ M12 が Y 染色体での D グループと同様にチベットで高頻度に認められ、北・中央アジアの寄与を示唆する結果であった<sup>7)</sup>。ミトコンドリア DNA の解析結果は、日本人集団の中で沖縄だけに認められる東南アジア系統の寄与を指摘する等、より複雑な移住イベントにより現代日本人集団が形成された可能性について言及している。

ゲノムワイド SNP データを用いた日本人集団構造の研究では、本土と沖縄の二つのクラスターが形成され、本土集団のクラスターの中でも各地域集団によって分布にわずかながらも偏りが生じていることが明らかにされた<sup>8)</sup>。興味深いことに、本土と沖縄クラスターの分化に最も寄与しているゲノム領域は HLA 領域であった<sup>8,9)</sup>。

#### HLA 遺伝子多型から見た日本人集団の祖先の推測

HLA 遺伝子多型を用いた日本人の集団遺伝学的研究は盛んに行われてきた<sup>10)</sup>。HLA 遺伝子多型による分子系統学的研究は、縄文人の遺伝的背景を強く受け継いでいる沖縄とアイヌ集団が近接しており、本土は朝鮮などの東アジアと沖縄・アイヌの中間に位置するという、尾本と斎藤の結果<sup>5)</sup>を裏付けるものであった<sup>11,12)</sup>。さらに、東南アジアに広く分布し、沖縄集団に高頻度で認められるハプロタイプ *A\*24-B\*54-DRB1\*04:05* がアイヌには認められないことから、沖縄とアイヌの祖先集団が分離した後、沖縄に東南アジアからの遺伝的流入があったと推測している<sup>11)</sup>。また、アイヌ集団がサハリンのニヅフ集団からの遺伝的流入を受けた可能性も指摘されている<sup>13)</sup>。これらのことから、沖縄とアイヌが分離後に受けた遺伝的流入の差異が、縄文人の遺伝的背景を強く受け継いでいる集団とされながらも遺伝的距離が比較的遠い要因ではないかと指摘されている<sup>11)</sup>。

HLA アレルやハプロタイプの集団間での共有は、集団の移動や混合を推測するための強力なツールとなりうる<sup>10)</sup>。日本人本土集団の HLA ハプロタイプの大部分は朝鮮集団にも存在することが報告されている<sup>14-16)</sup>。これは弥生人の祖先集団が朝鮮半島から移住してきたであ

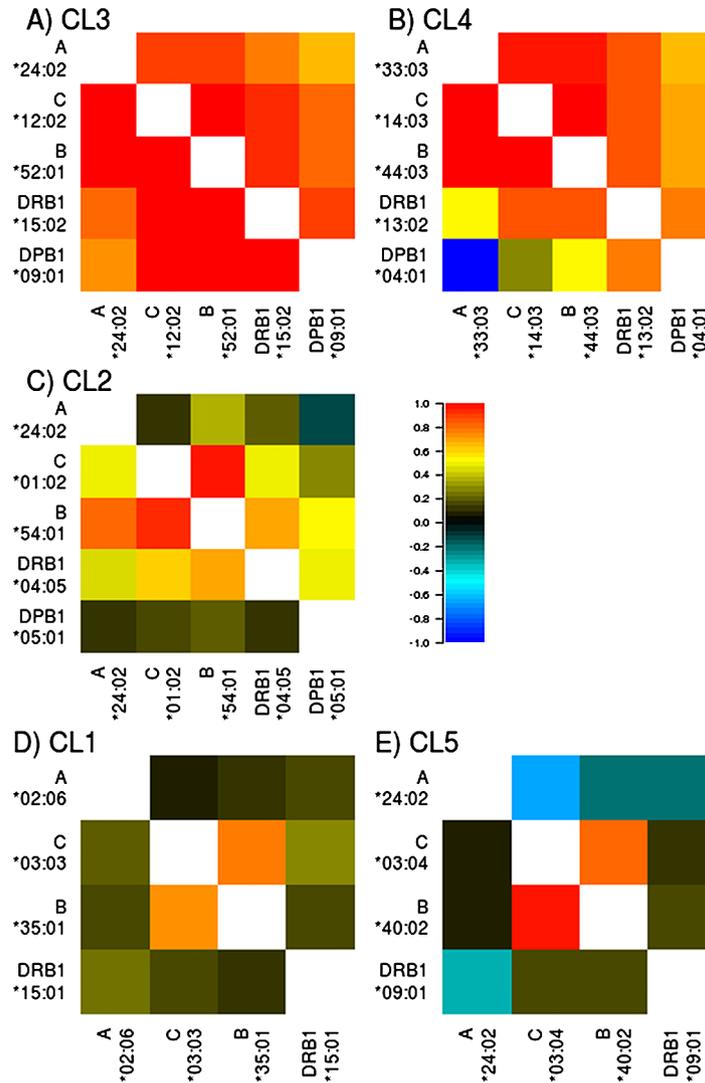


図2 日本人地域集団の構造化に寄与する HLA アレル間の連鎖不平衡係数 (D')。文献 17 より引用。

うことを考えれば、自然な現象であると思われる。それでは、朝鮮半島からの遺伝的流入以前の日本人祖先集団について、HLA 遺伝子多型から考察することは可能だろうか。

#### 日本人集団の祖先集団を推測する HLA 領域の遺伝的痕跡

著者らは、日本の 10 地域（北海道、東北、関東、北陸、東海、近畿、中国、四国、九州、沖縄）から収集した約 2,000 検体の HLA 遺伝子型多型情報（HLA-A, B, C, DRB1, DPB1）を用いて、地域集団間の分化や集団構造について解析を行った<sup>17)</sup>。我々は、主成分分析における principal component score (PCS) を用いて、集団構造化に寄与する HLA アレルやハプロタイプを同定するアプ

ローチを行った。この手法は、各 HLA アレルについての PCS が標準化頻度ベクトルを固有ベクトルへ投影したもとして求められる性質を利用することで、集団の複雑な構造化を特徴づける遺伝的マーカーを効率よく同定できる。

日本の 10 地域集団の解析結果、本土と沖縄の間で HLA アレル頻度分布に大きな分化が認められ、PCS で同定した HLA アレルとハプロタイプに着目したところ、i) 沖縄で頻度が低く、本土で頻度の高いアレルは、互いに強い連鎖不平衡にあり、長いハプロタイプとして保存されている（図 2 の CL3 と CL4）。一方、ii) 沖縄で頻度が高く、本土で頻度が低いアレルで構成されるハプロタイプでは、連鎖不平衡が崩れ、断片化されたハプロ

タイプとして存在していることが分かった (図2のCL1)。図2のCL2に属するHLAアレルは中程度の連鎖不平衡を維持しており、沖縄で最も頻度の高いハプロタイプ A\*24:02-C\*01:02-B\*54:01-DRB1\*04:05-DPB1\*05:01 を構成している。アレル間の連鎖不平衡は、世代を経るに従って組換えが生じ、崩れてゆくものであるから、i) のアレルから構成されるハプロタイプは世代として新しく、ii) のアレルから構成されるハプロタイプは世代として古いことが推測される。さらに、i) のハプロタイプ (A\*24:02-C\*12:02-B\*52:01-DRB1\*15:02-DPB1\*09:01 および A\*33:03-C\*14:03-B\*44:03-DRB1\*13:02-DPB1\*04:01) は、日本と朝鮮だけに存在することから、弥生時代に朝鮮半島からもたらされ、日本本土で急速に増加したものと推察される。CL1に属する A\*02:06 や B\*35:01 はアイヌでも頻度が高いことから縄文人から受け継がれたアレルと考えられる。

ハプロタイプ A\*33:03-C\*14:03-B\*44:03-DRB1\*13:02-DPB1\*04:01 を構成するアレルの中で特に DPB1\*04:01 への正の選択が指摘されている<sup>18)</sup>。直感的には、水稻耕作文化を伝えた朝鮮半島からの移住民はコミュニティにおいて優位性を持ち、その結果として日本人集団の中で朝鮮半島からの移住民の子孫が急速に増加したとも考えられる。社会的にアドバンテージを持つ集団が先住民集団と混合する条件下での自然選択という複雑な現象を考える上で、この知見はたいへん興味深い。

我々は、朝鮮半島からの移住以前の祖先集団について推論を行うため、日本の10地域集団に韓国を加えた主成分分析を行い (図3A)、PCSプロットを用いて日本地域集団と韓国の分化に寄与するHLAアレル (A\*24:02, C\*03:04, C\*07:02, B\*40:02, DRB1\*09:01) を同定した (図3B)。同定されたアレルのうち A\*24:02-C\*03:04-B\*40:02 がハプロタイプを構成していることから、データベース検索により当該ハプロタイプを有する集団を特定した。その結果、台湾の蘭嶼島のヤミ族、アリューシャン列島のアレウト族、アラスカのユピック族、北アメリカンインディアンおよび中央アメリカンインディアン (メキシコ先住民のタラウマラ族) に分布していることが分かった。このハプロタイプでエンコードされる血清学レベルのハプロタイプ A24-Cw10-B61 は、シベリア、モンゴル、バイカル湖でも認められることが分かった (図4)。つまり、上記ハプロタイプは、東・北アジアから、シベリ

ア、アリューシャン列島を通過して、北アメリカから中央アメリカへと移住していった祖先集団の移住ルートを示す遺伝的な痕跡であると推察される<sup>17)</sup>。

東アジア人集団の起源は完全に解明されていない。ゲノムワイドSNPデータを用いた研究では、東南アジアからの単一の移住ルートが支持されている<sup>19)</sup>。一方、中央アジア経路と東南アジア経路の両方から移住してきた祖先人類が東アジア人集団の祖となったとする“pincer model”も提唱されており<sup>20,21)</sup>、現在のアジア人集団におけるHLAアレル頻度分布は“pincer model”に適合するものであるという報告がある<sup>22)</sup>。シベリアに人類が到達したのが、約4万5千年から4万年前であり、ベーリング海峡を渡り新世界へと人類が移住したのは約1万5千年前と考えられている<sup>23)</sup>。グリーンランドの永久凍土に保存された頭髪の全ゲノムシーケンシングにより、新世界に渡った人類はヨーロッパ系ではなくアジア系であることが明らかにされている<sup>24)</sup>。最新の研究では、最初にアジアから新世界に移住した集団“first American”が北アメリカから南アメリカへと移住を続け現在のアメリカ先住民の礎となり、さらに後続の二つの移住集団が北極のエスキモーやカナダのナ・デネ語族に影響を及ぼしたと推測されている<sup>25)</sup>。これらの知見は我々の結果と一致しており、我々が朝鮮半島からの遺伝的流入以前の日本人集団を特徴づけるHLAハプロタイプとして検出した A\*24:02-C\*03:04-B\*40:02 は、アジアを起源として旧世界から新世界へと“first American”によって伝えられた遺伝的痕跡ではないかと推察される<sup>17)</sup>。

日本人が中国や朝鮮半島では見出されないハプロタイプ A\*24:02-C\*03:04-B\*40:02 を有していることは、日本人が有史以前に北アジア系集団と共通祖先を有していたことを示唆している。また、弥生時代に朝鮮半島から流入したと推測されるハプロタイプを有することを併せて考えると、HLA遺伝子多型の観点からも日本人集団の混合的起源説は妥当なものと推察される。さらに、A\*24:02-C\*12:02-B\*52:01-DRB1\*15:02-DPB1\*09:01 および A\*33:03-C\*14:03-B\*44:03-DRB1\*13:02-DPB1\*04:01 ほどではないものの、ある程度の連鎖不平衡を維持しているハプロタイプ A\*24:02-C\*01:02-B\*54:01-DRB1\*04:05-DPB1\*05:01 の存在は、弥生時代における朝鮮半島からの移住よりも古い時代に大きな移住イベントがあったことを示唆している。

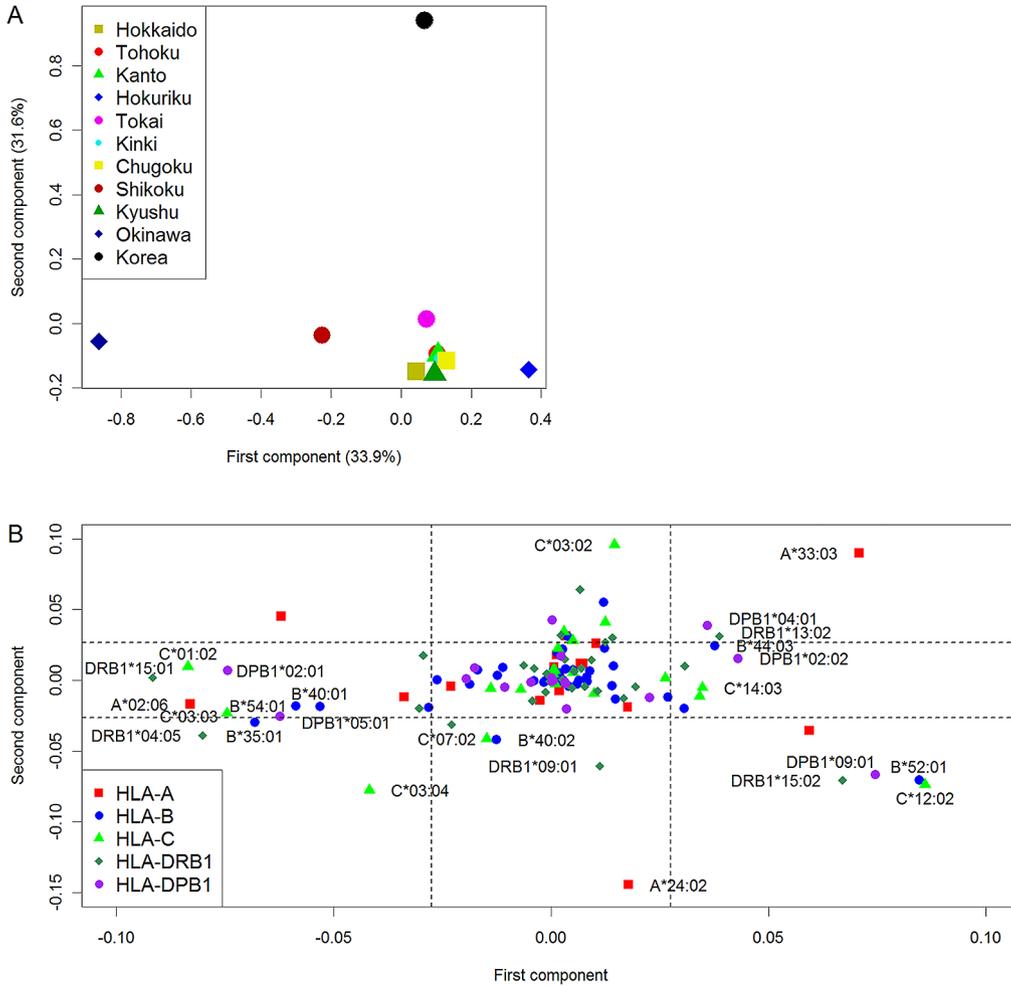


図3 日本人地域集団と韓国集団の HLA アレル頻度情報に基づく主成分分析 (パネル A) および PCS プロット (パネル B)。文献 17 より引用。



図4 HLA ハプロタイプ A\*24:02-C\*03:04-B\*40:02 を共有する集団の分布。イタリック表記は血清学レベルのハプロタイプ A24-Cw10-B61 を有する集団。

## さいごに

HLA 遺伝子情報を用いた集団遺伝学的研究は4桁レベルのタイピング結果に基づいている。これは一部の多型性に富むエクソンの配列（クラス I 遺伝子のエクソン 2 および 3, クラス II 遺伝子のエクソン 2）により決定されるものであり、限定的情報に依存した解析に留まっていると言える。我々のグループを含め複数の研究グループが開発を進めている次世代シーケンサーを用いた HLA 配列決定法<sup>26-28)</sup>は、HLA 遺伝子のエクソン・イントロンのみならず遺伝子上流・下流領域の配列決定を可能にするものである。精密な配列情報が利用可能になれば、人類集団の移住や進化過程をより詳細に追跡することが可能になると期待される。

## 謝 辞

本稿で紹介した日本地域集団の HLA 遺伝子型情報は日本 PGx データサイエンスコンソーシアム (JPDSC) より提供いただいたものである。貴重なデータを研究に利用させていただいた JPDSC 関係者の皆様と DNA を提供いただいた参加者の皆様に感謝いたします。

## 引用文献

- 1) Shiina T, Hosomichi K, Inoko H, *et al.*: The HLA genomic loci map: Expression, interaction, diversity and disease. *Journal of Human Genetics* (54): 15–39, 2009.
- 2) Robinson J, Waller MJ, Parham P, *et al.*: IMGT/HLA and IMGT/MHC: Sequence databases for the study of the major histocompatibility complex. *Nucleic Acids Research* (31): 311–314, 2003.
- 3) Vina MA, Hollenbach JA, Lyke KE, *et al.*: Tracking human migrations by the analysis of the distribution of HLA alleles, lineages and haplotypes in closed and open populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences* (367): 820–829, 2012.
- 4) Hanihara K: Dual structure model for the population history of the Japanese. *Japan Review* (2):1–33, 1991.
- 5) Omoto K, Saitou N: Genetic origins of the Japanese: A partial support for the dual structure hypothesis. *American Journal of Physical Anthropology* (102): 437–446, 1997.
- 6) Hammer MF, Karafet TM, Park H, *et al.*: Dual origins of the Japanese: Common ground for hunter-gatherer and farmer Y chromosomes. *Journal of Human Genetics* (51): 47–58, 2006.
- 7) Tanaka M, Cabrera VM, Gonzalez AM, *et al.*: Mitochondrial genome variation in eastern Asia and the peopling of Japan. *Genome Research* (14): 1832–1850, 2004.
- 8) Yamaguchi-Kabata Y, Nakazono K, Takahashi A, *et al.*: Japanese population structure, based on SNP genotypes from 7003 individuals compared to other ethnic groups: Effects on population-based association studies. *American Journal of Human Genetics* (83): 445–456, 2008.
- 9) Yamaguchi-Kabata Y, Tsunoda T, Kumasaka N, *et al.*: Genetic differences in the two main groups of the Japanese population based on autosomal SNPs and haplotypes. *Journal of Human Genetics* (57): 326–334, 2012.
- 10) Tokunaga K, Imanishi T, Takahashi K, *et al.*: On the origin and dispersal of East Asian populations as viewed from HLA haplotypes. In Akazawa T, Szathmari EJE (Eds.), *Prehistoric Mongoloid Dispersals*, Oxford University Press, Oxford. 1996.
- 11) Hatta Y, Ohashi J, Imanishi T, *et al.*: HLA genes and haplotypes in Ryukyuan suggest recent gene flow to the Okinawa islands. *Human Biology* (71): 353–365, 1999.
- 12) Bannai M, Ohashi J, Harihara S, *et al.*: Analysis of HLA genes and haplotypes in Ainu (from Hokkaido, northern Japan) supports the premise that they descent from upper paleolithic populations of East Asia. *Tissue Antigens* (55): 128–139, 2000.
- 13) Tajima A, Hayami M, Tokunaga K, *et al.*: Genetic origins of the Ainu inferred from combined DNA analyses of maternal and paternal lineages. *Journal of Human Genetics* (49): 187–193, 2004.
- 14) Tokunaga K, Ishikawa Y, Ogawa A, *et al.*: Sequence-based association analysis of HLA class I and II alleles in Japanese supports conservation of common haplotypes. *Immunogenetics* (46): 199–205, 1997.
- 15) Saito S, Ota S, Yamada E, *et al.*: Allele frequencies and haplotypic associations defined by allelic DNA typing at HLA class I and class II loci in the Japanese population. *Tissue Antigens* (56): 522–529, 2000.
- 16) Lee KW, Oh DH, Lee C, *et al.*: Allelic and haplotypic diversity of HLA-A, -B, -C, -DRB1, and -DQB1 genes in the Korean population. *Tissue Antigens* (65): 437–447, 2005.
- 17) Nakaoka H, Mitsunaga S, Hosomichi K, *et al.*: Detection of ancestry informative HLA alleles confirms the admixed origins of Japanese population. *PLoS One* (8): e60793, 2013.
- 18) Kawashima M, Ohashi J, Nishida N, *et al.*: Evolutionary analysis of classical HLA class I and II genes suggests that recent positive selection acted on DPB1\*04:01 in Japanese population. *PLoS One* (7): e46806, 2012.
- 19) HUGO Pan-Asian SNP Consortium, Abdulla MA, Ahmed I, *et al.*: Mapping human genetic diversity in Asia. *Science* (326): 1541–1545, 2009.
- 20) Cavalli-Sforza LL, Menozzi P, Piazza A: *The history and geography of human genes*. Princeton University Press, Princeton. 1994.
- 21) Karafet T, Xu L, Du R, *et al.*: Paternal population history of East Asia: Sources, patterns, and microevolutionary processes. *American Journal of Human Genetics* (69): 615–628, 2001.

- 22) Di D, Sanchez-Mazas A: Challenging views on the peopling history of East Asia: The story according to HLA markers. *American Journal of Physical Anthropology* (145): 81–96, 2011.
- 23) Goebel T, Waters MR, O'Rourke DH.: The late pleistocene dispersal of modern humans in the Americas. *Science* (319): 1497–1502, 2008.
- 24) Rasmussen M, Li Y, Lindgreen S, *et al.*: Ancient human genome sequence of an extinct Palaeo-Eskimo. *Nature* (463): 757–762, 2010.
- 25) Reich D, Patterson N, Campbell D, *et al.*: Reconstructing native American population history. *Nature* (488): 370–374, 2012.
- 26) Hosomichi K, Jinam TA, Mitsunaga S, *et al.*: Phase-defined complete sequencing of the HLA genes by next-generation sequencing. *BMC Genomics* (14): 355, 2013.
- 27) Wang C, Krishnakumar S, Wilhelmy J, *et al.*: High-throughput, high-fidelity HLA genotyping with deep sequencing. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (109): 8676–8681, 2012.
- 28) Shiina T, Suzuki S, Ozaki Y, *et al.*: Super high resolution for single molecule-sequence-based typing of classical HLA loci at the 8-digit level using next generation sequencers. *Tissue Antigens*. (80): 305–316, 2012.

## The Admixed Origin of Japanese Population from HLA Alleles

Hirofumi Nakaoka<sup>1)</sup>, Kazuyoshi Hosomichi<sup>1)</sup>, Shigeki Mitsunaga<sup>2)</sup>, Hidetoshi Inoko<sup>2)</sup>, Ituro Inoue<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Division of Human Genetics, Department of Integrated Genetics, National Institute of Genetics

<sup>2)</sup>Division of Molecular Life Science, School of Medicine, Tokai University

The polymorphisms in the human leukocyte antigen (HLA) region are powerful tool for studying human evolutionary processes such as migration, admixture, natural selection and genetic adaptation. The origin of modern Japanese has long been debated. It is thought that there are at least two waves of migrations to the Japanese Archipelago. The ancestors of the Jomon people migrated to the Japanese Archipelago in the Upper Paleolithic age (approximately 30,000 years ago). The new migrants, the Yayoi people, came through the Korean Peninsula in the Aeneolithic period (1,000 BC to 300 AD). The prevailing model for peopling of Japan is the admixture model or “dual structure model” in which modern Japanese was formed by admixture between the Jomon and Yayoi people. We briefly review findings that support the admixture model for peopling of Japanese Archipelago, and introduce recent studies for exploring genetic footprints of the migration route of prehistoric ancient populations.

**Key Words:** Japanese population, human leukocyte antigen, admixture, migration, evolution

## 第 12 回日本組織適合性学会近畿地方会 抄 録 集

会 期：2014 年 2 月 1 日（土）

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

TEL: 06-6962-7001

世話人：木村 貴文

京都大学 iPS 研究所 基盤技術研究部門

〒 606-8507 京都市左京区聖護院川原町 53

TEL: 075-366-7051

E-mail: t.kimura@cira.kyoto-u.ac.jp

共 催：財団法人 大阪腎臓バンク

【参加費】

1. 正会員：2,000 円
2. 学 生：1,000 円
3. 世話人：3,000 円

【会議等】

1. 総 会：2月1日（土）13:50～14:00
2. 世 話 人 会：2月1日（土）12:30～13:50
3. 意見交換会：2月1日（土）17:00～

【会場地図】

大阪府赤十字血液センター 7階会議室

大阪市城東区森之宮2丁目4番43号 TEL 06-6962-7001



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

## プログラム

9 時 30 分

受付開始

【午前の部】

10 時～ 11 時

オープニングセミナー

座長：芦田隆司（近畿大学 血液・膠原病内科）

1) 赤血球抗原の遺伝子検査

田中光信（日本赤十字社 近畿ブロック血液センター 検査開発課）

2) HLA-F と古典的クラス I の新しい側面

石谷昭子（奈良県立医科大学法医学教室）

11 時～ 12 時 30 分

一般演題 (1)

11 時 00 分～ 11 時 50 分

座長：荒木延夫（兵庫県赤十字血液センター）

1) NAIT 症例より検出された抗 HPA-15b 抗体の性状とその検出に関する問題点及び文献的考察

○荒木延夫, 西村千恵, 秋田真哉, 坊池義浩, 三木 均

兵庫県赤十字血液センター

2) ドナー特異的 HLA-DPB1 抗体陽性患者に対する臍帯血移植（第二報）

○佐藤 壯<sup>1)</sup>, 佐藤蘭子<sup>1)</sup>, 小林直樹<sup>2)</sup>

社会医療法人北楡会 札幌北楡病院 臨床検査科<sup>1)</sup>, 同 血液内科<sup>2)</sup>

3) FlowPRA Screening による HLA 抗体検査：プロゾーン様現象を呈した一例

○高山智美<sup>1)</sup>, 久山芳文<sup>1)</sup>, 扇谷恵里花<sup>1)</sup>, 岡田倫之<sup>1)</sup>, 矢澤浩治<sup>2)</sup>, 市丸直嗣<sup>3)</sup>, 高原史郎<sup>3)</sup>

大阪府立急性期・総合医療センター移植支援検査センター<sup>1)</sup>, 大阪府立母子保健総合医療センター泌尿器科<sup>2)</sup>, 大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学<sup>3)</sup>

4) 抗体同定試薬 WAKFlowHLA 抗体クラス I (HR) のエピトープ既知検体における反応性

○黒田ゆかり, 中村仁美, 山口恵津子, 田原大志, 井上純子, 永吉裕二, 中村 功, 久田正直, 清川博之

日本赤十字社九州ブロック血液センター 品質部

5) 抗体検査における Single Antigen と PRA の相関について

○池田奈未<sup>1)</sup>, 小島裕人<sup>1)</sup>, 二神貴臣<sup>1)</sup>, 辻野貴史<sup>1)</sup>, 林 晃司<sup>1)</sup>, 楠木靖史<sup>1)</sup>, 藤井直樹<sup>1)</sup>, 末上伸二<sup>1)</sup>, 宮崎有紀<sup>1)</sup>,

西川美年子<sup>1)</sup>, 小川公明<sup>2)</sup>, 赤座達也<sup>1)</sup>, 佐治博夫<sup>1)</sup>

公益財団法人 HLA 研究所<sup>1)</sup>, NPO 法人 白血病研究基金を育てる会<sup>2)</sup>

## 一般演題 (2)

11 時 50 分～12 時 30 分

座長：二神貴臣 (公益財団法人 HLA 研究所)

## 6) iPS 細胞樹立前後の同一性確認のための NGS を用いた第 4 区域までの HLA アリルタイピング

○末上伸二<sup>1)</sup>, 小島裕人<sup>1)</sup>, 鈴木進悟<sup>2)</sup>, 尾崎有紀<sup>2)</sup>, 椎名 隆<sup>2)</sup>, 光永滋樹<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>2)</sup>, 佐治博夫<sup>1)</sup>, 木村貴文<sup>3)</sup>公益財団法人 HLA 研究所<sup>1)</sup>, 東海大医学部 基礎医学系 分子生命科学<sup>2)</sup>, 京都大学 iPS 細胞研究所 基盤技術  
研究部門<sup>3)</sup>

## 7) Miseq を用いた HLA タイピング

○小島裕人<sup>1)</sup>, 末上伸二<sup>1)</sup>, Wyatt Nelson<sup>2)3)</sup>, 石谷昭子<sup>3)4)</sup>, 二神貴臣<sup>1)</sup>, 辻野貴史<sup>1)</sup>, 林 晃司<sup>1)</sup>, 楠木靖史<sup>1)</sup>, 藤井直樹<sup>1)</sup>,  
池田奈未<sup>1)</sup>, 宮崎有紀<sup>1)</sup>, Daniel E. Geraghty<sup>2)3)</sup>, 佐治博夫<sup>1)</sup>公益財団法人 HLA 研究所<sup>1)</sup>, Fred Hutchinson Cancer Research Center<sup>2)</sup>, Scisco Genetics, Inc.<sup>3)</sup>, 奈良県立医科大学 法  
医学教室<sup>4)</sup>

## 8) 日本列島人における A, B, DR, DQ, DP のハプロタイプ頻度解析

～ファミリーデータからの直接カウント法による～

○宮崎有紀<sup>1)</sup>, 小島裕人<sup>1)</sup>, 二神貴臣<sup>1)</sup>, 辻野貴史<sup>1)</sup>, 林 晃司<sup>1)</sup>, 楠木靖史<sup>1)</sup>, 藤井直樹<sup>1)</sup>, 末上伸二<sup>1)</sup>, 池田奈未<sup>1)</sup>,  
西川美年子<sup>1)</sup>, 小川公明<sup>2)</sup>, 赤座達也<sup>1)</sup>, 佐治博夫<sup>1)</sup>公益財団法人 HLA 研究所<sup>1)</sup>, NPO 法人 白血病研究基金を育てる会<sup>2)</sup>

## 9) HLA-8/8 アリル適合非血縁者間造血細胞移植における HLA-DPB1 disparity の検討

○佐藤 壯<sup>1)</sup>, 佐藤蘭子<sup>1)</sup>, 小林直樹<sup>2)</sup>, 小林良二<sup>3)</sup>社会医療法人北楡会 札幌北楡病院 臨床検査科<sup>1)</sup>, 同 血液内科<sup>2)</sup>, 同 小児思春期科<sup>3)</sup>

12 時 30 分～13 時 50 分

## 昼食・世話人会

13 時 50 分～14 時 00 分

## 総会

**【午後の部】**

14 時 00 分～ 14 時 20 分

**ブリーフ・セッション**

座長：木村貴文（京都大学 iPS 研究所 基盤技術研究部門）

ASHI（American Society for Histocompatibility and Immunogenetics）39th Annual Meeting に出席して  
楠木靖史（公益財団法人 HLA 研究所）

14 時 20 分～ 15 時 50 分

**シンポジウム**

「iPS 細胞にとっての組織適合性」

座長：谷 慶彦（近畿ブロック血液センター 研究部）

木村貴文（京都大学 iPS 研究所 基盤技術研究部門）

- 1) 「iPS 細胞を用いた腎疾患治療法の開発」  
長船健二（京都大学 iPS 細胞研究所 増殖分化機構研究部門）
- 2) 「iPS 細胞を用いた脳内細胞移植治療における免疫原性の検討」  
森実飛鳥（京都大学 iPS 細胞研究所 臨床応用研究部門）
- 3) 「iPS 細胞を用いた細胞治療と組織適合性」  
木村貴文（京都大学 iPS 細胞研究所 基盤技術研究部門）

16 時 00 分～ 17 時 00 分

**特別講演**

座長：椿 和央（近畿大学医学部奈良病院 血液内科）

「造血幹細胞移植と HLA」

森島泰雄（愛知県がんセンター 研究所 疫学・予防部）

17 時～

**懇親会**

(10:00 ~ 11:00)

---

### オープニングセミナー

座長：芦田隆司（近畿大学 血液・膠原病内科）

- 1) 赤血球抗原の遺伝子検査  
田中光信（日本赤十字社 近畿ブロック血液センター 検査開発課）
  
- 2) HLA-F と古典的クラス I の新しい側面  
石谷昭子（奈良県立医科大学法医学教室）

## 1) 赤血球抗原の遺伝子検査

田中光信

日本赤十字社 近畿ブロック血液センター 検査開発課

血液細胞のひとつである赤血球の役割は、体内で酸素を効率よく細胞に運ぶことである。しかし、その赤血球の表面には、未だ役割が明確になされていない数百種類も抗原、血液型が存在している。現在、血液型の責任遺伝子が単離され、国際輸血学会 (ISBT) に登録されている血液型は、33 システム 297 抗原、遺伝子が未だ単離されていない低頻度抗原、高頻度抗原、未分類などの抗原を含めると 339 抗原ある (2012 年現在)。これら血液型の検査方法は、Landsteiner が ABO 血液型を発見した 20 世紀の当時から変わらぬ血清 (抗体) と赤血球を用いて凝集の有無を見る血球凝集反応法で、現在も標準的な血液型検査の手法となっている。血球凝集反応には、血液型を決めるための抗体が必要で、これまでヒト由来の血清が多く用いられ、市販試薬としても入手可能であった。しかし、諸般の事情から、年々入手が難しくなり、代わりに血液型検査用としてモノクローナル抗体が作製され、試薬として数多く市販されるようになった。ただし、すべての血液型検査に対応するモノクローナル抗体が作製されたかと言うと、そうではなく、輸血検査の現場では、複数回輸血患者、DAT 陽性患者や検査用の抗体が手に入らず、血液型の判定に苦慮する検体に遭

遇し、遺伝子型による検査が求められるケースも多くなっている。

一方、1990 年ごろからはじまった国際ヒトゲノム計画は、当初の予定よりも早く全ゲノムが解読され、その全容解明が進むにつれ、ヒトの血液型に係わる責任遺伝子も次々と単離されてきた。そして、血液型と遺伝子型の関係が明らかとなり、赤血球抗原も遺伝子検査ができるようになってきた。ISBT では「Blood Group Allele Terminology」として、これら血液型遺伝子とその遺伝子変異を整理、共有するために情報を公開している。欧米では、これらの情報を元にして、BLOODChip<sup>TM</sup> や IDCORE<sup>XT</sup> (GRIFOLS), BioArray<sup>TM</sup> (IMMUCOR) など赤血球血液型の遺伝子検査を目的とした試薬が市販され、すでに血液センターなど多くの施設で使用されている。また、国内でも ABO 血液型の遺伝子検査用試薬のジェノサーチ ABO<sup>TM</sup> (MBL) が発売され、赤血球血液型も遺伝子を検査する時代が始まったといえる。そこで、本学会では、国内外の赤血球抗原に関する遺伝子検査の現状を紹介し、赤血球血液型だけにとどまらず、血液型遺伝子検査の可能性と将来の方向性を展望してみたい。

## 2) HLA-F と古典的クラス I の新しい側面

石谷昭子

奈良県立医科大学法医学教室

HLA-F は, Geraghty らにより同定された非古典的 HLA class I, HLA-E, -F, -G の一つである。これら非古典的 HLA class I はいずれも, ①多型性が著しく乏しいこと, ②特異的な発現様式, ③特異的なペプチド結合様式が特徴である。これまでに HLA-E と -G についてはその機能が多く解明されてきたが, HLA-F についてはいまだ解明されていない。しかし, HLA-F の塩基配列は霊長類にもよく保存されており, 何らかの重要な機能を持っていることが推測される。

HLA-F の発現については, リンパ球等免疫細胞やある種の組織には発現しているが定常状態では細胞表面には発現せず, 細胞が活性化された時のみに細胞表面には発現する<sup>1)</sup>。ただしこのとき, B, T, NK, monocyte 等すべての免疫細胞には発現するが, Treg のみには発現しない。また, ある種のがん組織には強く発現している場合がある<sup>2)3)</sup>。ただ一つ, 正常組織で発現しているものがある。それは, 胎盤において母体脱着膜組織に侵入している胎児の extravillous trophoblast には妊娠後期に HLA-F が細胞膜表面に強く発現する<sup>4)5)</sup>。このように HLA-F は何らかの活性化状態において表面に発現すると考えられる。

この HLA-F の機能を解析するなかで, これが古典的 HLA class I (HLA-I) による cross-presentation に関わっていることを見いだした<sup>6)7)</sup>。

本来, HLA-I は内因性抗原を CD8 T 細胞に提示するものであって, 細胞外に存在する外来抗原の提示は HLA class II (HLA-II) が行うというのは確立された事実であるが, HLA-I はまた一方で, 外来抗原を T 細胞に提示することも知られている。これを HLA-I の cross-presentation と呼ぶ<sup>8)</sup>。この cross-presentation の細胞内での詳しいメカニズムはまだ解明されていない。また, HLA-I 分子は, 活性化状況において, ペプチドや  $\beta 2m$  を結合していない配位異性体としても存在する。これは open conformer とよばれ, 同一細胞上の他の分子と結合したり, 同じ HLA 分子と結合して homodimer をつくったりもすることが報告されている。これは cis interaction

と呼ばれ<sup>9)</sup>, 何らかの機能があると考えられている。

HLA-F は, 細胞が活性化されたとき細胞膜上に発現するのであるが, これはペプチドや  $\beta 2m$  を結合していない open conformer として発現し, HLA-I の open conformer と結合して存在する。そして HLA-I の open conformer が細胞外の抗原 (比較的大きい, 50 アミノ酸程度のポリペプチド) を結合して細胞内に取り込む時, HLA-F も一緒に細胞内の初期エンドソームに取り込まれる。その後, HLA-F と HLA-I は lysosome に運ばれ, 結合した抗原は小さく分解されて, HLA-I とともに Golgi 装置に運ばれ, HLA-I 分子にペプチドとして結合され,  $\beta 2m$  と会合して細胞膜に運ばれ T 細胞に抗原提示を行うというモデルが我々の実験結果から推論される。すなわち, HLA-F は細胞活性化において, HLA-I の open conformer を安定化させ, 細胞内への抗原の取り込みを助ける機能をもっていると推測される。

また, 我々は, この HLA-F と HLA-I の 2 つの open conformer の heterodimer は NK レセプターの Killer Ig-like receptor (KIR) のリガンドとなることも明らかにした<sup>10)</sup>。

今回の発表においては, HLA-F と HLA-I の open conformer や KIR との相互作用についてのデータを示し, これらの相互作用が妊娠免疫やがん免疫, 感染症免疫にどのように関わるかについて考察したい。

- 1) Lee N, Ishitani A, and Geraghty DE. (2010). HLA-F is a surface marker on activated lymphocytes. *Eur J Immunol* 40: 2308–2318.
- 2) Zhang X, Lin A, Zhang JG, Bao WG, Xu DP, Ruan YY, Yan WH. (2013) Alteration of HLA-F and HLA I antigen expression in the tumor is associated with survival in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 132(1): 82–89.
- 3) Sageshima N, Ishitani A, et al. HLA-F expression on tumor tissue. in submission.
- 4) Ishitani A, Sageshima N, Lee N, Dorofeeva N, Hatake K, Marquardt H, Geraghty, DE. (2003) Protein expression and peptide binding suggest unique and interacting functional roles for HLA-E, F, and G in maternal-placental immune recognition.

- J Immunol 171: 1376–1384.
- 5) Shobu T, Sageshima N, Tokui H, Omura M, Saito K, Nagatsuka Y, Nakanishi M, Hayashi Y, Hatake K, Ishitani A. (2006) The surface expression of HLA-F on decidual trophoblasts increases from mid to term gestation. *J Reprod Immunol* 72(1–2): 18–32.
  - 6) Goodridge JP, Burian A, Lee N, Geraghty DE. (2010). HLA-F complex without peptide binds to MHC class I protein in the open conformer form. *J Immunol* 184: 6199–6208.
  - 7) Goodridge JP, Lee N, Burian A, Pyo CW, Tykodi SS, Warren EH, Yee C, Riddell SR, Geraghty, DE. (2013) HLA-F and MHC-I open conformers cooperate in an MHC-I antigen cross presentation pathway. *J Immunol* 191: 167–177.
  - 8) Joffre OP, Segura E, Savina A, Amigorena S. (2012) Cross-presentation by dendritic cells. *Nat Rev Immunol* 12: 557–569.
  - 9) Arosa FA, Santos SG, Powis SJ. (2007) Open conformers: the hidden face of MHC-1 molecules. *Trends in Immunol* 28: 115–123.
  - 10) Goodridge, JP, Burian A, Lee N, Geraghty DE. (2013) HLA-F and MHC-I open conformers are ligands for natural killer cell receptors. *J Immunol* 191(7): 3553–3562.

(11:00 ~ 11:50)

---

**一般演題 (1)**

座長：荒木延夫（兵庫県赤十字血液センター）

**演題番号 1) ~ 5)**

## 1) NAIT 症例より検出された抗 HPA-15b 抗体の性状と その検出に関する問題点及び文献的考察

○荒木延夫, 西村千恵, 秋田真哉, 坊池義浩, 三木 均

兵庫県赤十字血液センター

【目的】我々は、第 1 子目の NAIT (neonatal alloimmune thrombocytopenia: 新生児同種免疫性血小板減少症) の発症原因と推察された特異性不明の血小板特異抗体について「母親血清がインタクト血小板 MPHA 法においてプロゾーン現象を示した NAIT 症例について: 日輸血細胞治療会誌, 55: 386-391, 2009」を報告した。そして 2013 年, 第 61 回日本輸血・細胞治療学会・日本血小板・顆粒球型ワークショップにおいて当該 family の第 3 子目の NAIT 症例が近畿大学医学部奈良病院の八木により「HPA-15b 抗体保有妊婦の臨床」として報告された (第 2 子は HPA-15 適合)。そこで, 我々が経験した第 1 子目の抗 HPA-15b 抗体の性状とその検出に関する問題点及び文献的考察を実施したので報告する。

【症例】患児は初産で, 出生時の血小板数は 11,000/ $\mu$ L。抗 HLA 抗体は陰性 (LABScreen 法), 血小板交差試験 (IP-MPHA: intact platelet-MPHA) は母親の原血清で陰性, 2 倍~8 倍希釈で 1+, 16 倍~64 倍希釈で 2+ を示し, プロゾーン現象を観察した (Fig. 1)。母親の抗 HPA-15b は EP-MPHA (extracted platelet antigen solution-MPHA: EP-MPHA) 法 (n=8) と MACE (modified antigen capture ELISA) 法 (GTI 社, PAKPLUS) で陰性。母親血清の 18 種の IP-MPHA 法による population study は, 18 種中 16 種が陽性でプロゾーン現象を観察し, これらの陽性反応はクロロキン処理により, 減弱または消失した (Table 1)。また, 患児 family の HLA, HPA 型を Fig. 2 に示した。

【考察】HPA-15 抗原のエピトープは, GPI アンカー型

糖タンパクである CD109 上に局在するが, CD109 は活性化血小板膜上のみ存在し, その発現量は非常に少なく, また, 個人差もみられる。それ故に, 本症例は抗体価が高かったため, プロゾーン現象を示したと考える。また, EP パネルとの反応は陰性のため, EP 中の CD109 抗原は自己融解酵素の calpain によって分解された可能性があり, EP パネルを用いた市販の抗 HPA 検出 MPHA キット (Beckman Coulter 社) では抗 HPA-15 は検出されにくいと考える。また, GTI 社の抗 HPA 検出キット (MACE 法, Luminex 法) は CD109 が含まれないため, 検出不可となる。よって, 抗体検出には IP-MPHA 法を用い, 検体を希釈する必要がある。また, HPA-15 抗原は HLA 抗原同様にクロロキン処理によって陽性反応の減弱もしくは消失することが確認されたため, これまでの報告例の多くが抗 HLA と抗 HPA-15 の複合例であるような症例では, クロロキン処理により抗 HPA-15 の存在が見逃されるため注意を要する。

我々は, クロロキン処理により, HLA クラス I 抗原以外に顆粒球膜抗原の CD11b も不活化されることを既に報告したが, 血小板膜上の CD109 については, クロロキンは血小板膜から CD109 を解離させる作用があるのではないかと考える。

また, Berry らは, 患者が HLA-DRB1\*13 を有すると抗体価が高い傾向を示したと報告しているが, 本症例は高力価を示したが, 患児の母は HLA-DRB1\*15:01, 14:01 で HLA-DRB1\*13 は有していなかった。



## 2) ドナー特異的 HLA-DPB1 抗体陽性患者に対する臍帯血移植 (第二報)

○佐藤 壯<sup>1)</sup>, 佐藤蘭子<sup>1)</sup>, 小林直樹<sup>2)</sup>

社会医療法人北楡会 札幌北楡病院 臨床検査科<sup>1)</sup>, 同 血液内科<sup>2)</sup>

【緒言】HLA ミスマッチ造血幹細胞移植において、患者が保有するドナー特異的 HLA-A, B, DR 抗体は移植源の生着に影響することがすでに多数報告されている。また、ドナー特異的 HLA-DP 抗体も生着に影響すると報告されているが、一方で生着例も報告されている。さらに、造血幹細胞や血液細胞における各 HLA 抗原の発現について、HLA-A, B, DR 抗原については明確であるが HLA-DP 抗原については少数例の報告しかない。今回我々はドナー特異的 HLA-DP 抗体陽性患者に対する臍帯血移植 2 例を経験した。その経過及び血液細胞、造血細胞における各 HLA 抗原の発現について検討したので報告する。

【症例】症例 1 は 41 歳女性。原疾患は MDS-u, 汎血球減少でアザシチジンに対して治療不応で造血細胞移植の適応と判断された。HLA は A\*24:02, - B\*27:05, 59:01 DRB1\*12:01, 14:02。出産によると考えられる広範な HLA 抗体 (HLA-B, DRB1, DPB1) を保有しており有核細胞数 =  $2.16 \times 10^7/\text{kg}$ , CD34 陽性細胞数 =  $0.58 \times 10^5/\text{kg}$  の臍帯血しか選択できなかった。症例 2 は 61 歳女性。原疾患は MDS/MPD。HLA は A\*24:02, - B\*15:01, 44:03 DRB1\*13:02, 14:06。この症例も出産によると考えられる広範な HLA 抗体を保有していたため有核細胞数 =  $2.10 \times 10^7/\text{kg}$ , CD34 陽性細胞数 =  $0.64 \times 10^5/\text{kg}$  の 8/8 一致の臍帯血しか選択できなかった。

【臨床経過】症例 1 は day29, 症例 2 は day21 で生着

した。症例 1 は移植後速やかに DSA が減少し生着時にはほぼ陰性化, それ以外の HLA 抗体も減少し移植 3 ヶ月後には random PC で輸血効果が得られるようになった。症例 2 も移植 1 ヶ月後に DSA はほぼ陰性化した。

【考察】造血細胞における DP 抗原の発現は中程度と報告されている。当院での検討では CD34 陽性末梢血幹細胞における DP 抗原の発現は個人差があるものの比較的微弱で、生着には影響しない可能性が示唆される。また、症例 1 や症例 2 においてはドナー細胞が患者の HLA 抗体産生細胞に対して何らかの免疫学的反応を起こしていることが示唆される。

HLA-DP 抗体陽性患者に対して DSA 陰性 CB ドナーを選択することは、日本さい帯血バンクネットワークが HLA-DP タイピングに対応していないことから現時点では不可能である。ただ、本症例のように広範な HLA 抗体陽性のためにドナー選択が限られる場合には、生着不全の可能性のあることを理解した上で抗体陽性移植も許容されうるものと考えられる。

もちろん、HLA 抗体が生着不全の大きなリスクファクターであることは事実であり、HLA-DP 抗体陽性患者で複数のドナー選択が可能な場合には、どちらのドナーを選ぶか考慮できる体制作りが望まれる。同時に、臍帯血幹細胞における DP 抗原の発現ははまだ明らかではなく、DP 抗体の DSA 陽性症例については今後更なる症例の蓄積と予後についての検討が必要である。

### 3) FlowPRA Screening による抗 HLA 抗体検査： プロゾーン様現象を呈した一例

○高山智美<sup>1)</sup>, 久山芳文<sup>1)</sup>, 扇谷恵里花<sup>1)</sup>, 岡田倫之<sup>1)</sup>, 矢澤浩治<sup>2)</sup>, 市丸直嗣<sup>3)</sup>, 高原史郎<sup>3)</sup>

大阪府立急性期・総合医療センター移植支援検査センター<sup>1)</sup>, 大阪府立母子保健総合医療センター泌尿器科<sup>2)</sup>,  
大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学<sup>3)</sup>

【はじめに】抗 HLA 抗体検査のうち, LABScreen Single Antigen 検査においてはマイクロビーズ上の HLA 抗原の密度が高いことによるプロゾーン様現象が多数報告されている。今回, 我々は LABScreen Single Antigen 検査と比べ, 抗原の密度が低い FlowPRA Screening 検査でプロゾーン様現象と考えられる症例を経験したので報告する。

【症例】二次移植予定の女性。1984 年 10 月に生体腎移植を施行したが, 2008 年血液透析再導入となった。2012 年 5 月に二次移植を目的として検査を実施し, FlowPRA Screening 検査は Class I (陽性: 65.1%), Class II (陽性: 48.9%) であった。その後, 2012 年 12 月に再度検査を実施し, 未治療にも関わらず, FlowPRA Screening Class I・II 共に陰性となったため, プロゾーン様現象を疑い, 非働化処理, DTT 処理を行った血清で FlowPRA Screening 検査を実施した。

【方法】血清は凍結保存後に解凍し, 14000 rpm で 20 分遠心した。また, 非働化処理, DTT 処理については以下のように行った。

- ・非働化処理: 血清を 56°C で 30 分インキュベートした。
- ・DTT 処理: 終濃度が 0.005M となるように DTT を加え, 37°C で 30 分インキュベートした。

【結果と考察】非働化処理の血清では Class I (陽性: 61.9%), Class II (陽性: 51.8%), DTT 処理の血清では Class I (陽性: 63.3%), Class II (陽性: 33.3%) となった。

未処理の血清では Class I・II 共に陰性であったが, 非働化処理, DTT 処理では Class I・II 共に陽性となった。補体を不活化した血清で結果が陽性となったことから, 未処理の血清は補体が関与したプロゾーン様現象による偽陰性と考えられた。

FlowPRA Screening 検査は LABScreen Single Antigen 検査と比べて安価であることから, 移植前後の抗体スクリーニング検査として広く利用されている。今回, 我々は二次移植目的の患者血清で FlowPRA Screening 検査でのプロゾーン様現象と考えられる症例を経験した。今後, プロゾーン様現象の報告が多数ある LABScreen Single Antigen 検査だけでなく, FlowPRA Screening 検査でも補体を不活化した血清の使用が必要と考える。

#### 4) 抗体同定試薬 WAKFlowHLA 抗体クラス I (HR) の エピトープ既知検体における反応性

○黒田ゆかり, 中村仁美, 山口恵津子, 田原大志, 井上純子,  
永吉裕二, 中村 功, 久田正直, 清川博之

日本赤十字社九州ブロック血液センター 品質部

【はじめに】当施設では, HLA 抗体同定試薬として通常 LABScreen Single Antigen (以下, LSSA) を使用している。2013 年 12 月, 湧永製薬株式会社から同目的の試薬 WAKFlowHLA クラス I 抗体 HR (以下, HR) が発売されたため, エピトープ既知の血清検体を用い HR の反応性について検討した。

【対象】検討には, 輸血歴がなく, 妊娠免疫により産生された HLA 抗体を保有する血清検体を用いた。また, IgM 抗体陰性, 抗体検出に補体の影響を受けないことを確認したものである。本人の HLA 型は A24/33 B44/52 Cw12/14, 夫は A24/26 B52/62 Cw9/12, 子供は A26/33 B44/62 Cw9/14 である。検体は, エピトープを解析するためにリンパ球による LSSA 吸収試験を実施し, A26 に対し 149T (+144Q) および 90D (+91-97GSHTIQR) の 2 種類, B62 に対して 46A および 76-80ESLRN (=Bw6) の 2 種類, 計 4 種類のエピトープそれぞれに反応を呈す

る 4 種類の抗体を保有していると推定されている。

【方法】エピトープ解析および LSSA の結果から, 陽性反応が予測される抗原に対し, HR における蛍光値を補正した Calmed 値および Score について確認した。

【結果】エピトープ解析および LSSA の結果から, 4 種類のエピトープのうち 76-80ESLRN (=Bw6) のみが該当する抗原の蛍光値が一番低くなると予測されたが, ほとんどの Bw6 抗原が Calmed 値 1,000 ~ 5,000 (Score6) を示したなかで, B\*54:01 のみが Calmed 値 639.4 (Score4: 500 ~ 1,000) とやや低い数値を示した (表 1)。

【考察】今回用いた血清では, HR における Threshold は, メーカー設定の Score6 で妥当であると思われた。ただし, Score4 はグレーゾーンであると考えられ, 他の HLA 抗体検査と同様に注意が必要である。また, 今後とも検討検体数を増やし HR の反応性について確認していきたい。



## 5) 抗体検査における Single Antigen と PRA の相関解析

○池田奈未<sup>1)</sup>, 小島裕人<sup>1)</sup>, 二神貴臣<sup>1)</sup>, 辻野貴史<sup>1)</sup>, 林 晃司<sup>1)</sup>, 楠木靖史<sup>1)</sup>, 藤井直樹<sup>1)</sup>,  
末上伸二<sup>1)</sup>, 宮崎有紀<sup>1)</sup>, 西川美年子<sup>1)</sup>, 小川公明<sup>2)</sup>, 赤座達也<sup>1)</sup>, 佐治博夫<sup>1)</sup>

公益財団法人 HLA 研究所<sup>1)</sup>, NPO 法人 白血病研究基金を育てる会<sup>2)</sup>

**【目的】** リコンビナントの HLA 抗原がコートされている LABScreen Single Antigen beads (以下, Single) と精製 HLA 抗原がコートされている LABScreen PRA beads (以下, PRA) を用いた HLA 抗体検査においては, その反応性が相関しない例が多く存在する。この原因のひとつとされる自然抗体は, Single において偽陽性の結果を引き起こすが, PRA での挙動は不明である。自然抗体を含めた反応性の違いを検証することで臨床的意義のある HLA 抗体を推測する参考としたい。

実際の解析においては, Single 陽性で PRA 陰性の不一致に焦点をあてた。PRA beads は複数抗原がコートされているので, PRA 陽性で Single 陰性の不一致は解析が困難なためである。

**【材料】** 当研究所に検査依頼があり Luminex 法を用いて PRA と Single の両検査を実施した Class I : 217 検体, Class II : 150 検体を対象とした。検体は, 血漿または血清を用い, 血清の場合は EDTA を加えた(終濃度 0.05M)。

**【方法】** 両製品に存在する allele 対象とし, Single Class I : 86 種類, Single Class II : 80 種類の beads に対して解析を行った。Single で陽性 (MFI  $\geq$  1,000) であった beads の allele が PRA でひとつでも陰性 (MFI < 500) の場合を不一致とし, その割合を算出した。

**【結果】** 不一致率上位 5 位の allele は, Class I において C\*17:01 (12.4%), B\*45:01 (11.5%), A\*68:02 (9.7%), B\*15:16 (8.8%), B\*44:02 (8.8%), Class II において DQB1\*03:01 (22.7%), DQB1\*03:02 (14.7%), DQB1\*03:03 (14.0%), DRB3\*03:01 (12.7%),

DRB1\*09:01 (11.3%) であった。Class I, Class II における不一致率上位 10 位をそれぞれ表 1, 2 に示す。

**【考察】** PRA が陰性だが Single が陽性で検出された抗体は, 精製 HLA 抗原と反応していないことから生体 HLA とエピトープを共有しない non HLA 抗体 (=自然抗体) と考えられる。今回検出された抗体の検出頻度は, allo 免疫機会のない健常人男性から検出された自然抗体頻度の報告と相関しない部分があった。具体例を挙げると, 過去の自然抗体の報告では 18.9% の高頻度で検出された HLA-A\*30:02 抗体が, 今回の結果では 1.4% と低頻度で相関しない場合である。この場合, HLA-A\*30:02 抗体は PRA と Single の両方の beads に反応するので精製 HLA 抗原にも結合していると考えられることから, 生体 HLA と交差反応をする自然抗体と考えることができる。逆に, HLA-C\*17:01 抗体のように過去の自然抗体の報告と相関して高頻度検出された抗体は, 生体 HLA と交差反応しない検査法特異的に検出される自然抗体と考えることができる。

自然抗体は, 生体 HLA と交差反応するものと, 生体 HLA には結合せず検査法特異的に検出されるものがあると示唆され, PRA を併用することは, 後者のような non-allo HLA 自然抗体を見極める重要な手段の一つと考えられる。また, PRA と Single の一致率は少なくとも Class I : 87%, Class II : 79% であるため, 相関の観点からは Single と PRA の cut off 値の設定は妥当と考えられる。

表1: Class I における不一致率の順位

N=217

順位	allele	MFI別不一致数*			不一致率	自然抗体検出頻度**
		>1,000	>2,000	>5,000		
1	C*17:01	27	17	9	12.4%	11.3
2	B*45:01	25	10	0	11.5%	5.9
3	A*68:02	21	5	0	9.7%	-
4	B*15:16	19	5	0	8.8%	9.9
	B*44:02	19	9	1	8.8%	6.1
6	B*82:01	17	9	1	7.8%	10.4
7	A*23:01	16	5	1	7.4%	-
	A*24:02	16	9	2	7.4%	4
	B*08:01	16	6	2	7.4%	4.5
	B*51:01	16	5	0	7.4%	-

表2: Class II における不一致率の順位

N=150

順位	allele	MFI別不一致数*			不一致率	自然抗体検出頻度**					
		>1,000	>2,000	>5,000							
1	DQB1*03:01	DQA1*05:03	34	18	10	22.7%	10.6				
		DQA1*05:05					-				
		DQA1*02:01					10.8				
		DQA1*06:01					6.1				
		DQA1*03:01					8.3				
2	DQB1*03:02	DQA1*03:02	22	11	5	14.7%	-				
		DQA1*02:01					-				
		DQA1*03:01					-				
		DQA1*01:01					-				
3	DQB1*03:03	DQA1*02:01	21	13	7	14.0%	-				
		DQA1*03:01					-				
		DQA1*03:02					-				
4	DRB3*03:01	19	6	1	12.7%	-					
5	DRB1*09:01	17	1	0	11.3%	-					
6	DRB4*01:01	16	7	2	10.7%	-					
7	DRB4*01:03	14	10	3	9.3%	-					
8	DQB1*02:01	DQA1*05:01	13	10	3	8.7%	-				
		DQA1*03:01					-				
		DQA1*04:01					-				
		DQA1*02:01					3.5				
9	DRB1*04:04	11	3	0	7.3%	5.4					
10	DQB1*04:01	DQA1*02:01	10	6	1	6.7%	-				
		DQA1*03:03					-				
	DQB1*04:02	DQA1*02:01					10	6	2	6.7%	-
		DQA1*04:01					-				
	DRB1*03:02	10	2	0	6.7%	-					

\*Singleが陽性でPRAが陰性であった不一致の件数を、SingleのMFI別に示した。  
DQB1\*03:01のような複数beadsに存在するalleleは、MFIの平均値で分類した。  
尚、>2000には>5000の数を含み、>1000には>2000の数を含む。

\*\*Luis E. Morales-Buenrostro, Paul I. Terasaki, et al. "Natural" Human Leukocyte Antigen Antibodies Found in Non alloimmunized Healthy Males. Transplantation 2008; 86: 1111-1115

(11:50 ~ 12:30)

---

一般演題 (2)

座長：二神貴臣 (公益財団法人 HLA 研究所)

演題番号 6) ~ 9)

## 6) iPS 細胞樹立前後の同一性確認のための NGS を用いた 第 4 区域までの HLA アリルタイピング

○末上伸二<sup>1)</sup>, 小島裕人<sup>1)</sup>, 鈴木進悟<sup>2)</sup>, 尾崎有紀<sup>2)</sup>, 椎名 隆<sup>2)</sup>,  
光永滋樹<sup>2)</sup>, 猪子英俊<sup>2)</sup>, 佐治博夫<sup>1)</sup>, 木村貴文<sup>3)</sup>

公益財団法人 HLA 研究所<sup>1)</sup>, 東海大医学部基礎医学系分子生命科学<sup>2)</sup>,  
京都大学 iPS 細胞研究所基盤技術研究部門<sup>3)</sup>

【目的】iPS 細胞のドナーバンクにおいては 1 塩基の *de novo* 変異や挿入・欠失を見逃さない細胞樹立前後の同一性確認も必要となる。このためには、解像度が極めて高い NGS (Next Generation Sequencing) による HLA タイピング技術が有用と考えられる。今回は Ion PGM (Life Technologies) を用いて検査を施行したので報告する。

【材料・方法】Luminex 法 (A, B, C, DRB1 : WAKFlow, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1 : LABType) にて検査した患者とその両親を 3 家族。1 家族 3 名 (No. 1-3) は Buccal, 2 家族 6 名 (No. 4-9) は血液由来を用い、東海大学で施行されている方法を基に実施した。得られた塩基配列の解析については、各 locus の全 exon 領域における BLAT 解析から類似性の高いアリル候補を IMGT-HLA から選抜し、それをコンピューター上で検証することによりアリル判定を行うスズキ法にてデータ解析を行った。

【結果・考察】NGS によるタイピング結果は検体種類に依存することなく、一部を除いて Luminex 法との整合性が得られた。結果を表 1 に示す。

C 座のタイピング結果が Luminex 法と異なった直接的な原因は、Long PCR 産物の存在を確認したもののアリル判定に用いた有効リード数がほぼ 0 であったことから、Long PCR 後の濃度調製に問題があったと考えられる。また、No.7 の DRB1, DRB3/4/5, DQB1 および DPA1 にて出現が期待されるアリルについても他検体にて問題なく判定されていることから、これも前述と同様の理由と考えられる。特に C 座は有効リード数がほぼ 0

にもかかわらず、片方のアリルのみ homozygote として判定されたことから、今後、NGS がルーチン化されるにあたっては locus ごとに depth, coverage のような NGS 情報に、多施設とのコンセンサスが得られた、もしくは自施設で妥当性のとれた基準を設ける必要がある。そのために現状では自動判定ソフトウェアよりも、それぞれの NGS 情報が確認できるスズキ法が有用である。また、日本列島人に珍しいアリルに関しては NGS の方が効率よく判定できると考えるが、複数回行う PCR の過程がミス判定を引き起こす可能性がある。これを解消する方法として、Luminex 法などの従来法との併用が良策であるが、今回のように家族検体を用いることも有効な手段であると考えられる。

最後に、NGS による HLA タイピングは他にも Ambiguity を解消できるという利点がある。さらには、コストパフォーマンス、スループット性ともに Luminex 法と大差ないことから、第 2 区域までの HLA タイピングが Luminex 法に代わる、もしくは第 2 の方法として確立されつつある。一方、第 4 区域までのタイピングは、決定されている第 4 区域までのアリル配列が乏しいことから、現時点では未だ難しい技術である。東海大学らはこの問題を解決するために、日本列島人の 99.5% 以上を網羅する第 4 区域までのアリル配列の収集を進めており、近い将来にプロモーター領域から 3' 側非翻訳領域までを網羅する HLA 遺伝子全領域における HLA タイピングの実用化が期待される。

<表1>Luminex法とNGSによるHLAタイピング結果

Sample ID	検体種類	HLA-A		HLA-B		HLA-C		
		Luminex法	NGS(スズキ法)	Luminex法	NGS(スズキ法)	Luminex法	NGS(スズキ法)	
家族①-子	Buccal	Allele 1	A*31:01	A*31:01:02	B*51:01	B*51:01:01	C*14:02	C*14:02:01
		Allele 2	A*31:11	A*31:11	-	-	-	-
家族①-父	Buccal	Allele 1	A*26:03	A*26:03:01	B*40:01	B*40:01:02	C*03:04	(not assigned)
		Allele 2	A*31:11	A*31:11	B*51:01	B*51:01:01	C*14:02	C*14:02:01
家族①-母	Buccal	Allele 1	A*02:06	A*02:06:01	B*40:02	B*40:02:01	C*03:04	(not assigned)
		Allele 2	A*31:01	A*31:01:02	B*51:01	B*51:01:01	C*14:02	C*14:02:01
家族②-子	PB	Allele 1	A*24:02	A*24:02:01:01	B*40:50	B*40:50	C*01:02	C*01:02:01
		Allele 2	-	-	B*54:01	B*54:01:01	C*03:04	(not assigned)
家族②-父	PB	Allele 1	A*24:02	A*24:02:01:01	B*40:01	B*40:01:02	C*01:02	C*01:02:01
		Allele 2	-	-	B*54:01	B*54:01:01	C*03:04	(not assigned)
家族②-母	PB	Allele 1	A*24:02	A*24:02:01:01	B*40:50	B*40:50	C*03:04	(not assigned)
		Allele 2	A*33:03	A*33:03:01	B*44:03	B*44:03:01	C*14:03	C*14:03
家族③-母	PB	Allele 1	A*02:15N	A*02:15N	B*15:18	B*15:18:01	C*01:02	C*01:02:01
		Allele 2	A*24:02	A*24:02:01:01	B*46:01	B*46:01:01	C*07:04	(not assigned)
家族③-子	PB	Allele 1	A*02:01	A*02:01:01:01	B*40:02	B*40:02:01	C*01:02	C*01:02:01
		Allele 2	A*24:02	A*24:02:01:01	B*46:01	B*46:01:01	C*03:04	C*03:04:01:02
家族③-子	PB	Allele 1	A*02:06	A*02:06:01	B*15:18	B*15:18:01	C*03:03	C*03:03:01
		Allele 2	A*24:02	A*24:02:01:01	B*35:01	B*35:01:01:02	C*07:04	(not assigned)

Sample ID	検体種類	HLA-DRB1		HLA-DRB3,4,5		HLA-DQA1		
		Luminex法	NGS(スズキ法)	Luminex法	NGS(スズキ法)	Luminex法	NGS(スズキ法)	
家族①-子	Buccal	Allele 1	DRB1*04:05	DRB1*04:05:01:01	n.t	DRB4*01:01:01:01	DQA1*03:01:01	DQA1*03:01/02/03
		Allele 2	DRB1*04:07	DRB1*04:07:01	n.t	DRB4*01:03:01/	-	-
家族①-父	Buccal	Allele 1	DRB1*04:05	DRB1*04:05:01:01	n.t	DRB4*01:01:01:01	DQA1*03:01:01	DQA1*03:01/02/03
		Allele 2	DRB1*04:07	DRB1*04:07:01	n.t	DRB4*01:03:01/	-	-
家族①-母	Buccal	Allele 1	DRB1*04:05	DRB1*04:05:01:01	n.t	DRB4*01:03:01:01/	DQA1*03:01:01	DQA1*03:01/02/03
		Allele 2	DRB1*08:02	DRB1*08:02:01	n.t	DRB4*01:03:01:01/	DQA1*04:01:01	DQA1*04:01:01
家族②-子	PB	Allele 1	DRB1*08:02	DRB1*08:02:01	n.t	DRB5*01:02	DQA1*01:03:01:01	DQA1*01:03:01:01/02
		Allele 2	DRB1*15:02	DRB1*15:02:01	n.t	-	DQA1*03:01:01	DQA1*03:01/02/03
家族②-父	PB	Allele 1	DRB1*14:54	DRB1*14:54:01:02	n.t	DRB3*02:02:01:01/02	DQA1*01:01(/04)	DQA1*01:03:01:01/02
		Allele 2	DRB1*15:02	DRB1*15:02:01	n.t	DRB5*01:02	DQA1*01:03:01:01	DQA1*01:04:01:01/02
家族②-母	PB	Allele 1	DRB1*08:02	DRB1*08:02:01	n.t	DRB3*03:01:01/03	DQA1*01:02:01:01	DQA1*01:02:01/02
		Allele 2	DRB1*13:02	DRB1*13:02:01:02	n.t	-	DQA1*03:01:01	DQA1*03:01/02/03
家族③-母	PB	Allele 1	DRB1*04:01	-	n.t	-	DQA1*01:03:01:01	DQA1*01:03:01:01/02
		Allele 2	DRB1*08:03	-	n.t	-	DQA1*03:01:01	DQA1*03:01/02/03
家族③-子	PB	Allele 1	DRB1*08:03	DRB1*08:03:02:02	n.t	DRB4*01:03:01/	DQA1*01:03:01:01	DQA1*01:03:01:01/02
		Allele 2	DRB1*09:01	DRB1*09:01:02:01:02	n.t	DRB4*01:02	DQA1*03:01:01	DQA1*03:01/02/03
家族③-子	PB	Allele 1	DRB1*04:01	DRB1*04:01:01	n.t	DRB5*01:01:01	DQA1*01:02:01:01	DQA1*01:02:01:01/
		Allele 2	DRB1*15:01	DRB1*15:01:01:01/	n.t	-	DQA1*03:01:01	DQA1*03:01/02/03

Sample ID	検体種類	HLA-DQB1		HLA-DPA1		HLA-DPB1		
		Luminex法	NGS(スズキ法)	Luminex法	NGS(スズキ法)	Luminex法	NGS(スズキ法)	
家族①-子	Buccal	Allele 1	DQB1*03:02:01	DQB1*03:02:01	DPA1*01:03:01:01	DPA1*01:03:01:01/	DPB1*03:01:01	DPB1*03:01:01
		Allele 2	DQB1*04:01:01	DQB1*04:01:01:01	DPA1*02:02:01	DPA1*02:02:02	-	-
家族①-父	Buccal	Allele 1	DQB1*03:02:01	DQB1*03:02:01	DPA1*02:02:01	DPA1*02:02:02	DPB1*03:01:01	DPB1*03:01:01
		Allele 2	DQB1*04:01:01	DQB1*04:01:01:01	-	-	DPB1*05:01:01	DPB1*05:01:01
家族①-母	Buccal	Allele 1	DQB1*03:02:01	DQB1*03:02:01	DPA1*01:03:01:01	DPA1*01:03:01:01/	DPB1*02:01:02	DPB1*02:01:02
		Allele 2	DQB1*04:01:01	DQB1*04:01:01:01	-	-	DPB1*03:01:01	DPB1*03:01:01
家族②-子	PB	Allele 1	DQB1*03:02:01	DQB1*03:02:01	DPA1*01:03:01:01	DPA1*01:03:01:01/	DPB1*02:01:02	DPB1*02:01:02
		Allele 2	DQB1*06:01:01	DQB1*06:01:01	DPA1*02:02:01	DPA1*02:02:02	DPB1*05:01:01	DPB1*05:01:01
家族②-父	PB	Allele 1	DQB1*05:03:01:01	DQB1*05:03:01:01/02	DPA1*01:03:01:01	DPA1*01:03:01:01/	DPB1*02:01:02	DPB1*02:01:02
		Allele 2	DQB1*06:01:01	DQB1*06:01:01	DPA1*02:02:01	DPA1*02:02:02	DPB1*03:01:01	DPB1*03:01:01
家族②-母	PB	Allele 1	DQB1*03:02:01	DQB1*03:02:01	DPA1*01:03:01:01	DPA1*01:03:01:01/	DPB1*04:01:01:01	DPB1*04:01:01:01/02
		Allele 2	DQB1*06:04:01	DQB1*06:04:01:01	DPA1*02:02:01	DPA1*02:02:02	DPB1*05:01:01	DPB1*05:01:01
家族③-母	PB	Allele 1	DQB1*03:01:01:01	-	DPA1*02:02:01	-	DPB1*05:01:01	DPB1*05:01:01
		Allele 2	DQB1*06:01:01	-	DPA1*02:02:01	-	-	-
家族③-子	PB	Allele 1	DQB1*03:03:02:01	DQB1*03:03:02:01/	DPA1*02:02:01	DPA1*02:02:02	DPB1*05:01:01	DPB1*05:01:01
		Allele 2	DQB1*06:01:01	DQB1*06:01:01/03	-	-	-	-
家族③-子	PB	Allele 1	DQB1*03:01:01:01	DQB1*03:01:01:01/	DPA1*02:02:01	DPA1*02:02:02	DPB1*05:01:01	DPB1*05:01:01
		Allele 2	DQB1*06:02:01	DQB1*06:02:01	-	-	-	-

◎グレーの塗りつぶしは判定不能を示す。

◎Luminex法の結果はみなし判定であるために多くのAmbiguity、つまり多くの他の候補がある。

◎黒枠は、日本列島人に稀なアリル。

## 7) MiSeq を用いた HLA タイピング

○小島裕人<sup>1)</sup>, 末上伸二<sup>1)</sup>, Wyatt Nelson<sup>2)3)</sup>, 石谷昭子<sup>3)4)</sup>, 二神貴臣<sup>1)</sup>, 辻野貴史<sup>1)</sup>, 林 晃司<sup>1)</sup>, 楠木靖史<sup>1)</sup>, 藤井直樹<sup>1)</sup>, 池田奈未<sup>1)</sup>, 宮崎有紀<sup>1)</sup>, Daniel E. Geraghty<sup>2)3)</sup>, 佐治博夫<sup>1)</sup>

公益財団法人 HLA 研究所<sup>1)</sup>, Fred Hutchinson Cancer Research Center<sup>2)</sup>,  
 Scisco Genetics, Inc.<sup>3)</sup>, 奈良県立医科大学 法医学教室<sup>4)</sup>

**【目的】** 現在, HLA 遺伝子型検査の主流は Luminex 法, Sanger 法であるが, 新技術として NGS (Next generation Sequencing) が登場し, これは Ambiguity の問題を解消できる。今回, プラットフォームのひとつである MiSeq (Illumina 社) を用いた HLA タイピングを試み, Luminex 法との整合性も含めて報告する。

**【材料・方法】** 合計 32 検体 (1 検体は negative control), 検体種類は Buccal と末梢血で, 当研究所に依頼のあった検体が 13 検体, 当研究所職員検体が 9 検体, UCLA (University of California, Los Angeles) Immunogenetics Center のコントロール検体 (<http://www.hla.ucla.edu/cellDNA/DNA/summaryDNA.htm> 参照) が 8 検体である。なお, 1 検体は Buccal と末梢血の 2 種類を用いた。

Luminex 法においては, HLA-A, B, C, DRB1 遺伝子型 (WAKFlow, 湧永製薬), HLA-DQA1, DQB1, DPA1, DPB1 遺伝子型 (LABtype, Onelambda) を実施した。

MiSeq では HLA-A, B, C, DRB1, DRB3, 4, 5, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1 遺伝子型のタイピングを Scisco Genetics 社の方法に基づいて行った。つまり, exon 領域をカバーする PCR を実施後, 検体識別と読み始め位置識別のための特異的配列 (Barcode, Adaptor) を結合させた産物を MiSeq に供試した。MiSeq は Bridge PCR によって単一断片のクラスターを形成し, そこへ蛍光ラベルした塩基 (A, T, C, G) を反応させてその蛍光を CCD カメラで撮影することを原理とする。解析については IMGTT データを参照とし, 完全マッチの断片数, 断片同士の連続性, Q 値などを考慮に入れた。

**【結果】** Luminex 法と MiSeq による HLA タイピングの結果を別表に示す。

**【考察】** MiSeq による HLA タイピングは検体種類 (PB, Buccal) に依存せず, 一部を除いて Luminex 法との整合性が得られた。判定不能検体は, 最初の PCR の増幅不良が原因と考えられる。該当検体は PCR トレイの外側の列に集中し, PCR 機器の温度校正やトレイの相性などをケアする必要がある。ASHI ではこの点に加えて, 校正されたピペットを使用するよう注意を促している。

family4- 子の C 座は Luminex 法では C\*08:03/ と判定したが, MiSeq では C\*08:06 と判定された。これは Luminex 法がみなし 4 桁であるのに対し MiSeq は確定 4 桁であり, このようにより正確な判定を行えることが大きな特徴である。

スループットについては, 現実的な数字を考えて 48 検体くらいの検査を一度に行った場合, 所要時間, 人員は今回実施した 32 検体の検査実績から, サンプル調製 2 名で 2.5 日, その後の MiSeq 読み込みに 1.5 日程度, 解析に 1 日かかっても合計 1 週間で検査結果を得ることができる。

より正確な判定, 高いスループットの特徴から, 諸外国ではすでにルーチン化が始動しており, 昨年 11 月の ASHI では Luminex 法に変わる検査法の位置づけとして多くの報告がなされている。今後は, MiSeq による HLA タイピング結果を臨床現場に提供することを目標として, 検査母数を増やして検査費用, 時間, 検体種類などの検討を重ねていくつもりである。

SampleID	検体種類	A			B			C		
		Luminex	MISeq		Luminex	MISeq		Luminex	MISeq	
UCLA-con1	Buccal	*11.01/ *24.02/	*11.01.01	*24.02.01/40	*15.21/ *15.35/	*15.21	*15.35	*04.03/ *07.02/	*04.03	failed per
UCLA-con2	Buccal	*02.01/ *30.01/	*02010101/02/03	*30.01.01	*15.03/ *42.01/	*15.03/103/220	*42.01.01	*02.10/ *17.01/	*02.10	*17.01/02/03
UCLA-con3	Buccal	*02.01/ *02.01/	*02010101/02/03	*02010101/02/03	*44.02/ *57.03/	*44.02/19	*57.03.01	*05.01/ *07.01/	*05.01.01/02	*07.01/06/18
UCLA-con4	Buccal	*11.02/ *26.01/	*11.02/110	*26.01.01	*15.02/ *27.04/	*15.02.01	*27.04.01	*08.01/ *12.02/	*08.01/22	*12.02.02
UCLA-con5	Buccal	*01.01/ *30.02/	*01.01.01/01/02	*30.02.01	*08.01/ *15.03/	*08.01.01/20	*15.03/103/220	*02.10/ *07.01/	*02.10	*07.01/06/18
UCLA-con6	Buccal	*24.02/ *31.01/	*24.02.01/40	*31.01.02	*38.01/ *51.01/	*38.01.01	*51.01.01	*12.03/ *14.02/	*12.03.01/01/02	*14.02.01
UCLA-con7	Buccal	*02.11/ *68.01/	*02.11.01	*68.01/11	*35.05/ *40.04/	*35.05.01	*40.04	*03.04/ *04.01/	*03.04.01/01/02	*04.01/09/30/82
UCLA-con8	Buccal	*34.02/ *68.02/	*34.02.01	*68.02.01/02/03	*15.10/ *44.03/	*15.10.01	*44.03.01	*03.04/ *04.01/	*03.04.02	*04.01/09/30/82
staff-1	PB	*02.06/ *31.01/	*02.06.01	*31.01.02	*39.01/ *54.01/	*39.01.01/03	*54.01.01	*01.02/ *07.02/	failed per	failed per
staff-2	PB	*24.02/ *24.02/	*24.02.01/40	*24.02.01/40	*35.01/ *39.01/	*35.01.01/02	*39.01.01/03	*03.03/ *07.02/	*03.03/20	*07.02/50
staff-3	PB	*24.02/ *33.03/	*24.02.01/40	*33.03.01	*40.01/ *44.03/	*40.01.01/02	*44.03.01	*03.04/ *14.03/	*03.04.01/01/02	*14.03
staff-4	PB	*24.02/ *24.02/	*24.02.01/40	*24.02.01/40	*15.07/ *40.06/	*15.07.01	*40.06/04	*03.03/ *08.01/	*03.03/20	*08.01/22
staff-5	PB	*24.02/ *31.01/	*24.02.01/40	*31.01.02	*07.02/ *13.01/	*07.02/61/161	*13.01.01/05	*07.02/ *07.02/	*07.02/50	*07.02/50
staff-6	PB	*11.01/ *24.02/	*11.01.01	*24.02.01/40	*27.04/ *51.01/	*27.04.01	*51.01.01	*14.02/ *15.02/	*14.02.01	*15.02.01
staff-7	PB	*03.01/ *24.02/	*03.01.01/01/02/03	*24.02.01/40	*07.02/ *44.02/	*07.02/61/161	*44.02/19	*05.01/ *07.02/	*05.01.01/01/02	*07.02/50
staff-8	PB	*24.02/ *33.03/	*24.02.01/40	*33.03.01	*40.03/ *55.02/	*40.03	*55.02.01	*01.02/ *03.04/	*01.02.01/11	*03.04.01/01/02
staff-9	Buccal	*24.02/ *26.03/	*24.02.01/40	*26.03.01	*15.01/ *52.01/	*15.01.01/01/02	*52.01.01/01/02	*03.03/ *12.02/	failed per exon 3	failed per exon 3
family1-子	PB	*24.02/ *24.02/	*24.02.01/40	*24.02.01/40	*40.50/ *54.01/	*40.50	*54.01.01	*01.02/ *03.04/	*01.02.01/11	*03.04.01/01/02
family1-父	PB	*24.02/ *24.02/	*24.02.01/11	*24.02.01/11	*40.01/ *54.01/	*40.01.01/02	*54.01.01	*01.02/ *03.04/	*01.02.01/11	*03.04.01/01/02
family1-母	PB	*24.02/ *33.03/	*24.02.01/40	*33.03.01	*40.50/ *44.03/	*40.50	*44.03.01	*03.04/ *14.03/	*03.04.01/01/02	*14.03
family2-子	PB	*02.15/ *24.02/	*02.15.01	*24.02.01/40	*15.18/ *46.01/	*15.18.01	*46.01.01	*01.02/ *07.04/	*01.02.01/11	*07.04/11
family2-父	PB	*02.01/ *24.02/	*02.01.01/01/02/03	*24.02.01/40	*40.02/ *46.01/	*40.02.01	*46.01.01	*01.02/ *03.04/	*01.02.01/11	*03.04.01/01/02
family2-母	PB	*02.06/ *24.02/	*02.06.01	*24.02.01/40	*15.18/ *35.01/	*15.18.01	*35.01.01	*03.03/ *07.04/	*03.03/20	*07.04/11
family3-子	PB	*02.06/ *24.02/	*02.06.01	*24.02.01/40	*07.02/ *15.18/	*07.02/61/161	*15.18.01	*07.02/ *08.01/	*07.02/50	*08.01/22
family3-父	PB	*01.01/ *24.02/	*01.01.01/01/02	*24.02.01/40	*07.02/ *37.01/	*07.02/61/161	*37.01.01	*06.02/ *07.02/	failed per exon 3	failed per exon 3
family3-母	PB	*02.06/ *24.02/	*02.06.01	*24.02.01/40	*15.18/ *54.01/	*15.18.01	*54.01.01	*01.02/ *08.01/	*01.02.01/11	*08.01/22
family4-子	PB	*26.03/ *68.01/	*26.03.01	*68.01/11	*48.01/ *51.01/	*48.01.01	*51.01.01	*08.03/ *14.02/	*08.03	*14.02.01
family4-父	PB	*26.01/ *68.01/	*26.01.01	*68.01/11	*35.01/ *48.01/	*35.01.01	*48.01.01	*03.03/ *08.03/	*03.03/20	*08.03
family4-母	PB	*24.02/ *26.03/	*24.02.01/40	*26.03.01	*51.01/ *52.01/	*51.01.01	*52.01.01/01/02	*12.02/ *14.02/	*12.02.02	*14.02.01
sample1-Buccal	Buccal	*11.01/ *24.02/	*11.01.01	*24.02.01/40	*15.01/ *15.01/	*15.01.01/01/02	*15.01.01/01/02	*04.01/ *08.01/	*04.01/09/30/82	*08.01/22
sample1-PB	PB	*11.01/ *24.02/	*11.01.01	*24.02.01/40	*15.01/ *15.01/	*15.01.01/01/02	*15.01.01/01/02	*04.01/ *08.01/	*04.01/09/30/82	*08.01/22

SampleID	検体種類	DRB1		DRB3.4.5		DQA1				
		Luminex	MISeq	Luminex	MISeq	Luminex	MISeq			
UCLA-con1	Buccal	*08.03/ *15.02/	*08.03.02	*15.02.01	n.t.	5:01.01.01	-	*01.02/ *01.03/	*01.02/11	*01.03.01/01/02
UCLA-con2	Buccal	*03.02/ *15.03/	*03.02.01	*15.03.01/	n.t.	3:01.01.02.01/02	-	*01.02/ *04.01/	*01.02/11	*04.01.01
UCLA-con3	Buccal	*13.03/ *15.03/	*04.01.01	*13.03.01/	n.t.	3:01.01.02.01/02	4:01.03.01.01/02/03	*03.02/ *05.05/	*03.02.01	*05.05/09/11
UCLA-con4	Buccal	*12.02/ *15.01/	*12.02.01	*15.01.01/02/03/04	n.t.	3:02.02.01.01/02	5:01.01.01	*01.02/ *06.01/	*01.02/11	*06.01.01
UCLA-con5	Buccal	*03.01/ *07.01/	*03.01.01/01/02	*07.01.01/01/02	n.t.	3:01.01.02.01/02	4:01.01.01.01	*02.01/ *05.01/	*02.01	*05.01.01/01/02
UCLA-con6	Buccal	*04.01/ *09.01/	*04.01.01	*09.01.02	n.t.	4:01.03.01.01/02/03	4:01.03.01.01/02/03	*03.02/ *03.02/	*03.02/03	*03.02/03
UCLA-con7	Buccal	*04.11/ *09.01/	*04.11.01	*09.01.02	n.t.	4:01.03.01.01/02/03	4:01.03.01.01/02/03	*03.01/ *03.02/	*03.01.01	*03.02/03
UCLA-con8	Buccal	*03.01/ *15.03/	*03.01.01/01/02	*15.03.01/	n.t.	3:02.02.01.01/02	5:01.01.01	*01.02/ *05.01/	*01.02/11	*05.01.01/01/02
staff-1	PB	*04.05/ *09.01/	*04.05.01	*09.01.02	n.t.	4:01.03.01.01/02/03	4:01.03.01.01/02/03	*03.03/ *03.03/	*03.02/03	*03.02/03
staff-2	Buccal	*08.02/ *08.02/	*08.02.01	*08.02.01	n.t.	-	-	*03.01/ *04.01/	*03.01.01	*04.01.01
staff-3	PB	*04.06/ *08.03/	*04.06.01	*08.03.02	n.t.	4:01.03.01.01/02/03	-	*01.03/ *03.01/	*01.03.01/01/02	*03.01.01
staff-4	PB	*04.03/ *14.01/	*04.03.01	*14.54.01	n.t.	3:02.02.01.01/02	4:01.03.01.01/02/03	*01.01/ *03.01/	*01.01/04/05	*03.01.01
staff-5	PB	*01.01/ *12.02/	*01.01.01	*12.02.01	n.t.	3:03.01.03	-	*01.01/ *06.01/	*01.01/04/05	*06.01.01
staff-6	PB	*08.02/ *09.01/	*08.02.01	*09.01.02	n.t.	4:01.03.01.01/02/03	-	*03.01/ *03.03/	*03.01.01	*03.02/03
staff-7	PB	*01.01/ *04.10/	*01.01.01	*04.10.01	n.t.	4:01.03.01.01/02/03	-	*01.01/ *03.03/	*01.01/04/05	*03.02/03
staff-8	PB	*09.01/ *14.05/	*09.01.02	*14.05.01	n.t.	3:02.02.01.01/02	4:01.03.01.01/02/03	*01.01/ *03.03/	*01.01/04/05	*03.02/03
staff-9	Buccal	*15.01/ *15.02/	*15.01.01/02/03/04	*15.02.01	n.t.	5:01.01.01	5:01.01.02	*01.02/ *01.03/	*01.02/11	*01.03.01/01/02
family1-子	PB	*08.02/ *15.02/	*08.02.01	*15.02.01	n.t.	5:01.01.02	-	*01.03/ *03.01/	*01.03.01/01/02	*03.01.01
family1-父	PB	*14.54/ *15.02/	*14.54.01	*15.02.01	n.t.	3:02.02.01.01/02	5:01.01.02	*01.01/ *01.03/	*01.01/04/05	*01.03.01/01/02
family1-母	PB	*08.02/ *13.02/	*08.02.01	*13.02.01	n.t.	3:03.01.01	-	*01.02/ *03.01/	*01.02/11	*03.01.01
family2-子	PB	*04.01/ *08.03/	*04.01.01	*08.03.02	n.t.	4:01.02	-	*01.03/ *03.01/	*01.03.01/01/02	*03.02/03
family2-父	PB	*08.03/ *09.01/	*08.03.02	*09.01.02	n.t.	4:01.03.01.01/02/03	-	*01.03/ *03.01/	*01.03.01/01/02	*03.02/03
family2-母	PB	*04.01/ *15.01/	*04.01.01	*15.01.01	n.t.	4:01.02	5:01.01.01	*01.02/ *03.01/	*01.02/11	*03.02/03
family3-子	PB	*01.01/ *15.02/	*01.01.01	*15.02.01	n.t.	5:01.01.01	-	*01.01/ *01.03/	*01.01/04/05	*01.03.01/01/02
family3-父	PB	*01.01/ *10.01/	*01.01.01	*10.01.01	n.t.	-	-	*01.01/ *01.01/	*01.01/04/05	*01.01/04/05
family3-母	PB	*13.01/ *15.02/	*13.01.01	*15.02.01	n.t.	3:01.01.02.01/02	5:01.01.02	*01.03/ *01.03/	*01.03.01/01/02	*01.03.01/01/02
family4-子	PB	*08.02/ *09.01/	*08.02.01	*09.01.02	n.t.	4:01.03.01.01/02/03	-	*03.03/ *04.01/	*03.02/03	*04.01.01
family4-父	PB	*04.10/ *09.01/	*04.10.01	*09.01.02	n.t.	4:01.03.01.01/02/03	4:01.03.01.01/02/03	*03.03/ *03.03/	*03.02/03	*03.02/03
family4-母	PB	*08.02/ *15.02/	*08.02.01	*15.02.01	n.t.	5:01.01.02	-	*01.03/ *04.01/	*01.03.01/01/02	*04.01.01
sample1-Buccal	Buccal	*04.03/ *04.05/	*04.03.01	*04.05.01	n.t.	4:01.03.01.01/02/03	4:01.03.01.01/02/03	*03.01/ *03.03/	*03.01.01	*03.02/03
sample1-PB	PB	*04.03/ *04.05/	*04.03.01	*04.05.01	n.t.	4:01.03.01.01/02/03	4:01.03.01.01/02/03	*03.01/ *03.03/	*03.01.01	*03.02/03

SampleID	検体種類	DQB1		DPA1		DPB1				
		Luminex	MISeq	Luminex	MISeq	Luminex	MISeq			
UCLA-con1	Buccal	*05.02/ *06.01/	*05.02.01	*06.01.01	*01.03/ *02.02/	*01.03.01/	*02.02.02	*02.01/ *05.01/	*02.01.02	*05.01/+/
UCLA-con2	Buccal	*04.02/ *03.02/	*04.02.01	*03.02.01	*01.03/ *02.02/	*01.03.01/	*02.02.02	*01.01/ *12.01/	*01.01.01	*12.01.01
UCLA-con3	Buccal	*03.01/ *03.01/	*03.01.01/01/02/03	*03.01.01/02/03	*02.01/ *02.01/	*02.01.01	*02.01.02	*01.01/ *17.01/	*01.01.01	*17.01
UCLA-con4	Buccal	*03.01/ *05.02/	*03.01.01/01/02/03	*05.02.01	*01.03/ *02.02/	*01.03.01/	*02.02.01	*02.01/ *19.01/	*02.01.02	*19.01
UCLA-con5	Buccal	*02.01/ *02.02/	*02.01.01	*02.02.01	*01.03/ *02.01/	*01.03.01/	*02.01.01	*01.01/ *02.02/	*01.01.01	*02.02
UCLA-con6	Buccal	*03.01/ *03.03/	*03.01.01/01/02/03	*03.03.01/02/03	*01.03/ *02.02/	*01.03.01/	*02.02.02	*02.01/ *05.01/	*02.01.02	*05.01/+/
UCLA-con7	Buccal	*03.02/ *03.03/	*03.02.01	*03.03.01/02/03	*02.01/ *02.01/	*02.01.01	*02.01.01	*27.01/ *27.01/	*27.01	*27.01
UCLA-con8	Buccal	*02.01/ *06.02/	*02.01.01	*06.02.01	*01.03/ *02.01/	*01.03.01/	*02.01.07	*02.01/ *13.30/	*02.01.02	*13.30

## 8) 日本列島人における A, B, DR, DQ, DP のハプロタイプ頻度解析 ～ファミリーデータからの直接カウント法による～

○宮崎有紀<sup>1)</sup>, 小島裕人<sup>1)</sup>, 二神貴臣<sup>1)</sup>, 辻野貴史<sup>1)</sup>, 林 晃司<sup>1)</sup>, 楠木靖史<sup>1)</sup>, 藤井直樹<sup>1)</sup>,  
末上伸二<sup>1)</sup>, 池田奈未<sup>1)</sup>, 西川美年子<sup>1)</sup>, 小川公明<sup>2)</sup>, 赤座達也<sup>1)</sup>, 佐治博夫<sup>1)</sup>

公益財団法人 HLA 研究所<sup>1)</sup>, NPO 法人白血病研究基金を育てる会<sup>2)</sup>

【目的】造血幹細胞移植において、ドナーの HLA-A, B, DR 遺伝子型を一致させても、GVH/HVG 反応が起こっている症例が多い。マイナー抗原の違いの影響も考えられるが、C 座や DQ 座, DP 座のミスマッチの影響も否定できない。そこで今回は、DQA1, DPA1 を含めた日本列島人における HLA-A, B, DR, DQ, DP のハプロタイプ頻度解析を行い、DQ 座, DP 座の隠れミスマッチについても検討した。

これらのデータが人類遺伝学的な観点からも利用できることを望む。

【材料・方法】当研究所に依頼のあった、394 家族 1,904 検体を Luminex 法 (WAKFlow, LABType) を用いて HLA 遺伝子型検査を行い、直接カウント法により解析を行った。

【結果】DQA1-DQB1, DPA1-DPB1 のハプロタイプ頻度 (HF) と DQA1, DPA1 を含めた HLA-A, B, DR, DQ, DP の HF を連鎖不平衡値 (LD 値), 相対連鎖不平衡値 (RD 値) と共にそれぞれ表 1, 表 2 に示す。また、その中から HLA-A, B, DR ハプロタイプ上位 5 位について DQ 座, DP 座の相違を表 3 に示す。なお、Luminex 法で Ambiguity が決められなかったものは表 4 の通り上 2 ケタでの表記とした。

【考察】DQA1-DQB1, DPA1-DPB1 の HF, LD 値, RD 値が明らかとなった (表 1) が、DQA1, DPA1 について

は Ambiguity の問題から一部のタイプについては第 2 区域のみなし判定が困難であったため、今後 NGS (Next Generation Sequencing) によるデータ蓄積が必要と考える。

HLA-A, B, DR, DQ, DP の HF に着目すると、HLA-A, B, DR 同様に上位 3 位において強い連鎖不平衡が見られたが、4 位以下ではあまり連鎖不平衡は見られなかった (表 2)。このことから、上位ハプロタイプは進化的に強く保存されており、移植医療におけるドナー探索ではこれらのハプロタイプを合わせる事が推奨される。隠れミスマッチの解析はこのことを裏付ける結果となり (表 3), HLA-A, B, DR 座一致ドナーからの移植でも、そのハプロタイプ頻度が上位であるほど HLA-DQ, DP 座がミスマッチになる可能性が低くなることが示唆された。ただし、この場合でも DQ, DP 座が完全にマッチするわけではないので、細胞性免疫の観点のみならず液性免疫による拒絶の危険性は意外に高いといえる。HLA-A, B, C, DR マッチの非血縁間移植においても抗体検査が必要といえる。移植前検査で特に DP 座 (DQ 座は造血幹細胞に低表現) の抗体が陽性でかつ遺伝子型検査をする余裕がない場合は、今回のデータがミスマッチを予測するひとつの手段となることを望む。なお、今後は母数を増やし、さらには C 座も含めた解析も行っていく予定である。

表1 DQA1-DQB1, DPA1-DPB1ハプロタイプ頻度(HF)上位15位の連鎖不平衡値(LD値)、相対連鎖不平衡値(RD値)

DQA1-DQB1 (n=1540)	ハプロタイプ数	HF (%)	LD値	RD値	DPA1-DPB1 (n=1500)	ハプロタイプ数	HF (%)	LD値	RD値
*01:03-*06:01	287	18.64	0.150	0.983	*02:02-*05:01	499	33.27	0.174	0.832
*03-*03:03	230	14.94	0.086	0.984	*01:03-*02:01	311	20.73	0.112	0.798
*03-*04:01	199	12.92	0.074	0.976	*01:03-*04:02	154	10.27	0.060	0.957
*03-*03:02	170	11.04	0.060	0.858	*02:01-*09:01	150	10	0.084	1.022
*01-*05:01	105	6.82	0.060	1.013	*01:03-*04:01	76	5.07	0.030	0.966
*01:02-*06:02	102	6.62	0.057	1.013	*02:02-*03:01	52	3.47	0.012	0.391
*05-*03:01	97	6.3	0.056	0.945	*02:01-*05:01	42	2.8	-0.032	-0.530
*01:02-*06:04	86	5.58	0.048	1.010	*02:02-*02:01	41	2.73	-0.075	-0.732
*01-*05:03	50	3.25	0.029	0.979	*02:02-*02:02	36	2.4	0.008	0.352
*06:01-*03:01	40	2.6	0.023	1.000	*01:03-*03:01	27	1.8	-0.003	-0.161
*03-*04:02	38	2.47	0.006	0.215	*02:01-*13:01	25	1.67	0.014	0.932
*04:01-*04:02	33	2.14	0.020	0.776	*02:01-*14:01	24	1.6	0.013	0.929
*01-*05:02	22	1.43	0.012	0.639	*01:03-*02:02	22	1.47	-0.001	-0.045
*03-*03:01	12	0.78	-0.036	-0.823	*01:03-*06:01	9	0.6	0.004	1.031
*01:03-*06:03	11	0.71	0.006	0.920	*01:03-*05:01	9	0.6	-0.143	-0.960

表2 HLA-A,B,DR,DQ,DPハプロタイプ頻度(HF)、連鎖不平衡値(LD値)、相対連鎖不平衡値(RD値) (n=1464)

A-B-DRB1-DQA1-DQB1-DPA1-DPB1	ハプロタイプ数	HF (%)	LD値	RD値	順位
*24:02-*52:01-*15:02-*01:03-*06:01-*02:01-*09:01	101	6.9	0.069	0.703	1
*33:03-*44:03-*13:02-*01:02-*06:04-*01:03-*04:01	47	3.2	0.032	0.621	2
*24:02-*07:02-*01:01-*01-*05:01-*01:03-*04:02	45	3.1	0.031	0.521	3
*24:02-*54:01-*04:05-*03-*04:01-*02:02-*05:01	29	2	0.020	0.284	4
*11:01-*15:01-*04:06-*03-*03:02-*01:03-*02:01	17	1.2	0.012	0.265	5

表3 HLA-A,B,DRハプロタイプ頻度(HF)上位5位における隠れミスマッチ存在率(%)

A-B-DR	DQA1-DQB1-DPA1-DPB1	ハプロタイプ数	存在率 (%)
*24:02-*52:01-*15:02(n=122)	*02:01-*09:01	101	82.79
	*01:03-*02:01	7	5.74
	*02:02-*05:01	6	4.92
	*01:03-*04:02	2	1.64
	*02:01-*13:01	2	1.64
	*02:01-*14:01	2	1.64
	*01:03-*02:02	1	0.82
	*01:02-*06:01 - *02:02-*05:01	1	0.82
*33:03-*44:03-*13:02(n=66)	*01:03-*04:01	47	71.21
	*02:02-*02:01	7	10.61
	*01:03-*02:01	3	4.55
	*02:01-*13:01	2	3.03
	*02:02-*05:01	2	3.03
	*01:03-*03:01	1	1.52
	*01:03-*04:02	1	1.52
	*01:03-*05:01	1	1.52
	*01:03-*06:01	1	1.52
	*02:02-*03:01	1	1.52
*24:02-*07:02-*01:01(n=54)	*01:03-*04:02	45	83.33
	*01:03-*02:01	5	9.26
	*02:01-*09:01	2	3.7
	*02:01-*14:01	1	1.85
	*01-*05:07 - *02:01-*14:01	1	1.85
*24:02-*54:01-*04:05(n=38)	*02:02-*05:01	29	76.32
	*01:03-*02:01	3	7.89
	*01:03-*04:02	3	7.89
	*02:02-*19:01	2	5.26
	*02:01-*09:01	1	2.63
*11:01-*15:01-*04:06(n=29)	*01:03-*02:01	17	58.62
	*02:02-*05:01	8	27.59
	*01:03-*04:02	2	6.9
	*01:03-*04:01	1	3.45
	*02:02-*02:01	1	3.45

表4 Ambiguityが決められなかったタイプの表記方法

DQA1\*01:01/04/05→DQA1\*01  
 DQA1\*03:01,\*03:02/03,\*03:01/02/03→DQA1\*03  
 DQA1\*05:03/07,\*05:05/09,\*05:05/09/11→DQA1\*05  
 DPA1\*02:02/05→DPA1\*02:02

## 9) HLA-8/8 アリル適合非血縁者間造血細胞移植における HLA-DPB1 disparity の検討

○佐藤 壯<sup>1)</sup>, 佐藤蘭子<sup>1)</sup>, 小林直樹<sup>2)</sup>, 小林良二<sup>3)</sup>

社会医療法人北楡会 札幌北楡病院 臨床検査科<sup>1)</sup>, 同 血液内科<sup>2)</sup>, 同 小児思春期科<sup>3)</sup>

**【背景】**一昨年の16thIHIWでも報告されたが, HLA-A, B, C, DRB1 抗原一致 8/8 matched HSCT における日本の成績と比較して海外の成績が悪いため, DQB1 も一致させた 10/10 matched HSCT や DPB1 も合わせた 12/12 matched HSCT を指向する動きがある。実際, Fleishhauer や Zino らによれば, permissive 群 (P 群) に対して non-permissive 群 (NP 群) では有意に GvHD 及び nonrelapse mortality の頻度が高いと報告されている。これは HLA-DPB1 の特定のアリルの抗原構造が T cell epitope (TCE) として T 細胞のアロ反応を惹起し, ミスマッチの組合せによって患者の予後に影響するためである。そこで当院における 10/10 matched HSCT 患者とドナー両者の HLA-DPB1 タイピングを行い, 患者を match 群 (M 群), P 群と NP 群に分けて各々の予後について検討したので報告する。

**【対象と方法】**対象は, 当院で HLA フルマッチ移植を行った症例の内 2009 年から 2013 年 5 月までの非血縁者間移植患者 38 例 (U 群) で, 対照群として 2010 年から 2013 年 5 月までの血縁者間移植患者 32 例 (R 群) の計 70 例。

HLA タイピングには HLA-C, DQA1/DQB1, DPA1/DPB1 (LABType, One Lambda), HLA-A, B, C, DRB1, DPB1 (WAKFlow, 湧永製薬) を用いた。この結果から TCE3 と TCE4 の組み合わせを検討し match (M) 群, permis-

sive (P) 群と non-permissive (NP) 群に分け, 予後について検討した。

**【結果】**R 群はすべて HLA-DQA1/DQB1, DPA1/DPB1 抗原は一致していた (8/8 matched HSCT=12/12 matched HSCT)。U 群は全例 HLA-DQA1/DQB1 抗原は一致していた (8/8 matched HSCT=10/10 matched HSCT)。このうち DPA1/DPB1-M 群が 11 例 (28.9%), DPA1/DPB1-P 群が 13 例 (34.2%), DPA1/DPB1-NP (TCE3) 群が 3 例 (7.9%), DPA1/DPB1-NP (TCE4) 群が 11 例 (28.9%) だった。

各群の予後は, DPA1/DPB1-M 群及び P 群が生存 10 例, 死亡 14 例 (TRM 1 例, NRM 9 例, Re 4 例)。DPA1/DPB1-NP 群は生存 8 例, 死亡 6 例 (TRM 2 例, NRM 3 例, Re 1 例) であった。

**【考察】**症例が少なかったためか, M 群, P 群と NP 群において, 予後に明らかな有意差は認められなかった。

ただ, 他の報告と比較して M 群の割合が高く, 逆に NP 群の割合が低い傾向が認められた。あるいはこれが日本における 8/8 matched HSCT が他国と比較して良好な成績となっている理由かもしれない。

今後, 少数ではあるが NP 群となる症例があることを考慮して, プロスペクティブに HLA-DP タイピング検査を行い, 更に検討していきたい。

(14:00 ~ 14:20)

---

ブリーフ・セッション

座長：木村貴文（京都大学 iPS 研究所 基盤技術研究部門）

**ASHI (American Society for Histocompatibility and Immunogenetics) 39th Annual Meeting に出席して**

○楠木靖史<sup>1)</sup>，小島裕人<sup>1)</sup>，木村貴文<sup>2)</sup>

公益財団法人 HLA 研究所<sup>1)</sup>，京都大学 iPS 細胞研究所基盤技術研究部門<sup>2)</sup>

## ASHI (American Society for Histocompatibility and Immunogenetics) 39th Annual Meeting に出席して

○楠木靖史<sup>1)</sup>, 小島裕人<sup>1)</sup>, 木村貴文<sup>2)</sup>

公益財団法人 HLA 研究所<sup>1)</sup>, 京都大学 iPS 細胞研究所基盤技術研究部門<sup>2)</sup>

第 39 回 ASHI が 2013 年 11 月 17 日から 5 日間, Chicago の Sheraton Chicago Hotel and Towers で開催された。学会会場はアメリカ型都市発祥の地と言われる摩天楼がそびえ立つ区画に位置していた。美しい景観の中で行われた学会で学んだ内容の一部を紹介したい。

プログラムは Poster Session 188 題, Keynote address (iPS cells) 1 題, Plenary lecture (NK, Tolerance, Award, Complement) 9 題, Symposium 9 題, Affiliate Meeting 6 題, Workshop 28 題, Abstract Session 46 題, Hot Topics (C1q) 2 題, 出展企業のブースも 39 社あり, 多くの刺激を受けることができた。参加人数は 500 人以上と思われるが, 残念ながら日本人研究者はほとんどいなかった。

今回私が最も興味をひかれたのは NGS (Next Generation Sequencing) を用いたタイピングで, HLA だけでなく KIR (killer immunoglobulin like receptors) のアリルタイピングまで行っている施設も多く見られた。KIR は最近日本でも注目されているが, 本会においても, KIR ハプロタイプ A/B についての遺伝的背景, レセプター/リガンドの多型について焦点があてられていた。

抗 HLA 抗体では, 臓器移植におけるバーチャル・クロスマッチや補体結合性抗体の検出キット (製品名 C1qScreen) についての話題が中心であった。C1qScreen はまだまだ非特異反応が存在するが, これを改善するため検査方法の検討が行われ, CDC (complement-dependent

cytotoxicity) とほぼ同等の結果が得られるようになった。ドナーリンパ球を必要とする CDC よりも本法の方が抗体関連拒絶のモニタリング方法としては簡便といえよう。

造血幹細胞移植のマッチングについては, NMDP/CIBMTR よりドナー年齢, ABO 型, 抗原マッチ<アリルマッチ, 性別などの予後因子をもとにドナー選択の指針が示された。EMBT からは移植成績やドナーの続柄の内訳は日本と変わらないが, 移植ソースについては BM 22%, PB 72%, CB 6%, と CB の多い日本と比べ PB が圧倒的に多く, HLA 一致ドナーの中でも同胞と非血縁で移植成績に 10% の差異があり, これは日本人のそれよりも数% 高いことが示された。原因として Caucasian におけるマイナー抗原の多型が日本列島人より多いことを挙げていた。

最後に, 次年度の 40th ASHI 記念大会は 2014 年 10 月 20 日から 24 日まで, Denver, Colorado で開催される予定である。ASHI は JSHI に比べ, より臨床側に近い印象を受け, JSHI とは違う観点から組織適合性について見直すことができた。スライドも十分に理解の手助けをしてくれるので特に問題はなかった。また, 学会期間は 5 日間あるがスケジュールは余裕を持って組まれており, 学術枠を超えた国際交流も可能であるため, 日本からの参加が増えれば, JSHI のさらなる活性化にも寄与すると考えられる。

(14:20 ~ 15:50)

---

## シンポジウム

### 「iPS 細胞にとっての組織適合性」

座長：谷 慶彦（近畿ブロック血液センター 研究部）

木村貴文（京都大学 iPS 研究所 基盤技術研究部門）

1) 「iPS 細胞を用いた腎疾患治療法の開発」

長船健二（京都大学 iPS 細胞研究所 増殖分化機構研究部門）

2) 「iPS 細胞を用いた脳内細胞移植治療における免疫原性の検討」

森実飛鳥（京都大学 iPS 細胞研究所 臨床応用研究部門）

3) 「iPS 細胞を用いた細胞治療と組織適合性」

木村貴文（京都大学 iPS 細胞研究所 基盤技術研究部門）

## 1) iPS 細胞を用いた腎疾患治療法の開発

長船健二

京都大学 iPS 細胞研究所 増殖分化機構研究部門

近年、無限の増殖能と全身の細胞種への多分化能を有する ES 細胞（胚性幹細胞）や iPS 細胞（人工多能性幹細胞）から特定細胞種への分化誘導を行い、細胞移植によって機能不全からの臓器機能回復を図る再生医療の開発研究が盛んに行われている。しかし、神経や心筋など他の臓器の再生研究から大きく遅れ、ES 細胞や iPS 細胞から腎細胞を分化誘導する方法は未だに確立されていない。現在、演者らは、腎発生過程を再現し、ヒト iPS 細胞から「中間中胚葉」、「腎前駆細胞」、「分化腎細胞」の順に多段階の腎細胞分化誘導法開発を行っている。そして、増殖因子の組み合わせ処理を用いて最初のステップであるヒト iPS 細胞から腎臓を派生させる胎生初期組織「中間中胚葉」を 90% 以上の高効率で分化誘導する方法を開発した。これらのヒト iPS 細胞由来の中間中胚葉細胞は、*in vitro* と *in vivo* で成体腎構成細胞に分化可能であり、器官培養の系において三次元の尿細管様構造を形成する能力を有することが分かった (Mae S. et al., 2013)。

一方、近年、化学と生物学を融合させた「ケミカルバイオロジー」と呼ばれる学問分野が発展し、合成化合物や生物由来の天然物の高速スクリーニングによって様々な生命現象を制御する化合物が同定されている。現在、演者らは化合物スクリーニングシステムを立ち上げ、ヒト iPS 細胞から腎系譜への分化を誘導する化合物の探索

も行っている。そして、ヒト iPS 細胞から中間中胚葉を高効率に誘導する 2 種の化合物 TTNPB, AM580 を同定し、化合物を用いた低コストかつ高効率な分化誘導法を開発した (Araoka T. et al., 2014)。現在、次のステップとしての胎児期の腎前駆細胞を経て、成体腎を構成する分化腎細胞への高効率分化誘導法の開発を行っている。

細胞移植療法に加えて iPS 細胞技術を用いた臨床応用研究として、「疾患モデル作製研究 (disease modeling)」が盛んに行われている。それは、難治性疾患の患者体細胞より疾患の発症に関与する遺伝情報を有する「疾患特異的 iPS 細胞」を樹立し、試験管内で罹患細胞種へ分化誘導することにより病態を模倣する疾患モデルを作製し、病態解析や治療薬探索を行う研究のことである。演者らは、既に「常染色体優性多発性嚢胞腎 (ADPKD)」や「Alport 症候群」をはじめとする末期慢性腎不全に進行しうる複数の難治性腎疾患から疾患特異的 iPS 細胞を樹立した。ヒト iPS 細胞から腎細胞への分化誘導法を確立し、疾患モデルを作製する予定である。

本発表においては、ケミカルバイオロジーの活用をはじめとしてヒト iPS 細胞から腎細胞を分化誘導する研究の成果について提示する。さらに、iPS 細胞技術を用いた細胞療法および難治性疾患に対する新規疾患モデル作製、治療薬探索の展望についても述べてみたい。

## 2) iPS 細胞を用いた脳内細胞移植治療における免疫原性の検討

森実飛鳥<sup>1)</sup>, 土井大輔<sup>1)</sup>, 菊地哲広<sup>1)</sup>, 沖田圭介<sup>1)</sup>, 水間 広<sup>2)</sup>, 尾上浩隆<sup>2)</sup>,  
林 拓也<sup>2)</sup>, 椎名 隆<sup>3)</sup>, 小笠原一誠<sup>4)</sup>, 山中伸弥<sup>1)</sup>, 高橋 淳<sup>1)5)6)</sup>

京都大学 iPS 細胞研究所<sup>1)</sup>, 理化学研究所 ライフサイエンス技術基盤研究センター<sup>2)</sup>,  
東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学<sup>3)</sup>, 滋賀医科大学 病理学講座<sup>4)</sup>,  
京都大学 再生医科学研究所<sup>5)</sup>, 京都大学 医学部脳神経外科<sup>6)</sup>

**【背景】** パーキンソン病に対する細胞移植治療として、1980年代から欧米を中心にヒト中絶胎児の中脳組織を用いた移植が試験的に行われた。この胎児移植は一部の症例では著効が認められたが、幾つかの問題のために一般的な治療オプションとはならなかった。その1つの問題として、移植したドパミン神経の生着率が低い事が挙げられる。この胎児移植では1回の移植につき、4-10体の胎児組織が必要で、通常はHLAの適合は行われていなかった。胎児移植の問題を克服できる可能性があるということで、人工多能性幹細胞(iPS細胞)を用いた再生医療がこの分野でも注目されている。我々の研究室では自己細胞由来のiPS細胞を用いた自家移植、およびiPS細胞ストックを用いたHLA適合移植の臨床応用を目指して研究を行っている。

**【方法】** カニクイザルからiPS細胞を樹立し、ドパミン神経誘導後に元のサル脳へ移植した(自家移植: autograft)。本研究では免疫抑制剤は使用していない。遺伝学的に個々のカニクイザルのMHCタイピングを行い、MHC型の一致しないサルへの移植(同種移植: allograft)をコントロールとした。術後、画像検査としてMRI, PETを定期的に行った。血液、及び髄液検査も定期的に行った。移植後3-4ヶ月で還流固定を行い脳の組織学的検索を行った。

**【結果】** 移植後3ヶ月の時点でいずれの群でもドパミン細胞の生着が確認できた。PETによる解析、血清学的検査、病理学的検索により免疫・炎症反応は自家移植ではほとんど起きていなかったが、allograftではマイクログリアの活性化、リンパ球の移植片への浸潤、そして組織へのIgGの沈着が認められた。最も炎症が強かった1匹では活性化したマイクログリアと反応するリガンドであるPK11195を用いたPETで画像イメージとして炎症反応を捉える事ができた。

**【考察】** 脳は免疫疎界と言われるが、autograft, allograftの比較では免疫・炎症反応に明らかな違いが見られた。また、画像検査で移植後の炎症が捕えられた事は、臨床現場において免疫抑制剤の使用法などを調整する上でも意義深い。免疫学的観点からは、臨床応用にあたり自家移植が有用と考えられる。しかし、自己iPS細胞を個々の症例で樹立し、分化誘導を行い、ドナー細胞の安全性と有効性を一つ一つ確認するには高いコストがかかる。また自己細胞の疾患感受性の問題も残る。そこで、HLAホモ型健康人ドナー由来のiPS細胞ストックを用いたHLA適合移植も期待されている。今後はMHCのホモ接合体をもつカニクイザルおよび、そのヘテロ型のサルを用いて、iPS細胞を利用したHLA適合移植の有効性も検討していく予定である。

### 3) iPS 細胞を用いた細胞治療と組織適合性

木村貴文

京都大学 iPS 細胞研究所

ノーベル医学・生理学賞の受賞以来、iPS 細胞の臨床応用への期待はますます膨らみつつある。患者から樹立した疾患特異的 iPS 細胞を用いた難治性疾患の病態解明や新たな治療薬の開発は今や熾烈な国際競争の場となっている。しかし、それにも増して注目を集めているのは「細胞治療への応用」である。

細胞治療に用いる細胞・組織（あるいはその加工製品）の安全性や有効性の担保には、製造および品質試験の徹底的な管理が求められる。このプロセスを経た移植片は、安全かつ有効な方法で患者に移植されることになる。「安全かつ有効な方法」には、当然のことながら「組織適合性抗原の一致」が含まれる。

2011 年から米国で始まっている、ES 細胞由来網膜色素上皮を用いた黄斑変性症に対する同種移植は、すでに 30 名以上の患者に実施されたが、急性および亜急性拒

絶反応は報告されていない。これは、神経などの外胚葉器官の免疫原性が低いことに起因すると考えられる。しかし、iPS 細胞は T 細胞、血小板、血管内皮細胞などの同種抗原性がきわめて強い細胞種へも分化誘導可能であり、それらを用いた細胞治療も実現に向けて研究意欲は旺盛である。臨床応用可能な細胞分化誘導技術の開発に伴って iPS 細胞の用途はますます多様化すると考えられる。したがって、医療用 iPS 細胞バンクの構築に必要なドナー要件については、ドナー・ソースの規模、組織適合性抗原の解析技術の現状と開発状況、これまでの造血細胞移植および臓器移植の成績などを考慮のうえ決定する必要がある。とくに、iPS 細胞ストックのユーザーであり患者にもっとも近い臨床医との情報共有は、今後もっとも推進すべき課題と考えられる。

(16:00 ~ 17:00)

---

**特別講演**

座長：椿 和央（近畿大学医学部奈良病院 血液内科）

**「造血幹細胞移植と HLA」**

森島泰雄（愛知県がんセンター 研究所 疫学・予防部）

## 「造血幹細胞移植と HLA」

森島泰雄

愛知県がんセンター 研究所 疫学・予防部

わが国において 1970 年代中ごろに開始された同胞間 HLA 適合骨髄移植は、1990 年代に入り骨髄バンクドナーからの非血縁者間 HLA 適合骨髄移植、引き続いてのさい帯血バンクからの非血縁者間さい帯血移植が可能になり、さらに末梢血幹細胞移植や非骨髄破壊的移植法も開発されるなど移植は多様化し広がりを見せ、年間 4000 例以上の移植が実施されている。最良の成績を得るために多様化した移植の中からどの移植法・ドナー（HLA 適合度）の移植をどの病期に実施すればよいかの選択・決断を患者・主治医はしなければならない。

同種造血幹細胞移植（HSCT）患者の成績向上のためには、重症な急性移植片対宿主病（GVHD）や慢性 GVHD の発症、移植片の拒絶を抑制し、移植片対白血病反応（GVL）を生じさせることが重要であるが、これら移植免疫反応にはドナーと患者の主要組織適合性抗原（HLA）の違いが大きく関わっていることが、わが国や海外における HSCT の臨床成績と HLA との関連解析により明らかにされてきた。HSCT に関与する HLA

の影響はドナーや移植細胞源を異にする移植法により違っているが、例えば急性 GVHD の重症度と発症頻度は、HLA 不適合非血縁者間移植、HLA 不適合同胞間移植、HLA 適合非血縁者間移植 HLA 適合同胞間移植の順に高くなり、HLA 不適合さい帯血移植では HLA のバリアーが低く HLA 2 座不適合移植も可能になっている。

ここでは HSCT に関わる HLA につき、以下に示す最新の知見を中心に提示したい。

1. HLA 領域の multi-SNPs 解析で見出された HLA 領域の LD ブロックと HLA アリルとの関連
2. HLA 座（アリルレベル）適合度とくに HLA-DPB1 の移植免疫反応への影響
3. HLA アリル不適合組み合わせの移植免疫反応への影響
4. NK 細胞受容体（KIR）リガンド適合度の移植免疫反応への影響
5. 国際組織適合性ワークショップ（HSCT 部会）での global な解析
6. 移植選択アルゴリズムの現状

## 日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定

### I. 投稿について

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

**資 格**：著者（共著者を含む）は原則として本学会会員に限る。

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

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

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

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

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

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

### II. 原著執筆書式

#### 1. 執筆要項

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

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

#### 2. 第1頁目

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

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

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

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

心移植における FlowPRA 法を用いた HLA 抗体検出の意義

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

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

#### 3. 本文一：日本語での投稿

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

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

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

①専門用語以外は常用漢字、新かなづかいに従い記述する。

②本文中の英単語は固有名詞を除き全て小文字で統一する。

③地名、人名、学名は原語のまま用い、薬品名は一般名を用い商品名は括弧内に記す。

④単位、数量は国際単位（cm, ml, g, Kg, pg,  $\mu$ l, %,  $^{\circ}$ Cなど）を、数字はアラビア文字を用いる。

#### 4. 本文一：英語での投稿

・2頁目に250 words以内の要旨、キーワード（5語以内）を記載する。

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

①地名、人名、学名は原語のまま用い、薬品名は一般名を用い商品名は括弧内に記す。

②単位、数量は国際単位（cm, ml, g, Kg, pg,  $\mu$ l, %,  $^{\circ}$ Cなど）を、数字はアラビア文字を用いる。

#### 5. 引用文献

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

1. Shi Y, Yoshihara F, Nakahama H, *et al.*: A novel immunosuppressant FTY720 ameliorates proteinuria and alterations of intrarenal adrenomedullin in rats with autoimmune glomerulonephritis. *Regulatory Peptides* (127): 233–238, 2005.

2. Tongio M, Abbal M, Bignon JD, *et al.*: ASH#18: HLA-DPB1. *Genetic diversity of HLA Functional and Medical Implication* (ed. Charron D), Medical and

Scientific International Publisher, p. 134–136, 1997.

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

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

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

#### 1. 執筆要項

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

#### 2. 第1頁目

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

#### 3. 本文（日本語および英語での投稿）

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

・3頁目以降は、原著執筆書式3.の3頁目以降に準じる。

### IV. 総説, シリーズその他

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

## V. 原稿送付先

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

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

## 編集後記

今回、初めて編集後記を書かせていただきます。私自身は30年来、臓器移植を専門とする外科医ですが、本学会の会員歴も30年になります。30年前には、現在のように有効な免疫抑制剤がなく、移植成績の向上のためには、組織適合性を合わせることにしか出来なかった時代に、会員になりました。その後、免疫抑制剤の進歩により、移植成績の劇的な向上がもたらされ、ややもすると臓器移植における組織適合性の意義が薄れてしまった感があり、本学会から多くの移植医が去り、基礎研究中心のようになっていきます。しかし、現在、臓器移植の臨床では、高感度クロスマッチ検査法の導入、抗体陽性症例に対する対応、抗体検査の意義が明らかにあり、正に移植臨床の現場への本学会の回帰が求められています。

さて、本号でも例年と同じく近畿地方会の抄録が掲載されています。臨床の臓器移植でも東日本より西日本の方が色々な点で優れていますが、組織適合性研究でも西高東低です。日本臓器移植ネットワークでの献腎移植におけるクロスマッチ検査でも、西日本で普通に行われているフローサイトメーターによるものが、長い間、東日本では行われてきませんでした。クロスマッチの感度まで西高東低で良い訳はありません。これは本学会のHLA標準化委員会で議論されています。

臓器移植の現場へ本学会の関与が求められている現状を報告し、編集後記とさせていただきます。  
湯沢 賢治

## 日本組織適合性学会ホームページ

学会活動に関する情報やHLA遺伝子の塩基配列情報が利用できます。

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

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

## 学会事務局からのお知らせ

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

委託業務は以下の通りです。

入退会手続

届け出事項の変更手続き

年会費請求手続き

学会誌等の発送

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

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

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

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

## 学会事務局

〒860-8556

熊本市中央区本荘1-1-1

熊本大学大学院生命科学研究部 免疫識別学分野内

電話：096-373-5313

FAX：096-373-5314

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

## 事務支局

〒602-8048

京都市上京区下立売通東入ル

中西印刷株式会社 学会部内

日本組織適合性学会事務支局

電話：075-415-3662

FAX：075-415-3661

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