

## HLAは未来の医療のキーワードになり得るか？

### Luncheon Seminar; 「HLAと疾患感受性」

12:00-13:00, 1996年9月19日、第5回日本組織適合性学会大会・東京

HLA研究の黎明期、疾患感受性とHLAの相関をみる研究は花盛りであった。猫も杓子も「HLAと疾患」をスクリーニングし、発表数は膨大になった。期待に反して相関がそれほど高くないことが分かると演題数は激減した。その後HLA-抗原ペプチド-TCRの概念から、HLAの多型性はそこに結合する抗原ペプチドの多様性と対応することがわかり、HLAのアリルタイピングの普及とともに、「HLAと疾患感受性」研究のルネッサンスを招来させた。このランチョンセミナーでは、気鋭の学者から次のような視点で、自由な発想を述べていただくつもりである。

1. HLAの分子進化の背景から、人類とパラサイトの戦いと調和の歴史が垣間見られる。その歴史的事実から、結果としての疾患を理解する。

2. HLAと疾患の関わりを、分子のレベルで解釈する。たとえば、免疫原と病因原のアミノ酸レベルの相同性から自己免疫を理解したり、HLAそのものがそれらと相同のアミノ酸配列を共有していることによって起こる疾患(B27関連疾患など)を考える。

3. 人種によるHLAの偏りから、一見、人種によって病因とHLAの相関が違うように見えることがある。たとえば、IDDMはDQβ57番アミノ酸(Asp/nonAsp)がキープポイントとされるが、日本人については当てはまらないように見える。なぜか？人種で病因原が免疫原が違うのか？

4. 多くの病気が「多遺伝子が関与する疾患」である。そのうちHLAはどの程度に疾患感受性に寄与しているのか？

5. Non-classical MHC (TAP1/2, LMP, DMA/B, HLA-Gなど)はどのように、どの程度疾患感受性に関与するのか？

6. 疾患の予防と治療への展開は？ペプチドワクチン、アンタゴニストの設計などの現実性は？

7. 今後の展開は？「オーダーメイドの医療」への展望。

これがランチョンセミナーの際に配布されたパンフの文言である。予定を順調にこなせないのは世の習い、十字会長のご好意で時間を大幅に延長しても、その一部しか議論できなかった。記録は防衛医大の小林賢先生にお願した。発言の中にはやや難解な理屈に合わない部分もある。あえてそのまま掲載し、その雰囲気や伝えたい。司会者の発言にとんちんかんな応答も、揶揄が過ぎる部

分もある。親愛の情の発露とご理解いただき、失礼の段にはお許し願いたい(さ)。

出席者：西村 泰治 (熊本大学大学院 免疫識別学)  
徳永 勝士 (東京大学大学院 人類遺伝学)  
木村 彰方 (東京医科歯科大学 異常代謝分野)  
南 陸彦 (横浜市立大学 寄生虫学)  
滝口 雅文 (東京大学医科学研究所 臨床免疫学)

司会者：佐治 博夫 (京都府赤十字血液センター)

#### HLA多型性の進化から疾患を考える

佐治 みなさんリラックスしていただきたい、リラックスしないと消化に悪いですから。これからHLAが人類並びに医療に貢献していく道として組織適合性の問題は確かにありますけれども、将来を考えると、疾患と医療・予防につながるHLA、これが大きくクローズアップされてくるというのは有識者の共通の意見であります。従って、今日は気鋭の学者に集まっていただきまして自由な発想で述べていただくことを眼目としております。HLAは人類が発祥する前からあって、それが進化して行って、結果として現在に見られるようなすごい多様性が形成されているわけです。その多様性の形成過程に何があったのか、それが現在のHLAの多様性と、それから疾患との関連性にどういうふうにつながっていくのか、こういう視点から東京大学医学部人類遺伝の徳永勝士先生にイントロダクションをやっていただきます。気楽に聞いて下さい。

徳永 佐治先生から最初にHLAの遺伝子群の進化についてイントロダクションとして話をせよということを抑せつかりました。HLA遺伝子群の進化に関しては非常におもしろいいろいろな考え方があるわけですが、特に人類に関係した部分に限ってお話しをさせていただきます。一言で言いますと、今日見られるような多様なタイプは非常に古くから時間をかけて形成されてきたという考え方と、また、それと

反対に人類進化という時間観点から見ますと最近に、主として短い配列を単位としたgene conversion (遺伝子変換) と呼ばれるメカニズムによって拡がってきているんなタイプができてきたというふうに考える立場と大きく2つに分かれると思います。前者の考え方ですが、変化の率自体は決して高くはないけれども、非常に古くから進化を遂げてきたというもので、その代表的な例がクラスIIのDRB1対立遺伝子群で、これはその系統樹であります (図1)。こ

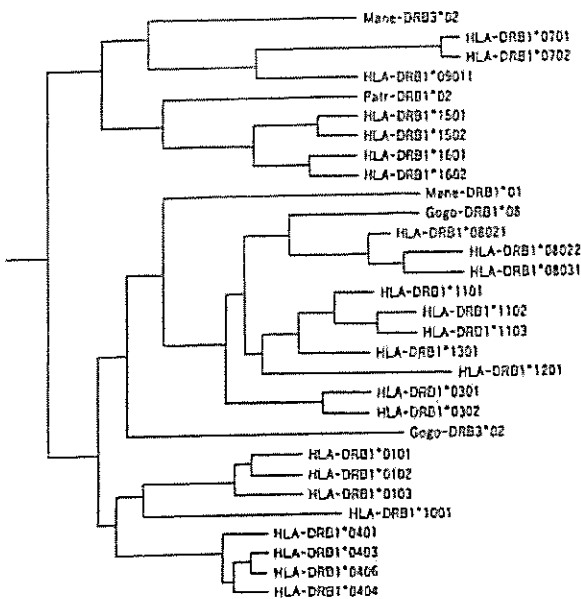


図1 霊長類におけるDRB1対立遺伝子の系統樹

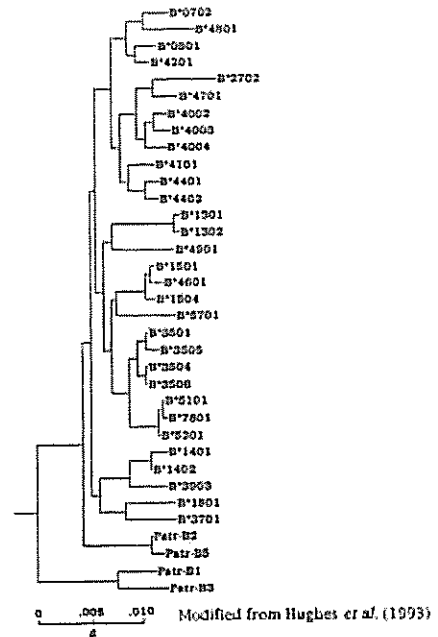
HeinらによるDRB1対立遺伝子群の系統樹からDRB1の部分を選択して改変した。  
HLAはヒト、Patrisはチンパンジー、Gogoはゴリラ、Manisはブタオザルをあらわす。

のようにヒトのDRB1遺伝子群の中にゴリラとかチンパンジーなどといったヒト以外の霊長類のタイプが割り込んでくるということがあります。すなわち、こういう大きな一つ一つのグループ、例えばDR2のグループだとか、DR8のヒトのアリルグループの中にゴリラのアリルが入ってくるような形で、それぞれのグループの中にヒトのアリルも、その他のサルのアリルも入って来ています。

HLAリニエージは人類発祥以前にできたところがこれらの大きなグループの根っこの分岐は、おそらく進化的に古いだらうと思われま。つまり人類が誕生する、いいかえるとチンパンジーと分かれる以前からHLAの基本的なグループ、これをlineageと言っていますけれども、そういうlineageができあがっていたということです。すなわち、

HLAの突然変異率が高く、どんどん早いスピードでいろいろなタイプが生まれたのではなくて、もっと以前からゆっくりといろいろなタイプが生まれてきたという考え方が一つあります。それから、もう一方の考え方ですが、特にクラスIのB座に関して言いますと (図2)、必ずしもそういうふうには見え

Phylogenetic Tree of Human and Chimpanzee (Patr-) B Locus Alleles. 図2



ません。図の下の部分にはチンパンジーのいろいろなアリルがありますが、ヒトのいろいろなアリルの系統樹の外側にきています。つまり、先ほどのDRB1でみた姿と違って、必ずしもその起源は古くはないのではないかというふうに系統樹から推定されるわけです。図3は特に多様性に富むB15

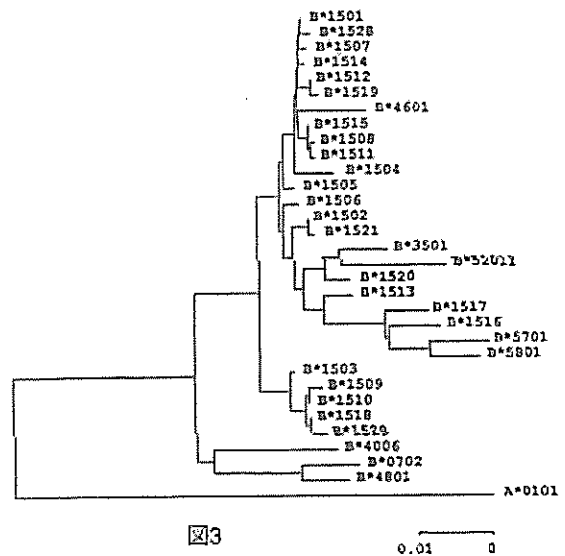
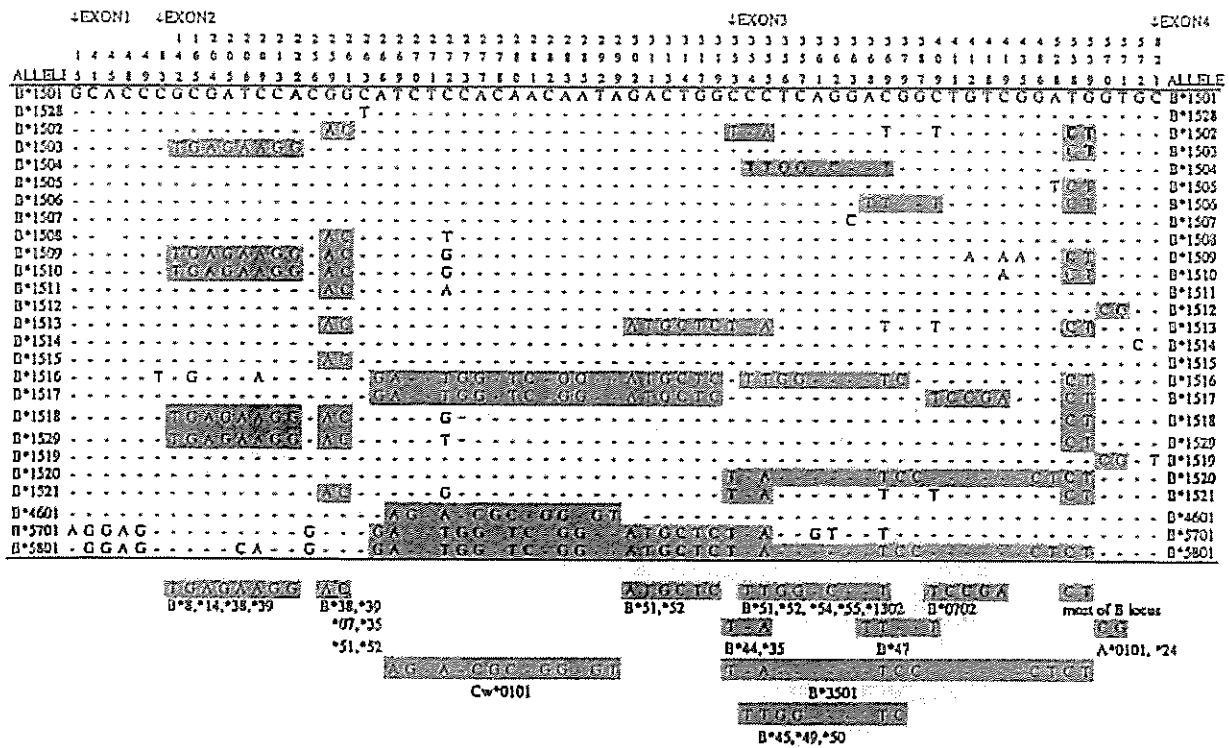


図3

図4 Differences of nucleotide sequences in B15 group



のグループの系統樹を私たちが作ったものです。注意していただきたいのは、こういうふうに横の枝の短いに対して時々ほんと長いがあります。B46、これはみなさんもお存じのようにB15の骨格の上にC座の一部の配列が入ったものと考えられています。こういうふうに枝が長いアレルは実際にどういう配列を持っているかと言いますと、図4でみられるようにある長さを持った配列をユニットとした遺伝子変換によって、一挙に新しいアレルが生まれてきたというふうに考えられるものです。このように横の枝が伸びてるものは、モチーフを単位とする遺伝子変換に基づくものではないかと考えられるわけです。単なる一個々々のアミノ酸の置換ではなくて、かなりの長さを持った単位で新しいallele（アレル、対立遺伝子）が生まれてきているのではないかと、というのが、南米のインディアンのHLA、特にHLA-Bの遺伝子の解析で報告されてきています。これはPeter Parham（スタンフォード大学）を中心としたグループの報告ですけれども。そうしますと、南米のインディアンは人類学の常識から言うと、ここ数万年、古く遡っても2~3万年前にアメリカに移住したわけですが、その後環境中に存在するウイルス、微生物に対する適応として、遺伝子変換による新しいアレルの創生がおこったと考えられます。

佐治 その適応というのは淘汰のプレッシャーがかかったという意味ですか。

徳永 そういうことです。

佐治 ある病気がその地域にあって、その病気に対応するたびに適応したアレルが残ってきた。

徳永 そうです。淘汰自体はいろいろな病原性微生物との対応で起こったとして、その中で適応的な価値があるものが残ってきたという考えが一つあります。

佐治 適応の価値ある者だけが残ってきて、それがその種の生存に有利に働いている…。

「早い進化」説への疑問点

徳永 ただ、ちょっと一言付け加えておきたいのは、本当にそうであるかということに関してはまだ我々は疑問符をおいて置かなくてはいけないと思います。実際にPeter Parhamを中心としたグループがアメリカインディアンで新しく生じたと提唱しているB39とB40、Cw3、Cw8、グループのアレルがありますが、それらについて、実はアジアでも結構ありそうだというのが最近分かってきています。これは中央血液センターで毎年行っているワークショップに提出されたサンプルを私どもがDNAタイピングすることによって分かってきたことなんです。アメリカインディアンで生じたと提唱されているものの内、

少なくとも一部は実はアジアにも存在しています。その率直な解釈としては、もともとアジアにあって、アメリカインディアンの先祖が持って渡った。ですから、これについての結論がついているというふうには考えないでいただきたいと思います。そういった二つの両極端な姿がHLAの多型性にあるということですよ。

佐治 非常に簡単にまとめますと、trans species theoryに代表されるように、HLAの多型性というのは数千万年かかって進化してきて現在に至っているという「遅い進化」説と、最近言われ出したPeter Parhamのこの数万年間に非常に短時間に進化した「早い進化」説もある。しかしそれには徳永先生は疑義もあるというような話です。進化は少なくとも適応現象、parasite (寄生体)の圧力によって淘汰のセレクションが働いている可能性が高いということですよ。その淘汰のもっともたるところを滝口先生に話していただこうと思います。滝口先生は都合で早く帰ります。しゃべり逃げしますから、ディスカッションしたい人は彼がそこにいる間にディスカッションして下さい。

マラリアはHLA進化に圧力を加えたか？

滝口 今日お話しするのは、それではどういうプレッシャー、どういうファクターが外からかかるとそういうことが起きるかということです。非常に有名な話を今日お話しするんですけども、1991年にオックスフォードのHill AVがマラリアという病気で実際そういうことが起きているということを示したわけです。僕もこの仕事の後半から若干関わりましたので説明したいと思います。彼らは何をやったかといいますと、それは東アフリカのガンビアという人口が数百万人という非常に小さな国で、そこでのマラリアの発症とHLAの相関について調べました。ご存じの通りマラリアという病気は人類の発生とともに歩んできたと言われるほど歴史の長い病気だということが知られています。この病気は特に幼児期、乳児期の小さい小児の時期に感染すると死に至るか、もしくは中枢神経系が破壊されるようなひどい後遺症を残すという病気です。このために、小児期に感染しますから当然罹ってしまったことによって遺伝学的なプレッシャーを与える大きな病気なのです。もちろん現在でもこの病気は人類が罹る最も重篤な感染症のひとつで、世界的に見ると最も多くの人がかかる感染症です。これ(図5右)が健康な集団で目

図5 HLA class I antigen frequencies

	Severe malaria n=206		Mild controls n=144		Severe controls n=171		Healthy adults n=112	
	Number	%	Number	%	Number	%	Number	%
A1	41	19.7	13	9.0	22	12.9	17	15.2
A2	74	35.9	41	28.5	46	26.9	32	28.6
A3	27	13.1	6	4.2	21	12.3	7	6.3
A23	85	41.3	32	22.2	43	25.1	26	23.1
A24	6	2.9	0	0	0	0	0	0
A26	14	6.8	25	17.4	26	15.2	13	11.6
A28	53	25.7	35	24.3	34	19.9	10	8.9
A29	12	5.8	7	4.9	5	2.9	3	2.7
A30	73	35.4	29	20.1	34	19.9	31	27.7
A31	1	0.5	2	1.4	1	0.6	1	0.9
A32	24	11.6	8	5.6	8	4.7	10	8.9
Aw31	67	32.5	33	22.9	39	22.6	29	25.9
Aw34	11	5.3	6	4.2	5	2.9	3	2.7
Aw36	1	0.5	0	0	0	0	1	0.9
B7	41	19.7	17	11.8	20	11.7	17	15.2
B8	67	32.5	31	21.5	26	15.2	18	16.1
B13	3	1.4	2	1.4	1	0.6	0	0
B14	30	14.6	5	3.5	14	8.2	4	3.6
B15	6	2.9	7	4.9	4	2.3	0	0
B17	68	32.9	27	18.8	39	22.8	24	21.4
B41B	20	9.7	7	4.9	6	3.5	6	5.4
B27	0	0	2	1.4	8	4.7	2	1.8
B27	13	6.3	5	3.5	2	1.2	3	2.7
B35	88	42.7	46	31.9	53	31.0	32	28.6
B37	2	0.9	1	0.7	0	0	3	2.7
B39	6	2.9	4	2.8	0	0	2	1.8
B40	5	2.4	1	0.7	1	0.6	2	1.8
Bw41	9	4.3	4	2.8	6	3.5	2	1.8
Bw42	16	7.8	5	3.5	7	4.1	7	6.3
B44	12	5.8	1	0.7	8	4.7	4	3.6
B45	13	6.3	5	3.5	3	1.8	3	2.7
B49	25	12.1	13	9.0	14	8.2	11	9.8
Bw50	14	6.8	4	2.8	10	5.8	5	4.5
B51	17	8.2	7	4.9	7	4.1	4	3.6
Bw52	2	0.9	1	0.7	1	0.6	0	0
Bw53	48	23.3	35	24.3	37	21.6	28	25.0
Bw70	45	21.8	22	15.2	22	12.9	10	8.9
Cw1	15	7.3	8	5.6	9	5.3	6	5.4
Cw2	50	24.3	17	11.8	21	12.3	24	21.4
Cw3	91	44.2	52	35.9	54	31.6	33	29.5
Cw4	100	48.5	49	33.9	52	30.4	33	29.5
Cw5	20	9.7	7	4.9	6	3.5	6	5.4
Cy8	43	20.9	23	16.0	29	16.9	16	14.3
Cw7	55	26.7	17	11.8	25	14.6	10	8.9
Cw8	25	12.1	6	4.2	11	6.4	4	3.6

本人とはだいぶ違う、当然違うことがここにいらっしゃる方はよく分かると思いますけれども。今日はクラスIだけにフォーカスを絞ってお話ししますが、彼らはHLAのタイピングをして健康成人、それから非常に軽いマイルドコントロール、重症だけれども大きな後遺症を残さないシビアコントロール、この場合の重症というのはクロニックな感染だと思ってください。すなわち、何回も何回もかかる人たちです。それとこのシビアマラリアというのは死亡するか、或いは発症が非常に重篤、中枢神経系の後遺症を残すようなものというふうに分類してHLAのタイピングを試してみただけです。これは10才以下の子どもだけをターゲットにして計算されています。そうしますと、ここに唯一、HLA-B53だけが有意差があるというデータが得られたわけです。ちなみにその点に関してもうちょっと詳しくいいますと、これは(図6)今の血清学のデータでHLA-B53がコントロールでは25%ぐらいのものがシビアなマラリアでは15%ぐらいまで低下する。すなわち、B53を持ってシビアなマラリア、非常に重篤なマラリアになる人の集団は軽い患者もしくは全然

HLA-B53 association with severe malaria

	Serology		PCR	
	No	HLA-B53(%)	No	HLA-B53(%)
Severe malaria	306	15.7	307	16.9
Mild controls	144	24.3	354	25.4
Healthy adults	112	22.0	108	26.4

Adrian V. S. Hill et al. Nature 352:105-109, 1991

正常なガンビアの人口の集団と比べても有意的に低いということが分かったわけです。ご存じの通りB35もこの人口では非常に多いのでB4, B6のエピトープの違いだけがこの2つを識別することになりますから、血清学でのタイピングでは間違いがあるかもしれませんが、PCRでタイピングしましたがほぼ血清のデータと同じ結果が得られています。それでは一体何故このようなことが起きるのだろうかということ。一つの仮説として考えられるのは、B53を持っている人はマラリアに抵抗性が強いということ。おそらく免疫を非常に獲得しやすい人だろうということです。すなわち、免疫の反応性が非常にいい。言い換えれば、T細胞へ抗原を提示する力、すなわち、抗原のエピトープというものが非常に強いのであろうということが推定されるわけです。そこで、非常に数が少ないんですけどもこのB53を含めてこの集団によく見られるHLAが提示するエピトープを同定するという作業を行った上で、これからそれぞれの患者さんでの免疫力がどれくらいあるかというのを調べたのです。(図7) 一番特徴的なのはこの"Children"と書いた子どものと

図7

CCL epitopes of *P. falciparum* presented by seven HLA class I molecules.

HLA type	Epitope (sequence)	antigen*	Response	
			adults	children
HLA-B*53	126 (EPYVQDFP)	LSD-1	8/14	2/13
HLA-B*15	136 (FQDQSLA)	LSD-1	7/13	0/13
	92 (KPTDMLDY)	CD	0/15	0/13
HLA-B*44	127 (KDTMLDYL)	CD	1/13	0/13
	92 (KDTMLDYL)	CD	2/17	0/13
HLA-B*40	124 (KADDFDFA)	TRAP	0/11	0/12
	124 (KADDFDFA)	TRAP	2/11	0/12
HLA-B*7	165 (FDTVDRK)	LSD-1	2/3	0/2
HLA-B*7	94 (KFDQVDFV)	CD	1/8	1/7
HLA-A*23	121 (KLDQVDFV)	TRAP	1/7	2/15
	123 (KLDQVDFV)	TRAP	2/7	2/15
HLA-A*23	93 (KRDVDFV)	TRAP	1/5	0/2

\* LSD-1, liver stage antigen-1; CD, the circumsporozoite protein; TRAP, Thrombospondin related anonymous protein; TRAP2, sporozoite thrombospondin and sporozoite ring protein.

ころをよく見て欲しいんです。そうするとB53のエピトープに対しては13人中3人の子供と強い反応がみられるわけです。3/13というのが少ないじゃないかと言われるかもしれないけれども、マラリアというのは非常に免疫獲得性というのが難しい病気であるということが言われているのです。特にこの小さな子どもではほとんど免疫を獲得するということが



難しいとされています。ところがB53が提示するエピトープに関してはこれに強く反応するという人が3人ほどいるということで、それに対して他のエピトープに対しては子供では、全くみられません。大人では見られますけれども、子どもではほとんど見られないということで、このことからAdrianたちがたてた仮説は、B53が提示している非常に強い免疫エピトープがあるためにB53を持っている人がこのマラリアから比較的抵抗性を獲得しているの、この結果ガンビアという国の集団の中ではB53が濃縮されていって来たのではないかと、そういう結論に達したわけです。

佐治 人類という種の生存を強く脅かす病気の一つにマラリアが挙げられておりまして、それは現在も続いております。滝口先生あれですね、B53を持ってるとマラリアに罹り難いのではなくて、罹っても軽くて乳児死亡とか生殖年齢に至るまでの死亡が少なく、従って遺伝子が残りやすかったというふうを考えていいのですか。

滝口 罹らないのではないんです。要するに当然あの数字を見れば分かるように半分ぐらいの人は重症なマラリアにもなるわけですから。

佐治 マラリアになっているけれど生き残りやすいと言っていますね。

滝口 ご存じのようにマラリアでは鎌状赤血球貧血というのがものすごい抵抗性ファクターであるわけで、そっちの方が何十倍も強いわけです。ですが、HLAも一つのセレクションのファクターであって、それが原因でおそらくあるHLAが残って集積されていくという一つの説明になった、たぶん初めての例ではないかと思えます。

佐治 というわけです。はい。前田先生。どんどん発言してください。

前田 (埼玉医大、フロアーから) 今のですね、B53のレスポンスについて。B53のペプチドがありますよ

ね。レスポンスするのは小児で3/13、で、同じペブタイプで同じHLAを持っているのにレスポンスするのとならないのがある。そういうことですか。あの集団は一般の集団ですか。

滝口 いえ。あれは感染した人です。

前田 感染した人で、しかもB53を持っているんですか。

滝口 このB53を持ってない人は10/10は反応が出てないです。B53を持っている人は10/13は反応がないですね。CTLの活性って発症して2週間ぐらいから4週間ぐらいもするとなくなってしまいますので、マラリアの場合。僕らが実験室で見えるレベルのCTLの活性では。

前田 いや確認したいのはB53を持っている人の内っていう意味でなくて…

滝口 そういう意味です。

前田 そういう意味ですか。

永尾 (大阪府赤十字血液センター、フローアから) それは三日熱マラリアですか。

滝口 悪性マラリアです。三日熱マラリアではありません。

佐治 もう滝口先生帰ります。名残惜しいけど、じゃあ先生ありがとうございます。それでは南先生何か今のことを引き継いでフォローできますか。何か。

南 マラリアということですか。

佐治 マラリアでなくてもいいです。マラリアでもいいですけど、ここは自由な討論を目指しますので…

南 マラリアの免疫というのは非常に複雑だと思うんです。単なる普通の感染症に対する免疫とずいぶん違ったところがあると思うんです。滝口先生がおっしゃられた例というのはおそらくクラスI分子との関連ですから、常識的に考えるとCTLが重要であることを示すデータだと思います。私は今日のデータは非常にリーズナブルだと思っています。マラリア感染の場合、CTLが働く部分というのは一番初期です。マラリア感染症の初期でいったん感染が成立してしまうと後は赤血球ステージに入ってしまう。赤血球ステージに入るとCTLは存在していても、働きようがないということになります。おそらく感染の最初のところでCTLが効くかどうかということが、非常にクリティカだと思います。

参考文献1)~2)

### DQB1の進化そしてハプロタイプから見る選択圧力

佐治 木村先生、何か。シニカル木村と僕は呼んでいるんです。木村先生の話は少々難解かもしれないけど、非常に面白い。それは保証します。

木村 私も進化にセレクションがあったかどうかということに興味があります。先ほどの徳永先生が出されたものと同じように、ヒトのDQB1について系統樹を書くと、大きくいうとこの2つのグループに分かれます(図8)。1つはこちら側の下にあるDQ1のグループ

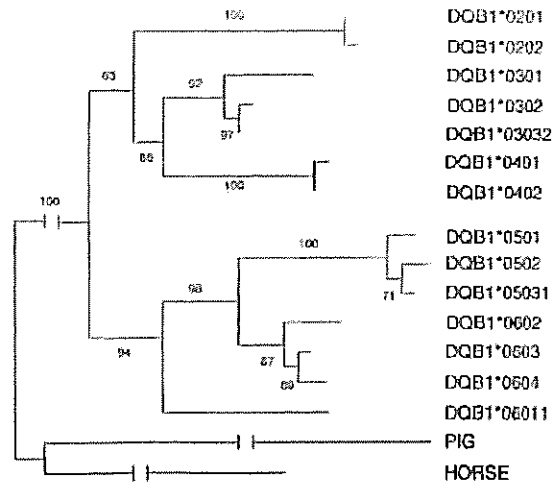


図8

です。それとDQ2、3、4のグループというのが最初に2つのブランチに分かれて、それぞれが変異が入って行って、今の姿になっていると考えられるわけです。この系統樹を書く際にDQという分子を使っているということは、ひょっとしたらセレクションがあって選ばれたもので今のような多様性ができてきたかもしれない、そういう考え方が成り立ちます。それで、我々が今やっているのは、セレクションがかからないだろうと思われるようなところはどうかしているだろうかということです。DRからDQ領域の中を見ると、こういう遺伝子があるわけですが、その遺伝子の間の領域にはCAリピートというただCACACAと何回かdinucleotideを繰り返しているような領域がいくつかあります(図

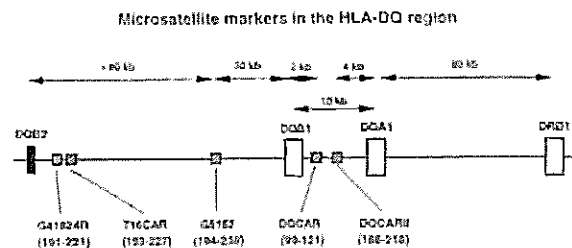


図9

9)。そういうところも、人によってCAリピートの数が異なり、多型性があるということが分かっています。こういう遺伝子間領域のCAリピートというのは何の機能もしていないだろうと考えられますか

ら、セレクションはおそらくかかってないだろうというふうに思われるところです。それで、DQB1遺伝子の直ぐそば、ここに距離を書いています、僅か2キロというほんの直ぐそばにあるこのDQCARというCAリピートを調べてみます。このCAリピートの長さがどうなっているかという、左側にDQの系統樹を模式的に書いていますが、それぞれのDQに関連したCAリピートの長さがそれぞれ違うということがまず分かりました。またDQCARとDQB1に非常に強い連鎖不平衡が成立しているということが分かったわけです(図10)。その一つは、1群ですね。

ということが分かりました。僅か2キロしか離れてませんから当然のことなんですけれども非常に強い連鎖不平衡が成立している。それに対して、DQ2、3、4のグループを見ても、CAリピートの長さが、一つには決まらないわけです。非常にバラエティーに富んでいます。ここにあってはDQB1\*0201というのほとんどが99で一つに決まっていますが、それ以外のDQB1\*0202から\*0402にいたるグループは、ここで分かるように、111~119までいろいろな長さのCAリピートがそのDQB1に関連していました。ということは、このCAリピートを見る限りでも2つのlineage (系統) がまず分かっているように見える。それから片方の系統(DQ2,3,4)ではどうも非常に早い進化をしているように見えます。逆に言うと、DQ1系統のCAリピートは非常に進化が遅いように見えます。問題はこのシーケンスをしてみるとどういうことが分かるかということです。そうすると、このシーケンスを見て分かるように、DQCARは大きく2つの系統に分かれている(図11)。下の方に示した1群というのが先ほど言ったDQ1のグループですが、特異的にAとかGとかの置換がありまして、このDQ1に関連したグループの違いというのは、ここにあるCACACAからGAGAへと至るこのリピートの長さがそれぞれ違うということです。この群が、大きくいうと1つの群、DQ1の群にまとめられます。これに対してDQ2、3、4のグループは、大きく系統が分かれていて、CAリピートの長さの違いというのは、まさにこういうふうにCACAと続いているところのリピートの長さが違っていたということです。CAの数だけが違っていたということになります。そして、例えば

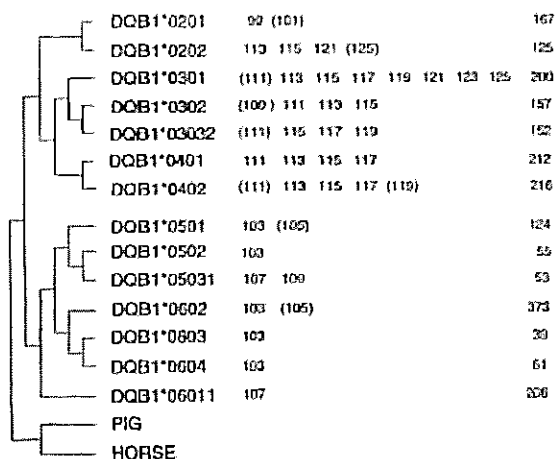


図10

先ほど言ったDQ1のグループ、DQB1で言うと\*05と\*06のグループですが、CAリピートの長さが103或いは107というふうに限られたものになっているわけです。よくご存じだと思いますけれども、例えば日本人集団では、DQB1\*0601と連鎖不平衡にあるDRB1は\*1502か\*0803です。そのどちらの場合のDQB1\*0601であっても、CAリピートは107であると

Nucleotide sequence of DQCAR alleles associated with DQB1 alleles and their expansion in humans

DQB1	DQCAR	sequence	expansion
*0202	121	CAGCAGAGAGAGAGATGAGATAATA	
*0301	119	--G-----*	->
*0302	111	--G-----*	->
*0303	117	--G-----*	->
*0401	113	--G-----*	->
*0402	115	--G--G-----*	->
*0201	99	--G-----*	->
*0601	107	--G-----A	->
*0602	103	--G-----A	->
*0603	103	--G-----A	->
*0604	103	--G-----A	->
*0501	103	--G-----A	->
*0502	103	--G-----A	->
*0503	107	--G-----A	->

図11

先ほど言いましたようにDQBI\*0402だとリピートの数が111から119のものまでありますけれども、それは、それぞれをシーケンスしてみますと、単にこのCAの数が違うものでした。このことから言うと、何のセレクションもかかってないだろうと思われるCAリピートを見ても、最初からHLA-DQ領域が大きな2つの系統になっているというわけです。ところで、CAリピートに点突然変異が入る頻度は大体10<sup>4</sup>のオーダーと考えられています。それで、このCAリピートで見て系統樹を描く限り、DQ領域の対立遺伝子は非常に近いところにみんないるはずだと考えられます。ところが現実には図8に示すように遠くに離れてしまっている。このことから、むしろDQという分子の遺伝子自体にアミノ酸を換えるような変異というものを積極的に取り込んでいる、つまりセレクションがあったであろうということが想像できます。 参考文献3)

#### HLAハプロタイプの進化ストーリー

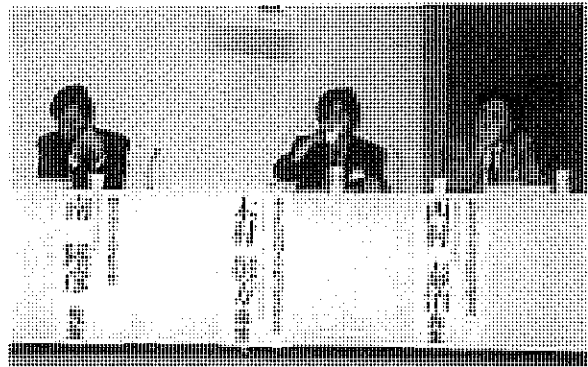
佐治 今、徳永先生と木村先生の話の確認をしていたんですが、こういうことです。DQ1とDQ2、3、4の系統に分かれるときに既にあそここのCAリピートのAの変異があって、CACACAがCAAACAになってslipage（ずれ）が起こらなくなった。それがDQ1とDQ2、3、4に分かれるときに既にあって、しかも、それが進化上中立であるはずなのに保存されている。保存されているにも拘わらず、1のグループが\*0601、\*0602、\*0603、\*0604、\*0605、\*0606、それから\*0501、\*0502、\*0503というふうにとくにたくさんに分かれている。中立であるべきところが保存されておるのにHLAのDQBIは変異を起こしている。これをどう見るかということです。徳永先生、結論を言ってください。

徳永 その解釈がいろいろあると思うんですけども、こういう2塩基の繰り返し配列の多型というのは基本的に変異率が非常に高いと言うことがだいたい一般的に分かっています。そういう意味で言うとむしろそのAの変異が入ったことによって、それ以後のいろんな長さのタイプ、リピートの回数の違いが起こらなくなっているということは非常におもしろいことであると思います。

木村 あのDQ5に連鎖したCAリピートの部分には変異はほとんど起こらないし、CAリピートのslipageも起こっていない。僕が言いたかったのは、DQ2、3、4グループはCAリピートの数が変わっているんで

すね。だから、そこから変異率は推定できるんですよ。それで変異率を推定するとだいたい10<sup>4</sup>のオーダーになるわけですね。一般に単なる塩基の置換が起こるよりもCAリピート数の変異速度は確かに早いんです。

徳永 ですから、そのHLAのハプロタイプの進化に関するストーリーとして我々が今まで信じてきたことは、HLAを見る限りではハプロタイプというのは保存されている。ただ間はどうなんだろうということに関してはやはり2つの考えがあって、間はバラバラで、やはりHLA-Aの特定のタイプとBの特定のタイプとDRの特定のタイプがセットになって適応的な意味を持つことでハプロタイプが保存されているというふうに考えれば、それらの遺伝子の間は、つまりこういうCAリピートのような機能していないと考えられる部分というのはいろんなタイプがあ



っていいだろうという考えが一つです。

木村 現実にはそのCAリピートの数は変わっているわけです。全く同じハプロタイプで、例えば、今DQBIだけについて見たんで、DRとのハプロタイプを考えてないんじゃないかという指摘はあります。けれども、現実には、DRB1が日本人の場合、\*0405でDQBI\*0401とハプロタイプありますね。その時のCAリピートの数は115か117と2つに分かれます。だからハプロタイプを構成するHLA分子の遺伝子自身は確かに保存されているんだけど、周りのCAリピートはやはり変わっていると、今だに進化をしているというふうに考えられます。

佐治 大変おもしろい話です。結論はでないでいいんですけど、trans species theoryに代表される長い時間かかって進化したとする説。Peter Parhamのいう、ある人類の移動にもなってセレクションがかかって数万年来にいろんな多型性が起こったという説。どっちをとります？先生。

木村 私は、系統が分かれたということに関してはtrans



speciesでいいだろうと考えます。ところが、それぞれの系統にどのような変異を入れてきたかということを見ると、そんなに進化速度が早いとは思いません。徳永先生が最後に言ったように、遺伝子変換というメカニズムを使って換えていると、だから、分岐はそんなに遠くはなっていないだろうと考えます。従って、遺伝子変換が起こったということや一つの点突然変異が起こったと考えて、もう一度系統樹を作り直すのが正しいんじゃないかというふうに思います。

佐治 そうすると、CAリピートのAの変異が起こった。あれが系統の\_\_

木村 だから大きな系統が分かれたときにAの変異が起こっていたと。それからは、DQCARは非常に保存されてしまっているわけですね。

佐治 保存されたにも拘わらずDQ1のグループはアリの多様性が広がった。

木村 そうです。

佐治 それはいつ頃ですか。

木村 それはまあ何とも分かりません。シークエンスした範囲が非常に短いから推定が困難ですね。

### Non classical MHCその概要と最近の話題

佐治 なんせ密度の濃い話を短時間にしますので…フォローがしにくいでしょうが…南先生は、ご自身でHLAの門外漢とおっしゃっています。今日は免疫学者として参加していただいております。適当にコメントをいただきたいんですけども、先生からしゃべりたいことがございましたら…

南 話題が飛んじやっても構わないですか。

佐治 構いません。後でもう一回木村先生のところに戻るかもしれません。

南 分かりました。non classicalの話をさせていただきます。

佐治 そうですね。今はやりのnon classical MHCの話をしていただきます。TAP, DM, LMP2, LMP7、それからinvariant chainがそこに入るのかどうかは分からないけど、抗原提示に関与しているいろんなMHC領域の分子の話をしていただきます。

南 Non classicalといいますが、むしろMHC関連分子と言ってもいいかと思うんです。実際に細胞表面に発現してくるものと、それから発現していないで細胞内に留まっているものと両方考えられます。この中でいくつか佐治先生も挙げていただきましたけれども、今日のテーマでもあります疾患感受性との関

連ということを考えますと、どうしても多型性ということがまず頭に浮かんでくると思います。ただ、このnon classicalというのは今のところまだ疾患感受性との関係があるのかというのは全く分かりませんから、全くの推測になるということだけ最初にお断り申し上げておきます。それで、多型性という観点から一応いくつか可能性としてあがってまいりますのが、細胞内に存在する関連分子と致しましては、TAPすなわちTAP1, TAP2です（図12）。それから

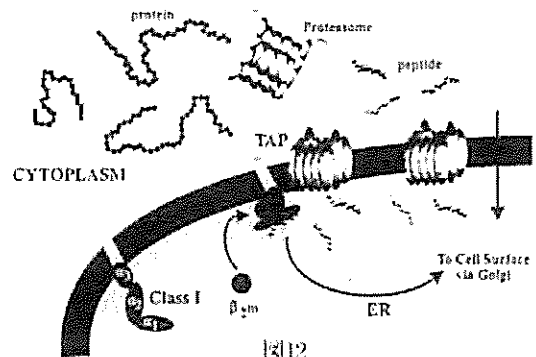


図12

もう一つはHLA-DMという分子です。このHLA-DMはMHCクラスIIによる抗原提示と関連するものであり、TAP1, TAP2はMHCクラスIIに関連するものです。それから、これはまだ全く分からないことですが、多型性という観点からもう一つ細胞表面に発現してまいります、いわゆるnon classical MHC class I, class Ibというふうに使われている分子の中にもいくつかあるかと思うんですけども、私は一つの可能性として最近ときどき名前が挙がってまいりますMIC-A, MIC-Bを一応挙げておきたいと思います。

### TAPとHLA-DMの機能

最初にTAP1, TAP2に関してお話し申し上げます。その前にみなさんご存じのことかと思いますが、TAP1, TAP2それからHLA-DMに関しまして、まず機能ということについてだけ簡単に説明しておきたいと思います。MHCクラスIIによる抗原提示では、ここにございますようにMHCクラスI分子はendoplasmic reticulum (粗面小胞体、ER) でペプチドをくっつけるわけですが、抗原タンパクは細胞質の中のproteasomeによって分解され、その結果生じたペプチドがTAPによって運ばれてER中に入ってくると、そこでMHCクラスI分子と結合して最終的に細胞表面に出ていくわけです。

## TAPの多型性は抗原提示に影響するか？

TAPがいわゆるペプチドをtransportするわけですが、このTAPがこのペプチドをtransportするとき、当然のことながら結合するわけですが、そのペプチドに対してあるpreferentiality、つまりちょうどクラスIの上には、あるモチーフのペプチドが結合するというのと同じようなモチーフというものが存在するかということは最近かなり研究されたと思います。しかしはっきりとは概要がつかめていないというのが現状ですが、一つの事例だけご説明申し上げますと、ラットのTAPは少なくとも2つのアリルが存在することがわかっています。その内のTAP2に2つのアリルがあることが分かっています。その内の1つ、TAP2Aというのは、例えば、ペプチドのC末端が疎水性であるということが分かっています。ところがもう一方の方は少なくともそうではありません。1つの例ですけれども、あるラットのMHCクラスIの結合するペプチドがC末端が塩基性でないと非常にくっつきにくいというタイプのクラスIがあります。従って、そのようなクラスIが抗原提示、ペプチドを抗原提示する場合には、TAP2Aはそのようなペプチドを輸送することが困難であるということになるかと思えます。そういった点でまずTAPがクラスIの抗原提示に明らかに影響している可能性が充分考えられると思えます。

## HLA-DMの多型性とCLIPの親和性

それから、HLA-DMに関してなんですけれども、HLA-DM分子はMHCクラスII分子と同様のヘテロダイマー構造をしております。その役割といたしましてはここにMHCクラスIIは粗面小胞体でできたときに、そこでinvariant chainと結合し、その複合体が最終的にエンドソームへ運ばれます。そこであるいはそこまでにinvariant chainが切れ、その結果MHCクラスII分子のポケットの部分に、CLIPと呼ばれるinvariant chainの断片が残るわけです。このCLIPがはずれて抗原ペプチドと入れ換った後、MHCクラスII分子は細胞表面に発現するわけです。DMが欠損した株では、細胞表面に発現してくるMHCクラスII分子は、大半はCLIPをくっつけたままで発現しているということです。つまり、DMの役割というのはCLIPをはがして目的とする抗原ペプチドをMHCクラスII分子に結合させるという役割を果たしておりますので、DMが欠損すると抗原

提示ができないということになります。実際にそのMHCクラスIIを介して抗原提示ができるかどうかという問題は、実はそのCLIPとMHCクラスII分子とのアフィニティーの問題がかなり深く関与しております。(図13)

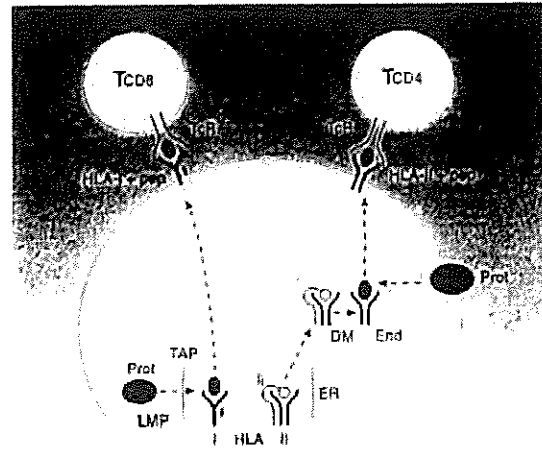


図13

CLIPとクラスII分子とのアフィニティーは当然のことながらクラスIIのハプロタイプによってかなり違ってまいります。例えば、マウスの例でいいますと、I-Abに関しましてはCLIPとDMとのアフィニティーが非常に強いハプロタイプです。そうしますと、その場合にはDMが存在していないと抗原提示ができません。しかしながら、一方I-AkというハプロタイプではCLIPとのアフィニティーが非常に弱いため別にDMが存在しなくてもある程度抗原提示ができます。そのようなことから一概に、DMがないとどうしてもだめというものではなくて、どうもDMの必要性というのはハプロタイプによってもずいぶん違っているということです。

## CLIPの親和性は自己免疫と関わるかも知れない

佐治 西村先生にお話をさせていただいて、また後でディスカッションでもう一回話ししてもらおうかもしれません。先生、その前に南先生の言われたことでちょっと補足したいと思います。CLIPのアフィニティー、クラスIIにCLIPというinvariant chainがくっついておいて、それがペプチドの入るのを防いでいる。そのCLIPがHLAクラスIIのアリルによって強くくっついているやつと、弱いやつとがあるということがマウスではあるらしい。人間では如何ですか。西村 まだ答えは出てません。正確に定量的に解析したデ

ーは出てないと思います

佐治 推測で結構です。マウスであることが人間であり得るか（強引に…）

西村 ですから、そのマウスのデータも確実にアフィニティーを測定し比較したものではありませんので、まだ何とも言えないと思います。CLIPというのは、粗面小胞体でクラスII結合性のペプチドがクラスII分子に結合するのをブロックするためのものですから、CLIPとMHCクラスIIのアフィニティーの差によって、その後どのようなアフィニティーを持ったペプチドがCLIPと入れ換ってクラスII分子に結合するかが変わってくると考えられます。つまりCLIPペプチドは自己あるいは非自己ペプチドがクラスII分子に結合する際の結合親和性の最小限界を決めている重要なペプチドだと思うんです。いろいろな自己免疫疾患に感受性を示すDRB1\*0405は、ひよっとするとCLIPに対するアフィニティーが非常に低いためにCLIPがはずれやすく、そこにCLIPより少しだけアフィニティーの高い自己ペプチドが入り込んでくる可能性があるということです。このようなMHC・自己ペプチド複合体の細胞表面での密度は低いとT細胞のトランスが十分には獲得されないと予想されます。

（註、胸腺でのネガティブ選択が起らない）このようにして生体内に残った自己反応性T細胞が、そのMHC・自己ペプチド複合体の密度が何らかの要因で増加した際に末梢で活性化され、自己免疫現象が始まると考えられないでしょうか。

佐治 免疫学者として南先生反論ございませんか。

南 おっしゃる通り、確かDR3が非常にアフィニティーが高い。先生がおっしゃったのと同じ論文だろうと思うんですけども。当然ヒトのケースでもマウスと同じことが充分考えられるわけです。

佐治 はい。ありがとうございました。あのお…僕いつも西村先生にトリをとってもらっているんですけども、だいたいトリというのは時間がなくなるんですね。今日は十分にしゃべっていただきます。

西村 手短かにエッセンスだけをお話ししたいと思います。

佐治 いえ。十分に話してください。

### 自己免疫疾患とHLAの相関を検証するには…

西村 昔からいろんな疾患の患者さんのHLAタイプが調べられて、特定のHLAが健康対照群と比べて患者群で増えていることがわかったわけです。そして、患者群で増加しているHLAは疾患感受性を決定す

る重要な遺伝要因と考えられたわけです。そういう仕事をやってるんだけど、なんとなく後ろめたい気がするわけです。本当にこの解釈は正しいのだろうかという疑問が生じてくるわけです。我々はそういう疑問に対して、特に免疫が絡んでいる病気で自己免疫疾患を選んで、HLAというのはダイレクトに疾患感受性を決め得るであろうという仮説を検証しようとしています。そして、その中でもなるべくHLAとの相関の強い疾患を選んで、どうして特定のHLAをもっているヒトが自己免疫疾患を発症しやすいのかを研究しているわけです。要するに自己反応性T細胞のターゲットになっているHLA・自己ペプチド複合体を決めようと、そういう戦略で仕事をしております。今日は、その中から3つの病気を示しますが、このうちの2つは東洋人に特有の病態であると言う特徴があります。それから、疾患と相関しているHLAアリルというものが、これまた非常に東洋人に特有のものであることも重要なポイントです。ここで強調したいのは東洋人にはユニークな自己免疫疾患があって、それを解決するのはやはり日本人を含めたアジア人でなければならないということです。

### アジア型多発性硬化症 (MS)

西村 最初にお示しする病気は、多発性硬化症(multiple sclerosis MS)という病気です。中枢神経系の神経繊維はオリゴデンドロサイトという細胞により絶縁されています。つまりこの細胞の胞体が神経細胞の軸索を取り囲んで絶縁体としての役割を果たしています。この絶縁体があるお陰で神経の伝達速度は高まっていて、他の情報が他の神経ファイバーに漏れるということも防いでいるわけです。MSという病態は、このオリゴデンドロサイトが作り出すミエリン・塩基性蛋白質(myelin basic protein,MBP)ほかの数種類のタンパク質に対してこれを自己とみなせないような自己反応性T細胞が出現しまして、これがオリゴデンドロサイトをアタックして、脱髄といわれる病変を作り神経繊維を絶縁不良状態にしてしまうことにより生じます。そうしますと、神経系の病状として手足が麻痺したりシビレたり、いろんな障害が出てくるわけです。それでその病変というのは脳の中のあちこちで神出鬼没にゲリラ戦的に出てきますから、手が麻痺したかと思えば、足が麻痺するというように非常に厄介な病気のわけです。

この病気について日本人でも昔から、内藤先生も

関わっておられたと思いますが、DR2との相関があるが白人ほど強くないことが知られていたわけです。私どもの共同研究者である九大の神経内科の吉良助教授は日本人のMSには症状の異なる2種類があることに着目され、それぞれの病型とHLAとの関係に興味を持たれました。そこで、我々は患者さんのHLAタイピングをお手伝い致しまして、2種類の病型でHLAとの相関がずいぶん違うということを見ましたので、まずご紹介いたします。その病態の違いというのは、白人に多いタイプの西洋型MSとアジア人に特有のアジア型MSであります。これは大脳のMRI画像の所見です。この白人に多いタイプの西洋型MSでは主に大脳などのいわゆる中枢神経系といわれるところに炎症病変のフォーカスが出てきます。ここで脱髄による絶縁不良が起こっていて、いろんな神経障害が発生してくるわけです。こういうフォーカスの数が多いというのが西洋型MSの特徴です。

これと比較しまして、アジア人には独特の病態があって、それは脊髄や視神経の病変を特徴としています。脊髄にこういう病変が出てくる頻度というのは西洋型MSでは非常に少ないということです。こういった所見によって患者群を2群に分けて、それぞれのHLAを調べてみたわけです。

西洋型MSを34例、アジア型を23例調べました。まだちょっと症例数が少ないんですけども、こうやって分けてみますと、白人のMSと相関の強いDR2のサブタイプであるDRB1\*1501が西洋型MS患者の41.2%に陽性でしたが、アジア型MSでは0であるということでもあります。正常対照群のHLA-DRB1\*1501対立遺伝子の頻度は14.2%です。従いまして、過去のデータは、この2つの病態をいっしょくたに考えていたためにそのDRB1\*1501との相関が低く出ていたんであろうと推定されるわけです。もし偶然に西洋型MSが多い患者群をタイプされた方はDRB1\*1501との相関が強いというデータを出され、こちらのアジア型MSの多い患者集団を捕まえた方は相関が出なかったということではないかと考えております。この西洋型MSでDRB1\*1501とか、これに連鎖したDQ6あるいはDRB5分子によって提示されるMBP自己抗原ペプチドというのは白人でもう十分に解析されております。私どもはアジア型MSに絞って、まず、まだ検索していないクラスII遺伝子の中にアジア型MSに相関を示すようなものがあるのかないのか。つまり、アジア型MSの遺伝

要因としてHLAクラスIIアレルが効いているかどうかをチェックしたいと考えています。その後にアジア型MSで自己抗原となっている分子が西洋型MSのものと同じであるかどうかということ調べるつもりです。以上、アジア人にはアジア人特有のMSがあるということです。

### 重症筋無力症 (MG)

第二番目の疾患は、乳幼児期に発症する重症筋無力症(myasthenia gravis:MG)の重症型です。これはもう松本先生や十字先生らが非常によい仕事をされていて、非常に強いHLAとの相関が明らかにされています。アセチルコリンレセプターというのは神経・筋接合部で発現しており、このような $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 、 $\delta$ のコンプレックスからなっています。 $\alpha$ 鎖は2つあります。この $\alpha$ 鎖の先端にアセチルコリンを収容するポケットがあります。ここに神経末端から放出されたアセチルコリンが結合しますとその瞬間だけイオンチャンネルが開いて、これで神経から入ってきたインパルスが筋肉に伝わり筋収縮へというふうにシグナルが伝達されるわけです。MGの患者さんは、主にこの $\alpha$ 鎖に対して自己抗体ができてしまって、これがアセチルコリンレセプターに結合することによりアセチルコリンが結合できなくなったり、或いはレセプターが細胞内に隠れてしまうという現象が起こります。したがって神経・筋の接合部で筋収縮連関がうまくいかずに患者さんの筋力が非常に低下してきます。患者さんの顔は午前中はぼんやり開いているんですが、午後になるとだんだん顔が落ちてきて眠たそうな顔になるという、そういう筋肉の脱力が起こってくるという病気です。重症の場合には、呼吸筋がマヒすることにより呼吸困難が生じます。

松本先生、十字先生らが明らかにされましたことは、1990年のJCI (Journal of Clinical Investigation) に出しておりますが、この患者さんを調べてみると、圧倒的多数の人がDR9-DQ9、あるいはDR13-DQ6を持っていて、しかもその患者さんの50%までが両者のヘテロ接合になっているのに対して、健康対照群における頻度はたった3%でした。ヘテロ接合でもものすごくリスクが高まっているということです。そしてこのHLAクラスIIというのはどちらも東洋人に頻度が高くて、白人では低いという特徴があります。ですからこの病態というのは、こういう東洋人に特有のクラスII分子が何らかのペプチドをくっつけ

て、おそらくアセチルコリンレセプター由来の自己ペプチドをくっつけて、それに対して免疫寛容ができずに自己免疫が始まっているというふうに作業仮説を立てられるわけです。

そこで私どもは、アセチルコリンレセプターの $\alpha$ 鎖のシークエンスは全部分かっておりますので、その部分のペプチドを合成しました。オーバーラッピングペプチドと呼ばれる約20個のアミノ酸からなり、シークエンスが少しづつずれているペプチドを50種類ほどつくりまして、それを混合しまして患者さんのリンパ球と培養するわけです。患者さんの検体は瀬川クリニックの瀬川先生からいただいたものなのですが、最終的に自己反応性T細胞が見ているエピトープというのは非常にユニークなところにマップされました。ヒトのアセチルコリンレセプターには2つのisoformがあります。それはエクソンの3と4の間に位置する付加的な第3エクソンであるP3Aが読まれるか読まれないかにより2つのisoformが生じるわけです。重要なのはこのP3Aにコードされるペプチド部分が自己反応性T細胞エピトープの大部分を占めているということにあります。エピトープが非常にユニークなところにあるということです。ですから、今後、この2つのフォームのアセチルコリンレセプターがどういう筋肉にどういう分布で発現しているのか、どのくらいの量発現しているのかを検討することは重要であると思います。その理由というのはこの乳幼児MGでは眼筋の異常が主でありまして、重症な呼吸麻痺を起こすような全身型MGにならないという特徴があるためです。ですからP3Aエクソンの発現が眼筋と他の筋肉で同じように発現しているかどうかを調べることは重要なテーマだと考えております。

木村 ちょっといいですか。正常な人にも自己反応性T細胞がいますか。

西村 それはまだチェックしていません。

木村 それからもう一つは、今の抗原ペプチドのときの拘束分子は疾患に関連したDR9かDR13ですか。

西村 DQ6です。それはこれからお示しします。自己反応性T細胞が認識するエピトープの局在はアセチルコリンレセプターの $\alpha$ 鎖の細胞外のところのストレッチです。過去の白人のデータでは自己抗体もこのアセチルコリンレセプターの細胞外のところにくっついて病気が起こっています。抗原提示に関わるHLAクラスII分子なんですけれども、このT細胞クローンで自己抗原ペプチドと抗原提示細胞(APC)と

共に培養しまして、抗HLAクラスII単クローン抗体によるブロックキングをやります。そうすると、この患者では感受性アレル、DRB1\*1302に連鎖したDQ6に反応するHU-11という単クローン抗体でブロックができることがわかりました。その他にもDQ6を持っているアロのAPCでもきちんと抗原提示ができますので、抗原提示分子はDQ6であると結論しました。それから、サイトカインについては $\gamma$ -インターフェロンが大量に出ていてIL-4はほとんど出ていないという、いわゆるTh1細胞と呼ばれるタイプのT細胞であったということです。以上のサマリーですが、乳幼児発症MGで、たった一例ですからこれで全てを語ることはできませんけれども、感受性HLAハプロタイプに連鎖したDQ遺伝子によりコードされたDQ分子で提示されるアセチルコリンレセプター $\alpha$ 鎖ペプチドを自己反応性 $\alpha/\beta$ T細胞が認識して、Th1型のサイトカインを分泌しているということです。乳幼児MGの特徴は比較的に進行が遅く、良性でしかもアセチルコリンレセプターに対する自己抗体の抗体価が成人の全身型MGと比べると非常に低いということがあります。その一つの理由というのは、ひょっとすると自己反応性T細胞の多くがTh1細胞でこれが産生するインターフェロン $\gamma$ というのは免疫グロブリンの産生を促進しませんから、そういう関係でこういう病態が起こっているのではないかと考えられます。これを証明するためには病変局所において、このTh1タイプの自己反応性T細胞がアセチルコリンレセプターを認識してどういう病変を形成するのかを見なければ分かりませんが、残念ながらバイオプシーは過去一度もとられておりません。今後の課題です。

インスリン依存性糖尿病(IDDM)とDQ $\beta$ 57の関係

西村 もう一つの話は従来より注目されているDQ $\beta$ 57番目アミノ酸の差でもってインスリン依存性糖尿病(IDDM)に対する感受性が決められるという話です。つまり、この57番目がアラニンのようにアスパラギン酸(Asp)でないnon AspであるとIDDMになりやすいというわけです。IDDMの患者群ではこのようなDQ遺伝子をもっているヒトが多いわけです。ところが、ここにアスパラギン酸が来るようなDQアレルというのはIDDMに感受性がないということです。この現象に関して我々が一番最初に問うた疑問というのは、DQ $\beta$ 57番目のアミノ酸の違いだけでもってそこに結合するペプチドの構造に大きな差が

出てくるのか、あるペプチドはくっつく、別のペプチドはくっつかないというそういう差が出てくるのかということです。対象としたのはDQ8(DQβ57,アラニン)とDQ9(DQβ57,アスパラギン酸)の2つの分子でありまして、この2つのDQが唯一違うところはこのDQβ57だけであるということです。そういう2種類のDQ分子を精製してきて、これに結合するペプチドを同定しました。そのペプチドというのは、どちらに対しても同じアフィニティーで非常に強く結合するようなものをファージペプチドライブラリーからつり上げてきたものです。それで同定したペプチドのアミノ酸配列はこのようでありまして、このペプチド上のアミノ酸を置換して行って、どの部分を置換すると結合がなくなるかということで、DQにくっつくのに重要なアミノ酸のポジションと種類を決めてやりました。そうすると、分かりましたことは、position 1(p1), p1, p8またはp9の位置のアミノ酸が重要であるということでした。ここの部分のアミノ酸の側鎖がMHCの溝にあるポケットに食い込んでいる、いわゆるアンカーとなっていると考えられたわけです。DQβ57のポジションというのは、こういうふうにはP8とP9に近いわけですから、もしもDQβ57の多型の影響が出るとすれば、P8とP9アンカー残基に強い影響が出るであろうということで、この部分のアミノ酸だけをいろいろ換えてみて、それでどういう結合の違いが出るのかを調べました。これがファージからつり上げたシーケンスに対応するペプチドでこれがDQ9にもDQ8にも同じアフィニティーで非常によくくっついたということです。この内のチロシンと、トリプトファンとスレオニンというのがアンカーとしてDQ分子の溝に食い込んでいる重要な結合部位であるということが分かりました。この8番のポジションのスレオニンをいろんなアミノ酸に置換して、そのペプチドがDQ9或いはDQ8にくっつく結合親和性を定量したわけです。答えだけ言いますと、こういうことです。IDDMに感受性の高いDQ8、これはDQβ57番がnon Asp, アラニンなわけです。そうすると、ペプチド上の8番、9番のポジションのアンカーにいろんなアミノ酸が来ても、かなりのものがくっつくと言うことです。ところが、DQβ57にアスパラギン酸が来ると、そのうちのいくつかのアミノ酸をもったペプチドは結合できなくなるということです。そのアミノ酸の特徴を見てみますと、こういうふうにはチャージを持ったもの、つまり塩基性のチャージを

持ったもの、酸性のチャージを持ったもの、中性が親水性か、つまりおしなべて親水性のアミノ酸というものがこのポジションにきた場合にはIDDM感受性のDQ8にはくっつくけれども、非感受性はDQ9にはくっつかないということが分かりました。予想外にドラスティックな差でした。そこで、3年ほど前にLancetに白人のIDDMの患者さんではインスリンを作る膵臓のランゲルハンス島のβ細胞が特異的に産生するGAD65という蛋白質由来の、こういうシーケンスを持ったペプチドに対してトレランスが壊れているということが報告されました。つまりこのようなGAD65ペプチドに反応する自己反応性T細胞がたくさん見られるということでしたので、そのシーケンスがこのDQ8とDQ9にどういう結合を示すかというのを調べようと思いました。このシーケンスを見て、我々はこのポジションでDQにくっついているというふうに予測しました。それで8番、9番を見てみますと、これは両方ともチャージを持った残基なわけです。つまり、リジンとかグルタミン酸なわけです。ですから、これは感受性のDQ8にはくっつくけれども、非感受性のDQ9にはくっつかないだろうとそういう予測がたつわけです。それからGADと交差抗原性を持っている抗原としてCoxsackie virus由来のペプチドがあります。このCoxsackie virusの先行感染でもってウイルスに免疫応答をしているうちに、GADに対するトレランスが壊れてIDDMが発症するというような話があります。そこで、この2つのシーケンスを見てみますと非常にホモロジーが高いことが分ります。そしてやっぱりこのペプチドの場合でも8番、9番にこういうチャージを持った残基が来ていて、このためにIDDM感受性のDQ8の方にくっつきやすいだろうという予測ができるわけです。実際に結合親和性を測定して見ますと、予測通りの結合が得られました。しかし、こうやってみてもGADに対して自己反応性を示すT細胞がいるということはずいぶん前から報告されているんですが、誰一人としてこのGADペプチドがDQβ57-non AspのIDDM感受性DQ分子により提示されているというようなデータをなかなか出してくれません。これは非常におかしなことで、何か変なことが起こっているんだろうと思います。それで私ども自身、日本人のIDDM患者において、GADに反応するようなT細胞クローンをとって、それが一体どのようなHLAクラスII分子により提示されているかということを検討しようとして

います。今のところ一人の患者さんからT細胞クローンがとれています。まだ十分に解析されていないクローンが今たくさんあがってきております。最初に自己反応性T細胞クローンをとった患者さんというのが非常に奇妙な患者さんで天草の人なんですけれども、DR3、DR4しかもDRB1\*0407という非常に稀なHLAのヘテロ接合でありました。どちらかというと白人においてIDDM感受性を示すようなHLAなわけです。白人の場合にはDR4はDRB1\*0401なわけですけれども、この患者さんからとれてきたGAD特異的なT細胞クローンというのは予想外にDRB4\*0103つまりDR53で抗原提示がなされていました。抗DR53抗体を入ると応答がブロックされるという予想外のデータになってしまいました。この一例だけでは何も言えませんが、これから日本人において、特にDRB1\*0405、或いは\*0901を持つような患者さんからGAD自己反応性T細胞クローンをたくさんとってきて解析するつもりです。そして、そのエピトープがどこにマップされるのか、それから抗原提示をしているのがDRなのか、DQなのか、DPなのかということを経多くの症例で検討して、これでもって日本人のIDDMの謎に迫りたいと考えております。

### 自己免疫疾患の標的になりやすいHLA・

#### 自己ペプチド複合体の特徴は何か？

西村 自己免疫疾患を誘導しやすいHLA・自己ペプチドの複合体に関する私どものアイデアというのは次のようになります。細胞表面にはMHC・自己ペプチド複合体がある密度で陳列されているわけです。そうすると、ある細胞表面で密度の高いMHC・自己ペプチド複合体に対しましては、これはしっかり免疫寛容をつくっておかないと、こんなものに反応してたのではみんな自己免疫になってしまうわけですから、こういうものに対してはしっかり免疫寛容をつくりましょうということになります。免疫寛容の作り方というのは大部分が胸腺において、いわゆる自己反応性T細胞のclonal deletionと呼ばれる現象により、胸腺の髄質、皮髄境界線の辺りで自己反応性T細胞がアポトーシスにより消滅します。つぎに、非常に密度の低い、こういう低い密度を持ったMHC・自己ペプチド複合体を考えてみましょう。ここで重要なのは、末梢においてT細胞を活性化できるようなMHC・自己ペプチド複合体の密度の閾値です。つまり、閾値を越えて、右側に来てしま

と末梢でT細胞が活性化される。一方、これより低いと、それはT細胞は活性化されないという状況を設定することができると思います。どうがんばってもこの閾値以下のMHC・自己ペプチド複合体に対しては免疫系というのは、もう全く無視して免疫寛容もつくらなければ、応答もしないということになります。いわゆる“ignorance”の状況でこのようなものは無視しましょうということです。自己免疫に感受性の高い、危ないMHC・自己ペプチド複合体の密度というのは、両者の中間の非常に中途半端なところにあると考えられます。自己反応性T細胞を消滅してしまうには密度が足りない。しかし、この閾値の辺りをうろろしている。密度が少しでも大きい方にずれれば、自己反応性T細胞によるアタックが始まるというわけです。自己反応性T細胞が動き出す可能性があることとなります。では、何が密度を大きくさせるかということ、一つはMHCクラスIIの発現が高まればよろしいし、或いは、その中に挟まっているペプチドの産生が高まってもよろしいわけです。或いは、T細胞を活性化するのに必要な他の分子、いわゆるco-stimulatory moleculeといわれるようなAPC上のCD80(B7.1)あるいはCD86(B7.2)といったものの発現が増強して、それでT細胞のco-stimulationが高まってもよろしいでしょう。これはいろいろと個々の自己免疫疾患あるいは患者によって違うであろうと考えられます。私どもがやりたいのは、片っ端から自己反応性T細胞が認識するペプチドを同定して、それが疾患感受性を示すHLA分子にどのようなアフィニティーを持って結合するのかをチェックしていくことです。それを個々の例について検討して、それで一つ一つの病態、免疫寛容が崩れるメカニズムを解明してゆきたいと考えています。その後にはトレランスに関して重要なところはMHC-ペプチド複合体とT細胞レセプターとの相互作用ですから、そういった方向の解明に仕事を進めていこうというふうに考えております。以上の仕事につきましては、DQ8とDQ9結合ペプチドのモチーフ、それからNODマウスのI-A結合ペプチドのモチーフ解析もやっているんですけども、これにつきましては助教授の松下君とそれから耳鼻科から来た大学院生の火磯君ががんばってくれました。自己免疫に関して多発性硬化症は金井君と九大の神経内科の吉良先生との共同研究です。また乳幼児発症の重症筋無力症に関しては、瀬川先生から患者さんの検体をいただきまして大学院生の金井君が

がんばってくれました。参考文献4)~14)

これからもディスカッションを続けましょう…

佐治 はい。密度の高いお話を短くしてくださったんで、みなさんちょっと理解が困難な部分があったと思います。けれどもこれKAMONにちゃんと載せますから読んでください。分かるように収録いたします。さて、これでスピーキングは終わりです。あとディスカッションですけれども木村先生何か言い残したことあるでしょ。

木村 また来年もやりましょう。

佐治 来年に続けていいですか、来年もやるそうですから。続きをやりましょう。じゃあ一言ずつ言い残したことを、徳永先生。

徳永 だいたい出てるんですけども、基本的にはその集団の遺伝的背景の違いに応じた差というのがやはりあるだろうと。疾患感受性、抵抗性を決めているHLAのタイプも違うだろうし、そのトリガーにもなっているペプチドもHLAに応じて違ってくる可能性を常に考えておく必要があるということです。もう一つは西村先生が触れられたように必ずしもtriggeringのペプチドになるものが強いアフィニティーを持っているとは限らないということ。そういう意味ではT細胞クローンを患者から取ってくるというサーチとそれからアレルレベルのタイピング、クラスIを含めてですね、そしてそこにどんなペプチドが入ってT細胞がみているかときちっと決めていかないといけないだろうと思います。

### 実験戦略に二つの方向性を、 そして相補的に完結させる

佐治 実験計画の方向性、これも誰かに言ってもらおうと思ったけれど、言ってくれたのが木村先生。南先生にはコメントーターとして最後にしゃべってもらいます。

木村 私は自己免疫性疾患を攻める場合には2つの方法があると考えます。一つはHLAを含めて遺伝的な解析からいく方法。もう一つは西村さんがやっているように、実際に自己反応性T細胞をとって、それが何をみているかを定める方法です。最終的にその2つの方向からきた結論が同じものに到達したときに、本当にそれが原因であると言うことが言えると思います。どっちか片方からきただけの結論では、まだまだ結論が出ていないというふうには考えなくてはいけません。

佐治 あと、癌免疫とかですね。いろんなことがこの中に含まれているんです。今日はあまりにも時間が少ないので来年やりますけど。西村先生ひとこと…

西村 皆さんがおっしゃった通りなんですけれども、私が強調したいのは東洋人には東洋人に特有な遺伝的なバックグラウンド、つまりHLA対立遺伝子があって、それでもって自己免疫疾患の病態も違うんだ。ということです。病態が異なる原因は、自己反応性T細胞を活性化するHLAクラスII分子と自己抗原ペプチドの差によるのではないかと考えております。特に多発性硬化症や重症筋無力症はそういう感じがしています。病変部位の分布が白人とは違いますから。そういうことで日本人が、いやアジア人が、頑張るって自らの力でこれらの疾患の病因・病態を解決しなければならぬと考えています。

佐治 白人のデータを丸飲み信用するな、ですね。あと南先生コメントーターとして…

南 ディスカッションにはでてこなかったと思いますが、自己抗原由来のペプチドが結合した場合になぜ本当に自己免疫疾患が起こってくるのだろうかという問題です。それはいろいろな考えがあると思うのですが、またたぶん今日西村先生もお話ししようと思っていらっしゃったのだらうとも思うのですけれども、やはりTh1、Th2のどちらが誘導されるかが重要な問題だと思います。それは、その場合なぜTh1あるいはTh2が誘導されるかはまだわからないのですが、一つの考え方としては、MHCクラスII分子のハプロタイプに関連してなにかがTh1をdominantに誘導する、あるいはTh2をdominantに誘導するということでも、あいまいですが説明がつかます。ただ現在は全く証拠がないという状況だと思います。たぶんこの1年ぐらいで何かその辺のことに対して、証拠が出てくるのだらうと期待しております。

### HLAは永遠のテーマか？まとめ

佐治 はからずしも木村先生から、来年もやろうという提案がありまして、来年は猪子先生も含めまして、同じメンバーでやりたいと思うんですけども、いいですか？……では勝手に決めます。スポンサーもうんとおっしゃっていますので。それではこれで終わりますが、要するに、HLAのtissue typer諸君！HLA研究者の諸君！我々の未来は大きく広がっている。すなわち医療、予防や治療、これが個々に患者の個性に応じて行われる時代が開かれている。その個々の



個性、生理的なバックグラウンド、免疫学的なバックグラウンドを決めているのは、いろいろあるだろうが、一番いいマーカーはHLAである。だからHLAをまず調べて、そのHLAにあった個々の医療が今後開かれている。わたらの仕事はなくなる。増える一方である。HLAは永遠のテーマである。これを締めくくりの話としておきます。ありがとうございました。

#### お詫びと訂正

前号「KAMON No.9」の座談会：「HLAと疾患感受性の生物学」の3ページ左側6行目、徳永先生ご発言部分「Listen to evolution」は「Parhamの recent evolution」の誤りでした。謹んでお詫び申し上げます。

#### <参考文献>

- 1) Hill AV, Allsopp CE, Kwiatkowski D, Anstey NM, Twumasi P, Rowe PA, Bennett S, Brewster D, McMichael AJ, Greenwood BM (Institute of Molecular Medicine, University of Oxford, John Radcliffe Hospital, UK): Common west African HLA antigens are associated with protection from severe malaria. *Nature*. 352(6336): 595-600, 1991 Aug 15. Abstract A large case-control study of malaria in West African children shows that a human leukocyte class I antigen (HLA-Bw53) and an HLA class II haplotype (DRB1\*1302-DQB1\*0501), common in West Africans but rare in other racial groups, are independently associated with protection from severe malaria. In this population they account for as great a reduction in disease incidence as the sickle-cell haemoglobin variant. These data support the hypothesis that the extraordinary polymorphism of major histocompatibility complex genes has evolved primarily through natural selection by infectious pathogens.
- 2) Hill AV, Elvin J, Willis AC, Aidoo M, Allsopp CE, Gotch FM, Gao XM, Takiguchi M, Greenwood BM, Townsend AR, et al. (Institute of Molecular Medicine, University of Oxford, John Radcliffe Hospital, UK): Molecular analysis of the association of HLA-B53 and resistance to severe malaria. (Comments: Comment in: *Nature* 1992 Dec 3;360(6403):417-8) *Nature*. 360(6403):434-9, 1992 Dec 3.
- 3) Jin L, Macaubas C, Hallmayer J, Kimura A, Mignot E: Mutation rates varies among alleles at a microsatellite locus : phylogenetic evidence. *Proc.Natl.Acad.Sci,USA* 93 :15285-15288,1996.
- 4) Kira,JI,Kishimura,,Nishimura,Y.,Yamasaki,K., Matsushita,S,Kawano,Y., Hasuo,K.,Tobimatsu,T,Western vs.Asiantypes of multiple sclerosis:immunogenetically distinct disorders *Ann.Neurol* 40:569-574,1996.
- 5) Oiso,M., Nishimura,Y.,Nishi,T., and Matsushita,S. Differential binding of peptides substituted at putative C-terminal anchor residues to HLA-DQ8 and DQ9 differing only at  $\beta$  57 *Human Immunol*52:47-53,1997.
- 6) Matsusita,S.,Nishi,T.,Yamaoka,K., Motoki,M,Yone,K.,Kanai,T,and Nishimura,Y. HLA-DQ-binding peptide motifs.I.Comparative binding analysis of type II collagen-derived peptides to DR and DQ molecules of rheumatoid arthritis-susceptible haplotypes *IntImmunol*8:757-764,1996.
- 7) Nishimiura,Y., Chen,Y-Z., Ikagawa,S., and Matsushita,S. HLA-DR binding peptides triggering autoimmunity and altered T cell responses In "New research trends in Immunological diseases" eds. Minato, N., Miyasaka, M and Yamamoto, K, pp.89-100. Actademic press, Tokyo,1995.
- 8) Matsusita,S, Takahashi,K., Motoki,M, Komoriya,K., Ikagawa,S, and Nishimura,Y. Allele specificity of structural requirement for peptides bound to HLA-DRB1\*0405 and DRB1\*0406 complexes: Implication

for the HLA-associated susceptibility to methimazole induced insulin autoimmune syndrome. J.Exp.Med 180:873-884,1994

- 9) 西村泰治、免疫学講座「主要組織適合抗原・ペプチド複合体の構造と機能」、秀潤社（東京）、細胞工学 15: 1007-1021,1996
- 10) 笹月健彦 編 New メディカルサイエンス「MHC・ペプチドと疾患」、羊土社（東京）、1996.
- 11) 西村泰治、「免疫応答と寛容」、多田富雄ほか編、免疫のフロンティア・免疫寛容、医学書院（東京）、pp72-107,1997年
- 12) 「西村泰治、「MHCクラスII分子と結合ペプチド」、Annual Review「免疫」、中外医学社（東京）pp162-173,1997年
- 13) 西村泰治、「抗原のプロセッシングとT細胞への提示機構」、最新内科学大系・プログレスシリーズ、免疫アレルギー疾患、中山書店（東京）、印刷中
- 14) 西村泰治、「HLAと疾患感受性」、新臨床医のための分子医学シリーズ、平野俊夫編、免疫システムと疾患、羊土社（東京）、印刷中

## 《用語解説》

### 【T細胞トレランス】

免疫トレランス（免疫寛容）とは特定の抗原に対する応答性が欠如している状態になっていることをいう。自己に対する免疫寛容は、自己反応性のヘルパーT細胞クローンの消失 (clonal deletion) や分化中のリンパ球の不活化によって獲得される。自己免疫はT細胞の反応から始まると考えられている。すなわち、細胞障害性T細胞の反応と不適切なマクロファージの活性化が組織傷害を起こし、また不適切なヘルパーT細胞活性化が自己抗原に対する有害な抗体の産生をもたらす。自己免疫疾患では、抗原に対する免疫寛容という正常の状態が破綻して、自己組織に対する持続性の免疫応答が起こることである。あるペプチドとの親和性が高いMHCでは殆どの細胞がトレランス閾値以上の高いレベルでペプチド・MHC複合体を形成しているため反応性T細胞クローンが胸腺内で消失するか末梢でアネルギー (anergy) 状態となり、自己トレランスが成立する。また、複合体の提示レベルが認識閾値よりも低いとペプチドを認識するレセプターをもったT細胞は応答しないが、両閾値の間で複合体が胸腺細胞に提示されるとレセプターが自己ペプチドを認識するT

細胞が成熟する。しかしながら、もし不適切に自己反応性T細胞クローンが活性化されたら、ペプチド・MHC複合体をもっている自己細胞を障害する。

### 【インバリエント鎖 (I鎖)】

MHCクラスII抗原分子はマクロファージなどで消化されたペプチドをCD4陽性T細胞に提示する役割を担っている。このクラスII分子にTAPを介して粗面小胞体内腔に入ってくるペプチドの結合を事前に防いでおく必要がある。そのために小胞体で新しく合成されたクラスII分子にはインバリエント鎖 (I鎖) というタンパク質が結合される。I鎖にはもう一つの役割が知られている。それは小胞体から適当な低pHのエンドゾームにMHCクラスII分子を導くことである。I鎖をつけたMHCクラスII  $\alpha$ : $\beta$  ヘテロ二量体複合体は小胞内で2から4時間程度維持され、この間にカテプシンLなどのタンパク分解酵素によって数カ所において切断される。最初の切断は末端部にだけで起き、そのままタンパク質分解分画内に維持される。その後の切断でMHCクラスII分子はI鎖からリリースされるが、I鎖のCLIP (class II-associated invariant-chain peptide) と呼ばれる短鎖の結合が残る。HLA-DM分子がCLIPのリリースを触媒し、抗原ペプチドがMHCクラスII分子に結合される。

### 医学大事典より

#### 【多発性硬化症】

カタカタカタ multiple sclerosis (MS)

中枢神経系の白質に散在性の脱髄巣とグリオシスが出現する原因不明の疾患。病巣は側脳室周辺、脳梁、第三脳室周辺、導水管周辺、第四脳室周辺、視束、視索、橋、延髄、小脳歯状核付近、脊髄などに好発する。好発年齢は20～40歳で、全体の2/3がこの時期に発病する。初発症状は運動麻痺、眼症状、知覚異常などが多く、寛解と悪化を繰り返しながら進行性に悪化する。多くは10～15年の経過で死亡する。確実な治療法はないが、主として副腎皮質ホルモンが使用される

#### 【重症筋無力症】

ジウウキムリョウ myasthenia gravis

運動神経筋接合部の終板にあるアセチルコリン受容体に対する自己免疫疾患と考えられている。10万人に2～3人の有病率で、男女比は1:2である。眼筋障害にて発症し、四肢の筋力低下、球麻痺を伴うことも多い。呼吸筋麻痺が増悪してクレーゼと

よばれる重篤な状態となることもある。筋症状は、同じ運動を繰返すと増悪し、安静にて改善傾向を示す。運動神経反復刺激にてwaningを認める。塩化エドロホニウム 筋注にて臨床症状waningの著明な改善を認める。治療は抗コリンエステラーゼ剤を中心にするが全身型では胸腺摘出術を行う副腎皮質ホルモン、血漿交換療法が行われることもある

日経バイオ最新用語辞典より

【CD80】 免疫グロブリン・スーパーファミリーに属する細胞接着分子の一つ。分子量50~60kDaの膜糖蛋白で、T細胞と抗原提示細胞間接着分子として働き、T細胞活性化に必要なコストимуラトリー・シグ

ナルをT細胞上のCD28、CTLA-4と結合することで伝達する。CD86に比べ、細胞内領域が短い。

【CD86】 免疫グロブリン・スーパーファミリーに属する細胞接着分子の一つ。CD80とほぼ同じ機能を持ち、T細胞と抗原提示細胞の接着に関与し、T細胞活性化に必要なコストимуラトリー・シグナルをT細胞上のCD28、CTLA-4と結合して伝達する。分子量は70~75kDaでCD80に比べ、長い細胞内領域があり、プロテインキナーゼCにリン酸化される可能性のある部位が3カ所ある。

【コストимуラトリー・シグナル】 co-stimulatory signal T細胞の抗原認識で抗原・主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 以外の抗原

## モノクローナル抗体はどこまで完成したか

講師：ワンラムダ社 (USA) Mr.Jimmy Loon

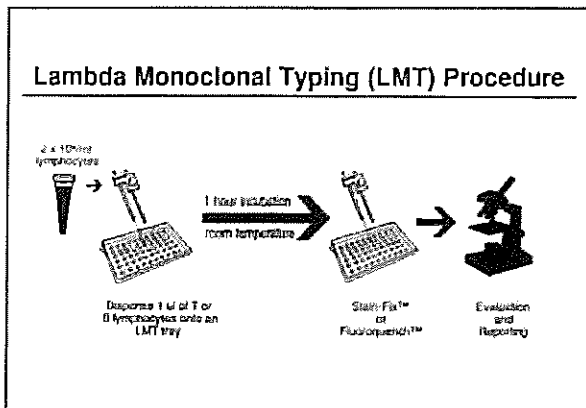
収録・まとめ：埼玉医科大学 平田 蘭子

12th IHWCに提出したMonoclonal Antibody (mAb) の解析結果を中心に説明する。

多くのラボでDNAタイピングまたはIEF (等電点電気泳動) によるHLA subtypeが競々と報告され、これに伴い、mAbの血清学的反応におけるエピトープを推定することが可能となった。

mAbは、特にクラスIIタイピングではほとんどの特異性に対して作成され、4年前からクラスIIタイピングトレイとしてすでに実用化されている。mAbと補体を混合した状態でテラサキトレイに分注、-80℃で保存する。タイピング時には、解凍したトレイにリンパ球を分注して1時間のインキュベーション後、染色、固定を行うだけである (図1)。

図1



mAbを用いるメリットは、抗補体作用が無い (mAbと補体を混合状態で使用可能)、高い親和性がある、単一の特異性を持つ、無制限に供給できることである (図2)。

図2

Properties of Allosera vs. Monoclonal Antibody		
	Allosera	Monoclonal Antibody
Epitope Recognized	Single & Multiple	Single
Specificity	Mono & Multi	Mono (epitope)
Titer	Low (<1:8)	High (>20,000)
Quantity	Limited	Almost unlimited
Anticomplement Activity	Possible	None
Quality	Variable	Consistent

mAbは、HLA分子のアミノ酸配列によって決定される抗体の結合部位、すなわちエピトープを認識する。このエピトープには、抗原特異的なプライベートエピトープと、複数の抗原に共有されるパブリックエピトープがある。

クラスI抗原の多型性は、 $\alpha$ 鎖の $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ ドメイン (立体構造的なまとまり) に集中しており、多くのエピトープは $\alpha$  helixに存在する (図3)。クラスII抗原 (図4) では、DR抗原分子は $\alpha$ 鎖 $\beta$ 鎖からなり、多型は $\beta$ 鎖に存在する。しかし、DQ抗原では $\alpha$ 鎖にも多型が存在している。

図3

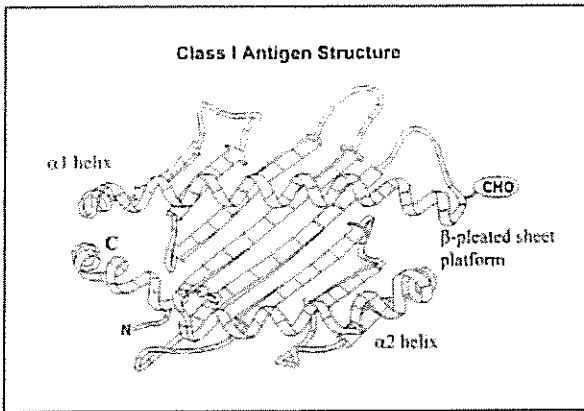


図4

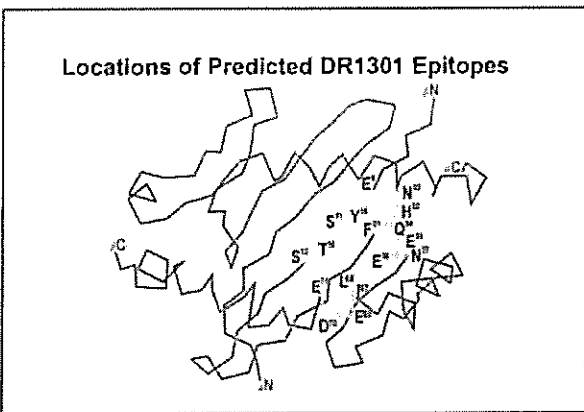


図5：AHS (Antigen Haplotype Society) #1に提出したmAbの反応パターンである。上段の数字がmAbのID No (抗体名としてはHをつける) であり、左側はIEFにより決定された抗原名を記載した。これらのmAbによりA1, A36, A3のタイプが可能となる。また、IEFにより分けられたA11.1, A11.2, A11.3 (前回確認された) の異なる反応パターンが得られた。H408ではA1, A36の他にA80にも反応することが判明した。

図5

**AHS #1**  
**Reaction Patterns for A1,A36,A3,A11,A80**

Antigen	2	4	2	5	2	4	3	1
	6	5	0	4	3	0	4	7
	9	8	7	6	1	8	4	3
A1	-	+	+	+	+	+	+	-
A36	-	-	+	+	+	+/-	+	+/-
A3	+	+	-	-	-	-	-	-
A11.1	-	-	-	+	+	-	-	+
A11.2	-	-	-	-	+	-	-	+
A11.3	-	-	-	-	-	+/-	+/-	+
A80	-	-	-	-	-	+	-	-

図6：A1, A36抗原分子の違いを示した。α2ドメインの163, 166, 167番のアミノ酸が異なる。

図6

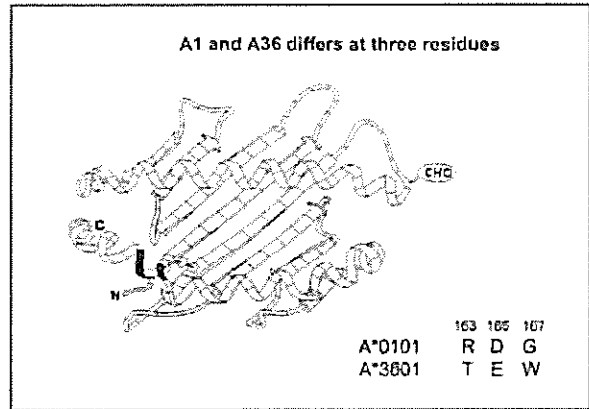


図7：各mAbの反応特異性に対するエピトープを推定して示したものである。特異性A3を示したH458は、アミノ酸配列161番のD (アスパラギン酸) を、特異性A1, A80を持つH544は144番K (リジン) を認識していると考えられる。アロ血清でも多く見出されるA1, A36は44番K, 67番M, 150番V, 156番R, 158番Vがエピトープと考えられる。

図7

**Predicted Epitopes for the A1,A36,A3,A11, and A80 Specificities**

Serum ID	Specificity	Predicted Epitope
297	A1,36	<sup>44</sup> K, <sup>67</sup> M, <sup>150</sup> V, <sup>156</sup> R, <sup>158</sup> V
544	A1,3,36,11,80	<sup>144</sup> K
458	A3	<sup>161</sup> D

図8：AHS#2に提出したmAbであるが、H262, H104のmAbによりA\*201, A\*206で異なる反応パターンが得られた。また、A\*203, A\*217, A\*218も反応パターンがそれぞれ異なり区別可能であった。A28のsubtypeのA68, A69も明らかに区別できた。

図9、10：A23, A24の反応パターンであるが、A23とA24ははっきりタイプ分けが可能である。図10のα1ドメインのアミノ酸配列の80から83番がA\*2301, A\*2402, A\*2403は共通の配列であるが、A\*2404はアミノ酸が異なっており、H238, H233, H493のようにA24に対する抗体であってもA\*2404には反応しないことが確認された。

図8

**AHS #2**  
Reaction Patterns for A2,A68,A69

Antigen	1 3 0	1 6 3	2 5 4	1 8 1	2 0 2	1 5 3	1 8 9	5 3 4	5 2 1	4 3 1
A2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
A201	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
A203	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
A206	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
A207	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
A210	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A217	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
A218	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-
A28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A68	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
A69	+	-	-	-	+	+	+	+	+	-

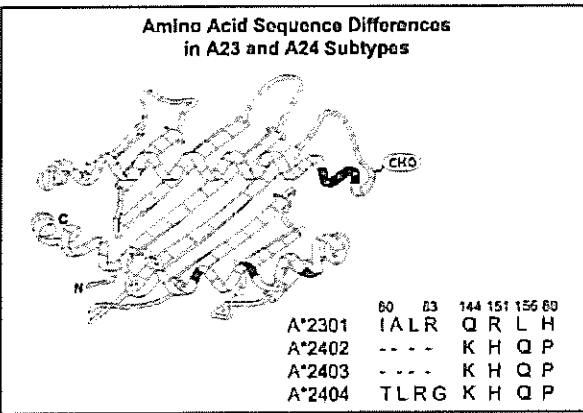
図9

**AHS #2**  
Reaction Patterns for A23,A24

Antigen	1 6 6	2 3 8	4 3 4	3 4 3	9 9 9	2 3 3	4 9 3
A23	+	+	+	+	-	-	-
A24	+	+	-	-	+	+	+
A2402	+	+	-	-	+	+	+
A2403	+	+	-	-	+	+	+
A2404	+	-	-	-	+	-	-
A2408	+	+	-	-	+	+	-

B5 A31 B83 B15 A11  
A33 B77 B59 A26  
A89

図10



A23とA24はα2ドメインの144, 151, 156番のアミノ酸の違いにより分けられると考えられる。

図11 : AHS#3に提出したmAbであるが, H352はA\*2601, A\*2602, A\*2604, A\*2605に陽性でA\*2603には陰性であることが判明した。H213はA66.1に陽性でA66.2には陰性であることがIEFにより明らかにされた。

図11

**AHS #3**  
Reaction Patterns for A25,A26,A34,A66

Antigen	3 2 9	4 9	2 1 3	2 0 8	4 7 3	3 5 2	2 9 7	5 2 0
A25	+	+	+	+	+	-	-	
A26	+	+	+	-	-	+	-	
A34	+	+	+	-	-	+	+	
A66	+	+	+	-	-	+	-	
A32	-	-	-	-	+	-	-	
A33	+	-	-	-	-	-	+	

352 is positive with A2601, A2602, A2604, A2605  
213 is positive with A66.1, negative with A66.2

図12 : A19に関連のmAbを示した。A29, A30, A32に対して特異的に反応する抗体が得られている。アロ血清にもよくみられる特異性である。

図12

**AHS #3**  
Reaction Patterns for A29,A30,A31,A32,A33

Antigen	2 7 2	1 5 5	8 7	2 0	4 6 7	4 7 3	5 0 9	5 2 0	2 9 7
A29	+	+	-	-	-	-	-	-	-
A30	-	+	+	+	-	-	-	-	-
A31	-	+	+	-	+	-	-	-	-
A32	-	-	-	-	-	+	+	-	-
A33	-	-	-	-	-	-	-	+	+
A25	-	-	-	-	-	+	-	-	-
A34	-	-	-	-	-	-	-	+	+

図13 : AHS#4のB5-B35関連の抗体であるが, mAbH42はB35特異的に反応を示した。B5(B51+52)特異性を示すmAbH478, H508, H81は, B5105, B5106に対しては陰性であった。

図13

**AHS #4**  
Reaction Patterns for B5,B35,B53,B78,B18

Antigen	4 7 6	5 0 8	2 8 1	3 0 0	4 7 2	3 6 5	1 3 7	3 8 6
B35	-	-	-	-	+	+	-	-
B51	+	+	+	+	-	+	-	-
B52	+	+	+	+	-	-	-	-
B62	-	-	-	-	-	-	-	+
B63	-	-	+	-	-	-	-	-
B75	-	-	-	+	-	-	-	-
B78	-	-	-	-	-	+	-	-
B18	-	-	-	-	-	-	+	+

B14

mAbs 478, 508 and 81 appear to define further heterogeneity in B5, B35 and are negative against B5105 and B5106 cells.

図14 : AHS#5のB7cross-reaction (CREG) を示すmAbで, 3グループ反応パターンがみられB7の3つの異なる

エビトープを認識していると考えられる。

図14

**AHS #5**  
**Reaction Patterns for B7**

Antigen	2 0 2	3 1 0	3 5 7	3 8 8	4 3 7	5 1 7
B7	+	+	+	+	+	-
	+	+	+	+	-	-
	+	+	+	+	+	+

B27 B27 B46 B27 B55 B42  
 B42 B51 B42  
 B22 B22

図15：B54, B55, B56をそれぞれタイプ分けすることが可能である。

図15

**AHS #5**  
**Reaction Patterns for B54,B55,B56, B42,B47,B73**

Antigen	2 0 2	3 8 0	5 5 6	5 1 7	B 2 1	4 7 0
B54	-	-	-	+	-	-
B55	+	+	+	+	-	-
B56	+	+	-	+	-	-
B42	+	+	+	+	-	-
B47	+	+	-	+	+	-
B73	+	+	+	+	-	+

B7 B7 B13  
 B27 B27 B37  
 B27

図16, 17, 18：B27に対するmAbにより、いくつかのsubtypeに分けることが可能である。また、FITC, BIOTINでラベルをしたmAbを応用し、いろいろな方法で解析することも可能である。

図16

**AHS #5**  
**Reaction Patterns for B27**

Antigen	2 0 2	3 8 8	6 2 1	3 1 0	1 4 3	1 4 5	3 5 7
B2702	+	+	+	+	-	?	-
B2704	+	+	+	-	+	+	-
B2705	+	+	+	-	+	+	-
B2706	+	+	+	-	+	-	+
B2707	+	+	+	-	-	+	+

B7 B7 B47 B7 B7

145 is positive with B5601 from JAPHSE

図17

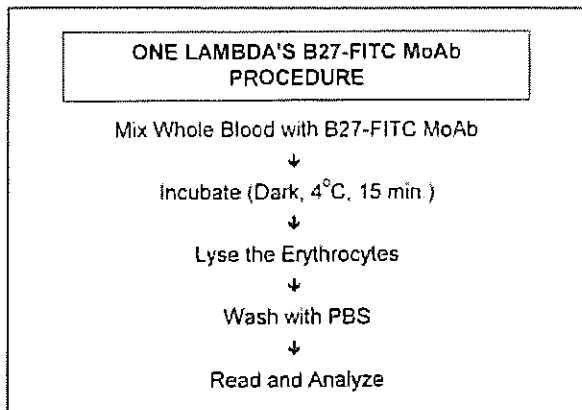


図18

**OTHER FLOW LINE PRODUCTS**

<b>FITC LABELED</b>	<b>BIOTIN LABELED</b>
BB	A1, 36
A2, 28	A2, 29
(HLA CLASS I)	A3
IgG2B	A11
	A30, 31
	B8
	B12
	B13
	B27
	B46

... And More to Come

図19, 20：AHS#6のB16関連ではB\*3901, B\*3902, B\*3904, B\*3908, B67が異なる反応パターンを示している。また、B\*3910もタイプ可能のようである。B67とB39はアミノ酸配列をほとんど共有しているが、図20に示す配列67番から71番に違いを示している。このB\*6701の配列はB7cross-reactionグループにみられる。

図19

**AHS #6**  
**Reaction Patterns for B16 and B67**

Antigen	N	2 1 4	3 7 2	2 4 5	2 7 7
B26	33	+	+	-	-
B39	44	+	-	-	-
B39	19	+	-	-	-
B3901(?)	5	+	-	-	-
B3902(?)	10	+	+	-	W
B3904(?)	13	+	+	-	-
B3908(?)	1	-	+	-	-
B67	5	+	+	-	+
B3910?	1	+	-	-	+

B54 B18 B8 B65  
 B54 B14  
 B14

図20

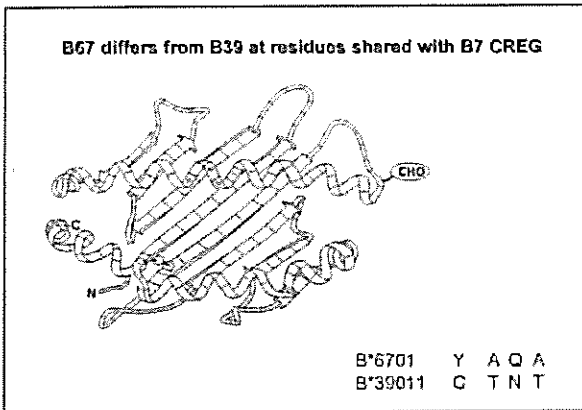


図 2 1 : AHS#7のB40グループのB61とタイプされた反応パターンであるが、これらはすべてalleleタイプB\*4002であるにも関わらず、4本のmAbにより5タイプのパターンが得られている。抗体が認識するエピトープは、アミノ酸配列の直線的な部分を認識するだけではなく、ペプチドが結合し隣接するアミノ酸配列との関連によりエピトープが形成されることも考えられる。そしてこれは、TAP、プロテオソームの多型性に由来している可能性がある。

図21

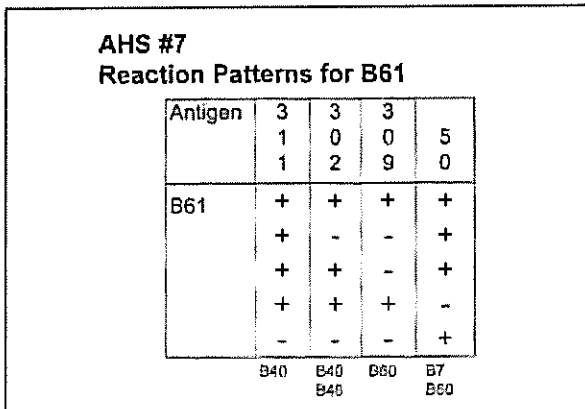


図 2 2, 2 3 : AHS#8のB15, B17, B46, B70関連のmAbであるが、B57, B58のタイプ分けが可能である。図 2 3 に示すmAbH271, H507, H225は、B15グループに対する抗体でB46には陰性であった。H584はB62, B70のみに、H74はB62は陰性でB46, B75の一部, B77に反応し、B46タイピング用としての有用性が高いと考えられた。

図 2 4, 2 5 : AHS#11のDR2, DR51に対するmAbであるが、DR15, 16が分けられ、H435はDRB5に相当するDR51の特異性を示している。図 2 5 は、DR2のアミノ酸配列である。DR15と16 (DR2) の特異的配列であるPKR (11番-13番) の配列部分がエピトープと推定される。

図22

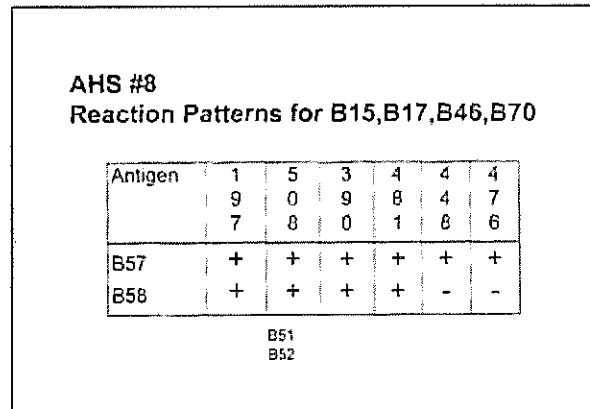
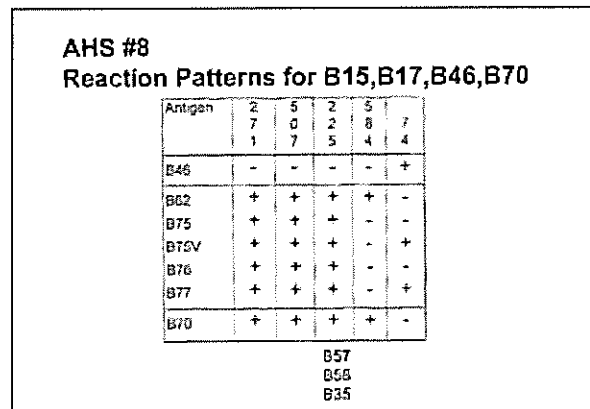


図23



DR15に特異的なアミノ酸はF (47) I (67) A (71) である。

図24

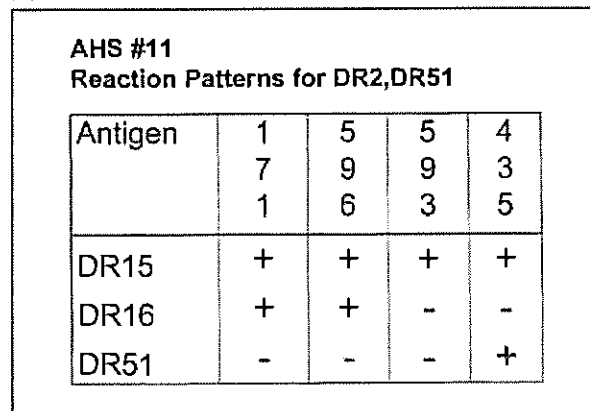


図 2 6, 2 7 : AHS#14のDR11, DR12の反応パターンであるが、DR11と12が明瞭にタイプすることができる。また、H394はDRB1\*1201に特異的の反応を示した。DR11に対してmAbが認識するエピトープは、アミノ酸配列 (図 2 7) 58 番のE (グルタミン酸) が重要な役割を担っている。これは、マーシャルらの研究によりグルタミン酸を他のアミノ酸に置き換えると、DR11のmAbとは反応しないという実験結果が得られているからである。DR12,

図25

DR2

	8	16	25	37	47	57	60	67	77
DRB1*0101	LWOLKFECH	RLLERCIYNDEES	Y	DAEY	LLEGRRAAVDT				
DRB1*1501	-P-R-	-F-D-YF-		F-		I--A-			
DRB1*1502	-P-R-	-F-D-YF-		F-		I--A-			
DRB1*1503	-P-R-	-F-D-YF-		F-		I--A-			
DRB1*1601	-P-R-	-F-D-YF-		F-		I--D-			
DRB1*1602	-P-R-	-F-D-YF-		F-		I--D-			
DRB1*0101	D-D-Y-	F-H-G-		N		I--A-			
DRB1*0102	D-D-Y-	F-H-G-		N		I--A-			
DRB1*0201	D-D-Y-	F-H-G-		N		I--A-			
DRB1*0202	D-D-Y-	F-H-G-		N		I--A-			

図26

AHS #14  
Reaction Patterns for DR11, DR12

Antigen	8	1	1	1	5	1	4	3
	6	7	2	3	3	9	1	4
DR1101	+	+	+	-	-	-	-	-
DR1104	+	+	+	-	-	-	-	-
DR1106	+	+	+	-	-	-	-	-
DR1201	-	-	+	+	+	+	+	+
DR1202	-	-	-	+	+	W	+/+	-

DR8 DR9 DR10 DR11

図27

DR11,12

	8	16	25	37	47	57	60	67	77
DRB1*0101	LWOLKFECH	RLLERCIYNDEES	Y	DAEY	LLEGRRAAVDT				
DRB1*1101	EYSTS---	-F-D-YF----	Y	F-E-	F--D-----				
DRB1*1102	EYSTS---	-F-D-YF----	Y	F-E-	I--DE-----				
DRB1*1103	EYSTS---	-F-D-YF----	Y	F-E-	F--DE-----				
DRB1*1104	EYSTS---	-F-D-YF----	Y	F-E-	F--D-----				
DRB1*1201	EYSTG--Y	---HFH----	L	FV--S	I--D-----				
DRB1*1202	EYSTG--Y	---HFH----	L	FV--S	F--D-----				

DR8, DRB1\*1404に陽性となるmAbが認識するエピトープは、GECY (13-16) の配列部分と考えられる。

図28, 29: AHS#15のDR13, DR14関連mAbの反応パターンであるが、少なくともDRB1\*1301, 1302はタイプ可能である。H380はDRB1\*1303以外のDR13に反応し、一部のDR14とDR3に陽性を示した。H447はDRB1\*1401, 1407 (1404には弱く) に反応した。HthWSに提出したmAbH15と類似したH92は、DRB1\*1401, 1405, 1407, DR9に反応を示すmAbである。H423は、1401, 1405,

1407, DR9の他にDR1, DR4にも反応するmAbである。H169, H533はDRB1\*1401とDR12, DR8に陽性を示すmAbである。DR13, DR14に対する特異的な抗体は、アロ血清では検出されにくく、mAbでも同様である。これは、DR13抗原には特異的なアミノ酸配列が存在しないからである。したがって、DR13と同じアミノ酸配列を共有するDR11, DR3などの間でcross reactionが多く存在することになる。また、DR14のmAbでは、DR8の一部の新しいalleleに共有のアミノ酸配列がみられた。HLA分子には、複数の抗原に共有される多くのパブリックエピトープと、抗原特異的なプライベートエピトープが存在する。

図29は、DR13mAbの特異性に相当する多型性を示したDR13のアミノ酸配列であるが、DRB1\*1301, 1302, 1304に共通する配列 ILEDE (67-71) は、DRB1\*1102, 0402, 0103も共有している。アミノ酸配列 FHNQEEN (31-37) はDRB1\*1301, 1302, 1305, 1306, 1402, 1403, 1406などDR14の一部とDR3の一部が共有する配列である。また、すべてのDR13に共通の配列 EYSTS (9-13) は、DR14, DR11, DR12, DR3でも共有されている。このように、多くのパブリックエピトープの存在が推定されることから、DR52関連抗原の明確なタイピングが困難であることが理解される。

図28

AHS #15  
Reaction Patterns for DR13, DR14

Antigen	2	8	3	4	8	4	1	5
	0	0	0	4	2	2	4	3
	0	0	0	0	0	0	0	0
DRB1*1301	*	*	*	*	*	*	*	*
DRB1*1302	*	*	*	*	*	*	*	*
DRB1*1303	*	*	*	*	*	*	*	*
DRB1*1305	*	*	*	*	*	*	*	*
DRB1*1306	*	*	*	*	*	*	*	*
DRB1*1310	*	*	*	*	*	*	*	*
DRB1*1316	*	*	*	*	*	*	*	*
DRB1*1401	*	*	*	*	*	*	*	*
DRB1*1405	*	*	*	*	*	*	*	*
DRB1*1404	*	*	*	W	W	*	*	*
DRB1*1408	*	*	*	*	*	*	*	*
DRB1*1406	*	*	*	*	*	*	*	*
DRB1*1407	*	*	*	*	*	*	*	*

DR3 DR9 DR1 DR8 DR5  
DR4 DR12 DR13

図29

DR13

	8	16	25	37	47	57	60	67	77
DRB1*0101	LWOLKFECH	RLLERCIYNDEES	Y	DAEY	LLEGRRAAVDT				
DRB1*1301	-EYSTS---	-F-D-YFH----	N	F		I--DE-----			
DRB1*1302	-EYSTS---	-F-D-YFH----	N	F		I--DE-----			
DRB1*1303	-EYSTS---	-F-D-YF----	Y	S		I--DK-----			
DRB1*1304	-EYSTS---	-F-D-YF----	Y	F	S	I--DE-----			
DRB1*1305	-EYSTS---	-F-D-YFH----	N	F		F--D-----			
DRB1*1306	-EYSTS---	-F-D-YFH----	N	F		I--D-----			
DRB1*1307	-EYSTS---	-F-D-YF----	Y	S		F--D-----			



図30：クラスII抗原の構造図である。DRB1\*1301の場合、mAbが認識するエピトープと推定されるアミノ酸配列を示した。a helixに形成するこのエピトープが外に暴露され抗体のみならずTcell receptor により認識される。また、エピトープのアミノ酸配列はフロアーにあってても認識される。おそらく、抗体は分子表面下から接近して結合できるのであろう。

図30

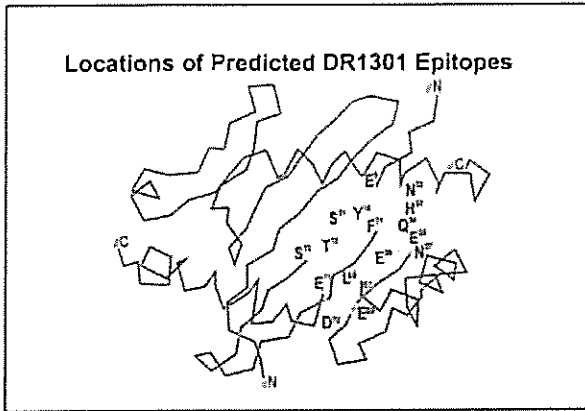


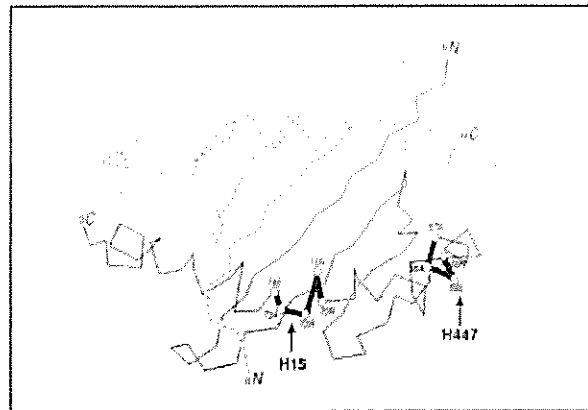
図31、32：DR14の多型性を示した。DR14, DR9の特異性を示すmAbH92, H15 (図32)は、RRRAE (70-74)の配列がエピトープと推定され、DRB1\*1401, 1405などとDR9に共有される配列である。唯一、DR14の一部ではあるが特異的な反応を示すmAbH447は、AAEH (57-60)がエピトープと推定される。GECY (13-16)はDRB1\*1404, 1411とDR8, DR12に共通な配列である。

図31

DR14	8	16 25	37 47 57	60 67	77
DRB1*0101	L	WOLKFECH	RLLERCILYNGEES	Y	DAEY LLEORRAAVDT
DRB1*1401	-	EYSTS---	F-D-YFH---	F	A-H---R---E---
DRB1*1402	-	EYSTS---	F---YFH---	N	-----R---E---
DRB1*1403	-	EYSTS---	F---YFH---	N	-----D---L---
DRB1*1404	-	EYSTG--Y	F-D-YFH---	F	A-H---R---E---
DRB1*1405	-	EYSTS---	F-D-YFH---	F	-----R---E---
DRB1*1406	-	TS---	F---YFH---	N	-----R---E---
DRB1*1407	-	EYSTS---	F-D-YFH---	F	A-H---R---E---
DRB1*1408	-	EYSTS---	F-D-YFH---	F	---H---R---E---
DRB1*1409	-	EYSTS---	F-D-YFH---	N	-----R---E---
DRB1*1410	-	E-V-H---	F-D-YFH---	F	A-H---R---E---
DRB1*1411	-	EYSTG--Y	F-D-YFH---	F	E---R---E---

以上よりmAbの反応パターンはアロ血清とほぼ同様なパターンが得られた。一部に稀な反応がみられるのはマウスTcell receptor とヒトのTcell receptor の違いによるものと考えられる。mAbの反応パターンの解析は、アロ血清のextra-reactionの解明に重要な意味をもつ。各alleleのアミノ酸配列と反応パターンとの解析により分子構造が明らかになり、また、extra-reactionと抗体が認識するエ

図32



ピトープにより説明が可能となった。また、mAbの反応特異性は、アミノ酸配列の多型性にはほぼ一致している。しかし、反応パターンは必ずしもアミノ酸配列の直線的な部分に一致するものではない。HLA分子の異なった部位の相互作用、またはペプチドとの関連によりエピトープが形成されていることが考えられる。アミノ酸配列をみると、分子の多くが異なるパブリックエピトープの組み合わせで成り立っている。したがって、単一特異性抗体の存在は多くの場合当てはまらないと言える。抗体の多くは複数の抗原を認識するものであり、血清学的タイピングにおいては、温度、時間等の反応条件、また、抗体の親和性、結合能力などさまざまな影響が大きい。抗体の特異性を決定するにはまだ数多くの検討が必要である。しかし、今回アミノ酸配列とmAbによる解析により、ほとんどの抗原分子にはプライベートエピトープが存在しないということが明らかになった。

mAbによりエピトープの解明がなされ、あらゆる方面で応用、研究が行われている。

輸血においては、抗体の特異性について吸収実験から複数の抗体が混在しているのではなく、パブリックエピトープを認識した単一の抗体であることが確認されている。腎移植領域では、長期待機となるPRA抗体陽性の患者において、その抗体の認識するエピトープを解析することにより、エピトープタイプの異なる腎移植ドナーとのマッチングに応用し検討されている。

また、mAbはがん細胞のHLA発現についての研究、腎移植でのキメラリズムの研究などに用いられている。

バルセロナ紀行：第16回国際移植学会見聞録

国立循環器病センター研究所 実験治療開発部 佐田 正晴

夏休み最後の国外脱出組で賑わう関西空港を後に、一路ヨーロッパをめざし出発する。今回の訪欧目的は第16回国際移植学会での発表と最近パリで見つけたワインショップ(ちなみに店主はフランス料理界の帝王ポールボギュースのもとでソムリエをやっていた)でワインを買い込むことだ。日本出発が遅れたため(乗る予定の飛行機が急患のためモスクワで緊急着陸し延着したため)パリ・シャルルドゴール空港で一泊し予定より一日遅れの8月25日、

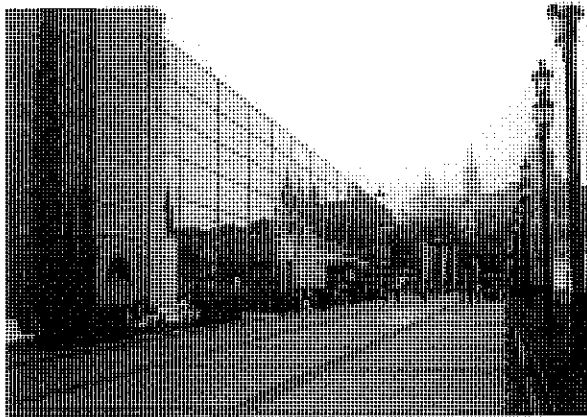


写真1 中世ヨーロッパのPalau de Congressos 土気路一三三號

ミロの大壁画で飾られたバルセロナ空港に到着する。思ったより暑くなく湿度も低く過ごしやすい。バルセロナの中心地カタルーニャ広場に程近いホテルにチェックイン後、土地勘をつけるため付近を散策する。

－バルセロナ点描－

1975年フランコ独裁政権崩壊後、豊かな財力と経済力を背景に最初に自治権を獲得したのがここバルセロナのあるカタルーニャ地方で、カタルーニャ語を始め古代ローマ時代から地中海交易の中心地として独自の文化圏を築いてきた。バルセロナはスペインで最も西歐化されているながら地下鉄のアナウンスではスペイン語とカタルーニャ語が併用されカタルーニャ人としてのidentityや文化を保ちつつ、新しい空気に鋭敏に反応し上手く融合してしまう不思議な町だ。天才ガウディ、鬼才ダリを始め多くの芸術家が生まれ育ち飛躍できたのもこれらカタルーニャ人の気質と独自の文化背景が成せる技かもしれない。バルセロナ＝ガウディのサグラダ・ファミリア(聖家族)聖堂と建築群、の方程式はあまりにも有名だがバルセロナの名を永久に払拭出来ない歴史的出来事がある。1492年

西インド諸島に到達したコロンブスが帰港したのがバルセロナで港に面した旧市街の中心にイサベラ女王と謁見



写真2 バルセロナ点描1 ホテルから見たモンジェイックの丘遠望。左には陽光きらめく地中海が広がっている。

するため航海土産(梅毒という有り難くない土産もあった)を携え登った階段、謁見の間がそのまま残されている。周囲は中世そのものでスペインの光と陰を織り込むように路地裏から淡いフラメンコギターの哀愁を帯びた音が聞こえてくる。

－新興勢力の台頭著しい第16回国際移植学会－  
今年で16回目を迎える国際移植学会はオリンピックで有名になったモンジェイックの丘の麓、Palau de Congressosで世界54ヶ国から3000人以上の移植医療、研究従事者

が参加し8月25日から30日迄の6日間開催された。今回エントリーされた一般演題は2645題で190人のレフリーによる厳正な査読が行われ最

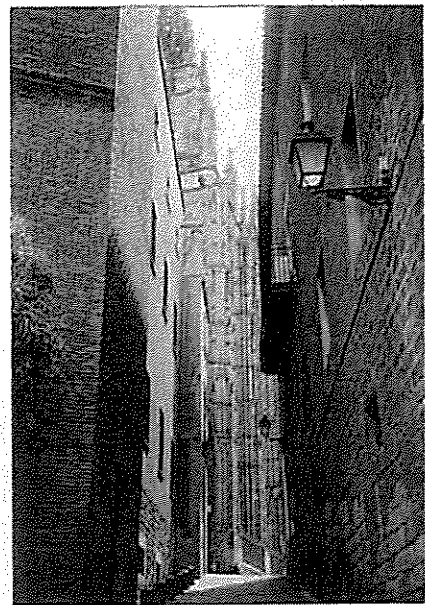


写真3 バルセロナ点描2 中世スペインの光と陰が交錯する旧市外。

終的には926演題(35%)が採択された。国別演題採択率では移植先進国のアメリカが29%でトップ、移植症例数は非常に少ないながら研究部門で頑張っている日本が13%で2位。学会は7会場に分かれ26のトピックスについて活



写真4 西岸セビリア市場。第一回「移植」国際移植会議の西岸セビリアの胃袋—サンジョセップ市場。

発な議論と討議が行われた。会場すぐ横手には中世キリスト教美術の収集で世界的に有名なカタルーニャ美術館がそびえ立ち、英語浸けで疲れた頭を癒すのに大いに役立ってくれた。国際移植学会は2年に一度開催され、以前は学際的要素が強かったが臓器別国際学会が多数設立されたため最近ではお祭りの要素が強くなりつつある。しかし今回の学会で特徴的なのは中東、アジア、旧東欧、南米からの台頭が著しく参加者、演題数ともに急速に増

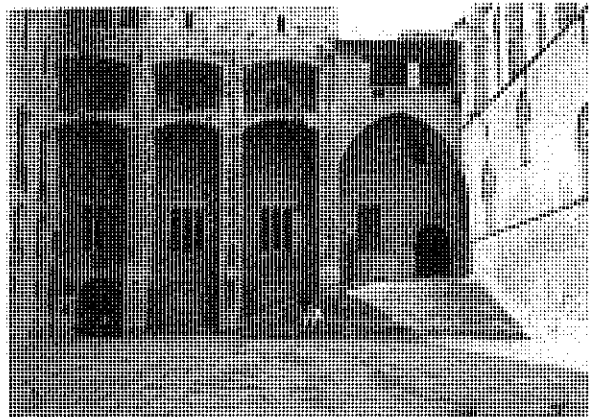


写真5 バルセロナ市場。第二回「移植」国際移植会議のバルセロナの胃袋—カタルーニャ美術館の礼拝堂で開かれた。

加しつつあり、移植先進国とのcollaborationや意見交換を求め真剣かつ活発なロビー外交が展開されていた。症例数も移植先進国に迫る勢いで国家を挙げて移植医療に真摯に取り組む姿勢が感じられ、”平成の安眠を食す”某国の行く末を考える頭にバルセロナの太陽は強力過ぎた。

### —同種移植から異種移植へ—

今回の学会の一つの特徴的として異種移植に関する研究

が本格化してきたことが挙げられる。以前から小動物を用いた異種移植の実験は世界中で行われているが大動物については霊長類をヒトの異種ドナーと想定した実験が主流であった。しかし動物愛護、ヒトとの共通ウイルスや絶対個数の問題から異種移植のドナーはブタが主流になるだろうと予測されていた。我々もこれら予測のもとにミニブタを用い遺伝子導入などの異種移植実験を行っているが、この予測を現実的に変えたのが1993年OxfordのWhiteらがヒト補体活性抑制遺伝子を組み込んだtransgenicブタの作成で、遺伝子工学の進歩と相まってそれ以降加速度的に研究が進んできた。今回Whiteらはin vitroの実験結果を踏まえブタ-霊長類による異種心移植実験を施行し、補体活性抑制遺伝子を導入したドナー心では超急性拒絶反応が抑制されることを示し補体活性抑制



写真6 西岸セビリア市場。第三回「移植」国際移植会議の西岸セビリアの胃袋—サンジョセップ市場で開かれた。

遺伝子導入が異種移植にとって有効であることを大動物を用いた異種移植実験で初めて明らかにし、ヒトへの応用に新たな道を開いた。一方アメリカのSachらはミニブタを用いた異種移植実験でX線照射、ドナー骨髄移植を組み合わせ免疫寛容状態の一部導入に成功した。またカラムを用いレシピエント血清中に存在するGal-a-1,3自然抗体の吸着と抗体産生をコントロールする可能性を示唆した。現在世界的な同種ドナー不足は深刻でこれからの移植は同種移植から異種移植、特にミニブタをドナーにした異種移植に移行していくであろう。

### —Terasaki教授Medawar Prize受賞—

今回の学会でHLAを日々の糧としている我々にとって最も嬉しかったのは、移植分野のノーベル賞とも言える国際移植学会賞、Medawar PrizeをTerasaki, Dausset, Van Roodの3人が同時受賞したことだろう。特にUCLA大学院終了後London大学のMedawar教授のもとでリサーチフェローを1年間していたTerasakiにとって非常に感慨深いも

のがあったに違いない。受賞後バルセロナでUCLA同窓会を兼ねた受賞記念パーティーが盛大に行われた。パーティーにはMedawar婦人や Parham, Dupont, AlbertなどHLAでお馴染みの人達, Starzl, Rappaport, Monaco,



写真1 Medawar 夫人と受賞パーティーにて、Terasaki 典雄と。

Salvatierraなど移植の大御所をはじめ多くの人々がお祝いに駆けつけ盛会であった。短期、長期を問わずUCLAのTerasaki labo.に入出入りした日本人は50人を下らないと思うがこの会に参加したのは小生を含めたたった3人で、現在多くの人HLA界から遠ざかっている現状に一抹の寂しさを禁じ得なかった。

—国際学会の“お楽しみ”：バルセロナサプライズ—  
国際学会の“お楽しみ”は何と言っても夜な夜な繰り広げられるエンターテインメントにある。今回の超目玉は(多分この学会に参加した人達全員が期待していたと思うが)カタルーニャ地方が生んだ世界三大テナーの一人、オペラの貴公子ホセ・カレーラス(ちなみにあとの2人は

オペラの帝王ドミンゴ、オペラの怪人パロッティ)のコンサートであろう。ご承知のとおりカレーラスは1987年骨髄移植を受け1年の闘病生活から奇跡的なカムバックを果たし、その繊細な声と澄み切った目で多くのファンを魅了している。コンサートは期待通りで素晴らしく一晩で2ステージを精力的にこなし忘れられない夜となった。学会最後の夜はバルセロナ市を一望できる丘の上に作られたTibidabo Amusement Park(巨大な遊園地)を借り切り、乗り物乗り放題、free drink and foodで終了予定時刻夜中の12時を過ぎても皆帰る気配が無く大いに盛り上がった。

現在スペインはアメリカに次ぎ臓器のドネーションが多い。スペインのドネーションについてまとめた本が全参加者に配布されたり、学会の展示ブースには各国のorgan procurement centerや骨髄バンクが出展したり、と今までの学会では見られなかった光景が随所で認められたのも今回の特色であろう。世界の移植の主流は異種移植に流れ始めているが、乗り越えなければならないハードルはまだ多い。それまで従来通りの同種移植に頼らざるを得ないし、より多くのドナー確保は至上命令であるがこの解りきっている事実を敢えて前面に押し出し移植関係者にドネーションの重要性を強く再認識させたことは意義深い。今回の学会は組織、進行、対応いずれも非の打ち所が無くaboutなラテン地域で開催された学会としては出色の出来だった。

(もちろん帰りにパリで途中下車しワインを買い込んだことは言うまでもない)



写真2 Medawar 夫人と受賞パーティーにて、UCLA, Laramie 典雄と。

## ASHI '96' · Report (1996. 10. 11 - 10.15)

京都府赤十字血液センター 研究部 丸屋 悦子

サンディエゴで行われた第22回ASHIミーティングでは、例年のごとくthe best abstract awardが5人の学者に授与された。これは今回のミーティングに提出された272の抄録から選ばれた、最優秀の仕事をしたASHI学者に授与されるawardである。少し昔 (HLAと腎臓移植の研究やHLA適合血小板輸血の研究が華やかな頃) の若手HLA-serologistのあいだでは有名であった人が2名含まれていた。それはDr. DuquesnoyとDr. Suciu-Focaであった。Dr. Duquesnoyは授賞の挨拶で、12th workshopでthe best entertainer賞 (Rap dance with HLA- Transplantation world) に輝いたのでこの賞が頂けたと思う、とジョークを交えながらその喜びを述べていた。彼の講演について報告する (これは12th international workshopで報告されたものとほぼ同様の内容であった。筆者は以前、12th international workshopレポートをKAMONに書いた。その時、報告するテーマとして選択しなかった講演のひとつでもあったが、紙数の関係で省いたとの事情がある)。

### 高度に前感作されている腎不全患者への移植を成功させるために!!

Clinical relevance of antibody specificity analysis of sera from highly sensitized patients a waiting kidney transplantation

*René J. Duquesnoy and Marilyn Marrari*  
University of Pittsburgh Medical Center

第12回国際HLA workshopで、頻回に免疫された腎移植患者についての研究がなされた。その研究目的はつぎの3項目である。

1. PRA (pretransplant panel reactive antibody) %が高い血清についてHLA-class I抗体の特異性を決めること。
2. 腎移植患者・ドナーのHLA-A, Bミスマッチ抗原のうち「許容される抗原」と「許容不可」抗原を識別すること。
3. 腎移植成績とHLA-A, Bミスマッチ抗原の許容性との相関を調べること。

この研究に世界の41施設 (主にアメリカやヨーロッパの研究室) が参加した。

#### - High PRA%血清の特異性

(特にAmino acid residuesに対する) 解析 -

【材料・方法】

- High PRA seraの選択の条件  
移植前の患者血清の%PRAが81%以上であり、HLA-

A, B 不適合ドナーより腎移植を受けた患者の血清。

- 提出血清と選択された血清  
236の血清が35の研究施設より提出され、96の血清 (29施設) が選ばれた。
- 血清のスクリーニング方法
  - ① Direct compliment-dependent lymphocytotoxicity test (CDC)
  - ② Anti-human globulin (AHG) augmented lymphocytotoxicity test
  - ③ ELISA assay

表1. に血清のスクリーニング結果を示す。

表1. 12th workshop High PRA Serum Screening

	Number of Labs	Number of Sera	Cell Panel Size
Set 1-Direct CDC	21	104	758
Set 1-AHG CDC	21	104	758
Set 2-Direct CDC	14	35+	596
Set 2-AHG CDC	14	35+	230
ELISA	3	35	134

Set2ではSet1のうち興味深い血清について行った。またELIASAを実施した施設はSet2を実施した14施設のうちに含まれる。

またこのスクリーニング実施について、次の協力者に感謝を表わしたい。

- Tom Fuller (Salt Lake City)、彼はすばらしい (gold standard) AHG血清を提供した。
- Donna Phelan (St Louis) and Donna Fitzpatrick (Boston)は補体の検定をした。
- Cyndy Tavesと彼女の部下 (Pelfreez Clinical Systems in Brown Deer, Wisconsin) はhigh PRA血清を分注したトレイを作成し、各参加研究施設へ配布した。
- 検査精度評価  
次の3項目の総合評価により解析に使用できるデータを選択した。データの精度を保つことは正しい研究結果を得るには必須である。よって厳選した。

1. Overall reactivity variation
2. Negative serum reactivity
3. Discrepancy rate for hidden duplicates

参加施設データの精度検定の結果、21施設中14施設のデータが選ばれた。そして最終データとして6施設のデータが解析に用いられた。

- 解析方法  
血清の特異性解析法: Multiscreen computer analysis

programを用い、private antigens, public determinants と amino acid residuesをパネルデータとして使用し、血清の各パネルとの相関を求め、特異性の解析をした

**【結果】**

腎移植患者で頻回免疫された患者血清中に存在する抗体特異性の解析結果を表2. に示す。%PRAが高い(96%以上)血清で、CDC法による解析で78%の血清について特異性が決定できた。さらにAHG法を用いると91%

表2. Antibody specificity of high PRA sera screened by CDC and AHG

PRA%	CDC Screen		AHG Screen	
	Number of sera	Antibody specificity	Number of sera	Antibody specificity
<50%	16	11 (69%)	10	5 (50%)
51-70%	14	14 (100%)	11	11 (100%)
71-80%	17	17 (100%)	6	6 (100%)
81-90%	22	22 (100%)	15	18 (100%)
91-95%	16	16 (100%)	24	24 (100%)
96% <	7	7 (78%)	35	32 (91%)

の血清の特異性を決定することができた。したがってAHG法はCDC法より感度が高く、特異性の決定に良い方法であることがわかった。表3. に解析結果の例として、

表3. HS090の解析結果 (Amino acid residuesとの相関)

HS090; HLA-A,3, 11; B7,-; DR2,-. CDC-PRA= 92.3%, AHG-PRA=98.7%

	Specificity	+					χ <sup>2</sup>
		++	+/-	-/+	-/-	x	
CDC:	i194V	436	16	59	22	55.9	
	a70H	447	17	47	21	66.3	
	I81A	362	14	112	24	30.4	
AHG:	i194V	453	1	74	6	27.9	
	a70H	463	2	64	5	21.6	
	I81A	397	2	130	5	8.0	

筆者注: i194Vは194番目のアミノ酸がvalineである抗原に対する抗体特異性と仮定して解析している。すなわち、194Vの有無・反応の有無と解釈される。ただしi194Vの先頭のiまたはa70Hのaについては意味不明である。

HS090血清のデータを示す。AHG法では反応のミスが少なくなり、negative反応を示すパネルが減少している。したがって特異性も明確に検出でき、かつ抗体の検出感度も上げることができると考えられる。

- High %PRA患者のHLA-A,

Bミスマッチ腎移植における移植成績と

HLA-A, B ミスマッチ抗原の許容性について-

つぎにhigh %PRA抗体保有患者の腎移植におけるHLA-A, Bミスマッチ抗原の許容性を調べるため、次の2項目について、患者血清の特異性解析から得られたHLA-A, B抗原の許容性と相関を調べた。

I. Graft Survival

II. Serum Creatinine Levels

【ドナーの許容抗原性の評価方法】

- 1 Residue mismatch predictor programを使用し、ドナーのHLA型からどのアミノ酸残基が患者と不適合であることを調べる。
- 2 Multiscreen programを用い、患者血清の抗体反応性と相関している不適合アミノ酸残基を決定する。そのアミノ酸残基が患者にとって許容不可な不適合アミノ酸残基である。
- 3 その他のアミノ酸残基を許容不適合アミノ酸残基と考える。

表4-5. に患者血清HS49を例にして説明する。HS49の場合、ドナーの患者に対するミスマッチ抗原はHLA-A1とB8である。表4. にはHLA-A locusでのミスマッチアミノ酸残基決定法を示している。すなわち、患者の2個のA locus抗原 (A26, A33) のアミノ酸残基とドナーのミスマッチ抗原 (A1) のアミノ酸残基を比較し、不一致のアミノ酸残基を決定する。

表4. ドナーの不適合アミノ酸残基の検索例

HS49; PRA: CDC=80%, AHG=94%

Patient: A26, 33; B35, 38/ Donor: A1, 26; B8, 38

		9	17	44	56	62	63	65	66	67	70	73	74
Patient	A26	Y	R	R	G	R	N	R	N	V	H	I	D
Patient	A33	T	R	R	G	R	N	R	N	V	H	I	D
Donor	A1	F	R	K	G	Q	E	R	N	M	H	T	D
Mismatch		F		K		Q	E			M			

		76	77	79	80	81	82	83	90	95	97	99	102
Patient	A26	A	N	G	T	L	R	G	D	I	R	Y	D
Patient	A33	T	R	R	G	R	N	R	N	V	H	I	D
Donor	A1	F	R	K	G	Q	E	R	N	M	H	T	D
Mismatch		F		K		Q	E			M			

表5. はドナーのミスマッチアミノ酸残基から許容不可アミノ酸を検出する方法を示している。すなわち、HLA-A, B lociについてミスマッチアミノ酸残基のうち患者血清と相関を示すアミノ酸残基を検出する。これが許容不可なアミノ酸残基 (HS49の場合: 74番目のD、97番目のI、114番目のR、152番目のA、165番目のD、192番目のP) である。表および本文中のアミノ酸は一文字表記法を用いている。

表5. ドナーの許容不可な不適合アミノ酸残基の検索例

HS49; PRA: CDC=80%, AHG=94%

Patient: A26, 33; B35, 38/ Donor: A1, 26; B8, 38

		9	44	62	63	67	97	114	144	152	156	165	167	192	194
Patient	A26	Y	R	R	N	V	R	Q	Q	E	W	E	W	A	V
Patient	A33	T	R	R	N	V	M	Q	Q	V	L	E	G	A	V
Donor	A1	F	K	Q	E	M	I	R	K	A	R	D	G	P	I
Serum correlate		+				+	+			+		+		+	

		9	74	97	131	156	177	180
Patient	B35	Y	Y	R	S	L	E	Q
Patient	B38	Y	Y	R	S	L	E	Q
Donor	B8	D	D	S	R	D	D	E
Serum correlate		+						

対象となった移植例について、HLA-A, B抗原の不適合数と許容抗原不適合による移植例と許容不可抗原不適合に

よる移植例数を表6. に示す。患者血清の抗体をCDC法で検出した場合もAHG法で検出した場合も不適合となるHLA抗原数は同程度（ほぼ2個のミスマッチ抗原が含まれる）であり、許容抗原の不適合移植のほうが許容不可抗原の不適合移植例より多かった。

**【結果】**

腎移植のGraft survival と不適合HLA抗原の許容性との

表6. Number of HLA-A, B antigen mismatches in this study

Screen method	Mismatch	Number of Transplants	HLA-A, B antigen mismatches
CDC	Acceptable	37	2.21±0.87
CDC	Unacceptable	12	2.24±0.65
AHG	Acceptable	34	2.10±0.86
AHG	Unacceptable	26	2.38±0.65

相関を図1. に示す。明らかに許容不可抗原の不適合移植例は許容抗原の不適合移植例に比べgraft survivalが悪い成績であった。

移植後の患者血中のcreatinine levelは許容不可抗原のミスマッチ移植では移植直後（1～2週間）のcreatinine levelが、許容抗原のミスマッチ移植に比べ高値を示した（表7.）。

表7. Median serum creatinine levels after Transplantation

CDC assay	Mismatch	Number	1wk	2wk	4wk
Direct	Acceptable	23	2.6	2.3	1.8
Direct	Unacceptable	10	5.6	6.1	4.2
AHG	Acceptable	22	3.1	2.4	1.9
AHG	Unacceptable	11	4.1	3.0	1.9

これらの結果より最も興味深いことは、これらの移植がクロスマッチ陰性で行われたにも関わらず許容不可抗原の

移植例があったことである。血清中の%PRAが高い患者のHLA不適合腎移植の場合は、患者抗体の特異性よりミスマッチ抗原の許容抗原性を調べる事が患者にとって有益である。

**【総括】**

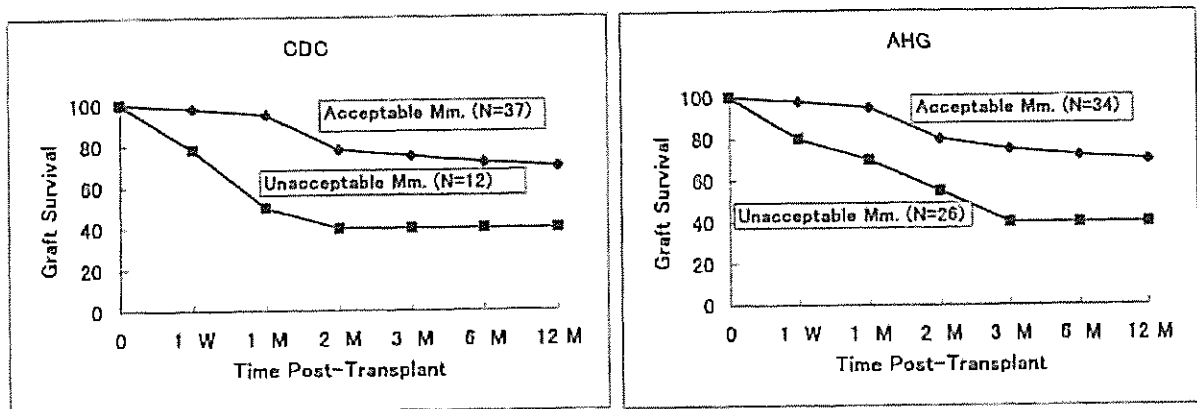
- ① 頻回に免疫された患者血清中の抗体同定を複数の研究室で行うことにより、より詳しい血清特異性の同定ができた。
- ② 腎臓移植ドナーが不適合HLA-class I residueの許容性に基づき分類された。
- ③ 許容不可抗原のミスマッチ移植例は移植後の腎機能が悪く、移植片の生着率も不良であった。
- ④ 感作された患者のための腎移植ドナー選択の条件に、不適合であるHLA抗原の許容性を決定することは必須である。

最後に頻回に感作され、%PRAが高い患者で腎臓移植後、完全に社会復帰ができ、ダイビングまでしているスライドを示し講演を閉じる。

**【筆者あとがき】**

筆者がDr. Duquesnoyに初めてお目にかかったのは、福岡県赤十字血液センターで「血小板輸血とHLA抗原の適合性について」の講演を聞いた時で、それは十数年前であった。当時より、HLAをいかに臨床に役立てるかの研究に邁進している先生であったとの記憶が強く残っている。今回の研究も古くからの難問であるhighly-sensitized patientsの腎移植を成功させるため、新旧の技術を合わせ、臨床に役立つHLAの適合性についての研究結果の報告であり興味深く拝聴した。

図1. HLA-A, B mismatch acceptability and graft survival in high PRP patient





## シリーズ： HLA最前線



## 【HLAの臨床応用編】

## 「HLAからみた法医学の現状」

信州大学医学部法医学教室 太田 正徳

## はじめに

窮屈ではあるが法医学の定義を述べると、概ね「法律上問題となる医学上の事項を自然科学を基礎とした研究、解析により解決する」ことを目的とする学問と言える。人の社会生活で必要な法と医学を背負っており、法治国家ではなくてはならないこの学問は、臨床医学や他の基礎医学と少々ニュアンスが異なり対象が過去に起きた事象について医学的および科学的証拠を見出すのが主な実務である。従って実際面での活動は、1) 医師法に基づく診断書、死体検案書や死亡診断書などの書類作成のための立法上の応用、2) 人体(生体、死体)の検査、3) 物体の検査、4) 現場の検査、5) 書類の検査などである。これらの項目のなかで、HLAが寄与するのは主に2)と3)についてである。とくに生体、死体の検査項目に含まれている親子鑑定と個人識別では高度な多型性をもつHLAは威力を発揮する。また、物体検査では現場に有った試料(血痕、毛髪、唾液、精液、尿等)から血液型や遺伝子型を判定する必要があることからHLAも有用な遺伝形質の一つである。

個人識別や親子鑑定では、これまでHLA型を含め赤血球型(ABO式、MNSs式、Rh(CcDEe)式、Duffy式、Kidd式等)、血清型(Hp型、Tf型、Gc型、Pi型、HS型、Bf型、Gm型等)、赤血球酵素型(AcP型、PGD型、PGM型、GPT型、EsD型等)について検査してきたが、最近ではDNA多型(マイクロサテライト、ミニサテライト、フィンガープリント等)も利用されるようになってきており、DNA型鑑定という言葉さえ生まれている。特に、血液型を調べる検査の精度は、多くの場合検査対象となる試料の新鮮さに作用されるが、幾分古くとも検査に必要なDNAさえ回収できれば型判定が可能なおから、DNA polymorphismは近年法医学領域にもたらした画期的な多型システムである。HLA型も勿論、遺伝子レベルでの多型性を見ることができると法医学実務には欠くことのできない検査システムの一つである。現実に

日本の警察で使われているDNA多型は、「MCT118型」と「HLADQ $\alpha$ 型」である。

## 法医学における有効な多型システムの条件

法医学の主な業務は鑑定である。鑑定ではいろいろな厳しい条件が付随しているのが常であり、そのときの検査試料の状況に応じた最良のシステムを選ばなければならない。鑑定に用いるシステムはDNA型や血液型の持つ多型性を利用して細かくパターン分類していく。そのためには、対立遺伝子数が多く、ヘテロ接合度、識別率(PD:power of discrimination)やPIC(polymorphism information content)の高いものが有効であり、この点HLA型は表1に示す様に他のシステムに比べて優れている。また、親子鑑定で使用するシステムとしては、先に述べた特徴に加え、特に1) 遺伝形式が確立していること、2) 新生児からでも十分検査が可能であること、3) 遺伝子頻度やハプロタイプ頻度のデータベースが充分整っていること、4) 型変化が終身みられないこと、5) 死体、血痕や体組織からも型判定が可能であることが必要である。

## 親子鑑定

親子鑑定の目的は「生物学的な親子関係の存否」を決定することである。日本と米国では少々親子鑑定に違いがあるが、検査方法、検査項目や検査に向かう心構えは同じである。まず第一に米国では非嫡出子(illegitimate child)の数が非常に多いことである(1991年の調べでは、父親のない子供は1600万人以上おり、同年に100万人以上の非嫡出子が生まれており、さらにこのうち35万人以上が10代の母親であると報告されている)。1930年に制定されたプログラムAFDC(Aid to Families with Dependent Children)は、元々未亡人や孤児の経済援助が目的であったが、これが父親を持たない子供へも適用されてきたため経済支出が莫大となった。そこで政府は非嫡出子を保護する新たな法律を1975年



に定めた。この法律には非嫡出子の父権性を決めることが盛り込まれており、更に各州においては非嫡出子の生物学的父親を見出す努力をして、その父親が子供に経済的援助を実施しているか監督するよう定められている。この機構が機能しているか監視するのは連邦政府の事務所OCSE(The Office of Child Support Enforcement)である。1991年にOCSEが監督した父権性を決める親子鑑定は479,000人以上の子供について行われた。それに比べ、日本では親子鑑定例は、正確な例数は解らないが年間1000例以下である。最近、日本でも親子鑑定例数は増えてきたがやはり米国とは大きな違いがある。また米国においては親子鑑定検査は競争の激しいビジネスであり、大多数が地方や州に入札し契約を勝ち取った研究室で行われており、ほとんど血液センターやHLA検査室をもつ所である。しかし、日本では各大学の法医学教室で行われているのが現状である。

日本における親子鑑定は裁判所の命令、弁護士からの嘱託で行われるのが通例である。おおくは民事事件で扱われ、「認知請求事件」が最も多く、続いて「嫡出否認請求事件」が多い。米国ではAABB(American Association of Blood Banks)によりあらゆる親子鑑定に適したガイドラインが用意されているが、日本では各検査室により異なり公にはされていない。鑑定検査項目も各検査室により違いがあるが、父権否定例のときは少なくとも2システム以上で否定されることが必要かつ充分であることから、冒頭に記したような幾つかのシステムを組み合わせるべきである。HLAは排除率(平均排除率:各種赤血球=0.70, HLA=0.92, 血清蛋白および赤血球酵素型=0.70-0.90, DNA>0.99)が高いことから検査には是非組み入れたいシステムである。検査を行い、幾つかのシステムで父権が否定されれば「父権否定」と結論できるが、検査したシステムに否定項目がない場合は父権否定の確率(検査対象の母・子の型の組み合わせに対して、無関係の一般の男性が父と懷疑されたとき、その疑いを否定できる割合)や父権肯定の確率(問題となっている男の型が、他の型と比較してどの程度父らしいかを示す割合)を求め総合判断をする。一般に父権肯定確率が99.7%以上の値を示せば、「父と判断」できるとされている(Essen-MollerまたはHummelの解釈)。HLAは父権否定確率や父権肯定確率を高めるには非常に有効な遺伝形質であるが、HLAでは否定されなかったが他のシステムで否定された例もあることから、HLAも含め充分形質が研究されているシステムを組み合わせ親子鑑定を行うことが好ましい。

### 法医学におけるHLAの今後の課題

親子鑑定、個人識別では各遺伝形質における遺伝子頻度を基にして確率計算を行い判断する。充分被検体が入手できる場合はより多くのシステムを調べるのが可能なため更に詳細な分類と確率値がえられるが、法医学では髪の毛や血痕など微量でかつ血清学的、細胞学的検査が不可能なことが多い。HLA型は骨髄移植ドナーバンクの計算で示されているように、HLA-A, B, DRハプロタイプから80%の患者に適合ドナーを見つけるのに5~10万人必要であると言われている。日本人の人口を1億2千万人と同じ型を持つ人は1200人から2400人いることになる。では、実際この様なハプロタイプが毛髪などから得られた微量DNAで検査可能であるかは難しいのが現実である。そこで表1に示したように、高い

表1 各種多型形質におけるHZ, PIC, DP, CE値

	HZ	PIC	DP	CE
HLA - DQA1	0.75	0.70	0.86	0.52
- DQB1	0.69	0.85	0.92	0.76
- DRB1	0.93	0.90	0.94	0.84
- DPA1	0.75	0.69	0.86	0.48
- DR	0.86	0.82	0.90	0.71
HLA - A	0.77	0.72	0.86	0.54
- B	0.93	0.90	0.94	0.85
- C	0.70	0.73	0.87	0.50
D1S80	0.91	0.97	0.98	0.77
D17S5	0.77	0.83	0.96	0.71
ACTBP2	0.92	0.94	0.99	0.67
ABO	0.60	0.54	0.78	0.25
MNSa	0.56	0.49	0.78	0.16
Rh	0.50	0.46	0.72	0.21
PGM	0.48	0.44	0.69	0.24
Gm	0.70	0.63	0.83	0.39

HZ, heterozygosity, PIC, Polymorphism Information content, DP, Power of Discrimination, CE, Chance of Exclusion value

値を示すHLA-DRB1遺伝子型かB遺伝子型とD1S80やACTBP2などのミニサテライトやマイクロサテライトを組み合わせると精度が高くなる。特に、HLAでは一度のPCRで全アレルの決定は困難であるため、他のDNA多型にくらべ多くのDNA量を必要とするからnested PCR等を用いる改良を加え、微量DNAからでも検査可能な方法を考案する必要がある。

DNA型鑑定は「究極の鑑定法」と期待されていたが、これまで充分な検討、基礎データや実績のないシステムを使ってきたこともあり、再鑑定や再々鑑定にまで持ち込まれ判定が覆された例もある。非常に興味深いHLAシステムがDNA型鑑定に用いられるためにも充分な実績を必要とするであろう。

## 【HLAの生物学編】

## HLA分子の発現制御（その10）

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 木村 彰方

大腸がんの約10%程度ではB2MあるいはHLA変異が生じており、このためクラスI分子の量的発現低下あるいは質的発現低下が存在する。このようながんでは、“がん特異的CTL”による認識は量的あるいは質的に変化していると考えられる。このような場合に、“有効ながん免疫”を成立させるための方法を考察することが本稿の目的であるが、クラスI分子の発現変化毎に考慮してみる。

まず第1に発現の量的変化の場合であるが、B2M欠損は通常片側の染色体上にしか生じていない。すなわち、残存側は正常であるか、変異が存在していても、通常1アミノ酸置換のみである。従ってIFNやTNF等のサイトカインを投与することにより、残存遺伝子の発現増強をはかることが可能である。

第2にHLA領域のLOHのためにクラスI分子発現の質的変化が生じている場合を考えてみると、残存側のクラスI分子で“有効に”腫瘍抗原ペプチドを提示できるようにすれば良いことになる。ひとつの方策として接着因子の発現増強をはかることも有効であろうが、HLAに限って考えてみると、クラスI分子による抗原ペプチドの結合親和性は通常“all or nothing”ではなく連続的な変化であるため、残存側の対立遺伝子の発現を増強させることで、HLAの発現低下をある程度カバーできると考えられる。この際にもIFNやTNF等のサイトカインの投与が有効である。一般的にT細胞レセプターによるターゲット分子（クラスI分子と“特異的な抗原ペプチド”との複合体分子）の認識のためには、ターゲット分子が細胞あたり50~100個存在すれば良いため、クラスI分子の全体としての発現量を増加させるか、または残存クラスI分子に高い親和性を持つ腫瘍細胞の内因性ペプチドの発現を低下させることが有効であろう。この“内因性ペプチド”はクラスI対立遺伝子毎に異なっていると考えられるため、今後の課題として、“目的とする腫瘍細胞”が“残存しているクラスI分子”に“どのような内因性ペプチドを多く”結合しているかを決めていかなければならない。すなわち、“どのようながん抗原ペプチド”が結合し得るかということばかりでなく“本来いかなる内因性ペプチド”が結合しているのかを知る上でも、その個体のHLA対立遺伝子の情報が“がん免疫”を考える上で重要であり、ここに“オーダーメー

ド治療”の原点がある。

第3にHLA分子の発現が極めて低下あるいは欠損した“がん細胞”の場合には、“HLA拘束性に依存しないがん免疫”を考慮しなければならない。この場合のキラー細胞は、NK細胞あるいは“非特異的キラーT細胞”ということになる。NK細胞については、クラスI分子上の“inhibitory sequence”を認識することで“不活化”が生じることが知られているが、この“inhibitory sequence”の発現を腫瘍細胞特異的に抑制できれば、有効な“がん細胞の排除”が可能と考えられる。例えば抗体によるブロックなどが考えられるが、この際に重要なことは、いかにして“がん細胞を特異的”に抑制するかにあるため、今後その方策を考察しなければならない。もちろん、NK細胞の活性化レセプターの同定とそれによるターゲットの認識機構の解明も今後の研究課題である。これに対して、“非特異的キラーT細胞”の誘導については、現状でもある程度可能であり、細菌菌体成分（BCGやOK432など）の投与による“非特異的免疫活性化”はこの効果をねらったものと言える。γδ型T細胞を始めとする“非特異的キラーT細胞”の誘導は“腫瘍特異的でない”という最大の難点が存在するにしても、現状に限っては考慮に値する方策と言える。

ここではHLA分子発現の量的あるいは質的変化を伴う腫瘍に対する“がん免疫”成立の方策を中心に考察したが、これらの方策のいずれもが、“HLA分子発現”が変化していない腫瘍に対しても基本的に有効である。すなわち、目的とするがん細胞が“いかなるHLA型”を有しているのか、またがんにおけるHLA発現性の量的、質的変化があるかどうかを考慮することに加えて、そのがんが“いかなるがん特異的な体細胞変異”が存在し、またそのがんが“いかなる内因性ペプチドを多量に有しているか”を考慮することによって、がん患者個々に特異的な“がん免疫”成立をはかることが可能であろう。いずれにしろ、その基本は“HLA”にある。

10回にわたって“HLA分子の発現制御”の観点から、HLAの基礎的研究の知見とその臨床への関わりを述べて来た。このシリーズは今回をもって一旦終了するが、HLAに携わる方々の参考になれば幸いである。また本シリーズの内容には筆者の独断と偏見が多々含まれているため、読者の方々の御批判をおおぎたい。

# 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10 A2AK, A2K, A24AK, A9HH, DR8.2V

日本赤十字社中央血液センター 柏瀬 貞一

私がHLAと出会ったのは1988年、9年前である。このシリーズに登場された経験豊かな諸先生方に比べたら“青二才”に過ぎない。さらに4年前からは、DNAと格闘する日々を送っているため、血清学とは疎遠なものとなっている。こんな私だが、これまでに学問的にも精神的にも大変お世話になった倉知さんが推薦くださったので、この原稿を引き受けた次第だ。読者の皆様が満足するような内容とは程遠いと思うが、ご了承願いたい。

多くの方が、私をHLAの第三世代（表1参照）と思っているだろうが、顕微鏡で苦しんだ第二世代の“端くれ”である。そして、蛍光色素を用いた自動測定法を日常検査に導入するのが私の最初の仕事であった。今にして思うと、自らがその苦しみから脱するため日夜奮闘したものだ。HLAを始めて3年目の1990年に第10回日本HLAワークショップ（浜松）、翌年1991年に第11回国際HLAワークショップ（横浜）において、血清学分野の解析に携わることができ、多くの方と出会うチャンスに恵まれた。血清学に携わった5年間にいくつかの新抗原を見出し、ここ数年間は塩基配列の解析を行ってきた。

今回は、5年間と短い期間ではあったが、私を楽しませてくれた新抗原達（アエテ親しみをこめて呼ぶ）について紹介させて頂いた（誌面の関係から、詳細は論文を参照願いたい）。

表1 セロロジストを独断と偏見により世代に分類

世代	リンパ球の染色法	Mac抗原を知っている
白紙紀	なし（凝集法）	
第一世代	トリパンブルー	なぜB20がないか知っている
第二世代	エオジン	ナイロンウールでB cell分離ができる
第三世代	蛍光色素	ビーズ法でリンパ球を分離する

#### A2AK (A\*0210)

A2AKは、1991年の日赤中央血液センター管内HLAワークショップ（以下、中央管内ワークショップ）において既知のA2とは異なる反応性を示すことが確認された。時を同じくして、第11回国際HLAワークショップにおいてA210(A2 Lee)が提唱された。A210を決定づけたモノクローナル抗体BB7.2（特異性A2+A69）を

Dr.Bodmerから頂き、A2AKの反応性を調査した。その結果、A2AKはA210と同様の反応性を示した。さらに、A2AKの塩基配列の解析から、A2AKはA210と同一の抗原であることが確認された(MHC&IRS Vol.1 No.1 35-36, 1994)。

推定ハプロタイプ

A2AK(A\*0210) - Cw8N(Cw\*0801) - B61(B\*4002)

#### A2K (A\*0218)

A2Kは、駒込（現東京都北）血液センターから当初A2Sとして提唱された抗原で、1990年の中央管内ワークショップにおいて、既知のA2とは異なる反応性を示すことが確認された。我々が行った塩基配列の解析から、最も相同性が高いA\*0207と1か所だけ塩基配列（非同義置換によりアミノ酸も）が異なっていた。このアミノ酸はコドン138番めに存在し、他のクラスI抗原には見られないユニークなアミノ酸配列であった。またA2K (A\*0218) は、A\*0207と同一のハプロタイプであることから、A\*0207から点突然変異により生じた抗原と推測される(Tissue Antigens 48 329-330, 1996)。

推定ハプロタイプ

A2K(A\*0218) - Cw1(Cw\*0102) - B46(B\*4601) - DR8.1(DRB1\*0803) - DQ6(DQB1\*0601)

#### A24AK (A\*2401)

A24AKは、1991年の中央管内ワークショップに提出され、既知のA24とは異なりBw4の特異性を持つ抗血清とは、反応を示さなかったことが確認された。塩基配列の解析から、A24AKは通常A24抗原が持つコドン76～83番めのBw4の配列を持たず、それらがA\*2601などの配列と同様であった。このことは、血清学的反応性からも納得する点である。(Human Immunology 42: 221-226, 1995)。

推定ハプロタイプ

A24AK(A\*2404) - Cw1N(Cw\*0103) - B46(B\*4601) -

DR9(DRB1\*0901) - DQ3(DQB1\*0303)

### A9HH (A\*2408)

A9HHは、川崎血液センターから提唱された抗原で、1991年の中央管内ワークショップに提出された。A9HHは既知のA9(A23,A24)とは異なり、A2の特異性を持つ抗血清と反応を示した(表2)。我々が行った塩基配列の解析から、A9HHは東京医科歯科大学の木村先生らが塩基配列を決定したA\*2408と同様であった。A\*2408の配列の特徴は、一部にA2の配列と共通の部位があり、A9HHの血清学的反応性もまたまた納得してしまう(MHC Vol.31 No.1 9-14, 1996)。

#### 推定ハプロタイプ

A9HH(A\*2408) - Cw1(Cw\*0102) - B54(B\*5401)

A9HH(A\*2408) - Cw10(Cw\*03) - B35(B\*3501?)

表2 A9HHの反応パターン

antigen	antisera							
	J R	J R	J R	J R	G A	J R	J R	J R
	1	F	6	4	0	0	2	0
	3	5	6	4	3	3	2	3
	3	6	9	9	0	3	6	6
	5	4	9	0	2	0	3	6
antigen								
A23	-	-	-	-	+	+	-	+
A24	-	-	-	-	-	+	-	+
A9HH	-	+	-	-	-	-	-	+
A2	+	+	+	+	-	-	-	-
A28	-	-	-	-	-	-	-	-

### DR8.2V (DRB1\*0809)

DR8.2Vは、オックスフォードのDr. Mike Bunceより提供されたモノクローナル抗体NDS40(特異性DR8+DR11+DR13b)と反応を示さず、他の血清との反応パターンはDR82と同様であった。塩基配列の解析の結果、DR8.2VはNDS40が認識したと思われるコドン32~37番めが、他のDR8とは異なりDRB1\*1401などと同様であった。さらに、DR8.2V(DRB1\*0809)が形成しているクラスIIハプロタイプは、DR8.2(DRB1\*0802)と同一であった。したがって、DR8.2V(DRB1\*0809)はDR8.2(DRB1\*0802)とDRB1\*1401などとの遺伝子変換により生じた抗原と推測される(Tissue Antigens 46 340-342, 1995)。

#### 推定ハプロタイプ

A2 - Cw7 - B60 - DR8.2V(DRB1\*0809) - DQA1\*0401-DQ4(DQB1\*0402)

### BTS-1 (B\*1511)

この抗原は、倉知さんからの引継ぎなので私なりに簡単に整理した。倉知さんが提唱したBTS-1は、主に日本人や韓国人にみられる抗原で、DNAタイピングではB\*1511となる。一方、BTS-1と共にB75と公認されたSH-7は、主に中国人にみられる抗原で(以前、中央管内ワークショップではB15Nと呼んでいた)、同様にB\*1502となる。現在、我々はBTS-1(B\*1511)をB75V、SH-7(B\*1502)をB75と呼んでいる。

#### 推定ハプロタイプ

A2(A\*0201) - Cw9(Cw\*0303) - B75V=BTS-1(B\*1511) - DR9 (Japanese)A11(A\*1101) - Cw8N(Cw\*0801) - B75=SH-7=B15N(B\*1502) - DRB1\*1201 (Chinese)

近年の血清学的解析力には目覚ましい進歩があり、セログラフにはそれらが顕著に現われている(これらは赤座先生に負うところが多い)。最後に、中央管内ワークショップによるA2のセログラフを用い変遷の一部を紹介する。

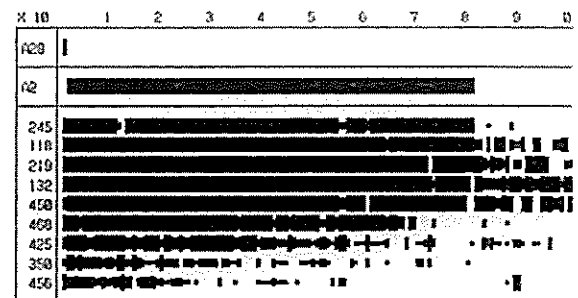


図1 私が最初に参加した1988年には、A28のパネルをA68,A69のスプリット抗原に分けられず、血清の解析には詳細なタイピングが必要と実感した。その後、中央管内では外人パネルを中心にセルエクステンジを開始することになる。

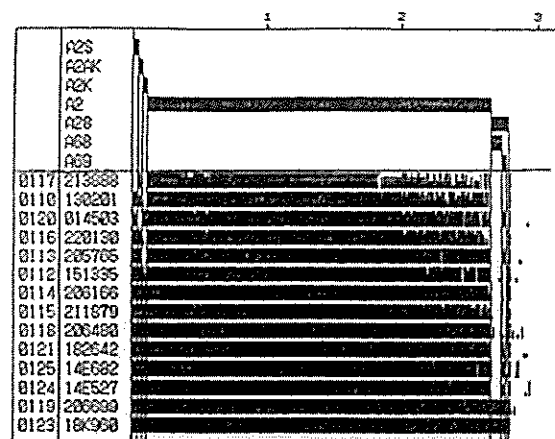


図2 1991年には、A28はA68,A69にタイプされ、さらに数々のスプリット抗原が提唱された。

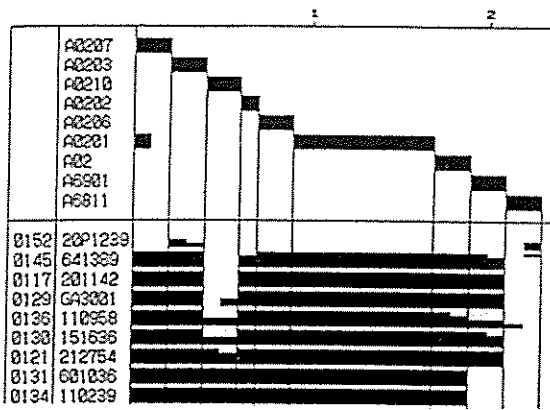


図3 1993年には、DNAタイピングが導入され、血清の特異性をアレルからみることも可能になる。この頃になるとプリンターは、ラインプリンターからページプリンターに替わりセログラフはとても奇麗になる。

将来、血清が認識したと思われるエピトープを解析し、さらにクリックすると血清が認識した部位を立体的に画像として表現する、そんな血清解析プログラムが出現したら面白い。

次回は、HLAを共に楽しんできた東京南（現東京東）血液センターの長谷川さんをお願いしたいと思います。

## 東アジアに見られるハプロタイプ①

日本赤十字社中央血液センター 田中 秀則

これまで2回にわたって日本人に多く見られるハプロタイプ及び特徴的なハプロタイプについて紹介してきた。これらのハプロタイプは、東アジア（主に韓国人）と日本人との関わり合いを示すものが多かった。今回からは、東アジアの民族に多く分布するハプロタイプを紹介したい。ここで紹介するハプロタイプの分布は、東アジアの民族と他の地域の民族との関わり合い（ルーツまたは移動）を明らかにするものであり、稀ではあるが日本人にも見られる。

### 1. A30-Cw6-B13-BFS-C4A3-C4B1-DR7-DR53-DQ2

このハプロタイプは、様々な民族に分布するタイプ（図1）であるが、特に中国北部及びモンゴルの集団（3～4%）に多く見られるタイプである。またこのタイプは韓国人で約2%、白人（Caucasian）で約1%の頻度で見られるが、日本人では稀なハプロタイプである。ちなみに、私のHLAハプロタイプの片方は、このハプロタイプであり、祖先は中国北部またはモンゴルの集団に由来しているのかもしれない？

このハプロタイプのB13抗原は、B13Nとして神奈川血液センターの中島氏が提唱したもので、他のB13（日本人で多く見られるB13）と血清学的に区分することができる。これらの2つのB13は、Linらにより塩基配列が決定され、B13NはB\*1302に、もう一方のB13はB\*1301にコードされていることが判明している<sup>1)</sup>。A30についてはこれまでに4種類のアレルが報告されているが、このハプロタイプのA30は、A\*3001にコードされており、クラスIハプロタイプのDNAタイプは、A\*3001-Cw\*0602-B\*1302となる。またクラスIIIハプロタイプはBFS-C4A3-C4B1であ

り、一般的なハプロタイプである。

### 2. A2-Cw6-B13-BFS-C4A3-C4B1-DR7-DR53-DQ2

このハプロタイプは、ブリヤート族（バイカル湖畔に居住するモンゴロイド）に多く見られるタイプで、その頻度は約3%である。前記したハプロタイプと、Aローカス抗原が違っているだけであるが、その分布は異なっている（図1）。

ブリヤート族の調査では、このハプロタイプが主に見られたが、前記のタイプ（A30-Cw6-B13-DR7）は、稀なタイプであった。ブリヤート族の居住するバイカル湖近辺とモンゴルは、距離的にさほど遠くない（とは言っても約600kmはあるが）にも関わらず、モンゴルではA30-Cw6-B13-DR7が多く見られ、A2-Cw6-B13-DR7は少ない。第11国際組織適合性ワークショップのデータ<sup>2)</sup>では、A2-Cw6-B13-DR7-DQ2がGermanに1%の頻度で、クラスIハプロタイプA2-Cw6-B13は、Slovak, Czech, Uralicに2～4%の頻度でみられており、このハプロタイプ（A2-Cw6-B13-BFS-C4A3-C4B1-DR7-DR53-DQ2）は、欧州でも東欧の集団に多く分布するタイプと考えられる。また、このことは東欧からバイカル湖近辺までの広い地域（ロシア？）に、このハプロタイプが分布している可能性がある。第12国際組織適合性ワークショップでは、カザフの集団においてA2-B13-DRB1\*0701が4.6%の頻度で見られている。ちなみにA30-B13-DR7は、同じ欧州でもItalian, Spanishで約1%の頻度で見られており<sup>3)</sup>、その分布が異なっていることが分かる。

### 3. A33-Cw10-B58-BFF-C4A3-C4B1-DR13-DR52-DQ6

図1



■ (A2) -(Cw6) - B13 - BFS - C4A3 - C4B1 - DR7

● (A30) -(Cw6) - B13 - BFS - C4A3 - C4B1 - DR7

このハプロタイプは、日本人では稀なハプロタイプであり、その頻度は1%以下である。しかしこれまでの調査で、東北アジアの集団（ブリヤート及韓国）に多く見られるタイプであり、その頻度は約3~4%である。

このハプロタイプのクラスIIハプロタイプをalleleで表わすと、DRB1\*1302-DRB3\*0301-DQB1\*0605となる。これは、日本人に多いハプロタイプA33-CBL-B44-DR13に見られるクラスIIハプロタイプと、DQB1ローカスのalleleが異なる(DQB1\*0604)だけである。また、クラスIIIハプロタイプも、A33-CBL-B44-DR13のタイプと同じタイプBFF-C4A3-C4B1である。

#### 4. A33-Cw10-B58-BFS-C4Q0-C4B1-DR3-DR52-DQ2

このハプロタイプは、主に東南アジアに多く分布するタイプであり、前記のハプロタイプとクラスII、IIIのハプロタイプが違い、その分布もそれぞれ異なっている(図2)。

最近のモンゴル(Khalha族)の調査では、A33-B58-DRB1\*0301が多く見られ、前記のタイプは、0.5%以下であった。ブリヤート族にA33-B58-DRB1\*1302が多いことは述べたが、ここでもブリヤート族とモンゴルの集団における分布が異なっていることが明らかとなった。

第12国際組織適合性ワークショップのAnthropological studyでは、カザフ、ウイグル及びウルムチ近郊の漢民族においても、A33-B17(B58)-DRB1\*0301が見られ、このハプロタイプがアジアの広い地域に分布するハプロタイプであることが確認された。また、カザフの集団ではA33-

B17(B58)-DRB1\*1302とA33-B17(B58)-DRB1\*0301が共に、約2~3%の頻度で見られ、DRB1のalleleが違ふA33-B17(B58)-DRB1\*0408が25%の頻度で見られた。

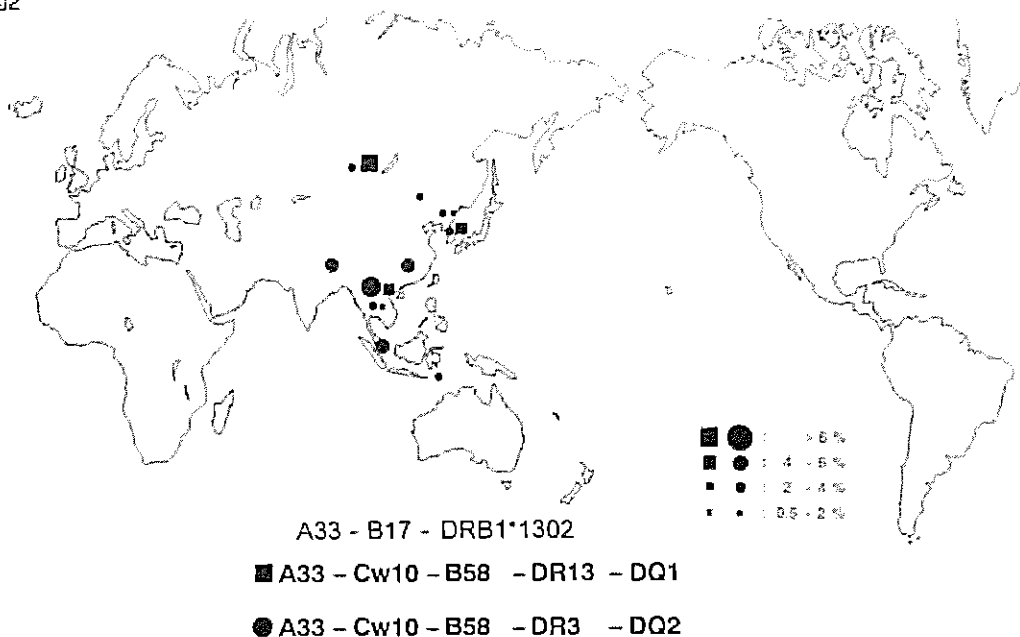
今回紹介した4種類のハプロタイプは、類似した2組のハプロタイプで、これらは一部でその組み合わせが異なっていた。それぞれ同じハプロタイプから出来上がったものと推測されるが、その分布はそれぞれ異なっており、これらのハプロタイプが、どのような経緯で出来上がり、そして拡散して行ったのか・・・?

次回も東アジアの集団に見られるハプロタイプについて紹介したい。

#### References

- 1) Lin L, Tokunaga K, Nakajima F, et al. Both HLA-B\*1301 and HLA-B\*1302 exist in Asian population and are associated with different haplotypes. *Hum Immunol* 1995; 43: 510-56
- 2) Imanishi T, Akaza T, Kimura A, Tokunaga K, and Gojobori T. Allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci in various groups. In: Tsuji K et al. ed. *HLA1991*. Vol. 1 Oxford University Press, 1992: 1055-1220.

図2



追記

\* 「日本人に見られるハプロタイプ (II)」における修正と追加

① 修正：このKAMONの編集長は、このハプロタイプ (A11-Cw4-B62-DR4-DQ3) をもっており・・・と記載しましたが、A11-Cw1-B54-DR4-DQ4の誤りでした。

② 修正：Cw\*0101は、Cw\*0102の間違いです。(Cw\*0101は、現在公認のアリールから削除されている)

③ 追加：B54 (B\*5401) は、45と52番目のアミノ酸配列がB55 (B\*5502) と異なっている。この部分のアミノ酸配列は、ほとんどのCローカス抗原に見られ、B\*5502にCローカスの塩基配列が入り込むことで、B54が形成されたとも考えられる。



## DNA基礎講座；核酸化学の立場から ⑥

### RNAとDNAの違いについて

湧永製薬（株）バイオ研究所 山根 明男

今回は基礎に立ち返り、DNAとRNAの違いについて生体内での機能的側面と核酸を取り扱う際の実際の側面から考えてみることにする。

まず化学的な構造の違いは、DNAは4種類のデオキシリボスクレオシド（デオキシアデノシン、デオキシグアノシン、デオキシシチジン、デオキシチミジン）がリン酸ジエステル結合を介してデオキシリボースの5' 水酸基と3' 水酸基で連なったものであり、RNAでは4種類のリボスクレオシド（アデノシン、グアノシン、シチジン、ウリジン）が同じように連なったものであることは言うまでもない。つまり、違いはリボースの2' の位置に水酸

基があるかないかという点と、塩基のうちの一つがDNAではチミン、RNAではウラシルになっている点だけである。

さて、リボースの2' 水酸基のあるなしでどんな違いがあるのか考えてみよう。リボースの2' 水酸基は3' 水酸基と隣り合わせになっており、核酸のリン原子などを介して環状の構造をとることができる。このことにより、RNAとDNAは化学的あるいは酵素反応的にもかなり異なる性質を持つことになる。たとえば、DNAはアルカリ水解には安定であるが、RNAは2' 水酸基隣接基関与のためにDNAより水解されやすい。これは生体中でRNAを不

安定化し、ターンオーバーを速めるのに役立っていると考えられている。言い換えれば、DNAはある程度安定でなければならない。

逆に酸性条件では、塩基部と糖部のグリコシド結合の水解速度はDNAではRNAより500倍速い。この反応はピリミジン塩基（シトシン、チミン）よりプリン塩基（アデニン、グアニン）で起きやすくデプリネーション（depurination）と呼ばれている。デプリネーションしたものは不安定になり、最終的には鎖の切断につながる。この性質が、複製の過程での修復に有利にはたらいっているかどうかはわからないが、核酸を取り扱う際に注意すべき点である。このように、一般的にDNAはアルカリ性では安定で酸性では不安定であり、逆にRNAはアルカリ性で不安定で酸性では安定ということになる。

次にDNAとRNAの構造の違いと酵素との関係を考えてみよう。核酸に関わる酵素のなかにはDNAとRNAを区別しないスクレアーゼ（nuclease）等も存在するが、一般的には両者を区別しているものが多い。たとえば、RNAを特異的に切断するRNaseは2', 3'-環状リン酸を經由して切断反応を引き起こす。当然のことながら、2' 水酸基のないDNAに対してはこのようなメカニズムでDNAを切断する酵素は存在しない。このRNaseは分子生物学の実験での嫌われ者であるが、それは身の回りに存在するバクテリアなどのRNaseが人の手指や器具などに付着しており、さらに熱に対して安定で除去しにくいからである。また、DNAやRNAを合成する酵素類（polymerase）はそれぞれを正確に区別している。これは当然のことで、一つの鎖にデオキシリボ核酸とリボ核酸が混じっているのはたいへんなことになるであろう。すなわち、DNAポリメラーゼはデオキシリボヌクレオチドを、RNAポリメラーゼはリボヌクレオチドを選択的に結合する。これらRNA、DNAを区別する酵素は必ずしも2' 水酸基を直接認識してRNAを認識しているわけではない。むしろ、2' 水酸基のあるなしによって糖部分のコンホメーションが変化し（糖部分は通常平面ではなく、しわになった構造（puckering）をしている）、その構造の違いあるいはそれから生じた全体の構造の変化を認識していると考えられている。ただし、DNAポリメラーゼのなかにはin vitroのある条件ではRNAをテンプレートとしてDNA合成を行うことができるものもある（リバーストランスクリプターゼ様の活性）。この性質を利用して、one tubeでRNAから直接DNAに増幅する方法も（RT-PCR）開発されている。

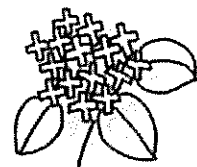
さらに、RNAでは2' 水酸基が存在するためにDNAに比較して複雑な3次元構造をとることができ、そのことによって生体内でDNAとは異なる多彩な機能を発揮して

いる。また、天然には2' 水酸基と5' 水酸基がリン酸ジエステル結合でつながった3量体も見つかっており、(2,5A) インターフェロン誘導に関与している。余談ではあるが、RNAの化学合成においてはDNAよりも活性基（2' 水酸基）が一つ多いために、その合成はDNAよりはるかに困難であったが、合成技術の進歩により比較的容易にオリゴボヌクレオチドが合成できるようになった。

一方、チミンとウラシルの違いはどうであろう。生体内ではしばしばDNA中のアデニン、グアニンあるいはシトシンのアミノ基が脱離するデアミネーション（deamination）という反応が起こるが、それを修復する機構もある。しかし、仮にDNAの塩基の一つであるチミンがウラシルだったらどうなるだろう。シトシンがデアミネーションするとウラシルになり、元からあるウラシルと区別がつかなくなってしまう。しかし、元からある塩基がウラシルでなくチミンであればシトシンのデアミネーションによって生じたウラシルを区別することができることになる。このことを巧みに利用したのがPCRのコンタミネーション除去法である。これは、増幅反応においてDNA鎖中に取り込まれた天然DNAには存在しないデオキシウラシルを、修復系に関わるウラシル N-グリコシラーゼで分解し、最終的には鎖切断する方法である。

生命の始まりにおいて、RNAが先かDNAが先かは古くからの議論であるが、最近ではリボザイム（ribozyme）に始まり、進化工学（in vitro evolution）により天然のものとは異なる機能を持ったRNAが次々と創られ、DNAとRNAの構造、化学的性質の違いは益々注目されている。また、生命におけるRNAとDNAの巧みな使い分けの理解を深め、さらなる有益な技術が開発されることであろう。

編集部注：このシリーズによる山根先生の連載は今回にて終了致します。山根先生長い間ありがとうございました。





## 世界移植事情 ①



### 日本における移植の現状 —日本移植学会の決断—

大阪大学医学部泌尿器科 高原 史郎

1996年春、日本移植学会理事会はある決断をしました。

毎年1000人以上の人達が臓器移植を受けることが出来ず死んでいる。脳死体からの臓器摘出のための法案（以下法案と略す。）の審議は遅々として進んでいない。このような状況を鑑み、日本移植学会としては、学術集団という意識よりも職能集団という意識を強く持ち、法案成立に向け全面的に支援することを決定しました。具体的には1996年4月から6月の2ヵ月間、移植待機者の人達の会と協力し、全国各地で公開シンポジウムなどのキャンペーン活動を展開しました。

さらに6月末から7月にかけては、いよいよ法案の成立も近づいてきたため、学会としても積極的に法案成立を推進することにしました。キャンペーン活動を行うにしても、もっと学会メンバーが前面に出ようという方針になりました。実際の活動としては、国会の厚生委員に参加してもらって、全国各地での公開シンポジウムの開催を計画しました。名古屋や大阪など数カ所で開催されたのですが、9月末の時点で法案は廃案となりました。この段階で公開シンポジウムは当初の計画の半分も終わっていませんでしたが、法案の廃案を受けて緊急理事会が開かれました。

今後法案が成立することが望ましいのですが、目の前で次々と待機者が死んでいるという現実のなかで、法案成立を待っているという時間的な余裕はありません。法案の成立後に移植学会が行動を起こすのではなく、学会そのものが実際に脳死移植ができるシステムを構築しようということになりました。具体的には3つのワーキンググループを作り、脳死移植の実現に向けて何を行うべきか検討し、その問題点を一つずつ解決していこうということになりました。3つのワーキンググループとは、ドナーにかかわる問題を担当するグループ1、レシピエントにかかわるグループ2、実際に移植を行う移植施設を担当するグループ3の3つですが、1997年夏までに脳死移植を実行できる移植学会の体制をつくりあげる予定です。

この原稿を書いている時点（1997年4月）では、既に学会の指針（日本移植学会臓器移植ネットワークシステ

ム・ガイドライン）は完成し、理事会、評議員会でも承認されました。このガイドラインは、「斯く斯く然々の方法論で脳死移植を行います。」というもので、具体的な作業はまだ多く残っています。当面はこの作業を完遂することが課題です。

一方、通常国会には法案が提出されていますがその見通しについては予断を許しません。法案の内容そのものについても、この修正案では、本人の生前の書面での意思表示が必要とされており、現実性に乏しいという大きな問題があります。またこの修正案では現行の心臓停止後の腎臓摘出に際しては、本人の書面での意思表示は必要ないことにはなっていますが、現実には却って提供数が減る可能性もあります。

私は腎臓移植を主たる業務としている移植医ですが、仲間内で確認していることは「良好な成績、質の高い腎臓移植を継続し、移植医療に対する信用を高く維持しよう」ということです。必ず提供者数が増える時は来る。その時に備え、高い安全性と生着率を維持し、多くの移植医療従事者を確保しておくことが出来れば、症例が増え始めた時、質の高い移植医療をすみやかに広めることができると考えます。

HLAについても同様のことが言えると思います。現状では、せっかく遺伝子タイピングを行っても献腎移植で実際に用いられることは少なく、またどのような手順で遺伝子タイピングを導入するかどう道筋も明確ではありません。日本全体でどのくらいのタイピング施設数が望ましいかという議論も不十分な状況です。

しかし現行のタイピング法でも、技術的に難しい死戦期ドナーからタイピングを含め質の高いタイピングを継続・維持している施設は少なくありません。献腎移植のタイピングを担当する施設全体のレベルの高さを維持することによって2～3年後に遺伝子タイピングの運用が始まった時、日本全体で同時に、均一かつ高精度のタイピングを始められます。その結果として、移植医にとっては必要最小限の免疫抑制を施行しやすく、レシピエントにとっては安全な臓器移植が可能になると考えます。

佐治博夫の **まかせなさいっ!**

## セイロンの3人の王子は何を得たか？

## ——セレンディピティをつかまえる

hsaji@mb.infoweb or jpまたはsaji@hla.jrc.or.jp

## スリランカ人のHLAは？

Kさんから突然の電話がかかった。僧形の頭が目には浮かぶ。本人は僧侶でもないのに頭を丸めていて、典型的な「雨にも負けず…」型人間である。もう8年にもなろうか「神山賢一君を救う会」の有力なメンバーとして、骨髄バンクがない時代のドナー募集と資金集めに東奔西走した仲間である。「奈良の姉のところへスリランカの人を下宿してましてね…」いつものように単刀直入にきりだす。夫は大阪のビジネススクールの教師、妻は大学院生というスリランカ人のサマンベラ夫妻が助けを求めているという。翌週ご夫妻に会う。現地の姉の双子の子供がいずれもサラセミアメジャーで骨髄移植を必要としている。日本で治療を受けさせたい、阪大の骨髄移植医にも相談ののってもらっている。資金はKさんと夫の仲間たちが募金をする計画である。患者は長女と次女で同胞はいない、骨髄ドナーをどうして見つけたらよいのだろうか…日本の骨髄バンクで見つかるかしら？……難題である。スリランカのHLAのデータは手元にない、インド人と近縁であるとして考えると、日本の骨髄バンクからドナーを検索するのは至難であろう。それにしても双子のどちらを先にするか、という倫理的命題はきついですね…。ひとしきり相談はつづいたが、次に生まれる子どもの臍帯血を移植できる可能性や、多人種国家であるアメリカのNMDPにも可能性をかけましようか…ということで一段落した。

## セレンディップの3人の王子たち

そのあと、雑談は文化論になり、もっぱら聞き役にまわった。インドの突端にセイロン島がある。1972年に完全独立を達成してスリランカと改称するまでは、ながらくセイロンと呼ばれていた島国である。ベルシャ時代にはこの島をセレンディップと呼んでいたという。ベルシャが世界に権勢をはっていたころ、ベルシャ人にとってセレンディップはロマ

ンの島であったらしい。寓話によれば、そのむかし、セレンディップの王国時代に3人の聡明な王子がいた。王子たちはセレンディップ王である父に、見聞を広めるために航海に出たいと申し出た。父王と相談しながら構想を練り、計画をたて準備万端ととのえた王子たちは意気揚々と船出するが、緻密な計画はすぐに頓挫する。暴風雨に見舞われ、海賊に遭遇し、次々に思いがけないできごとが起こって、思いがけない冒険を強いられる。王子たちは果敢に立ち向かい、そのたびごとに成長していく。船出するまえには予想もしていなかった体験を積んで、さまざまな貴重な収穫を得たのであった、めでたし、めでたし……。そんな話もしてくれた。楽しい時間を持てたお礼に京漬物のおみやげを手渡し、再会を約してわかれた。

## 大河内一雄とブランバーク

## ：HBsAgとAustralia Antigen

上の寓話が英語のserendipityの語源であるらしい。Webster'sをひくとthe possession of the gift by the heroes of the Persian fairy tale The Three Princes of Serendip. とある。「予期せぬ掘り出し物」「掘り出し物上手」「偶然の発見…」というような意味である。

ノーベル賞学者のブランバークはゲル内沈降反応からオーストラリア抗原を発見した。血漿蛋白の多型性を研究していた彼は、輸血後の患者血清がオーストラリアアポリジニの血清と反応しているのを見つけ、オーストラリア原住民の民族抗原と思ってそう命名したのである。新しい多型性の発見、ぐらいに考えたのであろう。1960年代、当時東大の輸血部にいた大河内一雄は、同じように、輸血後の患者血清どうしの間に沈降線が生じる現象を発見し、とくに輸血後肝炎の患者にこの沈降線が頻発することを見出していた。血清はブランバークに送られ、オククロニー法でオーストラリア抗原の沈降線は大河内の発見した抗原のそれときれいにフェーズすること

がわかった。同じ抗原と特定されたのである。これがB型肝炎抗原ひいてはHBVの発見の端緒となった前夜の物語である。多型性の研究がB型肝炎ウイルスの発見を導いた、まさに「予期せぬ掘り出し物」を掘り当てた有名なはなしである。ある学会で「ブランバーグは偉大な山師」である、と私が評したときに、大河内先生の小さな不機嫌を買いはしたが理解は示された。大河内先生もやはり「探鉱者」であり、いまま福岡県赤十字血液センターの片隅で毎日オクタクローに精を出しておられる。探鉱者はすなわち日本語で山師である。

フレミングが化膿菌の研究をしていて、たまたまコンタミした空中の青かびのコロニーの周りには化膿菌が生えなかったことからペニシリンを発見した。このような例は数学にいとまがない。古来、科学における歴史的な大発見や独創的な論理的展開は、セレンディビティーに負うところが多い。

#### セレンディビティを取獲するセンス

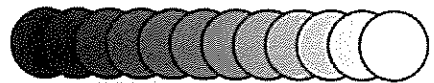
天才は別である。天才的ひらめきは確かに革新をもたらす。凡人が科学にブレークスルーをもたらすときは、どこかにセレンディビティーがあるように

思う。謙虚に自然界に教えを請う、自然現象や生物現象を丹念に観察する姿勢がセレンディビティーを取獲するセンスにつながるように思える。既成概念の強い秀才は謙虚さに欠けて、セレンディビティーを見逃す可能性がある。自分の仮説にしがみつくなり「あ、これは失敗した…」と容易に方向を変えてしまって、宝物のような現象を見逃してしまうかもしれない。不思議な現象の再現性を追求するしつこさもうひとつのセンスであろう。

日本の同義語に「棚からぼた餅」があるが、セレンディビティーとは似て非なるものである。なにもしないで実りは得られない。大河内先生が山師という評価に機嫌を損ねたわけは、山師に「ひと山当てる働かないギャンブラー」のニュアンスがあったからだろう。ではなくて、探鉱者にこそセレンディビティーが微笑むのである。

HLAの業界人は探鉱者が多い。少し意味違いたがminerである。Minerは辛抱強く粘りがある。目前にあるセレンディビティーを見逃さなかったら、科学に貢献できる道は自然に開けそうな気がする。昨夜のテレビで、今年の阪神タイガースには例年になく粘り強さがある、と評論家がいていた(さ)

## サルでもわかるHLA(1)



### —HLAの父，その知られざる側面と業績—

国立循環器病センター研究所 実験治療開発部 佐田 正晴

“KAMON”編集部から“猿にもわかるHLA”の連載依頼が来た。簡単に引き受けたものの“猿にもわかる・・・”は読者を結構馬鹿にした言葉で、掲載文が理解できない読者は猿以下になってしまう。“猿でもできる”も同様に編集部はどうも“猿”にこだわっている。“x x”にもわかるx x”は一般的にhow toものが多い。いささか困りつつ“KAMON”既刊号をめくってみる。理論や技術講座、学会記などHLAを取り巻く最新情報がきら星の如くちりばめられ目を覆うばかりに輝いている。その中で一つ目に留まったのが「HLAタイパーでセログラムを始めて見た人がいる」のone phrase。小生、今春退官された某教授にそそのかされHLA抗血清のプールに投げ

込まれてから20数余年、人生の半分以上をHLAと共に歩んできてしまった。HLA黎明期からHLAに携わってきた我々古代人にとって、セログラムはいわゆる“御老公様の印籠”で「このセログラムが目に入らぬか!」、この一言で新しい抗原やsplit抗原が決定されてきた。遺伝子タイピングの鎧を身にまといHLAの戦場で戦う新世代人にとってセログラムは時代遅れの武器になり下がってしまったのだろうか。人間肌に張りが無くなり白いものが混じり始めるに従い、独居をきめこみ懐古趣味に走ってしまう。本シリーズでは敢えて時代を逆行することを許していただきデロリアンの時間を数十年前にセットし‘back to the past’をきめこみ‘once upon a time in HLA’

にワーブすることにした。まあ温故知新という言葉もあり肩の力を抜いて「古代人の観音」と軽く読み流して載ければ幸いと思っている。

古くからHLA業界には「HLAの父と母」という言葉があった。父とはUCLAのPaul L. Terasakiで母とはStanford大学のRose Payneを指す。本シリーズを始めるにあたり小生の独断と偏見でまず「Terasaki-その人となりと業績」について私見を交え紹介しようと思う。少なくともHLA業界の飯を食った人で「Terasaki」の名前を知らない人はいない。しかし生い立ちや人となりを知っている人は意外と少ない。Paul L. Terasaki ( 'T' は一郎のI)は1929年9月10日日系2世としてロサンゼルスで生を受けた。1956年UCLA大学院博士課程修了後、1957年から1年間2nd set rejectionで有名なロンドン大学Medawar教授(ノーベル賞受賞者)のもとに留学後、1961年にはUCLA外科助教授、1963年弱冠34才で外科教授に就任し現在に至っている。1969年F大学のN教授が初めてTerasakiのもとに留学して以来、長期、短期を含め50人以上の日本人が草鞋を脱いでいる。小生個人としては1976年招請講演で来日の際、その当時解析を行っていた甲状腺疾患についてコメントをいただいで以来、今日まで公私ともに交際していただいている。現在Terasakiは日本語でかつ原稿なして講演をするようになってきたが、当時はまだ日本語を上手く操ることが出来なかった。こちらが話していることはかなり理解できるようだったが返事は正確をきすため英語だった。しかしものすごい勉強家で知らない日本語の単語はいつもポケットに忍ばせている単語帳(最近あまり見かけなくなったが学生が表に英語、裏に和訳を書き紙をつずりながら暗記していく奴)を取り出しいつも書き留めていた。小生がUCLAに行ってる時、水曜の昼食時間帯が日本語のレッスンに当てられ、この時だけはこちらが教える間。ラボの玄関を出てから帰るまで日本語だけを使うように言われ、知らない単語は全てれの単語帳に書き取られていく。ピザが好きでよく一緒にラボ近くのピザ屋へ行った。当時はまだ結構スリムで顎髭を生やしていた。ピザとコーラのお陰(?)で最近かなりふくよかにはなってきたものの、仕事の話をするときの鷹が獲物を狙うような鋭い視線は昔とちっとも変わっていない。日本語の書き取り勉強はいまだにつづいている。当時のラボはスタッフと留学生あわせて10数名以外に、授業が終わ



HLA 理事長

ってから夜やってくるUCLAのアルバイト学生やラボテクニシャンが常時100名以上いて国籍も10ヶ国以上に及んでいた(その時の主要メンバーはOne Lambdaに移籍している)。巨大な工場のようなもので昼夜兼行で仕事が行われ、全員ここがアメリカかと思えないほど激しく働いていた。Terasakiは血統的には純粋な日本人であるが、ものの考え方進め方は完全にアメリカの合理主義に根ざしている。しかし反面、非常に人情味に溢れ人や家族を大切にする。ラボやOne lambdaのメンバーをみても勤続10年、15年以上の人が多く。このようなことは改善を求め渡り鳥のように職場を歩き歩くアメリカでは珍しく、Terasakiの人情深さが彼らを繋ぎ止めているのだろう。しかしこの人情を仕事に求め甘えて失敗した日本人が多くいるのも事実だが。

1964年Nature誌に発表された「Microdroplet Assay of Human Serum Cytotoxins」(Nature, Vol.204, No.4962, pp.998-1000, 1964)、補体依存性細胞障害試験による血清学的タイピングのプロトタイプでいわゆるTerasaki法によりTerasakiの名前は世界的に有名になった(小生の手元には直接戴いたreprint、大分茶色く変色してきた、が大切に保管されてる)。HLAのルーツとも言えるこの論文を是非とも一読願いたい。1980年HLA業界人としてフランスのDaussetがノーベル賞を受賞したが、ノーベル賞審査委員会がTerasakiとの共同受賞を最終段階まで議論したことを知る人はあまりいない。Terasaki法はその後NIH標準法となりHLA界のgolden standard法となっていたのは周知の事実である。本法実施にあたりTerasaki トレーは必須で世界中で膨大な数のトレーが消費されてきた。以前「なぜトレーの特許を取らなかったのか」と聞いたことがあったが、答えは「HLAの普及のため」。そしてニヤと笑って「もし特許を取っていたら今頃大金持ちだったろうネ」。この10数年Terasakiは毎年数回来日しているが過密なスケジュールの中、我々のために常に会う時間を割いてくれる。本当に有り難い。Terasakiは我々日本人にとって「父」というより守護神的存在で、「苦しいときのTerasaki詣で」を繰り返してきた。国際HLAワークショップへの道を開いてくれた、日本で死体腎移植が普及するようにアメリカから腎臓を送りつづけ厚生省と交渉してくれた。多くの日本からの留学生を暖かく迎えてくれたのもTerasakiで、期待を幾度となく裏切られようとも何時も暖かい視線を太平洋の彼方から送りつづけてくれている(過免疫で免疫寛容が出来上がってしまったのかもしれない)。1992年日本政府はTerasakiの日本に対するこれまでの功績に感謝し勲二等瑞宝章を授与した。小生が事務局を務め受賞記念パーティーを盛大に行った。

この時にはTerasaki一家をはじめ兄弟達も集まり日本からも本当に多数の人達が集ってくれた。この授与をことのほか喜んだのがTerasakiの父君で、残念ながら一昨年他界された。ニューヨークで野口英雄を将棋で負かした話からはじまって、苦しかった戦中戦後の話、Terasakiの幼少時代や家族についてなどいろいろな話を聞くことが出来た。

現在Terasaki一家は妻のHisakoさん、4人の子供達(2人はMD、1人はPhD、そして祖父の器用DNAと父親の真面目DNAが色濃く遺伝されたartist)と3人の孫から構成されている。Terasakiについて書き出すときりがないが編集部Mさんのバニックぶりが目に浮かぶのでこのへんで終わりにしようと思うが、次回から少しhow toものもとり

いれ書いてみようと思う

最後に今までの功績に対し与えられた賞のうち、特に素晴らしい賞の数を紹介し筆を置こうと思う。

1970年：オランダ赤十字賞

1977年：Philip Levine賞(米国臨床病理学会)

1988年：Rose Payne賞(米国組織適合性学会、ASHH)

1991年：Karl Landsteiner賞(米国輸血学会)

1996年：Medawar賞(国際移植学会)

(最近のミーハー的な話題の一つ：世界を震撼させたO.J. シンプソン裁判の陪審員依頼があったが裁判中の制約がきつく仕事に支障をきたすという理由から辞退したそうである)



## 生き証人シリーズその1

# 非血縁者間骨髄移植の提供者となつて

愛知県赤十字血液センター 倉知 透

### ○親 父

初めから私事で申し訳ありませんが、平成8年3月9日に親父が死去しました。親父はいわゆる町医者で、患者さんといったら親父よりも年上のおじいちゃんやおばあちゃんがほとんどになっていましたが、亡くなる4、5日前まで診療をしていました。死因は肺繊維症ということで最後は呼吸不全で息を引き取ったのですが、酸素吸入用のチューブを顔につけて茶の間から診察室までほんの10m程を2度3度と休みながら移動しないと息苦しいという状態なのに「休診にしない」と言って、診察を続けていました。また、県の医師会の副会長だったこともあって、通夜や告別式へ参列して下さった人の多さにも、家族である私たちはたいへん驚いたものでした。医学を志し、身体がいうことをきかなくなるまで診療を続けるというまさにライフワークを遂げた親父を見送り、私たちは改めて親父の大きさを感じ、そんな彼を尊敬し、また誇りに思っています。

近頃そんな親父のことを思い出していたら、私が骨髄提供した後にわざわざ病院まで見舞いに来て、提供した私を誉めてくれたことを思い出しました。その時私は、親父が「小遣いをやろう」なんて言うので、いくつになっても「親子なんだな」と感じたものでした。社会人になってからの数少ない親父との思い出のひとつです。

以前から、骨髄提供者としての経験をこのパソコンネ

ットにアップしたらと友人のMさんから勧められていたのですが、この骨髄提供が親父に誉められた最初で最後のことであったような気がして、この経験をまとめることは親父の供養になるかもしれないと思いつきこのように綴り始めました。

### ○プロローグ

中京地区は骨髄移植が盛んな地区であります。そのため当血液センターは1981年ころから、骨髄移植ドナーを家族内から探す為のHLAタイピングを、医療機関の依頼により実施してきました。そして年間100例近い骨髄移植対象患者とその家族についてHLAタイピングをした年もありました。また、1988年夏には「名古屋骨髄献血者を募る会」が発足し、翌年秋には「東海骨髄バンク」が設立され、当センターはこの募る会が発足した時から骨髄バンクへの登録希望者のHLAタイピングに協力しました。

このような環境において、私は血液センターの一検査員としてHLA検査業務に十年以上携わり、また東海骨髄バンクでは運営委員の一人として参加させていただいたのですが、好運(?)にも骨髄提供まで経験することができました。

骨髄バンクについては新聞・テレビ等のマスメディアでも色々な情報を得ることができ、骨髄提供者に

ついでの情報はないのではないのでしょうか。

一方、公的な骨髓バンクが設立された現在、血液センターの方たちが骨髓提供とはどのようなことであるかを知ることは必要なことではないかと思えます。

私は、日本で実施された骨髓移植における多くの骨髓提供者の一人にすぎませんし、提供したのはすでに数年前のことですので記憶が定かでない部分もありますが、私の経験を紹介することで一人でも多くの方に骨髓提供とはどういうことか知っていただければ幸いです。

なお、ここに紹介するのは私が経験したことであって、感覚的なことはもとより骨髓採取病院から提供者が受ける医療行為なども採取病院が異なったりすれば違いがあるはずです。そのため、あくまで私の場合はこうだったと読みとっていただきたいと思えます。

### ○ドナー登録

先にも述べましたが、私は血液センター職員としてH L A検査を行い、ボランティアとして東海骨髓バンクのドナー登録管理部でデータ管理と適合者検索をしていました。

ボランティアといっても職権を乱用していた部分が多少あり、検索用のプログラムなどはT.A.先生がBASICで開発されたものを私なりに修正して用いていました。(当時、例えクラスIだけでも患者データを入力すれば、適合者リストを出力できるなど思いも及ばなかったというドクターがいて、リストを見て感嘆のため息を出された人もいるくらいでした。このことは現在でも思い出話として出てくるくらいです。)

東海骨髓バンクでは患者データと登録者データを別々の部門で管理する体制を取っていましたが、H L Aの適合者を選択する役割も担当していた私には患者のH L Aデータを見る機会がありました。

そしてある日、幾人かの患者データ中に自分と同じH L Aを見つけたのです。適合者検索プログラムを動かしたところ、2人くらいリストアップされたので、「自分と同じH L Aの人がいるもんだなあ」と感じただけでその時はすんだのですが、月に2～3回適合者検索をやっていると常にリストアップされながらコーディネートの話が進まないことが気になってきました。どんな事情があったか私には解りませんでした。適合者検索の必要な患者のリストからその患者番号が消えない(すなわち移植が実施されない)ことが気になってきたわけです。

ある晩、私は家内に相談しました。

「ドナー登録していいかなあ?」「言い出したら引かないんだから、反対はしないけど・・・」ってな了解(?)

をとってから、私は自分のH L Aデータ等を登録しました。

そして、次の適合者検索で、当然自分のドナー番号がリストアップされ、そのリストを患者登録部へ送りました。

誤解を招かないようにしておきたいのですが、当時、日本で民間組織の骨髓バンクとしてドナー登録から骨髓移植まで行っていたのは東海骨髓バンクだけでしたのでお手本がなく、全てのことが手探り状態でした。ドナー登録や患者登録のみならず、適合者の決定や移植病院の選択など、とにかく形はアメリカを手本にすれば良いけれど、実際に行う場合にはその後の多方面への影響を考慮して、とにかくどんなことでも慎重に討論をしながら、委員会の討議と決定を経てからでないと実施しないようにしていました。

そんなふうには慎重であったために、骨髓バンク側の関係者がドナーとなること自体、いいのだろうかという検討もされたらしく、東海骨髓バンクのコーディネーターから連絡があったのは最初のリストアップから半年後でした。

途中でM L C用の採血をしたり、何度となく自分のドナー番号が記載された適合者リストを提出しながら「他のドナーで移植の話が進んでいるのかなあ」なんて思っていました。結局骨髓の採取まで約1年費やしたのですが、当時の我々は、骨髓採取を実施して問題が起こったらその後の骨髓バンク活動に影響するからという思いから、慎重に行動することを心がけていたためリストアップから移植まで時間がかかるケースがあったことをご理解ください。

患者さんとのM L C検査用血液の採血は、骨髓採取の五ヶ月前でした。そして提供者となることについて家族と共に承諾の意を示す同意書への署名は、採取の二ヶ月前でした。

コーディネーターから同意の確認に関する面談の連絡があった後、初めて家内に「適合する患者がいるようで、同意書へのサインをしに来てほしいとの連絡があった。」と話しました。家内は「提供することは患者さんのことを考えると断ることができないでしょうけど、私は骨髓の採取現場に立ち会ってまちがいがいいかを見ていたい。」と言うので「じゃあ希望としてそのことを申し出てみよう。」ということになりました。

ある夜、東海骨髓バンクの事務所へ家内とともに行きました。

骨髓バンク活動で知り合い、友人となった弁護士が、「あれ今日は何の用で来たの? えーっ、あなたが今夜の

「ドナーですか!」という話で始まり、コーディネーターのドクターから説明を聞き(家内が十分納得できるようにと思って聞いていた)、立会人の友人が「本当に提供しても良いのですか?」の問いかけに頷いて、同意書にサインをしたのですが、その際に「家内が骨髄採取に立ち会いたいという希望を持っています。立ち会えるかどうか検討してください。もしダメでも提供はします。」とコーディネーターに伝えました。

私はこのように、自分と適合する患者さんがいることを知った後で登録したわけで、私は本当のボランティア精神からのドナー登録者ではありません。きっと、私と同じ境遇に会えば登録をせざるを得ないと思う人は多数いるでしょう。

### ○骨髄採取前検査

採取病院での健康診断を受けたのは骨髄採取の一ヶ月前でした。

まず、骨髄採取担当医による問診から始まり、ウィルス感染・肝機能・血球計算等検査用血液の採血、肺機能検査、心電図測定、胸部レントゲン撮影、尿検査の後、少量の骨髄採取を行いました。入院の予約についてもこの時済ませました。

午前十時より少し前に受け付けをしてすべての検査が終了したのは午後一時頃でした。検査は一般の患者さんより少し優先的に実施していただきましたが、日頃大きな病院で受診などしたことのない私にとっては、待合室での待ち時間が手持ち無沙汰で小説でも持ってくれば良かったと思いました。

検査用の骨髄採取は予想していなかったため意外でした。局所麻酔による骨髄採取は、麻酔の注入時にピリッとした痛みがあり、麻酔が効いた後に採取用の針を骨髄に穿刺する時は腰に痛みではなく圧迫感があり、そして骨髄液を採取する時にはまるでシリンジに身体全体がキュッと吸引されるようななんとも言えない嫌な感覚がありました。このとき、本番の骨髄採取は全身麻酔後でなければ私には耐えられないなと思いました。

その翌日、血液センターに対する骨髄採取病院からの依頼文書を持って血液センターで400mL採血をし、自己血として凍結保存してもらいました。骨髄採取の二週間前には、採取病院に行って血球計算後200mL採血し、その血液は病院で液状保存することとしました。その病院では通常600-800mLの血液を、骨髄採取後の提供者に輸血する手順をとっていて、またその血液は自己血を使用することにしていました。

この時病院で採血した血液は、骨髄採取当日に術中か

ら輸血され、血液センターで調製された解凍赤血球濃厚液は病室へ戻ってから使用されると知らされました。

### ○入院から退院まで

骨髄採取日が木曜日で、火曜日に入院し日曜日に退院の手定でした。

移植前処理として患者さんには大量の放射線が当てられ、その後私に事故などがあって骨髄採取ができなくなるようなことがあってはならないということで、骨髄採取二日前から入院(言い替えれば病院へ軟禁される)しました。

火曜日に病院へ行き、入院受付で病棟を聞いた後入院する病棟の看護婦詰め所へ行き、病室を案内され、入院時の注意事項を聞きました。

骨髄採取までは尿量を計るので、自分の名前の書かれた測瓶を使用して用を足すようにという説明を聞き「自分は病人じゃ無いのに面倒だな」と思いました。個室は用意できないかもしれないと聞いていましたが、個室だったので少しホッとしました。

病院の食事はおいしくないという先入観があったのですが、最初に食べた昼食は意外においしかったです。

午後麻酔医の検診を受けたとき、「歯は大丈夫ですか」と質問かれ驚きました。気道確保用の管が金属製で、歯を食いしばったりして弱くなっている歯が折れたりする場合があるとの説明でした。これについては事前知識がありませんでした。

一日中、好きな時代小説(真田太平記:著者池波正太郎)を読んでいたのですが、夜にはすでに退屈感をおぼえていました。

知り合いのドクターが来たので「先生、ちょっとタバコを吸いに行きましょう」と看護婦詰め所の脇にある喫煙室まで行きました。入院患者もタバコを吸っていたりテレビを見ていたりしていました。血液内科の病棟なので、もしかしたら他にもBMTの対象となっている患者さんがこの中にいるんだなあと、

「先生、個室にさせていただいてありがとうございます。」「うん、ちょうど 空きができてね。やっぱり患者さんと同室というわけにはいかないからね。」

入院した日の夜だったと思うのですが、一人の看護婦さんが「ちょっといいですか?」と入ってきました。検温か何かかなと思っていると、「ちょっと聞いて良いですか、どうして提供しようと思ったのですか?」って聞かれたのです。私は先に書いたように「自分と同じHLAの患者さんがいることを知ってしまったから登録しないわけにはいかなかった。」と答えました。彼女は「でも、黙って

いれば解らないんでしょ他の人には。よく決心されましたね」「うーん、なんて答えたらいいのか……」「頑張ってください」「ありがとう」

木曜日の朝、病院の朝食はよろしくないと思いました。

剃毛すると聞いていたので待っていたのですが、看護婦さんが来なかったので病院にごく近い散髪屋へ行きました。

病室へ戻ると「手術を受ける人への注意事項」を渡されました。

ねまき（パジャマではダメ）、T字帯（いわゆるフンドシ）、らくのみ等。入院の予約手続きをした時に渡された心得には書いてあったのに、浴衣（ねまき）は糊のバリバリにきいた浴衣を一枚しか持参してなかったのちょっと焦り、自宅へ連絡したのですがすぐには用意ができなかったの、病院から借りることにしました。T字帯等は病院の売店で購入しました。

「注意事項」には術前の練習項目っていうのがあって、1.深呼吸、2.うがい、3.たんの出し方、4.せきの仕方、5.ベッドに寝たままの排尿・排便、6.からだの向きの換え方等々の練習をするよう説明してありました。でも、5については結局練習しませんでした。練習しなくても大丈夫、絶対トイレまで行くんだと思っていました。

採取は翌朝十時、九時半には手術室へ行くと聞いて「いよいよだな」と感じました。

昼食後、剃毛のため看護婦さんが来ました。

看護学校を出て三年目ぐらいという若い看護婦さんが来たのでドキドキしたのですが、始める前に、剃毛する部分は胸骨付近と腸骨の背中側と腰部側面だけと聞きホッとしました。最初は脱毛クリームを使ったのですが十分脱毛できなかったの結局剃刀を使いました。看護婦さんは慣れていないようだったし、剃られたことのない場所だったので、私は緊張しそしてやっぱり恥しかったです。

説明では、骨髄採取の部位は最初腸骨の背中側（お尻の尾骨より上部分）からで、充分量の骨髄が採取できなければ胸骨そして腸骨側面の順で採取するそうです。その時は手術室のみんなまでドナーをうつむせから仰向けにすると聞きました。

剃毛中に面会人が来たようでしたが、帰ってもらいました。それが誰だったのか来だに知りません。

骨髄採取の後使用する抗生物質のテストを行いました。

手術の承諾書を提出してないことがわかり署名、捺印をしましたが、家族の署名も必要ということで、翌朝早めに来るよう家内に電話連絡しました。

当時はコーディネーターからの説明に十分でないところ

がありました。

その日は、病院での入浴時間が午前中で私は散髪に行ったため入浴できなかったの、看護婦さんに病院前の銭湯へ行く許可をもらったのです。ところが、銭湯の入口まで行って定休日と知りガッカリして病室へ戻りました。

夕食は「もしかしたら最後かも」などと思ながら一人寂しく食べました。やはり、病室では何となく不安を覚えるものだと思います。

夜の面会時間を過ぎてから、病院のすぐ近くに住んでいる知人が来ました。彼はこの病院で骨髄移植を受けた人で、彼は彼の入院中に家族が借りていた病院の側のアパートに住んでいたのです。彼の誘いに応じて私は、看護婦詰所の前を忍び足で通り過ぎ、彼の家へ行きました。きれいな体でない手術のスタッフに失礼だと思っていたので、入浴できたことはいへんうれしかったです。

病室に戻るとすぐに採取担当のドクターが訪ねてきました。「先ほどのぞいた時にはいませんでしたね」と笑いながら……。その後二時間ほど話し込んでしまいました。

担当医は、看護婦詰所からお茶を運んで来て、「絶食は21時から、絶飲は24時からですよ」って言っていました。時計の曜日表示が木曜日になっていたように見えたのは錯覚だったかもしれません。

木曜日は骨髄採取当日でした。

6時に眼が醒めました。洗面、排泄を済ませ病室で待っていると浣腸のために看護婦さんが来ました。背中を看護婦さんに向けて横になり、暖かいグリセリンの侵入を許したのです。その後、トイレまでの道のりはかなり長かった、だからこそ排便の解放感が得られるのでしょうか……。

病室へ戻りしばらくすると看護婦さんがきて「便を誰かに見てもらいましたか」と聞きました。「すでに流した後です」「じゃあ、すいませんがもう一度お願いします」

二回目の浣腸はグリセリンが暖まっていなかったの、下腹部が痛くなりました。その時になって、私の病室はトイレから一番遠い部屋なんだと思知らされました。トイレまでの廊下で誰にも会わなかったのとトイレが塞がっていなかったのはうれしかったです。私は幸ウな男であるとチョット思いました。

今度は全部出してしまおうつもりで長い間しゃがんでいたら、足が痺れてしまい立つことができなくなりました。やっとの思いで立ち上がった後、看護婦さん呼び、便を見てもらいました。でも看護婦さんは私の努力を無視するかのよう「病室にいてください」と言うだけでし

た。

病室で「今から骨髄提供をやめると言ったらどうなるかな」と思いながら寝ていると、看護婦さんが来ました、グリセリンをお湯の入った洗面器で暖めながら・・・

「トイレまで我慢しながら歩くのはもうイヤだから」と簡易便器（オマル）を病室まで運んでもらってから三日目のグリセリン侵入を許しました。

「おつかれさま」とすまなそうに言っただけで看護婦さんは出て行きました。耐えに耐えた後、便器にまたがりました（ハイヨー、シルバー！）。でも、解放感と共になんとなく自分が情けなくなって行くのを止められませんでした。

その時、ドアを誰かが病室のドアをノックしました。家内でした。

「今だめ！」と怒鳴りながら紙を探しました。家内には看護婦さんと呼ばせに行かせ、後始末をし、便器を覗くとしごく透明なグリセリンだけでした。

ドット溢れる虚脱感、しかし部屋に入ってきた看護婦さんにはなぜか誇らしげに「もう良いようです。」と言ったものでした。

全裸になり手術着を着てベッドに横たわり、麻酔効果をあげる為の注射を受けました。

三回も洗腸をしていたため手術室へ行く時刻まであまり余裕がなかったのでろくに話もしないうちに、指輪を外して（手術を受ける時の注意事項）家内に預け、そして病室を出発したのでした。

「いざゆかん！」てな気持ちになっていました。ベッドに寝たままでしたが手術室までの道順は今でも覚えています。

でも、手術室の入口で家内や病棟の看護婦さんと別れる時、「これっさりかな」と一瞬頭をよぎったことも覚えています。

テレビでみるような手術用照明の下で、麻酔のスタッフが処置を始めました。これこそまな板の上の鯉と観念していると、

「点滴用の血管を確保します、少し痛いかもしれませんが」「お願いします。」 吸入器を付けられ「今から麻酔をかけます、深呼吸をしてください」、「はい」・・・

深呼吸は1、2度しただけでした。麻酔ってあんなに早く利くものでしょうか。因みに私はお酒をまったく飲みません。

・・・・・・・・・・・・・・・・

誰かが大声で、しかし遠くの方で話をしている。口の中に何かがある。

麻酔から醒める時私が気付いたのはこの二つのことでした。

ゲー・ゲーと吐き気がして胃が収縮し、口の中の何かを出そうと舌を動かしていました。

その何か（金属製の管を噛んで歯が痛まないようゴム製の物が口に入れられている）が外れそうになると誰かが「もう少し我慢して下さい」と言いながらまた口にはめ直されました。

でも私はまた出そうとする。誰かがそれを押さえる。

その間胃は収縮を繰り返していました。

気管確保用の管が外されるまで長いような短いような時間が過ぎ、とにもかくにも管が外されると、私は「ありがとうございます」「ありがとうございます」と声にならない声で何度も言っていました。それは、始めのうちは管が外れ楽にもらったという気持ちで、そして次には「生きている」という実感が湧いてきたからでした。

手術室の出口付近で手術用のベッドから病棟のベッドに身体を移された時、T字帯を誰かに締めてもらいました。かなり意識が戻っていたので私は「粗末な物ですみません」と言いました。その人は男性か女性かわかりませんでした。「もう大丈夫ですね」と笑いながら答えてくれました。

手術室の出口では病棟の看護婦さんが待っていてくれました。

が、家内の姿が見えず「早く終わったから奥さんはまだ病室にいるんじゃないかしら、でも私一人ではベッドを病室まで動かせない。」と彼女が言っていました。「手伝うよ。」と手術室から出てきた誰かがベッドの片側を押して病室へ向かうことになりました。

術前には登った坂道の廊下を下った時、家内の顔が見えました。

「どこ行ってたの」と言うだけで後は声になりませんでした。

両方の目尻から涙がひとすじずつ出ました。それを家内がハンカチで拭いてくれました。病棟へ昇るエレベーターの中で私は家内と看護婦さんに何度も「終わったね」「終わりましたね」と言っていました。

病室に入るとベッドの横の点滴用スタンドにある血液バッグを看護婦さんが交換してくれました。我が血液センターの製品でした。

この時まで、例えそれが自己血であれ自分が輸血を受けることになるとは思ってもいませんでした。

頭はもうろうとしていました。酸素吸入を受け、マスクのゴム紐が耳を押さえて痛いと思いましたが、麻酔が醒めきるまでマスクはずせないと看護婦さんに

言われました。

うつらうつらと、眠ったのか起きていたのかわからない時間が過ぎて行ったようです。たまに家内の顔が見えると「終わったなあ」と眩くことしかできませんでした。

午後3時頃だったと思いますが、酸素吸入のマスクをはずしました。そして、その時はじめて入れているのに気がついたのですが、看護婦さんが尿路確保用のカテーテルを抜き取りました。恥ずかしいのと痛いのと両方でしたが何も抵抗する術も理由もありませんでした。

すぐに尿意をもよおしたのですが「したいという気がするだけでしょ」と看護婦さんに教えられました。そして「喉が乾いた」と言ったららくのみでお茶を飲ませてくれました。喉がとても痛かったのですが、「気道チューブのせいですよ」とこれも教えてもらいました。

少し眠った後、起きあがってトイレに行こうとしました。ところが思うように身体が動かないのです。なぜか全身の筋肉が硬直していたのです。いわゆる筋肉痛と同じで、痛くて起きあがれない状態でした。

「痛い、苦しい」って愚図ると、「お産に比べたら、こんなこと軽いもんよ」と家内に言われてしまい、女性は強いなあと感じました。

口では痛いと言いながら、早く自分の足で歩いてみたいという気持ちも強かったので、家内の手を借りながらベッドから降り、そしてトイレまで歩いてみました。朝はあんなに遠かったトイレが近く感じ、誰かに会って「終わりましたよ」って話したい気持ちでした。

一方、トイレではやはり何も排泄できませんでした。

空腹感を覚えたのでパンを食べようとしたのですが痛くて喉を通りませんでした。そのためお茶で流し込むことにしました。

夕食からはお粥にしてもらおうよう頼みました。

知人のドクターが見舞いにきてくれました。こんなに早く、私はうれしく思い、「先生、やっと終わりましたよ」「おつかれさま」。

夕食のお粥は、これがまたおいしなお粥でした。「生き返ったようだ」と家内に言ったものでした。

担当のドクターが回診に来て、腰のガーゼを交換してくれました。

「先生、ありがとうございました」

「いえいえおつかれさままでした、あなたの骨髄はとても採取しやすかったですよ、細胞数も多くて採取は38分で取り終わりました、これはこの病院の記録ですよ」

「そうですか、ところで先生、体中が筋肉痛のようなんですが」

「どうしてでしょうね、そんな人も珍しいですね」

そして、「先程、あなたの骨髄が無事に患者さんに届いたと連絡がありましたよ」と聞いたとき、はじめて自分が何の為にここにいるのか、何の為に痛い思いをしているのかを思い出しました。

「そうですか、よかったです」と私は家内と顔を見合わせました。

家内が帰る時「ありがとう」「まだがんばってね」と会話を交わしました。

この夜は辛かった。

何時頃かは覚えがないのですが、急に寒気がしてきて目が醒めました。まるでスキー場に裸でいるようでブルブルと震えが止まらなくなったのです。

ベッドにあるベルを鳴らし、天井のマイクに向かって「寒気がするんですが」と言いました。看護婦さんが体温計を持ってきて「全身麻酔のせいですよ」と教えてくれました。

体温は38度くらいでしたが、当時風邪を引いてもあまり熱を出したことの無かった私にはとても辛いものでした。看護婦さんが分厚い布団を持ってきて掛けてくれたのですが、私はお礼も言えず、大げさなうめき声を出していたような気がします。

金曜日の朝には熱が下がって気分が良くなり、朝食のお粥がおいしかった。

知人のドクターがメロンを持って見舞いに来てくれました。

「お疲れさま」、「昨日の夜に熱が出まして参りました」、「でも、もう大丈夫そうだね」、「ありがとうございます」。

そして、親父が見舞いに来てくれました。

「おい、大丈夫か？」

「うん、身体中がまだ痛いけど昨日より楽になったよ」

「よう頑張ったなあ、わしはお前のご誇りに思うぞ」

「なに言ってるんだよ、照れるじゃないか」

「かあちゃんと相談したんだが、わしは腎・アイバンクに登録することにしたぞ、わしみたいな年寄りのは誰もいらなないかもしれんがな」

「そんなことないよ」と話しました。

この時親父は本当に登録する気になっていたのです。

「オイ、少ないけどホレ」と親父は財布から3万円取り出しました。

「なんだよ、いらないよ」

「とっとけ、小遣いにしろ」

「なんだよお、いつまでも子供扱いだなあ」。

ほんの15分くらいしかいかなかったと思います。午前中の診察を終えわざわざ見舞いに来て、そして夜の診察

時間に間に合うように帰って行きました。

親父が帰ってからは退屈な時間が過ぎて行きました。

気分が良くなると現金なもので「後は退院するだけ」という気になりました。

検温の看護婦さんに「明日は退院できますかね」と聞いたら「多分、日曜日までダメなんじゃないですか」という返事でがっかりしました。

その夜、面会時間が終わる頃友人達がおしかけてきました。

「大変だったか」、「うん辛かった、でももう大丈夫みたい」。

退屈だった私には彼らの来訪がとでもうれしかった、でもうれしかったのはつかの間でした。

「おい、尻を見せろ、採取した痕がみたい」と言われた時にはいささか困惑し、結局は見せたのですが、「右側に22、左に23かな、針の痕は」、「右は碁盤の目のようで、左はランダムだな、これは採取するドクターの性格が出ているな」。

お尻を晒している私のことなど気にも止めないで「右はあの先生で、左はあの先生かな、ここから両側とも人が交代しているな、間隔が広がっている」と解説していました。

友人の一人はあの大谷貴子女史である。

なんて奴らだと思いました。

土曜日にはますます退屈になりました。何もすることがない、しかし小説を読む気もしない、読むのにも飽きてしまったのです。

担当のドクターが採取した痕を見てから

「明日は退院していいですよ」と言いました。すぐに私は家内に電話をしました。「明日退院していいんだって、朝来てくれよ」。

日曜日の朝一日三度の食事の中で一番つまらなかった朝食も「最後か」と思うと何となく味わいのあるものでした。

荷物をまとめていると、家内と義父が来てくれました。

最後の検診に担当のドクターが来てくれました。

「もう、普通の生活をして頂いてもかまいませんよ」

「先生お世話になりました」

「いえ、お世話になったのはこちらの方ですよ」

「僕みたいな者でもお役にたてたのは、先生方のおかげだと思います」

「先方の先生から連絡があって、移植は順調だそうですね」

「それを知っただけでこの五日間の疲れがどこかへ行

ってしまいました、ありがとうございました」

「こちらこそ」

「他の先生にもよろしくお伝え下さい、ところで先生は右側を担当されたのですか」

「そうですね、途中で交代しましたが・・・」

友人の推測は当たっていました。

### ○その後

退院した日は家でゴロゴロしていましたが（家内に言わせればいつもと同じであっただろう）、翌日の月曜日はいつもどおり出勤しました。

患部の痛みなどは全く無く、ただ運動不足を感じました。

一週間後にはナイター・テニスを友人と楽しむほどで、後遺症などありませんでしたが、仕事が溜まっていたには閉口しました。

二週間ほど後だったでしょうか、担当していただいたドクターにカルテを見せていただけるようお願いし、お礼がてら病棟へ行きました。

顔見知りになった看護婦さんが笑顔で

「変わりありませんか?」「ハイ、おかげさまで」

ドクターから連絡があったということで、自分のカルテを見せてもらいました。使用した血液、体温の上昇、ほんのわずかでしたが一過性のALT上昇が記録されていたように記憶しています。

「なあにそれ」と一緒に風呂に入った子供達に驚かれた穿刺の痕は、いつのまにかその瘡蓋がとれ、しばらくすると自分では見る事ができなくなりました（鏡に写して見る限りでは）。

骨髄提供後1年以上たってから、椎間板ヘルニアを患いました。

風呂場で腰がギクッとなったので、パンツを履いて家族を呼ぶまでのあの辛さは、採取後の痛みなど比較にならないほどきついものでした。

当時は骨髄採取が原因じゃないかなんて言う人がいましたが、運動不足と座っての仕事ばかりだったことが原因です。腹筋を鍛えなくては・・・

採取後1年以上献血をする機会がありませんでしたが、本社勤務になって都内で献血するときには、問診で輸血歴「あり」に○を付けて検診で引っかかるかどうかをチェックしていました。

4、5回程献血しましたが都内のどこでも

「輸血歴があるのですか?」「ハイ、自己血を輸血したことがあります」

「自己血だけですか?」「ハイ、特別にカルテを見せてもらって確認しました」

意地悪でしょうかチェックしていたなんて・・・

### ○そして今

公的骨髄バンクが発足した後すぐに私は本社勤務になったのですが、単身赴任でしたので公的骨髄バンクへの登録はひかえていました。骨髄採取の後の付き添いなど家族の協力が無いとやはり不安だと思ったからでした。

本社勤務を終えて戻ってからもうすぐ2年になりますが、業務標準の改訂作業部会とか品質管理課の新設とかでバタバタと忙しくしていましたので登録する機会を逸していました。

でもそういう理由は言い訳で、実は迷っているのです。

「もう一回提供したのだから、いいじゃないか」とか「もう一度痛い思いをするのか」って気持ちの隅にありま

す。家族の了解が得られるだろうかも自信がありません。

「良いことをしたなあ」って充実感もありましたが、正直なところ私にとって骨髄提供はたいへんな経験でした。

だから今もう一度提供することに二の足を踏んでいます。

私が経験したこと、感じたこと、そして今考えていることのありのままを書いてきました。私の場合の骨髄提供がどんなものであったかについて知っていただければ幸いです。

ただ、私と同じように骨髄を提供した方が皆、私と同じ感じ方をしたかどうかわかりませんし、私と同じように発熱したり、身体の痛みを経験したかどうかわかりません。それをご理解ください。

親父が息をひきとる瞬間を今でも思い出しますが、私にとって人の死というものをこれほど間近に接したのは初めてでした。それは言葉に形容できない瞬間でした。本当に静かに、静かに息をひきとりました。

その数分前だったか数十分前だったか覚えていませんが、親父の口に耳を近づけておふくろが聞いた親父の最後のことは「ありがとう」でした。

おふくろは「おとうさんは満足して死んでいったと思う」と言っています。

最後まで仕事いや自分のやりたいこと、それも人のためになることをやり遂げられた親父は幸せだということです。

そんな親父に私は一歩でも近づけるでしょうか?私

満足して死を迎えることができるでしょうか?・・・

### ○追記

つい先日、実家に行って親父の遺骨に挨拶した後、おふくろに親父に誉められた時のことを話していたら、

「そういえば、おとうさんが死ぬ前に腎バンクとアイバンクの連絡先を書いた紙が出てきたけどもう遅いよね」

「当たり前だよ、でも親父本当に登録したんだなあ」

「ちゃんと聞いておいたのに、仕舞いこんじゃって、おとうさんが死んだときには思い出もしなかった」って言っていました。

私に言った通りに親父が登録していたことを知ってますます親父を尊敬したのと同時に、親父の希望をかなえられなかった自分を恥しく思いました。

息を引き取った当日に私は親父の言葉を思い出したのですが、家族には何も言いませんでした。

また、登録には家族の同意が必要とされていますが、連絡をとることまで周知していないと登録した意味が十分に生かされないということを改めて認識しました。

こういった家族の理解ということは骨髄バンクでも同じで、登録の時は良くても実際に適合者があると家族の反対があってドナーになれない登録者もいるように聞いています。

骨髄バンク事業において、家族の理解あつての登録であることを周知していくことも今後必要と思います。





## ダイナミック・ラボラトリー 大阪府赤十字血液センター

このコーナーでは毎回HLAの分野でご活躍目覚ましいラボ、ユニークなご研究をなさっているラボをご紹介します。

今回は日本で二番目に設立された由緒ある大阪府赤十字血液センターをお訪ねしました。大阪駅から環状線で5駅目の森ノ宮から中央大通りを5～6分、付近には府立成人病センター、大阪がん予防検診センターなどが立ち並び、大阪府民の保健のメッカといった趣です。

ペ) 本日は宜しくお願い致します。

大) こちらこそよろしく。スタッフはまだ検査の手が空きませんので、後程下の検査室でインタビューしていただけますか。

ペ) わかりました。こちらの血液センターはずいぶん古いんですね？

永) ここは日本で二番目に古い血液センターなんです。開設が中央血液センターの次ですから。そして、売血をいち早くやめました(昭和37年9月、大阪センターは社会的に批判の多かった売血を全国

に先駆けて廃止した：30年史より)。ですから、ここの歴史を語るとかなりの時間を要します。

ペ) 最初からこちらの場所で開設されたのですか？

永) いえ。最初は昭和31年に今の大阪赤十字病院の敷地内に大阪赤十字病院附属輸血研究所として開設されました。こちらに移ったのは昭和46年7月です(『大阪赤十字血液センター30年史』を見ながら)その時はプレハブでした。プレハブから今の建物に建て替えたのが、昭和58年の3月です。別館は平成4年3月です。

南北血液センターは、北大阪赤十字血液センターが昭和59年11月、南大阪赤十字血液センターが昭和60年3月にそれぞれできました。

ペ) どのセンターでもこんな立派な本(『大阪赤十字血液センター30年史』を指して)を出されているのでしょうか？



桜に囲まれた大阪センター

永) どうでしょう? これが大阪赤十字病院の敷地内にあった血液センターです(当時の写真を見ながら)。

ペ) 全然、刷りの感じもちがいますね。森之宮の移転当初のプレハブ写真を見ながら。

これ、森之宮ですよ。永尾先生はいつ頃こちらへいらしたのですか。

永) ここには昭和48年の4月からです。

ペ) 以前はどちらに?

永) 姫路の日赤病院にいました。昭和44年から赤十字で御飯を食べているんです。学校を卒業してすぐからです。その後、大久保所長がまだ検査課長をしておられる頃に、こちらへお世話になり、もう24年です。

ペ) 永尾先生と同期の方は?

永) 大阪センターにはいません。兵庫センターには能勢さんがいます。

ペ) 能勢先生ですか。

永) 学校がね、だけど血液センターに入ったのは違います。僕の方が早かったです。能勢さんを除いて、同期で他のセンターを含めて残っている人はいません。やめてしまいましたからね、日赤病院にはいます。僕がここにお世話になった頃といったら、成分輸血が話題になり始めた時代で、その後、瓶採血からバック採血にかわって本格的に成分輸血時代を迎えました。

ペ) 瓶採血ですか。

永) 当時は確か、全職員が80人位でしたが、今は600人を超えているでしょう。急成長を遂げたわけです。その頃はという訳か、病院に行く人が多くて、血液センターに就職しようって人はあまりいなかったように思います。そんな時代ですから僕は無試験で入れてもらいました。田中名誉所長と短時間お会いしただけでした。それで決まりました。今みたいに正規の試験をされたらとてもじゃないが受かりません。そんな時代でした。特に男性の就職先は、引く手数多の時代でした。

ペ) そんな中で永尾先生は、何故センターを選ばれたのですか?

永) えっ! それはね、大久保所長が好きやった、というだけでした。

ペ) いいですね。そういうの。

永) 病院にいて、広く検査をやっていたから、血液センターに移るについては随分考えました。自分が担当する分野がすごく狭くなるようで、その



永尾検査副部長

頃は今みたいに検査の項目も多くなかったですし、その分、例えば血液型等1つのテーマを深くやれるかなと思いました。その頃、県立西宮病院では能勢さんが辻先生の下でHLAをやっていました。病院の検査を通じて生意気にも、赤血球だけでは患者さんの輸血副作用を完全には回避できないと思うようになってきていますね。もっといろんな事をやらなければという思いが強かったように思います。

永) HLAの検査を始めたのもここは早いんですよ。東京女子医大におられた村上先生の所に赤十字の基幹センター、当時は北海道、中央、大阪、福岡の4センターが基幹センターで、その人達が、赤十字もHLAをやらなければいけないと習いに行ったのが赤十字がHLAを始めるきっかけだったようです。おそらく昭和48年か49年だったと思いますが、大阪センターからは大久保所長(当時の検査課長)が習いに行かれたようです。そのような時に血液センターに移ってきたものですから、能勢さんもやってるし、興味をもっていました。いや、興味以上の、「HLA検査もやらなければ患者を完全には救えない。」と思っていたように記憶しています。単細胞だからそのことが顔に出ていたのでしょうね。「お前HLAやれ」と言われて、村上先生の所でAmos法と言われるトリバンブルーで染色する方法を習われた大久保所長から手ほどきを受けました。(現顧問)

ペ) よく赤の大阪といいますけど、白も早かったですね。

永) 早いには早いんですけど、赤は山口先生がいらっしやったから、赤血球型そのものは大阪が段突に進んでいました。血液事業の本によると、昭和48年1月に血液に関する研究プロジェクトチーム入選の打合せ会が日赤本社で開かれ、1月20日に抗白血球抗体に関する研究班が発足して、同年2月に本社の宮本技官、中央センターの前の所長

の徳永先生、川又先生、当時北海道センターにおられた黒田先生と、うちの久保所長、福岡の前の所長の吉成先生が東京女子医大の村上先生の所で指導を受けたことが初めとされています。赤十字も古くからHLAを行っているんですが、血液事業の表雲となるまでには長い時間がかかっています。HLA適合血小板が業債収載されてその苦勞が報われ、さらに骨髓データセンターの仕事を協力事業とはいえ、血液センターが行うようになってHLAが花開いたという感じです。

大) 永尾先生はいつ頃までHLAをなさっていたのですか。

永) 大谷係長はいつ頃やった？

大) 私は、昭和55年11月からHLAを始めたんです。

永) 大谷係長が始めてからは、自分の仕事としてあまりしなくなったんです。マネジメントが主になりました。

大) やはりトリバンブルーから始められたんですか？

永) 大谷係長が始めたころはエオジンに替えていたと思います。国際的に、テラサキ法（エオジンを用いる）で判定する方向でしたので。比較的早くにテラサキ法に変えましたよ。

大) その時はどちらかに習いに行かれたのですか。

永) 県立西宮病院です。能勢さんがいましたから、49年位だと思います。

クラスIIの検査がまだストローにはなっていない頃です。羊の赤血球を用いてロゼットを作るやり方で、そのために日本のワークショップの成績もよくなかったんですよ。T.Bをストローのナイロンウールで分けるようになって成績が上がってきました。

大) とても貴重な昔話ですね。ところでこちらのラボは2年半前に南・北の赤十字血液センターと検査の集約化が行われたのでしたよね。

永) そうなんです。それまでの検査一課の業務を検査

部という形にして、検査一課、二課、三課という名称で分けたんです。その後、去年の12月に三課が品質管理課と改名して一部三課七係で職員が・・・？

大) 数えてきます。

永) 沢山いると憶えきれなくて（笑い）。

大) 58名です。

大) 南・北のラボの検査の方が皆こちらへいらしたのですか？

永) はい、一緒になりました。南・北と森ノ宮を合せたら80名近くいたのですが、以前は、森ノ宮の検査は一課、二課と分かれていまして、二課は主に試薬製造を担当していました。集約後は試薬製造部として検査から独立しました。それから検査技師をMR活動と言う医薬情報活動の場に配置したりして現在の形になりました。

大) お仕事をなさっていく上で具体的にどのような事が変わられましたか。メリット・デメリットなどお話下さい。

永) 見方によって多分違うとは思いますが、例えば「医療機関の近くに検査室がある方が良い」とか、いう話もありますけど集約化のデメリットはあまり無いように思います。効率良く仕事が出来るとか、血液事業は動きが激しいでしょう、特に最近の動きはサイクルが短いものですから、それに対応しやすいという点もありますでしょ。いろいろな事を見越して将来を睨んで集約化したのだと思います。医療機関にはとにかく迷惑をかけないようにしなければいけないと言う事で、それまで以上に皆意識して仕事をしています。

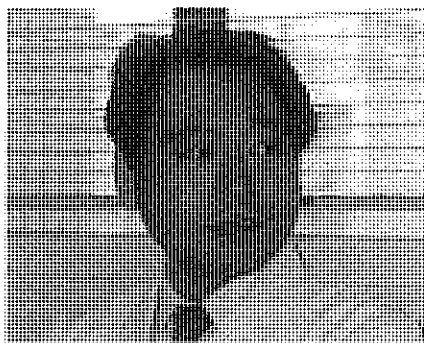
大) そういう意味でも集約化はプラスの方向に働いているのですね。

大) 南北のときは、それぞれで検査をされていたんですか。

永) それぞれでやりました。全部こっちに来て、その時々希望があったのかも分かりませんが、一応その時の仕事状態に影響の出ない形で、各人がもともとやっていた事が出来るような形で、集約化時に極端に仕事に戸惑いが生じないように配慮されました。

大) 遠くなったといっても大阪の場合は輸送とかにそれほど不都合はありませんよね。

永) 他の都道府県と違って、交通網がそんなに不便ではありませんからね。何時間かのずれはあるんでしょうけど。他の県と違って端から端まで移動し



大谷検査一係長

でもたいした事ありませんからね。一滴どまりで移動採血車が行かなければいけない所がありますが、そういう状況は大阪にはありませんから、だいたいその日に出て帰ってきますから。

ペ) そうですよ。

永) 特に検査ではもう落ち着いてきました。集約化をしましてとにかく医療機関に迷惑をかけてはいけないということで、今まで検査はローテーションしていなかったんですよ。しかし今年の4月から少しづつローテーションするようになりました。周りの状況としてはセンターに対する要求が強くなっていますから...血小板製剤などでも出来るだけ早い時期に欲しいとかですね、それに対してセンターがどうして応えてゆくかということが、採れたものをその日のうちにあげていこうというシステムが出来ていないと前に進みにくい状況になってきていますから、その辺が今までとは違った動きとして出てきていますね。

ペ) 今までとは違った動きとはどんなことですか？

永) 私が担当している検査二課に関していえば、HLA適合血小板の出庫時間をもっと早くできないかということです。適合血小板の供給が始まった当初は、献血者数も少ないし、今までできなかったことを血液センターがやってくれるというので医療機関ももう少しなんとかならないかと思っておられても理解を示していただいていたのですが、10年もたつと、他のセンターでは対応してもらえるのになぜなのかというような質問がきたりすることがあります。すべてではないのですが一部に聞かせていただくと意志の疎通を欠いていて、タイムリーに対応できていないと思われることがあつたりします。ですから今まで以上に患者の要望にどうすればタイムリーに応えることができるかといったことを考えなければならなくなってきています。骨髓データセンターの仕事でも同様だと思います。どうすれば一人でも多くの患者に適合するドナーを探せるかということに神経を配らないといけないと思います。

ペ) 各課ではお仕事をどのように分担されているのですか？

永) 検査一課は主に赤血球型とその抗体、ウイルス検査、生化学検査など輸血用血液の出庫に関わる検査を行い、品質管理課は血液センター全体の品質管理に関する業務を行っています。二課では先ほどのHLA適合血小板、骨髓データセンター業

務とか血小板抗体の検査を重点的にやり、検査一課で出来ない特殊な検査を二課でやるようになっていきます。検査二課は僕を入れて16人、58人のうちの16人です。どの仕事をとってもHLAの仕事ですから、HLAの仕事でそんなに人がいるの？とよく言われます。やってるほうはその人数でも必死なんですよ。我々も一生懸命良い仕事をやっているつもりなんですがね、人数的には、他所から見られると羨ましがられますが、現場の人達から見ると人数が足りていないという感覚があると思いますよ。でも僕は口で言っているだけでしょ、現場の人達よりは痛さは分らないですよ。

ペ) 痛さの分る係長、現場ではいかがでしょう？

谷) 発狂寸前です。

ペ) 確か、献血者のHLA抗体スクリーニングは採血本数の5%をスクリーニングするということでしたよね。

永) そうなんです。5%と言っても低い数字の5%なら問題ないんですけど、50万本近い数の5%ですからね。すごい数字ですよ。仮に40万本の5%としたら2万本。年間2万本のスクリーニングをすれば相当ですよ。1日に仮に200本スクリーニングすればしたら100日ですよ。

大) 5%のスクリーニングをやっていると、何本かは陽性が出てくるでしょう。陽性が出たら、血清化して、小分けして、遠心して...仕事の項目は何かわれば「これこれです」と答えますよね、しかし、それにまつわる仕事は見えないんですよ。ですから仕事量として明確に第三者に示しにくいことがありますね。すると、人が多いと結びつけられることになるのですね。

永) 抗血清を集めるためには、誰かがスクリーニングをやらなくてははいけませんよ。

ペ) 皆さんどんどん手を引いていってますよね。お仕事はそれだけじゃないですもん。

永) 他に色々な仕事があるでしょう。ワークショップの仕事があつたりとか、骨髓バンクの仕事があつたり...

ペ) 谷上さんのところは？

谷) 血小板抗原・抗体検査とHLA適合血小板の供給にまつわる検査です。

永) 適合血小板の数はすごいですよ。

ペ) 大学の輸血部などでは、結構大阪センターを意識していますよ。

永) そうなんですか。しんどい目した分、何か良かったなと思えるようなことがしたいですね。医療にフィードバックできるような仕事でなくてはいけませんでしょう。血液事業というのは、やりだしたら長く続けなければいけない使命があるから、やるまでに結構考えますね。それでいて、全国のセンターでやれなければいけないと言う事もあるでしょう。血液事業としてやり出したら途中では辞められない辛さがありますね、責任がありますからね。どういう形にしたら永続的な仕事としてできるか考えなきゃいけない。だから、研究者がやる仕事のように、徹夜してでもやればいいってのは血液事業にはならない。血液事業は決められた時間内で仕事が終わって、そしてまた次の日に仕事をやって、永続して医療機関に迷惑をかけないようにやっつけていかなければならないので、すごく選択肢が狭くなってしまいますね。

ペ) 他のセンターでは思っても現実には出来ないところが多いですよ。

永) 昔がんばってくれてるから。あまり、僕ばかりしゃべっていても、良くないので。他のラボの紹介では、多くの人が喋っているようだから。

ペ) スタッフの方には若い人が多いでしょう。永尾先生のおっしゃっている事を実際に分担するには苦労があるのでは？

谷) 面白く思っただけでやってもらえたらそれでいいんですけど、それに皆さんが興味を持ってもらえたら。今の人は皆さん楽しんでやってくれていると思います。新しいことにものってきますから。

ペ) 平均年齢はどれくらいですか？

谷) ほとんど20代ですよ。

永) そうやな。

大) 僕は谷上さんに比べたら、苦労していないほうですよ。

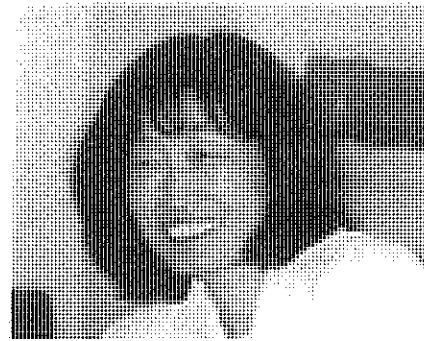
谷) コンピュータの前が長いんですよ。

大) そうですね。ワークショップ関係は、実際に当ててもらうのは下の人にやってもらって、そのデータを加工して、解析して...そう言う意味では作業をしているのだけれど、事務処理が多いなって感じかな。

ペ) スタッフの方にはどんな事を？

大) 問題が起きた時に、「これどうしたらいいですか？」と聞いてきますよね。「どうしたら？」ではなく、「こうしようと思うんやけど」と言って来いって。

ペ) 新しい抗原とかのデータはどうなっているんです



谷上検査係長

か。フロッピーを定期的に入れ換えるのですか？

大) 中央センターのワークショップを最大限活用しています。中央センターのワークショップのなかで、ファイルなどメンテナンスされていきますから。その必要な所と必要でない所を切り張りして、大阪ブロック内の形にもっていきます。あとは半年後くらいにテクニカルインフォメーションにワークショップの報告が出ますよね、その形で細かな所の記録が残っていきますから、日々全部は伝えられないけど、それに付随した事があった時に、例えばA2で反応性が悪い時があったら、こんなものがあるよと一番吸込みやすい時に出すという事はします。

ペ) これから先はどの様に？

永) 難しいんですよ、これから先が。従来の形態のまま血液事業が進むとは考えられないから、様変わりを迫られることがあっても、その時になって慌てないようなラボをね。僕自身は集約化する前は検査室全部見てたので、先取りをして備えておくと言う事をしていました。時代の流れにそって、将来血液事業として必要であると思う検査項目は、自分の判断で所長に了解を得て、研究的に始めていました。血小板でも現実にはそうでしたし、サイトメガロウィルスでもそうでした。サイトメガロウィルスのドナーなんか検査しても意味が無いと言われていた時代にやりました。何が何かを見極めるのが大切ですが。僕ら前半は、先輩が一生懸命がんばって残してくれた赤血球の財産ですごく御飯を食べさせてもらいました。だから僕らも大阪センターという看板を背負って次の世代に“何か”を残さなくてはならないと思うんです。ある時期までは学会報告とか、ある先生のお考えとかを参考にして将来の動きを読む事ができましたね。例えば、HLA適合血小板、血液製剤への放射線照射の必要性、自己血輸血、骨髄移植などで、今それらが大きな意味でやっとな血液事業と

いうルールに乗ったところでして、これからもっと形を整えるために整理をしなければいけない時代かなと思っています。では将来はどんな方向に？と言うと、自分ではまだわかりませんが、しばらくはルールに乗せなければと思っていた仕事に乗ったのですから、それを走らせて整理を見ようかなと、その間で何か違うものが見えてくると思っています。サイクルが速く先が読みにくい時代ですが……。先人の人達が一生懸命やってくれたおかげで、大阪センターの名前が高まり、大阪センターが言ったことは冗談では済まされない事が沢山あると感じることがあります。そういうしんどさを後から入ってきた人は背負わされているわけですね。それは悪い事ではないから、継承していかなければと思っています。今ならサイトメガロの検査が必要だと分かるのですが、最初の頃はサイトメガロの検査をなぜ献血者について行うのか、適合血小板の献血者確保のために行う献血者のHLA抗原検査についても、献血者のHLA検査を調べて何の意味があるのか、何で血小板の検査をするのって感じだったように思います。通常の考え方の中に新しい考えはない。新しい事と言うのは常識の中にはないと思っています。諸般の状況から熟慮してこれはと思うことがあれば『自分でやってみる』と言う行動が先にないと、無駄も分らないし、新しい事も見つからないと思っています。

大) 耳が痛い。

永) 陰性データでも「陰性だから無駄や」と言ってデータを取らなければ、「陰性でした」というその一言が書けないんです、このネガティブデータは無駄ではないんですね。

ペ) 今回のKAMONの最後に永尾語録として、「何でもいいからやってみー！」と書いておきます。(笑)

大) 僕は思っていませんけど、下をどうして納得させるか困りますね、正直いって。副部長から指示を受けるでしょ、自分は聞いた内容で半分理解出来る、残り半分は、何でそこまで膨らむんやって疑問があったとしますね、残り半分をそ

のまま残したまま下に指示を与えると、その半分の疑問が下ではもっと膨らむんです。だから、その半分の疑問を自分がどう理解するか、どう消化できるか、その消化するのに苦勞する時はやっぱりありますね。

ペ) その半分は永尾先生のインスピレーションとか勘なんですね。

大) かも知れませんが。

ペ) なんでうちだけそんな事やるんや、ですね。そんな事が出来るのは何が違うんだろう。他のセンターと？

永) 他は民主主義で、ここは僕の独裁だからでしょ……(笑)

ペ) でもそれをするには資金的にもかかりますよね、事務も理解があるのですか？

永) 先ほどの冗談は別にして、大阪センターは技術に対する理解がすごくありますよ。

ペ) それは珍しいのでは？

永) 珍しいかどうかは分かりませんが、技術に対する理解は大きいですね。それは初代の菊地先生から受け継いで来た事だから、そういう意味では、先人が偉いんです。

ペ) これからも時代を先取りして必要な事をやっていると云う事ですね。

永) 常に医療に求められる職場にしておかなければいけないなと思います。

ペ) 本日はお忙しいところをどうもありがとうございました。



左から吉上博典、高橋さん、橋山さん、菅村さん、石井さん、金管さん、小野さん、宗田さん、大谷係長、永尾副部長、岡さん、上田さん、坂元さん、富田さん

(当日白石さん、遠藤さんはお休みでした。)

それでは下の階におじゃまして、現場のみなさんのお声を聞いてみたいと思います。

永) きっと「地獄のように使われています。」と言いますよ (笑い)

さて下の階 現在時刻4時30分、広い検査室の中では大勢の方が皆さん真剣にお仕事をなさっていらして、声をかけるのはばかられる。以下ご迷惑をかけながら数人の方にQ and Aを試みた。

### まずDNAセクションの方々

Q) 上の方々は「何でこんなことをせにゃーいのか!？」と思うような仕事をさせているとおっしゃってましたが...

A) 理解してましたか。

Q) 無駄になるかもしれないが、それは無駄ではないから「とにかくやれ!」とおっしゃってました。

A) それはそうなんです...

Q) 現実は何?

A) 少し腹が立つんです。

Q) 少しですか?

A) はい。ほんの少しだけです。(笑い)

Q) 入られて何年目ですか?

A) 入社して10年目です。

Q) ずっとHLAですか?

A) 南北センターが集約した時ですから、2年半位です。

Q) 日々のお仕事の御苦労は?

A) 上でインタビューのあったとおりです。(笑い)

Q) ルーチンと研究の比率はどれ位ですか?

A) ほとんどがルーチンです。

大) 結局、ルーチンだけで結果がでるわけではないので、もう少し突っ込んだ形で出さないとデータの安定性がないですね、それが研究的と言えそうですし、それは自分たちのデータの信頼性を高めるためにやっているのだから、意識の上ではルーチンなんです。

Q) お仕事は細分化されているのですか?

大) 昔で回している部分と、ちょっとですけど専任でやってる部分とに分れますけど、今後は皆が皆の仕事が出来ると思っています。新しい仕事もどんどん増えて来ますので、ところがなかなか... 日々の検体数が多いもので。

Q) 1日どれぐらいですか?

大) 週単位でやるようにしていますが、1週間で70~80かな。

### 次に血清セクションの方々

Q) 1日で何検体位を処理なさるのですか?

A) まちまちですが、多い日は100トレイ位読みます。スクリーニングやワークショップもこちらなので、ワークショップの時はもっと多いです。スクリーニングも大阪は採血本数が多いので5%と言っても大変です。

Q) 一番の御苦労は何ですか?

A) 管内にトレイを配るんですけど仕事の合間に入るので、仕事が忙しければトレイも早く無くなるので...

Q) なるほど、お忙しい時ほど余計忙しくなってしまうというのはたいへんですね。

### 次は血小板のセクションの方々

Q) 血小板のセクションで一番大変なことは何ですか?

A) 患者さんに適合したものを必ず持って行かなければいけないので、それを採るのが大変です。相手の患者さんも血小板数が少ないですし、待ってもらう訳にも行きませんので、ドナーを探すのが大変です。

Q) ドナーを探すと言うのは具体的には?

A) コンピュータの端末で在庫の中で検索させたり...

Q) 見つからない事もありますよね。

A) 職員にお願いしたり、登録課に電話をかけ直したりしてもらってます。

永) 皆さんのお苦労の一端がわかりました。ご協力ありがとうございました。

インタビューの間も手を休めることなく熱心にお仕事をこなしておられるスタッフのエネルギーにガッチリ支えられているからこそ、「時代の流れをいち早く察知し、先取りして備えて置く」という永尾哲学が形になっていくのだなあと思感し、ラボを後にしました。