

特集 第47回 日本輸血学会総会 (1)

「総括」

愛知県赤十字血液センター

倉知 透

Challenge!

学会のテーマを「Challenge」とした第47回日本輸血学会総会は、平成11年5月12日から14日まで、青葉香る新緑の中にたつむ仙台国際センターで開催されました。

開催前から私だけでなく多くの人が、今回の学会はテーマの示すごとく新しいことにチャレンジしていることに気づいていたと思います。例えば、インターネット・ホームページの開設、「The 演題」というセッションの存在、シンポジウムやランチョン・セミナーの多さ、演題番号の付け方など初めての試みが随所に感じられました。

そして、学会そのものは、輸血医療の大きな変換期において、安全性を重視した数々の対策が具体的にになってきた現状を垣間見ることできるものだったと感じました。

なお、久々にテラサキ先生のお話が聞けたことは、私にはとてもうれしかった。

ランチョン・セミナー

「3日間ともランチョン・セミナーで昼食を摂った。」という同僚に「どんな内容だったか」と問うと「サンドイッチなどの軽食ではなくてちゃんとした弁当だったよ」という返事が返



ってきた……。私は一度だけしかこのお弁当を食べられなかった。但し、3日間とも昼食代は払わなかったが……

兎にも角にも、どの会場も盛況で入りきれなくなるセミナーばかりであった。

「21世紀への医療」という演題でNHK解説委員室の小出先生は、先日発生した横浜市での患者取り違い事件を題材に、医療の制度、経済、倫理、安全、国民の理解などについて話をされた。横浜の例は、色々なミスがチェーンの様に重なり発生したと解析し、医療界は、大変保守的であるため「指示と命令」によりこのような事件が発生するが、「発見と教訓」が生か



れていないと批判された。そして、世紀末の現在はその影の部分で解決する方向を明らかにする「締め切り」のときであり、新たな目標の望ましい方向を選択する「しきり直し」の時であると締めくくられた。

「Leukocyte Reduction of Platelet Components」というテーマでオハイオ州のチャンバース先生は、白血球除去の必要性や除去の方法、操作環境についてアメリカの状況を発表した。追加発言として大阪南血液センターの小川先生からデータ報告があった。

大シンポジウム3「輸血によってもたらされる同種免疫と免疫修飾」で諸先生が簡潔に整理されていたが、保存前白血球除去(*prestorage leucocyte depletion*)の必要性については以前から話題とされている。諸外国ではそれを如何にルチン業務として行うかの検討をしているのが現状で、私が時々アクセスしている血液製剤調査機構のホームページ(<http://www.bpro.or.jp>)の海外ニュースでも、米国赤十字社(ARC)リバー・バレー地域血液センター(ケンタッキー州)が保存前白血球除去血液製剤へ100%移行したと紹介されている。ARCでは総ての地域において2000年末までに移行する予定であるとしている。日本赤十字社は今後どう対応して行くのか、今のところ計画はない。

輸血副作用

輸血副作用関連の一般演題には血小板輸血時のアナフィラキシー様副作用に関するものが多かった。血圧低下をもたらす原因として特定の白除フィルターをあげる発表があったが、最近のFDAの報告では、ACEインヒビター治療

や陰性荷電フィルターへの暴露が必ずしも副作用の原因とはいえず、赤血球製剤でも発生していることから、共通条件はベッドサイドの白血球除去フィルトレーションであるとしている。このことから前述の保存前白血球除去が必要とされるわけであるが、ブラジキニンの関与を示唆するデータが多いことはFDAも承知している。

私が興味を持ったのは山口大の藤井先生が報告された内容で、アナフィラキシー様反応を呈する患者に対してどのように輸血をしていくかについて、山口県内の医療機関が同一の対応をとれるようマニュアルを定めていることでした。

第8回日本HLAワークショップでお会いして以来気安く(私は)お話をさせていただいていることから、不躰にも情報の提供をお願いしたところ早々に送っていただきましたが、この紙面をお借りしてお礼を申し上げます。

輸血と感染症

感染症で話題となっているウイルスの一つはTTVである。TTVについては盛んに多施設が色々なサンプルを用いて輸血との関連性等を検討しているが、輸血用血液のスクリーニング項目として取り上げなければならないという状況には無いようである。

中央血液センター医薬情報部からは収集された輸血後感染症報告例の紹介がなされた。1997年には12例のHBV感染、1例のHCV感染が輸血により発生した可能性が高いと報告した。日赤は安全確保対策として数々の対策を検討し実行に移してきたし、今後は輸血用血液(有効期間の長いもの)の500検体プールによる核酸増幅検査(NAT)を実施しようとしていることも紹介した。

論点はHBVで、諸外国がスクリーニング法としてEIAを使用しているが日赤は凝集法であること、PCの有効期間が諸外国より短期間であること、HBVの感染リスクが欧米とは異なることなどの現状を考慮すると、NATの対象ウイルスやプールサイズ、PC製剤の安全性確保は如何にあるべきか等について色々な意見がある。

プリオンについてシンポジウムでは現状の情報に関する提供があったが、アメリカやカナダ



ではイギリスやアイルランドへの渡航者を採血対象外としていくことが検討されている。

The 演題

夜のプログラムは会員以外の方たちにも聞いていただきたいという総会長の考えと、特に会員以外の方を対象として、輸血の現状を知っていただくために代表的な演題を集めたセッションであると紹介された。

多彩な演題であったが、もしかしたらその分類に苦慮した演題が集まったのでは、などと邪推したのは私だけでしょうか？なお、司会の柴田先生は、演題の選択に関して司会は関与していないことを最後に明言されました。

医療過誤訴訟の法律的側面

臨床医、鑑定人、代理人及び裁判官という4人のシンポジストから発表があった。

臨床医は、院内における医療事故発生時の初期対応が特に重要と報告した。

鑑定人は、異型輸血による死亡例では、日々経過とともに鑑定（立証）が困難となること等現状について紹介した。

代理人からは、近年は立法による規制等、輸血に携わる医師の注意義務の内容が高度に要求される傾向にあるとした。

裁判官からは、最近医療過誤訴訟が増加していること、医療裁判は時間を大変要し未済件が全体の59%を占めること。また解決された内容は和解40%、判決47%、取下げ13%であり、判決の30%は患者勝訴、70%が病院勝訴であること、また、医療過誤全体の80%が診療・手術・診断ミスであり、輸血ミスは4.5%であると紹介した。

輸血については「輸血療法の適正化に関するガイドライン」に詳細な指針があるため、訴訟が発生すれば、このガイドラインと照らし合わせた調査が行われ、輸血適応の是非等が論点となるであろうとのことであった。

その他

厚生省に対して輸血学会は、輸血管理料として保険点数を認めるよう要望をしている。①24時間輸血体制の確立、②輸血療法委員会の設置、③輸血副作用フォローアップの体制確立、

④専任スタッフによる一元管理体制の確立を条件とし、これを満たしていれば1患者の一連の輸血に関し、一月に一度500点を請求できるという制度である。昨年は医師会の反対があったようであるが今回は根回しをしているとのことであった。

そしてこれから

私が血液事業に携わるようになって25年近くなりますが、実行できそうもないと思われることが時間と労力をかけてできてしまうことを今更ながら感じています。

ほんの数人の研究班で始めたHLA検査が、全国の血液センターで実施できる状況になり、これが非血縁者間のBMTを推進していますし、輸血感染症の検査項目などはどれだけ増えどれだけ改善され、全国的に実施されてきたか数えられない程です。そして今度は全国の検体を集めてNATを実施しようと計画されています。これもきっと実行に移されていくのでしょうか。輸血医療の改革というテーマで日本輸血学会はビデオを作成していますが、きっとこれも実現されて行くと思います（期待も含む）。

私的なことではありますが、親父の遺品であるクラブを使用して始めたゴルフを3年間だけ集中してやろうと決心し、毎晩のように練習場へ通いました（仕事はこの次ぎ）。お陰様で2年半という期間でスコア90を切ることができました（ちょっと自慢です）。この後どうしようか、ゴルフのティーチング・プロを目指そうか、いつまで血液事業に携わって行くのか、転職しようかなどと半分冗談・半分真剣に悩んでいます。学会報告が私の近況報告になってしまいました。すみません。



特集 第47回 日本輸血学会総会 (2)

「HLA 関連」

日本赤十字社中央血液センター

田中 秀則

NAITP と HLA 抗体について

これまで HLA に関する演題の多くがアロタイプおよび適合血小板等の適合に関する発表であったが、本学会では HLA 抗体による NAITP (新生児血小板減少性紫斑病) に関する演題が 4 例 (3 題) 発表された。これらの演題で検出された HLA 抗体の特異性は、①B40 関連 (特異性: B60+B61+B13)、②B40 関連 (特異性: B60+B61+B48)、B5 関連 (B51+52) および B44、③B7、④B70 であった。また、3 例目の B7 抗体については、LCT 法では検出されず、MPHA 法で検出された抗体であった。ここで発表された抗体特異性の傾向として、B40CRG (B7、B48、B60、B61、B13) の抗原に対する抗体が多いように思われる。通常、妊婦の HLA 抗体スクリーニングにおいても、これらの特異性の抗体は比較的高い頻度で認められる抗体であるが、他に HLA-A2、-B5 関連抗原に対する抗体も少なくはない。では、何故これらの交差抗原群で多く見られるのか? 今後血小板上に発現されている HLA 抗原との関連について検討する必要があると思われる。

輸血と HLA 抗体について

NAITP 関連の演題以外に、HLA 抗体に関する演題 “HLA 抗体保有に見られる輸血後の血小板減少症” と “凍結血漿輸血による抗 HLA 抗体産生” が発表された。

“HLA 抗体保有に見られる輸血後の血小板減少症” では、HLA 抗体保有者に CPD 赤血球を輸血した後に、血小板が減少するといった内容であった。その原因は、患者が保有する HLA 抗体が、輸血された血小板・白血球に反応し、

その結果産生される免疫複合体が Fc レセプターを介し、自己血小板を巻き込み単球貪食系で破壊されるといった内容である。これまでも、HLA 抗体陽性血 (特に凍結血漿) の輸血による同様の発表がされている。しかし、輸血後一日で、 $27 \times 10^4 / \mu\text{L}$ から $8 \times 10^4 / \mu\text{L}$ に血小板が減少することから、輸血前の血小板が低下している患者では、慎重な血小板輸血が必要と思われた。

また、“凍結血漿輸血による抗 HLA 抗体産生” については、凍結血漿製剤に含まれる約 3×10^6 個の白血球が免疫源となったとされている。これまで多くの場合、凍結血漿輸血では、HLA 抗体を産生しないとされている。一方、血小板輸血で白血球除去フィルターを使用することにより、HLA 抗体産生を予防することができるとされている。しかし、一部の患者では、フィルターを使用しても、血小板輸血で HLA 抗体が陽転する場合がある。このような症例では、女性患者である場合が多く、妊娠等による初期免疫を受けている可能性が高い。今回発表された症例では、輸血 7 日目から抗体が認められたこと、輸血および妊娠歴がないことから、初期免疫による抗体産生とされているが、今後更に症例を増やし検討することが必要と思われる。

臍帯血バンクについて

臍帯血バンクについては、一般演題で 5 題、ランチョンセミナーで 1 題が発表された。発表の内容は、主に各臍帯血バンクの現状報告および公的臍帯血バンクの基準に関する検討に関するものであった。臍帯血移植の場合、HLA 型

の不一致がある程度まで（2 抗原？）許容されるようであるが、その真意を確かめるためには、長期移植症例の追跡調査が必要と思われる。その場合、必ずアリアルレベルでの HLA 型を追加検査する必要性があり、そのために必要な検体を一貫した方法で保管するシステムを現時点から検討しておく必要がある。更なる具体案の検討を望む。

輸血によってもたらされる同種免疫と免疫修飾

大シンポジウム「輸血によってもたらされる同種免疫と免疫修飾」では、輸血または同種免疫でもたらされる、免疫修飾、自己寛容、内因性免疫抑制物質、免疫反応における T セルレセプターについて発表があった。これまで、輸血によって引き起こされる免疫抑制については、腎移植患者に対する DST（ドナーの血液を輸血する）による生着率の向上、輸血患者における癌再発率の上昇、習慣性流産患者へのリンパ球免疫による妊娠率の向上等がよく知られている。しかし、その因果関係については、これまで明確に説明されていない症例が多い。

今回のシンポジウムでも症例等（データ）が紹介された。以下にその概要を示す。

①輸血により NK 活性が抑制される、②輸血量により免疫抑制状態が異なる（輸血量が多い程、免疫能が抑制される）、③血縁者間の腎臓移植では、輸血群とその他の群では、5 年生存率が 10% 上昇する、しかし非血縁者間では、輸血群の方が 5 年生存率が 30% 上がる、④母親からの腎臓を移植する方が、父親のそれより移植成績は良い、⑤習慣性流産患者では、NK 活性が高い、⑥輸血を受けた癌患者では、その再発率が高いが、白血球除去ではその差がない、⑦ほとんどの妊婦において、胎児由来の血液が入っており（約 3mL？）、これによりマイクロキメリズムが起こっている。

以上の内容で、免疫抑制に関するメカニズムは明確でない。しかし、今後 NK 細胞活性の抑制に関する機序が明確になれば、輸血による免疫抑制が解明できると思われる。



特集 第47回 日本輸血学会総会 (3)

「ポール テラサキ特別講演」

日本赤十字社中央血液センター

柏瀬 貢一

第47回日本輸血学会総会が平成11年5月12日から3日間、宮城県仙台市の仙台国際センターで開催された。「杜の都」仙台にふさわしく、緑が目鮮やかに映えわたり、会期中天気も良く、素晴らしい環境での学会であった。

臓器移植も神業！？

特別講演では、ポール・テラサキ先生が組織適合抗原と移植について「移植の過去・現在・未来」というテーマで講演した。ご存知の通り、テラサキ先生は今なお最も一般的に行われているHLA検査法のLCIT法を開発した外科医で、統計的な手法により、輸血による移植生着増強効果を発見したことでも知られている。今回も興味深い統計をいくつかまとめられていた。その1つに、各移植臓器別の生存年数を発表された。それによると腎臓では最長生存者は35年、肝臓では28年、心臓では23年、骨髄では27

年であり、多くは今でも生存している。腎臓と肝臓の長期生存者の中には米国のDenverで移植を受けた患者が多いことがわかるが、驚くべきことにこれらはすべてDr. Thomas Starzlによって行われたものであった。Stanfordで行われた心臓移植はDr. Norman Shumwayによるもので、Seattleで行われた骨髄移植はDr. Donnel Thomasによるものであった。Dr. Thomasはこの業績によってノーベル賞を受賞した(表1)。

20年間の功労

兄弟間の腎移植では1969年において、HLAが一致する場合、非常に高い生着率が得られて

表1 各移植臓器の生存年数(上位10人)と移植実施場所

順位	腎臓		肝臓		心臓		骨髄	
	生存年数	移植場所	生存年数	移植場所	生存年数	移植場所	生存年数	移植場所
1	35年	Denver	28年	Denver	23年	Stanford	27年	Seattle
2	35年	Minesota	27年	Denver	23年	Brooke Army	27年	Seattle
3	35年	Denver	25年	Denver	22年	Stanford	26年	Seattle
4	35年	Denver	25年	Denver	21年	Stanford	26年	Seattle
5	35年	Denver	24年	Denver	20年	Stanford	26年	Seattle
6	35年	Minesota	24年	Denver	20年	Stanford	25年	Seattle
7	34年	Denver	24年	Denver	19年	Stanford	25年	Seattle
8	34年	Denver	24年	Denver	19年	Stanford	25年	Seattle
9	34年	Denver	23年	Denver	19年	Stanford	25年	Seattle
10	34年	Denver	22年	Denver	19年	Stanford	25年	Seattle

いた。しかしながら、HLAが不適合である場合、短期の生着率は決して高いといえるものではなかった。1987年になると、HLA不適合の場合でも生着率はHLA適合と変わらない高い生着率となった。免疫抑制剤の効果によってHLA不適合の生着率が改善していると考えられ

ている(図1)。

死体腎移植の1年生着率がこの20年間で50%から80%に改善した。これも免疫抑制剤の効果とみられている。しかし、10年生着率に注視してみるとそれほど改善されていない(図2)。この現象は他の心臓、肝臓移植においても同様である。

臓器の拒絶とHLA

HLA抗体の産生と腎臓の生着率について、4つの研究グループから報告された。いずれもHLA抗体が非産生の人では抗体を産生した人よりも高い生着率を得ていた(図3)。生体肝移植では抗体を産生した人の全てに1ヶ月以内に拒絶反応が起こったが、抗体非産生の人ではわずか17%しか起こらなかった(図4)。今日、一般的に受け入れられているものではないが、HLA抗体が急性拒絶の原因になることがあるという。慢性拒絶に関しても同様の知見が得られており、腎臓・肝臓・心臓の急性・慢性拒絶に共通してみられる特徴でもあるが、動脈内でHLA抗体が上皮細胞を増殖させ狭窄を引き起こし、徐々に移植臓器を殺していくというものである。即ち、HLA抗体がHLA抗原に結合し上皮細胞の増殖に繋がる一連の現象の原因になると考えられている。

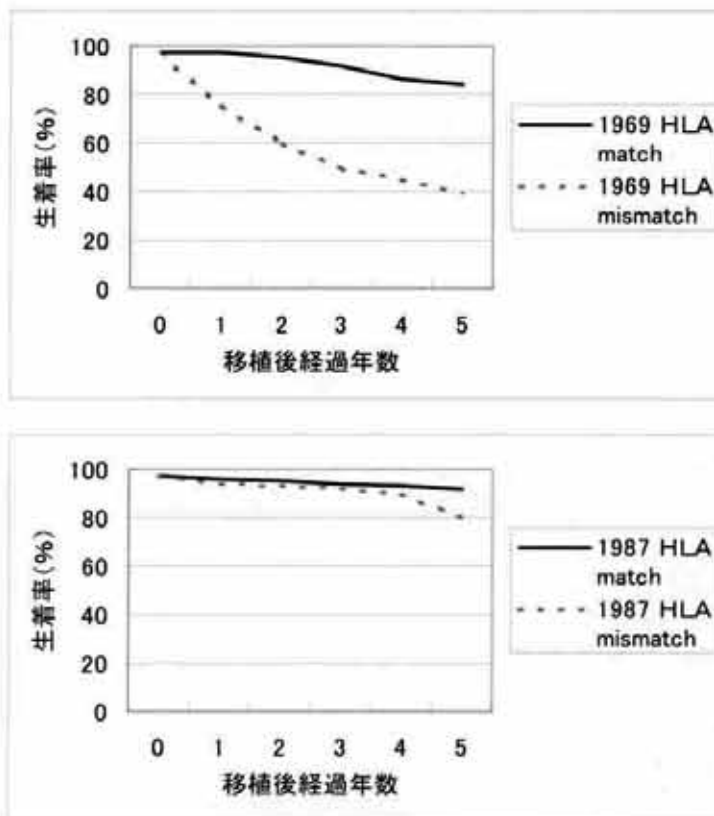


図1 兄弟間腎移植のHLA適合性と生着率

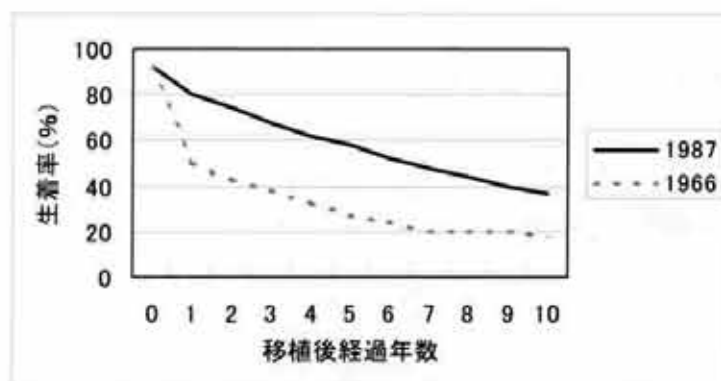


図2 死体腎移植の生着率

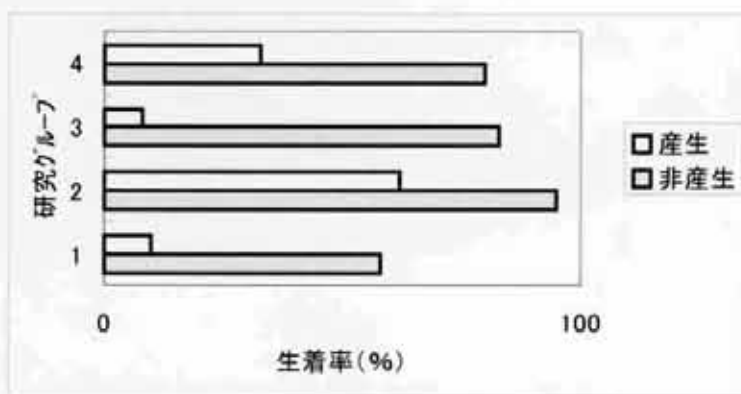


図 3 腎移植における生着率とHLA抗体産生の関係

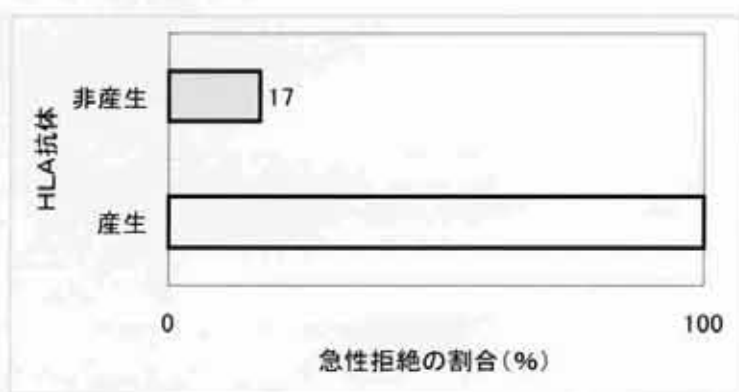


図 4 肝移植における急性拒絶とHLA抗体産生の関係

拒絶反応のモニタリングの可能性

HLA抗体の産生と拒絶反応、生着率との関連からいくつかの重要な点が導き出される。

- ①心臓移植において拒絶反応のモニタリングである生検を、簡単なHLA抗体の検出検査で代用できる。
- ②腎臓移植において血清クレアチニンが上昇し始める前に拒絶反応がHLA抗体の検出で予測できる。
- ③他のモニタリングが難しい臓器においてもHLA抗体の検出によって簡単に拒絶反応の情報を得られる。

法律が律速段階

欧米では、臓器の提供について本人の死亡後、家族の承諾により提供できるとしているが、日本では、本人の意思に加え家族の同意も必要として

このことを受けてテラサキ先生は、日本は法律を変えなければ、移植において後進国のままであると警告している。

以上がテラサキ先生の講演の概要である。フロアからの質問に、テラサキ先生は一部難しいニュアンスにおいては英語交じりであったが、大変親切に答えていらした。

終わりに

WHOでは、「臓器移植に関する指導指針」で臓器を提供できる条件として、①本人が生前、提供の意思表示をしていることと、②本人の意思表示が不明瞭であるときは遺族の意思があることを掲げている。日本は、WHOの基準に照らしてみると、より手続きが複雑で多くの人の承諾が必要である。以前に、臓器提供意思表示カードを持っていた人が、未記入の部分があった

ため、死亡後の提供の意思が尊重されなかったということがあった。また、小児の臓器移植は日本では認められていないため、海外へ移植を受けにくいとはならない。日本で臓器移植を受けたいという人が増えつつきているという現状を鑑みても、現行の法律は改善の余地が残されていると思わざるを得ない。それにしても、テラサキ先生が整形手術をしていたというのが、学会中で一番の新しい発見であった”；



前号において、タンパク質の細胞外への分泌について説明しました。今回は細胞内器官(特に、核及びミトコンドリア)へのタンパク質の移行について説明します。

まず、ミトコンドリアへのタンパク質の移行についてです。ミトコンドリアへの移行にも前回説明した粗面小胞体(ER)への移行と同じようにN末端のシグナルペプチドが必要です(表-1)。そのシグナルペプチドの特徴は、多くの疎水アミノ酸の中に、数残基の正に荷電したアミノ酸が、4アミノ酸程度の間隔をおいて存在することです。この配列は、両親媒性の α -ヘリックスを形成すると考えられています。つまり、ある面に荷電アミノ酸が多く、もう一方の面に疎水性のアミノ酸を持つようならせん構造をとっていると思われます。

次に、核への移行ですが、核局在シグナルの場合は、ERやミトコンドリアのように移行シグナルがN末端に存在する必要はなく、ポリペプチドのどの位置にあってもかまいません(表-2)。その配列の特徴は、4~8残基の正に荷電したアミノ酸が占める領域と、それに隣接する2、3のプロリン残基からなるものです。しかも、シグナルは2つの部分に分かれて存在することもしばしばあります。この場合は、2ないし4残基の正に荷電したアミノ酸がブロックを形成し、このブロックが10アミノ酸程度の距離をおいて2つ存在します。

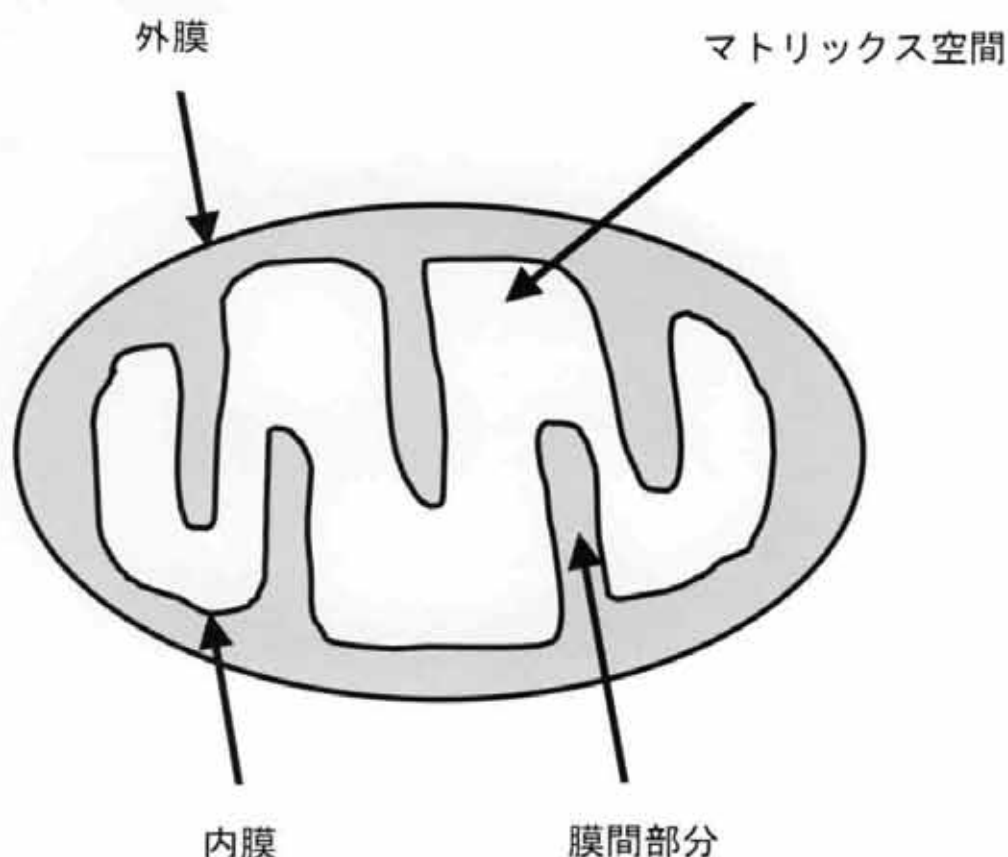
大まかにミトコンドリアと核局在のシグナルについて説明したところで、続いてこれらミトコンドリアと核へのタンパク質の輸送について具体的に説明します。

1. ミトコンドリアへのタンパク質輸送

ミトコンドリアの構造(図-1)を説明します。ミトコンドリアには内部のマトリックス空間と膜間部分の2つの小区画があり、これらはマトリックス空間を囲む内膜と細胞質ゾルに接している外膜の2種類の膜により形成されています。ミトコンドリアは、この2枚の膜に囲まれたATPの合成を専門に行っている細胞小器官です。ATPの合成は電子伝達と酸化的リン酸化により行われます。ミトコンドリアにはご存知のように独自のDNAとリボソーム、及びタンパク質の合成システムを持っていますがそれらタンパク質のほとんどは細胞核のDNAにコードされているので、これらのタンパク質は、細胞質で合成され、細胞質ゾルから核内に取り込まれることになります。この細胞質ゾルから取り込まれたタンパク質はミトコンドリア内でそのタンパク質が機能する場所に局在します。マトリックスタンパク質はポリソーム(すでに説明済み)から離れて1、2分以内に細胞質からミトコンドリアに取り込まれます。これらミトコンドリアタンパク質はほとんどのものが、アミノ末端に20-80残基からなるシグナルペプチドを持つミトコンドリアタンパク質前駆体として取り込まれます。ミトコンドリアのマトリックスに取り込まれるとシグナルペプチドは直ちにシグナルペプチダーゼにより取り除かれます。前駆体のミトコンドリア内への輸送の最初の段階は、その受容体タンパク質と結合することです。この受容体はミトコンドリアの外膜にあり、ミトコンドリア・シグナルペプチドを特異的に

認識し、次の段階でタンパク質の輸送が行われます。ミトコンドリアには内膜と外膜が接触しているように見える接触部位 (contact site) が多数存在することが電子顕微鏡観察により知られています。タンパク質のマトリックス内への輸送はこの部位、或いはその近傍で起こると考えられています。その具体的な取り込みは次のように考えられています。まず、前駆体タンパク質の持つシグナルペプチドを外膜にある受容

体が認識します。タンパク質は接触部位或いはその近傍を通って、内膜と外膜の2枚の膜を同時に通過します。この移動はまず内膜を介して作られた電気的勾配によっておこり、ついでATPの加水分解によって行われます。さらに続いてシグナルペプチドがマトリックス内にあるシグナルペプチダーゼにより除去され、成熟タンパク質になります。

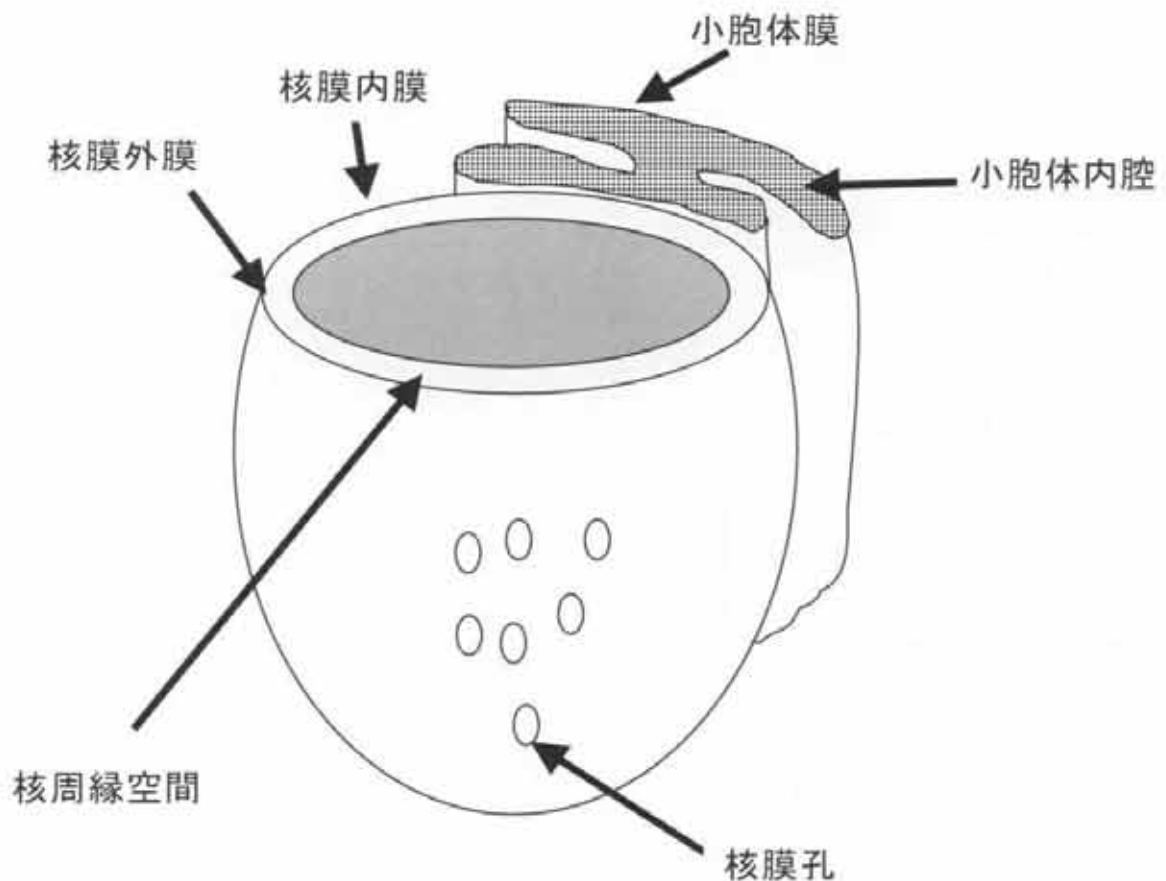


図ー1 ミトコンドリア小区画

2. 核内外への分子輸送

核膜は、DNA を囲み核を形成しています（図－2）。この核膜は二重の膜でそれを核膜孔が貫通していて小胞体と接触しています。内膜と外膜は連続していますが、これら2種類の膜の構成タンパク質は異なります。核の内膜には支持体である核ラミナと結合する特殊なタンパク質があり、外膜はER と性質が良く似ていて表面にはリボソームが付着しています。このリボソームで合成されたタンパク質は、内膜、外膜の間の部分である核周縁空間（perinuclear space）

へ輸送されます。細胞質ゾルと核の間では双方向の輸送が絶え間なく行われています。ヒストン、DNA ポリメラーゼ、RNA ポリメラーゼ、転写調節タンパク質、RNA のプロセッシングを行うタンパク質など核内で働く多くのタンパク質は、細胞質ゾルで合成されて核内に選択的に取り込まれます。これと同時に、以前に説明しましたが、tRNA や mRNA は核内で合成されて細胞質ゾルへ運び出されます。この核外への搬出も取り込みの場合と同じように選択的に行われます。例えば、これも以前に説明しましたが、



図－2 核膜

mRNA は、核内でプロセッシングを受けることにより初めて搬出されます。つまり、プロセッシングを受けていない mRNA は、核内に留まったままです。リボソームタンパク質の輸送はもっと複雑です。リボソームタンパク質は細胞質ゾルで合成され、核内に取り込まれ、そこで新たに合成されたリボソーム RNA とともに粒子状に組み立てられ、それからもう一度細胞質ゾル内にリボソームサブユニットの一部として搬出されます。核膜を横断するこれらの輸送の各段階は、選択的に行われます。

核内への輸送をもう少し詳しく説明します。

真核生物の核膜には、核膜孔 (nuclear pore) があって膜を貫通しています。この核膜孔は、100 種以上のタンパク質からなる、分子量が 1 億 2500 万程度の核膜孔複合体 (典型的な哺乳類の核膜には 3000-4000 個存在する) でできています。この複合体には、1 個から数個の水性チャンネルがあり、一定の大きさ以下 (実験的には 5000 ダルトン以下と言われている) の水溶性分子はここを通過して受動的に拡散できます。実験的に見積もられたチャンネルは直径 9nm、長さ 15nm くらいの水で満たされた円筒状の通路であるとされています。細胞質内にある成熟したリボソームの直径は約 30nm であるので拡散により核膜を通過することはできません。そのために、全てのタンパク質合成は、細胞質ゾルだけでのみ行われていることになります。しかし、そうすると核はどうやって新たに合成したリボソームのサブユニットを送り出したり、サブユニットのなかでも 10 万から 20 万に及ぶ巨大分子 (DNA ポリメラーゼや RNA ポリメラーゼ) を取り込んでいるのでしょうか? どうやらこのようなタンパク質や RNA 分子は、核膜複合体中にある特別な受容体タンパク質に結合して、複合体の中を通過して核膜を横断して能動的に輸送されているらしいことがわかってきました。

一般に活発に転写を行っている核の方が、転写が活発でない核よりは核膜孔複合体の数も多いと言われています。細胞が活発に DNA を合成しているときは、新たに合成された DNA をクロマチンの形にするために 3 分ごとに 10^6 個のヒストン分子を細胞質ゾルから取り込む必要があります。つまり、1 個の核膜孔複合体が平

均して毎分約 100 個のヒストン分子を輸送しなければいけないことになります。この核タンパク質の核内への選択的な取り込みに関わっているのが、前述した核タンパク質だけがもっている核内保留シグナル (nuclear localization signal) です。SV40 ウイルスの Large T 抗原のタンパク質の配列 (表-1) の中に、この核内保留シグナルが最初に見つかりました。この Large T 抗原タンパク質は、SV40 ウイルスにコードされていて宿主細胞の中でウイルスの DNA が複製される際に必要なタンパク質です。通常は、Large T 抗原は、細胞質ゾルで合成された直後に核内に輸送されます。この核内保留シグナルの存在は、T 抗原のある部分に 1 アミノ酸の変異があると核内への取り込みがされなくなったことから明らかにされました。その変異が起きた部分が核内保留シグナルそのものの場所だったのです。面白いことに、ミトコンドリアタンパク質や細胞外分泌タンパク質に存在するシグナルペプチドが、そのアミノ酸配列の N 末端部分に存在してその機能を発揮しますが、この核内保留シグナルは、核タンパク質のアミノ酸配列中で存在する場所は重要でなくどこにあっても核内保留シグナルとして機能します。核タンパク質には、必ずそのアミノ酸配列中にこのシグナルが存在します。この核タンパク質の核膜孔複合体を通過する能動輸送は、核タンパク質でおおった金粒子を細胞質ゾルに注入し電子顕微鏡で直接観察できるそうです。

核タンパク質が核膜孔複合体と作用を開始するには、核内保留シグナルに結合する数種以上の細胞質タンパク質と相互作用して核膜孔複合体へと導かれる必要があります。次に核タンパク質は複合体から突出している微細繊維に結合し、複合体の中央部へ移行し、ATP の加水分解を必要とする過程により核膜を通過して能動的に輸送されます。

この核膜孔を通る巨大分子の輸送機構は、他の小器官で膜を通過して行われるタンパク質の輸送機構とは、次の点で根本的に異なっています。つまり、核膜孔でのタンパク質輸送は大型の水性の小孔を通過して行われる調節を受けた輸送であり、他の小器官でのような脂質二重層を貫通しているタンパク質輸送体によるものではないということです。また、核タンパク質は折

りたたまれた構造を完全に保ったまま核膜孔複合体を通して輸送されますが、これに対し小器官に輸送されるタンパク質の輸送にはその構造を一度ほどかれた状態で輸送されその後再び折りたたまれる、という点においても異なります。さらに、核内保留シグナルは、タンパク質が核内に輸送されたあとも除かれることはありません。これは恐らく、細胞分裂が起こるたびに繰り返し核内に取り込まれる必要があるからだと思われます。これに対し核以外の小器官に取り込まれたタンパク質は一度取り込まれば世代の交代に関わらずずっとその区画にあって再移動することは絶対にありません。このような分子が持つほとんどのシグナルペプチドは、輸送が終了した時点で成熟タンパク質から除去されます。

今回説明したように、ミトコンドリアや核へのタンパク質の輸送、核から細胞質ゾルへの輸送も複雑なプロセスを経ていることを分かってもらえたでしょうか？

次回は DNA の複製について説明したいと思います。

表ー1 シングルペプチドの例

局在場所	シグナルペプチドの特徴	例
ミトコンドリア	N末端のある一面に正に荷電したアミノ酸をもち、もう一方の面に疎水性のアミノ酸をもつ α ヘリックス構造	ヒトのミトコンドリアのアルデヒド脱水素酵素 : Met-Leu-Arg-Ala-Ala-Ala-Arg-Phe-Gly-Pro-Arg-Leu-Gly-Arg-Arg-Leu-leu
核	ペプチド鎖の内部、一続きの塩基性アミノ酸とプロリンの場合が多い。2分割されていることもある。	一続きの例 (SV40T 抗原) : Pro-Pro-Lys-Lys-Lys-Arg-Lys-Val
		2分割されている例 (p53) : Lys-Arg-Ala-Leu-Pro-Asn-Asn-Thr-Ser-Ser-Ser-Pro-Gln- Pro-Lys-Lys-Lys

HLA ところ変われば

UCLA Dr.Yu's Lab.とロサンゼルス生活記

東京都赤十字血液センター

坂内 誠

Dr. Yu's Lab.

バリグ・ブラジル航空の格安ながらも快適な飛行を終えて、ロサンゼルス空港への着陸態勢に入ろうという時にあの激しい痛みに襲われました。出国直前にも2、3度体験した尿路結石です。空港に着いてみると初対面の Dr. Yu が見当たりません。荷物が多いからトイレにも行けずに痛みを耐えて電話すると（公衆電話の使い方がわかるまで10分以上かかりました）遅れて出発したとの事。やっと落ち合えて、一緒にアパート探しに行く途中、痛さに耐えられなくなって申し出たところ、“No problem”。これが、1年間お世話になった、楽天的な教授 Dr. David T.Y. Yu (写真1) との出会いでした。

研究室は UCLA のキャンパスから少しはずれた Veteran Ave. にある Rehabilitation

Center (写真2) の3階にあります。通りの向こうには延々と退役軍人のお墓が立ち並んでいて窓の外を広々と見渡せます。ロサンゼルスは雨が少ないせいのか、「森が深くて鳥や動物がたくさん…」というわけにはいかないのですが、それでも Rehabilitation Center の敷地内にリスが当たり前のように見られますし、春には黒いハチドリが松の木の間を飛び回っています。リウマチ学部門に含まれ、同じフロアーにはリウマチ学の大家の一人 Bevra Hahn 先生や、今年のリウマチ学会でも講演された Betty Tsao 先生などが居られ、毎週行われる合同ミーティングの時はするどい質問も浴びせられます。

Yu's Lab. ではリウマチ学の中でも、特に強直性脊椎炎 (ankylosing spondylitis)、反応性関節炎 (reactive arthritis) などの血清反応陰性

脊椎関節症 (seronegative spondyloarthropathies) の原因究明をめざしています。これらの疾患は HLA-B27 に強い相関があつて、強直性脊椎炎で90%、反応性関節炎でも60~80%の患者が HLA-B27 陽性といわれています。興味ある事にこれらの疾患発病に微生物感染との関連が濃厚に示唆されています。Dr. Yu のところにも生魚を食べお腹をこわして反応性関節炎になったというメキシコ人の患者も訪れていました（もちろん B27 陽性です）。遺伝 (HLA) と環境 (感染) のどちらにも強い関連因子が知られているのに病気の原因が解明されていないといった観点でとても興味あ



写真1 左が Dr. Yu



写真2 Rehabilitation Center

る研究分野です。

私に与えられたテーマは、マイクロアレイでした。遺伝子発現プロファイルを見る系です。数百種から数万の既知あるいは未知の遺伝子 cDNA 断片が膜上にスポットされたものに、細胞からとった RNA から標識 cDNA を作ってハイブリダイズさせる。比べたい2つのサンプル中でそれぞれの遺伝子の発現 RNA 量を比較するものです。私が使ったのは既知の遺伝子のみ 600 種程がのった市販のものでした。興味ある遺伝子を集めたもので、例えば培養細胞を使って刺激前後を比較するとおもしろいように重要な遺伝子の発現変化がつかまってきます。楽天家の Dr.Yu は実験結果が出るたびに興奮状態になって story の組み立てに一生懸命でした。定量性も結構良いようで、いくつかの遺伝子で半定量 RT-PCR を使って別に RNA 量を測定してみると、マイクロアレイの結果と非常に良い相関が得られました。

Terasaki 先生ご夫妻と

研究では直接関係する事はなかったのですが、UCLA の Terasaki 先生には日系ドクターズクラブで度々お世話になりました(写真3)。このクラブは Terasaki 先生が中心になって、ロサンゼルス在住の日系ドクターと日本から留学中の若い先生方との交流を目的として昨年6月に発足したものです。毎月様々な企画をしていただい

いて、私は7月の第二回ミーティングから参加させていただきました。ミーティングといっても家族で楽しめる催しものが多く、他にも奥様方どうしでお料理や英会話教室が定期的に開かれていました。日系ドクターやその奥様方は、ロサンゼルスで生活する上での様々な事をとても親切にお世話してくださいました。我家も途中から来た家族は右も左もわからない状態でしたので、こういう企画はとても助かりました。娘はガールスカウトを紹介していただき、短い間でしたが日本ではできない体験ができました。

9月のミーティングは Terasaki 先生のお宅で開かれました。私は1995年のASHI ミーティングに参加した際に東大



写真3 夫婦で Terasaki 先生と



写真4 Dr. Terasaki 邸のプールで。右から長女 暁子と次女理江。

の徳永先生達とお宅に伺った事があって、感激の様子を KAMON No.6 に書いた覚えがあります。家族にもその立派なお宅を見せる事ができました。娘達はお庭のプールではしゃいでいましたし(写真4)、息子は玄関前の広場で卓球やバドミントンを楽しみました。大きなお宅には貴重な彫刻や絵画がたくさん飾られているのですが、娘達がちょろちょろ走り回ってそれは冷や汗ものでした。Hisako 夫人のアトリエや、Terasaki 先生のトレーニングルームのある2階も、ちょっと失礼ながら拝見させていただきました。

日米ドクターズクラブでは他にも、ロサンゼルス日本総領事公邸での交流会、新年のバサデナ Rose Parade、今年できた日米博物館見学など楽しい企画がいっぱいでした。Terasaki 先生が日本語を勉強されている事は知っていたのですが、自由に会話がおできになるとはうかつにも知りませんでした。私がロサンゼルスにいる間は、いつも英語で話しかけてくださっていましたし、こちらから緊張して下手な英語でお話ししても、答えはいつも英語でした。Rose Parade の時、たまたま先生の隣席になった妻も、苦勞して英会話をしていました。今考えると簡単に日本語でお話ができなくて返ってよかったと思います。ここにも先生の心遣いが感じられます。

バス通勤

たった一年の留学生活でしたが、貧乏留学の私なりにロサンゼルスを実感できたのがバス通勤でした。UCLA のアパートの近くから2つの路線バス(サンタモニカ市で経営するブルーバスとカルバー市のグリーンバス)で片道約30分乗っていました。定期やカードではなく、ほとんどの人が小銭や token と呼ばれる回数券で乗ります。料金はとても安くてブルーバス 50¢、グリーンバス 60¢ ですが、penny (1¢硬貨)まで使えるのが驚きです。1ドル札で払っても決してお釣はくれません。ドアは前と中ほど(back door)にあって、前から乗って back door から降りるのがルールらしいのですが、結構みんな前から降ります。"Use rear door"とか何とか書いてあったと思いますが、守らなくても良いみたいです。降りる時は壁沿いに前までつな

がっている紐を引っ張って運転手に知らせます。ところが、この紐が壊れている事が多くて、後ろから "Back door please" と大声で叫ぶ事も度々でした。尤も声が小さくても必ずだれかが、大きな声で運転手に伝えてくれます。基本的にはみんな親切です。

運転手の人種にはかたよりがあって African American が主流で、Hispanic も少しいます。アジア人は見た事がありません。半分ほどが女性で、男女問わず体格が良いので迫力があります。停留所にびったり止まるとは限らなくて前後 10m は誤差範囲です。日本のように停留所に乗客が列を作る習慣がないからかも知れません。ひどい目にあった事もあります。40分程待ったバスがやっと来て、停留所の 30m 手前に信号待ちで止まっている時にたまたまその辺にいた乗客だけを乗せて、本来のバス停は素通りで、私と他にも数人の乗客は置いてきぼりでした。みんなその時は信じられないといった気持ちで手を広げたり、首を振ったりで怒っていますが、1分もすると忘れてしまいます。黄色で交差点に進入した時はクラクションを大きく鳴らします。気が強いのかそれがルールなのか知りませんが、日本では考えられません。感情でなく安全を考えるとそれも合理的なのかも知れません。停留所以外に停車中にドアをたたいて乗りたがる客が結構いますが、大抵は開けてくれます。

日本のようにぎゅうぎゅう詰めになる事はありませんので、乗客を観察するのが私の日課でした。帰りのバスは特に種類雑多の人が乗っていて、みんなリラックスしています。前方の席はおばさん達の特等席です。前の方は横向きの席なので向かい合った人達は運転手も加えて井戸端会議です。ともかくよくしゃべります。一方、後方の席は体格の良い African American の人達がどっしりと座っていて無法地帯のようです。ちょっと悪い雰囲気もありますが実際に何かがあったという事はありません。特徴的なのは人目を全く気にしない事です。人目を気にしているのがばかばかしいといった方が良いかも知れません。女性同士でキスをする人もいますし、鼻くそをほじくって食べている人もいました。

日本のように決して豪華なバスではありま

せんが、必ず車椅子を持ち上げるリフトが着いています。身体障害者がどうと街に出て活動できる環境が社会のあちこちに見られます。何十分もかけて渋滞を進んだ後に、説明もなしに、一度バスが裏道を駆使して元の停留所に戻ってしまった事があります。身体障害者を乗せに戻ったようです。どうも次のバスがなかなか来ないので、戻るように無線で指示が入ったのかも知れません。

国立公園

カリフォルニアは国立公園に恵まれています。モーテル代やガソリン代は格安な上フリーウェイもただなので、休みの度に国立公園に足を運びました。カリフォルニアに世界一の木が3つあるのを知りました。最大(体積)、最高、そして計測できる現存最長寿だそうです。大樹には前から思い入れがあるので、さっそく行ってみました。最大体積の General Sherman Tree をセコイア国立公園で、翌日にはさらに1,000 km以上離れたレッドウッド国立公園で最高の Tallest Tree (写真5、6) を、それぞれ積雪と日没ぎりぎりで見ることができました。何千年の間に何度も山火事を体験した大木を育む森のスケールの大きさに心が洗われるようでした。

おわりに

こうやって、書かせていただくと楽しかった事ばかりのようですが、実際はたった1年なので、特にはじめのうちは苦勞の方が多かったかも知れません。それでも、家族ともども様々な体験ができて心から満足しています。これから留学を考えている方も、それが許されるなら多少の困難があっても行ってみる価値は十分あるのではないのでしょうか。最後に、留学に際して賛成・お骨折りいただいた方々、アメリカでお世話いただいた方々に深く感謝の意を表したいと思います。



写真5 長男太一と世界最高の Tallest Tree の前で。



写真6 下から見上げた Tallest Tree。

マイクロSSPサイトカイン遺伝子タイピングキットの紹介

ワンラムダ社

齊藤 克行

PCR-SSP 法を用いてHLA遺伝子のアリル判定キットを行うマイクロ SSP シリーズに、新たに遺伝子タイピングキットとしてサイトカイン遺伝子の多型性アリル解析用の製品が開発されたのでその紹介をする。本キットは HLA 遺伝子タイピング同様に目的遺伝子配列に特異的なプライマーを利用して PCR 反応を行い、増幅バンド出現の有無でアリル判定を行うものである。何故サイトカイン遺伝子のタイピングを行うのかと疑問に思う読者のために簡単な説明も加えたが、サイトカイン遺伝子タイピングとその臨床的重要性に関する詳細は下記に示した参考文献を参考にして頂きたい。現段階では本キットの使用目的は研究用である。

サイトカインは細胞間のシグナル伝達物質であり、そのネットワークは多くの免疫機構の制御に携わっている。最近、人体内のサイトカイン生産量には個人差があり、その個人差はサイトカイン遺伝子内の制御領域に存在する多型性によることが報告されている¹。表2に示されたように、各サイトカイン遺伝子のアリルとその生産量（ここではLow, Intermediate, Highの3段階に分けられている）には密接な関係があることが示唆されている。ある特定サイトカインの生産量は個人の遺伝子型により決定され、多型性アリルを検知することによりサイトカイン生産量の予測が可能だということである。更に、個人特有の特定サイトカイン生産量と特定の臓器移植後の拒絶反応との相関性が示唆され、サイトカイン遺伝子タイピングの拒絶反応予測そしてそれに伴う移植医療における重要性がディスカッションされている。一例を上げると、心臓移植の際の急性拒絶反応の頻度とレシピエントの TNF- α の遺伝子型（この場合は高い生産量）の明らかな関連が報告されている。TNF

の生産量が高い場合は腎、肝移植においても急性拒絶反応の頻度が高い例が上げられている。この様にサイトカイン遺伝子解析は移植手術の成功率向上に貢献できる可能性があると期待され、サイトカイン生産量と拒絶反応との関係の研究が注目されつつある。マイクロ SSP サイトカイン遺伝子タイピングキットはそんな要望に答えるために開発された製品である。

サイトカイン遺伝子タイピングキットは TGF- β 、TNF- α 、IL-10、IFN- γ 遺伝子の多型性アリルを特異的に増幅するプライマーで構成され（新ロットでは IL-6 解析用のプライマーが加わる）、各キットは6検体用のタイピングトレーが4枚（合計 24 テスト）含まれている。1回のテストで上記の5サイトカイン遺伝子のアリルタイピングが行なえ、それぞれのサイトカイン生産量の予測が可能である。使用する PCR プログラムはマイクロ SSP HLA 遺伝子タイピングキットと同様の短時間プログラムを使用している。IL-10 遺伝子のプライマーを例にとると、まず多型性がある部位はプロモーター領域内の-1082、-819 と -592 の合計3箇所である（図1）。それぞれの部位で検知されている多型性塩基配列は2種類で、頻度の高いハプロタイプと IL-10 生産量、high, intermediate, low の3種類が報告されている。（表1）。IL-10 遺伝子解析用のプライマーは計5種類ありその反応パターンから全てのハプロタイプの判定が行なえるように設計されている（表1）。図2参照の増幅シグナルは HLA タイピングキット同様に 750bp のインターナルコントロールバンドと 125-300bp の陽性バンド（表3）を短時間ゲル電気泳動で解析した結果である。残りの4種類のサイトカイン生産量も表2に示されたように本キットで得られる反応パターンで判定が可能である。

マイクロ SSP サイトカイン遺伝子タイピングキットは、お馴染みの PCR-SSP 法を利用し短時間かつ迅速にサイトカイン遺伝子の多型性アレルのタイピングを行なうものである。キットの詳細についての問い合わせは、ベリタス社まで連絡をお願いしたい。

1. Hutchinson IV, Pravica V, Sinnott PJ. Consequences for acute and chronic organ allograft rejection. Graft 1998; 1(5) 186-192.

表1 IL-10 のハプロタイプと生産量

ハプロタイプ*	IL10 生産量	反応パターン**
GCC/GCC	High	-+--+
GCC/ACC	Intermediate	-++-+
GCC/ATA		++-++
ACC/ACC	Low	--+-+
ACC/ATA		+ - +++
ATA/ATA		+ - - + -

*各塩基は左より (-1082, -819, -592) 部位のハプロタイプにおける塩基配列。

**左から図2中のウェル 1A/3A/5A, 2H/4H/6H, 2G/4G/6G, 2F/4F/6F, 2E/4E/6E。-は陰性、+は陽性反応を示す。

図1 IL-10 遺伝子における多型性部位の位置

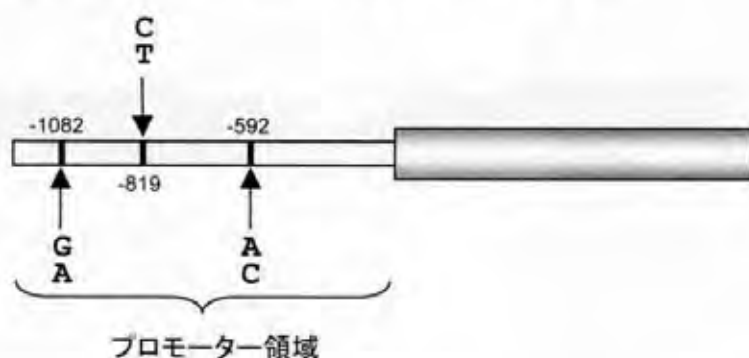


表2 サイトカイン遺伝子タイピングキットの反応パターン

遺伝子	Genotype(Phenotype)	1H	1G	1F	1E	1D	1C	1B	1A	2H	2G	2F	2E	2D	2C
TNF- α	G/G (low)														
	G/A (high)														
	A/A (high)														
TGF- β 1	T/T G/G (high)														
	T/C G/G (high)														
	T/C G/C (intermediate)														
	C/C G/G (intermediate)														
	T/T G/C (intermediate)														
	C/C G/C (low)														
	C/C C/C (low)														
	T/T C/C (low)														
	T/C C/C (low)														
IL-10	GCC/GCC (high)														
	GCC/ACC (intermediate)														
	GCC/ATA (intermediate)														
	ACC/ACC (low)														
	ACC/ATA (low)														
	ATA/ATA (low)														
	ATA/ATA (low)														
IL-6	G/G (high)														
	G/C (high)														
	C/C (low)														

図2 サイトカイン遺伝子タイピングキットの使用例

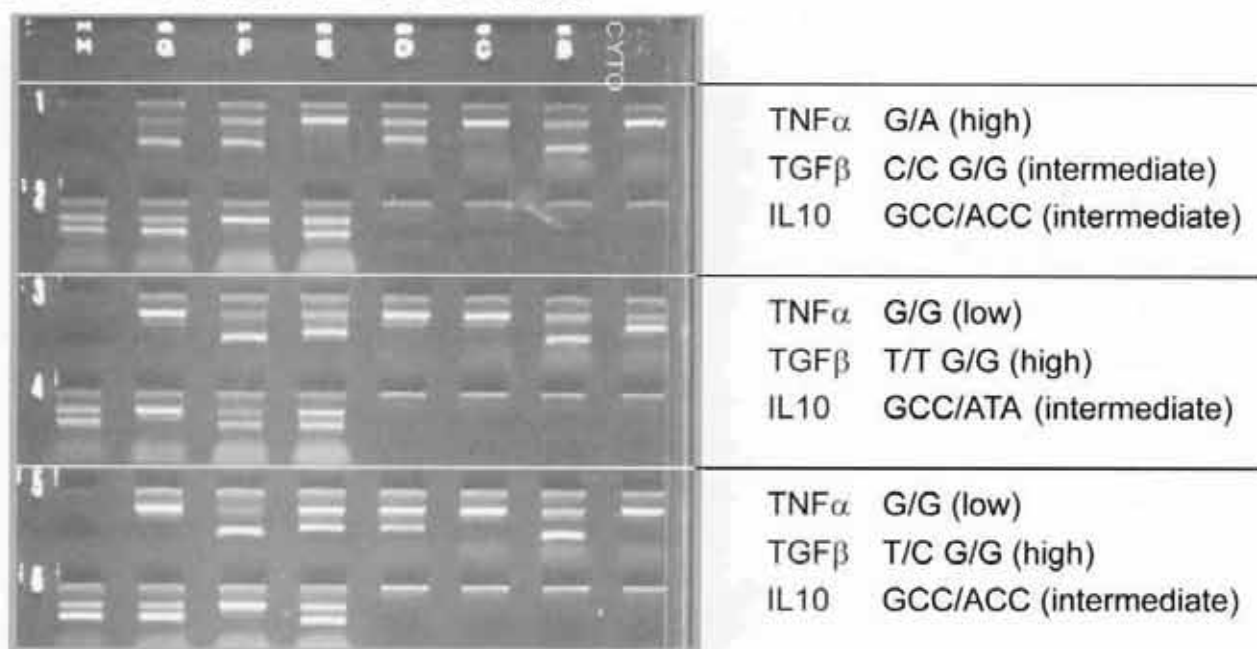


表3 コードシート(図2に示された PCR 反応のみ)

ウェルポジション	特異性	バンドサイズ (bp)
1H/3H/5H	Negative Control/Internal Control	750
1G/3G/5G	Tumor Necrosis Factor Alpha promotor polymorphism: (-308A)	125
1F/3F/5F	Tumor Necrosis Factor Alpha promotor polymorphism: (-308G)	125
1E/3E/5E	Transforming Growth Factor Beta codon 10 "T" polymorphism	200
1D/3D/5D	Transforming Growth Factor Beta codon 10 "C" polymorphism	200
1C/3C/5C	Transforming Growth Factor Beta codon 25 "C" polymorphism	200
1B/3B/5B	Transforming Growth Factor Beta codon 25 "G" polymorphism	200
1A/3A/5A	Interleukin 10 promotor polymorphism:(-1082A, -819T)	300
2H/4H/6H	Interleukin 10 promotor polymorphism:(-1082G, -819C)	300
2G/4G/6G	Interleukin 10 promotor polymorphism:(-1082A, -819C)	300
2F/4F/6F	Interleukin 10 promotor polymorphism:(-819T, -592A)	250

テックチップ

抗HLA抗体測定試薬

「FlowPRA™ Screening Test」の使用経験

国立循環器病センター 臨床検査部

森 勝志 米田 孝司 片山 善章

当センターではLCTによるHLA-ABCタイピングならびにPCRによるHLA-DRなど、抗原検出系の検査を行っているが、抗体検出系の検査は行っていなかった。この度、心臓移植手術施行施設に指定されたことにより、HLA抗体検査の必要性に迫られ導入するに至った。

測定試薬の選定に際しては当センター研究所の佐田正晴先生のアドバイスによりフローサイトメーター（以下FCM）によるFlowPRA™ Screening Test（One Lambda）を導入することになった。以下測定試薬について紹介する。試薬構成は、Class I抗体測定用ビーズ、Class II抗体測定用ビーズ、FITC標識抗ヒトIgG（100倍濃縮）、洗浄液（10倍濃縮）より成り、各ビーズに関しては異なった30パネル分が固相されている。また別にnegative control（NC）とpositive control（PC-1、PC-2）が商品化されている。測定原理は2ステップ法である。すなわち十分に攪拌したClass I、Class II各ビーズ5 μ lに血清、コントロールを20 μ l加える。そして軽く攪拌しながら30分反応させる。反応後2回洗浄（1500g、10分×2）し、洗浄液にて100倍希釈したFITC-AHG（IgG）を100 μ l加えて軽く攪拌しながら30分反応させる。反応後、2回洗浄した後、0.5%ホルマリン加PBSにて500 μ lに再浮遊させFCMにて測定する。なお測定機器はFACSCalibur、解析ソフトはCELLQuest（ベクトンディッキンソン）を用いている。結果の評価については、FL-1において検体のhistogramがNCより右方移動した%で評価する（図1）。添付説明書によれば13%以上が陽性とされているが、参考基準値については従来法（LCT）と比較しながら

自施設で検討する事が望ましいと思われる。測定精度に関しては、実際のところ十分に評価することは経済性の面から行えていない。しかしながら再現性に関しては満足のいく試薬である感触を得ている。測定手順には2つの方法がある。1つにはClass I抗体、Class II抗体を別々に測定する方法、もう一つとしてClass I抗体、Class II抗体を同時に測定する方法である。どちらの方法を用いるかは測定機器あるいは解析ソフトにより選択される。当検査室においては別々に測定する方法を採用している。簡便性の点で言えば同時に測定する方法が優るが、抗体価の推移を観察するには適さないと考えたからである。その理由として、各ビーズを同時に加えた場合FSC/SSCのDot Plot上ではClass Iビーズ、Class IIビーズは若干重なる部分はあるもののGainを調整することにより2つの集団に分かれる（図2）。それぞれをGATEして解析すれば1度の測定ですむことになるのだが、Class IIビーズは赤色を呈している。このことは、Class Iビーズとの区別をSSC/FL-2のDot Plot上で容易とさせる反面、FL-1 histogramにおいてかなり右にシフトして陰性群がplotされる。つまり、定性法として使用する場合は問題とならないが、定量的に評価したい場合には陽性領域の範囲を十分に確保したい。そこでわれわれは各ビーズにおけるNCのCut offを10になるようGainを調整し測定している（図3）。

以上よりFlowPRA™ Screening Testは非常に簡便かつ短時間に客観的に測定・評価できるため、抗HLA抗体測定用試薬としてLCTに代わりうる測定法であることが期待されます。

次にFlowPRA™ Screening TestでClass-I抗体陽性であった症例について同様の測定原理であるFlowPRA™ specific Testを行った。FlowPRA™ specific Testは、32パネルが4つのグループに分けられ、1つのグループにはFL-1/FL-2のDot Plotにおいて異なった位置にプロットされる8つの集団が得られる(図4)。各plotにおける抗原の種類については試薬の添付説明書に記載されているので消去法によって抗体を同定する。実際に行った感想については、測定方法自体はFlowPRA™ Screening Testと同様であるため、煩雑性等を感じることはなかった。難を感じたことといえば、操作法に問題があったのか(再検をしても同様な結果であった)、positive controlが説明書のようにstrong positiveとはならず、患者検体についても陽性と陰性とがクリアーに分かれなかった。本患者のFlowPRA™ Screening Testのhistogramは、陽性領域が陰性領域より離れたピークを成す山となっているわけではなく、このことからspecific Testにおいても陰性と陽性がクリアーに分かれなかったということも考えられる。しかしながらspecific Testであるゆえに抗体が明確に同定される測定試薬を期待してしまう。低抗体価

のHLA抗体を同定するときにはその判断に苦慮する事が予測されるからである。因みにFlowPRA™ specific Testの結果は、B7抗体と同定された。この結果についてLambda Antigen Tray (LAT) for ELISAを行った結果、同様にB7抗体という結果が得られている。

簡単ではありますが、私の感じた使用経験としてまとめますと、臨床検査において測定結果が客観的に評価できるということは非常に大切なことであります。従来のLCTではなかなか難しかったこの点についてFlowPRA™ Screening Testは解決してくれたと考えています。もう少し勝手を言わせて頂けるなら、FlowPRA™ specific Testのことでしょうか。陽性時における解析の簡便化と低抗体価であってもstrong positiveとなって欲しいという点ぐらいでしょうか。それから、オリエンタル版も早急にお願ひしたいと思います。

最後にわれわれが経験したCD3 (OKT3) 抗体投与患者での抗HLA抗体価の推移を紹介いたします(図5)。

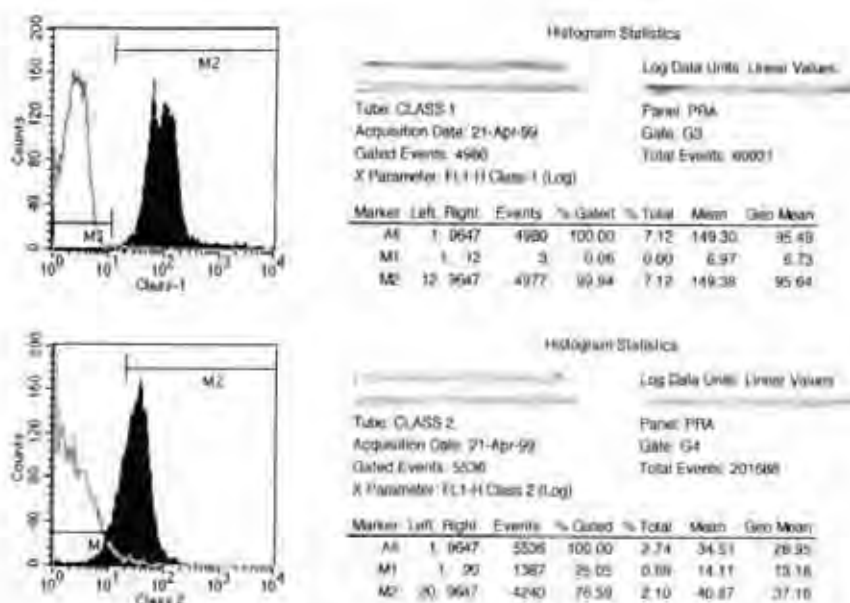


図1 FlowPRA Screening Testの結果

抗HLA抗体陽性患者でのClass-I、Class-IIピーズのhistogram。Negative controlでのCut offが10なるようにGainを調整して測定。本症例は、Class-I抗体99.94%、Class-II抗体76.59%であった。

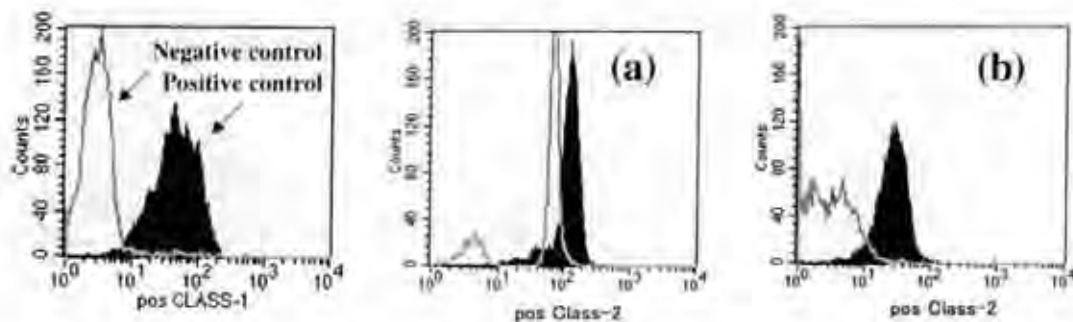


図3 FlowPRA Screening Testのhistogram

Class-I のnegative controlの測定感度のままClass-II を測定するとnegative controlが右にシフトする(a)。Class-II を測定する場合は測定感度を下げて測定している(b)。

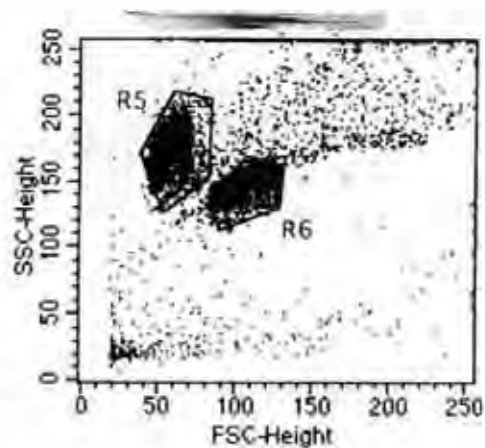


図2 FlowPRA Screening TestのDot Plot

Class-I ビーズとClass-II ビーズを同時に加えてFSCの感度を調整すれば2つの集団としてplotされる。

Class-I はR6、Class-II はR5。

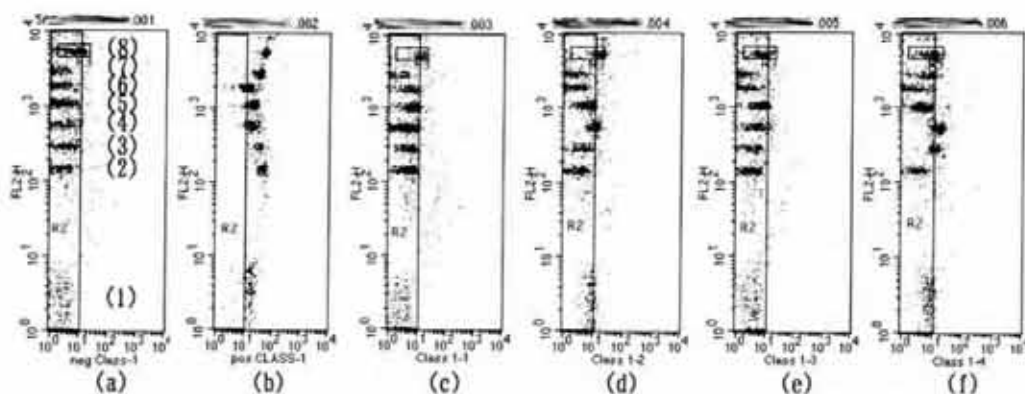


図4 FlowPRAT™ Specific Testの結果

negative controlにてcut offを設定し(c)、(d)、(e)、(f)の陽性領域にplotされた群を抗体陽性とする。なお、negative controlの(a-8(R3))については右にシフトしているため別に領域を設けた。この症例では(d-1、4、8)、(f-1、3、4)が陽性であった。

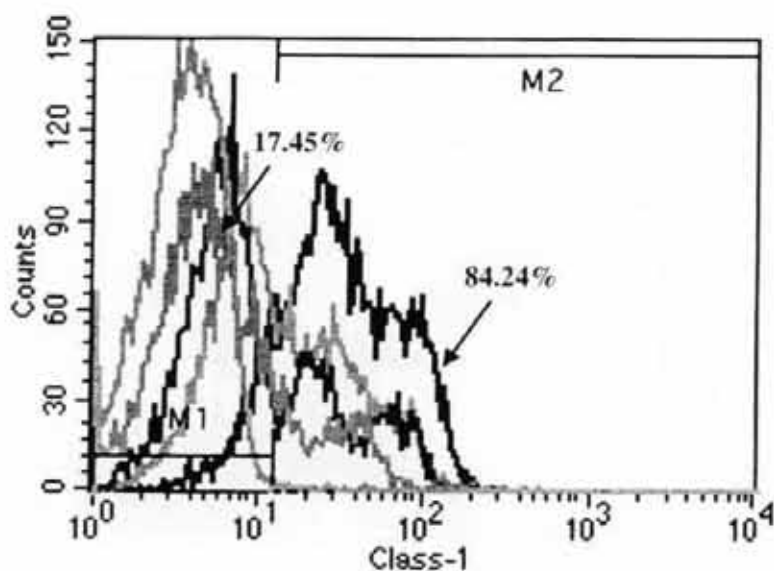


図5 CD3(OKT3)抗体投与による抗HLA抗体の経時的変化

OKT3抗体投与前において84.24%であったClass-I抗体が10日目には17.45%に減少した。

「匿名性」と「沈黙の同意」

前号につづいて「おすすめの本」を「まかせなさい」に採り入れて議論を展開する。

「匿名性」ということ

「臓器交換社会——アメリカの現実・日本の近未来」原題：Spare Parts

レネイ・フォックス、ジュディス・スウェージ
ー著

森下直貴、倉持武、窪田倭、大木俊夫訳、青木
書店、¥2,600

脳死移植がようやく始まった日本、1日に20例平均の脳死移植が行われ（ポール・テラサキ私信）臓器不足が喧伝されるアメリカ。タイミング良く本書は発行された。著者は文化人類学者である。

1980年代、アメリカでは臓器移植の爆発的な発展が見られた。その広がりの中ではなく、まかれた矛盾を著者らは多様な視点から分析する。社会心理、文化、宗教などの視点である。移植医療にはその国の宗教的背景や、それに影響された肉体と精神に対する価値観が強く関わるといふ。価値観や宗教観は後天的なものであるから、国や民族によって異なると考えてよい。それに比べて「心理的葛藤」となると、人類の先天的な反応であり、進化の結果であるから人類共通の反応が期待できる。

アメリカは社会心理学や、臨床心理学を殊のほか重視する。アメリカではドナーとレシビエントの身元を明らかにしていた時期がある。臓器はextraordinaryな命の贈り物であり、その結果レシビエントたちは背負いきれない重荷を背負うことになる。著者らはそれを「贈り物の

重圧」と名づけ、心理的に主従関係が成立する事を指摘する。この微妙な主従関係を避けるため、やがて「匿名性」の方針が確立された。「臓器とともにドナーの自我や人格の一部も移植される」というレシビエントの心理的側面も無視できないという。匿名性の確保が必要なもうひとつの面である。

「贈り物」から商取引へ？

日本の近未来には起こりそうにもないことであるが、アメリカでは臓器売買や、健康な人からその人の死後に臓器を入手する権利を買っておく「先物市場」の構想も提案されているという。深刻な臓器不足のなせる業である。命の贈り物であった臓器が商品化市場化されていく現状がクールに描かれる。臓器不足が深刻になったときに日本にも起こり得ることとしては、無脳症児からの臓器や異種動物臓器の利用であろうか。すでに骨髄移植では、死に直面するわが子のために、もう一人の児を出産して「臍帯血」移植をするという両親もかなりある（これについてアメリカの世論は肯定的だという）。

「匿名性」は不可侵のルールか？

最近、日本の臓器ドナーの会合がはじめてもたれた。クローズアップされたのは遺族たちの「喪失感」だという。臓器提供の直後は家族・子供の命が、誰かの体の中で「生きつづけている」という充実感があるのだが、しばらくすると、臓器の行方がつかめないことから、いわば自分の肉親が「匿名性」の彼方に雲散霧消するような喪失感に襲われるというのである。

人間の価値観は非常に多様であるから、「身元公開性」か「匿名性」かという単一のルールで縛ることはそれぞれに問題を提起してしまう。柔軟で幅の広いルールときめの細かいコーディネートで、そのドナーとレシピエントのペアに最適の結果がもたらされるようなフォローアップ体制が求められる、そんな気が頻りにする。いま、日本の骨髄バンクではドナーとレシピエントの「対面」をコーディネートするシステムが検討されているという。ドナーとレシピエント2人の多様な価値観と臨床的状況をコーディネートすることは簡単ではないが、挑戦に値する行動計画だと思う。

「沈黙の同意」とは？

一昨年暮れ制定された日本の臓器移植法は事実上「臓器移植禁止法」だとアメリカの有識者は評価する（ポール・テラサキ私信）。去る4月1日イタリアでも「臓器移植法」が公布され、16日から発効した。「ニコラス・グリーン法」と呼ばれる。特徴は「沈黙の同意」を中核に据えた事である。第2条にこうある。「成人に達し、自己決定能力のある全てのものは、自身の臓器と細胞の提供に関して可否を表明するよう勧告され、意思表示をしないものは、自身の臓器の摘出に反対でないと見なされるとの通告を受ける」。そしてインフォームド・コンセントを基盤に、意思表示を「保険証」に記載することが求められる。インフォームド・コンセントは国の責任において行われる。すでに膨大な費用と精力をかけてPRが展開中である。イタリアの全家庭が保健省からのパンフレットを受け取り、テレビ、新聞、雑誌そしてインターネット上で、臓器移植に関する大量の「インフォメーション」に接することになる。

「否」でなければ「可」と見なされる制度はすでにベルギーやオーストリアの臓器移植法にある。イタリアの特徴は自身の身分証明書である「保険証」に「可」または「否」を自らが記載するところにあり、なおかつ可でも否でもない場合は「沈黙の同意」とであると規定した事であろう。もうひとつの特徴は「現在ではなく、未来を見つめながら草案された」ところだという（ラファエロ・コルテジーニ教授、国立ロー

マ大学医学部）

「沈黙の同意」を制定したきっかけ：

ニコラス効果

EU 諸国の立法を模倣しない「イタリア独自の臓器移植法：沈黙の同意制」の制定をもたらした背景にニコラス少年の物語がある。

**「The Nicholas Effect: A Boy's Gift to the World」 by Reg Green,
O'Reilly 出版, USA、約 ¥3,740.-**

1994 年アメリカ人の両親とイタリアを旅行中だったニコラス少年は、高速道路で何者かに銃撃を受け、頭部に外傷を被る。病院でニコラスの脳死を宣告された両親は、摘出可能な全ての臓器の提供に同意する。悲惨な事件につづいて、アメリカ人である両親の採った「同意」の行動が報道されると、イタリア中の感動と議論を触発し、4年後の4月、脳死による「臓器移植法」が成立する。この法律が「ニコラス・グリーン法」と称される所以である。

本書には、両親がニコラス少年の臓器提供を同意するに至った心の葛藤が述べられ、ニコラスとの思い出やその後の展開についても書かれている。科学と社会の相互関係、宗教と倫理の再考、それを基盤とした臓器提供のあり方も考察される。

イタリア国民の反応は？

最近の調査（複数）によれば脳死後の臓器提供を「可」とするもの40-45%、「否」とするもの15-18%であり、のこりが「沈黙の同意」の対象になる。かなり高い同意率といえる。ニコラス効果とは臓器の提供を「愛と連帯の行為」「人間同士の連帯」とみなす国民の共通認識をもたらしたことであり、それが世界でも独自といわれる「臓器移植法」のスムーズな制定につながったことをいう。この分野では、カトリック勢力とそれ以外の政治勢力の対立が著しいイタリアであるが、、、（さ）

長い不況からなかなか抜け出せずにいる昨今であるが、情報ネットワーク産業だけは例外のようである。政府による不況対策としての「地域振興券の配布」にどれだけの効果があったのかは甚だ疑問であるが、インフラ整備としての情報ネットワークへの投資は、現状においてもまた将来に渡ることとしても、その効果は期待できるように思う。

ヒトという生物種がこれほどの発展を遂げ、まだまだ発展し続けるであろう「進化」の原動力は、「獲得形質を遺伝する手法を得たこと」すなわち知識の伝授を行う手法にあるのではないだろうか？ 生物種の進化において遺伝が重要な役割を果たすことは言うまでもないが、「獲得形質は遺伝しない」および「選択は個体レベルで行われる」と言う二つの進化の原則は、この「ヒトの進化」には当てはまらない。高等生物の世界では(特にこれはヒトに顕著であるが)「知識」を次世代に伝えており、またその知識を活用することで「集団として適応選択」されているように思われる。その意味で、膨大な知識や情報をいかにして次の世代に「遺伝」するかが、ヒトという生物種の「進化」において最も重要なことではないだろうか？

進化などと大上段にふりかぶるまでもなく、昨今では膨大な情報量を迅速に処理するにはコンピュータを用いた情報処理が必要となり、事実その方向で情報処理機構が「進化」している。我々の携わる医療においても、多くのデータを処理・保管する「知識の実用化」のためにコンピュータが必須アイテムになっていることは言うまでもないが、それにしても、ここ数年のデータ処理量の多さと早さには驚嘆するばかりである。10数年前までは「もっと高性能のパソコンとそれに見合ったソフトがあれば、より多くのデータを処理出来るのに」と思っていたのであるが、最近では「いささか情報量が多すぎるのではないか？」などと思うようになって来た。もちろん、情報処理技術の発展で医学研究のスピードが飛躍的に早くなっているのはあるが、何となく追いつまれているよう

な気がしないでもない。ほんの20年前までは1つの遺伝子を単離してその塩基配列を決めるだけでも一苦勞であり、だからこそ論文にもなったのであるが、最近では新しい遺伝子を見つけたとしても、よほど新しい概念を打ち出すか、その遺伝子の機能を明らかにしない限り良い論文にはならなくなっている。もちろん実験手技上の革命(PCR技術の開発などはその典型である)があったのではあるが、それ以外にもキット化された製品が次々と発売され、またそのバージョンアップが次々と行われていることで、迅速かつ簡便にデータを出すことが可能になっているためである。

情報伝達の迅速化も昨今の忙しさに拍車をかけているように思う。口コミや手紙に始まって、電話やファックスの登場、そして最近の情報ネットワークを使った電子メールのやりとり(添付ファイル活用)など、情報伝達はそのスピードのみならず、その量においても飛躍的な発展を遂げている。もちろん、種々のデータを共有することで、より一層の研究の進展が得られていることは言うまでもない。最近では自宅にいながらにして情報ネットワークを用いて仕事をすることも可能になりつつあるが、「自宅にいながら大学や研究所の機器を使って実験をする」ことが可能となるのもそう遠くない将来である。

そのような時代になった場合には、今のようないくつかの実験医学の形態は大きく様変わりするであろうが、結局そこで必要になることは、得られた情報の取捨選択であろう。実験データは得られたとしても、その意味するところを正確に把握しなければならぬ。すなわち、「情報の確からしさ」を見極める能力が必要となる。もちろん「知識」に裏付けされた能力ではあるが、直観的に「確からしいか？」を検証することが出来るかどうか大切なことのように思う。「2001年宇宙の旅」のハルを例にとるまでもなく、ヒトがヒトとして「進化」するためには、全てを機械任せにする訳にはいかないのだから。

速報 第8回日本組織適合性学会 祝盛会！！

梅雨も吹き飛ばす学会日和？

皆さんご存知のように、去る7月8-9日の二日間、京都パークホテルにて、第8回日本組織適合性学会大会が開かれました。梅雨時でありながら、会期中は真夏のような暑さの好天に恵まれました。本学会長は、我々が編集長の佐治博夫先生(京都府赤十字血液センター)で、先生のキャラクターか、いつもの型にとらわれない思考を凝らした盛りだくさんのプログラムが用意され、京都見物の暇もない充実した二日間でした。「再び進化と拡散」というお題のもと、MHC 研究の更なる奥深さを探り、これからの研究へのアプローチともなるような数々の演題で、「更に HLA 学は開かれる」といった感じで

また、今回はこの業界に関係ある人ない人の、ボランティアの方々によって運営され、手作りの温かさが感じられました。また、普段 HLA タイピングに直接関わっていらっしゃらない臨床の先生方や免疫分野の研究者の方々も多く参加され、309 名もの沢山の方が学会参加登録をされました。

充実のゲストスピーカー

MHC 進化論の神祕的存在である大野乾先生のシンポジウムでは、残念ながらお体の不調で来日ができなくなった大野先生の代わりに、様々な分野の起源と進化がシンポジストの先生方により熱く語られました。そして、おなじみの移植における HLA の父である Dr. Paul Terasaki のシンポジウムでは、益々日本語が上達されている Terasaki 先生のご講演と、最近やっと火がつきつつある日本の移植医療を背負う先生方によるご発表、そして QC ワークショップでは、UCLA の三石瑤子先生より、アメリカにおける HLA タイピングラボの QC システムが紹介され、その厳しさには見習うべきものが感じられました。また様々な DNA タイピン

グ法、キットが沢山の施設によって使用検討され、我々業者にとっては若干耳の痛いところもありました。

論より酒？

和やかで堅苦しさのない懇親会と、その後のスイートルーム貸切りパーティーでは、ワイワイガヤガヤと気軽に色々な方々とお話でき、おいしいワインと日本酒で時間の過ぎ去るのも忘れられたことでしょう。懇親会では、弊社会長の飯田耕作が佐治大会長より表彰状を頂きました。長年この業界での功労(?)が報われたのでしょうか。ありがとうございます。

このように大変内容が盛りだくさんな余り、時間的に足りなくなってしまうような場面もありましたが、その辺は大会長と各座長の先生方の采配で、更に討論が鋭いなり、うまく切り上げられたりされました。

KAMON では編集長によりご指名を受けた数名の先生方に、学会内容のレポートをお願いしております。次号で詳しく内容の解説を掲載致しますので、学会に参加できなかった方、聞き逃した話のあった方、どうぞお楽しみに。

(ベリタス・大澤)



懇親会にて。左から十字先生、テラサキ先生、佐治大会長