

特集 HLA はどこまで必要か？ 「ガンとHLA」

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 木村 彰方

HLA は自己と非自己の認識に関与する基本的な分子であるため、体細胞変異の集積物とも言えるがん細胞の排除においても重要な役割を果たしている。最近がんの免疫療法の一環として、がん抗原特異的 T 細胞治療が脚光をあびつつある。すなわち、がん特異的なキラー T 細胞(CTL)を体外で効率的に増殖させ、それを体内に戻したり、がん特異的抗原ペプチドで担癌個体を免疫したりする方法である。これらのがん抗原特異的免疫療法は、今後の HLA 応用研究のひとつのターゲットとなることは言うまでもないが、その有効性や適用範囲の選択においては、当然のことながらがん抗原の知識と同時に HLA に関する知識が必要となる。ここでは、がん対策における HLA の意義について、もう一度考えてみようと思う。

がんは非自己である

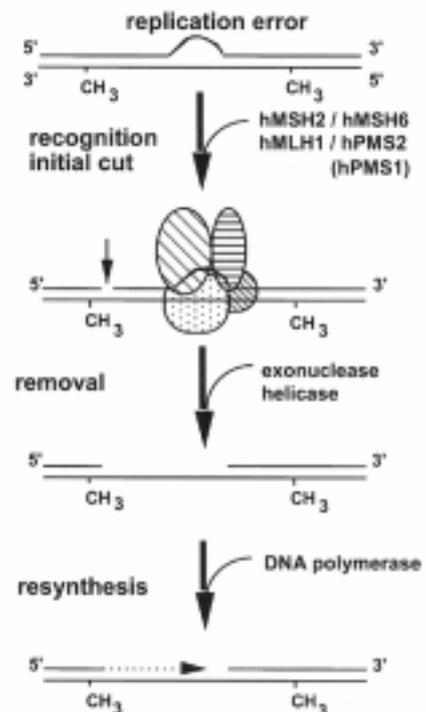
がんは種々の遺伝子に体細胞変異が生じ、その結果として、増殖制御機構から逸脱してしまったものである。がんにおいては、例えば Ki-ras のようながん遺伝子の変異に加えて、p53 や APC のようながん抑制遺伝子にも変異が生じている。すなわち、がん細胞が増殖制御からはずれるためには、(1)がん遺伝子(Ki-ras など)変異によって、増殖促進能を獲得する、(2)がん抑制遺伝子(p53 など)変異によって、アポトーシスから逃れる、(3)がん抑制遺伝子(APC など)変異によって、増殖抑制機構(接着阻害や増殖抑制因子による増殖阻害)から逃れるなどの機能変化が必要である。これらのうちの単独でも増殖制御機構から逸脱することは可能であるが、同時に複数のメカニズムを重ねることで、がんは増殖制御から逸脱し、よりがんらしくなる。

一方、このような種々の遺伝子における体細胞変異は、当然のことながらタンパク構造(アミノ酸配列)の変化を生じることになる。すなわちがん細胞は、体細胞変異を重ねれば重ねるほど、増殖制御から逸脱するが、それと同時に正常細胞には存在しない変異タンパクをより多量に産生することになる。このような変異タンパクは細胞内で産生されるため、その分解産物は HLA クラス I パスウェイに乗ってペプチドとして細胞表面に運搬される。そのため、HLA クラス I 分子との複合体として細胞表面に表出したペプチドに変異アミノ酸配列部分が含まれているとしたら、それは「非自己」として免疫監視機構による認識を受けることになる。

このように考えると、よりがんらしくあるほど、言い換えれば、より多くの変異を重ねているほど、がんは「非自己」となってしまう。しかしながらここで重要なことは、「非自己」とであると認識されるためには、そのがんの持つ HLA クラス I 分子によって、変異タンパク内の変異ペプチド(変異部分)が提示されることが必要となる。つまり、同じ変異があっても、そ

れを提示する(結合できる)クラス I 分子があって初めて、がんはその個体にとって「非自己」となる。逆に言えば、変異ペプチドを有していても、その変異部分を提示することが出来なければ、そのがんは「非自己」としてキラー T 細胞(CTL)によって認識されないわけである。

図1 DNA ミスマッチ修復機構



高発がん家系におけるがん変異

がんはわが国の死因の第一位を占める疾病であり、平均寿命の延びにつれて増加し、現在は全人口の 30%以上はがんで死亡する。このことは、がんは決して特殊な疾病ではなく、寿命が延びれば延びるほどその頻度が増加すること、つまり体細胞変異が生じるチャンスが大きくなれば、誰しもががんを発症する可能性があるとも言える。わが国では胃がんが最も多かったが、食生活の欧米化に伴って次第に胃がんは減少し、大腸がんや肺がんなどが増加している。小児がんは例外として、多くのがんは一般には 60 歳代以降に発症する。しかしながら、一部には、30 歳代や 40 歳代でも一般の成人がんと同様のがん、例えば大腸がんを発症することがあり、またそのような患者さんには家族歴を認めることがある。このような家族性のがんのひとつに家族性非ポリポーシス性大腸がん(HNPCC, hereditary non-polyposis colon cancer)がある。

HNPCC 家系では常染色体性優位遺伝形式で大腸がんや子宮体がんが発生するが、それらのがんの特徴として、ミスマッチ修復エラーあるいは複製エラー(RER, replication error)と呼ばれる現象がある。つまり、HNPCC がんでは DNA 複製の修復がうまく機能していないのである。細胞分裂期に生じた DNA 複製のエラーは、図 1 に示すようなミスマッチ修復によって修復される。しかしながら、修復に関わるミスマッチ修復酵素群(MSH,MLH,PMS など、図 1)のい

ずれかに異常があると、複製エラーを認識出来ないため、結果としてエラーが残ってしまうことになる。このような複製エラーには種々のものがあるが、ミスマッチ修復が主に対象とするのは、G-T ミスペアと単純な短い塩基配列の繰り返し部分の複製エラーである(図 2)。このためミスマッチ修復酵素欠損があるとこれらの複製エラーが修復されないが、このような単純塩基繰り返しや G-T ミスペアは遺伝子のエクソ内でもその配列に応じて生じる。また、単純な繰り返し配列はマイクロサテライト(MS)とも呼ばれるが、このような MS はゲノム上のあらゆる所に散在しており、複製修復エラー(RER)があると繰り返し数が増減するため、MS 部分の変異を観察することで RER の有無が分かる。

図 3 に大腸がんにおける RER の例を示すが、一部の大型大腸がんでは、正常大腸粘膜とは異なった長さのバンドが検出される。このような RER は、HNPCC 家系に生じた大腸がんにも認められる(図 3, 左)が、家族性のない大腸がんにも認められることがある(図 3, 右)。さらにこのような RER を示す大腸がんを解析すると、それらにはミスマッチ修復酵素の遺伝子に異常が見出される。図 3 の 022T では、相同染色体上の両方の MSH2 遺伝子に終止変異が生じており、このためミスマッチ修復が欠損したものと考えられる。この患者さんは HNPCC 家系(親および同胞に大腸がんが多発している)であるが、正常大腸粘膜で MSH2 遺伝子を解析すると、片側の遺伝子に終止変異が存在した(図 4)。す

なわちこの患者さんは、片側の MSH2 遺伝子にもともと終止変異を有しており(継世代変異)、残ったもう片方の MSH2 遺伝子に体細胞変異が生じると、ミスマッチ修復が行われず、その結果として、さらに種々のがん関連遺伝子に体細胞変異を重ねて、大腸がんが発生したものと考えられる。このように、HNPCC に生じたがんは、一般のがんに比べてより多くの複製エラーを重ねている、つまり、より「非自己」になっているものと考えられる。

図2 DNAミスマッチ修復と変異

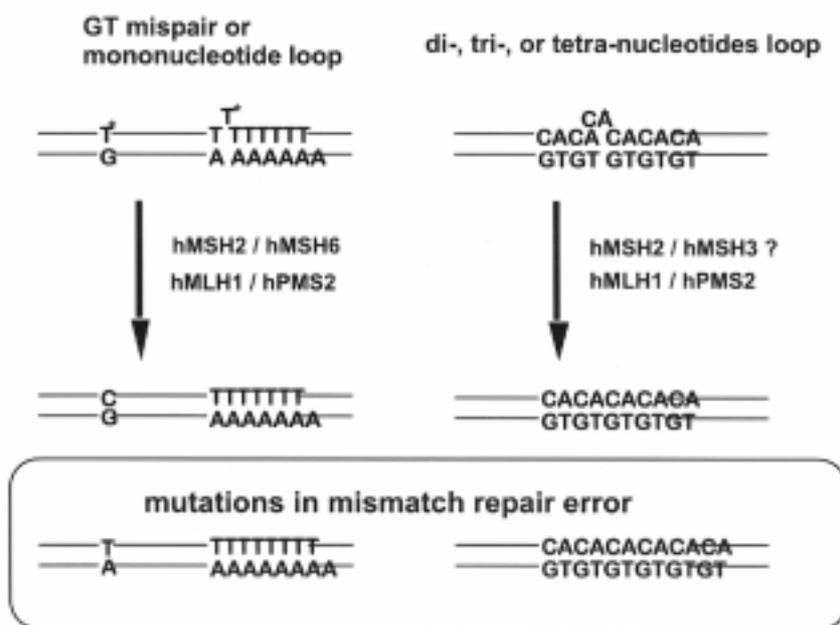


図3 大腸がんにおけるRERの検出

Genomic instability of a (CA)_n repeat on the chromosome 18 in non-polyposis colon cancers

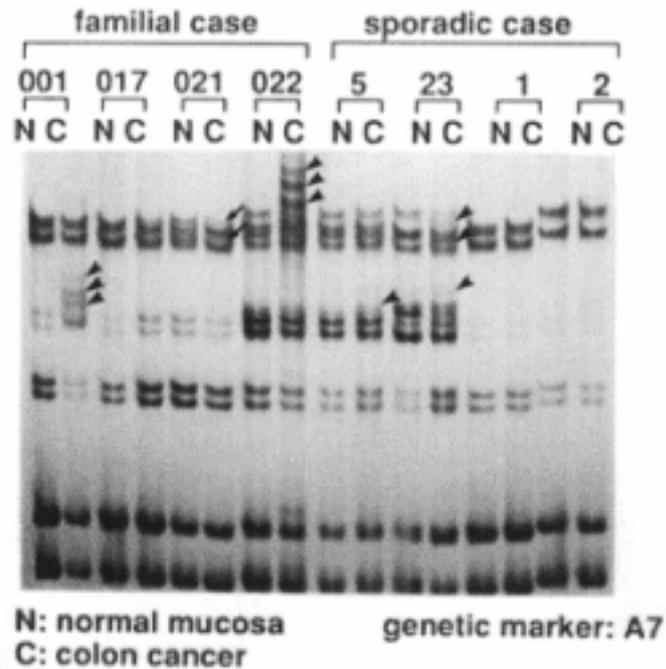
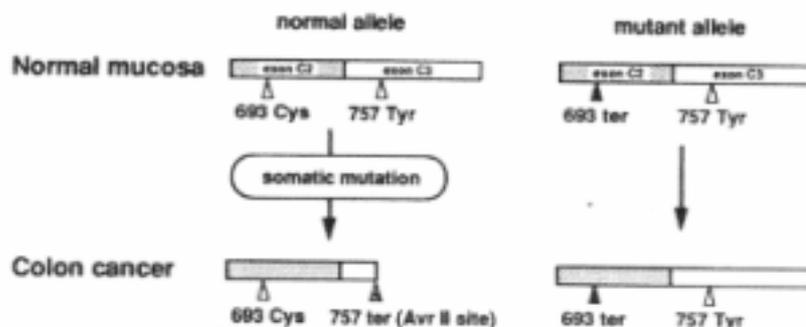


図4 HNPCC家系内大腸がんにおける変異

Both hMSH2 alleles are defective in the colon cancer of case 022



T細胞による非自己の認識

一般にウイルス感染細胞やがん細胞のような「非自己」細胞の認識排除は CD8 陽性 T 細胞(キラーT 細胞, CTL)によって行われる(図5)。つまり、がんと言えば、クラス I 分子 + 変異ペプチドの複合体を T 細胞レセプターが認識し、これによって CTL が活性化し、パーフォリンのような細胞障害因子を放出することで、がん細胞の排除につながる。逆に言えば、がんが臨床的に成立するためには、がん細胞は CTL による免疫監視機構から逃れることが必要となってくる。このように考えると、前項で述べた HNPCC がんなどのより「非自己」ながんは発生し難いはずであるが、実際には HNPCC では重複がんの発生が比較的多い。より「非自己」ながんの方が多発しやすい理由はあるのであろうか？

図5 CTLによるがん細胞の認識

Recognition of tumor-specific antigen by an anti-tumor CTL

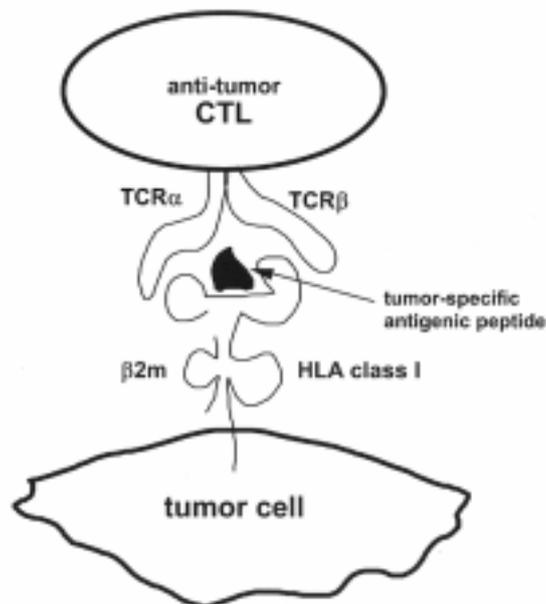


表1 大腸がんにおけるRERとがん関連遺伝子変異頻度1

RER	n	familial case	Ki-ras	p53	APC	DCC	DPC4
++ (>20% loci)	11	64 %	36 %	18 %	0 %	29 %	33 %
+ (4-20% loci)	10	20	20	30	10	50	50
- (<3% loci)	61	18	38	44	21	52	48

DCC and DPC4; LOH on adjacent microsatellite loci

表2 大腸がんにおけるRERとがん関連遺伝子変異頻度2

RER	n	TGFBRII	BAX	PolB	p21	p16	B2M	HLA
++ (>20% loci)	11	91 %	65 %	18 %	9 %	9 %	45 %	36 %
+ (4-20% loci)	10	10	0	0	0	0	0	10
- (<3% loci)	61	2	0	0	0	0	0	13

TGFBRII, BAX; alteration at (A)10 repeat and (G)6 repeat
 PolB, B2M, p21, p16, and DPC4; in whole coding region
 HLA ; LOH in HLA-A, B, or C

がん関連遺伝子における変異の集積パターン

HNPCC では複製エラー(RER 陽性がん)が多いため、一般の大腸がんと同様のがん関連遺伝子により多くの変異を重ねているのであろうか？ 実際に調べてみると、表 1 に示すように、代表的な大腸がん関連遺伝子である Ki-ras、p53、APC、DCC4 などの変異は、RER 陰性がんと比較して、RER 陽性がんでは同等かむしろ頻度が低い。特に p53 や APC 変異頻度の差は統計学的にも有意である。一方、TGF レセプター遺伝子、BAX 遺伝子、p21、p16 などのような遺伝子についてみると、表 2 に示すように RER 陽性がんにはほぼ特異的とも言える変異が生じている。これらの変異は、増殖抑制からの逸脱(TGF レセプター変異)やアポトーシスからの逸脱(BAX 変異)をもたらすが、ここで特記すべきことは、これらの遺伝子における変異の多くは、遺伝子エクソン内の単純繰り返し配列(例えば A10 や G6 などの単塩基リピート)における挿入・欠失であり、それらのタンパクにフレームシフトを生じていることにある。ミスセンス変異が一個のアミノ酸置換にとどまるのに対して、フレームシフト変異は変異部以降のコードンの読み枠のズレ、すなわち全く異なったアミノ酸配列に変化してしまうため、さらに「非自己」となる可能性が高まる。

これらの結果は、RER 陽性がんは、一般のがん(RER 陰性がん)とは異なった体細胞変異パターンを有していること、すなわち一般がんとは異なる方策で増殖制御から逸脱して

いることを示す。それと同時に、フレームシフト変異と言う、より「非自己」となる変異パターンが多いことも示された。では、このような RER 陽性がんは、より「非自己」であるにもかかわらず、なぜがんとして成立しているのであろうか？

がんにおける HLA 変異

がんが CTL による認識から逃れるためには、いくつかの方策が考えられる。がん特異的ペプチドの存在は、がんであるために必須であることから、これを失うことは出来ない。そうするとがん細胞の取る手法は、このがん特異的ペプチドを提示する HLA クラス I 分子の発現をなくすか、減少させてしまうことにある。このためには、(1)HLA クラス I 遺伝子の変異、(2) 2 ミクログロブリン遺伝子(B2M)の変異、あるいは(3)TAP 等の細胞内でのペプチドトランスポートに関わる遺伝子の変異、などが考えられる。

そこでこれらの遺伝子に変異があるか否かを調べてみると、HLA クラス I 遺伝子の LOH 型変異(片側の染色体上の対立遺伝子のみが欠失する、図6)あるいは B2M 遺伝子の変異(図7)が認められた。TAP 遺伝子群の変異は調べていないため、大腸がんにおける変異頻度ははっきりしない(但し、メラノーマなどのがんでは、HLA 変異と同様に TAP1、TAP2 の発現欠損が報告されている)が、表3に示すように、HLA クラス I 遺伝子の LOH 型変異は約 16%のがん、また B2M 遺伝子変異は約 6%のがんに認められ

図6 大腸がんにおけるHLAクラス1遺伝子のLOH型変異

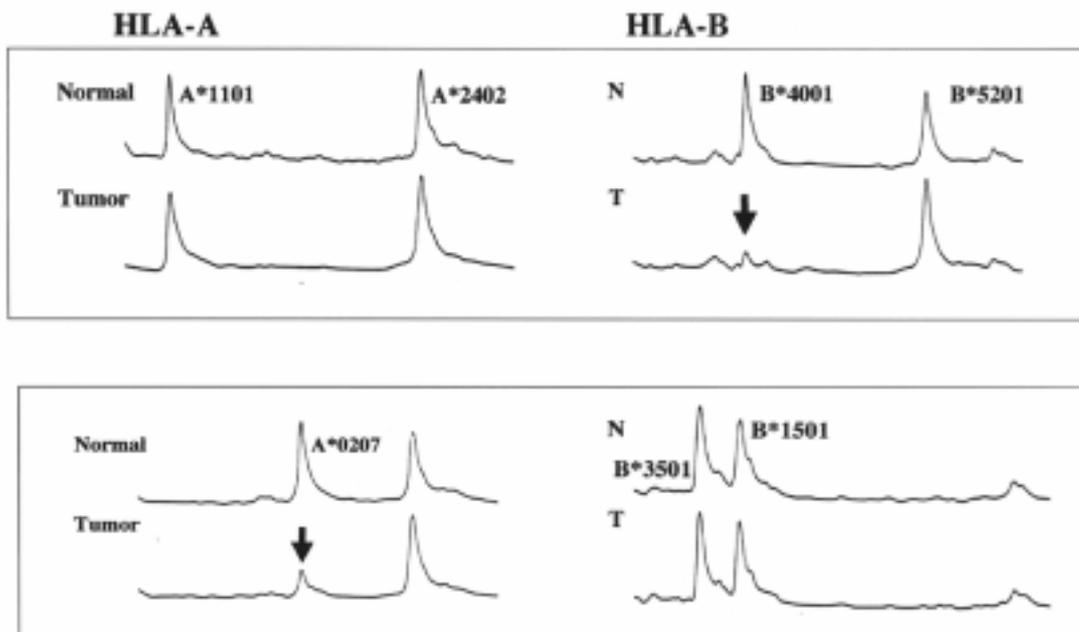


図7大腸がんにおけるB2M変異の例

Sequence variations in the B2M gene found in colorectal tumors

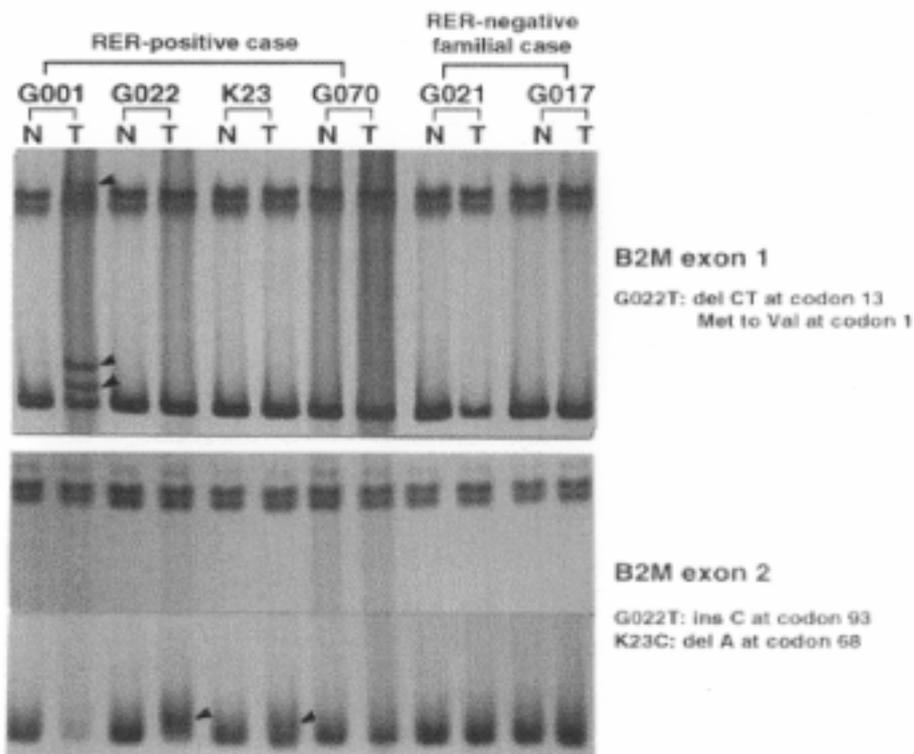


表3 大腸がんにおけるHLA関連変異の頻度

locus	type of mutation	frequency
HLA-B	LOH	8.6 %
HLA-C	LOH	13.6
HLA-A	LOH	9.9
HLA class I		16.0
B2M	frameshift	6.2
combined		22.2

ている。これらの結果は、大腸がんの一部では確かに HLA 分子の発現変化(特定のアリルのみの欠失、あるいは B2M 変異による発現減少)が生じていることを示す。それでは、このような変異はいかなる大腸がんにあるのだろうか？ 表4に HLA 遺伝子または B2M 遺伝子の変異パターンを前述の RER の程度(約 30 ヶ所の MS を調べうち何%の座位で RER を認めたか)と合わせて示すが、ここに見られるようにがんにおける HLA 関連変異には特徴性がある。

第 1 は、HLA の LOH 型変異と B2M 変異の両方を持つがんがなかったことである。実際にそのようながんが存在しないとは考え難いが、少なくとも HLA と B2M の両者に変異を有するがんが少ないであろうことが示唆される。第 2 は、B2M 変異は全て RER 陽性がんにも認められることである。さらに表2に示すように、これらの変異を有するがんを全体に対する割合として示すと、RER 陽性がんでは B2M 変異頻度が高いのと同時に、HLA の LOH 型変異の頻度も高いこと、またそのほとんどが HLA または B2M のいずれかに変異を有することが判明した。つまり、より「非自己」であると考えられる HNPCC がん(RER 陽性がん)では、HLA 分子の発現を変化させることにより、CTL による免疫監視機構から逃れたものと考えられる。特に重要なことは、HLA 変異は LOH 型であること、また図6に示したように、HLA-A のみあるいは HLA-B のみのように、座位特異的にかつ片側の染

色体上のアリルのみを欠損することである。これは、そのがんにとって最も重要ながん特異的変異を提示する HLA アリルのみを欠損させる手立てであると考えられる。また、B2M 変異は片側の染色体上の変異のみであり、両側の B2M 遺伝子が同時に変異している(HLA 分子の完全欠損に至る)こととはないことも特徴である。

それでは、なぜ HLA 分子発現の完全欠損に至らない、つまり、HLA 分子の全発現欠損には至らないような変異しかないのであろうか？ そのひとつの原因は、おそらく HLA 分子が完全欠損した細胞は NK 細胞のターゲットになって排除されてしまうからであろうと考えられる。また最近がんにおいて、NK の活性レセプターのリガンドとなる MICA 遺伝子の発現増加が報告されている。このような MICA の発現増加は、そのがんが NK による細胞障害のターゲットになることを示唆するが、がんにおいて MICA 遺伝子変化は存在するのであるか？ 我々の大腸がんの解析では MICA の LOH 型変異は観察されているが、全欠損や点突然変異は今のところ見出されていない。このため、がんがいかなる機構で MICA を介する NK 細胞からの攻撃に対抗しているのかは、今後の検討課題と言える。

結論 :がんにとって HLA は不要(CTL への対抗)だが、やっぱり必要(NK への対抗)。

表4 大腸がんにおけるHLA関連変異パターン

Tumor ID	RER (%loci)	HLA class I heavy chain gene**				β2M gene**
		MICA	HLA-B	HLA-C	HLA-A	
G022T	81	-	-	-	-	93ins1
K23C	76	-	-	-	-	68del1
G106T	74	-	-	-	-	13del2
G001T	57	-	-	-	-	13del2/1Met
G092T	57	-	-	-	-	13del2
025T1	62	LOH	LOH	LOH	LOH	-
025T2	62	-	LOH	-	-	-
085T	52	LOH	LOH	LOH	LOH	-
070T	56	-	LOH	-	-	-
066T	13	-	-	LOH	LOH	-
093T	0	LOH	LOH	LOH	-	-
15C	0	LOH	LOH	LOH	LOH	-
032T	0	-	LOH	LOH	-	-
068T	0	-	LOH	-	-	-
1C	0	-	-	LOH	LOH	-
101T	0	-	LOH	-	-	-
14C	0	LOH	LOH	LOH	LOH	-
090T	0	-	LOH	LOH	LOH	-

* ; RER in tumors detected in 32 loci.

** ; mutations in tumors, LOH ; loss of one allele, - ; mutation was not detected

特集 HLA はどこまで必要か？ 「HLA と個人識別」

信州大学医学部法医学教室 太田 正穂

今回は、「HLA はどこまで必要か？」のシリーズの一環として、法医学領域における個人識別・親子鑑定でのHLAの有用性について考えてみたいと思います。

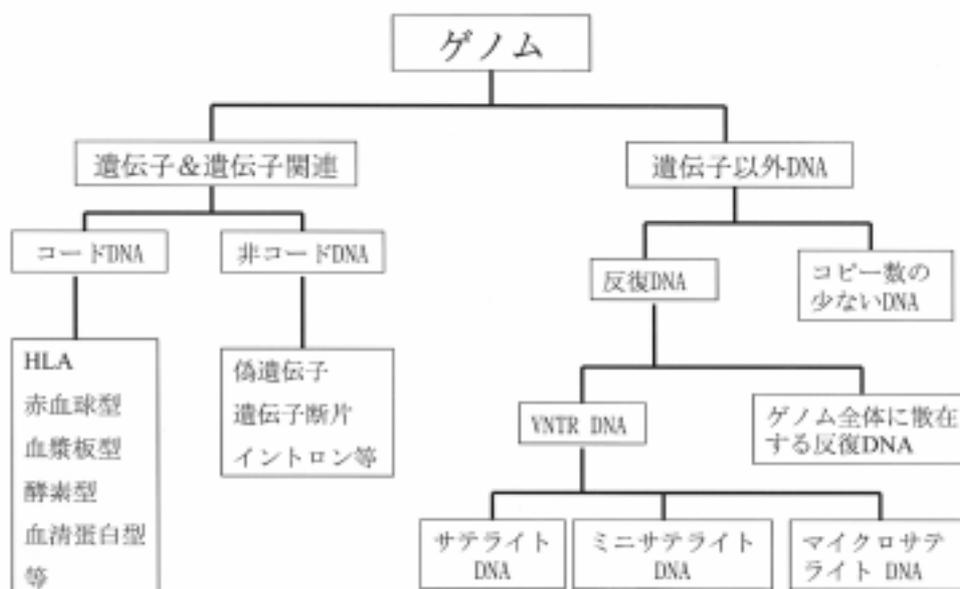
テレビ、ラジオ、新聞報道などで、法医学という言葉が最近頻りに耳にするようになり、法医学の実務内容が概ね理解されているのではないのでしょうか。法医学は、法曹界において医学関連事項を扱う窓口であり、刑事、民事を含んだ我々の基本的人権を擁護するための医学における実学であります。従って対象となる内容は 1. 死体の検査(検屍と法医学解剖)、2. 生体の検査(親子鑑定、性犯罪、傷害事件、薬毒物常習者)、3. 物体の検査(体液斑、身体部分)、4. 現場の検査などに区別できます。法医学の仕事量は、世相の治安如何により、左右されます。できるならば、実務が少なくなることを望みたいものです。さて、ヒトの主要組織適合性抗原である HLA は、その機能から骨髄移植や臓器移植では、その成否を左右する分子として知られています。また、自己免疫性疾患をはじめとする各種疾患への感受性と大いに関係することも知られ、生命の恒常性維持に関係した重要な血

液型であると考えられます。それではこの HLA が法医学にどのように寄与しているのかと言うと、この HLA は赤血球型(ABO 式血液型、Rh-Hr 式血液型、MN 式血液型、Lewis 式血液型等)、血清蛋白型(Hp 型、Tf 型、Gc 型、Gm 型等)、血小板型(HPA-1a1b、-2a2b、-3a3b 等)、酵素型(AcP 型、PGD 型、PGM 型、GPT 型等)に比べ、対立遺伝子の数が極端に多いこと、すなわち多型性(polymorphisms)に富んでいることから、法医学の検査における親子鑑定や個人識別に威力を発揮するのではないのでしょうか。

1. 個人識別、親子鑑定で使われる多型マーカー

個人識別は、身体的特徴や検査試料(血痕、毛髪、骨、歯等)から個人を特定することである。とくに試料からの検査には、多型性(同一集団内において特定の遺伝子座の対立遺伝子が二種類以上存在し、その変異遺伝子の頻度が1%以上の割合で存在する現象)を高度に示すマーカーを用いることが有効である。1985 年 Jefreys が紹介した DNA フィンガープリント法以前は、赤血球型、HLA、血清

図 1. ヒトゲノムの遺伝子多型の構成



型、酵素型が主に多型性マーカーとして用いられていた。しかし、これら広義の血液型を用いた検査では、新鮮な試料を充分確保できる場合には良い結果が得られる場合もあったが、必ずしも満足のいくものではなかった。特に個人識別で扱う試料は、時に微量、腐敗や分解されていることが多く、通常の血液型検査を行えないことにしばしば遭遇する。このようなことから、保存状態が悪く、腐敗、分解した試料からでも型判定の可能性が高い、DNA を用いた個人識別法に推移し、現在では個人識別・親子鑑定には DNA 多型検査法を採り入れるのが主流になっている。

DNA 多型を示す部位はヒトのゲノム(3000 Mb)上で特徴的な構成をなして存在している(図1)。そのなかで、HLA や赤血球型、血清型、酵素型など生体の機能と関係した遺伝形質は、主に単一塩基の置換によって生じた多型(SNPs: single nucleotide polymorphism)である。また、これらの多型形質とは異なり、ゲノム上には、ほとんど遺伝子以外のところに、ある一定の塩基配列を示したユニットの繰り返し構造(VNTR: Variable Number Tandem Repeat)が見られる。これらの繰り返し構造は個人、個人でそのユニット数が違い、多型性を示し(図2-a)、その多型形質は HLA のように両親から子供へそれぞれ共優性な遺伝をする。また、VNTR 多型は、一つのユニットの大きさの違いにより、ミニサテライトとマイクロサテライトに区別される。ミニサテライトは特徴として染色体上の主にテロメア

側に存在するが、マイクロサテライトは染色体上にほぼ均一に存在している。このことから、対立遺伝子の数が多く、高度の多型性を示し、染色体上にほぼ均一に存在するマイクロサテライトは疾患に関連した遺伝子検索のマッピングにも利用されている。両遺伝形質とも、PCR を行った後にその長さの違いを測定して型判定をするが、判定法には PCR 産物を電気泳動後、銀染色やエチジウム染色して検出する方法(図 2-b)やプライマーに蛍光色素を結合し、PCR 産物を自動シーケンサーで検出する方法(図 2-c)がある。これらの検出法は、大変鋭敏なことから今日の個人識別の検査では、多くの施設で用いられている。とくに、企業から販売されているキット(AmpFLSTR Profiler Kit : Applied Biosystems 社, PowerPlex 16: Promega 社)は世界中で使用されており、さらに各民族からのデータベースも報告されていることから、個人識別における利用価値が高いと評価されている。HLA も今日では、非常に多数の対立遺伝子が見つかっており、個人識別での利用価値は高いのであるが、検査法の簡易性などを比べると容易には着手できないことが伺える。

親子鑑定は、多型性を示す遺伝形質を検査し、ある親子関係について生物学的血縁関係の有無を鑑定することである。日本では親子鑑定で最も多いのは認知請求事件、続いて嫡出否認請求事件、親子関係不存在確認請求事件である。親子鑑定では、当事者から血液を採血し、各種遺伝

図2-a, DNA多型マーカーの種類

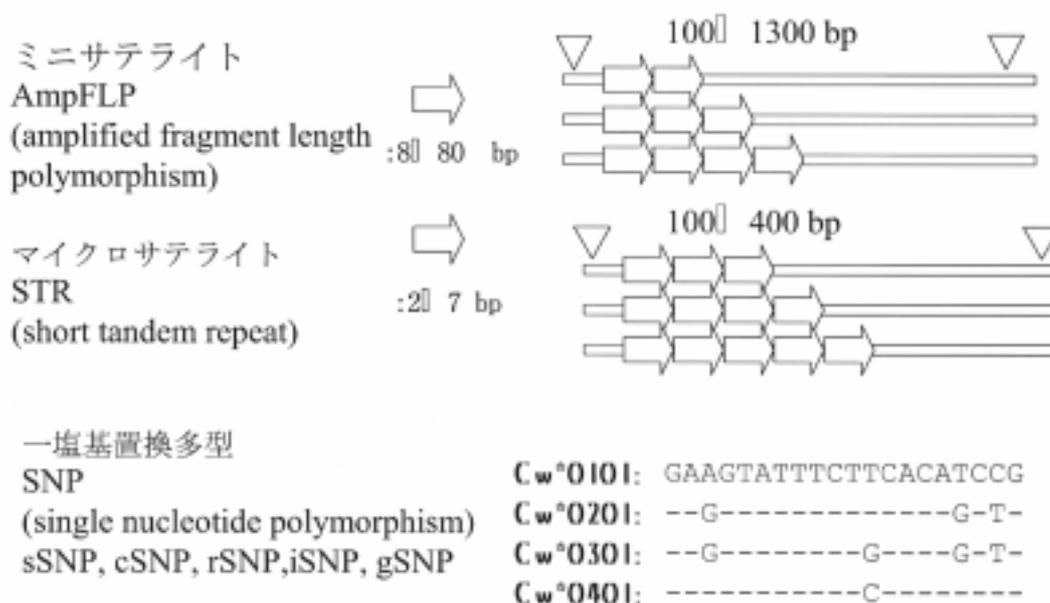
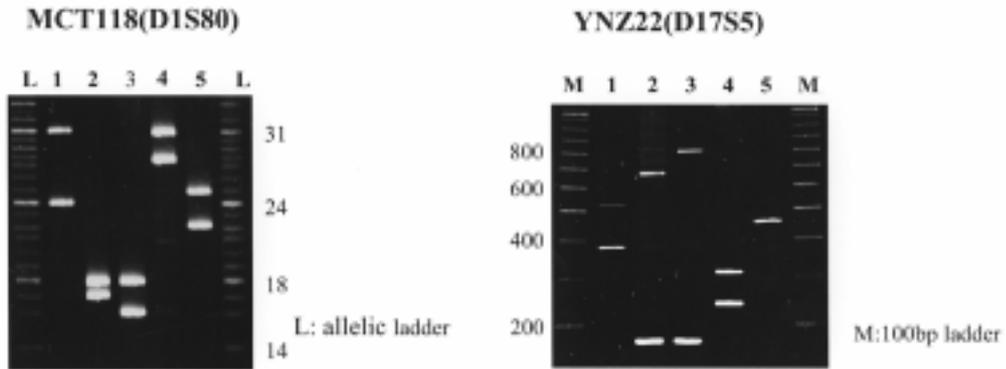
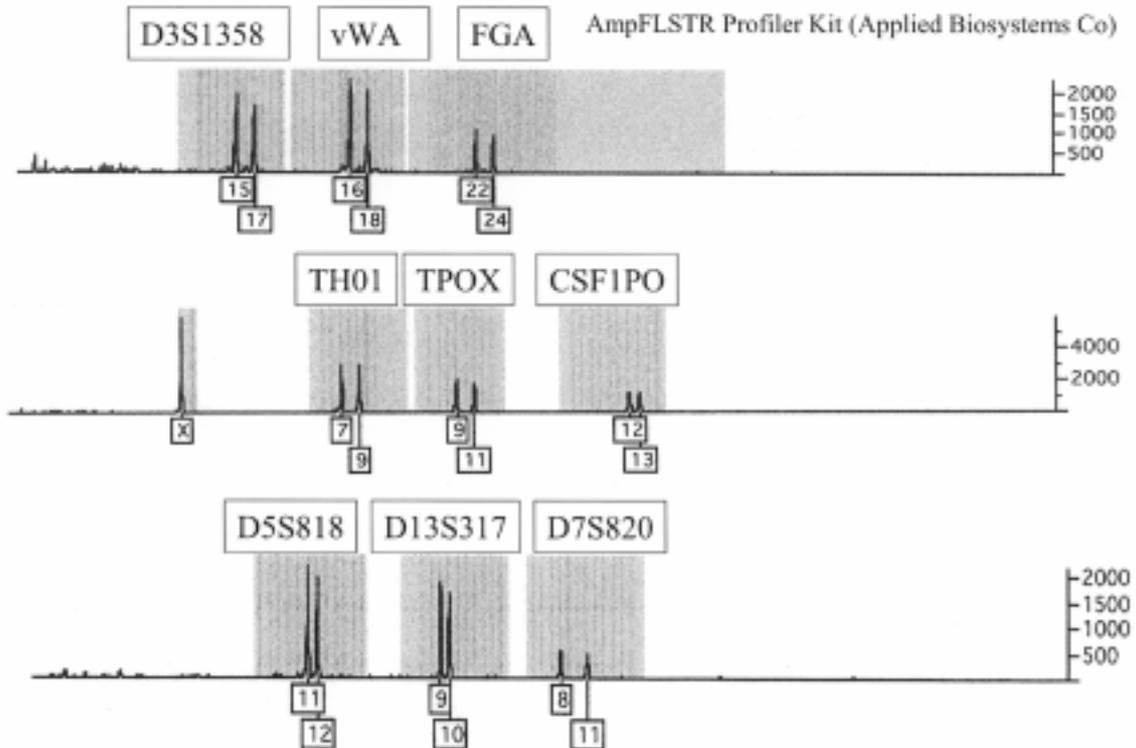


図2-b, ミニサテライト多型 (MCT118, YNZ22)



	1	2	3	4	5
MCT118	24/31	17/18	16/18	28/31	22/25
YNZ22	4/6	1/8	1/10	2/3	5/5

図2-c、マイクロサテライト(multiplex)



標識を用いて各人の遺伝形質について調べ、その結果から親子の肯定、否定を決定する。否定の場合は、通常調べた検査項目について少なくとも2つ以上の遺伝形質で否定されることが必要である。また、検査したいかなる遺伝形質でも否定されない場合は、各遺伝形質の遺伝子頻度から父権肯定確率を計算して父親らしさを判定する。検査用の遺伝形質は、血液型(赤血球型、赤血球酵素型、HLA型、血清型等)やDNA多型(マイクロサテライトやミニサテライト)が用いられる。親子鑑定では、試料が充分確保できることからHLA型は、充分その威力を発揮している。

2. 遺伝情報量からみたHLAの能力

血液型、DNAの多型を利用した個人識別や親子鑑定では、用いる遺伝形質の遺伝情報量が大きな影響を及ぼす。表1に示したのは、各種DNA多型形質が示す情報量であり、日本人の遺伝子頻度からヘテロ接合性(HZ値)と多型情報量(PIC値)を計算した。HZ値もPIC値も高いほど、そのマーカーが有益な情報源であることを意味している。HLAでは、血清学レベルで計算した値と遺伝子レベルで計算し

た値を示したが、血清学レベルでのHLA-Bは遺伝子レベルのHLA-DRB1と同程度の情報量を持っていることがわかる。一方、ABO式型ではHZ値は0.60、PIC値は0.54、Rh-Hr式ではHZ値は0.50、PIC値は0.46、MNSs式ではHZ値は0.56、PIC値は0.49とDNA多型形質に比べてはるかに乏しい遺伝情報量を示している。この表からHLAは今日使われているDNA多型形質に比べて、勝るとも劣らない遺伝情報量を持ち合わせていることが解る。

親子鑑定に使用する遺伝形質の有益性を知る指標として父権否定確率がある。父権否定確率は、一般男性集団のなかで任意の男が遺伝形質の検査より父子関係を否定できる確率を示す。この値は、母子結合確率と真の父でない集団の頻度の積で導かれる。表2は各種遺伝形質の父権否定確率であるが、HLA以外の血液型(赤血球型、血清蛋白型、酵素型)はいずれもかなり低い値を示している。それに対して、DNA多型形質はそれぞれの遺伝形質ではHLAと同等あるいは僅かに低い値を示しているが、AmpFISTR(ABI社)のように一度に9ローカスの多型を検

表1、DNA多型形質における遺伝情報 (HZ, PIC値)

ミニ、マイクロサテライト	HZ		HLA	PIC	
	HZ	PIC		HZ	PIC
D1S80	0.91	0.87	HLA-DQA1	0.75	0.70
D17S5	0.77	0.83	-DQB1	0.89	0.85
ACTBP2	0.92	0.94	-DRB1	0.93	0.90
D3S1358	0.73	0.68	-DPB1	0.75	0.69
D3S818	0.79	0.76	-DR	0.86	0.82
vWA	0.80	0.77	-A	0.77	0.72
TH01	0.71	0.65	-B	0.93	0.90
D13S317	0.82	0.79	-Cw	0.78	0.73
TPOX	0.68	0.61			
FGA	0.86	0.83			
D7S820	0.75	0.71			
CSF1PO	0.76	0.71			

HZ: heterozygosity, PIC: polymorphic information content

査できる multiplex 反応では、父権否定確率は 0.9993 にも達し、親子鑑定では強力な武器となっている。親子鑑定のように試料確保が困難でない検査では、HLA は大変有効であることから、是非鑑定項目の一つに入れるべきではないでしょうか。実際当教室で 20 マーカー程の遺伝形質を用いて行った 80 例の親子鑑定例を見てみると、その内、否定例は 35 例あり、いずれも HLA で否定されており、また DNA 多型マーカーでも否定されている。この結果は HLA の親子鑑定における能力の高さを裏付けるものである。

さて、HLA は遺伝情報量が他の DNA 多型マーカーに比較して充分高いことから、個人識別や親子鑑定では大変有効な遺伝マーカーであることが理解できるが、実務面でそれが充分発揮されているか疑問である。検査法から見てみると、血清検査、DNA タイピングは、マイクロサテライトを一度に多数のローカスが調べられるマルチプレックス法に比べ、操作が幾分複雑であると言える。また、例えば DNA 検査に必要なサンプル量は、HLA では、100ng ~ 500ng 必要とするが、マルチプレックス法(AmpFISTR キット)で

は 10ng 程で十分である。これは法医学で扱う試料が微量であることが多いのでデメリットである。そのためにも、微量でかつ感度が良い個人識別に適した HLA 検査法を構築する必要がある。また、検査に要する費用の低価格化も考慮に入れたい。

最後に HLA は、今のところ法医学に携わる多くの研究室で利用しているとは言えないのが現状である。しかし、この遺伝形質の遺伝情報量から、他の DNA 多型と同様検査項目に入れたい一つであるのは事実である。

表 2、各種遺伝形質の父権否定確率

赤血球型		HLA	血清蛋白型		酵素型		DNA多型		
ABO	0.25	-A	0.54	Gm	0.41	PGM1	0.27	D1S80	0.77
MNSs	0.16	-A*	0.65	Gc	0.38	ESD	0.19	D17S5	0.71
Rh	0.21	-B	0.85	C6	0.27	GPT	0.18	D3S1358	0.48
Kidd	0.18	-B*	0.87	PI	0.20	ACP	0.14	D3S818	0.58
Duffy	0.08	-Cw	0.50	C7	0.18	PGD	0.07	vWA	0.60
P	0.08	-Cw*	0.78	Tf	0.17	GLO	0.07	TH01	0.45
Diego	0.04	-DR	0.71	Km	0.16	UMPk	0.04	D13S317	0.63
Se	0.03	-DRB1*	0.85	Hp	0.16	ADA	0.03	TPOX	0.41
		-DQ	0.48	Bf	0.13			FGA	0.70
		-DQB1*	0.78					D7S820	0.53
		-DPB1*	0.59					CSF1P0	0.52
								AmpFISTR	0.9993

特集 HLA はどこまで必要か？ 「寄生虫感染症とHLA」

長崎大学熱帯医学研究所 環境医学部門疾病生態分野

(分子免疫遺伝学) 平山 謙二

はじめに

HLAがどれだけ必要かという問いかけに答えるのは非常に難しい。おそらく学生の試験に出せば答えは、抗原提示機能や拒絶反応、自己非自己の認識などであろうか。確かに、T細胞の機能の発達に伴って、MHCも進化したように見ることができる。T細胞の抗原認識機構を細かく解析した結果、MHC抗原ペプチド複合体や修飾分子群による活性化機構は明らかになったし、樹状細胞やマクロファージ系の抗原提示機構の解析により、MHC-ペプチドプロセッシング機構についてはかなり解明されたように思われる。それでも、なおよくわからないのは、MHCの抗原結合部位を中心としたSNPの密度の高さであろう。どうして、これほどの多様性が必要なのか。実はこの問いにも明確な答えはないはずである。動物をとりまく数々の外来感染性微生物に対応するために発達した、あるいはして来たために多様化したというのが一般的な見解ではあるが、その証拠は本当にあるのだろうか。ここでは、もちろん明確な解答を準備しているわけではないが、この多様性の問題を寄生虫感染症、とりわけ人類の歴史と共に多数の人々を苦しめてきた、マラリアと住血吸虫症に焦点をあてて考えてみたい。

マラリア

マラリアは赤血球寄生性の原虫で最近の研究から、遺伝的には藻類に近いということがわかっているが、図1に示すような生活環をとることが知られている。特に病原性が高いのは、熱帯熱マラリアで、感染赤血球の溶血や毛細血管の塞栓などによる肝、腎、肺、脳などに起

こる合併症により感染者、主に小児の約1%が死亡している。毎年3億人ほどが感染しているので、死亡者も3,000万人と多数で、世界的に見れば減少するきざしもない。歴史的に見ればヒトマラリアは非常に新しい寄生虫で、農耕を開始した時期に蚊の寄生虫であったものが、ヒトに生活環をのぼしたと考えられているので、出てきたのは数万年前であろうか。その間流行地では数千世代がこれに曝露され、適応してきたものと考えられる。マラリアは感染症の中でも、とりわけ遺伝的な抵抗性の因子についての解析が進んでおり、古典的

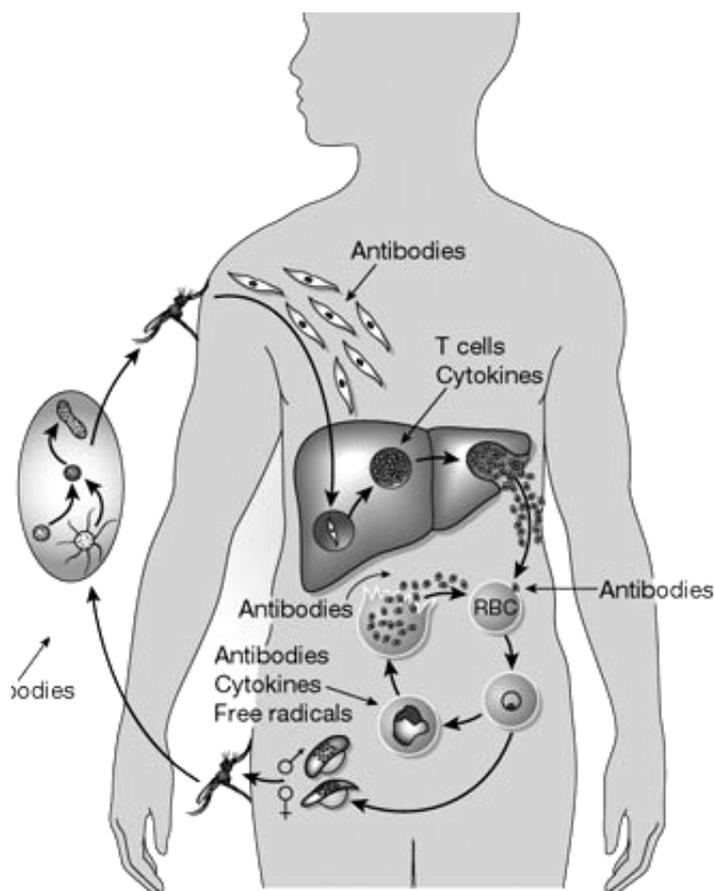


図1 熱帯熱マラリアの生活環 (Nature 415:695 より抜粋)

には寄生部位である赤血球に関する遺伝変異である鎌状赤血球症(ヘモグロビン S:HbS)やサラセミア、G6PD 欠損症(1)などがマラリアの抵抗性と明白な関係があることが知られている。たとえば *HbS* はアフリカに特有のマラリア抵抗遺伝子であるが、ガンビアの調査では *HbS* / - の重症マラリア罹患危険率は 0.08 と圧倒的に低いことが知られている。ところが、これらの変異はいずれもある地域に限局しており、世界的に共通する抵抗性因子というものは観察されていない。おそらくその理由は、マラリアが新しい寄生虫であり、また強力な選択圧をもっていたことにより、地域により特有の変異を拡大させたためであると考えられている。

マラリアと HLA

1991年の横浜での HLA 国際ワークショップは、HLA と寄生虫感染症の相関に関する研究にとって重要な意味があった。すなわち、DNA タイピングが確立されたことで、フィールドサンプルの解析が格段に容易になったのである。このワークショップのポスターには、

A.Hill らのガンビアでの HLA-B53 が重症マラリアに抵抗性であったとの報告もあった(2)。その後、彼らは、HLA-B*5301 の抗原ペプチドモチーフを調べ表1に示すようなパターンを決定し、これに基づいて、マラリアの肝細胞期(すなわち CD8⁺ 細胞の標的となる時期)(図1参照)に発現す

表1 . HLA - B53 (Hill et al 1992)とHLA-B1513 (Barber et al.1997)

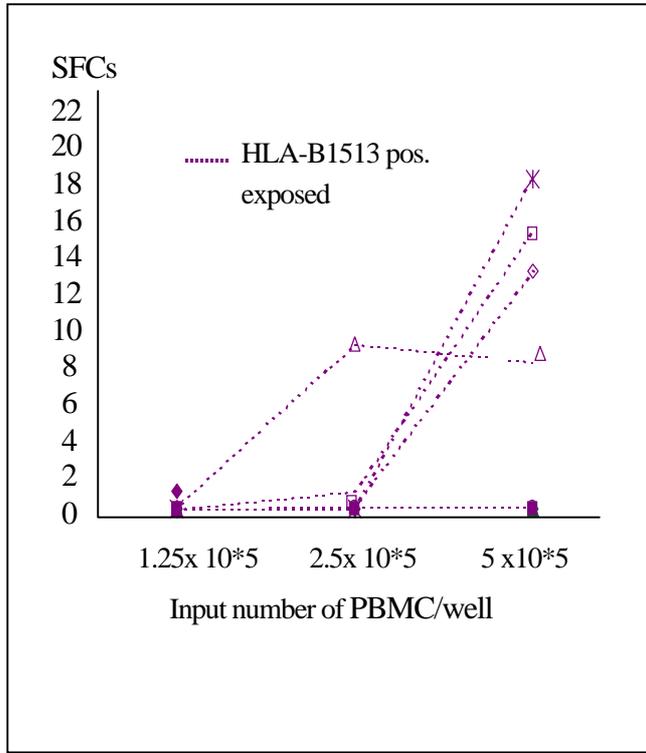
B-53	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dominant		P							
Strong	S		F	E	I	Y			
	Y		K	L					
	F		N	Q					
	M		Q						

B-1513	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Dominant									W
Strong		L	Y	P	V			M	
		I	R	Q					
		Q	N	E					
		V	F						
		P							

表2 . HLA-B1513 モチーフより作製したマラリア抗原ペプチドの一部

No.	熱帯熱マラリア遺伝子クローン	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	41 Kd merozoite antigen	D	L	S	N	H	E	T	A	W
2	Asparagine-rich antigen Pfa55-6	N	V	R	N	I	Y	S	L	W
6	Acidic Basic Repeat Antigen	S	L	L	L	F	V	I	R	W
7	Acyl-CoA ligase	N	I	Y	L	T	S	K	V	W
10	Apical membrane antigen-1(AMA-1)	M	L	D	P	E	A	S	F	W
12	Circumsporozoite protein (CSP)	I	Q	N	S	L	S	T	E	W
13	Erythrocyte binding antigen(EBA-175)	W	I	I	R	S	K	F	E	W
19	erythrocyte surface antigen 1661 AA	A	P	Y	I	D	D	P	L	W
20	FC27 RESA	R	L	N	S	O	F	K	N	W
23	HSP90 like	V	L	V	T	S	E	F	G	W
24	octapeptide-repeat antigen (ORA)	I	L	N	N	T	K	L	E	W
27	SERP H	L	P	N	S	W	T	N	L	W
28	STARP 604 AA	V	V	I	Y	I	A	F	N	W
29	topoisomerase (ATP-hydrolysis)	P	I	L	S	N	I	L	L	W
32	trophozoite antigen gene 336AA	N	V	F	Q	L	A	Q	Q	W

図2 B1513 モチーフで作製したペプチドプールに対する
流行地住民の末梢血リンパ球中 IFN- 産生細胞数
(ELISPOT 法)



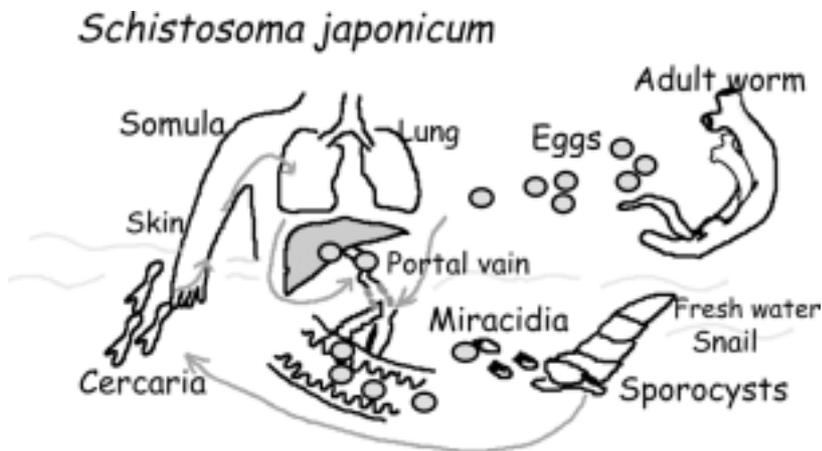
る遺伝子として報告された数種の分子に含まれる9merペプチドを合成して流行地のドナーのリンパ球を刺激し、CTL 活性を測定した。その結果 LSA-1 という分子のモチーフが CTL を誘導したとして、この抗原が、B5301 の抵抗性を惹起していると結論している(3)。我々は、1994年 JICA の熱帯病研究プロジェクトでマラリアに極めて抵抗性とされるマレーシアの原住民の HLA-B の DNA タイピングを行い、B*5301 ではなく HLA-B*1513 という他の地域ではまれなタイプが30~40%という高い頻度で存在することを報告した(4)。このタイプの抗原結合部位を観るとP9(Fポケット)と称するC末のアンカー部位がアフリカのB53 とまったく同じであることがわかった。アフリカとアジアのマ

リア抵抗性 HLA-B が異なる遺伝子アレルではありながら、抗原決定基を共有しているのではないかと考えたのである。ところが、オリジナルの前述したペプチドモチーフ(表1)には P9 に特徴がなく困っていた。1997年 Barber らが詳細な HLA-B17,B15 ファミリーの結合ペプチドモチーフの検討を行い、この B5301 と B1513 に共通する P9 がトリプトファン(W)になることを報告した。これを見ると Hill らの仕事はまったく不十分だったと言わざるを得ない。彼らが無視したトリプトファンはまれなアミノ酸で、時にはまったくこのアミノ酸を含まない分子も存在する。B53 でやられたようなペプチドのデザインを B1513 でしたところ、P9 にWを含むペプチドは非常に少なく表2のように32種類になった。現在、これらの候補ペプチドの in vitro の CD8T 細胞刺激活性を検討中で、IFN-ELISPOT アッセイで確かに活性のあることは確かめられた(図2)。流行地での反応をさらに追求する必要があるが限られた抗原エピートプが抵抗性を決定するとすれば、今後のワクチン開発にも寄与するところが大きいであろう。

住血吸虫症

住血吸虫は、寄生虫の中でも大きな部類で約1cmほどの長さのムシである。雌雄異体で、成虫はヒトの門脈内で接合し、数年にわたって赤血球を食べながら産卵を続ける。その生活環を図3に示すが、感染型のセルカリアに汚染された水に接触することにより経皮感染する。急性期に死亡することはまれで、マラリア

図3 日本住血吸虫の生活環



と違い、慢性疾患とくに虫卵の組織沈着による肝脾疾患や膀胱尿路障害、肝癌や膀胱癌を引き起こすことが問題となる。ヒトの住血吸虫には、日本、マンスン、ビルハルツ、メコンという主に4種がよく知られており、遺伝的にも近縁である。経皮感染の際の感染抵抗性については、疫学研究から年齢に伴い再感染が軽くなる傾向が観られることから、ある程度の獲得免疫が作用していると考えられている。慢性期の合併症については、明らかに個体差の存在することが知られており、10年以上の反復感染歴の後、早い人では30代から重い肝硬変となる。住血吸虫症は、流行地の環境に根ざした寄生虫疾患で、熱帯地域を中心に3億人ほどの感染者が存在すると推測されている。

住血吸虫症とHLA

住血吸虫感染抵抗性に多かれ少なかれ免疫応答性が関与するのはおそらく間違いない。しかし、個々人の抵抗性を定量的に判定し、家系や集団を用いて遺伝要因を解析することは必ずしも容易ではない。Desseinらは1991年ブラジルのマンスン住血吸虫症流行地で、各人の抵抗性を虫卵排出数で定量化し、20家系269名の家系調査により、共優性の感染性/抵抗性遺伝子座 SM-1の存在を示唆した(5)。その後、1996年に同じ対象を用いたゲノムワイド解析により、MS-1が5q31 - q33の CSF1R 付近にマップされることをつきとめた。この近傍には、IL-13、4、5などの遺伝子座があることから、その本体が注目されているが、まだ明らかになっていない。彼らは、その後、この study で得た他の染色体の情報も報告したが、HLA の存在する6p には何の変化もなかった(6)。彼らの用いたマイクロサテライトマーカーでは、とてもMHC の特定の抗原決定配列を見分けることができなかつたのは当然である。同じグループはアフリカのスーダンで慢性の住血吸虫性肝線維症の重症群について同様の家系調査を行い6q22 - q23の IFN- R1 遺伝子の近傍

に肝線維症の感受性遺伝子 SM-2をマップした(7)。ここでもやはり6pには何の変化もなかった。上述したゲノムワイド解析の結果は、確かに驚くべきことで何らかの遺伝子多型が感受性を決定していることを強く示唆するが、一方で両方が、サイトカイン関連遺伝子近傍にあったことは、結局は、ありそうな所にあるのかもしれないというある種のあきらめも感じてしまう。

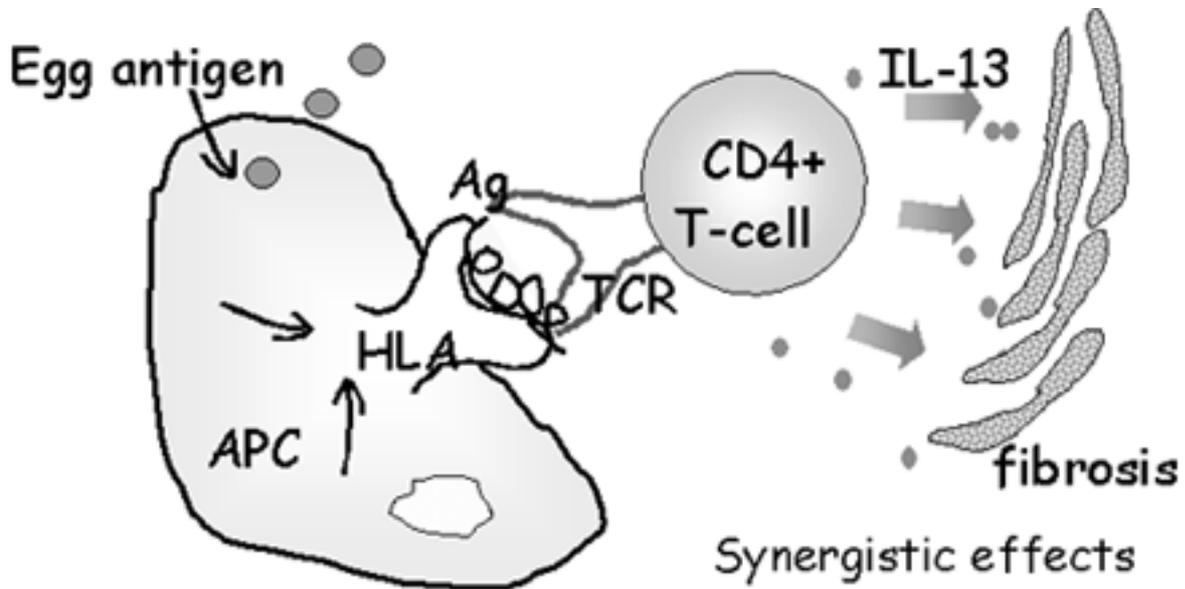
ありそうな所で本当にあったのはHLAであろう。DNA タイピング時代以前の報告を無視したとすると、住血吸虫とHLA に関する論文は我々とオーストラリアのグループだけであるが、いずれも慢性の肝線維症とHLA-クラス 遺伝子アレルとの強い相関を報告している(8, 9, 10)。特に最近我々が見出したHLA-クラス とIL-13プロモータ遺伝子多型の重症化への相乗効果は驚くべきもので、HLA 多型が確かに慢性疾患の病型に直結することを示したと考えているので紹介したい。フィールドは中国の江西省で、古くからの日本住血吸虫症流行地である。1995年ここで10年以上の感染歴のある成人230名を対象に、肝線維化の重症度を超音波により診断し採血してDNAタイピングを行ったのであるが、その結果、HLA-DRB1*1101 が軽症に多く、DRB5*0101 が重症に多いことがわかった。ここまでは、これまでの相関であるが、さらに関係ありそうなサイトカイン遺伝子、IL-4、IL-13、IFN- RについてSNP解析を行った結果を重ねて、HLA アレルとサイトカイン遺伝子アレルの相互作用を見たのが表3である。この表で HLA-DRB5*0101 (OR = 5.67)および IL-13プロモーターA/A ホモ遺伝子型(OR = 3.07)はいずれもそこそこのGrade に対する危険因子であるが、両方を持った者では、OR は24.49まではね上がった。HLA は第6染色体、IL-13は第5染色体とそれぞれ別の染色体上にあるのでこのような結果は遺伝子産物が直接相互作用している場合にしか観察できないはずである。そこで図4に示したようにメカニズムがより

表3 . 二つの感受性マーカーである HLA-DRB5*0101 と IL-13P*A/A の相乗効果

HLA-		Grade 0		Grade I,II,III		P value*	OR*	(95%CI)*
DRB5*	IL-13P	n=36 (%)		n=156 (%)				
0101	A/A	0 (0.0)		21 (13.4)		p<0.01	24.49	(1.41- 424.0)
0101	-	2 (5.6)		18 (11.5)		p<0.05	5.08	(1.08 - 23.9)
-	A/A	12 (33.3)		78 (49.7)		p<0.05	3.67	(1.64 - 8.17)
-	-	22 (61.1)		39 (25.0)				

* P value, OR と95%CIは両方持っていない群を対照とした。

図4 . Tヘルパー 2モデルによる相乗効果の一元的な説明



$$\begin{array}{l}
 \text{HLA-DRB5}^*0101 \\
 \text{MHC +antigen}
 \end{array}
 \times
 \begin{array}{l}
 \text{IL-13P-A/A} \\
 \text{Up regulation of} \\
 \text{IL-13 production}
 \end{array}
 =
 \begin{array}{l}
 \text{Liver} \\
 \text{fibrosis}
 \end{array}$$

確からしく見えるようになったのである。ただし、最初に紹介したゲノムワイド解析の SM-1 (感染抵抗性感受性遺伝子) が IL-13 遺伝子座を含む 5q31 - q33 にマップされていたことから、可能性として我々が見出した肝線維化に対する HLA と IL-13 の相乗効果が実は、感染感受性が増した結果、大量の虫体、虫卵に曝露されたために起こったということも考えられる。現在中国で進行中の再感染抵抗性に関する遺伝解析に期待していただきたい。

おわりに

我々は HLA の魅力にとりつかれて、種々の感染症の感受性との関連について研究を続けてきた。その魅力は何といっても研究の発展性である。免疫制御、重症化の予防、ワクチン開発など、いずれも HLA の機能と切りはなしては考えられない。この点で、寄生虫疾患に関してはいまだ未知の部分が多く、寄生虫側の免疫回避機構も複雑化しており、免疫研究の進歩と相まって、今後益々面白い知見が得られるものと期待している。

参考文献

1. D. Weatherall, J. Clegg, D. Kwiatkowski, The role of genomics in studying genetic susceptibility to infectious disease, *Genome Research* 7:967-973, 1997.
2. A.D.S. Hill, C.E.M. Allsopp, D. Kwiatkowski, N.M. Anstey, P. Twumasi, P.A. Rowe, S. Bennett, D. Brewster, A.J. McMichael, B.M. Greenwood, Common West African HLA antigens are associated with protection from severe malaria, *Nature* 352:595-600, 1991.
3. A.D.S. Hill, J. Elvin, A.C. Willis, M. Aidoo, C.E.M. Allsopp, F.M. Gotch, X.M. Gao, M. Takiguchi, B.M. Greenwood, A.R.M. Townsend, A.J. McMichael, H.C. Whittle, Molecular analysis of the association of HLA-B53 and resistance to severe malaria, *Nature* 360:434-439, 1992.
4. Hirayama.K., Mohd.Zaidi.A.S., Lokman.Hakim.S.,

-
- A.Kimura.,Ong.Kian.Joo., M. Kikuchi., Nasaruddin. Hj.A, S. Kojima and Mak Joon Wah. Molecular analysis of HLA-B in the Malaysian aborigines. *Tissue Antigens*,48:692-697.1996
5. L. Abel, F. Demenais, A. Prata, A.E. Souza, A. Dessein, Evidence for the segregation of a major gene in human susceptibility/resistance to infection by *Schistosoma mansoni*, *Am.J.Hum.Genet.* 48:959-970, 1991
 6. S. Marquet, L. Abel, D. Hillaire, A. Dessein, Full results of the genome-wide scan which localizes a locus controlling the intensity of infection by *Schistosoma mansoni* on chromosome 5q31-q33, *Eur.J.Hum.Genet.* 7:88-97, 1999.
 7. A.J. Dessein, D. Hillaire, N.E.M.A.Elwali, et al. Severe Hepatic fibrosis in *Schistosoma mansoni* infection is controlled by a major locus that is closely linked to the interferon-gamma receptor gene, *Am.J.Hum.Genet.* 65:709-721, 1999.
 8. W.Evan Secor, Helena del Corral, Mitermayer G dos Reis, Eduardo A.G Ramos, Alison E. Zimon, E.Peixoto Matos, Eliana A.GReis, Theomira M.A.do Carmo, Kenji Hirayama, Roberta A.David, John R. David and Donald A. Harn Jr. Association of Hepatosplenic Schistosomiasis with HLA-DQB1*0201: *J. infect. dis.*, 174,1131-1135,1996.
 9. K. Hirayama, H. Chen, M. Kikuchi, Y. Dong, X. Gu, J. Liu, S. Zhang, and H. Yuan. HLA-DR-DQ alleles and HLA-DP alleles are independently associated with susceptibility to different stages of post-schistosomal hepatic fibrosis in the Chinese population *Tissue antigens* 53: 269-274, 1999
 10. D.P. MacManus, A.G.P. Ross, G.M. Williams, A.C. Sleight, P. Wiest, H. Erlich, E. Trachtenberg, W. Guanling, S.T.McGarvey, Y.S. Li, G.J. Waine, HLA class II antigens positively and negatively associated with hepatosplenic schistosomiasis in a Chinese population, *Int.J.Parasitol.* 31:674-680, 2001.



数十年前タイのある無名の僧侶が修行のため瞑想に耽った同じ場所で、私は約一億年前の白亜紀の頃に想いを馳せながら、瞑想、いや夢想にとらわれていました。この場所は、赤土と高温のために乾燥きったようなわずかな葉をつけた木々が灼熱の太陽に照らされて、けだるい鬱屈とした雰囲気をかもしだす、タイ北部コンケイン近くのジェラシックパークである。このジェラシックパーク、通称プウイアン国立恐竜公園は、ハリウッド映画「ジェラシックパーク」とはかけはなれた、素朴でただ白亜紀の遺跡のみを擁するサバンナにある。周囲のタイ特有の高床式の住居が多い貧しい農村からも隔離された、熱帯固有の時間の動きが止まった感のある無人の荒野だけに、古代へ想いを向けるにはまたとない環境といえた。

数十年前にこの無名の僧は瞑想中、白亜紀に特別な思い入れがあって着想したのであろうか、突然足下の地面を掘り出し、ダイノサウルスをはじめとする白亜紀の恐竜化石をそれぞれ石ころのように多く探しあてた。このような、自分のさまざまなアイデアについて周到に検討し、それを実現するための方針を練りに練りながら、突然浮かんだ着想に本能的に確信を抱いてそれを実行に移すことができることは、研究者にとっては最大の喜びであると私は思う。私はその僧侶に感化されて、次々と夢想が浮かぶ。恐竜の MHC はどのようなゲノム構成からなっていたのだろうか？現代ヒトと同様に多型性に富んでいたのだろうか？6千万年前に恐竜が突然地球から姿を消したのは、いまや定説となりつつある隕石の落下ではなく環境の激変に MHC が対応できず、免疫応答の不全から絶滅したのではないだろうか、ひょっとしたら、恐竜はチータのように全く多型性が無かったのでは、それを調べるには恐竜の化石が欲しい、その DNA を手に入りたい、しかし地面を掘ってももちろん DNA は手に入らない、また一億年前の化石から PCR で回収できるほど長い genomic DNA を抽出するのは至難の技である、それをブレイクスルーするには、低温で太陽の紫外線から遮蔽された地下深い洞窟が海底に何らかの地殻変動で移動した恐竜の化石が見つければ良いのだが、それとも恐竜に近い現存する生物はいないだろうか、いるとしたら鳥類であろう、そういえばニワトリはわずか 90 kb の長さしかない貧弱な MHC しかもっていない、しかも多型性もきわめて乏しい、もしかして、、、こうして私の瞑想は次第

に焦点からずれて迷走していく。

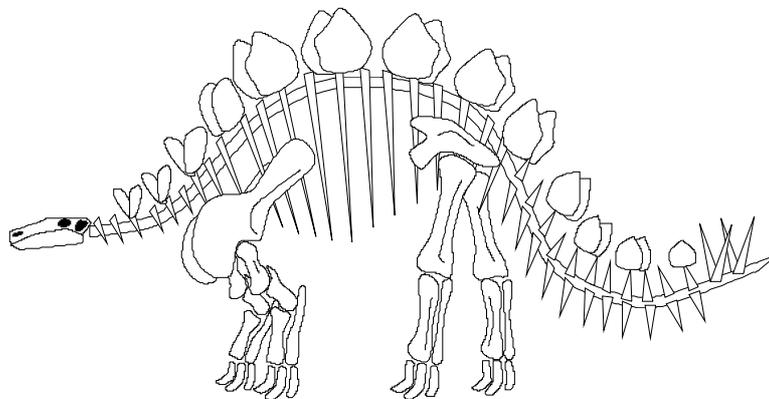
私は、年に一度このタイのコンケインの大学に講義や指導のために来ています。今年2月のその折りにジェラシックパークを訪れ、あらぬ夢を楽しんでいました。このように、貧しい想像力をかきたてながら新しい着想をえて、それを最小限の努力で実現させることを考え、将来の研究の芽を頭の中で育てることほど研究者冥利に尽きることはないでしょう。なぜなら、それが成功するかしないかは全くわからないし、それだからこそ大きな賭けに挑戦できる糸口となるからです。いまから、3年前私にとっては研究面でそのような大きな賭けをしたときでした。

3年前ヒトゲノム塩基配列がほぼ決定されようとしていた時期、我々の研究室も HLA 領域 2.2 Mb のシーケンシングを終了し、次にポストゲノムシーケンシングプロジェクトとして、何をやるべきかを私は冥想に耽っていました。このようなことをまじめに考えると、どうしてもありふれたことしか思いつかないので、私はいつも適当な時期(例えば、飲んでいるとき)に、適当に冥想に耽り(ヒトをはじめとする生物が息づく周囲の風景を眺めてアンテナを働かせながら)思いついたもののなかから、面白そうなものを掘り下げて、さらに夢想することに決めています。3年前のこのときは、ヒトゲノム塩基配列が明らかにされたからには、ヒトの性格や明晰度、はたまた美女、ハンサム、美肌、黒髪などを決定している遺伝子を見つけたいと思いました。これらを支配している遺伝子やその分子機構は、全く想像すらできないほど未知に満ち満ちています。こんな野心的な課題はないであろう、しかしそのようなことをすぐさま研究課題として文科省などに研究申請すれば直ちに却下されるであろう、そこでヒト表現型を支配している遺伝的要因を一般的に明らかにする方法論を編み出し、さきほどのような「美女」といった俗っぽい表現型ではなく、さまざまな「疾患」という表現型、すなわち病気の発症に関わる遺伝子を見つけることにすれば、表向きには時代の要請に合致するであろう。特に、いま問題になっている糖尿病、リウマチ、高血圧、がん、喘息、ぼけなどのいわゆる生活習慣病は多くの遺伝子が発症にかかわる複合遺伝疾患であり、さきほどの性格、明晰度、美女、ハンサム、美肌、黒髪なども同様に多くの遺伝子が複合的に関与しているであろうから、疾患解析は良い練習問題になるであろう。そこで、疾患感受性遺伝子の同

定を目的として、ヒトゲノム塩基配列から疾患感受性遺伝子をマッピングして、その病因となる変異(多型)を見いだす方法論を考えることにしました。その方法論さえ確立すれば、美女を決定する遺伝子も同じ方法で、見いだすことも夢ではなくなるであろう。

これがいわゆるゲノム多様性解析 (Human Genome Diversity) である。すなわち、疾患遺伝子ハンティングのために患者と健常者間での全ゲノム塩基配列の違い、すなわち多型性を徹底的に調べあげれば、疾患発症に関わる遺伝子変異あるいは多型につきあたるはずである。ゲノムの塩基配列が微妙に違う(遺伝子内では、他人同志の2人のゲノム塩基配列は1,000塩基に一塩基の違いがあるといわれている)からこそ、疾患発症などの表現型が個人個人によって違うと考える。しかしながら、実際には、全ゲノム配列を多くの患者と健常者について決定して比較するのは現実的ではないから、効率的に疾患発症に関わる塩基配列の変異(多型)部位の位置をヒトゲノム30億塩基配列から探し出す方法(いわゆるマッピング)が、重要な鍵を握る。

私は、この疾患遺伝子のマッピングの方法として、アメリカをはじめとするほぼ全ての研究者が SNP (single nucleotide polymorphism: 一塩基多型)を遺伝多型マーカーとして用いようとしているのに逆らって、長年の HLA 多型を用いた疾患の相関解析の経験から、マイクロサテライトを用いる方が効率としては良いのではないかと直感的に考えて、マイクロサテライトプロジェクトをたちあげようと思いました。そして、それ以降の3年間は、アイデアをえた冥想中の至福の時から、一変して世の中の批判にさらされる生々しい俗世界に引きずり出されることになりました。以降は、次回で。



基礎講座 「HLA の基礎の基礎」

防衛医科大学校検査部 小林 賢

はじめに

HLA は、1952 年に抗白血球抗体として Dausset により発見されてから今年で 50 年になり、ちょうど半世紀が過ぎたことになる。その間に、HLA の研究は目覚ましい進歩を遂げ、移植や輸血をはじめ私たち人類の福祉に大いに貢献してきた。ここに「HLA の基礎の基礎」という題目のシリーズを書く機会を頂いたので、今一度 HLA の歴史を振り返り、その発展とともに歩んできた道を辿りながら、HLA という学問を理解していただけるようにできる限りやさしく、わかりやすく書いていきたいと考えている。このシリーズが読者にとって HLA を学ぶ上で役に立つことを願っている。

HLA とは

T細胞が非自己抗原を認識して排除するためには、細胞は必ず自己のHLA分子と消化された抗原ペプチドとが結合して細胞膜上に提示されなければならない。自己のHLAクラス 分子と消化された外来抗原ペプチドとの複合体をヘルパーT細胞が認識することにより抗体産生系に関する免疫応答反応が開始される。また、消化されたウイルス抗原ペプチドなどの細胞内抗原はHLAクラス 分子に結合して提示され、細胞傷害性T細胞により認識され、直接破壊される。HLA抗原は、免疫機構において自己と非自己を識別する遺伝的標識であり、自己以外の抗原を排除するのに重要な役割を演じている細胞膜結合型タンパク質である。そのため、移植時における提供者と患者との適合性を判定するのに重要な指標となっている。

ヒトの主要組織適合性遺伝子複合体 (major histocompatibility complex, MHC) は、第6染色体の短腕部 (6p21.3) の3.6Mbp内に位置し、細胞傷害性T細胞に細胞内で産生されたペプチドを提示するMHCクラス 分子とヘルパーT細胞にペプチドを提示するMHCクラス 分子をコードする遺伝子群である。

ヒトのMHCであるHLA抗原は最初、白血球上の抗原として発見されたが、その後の研究で白血球だけでなく様々な細胞や組織に広く分布していることが判明した。ヒトのMHCクラス 分子には、すべての有核細胞と血小板上に発現されているHLA-A、B、C抗原などがある。また、ヒトのMHCクラス 分子には、B細胞、樹状細胞、ランゲルハンス細胞、単球、マクロファージなどの限定された組織あるいは細胞にしか表現されていないHLA-DP、DQ、DR抗原などがある。MHC遺伝子領域には、それ以外にも補体成分 (C2、C4、Bf)、21-ヒドロキシラーゼ (21-OH)、腫瘍壊死因子 (tumor necrosis factor, TNF) や熱ショックタンパク質遺伝子 (heat shock protein, HSP) などを支配するMHCクラス 遺伝子領域が存在する。MHC遺伝子領域には、上記の遺伝子座をはじめ、抗原のプロセッシングに関与するLMP (large multifunctional protease) や抗原ペプチドを小胞体に運搬するTAP (transporter associated with antigen processing) などをコードする遺伝子などを含め、今までに約230の遺伝子座が発見されている。その約20%が免疫システムに関連した機能遺伝子である。

表1 HLA初期に使用していた各施設の名称

現在の名称	1967年の名称	Dausset	van Rood	Payne	Walford	Ceppellini	Amos	Terasaki
HLA-A1	HL-A1	11	LA1	LA1	Lc-1	To-8	19	1
HLA-A2	HL-A2	Mac	8a	LA2	Lc-2	To-9	1	2
HLA-A3	HL-A3	12	LA3	LA3	Lc-3	To-10	4	8
HLA-Bw4	HL-A4*		4a					
HLA-A5	HL-A5	5	Da5			To-5	45	6
HLA-Bw6	HL-A6*		4b					
HLA-A7	HL-A7	10	7c	4d	Lc-8	To-20	2	5
HLA-A8	HL-A8	8	7d	7d	Lc-7	To-7	41	11

* HLA-A4とHLA-A6は、高頻度抗原に対して用意された名称でWHOの命名表には掲載されていない。

HLAの始まり

遺伝的多型性の概念は、1900年にLandsteinerがABO式血液型を発見したのが始まりと考えられている。一方、主要組織適合性複合体 (major histocompatibility complex; MHC) の概念は、1936年にイギリスのGorerとアメリカのSnellがマウスの血液型に関連した抗原が皮膚移植片に対する拒絶反応と強い関わりをもっていることを見だし、Histocompatibility-2抗原(H-2抗原)と命名したことに端を発している。その後、H-2抗原を支配している遺伝子領域は、近交系マウスを用いた解析により第17染色体上に存在する複数の領域からなる遺伝子複合体であると1948年にGorerとSnellにより明らかにされた。1960年代始めBenacerrafやMcDevittらは、マウスの免疫応答を司る遺伝子領域がMHC領域内に存在していることを明らかにし、この領域を領域と命名した。

ヒトのMHC抗原であるHLA抗原は、1952年フランスのJean Daussetが頻回輸血患者血清中に白血球凝集試験で反応する抗体を見出し、これに対応する抗原を後にMac抗原(現在のHLA-A2抗原)と命名したことに始まる。また、輸血患者以外の経産婦や妊産婦から得られた血清中にも同様な抗体が、Jan van Roodら(1958年)、Rose PayneとW. Bodmerら(1964年)により次々と見出されている。そして、それらの抗原に対してvan Roodらは"Four"シリーズを、Payneらは"LA"シリーズをそれぞれ提唱した。Van Roodらが提唱した"Four"シリーズでは4aと4bという抗原が最初に示され、現在のBw4とBw6に至っている。一方、Payneらが提唱した"LA"シリーズではLA-1、LA-2やLA-3が示され、現在のHLA-A1、HLA-A2そしてHLA-A3となってい

る。また、Daussetら(1965年)はマウスのH-2と対比し、ヒトの白血球抗原をHu-1と名付けた。表1に示すように、このHLAの創生期に各研究室から次々と白血球抗原が見出され、それらについて独自の名称が付けられていた。そのため、どれとどれが同じ抗原なのか違うのかという問題が起きてきた。それを一度整理しようという気運が高まり、アメリカのD. B. Amosにより第1回目の国際ワークショップ(1964年)が開催された。その後、1996年までの約30年間に12回の国際ワークショップが開催され、HLAの発展に寄与してきた(表2)。また、今年の5月には第13回の国際ワークショップがカナダのビクトリアで開催される。これらの国際ワークショップで議論された内容に基づき、ワークショップ終了後にWHOがスポンサーとなって命名委員会が開催され、新たに認められた抗原に名称が付与されてきた。この委員会での結果は、"*Histocompatibility Testing*"と題したワークショップ報告書に掲載されてきた。ところが、第10回国際ワークショップ(1987年)以降、Histocompatibility TestingはHLA学の一領域であるという認識に代わってきたため報告書に記された題名からは"*Histocompatibility Testing*"が消え、別な名称が使用されるようになってきた。このことは今までに歩んできたHLAと訣別し、新たな道程への出発を意味するものであるように思われる。

マウスやヒトの組織適合性抗原に関する先駆的研究を行ったSnell、BenacerrafおよびDaussetは1980年にノーベル生理学賞を受賞している。このことは、組織適合性抗原が医学において重要な役割を担い、人類の福祉に貢献してきた証でもある。

表2 歴代の国際組織適合性ワークショップ

回数	開催年月	会長	開催都市	開催国
第1回	1964年6月	D. B. Amos	Durham	USA
第2回	1965年8月	J.J. van Rood	Leiden	Netherlands
第3回	1967年6月	R. Ceppellini	Torino	Italy
第4回	1970年1月	P. I. Terasaki	Los Angeles	USA
第5回	1972年5月	J. Dausset	Evian	France
第6回	1975年6月	F. Kissmeyer-Nielsen	Arhus	Denmark
第7回	1977年9月	W. Bodmer	Oxford	UK
第8回	1980年2月	P. I. Terasaki	Los Angeles	USA
第9回	1984年5月	E. Albert, W. Mayr	Munich and Vienna	Germany and Austria
第10回	1987年11月	Bo Dupont	Princeton and New York	USA
第11回	1991年11月	K. Tsuji, K. Aizawa, T. Sasazuki	Yokohama	Japan
第12回	1996年6月	D. Charron	St. Malo and Paris	France
第13回	2002年5月	J. A. Hansen	Victoria and Seattle	Canada and USA

HLA クラス I 抗原分子の構造

HLA 抗原は、その構造、生物学的機能などからクラス とクラス 抗原系とに分類されている。古典的な抗原として、クラス では HLA-A、HLA-B と HLA-C が、クラス では HLA-DR、HLA-DQ と HLA-DP がそれぞれ定義されている。一方、近年の概念としてこれらの抗原以外を非古典的抗原とし、上記以外の抗原系が分類されている。

HLA クラス I 抗原分子の構造は、糖鎖が結合した糖タンパク質である。界面活性剤、タンパク質分解酵素や高濃度の塩を用いて細胞膜から抗原分子を可溶化した分子の研究から、クラス I 抗原分子は、分子量 44,000 (H 鎖) と 12,000 (L 鎖) のサブユニットから構成されていることが Tanigaki ら (1974 年) により明らかにされた。このサブユニットについて血清学的に抗原性を調べた結果、前者の H 鎖にアロ抗原性が存在するのに対し、L 鎖にはそれが存在しないことが明らかとなった。界面活性剤で処理した H 鎖の分子量が 44,000 であったのに対し、タンパク質分解酵素であるパインで処理した場合にはその分子量が 34,000 と異なるものであった。この相違について Springer ら (1976 年) が解析

を行い、この H 鎖が細胞膜を貫通しているということを明らかにした。Tanigaki らが HLA-A2 と HLA-B7 抗原タンパク質を対象にアミノ酸の組成を比較した結果や Terhorst ら (1976 年)、Ballou ら (1976 年) と Bridgen ら (1976 年) のアミノ酸配列の解析から、両者の相違はほんのわずかであることが判明した。

一方、L 鎖については Nakamuro ら (1973 年) により、ヒトの尿中で見出される β_2 -ミクログロブリンと同一の物質であることが突きとめられた。この β_2 -ミクログロブリンと H 鎖 (α 鎖) の $\alpha 3$ ドメインは、免疫グロブリンとアミノ酸配列レベルで相同性を示し、類似した構造を形成している。

H 鎖と L 鎖は、いずれとも分子内にジスルフィド結合が存在しており、三次構造を形成していることが明らかとなった。また、HLA 抗原分子は、この H 鎖と L 鎖とが非共有的に結合した四次構造の糖タンパク分子であった。この四次構造について Bjorkman ら (1987 年) が X 線解析法を HLA-A2 抗原タンパク質に用いて実際の立体構造を決定している (図 1)。

今までの解析により、HLA クラス I 抗原分子は、アロ抗原

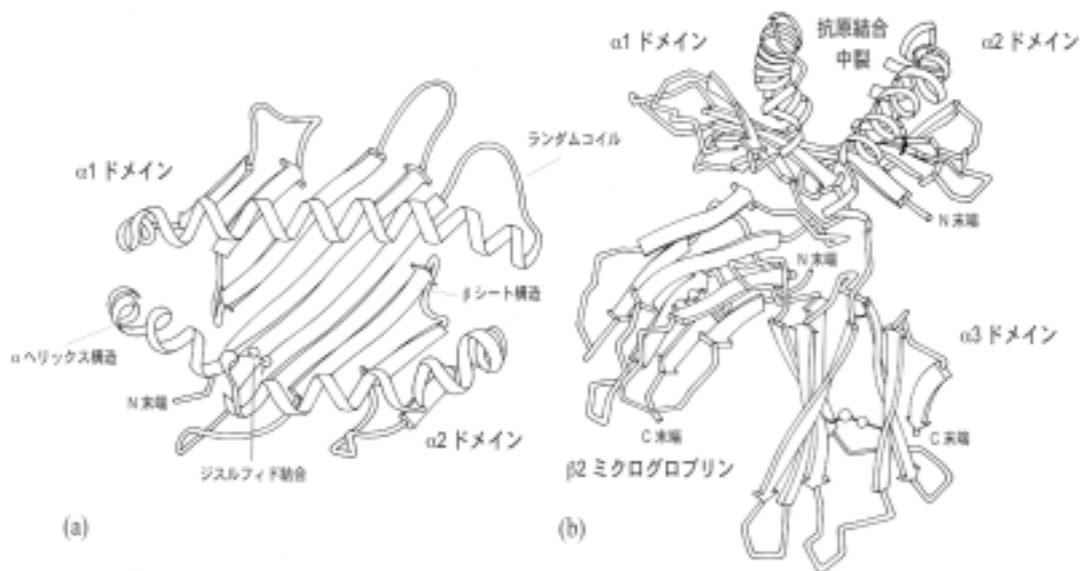


図 1 HLA クラス I 分子 (HLA-A2) の立体構造

(a)は、HLA クラス I 分子 (HLA-A2) の立体構造を上からリボンで模式的に示した。 $\alpha 1$ ドメインと $\alpha 2$ ドメインでもって、らせん構造をとった上下 2 つの α ヘリックス構造とその床に位置する逆 β シート構造によって抗原ペプチドを結合する中裂 (cleft) を形成している。(b)は、HLA クラス I 分子 (HLA-A2) の立体構造をリボンで模式的に正面から示した。細胞膜を貫通した分子量 44,000 の H 鎖 (α 鎖) と貫通していない分子量 12,000 の β_2 -ミクログロブリンとが非共有結合して HLA 分子クラス I を形成している。

性を示す分子量 44,000 の H 鎖 (α 鎖) と分子量 12,000 の免疫グロブリンと類似性を示す β_2 -ミクログロブリンの 2 つのサブユニットが非共有的に結合した四次構造の糖タンパク質で、H 鎖 (α 鎖) のみが細胞膜を貫通している (図 1b)。また、H 鎖 (α 鎖) は、外来抗原ペプチドを結合する $\alpha 1$ (90 個のアミノ酸) と $\alpha 2$ ドメイン (93 個のアミノ酸)、それに免疫グロブリンと類似性を示す $\alpha 3$ ドメイン (91 個のアミノ酸) の 3 つの細胞外ドメイン、細胞膜結合・膜貫通ドメイン (40 個のアミノ酸) と細胞内ドメイン (28 個のアミノ酸) の 342 個のアミノ酸 (一部の HLA 抗原で異なることがある) から形成されている。また H 鎖 (α 鎖) タンパク分子は、 $\alpha 2$ ドメインの 101 と 164 番目、そして $\alpha 3$ ドメインの 203 と 259 番目に位置するシステイン残基間でそれぞれジスルフィド結合によりループを形成している。

一方、H 鎖に結合した糖鎖の大きさは、分子量 3,000 程度と考えられている。この糖鎖は、 $\alpha 1$ ドメインに位置する 86 番目のアスパラギンに N 結合型複合糖鎖として結合している。

図 1a に示したように HLA クラス I 分子の二次構造は、 $\alpha 1$ と $\alpha 2$ ドメインの β シート構造と α ヘリックス構造、その支えとなる基本的に β シート構造の $\alpha 3$ ドメインで形成されている。 $\alpha 1$ と $\alpha 2$ ドメインの α ヘリックス構造は、互いに向き合い、その下側に β シート構造がおかれ、消化された細胞内抗原ペプチド (例えば細胞内ウイルス) を抗原提示させるために必要な中裂 (cleft) あるいはグローブを形成している。この中裂に結合する抗原ペプチドは、通常 8 ~ 10 個のアミノ酸からなるペプチドである。抗原提示機構などについては改めて詳細に記述することにする。 $\alpha 1$ ドメインは、N 末端から逆向きの β シート構造 (逆 β シート構造) が 4 回つくられ、その後 α ヘリックス構造を形成している。その後ろに $\alpha 2$ ドメインの逆 β シート構造が 4 回と α ヘリックス構造が続く。 $\alpha 1$ ドメインの逆 β シート構造は、3 ~ 12 番目の 10 個のアミノ酸、21 ~ 28 の 8 個のアミノ酸、32 ~ 37 の 6 個のアミノ酸、45 ~ 48 の 4 個のアミノ酸で形成している。この逆 β シート構造につづく $\alpha 1$ ドメインの α ヘリックス構造は、50 ~ 52 番目の 3 個のアミノ酸と 57 ~ 85 の 29 個のアミノ酸で形成している。一方、 $\alpha 2$ ドメインの逆 β シート構造は、94 ~ 103 番目の 10 個のアミノ酸、109 ~ 118 の 10 個のアミノ酸、121 ~ 126 の 6 個のアミノ酸と 133 ~ 135 の 3 個のアミノ酸で形成している。これにつづく $\alpha 2$ ドメインの α ヘリックス構造は、141 ~ 150 番目の 10 個のアミノ酸、152 ~ 161 の 10 個のアミノ酸、163 ~ 174 の 12 個のアミノ酸と 176 ~ 179 の 4 個のアミノ酸で形成している。抜けている番号のアミノ酸は、折り返し構造を形成するためのランダムコイルになっている。中裂を形成している逆 β シート構造は、外側ほど短い構造になっている。中裂の大きさは、長さが 2.5 nm、幅が 1 nm、深さが 1.1 nm である。

HLA クラス I 抗原分子の構造

HLA クラス I 抗原分子は、分子量 34,000 と 28,000 の 2

つの糖タンパク質から構成されていることを Humphreys ら (1976 年) が放射性同位元素で標識した細胞を界面活性剤で可溶化し、アロ血清と反応させた後、SDS-ポリアクリルアミドゲル電気泳動の解析で明らかにした。また、Snary ら (1976 年) は界面活性剤で処理した抗原が分子量 33,000 の糖タンパク質と 28,000 の糖タンパク質とが非共有的に結合していることを明らかにした。また、Springer ら (1977 年) により、 α 鎖と β 鎖のアミノ酸配列の一部が明らかにされた。これらの研究成果からクラス I 抗原分子は、分子量 34,000 の糖タンパク質 (α 鎖) と 28,000 の糖タンパク質 (β 鎖) とが非共有的に結合したヘテロ二量体 (heterodimer) の細胞膜結合型抗原であり、 α 鎖と β 鎖のいずれも細胞膜を貫通している (図 2b)。基本的には、クラス I と同様な立体構造を形成している。

HLA-DR α 鎖と HLA-DP α 鎖分子は、 $\alpha 1$ ドメイン (85 個のアミノ酸)、 $\alpha 2$ ドメイン (93 個のアミノ酸)、細胞膜結合・膜貫通部分 (36 個のアミノ酸、内膜内ドメインは 23 個のアミノ酸)、細胞内ドメイン (15 個のアミノ酸) の計 229 個のアミノ酸から構成されている。それに対し、HLA-DQ α 鎖分子の $\alpha 1$ ドメインは 88 個のアミノ酸と 3 つアミノ酸が多い構造になっている。

一方、HLA-DR β 鎖と HLA-DQ β 鎖分子は、 $\beta 1$ ドメイン (95 個のアミノ酸)、 $\beta 2$ ドメイン (93 個のアミノ酸)、細胞膜結合・膜貫通部分 (33 個のアミノ酸、内膜内ドメインは 23 個のアミノ酸)、細胞内ドメイン (16 個のアミノ酸) の計 237 個のアミノ酸から構成されている。ただし、一部の DQ β 鎖分子では細胞内ドメインが 8 アミノ酸短い 229 個のアミノ酸から構成されているアリルがある。それに対し、HLA-DP β 鎖分子では、 $\beta 1$ ドメインが 2 アミノ酸、そして細胞内ドメインが 6 アミノ酸短い 229 個のアミノ酸で構成されている。また、 β 鎖分子は、 $\beta 1$ ドメインの 15 と 79 番目、そして $\beta 2$ ドメインの 117 と 173 番目に位置するシステイン残基間でそれぞれジスルフィド結合によりループを形成している。

HLA-DR α 鎖には、等電点電気泳動や二次元電気泳動の解析で多型性がみられていないが、DR β 鎖の $\beta 1$ ドメインに相当するペプチドに DR 特異性と一致した多型性が認められることから、HLA-DR 抗原の特異性を決定しているのは β 鎖 ($\beta 1$ ドメイン) であり、 α 鎖にはないと考えられている。ところが、HLA-DQ 抗原分子は α 鎖と β 鎖のいずれにも二次元電気泳動で多型性がみられることなどから、HLA-DQ 抗原の特異性は α 鎖と β 鎖の両方に存在すると考えられている。

抗原タンパク質に結合している糖鎖の分子量は 5,000 程度と考えられている。 β 鎖分子には、 $\beta 1$ ドメインに位置する 19 番目のアミノ酸に N 結合型の複合糖鎖が結合している。一方、 α 鎖分子には、 $\alpha 1$ ドメインに位置する 78 番目のアスパラギンに N 結合型の高マンノース型糖鎖と $\alpha 2$ ドメインに位置する 118 番目のアスパラギンに N 結合型の複合糖鎖が

それぞれ結合している。また、 α 鎖分子は、 $\alpha 2$ ドメインの 107 と 163 番目に位置するシステイン残基間でそれぞれジスルフィド結合によりループを形成している。クラス 抗原分子の四次構造について Brown ら (1993 年) が X 線解析法を HLA-DR1 抗原タンパク質に用いて実際の立体構造を決定している (図 2)。

HLA クラス 分子の二次構造は、 α 鎖の $\alpha 1$ ドメインの α ヘリックス構造と β シート構造、その支えとなる β シート構造の $\alpha 2$ ドメインで形成されている。また、 β 鎖も α 鎖と同様に $\beta 1$ ドメインの α ヘリックス構造と β シート構造、その支えとなる β シート構造の $\beta 2$ ドメインで形成し、クラス 分子と類似した構造となっている。 $\alpha 1$ と $\beta 1$ ドメインの α ヘリックス構造は、消化された外来抗原ペプチド (例えば細菌) を結合させるための中裂あるいはグローブを形成している (図 2a)。この中裂に結合する抗原ペプチドは、通常 15 個前後のアミノ酸からなるペプチドである。 $\alpha 1$ ドメインは、N 末端から逆 β シート構造が 4 回つくられ、その後 α ヘリックス構造を形成している。そ

の後に $\alpha 2$ ドメインの逆 β シート構造が続く。 $\alpha 1$ ドメインの逆 β シート構造は、5 ~ 15 番目の 11 個のアミノ酸、19 ~ 27 の 9 個のアミノ酸、29 ~ 35 の 7 個のアミノ酸、39 ~ 44 の 6 個のアミノ酸で形成している。この逆 β シート構造につづく $\alpha 1$ ドメインの α ヘリックス構造は、45 ~ 52 番目の 8 個のアミノ酸と 55 ~ 79 の 25 個のアミノ酸で形成している。 $\beta 1$ ドメインも $\alpha 1$ ドメインと同様に、N 末端から逆 β シート構造が 4 回つくられ、その後 α ヘリックス構造を形成している。 $\beta 1$ ドメインの逆 β シート構造は、7 ~ 18 番目の 12 個のアミノ酸、23 ~ 33 の 11 個のアミノ酸、35 ~ 42 の 8 個のアミノ酸と 45 ~ 50 の 6 個のアミノ酸で形成している。これにつづく $\beta 1$ ドメインの α ヘリックス構造は、52 ~ 71 番目の 20 個のアミノ酸と 73 ~ 93 の 21 個のアミノ酸で形成している。抜けている番号のアミノ酸は、折り返し構造を形成するためのランダムコイルになっている。

(以下次号)

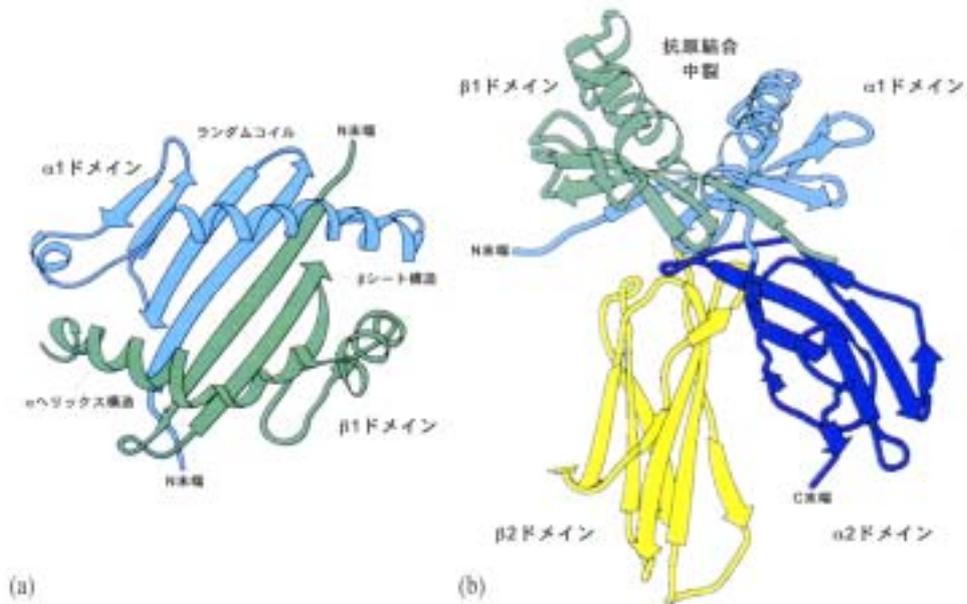


図 2 HLA クラス 分子 (HLA-DR1) の立体構造

(a) は、HLA クラス 分子 (HLA-DR1) の立体構造を上部からリボンで模式的に示した。 $\alpha 1$ ドメインと $\beta 1$ ドメインでもって、らせん構造をとった上下 2 つの α ヘリックス構造とその床に位置する逆 β シート構造で抗原ペプチドを結合する中裂 (cleft) を形成している。(b) は、HLA クラス 分子 (HLA-DR1) の立体構造をリボンで模式的に正面から示した。細胞膜を貫通した分子量 34,000 の α 鎖と分子量 28,000 の β 鎖とが非共有結合して HLA クラス 分子を形成している。

用語解説(あいうえお順)

N結合型糖鎖

糖鎖がタンパク質に結合する様式にはN結合型とO結合型の2種類ある。アスパラギン(Asn)がAsn-X-Ser(Thr)という配列になっている場合、Asnのアミノ基にNH-C結合でN-アセチルグルコサミン(GlcNAc)を還元末端とする糖鎖が結合することをN結合型糖鎖という。また、O結合型糖鎖はセリン(Ser)またはスレオニン(Thr)のOH基にO-C結合でN-アセチルガラクトサミン(GalNAc)が結合するものである。

界面活性剤

液体と固体、液体と気体あるいは溶け合わない2つの物質の境界面に作用し、その界面の性質を変化させる物質をいう。

サブユニット

一つの機能を発揮するタンパク質が複数の成分から構成されていて、それらの間に共有結合が存在しない場合に、その構成成分をサブユニットという。

ジスルフィド結合

2個のSH基間で酸化的に形成される $-CH_2-S-S-CH_2-$ の形の硫黄原子(S)間の結合をいう。一般的にタンパク分子中のシステイン残基において見られるものを指す。この結合は、タンパク質の安定化に役立っている。

腫瘍壊死因子

サイトカインのひとつで、マクロファージやT細胞によって産生される。細胞死、細胞増殖や炎症を引き起こし、免疫応答を調製する。

樹状細胞

リンパ組織のT細胞領域に見出される相互連結性嵌入細胞、末梢非リンパ組織の間質細胞、輸入リンパ内のペール細胞などをいう。極めて高い抗原提示能を示し、ヘルパーT細胞およびキラーT細胞への増殖活性を誘導する。

タンパク質の構造

一次構造

ペプチドやタンパク分子におけるアミノ酸の配列順序を示したものを一次構造という。

二次構造

タンパク分子が部分的にらせん構造(α ヘリックス構造)、シート状構造(β シート構造)ないしはそのいずれでもない構造(ランダムコイル構造)とよばれる3種類の構造をタンパク質の二次構造という。

三次構造

二次構造のタンパク質がさらにイオン結合、疎水結合、水素結合やジスルフィド結合などにより三次元的に折り畳まれた立体構造をいう。

四次構造

三次構造をもつタンパク分子が水素結合や静電結合などにより複数個組み合わさって一つの機能を発現する場合の全体の構造の名称をいう。

ドメイン

タンパク分子の構造上、または機能上の一つのまとまりをもつ領域(単位構造領域)をドメインという。

非共有結合

共有結合以外の水素結合、イオン結合やファンデルワールス力などを非共有結合という。共有結合は、原子と原子が2個の電子(電子対)を共有することによってつくられる結合をいう。分子を形づくる原子間の結合の大部分はこの結合による。

ペプチド

一方のアミノ酸のカルボキシル基($-COOH$)と次のアミノ酸のアミノ基($-NH_2$)との間でペプチド結合し、次々とつながり鎖状となったものをいう。タンパク質はペプチドの一種である。

輸入リンパ

末梢組織の外来抗原を取り込んだ樹状細胞は、「輸入リンパ管」を介してリンパ節に入って来ます。リンパ節に入る過程は、動脈からと輸入リンパ管からとがあります。

ランゲルハンス細胞

上皮に見出される貪食性の樹状細胞で、リンパ管を通じて上皮から局所リンパ節に移動して樹状細胞に分化する。

集団遺伝学の基礎講座(1)

-ハーディ・ワインバーグ平衡と対立遺伝子頻度の推定-

東京大学医学部人類遺伝学教室 大橋 順

集団遺伝学は、集団中における対立遺伝子頻度が世代経過に伴って変化する様子を解析する学問であり、生物進化の基本メカニズムを理解する手助けをしてくれます。今回から数回にわたり、集団遺伝学の基礎理論について解説したいと思います。

ハーディ・ワインバーグの法則

任意交配している二倍体集団では、その集団サイズが大きいと、各遺伝子型頻度間に簡単な関係式が成立します。この関係をハーディ・ワインバーグの法則といい、1908年にイギリス人のHardyとドイツ人のWeinbergによって独立に報告されました。ここでは、常染色体上の遺伝子座に、二つの対立遺伝子Aとaが存在する場合を例に、ハーディ・ワインバーグの法則について説明します。この場合、三つの遺伝子型AA、Aa、aaが存在します。AA、Aa、aaの遺伝子型頻度をそれぞれP、2Q、Rとおくと($P+2Q+R=1$)、ハーディ・ワインバーグの法則とは、集団が任意交配している場合に、P、Q、Rの間に

$$Q^2 = PR \quad (1.1)$$

の関係式が成り立つことをいいます。また、そのような関係が成り立っている場合に、その集団はハーディ・ワインバーグ平衡状態にあるといえます。この関係式が成立する理由を、交配表から考えたいと思います。表1を見て下さい。遺伝子型に基づいた交配の組み合わせは9通りあります。ハーディ・ワインバーグ平衡が成り立つための必要条件である任意交配とは、交配の組み合わせが遺伝子型に影響を受けないこと、言い換えれば、ある組み合わせの交配が起こる確率が、父親と母親の遺伝子型頻度の積で与えられる状況をいいます。例えば、父親の遺伝子型がaa、母親の遺伝子型がAaである交配であれば、2QRの確率で起こるような状況です。ここで、父親と母親の遺伝子型頻度に差は無いとしています。次に、各交配から生まれる子供の遺伝子型と頻度を考えます。上の例では、生まれてくる子供の遺伝子型とその確率は、AAが0、Aaが0.5、aaが0.5となります。9通り全ての交配の組み合

		父親		
		AA (P)	Aa (2Q)	aa (R)
母親	AA (P)	P ²	2PQ	PR
	Aa (2Q)	2PQ	4Q ²	2QR
	aa (R)	PR	2QR	R ²

表1. 遺伝子型に基づく可能な交配の組み合わせとその確率。

父親	母親	頻度	子供		
			AA	Aa	aa
AA	AA	(P)(P)	1	0	0
AA	Aa	(P)(2Q)	0.5	0.5	0
AA	aa	(P)(R)	0	1	0
Aa	AA	(2Q)(P)	0.5	0.5	0
Aa	Aa	(2Q)(2Q)	0.25	0.5	0.25
Aa	aa	(2Q)(R)	0	0.5	0.5
aa	AA	(R)(P)	0	1	0
aa	Aa	(R)(2Q)	0	0.5	0.5
aa	aa	(R)(R)	0	0	1

表2. 交配タイプ別の各遺伝子型(子供)出現確率。

わせは、表2のように表すことができます。これより、子供集団中でのAAの頻度 P_1 は、

$$\begin{aligned}
 P_1 &= (1)P^2 + \left(\frac{1}{2}\right)2PQ + \left(\frac{1}{2}\right)2PQ + \left(\frac{1}{4}\right)4Q^2 \\
 &= P^2 + 2PQ + Q^2 \\
 &= (P + Q)^2
 \end{aligned}
 \tag{1.2}$$

と表すことができます。同様に、子供世代のAaとaaの遺伝子型頻度 $2Q_1$ 、 R_1 は

$$\begin{aligned}
 2Q_1 &= 2(P + Q)(R + Q) \\
 R_1 &= (R + Q)^2
 \end{aligned}
 \tag{1.3}$$

となります。従って、子供世代においても

$$Q_1^2 = P_1 R_1 \tag{1.4}$$

の関係式が成立します。Aとaの対立遺伝子頻度が、 $P+Q=p$ と $Q+R=q$ であることから(図1) 遺伝子型頻度は、AAが p^2 、Aaが $2pq$ 、aaが q^2 となっていることが分かります。任意交配集団ではこれが繰り返されるため、遺伝子型頻度はAAが p^2 、Aaが $2pq$ 、aaが q^2 のままで世代が経過しても変化せず、また遺伝子頻度も変化しないことが理解できます。ここでは2対立遺伝子の場合を考えましたが、同じ原理が3種類以上の複対立遺伝子の場合にも成立します。すなわち、任意交配集団に A_1 から A_n までの n 個の対立遺伝子が存在するとき、各遺伝子型の頻度は、 $A_i A_i$ が p_i^2 、 $A_i A_j$ が $2p_i p_j$ と与えられます。ここで、 p_i は A_i の対立遺伝子頻度を表しています。

ハーディ・ワインバーグ平衡検定

任意交配が行われていれば、ハーディ・ワインバーグ平衡が成り立つと予想されますが、自然選択などの影響のために平衡が成立しない場合もあります。ハーディ・ワインバーグ平衡から統計学的に有意にずれているか否かは、ピアソンのカイ2乗検定や尤度比検定によって評価することができます。いま、ある集団から747人をサンプルしてMN式血液型を調べたところ、MM個体が233人、MN個体が385人、NN個体が129人であったとします(表3)。サンプル中のM対立遺伝子の頻度は、 $(2 \times 233 + 385) / (2 \times 747) = 0.5696$ であり、N対立遺伝子の頻度は、 $(2 \times 129 + 385) / (2 \times 747) = 0.4304$ であるので、ハーディ・ワインバーグ平衡下で期待されるMM個体の頻度は、 $(0.5696)^2 = 0.3245$ 、MN個体の頻度は $2(0.5696)(0.4304) = 0.4903$ 、NN個体の頻度は $(0.4304)^2 = 0.1852$ となります。これらの値に、サンプルした総個体数747をかけあわせると、ハーディ・ワインバーグ平衡下で期待されるMM、MN、NNの個体数は表3のよ

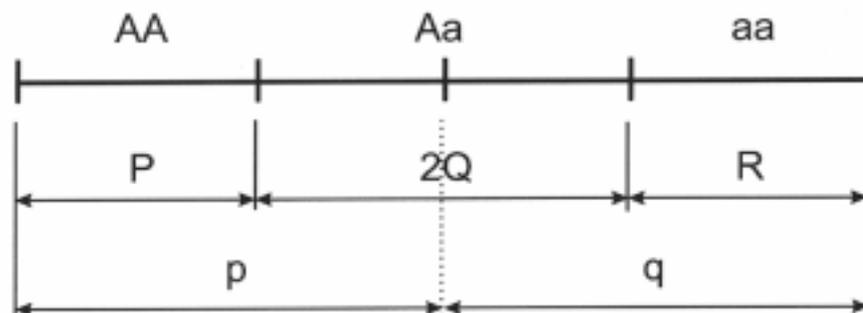


図1. 1遺伝子座における遺伝子型頻度 P 、 $2Q$ 、 R と遺伝子頻度 p と q の関係。

うになります。ピアソンのカイ 2 乗検定では、表 3 の観察数と期待数との間に統計学上有意な差が存在するか否かを検定します。計算されたカイ 2 乗統計量 $(O-E)^2/E$ を足し合わせたものは 1.9555 であり、この場合の自由度は 1 であるので、P 値は 0.1620 となります。したがって、有意水準 5% で、対立仮説「調べられた集団はハーディ・ワインバーグ平衡にはない」を棄却し、帰無仮説「調べられた集団はハーディ・ワインバーグ平衡にある」を採択することになります。

	MM	MN	NN	Total
観察数 (O)	233	385	129	747
期待数 (E)	242.37	366.26	138.37	747
$(O-E)^2/E$	0.3622	0.9588	0.6345	1.9555

表3. MN式血液型の遺伝子型別観察数.

尤度比検定では、二つの尤度を計算し、それらを比較することになります。MM、MN、NN 個体の遺伝子型頻度を、P、Q、R とすると ($P+Q+R=1$) 747 人を調べて、MM 個体が 233 人、MN 個体が 385 人、NN 個体が 129 人である尤度は、各個体を区別して考えれば

$$L = P^{233} \times Q^{385} \times R^{129} \quad (1.5)$$

で表されます。式(1.5)の対数をとると、

$$\ln L = 233 \ln P + 385 \ln Q + 129 \ln R \quad (1.6)$$

となります。式(1.5)および式(1.6)を最大にする P、Q、R の値は、 $233/747=0.3119$ 、 $385/747=0.5154$ 、 $129/747=0.1727$ です。このときの対数尤度の値は $\ln L_1 = -753.19$ になります。ハーディ・ワインバーグ平衡の制約下では、P、Q、R の値は、先ほど計算したように 0.3245、0.4903、0.1852 となります。このときの対数尤度の値は $\ln L_0 = -754.17$ となります。尤度比検定におけるカイ 2 乗統計量は $2(\ln L_1 - \ln L_0) = 1.9592$ であり、この場合の自由度も 1 なので、得られる P 値は 0.1616 となります。したがって、有意水準 5% で、対立仮説を棄却し、帰無仮説を採択することになります。尤度比検定の結果とピアソンのカイ 2 乗検定の結果とを比べると、両者がよく一致していることが分かります。

検定の結果、集団がハーディ・ワインバーグ平衡状態になかったのであれば、それに対していくつかの理由を考えることができます。一つは、接合体が形成されてからサンプルされるまでの間に自然淘汰が働き、遺伝子型頻度がハーディ・ワインバーグ平衡状態からずれたことが考えられます。すなわち、遺伝子型によって生存率が異なる可能性が考えられます。二つめは、集団が任意交配をしていない可能性が考えられます。すなわち、ある遺伝子型とある遺伝子型との交配が起こりやすかったり、起こりにくかったりする可能性です。三つめとしては、サンプルが一つの集団からとられていなかった可能性が考えられます。いま、対立遺伝子頻度が異なる二つの集団があり、それぞれの集団ではハーディ・ワインバーグ平衡が成立していると仮定します。この二つの集団から無作為にサンプルを選んだとすると、サンプル全体では、ハーディ・ワインバーグ平衡から予測されるよりも多くのホモ接合体を含むことになります。この現象は「ワーランド効果」と呼ばれています。具体的に、ワーランド効果について説明しましょう。任意交配する二つの集団があり、集団 1 では A の頻度が 0.2 で、a の頻度が 0.8 であるとします。集団 2 では A の頻度が 0.7 で、a の頻度が 0.3 であるとします。したがって、集団 1 での各遺伝子型頻度は AA が 0.04、Aa が 0.32、aa が 0.64 であり、集団 2 での各遺伝子型頻度は AA が 0.49、Aa が 0.42、aa が 0.09 になっています。N/2 個体ずつ二つの集団からサンプルしたとすると、サンプル中の AA 個体数の期待値は $(0.04+0.49) \times N/2 = 0.265N$ 、Aa 個体数の期待値は $(0.32+0.42) \times N/2 = 0.370N$ 、aa 個体数の期待値は $(0.64+0.09) \times N/2 = 0.365N$ になります。するとサンプル全体での A の頻度は $(2 \times 0.265 + 0.370)/2 = 0.45$ になります。この頻度をもとに、ハーディ・ワインバーグ平衡下で期待される AA、Aa、aa 個体数は、それぞれ 0.2025N、0.495N、0.3025N になります。このように、AA および aa 個体数はハーディ・ワインバーグ平衡から予想されるより多く、Aa 個体数は予想されるより少なくサンプル中に存在することになります。

対立遺伝子頻度の推定

次に、常染色体遺伝子の対立遺伝子頻度の推定法について説明します。集団中の a 遺伝子の頻度を推定するために N 人を無作為抽出したところ、AA 個体が n_1 人、Aa 個体が n_2 人、aa 個体が n_3 人含まれていたとします ($n_1 + n_2 + n_3 = N$)、遺伝子 a の頻度を q とおくと、ハーディ・ワインバーグ平衡条件下での尤度関数は

$$L(q) = ((1-q)^2)^{n_1} \times (2q(1-q))^{n_2} \times (q^2)^{n_3} \quad (1.7)$$

であり、その対数尤度関数は

$$\ln L(q) = 2n_1 \ln(1-q) + n_2 \ln 2q(1-q) + 2n_3 \ln q \quad (1.8)$$

となります。q の最尤推定値 (尤度関数を最大にする q の値) は、式(1.8)を q で微分した式を 0 にする q です。すなわち

$$\begin{aligned} \frac{\partial}{\partial q} \ln L(q) &= -2n_1 \frac{1}{1-q} + n_2 \frac{(2-4q)}{2q(1-q)} + 2n_3 \frac{1}{q} \\ &= 0 \end{aligned} \quad (1.9)$$

より

$$\hat{q} = \frac{n_2 + 2n_3}{2N} \quad (1.10)$$

が q の最尤推定値になります。q の標本分散が

$$\text{Var}(\hat{q}) = \frac{-1}{E\left(\frac{\partial^2 \ln L(q)}{\partial q^2}\right)} \quad (1.11)$$

であることを利用して、q の標準誤差は

$$\begin{aligned} \text{SE}(\hat{q}) &= \sqrt{\text{Var}(\hat{q})} \\ &= \sqrt{\frac{-1}{E\left(\frac{\partial^2 \ln L(q)}{\partial q^2}\right)}} \\ &= \sqrt{\frac{\hat{q}(1-\hat{q})}{2N}} \end{aligned} \quad (1.12)$$

となります。最尤法を利用して q を推定しましたが、式(1.10)から分かるように、集団中の対立遺伝子頻度の推定値は、サンプル中の対立遺伝子頻度に等しくなります。

上の例は、全ての遺伝子型が決定できる場合でしたが、ヘテロ個体が同定できない場合であっても、最尤法を用いて遺伝子頻度を推定することができます。例えば、aa 個体を判別することは可能だが、AA 個体と Aa 個体を区別できな

い場合には、遺伝子 a の頻度 q の最尤推定値は、確認できた aa 個体の数を n として、

$$\hat{q} = \sqrt{\frac{n}{N}} \quad (1.13)$$

で与えられ、その標準誤差は

$$\sigma(\hat{q}) = \sqrt{\frac{1 - \hat{q}^2}{4N}} \quad (1.14)$$

で与えられます。

次回は、遺伝子型間で生存率や繁殖率が異なる場合に、対立遺伝子頻度がどのように時間変化していくかについて解説したいと思います。



「HLA コンサルタントの日々」

特定非営利活動 (NPO) 法人 HLA 研究所 佐治 博夫 saji@mbx.kyoto-inet.or.jp
hla@hla-labo.org

2000 年 3 月京都府赤十字血液センターを退職され、『HLA 研究所』を立ち上げられた佐治先生、そのひとつの柱は皆様よくご存知の「マイナー抗原のご研究」、そしてもうひとつの柱は口コミで全国に広がった「HLA マッチング・コンサルテーション」。

今回より、佐治先生のお手元に全国から続々と届くご相談の Eメールを紹介させていただくことになりました。各方面で HLA に携わっておられる方々に『何か』を感じていただければ幸いです。(編集部)

〇〇先生、e-mail ありがとうございます。

45 歳、女性、AML。通常の化学療法(JALSG AML97)で寛解でありましたが、今年 3 月再発し、再入院となっています。再発例ですので、同種 SCT の適応と考えています。骨髓バンクに 6 座一致ドナーがいなく、以下のように血縁者の HLA を調べました。

患者さん : A24, -, B67,61, DR9,(DRB1 を検査中)
お父さん : A24,33, B61,44, DR9,6
お母さん : A26,24, B35,67, DR4,12
同胞(妹) : A24,26, B35,61, DR4,9
同胞(弟) : A24,33, B67,44, DR12,6
同胞(弟) : A24,26, B35,61, DR4,9
御主人 : A24, 2, B59,46, DR4,8
子供(娘) : A2, 24, B46,67, DR8,12
子供(息子) : A2,24, B46,61, DR8,9

マイクロキメリズム検査などの問題もあると思いますが、このケースで非血縁者(臍帯血を含む)に勝る血縁者ドナー候補があるとすれば、どのように考えればよろしいでしょうか。

HLA マッチング・コンサルテーション

用語 = = = = =

IPA ; inherited paternal antigens,

NIPA ; non-inherited paternal antigens

IMA ; inherited maternal antigens,

NIMA ; non-inherited maternal antigens

~~~~~  
小生の考えの道筋そのまま書きます。お付き合いください。  
長文です(^^)

仮定: 父母同胞、子らの HLA から患者さんの DR を DR9,12 と仮定する。ただし、AML 細胞が DR12 の表現を抑制されているか、DR12 遺伝子を欠失している (LOH; loss of heterogeneity) 可能性を否定できません。少なくとも体細胞は DR9,12 でしょう。

## 1、ハプロタイプの推定

父を a/b、母を c/d、患者を a/c とし、夫を e/f とするとき、

IPA ハプロタイプ a: A24-B61-DR9

IMA ハプロタイプ c: A24-B67-DR12

ONIPA ハプロタイプ b: A33-B44-DR13

ONIMA ハプロタイプ d: A26-B35-DR4

=====  
よって、同胞の妹さんと 3 弟は「a/d」であり、患者さんと IPA 共有で、NIMA 不適合(相補)の「NIMA 相補同胞」です。有望なドナー候補です。

同胞、次弟は b/c で、NIPA ミスマッチ同胞です。(ドナー候補になれません)。

=====  
ハプロタイプ e: A2-B46-DR8

ハプロタイプ f: A24-B59-DR4

=====  
よって、長女は e/c、長男は e/a です。ともに(当然ですが)患者さんと haploidentical で夫ハプロタイプミスマッチです。

## 2、ハプロタイプの説明 (頻度、由来など); 蛇足、読み飛ばし可。

IPA ハプロタイプ a: A24-B61-DR9 は日本列島に 1.49%あり、朝鮮半島由来です。B61 にアリル型多様性があります。

IMA ハプロタイプ c: A24-B67-DR12 は日本人独特ですが、非常にまれです (0.005%)。世界広しといえども日本の骨髓バンク以外では韓国ぐらいしか期待できません。台湾バンクには 0.003%、NMDP には 0.0003%(多分日系でしょう)。

ONIPA ハプロタイプ b: A33-B44-DR13 は日本列島(5%、第 2 位)と朝鮮半島 (5%、第 1 位)に局限して適応し、両地域に進化的に保存されているハプロタイプです。明らかに朝鮮半島由来。

ONIMA ハプロタイプ d: A26-B35-DR4 は日本人独特か? (0.7%)。



○搬送は室温宅急便で。

○必要なデータ:

家族の HLA-A,B,DR

疾患名

年齢性別

費用; 研究用実費 ¥ 30,000/ペア

~~~~~  
ご参考までに(2) 臨床コンサルタント:

小児科は:

中通総合病院 小児科 渡辺新先生

arata-wa@poppy.ocn.ne.jp

東海大学医学部 小児科 矢部晋正先生

yabeh@is.icc.u-tokai.ac.jp

内科は京都大学第一内科 一戸辰夫先生:

nohe@kuhp.kyoto-u.ac.jp;

山田赤十字病院 内科 玉木茂久先生;

stamaki@carrot.ocn.ne.jp;

京都府立医科大学血液内科 島崎千尋先生;

simazaki@koto.kpu-m.ac.jp;

京都第一赤十字病院 血液内科 藤井浩先生

hirofu@mva.biglobe.ne.jp

先生のご近所では

倉敷中央病院 血液内科 上田恭典先生が

3 座ミスマッチ母子間移植の経験をしておられます。

~~~~~  
ご参考までに(3)

母児免疫寛容コンセプトと選択肢順位の説明

胎児にとって、母の NIMA は不適合 HLA 抗原です。胎児はまだ免疫が未熟で、接する母の体の NIMA を自己と判断します。言葉を変えると NIMA を寛容します。胎児は出産

後も成長後もこの NIMA 寛容の免疫学的性質を持ちつづけるようです。このことは 20 年前ぐらいからライデン大学の F. Claas (友人) により、提唱されています。

加えて、母は半分父 HLA を持っている胎児を約 10 ヶ月胎内に拒絶せず育みつづけます。その間、胎盤を介してお互いの細胞を少量ですが、交換しています。そしてマイクロキメリズム (1,000 分の 1 ぐらいの他人の細胞が混じっている

状態)の状態は分娩前には 100%の母に検出されます。

分娩後はこのマイクロキメリズムが速やかに解消されると考えられていましたが、われわれの研究によって、7~8 割の母子に数年~数 10 年維持されることがわかりました。すなわち、母も(すべてではありませんが)子の IPA に対して免疫寛容を維持することがわかりました。

~~~~~  
以上を母児免疫寛容コンセプトといいます。

このコンセプトに基づくと、IPA を共有し NIMA の異なる同胞(これを NIMA 相補同胞と呼びます)も、相互のミスマッチ NIMA を寛容していることとなります。母と NIMA 相補同胞間にトライアングルが成立します。母児免疫寛容トライアングルと称します。

注意すべきは子の NIMA に対する免疫寛容は胎児期に獲得されていますので、成長後も安定していますが、母の子 IPA に対する寛容は免疫成熟後に獲得されるもので、やや不安定と考えられることです。

~~~~~  
上記の考えにマッチする臨床成績が得られつつあります。

(表 1~2)

「厚生科学研究ヒトゲノム・再生医療等研究事業「造血細胞の自己修復能力、再生能力を利用した治療法の開発と普及に関する研究」(小寺班) 2002/02/15; 一戸辰夫@京大第1内科 発表に 1 例追加(02/25)

~~~~~  
ご不明の点は e-mail でどうぞ。

佐治博夫@HLAコンサルタント 拝

表1、ドナータイプ別生存率 (2-3座ミスマッチ症例)

ドナータイプ	症例数	生存中の例数 (100日以上)	最長生存日数
NIMA相補同胞	6	6(100%)	500+
子母間(子 母)	4	3(75%)	570+
母子間(母 子)	13	7(54%)	430+

表2、ドナータイプ別GVHD発症率 (2-3座ミスマッチ症例)

ドナータイプ	症例数	GVHDグレード別例数					III度以上 (%)
		0	I	II	III	IV	
NIMA-相補同胞	6	2	3	1	0	0	0%
子母間(子 母)	4	2	1	1	0	0	0%
母子間(母 子)	12	2	1	4	2	3	42%

コラム「再生医療を考える」

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 木村 彰方

ヒトゲノム解析によりゲノムの一次構造解明が大きく進んだため、今後はゲノムの機能解析さらにはタンパクレベルへの解析と進む「ポストゲノム」時代を迎えようとしていると言われる。しかしながら、実際には、ゲノム解析がまだ完全ではないことはもちろん、ヒトの遺伝子数がいくつあるのかさえ定かではない。ゲノムの一次構造が決められたことから、そこにいかなる遺伝子が存在するかをコンピューターで予測する試みも広く行われているが、必ずしも満足のいく結果が得られている訳ではない。特に最近のcDNA プロジェクトの成果とつき合わせると、これまでに全く予想されなかったような構造の転写産物が存在したり、同じ領域を逆向きに読む転写が共存したりと、単にゲノムの一次構造が判明したからといって、ゲノム機能が明らかになるまでには、まだまだ道は遠いと感じる。

そのような現状であるにも関わらず、あたかもゲノムプロジェクトは終了し、次のターゲットに移るかのような機運がある、その一つは「ポストゲノムプロジェクト」という名称のタンパク解析である。しかしながら、タンパクはDNAに比較して不安定であり、またその構造解析技術も十分に確立されたものではない。ヒトゲノムプロジェクトの進展が塩基配列決定法の大量迅速化に依存したことを考えれば、まずはタンパク解析技術をよりrefineすることが必要であると言える。さらに言えば、タンパクの構造解析はゲノム機能を明らかにするためのひとつの方法に過ぎず、それをもって「ポストゲノム」と呼称するのは面はゆいではなからうか。

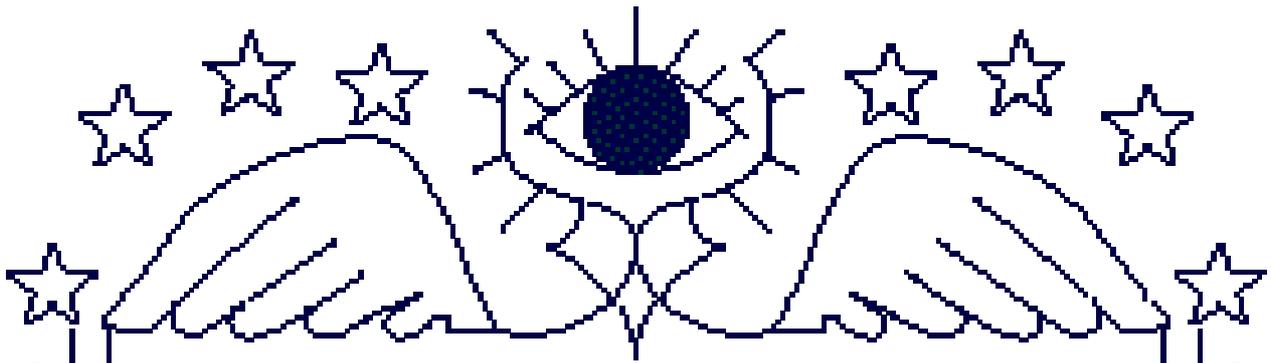
これに対して、再生医療はゲノムプロジェクトにも匹敵する広大な研究領域として立ち上がって来ている。移植医療が臓器不足で頭打ちになりつつある状況と次世代の科学技術振興を望む機運が一致したところに、この再生医療が登場したのである。未分化な細胞を分化させて、最終的には臓器を形成させようとする技術は、将来の医療にとって大きな福音となることは間違いない。再生医療研究がこれほどの広がりをもたらした一因は、骨髄由来細胞中のstem cellから、血球系以外の細胞(例えば血管や心筋など)が分化可能であることが判明したことにある。事実、四肢の末梢血管が閉塞した患者では、患部に自己の骨髄由来細胞を注入することで新たな血管増生が促進されているし、また、

心筋梗塞患者で硬塞部周辺に骨髄細胞を注入することで心筋梗塞を軽症化できたなどの報告が成されている。最近の医療の進歩には目を見張るものがある。

しかしながら一歩下がって考えれば、これらの再生医療技術の臨床応用は、in vitroでの研究成果はあるにしても、動物実験等による安全性確認については必ずしも十分ではないように思える。もちろん、このようないわば実験医療を行う上では被験者へのインフォームドコンセントが極めて重要であることは言うまでもないことであるが、医療側の倫理が大きく問われることにもなる。そのような治療ないし施術にいかなる危険が伴うかをどの程度まで考慮し、実際に検証し、そしていかに正しく被験者に説明したかを、後日問われることがあり得るのである。説明者責任とはそれほど重いものと言える。

現時点での再生医療実施では、自己の骨髄細胞を注入する程度であるが、それにしても、例えば心筋では不整脈発生の起源となる可能性など、骨髄由来細胞から心筋細胞への分化が現時点ではコントロール不可能であることに由来する危険性が存在する。ましてや、再生医療の将来像である試験管内での臓器形成とその移植などに至っては現在の移植医療と同様に、拒絶反応の問題や感染症(未知のウイルス等を含む)の危険性など、クリアすべき課題は多い。細胞分化、臓器形成や器官形成技術を開発すると同時に、移植医療が現在抱える問題点をクリアするための研究も進めなければならないと思う。

新しい医療技術を開発することが重要であることは言うまでもないが、そのような技術がなぜ必要となっているのか、その技術で現状の何がどこまで解決可能で、同時に解決すべき以前からの問題とは何であるのかを、正しく認識しなければならないと思う。クローン人間の議論に象徴されるように、科学技術の進展は我々の倫理感さえゆるがしかねない状態に至っている。このような状況にあるからこそ、医療に従事する者は常に自己の倫理感を確認していかなければならないのではないか。もちろん倫理感が個人ごとに異なっていることを前提にしてのことではあるが、科学技術に対する正確な知識を有した上で、医療倫理を議論することも必要であると考えられる。



MHC Odyssey : MHC 大星雲と惑星探査

国立循環器病センター・再生医療部・移植外科

佐田 正晴

2年間の歳月と紆余曲折を経ながら2002年、日本組織適合性学会指導によるHLA検査技術者と組織適合性指導者の認定制度が正式に発足する。十数年前、ASHIはレシピエントへの公平な移植、移植成績の向上を最優先にタイピング精度管理にもとづいたティッシュタイパー認定とタイピング施設の質的管理のための指導者認定制度を発足させ、全米各地で認定のための講習会を開催してきた。日本の認定には、ASHIのような認定による技術者の地位向上や賃金の優遇措置、指導者認定による施設の充実など優遇面の点では劣っているが、医療現場における技術者の地位向上のため認定制度各委員の奮励努力に熱い期待が寄せられている。

「KAMON」も2002年から心機一転！、今まで以上に現場の意見を反映した企画を取り上げなければならないと思っている。先日のアンケート調査で認定制度発足の影響か、HLAタイピングに関する技術解説やMHCの基礎理論などが上位を占めている。新生「KAMON」に、また連載を、の要望があった。今回は「MHC Odyssey」と題打ってMHC大星雲への宇宙旅行を試みることにした。MHC星の周囲を回る「移植」惑星、「疾患」惑星、「技術」惑星などを探査しながらMHC星の本質に迫る宇宙旅行。ツアーコンダクターは若輩小生と各界の名士が務める予定。最初は認定制度発足に合わせて「技術」惑星あたりから探査を始めようかと思っている。

