

# HLAと抗体

臨床と検査の架け橋をめざして...

2007.2  
3号

**Contents**

● 臍帯血移植とHLA抗体.....	1	● 虎ノ門ニュース.....	8
● HLA抗体検査よろず相談室.....	5	● 数独.....	8
● HLAと抗体など.....	6		

## 臍帯血移植とHLA抗体 — 東大医科研での経験から —

東京大学医科学研究所 先端医療研究センター 分子療法研究分野 高橋 聡

### 1. 造血幹細胞移植および臍帯血移植の現状とその問題点

造血幹細胞移植はHLAが一致あるいはほぼ一致した血縁・非血縁ドナーから移植細胞を得る同種移植、免疫学的には「自己」として認識される一卵性双生児をドナーとした場合の同系移植と、自分の造血幹細胞を用いる自家移植に分けることができます。

その適応は疾患側の要因からみて、①正常な造血幹細胞を補充することを目的とする場合と、②大量の抗がん剤および放射線投与による副作用としての造血・免疫能障害を軽減すること、を目的とする場合に大別されます。前者は重症再生不良性貧血や骨髄異形成症候群、先天性免疫不全症のように造血幹細胞あるいは免疫担当細胞に質的・量的異常を認める場合や、先天性代謝異常疾患の中で血液細胞によって欠損酵素が産生されるムコ多糖症や副腎白質ジストロフィーなどが含まれ、これらは同種・同系移植の適応となります。後者は化学療法、放射線療法に対する感受性が高い悪性腫瘍、特に白血病や悪性リンパ腫など造血器悪性疾患や一部の固形がんが含まれ、同種、同系移植が選択される場合もありますが、高齢患者などアロ免疫反応によるGVHD

の発症が危険であると判断される場合や免疫反応による疾患抑制効果が期待できない場合などは自家移植が選択される場合もあります。

近年、血縁ドナーがいない場合でも、骨髄バンク、さらには臍帯血バンクの充実に伴い、必要としている多くの患者への同種移植が可能となってきており、わが国においてもこれらの非血縁ドナーソースからの造血幹細胞移植数は年間1500例以上になりつつあります(図1)。このうち、臍帯血移植は、1988年にGluckman博士がファンコニ貧血の患児に対して妹の臍帯血を用いた同種移植を成功させて以降<sup>1)</sup>、当初

は必要細胞数が少なくすむ小児が主な対象とされてきましたが、近年、成人に対する移植例の報告が増えてきています。

臍帯血移植の利点としては、HLAが厳密に一致していなくても比較的安全に移植が可能であり、相対的に少ないドナープールで多くの移植適応患者をカバーできる点、すでに保存されている臍帯血を使用できるため適切な時期に移植が可能であり供給の迅速性に優れていること、GVHD(移植片対宿主病)の発症頻度が低く重症化しにくいこと、ドナーから感染症の伝播される可能性が少ないこと、などがあげられます。

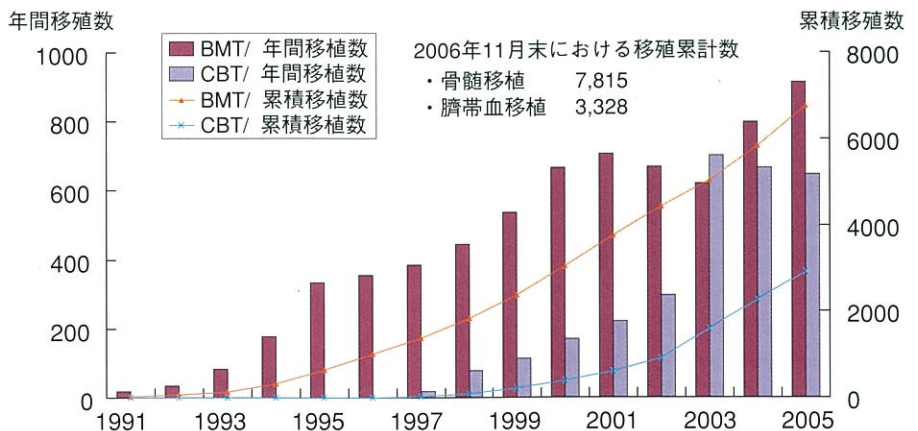


図1 わが国における非血縁骨髄移植と臍帯血移植数

一方で、改善すべき問題点としては、臍帯血に含まれる造血前駆細胞数が少ないこと、白血球・血小板の回復に時間がかかること、生着不全の可能性が他の造血幹細胞移植に比べて高いこと、免疫回復動態の詳細が明らかになっていないこと、同一ドナーから細胞の追加採取が困難であること、解凍後における細胞回復の不確実性、バンクごとの質的な違い、などが考えられています。この中で、細胞数が限られていることに起因すると思われる生着不全の可能性が高いことと、移植後の造血回復の遅延は、臍帯血移植を行ううえで最も重要な臨床上的問題点であり、特に体格が大きい成人患者を対象とした場合は、より多くの細胞を含んだグラ

フトの選択を優先することになるため、多くの場合はHLA不一致移植となります<sup>2),3)</sup>。

一方で、東大医科研の経験ではHLA不一致臍帯血移植の成績は非血縁ドナーからのHLA一致骨髄移植と比較して重症急性GVHDおよび移植関連死亡率(TRM)の低下を認め、無病生存率(DFS)の向上が認められました(図2)<sup>2)</sup>。さらに、血縁ドナーからの同種移植と比較すると、TRM、再発率はいずれも低く、無病生存率は上回っていました<sup>3)</sup>。

これらの経験の中で、臍帯血移植におけるHLA適合度が、どの程度、移植成績に関与するかという点については、未だ確定的な結論には至っていませんが、現在までの解析ではHLAの

一致抗原数と急性GVHD、造血回復、生存率との相関は認めていません(図3)。一方で、欧米からの多施設データによる比較的多数例による報告でも、表1に示すように様々な結果が示されています。

## 2. 造血幹細胞移植における生着不全

同種造血幹細胞移植における生着不全の頻度は報告により様々で、およそ2-10%程度ですが、臍帯血移植に限った場合は5-20%と上昇します。これまで生着不全の危険因子とされているものを表2に示しますが、その原因としては、1. (白血病など)原疾患の残存、2. (ウイルスなど)感染症、3. 薬剤

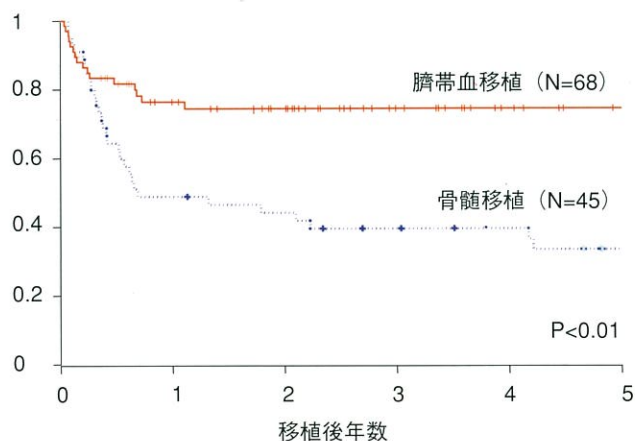


図2 非血縁ドナーからの同種移植における無病生存率の比較

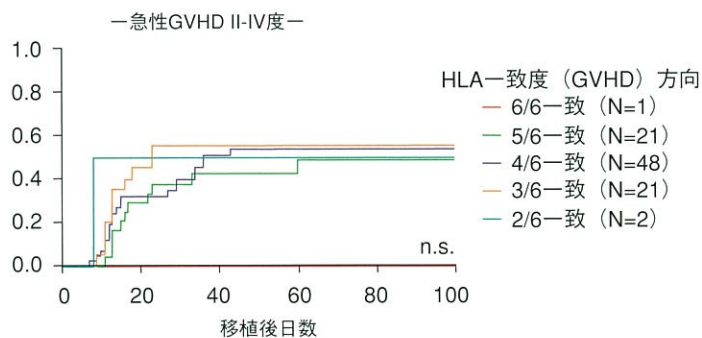


図3-A HLA一致度が重症の急性GVHDに与える影響

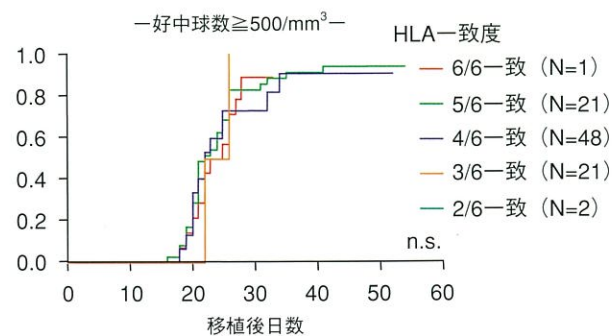


図3-B HLA一致度が末梢血の回復に与える影響

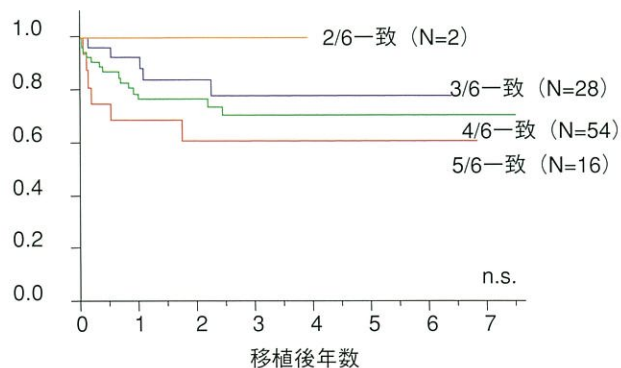


図3-C HLA不一致抗原数が生存率に与える影響

表1 臍帯血移植におけるHLA適合度と臨床成績

<p>Rubinstein P. et al. <i>N Engl J Med</i>, 1998</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• N=562、多施設</li> <li>• HLA適合度が高いほど生存率は向上する</li> <li>• 非再発イベントはHLA一致、1座不一致の方が2座以上不一致に比べ発症率が低下する</li> </ul>
<p>Wagner J. et al. <i>Blood</i>, 2002</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• N=101、単一施設</li> <li>• HLA適合度と移植細胞数はそれぞれ独立して、生存（2年）に影響を与える</li> </ul>
<p>Gluckman E. et al. <i>Exp. Hematol</i>, 2004</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• N=550、多施設</li> <li>• HLA適合度は移植関連死亡率、生存率に影響を及ぼさない</li> <li>• 但し、HLA適合度の低い群で、生着率の低下、急性GVHDのリスクの上昇、再発率の低下を認めた</li> </ul>

表2 成人患者に対する同種造血幹細胞移植における生着不全の危険因子

<p>レシピエント側の要因</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• 移植前後における免疫抑制</li> <li>• Allo-immunization</li> <li>• 原疾患（再生不良性貧血、免疫不全性疾患など）</li> </ul>
<p>ドナー（グラフト）側の要因</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• HLA不一致</li> <li>• T細胞除去</li> <li>• 細胞数</li> </ul>

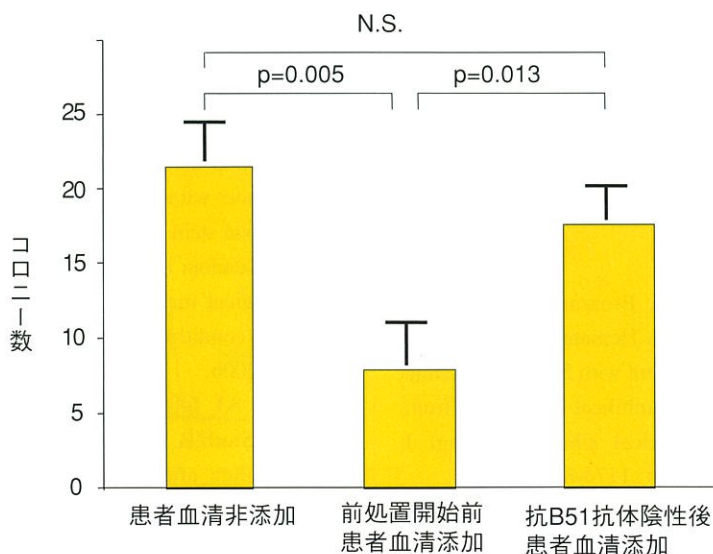


図4 ドナー末梢血幹細胞のコロニー形成能 (CFU-GM)

による造血抑制、4. 免疫反応による拒絶、5. 移植グラフトに含まれる造血幹細胞の質および量的不足、6. 骨髄ストローマの障害 (GVHDなどによるものも含む)、などが考えられます。

生着不全についての多くの研究で、残存したレシピエントのリンパ球による免疫学的な反応が拒絶の主な原因になっていることが示唆されており、また、HLA不一致、特にクラスI抗原不一致の場合に生着不全が高頻度となることが明らかになっています。HLA一致間での移植の場合でも、マイナー組織適合性抗原に対する細胞障害性T細胞の関与や、T細胞機能が欠落した免疫不全患者への移植の場合はNK細胞の関与など、拒絶の原因としての細胞性免疫の関与については、これまで既に多くの知見が明らかになっています。

一方で、液性免疫が生着不全に関与しているとする報告も散見されています<sup>4)</sup>。しかし、臓器移植の場合ほどは研究は進んでおらず、拒絶の際に抗体が果たす役割は未だに不確実な部分が多い、とされています。慈恵医科大学柏病院の西脇嘉一先生らは以下のような興味深い経験を報告しています。HLA抗体を有する骨髄異形成症候群の患者に対して全身放射線照射および大量化学療法を用いた標準的な前処置後にHLA一座不一致同胞からの骨髄移植をおこなったところ、造血回復が著しく遅延しました。患者血清中に確認されたHLA抗体は、ドナーがHLA不一致抗原として持っているHLA-B51に反応するものでした。この抗体をin vivoで消費させる目的で、HLA-B51陽性ドナーからの血小板を大量に輸血したところ、その後に造血回復が認められました。さらに移植前の患者血清を添加した場合のドナー末梢血によるコロニー形成能は、血清非添加のコロニー形成能に比べて抑制されましたが、移植後のHLA-B51陽性ドナーからの血小板輸血後の患者血清を添加した場合には、そのコロニー形成能の回復が認められました (図4)。この例は、液

表3 東大医科研における抗HLA抗体陽性患者に対する臍帯血移植

疾患/年齢/性	移植細胞数 ( $\times 10^7/\text{kg}$ )	HLA 一致度	ANC >500	PLT >20K	PLT >50K	移植後経過
1. AML/50/F	2.3	4/6	Day35	Day52	Day164	Day266 再発
2. AML/37/F	2.5	5/6	Day25	Day72	Day88	6年6ヶ月 生存
3. CML/BC/F	3.6	4/6	Day31	Day95	Day133	5年5ヶ月 生存
4. CML/CP2/M	2.1	3/6	-	-	-	自己造血回復 →2年5か月 再発
中央値 (医科研)			Day22	Day40	Day46	

- TBI12Gyを含む標準的前処置を用いて初回移植として施行した成人患者：111名
- 抗HLA抗体陽性患者：4名/111名

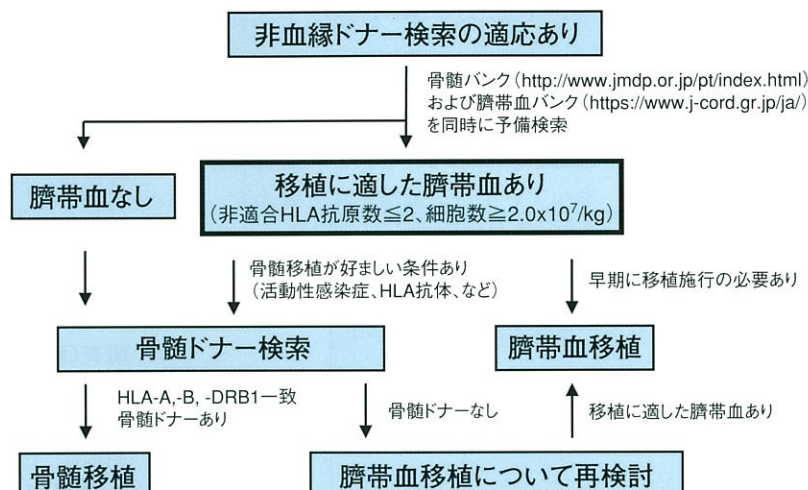


図5 東大医科研における非血縁ドナーによる造血幹細胞移植の決定まで

性抗体、とくにHLA抗体が移植細胞の拒絶にかかわる場合があること示唆していると思われます。

### 3. HLA抗体とHLA不一致 臍帯血移植

現時点においてHLA抗体を有する患者への臍帯血移植の成績に関するまとまった報告は見当たらない。東大医科研における経験では100例を超える臍帯血移植の中で4例のHLA抗体陽性患者に対する移植を経験していますが、4名中1名に生着不全を認め、3名は移植臍帯血が生着したものの、明らかな造血回復の遅延を認めました(表3)。このように、HLA抗体の存在は、臍帯血移植の最も重要な問題である生

着不全および造血回復の遅延に關与する可能性があるため、現時点において我々の施設では、HLA抗体陽性者の臍帯血移植の適応に関しては、骨髄ドナーなど他の移植細胞ソースを優先して考えることにしています(図5)。

#### 参考文献

- 1) Gluckman E, Broxmeyer HA, Auerbach AD, et al. Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med.* 1989; 321: 1174-8.
- 2) Takahashi S, Iseki T, Ooi J, et al. Single-institute comparative analysis of unrelated bone marrow transplantation and

cord blood transplantation for adult patients with hematological malignancies. *Blood* 104: 3813-3820, 2004.

- 3) Takahashi S, Ooi J, Tomonari A, et al. Comparative single-institute analysis of cord blood transplantation from unrelated donors with bone marrow or peripheral blood stem cell transplantation from related donors in adult patients with hematological malignancies after myeloablative conditioning regimen. *Blood*, in press, 2006.
- 4) Barge AJ, Johnson G, Witherspoon R, Torok-Storb B. Antibody-mediated marrow failure after allogeneic bone marrow transplantation. *Blood.*;74 (5): 1477-80, 1989.

## QA

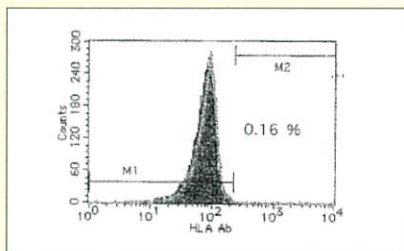
### HLA抗体検査よろず相談室

**Q** : FlowPRA Screening testの陽性・陰性の判断方法（基準）について教えてください。

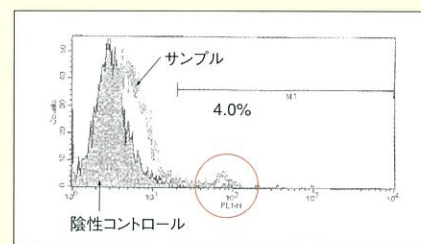
**A** : Screening テストでは、ピークの形を目で見て判定することを基本としています

- ・シングルピークでシフトもない → 陰性
- ・マルチピークを示している、あるいは明らかな形状の変化が見てとれる → %PRA の大小にかかわらず陽性
- ・シングルピークのままでシフトしている  
→ Control ビーズの動きを確認した上で判定（ノンスペシフトの可能性もあり）。  
必要に応じて AdsorbOut や他のキットによる精査を検討。

<いろいろなヒストグラムパターンと判定>

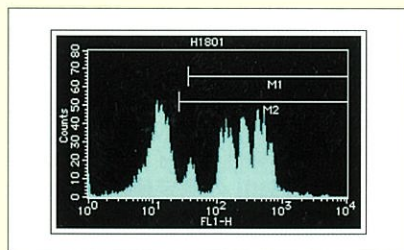


きれいなシングルピークでシフトもない → 陰性

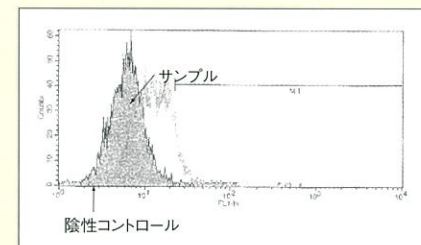


ごく小さなピークがある → 陽性

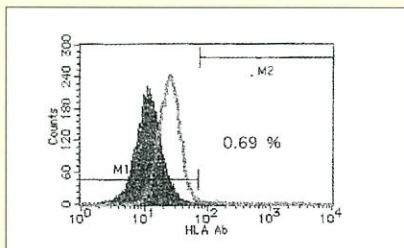
Screening テストは、30 種類のパネル抗原のプールです。仮にそのうちの1 パネルが反応した場合、計算上は 3.3% のシフトを示します。実際にはノイズを含んで 5% 前後の値を示しますが、これも明らかな陽性パターンのひとつです。数字は小さくても陽性です。



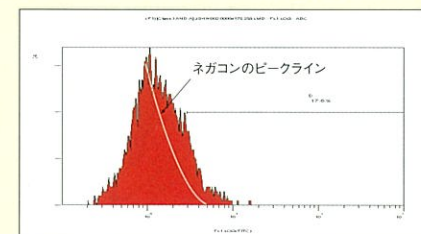
明らかなマルチピークのパターン → 陽性



山が低くなって頂上が広がる → 陽性（弱いブロードな反応と考えられています）



シングルピークだがシフトしている  
→ コントロールビーズの動きを見て、  
ノンスペシフトかどうか確認



ピークの左右対称性が崩れている → 陽性

検体のヒストグラムがネガコン血清のヒストグラムと異なる形をしていたら、何らかの反応があったという事なので陽性と判定します。  
必要に応じて Specific、Single Antigen キットで精査して下さい。

## rHLA SA(recombinant HLA Single Antigen)

HLAの特徴は、HLA遺伝子座の多型性と、HLA遺伝子群(HLA Complex)の多重性という二つの要素が重なって、他に例を見ないような複雑さがみられることです。多型性とは、一つの遺伝子座で、多くの遺伝子型が見られることで、多重性とは、遺伝子の重複により、形質の似た遺伝子座が数多く存在することです。さらに、各抗原は、複数のエピトープ(抗原決定基)を持っており、多くのエピトープは複数の抗原集団で共有されています。交差反応グループ(CREG)として以前から知られていたものは、そのグループ内の抗原の間で、エピトープを共有しているためです。

一方、抗体側の人血清には、数多くの種類のHLA抗体が含まれている可能性があり、1種類の抗体だけを持つ血清はまれと思われれます。従って、多くの血清は、複数の抗体を含んだ血清としてHLA抗原に反応するため、各抗体の特異性ではなく、血清全体として、抗体の特異性が合わさった特異性としてしか解析出来ません。

一般的に、複数の要因がある複雑な問題を解析するには、その一つの要因を単純にすれば、解析しやすくなるはずですが、HLA抗体の特異性の同定が困難なのは、抗原と抗体側の両方の要因があるためです。今回は、抗体側をモノクローナル抗体の使用により、エピトープの存在を推測できるようになりましたが、今回は、抗原側を抗体と反応する抗原を1つにして、検討した例を、前回と同じくEl-Awarらによる発表から、紹介いたします。

ワンラムダ社では、単一のHLA抗原を導入したリコンビナント(組み替え)細胞をほぼ全てのHLA抗原について作成し、Cell Lineとして保持しています。この遺伝子組み換えで発現させたHLA抗原をrHLA SA(recombinant HLA Single Antigen:リコンビナントHLA単抗原)と呼んでいます。この細胞からHLA抗原を分子として取り出し、マイクロビーズに結合させたものを、HLA抗体測定用の製品として出しています。このマイクロビーズを使えば、複数の抗原を持った細胞では解析でき

表1 Single Antigen Cell Line List

Antigen	Allele	Antigen	Allele	Antigen	Allele	Antigen	Allele	Antigen	Allele
A1	A0101	A33	A3303	B13	B1301	B48	B4801	B64	B1401
A11	A1101	A34	A3401	B18	B1801	B49	B4901	B65	B1402
A11	A1102	A36	A3601	B27	B2705	B50	B5001	B67	B6701
A2	A0201	A43	A4301	B27	B2708	B51	B5101	B7	B0702
A2	A0203	A66	A6601	B35	B3501	B51	B5102	B71	B1510
A2	A0206	A66	A6602	B37	B3701	B52	B5201	B72	B1503
A23	A2301	A68	A6801	B38	B3801	B53	B5301	B73	B7301
A24	A2402	A68	A6802	B39	B3901	B54	B5401	B75	B1502
A24	A2403	A69	A6901	B39	B3905	B55	B5502	B76	B1512
A25	A2501	A74	A7401	B4005	B4005	B56	B5601	B77	B1513
A26	A2601	A80	A8001	B41	B4101	B57	B5701	B78	B7801
A29	A2901			B41	B4102	B57	B5703	B8	B0801
A29	A2902			B42	B4201	B58	B5801	B81	B8101
A3	A0301			B44	B4402	B59	B5901	B82	B8201
A30	A3001			B44	B4403	B60	B4001		
A31	A3101			B45	B4501	B61	B4002		
A32	A3201			B46	B4601	B62	B1501		
A33	A3301			B47	B4701	B63	B1516		

なかった、抗体の抗原ごとの特異性の解析が可能となりました。

表1に、ワンラムダ社が保有するCell Lineのうち、今回解析に用いたHLA-A、Bローカスの抗原とアレルを示しましたが、ほぼ全てのHLA抗原が1つないし3つまでのアレルによって構成されています。ただ、日本人で血清学的に区別されているスプリット抗原で、ここに記載してないアレルもありますが、ここに記載してないアレルもありますが、抗原レベルで考えるのであれば問題ないと思われれます。

## rHLA SA細胞による吸着・溶出試験

今回紹介するrHLA SA細胞による、吸着・溶出試験の概略を図1に示します。血清(A)にHLA-B5801 rHLA SAを発現させた細胞を加え、反応する抗体を吸着させます。細胞に吸着させた血清を、遠心して細胞を取り除き、吸着後血清(B)とします。遠心した細胞に抗体解

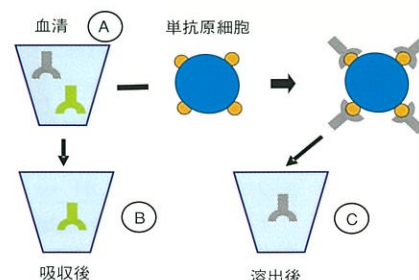


図1 rHLA SA細胞による吸着と溶出試験

離液を加え、細胞に吸着している抗体を細胞から溶出し、遠心後、細胞を取り除き、溶出した抗体を含む液を(C)とします。

吸着前の元の血清(A)を、rHLA SAでコートしたマイクロビーズ(Single LABScan)で測定した結果を図2に示します。この血清は9個のマイクロビーズと反応していると認められ、そのrHLA SAのアレルの特異性をまとめると、抗原としては、A2+A68+A69+B57+B58と判定できます。B1301以下の4つのマイクロビーズは、B5701と明らかに測定値が低いので陰性とししました。また、ここに表示していないHLA特異性のマイクロビーズの測定値は、B5301の測定値以下なので、省略してあります。

この血清(A)を、HLA-B5801 rHLA SA細胞で吸着させて遠心した後の、残りの血清(B)の測定結果を図3に示しました。血清(B)には、B5701、B5703、B5801の3種類の特異性を持つビーズとの反応がなくなっていることが判ります。

次に、吸着させた細胞から解離した抗体(C)の測定結果を図4に示します。測定値は非常に弱いものになっていますが、特異性はA2+B57+B58であることが判ります。元の血清から吸着された特異性はB57+B58だけだったように見えますが、実際にはA2の特異性を持つ抗体も、同時にB5801 rHLA SA細胞に吸着されていたことがわかります。B57とA2抗原の間にはA、B

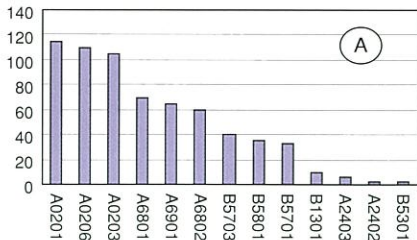


図2 rHLA SAによる吸着前の反応グラフ

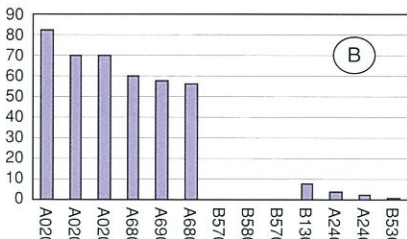


図3 rHLA SAによる吸着後の反応グラフ

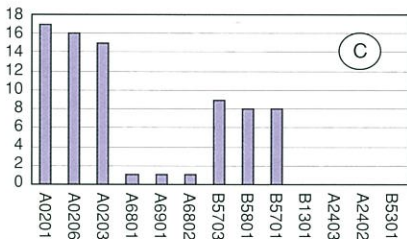


図4 rHLA SAによる溶出液の反応グラフ

ローカスを超えた、インターローカスの交差反応があることが、血清学的反応の時代から知られていました。

血清学的に信頼性の高い証明をするためには、複数の抗血清を使って、数多くのパネルを使ったデータを得る必要がありました。しかし、このrHLA SA細胞を使った方法では、1種類の抗原と、抗血清から交差反応の元になっているエピトープの場所が類推できます。Anthony Nolanのインターネットホームページ (<http://www.anthonynolan.org.uk/HIG/data.html>) から、HLAアリのアミノ酸配列の最新のデータを得ることができます。このデータから、陽性になったHLAアリのみに共通なアミノ酸残基を検索し、エピトープの可能性のある場所を特定することができます。

HLA-A2+B57+B58に特異的なアミノ酸残基の位置を検索したところ、62番目がグリシン(G)であるアリル

表2 エピトープのアミノ酸配列順の位置

エピトープ	HLA-A2+B17 (B57+B58)					HLA-A2+A28 (A68+A69)							
	AA位置	60	61	62	63	64	140	141	142	143	144	145	146
A*0201	W	D	G	E	T	A	Q	T	T	K	H	K	W
A*0206	W	D	G	E	T	A	Q	T	T	K	H	K	W
A*0203	W	D	G	E	T	A	Q	T	T	K	H	K	W
A*6801	W	D	R	N	T	A	Q	T	T	K	H	K	W
A*6901	W	D	R	N	T	A	Q	T	T	K	H	K	W
A*6802	W	D	R	N	T	A	Q	T	T	K	H	K	W
B*5703	W	D	G	E	T	A	Q	I	T	Q	R	K	W
B*5801	W	D	G	E	T	A	Q	I	T	Q	R	K	W
B*5701	W	D	G	E	T	A	Q	I	T	Q	R	K	W
B*1301	W	D	R	E	T	A	Q	I	T	Q	L	K	W
A*2403	W	D	E	E	T	A	Q	I	T	K	R	K	W
A*2402	W	D	E	E	T	A	Q	I	T	K	R	K	W
B*5301	W	D	R	N	T	A	Q	I	T	Q	R	K	W

100種類のひとつが、A2、B57とB58でした。データは示していませんが、同じ血清(A)を、A6901のrHLA SAで吸着させると、吸着後のデータと、溶出後のデータは、(B)と(C)が入れ替わっただけでほぼ同じパターンとなっていました。同様に、エピトープの可能性のある位置を検索すると、アミノ酸残基の位置が142番目のスレオニン(T)と、145番目がヒスチジン(H)であるアリルが100ほどあり、A92のアリルが2つ含まれている以外は、A2、A68とA69だけでした。A2+B57+B58と、A2+B68+B69に共通のエピトープのアミノ酸の位置を、それぞれその前後の位置のアミノ酸コードも含めて表2に示しました。B5801とA6901のrHLA SA細胞による吸着・溶出試験の結果を合わせて考えると、元の血清(A)は、この二つのエピトープに対する抗体で構成されているものと考えられます。

従来検査していない抗原に対しては、交差抗原グループであるかないかで、

検査の結果の予想をしていました。抗体と反応するエピトープが特定されれば、そのエピトープを持つアリルが類推でき、実際に検査していないアリルの型であっても、反応するか、しないかが正確に予測できることになります。この方法は、rHLA SA細胞を吸着に使うため、コスト、手間がかかり、どの施設でもできるわけではありませんが、エピトープの解析には、モノクロナール抗体と並んで有効な方法と考えられます。アミノ酸配列のデータの検索からだけでは、エピトープの可能性のある場所は類推できますが、実際に抗体で認識されているかは断定できません。今後さらにエピトープの同定が進んで、エピトープデータが蓄積されていけば、患者血清のHLA特異性解析に役立つものと思われます。

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

Class I Antigen Structure

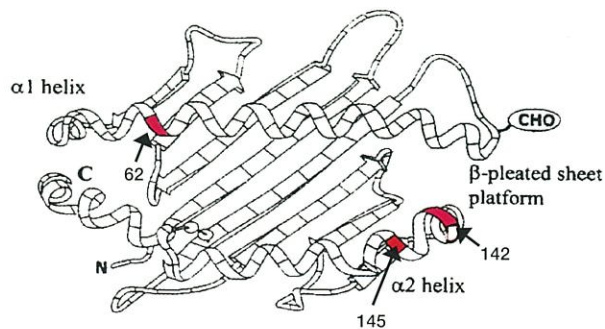


図5 A2+A68とA2+B17のエピトープ位置

# 虎の門 ニュース

## お知らせ

### ・学会展示

第29回 日本造血細胞移植学会総会 2007年2月16日(金)～18日(土) 福岡国際会議場  
HLA 抗体検査／HLA タイピング／HLA モノクロー抗体…他(幹細胞移植関連商品)の展示をします。

### ・オープン ラボ

対象商品

LAB Screen

LAB Type

Micro SSP

研究目的での HLA 抗体測定／タイピングをベリタス ラボにてご自身の手で行いませんか？

「専用機器を購入するほどの検体数が無い」、「病院での導入の前に実際の手技や内容を確認したい」など、今までに頂いたご要望にお応えします。試薬・消耗品の購入以外のコストは一切かかりません。詳細は弊社までお問合せ下さい。

### ・製品情報

#### LS2A01 LAB Screen single Antigen Class II の

抗原数が増えました!

39 抗原だったのが → ロット 4 から 48 抗原

ロット4  
入荷しています!

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

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、数独に挑戦してみましょう!

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

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

- ・前回の問題は解けたでしょうか。
- ・今回も易しい部類に入る問題です。
- ・豪華ではありませんが実用的な賞品を正解応募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

“HLAのパイオニア” ワンラムダ社から  
2WAYバッグをプレゼント!

正解応募者から厳正なる抽選のうえ、  
2名様にお送りします。



ワンラムダ社 謹製

### 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  
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/>