

第11回日本組織適合性学会大会参加報告

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 安波 道郎

1、はじめに

平成14年9月24日、25日の2日にわたって、埼玉県川越市の川越プリンスホテルにて、埼玉医科大学の前田平生先生を大会長に第11回日本組織適合性学会大会が開かれました。本大会は、今年度から実施された学会認定制度による認定組織適合性指導者の特例認定のための講習会を兼ねるとのことで、プログラムの企画をされた方々は、例年の大会以上に苦心されたことと思います。教育講演にはHLA分子の基礎的な生物学の話題、ワークショップには組織適合性検査技術の最新情報、シンポジウムは臨床面を主体に、と全体としてバランスのとれた構成になっていました。本稿では、主に認定制度講習会を兼ねたプログラムの内容を私の理解の範囲で簡単にご紹介できればと思います。

2、教育講演

朝の最初のセッションとして24日、25日の両日にそれぞれ二人の先生に、HLAと免疫応答についての基本的な内容から最新の知識までをお話いただきました。

(1) 西村泰治先生「癌細胞の排除におけるHLAの役割」

「がん」というからだの中でできてくる「異物」を免疫系がどういう風に認識しているかということ、異物分子として実際に認識されているものを見つけない方法で明らかにし、がんの免疫治療につながる研究を紹介されました。西村先生は、二つの方向からアプローチしています。その一つ目はがんの患者さんの血清中に生じたがん細胞に対する抗体から、その患者さんの免疫系にとって異物となっているがん細胞のもつ分子(がん抗原)をあきらかにする試みで、SEREX法と呼ばれているものです。西村先生はこの方法で熱ショック蛋白のひとつであるHsp105が、がん抗原となっていることを発見され、さらにDNAワクチンを作製し、マウスのモデルでその有効性を試されていました。治療に応用する際の問題点としては、この方法で見つかる分子の多くががん細胞だけでなく正常の組織にも存在するために、ワクチンとして感作すると正常の組織に自己免疫による病変を起こすかもしれないという懸念があることです。それを回避するためにとった、もう一つのアプローチ法

は、近年のゲノム科学の知識を利用してあらかじめほとんどがん細胞にしかない分子を探し、その分子ががん抗原となるかを調べるというものです。ヒトゲノム研究の一環として、一万を越える遺伝子について、種々のがん細胞での発現の強弱がDNAチップを用いて調べられています。その中から選ばれたグリクピカン-3(GLP3)という遺伝子は、肝細胞がんの大多数に発現していますが成人の正常組織にほとんど発現しないことから、GLP3を標的とした免疫応答ががんの特異的な免疫療法に適用できる可能性が期待されます。また、GLP3蛋白は細胞膜に結合しているものですが、肝細胞がん患者血清中にも現われるので、腫瘍マーカーとして診断にも応用できそうです。

(2) 滝口雅文先生「HLAテトラマーによる抗原特異的CD8T細胞の解析」

ウイルス感染細胞が宿主の細胞傷害性Tリンパ球によって認識され排除されるとき、ウイルスの遺伝子にコードされた蛋白質のかけらであるペプチドがクラスI分子と複合体を形成して細胞表面に現われ、このペプチド-クラスI分子複合体がCD8陽性の細胞傷害性Tリンパ球表面に発現したT細胞抗原レセプター(TCR)分子に結合します。この結合は抗体が抗原に結合するのに比べて千分の一から一万分の一くらいに弱いものなので、蛍光抗体法のように一方を蛍光標識して細胞表面に存在するもう一方の分子に結合させても見ることはできません。しかし近年の分子生物学的実験技術を用いて、大腸菌に人工的に発現させたクラスI分子に、抗原ペプチドを会合させるとともにビオチン化の操作を加えてアビジンと結合させることによってできるペプチド-クラスI分子複合体の多量体(4量体、テトラマー)は、TCR分子に対する親和性が飛躍的に高くなり、細胞傷害性Tリンパ球表面の抗原特異的TCR分子を蛍光標識できます。滝口先生はこの方法により、限界希釈法とCrリリース法で活性を検出して細胞傷害性Tリンパ球数を定量した場合に比べ10倍近い感度で検出できること、またCD45RAやCD28などTリンパ球の分化マーカーの標識をあわせて多色蛍光フローメトリー解析することによって、種々のウイルス感染における抗原特異的Tリンパ球のうち細胞傷害活性をもつエフェクターの段階にある細胞数、刺激を受け

た後に細胞傷害活性を示すようになるメモリー細胞の段階にある細胞数などそれぞれの機能的分画にわけて定量できるなどの結果を紹介されました。

(3) 松下祥先生 「HLA 分子と T 細胞応答」

前半は、抗原提示細胞が単純に抗原蛋白質をペプチドにまで刻んで、細胞の外側の表面に陳列するだけではなく、抗原提示の分子機構の違いによって免疫応答の様相が違ったものになりうることを示されました。抗原ペプチドは HLA クラス II 分子と結合した形で CD4 陽性のヘルパー T リンパ球に認識され、ヘルパー T リンパ球は、 γ -インターフェロンを産生して細胞性免疫応答を増強したり、インターロイキン-3、4などを産生して液性免疫応答を増強します。抗原提示細胞側の要因として、免疫応答を変化させることのできるもののひとつには、HLA クラス II 分子と抗原ペプチドの結合の強さがあるようです。クラス II 分子と抗原ペプチドの結合はペプチドの配列の中でアンカーと呼ばれる場所がどのようなアミノ酸残基になっているかで違ってきます。アンカー部位は主に T 細胞抗原レセプター (TCR) 分子によって認識される配列の両端にあつて TCR 分子とは接触せず、クラス II 分子の抗原結合ポケットに向いているため、アンカー部位のみが異なる抗原ペプチドは同じ TCR 分子を持つ T リンパ球に認識されますが、T リンパ球の応答がより増殖の強いものであったり、 γ -インターフェロン産生がより強かったりと変わってきます。また、抗原提示に使われるクラス II 分子が DR、DQ、DP のいずれであるかによっても、抗原提示細胞側の細胞内の信号伝達系に違った効果が現れ、その結果、抗原提示細胞が産生するインターロイキンも違ってくるようです。それぞれのクラス II 分子に対するモノクローナル抗体によって、抗原提示細胞に細胞表面の DR、DQ、または DP 分子を介した刺激を与えるという実験で、DR 分子では主に前炎症性サイトカインである IL-1 β が産生されるのに対して DQ、DP 分子を介する信号では、抗炎症性サイトカインである IL-10 の産生される比率がより高いようで、このことは抗原提示細胞とヘルパー T リンパ球の相互作用においても、抗原提示分子が DR 分子か DQ、DP 分子であるかによって、抗原提示細胞がヘルパー T リンパ球の TCR 分子から受ける信号に違いがあつて、その結果、抗原提示細胞からヘルパー T リンパ球への刺激に違いが生まれるとも考えられそうです。

後半では、脂質や糖脂質抗原の提示を担う CD1 分子を紹介されました。CD1 分子は、クラス I 分子と似た立体構造をとりますが、抗原結合部位の構造が、短いペプチドを結合するクラス I 分子とは異なり、より大きな分子を結合できるようになっており、ここに結核菌由来のミコール酸などが結合します。CD1 分子が胸腺やその他の

限られた組織にのみ発現していることと、脂質・糖脂質抗原-CD1 分子複合体を認識する TCR 分子が主に一部の T リンパ球サブセットに限って見られることから、CD1 分子を介する免疫応答は、典型的な HLA 分子を介するものとは異なる調節的な役割を担っていると想像されます。

(4) 石谷昭子先生 「妊娠免疫と HLA クラス Ib」

ヒト第 6 染色体の HLA クラス I 領域には、典型的な HLA 分子である HLA-A、B、C の遺伝子座の他に、HLA-E、F、G の遺伝子座が見いだされています。HLA-E、F、G 分子は、HLA-A、B、C と同様に β 2 ミクログロブリンとヘテロ二量体を形成し、HLA クラス Ib と分類されますが、典型的な HLA クラス I (クラス Ia) に比べ多型に乏しく、また存在する組織も限られています。HLA-G については、胎盤の絨毛組織に特異的に発現することがわかっています。また HLA-G は、HLA クラス Ia 分子と同じく、細胞内に由来するペプチドを結合していますが、結合しているペプチドは HLA クラス Ia 分子とは異なり、ほとんど多様性がないようです。ナチュラルキラー (NK) 細胞や一部の T リンパ球サブセットには標的細胞表面に HLA 分子の存在/非存在を感知してその細胞傷害活性を調節する機構が存在します。HLA-G の発現によって、胎盤絨毛組織は母児間の同種免疫反応を阻止するバリアとして機能すると想像されます。また HLA-G 遺伝子には転写後の選択的スプライシングによって数種類の分子種が作られ、このうち膜貫通部を欠くものは細胞外に分泌されて、可溶性分子として働くとも考えられています。HLA-E 分子については、別の HLA 分子のシグナル配列を抗原ペプチド結合部位に結合した場合に限って、成熟した分子として細胞表面に現れることがわかっています。胎盤絨毛組織においては HLA-E 分子は HLA-G のシグナル配列を結合していて、この分子によって胎盤組織の維持に必須とされる NK 細胞の機能が保たれているようです。また、HLA-F については HLA-G ほどにはいろいろのことがわかっていませんが、HLA-G より時期的にはより遅れています。胎盤の絨毛組織に発現しているようです。このように、HLA クラス Ib 分子はいずれも、何らかの形で母児間の同種免疫の調節や胎盤組織の維持にかかわっていると考えられています。

3、シンポジウム - 1 「細胞治療：現時点での治療成績と今後の展開」

がんの治療において HLA の役割が重要となる局面について、はじめの 2 題はがん治療におけるミニ移植による免疫系再建と抗腫瘍同種免疫応答の話題、後半 3 題は腫瘍特異的抗原を標的としたがんの免疫療法の話題でした。

(1) ミニ移植（骨髄非破壊的造血幹細胞移植）は、従来の骨髄移植の際に前処置として宿主の骨髄の造血系細胞を排除することによって、移植片の生着を促進していたのを、強力な免疫抑制剤投与によって拒絶反応を阻止することに置き換えたもので、移植後の白血球減少による感染症の危険を下げ、宿主の負担を軽減できると期待されています。移植片の生着に伴ない免疫系再建とともに抗腫瘍同種免疫効果が見込まれるため、造血系の腫瘍だけでなく固形腫瘍の集学的治療においても注目されています。高見先生（金沢大学）は腎細胞がんについて、米国NIHの報告例と自験例3例について紹介されました。報告例では、組織型がclear cell型の場合にのみ半数以上に、腫瘍縮小効果が認められたそうです。自験例のclear cell型では、GVHDの発症とともに腫瘍の増大の停止あるいは縮小が認められたそうですが、効果が現れるまでに時間がかかるなどの問題点があるようです。牧本先生（国立がんセンター）は、腎細胞がん以外の固形腫瘍について、悪性黒色腫や小児固形がんでの自験例の成績を紹介され、GVHDに対しては、HLAのマッチングの程度により異なる処方をするなどについてもお話いただきました。

(2) 細胞ががん化することに伴って遺伝子発現に変化を来し、その結果生じた新たな分子ががん特異抗原として宿主の免疫監視機構に認識されることが知られています。がん細胞が宿主の細胞傷害性Tリンパ球によって排除されるとき、がん特異抗原由来のペプチドがクラスI分子と複合体を形成し、このペプチド-クラスI分子複合体がT細胞抗原レセプター（TCR）分子に認識されます。がん特異抗原由来のペプチドを大量に投与することにより、細胞傷害性Tリンパ球を誘導できることから、ペプチドワクチン療法が有望視されています。がん細胞に発現しているクラスI分子のアレルにより結合可能なペプチドが異なることから、結合するペプチドの配列モチーフが知られていて、しかも日本人に高頻度に見られるA*2402、A*0201などに結合するものを蛋白のアミノ酸配列から探して用いています。山田先生（久留米大学）は、1種類のペプチドを用いた際に半数の患者には、細胞傷害性Tリンパ球を誘導できなかったことから、結腸がん、前立腺がんなどを対象として複数のペプチドを用いる試みをされています。またペプチド投与前にすでにいくつかの抗原エпитープに対する感作Tリンパ球が末梢血中に検出されるので、予め有望なペプチドを患者毎に選ぶテーラーメイド化も可能とのことです。角田先生（東京大学）は悪性黒色腫に対して、gp100由来するペプチドの第1相臨床試験の結果を示され、さらにペプチド-HLAテトラマーによる定量で、細胞傷害性Tリンパ球が増加することを報告されました。また、投与前の腫瘍

組織内CD3陽性Tリンパ球の浸潤の有無が治療効果の予測に有用である可能性も示されました。杉山先生（大阪大学）は、ウィルムス腫瘍において変異を認める遺伝子として同定されたWT1遺伝子が白血病、肺がん、乳がんなどの多くの腫瘍においては、変異を伴わずに高発現しており腫瘍特異抗原として有望であること、またWT1蛋白に由来するペプチドがマウスの実験系で抗腫瘍効果を示すことを報告されました。

4、シンポジウム - 2 「移植医療とHLA」

臍帯血移植、非血縁間骨髄移植による造血幹細胞移植と、心臓、肝臓、腎臓の各臓器移植の現状について、諸先生方にお話をいただきました。

(1) 造血幹細胞移植：加藤先生（東海大学）には、2002年春までに行われた600例を超える非血縁間臍帯血造血幹細胞移植のうちの約半数を対象とした解析の結果を報告いただきました。結果を左右する要因、GVHD予防法の選択、HLA適合度の効果についてお話しされ、現時点ではHLA適合度は移植片の生着率や生着までに要する期間には影響するが、GVHDの重症度や生存率には有意な効果は見られないということでした。

非血縁間骨髄移植については、森島先生（愛知県がんセンター）に1994年から2002年3月までに、日本骨髄バンクを介して行われた約4000例からのデータを紹介いただきました。HLA適合度では、欧米ではクラスII座位での適合がより重要であるとされているのに対して、日本ではクラスI座位の適合度が有意な効果を示すこと、GVHDの予防には血清型の一致のみでは不十分で、DNA型の一致までが必要であることなどお話いただきました。

(2) 臓器移植：心臓移植については、福嶋先生（大阪大学）にお話をいただきました。国内では1999年2月以来14例施行されています。現在、移植待機中の患者も30名を超え、その間に補助人工心臓の装着を必要とされ、そのため大多数の患者に頻回の血小板輸血が施されています。血小板輸血歴5回以下と6回以上とで、抗HLA抗体の陽性率に大きな違いがあるようです。移植片の拒絶反応として、2日以内に起こる超急性反応、1週から3ヶ月の間に起こる急性反応、そして数年の経過で進行する移植後冠動脈硬化があります。術前クロスマッチと移植後の免疫抑制剤投与によって、治療を要する急性拒絶反応は2例に留まったとのこと。海外の文献によれば、パネル反応性抗体（PRA）が急性拒絶反応と関連し、早期の治療成績を左右するそうです。一方、抗HLA抗体は、移植後冠動脈硬化の発症との関連が認められ、5年経過後の予後に影響するようです。HLAの適合度については、あまり重要ではないように見受けら

れましたが、マッチしたほうがいくぶん移植後冠動脈硬化の発症率が高いなど、解釈が難しい結果が出ているようです。

肝臓については齋浦先生（東京大学）によると生体肝ドナーから1996年以来、約180例の移植を経験され、90%近い3年生着率を得ているそうです。成人症例約100例では、3分の1に急性拒絶反応が起りましたが、多くはステロイドで治療可能であり、2例により強力な治療を必要としたとのこと。急性拒絶反応の発症は、HLAの適合度との関連は認められず、Tリンパ球クロスマッチ試験（LCT）の結果と有意な関連を示すそうです。

腎臓については、HLAの適合度が、移植片生着に重要とされています。福西先生（兵庫県立西宮病院）にクロスマッチ試験と移植成績の関連についてお話をいただきました。ドナー末梢血リンパ球を用いるリンパ球クロスマッチ試験（LCT）にくらべ、HLA分子に結合する抗体をフローサイトメトリーで検出するFlowPRA法は、低力価の抗HLA抗体をより鋭敏に検出できますが、IgMクラスの抗体や非HLA同種抗体の存在を見逃す可能性があります。先生の症例でLCT陽性（多くはBリンパ球LCTのみ陽性）の14例について、FlowPRA法でも陽性であった6例のうちの半数は、移植片が生着しなかったのに対し、FlowPRA法陰性例は全例生着し、LCT法に加えFlowPRA法が、移植成績の予後予測に有用であるようです。

移植する臓器により、原疾患がどのような生命予後をもつか、ドナーの選択できる範囲、移植実施の緊急性などの状況が異なり、HLA適合度や移植前同種免疫抗体検査の持つ意味がかなり違うようです。しかし、いずれの場合にも正確かつ高感度の検査を迅速に行なうことが必要とされることには違いはありません。

5、ワークショップ「HLAタイピングと移植検査の最前線」

HLAタイピング技術、同種免疫抗体の検出法、造血幹細胞移植後の移植片生着検査についての最新情報が紹介されました。

(1) アレル特異的オリゴヌクレオチドプローブによるHLAタイピング（SSO）法は多数のプローブをELISAプレートやナイロン膜などの固相表面に固定することにより、原法にくらべ検体処理が高速化し、精度もアレルによっては4桁までの高精度タイピングが可能になっていますが、この方法を多検体処理に合うようにプローブをカラーコード化した小粒子（ビーズ）に固定化し、判定をフローサイトメトリーの機械で自動的に行なう新しいタイピング法を、柏瀬先生（東京都赤十字血液センタ

ー）に紹介いただきました。この方法では、100種類程度のカラーコード化は容易にでき、1検体の反応を96ウェルプレートの1ウェルで行なえ、読み取りも1検体あたり最高で1分程度で終了します。機械が1台あれば、1人の技術者で1日192検体のタイピングは困難でないようです。One Lambda社をはじめ数社が製品化済みあるいは製品化を計画中だそうです。

(2) HLAのSequencing-basedタイピング（SBT）法は最も高精度のタイピング法と考えられますが、シーケンス反応のデータのクォリティーが良くないと判定に苦労します。また判定ソフトウェアなしには、正しい判定結果を得るのに1検体1座位あたり数時間という時間、労力を必要とします。渡辺先生（福岡大学）に実際に経験された例をお話をいただきました。16連キャピラリーシーケンサーの使用によって、データ取得まで効率よく行なえるようになってきたそうです。SBTは究極のタイピング法と思われがちですが、ヘテロ接合のアレルの組み合わせによるアンビギュイティーを生じる、すなわち異なるアレルの組み合わせで同じ反応結果を説明できる場合があり、SBT単独で完璧なタイピングができるというものではないようです。

(3) マイクロチップを用いたアレル特異的オリゴヌクレオチドプローブ（SSO）法は、多種のプローブを高密度にスライドガラス表面にスポットし、ハイブリダイゼーションの信号を蛍光で検出するという、近年急速に進展したDNAマイクロアレイ技術を用いるもので、川井先生（湧永製薬）にこの技術の基礎的なことから、HLAタイピングへの応用についてまでを解説いただきました。

(4) 小原先生（名古屋第二赤十字病院）は、腎移植の例で、ドナー細胞に対する細胞傷害性試験によるリンパ球クロスマッチ（LCT）試験、フローサイトメトリー法によりドナー細胞に対する同種免疫抗体を検出するクロスマッチ（FCM）試験、種々のクラスI、クラスIIHLA分子を吸着させたビーズを用いて抗HLA抗体をフローサイトメトリーで検出するFlowPRA法の各種試験の結果と、拒絶反応の有無との関連を紹介されました。シンポジウム-2での福西先生のお話と同じく、移植前にHLA分子に対する抗体を同種免疫抗体として保有しているかによって、移植の成否が影響されるようです。

(5) 血小板輸血において、輸血後にその効果が持続するか否かは、レシピエントがドナー血小板に対する同種免疫抗体を持つかによって決まるようです。斉藤先生（長野県赤十字血液センター）は、輸血前検査として、短時間で施行可能な改良MPHA法を紹介されました。また、HLA分子の2つのアレル間でのアミノ酸残基数の違いを算出するHLA matchmakerという計算機ソフトウェ

アを用いて、パネル反応性抗体 (RPA) 陽性のレシピエントでは、複数の箇所ではアミノ酸配列が異なる HLA 分子を持つドナーからの血小板輸血は輸血効果が充分得られない可能性を示されました。

(6) 骨髄移植などによる造血幹細胞移植後、移植片とレシピエントの残存細胞が混在するキメラの状態になりますが、移植片がまったく生着しない場合から完全に造血細胞を置き換えるまで、それぞれの占める割合はさまざまで、また移植後の時間とともに変化します。丸屋先生 (HLA 研究所) は多型遺伝マーカーであるマイクロサテライトを 8 座位選んで、ポリアクリルアミドゲルのサイバークリーン染色と SSCP ゲルの銀染色で、ドナーとレシピエントの細胞を区別できることを示されました。銀染色法の導入によってわずかな量でもキメラの状態を検出できるようです。

(7) 白濱先生 (エスアールエル) も同様に移植後の造血細胞キメラの状態を、市販のキットを用いてマイクロサテライトの多型を蛍光シーケンサーで検出するという方法で解析した結果を紹介されました。キットは、法医学的な個人鑑定用に開発されたもので 10 個のマイクロサテライト座位と Y 染色体マーカーを同時に 1 反応チューブで増幅するものです。キメラの混在比が 5% あれば自動検出可能とのこと。また、移植後の同じ時のサンプルでも細胞の分画によって異なる混在比になるという結果も示されました。

6、一般演題

口演 15 題、ポスター 15 題の演題が発表されました。HLA 遺伝子や HLA 領域に存在するその他の遺伝子についての研究、異種 MHC 遺伝子の解析、各種疾患と HLA の関連解析など、HLA の医学生物学的研究の成果が報告されました。私どものアカゲザルのクラス I 遺伝子解析に RSCA 法という新しい多型解析技術を適用した研究やクラス III 領域に存在する IKBL 遺伝子の機能についての研究も発表させていただきました。また、シンポジウム、ワークショップでは詳しく触れられませんでした。腎移植における DR 座の適合について、酒巻先生 (佐倉病院) から臓器移植ネットワークを介した 900 を超える症例の解析結果が紹介されました。ドナー、レシピエント間の適合度だけでなく、ドナー、レシピエントそれぞれがどういう DR 抗原の表現型を示すかによっても、移植成績の予後は違ってくるようです。

7、その他

特別講演として宝来聰先生 (国立遺伝学研究所) に、「DNA からみた日本人の起源」という題でミトコンドリア DNA 多型と Y 染色体の多型についての民族間比較の

長年の研究成果のお話をうかがいました。内容については、宝来先生が執筆されたものを見ていただければと思います。企業共催セミナーでは、ワークショップで紹介された、新しい検査手法のより詳しい説明がされました。また、パイロシークエンシングというこれまでの方法とまったく違う新しい DNA 塩基配列解析法も紹介されました。

8、おわりに

大会に参加させていただき、多くのことを学ぶ機会を得ました。今回このような形で皆様にお伝えすることができ、本誌の編集者の方に感謝いたします。また、諸先生方の発表内容を誤解してお伝えしていることがあるかも知れませんが、すべて筆者の責任です。どうぞご容赦ください。



学会特集 The American Society of Human Genetics (ASHG) 第 52 回 Annual Meeting

東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室 明坂 珠生

The American Society of Human Genetics (ASHG) の第 52 回 Annual Meeting が、2002 年 10 月 15 日～19 日にアメリカ合衆国ボルチモアにて開催された。

ASHG はどんな学会か

ASHG は 52 年間続く伝統ある学会で、American Journal of Human Genetics という権威ある雑誌を出版しており、人類遺伝学に関係のある分野を幅広く扱っている。今回の参加人数は約 4～5,000 人とかなり多く、発表者は約 2500 組（オーラルセッションが約 300 組、およびポスターセッション約 2200 組）であった。それらの発表の他に、教育講演、招待講演、企業主催の講演、ASHG 関連のワークショップ等があった。

この学会での発表内容、特にオーラルプレゼンテーションは、遺伝子関連研究の最先端を行くものばかりで、15 分のプレゼンテーション 1 つ 1 つが、Nature や Science のレポートに匹敵するほどである。

今回のオーラルセッションの内容を紹介すると、

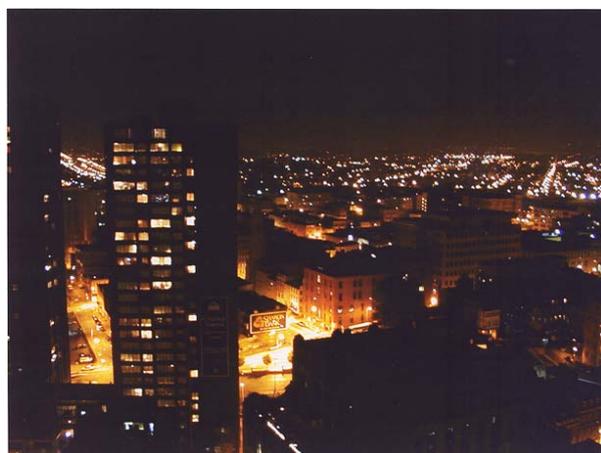
①Molecular Basis of Mendelian Inheritance, ②Gene Structure and Function, ③ Clinical Genetics, ④ Genetic Counseling/Education/Service/Testing, ⑤ Inborn Errors of Metabolism, ⑥ Epigenetics and Genomics, ⑦ Population Genetics and Genetic Epidemiology, ⑧ Genotype-Phenotype Correlations, ⑨ Breast Cancer, ⑩ The Dynamic Genome, ⑪

Neurobehavioral Genetics, ⑫Mental Retardation and Brain Development, ⑬Endocrine and Metabolism, ⑭ Inflammation and Immunity, ⑮Genetics of Complex Disorders, ⑯Prenatal and Per natal Genetics, ⑰ Cancer Cytogenetics, ⑱ Polymorphisms and Haplotype Blocks, ⑲ Linkage Mapping, Haplotype Blocks, ⑳Linkage Disequilibrium Mapping について発表があった。これらの内容を眺めているだけでも、今何がトピックになっているのかが見えてくる。Linkage Disequilibrium (LD)ブロック/ハプロタイプブロックについては、ここ 1 年ほどの間で hot topics となっていたが、この学会でも関連セッションが 2 つ(⑱、⑳)あり、大規模な研究の結果が次々発表されていた。また、疾患関係では、成人病、癌、精神神経疾患(アルツハイマー病、精神分裂病など)の発表が多かったが、その他の疾患(多くは、専門家以外はわからない疾患である)と遺伝子の関連も非常に多かった。

招待講演の内容も豊富であった。どのような話題があったのかを少し紹介すると、①加齢とがんに関係のあるテロメラーゼについて、②サーカディアンリズムと睡眠障害、③神経筋疾患(筋ジストロフィーなど)に対する遺伝子治療、④21 世紀のサイバーカウンセリング(遠隔地からネット上で遺伝学的カウンセリングが受けられる)などであった。



飛行機からのボルチモア



ボルチモアの夜景

セッション

興味深かったセッションをいくつかご紹介したい。アメリカ合衆国では脳血管疾患が死亡原因の第3位となっているが、脳梗塞に関する解析があり、その感受性遺伝子の1つが確認され、関心が集まった。ヒトの多因子疾患のひとつである脳梗塞は高血圧、高脂血症、糖尿病といった危険因子を遺伝的かつ後天的にもつヒトにおこりやすい疾患である。その脳梗塞の主要な感受性遺伝子として、5番染色体の5q12という場所にある *STRK1* が位置付けられた ($P=0.0000039$ 、ロッド値 4.4)。Extensive fine-mapping によって 4.1MB にまで遺伝子の存在範囲を狭め、シーケンシングによってその中に存在する遺伝子を確定した。その後、マイクロサテライトマーカーと SNP マーカーをつかって、関連解析を行った。多因子疾患は関連を見出すためにかなり多くのサンプルを必要とするが、彼らは患者 1200 人および健常者 650 人をサンプルとした。解析後、4.1MB の遺伝子の中に強い候補遺伝子を見出した。*STRK1* は血管組織の中に発現している酵素で、アテローム硬化症において重要な役割を担っていると考えられる。

ダウン症の 21 番染色体トリソミーはよく知られているが、そのほかの染色体のトリソミーについても報告があった。13 番染色体と 18 番染色体のトリソミーは致命的であると考えられているが、長期間生きられた患者も報告されている。13 番染色体トリソミー 70 人の出生後の生存期間の中央値は 7 日、18 番染色体トリソミー 114 人の出生後の生存期間の中央値は 14.5 日であった。どちらも 91% は 1 年以内に亡くなっていた。13 番トリソミーには人種や性別は無関係であったが、18 番トリソミーは女性および白人以外の人種がより生存期間が長かった。どちらも心臓の欠陥をもっていたが、生存期間への影響は

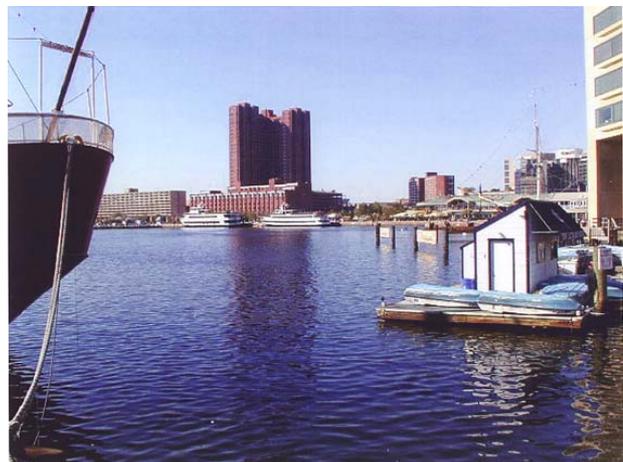
見られなかった。

インプリンティング遺伝子のバイオインフォーマティク推測についての発表があったが、ヒトのインプリンティングがどのような遺伝子で起こっているのかを塩基配列により推測する画期的な発表であった。ヒトゲノムでインプリンティングされる遺伝子は SINE の含有率が著しく低い領域である。このデータが回帰モデルを使って推測できるかどうかを試された。90% 感受性および 96% 特異性のあるインプリンティングされた遺伝子座の予測によって 4 つの配列的特徴が明らかになった。10 のコントロール遺伝子と 4 つのインプリンティングされた遺伝子の確認のためのテストで、13 の遺伝子座が予測と合致し、1 つのインプリンティング遺伝子が予測と合わなかったが、その遺伝子はマイクロインプリンティングドメインの中に存在していた。このため、現段階ではインプリンティング遺伝子予測において十分活用できる。インプリンティング遺伝子のサンプルを増やすことで今後もっと強力なツールとなるであろう。今、インプリンティング遺伝子の全ゲノムサーチが行われている最中であるが、14q.32.2 の 2MB と 6q.24 の 5.5MB の 2 つの領域がすでに解析されている。後者の領域では 6 つの新たなインプリンティング遺伝子の候補があがっている。全ゲノムが解析されれば、著しく制御された遺伝子の同定のための包括的指標となるであろう。

ヒトのハプロタイプ構造の解析が最近のトピックであることは冒頭でも書いたが、ヒトゲノムを体系的に調査したグループがあった。ヨーロッパ人、アジア人、アフリカ人、アフリカンアメリカンの合計 200 人のサンプルを用いて染色体上の 54 領域のハプロタイプ構造を調べたところ、次の 4 つの特徴が見られた。①ヒトのゲノム



学会開催期間中はずっと晴れていた。



学会会場の前はハーバーで、遊覧船が周遊している。

は歴史的に起こったリコンビネーション率が低い領域からなるハプロタイプブロックをとっている。②それぞれのハプロタイプブロックは 3~5 個のコモンハプロタイプで成り立っている。③ハプロタイプブロックの境界線は集団間で保存されていることが多い。④ブロックの中では、主要なマーカーとハプロタイプの構造に強い相関が示された。また、X 染色体と常染色体を比較解析すると、X 染色体は常染色体と連鎖不平衡の構造が全く異なっているという知見も得られた。

LD ブロックはヒトのゲノムにおいてよく見られる特徴であるが、その領域を維持するメカニズムはまだわかっていない。繰り返しが多い領域の不均一な乗換え(組み換え)から生じる欠失や重複によって recombination を阻止している可能性もある。いままでは単一遺伝子の LD ばかりに目を向けられていたが、遺伝子の密度が LD に寄与するかどうかを理解するための努力がなされ、5 番染色体上のカドヘリンファミリーで配列変化の制御がどのくらいであるかが決定された。これらの遺伝子は成長期の青年あるいは大人の脳内のシナプス接合部において発現しており、シナプスの複雑さを決定に関与していると考えられている。すべての α カドヘリン遺伝子のプロモーター領域をシーケンスしたところ、それらのうちのいくつかの遺伝子で共通の SNP を同定した。この多型は広大な LD の中に含まれ、 $\alpha 1$ から $\alpha 7$ 遺伝子までの 48kb のハプロタイプを形成しており、白人集団の中では同じ頻度であった。さらに東アジア、アフリカンアメリカン、ネイティブアフリカンの集団を解析したところ、広い LD は α 遺伝子サブクラスターの古い特長であった。B 遺伝子や Y 遺伝子では似たような多型パターンは観察されなかったことから、広い LD は α プロトカドヘリン遺伝子

の特徴であり、遺伝子の密度が高いクラスターの一般的な特徴ではないということが示唆された。 $\alpha 8$ 遺伝子の一部と $\alpha 9$ および $\alpha 10$ 遺伝子の全部の 15kb が欠失しているのが発見されたが、それは様々な集団の正常人で観察されていることから、その欠失も歴史が古いものであり、プロトカドヘリン遺伝子の数を減少させることは必ずしも心身に有害なものではないということを意味している。

ASHG の発表内容の一部をご報告させていただいたが、HLA の分野で得意としてきたハプロタイプや連鎖不平衡の概念が、他の遺伝子領域でも重要なものとなり、遺伝子全体の解明および SNP データの蓄積によって明らかになりつつある。19 番染色体全体の LD ブロックを解析したというアメリカのあるチームからの報告や、その他 6 番、7 番、21 番、22 番、X 染色体について広大な領域についてそれぞれ LD ブロックを解析したという報告が相次いだ。このような大きなプロジェクトが進行する中で、われわれが LD ブロックに関してできることとしたら、きめ細かく SNP をピックアップし、詳細な LD ブロックを集団ごとに決定していく他ないだろう。また、多数の疾患感受性遺伝子を見出したとの報告があったが、現在、疾患感受性遺伝子(あるいは多型部位)を決定しようとする場合、その周辺の LD ブロックがどこまで及んでいるかを決定することも必要不可欠となってきている。このレポートで、少しでも世界の動きを感じていただき、ご興味をもっていただけたらと思う。



ポスター会場の風景



学会特集 28th Annual ASHI Meeting レポート

ASHI 28th Annual Meeting に参加して

東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学教室 京極 千恵子

2002年10月19日から23日までの日程で、テネシー州ナッシュビルにおいて開催された、American Society for Histocompatibility and Immunogenetics 28th Annual Meeting に参加した。私にとって、この学会に参加するのは初めてのことだった。どんな学会であったか、私が見てきた様子を紹介しようと思う。

学会参加の動機

今回、なぜ私が ASHI Meeting に参加しようと思ったかという、1つはお目当ての教授の講演があること。もう1つの理由は、めったに自ら行こうと思わないナッシュビルという土地に行けることである。今年は、春にシアトルで 13th International Histocompatibility Workshop and Congress があつたためか、日本からの参加者は少なく、自分のラボからもたった一人で参加することとなった。他の日本人参加者は、企業の方中心に数名のみだったらしい。

開催地

ナッシュビルは、テネシー州の州都であるメンフィスと同程度の人口を持つ、カンバーランド川（その下流はミシシッピ川に合流する）に面した都市である。ナッシュビルといえばカントリーミュージックだそうで、学会会場であるオープリーランド・ホテルは、ダウンタウンから車で20分ほどのミュージック・バレーと呼ばれるエリアにあつた。このホテルは、ナッシュビル名物の超大型ホテルで、ホテルの敷地内に入ってから、建物にたどり着くまでには牧場があり馬が飼い放されているのだ。

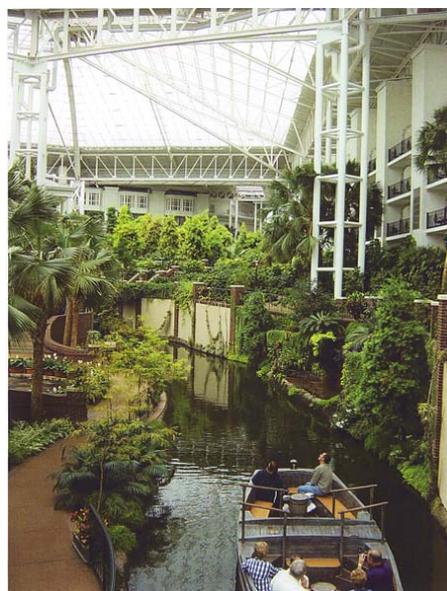


写真2. ホテル内 森2



写真1. ホテル内 森1



写真3. コンベンションセンター

ホテル内には、3ブロックにわかれて南部の森林が再現されており、その中には川が流れてボートが行き来し、さらには滝が落ちている (写真 1, 2)。多くの客室の窓がこの森林側に面しており、森林内にはレストランが設けられ、なんとも良い雰囲気を作っている。客室の裏側には、巨大なコンベンションセンターがつながっており、ASHI meeting を含め、数個の学会が同時に開催されていた (写真 3)。

次に、プログラムを追って学会の様子を紹介しようと思うが、私が参加していないセッションもあるので、日にちごとに各セッションのタイトルだけでも紹介していくことにする。

学会一日目 (20日)

Plenary Session #1: Proteomics

- a. Mass Spectrometry
- b. Protein Chips
- c. Clinical Proteomics

Plenary Session #2: New Technology

- a. Expression Profiling in SLE
- b. Autoantigen Microarrays
- c. Lympho Chip
- d. Real Time PCR

Workshop #1: Medium Density Arrays

Workshop #2: Advanced Flow Cytometry

Abstracts Session #1: Technology

Abstracts Session #2: MHC class I

私は、ASHI Meeting と一日だけ重なって、その前日程にボルチモアで開催されていた American Society of Human Genetics (ASHG) meeting に参加していた。よってボルチモアから直接、一日遅れてナッシュビルに到

着することとなったため、この日のプログラムには参加することができなかった。この日は、Dr. Peter Doherty による「Virus, MHC class I genes and Immunity」というタイトルの Opening Session から始まり、主に New Technology を紹介するセッションが続いた。Dr. Tim Behrens による、全身性エリテマトーデス (SLE) の Expression profiling についての講演をはじめ、Autoantigen Microarray や Lympho chip、Real time PCR などの技術を駆使した研究の成果が報告されたらしい。

一日の口頭発表のセッションは、ほぼ夕方 6 時に終わるようになっており、6 時から約 1 時間半のポスターセッションが学会一日目、二日目にあった。私は、ちょうどこの日のポスターセッションに間に合うぐらいの時間に学会会場に到着した。ホテルが異常に広く、コンベンションセンターの registration をみつけるまでに、ホテル内の地図を片手にぐるぐると歩き回った。地図を見ても、森の中に入ると方向感覚を失い、どちらから来たか分からなくなるのだ。(この状態が最終日まで続いたのは私だけであろうか。)

なんとか registration をすませ、早速ポスターセッションへ (写真 4)。学会プログラムに 'Wine and Cheese Reception' と書かれているとおり、ワインとチーズが振舞われ、ポスターを囲んで自由なディスカッションがなされた。自分もポスターを持参したので貼ろうと思ったが、ボードが見つからない。聞いてみたら、オーラルプレゼンテーションのある演題にポスターのボードはないそうだ。1.2m×2m の大きなボードに、貼れるだけ沢山のポスターを作ってきたのに、それが使えずがっかりした。来年からは、オーラルプレゼンターにもボードを用意してくれたほうが、よりポスターセッションが活気づくのではないかと思った (写真 5)。

このポスターセッションで、印象に残っている演題の



写真 4. Registration カウンター



写真 5. ポスターセッション

ひとつを紹介することにする。University of Pittsburgh の Dr. Penelope A. Morel らの演題で、Fc gamma receptor 遺伝子多型と関節リウマチ (RA) との関連を示していた。Fc gamma receptor (FcγR)とはイムノグロブリンの Fc 部位に親和性をもつ膜貫通型のレセプターで、ヒトの低親和性 FcγR は IIA, IIB, IIC, IIIA, IIIB のメンバーから成る。これらの分子には、アミノ酸置換を伴う多型アリルが知られており、これまで、RA と関連を示すのは FcγRIIIA-176F/V 多型であるといわれていた。彼らの発表は、*HLA-DRB1* shared epitope をホモで持つ RA 患者において、FcγRIIA-131R/H 多型が疾患感受性を示すという、はじめての報告であった。FcγR 遺伝子群の多型と自己免疫疾患との関連は、我々のグループでも注目しているテーマであり、また、今回の ASHI meeting では、Plenary Session の 1 つのテーマとして取り上げられていた。このセッションについては、あとで詳しく述べる。

ポスターセッション後、オーラルプレゼンター招待のレセプションがあった。知り合いもいないので一人で参加するのはどうかと思ったが、参加してみたら、いろいろな人と話ができて、案外楽しかった。中でも印象に残っているのは、自己免疫疾患のマウスモデルについて話をした人で、次の日に彼女の発表があるというので行ってみたら、CD45 についての研究をしている Dr. Michelle Hermiston であった。一般演題のみならず、Plenary Session や Symposium の演者も参加していたらしい。レセプションは、遅い時間まで続いたようだ。

学会二日目 (21日)

Plenary Session #3: Innate Immunity

- a. Toll Like Receptors: Polymorphisms and Defective Signaling
- b. Toll Like Receptors in Disease/Autoimmunity



写真6. Opry Mills へ1

- c. KIR Genes, Polymorphisms and the Microbial Connection

Plenary Session #4: Signaling

- a. The Immunological Synapse
- b. CD45 Signaling and Polymorphism
- c. Targets of Immunosuppression

Symposium #1: Immune Tolerance Network (ITN)

Symposium #2: Other Polymorphic Gene Families

- a. MIC Genes
- b. Cytokine Genes
- c. Polycystic Kidney Disease
- d. Genetic Polymorphisms Associated with Coagulation Disorders

Workshop #3: Case Studies

Workshop #4: Cytokine Polymorphism, Expression and Detection, Elispot, PCR, Flow, Miltenyi

Workshop #5: ELISA

Abstracts Session #3: Cytokines

Abstracts Session #4: Antigen Processing, T cells, NK cells and Signaling

ナッシュビルでは、朝晩は曇りがちだったが、昼間は天気が良かった。学会の合間に、ほとんどの参加者が行ったと思われるのが、「Opry Mills」である。これは、ショッピングモールに映画館、カジノなどが合体した施設である。ホテルの周辺で徒歩で行ける範囲には、これくらいしか見るものがなかった。ホテルから「Opry Mills」までは遊歩道がのびており、散歩コースとしてちょうど良い (写真 6, 7)。また、ホテル外で、しかも近くで食事をしようとしたら、ここしか行くところがないと思われた。つまりは、ホテル自体が広い敷地で隔離されており、身動きが取れないのだ。たいていの参加者は、「Opry Mills」とホテルの間を学会中に数回行き来し、



写真7. Opry Mills へ2

あとはホテル内の森をさまよっていたと思われる。

学会二日目の午前中は、Plenary Session #3 「Innate Immunity」、#4 「Signaling」があった。LPS 刺激に反応して、TNF や IL12 などのサイトカインの産生を促すレセプターに Toll like receptor 4 (TLR4) があるが、LPS 刺激抵抗性を示すマウスにおいて、この遺伝子に mutation を認めたという話が Dr. Bruce Beutler よりあった。また、Dr. Ann Marshak-Rothstein による、TLR と自己免疫疾患の関連を示した講演では、B 細胞や Dendritic cell に特異的に発現している TLR9 の重要性を述べていた。TLR9 は DNA の CpG 断片を ligand として結合することが知られている。CpG を含む Immune complex が FcγR を介して internalize される時、TLR9 と CpG の結合が補助的に働いて効率をあげているのではないかという仮説にもとづき、TLR9 の機能が異常になることにより、Immune complex の取り込みが悪くなり、自己免疫を引き起こすのではないかというストーリーであった。Dr. Michelle Hermiston は CD45 の多型と自己免疫疾患との関連を述べた。CD45 は protein tyrosine phosphatase で、TCR signaling の初期段階において、Lck のリン酸化を介して CD4 に働いて TCR を活性化する分子である。CD45 の phosphatase domain に mutation をもつマウスでは、TCR の機能が不全である。さらに血清中の IgM の量が多いことから、B 細胞の機能異常も引き起こしていることが示された。近年、ヒトにおいては、CD45 の exon 4 の deletion 多型が多発性硬化症と関連しているという報告も出ているようだ。

午後には、Abstract Session #4 「Antigen processing, T cell, NK cells and Signaling」があった。この中で、MHC class II 分子の anti-tumoral immune response における役割を示した演題は、ASHI Scientist in Training Travel Award を受賞した。マウスの Immunotherapy model として、MHC class II isotype I-Ak を強制発現させた Sarcoma cell の vaccination が、腫瘍に対してプロテクティブな効果を示すことが知られている。MHC class II isotype I-Ak 分子が抗原提示細胞を活性化するシグナル伝達を、蛍光ラベルした分子を顕微鏡で観察することにより、視覚的に示した。抗原を結合した MHC class II isotype I-Ak が lipid raft と呼ばれる特徴的な脂質ドメインに移動し、そこへ PKC がリクルートされることにより、下流の tyrosine kinase が活性化するという。細胞内ドメインを欠失した I-Ak 分子でも同様の実験を行ったところ、lipid raft へのリクルートはされるものの、以降のシグナルが誘導されなかった。このことから、腫瘍細胞における MHC class II isotype I-Ak 分子の細胞内ドメインは、lipid raft との相互作用を介してシグナル伝達をすることが述べられていた。

この日の夜もポスターセッションがあった。ポスターは 2 日間とも同じものが貼り続けられ、しかも発表者がポスター前に立つことが決められていないためか、1 日目か 2 日目に参加者が分散してしまっている感じがしたのは残念なことだった。ディスカッションの活気もいまいちだったように思われる。

学会三日目 (22 日)

- Plenary Session #5: New Approaches to Autoimmunity
- Tolerogenic Dendritic Cells Mediate a T Suppressor Cell Cascade
 - T Regulatory Cells in Autoimmune Disease (MS)
 - Rheumatoid Arthritis - NOD
 - Complement Gene Polymorphisms in Susceptibility to SLE

- Symposium #3: ASHI and Clinical Cytometry Society, Flow Cytometry Applications for Stem Cells
- Flow Cytometry Approaches to Hematopoietic Stem Cell Identification and Genetic Modification
 - Human Cell Sorting for Therapeutic Procedures : Protocols and Safety Issues
 - Classical MHC-independent Immune Response to Leukemia

Workshop #6: Advanced DNA

Workshop #7: Internet Informatics (SCORE) Resources

Symposium #4: Report from the 13th International Histocompatibility Workshop

Abstracts Session #5: Monitoring and Bone Marrow Transplantation

Abstracts Session #6: MHC Class II and MIC

Workshop #8: Post-transplant Monitoring and Engraftment

Workshop #9: Tetramer Analysis of CD4 and T Cells

Abstracts Session #7: Transplantation

Abstracts Session #8: HLA and Disease/Vaccines

午前中は Plenary Session #5 「New Approaches to Autoimmunity」があった。Dr. David A. Hafler により、抗原提示細胞によって抗原が T 細胞に認識された後の Th1 immunity の誘導には、regulatory T 細胞の助けが重要であることが示された。Dr. Christophe Benoist は、関節リウマチ (RA) に関連する MHC アリルには、susceptible なものと protective なものがあることを示し、ヒトの自己免疫疾患モデルである NOD マウスでの研究

を中心に、そのメカニズムについての考察を述べた。Dr. Joseph M. Ahearn は、補体 C4 とそのレセプターである CR1 の発現量のバランスが、健常者と全身性エリテマトーデス (SLE) 患者とで異なることを示した。SLE 患者では、CR1 の発現量が減少し、C4 の発現量が増加しているという。

この日の昼は、大きな会場でランチを食べながら参加できる、各種 award の授賞式があった。これには、大部分の参加者が出席していたと思われる。「ASHI scholars and international scholar award」には以下に示す 7 人が、250 以上の一般演題の中から選ばれた。

Anajane Smith (ASHI Scholar)

Clinical Immunogenetics, Seattle Cancer Care Alliance, Seattle, WA

「Detection of an acquired mutation in an HLA-A*03 allele impairing gene expression in leukemia cells of a patient with all.」

Holger-Andreas Elsner (ASHI International Scholar)

Department of Transfusion Medicine, Hannover Medical School, Hannover, Germany

「The phylogenies of introns 4-7 demonstrate an inconsistent pattern between HLA-C group topologies.」

Howard M. Gebel (ASHI Scholar)

Department of Pathology, Emory University Hospital, Atlanta, GA

「Polymorphic residues located within the groove of HLA class I are not serologically silent」

Stéphane Bécart (ASHI Scientist Training)

Institut Biomédical des Cordeliers, INSERM U396, Paris, France

「Cytoplasmic tail truncation of MHC class II molecules abrogates lipid raft-dependent signaling in a murine sarcoma」

Yizhou Zou (ASHI Scholar)

Department of Internal Medicine, University of Texas Southwestern Medical Center, Dallas, TX

「Alternatively spliced forms of MICA and MICB lacking exon 3 in a human cell line and evidence of their presence in human peripheral blood mononuclear cells」

Junbao Yang (ASHI Scholar)

Department of Surgery, Washington University School of Medicine, St. Louis, MO

「A new method for the production of MHC class II/peptide complexes associated by FOS and JUN dimerization domains」

Leann M Hopkins (ASHI Scholar)

Pathobiology and Diagnostic Investigation, Michigan State University

「Glycoprotein Ib peptide presented by MHC class I on platelets from individuals with ITP」

The Rose Payne Award は **Mark Davis** (Stanford University, Stanford, CA)、ASHI Distinguished Scientist Award は **Nicole Suci-Foca** (Columbia University, New York, NY)、ASHI Distinguished Service Award は **Louise M. Jacobbi** (President, Saturn Management Services)、ASHI Outstanding Technologist Award は **John Hart** (Johns Hopkins University Baltimore, MD) に与えられた。

午後には、Symposium#4 「Report from the 13th International Histocompatibility Workshop」があり、春にシアトルで開催された学会の Overview が紹介され、以下に示す 4 分野についてはさらに詳細なレクチャーがあった。

Anthropology/Human Diversity (Dr. Henry A. Erlich)

最終的な目標は、HLA class I と class II の全アリルを同定し、それらのハプロタイプ頻度を集団ごとに決定することである。このような目標が達成されれば、医学の分野で大きな貢献ができると思われる。なぜなら、骨髄移植のドナー探しに役立つ情報であるのはもちろんのこと、様々な HLA 関連疾患の疾患感受性を予期できるからである。

Genetics of NK/KIR (Dr. Bo Dupont)

Killer cell immunoglobulin like receptor (KIR) は HLA と直接相互作用する分子として、上記のプロジェクトと同様に、アリルの同定及びそれらのハプロタイプ頻度の決定が重要だと考えられる。しかしながら、duplication と unequal recombination を繰り返して進化してきたと思われる KIR 遺伝子は、多型解析が難しく、まだ見出されていない新規アリルの発見もある可能性が大きい。

HLA and Disease (Alberto Pugliese)

HLA 関連疾患として認められている、Type I diabetes、Narcolepsy、Coeliac Disease、Ankylosing Spondylitis、Rheumatoid Arthritis について、はじめに見いだされた疾患感受性 HLA アリルと連鎖不平衡の関係にあると予測されるアリルに、新たな感受性遺伝子を見出そうとするプロジェクトである。疾患ごとに subcommittee が結成されており、患者、コントロールサンプル、または患者家系サンプルのリクルートをスムーズに行い、特に HLA 領域近傍のマイクロサテライトマーカーや SNP のファインマッピングを行う計画である。各 committee の chair を以下に示す。

[Type I diabetes]

Sophie Caillat-Zucman

Laboratoire d'Immunologie, et INSERM U25, Hopital Necker, 161 Rue de Sevres, 75014 Paris, France
33-44-49-53-74 (phone), caillat@ceylan.necker.fr

[Narcolepsy]

Emanuel Mignot

Stanford University Medical Center, 701 Welch Road, Suite 2226, Palo Alto, CA 94304, USA
1-415-725-6517 (phone), mignot@leland.stanford.edu

[Coeliac Disease]

Cristina Mazzilli

Dipartimento di Medicina Sperimentale, Universita La Sapienza, Viale Regina Elena, 324, 00161 rome, Italy
39-06-4451286 (phone), cmazzilli@uniroma1.it

[Ankylosing Spondylitis]

Antoine Toubert

Laboratoire de Biologie Moleculaire, Service du Professeur D. Charron, Hopital Saint Louis, 1 Ave Claude Vellefaux, F-75475 Paris, Cedex 10, France
33-1-42-49-49-49(phone),
toubert@neptune.chu-stlouis.fr

[Rheumatoid Arthritis]

Lee Nelson

Fred Hutchinson Cancer Center, 1100 Fairview Ave. North, D2-100, Seattle, WA 98109-1024, USA
1-206-667-5149 (phone), lnelson@fred.fhcr.org

Hematopoietic Cell Transplantation and Future Plans (Dr. John Hansen)

Donor-recipient matching をより確実にするために、様々な HLA 遺伝子の多様性情報を集めようというプロジェクトである。また、許容ミスマッチ抗原を探し、より多くの患者にドナーを提供することを目的としている。

この日最後の Abstract Session は「HLA and Disease/Vaccines」であった。このセッションで自分の発表があったので、少しその内容を紹介することにする。FcγR については先に述べたが、その遺伝子多型が SLE や RA などの自己免疫疾患と関連しているという報告が、様々な集団でなされている。これまで知られていた FcγR 遺伝子 (FCGR) 多型には FCGR2A の 131 番目のアミノ酸置換による 131H/R 多型、FCGR3A の 176F/V 多型、FCGR3B の NA1/NA2 多型があり、疾患に関連を示すほどのアリルは、イムノグロブリンに対する親和性や食食能が低下するということが分かっている。さらに私達のグループでは、新規に FCGR2B の 232I/T 多型を見出し、その多型が日本人 SLE において有意な関連を持つことを報告している。今回の発表では、日本人 RA において、FCGR2B-232I/T を含むこれらの FCGR 遺伝子多型のケース・コントロール関連研究を行った結果を報告した。FCGR3A-176F/F が、HLA-DRB1 shared epitope 陽性群の比較において、患者で有意に増加していた。HLA とは異なる染色体上にある FCGR3A が、それ単独では有意な関連は示さないのに、HLA-DRB1 と何らかの相互作用を持つことにより、RA の疾患リスクを高めるという点が興味深いところである。先に述べたように、遺伝子はちがうものの、ポスターセッションでも HLA-DRB1 と FCGR の遺伝子間相互作用についての演題が出されていた。実際に機能面でどのように相互作用しているかについての検討も、今後必要であろう。

発表は無事終わり、ほっとしたところで、初めてベリタスの方（このレポート執筆の依頼を下された方）に声をかけて頂き、久しぶりに日本語を話した。お互い、相手が日本人であることが確信できないからであろうか、日本人同士というのは、海外ですれちがってもあまり話さないものだ。

学会四日目 (23日)

Plenary Session #6: B Cells

- B Cell Ontogeny
- Signaling through the BCR and MHC Class II
- FcR Gene Family and Regulation of B Cells

Plenary Session #7: Fc Receptors and Signaling

- Fc ε RI Polymorphism and Allergy

b. FcR Polymorphism and Postengagement Signaling

c. B Cell Tolerance and Immunosuppression

Plenary Session #8: Pathology and Immune Modulation of Antibodies

a. C4d Deposition

b. Signaling through MHC Class I

c. IVIG

d. Plasmapheresis and IVIG

学会最終日、帰る人もちらほら出はじめた。この4日間を通して、ホテル周辺を動き回っていただけだったので、少しストレスフルになってきた。しかも、4日目になっても相変わらず、ややこしいホテルの建物のつくりにも悩まされ、森をうろうろしていた。このままナッシュビルのダウンタウンを見ないで帰るわけには行かないと思い、「ジェネラル・ジャクソン・リバーボートクルーズ」のチケットを購入した。この日の夜は、学会参加者貸しきりで、ミシシッピ川の支流であるカンバーランド川をダウンタウンまで下るディナークルーズのイベントが用意されていたのだ。その前に、この日のセッションを紹介する。

私にとっては、この日のセッションが一番重要で、最新の情報を得られた貴重なものだった。午前中は、Plenary Session #6 「B cells」、#7 「Fc Receptors and Signaling」があった。Dr. John Cambier は BCR を介したシグナル伝達系について述べた。IgM の膜貫通部位に mutation を持つトランスジェニックマウスの B 細胞は、BCR 刺激に無反応となる。このメカニズムを調べたところ、IgM の細胞表面発現量には違いがないものの、IgM にリクルートされてくる Igα の量が減少していた。また、B 細胞活性に抑制的に働く FcγRIIB からのシグナリングの下流分子である Dok のリン酸化が constitutive に起きていることから、B 細胞活性化にブレーキがかかっている可能性が示された。Dr. Robert P. Kimberly は FcγR についての総論を、遺伝子多型と自己免疫疾患との関連を中心に話した。最近の話題としては、FcγRIIB 遺伝子 (FCGR2B) の新規の多型について述べた。Dr. Kimberly のグループでは FCGR2B のプロモーターも含めたゲノム配列をスクリーニングし、プロモーター及び膜貫通部位にあたるエクソンに多型を見出した。後者の多型は、我々も見出している FCGR2B-232I/T と同一のものである。この分子は、主に B 細胞に発現しており、BCR を介したシグナリングに抑制的に働くことが知られている。よって、多型アリルでは抑制機能が異常なために、B 細胞の hyper activation が引き起こされ、様々な自己免疫疾患と関連している可能性は大いに考えられ

る。彼らの最近の試みとして、この 232I/T 多型のアリル間の機能的な違いについての研究も紹介されていた。

午後は、「Opry Mills」に行き、夜の「ジェネラル・ジャクソン・リバーボートクルーズ」までのあいだの時間をつぶした。私が今までに見たことのあるショッピングモールの中で最も大きく、一軒一軒店を見て回るだけでも相当の時間がかかった (写真 8)。「Opry Mills」には、おそらくこの駐車場がすべてうまることは無いのではないかと思われるくらい広い駐車場が完備されている。その一角には、アメリカ最古のラジオ番組のスタジオがはいっている「グランド・オール・オープリー・ハウス」という劇場がある。ここでレコーディングされているラジオ番組は、80 年ほど前から現在までずっと続いているそうだ。隣にはカントリーミュージック歌手たちの衣装や楽器を展示し、昔のレコーディングスタジオの様子を再現した博物館があった。ナッシュビルがカントリーミュージックの地であることを、唯一感じさせてくれる場所であった。

夕方 6 時、ホテルからバス数台に分かれて、すぐ近くの船の乗り場まで移動した。Seoul National University College of Medicine の Dr. Myoung Hee Park とそのグループの学生達 (?), そしてベリタスのお二方と一緒にディナークルーズを楽しむこととなった。船は 4 層のデッキを持った巨大な外輪船で、ライブショーと食事を楽しむながら川下りができる。料理もおいしく、ライブショーも大満足であった。ただ、予想していた事と違うのは、デッキに出ても何も見えないことである。あたり一面真っ暗で、電灯がまったくない。船もほとんど揺れないので、動いているかどうかはわからなくなるぐらいだ。出航してから約 1 時間半、船はナッシュビルのダウンタウンまで下ったみたいだ。ここでしばらく停泊するので、ダウンタウンの様子を見たい人はデッキに出るようにとアナウンスが入った。ナッシュビルの町の明かりから想



写真 8. Opry Mills

像するに、ダウンタウンといっても、こぢんまりとした小さな町だった。このあと船はUターンし、今度は川を上り、元の場所までもどった。きっとこのクルーズは、夜よりも昼に乗ったほうが、景色が見えて楽しいに違いないと思った。ともかく、全行程3時間のクルーズは、歌とダンスのショーで大盛り上がりとなり、ASHI meeting をしめくった(写真9,10)。

日本に帰国して

ASHI meeting の後、さらにアメリカ国内の別の学会を経由して、11月になってから帰国した。日本もすっかり寒くなっていて、紅葉が美しい季節になっていた。日が経ってしまったので、このレポートを書くにも、いろいろ思い出すのが大変だった。写真だけは沢山撮ってきたので、これを見てもらうのが一番様子が分かるのではないかと思う。

はじめて参加したASHI meeting の印象は、Plenary Session や Symposium が充実しているという点は満足できるものであるということ。一般演題、およびポスターセッションに関しては、やや物足りない気がした。学会好きの私としては、来年マイアミビーチで開催されるASHI meeting にぜひ参加し、今年以上の活気を期待したい。

開催地の予告

ASHI 29th Annual Meeting : October 28 - November 1, 2003

Fontainebleau Hilton Resort and Towers, Miami Beach, FL

ASHI 30th Annual Meeting : October 1 - 6, 2004

San Antonio Convention Center, San Antonio, TX



写真9. ジェネラル・ジャクソン・リバーポート1



写真10. ジェネラル・ジャクソン・リバーポート2

2002年の夏、私は騎馬民族の国モンゴルの首都ウランバートルとその300 km 北部に位置するモンゴル第二の都市ダルハンとの間に広がる大平原にて、競馬レースをゴール近くでモンゴル馬達の到着を、いまや遅しと待ち構えていました。競馬レースといっても、モンゴルには競馬場はなく、モンゴルの90%以上を占めている大平原で行なわれる雄大なレースです。スタート地点とゴール地点のみが定められて、その間10 km～30 km、どのコースを駆け抜けようと自由です。モンゴルの平原は、ウランバートル南部のゴビ砂漠に見られるように砂漠と草原が入り混じった砂漠性草原です。やがて、地平線のかなたに砂漠の砂を蹴散らして生ずる砂煙のなかから、待ちに待ったモンゴル馬が立ち現れてきました。馬上では遊牧民の子供たちが、笠もつけず見事な手綱さばきで勇壮な姿を見せていました。特に、少女が男の子たちに伍して、馬上で鞭打ちつつ人馬一体で躍動する姿は感動的で、モンゴルのジャンヌダルクを思わせました。モンゴル馬は、我々が知っている馬に比べてその大きさは2/3ほど、その負担を軽くするため、騎手はすべて6歳から12歳までの子供たちです。それでも、長い距離を全力で疾走した馬たちの少なからずが、ゴールののち疲労死してしまうそうです。幸いにも、このレースはどの馬も踵を接するように、元気にゴールを駆け抜けました。実はこの競馬レース、私のモンゴルの訪問を歓迎してモンゴル医科大学の先生方が開催して下さった‘猪子英俊記念レース’でした。伝統にならって、先着5等までの馬は“ツムニエヘ”と呼ばれる勝利の歌で祝福されたのち、騎手服で正装した私が賞品と金一封を各々の騎手たちに恭しく渡すセレモニーが執り行われて、このレースは無事終了しました。

私は、このレースの間、モンゴルの遊牧民たちと彼らのモンゴル馬たちがたどってきた悠久の歴史の足跡をしめすゲノム上の刻印に思いを馳せていました。モンゴルは日本の4倍の大きさを持ちながら、その人口は240万人と私が居を構えている横浜市の人口の半分ならず、人口密度は1 km²にわずかに1.5人、日本の人口密度に比して約1/200です。したがって、遊牧を主な生業としてゲル(テントのような移動式住居)とともに大草原を渡り歩くにしても、17の各部族はそれぞれ分散して、それぞれ特定の地域に集中して居住しています。周囲の多く

の異民族からの攻撃を守るための生活の知恵でもありともいわれています。したがって、モンゴルは各少数民族間の交流や混血をきらう複数民族国家として成立しています。このような民族間での閉鎖性は、我々が計画している疾患の感受性遺伝子をマッピングし、同定するための相関解析を行う対象集団として、まさに理想的なのです。私がこのようにモンゴルに滞在しているのも、実はそのような少数民族を対象とする疾患関連遺伝子解析の共同研究について、モンゴル医科大学の研究者の方々との打ち合わせのためでした。

前号では、尋常性乾癬を例として、HLA抗原と関連する疾患のより詳細なマッピングするために、マイクロサテライトの多型を利用してより詳細な相関解析を行い、感受性遺伝子候補領域が100 kbほどまで絞り込めばよいことを述べました。100 kbのヒトゲノム領域には、一般的に遺伝子は1個から数個しかないと考えられるので、この100 kbの領域から真の感受性遺伝子を見つけるのは容易です。マイクロサテライトは2塩基から6塩基までの繰り返し配列のことで、その繰り返しの回数に多型性があります。多型をしめすマイクロサテライトを、我々はHLA領域内に78個、ゲノム塩基配列を調べることで、設定しました。これらのマイクロサテライトはHLA遺伝子と同様に多型をしめすので、HLA遺伝子と同じ感覚で相関解析にもちこめば、いわば、HLA領域に新たに78個の新しいHLA遺伝子が加わったようなもので、相関解析による疾患感受性遺伝子のマッピングがより詳細にできることを意味します。すなわち、前述のように疾患感受性遺伝子候補領域を100 kbにまで絞り込むことができるのです。この100 kbという値は、遺伝学では重要な意味をもつ、“連鎖不平衡”の長さをしめています。

そこで、これに関連して相関解析の原理とそれに用いる遺伝多型マーカーの連鎖不平衡の重要性について考えてみます。たとえば、数万年前に日本人または日本人祖先集団のある一人が、日本人集団で最初に尋常性乾癬を発症したとします。このとき、当然ある染色体のある領域の遺伝子(尋常性乾癬遺伝子)に変異または多型(D多型と呼ぶことにします)が生じているはず(図1)。この特定の染色体を創始者染色体と呼びます。しかしながら、このD多型が数万年前から現在に至るまで、数千

世代にわたり綿々として尋常性乾癬の患者さんに受け継がれて、多くの患者さんをこの疾患発症で悩ませていると考えられます。このとき、D多型が最初に生じた尋常性乾癬の創始者染色体がそのまま全体が、現在の尋常性乾癬の患者に受け継がれているか、というところではありません。染色体は、ご存知のように世代を受け継がれていく経過で、受精の際の相手の配偶子と頻りに遺伝的組み換えを起こしているため、創始者染色体の大部分は他の健常人由来の染色体に置き換わっています（図1）。しかしながら、患者群集団では尋常性乾癬遺伝子を含む短い染色体領域は、創始者染色体由来のそれを保持しているはずですが、なぜなら、創始者染色体由来の尋常性乾癬遺伝子のD多型をもっているからこそ、この病気を患っているのです。そこで、この創始者染色体由来の患者群で保持し、共有している尋常性乾癬遺伝子を含む短い染色体領域こそ、連鎖不平衡をしめす領域です。具体的には、尋常性乾癬遺伝子のごく近傍に位置する遺伝多型マーカー（マイクロサテライト、SNP、HLA など）のA座があると仮定します。尋常性乾癬の最初の患者の創始者染色体は、このA座の多型がたまたまA2であったと仮定しましょう（一方、健常人の染色体のそれはA1と仮定します）。この創始者染色体由来のA2とDは、A座とD遺伝子座の間の距離が非常に短いため遺伝的組み換えがほとんど起こらず、数千世代にわたり連鎖して受け継がれていきます。したがって、患者群で保持し、共有している尋常性乾癬遺伝子を含む短い染色体領域上にもA座が含まれる可能性が高くなります。すなわち、A2とDとは連鎖不平衡にあり、したがって尋常性乾癬の患者群は、健常群にくらべて高い頻度でA2を持っていることが期待されます。我々が良く知って、関連解析により疾患がA2と統計学的に有意に関連している、という知見が得られるはずですが、この相関は、“この遺伝多型マーカーA座の近くに疾患感受性遺伝子があるはずである”、という重要なマッピング情報がえられることを意味します。尋常性乾癬がHLA-Cw6と相関する、すなわち尋常性乾癬の患者群にはHLA-Cw6の頻度が健常群にくらべて有意に高い、という観察から、

尋常性乾癬感受性遺伝子が HLA-C 遺伝子座の近くに存在する、という貴重な情報がえられるのです。

このような考察から、このような HLA のような遺伝多型マーカーをゲノム全体に密度濃く設定すれば、どのような疾患でも関連解析によりゲノム全体から漏れなく、感受性遺伝子の位置が突き止められる、すなわちマッピングとそれにつづく感受性遺伝子の同定が可能になると期待できます。そこで、ゲノムワイドな疾患感受性遺伝子のマッピングを行なうためには、どのような遺伝多型マーカーを使用するか、という重大な選択が迫られます。多型度の高い HLA 遺伝子がゲノム全体に多くあれば、迷うことなく HLA 遺伝子を用いればよいのですが、現実には HLA 遺伝子をヒトゲノム領域に増やすことはもちろん“God (神)”ではありませんから、不可能です。それで、それに代わる遺伝多型マーカーを見つけ出さなければなりません。ヒトゲノム領域にたくさん存在するそのような遺伝多型マーカーとしては、前号にも述べましたが 2 つあります。SNP (single nucleotide polymorphism : 一塩基多型) とマイクロサテライトです。SNP は塩基の置換 (例えば、T と A) による多型です、

関連解析の原理

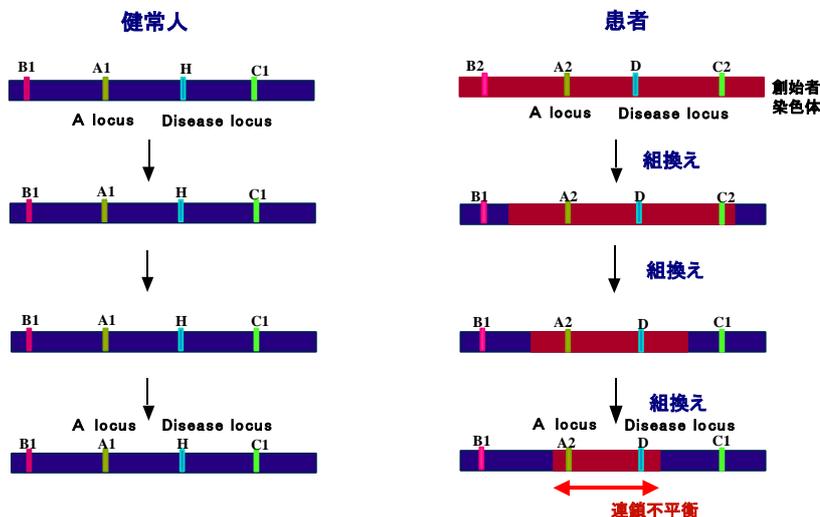


図1：関連解析の原理と連鎖不平衡

右側は疾患患者の染色体で、一番上の染色体が数万年前にある集団のある一人がD多型(変異)を生じたために、最初にある疾患を発症した患者の創始者染色体を表す。D多型がその疾患の遺伝要因である。左側は健常人染色体で、その疾患感受性遺伝子はH多型とする。A、B、Cは遺伝多型マーカーを表す。患者の創始者染色体と健常人染色体で、それらの多型が異なることに注意(異なる多型のみをしめしたが、同じ多型をしめすものももちろん存在する)。

ヒトゲノム上に 1,000 万個ぐらい存在しますので、数は十分あります。しかしながら、SNP は型 (対立遺伝子) の数が 2 つと少ないので、私は HLA の多型を用いた相関解析による疾患遺伝子マッピングの経験から直感的に、疾患遺伝子のマッピングには使えないと思いました。一方、マイクロサテライトは型 (対立遺伝子) の数は平均 10 個と多型に富んでいますし、HLA 遺伝子ほどではないにしても、十分多型性があります。それに、ヒトゲノムにはおよそ 120 万個とたくさんあるので、ゲノムワイドな疾患関連遺伝子のマッピングに使えると感じました。実際、前号にも説明しましたように、HLA 領域において、HLA 遺伝子と相関する疾患、すなわち HLA 領域に感受性遺伝子が存在する疾患について、マイクロサテライトを用いた相関解析によるマッピングにより、非常に効率よく、感受性遺伝子候補領域を 100 kb まで絞り込むことができました。ここで、注目すべき事実はマイクロサテライトによって絞り込める領域、すなわち、上述のこの創始者染色体由来の患者群で保持し、共有している尋常性乾癬遺伝子を含む短い染色体領域、いかえれば連鎖不平衡をしめす領域がマイクロサテライトの場合、100 kb であったことです。この事実は、ゲノムワイドなマイクロサテライト遺伝多型マーカーを用いて相関解析を行なうには、100 kb に一個の密度でマイクロサテライトを設定すれば良いこととなります。いかえれば、ヒトゲノムは 30 億塩基対 (3×10^9 bp) です。3 万個 (3×10^9 bp \div 100 kb = 30,000 個) をゲノムワイドに収集すればよい、ということになります。そこで、我々は約 2 年の年月をかけて、昨春に目標の 3 万個の多型マイクロサテライトをヒトゲノム塩基配列から設定することができました。

このようなマイクロサテライトにしても、SNP にしてもゲノムワイドな遺伝多型マーカーの収集は、ヒトゲノムシーケンシングによって決定された塩基配列情報なしでは、絶対になしえないことです。これが、ゲノムワイドな生活習慣病などの疾患感受性遺伝子の探索が、ポストゲノムシーケンシングと呼ばれる所以であります。ヒトのゲノム塩基配列のスタンダード (標準) が出来上がってはじめて、ゲノムワイドな疾患の感受性遺伝子の探索、いかえれば多人数のゲノムの塩基配列の違い (多型) を疾患の原因に跡づける “ゲノム多様性プロジェクト” が実現できる、ということになります。

私がこのモンゴルにて、競馬レースの間、モンゴルの遊牧民たちと彼らのモンゴル馬たちがたどってきた悠久の歴史の足跡をしめすゲノム上の刻印に思いを馳せていたその訳は、砂漠草原を住処とする少数民族が、日本人よりもまさしく我々が目指すマイクロサテライトを用いた、ゲノムワイドな疾患の感受性遺伝子のマッピングを

行い、同定するための相関解析を行う理想的な対象集団である理由と重なります。それについての詳細は次号にゆずるとして、モンゴルの少数民族はたかだか 300 年ほどの浅い歴史をもち、旧来の伝統を固く遵守して、交雑や人口膨張も見られない、遺伝的に純血集団であるからです。モンゴル人は、最も大事な友人や外国からの客人に良血の馬を贈る習慣があるそうですが、私も幸運にもモンゴル医科大学の先生から、立派な 3 歳の牡馬をいただきました (図 2)。たてがみを靡かせた、あざやかな明薄茶色の駿馬です。Hidetoshi Inoko 号という名前で競馬に出走します。砂漠の英雄チンギス・ハンで名を馳せた騎馬民族にとって、馬は最も重要な家畜であり、「モンゴル人は馬上に生を受け、馬の背で死ぬ」という言い伝えがあるそうです。馬肉は余り食べませんが、交通手段やアイラグ (馬の乳から作ったお酒)、競馬など経済的価値はもちろん、伝統的シンボルとして大切に繁殖、品種改良されています。このように、民族のみならず、寝食とともにする馬についても、小ぶり、多乳、スタミナなどの点で世界の他の馬系統に比べて、遺伝的に隔離された特殊な純粋種なのでしょう。モンゴルは、物理的にも、生物学的にも、遺伝解析を行うにあたって絶好の種や集団を育む隔離した理想郷なのでしょう。草原の生活は時間に追われることもなく、太陽がゲル (テント) に降りる影の位置で、時を知るのみです。私は、その夜の宿泊場所となるゲルの前で 360 度視界が開けた静寂な時を刻む大草原の地平線を虎視しながら、長い期間を経てゲノムに刻み込まれいく “連鎖不平衡” という幻を、灼熱の太陽がもたらす陽炎の揺らぎに眩暈 (めまい) を覚えながら、追い求めています。



図 2 : 馬を贈答されて、喜ぶ騎手服で正装した筆者。左側はモンゴル医科大学の Munkhtuvshin 教授。モンゴルの草原にて。

基礎講座 「HLA の基礎の基礎③」

防衛医科大学校検査部 小林 賢

はじめに

これまでに HLA 抗原分子の構造と、それを支配する遺伝子の構造について記述してきたが、今回はこの HLA 遺伝子がどのように子孫に受け継がれるのか、また HLA 遺伝子の特徴について記載することにする。「HLA の基礎の基礎」ということで日頃耳にしているが、その意味をあまり理解していないような「連鎖」とか「ハプロタイプ」などという遺伝学用語についても解説することにする。

HLA 遺伝子の特徴

HLA は、高度の多型性に富んだ遺伝子である。このような多型性を取得することで遺伝的多様性を獲得したといわれている。遺伝的多様性 (genetic diversity) とは、種の中で、個体ごとの遺伝子構成の変種が豊富であることをいう。遺伝子構成の変種が乏しいと似たような形質の個体ばかりとなり、突発的な病気の発生や環境変化にすべての個体が対応できなくなる。その結果、種が絶滅してしまう危険性が生じる。そのためにも遺伝的多様性をもたせておくことで、突発的な病気の発生や環境変化にも対応できる遺伝子をもつものが生存や、種の保存に有利に働くことになる。

HLA 遺伝子群は、古典的クラス I として HLA-A, B, C が、古典的クラス II として HLA-DR, DQ, DP が存在する。これらを含め HLA 遺伝子領域には、230 種類以上の遺伝子座が存在する。その多くは機能が未定であるが、実際にタンパク質として発現しているとみられる約半数の遺伝子座のうち約 40% が免疫系に関わるものである。MHC クラス II 領域とクラス III 領域の遺伝子は、約 7 億年前に出現したものと推定されている。それに対し、免疫系の遺伝子は約 4 億年前と推定されており、MHC 領域の方が遙かに古くから出現していたと考えられている。また、クラス III 領域には偽遺伝子がない (0%) ののに対して、クラス I (63%) やクラス II (44%) 領域には多くの偽遺伝子が見つかっている。このことから、HLA クラス I やクラス II 領域ではたびたび遺伝子重複が起きて、新しい機能遺伝子が生じたと考えられている。

HLA-A と B 遺伝子座内でそれぞれの対立遺伝子により規定されるアミノ酸配列を互いに比較すると、10% 程度の相違が認められる。また、別の遺伝子座に由来する

アミノ酸の配列を比べても前者と大きな差は認められない。このことから、HLA-A と B それぞれの特異性はないといわれている。

普遍的にいくつもの相同な遺伝子がひとつの染色体上に直列に並んでいる一群の遺伝子のことを多重遺伝子族という。多重遺伝子族は、HLA をはじめ、ヘモグロビンや免疫グロブリンなどといった重要な機能をもつ遺伝子に多くみられ、適応進化に重要であることが次第に明らかにされてきている。大野乾は、新しい機能遺伝子の発生に、そして進化に遺伝子重複が重要であるということを示した。遺伝子重複を起こした際、一方の遺伝子がその機能を維持している間に、もう一方の遺伝子に突然変異が生じて別の機能をもつ遺伝子に進化したと考えられている。

HLA の多重遺伝子族は、クラス I、クラス II がそれぞれひとつのセットとなり、協調して進化してきたと考えられる。HLA 遺伝子は、並んでいる遺伝子座間で、不等交差 (交差はふつう全く相同な染色体部分の交換を生ずるのに対し、交換される部分が等しくないような交差をいう) や遺伝子変換により、頻繁に遺伝子の転移が起こり、突然変異や遺伝的浮動 (集団の遺伝子頻度が世代間で偶然的に変動すること) で高度の多型性が生じたと考えられている。

ホモ接合とヘテロ接合

ヒトの染色体は 22 対の常染色体と 1 組の性染色体から構成されている。性染色体が X と Y の組み合わせであれば男性に、X と X であれば女性になる。HLA 遺伝子は、第 6 染色体の短腕部に位置しているが、前述のように第 6 染色体は通常 2 つ存在する。このような染色体を相同染色体という。一つは父親から、もう一方は母親からそれぞれ受け継がれたものである。

遺伝様式が一番知られている ABO 血液型を例にすると、ABO 血液型には、A, B, O, AB 型の 4 種類の型がある。このような外に現れる形質を表現型 (phenotype) といい、形質 (表現型) は両親から伝えられた 2 つの因子によって決定される。この因子の組み合わせのことを遺伝子型 (genotype) といい、それぞれの因子を遺伝子 (gene) と呼ぶ。ABO 血液型遺伝子座には、A, B, O の 3 つの異なる遺伝子が存在し、その組合せで血液型が決定

されている。これらの遺伝子は、相互にその発現形質が異なるので、これらの遺伝子を対立遺伝子（アリル、allele）という。遺伝子座名、遺伝子名、対立遺伝子名は、イタリック体で記すことになっている。ただし、HLA に関してはイタリック体で表記しないことになっている。すなわち、ABO 血液型遺伝子には *A*, *B*, *O* という少なくとも 3 つの対立遺伝子が存在することになる。なお、3 つ以上の対立遺伝子が存在する場合には、複対立遺伝子ということもある。すべての遺伝子は多数の塩基対から構成されていて、その内の一つの塩基が突然変異することによって新しい対立遺伝子を生じることになる。

表現型が A 型の場合には、*A* 遺伝子と *O* 遺伝子の組合せにより *AA* と *AO* 型という遺伝子型が存在する。B 型も同様に *B* 遺伝子と *O* 遺伝子の組合せにより *BB* と *BO* 型とがある。しかし、*AB* と *O* はいずれも *AB* と *OO* 型という遺伝子型しか存在しない。遺伝子型が *AO* または *BO* の場合、*A* または *B* は表現型として現れるが、*O* は遺伝子型が *OO* にならない限り表現型としては現れることがない。同じ遺伝子タイプを 2 つ同時に持っている場合、すなわち、同じ対立遺伝子を 2 つもつことをホモ接合 (homozygous) といい、異なる場合をヘテロ接合 (heterozygous) という。*AA*, *BB* と *OO* は、ホモ接合で、*AO*, *BO* と *AB* はヘテロ接合である。

ひとつの遺伝子で表現型が現れるもの (*A* と *B* 遺伝子) と、2 つの遺伝子が同じタイプにならないと表現型として現れないもの (*O* 遺伝子) とがある。ホモ接合でないと形質が表れないものを劣性 (recessive)、ヘテロ接合で一つだけでも表れるものを優性 (dominant) という。形質が突然変異による機能欠損に陥った遺伝子は、ヘテロ接合の場合には欠損がもう一方の遺伝子の機能によって補われるため、その形質は劣性であることが多い。ABO 血液型では、*A* と *B* 遺伝子が優性で、*O* 遺伝子が劣性ということになる。この原因は、*A* と *B* 遺伝子は機能しているが、*O* 遺伝子は、1 塩基欠失のために機能を失っていることに由来する。*O* 遺伝子 (欠失以外は *A* 遺伝子と同じ塩基配列である) のように正常遺伝子と塩基配列上で高度の類似性があり、それとの相同性も認められるにもかかわらず、遺伝子としての機能を失っている遺伝子を偽遺伝子という。

HLA 遺伝子は、父親と母親からそれぞれ 1 つずつ受け継がれるので、各遺伝子座には 2 つの対立遺伝子が存在することになる。その 2 つが異なる場合には、ヘテロ接合として、同じ場合にはホモ接合として表現される。HLA クラス I 遺伝子のうち、特に HLA-A、HLA-B 遺伝子のヘテロ接合頻度は 90% 以上であり、通常の遺伝子座では 7% 程度であるのに比べるとはるかにヘテロ接合度が高いことが知られている。

HLA 遺伝子は、そのほとんどが優性で、それぞれの遺伝子に書き込まれた情報に基づき抗原タンパク質がつけられ、何れも表現型として発現される。例えば、HLA-A2 抗原と A24 抗原は何れもが優性であるので、両方の抗原が表現型として書き表される。HLA-A2 抗原だけが検査で検出された場合には、A2 抗原をホモ接合で持つ場合と、A2 抗原と現在の抗血清では検出できない抗原をヘテロで持つ場合とがあるとされている。しかし、それ以外にも A2 抗原と機能を持たない偽遺伝子とをヘテロで持つ場合もある。たとえば、対立遺伝子が A*02011 と A*0215N の場合、A*02011 は A2 抗原を発現するが、A*0215N (N は null allele を意味する) は偽遺伝子であるため A2 抗原を発現できない。すなわち、A2 抗原のみしか検出できないことになる。このことは、DNA タイピングでも言えることで、検査をする上で注意が必要である。

メンデルの法則

HLA はメンデルの法則に従って遺伝されるとされている。メンデルの法則には、「優性の法則」、「分離の法則」と「独立の法則」とがあるが、どの法則に HLA は従っているのだろうか。優性の法則 (優劣の法則ともいう) とは、前述した遺伝子には形質として現れる優性と現れない劣性とがあるということである。分離の法則は、親の対になった遺伝子が配偶子形成のとき、必ず分離することである。独立の法則は、対立遺伝子の組が複数ある場合、それらが互いに独立に子孫へ遺伝することをいう。ただし、二つ以上の非対立遺伝子が同一染色体上に存在するため、独立の法則から期待されるよりも高い頻度で結びついて行動することを連鎖 (linkage) といい、この法則は成り立たない。

HLA 形質である A2 とか B52 抗原には優劣に差がないので、メンデルの優劣の法則には従わない。また、HLA は A24 と B52 とが連鎖しているといわれるように、異なる遺伝子座の特定の遺伝子同士が高い頻度で結びついて遺伝している。ということで、ほとんどの HLA 遺伝子は、独立の法則にも従わない。すなわち、HLA の遺伝は、「分離の法則」のみに従うことになる。

連鎖不平衡と連鎖平衡

分離の法則に従わないということは言い換えると連鎖不平衡状態にあるということができる。連鎖不平衡とは、異なる遺伝子座の対立遺伝子がそろって存在する頻度が、その集団中に存在するべき理論値と一致しないことをいう。例えば、2 つの遺伝子座 X、Y の対立遺伝子 X_i と Y_i が集団中に存在する遺伝子頻度をそれぞれ f_i と g_i とすると、 X_i と Y_i とがそろってみられる頻度は、 $f_i \times g_i$ で表さ

れる。実際に集団を調査して、そのような組合せが生ずる頻度が理論値 ($f_i \times g_i$) と一致しない場合、その集団では X_i と Y_i は連鎖不平衡状態にあるという。反対に、観察値と理論値が等しい場合には、連鎖平衡状態にあるという。また、一般的に染色体上で近くにある遺伝子ほど連鎖が強く表れるため、連鎖を解析して遺伝子群の相対的な距離を推定できる。このようにして作られた地図を、連鎖地図、あるいは遺伝地図と呼ぶ。遺伝地図を作成す

る際によくモルガン単位が使用される。HLA 遺伝子領域の遺伝子地図を図1に示す。

HLA-A*2402 と B*5201 の連鎖を例とすると、A*2402 遺伝子頻度は0.3652 で、B*5201 は0.1090 である(表1)。この連鎖の理論値は、 $0.3652 \times 0.1090 = 0.03981$ となる。一方、観察値は、0.0899 であり、有意にかけ離れている。すなわち、A*2402 と B*5201 とは連鎖不平衡状態にあると言える。

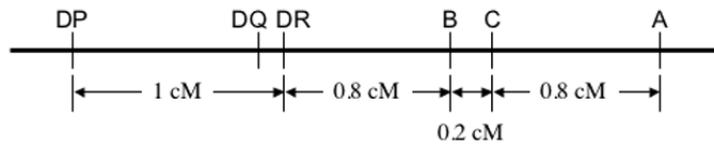
表1 日本人におけるHLA遺伝子頻度

クラスI				クラスII			
HLA-A	n=523	HLA-B	n=523	HLA-DRB1	n=516	HLA-DQA1	n=516
A*0101	0.57 *	B*0702	3.63	DRB1*0101	3.88	DQA1*01	17.25
A*0201	10.71	B*1301	1.91	DRB1*0401	1.36	DQA1*0102	12.60
A*0206	8.99	B*1302	0.57	DRB1*0403	3.88	DQA1*0103	15.89
A*0207	2.87	B*1501	9.37	DRB1*0405	13.18	DQA1*0201	0.78
A*0210	0.76	B*1507	0.38	DRB1*0406	3.49	DQA1*03	41.28
A*0301	0.57	B*1511	0.96	DRB1*0407	0.39	DQA1*0401	1.74
A*1101	10.71	B*1518	1.72	DRB1*0410	2.13	DQA1*05	8.33
A*2402	36.52	B*27	0.38	DRB1*07	0.78	DQA1*0601	2.13
A*2601	11.28	B*3501	8.80	DRB1*0802	3.49		
A*2603	1.91	B*3701	0.76	DRB1*0803	6.40	HLA-DQB1	n=516
A*3001	0.38	B*3901	4.02	DRB1*0901	13.76	DQB1*02	0.78
A*3101	6.88	B*3902	0.38	DRB1*1001	0.58	DQB1*0301	12.02
A*3303	7.84	B*3904	0.19	DRB1*1101	3.68	DQB1*0302	10.08
		B*4001	5.35	DRB1*1201	2.52	DQB1*0303	14.53
HLA-C	n=523	B*4002	8.41	DRB1*1202	2.13	DQB1*0401	12.98
Cw*0102	16.63	B*4003	0.38	DRB1*1301	0.39	DQB1*0402	3.88
Cw*0302	0.19	B*4006	4.78	DRB1*1302	5.62	DQB1*0501	4.46
Cw*0303	13.19	B*4402	0.38	DRB1*1307	0.19	DQB1*0502	3.29
Cw*0304	13.77	B*4403	6.69	DRB1*1401	4.26	DQB1*0503	5.43
Cw*0401	4.40	B*4601	3.44	DRB1*1403	0.78	DQB1*0601	14.92
Cw*0501	0.38	B*4801	5.54	DRB1*1405	3.10	DQB1*0602	11.63
Cw*0602	1.34	B*5101	6.88	DRB1*1406	2.13	DQB1*0603	0.39
Cw*0702	10.33	B*5102	0.19	DRB1*1407	0.39	DQB1*0604	5.43
Cw*0704	1.34	B*5201	10.90	DRB1*1412	0.19	DQB1*0609	0.19
Cw*0801	9.75	B*5401	7.07	DRB1*1501	11.73		
Cw*0803	1.34	B*5502	2.87	DRB1*1502	8.91	HLA-DPB1	n=484
Cw*1202	11.09	B*5504	0.38	DRB1*1602	0.78	DPB1*0201	26.45
Cw*1402	4.78	B*5601	0.38			DPB1*0202	3.51
Cw*1403	7.07	B*5603	0.57	HLA-DRB3	n=516	DPB1*0301	5.17
Cw*1502	4.40	B*5801	0.19	DRB3*0101	3.88	DPB1*0401	3.93
		B*5901	1.72	DRB3*0202	13.57	DPB1*0402	5.79
		B*6701	0.76	DRB3*0301	7.95	DPB1*0501	40.70
						DPB1*0601	1.86
						DPB1*0901	7.23
				HLA-DRB4	n=516	DPB1*1301	1.65
				DRB4*01	37.6	DPB1*1401	2.07
				DRB4*0102	1.36	DPB1*1701	0.83
						DPB1*1901	0.62
				HLA-DRB5	n=516	DPB1*4701	0.21
				DRB5*0101	11.63		
				DRB5*0102	8.91		
				DRB5*02	0.78		

*: 単位は%

中島文明、中村淳子、横田敏和：日本人における4桁レベルのHLAハプロタイプ分布。
日本組織適合性学会誌 8:1-32, 2001より引用

図1 HLA 遺伝子領域の遺伝地図



同一染色体上の遺伝子間の相対距離を示す単位を交差単位といい、二つの遺伝子間に1%の頻度で交差が起るとき、両遺伝子座の距離は1単位であるという。また、遺伝の染色体説を確立した T. H. モルガンを記念して、交差率 100%の距離を1モルガン (morgan)、1%の距離を1センチモルガン (centimorgan, cM) ともいう。これらをモルガン単位 (Morgan unit) という。ただし、この単位は、必ずしも DNA の長さとは一致しないが、20 から 25 cM 程度の短い距離では 1 cM が物理的距離の単位である塩基対で約 1000 kbp (1 Mbp) に相当する。HLA-A と C 遺伝子座との間の遺伝距離は 0.8 cM と、DR と DP 遺伝子座間は 1 cM といわれている。すなわち、A と C

遺伝子座間は、0.8%の確率で、また DR と DP 遺伝子座間は 1%の確率でそれぞれ組換えが起こるということの意味している。

ハプロタイプ

連鎖が定義されると、遺伝子座Xと遺伝子座Yの各対立遺伝子の組み合わせが定義できる。連鎖する複数の座位の対立遺伝子のうち、一つの染色体に存在するものの組み合わせがハプロタイプ (haplotype) である。日本人に多くみられるHLAハプロタイプを表2に示す。

表2 日本人におけるHLA-A, C, B, DRB1, DRB3/4/5, DQB1ハプロタイプの頻度

A	C	B	DRB1	DRB3/4/5	DQB1	HF (%)*
A*2402	Cw*1202	B*5201	DRB1*1502	DRB5*0102	DQB1*0601	7.171
A*3302	Cw*1403	B*4403	DRB1*1302	DRB3*0301	DQB1*0604	4.070
A*2402	Cw*0702	B*0702	DRB1*0101	-	DQB1*0501	2.713
A*2402	Cw*0102	B*5401	DRB1*0405	DRB4*01	DQB1*0401	1.938
A*1101	Cw*0401	B*1501	DRB1*0406	DRB4*01	DQB1*0302	1.744
A*0207	Cw*0102	B*4601	DRB1*0803	-	DQB1*0601	1.550
A*0206	Cw*0702	B*3901	DRB1*1501	DRB5*0101	DQB1*0602	1.163
A*1101	Cw*0102	B*5401	DRB1*0405	DRB4*01	DQB1*0401	1.163
A*2601	Cw*0801	B*4006	DRB1*0901	DRB4*01	DQB1*0303	1.163
A*2402	Cw*0102	B*5901	DRB1*0405	DRB4*01	DQB1*0401	0.969
A*1101	Cw*0303	B*3501	DRB1*0405	DRB4*01	DQB1*0401	0.775
A*1101	Cw*0801	B*4801	DRB1*0901	DRB4*01	DQB1*0303	0.775
A*2402	Cw*0102	B*5502	DRB1*0405	DRB4*01	DQB1*0401	0.775
A*2402	Cw*0304	B*4002	DRB1*0901	DRB4*01	DQB1*0303	0.775
A*2601	Cw*0304	B*4002	DRB1*0901	DRB4*01	DQB1*0303	0.775
A*0201	Cw*0102	B*5401	DRB1*0405	DRB4*01	DQB1*0401	0.581
A*0201	Cw*0303	B*1511	DRB1*0901	DRB4*01	DQB1*0303	0.581
A*0201	Cw*0304	B*1301	DRB1*1202	DRB3*0301	DQB1*0301	0.581
A*1101	Cw*0102	B*5502	DRB1*0405	DRB4*01	DQB1*0401	0.581
A*2402	Cw*0304	B*4001	DRB1*1101	DRB3*0202	DQB1*0301	0.581
A*2402	Cw*0801	B*4006	DRB1*0901	DRB4*01	DQB1*0303	0.581
A*2601	Cw*0304	B*4002	DRB1*0802	-	DQB1*0302	0.581
A*2601	Cw*0702	B*0702	DRB1*0101	-	DQB1*0501	0.581
A*3101	Cw*1402	B*5101	DRB1*0405	DRB4*01	DQB1*0401	0.581

*: Haplotype frequencies (n=516)

中島文明、中村淳子、横田敏和：日本人における4桁レベルのHLAハプロタイプ分布。日本組織適合性学会誌 8:1-32, 2001より引用

集団遺伝学の基礎講座(3)

—対立遺伝子頻度変化の確率論的扱い—

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。今回は、サイズが有限の集団中において、対立遺伝子頻度がどのように変化するのかについて解説したいと思います。

第一回目に、ハーディー・ワインバーグの法則を紹介し、突然変異や自然選択が起きなければ、任意交配集団において対立遺伝子頻度は変化しないことを解説しました。第二回目には、突然変異が起き、かつ自然選択が作用する環境下において、集団中の対立遺伝子頻度が世代経過に伴って変化していく様子についても解説しました。しかし実際には、突然変異や自然選択がなくとも、対立遺伝子頻度は、集団サイズが有限であるために起こる「偶然」によって世代ごとに変化します。また、その頻度変化の方向は、常に増加または常に減少というような一方向に向かうものではなく、あくまでもランダムに決定されます。このランダムな頻度変化の揺らぎを生じさせる要因は、生殖過程における配偶子の任意抽出です。第三回目である今回は、配偶子の任意抽出が対立遺伝子頻度の変化に与える影響について考えたいと思います。

ここで、ヒトのような二倍体生物集団を例に、配偶子の任意抽出について考えてみます。ある遺伝子座には2つの対立遺伝子Aとaがあるとします。二倍体生物においては、別々の個体から配偶子をそれぞれ1つずつ受け継ぐことにより次世代の個体が誕生します。自然選択がなく任意交配が行われていれば、また1個体が伝える配偶子の数に何ら制約がなければ、次世代に配偶子を伝える親は集団中からランダムに選ばれ、さらにその親が自身の父親由来の遺伝子を含む配偶子または母親由来の遺伝子を含む配偶子を伝えるかはランダムに決定される(どちらも0.5の確率で起こる)と考えられます。集団には、遺伝子型がAA、Aa、aaの三種類の個体が、それぞれ遺伝子型頻度P、2Q、Rの頻度で存在するとします($P+2Q+R=1$)。配偶子を伝える親としてAAの個体が選ばれる確率はPであり、Aaの個体が選ばれる確率は2Qです。AAの個体は必ずAを伝えますが、Aaの個体は0.5の確率でAを、0.5の確率でaを伝えます。そのため、次世代にAが伝わる確率は、 $P+2Q \times 0.5 = P+Q$ となります。同様に、次世代にaが伝わる確率は、 $2Q \times 0.5 + R = Q+R$ となります。Aの集団内対立遺伝子頻度は $P+Q$ 、aの対立遺伝子頻度は $Q+R$ ですので、Aを含む配偶子が伝わる確率

はAの対立遺伝子頻度と等しく、aが伝わる確率はaの対立遺伝子頻度と等しいこととなります。すなわち、Aの対立遺伝子頻度をp、aの対立遺伝子頻度をqとすれば($p+q=1$)、次世代に伝わる配偶子がAを有する確率はpであり、aを有する確率はqとなります。どの世代もN個体からなる集団を考えれば、世代が交代する際には2N個の配偶子が選ばれることとなります。2N個の配偶

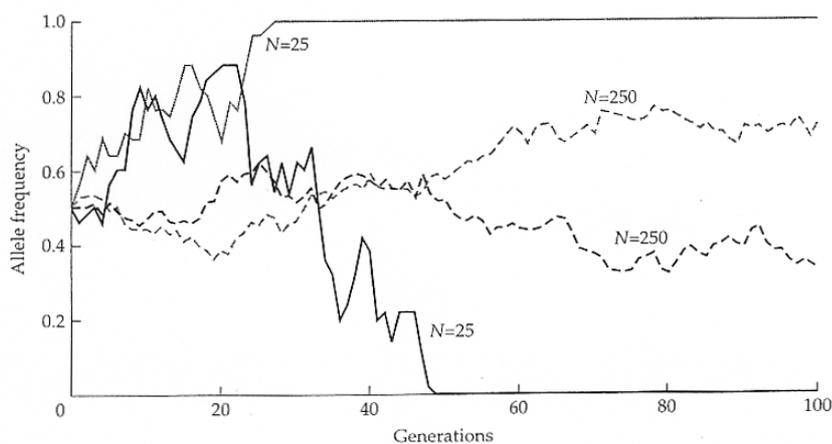


図1 N個体からなる集団において、0.5の初期頻度をもつ対立遺伝子Aの頻度が、機会的遺伝子浮動によって世代経過に伴い変化する様子。2N個の遺伝子が毎世代復元抽出されている。

子抽出の過程において、A が i 回、a が $2N-i$ 回抽出される確率は、二項確率によって、

$$X_i = \frac{(2N)!}{i!(2N-i)!} p^i q^{2N-i} \quad (3.1)$$

と表されます。A が i 回抽出された場合は、次世代の A の頻度は $i/2N$ になります (a の頻度は $1-i/2N$)。この式から、 $0 < p < 1$ であれば、いかなる i に対しても $X_i > 0$ であることが分かりますが、これは世代毎に対立遺伝子頻度は変化しうることを示しています。世代 t における A の頻度を p_t とおくと、 p_t を確率変数とみなすことができます。初期頻度 p_0 が分かっているとすると、 p_t の平均と分散は

$$E(p_t) = p_0$$

$$V(p_t) = p_0(1-p_0) \left[1 - \left(1 - \frac{1}{2N} \right)^t \right] \approx p_0(1-p_0)(1 - e^{-t/(2N)}) \quad (3.2)$$

となります。いかなる世代 t においても、 p_t の期待値は初期頻度と等しいのですが、その分散は t の増加に伴って増加します。このような、配偶子抽出の偶然によって対立遺伝子頻度が揺らぐ現象を、「random genetic drift (機会的遺伝子浮動)」といいます。図 1 は、集団サイズが N である二倍体集団において、初期頻度 0.5 の対立遺伝子 A の対立遺伝子頻度が、機会的遺伝子浮動によって世代経過に伴い変化する様子を、コンピュータシミュレーションによって再現した結果を示しています。シミュレーション中では、配偶子抽出は復元抽出によって行なわれています。集団サイズが小さい $N = 25$ の場合に対しては、27 世代目で A が固定した場合と、49 世代目で消失した場合の結果が示されています。ここで、「固定」とは頻度が 1 になることをいい、「消失」とは頻度が 0 になることをいいます。集団サイズが大きい $N = 250$ の場合には、100 世代経過しても固定も消失もしていない場合の結果が示されています。容易に想像できることですが、集団サイズが小さければ頻度は世代毎に大きく揺らぎ、大きければ小さく揺らぎながら固定または消失まで頻度変化は続きます。そのため、集団サイズが小さければ短い世代数で、大きければ長い世代数をかけて固定または消失にいたることになります。

次に、機会的遺伝子浮動のみが働く場合に、 t 世代後の A の対立遺伝子頻度を確率的に予測することを考えます。式 (3.1) が示すように、ある世代の対立遺伝子頻度が分かれば、次世代の対立遺伝子頻度を確率的に予測することができます。この性質は非常に重要な性質であり、対立遺伝子頻度の変化は、それまでにその対立遺伝子の頻度に変化してきた道筋にいっさい影響を受けないことを意味しています。すなわち、対立遺伝子頻度が増加してきて現在 0.5 の頻度にある場合も、頻度が減少してきて 0.5 にある場合でも、次世代においてある頻度 X をとる確率は全く同じなわけです。このような性質をマルコフ過程といい、初期頻度と集団サイズさえ与えれば、マルコフ連鎖モデルを利用して、世代 t において A が頻度 X をとる確率を正確に計算することができます。世代 t において A が i 個 ($i \neq 0, 2N$) 存在する確率を $X_{i,t}$ とすると、 $X_{i,t}$ は $X_{j,t-1}$ を用いて、

$$X_{i,t} = \sum_{j=1}^{2N-i} \left[\frac{(2N)!}{i!(2N-i)!} (j/2N)^i (1-j/2N)^{2N-i} X_{j,t-1} \right] \quad (3.3)$$

のように記述することができます。また、A が 0 個である確率 (消失している確率) $X_{0,t}$ は

$$X_{0,t} = X_{0,t-1} + \sum_{j=1}^{2N-1} \left[(1-j/2N)^{2N} X_{j,t-1} \right] \quad (3.4)$$

となり、A が $2N$ 個である確率 (固定している確率) $X_{2N,t}$ は

$$X_{2N,t} = X_{2N,t-1} + \sum_{j=1}^{2N-1} [(j/2N)^{2N} X_{j,t-1}] \quad (3.5)$$

と記述されます。式(3.4)と式(3.5)より、 $X_{0,t}$ と $X_{2N,t}$ は単調増加関数であることが分かります。これらは漸化式ですので、初期頻度を与えれば(世代 t において A が i 個あるのであれば $X_{i,0} = 1$ であり、そのほかの頻度階級 j においては $X_{j,0} = 0$ である)、計算を繰り返すことで $X_{i,t}$ を計算することができます。図2は、 $N = 10$ の二倍体集団において、初期頻度 0.3 (6個の A) から出発した A が、ある世代において、0 から $2N$ までの各頻度階級において存在する確率を表しています。黒いヒストグラムは上記の方法で計算された理論値(正確)を示し、白いヒストグラムは0.3から出発したコンピュータシミュレーション1000回分の結果を平均したものです。両者の結果は極めてよく一致していることが分かります。興味深いことに、5世代も経過すると、各頻度階級に存在する確率は等しくなってきます。5世代目に A が消失している確率は0.108であり、固定している確率は0.001です。20世代目を経過すると、1から $2N-1$ までの各頻度階級に存在する確率は非常に近くなり、 A が消失している確率は0.474であり、固定している確率は0.104になります。100世代も経過すると、 A が消失している確率は0.697であり、固定している確率は0.297になります。言い換えれば、消失も固定もせずに A と a の双方が残っている(多型的である)確率は0.006しかありません。究極的には、 A は消失しているか固定しているかのいずれかであり、 A が消失する確率は0.7、固定する確率は0.3になります。正確な計算方法は省略しますが、初期頻度 p_0 から出発した A が、突然変異や自然選択の影響を受けずに、機会的遺伝子浮動の影響のみを受けて究極的に固定する確率は p_0 なのです。このことは、サイズが N の二倍体集団中に、ただ一度の突然変異によって誕生した対立遺伝子が、究極的にこの集団中に固定する確率は初期頻度である $1/2N$ に等しいことを意味します。そして、この事実を利用すれば、次の分子進化学上極めて重要な性質を導くことができます。

いま、世代当たり配偶子当たり u の確率で突然変異が起こると仮定します。サイズが N の二倍体集団であれば、世代あたり $2Nu$ 個(一般に1より極めて小さい)の突然変異が起こることになります。これらは $1/2N$ の確率で固定するわけですから、世代あたり $2Nu \times 1/2N = u$ 個の新たな突然変異が固定することになります。固定すると、それまで存在していた遺伝子と置き換わることから、これを「置換」とよびます。分子進化学的には、究極的に固定した突然変異が重要であり、遺伝子が置換する速度である分子進化速度 k は突然変異率 u と等しい

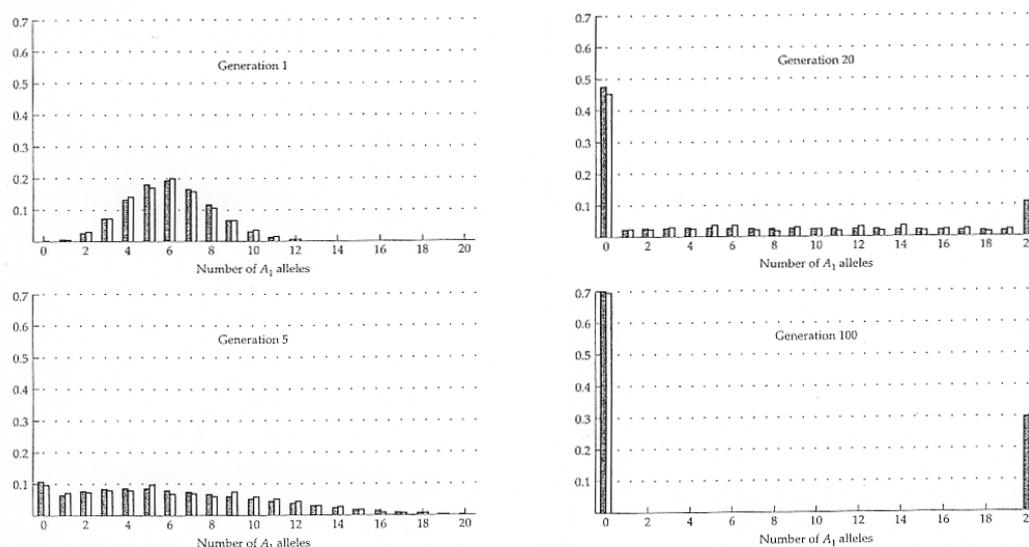


図2 対立遺伝子頻度の確率分布. $N=10$ 個体($2N=20$ 個の遺伝子が存在する)からなる二倍体生物集団において、対立遺伝子 A が 0.3の初期頻度(6個の A)をもつ場合に、各世代において A がある頻度をとる確率。黒色のヒストグラムは理論値(正確)、白色のヒストグラムは1000回のコンピュータシミュレーションの結果の平均を示す。

$$k = u \quad (3.6)$$

という極めて単純な関係式が成立します。特に興味深いのは、自然選択の影響を受けない（中立な）突然変異遺伝子の分子進化速度は集団サイズの影響を受けない点です。サイズが大きければ、より多くの突然変異遺伝子が誕生しますが、それらが固定する確率は小さくなります。逆に、サイズが小さければ、少ない突然変異遺伝子しか誕生しませんが、それらが固定する確率は大きくなります。これが、式(3.6)に N が入らない理由です。

最後に、突然変異の種類と分子進化に関する考察をしてみたいと思います。突然変異はあくまでもランダムに起こります。遺伝子内のアミノ酸をコードする領域に点突然変異が起これば、ある場合はアミノ酸が変化し（非同義置換）、ある場合は変化しない（同義置換）突然変異遺伝子が誕生します。これらは、不利、中立、有利の三種類に大別できます。不利な突然変異遺伝子が集団中で固定する確率は極めて低いと想像できます。有利な突然変異の固定確率は $1/2N$ よりも大きいことは想像できます。しかし、そのような有利な突然変異が生じる確率は大きいでしょうか。機能的な遺伝子であれば、それまで正常に機能していたわけですから、ランダムに起こる突然変異によって、さらに機能的に優れた（自然選択上有利な）遺伝子が誕生する確率は極めて低いと予想されます。もちろん、有利な突然変異も起こるはずですが、しかし、全突然変異中で有利なもの割合は極めて小さいと思われまます。そのため、全突然変異中における不利、中立、有利な突然変異の割合と、それらが固定する確率の双方を考えた場合に、置換が起こる（分子進化に寄与する）突然変異の大部分は中立な突然変異であると考えられます。全突然変異率を u_t とし、その中で不利なもの割合を f とし（ f は「機能的制約」とよばれます）、有利なもの割合は無視できるくらい小さいとすると、残りの $1-f$ は中立なもの割合となります。この仮定より、式(3.6)は

$$k = (1 - f)u_t \quad (3.7)$$

と記述することができます。式(3.7)は、分子進化速度は中立突然変異率に等しいことを主張しています。この主張が、木村資生の「分子進化の中立説」です。以下で、私なりの中立説に対する簡単な解説をしたいと思ひます。木村が中立説を発表した 1968 年当初から中立説は激しい非難を受けました。非難の多くは木村の主張を正しく理解していない誤解からくるものでしたが、最大の争点は、自然選択の影響を強く受ける遺伝子（重要な遺伝子）の分子進化速度は、そうではない遺伝子に比べて速いのか遅いのかという点であったと思われまます。「自然選択上少しでも有利な個体が生き残ることで生物は進化してきた（自然選択説）」と考えるダーウィン進化論の信奉者達は、重要な遺伝子であればあるほど強い正の自然選択を受けるために、そのような遺伝子の分子進化速度は速いと考えました。一方、木村は、そのような遺伝子は機能的制約 f が大きいために（強い負の自然選択のために）、中立突然変異の割合は小さくなり、分子進化速度は遅くなると考えたのです。この、分子進学上もっとも議論された問題は、数多くの遺伝子が塩基配列レベルで調べられたことで完全に決着しました。一般に、分子進化速度は、機能的遺伝子よりも機能を失った偽遺伝子の方が速く、また、同じ遺伝子内であっても、アミノ酸をコードする領域よりもそれ以外の領域の方が速いことが明らかになりました。すなわち、重要な遺伝子であればあるほど、機能上重要な部分であればあるほど、機能的制約のために分子進化速度は遅くなり、分子進化速度は中立突然変異率とほぼ等しくなるという木村の主張の方が、大部分の遺伝子の分子進化を説明するのに都合がよいことが確認されたのです。どの程度の割合で有利な突然変異が起きるのかは分からなかったわけですから、議論が起こるのは当然であり、実際に遺伝子が解析されない限り議論は決着しなかったと思ひます。ほとんどの遺伝子の分子進化は中立説の主張と一致しますが、これまでに幾つかの例外的な遺伝子、すなわち正の自然選択によって分子進化してきたと考えられる遺伝子が報告されています。実は、この雑誌の読者の多くの方がもっとも興味を持っていると思われる MHC 遺伝子はその代表格といえます。これについては、機会があれば解説したいと思います。

今回は、対立遺伝子頻度が機会的遺伝子浮動によって揺らぐ様子と中立突然変異による分子進化について解説しました。次回は、塩基レベルの分子進化を解析する手法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@mbox.kyoto-inet.or.jp
hla@hla-labo.org

患者さんが相談する先はいくつかあります。電話だと

- ◆ 白血病フリーダイヤル (0120-81-5929) や
 - ◆ 白血病研究基金の電話相談窓口
- などが有名で、相談者が紹介されて HLA コンサルタントへ電話されることがあります。
- インターネットのメーリングリストだと
- ◆ Leuk-Talk (白血病患者とご家族と医療関係者のメーリングリスト)
 - ◆ VO-hope (骨髄移植関係の患者さんだけが参加、アドバイザーに医療者)
 - ◆ Nexus (リンパ腫の患者さんにご家族と医療者のメーリングリスト)
- などがあり、HLA コンサルタントはメールでお返事を差上げます。

電話によるご相談は意外に少ないのですが、今回はその例を取り上げます。電話で聞き取り、電話でお答えしたあと、まとめをファックスか書簡で郵送します。

~~~~~  
神戸の骨髄バンクボランティア (通称 ばんちょうさん) ご紹介の、患者さんの奥様からの電話相談です。関西地方の患者さんです。

- ◆ 45 歳男性、AML (急性骨髄性白血病とだけ聞いている)、2002 年 7 月入院、寛解導入療法は奏効し、第一回目の地固め治療を無事済ませ、2 回目の地固め療法の最中にカリニ肺炎を発症、瀕死の状況に至る。なんとか命を取り留めて、いま体力回復中です。
  - ◆ 問題は化学療法をこれ以上続けられないので、再発の危険は高く、主治医からは早急な移植が必要と聞かされています。骨髄バンクドナーはコーディネーターに 3 ヶ月から 6 ヶ月かかるそうで、その間に再発の危険もあり、それまでに何とかしたいのです。
  - ◆ 同胞としてお姉さんが一人だけいます。母は 70 歳を超える高齢です。お姉さんの HLA はミスマッチですが、骨髄バンクドナーが間に合わないときは、お姉さんから「血縁間ミスマッチ移植をしなければならぬでしょう」と主治医がおっしゃいます。
  - ◆ 「早く決心するように」と主治医の先生がおっしゃるのでご相談しました。
- ~~~~~

電話で聞き取りとご回答をしたあと、次のようにまとめた報告書をファックスしました。

=====  
以下、主治医の先生にも読んでいただけるように書きません。

1. HLA  
患者さん : A\***2402**, 0201, B**62**, 51, Cw4, -,  
DRB1\*0405, \***0406**  
お姉さん : A\*0201, -, B**54**, 51, Cw1, -,  
DRB1\*0405, -;

2. 適合性  
GVHD 方向 HLA-A,B,DR 3 座ミスマッチ、  
HVG 方向 HLA-B 1 座ミスマッチ。

3. HLA-A,B,DR ハプロタイプの推定  
父母(仮定)を a/b、c/d、患者を a/c とし、姉を a/d とするとき、  
■ハプロタイプ a : A\*0201-B51-DRB1\*0405  
●ハプロタイプ c : A\*2402-B62-DRB1\*0406  
○ハプロタイプ d : A\*0201-B54-DRB1\*0405  
お姉さんは患者さんと haplo identical (ひとつのハプロタイプを共有する同胞) です。

4. 骨髄バンク (BMDW) で検索  
日本骨髄バンク (JMDP) に 16 名、NMDP に 92 名、ヨーロッパ各地のバンクに多数、台湾バンクに 2 名検索されます。

5. 臍帯血バンクで検索  
6/6 マッチが 2 例検索されますが、患者さんの体重を 50kg とすると、細胞数が少し足りないかも知れません。アレル型 (遺伝子型) は合っているようです。

=====  
A2 A24 B51 B62 DR4 HYOG 100100070001  
A2 A24 B51 B62 DR4 HUKU CB000-1514  
=====

5/6 マッチで細胞数を優先して検索すると、

=====  
A2 A11 B51 B62 DR4 HYOG 100100080002  
A2 A24 B46 B62 DR4 U-TK 20000019  
=====

A24 A26 B51 B62 DR4 U-TK 20011340  
 A24 A2 B59 B62 DR4 KNGW 00511  
 A2 A24 B51 B61 DR4 TOKY Y200001264B  
 A2 A24 B48 B62 DR4 TKAI 3001-353M  
 A2 A24 B51 B62 DR4 DR9 HKDO 0068  
 A2 A24 B51 B62 DR4 DR15 U-TK 99668  
 A24 A31 B51 B62 DR4 U-TK 97338

=====  
 などが検索され、一番上の臍帯血がお勧めになります。

6. 血縁間ミスマッチ移植の本症例での問題点  
 GVHD 方向 3 座ミスマッチですから、通常概念  
 ではドナー候補ではありません。しかしながら、マ  
 イナー組織適合性抗原と母児免疫寛容コンセプト  
 (IPA/NIMA コンセプト) を適用すると、お姉さん  
 が患者さんと「父由来 HLA (IPA) を共有し、母由  
 来 HLA (IMA) を共有しない NIMA ミスマッチ同  
 胞である」ときに限りドナー候補でしょう。

~~~~~

用語：

IPA ; inherited paternal antigens : 父由来遺伝HLA抗原:
 NIPA ; non-inherited paternal antigens : 非遺伝父HLA抗原:
 IMA ; inherited maternal antigens : 母由来遺伝HLA抗原:
 NIMA ; non-inherited maternal antigens : 非遺伝母HLA抗原:

~~~~~

IPA/NIMA コンセプトの患者さん向け参考書は次の  
 とおりです。

●月刊がん もっといい日●

■特集■血液のがん＝白血病・悪性リンパ腫

◆治療の最先端

「血縁者間のドナー適合可能性が倍増：NIMAコンセ  
 プトによる幹細胞移植」

取材協力：佐治博夫@特定非営利活動法人 HLA研究所  
 (写真に「医師」とあるが、佐治博夫は医師ではない)

■雑誌：月刊がん もっといい日、2002年9月号、¥980

日本医療情報出版、

〒105-0013東京都港区浜松町1-1-9

電話：03-5402-3721

Fax:03-5402-3722

7. お姉さんが NIMA ミスマッチ同胞であることを決  
 めるには  
 ご両親の HLA-A,B,DR 検査が必要でしょう。
8. 今後の手順  
 まず、ご両親の HLA-A,B,DR を検査され、(上記の)  
 ハプロタイプ a が「父由来か母由来か」を決める必

要があります。「父由来 (IPA)」であるときは、お  
 姉さんがバックアップドナー候補になります。

9. もしお姉さんが「NIMA ミスマッチ同胞」である  
 とき、次のような厚生労働省の研究班がありますので、  
 お問合せください。

K506をGVHD予防に用いたNIMA相補的血縁間造  
 血幹細胞移植に関する臨床試験

世話人：一戸辰夫先生@京都大学第一内科

==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)



# コラム「改革の精神」

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 木村 彰方

物的資源に乏しいわが国がこれまでに確立して来た国際的な位置づけを維持し、なお繁栄を続けて行くには種々の困難が伴うと思われる。殊に昨今の不況は出口が見えないとも言われるが、この状態を抜け出すためには、過去の失敗を反省することは当然としても、それ以外にも、これまでいかにして繁栄を築き上げて来たのかを改めて認識することが必要である。経済的な不況の原因をバブル期の経済政策の失敗に帰することはたやすいが、失敗を攻め立てたところで不況は解決しない。問題とすべきは、なぜわが国がそれまで発展出来たかであり、その理由を考えずして現在の建て直しは出来ないと思う。

では、なにがそれまでの繁栄の理由だったのであるのか？言うまでもなく、その時代におけるわが国民の勤勉性であり、奉仕の精神であろう。古臭い言葉ではあるが、個々人に努力と滅私奉公の精神があったからこそ、わが国は戦後の混乱から立ち直り、世界に冠たる国家を築きあげられたのだと思う。もうひとつ大事なことは、日本人の美学である武士道精神が残っていたからこそである。己の分を知り、大義の達成に向けて努力する。経済的な困窮に墮せず、武士は食わねど高楊枝の精神があってこそその繁栄であろう。翻って考えれば、そんな美学を失ったことこそわが国の現況の衰退の根本的な原因であると思う。

この現状を立て直しわが国の未来を築くために、資源がなければ頭脳でと、科学技術立国を目指すとの方策が進められている。ノーベル賞30人計画などの標語に象徴される教育、研究の重点化を行い、それと同時に研究者のインセンティブを高めることも念頭において、産学官の連携を推し進めようとしている。その趣旨には賛成するが、そもそもそんな方策で世界に抜きん出ることが出来るかは、なんたる思い上がりであろうか？確率論からしても、たかだか一億ちょっとの人口しかないわが国が、世界に冠たる人材をどれだけ輩出出来ると考えているのか？わが国が世界に伍して行くには、トップを走る人間だけを養成することが必要なのではない。言葉は悪いが、底辺を支える人々の教育レベルを上げることであり、そこに努力と滅私奉公の精神を植えつけることである。全体のレベルが上がってこそ、それを引っ張るトップを養成する価値が出てくる。己の能力を知り、その範囲で出来ることの限界まで頑張る、そんな努力の精神があってこそ、リーダーの指導力が発揮出来き、ひいては

国が栄える。

などと言えば、個人があってこそその立国であるとの反論が聞こえて来そうであるが、その個人があつてとの考え方こそわが国が衰退しつつある根源だと思う。なぜ組織の歯車であることがあたかも愚であり、悪であるかのように思われるのであろうか？歯車であることこそが社会を動かしているのである。個々が自分の分を守ってその使命を果たすことこそが、わが国の発展をもたらし、ひいては個人の幸せをもたらして来たのである。それを履き違えて、個を重視し過ぎた結果が現在の衰退をもたらしていると思う。戦後の日本は、欧米の個人主義の表面だけをなぞり、その本質を明らかに履き違えている。欧米の個人主義では、個々の幸福を求めるにおいて、他人には迷惑をかけないことが前提になっている。しかしながら、この他人とは自分の属する社会の構成員であり、敵対する他社会は徹底的に打ちのめし、搾取あるいは排除することが前提になる。すなわち、そのような背景をきちんと認識せずに、個の幸福を求めることがいかなる場合でも善であるかのような履き違え教育を行ったのが戦後の教育の根本的な誤りであり、それがますます拡大しているのが現状の教育であると言えよう。

わが国が科学技術立国であろうとするならば、欧米と同じやり方ではいけない。科学に関する限り、それに従事する人口も歴史も長い欧米には、間違いなく負ける。時間はかかるが教育しかない。個の多様性を認めてその能力を伸ばすことは必要であるが、それはまず最低限のレベルを相当高いところに設定してからのことである。全体のレベルが高いからこそ、そこからより高い人材が生まれるのである。逆に言えば、他国を圧倒するほどのリーダーがそれほど多数いなくともわが国はここまで繁栄できたのである。個々の努力と歯車の精神が、今後ともわが国の発展の基礎であろう。現状を改革するためには、己を知る謙虚さと温故知新の精神が必要である。そのことを忘れてはならない。

