

◎ ” 疾患感受性 ” 特集 ◎

HLAと疾患感受性との相関は、どこまで分かってきたか??

HLAは著明な多型性を有し、HLA抗原とある種の疾患との間に相関がみられる事は、以前より知られていたが、近年技術の向上により、HLA遺伝子の遺伝的多型性をDNAレベルで解析することが一般的となってきた。その結果、より詳細な解析が可能となり、このことは、疾患発症機序の解明に寄与し、さらには治療法の確立へ進むものと期待されている。そこで、今回はHLAと疾患感受性との相関は、どこまで分かってきたか?をテーマとして、なぜHLAは疾病感受性を決定するのか?について西村先生に、HLAと疾患との相関をウイルス感染を例にして藤吉先生に、HLAと疾患感受性の相関とその解析法について脇坂先生に、それぞれご執筆いただき、特集を組んでみた!

また、特集の文末に、我が国における“疾患感受性”の研究がどの様に進んでいるか概観するため、弊社でまとめた資料を、ご参考までに添付した。

「なぜHLAは疾病感受性を決定するのか?」

西村 泰治 (熊本大学 大学院医学研究科免疫識別学)

HLAクラスII分子のユニークな構造と機能

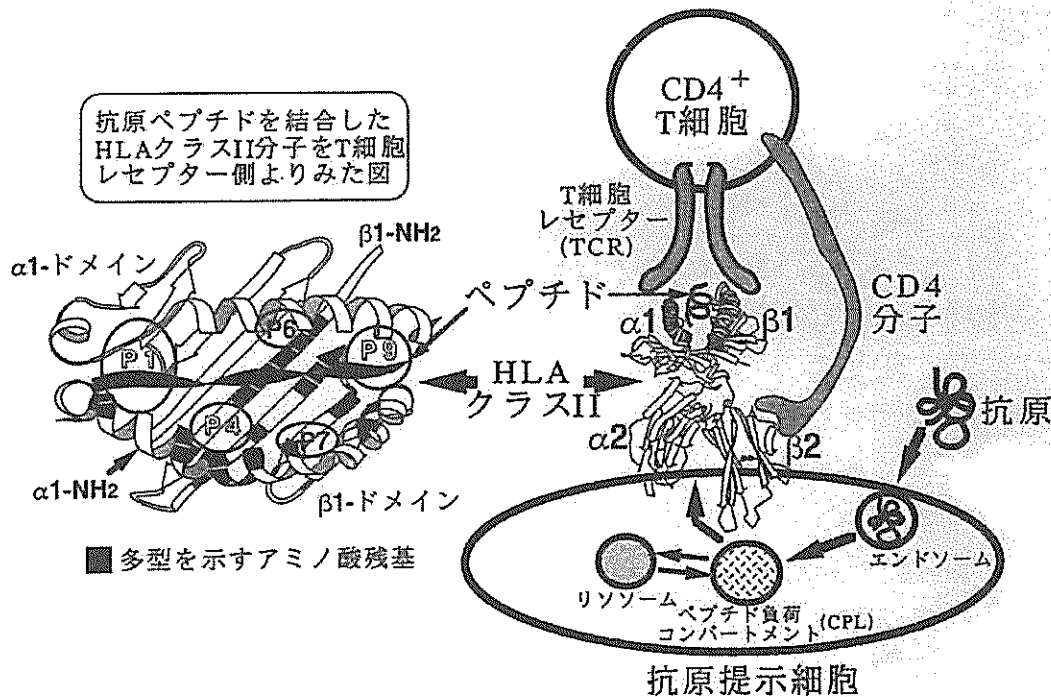


図1 HLAクラスII分子によるCD4<sup>+</sup>T細胞への抗原ペプチドの提示

HLAクラスII分子の立体構造はHLA-DR1<sup>1)</sup>のそれを引用した。

図の右に細胞から抗原提示細胞に取り込まれた抗原が、ペプチドへと分解され、HLAクラスII分子と結合して、CD4<sup>+</sup>T細胞に認識される様子を示す。α1、α2β1およびβ2は、細胞外ドメインを、CPLはペプチドがHLAクラスII分子に結合するおもな細胞内コンパートメント (compartment for peptidol loading) を示す。図の左に抗原ペプチドを結合したHLAクラスII分子を上方 (T細胞レセプター側) よりみたところを示す。黒塗の部分はHLA-DR1分子で多型を示すアミノ酸残基を示す。P1~P9は、HLA-DR1に結合したインフルエンザヘマグルチンペプチドにおいてN末端より第1番目のDR結合性アミノ酸をP1としてC末端方向にアミノ酸残基に番号をつけた場合の各アミノ酸残基を示す。円形はこれらのペプチド上のDR結合性アミノ酸残基の側鎖を収容するためのDR1分子のペプチド収容溝に存在するポケットの位置を示す。

HLAクラスII (DR,DQ,DP) 分子 (HLA-II) は、 $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖のヘテロダイマーからなる膜結合型糖蛋白であり、B細胞、抗原提示細胞 (皮膚のランゲルハンス細胞、樹状細胞、単球、マクロファージ) および活性化T細胞に発現している。HLA-IIの細胞外部分は、 $\alpha$ および $\beta$ 鎖とともに $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\beta 1$ および $\beta 2$ の2つのドメイン (蛋白質の構造単位) にわかれている。 $\alpha 1$ および $\beta 1$ ドメインにより構成されるHLA-IIの先端部分には、抗原ペプチドを収容するための溝があり、さらに溝の表面には3~5個の大小のくぼみ (ポケット) が存在している (図1)。HLA-IIは、抗原提示細胞が細胞外液中より取り込んだ抗原を分解してできたペプチドを結合して細胞表面に発現し、これをCD4+T細胞に提示して活性化する。非自己抗原が存在しない場合には、細胞が産生する膜あるいは分泌蛋白を主とする自己蛋白に由来するペプチドがHLA-IIに結合している。このような自己由来のペプチドを結合したHLA-IIを認識するCD4+T細胞は、T細胞が胸腺で分化する際に消滅しているか、あるいは末梢に存在しても不活性化されていて免疫応答を示さない (免疫寛容・トレランスの成立)。HLA-IIに結合する抗原ペプチドは、10数個~20数個のアミノ酸からなり、ペプチド結合により連結されているペプチドの主鎖と、種々のHLA-IIのペプチド収容溝によく保存されたアミノ酸残基との間の水素結合によりHLA-IIに結合する。さらにペプチド上の3~5個のアミノ酸の側鎖がHLA-IIのペプチド収容溝内のポケットに結合する<sup>2)</sup>。HLA-IIは著明な多型 (個人差) を示し、これは抗原ペプチドを収容する溝状構造の部分に集中しており、ペプチドに対する免疫応答の個人差ならびに特定のペプチドに対する免疫応答に起因する疾病への感受性の個人差を決定する要因となる。

### HLAと疾病感受性

特定のHLA-II対立遺伝子が自己免疫疾患を主とする特定の疾病患者集団で増加していることは良く知られている<sup>3)</sup>。著者らは、特定のHLA-IIに結合する特定のペプチドに対して、これを認識するCD4+T細胞がトレランスを十分に獲得することなく、末梢にこれらの複合体を認識して、自己免疫現象の引き金を引く自己反応性CD4+T細胞が出現するのではないかという作業仮説 (図2) を立て、その一部を証明した<sup>4)</sup>。

自己抗原ペプチドに対する自己反応性T細胞の免疫応答

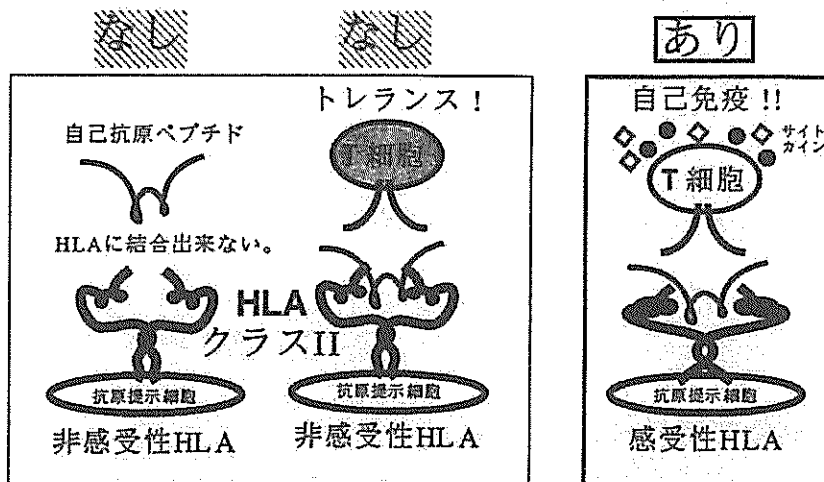


図2 特定のHLAクラスII遺伝子が特定の自己免疫疾患への感受性を決定する機序

自己免疫疾患である慢性関節リウマチ (RA) の患者集団ではDR4 (DRB1\*0405) 陽性者が、またインスリン自己免疫症候群 (IAS) の患者集団ではDR4 (DRB1\*0406) 陽性者が、健康対照群に比べて増加している。そこで、それぞれの疾患に対する感受性を決定していると考えられるDRB1\*0405あるいはDRB1\*0406に結合するペプチドの構造上の特徴を解析した。これらは、ペプチド収容溝の形成に関わる4個のアミノ酸しか異ならない非常に類似性の高いHLA-IIであるが、それぞれ一方の疾患にのみ感受性を示し、もう一方の疾患には感受性を示さない。まず10個のアミノ酸からなるペプチドが、これら2種類のHLA-IIに結合するためには特定の位置に存在する3個のアミノ酸残基が、特定の数種類のアミノ酸でなければならないことを明らかにした。2種類のHLA-IIに結合するペプチド

の特徴は非常に類似していたが微妙な差が認められた。そこでこの情報をもとに、自己免疫現象の標的自己抗原と考えられるRAにおけるヒトII型コラーゲン(hcII)分子と、IASにおけるインスリン分子のアミノ酸配列を解析した。そして、それぞれの疾病に高感受性を示すHLA-II分子に高親和性を示し、感受性を示さないHLA-II分子には低親和性しか示さないペプチドを推定し、さらにこれらのペプチドを合成して上記のような親和性を示すことを確認した。

高感受性HLA-IIを有するIASあるいはRA患者の末梢血あるいは関節腔に由来するリンパ球をインスリンあるいはhcII分子と共に培養して、それぞれの分子に対して自己反応性を示すT細胞クローンを樹立した。このうちインスリン自己反応性T細胞は、先に同定したIAS感受性HLA-IIに結合するインスリンペプチドを特異的に認識することが明らかとなった<sup>4)</sup>。hcII反応性T細胞が認識するペプチドに関しては、現在検討中である。

### アナログペプチドによる免疫抑制療法の可能性

さらに自己抗原ペプチド上のアミノ酸を1個だけ置換したアナログペプチドを用いて自己反応性T細胞の免疫応答を阻止できないかと考え、そのモデルシステムとして細菌に由来する非自己抗原ペプチド特異的なT細胞クローンをを用いてアナログペプチドの作用を調べた。その結果、T細胞の抗原認識レセプターと結合すると考えられるアミノ酸残基を他のアミノ酸に置換すると高率に、T細胞の野生型ペプチドに対する応答を阻止するものが観察された。これらのアナログペプチドは、HLA-II分子に結合性を有し、用いたT細胞クローンに対してのみ特異的に免疫抑制活性を示した。またT細胞をまったく活性化しないものと、T細胞の細胞容積と接着分子などの一部の膜結合蛋白の発現を増加させるが、細胞増殖は誘導しないものの2種類に区別された。これらのアナログペプチドは、T細胞レセプターによる野生型ペプチドを結合したHLA-IIの認識を競合的に阻止することにより、T細胞の免疫応答を抑制するものと考えられる<sup>5)</sup>。したがって自己免疫疾患を誘導する自己抗原ペプチドを同定し、そのアナログを用いることにより、自己免疫現象に関わるT細胞のみに特異的な免疫抑制を誘導できる可能性があり、新しい治療法の開発に寄与するものと期待される。

#### 参考文献

- 1) Stern, L.J. et al. Nature 368 : 215-221, 1994
- 2) Hammer, J. et al. Cell 74 : 197-203, 1993
- 3) Todd, J.A. et al. Science 240 : 1003-1009, 1988
- 4) Matsushita, S. et al. J. Exp. Med. 180 : 873-883, 1994
- 5) 西村泰治, MHC分子およびMHC結合生ペプチドの構造と機能, 実験医学;増刊「免疫研究の最前線」12:86-96, 1994

## 「HLAとウイルス感染との関連」

鹿児島大学医学部ウイルス学助教授 藤吉利信

### 1. ウイルスの急性感染と持続感染

ウイルス感染症には、急性感染と持続感染の二つの感染様式がある。昨冬猛威をふるったインフルエンザウイルスは急性感染の代表である。ウイルスが体内に侵入し増殖をおこなうが、宿主の生体防御機構が働いて免疫応答が生じ、最終的にはウイルスが体内より排除されて治癒する。

これに対し、持続感染するウイルスは、ウイルスが体内で増殖すると、免疫応答がおきても体内から排除されない。潜伏感染する単純ヘルペスウイルス、EBウイルス、および慢性感染をするB型肝炎ウイルス、C型肝炎ウイルス、成人T細胞白血病ウイルス(HTLV-I)などがそうである。ヒトに腫瘍を作ることが知られているウイルスはこの持続感染をおこなうウイルスに含まれる。

ウイルスの持続感染では、ウイルス感染細胞が長期にわたり体内に存在するので、ウイルス感染細胞を攻撃する細胞傷害性T細胞(CTL)との平衡関係が発症病理の上で重要である。CTLはMHC分子上に提示された抗原ペプチドを認識する。ウイルス感染症ではCD8+CTLのほかにも、しばしばCD4+CTLが誘導され感染防御に重要な働きをすることが知られている。したがってHLAクラスIのみならず、ク

ラスⅡ抗原もウイルス感染に対するCTL機能の制御に重要である。

## 2. EBウイルスとHLA-A11

日本では、約90%がEBウイルスに感染しておりウイルスキャリアである。アフリカ黒人で、EBウイルスはバーキットリンパ種とよばれる悪性腫瘍をおこすことが知られている。このウイルスのEBNA4タンパク質の中の抗原エピトープ（アミノ酸配列416-424ペプチド）はHLA-A11拘束性のCTLの標的となるけれどもバーキットリンパ種が多発しているアフリカ黒人では、A11の頻度は極めて低い。一方、バブアニューギニアの原住民はA11の頻度が高い（50%）にもかかわらず、バーキットリンパ種が多発している。この集団から分離されたEBウイルスでは、EBNA4タンパク質の中の抗原エピトープ部位に突然変異がおき、アミノ酸配列が変化してCTLの標的とならないことが明らかとなった（文献1）。

表 ATL型とHAM型HLAハプロタイプの患者および一般集団での分布

HLAハプロタイプ	急性型	HAM	無症候性	鹿児島	全国
	ATL N=58	N=114	キャリア N=50	一般成人 N=200	日本人 N=848*
A26Cw3B62DR14DQ3	6.8%	0	2.0%	0.5%	0.1%
A26Cw1B54DR4 DQ4	5.2	0	0	1.5	0.1
A26Cw3B35DR15DQ6**	5.2	0	0	1.5	0.2
A26Cw-B61DR9 DQ3	3.4	0	0	0.5	0.5
A26Cw3B61DR9 DQ3	3.4	0	0	0	0.8
	24.0	0	2.0	4.0	1.7
A24Cw7B7 DR1 DQ5	0	9.8	2.0	4.0	3.7
A24Cw-B52DR15DQ6***	0	8.9	12.0	9.5	8.4
A11Cw1B52DR4 DQ4	0	6.3	0	1.0	0.6
A24Cw1B54DR4 DQ4	0	5.4	8.0	5.5	2.0
A2 Cw7B60DR8 DQ6	0	2.7	0	0	0.2
	0	33.1	22.0	20.0	14.9

\* 第8回日本HLAワークショップ（1988年）のデータより引用

\*\* A26Cw3B35DR15DQ6 (DRB1:1501, DQB1:0602)

\*\*\* A24Cw-B52DR15DQ6 (DRB1:1502, DQB1:0601)

二者のクラスⅡ抗原は血清型では同一だが、DNAタイプは異なる

## 3. HTLV-IとHLA

鹿児島大学ウイルス学教室では、HTLV-I感染によっておこる、成人T細胞白血病（ATL）とけい性脊髄麻痺（HAM）の遺伝背景をHLAハプロタイプに基づいて分析してきた。ATLのHLAハプロタイプは日本人の少数派にしかみられない特異なものであったが、HAMのHLAハプロタイプは平均的日本人の主流派に属するものであった（表1）。ATLのHLAハプロタイプはHTLV-Iに対して低免疫応答性であり、HAMのそれは高応答性であった。このHTLV-I免疫応答性はHLAクラスⅡ遺伝子の多型によって規定されており、現在、HLAクラスⅡ遺伝子アリルとHTLV-I抗原エピトープとの関係を解析中である（文献2）。

## 4. ヒトパピローマウイルス（HPV）

HPVは子宮頸がんの原因ウイルスである。HPV陽性子宮頸がんとHLA-DQw3との相関が1991年に報告されたが、否定的な追試結果も報告されていた。最近、HPV type 16陽性子宮頸がんHLAクラスⅡハプロタイプDRB1\*1501-DGB1\*0602が相関することが報告され、注目されている（文献3）。

## 5. 最後に

抗原エピトープが1種類のペプチドで済むような疾患では、HLAとの相関が明確である（インスリン自己免疫疾患とDRB1\*406）。

ウイルス疾患は、抗原エピトープの種類が複数であり、しかも良く分かっていない場合が多く、苦勞させられる。DNAタイピングによるHLAアリルの解析と、ハプロタイプの解析がHLAによるウイルス疾患感受性研究の分解能を上げるものと思われる。

## 文献

1. P.O. Lima et al. Science 260 : 98-100, 1993
2. S. Sonoda et al. Gann Monograph on Cancer Research 39 : 89-93, 1992.
3. B.J. Apple et al. Nature Genetics 6 : 157-162, 1994.

---

 「HLA 抗原と疾患の相関の機序」

北海道大学医学部第一病理 脇坂明美

## 1. HLA 抗原と疾患の相関の機序

ヒトが日常生活を営むには常に生物、非生物を問わず外来の異物との接触は避けられない。同じ外来異物の侵襲を受けたときでも宿主側の反応性の違いで生じてくる現象は全く違ってくる。この個体の持つ反応性の差を決定する最も重要なものは個体の遺伝素因である。ヒトの主要組織適合系である HLA 系は著しい多型性をなし、その多型性の差が免疫応答の個体差を規定していることが知られている。このため HLA 系の特定の対立遺伝子が、ある疾患の発症に重要な役割を果たしているのではないかと推測がなされ、あらゆる疾患について検索がなされてきた。これらの相関の機序は一様でなく、以下の説明がなされている。

## 1) 擬態説

HLA 抗原自身がある病因物質と類似しているため、その病因物質に対して有効な免疫応答が起こらなかつたり、逆にその病因物質に対する免疫応答が自己を破壊するとする説である。その代表的なものは強直性脊椎炎で、HLA-B27 との相関はつとに有名である。この相関は人種を越えて見られ、診断基準にさえなっている。

## 2) 受容体説

HLA 抗原自身が外来病因物質の受容体となり、両者が結合することで組織の病的状態が起こるとする説である。

## 3) 免疫応答遺伝子、抑制遺伝子説

HLA クラス II 抗原の多型が免疫応答の個体差となって、ある特定の対立遺伝子を有する個体にのみ病的状態を引き起こす場合で、主に臓器特異的自己免疫疾患が含まれる。

## 4) 連鎖不平衡説

疾患をきたす真の遺伝子は HLA 遺伝子とは異なるが、両者は近接して存在するため連鎖不平衡によって特定の HLA 抗原が相関する、つまり HLA 抗原が単なる遺伝標識である場合である。21-ヒドロキシラーゼ欠損症の B47、パーチェット病の B51、尋常性乾癬の Cw6 との相関などがこれに相当すると考えられる。

## 2. HLA 抗原と疾患の相関

## 1) 抗原頻度の比較

HLA 抗原と疾患の相関を見る場合、患者群と対照群の出現頻度を比較する。通常遺伝子頻度を用いるのだが、HLA の場合一般に表現型頻度 (抗原頻度) を用いている。表現型頻度 (pf) は、集団の総数 N、抗原陽性者数を C として  $pf=C/N$  で求め比較する。対照群は患者群と人種は勿論、年齢、性、出身地などが相同で、その数は患者群とほぼ同じ規模のものを用いるのが理想である。対照群が多すぎると人為的な有意差が出るので多くとも 4 倍以内に留める。尚、やむをえず第 11 回国際ワークショップの成績を用いる時は、表には遺伝子頻度 (gf) で記されているので、Hardy-Weinberg の法則から  $pf = 1 - (1 - gf)^2$  で抗原頻度を求め比較する。

## 2) 相関の有意性の検定

相関が真に意味のあるものなのかを通常  $\chi^2$  法検定する。 $2 \times 2$  表 (表 1) を作り

$$\chi^2 = N \cdot (ad - bc)^2 / A \cdot B \cdot C \cdot D$$

で  $\chi^2$  値を計算し、自由度 = 1 の  $\chi^2$  分布表から、それに対応する確率 p をだす。いずれかの項目に 5 以下の数字があれば Yates の補正を加え、

$$\chi^2 = N \cdot (|ad - bc| - N/2)^2 / A \cdot B \cdot C \cdot D$$

とする。またこの場合×2分布は、ずれが大きくなるのでFisherの直接法で求める方がより正確である。A、B、C、Dの周辺数を一定にして観察度数が期待度数より離れるあらゆる出現頻度の2×2表を作り、 $p = A! \cdot B! \cdot C! \cdot D! / N! \cdot a! \cdot b! \cdot c! \cdot d!$ で各々のp値を求め、その総和を実際のp値とする。

相関の有意性の判定には、計算されたp値に検索した抗原数を乗じた修正P値(Pc)が0.05以下であることが必要である。これは各抗原を独立な実験として検定しているためで、有意水準を0.05にして20種の抗原を比較すると偶然だけで1個は有意と判定されてしまうからである(第1種の過誤、慌て者の誤り)。しかし既に特定の抗原との相関が報告され、その事実を追試確認しようという時にはこの作業はいらぬ。修正P値では有意を見逃してしまうことがあるからである(第2種の過誤、ほんやり者の誤り)。

	抗 原		計
	+	-	
患者群	a	b	A
対照群	c	d	B
計	C	D	N

3) 相関の強さ

相関の強さは相対危険度 (RR: relative risk) で示し  $RR = ad/bc$  で求められる。いずれかに0を含む時には  $RR = (2a+1) \cdot (2d+1) / (2b+1) \cdot (2c+1)$  の修正式を用いるとよい。

3、おわりに

最近の目覚ましい分子遺伝学の進歩により、HLA系の構造解析が進み、また疾患と関連の疑われる細菌やウイルスなどの、生体を取りまく外来異物の構造が次々と解明されてきているので、HLAとの相関を契機に疾患の発症機序が分子レベルで理解できる様になってくると思われる。そこでHLAと疾患の相関が真に意味のあるものでなければ誤った結論に導く可能性も出てくる。これまで多くの疾患でHLAとの相関が報告されながらも、追試確認できなかつたことを経験している。一定の方法をとり、誰が追試しても同じ相関が見られる様ますます慎重にならなければならない。

過去1年間に雑誌等に掲載された疾患感受性に関する国内外の文献

\*HLAと疾患\*

1) 輸血と免疫をめぐる話題 (5) HLAと疾患  
十字猛夫 (日赤 中央血液セ)  
日常診療と血液  
VOL. 4, NO. 3 PAGE. 384-387 1994

2) ペプチドとHLA-DQ分子の結合 疾患関連HLA-DQ ( $\alpha 1 * 0501, \beta 1 * 0201$ ) 分子のペプチド結合特性  
JOHANSEN B H, VARTDAL F, VIKEN H, THORSBY E, SOLLID L M (Univ. Oslo, Oslo, NOR); BUUS S (Univ. Copenhagen, Copenhagen, DNK); ERIKSEN J A (Norsk Hydro Research Center, NOR)  
Int Immunol  
VOL. 6, NO. 3 PAGE. 453-461 1994

\*自己免疫疾患総論\*

3) 特集 自己免疫疾患 HLA  
兼岡秀俊, 坂根剛 (聖マリアンナ医大 難病治療研セ)  
Biotherapy (Tokyo)  
VOL. 8, NO. 6 PAGE. 807-817 1994

4) 特集 自己免疫疾患 自己免疫患者の成立機序  
佐々木毅 (東北大 医)  
Biotherapy (Tokyo)  
VOL. 8, NO. 6 PAGE. 792-799 1994

\*パーチエット病\*

5) パーチエット病の家族内発症例の臨床像  
西浦桂子, 小竹聡, 市石昭, 松田美彦 (北大 医)  
日本眼科学会雑誌  
VOL. 98, NO. 6 PAGE. 604-608 1994

6) パーチエット病の疾患感受性遺伝子の検索  
水木ハルノ (横浜市大 医)  
基礎と臨床  
VOL. 28, NO. 4 PAGE. 1083-1090 1994

\*全身性エリテマトーデス\*

7) 全身性エリテマトーデスにおける血清溶解性HLAクラスI抗原の臨床的意義  
HAGIHARA M, SHIMURA T, SUJIRACHATO K, YAMAMURA M, TSUJI K (Tokai Univ. School of Medicine); YAMAMOTO K (Tokai University Hospital); TSUJI S (Keio Univ. School of Medicine)  
Tokai J Exp Clin Med  
VOL. 18, NO. 1/2 PAGE. 61-64 1993

\*TSH受容体疾患\*

8) "自己免疫TSH受容体疾患"の新しい概念を伴うTSH受容体研究における最近の進歩  
MORI T, AKAMIZU T, KOSUGI S, SUGAWA H, INOU

- E D, OKUDA J, UEDA Y (Kyoto Univ. School of Medicine, Kyoto, JPN)  
Endocr J  
VOL. 41, NO. 1 PAGE. 1-11 1994
- \*慢性関節リウマチ\***  
9) 慢性関節リウマチの病因解明へのアプローチ 慢性関節リウマチの遺伝とHLA  
土屋尚之 (東大 医 病院)  
Mod Phys  
VOL. 14, NO. 1 PAGE. 3-6 1994
- \*多発性硬化症\***  
10) 多発性硬化症 (MS) の2座連鎖分析  
TIENARI P J, PELTONEN L  
(National Public Health Inst., Helsinki, FIN); TERWILLIGER J D, OTT J (Columbia Univ., New York); PALO J (Univ. Helsinki, Helsinki, FIN)  
Genomics  
VOL. 19, NO. 2 PAGE. 320-325 1994
- \*Hodgkin病\***  
11) Hodgkin病におけるヒト白血球抗原-DPB対立遺伝子の臨床的および疫学的研究  
OZA A M, LIM J, LISTER T A  
(St. Bortholomew's Hospital, London, GBR); TONKS S, FLEETWOOD M A, BODMER J G (Imperial Cancer Research Fund, London, GBR)  
Cancer Res  
VOL. 54, NO. 19 PAGE. 5101-5105 1994
- \*原田病\***  
12) 原田病の発症機構に関する研究 平成4年度 (文部省S) 大野重昭 (横浜市大 医)  
原田病の発症機構に関する研究 平成4年度 PAGE. 318p 1993
- 13) 汎発性の脱毛, 白斑ならびに紅斑に呈したVogt-小柳-原田病不全型の1例  
松谷紫, 武藤正彦, 中野純二, 倉田佳子, 麻上千鳥 (山口大 医)  
日本皮膚科学会雑誌  
VOL. 104, NO. 4 PAGE. 571-577 1994
- \*多発性嚢胞腎\***  
14) PKD-1遺伝子との関係 多発性嚢胞腎のHLA抗原の疾患感受性  
高原史郎, 奥山明彦 (大阪大)  
Mol Med  
VOL. 31, NO. 9 PAGE. 1051-1052 1994
- \*インシュリン依存性糖尿病\***  
15) 染色体15q26 (IDDM3) 遺伝子座が, インシュリン依存性の糖尿病の感受性を引き起こす  
FIELD L L, TOBIAS R, MAGNUS T  
(Univ. Calgary, Alberta, CAN)  
Nat Genet  
VOL. 8, NO. 2 PAGE. 189-194 1994
- 16) インシュリン依存性糖尿病におけるTAP1対立遺伝子 新しく決定された病気の感受性の動原体境界  
JACKSON D G, CAPRA J D  
(Univ. Texas Southwestern Medical Center at Dallas, TX)  
Proc Natl Acad Sci USA  
VOL. 90, NO. 23 PAGE. 11079-11083 1993
- 17) 日本人におけるインシュリン依存性糖尿病の遺伝学的マーカーについて  
AWATA T, KANAZAWA Y  
Diabetes Res Clin Pract  
VOL. 24 Suppl PAGE. 75-81 1994
- 18) 日本人若年性インシュリン依存性糖尿病患者におけるHLAと自己免疫に関する多施設共同研究 (日本糖尿病協会研究班)  
MIURA G, KIDA K, MURAKAMI K  
Diabetes Res Clin Pract  
VOL. 24 Suppl PAGE. 83-87 1994
- \*潰瘍よう疾患関連\***  
19) 特集 消化性潰瘍よう 消化性潰瘍ようの発症と再発に関する遺
- 伝子学的アプローチ  
鈴木雄久, 一瀬雅夫, 三木一正 (東大 医)  
カレントアパビー  
VOL. 12, NO. 10 PAGE. 1913-1915 1994
- 20) 消化性潰瘍ようの遺伝マーカーに関する検討 HLA-DQA1タイプおよび血清ペプシノゲン値の評価  
寺前直樹 (京都府医大)  
京都府立医科大学雑誌  
VOL. 103, NO. 3 PAGE. 359-369 1994
- 21) 潰瘍よう性大腸炎における自己抗体と臨床経過およびHLA-DR2との関連性  
高石官均, 日比紀文, 小林研介, 相磯貞和, 石井裕正 (慶応大 医); 岩男泰 (東京都大塚病院); 杉村一仁, 朝倉均 (新潟大 医); 戸田京子 (北里研 病院)  
消化器と免疫  
NO. 29 PAGE. 112-116 1994
- \*甲状腺疾患\***  
22) 特集 甲状腺腫と機能異常 甲状腺疾患と遺伝とう瑞平, 笹月健彦 (九大 生体防御医研)  
臨床と研究  
VOL. 71, NO. 3 PAGE. 585-590 1994
- \*肝炎\***  
23) 発症前の経過を観察し得た自己免疫性肝炎1例  
高橋達, 大越章吾, 上村朝輝, 朝倉均 (新潟大); 清水マチ子 (舟江病院)  
肝臓  
VOL. 35, NO. 9 PAGE. 682-688 1994
- 24) HCV無症候性キャリアおよびC型慢性肝炎におけるHLA-DR抗原の検討  
菅下典由, 志水洋二, 村田浩昭, 佐藤智信, 石上佳孝 (大阪府病院); 林紀夫, 笠原彰紀, 房本英之, 鎌田武信 (大阪大 医)  
肝臓  
VOL. 35, NO. 2 PAGE. 191 1994
- 25) 自己免疫性肝炎患者におけるHLA-DP陽性T細胞の増加と血清免疫グロブリン値との相関  
AOSHIBA T, YAMAUCHI K, TOKUSHIGE K, OBATA H, HAYASHI N (Tokyo Women's Medical Coll.)  
東京女子医科大学雑誌  
VOL. 64, NO. 3 PAGE. 192-197 1994
- \*びまん性肺疾患\***  
26) 特集: びまん性肺疾患の臨床 びまん性汎細気管支炎の人種特異性と遺伝性因子  
植松和嗣, 弦間昭彦, 工藤しょう二 (日本医大)  
Mod Phys  
VOL. 14, NO. 2 PAGE. 131-134 1994
- \*花粉症\***  
27) 白樺花粉抗原ペプチドの解析  
種市麻衣子, 植原元晴, 片桐一 (旭川医大)  
北海道医学雑誌  
VOL. 69, NO. 5 PAGE. 1154-1161 1994
- 28) 特集 花粉症最前線 花粉症の地域特性  
1. シラカバ花粉症  
龍井恵美 (旭川赤十字病院); 植原元晴 (旭川医大)  
Pharma Med  
VOL. 12, NO. 3 PAGE. 45-50 1994
- 29) 特集 花粉症最前線 花粉症発症の遺伝要因  
松下祥 (熊本大 大学院)  
Pharma Med  
VOL. 12, NO. 3 PAGE. 19-23 1994
- 30) シラカバ花粉症の抗原性ペプチドの同定  
植原元晴, 片桐一 (旭川医大)  
日本耳鼻咽喉科学会会報  
VOL. 97, NO. 2 PAGE. 260-267 1994
- \*ぜん息\***  
31) 特集 小児ぜん息における感作 遺伝と感作  
四宮健明 (東邦大 医)  
ぜん息  
VOL. 7, NO. 3 PAGE. 32-34 1994

最近1年間に発表された疾患とHLAとの相関

疾患名	HLA抗原	疾患名	HLA抗原
パーチエット病	B*5101 ↓	Early-onset IDDM (Japanese)	DR4 ↓, DR9 ↑, DR4/DR9 ↓ B*1, DR9 ↓ (with autoantibodies) B*4, DR4 ↓ (without autoantibodies) DR4 ↓ (with autoimmune thyroid disease)
慢性関節リウマチ	DR4 ↓	消化性潰瘍	D5 ↓, B12 ↓, B*35 ↓, B14 ↓
若年性関節リウマチ	DRB1*0405 ↓	潰瘍性大腸炎	DR2 ↓ DRB1*1502 ↓, DRB1*0405 ↓, *0901 ↓
サルコイドーシス	DR*52 ↓, DRB1*1201 ↓, *0803 ↓ DR52, 5, 6, 8 ↓, DR53 ↓ DRB1*1101 ↓, *1201 ↓, *1401 ↓, *0802 ↓ DQ1 ↓, DQA1*0501 ↓, DQB1*0501 ↓, DPB1*0402 ↓ DQB1*0501 ↓, DPB1*0402 ↓	クローン病	DRB1*0405 ↓, *0410 ↓, *0803 ↓ DRB1*0101 ↓, *1302 ↓, *1502 ↓ DQB1*0401 ↓, *0402 ↓, DQB1*0501 ↓, *0504 ↓ DQA1*0401 ↓, DQA1*0101 ↓, *0102 ↓
全身性エリテマトーデス	DRB1*1501, DRB5*0101, DQA1*0102, DQB1*0502 ↓	腎癌	DPB1*0301 ↓
原田病	DRB1*0405 ↓, *0402 ↓, DQB1*0401 ↓, *0402 ↓ DRB1*0405 ↓, *0410 ↓	換水術	A*0207 ↓, DRB4*0101 ↓
多発性嚢胞腎	DRB1*1401 ↓, *0803 ↓, *1302 ↓, *1501 ↓	びまん性肺疾患	B*54 ↓
ホジキン病	DPB1*0501 ↓ (日本人, 台湾人)	Graves病	A*0206 ↓, *2601 ↓, DPB1*0501 ↓
インシュリン自己免疫産物症	DRB1*0406 ↓, *0401 ↓, DQA1*0301 ↓, *0302 ↓	腎不全性貧血	Cw1 ↓
IDDM (Japanese)	DR4 ↓, DRB1*0405 ↓, *0901 ↓, DQA1*0302 ↓ DRB1*0405, DQA1*0301, DQB1*0401 ↓ DRB1*0901, DQA1*0301, DQB1*0303 ↓ DRB1*0802, DQA1*0301, DQB1*0302 ↓ DRB1*1501, DQA1*0102, DQB1*0502 ↓ DRB1*1502, DQA1*0103, DQB1*0501 ↓	腎小変性症ネフローゼ症候群	DQ3 ↓, DQB1*0302 ↓
		小児重症筋無力症	DR9 ↓, DR13 ↓
		白癩花柳症	DR9 ↓, DQ3 ↓
		早期発症型糖尿病 (EOP)	DRB1*0101 ↓, DQB1*0503 ↓, *0602 ↓

(左の欄を示す↑, 右の欄を示す↓)

過去3年間の近畿連合学会で発表された疾患感受性に関する演題

演題	所属	演者
第1回 直腸肛門癌群とHLAについて 化学発光標識DNAプローブによる日本人IDDM患者におけるHLA-DR4サブタイプの解析 腫瘍抗原HLADRβ1*04, DQB1*04との相関 インシュリン自己免疫産物症とDRB1*0405アリル アメリカ人 narcolepsy における narcolepsy とHLAの相関	京都大学小児外科 中外製薬・滋賀医科大学 横浜国立大学 東京女子医科大学腫瘍病センター 埼玉医科大学総合医療センター 腫瘍内科	櫻 晋央 他 小林 昌他 新藤裕実子 他 内海英子 他 松本一穂 他
第2回 サルコイドーシスにおける疾患感受性因子の検討 化学発光標識DNAプローブによる日本人IDDM患者におけるHLA-DRB1, DQB1, DQA1遺伝子座の解析 原田病におけるHLA遺伝子 腎臓癌を伴う慢性関節リウマチ患者の免疫遺伝子 パーチエット病の疾患感受性遺伝子の検討 成人型多発性嚢胞腎におけるHLA-DRB1アレルの検討 小児重症筋無力症とHLA-DQ3, HLA-DQB1*0302との相関 小児重症筋無力症における遺伝子座の解析	横濱市立大学 中外製薬・滋賀医科大学 京大医学部腫瘍科, 埼玉医科大学 徳島大2内 横浜国立大学 大阪大学泌尿器科 徳島大学第2内科 埼玉医科大学総合医療センター	石野真良 他 武田さおり 他 Ishim. 松本 他 赤木伸子 他 水木伸久 他 藤原史郎 他 徳永 功 他 松本一穂 他
第3回 百歳老人における疾患感受性アレルの解析 HLA-DRB1とサルコイドーシス 自己免疫疾患とHLA II結合性ペプチド 移植拒絶に関わる花柳抗原ペプチドとHLA-DR分子 HTLV-1関連ぶどう膜炎におけるHLAクラスII解析 成人型多発性嚢胞腎患者におけるHLA-DRB1, PKD-1遺伝子の解析 強直性脊椎炎患者の遺伝子とHLA-HLA-DRB1*0803 サルコイドーシスとHLA classII allele HLA-DQ遺伝子座の多型性とインシュリン依存性糖尿病 サルコイドーシスのHLAタイプとTNF-β, HSP70遺伝子の多型性	高海大医学部分子生命科学 大阪府立病院 熊本大免疫腫瘍学 徳川徳大第二病棟 横浜国立大学 国立循環器病センター 東大分岐腫瘍科 浜松医科大学2内科 九州大学生態学部 横浜国立大学	高田 豊 他 宮澤礼子 他 西村幸彦 他 植原元明 他 藤原史郎 他 事, 佐田 他 沼沢二郎 他 藤原礼生 他 安永第一郎 他 石野真良 他

過去2年間の近畿HLA研究会で発表された疾患感受性に関する演題

演題	所属	演者
第10回 IDDM患者におけるDRB1, DQB1, DPB1遺伝子の57番目のAcpの意義 潰瘍性大腸炎におけるHLAクイピンジの検討	ナベヤクリニック, 兵庫センター 神戸大医学部第2内科	鍋谷 龍壽 他 二見佐智子 他
第11回 成人型多発性嚢胞腎患者におけるHLA-DRB1, PKD-1遺伝子の検討 サルコイドーシスとHLA-DRB1 重症慢性HCVキャリアーのHLA-DRB1タイプ IgA腎症におけるHLA classI, classII, classIII alleleの頻度について	国立循環器病センター 大阪府立病院 大阪府立病院 大阪府立病院腎臓内科	佐田正博 他 立花寿夫 他 宮澤礼子 他 中西 功 他

過去2年間の日本免疫学会で発表された疾患感受性に関する演題

演題	所属	演者
第20回 インシュリンの抗原提示とHLA-クラスII分子との関係について HLA-A2結合トキソプラズマ感染細胞由来ペプチドのアミノ酸解析	東大総合医, 日赤中央センター 長崎大医学部腫瘍科	伊藤伸子 他 賀守文江 他
第21回 アトピー性皮膚炎患者に見出された新しいHLA-DPB1遺伝子 サルコイドーシスの発症や進展に関与すると思われる複数のHLA-DRB1 インシュリン依存性糖尿病の疾患感受性・抵抗性とHLAクラスII遺伝子座の多型性 慢性関節リウマチにおけるHLA-DNAタイプ 炎症性腸疾患(クローン病, 潰瘍性大腸炎)におけるHLA-DNAタイプ 腎臓発症とHLA-DP, DR遺伝子型との相関解析 カモガキおよびシラカバ花結によるアレルギー性結膜炎のHLA解析 早期発症型糖尿病患者感受性を規定するHLA classII 遺伝子の検討 アルゼンチンおよびラオスにおける原田病患者の分子遺伝学的研究 百歳老人における疾患感受性アレルの解析	東北大学 大阪府立病院 九州大学生体医学部研究部 久慈医科大学 九州大学生体医学部研究部 北里大学医学部免疫 横浜国立大学 岡山大学医学部 横浜国立大学 長崎大医学部腫瘍科	藤沢雅夫 他 宮澤礼子 他 安永第一郎 他 伊藤正博 他 吉武佐枝子 他 小嶋文彦 他 藤澤雅夫 他 六角崇博 他 藤澤雅夫 他 高田 豊 他



## 「日本輸血学会レポート」

平成7年3月22日～3月24日 名古屋にて

愛知県赤十字血液センター 研究課 太田 浩敏, 水野 伸一

第43回日本輸血学会が平成7年3月22日より24日の3日間、名古屋国際会議場で行われました。特別講演2題、総会長講演、シンポジウム3テーマ24題、教育講演4題、輸血問題検討部会4題、一般演題235題の発表があり、3日間で約1,500人の参加があり盛況な総会となりました。

特別講演は、New York Blood CenterのB.Horowitz氏が「血液製剤のウィルスの不活化」についてAmerican Red Cross Blood ServicesのF. Peetoom氏が「血液製剤の今後への期待」について講演されました。

総会長講演は「止血機構異常と輸血」について講演されわかり易く興味深い講演内容でした。

シンポジウムⅠは、「造血幹細胞移植の現状と将来」のテーマで末梢血幹細胞の採取とその特性、臍帯血幹細胞移植、GVHD予防を目的としたT細胞除去、自家造血幹細胞移植と腫瘍細胞除去、CD34陽性細胞の単離とその意義、造血幹細胞のin vivo及びin vitro増幅、造血幹細胞移植における輸血部・血液センターの役割などの講演がありました。シンポジウムⅡは「輸血に伴う感染症」のテーマでHBV関連マーカーのスクリーニングとB型肝炎の発症について、HCVキャリアのスクリーニングと治療、HTLV-1過去、現在および未来、サブタイプO及びHIV検査の問題点、血液スクリーニングの問題点、サイトメガロウイルス：新生児とCompromised hostへの輸血、輸血とエルシニア感染などの講演がありました。シンポジウムⅢは「血小板輸血の現状と将来」のテーマで輸血患者における抗血小板抗体のスクリーニング及び同定、HLA適合血小板輸血の臨床効果とHPA-2b抗体、血小板製剤供給体制の将来の方向、血小板輸血の適応と適正使用、骨髄移植と血小板輸血、外科領域の血小板輸血と自己血小板採取などの講演がありました。教育講演は遺伝子治療の展望、骨髄バンクと非血縁者間骨髄移植、安全な輸血に関する最近の問題点、米国における卒後の輸血医学教育などの講演がありました。

一般演題では、1)HPAにおいて京都府赤十字血液センターではPCR-AMRSによるHPA-2のDNAタイピング、大阪府赤十字血液センターではAS-PCRによるHPA-5のDNAタイピング、中央血液センター・東京大学ではHPAの各タイピング方法の比較を行い”PCR-SSCP,MPHA,PCR-SSP,PCR-ASRA間に結果

の相違は見られなかった。”と報告しています。又、中央血液センター・東京大学・湧永製薬では新たにPCR-PHFAによるHPAタイピングの検討を行い、MPHA, PCR-SSP,PCR-ARSA,PCR-SSCPと結果の相違がないことを確認しています。2) HLA-Class IではPCR-SSCP法,PCR-RFLP法によるDNAタイピングの報告があり、今回中央血液センターではHLA-A抗原に関してA遺伝子の第2,3エクソンをそれぞれ特異的に増幅し両エクソン合わせて15種の制限酵素により第2エクソン,第3エクソンのRFLPの結果の組み合わせにより39種類の対立遺伝子で可能な780種類の組み合わせ中750種類が判定でき、残りの30種類も他の制限酵素やdouble digestionにより判定可能であると報告されています。一方、HLA-Bでは日本人B15のアリルタイピングが可能になったこととB22についてアリル解析の発表がありました。又、遺伝子の点突然変異によりB座抗原が検出できない家系があり、中央血液センターの赤座達也先生によると日本骨髄バンクのデータよりこのような“null”タイプは4,000ハプロタイプに1つの割合で見られるとの事でありました。3) 東京大学・中央血液センターではPCR-RFLP法によるHLA-DM遺伝子の解析が行われ、“白人集団と日本人集団間で差は見られないと考えられる。”と報告されました。京都府赤十字血液センター・京都大学ではPCR-LIS-SSCP法によるTAP遺伝子の解析が行われTAP2アリルでは日本人での特徴が見られることが報告されました。4) 東京大学・中央血液センターでは、SLE患者においてTAP2遺伝子の変異が認められ mismatch-PCR-RFLP法は、多型の解析のみでなく変異検出のスクリーニングとして有用であると報告されました。東京大学などでは、強直性脊椎炎の患者ではB27との強い相関に加えてこれらの患者のブドウ膜炎とDR8を有することに相関があると報告がありました。

ほんの少し前まではDNAタイピングはHLA-Class II・IIIばかりでありましたが、最近ではClass IでもPCR-RFLPやPCR-SSCPによるDNAタイピングが可能と成ってきており、臓器移植における組織適合度とGVHDやGVL効果との関係の解明に寄与するものと思われました。

# HLA最前線

## ● HLAの臨床応用編 ●

### 朗報!! 慢性腎不全患者が出産—腎移植後の妊娠・出産

高知県立紬王病院 外科<sup>1)</sup>,産婦人科<sup>2)</sup>  
堀見忠司<sup>1)</sup>,西村渉<sup>1)</sup>,長谷川俊水<sup>2)</sup>

はじめに  
慢性腎不全による透析患者の出産は極めて稀で、たとえ妊娠しても出産にいたることは困難である<sup>1)</sup>。しかしながら、ひとたび腎移植を受け、正常な生活に復帰した患者は排卵リズムや性機能障害は改善し、妊娠率は上昇すると言われている<sup>2,3)</sup>。本邦の日本移植学会の集会<sup>4)</sup>では1983年から1991年までの腎移植患者の出産は55例(77例妊娠中、出産成功率71%)であったが、その後も増加していることが窺える。

当院ではこれまで113例の腎移植を施行してきた。男性61例、女性52例で、平均年齢はそれぞれ男性は35.5±7.0歳(12~55歳)、女性は37.0±8.3歳(12~63歳)であった。これらの女性の内、腎移植後妊娠した者は11例あり、その内、3例は社会的に妊娠続行が不可能で意識的に人工妊娠中絶を施行した。1例は妊娠後1.5ヶ月で自然流産した。従って、出産および出産予定者は7例である。そこで、本稿ではこの7例について移植、妊娠および出産について報告する。

表1

症例	結婚年齢	移植時年齢	身長(cm) (体重(kg))	Fナー	透析歴	移植日	妊娠を知った日	妊娠時年齢	移植から妊娠の期間
1	22	35	154 48	母	13y	S63.3.9	H3.1月	40	2y11m
2	21	34	142 42	母	14y	S63.7.6	H5.6月	39	5y
3	32	32	157 42	母	6m	H5.10.27	H6.5月	32	7m
4	23	30	148 45	母	1y4m	H4.7.29	H6.6月	32	1y11m
5	23	20	148 54	叔父	6m	H3.3.27	H6.7月	23	3y
6	35	39	157 67	父	4m	H4.6.3	H6.12月	42	2y6m
7	34	26	156 40.5	父	3y2m	S62.7.8	H7.1月	34	7y6m

#### 1. 症例の移植と妊娠(表1)

各症例の移植と妊娠に関する事項を表1に示しているが、結婚年齢は20歳代が4例で、30歳代が3

例であった。移植時年齢は結婚前が2例で、他の5例は結婚後に移植が施行されている。ドナーは母が4例、叔父が1例、父が2例であった。透析歴はそれぞれ14年、13年、6ヶ月、1年、4ヶ月、6ヶ月、4ヶ月、3年2ヶ月であった。妊娠時年齢は23歳が1例、30歳代が4例、40歳代が2例であり、高齢となっていた。移植から妊娠までの期間は7ヶ月が1例、1年11ヶ月が1例いたが、他の5例は2年以上経過していた。

表2

症例	尿蛋白 妊娠前	尿蛋白 妊娠中	尿蛋白 妊娠後	血圧 妊娠前	血圧 妊娠中	血圧 妊娠後	Ht 妊娠前	Ht 妊娠中	Ht 妊娠後
1	-	-	-	146/94	134/70	122/60	35.2	26.7	33.5
2	-	+	-	127/78	172/80	144/92	44.7	30.8	41.3
3	-	-	-	120/70	120/60	129/54	22.2	20.0	26.2
4	-	-	-	110/80	120/74	120/70	31.1	30.4	32.4
5	-	-		124/70	135/60		38.4	27.3	
6	-	-		140/90	130/86		40.7	33.1	
7	-	-		110/73	106/71		35.0	38.8	

2. レシビエントの妊娠前、中、後の臨床的経過(表2)  
尿蛋白は全例妊娠前、中、後の経過によって変化は認められず(-)であった。血圧は妊娠後半に上昇する傾向はあったが、特に処置を必要とするものではなかった。ヘマトクリット(Ht)は妊娠中、全例低下を認め、症例1と3は輸血やエリスロポエチンの投与にて対応したが、出産後は全例ヘマトクリット(Ht)は改善した。

3. レシビエントの移植腎機能と免疫抑制剤(表3)  
レシビエントの移植腎機能は妊娠前は全例極めて良好であったが、妊娠中は軽度低下した。しかし出産後は全例元に復帰した。免疫抑制剤は妊娠によって変更を行ったレシビエントは症例5の

1例のみで、催奇性のあるMizoribine(プレドニン)を中止し、Methylprednisolone(メドロール)を8mgから12mgとCyclosporine(サンドイミュン)を50mgから100mgに増量した。また、症例1はHCV(+)であったが、肝機能は正常であった。症例4は移植前に子供2人出産歴あり、腎移植後の妊娠前に大腿骨頭壊死にて手術施行していた。また症例5はHCV(+)で、腎移植後の妊娠前に大腿骨頭壊死にて手術を施行し、妊娠中肝障害をきたし、GOTは500IU/L以上となったが容易に正常に復した。同様に症例6も腎移植後の大腿骨頭壊死にて手術を施行していた。

表3

症例	S-Cr 妊娠前	S-Cr 妊娠中	S-Cr 妊娠後	免疫抑制剤 妊娠前	免疫抑制剤 妊娠中	免疫抑制剤 妊娠後	備考
1	0.6	0.7	0.6	Imuran 50mg Medrol 8mg	Imuran 50mg Medrol 8mg	Imuran 50mg Medrol 8mg	HCV(+) 出産後、経膈鏡 の手術
2	0.6	0.6	0.7	Imuran 50mg Medrol 8mg	Imuran 50mg Medrol 8mg	Imuran 50mg Medrol 8mg	出産直後、左尺 骨と橈骨骨折の手術
3	1.1	1.4	1.1	Imuran 50mg Medrol 8mg Cya 50mg	Imuran 50mg Medrol 8mg Cya 50mg	Imuran 50mg Medrol 8mg Cya 50mg	
4	0.8	0.9	0.9	Imuran 50mg Medrol 4mg Cya 100mg	Imuran 50mg Medrol 4mg Cya 100mg	Imuran 50mg Medrol 4mg Cya 100mg	妊娠前、大腿骨 頭壊死にて手術 子供2人いる
5	0.8	1.2	1.1	Mizori 100mg Medrol 8mg Cya 50mg	Medrol 12mg Cya 100mg		糖尿病あり 妊娠前、大腿骨 頭壊死にて手術 妊娠中、肝障害
6	0.8	1.0	1.0	Imuran 50mg Medrol 8mg Cya 50mg	Imuran 50mg Medrol 8mg Cya 50mg		妊娠前、大腿骨 頭壊死にて手術
7	0.8	0.9	0.9	Imuran 50mg Medrol 8mg	Imuran 50mg Medrol 8mg		

4. レシピエントの分娩 (表4)

分娩週数は全例32週を超えるようにするため、妊婦に何らかの異常があれば、早急に入院し、安静を保ち、出来る限り長く母胎の中に居るようにした。

症例2は胎児胎盤機能不全のため、新生児体重も1430gと小さかった。本症例は比較的長く保育器で小児科医のもとに管理され無事44日目に退院となった。分娩様式は前例帝王切開であった。アプガースコアは8または9で母子は共に退院した。

全例出産後の新生児の経過は良好であった。

表4

症例	分娩週数	分娩様式	新生児性別	新生児体重	アプガースコア	母子退院	出産後の経過
1	38w3d	帝王切開	男	2322	8	12d	異常無し
2	32w2d	帝王切開	女	1430	8	44d	異常無し
3	34w4d	帝王切開	男	2200	9	19d	異常無し
4	36w6d	帝王切開	女	2744	9	17d	異常無し
5	95/4/4予定						
6	95/7/26予定						
7	95/8/9予定						

考 察

慢性腎不全の女性患者はその殆どが妊娠・出産をあきらめているが、腎移植により出産可能となり新しい家族の人員をもうけることは、女性にとってまた家族にとって極めて喜ばしいことである。しかし妊娠・出産により移植腎の機能低下を恐れるため、夫や家族さらに患者自身もなかなか妊娠・出産に踏み切れないのが現状である。

1987年Davison<sup>5)</sup>は腎移植後の妊娠許可基準(表5)を報告し、現在この妊娠許可基準が未だに生きており、本邦における妊娠・出産の報告<sup>6,7)</sup>でも引用されているが、妥当性があり、わかりやすく、移植医はこれに則って妊娠を許可しているものと思われる。

表5

Davison の妊娠許可基準

- 1) 移植後2年以上経過
- 2) 産科的に分娩に問題なし
- 3) 蛋白尿無し
- 4) 高度の高血圧無し
- 5) 拒絶反応無し
- 6) 尿路系に異常無し
- 7) 血清クレアチニンが2.0mg/dl以下
- 8) 免疫抑制剤が少ない

当院ではこれまで11例の腎移植後の妊娠例を見たが、1例は移植医に相談せず、人工妊娠中絶を受けた。2例は社会的に出産不可能であった。他の1例が出産を望んでいたが、7週目に自然流産した。かくして現在3例が妊娠継続中、4例が出産を遂行した。出産例の中で1例は腎移植後7ヶ月で妊娠、もう1例も23ヶ月で妊娠し、また他の1例は骨盤が極端に狭く、Davison<sup>5)</sup>の腎移植後の妊娠許可基準から完全にはずれていたが、我々は不安の中で許可した。しかし妊娠から出産にいたるまで、貧血をみた以外なら異常は認めず軽快に経過した。幸い当院の症例は全て移植腎機能が良好であったが、この事実はDavison<sup>5)</sup>の腎移植後の妊娠許可基準からはみ出しているも、移植腎機能が良好でさえあれば、問題ないことが示唆された。

また産婦人科側からの報告<sup>8)</sup>もあるように、当院では妊娠が判明した時点で妊娠した腎移植患者を産婦人科医の管理下におき、外来通院中は産婦人科と移植医を同時に受診し、出産のための産婦人科入院後は、移植医は毎日回診し、産婦人科医と移植医は密

接なコンタクトのもとに患者管理を行なっている。またさらに新生児は小児科医のもとに管理され、こうして未だ症例は少ないが100%の分娩成功が行われた。

#### まとめ

腎移植を受けた女性52例の内、妊娠した者は11例あり、その内、3例は社会的に妊娠続行が不可能で意識的に人工妊娠中絶を施行した。1例は妊娠後1.5ヶ月で自然流産した。出産例は4例で、出産予定者は3例であるが、産婦人科医と共に密接な共同管理下におき、新生児は小児科医のもとで管理され、Davisonの妊娠許可基準に準じない症例も100%の分娩成功が行われた。

- 1) Hou,S. : Peritoneal dialysis and haemodialysis pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 1:1009-1025,1987
- 2) Farber, M. : Pregnancy and renal transplantation. *Clin. Obstet. Gynecol.* 21:931-934,1974
- 3) Davison, J.M., Lindheimer, M.D. : Pregnancy in renal transplant recipients. *J.Reprod.Med.* 27:613-620,1982
- 4) 腎移植臨床登録集計報告1991. 移植27:594-616,1991
- 5) Davison J.M. : Renal transplantation and pregnancy. *Am. J. Kidney Dis.*, 9:374-380,1987
- 6) 中島としみ、鳥田信宏、熊野和雄、遠藤忠雄：腎移植—妊娠・分娩、腎と透析（臨時増刊）746-750. 1992
- 7) 梅田千佳、高橋公太、田辺一成、尊田和徳：腎移植患者の妊娠・出産、今日の移植7:331-335,1994
- 8) 光田信明、細野剛良、中村紀彦、谷澤修、石橋道男、高木哲：腎移植と妊娠、産婦人科治療 65. 422-427. 1992

## ◎ HLA と生物学編 ◎

### シリーズ：HLA分子の発現制御（その3）

東京医科歯科大学難治疾患研究所成人疾患研究部門 異常代謝分野  
木村彰方

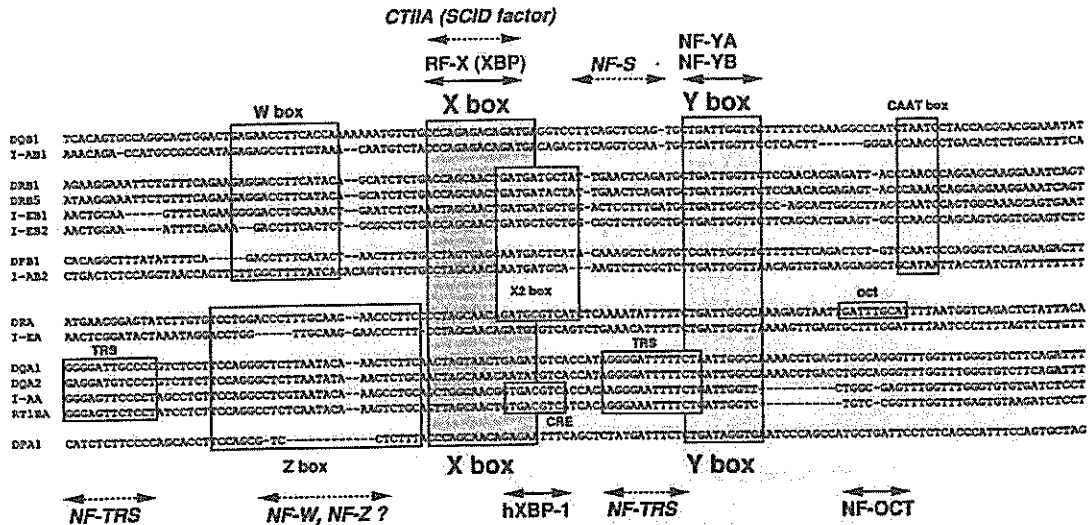
前回までにHLA分子の発現制御を概説して来たが、今回は特にHLAクラスII遺伝子の発現制御、特に転写レベルでの制御について述べる。HLAクラスII遺伝子は、ヒトではDR、DQ、DPそれぞれの $\alpha$ 鎖(DRA, DQA1, DPA1)、 $\beta$ 鎖(DRB1, DRB3, DRB4, DRB5, DQB1, DPB1)の遺伝子群により構成されている。これらの遺伝子は蛋白としての最終的な表現型を決定する部分(コーディング領域、エクソンとも呼ぶ)が互いによく似た構造をしている(座位間で約60~80%程度の相同性を有する)のみならず、その発現量(転写量すなわちmRNA量)を制御する領域(プロモーター領域と呼ぶ)も互いにある程度の相同性を有している。この相同性は、コーディング領域では全体にわたって同程度であるが、プロモーター領域では特定の短い塩基配列部分のみに認められる(図1)。

このような特定の塩基配列はヒトのみならず、ラットやマウスなどのクラスII遺伝子のプロモーター部分にも認められる。すなわち、このような配列(特にX boxやY box)は、進化上よく保存されていることがわかる(図1)。進化上の保存は、一般的に機能的に重要なものについて認められる現象であり、このことからX boxやY boxは、クラスII遺伝子の発現にとって重要な配列であることが示唆さ

れ、事実これらの配列は、転写効率を上昇させる核内蛋白(転写因子)であるX box結合因子(RF-X)及びY box結合因子(RF-Y)の結合部位であることが示されている。

一般に蛋白をコードする遺伝子の転写はRNAポリメラーゼが、プロモーター領域に結合することで開始するが、RF-XやRF-Yがプロモーター領域に結合することで、この転写開始効率が高められると考えられる。図1の塩基配列を比較すると、X boxやY boxの配列は、必ずしも一定ではなく、遺伝子間で多少異なることがわかる。転写因子のDNAへの結合効率は、プロモーターの塩基配列に依存することが知られており、ヒトでもRF-Xの結合効率はDRB $\approx$ DRA>DQB1 $\approx$ DPB1>DPA1>>DQA1、RF-Yの結合効率はDRB $\approx$ DQB1>DRA>DPB1 $\approx$ DPA1 $\approx$ DQA1の関係が成立している。またHLAクラスII遺伝子のプロモーター領域に結合する転写因子はRF-XやRF-Yのみではなく、DRAではOct、DRBではRF-X2、DQA1ではNF-TR5等の異なる転写因子が結合することが知られている。このような転写因子の結合の総和が各遺伝子の転写効率と密接に関わることになるが、実際にB細胞での転写量やインターフェロン誘導後の抗原提示細胞での転写量を比較す

MHC class II promoters and binding site of nuclear factors



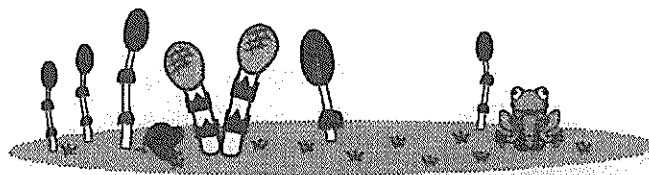
るとDRA>DRB1>DQB1≒DPB1>DPA1>DQA1の関係にある。従って、転写量を規定する最も重要な因子はRF-XとRF-Yであると考えられる。

前回紹介したように、HLAクラスII遺伝子の転写はB細胞では恒常的であるが、線維芽細胞等ではインターフェロンの存在下のみ観察され、T細胞では活性化に伴って観察される。ではRF-XやRF-Yもまたこのような細胞特異的な発現をしているのであろうか？答えは否であり、RF-XとRF-YはともにクラスII分子を発現しない細胞でも同様に存在している。但し、RF-XがX boxに結合するか否かは細胞種特異的であり、通常の細胞に存在するX box結合因子(XBP)が、B細胞に恒常的に存在しかつインターフェロンでその発現が誘導されるCTIIAという因子と結合して初めて転写効率を上昇できる結合性を発揮できると考えられている。なおこのCTIIAの欠損症はBare lymphocyte SyndromeというHLAクラスII分子の発現欠損を伴う重症の先天性免疫不全症である。これに対してRF-Yは、2つのサブユニット(RF-YAとYB)

から構成されるY box結合因子であり、いかなる細胞にも同様に存在し、かつ転写効率を上昇させ得るDNA結合活性を有している。またRF-YはクラスII遺伝子の転写に特異的な因子ではなく、HLAクラスI遺伝子を含めた他の多くの遺伝子のプロモーターに存在するCCAAT boxにも結合することが知られており、事実そのような遺伝子の転写にも深く関与している。

筆者らは、DQA1遺伝子の転写量がTNF $\alpha$ 存在下に著明に上昇すること、B細胞ならびにT細胞の活性化に伴って著明に上昇することを見出し、これらの転写制御を司る因子をNF-TRSと名付けた。この転写因子はB細胞に比較的少量に存在し、TNF $\alpha$ の添加あるいはT細胞の活性化に伴って発現が誘導されるNF $\kappa$ Bファミリーに属する。なお、NF $\kappa$ BはHLAクラスI遺伝子の転写制御に最も密接に関与する転写因子である。

このようにクラスI遺伝子とクラスII遺伝子の転写には、一部共通の転写因子が関与しており、HLA遺伝子群の進化を考える上で興味深い現象である。



佐治博夫の **まかせなさいっ!**

## 免疫学のゴールドラッシュはHLAを神器にした

京都府赤十字血液センター研究部 部長 佐治博夫

サイエンスの世界はエポックの連なりである。1989年はHLAと免疫学にとって時代を画する年であった。パトリシア・ヨルクマンとジャック・ストロミンジャーが長年にわたる膨大な作業の結果として、HLA分子の立体構造をネイチャーに発表したことにはじまる。抗原ペプチドらしき「影」がHLA分子の割れ目に観察され、すぐにHLAとペプチドの結合がインヴァイトロで証明された。世界はどっと沸いた。TcRの抗原認識機構の解明が分子レベルで一挙に進む予感が免疫学者を沸かせた。HLAとペプチドの結合、HLAの抗原提示メカニズム、そしてHLAのペプチド結合特異性など、あたかもゴールドラッシュのごときペーパーの氾濫がはじまる。金をもとめてバンドワゴンの群れが西部をめざして疾走した伝統であろうか、アメリカの免疫学の雑誌はよく似た内容だがそれぞれに興味ある論文に埋め尽くされた。ワゴンマスターは馬に鞭をくれいまでも奔りつづけている。しかしアメリカの免疫遺伝学の強さは疾駆するワゴンマスターの存在のみに支えられているわけではない。それを支えるテクノロジーがすぐ進化して、バンドワゴンの改良のみならず、走りやすい道や橋梁を直ちに作ってしまう点にある。バックヤードの奥の深さである。加えて、人が注目しない重要な現象と物質を人知れずこつこつと研究している人が数多くいて、それを容認している科学社会のふところの深さが本質的な強さを生んでいるのであろう。パトリシアとジャックはそのひとりに過ぎない、多くの研究者がいまだに日の当たらないところで、意欲的に、喜びをもって仕事をしている情景が目に見えるようである。

HLAの生物学的重要性は組織適合性の概念をはるかに超えた。まさに神器になってしまった。HLAの多型性を可愛く思い、惹き込んで、かつ楽しんできた古典的HLA人はこのラッシュに戦意を喪失し、圧倒されているこのごろである。めざしたものは手に入れたのか？ある部分では到達で

きたが、果たしてそれはめざしたものであったのか？

臨床HLAとくに臓器移植適合性に進歩はあったか？

飯田真作さんが「ベリタスHLA講演会」10周年記念レクチャーを依頼するためUCLAのポール・テラサキ教授に会ったときのことである。「この10年のHLA研究の進歩は目をみはるものがありますね」真作さんは素直に同意を求めた。テラサキ教授はあの独特のポーズでしばらく間をおいた。「いや、私の本来の興味の対象である腎移植等の臓器移植の分野ではめざましい進歩はないね・・・」冷徹な視方であり、なん十年もそれを志したポールの真意があふれた返答であった、という。そして続けて「私は臨床にアプライして意味のあるHLAとは何であるかを追及して行く」という決意を語った。今年の「ベリタスHLA講演会」のポールの記念レクチャーに臨床HLAの現実と未来が語られる筈。

いまこそHLAの夢を語ろう！

“HLAは人類を救えるか？”などと・・・

圧倒的な最新情報の奔流に、行方を見失い、戦意を喪失しつつある臨床HLA家やティッシュタイパーにもう一度夢を見てもらおう。こんなつもりで、ある「パネルディスカッション」が企画されている。題して“夢紀行—HLA”。パネラーには日本の気鋭のHLA学者が網羅されている。夢のようなメンバーである。ティッシュタイパーの代表がモデレーターを務め、自由奔放にHLAにかける夢を語っていただくつもりである。詳細は今号のどこかに掲載されている、はずである。サイエンティストや技術屋は夢がなくては生きていけない人種だと思っている。HLAアーティストよ、もういちど立ち上がれ！

## 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3 HLA-B5

兵庫県立西宮病院 腎移植センター

橋本光男

今までのシリーズの執筆者、中島文明(神奈川県血液センター)、斎藤敏(長野県血液センター)両氏はHLAタイピングの分野に於いて現在、最も活躍され“KAMON”の愛読者なら容姿をも含めて知らない人はいないと思います。彼等の後の走者として、私のようなタイピングの年数だけが取り柄の老タイパーが(もっとも最近ではタイピングをやっていないとお叱りを受けていますが)今まで好評であったこのシリーズの第3走者を引き受けるのは非常に心苦しいのですが、『HLAの“記紀”の時代を知っているのはお前ぐらいしかいない』と編集長からお褒めの言葉を頂きましたので、稗田阿礼になりかわりB5の歴史をまとめて行きたいと思えます。

(\*) 日本の古代史を混迷に陥れている古事記、日本書紀

#### HLA-B5抗原の歴史的背景

まず最初に、おもにHLAワークショップの変遷を眺めながらB5抗原の誕生を追うことにする。B5抗原のルーツは1965年、オランダで開催された第2回ワークショップでR.Payne等が4aグループ(現在のB4)をきめる抗血清群のなかに4aに含まれるが、それよりも短い血清(抗血清の長い、短いについてはこのシリーズの第1回で中島さんがまとめられていますので参照してください)を報告したことに端を発する。そして、1968年WHO委員会でこの3本の血清(No.27,36,40)に反応するクラスター(抗原)をHLA-A5と命名され、B5抗原のルーツがこの世に誕生したのである。しかし、今から振り返るならばこのHLA-A5なるものは4Cグループ(B5,B18,B35)なる多特異性をみていることになる。その後、精力的に抗血清が収集され、多くの異なる人種のパネルセルで検討がなされ、HLA-A5は少なくとも3つのスプリットに細分化することが明かとなった。それぞれA5(B5),W5(B35),W18

(B18)の特異性が誕生したのである(1970年、第4回ワークショップ)。このワークショップに於いて初めてHLA-A抗原は二つの異なる遺伝子座、LA座(HLA-A)とFour座(HLA-B)に支配された複対立遺伝子の遺伝学的概念が導入されたのである。この時代になってようやく現在のB5抗原の原型ともいえるA5特異性が明確になってきたのであるが、1972年、フランスで開催された第5回ワークショップのHLA-A5のセッションでJ.G.Bodmer等によってA5を決める血清のなかに人種間で反応の違いが認められることから、さらにスプリットされる可能性が指摘された。特に、P.I.Terasaki等のUCLAのグループは北海道から空輸されたアイヌとロサンゼルス在住の日本人の血液をサンプルとしてHLAタイピングをおこない遺伝子頻度とハプロタイプ頻度を報告した。この報告は日本人のHLA頻度を求めたものとしては世界最初の記念すべきレポートである。さらに、彼等はこのなかでHLA-A5としてワークショップに提出された血清(serum 16)はA5陽性パネル以外に陰性パネルにも反応することをみだし、このエクストラの部分を“Collihole”と名付けた(恐らく現在のB52)。この頃までが日本人にとって“記紀”の時代であり、日本では希少価値の赤本(Histocompatibility Testing 1965-1972)からでしかHLAの新しい知識とその流れを知ることはできなかった。日本のHLAの先駆者たちは夜を徹してこのTestingの報告を、薄暗い研究室で読み漁っていたものと想像できる(なかにはストレスのあまり円形脱毛症に陥った先生もおられたとの話も伺っています)。しかし、1975年のデンマークでの第6回ワークショップから日本の施設からも正式に初めて参加することが出来るようになったのである。このワークショップ以降今までのHLAから現在我々が日常使用しているHLAに、遺伝子座もA, B, C, Dと名称が変更になった。従って、今までのHLA-A5がHLA-B5にW5,W18がそれぞれBw35,B18と

統一された。前回のワークショップで指摘されてきたB5のスプリット抗原については、明らかに二つに細分化されることが示され、B5.1 (B51), B5.2 (B52) の仮名称が付けられた。日本からも血清学の分野では相沢 (北海道大学)、辻 (東海大学)、十字 (東京大学)、内藤 (福岡大学) 各先生の報告がおこなわれ、日本のHLAが世界に飛躍し輝かしい夜明けを迎えることになる。さらに特記すべきことは、内藤先生のラボから提出された血清181が日本では最初のB5の標準血清として認められたのである。今まで述べてきたB5抗原は、ヒトのIa抗原 (DR抗原) の同定に主眼を置いた第7回ワークショップ (1977年, イギリス) でクライマックスを迎えようとする。HLA-A5として命名され、さらにはそのheterogeneityが示唆されてきて約10年の歳月を経て、B5.1, B5.2がそれぞれ、我々が日常のタイピングで御馴染みのBw51, Bw52に、そして最初はB35のグループと考えられていたHRがBw53として公認されたのである。

こうしてみると、B5抗原は日本人のパネルによりスプリットが明確に定義することが可能になったといっても過言ではあるまい。日本人による、日本人のための、日本人のHLAタイピングの重要性を改めて痛感する。

新しいB5関連抗原へのさらなる探求

1975年の第5回ワークショップ以降、HLAの世界は第5番目の遺伝子座であるHLA-DRに関心が集まり、クラスI抗原への熱意がやや薄れ、特にB5に関してはもはや、well defined antigenのグループに入ってしまった感があった。しかし、HLAタイパーの執念といおうか飽くなき探求心により、1980年に入る頃から世界各地から次々と新しいB5関連抗原が報告された。表1に私が知り得た範囲での新抗原を参考までにまとめた。これらの報告を見る限り、新抗原はNM5を除いてアフリカ先住民と日本人から見出だされていることが特徴である。ここでは、日本のローカルな施設 (斎藤さんには叱られるかもしれませんが) でみいだされたB5135と

表1 B5関連抗原

WHO命名	抗原名	人種	報告者	文献
B5102	B5135	日本人	橋本光男	第9回日本HLAワークショップ共同報告、170、1987
B5103	BTA	日本人	斎藤敏	血液事業学会誌: 4、510、1988
B7801	B5Y	Black	R. Payne	Tissue Antigens: 11、302、1978
B7801	SNA	Berber	M. Andrien	Tissue Antigens: 33、400、1989
?	B5CV	Black	C. Gorodetzky	Immunology of HLA 1989、128
?	NM5	Caucasian	G. Teresi	Report of the 155th Cell Exchange 1989

BTAについて、これらの抗原との出会いを述べることにする。他については、文献を参照されることを希望する。

B5102 (B5135, B5, 35)

私がタイピングを始めた頃は、『タイピングトレイには必ずモノスベの血清をいれなければならない』といった金科玉条があり、それ以外の血清はいわゆる“カス”血清と呼ばれフリーザーの底に眠っているのが常識であった。そんな優雅な時代に、タイピング結果がB51,35,44のトリプレットとなる検体に遭遇し、フリーザーの底に眠っていたB5関連の多特異性の血清に片っ端から当てなおしたのがB5135との最初の出会いであった。その後、B5135が正しく遺伝されている2家系をみいだしたので、1985年の第2回近畿HLA研究会で報告した。その時、佐治先生 (京都血液センター) から例の京都弁で、『我々のところではB35Nと呼ばせていただいておりますが、B53との違いをはっきりさせとかなアあきませんで』とのコメントを頂いたのを今でも鮮明に覚えている。公には、内藤先生が主催された第9回日本ワークショップに1家系3人を含む5名のパネルを提出したのがデビューであった。その時のデータを解析してみると、我々が提出した5名以外に他施設の4名のパネルと、さらには愛知県血液センターからも1家系のB5135パネルがみられ

Panel	A	B	Bw	Cw	
1. P0449	2	11	51	X1	4 - - - 888884848888888
2. U1517	24	-	62	35	4 6 - - 18488868818888888
3. BB032	31	33	44	X1	4 - - - 1868886688488888888
4. BA044	11	24	67	51	4 6 7 - 1468848888468888888
5. P0464	2	24	39	X1	4 6 3 7 1418888888888888888
6. P0111	24	11	61	X1	4 6 3 - 1444888888888888880
7. P0452	24	11	61	X1	4 6 - - 14448888888888888840
8. A1878	24	-	7	X1	4 6 7 - 1118888181888888888
9. P0475	24	33	44	X1	4 - 3 - 1114888886668888881

図1 第9回日本ワークショップのB5135パネルセル

たことは、頼もしくはあったけれども冷や汗のものであった (図1)。このように、B5135は、他施設からも同じような反応パターンを示すパネルが提出された幸運に恵まれ、このワークショップでB5の新抗原として公認されたのである。



トレイ (NT20-2)											パネル 86 人											血清特異性解析表											90/07/13			
NO	SERUM	SUN	1	2	4	6	8	RF	SI	ANTIGEN	AVE										RS1	INC	R	QSCOR												
59	26-942	84	59	3	0	2	20	26.2	90.9	Bw52	8.0	13	1	9	61	78	93	0.678	5.46																	
										Bv4	7.6	9	18	0	42	0	32	0.470	1.08																	
1 SFC : Bw52											8.0	13	1	9	61	78	93	0.678	3.08																	

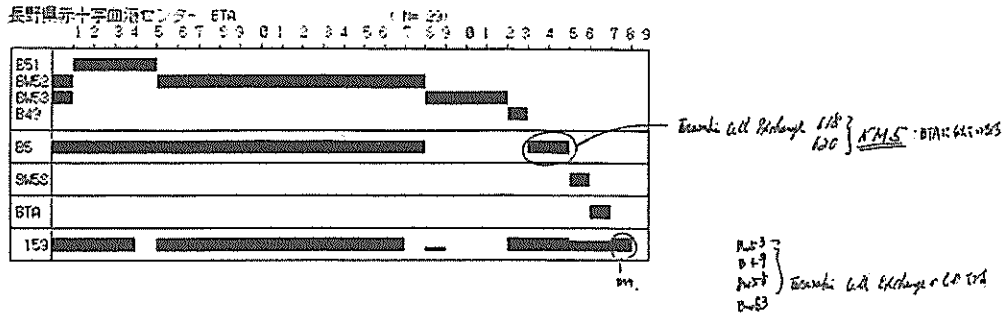


図2 斎藤氏 (長野県血液センター) より送って頂いたBTAのセログラム

Antisera	Antigen									
	10JW	555	777	668	669	772	86	82		
B51	+++	---	++++	++	++	-	+			
Bw52	---	+++	++++	++	--	-	+			
B5135	---	---	++++	++	++	-	+			
B35	---	---	---	++	++	+	+			
Bw53	---	---	++	++	+	-	+			
BTA	---	---	++	+	-	-	+			
Others			B49 B48	B75 B75	B70 Cw9	B18 A24				

図3 第10回日本ワークショップのBTAの反応パターン

一の斎藤さんであり、彼との否、BTAとの最初の出会いで、その時に送って頂いたのが図2の私にとって記念すべきセログラムである。吉田先生が主催された第10回ワークショップに提出されたB5血清の反応パターンを比較すると、BTAは長いB5の血清 (B51+52+53+5.35, B51+52+53+5.35+35) のうちでも、10JW84 (SAI202) ,62 (HGR202) ,66 (NOS206) の3本にしか反応せず、今までに見られない非常に特異的な抗原の様相を呈していることがわかる (図3)。さらに、BTAと同じような反応を示すパネルが他施設でもみつき、新抗原である可能性を強く示唆する結果が得られた。惜しむらくは、家系調査が出来ていないために家系内遺伝を確認できなかったことであろうか。このように、BTAは、より多くの血清にあて、それらの反応を納得のいくまで追求した結果の産物といえる。

**B5103 (BTA)**

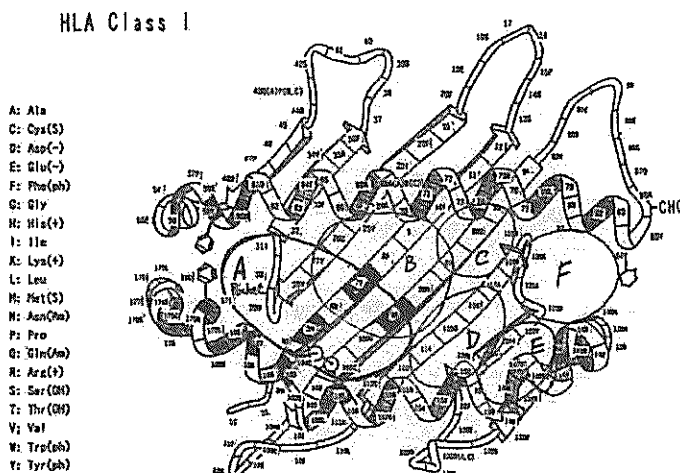
BTAは長野県血液センターの斎藤氏らが提唱したB5関連の新抗原である。従って、私の出る幕ではないが、私にとっても少しなりとも因縁めいたものがあり、ここで触れることにする。私とBTAとの関わりは、第10回日本ワークショップのB5グループのデータ者をまとめていた時に始まる。打ち出されたB5関連抗原のセログラムの最後のページ (クラスターを形成しない血清のエキストラ反応の部分) にSAI42,SAI46のパネル番号とともにHLA-Bの特異性としてBTAの文字を見つけ、『これは何ぞや??』。そして、早速、SAIなる施設名を問い合わせ、自分の勉強不足も顧みず電話をかけてみると、初対面にもかかわらず懇切丁寧に教えて頂いた時の自信に満ちたバリトンの声色をまるで昨日の如く記憶している。その声の主が、長野県血液センタ

**B5抗原との訣別**

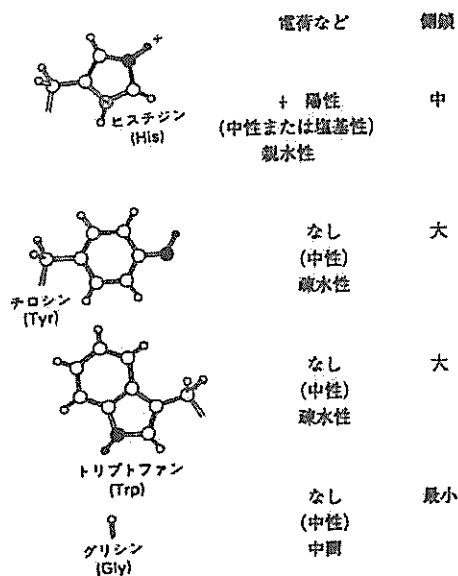
1958年、J.Dausset等が頻回輸血を受けた患者血清からMac抗原 (現在のA2) をみいだしてから約40年の歳月が流れようとしている。その間、我々は、『免疫反応の結果としての抗血清に無駄なものは一つとして有り得ない』との信念をもって、より多くの血清を集め、その一つ一つの血清の反応を追い続けた。そして、その集大成がB5135であり、BTAであった。近年、HLAの世界にも遺伝子工学の手法による技術革新の波が怒濤の如く押し寄せ、鏡の中の虚像としてしか捕らえることができなかつたHLAが、今にも手に触れるか如く実体として捕らえることが可能になった。河川先生等 (東大医科研) によりB5135,BTAの塩基配列が決定され、第11回ワークショップ (1991年、日本) 後、それぞれB\*5102,B\*5103と命名されたのは記憶に新しい。そ

対立遺伝子	アミノ酸残基									
	5	7	59	63	66	99	159	163	167	171
B* 5101	K	Y	Y	N	I	Y	Y	L	W	H
5102	K	Y	Y	N	I	Y	Y	L	W	Y
5103	K	Y	Y	N	I	Y	Y	L	G	H
5104	K	Y	Y	N	I	Y	Y	L	W	H
5105	K	Y	Y	N	I	Y	Y	L	W	Y
5201	K	Y	Y	E	I	Y	Y	L	W	H
5301	K	Y	Y	N	I	Y	Y	L	W	Y
3501	K	Y	Y	N	I	Y	Y	L	W	Y
Consensus	K	Y	Y	E	I	Y	Y	T	W	Y

表2 B5対立遺伝子のペプチド結合部位 (A Pocket) のアミノ酸配列



参考図1. HLA Class Iの構造とペプチド結合ポケット



参考図2. His (H), Tyr (Y), Trp (W), Gly (G) の側鎖と性質

して、我々、HLAタイパーにとって一つの時代の終焉を目の当たりに見せつけられ、唖然としたものであった。しかし、B5関連抗原のアミノ酸配列を眺めてみると、今まで我々が探し求めてきたものがほんやりとはあるが明らかになってきた感がする(表2)。この表は、HLAの立体構造のうえで、特に抗原ペプチドのN末端の結合に重要と考えられているAポケット(参考図1)のアミノ酸配列を示している。B\*5102、B\*5103は、驚くべきことにB\*5101と一つのアミノ酸だけがそれぞれ置換しているだけである。我々が抗血清を用いて垣間みてきたのは、B\*5102は171番がヒスチジン(H)からチロシン(Y)に、B\*5103は167番のトリプトファン(W)からグリシン(G)(参考図2)の置換であったのであろうか。

一般的に、進化の過程でおきるアミノ酸の置換は、サイズや極性の似ているアミノ酸どうしのほうが、似ていないものより頻りに置換がおきると考えられている。しかし、B\*5102、B\*5103の置換は、サイズや極性の点でも大きく異なり、生物学的機能のうえで非常に重要なペプチド結合部位の置換である。従って、B\*5102とB\*5103のペプチド結合部位の立体構造は、B\*5101の構造と異なっていることが推測される。どうしてこのような生物学的に重要な置換が生じたのであろうか。さらには、人類が誕生して何時頃、シベリアの母なる大地で、それともモンゴル平原なのか、或いはそれ以外の場所で突然変異が起きたのであろうか。

一体、HLAの抗血清は、我々に、何を教え続けてきたのであろうか、そして、これからも、何を語ろうとしているのであろうか。このような夢を膨らませ、人間と自然の織りなす営みを浪漫であると感ずるのは、私一人だけなのであろうか、それとも、年々増えていく白髪のせいなのであろうか。

そろそろ、この辺で、肉体的にも精神的にも限界に近づいてきましたので私の回想を終えることにします。今までのシリーズの学問的な話とは大幅に異なり、“KAMON”の愛読者にはさぞやがっかりされたことと思います。どうか、お許し願います。その代わりといっはなんですが、次回には我々、HLAタイパーの大御所的存在であらせられます福岡県血液センターの徳永和夫先生にご登場願ひ、学問的見地からHLAの歴史を語って頂くことを皆様にお約束します。

HLAハプロタイプの起源

1984	1st HLA Workshop	A. Jansz	Durham, USA	HLAプロトタイプ間の関係。
1985	2nd HLA Workshop	J. Z. Van Rood	Garden, Netherlands	欧州のHLAプロトタイプ間の関係について。
1987	3rd HLA Workshop	K. Constanlin	Torino, Italy	HLAプロトタイプ間の関係について。また、Genes 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61, 62, 63, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107, 108, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 129, 130, 131, 132, 133, 134, 135, 136, 137, 138, 139, 140, 141, 142, 143, 144, 145, 146, 147, 148, 149, 150, 151, 152, 153, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 162, 163, 164, 165, 166, 167, 168, 169, 170, 171, 172, 173, 174, 175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187, 188, 189, 190, 191, 192, 193, 194, 195, 196, 197, 198, 199, 200, 201, 202, 203, 204, 205, 206, 207, 208, 209, 210, 211, 212, 213, 214, 215, 216, 217, 218, 219, 220, 221, 222, 223, 224, 225, 226, 227, 228, 229, 230, 231, 232, 233, 234, 235, 236, 237, 238, 239, 240, 241, 242, 243, 244, 245, 246, 247, 248, 249, 250, 251, 252, 253, 254, 255, 256, 257, 258, 259, 260, 261, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 268, 269, 270, 271, 272, 273, 274, 275, 276, 277, 278, 279, 280, 281, 282, 283, 284, 285, 286, 287, 288, 289, 290, 291, 292, 293, 294, 295, 296, 297, 298, 299, 300, 301, 302, 303, 304, 305, 306, 307, 308, 309, 310, 311, 312, 313, 314, 315, 316, 317, 318, 319, 320, 321, 322, 323, 324, 325, 326, 327, 328, 329, 330, 331, 332, 333, 334, 335, 336, 337, 338, 339, 340, 341, 342, 343, 344, 345, 346, 347, 348, 349, 350, 351, 352, 353, 354, 355, 356, 357, 358, 359, 360, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368, 369, 370, 371, 372, 373, 374, 375, 376, 377, 378, 379, 380, 381, 382, 383, 384, 385, 386, 387, 388, 389, 390, 391, 392, 393, 394, 395, 396, 397, 398, 399, 400, 401, 402, 403, 404, 405, 406, 407, 408, 409, 410, 411, 412, 413, 414, 415, 416, 417, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424, 425, 426, 427, 428, 429, 430, 431, 432, 433, 434, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441, 442, 443, 444, 445, 446, 447, 448, 449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456, 457, 458, 459, 460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476, 477, 478, 479, 480, 481, 482, 483, 484, 485, 486, 487, 488, 489, 490, 491, 492, 493, 494, 495, 496, 497, 498, 499, 500, 501, 502, 503, 504, 505, 506, 507, 508, 509, 510, 511, 512, 513, 514, 515, 516, 517, 518, 519, 520, 521, 522, 523, 524, 525, 526, 527, 528, 529, 530, 531, 532, 533, 534, 535, 536, 537, 538, 539, 540, 541, 542, 543, 544, 545, 546, 547, 548, 549, 550, 551, 552, 553, 554, 555, 556, 557, 558, 559, 560, 561, 562, 563, 564, 565, 566, 567, 568, 569, 570, 571, 572, 573, 574, 575, 576, 577, 578, 579, 580, 581, 582, 583, 584, 585, 586, 587, 588, 589, 590, 591, 592, 593, 594, 595, 596, 597, 598, 599, 600, 601, 602, 603, 604, 605, 606, 607, 608, 609, 610, 611, 612, 613, 614, 615, 616, 617, 618, 619, 620, 621, 622, 623, 624, 625, 626, 627, 628, 629, 630, 631, 632, 633, 634, 635, 636, 637, 638, 639, 640, 641, 642, 643, 644, 645, 646, 647, 648, 649, 650, 651, 652, 653, 654, 655, 656, 657, 658, 659, 660, 661, 662, 663, 664, 665, 666, 667, 668, 669, 670, 671, 672, 673, 674, 675, 676, 677, 678, 679, 680, 681, 682, 683, 684, 685, 686, 687, 688, 689, 690, 691, 692, 693, 694, 695, 696, 697, 698, 699, 700, 701, 702, 703, 704, 705, 706, 707, 708, 709, 710, 711, 712, 713, 714, 715, 716, 717, 718, 719, 720, 721, 722, 723, 724, 725, 726, 727, 728, 729, 730, 731, 732, 733, 734, 735, 736, 737, 738, 739, 740, 741, 742, 743, 744, 745, 746, 747, 748, 749, 750, 751, 752, 753, 754, 755, 756, 757, 758, 759, 760, 761, 762, 763, 764, 765, 766, 767, 768, 769, 770, 771, 772, 773, 774, 775, 776, 777, 778, 779, 780, 781, 782, 783, 784, 785, 786, 787, 788, 789, 790, 791, 792, 793, 794, 795, 796, 797, 798, 799, 800, 801, 802, 803, 804, 805, 806, 807, 808, 809, 810, 811, 812, 813, 814, 815, 816, 817, 818, 819, 820, 821, 822, 823, 824, 825, 826, 827, 828, 829, 830, 831, 832, 833, 834, 835, 836, 837, 838, 839, 840, 841, 842, 843, 844, 845, 846, 847, 848, 849, 850, 851, 852, 853, 854, 855, 856, 857, 858, 859, 860, 861, 862, 863, 864, 865, 866, 867, 868, 869, 870, 871, 872, 873, 874, 875, 876, 877, 878, 879, 880, 881, 882, 883, 884, 885, 886, 887, 888, 889, 890, 891, 892, 893, 894, 895, 896, 897, 898, 899, 900, 901, 902, 903, 904, 905, 906, 907, 908, 909, 910, 911, 912, 913, 914, 915, 916, 917, 918, 919, 920, 921, 922, 923, 924, 925, 926, 927, 928, 929, 930, 931, 932, 933, 934, 935, 936, 937, 938, 939, 940, 941, 942, 943, 944, 945, 946, 947, 948, 949, 950, 951, 952, 953, 954, 955, 956, 957, 958, 959, 960, 961, 962, 963, 964, 965, 966, 967, 968, 969, 970, 971, 972, 973, 974, 975, 976, 977, 978, 979, 980, 981, 982, 983, 984, 985, 986, 987, 988, 989, 990, 991, 992, 993, 994, 995, 996, 997, 998, 999, 1000

HLAに学ぶ— III.

日本人の起源論について

日本赤十字社中央血液センター  
徳永勝士

HLAハプロタイプから民族移動を追う

前号ではそれぞれの集団におけるHLAの対立遺伝子頻度を使って集団間の近縁関係を推定した。この解析法は集団の全体的な特徴をまとめて客観的に取り扱う優れた方法である。しかしながら個々の集団内部の分集団構造や地域性といった問題は考慮されない。そこで注目したいのは、それぞれの遺伝子座の対立遺伝子の組み合わせ、すなわちHLAハプロタイプの分布データである。

その理由の要点は次のようになる。1) それぞれの特徴的なHLAハプロタイプは単一起源に由来する。従って、同じハプロタイプが異なる集団で見出されれば、これらの集団は少なくとも一部先祖集団を共有する。2) それぞれの特徴的なHLAハプロタイプは独特の遺伝子構成を持っており、多くの世代を通して安定に保存されてきた。3) さまざまな人類集団におけるHLAハプロタイプの頻度分布に

は、他の遺伝標識に類を見ないほど著しい差異が認められる。

この利点が生かされた典型例を、コーカソイド系集団で最も多いハプロタイプのひとつ、B8-DR3の分布に見ることができる(図1)。このハプロタイプは中近東からヨーロッパにかけてコーカソイド系集団の分布と一致して濃密に分布する。また、大航海時代以降のコーカソイド系の大規模な移民先であるアフリカ、アメリカ、オーストラリアにもかなりの頻度で見出され、HLAハプロタイプの有用性を実証している。なお、このハプロタイプこそ、ヨーロッパに農耕文化をもたらした集団が特徴的に持っていたものであるという指摘がなされている。

複数の移住ルート

筆者のボスである十字(東大輸血部から現在、日赤中央血液センター)を中心に、10年以上にわた

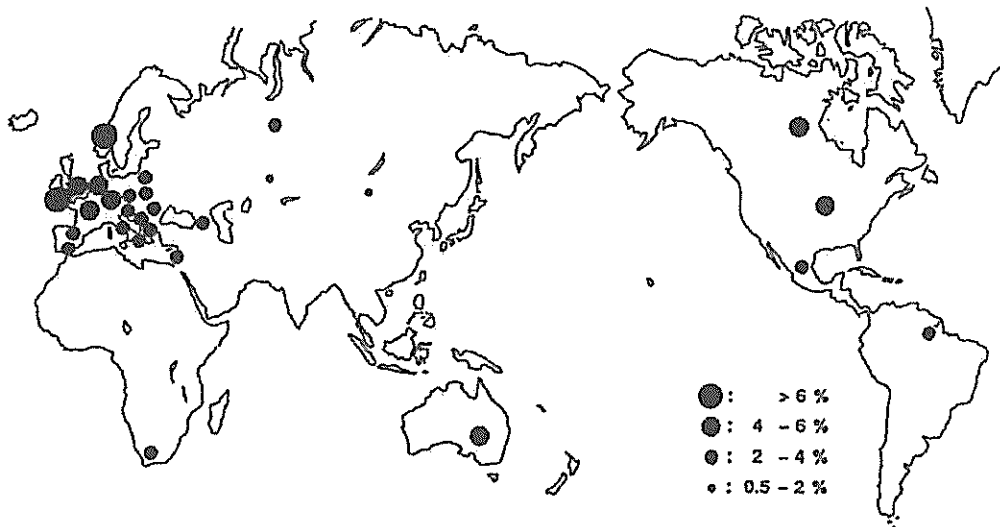


図1 コーカソイドに特徴的なHLA-B\*08:01-DR\*03:01ハプロタイプの分布

り国内外の多くの共同研究者をえて、日本、韓国、中国などにおけるHLAハプロタイプの分布状況を調べてきた。この結果に第11回国際組織適合性ワークショップの成果なども加えて、日本人を含む東アジア諸集団におけるHLAハプロタイプの分布がある程度わかってきた。その結果日本列島のなかにも、私達の予想を越えた明瞭な地域性が認められた。

まず、日本人で最も多いB52-DR2ハプロタイプに見よう。図2に示すように、このハプロタイプは北九州、山陽から近畿地方にかけて、そして山形や福島でも高頻度で見出される。対照的に南九州や青森、岩手では有意に頻度が低かった。目を国外に転じると、中国北部の漢族や韓国人にある程度認められ、中国南部や東南アジアの諸集団には観察されなかった。興味深いことに、これはモンゴル人においても一番多いハプロタイプと考えられるが、対照的に近隣の満族やオロチョン族あるいはシベリアのブリヤート族ではまれであった。

日本人でつぎに多いB44-DR13については特に北陸地方から秋田にかけて多く、また近畿、東海地方でも頻度が高かった。そして東北地方東部や南九州、四国、などでは低い傾向にあった。日本の近隣集団においては、興味深いことに韓国人で最も頻度の高いハプロタイプであった。一方、中国北部においても南部においても漢民族ではほとんどみられないし、モンゴル族やブリヤート族でもまれであった。

その他のHLAハプロタイプの分布にも、日本列島内であるいは東アジア一帯で明らかな地域差が認

められた。しかもその分布のパターンは決して一様ではなく、日本列島につながる少なくとも3つないし4つの異なる分布パターンが浮かび上がってきた。

このことから筆者らは、今のところ日本人の形成過程について図3のように推定している。すなわち、現代日本人の形成には東北アジアから少なくとも2波にわたって移住してきた先祖集団が大きな比重を占めたが、一方で南方からやってきた集団の影響も少なからずあった。つまり、いくつかの先祖集団がいろいろな時代にさまざまなルートからやってきて、重層し合い、混血し合って現在の日本人が形成されたと考えられる。遺伝学的見地から見れば、日本人は決して一様ではなくむしろ多様であるといえよう。

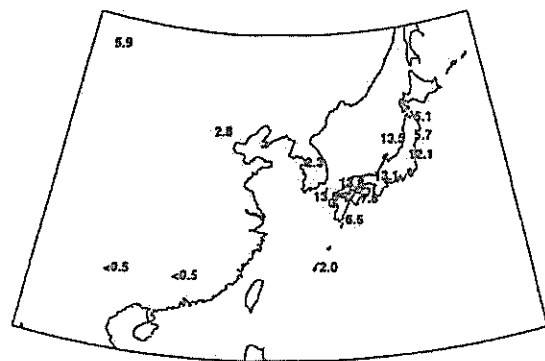


図2 東アジアにおけるHLA-B\*08:01-DR\*03:01ハプロタイプの分布(%)

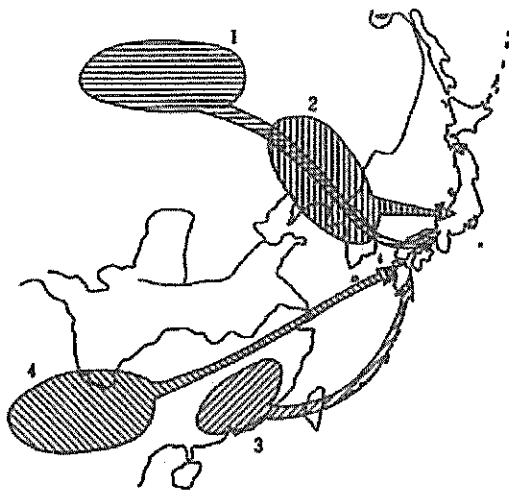


図3 HLAハプロタイプから推定される  
日本列島への移住ルート

文献

- 1) Tokunaga K, Tanaka H, Mauff G, Suzuki K, Nishimukai H, Hauptmann G, Finlay J, Imanishi T, Gojobori T, Akaza T, Juji T, and Dawkins RL : Complement studies of the Eleventh International Histocompatibility Workshop. In : HLA 1991, Vol.1 (Eds. Tsuji K, Aizawa M and Sasazuki T) , Oxford University Press, p.947-954, 1992.
- 2) Imanishi T, Akaza T, Kimura A, Tokunaga K, and Gojobori T : Allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci in various ethnic groups. In : HLA 1991 Vol.1 (Eds. Tsuji K, Aizawa M and Sasazuki T) , Oxford University Press, p.1065-1220, 1992.
- 3) 徳永勝士、十字猛夫：HLAからみる日本人の起源と形成。「日本人と日本文化の形成」(埴原和郎 編)、朝倉書店、p.343-355, 1993.

# ダイナミック・ラボラトリー

## 「北海道赤十字血液センター」

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



photo-1 雪なお残る「北海道赤十字血液センター」

今回は昨年4月より、北海道管内の旭川、釧路、室蘭、函館の各センターのHLA検査業務が集約化された、北海道赤十字血液センターの検査課をお訪ねし、集約後のご様子などをお伺いした。

北海道赤十字血液センターは5年前に、札幌市の南九条から山の手2条に移られた。最寄り駅は地下鉄東西線の琴似駅で、住宅地を15分程歩いた落ち着いた場所にあり、ご研究に格好の立地条件とお見受けした。

べ) 今日はKAMONのインタビューに来ています。

それでは、この部屋の長の三谷さんから一言

三) アッ、チョー！(笑い) 北海道赤十字血液センターは、昨年4月よりHLA検査業務が集約され、地方の有能な方々(どうしようもない奴ら)が、札幌にきております。(笑い)

まず、スタッフの自己紹介から

森) 函館から来た森下勝哉デース

それでは一曲(「さらば〜スバルよオー」と熱唱)

血小板輸血不応の原因及び血小板特異抗原の解析を主に行っていますがその他DNAタイピングまで幅広くやっています。今後血小板特異抗原の研究の発展に寄与したいと考えています。(今度二人目が産まれます。)

関) 室蘭から来た関本達也です。

HLAは札幌に来てからやっています。抗血清の特異性解析をやっていて、今は94CHW(1944年中央地域内HLAワークショップ)の解析してる最中です(セログが出るのが遅いッッ)。

折) 折原です。旭川から来ました。札幌に来てからHLAを始めたデータ管理システム担当者です。DNAを追い出され、今は抗体スクリーニングをしています。

集約化に伴い道内センター分のHLAデータの管理をしています。

小) 同じく旭川から来た小島です。DNA関連をしています。今はMPHとRFLPをやっています。骨髄バンクと有料(依頼検体)両方やっていて、1月にバンクは120~130件、有料は40~50件ぐらいです。(まだまだ新婚だぜいッ)。

芳) 今日は。芳賀です。HLAに入って6年になります。主にバンクの2次検査とMLCをやっています。(走るの大好き。泳ぐのも大好き。)

荒) 荒関です。(旧姓大沼さん)クラスIのセロロジーのタイピングを行っています。

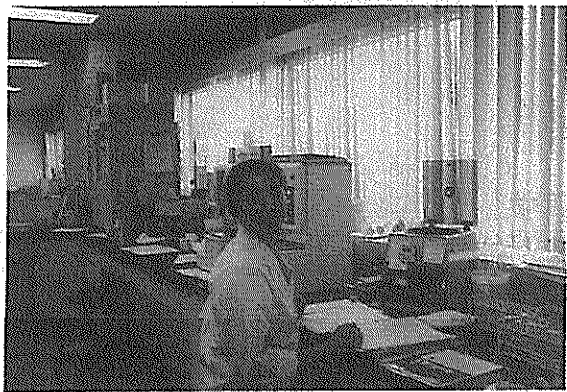


photo-2 荒関さん

三) HLAの担当は以上7人です。

ドナータイピング、抗血清のスクリーニング、PC-HLAのドナータイピング、バンクの1次検査有料検査のクラスIタイピングなどを3人でやっています。それからバンクの2次検、有料検査のクラスIIタイピング(主にDNAタイピングということになります)を行っている人が2人、PC-HLAの申込患者さんのHLA抗体、血小板抗体その他の抗原感作をデイクトする仕事をしている人が1人います。それと総括をする人が1人

べ) それはだれですか？

三) それは三谷です。(エッヘン！)

血清解析とかデータの最終チェックを行っています。しかしその実態は、何でも出来るルーチンおばさんです。

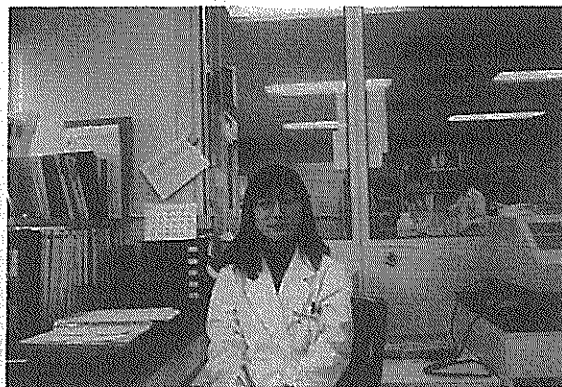


photo-3 三谷さん

べ) それはたいへんですねー

三) そうなの、大変なの。(ウッウッ-----)

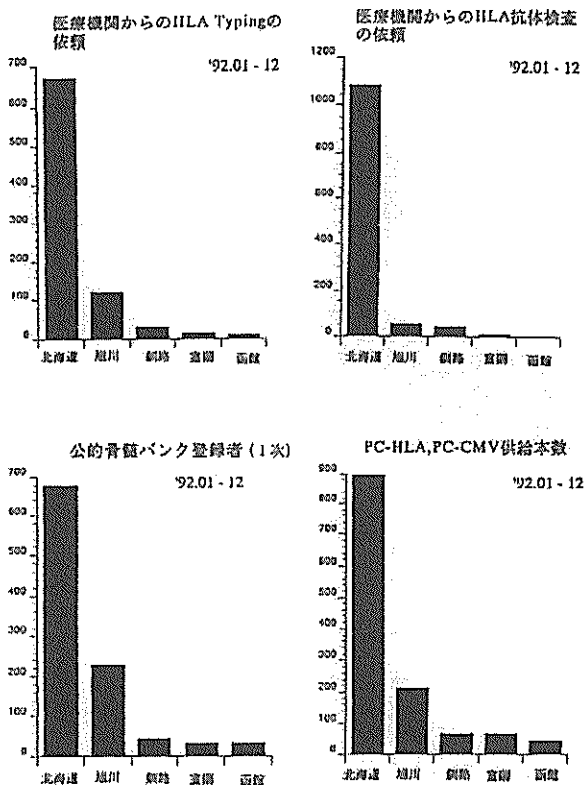
べ) 次に、こちらのラボの特徴として、昨年実施された集約化についてお話しただきたいのです。

三) 北海道は5つのブロックに分かれていますが、おおまかにHLAの仕事を4つの仕事にわけて92年度の実績(資料1)でみるとほとんどの仕事が北海道センターに集中しています。各ブロックの担当者一人あたりの仕事量は大きく異なっているのが分かります。つまり、北海道センターでは仕事は多いが人手が少ない。他センターでは、人手はあるが仕事がないというように非常にアンバランスとなっています。そこで、HLAにからむ業務はすべて北海道センターに集約してしまい、ついでに人も集約してしまっ、道内の検査は全部やっしてしまっしう、という話になりました。

べ) 集約して良かった点は？

三) 集約化したことによる利点としては、

- ①北海道センターは他のブロックと比較して検体数が多い分、HLAの技術的レベルも向上しているはずであり、その高い技術レベルのものを全道一律に提供できるようになった。
- ②PC-HLAについても、全道一律B-grade以上の、HLA適合度の高いものを供給出来るようになった。
- ③移植関連についても、資料をみていただければ分かるように、DNA typing、MLRまで出来るようになった。
- ④バンク業務の受け付け時間も拡大し、サービスの向上につながった。



資料1

- べ) 集約化に伴う問題点は何かありますか？
- 三) 検体の搬送に関しては、検体専用の保温箱を特注することで、クリアーしました。また血液製剤についても、冬期汽車輸送することで、温度条件を22℃に保てるようにしました。また、うちの特徴としては、PC-HLAの供給に力を入れているところだと思います。PC-HLA供給時の検査のレベルは高いと自負しています。また、血小板輸血の応答性に対する種々の検討を行っています。  
基本的に血液センターというのは安全な輸血、効果のある輸血を行うのが目的ですから、現場から発生したことをどうやって解決していけば

良いかということに、センター全体で力を入れています。

- べ) 北海道センター開設時の状況を、教えてください。
- 三) 1989年5月に、今の広くてきれいな場所に移ってまいりましたが、それまでは、札幌市の南九条にあり、四畳半位のとてもせまい場所でした。その頃の生活は、毎日帰宅が夜中の11~12時、土、日なしの生活でした。
- べ) 何がそんなに忙しかったのですか？
- 三) PC-HLAを本格的に供給するためには、ドナーを積極的に集めなければならなかったから。

中瀬献血部長と私が、十字先生と荒木千枝子さん(現在内川さん-当時中央血液センター)の『これからはPC-HLAの時代だ!』のおだてに乗って一生懸命やってドロ沼に入ってしまいましたという....

その頃から、いずこのセンターもPC-HLAの供給に力を入れてだして、抗体のスクリーニングや、抗血清のスクリーニングがおそろかになってしまっていて、今の現状にいたったということですよ。

それで、これではいけないということで、集約化を機会に再度力を入れてがんばっているところです。スクリーニング率は全国一ですよ。

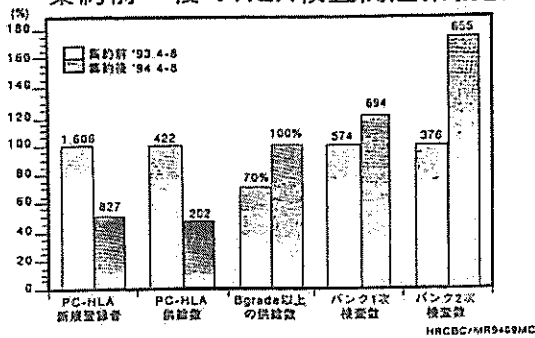
でもいかにせん捨てる血漿が多すぎて辛いものがありますよね。

それで、血小板のドナー・プールは道内共有で、現在16,000あるので、グレードの高い良いものを安定供給できています。そしてPC-HLAがやっと「一段落したかなー」と思ったら、今度は公的骨髄バンクの仕事が始まって、一次検、二次検とすすんだら、血清がないということで、DNAタイピングをやらざるを得なくなってきて....

- べ) ところで、「集約化しよう!」という話はいつ頃持ち上がったのですか？
- 三) おどろかないでよ!(ふっふっふ) 集約化に向けての資料作りを始めたのが93年12月17日で、実際に集約化したのが94年4月20日です。
- べ) えっ! 4ヶ月しかなかったの？
- 三) そう、その間私は事務屋さんよ。資料作りばかりしていたの。特にマニュアル作りが大変だったわ。(うん うん)
- べ) えっ! 普通は最低1年以上かけるんじゃないの？  
それは大変でしたね。

- 三) だんだん軌道に乗って来ましたので、これからは、いかに効率的に仕事をしていくか、ですね。
- べ) 集約化されて、現在の状況はいかがですか？スクリーニング数、登録者数などはどのくらい増えましたか？
- 三) 増えましたよ。集約化するにあたり、①PC-HLAに関して無駄なドナー登録はやめましょう。タイピングするのは確実にドナーとなってくれる人に限りましょう。②PC-HLAの供給は、ガイドラインに従って供給していきましょう。③血小板はgradeの高いものを供給しましょう、と取り決

集約前・後のHLA検査関連業務量



資料2

	集約前	集約後	
PC-HLA関連業務 PC-HLAの品質	HLA適合度は低い (C-grade以上)	HLA適合度は高い (B-grade以上)	qualityの向上
交通適合試験	血小板採取時 適性の場合は、 再度ドナーの確保	血小板採取前 事前検査を行うため 全て供給可能	効率的
作業量		ドナー呼び出し及び 賞給調整の増加	
骨髓移植関連業務 HLA typing	血清学的 typingのみ	血清学的 typing DNA typing MLR	高度技術の提供
公的登録の再開 登録者予約時間	全通一併 1次月～金 9:00-16:00 2次月～金 9:00-12:00	検査人員の増加及び DNA typingの導入により 予約時間の拡大が可能 (例:1次月～土 9:00-16:00)	serviceの向上
検査担当人数	10.5人	7人	効率的

資料3

めました。

資料2、3をみていただければお分かりになりますように、業務の質・量とも増えています。

- べ) 将来的展望に立つと、他の施設でも統一化の方向へ進んでいくのでしょうか？
- 三) そうですね、今後GMP, PLなどの対応からしても、製品の均一化、技術レベルの統一化という方向に進んでいくでしょうね。精度管理も一箇所で済みますしね。
- べ) そういう意味から言っても集約化は進んでいくでしょうね。

今、北海道センターが一生懸命取り組んでいらっしゃるSOP (Standard Operating Procedure—シンプルに、誰がみても分かりやすく、誰がやっても同じ検査ができるように、というシステム作り)とも関わってきますね。

検査室の将来の方向としては、いかがですか？

- 三) 当然GMP、そしてSOPに準じた仕事は、今後不可欠ですネエ。ただ、これらを遵守しようとする仕事は、仕事の効率性は悪くなります。しかし、担当者がSOPを認識することにより、より安全な血液製剤の供給につながるのだから仕方がないですネエ。さて、私の興味というか、将来は何をしたいか、どうあるべきかですが、まず第一に、血小板輸血不応性の解析を行い、より有効なPCを供給するということが、サプライヤーとしての重要なテーマで、これについては、今後も力を入れます。次に、私の興味あることは、骨髄移植の予後を反映するマーカーは何か、これはnon-HLAに関してですが、移植ベアー間でCTLを樹立し、このCTLが何を認識しているかを解析したいですネエ。

でも、このCTLがestablishできてもexpandが非常に難しくして---現在work中断中です。

- べ) ワア、将来やることが一杯だあ。



photo-4

後列左より 芳賀さん、小島さん、関本さん、荒岡さん、森下さん  
前列左より 折原さん、三谷さん

長々と貴重なお時間をいただき、ありがとうございました。

\*検査室の親分である三谷さんを中心に若いスタッフが多く、明るく楽しく歌も出るお部屋でしたが、データ管理や、技術レベルの向上については、お一人お一人のピリピリとした緊張感が伝わって来る様な(おいおい本当か?)メリハリの有る検査室でした。





# HLA ところ変われば



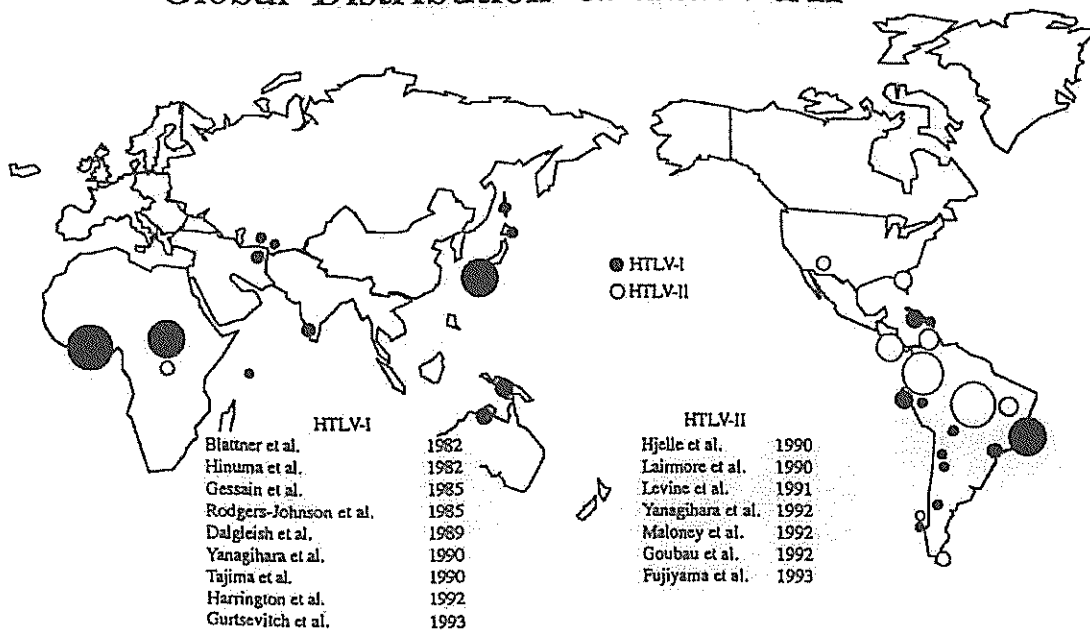
## 南米研究旅行記

鹿児島大学医学部ウイルス学教室 園田俊郎

鹿児島大学医学部ウイルス学教室では、成人T細胞白血病ウイルス（HTLV-I）とATL、HAM/TSPの疫学研究を南九州の患者を対象としておこなってきたが、この数年間はジャマイカや南米各国の研究者とも協力して、カリブ海と南米のHTLV-I感染と疾病の疫学研究をすすめている。

当教室のメンバー（園田、藤吉、屋敷）は文部省科学研究費補助金をうけて、ジャマイカ、コロンビア、ボリビア、チリ、ブラジルの野外調査と検体採取を分担している。南米各国には当教室で勉強した元留学生やドクターがおり、現地での予備調査、実験室の設営などを手伝ってくれる。

### Global Distribution of HTLV-I/II



南米にはHTLV-IとHTLV-IIのフォーカスがあり、それぞれ独立の地理・民族分布をしめす。アフリカ系HTLV-Iは、黒人集団に、アジア・モンゴロイド系HTLV-Iはアンデス高地先住民族に分布し、ATLとHAM/TSPを多発させている(図)。HTLV-IIのフォーカスは南北アメリカ大陸の平地にすむインデアン(西部劇にみるアメリンドで代表される)にみられるが、その分布はHTLV-Iキャリアとは相互排他的である。ここに、HTLV-I/IIの感染と疾病の局在に民族固有の背景要因がうかがわれる。

日本人のHTLV-Iキャリアを規定する民族特性はなにか? この疑問を解くため、日本人とアンデス先住民のHTLV-Iとキャリアの遺伝背景を比較研究している。

民族疫学の研究は現地住民を対象とした野外での調査活動が主体で、実験室での研究とは趣を異にする。ここでは、①HTLV-I感染と患者の情報収集、②医師、研究者の現地派遣、③採血、検体輸送、④検体分離、保存、分析、成績公表、などの作業をそれぞれの専門知識と技術をもって分担しなければならない。また、住民や共同研究者とのトラブルをさけるために言語の理解も重要である。南米ではスペイン語が主流であるが、インテリ層の20%は英語も通じる。以上の予備知識をもとに南米旅行記をはじめ。

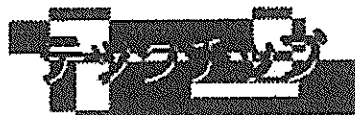
南米大陸のHTLV-I/IIフォーカスはアンデス高地、太平洋岸、大西洋岸、カリブ海沿岸、内陸平地に分布する。アンデスのHTLV-Iキャリアはスペイン人の侵攻からのがれ、海拔4000

メートル以上の高地にすんでいる。空気がうすい。酸素濃度が平地の約70%しかないので息切れをする。タバコの火は自然に消える。ヘビースモーカーの屋敷君などは息ぎれで苦しい思いをした。アンデス高地の先住部族がすむ村落は筋状にはしる山脈に点在しており、対岸の村落を手にとるように見ることができるが、そこに到達するには山岳用に調整したジープで4000メートルの谷をくだり、また登らねばならない。ガタガタ道で骨折れ足腰いたむ。終日かけて2部落を訪ねるのが精いっぱいのところであった。しかし、アンデスの人々はたおやかで親切、わが家に帰ったような気持ちになった。それはなぜか？かれらがモンゴロイドであり、日本人そっくりの人々であったからである。ドクトル・ハボネス（日本人の医師）がやってきたと歎び、アミーゴ（amigo：わが友よ）と別れを惜しむ。

血液検体は3日以内に陸路か空路で都市部の研究室に送り、リンパ球と血清とに分離し、一次凍結保存したのち日本へ持帰った。キングストン（ジャ

マイカ）、カリ（コロンビア）、ラパス（ボリビア）とマイアミ（フロリダ）には共同実験室を開設し検体処理の体制を整えている。一昨年、“生物の多様性に関する条約”がむすばれ生物資源の国外持ち出しが制限されるようになった。このため、上記検体の取扱いには当該国の研究者に所有権があり、われわれはその一部分を共有することで合意している。

さて、アンデス先住民のHTLV-IキャリアのHLAをみると、南九州のキャリアに好発するクラスI、クラスIIが高率にみとめられる（論文投稿中）。これが先史モンゴロイドに由来する原日本人とアンデス先住民の近縁関係を意味するものか、さらなる研究が必要である。とまれ、HTLV-I/IIは特定の遺伝集団に感受性をもち、そのなかで存続しているようにみえる。ウイルスとHLA遺伝子の進化と淘汰の生態を解く作業は今後もつづけられる。そして南米旅行記のページが綴られていくと思う（文責 園田俊郎）。



## 磁石でDNAを分離！！

日本赤十字社中央血液センター 宮本正樹

### 【プロローグ】

「我が輩はHLAである。」

「名前はまだない。」

「どこで生まれたか、とんと見当がつかぬ。」

「最近になり、仲間が「DNAの抽出だ！」「タイピングだ！」と世間を騒がせていることだけは記憶している。」

### 【マジックのネタ】

マジシャンのように、PCR法で簡単にDNAを増幅させることができる。二度三度目では、誰も驚かない。「DNAのネタなしに、血液から直接DNAを増幅できたら・・・」と、どれだけ多くのテクニシャン達が頭を悩ましたろうか。

マジック・ネタの一つに磁石がある。ものを隠す、ものを取り出すには、最高の武器になる。我々は、このネタを日常検査に使っている。

### 【磁石によるDNA抽出】

血液からDNAを抽出する操作は、思ったよりも煩雑である。血液中の赤血球や血漿等に多量に含

まれるタンパクをいかに除くか、細胞内からDNAをいかに取り出すかがポイントとなる。残存するヘモグロビンは、PCRの阻害を引き起こす。有機溶媒の使用は、操作性、安全性からも好ましくない。チューブ間の移し代えの多い手法は、検体間の取り間違えの原因となりやすい。多検体を取り扱う施設では、経済性も問題となる。現在、簡便なDNA抽出キットが多種販売されているが、それぞれ長所短所がある。各キットの特徴については、本誌前号（防衛医大、小林先生著）を参照されたい。各施設では、検体数、抽出頻度、コスト等を考慮に入れ、タイピングの目的に適した手法を選ぶ必要がある。

当施設では、血清学的なHLAタイピングを行うために、免疫磁気ビーズを用いている。血液からビーズで分離されたリンパ球は、きわめて純度が高く、安定した数の細胞が得られる。血清学検査で残ったリンパ球を無駄にする手はない。我々は、このリンパ球から直接DNAを抽出する手法を考案し、現在ルーチン検査としてDNAタイピングに応用している。

【やさしい方法】

図1に、抽出法の流れと使用機器および試薬を示す。DNAの抽出には、ビーズで分離したリンパ球に界面活性剤(Tween 20)とプロテナーゼK酵素を加え、細胞膜や核膜をすばやく壊し、その中からDNAを取りやすくさせる。56℃で60分間インキュベート後、94℃で10分間のインキュベートでプロテナーゼK酵素を失活させるだけである。これらの温度では、DNアーゼも働かず、DNAの分解は起こらない。抽出操作には、約70分かかるが、サーマルサイクラーで多検体が簡単に処理できる。他のDNA抽出法は、操作が煩雑でルーチン向きではない。DNA抽出において、DNAが物理的に切断されないような工夫も大切である。サーマルサイクラーの代わりに、ブロックヒーターでもよい。当施設では、ブロックヒーターを用い、退社前に56℃でセットし、オーバーナイト後、朝一番に94℃で処理を行っている。これにより機器および時間が有効に活用できる。現在、本法をHLAだけではなく血小板抗原のDNAタイピングにも実施している。免疫磁気ビーズは、もはやDNA検査に必要不可欠である。

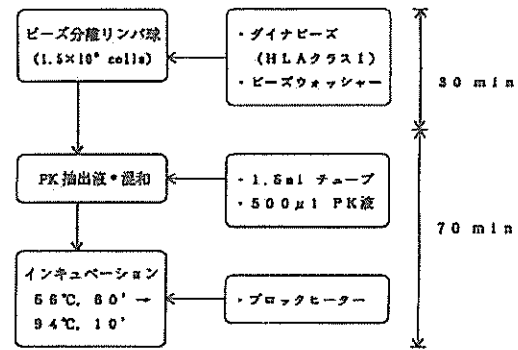


図1 免疫磁気ビーズを用いたDNA抽出の流れと使用機器および試薬

PK抽出液: 50mM Tris-HCl (pH8.8),  
10mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>,  
0.5% Tween 20, 500µg/µl 75分-T<sub>4</sub>K.

【クリニック・インフォメーション】

先ずは、お試しを！！

本法に対する不明な点、ご質問がありましたら、  
下記までお気軽にご連絡下さい。

TEL (03-5485-6005)

【エピソード】

「我が輩はHLAである。」  
「最近、アリアル名を頂いた。」  
「A\*1101-B\*1501-DRB1\*0406-DRB4\*0101-  
DQA1\*0301-DQB1\*030?????」  
「とても覚え切れない……」  
「世の中、住みにくくなったものだ……」  
「……………」

