

日本組織適合性学会誌

第 24 卷第 2 号 平成 29 年 9 月 20 日発行

目 次

日本組織適合性学会からのお知らせ

第 16 回日本組織適合性学会近畿地方会ご案内および演題募集	97
認定 HLA 技術者講習会（大会教育講演を兼ねる）	99
認定制度指導者講習会	100

平成 29 年度認定 HLA 検査技術者講習会テキスト

技術者認定制度試験問題の解説	木村 彰方	101
HLA と KIR システムー基礎と臨床応用	八幡 真人	123
肝臓移植における抗ドナー HLA 抗体の臨床的意義について	吉澤 淳	134

追悼の言葉 佐田正晴先生のご逝去を悼む

佐田正晴先生を送る	木村 彰方	143
「佐田正晴先生との思い出」	太田 正穂	145
佐田正晴先生の思い出の数々	成瀬 妙子	147
佐田正晴先生への寄稿文	高原 史郎	149

第 1 回関東 HLA 研究会 抄録集	150
---------------------------	-----

第 1 回東海北陸 HLA 研究会 抄録集	158
-----------------------------	-----

日本組織適合性学会誌 MHC 投稿・執筆規定（平成 28 年 2 月 1 日改訂）	167
---	-----

編集後記	170
------------	-----

第 16 回組織適合性学会近畿地方会ご案内および演題募集

涼風が気持ちのいい季節となりました。皆様には益々清祥のこととお慶び申し上げます。臨床と HLA 学の実りのある融合を目指して発足した日本組織適合性学会近畿地方会も、今回で 16 回目を迎えることとなりました。つきましては、以下の要項で演題の募集を致しますので、奮ってのご応募をお待ちしております。

日 時：平成 30 年 3 月 3 日（土）

世話人：安井 昌博（大阪府立母子総合医療センター 血液・腫瘍科）

場 所：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）

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 TEL 06-6962-7001

会 費：正会員 2000 円

学生 1000 円

世話人 3000 円 全て意見交換会も含まれます。

抄録×切：平成 30 年 1 月 20 日（土）

抄録は A4 用紙 1 枚に、添付の様式（抄録作成要領）を参考にご作成ください。

字体は MS 明朝 サイズは 12 ポイント。図表がある場合は別途 A4 用紙 1 枚に添付して下さい。

抄録電子ファイル送信先：

『第 16 回日本組織適合性学会近畿地方会演題』という件名で、yuketsu@med.kindai.ac.jp まで送付ください。

発表形式

原則的には Windows Power Point（やむを得ない場合には Mac の Power Point でも可能ですが当日パソコンを持参ください）で作成していただき、ファイルを**平成 30 年 2 月 24 日（土）まで**に上記のメールアドレス宛にご送付ください。発表時間：討論を含めて 10 分程度を目安として下さい。

プログラム案

第 2 回基礎講習会	9:00 ~ 10:30
オープニングセミナー（学会報告）	10:30 ~ 11:00
一般演題	11:00 ~ 12:00
休憩	12:00 ~ 13:00
一般演題	13:15 ~ 14:45
シンポジウム 1 造血幹細胞移植	15:00 ~ 16:00
シンポジウム 2 固形臓器移植	16:00 ~ 17:00

* 学会のお問い合わせ先

近畿大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター 金光 靖 yuketsu@med.kindai.ac.jp

XXXX を用いた XXXX タイピングの有用性

○山田太郎¹⁾, 田中花子²⁾

XXX 大学外科¹⁾, XX 製薬株式会社²⁾

【はじめに】

.....

【抄録作成要領】

1. 抄録余白設定

上下：20 mm, 左右：25 mm

2. 使用ソフト, フォント, サイズ

- 1) 本文は Microsoft Word を使用
- 2) フォント：MS 明朝, サイズ：12
- 3) 文字数：40, 行数：36 に設定

3. 抄録本文 (タイトル, 演者, 所属, 本文を含む)

- 1) 演題のみボールド
- 2) 共同演者については名前・所属の後ろに, 上付番号を付ける
- 3) 所属と本文を一行空ける

4. 抄録は文章のみで図表は入れない

5. 図表 (抄録とは別ファイルを作成)

- 1) 図表は Microsoft Excel で作成
- 2) 図表が複数ある場合, 一枚ごとにファイル名を付ける

認定 HLA 技術者講習会（大会教育講演を兼ねる）

本講習会は、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方々を対象に実施されます。大会参加者は自由に参加することができます。受講に関しましては、事前登録をしていただく必要はございません。

日 時：平成 29 年 10 月 29 日（日曜日）

時 刻：8 時 30 分～10 時 30 分

会 場：第 26 回・日本組織適合性学会 大会会場

JMS アステールプラザ

〒730-0812 広島市中区加古町 4-17（TEL 082-244-8000）

テキスト：会場でのテキストの販売は、いたしません。学会ホームページに掲載されたテキストを必要に応じて印刷し、ご持参下さい。

受講証明書：認定制度に関わる受講証明書は、会場入口の受付にて受講者 1 につき 1 枚を発行いたします。各自で所属、氏名を記入していただき、講習会終了時に回収致します。途中退出、中途入場の場合は受講証明書を発行できませんので、ご留意ください。

内 容：

(1) HLA に関する基礎医学的な講演

八幡 真人 先生（シンガポール国立大学医学部小児科）

（HLA と KIR システムー基礎と臨床応用）

(2) 認定制度試験問題解説を中心とした HLA に関する講演

木村 彰方 先生（東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野）

（技術者認定制度試験問題の解説）

(3) 臓器移植・再生医療に関する講演

吉澤 淳 先生（京都大学大学院医学研究科外科学講座肝胆脾・移植外科分野）

（肝臓移植における抗ドナー HLA 抗体の臨床的意義について）

認定制度指導者講習会

第26回日本組織適合性学会大会中の下記の教育講演（認定HLA検査技術者講習会）、特別講演3企画、シンポジウム4企画、合計8企画から、3企画以上の受講をもって、指導者新規申請および更新申請に必要な講習を受講したものと認めます。会場入口に用意されている、受講者記帳名簿へのサインをもって受講証明といたします。

内 容：

- 1) 特別講演Ⅰ：10月27日（金）14:00～15:00
小林 孝彰 先生（愛知医科大学）
- 2) シンポジウムⅠ：10月27日（金）16:00～17:30
「臓器移植におけるHLA適合性の新たな意義」
- 3) シンポジウムⅡ：10月27日（金）16:00～17:30
「造血細胞移植のHLA適合性2017 UP-TO-DATE」
（日本造血細胞移植学会との共催予定）
- 4) 特別講演Ⅱ：10月28日（土）10:00～11:00
本庶 佑 先生（京都大学）
- 5) 特別講演Ⅲ：10月28日（土）14:30～15:30
Prof. Megan Sykes（Columbia University）
- 6) シンポジウムⅢ：10月28日（土）16:30～18:00
「NGSによるHLAタイピング法の現状と未来展望」
- 7) シンポジウムⅣ：10月28日（土）16:30～18:00
「感染症領域におけるMHC研究の新展開」
- 8) 教育講演（認定HLA技術者講習会を兼ねる）
10月29日（日）8:30～10:30 2時間
 - ① 八幡 真人 先生（シンガポール国立大学医学部小児科）
「HLAとKIRシステム—基礎と臨床応用」
 - ② 木村 彰方 先生（東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野）
「技術者認定制度試験問題の解説」
 - ③ 吉澤 淳 先生（京都大学大学院医学研究科外科学講座肝胆膵・移植外科分野）
「肝臓移植における抗ドナーHLA抗体の臨床的意義について」

技術者認定制度試験問題の解説

木村 彰方¹⁾

¹⁾ 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野

日本組織適合性学会では、認定 HLA 検査技術者および認定指導者を認定するために、筆記試験を課している。本稿では、これまでの筆記試験において正答率が 40% 未満であった問題を取り上げ、その内容を解説する。

キーワード：認定制度，試験問題，HLA 技術者，難問

1. はじめに

日本組織適合性学会認定 HLA 検査技術者認定制度では、指導者および技術者の認定要件として筆記試験を課していますが、過去 4 年間に於いて正答率が 40% 未満の問題（難問）について問題解説を行いますので、知識を確認してください。

2. 項目群別に分類した難問とその解説

項目群 1 HLA に関する基礎知識

平成 26 (2014) 年度問題 1

MHC クラス II 分子の α 鎖と β 鎖が会合する細胞内小器官として最も適切なものを a ~ e のうちから一つ選べ

- a. ゴルジ装置
- b. リソソーム
- c. 滑面小胞体
- d. 粗面小胞体
- e. リソソーム

【正解】 d (正答率 : 7.8%)

【解説】 リソソーム上で合成された HLA クラス II 分子の α 鎖と β 鎖のポリペプチド鎖は、粗面小胞体内で会合してクラス II 分子を形成する。その後、クラス II 分子にはゴルジ装置内で糖鎖が付加され、エンドソーム内で

ペプチドを結合し、細胞表面に移行する。

平成 26 (2014) 年度問題 3

組織適合性に関する研究業績に関して誤っている記述を a ~ e のうちから一つ選べ

- a. George D. Snell はマウスの腫瘍細胞や皮膚の拒絶反応が遺伝的に制御されることを見出した (H-2 座の発見)
- b. Jean Dausset は頻回輸血を受けた患者血清による白血球傷害が遺伝的に制御されることを見出した (HLA 座の発見)
- c. Baruj Benacerraf はモルモットの種々の細胞 (抗原) への抗体産生性が遺伝的に制御されることを見出した (Ir 座の発見)
- d. 多田富雄はニワトリで免疫抑制性 B 細胞の機能が遺伝的に制御されることを見出した (I-J 座の発見)
- e. Johannes J. van Rood は妊婦血清を用いて、ヒト白血球表面抗原の特異性を分類した (HLA 型の発見)

【正解】 d (正答率 : 22.0%)

【解説】 MHC に関する研究でノーベル賞を受賞した Snell, Dausset, Benacerraf の 3 名の業績は a, b, c に記載した通りである。また、van Rood の功績も e に記載した通りである。多田富雄は、マウスの免疫抑制性 T 細胞

受付日 : 2017 年 7 月 5 日, 受理日 : 2017 年 7 月 5 日

代表者連絡先 : 木村 彰方 〒 113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45 東京医科歯科大学難治疾患研究所
TEL: 03-5803-4905 E-mail: akitis@mri.tmd.ac.jp

の機能が MHC 領域の I-J 座によって遺伝的に制御されると報告したが、現在では MHC 領域内における I-J 座の存在は完全に否定されている。

平成 27 (2015) 年度問題 1

HLA-DR52 分子の β 鎖をコードする遺伝子を a ~ e のうちから一つ選べ

- HLA-DRB1 遺伝子
- HLA-DRB2 遺伝子
- HLA-DRB3 遺伝子
- HLA-DRB4 遺伝子
- HLA-DRB5 遺伝子

【正解】c (正答率: 39.1%)

【解説】HLA-DR51, -DR52, -DR53 分子の β 鎖は、それぞれ HLA-DRB5, -DRB3, -DRB4 遺伝子によってコードされている。HLA-DRB2 遺伝子はタンパクをコードしない偽遺伝子である。その他の HLA-DRB 遺伝子として HLA-DRB6, -DRB7, -DRB8, -DRB9 遺伝子があるが、いずれも偽遺伝子である。

平成 27 (2015) 年度問題 2

HLA クラス I 分子によって提示される内因性抗原を分解するためのタンパク質の修飾として、最も適切なものを a ~ e のうちから一つ選べ

- リン酸化
- アセチル化
- ユビキチン化
- ユビキノン化
- メチル化

【正解】c (正答率: 34.4%)

【解説】細胞質や核などの細胞内に存在するタンパクは、合成されるとその 20 ~ 30% は利用されることなく直ちに分解される。この際に分解されるタンパク内のリジンにユビキチンが複数結合する。ユビキチン化されたタンパクは、タンパク分解酵素であるプロテアソームにより認識され分解される。このようにして産生されたペプチドが、HLA クラス I 分子に結合する。

平成 27 (2015) 年度問題 4

次の写真の人物は日本組織適合性学会の名誉会員である。このお二人の功績として、最も適切な記述を a ~ e

のうちから一つ選べ



(故) 大野乾先生



根井正利先生

- 免疫抑制剤である FK506 を開発した
- 第 11 回国際 HLA ワークショップを主催した
- 日本組織適合性学会の前身である HLA 研究会を設立した
- MHC 遺伝子の進化的特徴を明らかにした
- 非血縁者間骨髄移植における DNA レベルでの HLA 一致の重要性を明らかにした

【正解】d (正答率: 23.4%)

【解説】大野乾先生 (米国シティホープ研究所) は、進化の過程で遺伝子重複が生じることが新たな機能獲得において重要であり、ことに脊椎動物の進化においては倍数進化 (ゲノム重複) による遺伝子の増加が関与してきたとの仮説 (4 倍体進化仮説) を提唱し、HLA 遺伝子領域の多重遺伝子族の成立に関する進化的な考察に大きな影響を与えた。根井正利先生 (米国ペンシルバニア州立大学) は、遺伝的多型の成立に関する種々の数学モデルを駆使して中立進化説がほぼ正しいことを証明したが、ことに MHC の進化過程においては超優性選択が行われたことを示した。また、分子系統樹として最も多用されている近隣結合法を開発した。FK506 (タクロリムス) は、藤沢薬品工業 (現アステラス製薬) の山下道雄氏らによって、筑波山の土壌細菌 (ストレプトマイセス・ソクバエンス) から分離された生理活性物質を基に開発された。第 11 回国際 HLA ワークショップ (1991 年、横浜) は、辻公美、相沢幹、笹月健彦の 3 先生によって主催された。HLA 研究会は 1973 年に村上省三先生を会長として発足した。非血縁者間骨髄移植における DNA レベルでの HLA 一致の重要性は、笹月健彦先生、十字猛夫先生を中心として組織された厚生省 (当時) 研究班によって明らかにされた。

平成 27 (2015) 年度問題 13

MHC クラス I 分子に結合する内因性抗原ペプチドの生成に関与する構造体として、最も適切なものを a ~ e のうちから一つ選べ

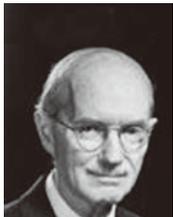
- a. リソソーム
- b. リボソーム
- c. ゴルジ装置
- d. プロテアソーム
- e. 小胞体

【正解】 d (正答率 : 31.3%)

【解説】細胞内で生成されたタンパクはプロテアソームによって分解されるが、分解産物(ペプチド)はトランスポーターによって小胞体内に組み入れられた後に MHC クラス I 分子の溝に結合する。ついで、MHC クラス I 分子は、ゴルジ装置内で糖鎖が付加され細胞表面に発現する。リソソームは、細胞外から取り込んだタンパクの分解に関与する。リボソームは mRNA からタンパク(ポリペプチド)を合成する装置である。

平成 28 (2016) 年度問題 3

組織適合性に関する研究業績により 1980 年にノーベル医学生理学賞を受賞した研究者 3 名の正しい組合せを a ~ e のうちから一つ選べ



1 G.D. Snell



2 J. Dausset



3 B. Benacerraf



4 J.J. van Rood



5 B. Amos

- a 1, 2, 3 b 2, 3, 4 c 1, 2, 4 d 2, 4, 5 e 3, 4, 5

【正解】 a (正答率 : 19.7%)

【解説】平成 26 年度第 3 問の類似問題である。1980 年

に MHC に関する研究でノーベル医学生理学賞を共同受賞したのは GD Snell 博士, J Dausset 博士, B. Benacerraf 博士の 3 名である。G.D. Snell 博士はマウスの皮膚移植実験から組織適合性が遺伝的に制御されることを発見した(H-2 座の発見)。J. Dausset 博士は頻回輸血を受けた患者や妊婦において、他人の白血球を凝集させる抗体が産生される現象が遺伝的事象であることを発見した(HLA の発見)。B. Benacerraf 博士はモルモットの種々の細胞(抗原)に対する抗体産生性が遺伝的に制御されることを発見した(免疫応答の個体差を司る Ir 遺伝子座の発見)。J.J. van Rood 博士は HLA の血清学研究の大家であり、B. Amos 博士は臓器移植における HLA の重要性を確立した研究者である。

項目群 2 HLA の遺伝学

平成 25 (2013) 年度問題 3

集団遺伝学の基本法則のひとつである Hardy-Weinberg の法則に関する正しい記述の組合せを a ~ e のうちから一つ選べ

1. 対立遺伝子頻度と遺伝子型頻度の関係に関する法則である
 2. 連鎖不平衡と突然変異率の関係に関する法則である
 3. 各世代の任意交配を仮定している
 4. 自然淘汰による影響を受けることはない
 5. 集団の大きさによる影響を受けることはない
- a) 1, 2 b) 1, 3 c) 2, 3 d) 3, 4 e) 4, 5

【正解】 b (正答率 : 22.6%)

【解説】平成 24 年度試験にも出題された問題(平成 24 年度正答率 38.9%)である。Hardy-Weinberg の法則とは、集団内における対立遺伝子頻度が世代を超えて一定に保たれることを前提とし、集団における遺伝子構成について論じる法則。Hardy-Weinberg 平衡(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE)の法則ともいう。ある集団内に対立遺伝子 A と a があり、A の対立遺伝子頻度を p, a の対立遺伝子頻度を q とすると、遺伝子型が AA, Aa, aa の個体の頻度(遺伝子型頻度)は $p^2, 2pq, q^2$ として表されるが、以下の 5 つの条件を満たす集団では、次世代においても p, q の頻度が変化しない(HWE が成立する)。1) 自由交配(任意交配)である、2) 集団の個体数が十分に大きい、3) 他集団との間で個体の移動(移入, 移出)がない、4) 突然変異が生じない、5) 当該遺伝子の遺伝

子型や表現型に自然選択（自然淘汰）がない。従って、選択肢 1, 3 のみが正しいので、正解は b である。

平成 25（2013）年度問題 5, 平成 26（2014）年度問題 4, 平成 27（2015）年度問題 6

集団中に表現型 A1, A2 を支配する共優性複対立遺伝子 a1, a2 があり、それぞれの遺伝子頻度が 0.25, 0.36 であるとする。この集団において表現型 A1 と A2 のいずれも持たない個体の頻度として最も近い値を a～e のうちから一つ選べ

- a 15%
- b 39%
- c 40%
- d 49%
- e 89%

【正解】 a（平成 25 年度正答率：26.4%，平成 26 年度正答率：36.0%，平成 27 年度正答率：27.0%）

【解説】 Hardy-Weinberg 法則を念頭に置き、複対立遺伝子の表現型頻度を考える応用問題。問題設定から、複対立遺伝子 a1 と a2 のいずれでもない対立遺伝子 (a3) を仮定すると、その対立遺伝子の頻度は 0.39 ($1-0.25-0.36=0.39$) となる。ここで、a1 と a2 のいずれでもない対立遺伝子が複数あることも想定されるが、それらの対立遺伝子のすべてを含む仮想対立遺伝子を a3 とすると、その頻度を 0.39 であるとする事が出来る (a1, a2 を含むすべての対立遺伝子の頻度を合計すると 1 になるため)。設問にある、この集団において表現型 A1 と A2 のいずれも持たない個体とは、対立遺伝子 a3 のホモ接合体である（上の定義から、a3 を持たない個体とは、a1 もしくは a2 を持つ個体であると言える）ため、その頻度は約 15% ($0.39 \times 0.39 = 0.1521$) となる。

平成 26（2014）年度問題 5

HLA-A2 抗原の遺伝子型に関して正しい記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. 日本人，白人，黒人のいずれでも HLA-A*02:01 の頻度が高くなる
- b. 白人に特徴的に認められるアリルは HLA-A*02:02 である
- c. 黒人に特徴的に認められるアリルは HLA-A*02:03 である

- d. 中国人に特徴的に認められるアリルは HLA-A*02:04 である
- e. 日本人に特徴的に認められるアリルは HLA-A*02:06 である

【正解】 a（正答率：37.3%）

【解説】 HLA-A2 陽性のうち A*02:01 が占める割合は、日本人 (n=1,018) では 47.7%，中国人 (n=618) では 49.1%，白人 (n=1,070) では 95.8%，黒人 (n=2,411) では 67.0%，ヒスパニック (n=1,999) では 74.2% であり、いずれの人種・民族においても A2 陽性者では A*02:01 の占める頻度が最も高い。A*02:02 は黒人 A2 陽性者の 22.6%，A*02:03 は中国人 A2 陽性者の 7.5% であるが、他の人種・民族の A2 陽性者ではいずれも 0.5% 以下と稀である。また、A*02:04 は中国人とヒスパニックの A2 陽性者のそれぞれ 1.2% と 1.1% に認められる。なお、A*02:06 は日本人 A2 陽性者の 35.8% に認められるが、中国人 A2 陽性者の 14.6%，ヒスパニック A2 陽性者の 15.0% にも認められるため、日本人に特徴的であるとは言えない。なお、白人，黒人との呼び方は差別用語であるとの意見もあり、それぞれヨーロッパ系人種，アフリカ系人種と呼び変えることもある。

平成 27（2015）年度問題 7

遺伝子の構造に関して正しい記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. mRNA に転写されるがタンパクをコードしない領域を遺伝子不活化領域という
- b. スプライシングに必須のコンセンサス配列を GT-CG ルールとよぶ
- c. エンハンサーとはイントロン内のリボヌクレオプロテイン結合領域のことである
- d. ミトコンドリアには呼吸に関連する酵素や tRNA をコードする遺伝子がある
- e. 核遺伝子では翻訳の終止コドンは TAG, TGA もしくは TGG である

【正解】 d（正答率：30.2%）

【解説】 mRNA に転写されるがタンパクをコードしない領域は非翻訳領域 (untranslated region) とよぶ。スプライシングのコンセンサス配列はイントロンの最初が GT, 最後が AG となっているため、これを GT-AG ルールとよぶ。エンハンサーは転写を調節する配列のこと。核遺

伝子の翻訳終止コドンはTAG, TGA もしくはTAA であり, TGG はトリプトファンに対応するコドンである。なお, ミトコンドリア遺伝子ではTAG が終止コドンにならずロイシンをコードすることがある。

平成 28 (2016) 年度問題 6

減数分裂に関して正しい記述を a ~ e のうちから一つ選べ

- DNA は第一減数分裂と第二減数分裂とのあいだに複製される
- 第一減数分裂前期の父母由来の相同染色体はそれぞれ 4 個の染色分体になる
- 第一減数分裂後期に父母由来の相同染色体は互いに別の娘細胞に分離する
- 第二減数分裂の前期に交差 (乗換え) が起こる
- 第二減数分裂は, 2 倍体から半数体に染色体の数を減少させる

【正解】c (正答率 : 24.6%)

【解説】DNA の複製は第一減数分裂の前までに複製されている。第一分裂前期には父母由来の相同染色体が対合し, それぞれ 2 個の染色分体になる。染色体の交差 (乗換え) が起こるのは第一減数分裂の中期である。第一減数分裂では 2 倍体から 1 倍体, 第二減数分裂では 1 倍体から半数体に染色体数が減少する。

項目群 3 MHC の進化

平成 25 (2013) 年度問題 8

MHC の進化に重要であったとされる事象に関して最も適切な記述の組合せを a ~ e のうちから一つ選べ

- エクソンシャッフリングにより, 細胞外ドメインをコードするエクソンと細胞内ドメインをコードするエクソンが入れ替わった
 - 非相同組換により, 遺伝子のコピー数が変化した
 - 遺伝子転換により, ある遺伝子座の塩基配列が, ホモログでない遺伝子の配列によって置き換えられた
 - 遺伝子変異は, 究極の進化を遂げたヒトの HLA には起こらない
 - 免疫系細胞の MHC に高頻度の体細胞変異を起こすことで, 個体の抗原認識の多様性を増した
- a) 1, 2 b) 1, 5 c) 2, 3 d) 3, 4 e) 4, 5

【正解】c (正答率 : 35.8%)

【解説】MHC の細胞外ドメインと細胞内ドメインはそれぞれ異なる機能を担っており, それぞれをコードするエクソン間でのシャッフリングは起こっていない。遺伝子変異は, DNA 複製の際に生じるため, 進化した生物であっても起こる。T 細胞レセプター遺伝子や免疫グロブリン遺伝子では, 可変部 (V) をコードする領域の遺伝子再編成 (例えば, V-D-J 再編成) が起こり, この際に再編成部位 (遺伝子断片のつなぎ目) において高頻度に体細胞変異が生じる。しかし, MHC 遺伝子にはこのような再編成はない。また, がん細胞などの特殊な場合を除き, 正常細胞では体細胞変異は生じないことから, MHC の多様性は高頻度の体細胞変異に起因したものではない。なお, MHC は集団としての多様性が大きい, 個体における多様性は限られる。例えば, ヒトの 1 個体では, 古典的 MHC クラス I の多様性は, HLA-A, B および C のそれぞれについて最大 2 までである。

平成 28 (2016) 年度問題 7

各種動物の MHC 遺伝子座のシンボルとして誤っている記号を a ~ e のうちから一つ選べ

- マウスの H-2
- ラットの RT
- ウシの BoLA
- アカゲザルの Mamu
- チンパンジーの Cpz

【正解】e (正答率 : 21.3%)

【解説】チンパンジーの MHC 座のシンボルは ChLA である。

項目群 5 HLA (MHC) の項王と発現 1

平成 26 (2014) 年度問題 11

HLA クラス IIβ 鎖の遺伝子構造に関して正しい記述を a ~ e のうちから一つ選べ

- 多型は主に第 3 エクソンに存在する
- 第 4 エクソンは主に細胞外ドメインをコードする
- プロモーター領域の多型は遺伝子発現量と無関係である
- 細胞内ドメインの長さの違いを決める多型がある
- DR, DQ, DP のいずれでも発現する β 鎖遺伝子は 1 個である

【正解】d (正答率 : 37.3%)

【解説】HLA クラス IIβ 鎖遺伝子の多型は主に第 2 エクソンに存在し、第 4 エクソンは膜内ドメインをコードしている。プロモーター領域にある多型の一部は転写因子の結合部位に存在し、遺伝子発現量と関連することが報告されている。DRB 遺伝子では DRB1 以外にも、DRB3, DRB4, DRB5 遺伝子が発現し、それぞれ DR52, DR53, DR51 分子をコードする。なお、DQB 鎖の細胞内ドメインは、DRβ 鎖や DPβ 鎖より 8 アミノ酸短い。これは DRB 遺伝子群や DPB1 遺伝子では第 5 エクソン (24 塩基対, 8 アミノ酸をコード) が利用されるのに対し、DQB1 遺伝子ではスプライシングアクセプターサイトの変異のため、第 5 エクソンが利用できず、結果として細胞内ドメインが 8 アミノ酸だけ短いためである。ところが、DQB1 アリルのうち DQB1*05:03 と DQB1*06:01 は、このアクセプターサイトの変異がないため、第 5 エクソンを利用可能である。また、DQB 鎖の mRNA を解析すると DQB1*05:03 と DQB1*06:01 では第 5 エクソンを利用した mRNA と利用していない mRNA があり、細胞内ドメインが長い DQB 鎖と短い DQB 鎖がつけられている。このように、DQB1 遺伝子ではアリルによって細胞内ドメインの長さが違っている。

項目群 6 HLA (MHC) の構造と発現 2

平成 26 (2014) 年度問題 14

MIC 遺伝子に関して正しい記述の組合せを a ~ e のうちから一つ選べ

1. MICA, MICB 遺伝子はどちらも 6 個のエクソンにより構成されている
2. MICA, MICB 遺伝子はどちらも HLA 領域の HLA-C 座と HLA-B 座の間に存在する
3. MICA 遺伝子の多型は主にエクソン 2 ~ 4 に認められる
4. MICB 遺伝子のエクソン 5 内には、GCT 繰り返し構造が見られる
5. HLA-B 座よりも HLA-C 座のアリルとの連鎖不平衡が強い。

a 1, 2 b 1, 3 c 2, 3 d 3, 4 e 4, 5

【正解】b (正答率 : 12.0%)

【解説】HLA クラス I 領域では、テロメア側から HLA-A, HLA-C, HLA-B, MICA, MICB 遺伝子の順に並ん

でいる。MICA, MICB 遺伝子とも多くのアリルがあるが、上記の位置関係からも分かるように、HLA-B 座のアリルとの連鎖不平衡の方が HLA-C 座との連鎖不平衡よりも強い。MICA 遺伝子の第 5 エクソン内には GCT が 4 回 ~ 10 回繰り返す構造があるが、MICB 遺伝子の対応部分には GCT の繰り返し構造はない。

平成 27 (2015) 年度問題 15

HLA-DR 亜領域の遺伝子構造に関して正しい組合せを a ~ e のうちから一つ選べ

1. DRB1 - DRB6 - DRB3 - DRB9 - DRA
2. DRB1 - DRB6 - DRB4 - DRB9 - DRA
3. DRB1 - DRB6 - DRB5 - DRB9 - DRA
4. DRB1 - DRB2 - DRB3 - DRB9 - DRA
5. DRB1 - DRB2 - DRB4 - DRB9 - DRA

a 1, 3 b 1, 5 c 2, 4 d 2, 5 e 3, 4

【正解】e (正答率 : 25.0%)

【解説】DRB6 は、DR1, DR10 ハプロタイプもしくは DR2 ハプロタイプに連鎖した偽遺伝子であるが、選択肢 3 は DR2 ハプロタイプの構成を示す。DRB2 は、DR3, DR5, DR6 ハプロタイプ (選択肢 4) に連鎖した偽遺伝子である。DR4, DR7, DR9 ハプロタイプには DRB4 遺伝子が存在するが、このハプロタイプに連鎖した偽遺伝子は DRB2 ではなく DRB7, および DRB8 である。なお、DRB3 は DR52 分子、DRB4 は DR53 分子、DRB5 は DR51 分子をそれぞれコードしている。

平成 28 (2016) 年度問題 13

MIC 分子について、正しい記述を a ~ e のうちから一つ選べ

- a. MIC-A 分子と MIC-B 分子は細胞膜上で互いに会合している
- b. MIC 分子は HLA クラス II 様分子である
- c. MIC 分子は腸管上皮細胞や樹状細胞などに特異的に発現する
- d. ストレスなどの刺激により、MIC-B 分子が β2 ミクログロブリンと結合する
- e. MIC-A, MIC-B のどちらも NK レセプターの働きに関与しない

【正解】c (正答率 : 36.1%)

【解説】MIC-A 分子と MIC-B 分子は、互いに独立して

細胞膜上に発現する。MIC 分子は HLA クラス I 様の分子であるが、 $\beta 2$ ミクログロブリンとは会合していない。MIC-A 分子、MIC-B 分子ともに、活性化型 NK レセプターである NKG2D のリガンドとなる。

平成 28 (2016) 年度問題 14

次の遺伝子のうちクラス II 領域に位置するものを a～e のうちから一つ選べ

- GABBR1 (ガンマアミノ酪酸レセプター遺伝子)
- PSMB9 (プロテアソームサブユニット遺伝子)
- C2 (補体遺伝子)
- TNF (腫瘍壊死因子遺伝子)
- TAPBP (TAP 結合タンパク質遺伝子)

【正解】b (正答率: 16.4%)

【解説】GABBR1 はクラス I 領域の外側 (テロメア側)、C2 と TNF はクラス III 領域、TAPBP (タパシン遺伝子) はクラス II 領域の外側 (セントロメア側) にマップされる。クラス II 領域にマップされるのは PSMB9 である。PSMB9 は TAP1、PSMB8 は TAP2 とそれぞれセットになって重複している。

項目群 7 HLA (MHC) の機能

平成 25 (2013) 年度問題 13

HLA-DRB 遺伝子ハプロタイプに関する正しい記述の組合せを a～e のうちから一つ選べ

- DR1 ハプロタイプでは、発現する DRB 遺伝子は 1 個である
 - DR2 ハプロタイプでは、DRB1 遺伝子と DRB3 (DR52) 遺伝子が連鎖している
 - DR3 ハプロタイプでは、DRB1 遺伝子と DRB5 (DR51) 遺伝子が連鎖している
 - DR4 ハプロタイプでは、DRB1 遺伝子と DRB4 (DR53) 遺伝子が連鎖している
 - DR8 ハプロタイプでは、DRB1 遺伝子と DRB3 (DR52) 遺伝子が連鎖している
- a) 1, 3 b) 1, 4 c) 2, 3 d) 3, 4 e) 4, 5

【正解】b (正答率: 35.8%)

【解説】平成 24 年度試験にも出題された問題 (平成 24 年度正答率 37.0%) である。DR2 ハプロタイプでは DRB5 (DR51) 遺伝子、DR3 ハプロタイプでは DR3 (DR52) 遺伝子がそれぞれ DRB1 遺伝子と連鎖している。DR8

ハプロタイプでは発現する DRB 遺伝子は 1 個のみ (DR8 分子をコードする) であるが、DR8 分子には DR52 エピトープが存在するため、見かけ上、DR8 分子と DR52 分子が発現しているように検出される。

平成 25 (2013) 年度問題 15

古典的 HLA クラス I 分子の機能に関して誤っている記述の組合せを a～e のうちから一つ選べ

- ウイルスやある種の細菌など、細胞質内の病原体に由来するペプチドを細胞傷害性 T 細胞に提示する
 - HLA クラス I 分子はペプチドを結合しないと、細胞表面に安定して発現できない
 - 多くの有核細胞は、交差抗原提示により細胞外の抗原に由来するペプチドを、HLA クラス I 分子上に提示できる
 - スーパー抗原は HLA クラス I 分子と T 細胞レセプターに結合して、ペプチド非特異的に T 細胞を活性化する
 - ウイルス感染細胞や腫瘍細胞では HLA クラス I 分子の発現が低下して、細胞傷害性 T 細胞による傷害を受けにくくなることもある
- a) 1, 2 b) 1, 3 c) 2, 3 d) 3, 4 e) 4, 5

【正解】d (正答率: 35.8%)

【解説】細胞外の抗原に由来するペプチドは主にクラス II 分子上に提示される。スーパー抗原 (細菌毒素など) は、T 細胞レセプター (β 鎖) と HLA クラス II 分子に結合し、T 細胞を活性化するが、この活性化はいかなるペプチドが HLA クラス II 分子に結合しても生じるため、ペプチド特異性はない。従って、選択肢 3, 4 が誤り。

平成 25 (2013) 年度問題 19

HLA クラス II 欠損症は常染色体劣性遺伝形質として遺伝する。これは HLA-DR, DQ, DP の発現を制御する転写因子の機能不全が原因である。この疾患で認められる異常を a～e のうちから一つ選べ

- ナチュラルキラー細胞の欠損
- マクロファージの欠損
- 低免疫グロブリン血症
- 胸腺の過形成
- T 細胞の欠損

【正解】c (正答率: 39.6%)

【解説】HLA クラス II 欠損症は、HLA-DRB (DRB1, DRB3, DRB4, DRB5), -DQB1, -DPB1 遺伝子群の転写調節因子 (CIITA や RF-X) が欠損しているために、これらの HLA クラス II 遺伝子の転写が起これず、結果として HLA クラス II 分子が産生されないことから生じる疾患であり、Bare Lymphocyte Syndrome と呼ばれる。この疾患では、HLA クラス II 分子による CD4+T 細胞への抗原提示が起これないことから、低免疫グロブリン血症を主徴とする重症免疫不全を来す。

平成 26 (2014) 年度問題 15

HLA クラス I 分子の成熟過程にはシグナルペプチドの切断が必要であるが、この切断されたペプチドを結合し、NK 細胞や T 細胞の CD94/NKG2 受容体に提示する HLA 分子を a～e のうちから一つ選べ

- HLA-DM
- HLA-DO
- HLA-E
- HLA-F
- HLA-G

【正解】c (正答率 : 33.3%)

【解説】HLA-DM, DO 分子は、エンドソームにおけるクラス II 分子からの CLIP ペプチドの解離と、他のペプチドのクラス II 分子への結合を調節する。一方、HLA-G 分子は細胞内ペプチドを結合し、NK 細胞の ILT2, ILT4, KIR2DL4 受容体に提示する。HLA-F 分子はペプチドを結合しない状態で、クラス I 分子の open conformer と会合して、NK 細胞の KIR3DL2, KIR2DS4 受容体に認識される。

平成 27 (2015) 年度問題 19

キラー T 細胞から放出され、ウイルス感染細胞にアポトーシスを誘導する物質として最も適切なものを a～e のうちから一つ選べ

- グランザイム
- パーフォリン
- 細胞侵襲複合体 (MAC)
- エラスターゼ
- ラクトフェリン

【正解】a (正答率 : 4.7%)

【解説】MHC クラス I 分子と抗原ペプチドの複合体を認

識して、活性化されたキラー T 細胞はパーフォリンとグランザイムを分泌する。パーフォリンは筒状の重合体を構成してターゲット細胞膜に穴を開け、グランザイムの一部はここを通過して細胞内に入り、DNA 切断酵素を阻害する酵素の前駆体を分解して、この酵素を活性化する。このため、グランザイムの働きによって DNA 切断酵素が活性化されて、細胞はアポトーシスに陥る。細胞侵襲複合体 (膜侵襲複合体) は、補体系の活性化によって生じ、細菌の細胞膜に穴をあけて溶菌する。エラスターゼはエラスチンの分解酵素であり、好中球によるグラム陰性桿菌の排除に関わる。ラクトフェリンは母乳、涙、汗、唾液などに含まれる鉄結合性糖タンパクであり、直接的な強い抗菌活性を有する以外に、好中球、NK 細胞、T 細胞、B 細胞の機能強化作用を有することで免疫強化に関わる。

平成 27 (2015) 年度問題 20

古典的 HLA クラス I, クラス II 分子に関して正しい記述を a～e のうちから一つ選べ

- HLA クラス I 分子の H 鎖 (α 鎖) は、すべて $\beta 2$ ミクログロブリンと会合できる
- HLA クラス II 分子の β 鎖は、すべて DR α 鎖と会合して細胞表面に発現している
- HLA のクラス I 分子では H 鎖 (α 鎖)、クラス II 分子では β 鎖に多型性があるため、移植検査ではクラス I の H 鎖 (α 鎖)、クラス II の β 鎖のみを調べることでよい
- HLA のクラス I, II, III は分子構造に基づいたカテゴリーであり、それぞれ 1, 2, 3 本のポリペプチド鎖で構成されている
- HLA クラス I 分子が CD8 陽性 T 細胞に認識されるのは、T 細胞と標的細胞の HLA 型が一致するためである

【正解】a (正答率 : 32.8%)

【解説】HLA クラス II 分子の β 鎖には DQB 鎖や DPB 鎖も含まれるが、これらはそれぞれ DQ α 鎖や DP α 鎖と会合する。移植関連検査では、HLA 以外にも血液型や感染症の検査も行われる。HLA のクラス I, II, III は分子構造ではなく領域に基づく分類であり、クラス I 領域にはクラス I 分子をコードする遺伝子以外の遺伝子 (MIC など) があり、クラス II 領域にはクラス II 分子をコー

ドする遺伝子以外の遺伝子（LMP や TAP など）がある。また、クラス III 領域には、補体（C2, C4）、HSP70-2、TNF や CYP21 などの構造も機能も大きく異なる分子をコードする遺伝子群が存在する。HLA クラス I 分子が CD8 陽性 T 細胞に認識されるのは、HLA クラス I 分子の $\alpha 3$ ドメインに CD8 結合サイトが存在することによる。

平成 28（2016）年度問題 17

HLA クラス II 分子は class II-associated invariant chain peptide (CLIP) が結合した形で形成され、endosome/lysosome 系で CLIP の放出と抗原ペプチドの結合が起こり、細胞表面での抗原ペプチドの提示にいたる。この CLIP 放出および抗原ペプチド結合過程に関与する最も適切な分子を a～e のうちから一つ選べ

- HLA-E
- HLA-DM
- HLA-DP
- プロテアソーム（LMP）
- トランスポーター（TAP）

【正解】b（正答率：29.5%）

【解説】HLA-DM は endosome/lysosome 内で、クラス II 分子からの CLIP の放出とクラス II 分子への抗原ペプチドの結合を促進している。HLA-E は非古典的 HLA 分子であり、HLA クラス I 分子のシグナルペプチド由来のペプチドを結合して細胞表面に発現し、抑制型 NK レセプター（NKG2A/CD94）のリガンドになる。HLA-DP はクラス II 分子である。プロテアソーム（LMP、遺伝子名は PSMB8 と PSMB9）は、細胞内タンパクの分解に関わる。また、トランスポーター（TAP、遺伝子名は TAP1 と TAP2）は、細胞質内のペプチドを小胞体内に輸送する。

平成 28（2016）年度問題 18

抗原提示における HLA 分子の機能に関して正しい記述を a～e のうちから一つ選べ

- HLA-A 分子および HLA-B 分子は内在性抗原由来のペプチドを T 細胞に提示するが、HLA-C 分子は T 細胞の活性化に抗原ペプチドを必要としない
- TAP 遺伝子は HLA クラス II 遺伝子領域内に位置し、その転写産物は MHC（クラス II コンパートメント）へのペプチドの輸送を行う

- HLA-DO 分子は樹状細胞のみに発現し、HLA-DM を介した抗原提示を制御する
- MICA/MICB は $\gamma\delta$ T 細胞を活性化できるが、ペプチドは提示しない
- HLA-C 分子は NK 細胞レセプター（NKG2A）のリガンドである

【正解】d（正答率：23.0%）

【解説】HLA-C は、HLA-A および HLA-B と同様に内在性抗原由来のペプチドを結合する。TAP は小胞体へのペプチドの輸送に関わる。HLA-DO 分子は HLA-DM 分子に結合して、endosome/lysosome 内での HLA クラス II 分子への抗原ペプチド結合を抑制するが、HLA-DO や HLA-DM が直接抗原を結合・提示している証拠はない。HLA-C は NK 細胞レセプター（KIR）のリガンドである。

項目群 8 免疫系と免疫応答の概要

平成 25（2013）年度問題 21

自然免疫を構成する細胞あるいは分子を a～e のうちから一つ選べ

- T cell receptor (TCR)
- ナイーブ T 細胞
- 免疫グロブリン
- メモリー T 細胞
- Toll-like receptor (TLR)

【正解】e（正答率：32.1%）

【解説】免疫系には自然免疫系と獲得免疫系がある。獲得免疫系とは、多様な抗原に対する特異性と、過去に曝された抗原に対して二度目以降に、より強い強い免疫応答を生じる免疫学的記憶を特徴とする生体防御機構であり、T 細胞レセプター、免疫グロブリン、ナイーブおよびメモリー T/B 細胞が関わる。自然免疫系とは、微生物に共通した特定の物質を認識する、Toll-like レセプター等による外来異物認識機構であり、反応は迅速であるが獲得免疫系のような多様な抗原特異性と記憶を有していない。しかし、両者は密接に連携しており、自然免疫系が作動しないと、十分な獲得免疫系の反応は誘導されない。

平成 26（2014）年度問題 20

NK 細胞受容体 KIR のリガンドに関して正しい記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. クラス I (HLA-A, -B, -C) 分子である
- b. クラス II (HLA-DR, -DQ, -DP) 分子である
- c. クラス III 分子である
- d. CD1d 上の糖脂質である
- e. 非古典的クラス II (HLA-DM, -DO) 分子である

【正解】 a (正答率 : 37.3%)

【解説】 CD1d は糖脂質を結合し、NKT 細胞の T 細胞受容体によって認識されるが、KIR 受容体には認識されない。KIR 受容体は HLA クラス II 分子を認識しない。また、非古典的クラス II 分子 (HLA-DM, -DO) は、NK 細胞のいかなる受容体でも認識されない。

項目群 9 T 細胞レパトワの形成における HLA (MHC) 分子の役割

平成 25 (2013) 年度問題 22

CD4 陽性、CD8 陽性 (ダブルポジティブ) T 前駆細胞上の T 細胞抗原受容体 (TCR) が、胸腺皮質上皮細胞に発現する自己ペプチド-MHC クラス I 複合体に弱く結合した場合、その細胞に生じる変化に関して正しい記述を a~e のうちから一つ選べ

- a. 負の選択により T 前駆細胞はアポトーシスを起こして死滅する
- b. ダブルポジティブ T 前駆細胞が増殖する
- c. 正の選択を経て、CD8 シングルポジティブ T 細胞へと分化する
- d. 正の選択を経て、CD4 シングルポジティブ T 細胞へと分化する
- e. 残されたもう一方の TCR β 鎖遺伝子の再構成が始まる

【正解】 c (正答率 : 34.0%)

【解説】 CD4 と CD8 を共に発現するダブルポジティブ T 細胞は、T 細胞レセプターが胸腺皮質上皮に発現する自己ペプチドと MHC 分子の複合体に弱く結合した場合に、CD8 陽性あるいは CD4 陽性のシングルポジティブ T 細胞に分化する。胸腺で成熟した CD8 陽性 T 細胞は、MHC クラス I 分子とペプチドの複合体を認識し、CD4 陽性 T 細胞は、MHC クラス II 分子とペプチドの複合体を認識する。このような胸腺における T 細胞の分化機構を、「T 細胞の正の選択」と呼ぶ。なお、T 細胞は皮質より胸腺髄質に移動し、胸腺髄質の実質細胞や樹状細胞などの抗原提示細胞に発現した MHC と自己ペプチド

の複合体を強く認識する T 細胞レセプターを発現する T 細胞は死滅する。これにより自己反応性 T 細胞の分化が排除され、この過程を「T 細胞の負の選択」と呼ぶ。

平成 25 (2013) 年度問題 24

T 細胞に関して正しい記述の組合せを a~e のうちから一つ選べ

1. 多能性造血幹細胞から分化する
2. リンパ節において正の選択と負の選択をうける
3. MHC クラス I- ペプチド複合体に親和性を示すものは CD4 陽性細胞に分化する
4. 非自己認識 T 細胞は MHC- 外来ペプチド複合体に親和性を示す
5. 最も未分化な骨髄由来の T 前駆細胞は、CD4 も CD8 も発現していない。

a) 1, 2, 3 b) 1, 2, 5 c) 1, 4, 5 d) 2, 3, 4 e) 3, 4, 5

【正解】 c (正答率 : 37.7%)

【解説】 T 細胞が正および負の選択を受ける場所は胸腺である。また、MHC クラス I- ペプチド複合体に親和性を示す T 細胞は、CD8 陽性細胞に分化する。したがって、選択肢 2, 3 は誤りで、その他の選択肢の組合せが正解である。

平成 27 (2015) 年度問題 25

T 細胞あるいは B 細胞の抗原レセプターに関して、正しい記述を a~e のうちから一つ選べ

- a. MHC 分子に結合したペプチドを認識するが、MHC 分子自体の抗原性の認識には関与しない
- b. B 細胞抗原レセプターは sIg (表面免疫グロブリン) とよばれ、B 細胞から形質細胞への分化にともなって、phosphoinositol リンカーが外れて分泌型の抗体分子となる
- c. 個々の T 細胞の多くでは、単一の α 鎖と β 鎖のペア、あるいは γ 鎖と δ 鎖のペアからなるヘテロ二量体として細胞表面に存在している
- d. T 細胞の成熟に伴って $\gamma\delta$ 型から $\alpha\beta$ 型へのクラススイッチを生ずる
- e. 出生時期前後に胎児型の $\gamma\delta$ 型から成人型 $\alpha\beta$ 型へと変化する

【正解】 c (正答率 : 25.0%)

【解説】 T細胞レセプターはMHC分子とペプチドを複合体として認識し、B細胞レセプター（表面免疫グロブリン）はMHC自体の抗原性も認識する。B細胞のうち、高親和性の免疫グロブリンを保有する細胞は、成熟して細胞外に抗体を分泌する形質細胞（プラズマ細胞）もしくは記憶B細胞となる。形質細胞内の小胞体で生成された免疫グロブリンは細胞膜表面に発現するのではなく、細胞外に直接放出される。B細胞レセプターでは同一染色体上に並んで存在する異なるC領域を使う免疫グロブリンを産生するクラススイッチが起こるが、T細胞レセプターの α 鎖（ δ 鎖）、 β 鎖、 γ 鎖はそれぞれ異なる遺伝子によってコードされている。また、 δ 鎖の遺伝子は α 鎖遺伝子のV領域とJ領域の間に存在するが、これらの間でのクラススイッチはない。T細胞レセプターには $\gamma\delta$ 型と $\alpha\beta$ 型があるが、これらは個体の出生・成長と関連して変化するのではなく、出生後のいかなる時期でも両方が産生される。ただし、前記の通り、遺伝子の構成上、 α 鎖と δ 鎖を同時に発現するT細胞はいない（ α 鎖のV-J再編成が生じると δ 鎖遺伝子が失われる）。

平成28（2016）年度問題20

胸腺および末梢における免疫寛容の誘導に関して誤っている記述をa～eのうちから一つ選べ

- T細胞の免疫寛容は胸腺の皮質で誘導される
- 感染が引き金となり自己に対する免疫寛容が破綻することがある
- 免疫寛容が破綻すると自己免疫疾患になることがある
- 制御性T細胞は免疫寛容の維持に関与している
- 末梢組織においてもT細胞の免疫寛容が誘導される

【正解】 a（正答率：39.3%）

【解説】 T細胞の免疫寛容は、胸腺の髄質における「自己反応性T細胞の負の選択（除去）」と末梢における「自己反応性T細胞のアネルギー（不応答性誘導）」により担われているため、誤りはa。その他の選択肢の記述は正しい。

項目群10 HLAによる免疫制御

平成26（2014）年度問題26

リンパ球の免疫反応に関して正しい記述の組合せをa～eのうちから一つ選べ

- 細胞傷害性T細胞のレセプターは、HLAクラスII抗原を認識する
 - 細胞傷害性T細胞表面にはCD4分子が存在する
 - T細胞レセプターは、自己HLAとウイルス由来のペプチド結合物に反応する
 - 細胞傷害性T細胞は、標的細胞の細胞死を誘導する
 - T細胞レセプターは、血清中の遊離抗原と反応する
- a 1,2 b 1,3 c 2,3 d 3,4 e 4,5

【正解】 d（正答率：37.3%）

【解説】細胞傷害性T細胞にはCD8分子が発現しており、T細胞レセプターはHLAクラスI抗原と非自己抗原ペプチドの複合体を認識する。血清中の遊離抗原と反応するのはB細胞レセプター（B細胞表面の免疫グロブリン）であり、T細胞レセプターではない。

平成27（2015）年度問題26

インフルエンザウイルスに関して正しい記述をa～eのうちから一つ選べ

- 一本鎖DNAウイルスである
- M遺伝子は選択的スプライシングを受ける
- わが国で一般的に用いられているインフルエンザクチンは、弱毒株を利用した生ワクチンである
- タミフルはNAタンパク（ノイラミニダーゼ）阻害剤であるが、NAタンパクは核酸と結合しているため、タミフルの作用は細胞核の中でのみ発揮される
- ワクチンの1回接種で約95%の人は終生の感染防御免疫を獲得する

【正解】 b（正答率：25.0%）

【解説】インフルエンザウイルスは、8つの分節により構成される一本鎖RNAウイルスである。わが国で用いられているワクチンは生ワクチンではなく、ホルマリンで処理した不活化ワクチンである。タミフルはNAタンパクの阻害剤であるが、NAタンパクはウイルスのエンペロープのタンパクであり、ウイルスが細胞に感染する際に働く。インフルエンザワクチンは複数のタイプへの混合ワクチンであるが、1回接種によって終生免疫は獲得されず、短期免疫の獲得についても約60%～90%である。

平成28（2016）年度問題22

自己のMHCに結合する非自己抗原ペプチドに特異的な

T細胞レセプターを発現する成熟T細胞が活性化される過程の正しい呼称をa～eのうちから一つ選べ

- 体細胞遺伝子組換え
- 抗原のプロセッシング
- T細胞レセプターの親和性成熟
- T細胞クローンの選択と増大
- T細胞レパートリーのネガティブセレクション

【正解】d (正答率：29.5%)

【解説】体細胞遺伝子組換え (somatic recombination) は、B細胞受容体 (免疫グロブリン) やT細胞受容体の遺伝子再編成の際に生じるものであり、未熟T細胞 (胸腺内T細胞) において起こっている。抗原のプロセッシングは、MHC分子に結合する抗原ペプチドが産生される過程で起こる。B細胞レセプター (免疫グロブリン) では、抗原刺激の反復に伴って体細胞変異が生じ、抗原への親和性の成熟 (増大) が生じる。一方、T細胞レセプターでは、このような体細胞変異による成熟現象は起こらない。また、T細胞レパートリーのネガティブセレクション (負の選択) は、胸腺髄質において自己反応性T細胞を除去するメカニズムである。

項目群 11 HLAの応用 臓器移植

平成 25 (2013) 年度問題 28

臓器移植、組織移植に関して正しい記述の組合せをa～eのうちから一つ選べ

- 臓器移植では、親族以外の生体ドナーが増えている
 - 公平、公正な臓器移植の実施のため、日本臓器移植ネットワークを介さない死体移植を行ってはならない
 - 組織移植には、心臓弁、血管、皮膚、骨、膵臓組織 (膵島) がある
 - 提供された組織は、膵島を除いて、日本組織移植学会を介して各種組織バンクが凍結・保存する
 - 心臓弁などの組織移植では、血液型やHLAを一致・適合させる必要がある。
- a) 1, 2, 3 b) 1, 2, 5 c) 1, 4, 5 d) 2, 3, 4 e) 3, 4, 5

【正解】d (正答率：32.1%)

【解説】臓器移植 (腎・肝臓・肺など) における生体ドナーの多くは親族であるが、腎臓移植では夫婦間移植も行われている。心臓弁置換手術の多くは人工弁 (機械弁) を

用いるが、感染が生じることがあり、複数回の手術を余儀されることもある。そのような場合には、異種 (ウシやブタ由来) 生体弁あるいは同種 (ヒト由来) 生体弁移植が行われる。生体弁は凍結処理等が行われ、生きた細胞がないため、一般に拒絶反応は起こらない。したがって、選択肢1, 5は誤りで、その他の選択肢の組合せが正解である。

平成 28 (2016) 年度問題 25

組織移植に関して正しい記述の組合せをa～eのうちから一つ選べ

- 膵島分離細胞は通常門脈に注入する
 - 皮膚移植では角膜移植と同様に拒絶反応は起こらない
 - 移植された他人の骨は自分の骨に作り替えられる
 - わが国の臓器移植法には骨や皮膚の移植に関する規定がない
 - 日本臓器移植ネットワークのコーディネータが骨や皮膚等の組織移植の承諾を取っている
- a 1, 2, 3 b 1, 2, 4 c 3, 4, 5 d 1, 3, 5 e 1, 3, 4

【正解】e (正答率：32.8%)

【解説】他人からの皮膚移植では拒絶反応が起こる。骨や皮膚の組織移植は、日本臓器移植ネットワークでは取り扱わない。また、骨や皮膚の移植に関する規則等は制定されていない。

平成 28 (2016) 年度問題 28

脳死臓器移植において、レシピエントの選定に組織適合試験 (クロスマッチ検査) が必須でないものを一つ選べ

- 腎
- 肝
- 心
- 肺
- 膵

【正解】b (正答率：27.9%)

【解説】脳死臓器移植は日本臓器移植ネットワークを介して実施されるが、肝臓移植のレシピエント選定において、ドナーとのクロスマッチ検査は必須でない。

項目群 12 HLA の応用 幹細胞移植

平成 28 (2016) 年度問題 29

非血縁者間造血幹細胞移植（骨髄・末梢血）の記述として正しい組み合わせを a～e のうちから一つ選べ

1. ドナー選択時の HLA 適合度は HLA-A, B, C, DRB1 の 3 座不適合までしか許容されない
 2. HLA-C 座の不適合があると急性 GVHD の発症頻度が低くなる
 3. HLA-DPB1 の不適合があると移植後の白血病の再発率が低くなる
 4. ドナーと患者の HLA-A, B, C, DRB1 の不適合数が増加するにつれて移植後の生存率が悪くなる
 5. 非血縁者間造血幹細胞移植は血縁者間造血幹細胞移植に比べ重症急性 GVHD の頻度が低い
- a 1, 2 b 1, 4 c 2, 4 d 3, 4 e 4, 5

【正解】d (正答率: 27.9%)

【解説】わが国の非血縁者間造血幹細胞移植におけるドナー・レシピエントのマッチングは骨髄バンクが仲介しており、ドナーは A, B, DR の 3 座 (6 抗原型) が一致していること原則とし、1 抗原ミスマッチまでが検索可能になっている。この検索は血清対応型で行われるため、最初のスクリーニングでは第 2 区域は無視されることになるが、実際のドナー選択では、遺伝子型 (第 2 区域) の一致が優先されており、HLA マッチの許容範囲については、ドナーの病態やレシピエントプールの状況にもよるため、規則上での遺伝子型の不適合には明確な線引きがない。HLA-C 座の不適合があると、急性 GVHD の発症頻度は高まるが、白血病症例の場合には無病再発期間や生存期間はむしろ延長する。これはドナー T 細胞による白血病細胞の排除 (GVLD) による効果と考えられている。非血縁者間造血幹細胞移植は、血縁者間造血幹細胞移植に比較して、重症急性 GVHD の頻度が高い。

項目群 13 HLA の応用 輸血

平成 26 (2014) 年度問題 33

輸血に関して正しい記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. A 型, B 型, AB 型患者に, O 型ドナー由来の HLA 適合血小板は使用できない
- b. 抗 HPA 抗体による血小板輸血不応状態患者には, HPA 適合血小板を輸血できない
- c. 赤血球抗原 Bg は赤血球膜の HLA 抗原である

- d. 血漿中の可溶性 HLA は免疫系に対する抗原感作の原因にならない

- e. a～d のいずれも正しくない

【正解】c (正答率: 39.2%)

【解説】赤血球膜の Bennett-Goodspeed-Sturgeon 抗原 (Bg 抗原) は HIA クラス I 分子が赤血球に発現したものとして知られており, Bga, Bgb, Bgc はそれぞれ HLA-B7, -B17, -A28 に対応する。

項目群 14 HLA の応用 自己免疫疾患

平成 25 (2013) 年度問題 35

日本人における疾患感受性リスクと HLA アリルとの組合せで最も適当なものを a～e のうちから一つ選べ

- a. I 型糖尿病と HLA-DRB1*15:02
- b. 関節リウマチと HLA-DPB1*09:01
- c. 高安病 (高安動脈炎) と HLA-B*53:01
- d. 強直性脊椎炎と HLA-A*27:01
- e. インスリン自己免疫症候群と HLA-DRB1:04:06

【正解】e (正答率: 30.2%)

【解説】日本人において最も強い感受性リスクとなる典型的な HLA アリルは以下の通りである。I 型糖尿病: HLA-DRB1*04:05, 関節リウマチ: HLA-DRB1*04:05, 高安病 (高安動脈炎): HLA-B*52:01, 強直性脊椎炎: HLA-B*27:05。したがって, 選択肢 a～d はいずれも誤りで, 選択肢 e のみが正しい。

平成 25 (2013) 年度問題 36

ある疾患について HLA との関連を調べたところ, 人種によって関連する HLA 型が異なっていた。その原因として考え難い理由を a～e のうちから一つ選べ

- a. 疾患感受性に関連する遺伝要因が人種によって異なる
- b. 発症にかかわる環境要因が人種によって異なる
- c. 用いたタイピング法が異なる
- d. 同じ病態であっても人種によって疾患が異なる
- e. 調べたサンプル数が異なる

【正解】e (正答率: 11.3%)

【解説】最も正答率が低かった問題である。人種・民族によって関連する HLA 型が異なる場合が報告されているが, 調べたサンプル数 (対象とした症例・対照の個体数) の多寡で関連が異なって来ることはない。同じ

HLA 型が関連している場合を想定すると、サンプル数の違いで有意性が異なるため関連を検出することが出来ないことはあるが、関連そのものが違って来ることは考え難い。一方、もともと違った HLA 型が関連している場合であれば、サンプル数の違いで有意性は異なるものの、それぞれの関連が変化することは考え難い。その他の選択肢は、人種・民族によって関連する HLA 型が異なることを説明する理由となる。したがって、選択肢 e がもっとも考え難い。

平成 26 (2014) 年度問題 35

日本人集団において、疾患感受性 DRB1-DQB1 ハプロタイプがナルコレプシーと共通する疾患を a～e のうちから一つ選べ

- I 型糖尿病
- 関節リウマチ
- Vogt- 小柳 - 原田病
- 全身性エリテマトーデス
- インスリン自己免疫症候群

【正解】(正答率: 11.8%)

【解説】日本人集団における疾患感受性 HLA ハプロタイプは、ナルコレプシーでは DRB1*15:01-DQB1*06:02 ハプロタイプである。I 型糖尿病、関節リウマチ、Vogt- 小柳 - 原田病は、いずれも DRB1*04:05-DQB1*04:01 ハプロタイプと関連する。また、インスリン自己免疫症候群は DRB1*04:06-DQB1*03:02 ハプロタイプと関連する。

平成 26 (2014) 年度問題 36

自己免疫性甲状腺疾患に関して正しい記述を a～e のうちから一つ選べ

- グレーブス病 (バセドウ病) では自己免疫機序で甲状腺刺激ホルモンの分泌が亢進する
- 橋本病 (慢性甲状腺炎) では自己免疫機序で甲状腺ホルモンの分泌が亢進する
- グレーブス病も橋本病も、その疾患感受性は同じ HLA クラス II アリルと相関する
- グレーブス病における主な自己抗原は甲状腺ミクロゾームである
- 橋本病では甲状腺に自己反応性 T 細胞が浸潤している

【正解】(正答率: 16.0%)

【解説】グレーブス病の主な自己抗原は甲状腺刺激ホルモン受容体であり、甲状腺刺激ホルモン受容体に対する自己抗体による受容体刺激のため甲状腺ホルモンの分泌が亢進する。橋本病では甲状腺濾胞細胞が破壊されるため甲状腺ホルモンの分泌が低下する。グレーブス病は DPB1*05:01 と、橋本病は DRB4*01 と関連する。

平成 27 (2015) 年度問題 37

日本人における自己免疫疾患感受性と HLA アリルとの関連に関して誤っている記述を a～e のうちから一つ選べ

- ベーチェット病 — B*51:01
- 潰瘍性大腸炎 — B*52:01
- 関節リウマチ — DRB1*04:05
- I 型糖尿病 — DRB1*09:01
- ナルコレプシー — DRB1*15:02

【正解】e (正答率: 25.0%)

【解説】ナルコレプシーとの強い関連を示すのは DRB1*15:01 である。

平成 27 (2015) 年度問題 39

日本人集団において、疾患感受性 HLA-DRB1-DQB1 ハプロタイプがナルコレプシーと共通する疾患を a～e のうちから一つ選べ

- I 型糖尿病
- 関節リウマチ
- Vogt- 小柳 - 原田病
- 全身性エリテマトーデス
- インスリン自己免疫症候群

【正解】d (正答率: 28.1%)

【解説】日本人集団における疾患関連 HLA ハプロタイプに関する問題である。ナルコレプシーと関連するのは DRB1*15:01-DQB1*06:02 ハプロタイプであり、このハプロタイプは全身性エリテマトーデス (SLE) とも関連する。I 型糖尿病は DRB1*04:05-DQB1*04:01 および DRB1*09:01-DQB1*03:03、関節リウマチおよび Vogt- 小柳 - 原田病は DRB1*04:05-DQB1*04:01、インスリン自己免疫症候群は DRB1*04:06-DQB1*03:02 ハプロタイプがそれぞれ関連を示す。

平成 28 (2016) 年度問題 33

HLA と自己免疫疾患の関連に関して正しい記述の組合せを a～e のうちから一つ選べ

1. 強直性脊椎炎と HLA-B*27 との関連には民族差が見られる
 2. ナルコレプシーと DRB1*15:01 との強い関連は日本人においてのみ見られる
 3. 欧米の白人では、1 型糖尿病と DRB1*03:01 との関連が見られる
 4. ベーチェット病と B*51:01 との関連はシルクロード沿いの民族に多く見られる
 5. 欧米白人では、関節リウマチと DRB1*04:05 との間にも最も強い関連が見られる
- a 1, 2 b 1, 3 c 2, 3 d 3, 4 e 4, 5

【正解】d (正答率 : 27.9%)

【解説】強直性脊椎炎と HLA-B*27, ナルコレプシーと DRB1*15:01 の関連は、どの民族においても観察される。ヨーロッパ系集団では、DRB1*04:01 および DRB1*01:01 が関節リウマチとの関連を示す。なお、問題 4 の解説に記載したとおり、欧米の白人 (欧米白人) の表現はヨーロッパ系集団に変更する。

項目群 15 HLA の応用 その他の疾患

平成 25 (2013) 年度問題 37

HIV 治療薬であるアバカビル (Avacavir) による副作用に関して正しい記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. アバカビルによるもっとも頻度が高い重篤な副作用は脳炎である
- b. 重篤な副作用の発生は HLA-B*53 と関連する
- c. アバカビルは HLA-B 分子と $\beta 2$ ミクログロブリンとの会合を阻害する
- d. アバカビルは HLA-B 分子と T 細胞レセプターとの結合を強固にする
- e. アバカビルは HLA-B 分子のペプチド結合溝の底に入り込む

【正解】e (正答率 : 22.6%)

【解説】アバカビルによる重篤な副作用は、重度皮膚炎、Stevens-Johnson 症候群や中毒性表皮壊死症であり、HLA-B*57 との強い関連が知られている。アバカビルが HLA-B*57:01 に特有の HLA-B 分子のペプチド結合溝内のポケットに入り込むことで、本来とは異なる自己ペ

プチドが HLA-B 分子と複合体を作るとともに、通常の HLA-B*57:01 分子に結合する自己ペプチドの形状が変化し、これが非自己ペプチドと見なされて強い CD8+T 細胞反応性を惹起するため、GVH 病様の症状が生じる。なお、アバカビルは HLA-B*57:03 や B*58:01 のペプチド結合溝のポケットには入り込まないため、これらの HLA-B*57:01 類似アリルを有していても副作用は生じない。

平成 26 (2014) 年度問題 37

HLA に連鎖した疾患に関して、正しい記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. LTA 遺伝子の欠損変異は劣性遺伝する家族性心筋梗塞の原因となる
- b. 先天性副腎過形成症候群は CYP21B 遺伝子の欠損変異に起因する
- c. 遺伝性ヘモクロマトーシスは HFE 遺伝子の欠損変異に起因する優性遺伝性疾患である
- d. TAP1 遺伝子および TAP2 遺伝子の欠損変異はいずれも免疫不全症の原因となる
- e. MICA および MICB 両遺伝子の欠損変異は免疫不全症の原因となる

【正解】d (正答率 : 35.3%)

【解説】LTA 遺伝子の欠損変異は知られていない。先天性副腎過形成症候群は CYP21A 遺伝子の変異 (欠損変異, 終止変異, ミスセンス変異など CYP21A 遺伝子機能を低下・欠損する変異) による。なお、CYP21B 遺伝子は偽遺伝子である。遺伝性ヘモクロマトーシスでは HFE 遺伝子のミスセンス変異が報告されているが、欠損変異は知られていない。HLA-B*48 にリンクしハプロタイプでは MICA および MICB 遺伝子のいずれもが機能を欠損しているため、HLA-B*48 のホモ接合体には MICA および MICB 両遺伝子の機能がまったくないが、免疫不全症の発症は報告されていない。

平成 27 (2015) 年度問題 40

HLA 領域内における遺伝子の配置に関して正しい記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. 先天性副腎過形成症候群の原因遺伝子は DRB1 と DQA1 の間に位置する
- b. 遺伝性ヘモクロマトーシスの原因遺伝子は HLA-A

と HLA-C の間に位置する

- c. 補体 C4 の遺伝子は CYP21 遺伝子と対をなして存在する
- d. TAP 遺伝子は DPB1 遺伝子と対をなして存在する
- e. LTA, LTB 遺伝子は MICA 遺伝子と補体 C2 の遺伝子の間に位置する

【正解】c, e 不適切問題 (正解が 2 つ存在する) (正答率: c, e とも 25.0%)

【解説】先天性副腎過形成症候群は常染色体性劣性遺伝する疾患であり、ステロイド合成経路の 21 水酸化酵素遺伝子 CYP21A2 (以前は CYP21B とも呼ばれた) の機能喪失変異 (欠失変異, ミスセンス変異など) に起因する。CYP21A2 は補体 C4 の遺伝子と対をなして (C4A-CYP21A1, C4B-CYP21A2), クラス III 領域のクラス II 領域側 (DRA 遺伝子よりクラス II 領域側) に位置する。遺伝性ヘモクロマトーシスは常染色体性劣性遺伝する疾患であり, トランスフェリンレセプターと相互作用する HFE 遺伝子の機能低下多型 (健常者にも認められる変異) に起因する。HFE は HLA 領域のはずれにある HLA-F 遺伝子よりさらにテロメア側に位置する。TAP 遺伝子は LMP 遺伝子 (PSMB) と対をなして (PSMB9-TAP1, PSMB8-TAP2) 存在する。リンフォトキシン遺伝子群 (LTA, TNF, LTB) は, クラス III 領域のクラス I 側に存在しており, 補体 C2 の遺伝子と MICA 遺伝子の間に位置する。

項目群 16 HLA の応用 法医学

平成 27 (2015) 年度問題 41

親子鑑定に用いる遺伝マーカーの特徴に関して, 正しい記述の組合せを a ~ e のうちから一つ選べ

1. ABO 血液型よりも識別能力が高い HLA は鑑定に有効な遺伝マーカーである
 2. STR (short tandem repeat) は HLA よりも識別能力が高い
 3. 遺伝マーカーとして用いる遺伝子の頻度は, Hardy-Weinberg 平衡にあることが必要である
 4. 用いる遺伝マーカーのローカスは親子性の排除率が低い方が良い
 5. 父権肯定確率を高めるには HLA-A, B, C, DRB1 の各ローカスで得た確率の積を用いる
- a 1, 2 b 1, 3 c 2, 3 d 3, 4 e 4, 5

【正解】b (正答率: 37.5%)

【解説】識別能力はアリル数に依存するが, STR のアリル数は一般に 10 程度と HLA に比べてアリル数が少ないため, 識別能力は HLA の方が高い。親子鑑定では, 親子性を排除できる確率が高い遺伝マーカーほど有用である。父権肯定確率は, ある母子がある男性を父であると訴えた場合, 検査マーカーから父であることを否定できないとき, どの程度の確率で「父親らしい」かを, ベイズの定理を用いた Essen-Moller の式で算出する。HLA のように各遺伝子座が近傍にあり, 通常ハプロタイプで遺伝する場合にはハプロタイプ頻度を用いるか, アリル数の多い B ローカスを用いるのが好ましい。各ローカスについて別々に (連鎖していないローカスであるかのように) 計算すると, 父権総合確率が不当に高い値となる。

項目群 17 HLA の応用 生殖医療

平成 25 (2013) 年度問題 39

HLA-G に関して正しい記述の組合せを a ~ e のうちから一つ選べ

1. 選択的スプライシングにより可溶性分子の isoform を産生する
 2. 古典的クラス I 分子を発現する細胞すべてに発現する
 3. 胎盤脱落膜細胞上に強く発現する
 4. CD94/NKG2A と反応し NK 活性を抑制する
 5. ILT2 や ILT4 と反応し NK 活性を抑制する
- a) 1, 2 b) 2, 3 c) 3, 4 d) 4, 5 e) 1, 5

【正解】e (正答率: 20.8%)

【解説】HLA-G は, 胎盤絨毛細胞, 胸腺上皮細胞, 一部の腫瘍細胞など, 特定の細胞・組織に発現する。抑制性 NK レセプターである CD94/NKG2A のリガンドとなるのは, HLA-E や MIC である。したがって, 選択肢 2, 3, 4 は誤りであり, その他の選択肢の組合せが正しい。

平成 26 (2014) 年度問題 39

妊娠, 特に胎児成長に関わる胎盤の機能維持には, 母体の NK 細胞から分泌される種々のサイトカインが重要であるが, これほどの抗原の認識により分泌されているか。もっとも適切な抗原を a ~ e のうちから一つ選べ

- a. 胎盤トロホブラスト上の HLA-G

- b. 胎盤トロホプラスト上の HLA-E
- c. 母体樹状細胞上の HLA-E
- d. 母体樹状細胞上の HLA-G
- e. a～d のいずれでもない

【正解】 b (正答率 : 26.0%)

【解説】 母体の NK 細胞は、胎盤トロホプラストに発現した HLA-E 分子 (HLA-G のシグナルペプチドを結合している HLA-E) を、NKG2C/CD94 (あるいは NKG2E/CD94) 受容体で認識して活性化し、サイトカインを分泌する。また、NK 細胞は、胎盤トロホプラストが産生する可溶性の HLA-G 分子を KIR2DL4 受容体で認識し、活性化されてサイトカインを分泌するが、胎盤トロホプラスト上の (膜結合性) HLA-G では KIR2DL4 を介した NK 細胞の活性化・サイトカイン分泌は起こらない。母体樹状細胞は HLA-G 分子を発現していない。また、母体樹状細胞は母親のクラス I 由来のシグナルペプチドを結合して HLA-E を発現しているため、NKG2A/CD94 (あるいは NKG2B/CD94) を介し NK 細胞を抑制する。

平成 27 (2015) 年度問題 42

生殖医療に関して最も適切な記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. 新型出生前診断 (妊婦血液を用いた胎児の遺伝子診断) を行えば、胎児の遺伝子異常がすべてわかる
- b. 2014 年時点で、日本での出生児 30 名あたり約 1 名は体外受精によると推定される
- c. 日本では、ヒトの ES 細胞や iPS 細胞から精子や卵子を作製することは法律で禁じられている
- d. 習慣性流産の原因の大半は配偶者間の HLA 完全一致である
- e. 顕微授精で得られた受精卵には染色体異常が頻発し、HLA 欠損症をもたらすことがある

【正解】 b (正答率 : 12.5%)

【解説】 現行の新型出生前診断で判定できるのは、染色体数の異常 (21 番, 18 番, 13 番染色体のトリソミー) である。わが国においては、ヒト ES 細胞や iPS 細胞から受精卵を作製することが禁じられているが、倫理指針に従って倫理審査委員会の審査・機関長の承認を受けるなどの手続きを行った研究であれば、精子や卵子を作製することは禁じられていない。習慣性流産の原因として配偶者間の HLA 一致度との関連が報告されたことがあ

るが、症例数が少ないことによるタイプ I エラー (偽陽性データ) であると考えられ、現在では習慣性流産と HLA 一致度との関連は否定的である。また、習慣性流産の主要な原因は微細な染色体異常であるとの説が有力である。顕微授精 (顕微鏡視野下で精子を卵子に注入する手法) で得られた受精卵に染色体異常が頻発することではなく、通常的人工授精や自然受精と同程度とされる。

平成 28 (2016) 年度問題 36

生殖医療に関して最も適切な記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. 英国のブラウン博士がヒトで体外受精を初めて成功させたのは 1980 年代後半である
- b. 2014 年時点で、日本での出生児約 24 名あたり 1 名は体外受精によると推定される
- c. 日本ではヒト ES 細胞から精子や卵子を作製することは法律で禁じられている
- d. 習慣性流産の原因の大半は配偶者間の HLA 完全一致である
- e. 顕微授精で得られた受精卵には染色体異常が頻発する

【正解】 b (正答率 : 21.3%)

【解説】 1978 年にヒトの体外受精を初めて成功させたのはロバート・エドワーズ博士である。わが国において、倫理指針に則ってヒト ES 細胞から精子や卵子を作製することは禁じられていないが、作製した精子や卵子を使って受精させた受精卵をヒトもしくは動物の胎内に戻すことは禁じられている。習慣性流産の原因は現時点でも明確になっていないが、以前にいくつか報告された習慣性流産と配偶者間の HLA 一致度との関連については否定的である。顕微授精で得られた受精卵であっても、通常受精あるいは体外受精と同様であって、染色体異常が頻発することはない。

項目群 18 HLA と最先端医療

平成 26 (2014) 年度問題 40

最先端医療に関して最も適切な記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. ヒトゲノム配列をすべて調べると II 型糖尿病の発症を 95% 以上の確率で予測可能である
- b. 妊婦血液を用いた胎児の遺伝子診断では妊婦血清中

- の胎児由来の白血球を集める
- iPS 細胞から分化した心筋細胞が拍動した場合、そのリズムは均一である
 - 異種移植における超急性拒絶反応は糖鎖抗原に対する獲得免疫による
 - a～d のいずれもが誤りである

【正解】 e (正答率 : 39.2%)

【解説】平成 25 年度にも出題した問題 (正答率 58.5%) であるが、今年度の正答率は 39.2% であり、前年度に比べて著しく低かった。模擬試験の受験者が違っているものの、正答率が低い原因として考えられることは、代表的な誤答 b の内容が関連している可能性がある。すなわち、妊婦の血液検査で染色体異常症の出生前診断 (新型遺伝子検査) が可能となっている背景が関わっていることが考えられる。この新型遺伝子検査では、妊婦の血液から細胞成分を除去した後に、妊婦血清中に含まれる DNA を検査するものであるが、そこには妊婦自身の白血球に由来する DNA と胎児由来の DNA (胎児の白血球が妊婦のリンパ球によって破壊されたことに由来する) が含まれるのであり、妊婦の血液中に流れている白血球を集めて検査している訳ではない。II 型糖尿病の遺伝率は約 60% であるため、全ゲノムの配列を調べての発症予測確率は最大でも 60% と見積もられる。但し、稀な II 型糖尿病として小児で発症する遺伝性 II 型糖尿病 (MODY) がある。MODY は単因子遺伝病であるため遺伝子診断で発症を予測できる可能性があるが、現時点で複数の MODY 原因遺伝子が見出されているものの、それらをすべて調べても MODY 症例の半数以下でしか病因変異が特定できない。従って、MODY の原因遺伝子の全貌が解明されていないため、全ゲノムの配列を調べても発症予測確率は 50% に満たないと考えられる。iPS 細胞を分化させて心筋細胞を作製した場合、その拍動は個々の細胞ごとに異なっている。また、異種移植における超急性反応は血管内皮等の糖鎖抗原に対する自然抗体反応であり、獲得免疫によるものではない。

平成 28 (2016) 年度問題 37

- これまでの HLA タイピング法と比べて、次世代シーケンサーを用いた HLA タイピングの特徴に関する記述として誤っているものを a～e のうちから一つ選べ
- 8 桁レベル (第 4 区域まで) のタイピングがより容

易に行える

- より多くのサンプルを同時にタイピングできる
- シーケンスエラーが少なく、より正確な塩基配列が決定できる
- より多くの null アリルを検出できる
- 二つの多型の染色体上のシス・トランスの関係を明らかにし、いわゆる phase ambiguity が解消できる

【正解】 c (正答率 : 8.2%)

【解説】HLA タイピングに限らず、最近では次世代シーケンサー (シークエンサー) を (NGS) 用いた詳細な遺伝子解析が行われている。一般に、NGS で得られる個別データには、Sanger 法に比較してシーケンス (シークエンス) エラーが多い。このため、多型解析においては、どれくらいの数のシーケンス (シークエンス) データ (depth) を得たかが問題であり、一般には 100 depth 以上を必要とする。また、NGS の性質上、シーケンス (シークエンス) エラーが起りやすい配列があることも知られているため、新たな変異が検出 (推定) された場合には、Sanger 法による確認が必要となる場合がある。

項目群 19 HLA と最先端医療 2 異種移植

平成 25 (2013) 年度問題 41

2010 年までにヒト患者を対象として実施された、異種動物の臓器や細胞を用いた治療に関して誤っている記述を a～e のうちから一つ選べ

- ヒヒヤチンパンジーからの心臓移植で 1 か月以上の生着はない
- チンパンジーの腎臓移植で例外的に半年以上生着したことがある
- ブタからの心臓移植や肝臓移植は超急性反応で拒絶された
- ブタからの膵島移植で 1 か月以上の生着はない
- ブタの肝細胞を使った人工肝臓による肝不全治療は米国で治験段階に入っている

【正解】 d (正答率 : 17.0%)

【解説】ブタの膵島細胞をマイクロカプセルに入れてヒトに移植した治療で、10 年以上生着が見られたとの報告がある。d 以外の選択肢の記述はいずれも正しい。

平成 26 (2014) 年度問題 41

異種移植に関して正しい記述の組合せを a～e のうちか

ら一つ選べ

1. I型糖尿病に対するブタ腭ラ島移植の臨床試験が海外で始まっている
 2. 主要異種抗原は、ブタに発現する α ガラクトース(α Gal)抗原である
 3. 遺伝子組換えクローンブタの心臓、肝臓、腎臓を用いた異種移植実験では3年以上の長期成績が得られている
 4. ブタ内在性レトロウイルス(PERV)感染の危険性が指摘され、ヒトに対して多くの感染例がある
 5. 抗HLA抗体は、ブタのMHCであるSLA(swine leukocyte antigen)に交差反応する
- a 1, 2, 3 b 1, 2, 5 c 1, 4, 5 d 2, 3, 4 e 3, 4, 5

【正解】b (正答率: 19.6%)

【解説】I型糖尿病に対するブタ腭ラ島(ランゲルハンス島)移植では、ラ島細胞をカプセルに入れたものを移植しているが、このカプセルはインスリンや血液は通すが細胞を通さないため異種移植の拒絶反応が抑制される。遺伝子組換えクローンブタとしてもっともよく研究されているのは α 1,3ガラクトシル転位酵素の産生を抑制したノックアウトブタであり、サルへの移植実験(心臓、肝臓、腎臓)が行われているが、いずれも臓器生着は1か月未満である。また、ブタ内在性レトロウイルス感染の危険性が指摘されているが、現在までにヒトへの感染報告はない。

平成28(2016)年度問題38

ヒトを対象にした臨床研究の際に遵守すべき事項に関する記述として誤っているものをa~eのうちから1つ選べ

- a. 検査後の余剰血液を用いる場合は倫理委員会に申請する
- b. 検査後の余剰血液を用いる場合は患者の承諾を必要とする
- c. 介入研究を実施する場合にはあらかじめ概要を公開データベースに登録する
- d. 未成年者を対象とした臨床研究も可能である
- e. 特定の個人を後から識別することができないように検体は必ず連結不可能匿名化する

【正解】e (正答率: 18.0%)

【解説】被験者の同意が必須であり、倫理審査委員会の承認を必要とするが、一般に臨床研究は連結可能匿名化の状況で実施されている。その他の選択肢の記載は正しい。

項目群21 血清学的に決定される抗原の同定

平成28(2016)年度問題42

LCT法に使用する抗血清に関する記述で正しいものはどれか

- a. HLAクラスI, II両方の特異性を有する抗血清はHLAクラスIタイピングに使用できない
- b. HLAクラスIIタイピングでは、抗血清中のHLAクラスI特異性を吸収除去する
- c. 特異抗体のサブクラス(アイソタイプ)がIgMの抗血清はHLAタイピングに使用できない
- d. HLAタイピングに使用する抗血清中の抗A, 抗B抗体は除去されている
- e. AHG-LCT法でタイピングするとLCT法より明確に同定できる

【正解】b (正答率: 29.5%)

【解説】抗血清にはHLAクラスI, クラスIIの両方の特異性を有するものがあるが、吸収除去によっていずれかの特異性を失わせるとタイピングに使用可能である。IgM抗血清であっても、補体結合性があるため、LCT法によるHLAタイピングに利用できる。抗血清中の自然抗体(抗A, 抗B抗体)は必ずしも除去されていない。AHG-LCT法はIgM抗血清によるLCTを除去することが出来るが、通常のLCT法より明確にHLAタイピングが出来るわけではない。

項目群22 リンパ球反応により決定される抗原の同定

平成25(2013)年度問題44

リンパ球混合培養反応に関して正しい記述の組合せをa~eのうちから一つ選べ

1. 患者とドナーのHLA-C座抗原の違いを検出する
2. 患者とドナーのHLA-D領域の抗原の違いを検出する
3. この反応でリンパ球の幼若化が起きた否かは、エオジン染色で確認する
4. 患者またはドナーのどちらか片方のリンパ球のDNA合成を抑える必要がある

5. この反応は in vivo で免疫応答を観察する方法で、適切なドナーの選定に有用である

a) 1, 2 b) 2, 3 c) 2, 4 d) 3, 4 e) 4, 5

【正解】 c (正答率 : 28.3%)

【解説】 リンパ球混合培養反応 (Mixed Lymphocyte Reaction; MLR) では HLA-C 座の違いは検出できない。MLR におけるリンパ球 (T 細胞) の幼若化は、3H チミジンの取り込み (細胞増殖に伴う DNA 合成反応の指標) で測定する。エオジン染色では、細胞の生死は確認できるが、幼若化の有無は確認できない。MLR は細胞レベルでのアロ免疫応答性を観察する方法であるが、反応性の強弱には HLA-D ミスマッチ (主に HLA-DR ミスマッチ) 以外の要素 (疾患、全身状態、服用薬剤等) が大きく影響することから、ドナー選定には用いられていない。

平成 28 (2016) 年度問題 44

混合リンパ球反応 (MLR) に関して正しい記述を a ~ e のうちから一つ選べ

- 主に細胞傷害性 T 細胞が示す増殖反応である
- NK 細胞はほとんど関与しない
- CD4 陽性 T 細胞は関与しない
- アロ樹状細胞は MLR を刺激しない
- HLA クラス I アレルの異なる組み合わせで起こる

【正解】 b (正答率 : 29.5%)

【解説】 MLR はアロ MHC (HLA) クラス II を認識した CD4 陽性 T 細胞 (ヘルパー T 細胞) が示す増殖反応である。アロ樹状細胞はクラス II 分子を発現するため、刺激細胞となる。

項目群 23 HLA 対立遺伝子 (アイル) の同定

平成 27 (2015) 年度問題 48

PCR-SSP 法に関して正しい記述の組合せを a ~ e のうちから一つ選べ

- 増幅コントロール用のプライマーは必ず異なる染色体上に作る
 - PCR 産物が得られない場合は陰性であることが確認できる
 - PCR 産物はその長さを確認する必要がある
 - プローブは増幅産物上の配列とする
 - 標準検体で反応条件を確認する必要がある
- a 1, 3 b 2, 4 c 3, 4 d 3, 5 e 4, 5

【正解】 d (正答率 : 37.5%)

【解説】 増幅コントロール用の PCR のプライマーは同一染色体上にデザインしても構わない。PCR 産物が得られない場合には、PCR 不良の可能性があり、陰性であるとは確定できない。プローブを使用するのは PCR-SSPOP 法であり、PCR-SSP 法ではプローブを使用しない。

項目群 24 DNA タイピングの実際

平成 28 (2016) 年度問題 47

HLA アレルと抗原型 (血清対応型) の関係について誤っている記述を a ~ e のうちから一つ選べ

- A*02:03 の血清対応型は A203 である
- A210 はアソシエート抗原である
- A24 は A9 のスプリット抗原である
- B*39:01 の血清対応型は B39 である
- B*40:02 の血清対応型は B60 である

【正解】 e (正答率 : 11.5%)

【解説】 HLA-A*02:03 および A*02:10 はそれぞれアソシエート抗原である A203 や A210 をコードしている。A23 および A24 は A9 のスプリット抗原である。B*39:01 は B39 をコードしている。B*40:02 の血清対応型は B61 であるため、正解 (誤った記載) は e

項目群 26 疾患感受性・抵抗性の解析

平成 25 (2013) 年度問題 49

疾患感受性と HLA 対立遺伝子との相関の強さを示す指標として、オッズ比が用いられる。下記の表より、パーチェット病と HLA-B*51:01 の相関におけるオッズ比を計算した場合に、正しいのはどれか

- 0.3
- 1.6
- 3.1
- 3.3
- 6.6

【正解】 e (正答率 : 26.4%)

【解説】 平成 24 年度試験にも出題された問題 (平成 24 年度正答率 27.6%) である。関連のオッズ比は、B*51:01 陽性者における患者 : 健常者の比と B*51:01 陰性者における患者 : 健常者の比の違いをオッズ比率として表す。具体的には、(B*51:01 陽性患者 × B*51:01 陰性

健常者) ÷ (B*51:01 陰性患者 × B*51:01 陽性健常者)
でオッズ比が求められるため、 $(178 \times 246) \div (122 \times 54)$
≒ 6.6 となる。

平成 25 (2013) 年度問題 50

関連解析法に関して正しい記述の組合せを a～e のうち
から一つ選べ

1. 2 世代以上の家族試料を必要とする
2. 統計学的検出力が比較的高い
3. 偽陽性関連が観察されやすい
4. ゲノム全域の探索研究には利用できない
5. 2005 年以降はあまり用いられなくなった

a) 1, 2 b) 1, 5 c) 2, 3 d) 3, 4 e) 4, 5

【正解】 c (正答率 : 28.3%)

【解説】 関連解析では、互いに血縁関係のない患者集団と対照者集団を比較するため、家系試料は必要ない。また、ヒトゲノム配列が解明された 2004 年以降も良く用いられている研究方法である。このため、選択肢 1 と 5 は誤り。関連解析は連鎖解析や伝達不平衡テスト等と比較すると統計学的検出力が比較的高い。また、有意水準を例えば 5% ($p=0.05$) に設定したとすると、20 個の遺伝マーカーをテストすれば 1 個 (5%) くらいは有意性をもった関連が観察されることになるため、偽陽性関連が観察されやすいと言える。したがって、選択肢 2 と 3 は正しい。選択肢 4 は明確な誤りとは言いが、ゲノム全域を対象とした関連解析から疾患の真の原因遺伝子(変異)を究明しようとする研究(探索研究)を行う場合、全ゲノム領域について調べる(全ゲノム配列を患者・対照者で比較する)ことは現実的でなく、実際には有限数の遺伝マーカーを調べて、疾患の原因となる変異と連鎖不平衡にある遺伝マーカーを同定する方法がとられる。この場合、多くの遺伝マーカーを利用するほど偽陽性関連が観察されるため、全ゲノム関連解析 (Genome-Wide Association Study; GWAS) では一般に有意水準を 5×10^{-9} 程度に設定することになるが、オッズ比が 1.1～1.2 程度の関連の有意性を担保するには数万～数十万の対象を調べることが必要となる。このことから、最適な選択肢

の組合せは c である。

平成 28 (2016) 年度問題 50

疾患と遺伝マーカーとの関連を解析した研究が複数あった場合に、それらの結果をまとめて解析する方法として、最も適切なものを a～e のうちから一つ選べ

- a. 単回帰解析
- b. 重回帰解析
- c. 重複関連解析
- d. メタ解析
- e. 統一解析

【正解】 d (正答率 : 39.3%)

【解説】 単回帰解析 (単回帰分析) とは、2 つの変量間の関連を一次方程式として解析する方法。重回帰解析 (重回帰分析) は、独立変数が 2 つ以上ある場合に用いる回帰分析の方法である。メタ解析は、複数の関連解析研究の結果を、各研究で対象とした集団の数で重み付けした上で、まとめて解析する方法である。重複関連解析、統一解析はこの問題のために作った造語であり、そのような解析法はない。

3. おわりに

認定 HLA 検査技術者認定制度試験と同時間帯に希望者を対象とした模擬試験を実施しているが、模擬試験の結果は、当該問題の難易度を測定する指標となっている。本稿では、平成 24 (2014)～平成 28 (2016) 年度の 4 年間に実施した模擬試験における正答率が 40% 未満であった問題 (難問) について解説した。年度ごとに多少の変動があるが、難問は 50 問中 15～20 問であり、全問題数の 30～40% を占めている。認定 HLA 検査技術者認定制度試験は、HLA の基礎から応用に係る知識を関連領域を含めて問うものであり、認定 HLA 検査技術者および指導者にふさわしい幅広い知識を確認するものとしている。会員諸兄におかれては、自身の知識を再確認するためにも、今後とも模擬試験に参加されんことを望みたい。

Comments on difficult questions in the JSHI certification paper test

Akinori Kimura¹⁾

¹⁾Department of Molecular Pathogenesis, Medical Research Institute, Tokyo Medical and Dental University (TMDU)

Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics (JSHI) has a certification system for HLA technologist and Director for Histocompatibility testing, in which ability and knowledge about the histocompatibility and Immunogenetics is required. To evaluate the ability and knowledge, a paper examination is obliged. Here I will comment on several questions of which percentage of correct answer was below 40%.

Key Words: JSHI certification system, paper examination, HLA technologist, difficult questions

HLA と KIR システムー基礎と臨床応用

八幡 真人¹⁾

¹⁾ シンガポール国立大学医学部小児科

ヒトナチュラルキラー (NK) 細胞表面上には、HLA クラス I 分子を認識する受容体群が発現している。これら受容体のうち、KIR (「キア」: Killer cell Immunoglobulin-like Receptor) ファミリーは HLA のシステムと同様に莫大な多様性を包含する¹⁾。KIR 多様性は NK 細胞の表現型や機能に影響を与え、免疫応答の個体差を生む重要な因子である²⁾。造血幹細胞移植において、KIR ジェノタイプはドナー選択の際の有用なバイオマーカーとして臨床応用が定着している。染色体 19 番長腕に存在する各 KIR 遺伝子座の組み合わせには多くのバリエーションがあり、さらに各遺伝子座にアレル性多型が存在する。また、NK 細胞上の KIR の発現は多様であることから、NK 細胞集団に多くのサブセットが形成される。このように KIR システムは自然免疫系のリンパ球である NK 細胞に多様性をもたらす、ウイルス感染、腫瘍免疫、造血幹細胞移植等において大きな個体差をもたらす。本稿では KIR の遺伝的多様性のメカニズム、KIR 発現と NK 細胞機能の調節、造血幹細胞移植における臨床的応用の側面につき概説する。

キーワード: HLA, キラー細胞免疫グロブリン様受容体 (KIR), ナチュラルキラー (NK) 細胞, 造血幹細胞移植 (HSCT), NK 細胞レパトワ

I. はじめに: HLA 分子の「第二の機能」と KIR 受容体群

HLA クラス I 分子は、抗原提示細胞内のペプチドを CD8 陽性 T 細胞へ提示する機能がよく知られている。本稿では、HLA クラス I 分子の「第二の機能」として NK 細胞制御の側面を解説する。NK 細胞による HLA 分子の認識を可能とする受容体には主に 3 つの受容体のタイプがある (後述)。このうち、KIR 受容体群には 15 の抑制型または活性型の受容体が知られている (図 1)。

KIR 分子のうち、リガンドに結合する細胞外ドメインは 2 つまたは 3 つ存在し、これに対応して受容体は「2D」または「3D」と命名される。抑制型 KIR は、細胞内の抑制性シグナルに関わる細胞内タンパク質ドメイン (ITIM: Immuno-receptor Tyrosine-based Inhibitory Motif)

を持ち、活性型 KIR に比べてタンパク配列全長が長いためにその名称に Long を意味する「L」がつく。これに対し、活性型 KIR の名称には Short を意味する「S」がつく。活性型 KIR には細胞内 ITIM が欠如する代わりに、膜貫通部位に荷電アミノ酸残基 (リジン, アルギニン) を有し、活性型シグナルを伝達するアダプター分子 (DAP12) と KIR 分子が会合することを可能にしている。KIR2DL4 のみこの原則の例外であり、抑制型 KIR の ITIM を持ち、かつ膜貫通部位にアルギニン残基を有し、実験的にも活性型シグナルを媒介できることが判明している。また、一部の活性型 KIR に HLA が結合すると示唆する実験報告もあるが、HLA が生理的なリガンドであるかは不明瞭である。よって、KIR ファミリーのうち健常時における生理的リガンドが明確であるものは抑制型の受容体のうちの KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3,

受付日: 2017 年 7 月 10 日, 受理日: 2017 年 7 月 10 日

代表者連絡先: Makoto Yawata Centre for Life Sciences, Room 03-06P, School of Medicine, National University of Singapore, 28 Medical Drive, Singapore 117456

TEL: +65-6516-7209, E-mail: paeym@nus.edu.sg



図1 KIR 受容体群およびリガンド

KIR 受容体群には 15 種の抑制型および活性型の受容体がある。生理的なリガンドが確定している KIR は、KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR2DL4, KIR3DL1 である。これら KIR が認識する HLA アロタイプグループを右列に示した。HLA-C アロタイプは、タンパク分子の 77, 80 番位のアミノ酸の種類により免疫学的にグループ 1「C1」及びグループ 2「C2」に大別される。この分類に従い、KIR2DL2 および KIR2DL3 は「C1」の HLA-C アロタイプグループを認識し、KIR2DL1 は「C2」のグループを認識する。KIR3DL1 は、タンパク分子の 77-83 番位のアミノ酸の配列により規定される Bw4 モチーフを認識する。世界人類集団の種々の HLA-B アリルのうちこの Bw4 モチーフを有するものは約 1/3 であるが、一方で HLA-A アリルの一部もこの Bw4 モチーフを持つ。KIR2DL4 は HLA-G を認識する。また、KIR 以外に HLA を認識する NK 細胞受容体として、HLA-E を認識する NKG2A/CD94 や、HLA-G を中心に認識する LILRB1 という受容体も存在する。

結論として、NK 細胞が認識し得る HLA タイプは次の通りである。古典的 HLA のうち、HLA-C 全アロタイプのほか、HLA-B アロタイプの約 1/3, HLA-A アロタイプの一部 (Bw4 モチーフを有するもの)、非古典的 HLA の HLA-E, HLA-G である。逆に、HLA-B の 2/3 のアロタイプおよび HLA-A の大多数のアロタイプは NK 細胞によって認識されない。なお、マウスにおいては KIR は免疫受容体として存在せず、代わりに Ly49 というタンパク構造の全く異なる受容体群がヒトの KIR 同様の機能を担っている。

KIR2DL4, KIR3DL1 である。本稿では「HLA 特異的抑制型 KIR」については、これら 5 つの受容体を中心に論じることとする。

II. KIR 遺伝子群と「A ハプロタイプ, B ハプロタイプ」

15 の KIR 遺伝子は、いずれも染色体 19 番長腕の「KIR コンプレックス」と称するゲノム領域に限定して存在している。ヒトゲノムのこの領域は変化に富み、KIR 遺伝子の数や組み合わせが異なる。また、特定の KIR 遺伝子間に高い連鎖不平衡が見られ、独特のハプロタイプ構

造が存在する (図 2)^{3,4)}。

これまで KIR 分野においては、「A/B ハプロタイプ」という大きな分類が用いられてきた。この命名法では、「A ハプロタイプ」は「KIR3DL3-KIR2DL3-KIR2DL1-KIR2DL4-KIR3DL1-KIR2DS4-KIR3DL2」の決まった 7 遺伝子座で構成される。これ以外のあらゆる KIR 遺伝子の組み合わせは「B ハプロタイプ」と称される。KIR 研究の専門家の間では、この「A/B ハプロタイプ」の分類法に代わるより詳細なハプロタイプ分類が模索されているが、今後の課題である。

KIR タイピングが造血幹細胞移植に応用され、KIR による NK 細胞の制御メカニズムが解明されるにつれ、「A ハプロタイプ」を特別視するこの古典的な分類法が、当初は想定されていなかった新たな意味を持つようになった。「A ハプロタイプ」には、「HLA 特異的抑制型 KIR」の遺伝子座が多く存在し免疫的に重要な意義をもつ点である。後述する「NK 細胞ライセンス」の観点からは、「A ハプロタイプ」は HLA クラス I アロタイプグループ (KIR リガンド) のすべての種類を認識する受容体の遺伝子を包含する特別なハプロタイプなのである。この点は、造血幹細胞移植において特に意義がある。「A ハプロタイプ」は世界の多くの人類集団において頻度の高い KIR ハプロタイプであるが、日本人集団においては世界中で最も高い頻度で存在する。本邦では特に重要な KIR ハプロタイプである。

III. KIR 受容体の発現多様性と NK 細胞サブセット: NK 細胞活性の多様化メカニズムおよびヒト個人に特異的な NK レパトワ構造

これら種々の KIR は NK 細胞に一樣に発現しておらず、この KIR 発現多様性により表現型の異なる多くの NK 細胞サブセットが我々の末梢血中に共存している。免疫学的観点からこの NK 細胞の多様性にはどのような意義があるのであろうか。

まず、HLA 認識の観点からこの NK 細胞多様性を考えてみる。前述の「HLA 特異的抑制型 KIR」四種 (KIR2DL4 は通常は末梢血 NK 細胞にほとんど発現していない)、及び NKG2A/CD94, LILRB1 の 6 種の受容体が無作為に NK 細胞集団に発現すると仮定した場合、理論的には 2⁶ 通りの発現の組み合わせがあり得る。高次元フローサイトメトリーを使用することでこの 64 通り

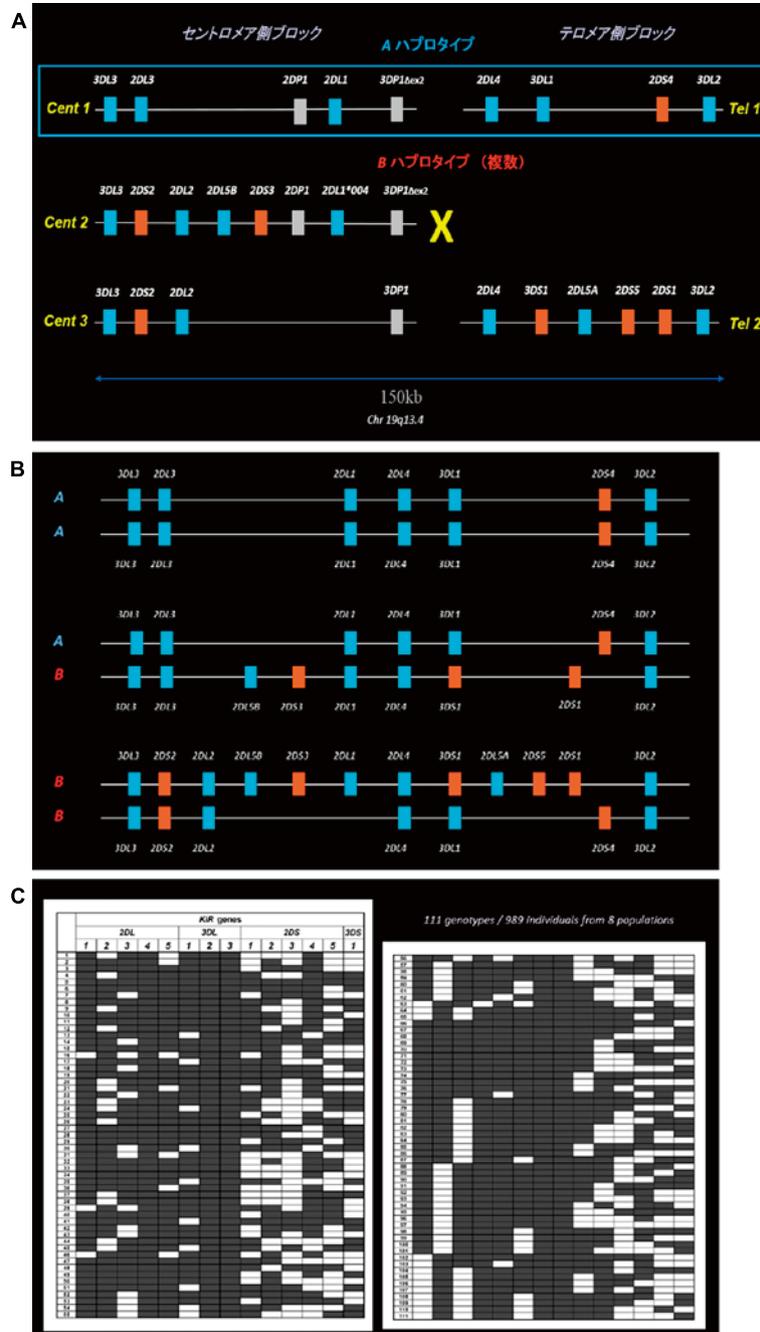


図2 KIR ハプロタイプ, ジェノタイプ (文献 (3) より改変)

A. B. KIR ハプロタイプのブロック構造。約 150 kb にわたるヒトゲノム KIR 領域の中心には組み換え点が存在し、そのセントロメア側 (Centromeric half)、テロメア側 (Telomeric half) にある特定の KIR 遺伝子座の組み合わせが見られ、これをハプロタイプブロックという。図中に代表的なハプロタイプブロックである Cent1, Cent2, Cent3, Tel1, Tel2 等を示す。世界の人類集団においては、本図のハプロタイプブロックをもとに KIR 遺伝子座の欠失や付加によりこれらブロックが多様化している。なお、図中の Cent1 + Tel1 のブロックの組み合わせが「A ハプロタイプ」である。このようにみると、「B ハプロタイプ」には部分的に「A ハプロタイプ」と同じ KIR 遺伝子座を持っているものが多くあることがわかる。後述する造血幹細胞移植分野で導入されつつある「B コンテントスコア」はこのハプロタイプブロックの考え方をもとに、「A ハプロタイプ」と共通しないハプロタイプブロックが、一個人の 2 つの染色体上に幾つあるかを算定するものである。

C. 世界人類集団の KIR ジェノタイプの多様性

世界中の 8 つの人類集団における 989 名の KIR ジェノタイプ (個人 の二つの染色体上の KIR 遺伝子座の総計) をまとめたもの。遺伝子座の存在を黒で表し、一行ずつ KIR ジェノタイプを示した。本調査において、111 種の KIR ジェノタイプの存在を確認した。ジェノタイプ #1 は「A ハプロタイプ」のホモ接合型であるが、多くの人類集団にて高頻度である。今後も新たな KIR ジェノタイプが報告されるものと思われる。

トピックス：「A ハプロタイプ」, 「B ハプロタイプ」の語源

KIR のゲノム領域の構造が判明する以前にヒト個体間の KIR 遺伝子の組み合わせを大まかに分類するために考案された方法に基づく。このアプローチはヒトゲノム DNA を用いてサザンブロットを行った際に特定のプローブ (KIR2DL5 領域を含むプローブであることが後に判明) がハイブリダイズするバンドを有する場合は「B ハプロタイプ」を持ち、同バンドが存在しない場合は「A ハプロタイプ」を持つと決めたことが始まりである (厳密には、<「A ハプロタイプ」ホモ接合型のジェノタイプ>と称すべきであろう)。後に、KIR2DL5 分子は、KIR2DL5A および KIR2DL5B のいずれかの遺伝子によってコードされることが判明している (この 2 遺伝子は遺伝子重複により生じた高い相同性をもつ異なる遺伝子座である)³⁾。KIR ハプロタイプ構造の詳細が判明している現在、上記のプローブを用いた「B ハプロタイプ」検出のアプローチでは KIR2DL5A や KIR2DL5B を持たない一部の「B ハプロタイプ」が検出されないことが判明している。

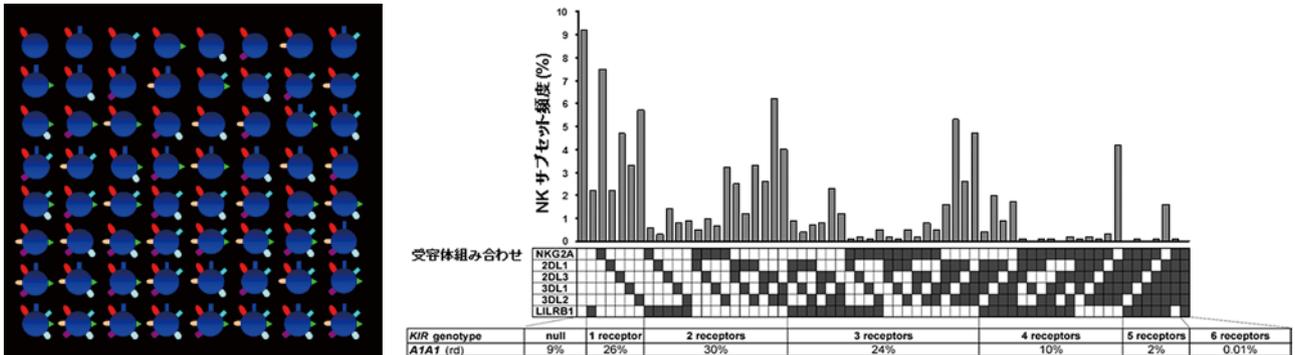


図3 「HLA 特異的抑制型受容体」の発現多様性による NK 細胞サブセット (文献 (6) より改変)

左: ヒト NK 細胞表面に発現する「HLA 特異的抑制型受容体」: KIR2DL1, KIR2DL2/3, KIR3DL1, KIR3DL2, NKG2A, LILRB1 は、種々の組み合わせで発現している。理論上、この 6 種の受容体があらゆる組み合わせで発現すれば、 2^6 通りの細胞サブセットが存在するはずである。

右: 高次元フローサイトメトリーを用いた NK 細胞レパトワの構成。上記 6 種の受容体に対する特異抗体を異なる蛍光色素でラベルし、CD56^{dim}NK 細胞のサブセットの解析を行った。本グラフは一名の健康人の末梢血中 NK サブセットの頻度 (CD56^{dim}NK 細胞中の %) を表現した。各 NK 細胞サブセットの表現型 (受容体の共発現) はグラフ下の各列の黒ボックスにて示した。この解析から種々の新たな知見が得られた。

(i) KIR ジェノタイプから想定される、理論上存在し得る NK 細胞サブセットがすべて実在すること (この個人の場合は 64 通り)。つまり、NK 細胞の成熟過程では、T リンパ球の成熟過程における「クローン選択」に相当する細胞クローンの完全排除のプロセスが起きていないことが示唆される。

(ii) いずれの「HLA 特異的抑制型受容体」をも発現しないサブセットが明らかに存在する (「HLA 特異的抑制型 KIR」, NKG2A/CD94, LILRB1)。このサブセット「receptor-null subset」は、HLA を認識することができず自己反応性となる危険をはらむが、後述の「NK 細胞ライセンス」のメカニズムによりこの問題が回避される仕組みとなっている。また、この「NK 細胞ライセンス」には莫大な多型を擁する HLA・KIR アロタイプが関与し、その結果 NK 細胞活性に大きな個体差が生じる。多くの健康人においてこの NK 細胞レパトワのプロファイル解析を行った結果、レパトワ構造は各個人に特有のものであることが判明した。またこの構造は基本的に時間経過とともに変わらない。よって、NK 細胞レパトワは人類における NK 細胞の免疫個体差を規定する因子として重要である。

のサブセットが実在することを確認できる(図3)⁹⁾。これらサブセットは、発現する受容体の組み合わせにより、そのリガンド特異性が異なる。さらには後述する「NK 細胞ライセンス」の違いによりサブセット毎に免疫応答の強度も異なる。その結果、種々の反応性を持った NK 細胞の集団が形成される。

IV. NK 細胞機能の制御における「HLA 特異的抑制型受容体」の役割: 「NK 細胞ライセンス」という新しい免疫学的概念

「HLA 特異的抑制型 KIR」のうち KIR2DL1, KIR2DL2, KIR2DL3, KIR3DL1 は、末梢血中の NK 細胞

の機能を 2 つの方法にて制御している。一つ目の機能は KIR リガンド (HLA クラス I) と結合し、抑制性のシグナルを伝達することである。二つ目の機能は、NK 細胞に独特の「missing-self (自己の欠如) 応答」の強度を NK 細胞の分化成熟の過程でプログラムすることである (図4 及び次頁トピックス欄を参照)。

V. NK 細胞制御における KIR アロタイプ, HLA アロタイプの意義

KIR 遺伝子の多様性は、NK 細胞機能にどのように影響するものであろうか。セクション II で解説した KIR 遺伝子座の有無は、KIR リガンド (HLA アロタイプ) による

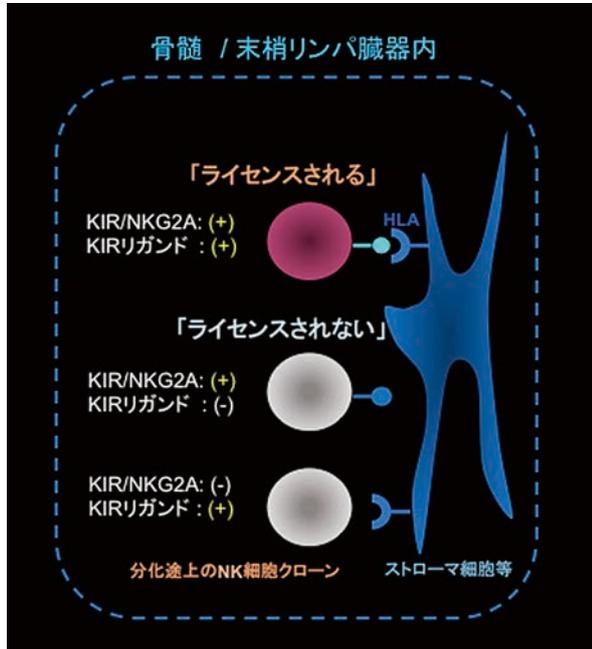


図4 「NK細胞ライセンス」

「NK細胞ライセンス」とはNK細胞に特有の「missing-self 応答（自己HLAの欠如の検出）」の能力を、細胞の分化成熟の過程で獲得するプロセスとされ、NK細胞分野における新しい概念である。これまでヒトやマウスにおいて、骨髄中の造血幹細胞からNK細胞が分化する過程において、KIRやNGK2AとHLAクラスI分子の結合を「経験」した未熟NK細胞のみが「ライセンス」され、成熟後に自己HLAクラスIの発現が低下した細胞を検知する能力を持つと考えられている（上段）。よって、NK細胞サブセットが発現するKIRに対応するHLAクラスIアロタイプの遺伝子が個人のゲノム中にない場合は、「ライセンス」は起きない（中段）。同様に自己HLAクラスIに対するKIRやNGK2A等の受容体を発現しないNK細胞サブセットはライセンスされない（下段）。

ループ）認識の特異性を決定する。一方、KIRアロタイプは、(i) KIR受容体の発現レベルの違いを規定する、(ii) 抑制性シグナルの強度の違いを規定する、(iii) 「NK細胞ライセンス」の強度の違いを規定する、など受容体機能の調整に関わっている（図5）。

HLAアレルタイピングは元来は、造血幹細胞移植においてT細胞のアロ反応を防ぐべくドナーとレシピエントのHLAアレルがなるべく一致するような形でドナーの選択を可能にすることが一つの目的であった。造血幹細胞移植においてNK細胞のアロ反応を考慮したプロトコルを検討する場合に、アレルタイピングの意義は変わるものであろうか。この場合、まずはドナー・レシピエント双方のHLAアロタイプがKIRリガンドとして機能するか否かの判別が必要となる。次に、KIRリガンドとして機能するHLAアロタイプのうち、「NK細胞

トピックス：「NK細胞ライセンス」の免疫学的意義

NK細胞は、HLAクラスIを発現している自己組織に対しては反応しないよう、「HLA特異的抑制型受容体」を発現していると従来は考えられていた。NK細胞は、人体の有核細胞のほとんどが発現するHLAクラスIを介する恒常的な抑制性シグナルの影響下にあり、HLAの発現が低下するウイルス感染細胞や腫瘍に遭遇した場合にその抑制が弱くなるために細胞障害性を発揮すると考えられていた。しかし、高次元フローサイトメトリーを使用し末梢血NK細胞の「HLA特異的抑制型KIR」の発現を網羅的に調査すると、「HLA特異的抑制型受容体」のいずれもが発現しないNK細胞が末梢血中に少なからず存在することが判明した。上述の従来の「missing-self 応答」の原則にもとづくと、健康人に存在してはならないタイプのNK細胞である。なぜこのような自己反応性の危険を有するNK細胞サブセットが存在できるのであるか。これは、NK細胞の分化成熟の過程で「missing-self 応答」の能力が備わらないためであることが複数の研究チームにより発表され、この現象は「NK細胞ライセンス」（NK cell licensing）（または「NK細胞教育」（NK cell education））と命名された⁷⁻⁹⁾。実際にこれら「HLA特異的抑制型受容体」をいずれもが発現しないNK細胞の「missing-self 応答」の強度を免疫アッセイにより測定すると、一様に非常に低い水準を呈する。このメカニズムの詳細は解明途上にあるが、個々のNK細胞の分化成熟の過程において「missing-self 応答」の強度がHLAクラスIとの相互作用によりプログラムされていることが示唆される。

この仮説によれば、(a) 「HLA特異的抑制型KIR」を発現しないNK細胞、(b) 「HLA特異的抑制型KIR」を発現するがKIRリガンドが個体になく（ゲノムにKIRリガンドとして対応するHLAアレルが存在しない）2つの場合は、自己反応性を防ぐべくNK細胞の「missing-self 応答」の強度が低くプログラムされると考えられている。これまでに判明しているこの「NK細胞ライセンス」のプロセスに関わる受容体は、KIR2DL1、KIR2DL2、KIR2DL3、KIR3DL1およびNGK2A/CD94である⁹⁾。

「NK細胞ライセンス」は、免疫学的にリンパ球のあり方に関する新しい概念として重要な意味を持つ。獲得免疫系のリンパ球であるT細胞、B細胞の分化においては、「クローン選択説」のメカニズムが働く。T/B細胞受容体遺伝子の再構成等の特殊な遺伝子組み換えメカニズムにより莫大な数の細胞クローンがランダムに生産され、その結果として必然的に生じる自己反応性の細胞クローンや低機能の細胞クローンが生じる。そしてこれらのクローンは「負の選択」のプロセスによりレパトワから除去される。このような過程を経て最終的に免疫応答に有用な細胞レパトワが形成される。

自然免疫系のリンパ球であるNK細胞の場合は、獲得免疫系のこの特殊な遺伝子組み換えのメカニズムによらない方法により細胞の多様性が生み出され、かつ骨髄・胸腺・二次リンパ臓器においてT細胞・B細胞が経験する「負の選択」を経ない方法で、自己反応性を防ぐ調整が行われていることがNK細胞レパトワの解析から示唆された（文献6に詳述）。このように、NK細胞の分化成熟の過程においてもHLAに関わっていることは免疫学的に興味深い。

ライセンス」機能の強弱を考慮することとなる。ここで重要な点は、「NK細胞ライセンス」の強度は、HLAおよびKIRアロタイプ双方の組み合わせによって規定されることである（図5C）⁶⁾。つまり、各NK細胞サブセットのmissing-self 応答の強度はHLAクラスIおよびKIRアレルという遺伝子情報により予測が可能となる。よっ

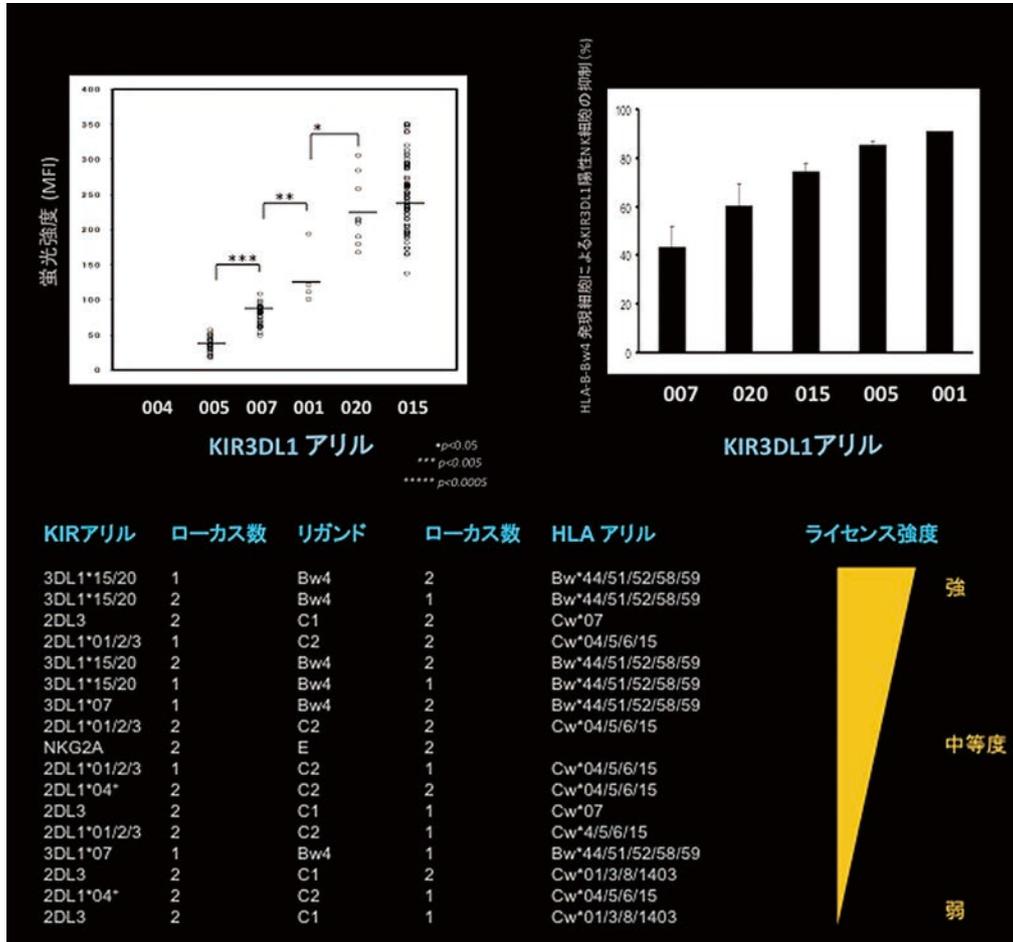


図5 KIR アロタイプと HLA アロタイプによる NK 細胞サブセットの「ライセンス」

左上：NK サブセットに発現する KIR アロタイプにより細胞表面上の KIR の発現レベルが異なることを示すフローサイトメトリー実験の結果。一例として、KIR3DL1 の5つのアロタイプごとに蛍光強度を測定し発現レベルを比較した。KIR3DL1*005 アロタイプの細胞表面レベルが最も低く、KIR3DL1*015 のNK 細胞上の発現レベルが最も高い。KIR アロタイプによる抗体の親和性の違いの影響を排除するため、この結果はエピトープの異なる3種の抗体にて追試確認した。(文献 (22) より改変)

右上：NK サブセットに発現する KIR アロタイプにより NK 細胞に対する抑制効果が異なることを示す。KIR3DL1 を例とした場合、KIR3DL1*007 アロタイプによる抑制が最も弱く、KIR3DL1*001 による抑制が最も強い。(文献 (22) より改変)

下：「NK 細胞ライセンス」の強度を KIR アレルと HLA アレル別に比較し、その強度の順に並べた。これは種々の HLA アレルを持つ58名の健康人末梢血のNK 細胞を使用した免疫アッセイにおいて、各NK 細胞サブセットの応答強度を高次元フローサイトメトリーにて測定した結果を集計解析したものである。NKG2A/CD94のみを発現するNK 細胞サブセットの「ライセンス」強度は中等度でかつ個体差がないことに比べ、KIR や HLA のアロタイプによってNK 細胞サブセットの応答強度が大きく異なることがわかる。つまり、ヒトNK 細胞は、2つの対照的なシステムにより「ライセンス」のプロセスが制御されていることになる：保存された<受容体ーリガンドシステム>としての「NKG2A-HLA-E」の系、それに比し大きなバリエーションを包含する「KIR-HLA クラスI」の系である。(文献 (6) より改変)

トピックス：「Aハプロタイプ (The A haplotype)」と「グループAハプロタイプ群 (The group A haplotypes)」

「Aハプロタイプ」について語る場合に、「グループAハプロタイプ」と称する場合がある。この表現は、「Aハプロタイプ」上の各KIRのアレルに種々の組み合わせがあることを念頭に、アレルレベルの「Aハプロタイプ」を総称している場合である。「Aハプロタイプ」上にある KIR2DL1, KIR2DL3, KIR3DL1 のアレルの違いはNK 細胞機能に大きく影響するため、アレルレベルのハプロタイプを区別することが今後重要になると考えられる。

て HLA および KIR のアリルタイプは造血幹細胞移植において有用なマーカーである。

VI. 造血幹細胞移植におけるバイオマーカーとして臨床応用されている KIR 遺伝子・KIR ハプロタイプ

1. 「抑制型 KIR」の機能を応用した造血幹細胞移植へのアプローチ

2002 年に A. Velardi らがドナーの KIR に対するリガンドをレシピエントが持たないよう、意図的に HLA を部分的にミスマッチさせた骨髄移植を 92 名の AML, ALL 患者に施行した治験結果を発表した¹⁰⁾。これは、従来のなるべく HLA をマッチさせる造血幹細胞移植のプロトコールとは大きく異なる試みであった。驚くべきことに、移植片の拒絶や GVHD の発生は皆無、AML 患者の 5 年以内の再発も皆無であった。彼らは、マウスを使った「MHC 抑制型受容体」（マウスの場合は Ly49 受容体群）のリガンドミスマッチの動物モデルにて同様の造血幹細胞移植を行い、この効果が NK 細胞を主体とするものであることを示した。現在の知見から解釈すると、この効果は「ライセンスされた」NK 細胞によるものであったと考えることができ、「MHC 特異的抑制型 NK 細胞受容体」を介するアロ反応を応用したアプローチである。その後、本アプローチの効果を追試した臨床治験が多く行われた¹¹⁻¹⁴⁾。この「NK 細胞ライセンス」の効用は、KIR ジェノタイプおよび HLA タイピング双方の情報を

組み合わせることで最も正確に導くことが可能であること、さらにこのアプローチが成功する為には、KIR リガンドの意図的なミスマッチが T 細胞のアロ反応に起因する GVHD を惹起しないよう徹底した T 細胞除去が必要である事が報告された¹⁵⁾。我が国では、KIR2DL1, KIR2DL3, KIR3DL1 の「NK 細胞ライセンス」に関わる受容体をコードする KIR 遺伝子が揃った「A ハプロタイプ」の頻度が非常に高いため、本邦における造血幹細胞移植では重要なアプローチである。

2. 「活性型 KIR」の機能を応用した造血幹細胞移植へのアプローチ

2009 年に S. Cooley らの移植チームが、活性型 KIR 遺伝子が多い「B ハプロタイプ」を持つドナーを選択することで、移植後の白血病再発率が約 15% 低下することを発表し、この所見は J. Venstrom らの追試により確認された^{16,17)}。一方で慢性 GVHD の発症率はむしろ高いとの結果も提示された。

その後、複雑かつ臨床例において判定が時に不明瞭となる「A/B ハプロタイプ」分類の代替案として「B コンテントスコア」(B content score)が提案された¹⁸⁾。これは、「A ハプロタイプ」に存在しないセントロメア側、テロメア側のハプロタイプブロックの数を KIR ジェノタイプから推定し数値化するものである (0-4 の間の数値)。例えば、図 2 の Cent2, Cent3, Tel2 等のブロックがジェノタイプにあると判断されればそれぞれ点数が加算され



図 6 アリルレベル KIR ハプロタイプの莫大な多様性

KIR 遺伝子座ごとのアリル数（アミノ酸変異を伴う遺伝子多型のみ考慮）をハプロタイプ上の位置に合わせて表示した。最も遺伝子座の少ない「A ハプロタイプ」の場合でも 10^{11} 通りのアリルの組み合わせがあり得る。遺伝子座の数の多い「B ハプロタイプ」の場合、下段に表示したハプロタイプの例では 10^{15} 通りのアリルの組み合わせが可能となる。これらアリルレベル KIR ハプロタイプがすべて存在するものであるかという点については大規模調査による検証が必要である。過去の調査において、131 名の健常日本人集団においては、少なくとも 24 種のアリルレベルの「A ハプロタイプ」が見いだされたことを鑑み、世界規模においてアリルレベル KIR ハプロタイプはやはり非常に多様であることが推定される。（文献 22）

る。より高い「B コンテントスコア」が移植成績と相関するか否かの点については、世界の移植グループにて検証中である¹⁹⁾。

3. 「抑制型 KIR」の効果 vs. 「活性型 KIR」の効果

上記の如く「抑制型 KIR」「活性型 KIR」のそれぞれの効果に注目した2つのアプローチがこれまでに提唱された。ここで、造血幹細胞移植においてはどちらに重点を置くべきかという疑問が生じる。この疑問については、S. Cooley らが臨床治験にて答えを見出している¹⁶⁾。造血幹細胞移植の症例解析から、ドナー・レシピエント間に KIR リガンドミスマッチがある設定において、ドナーが「B ハプロタイプ」を「少なくとも一つ持つ患者群」と「持たない患者群」に分け、再発率を比較したところ有意な差がなかった事が判明した。つまり、白血病の再発に対しては「抑制型 KIR」による「NK 細胞ライセンス」の効果が圧倒的に強いため、再発率に実質的に差がなくなったと解釈できる。

4. 造血幹細胞移植における HLA-C「C2」ホモ接合の問題

J. Venstrom らが 2012 年に発表した 1233 症例の臨床治験にて、グループ 2 HLA-C「C2」をホモ接合の形態でドナー（またはレシピエント）が持つと有意に再発率が高くなることを発表した²⁰⁾。本調査では、「C2」ホモ接合型によるこのマイナス効果は、活性型 KIR に起因する再発率低減効果を上回ることも示された。

5. 臨床治験の結果を踏まえた造血幹細胞移植ドナー選択のプロセス

これら多くの臨床治験の結果から、KIR ジェノタイプおよび HLA アリルタイプの組み合わせをバイオマーカーとして造血幹細胞移植の設計を行う場合のプロセスが図 7 の如く確立されつつある（優先度の順に表記）。この手順は今後、造血幹細胞移植における標準プロトコールとして定着すると考えられる。

VII. KIR タイピングを施行するにあたっての留意点

1. KIR ジェノタイプ（KIR 遺伝子座の有無）

これまでにジェノミック DNA サンプルにおいて 15 の KIR 遺伝子の有無を判定する複数の方法が発表され、造血幹細胞移植に应用されている。また、KIR ジェノタイプのキットも販売され、KIR ジェノタイプを行う受注サービスも提供されている。

KIR ジェノタイプの方法は、技術的には PCR 法を使用するものが多い。PCR に用いるプライマー配列は、KIR 遺伝子の配列情報が豊富なコーカソイド人類集団の情報を基本としていたが、世界人類集団の KIR 遺伝子配列情報が蓄積されるに伴い更新されている。現在では、日本人集団における KIR ジェノタイプは安定した PCR 反応を期待できる。しかし、医療ツーリズムの拡大に伴い KIR 情報の不足する人類集団から来日する患者を対象にした造血幹細胞移植を扱う場合は、タイピング反応の信頼性に注意が必要となる。

血液幹細胞移植におけるドナー選択の基準の優先順位

1. グループ 2 HLA-C アロタイプ（「C2」）をホモ接合で持つドナーを可能な限り避ける。
2. レシピエントに、ドナー NK の KIR に対するリガンドが欠如する (Missing-ligand) ようにドナーを選ぶ。
<抑制型 KIR の機能を重視したドナー選択>
3. 「B ハプロタイプ」を持つドナーを選ぶ。
<活性型 KIR の機能を重視したドナー選択>

図 7

HLA 遺伝子の場合、多型の大多数がエクソン 2-3 領域に集中する独特の分布を示す。これに対し、KIR の多型は約 15 kb の各遺伝子座全長に分散していることは、KIR タイピングを難しくする点の一つである。この結果、KIR タイピングのプロトコールによっては、PCR 産物が 1.5 kb 以上となることから PCR 反応の再現性に問題が生じることがある。このようなプロトコールを使用する場合は、高品質のジェノミック DNA を用意することが重要となる。この問題点を克服する為に「ショート PCR KIR ジェノタイプ法」が C. Vilches らによって考案され、DNA の品質による PCR 結果のばらつきが大幅に改善された²¹⁾。

KIR 遺伝子群は人類進化上、度重なる遺伝子重複によって作り出されたと考えられている。その結果、各遺伝子座間の配列の相同性が非常に高い。PCR ベースの KIR タイピングの難しさは、非常に似た配列のターゲットがゲノム中に複数ある中で「遺伝子座を特徴づける多型」と「アレル性の多型」をフォワード・リバースのプライマーの組み合わせの中で的確に見分けなければならぬ点にも起因する。KIR ジェノタイプを造血幹細胞移植に適用する場合は、サンプル処理及び PCR のテクニックに十分に習熟する必要がある。

次世代シーケンス法が普及するにつれ、シーケンス情報を基にした KIR ジェノタイプが臨床水準にて実用化されるものと考えられる。このアプローチは従来の PCR ベースの方法に比べてメリットが多い。新規アレルであっても遺伝子座の同定が可能であること、新規アレルの配列情報が得られること、アレルのヘテロ・ホモ接合型の違いが判別できること、などの点が挙げられる。

2. KIR アレルタイピング

KIR アレルのタイピングを網羅的に行う PCR ベースのプロトコールは限られている。日本人における主要な KIR アレル (アレル頻度 5% 以上) を検出する PCR 法は発表されているが²²⁾、上述の如く相同性の高い KIR 遺伝子の多型と KIR 遺伝子座を同時に PCR 法にて同定することは技術的に高度なテクニックを要する。

次世代シーケンス法を用いた KIR アレルのシーケンスベースタイピングの方法が開発されつつあり、この方法が今後の KIR アレルタイピングの標準となると考えられる。次世代シーケンス法を用いた KIR タイピン

グの臨床適用にはいわゆる「フェージング」の問題等が残るが、解析アルゴリズムの進歩とともに解決されるものと思われる。

VIII. 結語

我が国の人口は、世界の人類集団の中にあって「A ハプロタイプ」の頻度が非常に高いという特徴がある²³⁾。「HLA 特異的抑制型 KIR」の抑制シグナルや「NK 細胞ライセンス」の免疫学的機構を調査し応用を考案するにあたり、本邦は実は世界で最も適している環境であると考えられる。免疫学的な機序が解明されるにつれ、その結果が造血幹細胞移植のみならず感染症への応答、腫瘍免疫、再生医学的手法による移植免疫、など臨床面のバイオマーカーや新たな NK 細胞を使用した免疫細胞療法に結びつくと考えられる。NK 細胞制御を軸とした HLA の「第二の機能」を本格的に考慮し、応用する時代に入ったと言える。

引用文献

- 1) Vilches C, Parham P: KIR: diverse, rapidly evolving receptors of innate and adaptive immunity. *Annu Rev Immunol* (20): 217-251, 2002.
- 2) Parham P: MHC class I molecules and KIRs in human history, health and survival. *Nat Rev Immunol* (3): 201-214, 2005.
- 3) Yawata M, Yawata N, Abi-Rached L, et al.: Variation within the human killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) gene family. *Crit Rev Immunol* (22): 463-482, 2002.
- 4) Hsu KC, Chida S, Geraghty DE, et al.: The killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) genomic region: gene-order, haplotypes and allelic polymorphism. *Immunol Rev* (190): 40-52, 2002.
- 5) Gómez-Lozano N, Gardiner CM, Parham P, et al.: Some human KIR haplotypes contain two KIR2DL5 genes: KIR2DL5A and KIR2DL5B. *Immunogenet* 54(5): 314-319, 2002.
- 6) Yawata M, Yawata N, Draghi M, et al.: MHC class I-specific inhibitory receptors and their ligands structure diverse human NK cell repertoires toward a balance of missing-self response. *Blood* (112): 2369-2380, 2008.
- 7) Fernandez NC, Treiner E, Vance RE, et al.: A subset of natural killer cells achieves self-tolerance without expressing inhibitory receptors specific for self-MHC molecules. *Blood* 105(11): 4416-4423, 2005.
- 8) Kim S, Poursine-Laurent J, Truscott SM, et al.: Licensing of natural killer cells by host major histocompatibility complex class I molecules. *Nature* 436(7051): 709-713, 2005.
- 9) Anfossi N, André P, Guia S, et al.: Human NK cell education by

- inhibitory receptors for MHC class I. *Immunity* 25(2): 331–342, 2006.
- 10) Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, *et al.*: Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* 295(5562): 2097–2100, 2002.
 - 11) Hsu KC, Keever-Taylor CA, Wilton A, *et al.*: Improved outcome in HLA-identical sibling hematopoietic stem-cell transplantation for acute myelogenous leukemia predicted by KIR and HLA genotypes. *Blood* 105(12): 4878–4884, 2005.
 - 12) Leung W, Iyengar R, Turner V, *et al.*: Determinants of antileukemia effects of allogeneic NK cells. *J Immunol* 172(1): 644–650, 2004.
 - 13) Hsu KC, Gooley T, Malkki M, *et al.* and International Histocompatibility Working Group: KIR ligands and prediction of relapse after unrelated donor hematopoietic cell transplantation for hematologic malignancy. *Biol Blood Marrow Transplant* 12(8): 828–836, 2006.
 - 14) Farag SS, Bacigalupo A, Eapen M, *et al.* and KIR Study Group, Center for International Blood and Marrow Transplantation Research: The effect of KIR ligand incompatibility on the outcome of unrelated donor transplantation: a report from the center for international blood and marrow transplant research, the European blood and marrow transplant registry, and the Dutch registry. *Biol Blood Marrow Transplant* 12(8): 876–884, 2006.
 - 15) Yabe T, Matsuo K, Hirayasu K, *et al.* and the Japan Marrow Donor Program: Donor killer immunoglobulin-like receptor (KIR) genotype-patient cognate KIR ligand combination and antithymocyte globulin preadministration are critical factors in outcome of HLA-C-KIR ligand-mismatched T cell-replete unrelated bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 14(1): 75–87, 2008.
 - 16) Cooley S, Trachtenberg E, Bergemann TL, *et al.*: Donors with group B KIR haplotypes improve relapse-free survival after unrelated hematopoietic cell transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood* 113(3): 726–732, 2009.
 - 17) Venstrom JM, Gooley TA, Spellman S, *et al.*: Donor activating KIR3DS1 is associated with decreased acute GVHD in unrelated allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 115(15): 3162–3165, 2010.
 - 18) Cooley S, Weisdorf DJ, Guethlein LA, *et al.*: Donor selection for natural killer cell receptor genes leads to superior survival after unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *Blood* 116(14): 2411–2419, 2010.
 - 19) Cooley S, Weisdorf DJ, Guethlein LA, *et al.*: Donor killer cell Ig-like receptor B haplotypes, recipient HLA-C1, and HLA-C mismatch enhance the clinical benefit of unrelated transplantation for acute myelogenous leukemia. *J Immunol* 192(10): 4592–4600, 2014.
 - 20) Venstrom JM, Pittari G, Gooley TA, *et al.*: HLA-C-dependent prevention of leukemia relapse by donor activating KIR2DS1. *N Engl J Med* 367(9): 805–816, 2012.
 - 21) Vilches C, Castaño J, Gómez-Lozano N, *et al.*: Facilitation of KIR genotyping by a PCR-SSP method that amplifies short DNA fragments. *Tissue Antigens* 70(5): 415–422, 2007.
 - 22) Yawata M, Yawata N, Draghi M, *et al.*: Roles for HLA and KIR polymorphisms in natural killer cell repertoire selection and modulation of effector function. *J Exp Med* 203(3): 633–645, 2006.
 - 23) Yawata M, Yawata N, McQueen KL, *et al.*: Predominance of group A KIR haplotypes in Japanese associated with diverse NK cell repertoires of KIR expression. *Immunogenet* 54(8): 543–550, 2002.

The HLA and KIR systems—Basic mechanisms and clinical applications

Makoto Yawata¹⁾

¹⁾Assistant Professor, Department of Pediatrics, School of Medicine, National University of Singapore

Human natural killer cells (NK cells) express multiple receptors that enable these lymphocytes of innate immunity to recognize the presence of various HLA class I molecules on target cells. An important family of these receptor types is the Killer cell Immunoglobulin-like Receptors (KIRs) that encompasses vast diversity in the human populations. KIR variation results in large differences in NK cell phenotypes and function, therefore encoding personalized diversity in NK cell responses. *KIR* genetics have become integrated worldwide in the regimens for hematopoietic stem cell transplantation, where *KIR* genotypes are utilized as biomarkers to guide donor selection and transplant design. Genetic diversity of the KIR system is two-tiered: variation in gene content, and allelic polymorphisms at *KIR* loci. Another level of diversity in the KIR system is generated by differences in protein expression, where variegated expression of the receptors generates a wide array of NK cell subsets within the lymphocyte population of a human individual. The repertoire of NK cell subsets that differ in function is an important factor contributing to individual differences in the innate immune response, such as those against virus infection, in tumor immunosurveillance, and in hematopoietic stem cell transplantation. In this article, we will look into the mechanisms of genetic diversification in the KIR system, KIR expression and their roles in NK cell regulation, as well as the current aspects by which the KIR and HLA systems are implemented as effective biomarkers impacting clinical medicine, with a focus on hematopoietic stem cell transplantation.

Key Words: human leukocyte antigen (HLA), killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR), natural killer (NK) cell, hematopoietic stem cell transplantation (HSCT), NK cell repertoire

肝臓移植における抗ドナー HLA 抗体の臨床的意義について

吉澤 淳¹⁾

¹⁾ 京都大学大学院医学研究科外科学講座肝胆膵・移植外科分野

肝臓移植における抗ドナー HLA 抗体 (DSA) の臨床的意義は未だ議論中であるが、近年、DSA の測定法の進歩により明らかになりつつある。今回、周術期における DSA の臨床的意義と術後遠隔における DSA の臨床的意義について述べる。周術期における DSA の臨床的意義については、DSA によって引き起こされる急性抗体関連型拒絶反応 (aAMR) と細胞性拒絶反応のリスクの増大である。以前の京都大学での経験では DSA 陽性症例は有意に予後不良であった。DSA 陽性症例に対して、ドナーの変更やリツキシマブによる術前脱感作療法を行うことで、予後は DSA 陰性症例と同等になってきた。しかし、術後の急性拒絶反応の頻度は高い傾向があるので、術後の拒絶反応に留意した術後管理が必要である。術後遠隔期における DSA の臨床的意義については DSA と移植肝線維化の相関が強いことである。現時点では DSA 陽性とグラフト生着率の差は認めないが、さらなる経過観察が必要である。DSA が肝線維化を引き起こしている原因であるのか、DSA は免疫応答の状態を反映している指標であるのかについては今後の検討が必要である。

キーワード：肝臓移植、抗 HLA 抗体、抗体関連型拒絶反応、肝線維化

1. はじめに

移植医療において、拒絶反応の制御は非常に重要である。拒絶反応は他人から移植された臓器を非自己と認識し、排除しようとする免疫反応である。その免疫反応は主に T 細胞が主体である細胞性免疫と B 細胞が主体である液性免疫、いわゆる獲得免疫によって引き起こされ、相互作用をしながら活性化される。このとき、主に自己と非自己を識別するのがレシピエントとドナー由来の HLA の違いである。

固形臓器移植においては、細胞性免疫によって引き起こされる急性細胞性拒絶反応の制御を中心に移植免疫が論じられ、そして、免疫抑制療法が開発されてきた。一方、液性免疫によって生じる抗ドナー HLA 抗体 (DSA) が超急性拒絶反応のリスクと認識され、また、長期グラフト機能障害の原因の一因であるとされていたが、近年、抗 HLA 抗体の検出方法の進歩によりその重要性が更に

注目されている。

今回、肝臓移植と抗ドナー HLA 抗体の臨床的意義について述べるが、そもそも、肝臓はいわゆる“immune privileged organ”と言われており、DSA が肝臓移植の予後にどのような影響を与えるか？については多くの議論がなされている。つまり、移植肝は DSA によって引き起こされる抗体関連型拒絶反応 (Antibody-mediated rejection: AMR) がおこりにくいとされている。例えば、肝腎同時移植においては移植肝が DSA を吸着することにより、腎臓単独移植よりも成績がよいとの報告がある。肝臓が DSA による拒絶反応によって機能不全に至りにくいメカニズムについてはさまざまに述べられている。実際に、既存抗体を有する症例であっても肝臓移植後に AMR を起こすことなく順調な経過をたどる症例も多く、既存抗体陽性が予後に影響を与えないとする報告もされている。現在、脳死肝臓移植におけるレシピエントの選定にクロスマッチテストの結果は考慮されておらず、既存

受付日：2017 年 7 月 12 日、受理日：2017 年 7 月 12 日

代表者連絡先：吉澤 淳 〒 606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54 京都大学医学部附属病院 肝胆膵・移植外科
TEL: 075-751-4328 E-mail: ayoshi14@kuhp.kyoto-u.ac.jp

DSA 陽性であっても禁忌とされていない。

近年、抗ドナー抗体の検査方法の進歩が著しく、DSA の検出が高精度に行えるようになってきた。直接リンパ球交叉試験や、フローサイトメトリッククロスマッチテストに加え、精製 HLA 抗原をマイクロビーズに固相化してビーズに反応する抗ドナー抗体を測定する方法が開発された。この方法では、ドナー細胞が不要であるので、後方視的に解析できるようになった。この技術の進歩により、DSA の肝臓移植における影響についての論文が多く報告されその影響が明らかになってきた。

2. 肝臓移植における抗体関連型拒絶反応

肝臓移植は比較的、抗体関連型拒絶反応 (AMR) が起こりにくいと前述したが、血液型不適合ドナーからの肝臓移植では血液型抗体によって AMR が引き起こされ、AMR を生じた症例の予後は不良である。AMR は血管内皮細胞に発現している抗原に抗体が付着することから発生する。抗原抗体反応に続き、補体の活性化がおり、その結果血管内皮障害が起り、血小板凝集反応と血栓が生じる。いわゆる、局所的な播種性血管内凝固症候群 (DIC) が生じる。引き続き、活性化した補体反応により、自然免疫 (好中球、マクロファージ、NK 細胞) が活性化し、さらに獲得免疫 (T 細胞、B 細胞) が活性化される。

最近では Rituximab をはじめとする周術期の脱感作療法により、血液型不適合肝臓移植の成績は向上している。その一方で DSA によって引き起こされる AMR については、その頻度や予後について不明な点が多い。そもそも DSA の診断が難しいことがその原因として考えられる。つまり、これまで AMR の診断基準は確立しておらず、仮に AMR が発症していても、その診断に至らない症例は存在していた可能性がある。術後早期にグラフト肝不全に至った症例の危険因子は術前 DSA 陽性であるとの報告がされている。AMR の診断基準については 2016 年の Banff Working Group からのレポートが発表された。その診断基準では、急性抗体関連型拒絶反応 (acute AMR: aAMR) は 1) 病理学的所見 2) 血清学的に DSA の証明 3) C4d 染色 4) 他の病因の除外診断によって診断される¹⁾。つまり、現在、aAMR は、それを疑って、DSA の検査、C4d の組織免疫化学染色検査を行わないと診断に至らないのが現状である。その観点から、今後、術前、術後の抗 HLA 抗体の評価は重要である。

肝臓移植における DSA の臨床的意義を考えると、術前既存 DSA および術後早期に生じた de novo DSA が周術期にグラフト肝に与える影響、いわゆる急性抗体関連型拒絶反応 (acute AMR: aAMR) と、術後に生じる de novo DSA が慢性期に移植肝に与える影響、つまり、慢

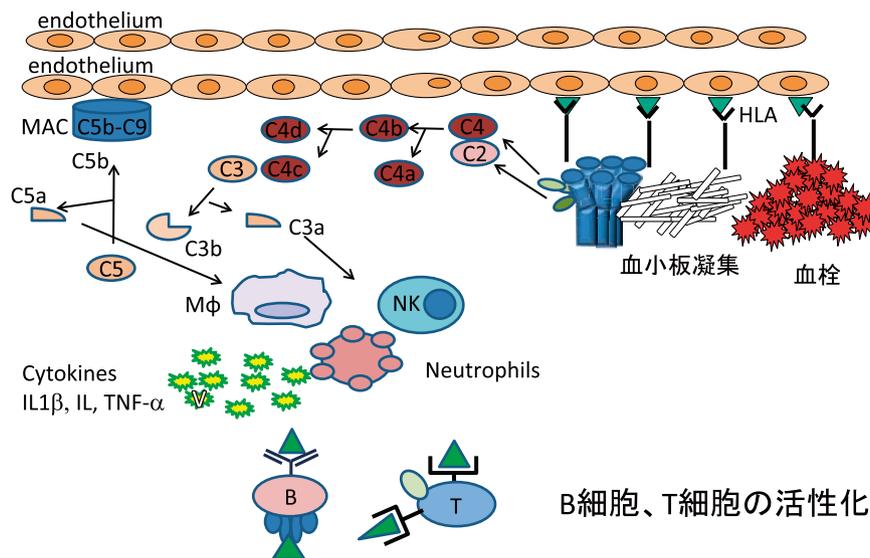


図 1 臓器移植における抗体関連型拒絶反応の病態図

血管内皮細胞に発現した抗原に対して抗体反応が起り、抗原抗体反応に引き続き補体カスケード反応が生じる。その結果、血管内皮障害が生じて血小板凝集と血栓が起り、血流障害が発生する。さらに活性化した補体反応により、自然免疫が活性化し、様々な炎症性サイトカインが分泌される。その後、獲得免疫であるリンパ球が活性化して拒絶反応が引き起こされる。

性抗体関連型拒絶反応 (chronic AMR: cAMR) について考慮しなければならない。今回、既存 DSA の周術期のグラフト肝に与える影響と、術後慢性期に発生した de novo DSA の慢性期のグラフト肝に与える影響について述べる。

3. 周術期における DSA の臨床的意義：急性抗体関連型拒絶反応

肝移植において既存 DSA 陽性、いわゆる術前クロスマッチテスト陽性は予後に影響を与えないという報告が存在しているが、近年の DSA 測定方法の改善もあり、既存 DSA の存在は aAMR の危険因子であり、予後不良因子であることが、明らかになってきた。同時に、既存 DSA は術後早期の拒絶反応の危険因子である。血小板減少を伴いながら、微小血管障害を伴いながら急速にグラフト肝不全に陥る aAMR の症例を我々は経験したが、aAMR の診断が難しいこともあり、aAMR の正確な発生頻度は不明である。

血液型不適合肝移植の経験から、aAMR の治療としては、免疫抑制療法の強化、免疫グロブリン大量投与、血

漿交換における抗ドナー HLA 抗体の臨床的意義について

漿交換が有効であると考えられる。aAMR を早期に診断し、重症化する前に治療を行うことが重要である。しかし、重症な aAMR はこれらの治療が奏功せず、短期にグラフト肝不全に至る症例があるため、同時に予防が重要である。予防としては、第一にドナー選択である。現在は Luminex 法を用いれば、DSA が反応する HLA が同定されているため、実際にリンパ球クロスマッチテストを行わなくても、ドナー HLA 型 typing と抗 HLA 抗体を調べることで既存 DSA は推定される。可能であれば、DSA 陽性ドナーを避けるのが安全である。

現在、脳死肝移植の施行が少ない本邦の現状から、DSA 陽性ドナーを忌避することは難しい。また、近親者ドナーから臓器提供を受ける生体部分肝移植である場合、ドナー候補者が複数いても、共通の HLA を有していることが多く、さらに、成人女性であれば、ドナー候補の HLA に妊娠を通じて感作をうけていることが多い。そのため、DSA 陽性ドナーからの肝移植をせざるを得ない症例は存在する。その時は、ABO 血液型不適合移植に準じて、リツキシマブの投与、血漿交換などの術前

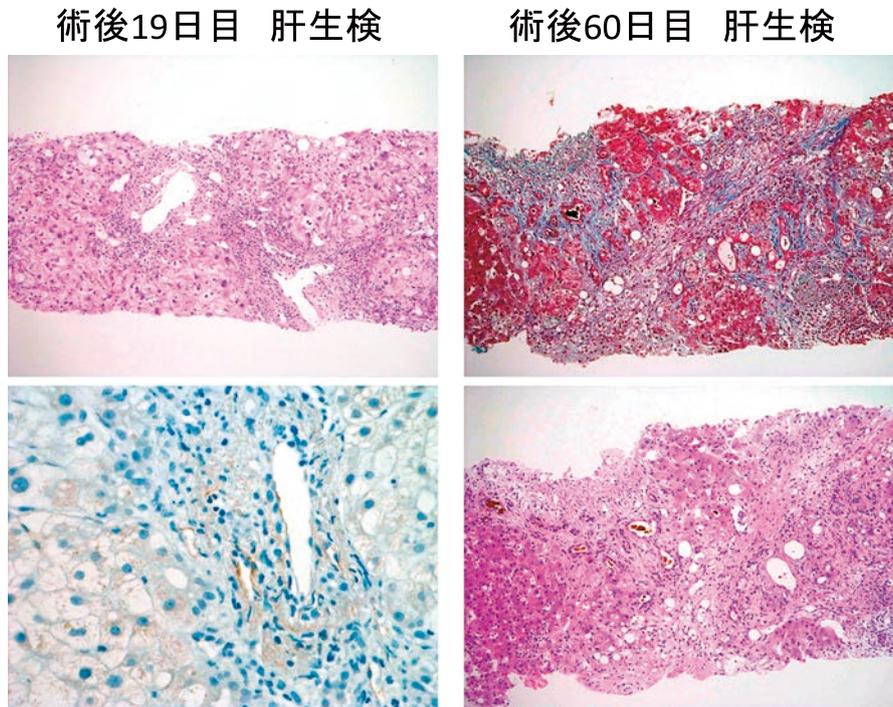


図2 aAMR から肝不全へと進行した症例

1歳女児、胆道閉鎖症に対する肝移植症例。術後早期に DSA 陽性となり抗体関連型拒絶反応と診断した。門脈域、中心静脈域が好中球、好酸球など様々な細胞浸潤を認め、出血壊死の所見を認めた。免疫染色で血管内皮に C4d 染色陽性であった。その後、肝線維化が進行し、グラフト肝不全に至った。

脱感作療法が必要である。抗 HLA 抗体による aAMR を確実に予防できるかどうかは、まだ不明であるので、aAMR に注意して周術期管理を行い、症例を重ねていく必要がある。

京都大学では術前クロスマッチテスト陽性の症例では、クロスマッチテスト陰性患者よりも優位に生存率が低く、成人女性が特に危険因子であると報告している²⁾。また、術前クロスマッチテスト陽性は肝移植後在院死の有意な危険因子であることを報告している。2001 年から 2008 年までの当院で行った ABO 血液型一致または適応のドナーからの肝移植症例のうち、術前クロスマッチテスト陽性 (CDC 法、または、AHG-CDC 法で陽性) であった 18 例について、後方視的に Luminex 法を用いて DSA の測定を行った。CDC、AHG-CDC 陽性症例のうち Luminex 法による DSA の蛍光強度 (Mean fluorescence intensity: MFI) が 10,000 以上の高値の症例では予後が有意に不良であった。(11 例中 7 例死亡) さらに、術前、DSA 陽性の症例の術後の肝生検では c4d 染色が陽性であり、当時は aAMR の診断はされていなかったが、aAMR の関与が示唆される結果であった³⁾。その後我々は、CDC 法、FCXM 法を示した症例が、術後早期にグ

ラフト肝不全に至る aAMR を発症した症例を経験した⁴⁾。術後に急激な aAMR が発症すると、有効な治療がなく、予後不良である。これらの経験から、現在、京都大学では、術前に CDC 法 (AHG-CDC 法)、FCXM 法、Luminex 法により、既存 DSA の有無について検査を行っている。DSA 陽性症例に対する対策は図 3 の通りである。つまり、CDC 法、AHG-CDC 法が陽性、かつ Luminex 法で DSA が強陽性に検出された症例は aAMR の高危険群として、可能であれば、ドナー変更を行い、DSA 陰性のドナー候補がない症例ではリツキシマブを術前に投与している。CDC 陰性、FCXM 陽性、Luminex 法で DSA 陽性の症例では症例によってリツキシマブの投与を行っている。DSA 陽性症例では、術後も定期的に DSA の測定を Luminex 法で行い、aAMR の早期診断と治療に努めている (図 4)。

2010 年から 2014 年に当院で行った肝移植症例 289 症例について検討を行った。CDC 法または AHG-CDC 法陽性で Luminex 法で DSA の MFI が高かった症例は 10 例あり、6 例はドナーを変更し、4 例はリツキシマブを術前に投与を行って肝移植を行った。FCXM 法陽性で、Luminex 法による DSA の MFI が高値であった 2 症例は

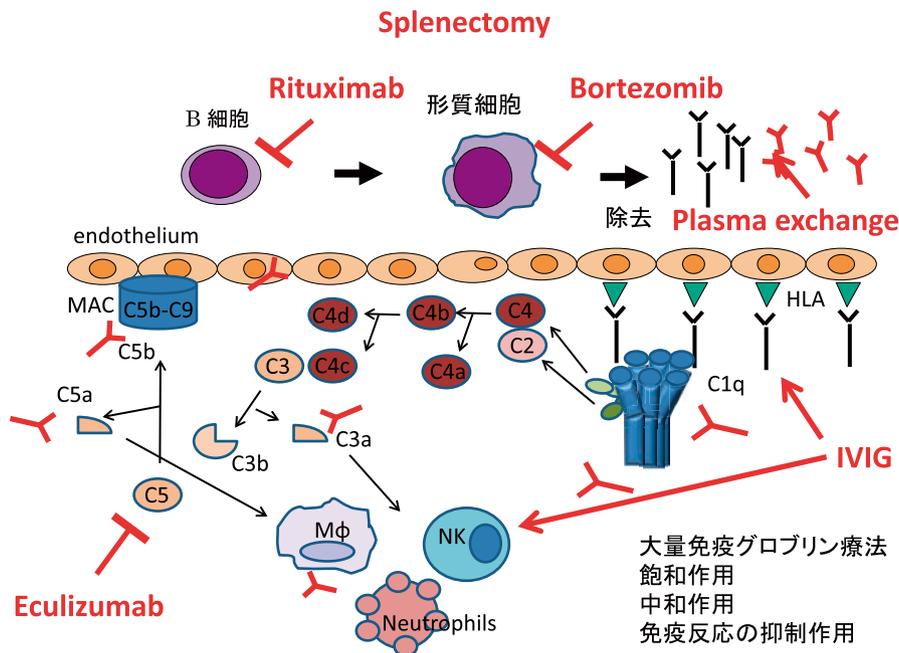


図 3 急性抗体関連型拒絶反応に対する脱感作療法と治療

抗体除去として血漿交換、B 細胞の抑制に Rituximab、形質細胞の抑制に Bortezomib、その両方を狙って脾摘術も考慮される。また、大量免疫グロブリン療法は抗体の飽和作用による病因抗体の減量、補体や抗体結合物の中和作用、抗体のもつ免疫抑制作用を期待して投与される。今後、補体活性の抑制に Eculizumab の使用も考慮される。

術前に、リツキシマブの投与をおこなった。ABO 血液型不適合肝移植症例については術前にリツキシマブを投与し、血漿交換を行い、血液型抗体価が減少したのを確認して肝移植を行っている。術後の成績は、DSA 陽性で移植を行った 20 例のうち、aAMR と診断した症例は 5 例存在したが、いずれもステロイドパルス療法と IVIG で改善している。この期間に、グラフト不全を引き起こす aAMR は経験しなかった。DSA に対してドナー

変更や術前脱感作療法、術後のモニタリングの強化を行うことによって、DSA 陽性症例に対する患者生存率は改善し、DSA 陽性症例と DSA 陰性症例のあいだに生存率に有意差を認めなくなった (図 5)。急性拒絶反応については DSA 陰性症例では 27.0% に対して DSA 陽性症例は 43.8% と高い傾向であった ($p=0.238$)。

術前に既存 DSA の有無を調べることで、術後の aAMR のリスクコントロールを行い、aAMR が発生して

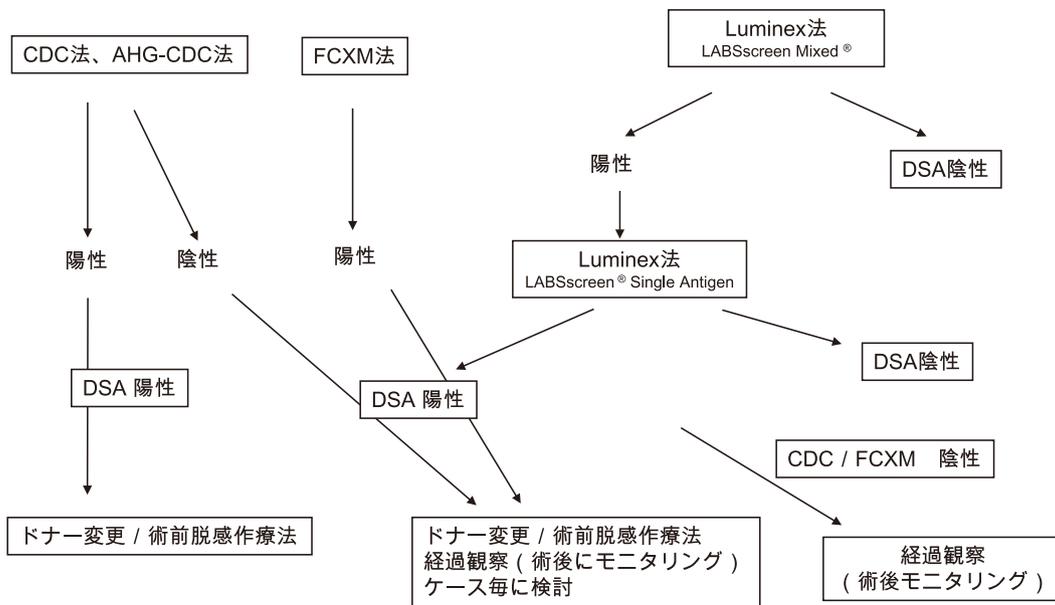


図 4 抗ドナー HLA 抗体検査と対策

CDC (直接リンパ球交叉試験) または AHG-CDC (間接リンパ球交叉試験) が陽性の症例についてはドナー変更の検討を行い、不可能な時は術前脱感作療法を行った。また FCXM (フローサイトメトリッククロスマッチ試験) 陽性、DSA 陽性症例については、MFI (蛍光強度) を参考にドナー変更の検討、術前脱感作療法、経過観察のみとした。CDC、FCXM 陰性で Luminex 法のみで DSA が陽性であった症例は経過観察のみとした。

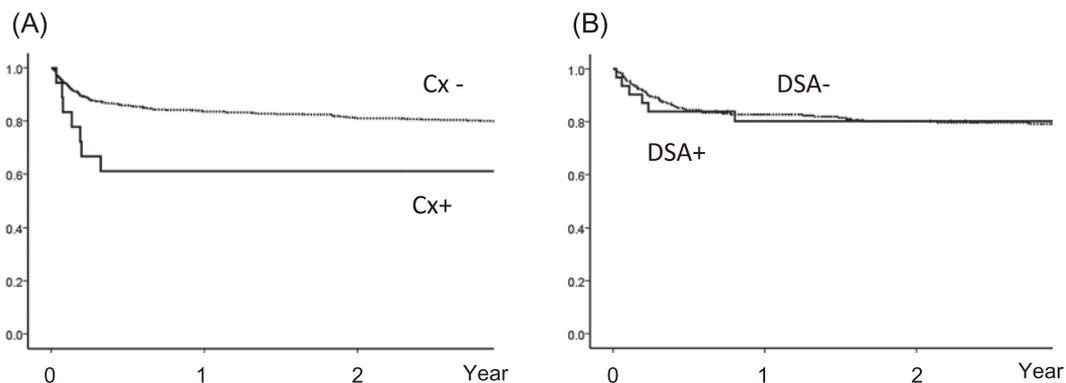


図 5 DSA に対する対策を行う前後の治療成績 (患者生存率)

(A) 2001 ~ 2008 年間の肝移植の生存率 : DSA は CDC, AHG-CDC で評価を行い、この期間は、DSA 陽性症例に対して特別な対策は講じなかった。DSA 陰性症例は 638 例、DSA 陽性症例は 18 例であり、生存率に有意差を認めた ($p=0.047$)。 (B) 2009 年 ~ 2014 年間の肝移植の生存率 : DSA は Luminex 法により測定した。DSA 陽性症例は図 3 に従って対策を行った。DSA 陰性症例は 284 例、DSA 陽性症例は 31 例であった。両群に生存率に有意差を認めなかった ($p=0.871$)。

も早期に診断, 治療することが重要であると考えている。また, 既存 DSA は術後の細胞性拒絶反応のリスク因子ともなりうるので術後免疫抑制療法の調整にも重要な情報となる。このことから, 術前に既存 DSA を測定し対策をとることが重要な臨床的意義のあることである。

4. 術後長期経過後の DSA の臨床的意義：慢性抗体関連型拒絶反応

肝移植後経過にある一定の確率であらたに DSA が出現する。このいわゆる *De novo* DSA の臨床的意義について述べる。*De novo* DSA 陽性が術後, 予後不良因子であるとの報告や, *de novo* DSA と慢性拒絶反応に相関があるとする報告がある。しかし, *de novo* DSA がグラフト肝に与える影響については不明な点が多い。*De novo* DSA の存在とグラフト肝障害は必ずしも関連しないからである。Banff Working Group から, cAMR の診断基準として, (1) 病理所見 ((a) 門脈領域および中心静脈領域の単核球による炎症所見, (b) 中等度以上の肝線維化), (2) DSA 陽性, (3) c4d 染色陽性, (4) ほかの原因の除外, としている¹⁾。我々は, 術後 *de novo* DSA が発生して中心静脈を中心としてリンパ球浸潤と高度な線維化があり, C4d 染色が陽性となった典型的な cAMR の症例を経験している (図 6)。

京都大学では, 小児肝移植症例に対して, 術後免疫抑制剤を可能な限り減量している。小児肝移植後, 長期経過症例に対して定期的な肝生検をおこなったところ, 拒絶反応は伴わないが, 中心静脈領域を中心に線維化を認

めた^{5,6)}。術後, 5 年以上経過した症例 341 例を対象に DSA の測定と肝生検の評価を行った。対象症例は, 術前のクロスマッチテストが陰性であることから *De novo* DSA 出現症例であると考えられる。全体の 44.3% に *de novo* DSA が検出され, そのほとんどが HLA Class II に対する抗体であった。*De novo* DSA 陽性と線維化の進行は有意に相関しており, 架橋を伴う線維化は DSA 陽性症例の 41.7% に認め, DSA 陰性症例では 22.4% であった。軽度の拒絶反応の所見が DSA 陽性症例の 47% に認められた。一方, DSA 陰性症例では 14% であった ($p=0.004$)。*De novo* DSA と肝生検における C4d 染色について, 有意に相関を認めた。このことから, 小児肝移植症例の肝線維化の進行は cAMR の関与が強く示唆された。一方, 成人症例について, DSA の存在と肝生検所見について検討を行った。術後 3 年以上経過し, 肝生検と DSA の測定を行った 167 例について検討を行った。成人症例は小児症例と異なり, 免疫抑制剤の減量は行っていない。対象症例で DSA 陽性症例は 16.2% と小児症例に比べ有意に少なかった。肝生検所見では, 肝線維化については門脈領域の線維化の進行は DSA 陽性の有無にかかわらず, 有意差を認めなかったが, 中心静脈領域の架橋を伴う線維化は DSA 陽性症例が 50% に認めたのに対し, DSA 陰性症例では 3.4% であった ($p<0.001$)。軽度以上の晩期急性拒絶反応の所見は DSA 陽性症例の 50.0% に認めるのに対して, DSA 陰性症例では 10.2% と有意差を認めた。C4d 染色においても DSA 陽性症例が有意に陽性であった。免疫抑制剤の減量を行っていない成人で

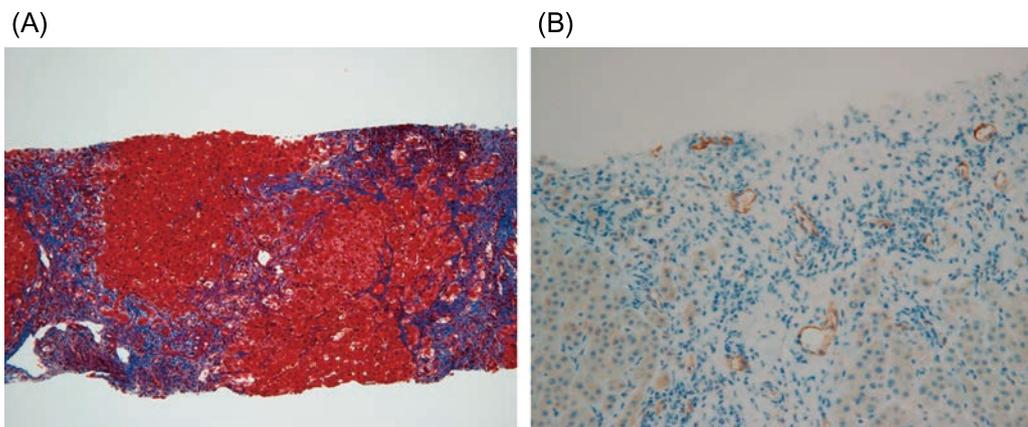


図 6 慢性抗体関連型拒絶反応と診断した症例 (肝生検像)

症例は 69 歳男性, C 型肝炎に対して肝移植後 12 年。C 型肝炎は抗ウイルス療法で治癒 (SVR) の状態である。肝生検所見は門脈域を中心にリンパ球の浸潤を認め, 線維化が進行し, 一部架橋形成を認めている。C4d 染色ではびまん性に血管内皮に C4d 沈着を認める。血清検査では, DSA は HLA-DR に対して陽性 (MFI: 17462)。

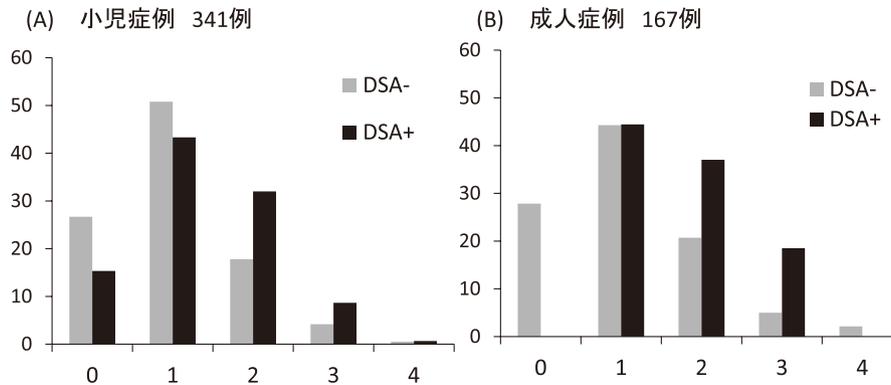


図 7

小児症例 341 例における DSA と線維化の相関。DSA の陽性率は 44.3% であり、DSA 陽性症例で有意に線維化の進行を認めた ($p=0.001$)。成人 167 例では DSA の陽性率は 16.2% であったが、DSA 陽性症例で有意に線維化の進行を認めた ($p<0.001$)。

は、小児症例と比較して DSA 陽性率は低く、線維化の進行度は軽度であるが、小児症例と同様に、DSA 陽性症例では、晩期急性拒絶反応の頻度が高く、中心静脈領域の線維化を特徴とする cAMR の所見を認める症例が多かった (図 7)。ただし、DSA が陽性で、肝生検の所見として cAMR と診断できる症例は多いが、良好なグラフト肝機能が維持されており、グラフト生着への影響についてはまだ不明である。一方で、DSA 陽性でかつ肝線維化が進行し、肝硬変の一症候である食道静脈瘤の発症を認めている症例が存在し、長期予後に関してはさらなる観察が必要である。

京都大学では小児肝移植症例に対して、免疫抑制剤の減量を試みており、免疫抑制剤を完全に離脱した症例を経験しているが、免疫抑制剤離脱症例においても DSA 陽性症例が存在しており、免疫抑制剤離脱と DSA 検査の意義は現在明らかにされていない。DSA 術後陽転化と肝線維化についてはある程度の相関は認められるが、術後に de novo DSA が出現したときに、治療が必要であるかどうかについては、まだ評価は定まっていない。

我々は DSA 陽性の有無にかかわらず、肝生検で晩期急性拒絶反応、およびグラフト肝線維化を認めた症例について免疫抑制療法の増強を行った。その結果、DSA 陽性症例で免疫抑制剤の強化を行った症例の約半数では Luminex 法で DSA の消失または MFI の低下が認められた。しかし、肝線維化の改善には至っていない。一方で、高度な線維化を伴う cAMR と診断した症例に対して、リツキシマブを含む強化した免疫抑制療法を行っているが、効果を認めない症例も存在している。cAMR はその

予後に与える影響、治療方法については、更なる知見の積み上げが必要であると考えており、術後 DSA のモニタリングが重要であると考えている。

5. まとめ

肝移植において、既存 DSA 陽性症例でも aAMR が起きず経過良好な症例は少なくない。そのため、既存 DSA 陽性が肝移植の禁忌とはされず、患者の状態によっては既存 DSA 陽性であっても、肝移植をするべき症例は多く存在する。しかし、一度、急激な aAMR が発症すると、それに対する有効な治療方法は確立されておらず、グラフト肝不全に進行する可能性が高い。このことをふまえ、既存 DSA 陽性症例では術前にリツキシマブの投与などの処置を行ってから肝移植を行うのが望ましい、更に、術後に DSA の測定を経時的に行い、肝機能異常や黄疸の遷延、血小板減少、さらに、発熱などの炎症所見が見られた時には肝生検と c4d 染色をおこない、AMR の早期の診断と治療が重要であると考えている。

術後、遠隔期における DSA の臨床的意義については、予後への影響についてはまだ不明であるが、肝線維化や晩期急性拒絶反応と相関があり、DSA 陽性化は免疫抑制療法の減量や相対的に不足していることから発生すると考えられる。術後の DSA のモニタリングは免疫抑制剤の適正化の有効な指標となりうるので、今後の研究の進展に期待したい。

引用文献

- 1) Demetris AJ, et al.: 2016 Comprehensive Update of the Banff

- Working Group on Liver Allograft Pathology: Introduction of Antibody-Mediated Rejection. *Am J Transplant*, 2016.
- 2) Ashihara E, *et al.*: Antidonor antibody in patients receiving ABO-identical and HLA-mismatched living donor liver transplants: effect on survival. *Transplantation* 83(4): 506–9, 2007.
 - 3) Yoshizawa A, *et al.*: Significance of semiquantitative assessment of preformed donor-specific antibody using luminex single bead assay in living related liver transplantation. *Clin Dev Immunol* 2013: 972705, 2013.
 - 4) Hori T, Egawa H, Uemoto S: Antibody-mediated rejection after adult living-donor liver transplantation triggered by positive lymphocyte cross-match combination. *Ann Gastroenterol* 25(1): 66–72, 2012.
 - 5) Egawa H, *et al.*: Non-inflammatory centrilobular sinusoidal fibrosis in pediatric liver transplant recipients under tacrolimus withdrawal. *Hepatol Res* 42(9): 895–903, 2012.
 - 6) Miyagawa-Hayashino A, *et al.*: Progressive graft fibrosis and donor-specific human leukocyte antigen antibodies in pediatric late liver allografts. *Liver Transpl* 18(11): 1333–42, 2012.

参考文献

- Demetris AJ, *et al.*: 2016 Comprehensive Update of the Banff Working Group on Liver Allograft Pathology: Introduction of Antibody-Mediated Rejection. *Am J Transplant*, 2016. **(2016 年 Banff 会議における抗体関連型拒絶反応の診断基準をまとめた論文)**
- Kim PT, Demetris AJ, O’Leary JG, *et al.*: Prevention and treatment of liver allograft antibody-mediated rejection and the role of the ‘two-hit hypothesis’. *Curr Opin Organ Transplant* 21(2): 209–218, 2016. **(肝臓移植における抗体関連型拒絶反応のレビュー)**
- 佐治博夫：移植と HLA 抗体：HLA タイプ&スクリーンと移植後抗体モニタリング. *移植* 45(5): 494–504, 2011. **(抗 HLA 抗体と移植のレビュー)**
- 江川裕人 他：血液型適合肝臓移植における抗ドナー特異抗体の意義. *移植* 45(5): 473–480, 2011. **(DSA と肝臓移植の臨床的意義について (以前の症例を中心に))**
- 吉澤 淳：肝臓移植における抗ドナー HLA 抗体の意義. *移植* 51(6): 445–451, 2016. **(DSA と肝臓移植の臨床的意義について (現在の方針と長期経過について))**

The impact of donor-specific anti-HLA antibodies on liver transplantation

Atsushi Yoshizawa¹⁾

¹⁾Department of Surgery, Graduate School of Medicine, Kyoto University

The impact of donor-specific anti-HLA antibodies (DSA) on liver allograft is still elusive. The impact of DSA may cause two types of antibody-mediated rejection (AMR); one is acute AMR (aAMR) resulting in adverse consequences during the perioperative period, and the other is chronic AMR (cAMR) causing progressive fibrosis in the late liver allograft. Liver is believed to be, to some extent, resistant to AMR. However, the evidence has accumulated that preformed DSA will cause liver graft injury. We previously experienced that the one-year survival rate of the crossmatch positive patients was 60% without taking any measures. We assessed the impact of high-MFI DSA on graft survival by retrospective analysis of DSA in the sera by solid-phase detection assay by Luminex. And then, we have adopted the new strategy for DSA-positive recipients to prevent acute AMR; avoidance of the donor whose HLA were target of DSA, or desensitization by rituximab. One year survival rate has improved to be similar among DSA-positive and negative recipients. The features of chronic AMR have not been well defined. We have reported that DSA are significantly correlated with progressive centrilobular fibrosis in the late allograft liver biopsies, especially in the pediatric recipients. The similar phenomena have been observed in the adult recipients. The impact of DSA on long-term prognosis is unclear from our experience, while the graft injury have been observed in the patients with DSA. The impact of preformed DSA on the survival has been emerged, however the strategy to prevent from fatal acute AMR and close follow-up for DSA-positive patients significantly improved the survival rate. Monitoring of DSA during perioperative period is important. *De novo* DSA are significantly correlated with progressive fibrosis, however, the influence on the prognosis of the graft in the DSA-positive patients should be revealed through long-term observation.

Key Words: liver transplantation, donor specific HLA antibodies, antibody-mediated rejection, liver graft fibrosis

佐田正晴先生を送る

東京医科歯科大学・難治疾患研究所・分子病態分野
木村 彰方

トゥルルー、トゥルルー 電話が鳴る。

「はい、木村です」との返答に被せて「あのさあ、キムちゃん・・・」と、名乗らずいきなり本題に入る声。そう、今も耳に残っている佐田先生からの電話である。

佐田先生が倒れられてから長く声をお聞きすることがなく、どうされているだろう、またお会いしたいなあと思っていたところに平成 28 年 12 月 27 日訃報が届き、ついに永遠のお別れとなってしまった。

佐田先生と初めてお会いしたのはいつだったろう。おそらく 1989 年頃だったのではないかと思うが、相澤幹先生、辻公美先生、笹月健彦先生が会長となって、1991 年に第 11 回国際 HLA ワークショップを横浜で開催することが決まり、その準備委員会が横浜関内の貸会議室で行われていたので、その会議でお会いしたように記憶している。当時は佐田先生も私も 30 代だったが、年齢の割に落ち着いた風貌の佐田先生が、とても気さくな方であったことに驚いたものである。第 11 回国際 HLA ワークショップは日本の HLA 研究者が全力をあげて取り組んだイベントであり、相澤先生、片桐一先生は北海道にいらっしゃったため頻繁にはお会いしなかったが、準備委員会では、辻先生、笹月先生以外にも柏木登先生、十字猛夫先生、関口進先生、吉田孝人先生などに定期的にお目にかかっていた。我々のひと世代上の HLA 界の重鎮の多くは当時 50 代であったため、初対面の佐田先生もその方々と同じくらいに見えたが、その気さくさは私にとって結構なギャップであった。とは言え、猪子英俊先生、西村泰治先生、徳永勝士先生、小林賢先生とともに、日本の HLA 界が世界と伍して行くことに嬉しくもあり、不安でもあった頃であるが、佐田先生は飄々としてやるべきことをやっていたように思う。

その後、佐田先生とは学会でお会いする程度の付き合いであったが、私が九州大学から東京医科歯科大学に移った 1995 年以来、HLA 関連の講習会などでお会いすることが多くなった。なかでも佐田先生と親しくさせていただいたのは、ゴルフでの繋がりであった。私がゴルフを始めたのは佐田先生の勧めもあったが、佐田先生はプロを目指したというほどの上手さであった。初めてご一緒した二泊三日でのロッジに泊まるとのゴルフ三昧や、三泊四日で沖縄に出かけてのゴルフ三昧を始めとして、日本組織適合性学会メンバーにとって、佐田先生はゴルフの話題には欠かせない方であった。

私にとって、佐田先生との一番の思い出は、1998 年に長野で開催された冬季オリンピックである。長野オリンピックのドーピング検査を信州大学が担当するとのことで、1997 年の半ばくらいであったと思うが、太田正穂先生からボランティアで参加しないかとの打診があった。ドーピング検査の手順などはまったく知らなかったが、日本で行われるオリンピックでもあるし、どのようなことが行われるのかにも興味があったので、参加することとして研修を受けた。私は医師免許を有しているのでメディカルオフィサーとして、佐田先生はメディカルスタッフとして参加したが、私ども以外に、日本組織適合性学会の関係者では、猪子先生、小林先生、成瀬妙子先生、それに当時ベリタス社の社員であった大澤敬子さんが参加された。それぞれ競技ごとに分かれての参加となったが、佐田先生、成瀬先生、大澤さんとともに、私はアルペン競技で長野県白馬村の八方尾根スキー場の担当となった（写真 1）。確か、猪子先生、小林先生はクロスカントリー競技で白馬村のスノーハーブの担当であったと記憶している。

白馬でのボランティアでは、トイレと風呂が共用の和室の民宿（いわゆるスキー宿）に泊まったが、佐田先生と一緒に部屋で 10 日間を過ごした。吹雪くことも多かったため、午後からの競技に備えて午前中は部屋で待機し、当日の競技開催が決まれば、会場に設置されたプレハブのドーピング対応部屋に出勤し、競技が終わるごとに 4 位までの選手とランダムにピックアップされた数名の選手がドーピング検査スタッフに連れられてやって来るのを待って、対応するのが日課であった。しかし、我々の滞在中には天候不良で競技が開催されない日の方が多かった。競技の中止が決まるの

は通例昼頃であるため、その日はドーピング検査スタッフとしてすることがなく、午後からはスキーを楽しむことや、昼間から酒盛りしてたわいもないことで盛り上がったものである(写真2)。この10日間ずっと寝食をともにしたことで、佐田先生の人となりもよくわかり、その後ずっと親しくさせていただくことになった。

佐田先生は遊びの天才でもあったが、ものごとを体系的に整理して、周囲とともに新しい仕組みを作り上げる能力にも長けていたように思う。その典型的な例が、2002年の認定HLA検査技術者及び認定組織適合性指導者認定制度の設立である。本学会では1997年以来DNAタイピングを主体とするQCWSを実施していたこともあり、2000年の鹿児島大会の際に有志が集まって、本学会にも組織適合性に関する技術者や指導者を認定する制度を設置しようとの意見がまとまった。その後、佐田先生が中心となり、実務は小林先生が担当することで、1年ちょっとかけて、現在の認定制度を構築したものである。また、QCWSではDNA-QCと抗体QCが行われているが、前述のように当初はDNA-QCのみが実施されていたところに、佐田先生が大会長を務められた2004年に大会主催で抗体ワークショップを始めたことをきっかけにして、2005年より抗体-QCWSが学会QCWSの正式部門として発足することになった。DNAは室温でも十分安定であるため、標準サンプルとして参加ラボに配布することが比較的簡単であったが、抗体(抗血清)を配布するには、倫理的諸問題や配布方法を含めて、種々の検討が必要であった。しかし、佐田先生はこれらの諸問題を見事にかつ的確に処理されて、QCWSの礎を構築されたものである。

このように佐田先生は、ゴールを明確に見定めて、そこに向かって周囲を巻き込みつつ着実に達成するリーダータイプの人であったが、ご本人が表に出てがむしゃらに進めるのではなく、“遊び”(余裕)を交えて飄々と進められた。照れがあってそのようにふるまわれていたのであろうが、自身のためでなく、皆のためになることとして、私利私欲に走らずに進められた姿は、実に佐田先生らしい姿であったと思う。

公私に渡りお世話になった身として、これからも佐田先生の背中に教えられたことを守って行きたいと思う。佐田先生、大変お世話になりました。心よりご冥福をお祈りします。



写真1

長野オリンピック白馬アルペン会場(八方尾根スキー場)にて
左より、大澤さん、成瀬先生、佐田先生、筆者



写真2

長野オリンピックアルペン会場宿舎にて
左より、成瀬先生、筆者、大澤さん、佐田先生

「佐田正晴先生との思い出」

信州大学医学部第二内科特任教授
太田 正穂

佐田先生：2010年突然の病で倒れてから、リハビリテーションで随分回復なされたとお聞きし、お会い出来ることを期待していたのですが、このような訃報を知るとは思いも寄りませんでした。66才とは余りにも早すぎる旅立ちではないですか。

先生とは、1991年横浜で開催された11th IHWCだったようですが、当時のことは余り記憶にありません。お話させて頂いたのは多分私の帰国後、第5回のJSHI（1996年十字先生が開催）で、HLA-DNA タイピングに関する事だったと思います。それ以降、公私共々大変お世話になりました。特に猪子先生、佐田先生、私とは年齢がそれぞれ2才ずつ異なり、兄弟のようなお付き合いをさせて頂きました。また、頻繁に海外での学会（ASHIやEFI）参加に同行させて頂き、発表は勿論、グルメな先生との食事や観光がいまでも鮮明に思い出されます。

佐田先生とは20年程のお付き合いでしたが、学と遊に関しては質が高かったのではないのでしょうか。先生は移植におけるHLAの役割についてオピニオンリーダー的な存在でした。JSHIでは、2003年～2010年にかけて組織適合性認定制度委員会の委員長を歴任なされ、QCWSの礎を築き、世界に誇る質の高い技術者の輩出に御尽力なされたことに感謝いたします。また、先生は2004年（第13回日本組織適合性学会大会）と2008年（第17回日本組織適合性学会大会）の学会を主催し、そのプログラム内容は先生の人脈の広さから盛り沢山で企画に富んでいたのが思い出されます。特に先生が口にしていた「基礎と臨床の協調」が鮮明に表れた学会ではなかったのでしょうか。更に17回の大会では、高原先生が大会長を務めた第44回日本移植学会との共同シンポジウムや相互聴講の企画は、多くの臨床の先生を本学会参加へ導くものでした。また、この大会では先見の明があったのでしょうか、特別講演に2012年ノーベル生理学・医学賞を受賞なされた山中伸弥教授を招き、iPSの御講演を拝聴させて頂いたのには感銘致しました。

さて遊の面ですが、佐田先生は大変ゴルフが好きでした。兎に角、中学生の頃には、プロのレッスンを受けプロゴルファーを目指す程の腕前だったそうです。その面影は私達とのプレー中にも随所に見られ、一味違ったプレーをしておりました。また、冬のスポーツであるスキーも好きなことから、毎年季節を問わず信州を訪れ、御一緒に楽しく遊んで頂いた日々が懐かしく思い出されます。



写真1 11th IHWC（1991年，横浜）

右より太田，小林先生，佐田先生



写真2 25th ASHI（1999年，New Orleans）

右より小幡先生，猪子先生，徳永先生，佐田先生，太田



写真3 Golf場にて（1999年）

左より佐田先生，成瀬先生，太田

「太く短い」と仰っていた言葉が，まさか現実になるとは夢にも思いませんでした。佐田先生には本当にお世話になりましたが，まだ面と向かってお礼を言ったことがありませんでした。日本組織適合性学会への御尽力と私への多大なる御高配に感謝致します。

先生の御功績に深甚なる敬意を表し，ご冥福を謹んでお祈り申し上げます。

佐田正晴先生の思い出の数々

東京医科歯科大学難治疾患研究所 分子病態分野
成瀬 妙子

初めて先生とお会いしたのは、ずいぶん昔、1990年頃の近畿HLA研究会（現、近畿地方会）だった。毎年2月初旬頃に開催されるこの会に、当時兵庫県赤十字血液センターに入職して半年余りの私は、上司であった能勢義介先生に発表を行うようにと言われ、訳も分からず初めて参加した。会場に到着した時にはすでに口演は始まっていて、ほどなく佐田先生が発表を始めた。この時のことはなぜか鮮明に覚えているが、先生は一際目立っていた。周りのネズミ色のおじさんたちと違い、ブラウンのスエードのジャケットを渋くお洒落に着て、淡々と、時にぼっそとシンプルにプレゼンをされる。しかも内容はヒトではなく、霊長類のMHCタイピングだった。サルのリンパ球を市販のテラサキプレートにあてて血清学的タイピングを行ったというものであった。異分野からこの業界に入った初心者の私は、やっていることの意義がわからず、この先生はヒトの血清でサルのタイピング？発想が斬新やね、結構マトモに反応するなあ！？などと思っていた。現在自分が実験動物サルのMHCを解析していたりすることに不思議なご縁を感じたりする。研究会後の懇親会で佐田先生をご紹介頂きご挨拶をしたが、傍にいた方が「この先生はスキューバダイビングが本職で、海中写真集を出版しているんだ」と教えて下さり、海の話で盛り上がった。素直な私はしばらくの間、本業はプロダイバーだと信じていた。

その後まもなく、近畿HLA研究会の仕事で先生とご一緒させて頂くこととなる。当時はHLA DNAタイピングが日本でも脚光を浴び始めた時期だった。PCR産物を用いたDNAタイピングは、血清学的タイピングに変わる画期的、高精度な検査方法として注目されていたが、国内ではまだ一部の大学レベルでの話で、関西方面ではまだどこも導入していなかった。佐田先生はDNAタイピングの重要性にいち早く着目し、病院などの組織適合性検査室への導入、普及を行うために研究会内にワーキンググループの立ち上げをされた。その頃私は、ご縁を頂き東海大学の猪子英俊先生のとこにHLA-DPB1アレルのタイピングやサンガー法による塩基配列決定などを頻繁に習いに行っていたこともあり、ワーキンググループでの講習会や講演会、ワークショップなどの実行をお手伝いさせて頂くこととなった。

こうしてお仕事をさせて頂くうちに、私は佐田先生のパーソナリティーを間近で知ることができた。

佐田先生は筋の通らぬこと、義を欠く者には大変厳しい一方、人情厚く、腹を割って話し合い、理解し合えたならば過去は引きずらない。たとえば、DNAタイピング法導入で先生がこだわったのは、放射性同位元素（RI）を使用しないということであった。初期のDNAタイピングは³²Pなどを使用して行うPCR-SSOP（sequence specific oligonucleotide probe）が主流で、非RI標識の試薬もあったものの感度が劣り、RI使用が一般的と言われていた。しかし、先生はRI使用は一般の病院検査室に不向きであるということの他に、「非核」の信念をお持ちだった。「汚染ゴミはタンクに溜めるだけで処理の仕方も見つからない、そんなものを研究の名のもとに使うなど、自分の尻を自分で拭けない者は最低だ。研究者ならそれに代わるものを見つけて努力すべし」と、口癖のように言われていた。当時当然のようにRIを使って塩基配列決定をしていた私は大いに反省した。以来、RI室には出入りしていない。

佐田先生は酒と煙草をこよなく愛された。学会や会議の後は皆で飲食に繰り出し歓談することを好まれたが、必ずマイ灰皿を携帯され、風下に位置されていた。そして、ご一緒したときにいつも驚くのが、その見識の広さである。硬軟取り混ぜ、豊富な話題で皆を飽きさせない。先生は故郷の海（の幸）を愛する本物の湘南ボーイなので、関東弁の静かな物腰と見せかけ、しかしポンポンしゃべる。どんなに俗っぽいことをおっしゃっても、お育ちの良さから時折のぞく品格がそれを打ち消す、不思議な魅力があった。また、意外にも？スタジオジブリのアニメキャラクターがお好きで、「トロロいんだよねー」とトークを展開されていた。お茶目さんである。とは言え、必ず最後はHLA関連の話になっていたことを考えると、HLAはやはり先生のライフワークだったのであろう。



写真1

1996年フランスで開催された第12回国際HLA学会。サン・マロでのワークショップの後にパリで行われた船上パンケットで、筆者と。十字猛夫先生が撮影、提供して下さいました。



写真2

ゴルフ場にて。佐田先生、太田正穂先生と。

佐田先生との交流は私が東海大へ移ってからも続き、海外の学会などではタイ、フランス、アメリカなど、よくご一緒させて頂いた（写真1）。海外では学会の合間に観光や食事をご一緒させて頂いたが、服装やマナーはいつも各国の習慣を考慮され、相手に不快感を与えない、さりげない大人の立ち居振る舞いをされていた。特に欧米では、ホテルやレストランは勿論、至る所でいつもレディーファースト、スマートなエスコートをして下さったのが印象深い。また、2003年、私が大阪市立大学大学院で博士（医学）の学位を授与され、猪子先生がお祝い会を開いて下さった時には、わざわざ大阪より駆けつけて下さった。実はこの時期、私は第7回アジアオセアニアワークショップの幹事を拝命し、初めての国際学会幹事という慣れない仕事に大変なプレッシャーを抱えていた。佐田先生にも多々ご相談させて頂いたが、幾度となくお励ましを頂き、携帯電話の電池が切れるほどお話し頂いたことも幾度かあった。こうしたさりげないやさしさが、とても身にしみたものである。

プライベートでは佐田先生のゴルフ好きは有名で、私もよくご教授頂いた（写真2）。女だからと短い距離でスコアを競うのは不公平と思われるからレギュラーティーで回るようにと言われ一緒にラウンドさせて頂いていたが、本当は私だけが一人離れたレディースティーで疎外感を味わわぬように、との佐田先生の思いやりだった。佐田先生はゴルフでの武勇伝にも事欠かなかった。ある時、混雑のためコース上で打順を待っていたのだが、後ろの組からボールが打ち込まれ、フェアウェイに立っていた私のすぐ側に飛んできた。難を逃れ驚いた私が後ろを振り向くと、近くに居た佐田先生が消えていた。そしてアイアンクラブを握り後ろの組に突撃して行く姿を確認し、一時はみんなドキドキしたが、その後はとても紳士的に収まった。また、先生はグルメでもあったので、ゴルフの前後にはよく美味探検に向かったが、時にはコテージなどへ自ら食材を持参して、手料理を皆にふるまわれていたことも良き思い出である。

佐田先生は本学会においても2度の大会長を務められたが、その他に今やすっかり定着した認定制度委員会の、初代委員長としても長年ご尽力された。組織適合性に関わる人々を目に見える形で認定し、HLAオタクという周囲の認識からの脱却を図った。技術者や指導者がHLAスペシャリストとして広く認知されることを願って、委員会の立ち上げ、基準作りや制度の確立、また移植学会とのパイプ役としても活躍された。その根底にあったのは、先生のこんな信念だった。「50歳を過ぎたら前に出ず、世のために人を育てる」。認定制度は今年新たな扉が開かれ、設立時よりの懸案であった、施設認定がスタートする。空から行く末を見守って頂きたい。

晩年は直接お会いすることは叶わなかったが、佐田先生は最期まで信念を曲げず、ダンディズムを貫き通して旅立たれた。何一つご恩をお返しできなかったが、佐田先生から学んだ、人としての大切な教えを胸に刻み、日々精進するのみである。

ご冥福を心からお祈り致します。

佐田正晴先生への寄稿文

大阪大学医学系研究科先端移植基盤医療学寄附講座 教授
高原 史郎

とにかくユニーク、というか不思議な人でした。

私は臓器移植という社会性の高い医療に従事していますので多種多様な人々との交流があります。医学、医療、エンジニアリング、コンピューター・サイエンス、行政から立法・法曹界、音楽、アート、そして外国の人々。しかし彼はどの範疇にも入らない。

佐田正晴という人はあえて言えば「バイオメディカルを専門とする研究者」です。それは間違いありません。しかしそれでは彼の人の30%くらいしか説明できない。

彼は私の人生の何度かの転機で大きな影響を及ぼしました。私は別に彼に意見を求めたわけではありません。単なる雑談の相手です。しかし彼の一言が私の決定に大きな後押しとなりました。少なくとも2回、そのようなことがありました。今回、この寄稿文を書くことになり、彼との長い付き合いでの印象に残ったことを整理するという作業で改めて認識しました。

もう一度私なりに佐田正晴とはいかなる人物か？よく考えてみました。はっきりしていることは「観察力を通してその人がなすべきこと、その人がその時点で気が付いていない将来の目標」を提示する能力に長けていたことです。

一つだけ具体例を示します。2011年9月、私は日本移植学会理事長に名乗りを上げるか？かなり迷っていました。なりたくない理由がいくつもありました。その頃、何度か彼と雑談する機会があり、もちろん私はこの話題には触れていません。それまでも彼とはこのような人事の話は一度もしたことがありませんでした。しかしある時彼が、「今、お前が理事長をやらないとどのような不都合が起こるか？」を様々な具体例を示し、かつ考えうるいくつかの代案の長所短所を、これも具体的に挙げ、それらの結果がどのような事態を引き起こすか、淡々と話しました。私は決心しました。

いま、私の前に彼はいません。しかし、「彼ならこのように考えるのではないか？」「彼ならこちらを選ぶであろう」と想像することはできます。彼は私の中でまちがいに生きています。

第1回 関東HLA研究会記録

会 期：2017年5月13日（土曜日）

会 場：東京大学 本郷キャンパス

世話人：湯沢 賢治

国立病院機構水戸医療センター

HLA と臓器移植のかかわり

湯沢 賢治¹⁾

¹⁾ 国立病院機構水戸医療センター 臓器移植外科

臓器移植が行われるようになった1960年代には強力な免疫抑制剤はなく、その成績は散々なものであった。1964年にHLAの検査法が確立し、1967年にHLAが一致した方が腎移植成績が良いことを報告され、臓器移植とHLAの深い関係が始まった。臓器移植の成績向上のためにHLA研究も進み、多くの移植医はHLAに大いに関心を持っていた。

その後、1980年代に強力な免疫抑制剤が現れ臓器移植は一般臨床となった。これに伴い、臓器移植成績とHLAの関係は薄れ、全くHLAの一致しない夫婦間での

腎移植が良好な成績を収め、従来禁忌であったABO血液型不適合のハードルさえ越え、リンパ球クロスマッチ陽性でも移植が可能となった。このため、移植医はHLAに関心を持たなくなった。

しかし、2000年代後半に高感度な抗HLA抗体検査が開発され、ドナー特異的抗体DSAが長期成績に関与することが明らかになり、2010年代に移植医は一挙にHLAへ回帰した。

この流れからHLAの原点とも言える臓器移植におけるHLAの重要性を示す。

HLAの基礎

藤原 孝記¹⁾

¹⁾ 帝京大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター

HLAは、免疫において自己と非自己を識別することにより、細菌やウイルスなどの感染病原体やがん細胞に対する反応（排除）および、同種移植における移植免疫反応（拒絶）など、免疫応答の誘導に深く関与している。HLA分子には膨大な数のアリルが存在し、集団レベルで著しい多型性が認められている。

医療分野ではHLAの機能である自己決定をHLAの多様性に応じてコントロールすることが重要であり、臓器移植では拒絶反応や移植片の生着率とHLA適合性が

密接に関係している。また、造血幹細胞移植では移植する造血幹細胞に免疫担当細胞が含まれるため、拒絶反応とGVHDの制御を重視する必要があり、臓器移植よりもHLA適合性が重要視される。

HLA検査および適合ドナーの選択を行うためにはHLAに関する基礎的な情報（分子構造、発現、機能、遺伝子およびアミノ酸配列等）について知っておくことが有用となる。本セッションではHLAに関する基礎的な情報について概説する。

QCWS と認定制度

中島 文明¹⁾²⁾

¹⁾ 日本組織適合性学会認定制度委員会 QCWS 部会長

²⁾ 日本赤十字社血液事業本部中央血液研究所

日本組織適合性学会では、MHCに関する専門知識や精度の高い検査の施行を通じて、医療及び社会へ貢献できる認定制度を実施している。認定制度委員会では、認定HLA検査技術者及び認定組織適合性指導者、並びに認定組織適合性検査登録施設の認定を目的とした教育部会、試験問題検討部会、資格審査部会、QCワークショップ部会を設置し運営にあたっている。QCワークショップ部会では、HLA検査技術の向上をめざしてQuality

Control Workshop (QCWS)を開催し、DNA検査部門と抗体検査部門を設け、学会員であればどちらも参加可能としている。DNA検査部門は1997年から、抗体検査部門は2004年から大会長主催で開始され、その後、認定制度委員会に移管し、毎年開催している。QCWSの評価結果は、平成29年度から施行される認定組織適合性検査登録施設認定制度(施設認定)の重要な要件となっている。本項では、QCWSの活動状況を中心に概説する。

臓器移植とHLA(臨床)

江川 裕人¹⁾

¹⁾ 東京女子医科大学 消化器外科

拒絶反応は移植された臓器に対する宿主の免疫応答による臓器障害である。この際、免疫担当細胞が認識する主たる抗原が、HLAである。一卵性双生児では拒絶反応が起こらない一方でドナーとレシピエントの間のHLAのミスマッチが多いほど拒絶反応が多くなる報告もある。拒絶には、Tリンパ球が主役の細胞性拒絶反応と抗体が主役の抗体関連拒絶(antibody mediated rejection: ABMR)がある。1980年代にカルシニューリン阻害薬や代謝拮抗薬が開発され細胞性拒絶はほぼ制御できる

ようになったが、細胞性免疫反応の正確なモニタリング法は確立されていない。一方でABMRは、組織適合性検査の開発が進歩し、感作状態やドナー特異抗体(donor specific antibody: DSA)量のモニタリングが可能になったが有効な治療法がなかった。近年ようやく、術前の感作状態を軽減して抗体価を下げ、移植を安全に行う方法や術後新たに産生されるde novo DSAによるABMRの治療が開発されている。

我が国の造血幹細胞移植におけるHLA適合度と成績

高橋 聡¹⁾

¹⁾ 東京大学医科学研究所 分子療法分野

同種造血幹細胞移植におけるドナーとレシピエントとのHLA適合度は、移植成績を規定する重要な因子である。一般的にはHLAの適合度が高いほどGVHDなど移植関連免疫反応が減弱し移植関連合併症・死亡率が下がるものの、悪性疾患ではHLA適合度が低い場合に比べて移植後再発率が高くなる場合もある。ただし、これは移植細胞ソース（骨髄、末梢血、臍帯血、血縁/非血縁ドナー）あるいは前処置や移植後免疫制御法などの違い、さらには患者の疾患（良性/悪性、進行程度）等によって複雑に影響を受け、これらの要因・状況によってHLA適合度が移植成績に与える影響は異なる。また、HLA抗原不適合移植の場合は、抗HLA抗体の有無、陽性の場合それはドナー特異的抗体（DSA）であるか、という点は生着に影響する。ただし移植成績全体を通して言えることであるが、HLA適合度についても欧米での解析結果がそのまま我が国ではあてはまらない場合が多々ある点は留意すべきである。

血縁ドナーの骨髄あるいは末梢血を移植ソースとして

用いる場合は、HLA1抗原不適合までを許容することが最近では一般的になっている。非血縁骨髄移植の場合はアロ反応が血縁間移植に比べて強く影響されることが予想されたため、アリルレベルも含めてよりHLA適合度の高いドナーが求められてきたが、以前に比べてHLA完全一致以外の場合でも適合移植との成績比較において差がなくなってきた。さらには、移植後エンドキサン投与方法（PT/Cy）等の新しい免疫調整法の導入により、HLA半合致血縁ドナーからの移植も可能となってきた。一方で、臍帯血は様々な観点から成人由来の造血幹細胞とは異なる移植細胞ソースであり、我が国の成人患者を対象とした解析データでは、HLA-A、-B、-DRB1の6抗原のうち、2抗原が異なる場合でも一致した臍帯血移植と比べて成績に差がないことが明らかになっている。

我が国では同種移植が必要なほぼ全ての患者に移植ドナー・ソースが得られる時代となり、これらの情報を基に個々の患者にとってより良い結果を求めた移植法が選択されている。

HLA抗体スクリーニング検査において他施設の結果と乖離を認めた1例

小山 暁史¹⁾, 杉本 達哉¹⁾

¹⁾ 東海大学医学部附属病院 輸血室

【はじめに】移植領域におけるHLA抗体検査は不可欠な検査となっている。ドナー特異的抗体（DSA）の確認にはシングルアンチゲンビーズ（SAB）を用いるが、高価な試薬のため全例に用いることは困難である。そのため当院ではSABによる特異性確認の前にLABSreen-Mixed（Mixed）をHLA抗体スクリーニング検査（以下、Scr検査）として実施している。今回我々は同一時期に採取された検体において他施設で実施されたLABSreen-

PRA（PRA）Scr検査と結果が乖離した症例を経験したので報告する。

【症例】患者は67歳男性。MDSRAEB IIと診断され、臍帯血移植目的で当院に入院した。移植前のHLA抗体は陰性であった。本年3月に移植を実施したが、白血球の立ち上がりが悪く移植後17日目のキメリズム解析において生着不全と診断された。再移植のドナー候補として、子と臍帯血が候補となりScr検査が依頼された。

【結果】移植後、院内で実施した Scr 検査 (Mixed) では Class I 陰性 (Ratio : 1.29 ~ 1.84), Class II 陽性 (Ratio : 0.72 ~ 3.86) (当院の Cut Off 値 Ratio 3.0 以上で陽性と判断)。SAB による特異性 (当院の Cut Off 値 nMFI 1000 以上を陽性と判断) は DQ 抗原に対する抗体 (nMFI : 3000 ~ 14000) を認めた。

後日、他施設から報告された Scr 検査 (PRA) では Class I 陽性, Class II 陽性となり, SAB による Class I 抗体の特異性は A2 抗原に対する抗体 (nMFI : 3000 ~ 5000), Class II 抗体の特異性は院内検査と同様の DQ 抗原に対する抗体 (nMFI : 3000 ~ 15000) を認めた。

この結果を受け当院でも Class I SAB での再検査を

行ったところ、他施設の結果と同様に A2 抗原に対する抗体 (nMFI : 1700 ~ 4000) を認めた。

【考察】Mixed では Cut Off 値として Ratio 1.5 以上が推奨されているが、当院では過去の検討結果から Ratio 3.0 以上している。今回の乖離は当院の Cut Off 値の設定が原因の一つであるが、SAB の高額な試薬代を考慮すると安易な Cut Off 値の引き下げは困難である。しかし Scr 検査の本来の目的は臨床的意義のある抗体の有無を確認することであるため、依頼される検体の患者背景 (目的・免疫感作歴等) を考慮しつつ Cut Off 値等の見直しを検討する予定である。

ドナー特異的 HLA 抗体を保有する臍帯血移植患者に対する HLA 抗体モニタリング

前島理恵子¹⁾, 藤原 孝記¹⁾, 蟹井はるか¹⁾

¹⁾ 帝京大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター

臍帯血移植の多くは HLA 不一致移植であり、患者が DSA を保有している場合、移植後の生着に影響することが報告されている。本症例は移植に適した臍帯血が DSA 陽性のため、抗体関連生着不全予防処置を行い、その評価を目的として HLA 抗体モニタリングを行った。

【方法】DSA による生着不全予防処置として DSA と反応する血小板を輸血後、rituximab を 4 回投与した。処置の評価として、Single Antigen により抗体モニタリングを行い、移植後も継続した。

【結果】当初、DSA に対する nMFI : 7814 であったが

次第に弱くなり、rituximab 投与後の反応は全て 1000 未満で予定通り移植を行った。移植前日は 396 で、DSA と反応する血小板輸血により抗体を脱感作後、移植を行った。移植後、1 週間毎にモニタリングを実施したが全て 300 未満で 3 週間後に DSA は検出されなかった。

【考察】予防処置後、抗体の低下を nMFI で確認することにより予防処置の評価が可能であった。移植後、DSA も認められず患者は現在、外来通院にて対応している。

HIGH-RESOLUTION HLA TYPING BY NXTYPE™ NGS HLA TYPING KIT

Seik-Soon Khor¹⁾, Yuki Hitomi¹⁾, Yuko Okudaira²⁾, Anri Masuya²⁾, Yuki Ozaki³⁾, Mayumi Ueta⁴⁾, Ken Nakatani¹⁾, Masaki Nagato⁵⁾, Takahiro Ogawa⁵⁾, Chie Sotozono⁴⁾, Shigeru Kinoshita⁴⁾, Hidetoshi Inoko²⁾, Katsushi Tokunaga¹⁾

¹⁾ Department of Human Genetics, Graduate School of Medicine, The University of Tokyo, Tokyo, Japan

²⁾ GenoDive Pharma Inc., Honatsugi, Kanagawa, Japan

³⁾ The Center of Medical Innovation and Translational Research, Graduate School of Medicine, Osaka University, Osaka, Japan

⁴⁾ Department of Frontier Medical Science and Technology for Ophthalmology, Kyoto Prefectural University of Medicine, Kyoto, Japan

⁵⁾ Research and Development Section, Wakunaga Pharmaceutical Co., Takata, Hiroshima, Japan

The human MHC region has been shown to be associated with a wide range of diseases. The recent advancement in the next generation sequencing (NGS) technology has definitely helped in increasing the resolution (up to 4-field) of HLA genotyping. However, it remains a challenge in interpreting the results from NGS platform due to biases including systematic sequencing error by sequencing platform, difference in the sensitivity and specificity of HLA calling algorithm, ability to resolve HLA alleles ambiguity by incorporating phasing information, and more importantly incompleteness of the current IMGT database. In order to access the sensitivity and specificity of the NXType™ NGS HLA typing kit (One Lambda), a

total of 105 Japanese samples were sequenced for HLA class I genes using the Ion Torrent Personal Genome Machine (PGM) following the NXType protocol. HLA calling was performed using the HLATypeStream v1.0.0.86 with IMGT/HLA databases of 3.21.0. Concordance rates were evaluated by comparing HLATypeStream results with Luminex-based HLA typing result for up to 2-field result. With the default setting of HLATypeStream and without manual interpretation of the results, the allelic concordance is more than 98% for HLA-A, HLA-B and HLA-C. Careful inspection of the final results and occasionally manual interpretations of results are necessary especially for rare or novel HLA alleles.

Long-range と Short-range PCR 法の特徴

椎名 隆¹⁾

¹⁾ 東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学

次世代シーケンサー (NGS) を用いた HLA タイピング法は、国内外の研究機関や企業にて開発されており、主に PCR、次世代シーケンシング、アレル判定の3つの工程から構成される。PCR の工程では、HLA 遺伝子を増幅させる長さから、short-range 法と long-range 法に大別される。short-range 法は、多型に富む個々のエクソンや部分的なイントロンを増幅させる方法であり、PCR 産物の長さが 250 ~ 900 bp 程度と比較的短いことから多検体処理に適する。一方、Long-range 法は、エクソンとその間のイントロンを含む遺伝子領域を増幅させ

る方法であり、新規多型や変異を効率よく、かつ染色体ごとに分けて検出する利点を持つ。究極の Long-range 法は、エンハンサー・プロモーター領域から 3' 側非翻訳領域までの遺伝子全領域を網羅する方法であり、多型に富む特定のエクソンの HLA 多型に基づいて進められてきたこれまでの移植研究や疾患関連解析に新たなブレークスルーを与えるものと期待されている。

各 NGS プラットホームの性状

椎名 隆¹⁾

¹⁾ 東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学

Ion Torrent system (ThermoFisher Scientific 社) および MiSeq (illumina 社) などのベンチトップ型次世代シーケンサー (NGS) に共通する HLA タイピングへの利点は、DNA 1 分子からのリード配列を大量に得ることができる点にある。即ち、リード配列を染色体ごとに分けてアレル判定を行うことにより現行の高解像度 DNA タイピング法 (現行法) では不可能である phase ambiguity 問題が解消される。また、サンプルそれぞれに異なる index や barcode 配列を NGS ライブラリー作製時に

付加させることにより、多検体のリード配列を並列的に得ることも利点である。一方、現行法と比して NGS 法では PCR からアレル判定まで最低でも 2~3 日間が必要であり、その殆どの時間は、NGS に関する操作に費やされる。PCR 法が確立されてきた現在では、この過程を如何に簡略化、迅速化および自動化させるか、が大きな鍵であり、臨床検査の現場におけるルーチンタイピングのためにはこれらの技術的問題を解決する必要がある。

キャプチャー法の特徴

細道 一善¹⁾

¹⁾ 金沢大学 医薬保健研究域医学系 革新ゲノム情報学分野

次世代シーケンサー (NGS) の技術により、大規模なゲノム配列決定が可能となったが、一方で、ゲノム上の特定の領域や遺伝子にターゲットを絞り、多検体を迅速にリシーケンスする需要も多い。実際に、がんや特定の疾患にフォーカスし、NGS を使って関連する遺伝子群を効率よく解析する遺伝子パネルスクリーニングを目的

とした製品がすでに数多く販売されている。エクソーム解析で知られるシーケンスキャプチャー法は HLA タイピングにも応用可能であり、簡便、迅速かつ安価なゲノム解析技術として、多検体をより簡便に解析可能である。本セッションではこのキャプチャー法の原理について紹介する。

KIR タイピング

細道 一善¹⁾

¹⁾ 金沢大学 医薬保健研究域医学系 革新ゲノム情報学分野

ナチュラルキラー細胞 (NK 細胞) に発現し、HLA を認識する受容体であるキラー細胞免疫グロブリン様受容体 (KIR) は約 150 kb ほどの領域に遺伝子クラスター (15

遺伝子、2 偽遺伝子) を形成し、各遺伝子の機能は活性型と抑制型に大別される。遺伝子座の有無としての多型も存在することから、個人ごとに各ハプロタイプのもつ

活性型と抑制型の KIR の遺伝子数は異なり、そのバランスによって各人の NK 細胞活性が調節される。近年 HLA 型に加え KIR 型を適合させることが移植の成功の

鍵であることが明らかとなっている。本セッションでは次世代シーケンサーを使った KIR ハプロタイプのタイピングの可能性について議論したい。

第1回 東海北陸 HLA 研究会記録

日 時： 2017年7月9日（日）

会 場： 名古屋第一赤十字病院 内ヶ島講堂

世話人： 森島 泰雄

愛知医科大学 造血細胞移植振興寄附講座

中部さい帯血バンク

同一抗原型でアリのの違いにより産生された HLA 抗体について

池田 孝子¹⁾, 橋本 真紀¹⁾, 金柅 麻衣¹⁾, 杉浦 良樹¹⁾, 竹内奈由美¹⁾, 浅野 信康¹⁾, 石田 昌子¹⁾,
高橋 泰子¹⁾, 高松 純樹¹⁾, 宮下 博之²⁾, 加藤 道³⁾

¹⁾ 日本赤十字社東海北陸ブロック血液センター

²⁾ 市立四日市病院血液内科

³⁾ 愛知県赤十字血液センター

【はじめに】東海北陸ブロック血液センターでは、血小板製剤を輸血しても期待する輸血効果が得られない状態「血小板輸血不応状態」の患者に対して、濃厚血小板 HLA-LR「日赤」(以下、PC-HLA)の供給を目的に HLA 抗体検査を実施している。その中で同一抗原型ではあるが、アリのの違いを認識してアリの特異的な HLA 抗体を産生したと考えられる症例を経験したので報告する。

【検査方法】PC-HLA 供給依頼のあった患者検体について、HLA 型 (アリ) は、WAKFlow HLA タイピング試薬 HLA-A (B, C) (湧永製薬社)、アリでの HLA 抗体の特異性検査は、LABScreen Single Antigen HLA Class I-Combi (ワンラムダ社) 及び WAKFlow HLA 抗体クラス I (ICFA) (湧永製薬社) を実施した。

【結果】患者の HLA 型 (アリ) は A*11:01, A*24:08, B*51:01, B*54:01, C*01:02, C*15:02 であった。HLA 抗体は HLA 抗原に対する広範囲な HLA 抗体及び A24 抗原型の A*24:02 のアリの特異的な抗体が確認された。ICFA にて患者血清と A*24:02 の2パネルとのクロスマッチは陽性であった。

【考察】患者のアリは A*24:08 であったが、同一抗原型のアリ A*24:02 に対する HLA 抗体を産生していた。PC-HLA は HLA 抗原型で患者とドナーのマッチングを行うため、通常患者の HLA 型である A24 のドナーが選択される。しかし、今回は日本人の A24 のアリ頻度がほぼ A*24:02 であることから A24 を除外し、輸血に対して有効なドナーを選択することができた。

臍帯血移植時のクラス II 抗 HLA 抗体検査結果の取り扱いについて (問題提起)

—バーチャルクロスとダイレクトクロスマッチ試験結果の乖離—

松本加代子¹⁾²⁾, 田中 秀則³⁾, 中村 文明²⁾⁴⁾, 畑中 一生²⁾⁵⁾, 藤村 吉博²⁾⁶⁾, 加藤 剛二¹⁾, 森島 泰雄¹⁾

¹⁾ 中部さい帯血バンク

²⁾ 近畿さい帯血バンク

³⁾ HLA 研究所

⁴⁾ 国立循環器病研究センター

⁵⁾ 大阪赤十字病院

⁶⁾ 近畿ブロック血液センター

臍帯血移植に際し、患者抗 HLA 抗体の確認ならびに DSA を回避した臍帯血の選択が一般化してきた。しかしながら、患者がクラス II 抗体を有する場合の臍帯血選択については、臍帯血の DP, DQ 抗原のタイピング

が通常行われていないこと、直接クロスマッチ試験の実施可能なバンクも限られていることから、難しい局面がある。さらに、我々は、直接クロスマッチ試験陰性にもかかわらず、臍帯血 DQ 抗原に対する DSA が陽性 (バー

チャルクロス) となる乖離事例を経験した。

今後、次世代シーケンサーの導入に伴って臍帯血の DP, DQ 抗原のタイピングが一般化すると、前述の乖離事例の増加が予想されることから、バーチャルクロスで

陽性となる臍帯血は移植源として避けるべきか、それとも直接クロスマッチ試験で陰性ならば当該臍帯血は使用可能なのか、臍帯血移植時のクラス II 抗 HLA 抗体検査結果の取り扱いについて問題提起をさせて頂く。

HLA-DPB1 ミスマッチドナーからの UR-BMT 後に重症急性 GVHD を発症した 1 例

若松 学, 奥山美沙恵, 前村 遼, 山森 彩子, 坂口 大俊, 吉田 奈央, 加藤 剛二

名古屋第一赤十字病院 小児科

症例は 15 歳, 女子。MLL/AF6 陽性 AML に対し, 第 1 寛解期に HLA-A, B, C, DRB1 8/8 アリル一致ドナーより非血縁者間骨髄移植を施行した。前処置は BU 12.8 mg/kg+MEL 180 mg/m², GVHD 予防は TAC+MTX を用い, 移植後 21 日目に生着を認めた。grade 3 の急性 GVHD (skin 2, gut 3, liver 2) を発症し, ステロイド抵抗性のためヒト骨髄由来間葉系幹細胞を投与し, 皮疹と下痢は改

善した。肝臓 GVHD は stage 3 に増悪し, 現在もステロイド治療中であるが, 患者は移植後 2 年後も無病生存中である。GVHD 発症後に HLA-DQB1, DPB1 を検査した結果, GVH 方向に DPB1 の 1 アリル不適合を確認した。現行では骨髄バンク登録時に HLA-A, B, C, DRB1 の適合が確認されるが, HLA-DPB1 も登録後早期に確認できる体制が望まれる。

HLA6 座 (A ~ DPB1) 抗原レベルおよびアリルレベル適合性の臍帯血移植成績への影響

東 史啓¹⁾³⁾, 屋部登志雄¹⁾³⁾, 折原 武³⁾, 矢部 普正³⁾, 加藤 俊一³⁾, 加藤 剛二³⁾, 小川 篤子¹⁾³⁾, 松本加代子³⁾, 甲斐 俊朗³⁾, 森 鉄男³⁾, 加藤 剛二³⁾, 森島 聡子³⁾, 高梨美乃子²⁾³⁾, 佐竹 正博²⁾³⁾, 中島 一格¹⁾, 森島 泰雄³⁾

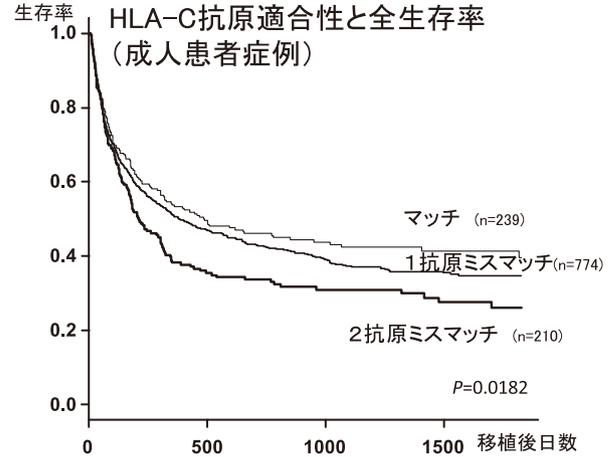
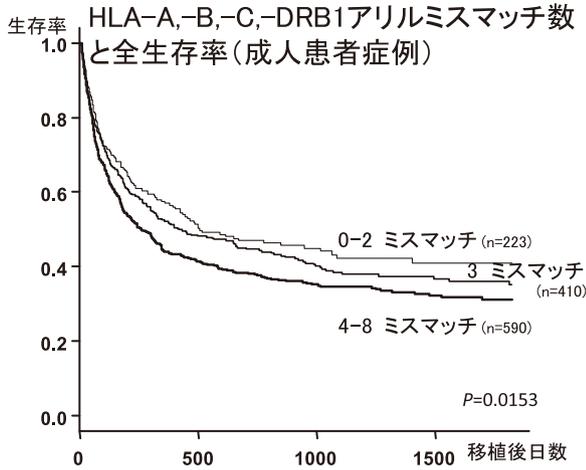
¹⁾ 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

²⁾ 日本赤十字社血液事業本部

³⁾ 日本医療研究開発機構 (AMED) 研究班臍帯血移植組織適合性共同研究グループ

臍帯血移植において HLA-A, -B, -DRB1 の 3 座中 2 抗原ミスマッチまでの臍帯血が選択可能であるが, HLA-C, -DQB1, -DPB1 座適合性やアリルレベルミスマッチの効果はまだ不明な点が多い。そこで全国 6 つのバンクより収集した初回, 単一臍帯血移植, 日本人, 造血系悪性疾患 1419 移植症例の患者, 臍帯血 DNA 検体について HLA 6 座アリルタイピングを実施し HLA 適合性と移植成績との関連解析を行った。HLA-C 座の 2 抗原不適合

症例では, C 座適合症例と比較して生存率が有意に低下していた。また HLA ミスマッチ数の増加に伴い成績が悪化していたが, HLA 座によっては抗原レベル, アリルレベルでミスマッチ効果が異なるものがあった。HLA-A, -B, -DRB1 座に HLA-C 座を加え, さらにアリルレベルでの適合度も考慮した臍帯血の選択により移植成績をさらに向上させられる可能性が示唆された。



HLA-DPB1 ミスマッチの臍帯血移植における GVL (移植片対白血病) 効果

屋部登志雄¹⁾³⁾, 東 史啓¹⁾³⁾, 折原 武³⁾, 矢部 普正³⁾, 加藤 俊一³⁾, 加藤 剛二³⁾, 小川 篤子¹⁾³⁾,
 松本加代子³⁾, 甲斐 俊朗³⁾, 森 鉄男³⁾, 加藤 剛二³⁾, 森島 聡子³⁾, 高梨美乃子²⁾³⁾,
 佐竹 正博²⁾³⁾, 中島 一格¹⁾, 森島 泰雄³⁾

¹⁾ 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

²⁾ 日本赤十字社血液事業本部

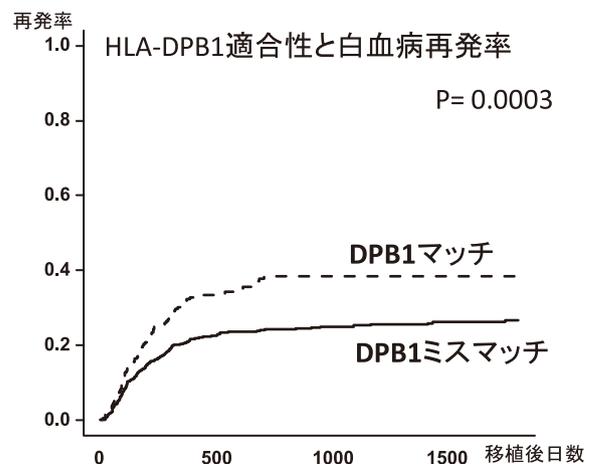
³⁾ 日本医療研究開発機構 (AMED) 研究班臍帯血移植組織適合性共同研究グループ

骨髄移植において HLA-DPB1 ミスマッチは再発率を低下させ GVL 効果を示すが、臍帯血移植の HLA-DPB1 適合性効果はまだ報告されていない。今回全国6つのバンクを経由した初回、単一臍帯血移植、白血病疾患、日本人患者移植症例 1157 ペアについて患者と臍帯血の

DNA 検体を収集し HLA アリルタイピングを行い HLA-DP アリル適合性と移植成績との関連解析を行った。HLA-DPB1 ミスマッチ (GVH 方向) 群 748 症例ではマッチ群 240 症例と比較して再発率が有意に低下していた (HR 0.61, 95%CI (0.47-0.80), $P < 0.001$)。一方 HLA-

HLAアリル適合性と白血病再発率 (多変量解析)

HLA 座	適合性	N	白血病再発			P-value
			HR	95% CI		
				lower	upper	
A	マッチ	522	1.00			.13
	ミスマッチ	635	0.82	0.63	1.06	
B	マッチ	349	1.00			.65
	ミスマッチ	808	1.07	0.80	1.44	
C	マッチ	288	1.00			.84
	ミスマッチ	869	0.97	0.72	1.31	
DRB1	マッチ	316	1.00			.83
	ミスマッチ	841	0.96	0.64	1.44	
DQB1	マッチ	367	1.00			.54
	ミスマッチ	790	0.89	0.60	1.30	
DPB1	マッチ	278	1.00			<.001
	ミスマッチ	879	0.61	0.47	0.80	



DPB1 適合性はGVHD 発症率, 生着率, 生存率には有意な影響を示さなかった。HLA-DPB1 ミスマッチのGVL 効果が見られたことから, 臍帯血移植において

HLA-DPB1 ミスマッチドナーの選択を考慮することで移植成績を向上させる可能性が示された。

ヒト急性 GVHD における組織浸潤アロ反応性 T 細胞レパトアの定量的評価

小山 大輔, 村田 誠, 葉名 尻良, 奥野 真吾, 鴨下 園子, 高木えり奈, Jakrawadee Julamane, 宮尾康太郎, 後藤 辰徳, 酒村玲央奈, 寺倉精太郎, 西田 徹也, 清井 仁

名古屋大学大学院 医学系研究科 血液・腫瘍内科学

ヒト GVHD 組織からの T 細胞分離は困難で, GVHD 組織浸潤 T 細胞の解析は充分でない。急性 GVHD 患者 8 例の GVHD 組織を用い, 組織浸潤 T 細胞のアロ反応性の検討及び TCR β 鎖の Target deep sequence による組織浸潤 T 細胞レパトアの定量的評価を行った。症例 1 の皮膚から得た, 患者細胞を傷害しドナー細胞は傷害しない 2 つの T 細胞クローンは, 組織浸潤 T 細胞全体のそれぞれ 75% (頻度第 1 位) 及び 23% (頻度第 2 位) を占めた。症例 2 の皮膚, 胃, 大腸 GVHD では, 組織中の頻度第 1 位の T 細胞クローンはそれぞれ異なり,

組織浸潤 T 細胞全体のそれぞれ 93%, 64%, 99% を占めた。Simpson の多様性指数で評価した組織浸潤 T 細胞の多様性の度合いは, Grade I-II の GVHD より Grade III-IV の GVHD で低く, ステロイド感受性 GVHD よりステロイド抵抗性 GVHD で低かった。本研究から, ヒト GVHD が極めて限られた T 細胞クローンにより発症し, それらクローンが組織ごとに異なること, 組織浸潤 T 細胞の多様性が GVHD の予後と相関する可能性があることが示唆された。

グラフト内皮細胞発現 HLA に対するアロ反応性 T 細胞は, DSA の種類により増減する

岩崎 研太¹⁾, 三輪 祐子¹⁾, 打田 和治¹⁾, 堀見 孔星²⁾, 松岡 裕²⁾, 村口 篤³⁾, 岸 裕幸³⁾, 浜名 洋³⁾, 小林 孝彰²⁾

¹⁾ 愛知医科大学医学部腎疾患・移植免疫学寄附講座

²⁾ 同腎移植外科

³⁾ 富山大学医学部免疫学講座

【目的】内皮細胞 MHC class II に対する CD4T 細胞のアロ応答は拒絶反応と関連があるかどうかは明確ではない。今回, 内皮細胞 HLA class II DR に対する CD4T 細胞のアロ応答が, 内皮細胞に結合する抗体の種類によって増減することを見出したのでここに報告する。

【方法】内皮細胞を IFN γ で刺激し MHC class II は誘導した。CD4T 細胞増殖は CFSE-FCM 法で評価した。

CD4+CD25+foxp3+ 細胞を Regulatory T-cell (Treg), CD4+CXCR5+foxp3- 細胞を Follicular helper T-cell (Tfh), CD4+CXCR5+foxp3+ 細胞を Follicular regulatory helper T-cell (Tfr) と定義した。TCR β は OX40 をマーカーにシングルセルより CDR3 領域を同定した。

【結果】IFN γ で刺激したヒト内皮細胞に対して, CD4 T 細胞アロ応答は上昇した。HLA class I・A/B に対する

抗体存在下で培養したところ、HLA class I 抗体存在下ではアロ応答が上昇、A/B 抗体接着内皮細胞ではアロ応答は減弱した。また、同定したアロ応答 T 細胞クローンは DA の種類により同様の変化を認めた。Treg・Tfh・Tfr の存在比を調べたところ、各反応群において大きな変化は認めなかった。

【考察】ドナー臓器に対する T 細胞の direct recognition の制御は、重要であることが考えられた。また、ドナー特異的抗体接着が、補体・凝固活性化非依存性に T 細胞応答を亢進させ拒絶反応へと導く可能性が示唆された。

HLA-C 座のドナー特異的 HLA 抗体陽性に行われた生体腎移植症例

長坂 隆治¹⁾, 田中 秀則²⁾, 小林 孝彰³⁾

¹⁾豊橋市民病院 移植外科

²⁾公益財団法人 HLA 研究所

³⁾愛知医科大学 腎移植外科学

52 歳女性（糖尿病性腎症）、夫をドナーとして生体腎移植を計画した。免疫学的リスクとして輸血歴なし移植歴なし妊娠歴あり（G7P4）、リンパ球クロスマッチにて FCXM-T（ratio）陽性（MFI 比 4.2 倍）、flow PRA にて class I 陽性（44%）、ドナー特異的抗体（DSA）として HLA-C 座のドナー抗原（C*08:01, C*03:03）に対する抗体が検出された（MFI にて各々、10950, 9441）。2 週間

前よりステロイド・代謝拮抗薬を開始し、リツキシマブ 2 回、血漿交換 4 回実施後に腎移植を行った。術直前 DSA は各々、2300, 1400 と前値の 1/3 ~ 1/4 に減少し、移植後もさらに減少した。移植前後で減少したのは、Cw9 抗原と交差反応を示すと思われる Cw10, Cw14 だけでなく、Cw1, Cw5, Cw12, Cw16 に対しても認められた。HLA-C 陽性移植につき考察する。

Rituximab 脱感作療法による既存抗ドナー抗体陽性肝移植の経験

小倉 靖弘, 倉田 信彦, 小木曾 聡, 亀井 秀弥, 大西 康晴

名古屋大学医学部附属病院 移植外科

【背景】肝移植における既存抗ドナー抗体（DSA）の重要性が、近年、認識されてきた。

【方法】術前 HLA 抗体検査を実施し、陽性の場合には同定検査を追加した。DSA 陽性症例には rituximab 脱感作療法を実施し、術前血漿交換、免疫抑制剤投与は行わずに、肝移植を実施した。

【結果】9 例（8.6%）で DSA が確認され、rituximab 脱感作療法を術前 1 ~ 21 日に行った。肝移植後に抗体関連拒絶反応の発症はなく、全例生存。経時的 DSA 変化を見ると、術後 class-I DSA は急速に消失するのに対して、

class-II DSA は緩徐に減少。Non-DSA に関しては、DSA ほど顕著でないものの、やや低下傾向を示した。また、class-II DSA に対する 3 例の術後肝生検 C4d 染色では術後早期では陽性、その後、陰性化の傾向が見られた。

【結論】Rituximab 脱感作療法は、既存 DSA の肝移植に有効であった。

血液型抗体がもたらす、HLA 抗体関連拒絶に対する防御効果の可能性

岡田 学¹⁾, 二村 健太¹⁾, 辻田 誠¹⁾, 平光 高久¹⁾, 後藤 憲彦¹⁾, 鳴海 俊治¹⁾,
渡井 至彦¹⁾, 小林 孝彰²⁾

¹⁾名古屋第二赤十字病院

²⁾愛知医科大学

抗ドナー抗体による抗体関連型拒絶の制御は臓器の長期生着に不可欠である。現在、血液型不適合腎移植の成績は適合移植に遜色なく良好であり、背景に抗ドナー血液型抗体の存在下でも拒絶反応が起こらない、Accommodation と呼ばれる状態が存在する。このことから、抗血液型抗体が腎グラフトの内皮保護作用を誘導する可能性が示唆されてきた。

一方で、抗ドナー HLA 抗体 (DSA) による抗体関連型拒絶は十分に制御できていない状況であり、HLA 不適合移植の成績は適合移植よりも有意に劣っている。特

に、DSA による慢性抗体関連型拒絶に対しては有効な治療法が未だ確立されていない。

近年、我々は血液型抗体による内皮保護作用が、DSA による内皮細胞障害が減弱することを in vitro の実験において示してきた。

今回、血液型不適合腎移植の臨床データを調査し、抗血液型抗体が移植後の DSA の発生と DSA による慢性抗体関連型拒絶の発生に与える影響について解析を行った。

HLA-A ミスマッチは腎移植後膵移植と膵単独移植のグラフト生着に影響する

伊藤 泰平, 剣持 敬, 栗原 啓, 會田 直弘

藤田保健衛生大学医学部 移植・再生医学講座

【背景】膵腎同時移植を除く、腎移植後膵臓と膵単独移植 (PT) における膵グラフト 5 年生着率は 36.1% と不良である。膵グラフト生着に影響する因子を検討した。

【方法】2016 年 12 月末までに施行された本邦 PT49 例を後方視的に検討した。

【結果】Cox 比例ハザード回帰 (多変量解析) では、ドナーの HbA1c (P=0.04), HLA-A のミスマッチ数 (P=0.036) が独立して膵グラフト生着に影響した。HLA-A ミスマッ

チ数が多いほど膵グラフトの予後は不良で、HLA-A ミスマッチが無いと拒絶は 23.1% であるのに対し、ミスマッチを有すると 38.9% であった。また、T-cell depleting 抗体の導入により拒絶合併の減少、膵グラフト生着率の改善する傾向が認められた。

【結論】PT ではレシピエント選択における HLA-A のマッチングの考慮や、T-cell depleting 抗体での導入が成績改善につながると考えられた。

特別講演

次世代シーケンサーを用いた HLA DNA タイピング法の特徴と臨床への応用

椎名 隆

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

HLA アリルを判定する DNA タイピング検査は、移植の際のドナーとレシピエントの組織適合性の一致、生活習慣病や自己免疫疾患との関連、がん患者へのペプチドワクチン投与における HLA 拘束、造血幹細胞移植に伴う移植片対宿主病 (graft versus host disease; GVHD)、感染症における防御と重症化、薬剤感受性などとの関連解析に不可欠な検査技術である。1990 年代前半に開発された PCR 法に基づく PCR-SSP 法、PCR-SSOP 法および SBT 法などの DNA タイピング法が開発され、いずれの方法とも中～高解像度を有する。ところが、これら方法の問題点として、2つの多型部位が同一の染色体上 (*cis*) か、異なる染色体上 (*trans*) に位置するのかの位置情報が得られない、いわゆる phase ambiguity が生じること、PCR-SSP 法や PCR-SSO 法では、年々増加している新規 HLA アレルに対応するための塩基配列特異的プライマーやオリゴヌクレオチドプローブがそれぞれ不足していることが挙げられる。よって、これら方法による DNA タイピング結果の多くは、通常 100 ~ 1000 のアレル候補が出現し、単一のアレルに絞り込むことができないため、日本人における HLA 遺伝子頻度を参照して頻度の高いアレルを最も可能性の高いアレルと判定する推定 (みなし) タイピングが行われているのが現状である。さらには、これら方法の多くは、多型に富む特定のエキソンのみのアレル判定が行われていることから、HLA 分子の発現が抑制される null アレルの原因となるエンハンサー・プロモーター領域や他エキソンやイントロン領域における多型や変異の検出が不可能である。したがって、プロモーター領域から 3' 側の非翻訳領域までを含む HLA 遺伝子全領域における高解像度 DNA タイピングこそが将来の目指すべき理想的な DNA タイピング法であろう。

近年、次世代シーケンサーを活用した HLA 遺伝子の DNA タイピング法 (NGS-SBT 法) が注目を浴びている。次世代シーケンサーの原理から DNA 断片 1 分子

ずつの塩基配列を大量に且つ並列的に決定することから、現行の高解像度 DNA タイピング法 (現行法) では不可能である phase ambiguity 問題がほぼ解消され、候補アレルを絞り込むこと無しで正確なタイピング結果が得られる優れた HLA 検査技術である。NGS-SBT 法は、国内をはじめ国内外の研究機関や企業にて開発が進められており、いずれも (1) PCR, (2) 次世代シーケンシング (NGS), (3) アリル判定の 3つの主な工程から構成される。(1) PCR の工程では、HLA 遺伝子を増幅させる長さから、Short-range 法と Long-range 法に大別される。Short-range 系は、多型に富む個々のエキソンを増幅させる方法であり、PCR 産物の長さが 250 ~ 900 bp 程度と比較的短いことから多検体処理に適する。その一方、イントロンで組み換えが生じているアレルの組み合わせの場合、phase ambiguity を解消することが困難であり、みなしタイピングをせざるを得ない場合がある。これに対して Long-range 系は、多型に富むエキソンとその間のイントロンを含む遺伝子領域を増幅させる方法であり、多型に富むエキソンの他にイントロンの塩基配列情報も得られることから、前述のイントロンで組み換えが生じている場合でも phase ambiguity を解消することができる利点を有する。(2) NGS の工程では、Ion Torrent system (Thermo Fisher Scientific 社) および MiSeq (Illumina 社) などのベンチトップ型次世代シーケンサー (NGS) が NGS-SBT 法に使用されている。また、サンプルそれぞれに異なる index や barcode 配列を NGS ライブラリー作製時に付加させることにより、多検体のリード配列が並列的に得られることも利点である。(3) アリル判定の工程では、アリル判定ソフトウェアが国内外で開発されているが、エキソンレベル (6 桁レベル) におけるタイピング精度は、99% 以上と年々改善されている。

この画期的な NGS-SBT 法は、造血幹細胞移植や疾患研究などに既に応用されており、造血幹細胞移植では、

正確なアリル判定に基づく移植の実施やコーディネートの期間短縮と効率向上が、また疾患研究では、これまで不可能であった遺伝子全領域における疾患関連多型の検出が期待されている。現行法よりも劣る点として、NGS-SBT法は、PCRからアリル判定まで最低でも2~3日間を要し、その殆どの時間は、煩雑で正確な操作を要

求される点挙げられる。そこで本法の迅速化や自動化を図る取り組みがなされており、将来的に解析費用の軽減につながるものと考えられる。本講演では、NGS-SBT法の原理、実施例および臨床応用に向けた利点と解決すべき今後の課題について国際状況を踏まえて講演する。

【日本組織適合性学会 MHC 投稿・執筆規定】 (平成 28 年 2 月 1 日改訂)

I. 概要

内 容：MHC に関する基礎研究から臨床研究まで全てを対象にし、未発表の論文、他誌に投稿中（もしくは掲載予定）でないものに限る。

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

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

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

著作権：本誌に掲載された論文などの著作権は日本組織適合性学会が有し、インターネットを通じて電子配信されることがある。とくに、原著、総説については、原則として科学技術振興機構（JST）

が運営する電子ジャーナル配信サイト（J-STAGE）にて配信される。

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

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

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 点につき原稿用紙 1 枚分に該当するものとし、それぞれに表題を記載し、挿入箇所を本文に明記する。また、図説は別紙で作成し、本文の最後に添付する。本文は Microsoft Word で作成し、表は Microsoft Word もしくは Microsoft PowerPoint、図、写真は Microsoft PowerPoint を使用する。原稿は記憶媒体（CDR 等）に保存もしくは Email 添付で投稿レターを添えて編集長に送付する（送付先は投稿・執筆規定の末尾を参照）。

2. 第 1 頁目

表紙とし「原著」を明記し、日本語と英語でタイトル、著者全員の氏名と所属に加えて、連絡責任者の住所、氏名、電話番号、FAX 番号、E-mail アドレスを記載する。なお、タイトル、著者名、所属の記載は下記の形式に従う。

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

Tetsuya Takao¹, Akira Tsujimura¹, Masaharu Sada², Reiko Goto², Minoru Koga³, Yasushi Miyagawa¹, Ki-yomi Matsumiya¹, Kazuhiko Yamada², Shiro Takahara¹

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

心移植における FlowPRA 法を用いた HLA 抗体検出の意義

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

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

3. 本文一：日本語での投稿

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

・ページ替えて、「はじめに」、「材料と方法」、「結果」、「考察」、「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, μl, %, °C など) を、数字はアラビア文字を用いる。
- ⑤遺伝子名 (シンボル) はイタリックで表記する。例えば、*HLA-DRB1* (タンパク名として用いる場合はイタリックにしない)

4. 本文二：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, μl, %, °C など) を、数字はアラビア文字を用いる。
- ③遺伝子名 (シンボル) はイタリックで表記する。例えば、*HLA-DRB1* (タンパク名として用いる場合はイタリックにしない)

5. 本文三：略語一覧の作成【作成要項】

- ①略語はアルファベット順に並べる。
- ②略語の後に「:」を入れ、フルスペル (小文字) を記載する。
例) LCT : Lymphocyte cytotoxicity test
- ③商品名は略語一覧に入れない

6. 引用文献

引用文献は本文中の引用箇所の右肩に片カッコ付きで番号を付し、引用順に一括して、以下の例に従って、著者名、論文名、雑誌 (もしくは書) 名 (英文の場合はイタリック表記)、巻 (号)、最初と最後のページ、発表年を記載する。著者名、編集者名は筆頭者から 3 名まで列記し、4 名以上は他または *et al.* とする。

1. Shi Y, Yoshihara F, Nakahama H, *et al.*: A novel immunosuppressant FTY720 ameliorates proteinuria and alterations of intrarenal adrenomedullin in rats with autoimmune glomerulonephritis. *Regulatory Peptides* 127(1-3): 233-238, 2005.
2. Tongio M, Abbal M, Bignon JD, *et al.*: ASH#18: HLA-DPB1. *Genetic diversity of HLA Functional and Medical Implication* (ed. Charron D), Medical and Scientific International Publisher, p. 134-136, 1997.
3. 難波行臣, 今尾哲也, 石黒 伸 他: 既存抗体陽性生体腎移植後に生じた抗体関連型拒絶反応に対して血漿交換および免疫グロブリン大量療法 (IVIG) が奏効した 1 例. *血管外科* 17(1): 36-40, 2005.

4. 佐田正晴, 高原史郎: 腎移植一組織適合と拒絶反応. 新図説泌尿器科学講座 6「腎疾患, 神経泌尿器科, 老年泌尿器科」(吉田修 監修), Medical View 社, p.120-125, 2000.

III. 短報 (研究速報, 技術速報などを含む), 症例報告執筆書式

1. 執筆要項

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点につき原稿用紙1枚分に該当するものとし, それぞれに表題を記載し, 挿入箇所を本文に明記する。また, 図説は別紙で作成し, 本文の最後に添付する。本文はMicrosoft Wordで作成し, 表はMicrosoft WordもしくはMicrosoft PowerPoint, 図, 写真はMicrosoft PowerPointを使用する。原稿は記憶媒体(CDR等)に保存もしくはEmail添付で投稿レターを添えて編集長に送付する(送付先は投稿・執筆規定の末尾を参照)。

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内
日本組織適合性学会誌 MHC
編集長 木村 彰方
担当 谷本 佳澄 <E-mail: tanimoto@att.med.osaka-u.ac.jp>
Tel: 06-6879-3746 Fax: 06-6879-3749

2. 第1頁目

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

3. 本文 (日本語および英語での投稿)

- 2頁目に, 英文要旨 (200 words 以内), キーワード (3語以内) を記載。
- 3頁目以降は, 原著執筆書式 3. の3頁目以降に準じる。

IV. 総説, シリーズその他

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, 英語のいずれも可とする。総原稿枚数は編集委員会で指定し, 原著執筆書式に準じるが, 本文構成の一部(「材料と方法」, 「結果」, 「考察」等)については, 適宜変更することも可能である。

	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

今年は、7月に8個も台風が発生し1971年以来とのことである。また、一部地域では豪雨災害が発生、8月前半には北日本および東日本の太平洋側で日照不足となった。ここ最近（8月後半）は、各地域で猛烈な雨に関する報道が流れている。毎年、気候変動は実際激しくなっているようだが、会員皆様の夏はどのような夏であっただろうか？

今年は9月に第17回国際組織適合性学会が米国サンフランシスコで開催されて、DNAタイピング部門では、次世代シーケンサー（NGS）を用いたHLAおよびKIRのプロジェクトが、血清学部門では、エピトープに関するプロジェクト等が開催され、今後、本誌でも参加者からの報告がされることだと思ふ。

さて、本号では第16回近畿地方会および認定HLA検査技術者講習会の案内および講習会のテキストが掲載されおり、大変興味深い講習会の内容であることから、会員の皆様には是非とも受講していただきたい。また、本号には第1回関東HLA研究会の抄録集が掲載されており、今後、各地域での組織適合性に関する研究活動が活性化することを期待したい。

最後に、「佐田先生のご逝去を悼む」として、4人の先生からご寄稿いただいている。佐田先生は、持ち前の行動力で本学会の大会長を2度務められ、認定制度や抗体-QCを通じ、本学会に多大な功績を残された先生である。いつも笑顔で接していただいた温かい人柄の先生であったことを思い出す。ご冥福をお祈りいたします。

田中秀則

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（新）

〒113-0033 文京区本郷7-3-1

東京大学大学院 医学系研究科
人類遺伝学分野内

Tel & Fax：03-5802-2907

E-mail：hlajimu@m.u-tokyo.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