

# 特集 第6回 日本組織適合性学会大会

## トータルレポート

### 「第6回日本組織適合性学会大会を終えて」

防衛医科大学校 検査部 小林 賢

第6回日本組織適合性学会大会が平成9年4月25日(金)、26日(土)の二日間にわたり東京の平河町にある砂防会館で開催された。大会は7月頃に実施されるのが恒例であるが、今回は大会長の都合で例年よりも3ヶ月ほど早い時期に開催することになった。また、前大会が第12回国際組織適合性ワークショップ・会議(フランス)などの関係から開催が9月にずれ込んでいたこともあり、この2大会の間が7ヶ月ほどしかなく、演題の準備などで学会員のみならずには多大なご迷惑をお掛けしてしまった。それにもかかわらず多数の参加と演題を提出していただきから感謝している。

今大会の参加総数は237名と前回(262名)よりも一割ほど減少していたが、私たちの予想を上回るものであった。演題の応募数は52で前回、前々回と同程度であった。また、それらの内容も非常にレベルの高いものであり、また広い分野に跨っていた。主催者側としては非常にうれしく思っている。

今大会のテーマは「組織適合性の展望」と「精度管理」であり、今までの大会では一度も取り上げられたことのない問題である。今後のためにも、この大会で議論しておいた方がよいと考え、この二つをテーマとして選択した。一つ目のテーマである「組織適合性の展望」については、

世界的な観点からと、日本国内からと、二つの異なる立場でそれぞれ考えてみたいと思い、前者をカリフォルニア大学ロサンゼルス校のTerasaki先生に、また、後者を柏木登(北里大学)、十字猛夫(日赤中央血液センター)、笹月建彦(九州大学)、徳永勝士(東京大学)先生にそれぞれお願いし、特別講演、シンポジウムの形式で講演してもらった。

初日(25日)は、一般演題を中心として開催した。参加者は朝早くから非常に熱心に演題を聴かれ、活発な討論が行われていた。会場もほぼ満席状態でほとんどの人が終了まで熱心に勉強されていたようであった(写真1)。



写真1

午前中の一般演題は移植・輸血、抗原認識・ペプチドと疾患感受性が中心に行われた。その中でも特に興味の引かれた演題が2つほどあった。それは、京都府赤十字血液センターの丸屋悦子先生の「日本人のCD31多型とHLA一致同胞間骨髄移植のAcute GVHDとCD31多型の適合性との相関—CD31は‘Major’ minor histocompatibility antigenか?—」と奈良県立医科大学の石谷昭子先生の「HLA-EおよびHLA-Gの発現とそれらの結合ペプチドについて」である。今大会の試みとして、優秀な演題をプログラム委員会で選考し、表彰状などを授与することとしたが、丸屋先生の演題は優秀賞として、また、石谷先生は最優秀賞として選考され、懇親会の席上で表彰された(写真2)。



写真2

丸屋先生の演題は、CD31タンパク質(脚注1)には多型性が存在し、その適合性と急性GVHDとの間に有意な相関関係が認められたというものである。さらに、HLA-A24を有している患者でCD31不適合だと全員に急性GVHDが認められたという内容であった。

石谷先生の演題は、HLA-E抗原分子に結合しているペプチドは共存する他のクラスI分子のシグナルペプチドであったのに対し、胎盤から抽出したHLA-G抗原分子に結合していたペプチドはサイトカインレセプターのシグナルペプチド様のものであったという内容であった。

午後はクラスI、クラスII、疾患感受性、異種MHCを中心にして演題発表が行われた。クラスIIに関しては、主にタイピング方法が中心であったが、全体的にこのような内容の演題は減少傾向にあるようだ。クラスI遺伝子の構造に関しては4演題すべてが東海大学からのもので、椎名隆先生が中心となって行われた仕事であった。かなり広範にわたるクラスI遺伝子領域をシークエンスされ、貴重なデータを提供してくれた。彼の演題も優秀賞

として選考されている。

疾患感受性では、国立循環器病センターの佐田正晴先生の「無精子症とHLA」という演題に私は興味を引かれた。この相関はかなり強いもので、どのようなメカニズムで精子の産生にHLAが関与し、そのタイプだと精子をなくしてしまうのか、とにかくおもしろい内容であった。過去にいろいろな疾患との相関が研究されてきており、ほとんどやり尽くされたかと思っていたが、このように強い相関を示すものがまだ存在していたということは驚きである。

異種MHCには9題もの応募があった。今大会が今までの大会と大きく異なる点である。そういう意味でいうと、今大会の演題内容は、非常に多彩なものであったといえるのではないだろうか。提出された動物もウズラ、イヌ、ブタ、ミニブタ、ウシ、ヒツジとバラエティーに富んでいた。その中でも理化学研究所の間陽子先生のグループからは4題発表していただいた。日頃ヒトを対象にしている私どもにとっては非常に新鮮な雰囲気で開催だと思うし、勉強になった。この4演題の中から、一番若い竹嶋伸之輔先生に優秀賞が授与された。

二日目の26日はクラスI、MIC遺伝子、クラスII遺伝子が中心であった。その中でもMIC遺伝子に関して4題の講演があった。信州大学の太田正徳先生は、MIC-A遺伝子にはエクソン5内にGCCTの繰返し配列があり、その多型性がHLA-B抗原と強く相関するということを示してくれた。このことは東京医科歯科大の木村彰方先生によっても確認されて、今回の学会で報告されている。

最後の演題として東海大学の猪子英俊先生からHLA遺伝子の進化についての報告があり、私たちにすばらしいロマンを提供してくださった。

特別講演については前述したようにカリフォルニア大学ロサンゼルス校のTerasaki先生に「HLAの過去・現在・未



写真3



写真4

来」というタイトルで一時間の講演をお願いしていた。HLAの歴史は40年ほどになるわけで、この間にHLA学が歩んできたことや、Terasaki先生が考えられている将来像を話して戴いた(写真3)。

過去の話の途中では30数年前の写真がスライドに映し出されたのだが、聴衆の方々はそれが誰だかまったく分からなかったようで、Terasaki先生から「これは関口先生です」という説明で一斉にどよめきが始まるくらいであった。将来像としてTerasaki先生は腫瘍免疫とMHCとの関連に興味がお有りのようであった。

大会最後のスケジュールとして「HLAタイピングのQC」というタイトルでワークショップが開催された。今までの大会では一度も取り上げられてこなかったテーマであるが、実際にタイピングされている方にとっては大変大切なことだと思われる。今回は大会が主催して、実際に参加施設にDNAを配布し、各施設が実際に使用している方法でタイピングを行ってもらった。

結論的にいえば、一つの方法でタイピングを実施しているラボほどミスが多いようであった。すなわち、DNAタイピングでHLAを決めるには複数の方法を併用すべきであると思われた。今大会でQCワークショップを初めて開催したわけであるが、タイピングされている方々の励みになればと考え、技能賞を授与した。参加施設の内、すべての遺伝子座をタイプし、成績の最も良かった施設は長野県赤十字血液センターでした(写真4)。おめでとうございます。

QCワークショップの詳細については日本組織適合性学会雑誌「MHC」Vol.4, No.2を参照していただきたい。

以上で大会は終了したわけだが、すべてのセッションで予定時間を過ぎてても討論が続いた為、初日は全体的に一

時間程度、二日目も45分程度の時間超過となってしまった。これも参加者の熱心なディスカッションによるもので、私たちとしては非常に盛況な良い大会だったと思っている。

その他にもランチョンセミナーを二日間とも開催し、一日中HLA漬けの状態となってしまった。参加されたみなさまに心から感謝します。大変ご苦労様でした。

来年度の大会は東海大学の猪子英俊先生の主催で平成10年7月16、17日に神奈川県足柄下郡箱根町にある湯本富士屋ホテルで開催される。会場は箱根登山鉄道箱根湯本駅から3分のところにある。偶には温泉に浸かりながら、のんびりと学会に参加されては如何でしょうか。詳しくはこの号の最後にご案内がのっているの、ご参照ください。

脚注1) CD31免疫グロブリン・スーパーファミリーに属する細胞接着分子の一つ。血管内皮細胞や血小板・白血球などに発現しており、血管内皮細胞などの細胞同士の接着や白血球・血小板などの血管内皮細胞への接着にも関与していると考えられている。細胞同士を結合させる支持機能に加え、CD31の発現は炎症部やリンパ節で高まっていることから、炎症組織への白血球の送り込みや血小板凝集にも関与していると考えられている。また、CD31はポリオ・ウイルス受容体と約30%の相同性があることからウイルスの受容体である可能性や、血小板由来増殖因子受容体、コロニー刺激因子受容体などと相同性が高いことなどからサイトカインの受容体である可能性が指摘されている。

## 「抗原認識・ペプチド」

奈良県立医科大学 法医学教室 石谷 昭子

第6回大会の一般演題「抗原認識・ペプチド」セクションについて簡単に紹介したい。このセクションは、4演題からなり、そのうちの3題は、HLA-DRの結合ペプチド、T細胞への提示、疾患との関係等について検討したものであって、他の1題は、いまだ機能の解明されていないHLA-E、-G分子の結合ペプチドについての報告であった。HLA-EおよびGについては一般にあまり知られていないので、その背景をも含めて若干の説明を加えた。

### ■ HLA-DR9トランスジェニックマウスにおけるヒトアセチルコリンレセプターペプチドの反応

小林博也ら・旭川医大第2病理

若年発症型重症筋無力症(MG)の発症に関わる抗原ペプチドを検索したものである。MGは、アセチルコリンレセプター(AchR)の $\alpha$ 鎖に対して自己抗体ができることにより発症するとされており、また、HLA-DR9と相関を示すことが知られている。そこで、AchR  $\alpha$ 鎖の全アミノ酸配列をカバーする、15個のアミノ酸からな

る76種のオーバーラッピングペプチドを合成し、このうちどのペプチドがDR9分子に結合してT細胞に抗原提示するかをDR9トランスジェニックマウスを用いて調べている。その結果、5カ所のペプチドに反応が認められ、それらのうち131-145番目のペプチドがMG発症に関わる抗原ペプチドであろうと結論づけている。

### ■ HLA-DRにより提示されたRasあるいはp53ペプチドに反応するヒトT細胞の解析

西村泰治ら・熊本大学免疫識別、他

Rasは癌遺伝子、p53は癌抑制遺伝子と呼ばれ、細胞の癌化には、これら遺伝子の変異が関係すると考えられている。この報告においては、Rasやp53蛋白を標的とするT細胞性抗腫瘍免疫応答が成立するかどうかについて検討している。胃癌患者の脾細胞から、ある変異Rasペプチド(p3-17 G12V)を認識して増殖し、抗腫瘍性のサイトカイン(INF- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , GM-CSF)を産生するT細胞クローンを樹立し、このクローンは他の変異Rasペプチドにも、また野生型にも反応することを示し

ている。

また、正常p53ペプチドに反応し、しかもいくつかの変異p53蛋白にも反応して上記サイトカインを産生するT細胞をも樹立している。そして、野生型p53蛋白はすみやかに分解されるのに反して、変異型蛋白は分解され難く細胞内に蓄積されるため、より多く抗原提示されることにより、正常なp53ペプチドを標的とするT細胞も、癌化をもたらす変異p53蛋白に対して反応するものと推測している。

### ■ HLA-DR $\beta$ 37残基の多型がT細胞による抗原ペプチドの認識に与える影響の解析

ChenYu-Zenら・熊本大学免疫識別

HLA-DRB1\*0403と0406との間に観察されるDR $\beta$ 37残基のTyr $\rightarrow$ Ser多型は、インスリン自己免疫症候群への感受性の形成に大きな影響を与える。本報告ではこのような微少な多型により生じるDR-抗原ペプチド複合体の微細な変化が、T細胞の応答にどのような影響を及ぼすか検討している。

自己のHLA-DRB1\*0406により提示された非自己ペプ

チドM12p54-68に特異的なT細胞クローンで、DRB1\*0403によっても活性化されるNYS-32クローンを用いて、このペプチドのアミノ酸残基を1個だけ置換した154種のアナログペプチドを抗原としたときのT細胞の増殖反応を測定している。その結果、抗原提示細胞上のDR分子の種類により、アナログペプチドに対するこのT細胞の応答は多様性を示したと報告している。

## ■ HLA-EおよびHLA-Gの発現とそれらの結合ペプチドについて

石谷昭子ら・奈良医大法医

HLA class Iは、class Ia (HLA-A,-B,-C)、class Ib (HLA-E,-F,-G)に分けられ、class Iaは多型性に富み、その機能としては内因性の抗原の提示、NK細胞活性の抑制を行っていることが知られているが、class Ibは多型性が著しく乏しいことは知られているが、その機能はいまだ解明されていない。

しかし、class Ibの中でもHLA-Gは、その蛋白としての発現が人体全組織中、母体と胎児の接点である胎盤トロホプラストに局在していることから、これがsemiallograftである胎児を母体が拒絶しないように保つ役割を果たしているものと推測され、脚光をあびてきた。一方、HLA-Eの発現については、T、B細胞や、幅広い組織にmRNAが発現していることは確認されているが、蛋白としての発現や機能についてはあまり報告はない。そこで我々は、これまでにHLA-GとHLA-Eに対するモノクロナル抗体数種類を作製し、これらclass Ibの発現と機能について、研究を進めてきた。本報告は、HLA-Gと-Eの機能を知るため、これらの結合ペプチドを調べたものである。

HLA-Gは、その特性の一つとして、膜結合性抗原(Gm)のみならず、可溶性抗原(Gs)をも分泌していることが知られている。このGmとGsのそれぞれに特異的な抗体を作製し、これを用いて胎盤の免疫組織染色を行い、トロホプラストの全面にGm、Gsのいずれか、あるいは両者が発現していることを明らかにした。他のHLA class Iaやclass IIが発現していないトロホプラストにおいて、HLA-Gのみが発現し、本来HLAが果たすべき役割を果たしているのではないかという推測のもとに、HLA-Gがどのようなペプチドを結合しているかを解析した。HLA-G遺伝子を導入した細胞株より抽出したHLA-Gは、class Iaと同様に、各種細胞内蛋白由来のペプチドを結合していた。

しかし、満期胎盤より抽出したHLA-Gの場合は、その結合ペプチドの大部分が、サイトカインレセプターのシグナルペプチド様のものであった。これは、HLA-Gがこのペプチドに特異的に親和性があるためか、あるいは、この時期の胎盤にサイトカインレセプターが大量に産生されているためかは不明である。しかし、少なくともHLA-Gはclass Iaと同様、内因性ペプチドを結合し得ることは明らかとなった。

HLA-Eは今までmRNAとしての発現は検出されていたが、抗体が無いと蛋白としては、検出されていなかった。また、HLA-E遺伝子をHLA欠損細胞株に導入しても、HLA-Gのように細胞膜上には発現されないため、HLA-Eは、蛋白としては、膜上に発現されないのではないかと考えられていた。しかし、HLA-Eの遺伝子のうち、シグナル配列のみをHLA-Aと入れ替えた、ハイブリッド遺伝子をHLA欠損細胞株に導入したところ、HLA-E蛋白は、膜上に発現された。そして、この細胞株から抽出したHLA-E蛋白を用いて、抗HLA-E抗体を作製した。この抗体を用いて、胎盤の組織染色を行い、HLA-Eも弱くではあるが全トロホプラストに発現していることが明らかになった。次にこのHLA-Eを発現する細胞の、HLA-E結合ペプチドを調べたところ、HLA-Aのシグナル配列であった。また、HLA-E遺伝子と、他のHLA遺伝子とを同時に導入しても、HLA-Eは発現され、その結合ペプチドは、同時に導入したHLAのシグナル配列であった。すなわち、HLA-Eは、他のHLAのシグナル配列のみを、ペプチドとして結合し膜上に輸送されるということが明らかにされた。このような特性は、HLA-Eの何らかの特殊な機能を示唆するものと考えられる。

# 「HLAタイピングのQC」

(株) エスアールエル免疫血清部 部長 小川 公明

学会の最後にHLAタイピングのQCワークショップが実施された。  
 今回はHLA-DNAタイピングのサーベーターが実施され多くの施設の参加がありQCに対する意識の高さが伺えた。  
 ワークショップでは最初に防衛医大・秦先生よりセルエクスチェンジの歴史的な説明がされた。

セルエクスチェンジは1974年から開始され、現在ではclass I DNAタイピングも追加され5シリーズで展開され国際的に重要な活動で有ることが報告された。HLAタイピングトレーメーカーの最大手であるワンラムダ社から、抗血清の特異性確定や品質の維持の努力が報告された。またユーザーの意見を謙虚に聞くことが大切とも語っていたので今後の発展を期待する。

日赤中央血液センター・田中先生とSRLの私が血清学を中心としたQCについて報告を行なった。

以下に要点をまとめる。

1. HLA抗血清の見極めが大切である。完璧な抗血清はほとんど存在しない、大切なのはHLA抗血清特異性を正しく把握することである。また不信な反応が認められる場合は確認するためのバックアップ用のトレーも用意する必要がある。複数の検査員で判定作業を行なう場合、全員が共通の認識を持つことが大切である。
2. 生存率の良いリンパ球を用いる。ダイナビーズは純度の良いリンパ球が熟練度にあまり影響されずに得られるので良い方法であるが、Lotにより回収数、純度に差があるので十分検定して使用する必要がある。

3. 補体の検定は、抗血清、補体をそれぞれ希釈して、新Lotと現在使用しているLotとを同時に同一リンパ球で比較検定を行なう。現在使用しているHLAトレーに対して反応性に問題の無いことを確認する。補体は同一Lotを長く使用することが多いため定期的に検定すべきである。
4. セルエクスチェンジ等に参加して、検査データの客観性を保持することも大切である。
5. 検査項目間の関連をする。血清学的タイピング、DNAタイピング、MLCの相関は常に注意して整合性を確認する必要がある。

東海大・猪子先生からHLA-DNAタイピングにおけるポイントについて説明された。

1. DNAの精製
2. 良いPCRプライマー設定によるPCR産物の特異的増幅
3. 決定した型について、頻度、他のサンプルの反応パターン、他ローカスとの連鎖、などからみた整合性

結論は、「習って、慣れる」であった。

表 1 タイピング方法

	DRB1 (n = 36)	DQB1 (n = 28)	DPB1 (n = 17)
RFLP	18	13	10
SSO	1	1	1
rSSO	18	15	7
SSP	12	4	1
SSCP	10	4	2
PFHA	0	1	0

防衛医大・小林先生よりHLA-DNAタイピングサーベ  
ーの結果報告が行なわれた。参加施設は大学関係11施  
設、病院関係9施設、目赤血液センター13施設、民間  
検査センター4施設の37施設が全国から参加した。検査  
方法も各ラボでかなり異なっていた(表1)。半数以上  
のラボが複数の検査方法で参加していた。サンプルは  
59ng/ $\mu$ l~140.5ng/ $\mu$ lに調整されたDNA6検体を用いた。  
Totalミスタイプ率はLow Resolutionで1.5%、High

Resolutionでは5.2%であった(表2・3)。DRB1、DQB1、  
DPB1のHigh Resolutionが6検体全て正解したラボは7施  
設であった。

判明したミスの原因は、判定ミス、プローブの不良、  
制限酵素活性低下、知識不足、転記ミスであった。ミ  
スタイピングを防ぐ方法として、複数の技術を保有す  
ることが小林先生より提案された。

表2 正解アリルとミスタイプ率  
(Low Resolution)

Sample #	DRB1 (n=36)	DRB3/4/5 (n=17)	DQA1 (n=11)	DQB1 (n=28)	DPB1 (n=17)	Total
H0901	*04 - 0 0	4*01 - 0 0	*03 - 0 0	*03 - 0 0	*02 *04 0 0	0
H0902	*04 *0901 0 0	4*01 - 0 0	*03 - 0 0	*04 *03 0 0	*0501 - 0 1 (6%)	1
H0903	*04 *04 0 1 (3%)	4*01 4*01 0 1 (6%)	*03 *03 0 0	*03 *03 1 (4%)	*02 *0501 1 (6%) 0	4
H0904	*13 *14 3 (8%) 0	3*02 3*01 1 (6%) 1 (6%)	*01 - 0 0	*05 *06 0 0	*0501 - 1 (6%) 2 (12%)	3
H0905	*04 *08 0 1 (3%)	4*01 0 0	*03 *01 0 0	*04 *06 1 (4%) 0	*02 *1901 2 (12%) 2 (12%)	6
H0906	*15 - 0 0	5*01 - 0 0	*01 - - 0 0	*06 - 0 0	*02 - 0 1 (6%)	1
正解施設数	32 (89%)	14 (82%)	11 (100%)	26 (93%)	11 (65%)	
ミスタイプ率	5/432 (1.2%)	3/187 (1.6%)	0/132 (0.0%)	2/336 (0.6%)	10/204 (4.9%)	20/1291 (1.5%)

表3 正解アリルとミスタイプ率  
(High Resolution)

Sample #	DRB1 (n=36)	DRB3/4/5 (n=17)	DQA1 (n=11)	DQB1 (n=28)	DPB1 (n=17)	Total
H0901	*0403 *0406 1 (3%) 0	4*0103 - 2 (12%)	*03011 - 0 0	*0302 - 0 0	*02012 *0401 0 1 (6%)	4
H0902	*04051 *0901 0 0	4*0103 - 2 (12%)	*0303 *0302 8 (73%) 3 (27%)	*0401 *03032 1 (4%) 0	*0501 - 0 1 (6%)	12
H0903	*0406 *0406 1 (3%) 3 (8%)	4*0103 4*0103 2 (12%) 1 (6%)	*03011 *03011 0 0	*0302 *0302 1 (4%)	*02012 *0501 1 (6%) 0	9
H0904	*1301 *1401 4 (11%) 3 (8%)	3*0202 3*0101 2 (12%) 1 (6%)	*0103 *0104 0 2 (18%)	*05031 *0603 3 (11%) 1 (4%)	*0501 - 1 (6%) 2 (12%)	19
H0905	*04051 *08032 1 (3%) 2 (6%)	4*0103 2 (12%)	*0303 *0103 8 (73%) 0	*0401 *0601 1 (4%) 1 (4%)	*02012 *1901 2 (12%) 2 (12%)	19
H0906	*1501 - 0 0	5*0101 - 0 0	*0102 - - 0 0	*0602 - 0 0	*02012 - 0 1 (6%)	1
正解施設数	28 (78%)	13 (76%)	3 (27%)	23 (82%)	11 (65%)	
ミスタイプ率	15/432 (3.5%)	12/187 (6.4%)	21/132 (15.9%)	8/336 (2.4%)	11/204 (5.4)	67/1291 (5.2%)

# 学会レポート



## 第45回 日本輸血学会総会

### 「HLAの進化、多型から臨床まで」

日本赤十字社中央血液センター 研究一課長 石川 善英

第45回日本輸血学会総会が平成9年5月21日から3日間、福岡市天神のアクロス福岡を会場として開催された。この13階建ての建物は公園に面した外壁が階段状で、各段に植木が植えられている。この階段を通り、福岡市内が見渡せる屋上に行くことができる。屋上が開放されるのは休日だけということであったが、会期中毎日快晴であったこともあり、この階段を上った人も少なくはなかった。

HLA関連の学会報告をしてくれと依頼を受けたが、輸血学会はもともとHLAの演題数が少ない学会である。それに加えて、つい一カ月前に組織適合性学会があったこともあり、HLAのセッションの演題数は8題のみであった。しかしHLAは輸血、移植において基礎であり、また中心テーマでもある。そこでHLAと関連する輸血後GVHD、放射線照射、またシンポジウム「HLAの進化、多型から臨床まで」について報告したい。

#### 一般演題

少ない演題数のなかでもDNAタイピングに関する発表が中心であった。感度の高いHLA抗体のスクリーニング法について2題の報告があった。いずれも血小板抗体のスクリーニングに使われていたMPHA法（福島医大・安田他）、MAIPA法（北海道血液センター・森下他）をHLA抗体に応用することにより、LCT法では検出できないHLA抗体が検出でき、血小板の輸血効果ともよく対応していた。

#### GVHDと放射線照射

輸血問題検討部会では「GVHDと放射線照射」と題して、全血液製剤に照射すべきか否かをメインテーマに、かなりactiveな議論がなされた。これまで輸血学会には何人も参加しているが、これほど盛り上がったシンポジウムは初めてであった。

輸血後GVHDの現況、血液センターの対応、病院側、

臨床医の立場からの意見が報告された。病院の立場から報告された福島医大の戸先生はラジカルな意見をとの要望があったこともあり、血液センターで全血液を照射して供給すべきだとした。しかし、血液の有効期限の短縮、照射血液の発癌の危険性などの問題がある。またそれにかかるコストが他の疾病対策とのバランスを欠くとの意見もあった。

昭和大学病院の草野先生は臨床医の立場で報告された。照射の判断が臨床医にまかされている部分があり、責任も取らされる立場にあるが、はっきりした指針がない。夜間の緊急手術など照射が必要だと分かっても対応できない場合がある。しかし一方で臨床医によってはGVHDに対する認識が充分ではなく、照射血の適応症と勧告されている症例でも照射せずに輸血している例が多々あるとのことであった。GVHDの一般演題としてGVHD発症例の87%が60歳以上の患者であり、また原病で見ると89%が外科手術例であることが報告された(中央血液センター；内田他)。すでに輸血学会の勧告として出されているリスクファクターの高い症例に照射血の使用を徹底すること、というのがまずは現実的な対応と思われた。

#### シンポジウム

東大・人類遺伝の徳永先生と京都血液センターの佐治先生をオーガナイザーとして、「HLAの進化、多型から臨床まで」と題したシンポジウムが開かれた。輸血学会ら



しからぬシンポジウムを企画したというだけあって、確かにこれまでの輸血学会では見られない内容であった。このシンポジウムに参加された方は輸血学会を再認識されたのではないだろうか。

まず総合研究大学大学院の高畑先生がシンポジウムのIntroductionを兼ね、MHCの起源、多様性の特徴について概説された。東海大学の猪子先生はヒトゲノムを精力的に解析されている。その結果、HLA遺伝子領域に相同性の高い領域が第1、第9、第19染色体に存在することがわかり、約4億年前のカンブリア紀に、2回の染色体重複によりゲノムが4倍化したとする大野乾先生の説を支持した。

余談になるが、私は進化論については素人である。したがってあまり根拠はないが、進化を扱った一般向けのテレビ番組などで見せている、魚が徐々に両生類や爬虫類のような形に変化して陸に上がってくるような進化は不可能だと思っている。ある本にはそれを無限に近い時間単位でおきたような書き方をしている。しかしそれではその中間の生物は水中で生きるにも陸で生きるにも不利であり、とても生存できるとは考えられない。それに呼吸だけでなく、陸を歩くための手足、乾燥に耐えうる皮膚、さらに新しい環境から餌を選び、捕まえ、消化する能力も同時に獲得できなければ生存はできない。またその個体の生殖年齢の間にある個体数が存在しないと新しい種として固定されないだろう。思い付くだけでもこれらが満たされなければ新しい種は生まれない。つまり小さな変異の積み重ねでは大進化は説明できないと考えている。

猪子先生はゲノムの4倍化がどのくらいの時間単位で起きたかは話されなかったが、先生の説は進化が一度に大きな変化として起きたとするものである。この説がすぐに大進化の説明に結びつくとは思えないが、このようなデータにうらづけられた説は大進化という夢をより現実に近いものにしてくれる。

東大・人類遺伝の徳永先生はHLAハプロタイプをアリルレベルで解析し、少なくとも頻度の高いハプロタイプは特定のアリルのセットから構成されており、しかも人類の進化を通して保存されているとした。つまり同じローカスの対立遺伝子の塩基配列を比較してみると、ある対立遺伝子は別の対立遺伝子から塩基あるいは数塩基の変異により形成されたように見える。しかし頻度の高いハプロタイプで見るとそのような機構で形成されたと思われるハプロタイプは見られない。HLA-Cローカスは血清学的にブランクが多いこともあり、多型性は低いと思われていたが、Aローカスと同程度かそれ以上に多型性に富んでいた。

さらに興味ある現象として、東京都血液センターの小笠原先生の赤血球のABO型を決めている遺伝子の解析結果について紹介された。O型を決めている遺伝子はnull遺伝子である。普通null遺伝子はヘテロ接合では生存と関係ないので、どのような変異でも生じ得ると考えられている。しかしO型遺伝子の場合、不思議なことにどの対立遺伝子も同じdeletionを持っている。

熊本大学の西村先生はインシュリン依存型糖尿病、重症筋無力症、多発性硬化症などの自己免疫疾患の機構をclass IIに結合する自己抗原ペプチドからきれいに証明した。

### 最後に…

輸血学会といえば懇親会に触れないわけにはいかない。ソラリア西鉄ホテルで開かれた懇親会はかなり広い会場であったが、立錫の余地もないほどの盛況であった。懇親会の始まる前から会場前の広間でドリンクサービスがあり、会が始まるころにはすでに出来上がっている人もいたようである。プロらしき司会の進行、かなりの数のチャイナドレスのコンパニオン、もちろん料理の質も量も申し分なかった。大会長が前田先生であれば当然であるが、全体を通して大成功の学会であった。

## 臍帯血幹細胞移植の現状と方向性

東京大学医科学研究所附属病院 輸血部  
前川 平

### はじめに

医科学研究所1号館2階西病棟に5床の無菌病室および15床の準無菌病室がある。病室の窓からは構内の庭園や樹木が望め、夕刻面会時間になると、家族がガラス越しに闘病生活を送っている夫や子供に話しかけている姿がみうけられる。患者は病に倒れる以前の健康なからだを取り戻すことを望み、社会復帰できる日を夢見て、苦しい治療に耐えている。完全に復帰できないまでも、少しでも現在の「生」の質を高めたいと思うのは、患者や家族のみならず、われわれ移植医療に携わる医師や研究者、看護婦、検査技師、コーディネーターたちにとって共通の願いである。

白血病をはじめとする造血器腫瘍の治療成績は、化学療法の進歩により改善されてはいるものの、再発難治症例やハイリスク症例に対しては骨髄移植(bone marrow transplantation:BMT)が唯一治療の期待できる治療法である。BMTにはじまった造血幹細胞移植療法は、末梢血幹細胞移植(peripheral blood stem cell transplantation:PBSCT)、さらには臍帯血移植(cord blood stem cell transplantation:CBST)へと発展してきている。ここでは最近その治療成績が注目されているCBSTの現状を把握し、解決すべき問題点と進むべき方向性を私見をまじえて述べてみたい。

### 臍帯血移植(CBST)の現状と 臍帯血(CB)バンク整備の必要性

1982年臍帯血(CB)のなかに造血前駆幹細胞が含まれていることが報告された。その後、CBには未分化で長期間造血を維持する能力のある幹細胞が、骨髄(BM)や末梢血(PB)にくらべてより多く含まれることが基礎研究により明らかにされ、幹細胞の源として移植に応用できる可能性が示唆されていた。1988年パリの聖ルイス病院ではじめてCBSTが行われ、その後世界的に見ると現在までに同胞間で約200例、非血縁者間で600例近くのCBSTが行われている。米国では最近1年間の非血縁者間造血幹細胞移

植の約20%をCBSTが占めている。わが国では1994年になりCBSTが行われ、いままでに非血縁者間移植の1例を含め16例が実施されている。欧米でCBSTが急速に発展してきた背景には、初期の移植成績がBMTにくらべて遜色ないものであったことのほかに、6,000検体をこえるCBを保存しているニューヨーク血液センターに代表される各国でのCBバンクの整備があげられよう。これらの成果をもとに、今年度は全米であらたに3ヵ所のバンクが15,000検体の保存を目標として稼働を開始し、欧州でもEUROCORDと呼ばれるバンク・ネットワークがあり30,000検体の保存を目標として活動している。わが国でも各地でCBバンクが発足しており、公的資金援助のもとにこれら在全国レベルでネットワーク化し、大規模な(わが国では少なく見積もっても約10,000検体の保存が必要)バンクの早急な整備が望まれる。

### 臍帯血移植(CBST)の利点と欠点 および検討すべき課題

CBSTの利点としては、①全身麻酔、骨髄採取、あるいはアフエーシスなどドナーの負担がない、②移植に最適な時期に on demand で、国内はもとより、要請があれば世界各地に on time に移植細胞を供給できる、③移植細胞がサイトメガロウイルス感染を受けている危険性が低い、④GVHDの発生頻度やグレードが低いことが期待される、⑤HLA 2-3座位不一致の移植を行ないうること、⑥後述するように、ドナーの母親のHLA検査ができればハプロタイプ推定が可能となり、HLA不一致の移植時に、よりマッチした移植細胞を供給できる、⑦未分化造血幹細胞がBMやPBより多く含まれると考えられる、⑧ex vivo 増幅の程度がBMやPBより大きい、⑨ドナーの入院費用や骨髄採取料がかからない、などがあげられる。一方、欠点としては、⑩CBの採取量に限りがあり、レシピエントに体重の制限が必要なこと、⑪移植後、とくに血小板の回復に時間がかかること、⑫HLAのデータだけで基本的に機能するBMバンクと異なり、CBバンクでは造血幹細胞自体を保存する必要があり、細胞の分離、凍結保存、およびウイルス、細菌検査などに費用がかかること、などが考えられる。これらの欠点を克服するために、⑩⑪に対しては、造血幹細胞あるいは造血前駆細胞のex vivo増幅の研究が進んでいる。⑫に関しては、十分な公的資金援助が必須である。

最近、Wagnerら、KurtzbergらによりCBSTの治療成績

を検討した報告がなされている。移植後の血球の回復に要する日数は、好中球 ( $>500/\mu\text{l}$ 以上) が中央値22日、血小板 ( $>5万/\mu\text{l}$ 以上) が中央値49日であり、とくに血小板の回復がほかの移植療法にくらべて遅い。対象は小児がほとんどだが、体重が40kgを超える症例が4例あり、79kgの白血病の少年 (15歳) にも  $1.1 \times 10^6$  個/kgの有核細胞が輸注されている。この少年の場合、採取されたCBは108mlあり、輸注されたCFU-GMは  $1.48 \times 10^6$  個/kg、CD34陽性細胞は  $1.14 \times 10^6$  個/kgで全症例の平均以下であるが、生着がみられている。CBSCTでは採取できるCBの量に限りがあり、一般的に体重30kgまでの小児が対象であるとされているが、生着に最低限必要な有核細胞数、CFU-GM数、CD34陽性細胞数などはまだ明らかにされていない。CB中の造血幹細胞の特質を考慮すると、BMT、PBSCTなどより生着に必要な細胞数は少なく済むと考えられる。現在、造血前駆細胞の増幅はかなりのレベルまで可能となっており、一部をex vivo増幅し、増幅前のCBとともに移植できれば、好中球や血小板の回復遅延を是正できるのではないかと期待される。顆粒球系コロニー刺激因子のほかに、トロンボポエチンも造血前駆細胞の増幅に有効であることから、in vivoのみならず、ex vivoでの効果も期待される。また、複数のCBを同時にもちいることも将来的には検討されよう。

急性あるいは慢性移植片対宿主病(GVHD)の発症頻度に関しても、CBSCTは非血縁者間BMTに比べるとその程度は軽く、ステロイド単独でコントロール可能であるとされている。また、HLAクラスII抗原の不一致度と急性GVHDの発生頻度との相関はなく、どの程度の不一致まで許容されるかも十分に検討されなければならない。CBSCTにおいては、HLAの不一致度と移植片対白血病(GVL)効果、ひいては再発率との関係なども緊急の検討課題である。その意味から、CBからのリンパ球系細胞の増殖と分化に関する検討も今後重要となると考えられる。われわれはCBからBリンパ球の分化・増殖を支持するin vitro培養系をあらたに開発し検討中である。

## 臍帯血移植とドナーの母親のHLA検査

HLA不一致の移植を考慮した場合、CBTではインフォームド・コンセントが得られればドナーの母親のHLA検査も行ったほうがよいと考えられる。母親のHLAが分かれば、CBのハプロタイプが推定ができる。HLA不一致移植を実施しなければならない条件では、CBのハプロタイプが事前に判明しておれば、よりマッチした移植細胞を選択することが可能になるからである。BMTやPBSCTでは、ドナーの母親のHLAも調べることはまず不可能である。実際、HLA 2ないし3座不一致のCBTを受けたがGVHDの程度が軽かった症例では、母親側のHLAは異なっているが、父親側は一致していたことが報告されている。公的資金援助や健康保険による負担が行われるようになることとを考慮すると、今から積極的に検討すべき課題と思われる。

### おわりに — 今後の方向性

造血幹細胞移植により多くの尊い人命を救うためには、細胞移植法のなかでCBSCTの位置づけに必要なデータの収集と精密な検討、および世界的にネットワーク化されたCBバンクの整備が必要であることは言うまでもない(図1)。現在、同種造血幹細胞移植療法として、BMT、PBSCT、およびCBTが行われているが、一長一短があり、今後、病態や病期によりどの細胞移植療法が患者個人個人にとって最も適切かを検討してゆかなくてはならない。HLAの多様性は、言い換えれば、患者個人個人の最適な治療法とはオーダーメイドであるべきだということであろう。多くの患者が重篤なGVHDに苦しめられているのを目のあたりにすると、HLAの多様性を消す方法がないものかと思うこともある。しかし、こればかりは、人間ひとりひとりの個性をなくせということでは不可能である。そうであれば、膨大なデータからHLAの多様性を考慮しつつも、最大公約数的な治療法をできるだけ多く編み出し、オーダーメイドに限りなく近い治療法を追求してゆく以外に方法はないであろう。そのためには、臨床経験から得られる貴重なデータをひとつも無駄にすることはできない。臨床試験に関して、ICH(International Conference on Harmonization)-GCPの概念が導入されているが、当然CBSCTの治療成績の評価にも同様の考え方が必要となる。世界的に通用するデータを残らず登録して検討することにより、CBSCTのとるべきスタンスを明確にし、その適応基準を効率的に確立してゆく必要がある。

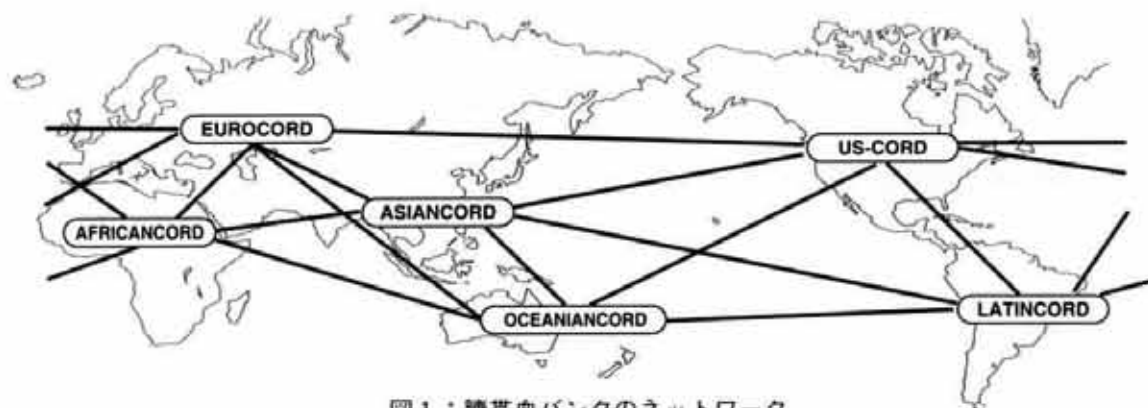


図1：臍帯血バンクのネットワーク

# 知ってる つもり!?

..... HLA抗原のルーツ 11 .....

## 血清学的に発見されたHLA抗原の歴史

東京東赤十字血液センター 検査課 長谷川 隆

私がHLAに携わってきたのは、ほとんどが赤十字の血液センター内部だけで、先にこのシリーズに登場された日本のHLAに大きな影響を与えてきた著名な先生方のように語れるキャリアや実績も無く、「ほんとに、私でいいの?」と思っているのですが(私にまで順番がまわってくるのは、たいぶネタが尽きてきたから、と言う噂もあります)、同じように血清学に付き合ってきた柏瀬さんに推薦して頂いたので、ほんの少しでも読者の皆さんの参考になればと思い原稿を引き受けましたが、内容が物足りない点のご勘弁下さい(話は全て東京南血液センターにいた頃のことです)。

### 私とHLAのつきあい

私がHLA検査を始めたのは1988年の6月頃で、当時は当血液センターでも成分献血が少しずつ軌道に乗り、HLA適合血小板の供給(もちろん、まだ薬価は付いていません)が細々と行われつつありました。前任者が九州は熊本の山奥へ帰ることになり、この仕事を担当するようになったのですが、それまでHLAに関しては、白血球の血液型ということしか知りませんでした。リンパ球の分離、LCT法、判定、全てに不馴れでしたので、エオジンで手は赤く染まり、トレイの鏡検は行ったり来たりで終わらず、白と黒のリンパ球が験の裏に焼き付いている(この鏡検で、目が悪くなる人がけっこういます)という毎日で、HLAの最大の特徴である抗原の多さと交差反応になかなかじめませんでした。

始めて3ヶ月ほどで中央血液センター管内HLAワークショップ(以下、中央管内WSと略)の会議でWSデビュー?をかざったのですが、初めて見るセログラフに、「この棒グラフはいったい何?」と考えていたのは私一人のようでした。半年ほど過ぎ、ようやく抗原名、交差反応性、haplotypeが頭に入りだし、HLAの仕事に面白味を感じてきました。

二度目の中央管内WSの場で、初めて神奈川センター中島さんにお会いして、良い血清を多数

提出されていることに驚きました。その後、中島さんには貴重な抗血清を多数頂戴し、抗血清の収集法についてずいぶん教えて頂きました。

WSを何度か経験し多少の知識を得ると、「より細かく抗原を決めたい」、「良い血清を集めたい」、なんてことをだんだん考えてきます。

スプリット、ブランクを決める抗血清の話に聴き耳をたて、手に入れたらパネルを決め、自分の所の抗血清の特異性を洗い直し、スクリーニングに使う血清を探す。こんな作業に没頭しだすと、いわゆる「血清学にはまった」と言う状態です。この頃は面識の無い方々にもずいぶん手紙を書いたりして抗血清を集めました。血清学の世界は面白いもので、どのくらい血清を持っているかによって立場が違ってくる?こともこの頃解ってきました。さらに、「セロロジストが一種オタク的な人種である」ことにも気付いたのですが、自分もその中にずるずると入り込んでいたことにはなかなか気付かなかったのです...。つまらないことを長々と書いてしまいましたが、そろそろ本題に入りたいと思います。

今回は、HLA抗原のルーツというよりも、日本人に存在するまれな抗原について紹介したいと思います。

**【B27KH】**

B27は、皆さんご存知のように日本人には低頻度(約0.4%)にしか存在しない抗原ですが、外国人献血者のタイピングをしていると結構お目にかかります。強直性脊椎炎と強い相関を示し、HLAと疾患感受性ということで大変に有名な抗原です。HLA適合血小板のドナープールを増やすために、日本人献血者のタイピングに日々明け暮れていたときに、B locusがB51とB27のはずなのに、長いB40抗血清(B60+B61+B48+BFU+αの様な)やBw6抗血清の一部にも反応してくる人を見つけました。ちなみに、その他のLocusも含めたHLA型は、A24, A31, B51, B27?, Bw4, Bw6?, Cw10, Cx4451, DR4.1, DR8.1, DR53, DQ6, DQ4でした。「どの抗原が原因でこんな反応をするのか?」、過去のタイピングの反応データを見直してみると、外国人献血者の一例に似たような反応がありました。そのHLA型(A11.1, A33, B44, B27?, Bw4, Bw6?, Cw7)から、共通点であるB27が浮かび、血清学的に明らかに違うB27抗原があることを確信しました(この頃は知らなかったのですが、海外ではB27抗原を細分するmonoclonal抗体やアロ抗血清について以前から報告されていました)。それで、日本人献血者のイニシャルをとってB27KHと仮に名前をつけました(ネーミン

グについては、迷ったのですが、発端者から取っておくのが後々無難?だろうという弱気からでした)。

当血液センターではこれ以上の検討が進まずにいたのですが、1994年度の中央管内WSでB27のalleleタイピングが実施されて道が開けてきます。このWSの血清学的な解析で、当血液センターの提出したB27KHパネルと同様に反応するB27が他に2パネル(外国人献血者由来)見つかりました。また、このWSでは、B27に対し高いS.I値を示すのに上記の3パネルには全く反応しない抗血清22061(B22+B22N+B67+B42+B27)が見つかり、B40抗血清に対する反応とは相補的でした(表1)。alleleタイピングの結果、通常のB27からは、B\*2702, B\*2704, B\*2705, B\*2706が検出されました。一方、B27KHは、外国人由来の2パネルがB\*2707でしたが、日本人由来のパネルはSSOP反応パターンから未知のalleleであるとされました。B\*2707は、タイ、インドなど東南アジアに存在するまれなalleleで、文献的には一次元電気泳動及びB27関連抗血清ではB\*2701-B\*2706と区別できず、CTLクローンの反応性で区別できたとされていましたが、前述したように血清学的にも区別可能でした。このWSでのラッキー

表1 HLA-B27, B40関連抗原、抗血清の反応パターン

Antiserum No.	Antigen							Other Specificity
	B27KH	B27	B40	B48	BFU	B7	B42	
18K681	-	-	-	-	-	+	+	
18K572	+	+	-	-	-	+	-	B73
DCH6465	±	+	-	-	-	-	-	
PMH91-1	+	+	-	-	-	±	±	
220612	-	+	-	-	-	-	±	B22, B67
110950	+	-	+	+	+	-	-	B*0705 <sup>a)</sup>
601192	-	-	+	+	+	+	-	
641698	+	-	+	+	+	+	-	
1924786	+	-	+	+	+	+	±	B13, B41

<sup>a)</sup> B7抗原の中でB\*0705にのみ反応を示す

な成果により、中央血液センターの十字先生、徳永先生（現東大 人類遺伝学講座教授）のおかげで、この日本人由来のB27KHのsequence作業を行える運びとなりました。ところが世の中なかなかうまくいかないもので、この献血者は卒業後引越したために連絡が取れなくなり、いろいろと手を尽くしてもらいやっと連絡が取れ採血ができたのは3ヶ月も後でした。やっと手にいれた血液から生まれて初めてのsequence作業で、その際には、中央血液センターの小川先生に大変々々お世話になりました。RNA抽出、DNA合成、PCRの方法、ゲルの作り方、DNAの精製、クローニング、培養、泳動チェックの方法、自動sequencerの使い方、解析法、etc. etc.。教えあげたらきりがなくらいに、手取り足取り教えて頂きました。それまでDNAを扱ったことが無く、文献的にしか知らなかったことを体験できて、非常に有意義でした（あくまで本人にとってはと言う意味で、小川さんの貴重な時間をずいぶん戴きました）。実験作業そのものは、週2-3日のペースで行って、1ヶ月ちょっとで終了したのですが、その後のデータ解析に、手順的に不慣れなせいと本人の能力不足が相乗効果を発揮し、大幅に時間が懸かり、WHO HLA Nomenclature Committeeから正式にallele名(B\*2711)を貰ったのは、実験を開始してから11ヶ月後でした。また、この献血者を見つけてから数えると、実に3年11ヶ月という時間が過ぎていました。この、研修？を通じて感じたのは、ひとつのalleleをsequenceするための仕事量の多さです。もっと作業的に自動化されているものと思っていたのですが、人手によるところが大きく、今現在の多数のalleleの裏には、多大な人数と膨大な時間が潜んでいることを痛感しました（最近では、どんどん自動化されてきているようですが）。

Sequenceの結果から分かったことは、B27KH(B\*2711)と同じ血清学的反応を示していたB\*2707とは2塩基違いで、77番目のアミノ酸が、B\*2707のD（アスパラギン酸）から、S（セリン）に変っていることでした。また、B27グループの中で、B\*2707、B\*2711の両者だけが、B\*4002と全く同じexon 3~exon 7を持ち、この

ことがB40系統の抗血清にも反応を示す要因と考えられました（このように配列の特徴は血清学的な交差反応とよく一致し、最近では、B22new=B\*5603とB15、B55.2=B\*5504とB40の交差反応の例があります）。また、Bw6抗血清の一部にもB27KHは反応しますが、Bw4 epitopeを持つことが明らかになりました。この反応の原因はよく判りませんが、後日2種類のBw6 monoclonal抗体と反応させてみたところ結果は（-）でした。また、One Lambdaのモノクローレイでは、B27関連の抗体4種のうち1種にしか反応せず、通常のB27よりかなり短い反応を示しました。

このalleleの形成については推測ですが、日本人のB27はB\*2704が多く最も相同性の高いB\*2707ははまだ見つかっていないこと、発端者のHLA型からB座-C座haplotypeはB27KH-Cw10、B51-C4451と考えられること、日本人ではB\*4002-Cw10のhaplotype頻度が高いことを考えあわせると、B\*2707から形成されたと言うよりも、B\*2704とB\*4002の組み換えの結果によるのではないかと考えています。

まだ一例しか発見されておりませんので、何とか二例目、三例目が見出されることを願っています。この献血者は、宮崎県出身ということでしたので、BFUのようにある特定の地域に集中している可能性があります。九州のTissue Typerの方は、B27を見たときときには、ぜひ長いB40抗血清との反応を確認して頂ければと思います。

Alleleと他のlocus（特にC locus）との連鎖については、血清学をやっている人間には興味あるところですが、ここ数年の中央管内WSの結果からB27については、B\*2704-Cw\*12、B\*2705-Cw1（日本人、韓国?）、B\*2705-Cw2、B\*2706-Cw9 or Cw10、B\*2707-Cw\*15、B\*2708-Cw6 が観察できています（統計的な検証はしていませんのであしからず）。

（B27KHについては、MHC(2:109-114,1996)、第5回日本組織適合性学会大会（1996.9.19-9.20）、Tissue Antigens(49:649-652,1997)に報告、発表しました。）

表2 HLA-BFUとBFUVの反応パターン

Antiserum No.	Antigen		Other specificity
	BFU	BFUV	
16K033	+	-	B60, B61, B48, B7 (+B7V)
18K435	+	-	B60, B48
207975	+	-	B60, B61, B48, B13 (+B13N), B47, B41, B49, B50, B45
DCH6845	-	+	B60, B61, B48
18K679	-	+	B60, B61, B48, B13 (+B13N)
601192	+	+	B60, B61, B48, B7 (+B7V)

【BFUV】

この抗原は、最初、神奈川センターからBFUとしてWSに提出されていました。

1992年度に行われた中央管内WSに、4つのBFUパネルが提出され、2つは日本人由来で、A24-BFU-Cw4のhaplotype、残りは神奈川センター提出パネルで外国人献血者に由来し、A2-BFU-Cw10のhaplotypeと考えられました。このときは、4つのBFUパネルの血清学的な差は余り見られず、特に検討されませんでした。後で見直してみると微妙に違いはありました。2年後の1994年度の中央管内WSで、B40のalleleタイピングが行われ、前述の外国人献血者由来のBFUは、B\*4007ではなく、new alleleであることが中央血液センターの石川先生から報告されました。それで、この外国人献血者に由来するBFU様抗原を仮にBFUVと呼ぶことになりました。また、両抗原ともB40抗血清の一部と反応し、B60, B61, B48とは明らかに異なるB40のシ

ョートパターンですが、このWSに提出されていた抗血清を用いると、BFUとBFUVは血清学的にも識別が可能でした(表2)。BFUVは、B61よりB60に近いことが予想されます。というのは、BFUVは allele タイピングのとき用いられた B40 primer set で増幅されず (BFUは増幅される)、B60 primer set では増幅されたからです。このBFUV抗原は日本人には存在しないと考えていたのですが、その後当センターで、日本人から同様の血清学的反応をするB locus抗原を持つ人が見つかりました(この場合の日本人というのは日本語を話し外見的にもそのように見えるという意味です)。やはりhaplotypeはA2-BFUV-Cw10でした。ただし、このパネルについてはDNAタイピングは実施されていないので、先の外国人由来のBFUVと同じalleleなのかどうかは判りません。

【おわりに】

血清学的タイピングには、DNAタイピングほどの解析精度はありませんが、近年多くの抗原のアミノ酸配列明らかになっており、その共通の変異を抗血清(抗体)が見事に捕らえていることに驚かされます。クラスIに限れば、トレイ一枚でABC抗原のほとんどをカバーでき、特別な装置を必要としない簡便さ、汎用性は、まだまだ通用すると思っています。タイピングには、どうしてもmonospecific抗血清を重要視する傾向がありますが、今回で紹介しましたB\*2711もBFUVも、長い抗血清も同時に用いていくことで、見つかったものです。クラスIIの血清学はほぼ役割を終えた感がありますが、クラスIはまだまだいけそうです。個人的には、これからは長い血清が面白そうだと思っています。日本の国内では年間に数万人のHLAタイピングが実施されています。血清学的なタイピングでも注意深く行うことで、未知の抗原はまだ見つかるものと信じています。

今回は、湘南血液センターの安藤さんをお願いしたいと思います。

## 欧州、アメリカ大陸集団との関わり合い

日本赤十字社中央血液センター 検査三課 田中 秀則

今回は、前回に引き続き「東アジアに見られるハプロタイプ」について紹介したい。前回は、「東アジアに見られるハプロタイプ」で類似した2組のハプロタイプについて紹介した。

- 1, A30-Cw6-B13-BFS-C4A3-C4B1-DR7-DR53-DQ2
- 2, A2-Cw6-B13-BFS-C4A3-C4B1-DR7-DR53-DQ2
- 3, A33-Cw10-B58-BFF-C4A3-C4B1-DR13-DR52-DQ6
- 4, A33-Cw10-B58-BFS-C4A00-C4B1-DR3-DR52-DQ2

これらのハプロタイプは、一部でその組み合わせが異なっていることから、それぞれ同じハプロタイプから出来上がったものと推測されが、その分布はそれぞれのタイプで異なっている。このことは、“A2-Cw1-B46-BFS-C4A4-C4B2-DR8-DQ6”と“A2-Cw1-B46-BFS-C4A4-C4B2-DR9-DR53-DQ3”（「日本人に見られるハプロタイプII」で紹介）についても同様のことが言える（図1）。

今回は、東アジアに見られるハプロタイプで、欧州やアメリカ大陸の集団にも見られるタイプおよび稀ではあるが特徴的なタイプについて紹介したい。

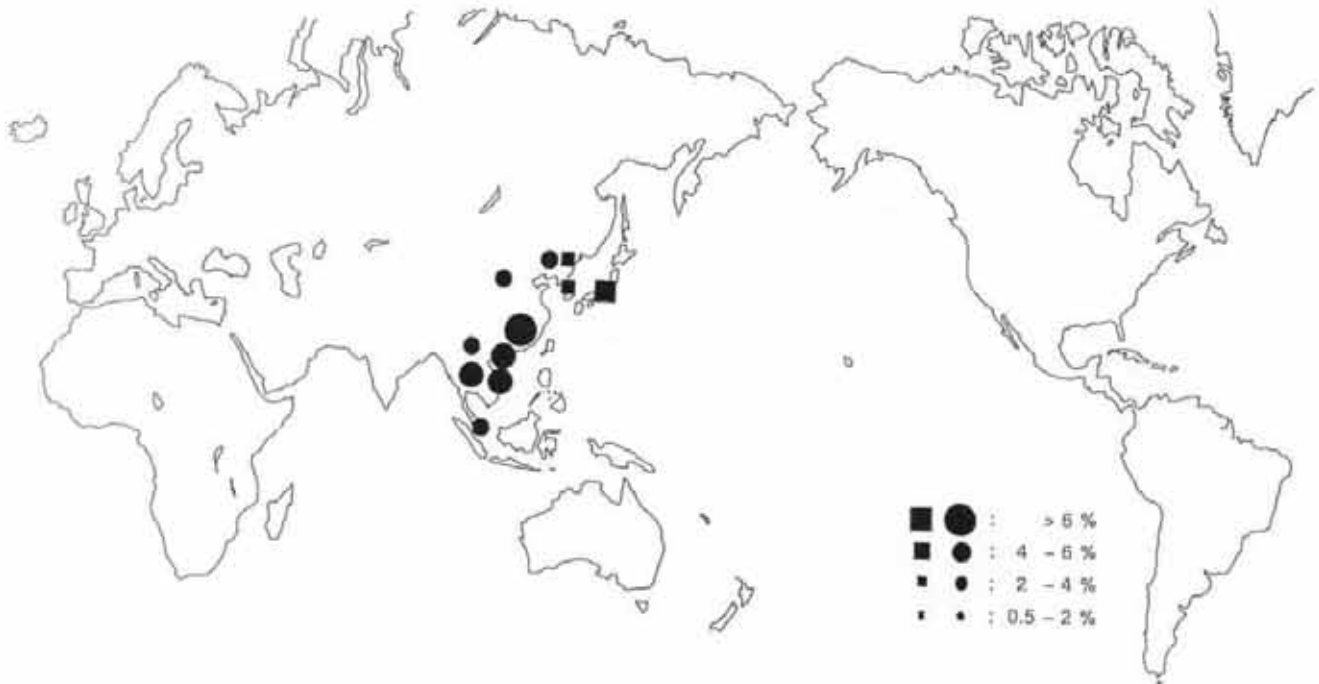


図1 ■ A2 - Cw1 - B46 - BFS - C4A4 - C4B2 - DR8  
● A2 - Cw1 - B46 - BFS - C4A4 - C4B2 - DR9





図2 Cw6 - B57 - BFS - C4A6 - C4B1 - DR7

## 5, A1-Cw6-B57-BFS-C4A6-C4B1-DR7-DR53-DQ2

このハプロタイプは、東アジアの様々な集団 (Buryat, Thai, Vietnam等) に約1~2%の頻度で見られるタイプであるが、欧州の集団 (Cornish, Austrian, German, Spain (Spanish Gypsy, Basque)) 及びAsian Indianにも見られる<sup>1)</sup>。B57-BFS-C4A6-C4B1-DR7の分布について見た場合、ユーラシア大陸に広く分布するハプロタイプであることが分かる (図2)。このハプロタイプのクラスIII領域に含まれているC4A6は、このタイプの特徴の一つである。しかし、C4A6はこれまでの調査で、他の集団 (特にBlack) にも多く見られているが、C4A6を含む特徴的なハプロタイプについては詳しい解析がされていない。また、B57についても同様に、Blackでも多く見られるタイプであるが、South Africa NegroidにおいてA1-Cw6-B57及びA1-B57-DR7が約2%の頻度で見られる。しかし、他のBlackの集団では、A30-B57-DR13及びA30-Cw6-B57がZimbabweanに約4%の頻度で、A30-B57-DR13及びA30-Cw7-B57がBushman (San) に約2%の頻度で見られている<sup>1)</sup>。このハプロタイプの東アジアにおける分布は、Man, Mongolian, Buryat等に約1%の頻度で見られるように、主に東北アジアの集団に多く分布するハプロタイプである。一方、ユーラシア大陸ではItalian, Spanish, Armenian及びTribal (インド) の集団にも見られるハプロタイプであり、B50-BFS07-C4A02-C4B1+12-DR7ハプロタイプの分布について見た場合、いわゆるシルクロードに沿って分布するハプロタイプである (次ページ図3)。このハプロタイプに含まれるクラスIIIハプロタイプ (BFS07-C4A02-C4B1+12) が、このハプロタイプの特徴である。BFS07は、他の民族 (特にBlack) にも多く見られるタイプではあるが、第11国際組織適合性ワークショップのデータ<sup>1)</sup>では、West AfricanにおいてクラスIIIハプロタイプであるBFS07-C4A3-C4B1が報告されているだけで、このタイプを含むMHCハプロタイプ (HLA及びクラスIIIタイプを含むハプロタイプ) は特定されていない。

## 7, A24-Cw10-B61-BFS-C4A3-C4B1-DR4-DR53-DQ7

このハプロタイプは、東北アジアの集団に多く見られるハプロタイプで、特にBuryatでは、その頻度が2.5%である。このハプロタイプに含まれているDR4抗原は、DRB1\*0401にコードされていること、またクラスIIハプロタイプがDR4-DR53-DQ7であることが、このハプロタイプの特徴とも言える。これまで調査でA24-Cw10-B61-DR4-DQ7は、Inuit, South Amerindianの集団で2%以上の頻度で見られている<sup>1)</sup>。また、クラスIハプロタイプ(A24-Cw10-B61)は、Buryat, Inuit, South Amerindian以外に、Yakut, Orchon(以上2集団はシベリア東部に居住する民族)、Mongolianに3~4%の頻度で見られている<sup>1)</sup>。以上のことから、このハプロタイプは、この地域(特にシベリア)に居住していたMongoloidの中で、ベーリング海峡を渡ってアメリカ大陸に移動した集団が持っていたタイプと思われる。

日本人のDR4は、DQ4またはDQ3と相関するハプロタイプ多いことから、DQ7と相関するハプロタイプは、一般的ではない感がある。しかし、タイピング経験が豊富な方なら、少なからずとも一度は、DR4-DR53-DQ7ハプロタイプを持つ検体をタイプされたことがあるのではないかと思う。しかし、この場合のクラスIハプロタイプは、A2-Cw7-B70である場合が多く、A24-Cw10-B61である場合は、稀と思われる。A2-Cw7-B70-DR4-DR53-DQ7ハプロタイプは、Buryat, Koreanに見られ、このDR4抗原もDRB1\*0401にコードされていることが分かっている。しかし、このハプロタイプは、Inuit, South Amerindianでは稀なタイプであり、A24-Cw10-B61-DR4-DQ7とは、異なる分布をしていると思われる。

第12回 国際組織適合性ワークショップのデータ<sup>2)</sup>では、DRB1\*0401を含むハプロタイプとして、A2-B70-DRB1\*0401とA24-B61-DRB1\*0401が見られ、それぞれKazakhに約2%の頻度で見られており、これら二つのハプロタイプは、Kazakh及びMongolianを含む東北アジアの広い地域に分布するハプロタイプと考えられる。

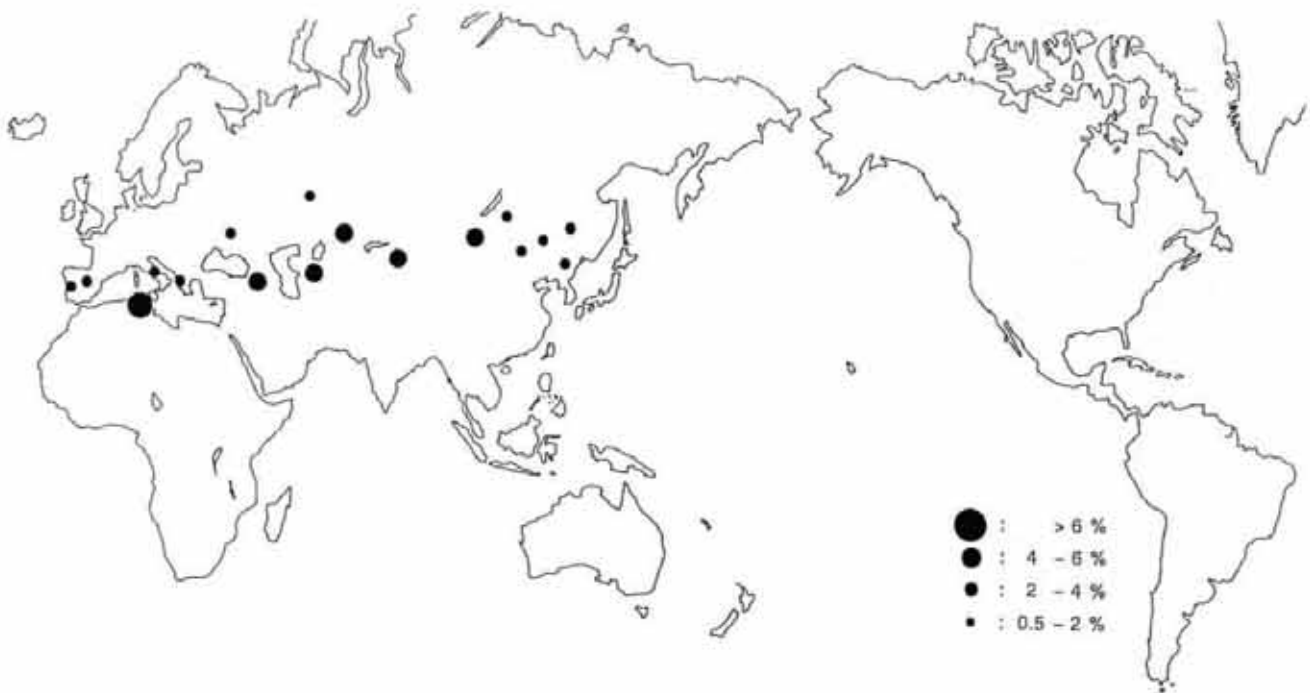


図3 B50 - BFS07 - C4A2 - C4B1+12 - DR7

## 8, A1-Cw6-B37-BFF-C4A3-C4B1

このクラスIハプロタイプ (A1-Cw6-B37) は、Buryatiにおいて一番多いハプロタイプで約6%の頻度で見られ、日本人においても約0.5%の頻度で見られるタイプである。このクラスIハプロタイプは、Buryatiにおいて2種類のクラスIIハプロタイプ (DR10-DQ5とDR15-DR51-DQ6) と相関していることが分かった。また、第11回 国際組織適合性ワークショップのデータ<sup>1)</sup>では、このクラスIハプロタイプが、Yakutに5.0%の頻度で見られ、シベリア地域の民族 (ツングース) に高い頻度で存在することが確認された。また、頻度は低いが、French, Italian, Albanian及びインドの集団 (Indian, Iyers, Tribal), Inner Mongolianにも見られるタイプである (図4)。

## 9, A2-Cw4-B52-DR\*1404, A2-B61-DR\*1501

これら二つのハプロタイプは、満 (Man) の集団について調査を行った時に、それぞれ約2~3%の頻度で見られたハプロタイプであるが<sup>2)</sup>、他の東北アジアの集団では稀なタイプである。しかし、B61-DR15ハプロタイプについては、日本の東北地方の調査において見られたタイプであり、満 (Man) の集団と日本人との関連を示すタイプの可能性がある。

- References 1) Imanishi T, Akaza T, Kimura A, Tokunaga K, and Gojobori T. Allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci in various groups. In: Tsuji K et al. ed. HLA1991, Vol. 1 Oxford University Press, 1992: 1065-1220.
- 2) Tanaka H, Tokunaga K, Inoko H, et al. Distribution of HLA-A, B, and DRB1 allels and haplotypes in Northeast Asia. In: Charron D. et al. ed. HLA, Vol. 1 EDK, (in Press)

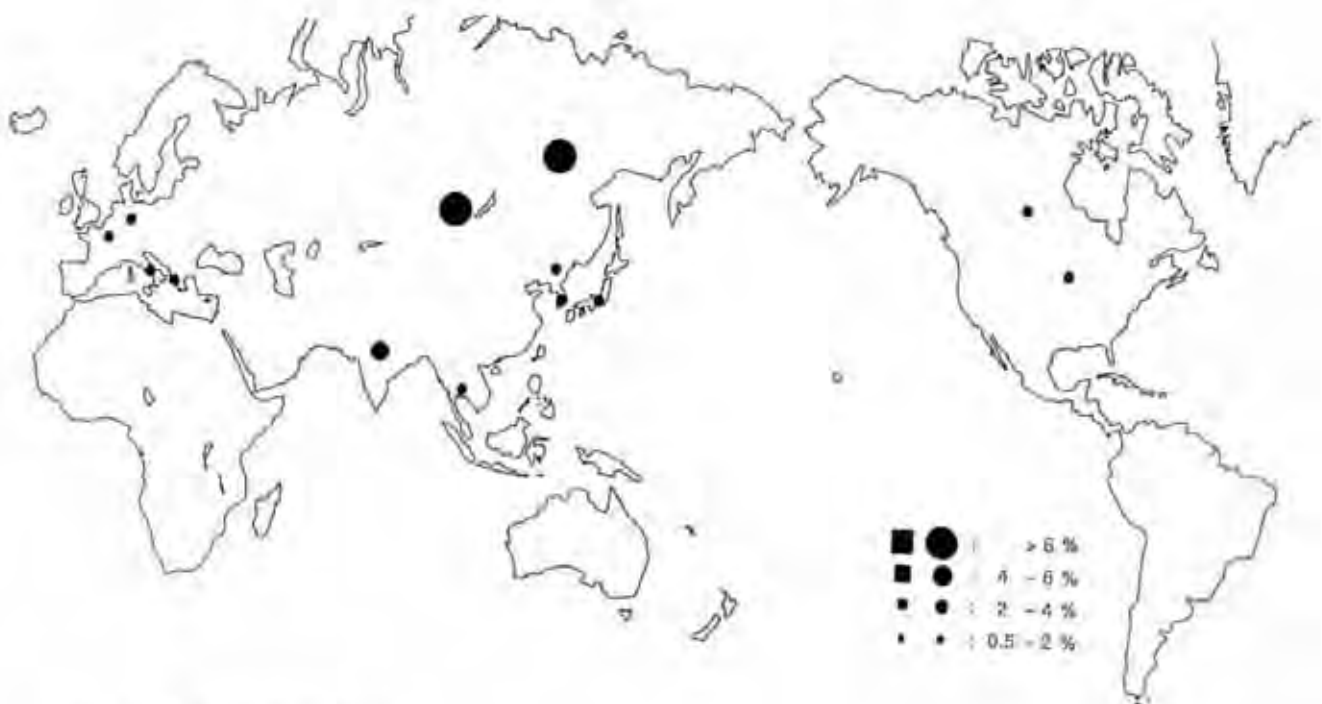


図4 ● A1 - Cw6 - B37

## 遺伝子の構造とDNAのRNAへの転写（未成熟mRNAまで）

湧永製薬（株） DNA診断薬研究所 川井 信太郎

KAMONの編集者から分かりやすく“核酸の生物学”というテーマで書いて欲しいとの依頼があった。与えられたテーマが“核酸の生物学”である（何か奇妙な言葉であるが）ので（編註：前回までの「核酸化学」に対する「生物学」なのです。奇妙ではありません）、ともかくこれを読んだ人が分子生物学について少しでも理解し興味を持っていただけたら幸いである。ただし、少しでも分子生物学に頭でも手でも足でも突っ込まれたことのある人には何を今更ということばかりと思われるので読まれる必要はない、ということを含め断っておきたい。

専門用語（technical term）が分からないために、あるいは混同したばかりに話が分からない、ついていけないということが多と思われるので（筆者の経験から）、今回はtechnical termを説明しながら話を進めて行こうと思っている。

また、核酸という点から見れば、原核生物（例えば大腸菌）と真核生物（例えば人間）では同じだが、細かい遺伝子構造は違う。しかし、これを読まれるのは、真核生物を扱っている人の方が多いと思うので真核生物を主体に書くつもりである。

セントラルドグマという言葉が聞かれたことのある人も多いと思う。セントラルドグマとは、1958年にF. クリックが提唱した言葉で遺伝情報は〈DNA→RNA→タンパク質〉へと一方通行で流れる、というものである。ただし、RNAウイルスがRNAからDNAを合成するいわゆる逆転写を行うことが発見されたので一部修正（RNA→DNAの流れが追加された）が加えられたが、このセントラルドグマの基本はまったく変わっていない。

今回、筆者は与えられたテーマを、このセントラルドグマの流れに従い、下に示す6つのことを主体にして書いていこうと思っている。

1. 遺伝子の構造とDNAのRNAへの転写（未成熟mRNAまで）
2. 未成熟mRNAから成熟mRNAへ
3. 成熟mRNAから未成熟タンパクへ
4. 未成熟タンパクから成熟タンパクへ
5. 成熟タンパクの移行（局在化）
6. DNAの複製

いささか、前置きが長くなりすぎたが、本題に入っていきたい。まず初回は、未成熟mRNAのできるまでについてである。

一般にDNA上の情報はRNAへと転写（transcription）され、さらに細胞質内でタンパク質へと翻訳（translation）される。RNAにはリボソームRNA（rRNA）、トランスファーRNA（tRNA）、及びメッセンジャーRNA（mRNA）があるが、今回はタンパク質の構造遺伝子（タンパク質をコードしている遺伝子）が読み取られるのはmRNAという理由でmRNAについて説明する。遺伝子の転写には非常に多くのタンパク質が関与していて全てを説明するのは困難であるので、大まかなプロセスのみになってしまったことをお許し願いたい。さらに、詳しく知りたい方は多くの成書が出ているのでそちらを参考にしたい。

真核生物の一般的な遺伝子構造を図-1に示す。

DNAからRNAへの転写のプロセスをコントロールする領域は、プロモーター領域と呼ばれている。その後、遺伝子の中でタンパク質の合成をコードするエクソンと、タンパク質の合成をコードしないイントロンが存在する（これらについては次回説明する予定である）。今回はプロモーターを中心に遺伝子の構造と未成熟RNAの合成について説明する。

プロモーターは、前述したようにDNA上の転写のプロセスをコントロールする役割を持っている種々なエレメントを含む領域のことであり、図-1ではDNA上のRNA合成が開始される塩基（転写開始点）を+1と表し

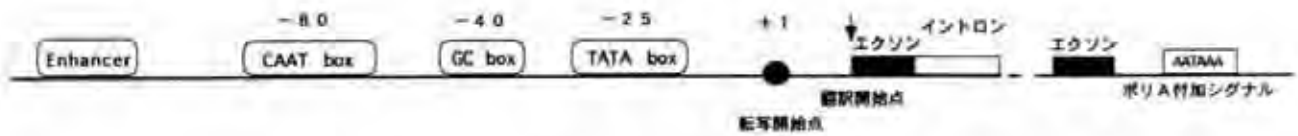


図1 遺伝子の構造

Enhancerは、上流に存在するとは限らないが紙面の都合で上流側に描いた。

た。それよりも上流側（5'側）をマイナス（-）で示す。つまり、転写開始地点より上流10塩基目は、-10塩基と表現する。以後この表現方法を用いて説明する。

-25塩基付近に転写開始に重要なエレメント、

DNA配列としては

5' ...TATAAA...3'

で、その配列からTATAボックス（読み方はローマ字読みでタタ・ボックス）と呼ばれる（Goldberg-Hognessボックスとも呼ばれる）領域がある。ほとんどのプロモーターはこのエレメントを持っている。（しかし、遺伝子によってはこのエレメントを持っていないプロモーターも存在する。）TATAボックスの転写の際の役割をイラストで示した（図-2）。

まず、このTATAボックスにTATA結合タンパク質（TBP）とTATA関連因子（TAF）の複合体が結合する。その名が示すとおりTATAボックスに結合するのはTBPである。

次にこのDNAに結合した複合体に転写因子IIA（TFIIA）が結合し、さらに、転写因子IIB（TFIIB）が、TATAボックスの下流に結合する。これら複合体に、転写因子IIF（TFIIF）が結合したRNAポリメラーゼII（DNAを鋳型としてRNAを合成する酵素）が結合した後、2本鎖DNAをほどきながらDNAに相補的なmRNAを合成していく。エクソン、イントロンを区別せず下流に向けて（3'側）に合成される。

TATAボックスの上流の-40塩基付近に、塩基配列が

5' ...GGGCGG...3'

からなるエレメントがある。

これはその配列からGCボックスと呼ばれている。このエレメントには、SP1タンパク質（specificity protein 1）が、特異的に結合して、その転写活性を制御していることが知られている。

さらに、上流75塩基付近に（しばしば-80塩基付近）その塩基配列が

5' ...GGCCAATCT...3'

からなるエレメントがある。

その配列からCAATボックス（読み方はローマ字読みでキャット・ボックス）と呼ばれる。このエレメントは、プロモーターの効率を決定するのに強く関与していることは明らかであるが、プロモーターの特異性に直接働いてい

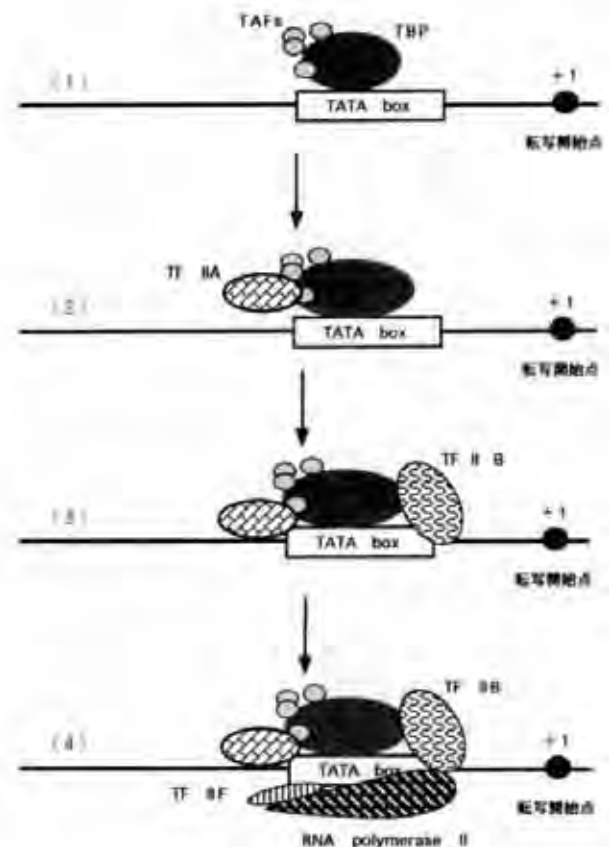


図2 TATAボックスに集まる転写因子とRNAポリメラーゼ

るかどうかは明らかでない。このエレメントに結合するタンパク質としては、NF1ファミリータンパク質 (nuclear factor 1)、CTFタンパク質 (CAAT-box binding transcription factor)、C/E B Pタンパク質 (CAAT/enhancer binding protein) などの転写因子 (transcription factor) が知られている (このほかにもこのエレメントに結合し転写を制御しているタンパク質は多い)。

今まで、プロモーターに存在する転写を調節している2つのエレメントについて述べたが、プロモーター活性を増加させるものとして、エンハンサーという別のエレメントが存在する。エンハンサーは、転写の効率を増加させるもので、ウイルスのなかには転写効率を1000倍も増加させるものがある。その長さはさまざまで、例えば、SV40ウイルス (サルに感染するウイルス) のエンハンサーは、72塩基からなる配列が2個、転写開始点から約200塩基の領域に直列に並んでいる。エンハンサーはプロモーターとは異なる次のような特徴をもっている。まず、エンハンサーが存在する位置である。プロモーターが特定の位置 (転写開始点の近く) に存在する必要があるのに対して、エンハンサーは転写開始点の近くにある必要はなく、1000塩基上流にあっても機能する (中には、3000塩基上流でも機能するものもある)。

2つめは、プロモーターは方向性が決まっているのに対し (上述したようにTATAボックス、CAATボックスでなければだめで、これがATAAボックスや、TAAACボックスでは機能しない)、エンハンサーは何れの向きに存在しても機能する。さらに、エンハンサーの特徴は、ある特定の細胞 (組織) でのみ機能するということである。つまり、組織特異性が高いということである。例えば、免疫グロブリン遺伝子のエンハンサーは、抗体を作る細胞、Bリンパ球では転写を促進するが、他の細胞では転写活性を発揮しない。

さらに、このエンハンサーは自分が転写を促進するプロモーターの上流ではなく下流に存在することもある。この様にエンハンサーがプロモーターからの転写を促進しプロモーターのどちら側にあっても、有効であり、その距離があまり問題とならないのは、エンハンサーが染色体の構造や、位置、或いは、酵素との結合能を決めるためではないかと考えられている。

これまでは、転写の開始と転写の活性化について書い

たが、物事には開始 (initiation) があれば終了 (termination) が必要である。mRNAの合成にもそれが言えるわけで合成もどこかで終了しなければいけない。しかし、転写の終了に関する情報は、現在のところ転写開始に関する情報ほどには得られていない。通常の遺伝子の場合、転写は成熟mRNA (この言葉については次回に説明する) の1000塩基以上下流で終了する。

現在のところ、真核生物の場合この転写終了配列は明らかにされていない。しかし、この未成熟mRNAは、エンドヌクレアーゼがmRNA上のAAUAAA (DNA上では5' AATAAA 3') を認識することで切断される。ヌクレアーゼがこのAAUAAAをどのように認識しているのかは明らかにされていない。いずれにせよ、このAAUAAAの下流11~30塩基のところ切断される。この切断された部分にポリAポリメラーゼによりアデニン (ポリアデニレーション) が付加される。このアデニンの付加は多いものでは200個くらいになる。このポリアデニレーションが何故なされるのかは明らかにされていないが、mRNAの安定性に関与しているという報告がある。

ともかく、このポリ (A) の付加があるからこそポリ (T) を利用したcDNA (complementary DNA: mRNAに相補的なDNA) の合成ができるわけであるが、このcDNAに関しては、次回説明する。

さらに、未成熟mRNAは、3'末端だけでなく5'末端にも修飾を受ける。それは、7-メチルグアノシンの付加である。この構造は、キャップ構造と呼ばれ (付加されることはキャッピングと呼ぶ) ている。

このキャップ構造は、ここでは詳しく説明しないがタンパク合成の開始反応において必要であるとされている。また、キャップ構造をもつmRNAは5' - エキソヌクレアーゼの分解を受けにくい。つまり、ヌクレアーゼの分解からmRNAを保護しているのかもしれない。このキャップ合成は、転写過程の非常に初期に起こるとされている。

以上のような、過程を経て未成熟mRNAは出来上がる。しかし、タンパク質に翻訳されるためにはまだまだ不十分で、この後更なる加工が必要である。この後の加工は次回に説明する。