

# HLAと抗体

臨床と検査の架け橋をめざして…

2006.8  
2号

## Contents

●第15回日本組織適合性学会大会のご案内	1	●HLAと抗体など	6
●血小板輸血と抗体	2	●虎ノ門ニュース	8
●HLA抗体検査よろず相談室	5	●数独	8

## 第15回日本組織適合性学会大会のご案内

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

第15回日本組織適合性学会大会についてご案内申し上げます。

本大会は「組織適合性：その旧くて新しいテーマ」を開催テーマとして、平成18年9月24日(日)～26日(火)の3日間に渡ってシェーンバッハ・サパー（砂防会館別館B棟、東京都千代田区平河町）にて開催されます。

例年と同様にQCWS、技術者講演会、一般口演発表、ポスター発表、学術奨励賞受賞講演、ランチョンセミナー等が開催されますが、本大会では「組織適合性」研究成果の社会還元に関する過去および現在の状況を再認識し将来展望をはか

ることを目的として、特別講演、招待講演、シンポジウム、ワークショップを企画いたしました。特別講演では精神科医で作家（帯木蓬生）としても活躍されている森山成彬先生が「医学における ethico-social-legal issue」のタイトルで、招待講演ではオーストラリア赤十字の Brian D. Tait 博士が「HLA, Immunogenetics and Transplantation-looking back and the road ahead-」のタイトルで講演されます。また、シンポジウム「組織適合性：臨床から望むもの」では臨床現場の医師達が「組織適合性」に携わる私どもになにを望まれるのかを話題提供していただきます。「組織適合性と生命倫理」ワークショップでは、「組織適合性」に関わる情報が医療および研究の場でどのように取り扱われるべきかについて討議を深めたいと考えます。皆様奮ってご参加ください。

## 第15回日本組織適合性学会大会プログラム概要

(詳細は [http://www.tmd.ac.jp/mri/mri-mpath/JSHI2006\\_index.html](http://www.tmd.ac.jp/mri/mri-mpath/JSHI2006_index.html) をご参照ください)

<b>9月24日(日)</b>		12:00-13:00	ランチョンセミナーI「既存抗体陽性患者に対する腎移植」 石田 英樹（東京女子医大・腎臓病総合医療センター）
12:45-15:15	QC ワークショップ集会（DNA-QC および抗体 QC）	13:30-15:00	ワークショップ「組織適合性と生命倫理」 座長：猪子英俊（東海大学）、西村泰治（熊本大学）
15:20-16:20	認定制度模擬試験		1. 検査センター（登録衛生検査所）の立場から：小川公明（白血病研究基金を育てる会）
16:30-18:30	技術者認定制度講習会		2. ドナー登録の立場から：三田村真（全国骨髄バンク推進連絡協議会）
	1. HLA クラスI抗体の方法別検出感度と血小板輸血効果： 齊藤敏（長野県赤十字血液センター）		3. 移植コーディネーターの立場から：菊地耕三（日本臓器移植ネットワーク）
	2. HLA の遺伝学；疾患感受性解析： 太田正穂（信州大学医学部）		4. 医師の立場から：森島泰雄（愛知県がんセンター）
	3. HLA の免疫学；HLA とウイルスとの戦い： 千住寛（熊本大学大学院）		5. 研究者の立場から：徳永勝士（東京大学）
	4. 腎移植、膵移植をめぐる HLA タイピング、クロスマッチの意義：杉谷篤（九州大学病院）	15:15-16:55	一般口演（移植III、HLA、疾患I）
<b>9月25日(月)</b>		17:00-18:00	特別講演「医学における ELSI (ethical-legal-social issues)」 —私の小説から— 帯木蓬生（森山成彬・通谷メンタルクリニック）
09:00-10:30	一般口演（移植I、移植II）	<b>9月26日(火)</b>	
10:30-12:00	シンポジウム「組織適合性：臨床から望むもの」 モデレーター 高原史郎（大阪大学）、 水谷修紀（東京医科歯科大学）	09:00-10:10	一般口演（疾患II、疾患III）
	1. Overview：佐田正晴（国立循環器病センター研究所）	10:10-11:00	学術奨励賞受賞講演（基礎部門、臨床部門、技術応用部門）
	2. 臓器移植（特に腎臓移植）におけるクロスマッチ検査と新しい診断・治療法の普及について：杉谷篤（九州大学）	11:00-12:00	招待講演 HLA, Immunogenetics and Transplantation-looking back and the road ahead- Brian D. Tait (Victorian Transplantation and Immunogenetic Service, Australian Red Cross Blood Service)
	3. 日本移植学会・日本組織適合性学会共同ワーキング：江川裕人（京都大学）	12:00-13:00	ランチョンセミナーII「HLA サポート製品のご紹介」 松本佳子、谷口貴信（株式会社ベリタス）
	4. 臍帯血移植に関連して：高橋聡（東京大学医科学研究所）	13:00-14:00	ポスター発表（異種 MHC、移植・疾患、HLA）
	5. 公的バンクに望むこと—移植医へのアンケート結果から：松崎道男（虎ノ門病院）	14:00-15:10	一般口演（異種 MHC、疾患IV）
	6. 追加発言 より詳細な HLA 適合検索の必要性～ある臨床の現場から：富澤大輔、梶原道子、長澤正之、森尾友宏、水谷修紀（東京医科歯科大学）		

# 血小板輸血と抗体

東京都赤十字血液センター 田中 秀則

## はじめに

血小板輸血は、血小板数の減少または機能の異常により重篤な出血ないし出血の予想される病態に対して、血小板成分を補充することにより止血を図り（治療的投与）、また出血を防止すること（予防的投与）を目的としています<sup>1)</sup>。しかし、血小板輸血後に血小板数が増加しない症例が見られ、目的とする血小板輸血の効果が得られない場合があります。このような状態を、血小板輸血不応（platelet transfusion refractoriness；PTR）状態と言います。

PTRの原因としては、免疫的機序によるものと非免疫的機序によるものがあり、前者は、HLAおよび血小板特異抗原（human platelet antigen；HPA）に対する同種抗体または自己抗体に起因する場合がありますが、本来自己抗体を保有するITP（特発性血小板減少性紫斑病）症例では、外科的手術で大量の出血の予想がされる場合以外では、血小板輸血の対象にはなりません<sup>1)</sup>。後者としては、発熱、感染症、DIC（播種性血管内凝固、disseminated intravascular coagulation）、脾腫大、アムホテリシンBなど薬剤の関与および血栓性血小板減少性紫斑などが知られています<sup>2)</sup>。

同種抗体によるPTRの大部分がHLA抗体に起因する症例で、一部HPA抗体が関与する場合があります。HLAまたはHPA抗体がPTRの原因である場合は、それぞれのタイプを適合させた血小板製剤（HLA抗体の場合は、濃厚血小板HLA「日赤」；PC-HLA）の適応となります<sup>1)</sup>。そのため、PTRを惹き起こさない為にも、患者HLAおよびHPA抗体検査（スクリーニング）は、慎重に行う必要があります。ここでは、最近のHLAおよびHPA抗体検査法およびHLAを適合させた血小板製剤の供給について概説します。

## HLA抗体検査

HLAタイプ（HLA抗原型）の解析は、1964年にPI Terasakiらによって開発されたLCT（lymphocyte cytotoxicity test）法により、微量のHLA抗血清で検査が可能となり、国際組織適合性ワークショップを通じ、飛躍的に解析が進みました。一方、血小板輸血および臓器移植症例における、患者HLA抗体検査および移植時の交差適合試験においても、LCT法が使われて来ました。しかし、LCT法が補体依存性の検査法であるため、臨床的に影響するHLA抗体を検出するには不十分な検査法でした。これからの問題を解決するために、LCT法の変法であるAHG-LCT法（antihuman immunoglobulin- lymphocyte cytotoxicity test）や、Flow cytometry（FCM）を使った交差試験または抗体検査が行われるようになってきました。また、血小板特異抗体の検出法として柴田らによって開発されたMPHA（mixed passive hemagglutination test）法<sup>3)</sup>は、血小板上HLA抗原が存在することから、血小板特異抗体だけではなくHLA抗体も検出されることから、特に血小板

輸血時のクロスマッチにおいて有用な検査法のひとつです。

近年、精製したHLA抗原を様々なビーズに固定し、HLA抗体を高感度に検出する方法が開発され、今後臨床症状との相関性もさらに高まると思われます。表1には、現在、私たちの施設で使用しているHLA抗体検査法を示しています。AHG-LCT法以外は、全て精製したHLA抗原を用いた検査法です。これらの検査法で、AHG-LCT、FlowPRA（One Lambda社製）、Lab Screen PRA（One Lambda社製）について、HLA抗体の検出感度について比較を行ったところ、FlowPRA法が高感度にHLA抗体を検出することがわかりました（表2）。そこで、FlowPRA法をスクリーニング法として導入するために、LCT法、AHG-LCT法、FlowPRA法および抗体同定としてのLab Screenを用いて検討を行ないました。その結果、FlowPRA法でスクリーニングを行い、AHG-LCTまたはLab Screenで特異性の確認を行なうことにより、適切なHLA抗体スクリーニングが可能であると考えられ、導入することとしました。しかし、輸血副作用症例の

表1 HLA抗体検査法

方法	抗原	検査項目	検出方法	発売元
LCT (AHG-LCT)	T細胞	Class I	蛍光測定機 (Terascan)	自家調製
	B細胞	Class II		
FlowPRA	精製抗原	Class I	FCM	One lambda
		Class II		
LABScreen	精製抗原	Class I	蛍光ビーズ読取機 (Luminex)	One lambda
		Class II		

表2 各種HLA抗体検査法における検出感度

(AHG-LCT法を基準にした最終希釈倍率)

特異性	A11.1+A11.2	B60+B61+B48	B51+B5102	B54+B55weak
AHG-LCT	1	1	1	1
FlowPRA	64	32	8	16
LabScreen (PRA)	32	32	4	8

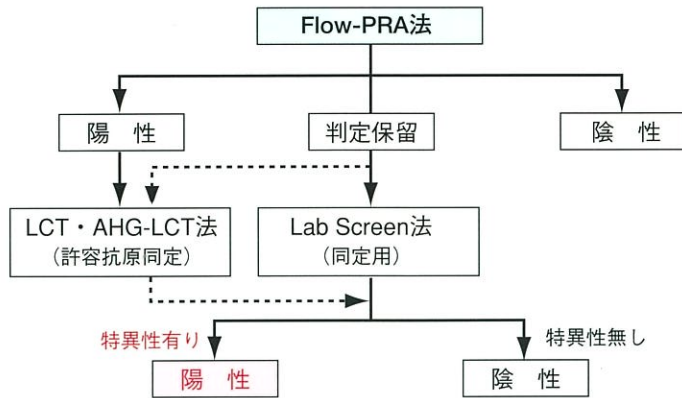


図1 HLA抗体検査

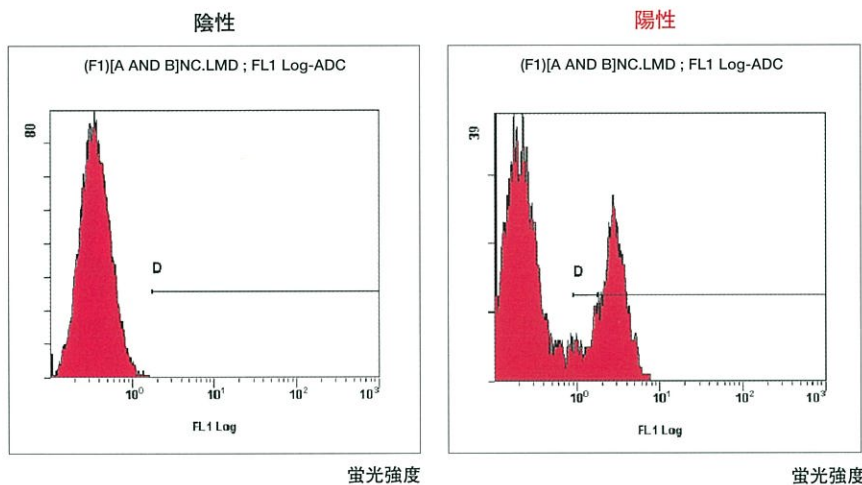


図2 Flow PRA法におけるFCMによる蛍光強度の測定例

HLA抗体検査において、AHG-LCT法で陽性、FlowPRA法で陰性となった症例において、IgM型のHLA抗体が検出されたこと、PRTにIgM型HLA抗体が関与していることが報告されたため<sup>4)</sup>、現在ではFlowPRA法でIgGおよびIgMクラスのHLA抗体が検出できるようにHLA抗体スクリーニングを実施しています。

現在、当センターで行っているHLA抗体スクリーニング判定の流れを、図1に示します。FlowPRA法は、FCMによって読取ったデータを分布図にして解析を行います（陰性および陽性例；

図2参照）。陽性の閾値は、10%以上としています。一峰性の分布を示す場合、または閾値が10%以下でも、多峰性の分布を示す場合は陽性の可能性があることから、他法による検査法でHLA抗体の有無を確認しています。

最近の患者HLA抗体検査の現状を表3に示しています。最近1年間で行った検査（441検体）で、約45%（200検体）の患者検体からFlowPRA法でHLA抗体が認められました。また、FlowPRA法陽性となった検体の内、171検体（86.5%）はAHG-LCT法で陽性となりました。AHG-LCT法で陰性

表3 HLA抗体の検出率

(2005.6~2006.6、441件)

検査法	陽性 (%)	陰性 (%)
AHG-LCT	471 (38.8)	270 (61.2)
FlowPRA (Class I IgG & IgM)	200 (45.4)	241 (54.6)

となる検体については、Lab Screen PRAまたはSingle Antigenを用いて、特異性の確認を行なっています。しかし、一部の検体で稀な特異性（例：B73、B55.2、B42、B57など）や交差反応性を示さない特異性が検出される場合もあり、判定には注意を要すると思われます。私たちは、このような検体については、血小板またはリンパ球による吸収操作を行い、再検査を行っています。

## HPA抗体検査

血小板特異抗原（HPA：Human platelet antigens）に対する同種抗体はPTRや輸血後紫斑病（PTP：Post-transfusion purpura）、新生児血小板減少性紫斑病（NAITP：Neonatal alloimmune thrombocytopenic purpura）の原因となることが知られています<sup>5)</sup>。

HPAは主に血小板膜糖タンパク（GP：Glycoprotein）上に存在し、現在までにHPA-1、HPA-2、HPA-3、HPA-4、HPA-5、HPA-6w（Caa\_Tua）、HPA-7w（Mo）、HPA-8w（Sra）、HPA-9w（Maxa）、HPA-10w（Laa）、HPA-11w（Groa）など20種類以上の抗原系が認められています<sup>6)</sup>。主なHPA抗原系はそれぞれa型とb型の優劣のない対立抗原を認め、1つのアミノ酸変異によって対立抗原が存在します。図3には、多型性が多く認められる血小板膜糖タンパクであるGPIIb/IIIaにおける変異部位を示しています。この抗原性を決定するアミノ酸変異は、それをコードする遺伝子の1塩基置換で生じていることが知られており、HPA-1~6の血小板膜糖タンパクの種類と変異部位を表4に示し

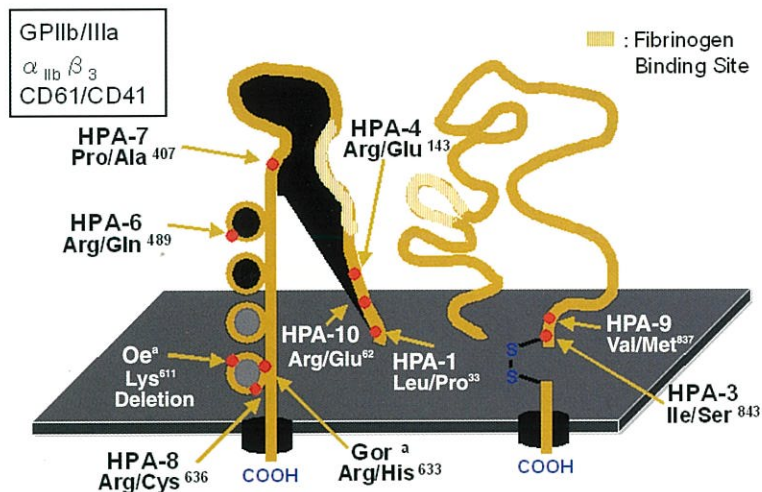


図3 Amino acid substitutions on GPIIb/IIIa

表4 各血小板抗原と遺伝子頻度

複合体	膜糖タンパク	エピトープ	アミノ酸異変	遺伝子頻度
GP Ia/IIa	GPIa	HPA-5a		96.0
		HPA-5b	Glu <sup>505</sup> →Lys <sup>505</sup>	4.0
GP Ib/IX	GPIb	HPA-2a		89.8
		HPA-2b	Thr <sup>145</sup> →Met <sup>145</sup>	10.2
GP IIb/IIIa	GPIIb	HPA-3a		59.4
		HPA-3b	Ile <sup>843</sup> →Ser <sup>843</sup>	40.6
GP IIb/IIIa	GPIIIa	HPA-1a		99.8
		HPA-1b	Leu <sup>33</sup> →Pro <sup>33</sup>	0.2
		HPA-4a		98.9
		HPA-4b	Arg <sup>143</sup> →Gln <sup>143</sup>	1.1
		HPA-6a		97.3
		HPA-6b	Arg <sup>489</sup> →Gln <sup>489</sup>	2.7

ています。

HPA抗体検査法として、柴田らが開発したMPHA法が日本で多く使われており、現在ではオリビオ（オリンパス社製）としてキットになって販売されています。一方、欧米では、検体と血小板を反応させた後に、モノクローナル抗体を用いて血小板膜糖タンパクをマイクロタイターレイに固定し、HPA抗体を検出するMAIPA法（Monoclonal antibody-specific immobilization of platelet antigens assay）が主に使われています。また、精製した血小板糖タンパク

をマイクロタイタープレートに固定し、HPA抗体をELISA法で検出するキットとして、PAK PLUS（GTI社製）が市販されています。私たちは、HPA抗体スクリーニングとしてオリビオを使用し、抗体の特異性同定にオリビオの抗体同定キットおよびPAK PLUSを使用しています。それぞれのキットには、長所・短所があり、その特徴を知って効率的にキットを使用することが大切です。

### PC-HLA 製剤の供給

PRTの原因がHLA抗体である場合に、PC-HLA製剤を供給する流れを以下に示します。

- 1、HLA抗体スクリーニング：PTRの患者さんのHLA抗体の有無を確認し、PC-HLA製剤の適応であるかを判断します。
- 2、HLAタイピング：HLA抗体がPRTの原因であることが判定された場合は、患者さんのHLAタイピングを行いません。
- 3、許容抗原の確認：HLA抗体は、自己のHLAタイプに対する抗体は作りません。また、自己のHLAタイプと交差反応性のあるHLAタイプ（交差抗原群）に対しても、抗体を作りづらいとされています。そのため、患者さんのHLAタイプに応じ、交差抗原に対する抗体を有していないことを確認します。
- 4、適合者検索：患者さんのHLAタイプ（HLA-A、B座の抗原）および許容抗原の情報をもとに、特定の患者さんに適合する献血者を、予め登録に同意を頂いた献血者の中から探し出します。
- 5、献血要請：適合している献血者の方にご連絡をして、指定した日の献血を要請します。
- 6、血小板献血：血小板献血に承諾いただいた適合者に献血施設で血小板献血をしていただきます。
- 7、交差適合試験：献血時に頂いた検体を用いて、患者さんの血清との交差適合試験を行いません。
- 8、製品化・供給：交差適合試験および製品化のための一般検査（血液型・感染症など）に合格した場合、PC-HLA製剤として製品化され、患者さんに供給されます。

## 結語

血小板輸血において事前にHLAおよびHPA抗体を検査しておくことは、未然にPTRを防ぐためにも重要なことですが、現実的には、通常の濃厚血小板製剤(PC)を輸血し、PTRになった場合に、HLAおよびHPA抗体の検査を実施しているのが実情です。そのため、HLA抗体陽性の場合、至急にPC-HLA製剤の輸血を希望される場合も多々あります。しかし、ほとんどのPC-HLA供給では、適合した献血者に献血依頼を行ない、適合者から応諾が得られた場合に、製品として供給予定が決まります。適切な時期に適合した血小板を輸血するためにも、血小板輸血が

予想される症例については、事前にHLA・HPA抗体の検査を行うことが必要です。また、適合血小板製剤を継続的に輸血していても、適合性の妥当性および新たな抗体の産生については、定期的に確認する必要があります。

## 参考文献

- 1) 血液製剤の使用にあたって 第3版 輸血療法の実施に関する指針・血液製剤の使用指針、厚生労働省 編、2005
- 2) 石田明、半田誠：血小板輸血不応状態、検査と技術、25: 266 - 269、1997.
- 3) Shibata, Y., Juji, T., Nishizawa, Y., et al. : Detection of platelet antibodies by

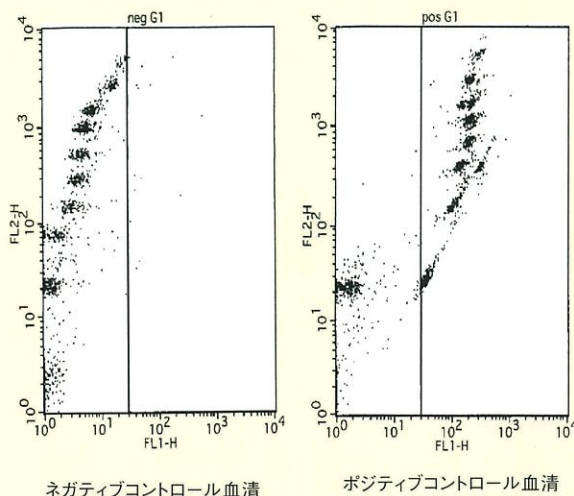
a newly developed mixed agglutination with platelets. Vox Sang, 41: 25 - 31, 1981

- 4) 齊藤 敏、玉井豊広、太田正穂；IgM型抗体の日本輸血学会誌、52、405-413、2006
- 5) von. dem. Borne, AEGK., et al. : Immunology of platelet disorders. Bailieres Clin Haematol, 2: 749 - 781, 1989.
- 6) von. dem. Borne, AEGK., Decay, F. : ICSH\_ISBT working party on platelet serology: Nomenclature of platelet-specific antigens. Vox Sang., 58: 176, 1990.

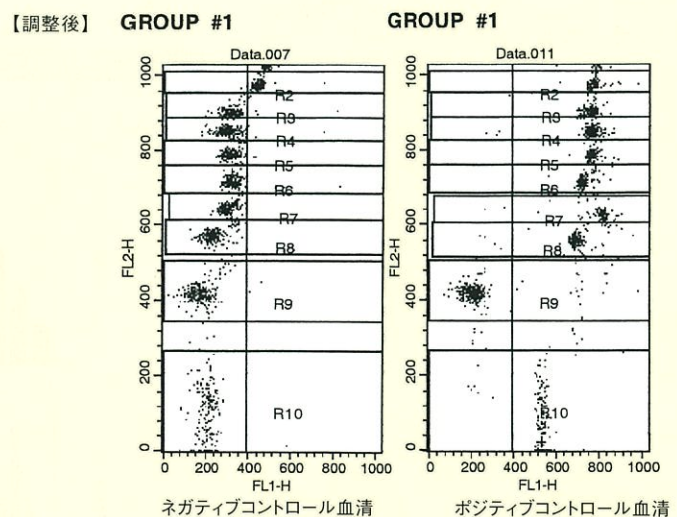
# QA

## HLA抗体検査よろず相談室

**Q** : FlowPRA SpecificやSingle Antigenテストで、ネガコン血清に続いてポジコン血清を流したところ、ドットが上に流れてしまい、取扱説明書のような図になりません。どうしたらよいですか？



**A** : コンペーンション調整を行ってください。コンペーンションとは2種類以上の蛍光の測定(例:FITCとPE)において、それぞれの蛍光の波長が重なり合う場合、シグナルの漏れ込み量を電気的または数学的に補正するものです。今回のケースはFITCの蛍光シグナルがFL2(PEを検出するチャンネル)に漏れこんでいる状態ですので、FL2-%FL1の値を動かしてすべてのドットが真横に平行移動するように調整します。



この調整を行ったあとは、再度ネガコン血清からとっておてデータを取り直してください。(判定ではドットの移動を比較しますので、すべての血清を同一条件で測定することが大切です)

## 抗体とエピトープ

HLA 抗体は妊娠、輸血、移植など、HLA 抗原刺激を受け、自分自身の持つ HLA 特異性を除く抗原に対して作られています。しかし明らかな HLA 抗原の刺激が無いのに HLA 特異性を持つ抗体（自然抗体？）が作られる場合もあることを忘れてはなりません。抗体には特異性があり、対応する特定の抗原にしか反応（結合）しません。抗体は抗原全体と反応するのではなく、抗原分子の一部と反応します。抗体が反応する部分を、抗原決定基、あるいはエピトープと呼びます。エピトープは構造に重点を置いた言い方で、抗体と特異的に結合する抗原の部分（アミノ酸）を指し、連続していない部分の場合も見られます。エピトープと反応する抗体側の部分をパラトープといい、エピトープが入り込めるポケット状の構造と考えられています。個々のエピトープと抗体分子の抗原結合部位の結合には強いものも弱いものもあります。その強さを親和性（affinity）といい、親和性が高いと親和性が低いと表現します。抗原分子上には複数のエピトープが存在し、抗体分子にも抗原結合部位が複数あります。抗体は遺伝子の種類、その組み合わせから無限といって良いほどの多様性があることもあって、抗原抗体反応は非常に複雑な系となっています。

ここで、HLA 抗原分子を例にとってエピトープを考えてみます（図1）。通常 HLA-X という抗原に特有の抗体を持つ血清は他の抗原とは結合しません。HLA-Y、HLA-Z についても同じことが言えます。しかし、HLA-X、Y とは反応するが、HLA-Z とは反応しない血清や、HLA-X、HLA-Z と反応して HLA-Y と反応しない血清も見つかることがあります。そこで、HLA-X にはエピト

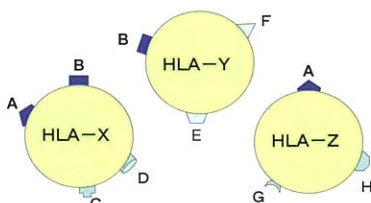


図1 抗原と抗体の交差反応

トープ A、B、C、D があるとします。通常のヒトから得られた HLA-X 抗体といった場合、これらのエピトープに対する抗体が含まれていますが、どのエピトープと反応する抗体かはこれだけでは区別できません。血清に含まれる抗体の種類（クローン）も 1 種類のことであれば、複数のこともあります。別の HLA-Y という抗原にも複数のエピトープが存在し、それらのエピトープを仮に B、E、F、さらに HLA-Z には A、G、H があるとします。この場合には HLA-X と HLA-Y はエピトープ B を共有し、HLA-X と HLA-Z はエピトープ A を共有していることとなります。HLA-X に反応する抗体のうちエピトープ B に反応するものは、HLA-Y のエピトープ B にも当然のこととして結合できます。したがって、HLA-X 抗体が HLA-Y にも反応することになり、これを交差反応と呼びます。同様のことはエピトープ A についてもいえます。一方、抗体がエピトープ C、D、E、F、G、H に対するものであれば、それぞれの HLA 抗原としか反応しません。

エピトープが同じ場合のみでなく、E と H の構造がよく似ていると、HLA-Y 抗体に含まれる抗 E 抗体が抗 HLA-Z のエピトープ H に結合することもあります。この場合も、HLA-Y 抗体が HLA-Z に結合すれば、交差反応といえます。

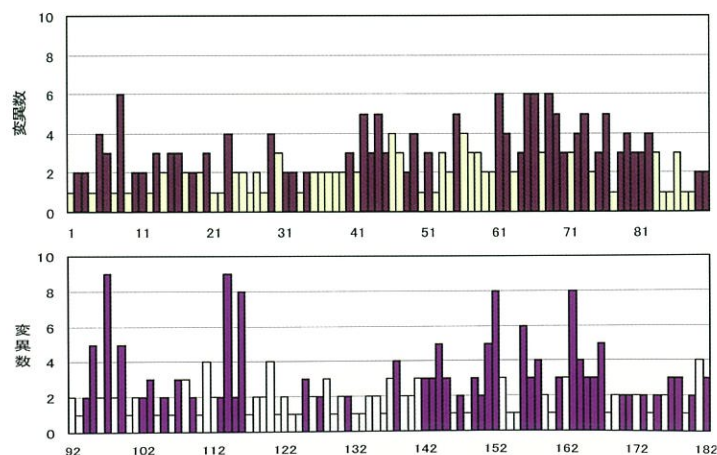
## HLA アリルのエピトープ

HLA アリルは、現在でも毎月のように

新しいものが公認され増えています。7月現在、クラス I で 1605、クラス II で、832 アリルが登録されています。そのなかで、異なった分子（蛋白）として発現されている種類は、クラス I で 1277、クラス II で 674 あります。これらはその塩基配列から、20 種類のアミノ酸（コード）の配列が決められ、毎月 IMGT/HLA DataBase (<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/align.html>) に載せられています。

HLA 抗体が認識する特異性は、アミノ酸配列に基づく HLA 分子の構造の違いにあるので、HLA のアミノ酸配列の比較から類推できます。HLA クラス I で変異が多く、ほとんどのアリルで配列が調べられている、 $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$  ドメイン（182 残基）についてアミノ酸変異の数を調べてみました（図2）。変異が見られないもの、すなわち全てのアリルが同じアミノ酸であるものが 38 残基（配列の位置）、変異が 2 つあるものが 62 残基、3 つが 44 残基、4 つ以上が 38 残基でした。2 つ以上の変異が見られたものでも、対応するアリルが 1 つしかなく、それも頻度が極めて稀と思われるものが多く見られました。エピトープ解析を簡単にするためにこれらを除外すると、約半数の 89 残基となり、図2に赤色で示しました。この部分がエピトープの構成部分となり得る個所です。

同様なことを HLA クラス II についてもおこなってみました。クラス II の場合、HLA-DR、DQ、DP でアミノ酸配列が大きく異なるので、クラス II 全

図2 クラス I  $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ ドメインの多様性

体として共通の変異の分析はできません。ここではHLA-DRBのβ1ドメイン(91残基)だけを図3に示しました。変異が見られないものが30残基、変異が2つであるものが27残基、3つが15残基、4つ以上が19残基でした。クラスIと同じように、対応するアレルが1つしかないものを除くと、残りが約半数の43残基となり、これがエピトープの構成部分と考えられます。

エピトープは数個のアミノ酸からなる立体構造が、抗体に認識される場所です。図2、3で示したアミノ酸の変異が多い箇所はエピトープとして可能性のある場所ですが、抗体により認識される場所とは決定できません。ヒトが作る抗体は複数の種類からなる(PolyClonal)ものがほとんどです。従って、ヒト由来の血清の抗体検査の結果は、複数の抗体の反応の総和を見ていることになるため、エピトープの解析は困難な場合が多くなります。そのため、HLAエピトープの存在を解析するには、モノクローナル抗体による反応の解析が必要となります。

## 単クローン抗体による エピトープの解析

ワンラムダ社、Et-Awarらによるモノクローナル抗体を用いた、エピトープの解析例を基にエピトープの検証を行って見ました。ワンラムダ社のラボスクリーン、シングル抗原ビーズ(LABScreen Single Antigen)を用いて、モノクローナル抗体(mAb)の特異性を解析したものを、図4、5に示しました。

図4のmAbの特異性は、A32+74+B7+8+4005+41+42+48+60+61+73+81でした。このmAbは12種類の抗原と反応し、ローカスもまたがっている特異性の多い抗体でした。資料には抗原名で書かれていたものは、代表的なアレル(A32→A\*3201)に置き換えて、共通のアミノ酸を持つ配列の位置を探してみました。反応が陽性であったビーズ13種類のアレルに共通なアミノ酸を持つ配列の位置は、1、52、94、99、105、109、127、131、144、145、151、167と、12箇所ありました。内容を見ると、すべての箇所はクラスIアレル全体の60%以上がそのアミノ酸を共通

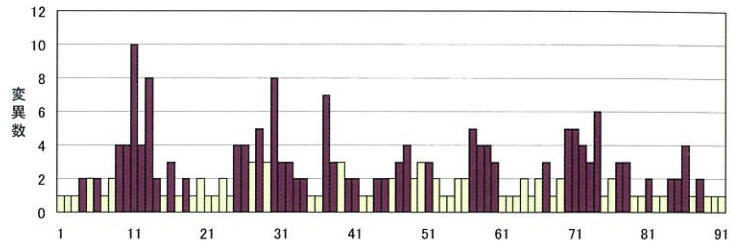


図3 DRB β1ドメインの多様性

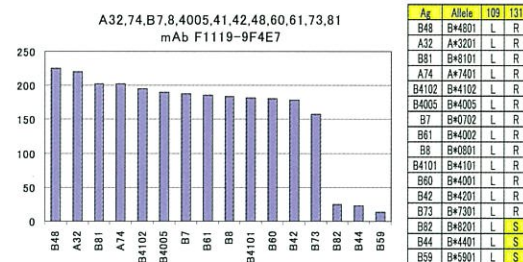


図4

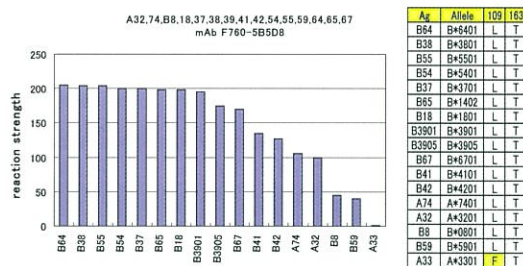


図5

して持っていました。そこで、抗体が認識できそうなエピトープを構成できる2つの位置アミノ酸の組合せを調べてみました。109(L)と、131(R)の組合せでは、全体の約20%のアレルのアミノ酸と共通になりますが、12種類の抗原を構成するアレルはほとんど含まれていました。また、他の抗原に含まれるアレルもありましたが、ほとんどは稀なアレルでした。稀であることは、アレル名(4桁)の下二桁が大きな数字であることから類推しました。

図5のmAbの特異性は、A32+74+B8+18+37+38+39+41+42+54+55+59+64+65+67でした。前の抗体と同様に15種類の抗原と反応し、ローカスもまたがっている特異性の多い抗体でした。同様に各抗原を代表的なアレルに置き換えて、共通のアミノ酸を持つ配列の位置を探してみました。反応が陽性であったビーズ16種類のアレルに共通なアミノ酸を持つ配列の位置は、1、90、94、105、109、127、144、145、151、163、167と、前の抗体とよく似ていました。同じように2つの位置アミノ酸の組合せを調べてみました。109(L)と、163(T)

の組合せでは、約27%のアレルのアミノ酸と共通になりますが、15種類の抗原を構成するアレルはほとんど含まれていました。

2つのmAbの認識していると思われる、エピトープを構成する2つのアミノ酸の位置は配列の順としては離れているように見えますが、HLAクラスI分子の立体構造モデルで見ると、αヘリックスの外側で、109の位置を挟んで、抗体が認識できる位置と思われます。

抗原単位だけでなく、エピトープを考慮した抗体特異性を考えていくためには、エピトープを元に特異性の解析ができるようなシステムの開発が望まれていましたが、Rene J. DuquesnoyがHLAMatchmakerとして公表しました。mAbを使ってエピトープを決め、それを基にHLA適合や抗体の分析ができるシステムです。興味のある方は、インターネットで「HLAMatchmaker」と検索すればできますので、ファイルに落としてご覧ください。

資料: El-Awar・N, Leel・J, Terasaki・PI ClassI Epitope, OneLambda Inc 20th annual workshop

# 虎の門 ニュース

## お知らせ

### ・第15回 日本組織適合性学会でランチョンセミナーと展示を行います。

学会参加される方は是非、ベリタスの展示とセミナーにもお越しください。

学会のスケジュールなど詳細は学会ホームページでご確認下さい。

[http://www.tmd.ac.jp/mri/mri-mpath/JSHI2006\\_index.html](http://www.tmd.ac.jp/mri/mri-mpath/JSHI2006_index.html)

### ・ベリタス HLA抗体ワークショップのご案内。

第15回 日本組織適合性学会の前日にFlowPRAのワークショップを開催致します。FlowPRAユーザーの皆様、ご興味おありの皆様のご参加をお待ち申し上げます。

日時：2006年9月23日（土）13：00～18：00

（その後、懇親会あります）

場所：砂防会館 別館 3F 会議室「立山」

定員：先着50名（要：事前申込） 参加費：無料

詳細はベリタス技術営業部までお問合せ下さい。

### ・ベリタスの「細胞分離総合カタログ」「細胞培養総合カタログ」「分子生物学総合カタログ」ができました

「HLA 総合カタログ」とともに、是非、貴殿のラボに置いて下さい。ベリタスまでご連絡頂ければすぐにお届け致します。



ベリタスへのお問合せは下記までお願いします。

TEL：03-3593-3211 FAX：03-3593-3216

e-mail：veritas@veritastk.co.jp

担当：松本、木下

## 数独のススメ

### 遊び方

表の空いているところに1から9までの数字を入れるだけです。ルールは縦列、横列と、太枠で区切られた3×3マスに、1から9までの数字を重ならないように入れるだけです。入れる数字は確定したものだけにしましょう。2つ以上の可能性がある場合は鉛筆で薄く書いたりして、やり直しができるようにしましょう。

### ヒント

- 縦列、横列、3×3マスで、空白の少ないものに目をつけてみましょう。
- 空白には残っている数字の中から、他の条件を参照して入れていけばよいのです。
- 全体の中で一番よく使われている数字に目をつけてみましょう。入る場所が限られていて、その位置の縦横の関係をみるとわかるはず。縦列、横列、3×3マスの数字を組み合わせて、どんな数字が使われているのか、いないのかを見ると、入れる数字が決まるはず。

### 【前回の解答】

1	7	3	4	8	1	9	5	2	6
2	6	9	2	3	4	5	7	8	1
3	1	8	5	7	6	2	4	9	3
4	3	4	9	2	5	7	1	6	8
5	5	1	6	4	8	3	9	7	2
6	2	7	8	6	9	1	3	5	4
7	9	2	7	1	3	8	6	4	5
8	4	5	1	9	2	6	8	3	7
9	8	6	3	5	7	4	2	1	9

HLAに携わっている方、興味のある方、あまりにもたくさんあるHLA型の数字に悩まされていることはありませんか。数字に強くなるために、数独に挑戦してみてください!

1	2	3	4	5	6	7	8	9
1			4				8	9
2	7		9		3			6
3		5	6	7		9		
4	5			8	3		9	
5		7					3	8
6	3				2	7		4
7		6						
8		4	5			1	8	
9	9		7		4		6	2

前回の問題は解けたでしょうか。今回も同じくらいの難度の易しい問題です。豪華ではありませんが実用的な賞品があります。なんと正解者全員に差し上げます。是非、回答をお寄せください。

### 赤く塗られたマスに入る数字は何でしょう？

氏名、住所、所属病院・企業、電話、e-mailアドレスを明記のうえ、「数独プレゼント係」までご回答をお送りください。

### 送り先

ベリタス (e-mail/veritas@veritastk.co.jp)

またはFAX (03-3593-3216)

## 数独プレゼント

「種まく子どもたち」(佐藤律子・編、角川文庫)を先着10名様にプレゼント

「HLAと抗体」の編集委員長・小川公明の涙が止まらない! この感動を皆様にも…。



### 出版社／著者からの内容紹介

感動の大ベストセラーが待望の文庫化! 小児がんという病に倒れた七人の子供たち。それぞれが闘病生活のなかで気づき、学び取った思いやりや感謝の気持ち、はじめて知ったいのちの尊さ——。真摯な言葉が胸に迫る、感動の一冊が待望の文庫化!

### 編集委員

編集顧問 木村 彰方

編集委員長 小川 公明

編集委員 佐田 正晴 佐治 博夫 赤座 達也

編集スタッフ 松本 佳子

発行者 飯田 真作

### 発行

株式会社

# ベリタス

〒105-0001 東京都港区虎ノ門 2-7-14 八洲ビル  
TEL.03-3593-3211(代) FAX.03-3593-3216  
E-mail: veritas@veritastk.co.jp

<http://www.veritastk.co.jp/>