

日本組織適合性学会誌

第 25 卷第 2 号 平成 30 年 8 月 20 日発行

目 次

日本組織適合性学会からのお知らせ

第 27 回 日本組織適合性学会大会の御案内	87
認定 HLA 技術者講習会 (大会教育講演を兼ねる)	89
認定制度指導者講習会	90
第 17 回日本組織適合性学会・近畿地方会のご案内	91

平成 30 年度認定 HLA 検査技術者講習会テキスト

認定制度試験問題を中心とした HLA の解説	木村 彰方	92
HLA と疾患の関連研究で用いる統計学的仮説検定	大橋 順	104
同種造血幹細胞移植における HLA 適合度と移植成績	諫田 淳也	112
第 2 回 関東 HLA 研究会 抄録集		120
第 2 回 東海北陸 HLA 研究会 抄録集		128
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)		139
編集後記		142

第 27 回日本組織適合性学会大会の御案内

第 27 回日本組織適合性学会大会

大会長 太田 正穂

(信州大学医学部内科学第 II 教室 特任教授)

副大会長 田中 榮司

(信州大学医学部内科学第 II 教室 教授)

このたび、第 27 回日本組織適合性学会大会を、2018 年 9 月 21 日（金）、22 日（土）、23 日（日）の 3 日間におたり、まつもと市民芸術館で開催させていただくことになりました。松本では、1977 年に本学会の前身である日本組織適合性研究会を開催して以来、41 年ぶりの開催であり、感慨深く光栄に存じております。このような歴史と伝統のある本大会の会長を拜命していただき、理事長徳永先生はじめ、会員の皆様方にお礼申し上げます。

本大会は、高度な多型性と機能を有する MHC 研究の最新の進歩・進捗状況、臨床応用を見据えて「MHC 多様性の科学—基礎から“Precision Medicine”の実現へ—」をテーマとしました。HLA の臨床現場への有用性は、個別化医療（personalized medicine）と言うよりもまさしく適確医療（precision medicine）の実現と思われれます。特別講演には、Seiamak Bahram 先生（ストラスブール大学）と Marco Colonna 先生（ワシントン大学）のお二人をお招きいたしました。シンポジウムでは、「MHC の新たな非自己認識機構の解明に向けて—診断と治療システムの構築—」、「進化するがん免疫療法」、「移植と HLA：移植医療の現状と未来」および「HLA と疾患感受性」の 4 課題を企画致しました。大会最終日まで会員の皆様に満足していただけるような会になります様、スタッフ一丸となって準備をしております。

会場となるまつもと市民芸術館は、松本駅から徒歩 10 分程で、国宝松本城、美術館、松本の中心街にも気軽に出向くことが可能であります。気候に恵まれたこの時期、城下町松本にぜひ多くの皆様方に御参加して頂き、活発な御議論をお願い申し上げるとともに、本学会のますますの発展に寄与して頂けることを心より祈念しております。

会期：平成 30 年 9 月 21 日（金）～9 月 23 日（日）

会場：まつもと市民芸術館

〒 390-0815 長野県松本市深志 3-10-1

TEL: 0263-33-3800

大会プログラム

特別講演 I：Prof. Seiamak Bahram (Strasbourg School of Medicine)

特別講演 II：Prof. Marco Colonna (Washington University School of Medicine)

学会賞受賞講演、シンポジウム（疾患感受性、腫瘍免疫、臓器移植・造血細胞移植）、一般演題発表

QCWS 集会、教育講演は 9 月 23 日（日）に開催

大会事務局・運営事務局

信州大学医学部内科学第 II 教室

第 27 回日本組織適合性学会大会事務局 担当・城下 智

〒 390-8621 松本市旭 3-1-1

TEL: 0263-37-2634 E-mail: jshi2018@shinshu-u.ac.jp

株式会社プロコムインターナショナル

〒 135-0063 東京都江東区有明 3-6-11 TFT ビル東館 9 階

TEL: 03-5520-8821 FAX: 03-5520-8820 E-MAIL: jshi27@procomu.jp

大会ホームページ

<http://procomu.jp/jshi2018/>

宿泊予約は大会ホームページよりお早めにお申し込みください。

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 30 年 9 月 23 日（日曜日）

時 刻：8 時 50 分～10 時 50 分

会 場：第 27 回・日本組織適合性学会 大会会場

まつもと市民・芸術館

〒390-0815 松本市深志 3-10-1（TEL 0263-33-3800）

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、ご注意ください。

内 容：

- (1) 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）
「HLA の基礎知識（認定制度試験問題の解説を中心に）」
- (2) 大橋 順 先生（東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻）
「HLA と疾患の関連研究で用いる統計学的仮説検定」
- (3) 諫田 淳也 先生（京都大学医学部附属病院 血液内科）
「同種造血幹細胞移植における HLA 適合度と移植成績」

認定制度指導者講習会

第 27 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 2 企画、シンポジウム 4 企画、合計 7 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) シンポジウム I : 9 月 21 日（金）14:00～15:30
「MHC の新たな非自己認識機構の解明に向けて—診断と治療システムの構築—」
- 2) 特別講演 I : 9 月 21 日（金）15:30～16:30
Prof. Seiamak Bahram (Strasbourg School of Medicine)
- 3) シンポジウム II : 9 月 21 日（金）16:30～18:00
「がん免疫療法」
- 4) 特別講演 II : 9 月 22 日（土）11:00～12:00
Prof. Marco Colonna (Washington University School of Medicine)
- 5) シンポジウム III : 9 月 22 日（土）14:20～15:50
「抗 HLA 抗体診療ガイドライン第一版について」
- 6) シンポジウム IV : 9 月 22 日（土）17:40～19:10
「HLA と疾患感受性」
- 7) 教育講演（認定 HLA 技術者講習会を兼ねる）
9 月 23 日（日）8:50～10:50 2 時間
 - ① 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）
「HLA の基礎知識（認定制度試験問題の解説を中心に）」
 - ② 大橋 順 先生（東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻）
「HLA と疾患の関連研究で用いる統計学的仮説検定」
 - ③ 諫田 淳也 先生（京都大学医学部附属病院 血液内科）
「同種造血幹細胞移植における HLA 適合度と移植成績」

第 17 回日本組織適合性学会・近畿地方会のご案内

会 期：2019 年 2 月 2 日（土）10:30～17:00（予定）
会 場：大阪府赤十字血液センター 7 階会議室
（大阪市城東区森之宮 2 丁目 4 番 43 号）
世話人：吉澤 淳 京都大学大学院医学研究科 外科学講座
会 費：正会員 2,000 円 学生 1,000 円
共 催：財団法人 大阪腎臓バンク
抄 録：2018 年 12 月 26 日 締め切り
送付先：〒 589-8511 大阪府大阪狭山市大野東 377-2
近畿大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター
日本組織適合性学会近畿支部事務局
yuketsu@med.kindai.ac.jp

本会参加は、JSHI 認定技術者・指導者の新規および更新時の単位となります。

平成 30 年度認定 HLA 検査技術者講習会テキスト

認定制度試験問題を中心とした HLA 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

I. はじめに

本学会の認定制度は組織適合性検査に関わる技術者と指導者を学会が認定することによって、その知識水準および技術水準を担保することを目的としている。毎年の大会期間中に実施されている教育講演（組織適合性技術者講習会）と QCWS は、上記の目的を達成するために企画・実施されているものであり、認定制度と切り離せない関係にあることは言うまでもない。本講演では、認定制度における審査要件となっている認定制度試験の問題について、とくに難問（模擬試験において正答率が概ね 40% 未満）を中心に、その内容や応用範囲について解説する。

2016 年度以前の難問については昨年の教育講演で取り上げたので、本年は 2017 年度の難問について解説する。難問は 13 問であったが、そのうち 1 問（問題 36）は正答率が 20% 未満となっており、5 択問題でのランダムな選択率よりも低かったため、誤った知識が一般的になっていると思われる。

II. 難問の正解、正答率、代表的な誤答および問題解説

問題 10 MICA 分子に関して、誤っている記述を a～e のうちから一つ選べ

- 非古典的クラス I 分子である
- KIR レセプターのリガンドである
- NK 細胞および $\gamma\delta$ T 細胞を活性化する
- ウイルス感染細胞やがん細胞で発現が高くなることがある
- 特定の microRNA で発現が制御される

正解：b（正答率：29.8%，代表的な誤答：a, c, d, e）

【解説】MICA は NK 細胞、CD8 陽性 $\alpha\beta$ T 細胞、 $\gamma\delta$ T 細胞などに発現する NKG2D（活性型）のリガンドであるが、KIR のリガンドではない。また、一般に CD4 陽性 $\alpha\beta$ T 細胞は NKG2D を発現しない。さらに、ウイルス感染細胞やがん細胞では MICA 分子の発現亢進が知られている。これとは別に、肝臓がんおよび卵巣がんでは、microRNA（それぞれ miR25-93-106b および microRNA-20a）によって MICA 遺伝子の発現が抑制されることが報告されている。なお、NKG2D のリガンドには、MICA 以外に ULBP 分子がある。一方、NKG2A（抑制型）は HLA-E をリガンドとする（図 1 を参照）。

問題 11 次の HLA クラス I 様分子のうち、 $\beta 2$ ミクログロブリンと 会合しないものを a～e のうちから一つ選べ

- CD1d
- HLA-F
- MICA
- MR1
- HFE

正解：c（正答率：25.0%，代表的な誤答：b, e）

【解説】選択肢のうち MICA は $\beta 2$ ミクログロブリンと会合しないが、他の分子はいずれも $\beta 2$ ミクログロブリンと会合している。（図 1 を参照）

受付日：2018 年 6 月 27 日，受理日：2018 年 6 月 27 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・分子病態分野
TEL: 03-5803-4905 E-mail: akitis@mri.tmd.ac.jp

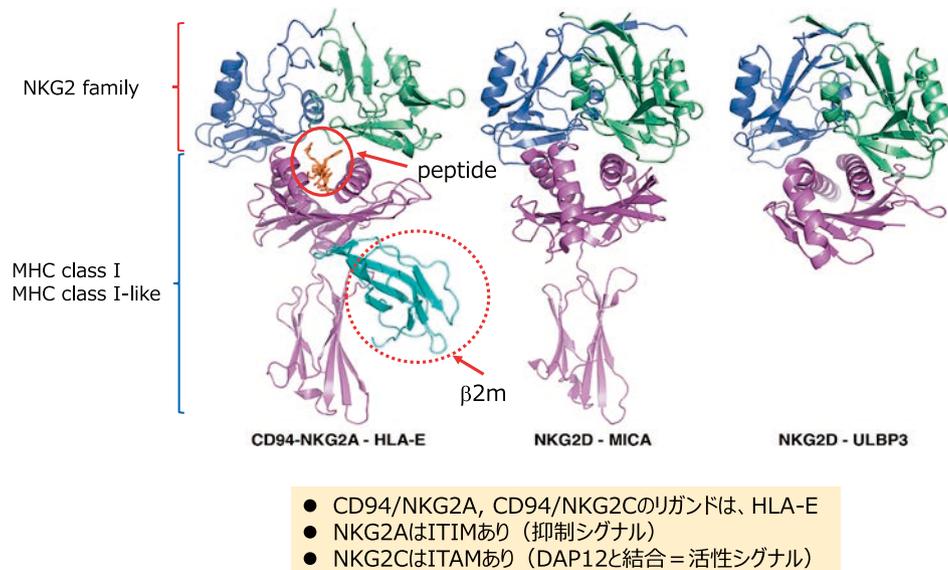


図1 NKG2ファミリーとMHCクラスIおよびMHCクラスI様分子
Petrie, et al. J Exp Med 205(3): 725-735, 2008 より改変引用

問題12 古典的HLA分子による抗原提示に関して、誤っている記述の組合せをa～eのうちから一つ選べ

1. 細胞質内のウイルスやある種の細菌などの非自己タンパク質に由来するペプチドは、主にエンドソームに運ばれてHLAクラスII分子により細胞表面に提示される
 2. 自己のタンパク質がプロセスされて生じるペプチドは、HLAクラスI, クラスIIのいずれにも結合しない
 3. 樹状細胞は、非自己タンパク質を取り込んで、これに由来するペプチドを、HLAクラスI, クラスIIのいずれによっても提示することができる
 4. 小胞体内で正しい立体構造を取れなかったタンパク(ミスフォールドタンパク)は、HLAクラスII分子と結合して細胞表面に発現し、自己抗体が認識する抗原となることがある
 5. 細胞質内のタンパク質の一部は、プロテアソームで分解され、生じたペプチドはTAPにより小胞体内に輸送される
- a. 1,2 b. 1,3 c. 2,3 d. 3,4 e. 4,5

正解：a (正答率：22.6%, 代表的な誤答：c)

【解説】細胞質内のウイルスなどの非自己抗原はプロテ

アソームにより分解されてペプチドになり、その一部がトランスポーター (TAP) のはたらきにより小胞体内に能動輸送された後に、さらにその一部がHLAクラスI分子のペプチド収容溝に結合した状態で細胞表面に発現する。自己のタンパク質であっても、細胞内で産生されたものは前記の非自己抗原と同様にプロテアソームで分解された後に小胞体内に輸送され、HLAクラスI分子のペプチド収容溝にフィットすれば、これに結合して細胞表面に発現する。一方、細胞外液中に存在するか細胞膜に発現している自己タンパクは、抗原提示細胞による外来抗原のエンドサイトーシスの際に一緒に取り込まれてエンドソーム/リソソーム (ライソソーム) 内で分解され、HLAクラスII分子のペプチド収容溝に結合して細胞表面に発現する。また、樹状細胞では、細胞外から取り込まれたタンパク質がエンドソームを介して細胞質に放出され、その後にユビキチン・プロテアソーム経路で分解されて出来たペプチドがHLAクラスI分子に結合されて細胞表面に発現することが報告されている。さらに、細胞外から取り込まれエンドソーム内で分解されて出来たペプチドが、リサイクリングによりエンドソーム内に取り込まれたHLAクラスI分子と結合して、細胞表面に提示されることがある。このようメカニズムをクロスプレゼンテーション (交差抗原提示) と呼ぶ。自己タンパク由来のペプチドを結合したHLAクラスI分

子やクラス II 分子が T 細胞に認識されないのは、そのような自己反応性 T 細胞が、胸腺におけるネガティブセレーションにより除去されているためである。選択肢 4 は、自己抗体が認識する自己抗原に関して、全く新し

い分子機序が発見されたものであり、自己免疫疾患の病態解明に重要な貢献をする可能性がある (図 2 および図 3 を参照)。

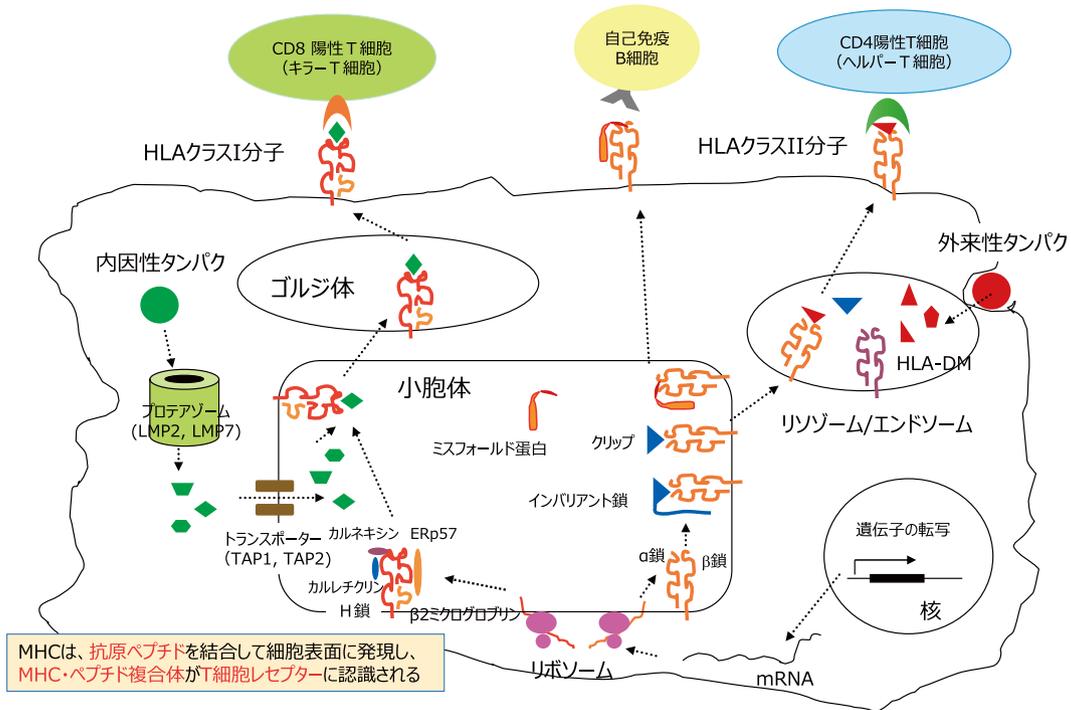


図 2 HLA 分子による抗原提示機序

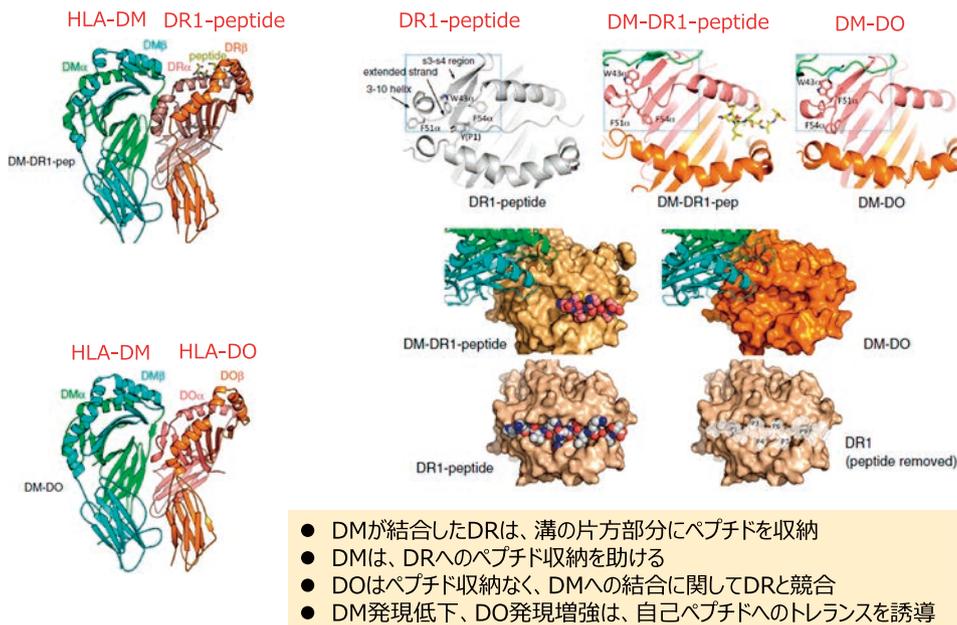


図 3 HLA-DM および HLA-DO の機能

Mellins et al. Curr Op Immunol 26: 115-122, 2014 より改変引用

問題 13 HLA 遺伝子領域の主要な特徴に関して、誤っている記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. HLA 遺伝子群の多型は、ペプチド収容溝を構成するアミノ酸残基に集中している
- b. 遺伝子重複を繰り返して、複数の遺伝子群からなる多重遺伝子族を構成している
- c. 遺伝子構造の多様性は図、遺伝子の再構成によって獲得される
- d. 各座位間の連鎖不平衡により、特徴的なハプロタイプが観察される
- e. HLA 遺伝子群は、その他の遺伝子群よりも高度の多型を呈する

正解：c (正答率：39.3%，代表的な誤答：b)

【解説】T 細胞レセプター遺伝子領域や B 細胞レセプター (免疫グロブリン) 遺伝子領域では、体細胞遺伝子組換え (somatic recombination) による遺伝子の再編成 (rearrangement) が生じるが、HLA 遺伝子領域では遺伝子再編成は起こらない。その他の選択肢の記述は正しい (図 4 を参照)。

問題 15 NK 細胞受容体 NKG2 分子群に関して、最も適切な記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. MIC 抗原を認識し活性化シグナルを伝達するものがある
- b. MIC 抗原を認識し抑制性シグナルを伝達するものがある
- c. クラス III 分子を認識し活性化シグナルを伝達するものがある
- d. CD1d 上の糖脂質を認識し活性化シグナルを伝達するものがある
- e. クラス I (HLA-A, -B, -C) 分子を認識し活性化シグナルを伝達するものがある

正解：a (正答率：21.4%，代表的な誤答：b, e)

【解説】MIC をリガンドとする NKG2 レセプターは、NKG2D/CD94 であり、DAP10 を介して活性化シグナルを伝達する。また、ULBP 分子 (マウスでは RAE-1 分子) も NKG2D のリガンドとなる。一方、抑制性 NKG2 レセプターには NKG2A/CD94 や NKG2C/CD94 があるが、これらは HLA-E をリガンドとし、DAP12 を介して抑制

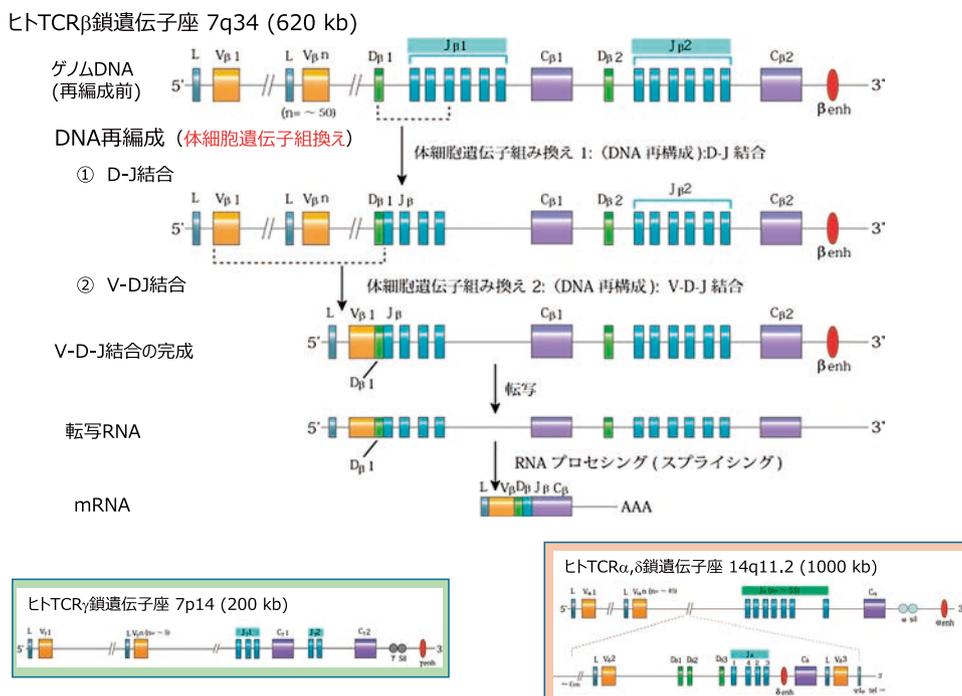


図 4 T 細胞レセプター遺伝子の再編成

WikiPathologica より改変引用：http://www.ft-patho.net/index.php?T-cell%20receptor%28TCR%29%20gene

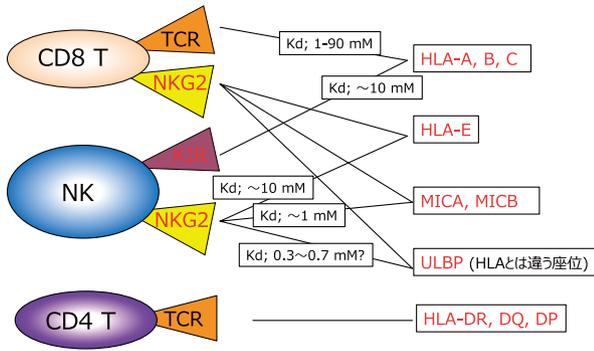


図5 T細胞とNK細胞におけるレセプターとリガンドの多様性

性シグナルを伝達する。クラスI分子類似の構造をとるCD1dは、ペプチドではなく糖脂質を結合しており、NKT細胞によって認識される。その際のレセプターはT細胞レセプターであり、特定のV α 鎖を用いていることが多い。また、クラスI分子を認識するNK細胞レセプターはKIRであるが、KIR3DSなどの細胞内ドメインが短いKIR(DS)は活性化シグナルを伝達する。なお、自己免疫疾患では、CD4陽性T細胞にNK受容体が発現することで過剰な免疫促進が生じると考えられている(図5, 図6, 図7, 図8および表1を参照)。

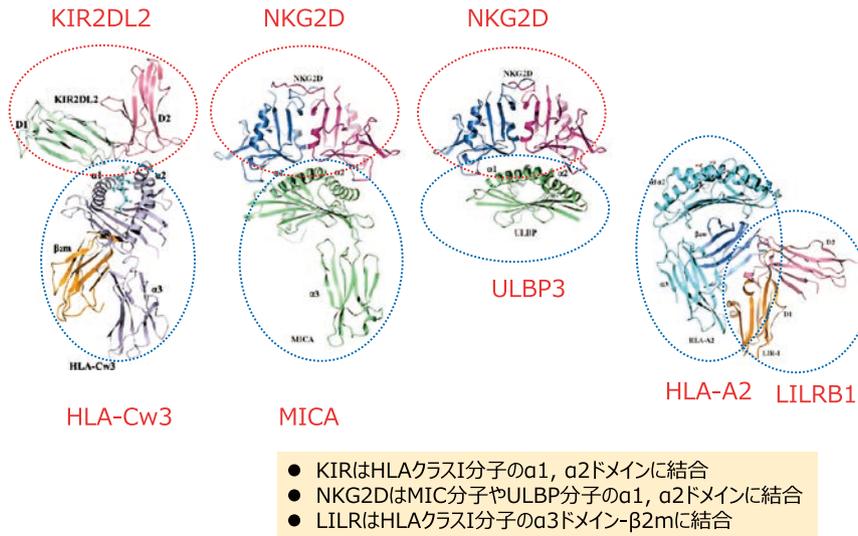


図6 NK細胞レセプターとリガンドとの対応関係と結合位置
Deng et al. Sem Immunol 18: 159-166, 2006 より改変引用

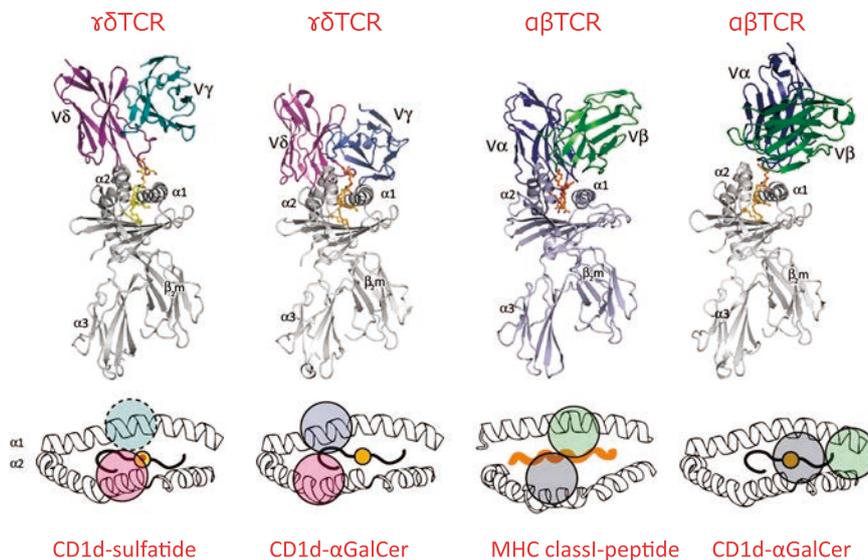
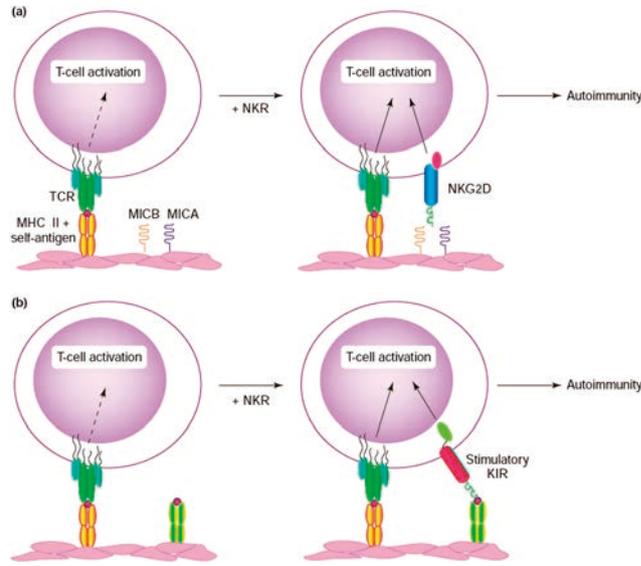


図7 CD1dによる $\gamma\delta$ T細胞および $\alpha\beta$ T細胞への抗原提示
Luoma, et al. Trends in Immunol 35: 813-821, 2014 より改変引用



- CD4⁺Tは通常NK細胞受容体を発現しない
- 自己免疫疾患ではNK細胞受容体が発現
- NKG2Dあるいは活性型KIRが発現すると共刺激

図 8 自己免疫疾患では CD4⁺T 細胞に NK 細胞受容体発現
Snyder et al. Trends Immunol 26(1): 25–32, 2004 より改変引用

表 1 NK 細胞レセプターとリガンドとの対応関係と機能

	NK 細胞受容体	リガンド	機能
免疫グロブリン型	KIR2DL1	HLA-C (C2 グループ)	抑制
	KIR2DS1	HLA-C (C2 グループ)	活性
	KIR2DL2/3	HLA-C (C1 グループ)	抑制
	KIR2DS2	HLA-C (C1 グループ)	活性
	KIR3DL1	HLA-B (Bw4)	抑制
	KIR3DS1	HLA-B (Bw4 ?)	活性?
	KIR3DL4	HLA-G	活性?
	KIR3DL2	HLA-A (A3, A11)	抑制
	LILR ファミリー (ILT)	HLA	抑制も活性もあり
レクチン型	CD94/NKG2A	HLA-E	抑制
	CD94/NKG2C	HLA-E	活性
細胞障害型	NKG2D	MICA, MICB, ULBP	活性
	NKp30	不明	活性
	NKp44	不明	活性
	NKp46	不明	活性
	CD16	IgG	活性
	DNAM-1	PVR (CD155), nectin-2 (CD112)	活性
	NKp80	不明	活性, 共受容体
	CD59	不明	活性, 共受容体
	NTB-A	NTB-A	活性, 共受容体
	2B4 (CD244)	CD48	活性, 共受容体
	CD2	LFA-2	活性, 共受容体
	LFA-1	ICAM	活性
	TLR	dsDNA など	活性

O'Connor et al. Immunol 117: 1–10, 2005

問題 19 MHC と T 細胞抗原受容体 (TCR) との相互作用に関して、非自己抗原ペプチドに特異的な TCR を発現する成熟 T 細胞のみ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

- a. 体細胞遺伝子組換え
- b. 抗原のプロセッシング
- c. TCR の親和性成熟
- d. T 細胞クローンの選択と拡大
- e. T 細胞レパトリーのポジティブセレクション

正解：d (正答率：28.9%，代表的な誤答：c, e)

【解説】親和性成熟 (affinity maturation) とは、B 細胞レセプター (免疫グロブリン) 遺伝子において、体細胞高頻度突然変異 (somatic hypermutation) によって抗原への親和性がより高い免疫グロブリンが生じる現象をいうものであり、T 細胞レセプター (TCR) 遺伝子ではこのような現象は起こらない。T 細胞レパトリーのポジティブセレクションとは、胸腺皮質上皮細胞に発現する自己 MHC 分子と自己ペプチドに対して弱い結合親和性

1. T細胞は自己MHCと抗原ペプチドの複合体に対して免疫応答する (抗原応答のMHC拘束性)
2. 自己MHCと自己ペプチドの複合体を認識するT細胞 (自己反応性T細胞) は除去ないし不活性化される (免疫寛容・アネルギー)
3. 非自己MHCとペプチドの複合体を認識するT細胞 (アロ反応性T細胞) が存在する (拒絶反応)

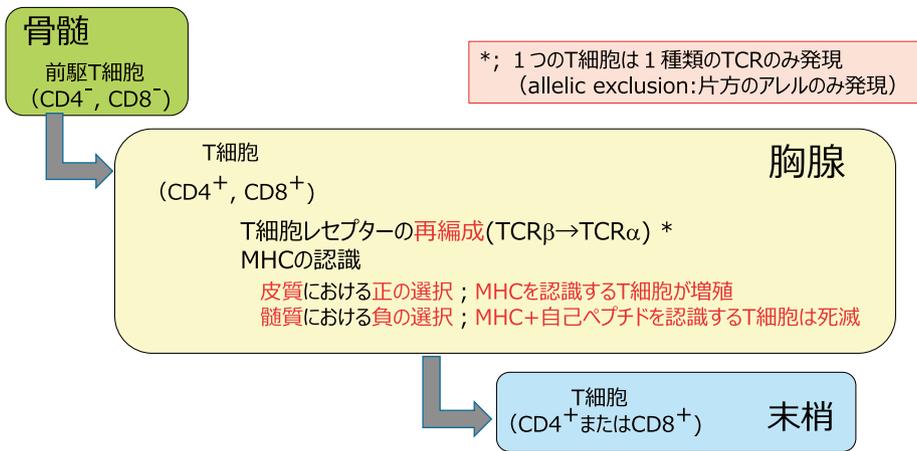


図9 免疫学的な自己と非自己の識別

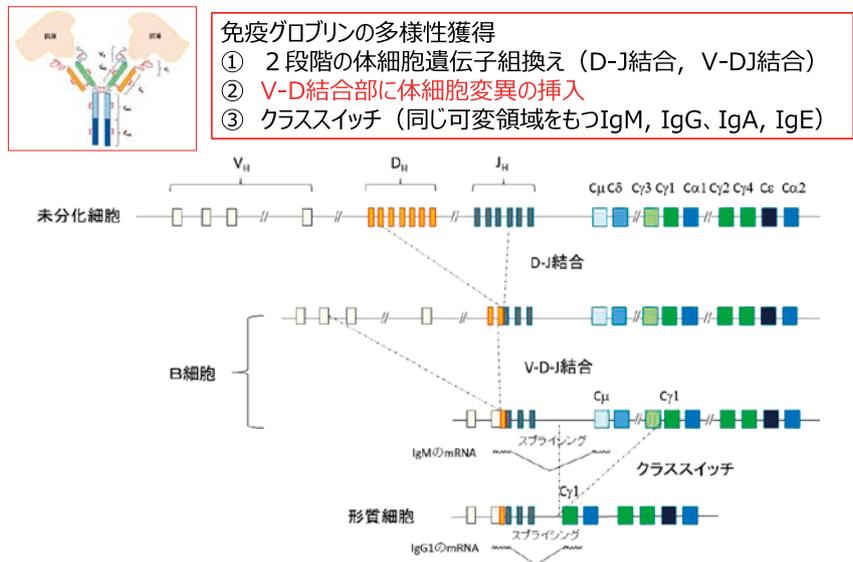


図10 免疫グロブリン遺伝子の再編成

を示す TCR を発現する T 細胞が細胞死を免れて選択的に生存する現象を意味する。近年、胸腺皮質上皮細胞では特有のペプチドが産生され、これが一部の T 細胞のポジティブセレクションに関与していることが報告されている。胸腺におけるポジティブセレクションにより、T 細胞は、抗原ペプチドの認識における自己 MHC への拘束性という重要な性質を獲得する。体細胞遺伝子組換えは、T 細胞レセプターや B 細胞レセプターの遺伝子に再編成を生じさせるメカニズムである。また、抗原（タンパク）をペプチドに分解することを抗原プロセッシングとよぶ（図 9 および図 10 を参照）。

問題 22 本邦の移植医療に関して、最も適切な記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. 生体および死体から提供された臓器は、日本臓器移植ネットワークが斡旋する
- b. 日本臓器移植ネットワークは、臓器および組織を斡旋する
- c. HCV 抗体陽性ドナーの腎臓は、感染の可能性があるため斡旋されない
- d. 近年では、非血縁ドナーからの生体腎移植が増えつつある
- e. 献腎移植の場合、臓器移植施設から臓器を提供できない

正解：d（正答率：28.9%，代表的な誤答：c）

【解説】日本臓器移植ネットワークは死体提供者からの臓器移植を斡旋する組織であり、生体提供者からの臓器移植（主に腎臓、肝臓）や組織（骨、皮膚、角膜等）の斡旋は行わない。また、HCV 抗体陽性ドナーからの腎臓であっても、HCV 抗体陽性レシピエントへの移植が可能であり、これまでに日本臓器移植ネットワークを通じた斡旋の実績がある。同一施設が、臓器移植施設と臓器提供施設のどちらにもなれる。

問題 24 ドナーとレシピエントの HLA が一致している骨髄移植において、アロ反応性 T 細胞による GVHD を誘導する要因に関して、最も適切な記述の組合せを a～e のうちから一つ選べ

- 1. 抗 HLA 抗体

- 2. マイナー組織適合抗原
- 3. ドナーの抗原提示細胞
- 4. レシピエントの抗原提示細胞
- 5. レシピエントの T 細胞
- a. 1, 2, 3 b. 2, 3, 4 c. 1, 2, 5 d. 3, 4, 5
- e. 2, 4, 5

正解：b（正答率：30.1%，代表的な誤答：a, e）

【解説】抗 HLA 抗体は移植された骨髄幹細胞の拒絶に関わる要因であり、GVHD を引き起こす主体はドナー由来の T 細胞であるため、選択肢 1 および 5 は誤り。

問題 28 日本人における疾患と疾患感受性 HLA アリル（アレル）との組合せとして、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. ベーチェット病と 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：31.0%，代表的な誤答：a, c, d）

【解説】日本人集団での HLA アリル（アレル）と疾患感受性との関連を問う問題である。I 型糖尿病への感受性は DRB1*04:05 と関連するが、DRB1*15:02 は I 型糖尿病への抵抗性と関連する。関節リウマチ（以前は慢性関節リウマチと呼ばれていたが、現在では関節リウマチと呼ぶ）への感受性は DRB1*04:05 と関連する。ベーチェット病への感受性は B*51:01 と関連する。日本人集団における HLA-B27 は主に B*27:04 と B*27:05 であるが、B*27:04 の方が強直性脊椎炎への感受性が高い。なお、ヨーロッパ系集団において強直性脊椎炎への感受性と関連するのは B*27:05 である。また、いずれの人類集団においても、B*27:06 および B*27:09 は強直性脊椎炎への感受性との関連を示さない（表 2 を参照）。

問題 31 大規模ゲノムワイド関連研究によって、その発症に HLA 周辺領域が関連することが示されている疾患として、最も適切なものを a～e のうちから一つ

表 2 日本人集団における疾患と HLA との関連

疾患	関連する HLA アレル	
	クラス I	クラス II
強直性脊椎炎	B*27 (B*27:04, B*27:05)	
Behcet 病	B*51 (B*51:01)	
高安動脈炎	B*52:01, B*67:01, B*39:02	DRB1*15:02, DPB1*09:01
慢性塞栓血栓性肺高血圧症	B*52:01	DRB1*15:02, DPB1*02:02
亜急性甲状腺炎	B*35:01, B*67:01	
ナルコレプシー		DRB1*15:01, DQB1*06:02
多発性硬化症		DRB1*15:01, DPB1*05:01
Buerger 病	B*54:01	DRB1*15:01, DRB1*06:02
関節リウマチ	A*11:01, A*02	DRB1*04:05, DRB1*04:01
若年性関節リウマチ	A*02	DRB1*04:01, DRB1*04:05
I 型糖尿病 (若年性糖尿病)	B*54:01	DRB1*04:05, DQB1*04:01, DRB1*09:01
Graves 病	A*02 (A*02:06)	DPB1*05:01
橋本病	A*02 (A*02:07)	DRB4*01
原発性胆汁性肝硬変		DRB1*08:03, DRB1*16:02
全身性エリテマトーデス (SLE)	B*39	DRB1*15:01
クローン病		DRB1*04:05, DRB1*04:10
潰瘍性大腸炎	B*52:01	DRB1*15:02, DPB1*09:01
混合結合組織病		DRB1*04:01, DQB1*03:01
川崎病		DPB1*02:02, DPB1*06:01
インスリン自己免疫症候群		DRB1*04:06
Vogt-小柳-原田病		DRB1*04:05

選べ

- a. 痛風
- b. 高脂血症
- c. 統合失調症
- d. 高血圧症
- e. 2 型糖尿病

正解 : c (正答率 : 33.7%, 代表的な誤答 : e)

【解説】近年の大規模ゲノムワイド関連研究 (genome-wide association study; GWAS) によって, 統合失調症の疾患感受性遺伝子が HLA 周辺領域 (HLA 遺伝子そのものではない) にマップされている。その他の疾患と HLA 領域との関連については, GWAS による証明はない (図 11 を参照)。

問題 33 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. 2010 年ノーベル賞受賞のエドワーズ博士は, ヒトで体外受精を初めて成功させた研究者である
- b. 2014 年における日本での出生児約 10 名あたり 1 名

は体外受精児と推定される

- 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, 染色体異常が頻発する

正解 : a (正答率 : 30.1%, 代表的な誤答 : c)

【解説】日本産科婦人科学会の集計によれば, 2014 年に国内の医療機関で実施された体外受精の件数は 393,745 件であり, その結果 47,322 人の子供が生まれている。2014 年の総出生数は約 100 万 3500 人であり, 体外受精で生まれた子どもの割合は約 21 人に 1 人と推定されている。わが国においても, 倫理審査委員会による研究計画の審査・承認を経て文部科学大臣が承認すれば, ヒト由来の ES 細胞や iPS 細胞から配偶子 (精子や卵子) を作製することが可能である。ただし, それらの配偶子を用いて受精させた受精卵をヒトあるいは動物の胎内に戻すことは禁じられている。習慣性流産の原因の多くは受

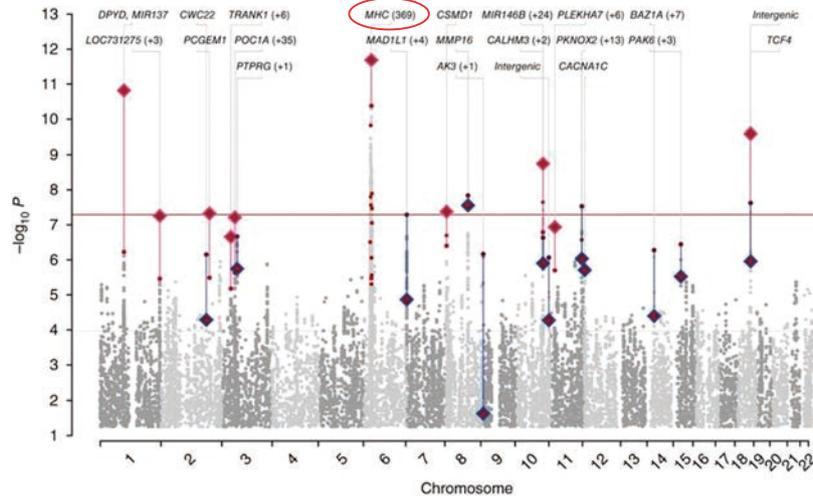


図 11 統合失調症のゲノムワイド関連解析

Schizophrenia Psychiatric Genome-Wide Association Study (GWAS) Consortium. Nat Genet 43(10):969–76, 2011

精卵の微小染色体異常であると考えられており、配偶者間の HLA 一致率との関連が以前に報告されていたが、現在では否定的である。顕微授精卵に染色体異常が頻発する証拠はない。

問題 36 異種細胞や異種組織を使った臨床例に関して、

誤っている記述を a～e のうちから一つ選べ

- a. 重度熱傷に対するブタ皮膚の移植
- b. 心臓弁膜症に対するブタ心臓弁の移植
- c. 白内障に対するサル水晶体の移植
- d. 糖尿病に対するカプセル化したブタ膵島の移植
- e. 重症肝不全に対するブタ肝細胞を使ったハイブリッド人工肝臓の移植

正解：e (正答率：16.9%，代表的な誤答：a, c)

【解説】異種（ブタ）肝細胞を使った人工肝臓の移植は動物実験の段階であり、ヒトへの応用は行われていない。その他の選択肢の記述は正しい。

問題 39 抗血清の評価法に関して、誤っている記述を a

～e のうちから一つ選べ

- a. セログラム解析は、パネル細胞と抗血清の反応パターンを解析する手法である
- b. セログラム解析によって、新たな抗原を見つけることが可能である

- c. 抗血清の評価は、パネル細胞と抗血清の相関解析から数値化することができる
- d. パネル細胞を選ぶ場合、HLA 各ローカスの連鎖不平衡が保持された細胞を優先する
- e. パネル細胞の HLA 対立遺伝子型情報は、抗血清評価の精度向上に役立つ

正解：d (正答率：22.6%，代表的な誤答：b, c)

【解説】ある血清が HLA 各ローカス間の連鎖不平衡が保持された細胞に反応した場合、連鎖不平衡にあるどの HLA 遺伝子によりコードされた抗原への反応性であるかの区別が出来ない。このため、そのような細胞はパネル細胞としての優先度は低い。その他の選択肢の記述はいずれも正しい。

問題 48 造血幹細胞移植時のキメリズム検査に用いる

遺伝子多型として、不適切なものを a～e のうちから一つ選べ

- a. 一塩基多型 (SNP)
- b. Y 染色体疑似常染色体領域多型
- c. Insertion-deletion 多型
- d. Variable number of tandem repeats (VNTR) 多型
- e. マイクロサテライト多型

正解：b (正答率：40.2%，代表的な誤答：a, c, d)

III. おわりに

認定 HLA 検査技術者試験では、組織適合性検査に関連する広範な領域の知識を問うこととしており、日本組織適合性学会の平均的な会員を想定して、6割程度の正答率とすることを目指して作問している。会員にご協力いただき、認定試験と同一の問題を用いて模擬試験を

実施しているが、例年概ね6割前後の正答率となっている。一方で、重箱の隅をつつくような問題は極力避けているが、本稿に述べたように正答率が低い難問が存在することも事実である。このため、試験問題の公表とともに、正答率や代表的な誤答を示し、難問については解説しているところである。これらの難問についても、知識を確認していただきたい。

Comments on difficult questions in the JSHI certification paper test 2017

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% in the last year 2017.

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

HLA と疾患の関連研究で用いる統計学的仮説検定

大橋 順¹⁾

¹⁾ 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻

症例-対照研究によって、自己免疫疾患・感染症・薬疹など様々な形質と関連する多数の HLA アリルが報告されている。クラス I およびクラス II HLA 遺伝子座には多数のアリルが存在するため、偽陽性を減らすために厳しい有意水準を設定して統計学的仮説検定が行われてきた。しかし、ボンフェローニ補正 (Bonferroni correction) のような過度な有意水準の補正は弱い関連を示す HLA アリルを見逃すことになる。本稿では、最初に HLA アリルと疾患の統計学的関連を評価するカイ 2 乗検定について解説し、次に多数のアリルをもつ遺伝子座を対象とする関連解析に必要な有意水準の補正について紹介する。

キーワード：仮説検定, 有意水準, オッズ比, 分割表, カイ 2 乗検定, 多重検定, 並べ替え検定

1. はじめに

ある HLA アリルと疾患のような 2 つの因子間の関連を判定する統計学的仮説検定法の 1 つに、 2×2 の分割表を用いたカイ 2 乗検定がある。HLA 遺伝子座には複数のアリルが観察されるため、HLA 遺伝子と疾患との関連解析では、観察された HLA アリルの数だけカイ 2 乗検定を繰り返すことになる。有意水準を調整せずに検定を繰り返すと、本当は全ての HLA アリルが疾患と関連が無いにもかかわらず、いずれかの HLA アリルで偽陽性が起こる確率が上がる。そのため、偽陽性を 1 つも起こさせないためには有意水準の補正が必要となる。

2. 統計学的仮説検定

統計学的仮説検定の目的は、「母集団について仮定された仮説を、標本に基づいて統計学的に評価すること」である (図 1)。

仮説には 2 種類あり、検定によって棄却したい仮説を帰無仮説 H_0 といい、立証したい主張を対立仮説 H_1 という。HLA-DRB1 遺伝子と疾患 Y の関連解析を例にすると、

「HLA-DRB1 遺伝子座のアリル X と疾患 Y との間には関連が無い」が帰無仮説 H_0 , 「HLA-DRB1 遺伝子座のアリル X と疾患 Y との間には関連がある」が対立仮説 H_1 である。統計学的仮説検定では、帰無仮説 H_0 が正しい場合に起こりやすいデータの範囲を求めることで、観測データがその範囲から逸脱しているかを考える。もし大きく逸脱していれば、非常に起こりにくいデータが得ら

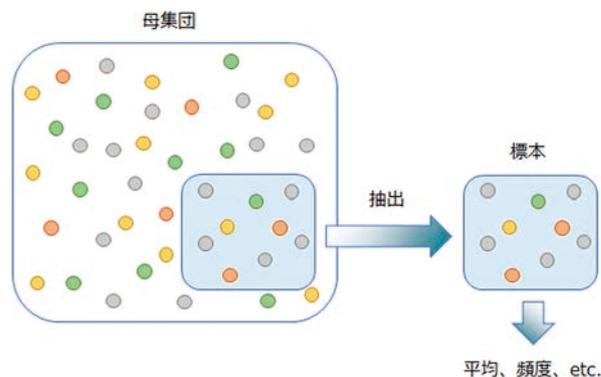


図 1 母集団と標本

標本 (母集団の一部) を調べることで、母集団 (全数を調べることはできない) の特徴 (例えば、平均身長) を推測する。

受付日: 2018 年 6 月 4 日, 受理日: 2018 年 6 月 4 日

代表者連絡先: 大橋 順 〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1 東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻ヒトゲノム多様性研究室
E-mail: juno-tky@umin.ac.jp

れたわけであるから、帰無仮説 H_0 は正しくないと考えて H_0 を棄却し、そうでなければ判断を保留する。統計学的仮説検定で計算される P 値とは、 H_0 が正しいとしたときに、観測されたデータ以上に極端なデータが得られる確率と定義される。判断の基準は事前に決めておく必要があり、 P 値が α を下回れば H_0 を棄却する。この基準は有意水準 α とよばれ、通常は 0.05 が用いられる。上の例で P 値が α より小さかったとすると、「HLA-DRB1 遺伝子座のアリル X と疾患 Y には統計学上有意な関連がある」と判断する。 P 値が α 以上だったとすると、「HLA-DRB1 遺伝子座のアリル X と疾患 Y には統計学上有意な関連がない」と判断する。

仮説検定は確率をもとにした判断手法であり、常に間違える可能性がある。生じる間違いには 2 通りある。図 2 に、判断と真実の関係を示す。 H_0 を棄却した場合であっても、実際には H_0 が真の場合もある（偽陽性）。これを第一種の過誤といい、第一種の過誤が起きる確率は α である。判断を保留した場合であっても、実際には H_0 が正しくない場合もある。これを第二種の過誤という。第一種の過誤が起きる確率を低くしたければ、 α を小さく設定すればよい。 α を小さくするということは、保留と判断される確率が高くなる。そのため、もし H_0 が正しくない場合には第二種の過誤が起きる確率は高くなる。第二種の過誤が起きる確率を低くしたければ、 α を大きく設定すればよい。 α を大きくするということは、

判断	H_0 が正しいとき	H_0 が正しくないとき
H_0 を棄却	第一種の過誤	正しい
保留	正しい	第二種の過誤

図 2 統計学的仮説検定における誤り

第一種の過誤とは、帰無仮説が正しいのに棄却してしまう誤りのことである。第二種の過誤とは、帰無仮説が間違いなのに棄却せずに判断を保留する誤りのことである。

H_0 が棄却される確率が高くなる。そのため、もし H_0 が正しい場合には第一種の過誤が起きる確率が高くなる。このように、第一種の過誤が起きる確率と第二種の過誤が起きる確率は、「一方の確率を小さくすると他方の確率が高くなる」というトレードオフの関係にある。

3. オッズ比

オッズ (odds) とは、ある事象の起こる確率を π として、 $\pi / (1 - \pi)$ の値をいう。つまり、ある事象がそれ以外の事象よりも何倍起こりやすいかを表している。オッズ比 (odds ratio; OR) とは、ある事象のオッズを 2 群間で比較する指標のことであり、オッズの比として定義される。ある事象の起こる確率が A 群では π_A 、B 群では π_B とすると、オッズ比は

$$OR = \frac{\pi_A / (1 - \pi_A)}{\pi_B / (1 - \pi_B)} = \frac{\pi_A (1 - \pi_B)}{\pi_B (1 - \pi_A)}$$

である。オッズ比が 1 とは、ある事象の起こりやすさが両群で同じということであり、1 より大きい (小さい) とは、A 群でより起こりやすい (起こりにくい) ことを意味する。

アリル X と疾患 Y の関連を調べるコホート研究では、アリル X を保有する群と保有しない群が時間経過とともに疾患 Y を発症するかしないかを追跡する。この結果は図 3A のような 2×2 分割表として表すことができる。

アリル X 保有群が疾患 Y を発症する確率は $a/(a+b)$ 、発症しない確率は $b/(a+b)$ と推定される。一方、非保有群の発症確率は $c/(c+d)$ 、発症しない確率は $d/(c+d)$ と推定される。したがって、オッズ比は

$$OR = \frac{[a/(a+b)] / [b/(a+b)]}{[c/(c+d)] / [d/(c+d)]} = \frac{ad}{bc}$$

である。

アリル X と疾患 Y の関連を調べる症例-対照研究で

トピックス：なぜ「帰無仮説 H_0 を採択する」ではなく、「判断を保留する」と言うべきなのか？

統計学的仮説検定を行った場合、 P 値が α 以上であれば判断を保留する。なぜなら、仮説検定によって帰無仮説 H_0 が正しいと主張することはできないからである。その理由は 2 つある。帰無仮説 H_0 を採択するという事は、対立仮説 H_1 を棄却することである。しかし、帰無仮説 H_0 は 1 つしか存在しないのに対し (関連解析であれば、関連しないというただ 1 つの仮説のみ)、対立仮説 H_1 の仮定は無限に存在するため (関連解析であれば、その関連の強さはいくらでも仮定可能)、対立仮説 H_1 が正しい場合に得られるデータの範囲や、その確率を計算することができない。したがって、対立仮説 H_1 が正しい場合に、観察データの起こりやすさを評価することができず、まれなことが起きたのだから対立仮説 H_1 が間違っていたと考えて棄却するというロジックが成立しない。これが 1 つめの理由である。2 つめの理由として、検出力が低かった (サンプルサイズが小さかった) ために帰無仮説 H_0 が棄却されなかった可能性を否定できない点あげられる。統計学的仮説検定においては、帰無仮説 H_0 に関しては棄却することしかできないのである。

A

	疾患Y発症	疾患Y発症せず	合計
アリルXあり	a	b	a+b
アリルXなし	c	d	c+d

B

	疾患Y発あり	疾患Yなし
アリルXあり	a	b
アリルXなし	c	d
合計	a+c	b+d

図3 結果の分割表

コホート研究 (A) と症例-対症研究 (B) の結果を分割表で表すとき、意味のある周辺度数は異なる。

は、疾患 Y を発症した症例群におけるアリル X を保有する人と保有しない人、疾患 Y を発症していない対照群におけるアリル X を保有する人と保有しない人を調べる。この結果のデータは図 3B のように表すことができる。症例群でアリル X を保有する人の割合は $a/(a+c)$ 、保有しない人の割合は $c/(a+c)$ である。一方、対照群でアリル X を保有する人の割合は $b/(b+d)$ 、保有しない人の割合は $d/(b+d)$ である。この場合の、(曝露) オッズ比は

$$OR = \frac{[a/(a+c)]/[c/(a+c)]}{[b/(b+d)]/[d/(b+d)]} = \frac{ad}{bc}$$

である。このように、コホート研究のオッズ比を求める式と症例-対照研究のオッズ比を求める式は見た目上一致する。注意すべきは、コホート研究はアリル X 保有群と非保有群の比較であるのに対し、症例-対照研究では、症例群と対照群の比較になっている点である。2 × 2 分割表の各行や各列を足し合わせた値のことを周辺度数というが、コホート研究で意味のある周辺度数は、「アリル X あり」と「アリル X なし」の 2 つの行の合計であり、症例-対照研究で意味のある周辺度数は、「疾患 Y あり」と「疾患 Y なし」の 2 つの列の合計といえる (図 3)。

これまで、疾患と遺伝子との関連は主に症例-対照研究によって調べられてきた。症例-対照研究は、すでに疾患 Y を発症した症例を利用するため、疾患 Y の発症を待つ必要はなく、コホート研究に比べて時間もコストも大幅に削減できる。また、発症例がほとんど期待できない稀な疾患にはコホート研究は適さないが、症例-対照研究であれば十分な数の症例を集めることができる。一方、調べる疾患に罹患していても別の疾患を罹患

している場合など、適切な対照を選ぶのは難しいという問題がある。例えば、研究対象とする自己免疫疾患を罹患していても、別の自己免疫疾患を罹患している人を対照とするのは適切ではない (異なる自己免疫疾患であっても、関連多型が共通する可能性があるため)。

4. カイ 2 乗検定

統計学的仮説検定では、帰無仮説 H_0 が正しい場合に観察データがどれだけ起こりやすいかを評価する。研究対象の遺伝子座に 2 つのアリル D と d が存在する場合に、遺伝子と疾患との関連 (独立性) を調べるカイ 2 乗検定について説明する。関連を調べる手法はいろいろあるが、ここでは、D と d の頻度が症例と対照の間に差があるかを考えるカイ 2 乗検定について説明する。頻度差があるということは、関連があることを意味する。帰無仮説 H_0 は、「症例と対照の間にアリル頻度の差はない」であり、対立仮説 H_1 は「症例と対照の間にアリル頻度に差がある」である。症例群における遺伝子型 DD、遺伝子型 Dd、遺伝子型 dd の個体数が n_2, n_1, n_0 であり ($n=n_2+n_1+n_0$)、対照群における遺伝子型 DD、遺伝子型 Dd、遺伝子型 dd の個体数が m_2, m_1, m_0 であったとする ($m=m_2+m_1+m_0$) (図 4A)。このとき、症例群中および対照群中での、D アリルと d アリルの観察数は図 4B である。

症例群と対照群のアリル頻度の差は、カイ 2 乗統計量を用いて評価することができる。カイ 2 乗統計量は、 $a=2n_2+n_1, b=2m_2+m_1, c=n_1+2n_0, d=m_1+2m_0$ とおけば

$$\chi^2 = \frac{(a+b+c+d)(ad-bc)^2}{(a+b)(c+d)(a+c)(b+d)}$$

A	遺伝子型		
	DD	Dd	dd
症例群	n_2	n_1	n_0
対照群	m_2	m_1	m_0

B	アレル	
	D	d
症例群	$2n_2+n_1$	n_1+2n_0
対照群	$2m_2+m_1$	m_1+2m_0

図4 遺伝子型頻度とアレル頻度

研究対象の遺伝子座に2つのアレルDとdが存在する場合の遺伝子型頻度 (A) とアレル頻度 (B)

で与えられる。2 × 2 分割表から計算されるカイ 2 乗値は、 H_0 のもとで自由度 1 のカイ 2 乗分布に従う (図 5)。統計学的仮説検定で計算される P 値とは、帰無仮説 H_0 が正しいとした場合に、観察データから計算した検定統計量以上に大きな検定統計量が得られる確率のことである。有意水準を 0.05 に設定すると、P 値が 0.05 より小さければ帰無仮説 H_0 を棄却する。さらに、D の頻度が対照群よりも症例群で高ければ、D が疾患感受性アレル、d の頻度が対照群よりも症例群で高いのであれば、d が患感受性アレルと考える。

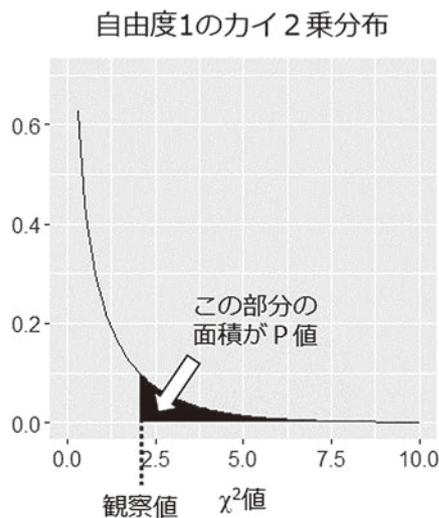


図5 自由度 1 のカイ 2 乗分布と P 値

帰無仮説 H_0 が正しいときの自由度 1 のカイ 2 乗分布 (確率密度関数) と 2 × 2 分割表から計算したカイ 2 乗値 (観察値) から P 値を求める。P 値とは、帰無仮説 H_0 が正しいとき、観察データに対して計算したカイ 2 乗値以上のカイ 2 乗値が得られる確率 (黒い部分の面積) のことである。

5. 多重検定への対処 (有意水準の補正)

HLA 遺伝子座には多数のアレルが観察される。 k 個のアレルが観察され、各アレルについて 2 × 2 分割表を作成してカイ 2 乗検定を行うとすると、全部で k 回の統計学的仮説検定を行うことになる。統計学的仮説検定を複数回行うと (これを多重検定という)、たとえ全ての帰無仮説が正しかったとしても、偶然によって統計学上の有意差が検出されることがある。このような事態を防ぐためには、有意水準を調整する必要がある。以下で、代表的な 3 つの方法について紹介する。

1) FWER を制御する方法

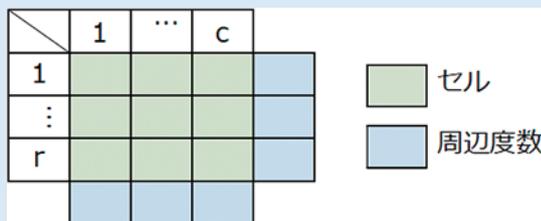
FWER (Family-Wise Error Rate) とは、多重検定を行ったとき、本当は全ての帰無仮説が正しいにもかかわらず、少なくとも 1 つの正しい帰無仮説が誤って棄却される (第一種の過誤が起きる) 確率のことである。FWER を制御する方法では、複数の帰無仮説全体に対する第一種の過誤が起きる確率を調整することを考える。例えば、

トピックス：カイ 2 乗分布の自由度 (degree of freedom) は分割表の自由度に等しい

分割表の自由度は、周辺度数が与えられた (周辺度数を固定した) ときに、自由に決めることのできる分割表のセル数のことである。 $r \times c$ の分割表であれば、縦から 1 行、列から 1 列減らした、 $r-1$ 行、 $c-1$ 列が自由に決めることのできるセルの行数、列数になる。よって、自由に決めることのできるセルの個数はその積で表され、

$$\text{自由度} = (r - 1)(c - 1)$$

となる。2 × 2 の分割表であれば、自由度は $(2 - 1) \times (2 - 1) = 1$ である。



有意水準 0.05 で独立な仮説検定を 20 回行えば、全ての帰無仮説が正しくとも、そのうち 1 回ぐらゐは第一種の過誤が起こると期待される。

独立な k 回の統計学的仮説検定を行うとする。各検定で有意水準を α にしたとすると、全ての帰無仮説が正しい場合に、少なくとも 1 回以上帰無仮説を棄却する確率は $1 - (1 - \alpha)^k \approx k\alpha$ で与えられる。この確率を 0.05 より小さくするには、各仮説検定において $\alpha = 0.05/k$ を有意水準として採用すればよい。このような有意水準の補正をボンフェローニ (Bonferroni) 補正という。なお、ボンフェローニ補正は最も保守的 (有意差を検出しにくい) な有意水準の補正法であり、第一種の過誤が起きにくいというメリットがあるが、第二種の過誤が起きやすいというデメリットがある。

日本人集団を対象にした *HLA-DRB1* 遺伝子と疾患 Y の関連解析について考える。日本人集団では、約 1% 以上の頻度をもつ *DRB1* アリルはおよそ 20 種類存在する。20 種類の各アリルに対して有意水準を 0.05 に設定してカイ 2 乗検定を行えば、*HLA-DRB1* 遺伝子と疾患 Y が関連していなかったとしても、いずれかのアリルで第一種の過誤 (偽陽性) が起こると期待される。検定したアリル数が 20 であれば、ボンフェローニ法では $\alpha = 0.0025$ が各アリルに対する有意水準となる。この操作は、各アリルに対して求めた P 値に 20 をかけた値を P_c (corrected P とよぶ) とし、 P_c が 0.05 より小さければ有意差ありと判断することと同じため、*HLA* 遺伝子の関連研究では P 値とともに P_c 値も併せて報告されることが多い。なお、頻度の極めて低いアリル (例えば、症例と対照で 1 検体にしか観察されなかったアリル) は有意な関連が見いだされることは無いので、あえて統計学的検定を行わず、アリル数 k に含める必要は無いだろう。

2) FDR を制御する方法

FDR (False Discovery Rate) とは、複数の仮説検定を行った場合に、誤って棄却される帰無仮説の割合のことである。FDR を制御する方法では、この割合を一定以下に調整することを考える。一般的には、 $FDR < 0.1$ や $FDR < 0.05$ がよく使われる。最も有名なのはベンジャミーニ・ホッホベルク法 (Benjamini & Hochberg method; BH 法) である。有意水準を q として (ここでは、 P 値が q 以下であれば有意差ありと判断する) 独立な k 回の統計学的仮説検定を行う (k 個の帰無仮説を評価する) とする。

k 個のうち i 個の帰無仮説が棄却されるとする。全ての帰無仮説が正しい場合に、棄却される帰無仮説の期待値は kq である。したがって、棄却された帰無仮説中の第一種の過誤の割合の期待値は kq/i であり、これが FDR の推定値となる。具体的には、BH 法は以下のように実施する。 k 個の P 値を小さい順に、 P_1, P_2, \dots, P_k と並べる。 i を k から 1 に向かって 1 ずつ減らしていき、 kP_i/i が最初に FDR の設定値 (0.1 や 0.05) を下回った帰無仮説 i とそれより i が小さい帰無仮説全てを棄却する (すなわち、 i 個の帰無仮説が棄却される)。ここで、ボンフェローニ補正と同じ有意水準 $q = 0.05/k$ とすれば $kq/i = 0.05/i$ となる。したがって、ボンフェローニ補正を行った場合でも棄却される帰無仮説は、BH 法を用いても棄却されることがわかる (i は 1 以上であり、 $FDR < 0.05$ となるため)。BH 法は、仮説検定を保守的にしつつも第二種の過誤を起しにくいように工夫した手法といえる。

3) 並べ替え検定を利用する方法

並べ替え検定では、「疾患有」「疾患無」のような表現型を、すべての症例-対照サンプルについてランダムにシャッフルする (無作為に非復元抽出する)。可能な全通りの組合せを試すことは難しいので、これを N 回 (少なくとも 1 万回以上は行った方がよいだろう) 繰り返すことで、帰無仮説のもとで期待される架空のデータセットを N 個つくる。 k 個のアリルが観察されたのであれば、各データセットに対して統計学的仮説検定 (2 × 2 分割表に対するカイ 2 乗検定) を行い k 個の P 値を求める。そして、その中の最小 P 値を抽出する。抽出した N 個の最小 P 値と実際の観察データから得られた各アリルの観察 P 値を比較する。各アリルについて、それ自身の値よりも小さな最小 P 値の個数が r 個あれば、 $(r+1)/(N+1)$ をそのアリルの経験 P 値とする。経験 P 値が 0.05 より小さければ、有意水準 0.05 で帰無仮説を棄却する。これは、 N 個の最小 P 値のうち $(0.05 \times N)$ 番目に小さい最小 P 値を有意水準と設定した (すなわち、これより小さい観察 P 値を示したアリルのみが統計学上有意に関連しているとする) ことと同じである。

並べ替え検定を具体的に解説する。図 6A は、アリル数が 20 個観察された症例-対照研究 (500 人の症例と 500 人の対照) のデータを、症例と対照のラベルを無作為に並べ替えた擬似データである。この擬似データに対

(=0.05/20) であり、並べ替え検定で採用する有意水準 0.00395 の方が大きい。この理由として、各アレルの頻度が 0.05 程度であったために、並べ替えによって小さな P 値が偶然得られる確率が低かったことと、アレルが完全には独立でないこと (自由度は 19) があげられる。

HLA 遺伝子と疾患の関連研究で並べ替え検定を使用する最大のメリットは、頻度の低いアレルが多数観察されたとしても、ボンフェローニ法による過度な有意水準の補正をしないで済む点といえる。また、本稿では解説しないが、異なる遺伝子座のアレル間に相関 (連鎖不平衡) があつたとしても、その相関構造を保ったまま有意水準を調整できるというメリットもある。ただし、有意水準をシミュレーションで決めるため、その値が一定にはならないというデメリットもある。

6. まとめ

本稿では、 2×2 分割表を用いたカイ 2 乗検定と有意水準の補正に焦点をあてて解説した。カイ 2 乗検定では、アレル頻度や遺伝子型頻度の単純な比較しかできないが、ロジスティック回帰分析などのより高度な統計手法

を用いれば、年齢や性別などの因子を調整した上でアレルと疾患との関連を評価することもできる。これまで、ほとんどの HLA 遺伝子の関連解析では P_0 値を用いて統計学的有意性の判断が行われてきた。そのため、多くの第二種の過誤が起きてきたと思われる。並べ替え検定を用いれば、第二種の過誤をできるだけ抑えた上で、適切な FWER を実現できる。並べ替え検定を実施するには、R 言語 (オープンソース・フリーソフトウェアの統計解析向けのプログラミング言語及びその開発実行環境) などを用いてプログラムを組む必要があるが、HLA 遺伝子の関連解析で特に威力を発揮する優れた有意水準の調整法といえよう。

参考文献

- 本稿の執筆にあたり参考にしたわけではないが、さらに詳しく「遺伝子と疾患の統計学的解析法」を学びたい方のために、以下の書籍を参考文献としてあげる。
- 鎌谷直之：遺伝統計学入門。岩波書店 (2007 年)。
山田 亮：遺伝統計学の基礎—R による遺伝因子解析・遺伝子機能解析。オーム社 (2010 年)。

Statistical hypothesis testing in case-control studies on *HLA* and disease associations

Jun Ohashi¹⁾

¹⁾Laboratory of Human Genome Diversity, Department of Biological Sciences, Graduate School of Science, The University of Tokyo

A number of *HLA* alleles have been reported to be associated with various traits such as autoimmune diseases, infectious diseases, and adverse drug reaction in case-control association studies. Since there are many alleles at classical class I and class II *HLA* loci, a stringent significance level as corrected by the Bonferroni method has been used in the statistical hypothesis testing to reduce false positives. However, the Bonferroni correction is too conservative to detect *HLA* alleles showing weak association, and thus many false negatives seem to have occurred in *HLA*-disease association studies. Here, I describe a chi-square test based on 2 by 2 contingency table for evaluating the association of each *HLA* allele at the locus with a dichotomous trait such as disease. In addition, I review the adjustment of significance level in association tests for loci with many alleles.

Key Words: statistical hypothesis testing, significance level, odds ratio, contingency table, chi-square test, permutation test

同種造血幹細胞移植における HLA 適合度と移植成績

諫田 淳也¹⁾

¹⁾ 京都大学医学部附属病院血液内科

HLA 適合血縁・非血縁ドナーが見出せない場合、あるいは疾患コントロールのため早期の移植実施が必要である場合の代替ドナーとして、HLA 不適合血縁・非血縁ドナーが用いられる機会が急速に増加している。HLA 適合度の評価方法および HLA 適合度と移植成績との関連に関しては、各移植ソースで異なるため、HLA 不適合の意義に関しての解釈に注意が必要である。評価する遺伝子座の組み合わせ、適合レベル（抗原・アリル）、不適合方向（移植片対宿主方向や宿主対移植片方向）に関して十分理解しなければならない。また HLA 不適合と移植成績との関連に関しては様々な研究が実施されているが、GVHD 予防法とともにその意義は変化することも認識しなければならない。本稿では、移植ソースごとの HLA 不適合の意義に関して概説する。

キーワード：同種造血幹細胞移植，HLA 適合度，血縁者間移植，非血縁者間移植，臍帯血移植

1. はじめに

同種造血幹細胞移植において、患者とドナーの HLA に不適合が存在する場合には、移植片対宿主病（graft-versus-host disease, GVHD）や生着不全などの免疫学的合併症のリスクが高まることが知られており、HLA 適合同胞が最適なドナーと考えられている。しかし、少子化や高齢者への移植適応の拡大により、HLA 適合同胞をドナーとして選択できる可能性は3割に満たない。HLA 適合同胞が見出せない場合、HLA 適合非血縁骨髄ドナーが代替ドナーとして優先される。しかしドナーコーディネート開始から実際に移植が施行できるまで4-5か月の期間が必要となるため、適切な移植のタイミングを逸する可能性があり、また、患者がまれな HLA ハプロタイプを持っている場合には、適切なドナー候補者を見出すことが困難である点が問題となる。HLA 適合血縁・非血縁ドナーが見出せない場合、あるいは早期の移植が必要である場合の代替ドナーとしては、HLA 不適合血縁ドナー、HLA 不適合非血縁骨髄・末梢血幹

細胞ドナー、非血縁臍帯血といったドナーがあげられ、近年の移植方法の改良により、HLA 不適合ドナーが用いられる機会が増えてきた。本稿では拡大する移植ソースの特徴を理解するための一つとして、各移植ソースにおける HLA 適合度が移植成績に及ぼす影響を概説する。

2. HLA 適合度のカウント方法

HLA 適合度は、1) どの遺伝子座を対象としているのか、2) 抗原あるいはアリルレベルなのか、3) 不適合方向を考慮するかどうか、の3つの観点から理解する必要がある。遺伝子座に関しては、一般的にはHL-A, -B, -DR 座あるいはHLA-A, -B, -C, -DR 座であるが、それに加えて、HLA-DP, -DQ 座を検討する場合もある。また不適合数をカウントする際には、抗原レベルなのか、アリルレベルなのかに注意する必要がある。各移植ソースで求められる概念がやや異なることが、混乱を招く原因となっている。

血縁者間移植においては、従来、HLA-A, -B, -DR 座の抗原レベルでの不適合のみでカウントされていたが、

受付日：2018年6月4日，受理日：2018年6月4日

代表者連絡先：諫田 淳也 〒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血液内科
TEL: 075-751-3111 E-mail: jkanda16@kuhp.kyoto-u.ac.jp

これは同胞で HLA-A, -B, -DR 座が抗原レベルで一致していれば、アレルレベルで一致していると考えて良いからである。ただ HLA 不適合血縁者間移植が増えつつある現在、アレルレベルや HLA-C 座の不適合に関する知見も集まり、概念が変わりつつある。ただ、利用可能な血縁ドナー候補は人数に限られることもあり、ドナーの選択には大きな影響は及ぼさないことが多い。非血縁者間骨髄・末梢血幹細胞移植においては、HLA-A, -B, -C, -DRB1 座においてアレルレベルで評価することが標準となっており、HL-A, -B, -DRB1 座で判断することはない。また適合座に関してはアレルレベルで評価し、不適合座に関しては、抗原レベルあるいはアレルレベルでの不適合なのか注目することとなる。臍帯血移植においては、HLA-A, -B, -DR 座の抗原レベルで6抗原のうち2抗原不適合まで臍帯血が選択可能であるという基準もあることから、HLA-A, -B, -DR 座の抗原レベルの不適合で議論されることが多いが、やはり血縁者間移植同様、アレルレベルや HLA-C 座の不適合に関する知見により、すべての不適合の種類を検討しながら最適なドナーを選択することとなる。

不適合方向は、GVHD 発症のリスクとなる Graft-versus-host (GVH) 方向の HLA 不適合と、生着不全・拒絶のリスクとなる Host-versus-graft (HVG) 方向 (拒絶方向) の HLA 不適合に分類される (図 1)。不適合座に関して、ドナーあるいは患者がホモ接合体である場合、GVH 方向と HVG 方向の適合度が異なる。例えば、図 2 のように、不適合座に関して患者がホモ接合体である場合、HVG 方向には HLA 不適合が存在する一方、GVH 方向には

HLA 不適合は存在しない。すなわち、HLA-A 座不適合であるにも関わらず、GVHD 発症のリスクには影響しないことが予想される。GVHD 発症リスクから HLA 適合度を評価する場合、GVH 方向の不適合数が重要となり、また拒絶リスクから HLA 適合度を評価する場合には、HVG 方向の不適合数をカウントする必要がある。

3. 血縁者間骨髄・末梢血幹細胞移植

1) HLA 不適合血縁者間移植の分類

血縁者間移植における HLA 適合度は HLA-A, -B, -DR 座の抗原レベルでの不適合でカウントされることが多い。GVHD 発症が移植成績に強い影響を及ぼす一方、後述するようにドナー特異的抗 HLA 抗体の有無を検索することにより拒絶リスクは低下しているため、GVH 方向の HLA 不適合数が重要視される。また、GVHD 発症リスクにより、GVH 方向 HLA-A, -B, -DR 座 1 抗原不適合移植と 2-3 抗原不適合移植を分けて考えることが多い。前者は“いわゆる”1 抗原不適合移植、後者はハプロ移植、HLA ハプロ一致移植、HLA ハプロアイデンティカル移植、HLA 半合致移植などと表現されることもある。

2) HLA1 抗原不適合血縁者間移植

GVH 方向 HLA-A, -B, -DR 座 1 抗原不適合移植 (“いわゆる” HLA1 抗原不適合移植) は、従来は HLA-A, -B, -DR 座抗原適合非血縁者間骨髄移植と成績はほぼ同等と考えられ、日常診療として一定の割合で実施されていた。しかし、非血縁者間骨髄移植は HLA-C 座やアレルレベルでの適合により移植成績は改善しており、現在の移植

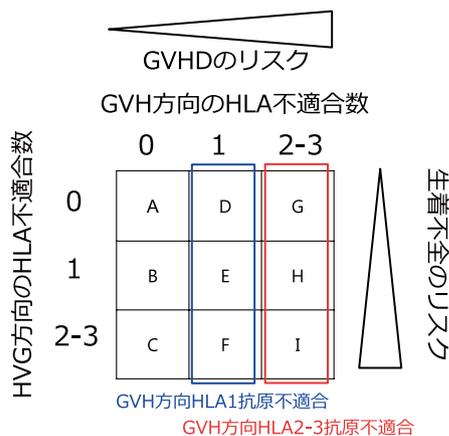


図 1

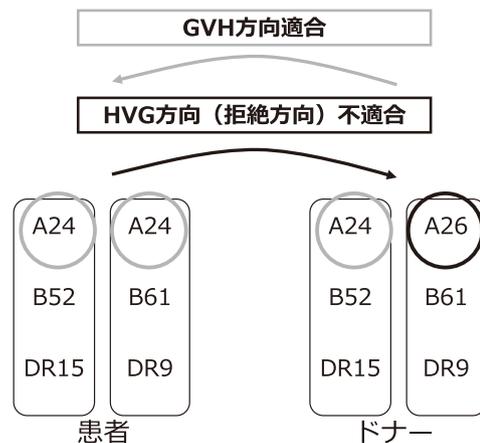


図 2

診療と大きな解離を認めたため、改めて比較を行う必要があった。我々は、HLA1 抗原不適合血縁者間移植と、HLA-A, -B, -C, -DRB1 座アリル適合非血縁者間骨髄移植を比較したところ、重症 GVHD 発症頻度は前者で高く、その結果、全生存率は有意に低いことが明らかとなった¹⁾ (図3)。この結果は、HLA “適合” 非血縁者間骨髄移植の成績は改善している一方、HLA1 抗原不適合移植の成績はこの10年間で改善を認めておらず新たな治療介入が必要であることを示している。

では、HLA-A, -B, -DR 座1 抗原不適合血縁者間移植において、各座不適合の影響は異なるのであろうか。不適合座が移植成績に与える影響を検討したところ、HLA-B 座不適合群では有意に全生存率が低下していたが、HLA-A, -DR 座不適合群は HLA-A, -B, -C, -DRB1 座アリル適合非血縁者間骨髄移植群と成績はほぼ同等であった (図3)。すなわち、1 抗原不適合血縁者間移植の成績を主に低下させているのは HLA-B 座不適合であっ

た。ではなぜであろうか。この理由は明らかとはなっていないが、容易に想像されるのは、HLA-C 座の付加的不適合である。なぜなら HLA-B 座と HLA-C 座は連鎖不平衡の関係にあり、両者の不適合がともに存在する頻度が高い。実際、HLA 研究所の池田らが患者、父、母、同胞の4人家族の HLA が調べられている769家系の HLA を検討したところ、GVH 方向 HLA-A, -B, -DR 座1 抗原不適合症例における HLA-B 座不適合は、非常に高い確率で HLA-C 座不適合も伴っていた。

いずれにせよ、HLA-A, -B, -DR 座1 抗原不適合血縁者間移植においては、重症 GVHD 発症頻度が高く、その結果生存率は、HLA-A, -B, -C, -DRB1 座アリル適合非血縁者間骨髄移植よりも優位に劣る。この十数年間で著明な成績の改善はない。1 抗原不適合血縁者間移植の成績を改善させる新たな取り組みが必要である。HLA1 抗原不適合移植における急性 GVHD のリスク因子を検討したところ、抗胸腺細胞免疫グロブリン (anti-thymocyte globulin, ATG) と末梢血幹細胞の使用が有意な因子として抽出された。ATG 非使用群と比較し、ATG 使用群では生存率が良い傾向が認められ (図4) ATG の使用が急性 GVHD の発症抑制および予後改善に有用である可能性が示唆された²⁾。特に、成績が劣る HLA-B 抗原不適合群において、より明確な生存率の差が認められており、HLA-C 座の付加的不適合の頻度も高いとされる HLA-B 抗原不適合群における ATG 使用の有用性が示されている。ただ、後方視的解析であり、また ATG の種類や投与量に関する情報が不十分であることから、ATG の適切な投与量は不明である。その意義を明らかとするため、日本造血細胞移植学会 (JSHCT) が主導する臨床研究として低用量 ATG (サイモグロブリン 2.5 mg/kg) を用いた GVH 方向 HLA1 抗原不適合血縁者間移植の前方視的試験を実施したが、2018年2月現在、登録を終了しており、2018年6月に観察期間を終了する予定である (UMIN000011192, <http://www.jshct.com/study/cshot1302.shtml>)。

3) 血縁者間移植におけるアリル不適合の意義

一般的に HLA-A, -B, -DR 座抗原適合同胞間移植は、両親から同じハプロタイプを引き継いでおり、HLA 一致同胞と考えて良い。しかし親子の場合は必ずしもそうではない。すなわち、GVH 方向 HLA-A, -B, -DR 抗原 “適合” 血縁者間移植であっても、アリルレベルでは1アリ

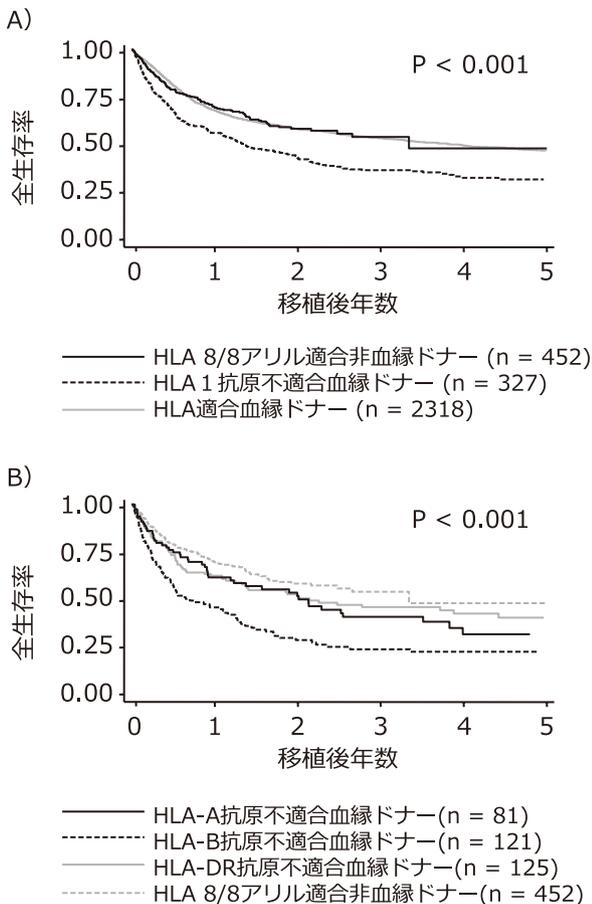


図3

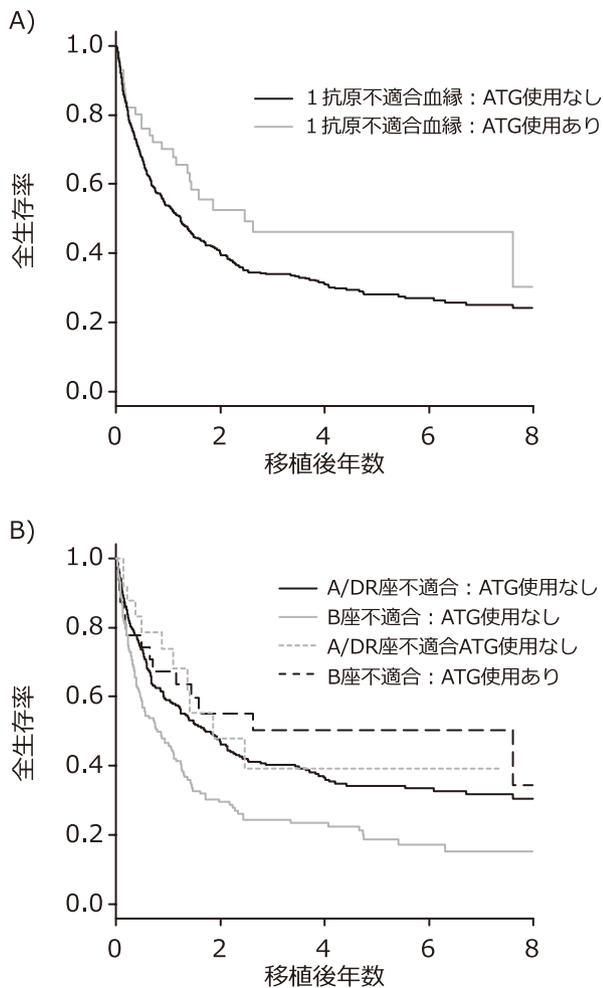


図 4

ルあるいは複数アレル不適合の症例がある。この抗原適合 1 アレル不適合は、いわゆる前述の 1 抗原不適合と成績は異なるのであろうか。日本造血細胞移植学会 HLA ワーキンググループにて解析が行われたが、HLA-A, -B, -DR 座 6 抗原適合 5 アレル適合 1 アレル不適合群は、5 アレル適合 1 抗原不適合群と GVHD 発症頻度および生存率はほぼ同等であった³⁾。すなわち、GVH 方向に 1 アレル不適合が存在する場合には、例え抗原レベルで適合であっても、1 抗原不適合と同様に扱う必要がある。では、HLA-A, -B, -DR 座 1 抗原不適合移植であってもアレルレベルでは 2 アレル不適合、3 アレル不適合がある場合は、結果はどうであろうか。理論上は GVHD のリスクが上昇すると予想される。また、前述の通り、HLA-B 座 1 抗原不適合症例に関しては、HLA-C 座不適合も含まれている。解析上、有意差はないものの、レジストリーデータにアレルレベルまで登録されている症例

数は不十分であるため、解釈は困難である。今後、C 座も含めたアレルの情報も収集することが重要であろう。

4) 抗 HLA 抗体

HVG 方向の不適合は生着不全のリスクと強い相関があることが、1989 年に Anasetti らによって報告されている⁴⁾。HLA よりも血液型適合が重要である臓器移植においては、多くが HLA 不適合のドナーからの移植となるが、ドナー特異的抗 HLA 抗体の存在が拒絶のリスクとなることが知られていた⁵⁾。HLA 不適合造血細胞移植の頻度が増えるにつれて、造血細胞移植においてもドナー特異的抗 HLA 抗体の存在が生着不全の原因となることが明らかとなった⁶⁾。兵庫医科大学の吉原らは、自施設で行われた、骨髄破壊的あるいは緩和的前処置を用いた T 細胞非除去 HLA 半合致移植 79 症例を解析し、平均蛍光強度 (mean fluorescence intensity, MFI) 5000 以上のドナー特異的抗 HLA 抗体が存在する場合は好中球生着が遅延し生着不全の頻度が高いことを示した (生着率 61.9% vs. 94.4%, $P=0.026$)⁷⁾。ただ、HLA 半合致移植の生着不全における MFI のカットオフ値に関してはまだ議論の余地が残るところである。一方、臍帯血移植においては、高梨らが、2001 年から 2007 年の間に行われた単一臍帯血移植 386 症例の解析を行った⁸⁾。好中球生着率は HLA 抗体陰性例 83%、ドナー非特異的抗体陽性例 73%、ドナー特異的抗体陽性例 32%であった ($P<0.0001$)。多変量解析の結果、ドナー特異的抗体陽性例における好中球生着、血小板生着は抗体陰性例と比べて有意に遅かった。なお、HLA 不適合血縁者間移植、臍帯血移植における抗 HLA 抗体の意義に関しては、日本造血細胞移植学会 HLA ワーキンググループおよび合併症ワーキンググループの共同研究として、全国二次調査が現在行われており、MFI のカットオフ値の再検討を含め、詳細な解析が行われている。非血縁者間骨髄・末梢造血幹細胞移植においても抗 HLA 抗体の意義は同様に重要であることが予想される。Spellman らは、HLA-DP 座も含めたドナー特異的抗 HLA 抗体の意義を検討し、生着不全例において、有意にドナー特異的抗 HLA 抗体が存在する頻度が高いことを示した⁹⁾。また HLA-DPB1 に対するドナー特異的抗 HLA 抗体陽性例での生着不全の頻度が有意に高いことを報告している (38% vs. 2.7%, $P=0.0014$)¹⁰⁾。本邦では、生着不全の有無とドナー特異的抗 HLA 抗体との関連を調べる Case-control 研究が行

われたが、生着不全症例において DPBI に対する抗体含めドナー特異的抗 HLA 抗体を持つ症例が少なく、十分な検討が行えなかった¹¹⁾。一方で、ドナー特異的抗 HLA 抗体陽性のために生着不全となる頻度自体は少ないことを示している。

5) HLA2 抗原以上不適合血縁者間移植

従来の ATG, ステロイドを用いた GVHD 予防法やアレムズマブを用いた方法などにおいて、2 抗原以上不適合移植における HLA 不適合座の意義は明確ではない¹²⁻¹⁵⁾。近年、移植後エンドキサン投与による GVHD 予防法が開発され、本邦においてもその GVHD 発症抑制に関して有効であることが示されている¹⁶⁾。このようにいわゆる HLA 半合致移植を可能にするような強力な GVHD 予防法を用いた場合の個々の HLA 不適合座の意義は明らかではない。

4. 非血縁者間骨髄・末梢血幹細胞移植

非血縁者間骨髄・末梢血幹細胞移植においては、HLA 適合度は、HLA-A, -B, -C, -DRB1 座のアリルレベルで評価することがスタンダードとなっているが、それは、本邦において非血縁者間骨髄移植の患者・ドナーの保存検体の解析より HLA アリル不適合の意義が十分に検討された成果である。可能な限り HLA-A, -B, -C, -DRB1 座アリルレベル適合のドナーを選択することが望ましい。また、HLA-C 座および HLA-DRB1 座アリル不適合は、GVHD 発症リスク上昇と相関があるものの許容範囲内であり、HLA アリル適合非血縁ドナーが存在しない場合に積極的に選択可能なドナーとして選択されてきた。ただ、GVHD 予防法や支持療法は時代とともに改良されており、それに伴い HLA 不適合の意義が変わる可能性がある。日本造血細胞移植学会 HLA ワーキンググループにて 1993 年から 2009 年の間に急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群に対して骨髄破壊的前処置を用いた移植を受けた HLA アリル適合あるいは 1 アリル不適合非血縁者間骨髄移植症例の解析が行われた¹⁷⁾。その結果、1999 年までに移植を受けた群において、HLA-B 座 1 アリル不適合群は 8 アリル適合群と比較して有意に生存率が低下しており、また死亡リスクは高かった。しかし、2000 年以降の群においては、8 アリル適合群と比較した、HLA-A, -B, -C, -DRB1 座 1 アリル不適合群の死亡リスク

は、各座ほぼ同等であった。HLA-B 座不適合の負の影響が弱まっていると同時に HLA-C, HLA-DRB1 座不適合の負の影響がより明らかとなっている理由として、時代とともに明らかとなった各座の GVHD のリスクに応じた GVHD 予防法の強度が変更されている可能性などが考えられる。なお、この結果は緩和的前処置を用いた移植においても確認されている¹⁸⁾。

HLA は、HLA 分子構造上のアミノ酸ミスマッチ部位により、GVHD 発症リスクが異なることが予想され、GVHD 発症リスクが許容できないようなハイリスクミスマッチが存在すると仮定されるが、その仮説が見事に示された。各 HLA の組み合わせと GVHD のリスクが検討され、15 の HLA ハイリスクミスマッチが報告されている¹⁹⁾。しかしこの意義も時代の影響を受ける可能性があるため、日本造血細胞移植学会 HLA ワーキンググループにて再解析が行われた²⁰⁾。この研究では、ハイリスクミスマッチの有無により 2 群に分類されている。この結果、ハイリスクミスマッチは 1993 年から 2001 年においては重症急性 GVHD の発症および生存率の低下に有意な相関を示していたが、2002 年から 2011 年においては、その負の影響は認められなかった。興味深いことに、2 アリル不適合移植においては、不適合アリルにハイリスクミスマッチを含む場合は、有意に重症 GVHD 発症リスクが上昇している。すなわち、時代および GVHD 予防法の変化により、1 アリル不適合移植においてはハイリスクミスマッチの負の影響が認められなくなっていると考えられる。ただ、個々のハイリスクミスマッチを評価しているわけではない点には注意が必要である。なお、2010 年より HLA 適合非血縁者間末梢血幹細胞移植が実施可能となり、さらに 2015 年より HLA 不適合非血縁者間末梢血幹細胞移植も可能となったが、HLA 不適合の意義は骨髄移植と異なる可能性があり、今後検討されるべき課題である。

HLA1 抗原不適合血縁者間移植と同様、非血縁者間移植における ATG の使用が、HLA 不適合の負の影響を克服できる有効な GVHD 予防法となり得る可能性がある。日本造血細胞移植学会 HLA ワーキンググループの解析にて、1 座不適合非血縁者間骨髄移植において、ATG の使用は再発のリスクを増加させることなく、不適合の生存への負の影響を改善することが示されている²¹⁾。

海外にて HLA 8 座適合および 1 座不適合の非血縁者

間骨髄・末梢血幹細胞移植を対象に、ATG 投与の無作為割付比較試験が行われた²²⁾。ATG 非使用群は GVHD 予防法としてカルシニューリン阻害薬と、メトトレキサートあるいはミコフェノール酸モフェチルの 2 剤を使用し、ATG 使用群はその GVHD 予防法に加えてサイモグロブリン 0.5 mg/kg を移植 2 日前に、2.0 mg/kg を移植 1 日前と 1 日後に投与した（合計 4.5 mg/kg）。移植 1 年時点で免疫抑制剤が不要となった患者の割合は ATG 使用群 37%、ATG 非使用群 16% と、ATG 使用群で有意に高かった。また慢性 GVHD、再発、死亡をイベントとした無イベント生存率は、ATG 使用群で有意に高かった（ATG 使用群 47% vs. ATG 非使用群 27%、 $P=0.0031$ ）。再発率は両群間に有意差は認められなかった。また重篤な感染症についても ATG 使用群と ATG 非使用群で有意差は認められなかった。ただ、ATG 投与による再発率のリスク上昇などの可能性もあり、ATG 使用による生存への良好な影響が認められなかったとする無作為割付比較試験の報告も学会レベルではあるが報告されており、最終的な結論は国内における無作為割付比較試験にて答えを得る必要がある。現在、HLA 1 座不適合非血縁者間骨髄移植において、タクロリムス・メトトレキサートによる従来型 GVHD 予防法とタクロリムス・メトトレキサートにサイモグロブリンを併用した GVHD 予防法の無作為割付比較試験が日本造血細胞移植学会が主導する臨床研究として実施されている（UMIN000028008, <http://www.jshct.com/study/syudo5.shtml>）。

5. 非血縁者間臍帯血移植

非血縁者間臍帯血移植においては HLA-A、-B、-DR 抗原のうち 2 抗原不適合まで許容される。臍帯血移植においては、小児と成人で患者体重あたりの有核細胞数が大きく異なり、生着不全や GVHD 発症頻度に大きな影響を及ぼすと考えられるため、HLA 不適合の影響は小児と成人において考える必要がある。日本造血細胞移植学会 HLA ワーキンググループにて、2000 年から 2009 年に急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群に対して行われた初回単一臍帯血移植症例を対象に小児・成人コホートに分けて HLA 不適合数の影響を解析した²³⁾。この報告では、欧米の臍帯血移植における HLA 不適合数のカウント法にない、HLA-A、-B 座は抗原レベル、HLA-DRB1 座は

アリルレベルで不適合数をカウントしている点に注意が必要である。GVHD の発症頻度は、小児においては HLA 適合群と比較して 1 座不適合群、2 座不適合群ではグレード II-IV およびグレード III-IV 急性 GVHD のリスクがそれぞれ約 2 倍に上昇するが、成人では 1 座不適合群、2 座不適合群は適合群と比較して有意なリスクの上昇は認めなかった。さらに生存に関しても、小児に関しては 2 座不適合群では有意に死亡リスクが上昇するが、成人に関しては HLA の不適合数と死亡リスクに相関は認められなかった。しかし成人においても、HLA の不適合数が増えるほど、再発リスクは低下し、また治療関連死亡率が高くなるため、生存に与える効果はキャンセルされていると考えられる。再発リスクの高い移植の場合にどういった臍帯血を選択すべきか、今後解決されるべき課題である。日本造血細胞移植学会移植ソース別ワーキンググループにて成人臍帯血移植において HLA-A、-B、-DRB1 座のアリル不適合数と生存との解析結果を示しているが、アリル不適合数と非再発死亡に相関は認められていない²⁴⁾。また屋部らにより HLA-C 座不適合の意義についても検討されているが、有意な影響は及ぼしていない。一方、HLA-DPB1 の不適合は、再発リスクを低下させる可能性が示されており、非常に興味深いところである²⁵⁾。

6. まとめ

HLA 不適合の意義に関しては非常に詳細な解析が行われ、様々なデータがあるため、臨床家には十分には扱えないほどとなっている。今後は人工知能などを用いた解析方法の開発が期待される。また一方、移植後エンドキサンを用いた移植方法など HLA 不適合の意義を大きく変えるような方法が急速に広まっている。GVHD 予防法や移植前処置に応じて HLA 不適合の意義は異なるため、移植成績の解析を継続することが重要と考えられる。

参考文献

- 1) Kanda J, Saji H, Fukuda T, *et al.*: Related transplantation with HLA-1 Ag mismatch in the GVH direction and HLA-8/8 allele-matched unrelated transplantation: a nationwide retrospective study. *Blood* 119(10): 2409–2416, 2012.
- 2) Kanda J, Ichinohe T, Kato S, *et al.*: Unrelated cord blood transplantation vs related transplantation with HLA 1-antigen mis-

- match in the graft-versus-host direction. *Leukemia* 27(2): 286–294, 2013.
- 3) Fuji S, Kanda J, Kato S, *et al.*: A single high-resolution HLA mismatch has a similar adverse impact on the outcome of related hematopoietic stem cell transplantation as a single low-resolution HLA mismatch. *Am J Hematol* 90(7): 618–623, 2015.
 - 4) Anasetti C, Amos D, Beatty PG, *et al.*: Effect of HLA compatibility on engraftment of bone marrow transplants in patients with leukemia or lymphoma. *N Engl J Med* 320(4): 197–204, 1989.
 - 5) McKenna RM, Takemoto SK, Terasaki PI: Anti-HLA antibodies after solid organ transplantation. *Transplantation* 69(3): 319–326, 2000.
 - 6) Yoshihara S, Taniguchi K, Ogawa H, *et al.*: The role of HLA antibodies in allogeneic SCT: is the 'type-and-screen' strategy necessary not only for blood type but also for HLA? *Bone Marrow Transplant* 47(12): 1499–1506, 2012.
 - 7) Yoshihara S, Maruya E, Taniguchi K, *et al.*: Risk and prevention of graft failure in patients with preexisting donor-specific HLA antibodies undergoing unmanipulated haploidentical SCT. *Bone Marrow Transplant* 47(4): 508–515, 2012.
 - 8) Takanashi M, Atsuta Y, Fujiwara K, *et al.*: The impact of anti-HLA antibodies on unrelated cord blood transplantations. *Blood* 116(15): 2839–2846, 2010.
 - 9) Spellman S, Bray R, Rosen-Bronson S, *et al.*: The detection of donor-directed, HLA-specific alloantibodies in recipients of unrelated hematopoietic cell transplantation is predictive of graft failure. *Blood* 115(13): 2704–2708, 2010.
 - 10) Ciurea SO, Thall PF, Wang X, *et al.*: Donor-specific anti-HLA Abs and graft failure in matched unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 118(22): 5957–5964, 2011.
 - 11) Ichinohe T, Kanda J, Maruya E, *et al.*: Clinical significance of preformed antibodies against HLA and MICA in recipients of unrelated bone marrow transplantation: a case-control study [Abstract]. *EBMT* 2010.
 - 12) Ogawa H, Ikegame K, Yoshihara S, *et al.*: Unmanipulated HLA 2–3 antigen-mismatched (haploidentical) stem cell transplantation using nonmyeloablative conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 12(10): 1073–1084, 2006.
 - 13) Ikegame K, Yoshida T, Yoshihara S, *et al.*: Unmanipulated haploidentical reduced-intensity stem cell transplantation using fludarabine, busulfan, low-dose antithymocyte globulin, and steroids for patients in non-complete remission or at high risk of relapse: a prospective multicenter phase I/II study in Japan. *Biol Blood Marrow Transplant* 21(8): 1495–1505, 2015.
 - 14) Kanda Y, Oshima K, Asano-Mori Y, *et al.*: In vivo alemtuzumab enables haploidentical human leukocyte antigen-mismatched hematopoietic stem-cell transplantation without ex vivo graft manipulation. *Transplantation* 79(10): 1351–1357, 2005.
 - 15) Kanda Y, Oshima K, Kako S, *et al.*: In vivo T-cell depletion with alemtuzumab in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: combined results of two studies on aplastic anemia and HLA-mismatched haploidentical transplantation. *Am J Hematol* 88(4): 294–300, 2013.
 - 16) Sugita J, Kawashima N, Fujisaki T, *et al.*: HLA-haploidentical peripheral blood stem cell transplantation with post-transplant cyclophosphamide after busulfan-containing reduced-intensity conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 21(9): 1646–1652, 2015.
 - 17) Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, *et al.*: Impact of a single human leukocyte antigen (HLA) allele mismatch on the outcome of unrelated bone marrow transplantation over two time periods. A retrospective analysis of 3003 patients from the HLA Working Group of the Japan Society for Blood and Marrow Transplantation. *Br J Haematol* 161(4): 566–577, 2013.
 - 18) Yokoyama H, Kanda J, Fuji S, *et al.*: Impact of human leukocyte antigen allele mismatch in unrelated bone marrow transplantation with reduced-intensity conditioning regimen. *Biol Blood Marrow Transplant* 23(2): 300–309, 2017.
 - 19) Kawase T, Morishima Y, Matsuo K, *et al.*: High-risk HLA allele mismatch combinations responsible for severe acute graft-versus-host disease and implication for its molecular mechanism. *Blood* 110(7): 2235–2241, 2007.
 - 20) Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, *et al.*: Changes in the clinical impact of high-risk human leukocyte antigen allele mismatch combinations on the outcome of unrelated bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 20(4): 526–535, 2014.
 - 21) Kawamura K, Kanda J, Fuji S, *et al.*: Impact of the presence of HLA 1-locus mismatch and the use of low-dose antithymocyte globulin in unrelated bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 52(10): 1390–1398, 2017.
 - 22) Walker I, Panzarella T, Couban S, *et al.*: Pretreatment with antithymocyte globulin versus no anti-thymocyte globulin in patients with hematological malignancies undergoing hematopoietic cell transplantation from unrelated donors: a randomised, controlled, open-label, phase 3, multicentre trial. *Lancet Oncol* 17(2): 164–173, 2016.
 - 23) Atsuta Y, Kanda J, Takanashi M, *et al.*: Different effects of HLA disparity on transplant outcomes after single-unit cord blood transplantation between pediatric and adult patients with leukemia. *Haematologica* 98(5): 814–822, 2013.
 - 24) Terakura S, Atsuta Y, Tsukada N, *et al.*: Comparison of outcomes of 8/8 and 7/8 allele-matched unrelated bone marrow transplantation and single-unit cord blood transplantation in adults with acute leukemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 22(2): 330–338, 2016.
 - 25) Yabe T, Azuma F, Kashiwase K, *et al.*: HLA-DPB1 mismatch induces a graft-versus-leukemia effect without severe acute GVHD after single-unit umbilical cord blood transplantation. *Leukemia* 32(1): 168–175, 2018.

Effect of HLA matching on outcomes in allogeneic stem cell transplantation

Junya Kanda¹⁾

¹⁾Department of Hematology and Oncology, Graduate School of Medicine, Kyoto University

The chances to use HLA-mismatched related or unrelated donor candidates are rapidly increasing in cases wherein HLA-matched related or unrelated donor candidates are unavailable or immediate transplantation is required for disease control. Since the counting methods of HLA matching and the effect of HLA matching on transplant outcomes differ according to stem cell sources, the effects of HLA mismatch should be cautiously interpreted. The HLA locus, matching level (antigen or allele), and mismatch direction (graft-versus-host or host-versus-graft direction) must be understood. The effect of HLA mismatch on transplant outcomes has been assessed by many studies; however, it must be recognized that it is changing with improvements in graft-versus-host disease prophylaxis. In this issue, the effect of HLA mismatch across various stem cell sources is discussed.

Key Words: allogeneic stem cell transplantation, HLA matching, related transplantation, unrelated transplantation, cord blood transplantation

第2回 関東HLA研究会記録

会 期：2018年6月9日（土曜日）

会 場：東京大学 本郷キャンパス

世話人：藤原 孝記

帝京大学医療技術学部

HLA の基礎講習 -1 日本組織適合性学会初心者講習会—概要と展望—

高 陽淑

日本赤十字社 近畿ブロック血液センター

日本組織適合性学会 (JSHI) では、会期中に HLA 関連業務歴が浅い担当者に向けた講習会を開催している。本講習会は、自施設の精度管理や検査レベルの維持向上を目的とした学会主催の QCWS への理解を促進するために、2014 年に開催された QCWS ミニ集會に端を発し、2015 年からは JSHI 教育委員会内の初心者教育部会が企画・運営し、講師陣のほとんどが QCWS 部会のデータ解析担当も兼ねている。

そのため、時間に制約のある QCW 集會では困難な素朴な疑問の解消を可能にする環境作りが重要と考え、応募条件は業務歴 3 年以内、募集人数も企画毎に 20 名程度としているが、毎年、応募者は多数で、業務歴が 3 年以上でも基礎知識を系統立てて学ぶ機会が無かった等の

理由で応募するケースもある。

また、講習会の対象は検査担当者を想定していたが、特に移植関連の複数の臨床医から検査データへの理解を深めることなどを目的に応募があるのも特徴的と言える。

講習会終了後には参加者に対してアンケート調査への協力を依頼し、次回の企画立案への参考としているが、毎年好評を博し、継続的な参加の意思や企画への具体的な要望などが多く寄せられていることから、こういった類の学び場が他になく、貴重な機会であることが伺える。本講演では、2017 年度の開催概要と受講後のアンケート結果を中心に、講習会の現状について紹介したい。

HLA の基礎講習 -2 QCWS DNA 検査部門の解析方法について： PCR-rSSOP (WAKFlow, Genosearch)

奥平 裕子

ジェノダイブファーマ株式会社

【目的】QCWS の目的として、日本組織適合性学会のホームページには「認定委員会の主催で、会員を対象にして、HLA 検査技術の向上をめざして行っています。」と記載されている。解析を担当するにあたり、技術の向上を促すにはどのようなデータを示せば良いのかを考慮した時、まず施設間差を示し、次にその原因を探り、解決方法を考察し、共有することが重要であると考えられた。

【解析方法】各施設の CSV ファイルから、解析ソフトを用いて解析を行うという基本的な方法を取ったが、特に陰性コントロールの反応状況、陽性コントロールビーズ

の反応状況、ミスアサインをしていないか、カットオフ値の変更が必要か、クロスプローブ (WAKFlow) の反応状況の 5 点に着目して解析を行った。陰性コントロールと陽性コントロールビーズの反応状況については、蛍光値の平均とばらつきを計算し、グラフ化して施設間差を見た。ミスアサインについては、他施設の反応と比較し誤反応しているプローブを示した。カットオフ値の変更については、どのプローブの変更が必要か、いくつのプローブを変更しているかを見ることで、誤反応しやすいプローブはないか、手技に問題はないかを探った。最

後にクロスプローブの蛍光値を施設間で比較することによって、実験の手技によりプローブの反応性に差が見られることを示した。

【評価】評価は、判定結果の評価（評価点：60点）、結果表記の評価（評価点：40点）あわせての点数（100点満点）と、試験検査状況の評価（評価ランク：A, B, C）で行われる。これらのうち解析担当者が担うのは、判定結果の評価と試験検査状況の評価である。判定結果の評価は各タイピング法での判定が正しいことと、各タイピング法の結果が、総合判定と齟齬が無いこととしており、ミスアサインが無い事が基準となる。また、試験検査状

況の評価は使用試薬での結果の妥当性を見るもので、データに不備がないかが基準となり、PCR-rSSOPの場合はプローブの反応性をみることとなる。

【まとめ】QCWSの解析を担当し、自施設の検査状況を見つめ直した時、検査法や精度管理において注意すべき点が一層明確になった。他施設でのミスアサインを、自施設のトラブルシューティングに置き換え、また施設間差を実験間差と置き換えることで、検査技術の向上に繋がると感じる事が出来た。QCWSや本講習を聴講された皆様も、各解析結果をご参考頂き、技術の向上にお役立て頂ければと願う。

HLAの基礎講習-3 QCWS 血清学検査部門の解析方法について：Luminex (LABScreen)

前島理恵子

帝京大学医学部附属病院

現在、抗HLA抗体検査はこれまで用いられていたLCTから精製抗原を結合した蛍光ビーズによる間接蛍光抗体法が用いられるようになってきている。フローサイトメーター技術を応用したビーズアレイシステムであるLuminexをプラットフォームにした蛍光ビーズ法が複数のメーカーより販売されており、1つの蛍光ビーズに複数の精製抗原を結合した抗体スクリーニングから、単一の精製抗原を結合させた高感度かつ高解像度な抗体同定を目的とした方法がある。

LABScreen SingleAntigen (LS-SA)は、単一の精製抗原を1つの蛍光ビーズに結合させた方法であり、高感度

に抗体を検出することができる一方、非特異反応も認められていることから、抗体特異性の判定が困難になる場合がある。

日本組織適合性学会QCWS血清学検査部門では、参加施設の提出した結果を基に客観的に抗HLA抗体の有無、抗体特異性について解析を行い、参加施設のHLA検査技術の向上をめざしている。

今回、LABScreen特にLS-SAを解析する際のポイントや抗体特異性を判定する際に抗体が認識するエピトープを考慮した解析方法、注意点を概説し、今後のQCWS抗体検査解析の参考にしていただきたい。

シンポジウム1：HLAと臨床 心臓移植とHLA

布田 伸一

東京女子医科大学大学院 重症心不全制御学分野

ヒトにおける心臓移植は1967年に初めて行われ、50

年が経過した。今日の心臓移植にまで興隆させたのは、

拒絶反応診断法としての心内膜心筋生検法と病理組織学的診断基準の確立, そして拒絶に対する免疫抑制療法の開発であろう。ここで非自己の移植組織を自己の生体内で機能させる移植医療では, 組織適合性の一致度によって移植後免疫抑制療法とその予後が規定されるため, HLA に代表される組織適合性検査は重要である。

今日では移植後の拒絶反応における細胞性拒絶はある程度制御可能な時代になったが, 最近のHLA抗体検査の進歩により, 液性免疫が関与する超急性拒絶, 抗体関連型拒絶 (AMR), そして慢性拒絶 (移植心冠動脈病変: CAV) への関与が注目されてきている。

ここで, 心臓移植後拒絶反応の10~20%を占めるAMRは, その予後不良および慢性期におけるCAVの発

症進展リスクのため早期診断および早期治療が大切である。そして, わが国の心臓移植では, 90%以上の症例が補助人工心臓を装着して待機し, その待機期間は1000日以上に及ぶため, その長い待機期間中に輸血や感染を複数回生じるのが実情である。その結果, 抗HLA抗体を産生する可能性は高くなり, それによって引き起こされる移植後AMR, その後のCAVへの進展には注意が必要になってくる。

本シンポジウムでは, 心臓移植についての概説と, 近年注目されてきている心臓移植におけるAMRについても触れ, わが国における組織適合性検査の今後の発展に繋げたい。

シンポジウム2: HLA多型に基づいた個別化医療 薬の副作用とHLA—重症薬疹を例に一

中村 亮介

国立医薬品食品衛生研究所 医薬安全科学部

医薬品の副作用には, 用量依存的で薬理効果から推定可能なものと, 一般に用量非依存的で薬理効果には基づかないものがある。特に重篤な副作用には後者のタイプが多く, 発症頻度は一般にまれであることから, 「特異体質性」とも言われる。特異体質性の副作用は通常患者の遺伝的素因に依存するが, 近年の研究から, ある種の医薬品の副作用に特定のHLAが関連していることが明らかになってきた。

よく知られた例は, カルバマゼピン (CBZ) によるStevens-Johnson症候群 (SJS) や中毒性表皮壊死症 (TEN) 等の重症薬疹の発症と関連するHLA-B*15:02である。これは台湾の漢民族における研究により発見され, 発症オッズ比は1357に達した。SJS/TENの発症にはT細胞が関係しているが, CBZはHLA-B*15:02に直接結合し, 感作T細胞によって認識されるというメカニズムが想定されている。一方, アバカビル (ABC) 過敏症にはHLA-B*57:01が有意に関連するが, ABCは同HLAのFポケットに結合し, 提示ペプチドのレパトアを変化させることが知られている。このように, 副作用と関連する

HLAは, 医薬品ごと, 民族ごとに異なっており, 発症機序も様々である。

本講演では, 薬の副作用に関連するHLAをどのように探索するか, また, その作用機序解析や臨床応用への道筋等について, 我々の結果を交えつつ紹介したい。

ワークショップ-1 蛍光ビーズ法 HLA 抗体検査試薬の半量法に関するワークショップについて

中島 文明

日本赤十字社 中央血液研究所研究開発部

昨年、公表された論文では、LABScreen Single Antigen (LS-SA) 試薬について操作全体の効率化を検討し約70%の時間短縮を達成したとされる。その中で、ビーズも標準量と半量で扱っているが、なぜか双方の明確な比較はされていない (Hum Immunol 78, 2017)。本研究会では、ビーズ量の違いが試薬性能に影響するか複数施設で検証することにした。

参加11施設に対し、4種類のHLA抗血清を共通配布し、各施設ではビーズを標準量と半量でそれぞれ測定した。LS-SA試薬は、クラスIが全てLot.010、クラスIIがLot.011と012半々であった。可能な限り施設間のバイアスを排除したいため、抗血清は未処理のまま使用し、

操作はメーカーのinstruction manualに従うように指示した。

様々な組み合わせで、ビーズ標準量と半量の測定結果を比較すると、ピアソンの積率相関係数や線形回帰直線等の数値データは、どの施設も良好に見えた。しかしながら、Raw dataで比較するとバックグラウンド・シグナルのバラツキなど操作環境の影響は十分に排除できていない。バックグラウンドの制御が相関に影響することも認められた。集会では、このような様々な観点の解析結果を提示するが、半量法の可否に関しては、その使用目的を踏まえた上で各施設の判断に委ねたい。

ワークショップ-2 NGS-SBT法に関するワークショップ

佐伯 幸枝¹⁾、竹下 昌孝²⁾、椎名 隆³⁾

¹⁾株式会社イミュノ・ジェネックス

²⁾東京北医療センター 血液内科

³⁾東海大学医学部

臍帯血移植の多くはHLA不一致移植であり、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)は、PCR-SSOP法やSBT法などの現行の高解像度DNAタイピング法では不可能なphase ambiguity問題の多くを解消する新しいHLA検査技術として臨床現場への導入が期待されている。ところが、NGS-SBTを実際に経験された方々は少なく、また経験して頂く機会も国内ではこれまでにない。そこで本研究会では、NGS-SBTを経験して頂くための実習を13施設、16名の参加者と共に3日間の日程(2018年3月9-11日)で開催した。具体的には、4つのパートに分け

た実習項目(ライブラリーの調製、テンプレートの調製、シーケンスランおよびアレル判定)と6つのパートに分けた講義(NGSの原理、DNAの品質チェック法とAmpliconの準備、NGS-SBT法の開発史、NGS-SBT法の将来展望、アレル判定ソフトウェアの紹介など)を実施した。さらに本実習では、NGS-SBT法に対する理解度を深めて頂くため、参加者らが自らの手を動かして体験出来るような工夫を施した。

本ワークショップでは、本実習の概要を説明した後、参加者の佐伯幸枝先生と竹下昌孝先生からNGS-SBT法の印象、現行のHLA DNAタイピング法との違い、

NGS-SBT法導入の際に考慮すべきこと等についての率直な意見をいただく。さらには、参加者全員を対象にしたアンケート結果についても報告する。回答者全員が

NGS-SBTに関する実習や勉強会の場は今後も必要である、と回答されたことから今回と同様な実習やワークショップの継続的な実施が必要であろう。

一般口演発表 -1

免疫介在性壊死性ミオパチー (IMNM) と HLA-DRB1 多型との関連解析

大貫 優子, 重成 敦子, 椎名 隆

東海大学医学部

【目的】免疫介在性壊死性ミオパチー (IMNM) は炎症性筋疾患の中で高頻度を占めており、リンパ球細胞浸潤が乏しく、筋線維の壊死・再生を特徴とする。近年、抗SRP抗体やスタチン誘発性ミオパチーと関連する抗HMGR抗体がIMNMの疾患標識マーカーになること、悪性腫瘍や膠原病がIMNMの危険因子であることが報告されている。演者らはIMNMの遺伝要因を特定すべく、患者166例のDNAを用いてHLA関連解析を行い、第26回日本組織適合性学会大会においてHLA6座 (HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1) の結果を報告した。本研究では、更に症例数を増やし、計247例の患者におけるHLA-DRB1解析を行うことにより、IMNM全体、さらに抗体や危険因子との関連性を明らかにすることを目的とした。

【方法】臨床像、筋病理所見、自己抗体からIMNMと診

断した日本人247例の末梢血由来DNAを対象とした。HLA DNA タイピングはPCR-SSOP法またはSBT法にて行い、Fisher's exact testにより有意差検定を行った。

【結果・考察】日本人健常者460例に比して、IMNM患者群においてDRB1*08:03 (OR 2.4, $p=3.9 \times 10^{-7}$), DRB1*11:01 (OR 2.3, $p=6.0 \times 10^{-3}$) が有意に多かった。抗SRP抗体陽性IMNM 78例では、抗SRP抗体陰性IMNM 169例に比して、DRB1*12:01 (OR 6.7, $p=1.4 \times 10^{-2}$) が有意に多かった一方、抗HMGR抗体陽性65例を抗HMGR抗体陰性182例と比べたところ有意に多いアレルは認めなかった。これらのことから、IMNMは特定のHLA多型と関連することが強く示唆された。また、抗SRP抗体陽性群と抗HMGR抗体陽性群では病態機序に何らかの相違があると考えられた。

一般口演発表 -2

High accuracy KIR Genotype Imputation with Attribute Bagging (KIBAG) from GWAS datasets

Seik-Soon Khor¹⁾, Xiuwen Zheng²⁾, Akiko Ishitani³⁾, Fumihiro Azuma⁴⁾, Chul-Woo Pyo⁵⁾, Yosuke Omae¹⁾, Toshio Yabe⁴⁾, Dan Geraghty⁵⁾, Katsushi Tokunaga¹⁾

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

²⁾ Department of Biostatistics, University of Washington, Seattle, WA, USA

³⁾ Nara Medical University, Kashihara, Nara 634, Japan

⁴⁾ Japanese Red Cross Kanto-Koshinetsu Block Blood Center, Tokyo, Japan

⁵⁾ Clinical Research Division, Fred Hutchinson Cancer Research Center, Seattle, WA, USA

Natural killer (NK) cells are essential in innate immunity and determine the outcome of antigen-specific responses. NK cell function based on the complex interactions mediated by membrane-bound and soluble gene products. NK cell activity is genetically modulated by differential expression of inhibitory and activating killer cell immunoglobulin-like receptors (KIR) that recognize HLA class I molecules. The high level of polymorphism of KIR genes together with their functional relation with HLA class I molecules suggest selection pressure driven by exposure to a wide variety of diseases. Indeed, long established KIR-HLA association has been revealed with HIV infection, hepatitis C infection, human papilloma virus (HPV) induced cervical cancer, psoriatic arthritis and type 1 diabetes. With the recent advancement of next generation sequencing (NGS) technology, KIR can now be characterized to high resolution including KIR copy number (CP), KIR A&B haplotypes and KIR allele. NGS based KIR typing remains a costly and laborious method to determine KIR types from a large cohort of individuals. Thus, we developed a new methodology

named KIBAG (KIR Genotype Imputation with Attribute Bagging) which enable a rapid and inexpensive way to determine KIR typing from GWAS dataset. KIR typing of 726 Japanese individuals were performed using Scisco Genetics KIR typing kit and Miseq sequencing system. SNP information of these samples were determined using Affymetrix Axiom Japonica V1 and Japonica V2. Internal validation and external validation of KIR CP imputation were performed and an average accuracy of 97.9% and 95.7% were obtained respectively across 16 KIR genes. KIR with >3 copies remains the most difficulties to impute due to the insufficiency of 3 copies carrying individual in the reference. Re-examination of GWAS with HLA class I associations or GWAS with SNP peaks in KIR region may reveal novel HLA-KIR associations. This work is part of the project of HKIMP.net (HLA & KIR Imputation Network) with the aim of providing population specific HLA & KIR imputation system to research community. KIR imputation system for a wide range of populations is currently undergoing.

一般口演発表 -3

抗原発現が抑制される HLA-C*03:23 と C*07:02:01:17N の解析

清水まり恵¹⁾, 黒田ゆかり²⁾, 鎌田 裕美¹⁾, 内田みゆき¹⁾, 高田慎之介¹⁾, 高橋 大輔¹⁾, 中島 文明¹⁾,
柴 雅之¹⁾, 永井 正¹⁾, 佐竹 正博¹⁾

¹⁾ 日本赤十字社 血液事業本部中央血液研究所

²⁾ 日本赤十字社 九州ブロック血液センター

我々は骨髄ドナー登録者の HLA タイピングに NGS 法を検討している。今回、特異的な抗血清に反応しない HLA-C*03:23 と C*07:02:01:17N について報告する。塩基配列はクローニングと SBT 法で決定し、また、次世代シーケンサー (MiSeq, イルミナ社) でシーケンスし HLA Analysis Pipeline (ビッツ社) で解析した。C*03:23 は Luminex 法 (SSO) で判定し LCT 法で抗 Cw10 抗血清と反応を認めなかった。C*03:04:01:02 と比較した塩基配列はエキソン 3 の 406 番塩基が G から A へ置換し、新たなスプライス部位によりストップコドン形成した可能性がある。また、69/259,466 人のドナー

より A*26:01-B*40:02 を推定した。

C*07:02:01:17N は Luminex 法で C*07:02:01:01 を検出するプローブの 1 つが陰性で、LCT 法では抗 Cw7 血清と反応性を認めなかった。C*07:02:01:01 と比較しイントロン 3 の 2 番塩基が T から A へ置換し、スプライスサイトを破壊した可能性がある。14/259,466 人より A*11:01-B*67:01 を推定した。

NGS 法は発現に影響する因子も確認可能であり、今後、抗原発現が抑制されるアレルを精査することは重要であると考えられる。

一般口演発表-4 FCXMによるDSAモニタリングの有用性

小山 暁史¹⁾, 杉本 達哉¹⁾, 豊崎 誠子^{1,2)}

¹⁾ 東海大学医学部附属病院 臨床検査技術科輸血室

²⁾ 東海大学医学部附属病院 血液腫瘍内科

【はじめに】当院で実施されたDSA陽性ハプロ半合致alloPBSCT症例において、FCXMによるDSAモニタリングの有用を検証したので報告する。

【症例】47歳、女性。CML急性転化のため当初SCTを計画したが、妊娠、出産、輸血歴有のため広範囲かつ高力価のHLA抗体を保有しており、国内にドナーが見つからないため、SCTを断念していた。しかしながら、再発したため、DSA陽性ながらも息子からの移植を行った。当初より複数回移植を計画しており、初回移植前には脱感作療法は行っていなかった。生着(DAY+51)に至るまでに計4回(合計NC: $10.29 \times 10^8/\text{kg}$, CD34+

$10.42 \times 10^6/\text{kg}$)の輸注を行い、4回目の移植前にPE3回、ドナーPC10Uを輸血し脱感作を行った。DSAは移植前の検査でB*54:01(nMFI:22,665)に対して最も強く、生着の直前まで消失することはなかった。移植前後で計5回LABScreen Single Antigen Beads(SAB)による特異性確認が行われており、生着後、保管してあった患者血漿、ドナーPBを解凍し、FCXMを実施した。FCXM(Median)とSAB(nMFI)で抗体価推移を比較したところ、ほぼ同様の経時的変化を認めることが確認できた。

【結語】DSAモニタリングとしてFCXMは有用な方法であることが示唆された。

一般口演発表-5 当センターにおけるPC-HLA交差適合試験陽性例の原因調査

宮城 徹, 礪波 薫, 瀬戸 勝也, 岡崎 晃士, 小野あいこ, 安藤 萌, 山際 裕子, 植木 純一,
松橋 美佳, 東 史啓, 津野 寛和, 中島 一格

日本赤十字社 関東甲信越ブロック血液センター

【背景】PC-HLA(HLA適合血小板)は、患者のHLA型およびHLA抗体検査の結果に基づいて適合ドナーを選択し、交差適合試験を実施したうえで供給している。ドナーのHLAタイピングについては2010年に血清学的タイピング法から高精度なDNAタイピング法に切り替えた。また、交差適合試験についても2010年にAHG-LCT法から高感度なICFA法に変更し、さらに、2015年にはICFAの改良試薬を導入してより広範囲なHLA抗体を検出できるようになった。

【目的】PC-HLA交差適合試験における陽性数を低減するため、陽性原因を調査する。

【方法】2015年4月から2018年3月までの当センター

における交差適合試験の実施状況を集計した。

【結果】実施数21,149件のうち陽性例は68件(HLA抗体による例が49件、非特異反応と考えられる例が19件)であった。HLA抗体による陽性例のうち、適合ドナーが少ないために陽性となるドナーを選んだ例が23件、過去の血清学的タイピング法の精度に起因する例が18件、その他が8件であった。

【考察】HLA抗体による陽性数については、新規ドナーおよび血清学でタイピングされたドナーを対象としたDNAタイピングの推進により、今後低減できると考えられる。非特異反応については、原因究明に取り組む必要がある。

第2回 東海北陸 HLA 研究会記録

日 時：2018年4月14日（土）

会 場：名古屋大学医学部附属病院 中央診療棟 A
3階 講堂

世話人：小倉 靖弘

名古屋大学医学部附属病院 移植外科

中部さい帯血バンクにおけるさい帯血調製保存の現状と 提供臍帯血の患者との HLA 適合度

吉村美千子, 松本加代子, 畑佐 鎮代, 鈴木 艶枝, 鏡山由紀子, 加藤百合子, 川本 京子, 加藤 千恵,
富永 千絵, 加藤 将大, 矢崎 信, 加藤 栄史, 加藤 剛二, 小寺 良尚, 森島 泰雄

一般社団法人 中部さい帯血バンク

【はじめに】移植成績の向上を目的として, 中部さい帯血バンクでは移植用臍帯血の品質向上に努めている。ユニット中の細胞数の増加は最重要事項であり, そのため, 2013年に 10.5×10^8 個以上であった有核細胞数基準を徐々に引き上げて 12×10^8 個以上とし, 2016年からは $CD34^+$ 細胞数基準も追加した。それにより, 移植移設からの提供依頼数が増加したが, 基準引き上げにより提供臍帯血と患者との HLA 適合度について変化が認められたので報告する。

【方法】有核細胞数 (以下 NC, $\times 10^8$ 個) および $CD34^+$ 細胞数 (以下 $CD34^+$, $\times 10^6$ 個) の調製開始基準とその実施期間は, ① NC10.5; 2013.Apr ~ 2014.Mar, ② NC11; 2014.Apr ~ 2016.Jun, ③ NC12; 2016.Jul ~ 2016.Sep, ④ NC12 & $CD34^+2$; 2016.Oct ~ 2017.Jul。1. ①~

④の各期間に調製した保存臍帯血に占める $NC \geq 10$ & $CD34^+ \geq 2.5$ の割合, 2. 移植用臍帯血の申込数, 提供数, 移植数の変化, 3. ①および④の期間に調製した申込臍帯血と患者との HLA 適合度, について検討した。

【結果と考察】1. 平均体重 (50 kg) の患者に移植適応となる $NC \geq 10$ & $CD34^+ \geq 2.5$ の保存臍帯血の割合は, ① 37.1%, ② 45.9%, ③ 64.5%, ④ 77.0% と, 基準引き上げに伴い増加した。2. 移植用臍帯血の年間申込数・提供数・移植数は① 80・62・58本から④ 260・192・189本へと増加した。3. 申込臍帯血と患者との HLA 適合度については, ①期 12% を占めた 6/6 一致が④期では 3% に減少し, 2座不一致は 60% から 76% に上昇するなど, HLA 適合度より細胞数を重視する選択がされていた。

臍帯血移植において HLA 適合度が生着に与える影響

森島 泰雄¹⁾³⁾, 東 史啓²⁾³⁾, 加藤 剛二¹⁾³⁾, 松本加代子¹⁾³⁾, 森島 聡子³⁾, 屋部登志雄²⁾³⁾

¹⁾ 中部さい帯血バンク

²⁾ 日本赤十字社関東甲信越ブロック血液センター

³⁾ 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, 移植臍帯血と患者の HLA 適合度が移植の生着に与える影響を HLA アリルレベルで検証した報告は少ない。そこで, HLA 6 座アリルタイピングが実施された造血器悪性腫瘍で初回単一臍帯血移植 1374 症例につき, HLA 適合度 (HVG 方向) と不適合 HLA 抗原数が生着に与える影響を, 移植後末梢血好中球 $500/\mu l$ 到達日数を指標として multivariable competing risk regression 法を用いて解析

した。その結果 (表), HLA-A, -B, -C の不適合抗原数が増すほど移植後好中球の生着率は有意に低くなった。HLA 適合度は臍帯血生着とその選択に際し考慮すべき因子である。

Risk of neutrophil engraftment by the number of HLA locus mismatch in allele level.

	N	Hazard Ratio	[95% C.I.]		P>z
HLA-A, B, C, DRB1 mismatch*					
0	53	1.00			
1	152	0.90	0.64	1.26	0.524
2	293	0.71	0.52	0.98	0.040
3	593	0.73	0.53	0.99	0.042
4	336	0.62	0.45	0.86	0.004
HLA-A, B, C mismatch*					
0	123	1.00			
1	253	0.76	0.61	0.96	0.020
2	571	0.76	0.62	0.94	0.011
3	480	0.65	0.52	0.81	0.000
HLA-A, B, C mismatch*					
0	123	1.00			
1 or 2	824	0.76	0.62	0.93	0.009
3	480	0.65	0.52	0.81	<0.001

* HVG direction

HLA 不適合非血縁者間移植における少量 ATG 投与の有効性の検討

稲垣裕一郎, 谷山史穂美, 横田 裕史, 竹内 裕貴, 澤 ひとみ, 今井 奏衣, 加藤 智則, 澤 正史

安城更生病院

【目的】 HLA 不適合非血縁者間移植患者において, 少量 ATG 使用の有無での治療成績を検討した。

【方法】 2009年8月から2017年6月に当施設で施行した非血縁者間移植例で, GVH 方向不適合のある33例を対象として後方視的検討をおこなった。

【結果】 少量 ATG 投与群 18 例, 非投与群 15 例で, 幹細胞源は ATG 投与群では UR-BM 13 例, UR-PB 5 例, 非投与群では UR-BM 15 例だった。ATG 非投与群では生着不全 16%, 非感染性肺合併症 20% を認め, ATG 投与群ではいずれも認めなかった。サイトメガロウイルス (CMV) 再活性化は非投与群で 20%, 投与群で 22% であり有意差を認めなかった。1 年 OS, PFS は 63% vs 31% (P=0.151), 48% vs 31% (P=0.197) で ATG 投与群で良好な傾向だった。1 年再発率は 35% vs 21% (P=0.57) で ATG 投与群で再発増加は認めなかった。Day100 時点

で Grade II 以上の aGVHD の累積発症率は 29% vs 30% (P=0.861), cGVHD の 1 年累積発症率 33% vs 74% (P=0.04) であった。中等症以上の cGVHD では 0% vs 30% であった。

【結論】 HLA 不適合非血縁者間移植において少量 ATG 使用により cGVHD の発症の低下を認めた。再発率の増加を認めず, 少量 ATG 投与で有意な再発率・CMV 再活性化を認めなかった。

日本人非血縁者間骨髄移植における HLA-DPB1 ミスマッチ：アップデート

森島 聡子¹⁾, 柏瀬 貢一²⁾, 東 史啓²⁾, 屋部登志雄²⁾, 小寺 良尚³⁾, 笹月 健彦⁴⁾, 森島 泰雄³⁾

¹⁾ 琉球大学大学院医学研究科 内分泌代謝・血液・膠原病内科学講座 (第二内科)

²⁾ 日本赤十字社 関東甲信越ブロック血液センター

³⁾ 愛知医科大学 造血細胞移植振興寄附講座

⁴⁾ 九州大学高等研究院

【背景】 日本骨髄バンク (JMDP) の非血縁者間造血幹細胞移植 (UR-HSCT) において患者とドナーの HLA-DPB1 アリルの不適合は適合に比べて急性 GVHD のリスクを高め、白血病再発のリスクを低下させるが生存には影響せず、ドナー選択時に HLA-DPB1 は考慮されていない。最近, HLA-DPB1 T-cell epitope (TCE) 不適合モデルをアップデートした functional distance (FD) モデルを用い, dFD>2.665 は dFD ≤ 2.665 より有意に生存が悪いことが報告された (Blood. 2016; 128: 120)。日本人 UR-HSCT における FD モデルの意義を検討した。

【方法】 1993–2010 年に JMDP を介して UR-HSCT が施行された白血病と骨髄異形成症候群の症例から, 患者とドナーの HLA-A, B, C, DRB1, DQB1 アリルが適合し, HLA-DPB1 アリルが不適合の 1968 例を解析対象とした。患者とドナーの HLA-DPB1 の dFD を既報告に基づいて

計算し, 急性 GVHD, 全死亡, 白血病再発のリスクへの影響を多変量解析で検討した。

【結果】 1968 例の中で, dFD ≤ 2.665 は 1569 例, dFD>2.665 は 399 例であった。急性 GVHD 2–4 度のリスクは, dFD>2.665 で有意に高かった (Hazard ratio [HR] 1.25, P=0.008)。一方, 急性 GVHD 3–4 度 (HR 1.20, P=0.196), 再発 (HR 0.81, P=0.095) 及び全生存 (HR 1.01, P=0.926) には有意差は認めなかった。

【結語】 欧米の UR-HSCT では, dFD>2.665 となるドナーは non-permissive (non-PM) mismatch として回避することが推奨されている。今回の解析では, dFD は急性 GVHD 2–4 度のリスクの指標となるが, 重症 GVHD, 生存及び再発には影響せず, 日本人の UR-HSCT で dFD>2.665 となるドナーと患者の組み合わせが non-PM とは示せなかった。

同種造血幹細胞移植における間葉系幹細胞の利用：HLA バリアを超えて

村田 誠, 後藤 辰徳, 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

間葉系幹細胞 (MSC) はサイトカインや液性因子を産生し, 免疫担当細胞に対して抑制的に (制御性 T 細胞に対しては促進的に) 作用する。MSC は HLA 分子を発現しているがその発現レベルは低く, CD80, CD86, CD40 といった共刺激分子は発現していない。そのため非自己 T 細胞応答を惹起せず, かつ自身は非自己 T 細胞から傷害されにくい。そこであらかじめ培養, 保存しておいた第三者由来の MSC を, HLA の一致・不一致に関わらず, 抗炎症目的で患者に投与することが可能とな

る。

同種造血幹細胞移植後のステロイド治療抵抗性急性 GVHD に対する標準治療は確立されておらず, その予後は極めて不良である。近年, 急性 GVHD に対する MSC の有効性が報告され, 本邦においては 2 つの臨床試験を経て 2016 年 2 月にヒト MSC 製剤が発売開始された。当科ではこれまでに, ステロイド治療抵抗性急性 GVHD 患者 10 例 (治験登録 4 例, 市販後投与 6 例) に対して MSC 治療を実施したので, その結果を報告する。

ところで、MSCは骨髄内において造血支持作用を有する。すなわち造血幹細胞移植を行う際、同時にMSCを投与することで、GVHD予防と生着促進の2つの効果が得られる可能性がある。そこで当科ではMSCの新

たな臨床応用開発を目指して、移植ドナー以外の骨髄から院内でMSCを作成し、臍帯血移植の直前に骨髄内に輸注する臨床第1相試験を進めており、その試験の概要も合わせて紹介する。

HLA拘束性のバリアを超えた第3者由来EBV特異的CTL療法の試み

西尾 信博¹⁾²⁾、三輪田俊介²⁾、成田幸太郎²⁾、北澤 宏展²⁾、濱田 太立²⁾、片岡 伸介²⁾、市川 大輔²⁾、谷口理恵子²⁾、村上 典寛²⁾、鈴木 喬悟²⁾、西川 英里²⁾、成田 敦²⁾、川島 希²⁾、奥野 友介¹⁾²⁾、村松 秀城²⁾、濱 麻人²⁾、小島 勢二²⁾、高橋 義行²⁾

¹⁾名古屋大学医学部附属病院 先端医療・臨床研究支援センター

²⁾名古屋大学大学院医学系研究科 小児科学

造血幹細胞移植後のEBV関連リンパ増殖症(EBV-LPD)はリツキシマブの投与により制御し得るが、CD20陰性LPDを含むリツキシマブ抵抗例では、重症化すると致死的となりうる。当院では、移植後のEBV-LPDに対する移植ドナー由来ウイルス特異的細胞傷害性T細胞(CTL)療法の第I相試験を行ったが、移植ドナー由来のCTL療法では、血縁者ドナーにおいてはウイルス特異的CTLを事前に培養することが可能であるもののドナーによって樹立できない場合があること、非血縁者ドナーでは実質的に培養ができないことなどの問題がある。

このような理由から、移植ドナー以外の第三者健常人からウイルス特異的CTLを樹立して保存しておき、off the shelfとして使用する試みが欧米を中心に行われてき

た。第三者由来ウイルスCTL療法の場合には、患者・ドナー間のHLAは部分一致であるために投与後のGVHD発症や再燃が懸念されたが、実際のGVHD発症頻度は低く、安全性と有効性が複数の試験により示されている。

我々は造血細胞移植後のEBV-LPDに対して移植ドナー以外の第三者由来ウイルス特異的CTL療法の安全性に関する第I相試験を「再生医療等の安全性の確保等に関する法律」に準じて計画、開始した。現在まで2例に計4回のCTL投与を行い、いずれにおいても重篤な合併症をきたすことなく、安全に投与できた。2例ともCTL投与後にEBVDNAコピー数が低下し、1例では持続的な効果を認めている。

TLR4 +3725G>C 遺伝子多型の機能的役割

高見 昭良¹⁾、内野かおり¹⁾、太田 明伸²⁾、花村 一朗¹⁾、水野 昌平¹⁾、堀尾 知弘¹⁾、中村 文乃¹⁾、高杉 壮一¹⁾、金杉 丈¹⁾

¹⁾愛知医科大学 血液内科

²⁾愛知医科大学 生化学

自然免疫誘導に重要な役割を担う toll-like receptor (TLR) family には遺伝子多型があり、感染症重症化や悪性腫瘍発症との関連が示唆されている。我々は、TLR

遺伝子多型が HLA 一致非血縁者間骨髄移植後転帰に影響すると明らかにした (Uchino K. Oncotarget 2017; Uchino K. Transplant Immunol 2016)。特に、TLR4 (rs11536889,

+3725G>C) G/G ドナーから移植を受けた患者は、致死感染が少なく、無進行生存率も良好であった。TLR4 +3725G>C 遺伝子多型の機能的役割を検証するため、健常人 21 名の末梢血単核球を分離し、遺伝子多型と単球上の TLR4 発現量を調べた。その結果、G アリル陽性者 (C/G, G/G) は、G アリル陰性者 (C/C) に比べ、TLR4 発現量が有意に低かった。すなわち、TLR4

+3725G>C は、機能的遺伝子多型と考えられた。したがって、TLR4 +3725G/G ドナーから造血幹細胞移植を受けた場合、移植後感染症罹患時の TLR4 低応答により、感染症重症化が抑制される可能性が示唆された。TLR4 +3725G>C 遺伝子多型機能に影響する分子機序を明らかにすれば、造血幹細胞移植後の致死感染を防ぐ特異的治療法の開発につながると期待される。

内皮細胞内誘導性 HLA class II は免疫抑制剤により制御される

前仲 亮宏¹⁾²⁾, 岩崎 研太³⁾, 三輪 祐子³⁾, 堀見 孔星¹⁾, 松岡 裕¹⁾, 友杉 俊英¹⁾, 奥村 真衣¹⁾,
打田 和治³⁾, 斎藤 寛子²⁾, 小林 孝彰¹⁾

¹⁾ 愛知医科大学 医学研究科 外科学講座 (腎移植外科)

²⁾ 愛知医科大学病院 薬剤部

³⁾ 愛知医科大学 腎疾患・移植免疫学寄附講座

【緒言】臓器移植においてドナー・レシピエント間の HLA ミスマッチは、抗ドナー HLA 抗体 (Donor HLA Specific Antibody : DSA) を出現させ、抗体関連型拒絶反応を引き起こす。特に de novo DSA の中でも HLA class II に対する抗体産生は予後不良である。現在抗体関連型拒絶反応を抑える目的で、抗体の除去や B 細胞を標的とした治療が行われるが、その効果は限定的である。そこで今回我々は、グラフト内皮細胞上のドナー HLA の抗原発現に着目し、抗原性を減弱し得る薬剤の探索を行った。

【方法】細胞は EA.hy926 と HUVEC を用いた。細胞を様々な薬剤存在下、IFN γ で 48 時間処理し、HLA-DR を発現誘導させた。蛋白質発現はフローサイトメトリー、ウェスタンブロットティング、In cell analyzer で、mRNA は qRT-PCR で測定した。

【結果】エベロリムス (EVR), フルバスタチン (FLU), プレドニゾロン (PRD) は HLA-DR を抑制した。FLU は HLA の, PRD は CHITA の転写を抑制した。EVR は mRNA を抑制しなかった。HLA-DR は主に細胞内に蓄積していたが、EVR は細胞内外の発現を制御していた。EVR, FLU は HLA の翻訳後制御に関わる CD63, CD82 を抑制した。

【考察】DSA の除去は臓器移植における治療の本流であ

るが、de novo DSA の出現は難治である。メカニズムの解明、生体における効果については更なる検討が必要ではあるが、本研究で明らかとなった HLA-DR を制御する薬剤が DSA に起因する抗体関連型拒絶反応を克服する一助となるはずである。さらに HLA の発現を効率的に制御できる新規薬剤探索は、抗体関連型拒絶反応の治療へとつながることが期待される。

術前より抗ドナー HLA 抗体を認め、術後抗体関連型拒絶反応の治療に 難渋した脳死肝移植の1例

種村 彰洋, 早崎 碧泉, 藤井 武宏, 飯澤 祐介, 加藤 宏之, 村田 泰洋, 栗山 直久, 安積 良紀,
岸和田昌之, 水野 修吾, 臼井 正信, 櫻井 洋至, 伊佐地秀司

三重大学 肝胆膵・移植外科

【はじめに】肝移植において、近年抗ドナー HLA 抗体 (DSA) 陽性が抗体関連型拒絶反応 (AMR) の危険因子として認識されている。今回、脳死肝移植での DSA 陽性症例における AMR を経験したので報告する。

【症例】37歳の女性。多発性嚢胞腎に対するトルバプタン投与の後に薬剤性肝障害、急性肝不全となり脳死肝移植が施行された。術後に DSA 陽性であることが判明した。術後9日目に肝胆道系酵素の上昇があり、肝生検の結果急性拒絶反応 (RAI = 6点) と判明しステロイドパルス治療を開始し、同時にミコフェノール酸モフェチルを導入した。しかし改善に乏しく、術後14日目の肝生検でも急性拒絶反応は変わらず (RAI = 5点)、サイモグロブリン投与を9日間行った。肝胆道系酵素の上昇は

一旦改善するも再度上昇を認め、術後21日目の肝生検ではC4d免疫染色が陽性であった。この時点でAMRと診断し、血漿交換を2日間、引き続き大量免疫グロブリン療法 (50 g/日) を2日間行った。その後肝胆道系酵素値は減少し、肝生検でも拒絶反応は改善し退院となった。後に DSA の蛍光強度 (Mean fluorescence intensity: MFI) を測定したところ移植前で Class I 抗体が 14500 と著明に高値であった。AMR 治療後は MFI:2000 まで減少していた。

【結語】脳死肝移植では DSA 陽性は移植適応に考慮されず、術前に脱感作療法を行うことも困難であるが、AMR 発症に注意が必要であると考えられた。

Rituximab 脱感作療法による既存抗ドナー抗体陽性肝移植

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、DSA による抗体関連拒絶反応をいかに抑制するかが注目されている。

【方法】2012年11月より、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。2014年10月より、DSA 陽性症例には rituximab 500 mg/body の投与による脱感作療法を実施するプロトコルを開始。術前血漿交換、免疫抑制剤投与は行わずに、肝移植を実施。術後の免疫抑制剤は、FK506、ステロイド、MMF の3剤を用いた。

【結果】10例 (12.5%) で DSA が確認され、術前に検査

結果が確認された9例に対して、rituximab 脱感作療法を術前1~21日に行った。肝移植後に AMR 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。移植手術後に DSA 結果が確認された一例は脳死肝移植で、class-I に対する中等度の MFI を示していたが、rituximab の投与なしで、術後1ヶ月目から DSA は消失した。

【結論】Rituximab 脱感作療法は、既存 DSA の肝移植に有効であったが、脳死肝移植の1例で脱感作療法なしで

問題なく経過した症例もあり、さらなる検討が必要である。

De novo DSA 産生抑制に関与し得る HLA アリルの検討

友杉 俊英¹⁾, 小林 孝彰¹⁾, 奥村 真衣¹⁾, 松岡 裕¹⁾, 堀見 孔星¹⁾, 三輪 祐子²⁾, 岩崎 研太²⁾, 打田 和治¹⁾, 渡井 至彦³⁾

¹⁾ 愛知医科大学 腎移植外科

²⁾ 愛知医科大学 腎疾患・移植免疫学寄附講座

³⁾ 名古屋第二赤十字病院 移植外科

【背景】ある特定の HLA 抗原型が自己免疫性疾患の発症と関連性があることについては知られている。中でも HLA class II については、ある特定の抗原型が自己抗原を提示した場合、自己抗体の産生を促進し、ある抗原型では抑制し、更にその両者の抗原型が同時に存在した場合は抑制的に作用することが報告されており、優性抑制という概念が提唱されている。

【目的】あるレシピエント HLA class II が、あるドナー由来 HLA を抗原提示した場合、その HLA のペアが de novo DSA 産生に対して抑制性の効果を示すという現象が腎移植症例でも認めるか検証した。

【方法】名古屋第二赤十字病院および愛知医科大学にて施行した生体腎移植症例のうち、既存 HLA 抗体を有する症例を除いたレシピエント 923 例と、そのドナーを対象とし後方視的に検討した。

【結果】de novo DSA は 147 例で陽性、776 例で陰性であった。{DRB1 04:05, DRB1 09:01} (レシピエント HLA class II, ドナー HLA) は、有意に陰性群で多く陽性群で少ない傾向にあり ($p < 0.05$)、他にも同様の傾向にあるペアを同定した。今後は症例数を重ねると共に、in vitro においてもこれらのペアを有する症例で、DSA 産生に対し抑制性の効果を示し得るか検証していく。

事前に行っていた LABScreen[®] Single Antigen を用いた Virtual crossmatch によりリスク評価が可能であった献腎移植の一例

西川 晃平, 舛井 覚, 北野 剛士, 西川 武友, 景山 拓海, 杉野 友亮, 佐々木 豪, 加藤 学, 吉尾 裕子, 神田 英輝, 有馬 公伸, 杉村 芳樹

三重大学大学院 医学系研究科 腎泌尿器外科学分野

【緒言】本邦の献腎移植時の組織適合検査は CDCXM (T cell, B cell), FCXM (T cell) のみであり、免疫学的リスクの判断に十分とは言えない。更に、献腎移植前の十分な脱感作は時間的に困難であることも多いため、献腎待機中に HLA に対する感作状態を把握しておくことは重要と考えられる。そのため、我々は待機期間が長く、且つ免疫学的に high risk である患者に対し事前に LAB-

Screen[®] Single Antigen (SA) を行い感作状態を把握している。今回この SA の結果をもとに virtual crossmatch (VXM) を行うことより移植前にリスク評価が可能であった献腎移植の一例を経験したので報告する。

【症例】59 歳女性。献腎待機 15 年、移植歴、妊娠歴なし。輸血歴複数回あり。事前の SA にて B44, B45, B76 の陽性が判明していた。ネットワークからの報告では、

CDCXM, FCXM は共に陰性であった。一方, VXM の結果では, B76 がドナー HLA の cross-reactive group (CREG) と判明した。しかし B76 の MFI は 1367 と低値であったことより移植は可能と判断した。移植前に血漿交換 1 回施行, rituximab 200 mg を投与し腎移植を施行。移植後は急性抗体関連型拒絶反応を疑う所見を認め,

ステロイドパルス, 血漿交換等を行ったが, 移植後 6 日目に血液透析を離脱。移植 2 年目の Cre 1.57 mg/dl と良好で, protocol 生検でも拒絶反応の所見は認めていない。**【結語】** 献腎移植において, SA の結果を用いた VXM は有用である可能性が示唆された。

抗ドナー HLA 抗体陽性腎移植に対する高用量グロブリン静注療法を用いた脱感作療法

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

¹⁾名古屋第二赤十字病院 腎臓病総合医療センター 移植外科

²⁾名古屋第二赤十字病院 腎臓病総合医療センター 移植内科

既存抗体による抗体関連型拒絶のコントロールは, 良好な臓器生着を得るための重大な課題である。既存抗体陽性腎移植のうち, 血液型不適合腎移植 (ABO-I) については現在の脱感作療法によってほぼ克服されている。しかし, 抗ドナー HLA 抗体陽性腎移植 (HLA-I) の成績はいまだ既存抗体陰性移植や ABO-I のそれよりも劣っており, 脱感作療法についても確立されてはいない。免疫グロブリン静注療法 (IVIG) は, 海外において

は 1990 年代から HLA-I に用いられてきた。しかし, 本邦においては脱感作療法としての IVIG は公的医療保険制度が適用されていないため一般的ではなかった。

当院では, 2008 年以降 HLA-I に対してリツキシマブと二重膜濾過, 血漿交換を用いた脱感作療法を行ってきた。

今回, 従来の脱感作療法に IVIG を加えて腎移植を施行した 4 例を経験したので報告する。

FCXM と LABScreen による MFI 値に乖離を認めた生体腎移植の 1 例

石田 昇平¹⁾, 加藤 真史¹⁾, 藤田 高史¹⁾, 栃木 宏介¹⁾, 舟橋 康人¹⁾, 増田 智広²⁾, 齋藤 尚二²⁾, 加藤 規利²⁾, 安田 宜成²⁾, 丸山 彰一²⁾, 後藤 百万¹⁾

¹⁾名古屋大学大学院医学系研究科 泌尿器科学

²⁾名古屋大学大学院医学系研究科 腎臓内科学

症例は 64 歳女性。原疾患は不明。夫をドナーとした生体腎移植を希望され当科を受診。妊娠歴は 3 回。術前の組織適合性検査では, LCT は陰性。FCXM は T-cell(+), B-cell(-) であったが, LABScreen PRA では class I: 0%, class II: 3% と class II が陽性であった。LABScreen single beads では class I, class II ともに DSA が検出された (最高 MFI 値: 2254)。以上より, 再検を行い,

FCXM は T-cell(-), B-cell(+). LABScreen single beads では class I にて DSA が検出された (MFI 値: 4221)。non-DSA については class I, class II において 20 種類以上で陽性を示した (最大 MFI 値: 6512)。術前の脱感作療法として手術 1 ヶ月前より TAC, MMF, PSL を開始し, rituximab を 3 週間前と前日に投与。さらに術前 9 日前より DFPP および血漿交換を施行。さらに手術 5 日前より

り IVIG を 5 日間、計 100 g 投与した後、生体腎移植を施行した。術後、速やかに腎機能は発現したが、術後 3 日目に発熱および急激な血小板低下、血流の低下を認め、

抗体関連拒絶反応と診断。血漿交換、ステロイドパルス IVIG 投与にて治療。その後、血小板も回復し、腎機能も Cr ; 0.8 mg/dL 前後で安定して経過した。

「臓器移植における抗体関連拒絶反応の新規治療法の開発に関する研究」班 (AMED 江川班) の取り組み

伊藤 泰平¹⁾, 剣持 敬¹⁾, 栗原 啓¹⁾, 河合 昭浩¹⁾, 會田 直弘¹⁾, 江川 裕人²⁾

¹⁾ 藤田保健衛生大学医学部 移植・再生医学講座

²⁾ 東京女子医科大学 消化器外科

日本移植学会では、抗体関連拒絶克服をめざし、新規治療薬 (リツキシマブ) 保険収載とガイドライン作成を両輪とした事業を、江川理事長が中心となり日本医療研究開発機構の免疫アレルギー疾患等実用化研究事業より研究費を確保、10 年計画で進めている。

本研究は、1) 術前脱感作療法 (肝移植、心移植、脾移植、脾島移植、小腸移植) と抗体関連拒絶治療 (肝移植、心移植、肺移植、脾移植、脾島移植、小腸移植) におけるリツキシマブの有効性と安全性を検証する臨床研究、2) 自然免疫に関連する遺伝子多型と臓器移植後血流感染の関係に関する探索的研究、3) 抗体関連拒絶反応ガイドライン作成の三部門から構成されている。

1) 術前脱感作療法と抗体関連拒絶治療におけるリツキシマブの有効性と安全性を検証する臨床研究に関しては、すでに多施設での倫理委員会申請が開始されており、本年中の試験開始を目指している。この多施設共同研究を通して、2) 自然免疫に関連する遺伝子多型と臓器移植後血流感染の関係に関する探索的研究も行われる。

3) 抗体関連拒絶反応ガイドラインに関してはすでに臓器毎の CQ 作成が開始されており、やはり本年中の第一版発刊を目指している。

日本移植学会の抗体関連拒絶に対する取り組みについて報告する。

特別講演

臓器移植における Precision Medicine

大段 秀樹

広島大学大学院 医歯薬保健学研究科 消化器・移植外科学

臓器移植後の特殊な病態下では、通常では疾病とは関連性の低い遺伝子多型が合併症のリスクに影響する可能性がある。本講演では、肝移植周術期の免疫抑制下に影響し得る自然免疫および獲得免疫関連の遺伝子情報や個体の免疫監視による Precision Medicine の取り組みを紹介し、今後を展望する。

自然免疫関連 : NK 細胞は IgG のレセプター (Fc γ

RIII) を発現し、抗体依存性細胞傷害作用 (ADCC) の主要なエフェクター細胞として機能する。獲得免疫応答が抑制される免疫抑制剤の使用下では、ADCC が重要な生体防御機構を担うと推測されるため、Fc γ RIIIa の遺伝子多型と肝移植後の感染発症および予後について解析した。IgG3 と低親和性を示すバリエーションの [158F-carrier] は高親和性バリエーション [158V/V] に比べ、菌血症の有

意な高発症率と生存率の低下を認めた。ドナー肝グラフトの排液から採取したNK細胞を移入する免疫療法により、Fc γ RIIIa [158F-carrier] 症例の菌血症発症率は有意に低下し、生存率の改善を認めた。

獲得免疫関連：制御性T細胞の機能を司る重要なマスター遺伝子であるFOXP3の遺伝子多型 (Rs3761548) のうち、CC major alleleを持つ者は転写因子との結合が良好で効率よくFOXP3タンパクが合成される。一方で、

minor allele A-carrierは転写因子との結合が悪いことが報告されている。FOXP3の遺伝子多型と拒絶反応の発症率および程度との関連を解析したところ、CC-homozygoteとA-carrier間で拒絶の発症率には差を認めなかった。しかし、A-carrierに発症した急性拒絶の治療に必要なステロイド量は、CC-homozygoteに発症した拒絶治療に比べ有意に多かった。FOXP3遺伝子A-carrierに発症する急性拒絶は難治化する可能性が示唆された。

【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（別冊希望の場合は、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

今年は集中豪雨が中四国地方を中心に大きな災害をもたらしていますが、被害にあわれた方々には心よりお見舞いを申し上げますとともに、出来るだけ早期の復興をお祈りします。異常気象に限らず、地震や火山噴火による災害を含め、地球環境がおかしくなっています。個人での対処には限りがあるものの、身を守る術はそれぞれが心がけて身に着けておかななくてはいけないようにも思いますが、とは言え、集団で個々を守ることも重要であり、世界への提案や発信を含めて、国や行政にも強く願いたいところです。

さて、本号には学会からのお知らせとともに、認定HLA検査技術者講習会テキストが掲載されています。この技術者講習会は、学会による認定制度の発足に合わせて2003年から始まり、今年で16回目を迎えましたが、HLAの基礎あるいは臨床に係る3～4講習で構成されています。この講習会は、会員向けの教育講演も兼ねており、会員各位の知識の確認や拡大に役立つものと思われませんが、講演内容の企画については会員の要望や意見を広く取り入れているため、今後とも会員の皆様の声をお寄せいただければと思います。

木村彰方

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

〒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局

電話 : 075-415-3661

FAX : 075-415-3662

Email : jshi@nacos.com