

特集 ASHI第23回 Annual Meeting

トータルレポート

23rd ANNUAL MEETING に出席して (1997.10.14-19)

福岡県赤十字血液センター

河賀 泰子

ハロー アトランタ!!

1997年のASHIミーティングはアメリカ南部ジョージア州のアトランタで開催されました。アトランタという地名を聞いた時私が思い浮かべたことは、アメリカ南部の都市で小説「風とともに去りぬ」の舞台になった場所、というなんとなくおっとりとしたイメージだったのですが、現実にはオリンピックが開催された都市かつクライムレイトがアメリカで一番高かったという都市、またキング牧師の住居、教会、そして彼の墓地がある都市でもありました。しかし実際に行くと、この都市が“ピーチ”という愛称を持っていることや、バックヤードといわれる場所には古い素敵な邸宅があることを知り、色々自由に見て歩き回れたらいいのと思いました。

さて、ミーティング会場はダウンタウンに近い高い建物群の一つ、ハイアットホテルでした。ホテル街の一画でしょうか。夜は時々パトカーのサイレン?が鳴り響き、遠くの方で楽器の音や歌が聞こえるようで不眠症の私は度々窓から外をながめました。通りのイルミネーションが見えるだけです。朝になると静かなもので、コーヒーを飲み隣のビルの地下にいくと、新聞やチョコレート等を一緒に売っている本屋さん、クッキーとコーヒーのお店、そしてどういうわけかけっこう高価なアクセサリを売っているお店みたいな所が早くに開いていて、ここは一人でも大丈夫かなと緊張しつつうろろしていました。周りにいる人が私にとって外国人、言葉が英語というだけの事と思おうたのですが、ということでなにはともあれ、ミーティングの方に話を移しましょう。



レセプション： いよいよミーティングプログラムの開始です。

14日夜の歓迎会では、あのスカーレット時代のコスチュームを身にまとった女性と南軍の制服を着た男性の出会いを受け会場に入ります。彼らはいわゆるコンパニオンなのでしょうが、私はつい女性の衣装に触れなくなりました。その服はウェストがきゅっとしまり、着物と同様窮屈ではないのかしらと思いはしましたが、きれいでした。写真が無いのが残念です。

15日以降19日まで

連日朝8時半からセッションは始まり、通常は午後5時から6時に終わるというまるで時間帯は私の勤務時間、と言う感じでした。特に16日は午後7時半から10時まで腎移植におけるHLAと言うことで発表があり、夜遅いのにこのセッションの出席者は多く、因みに座長はアメリカ赤十字、HLA Lab.のディレクターDr. Fernandez-Vinaでありました（ついサインをもらったもので、印象に残っています）。

ところで今回のASHIミーティングは教育講演が豊富で、私にとって魅力的！?でした。理解したとはとても言えませんが、スライドは図が多く“わかった気分”にさせてくれたのは確かです。印象に残ったのは、NK細胞によるHLAの認識いわゆるHLAクラスI分子との関わりについての講演や、血清レベルで同じHLAであったものが、アリル（DRB1）で見ると太平洋を囲んでどのように変化していったか、すなわち塩基の違いにより異なったアリルとして認識されるが、このようなミューテーションが起こるのは環境にも原因があるのではないかと報告、HLA遺伝子の欠損についての報告等でした。ちょうど、日本の組織適合性学会や輸血学会で聞いた教育講演や演題をベースに、また新たに自分の中に積み重ねていけるといった印象を受けました。

17日は朝8時半から優れた演題提出者5名の表彰がありました。それに先立ってあったASHIの目的、役割についてのプレゼンテーションは、自分たちの仕事はどういう目的で行なうものであるかを再認識させられるように感じられ、感激しました。スピーカーの迫力に圧倒されたのかもしれませんが.....

ポスター会場は、各ポスター掲示板に各々の発表

データの縮小コピーが準備され各自、自由に買っていただけるようになっていました。A3の用紙にデータがびっしり掲載されているのには驚きましたが、拡大鏡が必要になりそうなのは寂しいです。会場に設けられた飲み物やポップコーン、キャンデーを片手にポスターの間をうろちよろし、聞き易そうな人（というよりは、つい目があったというタイミングで）には懸命に質問をし、答にとまどいながらも、雰囲気を楽しんでいました。ということで、私は毎日数本のダイエットコーラを飲み、ASHI=コーラのイメージも出来てしまい、やれやれです。

ちょっと一息

連日の英語の講演で私は青息吐息ではありましたが、途中観劇あり、ディナーあり（生演奏付き、ダンスもOK、確か70年代の懐かしい曲がたくさん演奏されました）で、これまた緊張の中にも安らぎを得たといった感じでした。今年のASHIは日本からの参加者も多く、また中央血液センターにいらっしやったWangさんにも会え日本語が十分話せたということでラッキーでした。ところでアトランタがあるジョージア州で有名なもの一つは、ご存じですか？ピーカンナッツだそうです。ピーナッツの2倍位の大きさ、なかなかいい味で土産としては好評でした。これはお勧めです。

さて今回はアメリカの約三分の二を飛行機で横断した事になり広大な平野を眼下にするという、日本では見られない風景を見ました。ちょっと心細さもありましたが、なんだか浮き浮き気分の方が強くて、できたら次も.....なんて思っています。蛇足ながら今度はカナダのバンクーバーで開催されるとのことでした。



ASHI 23rd ANNUAL MEETING

Rose Payne Distinguished Scientist Lecture REPORT

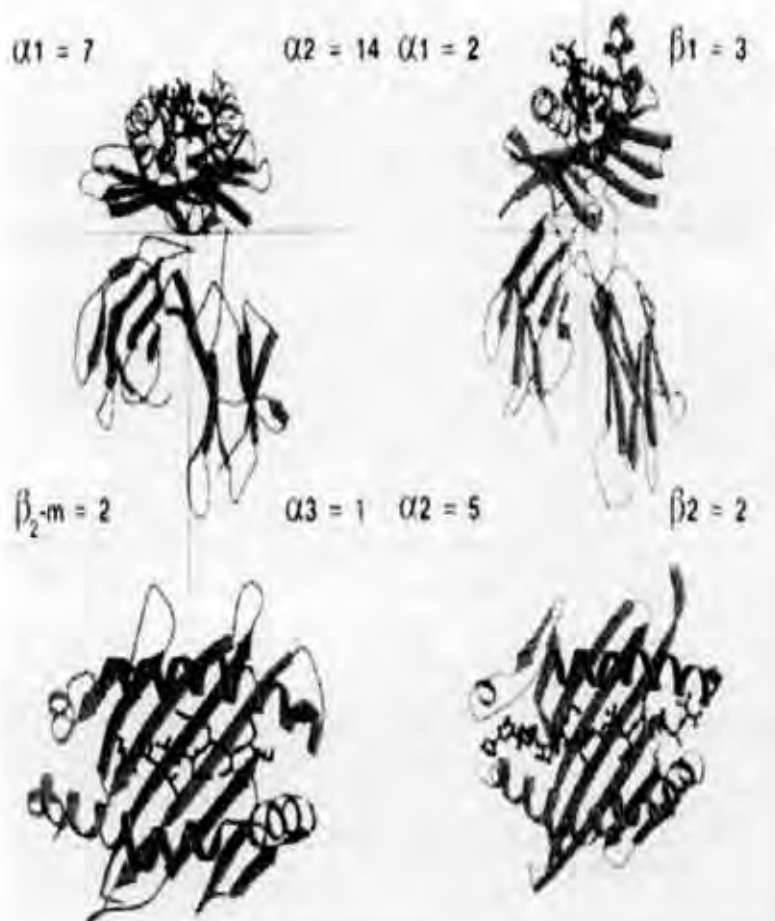
-Hans-Georg Rammensee

今年のRose Payne Distinguished Scientistには「MHC ligands and peptide motifs」の仕事で有名なラメンジー先生が選ばれました。先生のすばらしいお仕事は多くの方が周知のことと思います。Lectureを始められる前に先生は「この名誉あるRose Payne賞を頂くことは大変光栄に存じます。そしてこの受賞は私にではなく、私の研究チームの多くの人々に与えられたものであり、それを私が代表者としてお受け致します。ではお話を始めましょう。」と述べられ、先生の謙虚でやさしい人柄が感じられるご挨拶で講演は始まりました。

HLA分子とその溝にはまるペプチドとの関係

このスライドは皆様よくご存知のHLA分子(図1)で、左はHLA-class Iで右はHLA-class IIです。X線結晶解析の研究でHLA-class IのH鎖やL鎖の構造は明確になったのですが、この溝に挟まれるペプチドの構造についてははっきりしませんでした。その後T cellレセプターと結合したMHC分子のX線結晶解析像により、はっきりとペプチドがMHCの溝に座っていることが解りました。

図1



MHC-class Iの溝に提示されるペプチドについて

「次のスライドをお願いします。すみません。次のスライドをお願いします…」なんの反応もありません。少し困った先生は演台の上を探し、「アー、自分でしなければならないのか、ソーアありがとう。もちろん私は自分でできるよ。OK」と、やや緊張感であった会場もなんだかファニーな先生の行動でやわらぎました。

私たちはこのスライド(図2)に示す方法でMHCにはさまれているペプチドの解析を行いました。これは最初に解析したHLA-A2から溶出したペプチドのHPLCデータですが(多くのピークが出ているHPLCのチャートを想像して下さい)、このデータについては後で詳しく述べます。ここで強調しておきたいことは、このすばらしい分析機械はファルマシアが作ったもので、これがなければ今日

の研究成果はなかったと言えるでしょう(会場に笑いがドット起こった)。このようにMHC分子からペプチドを溶出してきましたと多くのペプチドの混合物が得られ、このひとつひとつのピークをシーケンスしてゆくのです。

このように解析したデータをまとめますと次のマンガ(図3-A)になります。ペプチドの2番目と9番目をアンカーアミノ酸と呼んでいるのですが、この位置のアミノ酸は一定しています。HLA-A2ならば2番目がロイシン(L)で9番目がバリン(V)です。図のようにHLA-class Iに提示されるペプチドはおよそ9個のアミノ酸からなり、HLA分子の土手により両方が囲まれ、2と9番目のアミノ酸の側鎖はHLA分子のポケットと呼ばれる相補的なアミノ酸構造を持つ部分におさまっています。これは1991年までに解ったことです。この図(図3-B)は先ほどの図よりいくらか改良されたモデルです。あまり内容的には変

図2

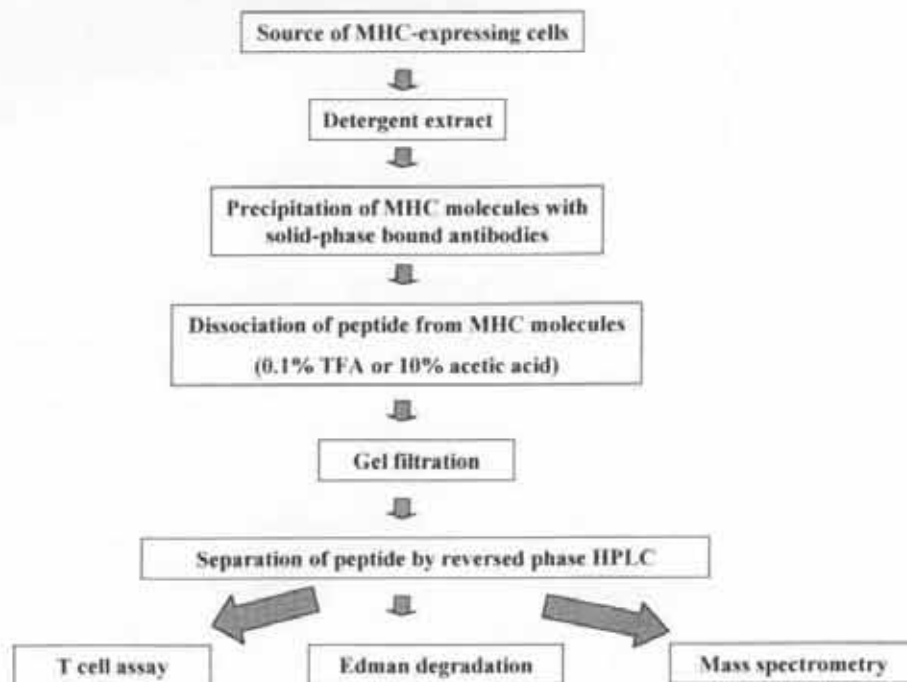


図3-A

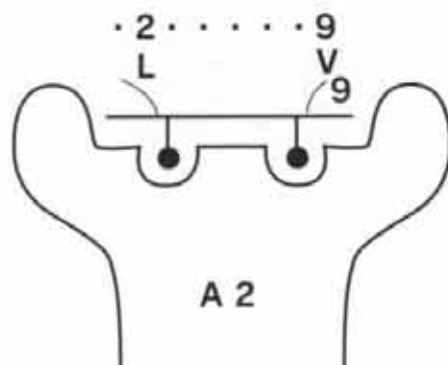
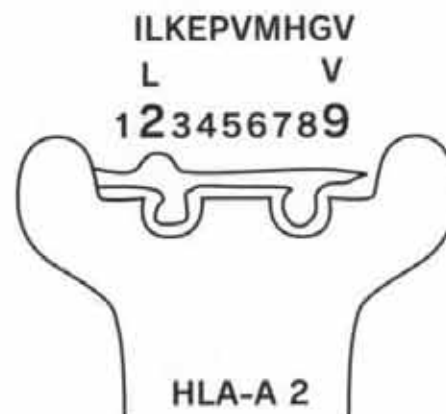
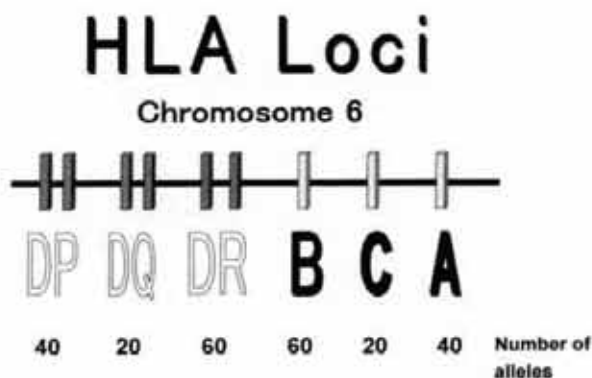


図3-B



わりませんが色が良くなっているでしょう（会場より笑い声）。これはHIV由来のペプチドをそのモチーフに合わせて予想したものです。この予測は事実であったのです。実際にX線解析像で証明されています。このスライド（図4）は皆様もよくご存知のようにHLAがいかにか多形性に富んでいるかを示したものです（編注：やや古いデータ）。興味深いことは、このHLAのシーケンス多型がペプチドの特異性や機能にどのような影響を与えているかということです。これを知るために、私達はHLA-class Iやclass IIに提示されているペプチドのシーケンスを行い、またin vitroでのペプチド提示テストを行いました。これが（表1）

図4



その結果のひとつです。HLA-A1分子に提示されたペプチドのモチーフとペプチドをまとめたものです。HLA-A1の場合アンカーアミノ酸は2, 3, 9で、この共通するアミノ酸セットをモチーフと呼んでいるのです。表の中でモチーフを示した下に実際に分離されたペプチドのシーケンスを示しています。このシーケンス結果の中には9個以上のアミノ酸からなるものもありますが、最後のアミノ酸はチロシン（Y）で9個のアミノ酸からなるペプチドの場合と同じアミノ酸です。ペプチドが由来するタンパクは細胞内に存在するタンパクで、核抗原やチトクロームCやHLA-class I α 鎖などでした。もちろん由来が不明のペプチドもあります。つぎのスライド（表2）はHLA-AとB分子のモチーフをまとめたものです。HLA分子をモチーフの特性よりまとめたデータをこのスライド（表3）に示します。例えばモチーフの2番目とC末端のアミノ酸の特徴をみると、両方がpositive chargeのアミノ酸はウシのMHCであり両方negative chargeのアミノ酸はニワトリのMHCです。このスライド（表4）はその他のモチーフ（アンカーアミノ酸が3番目、5番目と7番目）をもつHLA分子を示しています。次のスライド（表5）は、ポケットを構成するアミノ酸とそのポケットに入るペプチドのアミノ酸を示しています。ペプチドの2番目のアンカーアミノ酸がはまるポケットを構成するアミノ酸（9, 24, 45,

表1

HLA-A1

	Position									Source
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Anchor or auxiliary anchor residues	T	D	P					L	Y	
Other preferred residues	L		G	I	G	G	N	V		
Examples for ligands	A	I	D	F	K	F	A	M	Y	Cyclin-like protein 135-143
	I	A	D	M	G	H	L	K	Y	Proliferation cell nuclear antigen 241-249
	M	I	E	P	R	T	L	Q	Y	Ribosomal protein S16 40-48
	Y	I	S	D	Y	F	I	S	Y	Ets-1 154-162
	L	T	D	P	G	V	L	D	Y	Unknown
	V	T	D	I	V	G	P	D	G	L V Y
	Y	T	D	Y	G	G	L	I	F	N S Y
	Q	T	E	D	G	S	H	T	I	Q I M Y
	Y	L	D	D	P	D	L	K	Y	HLA class I α chain 111-123
	S	T	D	H	I	P	I	L	Y	Cytosine methyl transferase 238-246
	D	T	D	G	S	F	F	L	Y	Fructose-6-amino transferase 217-225
	G	T	D	E	X	R	N	X	Y	IgG4 279-287
	V	T	D	P	Y	N	X	K	Y	Unknown
	V	A	D	K	V	H	X	M	Y	Unknown
	Y	A	V	V	P	L	V	V	Y	Unknown
	Y	T	N	P	Q	F	N	V	Y	J-chain 102-110
	E	X	X	P	D	W	S	Y		Unknown
	F	T	D	V	N	S	X	X	Y	Unknown
	S	T	E	Q	T	F	M	Y	Y	Unknown
	S	T	E	P	V	N	I	L	Y	Ornithine decarboxylase 309-317
	G	T	D	P	G	V	L	I	Y	Unknown
	S	T	E	P	P	M	L	N	Y	Unknown
	S	T	E	P	Q	R	T	Q	Y	Unknown
	F	T	E	V	S	I	R	K	Y	Unknown
	K	F	D	P	V	N	L	V	Y	Unknown
	A	V	D	E	G	G	M	Y	S	Unknown
	F	G	S	G	A	R	D	X	Y	Unknown
	Y	X	E	P	Q	F	L	T	Y	Unknown
	A	X	I	P	A	F	I	N	Y	Unknown
	I	T	E	D	M	G	H	L	K	Y
	E	T	D	X	X	D	R	S	S	E Y
T-cell epitopes	E	A	D	P	T	G	H	S	Y	MAGE-1 161-169
	V	S	D	G	G	P	N	L	Y	Influenza A PB1 591-599
	C	T	E	L	K	L	S	D	Y	Influenza A NP 44-52
	E	V	D	P	I	G	H	L	Y	MAGE-3

表2

Basic HLA-A motifs

	Position											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
A*0101	T, S		D, E						V			
A*0201	L, M				V				V, L			
A*0202	L, A								L, V			
A*0205	V, L					L, V			L			
A*0214	V, Q					I, L			L, V			
A3	L, V	F, Y			L, M	I, L			K, Y			
A*1101	V, I	M, L				L, I			K	K	K	
A*2401	Y				I, V	F			I, L, F			
A*3101	L, V	F, L				L, F			R			
A*3302	A, I								R			
A*6801	V, T								R, K			
A*6901	V, T	I, F				I, F			V, L			

Basic HLA-B motifs

	Position											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	
B7		P	R						L, V			
B8			K		K, R				L			
B*2702		R							F, Y, I			
B*2705		R							L, F, R			
B*3501		P							Y, F, M			
B*3701	D, E				V, I				F, M, L			
B*3801	H	D, E							F, L			
B*39011	R, H					I, V			L			
B*3902	K, Q				I, L, F				L			
B40	E	F, I							L			
B*4402	E								F, Y			
B*4403	E								Y, F			
B*5101	A, P, G								F, I			
B*5102	P, A, G	Y							I, V			
B*5103	A, P, G	Y							V, I, F			
B*5201	Q	F, Y			L, I		I, V		I, V			
B53	P											
B*5801	A, S, T		P, E, K, V, I, L						F, W			
B60	E						I, V		L			
B61	E	F, I							V			
B62	Q, L				L, V				F, Y			
B*7801	F, A, G					I, L						

表5

Residues contributing to the P2-accommodating pocket

HLA	9	24	45	63	66	67	P2 specificity
A*0201	Phe	Ala	Met	Glu	<u>Lys</u>	Val	aliphatic
B*2705	<u>His</u>	Thr	Glu	Glu	Ile	Cys	positive
B*3501	Tyr	Ala	Thr	Asn	Ile	Phe	P
B*5103	Tyr	Ala	Thr	Asn	Ile	Phe	P, A, G
B*60 (B*40012)	<u>His</u>	Thr	<u>Lys</u>	Glu	Ile	Ser	negative

表6

Residues contributing to the P1 contact site

	63	66	163	167	171	P1 ligand residues
HLA-A*3101	Glu	Asn	Thr	Trp	Tyr	Positive charge preferred
HLA-A*3302	Asn	Asn	Thr	Trp	<u>His</u>	Negative charge preferred

表3

Motif groups (MHC Class I)

P2	C-terminus (P-8, P-9, P-10, P11)	Examples
aliphatic	aliphatic	A*0201, A*0202
aliphatic/ polar	aliphatic	A*0205, A*6801
aliphatic/ polar	aromatic	B62
pos	pos or hydrophobic	B*2705
pos	hydrophobic	B*2702, B*39011
pos/ polar	hydrophobic	B*3902
hydrophobic	pos or hydrophobic	A3
hydrophobic	pos	A11, A31, A33
pos	pos	BoLA A20
neg	neg	chicken B-F4
P	hydrophobic	B7, B35, B53, H-2L ^d
P, A, G	hydrophobic	B*5101, B*5102, B*7801
Y	hydrophobic	H-2K ^d , A24
neg	hydrophobic	H-2K ^x , B37, B40, B60

表4

Motif groups (MHC class I) Anchors at P3, P5, P7

P3	P5	P7	P-C	Example
pos	pos	-	hydrophobic	B8
neg	-	-	Y	A1
-	aromatic	-	aliphatic	K ^b
-	N	-	aliphatic	D ^b
-	-	H	hydrophobic	Qa-2

63, 66, 67) がnegative chargeである場合 (B*2705)、アンカーアミノ酸はpositive chargeのアミノ酸となります。逆にポケットを構成するアミノ酸がpositive chargeである場合 (B*60)、P2はnegative chargeのアミノ酸となります。またモチーフが良く似ていても、ペプチドを構成するアミノ酸のうちアンカーアミノ酸以外のアミノ酸がはまるHLA分子の溝を構成するアミノ酸の違いにより、結合できるペプチドが異なる場合もあります (表6)。例えばHLA-A31とA33のモチーフは類似していますが、ペプチドのposition 1のアミノ酸側鎖をはめ込むHLA抗原のアミノ酸 (63, 66, 163, 167, 171) が異なることにより、HLA-A31の場合はP1

にpositive chargeのアミノ酸をもつペプチドが提示されやすく、A33の場合はnegative chargeをもつペプチドが提示されやすいのです。次に実際の実験データのまとめを示します (表7)。

結論として、HLA分子により同じタンパク抗原であってもそれらの異なった部分のアミノ酸がペプチドとして提示されます (図5)。そしてこの特徴を生かした臨床応用として、合成ペプチドによりメラノーマにたいするCTLを誘導し、HLA-B7, B27, A3を保有する患者の治療を行うことができるのです (表8)。

表7

HLA-A*3101

	Position									Comments
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Anchor or auxiliary anchor residues	L	F				L			R	
	V	L				F				
	Y	Y				V				
	F	W				I				
Other preferred residues	K	T	K	F	P	T	N	L		
	R	Q	N	D	I	N	V	R		
			E	V	D	R	R	N		
			G	F	L	R	T	F	Q	
			S	V	L	R	T	H	L	
			T	W				L	Y	
Examples for ligands	L	Q	F	P	V	G	R	V	H	R
	Q	Q	F	Y	W	S	H	F	R	
	R	G	Y	R	P	R	F	R	R	
	K	V	E	G	P	I	H	E	R	
	K	I	M	K	W	N	Y	E	R	
	R	Y	M	D	A	W	N	T	Y	S
T-cell epitope	S	I	L	P	E	T	T	V	V	R
Source	Histon H2 a 23-32									
	Ribosomal protein S29 (rat) 2-11									
	CCAAT-binding transcription factor 240-248									
	[GlcNAc]-P-transferase 371-379									
	Unknown									
	Lamin B2									
	Hepatitis B cAg 141-151									

HLA-A*3302

	Position									Comments
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
Anchor or auxiliary anchor residues	A								R	
	I									
	L									
	F									
	Y									
	V									
Preferred residues	D	T	L	P	P	I				
	E	K				L				
						F				
Other possible residues	M	Q	R	R	K	H	Q			
		W	D	I	D	Y	N			
		E	E	F	H	V	E			
		N	G	P	Y	T	M			
		S	V			S				
		H	L							
		P	W							
Examples for ligands	D	M	A	A	Q	I	T	Q	R	
	E	S	G	P	S	I	V	H	R	
	T	Y	Y	G	S	F	V	T	R	
	D	I	I	H	I	R	I	Q	R	
	E	I	M	K	W	N	R	E	R	
	T	I	M	P	K	D	I	Q	L	A
										R
T-cell epitope	I	V	G	L	N	K	I	V	R	
Source	HLA class I alpha-chain 161-169									
	Actin 364-372									
	Unknown									
	Human cDNA HSB15F102 65-74									
	Unknown									
	Histon 3.1/3.3 118-129									
	HIV p24 gag 267-275									

図5

MHC - Ligand aus dem influenza - Nucleoprotein

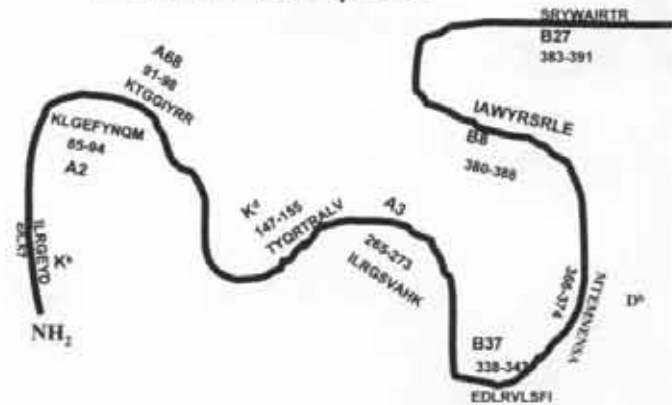


表8

Motif selected peptides in melanoma associated proteins

Peptide	Protein	HLA	Binding factor
D P T G H S Y V L	Mage 1	B7	1.1
E P V T K A E M L	Mage 1	B7	1.4
I P L Y R N G D F	Tyrosinase	B7	3.6
A P L G P Q F P F	Tyrosinase	B7	3.9
L P E E K Q P L L	Tyrosinase	B7	2.7
V P S G E G D A F	gp100	B7	1.4
Q P L T F A L Q L	gp100	B7	1.2
R R L L V R R N I	Tyrosinase	B27	3.4
G R G S C Q N I L	Tyrosinase	B27	1.9
R R R N G Y A I	Melan A	B27	2.5
L V G F L L L K Y	Mage 1	A3	3.0
M L E S V I K N Y	Mage 1	A3	1.5

どのようにしてペプチドは作られるのか？

このスライド(図6)はHLA-class Iの抗原提示経路を示しています。内因性のタンパクがプロテアソームで処理されペプチドになり、TAPを通じて小胞体内に運ばれます。そのペプチドはHLA-class Iの溝におさまリ、安定化したHLA-class I分子はゴルジを通過して細胞膜表面に運ばれるのです。この経路をもう少し詳しくみることにします。まずプロテアソームでタンパクがペプチドに分解されるのですが、まず構造的プロテアソーム(α , β)からインターフェロンの作用により免疫プロテアソーム(LMP 2,

LMP 7, MECL-1)に変化します。この免疫プロテアソームは19Sレギュレーターをついたダンベル型(26S)とPA28(11S)レギュレーターをついたフットボール型(20S)があります。ダンベル型プロテアソームはタンパクを大まかに処理し、次にフットボール型プロテアソームが細かいペプチドを作り出しているとされています。ではフットボール型プロテアソームがどのようなペプチドを作るのでしょうか。このスライド(図7)に示しますように、MHC-I-ligandとなる部分を含んだ長いペプチドが20Sプロテアソームで処理されると、?マークを付けたどのペプチドが作りだされるのでしょうか。そしてPA28の

図6

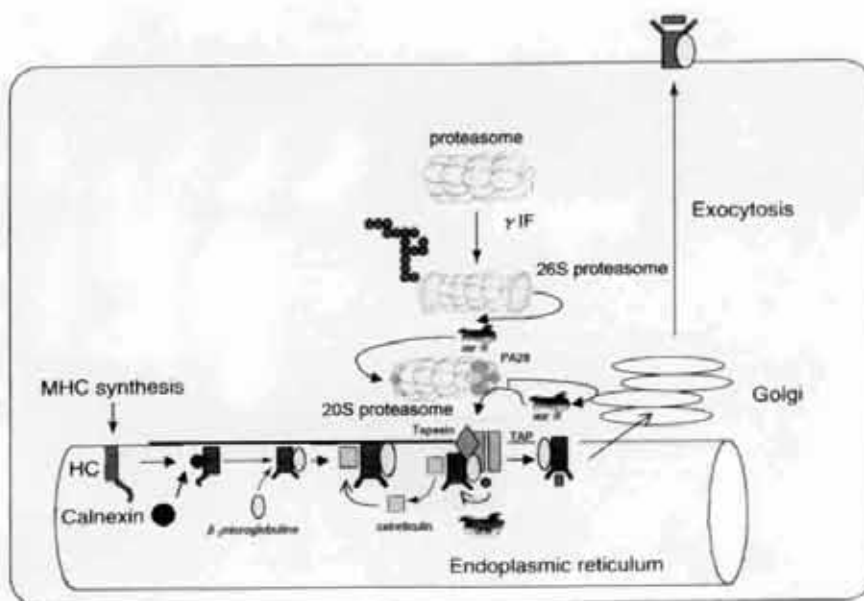


図7

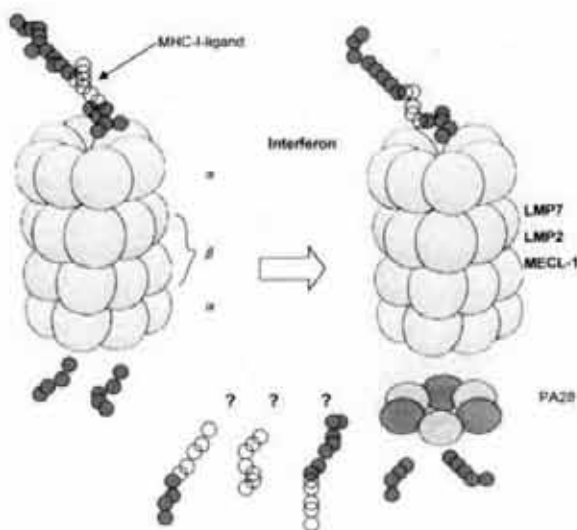
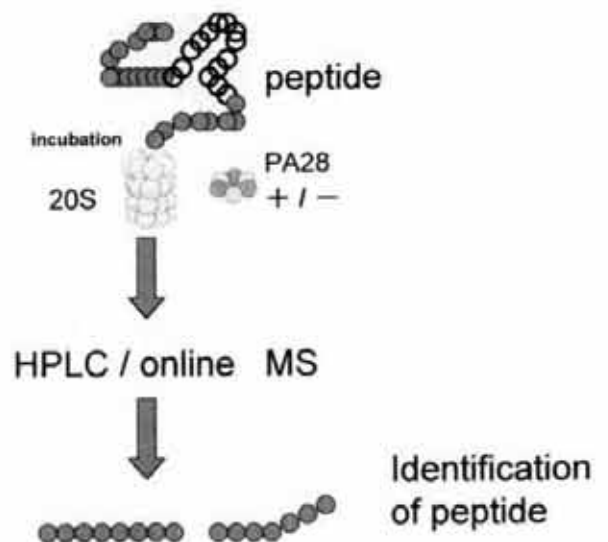


図8

Analysis des Einflusses von PA28 auf die Aktivität und Spezifität des 20S Proteasoms



作用はなにでしょうか？この疑問について答えを得るために、JAK1プロテイン由来のペプチド（これは始めてシーケンスをしたペプチドです）を用いて次のような実験をしました。このスライド（図8※前ページ）で文字が読めなくても気にしないで図だけを見て下さい。これはJAK1プロテイン由来の大きいペプチドをPA28レギュレーターのある場合とない場合で処理をしたとき、作られるペプチドを解析する実験です。このスライド（図9）はその結果をまとめたものです。PA28がない場合は主にMHC-I ligandよりC末側に長いペプチドが作られ、PA28がある場合はMHC-I ligandとなるペプチドが主に作られ、またそれ

よりも短いペプチドも作られます。次にこの実験の生データを示します（図10）。PA28が存在する場合は2カ所で切られたペプチドが主に作られ、PA28がない場合は1カ所で切られたペプチドが主に作られていることが解ります。同じ実験を他のペプチドでも行いました。これは（図11）モノサイトヌクレオウイルスのペプチドの例です。JAK 1 のときと同じ結果、すなわちPA28が存在すると2カ所でカットされ、より短いMHCにフィットするペプチドや少し長いがTAPを通り処理されMHCのligandとなるようなペプチドが作られます。ここで今までに得られたデータから結論をまとめますと、「The 11S regulator induces the

図9

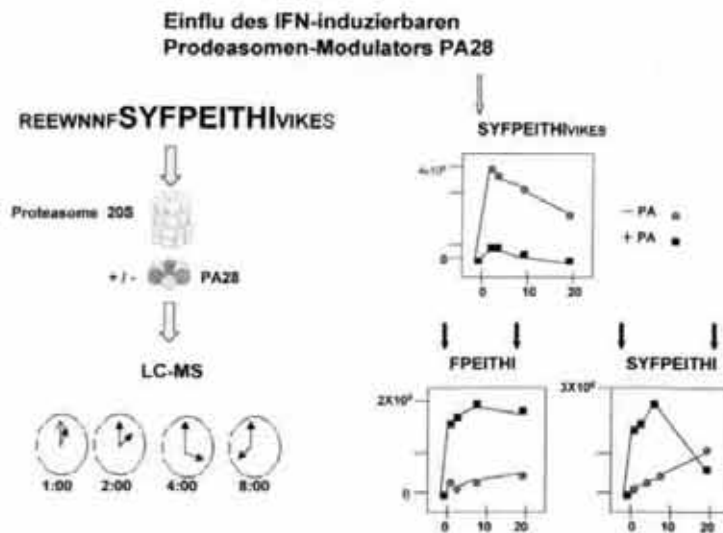


図10

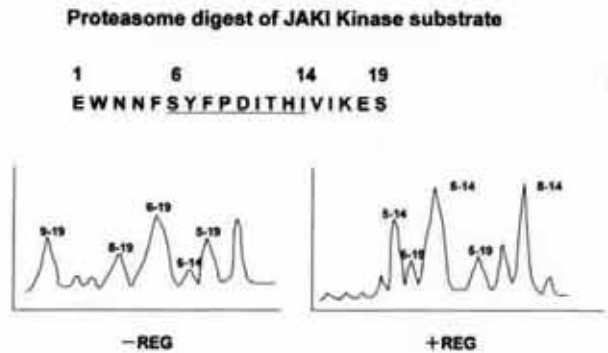
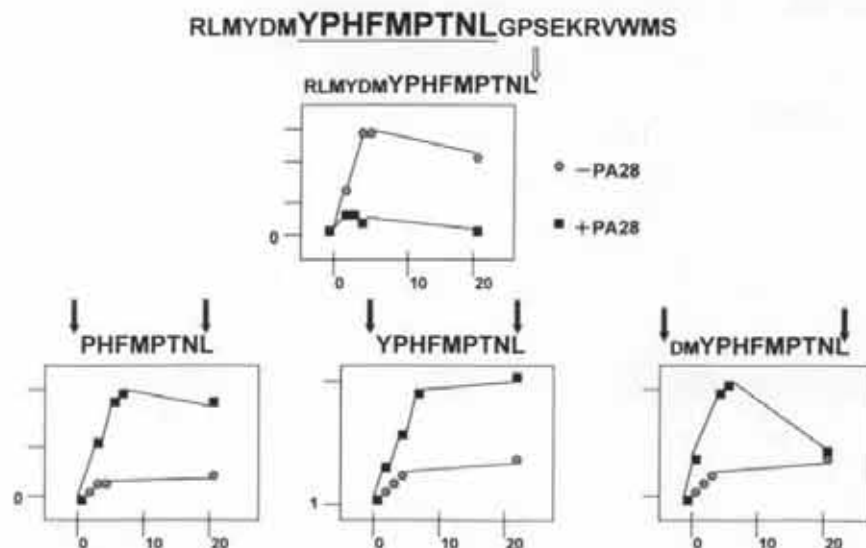


図11

Degradation eines Abschnitts aus MCMV pp89 +/- PA28



20S proteasome to perform coordinated dual cleavages that produce dominant MHC class I ligands or their precursors」となります。

では細胞を使った実験ではどのような結果が得られるか、PA28を移入したfibroblastと移入しなかったfibroblastを用い、インフルエンザに対するCTL活性を調べました(図12)。その結果、PA28が発現されているほうが強い活性を示すCTLを誘導することができました。

つぎにプロテアソームにより作られる全ペプチドをMHC-I-ligandに対するモノクローナル抗体で検出できるかを試みました(図13)。MHC発現細胞を酸性条件下で溶解し、10kD以下の分子のフラクションを得、溶液を中性にもど

しモノクローナル抗体を作用させ、酸解離により得られたフラクションを解析します。この実験から得られたデータとMHC class I分子から溶出したペプチド群をMHC-I-ligandに対する抗体で分離したペプチドとを比べますと、このスライド(図14)に示しますようにMHC分子からはMHC-I-ligandであるペプチド(SYFPEITHI)が得られました。そして細胞の溶解液からはMHC-I-ligandのペプチドの他により短いペプチド(FPEITHI)も得られました。このスライド(図15)に示しますように細胞にMHC(K^d)が発現されていない場合、細胞溶解液から得られたペプチ

図12

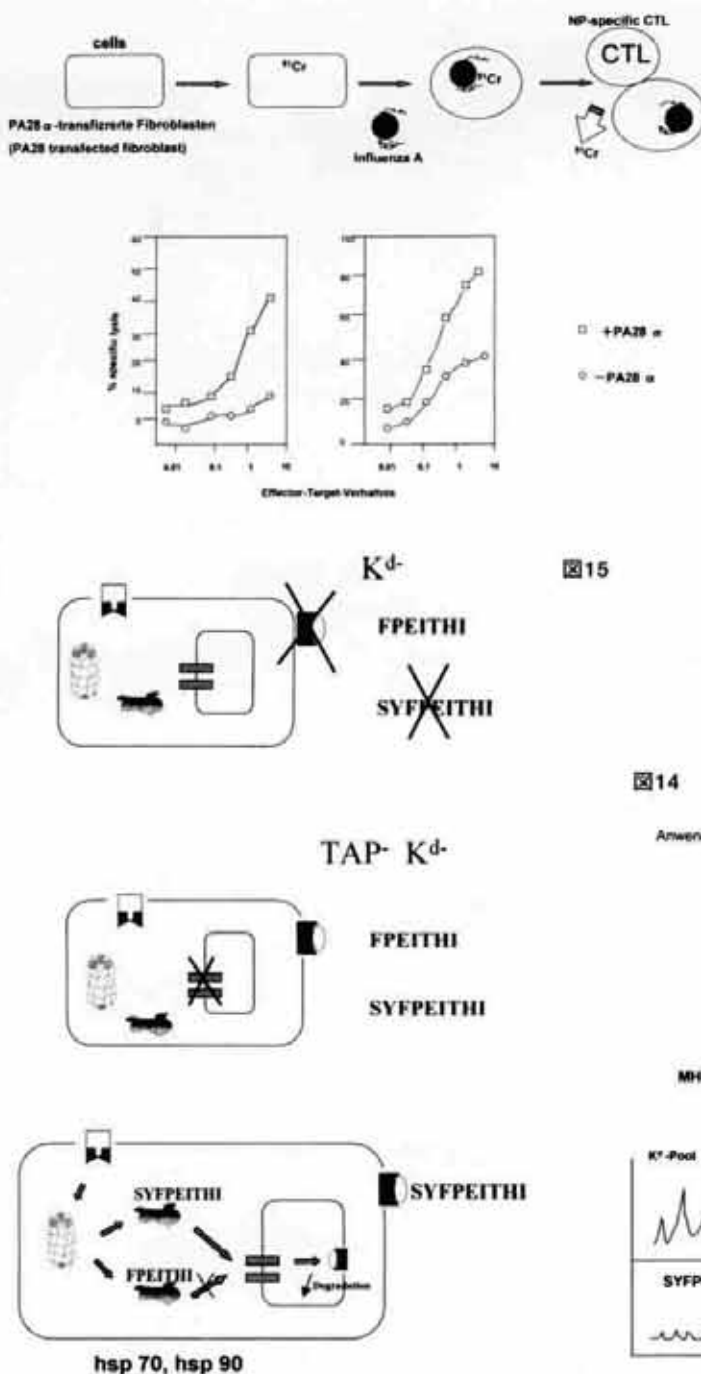


図13

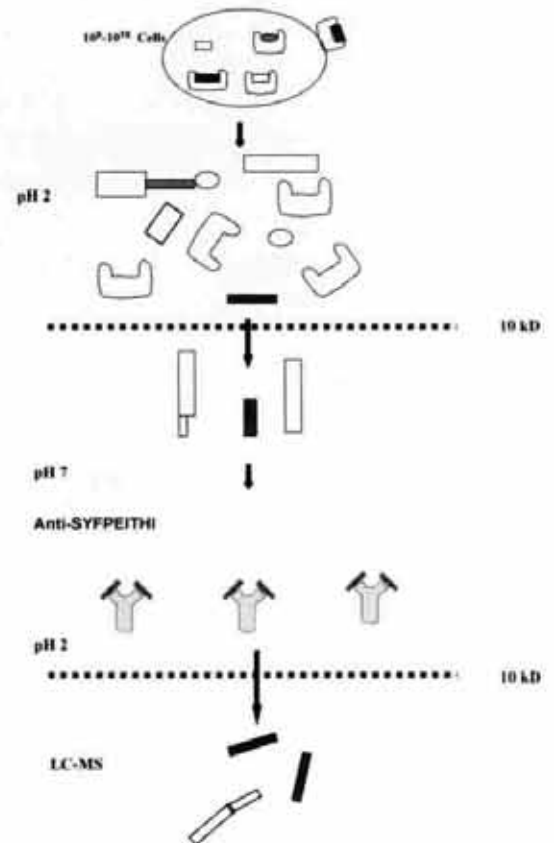
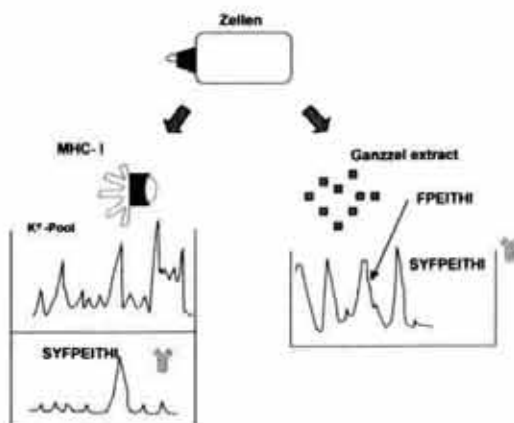


図15

図14

Anwendung der Anti-SYFPEITHI- Anti Körper



ドはFPEITHIのみでMHC-I-ligandであるペプチドは検出されませんでした。またTAPとKⁱが発現されていない場合、驚いたことに両方のペプチドが検出されました。そしてMHCおよびTAPが発現されている細胞からはMHC-I-ligandのペプチドのみ検出されました。このことから、おそらくプロテアソームで作られたペプチドのうちMHC-I-ligandになるペプチドはTAPを通してMHC-class I (Kⁱ)に提示され、MHC-class IIに提示されないものはなんらかの機構により分解されます。そしてFPEITHIはTAPを通ることができないと予測されます。したがってこのペプチドは細胞溶解液より分離したペプチド中に検出されますが、MHC-class Iから溶出したペプチド中には検出されないと考えられます。

TAPを通して小胞体に入ったペプチドはシャペロンであるgp96により運ばれMHC-class I分子にはまります。興味深いことはgp96とペプチドの複合体に対するTAPの影響を知ることです。この興味を満足するために次のような実験(図16)をしました。抗原(RMAまたはRMA-S cytosolic β -gal)を発現した細胞でTAP陽性または陰性細胞からgp96を分離しマウスに移入します。このマウス spleen cell

を用い β -gal peptideやB10.D2 (minor histocompatibility antigen) に対するCTLの誘導を行います。その結果、 β -gal peptide に対するCTLはTAP陽性のgp96からは誘導されましたが、TAP陰性のgp96からは誘導されませんでした。一方minor histocompatibility antigenに対するCTLはTAP陽性であってもTAP陰性であっても誘導されました(図17)。これはTAPに非依存性の抗原提示作用があることを示しています。しかし別のminor histocompatibility antigenで同じ実験を行うとTAPが発現されている細胞からだけCTLの誘導が可能でした。

MHC-II抗原提示について

次にMHC-class IIのペプチド提示について、MHC-class Iと同様な解析法によりペプチドをMHC-class IIより分離しペプチドのシーケンスを行いました。これはDRB1*0405から溶出されたペプチドのシーケンスデータをまとめたものです(表9)。このデータより得られたモチーフを示しました(表10)。MHC-class IIの場合はposition 1, 4, 6, 7, 9のアミノ酸がモチーフを作るアミノ酸です。このモチーフをMHC-class II抗原と比較するとclass II抗原のシーケンス多型性が機能的な違いを示していることが解ります。

図16 TAP influence on the formation of gp96/peptide complexes

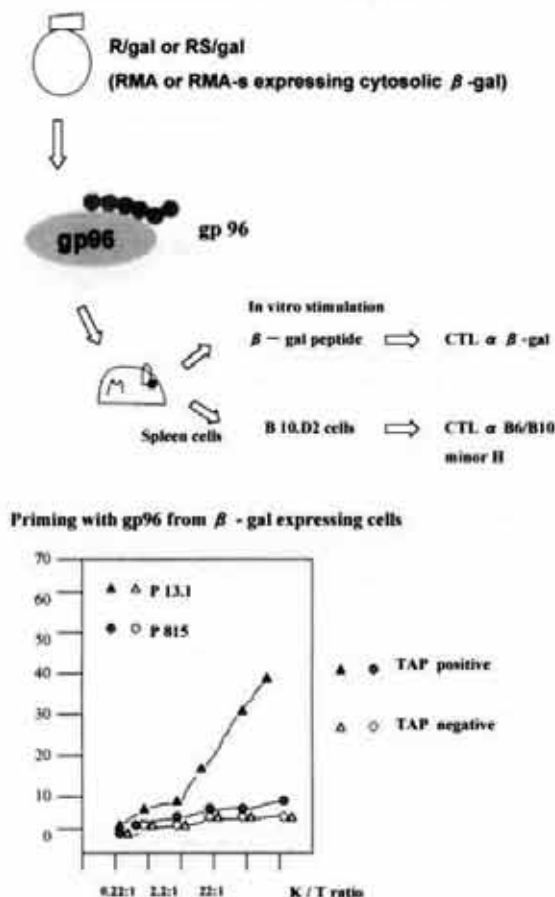
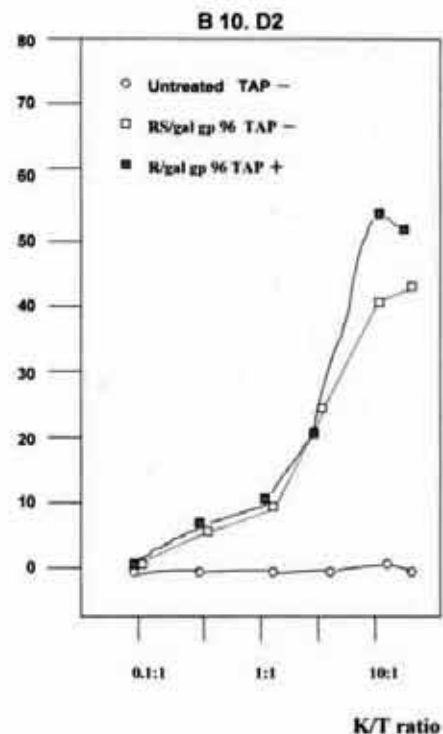


図17 TAP-independent loading of certain minor H peptide on to gp 96



学会レポート

アトランタ (ASHI) 訪問記

(株)ペリタス 研究開発部 大澤 敬子

第一印象

1997年の第23回ASHI（アメリカの組織適合性学会）は、10月14日から19日まで、ジョージア州アトランタで開催されました。ジョージア州と言えば、すぐ思い付くのは「風とともに去りぬ」の舞台になった所であるということ。古き良き南部の面影を残す…とガイドブックなどには書いてありますが、いったい古き良き南部とはどんな所なのだろうか？と期待しつつ、我々は本誌編集長をリーダーに4人で出発しました。途中ロサンゼルスを経由し、さらに4時間近く飛行機を乗り継ぎ、アトランタへ降り立ったのはもう夕方でした。地下鉄のようなものでターミナルがつながっていて、早速それに乗り込みました。車内から足早に行き交う人々を見て「黒人が多い！」と誰もが思ったことでしょう。私たちには見上げるような、縦も横もビッグな方々に囲まれ、子供のようにキョロキョロしていました。そしてやっと到着、バゲージクレームは天井の高い、明るいところでした。そして荷物を取り、空港の外に出ました。

到着日にして最大の出来事

南部と言うからには南にある、といことは日本より暖かい？と勝手に解釈し、夏服にちょっと上着数枚という程度の準備で行きました。おやっ？風が涼しい、夕方だからかな？しかし予想に反してかなり涼しいところでした。我々は宿泊先のホテルまで行くため、乗合いのシャトルバスを探してうろうろしていると、すーっと黒人のおにーさんが近寄って来ました。「タクシー？」と聞くので「いいえ、バス。」と言うと、今度は「どこまで行きたいの？」と聞きます。これは何か客引きに違いない、と思い、私は素っ気無く「はいあっとりーじえんしー！」と答え、先に進もうとすると、「ボクならひとり12\$で30分以内にお連れしますよ。」と言います。「あなたはタクシー？」と聞くと「違うよ、リムジン！」リムジンと言われてとっさ

に、あのながーい車？それともリムジンバス？この両方が思い浮かびました。すると彼は「バスみたいに大きいヤツだよ。乗合いだとあっちこっちのホテルを廻ってハイアットまで1時間近くかかるよ。乗合いは\$11だから、ひとりあたりプラス\$1だよ！」ここはひとつ、今回の旅のリーダーのご意見を伺おうと思い、本誌編集長さまの顔を見ました。「そりゃ、早い方がええわ。」この一言で決まり。もう一度金額を確認してから、彼のお誘いに乗ることにしました。彼はにこにこして我々のスーツケースのひとつをころころ転がして「こちらへ！」と言って歩いて行きました。彼の背中を追って荷物をひきずって…。どんどん進み、公共交通機関のエリアを超え、一般車両のエリアも超え、駐車場の方へ入って行きます。「こんな所にバスなんているの？だまされたかな…」ひそひそ話ながら彼の後を行くと、ずらーっと、あのながーい車が並んでいるエリアへ着きました。「まさか？」そう、そのまさかでした。その中のひときわながーい1台のドアを開けました。一同目が点です。我々は長時間の飛行機の旅用に、大変ラフな服装だったので、その不釣り合いなこと。しかし彼はさっさとスーツケースをトランクへつめていました。なーんとなく不吉な予感。これ、俗に言う白タクというヤツです。ほったくりだったら？こんなことを考えていたのは私だけだったのか、他の人々は嬉しそうに車内を見ては「キャー、映画みたい！」しばらく私は荷物を詰め込んでいる彼を見ていました。どうにも荷物が大きすぎてうまくトランクに収まりません。出しては入れ、向きを変えたり、試行錯誤。そのうちのひとつがまた、とてつもなく重い。それを持ち上げるたびに彼は「うっ、重い」を連発し、汗びっしょりで格闘していました。なんかそれを見ていたら、この人悪い人ではなさそうだなと思いました。車内へ乗り込んだ我々はその内装にびっくり。すべて真っ白な皮張り、天井にはきらきらとシャンデリアのようなライト、ミニバー、テレビモニター、そして「No Smoking!」のサイン。これって、ちゃんとお客を乗せるための車なんだー、と安心してると、運転席と客席との間の仕切りがすーっと下りました。彼はサングラスをし、ミラーで

我々の方を見ながら「アトランタは初めて？」と聞きます。「イエース！」この時の私たちはほとんどお上りさん、私もすっかり外の景色と優雅な車内を満喫していました。彼は運転中ほとんど携帯電話でしゃべりっぱなし、時々ちらっと私たちの方を見ます。あまりにも手放してキャーキャー興奮している（当然車内で写真も撮りました。写真1）姿に、ちょっとあきれていたかも知れません。ハイウェイを通過してビルのそびえ立つ街中が見えて来ると、ホテルはすぐで、本当に30分でした。車はホテルの玄関に着けられ、ドアマンが車のドアを開けてくれました。降りてきたのはピクニック帰りのような格好の我々です。周囲の方々はどう思われたのでしょうか。彼は手際良く荷物を降ろし、さあ、お支払いです。私はこのときまた、ふっと以前感じていた不安が蘇りました。余計にとられないかな…。我々のリーダーと彼が何やらやっています。（写真2）先生、無事に戻って来られ、彼はにこやかに手を振って帰って行きました。あとで聞くと、「いくら？」という問いに彼は「ひとり\$12で4人ですから…ええと…、計算弱くて！」なかなかおちゃめではありませんか。先生はあくまでもクールに「\$48！」と言われ\$50紙幣を一枚彼に差し出し、「お釣は君へのチップ！」とご丁寧に領収書と彼の名刺までもらってこられました。あとから、「先生、チップ\$2しかあげなかったんですか?!」とMさんに言われたのは言うまでもありません。アトランタ到着日にして、今回の旅の最高の思い出ができてしまいました。



写真1 「つめて座ったら10人はいけそうな車内」



写真2 「ながーい車と本誌編集長」

ストーンマウンテンパークツアー

今回学会が行われたのは街中のほぼ中心にあるハイアットリージェンシーホテルでした。地下に沢山の会議場を持つ、大型ホテルです。ASHIでもかなり沢山の人が来ているのに、他の会議もいくつか同時に行われていました。同じフロアの右と左でやっているの、よく注意しないと間違えて入ってしまいます。（間違えて入ってしまってもきっと気づくまでに時間がかかるでしょう）観光客はほとんどいない感じで、会議のお客さんとビジネスマンでゴった返していました。

アトランタはご存知の通り、南北戦争の舞台になった所で、また奴隷開放運動で活躍されたキング牧師のいらしたところでもあります。学会初日は夜のレセプションだけだったので、昼間は皆で観光バスに乗る事にしました。ホテルのロビーで申し込みをしていると、我々の姿を見つけた数人がツアーに参加することになり、日本、アメリカ、オーストラリアと一気にInternationalなツアーになり



写真3 「鼻だけでも自分の身長より高い」

ました。行き先はストーンマウンテンパークです。大きな山の様な岩の側面に、いにしえのアメリカ大統領3人の顔が掘ってあります（今だに名前とは言えません）。ケーブルカーで山を登ってその顔に近づいてみると、その部分部分の大きいこと。（写真3）そして頂上部分は平坦になってい

て、お店もあり、歩くこともできます。眼下にはバスの通って来たアトランタ郊外（超高級住宅が並んでいる！）が一望できます。また彫刻の作製時の写真や作業の様子が展示されていました。作業中に不慮の事故で亡くなられた方もいらしたそうです。山を下りると湖（人工？）があり、船で一周できます。大変静かできれいな公園でした。それからキング牧師のお墓へ行き、彼の功績の偉大さを私は初めて知りました。もともとここに住んでいた黒人たちは、起業家やら実業家が多く、苦勞もされていた反面まとまった街を作っていました。その流れで今も多くの黒人が住んでいるのでしょう。また、南北戦争の資料館では、360度パノラマの絵画と模型を巧みに合成し、精巧に人形を配置して、戦いの様子を再現していました。また実際に南軍、北軍の兵士が来ていた服なども展示されており、案外洋服のサイズが小さかったのには驚きでした。それからバスはアンダーグラウンドという地下鉄の駅に直結したショッピングモールへ。そこで本誌編集長はアメリカ国旗模様のベストを買われました。バスのガイドさんが着ていらしたのを見て、気に入られたようで、早速売っている所を開き出していました。もともとそのベストは、アトランタオリンピックの時にガイドが制服として着用していたものだそうです。きっとパーティーに着てこられるだろうと思っていました。（写真4、5）

アトランタあれこれ

もうひとつ、アトランタと言って記憶に新しいことは、1994年に開催されたオリンピックです。スタジアムなどいくつかの会場は既に壊されているものもありましたが、まだその当時の面影が街のあちらこちらに見られます。オリンピックの開催前まで、アトランタは大変危険な街だったそうで、殺人、強盗など犯罪件数が全米でもかなり上位の方であったと言われます。しかしオリンピックを目前に市民が一体となって安全な街作りに協力し、かなり改善されたそうです。でもやっぱりビルの陰は危ないから、大きな通りを集団で歩くように言われました。街の土産物屋には、オリンピックのTシャツが大安売り。1枚20\$近くしたものが3枚10\$程まで値下がりしていました。長野オリンピックのTシャツも同じ運命をたどるのかな、とふと思ってしまいました。

アトランタでの食事は、何と言ってもステーキ。ステーキの肉の大きさもさる事ながら、その横についている大量のポテトやら付け合わせの温野菜やらが、ゆうに私たちの



写真4 「ほーらね、問題のベストを来て語る編集長」



写真5 「吉田先生ご夫妻も仲良くダンス中」

お腹を一杯にしてしまいます。「一番小さいの！」と言って注文しても、厚さ大きさともに日本で見られるものの比ではありませんでした。でもアメリカの人は食べきってしまうんですね。



写真6

「これでもか、のコココーラ博物館」

CNNとコココーラ博物館ツアー

今回の学会主催の観光ツアーは、いろいろと趣向をこらしたものが多く、その中の「CNNスタジオ見学とコココーラ博物館」に参加しました。あのCNNのニュース番組を作っているところから実際に放映しているところまで、詳しく説明されました。驚いたことは、あのニュースは個人が経営する会社がやっているということです。その外にも映画やアニメ、スポーツ等幅広いエンターテインメントのチャンネルを持ち、今やその情報の速さと信頼性、ワールドワイドさは、他にはないと言ってもいいと思います。興味深かったのは、CNNの天気予報のからくりのタネあかしでした。キャスターがいつも世界地図上を、高気圧、低気圧、前線の動きとともに歩きながらその場所の天気を解説しているのを、どうやっているんだろうと思っていました。それからニュースを読む時も、キャスターはカメラ視線を保ったままなので、どこにニュース原稿を置いているのか不思議でした。そのタネあかしもされました。それは日本製の特殊な装置をカメラに取り付けて行っていました。なぜ日本の放送局はそれを採用せず、いつまでも原稿をちらちら見る形式を続けているのか、これも不思議に思いました。(タネはこれ以上あかささないでおきます)

また、コココーラは皆さんもよくご存知のものと思いますが、その発祥の地もここアトランタです(だからジョージアという名前のコーヒーがあるのです)。もともとスタートはコーラの元になるものが薬として開発され、それを炭酸で割ったら美味しかったという、ユニークな発想のもとに発売されました。この博物館のもうひとつ面白いところは、世界各国でコココーラ以外に作られている、ココ

コーラカンパニーの飲み物(例えば日本なら、ファンタやジョージアコーヒーなど)を試飲できるところです。その国で独特の飲み物があります。ライチのソーダ、スイカのソーダ、チェリーコークなどなど、お国柄豊かで、かなり美味しいものからかなり口に合わないものまで何種類も味見しました。帰りは皆、炭酸でお腹がふくれたことでしょう。そして世界各国のコカコーラのコマーシャル、ポスター等の展示でほとんど頭がコココーラで洗脳されたところで見学の締めくくり、そのままコココーラグッズのお土産コーナーに突入するようになっていました。(写真6)

これらのツアーの他、オペラ鑑賞ツアーもあり、こちらも人気を博していました。

アトランタとは…?

南北戦争も風とともに去りぬもよく知らずにアトランタへ行ってしまうましたが、その歴史と事実が大変きちんとまとまって紹介されており、昔の街並みはこんなだったのかなーと漠然と想像できるようなものを、沢山見ることができたと思います。時間の流れがゆっくりしている頃の、映画のような街。そんな古風さが感じられました。

映画「風とともに去りぬ」も見たことがなかったのですが、50年以上も前の映画であることが信じられないほどの映像の美しさは圧巻ですし、ビビアン・リーの美しさにも、同性でありながらうっとりしてしまいました。ぜひ近いうちに全編を見てみたいと思います。

学会のスケジュールが、今回はゆとりを持ったタイムスケジュールで組まれていたため、皆さんがアトランタを満喫できたのではないのでしょうか。

HLAに学ぶ (4)

—塩基配列レベルの多型解析から その1

東京大学医学部人類遺伝学教室

徳永 勝士

はじめに

多忙にかまけてはほぼ3年間中断していた「HLAに学ぶ」シリーズを、このたび再開させていただきます。今後不定期になるとは思いますが、そのときどきに考えていることを述べたり、新しい知見を紹介して、読者の皆様の御意見をいただきたいと思っています。ではまず今回と次回に分けて、クラスIおよびII遺伝子群の多型解析の結果を中心に話題を提供したいと思います。

日本人の対立遺伝子

あらためていうまでもありませんが、HLAクラスII遺伝子群 (DRB1, DQA1, DQB1, DPA1, DPB1など) では、対立遺伝子 (allele) 間の変異部位が第二エクソン (第一ドメインをコードする) に集中するために、原則としてこのエクソンの塩基配列だけを解析すればよかったです。これに対してクラスI遺伝子群 (A, B, Cなど) では、変異が第二および第三エクソン (第一および第二ドメインをコードする) にまたがることや、各座位間あるいは各グループ間の塩基配列の相同性が高いために特異的なPCRプライマーの設定が難しいことなどの理由により、対立遺伝子の検索やその塩基配列の決定が遅れていました。

私達も昨年ようやく、典型的クラスIに分類されるHLA-A, B, C座について、日本人に存在するおもな対立遺伝子の塩基配列決定に一応の区切りをつけることができました* (もちろん、その後もまれな対立遺伝子が続々と見出されています)。表1-表3は、HLA-A, B, C座についてこれまでに日本人に見出された対立遺伝子と血清学的分類との対応、およびそれらのおおよその頻度を整理したものです。これまでにそれぞれの座位で26、48、17種類もの対立遺伝子が確認され、そのなかには日本人試料から最初に見出された対立遺伝子も多数含まれていることがわかります。10%以上の頻度でみられた対立遺伝子の

表1 日本人におけるHLA-Aの血清学的分類と対立遺伝子の対応および頻度

血清学	対立遺伝子	頻度
A1	0101	1.8%
A2	0201	10.6%
	0206	8.4%
	0207	4.0%
	0210, 0203, 0218, 02V2*	rare
(A 'null')	0215N	rare
A3	0301, 0302	rare
A24 (9)	2402	32.7%
	2404, 2407, 2408	rare
A26 (10)	2601	6.2%
	2602	1.3%
	2603	1.3%
	2604, 2605, 2606	rare
A11	1101	11.1%
	1102	rare
A30 (19)	3001	0.4%
A31 (19)	3101	9.3%
A33 (19)	3303	12.8%

下線：最初に日本人試料から見出された対立遺伝子

*：Vは塩基配列決定済みの新しい対立遺伝子で、HLA命名委員会による公式名称を待っている

表2 日本人におけるHLA-Bの血清学的分類と対立遺伝子の対応および頻度

血清学	対立遺伝子	頻度
B51(5)	<u>5101</u>	7.0%
	<u>5102, 5103</u>	rare
B52(5)	<u>52011</u>	10.4%
B7	0702	5.2%
B44(12)	4403	12.2%
	4402	rare
B13	1301	1.3%
	1302	0.4%
B62(15)	1501	6.5%
	<u>1507, 62V1, 62V2, 62V3*</u>	rare
B70(15)	1518	1.7%
B75(15)	1511	0.4%
	<u>1502, 1521, 1528</u>	rare
(B 'null')	<u>1526N</u>	rare
B38(16)	3802	0.4%
B39(16)	<u>39011+39013</u>	3.5%
	<u>39021+39022</u>	0.9%
	<u>3904, 3902V1*</u>	rare
B58(17)	5801	rare
B54(22)	<u>5401</u>	7.0%
B55(22)	5502	2.2%
	<u>5504</u>	rare
B56(22)	5601	1.3%
	<u>5603</u>	rare
B27	<u>2704, 2705, 2711</u>	rare
B35	<u>3501</u>	7.8%
B37	3701	1.3%
B60(40)	40012	6.1%
	<u>4007</u>	rare
B61(40)	4002	6.1%
	<u>4006</u>	4.8%
	4003	rare
B46	4601	6.1%
	<u>46V1*</u>	rare
B48	4801	4.3%
B59	<u>5901</u>	0.9%
B67	6701	1.7%

下線および* : 表1の説明参照

表3 日本人におけるHLA-Cの血清学的分類と対立遺伝子の対応および頻度

血清学	対立遺伝子	頻度
Cw1	0102	17.0%
	<u>0103</u>	rare
Cw9(3)	0303	7.8%
Cw10(3)	0304	11.3%
	0302	rare
Cw4	0401	6.5%
Cw5	0501	rare
Cw6	0602	1.7%
Cw7	0702	11.3%
	<u>0704</u>	0.9%
Cw8	0801	10.9%
	0803	2.6%
C blank	<u>12022</u>	10.4%
	1402	5.7%
	<u>1403</u>	12.2%
	1502	1.7%
	1203	rare

下線 : 表1の説明参照

数は、それぞれ4種 (A*0201, 1101, 2401, 3303)、2種 (B*4403, 5201)、6種 (C*0102, 0304, 0702, 0801, 1202, 1403) となり、一般に考えられている多型性の高さの順 (B>A>C) と逆の傾向になっています。つまり、多型性が高いほど多数の対立遺伝子が満遍ない頻度分布に近づき、突出した頻度をもつ対立遺伝子が少なくなる傾向にあります。またHLA-C座については、一般の血清学的検査では検出できなかった'blank'が30%もありましたが、実は複数の対立遺伝子と対応することが確認され、いずれも細胞膜にHLA分子を発現する機能を持った遺伝子であると考えられました。

そのほか特に注目されることは、A2、A26、B61グループでは血清学的検査で区別できない対立遺伝子 (サブタイプ) が複数あり、しかもそれぞれがかなりの頻度で存在することです。これらのグループはいずれもヨーロッパ系集団では多様に乏しく、日本人を含めた東アジア

系集団における分布とは際立った違いをみせません²⁴⁾。しかも、これらのサブタイプのマッチングが非血縁骨髄移植の成績向上に重要であることが、厚生省の研究班によるレトロスペクティブな解析によって明確に示され²⁵⁾、現在ではドナー候補と患者のプロスペクティブな検査も行われていることはよく御存知のことと思います。

なお私達は、妊娠機構との関係が注目される非典型的クラス I 遺伝子のひとつ HLA-G 座についても解析し、ロイシンからイソロイシンへのアミノ酸の置換を持つ新しい対立遺伝子 1 種を含む 4 種類の対立遺伝子を見出しました²⁶⁾。実は、この対立遺伝子は日本人やアジア系集団に限らず、ヨーロッパ系集団にも存在するのにこれまで発見されなかっただけであることが、第 12 回の国際組織適合性ワークショップにおける共同研究で明らかになりました²⁷⁾。

表 4 にはクラス II で最も高度な多型性を示す DRB1 座について、これまで日本人で確認された 46 種の対立遺伝子について整理しておきました。なお、これら表 1-表 4 の作成、特に新しい対立遺伝子については、日赤中央血液センター研究部の柏瀬貢一氏の協力をいただきました。私達の経験では、DNA タイピングの例数が増せば増すほど、新しいまれな対立遺伝子が見出されてきました。クラス I 遺伝子群についても同様な状況が予想され、今後の DNA タイピングの普及にともなって、もっと多くのまれなクラス I 対立遺伝子が見出されるに違いありません。

そのなかのいくつかは、HLA 分子が膜上に発現されない、あるいはわずかししか発現されない、いわゆる 'null' あるいは 'low' 対立遺伝子でしょう。これまでの報告例をみる限り、いずれも独立の突然変異によって生じた別個の遺伝子であると推定されます。従って、“未知の” null あるいは low 遺伝子をも確実に検出する日常的な DNA タイピングシステムを構築することは困難だと思われます。数年のうちには、クラス I の日常検査も現在のクラス II のように DNA タイピングが主流になると思いますが、血清学的検査も維持しなければならない最大の理由がここにあります。さらに、近年多くの癌細胞でクラス I 抗原の後天的（体細胞突然変異などによる）発現低下が報告され、癌細胞が T 細胞および NK 細胞による免疫監視機構から逃れる機序として注目されています。ここでも患者の正常細胞と癌組織について、DNA 解析と血清学的解析をともに行うことから、重要な情報が得られることでしょう。

表 4 日本人における HLA-DRB1 の血清学的分類と対立遺伝子の対応および頻度

血清学	対立遺伝子	頻度
DR1	0101	5.8%
	<u>01V1*</u>	rare
DR15 (2)	1501	7.1%
	<u>1502</u>	10.1%
	<u>1505, 1506, 15V1*</u>	rare
DR16 (2)	1602	1.0%
DR3	0301	rare
DR4	0401	0.6%
	0403	2.1%
	0404	0.5%
	<u>04051</u>	13.3%
	<u>0406</u>	3.0%
	0407	0.7%
	0410	1.8%
	<u>0409, 0411, 04052, 04V1, 04V2, 04V3*</u>	rare
DR11 (5)	1101	2.6%
	<u>1106, 1123</u>	rare
DR12 (5)	1201	3.7%
	1202	1.8%
	<u>1205</u>	rare
DR13 (6)	1301	0.6%
	1302	6.8%
	<u>1307, 1329</u>	rare
DR14 (6)	1401	3.4%
	<u>1403</u>	1.9%
	1405	2.2%
	<u>1406</u>	1.7%
	<u>1402, 1407, 1412, 1426, 1429</u>	rare
DR7	0701	0.3%
DR8	0802	4.2%
	<u>08032</u>	8.3%
	0809	rare
DR9	0901	14.1%
DR10	1001	0.7%

下線および* : 表 1 の説明参照

ヘテロ接合体率とHLA-Cのなぞ

日本人集団試料における解析結果のなかで私にとって最も意外だったのは、表5に示した各座位のヘテロ接合体率（多型性の指標のひとつ、集団中でどれだけの割合の人がヘテロ接合体となっているかを表わす）の計算結果でした¹⁾。といいますのは、先に触れたように多型性の程度は従来よりB>A>Cと考えられてきたわけで、実際血

表5 日本人集団試料において観察されたHLA-A, B, C, D, DRB1座のヘテロ接合体率

遺伝子座	タイピング法	
	血清学	DNA*
HLA-A	0.767	0.831
HLA-B	0.926	0.933
HLA-C	0.745	0.893
HLA-G	-	0.658**
HLA-DRB1	0.851	0.924

* 塩基配列レベルのタイピングによる

**ただしアミノ酸置換を伴う対立遺伝子だけを考慮すれば0.112と低い

清学的検査に基づくヘテロ接合体率はその通りになっています。ところが塩基配列レベルの解析からはA座とC座の関係が逆転してC座の方が高いヘテロ接合体率を示しました（これは主として'blank'が複数の頻度の高い対立遺伝子に対応することに起因します）。これまでHLA-Cについては型の種類が少ないうえに、細胞膜上の発現量も低く、また'blank'が高頻度に達することで象徴されるようにアロ抗原としての抗原性も低いことから、進化上死にゆく遺伝子（偽遺伝子化の過程にある）と考える研究者が多かったように思います。もし、今回のヘテロ接合体率の結果が他集団にも成り立つ一般的な傾向であるとする、HLA-Cは死にゆく遺伝子などではなく、なにか独自の機能を果たすものかもしれません。

それに関して興味をそそられるのは、NK (natural killer) 細胞がその膜上に発現する受容体の主たるリガンドがHLA-C抗原であるという近年の知見です²⁾。NK細胞受容体には免疫グロブリン超遺伝子族 (immunoglobulin superfamily) に属するKIR (killer inhibitory receptor) 分子群と、レクチン様構造をもつCD94/NKG2分子群の少なくとも二群があることが知られています。表6は日赤中央血液センター研究部の屋部登志雄博士に作成していただいたものですが、代表的なKIR分子がHLA-C抗原分子の77番と80番のアミノ酸を識別していることがわかります。NK細胞の主な機能はクラスI分子の発現を失った異常細胞の排除であるとする近年の知見を考えれば、もともと発現レベルの低いC抗原分子を監視することが、いかにも感度の良い合目的な選択のように思われます。（余談ながら、CD94/NKG2についてはよくわかっていませんが、HLA-Eがリガンドであり、しかもそのポケットにはもっぱらHLA-A, B, C, Gのシグナルペプチドが収まるという興味深

表6 NK受容体反応性によるHLA-C抗原の分類

グループ	特異性	アミノ酸配列	NK受容体	抗NK受容体抗体
group1 (C1)	Cw1,w3,w7, w8,w12,w14	⁷⁷ Ser, ⁸⁰ Asn	p58.2(KIR2DL2,2DL3) p50.2(KIR2DS2)	GL183 (CD158b)
group2 (C2)	Cw2,w4,w5, w6,w15, w17	⁷⁷ Asn, ⁸⁰ Lys	p58.1(KIR2DL1) p50.1(KIR2DS1)	EB6 (CD158a)

p58.1, p58.2は抑制性NK受容体、p50.1, p50.2は活性化型NK受容体である。HLA-C抗原の一部はレクチン型NK受容体CD94/NKG2によっても認識されるがその特異性については不明な点が多い。（日赤中央血液センター研究部 屋部博士作成）

い論文が最近Nature誌に掲載されました)。

もうひとつ、HLA-Cのユニークな機能を示唆する興味深い結果は、先述した厚生省の骨髄移植研究班からもたらされました⁴⁾。すなわち、提供者と患者のHLA-C対立遺伝子の一致がHLA-A, Bの場合と同様にGVHD(移植片対宿主病)の発症率を下げる一方で、意外なことに、長期生存率にはほとんど影響がないか、むしろ悪影響を及ぼす傾向が観察されました。このことから、現時点ではあくまでも可能性ですが、HLA-C分子はGVL(移植された細胞群が患者の白血病細胞を攻撃する)効果のターゲットであるかもしれません。そして、NK細胞がこのGVL効果に関与する可能性も考えられます。

以上の議論からHLA-Cがなんらかの独自の機能をもつだろうということは推測できます。しかしながら、なぜあれほどの多型性が維持されているのか説明することはできません。今のところ、NK細胞受容体が識別する特異性として確かなのは表6の二種だけですが、将来の研究の進展によってより細かい特異性をもつ受容体が同定されてくるのでしょうか。あるいは、特殊な抗原群を特定のT細胞サブセットに提示しているのでしょうか。読者の方々もHLA-Cの機能と進化について考えてみませんか。

おわりに

今回は個々の遺伝子座について、塩基配列レベルの解析結果からいくつかの話題を提供しました。次回は各座位間の関係、すなわち連鎖不平衡やハプロタイプについて考えてみたいと思います。

徳永先生には“知ってるつもり”から
“HLA最前線”のコーナーに
トラバークしていただきました。

Welcome
Back,
Dr.
Tokunaga!



参考文献

- 1) Tokunaga K, Ishikawa Y, Ogawa A, Wang H, Mitsunaga S, Moriyama S, Lin L, Bannai M, Watanabe Y, Kashiwase K, Tanaka H, Akaza T, Tadokoro K, and Juji T: Sequence-based association analysis of HLA class I and II alleles in Japanese supports conservation of common haplotypes. *Immunogenet.* 46: 199-205, 1997
- 2) Ishikawa Y, Tanaka H, Semana G, Tiercy J-M, Fan L, Blasczyk, Maruya E, Tokunaga K, Akaza T, and Juji T: Alleles and haplotypes society No. 2 (A2, A28, A9). In: Charron D et al. (eds), *Genetic Diversity of HLA: Functional and Medical Implications*, p.35-41, EDK, Paris, 1997
- 3) Ogawa A, Tokunaga K, Lin L, Kashiwase K, Tanaka H, Herrero MJ, Vilches C, Park MH, Jia GJ, Ching N-O, Sideltseva EW, Ishikawa Y, Akaza T, Tadokoro K, and Juji T: Diversity of HLA-B61 alleles and haplotypes in East Asians and Spanish Gypsies. *Tissue Antigens* 51: 356-366, 1998
- 4) 厚生省骨髄移植研究事業報告書「HLA型適合に関する研究」(平成8年度)
- 5) Yamashita T, Fujii T, Watanabe Y, Tokunaga K, Tadokoro K, Juji T, and Taketani Y: HLA-G Gene polymorphism in a Japanese population. *Immunogenet.* 44:186-191, 1996.
- 6) Arnaiz-Villena A, Chandanayingyong D, Chiewsilp P, Fan L, Fauchet R, Nakajima F, Gomez-Casado E, Guo SS, Gyodi E, Hammond M, Jersild C, Juji T, Lepage V, Martinetti M, Martinez-Laso J, Mehra N, Rajczyk K, and Tokunaga K: Non classical HLA class I antigens: HLA-G. In: Charron D et al. (eds), *Genetic Diversity of HLA: Functional and Medical Implications*, p.155-159, EDK, Paris, 1997.
- 7) 屋部登志雄: NK細胞, 「炎症と抗炎症戦略」(室田、柏崎編), p.185-197, 医薬ジャーナル社, 1997.
- 8) Braud VM, Allan DS, O'Callaghan CA, Soederstroem K, D'Andrea A, Ogg GS, Lazetic S, Young NT, Bell JI, Phillips JH, Lanier LL, McMichael AJ: HLA-E binds to natural killer cell receptors CD94/NKG2A, B and C. *Nature* 391: 795-799, 1998.

小児IDDMとHLAについて

国立佐倉病院 臨床研究部 HLA研究室
臨床検査科 HLA検査室
酒巻建夫

ことの起こりはベリタスの小林さんが昨年の12月に佐倉病院にJNOSクラスIIトレイを納入に
来た時に始まった。魚釣り談義を一通り楽しんだあと、「僕の小児科の先生との共同研究のHLA
関連の論文が出ただけけれど見る？HLAの専門紙ではないのであまり目にするのではないと思う
ので。」「え、英語じゃない！それじゃコピーくれない？」数日後、「カモンに内容を紹介して。」と
なった次第である。さっそく共同研究者の杉原先生にe-mailで了承を取った。

IDDMはインスリン依存性糖尿病の略称でI型の糖
尿病と呼ばれることもあり、古くはほとんどが小児期
に発症する事から若年性糖尿病と呼ばれた事もあつ
た。しかし成人が罹患するのは肥満など生活習慣病と
しての糖尿病で、こちらはNIDDMと略称されるが、
これと誤解や偏見を避けるために若年性の名前は、現
在使用されなくなっている。肥満とは関係なく、膵臓
のラ氏島のインスリン分泌β細胞が自己免疫機序によ
り破壊され、インスリンの分泌が非可逆的に消失して
しまう難病である。もっとも小児でもファミコンなど
の影響なのか分からないが運動不足などによる成人型
の肥満による糖尿病や高血圧症なども多少増えてきて
いる傾向があるのだが…。糖尿病の名称は血糖値が
160mg/dlを超えるようになると腎尿管からのブドウ
糖の再吸収が追いつかず、尿中に排泄されるために付
けられた名前である。インスリンは平たく言うと血糖
値を下げる働きがあるのだが実は筋肉などがブドウ糖
を利用するために必要なホルモンであって、不足する
と血管の中には多量のブドウ糖が回っているにもか
かわらず、全身が飢餓の状態になってしまうのだ。コン
トロールが悪いと腎臓や神経、眼底などに合併症を早
期に引き起こすようになる。

小児のIDDMはインスリンを使用するコントロ
ールの難しさから大学病院や小児病院の専門医が治療
に当たっている。一生厳密に食事療法を守り、イン
スリンの注射をし続けなければならない事から、夏休
みなど、家族同伴でキャンプなどをしながら元気付け
や指導を行っている。

突然に発症するIDDMの原因については議論のあ

るところであるが、コクサッキーウイルス感染なども
引き金になっているとの推定もある。HLAとの関連
では欧米の白人ではDRB1*0301、DRB1*0401、
DRB1*0404などが感受性を示す遺伝子として上げら
れる。一方日本人ではDRB1*0405、DRB1*0901が大
半を占め、数は少ないがDRB1*0802にも相関が認め
られる。逆にDR15などは罹患し難いHLA型と考え
られている。

共同研究は当初、IDDM患者の抗GAD(glutamic
aciddecarboxylase)抗体とHLA抗原の関連を調べるこ
とから始まった。抗GAD抗体は発症初期には70%程
度の患者に陽性が認められている。このためにDMと
診断された患者では鑑別診断法として、この抗体を調
べることが健康保険上でも認められている。このGAD
抗原についてはペプチド化されHLA分子上でキラーT
細胞の認識分子になっているのではないかと考えてい
る研究者もいる。

杉原先生から次々と送られてくる検体は判で押した
ようにはほぼ全例がDRB1*0901かDRB1*0405であった。
同時に調べたDQA1は0302であり、DQB1はそれぞれ
0303と0401と連鎖していて、日本人に見られる通常
のDR/DQ連鎖を形成していた。あるとき300番台の検
体番号が来た時、以前と型が異なっていたので問い合
わせてみるとNIDDMと診断した症例であった。

抗GAD抗体とHLAの関連では、DRB1*0901の
症例では抗体価が少し高く、その持続がやや長いとい
う程度の結論が得られただけであった。杉原先生は
DRB1*0901とDRB1*0405の患者を比較すると臨床経

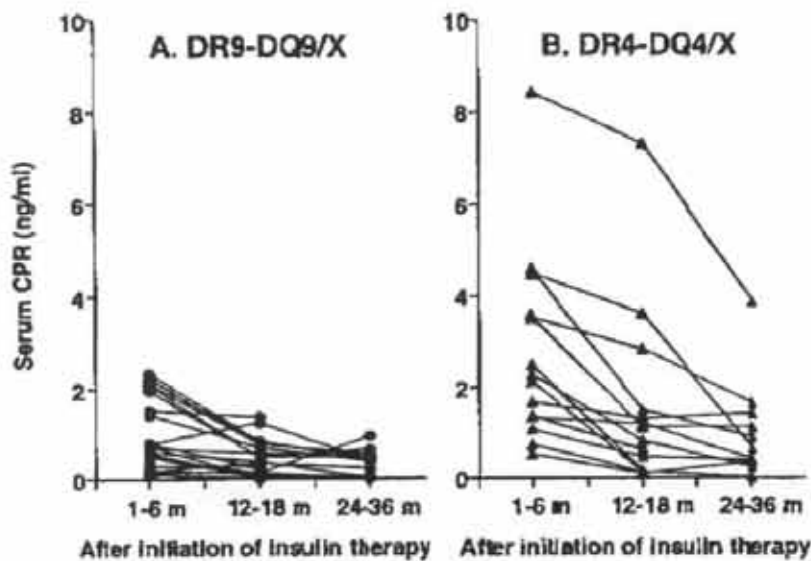


FIG. 1. HLA DR-DQ genotypes and time course of residual pancreatic β -cell function. Blood specimens for CPR were drawn after an overnight fast and 2 h after a calorie- and component-controlled breakfast. Significant differences in postprandial serum CPR were detected between IDDM patients with DRB1*0901-DQA1*0302-DQB1*0303 (DR9-DQ9, $n = 20$, A) and DRB1*0405-DQA1*0302-DQB1*0401 (DR4-DQ4, $n = 14$, B) at 1-6 m ($P < 0.005$) and 12-18 m ($P < 0.05$).

過が異なる事に気がついた。

インスリンは合成される時にプロインスリンの形を取り、酵素により切断されると活性のあるインスリンとCペプチドが生成される。インスリンはレセプターのある細胞に取り込まれて消費されるが、Cペプチドはすぐには分解されないため食後の分泌総量を測定するのに利用することができる。IDDMの発症から経時的に β 細胞の破壊が進むのが常であるが、DRB1*0901型とDRB1*0405型とでは明らかな差が認められた(FIG.1)。前者は速く、後者は緩やかな傾向を示していた。

残存しているインスリンの分泌能は、ほんの僅かでもあるのとないのとは臨床で大きな差となる。血糖の変動に呼応して少しでもインスリンを分泌してくれると臓器組織障害が軽減されるのである。現在、全膵臓移植そのものはかなり難しい移植であるが、ラ氏島移植として実験治療を試みている背景にはこのような意義があるのだ。今回のHLA型による作用機序の違いや役割についてはまだよく分かっていない。

成人ではIDDMもまれに発症し、また緩徐に進行するIDDMの存在があることが知られているが、調べた限りこれらも小児のIDDMと同一のDR型を示している。その障害の遅速もHLA型により説明されるかもしれない。

最後に、この研究のために血液を提供してくれた小さな患者さんに対して、「ありがとう。少し病気の事が分かったけれど、まだやっつける事ができなくて、ごめんなさい。みんなも毎日つらいと思うけど、頑張ってるね。」

文献 Sugihara, Sakamaki, Konda, et al: Association of HLA-DR, DQ genotype with different β -cell functions at IDDM diagnosis in Japanese children. Diabetes 46:1893-1897, 1997.

(杉原茂孝先生は現在、東京女子医大第二病院小児科助教授です)