

特集 第9回 組織適合性学会

トータルレポート

長崎県赤十字血液センター 樋口 香織

第9回組織適合性学会大会は平成12年6月1日から2日まで、鹿児島大学医学部の園田俊郎教授を大会長に霧島ロイヤルホテルにおいて行われた。大会メインテーマは「ウイルス感染とHLA」であった。

プロローグ

学会前に思いがけない方からメールが届いた。佐治先生(KAMON 編集長)からである。「こんにちは」から始まるそのメールにはトンでもないことが、書いてあった。第9回組織適合性学会大会特集号になるKAMONの原稿を書いて欲しいというのである。ささやかな演題を提出していた私は「学会に参加しません。」などと、うそをつくわけもいかず引き受けることとなった。きっと私が同じ九州(長崎)の人間であるからご指名されたのだと思う。年はそれなりでも、HLAに関してはひよっこも、ひよっこで学会に参加しても分からないことのほうが多い私のレポートでまともなレポートとなっていますかどうか…

学会前夜

今回の学会は前夜の「佐治先生の新たな出発を祝う会」から始まった。(参加されなかった方ごめんなさい。)ホテルの宴会場貸切での立食パーティは、アットホームで楽しく、本学会を象徴するようであった。佐治先生のレクチャーもあり、参加者には大変お得な会だったと思う。利他行動(KAMON 12号参照)での性選択、「雄はなぜ美しいか？」の問いに対して「雄は雌に選ばれるのであって雌に選ぶ権利はない」という理論に私は思わず「うん、うん。」と大きく背いてしまった。すかさず佐治先生に「今何人かの女性が背いた。」と指摘され、はっと我に返ったものである。選びすぎかしら…?

その後はホテルの部屋の一室で入れ替わり立ち替わりたくさんの方が集まり、遅くまでいろんな話に花が咲いた。どうも、HLAをやっている人はお酒が入ると(編集長を始め)皆さん熱く語り始めるようで、私は昨年の京都の学会に参加してから、いろんな先生方のお話が聞けるこの夜のディスカッションが大好きで、学会そのものよりもこちらの方が楽しみだ

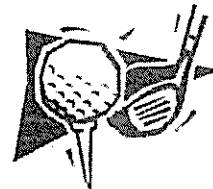
った。幸い今回の学会が行われたホテルはお部屋が広く(一人で使用する部屋に三つもベッドがあった!)、どのお部屋でも皆が集まることができた。私は毎晩遅くまでいろんな方とお話し、学会中睡魔と闘うこととなった。

さて、話が学会からそれてしまったので(できれば触れたくないのだが)本題に戻すことにしよう。

9th JSHI

大会は昨年末、本年初めに相次いでご逝去され本学会に大きな貢献をされた偉大なお二方、村上省三先生、大野乾先生への黙祷から始まった。私は偉大な先生方とはお会いすることはできなかったが、心からご冥福をお祈りしたい。

今回の大会の会場は霧島温泉で、露天岩風呂のある素敵なリゾートホテルであった。しかし、ホテルの周りにはゴルフ場を除けば山しかなく、まさに学会缶詰状態、本学会にふさわしい環境であった。私はゴルフをしないので分からないが、ホテルの部屋からは美しいグリーンが臨め、ゴルフをされる方は学会中さぞかしプレーをなさりたかったに違いない。(学会終了後、土曜日にプレーされた先生方はちょうどその日から九州地方は梅雨入りしたため、大雨で散々だったらしい…。)



学会参加者数は 140 数名と、昨年の京都大会が 320 人だったことを考えるとかなり少なくなって、淋しい気がした。私は血液センターの人間だから、血液センターのことしか分からないが、どこも厳しいために、中央から遠く離れた？鹿児島への出張がおりなかったのではないかと思う。皆さんの関心がなくなったとは思えないのだが、来年の学会もまた九州福岡である。来年はたくさんの方々に参加されることを希望する。

シンポジウム

シンポジウム I は「21 世紀の移植」というテーマで 4 人の先生方から話があった。シンポジウム II はメインテーマ「ウイルス感染と HLA」で 5 人の先生方の講演と 2 人の方の追加発言があった。詳しい内容については小林先生がお書きになられるのでそちらをご覧ください。シンポジウム I では UCLA を昨年退職なさった Terasaki 先生が学生時代からのテーマに戻り「Adoptive Immunotherapy for Cancer」という題で(MHC の抄録集とは内容が変更されていた)流暢な日本語で講演された。退職なさっても、リチャレンジでさらに精力的に研究を続けていらっしゃる先生の情熱に頭が下がる思いだった。シンポジウム II は本大会のメインテーマであり、力が入っていたと思われる。HTLV-1 キャリアが多い長崎出身の私は鹿児島大学屋敷先生の「HTLV-1 と HLA」の話に興味を持てた。HLA 遺伝子の多型が ATL と HAM/TSP の発症を振分けていることを詳細に研究し、すばらしい発表だった。

ポスター発表

今年のポスター発表は 20 題で、7 分発表、3 分討論の発表が 4 セクションに分けられ同時進行であった。昨年とは異なり討論時間がとってあったため、ディスカッションは必ず行われたが(昨年はみんな食事に一生懸命でポスターどころではなかった！)、同じ時間にある他のセクションの発表が聞けなかったのは非常に残念であった。また、昨年はポスター要旨をまとめて希望者に配布したが、私はこれが非常に役に立った。復命書(血液センターだけ?)を書くのにも、データを参照するにも、今でも愛用している。これがなかったのはちょっと淋しい。血液センターの発表はほんの一部を除けば、中央センターがやっているようなもので、私の発表もやらせていただいた感が強いが、小さなことでも発表は発表、たくさんの健常人の HLA タイピングは血液センターの専売特許、来年こそは他のセンターの方々にもできれば発表して頂きたいと思う。

ランチョンセミナー&サンライズセミナー

もうすっかり、定番となっている食事をしながらのセミナーである。普通は共催メーカーの製品の紹介などが入るが、第1日目のランチョンセミナーは違っていた。「異種移植の現状と展望」という演題で名古屋大学の林衆治先生の講演である。セミナーというより、教育講演と言うべき内容だった。鹿児島という開催地にふさわしく(?すみませんつい、黒豚を想像してしまいました実際は違います)、人間と種が遠い豚の臓器を移植に使用する研究などが紹介され、脳死移植が遅々として進まない日本において豚はそのサイズと家畜としての飼育の簡便さにより、これからの臓器移植において有効な手段のひとつとなり得ると考えられた。

第2日目のサンライズセミナーは東海大学の成瀬妙子先生による「疾患感受性遺伝子検索のための SBT-HLA クラス I 遺伝子を中心に」であった。朝早くからであったが、楽しい成瀬先生の講演はすんなりと頭に入った。疾患感受性は HLA が 100 種以上関係していると言われている。疾患感受性解析に SBT(sequencing based typing)法を用いる利点は SBT が究極の HLA タイピング法(PCR 産物のすべての塩基配列を直接特定可能)であり、高精度の 4 桁以上のタイピングとホモ、ヘテロ接合体の確定が可能である点にある。高精度のタイピングの意義は疾患感受性因子に HLA そのものが関与している場合でも、HLA 近傍に位置する責任遺伝子と連鎖不平衡の関係にある場合でも、より、詳細なアレルの特定が重要であるからである。

将来 DNA タイピングは SBT に変わっていくと思われるが、今回のセミナーでも PE バイオシステムジャパンは泳動時間の短い新しいシークエンサーを紹介し、ランチョンセミナーでベリタスは今年の秋から取り扱いを始める Visible Genetics 社の新しい SBT システムを紹介した。Visible Genetics の SBT システムは小型で泳動時間も短く小規模ラボには合うのではないかと気がしたが、日本発売前はまだ、検討が十分になされているとは言えないようであった。SBT の今後の課題としては、どちらも高すぎるタイピングコストの削減と、操作時間の短縮、タイピングキットの開発および改良と判定ソフトの改良が求められた。

機器展示説明会

今年はメーカーブースでの機器展示に対し、時間をとってそれぞれ説明があった。(昨年のように DNA typing kit コンベではなかったので少々分かりにくかった。)ブースの大きさから考えると参加者の方が圧倒的に多く、聞きとりにくい点も多かった。興味があることについては説明会が終わった後、時間を十分にとってあったため個人的に質問することで解決できた。

口演発表

2日目は18題の口演発表が行われた。ポスターと同じく7分発表、3分討論であったが、討論が長引き時間がどんどん押すことになった。そのために午後から行われた第4回HLA QCワークショップに十分時間がとれない状態となった。リアルタイムPCR産物自動検出器を用いた演題が3題あり、その有用性と自動化の波をひしひしと感じた。

第4回HLA QCワークショップ

学会主導のHLA-DNA typingのQCも、今年で4回目となった。参加施設も昨年の61施設から68施設となり、クラスIタイピング参加施設も昨年の29施設から、39施設へ増加した。クラスIIのタイピングでは約半数の施設が2法以上を組み合わせてタイピングしていた。また今回もキットを使用した場合、スコア化した生データを報告しており、各キットの評価も行われた。キットの種類も増えており、1つのローカスを複数の原理的に異なる方法でタイピングすることが可能であり、高精度のタイピングを行うには複数の結果を組み合わせて判定することが必要であると思われた。アレルの表記方法の不一致があり、改めて学会で統一表記を確認した。詳細はMHCの報告を参照されたい。

また、日本人のクラスIにみられるアレルと抗原の対応の関係についての報告が中央血液センターの田中さん、柏瀬さん、神奈川センターの中島さんからあった。これは血液センターのみならず、皆さん興味あるところだと思うが、残念ながら時間の都合で討論時間はとられず、プレゼンテーションのみであった。この報告はJSHIのホームページにスライドの掲載があるのでそちらをご覧ください。

QCワークショップは時間の都合上、駆け足で過ぎた感じがした。来年は学会前日に開催予定であり、十分に検討されるものと考えられる。また、まだまだHLA-DNAタイピングを行っている施設で参加していないところがたくさんあると思われる。施設によっては参加に制約がかかる場所もあるかとは思いますが、できるだけ来年は参加していただきたい。

総会&etc.

前日の懇親会の席で組織適合性学会の新会長に日赤中央センターの十字猛夫先生が選出されたと報告を受けたが、ご辞退なさり、新会長は東海大学の猪子英俊先生となった。また、会計報告によると、この学会はなんと赤字であり、来年から年会費の値上げが決定した。個人会員 ¥7,000-、評議員 ¥10,000- となった。皆さん滞納しないように…

来年の第10回大会は平成13年11月1日(木)、2日(金)にアレルギー学会に引き続き、九州大学の笹月健彦先生を大会長に福岡市のシーホークホテル&リゾートで行われる。

通常より遅い開催になるため、たくさんの発表を期待する。

また、再来年開かれる第11回大会は第7回AOHと共催で東海大学の猪子英俊先生を大会長に平成14年9月17～20日開催されることも発表された。今から楽しみである。

最後に大会長から、ウイルス学、疫学など他領域との交流を深め組織適合性学会のさらなる発展を望むといった内容のご挨拶があり、私も強くそう感じた。MHCはいろいろな学問の原点となりうるので、たくさんの分野からこの学会にも参加していただけたらと思った。

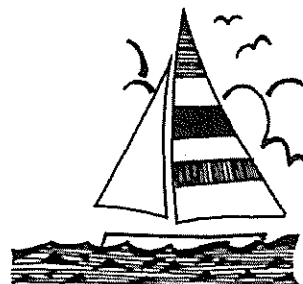
エピローグ…学会を10倍楽しむ方法…

下手な文章を最後まで読んで頂いて有難うございます。内容的には何にもないので詳しくはお近くの大会参加者にお尋ねください。(佐治先生のご指名で書いたものの先生の意図から外れ、きっと次はないでしょう。)

幸運にも昨年から続けて参加できて私が強く感じたのは、この学会は非常にアットホームで誰もが誰とでも話をできる点がいいと思う。それは抗血清を互いに持ち寄ってきた昔からの気風によるものかもしれないが、そうそう見かけられるものではない。私はそれが楽しくて楽しくて発表や文章を書くことはやりたくはないが、学会大会には参加したいと思ってしまう。この会には聞いているだけでも楽しい夜の部がある。アルコール・メディエイトド・ディスカッションであるから先生方の本音トークが聞けるし、時間に制限はない。これに参加しない手はない。参加方法は簡単で、話を聞きたい人のそばに自分から行けば良いのである。これで学会が10倍楽しくなるに違いない?!(来年夜の部がなくなりませんように…)来年はたくさんの皆様の参加で学会をさらに盛り上げてほしいと思う。では最後に一言、

第10回の組織適合性学会は来年11月に福岡である
っちゃうが。そこでまたみなさん、会いたかねー!

(博多弁指導 福岡BC Kさん) ということで…



シンポジウム報告

防衛医科大学校検査部

小林 賢

第9回日本組織適合性学会大会は「ウイルス感染とHLA」をメインテーマとして開催されました。シンポジウムは大会初日の6月1日に「21世紀の移植」と「ウイルス感染症とHLA」というテーマで開催されました。シンポジウム「21世紀の移植」は4人の先生方により講演されましたが、Terasaki先生は、急きょ「Adoptive immunotherapy for cancer (腫瘍養子免疫療法)」というタイトルに変更されています。この先生方が講演された内容についてまず順を追って解説していきたいと思います。次に、シンポジウム「ウイルス感染症とHLA」について概説したいと思います。

シンポジウムI「21世紀の移植」

I Adoptive immunotherapy for cancer (Paul I. Terasaki)

移植の成績に直接関係するHLAの研究をされる前の大学院時代にうさぎのガン細胞に対する免疫の研究で50年前に博士号を取得されています。

1969年に、はじめてガン患者にHLAが一致した兄弟間輸血が行われましたが、効果はみられませんでした。1970年頃にはいろいろなタイプのガン患者にHLA一致の兄弟から白血球フェレーシスで採取したリンパ球の輸血が試みられましたが、ガン細胞に対する効果は認められませんでした。また、GVHDもみられませんでした。次に、胸腺リンパ球の輸血を試みたところ、ほとんどの患者でGVHDがみられました。また、4例中1例の卵巣ガン患者で良好な効果が認められました。

転移性乳ガン患者にHLAの一致した兄弟をドナーとして骨髄移植を試みたところ、良好な結果が得られました。このことは、骨髄移植が移植片対ガン効果のあることを示しています。しかしながら、従来からの骨髄移植だと大量の放射線照射や化学療法を行うため、患者に大きな負担をかけてしまいます。骨髄移植を受けたCML患者の再発例にドナーのリンパ球を輸血したところ約80%の患者で治療効果が認められました。しかしながら、AMLとALLには効果がほとんどありませんでした。このことは、白血病細胞が免疫機構

を介してリンパ球により破壊されていることが考えられます。骨髄移植を行わなくてもリンパ球輸血で患者を救える可能性が示されたこととなります。ヨーロッパ骨髄移植登録機関からのデータでもCMLに対してdonor lymphocyte transfusion (DLT)が効果的でした。しかし、AMLやMDSでは、やはり効果がみられませんでした。すなわち、移植片対白血病(graft versus leukemia; GVL)効果はCMLにのみ認められることとなります。

弱い放射線照射のみでドナーのリンパ球を白血病患者に輸血するミニ移植で26例中22例が生存し、21例はdisease freeであります。このことから、白血病の治療に大切なのはリンパ球であると考えられます。また、ガン患者にも同様のミニ移植を実施して効果が得られています。これらの結果から、Terasaki先生はNK細胞を用いた養子免疫治療がガン患者に対して効果的があるか研究をつづけていきたいと考えておられます。この研究に興味をもたれた方、あるいはTerasaki先生に連絡をとりたい方は、teraski@terasakilab.orgにメールをしてください。

II 日本の骨髄移植 (十字猛夫)

日本における骨髄移植のドナー登録は、骨髄移植推進財団を通じて行われています。日本赤十字社は、そのドナーに関するデータ管理とHLAタイピングを行っています。登録されたデータはインターネットから適合者を探すことができようになりました。原則とし

て 6 抗原マッチのドナーが探しだされますが、見つからない場合には 5 抗原マッチで 1 抗原ミスマッチのドナーも提示されるようになっていきます。ドナーの登録数は 2000 年 6 月で 15 万人を越えました。このドナー登録しているボランティアの性別と年齢層をみると、20 才代の女性の多いことがわかります。登録しているドナーであっても実際に移植となると親からの同意が得られないなどの問題で応じてくれない方もでてくる場合があります。実際の移植件数は 1999 年で約 500 件と、年々増加傾向にあります。

移植成績をみてみると、アレルレベルでクラス I の HLA-A ミスマッチと HLA-B のミスマッチ移植は、完全マッチ移植に比較して有意に移植成績の悪いことがわかりました。また HLA-DR と HLA-C ミスマッチは完全マッチとほとんど差がないこともわかりました。しかしながら、HLA-DQ については多少の差が認められるものの、統計学的な有意差はみられていません。

現在の骨髄移植のドナー登録数は、HLA 抗原頻度から計算して 70 から 80%の確率で適合したドナーが見つかるように 10 万人と目標を定めていましたが、アレルレベルで適合者を同じ確率で見つけ出すためにはその 3 倍、すなわち 30 万人のドナー登録が必要となると考え、現在その体制で推進しています。

III 日本の臓器移植 (吉田孝人)

移植は、その国の総合文化の上に成り立っていると、吉田先生は考えておられます。その総合文化は、総合された人類の理想を実現して行く、精神の活動、総合された生活様式およびそれに関する実現と定義することができます。これを支えていくものとして宗教、哲学、思想、文学、科学、医学、政治学、社会学、経済学などがあります。当然その中には日本人の人生観や死生観といったものも含まれます。日本における総合文化は脳死移植を推進していくところまで到達していないと考えられます。

今まで移植は、HLA タイピングによって適合性が検査されたドナーとレシピエント間で機能的に問題のない生体あるいは心停止後の臓器が移植されてきました。日本では移植を望んでいる患者数は年々増加する一方で、提供できる臓器が圧倒的に少なく、それを補うためにも新たな供給源が必要となります。その問題を臓器の側からみた場合、(1) テーラーメイド移植、(2) 胚性幹細胞 (ES 細胞) からクローンの臓器移植、(3) レシピエントに合わせた異種移植、(4) 人工臓器、

などといった項目が浮き上がってきます。自己の胚性幹細胞 (ES 細胞) を生体外で分化させて目的とした細胞・組織・臓器を造り出すという技術が開発されてきています。ごく最近、臓器が形成される際、細胞のある決まった方向に導くガイド役のタンパク質分解酵素の存在が線虫の研究から発見されています。このような技術によって、今までは他人からの細胞・組織・臓器が移植されていましたが、今後は万能 (多能) 細胞を使用した再生移植が行われるようになる可能性があります。

一方、生体側からみた場合、(1) レシピエントにおける免疫系の変革、(2) 特定の抗原に対するトレランスの誘導、(3) 特定の微生物のみを排除、などがあげられます。また、これらの問題を解決するために新しい免疫抑制剤の開発やテーラーメイドのワクチンなどの開発が望まれることとなります。

吉田先生の 21 世紀における日本の臓器移植に関する希望・予測は、「我々が創生する新たな日本の総合文化の上に進展し、同種移植と異種移植が共存して行くことになる、と同時に自家 (同系)、同種、異種の生物材料と人工材料の共生によって創生された組織、臓器による再生・移植医療が進展し、また平行して人工臓器の進歩はこれらを支えることになる」と思われています。

IV CMV と臓器移植 (榮鶴義人)

サイトメガロウイルス (CMV : cytomegalovirus) は、日本人成人の約 80%が感染している極めてありふれたウイルスです。通常は、我々の感染防御システムによって CMV の活性は抑えられていますが、ガン、臓器移植やエイズ患者などでは免疫システムが低下しているため、CMV の再活性化が起り、肺炎、消化管潰瘍・出血、網膜炎、脳炎、肝炎などといった病気を引き起こすこととなります。この感染防御メカニズムの中で CD8⁺ CTL などの細胞性免疫がもっとも重要な役割を演じています。

同種骨髄移植における CMV 感染症は、移植後およそ 1 から 3 カ月で起こります。また、CMV 感染は GVHD と密接に関連していることがわかっています。この CMV 感染は、同系あるいは自家骨髄移植患者ではほとんど起こらないのに対し、同種骨髄移植の患者では約 30 から 40%に起こり、しかも間質性肺炎を起こします。

CMV 感染があると移植片の生着が悪いということがあります。そのひとつに骨髄前駆細胞がストローマ

細胞から CMV に感染すると骨髄抑制が起こるといわれています。血液前駆細胞に CMV が感染すると分化が起こらなくなると考えられています。

腎臓などの固形臓器の移植患者での CMV 感染症の危険因子としては、ドナーおよびレシピエントの CMV に対する血清学的な抗体の有無、免疫抑制剤の種類、移植臓器の由来（生体もしくは死体）、HLA マッチングの程度、および輸血の種類と量などがあげられます。ドナーが抗体陽性でレシピエントが抗体陰性という組み合わせの場合、90 から 100% の高率で CMV 感染症を発症し、しかも、肺炎など重篤な病態を示すことが多いといわれています。また、移植臓器が死体由来の場合に CMV 感染症が起こりやすいといわれています。免疫抑制剤では、リンパ球に細胞傷害を引き起こすような抗 CD3 抗体の使用や高濃度のステロイド剤の使用が CMV 感染症発症の危険因子と考えられています。さらに、CMV の再活性化には免疫低下と同種免疫反応を伴う場合が多く、HLA 適合性の程度は CMV 感染症の発症頻度に大きく影響すると考えられます。

CMV 感染症が起こると、拒絶反応以外の理由で移植臓器がダメージを受けることが知られています。すなわち、腎での glomerulopathy、肝の胆管硬化症、および、心の冠動脈のアテローム性動脈硬化症などが CMV 感染によって起こると考えられています。

シンポジウム II 「ウイルス感染と HLA」

I. ウイルスの進化 (五條 孝)

細胞性免疫の主役的役割をもつ HLA にとって次々と抗原性を変化させていく病原性ウイルスは大敵です。このような抗原の変化は、病原性ウイルスの遺伝情報の変化であり、進化学的には突然変異と自然淘汰によって引き起こされていると考えられています。

HLA クラス I 領域の SNPs はその周辺の遺伝子領域よりも 80 倍もの多型性が存在しています。この SNPs の多型性はクラス II 領域でも同様でした。また、それが機能遺伝子のみならず、その周辺の領域でも同様な結果が得られています。さらに、HLA クラス I タンパク質の立体構造から知られる抗原認識部位 (ARS: Antigen Recognition Site) の他に、もう一つ新たな ARS が存在する可能性が極めて高いことがわかりました。

HIV の *env* 領域の塩基配列についてアカゲザル、

アフリカミドリザルやマンドリルなどの情報を含めて系統樹解析した結果、チンパンジーのウイルス集団とヒトのウイルス集団は混在してみられることから、ヒトとサルとの間でウイルス感染があったと考えざるをえません。

HIV ウイルスの変異を時系列的に追ってみると、特定の時期にだけ非同義置換（アミノ酸を変化させる塩基置換）が統計学的に有意に存在します。次に、*env* 領域の V3 領域の変異が機能的アミノ酸部位に集中していることがわかりました。したがって、体内における進化過程も機能的アミノ酸部位を変化させて、宿主の免疫防御システムから逃れていると考えられます。

HCV 感染者の夫婦間感染を系統樹解析した結果、84 組中 1 組しか見つかりませんでした。すなわち、C 型肝炎の夫婦間感染は、極めて少ないと考えられます。針刺し事故などの場合、それが事故によるものなのか、それとも最初から感染していたのかを判定することは困難です。系統樹を作成することで、事故によるものなのか否かを証明することができます。

HCV と HGV はもともと植物に存在していたウイルスが昆虫を介して動物に移り、そしてヒトに感染してきたという見方が系統樹からできます。

遺伝情報を著しく変化させて宿主の免疫機構から病原性ウイルスが逃れるには、タンパク質のアミノ酸変化を好むような正の淘汰が働くことが必要と思われる。

同義置換と非同義置換数の比較から、正の自然淘汰を受けている可能性のある遺伝子ファミリーは、全体のわずか 0.5% 程度に過ぎませんが、そのほとんどがウイルスの表面抗原などの機能タンパク質です。また、HIV やインフルエンザウイルスの表面タンパク質の各アミノ酸サイトを調べると、それぞれ十数個にわたるサイトで正の自然淘汰を受けている可能性があることがわかりました。そのほとんどが実験的にエピトープと同定されたサイトに相当することがわかりました。

塩基置換またはアミノ酸置換から得られた系統樹解析を時系列的に見ると体内あるいは感染過程における変異の蓄積過程を追跡することができます。どの部位に正の淘汰が存在するのかをウイルス側と宿主側とを比較しながらその相互関係のあり方を進化学的にみていくことが今後重要になってくるものと思われます。

II. Epstein-barr virus infection and HLA (Maria G. Masucci)

EBV はヒトにおいて広くみられるヘルペスウイル

すで、その感染率は90%を越えています。EBVはヒトや霊長類のB細胞の増殖を *in vitro* で誘導することが知られています。骨髄移植患者におけるEBV感染率は健康なキャリアに比べて2から50倍高いことが示されました。また、T細胞が潤滑された骨髄移植患者や潜在的免疫不全症患者でより高いことが示されました。

EBV感染は、ドナーのEBV CTL 施与後に減少しました。その効果は、CTL 培養細胞の特異性と相関すると思われます。CTL 療法後のEBV感染の再活性化に続いて自発的な退行が起こります。循環EBV感染細胞はLancy-Iを発現しますが、CTL溶解に対して感受性がないと思われます。EBV特異的応答の抑制は、リンパ組織における感染B芽細胞を増殖させます。これらの細胞は、循環中に入る静止B細胞に分化させる能力を維持しています。EBV特異的CTLの受動輸送は、リンパ臓器内で増殖を誘導されたEBVのコントロールを再構成します。

HLA-A11の頻度はアフリカ、パプアニューギニア、中国で違います。またウイルスの正の淘汰率が違っています。HLA-A11が多いパプアニューギニアではEBNA4という遺伝子産物がセレクションに関わっています。

III. HPVとHLA (藤吉利信)

子宮頸がん発症においても、HPV感染とHLA遺伝子多型などの宿主要因の関与が考えられています。藤吉先生らの研究は、鹿児島県地方に在住する日本人の子宮頸がん患者群のHPV感染とHLAアレルを調べるとともに、子宮頸がん発症率が先進国の5から10倍高いことが報告されているポリビアの子宮頸がん患者群と比較することにより、子宮頸がん発症におけるHPV感染とHLAの遺伝背景を明らかにしようとしたものです。

この研究は、鹿児島県地方の子宮頸がん症例104例と175例の健康正常人を対象としています。

子宮頸がん症のHLAアレルは、HLA-DRB1*0401 (2.4% vs 0%, $P < 0.007$) と DQB1*0402 (7.7% vs 2.6%, $P < 0.009$) が健常群に比して統計学的に有意に高頻度でした。一方、HLA-DRB1*1302 (2.4% vs 7.1%, $P < 0.019$) と DQB1*0604 (1.4% vs 2.1%, $P < 0.002$) が有意に低いという結果でした。また、HLA-B*44 (3.8% vs 9.1%, $P < 0.03$) の頻度が低い傾向でした。これらの結果から子宮頸がんのリスク因子としてDRB1*0401、およびDQB1*0402を防御因子として

DRB1*1302、およびDQB1*0604がそれぞれ考えられます。しかしながら、ここで問題は、感受性因子の頻度が2.4%と7.7%しかなく、残った90%の患者のリスク因子が何なのかということです。

HPV DNAのタイプを比較してみると、ポリビアでは31型が最も多いのに対し、鹿児島地区では、16型が優位という結果でした。ただ、ポリビアにおけるHLAタイピングが終了していないということなのでHLAの相関については、はっきりしていません。今後の研究に期待したいと思います。

IV. HIVとHLA (滝口雅文)

一般的なウイルス感染症ではCTLと抗体の免疫作業でウイルスを排除してしまいましたが、HIVの急性期ではCD4陽性T細胞の数が急激に下がり、その結果として抗体産生が遅れてしまいます。しかしながら、CTLは比較的早い時期から誘導されてきます。それにもかかわらず、何故HIVは急性期に免疫系からエスケープするのかはまだはっきりわかっていませんが、ヘルパーT細胞の機能が下がるということが重要なのではないかとされています。

HIVは宿主の免疫機構からエスケープするメカニズムとして、(1) 特異的なCTLが初期の段階で誘導されても、ある時期を過ぎて変異がすすむとエピトープ上に変異が起きて、CTLが認識できなくなる、(2) Nefタンパク質によってHLAクラスI分子の細胞表面への発現をdown-regulateさせるCTLの認識ができなくなる、(3) CTL自身がアポトーシスを起こして数が減少してしまう、ということが考えられます。

HLA-B35は抗原提示をしにくいのに対し、A24やB51は提示しやすいのではないかと考えられます。しかしながら、実際にはリバース・イムノジェネティクス法によりB35に決して抗原提示されないわけではありません。また、B35が特定のCTLが少ないわけでもないことがわかりました。

6種類のエピトープに対してHLA-B*3501の四量体を作製し、HIV感染者の末梢血単核球中に含まれるHIV特異的CD8陽性T細胞をフローサイトメトリーで測定した結果、このような細胞が数%認められました。また、ここで認められた細胞はCD28陰性・CD45RA陰性のキラー活性を有している細胞であることがわかりました。

T細胞に感染するウイルスが使用するCXCR4レセプターが陽性でCD4が陽性であるT細胞に感染させて解析した結果、Nef陽性細胞はクラスIの発現を

down-regulate することがわかりました。しかしながら、この down-regulation は細胞の末期でしか認められないことから、これだけで HIV の免疫機構からのエスケープが可能になるとは考えられません。

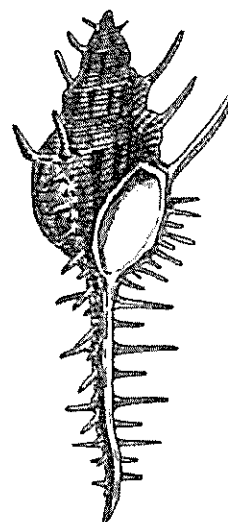
V. HTLV-I と HLA (屋敷仲治)

成人 T 細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) はヒトレトロウイルスの一種で、human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) の感染によって引き起こされる白血病のひとつであります。ATL と HTLV-I 関連疾患 (HAM/TSP など) は、九州南西部、沖縄、四国、紀伊、三陸、東北、北海道に多くみられます。同一家族内、あるいは患者に ATL と HAM/TSP が併発することは極めてまれですが、ATL と HAM/TSP は同じ HTLV-I 感染が原因であることから両疾患の振分け要因として宿主の免疫遺伝要因の関与が考えられます。ATL 患者では、HLA-A*26, B*4002, B*4006, B*4801, DRB1*0901, HAM/TSP 患者では A*24, B*07, DRB1*0101 が高頻度に認められています。ATL 患者とその家系では日本人にまれなハプロタイプ A*26-B*4006-DRB1*0901, A*26-B*4002-DRB1*0901, A*26-B*4002-DRB1*1401, A*26-B*15-DRB1*1406, A*24-B*4801-DRB1*1401, A*24-B*4801-DRB1*1501, A*02-B*4002-DRB1*1401, A*31-B*51-DRB1*0901 が高頻度に認められます。一方、HAM/TSP の家系では日本人に特徴的なハプロタイプ A*24-B*07-DRB1*0101, A*24-B*52-DRB1*1502, A*02-B*4601-DRB1*0803, A*24-B*5401-DRB1*0405, A*24-B*5901-DRB1*0405, A*02-B*1501-DRB1*1201, A*02-B*1501-DRB1*0406 と、ATL 家系でみられたまれなハプロタイプをヘテロ接合でもつことが明らかとなりました。

ATL 患者に高頻度でみられる HLA-A*26, B*4002, B*4006 分子は、HTLV-I のウイルスタンパク質である Tax タンパクをまったく認識できないことが明らかになりました。そして、これらの HLA を保有する ATL 患者は非保有者に比して、11.3 歳早く ATL を発症していることがわかりました。すなわち、ATL 患者は Tax タンパクを認識する CTL が作動できず、HTLV-I 感染 T 細胞の増殖を許容している可能性が考えられました。一方、HAM/TSP に高頻度でみられる HLA-A*24, B*07 は Tax タンパクをよく認識し、CTL が誘導されやすく、HTLV-I 感染細胞の増殖を阻止していることも明らかになりました。

CD4⁺ T 細胞の免疫応答でも ATL 患者に高頻度でみられる DRB1*0901, DRB1*1401, DRB1*1406, DRB1*1501 分子は HTLV-I Env 抗原に対し低応答性でしたが、HAM/TSP 患者に高頻度でみられる DRB1*0101, DRB1*1502, DRB1*0803, DRB1*0405 は高応答性でした。

まとめますと、ATL 患者では HTLV-I Tax 特異的 CTL の誘導と HTLV-I Env に対する抗体産生が弱く、HTLV-I と感染 T 細胞を排除することができないため ATL の発症リスクを高めることになると考えられます。一方、HAM/TSP 患者では HTLV-I Tax, Env に対する CTL と抗体産生の誘導がよく、HTLV-I 感染 T 細胞の増殖を抑え ATL の発症リスクを低めている一方で、自己反応性 T 細胞クローンや交叉反応性抗体を誘導して HAM/TSP の発症リスクを高めている可能性が考えられます。すなわち、HLA アレルの多型性が HTLV-I 抗原の認識と T/B 細胞の免疫応答の強度を規定して ATL と HAM/TSP の発症を振分けられていることが推定されました。



特集 第9回 組織適合性学会

特別講演及びHLA関連

福岡県赤十字血液センター 河賀 泰子

特別講演

ATLの民族疫学：南米に渡った古モンゴロイドの病気 愛知県がんセンター研究所田島和雄先生

田島先生の御本職はコモンの癌疫学であり、環太平洋文化圏における癌予防の発展をそして日本がそのコアになれるよう目指していらっしゃるとのことでしたが、20年前の研修テーマ「ATL」については、以来持続研究をされていたとの事です。以下は講演内容から抜粋したものです。

民族疫学ということで、民族の定義は複雑であるが、癌予防のほうから見ると主に環境要因を共有している集団としてとらえる。すなわちそれぞれの文化が根ざしたものである。そこには host specificity も共有するが、研究が進むにつれ民族間の heterogeneity よりも個人の heterogeneity が強いことがわかり、民族特異性という考え方はトーンが下がってきた。

ATLに関して20年間やってきた事は、ATL、HTLV-Iの全国分布調査、自然感染経路を明らかにする事、アジア・太平洋地区のHTLV-Iの分布調査、母親からの授乳による児への感染防止、モンゴル集団を対象として anthropologic genetics の調査、南米のミイラにおけるHTLV-Iの存在確認等があるが、今回は後半の2つについて講演する。

病理標本からATLの存在がわかり、ATLの分布を見ると対馬、五島、長崎、宮崎、鹿児島、沖縄と九州地区にクラスターができ、五島、対馬においてHTLVの母児感染予防を行った(図1)。

HTLV-Iは日本の南部を中心にクラスターが

得られるが、アイヌの人達のサンプル中にも存在した(図2)。

しかし、朝鮮半島、中国、インドネシアまではほとんど存在せず、日本人に対して見られるウィルスであるが、視点をアメリカに向け、南米の人達に対してHTLV-Iの存在を調べた。4000近い血液を調べた結果、HTLV-Iの分布はアンデス、南コロンビア、北チリ、北アルゼンチンに沿って存在し、ローランド等にはHTLV-II型しかないことがわかった(図3)。日本とチリのATLとHAMの数を比較すると、日本はATL↑HAM↓であるのにチリでは反対であった。臨床的に見てATLは男性に、HAMは女性に多い(表1)。

HLAタイピングの結果を見るとHTLVのI型とII型のルーツは違い、またアンデスとオリノコのHAMのタイプをみると全く違う。アンデスは九州のATLグループ

表1 Comparison of Clinico-epidemiological Features between ATL and HAM infected with HTLV- I in Japan and Chile

Comparative item	Japan*		Chile**	
	ATL	HAM	ATL	HAM
Period registered	1988-93	1987-94	1989-92	1987-90
Number of cases	2,200	1,103	8	45
Average age at onset (Range)	58.5 (19-89)	45.2 (5-80)	51.8 (24-78)	47.2 (20-67)
Sex ratio (M/F)	1.22	0.46	1	0.45

* New cases were collected by nationwide registry from hospitals.

** Reported cases rather than nationwide study from references.

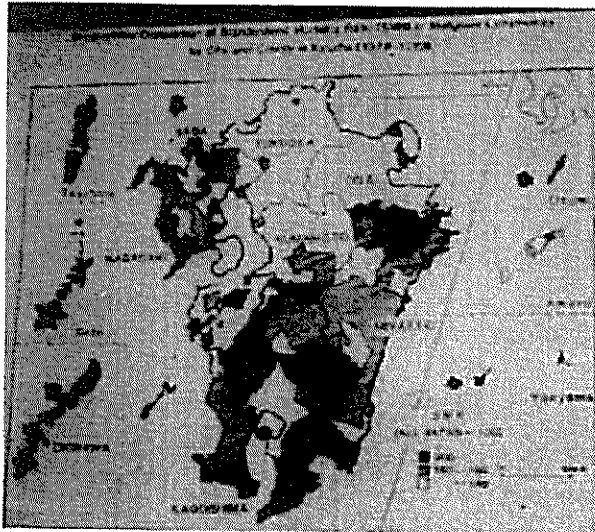


図1. Geographical Comparison of Standardized Mortality Ratio (SMR) of Malignant Lymphoma by City and Country in Kyushu (1978-1982)



図2. Geographical Distribution of HTLV-I in Japan

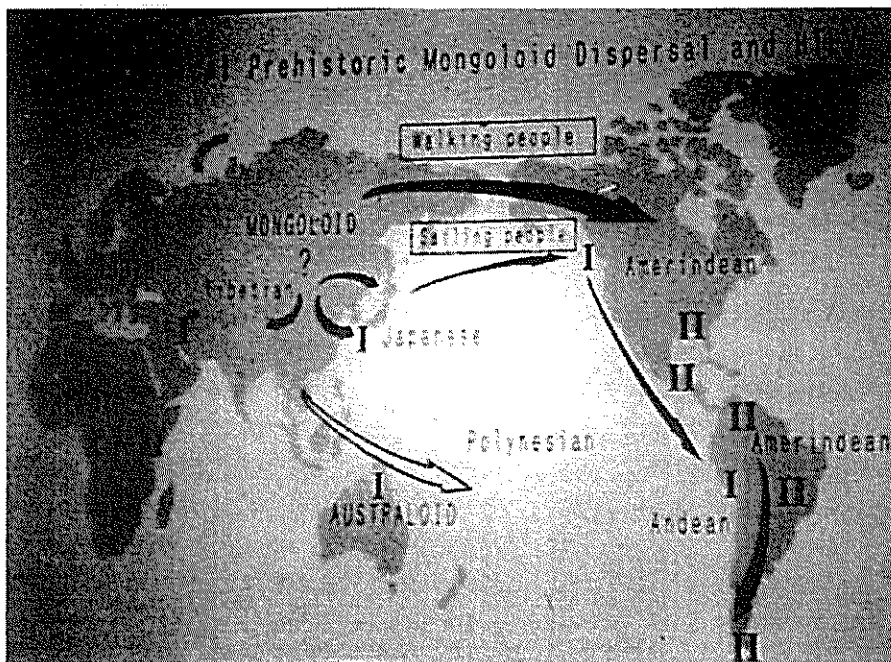


図3. Hypothetical Prehistoric Mongoloid Dispersal and HTLV

に近いHLAを持っており、HAMとATLがミックスして見られ、インカ帝国にはHTLV-Iの分布があったと考えられる(表2)。

チリ北部、ペルーの南部、ボリビア東部の砂漠地帯はミイラが埋蔵されているが、1500年から500年前のミイラ104検体についてDNAを抽出しHTLV-Iを調べた。うちサンベトロから得られたミイラ骨髄から2検体にHTLV-Iの110bpのバンドが得られた。内1例は159bpのバンドも陽性であった。LTR部分のシーケンスを見ると、日本、アイヌ、コロンビア南部、アルゼンチン北部、チリそしてミイラの検体において2、3のミューテーションが見られるのみであった。南米アンデスの遺伝的背景、HTLV-Iタイプ、1500年前のミイラのHTLV-Iのシーケンスから、一連のつながりが見られる。また1998年、南米のミイラ博物館でのシンポジウムで、日本の縄文土器と南米のインディオが住んでいるパーテビオの土器の文様がそっくりである事が報告された。

HTLV-IIは北米、南米に存在するが、I型は氷河期にモンゴロイドが移動して伝わった。また別に海岸に沿って移動し、I型は伝播していった。さらにポリネシアにはHTLV-Iのクラスターは無いが、イースター島には

HTLV-Iがあり、アンデスから移動した人々であることが遺伝学的にわかった。

これらHTLV-Iに関しては日本人とのつながりは環太平洋にそって存在する。あとはチベット方面のモンゴロイドについて研究して行きたい。

追記：1985年、その当時は日赤にもATL研究班があり福岡センターの前田所長が班長をやっていらっしゃった事を思い出しました。それから10数年余を経過した今、疫学的に展開された発表内容を見聞きし人間の移動能力及び付随するウィルスについてのしたたかさを感じたのは私だけでしょうか？

表2 Frequency Distribution of HLA-haplotypes in Japanese and Amerindians

Haplotype DRB1/DQB1*	Japanese			Amerindians		
	All Japan (732)	HAM (110)	ATL (68)	Andes (28)	Orinoco (58)	N.A. (86)
0901-0303	15.3	8.2	23.5	10.7	0.0	5.8
0802-0402	1.2	0.9	5.4	26.7	1.7	7.0
0403-0302	2.2	0.9	4.8	10.7	0.0	1.2
1406-0301	1.9	0.0	2.9	10.7	0.0	2.3
1501-0602	6.7	2.7	10.3	0.0	0.0	3.5
0407-0302	0.8	0.0	0.0	10.7	0.0	22.1
0101-0501	4.8	16.4	0.0	0.0	0.0	0.0
0803-0601	9.0	15.5	8.8	0.0	0.0	0.0
0405-0401	11.2	16.4	8.8	0.0	0.0	0.0
1502-0601	7.7	10.9	2.9	0.0	0.0	0.0
1402-0301	1.4	1.9	0.0	3.6	51.7	11.6
1602-0301	0.0	0.0	0.0	0.0	20.7	4.0
0404-0302	0.3	0.0	0.0	3.6	15.5	2.3

* Allele type

Data source: Fujiyoshi, 1994

HLA に関するあれこれ

●今年新しいアレルについての演題が HLA A ローカスに関して2題、B ローカスに関して3題ありました。見つかったきっかけは血清に対する反応の違いが見出されたので、シーケンスをしたら新しいアレルであったというもので、抗血清の抗原認識の鋭さを再確認させられました。

ではそのきっかけとなったような抗体を産生した人の HLA と免疫原となった HLA はどういうものであったのか、、、気になります。

●HLA 抗体産生について、臨床面からの演題も2題ありました。

一つは国立循環器病センターから出された報告で、HLA 抗原をマイクロビーズにコートした測定試薬を用い、血小板輸血をうけた患者中、患者の輸血前・後の血清が確保できた例について FCM で HLA 抗体産生の推移を調べたもので、輸血後一週間で抗体産生を生じた例もあるという報告でした。

HLA の血清学をやってきた方々！これら患者の性別、年齢、女性であれば妊娠歴、産生されて行った抗体の特異性、輸血された血液の HLA と患者 HLA の情報等知りたい事がたくさんある演題とは思われませんか？

もう一つは兵庫県立西宮病院から出されたもので、1980 年から 18 年余の間で事前交差試験陰性で生体腎移植を受けた患者において、移植前の HLA 抗原の前感作状態の有無を調べる為行われる、Panel reactive antibody の検査結果は移植腎生着にどのような影響をおよぼすか？というものでした。

患者数 160 名について行われたもので、患者血清中 B 細胞にのみ陽性反応を示した症例の 5 年、10 年生着率は、陰性であった症例や T 細胞のみあるいは T、B 細胞に陽性を示した患者のそれより悪いという結果がでていました。T 細胞に対するあるいは B 細胞も含む抗体を産生した状況では、陰性であった例と生着率に有意差は無かったという事で移植腎に対して寛容性？を誘導しているのでしょうか。長期に及ぶデータの解析でした。

●そのほか、HLA-E、F、G 遺伝子の機能、マイナー抗原の BMT 後の予後との関連、CD1d 抗原について、疾患との関連抗原について、ブタの DRB1、DQB1 の遺伝子の多型性の解析、日本語の起源は？とか変わったところではエピトープペプチドを結合した HLA-4 量体複合体を用いた検査とかの報告が一般演題として出さ

れていました。紙面の関係上（というよりは、レポーターの認識不足なのですか）内容は省略させていただきます。



特集 第48回 日本輸血学会総会

トータルレポート

兵庫県赤十字血液センター検査二課 荒木 延夫

第48回日本輸血学会総会は兵庫医科大学輸血学教授の原宏先生を総会長として平成12年5月25日(木)～5月27日(土)に神戸国際会議場、ポートピアホテルにおいて開催されました。今から10年前にこの会場で兵庫医科大学学長(当時)の永井清保先生が第37回総会長をされ、薬価基準未収載時代のHLA適合血小板の効果や公的骨髄バンクの必要性などが論じられたことが懐かしく思い出されました。

今回の総会は、現在まで築かれてきた輸血医学を基礎に更なる発展を目指した『輸血医療の新たなるスタート』をテーマに、総会長シンポジウム「我が国の臍帯血移植と臍帯血バンク」、特別講演「NETCORD and Cord Blood Transplantation: Quality Assurance, Allocation, Ex Vivo Expansion」そして、総会前日の5月24日に市民公開シンポジウム「日本臍帯血バンクネットワークの現状と将来の姿」といった臍帯血バンクに関するものがありました。私は実務委員として総会運営の方に携わったため、個々の発表については落ち着いて聴けませんでした。そこで、聴講できましたHLA、血小板型抗原関係、顆粒球抗体による副作用、サテライトミーティング「第12回日本血小板型ワークショップ」を中心に報告することをご了承いたします。

総会は一般演題246題、特別講演3題、教育講演9題、総会長シンポジウム1企画4題、シンポジウム6企画34題、公募シンポジウム3企画19題、輸血問題検討部会4題、認定輸血検査技師の更新のための講座5題、ランチオンセミナー9企画、ナイトセミナー5企画、サテライトミーティング1企画、市民公開シンポジウム1企画11題が催されました。

市民公開シンポジウム

名古屋第一赤十字病院の加藤剛二先生は「日本臍帯血幹細胞移植の成績」について述べられ、平成11年度は3071個の臍帯血が保存、平成9年～平成12年3月までの移植数は207件、そしてGVHDⅡ度以上の発症HLA



写真1 「会場となった神戸国際会議場」



写真2 「輸血学会総会メインホール会場」

抗原の一致度は関係がなく、また生着度とHLA抗原の一致度も関係がなかったという内容でした。その他、厚生省臓器移植対策室の木村慎悟先生が臍帯血移植の保険点数は26600点に決定し、厚生省の補助金も5億7千百万円が計上されたということが報告されました。

第12回日本血小板型ワークショップ

サテライトミーティングとして輸血学会で開催されている日本血小板型ワークショップは日赤中央血液センターの十字猛夫先生が会長を務め、今年で12回目を迎えました。今回は当血液センター検査二課が世話人となり、24施設が参加しました。血小板型部門ではMPHA法（インタクト血小板、血小板抽出抗原；オリンパスオリビオキッ



写真3 「血小板型ワークショップ討議中」

ト）、MACE（GTI社PackPlus）、MAIPA、PSIFTを用いた抗体検査のQCワークショップ、ELMA（ゲノムサイエンス社）、PHFA（湧永製薬）による遺伝子検査のQCワークショップを行いました。顆粒球型部門も血小板型部門同様、MPHA法（インタクト顆粒球、顆粒球抽出抗原）、GIFTを用いた抗体検査のQCワークショップ、ELMA、PHFAによる遺伝子検査のQCワークショップを行いました。顆粒球型部門の抗体検査は血小板型と比較してなかなか難しくテクニカルワークショップの提案がありました。これらの内容は輸血学会雑誌に掲載される予定ですので是非、ご期待下さい。なお、ワーク

ショップ当日、東大病院輸血部の柴田洋一先生からMPHA法（インタクト血小板）の改訂第10版の説明があり、会場参加の方々に柴田先生提供によるラミネート加工された改訂10版が配布されました。数部ほどまだ当センターに残っていますのでご希望の方はご連絡下さい。また、広島医学技術専門学校の谷口菊代先生に「好

中球抗原に対するモノクローナル抗体の作製とその臨床応用」、広島大教育学部幼児保健学の小林正夫先生に「小児期好中球減少症と好中球抗原」の特別講演をしていただきました。谷口先生は好中球抗原に対するモノクローナル抗体 TAG1 (抗 NA1)、TAG2 (抗 NA2) そして TAG4 (抗 NB1) の生みの親で、それらを用いた臨床応用について、小林先生は小児期好中球減少症の関与する抗体は抗 NA1 自己抗体が多いという内容を述べられました。会場にはワークショップ会員以外の小児科の先生が何人か来られており、小児期好中球減少症はなかなか興味ある講演ではなかったかと思えます。



写真4 「MPHA 法改訂版第 10 版の説明をされる柴田先生」

一般演題

北海道赤十字血液センターの森下勝哉先生らは輸血関連急性肺障害 (TRALI) が患者血液中の抗顆粒球抗体が原因であった 1 症例を報告されました。その抗体は CD16 陽性細胞に反応する NA 系以外の抗顆粒球抗体の可能性があり、現在解析中とのことで、新抗原の発見が期待されます。福島医大輸血・移植免疫部の安田広康先生らは HLA-DR 抗原の血清学的検査と日本臓器移植ネットワークより供与された試薬を用いた DNA タイピング検査の比較を行い、DNA タイピングの有用性を述べられま

した。大阪府赤十字血液センターの谷上純子先生らは白血球除去フィルターの使用で HLA 抗体の産生は低下しているにもかかわらず、多くの医療機関で血小板製剤の使用が増えていることや輸血副作用検査から HLA 抗体が検出される症例があることによって HLA 適合血小板製剤の供給が年々増加していることを報告されました。また、HLA 抗体以外に HPA 抗体 (血小板抗体) も血小板輸血不応答患者から検出されることがあるので HPA 適合血小板の供給体制作りが急務であると力説されましたが、これは、なかなか大変な仕事です。埼玉県赤十字血液センターの森田庄治先生らの発表は、オリンパス光学と共同開発による磁性粒子を用いた血小板型抗体の検査法の内容でした。血小板抗体検査法としてわが国で最も一般的な MPFA 法が 2 日間判定時間を要するのに対し、僅か 1 時間で結果がでるということから、非常に期待される検査法です。大阪市立大学輸血部の藤野恵三先生らはイソ血小板抗体である抗 Nak^a 抗体によって血小板輸血不応答を起こした症例を報告されました。今回の血小板型ワークショップにはこの抗 Nak^a 抗体が提出されたのですが、今までに検出された抗 Nak^a と少し違うのではという感じを受けました。私の経験ではインタクト血小板と比較して血小板抽出抗原に抗 Nak^a 抗体は強く反応するはずが、抽出抗原よりもインタクト血小板に強く反応しており、Nak^a 抗原のエピトープの認識部位が従来の抗体と異なっているのかもしれない。

懇親会

ポートピアホテル大輪田の間に約 700 人が参加され大盛況でした。この懇親会場は 10 年前の総会時の場所で、あの時の料理の質や量は最高でしたが今回も負けず劣らず最高でした。また、神戸の地らしく南京町の中華饅、明石焼き (たこ焼きではない) の屋台や元宝塚スターの杜けあきさんによるステージもありました。

最後に

5 年前のあの大地震から復興をとげた新緑の神戸の地でこの総会が大成功に終わった事は地元血液センターに勤務する私にとっては非常に感慨深いものがありました。来年の輸血学会は慶応大内科教授の池田康夫先生、第 13 回日本血小板型ワークショップは東大病院輸血部教授の柴田洋一先生のもとで開催されます。輸血学会は HLA に関する演題が少ないので奮って応募しましょう!!

MHC 遺伝子と進化

—MHC 遺伝子の分子進化 (1)—

東京大学医学部人類遺伝学教室 大橋 順

MHC 遺伝子 (ヒトでは HLA 遺伝子) の最大の特徴は、各遺伝子座で見出される対立遺伝子数が通常の遺伝子に比べ極めて多いことと、ヘテロ接合度が非常に高いことです。なぜ、これほど高度な多型性が進化の過程で獲得されたのでしょうか。これまでに、MHC 遺伝子の進化を説明するための多くの研究がなされてきました。また、MHC 遺伝子の多型性を利用して、人類の起源や進化に関する研究も盛んに行なわれています。今回から数回にわたり、MHC 遺伝子の進化および MHC 遺伝子からみた人類の進化について解説したいと思います。

今日では、遺伝子が中立的に (淘汰上良くも悪くも無い突然変異によって) 進化すると考えると、観察事実の多くをうまく説明できることが分かっています。MHC 遺伝子の分子進化を理解するためには、中立な遺伝子の進化を理解する必要があります。なぜなら、後述するように MHC 遺伝子の特徴は、中立的な遺伝子との違いとして把握することができるからです。ちなみに、「進化」という言葉の中には価値観は含まれていません。時間経過に伴う生物の「変化」こそが「進化」なのです。そこ

で、最初に分子進化の基本的な概念について説明します。分子進化の研究は 1960 年代に入り、急速に進展しました。その中で特筆すべき研究が二つあります。一つめは、1962 年に Zuckerkandl と Pauling により発見された「分子進化速度の一定性」です。分子進化速度の一定性とは、DNA やタンパク質は時間の経過とともにほぼ一定の割合で塩基置換やアミノ酸置換を蓄積する性質のことをいいます。「置換」とは、突然変異により生じた DNA の変異が集団全体に広まり、ついには従来の DNA と集団

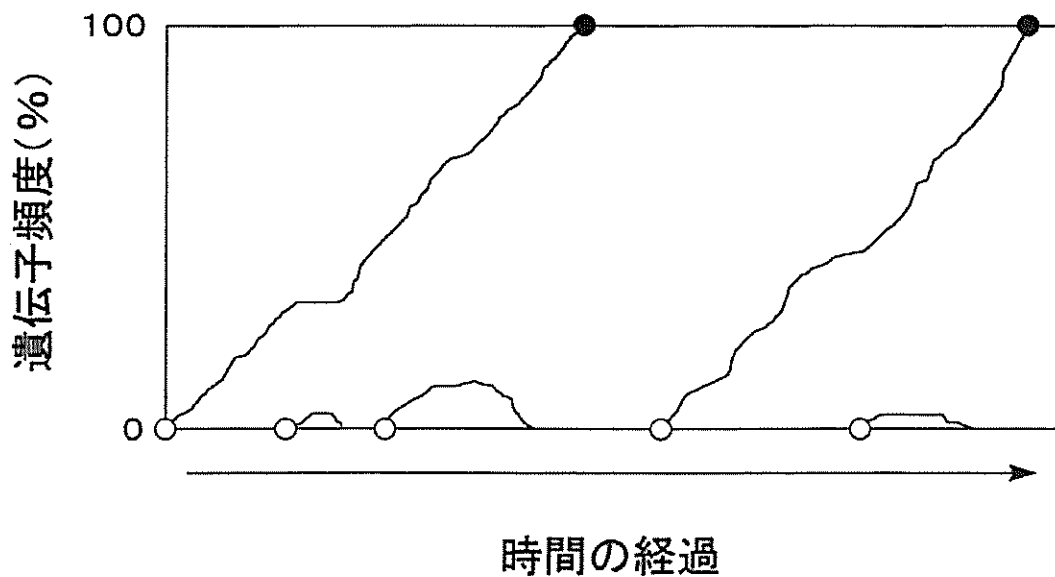


図1. 突然変異遺伝子の集団内での頻度変化を示した模式図。突然変異は白丸で、置換は黒丸で示す。

レベルで置き換わることを意味します(図1)。このことを「変異が集団に固定する」といい、集団中の全ての個体とその遺伝子に関し同じ DNA 配列を持つ状態になることを指します。二つめの研究として、1968年に木村資生により提唱された「分子進化の中立説」があげられます。それまでは、Darwin が形態レベルの進化を説明するために提唱した「自然淘汰説」によって、分子(遺伝子)の進化も説明できると考えられてきました。突然変異によって様々な遺伝子が創り出されますが、その中で生存に有利な変異を持った個体は生存競争に勝ち残り、より多くの子孫を残すと期待されます。世代が経過すればその有利な変異が集団中に広まり固定します。「自然淘汰説」では、有利な変異が次から次へと固定することにより分子は進化すると考えるわけです(survival of the fittest)。それに対し、「中立説」では次のように考えます。突然変異により生み出される変異は、不利な変異、有利な変異、淘汰上良くも悪くも無い中立な変異のいずれかに分類されます。生存に不利な変異は集団からすぐに消失するでしょう。有利な変異は集団に固定するでしょう。ここまでは「自然淘汰説」と同じです。しかし、「中立説」では「自然淘汰説」では問題にされなかった

中立な変異も分子進化に寄与すると考えるのです。中立な変異が固定する確率は直感的に理解することができます。図2のように、現世代に存在する遺伝子の親遺伝子は必ず1世代前に存在します。さらにその親遺伝子の親遺伝子は2世代前に存在する、というように世代を遡っていくとついにはただ一つの共通祖先遺伝子にたどり着きます(これを、遺伝子が合体するといいます)。これは、ある遺伝子は2個以上の子孫遺伝子を次世代に残し、ある遺伝子は全く残さないために起こります。図2では、8世代前に存在したある遺伝子が共通祖先遺伝子となっていますが、遺伝子が中立で、どの遺伝子が次世代に残るかは全くランダムに決まるとすると、8世代前に合体が起こった場合、その中のある遺伝子が共通祖先遺伝子である確率は $1/(2N)$ となります。ここで、 N は2倍体生物集団中の個体数です。次に、図2を時間の流れにそって見てみると、「ある遺伝子が8世代かかって固定した」と捉えることもできます。先ほどと同様に、8世代前のある遺伝子が固定する確率は $1/(2N)$ です。すなわち、中立な変異はどれも平等に固定するチャンスがあり、幸運にも固定する確率は $1/(2N)$ となるわけです(survival of the luckiest)。中立説では、有利な変異の固定を否定す

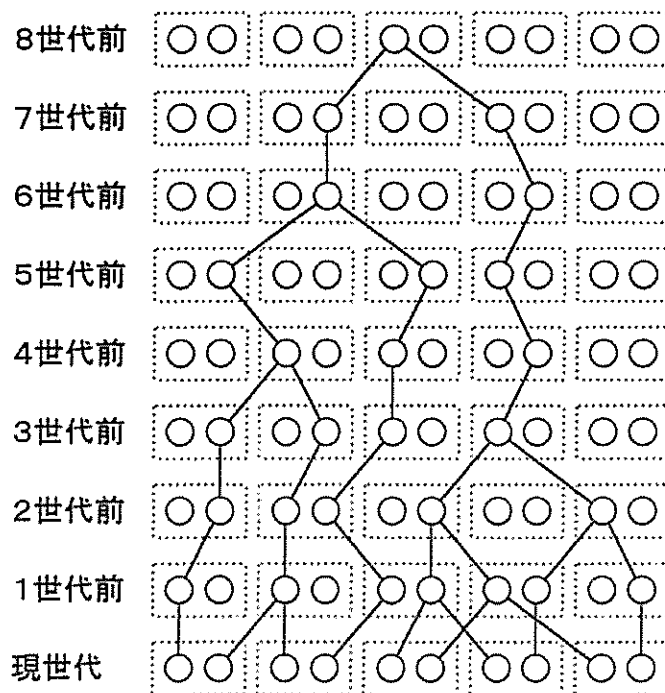


図2. 遺伝子の系図.

丸は遺伝子、破線の四角は個体を表す.各世代での個体数は一定としてある.

るわけではありません。ただ、有利な変異が起こる確率は極めて低いため、中立的な変異の方が有利な変異よりも圧倒的に多く固定すると主張するのです。

図3を見て下さい。突然変異は、大きく三つに分類することができます。突然変異が起こる確率を1遺伝子当たり1世代当たり u とすると、毎世代 $2Nu$ 個の突然変異遺伝子が誕生します。そのうちわけは、有利な変異が $2Nuf_u$ 個、中立的な変異が $2Nuf_n$ 個、不利な変異が $2Nuf_d$ 個です。不利な変異が固定することはまずないでしょうから、進化に寄与するのは有利な変異と中立的な変異です。それぞれの変異が固定する確率を v_a 、 v_n とすれば、毎世代当たり固定する遺伝子の数は（これを進化速度といいます）、有利な変異が $2Nuf_u v_a$ 個、中立的な変異が $2Nuf_n v_n$ 個となります。したがって、もし $f_u v_a \gg f_n v_n$ であれば有利な変異によって分子は進化します。逆に $f_u v_a \ll f_n v_n$ であれば中立的な変異によって分子は進化するといえるでしょう。分子進化の原動力は一体どちらなのでしょう。この間に明瞭な答えを与えてくれたのが偽遺伝子の解析でした。もし自然淘汰によって分子が進化するのなら、淘汰が作用する遺伝子では進化速度は速く、淘汰が働かない偽遺伝子での進化速度は最も遅くなるはずで、解析の結果、偽遺伝子の方が真の遺伝子よりも進化速度がかなり速いことが明らかになりました。偽遺伝子上で起こる突然変異の全てが中立的な変異であることから、中立的な変異が分子進化に与える影響の大きさが分かります。また、遺伝子の塩基置換の多くが、コードするアミノ酸を変化させない同義置換であることも分かってきました（ここで用いる「置換」は、単なる塩基の変化を意味します）。遺伝子配列上でランダムに突然変異が起こると、およそ20~30%が同義置換であり70~80%が非同義置換となります。にもかかわらず、観察される塩基置換の多くが同義置換であるということは、非同義置換が集団中に広まる可能性が低いことを意味しています。

自然淘汰のターゲットとなるのはアミノ酸の変化を伴う非同義置換でしょうから、このことから自然淘汰が分子進化に寄与する割合は少ないことが分かります。自然淘汰の主要な役割は、有害な変異を集団から除去することなのです。

詳しい計算は省略しますが、ホモで持つと s だけ、ヘテロで持つと $s/2$ だけ野生型に比べて淘汰上有利となる変異が固定する確率 v_a は、 $4Ns \geq 1$ の条件下で $2s$ で表されます。ここで興味深いのは、5%有利な変異であっても1/10の確率でしか固定しない点と、固定確率が集団の大きさに依存しない点です（ただし、集団の有効な大きさと実際の集団サイズが等しいと仮定しています）。 N が大きければ $v_a \geq v_n$ です（ $2s \geq 1/(2N)$ ）。しかし、それ以上に f_u は f_n よりも大きいのです。その結果、 $f_u v_a \ll f_n v_n$ であり、固定する変異の大部分は中立的な変異なのです。実際は f_u はほぼ0とみなすことができます。また、 f_d は $1-f_n$ となります（ $1-f_n$ は分子の性質に関する量で、機能的制約の大きさを表しています）。有害な変異は固定しないと考えると、遺伝子の進化速度 k は $k=2Nuf_u v_a = uf_u$ で表されます（ $v_n=1/(2N)$ ）。 f_u は0から1の間の値をとり、 $f_u=1$ のときに k は最大になります。偽遺伝子では $f_u=1$ ですから観察事実と一致しています。進化的によく保存されている遺伝子とは、 f_u が小さい、言い換えれば $1-f_n$ が大きい遺伝子なのです。分子進化における中立的な変異の重要性はご理解いただけたと思います。そこで、もう少し詳しく中立的な変異の性質をみてみましょう。突然変異により誕生した中立的な変異の大部分は誕生後すぐに集団中から偶然により消え去ります（最終的に消失する確率は $1-1/(2N)$ ）。中には偶然にも生き残り、固定するものもあるでしょう（最終的に固定する確率は $1/(2N)$ ）。そのどちらかの状態に向かって中立的な変異の遺伝子頻度は変化します。図4は、 t 世代経過後に中立突然変異の頻度が x （ $0 < x < 1$ ）である確率密度分布を表しています。

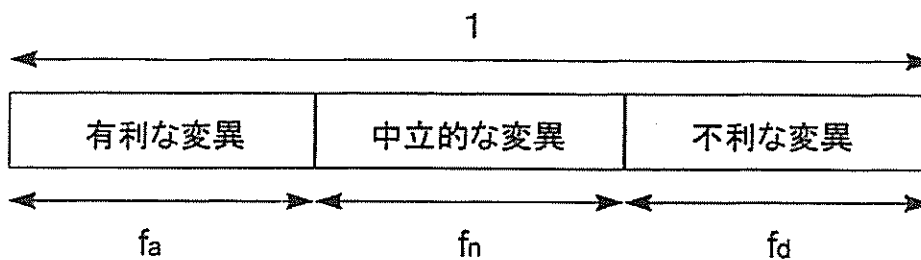


図3. 突然変異中の淘汰上有利な変異、中立的な変異、不利な変異の割合。

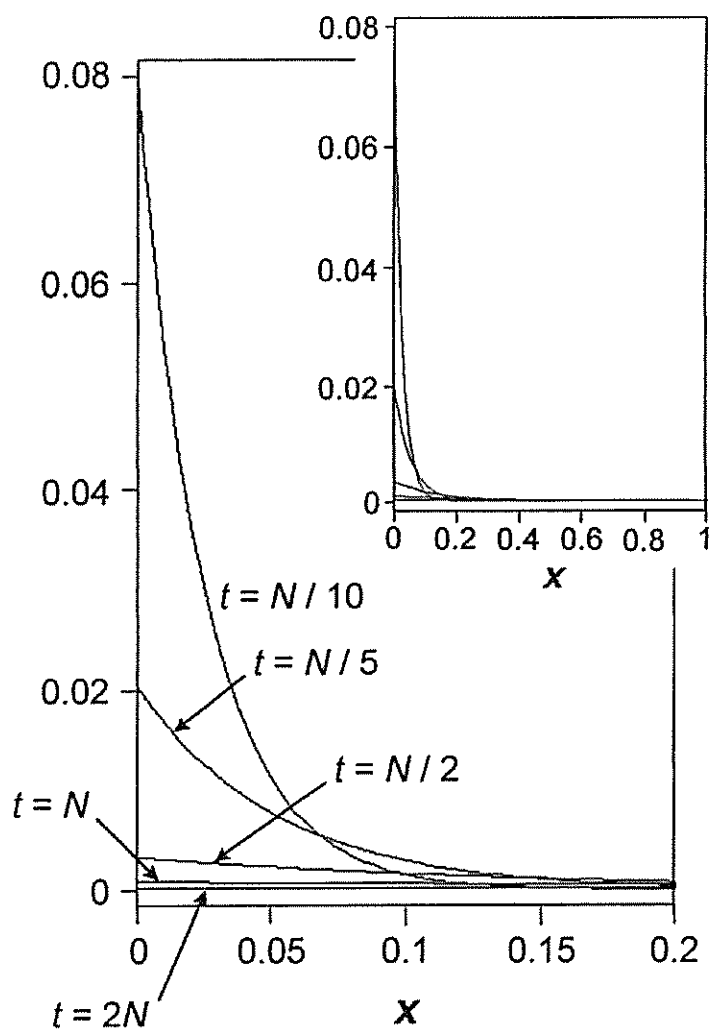


図4. 中立突然変異の遺伝子頻度に関する確率密度分布の経時変化。
 t は世代数をあらわし、 N を単位として与えてある。
 この図では $N=10000$ を仮定している。

ここで、 t は N を単位に計られています。時間が経過すると確率密度は徐々に小さくなりますが、特に興味深いのは、長時間経過するとどの頻度で存在する確率も等しくなる点でしょう。図 4 ではある一つの中立変異について考えましたが、実際には突然変異は次から次へと生じます。突然変異が次々と起こり、突然変異によって誕生する対立遺伝子は全て新規の（これまで誕生したことの無い）対立遺伝子であると仮定します。遺伝子は通常多数の塩基からなっているので、この仮定は妥当といえるでしょう。ある遺伝子の頻度は常に変化しており、突然変異も次から次へと起こりますが、ある時刻にある頻度をとる異なる対立遺伝子の期待数を計算することは可能です。そのような対立遺伝子に関する定常分布を頻度スペクトルといいます。この分布は

$\Phi(x) = 4Nu(1-x)^{4Nu-1}x^{-1}$ であらわされます。 x は遺伝子頻度をあらわし、 u は中立突然変異率です（ここでは中立変異のみが集団中に存在すると仮定しています）。この式を用いると、集団中に含まれる（中立な）対立遺伝子の総数は $\int_{1/(2N)}^1 \Phi(x)dx$ 、ヘテロ接合度は

$$\frac{4Nu}{4Nu+1}$$

となります。通常は $4Nu \leq 1$ ですから、ヘテ

ロ接合度は低くなるのが普通です。なお、 $\Phi(x)$ は各遺伝子頻度において期待される対立遺伝子数の分布ですので、遺伝子頻度の総和は 1 より $\int_{1/(2N)}^1 x\Phi(x)dx = 1$ が

成立します。図 5 は $\Phi(x)$ の分布を示しています。分布は U 字型をしており、 $x=1$ と $x=0$ で対立遺伝子数の期待値が高くなっていますが、 $x=1$ の辺りで高い値をとるのは、中立遺伝子の場合は頻度の高い遺伝子が存在すること、 $x=0$ の辺りで高い値をとるのは、頻度の低い遺伝子が多数存在することを意味します。具体的には、1つの対立遺伝子しか存在しない状況、もしくは頻度の高い対立遺伝子 1 個と、複数の非常に稀な対立遺伝子が存在している状況が、中立遺伝子座で期待される状態といえます。

明らかに、図 5 の分布と MHC 遺伝子座で観察される対立遺伝子の分布とは異なります。ご存知のように、HLA 対立遺伝子の集団内頻度を調べると、どの集団を調べても、10%以上の頻度で存在する対立遺伝子が幾つか観察され、また非常に稀な対立遺伝子も幾つか見つかります。このような頻度分布は、中立的遺伝子の頻度分布（図 5）とは大きく異なっています。MHC 遺伝子は中立的遺伝子と何が違うのでしょうか。次回は MHC 遺伝子座で働く自然淘汰について解説したいと思います。

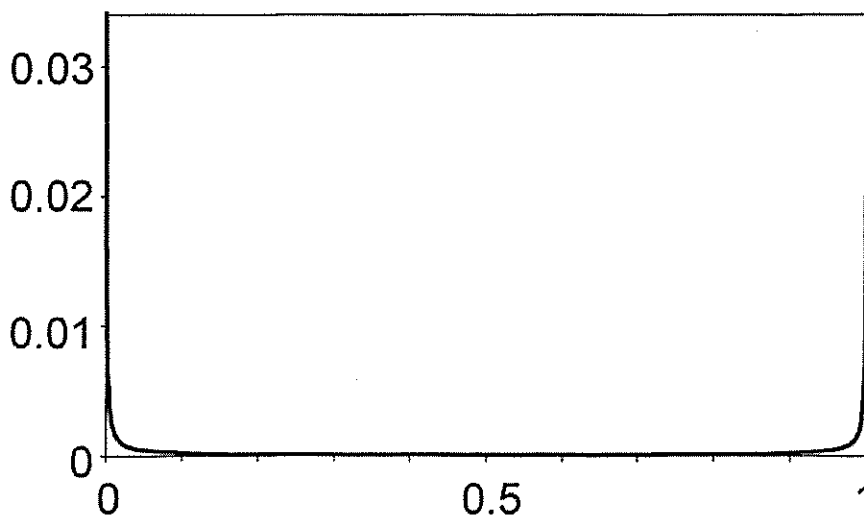


図5. 中立な対立遺伝子の各頻度における期待数の分布。
 $N=1000$ 、 $u=10^{-5}$ を仮定した。

細胞周期と DNA の複製

DNA基礎講座

湧永製薬 (株) 創薬研究所バイオ診断研究室

川井 信太郎

前回、DNA の複製は細胞周期のある決まった時にしか起きないと書きました。そこで今回は細胞周期と DNA 複製について解説しようと思います。

まずその前に、真核生物の染色体の数は細胞の種類によって異なる事を説明します。ヒトをはじめとする高等な真核生物では個体を構成する細胞の間で染色体の数と DNA 量が違うことがあります。例えば、哺乳類の生殖細胞いわゆる配偶子 (gamete) (精子と卵細胞) は、体細胞の半分の染色体しか持っていません。このような配偶子は 1 倍体 (haploid) と呼ばれます。一方、体細胞は 2 倍体 (diploid) と呼ばれます。配偶子は精巣や卵巣内のそれぞれの前駆細胞が特殊な形式の還元的な細胞分裂である減数分裂 (meiosis) を行ってできたものです。御存知のようにヒトの場合はこの減数分裂によって生じる精子と卵細胞は 1 本の性染色体 (X 又は Y) と 22 本の常染色体、合計で 23 種類の染色体を持っています。

2 倍体の体細胞は、もとは 1 倍体の細胞の 2 つが融合したものに由来します。卵細胞に精子が受精することによりその授精卵細胞 (接合子、zygote) の中で 1 倍体ゲノムである雄性前核と雌性前核が融合して 2 倍体ゲノムとなります。したがって、その 2 倍体の接合子とそれから生じる個体の全ての 2 倍体の細胞には、ほとんど同じ DNA 配列をもつ相同染色体の対が含まれていることとなります。各対の相同染色体は両親から 1 本ずつ譲り受けたものです。例えばヒトの体細胞はご存知のように通常 46 本の染色体を持ち、常染色体の対が 22 対、性染色体が 2 本含まれています。

2 倍体の体細胞は、核分裂 (mitosis) と細胞質分裂 (cytokinesis) を含む 2 段階の細胞分裂過程をへて作られています。細胞分裂に先立ってまず親細胞の染色体が複製しそしてそれらがそれぞれ 2 つの娘細胞に等しく分配されます。その結果、娘細胞においても 2 倍体の状態が維持されているので体細胞分裂は保存的と言えます。全ての 2 倍体の細胞は、接合子の卵割から始まる体細胞分裂によって生じている訳です。

発生の途中やその後の成体において、生体を構成する細胞は最終的な細胞分化や細胞死に至るまでに数多くの体細胞分裂を繰り返します。しかし、体細胞が分化するのに伴って染色体の数や DNA 量は変化することがあります。分化した細胞の中には染色体が無いものもあります。例えば、皆さんが良くサンプルとして扱ってられる赤血球や血小板には核は存在しないし、最終段階にまで分化した皮膚細胞にはすべての細胞内器官がありません。反対に、たくさんの小さい細胞が癒合して形成される筋繊維のように、体細胞が高く多核細胞になることもあります。また、細胞分裂の前に DNA の複製が繰り返して行われて (核内分裂; endomitosis)、染色体の追加コピーを持つようになり自然に倍数となる細胞もあります。肝臓や他の組織の 4 倍体の再生芽細胞などはその例です。骨髄の巨大核細胞は、自然に発生する倍数体細胞の極端な例です。巨大核細胞には 1 倍体の DNA 量の 8、16、32 倍もの DNA が含まれ、それぞれの細胞から数千の血小板が作られます。この話はここまでにして、細胞周期の話に戻りましょう。

細胞周期には、こまかい部分は違っても普遍的に必要な条件があります。先程書いたように遺伝的に同一な娘細胞を 2 つ作るために、DNA を正確に複製し、複製された染色体を 2 つの細胞へ分配しなくてははいけません (図-1)。細胞周期はこれらの要求を実現させる一連の過程から成り立っています。多くの細胞は量的に倍加し、細胞周期が一巡するのに伴いすべての細胞小器官も倍加します。そこで細胞周期では細胞質と核に起こる過程の連係が不可欠ということになります。この協調作業がどのように行われているのでしょうか?

近年この細胞周期の解明は飛躍的に進みました。

図-2 は、典型的な真核生物の細胞周期の 4 つの区分を模式的に示したものです。この図は皆さん教科書等で見たことがあるのではないのでしょうか?

細胞周期の長さは細胞の種類によって大きく異なります。ハエの胚では最も短く 8 分位で、哺乳類の肝細胞では 1 年以上におよびます。図-2 に示すように細胞周期は習慣的にいくつかの段階に分けられます。

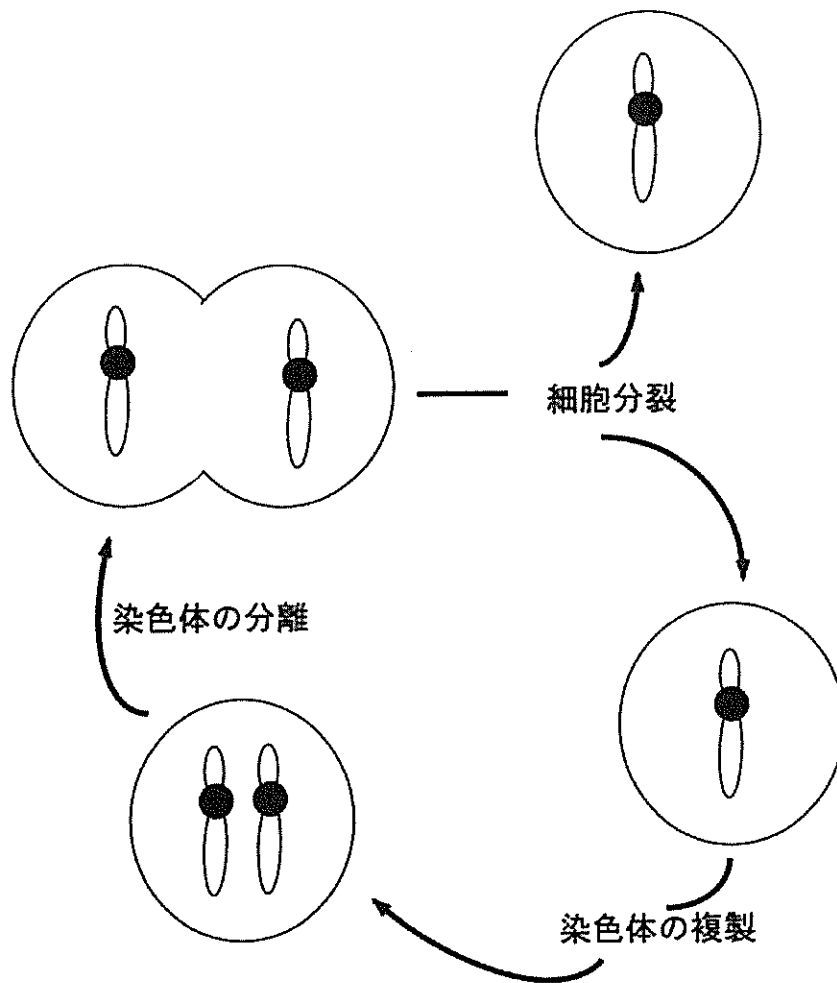


図-1 細胞分裂の周期

細胞全体の分裂に先立って起こるのが有糸分裂すなわち核の分裂過程です。この周期を M 期 (M phase、M は Mitosis の M) と呼びます。有糸分裂では核膜が分散し、核の内容物は凝縮して染色体が観察できるようになります。さらに、微小管が再編成されて有糸分裂紡錘体 (mitotic spindle) を形成し、やがてはそれが染色体を引き離します。有糸分裂が進むと細胞は、中期 (metaphase) と呼ばれる過程に移ります。この段階では染色体は既に倍加し、紡錘体上に整列して分離に備えています。倍加した染色体が分離し始めると、後期 (anaphase) が始まります。この段階で染色体は紡錘体の両極に移動し、そこで脱凝縮して再び完全な核になります。細胞はその後細胞分裂によって 2 分されます。これで M 期が終わります。この M 期全体はほとんどの

細胞で 1 時間程度で、全周期のほんの一部にすぎません。M 期から次の間の長い期間を間期 (interphase) と呼びます。

核 DNA の複製は、この間期中の S 期 (S phase、S は Synthesis の S) で行われます。有糸分裂の完了から DNA 合成の開始までの間は G1 期 (G1 phase、G は Gap の G) と呼ばれ、DNA 合成の終了から有糸分裂の開始の間は G2 期 (G2 phase) と呼ばれています。G1 も G2 も、細胞が大きくなるのに必要な時間です。G1 期の細胞は環境と自身のサイズをモニターしています。G2 期は、有糸分裂を始める前に DNA 複製が完全かどうかチェックする確認の期間です。この G1、S、G2、M は、若干の例外を除いてたいの細胞周期はこの標準に当てはまります。

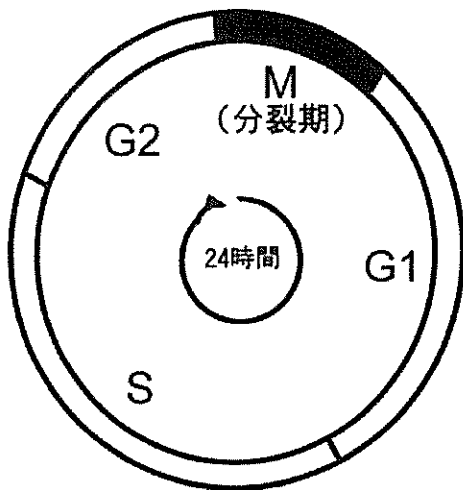


図-2 細胞周期の4つの区分

細胞が分裂前に大きくなるために、細胞周期はかなり長く、例えば成長の早い哺乳類の組織でも12時間かそれ以上かかります。真核生物で分裂周期が最も短いのは、ある種の動物の授精直後の初期胚で（細菌の周期よりも短い）、大型の卵細胞が出来るだけ早く分裂して、多数の小さい細胞になります。この時細胞は大きくなり、G1期とG2期は極端に短く1回目の分裂から次の分裂までの時間は、8-60分で、その半分以上がS期で半分がM期です。

適当な条件下では、細胞の全タンパク質量は連続的に増加します。染色体が凝縮して転写が抑制されるM期以外、RNA合成も一定速度で続きます。つまり、細胞のほとんどの成分はいつも連続して作られていて、M期、つまり核と細胞が分かれる短い間だけ停止していることになります。このような細胞の連続的な増大に対して、DNA合成と有糸分裂は不連続です。

細胞周期の反応の順序を決めるのは細胞周期調節系です。この細胞周期調節系は2群のタンパクファミリーからできています。第一は、サイクリン依存性タンパクキナーゼ (cyclin-dependent protein kinase ; CDK) ファミリーで、特定の蛋白質のセリンとトレオニン残基をリン酸化を介して下流の過程を誘導します。第二は、サイクリン (cyclin) と呼ばれる活性化蛋白ファミリーでCDKと結合してこのキナーゼが適切な標的蛋白質をリン酸化する能力を調節しています。サイクリン-CDK複合体の周期的な組み立て、活性化、分解は細胞周期のかなめ

をなしています。合成と分解が周期的に起こることからこれに関与している物質は、サイクリンと呼ばれるようになりました。このサイクリンも2種類に分けられています。有糸分裂サイクリン (mitotic cyclin) が、G2期にCDK分子と結合して有糸分裂への進行に働き、G1サイクリンは、G1期でCDK分子と結合してS期への進行に働きます。

有糸分裂へと進む過程を簡単に説明します。G2期に有糸分裂サイクリンが蓄積し、CDKと結合してM期促進因子 (M-phase-promoting factor、MPF と略) という複合体を形成します。この複合体は始めの内は不活性ですが、他の酵素によるリン酸化や脱リン酸化を受けて活性型に変わり、やがてMPFの爆発的な活性化が起こります。こうして加速的に活性型MPFの濃度が上昇して発火点に達し、大量の活性型MPFが有糸分裂へ進む下流の反応の引き金を引きます。中期と後期の境になると、有糸分裂サイクリンが分解してMPFの不活性化が始まり、細胞はサイクルを終了します。

このCDKの活性化、不活性化の各段階は細胞周期の進行を区切り、周期の調節系そのものにも影響を及ぼして、下流過程の引き金を引くと考えられています。

細胞周期の調節は、非常に複雑な過程を経て行なわれています。今回はほんの一部を示したにすぎません。

真核生物の染色体は、クロマチン (chromatin) できています。クロマチンは、DNAとヒストンと呼ばれる塩基性タンパク質の複合体と、酸性タンパク質とからなっています。染色体DNAは、これら酵素と複合体を形成することによってコンパクトに折りたたまれています。この折りたたまれる基本単位をヌクレオソーム (nucleosome) と呼びます。これは、146bp長の2本のDNAがヒストン8量体 (ヒストンH2A、H2B、H3、H4がそれぞれ2分子ずつ) にコイル状に1.75回転巻きついたコア複合体からなっています。ヌクレオソームが連なっている基本繊維は直径が約10nmで、これがさらにコイル化して直径30nmのクロマチン繊維となっています。細胞分裂中期には、染色体はさらにコンパクトに凝縮して、ヒトの細胞の場合、構成するDNAから予想される長さの10万分の1近くまでたたみこまれています。このように巨大な染色体がコンパクトに折りたたまれていることに、驚きと不思議を感じませんか？

難しい話となってしまったような気がします。今回はこれまでとして、今回は細胞分裂について書こうと思います。

サルでも分かる HLA (5)

— Quality control (QC) : その重要性と意義 —

国立循環器病センター研究所 実験治療開発部・臓器移植研究室 佐田 正晴

先日、久しぶりに宇宙飛行士ジム・ラベルの書いた「アポロ 13 号」を読み返してみた。アポロ 13 号の事故と地球生還の物語はその後、映画化され人々に多くの感動を与えた。この本には度々“精度管理”、“危機回避”や“品質管理”の言葉が登場し、起きてしまった故障や事故に宇宙船から遥か 33 万 Km 離れた NASA 地上コントロールスタッフがいかに冷静かつポジティブに対処してきたかがドキドキするタッチで描写されている。以前から理工学分野では QC は当たり前で機械、生産ラインや製品、またそれらをコントロールする人々や企業体制に至るまで QC の手枷足枷をはめられ厳格に管理されてきた。HLA 業界でも臓器移植ネットワークや骨髄バンクをはじめとして各種組織・細胞バンクの設立や整備に伴う QC の重要性がクローズアップされてきている。

—QC の元祖は—

HLA における QC の元祖は International Cell Exchange (ICE) で、このプログラムは 1974 年より開始された。本プログラムはテイスシュタイバーの技術に対する QC を目的に UCLA の Terasaki が組織し、定期的に細胞や DNA が配布され結果集計が行われている。

現在世界中で約 300 のテイスシュタイビングラボが参加している。1974 年からはクラス I 血清タイピング用リンパ球(904 種)、1987 年からはクラス II 血清タイピング用リンパ球(174 種)、また 1990 年以降は DNA タイピング用 cell line 細胞(214 種)の配布が行われている。小生もこの ICE に 1974 年より参加し、UCLA にいた 1979 年には ICE 用の採血をされ、少なくとも一回は小生の細胞が配布された。

—なぜ QC が必要なのだろう—

HLA 抗原の同定法が確立した 1970 年代より、米国ではそれまで無作為に行われていた臓器移植が、ドナー・レシピエント間の HLA 抗原適合度や直接交差試験の結果を考慮し移植が行われるようになった。その結果、移植成績は向上し臓器移植が難治性臓器不全患者の治療法として定着していった。更に 1980 年代、画期的な免疫抑制剤としてシクロスポリンが登場し著しい移植成績の向上をもたらした。シクロスポリンの導入は、移植適応の拡大や心・肺、腎・脾同時移植など重複移植を可能にただけでなく、皮肉なことに“HLA 抗原の適合を無視して移植を行っても大丈夫”というような誤った風潮をもたらした。米国では、HLA 抗原適合を無視した移植の付けとしての再移

植例が増大し、また適応症例の拡大による慢性的なドナー不足に至ってしまった。欧米では脳死体より摘出した臓器・組織は国民全ての“共有財産”という感覚が広く浸透している。貴重な臓器をいかに有用に、公平に分配するか。このようなスタンスのもと、全米を網羅する臓器ネットワークが早くから形成されてきた。移植医療にとって“HLA 抗原”は成績を左右する要因のみならず“公平に分配”の倫理を実行する上のキーワードで、いわゆる共通言語として位置づけられている。ASHI が早期から一番力を入れ取り組んでいるのは“HLA における QC”で、QC を受ける範囲はタイピング施設、テイスシュタイバーやラボディレクターにまでおよんでいる。ASHI 標準化委員による施設の立ち入り調査、全米各地で定期的に行われる講演会や技術講習会と試験によるタイバーの認定などにより QC が行われている。何処の施設の誰かがタイピングをしても同一の答えが出て初めて“公平な臓器分配”が出来る、この信念に基づき ASHI は厳格な QC を行っている。この全国レベルの QC は移植医サイドの“患者に対するエックスキューズ”にも有用と考えられている。患者：「今回の移植が何故あのひとで、私が受けられないのか?」、移植医：「タイピングの結果、あなたより適合度の良い人がリストアップされてきたから」、患者：「タイピング結果が間違っているのでは?」、移植医：「ASHI の厳格な QC をパスした施設が出してきた結果であるので間違いない」(勿論、ASHI の QC システムやネットワーク組織の詳細な説明を行った上で)。米国ではこのように患者を納得させる上でも QC が用いられているのも事実である。“少ないドナー臓器を如何に有効利用するか”、この大前提に立って ASHI はタイピング施設やタイバーの認定や取り消しを行ってきた。

本邦でも臓器移植ネットワーク、骨髄バンクをはじめ各種バンクが充実しつつある。また DNA exchange によるタイバーの QC も学会主導で開始された。中には cell exchange や DNA exchange を単なる抗原当ての competition と今だに考えている人が存在しているのも事実である。

何のための QC か?、何故 QC が必要なのか?、誰のための QC なのか?

今まで QC に余り馴染みの無かった我々も QC の意義と重要性を真剣に考える時期に来ている。と思っているのは小生だけだろうか。

佐治博夫のまかせなさい！HLA 研究所 所長

sajil@mbox.kyoto-inet.or.jp

hla@hla-labo.org

日本組織適合性学会 (JSHI) は学際学会であると同時に、研究と実務の混合学会である。それぞれの当面のテーマを考え、そのチャンスを生かしたい。

による副作用を半減する」などを実現しようというわけである。いずれもわれらが分野の貢献を待っている、そんな状況が現出した。

MP に MHC がどう関わるか？

ミレニアム・プロジェクト (MP) がスタートした。「未来を切り拓く核となる革新的技術を開発しよう」という題目である。「産官学共同で」と謳うところがよい。ようやくその気になったかという想いである。初年度は総額 1206 億円、注目すべきはゲノム関係に 640 億円というかってない比率で振り向けられていることである。多くがヒトとイネのゲノム解析につかわれる。未来を切り拓く「核」がゲノムか、なるほど、官僚の洒落かも知れないが、ゲノム計画が、首相官邸で発足したのはそれなりの決意の表れと評価したい。

1. ヒトゲノム計画のつぎのステップ；ゲノム多様性解析
2. 五大疾患を克服する（五大疾患とはなにか？ご推し願いたい）
3. 再生医療を実現する（移植医療はまさに再生医療である）
4. イネゲノム解析から高機能・低農薬作物をめざす
長年にわたって複雑な多型性を追求してきた、われらが分野はまさにこれに貢献できる下地がある。奮い立つべき時と考えるがいかがであろう。

10 万個はあるというヒト遺伝子のうち、3 万個をとりあえず明らかにする、15 万個の SNP (single nucleotide polymorphism) を解析するという目標である。われらが敬愛する猪子研究室はマッピングに有用な 3 万個のマイクロサテライトを解析して選択しようとしている。MP の実用的目標はさらに野心的で、2004 年までに痴呆、悪性腫瘍、糖尿病、高血圧、アレルギー性疾患の関連遺伝子を 20-50 個発見することを目指す。疾患遺伝子の特定はわが MHC 分野の得意とするところである。その結果「痴呆による入院患者数を 20%削減する」「抗がん剤

HLA の技術と精度を認定する制度

HLA 検査はすでに臨床的に重要な検査になり、造血幹細胞移植 (SCT) ではキー検査になっている。SCT は、いずれアロ細胞免疫療法に発展し、いずれは固形ガンにも適用されそうな勢いである。骨髄バンクや臍帯血バンクのドナー・タイピングは HLA 検査の需要を飛躍的に増大させた。保険適用という点ではいささかの問題を残しているが、HLA の「臨床応用」がさらに進むことはほぼ間違いない。アメリカ組織適合性学会 (ASHI) は 10 年以上前からこのことを予測して、ティッシュタイパーとラボ・ディレクターの認定制度をシステム化し、学会内に各種委員 (インスペクターやインストラクターとよんでいる) を任命して、積極的に対応してきた。

これに対応して、NMDP、UNOS、臍帯血バンクもこの認定制度を積極的に事業に取り入れ、移植施設の認定、バンクの認定、臍帯血の HLA タイプ、などに「ASHI 認定を受けた HLA ラボとティッシュタイパーを擁しているか、サポートがあること」を条件にしている。近年の ASHI 総会はその前日または 2 日間をこの認定作業 (試験・研修など) に割いていて、受講者も非常に多く、受講者は熱心に学習して試験に臨むという習慣になっている。わが国でも、骨髄バンクの HLA タイピングのオープン化や、移植ネットワークにおける HLA タイパーの標準化、さらには臍帯血 HLA タイプの GMP 上の認定などが求められている。

いま学会で取り組んでいる QC ワークショップはそれへの対応の一環であり、それをさらに推し進め、JSHI の社会的貢献としての「認定制度」がもうひとつの実務的テーマであろうか (さ)。

コラム 「EBM を考える」

東京医科歯科大学 難治疾患研究所

木村 彰方

前号のコラムに、オーダーメイド医療の時代、つまり遺伝子を調べることを前提として、疾患の診断、治療における薬剤選択、さらには予防を個人個人に適切に選べる時代もそう遠い将来ではないだろうとの予測を紹介した。

では、遺伝子を調べれば、疾患へのリスクを把握できるのであるか？ HLA 研究に携わっている皆様には容易に推測可能であると思うが、1つの遺伝子を調べたところで、リスクの上昇はたかだか3倍程度である。つまり、例えば DRB1*0405 を持っている慢性関節リウマチへのリスクが3倍になると言っても、一般集団における慢性関節リウマチの発症頻度はせいぜい1%程度であるため、DRB1*0405 陽性者は発症リスクが3%程度になることを意味するに過ぎない。また、慢性関節リウマチ患者さんの半数以上は DRB1*0405 を持たない。もちろん DRB1*0405 それ自身が病気の原因遺伝子ではない可能性もあるが、そもそも HLA 領域のみで病気への感受性が規定されていないことは明らかである（HLA 型一致の同胞でも、発症率はせいぜい20%程度）から、他にも感受性遺伝子はたくさんあると考えられる。

それでは、全ての遺伝子を調べれば、疾患へのリスクは完全に把握可能であろうか？ その答えは一卵性双生児の研究にある。つまり、一卵性双生児における疾患発症の一致率はせいぜい60%に過ぎないのである。従って、遺伝的な要因で疾患発症が決める割合は、この60%がマキシムとなる（一卵性双生児が完全に同じゲノムを持っているかどうかには多少議論があるが、違った領域があるにしても、それは例外的な限局された事象である）ので、環境要因がかなり大きいと言える。もちろん、全ての遺伝子を調べることで60%の疾患発症リスクを持つと分れば、それに見合った環境要因を避けることで発症リスクを減少することも可能と考えられるわけではあるが、遺伝要因だけで病気が決まる訳ではないことが理解されるであろう。

このことは、いわゆる遺伝病についても言えることであり、例えば我々が研究している肥大型心筋症（思春期の突然死の最大の原因、また、心臓移植の適応疾患でもある）は常染色体性優性遺伝病であるが、原因となる遺

伝子変異を有していても発症する確率は遺伝子変異ごとに異なる（30%から95%程度）のである。つまり、遺伝病においても一つの遺伝子変異だけでは病気を100%起こすには至らないこともある。実際の発症率との差を決めているものが何かは分かっていないが、おそらく原因変異に加えて、それとは別の遺伝要因および環境要因が関わるものと考えられる。

疾患の複雑さはそれだけにとどまらない。例えば上述の肥大型心筋症について言えば、この病気の原因遺伝子は既に9種類が知られており、これら9種類の遺伝子のどれに変異があっても、「肥大型心筋症」と言う病気が生じる。さらに言えば、遺伝性が明らかな患者さんについてこれらの9種の原因遺伝子を全て調べてみても、せいぜい70%の患者さんに変異が認められるであろうと推定されるに過ぎないのである。もちろん、まだ不明の原因遺伝子が存在するであろうと考えて研究を進めているのであるが、それが分かった場合に、この病気の原因が完全に解明できるのであるか？ 残念ながら、答えは否である。「肥大型心筋症」の患者さんで遺伝性を認めることは、最大に見積もってもおよそ70%である。我々は遺伝性がはっきりしない肥大型心筋症患者さんの遺伝子解析も行っているが、遺伝性が明らかな患者さんに比べて、変異が見つかる確率は約1/3である。従って、遺伝病ではない「肥大型心筋症」が存在すると考えられるわけである。つまり、遺伝病としての「肥大型心筋症」であっても病気の原因は様ではない（9種の原因遺伝子のそれぞれに多数の変異が見つかった）のに加えて、遺伝病ではない「肥大型心筋症」が存在していることになる。このことは、同じ病気と考えられていても、実際にはその原因は多種多様であり、さらに言えば、病気の遺伝的要因自体も多種多様であることになる。

オーダーメイド医療と並んで最近よく使われる言葉に evidence-based medicine (EBM)がある。EBM は医療保険がらみで登場した感もあるが、その真に目指すところは、確たる証拠に基づいた医療である。では、一体何が確たる証拠であろうか？ 現実の医療における証拠とは、多数の患者さんを対象にして例えば薬剤Aの効果は薬剤Bの効果を上回ると言う統計学的な証拠であり、そのような証拠がある場合には、その病気の治療には、薬

剤 B ではなく、薬剤 A を使うとするものが EBM である。もちろん、EBM には治療法の選択や薬剤量の適量化なども含まれるのではあるが、いずれにしても、集団を対象とした統計学的な検証に基づくものである。ゲノム解析が進めば、薬剤（環境要因とも言い換えられる）の効果がヒトゲノムの多様性と関連付けて検証されることになり、よりの確な EBM の世界が広がると考えられし、それこそがオーダーメイド医療のスタートとなる。

しかしながら、翻って考えれば、個々の EBM が集団解析に基づく統計的な検証によるものである以上、それを個々の患者さんに当てはめるには、もう一段階上の検証方法が必要になるのではなからうか？ その検証方法がどのようなものであるのかは、残念ながら現時点では想像もつかない。従って、まずはゲノム多様性と疾患との関連を明らかにし、遺伝要因の観点から疾患を成因別に分類し、その時点で EBM を考えるのが当面の策であろう。もちろん現時点でも、その時代に合った EBM を行うべきであろうと思うが、何が evidence であるのかを考えなければならないのではなからうか？

昨今はインフォームド・コンセントの重要性がますます認識されているが、医療におけるインフォームド・コンセントの原則は情報開示である。しかしながら、情報を開示するためには、開示する側にもその情報に関する多大な知識が要求されることを認識しなければならない。単に患者さんに情報を開示するだけでは、真の意味で開示したとは言えないのである。その情報の正確性、検証性、意義付けなどについても、開示する側に知識が要求される。インフォームド・コンセントと称して、手持ちのデータを意味付けなく患者さんに提示し、それを持って治療法を選択させるのは単なる責任逃れになる。どの治療法がその患者さんにとって適切であるかを選択させることを可能とするには、evidence がどのようにして得られ、それがどのように検証されたのかを含めて説明しなければならないと思う。

EBM において治療法などのガイドラインが出されている場合でも、個々の患者さんに応じてガイドラインを逸脱することはあり得る。もちろん、医療関係者と個々の患者さんとの相互理解を前提とするわけであるが、ガイドラインと違った医療を行うには、逆の意味での evidence を必要とする。ガイドラインに従うことは一番簡単な道である。でも、それでは真の意味での医療の進展はないことも事実であろう。EBM はあくまで「その時点での evidence」に基づいたものであるから。

