

原 著

日本人の IgA 欠損献血者の HLA 抗原型

二上 由紀¹⁾ 須藤 克己²⁾ 小野寺由美¹⁾ 佐藤 博美¹⁾ 野本 喜代¹⁾
前川 孝子¹⁾ 村田 愿¹⁾ 柿崎 眞吾¹⁾ 佐久間香枝³⁾ 寺谷 美雪⁴⁾
小澤 直宏³⁾ 奥山 美樹³⁾ 比留間 潔³⁾

¹⁾埼玉県熊谷赤十字血液センター

²⁾埼玉県赤十字血液センター

³⁾東京都立駒込病院輸血科

⁴⁾東京都老人医療センター

(平成13年10月9日受付)

(平成14年3月6日受理)

HLA ANTIGENS IN JAPANESE BLOOD DONORS WITH IGA DEFICIENCY

Yuki Futakami¹⁾, Katsumi Suto²⁾, Yumi Onodera¹⁾, Hiromi Sato¹⁾, Kiyo Nomoto¹⁾,
Takako Maekawa¹⁾, Sunao Murata¹⁾, Singo Kakizaki¹⁾, Kae Sakuma³⁾,
Miyuki Teratani⁴⁾, Naohiro Ozawa³⁾, Yoshiki Okuyama³⁾
and Kiyoshi Hiruma³⁾

¹⁾Kumagaya Red Cross Blood Center

²⁾Saitama Red Cross Blood Center

³⁾Transfusion Service, Tokyo Metropolitan Komagome Hospital

⁴⁾Tokyo Metropolitan Geriatric Medical Center

It has been recently reported that many Caucasians with IgA deficiency carry the HLA-A1, B8, DR3 haplotype. This haplotype may be widely associated with the pathogenesis of immune deficiency. To date, however, there has been no study of HLA typing of IgA deficiency in Japanese.

We performed HLA-A, B, and DR typing in nine healthy blood donors who had been identified to be IgA-deficient by systematic screening in Saitama Prefecture, Japan. Results showed that these IgA-deficient blood donors had HLA antigens generally found in the Japanese population and no HLA-A1, B8 or DR3 antigens were observed. While the gene frequency of B54 antigen was significantly higher in this group than in the Japanese population, no significant differences for other antigens were identified. It is suspected that the characteristics of IgA deficiency in Japanese are different from those in Caucasians.

Key words : IgA deficiency , HLA , Japanese , Blood donors

はじめに

IgA 欠損症は免疫グロブリン欠損症の中では最も頻度が高く、他の疾患と関連していたり健常人にも認められることがある。IgA 欠損患者が抗 IgA 抗体を保有する場合、輸血によるアナフィラ

キシーショックの原因になることがあり、特に血漿を輸血する場合は IgA 欠損供血者から採血した IgA 蛋白を含まない血液が適応になる^{1,2)}。

したがって、IgA 欠損患者の安全な輸血のためには IgA 欠損供血者の確保が必要である³⁾。この

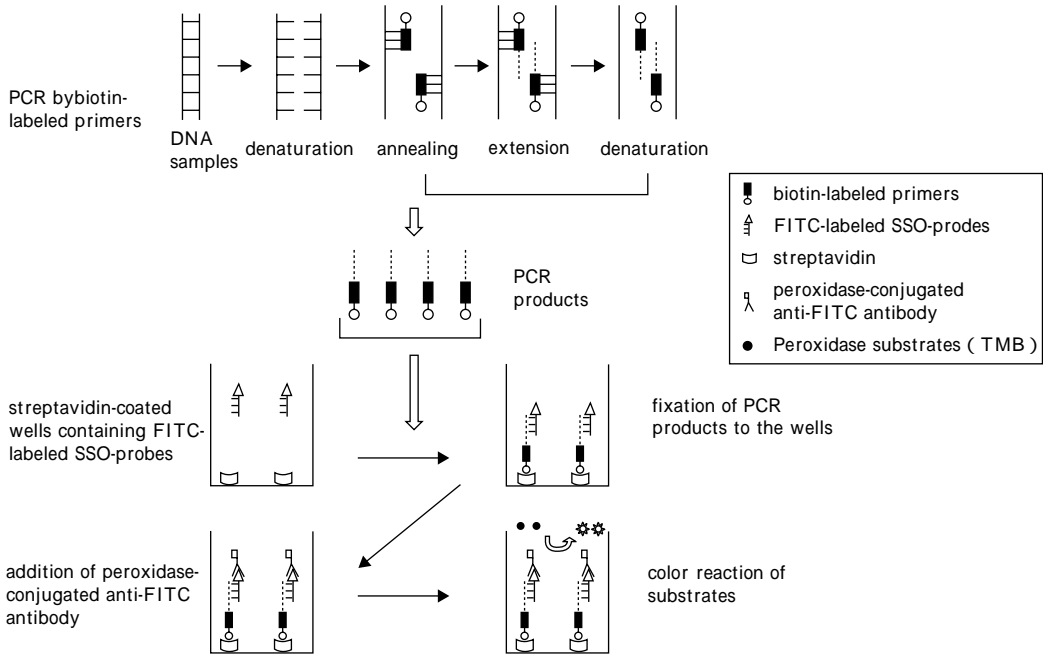


Fig. 1 Principle of enzyme-linked probe hybridization

The polymorphic region of DRB genes is amplified by polymerase chain reaction (PCR) using biotin-labeled primers. PCR products are bound to streptavidin-coated wells of a microtest plate. Fixation of the PCR products to the wells and hybridization with the sequence-specific oligonucleotide (SSO-) probes occur in one step. Hybridization probes are visualized in a color reaction involving FITC-specific antibody fragments coupled to peroxidase.

ため、埼玉県熊谷赤十字血液センターでは献血者を対象に IgA 欠損スクリーニングを行い、献血者における IgA 欠損の頻度や抗体保有率、年齢や血液型との関連など我が国の IgA 欠損の特徴を調査してきた⁴⁾⁻⁷⁾。

近年、欧米においては白人種で IgA 欠損と HLA 抗原型との関係が指摘され、その病態に HLA-A1, B8, DR3 のハプロタイプが密接に関与するという報告がある⁸⁾⁻¹³⁾。しかし、我が国においては IgA 欠損症の頻度が低く、症例が集積されないことも関連し HLA 抗原型を検討した報告は全くない。そこで、本研究では IgA 欠損献血者の HLA 抗原型を検査し、IgA 欠損者と HLA 抗原型との関連性を検討した。

対象および方法

1. IgA 欠損献血者

埼玉県熊谷赤十字血液センターでは 1978 年よ

り 1993 年まで IgA 欠損患者のために IgA 欠損の血液を確保する目的で献血者の IgA をスクリーニングしてきた。IgA 欠損スクリーニングおよび確認試験は間接赤血球凝集阻止試験 (hemagglutination inhibition: HI) で行ない、IgA 欠損と判定された献血者は血清を用いて受身赤血球凝集反応 (passive hemagglutination: PHA) で抗 IgA 抗体を検査した^{3,4)}。今回の検討は、これまでに発見された IgA 欠損献血者の中で検査の同意が得られた 9 例を対象とした。

2. HLA 検査

1) 献血者リンパ球

IgA 欠損献血者から抗凝固剤 ACD 液で採取した全血のパフィーコートより、比重遠心法で単核細胞を分離した。分離したリンパ球は 10% DMSO を用いて -80℃ に凍結保存し、HLA 検査時、凍結リンパ球を解凍し用いた。

Table 1 HLA typing of nine blood donors with IgA deficiency

Donor	Sex	Age	Anti-IgA antibody	HLA typing		
				A locus	B locus	DRB locus
1	M	31	No	24	7, 54	1
2	F	26	No	24	54, 75	4
3	M	26	No	2, 24	59, 61	4, 14
4	F	24	No	24	54, 55	1, 9
5	M	18	No	11, 24	7, 54	4
6	M	28	No	24	7	1
7	M	23	No	26, 31	35, 51	4
8	M	54	Yes	24	35, 48	4, 14
9	M	23	No	26	35, 61	4, 9

2) HLA class I 抗原検査

HLA class I 抗原は献血者リンパ球を Terasaki Oriental HLA-ABC well tray(One Lambda, CA, USA) を用いた micro-lymphocytotoxicity test により同定した。解凍リンパ球はトリパンブルーを用いて生細胞率 90% 以上であることを確認し、 $2 - 3 \times 10^3/\mu\text{L}$ に調整しマイクロトレイに添加した。抗血清とリンパ球を混和し室温で 30 分静置、補体を添加後 60 分反応させた。5% エオジン溶液で死細胞を染色しホルマリン固定後、倒立位相差顕微鏡で判定した。

3) HLA classII 抗原検査

HLA classII 抗原は ELPHA(enzyme linked hybridization assay) DRB ローレゾリウム ションキット (ピオテスト社) を用いて同定した。献血者リンパ球よりゲノム DNA を抽出し、ピオチン標識プライマーを用いて HLA 遺伝子多型性部分を PCR 法にて増幅した。ピオチン標識 PCR 産物をマイクロプレートに付着しているアビジンと結合、固定させる。FITC 標識 sequence specific oligonucleotide (SSO) プロローベとハイブリダイゼーションさせ、ペルオキシダーゼ標識抗 FITC 抗体と基質を用いて発色させ判定した (Fig. 1)。

3. 統計学的方法

IgA 欠損献血者の HLA 抗原は HLA class I, A 座, B 座, HLA class IIDR 座の表現型頻度 (phenotype frequency : PF) から次の式で遺伝子頻度 (genotype frequency : GF) を算出した。

$$GF = 1 - \sqrt{1 - PF}$$

IgA 欠損献血者の各 HLA 抗原の GF を日本人一般の GF と比較検討した。一般日本人の各 HLA 抗原の GF は第 11 回国際組織適合性ワークショップの成績を参考にした¹⁴⁾。各 HLA 抗原の IgA 欠損献血者と日本人一般の GF を Fisher's exact test で検定し、p 値を計算した。

結 果

1. IgA 欠損献血者の背景

9 例の献血者の背景は Table 1 にまとめた。年齢の範囲は 18 ~ 54 歳、平均 28.1 歳で、男性 7 例、女性 2 例であった。このうち抗 IgA 抗体を有した者は 1 例であった (症例 No. 8)。

2. HLA 抗原型解析

9 例の class I, A 座, B 座および class IIDR 座の表現型を Table 1 に示した。これらの結果から欧米の IgA 欠損で高頻度に出現すると報告された A1, B8, DR3 の抗原型は全く認められなかった。

IgA 欠損献血者の HLA 抗原型それぞれの表現型頻度と遺伝子頻度を Table 2 にまとめた。また、第 11 回国際組織適合性ワークショップで報告された日本人一般の HLA 抗原型の遺伝子頻度と比較検討し p 値を計算した。IgA 欠損献血者の A 座の抗原型は日本人一般でも頻度が高い 24, 26, 11, 2, 31 で占められていた。B 座の抗原型においても日本人一般でも頻度の高い抗原型であったが 39, 52, 60, 62 はなかった。また、DR 座の抗原型も一般日本人で多く見られる抗原型であった。さらに、抗 IgA 抗体保有者においても同様に日本人で一般に認められる HLA 抗原型であった。

Table 2 Comparison of gene frequency of HLA antigens between blood donors with IgA deficiency and the of Japanese population*

HLA locus	Antigen	IgA deficiency**			Japanese***	p
		n	PF	GF	GF	
Class I A locus	2	1	0.111	0.057	0.224	0.13
	11	1	0.111	0.057	0.104	0.34
	24	7	0.778	0.529	0.351	0.38
	26	2	0.222	0.118	0.109	0.88
	31	1	0.111	0.057	0.080	0.41
Class I B locus	7	3	0.333	0.184	0.050	0.33
	35	3	0.333	0.184	0.081	0.64
	48	1	0.111	0.057	0.032	0.61
	51	1	0.111	0.057	0.093	0.37
	54	4	0.444	0.255	0.063	0.03
	55	1	0.111	0.057	0.029	0.63
	59	1	0.111	0.057	0.019	0.70
	61	2	0.222	0.118	0.107	0.87
Class II DR locus	1	3	0.333	0.184	0.055	0.39
	4	6	0.667	0.423	0.228	0.32
	9	2	0.222	0.118	0.130	0.97
	14	2	0.222	0.118	0.055	0.39

*PF: phenotype frequencies, GF: gene frequencies.

**n=9.

***11th International Histocompatibility Workshop, n=1,023(Class I) n=898(Class II)

各遺伝子頻度を一般日本人のそれと比較した場合、B54 が p=0.03 と IgA 欠損献血者での頻度が有意に高かった。それ以外の各 HLA 抗原型の遺伝子頻度は一般日本人の遺伝子頻度と統計学的な有意差はなかった。

考 察

白人種では IgA 欠損の HLA 抗原型を調査した報告は多い。アメリカでは IgA 欠損あるいは一般変異型免疫不全症 (CVID) には HLA-A1 ,B8 ,DR3 のハプロタイプの頻度が高く、73 家系中 41 家系 (56%) がヘテロに、9 家系 (12%) がホモに認められている¹³⁾。イタリアでも IgA 欠損者に B8, DR3 のハプロタイプの頻度が高く、このようなハプロタイプを有すると、リンパ球から IL5 などのサイトカインの産生力が低下し、そのため、IgA が産生できなくなると報告されている¹²⁾。この他の報告でも HLA-A1 ,B8 ,DR3 の頻度が最も高いが、それ以外には DRB1*0102 と DQB1*0501¹⁵⁾、B14 と DR1¹⁶⁾¹⁷⁾、B13 と DR7⁵⁾¹⁸⁾ の頻度が高いとす

る報告がある。また、献血者のスクリーニングでは A1 ,B14 および A29 ,B8 が多いとする報告¹⁹⁾や A28 ,B14 が多いとする報告²⁰⁾がある。これらの報告は全て、ヨーロッパ、アメリカの白人種での検討である。

最も報告の多い HLA-A1 ,B8 ,DR3 のハプロタイプは白人種では一般に頻度は高く、HIV 感染、疱疹状皮膚炎、インスリン依存性糖尿病、全身性ループスエリテマトーデス、重症筋無力症など他の疾患との関与も指摘されている¹⁰⁾。このハプロタイプは免疫異常に広く関連するため IgA 欠損の病態にも関与すると考えられているが、日本人種ではそれぞれの抗原型が稀であり、このハプロタイプはほとんど認められていない¹⁴⁾。

一方、日本では IgA 欠損の HLA 抗原型に関する報告は全くない。これは、我々が調査した 200 万人以上の献血者 IgA 欠損スクリーニング検査で明らかにしたように、日本人では IgA 欠損の頻度が低いことにも起因すると考えられる。白人種

では約 800 人に 1 人なのに対し、日本では 10,000 人に 1 人以下の低頻度である²¹⁾。

本研究では 9 例のみの IgA 欠損者が対象であったが、その HLA 抗原型は全て日本人一般に広く認められる抗原型であり、白人種で認められる A1, B8, DR3 は全く認められなかった。また、抗 IgA 抗体を有する献血者の HLA 抗原型も日本人一般が有する HLA 抗原型であった。

遺伝子型頻度を IgA 欠損者と一般日本人とで比較すると、B54 の頻度がそれぞれ 0.444, 0.063 と有意に IgA 欠損者で高頻度であった。調査例数が少なく現時点ではその理由を考察することは困難である。それ以外の遺伝子型には統計学的な有意差を認めなかった。検討例数が少ないものの全体的には日本の IgA 欠損者の HLA 抗原遺伝子頻度は日本人一般の頻度と大差がないと考えてよいものと思われる。

日本人の IgA 欠損は欧米白人種の IgA 欠損と比し頻度が低いたけではなく、抗 IgA 抗体の保有率も少ないなど特徴が異なっている²¹⁾。理由として、我々は B 細胞上に発現する各免疫グロブリンを解析した結果、日本の IgA 欠損者の B リンパ球上に僅かながらでも IgA 分子が存在することを確認し、このため IgA 欠損者の抗 IgA 抗体産生が少ない可能性を報告している²²⁾。本研究でも白人種では免疫異常に密接に関与する HLA 抗原型を日本人 IgA 欠損者では全く有していなかったことおよび日本の IgA 欠損者の HLA 抗原遺伝子頻度は日本人一般の頻度と大差がなかったことより、その病態が基本的に異なる可能性が考えられた。

謝辞：HLA 抗原型の結果の解析法に御助言を賜りました日本赤十字社中央血液センター赤座達也先生に感謝致します。

文 献

- 1) Noninfectious complications of blood transfusion. Vengelen-Tyler V, ed. Technical Manual 13th edition, American Association of Blood Banks, Bethesda, MD, USA, 1999, 577-600.
- 2) Sandler, S.G., Mallory, D., Malamut, D., Eckrich, R. : IgA anaphylactic transfusion reactions. *Transfus. Med. Rev.*, 9 : 1-8, 1995.
- 3) 大村和代, 高橋武良, 野本喜代, 石島あや子, 山崎直樹, 村田愿 : 献血者における IgA 欠損スクリーニングについて. *衛生検査*, 35 : 709-714, 1986.
- 4) Ozawa, N., Shimizu, M., Imai, M., Miyakawa, Y., Mayumi, M. : Selective absence of immunoglobulin A1 or A2 among blood donors and hospital patients. *Transfusion*, 26 : 73-76, 1986.
- 5) 小林容子, 持田和代, 野本喜代, 武田幸子, 村田愿, 岡崎正太郎, 小沢直宏, 清水 勝 : 献血者における IgA 欠損について. *日本輸血学会雑誌*, 28 : 329-330, 1982.
- 6) 持田和代, 武田幸子, 野本喜代, 小林容子, 村田愿, 岡崎正太郎, 小沢直宏, 清水 勝 : 献血者における IgA 欠損について. *各種欠損の頻度及び家系調査*. *日本輸血学会雑誌*, 29 : 218-220, 1981.
- 7) 村田 愿, 武田幸子, 野本喜代, 持田和代, 小林容子, 岡崎正太郎, 川又洋, 大久保康人 : ABO 式血液型検査から見いだされた Hypoimmunoglobulinemia について. *血液事業*, 4 : 329-333, 1981.
- 8) Alper, C.A., Marcus-Bagley, D., Awdeh, Z., Kruskal, M.S., Eisenbarth, G.S., Brink, S.J., Katz, A.J., Stein, R., Bing, D.H., Yunis, E.J., Schur, P.H. : Prospective analysis suggests susceptibility genes for deficiencies of IgA and several other immunoglobulins on the [HLA-B8, SC01, DR3] conserved extended haplotype. *Tissue Antigens*, 56 : 207-216, 2000.
- 9) MacHulla, H.K., Schonermarck, U., Schaaf, A., Muller, L.P., Kloss, C., Kruger, J., Kunze, G., Schonermarck, G., Langner, J. : HLA-A, B,Cw and DRB1, DRB3/4/5, DQB1, DPB1 frequencies in German immunoglobulin A-deficient individuals. *Scand. J. Immunol.*, 52 : 207-211, 2000.
- 10) Price, P., Witt, C., Allcock, R., Sayer, D., Garlepp, M., Kok, C.C., French, M., Mallal, S., Christiansen, F. : The genetic basis for the association of the 8.1 ancestral haplotype (A1, B8, DR3) with multiple immunopathological diseases. *Immunol. Rev.*, 167 : 257-274, 1999.
- 11) Gerbase-Delima, M., Pinto, L.C., Grumach, A., Carneiro-Sampaio, M.M. : HLA antigens and haplotypes in IgA-deficient Brazilian paediatric patients. *Eur. J. Immunogenet.*, 25 : 281-285, 1998.
- 12) Lio, D., D'Anna, C., Leone, F., Curro, M.F., Candore, G., Caruso, C. : Hypothesis : interleukin-5 production impairment can be a key point in the pathogenesis of the MHC-linked selective IgA de-

- iciency. *Autoimmunity*, 27 : 185-188, 1998.
- 13) Schroeder, H.W. Jr., Zhu, Z.B., March, R.E., Campbell, R.D., Berney, S.M., Nedospasov, S.A., Turetskaya, R.L., Atkinson, T.P., Go, R.C., Cooper, M.D., Volanakis, J.E. : Susceptibility locus for IgA deficiency and common variable immunodeficiency in the HLA-DR3, -B8, -A1 haplotypes. *Mol. Med.*, 4 : 72-86, 1998.
- 14) 日本組織適合性学会ホームページ . Gene frequencies of serologically-typed HLA-A, B,C loci, <http://square.umin.ac.jp/JSHI/frame.html>
- 15) Fiore, M., Pera, C., Delfino, L., Scotese, I., Ferrara, G.B., Pignata, C. : DNA typing of DQ and DR alleles in IgA-deficient subjects. *Eur. J. Immunogenet.*, 22 : 403-411, 1995.
- 16) Clerici, N., Fernandez, M., Saiz, I., Sainz, T., Polanco, I. : Human leukocyte antigen alleles and haplotypes associated with selective immunoglobulin A deficiency in Spanish pediatric patients. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, 16 : 381-386, 1993.
- 17) Cuccia-Belvedere, M., Monafò, V., Martinetti, M., Plebani, A., De Paoli, F., Burgio, G.R. : Recurrent extended HLA haplotypes in children with selective IgA deficiency. *Tissue. Antigens.*, 34 : 127-132, 1989.
- 18) Klemola, T., Savilahti, E., Koskimies, S., Pelkonen, P. : HLA antigens in IgA deficient paediatric patients. *Tissue. Antigens.*, 32 : 218-223, 1988.
- 19) Strothman, R., White, M.B., Testin, J., Chen, S.N., Ball, M.J. : HLA and IgA deficiency in blood donors. *Hum. Immunol.*, 16 : 289-294, 1986.
- 20) Cobain, T.J., French, M.A., Christiansen, F.T., Dawkins, R.L. : Association of IgA deficiency with HLA A28 and B14. *Tissue. Antigens.*, 22 : 151-154, 1983.
- 21) Katsumi Suto, Hiromi Sato, Takeyoshi Takahashi, Kiyo Nomoto, Makoto Tajima, Sunao Murata, Nobuo Kosaki, Naohiro Ozawa, Kiyoshi Hiruma, Masaru Shimizu : Frequency of serum IgA deficiency among 2,421,568 Japanese blood donors. ISBT, Makuhari, Japan, 1996.
- 22) 須藤克己, 田村由紀, 高野由美, 小野寺孝行, 高橋武良, 野本喜代, 村田 愿, 柿崎真吾, 小沢直宏, 松浦康弘, 比留間潔, 清水 勝 : IgA 欠損献血者における B 細胞上に発現する免疫グロブリンの解析 . 日本輸血学会雑誌, 43 : 275, 1997.
-