

「HLAの進化、多型から臨床まで」

オーガナイザー：徳永勝士（東大）、佐治博夫（京都府赤十字血液センター）

レポート1

京都府赤十字血液センター 丸屋 悦子

ダーウィンの的小宇宙における MHCの謎

総合研究大学院大学 高畑 尚之

—高畑先生の紹介—
免疫の多様性についての理論的な解析、Tcellレセプターや抗体系が示す多様性とMHCが示す多様性は—「似ていて異なるもの」—その理論的意味を考察する第一人者である

本日はMHCの多様性についてお話するわけですが、お二人の司会者の先生から次のようなご要望がありました。はじめの二つの要望はなかなか難しく自信がありませんが、三番目の要望には自信があると思います。

1. スケールの大きいお話
2. とてつもなく面白いお話
3. 型破りの話

免疫系の出現

今からおおよそ5億4千年前のカンブリア紀に、脊椎動物が爆発的に地球上に出現しました。その時期とほぼ同時に免疫系も生まれたのです。無脊椎動物が持っている免疫系（記憶を持たないそして予見性をもたない）とは異なったものが短時間に出現したのですが、その理由についていまだに定まった学説はありません。人のHLAに至るまでの進化の歴史を振り返りながらMHCを中心にした防衛システムを考察することになります。

最初のOHP（図1）をお願いします。これは地球のカレンダーです。地球が生まれてから46億年ですから、これを1年に換算いたしますと、1ヶ月はおおよそ4億年になります。したがって5億4千年前のカンブリア紀はちょうど11月の中旬にあたります。我々の祖先がはじめて類人猿であるタプーンパンジーと分かれたのはおおよそ500万年ほど前であるというのが最近の知見ですが、ここでは200万年前と考え、それは12月31日の午後8時になり、オーストラロピテクス（はじめて二足歩行をした）はそれより

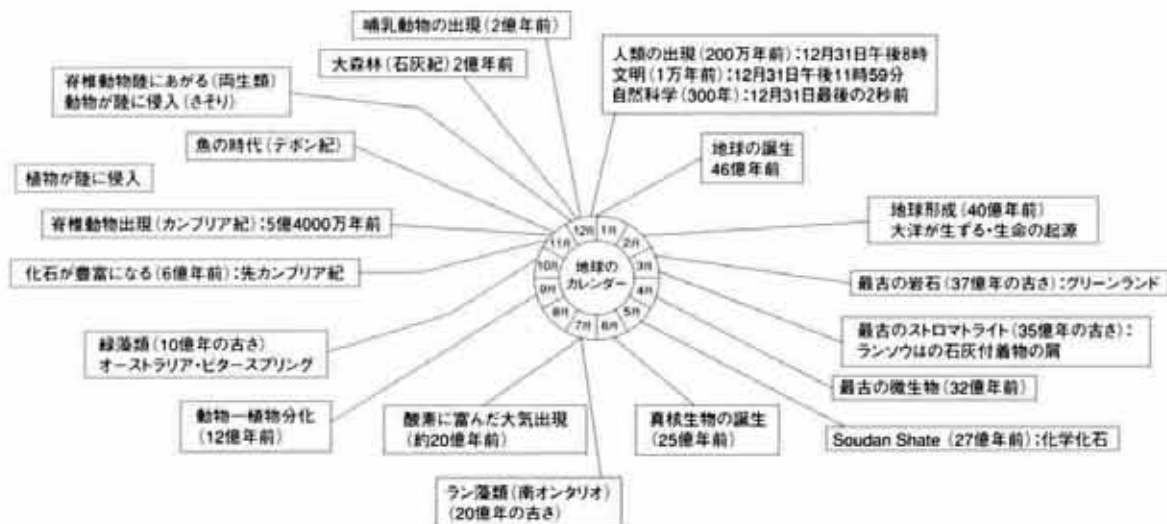


図1

より少し前ということになります。このように地球の歴史から考えると、多様性が出現したのはきわめて最近のことです。しかし人間の時間からすれば5億年は非常に長い時間です。

<5億4千年前の生物について>

カナダのバージェスにある化石動物層にある化石。これは(図2)節足動物の一種で、触角・甲羅・足でここに飛び出した腸の化石があります。このような動物は今の世

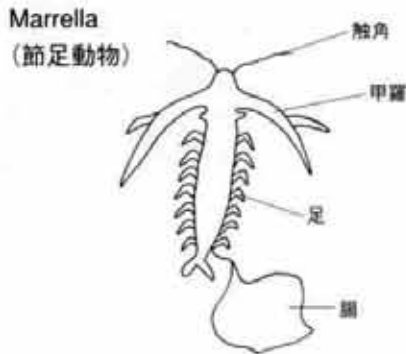


図2 カナダ・バージェスの化石動物層

界には存在しません。奇妙奇天烈な動物がこの時代にでてきておりますが、その一例を次の図(図3-1・2)で示します。これは人により解釈が違うことを示す例です。ある人は(図3-1)下部にある尖ったもの、これが足で上部は餌をとるための口のようなものであると言い、また他の人の解釈(図3-2)では下部が足で上の尖ったものは身を守るためのトゲであると言っています。これはいまだに決着がついていません。いずれにいたしましても、カンブリア紀の頃には現在の動物類のすべての種類のもので出そろっていて、そのときにはこのような形の多様性をもたらした遺伝子の多様化がいきなり起こっている、そして古典的な免疫系、脊椎動物特有の予見的な免疫系も存在し、このような動物がこれらの免疫系を持っていることとなります。

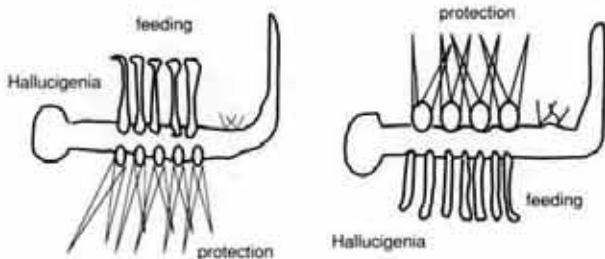


図3-1

図3-2

<免疫系について>

脊椎動物のからだを守っております防御システムのコアになっている分子はMHCを中心としたいくつかの分子とそれに伴う特殊化した細胞群、特にT細胞・B細胞群であります。MHC抗原は半分メンブランに結合してその上にイムグロブリンのようなドメインを持ってさらにその上に口がくっついていて、その口のなかにプロセスされたペプチドを噛むということが知られています。どういったペプチドをどれだけのレパートリーで噛むかということが、自己と非自己の決定に大きく関わっている。MHCの多様性を理解する上で大きなファクターとなります。MHC分子自身は抗原提示分子であります、同時に自己決定をします、その自己とは何かということ、すなわち免疫系における自己とは何かということと大変深く関係しているということです。MHCとペプチドのコンプレックスをTcellレセプターが認識するとシグナルが入ってTcellがアクチベイトされて、そのアクチベイトされた helper T cell が次にBcellをアクチベイトして特殊なIgG抗体の産生に至るということになります。

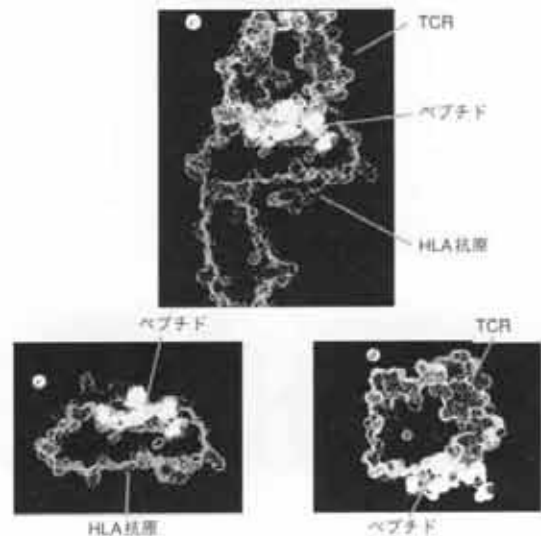


図4 T細胞のX線結晶解析像

これは(図4)昨年NatureにだされましたT細胞レセプターとMHCのX線解析の結果です。この構造が決定されたため、MHCにまつわるきわめて面白い話がある後いくつかができました。「機能と構造」とよく言われますが、MHCの分子はその構造が決定されたことで新しい機能についての見解が得られた非常に良い例ではないかと思えます。

つぎのOHP (図5)をお願いします。

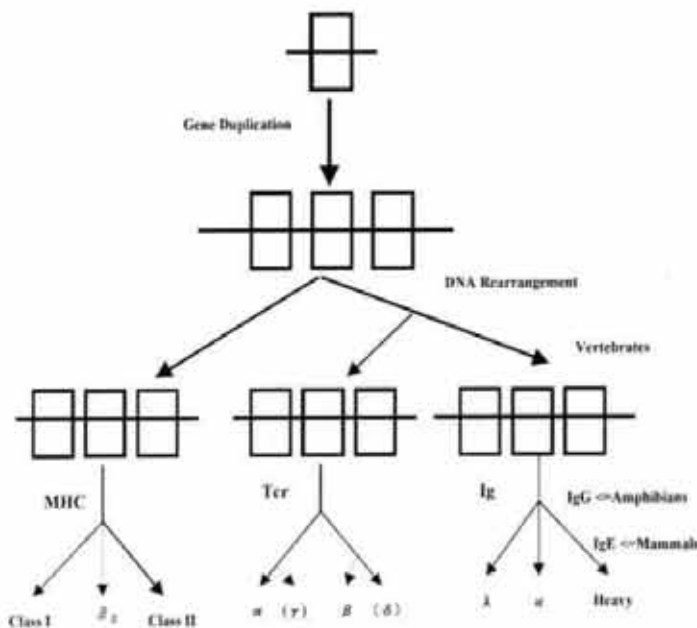


図5 Primitive Gene

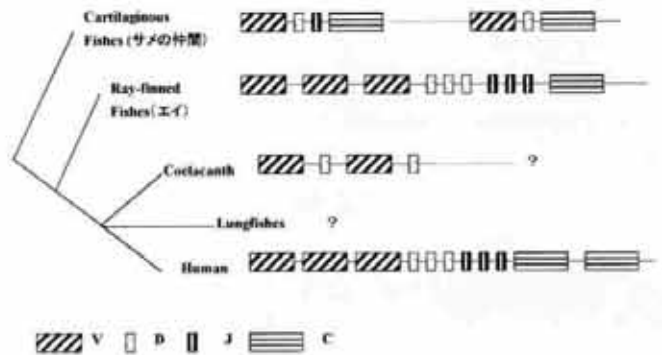
<まとめ> ~今までのサマリー~

10億年、いやそれ以上にひとつのプリミティブな遺伝子がございます、それはおそらくIg様、イムノグロブリンライクドメインをもった分子で細胞間のインタラクションに関係していたものではないかと考えられています。その後遺伝子のタンデムなデュプリケーションを起こして、同じ染色体上にその仲間を増やしていったと考えられます。その後Tcellレセプター分子と抗体分子の特徴的な性質でありますDNAリアレンジメント機能が、おそらく5億年以上前にこれらの分子の祖先系列で共通に獲得されたと考えられます。それに対してMHCの祖先はすでに分化しており、DNAのリアレンジメントは起こさず、ただタンデムにデュプリケートしてそのメンバーを増やしていった。いずれにいたしましても、構造的に良く似ている分子が免疫系のコアになっているわけです。こここのところで三位一体の役者が出そろい、それとともに脊椎動物が出現したわけです。その後それぞれ5億年の歴史がございます。そしてそれぞれにモディフィケーションを起こして今日に至っていますので、違った生物では違った様相を呈します。基本的には同じあるいは普遍的な部分はございますが、大事なことはヒトのHLAとたとえば魚のMHCとは構造的にもgene organizationでも異なっていて、イムノグロブリンについても同様です。その後のモディフィケーションを知ることが、現在われわれがもっているHLAの

機能を知る上で重要なことではないかと考えます。私は進化学者でありますのでそのように考え、進化そのものに興味があるのではなく、旅する分子の機能に大変興味があり、それを知らうとして、その由来を知らうと研究しているのであります。イムノグロブリンの場合には特に両生類までにメンバーの分化が起こり、もともとIgMが主であったと思います、それからIgGができ、哺乳類の祖先の段階でやっかいなIgEが獲得されてしまったわけです。IgEはアレルギーに関与するもので、いかにやっかいなものであるかは皆様もご存知のとおりです。なぜできたかは分かっておりませんが、哺乳類に共通に獲得されています。

<イムノグロブリンの進化について>

これは(図6)イムノグロブリンの進化についての最新のデータです。いろんな生物でイムノグロブリンのゲノム構造がどうなっているかを示したものです。この研究の目的はさきほど申し上げたとおり、比較をすることによりイムノグロブリン自身の機能を知らうとするものです。VDJCのそれぞれがドメイン構造をとって、タンデムに並んでリアレンジメントを繰り返してゆくわけですが、たとえば



サメはVDJCとセットになっているため、rearrangementによる多様性は少ない

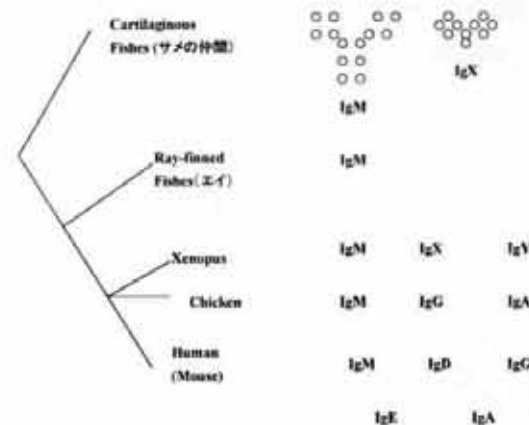


図6 Gene Organization of vertebrate immunoglobuline

サメの間ではすでにそれぞれのD、J、Cのメンバーが決ま
ってしまっていて、成熟するときにリアレンジメントが起
こるのですが、我々のイムノグロブリンのように大規模な
ソマティックリアレンジメントがおこるわけではありませ
ん。したがって魚類の多様性は我々に比べると低いはず
です。エイの場合は比較的ヒトに似ております。シーラカ
ンスはサメと似た感じではありますが、はっきりわかって
おりません。肺魚ですが、この場合はまったくわかってお
りません。特にエイが我々にだいぶ近く、シーラカンスが
その次に近いのは系統的にはつじつまが合わないかも知れ
ませんが、この系統樹は現在でも問題が有り、どうい
う進化関係に脊椎動物があるかについてホットな議論が
いまだに続いているところです。ひょっとするとこのイム
ノグロブリンが示すようにエイが我々に一番近いのかも
しれません。構造的にはイムノグロブリンは基本的に良く似
ているのですが、イムノグロブリンのMは魚類からヒトに
いたるまですべて共通に存在しています。ある段階で新し
い分子 (IgG) が、たとえばチキンで出現します。つま
り、哺乳類と鳥類が分かれる前にIgGが獲得され、その
結果哺乳類と鳥類は共通してIgGを保有することにな
ったものです。IgEは哺乳類と鳥類が分化した後に獲得され
たものですから、哺乳類のみにみられます。つぎにイム
ノグロブリンの多様性についてですが、これは利根川先
生の膨大な仕事により、組み合わせの原理によって多様性
が生まれているということが解りました。一見むだなもの
をいっぱいつくっておいて、その中から自分に必要なもの
を選ぶというのが抗体やT cell リセプターの多様性を得る
原理であると考えられます (図7)。

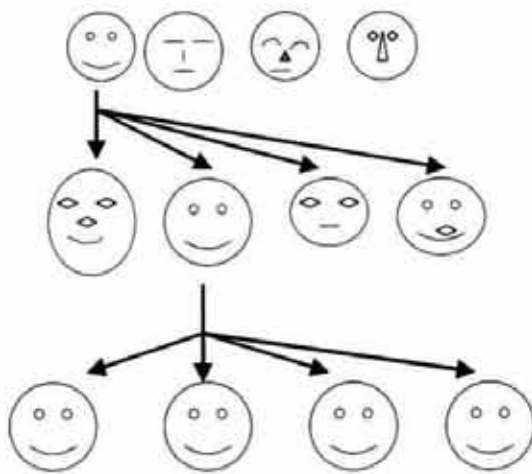


図7 Clonal selection

< MHC の進化について >

それに対してMHCに関して進化的な研究はどうかと申
しますと (図8) MHCと補体、マクロファージとT細胞な
どを縦軸に示し、それが存在すると確認されているものが
斜線のボックスで示されています。右端が哺乳類で左へゆ
くほど系統的にヒトから遠くなります。一番問題になって

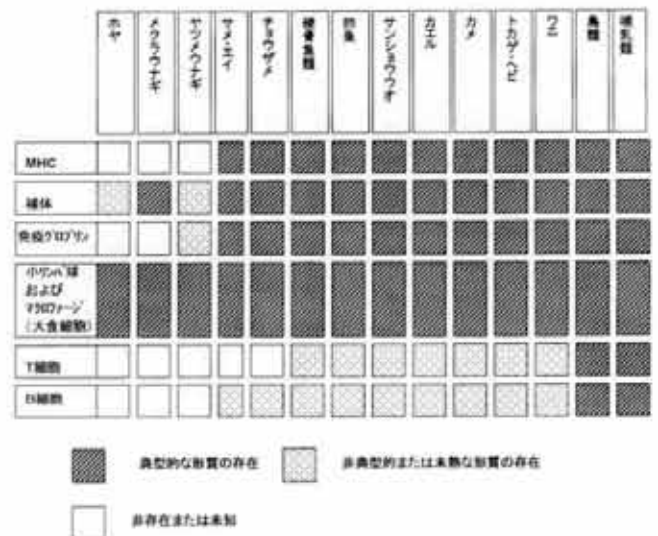


図8 MHCの進化

いますのがヤツメウナギやメクラウナギやその前に存在し
たホヤなどにMHCのような分子が獲得されているのであ
らうか?そしてそれを中心にした我々と類似した免疫機構
が存在しているのでしょうか?ということですが、MHCの
構造はいろいろな種で比べてみますと、明らかにT細胞レ
セプターやイムノグロブリンのgene organizationとは異な
っています。多重遺伝子族ではありますが、その構造はた
いへん違っています。クラスIとかクラスIIとか皆さんよく
ご存知のことですが、一応多重遺伝子族ではありますが、
そのメンバーはそれほど多くありません。特に機能的
な分子をコードしている遺伝子の数はクラスIで3個、ク
ラスIIでも3個ぐらいで、クラスI~IIを通して機能して
いるMHC遺伝子座の数は6ないし8個でマウスでもそう
であります。いろいろな種を通じてMHCの機能しており
ます遺伝子座の数が7個前後であることはT cell リセプ
ターやイムノグロブリンとは大きく異なることです。リア
レンジメントは起こさない。別のやりかたで多様性をつく
りだしているのです。その多様性の由来は対立遺伝子の多
様化によるものです。すなわち同じ遺伝子座上にいくつか

のかたちをつくり、いろんな違ったものをゲノム上に並列に置くのではなく、縦に並べることで多様性をつくりだしているのです。我々は2倍体ですので、たかだか2個の対立遺伝子しかもてないのですが、そういうやりかたで多様性を作り出すことが必然であったと私は考えているのです。もし免疫グロブリンやTcellレセプターのような方法で多様化していれば、我々はかえってディフェンスレスになってしまうと思います。MHCの多様性が多くのタンデムに並んだ遺伝子が作り出したものではないことを示す例をあげます(図9)。

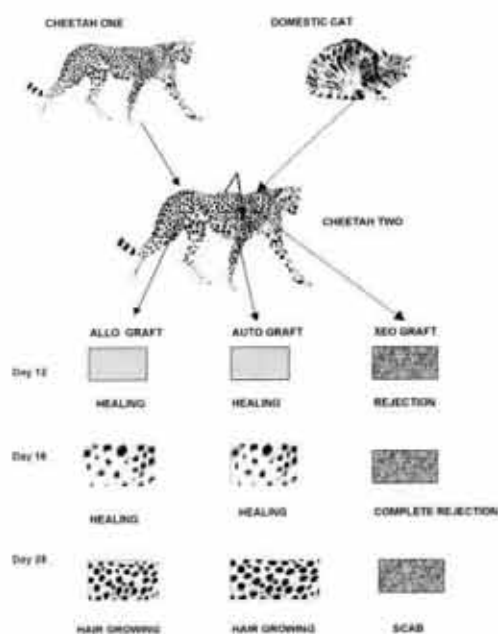


図9

これはチータなんです、チータ間で皮膚移植をすると、どのチータ間でも拒絶は起こらないことを示しています。これはもちろんチータが長い期間で個体数が減ってしまっ(これは人間のオーバーハンティングによるものと思っっているのですが)、東にいるチータも西にいるチータもほぼ一卵性双生児に近い状態、遺伝的にほとんど同じになっているためです。もしMHCが免疫グロブリンのような方法で多様化していれば、同じものをもっていても多様化になりうるので、このような移植結果にはならないのです。MHCの場合遺伝子の数が限られていて、多様性のほとんどが対立遺伝子の多様化によるものですから、近親交配が起こりますと限られた遺伝子座はほとんど同じになってしまう拒絶を起こさなくなるのです。しかしチータにネコの皮膚を移植するとちゃんと拒絶が起こりますのでMHCは働いているわけです。このようにMHCの多様性はとんでもないものであることをもう少し詳しくお話したいのですが、この後いろいろな先生方のお話がありますので、私は前座としてそろそろまとめに入りたいと思います。

<まとめ>— MHC の特徴について—

1. たくさんの対立遺伝子がヒトの集団の中にはある。

たとえばヒトのB座遺伝子には149ぐらいあり、DRB1には179の遺伝子型が存在する(表1)。塩基配列のデータが得られるもののなかのほとんどのものが違ったアミノ酸配列(非同義置換)を持ち、違ったペプチドを口にくわえることができるような変異をしている。

表1 No of distinct DNA sequences (n)

HLA (no. of alleles)	A (67)	B (149)	C (39)	DRB1 (179)	DOB1 (29)	DPB1 (69)
Retrieved from Data Bank	57	126	35	135	27	67
PBR distinct seqs.	47	106	26	85	12	20
Different also at non PBR non-Syn. sites	27	49	21	36	11	16
Different also at Syn. sites	24	52	23	39	10	6

2. MHCの多様性の起源が非常に古いということ。

MHCの対立遺伝子の共通祖先はヒトが類人猿から分かれる以前から存在している。ヒトのHLAの対立遺伝子とチンパンジーの対立遺伝子を比べてみますと、それぞれ近縁関係を示す遺伝子がヒトはヒト同士クラスターを作るのではなく、ヒトとチンパンジーが入れ子になったクラスターを作るのです。これはヒトがチンパンジーと分かれる前にMHCの多様性が存続していたことを示します。

3. MHC分子は抗原提示分子、すなわち外来抗原に対して免疫反応を起こすという最初のシグナルを与える分子であります。その一方で自己とは何かを決定する分子です。T cellのレパートリーを自己との文脈で決定することがMHCの大事なファンクションで、それが胸腺内で起こっているということでもあります。それによって自己とそれ以外が区別されるわけです。しかしあまりにも自己を主張しすぎると、いくらT細胞のクローンが沢山あるといいますが、非自己の部分に対するクローンまで排除してしまうことになりますから、外来からなにか来ていることは提示できてもそれに対する武器がなくなってしまう、逆に個体としてはディフェンスレスになってしまいます。したがって、どこかで補いをつけないと自己と非自己の調和ということが保てない、つまりシステムとして機能しないことになります。そのためにMHC分子は多重化はしてお

りますが、メンバーの機能がそれほど異なるような多様化はしていないのであります。そういったことをしてしまいますと、自己主張が強く他人を受け入れることができないこととなります。横軸にMHCの遺伝子座の数、縦軸にその遺伝子のうち何個が多様であるかということを経験条件にとり、Tcellのレパートリーの大きさおよびMHCが外来抗原に対して反応できることを考慮して、どこにその中庸が求められるかを計

算してみました。結論を申し上げますと、MHC遺伝子座の数が9前後で、そのすべてをポリモルフィックにした際に我々個体は最もディフェンスになる、つまり生体に対して我々が持っている免疫系が最も良い防御システムになるということです。以上でございます。MHCは我々の免疫系の中核を担っているわけですが、その他の面白い話はこの後いろいろ聞けると思います。

質問コーナー

十字猛夫先生（日赤中央血液センター所長）
NKレセプターは古いものでしょうか？
マクロファージなどと同じ頃にできたのでしょうか？

高畑先生：マクロファージが持っていますレセプターの起源は非常に古く、脊椎動物以前にさかのぼることは確かです。そして捕食のなかでもC3は無脊椎動物も持っておりまして大変古いものです。すべてのものがいきなり5から6億年前にできたということはありませんで、そのプレカーサー分子や細胞があったのにちがいないのです。ただそれがどうしてその頃のように短い期間に一気に変わってしまったのが興味深いところで、わかっていないところです。もちろん細胞間のコミュニケーションに関わる分子は脊椎動物より後になります。

徳永博士先生（東大医学部教授、シンポジウム司会者）
さきほど先生はMHCがT細胞とかB細胞で進化のどの段階から確認できるかを示されたと思いますが、MHCが提示をしてT細胞がみるとするならば、その出現時期がほぼ同じ頃であっていいと単純に考えてしまいますが、それについては？

高畑先生：それはまったくわからない。おっしゃるとおりです。たとえばMHC分子がひとり単独にあってもこの系は動かないですし、免疫グロブリンだけあってもそれは十分に中和反応にたざさわっていることにはならないです。調和がとれたシステムとして働くには、こういった役者が揃わないとできないわけですから、どうしていき々に個体上に同時に登場し得たかはおもしろい問題ですね。

西村泰治先生（熊本大学大学院教授）
クラスIとクラスIIはどちらが早く出現したのでしょうか？またT細胞の $\gamma\delta$ と $\alpha\beta$ はどちらが早かったのでしょうか？

高畑先生：クラスIとクラスIIどちらが先に出現したかは、現在でも対立する意見があります。笠原先生はクラスIが

先に出現したと言われていました。その理由はHPS70の構造と機能からそのように言われています。ただしこの件に関して決着はついておりません。T細胞の $\gamma\delta$ と $\alpha\beta$ についてもまだ良くわかってはませんが $\alpha\beta$ が先に出てそれから後に $\gamma\delta$ が出たと考えられているようです。

佐治博士先生（京都府赤十字血液センター研究部長、シンポジウム司会者）

同じようなことを質問するのですが、進化の後にできた各分子の成熟度をお示し下さいまして、今NKレセプターも相当古いものであることを教えて下さいました。では今主にMHCが行っているT細胞への抗原提示はMHCができてから結構後のほうで始まったものらしいことがわかります。そうするとMHCが出てきたのはじめの頃は何かを思われますか？

高畑先生：それは非常に難しい質問です。それはわかりません。ただ無脊椎動物や原索動物のMHCに相当する分子の機能がわかれば、今のご質問に答えられるかもしれません。

佐治先生

たとえばNKはズーンと古いと言われておりましたね。するとMHCはNKのインヒビトリールセプターとして今も機能しておりますから、当時はNKに対してなにか作用したのではないかと考えられます。つぎに猪子先生が話して下さるかもしれませんが、MHCには免疫現象のなかの機能のほかにヒトの行動に関わる遺伝子もふくまれているらしいと言われてきました。したがってT細胞が機能するまでは動物の行動様式に対して機能していたのではないかと想像されるのですが、いかがでしょうか？

高畑先生：マクロファージの機能は食作用ですから、なにも変化していない自分の正常な細胞が食べられては困るわけで、正常な細胞にたいして何らかのリセプターをもっていないとNKは困る存在なので、MHCがそこに介在したかも知れないことは十分考えられますね。ただしこれはまったく私の想像にしか過ぎません。

染色体倍化によるHLA 遺伝子群の進化と形成

東海大学・猪子英俊先生がMHC 遺伝子群の進化に迫る。

第6 染色体はいかにして生まれたか？

はじめて明かすイノコセオリー

東海大学医学部 分子生命科学 猪子 英俊

MHC 領域の遺伝子達

HLA の機能はT細胞に抗原提示をすることです。その様式はちょうどホットドックを想像してください。ホットドックのパンがHLA 抗原分子で、中のソーセージが抗原ペプチドです。このHLA 分子の遺伝子群がヒトの第6 染色体上にあります。これはMHC 領域にある遺伝子数を示した表(表1)です。この領域はHLA 遺伝子群が集まっているところですが、実際は非HLA 遺伝子群の中にHLA 遺伝子群が紛れ込んでいる、すなわちその3/4が非HLA 遺伝子群であることがMHC 領域の構造解析から解ってきました。

次のスライド(表2)をお願いします。これは我々が1993 年ごろから気付いていたことで、国立遺伝研の池村先生や菅谷君達のグループとの共同の研究で解ったことなのですが、第6 染色体のいくつかの遺伝子で、ペアをなすような兄弟遺伝子(相同遺伝子)が第9 染色体のq33-34 の非常に狭い限られた領域にあることが解りました。いまのところ15~16 の相同遺伝子が第9 染色体の33-34 にあることが解っています。

表1 HLA 領域の遺伝子の数

遺伝子	発現遺伝子	偽遺伝子	計
クラスI 遺伝子	6	13	19
クラスI 様遺伝子	2	3	5
クラスII 遺伝子 α 鎖	3	2	5
β 鎖	4	5	9
クラスII 様遺伝子 α 鎖	2	0	2
β 鎖	2	0	2
非HLA 遺伝子	140	26	166
計	159	49	208

次のスライド(図1次頁)をお願いします。その兄弟にあたる遺伝子をピックアップして第6 染色体について現したものです。このなかのいくつかを申し上げますと、コラーゲン、RXRB、NAT、TAP、LMP2、LMP7 などがあり、特にTAP、LMP2、LMP7 はクラスI の抗原提示に関わる重要な遺伝子です。具体的にはつぎのスライド(図2・3次頁)で示します。

表2 Gross similarity of genes on 6p21.3 and those on 9q33-34

6p21.3 (HLA gene)		9q33-34	
gene / locus	Physical location	gene / locus	Physical location
VARS2 (Valyl-tRNA synthetase)	6p21.3	VARS1 (Valyl-tRNA synthetase)	9
HSP70 (Heat shock protein 70)	6p21.3	Bip (Ig heavy chain binding protein)	9q33-34
		GRP79 (glc-regulated protein)	
C2, C4A, C4B	6p21.3	C5	9q33
TNX (tenascin-X)	6p21.3	HXB (tenasin C)	9q32-34
PBX2 (homeobox oncogene)	6p21.3	PBX3 (homeobox oncogene)	9q33-34
INT3 (Notch1 homologue)	6p21.3	TAN1 (Notch 1)	9q34.3
TAP (ABC transporter)	6p21.3	ABC2 (ABC2 transporter)	9q33-34
LMP (LMP subunits of proteasome)	6p21.3	Z (Z subunit of proteasome)	9q33-34
NAT (RING3: homeotic gene)	6p21.3	NAT/RING3 homologue	9
COL11A2 (collagen X1 α 2 chain)	6p21.3	COL5A1 (collagen V α 1 chain)	9q34.2-34.3
XRB (retinod X receptor β)	6p21.3	RXRA (retinod X receptor α)	9q34

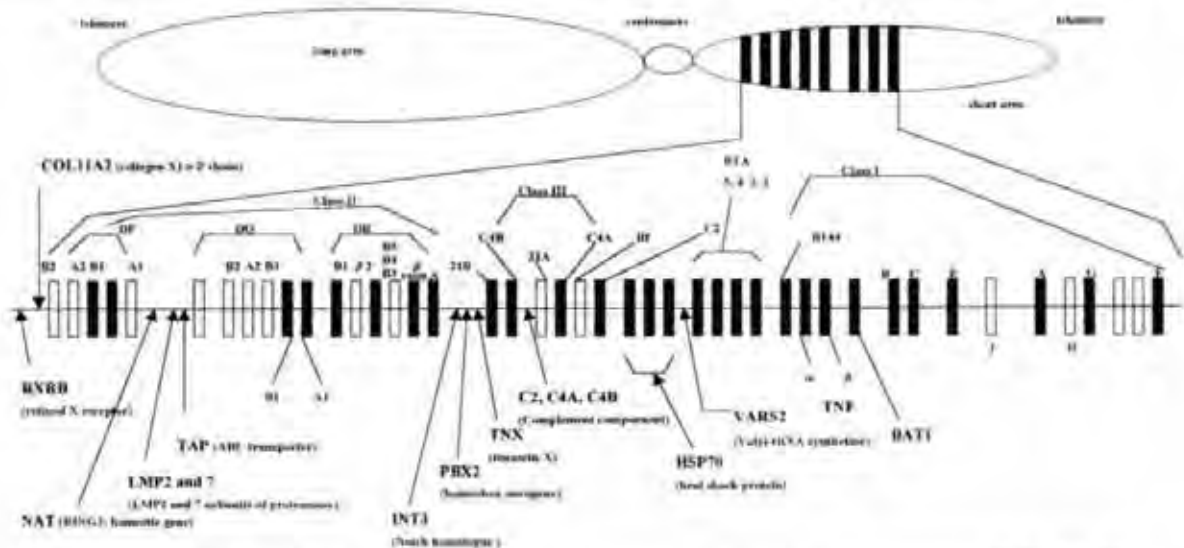


図1 Genes within the HLA region having homologous genes on chromosome 9.9q 33-34

第6染色体と第9染色体に兄弟遺伝子がある遺伝子達

抗原提示に関わる重要遺伝子 —TAP and LMP—

LMP2とLMP7は、先ほど話しましたホットドックのソーセージを作る、つまり外来抗原のタンパクを分解しペプチド（ソーセージ）にするタンパク分解酵素複合体26Sプロテアソームのサブユニットです。この26Sプロテアソームについては、免疫的に活性化されていない状態ではLMP2と7とMECL1がX、Y、Z遺伝子の産物に置き変わっています。逆に外来抗原が細胞内に入ってきた場合はインターフェロンγという免疫活性物質が作り出され、X、Y、ZがLMP2と7とMECL1に置きかわるので、LMP2と7がMHC領域にあり、Zの遺伝子が第9染色体上にあることが解りました。

つぎのスライド（図3）をお願いします。つぎにTAPといわれるトランスポーター遺伝子。これもMHC領域に存在している遺伝子ですが、クラスI抗原の抗原提示に関

わっています。最終的にはクラスI抗原がソーセージ（ペプチド）をはさんでキラーT細胞に提示されるのですが、外来抗原であるペプチドは先ほどいきました免疫プロテアソームといわれるLMP2と7のサブユニットを含むプロテアソームによりタンパクが分解されペプチドになります。一方クラスI抗原は小胞体のなかで作られて、ペプチドがTAPといわれる輸送体（細胞質から小胞体という細胞の袋のなかに輸送）を通して入ってきてクラスIと結合し外へ出る。MHC領域のHLA遺伝子群の中にTAP遺伝子やLMP遺伝子があるということは、なんらかのクラスI抗原とTAPとプロテアソームが基本的な必然性をもつて同じ遺伝子領域にあったと考えられます。

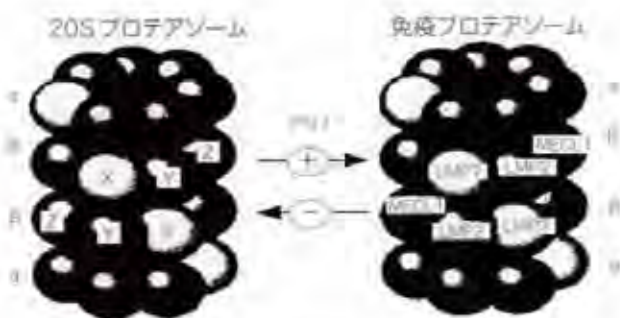


図2

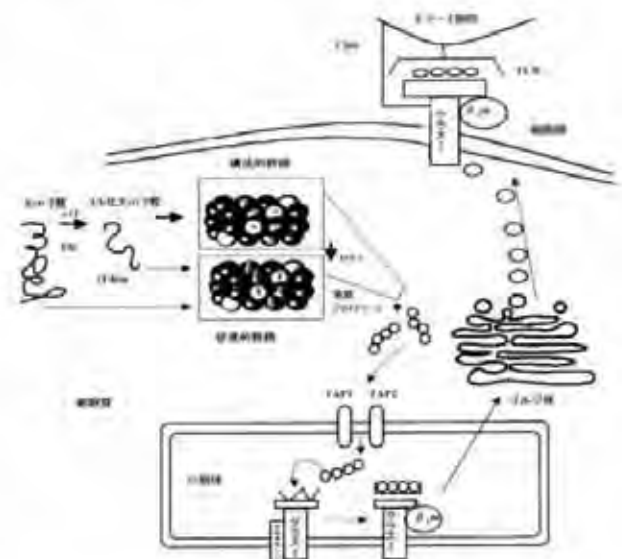


図3

NAT (RING3) 遺伝子

我々がその他に興味を持っておりますのが、同じく第6染色体と第9染色体に兄弟がおりますNAT (RING3) という遺伝子です。次のスライド (図4) をお願いします。

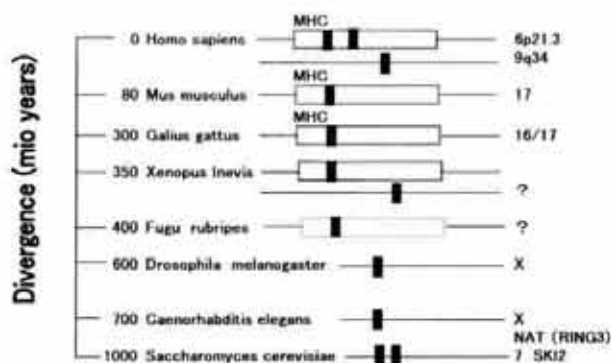


図4 Chromosomal localization of NAT(RING) and SKI 2 homologues in different species

NATという名前は我々がつけ、他のグループがRING 3と名づけたのですが、この遺伝子の機能はまだ十分に解っていませんが、核のキナーゼであることは解っています。この遺伝子の面白いところは、酵母(最も単純な真核生物であります)にもあり、非常に古い遺伝子でほとんどの種が持っているということです。それにもうひとつ申し上げますと、酵母についてNATの遺伝子のすぐ側にSKI 2 (スーパーキラー) という遺伝子があります。この遺伝子は酵母におけるウイルスの感染防御に働いている遺伝子です。この時点においてすでに免疫制御的な役割を果たしている遺伝子がNATのすぐ側にあったわけです。驚くこ

とに、ヒトにおいてもSKI 遺伝子に相当する遺伝子がクラスII 遺伝子領域に見つかっていて、クラスII 遺伝子のすぐ側にあります。NAT(RING3)遺伝子はクラスII 領域にあり、クラスII 領域にある遺伝子はすべて免疫応答に関わっている遺伝子です。いまのところNAT (RING3) だけがその機能が解っていない遺伝子ですが、このようなことから推察するとNAT 遺伝子も免疫応答に関わっている可能性が十分考えられます。

HSP70 遺伝子

次のスライド (図5) をお願いします。HLA 抗原のペプチド結合ドメイン構造がヒートショックプロテイン70 (HSP70) の構造と良く似ています。そしてHSP70は大腸菌・バクテリアから存在しますので、進化的にはHSP70 が古いことになります。したがってHSP70 からこのペプチド結合ドメイン構造をもらうことによってMHC (HLA) 抗原が出来上がったと想像されます。HSP70はシャペロンタンパクとしてタンパクの構造を支えるタンパクです。普通細胞質に存在します。小胞体でHSP70に相当する機能を担うGRP78またはBipと呼ばれる蛋白がありますが、GRP78 遺伝子は第9染色体に存在します。いままで第6染色体と第9染色体に兄弟遺伝子がいる遺伝子の一部を紹介いたしました。その他次のような遺伝子が両方の染色体に存在します。補体遺伝子C2やC4 (第6染色体) に相当するC5 (第9染色体) ・TNX (tenasin-X, 第6染色体) とHXB (tenasin C, 第9染色体) ・homeoboxであるPBX 2 (第6染色体) とPBX 3 (第9染色体) ・ノッチと呼ばれる遺伝子INT 3 (第6染色体) とTAN1 (第9染色体) ・コラーゲンのひとつのサブユニットであるCOL1A 2 (第6染色体) とCOL5 A 1 (第9染色

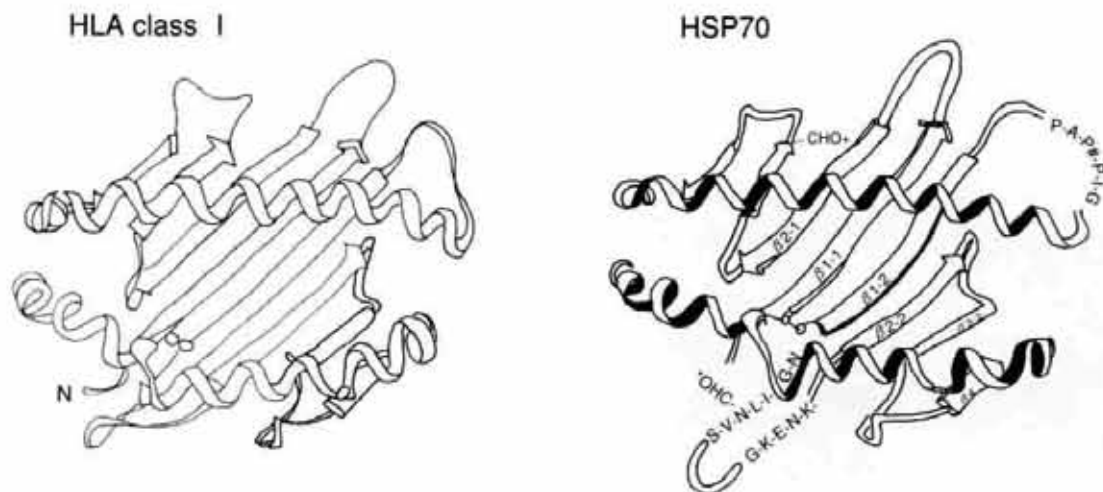


図5 Structure of HLA and HSP70

体)・クラスI抗原の発現に関係している転写調節因子といわれているRXRB(第6染色体)とRXRA(第9染色体)などがあります。十数個にわたるよく似た遺伝子が非常に限られた領域にあることは、この二つの遺伝子群は進化的にはひとつであって、染色体の倍加により2つになったと考えるのが常識的だと思います。

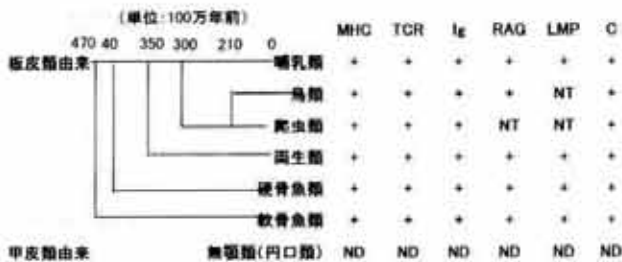


図6 脊椎動物における適応免疫の進化

MHC領域の進化

次のスライド(図6)をお願いします。これは脊椎動物における免疫系の進化を示したものです。MHCができあがったのは無顎類(円口類:ヤツメウナギなど)からサメ・エイへ進化したときであります。無顎類は脊椎動物の一番原始的な生物で、これらの生物はMHCを持っていません。その次に進化的に古いサメ・エイになってMHCが出現しましたので、この間に遺伝子の重複が起こったのだと考えます。

次のスライド(図7)をお願いします。

細菌にはすでにABCトランスポーターとHSP70およびプロテアソームのサブユニットが存在した。それが何らかのかたちで遺伝子のデュプリケーションを起こして二倍、遺伝子が2個から3個になり、酵母(真核生物)ぐらいの古さのときにHSP70、GRP78、X/Y/Z-like、ABCトランスポーターに2~3個の遺伝子ができ、何らかのきっかけでひとつの非常に限られた染色体上のある領域

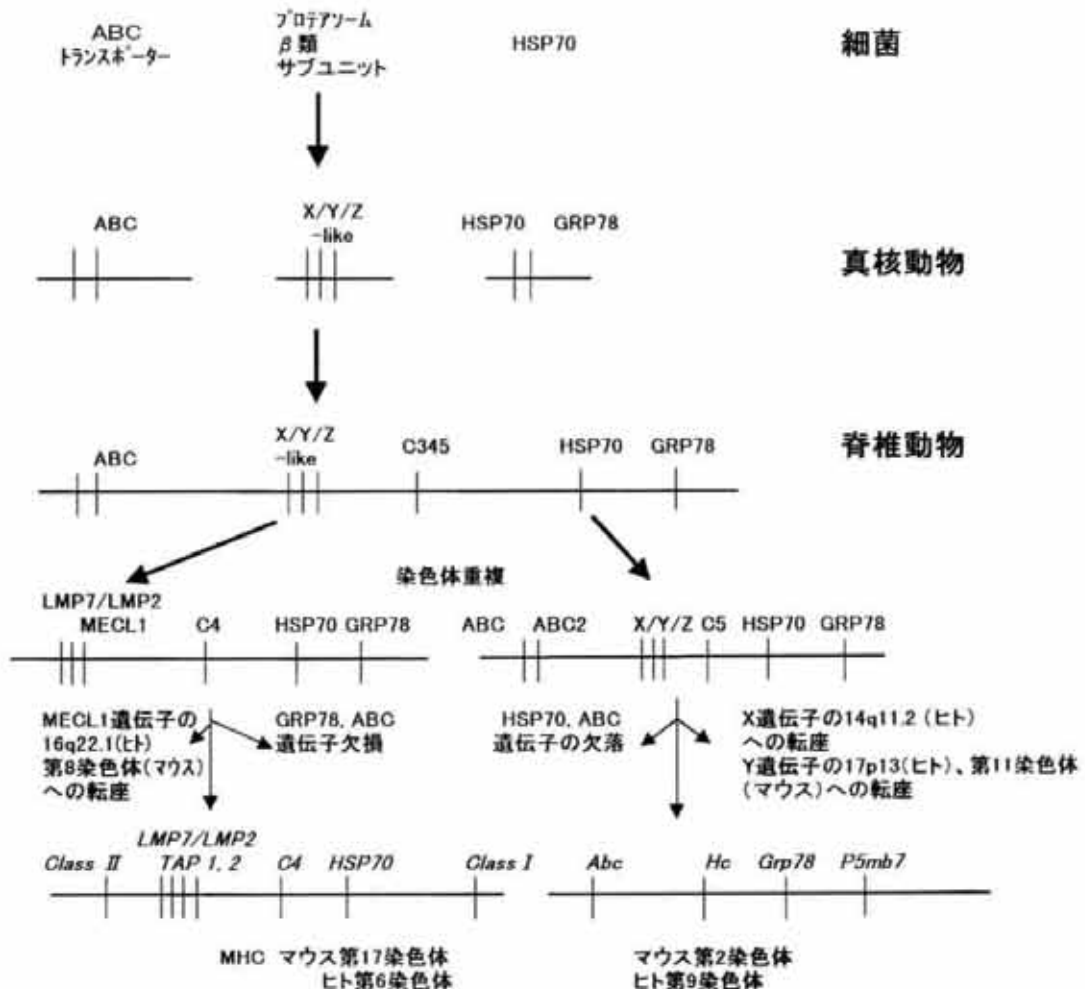


図7 MHCがどのような課程でアッセンブリーされたかを証明する

に集合してきた。その時に補体の遺伝子（補体の遺伝子はMHCよりも古いことが解ってきています）も集まってきました。そして染色体の重複をして、一方は第6染色体、他方は第9染色体に進化した。第6染色体に関してはHSP70からペプチド結合ドメインを得て、HLAのクラスIやクラスIIといわれるMHC抗原ができ、現在のような構造となったと考えるのが、この時点では妥当だと思います。

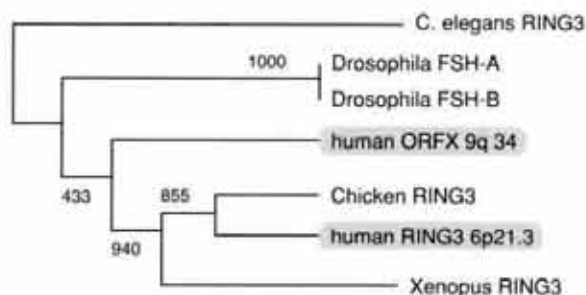
第6染色体と第9染色体がよく似た領域を持つ、兄弟のような染色体であることを話しましたが、最近のGenomicsに出たペーパーで第6染色体と第9染色体以外に同じようによく似た領域を持つ染色体があることが解りました。それらは第1染色体1q22-23付近で、もうひとつは第19染色体のp13の限局されたところ。この4つの領域が非常に良く似た領域で、良く似た遺伝子が非常に限られた領域に集まってきているということです。ですからこの4つの領域は進化的にはひとつの祖先遺伝子を持ち、それが2回倍化を起し4つの領域ができあがったと考えるのが一番単純な考え方だと思います。カンブリアの初期、進化のビックバンといわれる時期に染色体の倍化が起こったというのが大野乾先生の説なのです。大野先生の説とは、最初は1倍体であったものが4倍体に染色体が倍化して、その結果として進化のビックバンといわれるさまざまな生物が一挙にできたという学説です。それを示唆する例(表3)を次に示します。進化の起こる原形(ナメクジウオ)の染色体のゲノムサイズは 6×10^8 ですが、無頭

表3 脊椎動物ゲノムサイズの大小

動物種	代表例	ゲノムサイズ (DNA bp)	哺乳類ゲノムサイズに対する割合 (%)
尾索動物	ホヤ		
Urochordata	<i>Ciona intestinalis</i>	2.1×10^8	6
頭索動物	ナメクジウオ		
Cephalochordata	<i>Amphioxus lanceolatus</i>	6.0×10^8	17
無頭(円口)類	ヤツメウナギ		
	<i>Agnatha (Cyclostomata)</i>	1.4×10^9	40
	メクラウナギ		
	<i>Heptatretus stoutii</i>	2.8×10^9	80
クロソフテリギー			
シーラカンス		3.15×10^9	90
鯨魚		1.25×10^{11}	3,540

類と呼ばれる脊椎動物の最初の祖先はその2倍くらい、次のメクラウナギもまたその2倍くらいで、2倍から2倍のゲノムサイズで増え、最初からみると4倍になり、染色体が四倍化することにより、いろんな種がでてきたと考えられます。先ほどの兄弟遺伝子の場合もこのように考えれば説明がつくこととなります。そこでこのモデルが本当に正しいかどうか調べるために、第6染色体と第9染色体でペアを作っている遺伝子群(塩基配列が決定されてい

図8 NAT/RING3 homologue



る遺伝子が多い)について、その塩基配列をもとに系統樹を作って倍化がいつ起こったのかを調べました。最初に脊椎動物ができるほぼ5.4億年前に倍化を起こしたと推察できる遺伝子、NAT(RING3)の系統樹(図8)を示します。ヒトの第9染色体上のNATと第6染色体上のNATは、ちょうどショウジョウバエと分化した後にこの二つの遺伝子が重複してできた。脊椎動物ができあがった頃、この二つの遺伝子もできたことに一致します。次のスライド(図9)をお願いします。これも先ほどと同じような例です。PBXも第6染色体と第9染色体でペアを組み、やはりショウジョウバエと分化した後にこの二つの遺伝子が重複してできたと考えられます。これは補体(図10)の遺伝子ですが、ヒトのC5遺伝子は第9染色体上に、そしてC4遺伝子は第6染色体上にあります。Hagfishは無頭類の生物で脊椎動物の初期の生物ですが、これと分岐した後すぐのデュプリケーション(倍化)により、このふたつの補体遺伝子が出てきたことをこの系統樹は示しています。次のスライド(図11)をお願いします。Retinoid X receptorですが、これも同じように脊椎動物が出現した前後に遺伝子の倍化により第6染色体と第9染色体上にこれらの遺伝子が生まれたことを示しています。これからお示しします例はその出現がカンブリア紀よりずっと前であることがうかがえる遺伝子です。

図9 PBX

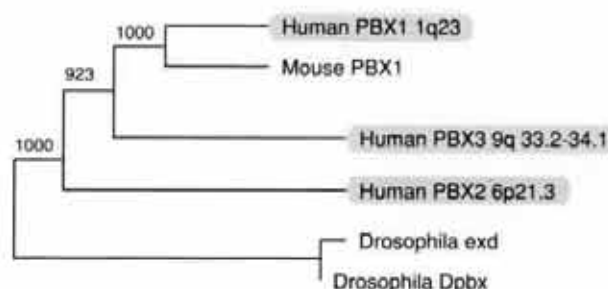


図 10 Complement component

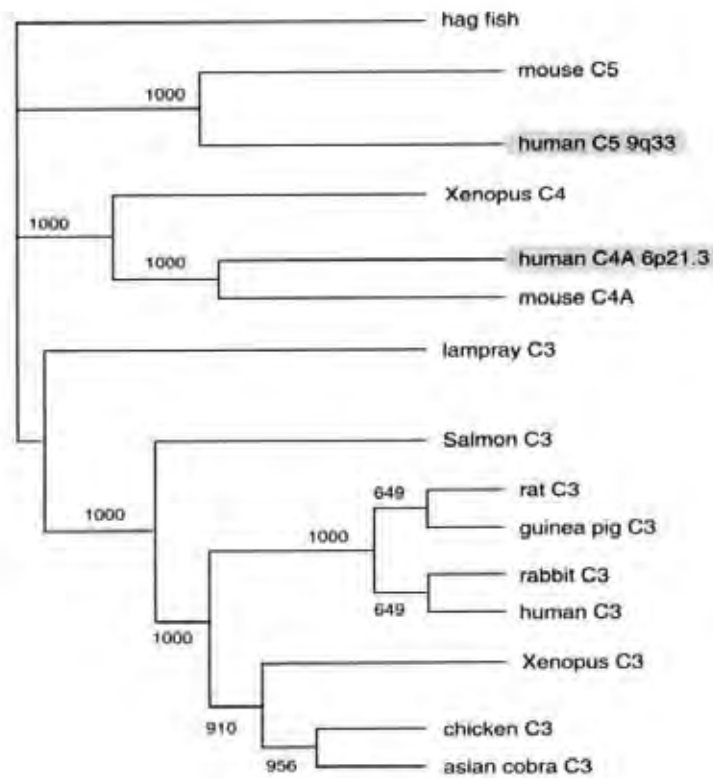
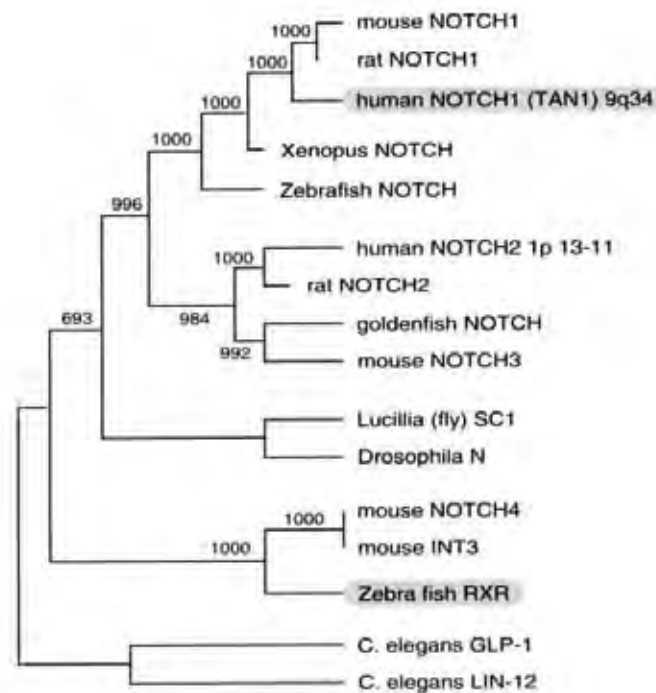


図 11 Retinoid X receptor



NOTCH 遺伝子 (図12) はヒトの第6染色体上と第9染色体上にあるのですが、線虫と分かれたすぐ後にこの二つの遺伝子が重複により作られその後に昆虫が出現します。すなわちこの遺伝子達は昆虫が出現する前に存在していたことが分かります。HSP70もこのような例の遺伝子です。今までのまとめを表4に示します。脊椎動物が出現した頃に倍化したらしい遺伝子群と、もっと以前に倍化したらしい遺伝子群が存在します。RXRB、COL、NAT、PBXはほぼ脊椎動物が出現した時期で、プロテアソームやTAP、NOTCH、TNXA、HSP 遺伝子などはそれよりもっと前ということになります。次の図 (図13) に第6染色体と第9染色体の遺伝子地図を並べました。破線で結ばれた遺伝子は脊椎動物出現と同じ頃に倍化したと考えられる遺伝子で、実線で結ばれている遺伝子はそれ以前に倍化したと考えられる遺伝子です。脊椎動物の出現と同じ頃に倍化したと考えられる遺伝子は第6染色体と第9染色体で同じ順序で並んでいます。それ以前に倍化したと考えられる遺伝子は、配列順序がまったく違っています。これは遺伝子のなかに脊椎動物出現と同じ頃に倍化したものと、それ以前に倍化したものの2群があることを支持するデータです。これらのことから次のような仮説をたてました。

表4 The estimated divergence time of the two chromosomal bands

6p 21.3	9q33-34	Divergence time (MY) ¹
RXRB	RXRA	268-372
COL11A2	COL5A1	258-344
NAT(RING3)	ORFX(RING3L)	331-450 ²
PSMB8, 9	PSMB7	N.D.
TAP1, 2	ABC2	N.D.
NOTCH4	NOTCH1	364-909
PBX2	PBX3	580
TNXA	HBS	N.D.
C4A	C5	161-279
HSPA1A, B, L	HPSA5	N.D.
VAR2	VAR1	3.5-19

1: Deduced assuming human-mouse divergence time is 80MY.
2: Deduced assuming human-chicken divergence time is 270MY.
N.D.: not determined.

図12 NOTCH

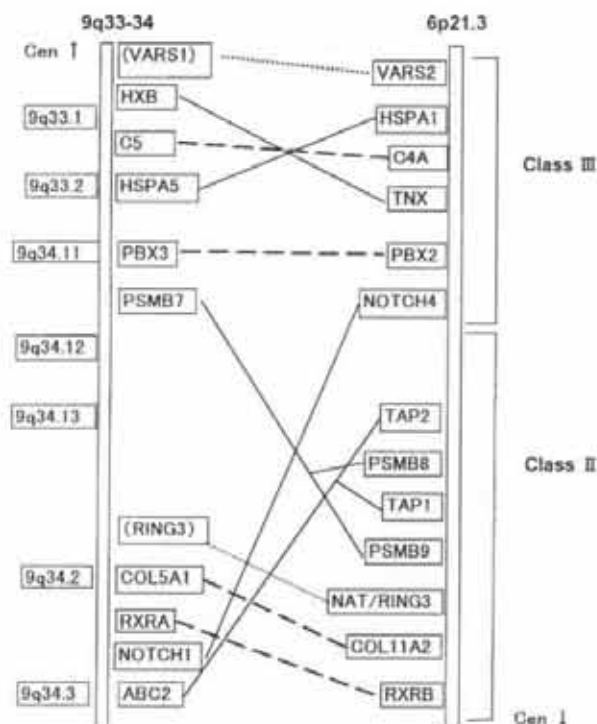
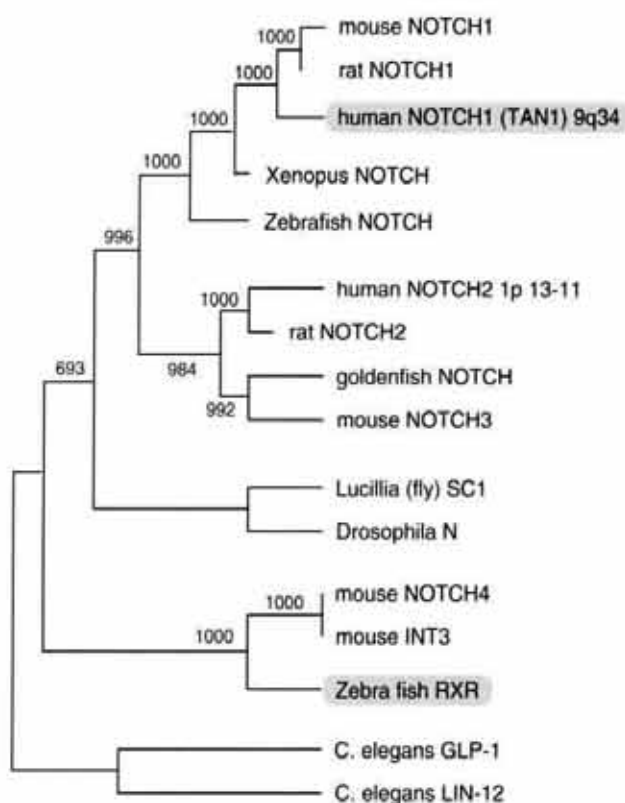


図13

MHC遺伝子誕生についてのイノコセオリー

前にも述べましたが、脊椎動物が出現する以前に原始的な第6染色体と第9染色体がいくつかあり、その後にデュプリケーションをした遺伝子が一挙に入り込んできたという仮説が、もっともらしい仮説だと最初は考えていました(図14)。しかしこの仮説とは逆に、それぞれの遺伝子は一挙に自然的な必然性を持って倍化してリクルートされながら、その1つ1つの遺伝子がばらばらに集まってきたと考えるのが、このような各遺伝子の系統樹の解析から、もっともらしいと考えるようになりました。これはまったく極端な話ですが、染色体倍化に代るモデルとして、それぞれの遺伝子が基本的な必然性を持って、なんらかの機能集中を行う全体的な遺伝子構造として保つため、それぞれのきっかけでばらばらに入ってきたと考えるのです。

この仮説を補強するデータとして、赤血球の血液型(たとえばABO、Rh、Duffy、Lewisなど)の染色体の位置について調べてみますと、先ほど言いました4つの染色体のうち第6染色体を除く第1、第9、第19染色体に多くの赤血球の血液型遺伝子が存在することに気付きました。

表5 赤血球血液型に関係する遺伝子座

第1染色体 (1q22-23)	
Duffy 式血液型	glycoprotein D (receptor of malarial parasite)
Rh 式血液型	peptide complex
第9染色体 (9q33-34)	
ABO 式血液型	α 1,3 GalNAc transferase (A型) α 1,3 Galtransferase (A型)
α 1,3 Gal Transferase (偽遺伝子)	
B 式血液型	β 1,6 GlcNAc transferase (IGnT)
C2 GnT	β 1,6 GlcNAc transferase
α 1,3 fucose transferase VII	
第19染色体 (19p13.3)	
Lewis 式血液型 (Fuc-T III)	α 1,3 fucose transferase III
Fuc-T V	α 1,3 fucose transferase V
Fuc-T VI	α 1,3 fucose transferase III
Lutheran 式血液型	?
H 酵素	α 1,2 fucose transferase
Sc 唾液型	α 1,2 fucose transferase

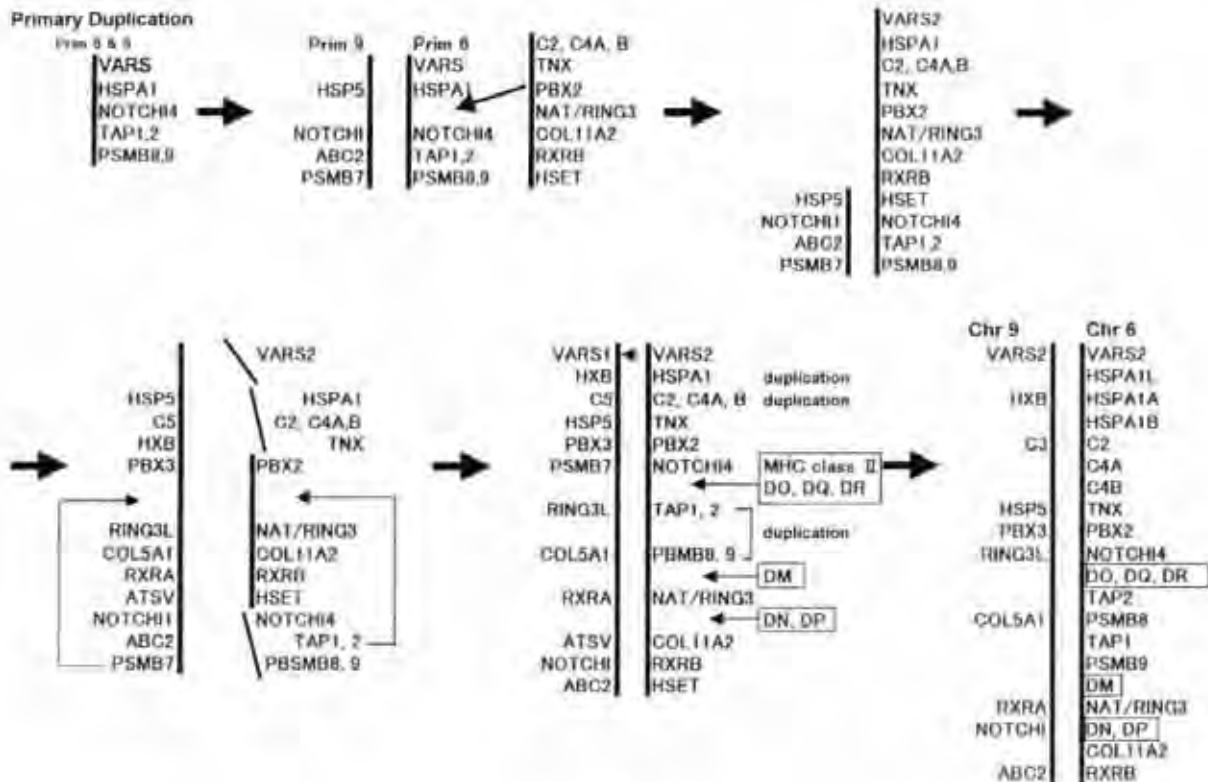


図14

た(表5)。第1染色体(1q22-23)にはDuffy, Rhがあり、それらの機能はまだはっきり解っていませんが、少なくともDuffyはglycoprotein DでRhはpeptide complexであることが解っています。第9染色体(9q33-34)にはABO血液型、li式血液型、 β 1,6GlcNAc transferase、 α 1,3 fucose transferase VIIなどの血液型に関する遺伝子が集まっています。第19染色体(19p13.3)にはLewis式血液型、Lutheran式血液型、ABOの骨格をなすH酵素、Seの唾液型の酵素である α 1,2 fucose transferaseなどの遺伝子がこの狭い領域に集まっています。これは偶然に集ま

ったものとは考えにくいと思います。またこれらの多くは糖の転移酵素であります。次のスライド(図15)をお願いします。糖の転移酵素とは、いくつかある糖鎖にいろいろな糖をつける酵素で、たとえばルイス型の酵素ではフコースを端につけ、ルイスBができます。A型の場合はA酵素が α 1,2にフコースをつけA型の血液型ができます。このように糖転移を起こす酵素で、赤血球の型抗原の場合このような酵素が多く存在します。次に(図16)実際どのように糖の転移が起こるかを示しますと、ドリコールリン酸の端に片っ端から糖を付けていくのが糖転移酵素の働きです。

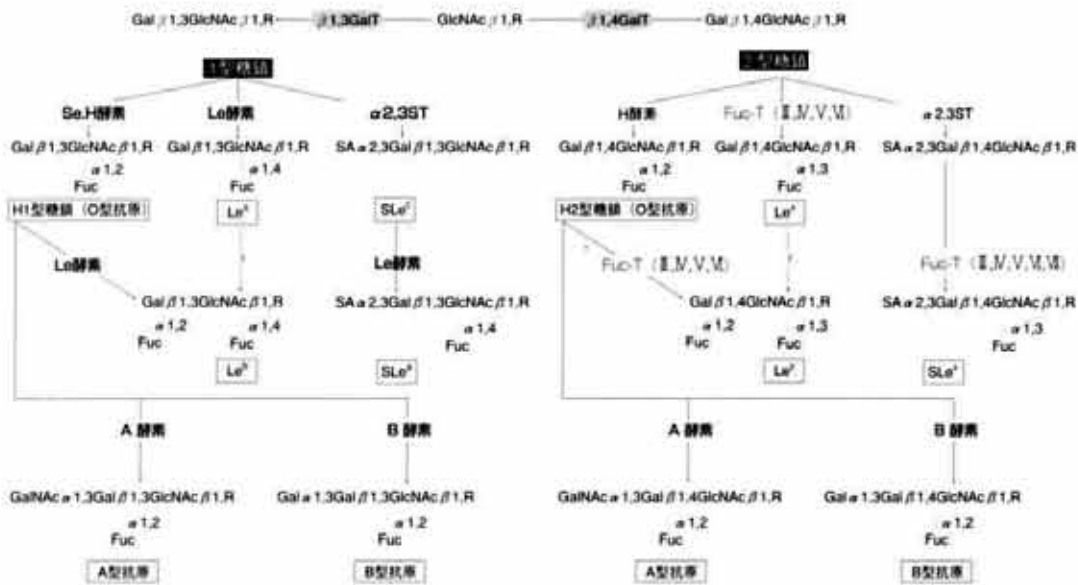


図15 ABO式血液型抗原・ルイス式血液型抗原・その他のルイス抗原群の生合成経路図

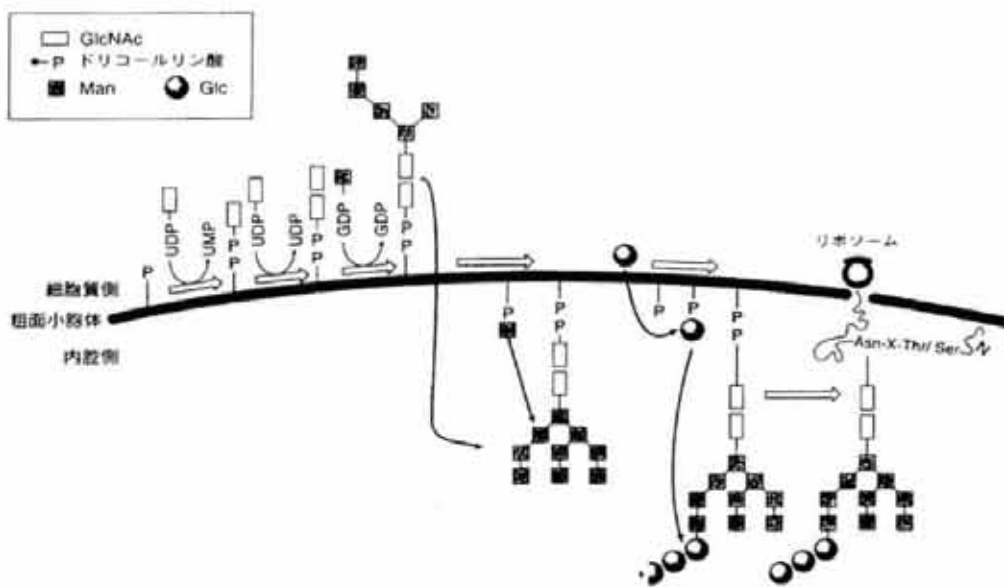


図16 N-結合型糖鎖合成の初期段階の模式図



図17 糖鎖の機能

赤血球の型抗原遺伝子の半分以上が先ほどから申しております四つのよく似た染色体上に集まっています。ここで糖転移酵素の役割あるいは糖鎖の役割を考えてみます。糖鎖は原始的な生体免疫として（酵母や原生動物も保有する）、非自己を識別するひとつの指標であった。たとえば異物が侵入した場合、生体は細胞表面の糖鎖の違いにより非自己を認識したと考えられます（図17）。

次のスライド（表6）をお願いします。これが最後のスライドで私の妄想かもしれませんが、原始的な免疫システムとしての生物の異物認識とその排除について考えると、最初は糖があるかないか、すなわち糖の転移酵素が防御システムの監視役を担い、その後NAT、SKI2、ABC transporter、プロテアーゼ、HSP70や補体が異物処理班として働き、全体的な免疫防御システムを作っていたのではないかと考えています。例えば異物が生体に入ってきた場合、糖により異物の認識が起こり、プロテアーゼに

より異物タンパクの分解がなされ、ペプチドをABC transporterが運び、HSP70のペプチド結合ドメインに挟み込み分解、あるいは再利用する。全体として免疫システムとして働くためにメンバーが集まっていたのではないかと思います。そしてその内に進化してHLA抗原となったのが第6染色体遺伝子で、赤血球抗原として進化したのが残り3個の染色体遺伝子ではないかと考えられます。もっと積極的な考え方を申しますと、HLA抗原とはもともとABC transporter、プロテアーゼ、HSP70などがあつた領域にひとつあり、生体防御の一環としてペプチドをつかみそれを現在とは違った方法で処理をして、分解あるいは再利用する過程で働いていた一因ではないかと考えたいのです。それが抗原提示というかたちでリクルートされT細胞リセプターに対する抗原提示という非常に基本的な役割に進化し、現在の精緻な適応免疫システムが完成していったのではないかと考えられます。以上です。

猪子先生はこの10年間、HLA業界ではズーッと遺伝子の森を歩き続け、時々しかその姿を垣間見せない謎の人物であったのですが、本日その全貌を明らかにされた気持ちに致します。手前味噌ではございますが、猪子先生・高畑先生ともに司会者の期待とおりのスケールの大きいロマンチックな示唆に富んだお話をして下さいました（司会者一佐治先生の感想）。

表6 血液型遺伝子の進化＝非自己の認識システムの進化

生物の異物認識とその排除 (原始的な免疫システム)	→	各染色体 (1q22-23)、(6p21.3) (9q33-34)、(19p13.3)
○糖転移酵素 (transferase)		○ HLA 抗原、赤血球抗原
●NAT (RING3)		●NAT (RING3)
●SKI2	→	●SKI2
●ABC transporter		●TAP
●プロテアーゼ		●LMP プロテアーゼ
●HSP70		●HSP70
●補体		●C2, C4, C5
		●その他の多くの遺伝子

質問コーナー

徳永勝士先生

最後の結論のところは非常に興味深かったです。染色体の倍化のところ、セグメントが倍化してそれぞれ余分なセットができた。大野先生の発想もおなじですが、余分なコピーができることにより、その遺伝子が別の機能を持つ、すなわち「似て異なる機能」を持つ余裕ができることにより機能的に分化している。ただしあるものは逆に偽遺伝子として死んでしまうという考え方があるのですが、実際にシンジェニックな遺伝子のペアで、新たな機能を獲得した遺伝子と偽遺伝子となったものの割合は解っているのでしょうか？

猪子先生

それについてはほとんど解っていません。私が現在研究しております遺伝子もすべて生きている遺伝子です。機能的にはよく似ていて、NATとかPBXについては解りませんがその他のものは今も機能を維持しています。

成松久先生（創価大学教授）

先生お久しぶりです。これはノスタルジックな話なのですが、初期胚のときに糖転移酵素とインターアクションがあったのではないかと、プリミティブなセルインターアクションに糖とレクチンやtransferaseが関与している。したがって誰もまだ証明していないことです。私がなぜ免疫学から糖転移酵素の研究をはじめたかと申しますと、そういうものが生物の根元であると思い込んでしまったからです。しかし実際クローニングをはじめると、糖転移酵素はHLAと関係のない染色体上に散在していました。この結果で非常に絶望していたのですが、先生のお話を聞いてまた15年前の話にもどらなくてはいけないと思っています。そして今私が気付いていることがあります。それは末端の糖鎖のバラエティを決める遺伝子はまだまだ沢山あるのではないかと。いまクローニングされているのはほんの一部ではないかということです。細胞のステージスペシフィックに使い分けられている遺伝子がまだ残っていると思います。したがって個体発生の初期発生

のときに使われている遺伝子は今使われている遺伝子とはまったく違った遺伝子かもしれません。ひょっとしてHLA座に非常に近いところにそのような遺伝子群が残されているのではないかと考え、現在そこを研究しているところです。

猪子先生

我々のシーケンスデータでも探してみたいと思います。

佐治先生

先生がおっしゃった15年前の話とは何ですか？

成松先生

糖転移酵素のクローニングが始まる前に、糖転移酵素がHLAのようなポリモルフィックなジーンクラスターであり、MHC分子は糖転移酵素をプロトタイプとして進化してきたのではないかといった仮説がありました。初期胚の段階ではMHCは発現していませんので、そのMHCのプロトタイプのジーンクラスターが発現していて、細胞間のインターアクションに関与している。それがアダルトになってゆくとMHC、T細胞、リンパ球というようなインターアクションにシフトしていくという話がありました。

猪子先生

糖転移酵素に多型性があるということはいろんな糖の基質が違うのですか？あるいは糖を運ぶ微妙な運びかたの違いを多型と言われているのですか？

成松先生

それからもうひとつ、糖の転移酵素はバラエティに富み、このバラエティを作っている酵素がひとつひとつ違っているのことは見当がついています。それだけのバラエティを作るジーンが免疫システムのプロトタイプに似ていてもおかしくないという空想があったのです。それが15年前です。

—インターミッション—

リポーターの感想：20年余りHLAの世界に住み、HLAに関わる学会に出席し、いろんなシンポジウムや講演を何回機会が少なからずあったと思います。その中で最高のシンポジウムであると思います。ただ氣遣われることは、内容の濃いお話でしたので、講演された先生方が皆様にお伝えなさりたかったことをできるだけ多く表現できていることを祈ります。このようなシンポジウムのリポートをさせていただき幸甚でございます（EM）。

お出なごせ福岡に！ということで今年5月22日福岡市で開催された第45回日本輸血学会、シンポジウム「HLAの進化、多型から臨床まで」の後半2回は、「HLA遺伝子群にみるゲノム多様性」と「HLAクラスI結合性ペプチドと自己免疫疾患」というテーマでそれぞれ徳永先生、西村先生の講演がありました。このシンポジウムに出席し「同じ人間でありながら、ヒトとは色々な研究の対象に成りうるものだ」とか、「ヒトの免疫応答の仕組みはおもしろい」など考えながら、楽しんで聞かせていただきました。ここにその講演内容を紹介させていただきます。しかし私の理解不足で、文中、??というところが多々あるかもしれませんが、「KAMON」の読者の方々の豊富な知識と想像力で補っていただけると思い強気で書いてしまいました。どうぞよろしくお付き合い下さい。

HLA 遺伝子群にみるゲノム多様性

東京大学医学部人類遺伝学 徳永勝士

HLA 遺伝子群にみるゲノムの オーソドックスな分け方

としては塩基配列のレベルによるものと遺伝子構成レベルの違いによるもの、あるいは集団のあり方の違いによるものという視点がある。

- ・塩基配列の多型性としては、多数の対立遺伝子がありそれぞれの配列に変異部位が多い。またその違いは非同義置換（アミノ酸が違う）が同義置換より多く、また一人一人を見ていくと多くの場合ヘテロ接合体となっている。
- ・ハプロタイプレベルあるいは遺伝子構成レベルの多型性は、各ハプロタイプで保存されている。すなわち特定の対立遺伝子セットがある。またハプロタイプとハプロタイプを比較すると大規模な違い、数十～数百kbの長さや遺伝子数の違いがある。
- ・集団の多様性は対立遺伝子頻度の集団差やハプロタイプ頻度の集団差として現れ、集団の近縁性の推定ができる。

HLA クラス I の領域で 大規模なサイズの違いが有る

らしいということで検討がなされた。クラス I は大体千 kb にわたっている。主な HLA-A のグループは A1, 2, 3, 11, 26 グループであるが、A30, 31, 33 の HLA 型では HLA-A の近領域で 70kb の insertion があり、一方 A24, 23 の HLA を持つハプロタイプでは 50kb ほどの deletion が

ほぼ同じと思われる場所に起こっていた。全体で 120kb の差があるわけで、ここに全く意味のない遺伝子が入っているのか、またはある種の機能をする遺伝子が入っているのかを調べるのが今後の課題と考えている。

またこれらの事は HLA-A の対立遺伝子の系統樹を見てもかなり対応していると思われる。A30, 31, 33 いわゆる A19 のグループが成立しあまり時間がたない内に 70kb の insertion が起こり一方 A24, A23 が成立した直後に 50kb の deletion が起こったと考えられる。

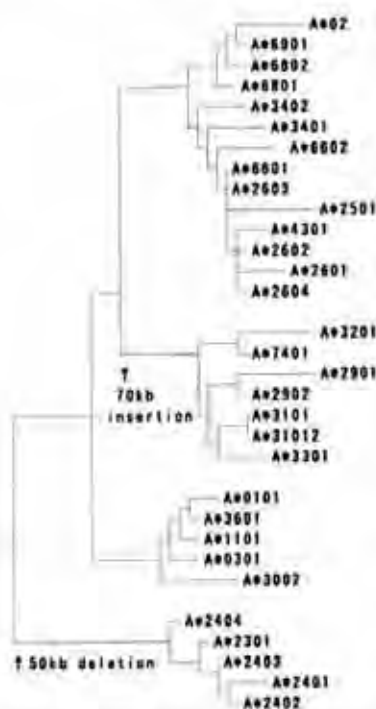


図1

クラスIIの領域でも100-200kb位のサイズの違いがあり、遺伝子の違いもそれに対応している。クラスIIIの領域にも長短がある。ファイバーフィッシュという方法を用い1本の染色体を引き延ばし、21OHの遺伝子とC4の遺伝子をそれぞれ赤と緑の蛍光で染色すると1個の21OHの隣に数個のC4遺伝子があり1つのユニットを形成していることがわかる。2ユニットを持っているハプロタイプがメジャー(頻度58%)で、3ユニットを持っているものもある(頻度28%)(N=31)。3ユニットにはA24-B7-Cw7-DR1というハプロタイプが対応し、2ユニットはB67を持つハプロタイプが対応していた。このように染色体の解析方法が進んで、染色体の違いがビジュアルにみられるようになった。注意すべきは解析スケールが数kbにわたっており、染色体の分子生物学のモレキュラーのレゾリューションはかなりオーバーラップし、ゲノム解析および比較が進んでいく。

集団の多型性

についてはDRB1の対立遺伝子の頻度に基づいてアジア系民族の系統樹を作成した。以前は血清学の結果を基にして作っていたが、今日塩基配列のデータがかなり集まってきた。アジア民族はどのように分布しているのかを見ると北の漢民族、満州族、シベリアのモンゴル系のブリヤットが1つのグループを形成、ソウルを中心とした韓国人、中国に住む朝鮮族は遺伝的に共通する先祖集団を持ち、また韓国人と日本人は似ている事がわかった。南太平洋のグループを見ていくとメラネシアすなわちバブアニューギニアの中で特に北側の海岸に住んでいる、あるいはその近海の島に住んでいる人はポリネシアと一緒に、一方バブアニューギニアの高地及び南側に住んでいる人はオーストラリアのアボリジニと近い関係にあると言うことがいえる。これらは言語学的にもよく対応している。日本人のクラスI、クラスIIについて、シークエンスレベルで調べたハプロタイプで多く見られるものについて抽出すると従来血清学で調べられていた日本人に多いハプロタイプと非常によ

く対応している。(表1)

一定のハプロタイプのセットが数千年あるいは数万年のオーダーでその集団に受け継がれてきた。これを使って個々のハプロタイプ毎に分布状況を見、系統樹ではない情報が得られると考えている。すなわちBuryat, Mongolian, Man, N.Han, Korean(N.China), Korean, JapaneseのCommon HLA-A-B-DRB1ハプロタイプについて共有するタイプの頻度を見ていくと、過去の人類の移動の推定ができるのではないかと考えた。血清学データによる仮説として東アジアにおける複合的な移動と拡散を[B52-DR2][A24-B48][B13-DR7][B44-DR13][B46-DR9][B54-DR4]というハプロタイプで調べると、各ハプロタイプの頻度を多く持つ先祖集団が過去色々なルートを使って東アジアを移動あるいは拡散し、結果として今のHLAの分布があるのであろうと考えられる。シークエンスレベルのタイピング及びより多数の集団のタイピングにより詳しい結果すなわち人類の移動ルート及び移動の年代推定ができるのではないかと期待している。もう1つの例として北海道のアイヌ民族についてDRB1アレルとその頻度解析を本州人・和人と比較するとアイヌ人に多いDRB1*1401、1406、0802(頻度:20.0、17.0、10.0)は和人(頻度:3.8、1.7、3.8)に必ずしも多いとはいえない。反対に和人に多いDRB1*1502、1302、0803、1501(頻度:9.2、7.4、7.3、6.8)はアイヌ人では低い頻度(1.0、1.0、1.0、2.0)と、かなり異なる。アイヌで頻度の高いアレルについて他の民族をみるとDRB1*1401は南中国の少数民族、DRB1*1406は南アメリカのインディオ、DRB1*0802は南アメリカのインディオやアメリカインディアンで頻度が高い傾向があり、アメリカインディアンともある程度似ている。統計学的に、HLA-DRB1とDQB1のアレルの頻度をPrincipal Component(PC) analysisという解析方法で民族間の遠近を見ると和人、韓国人のアジアグループはほぼ同じ場所にまとまり、アイヌ民族はやや離れた部位に存在、その延長上にアメリカのインディアンのグループがある、といえる。

表1 common HLA Haplotypes carry Specific Sets of MHC Alleles

Haplotype	Average Frequency (%) #
A*2402-Cw*1202-B*5201-DRB1*1502-DQB1*0601	8.41
A*2402-Cw*0702-B*0702-DRB1*0101-DQB1*0501	4.06
A*3303-Cw*1403-B*4403-DRB1*1302-DQB1*0604	4.03
A*2402-Cw*0102-B*5401-DRB1*0405-DQB1*0401	3.03
A*0207-Cw*0102-B*4601-DRB1*0803-DQB1*0601	2.24
A*1101-Cw*0401-B*1501-DRB1*0406-DQB1*0302	1.36
A*2402-Cw*0801-B*4006-DRB1*0901-DQB1*0303	1.13

#Frequencies based on serology data (n=767)

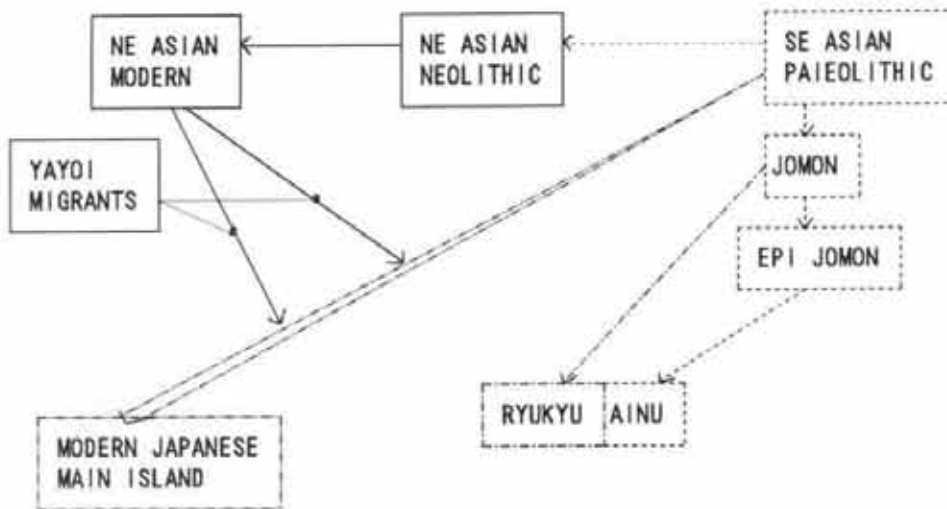


図2

アイヌ、日本人の成立モデル

として一番取り上げられている二重構造モデルというのがある。(図2)

基本的には、日本の縄文時代の人々の所に弥生時代に主として朝鮮半島経由で大量の人々がやってきた。その影響を強く受けて現在のマジョリティな日本人が形成された。一方縄文時代の影響を強く残したグループがアイヌの人々とされる。今回のHLAの結果はそのことを表す。ただこのモデルでは縄文系の人々の先祖は東南アジア系とされているが今はわからない。最近北方アジアのデータがほつほつ出ており、むしろ北方に母体があって、数万年前に、あるものはベーリング海を渡ってアメリカ大陸に入ったと考えたほうがいいのではと思う。

(最近特に縄文文化が注目されているように感じられますが、8月10日のTV番組でエクアドルの太平洋に面したある地方で発掘された土器に縄文が施されていたという内容を見ました。南米エクアドルで！それらを作った人達は縄文中期の時代に海から来たヒトといわれているそうですが・・・改めて徳永先生の講演内容を思い出しました。彼らは行動的だったんですね！)

話題は変わって

血液型遺伝子は9番目の染色体にあり、ABO遺伝子の多型性を調べると、予想以上に対立遺伝子があった。ABOのアレルは30種類以上見つかったので、混乱を避けるために人の遺伝子の命名法のガイドラインに沿って名前を付けたほうがいいのではと考える。(表2)

表2

Polymorphism of ABO Gene at The Sequence level

Phenotype	Allele	Frequency in Japanese
A ₁	*A101	0.050
	*A102	0.216
	*A103	rare
	*A104	0.005
	*R101	0.004
A ₂	*A105	rare
	*A106	rare
	*A107	rare
	*A111	rare
A ₃	A ³	N. D.
A _x	*A108	rare
	*A112	rare
Cis-AB	*C101	rare
Ae1	*A109	rare
	*A110	rare
B	*B101	0.171
	*B102	0.003
	*B103	rare
	*B107	rare
B ₃	B ³	N. D.
B _x	*B104	rare
	*B105	rare
Be1	*B106	rare
	*B109	rare
O	*O101	0.250
	*O102	0.009
	*O103	0.002
	*O104	0.002
	*O201	0.275
	*O202	0.007
	*O203	0.002
O ²	N. D.	

□のアレルは
新しく見つかった対立遺伝子

主なABO型のアリルの配列の違い

A型のアリルは1個か2個の塩基が異なり、*A101、*A102、*A103はそれぞれ1個のアミノ酸が異なるだけである。B型のアリルは1、2個の塩基の違いの他に、ある変異が全部のアリルに共通して起こっており、その部位のアミノ酸がB型としての特異性に係わっていることが推定される。O型は遺伝子の変異から大きく2つの対立遺伝子*O1と*O2に分けられると考える。が、共通して全てのO型は261番目のGが欠損しており、それによりストップコドンが形成されている。O型の頻度が高い、すなわちトランスフェラーゼ活性を持たないものが集団の中で高頻度にあつて、それでなんともないということとは不思議なことである。

国立遺伝研の齊藤氏の助けで作ったABOの系統樹でネットワークと表現されているが、(図3) この系統樹からO型は2つに分けられ、一つのグループは配列のレベルでいうとむしろAのグループに近く、系統としてOのグループ、Aともう一つのOのグループ、Bのグループの3グループに分けられる。ただし261Gの欠損が起こってA型とO型を区分していることが示される。A/Bトランスフェラーゼ活性をアミノ酸配列からみると(表3)、アミノ酸配列に1箇所の違いがあつて血液型のアリルが違い、機能が違ってくる。実際はビトロの実験で活性を測っていかないとはいけませんが、活性に必要なアミノ酸が型によって置換され、ただ1つの置換で型が変わるということからこの配列が重要な事と推定される。

表3 Putative Amino Acid Residue Critical for A/B transferase Activity

Phenotype Allele	AA position and residue							
	156	214	216	223	291	337	352	
A ₁ or B	*A101 or *B101	Pro	Met	Phe	Glu	Asp	Arg	Arg
A ₁	*A102	Leu	-	-	-	-	-	-
A ₂	*A106 or B ⁺	-	-	-	-	-	-	Trp
A ₃	*A107	-	-	-	-	-	-	Gly
A ₄	*A111	-	-	-	-	-	Gly	-
A ₅ or B ₅	A ⁺ or *B104	-	-	-	-	Asn	-	-
B ₁	*B106	-	-	-	Asp	-	-	-
A ₆	*A108	-	-	Ile	-	-	-	-
A ₆	*A110	Leu	-	Ile	-	-	-	-
B ₁	*B105	-	Arg	-	-	-	-	-

ヒトゲノムの多様性研究の意義ということではヒトという種が持つ遺伝的多様性がどの程度であるか、その配列レベルではまだ私達は知らない。が、ヒトは適切な研究の対象といえるかもしれない。ヒトの起源・民族・集団の形成において有意義があることから、自然淘汰と適応ということでは意味がある。またこれからはCommon disease関連遺伝子、いわゆる沢山のありふれた遺伝子の基礎情報があつてたくさんの遺伝子が少しずつ係わってしかも環境要因が合わさって、予想もしなかった色々な遺伝子が疾患に関与している場合、そういう関与遺伝子を同定するためには、HLA対立遺伝子との関わり等を患者集団において解析していく必要がある、と考えている。

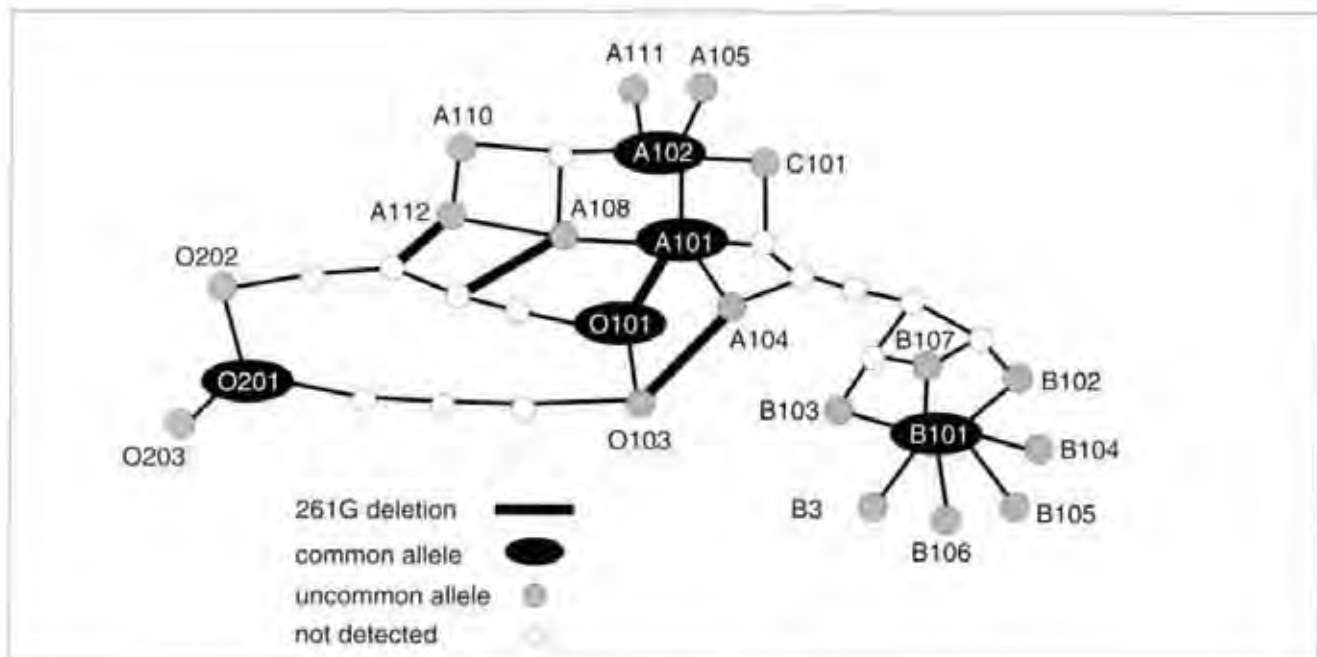


図3 A Phylogenetic Network of ABO Alleles

HLA クラスII結合性ペプチドと自己免疫疾患

熊本大学院医学研究科 免疫識別学 西村 泰治

ヒューマンの中でもある特定のHLAを持つ人がある病気になりやすい

そのメカニズムについて話すのが完全に免疫学の話である。始めにどうやって抗体ができるかについて話すと、体内に皮膚粘膜から抗原が入ってくると皮膚粘膜の下にいる抗原提示細胞 (APC) が抗原を取り込み、分解後ペプチドを作り、HLAにくっつけて膜表面に出す。

細胞表面のHLAクラスIIにペプチドが付く。HLAクラスII分子と抗原ペプチドを認識するのはCD4陽性のhelper Tcellであるが、この細胞は $\alpha\beta$ 型のレセプターを介して、HLAとペプチドの複合体を非自己と認識した場合に免疫応答を始める。レセプターからシグナルが入ったTcellは色々なサイトカインを分泌し、それらのサイトカインを受け取るレセプターを発現することで増殖していき、またサイトカインを作っていく。このようにしてある抗原を認識できるT細胞が増殖していく。

B細胞にはサイトカインレセプターがあり、かつ抗原を認識すると、遺伝子発現が変わってB細胞は増殖及び分化し、免疫グロブリンを産生する。B細胞が抗体をつくるということでもCD4陽性T細胞は必要である。このT細胞が無くなっていくと抗体産生も終わる。クラスIIという分子は、通常抗原が入ってこないときは、その中のペプチドの圧倒的多数は自己由来の物である。それに対してT細胞は反応しないとされているが、あるものはトランスが出来ずに、あるいはそれが破綻して、T細胞が自己に対し免疫応答をするという病気がある。なぜ特定のHLAを持っている人がこのような病気にかかりやすいかと言うことをテーマとし、その一部の答えを示す。

抗原提示細胞は細胞外から抗原を取り込む。ある種のバクテリアやサルモレラとかは、マクロファージなどの抗原提示細胞中に入り、その中でエンドソームの中に寄生して生きている。外界から入ってきた異物に対してT細胞に抗原を見せるというのがHLAクラスIIの役割である。HLA-DRは α チェーンと β チェーンのヘテロダイマーで、その先端部分にペプチドと結合する部分がありペプチドがはまりこんでいる。T細胞は $\alpha\beta$ 型レセプターでHLAとペプチドを識別し、CD4というグライコプロテインはDR β チェーンの根本の部分に結合する。T細胞レセプターは、 α チェーン (これはポリモルフィズムが非常に少ない、日本人では1つである) と非常にポリモルフィズムが多い β チェーン、それらの溝にはまっているペプチドとを認識する。溝のでき方とそれにはまっているペプチドは個人差が非常にあり、免疫応答を決めうる。1994年スターン等がDR1と、この抗原にくっついたインフルエンザのペプチドとのコンプレックスの解析を示した。HLAの数カ所の溝にペプチドの突起が入り、相性があえばペプチドはくっついてコンプレックスを作る。下のHLAに食い込んでいるアミノ酸の部分と上に向かったフリーなアミノ酸があり、上に向かっている部分が当然T細胞レセプターに認識されることになる。1番目の深い溝ポケットは疎水性の高いアミノ酸がくることになる。人によってポケットの位置、大きさ、ポケットの持っている性質は異なる。

ある特定の自己免疫性疾患についてはHLAと病気との関係が考えられる

自己免疫疾患とHLAクラスIIのアリルについては (表4) に示されるHLAがリスクファクターと考えられている。

表4

Insulinautoimmune syndrome (IAS)	日本人 : DRB1*0406
Reumatoid artheritis (RA)	日本人 : DR4 (DRB1*0405) 白人 : DR4 (主にDRB1*0401) 黒人 : DR4 (主にDRB1*0401)
Insulin dependent diabetes mellitus (IDDM)	日本人 : DR4 (DRB1*0405) DOA1*0301 白人 : DQB1 non-Asp57 homozygote 黒人 : DQB1 non-Asp57 homozygote
Systemic lupus erythema tosus (SLE)	日本人 : DR2 (DRB1*1501) 白人 : DR2 (DRB1*1501) DR3 (DRB1*0301) 黒人 : DR2 (DRB1*1501 or 1503)
Multiple sclerosis (MS)	日本人 : DR2 (DRB1*1501) 白人 : DR2 (DRB1*1501)
Myasthenia Gravis (MG)	日本人 : (<2y) では DR9 (DRB1*0901) DR13 白人 : DR3 (DRB1*0301)

強調すべきは同じ自己免疫疾患でありHLAと関係があるとしても、その対立遺伝子は人種によって違う、すなわちアジア人に特有の対立遺伝子があり、これに対する自己免疫は白人の自己免疫と臨床的に異なり重型があると考えられる。

特定のHLAが自己免疫を起こす機序として

- 1) 感受性の高いHLAには圧倒的多数の自己ペプチドをつけており、これに対して普通T細胞は反応しない。
- 2) ある特殊なペプチドに対しては自己反応性T細胞が存在し、ある場合はTh-2と呼ばれるT細胞で自己抗体を作る。あるいはIFN- γ 、TNFを作るTh-1というタイプの自己反応性T細胞であると炎症反応が起こって局所における組織の破壊が起こる。
- 3) 自己反応性ペプチドがあっても、T細胞がトレランスとなり反応を起こさない、いわゆるアナジーの状態が得られる場合がある。

などを考慮しなければならない。

自己免疫疾患患者においては、感受性を持っているHLAのペプチドを同定して、確かにそのペプチドに対してトレランスが壊れている、自己反応性T細胞があることを証明しなければならない。

自己免疫疾患 Myasthenia Gravis(MG)についての考察

特に2才以下で発症する小児のMGはDR9、DR13が非常に多い。これについての判断を説明する。

infant-onset(<3y)Myasthenia Gravis についてはHLAとの関係が強いが、特徴は白人で起こるMGは年齢的に不定期であるのに、アジア人では乳幼児期に発病するものがMGのなかで高頻度を占める。この場合の特徴は

- 1) Restricted to ocular muscles and generalized form is rare
- 2) Restricted to Asians and the most frequent type of Myasthenia Gravis in the Japanese population
- 3) Low serum level of anti-AChR autoantibodies
- 4) Strong association with HLA-DR9-DQ9, DR13-DQ6 and DR9 · DQ9/DR13 · DQ6 heterozygosity

である。この病気はアセチルコリンレセプターに対する自己抗体に因ると考えられている。アセチルコリン受容体の仮説として、神経の末端からアセチルコリンがでてくると、筋肉の皮膜状に突出しているアセチルコリン受容体の α サブユニットにあるポケットに付く。その瞬間にイオンチャンネルが開き、ナトリウムが中に入っていく筋肉の収縮がおこる。通常の重症筋肉無力症の患者はアセチル

コリンレセプター(AChR)に対する抗体ができて、アセチルコリンがレセプターにつけられない、インパルスが入ってこないということが起こる。日本人の3才以下のMGは眼筋の収縮が弱くなるという症状を呈し、自己抗体は低レベルである。HLAと日本人幼児におけるこの疾患の関係を見るため、患者のAChR自己反応性T細胞クローンのAChR α 鎖に関与している35種のペプチドに対する反応をみると、75-87番目のペプチドに対して自己反応が得られた。人のAChR α 鎖は2つのisoformがある。P3A-negative isoformとP3A-positive isoformでP3AはP3とP4の間に挿入された形になっており、患者が認識したP75-P87はP3Aの一部とP4の一部の範囲に存在する。(図4)

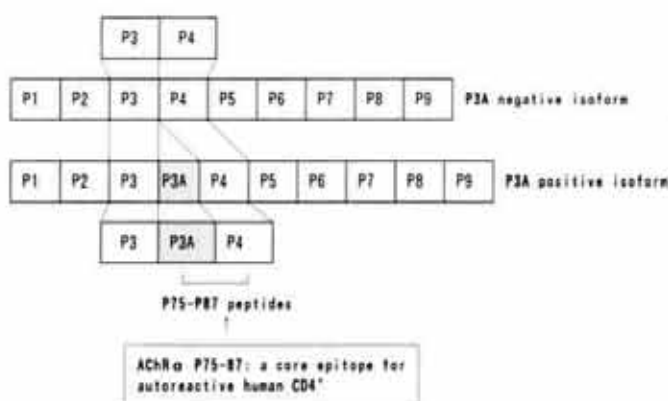


図4 The self antigenic peptide is encoded for by an alternatively spliced exon P3A of the AChR α -subunit gene

患者が反応した部分はAChR α のP75-87部位でAChR α の膜の細胞外にある部分に相当することが判明した。今後患者の眼筋においてこのisoformがどのくらいの割合で存在するかを確認する予定である。次いでAChR α 自己反応性T細胞クローンが、P3Aの部分をも蛋白として認識し得るかを確かめた。(図5)

Antigen (1 μ M soluble)	³ H thymidine incorporation (cpm $\times 10^4$)			
	1	2	3	4
γ AChR α P3A (+)	~10	~10	~10	~10
γ AChR α P3A (-)	~10	~10	~10	~10
AChR α P75-P87	~10	~10	~10	~10
Medium	~10	~10	~10	~10

図5 Proliferative response of the AChR α autoreactive Tcell clone to recombinant protein encoded for by the AChR α P3A (+) gene

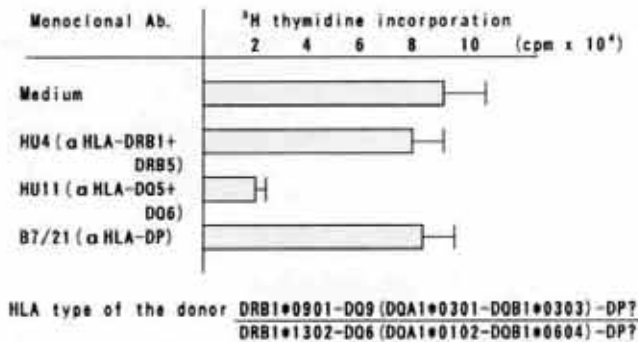


図6 Blocking of proliferative response of the AChR α autoreactive Tcell clone by anti-HLA-DQ mAb

次にHLAとの関係についてで、どういふHLAにこういう自己反応性が拘束されているかを確かめるために、T細胞にペプチドを混ぜてレスポンスが起こる系にいろんモノクロ抗体を混ぜてブロックさせると、(図6)

HU11(HLADQ5 + DQ6)でレスポンスが抑えられた。今回の患者は感受性の高い典型的なHLAのヘテロ接合体で、その内の1つDQ6というHLAのポケットにAChR αのペプチド p 75-85 (ほとんどがexonP3A由来)を持ち、それに対するトレランスが壊れている状態であった。これに反応するTCRを持つT細胞クローンがとれ、この細胞が産生したのは圧倒的にIFN-γでありTh-1のタイプであり、AChR αに対する抗体の抗体価が低いという点と合致した。

CD4陽性T細胞レセプターによるMHCクラスII分子・ペプチド複合体の認識について

T細胞レセプターには抗原認識の為の突起が先端部分にあり、突起の1つであるCDR1はMHCが自己である事を、CDR3はペプチドを識別するのであろうといわれている。ペプチドは、アミノ酸とアミノ酸のペプチド結合により形成されていくが、各々のアミノ酸には側鎖があり、側鎖はアミノ酸が結合していくに従いある方向に回転していく。HLAの抗原ペプチドの場合、下向きの側鎖はHLAと結合し、上向きの側鎖はT細胞レセプターに認識される。HLAと結合するペプチドはHLAのポケットの1、4、6、(7)、9に収まる。この部分のアミノ酸は何種類かの異なるアミノ酸と置換してもT細胞を活性化できる。しかしT細胞レセプターに認識されるペプチドは、もし他のアミノ酸で置換すると認識されなくなるという特徴がある。この事から免疫抑制ができる機能的なペプチドができないかを考えた。

T細胞レセプターのリガンドの性質	完全なアゴニスト	部分的アゴニスト	アゴニスト	無関係なペプチド
T細胞レセプターによるHLAペプチド複合体の認識	あり	あり	あり	なし
細胞骨格の増加と膜蛋白(Fas, LFA-1)の発現増強	あり	あり	不変	不変
リンキリンとその受容体の発現	あり	部分的にあり	なし	なし
細胞増殖	あり	なし	なし	なし
CD3とZAP70活性(5分)化	完全	不完全	不完全	なし
T細胞の免疫応答	完全	不完全	なし	なし

図7 T細胞レセプターのリガンドの微細な変化に基づくT細胞応答の変化

T細胞レセプターのリガンドの微細な変化に基づくT細胞応答の変化 (図7)

T細胞レセプターに認識される上向きのアミノ酸を別のアミノ酸で置換すると奇妙な免疫応答がT細胞に起こる。すなわちアンタゴニズムという物理的な結合はあるが他の反応は起きない不完全な流れを示し、このようなペプチドを完全なアゴニストの状態の物に混ぜると反応が阻害されることがわかった。この現象を利用して患者にとって良いペプチドのアナログができないか、すなわちペプチドによりMGの患者の状態を改善できないかを考えた。(図8)



図8 Agonistic activity of analogue peptides of AChR α p75-87 peptide

この81と83番目のアミノ酸をT細胞レセプターは認識するので、これを他のアミノ酸に置換した実験を試みたところレスポンスは、無かった。

他の自己免疫反応もT細胞レセプターが認識するペプチドのアミノ酸を他のアミノ酸に置換することで自己反応を阻害し、治療に使えるのではないかと考えている。

(理路整然とした解明に思わず“うーん”とうなっていました。本当に“Uhhh!”です)

第4回 国際異種移植学会印象記

国立循環器病センター研究所 実験治療開発部 佐田 正晴

- ナント市の概略 -

第4回国際異種移植学会は1997年9月7日から11日の5日間、フランスのナント市で開催された。ナント市はパリの南西約400Km、著名なワインを産出するロワール川河口に広がる小都市で、昨年第12回国際HLAワークショップが開催されたサン・マロ市の南に位置している。日本ではあまり有名ではなく訪れる人も少ないが、中世フランスにおいてはブルターニュ公領の首都で“西のパリ”として栄華を極めた。世界史でお馴染みの“ナントの勅令”は1598年8月13日アンリ4世により発せられ、カトリックと新教徒との間で40年間にわたり戦われた宗教戦争が一応終結することとなる。15世紀に創建され歴史を見据えてきたブルターニュ大公城は旧市街の中心にあり今に当時の容姿を伝えている。ロワール川支流の兩岸には多数の館(マンション)や大小の城(シャトー)が今でも散在し当時の繁栄がしのばれる。またナント市は“80日間世界一周”“海底2万里”などで知られるジュール・ヴェルヌの生誕地で彼の博物館もある。



ナント点描1：ホテルの部屋から望む旧市街。左角には1900年からやっているこのあたりでは有名なシーフードレストラン。



ナント点描2：ブルターニュ大公城入り口に面したカフェ。旧市内には美しいカフェが多い。



ナント点描3：ロワール川支流の兩岸には貴族の館や城が立ち並びナントの繁栄が偲ばれる。



大きくはないが非常に機能的な学会会場 “Cite des Congrès”。

- 学会概略 -

学会はブルターニュ大公城に程近い “La Cite des Congrès” で開催された。会場はそれほど広くはないが採光を上手く取り入れ、大小のホールも非常に機能的に配置され “フランスのエスプリ” を感じさせる。学会としてはまだ4回目が発足してから間もないが、欧米の深刻なドナー不足を反映し世界の臓器移植の主流が同種から異種に移りはじめたこともあり、世界中から多くの演題が寄せられた。今回の参加者は700名を越え、341演題(採択率: 34%)が選ばれた。国別では常に移植医療の最先端をいくアメリカが約40% を占めダントツ、次にホスト国のフランス、次期ホスト国の日本が続き以下はイギリス、オーストラリアの順で20ヶ国より演題が寄せられた。

- 学会内容 -

今回の学会内容は以下の4点に集約される。

1. Natural antibodies
2. Mixed chimerism
3. Gene therapy
4. Genetic engineering of donor

従来、異種移植の実験は小動物を用い免疫抑制剤の効果判定、レシピエントの免疫応答機構の解明が主であったが、1993年Whiteらがヒトの補体系活性化を抑制する同種特異的膜上補体抑制因子DAF(Decay accelerating factor)遺伝子をブタの受精卵に導入し発現させることに成功してから、大動物を用いた異種移植実験の道が開かれた。今回、各種のヒト遺伝子をブタに導入する試みやブタをドナー、霊長類をレシピエントにした異種移植実験のデータ解析が一方のメイントピックスで、近未来を見越したドナーの遺伝子改造やレシピエントに対するペプチドワクチン、積極的な免疫寛容の導入などがもう一方のトピックスであった。



自然光を巧みに取り入れた会場入り口ホール。企業ブース、ポスター発表と休憩場所に当てられた。

異種移植を行う場合に最初に問題となるのはレシビエント血清中に前もって存在する異種抗体(preformed natural antibodies)で、超急性拒絶反応の引き金となる。ブタをドナー、霊長類をレシビエントとした異種移植において、異種抗体はドナー血管上皮細胞表面に発現している glycoprotein と glycolipids の epitope である α -galactosyl epitope (Gal α (1,3)Gal α (Gal)) に直接作用しドナー細胞を破壊する事が明確となった。ヒトが既に持っている異種抗体も同様に作用し、ドナー血管細胞を破壊し超急性拒絶反応を引き起こす。その他異種抗体として IgG1, IgG2a, IgG2b, IgM が明らかになった。対策としては非常に受動的であるが、カラムを用い血清中の異種抗体を除去、あるいは血漿交換直後に移植を行うことが有効である。移植後 ELISA によるこれら抗体価のスクリーニングを行い免疫抑制剤の増減を行う。Sachs らはブタからバブーンの骨髄移植実験において、レシビエントの X 線全身照射後ドナーの骨髄移植と CD20+ 細胞を除去した自己骨髄移入により異種抗体の産生が強く抑制され免疫寛容導入の可能性を示唆した。同時に行われた *in vitro* の系で、ブタ組織細胞に対する α -Gal 抗体も抑制されることが明らかとなり、異種抗体の制御に対する新しい知見として高い評価を得た。ドナー側の処理に関しては DAF に代表されるヒトの補体活性抑制遺伝子の導入が検討されていたが、複数の遺伝子を導入しかつ発現させなければならないという意見が大半で道は遠い。

ハーバード大学の別のグループは X 線照射した α 1,3-galactosyl transferase knockout マウスに α 1,3Gal+ および α

1,3Gal-骨髄移植を行い霊長類に対する抗 α 1,3Gal 異種抗体の変動を検討した。移植後、移入したこれら細胞はキメラの状態 で存在し抗体産生も著しく抑制され、異種抗体産生 B 細胞と T 細胞の免疫寛容状態を導入出来たことを報告した。その他ブタ胎児胸腺をマウスに移植後ヒト胎児胸腺を移植しマウス内にヒトおよびブタ由来の CD4+, CD8+ リンパ球を共存させる試みなどが報告された。

実験的に細胞レベルでのキメラ状態は完成しつつあるが、安定かつ恒久的に存続させるには至っていない。Sachs らは分子レベルでキメリズムを作成する目的で、ブタのクラス II 遺伝子を霊長類の骨髄細胞に導入する試みを行っている。SLA-DR 遺伝子をレトロウイルスによりバブーンの自己骨髄細胞に導入後、ホストに再移入し SLA-DR 遺伝子の発現について検討を行った。そして 40 週以上にわたり導入された遺伝子の発現を認め、恒久的な免疫寛容の可能性を示唆した。現在 NIH ミニブタのクラス II 遺伝子をヒト T および B リンパ球に導入する試みを行っているそうである。

ヒト遺伝子をブタ受精卵に導入しブタの細胞表面に発現させる試みは世界中で行われているが殆ど成功していない。特にヒトに対する異種ドナーの最有力候補であるミニブタに関しては全く成功していない。そのためブタ細胞に各種ヒト遺伝子を移入する実験系が大半を占めている。大動物を用いた異種移植の研究はほんの端緒にすぎたばかりであるが、確実に臨床応用に向かいつつあるのを今回の学会で痛感した。