

## ” 第3回組織適合性学会開催される”

大会長 吉田孝人

平成6年7月20日(水)～7月22日(金) 浜松にて

第3回組織適合性学会大会は平成6年7月20日から22日まで浜松のフォルテにて開催され、特別講演2題、シンポジウム2題、ワークショップ報告、一般演題32題ポスターセッション16題の発表があった。

〈特別講演1〉はFred Hutchinson Cancer Research CenterのProf. John A Hansenが「HLAと非血縁者ドナーからの骨髄移植」というタイトルで、米国にあるNational Marrow Donor Program (NMDP)の紹介と、NMDPのデータにおけるHLAのミスマッチとGVHDの発生との関連性について講演された。

〈特別講演2〉の演者Prof. Dominique Charronは、次回HLA国際ワークショップのChairmanであり、次回ワークショップの解説と「HLAクラスII分子の発現と終末2方向の作用について」の発表があり、細胞活性と分化及び細胞壊死という2方向の機能がHLA class IIを介して誘導され得るという話だった。

〈シンポジウム1〉は、「日本人におけるHLAのDNAタイピングと骨髄移植」というテーマで「日本人のHLA遺伝子とその周辺の話題」日赤中央血液センター徳永勝士先生、「新しいHPA法(TMA-HPA)によるオロチオン族のHLA class II allele」浜松医大微生物学 吉田孝人先生、「HLAのDNAタイピングと骨髄移植」九州大生体防御研 笹月健彦先生、「白血病と骨髄移植」浜松医大第三内科 大野竜三先生、「血液疾患に対する遺伝子治療の基礎的研究」東大医科学研 内科

谷 憲三郎先生がシンポジストとして発表された。HLA-A locus alleleのin-compatibilityが、骨髄移植に影響を与えることが分かってきた。

〈シンポジウム2〉は、「HLA抗原の発現調節機構」のテーマで「HLAクラスII抗原のインターフェロン $\gamma$ による発現調節機構」浜松医大微生物学 小出幸夫先生、「Proteasomeのインターフェロン $\gamma$ による調節」徳島大酵素科学研酵素病理学 田中啓二先生、「絨毛癌由来細胞株からの核蛋白と非古典的クラスI遺伝子上流域との特異的結合」大阪大産婦人科 古山将康先生、「HLAクラスII遺伝子群の発現調節における座位特異性と遺伝的多型性」九州大生体防御研 木村彰方先生がシンポジストとして発表され、HLA抗原の発現調節機序の解明について活発な討論が行われた。

〈一般演題〉は、HLAクラスI、IIのタイピングとその解析について11件、新しい遺伝子について3件人類学について3件、移植関連が4件、疾患感受性について7件、免疫応答に関する演題が4件あった。

〈ポスターセッション〉ではHLAクラスI、IIのタイピングとその解析について12件、疾患感受性について5件の発表があったが、予定時間をオーバーして活発な討論が行われた。

本学会の発表の中からトピックスとして浜松医科大学の小出幸夫先生と東大医学部輸血部の桑田先生に原稿をお願いした。

## ☆ 本学会のトピックス ☆

### HLAクラスII抗原の インターフェロン- $\gamma$ による発現調節機構

浜松医科大学 微生物学 小出 幸夫

はじめに

外来性抗原は抗原提示細胞に取り込まれると、適切な長さ(12~24程度)のペプチドに断片化され、HLAクラスII分子の“溝”に結合する。その後、細胞表面に発現したこのHLAクラスII分子+ペプチドはヘルパーT細胞(CD4<sup>+</sup>)のT細胞レセプターによって認識される。このようなT細胞レセプターとHLAクラスII分子の相互作用は、胸腺中でのT細胞のpositive及びnegative selectionに関与する他、末梢ではヘルパーT細胞の活性化を惹起し、抗体産生や遅延型過敏反応を誘導する。

この際、T細胞レセプターに対するHLAクラスII分子の抗原提示は抗原性ペプチドを結合する部位の構造上の多型性(HLAクラスII分子の多型性)のみならず、細胞表面に発現するHLAクラスII分子の“量”にも依存すると考えられる。実際、ある種の自己免疫疾患では病変部位にHLAクラスII分子の異所性の発現が認められ、これが自己免疫の発病又は増悪に関与する可能性が示唆されている。

我々はインターフェロン(IFN)- $\gamma$ によるHLAクラスII分子の発現誘導に関し、その細胞内情報伝達機構をグリオーマ細胞株T98Gを使用して研究しているのでここに紹介する。

#### Cキナーゼの関与

我々はIFN- $\gamma$ によるHLAクラスII分子の発現は転写レベルで調節されており、これにはCキナーゼが関与している可能性をCキナーゼの阻害剤を用いて明らかにした。即ち、Cキナーゼの阻害剤H-7及びstaurosporinはIFN- $\gamma$ によるHLAクラスII分子(DR、DP)の発現を抑制した。しかし、H-7は当初考えられた程はCキナーゼに特異的でなく、未知のキナーゼをも阻害することが明らかとなって来ている。又、staurosporinはCキナーゼのみならず、チロシンキナーゼをも阻害することが知られている。そこで、実際にIFN- $\gamma$ により細胞内のCキナーゼが活性化されるかどうかを調べたところ、IFN- $\gamma$ の刺激によりCキナーゼは細胞質から膜分画に移動した。

このことはCキナーゼが活性化されたことを示す。

又、Cキナーゼはジアシルグリセロール(DG)によって活性化されるが、DGはPIP<sub>2</sub>がホスホリパーゼC(PLC)により加水分解をされた結果、IP<sub>3</sub>と共に産生される。(IP<sub>3</sub>は細胞質内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇を惹起する。)(図-1を参照)そこで、IP<sub>3</sub>の産生を検討した結果、やはりIFN- $\gamma$ はIP<sub>3</sub>の産生を誘導することが判明した。更に、DGと構造上類似しているため、Cキナーゼを直接活性化するPMAはカルシウムイオノフォア(A23187)と共にHLAクラスII分子をT98G細胞上に発現させた。又、PMAでT98Gを72時間、37℃で刺激し、Cキナーゼを枯渇させると、もはやIFN- $\gamma$ によってクラスII分子を誘導できなかつた。以上の事実は、何れもIFN- $\gamma$ によるHLAクラスII分子の発現にCキナーゼが関与することを示唆する。

#### 細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度上昇の関与

培養液中のCa<sup>2+</sup>をEGTAで予めキレートしておく、IFN- $\gamma$ で刺激してもHLAクラスII分子が発現しなかつた。又、IFN- $\gamma$ はT98G細胞内のCa<sup>2+</sup>濃度を上昇させることが判明した。更に、前述したように細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度を上昇させるA23187はPMAと共にクラスII分子を発現させた。これらの結果は、IFN- $\gamma$ によるHLAクラスII分子の発現にはCキナーゼのみならず、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇が関与することを示唆する。

#### チロシンキナーゼの関与

3種類の各々作用機序の異なるチロシンキナーゼ阻害剤、Genistein, HerbimycinA, Tyrphostinを用いたところ、これらは量依存性にIFN- $\gamma$ によるHLAクラスII分子(DR)の発現を抑制した。そこで、IFN- $\gamma$ により実際にチロシンキナーゼが活性化されるかどうかを抗リン酸化チロシン抗体を用いたウエスタンブロッティングで検討した。その結果、IFN- $\gamma$ により数種の細胞内基質のチロシンリン酸化が証明された。チロシンキナーゼ阻害剤は、上記したIFN- $\gamma$ によるIP<sub>3</sub>の産生、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇を抑制するが、PMA+A23187によるHLAクラスII分子の発現は抑制できなかった。このことは、チロシンキナーゼがCキナーゼ及びIP<sub>3</sub>-細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の上昇の上流に作用することを示唆する。しかしながら、IFN- $\gamma$ レセプターの細胞質内領域にはチロシンキナーゼ・ドメインが見出せない。そこで、IFN- $\gamma$ レセプターにはチロシンキナーゼ分子が会合している可能性がある。最近、IFN- $\gamma$ レセプターにはJAK-1, JAK-2と呼ばれるチロシンキナーゼ分子が会合することが報告されている。

そこで、T98G細胞をIFN- $\gamma$ し、JAK-1, JAK-2のリン酸化を検討したところ、これらの自己リン酸化が検出できた。

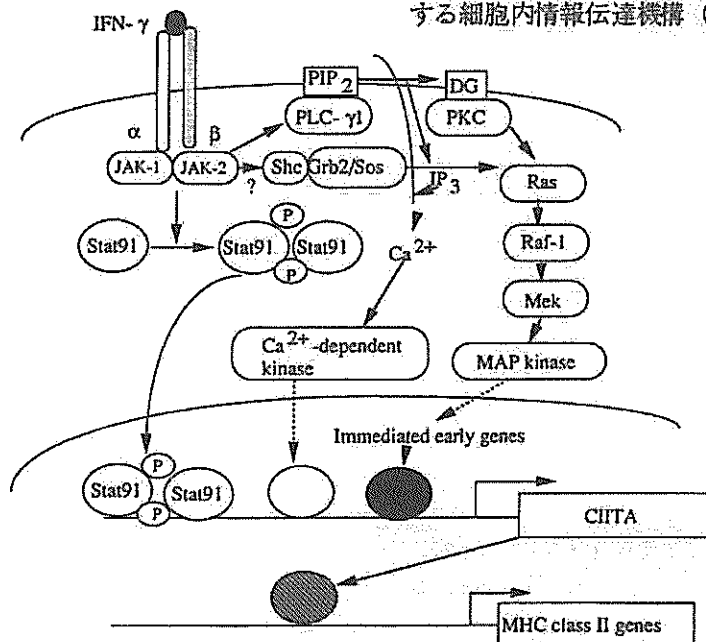
まとめ

以上より、他の報告及び若干の推察を加えて、IFN- $\gamma$ によるHLAクラスII分子の発現に関与する細胞内情報伝達を説明すると図のようになる。IFN- $\gamma$ がそのレセプターを刺激すると、レセプターに会合しているチロシンキナーゼ (JAK-1, JAK-2)が活性化される。これにより、まずStat91のチロシン残基がリン酸化を受けると、自身のSH<sub>2</sub>を介してホモ・ダイマーを形成し核内へ移行、転写因子として働く。一方、JAK-1, JAK-2の活性化はPLC- $\gamma$ 1のチロシン残基をリン酸化し、これを活性化する。これにより、PIP<sub>2</sub>からDGとIP<sub>3</sub>が産生される。DGはcキナーゼを活性化し、最終的にimmediated early geneを活性化し、恐らくAP-1と呼ばれる転写因子を誘導する。又、IP<sub>3</sub>は細胞内Ca<sup>2+</sup>プール又は細胞外よりCa<sup>2+</sup>を動員し、Ca<sup>2+</sup>依存性のキナーゼを活性化すると考えられる。これらの結果、活性化された複数の転写因子は多分CIIITA遺伝子のプロモーター/エンハンサーに結合し、転写を開始させ、CIIITA蛋白を作らせる。このCIIITA蛋白がHLAクラスII遺伝子のプロモーター/エンハンサーに結合する他の転写因子と蛋白-蛋白の相互作用を示すことにより、HLAクラスII遺伝子の転写が起きると考えられる。

参考文献

- 1) Ryu, K., Koide, Y., Yamashita, Y., Yoshida, T.O.  
Inhibition of tyrosine phosphorylation prevents IFN- $\gamma$  induced HLA-DR molecule expression  
J.Immunol.150:1253-1262,1993.
- 2) Nezu, N., Ryu, K., Koide, Y., Yoshida, T.O.  
Regulation of HLA class II molecule expression by IFN- $\gamma$ . The signal transduction mechanism in glioma cell lines.  
J.Immunol.145:3126-3135,1990
- 3) Koide, Y., Ina, Y., Nezu, N., Yoshida, T.O.  
Calcium influx and the Ca<sup>2+</sup>-calmodulin complex are involved in interferon- $\gamma$  induced expression of HLA class II molecules on HL-60 Cells.  
Proc.Natl. Acad. Sci. USA.  
85:3120-3124,1988
- 4) Ina, Y., Koide, Y., Nezu, N., Yoshida, T.O.  
Regulation of HLA class II antigen expression. Intracellular signaling molecules responsible for the regulation by IFN- $\gamma$  and cross-linking of Fc receptors in HL-60 cells.  
J.Immunol.139:1711-1717,1987.
- 5) Steimle, V., Siegnst, C.-A., Mottet, A., Lisowska-Grospierre, B., Mach, B.  
Regulation of MHC class II expression by interferon- $\gamma$  mediated by the transactivator gene CIIITA.  
Science 265:106-109,1994.
- 6) Shuai, K., Ziemiecki, A., Wilks, A.F., Haipur, A.G., Sadowski, H.B., Gilman, M.Z., Damell, J.E.  
Polypeptide signaling to the nucleus through tyrosine phosphorylation of Jak and Stat proteins.  
Nature 366:580-583,1993.

図-1、INF- $\gamma$ によるHLAクラスII遺伝子発現に關与する細胞内情報伝達機構 (一部推察を含む)



## PCR-RFLP法による TAP遺伝子多型の解析

東京大学医学部付属病院 輸血部  
桑田 昇治

### はじめに

細胞表面上に抗原ペプチドが、抗原として提示されるためには、HLAクラスI拘束性の抗原提示の場合、抗原ペプチドが細胞質内に取り込まれ、さらに粗面小胞体(endoplasmic reticulum; ER)内で、HLAクラスI分子に結合し、その後、細胞表面上に運ばれるという過程をたどる。TAP (transporter associated with antigen processing)分子は、主としてHLAクラスI拘束性の抗原処理に関わり、細胞質内に取り込まれた抗原ペプチドを粗面小胞体に能動的に輸送する機能を持つ。TAP分子はTAP1およびTAP2から成るヘテロダイマーを形成していると考えられている。また、TAP遺伝子の遺伝子座は、HLAクラスII領域のDQB1遺伝子とDPA1遺伝子の間に存在している。

### TAP遺伝子多型

TAP遺伝子が1990年にクローニングされた後に、遺伝子多型を示すことが報告され、現在までに、TAP1遺伝子に2ヶ所、TAP2遺伝子に4ヶ所の多型領域が報告されている。抗原ペプチドを能動的に輸送するというTAP分子の機能を考えると、TAP対立遺伝子の違いにより、抗原ペプチド輸送、抗原処理、抗原提示に影響を及ぼすと推定される。現在までのTAP遺伝子多型の報告は、白人集団および株化B細胞での報告に限られており、HLA対立遺伝子と同様に、TAP対立遺伝子頻度が人種により異なるかどうかは明らかでない。私達は、まず、一般日本人集団におけるTAP対立遺伝子頻度を算出するため、PCR-RFLP法にてTAP遺伝子多型の解析を行なった。

### TAP遺伝子多型の解析方法

TAP遺伝子多型の解析方法は、HLAクラスII遺伝子と同様に、PCR法で各多型領域を増幅後、SSO法(合成オリゴヌクレオチドプローブとのハイブリダイゼーション)<sup>1)</sup>、SSP法(対立遺伝子特異的増幅; Powis等はARMS-PCRと名付けている)<sup>2)</sup>、SSCP法の報

告がある。TAP遺伝子の各多型領域は、いずれも、2種類の変異(dimorphism)であり、制限酵素切断で判定を行なうPCR-RFLP法が確実であると考えられる<sup>3)</sup>。今回、TAP1遺伝子2ヶ所、TAP2遺伝子1ヶ所は、制限酵素Sau3AI、AccI、BfaIにより、PCR増幅産物の切断の有無を判定した。制限酵素の認識塩基配列がないTAP2遺伝子の3ヶ所は、ミスマッチプライマーを用いPCR増幅産物に切断部位を導入し、制限酵素MspI、RsaI、AccIIにより解析した。私達は、この方法をmismatch-PCR-RFLP法と呼んでいる。

### 日本人におけるTAP対立遺伝子頻度

52名の日本人でのTAP対立遺伝子頻度は、Powis等の白人での報告と大きな差は見られなかった。白人集団と比べて、TAP1対立遺伝子頻度は有意差はなく、TAP2対立遺伝子ではTAP2Aが少なく、TAP2Eが多い傾向が見られた。また、白人集団では報告のない、TAP2G、TAP2Hの対立遺伝子が確認された。しかしながら、HLAとは異なり、対立遺伝子頻度に入種による大幅な差はないと、考えられる。

### 今後の課題

TAP遺伝子多型は、PCR-RFLP法による解析法が簡便で確実であると考えられる。制限酵素認識塩基配列のない場合でもmismatch-PCR-RFLP法で解析が可能であり、他の遺伝子多型にも応用可能である。TAP1およびTAP2遺伝子の各多型領域でヘテロ接合の場合には、対立遺伝子は実際には間接的に推定している。各TAP遺伝子の多型領域はゲノムDNA上で約4kb離れているが<sup>4)</sup>、ヘテロ接合でも直接決定可能な方法を開発中である。さらには、HLAとのハプロタイプの形成、疾患との相関、移植免疫応答への関与等についても進行中である。また、ヒト抗原提示細胞で、TAP対立遺伝子の違いによる、抗原ペプチド輸送への直接的な影響の検討は進行途中である。粗面小胞体を含む分画を抽出し解析に用いる試みもあるが、細胞質内でのペプチド輸送を直接解析する方法の開発等も、TAP分子の機能を考える上で必要であると思われる。

図 TAP対立遺伝子

| TAP1 |     | TAP2 |     |     |     |     |      |
|------|-----|------|-----|-----|-----|-----|------|
| コドン  | 333 | 637  | コドン | 379 | 565 | 665 | 687  |
| A    | Ile | Asp  | A   | Val | Ala | Thr | Stop |
| B    | Val | Gly  | B   | Val | Ala | Ala | Gln  |
| C    | Val | Asp  | C   | Ile | Ala | Thr | Stop |
| D    | Ile | Gly  | D   | Ile | Thr | Thr | Stop |
|      |     |      | E   | Val | Thr | Thr | Stop |
|      |     |      | F   | Ile | Thr | Ala | Gln  |
|      |     |      | G   | Val | Thr | Ala | Gln  |
|      |     |      | H   | Ile | Ala | Ala | Gln  |

文 献

1) M Carrington, M Colonna, T Spies, JC Stephens, DL Mann : Haplotypic variation of the transporter associated with antigen processing (TAP) genes and their extension of HLA class II region haplotypes. Immunogenetics 37: 266-73, 1993.

2) SH Powis, S Tonks, I Mockridge, AP Kelly, JG Bodmer, J Trowsdale: Alleles and haplotypes of the MHC-encoded ABC transporters TAP1 and TAP2. Immunogenetics 37: 373-380, 1993.

3) S Kuwata, M Yanagisawa, H Saeki, H Nakagawa, T Etoh, K Tokunaga, T Juji, Y Shibata: Polymorphisms of transporter associated with antigen processing (TAP) genes in atopic dermatitis. J Allergy Clin Immunol (in press).

4) S Beck, A Kelly, E Radley, F Khurshid, RP Alderton, J Trowsdale: DNA sequence analysis of 66 Kb of the human MHC class II

region encoding a cluster of genes for antigen processing. J Mol Biol 228: 433-441, 1992.

# シリーズ 知ってるつもり! ?

## 血清学的に発見されたHLA抗原の歴史 ～HLA抗原のルーツその1 B39, B13, Cw8

神奈川県赤十字血液センター 中島文明

この連載記事のスターターとして「前ふれ」を2発かましてから本題に入りたいと思います。

まず、このようなテーマのもと話しをすすめる場合、付いて離れないのが未公認抗原名です。未公認抗原名の付け方にも時代を追って変遷がありました。初期の頃は、新しいものが次々と見つかるとか「SN-2」とか「TOR1」とか「TS-1」など提唱者が自分の名前をイニシャライズして命名していました。赤血球や血小板など他の抗原系では発端者から命名することが多いのに対し、HLAでは発見者が自分の名前を付けてしまうことが特徴でした。次にHLA抗原もある程度出そろおうと、今度はひとつの抗原がいくつかに分かれる split 抗原の時代に移ります。「A26.1/A26.2/A26.3/A26.4」や「Cw3.1/Cw3.2」のように本来の抗原名の後に数字やアルファベットを付けて分けていました。そして、最近では遺伝子解析が先行して血清学的に新しいものはほとんど見つか

らず、出てくるものは非常に低頻度な抗原ばかりです。こうなると相補的な血清はなく、もとの抗原に associate した抗原という考え方に変わってきます。命名法は基本的には short を意味する "s" をつけていましたが現在では全くバラバラです。ちなみに私の場合は "N" を付けています。

以上が未公認抗原名の変遷ですが、次は血清学的解析の曖昧さについてです。HLAをはじめた頃なかなか理解できなかったのが「血清が長い=抗原が短い」と「血清が短い=抗原が長い」という図式です。これは図1のように陽性反応の長さを横方向(血清)にみるか縦方向(抗原)にみるかの違いです。長い DQ3 血清で短い DQ3 抗原がタイプでき、短い DQ7 血清で長い DQ7 抗原がタイプできることが理解できます。associate 抗原の考え方がここにあります。これが理解できた時からHLAがおもしろくなります。ところが、また別の問題が生じてきます。短い血清ほど反応が弱かったり(weak)、逆に余計な反応(extra)をしてしまったりといわれる「良い血清」がありません。weak のときは図2のように、extra があるときは図3のように判定することを心掛けなければなりません。この一見曖昧な論理を脳みその buffer 領域で処理しつつ結果を導く

ことが血清学解析のコツとなります。

前置きはここまでとして本題にはいります。

**B39:** B39 は第6回国際HLAワークショップで B16 の split 抗原として認められた時からその歴史がはじまります。第9回国際HLAワークショップでは B39 をさらに分ける抗体(ST16, B39B)が提出されており、同時期に国内でも同様の解析がされていきました(B39S, SH6, B39.1, B39.2)。しかしながら、どれもクリアな結果は得られませんでした。その頃、我々が見つけた抗血清 20-4249 がやはり B39 の一部が反応せず B39S (45-522), B39.1 (36T-219) と反応を比較したところ同一のパターンが得られたため、この血清に反応する B39 を "B39.1"、反応しない B39 を "B39.2" として再度主張しました。家系調査などいろいろと調べていくうちに、A2-Cw7-B39.1-DR15/DR8.1-DQ6、A31-Cw7-B39.2-DR9-DQ3 とそれぞれ特徴あるハプロタイプが存在し、さらに確信を得ました。そして、第11回国際HLAワークショップで認められ B3901 (=B39.1/B39B), B3902 (=B39.2) と公式命名されました。この、20-4249 という血清は B3901 では4倍以上の力価があり、一方、B3902 に対しては AHG-LCT 法でもまったく反応しません。ある時、この血清でタイピングしていると score "4" 程度でしか反応しない B39 のパネルに遭遇しました。これは変だと思い、別の B39 抗血清数本で確認したところ、そのうちの1本 20-5812 がこのパネルとまったく反応しません。この血清は B39 の monospecific な血清のつもりでしたが B39 をさらに分けることがわかりました。これが "B39N" です。(セログラフ1) B39N の連鎖はクラス I では B3901 と同じですが、クラス II が DR4.2 (DRB1\*0403) であることが特徴です。ここまでの B39 各サブタイプと対立遺伝子との対応も東大医科研の滝口先生、日赤中央血液センターの小川、徳永先生らの解析で明確になっており B3901=B\*3901, B3902=B\*3902, B39N=B\*3904 となっています。頻度は日本人で 8 : 1 : 0.6 です。これら血清学的に分類できる B39 のサブタイプとして外国人パネルに別のパターンを見いだしています。これは、20-4249, 20-5812, 20-7450 (B3902 monospecific) に反応せず、一見 B39N に類似していますが、20-4249 を含め他の B3901 monospecific 血清にもまったく反応しないことが B39N との差です。これに関してはまだ未公表で今後、

解析をすすめる必要があります。

**B13:** B13 は確立されたまったくゆるぎのない抗原と考えていました。現在、対立遺伝子で B\*1301, B\*1302, I E F で B13.1, B13.2 の2種類が報告されています。我々の中央血液センター地域内ワークショップに提出した 20-6487 という抗血清は B60+B61+B41+B47 という特異性ですが B13 の一部と反応しました。この反応したパネルを抽出したところほとんどが A30-Cw6-B13-DR7-DQ2 あるいは A3-Cw6-B13-DR7-DQ2 というハプロタイプを持っていました。そこでこれは B13 の部分抗原と考え "B13N" として主張しました。その後、外国人パネルでも同様の反応がみられ共通した連鎖として Cw6 が確認されました。これに対し conventional な方の B13 は A2 (A24)-Cw10-B13-DR12-DQ7 という連鎖で存在します。実はこの B13 を中心としてさまざまな未公認抗原、新抗原が絡んでいることが解りました。図4. はこれをまとめたもので、B13N に連鎖する A3 は A3A2 (湘南赤十字血液センター安藤ら)、A30 は A3031 (西宮病院橋本ら)、conventional な B13 に連鎖する DR12 は DR12.2 (中央血液センター田中ら/当時は山口県赤十字血液センター) となります。また、外国人由来の Bw6 血清は B13 の特異性を含んでいるものが多く、国内でも 16-1200 という血清が Bw6+B13N という特異性であったため、B13N は Bw4 ではなく Bw6 のエピトープを持っているのではないかと推測されましたが、遺伝子解析でこれは否定されました。対応する対立遺伝子については中央血液センター Ling Lin がアジア地域での分布とともに報告しています。

図1.

|       |       |       |                  |
|-------|-------|-------|------------------|
|       | DQ3抗原 | DQ7抗原 |                  |
| DQ3抗体 | ○     | ○     | → 長い血清<br>→ 短い血清 |
| DQ7抗体 | -     | ○     |                  |
|       | ↓     | ↓     |                  |
|       | 短い抗原  | 長い抗原  |                  |

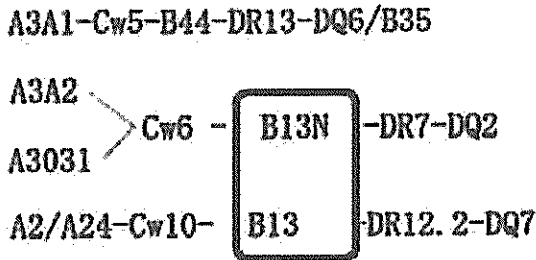
図2.

|           |            |     |
|-----------|------------|-----|
| 抗DQ3      | ○          | ○   |
| 抗DQ7 weak | -          | ○   |
|           | ↓          | ↓   |
|           | DQ3 or DQ7 | DQ7 |

図3.

|            |     |            |
|------------|-----|------------|
| 抗DQ3       | ○   | ○          |
| 抗DQ7+Extra | -   | ○          |
|            | ↓   | ↓          |
|            | DQ3 | DQ3 or DQ7 |

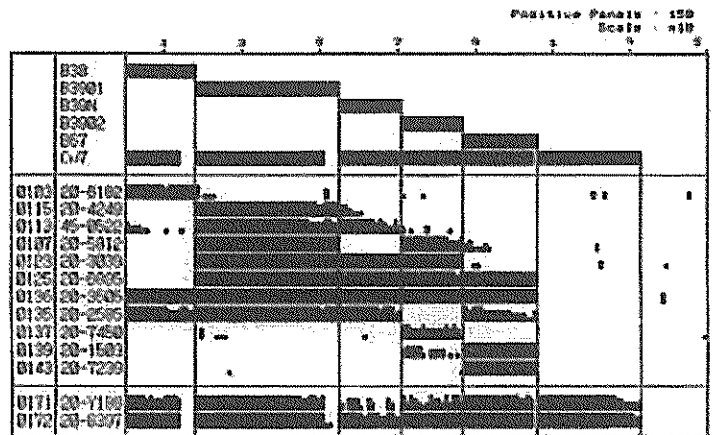
図4.



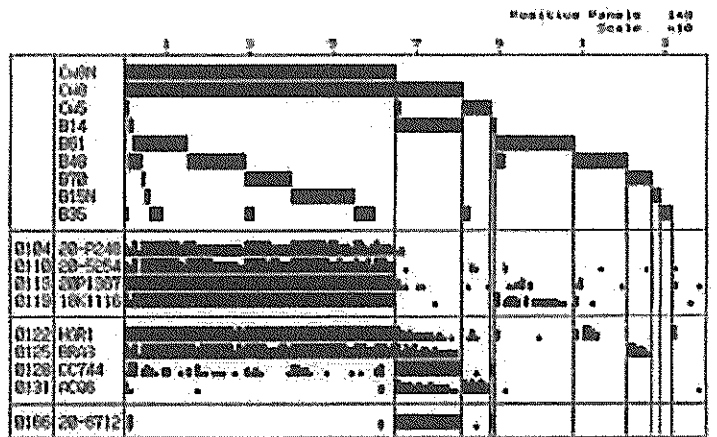
Cw8: Cw8 は Cw5+B14 という血清から見つかった抗原で、連鎖が B14 であることから日本人には関係ない抗原と考えられていました。その後、第11回国際HLAワークショップでイスラエルから提出された BRA3、国内では白井松新薬の HGR1 (血清名はいずれもセログラフ2での仮名) などから、B61, B48 や B70 などと広く連鎖する抗原であることが判明してきました。その頃、我々が見いだした抗血清 20-P248 はやはり B61, B48, B70, B15N (国際的な B75 と同一抗原), B35 などの C locus blank パネルと反応し、B14-Cw8 パネルとは反応しなかったので、Cw8 の部分抗原と考え "Cw8N" として主張しました。日本人では約13%の頻度があり、従来、ブランクであったこの部分が埋まることとなります。セログラフ2は、これらの反応をまとめたもので、20-P248, 20-5254, 20-P1367, 18-K1116 が Cw8N, HGR1, BRA3 が Cw8+Cw8N, CC744 が Cw8+ (B14, Cw8N) weak, AC96 が Cw5+Cw8 という特異性で4種類のパターンが確認されます。20-6712 は B14 monospecific 血清です。Cw8 は B14 との連鎖が強く Cw8 の存在自体が怪しいという意見もありますが B14 (+), Cw8 (-) というパネルが1本あり、これで証明できます。また、International Cell Exchange でも B14 と連鎖しない Cw8 (もちろん Cw8N ではない) を数本確認しており間違いなく存在します。さらに、HGR1 の tail 反応が B48-C locus blank で Cw8 のまた別のサブタイプを認識しているものと考えられます。これら、Cw8 のサブタイプについては、現在、対立遺伝子との対応を確認しているところです。

今回の私の担当はここまでです。続きはつぎの担当者 (たぶん、長野県赤十字血液センターの斉藤さんでしょうか?) にお願いたします。

セログラフ 1 HLA Bのサブタイプを認識する抗血清の反応パターン



セログラフ 2 Cw8のサブタイプを認識する抗血清の反応パターン



HLAに学ぶーI.  
HLA 遺伝子の多型性に関して

日本赤十字中央血液センター  
研究一課長 徳永 勝士

はじめに  
主要組織適合性複合体

(MHC; major histocompatibility complex) の発見は、もともと実験用マウスにおいて移植可能な腫瘍系を確立しようとする研究に始まる。その後のMHC研究に見られた展開は、一つの分野におさまらない実に広範なものであった。ヒトのMHCであるHLA (ヒト白血球抗原系) もまた、臓器移植、各種疾患との関連、免疫系における抗原提示機構、著しく高度な多型性とその進化などなど、臨床医学から免疫学、遺伝学などの基礎科学、さらに人類学まで多くの分野の研究者を魅了し続けている。ここでは毎日



のタイピング作業からしばし離れて、HLA遺伝子のユニークな多型性を眺め、その起源と進化についての考察のいくつかを概観していただきたいと思っている。

#### HLA対立遺伝子間には大きな違いがある

HLAの際だった特徴のひとつである高度な多様性には、超遺伝子族 (super gene family) を形成すること、対立遺伝子 (allele) の数が大変多いこと、遺伝子の数や染色体ゲノム構成にも大規模な差異が認められることなど、いろいろな側面がある。

もともと人類遺伝学を専攻した筆者にとって特に驚きだったのは、多型性を示す塩基あるいはアミノ酸部位が大変多いという点である。HLA以外の一般の遺伝子であれば、対立遺伝子間で変異の見られる部位は1ヶ所からせいぜい2、3ヶ所にすぎないのに対して、HLA-DRB1遺伝子では、たった270塩基対からなる第2エクソン内に多型をしめす塩基が60個もみられ、その産物の $\beta$ 1ドメインにも30ヶ所以上のアミノ酸の多型部位がみられる (図1では各対立遺伝子産物の $\beta$ 1ドメインのアミノ酸配列を比較している。細かい文字の羅列で見辛いものであるが、辛抱して目を向けていただきたい)。

しかもなお興味深いことに、コードするアミノ酸が変わってしまう塩基の置換 (非同義置換とよばれる) がアミノ酸の変わらない塩基置換 (同義置換) よりも多いという、非常にユニークな性質も確かめられた。このような特徴をもった遺伝子はヒトでは他に見つかっていないし、広く生物界を見渡しても、MHC以外には極めてまれなものであるという。

さらにまた、個々の多型部位の配列を対立遺伝子間で比較しながらみていただくと、同一の短い配列 (モチーフとよんでいる) が複数の対立遺伝子で共有されていることがわかる (図1参照)。つまり、HLAのそれぞれの対立遺伝子は、独特の変異箇所をもつのではなくて、モチーフの組み合わせとして独特であることになる。このような変異が、突然変異のランダムな蓄積による所産であるとは考えにくい。

なぜHLA (MHC) がこんなに変わった特徴をもっているのだろうか? この疑問には今でも完全に答えられていない。短い遺伝子断片 (数塩基から数十塩基対) を単位とした、組み換え (recombination)、交換 (exchange) あるいは変換 (conversion) 機構などが提唱されている。筆者ら自身も新しい対立遺伝子の配列を決定してその進化を議論する際、つい安易にconversion-like even などと使っているが、まだ誰もそのような機構を証明した者はいない。ただ、MHCの機能が抗原ペプチドを挟み込んでT細胞に提示

することを考えれば、多種多様な微生物やウイルスに対応するために、自然淘汰上、MHC分子に多様性があることが生体防衛上有利に働くことは理解できる。

#### しかしHLA遺伝子の突然変異率は低い

さて、HLA遺伝子群がこのように著しい多型性を示すことから、多くの人はHLA遺伝子の突然変異率が高く、進化速度が早いと思いがちであるが、実際はそうではない。突然変異率に関しては、もう10年以上も前に、抗血清に対する反応性を指標として変異株の出現率をみる実験などが報告されている。その結果、MHC遺伝子の突然変異率は決して高くはないということが実証されている。

最近の集団遺伝学の理論的解析からも、HLA遺伝子の塩基置換率は高くないことが支持されている。すなわち、他の一般的遺伝子と比較して同義置換 (前出のアミノ酸を変化させない塩基置換) の頻度はむしろ一番低い部類に入り、非同義置換 (アミノ酸を変える塩基置換) の頻度についてもごく平均的な値であると見積もられている。

#### Trans-species Polymorphism

J. Kleinは、MHC遺伝子群がむしろ大変ゆっくりと、長い時間をかけて、今日みるような多型性を獲得してきたと主張し、これをTrans-species theoryと名付けた。つまり、MHCの多くの対立遺伝子の起源は、それぞれの種 (species) が誕生する以前にさかのぼるといふわけである。彼らは、ヒトに最も近縁なサルであるチンパンジー、ゴリラなど類人猿のMHC遺伝子の配列を解析し、それらの配列が驚くほどヒトのMHC遺伝子の配列に類似していることを明らかにした。

図2はHLA-DRBの対立遺伝子群に、チンパンジー、ゴリラなど霊長類のDRB対立遺伝子を加えて、塩基配列の差異から遺伝的距離を計算し、その値に基づいて遺伝子の系統樹を作ったものである。HLA-DRB1の対立遺伝子のクラスターのそこかしこに、チンパンジー、ゴリラ、そしてブタオザルの遺伝子さえ含まれていることがわかる。

例をあげると、図の中心よりやや上にあらわれるゴリラの対立遺伝子Gogo-DRB1\*08とヒトのHLA-DRB1\*0802やDRB1\*0803との遺伝的距離は小さく、かなり近い関係にある。そして図の上端にでてくるヒトのHLA-DRB1\*0701やDRB1\*0901などは、ヒトとゴリラのDRB1\*08遺伝子群から遺伝的にずっと遠いことが明らかである。そのすぐ下にあらわれるチンパンジーのPatr-DRB1\*02は、ヒトのHLA-DRB1\*1501やDRB1\*1501やDRB1\*1601など (DR2グループ) と近いこともわかる。

この系統樹のなかにはいくつかの対立遺伝子のまと



まり、すなわち、クラスターがみられる。このクラスターをKleinらはlineageとよんでいる。HLAの専門家である読者の方々は、実はそれぞれのlineageがHLA-DR抗原の血清学的なグループ分けとよく対応していることにすぐに気付かれることであろう。先にみたヒトと類人猿の間のTrans-species polymorphismは、それぞれのlineageあるいはグループのなかで観察されたことになる。一方、lineageとlineageの分岐はヒトと類人猿の分岐よりずっと以前に起こったと推定される。

人類学や進化遺伝学の結果から、チンパンジーの先祖とわれわれ人類の先祖が分岐した年代は五百万年から六百万年前、ゴリラの先祖とわれわれの先祖が分岐したのが六百から八百万年前とされている。従ってHLA-DRB1の多くの対立遺伝子はそれ以前から生じ、非常に長い時間をかけてゆっくりと変化してきたと考えられる。それどころか、DRB1対立遺伝子のもっとも早い時期の分岐は少なくとも三千万年前と見積もられており、これは日本ザルやアフリカのヒビなど最もサルらしいサル(旧世界ザルとよばれる)とわれわれの先祖が分岐したと考えられる年代と同じである。こうしてみると、MHC遺伝子群の進化が生物の大進化になにか本質的な部分でも寄与しているのではないかと想像してみたくなる。

参考文献

- 1) Bodmer JG, et al. Nomenclature for factors of the HLA system, 1994. Tissue Antigens 44:1-18, 1994.
- 2) Marsh SGE, et al. HLA class-II nucleotide sequences, 1992. Tissue Antigens 40: 229-243, 1992.
- 3) Satta Y, et al. Calibrating evolutionary rates at major histocompatibility complex loci. In: Molecular Evolution of the major histocompatibility complex, Eds. Klein J and Klein D, pp. 51-62, Springer-Verlag, 1991.
- 4) Klein J, et al. The major histocompatibility complex and human evolution. Trends in Genetics 6:7-11, 1990.
- 5) Klein J, et al. Frozen haplotypes in Mhc evolution. In: Molecular Evolution of the major histocompatibility complex, Eds. Klein J and Klein D, pp. 261-286, Springer-Verlag, 1991.

|           |                 | 10  | 20  | 30  | 40  | 50  | 60  | 70  | 80  |
|-----------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| DRB1*0101 | DNI D=1         | R   | F   | L   | W   | Q   | L   | K   | F   |
| DRB1*0102 | D=30            | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0103 | DR 103          | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0101 | DR2 D=2         | --- | P   | -   | K   | -   | F   | -   | D   |
| DRB1*0102 | D=13            | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0103 | ---             | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0101 | D=21            | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0102 | D=23            | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0201 | DR3 (DR17)      | --- | E   | -   | Y   | S   | T   | S   | -   |
| DRB1*0202 | (DR16)          | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0401 | DR4 D=4         | --- | E   | -   | V   | -   | H   | -   | -   |
| DRB1*0402 | D=19            | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0403 | D=22            | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0404 | D=24            | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0405 | D=25            | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0406 | D=27            | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0407 | D=11            | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0408 | D=12            | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0409 | ---             | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0410 | ---             | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0411 | ---             | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0101 | DR3 (DR11)      | --- | E   | -   | Y   | S   | T   | S   | -   |
| DRB1*0102 | (DR11)          | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0103 | (DR11)          | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0104 | (DR11)          | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0201 | (DR12)          | --- | E   | -   | Y   | S   | T   | S   | -   |
| DRB1*0202 | (DR12b)         | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0301 | DR6 (DR13-D=14) | --- | E   | -   | Y   | S   | T   | S   | -   |
| DRB1*0302 | (DR13-D=19)     | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0303 | (DR13)          | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0304 | (DR13-PEV)      | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0401 | (DR14-D=9)      | --- | E   | -   | Y   | S   | T   | S   | -   |
| DRB1*0402 | (DR14-D=14)     | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0403 | (DR14C)         | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0404 | (DR14C)         | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0405 | (DR14)          | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0406 | ---             | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0407 | ---             | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0408 | ---             | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0501 | DR7 D=17        | --- | G   | -   | Y   | K   | -   | Q   | F   |
| DRB1*0502 | D=1             | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0503 | DR8 D=1,1       | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0504 | D=1,2           | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0505 | D=1,3           | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0506 | ---             | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0507 | ---             | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0508 | DR9             | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| DRB1*0509 | DR10            | --- | E   | -   | E   | -   | Y   | -   | -   |

図1 HLA-DRB1のβ2ドメインのアミノ酸配列の変異

左端には対立遺伝子名、つづいて血清学および混合リンパ球培養による分類が示されている。一番上にあげたDRB1\*0101の配列を基準に、これと異なるアミノ酸を一字表記であらわしている。高変異部分が10番付近、30番付近、70番付近の3箇所あり、その他にもいくつかの変異部位がみられる。原則として、10番付近と30番付近の配列の特徴は血清学的なグループ分けとよく対応し、それ以降の配列の変異はグループ内の細分類に対応する。

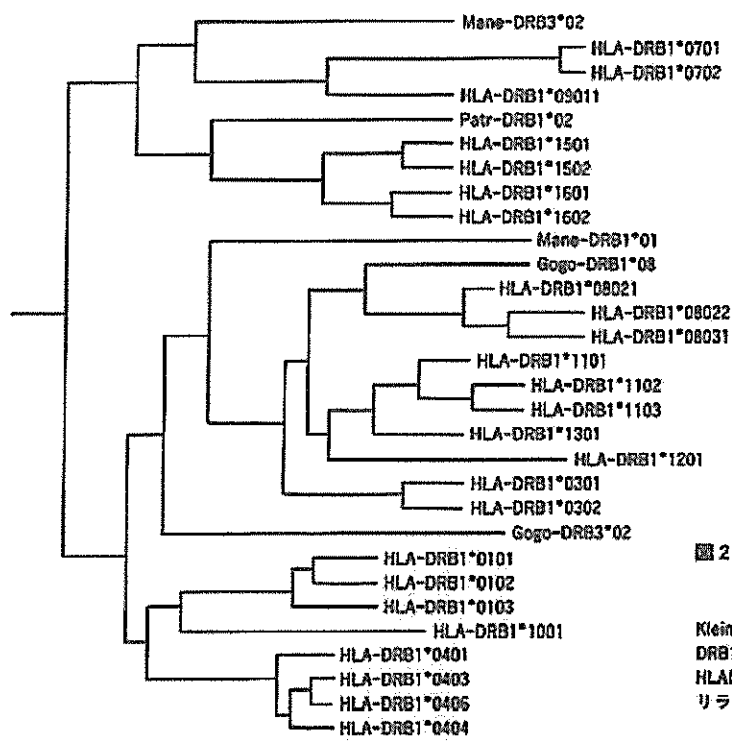
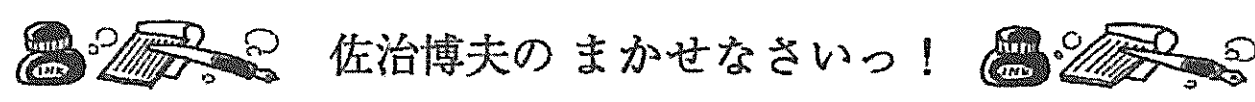


図2 霊長類におけるDRB1対立遺伝子の系統樹

KleinらによるDRB対立遺伝子群の系統樹からDRB1の部分を選択して改定した。  
HLAはヒト、Patrはチンパンジー、Gogoはゴリラ、Maneはブタオザルをあらわす。



## 佐治博夫のまかせなさいっ！

### 「氏族」と「家紋」のこと

京都府赤十字血液センター  
研究部 部長 佐治博夫

トニー・ヒラーマンという異色の推理作家がいる。白人であるが、彼の作品はすべてアメリンディアンの「ナヴァホ族」居留地が舞台であり、活躍するのはナヴァホのリーブホーン警部補かチー巡査である。足跡などの遺留痕跡にたいする鋭い観察や、調和にたいする「違和感」が事件の解決に大切な要素となっている。彼らの宗教はいかに自らを万物に調和させるかがその目的である。美と調和を大切にす。たとえば日本ではこの夏の早魃に各地で雨ごいが行われた。ナヴァホは雨ごいをしない、自分を早魃と調和させようと折る。物的所有については極めて低い価値観をもち、所有物によって人を判断しない。そしてナヴァホの男は女性を平等に尊敬の念をもって接する。

ナヴァホには「氏族制度」があるらしい。チー巡査は「ゆっくりしゃべり」氏族でリーブホーンのエマ妻は「苦い水」氏族である。同じ氏族の人達はナヴァホでは兄弟であり姉妹であるとみなされる。

「まわる山」氏族の人々のあいだでは姉妹の子、姪や甥は娘や息子と同じ地位が与えられる。むかし多夫多妻、一夫多妻の時代に近親交配をさける意味をもった制度とみてもよい。動物には同系を見分ける能力があるという。同系のマウスと異系のマウスを同じケージで飼うと、必ず異系どうして交配が行われる。それは尿の匂いで見分けられるらしい（まじめな文献の引用である）。他の種ではテリトリーが尿で決められるといわれるが、これも近親交配をさける意味合いがあるのかも知れない。尿の微妙な香りを嗅ぎ分けられなくなった人類はかわって氏族制度を布き、道徳律をつくったともいえる。多様性維持のたくまざるシステムである。日本の家紋も同じように理解できないだろうか？ リーブホーン警部補は愛妻エマを亡くし、近ごろは1万年以上まえにベーリング海（地） 峡をこえてきたナヴァホの祖先への想いが深まったようである。中国旅行のパンフレットを取り寄せる場面で最近作「コヨーテは待つ」は終っている。さて本ニュースレターのタイトルは飯田真作さんの発案ときく。

“Come on!” と家紋をハイブリダイズさせて「KAMON」 になったという。HLAは家紋のようなもの、とは卓見である。（さ）

# HLA最前線

## HLAと血小板輸血の現状とその方向性

兵庫県赤十字血液センター  
荒木延夫, 能勢義介

はじめに

血小板輸血は1960年代から可能となり、血小板減少症を伴う疾患などの止血管理にきわめて有効な療法として用いられ、その需要は増加している。しかし、血小板輸血を実施したにもかかわらず輸血効果が認められないことがある。その原因として発熱、脾腫、持続出血、感染症、DIC、免疫複合体などの血小板の消費が亢進した状態によるものと、さらにもう一つの重要な原因として血小板同種抗体によるものがある。

血小板膜表面にはHLA抗原や血小板特異抗原などの同種抗原が存在する。そのため、輸血製剤中に含まれる白血球や血小板によってHLA抗体や血小板特異抗体が産生された患者に血小板を輸血すると、輸注された血小板上のHLA抗原や血小板特異抗原とそれらの抗体がただちに免疫破壊反応を起こし、PTR (Platelet Transfusion Refractoriness: 血小板輸血無効状態) に陥る。その上、HLA抗体は頭痛、発疹、発熱、悪感、戦慄などの輸血副作用を生じさせる。1973年、Yan-keeらはHLA抗体によりPTRに陥った患者にHLA抗原の適合した供血者から得られた血小板を輸血すると有効であると報告し、それ以来、HLA適合血小板の臨床応用がなされてきた。そこで今回はHLAと血小板輸血の現状とその方向性について紹介したい。

### 1. HLAと血小板輸血の現状

#### a. HLA適合血小板製剤について

HLA抗体が産生され、PTRに陥った患者にHLA適合血小板を輸血することにより、約80%以上に有効な臨床効果が得られる。本邦においては1990年にHLA適合血小板の薬価基準が厚生省告示により収載され、日赤血液センターにおいてHLA適合血小板製剤(濃厚血小板HLA「日赤」)を供給している。10単位(血小板数: $> 2.0 \times 10^{11}$ ), 15単位( $> 3.0 \times 10^{11}$ ), 20単位( $> 4.0 \times 10^{11}$ )の3種があり、有効期限は採血後72時間である。

#### b. HLA適合血小板製剤のHLA適合性と供給システム

血小板膜表面に存在するHLA抗原はclass IのHLA-A, B, C抗原で、class IIのDR, DQ, DP抗原は証明されていない。また、C抗原も少量しか表現されておらず、輸血効果に影響を与えないため、実際にはA, B抗原が血小板輸血の輸注効果に影響を与える主要な因子となる。しかし、現在、A, B抗原だけでもA抗原が27種、B抗原が57種存在し、極めて多型性に富んでいるため、HLA適合血小板製剤を供給するには数多くのHLAタイピング済供血者の確保が必要となる。HLA適合血小板製剤の供給システムはまず、①献血者より成分献血登録者を募集し、承諾を得た献血者のHLA抗原検査を行い、リンパ球を液体窒素下にて凍結保存する。②患者のHLA抗原検査とHLA抗体スクリーニングを実施する。③HLA抗体陽性患者のHLA抗原と適合あるいは、近似したタイプ(交差反応性抗原)または患者のHLA抗体に対応する抗原が陰性のタイプの登録者を選択し、リンパ球を解凍してLCT法またはAHG-LCT法による交差適合試験を行う。④交差適合試験適合の登録者に血小板アフエレーシスによる献血を電話で依頼する。⑤採血後、HLA適合血小板製剤として医療機関に供給する。

#### c. HLA適合血小板製剤の問題I (ABO式血液型不適合血小板製剤)

HLA適合を優先すると、ABO不適合の血小板輸血を行うことが度々ある。血小板膜表面に存在するABO抗原の抗原量は赤血球に比べてかなり少なく、筆者らの解析ではABO適合血小板輸血と不適合血小板輸血の1時間後および24時間後の臨床効果に差は認められなかった。しかし、PierceらはA型患者に非常に高力価の抗A抗体を有するO型供血者の血小板輸血で重篤な溶血性副作用が起きたと報告しており、ABO不適合O型供血者の血小板輸血はできるだけ避けるべきである。しかし、HLA抗体を有する患者がまれなHLAタイプやHLA抗体の特異性が広範囲にわたるため、HLA適合者がなかなか得られないなどのやむをえない場合で血小板輸血が必須と判断された時は、躊躇せずにABO不適合の血小板輸血を行うべきであるとMur-phyは言及している。その時は、供血者のIgG型の抗A, 抗B抗体が高力価の場合、血漿を除去した方が無難である。一方、植木らは抗A, 抗B抗体価が共に高いO型患者にABO不適合血小板輸血を行ったところ、

B型およびAB型血小板の一部でPTRを起こした症例を報告した。彼らはMPHA法を用いてPTRの原因が患者の抗B抗体であること、そしてB型およびAB型血小板輸血の一部でPTRが起こったのは供血者血小板上のB抗原量の個人差によるものであることを示唆した。また、三谷らはフローサイトメトリー及びMAIPA法を用いて血小板上にB抗原は検出できたが、A抗原は検出できなかったことを報告している。このことより、患者が高力価の抗B抗体を有するときは、ABO不適合の可能性も考えなければならない。

#### d. HLA適合血小板製剤の問題II (輸血後GVHDと血小板輸血)

開心術例などのように大量に新鮮血輸血を行った際、供血者のTリンパ球が宿主(患者)体内で生着増殖して、宿主を攻撃する輸血後GVHD

(Graft-Versus-Host Disease:移植片体宿主病)が起こることがある。その原因は供血者のHLA型が患者のhaplotypeの一方のhomo接合体の場合に起こることが明らかとなっている。そこで問題となるのはHLA適合血小板輸血の場合、homo接合体の供血者は、HLA適合性を考慮する時に非常に有用であるため、輸血後GVHDを起こしやすい可能性があるということである。実際、Bensonらはその症例を報告している。その予防法としては15~50Gyの放射線照射を行い、リンパ球を不活化して輸注することが唯一の方法であるが、日赤血液センターは1994年現在、医療機関との放射線照射受託契約などの準備を進めている。

## 2. HLAと血小板輸血の方向性

### a. 頻回血小板輸血患者におけるHLA抗体産生能

筆者らは100単位以上輸血された頻回血小板輸血患者の約53%にHLA抗体を検出した。その特異性はすべてpolyspecificを示し、HLA-A、B座系に関係なく広範囲に産生されていた。そして、患者のHLA抗体産生とHLA抗原の関係は、患者がHLA-A2, blank またはA2 homozygous 抗原を有するとき抗体産生率は高く、またDR2抗原を有するときHLA抗原に対する高い免疫応答性を示すことを示唆した。それ故にこのようなHLAタイプを有する患者にはHLA抗体を産生させない工夫として輸血の際に後述の白血球除去フィルターの使用が望ましい。

### b. HLA抗体の消失

一度産生されたHLA抗体が血小板輸血の経過中、抗体価が低下または消失する症例があることが知られている。池田らはHLA抗体陽性の再生不良性貧血の患者に大量血小板輸血を行ったところ、抗体価が低下した症例を、McGrathらは、HLA抗体陽性の悪性疾患患者に血小板輸血を繰り返しているにもかかわらず抗体が消失した症例を報告している。血小板輸血によるHLA抗体の吸収あるいは血小板膜上にはclass II抗原や接着分子などのaccessory moleculeが存在しないためT cell receptorがHLA抗原を認識できず、むしろ血小板はT細胞のunresponsivenessを誘導するtolerogenとして働く可能性があると考えられる。しかし、原因はどうか、HLA適合血小板確保の困難性を考えるとこのようにHLA抗体が消失する症例があることは喜ばしい報告である。

### c. HLA抗体の産生予防

動物実験によれば血小板のみの輸血ではMHCに対する免疫応答は起こらず、白血球を混在させると免疫応答が生じる。ヒトでは白血球を $10^6$ 以下にして血小板輸血を行うとHLA抗体が産生されないという報告があり、Sniecinskiらは輸血の際に白血球除去フィルターを使用するとHLA抗体産生の予防に有用であったと報告している。本邦においては半田らが白血球除去血小板製剤専用フィルターを用いたプロスペクティブスタディーを行い、HLA抗体産生予防のフィルターの有効性を示唆したが、フィルターを使用しても尚、8%にHLA抗体が産生されたと報告している。血小板輸血におけるHLA抗体産生の主役は供血者由来のclass II抗原が表現されたAPC (Antigen-Presenting Cell:抗原提示細胞)と考えられ、APCとして機能しているマクロファージや樹状細胞(dendritic cell)を殺すための紫外線照射の使用について現在、多くの試みが報告されている。

### おわりに

HLAと血小板輸血の現状とその方向性について紹介したが、血小板輸血のPTRの原因として血小板特異抗体の存在もある。紙面の都合上、血小板特異抗体については紹介することができなかったが筆者らの検討ではHLA抗体産生者の8.6%に血小板特異抗体を検出した。そして、特異性の同定できたものは殆どがIPPA-2b (Ko<sup>a</sup>, Sib<sup>a</sup>)に対するものであ

た。1992年の第5回日本血小板型ワークショップのアンケート調査においてもPTRの原因となる非HLA抗体で特異性の同定できた大部分はHPA-2b抗体であると報告されている。HPA-2b適合血小板供給体制の確立のために、成分献血登録者についてHLAタイピング以外にさらにHPA-2bタイピングが必須と考えられる。また、特異性不明の血小板特異抗体もあり、さらなる研究努力により、有効な血小板輸血が行われることが望まれる。

シリーズ：HLA分子の発現制御（その1）

九州大学生体防御医学研究所遺伝学部門  
助教授 木村彰方

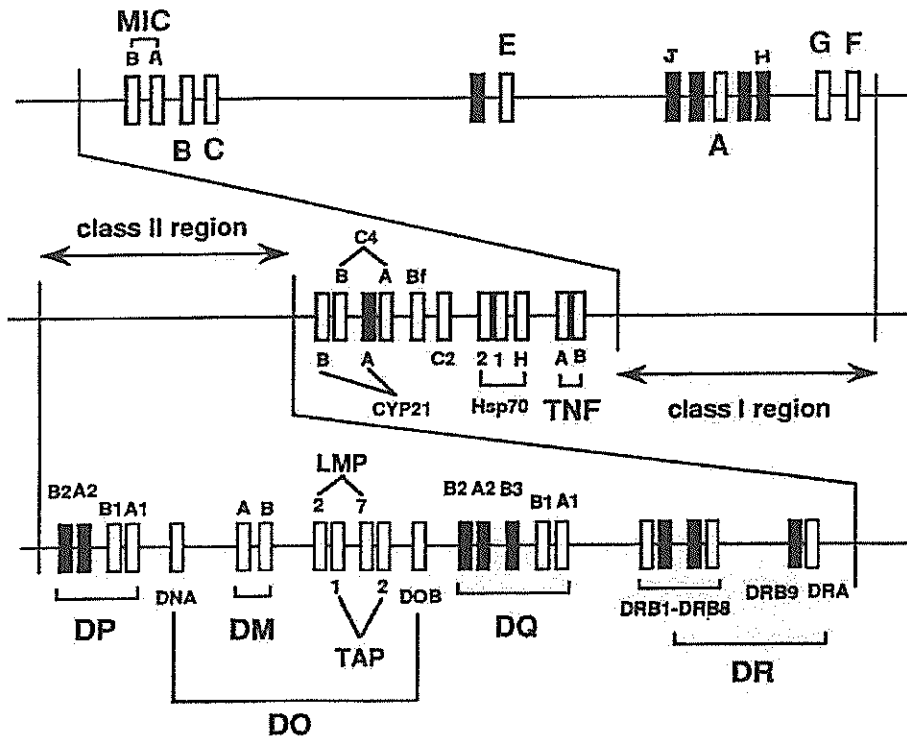
同種移植片拒絶を遺伝的に規定する領域として発見された主要組織適合抗原複合体(MHC)の遺伝子座は、マウスではH-2、ヒトではHLAと呼ばれている。ヒトHLA領域には、個体差を示す細胞表面構造物として血清学的に検出されてきたHLA分子の遺伝子群が存在する。しかしながら、HLA領域に存在するのはHLA分子の遺伝子のみではなく、個体の免疫応答に密接に関わる遺伝子、さらには最近明らかになったようにHLA分子の機能に関連する遺伝子群もまた連鎖して存在する(図参照)。HLA分子にはクラスI分子(HLA-A, B, C, E, F, G等)とクラスII分子(HLA-DR, DQ, DP,

DO)とに分けられるが、その発現の程度、組織特異性は互いに異なっている。一般的にいて、クラスI分子がほとんどの有核細胞に発現するのに対し、クラスII分子はB細胞、マクロファージや樹状細胞などの抗原提示細胞ならびにヒトでは活性化T細胞(マウスでは活性化T細胞上の発現は認められない)などの限られた細胞種にのみ発現する。またクラスI分子、クラスII分子ともインターフェロンやTNFなどのサイトカインによって、その発現が誘導あるいは増強されることが知られている。本シリーズではHLA分子の発現制御機構について、HLAの機能ならびにHLA領域内の遺伝子群との関連を含めて、研究の現状を紹介する。

図説

HLA座の遺伝子構成

機能的遺伝子を□で、偽遺伝子を■で示す。HLA座には図に示す以外にも多くの遺伝子群が存在するが、簡略化して示した。クラスI領域およびクラスII領域については拡大して示す。LMPおよびTAP遺伝子はクラスI分子に結合する内因性ペプチドの生成および輸送に関与する。またDMAとDMB遺伝子はクラスII分子に結合する外因性ペプチドの転送に関与するDM分子をコードする。MICAおよびMICBは最近発見されたクラスI様遺伝子であるが、その機能はHLA-E, Fと同様明らかではない。



## ”ダイナミック・ラボラトリー”

このコーナーには毎回HLAの分野で活躍の目覚ましいラボ、ユニークな研究をされているラボをご紹介します。

「ダイナミックラボラトリー」の第1回目めでたく白羽の矢が当たったのは、兵庫県立西宮病院（400床）の組織適合検査室。阪神電鉄西宮駅からすぐ見える、白亜のビルは、間もなく完成の新棟で病院とは思えないほど。その隣の棟の2階にドーンと広大な検査室を構えている。（なんと検査室2つと無菌室）この広いスペースに人員は、自称万年青年・橋本さん（47歳）と、うら若き女性2名（木下さん、山崎さん）の計3名そして沢山の器械たち。それだけで優雅さよりも忙しさと、何よりもこの検査が重視されていることがうかがえる。それももはず、年間約800件の血清・DNAタイピングと300本の血清スクリーニングをこなし、加えて数々の学会発表をし、ペーパーを書かれている。



木下朋子さん

それでは橋本さんに検査室について1問1答。

べ：検査室の方を紹介して下さい。

橋：橋本光男（A24, - B7, 52 Cw7, - DR1, 15）  
木下朋子（A2, 33 B44, 54 Cw1, - DR8, 13）  
山崎美保（A2, 11 B61, 67 Cw7, 10 DR15, 9）  
（と、初対面ボードに書いて下さった。）

べ：3人ともHLA専任ですか？

橋：そや。

べ：どのような雰囲気です仕事なさっていますか。

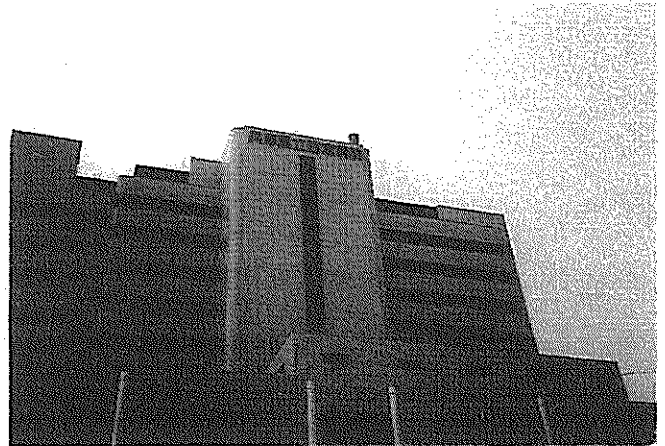
橋：皆、それぞれに我が道をいってるでえ。

（それぞれの仕事を熱心に行っている、の意）

べ：こちらは近畿地区の腎移植センターの中心ですが、これまでの腎移植数は？

橋：今は年間5～6例。トータルでは277例やな。

（死体腎54例、生体腎223例、5年生着率95%弱）<sup>※</sup>



燦然と輝く県立西宮病院新棟

べ：すごいですね。骨髄移植の検体などは？

橋：最近検体のほとんどが骨髄移植のための検査。阪大など近畿地区の病院からの依頼。血清とDNAの両方を行っている。

べ：よく学会発表やペーパーも書かれています。

橋：今年はずごいでー。英文のだけでも5つや。

べ：これからの研究などの予定は？

橋：来年なあ。どないしよー。

べ：最後に何かひとことどうぞ。

橋：私とIdenticalの人、ご一報下さい。

Identical 友の会を作りましょ。

何か思い出に残っていることは、とお聞きすると、DR（当時IAと呼ばれていた）タイピングを始めたばかりの頃、第5回日本HLAWSで、ある先生にIAを始めるので資料を下さいと言ったところ、参加者にしか渡せないと言われ、逆にDRへの熱意が燃え上がり、その成果で第6回のWSではDR2のKey serumを見つけ発表したこと、と言う。これが橋本さんの血清スクリーニングへの情熱になり、研究へつながるキッカケとなったのだろう。

休憩室にはお菓子が箱にきれいに入れられており、女性の優しい心づかいがうかがえる。誰に聞いても橋本さんは、女性に囲まれたうらやましい環境でお仕事をされていると言われている。

<sup>※</sup> DRB1 4ヶで合わせると、95%弱の5年生着率が得られ、この結果は identical sibling の同種生体腎移植の生着率とほぼ同等である。