

HLA 형별검사서 상용 항혈청의 반응성

원동일 · 송재우 · 박기일* · 김현숙

연세대학교 의과대학 임상병리과학교실, 외과학교실*

Reactivities of Commercial Antisera for HLA Typing

Dong Il Won, M.D., Jae Woo Song, M.D., Ki Il Park, M.D., and Hyon-Suk Kim, M.D.

Departments of Clinical Pathology, and Transplant Surgery, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea

Background : The most common problem in HLA typing is unsatisfactory quality of the antisera, or a lack of understanding of their reactivities. Therefore, commercial antisera must be verified under the conditions applied in a particular tissue typing laboratory.

Methods : We evaluated the antisera reactivities of a commercial HLA-typing tray, Lymphotype HLA-ABC 72 oriental, the lot 7220999, 7230100 (Biotest, Germany), in about 300 samples from organ transplant recipients and healthy potential donors.

Results : The relatively weak antisera were those that defined A26, A33, Cw5, Cw14, B46, B58, B64 and B71 etc. Some of these antisera were not indicated as 'weak reaction' in the test result catalogue. The reactivities of each antisera indicated as 'extra reaction' or 'sometimes missing' were various.

Conclusions : As for antisera reactivities, the data obtained by a laboratory itself are necessary in addition to those in the test result catalogue. These data will be helpful for the correct interpretation for laboratories using same commercial kits. (*Korean J Clin Pathol 2000; 20: 510-5*)

Key words : HLA typing, Serology, Antiserum reactivity

서 론

혈청학적 방법에 의한 HLA 형별검사서 항혈청의 질이 불만족스럽거나 혈청의 반응성에 대한 이해 부족으로 흔히 어려움을 겪게 된다. 따라서 상용 HLA-typing tray의 항혈청은 각 검사실의 조건에서 항원을 잘 알고 있는 림프구의 패널로 검증을 받아야 한다. 항혈청을 평가하는 기준은 첫째, 신뢰성으로 위음성을 나타내서는 안되고, 둘째, 강도로서 강양성 반응(100% 세포용해)을 나타낼 수 있도록 역가가 충분히 높아야 하며, 셋째, 분별력이 높아야 하는데 단특이적일수록 좋다. 즉 위양성이나 extra

typing reaction이 없어야 한다.

1996-1998년 박 등[1, 2]의 HLA 검사 신빙도 조사에 의하면 국내 검사실에서 사용되는 상용키트의 제조원은 One-lambda사 26 기관, Biotest사 13 기관으로, 검사실의 약 1/3에서 Biotest사 키트를 사용하고 있다. Biotest사 키트는 One-lambda에 비하여 비용이 2/3 수준으로 저렴하여 본 검사실에서도 Biotest사 키트를 사용하고 있는데 검사자가 항혈청의 반응성을 파악하여 사용하면 비교적 정확한 형별판정을 할 수 있는 것으로 생각된다. 분자생물학적 검사 방법이 임상 검사에 적용 가능해짐에 따라 혈청학적 반응 양상이 명확하지 않아 판정이 애매한 경우 DNA 형별검사로 확인할 수 있게 되었으므로 그 반응 양상의 정확한 통계도 가능하게 되었다.

따라서 본 연구에서는 Biotest사의 oriental tray가 우리나라 사람 혹은 본 검사실에서 나타내는 반응성에 대하여 조사하고 혈청학적 방법에 의한 형별판정의 근거나 DNA 형별검사를 시행해야 하는 기준에 대한 자료를 마련하고자 하였다.

접 수 : 2000년 9월 4일

접수번호 : KJCP1431

수정본접수 : 2000년 10월 5일

교신저자 : 김 현 숙

우 135-720 서울시 강남구 도곡동 146-92

영동세브란스병원 임상병리과

전화 : 02-3497-3531, Fax : 02-3462-9493

E-mail : kimhs54@yumc.yonsei.ac.kr

Table 1. Donor identification numbers and their reactivities of HLA-A, C antisera in test result catalogue

	Mono-specific	Polyspecific		Extra reaction
		I	II	
A1	6102	2467	2937	
A2	1799	6042		
A3	2838 _m	2937 _m		
A11	2515	2937 _m		2890
A24	5014	2129	2890	2467
A26	5054	3020	3002	2467
A29	2968 _m	5099 ^{wk}		
A30	5056	4048		6327
A31	6327 ^{wk}	4048	5099	5056
A32	3064	2937 _m	5099 ^{wk}	
A33	6182	5099		6159
C1	4025	1677		
C2	2188			
C3	2677			
C4	2107			2677
C5	6151			
C6	5063			
C7	6190			
C8	6262			
C14		4025		

Abbreviations: m, monoclonal antibody; sm, sometimes missing; wk, weak reaction.

재료 및 방법

2000년 1월부터 6월까지 연세대학교 의과대학 세브란스병원 면역학검사실에 HLA 형별검사가 의뢰된 약 300건의 결과 중 각 HLA 항원별로 선정하여 해당 항혈청의 반응성을 조사하였다. 이들은 대부분 신장, 골수 간 등의 장기이식을 위한 공여자나 수여자들이었는데 백혈병 환자는 포함시켰으며, 제대혈은 없었고 림프구의 질이 좋지 않은 경우가 많은 뇌사자의 경우는 제외하였다. 보체의존성 미세림프구독성법에 사용한 상용키트는 Lymphotype HLA-ABC 72 Oriental, 로트 7220999와 7230100 (Biotest, Germany)이었다. 보체 로트는 1151198과 1140799이었다.

각 HLA 항원을 판정하는 항혈청의 구성과 그 고유번호는 Table 1, 2와 같다.

결 과

1. 항혈청의 반응성 (Table 3, 4, Fig. 1, 2)

본 연구에서 용량 효과가 나타날 수 있는 동형접합체인 경우나 다른 대립유전자도 그 항혈청에 양성인 경우를 따로 구분하지는 않았다. 한 항원을 동정하도록 구성된 혈청군에서 구성원 모두가 8점이 나오는 빈도가 현저히 낮은 경우는 HLA-A 항원의 경우

Table 2. Donor identification numbers* and their reactivities of HLA-B antisera in test result catalogue

	Mono-specific	Polyspecific				Extra reaction	
		I	II	III	IV	I	II
B7	6103	1797				2921	
B8		2930					
B13	2642					2801	0841
B27		2157	2606 _m			1797	
B35		2977	6023				
B37	1738						
B38		2777	5010	2606 _m		4037	
B39		2777	4037				
B44	4061					6188	
B46	6056						
B48	0841	2921	2897 _m			5074	
B51	4087	2878				2673	2741
B52		2787	2673	2403 sm	2741	4087	4051
B54	3063	6163					
B55		6163	2758			2741	
B56		2741	2858				
B57	5017	2732				2741	4051
B58		2732 sm					
B59		5010	2930				
B60		2921	5074	2897 _m		0841	
B61		2921	5074				
B62	2801	2741	4051	5051			
B64		1829 _m				2403	
B67	1830	1797	4037				
B71		2741	2606 sm				
B72		2741					
B75		2741	4051	5051 ^{wk}	2977 sm	2801	

* Bw4: 2765, Bw6: 2570.

Abbreviations: See Table 1.

A26, A33, HLA-C 항원의 경우 Cw5, Cw14, HLA-B 항원의 경우 B46, B58, B64, B71 등이었다. 항혈청 개별적으로 평가를 하였을 때 비교적 반응성이 약했던 항혈청은 HLA-A 항원의 경우 A26 단독이, A29 단독이, A31 단독이, 다특이 II, A32 다특이 II, A33 단독이, 다특이혈청이었고, HLA-C 항원의 경우 Cw14, HLA-B 항원의 경우 B35 다특이 II, B37 단독이, B38 다특이 II, B52 다특이 I, B55 다특이 II, B62 다특이 III, B71 다특이 I II, 등이었다. 이 중 test result catalogue에 A31 단독이와 A32 다특이 II 는 'weak reaction'으로, B71 다특이 II 는 'sometimes missing'으로 표기되어 있었고 나머지 항혈청은 통상적인 '+'로 표기되어 있었다.

Public antigen에 대한 항혈청의 반응은 한 쌍의 HLA-B 항원이 서로 다른 public antigen을 가지는 경우만 통계에 포함시켰다. 대체로 강한 반응을 보였으며 'missing'으로 표기된 B46이 2점 이상의 반응을 보이는 경우는 없었다.

2. 'Extra reaction' 표기 항혈청의 반응성 (Table 3, 4)

다른 대립유전자가 그 항혈청에 양성인 경우는 통계에서 제외

Table 3. Strength of antisera for individual HLA-A, C antigen

	N	Mono-specific*	Polyspecific*		Extra reaction†
			I	II	
A1	13	100	100	92	
A2	22	82	100		
A3	14	93	93		
A11	25	96	100		0
A24	25	84	100	92	24
A26	24	42	58	54	0
A29	4	75	0		
A30	24	75	88		50
A31	23	4	61	0	0
A32	6	67	83	0	
A33	28	32	0		0
C1	34	94	100		
C2	5	100			
C3	33	85			
C4	17	100			0
C5	14	57			
C6	21	81			
C7	29	86			
C8	27	82			
C14	21		43		

* (number of 8 reaction / number of all patients tested) × 100 (%);

† (number of score 2 or more / number of all patients tested) × 100 (%).

Table 4. Strength of antisera for individual HLA-B antigen

	N	Mono-specific*	Polyspecific*				Public* % (N [†])	Extra reaction†	
			I	II	III	IV		I	II
B7	18	67	89				100 (9)	11	
B8	2		100				100 (1)		
B13	15	100					57 (8)	0	0
B27	10		100	100			50 (8)	0	
B35	24		71	0			100 (16)		
B37	10	60					100 (6)		
B38	6		83	0	67		60 (5)	0	
B39	7		100	27			100 (1)		
B44	26	96					86 (22)	0	
B46	15	40					0 (10)		
B48	15	73	73	40			100 (8)	40	
B51	24	50	79				100 (13)	4	8
B52	15		41	0	20	73	100 (8)	7	0
B54	17	88	71				100 (9)		
B55	10		90	20			100 (3)	0	
B56	1		100	100			(0)		
B57	3	0	100				100 (1)	0	0
B58	24		42				92 (13)		
B59	13		62	77			71 (7)		
B60	14		86	79	71		100 (3)	0	
B61	23		87	61			93 (15)		
B62	25	36	92	72	20		100 (13)		
B64	11		55				100 (6)	55	
B67	4	25	75	25			100 (3)		
B71	13		23	8			100 (5)		
B72	2		100				100 (1)		
B75	2		50	50	50	0	(0)	0	

*, †, Same as Table 1; ‡ The cases were excluded when another HLA-B allele in one belonged to same public antigen.

하고 2점 이상의 반응이 나타나는 빈도를 조사하였다. 그 빈도는 항혈청마다 달라서 빈도가 아주 낮거나 반대로 50%대의 높은 빈도인 경우도 있었다. 반응 강도는 2점에서 8점까지 다양하였다.

3. 'Sometimes missing' 표기 항혈청의 반응성 (Table 4)

HLA-B 항원에 대하여만 4개의 항혈청이 'sometimes missing'으로 표기되어 있었다. 이들 항혈청은 반응 빈도와 강도가 낮아서 B71의 경우 반응 점수가 8점인 빈도가 10%로 저하되었고 B58 항혈청의 경우에는 39%로 비교적 높았다.

고 찰

본 연구기간 중 항혈청의 로트의 교체가 있었으나 두 로트간 각 항혈청들의 고유번호는 바뀌지 않았으며 제조원에서 제공한 test result catalogue에 표기된 반응성도 거의 일치하였다. 본 연구에서 형별판정 결과는 비교적 정확하다고 말할 수 있는데, 혈청학적 반응성이 불명확한 경우 DNA 방법으로 확인하였고 또한

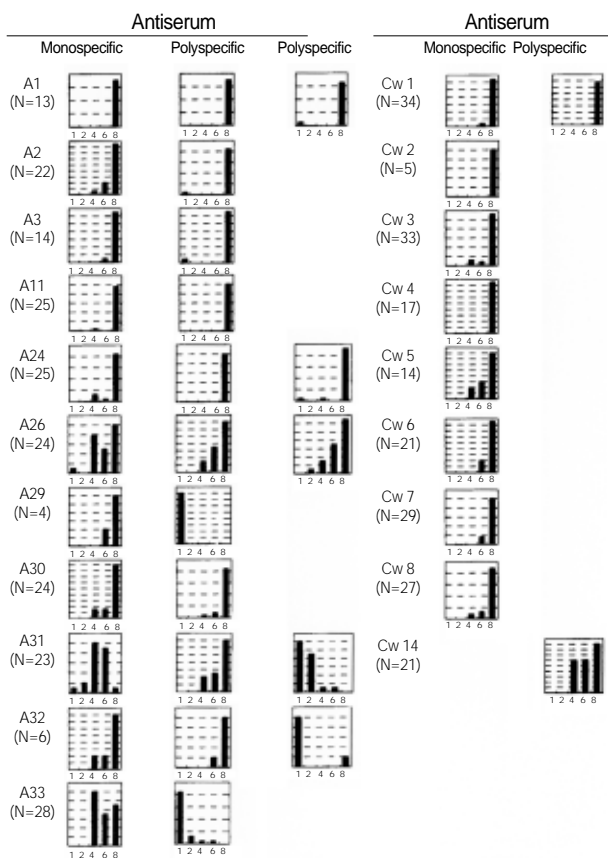


Fig. 1. Histogram according to reaction score of antisera for individual HLA-A, C antigen.

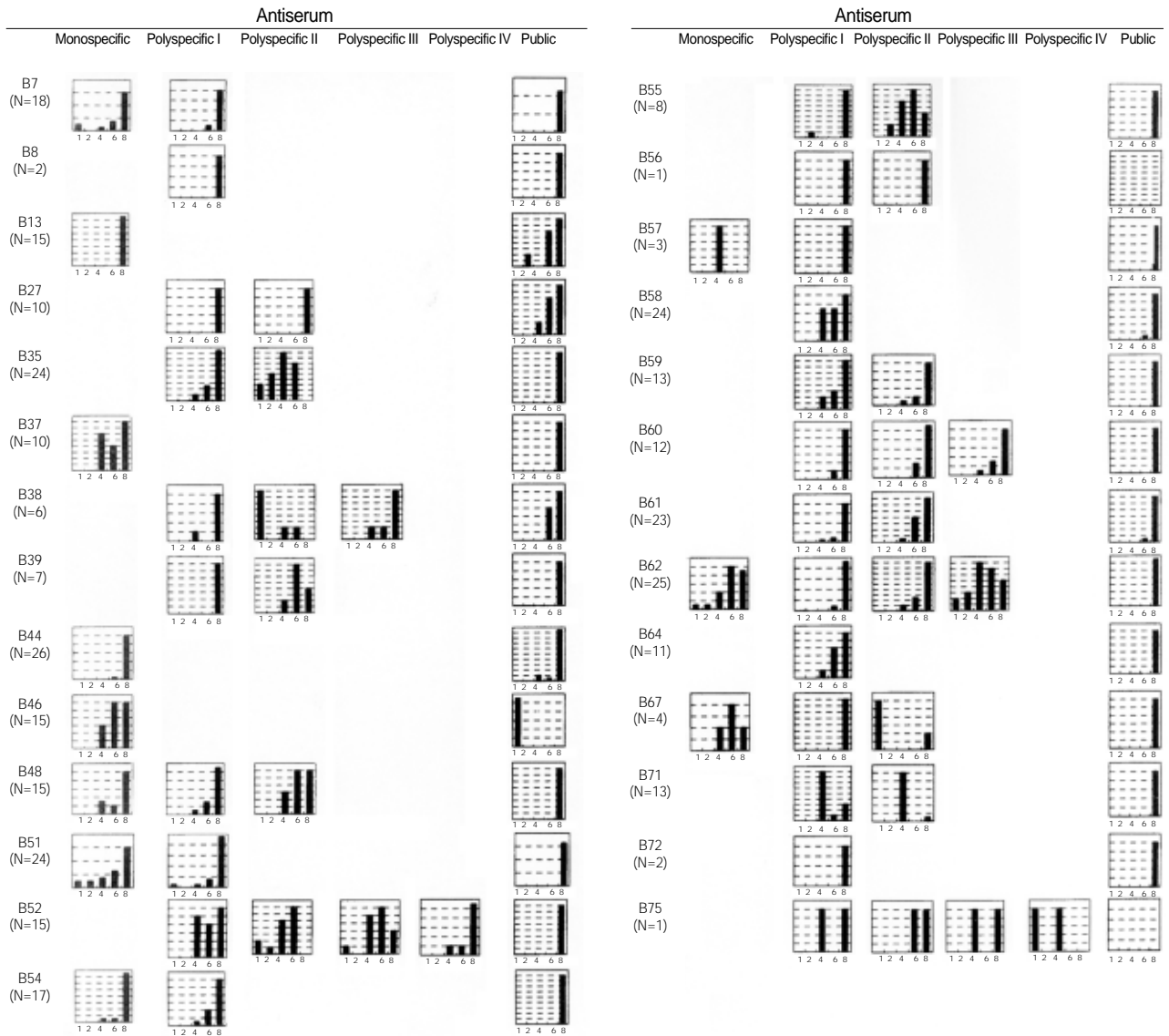


Fig. 2. Histogram according to reaction score of antisera for individual HLA-B antigen.

장기이식을 목적으로 한 검사가 대부분이고 한 가족이 검사를 시행한 경우가 많아서 부모형제간 형별을 비교할 수 있었기 때문이다. 미세립프구독성검사 판독시 정량화 지침이 있지만 판독자마다 양성과 음성의 구별을 다르게 할 가능성이 있고 한 검사실의 자료를 다른 검사실과 비교하는 것은 일반적으로 어려우나, 세포독성검사 판독의 숙련도 요구 수준에서 판독자간의 불일치는 항혈청 한 개 이상을 허용하지 않으므로[3] 다른 검사실에서도 참고할 수 있을 것으로 생각된다.

본 검사실의 성적을 양 등[4]이 보고한 One-lambda 키트의 성적과 비교하여 보았다. 직접적인 비교는 어려우므로 약화 빈도가 높은 항혈청을 순위별로 비교하여 볼 때, HLA-A의 경우 Biotest 키트에서는 A26과 A33 항혈청이었으나 One-lambda 키트에서는 A26, A30 항혈청이었다. HLA-C 항원의 경우

Biotest에서는 Cw5이었으나 One-lambda에서는 Cw6이었다. HLA-B 항원의 경우 Biotest에서는 B46, B58이었으나 One-lambda에서는 B60, B62이었다. B62는 Biotest에서도 빈도가 높았다. 두 제조원 모두 공통적으로 약화 빈도가 높은 일부의 항혈청은 한국인에서 유전자 빈도가 낮은 항원에 대한 항혈청은 아니었다. 따라서 항혈청의 반응성은 대개 제조원에 따라 좌우됨을 알 수 있었다.

HLA 항혈청은 대개 경산부로부터 만든 동종항혈청이 많이 이용되는데, 이것의 특징은 역가가 높은 것이 드물고 다특이성이거나 교차반응하는 항혈청이 있으며, 단특이성인 동시에 역가가 높은 것은 매우 드물다. 고역가 항혈청은 대개 다특이성이다. 기술적인 문제로 단클론항체는 생산하기 힘들고 많은 항체가 보체를 고정하지 않아 미세립프구독성검사에 사용될 수 없지만 현재 특

이성을 가진 단클론항체가 일부 사용되고 있다[5]. Biotest사 상용키트에는 모두 6개의 단클론항체가 사용되었으며 반응 강도는 비교적 높은 편이었다. 신뢰성 있는 판정을 하기 위하여 한 항원마다 그에 대한 특이성을 가진 3개 이상의 항혈청을 사용하도록 구성하는 것이 필수적이다. 그러나 이 요건은 드문 항원에서는 적용하기 힘든데, 단특이성이며 강한 반응을 보이는 질 좋은 항혈청을 얻기가 힘들기 때문이다. 따라서 반응성이 다양한 다특이 항혈청을 이용하여 배제에 의한 판정(exclusion typing)을 할 수 밖에 없다. 본 연구에서 어떤 경우에는 exclusion typing도 불가능하여 DNA 방법을 사용하여 판정하여야 했다. 예를 들면 B60과 B61의 구별은 B61과 B48에 반응하는 다특이 항혈청의 반응 유무에 의해 결정되는데 HLA-B 항원의 다른 대립유전자로 B48을 가지고 있어 이 항혈청의 결과를 판정에 이용하지 못하는 경우였다.

다양한 혈청학적 반응양상의 원인으로 항원결합 홈(groove)에 결합된 항원성 peptide의 다양성, 세포 표면 표현 수준의 차이, 다른 HLA 항원에 대한 항혈청과의 교차반응 등의 보고가 있다 [6, 7]. 따라서 정확한 판정을 위하여 사용하는 항혈청의 반응성과 특이성을 숙지하는 것이 필요하다. 상품화된 항혈청의 반응성에 대한 개요는 test result catalogue에 제시되어 있다. 'Weak reaction' 이라고 표기하는 경우는 어떤 혈청, 특히 split이나 매우 드문 항원에 대한 단특이 항혈청이 4점이나 6점으로 반응할 경우 쓰고 있다고 한다. 본 연구에서 혈청학적 반응성이 제조회사에서 weak reaction으로 표기하지 않았는데도 약한 반응을 보이는 몇몇 항혈청을 발견할 수 있었다. 이 차이가 검사실에 따른 차이인지, 한국인의 특이 양상이 포함되어 있는지, 아니면 연구 대상인 검체수가 충분하지 않아서 통계학적 의미가 적은 차이인지 불분명하다. 또 약한 반응 강도를 보였던 항혈청들의 제조원에서 제시한 % strong reaction이나 r-value (Table 5)와 본 연구의 결과와 뚜렷한 상관관계는 발견하기 어려웠다. 따라서 각 항혈청의 반응성에 대하여 제조원에서 제공한 자료를 그대로 적용할 수 없으므로 검사실 스스로 통계를 내야 할 것으로 생각된다.

어떤 항혈청에서는 동형접합 세포에서 유전자 용량 효과를 관찰할 수도 있다고 하나 본 연구에서는 전체적으로 동형접합체와 이형접합체간의 반응강도의 차이는 분명하지 않았다. A2 단특이 항혈청을 보면 8점미만의 약화 빈도가 이형접합체 31% (N=17), 동형접합체 33% (N=16)으로 차이를 발견할 수 없었으며, 반응 강도가 약했던 항혈청인 A33 단특이 항혈청에서 동형접합체 4예의 반응 점수를 보면 4점 2예, 8점 2예로 평균 반응

강도가 이형접합체(총 24예 중 4점 11예, 6점 7예, 8점 6예)에서와 의미있는 차이를 발견할 수 없었다. 반응 강도가 역시 약했던 B62 다특이 항혈청 3에서도 동형접합체 4예의 반응 점수는 1점, 2점, 6점, 8점 1예씩이었고 이형접합체는 총 21예 중 1점 1예, 2점 2예, 4점 8예, 6점 6예, 8점 4예로 역시 마찬가지로 양상이었다.

한 동종항혈청은 여러 종류의 항체를 포함하지만 표준 검사 조건하에서 여러 항체가 함께 반응하여 항혈청의 궁극적인 특이성을 나타낸다. 그러나 특이성이 알려진 단특이 혹은 다특이 항혈청이 다른 검사 조건이나 항원의 동형접합때문에 다른 HLA 항원과도 반응할 수 있다[8]. 따라서 항혈청의 교차반응도 판독 해석에 중요하다. 본 연구에서 extra reaction의 빈도가 높은 항혈청을 가진 항원은 같은 CREG인 항원에 대한 항혈청이거나(A30의 경우 A31에 대한 항혈청, B64의 경우 B65에 대한 항혈청) 교차반응이 빈번한 것으로 알려진 항원을 동정하는 항혈청(B48의 경우 B60, B61에 대한 항혈청)이었다. 그러나 A2 동형접합체의 경우 A28 항혈청과 교차반응이 있을 수 있다고 알려져 있으나 본 연구의 16예에서는 교차반응을 검출할 수 없었다.

Test result catalogue에 'sometimes missing'으로 표기된 항혈청의 반응성은 강양성 빈도와 평균 강도가 낮았다. 이 용어는 해당 항원을 가짐에도 드물게 어떤 사람에서는 음성 반응인 경우가 있는 항혈청에 대하여 표기한다고 하는데, 그 항원에 대한 드문 대립유전자가 일으키는 현상으로 보고 있다. 그러나 본 연구에서 해당 경우를 종합해 보니 양상이 'weak reaction'으로 표기된 항혈청과 다른 점은 발견할 수 없었다.

B46은 Bw6에 속하나 이 항혈청에 대한 반응은 'missing'으로 표기되어 있고 실제로 다른 대립유전자의 public antigen이 Bw4 이어서 순수 Bw6만의 반응을 확인할 수 있었던 11예에서 모두 음성이었다. Bw6 항혈청에 대하여 extra reaction을 보이는 B38의 6예의 경우 다른 대립유전자의 public antigen도 Bw4인 1예가 있었는데 Bw6가 8점의 강양성을 보였다.

Cw14 항원은 exclusion typing에 의해 판정되는데 항혈청의 강도는 약한 편이었다. 이 등[9]의 연구에서 DNA 방법으로 검사하여 우리나라 사람에서 Cw*14 대립유전자의 빈도가 없었던 것으로 보고하였으나, 본 연구에서는 혈청학적으로 Cw14로 판정되는 경우가 드물지 않았으며(항원빈도 약 6%) PCR-SSP 검사로도 Cw*14임을 확인할 수 있었다. 일본인들에서 A33, B44, DR13 및 DQ1과 강한 연관을 가진 Cw*1403이 보고되었으며 [10, 11] 본 연구에서 30예를 조사한 결과 B항원은 모두 B44 혹은 B51을 가지고 있었으며 A33, B44를 모두 가진 경우가 13예이었다. Cw14는 '99 HLA 명명법에 정의되지 않았으나[12], One-lambda tray에는 Cw14를 판정할 수 있도록 항혈청이 구성되어 있지 않으므로 이 점은 Biotest사 키트의 장점으로 볼 수 있을 것이다.

상용키트 tray의 로트가 바뀌어도 각 항혈청의 고유번호, 즉 기증자는 바뀌지 않을 수 있다. 상용키트 tray의 로트나 항혈청의 고유번호가 바뀌는 경우, 검사 건수가 작은 검사실에서 단기간에

Table 5. Partial data of test result catalogue concerning monospecific antisera

	A26	A31	A33	B37
% score 8	100	98	100	100
r-value	0.916	0.843	0.899	1.000

항혈청의 반응성을 파악하기 어려우므로 같은 상용키트를 사용하는 국내 다른 검사실에서 참고할 수 있도록 자료를 교환할 수 있는 체계가 필요할 것으로 생각된다.

결론적으로 HLA 형별검사를 위한 상용 항혈청의 반응성에 대하여 제조원에서 제공한 자료를 그대로 적용할 수 없으므로 검사실 스스로 반응성을 조사하여 통계화해야 하고, 이 통계는 같은 상용키트를 사용하는 다른 검사실에서도 유용하게 사용될 수 있을 것으로 생각된다.

요 약

서론 : HLA 형별검사에서 항혈청의 질이 불만족스럽거나 혈청의 반응성에 대한 이해 부족으로 흔히 어려움을 겪게 된다. 상용 항혈청은 사용할 각자의 검사실에서 적용되는 조건하에서 검증을 받아야 한다.

방법 : 장기이식 수여자 및 공여자의 HLA 형별검사 약 300건 중에서 선정하여 항혈청의 반응성을 평가하였다. Lymphotype HLA-ABC-72 oriental, 로트 7220999와 7230100 (Biotest, Germany)를 사용하였다.

결과 : 반응성이 비교적 약한 항혈청에 대한 항원은 A26, A33, Cw5, Cw14, B46, B58, B64, B71 등이었고, 이 중 일부는 test result catalogue에 'weak reaction'으로 표기되어 있지 않았다. 'Extra reaction'이나 'sometimes missing'으로 표기된 항혈청 각각의 반응성은 다양하였다.

결론 : 항혈청의 반응성에 대하여 test result catalogue의 것 뿐만 아니라 각 검사실에서 직접 조사한 자료도 필요하다. 이 자료는 같은 상용키트를 사용하는 검사실에서 정확한 결과 해석에 도움이 될 것으로 생각된다.

참고문헌

1. 박명희, 황동희, 김병철. HLA 검사 신빙도조사 결과(1996-1998년).

대한임상병리학회지 1999; 19: 714-22.

2. 박명희 및 황동희. 전국 HLA 검사실 현황 설문조사(1997). 대한임상병리학회지 1998; 18: 650-9.
3. Hackel E. HLA typing. In: McClatchey KD, ed. *Clinical laboratory medicine*. Baltimore: Williams & Wilkins, 1994: 771-812.
4. 양윤선 및 김대원. 제대혈의 HLA class I typing. 대한임상병리학회지 1999; 19: 542-7.
5. Johnson AH, Hurley CK, et al. Human leukocyte antigen (HLA): The Major histocompatibility complex of humans and transplantation immunology. In: Henry JB, ed. *Clinical diagnosis and management by laboratory methods*. 19th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1996: 958-79.
6. Catipovic B, Porto JD, Mage M, Johansen TE, Schneck JP. Major histocompatibility complex conformational epitopes are peptide specific. *J Exp Med* 1992; 176: 1611-8.
7. Lee KW, Steiner N, Hurley CK. Clarification of HLA-B serologically ambiguous types by automated DNA sequencing. *Tissue Antigens* 1998; 51: 536-40.
8. Svejgaard A, Kissmeyer-Nielsen F, Thorsby E. HLA typing of platelets. In: Terasaki PI, ed. *Histocompatibility testing 1970*. Copenhagen: Munksgaard, 1970: 153-63.
9. 이용화 및 양윤선. 한국인에서 혈청학적 방법과 PCR-SSP로 실시한 HLA-Cw 형별검사의 비교. 대한임상병리학회지 1999; 19: 239-45.
10. Ando H, Mizuki N, Ando R, Miyata Y, Miyata S, Wakisaka K, et al. HLA-C genotyping in the Japanese population by the PCR-SSP method. *Tissue Antigens* 1996; 48: 55-8.
11. Wang H, Tokunaga K, Ishikawa Y, Lin L, Kashiwase K, Nakajima F, et al. A new HLA-C allele, Cw*1403, associated with HLA-B44 in Japanese. *Hum Immunol* 1995; 43: 295-300.
12. Schreuder GM, Hurley CK, Marsh SG, Lau M, Maiers M, Kollman C, et al. *The HLA dictionary 1999: a summary of HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5, -DQB1 alleles and their association with serologically defined HLA-A, -B, -C, -DR, and -DQ antigens*. *Hum Immunol* 1999; 60: 1157-81.