

”第10回ベリタスHLA講演会”特集

五月晴れの中、170名の方々にご参加いただき、定刻より始められた。

「第1回目のベリタス講演会にはテラサキ先生、辻先生、関口先生、十字先生にご講演いただいたが、その後テクニシャンの方から実際のタイピングの仕方について教えて欲しい、といったご要望が多数ございまして、何回かに分けてティッシュタイピングのトレーニングをやらせていただいた時期もありました。そのころと比べると隔世の感があり、感無量のものがあります。」との社長の挨拶の後、吉田先生を座長にお迎えし、辻先生からHLA 10年の進歩を振り返ったお話を伺い、終りに「なお第12回国際会議には是非ご参加下さい。」とのメッセージをいただいた。

本講演会の特別講演、パネルディスカッションについて丸屋先生（京都府赤十字血液センター）、小林先生（防衛医科大学校）のご協力により、誌上で再現していただいた。

〔特別講演〕

The 10th Veritas HLA Workshop

Progress Over the last Decade in Applying HLA Typing Technology to Clinical Marrow Transplantation. Current Status and Future Prospects.

Patric G. Beatty M.D. Ph.D.

Professor of Medicine, Director, Marrow Transplant Program,
University of Utah Chairman of the Histocompatibility Committee
of the NMDP.



座長 関口 進 先生（防衛医科大学校）

Patric G. Beatty 先生の紹介

1948年、11月3日、メリーランド生まれである先生はジョンホプキンス大学を1970年に卒業、シカゴで博士号をとられ、同じくシカゴでILMDになられました。インターン・レジデントをナッシュビルで終えられた後、1979年よりシアトルでジョンハンセン先生とともに研究をされました。1990年にユタ大学の教授となり、現在にいたっておられます。内科、腫瘍学を専門とされ、NMDP (national bone marrow donor program) Histocompatibility Committee の委員長をなさっています。

講演内容

主題として

1. HLA typing 技術がどのように進歩したか。
2. 非血縁間骨髄移植における HLA typing の重要性について、話します。

＜骨髄移植とそのドナー＞

はじめに骨髄移植について説明します。まず骨髄移植は臓器移植とはまったく異なることを強調したいと思います。骨髄移植の場合患者は癌ですので、化学療法や放射線療法により癌細胞を殺さなければなりません。ところが癌を殺すと、同時に骨髄も殺してしまうのです。それに伴い骨髄移植が必要となります。ここに骨髄移植の概要図を示します（図1）。

移植前10日より化学療法や放射線療法をおこない、移植します。その後肝障害や間質性肺炎や拒絶、

GVHDなどの問題が起こります。

10年前、骨髄移植のドナーは患者とハプロタイプが一致した兄弟姉妹でした。Tissue typer は患者の兄弟姉妹から、患者とハプロタイプが一致した兄弟姉

Marrow Transplant Time Line

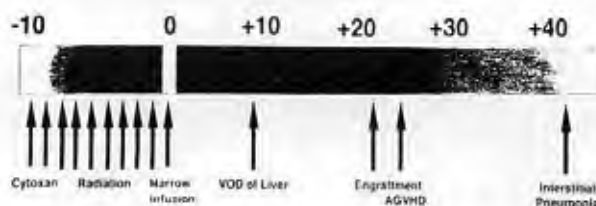


図1

妹を探すことが仕事でした。しかしここに問題があります。ほとんどの患者が幸運を持っているとは限らないことです。兄弟姉妹の保有数とHLA適合ドナーが得られる確率を調べますと、患者に兄弟姉妹が1人いたとして、その兄弟姉妹がドナーとなる確率は25%です。2人の場合で、43%、USAの子供の数が平均2~3人ですから、ドナーが得られる確率は30%強になります。日本の場合、子供の数が少ないので、その確率は30%以下と考えられます。

<血縁間移植のHLA許容度はA、B、DR：1ミスマッチまで>

シアトルで1980年から長期間調べたデータにもとずいて、血縁間骨髄移植の場合ドナーとして許されるHLA抗原の不適合度についての研究結果をお話します。患者のうちでtwin donorが得られている確率は1%以下です。これは非常に低い値です。Sibling matchが30~35%、HLA適合ですが兄弟姉妹ではない場合が1%、例えば、両親でHLA identicalな場合です(訳者注：日本人の場合は2~3%)。A、B、DRのうち一つの抗原が不適合である場合が10%、ここまでが、家族内で許される適合ドナーの限度です。およそ半分の患者が家族からドナーを得ることができます。残りは非血縁者から必要なドナーを探すこととなります。次に、1985年から最近までのデータで、血縁間骨髄移植のAcute GVHDがgrade II~IVで起こる確率とHLA適合度についてのグラフ(図2)を示します。HLAの不適合度がゼロミスマッチから3座ミスマッチへと増加するにつれ、GVHDが起こる確率が50%から90%へと増加します。

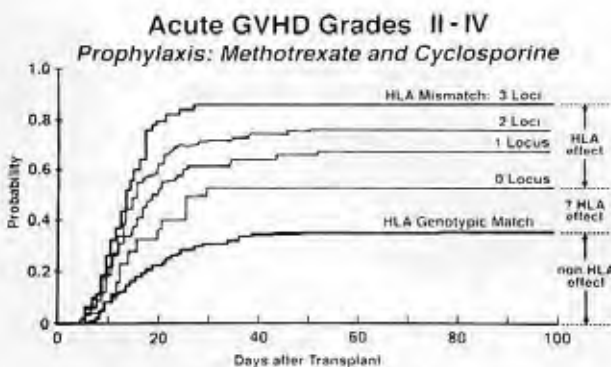


図2

<HLA許容抗原とマイナー組織適合性抗原>

ここで注意すべきことは、1 locus不適合の場合でもおよそ30%の患者は重度のGVHDを起こしていないことです。これより、Terasaki教授が腎移植の場合に指摘されていますような、permissible antigen(許容抗原)が存在する可能性を示唆しています。ですが我々はまだその抗原がどの抗原であるか決定で

きておりません。もうひとつ注目すべきことは、HLA genotypic matchの移植の場合もおおよそ30%にGVHDが起こっていることです。これは、HLA以外のMinor histocompatibility antigen mismatchによると考えられますが、まだこの抗原がなにであるか、特定できていません。

<GVHとGVLのバランス>

許容される不適合度がHLA one locus mismatchまでであることが、AML患者の第一寛解期に移植をした場合のDisease-Free Survivalグラフ(図3)からこれは'HLA match'の場合と'HLA one locus

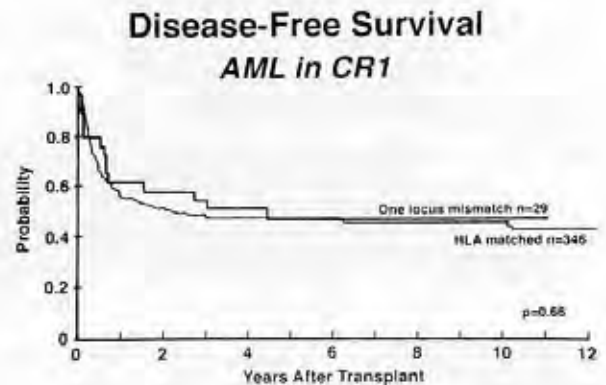


図3

mismatch' の場合を比較したのですが、良く判ります。長期間の生存率でみると両者はほとんど変わりません。これはGVH(graft versus host)とGVL(graft versus leukemia)効果がバランスをとっているためと考えられます。すなわちHLA-match群では再発が起きる可能性が高いのですが、one locus mismatch群ではこの恐れはGVL効果により低く抑えることができます。しかしGVHが起こる危険率はHLA-match群に比べ高くなります。これらの作用がお互いに相殺され、ほぼ同じ生存率を示すと考えられます。ただし不適合度が2 locus以上になると生存曲線

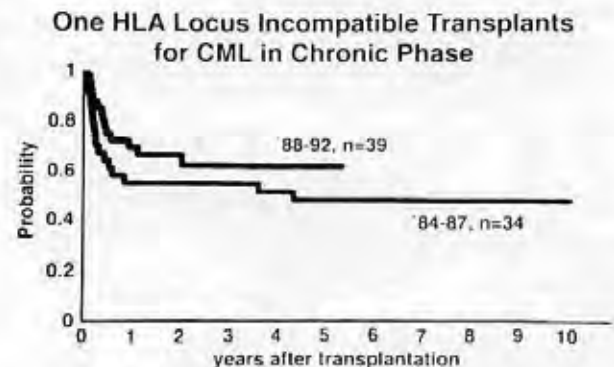


図4

は低下し許容できません。もうひとつ別の疾患の場合—CMLの慢性期の血縁間骨髄移植のHLA one locus mismatchの生存曲線(図4)をみると、HLA one locus mismatch群はHLA matchの場合と同等の生存曲線を示しています。さらに1988年以降の移植例については生存率の向上が見られます。これらのことより、血縁間骨髄移植の場合はHLA one locus mismatchまでが許容されます。しかしこれ以上の不適合度の移植は非常に難しくなります。

＜非血縁間移植と同胞間移植の臨床成績＞

つぎに非血縁間骨髄移植の場合を考えてみましょう。1985年からはじめた非血縁間骨髄移植のデータで、4年前に発表したものです(図5)。これは患者の年齢および病気の状態がほぼ同じ場合で、非血縁間骨髄移植とsibling donor骨髄移植における重度GVHの起こる確率を比較したグラフです。血縁ドナーの場合の14%に比較し、非血縁ドナーの場合は35%と、重度GVHDが起こる確率が増加しています。しかしそれを、再発のない生存曲線(図6)でみると、ほぼ同じ生存率が得られています。ここでよくデータを観察すると、非血縁間移植の場合、1年

生き残った患者の再発率は低いことがわかります。これはGVHとGVL、すなわち悪い面と良い面のバランスの結果と考えられます。

＜非血縁間移植の1ミスマッチは?＞

次に非血縁間骨髄移植でone locus HLA mismatchとHLA matchの場合、重度GVHD(grades III~IV)が起こる確率を比較すると、前者は51%、後者は36%となります。one locus mismatchの非血縁間移植でおよそ半分以上の患者が重度GVHを起こすことになります。またどのlocusのmismatchが重症acute GVHD(grades II~IV)と強く相関するかを調べると(図7)、HLA class IIのmismatchがAまたはB locusのmismatchより少し相関が高いようです(訳者注:日本人の場合は異なる傾向を示す可能性がある)。もちろん適合より不適合群に強いGVHDが起こる確率が高いことは明らかです。参考のため、HLA genotypic matched siblingの場合のGVH発生率を示してあります。

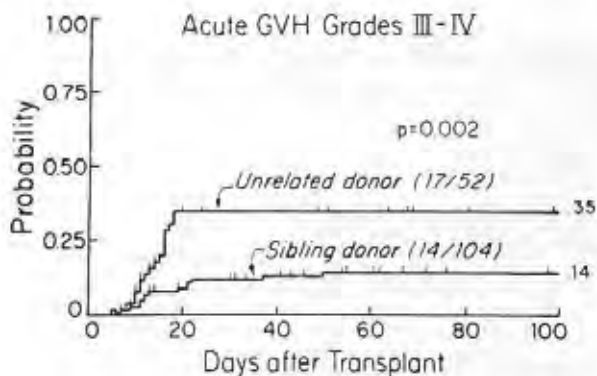


図5

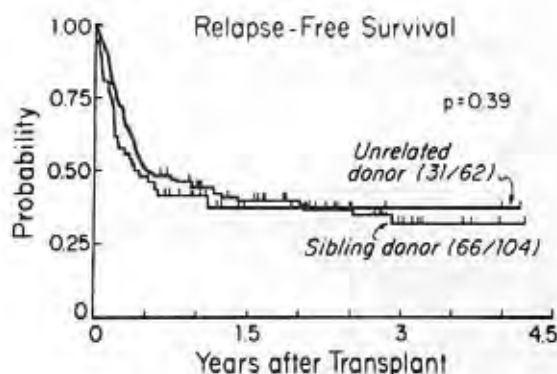


図6

後の生存率は血縁の場合と比べ低いのですが、1年

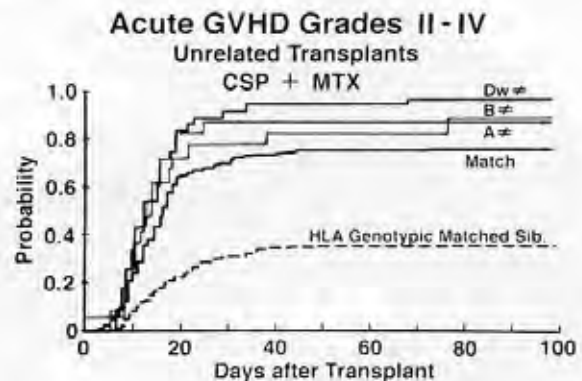
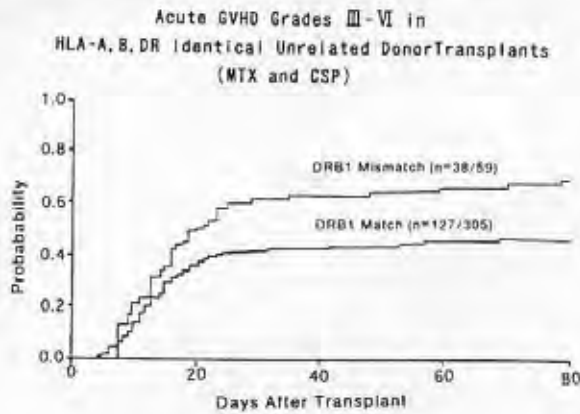


図7

＜非血縁間移植とHLAクラスIIの適合性：

DRB1 タイピングはMLCより優れたマッチング法＞

つぎにHLA-class II抗原の適合性と非血縁間骨髄移植の成績に焦点を絞ってお話します。HLA-D領域のどの抗原の適合性が非血縁間骨髄移植にとって一番重要になるかを考えてみます。HLA-A, B, DRが血清学レベルでidenticalな非血縁間骨髄移植での、HLA-DRB1の適合度と重症acute GVHD(grades III~IV)が起こる確率を調べてみました(図8)。DRB1適合群は非適合群に比べ明らかに、重度GVHDの起こる確率が低いのです(40% VS 60%)。血清学レベルでHLA-DR抗原が適合であるだけでなくDRB1の適合性がさらに重要であることがわかります。次にHLA-D領域の適合性を予知する最良の方法はMLC testではなく、DNA typingであることを示します(図9)。左のグラフはHLA-A, B, DRが



HLA-A,B,DR Matched Unrelated Marrow Transplants

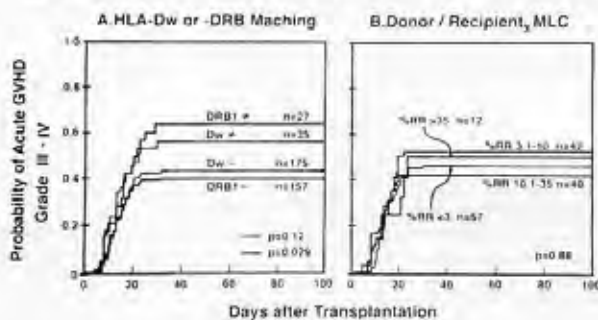


図9

血清学レベルで適合、DRB1 適合の場合と不適合の場合の重度GVHD (grades III~IV) が起こる確率を比較したグラフであり、Dw はD抗原の typing による適、不適の場合を示したものです。明らかにDRB1の適合性が重要であることがわかります。一方右のグラフはMLCでのcrossmatch陽性群(%RR>35)と陰性群(%RR<3)を比較したグラフです。MLC testが重度GVHDを起こす確率をなら予知するものではないことがわかります。

左右の解析に用いた患者は同一の患者群です。HLA-DRB1の適合性が重度GVHDの発症を予知することがわかります。よってアメリカ(NMDP)では、適合検査にHLA-DRB1 typingは要求されますが、MLC testは必要とされません。すなわち、MLC testは研究的には意味がありますが臨床的には無意味であります。

< DPB1 マッチングの意義? >

つぎにGVHD (grades II~IV) 発症とHLA-DPB1の適合性との関係です(図10)、HLA-A、B、DRB1、DQが適合の非血縁間骨髄移植の場合HLA-DPB1の適合性は重度GVHDの発症にあまりかわりがないと考えられます。なぜならば、HLA-DPB1 one mismatchの重度GVHDが起こる確率がtwo mismatchの

Effect of HLA-DPB1 Disparity on Risk of Acute GVHD in HLA-A, B, DRB, DQB Matched Unrelated Donor Transplants Grades II-IV

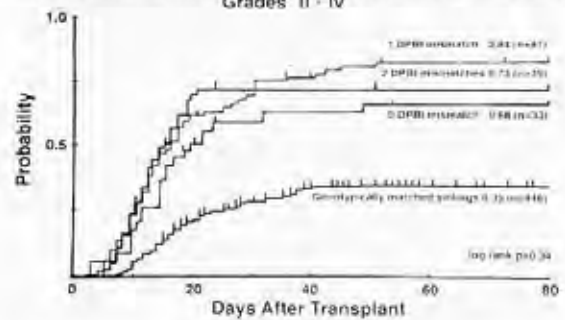


図10

場合より高いことや、その差が小さいことから、たとえHLA-DPB1適合性と重度GVHDの発症にかわりがあったとしてもその効果は小さいと考えられ、DRB1の適合性がもっと重要であることがわかります。

< DQB1 マッチングの効果は今後の問題 >

HLA-DQB1の適合性と重度GVHDとの関係を調べたデータはありませんが、おそらくほとんどの場合HLA-DRB1が適合すればDQB1も一致すると考えています。よってその影響力を調べるためにはより多くの症例が必要です。またたとえ影響があってもその効果は少ないと考えられます。

< 非血縁間移植における病態・病期・年齢の影響 >

非血縁間骨髄移植ではHLAの適合度が最も大切ですが、患者の疾患の種類、病気の進行度、年齢も骨髄移植の成績に大きな影響を与えることを強調します。ここに、CML患者の非血縁間骨髄移植の生存率を、病気の進行度と比較したグラフ(図11)を示します。Chronic phaseの患者の生存率が最も良く、2nd chronic phaseやaccelerated phaseではあまり良い生存率は得られず、最も悪いのがblast phaseの患者への移植成績です。このように、骨髄移植は患者の病状が最も良いときに、できるだけ早く移植することが重要なポイントとなります。よってNMDPでは、適合度の良いドナーを早く探すことに努力しています。

つぎのグラフ(図12)も移植の時期の重要性を示すものです。CMLの患者で、診断より1年以内に移植を受けた患者群、1年以上3年以内に移植を受けた患者群および3年以上たつて移植を受けた患者群を比べると生存率にあきらかな差がみられます。このことからできるかぎり早期の移植が望まれます。次に、年齢の影響についてお話しします。小児の場合、非血縁間骨髄移植で疾患がCMLの場合は大人に

比べ非常に良い生存率が得られます。ALLの場合は1st/2ndの寛解期の移植が再発時や3rdの寛解期での移植に比べても良い結果が得られます。小児の非血縁間骨髄移植は移植時期が重要です。これは大人の場合も同様です。

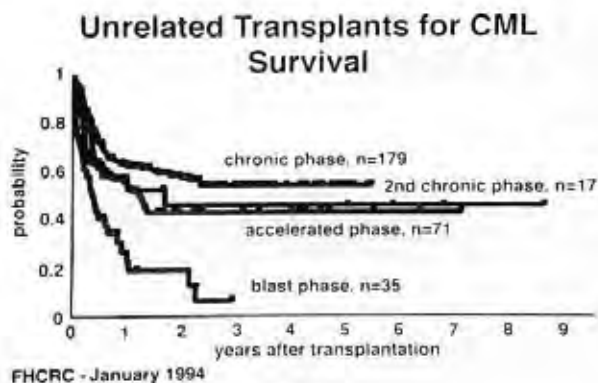


図 11

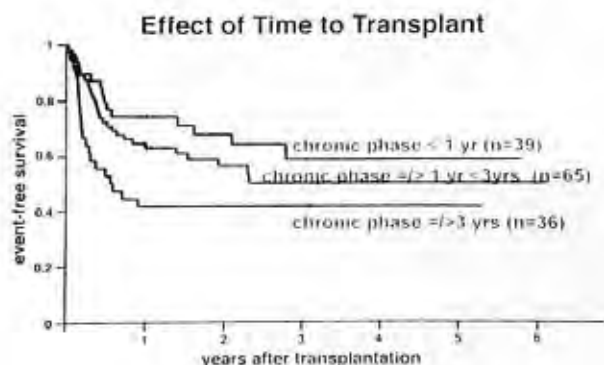


図 12

<非血縁間 HLA マッチング作戦:

許容できるミスマッチ研究の重要性>

血縁間骨髄移植ではone mismatch ドナーまでが許容されますが、非血縁骨髄移植では完全適合またはたとえ重度のGVHDが起これるとしても部分的な不適合ドナー（訳者注：交差反応性抗原間またはサブグループ抗原間不適合をさしていると思われる。）が必要です。

では非血縁間骨髄移植において、どれくらいの数の適合ドナーを見つけることが可能であるかについてお話しします。1994年のWHO命名委員会のレポートにもとずいてHLAのallele数について調べてみました。HLA-A allele: 50, B: 97, C: 34, E: 4, G: 4という多さで、もちろん日々その数は増加の一途をたどっています。いまこの瞬間も新しいalleleが見つけれ、sequenceされていることでしょう。つぎにHLA-class II alleleについてみますと、alleleの数をもっと多く、DRB1: 106からDPB1: 59まであり

ます。その数を掛け合わせ存するハプロタイプを計算すると、その数が膨大なもの(8.2×1016)になることがわかり、すべての座において適合するドナーを見つけることがいかに難しく、すべての患者に完全適合ドナーを見つけることができないということが理解できます。したがって許容できる不適合を見つけなければなりません。HLA-DPは以前にお話したように、無視できうる抗原でDQについても連鎖からDRBが適合であればほとんど適合すると考えられます。

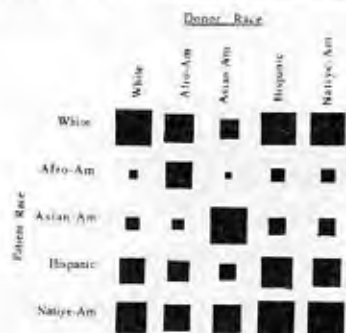
HLA-GやEについての適合性についてはまだわかっていません。HLA-Cについて現在調査中で、あるデータからはおそらく重要であろうといわれていますが、まだはっきりとはわかっていません。このようにHLAの多型は膨大ですから、どうしたらドナーを見つけやすいかを理解することが重要です。そこでHLA抗原の数が多く存在しても、すべての抗原(allele)頻度が同じではないことも考慮すべきです。

<人種における HLA マッチングの特性>

NMDPのドナープールを用い、HLA-A, B, DRが血清学レベルで適合するドナーが得られる確率を、人種別(Asian American, Caucasian, Hispanic, Native American, African American)に比較した場合、同じドナープール数、例えば、1,000,000人の場合、African Americanの場合は70%の確率でドナーが見つかりますが、その他の人種では80%以上の確率で見つかります。さらにドナープールが少ない場合、例えば100,000人では、African Americanは45%で、その他は70%の確率で見つかります。このように、たとえ同じ数のドナーを登録しても、人種によりドナーが得られる確率は平等ではないのです。次に、人種別(前述の5人種)に200人ずつドナーを増加させた場合、新しいHLA抗原の増加率を調べたところ、African Americanが一番多く、少ないのはAsian AmericanやCaucasianでした。人類学者が種の起源はアフリカにあり、人類がアジアやヨーロッパへ移住したとするのもよくわかります。ここに異なった人種から完全適合のドナーが得られる確率を示します(図13)。African American、Asian Americanの患者は同じ人種以外からドナーは得にくいですが、白人、Hispanic、Native Americanはどの人種からもある程度のドナーが得られます。これらのデータは、これらの人種間で混血が多いことを示しています。次に各人種の遺伝的距離についてお話しします(図14)。アメリカにおいて、CaucasianとNative Americanが一番遺伝的距離が近く、ついでHispanicが近傍に位置します。これらは混血によるものと考えられます。

Asian American や African American は距離が遠く離れ、すなわちドナーが得にくいことを意味します。

Cross-Race Probabilities of a Full Match



Assume 500.00 Donors per Race

図 13

Genetic Distance Between Racial Groups Calculated On the Basis of HLA-A, B, DR Haplotype Frequencies

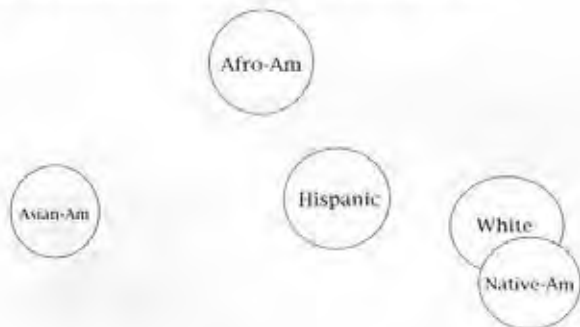


図 14

<現在のNMDPの状況>

NMDPにおけるドナーの登録状況(図15)と移植状況(図16)を示します。HLA-A、B typing 済みドナーが1995年で1,525,169人、HLA-DR typing 済みドナーが455,531人です。ここ数年のあいだ急激に増加しています。同時に移植の数も増加しています。その増加は現在も続いています。ここで問題があります。それは1991年の移植された患者の割合が29.3%ですが、1994年は38%です。これはここ4年間多くのドナーを見つけているにもかかわらず、見つかったときには、患者の移植時期を逸している場合が多いことを物語っています。腎臓移植の場合は、透析で患者を待たせることができますが、骨髄移植の場合はドナーをできるだけ早く見つけることが重要です。

<これからのNMDPの活動計画について>

これからのNMDPの研究計画についてお話しします。移植をした1500組みの患者とドナーのリンパ球

NMDP VOLUNTEER MARROW DONORS

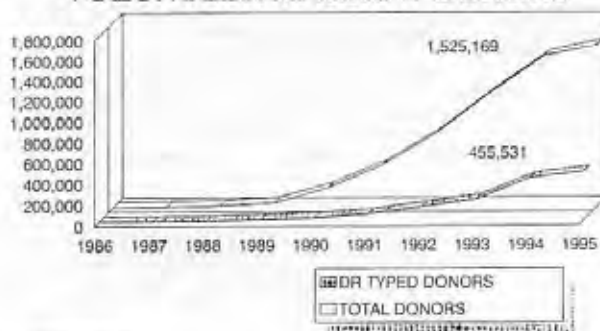


図 15

NMDP SEARCHES REACHING TRANSPLANT



図 16

をセルライン化し、HLA-DRB1、DRB3、DRB4、DRB5、DPA1、DPB1、DQA1、DQB1のallele typingを1995年12月には完了し、そのうちの半数すなわち750組みについては、HLA-A、B、C allele typingを1996年12月には完了し、これらのデータと臨床結果を比べ、GVHDや生存率との関係を明らかにする予定です。さらに患者のhaplotypeやドナーのhaplotypeについての解析もできます。これらのtypingは二ヶ所の独立した研究室でなされ、結果が異なった場合、塩基配列を決定します。多くの新しいallele (class I and II)も発見できると思います。

<非血縁間骨髄移植の成功の鍵をにぎるのは国際協力!!>

つぎにアメリカの骨髄移植問題で、特に重要なことは、いかにしてどの人種の患者にも平等にドナーを見つけるかということです。ここに、ドナープールの人種別頻度を示します(図17)。ほとんどがCaucasianドナー(973×103)で、Asian Americanのドナー(70×103)は10%以下です。これを解決するには国際的な協力が、アメリカにとってはとくにアジアの協力を必要とします。1995年1月、アメリカが海外から頂いた骨髄の数と海外へ供給した骨髄

の数を示します(図18)。ヨーロッパとの骨髄の相互交換はスムーズに進んでいます。日本や香港へも数は少ないですが送っています。今後、このような骨髄の交換が盛んになるよう進めたいと考えています。Asian American の患者のため、香港や日本から頂け

る骨髄の数が増えることを期待いたします。ご清聴どうもありがとうございました。

(収録とまとめ)

丸屋悦子、京都府赤十字血液センター、研究部)

ETHNIC DISTRIBUTION OF DONORS

JANUARY 1995
(Thousands)

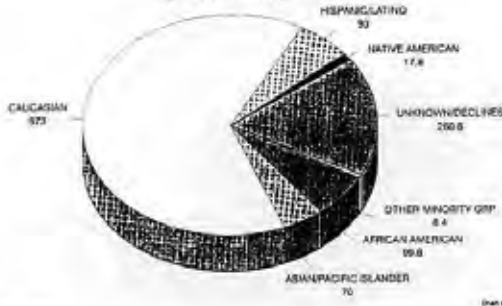


図 17

NMDP International Cooperation

January 1, 1995

335 Marrows Received From:

Netherlands	106	England	98	France	45	Canada	39	Spain	0
Germany	38	Israel	4	Australia	5	Switzerland	0	Austria	0

310 Marrows Provided To:

Canada	163	France	27	England	19	Sweden	19	Australia	13
Israel	13	Japan	4	Germany	23	Italy	10	Netherlands	12
Austria	1	Hong Kong	1	Switzerland	3	Spain	0		
Ireland	1	Denmark	1						

図 18

The Role of HLA Typing in Solid Organ Transplantation, Over the last Decade, Current and Future

Paul I. Terasaki, Ph. D.
Professor of Surgery, UCLA



座長 関口 進 先生 (防衛医科大学校)

P.I. Terasaki 先生の紹介

先生は1929年、ロサンゼルスで生まれられました。1950年、UCLAを卒業され、同大学院へ進まれ、1956年博士号を取得されました。1957年から1958年迄、ノーベル賞受賞者のメダワー先生の研究室で研究されました。その後、UCLAの外科教室の助教授となり、Director of organ transplant procurement、1969年、UCLAのTissue Typing LaboratoryのDirectorに就任され、かつ外科教室の教授になりました。その他アメリカおよび国際的に重要な役職についておられます。1992年、いままでの日本に対するいろいろの功績にたいし、勳二等瑞宝章を受けられました。論文数は800にも及んでおります。

講演内容

私の講演は過去10年間のHLA typingが臓器移植に与えた影響についての話です。

さきほど話されましたBeatty先生の骨髄移植と臓器移植とはまったく異なっています。

これからは臓器移植について話します。

<心臓・肺・肝臓移植>

このグラフは約10年にわたる心臓、肺および心肺移植の1年生存率を年代を追って示しています(図1)。10年前に比べ心臓移植の生存率はずいぶん良くなり、いまでは80%の1年生存率が得られるようになりま

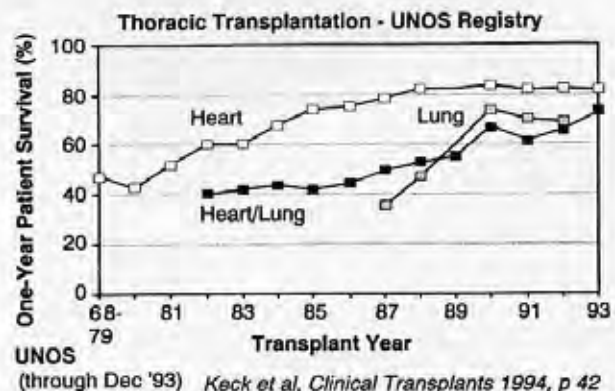


図 1

した。肺移植では移植がはじめられてから10年にもなりません、その間の進歩はめざましくグラフの生存曲線が急な傾きを示していることからわかります。ここで強調したいことは、これらの移植はHLAの適合を問わずに行われていることです。その理由は心臓移植希望患者の数は限られていて、移植される心臓はあまり保存できません。したがって心臓が得られたとき、HLAの適合する患者をみつけ移植するほど時間の余裕がないのです。よって、アメリカの心臓、肺移植はHLAの適合性は無視して行われています。肝臓移植の成績について話します。このグラフは移植後5年間の生存率を10年前の移植成績と現在の成績を比較したものです(図2)。

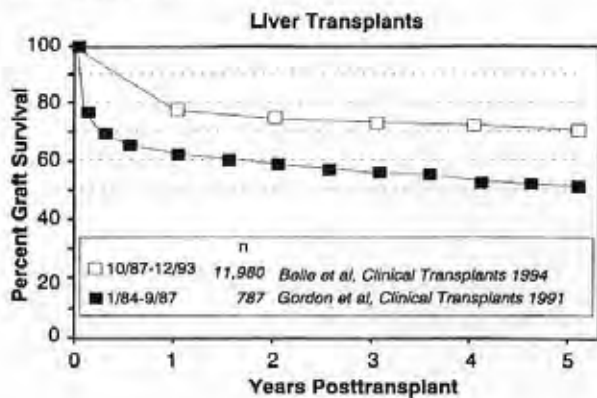


図2

10年前の1年生着率が60%ですが、現在では80%となっています。これらの移植もすべてランダムドナーを用いた移植ですから、HLAを適合させなくても80%の生着率が得られるといった結果です。日本語で英語に翻訳できない単語があります。そのひとつを使っている気持ちを表現しますと、30年たっても移植にあまり貢献できないのはなさけない(笑い)。

<腎臓移植>

つぎに腎臓移植についての成績です。このグラフ(図3)は生体腎移植でHLA適合の兄弟姉妹間移植

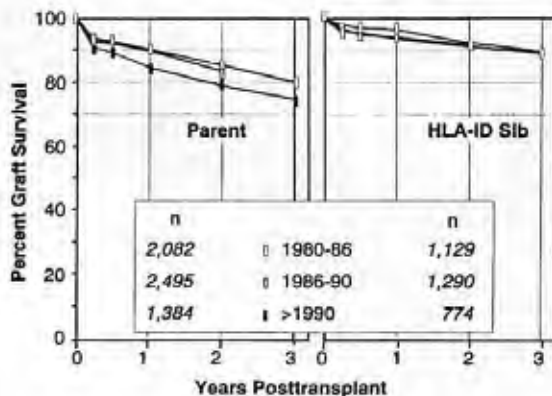


図3

を10年前の移植例と現在の移植例を比較したもの(右)と親子間移植の場合、同様に比較したもの(左)です。HLAを適合させることで、兄弟姉妹間移植の3年生着率が90%を示しています。この成績はここ10年の移植でも最近の移植でもあまり変わりはありません。同じことが親子間においても認められます。では死体腎移植の場合のデータを次に示します。

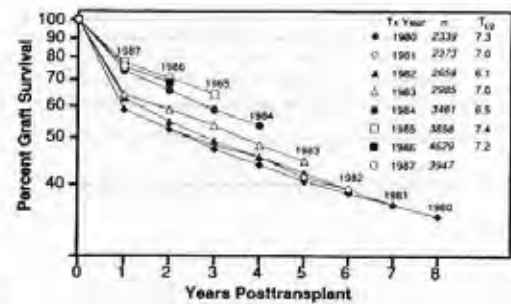


図4

このグラフ(図4)は1980年から2年毎にその間に行われた死体腎移植の生着率を10年間追跡したものです。10年前の移植成績から現在まで、移植後1年の生着率を比べると毎年改善されていますが、長期間では、同じような割合でgraft lossが起こっています。それはこれらのグラフの傾きがほぼ同じであることから理解できます。移植した腎臓数の半分が生着している期間をhalf lifeと呼びます。

この値でみますと、10年前(7.6)より現在(9.8)は良くなっています。ではこのような腎臓のgraft lossを改善するにはなにが重要となるのでしょうか。そのひとつの要因を次のグラフ(図5)に示します。左のグラフは1980年から1985年までに移植された死体腎のHLA抗原適合度と生着率、およびhalf lifeを示し、右のグラフは1985年から1992年までに移植された移植例について示しています。どちらのグラフもHLAの適合度が上がるに連れて、生着率もhalf lifeも良くなっています。この2つのグラフを比べると、1985年以降の移植例の1年生着率が向上していますが、こ

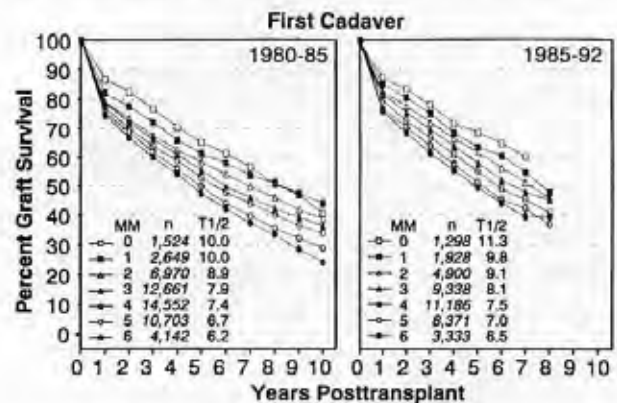


図5

した。肺移植では移植がはじめられてから10年にもなりません、その間の進歩はめざましくグラフの生存曲線が急な傾きを示していることからわかります。ここで強調したいことは、これらの移植はHLAの適合を問わずに行われていることです。その理由は心臓移植希望患者の数は限られていて、移植される心臓はあまり保存できません。したがって心臓が得られたとき、HLAの適合する患者をみつけ移植するほど時間の余裕がないのです。よって、アメリカの心臓、肺移植はHLAの適合性は無視して行われています。肝臓移植の成績について話します。このグラフは移植後5年間の生存率を10年前の移植成績と現在の成績を比較したものです(図2)。

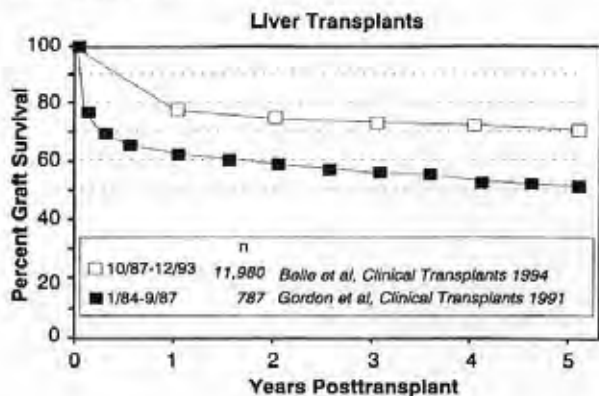


図2

10年前の1年生着率が60%ですが、現在では80%となっています。これらの移植もすべてランダムドナーを用いた移植ですから、HLAを適合させなくても80%の生着率が得られるといった結果です。日本語で英語に翻訳できない単語があります。そのひとつを使っている気持ちを表現しますと、30年たっても移植にあまり貢献できないのはなさけない(笑)。

<腎臓移植>

つぎに腎臓移植についての成績です。このグラフ(図3)は生体腎移植でHLA適合の兄弟姉妹間移植

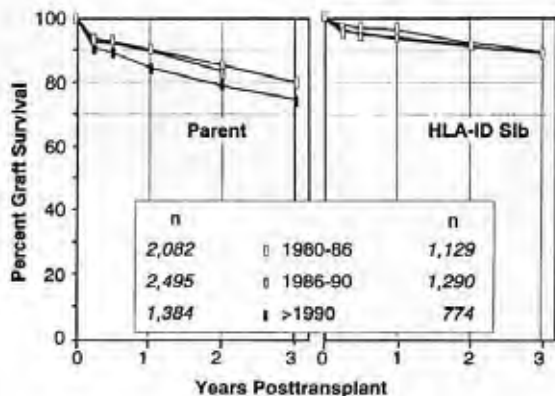


図3

を10年前の移植例と現在の移植例を比較したもの(右)と親子間移植の場合、同様に比較したもの(左)です。HLAを適合させることで、兄弟姉妹間移植の3年生着率が90%を示しています。この成績はここ10年の移植でも最近の移植でもあまり変わりはありません。同じことが親子間においても認められます。では死体腎移植の場合のデータを次に示します。

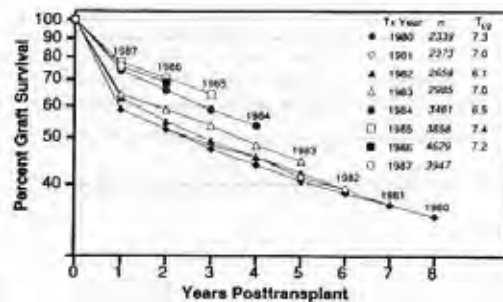


図4

このグラフ(図4)は1980年から2年毎にその間に行われた死体腎移植の生着率を10年間追跡したものです。10年前の移植成績から現在まで、移植後1年の生着率を比べると毎年改善されていますが、長期間では、同じような割合でgraft lossが起こっています。それはこれらのグラフの傾きがほぼ同じであることから理解できます。移植した腎臓数の半分が生着している期間をhalf lifeと呼びます。

この値でみますと、10年前(7.6)より現在(9.8)は良くなっています。ではこのような腎臓のgraft lossを改善するにはなにが重要となるのでしょうか。そのひとつの要因を次のグラフ(図5)に示します。左のグラフは1980年から1985年までに移植された死体腎のHLA抗原適合度と生着率、およびhalf lifeを示し、右のグラフは1985年から1992年までに移植された移植例について示しています。どちらのグラフもHLAの適合度が上がるに連れて、生着率もhalf lifeも良くなっています。この2つのグラフを比べると、1985年以降の移植例の1年生着率が向上していますが、こ

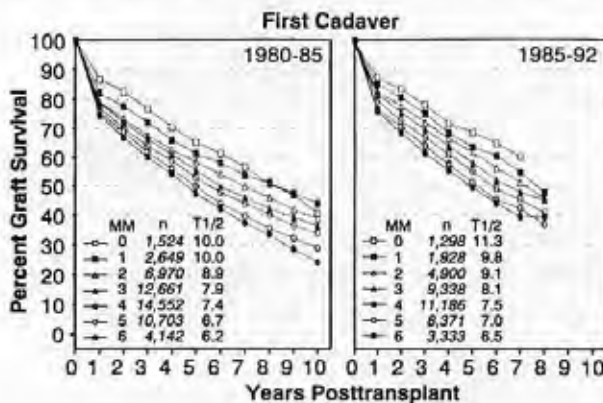


図5

標準化におおいに役立つことがわかります。また3年前より2ヶ月おきに、DNAを世界の約70の研究室におくりHLA class IIのDNA typingの評価をしています。これは国際DNA exchangeのデータです(表3)。例えば、HLA-DRB1のalleleのうち38種のalleleのtyping結果が95%以上の一致率を示しています。よってDNA typingははじめて3年目ですが、すでに多くの研究室で高い検出レベルに達していると考えられます。

International HLA-DNA Exchange

Consensus	DRB1	DRB 3/4/5	DQA1	DQB1	DPB1
100-95%	38	53	43	57	26
95-90%	25	27	30	28	25
85-90%	9	10	14	8	20
<85%	24	6	9	3	25

Cabacungan et al

表3

< DNA typing と腎臓移植 >

では、このように短期間で精度の良いtypingができるDNA typingで移植の適合性を考えたほうが移植成績と良い相関を示すのではないかといった意見がでてきます。ここでDNA typingの利点についてまとめますと、

1. More specificities identified. 特異性が増える。
2. More accurate determination. もっと精密な抗原決定ができる。

となると考えられます。ではこれらの利点と腎臓移植について関係のみてみましょう。これはDNA typingによる matching と serology typing による matching、それぞれについて1年後の生着率を比べた表です(表4)。DNA typingのデータはOpelzらが1993年のTransplantationに発表したもので、HLA-DR 0 mismatchで1年生着率が86%、2 mismatchで79%と

DRMM	DNA DR1-10 CTS		Serology UNOS	
	% 1yr	n	% 1yr	n
0	86	926	86	4516
1	82	1423	81	8131
2	79	486	79	3406
	Opelz, et al Transpl 55:782, 1993		Zhou, Cecka Clinical Tx 1993, p.510	

表4

なっています。一方、serology typingのデータは我々の施設のデータで、HLA-DR 0 mismatchで1年生着率が86%、2 mismatchで79%となります。よってふたつのデータの生着率はほぼ同じです。このことから得られる結論は、DNAによる精密なデータでも、血清学のデータでも腎臓移植では同じ効果が得られたことです。これはアメリカの血清学typingの精度が高いことによるのかもしれませんが。

ではもうひとつのDNA typingの利点である数多くのalleleがtypingできることの腎臓移植に対する効果について考えてみましょう。

Serology	DNA	Serology	DNA
A1	0101, 0102	A26	2601, 2602, 2603, 2604
A2	0201, 0202, 0203, 0204, 0205, 0206, 0207, 0208, 0209, 0211, 0212, 0213, 0214, 0215, 0216, 0217	A29	2901, 2902
A3	0301, 0302	A30	3001, 3002, 3003, 3004, 3005
A11	1101, 1102	A31	31011, 31012
A24	2401, 2402, 2403, 2404, 2405, 2406	A33	3301, 3302, 3303
		A34	3401, 3402
		A66	6601, 6602
		A68	68011, 68012, 6802B7

表5

Serology	DNA	Serology	DNA
B7	0701, 0702, 0703, 0704	B39	39011, 39013, 39014, 39022, 3903, 3904, 3905, 3906, 3907
B8	0801, 0802	B60	40011, 40012
B13	1301, 1302	B61	4002, 4006
B15	1511, 1521, 1522, 1524, 1525	B40	4003, 4004, 4005, 4007
B70	1503 B71 1510 B72 1503	B41	4101, 4102
B75	1502 B76 1512 B77 1513 B79 1518	B44	4402, 4403, 4404, 4405, 4406
B62	1501, 1504, 1505, 1506, 1507, 1508, 1515, 1520	B48	4801, 4802
B63	1516, 1517 B18 1801, 1802	B51	5101, 5102, 5103, 5104, 5105
B27	2701, 2702, 2703, 2704, 27051, 27052, 27053, 2706, 2707, 2709	B52	52011, 52012
B35	3501, 3502, 3503, 3404, 3505, 3506, 3507, 3508, 3509, 3510	B55	5501, 5502
B38	3801, 3802	B56	5601, 5602
		B57	5701, 5702, 5703
		B58	5801, 5802
		B67	6701, 67012

表6

表5から表7にHLA抗原とそれに属するallele typeを示しました。HLA-A2の抗原でも17個のalleleに分類されます。これをまとめますと表8のようになります。HLA-A locusでは抗原として22種、allele typeで60種、B locusで48種の抗原と115のallele type、DR locusでは16種の抗原と117のallele typeとなり、DNA typingにより300ちかくの種類に詳しく分類できるようになりました。ここに適合の対象とする抗原の数を変えた場合、腎臓移植における1年後の生着率について調べたデータを示します。HLA-DR抗原をDR1からDR18までの18種類を適合の対象として用いた場合の各gradeでの生着率とその移植数、DR1から

Serology	DNA	Serology	DNA
DR1	0101, 0102, 0103, 0104	DR12	1201, 1202, 12022, 12032
DR15	1501, 15021, 15022, 1503, 1504	DR13	1301, 1302, 1303, 1304, 1305, 1306, 1307, 1308, 1310, 1311, 1312, 1313, 1317, 1318, 1319
DR16	1601, 1602, 1603, 1604, 1605, 1606	DR14	1401, 1402, 1403, 1404, 1405, 1406, 1407, 1408, 1409, 1410, 1411, 1412, 1413, 1414, 1415, 1416, 1417
DR3	0304, 0305	DR8	0801, 08021, 08022, 08031, 08032, 08041, 08042, 0805, 0806, 0807, 0808, 0809, 0810, 0811
DR17	03011, 03012	DR7	0701
DR18	0302, 0303	DR9	09011, 09012
DR4	0401, 0402, 0403, 0404, 0405, 0406, 0407, 0408, 0409, 0410, 0411, 0412, 0413, 0414, 0415, 0416, 0417, 0418, 0419, 0420, 0421, 0422	DR10	1001
DR11	11011, 11012, 1102, 1103, 11041, 11042, 1105, 1106, 1107, 11081, 11082, 1109, 1110, 1111, 1112, 1113, 1114, 1115		

表7

DR10までの10種を用いた場合の各gradeでの生着率とその移植数を比べた表です(表9)。各gradeでの生着率は両者で変化しませんが、移植数は適合抗原を細かく分類するほど減少しています。細かく分類することで、移植成績は変わらず、適合度の高いドナーの数が減っただけであることは明らかです。腎移植のmatchingでは allele レベルでの適合性は有用ではありません。

SUMMARY

LOCUS	SEROL (N)	DNA (N)
A	22	60
B	48	115
DR	16	117

表8

One Year Graft Survival

	DR1-18		DR1-10	
	%	N	%	N
0 MM	86	4935	86	6324
1 MM	81	111,98	81	11,160
2 MM	80	6069	79	4718

表9

＜腎移植と新しい適合性について＞

つぎに腎移植で今までと異なった適合性の考え方で移植成績を見直した、いくつかのデータを紹介します。

◆ アミノ酸レベルでの適合性について

HLA 抗原の分子レベルすなわちアミノ酸レベルでの適合性と死体腎臓移植の関係を調べる研究を、6年前に行ないサンフランシスコの移植学会でその結果を報告しました。それは、すべての移植されたドナーとレシピエントの HLA 抗原をアミノ酸に置き換え、ドナーとレシピエントの間で、アミノ酸の不適合が

いくつあるかを調べ、その mismatch 数と移植成績を比較したのです。ドナーとレシピエントの平均 mismatch 数は15個でした。Mismatch 数と移植成績の関係ですが、mismatch 数が1個でも40個でもその移植成績には変わりはありませんでした。リンパ球は計算ができないのかもしれませんが(笑)。

次にS. Takemoto がアミノ酸の位置に適合性にとって重要な位置とそうでない位置があるのではないかという仮説をたて、リボンダイアグラム(図7)に示す10箇所のアミノ酸の適合度と死体腎移植成績をくらべました。この matching 法を Residue matching と名付けました。これがその結果を示したグラフです(図8)。この matching 法では親子間移植の場合と同程度の成績がえられました。

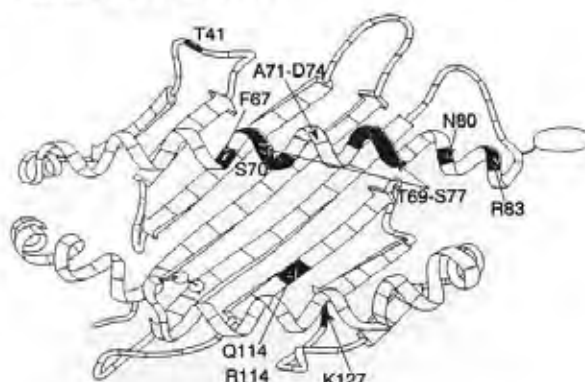
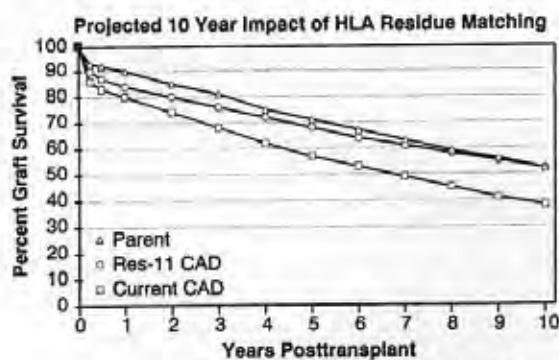


図7



Takemoto et al, Clinical Tx 1992 (p.431)

図8

● Permissible matching (許容抗原適合) 法

これはドナーとレシピエント間の不適合抗原のなかにも抗原間で強く反応する組み合わせ(nonpermissible)とあまり反応しない組み合わせ(permissible)があるのではないかという仮説(E. Maruya)によるもので、この抗原ごとの組み合わせを見つけるため1 mismatchの生体腎移植データより、同じ抗原の不適合ペアの移植成績が identical sibling の成績より悪い場合を nonpermissible、同等の場合を permissible な組み合わせとし、permissible、nonpermissible な抗原組み合わせ表を作成しました。

この表の真偽を確かめるため、死体腎移植に適応しました。これが permissible mismatching 法を使った死体腎移植の結果を示したグラフです (図9)。

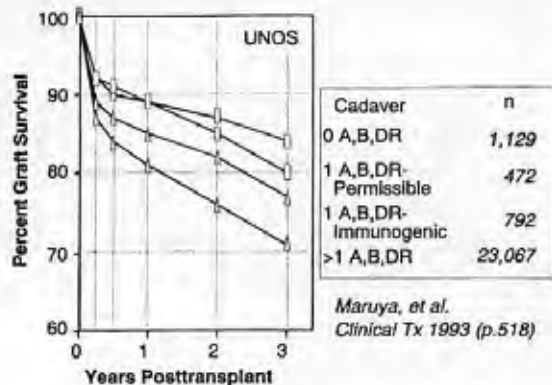


図9

Permissible mismatch と nonpermissible mismatch では移植成績に差が見られ、1年生着率では0 mismatch と同等の生着率が permissible mismatch 群で確認できました。これを Eurotransplant のデータにも適用してみました。その結果を図10に示します。

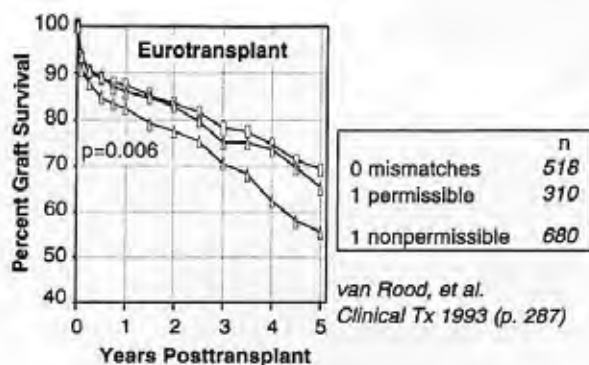


図10

0 mismatch 群と 1 permissible mismatch 群は同等の成績を示しました。さらに異なった移植地域のデータにも適用してみました。Opelz のデータでは permissible と nonpermissible のデータに差がなくなりました。1年前、S. Takemoto により、permissible antigen pair を 6 抗原 mismatch 群のなかからみつける研究がなされました。

図11に示しますのは、1987年以後の死体腎移植で移植後7年間の生着率を 0 mismatch と 6 mismatch で比したグラフです。そして7年後も 6 抗原 mismatch で生着している不適合抗原群を permissible mismatch 抗原としたのです。

次に示します表 (表10) は3年後の移植生着率について、HLA-A, B 抗原のうち各 mismatch grade で、その不適合抗原のうち permissible 抗原が含まれる数が増加すれば移植生着率が高くなることを示してい

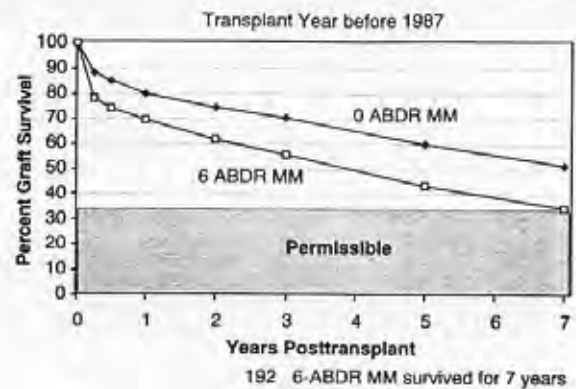


図11

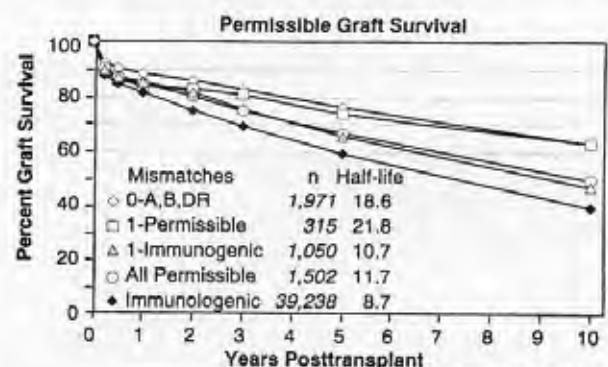
AB MM	Permissible MM 3 yr survival				
	0	1	2	3	4
1	75	78			
2	71	73	81		
3	70	71	68	74	
4	64	67	70	68	72

Takemoto et al, 1994

表10

ます。例えば4抗原 mismatch の場合、この不適合抗原に permissible 抗原がなにも含まれない場合は64%の3年生着率ですが、permissible 抗原が1個、2個、3個、4個と増加してゆくごとに生着率も、67%、70%、68%、72%と高くなる傾向があります。この法則を用いて、死体腎移植の生着率をグラフにすると次のようになります (図12)。

すなわち HLA-A, B, DR, の 0 mismatch と 1 permissible mismatch の移植成績がほぼ同じでした。



Takemoto, Clinical Tx 1994

図12

＜アメリカの新しい腎移植の傾向：夫婦間移植＞

2~3年前より、アメリカでは死体腎が得にくいので生体腎移植が増えつつあります (図13)。今ではアメリカの255の移植センターすべてにおいて生体腎移植がなされています。さらに興味深い新しい傾向は、その生体腎移植で夫婦間移植が多くなったこと

です。この移植における成績をみてみますと、夫婦間では2 haplotype mismatch であるにもかかわらず1 haplotype mismatch の親子間移植と同じ成績が得られることです(図14)。また夫婦以外の人からの移植成績もほぼ同様な結果が得られます。またこのような

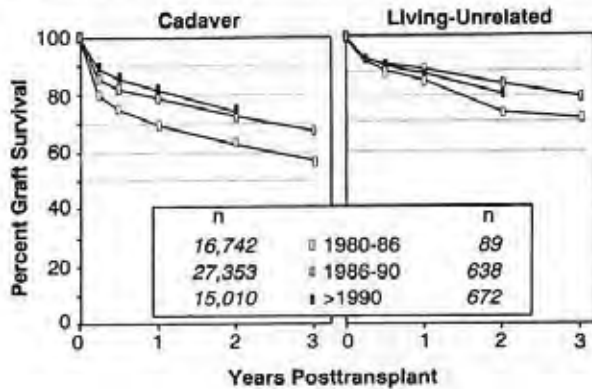
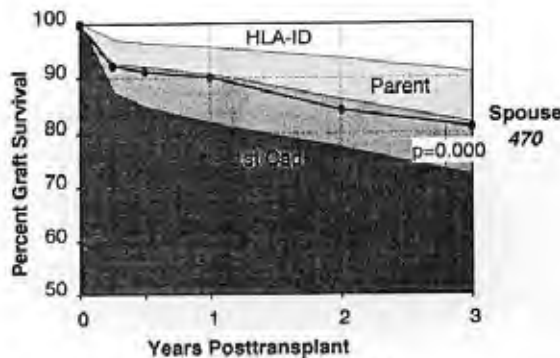


図 13



Terasaki et al, New Engl J Med Aug 1995 (in press)

図 14

現象は韓国にも見られます。韓国では、1000 以上の非血縁間生体腎移植がなされ、親子間移植と同程度の成績が得られています。これらのことから腎臓の生きがよければ、組織適合性抗原の適合にはかかわらず良い成績が得られると考えられます。

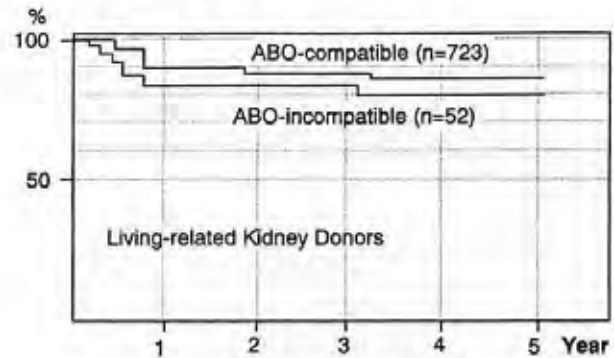
もうひとつの考え方は夫婦間移植だけドナーとレシピエントが同じ家に住んでいるので、妻がきつく夫に免疫抑制剤を飲むように言うから(笑い)かもしれません。それではアメリカの腎臓移植希望者のうちのどれくらいの患者が夫婦間移植が可能になるかを考えてみましょう。

表11にまとめを示します。アメリカの腎移植希望者は25,000人です。そのうち20才以上の人94%の23,500人、結婚している人がその半数の11,750人、そのうち57%、すなわち6,697人はABO適合で移植の意志のある人です。よってこれらのドナーは、日本でもアメリカでも大きなドナー源になると考えられます。この組み合わせでは、HLAの適合性よりABO血液型の適合性が重要ですが、東京女子医大の大田先生らの研究により、ABO不適合の場合でも患者血清

Waiting patients in USA	25,000
94% >20 years	23,500
50% are married	11,750
57% ABO compatible and willing	6,697

表 11

をABO型物質付着カラムで処理し移植することで、ABO適合の移植とほぼ同程度の成績が得られることが示されています(図15)。



Tanabe, Ota, et al. Transpl Proc 27:1020, 1995

図 15

<まとめ>

この10年間のまとめ

1. Major advances in knowledge of HLA molecules.
2. Considerable improvement in serologic typing.
3. Significant advance in short-term transplant results.
4. Relatively little effect on long-term transplant results.
5. HLA matching continues to have important long-term effects.

この10年の間にHLA分子についての研究はすばらしい進歩があり、血清学でのtyping技術もずいぶん改良されました。移植成績については短期間の移植成績はより良い免疫抑制剤の開発や術後治療の改善により良くなりました。しかし、長期移植成績で考えますと、HLA抗原の適合性がやはり重要であることがわかりました。

<未来への方向性>

1. DNA typing will help make typing more accurate, but..... For solid organ transplants, we need to match for FEWER critical specificities and not for more specificities.
2. Spouse transplants may be an important new source of donors.

将来はどのように進むべきかと考えでみますと、

DNA typing により正確な詳しい typing 結果が得られますが、臓器移植にはあまり役立たない。臓器移植では、できるかぎり多くの患者により良い移植を行うために、最少数の臨床上重要な抗原の適合性をめざさなければならないと考えます。次に今

後夫婦間の腎移植も重要なドナー源になりうるとおもいます。長い間、ご清聴どうもありがとうございました。

(収録とまとめ)

丸屋悦子、京都府赤十字血液センター、研究部)

免疫システムにおける HLA の役割

九州大学 生体防御医学研究所 笹月 健彦



HLA を免疫の中心に据えて考えると

今日は免疫システムにおける HLA の役割について話したいと思います。免疫系がどのようにして進化してきたのか、ということは私は感染症、感染源、ウイルスやバクテリアあるいは寄生虫、そういうものとの長い間の interaction を通じて、今日見るような非常に複雑な系が作り上げられたのだらうと考えております。その中で進化のレベルで眺めた時にもやはり直接バクテリア、寄生虫とか、ウイルス等と相互作用したのは HLA でしょうから、この HLA の進化とともに免疫系も進化してきたと逆に考えることもできるのではないかと思います。後でお話しますが、HLA がなければ T cell receptor もない。すなわち、T cell もない、ということになりますので、ファンクションの面から見ても、進化のレベルで見ても、やはり免疫系の中心に HLA を据えて考えてみるというのは免疫系を理解する上で役に立つのではないかと思います。もちろん既によく知られていますように HLA は胸腺における positive selection、それから negative selection、T cell の分化ということに非常に重要な役割を演じていますし、さらに末梢での色々な抗原に対する免疫応答の制御というレベルでも非常に重要な役割を演じています。ですから、免疫系の中核としての胸腺での役割、それから末梢、末梢といいますか、現場の第一線での免疫応答およびその制御としての重要な役割、まあその2つのシステムで HLA を眺めるのが大事だらうと思います。

HLA とその溝に結合したペプチドとの interaction ということで、最近では、MHC とペプチドとの interaction 微にいり細にわたって議論され、あるいは理解されるようになってまいりました。

免疫系というのは先ほど申しましたように、ウイルスとか、バクテリアとか、寄生虫をターゲットと

した感染防御機構として重要である。そうするとウイルスとか、バクテリア、寄生虫は非常に種類がたくさんあるわけですから、それらに対応するためには、免疫系は非常に高度の多様性を持たなければなりません。その多様性の獲得のメカニズムとしては利根川さんが発見しノーベル賞につながった、免疫グロブリン遺伝子の再構築ということが多様性が獲得されます。続きまして T cell receptor の遺伝子のやはり再構築による多様性の獲得、ということがわかってきたわけですが、その相手となる HLA というのも多様性が全くないわけではなく個人のレベルでクラス I、クラス II、それぞれ ABC, DR, DQ, DP といくつかの遺伝子が存在して、もちろんイムノグロブリンとか T cell receptor とは比べようがありませんが、幾ばくかの多様性があります。この多様性があるおかげで逆に T cell receptor の positive な selection というときにやはりこの多様性が役に立って、T cell receptor の多様性がまた倍加する、ということになってきているわけです。

免疫系でもう一つ大事なものは、多様性だけではなく、多型性がある、個人差がある、個体差がある、ということです。例えば DRB1 のアミノ酸の配列から見た多型性の分子的基盤ですが、DR β チェーンの N 末から 10 番目、30 番目、70 番目付近に、いわゆる hyper-variable region と呼ばれる個人差が非常に集中したところがあり、しかもこれらは、先ほどの外来抗原と結合する、interact する場所です。すなわち、HLA の個人差というのは外来抗原との結合の個人差の基盤になっている、ということで免疫応答における個人差の分子的な基盤がこういうところにあるだらう、ということが理解されるに至ったわけです。しかも先ほども申し上げましたように、例えば DNA typing するようになって初めて明らかになった

HLA-A2のサブタイプAの*0201と*0206ですが、この両者のどこが違うかといいますと、9番目が*0201はフェニルアラニンであるのに対して*0206はそれがチロシンになる、ということでOH基がひとつ多いわけです。そうするとそれに結合できるペプチドは*0201の場合アミノ基から2番目がロイシンであるのに対して、*0206ではバリンになります。HLAの方が少し大きくなって場所が狭くなったものだから結合できるペプチドはアミノ酸がロイシンからバリンへ少し小さくなって、というふうに微にいり細にわたってそのinteractionの様子が分かるようになって参りました。

Bare Lymphocyte Syndrome

HLA class I deficiency (Type I)
 HLA class II deficiency (Type II)
 HLA class I / class II deficiency (Type III)
 severe / opportunistic infections
 viral meningoencephalitis
 hepatitis
 cholangitis
 autoimmune phenomena
 severe diarrhea | malabsorption
 onset : within first year of life
 death : 4 years
 bone marrow transplantation

表-1

HLA がなければどうなるのか？

よくHLAがなければHLAの研究者が困るとか、あるいはHLAのtypistが困るといわれますが、生物学的にはHLAの遺伝子の異常、あるいは発現の異常でHLAのクラスI、クラスIIともに発現していない人がいます。その疾病はbare lymphocyte syndromeと呼ばれます。リンパ球にHLAがないので裸のリンパ球という意味で、ヨーロッパで最初に見つかりましたが、日本でも数例報告されております。この場合HLAがなければどうなるかといいますと、いわゆる重症の免疫不全になります。何故、免疫不全になるかといいますと、HLAがないわけですから、胸腺におけるT細胞の分化が起こらない。要するに成熟したT cellが出てこない、ということが原因だろうということももうこの時点ですでに予測できます。実際に非常に重篤な感染、あるいは日和見感染にかかったり、ウイルス性の髄膜炎、あるいは肝炎、自己免疫の状況などが出てくる、ということが報告さ

れております。そして、最終的には非常に重篤な下痢と吸収の不全で亡くなってしまいます。生まれてすぐ一年以内に発症し、これまでの例ですと4年以内で亡くなって、生殖年齢まで生きた子どもはいない。要するに免疫不全であれば、生きながらえていけないわけです。感染症で死んでしまうという、いわゆる免疫系が感染防御にとって必須の機構であることを明らかに示している一つの例で、ですから、我々が研究しているこのHLAというのは個体の生存にとって、まず必須の分子であるといえるわけです。(表-1)



H-2 class I / class II
double knock-out



H-2 class I / class II
double knock-out

DR α E β expressed in both thymus
and bone marrow derived cells
(Ebra)



H-2 class I / class II
double knock-out

DR α E β expressed in thymus
(Edun)

図-1

HLAの免疫中枢ではたらきは？ マウスの実験

それを実際に実験動物で調べてみます。ヒトのHLAに相当するマウスのH-2というのがありますが、そのクラスI、クラスII、それを遺伝子操作をして、両方ともその遺伝子の発現を押さえたダブルノックアウト(クラスIもクラスIIも両方ともノックアウトした)マウスを作ることができます。もうすでにクラスIノックアウト、クラスIIノックアウト、あるいはそのダブルノックアウトというのは世界でもいくつかのグループが作っておりますので、私どもが初めてではありませんが、このダブルノックアウトをした、先ほどのヒトでいえばbare lymphocyte syndromeに相当するマウスをバックグラウンドとしてヒトのHLAのDRA geneをさらに導入したマウスを作ります。つまりマウスのH-2は全くなくて、ヒトのDR α chainとそれからマウスの β chainだけを表現したマウスを作ることができるわけです。このマウスはDR α とE β ですから、E β とDR α と

ということで「イーブラ」(EbRa: E β とDR α の意)という名前を付けました。それに対してもうひとつ、同じDR α を導入したトランジェニックマウスですが、胸腺にだけこのDR α が表現して、胸腺にだけDR α とE β が発現しているようなマウスを作ることができます。つまり末梢には全く何もない、ヒトのDRもないし、もちろんマウスのH-2もノックアウトしますからいわけです。このマウスは胸腺は正常で、末梢がMHCの観点から見ると異常です。ヌードマウスというのは胸腺がなく異常で、末梢は正常なマウスとちょうどこれは逆になるので、ヌードマウスの逆で「イーダン」(NUDEの逆つりE μ , おしゃれですね(さ))という名前を付けました。これらのマウスにどんなことが起こるのか、ひとつには先ほど申しましたように胸腺がT細胞の分化には重要であり、そのときHLAがそこで重要になる。今度は末梢で免疫制御をしているということですから、こういうマウスを比べることによってHLAの役割を知ることができるだろうと考えたわけです。

まずその胸腺にだけHLAがあって、末梢になにもない「イーダン」ですが、このリンパ節をワイルドタイプで正常なマウスのリンパ節と比較しますと、先ほどのように、やたらとこのリンパ節が大きくなっています。「イーブラ」ではHLAのDRとE β が全身に出るので、これはもう正常と変わりません。

次にspleenですが、やはりspleenもやたらにこの「イーダン」では大きくなる。このマウスは末梢にはMHCが全く出現してないというマウスですから一見して、こういう異常がまず認められたわけです。

ですから結局そのHLAというのがいったい何をしているのか、ということを考える時に、ひとつには、もしHLAがなければ、先ほど申しましたようにT cellは出て来ませんので、B cellだけになります。B cellにももちろんHLAはないわけですから、免疫グロブリンだけで話を進めなければいけません。そうすると、抗原が入ってくるとそれと特異的に結合してそれは抗体産生細胞に分化し、抗原と特異的に結合できる抗体を次々に産生しますが、T cellがいまませんから、おそらくこの系にはフィードバックとか制御が効かず、抗原が入ってきたらとにかく抗体をどんどん作り続けるであろうということが予測されます。(図-1)

それに対してHLAがあれば、抗原と結合したDRをT cell receptorが認識して、そして免疫応答が起こります。けれども、どこかのところでフィードバックの機序が働くに違いないということが予測されるわけです。

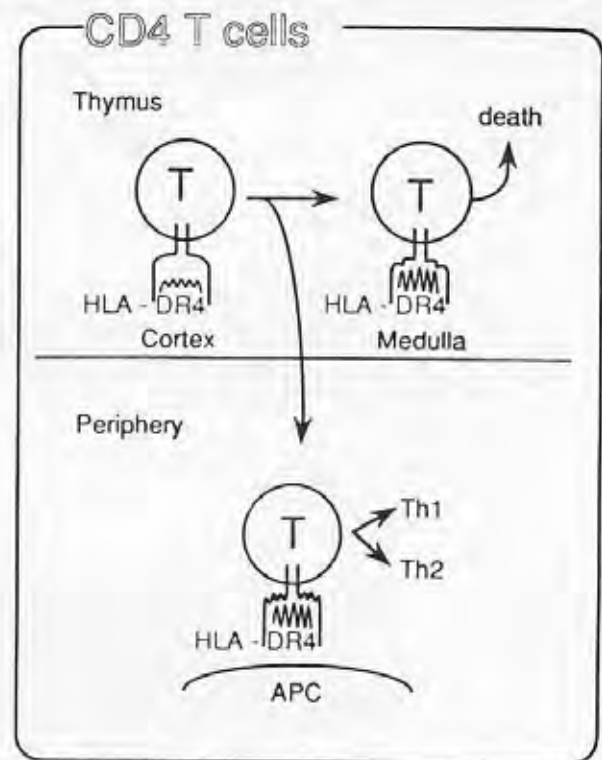


図-2

HLAのPositive selectionにおける役割

先ほどのマウスを利用して胸腺におけるT cellの分化をみるためにこれまで胸腺でどんなことが起こるといふふうと考えられているかといいますと、CD4のT cellは、例えば胸腺のcortex(皮質)にそのヒトがDRの4というタイプであれば、DR4と結合したペプチドのある認識の仕方認識したそのT cellがpositiveに選択されます。しかしながら、自分のDRと自分のペプチドが結合しているそれをしっかりと認識したT cellは死んでしまう。所謂自己反応性のT cellを除去するnegative selectionという施設がそこにあるわけですね。自分のそのペプチドをここで認識しなかったT cellは末梢に出てきて、所謂helper T, Th1になったり、Th2になったり、要するにhelper T cellとしてファンクションすることができる。こういうpositive selectionに関して、胸腺のHLA、それから末梢のHLAが本当にどういう役割を演じるのだろうか、ということがまずクエスチョンになったわけです。(図-2)

そのときに胸腺での分化を見るためにT cell receptorの α 、 β という遺伝子を初めから入れているトランジェニックマウスをつくります。特定のT cell receptorを持ったトランジェニックマウス。そのときに先ほどのDRが全身に表現されているのと、胸腺にだけ表現されているのを掛け合わせて、末梢にMHCがないということがT cellのpositive selectionにどう影響を及ぼすかを調べてみます。(図-3)

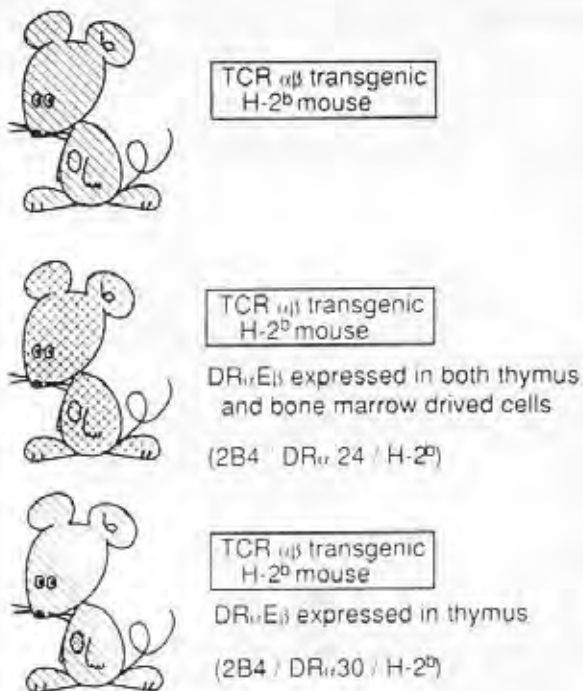


図-3

そうしますと、先ほどのように DR の表現が末梢にも胸腺にも表現されていますと、positive selection、CD4 の positive selection が起こりますが、胸腺にだけ DR が表現されていて、末梢にはないというマウスでは positive selection が起こらないことがわかります。先程お話しましたように、T cell の positive selection が起こるためには、胸腺に MHC が表現されていればよいというのがこれまでの教科書的なセントラルドグマでしたが、このマウスで見ると限りはいくら胸腺に表現されていても末梢に表現されていないと positive selection が起こらないという、非常にこれまでの通説とは異なった現象を観察することができました。それで今のは T cell receptor を使っているので、何か人工的なことで physiological な系ではないんじゃないかということが考えられますので、さっきの H-2 のダブルノックアウト、DR α が全身に入っているもの、胸腺にだけ入っているもの、というマウスを使って positive selection が起こるかどうかが。すなわち、末梢に MHC がなければ先ほどの例でいえば positive selection は起こらないように見えたわけですが、実際にそれがどうかということを試してみます。そういたしますと、ノックアウト、ダブルノックアウト、ヒトでいえば bare lymphocyte syndrome に相当するマウスでは、CD4 の T cell も CD8 T cell も分化してこないということがわかります。それに対して DR $\alpha \cdot E \beta$ が全身に表現されている、クラス II だけが全身に表現されているマウスでは CD4 の T cell は出てくる。クラス I がないので CD8 は出て

こない。また胸腺にだけクラス II、DR $\alpha \cdot E \beta$ が表現されているそのヌードマウスの逆の「イーダン」というマウスでは、positive selection が起こっているということがわかります。すなわち T cell receptor という人工的なトランジェニックマウスを使わなければ physiological なコンディションでは、胸腺にさえ必要な MHC が表現されていれば末梢にはなくとも positive selection は起こるんです。T cell は分化するんだということがこれでわかります。ですから、先ほどの spleen とかそれから lymph node がやたらに大きくなっているその「イーダン」というマウスでは、ここで positive に select された CD4 T cell が末梢へ出て行った、末梢に出て行ったけれども、末梢にはこの T cell を認識すべき HLA、MHC がないわけですね。そうすると何故か splenomegaly とか、lymph node が大きくなるという現象が見られたのです。結局その胸腺と骨髄由来の細胞とを並べてみますと、T cell receptor が fix されたトランジェニックマウスでは、この骨髄細胞にも MHC が表現されていないと、それと interact して分化が進まない、ということがわかったわけです。すなわち、ヌードの逆の「イーダン」と TCR $\alpha \cdot \beta$ をかけたものでは、その bone marrow derived cell に DR $\alpha \cdot E \beta$ が出てませんから、分化が起こらなかったということがいえるだろうと、それに対して、正常な physiological なコンディションでは、いくらここに MHC が出てなくても、何か別のリガンドと interact することによって分化が行われるだろうと考えられます。これらの研究から、胸腺に MHC が出ていれば T cell の分化は起こるけれども、その前に骨髄細胞との interaction も必要である、しかし、その interact する相手は MHC でなくてよろしい、ということが最終的にわかったわけです。これらがこのノックアウトマウスを使って、MHC が胸腺、あるいは骨髄細胞のどこに必要なかということ、まあかなりの精度で直接的に証明することができた実験だろうと思っています。以上が胸腺における MHC の役割です。

HLA の末梢での免疫応答における働きは？ マウスの実験

次に末梢では HLA が免疫に対してどういう役割をしているかということで、HLA-DQ の入ったトランジェニックマウスを使って、もともとの B6 のマウスと HLA の DQ が入ったトランジェニックマウスを比較しますと、B6 では溶連菌由来の M protein 由来のペプチドには全く免疫応答しませんが、DQ が入れれば強い免疫応答をします。ですから HLA というのは免疫応答に非常に critical な役割を演じていることを、これも非常に直接的に証明することができた実

験であります。

それと同じように、HLA-DR51 マウスをつくりますと、そのマウスでは hemagglutinin 由来のペプチドと結合して免疫応答するのに対して、B6は全く応答しないということがこれも証明できました。ですから、HLAはみんながいうように、ペプチドと結合して免疫応答をさせる分子であるわけです。それがあれば免疫応答するし、それがなければ免疫応答しない、というふうにトランジェニックマウスでは非常に単純にそれを証明することができます。

ヒトの集団では？ B型肝炎ワクチンの応答を見る

Histogram of Anti-HBs titer n=133

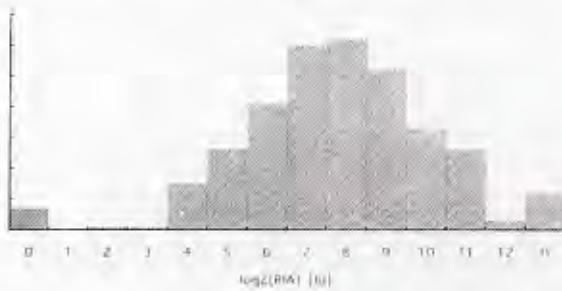


図-4

実際に人類の集団ではどうなっているかということを見たのがこれです。(図-4)これは九大の医学部の学生 339 名を対象として B型肝炎ワクチンを 3回免疫し、血中の抗体価を横軸に、血中の抗体価が全くないものから高いものまでそれぞれの学生の数をプロットしたものです。そうしますと、全く同じように、この B型肝炎ワクチンを免疫したにも拘わらず、全く抗体産生が検出できないものから、非常に大量に血中に抗体をつくるものまで、(これは log スケールで書いております)が、だいたい釣り鐘状の正規分布を示すことがわかりました。こういうふうにその分布が釣り鐘状の正規分布を示すということは、この血中抗体価は一つの遺伝子では決まらないということを示しています。つまり一つ一つのレベルを決めるために、それぞれの遺伝子が寄与するというのではなく、複数の遺伝子がこの血中抗体価の決定に寄与しているだろうということを示しています。ですから、ある特定の HLA があれば抗体が高いし、なければ作らないという 01 形式ではなくて、むしろ連続形式であるということがまずいえます。ただここに抗体を作らないグループがあり、これは検出限界でこうなっているのか、すなわち、この連続形式の一番端っこにやはり続くべきものなのか、それともこのグループとは全く異質のものなのかということが一つ疑問として残るわけです(図-5)。これは横軸に今の血中抗体価をとって、縦軸に

Correlation between T cell proliferation and Anti-HBs titer n=132

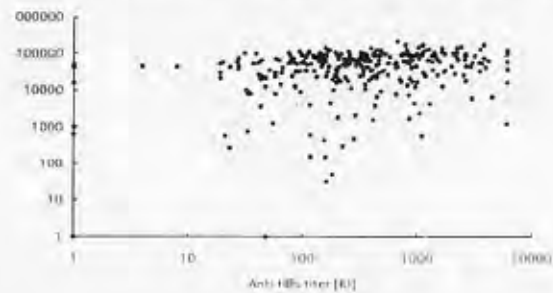


図-5

それぞれのヒトの T cell レスポンスをとったものです。そうしますと、血中抗体価の高いヒト、それから低いグループでも T cell レスポンスで見るとみんなほとんど同じように高い T cell レスポンスを示すということがわかります。すなわち、抗体を作らないヒトたちでもそのヒトたちの HLA はこの B型肝炎ワクチン由来のペプチドと結合して何らかの T cell を活性化して、その T cell が分裂しているということを意味しているわけです。まったくその抗体価と T cell レスポンスには相関がないということがわかります。ですから、所謂特定の HLA があればそれがペプチドと結合して抗体を作るけれども、その HLA がなければペプチドと結合できずに抗体を作らないという単純な図式では説明できず、これらの免疫応答、抗体価の非常に低いヒトたちでもそのヒトの HLA は明らかに抗原と結合して T cell をこれほど強く活性化しているということがわかるわけです。

ペプチド/H L A/T細胞リセプターの相互作用が鍵では HLA がどの程度この抗体価に寄与しているのかというのを HLA の A, B, DR, DQ, DP を使って多変量解析をしてデータをまとめたのがこれです。(表-2) そうしますと、もっとも寄与している locus は DRB1 ローカスで、その寄与の程度は 0.34、その他、HLA-A, B、それから DQ, DP はほほいずれも同じようにだいたい 0.2 から 0.3 程度寄与している、ということになります。A, B, DR, DQ, DP 全部そろえると 0.51、重相関係数が 0.51 程度に上がります。ということは、HLA の A, B, DR, DQ, DP 全部そろって、今の抗体価を 50% 程度説明することができるだろう、ということになります。その中でも特に DR が重要です。しかもその DR の中でも DRB1*08032 というのが抗体を高める方に 0.17、これがもっとも強く寄与しています。それから DRB1*0101、これも抗体価を高める方に寄与しています。それに対して DRB1*0405 というのは抗体価を低い方にもっとも強く寄与している、ということがわかりました。これまで、この B型肝炎ワクチンに対する抗体価をあるところを cut off point にして調べてみますと、

HLA各遺伝子座のHBs抗体価に対する重回帰分析

X: HLA	Y: HBs抗体価		X: HLA	Y: HBs抗体価	
	非相関係数	偏相関係数		非相関係数	偏相関係数
A	0.23		DQA	0.26	
2692		-0.74	DQB	0.29	
1101		-0.08	DPA	0.18	
B	0.27		DPB	0.25	
DRB 1	0.34				
08037		0.17	A B DRB 1	0.51	
0101		0.13	DQA DQB		
0405		-0.13	DPA DPB		
0701		-0.11			
0406		-0.10			
0401		-0.12			
1101		-0.10			
0807		-0.09			
1403		0.08			

表-2

DRB1*0101 high responder、*0405 が low responder ということはいくつかのグループが報告していますので、そのような多変量解析でもやはり同じようにそれらがプラス、あるいはマイナスの方向に寄与しているこの結果とはよく一致するわけです。今のB型肝炎ワクチンのペプチドを有機合成して欲しいアミノ酸20個ぐらいのシーケンスに有機合成してやりますと、(表-3) そのペプチドの中のN末から16番目から31番目というもの、それから81番から99番というこの2種類のペプチドがどうも high response と associate する *0101 あるいは *0803 とよく反応することがわかります。この2種類のペプチドがこれらのDRと結合してT cellを活性化している、

Epitopes of T cells to synthetic HBsAg peptides

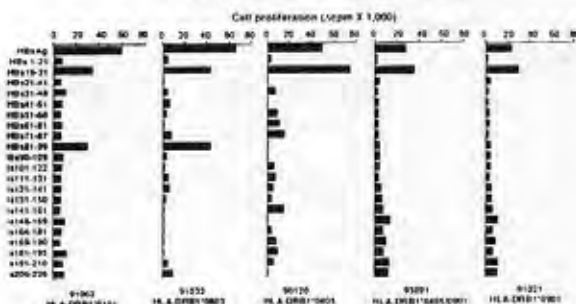


表-3

ということがわかります。それに対して low response と associate する *0405 では、この16番目から31番目のペプチドとはよく反応しますが、81から99というこの2番目のペプチドに対しては全く反応が見られない、ということがわかります。ということは、このペプチドに対するT cell responseこそが抗体価を高めるということに寄与しているだろうということを推測させるわけです。いくら反応しても *0405 というヒトは抗体価が低いわけですから、このペプチドに対するT cell responseはいくらこれが *0405 と結合してT cellが非常によく反応したとしても抗体産生をヘルプしないんだということがわかります。次に抗体価のもっとも高い8名、それから抗体価がもっとも低い8名をとって比べてみます。(表-4)

Comparison of PBL proliferation to synthetic peptides of HBsAg between high and low Ab responders

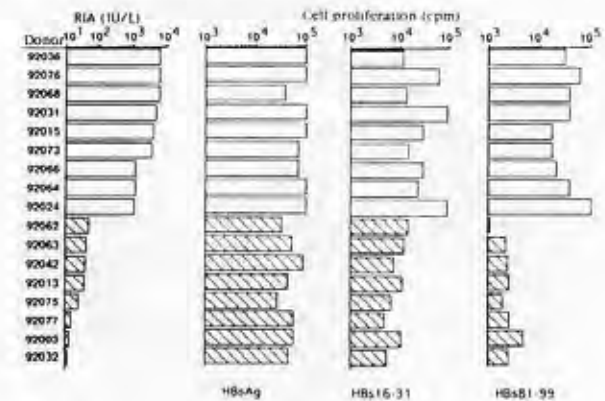


表-4

これは抗体価です。非常に抗体価の高い、もっとも高い一群と、もっとも低い一群についてT cell responseを見たものです。そうしますと、B型肝炎ワクチンと total の whole のペプチドに対しては、抗体価の高いヒトも低いヒトも同じようにT cell responseを示します。ですから、T cell response するかしないかということと抗体価が高いか低いかということは相関がないということです。ところが、先ほどのようにペプチドに分けて比べてみますと、最初の18番目からのペプチドに対しては抗体価の高いヒトも低いヒトもほぼ同じように反応するのに対して、81番目から99番目のペプチドに対しては抗体価の低いヒトはほとんど反応を示さない。ですから、この部分のペプチドと結合し、そして強いT cell responseを示すことが抗体価を高めるということに寄与しているだろうということがわかります。例えば、DR1というヒトは、ほとんど high responder ですが、そのヒトは81番目から99番目のこういうシーケンスのペプチドとDR1が結合して、そしてT cellを活性化して、いわゆるTh2タイプの helper T cellができて、これがB cellを活性化して、抗体産生細胞へと動かして、これが抗体を作る。ところがDR4と結合するこの16番目から31番目のこのようなペプチドは結合してT cellを活性化するけれども、これは決してB cellをヘルプして抗体産生へは向かわせない。ですから、マウスの例でいえば、Th1タイプの抗体産生には結びつかないT cellを活性化しているだろうということが推測されます。そうすると、同じB型肝炎ワクチンの表面抗原に由来したペプチドでもDR4と結合したペプチドとDR1と結合したペプチドでは、活性化するT cellの種類が違うということを予測させます。じゃあ、何故、HBs 16から31とDR4が結合したコンプレックスはTh1タイプのT cellを活性化し、81から99のペプチドとDR1とのコンプレックスはTh2

heterozygotesのHBs抗体価の分布

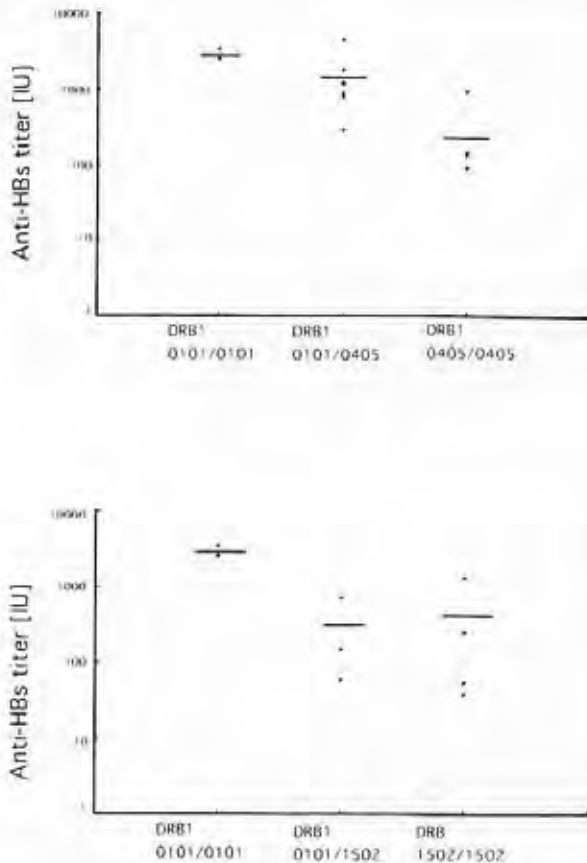


図-6

タイプの helper T cell を活性化して、B cell をヘルプして抗体産生へ向かわせるのか、何が問題なのか、ということが非常に重要なテーマになってきています。ですから、これらはそのペプチドと HLA との interaction、さらに、それと T cell receptor との interaction、TCR・ペプチド・MHC、この三者の interaction ということが非常に重要なポイントになるだろうと思われま。 (図-6) しかも興味あるのは、*0101 というのは high responder、これはホモのヒトです。ホモのヒトは非常に high responder。*0405 は low responder。これは差が小さいように見えますが、log スケールですから 10 倍以上の差があります。そうすると、high responder の *0101 と *0405 のヘテロはどうかということ、まあ中間の値で、どうも dose effect があるんだらうということが推測されます。ところが、それに対して今の DRB1*0101 ホモのヒト、それから *1502 のホモのヒト、これは low responder か、やや intermediate かという値なんです、これと *0101 のヘテロのヒトはむしろこの low responder の方になっています。*1502 の方が *0101 よりも dominant にきているように見えます。ですから、先ほど一つの HLA で話が済まないと思いましたが、こういうふうになくとも DRB1 locus をとった

だけでも allele 間の相互作用があって、その相互作用の仕方が組み合わせによっては異なるのではないかということを示唆しています。ただこのホモの数も少ないし、ヘテロの数も少ないのもっと数を増やさない最終的なことはいえませんが、何かこの interaction の仕方が allele 間では違うのではないかということを示唆するデータであります。

HLA のスギ花粉 IgE 抗体に対する応答では？

それと同じようなセンスでスギの花粉症を見てみますと、スギの花粉症では DPB1*0501 が患者で 80% 程度認められます。(図-7) スギの花粉抗原について調べてみますと、DPB1*0501、DP5 と結合するのはスギ花粉抗原の Cry j I と呼ばれるものの N 末から 214 番目から 222 番目のこのペプチドと DP5 はよく結合します。そしてそれが helper T cell を活性化して IL-4、IL-5 が分泌されて B cell が、特にこの場合には IgE クラスの抗体産生細胞へ分化増殖するということがわかります。それに対して、DR53 は N 末から 353 番目から 363 番目のこのペプチドとよく結合してよく T cell を活性化させますが、これはどうも IgE クラスの抗体産生はヘルプしないように見えます。ですから、ここでも特定の HLA と特定のペプチドのコンプレックスが抗体産生をヘルプするような Th2 タイプの helper T cell を活性化するのに対して、別の組み合わせではどうもそうはいかない。ですから、いくら T cell が活性化されてもそれぞれの T cell の function が異なる。逆に言えば異なる function の T cell を活性化することのできるペプチド-MHC コンプレックスが存在するということがわかります。

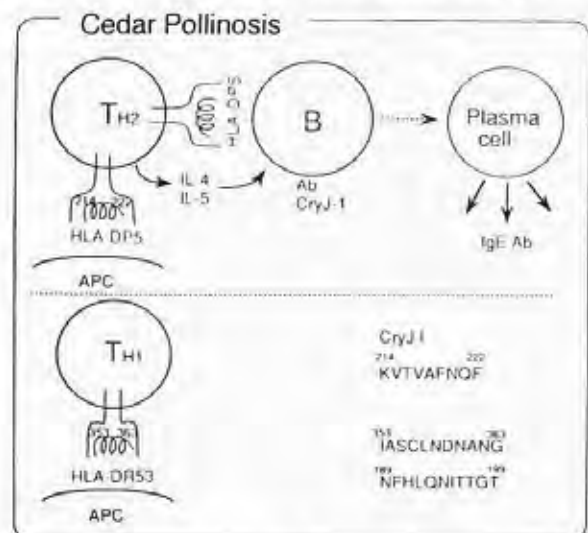


図-7

免疫系による排除機構における HLA の役割

以上が末梢における免疫応答の制御における HLA の役割ですが、もう一つ最後に、今度は免疫サーベランスのターゲットとしての HLA の役割が最近

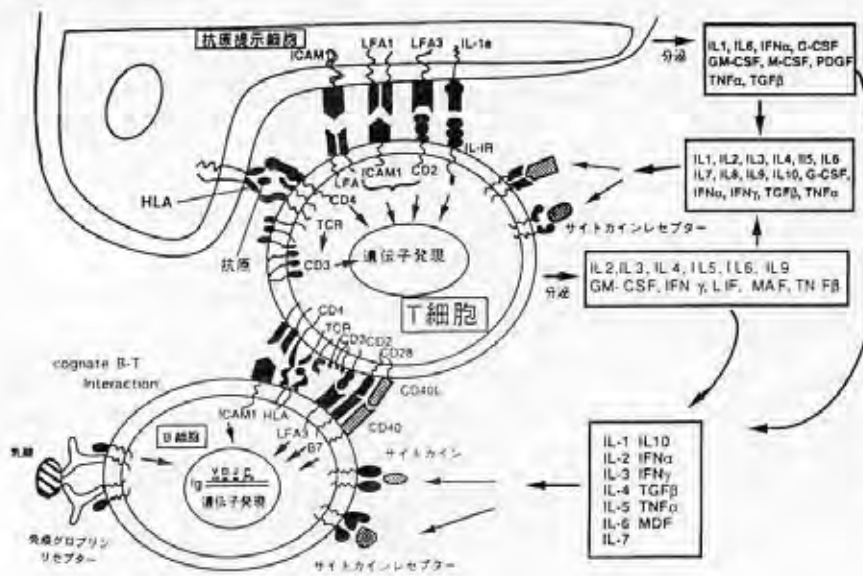


図-8

negative selection が本当にどうい
う形で行われているのか。何故
Th1, Th2タイプが分かれてくるの
か、ということも不明な点があ
りますので、これらが解決され
なければいけないだろうという
ふうに思われます (図-8)。免
疫系というのは私は今 HLA だ
けに注目してお話しましたから、
これが簡単のように見えまし
たけれども実際はよくご存知
のように、細胞接着分子、cell-
cell interaction に非常に重要な分
子、それから種々のサイトカイン、
それらのレセプター、こう
いう分子が総動員されて免疫応

よく言われます。特にガン細胞では、悪性の黒色腫
メラノーマの例で報告されたものですが、メラノ
ーマ細胞に特異的な抗原で、例えば MAGE1 というも
のが言われており、これはアミノ酸 EADPTGHS
のシーケンスをもったペプチドです。それは HLA の
A1 と非常によく結合して killer T cell を誘導します。
この killer cell がメラノーマ細胞を殺し、そのこと
によってガンに対する抵抗性を示すだろうと言
うことが推測されております。この場合、この HLA を免疫
系による監視機構ですね、変なものがあったらそれ
を排除するという免疫系による排除機構のターゲ
ットとして、HLA を捕えることができるだろうと思
います。ですから、今までの話をまとめますと、HLA
の持っている免疫学的な機能として、immunological
function としては、まず免疫系の大きな外枠 frame-
work を結成し、T cell の positive selection あるいは
negative selection ということに HLA が重要な役割を
演じている。次に、末梢に出てきた T cell に対して
MHC は Th1 タイプ、あるいは Th2 タイプの helper T
cell を誘導することによって、ある場合には抗体産
生、IgE クラスの抗体産生、ある場合には別の DTH
などの反応と言うことで別の免疫応答の仕方を決め
る。あるいは killer T cell や suppressor T cell を誘導す
ることにより、また別の免疫制御をするだろうとい
うことが推測される。で最後にお話しましたように
HLA は immune surveillance の免疫監視のターゲ
ットとなって、例えばガン、あるいは変化した変な自己
の細胞の除去ということに寄与しているだろう。大
きくこの3つのレベルで HLA が免疫学的に function
しているということがだいたいわかってまいりまし
た。この詳細についてはまだ不明なことがたくさん
ありまして、例えば胸腺における positive selection,

答が決まるわけです。HLA と抗原とを認識した T
cell receptor、そこから入ってきたシグナル、それか
ら adhesion molecule を介して入ってきたシグナル、
それからサイトカインレセプターを介して入って
きたシグナル、それらのシグナルの総和で T cell の運
命が決まる。ある場合には活性化され、ある場合
には分化する、ある場合には増殖する、またある場
合にはアポトーシスで死んでしまう。あるいは死な
なくても anergy と呼ばれるように眠ってしまっ
て何も反応しなくなるというふうに、この T cell の運
命によって、すなわち免疫応答の仕方や、パター
ンが決まってくる、ということになるわけです。胸
腺における T 細胞の分化のところでは、やはり HLA
と抗原とを認識した T cell が、ある場合には分
化・増殖して末梢へ出てくるし、ある場合にはア
ポトーシスで死んでしまう。この HLA がなければ
胸腺においては全く T cell は出てこないわけ
ですから、HLA なしには T cell はないと言
っていいだろう。ところが最近私もが作りまし
た先ほどのクラス I、クラス II のダブルノック
アウトマウスについては胸腺では確かに CD4 も
CD8 も出てこない、HLA がなければ T cell
はない。ところが、新潟大学の安保教授等が最
近盛んに胸腺の外で分化する T cell があるとい
うことを言っておられまして、それを調べてもら
いましたら、MHC のクラス I、クラス II が全く
ないにも拘わらず胸腺外分化で出てくる T cell
は確かに存在することがわかりました。ですから、
クラス I、クラス II なしでは T cell はないとい
いましたが、胸腺外分化で出てくるやや未熟とい
うか、未分化というか、あるいは進化的にはより
原始的と言いますか、そういう T cell は出て
くるということがわかりましたので、端的にその
MHC がなければ T cell はないぞ、と言ってし

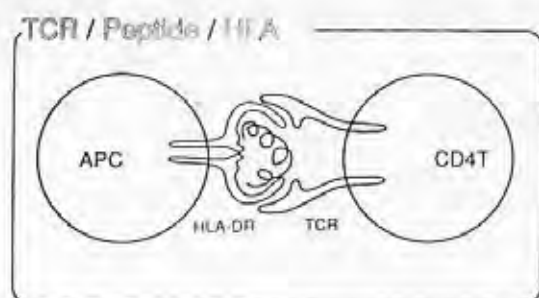


図-9

まうことはできないということがわかりました。ですから、まだまだ生体の中では複雑なことが色々行われていて、非常に単純化して話を進めていますけれども、そうはいかないと言うことがわかってまいりました。この胸腺外分化したT cellもちゃんとTCR, T cell receptorの α chain, β chainを使っていますので、いったいそれは何を見ているのか。所謂MHCのクラスI, クラスIIはノックアウトして、ないわけですが、それでも出てきたT cellはいったい何を見ているのかという意味で、また別のMHCの存在を考えなければいけないだろうと言うことにもなりまして、いろんな問題が提示されたらうと思います。(図-9) 結局は、MHCペプチドとT cell receptorのinteraction、これに関してまずやっぱりHLAを研究する立場に立つと、この解明と言うことが一つ大きなテーマとしていぜん残っているだろうと思います。

まとめ

今日お話したのは、免疫系というのは感染防御の機構で、しかも感染源が非常に高度に多様性を持っているので、免疫系もそれに対応できるように非常に高度の多様性がなければいけない。で、その多様性を担うのはT cell receptorとか、免疫グロブリンというふうに言われますけれども、MHCもその多様性の獲得のところで一役を担っている。しかもMHCだけが多型性に富む、個人差がある。そのことがまた集団を考える上で非常に重要になる。多型性と多様性をMHCが担ったということの重要性、胸腺におけるT cellの分化、末梢における免疫制御、それからターゲットとしての役割。それらが本当に解明されたときに初めて色々な病気とHLAとの相関というメカニズムが明らかになるだろうと思います。HLAと病気との相関が報告されてもう30年近くなるようにしています、が、本当の意味での相関のメカニズムはまだわからないわけで、それを解明することによって病気の予防とか、あるいは積極的な治療ができるようになるだろうと思います。MHCの研究が非常に脚光を浴びて免疫学の本当に中枢を占めるところにきたのはありがたいことですが、まだまだ不明の点が多く、解明にはまだまだ日にちを要するでしょう。今こそみんなで力を合わせてがんばらなきゃいけないんじゃないか、ということをお話して非常に雑ばくで恐縮ですが、これで終わりに致します。どうもご清聴ありがとうございました。

(収録とまとめ: 小林 賢 防衛医科大学校 検査部)

パネルディスカッションでは、京都府赤十字血液センターの佐治博夫先生にモデレーターをお願いし、HLA領域の研究者の方々にそれぞれの夢を語っていただいた。

〔パネルディスカッション〈夢紀行…HLA〉〕

HLA領域の先端研究者たちがおおらかにおおいに語る

当日は自由にして闊達な討論が展開された。レクチャーと討論の内容を含め、ディスカスタント別に収録して、掲載する。テラサキ教授、ビーティ教授、笹月教授、吉田教授、柏木教授、をはじめおおくのオーディエンスも討論に参加した。

遺伝子の森を歩く：遺伝子を同定し機能を探る

東海大学 医学部 分子生命科学 猪子 英俊

HLA遺伝子は多型性がある。ということはその中に変り者がいる。変わり者がいるということは、その遺伝子の機能がわかるということで私はHLAを研究の対象として選択した。HLAの多型性を調べる

ということは民族を対象として調査をすることでわかってくると考え、中国のウルクチなどの民族についてHLAタイピングを試みている。さらに、これらのデータを利用すれば民族の進化、流れが掴めるよ

うになる。岩波新書から出版されている大野 進著「日本人以前」によると、インドのタミール語と日本語が非常によく似ているということが記されている。タミール語に近い方言が秋田県に残されている。しかし、これらが直接的に日本人の南方系祖先とはいえないけれどもHLAの多型性を調べることで民族の起源などがわかってくると思われる。

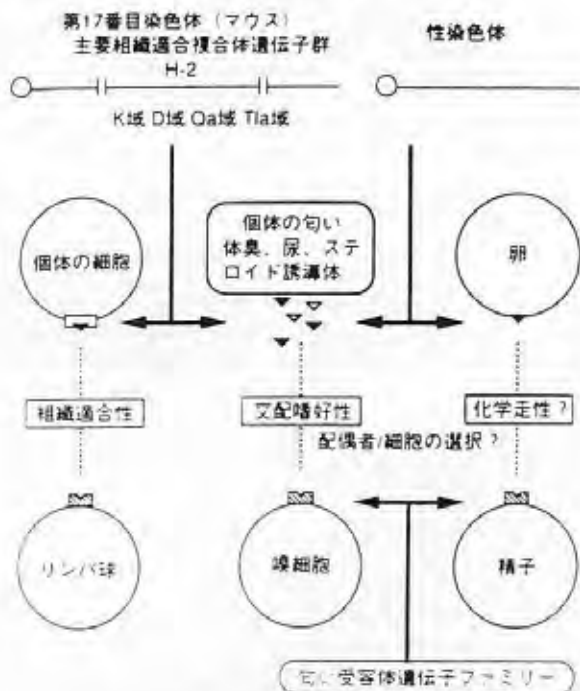
HLAの多型性を規定している構造は一般的にはクラスIのA, B, CとクラスIIのDR, DQ, DPである。これらは1980年代以降の遺伝子クローニングによって明らかになってきた。HLA領域は約4,000 kbに124種類の遺伝子が同定されている。その内HLAに関連する遺伝子は約30種類であり、それ以外は非HLA遺伝子である。

匂いのレセプター遺伝子がHLAの近くにあった
⇒交尾行動の規定

そしてヒトの高次行動を遺伝子は規定できるか？

遺伝子を同定してその機能を探ることが私の興味あるところなので、HLAの多型性を利用してヒトの高次行動に関係する遺伝子を探すことを試みている。マウスが交尾するときH-2の異なる相手を探すということが知られている。これは連鎖不平衡によってMHCが関係するよう見えるだけであって、MHC領域に交尾行動を支配する遺伝子が存在しているものと考えている。(図-1)マウスの場合には尿や体臭の匂いによって交尾する相手を選ぶので匂いのレセプター遺伝子がMHC領域内に存在するかをヒトを対象にして検索した。その結果、匂いレセプターのOlfactory receptor (OLF) 遺伝子がHLA-F遺伝子の下流にクローニングされ、5つの遺伝子が同定された。その遺伝子には多型性も存在することがわかった。匂いに関するレセプター遺伝子は1,000種類ぐらい存在すると考えられており、またその多型性は膜貫通部位に存在すると考えられている。

(図-2)匂いレセプターは匂いについての交尾の個性を支配している可能性がある。将来的にはヒトの個性すなわち高次行動をどの程度遺伝的に支配しているのかを検索していきたい。



パートナーの分子認識と匂い受容機構

図-1

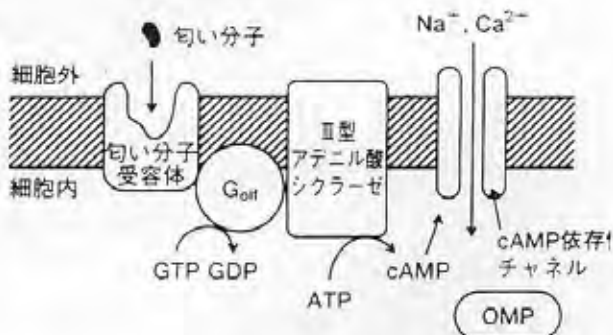


図-2

DNAデータベースの海を泳ぎ、分子進化のルールを探る

国立遺伝学研究所 遺伝情報分析研 五條堀 孝

HLA-G遺伝子は胎児の細胞層に出現してくるが、HLA-G遺伝子にはほとんど多様性が存在していない。しかしながら、新世界ザルであるCotton-Top TamarinはヒトのHLA-G遺伝子に相当する領域で多くの多様性を獲得している。また分子進化の立場から見ると、HLA-G遺伝子からHLA-A, B, C, Eなどが進化してきたと考えられる。HLAクラスI遺伝子の

起源は比較的新しく、3,500万年前よりも少し前になる。(図-3)

ヒトの細胞で発現している遺伝子は1,500~2,000程度と考えられている。その発現程度は種々の遺伝子で異なるけれども、肺細胞で二番目に多く発現されているのはHLA-E遺伝子である。この意味については現在不明である。

Gene Duplication in Human Class I MHC Genes

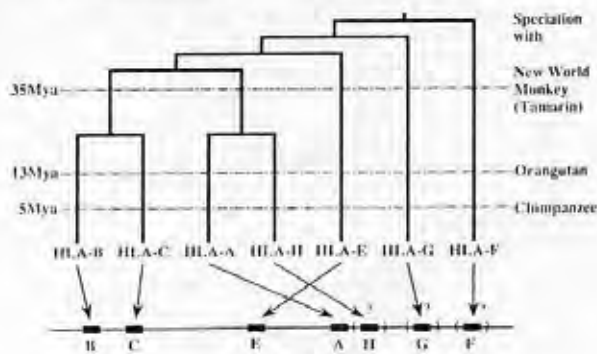


図-3

HLA 研究の今後の目標もやはり多様性ということになるだろう。すなわち、DNA、アミノ酸レベルの多様性、多重遺伝子族としての多様性、生物種間・種内の多様性、および免疫現象としての多様性などがあげられる。

HLA というのは病気と強い相関を示すということが過去の研究でわかっているのだから、そういう意味では HLA 遺伝子はターゲットとなるのではないだろうか。もう一つは抗原ペプチドの問題である。例えば、HTLV による感染で、白血病になるのか神経疾患になるのかは、宿主の HLA が決めている。そういう意味で我々の持つ多様性を明確にしていく必要がある。それから、免疫学的な個性を予測していくことによって遺伝子診断や治療への応用が可能になる。

HLA は非同義置換が正の淘汰圧力になっている

果たして HLA だけが例外なのか？

HLA 遺伝子は、非同義置換の方が多く、一般の進化速度よりも速いといわれている。塩基置換が正の

置換を受けていると推測されており、そのことは他の遺伝子に比べて例外的である。それは本当に例外なのか。それとも他にもこのような遺伝子が存在するのか。「正の淘汰」というのはアミノ酸が変わるような selection の力が働いている。従って、非同義置換（アミノ酸を変える塩基置換）の方が同義置換（アミノ酸を変えない塩基置換）よりも頻繁に起こっているだろうということの一つのクライテリアとして、データベースを検索する。20 万件強の DNA シーケンス断片のデータベースから似たもの同士を引き出してきて、似た配列をグループ分けして並べる。これを multiple alignment という。Coding region だけにすると、比較可能なアラインメントグループが 3,915 あった。この中で統計学的に非同義置換の多い遺伝子グループを捜すと、16 存在していた。そのうちの半数以上がマラリア、ウイルスやリケッチアの膜表面蛋白質であった。特に、マラリアの MS1, MS2 といわれる対立遺伝子を見てみると、全領域にわたって全部非同義置換であった。我々に対抗する非自己も似たような戦略で我々を攻撃しようとしている。今度は遺伝子単位ではなくて、遺伝子の一部でもいいので window search をして、そういう領域が存在するかを一つずつずらして調べてみると、約 5% の遺伝子がそういった領域を持つことがわかった。遺伝子単位だと 3,915 中 16 であったから 0.4% になる。従って、0.4% から数% は HLA と似たような「正の淘汰」を受けた遺伝子が存在するものと推定される。

HLA ハプロタイプ形成の進化的意味を考える

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 異常代謝分野 木村 彰方

HLA 領域の大きな特徴は多型性、多重遺伝子族、そして非常に強い連鎖不平衡である。HLA-A との相関が強くて DP の方が弱いような疾患では HLA-A 遺伝子の周辺に病因遺伝子が存在している可能性が推測される。しかしながら、多くの自己免疫性疾患は、連鎖不平衡が非常に強い DR や DQ 領域と相関を示すため病因遺伝子の存在位置を推定するのが困難である。HLA は制御領域にも多型性があるので、DQ-A のプロモーター領域や CA 繰り返し配列を利用するとその位置が推定しやすくなるのが期待される。HLA のプロモーター領域に注目

DQ-A のプロモーター遺伝子領域の対立遺伝子を検索した結果、10 種類のタイプが見出された。

DQA1*0101 は DQB1*0501 と連鎖するがプロモーターには 3 種類のタイプ (1.1, 1.2, 1.3) があり、1.1 は DRB1*01 (*0101, *0102) と、1.2 は DRB1*1502 と 1.3 は DRB1*1001 とそれぞれ連鎖する。

DQA*0101 に関して全 coding region のシーケンスを試みたら、exon 1 の codon 2 と exon 4 の codon 199 に相違が見られた。(図-4) DQA では 2 カ所にしか変異がないのに DR では DR1, DR10, DR14 などがみられ、ダイナミックに変化している。ハプロタイプからみると DQ はそれほど変化していないのに対して DR は非常に変化している。(図-5) この原因は不明であるが、一つの考え方として元々のプロトタイプがあって、それが何か連鎖不平衡の形成に意

Sequence comparison of DQA1*0101 and related alleles

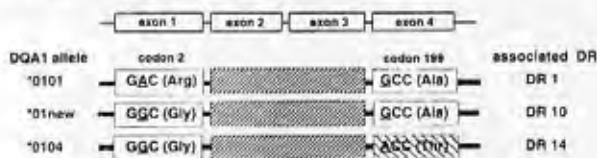


図-4

味があるものであり、DQ5ならばDR1, DR10,あるいはDR14しかハプロタイプを組めない。ある限られた範囲でのDRの中ではほんの少しずつ組み合わせを変えることでその適応度が高ければ進化上残ってきたし(正の淘汰)、DR4などは決してハプロタイプを組まないの適応度が低かったと考えられ、そのため残されなかったのではないかと考えられる(負の淘汰)。人間のハプロタイプ構造から見ると進

Schematic representation of DQA1*0101-related HLA-DR/DR haplotypes

DQB1	DOCAR	DQA1	DAP	DRB1	DRB5	DRB3
*0501	nd	*0101	1.2	*1502	*0102	-
*0501	13	*0101	1.5	*0101	-	-
*0501	13	*0101	1.1	*0101	-	-
*0501	13	*0101	1.1	*0102	-	-
*0501	13	*01new	1.3	*1001	-	-
*0502	13	*0104	1.3	*1401	-	*0202
*05031	15	*0104	1.3	*1401	-	*0202
*05031	15	*0104	1.3	*1407	-	*0202
*05031	15	*0104	1.3	*1408	-	*0202
*05031	15	*0104	1.3	*1405	-	*0202
*05031	16	*0104	1.3	*1405	-	*0202

図-5

化的にはDQが先でDRは後からできたと考えられる。またDNA配列に基づいて系統樹を組むと、進化の順番はDP→DQ→DRとなる。

クローニング⇒CTL⇒ペプチド⇒エピトープ⇒そして..

東京大学 医科学研究所 癌体質学研究部 滝口 雅文

10年前、ヒトの免疫学の研究はマウスに比べて非常に遅れていた。そこでヒトの免疫学、特にT細胞の抗原認識の研究には、まずHLA分子そのものの実体を明かすことが大切であると考え、HLAクラスI遺伝子のクローニングを試みた。HLA-B52遺伝子をクローニングしてその構造をはじめに決定した。続いて、B51をクローニングした結果、B51とB52の相違はアミノ酸レベルでわずか2個であった。その後、私の研究は、クラスI分子に結合するペプチドの検索へと発展した。

ヒトのマイナー組織適合抗原の発見

Non-HLA antigens recognized by eight CTL clones are expressed on both B and T cells.

	E:T ratio	T cell clones								
		NH-5.2	NH-5.3	NH-5.4	NH-5.5	NH-5.7	NH-5.9	NH-5.13	NH-5.17	
EBV-Transformed cells	donor	2:1	73 ^a	76	70	80	84	67	62	80
		1:1	59	76	62	55	78	56	46	83
		0.5:1	52	72	54	46	57	N.T. ^b	N.T.	N.T.
patient	2:1	0	-2	-2	-2	3	1	0	4	4
	1:1	2	-3	1	-3	0	-3	4	1	1
	0.5:1	5	-3	-3	-3	0	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.
THA-induced cells	donor	2:1	55	76	40	54	56	75	31	78
		1:1	45	72	27	47	53	77	21	78
		0.5:1	33	66	20	36	51	N.T.	N.T.	N.T.
patient	2:1	6	5	7	4	13	1	0	0	0
	1:1	6	3	2	3	8	1	1	1	1
	0.5:1	5	4	4	2	3	N.T.	N.T.	N.T.	N.T.

a. T specific lysis by CTL clones
b. not tested

表-2

Recognition of hml specific CTL clones

	NH-5.2 NH-5.3	NH-5.4	NH-5.13
	NH-5.5 NH-5.5	NH-5.7	NH-5.17
recognition for family member	Mother and Sister 3	Father, Sister 2 and Sister 3	Father and Sister 3
surface marker	CD3*CD4*CD8*	CD3*CD4*CD8*	CD3*CD4*CD8*
TCR	αβ	αβ	αβ
restriction molecules	HLA-B35	HLA-B38	HLA-B38

表-1

腎不全患者に母親から腎移植を施行したが廃絶されてしまったので、HLA identicalな姉から腎移植を行ったがやはり廃絶されてしまった。そこでさらに別のHLA identicalな姉からも一度腎移植を実施したが慢性の拒絶反応が見られるという症例を秋山先生からいただいた。この原因を追究するためT細胞の研究に着手することにした。姉を刺激細胞として患者の血液と反応させ、T細胞クローンを作製した。その結果、8種類のCTLができた。(表-1)これらは3つのグループに分けることができ、そのうちの1つはHLA-B35に拘束したCTLであっ

た。残りの2つはHLA-B38に拘束したCTLであった。おそらくこの患者は3つの異なったマイナー組織適合性抗原に対する反応によって腎臓が拒絶されたものではないかということがわかった。(表-2) 今後の研究で、初めてT細胞がヒトのマイナー組織適合性抗原をペプチドとして認識しているということがわかった。

HLAクラスI分子に結合するペプチドは9~10個のアミノ酸からなり、allele特有なモチーフを持つ

ている。このようなモチーフを利用して様々なT細胞が認識するエピトープを同定できるのではないかと考え、研究を進展させた。最近、reverse immunogenetics法を利用してHIVのCTLエピトープを同定することができた。T細胞を誘導するエピトープがわかってくれば、どのようなHLAをもっていれば、どのようなエピトープが必要なのかがわかってくるのでワクチンを利用した治療が今後期待される。

抗原ペプチドを病気の予防と治療に利用できるか

熊本大学大学院 医学研究科 免疫識別学 西村 泰治

血清学的には同一の抗原であっても、アミノ酸配列に相違のみられるものが数多く見出されてきている。このような微細な変化であっても免疫応答に差異が観察されている。例えば、慢性関節リウマチ (RA) やインスリン自己免疫症候群 (IAS) はどちらも血清学的にHLA-DR4と相関するが、DNAレベルではRAはDRB1*0405と相関するのに対し、IASではDRB1*0406と相関する。この両者のアミノ酸の違いは、僅か4個である(表-3)。インスリンα鎖分子中にDRB1*0406と高親和性を示し、DRB1*0405には親和性を示さないモチーフ (I-L-Q) を有するペプチド (TSICSLYQLENYCN) を同定した。このペプチドはジスルフィド結合 (S-S) によりループを形成している。そのため通常はHLA分子内に入り込めない。しかしIASの大半が還元作用を有する薬剤の服用中に発病することを考えあわせると、還元剤の投与でジスルフィド結合 (S-S) がはずれ、直線化されると推定される。その結果、DR結合モチーフが露出し、HLA-DR分子と結合して自己反応性T細胞を活性化しているのではないかと推測される。

以下に述べるようなHLAクラスII結合性ペプチドを疾病の予防と治療に応用することが私の夢である。

DISCUSSIONに対し、モデレーターの佐治先生より、次のようなご感想が述べられました。

大変おもしろいお話でした。僕はこのDISCUSSIONに先立ちパネラーの皆さんに『夢のある話をして下さい! 幻想でもいいから、理屈に合わなくてもいいから、思ったまましゃべって下さい。』と要求しておきました。しかし、一番夢のあるのは事実、生データから発生する創造、これが一番夢がある! と皆さんのご発表から思い知らされた次第です。

Association between HLA class II alleles and autoimmune diseases

Disease and HLA	Ethnic group	Patients		Control	Relative risk
		N	%positive	%positive	
Insulin autoimmune syndrome(IAS)					
DRB1*0406	JPN	50	84	8	56.6
Rheumatoid arthritis(RA)					
DR4(DRB1*0405)	JPN	204	71	41	3.4
DR4(mainly DRB1*0401)	CAU	1127	68	25	3.8
DR4(mainly DRB1*0401)	BLK	109	40	19	5.4
Insulin dependent diabetes mellitus(IDDM)					
DR4(DRB1*0405)	JPN	84	68	39	3.3
DOA1*0301	JPN	47	45	16	19.7
DOB1 non-Asp57 homozygote	CAU	607	73	26	7.4
DOB1 non-Asp57 homozygote	BLK	82	74	27	7.7
Systemic lupus erythematosus(SLE)					
DR2(DRB1*1501)	JPN	53	32	14	2.9
DR2(DRB1*1501)	CAU	390	25	16	1.8
DR3(DRB1*0301)	CAU	390	27	12	2.7
DR2(DRB1*1501 or 1503)	BLK	72	47	21	3.3
Multiple sclerosis (MS)					
DR2(DRB1*1501)	JPN	44	55	31	2.6
DR2(DRB1*1501)	CAU	1051	51	27	2.7
Myasthenia Gravis (MG)					
DR9(DRB1*0901)	JPN	43	86	27	16.4
DR13	(< 2y)		58	16	7.1
DR3(DRB1*0301)	CAU	223	35	21	2.2

表-3

ペプチドやアナログで免疫をコントロール

HLAと相関の強い自己免疫性疾患で標的となっている自己抗原ペプチドを同定し、そのものを免疫してトランスを誘導する方法、あるいはTCR認識部位をアミノ酸置換させたアナログを用いて自己免疫現象を抑制する。腫瘍特異的ペプチドを用いて抗腫瘍を増強する。IL-4産生性Th2細胞に提示されるアレルゲン由来のT細胞エピトープのアナログを用いてTh2細胞によるIgE産生を抑制する。(収録とまとめ:小林 賢 防衛医科大学校 検査部)



2時間の予定で始められた夢紀行でしたが、3時間を超える活発な討論となりました。最後に北里大医学部の柏木先生より、「クローニングは一切蛇足になってしまうので、お願いをひとつ、『第4回組織適合性学会』に是非ご参加下さい。今日お分かりいただきましたように、この領域は移植に係わるHLAの重要性はもとより多様性、多型性における生物学的意味、免疫応答の制御における重要性、疾患との関わり合いにおいてこれを予防的に診断することができる。あるいは、T細胞リセプターワクチンとして使える可能性があるという極めて将来性のある領域でございます。」とのお話で、本講演会は締めくくられました。(ま)

学会レポート

【BSHI & EFI Joint Meeting 印象記】

国立循環器病センター研究所 実験治療開発部 佐田 正晴



3月とはいえ雪深いOslo市街、路面はスケートリンク。

1995年のEFI (European Foundation for Immunogenetics, ヨーロッパHLA学会) はBSHI (The British Society for Histocompatibility, イギリスHLA学会) と合同し早春の3月8日から11日にかけてイギリスBrighton市のThe Brighton Centerで約800名の参加者のもと開催された。昨年フランスのStrasbourg (グルメの方なら良くご存じとは思いますがフォアグラとアルザスワインが有名で、EUの本部もある) で開催されたEFIには日本から小生一人だったのに比べ、今回は12th IHWS, chairman 会議が同時開催されたため日本から多数の先生方が参加された。



Norway DYNAL 本社受け付け、煥然と輝く大書「大成(ダイナル)」、北歐らしく随所に木材を多用している。

BrightonはLondonの南50 mileに位置しドーバー海峡に面した風光明媚な海岸町で、イギリスで最も有名な避暑地として知られ近くには有名なヌーディストビーチもある。海岸沿いに高級ホテルが並び学会会場もその一角に面している。こじんまりした町だがホテル、店舗が充実しているため国際学会が度々開催されている。歴史的には1822年、George IVがBrighton Royal Pavilion (外観はタージマハール、内装は中国様式が随所に取り入れられ我々東洋人から見るとミスマッチとアンバランスが何とも言えないが、当時の西洋人が



Brighton市街-1、こじんまりとしているが美しい街並みがつづく。



Brighton市街-2、海に隣接しているため美味しいsea food restaurantが多い。



Brighton Royal Pavilion 遠景、東洋と西洋の見事な融合体。
Welcome partyは敷地内の Corn Exchange で行われた。

持っていた東洋文化に対する憧れを考えると変に納得してしまう)を建設してから発展し、イギリス王室のメンバーも好んで訪問している。

今回の参加目的は、発表のみならず学会前に開催された関連会議に出席することだった。3月5日に日本を出発しCopenhagenで乗り継ぎ同日夜、一面銀世界のOsloに到着した。翌朝から夕方までDYNAL本社にて研究打ち合わせ後、London、Heathlow空港へ(低空から見るLondonの夜景は最高だった)。バス、電車を乗り継ぎ夜半にBrighton到着。風がきつく雪のOsloより寒い。翌日は朝から台風並みの強風(危険なため外出を控えるようテレビで呼びかけていたらしい)が吹き



学会の行われたThe Brighton Center。

荒れ、空は鉛色、海は大荒れで"嵐が丘"の世界。午後INNOGENETICS社のINNO-LiPAキット検討会議に出席するため身の危険を感じつつ会場のホテルへ向かう(本稿が発行される頃には日本でも入手可能となるだろう)。夕方からDYNAL社の非公開会議に出席し会食後外へ出ると雨がいつの間にかヒョウに変わっていて一面真っ白、なかなか素晴らしい一日だった。

今年のEFIはBSHIとのjoint meetingのため会期が例年に比べ1日長く演題数も多く、また出展企業も多く内容が充実していた。

Plenary sessionは、1.MHC and non-MHC gene in immunomediated disease, 2.Cellular immunity to tumors, 3.Tolerance and regulation in transplantation, 4.Evolution of immune system components, 5.Summary lecture、Teaching sessionとして1.Accreditation in the UK and Europe, 2.HLA and non-HLA antibody screening and crossmatch technique, 3.HLA class I DNA analysis, 4.New gene, 5.Statistical methods in the analysis of HLA data, 6.Platelets and granulocyte antigens, auto and alloantibodies : detection by serological methods, 7.Bone marrow transplantation : techniques and clinical applications、またNew Horizonsとして1.CD and adhesion molecules, 2.Ancient DNA : HLA and other molecules, 3.Novel PCR and sequence methodsの多岐に亘り一般演題では273題の発表が行われた。

本学会の演題や印象について幾つか述べて行こうと思う。今回EFIはASHIと提携し施設間ギャップの軽減、QCおよび新しい技術の検討や習得、普及を目的とした、タイピング施設やタイパーについての認定プログラムガイドラインをまとめた。これによりEUが行ってきた経済、貨幣の共通化がいよいよHLA分野にまで及び強大な力を持ったHLA大国が誕生しつつある。Teaching sessionでは初心者?を対象にした"HLA and non-HLA antibody screening and crossmatching techniques"についての初歩的な解説が行われた。

Class I DNA analysisについては、Oxfordグループから、"現在104種のprimer pairを用いたPCR-SSP法によ

りA, B, Cwを決定し移植のためのルチンタイピングを行っている"との報告があった(ちなみに合計144種のprimerによるPCR-SSP法によりA, B, Cw, DRB1, 3, 4, 5, DQBのルチンタイピングを行っているそうである)。またPCR-SSP法を用いたclass I タイピングに関しDNA抽出からトラブルシューティングにいたる詳細な検討報告がなされた。

TexasグループからはPCR-SSOP法によるhigh resolution B locus タイピングが報告された。Exon-2 (codon 35-83) と exon-3/4 (intron-2の-52から exon-4のcodon 234) 増幅により最初のスクリーニングを行い、exon-2/3 group specific amplification 後、hybridizationにより subtype を決定しているようで、本法により全てのalleleが同定可能ということだった。IrelandグループもPCR-SSOP法を用いたclass I DNA タイピングを行い、両グループ共に詳細な技術的検討が報告された。

欧米ではclass II DNA タイピングは既に研究からルチンに完全に移行され各企業が販売するキットにより行われているが、欧米の先端をゆくタイピングセンターでは、class I DNA タイピングも既にルチン検査に用いられつつあり、この分野の進歩には驚かされる。Class I new gene については、YAC DNA を用いた new gene 解析の具体的な方法と技術に関する講演があり、B30.2を始めとする new gene についての発表があった。

Class II DNA タイピング法としては現在共同研究を行っているUCLA Dr.D.ChiaのTerasaki plateを用いた方法が目された。HLAとは切り放せない統計処理についても、population および family study、疾患、graft survival に関し例を挙げながら明解な講演が行われ、初心者には好評だった。中学生から日本考古学会会員である私個人にとって、エジプトのミーラや古代人のmtDNAを用いたHLAや他のマーカーの解析は非常に興味深かった。

今まで学会的であったEFIもASHIのように技術や方法を重要視し、初心者の上昇と裾野の拡大、技術の標準化やQCに力を注ぐ方向に確実に変貌しつつある、これが今回の学会で感じた最大の印象かもしれない。この印象を裏付けるように学会中、各企業が開催したセミナーは満員でまた企業ブースでは活発な討論がなされていた。

最後にEFI会長Tongioの言葉をもって本稿のメトしよう。TongioはHLAにおけるserologyとmolecular biologyについて言及し、ヒトのMHCにおける多型性を決定する唯一の方法として長年貢献してきたserologyに対し感謝の意を表した。そしてmolecular biologyとserologyはそれぞれが認識する部分が異なることを明確にし、現在片隅におかれがちなserologyはmolecular biologyとは役割が根本的に異なっていることを我々が認

識しなければならないことを強調した。臓器移植においては細胞表面に発現された不適合epitopeによりrecipientが免疫されるためlow resolution matchingが本質であり、現行の移植前後のserological crossmatchはrecipientの免疫動態を知る上で唯一重要な方法である、と述べ更に、HLAにとってserologyとmolecular biologyは車の両輪で、どちらか片方が欠けてもHLAの発展はあり得ない、と強調した。さて賢明な諸兄はこの言葉をどう取るだろうか?



HLA最前線

【HLAの臨床応用編】

習慣流産とHLA

東京大学医学部附属病院 輸血部
前島 正基、桑田 昇治

習慣流産とは？

習慣流産とは、『自然流産を連続して3回以上繰り返すこと』と定義され、既往妊娠がすべて自然流産である‘原発性’と妊娠24週以降の分娩・人工妊娠中絶・子宮外妊娠などが先行した後、自然流産を連続した‘続発性’に分類される。また習慣流産の原因としては、夫婦の染色体異常、感染症、内分泌学的異常、子宮奇形などの解剖学的異常、抗リン脂質抗体症候群などの自己免疫異常があげられる。臨床上也最も多い習慣流産のタイプは、妊娠12週未満の初期流産のみを連続し、明らかな原因を認めない原因不明初期流産である。このようなタイプの流産は、免疫学的流産と呼ばれる。なぜなら、胎児が同種移植片であることを考えると何らかの免疫学的妊娠維持機構が存在し、その破綻が流産（免疫学的流産）を引き起こすと考えられるからである。しかしながら、その免疫学的妊娠維持機構については、現在もなお十分には解明されていない。

習慣流産と治療

習慣流産患者の治療は、当然ながら原因に即した治療が行われるわけであるが、原因不明の習慣流産症例では、免疫学的妊娠維持機構の破綻という観点から、夫もしくは他人リンパ球を抗原とした一種の免疫賦活により、流産を防止するという免疫療法が試みられている。当院における免疫療法では、原則として原因不明原発性初期流産患者を適応として行っている。治療成績は、当院での生児獲得率は89%、全体では施設によるバラツキはあるものの70-90%と高い治療効果をおさめている。しかしながら、その作用機序についてもいまだ十分解明されていない。

免疫療法の理論的背景

習慣流産に対する免疫療法は、1981年Taylor²⁾およびBeer³⁾らにより報告された。免疫学的妊娠維持機構の解明が十分なされていない現在、免疫療法の有効性の理論的説明は困難であるが、当初次のよう

に考えられた。即ち、妊娠を継続するためには夫婦間の抗原性の不一致が必要であり、この抗原性の不一致が胎児を免疫原とした母体の免疫学的攻撃反応からの防御機構を誘導するというのである。その防御機構とは、母体に産生された胎児・胎盤抗原に対する抗体、いわゆるBlocking Antibody（遮断抗体）であり、この抗体が妊娠維持に保護的に働くと考えられた。まず抗原性不一致の役割としてHLAが検討され、習慣流産患者では夫婦間のHLA class I抗原であるHLA-A, BやHLA class II抗原であるHLA-DRの共有性が高いという報告が出された。したがって当初は、夫婦間のHLA抗原の共有性の高い夫婦を免疫学的習慣流産患者とし、リンパ球免疫療法の適応とし実施された。免疫療法により遮断抗体（Blocking antibody）が産生され、流産を予防すると考えられたのである。

習慣流産と夫婦間HLA共有性

前項の『免疫療法の理論的背景』でも述べたようにHLA-A,B,DR抗原の夫婦間での共有性が高いと、母体は胎児のHLAを認識できず遮断抗体が産生されないため免疫学的流産になると考えられた。これは、習慣流産夫婦間でのMLR（mixed lymphocyte reaction）の低反応性は、特にHLA-DRの一致が習慣流産の原因かもしれないという報告⁴⁾などからも示唆される。しかしながら、HLA抗原の夫婦間共有性については否定的な報告も多く出されている⁵⁾。第11回国際組織適合性ワークショップ⁶⁾でも、原発性および続発性習慣流産患者において、有意なHLA class I,IIの夫婦間共有性は認めなかったと報告している。また、夫婦間でHLAクラスII抗原が似ていない夫婦においてもリンパ球療法が優れた効果をあげることがわかってきた⁷⁾ため、最近では夫婦間のHLA抗原共有性がなくてもリンパ球療法を実施している施設が多い。

遮断抗体

遮断抗体としては、抗HLA-DR抗体、抗TLX

(Trophoblast lymphocyte cross reactive antigen) 抗体あるいは抗イディオタイプ抗体などが想定されている。抗HLA抗体の中でも抗DR抗体は、MLRを特異的に阻止する性質を有する。したがって、免疫治療の効果判定を一般には夫婦間のMLRにより行っていることは、抗DR抗体産生の一つの指標となり、予後良好な症例では、免疫治療前後でのMLRを比較すると治療により低下することと合致する。しかしながら、免疫療法後に抗DR抗体が誘導されなかった症例においても生児を獲得しており、また遮断抗体が正常妊婦のすべてに認められるわけではなく、この抗体だけで習慣流産を説明することはできない。

胎盤とHLA

胎児成分のうち、母体の免疫担当細胞と直接接するのは、胎盤絨毛細胞である。胎盤の栄養膜合体層 (syncytiotrophoblast) と栄養膜細胞層 (cytotrophoblast) には、古典的なHLA class Iおよびclass II抗原は、存在しないことが今までに確認されている。しかしながら、非絨毛性絨毛細胞 (non villous trophoblast) には、新しいHLA class I抗原であるHLA-Gの発現が証明された⁷⁾。

HLA-G遺伝子は、1987年Geraghtyら⁸⁾により発見された。HLA-G抗原の特徴は、ヒトの胎盤のみに発現している蛋白で、古典的なHLAに見られるような多型性が見られないことである。また、膜結合型と分泌型⁹⁾の2種類の存在形式を有するが、その機能についてはいまだ明らかではない。体外受精胚移植において、他人の受精卵でも着床、発育することが確認されており、このHLA-G抗原が免疫学的妊娠維持機構の鍵をにぎる抗原である可能性が極めて高い。

最近の知見

免疫学的妊娠維持機構に関する最近の主流的な考え方は、1987年Wegmann¹⁰⁾により提唱された「Immunotrophism」という概念である。これは、脱着膜中の母体免疫担当細胞が、Trophoblast上に発現し

た特異抗原を認識・活性化することによりTrophoblastの発育を促進させるサイトカイン(M-CSF,GM-CSF,IL-3など)を分泌する。そして、Trophoblast自身もサイトカイン(M-CSF)を分泌し自らの発育を促しているというものである。

現在のところ、Trophoblast上の特異抗原としてはTLX抗原やHLA-G抗原などが考えられているが、胎盤特異性やMonomorphismということを考慮するとHLA-G抗原が免疫学的妊娠維持機構の重要な抗原である可能性は高い。今後、HLA-G抗原と脱着膜免疫担当細胞間におけるサイトカインネットワークの解析が期待される。

文献

- 1) 前島正基ほか:免疫療法の実際と問題点, 産婦科47:83, 1993
- 2) Taylor C,Faulk W P: Prevention of recurrent abortion with leukocyte transfusion. Lancet ii: 68,1981
- 3) Beer A E,et al: Major histocompatibility complex antigens, maternal and paternal immune responses, and chronic habitual abortions in humans. Am J Obstet Gynecol. 141: 987,1981
- 4) Lauritsen J G, Kristensen T, Grunnet N: Depressed mixed lymphocytes culture reactivity in mothers with recurrent spontaneous abortion. Am J Obstet Gynecol. 125: 35,1976
- 5) 藤井知行ほか:初期習慣流産の母リンパ球による免疫療法とその評価法に関する研究, 産婦科誌41:115, 1989
- 6) Takeuchi S, Gill T J: Summary of the reproduction component.Proceedings of the Eleventh International Histocompatibility Workshop and Conference. Oxford University Press,New York 1992,p993
- 7) Kovats S,et al: A class I antigen,HLA-G,expressed in human-trophoblast. Science. 248: 220,1990
- 8) Geraghty D E, Koller B H, Orr H T: A human major histocompatibility complex class I gene that encodes a protein with a shortened cytoplasmic segment. Proc. Natl.Acad.Sci.USA.84: 9145,1987
- 9) Fujii T, Ishitani A, Geraghty D E: A soluble form of the HLA-G antigen is encoded by a messenger ribonucleic acid containing in tron 4. J Immunol. 153: 5546,1994
- 10) Wegmann T G: Placental immunotrophism: Maternal T cells enhance placental growth and function. Am J Reprod Immunol Microbiol. 15: 67,1987

【HLAと生物学編】

シリーズ:HLA分子の発現制御(その4)

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

HLA分子の発現が欠損することによって引き起こされる病態をbare lymphocyte syndrome (BLS)という。

HLA分子は抗原提示を担う重要な機能を有するため、その欠損状態であるBLSは重症免疫不全症(severe combined immune deficiency, SCID)となる。

BLSは常染色体性劣性遺伝病であるが、乳児期に発症し、易感染性、頻回の下痢と栄養吸収不良を伴い、幼児期に死亡する非常に重篤な免疫不全症である。もともとBLSはクラスI分子の発現欠損を伴うSCIDの一型として報告された (type I BLS) が、多くの患者ではクラスI分子とクラスII分子の両者の発現欠損を伴う (type II BLS) とされている。このtype II BLS (以下単にBLSとする) におけるHLA分子の発現欠損を例にとり、HLA分子 (とくにHLAII分子) の発現制御を眺めてみよう。

前所述べたように、HLAクラスII遺伝子のプロモーター領域には進化上よく保存された塩基配列が見出される。これらのうち、発現制御に最も重要であるものは、X box, X2 box, Y boxの3種であり、それぞれに転写因子が結合することが知られている。但し、これらの転写因子として報告されたものの多くは、X, X2, Y boxそれぞれの塩基配列を認識して結合するものとして同定されており、実際にクラスII分子の発現制御に直接関与するか否かは不明なものが多い。ここでそれらの関係を一旦整理しておくことにする。

X box結合蛋白: X boxに結合する蛋白としてNF-XとRF-Xが報告されている。NF-Xについては、その遺伝子 (RFX1) がクローニングされており、また相同性を利用して類似遺伝子 (RF-X2,3,4) が単離されているが、これらのクラスII遺伝子の転写制御における役割は不明である。一方、RF-Xは、もともとBLS患者において欠損する蛋白として報告されたものであり、最近その蛋白が精製され、2つのサブユニットから成ることがわかった。このうちlarge subunitの遺伝子が最近単離されRF-X5と名付けられた。

X2 box結合蛋白: X2 boxに結合することが知られている蛋白として、Jun/FosヘテロダイマーとCREB/ATFヘテロダイマーがあるが、これらとは別にX2 boxに高い親和性を有する核蛋白としてX2BPが報告されている。X2BPも2つのサブユニットから成るヘテロダイマーを形成しており、前記のJun/FosやCREB/ATFファミリーに属する。

Y box結合蛋白: Y boxに結合する核蛋白の遺伝子として最初に報告されたYB-1は、むしろ転写抑制に関与するのではないかと推定される。転写活性化に直接関与するものは、NF-Yであり、これも2つのサブユニット (NF-YA, YB) により構成される。NF-YAとYBは酵母からヒトまで進化上よく保存された転写因子であり、その遺伝子もクローニングされている。また試験管内で転写活性促進が直接証明されているのは、このNF-Yのみである。

上記のうち、クラスII遺伝子の転写活性化に直接関与する因子は、RF-X, X2BP, NF-Yの3者であり、いずれもヘテロダイマーである。従ってクラスII遺伝子のプロモーター領域には少なくとも6種の核蛋白が結合すると考えられる (図参照)。前回紹介したように、これらの転写因子の存在のみではクラスII遺伝子の転写は起こらず、直接DNAには結合しないCIITA (class II transactivator) がさらに存在することがクラスII遺伝子の転写に必須である。

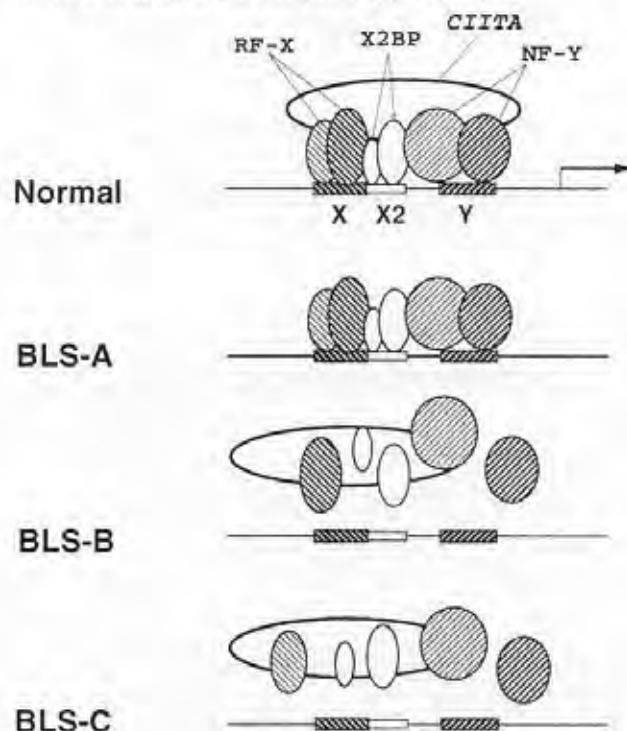


図) HLAクラスII遺伝子の発現制御
クラスII遺伝子プロモーターのX, X2, Y boxとそこに結合するRF-X, X2BP, NF-Yを示す。CIITAは直接DNAとは結合しない転写因子である。正常のクラスII陽性細胞ではこれらの転写因子が存在するが、BLSではいずれかが欠損している。

BLS患者由来のEBリンパ芽球細胞株および実験的に作成したクラスII分子発現欠損B細胞株を用いた相補実験から、BLSには少なくとも3種の相補グループ (BLS-A, B, C) が存在すると考えられている。このうちBLS-Aでは、上記のRF-X, X2BP, NF-Yが存在し、かつin vitro, in vivoのいずれにおいてもクラスII遺伝子プロモーターに結合しているがクラスII遺伝子の転写が認められないものであり、CIITA遺伝子変異に起因することが最近明らかにされた (図参照)。逆にいうと、CIITA遺伝子は、BLS-A細胞にクラスII分子の発現をもたらす蛋白の遺伝子として単離されたものである。前回記したように、このCIITAは、クラスII分子を発現する細胞にのみ存在し、IFN γ によって発現が誘導されるものであり、クラスII遺伝子の組織特異的発現において最も重要な転写因子である。これに対してBLS-Bおよび

BLS-Cでは、CIITA 遺伝子に変異を認めず、in vitro ではX2BP, NF-Yが存在するにも拘らず、in vivo でクラスII遺伝子プロモーターに核蛋白が統合していないとされる。これらは、RF-Xの欠損に起因する(おそらくRF-Xの2つのサブユニットのうちいずれかの欠損)と考えられる(図参照)。X2BP, NF-YのX2 box, Y box への結合親和性は、RF-Xの存在に

よって増加することが証明されており、転写因子間の相互作用によってクラスII遺伝子の転写が制御されていることを示すものである。

前述のようにBLSではクラスI分子の発現も欠損しているわけであるが、CIITAやRF-XがクラスI遺伝子の転写に直接関与するとは考え難い。今回はこの点について考察してみよう。



佐治博夫の **まかせなさいっ!**



古くて新しい医学の概念：小宇宙の調和

京都府赤十字血液センター研究部 部長 佐治博夫

「病気は調和の乱れ、治療は調和の回復」

この7月にモンゴルへ行って来た。1週間の日程ではモンゴルの実態を把握するには至らなかったが、ある部分を感じ得ることはできた。広大な国土(日本の4.2倍)に220万人の人口、最大の都市ウランバートルでさえ55万人の小都市である。半数以上の国民が遊牧に近いなりわいを営んでいる。4大家畜は馬、牛、山羊、羊で人口の10倍を超える2,500万頭を擁する国である。ある日、ウランバートルから40数キロ離れた遊牧の民の「ゲル」を訪れた。

ゲルとは中国でパオとよぶ木組みとフェルトの外皮で作られた民族家屋である。面談した長老はまず「阪神大震災のお見舞いを申し上げたい」と切り出した。「日本は10年に一度ぐらいは大きな地震があるし、毎年何回かは台風が来るし、大雨もよくあることです。天災のお陰で日本民族は強くなったのでしょうか..」などと答えて両国の気候風土などを話題にした。厳寒の冬、短い夏、変わりやすい天候、強い風など、長老の話しから感得したことは「天候気候と人間の調和」を図ろうとする諦観にも似た思想であった。

この欄の創刊号にアメリカインディアン族のナバホ族の「祈り」のことを書いたことがある。

ナバホは早魃の季節に祈りはするが「雨乞い」をしない。早魃に自分たちを「調和させてほしい」と祈るのである。ナバホは病気に対しても祈りの儀式をする。ハタリーとよばれ尊敬される「歌い手」が踊り手や砂絵を準備して、病人の調和の乱れを回復するように先祖たる神に祈る。生

理的な乱れも含め、人間小宇宙の調和を取り戻そうとする祈りだという。大げさかもしれないが、モンゴルでそれに似た思想に触れた思いがした。人類学的にはアジアが源とされるから、ナバホの「調和思想」はモンゴルに起源があるのであろうか。漢方や中医の「症」の考え方にも共通点を見いだせる。漢方医学は人間を複雑系とみなし、全体の症で複雑系を分類して、それに調和した治療法を見いだそうとする方法論をとる。

移植治療と、或いは自己免疫疾患と調和思想

移植治療は先端医療のひとつであるが、生物学的治療の旗頭でもある。同種移植には、免疫と称する自己非自己識別能力のバリエーションが存在する。現代医学はこのバリエーションに敢然と闘いを挑んでいるように見える。免疫抑制技術を駆使しての血みどろとも見える挑戦である。永い進化の過程で獲得した自己非自己識別能力に対する挑戦であるから勝ち目をみいだすのは困難とも思える。骨髄移植はHLAマッチングで、バリエーションを越えるのではなく、バリエーションの低いところを捜そうとしている。GVL(移植片対白血病細胞)という治療に有利な生物学的現象を利用するため、GVH現象をいかにコントロールするか、という思想も生まれた。いま固形癌の治療にも応用されようとしている。免疫の調和の乱れである自己免疫と、それに起因する多くの疾患も理解が進んできた。アンタゴニスト(アナログペプチド)で自己免疫を抑制しようとする戦略(西村泰治:KAMON No.3 p4)は、じつにみごとな生物学的調和思想の治療への導入方法である。同種移植への応用も不可能ではない。

ともあれ、移植医療へのHLAの導入は、調和思想の典型と考えてよい。骨髄バンクの成立で一步それに近づきたいま、「社会」がもろに持ち込まれ、開かれた医療が始まろうとしている。低迷をつづける日本の臓器移植が、医療に貢献できるよ

うになるキーワードはネットワークであり、それを無私に単純系として運営できるかどうかにかかっているように思える。(さ)

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4 B67、Cw7、Bw22new、FU、Cw7
福岡県赤十字血液センター 徳永 和夫

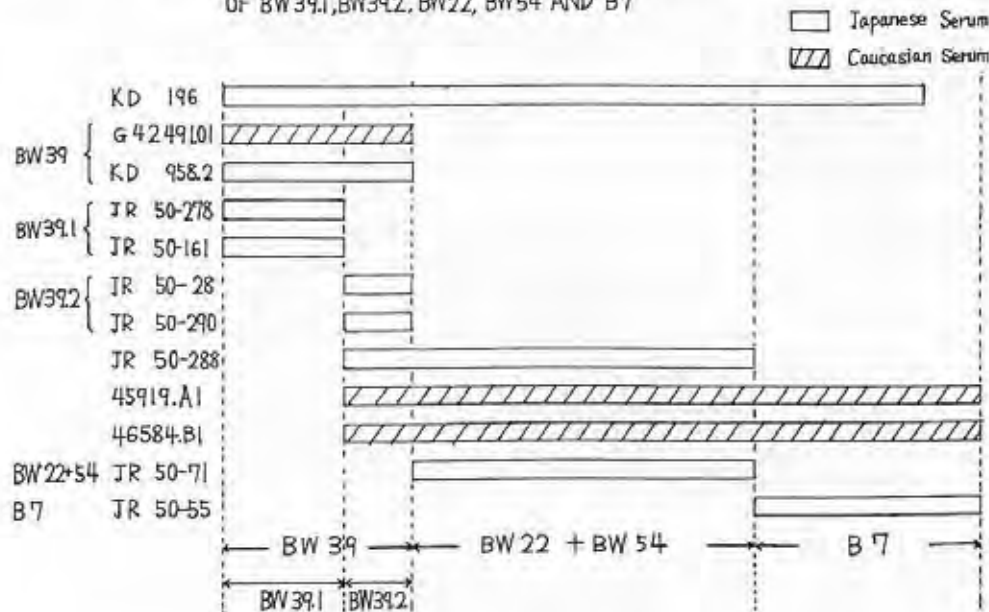
橋本さんから血清学の大御所と言われた私ですが、随分前からHLAの進歩を楽しめず、寂しく膝を抱えているばかり(海援隊からの盗作)です。そんな私ですので、とても学問的なことは書けないぞと悩んでいる間に、メ切が間近になりました。若きヴェルテルの悩みではなくて、バカき上照るの悩みを断ち切りたいとワープロに向かっております。こんなたわごとを書いているうちに原稿の制限枚数を超えてくれないかな。

私がHLAを始めたのが1976年で、当初は血液センターにおいて抗白血球抗体と輸血副作用の関係を解明しようということでした。何も知らない私は、九州大学医学部付属病院中央検査部の大河内先生(東大病院からフランスへ留学中は、HLAでノーベル賞を授与されたDausset教授のもとでLeukoagglutininの研究もされたそうです。)のところでへ行き、若いお嬢さんからLCT法を習いました。たぶんこの家紋の読者の大部分の若い方はご存じないと思うのですが、血清とリンパ球を反応させた後、反応液を振り切ってトリバンプール溶液を添加し、リンパ球が青く染まったか否かを普通の倒立顕微鏡で判定するのです。ホルマリンで固定しないので早く検鏡しなければなりません。トレイの枚数が少なければ良いのですが、その方法を使って女性の献血者や輸血歴の有る献血者の抗体スクリーニングをやったのが最初の仕事でした。皆さんは信じないかもしれませんが、献血者から良質のHLA抗血清が得られるということは、その当時の日本では常識ではなかったのです。当時九州大学の第1外科でHLAを研究されていた豊田先生(現宮崎県立病院)に指導していただき、職員HLA-ABをタイプしてバ

ネルをつくり、スクリーニングで陽性になった血清の特異性を同定した。丁度そのころ千葉大学主催の第5回日本HLAワークショップ(以下日本はJHWS、世界はIHWS、アジアオセアニアはAOHWS、日赤はJRHWS等と略)が始まり血清を提出したところ、12本が標準血清(A2、A10、A11、etc)、5本が参考血清(Cw1、Cw3、etc)に選ばれた。《SN2=Bw39、2=B67》

それからまもなく、50-290という血清が50人のパネルのひとつとスコア8で反応しました。検査ミスかなと思いましたが、調べていくと6IHWSで齊藤先生(現福岡日赤病院)と内藤先生(現福岡大学病院)が提唱していたSN2という抗原(Bw16とBw22にクロスする抗原:現在のB67)のみと反応することがわかり(図1)、8IHWS(1980)に提出したところ、なんと黒人に特有のBw42とも反応し公認されませんでした(8W57と言う名前になった)。それではということでSN2(このときは従来のBw39をBw39.1、SN2をBw39.2と呼んでいた)と反応する血清を揃えて希釈したところ50-332という血清を6倍に希釈するとSN2のみに反応することが分かり9IHWS(1984)に提出した。満を持して提出したのに結果はSN2以外にも反応した。しかし、内藤先生の提出したFD-1223が一部Bw42と反応はするが、SN2に特異的でBw67として公認された。当初このSN2の存在に疑問を持っていた脇坂先生(北海道大学医学部)に血清を送付したところ、相沢名誉教授がSN2を持っていたので信じたと聞きました(間違っていたら御免なさい)。そもそも職員にSN2を持った人が1人いて、その兄弟3人を調べたら、4人とも全員HLAが同じということから、この話は

図1 SCHEMATIC REPRESENTATION OF THE REACTIVITY OF BW39.1, BW39.2, BW22, BW54 AND B7



始まった。この4人はまだHLAが一致しているための恩恵にはいまだ預かっていないと聞いている。良かった。

〈CwTO-1=TOK1=Cw7〉

そして悪名高き命名のCwTO-1であるが、実はB67はA11とCwTO-1に連鎖していたのでした。50-253という血清がBローカスはB7、B39、B67、B62そして外国人のB8などで、CローカスはBlankのセルと反応していました。上述のSN2の家系調査で両方の抗原が遺伝していることが証明できたのです。つまり一石二鳥でした。それで8IHWSに血清を提出したところ、かのDausset先生のお弟子さんのDehay氏がCVEとして提唱していた抗原を決める血清とRが0.79でした。しかも白人の主要なハプロタイプのA1-B8、A3-B7のCローカス抗原だったのでこちらは1回で公認されたのですが、英語に自信がなく、笹月先生(現九大生医研)にジョイントレポートをしていただきました。

〈Bw22new=Bw22N=?〉

1980年9月22日に職員から血液をもらいHLA-AB検査を実施したら、Bローカスが全くBlankであった。慌てて8IHWSのトレイに反応させてみると、初めて出会うBw71(このころはBU)と相棒はB56のようになさそうのでBw22newと名前を付けました(表1)。前回で恥しかったのでこうした。持っていた血清に手当たり次第に反応させてBUとBw22newを決める血清を探す。どちらもほんのわずかの血清しか反応しない。興味深かったのは、Bw22newはB15関連の長い血清と反応することだった。シドニーの血液センターからもらった血清がBw22newを含んだ

B56の良い血清で、数本の血清の組み合わせでタイピングできたので、8JHWS(1983)に血清とファミリーパネルを提出した。このワークショップには346家系が登録されていたが、Bw22newの家系は1家系のみであった。この発端者は看護婦さんだったので子供さん2人を採血してもらった結果、両方に遺伝していた。本人は非常に協力的であったが、下の子供さんは大変嫌がったようで、それでも何度か頼んだので研究のためとはいえ可哀想であった。それから4年後の5JRHWS(1984)では福岡以外から3パネル提出された。A11とCw1に連鎖が有りそうとわかった。因みにBw56はCw4と連鎖がある。

10IHWS(1987)と11IHWS(1991)では、Bw56はそれぞれBw56.1とBw56.2にわかれ、Bw22newは10THJでは白人に多いShort antigen(関連血清の半分と反応)としてBw56.1(つまり普通の日本人のBw56はBw56.2)に、11THではShort reaction patternとしてBw56.2にそれぞれ振り分けられた。つい最近になって中央センターのグループによりBw22newはそのどちらでもない新しいAlleleですと聞かされている。

〈FU=B'FU'=B*4007〉

さて、FUは当センターの河賀さんがセンターの職員をタイピングしたところ、BローカスがBw52だけでB40関連の長い血清にわずかに反応が見られた。やはり看護婦さんだったので、家族の採血をしてもらい、父親から子供2人に遺伝していることが分かった。命名は発端者の名前の文字から取りました。5JRHWSでB48のスプリットとして河賀さんが紹介し(表2)、3AOHWS(1986)では、名古屋第2

表1 (論文 No. 19) serum cluster : Bw 42, Bw 54, Bw 55, Bw 56, Bw 22 new

		8th Workshop Serum Number																																																		
		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0													
HLA		6	1	1	2	0	5	0	4	4	3	3	0	2	0	1	2	0	0	4	6	2	2	4	1	4	9	0	0	3	2	0	2	6	2	3	3															
Antigen		5	5	5	1	1	4	8	8	9	4	3	8	2	2	5	4	0	9	1	3	6	8	9	9	8	6	8	8	5	7	0	7	2	6	5	6															
Bw 42		+	+	±	+	+	+	+	+	+	±	+	±	+	±	-	-	-	-	-	±	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±														
Bw 54		-	±	-	-	-	-	±	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	±	±	-	-	-	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+												
Bw 54		+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	±	±	±	±	-	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	±	±											
SN-2		+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-												
Bw 56		+			+			+			+			+			+			+			±			±			-			-			-			+			+			+			-					
Bw 56*		+			+			+			+			+			+			+			+			±			±			-			-			-			+			+			+			-		
Bw 22**		+			+			+			+			+			+			+			+			±			±			-			-			-			+			+			+			-		
Add'l		7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	16	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7	7											
HLA Ab'		+	+																																																	

+ U 731 : Bw 56, Bw 60 ** U 1742 : Bw 22 new, Bu

表2 FU, Bw48, Bw60, Bw61 反応パターン

	血	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	
	0	4	4	7	3	2	2	5	2	5	4	
	8	3	4	0	6	0	4	5	1	0	8	
	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	
Na	3	3	3	6	1	5	1	6	7	7	3	
抗原名												
FU		-	-	+	-	+	-	-	-	-	+	
Bw48		+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	+
Bw60		+	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+
Bw61		-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+

日赤病院の加村先生が発端の家系と別に日本人の家系がもうひとつあることを報告してくれました。そして11HWSで次元電気泳動でB60に近い抗原として浜松医大の海棠先生により確認されました。そして遂に中央センターの林先生がシークエンスしてB*4007となりました。FUはA24-Cw4のハプロタイプ

ブにのっているようです。

まさに学問とは縁遠い内容となりました。推薦いただいた橋本先生と読者の皆様に深謝いたします。

次回は、現在埼玉医科大学の平田蘭子さんにバトンをお渡し願います。

シルクロード辺縁諸国の人類遺伝学的調査—その1

湘南赤十字血液センター 検査課 安藤 等

我々は中国少数民族の人類進化からみた遺伝子分布、日本人のルーツ探索、HLA抗原の遺伝的多型の生成機序や人類学的調査を基盤とするHLAと相関する疾患の発症機序の解明などを目的として、1993年より東海大学医学部教授 猪子英俊先生、横浜市立大学医学部教授 大野重昭先生、上海復旦大学生命科学院教授 庚鎮城先生を代表者とする中国シルクロードの少数民族の人類遺伝学的調査を行っているところです。今回は、1993年に新疆ウイグル

自治区で調査を行ったことについて簡単にお話したいと思います。まず本題に入る前にシルクロードの地形と気候および少数民族の紹介をしたいと思います。

「シルクロード」、「絹の道」とは、中国で作られた絹織物が地中海の国々にまで運ばれ、ユーラシア大陸の古代交易路をさします。その東の終着駅が中国の西安であり、西の終着駅がローマです。シルクロードの語源は、19世紀末に、ドイツの地理学者、

リヒトホーフェンが、今の中国の甘肅省や新疆ウイグル自治区を調査中、東から来たキャラバン(隊商)を見て昔、絹を運んだ道はこれではないかと考え、彼の著書「支那」第1巻のなかで、「ザイデンシュトラーク」と命名したのがはじまりといわれ、このドイツ語が、イギリスで英語に直訳され、「Silk-Road」となり、その後、広く東西の古代両世界を結ぶ言葉としてもちいられるようになったそうです。中国語では「絲綢之路(スノウヂャール)」と呼ばれています。

シルクロードの地形と気候



シルクロードの地形

我々が今回行った新疆ウイグル自治区はアフガニスタン、旧ソ連、モンゴル、パキスタン、インドと国境を接し、面積はなんと中国全体の6分の1。中国でいちばん広い自治区です。地形の基本は3つの山脈と2つの盆地で、3つの山脈とは、天山山脈、アルタイ山脈、昆崙山脈です。アルタイ山脈と天山山脈にかままれてジュンガル盆地、天山山脈と昆崙山脈にとりまかれてタリム盆地があります。

シルクロードの夏は言うまでもなく、とても暑い!どんなに体力に自信のある人でも、多少はグロッキーになってしまいます。おまけに慣れない生活環境や乗り物で、それでなくても疲れが。病気には十分に注意したいものです。

シルクロードの少数民族

中国には、人口の94%を占める「漢族」のほかに、55種類の「少数民族」と呼ばれる人々が住んでいます。少数民族は、その歴史、言葉、生活習慣などのちがいによって、国からの分類・認定を受けています。

ウイグル族は中国シルクロードで、異国情緒をいっぱい感じさせてくれる人々です。人口は少数民族中、4番目に多く、約720万人。トルコ系のウイグル語を話し、「新疆ウイグル自治区」に集中しています。「ウイグル」とは団結、連合の意味だそうです。彼らはイスラム教を信仰していて、ウイグル族



ウイグル族の女子学生

の顔だちは、漢族とハッキリ違います。男性は子供の頃はあまり違いは感じられないが、成長するにしたがって、彫りが深く鼻が高くなっています。中年以上になると、口ひげやアゴひげをたくわえています。服装は人民帽に似た帽子(シェブリーカ)や、刺繍のほどこされた四角形の帽子(ドツバ)をかぶっていて、女性のほうが子供の時から顔だちの違いはハッキリしているようです。そしてなにより、カラフルなネックチーフをかぶり、花模様や矢がすり模様のワンピースを着ているので一目でわかります。適齢期になると、ヘアスタイルは長い長い三つ編み。耳には必ずピアスをしています。彼らは、性格も開放的で、メチャクチャ陽気。漢族が写真をとられるのをイヤがるのにくらべ、自らとってくれと寄って来たりします。



カザフ族の少年

カザフ族は遊牧の民だそうです。人口は約111万人、新疆ウイグル自治区に99%住んでいるそうです。やはりトルコ系で、カザフ語を話します。「カザフ」とはトルコ語で「部族を離れた自由人」という意味だそうです。顔だちは漢族よりは、むしろモンゴル族にちかい。男性は頬がこけて、精悍な表情。女性はポッチャリしていて、とても優しいです。男性はウイグル族同様、人民帽を好み、女性は円筒状の帽子にワンピースを着て、ブーツをはいていま

す。遊牧民である彼らは、男も女も、お年寄りも子供も、みんな乗馬の名手。鞍なんかなくても、巧みに乗りこなすことができるそうです。以前は、移動可能な「ユルト（パオ）」に住み、草原を遊牧してまわっていたそうです。今は、冬は町の住居に住み、夏だけユルトで遊牧生活をしています。紹介はこの辺で、そろそろ本題に入りたいと思います。

今回、我々は中国シルクロード周辺諸民族のベーチェット病患者をスクリーニングし、さらに同定した患者および健康人において、HLA遺伝子の解析、各種ウイルス検査を行うことにより、他民族におけるベーチェット病がどのように日本に伝播してきたのか、ひいては日本民族の起源と日本民族の歩んだ日本列島へのルートを人類遺伝学的に探索することを目的としています。対象者は北方漢民族、ウイグル族とカザフ族の健康成人およびベーチェット病疑い症例の計171人の血液を採血しました。方法はベーチェット病のスクリーニング、HTLV-I、-II抗体、HIV抗体の検索およびHLAタイピングを行いました。

シルクロード周辺諸民族のベーチェット病患者のスクリーニングは、カルテ上でベーチェット病患者らしいという診断を得ている人について調査しましたが、中国でのベーチェット病の診断基準は明確にはされておらず、検査施設も不十分でありました。また、これらの民族は遊牧生活をしていることが多く、病院とは非常に離れた地域で生活しているため、患者を病院に集めて診断・採血するのが困難な場所が多く、我々が車で17~18時間かけてそれぞれの患者個人の自宅へ行き、診断・採血するといった状況もありました。したがって、診断機器もないところで、数年前のカルテを頼りに診断をしなければなりませんでした。今回疑い例をも含めて24例のベーチェット病患者（北方漢民族14例、ウイグル族10例）を探すことができました。病院の近くに住んでいたウイグル族の中には明らかにベーチェット病患者と診断のできる人もおり、ベーチェット患者はこの地域に確実に存在しているといえます。

HTLV-I、-II抗体、HIV抗体は検索したすべての民族（健康成人147例、ベーチェット病24例）で陰性でありました。HTLV-I抗体は日本では九州西海岸地域と北海道アイヌ人に多く認められています。日本民族の起源は中国南方から台湾を経て渡航（この時は大陸とつながっていた可能性もあります）してきた民族（縄文人）と、2~3世紀頃朝鮮半島を経て渡航してきた民族（弥生人）などさまざま考えられていますが、閉鎖された孤立集団に多いHTLV-Iをマーカーとして追っていくこ

とにより、日本民族の起源、さらには人類の移動がある程度類推できると考えられています。九州西海岸地域と北海道アイヌ人は先住日本民族、いわゆる縄文人といわれ、HTLV-I抗体陽性率が高い（10~12%）。一方、縄文人に遅れて日本に来た騎馬民族は、先住の縄文人を北へ南へと追いやっていったと考えられます。現在の日本人の大多数を占めている、いわゆる弥生人といわれているが、HTLV-I抗体の陽性率は低い（0.1~0.2%）。今回調べたシルクロード周辺諸民族ではHTLV-I抗体陽性者が認められず、縄文人とは起源を異にすると想定されます。ベーチェット病は日本では弥生人に多く、縄文人に少ないことを考えあわせると、シルクロード周辺諸民族は弥生人と人類学的に起源が近く、ベーチェット病の病因遺伝子を持った共通祖先を弥生人と、これらの諸民族の間で想定できるかもしれません。シルクロードはたかだか中世の時代であるが、そのような重要な道は、それが川の近くであったり、オアシスの近くであったりして、人類創世の頃から人間の知恵として築かれ、自然と形成されてきて、民族の移動の中心を担っていたのでしよう。

また、HTLV-I抗体陽性者は北米インディアンや南米のアンデス高山地域の原住民にも存在しており、明らかに両者は人類学的に非常に近いと考えられているため、九州西海岸地域と北海道アイヌ人（縄文人）と祖先を同じくする民族がアリューシャン列島、アラスカを経て北アメリカに渡りアメリカインディアンとなり、さらに南下し南米に渡りアンデス地域の原住民となったという壮大な人類移動にも考えを馳せることができます。近年、人類の歴史の中ではごく最近に、北アメリカがコロンブスにより発見され、白人が占拠するようになったにすぎないでしょう。

次に、HLAについて話したいと思います。

我々は、新疆大学の研究室を借りてリンパ球の分離・凍結保存、タイピング、DNAサンプルおよび血漿の保存などの仕事を復旦大学院生1名、新疆大学院生1名、留学生1名と私、計4名で行いました。血清学を知っている人は私だけなので教えながら仕事をしていましたのでたいへん苦労しました。大野先生は患者さんの診察で忙しく、猪子先生はどこかなと思ったら日中友好に精を出しておられました。（おこられるかな）

余談はこれくらいにして本題に入ります。

HLAタイピングでは日本人の頻度と比較したところ、北方漢民族ではA11、A30、B53、B17、Cw7、DR3、DQ2、DQ7抗原頻度の上昇、A31、B52、B44、



安藤先生 大野先生 猪子先生



新疆大学の研究室

B54、DQ4 抗原頻度の低下を、ウイグル族では A3、A11、A30、B8、B38、B53、B17、Cw6、Cw7、DR3、DR7、DQ2 抗原頻度の上昇、A24、A31、A33、B44、B46、B52、B60、B61、B62、Cw9、Cw10、DR8、DR9、DQ3、DQ4 抗原頻度の低下を、そしてカザフ族では A1、B8、B13、B17、B48、B53、Cw4、Cw7、DR3、DR7、DQ2、DQ7 抗原頻度の上昇、A24、A33、B44、B46、B52、B62、Cw1、Cw9、DR2、DQ1、DQ3 抗原頻度の低下を認めました。HLA 遺伝子タイピング後にそれぞれの民族における遺伝子距離を近隣結合合法により計算しているところですが、明らかにこれらの民族間の遺伝子距離の方が日本人に対する距離より近いと想定されます。正確な遺伝子距離を計算し系統樹を作成することにより、日本民族の起源に触れたいと考えています。このことに関しては次回報告したいと思います。

以上、いろいろと話しましたが、今回私が参加したのは中国シルクロード周辺諸民族の HLA タイピングを行うことによって HLA 抗原の発症機序の解明、ひいては日本民族の起源と日本民族の歩んだ日本列島へのルートを人類遺伝学的に探索することでした。また、今回は HLA と疾患の一つであるベーチェット病も調査のテーマとなっていましたので、苦しんでいるベーチェット病患者さんと接する機会がありました。ベーチェット病はシルクロード沿いのモンゴロイドに多発し、白人には少ないため欧米の研究者の関心は低いです。ベーチェット病の発症機構を解明すること、ひいては新しい診断法と有用な免疫・遺伝子療法を確立できるか否かは我々日本人研究者の双肩にかかっていると私は実感しました。

ダイナミック・ラボラトリー

「株式会社 エスアールエル」

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させていただいております。

今回は「ティッシュタイピングラボ」として世界有数の株式会社エスアールエルの血液課をお訪ねし、検査業務のプロセス、精度管理の方法などをお聞きしました。

最寄りの駅である JR 日野駅前を抜けて、周もなく近代的なエスアールエルの研究所群が見えてきた。正

面玄関を入ると、受付には 2 人の女性。そこで来客用の名札を受取り、「いってらっしゃいませ」の声に見送られ、いざ取材へと赴く！

部屋には免疫血清部長の巴山顕次さん、血液課長の小川公明さんが待機されており、途中から中條さん

(82年入社でHLAのベテラン)も加わって下さり、次のようなお話を伺いました。

最初に巴山部長が“エスアールエル八王子ラボラトリーご視察のしおり”を手に、施設や機能等ラボ全体の概略についてご説明して下さいました。



八王子ラボラトリーの正面玄関 ここに6棟の研究棟などが林立している

巴) SRLは1970年の6月に(株)東京スペシャルレファレンスラボラトリーとして東京都新宿区下落合に設立され、今年で26年になります。開設の目的は、企業理念として従来の臨床検査にとらわれず、特殊検査の新しい分野の必要性を考えた特殊検査主体の検査ラボを作ることでした。年々検査依頼数は伸びています。病院から依頼された検体は、その日の中に八王子ラボラトリーの業務電算棟に到着、翌朝速やかに検査が行われるように、深夜ラベリングの後自動仕分け装置により部署別に分類され、各検査部に搬入されます。



検体はこの部署別の棚に分類され朝を待つ

翌日検査されたデータはホストコンピューターに入力され、各営業所、各医療機関の端末よりいつでも出力できます。現在74の営業所(1県に必ず一ヶ所はある)があり、検査項目としては定型で2千数百、非定型の依頼もあります。

ベ) HLAはいつ頃から始められたのですか?

小) 1979年に練馬の研究部第3研究室で始まりました。ここは細胞性免疫部門で、その中のテーマの

ひとつとしてHLAがありました。当時使用したフィッシャー遠心機が一台だけ生き残っています。最初は私と女性2人で、月48検体を検査しました。まだHLAの検査を始めたばかりで、抗血清が入手出来るようになりだした頃でした。防衛医大の関口先生が川崎市立井田病院におられた頃に、HLA検査の指導を受けました。先生の研究室の向いはちょうど死体安置所で、夜遅くなると怖かった。研究室ではうさぎを飼っていて、助手さんが自分の弁当の残りをうさぎに一所懸命たべさせていておもしろかったです。私達も2度程うさぎを大量に飼って補体の自家調達を試みましたが、なかなかいい力価の補体はとれず、毒性があったりしました。補体パネルセルは関口先生から頂いたものから始めました。やり出した頃は色々なことがありました。例えばフランスから入手したB21の抗血清が日本ではB62と反応したり.....と人種によって違うので十分検討してから使わなければというのが実感でした。検体数の増加とともに規模も徐々に拡大してきました。平成7年5月には遺伝子、染色体センターとしてP3までの設備をもった第4ラボが完成しました。現在HLA関係のDNAタイピングは第4ラボにも出来ましたので、検査項目によって5カ所に分散することになり、なにかと不便に感じてるわけです。

ベ) なるほど、只今の不便さは却って喜ぶべきことかも知れませんネ。ところで、現在ご本社はどちらにあるのでしょうか?

巴) 平成6年12月に新宿から立川に移転しました。晴れた日には6階食堂からよく見えます。

ベ) そんなに近いんですか?

小) ここからバスで15~30分位のところです。JR立川の駅からは近いんです。

ベ) 最初のころの検査目的はどの様なものが多かったのですか?

小) だいたい疾患感受性が多かったです。検査依頼書に診断名、投薬名を書く欄がありますが、書いてないのが多いんです。検査室は親子関係などの情報をもって、より良い検査をしたいと考えています。移植患者の手術が成功した時の連絡を下さったりするとああうれしいなーと感じます。

ベ) 現在のスタッフは?

小) 検査は10名です。

ベ) SRLの特長としてどんなことがありますか?

巴) 大量の検体を処理しなければならないので、信頼性の高い検査データを提供するための精度保証の体制に力を入れています。その一つとしてCAP



巴山部長

(College of American Pathologists 米国臨床病理医協会) の認定をアジア地域で初めて受けました(1987年10月)。CAPは2年に一度査察があり、チェック内容も分野別に分かれており、精度保証に関して厳しくチェックされます。この他に、データインフォメーション、学術情報サービス、

学術講演会の開催、その他学術誌の発行等幅広い情報を提供しています。外部に対してだけではなく、社員のレベル向上のため、臨床病理講座(初、中、上級)が各分野ごとに開かれ、各個人の業務に見合った技術能力のチェック、自己啓発に利用されています。最近では病院の経営層に対する講演会なども行っています。

小) 中) 話を聞いているとすごい会社にいるんだなと思います。普段はHLAだけのせまい世界にいるからね。



小川課長

べ) HLA 検査で気をつけていらっしゃるのはどういう点ですか?

中) まず、検体は必ず指定容器(細胞ボックス+22℃±3℃)を用い、指定された方法(ノボ社へパリン採血→毒性が低い、DNA の時は EDTA) で採取したもので依頼を受けることを徹底して

います。また前処理工程だけはいまだに全部手で行っています。細胞の状態、バランス、数など皆違うので一律に処理しにくいのです。インターフェイスの顔を見ながら作戦を練ります。

小) 骨髄移植振興財団が出来て検査が難しい検体が増えました。

中) 結果は主観が入らないようにまず2人でダブルチェックし、そのデータをもう一人が履歴などのデータとあわせながら、さらにチェックします。報告書をSRLの名前でお返しする以上トレーの種類を変えて何度も再検してでも一定水準の結果、信頼性あるデータを出したい、と努力してき



中條さん

ました。現場としては悩む検体は本当に悩むもんねえー、HLAの場合一定のグレーゾーンはやっぱりあるからね。

べ) 設立当初から特殊検査に主眼が置かれていたというのは珍しいケースですね。何度も再検してでも信頼されうるデータを提供したい、という姿勢もこの企業理念に通じるものがありますね。

巴) 社会的に何らかの貢献が出来る気持ちですね。儲かれば良いという問題ではなく、臨床医に信頼性の高い検査データを提供するという考え方です。

べ) これからのHLAはどの方向に進むとお考えでしょうか?

小) HLA は血清検査、DNA タイピングを含めMLC、クロスマッチ、非定型もありますので.....分野が非常に広がってきています。

べ) 先程開設当初は疾患感受性の検体が多かったと伺いましたが、現在はいかがですか?

小) 一番数が多いのは骨髄を含めた移植関係ですね、患者さん一人に対してドナーが数人いるのでボリューム数としては多くなる。疾患感受性は遺伝の素因、治療法を判定する指標として、応用範囲が広くなると思われます。

べ) SRLの方向性は今後どのように展開されていくのでしょうか?

巴) 医療というのは臨床医だけのものではないんです。検査する人、それ以外の医療業務の人達も含めた、いわばチームワークです。医業というのは医を介する業ですから、これは臨床医に限りますが、医療というのは医業を周りで支える人達がないと成り立たないのです。我々は医療の一員として同等以上の能力も技術も持っていなければならぬ、と考えています。SRLの検査に従事している者は、これらの考えに従って教育されていると思っています。技術能力はどこまでやれば満点ということではなく、常に新しい技術が入ってくるわけですから、今まで培ったベースを大事にしながら新しい技術を積み重ねることが大切です。私達は新しい技術動向の情報を収集し、迅速に実際に生かすように心がけています。

べ) 最新の設備と、何度も再検してでも一定水準の結果、信頼性あるデータを提供したいという企業理念が今日のSRLを支えているのですね。



藤山さん



後列：永原さん 森川さん 我孫子さん 蔵方さん 藤山さん 中條さん
前列：菊地さん 黒須課長 巴山部長 小川課長 千田さん

この後、精度管理室、HLA検査室に案内していただきました。精度管理室の中はコンピュータールームのようで、壁面の書棚には、2千数百項目の標準作業書が整然と並んでいたが、その内容は膨大なファイルを見ることなく、コンピューターの画面で必要な項目を瞬時に検索することが出来ます。次にHLA関連部署のうちタイピングが行われているHLA検査室を見学させていただきました。お部屋に入ってまず目についたのは防災用の緊急シャワー、洗眼用シャワー、防火毛布でした。また大きな機器から小さな器具のひとつ

にまで日付入の精度管理済シールが貼ってあり、きめの細かい精度管理の様子が伺えました。

受付に戻る途中に畳のお部屋があった。部署によるが、会社全体の約60%が女性なので、妊婦の休憩所や着付け教室として畳のお部屋が活躍しているとのこと。会社にこのような心づかいがあるからこそ、女性が安心して働き続けられるのだと納得し、SRLを後にしました。



HLA ところ変われば



ー中米グアテマラの人と風土ー

埼玉医科大学 医動物学 平山 謙二 マリアパウラ デレオン

驚くほど日本とよく似た国である。 というと非常に奇異に感じられるかもしれない。

工業国と、農業国、経済大国と発展途上国、平和と戦争、すべて対極のように思われるだろう。でもそういう予備知識を持たずグアテマラの風景や人々に接すると何とも言えない親近感を感じるのである。

火山が多く温泉まであることや彼等の性格が奥ゆかしいことによるという人もあるが、これはひょっとすると血というものかもしれない。

私は国際協力事業団がやっているグアテマラ共和国熱帯病研究プロジェクトの短期専門家として93

年から毎年この国を訪れている。

グアテマラはメキシコの南に接し、面積は日本の1/3弱、人口は東京より少ない約870万人であるが、よほどのコーヒー通でない限りご存じの方は少ないと思われる。相手機関は厚生省マラリア局という保健所と300年の歴史をもつサンカルロス大学医学部および薬学部である。取り上げた疾患はシャガス病(トリパノソーマという原虫の感染症)、デング熱、条虫症などである。ほとんどの読者はご存じない病気ばかりであろうが、こちらでは原虫や寄生虫病がまだまだヒトと慣れ親しんでいるのだ。

私はシャガス病の担当で、主に向こうの医師、あるいはマリアパウラのような臨床診断部門の人とつきあっている。シャガス病に侵されると有効な治療薬がまだないため、慢性の障害が主に心臓に起こってくる。時々ご一緒する産業医大の嶋田教授の話によれば、ある村の年齢別人口分布をみると50才台以降が突然減少する傾向があり、しかもシャガス病も頻度が減るそうである。つまりこの病気による心疾患による突然死が増加しているのではないかと彼は言うのである。これだけ高い浸透率(10%前後)をもち、しかも人によって心疾患を発症したりしなかったりという話になると、これは平山君がHLAでも調べてくれるのではということになり、こうしてこのプロジェクトがなければ恐らく一生訪れることがなかったであろう国に足繁く通うことになったのである。



Photo 1

少しくプロジェクトの話をするれば、実はまだまとまったHLAのデータは出ていない。シャガス病の疫学から臨床、治療まですべてのモデル地区としたイシュアタン村(人口2000人前後)は、グアテマラシティから車で一時間程の山の中腹海拔1600m程の所にある(photo 1)。ここの約200戸の所帯員全員を対象にしたシャガス病の調査が現在進行中であり、すでにDNAタイピング用の血液サンプリングも完了している。

そこで賢い読者は、こう質問するかもしれない。そうはいつでもその村の人達はどのような人種なのかと。マリアパウラによるグアテマラ人からの紹介文をまず読んでいただこう。

マリアパウラの解説文

グアテマラの人種は、大きく2つの民族に分けることができます。1つは、Native(土着)民族でもう1つは、Ladinos(混血:数か国に通ずるという意味から)民族。

これら、2つの民族は生活様式や習慣はもちろ

ん、見かけまで全く違うのです。

Ladinosは、全人口の約40%程を占めており、普通街の中心地か郊外周辺に住んでいます。非常に開けた精神の持主たちで、親切で、きれい好き、そして常に好奇心にあふれファッションや最新の時事に注意を向けています。当然、外国からの影響も大きく、生活様式や服装、食事などにも異文化から得た習慣が反映しています。

一方、全く違った民族であるNativeは、常に独自の服装や、食事、そして特に儀式の習慣を固持しています。とても恥ずかしがりやで、物静か、温厚で、誠実な民族です。

彼らが最も大切にしているのは家族で、父親が家長となり、母親は家事をします。

たくさん子供を育てますが、それは子供たちが大きくなった時には、仕事につき働いて家を助けてくれることを望んでいるからでもあります。

Nativeの人達にカメラをむけるととてもいやがって、顔を隠してしまいます。なぜかといえば、写真を撮られると魂を取られてしまうと信じているからなのです。

マリアパウラ デレオン

非常に注意深く堅苦しく書いてくれたので、何となくそのくらいのことなら、外国人の私でも説明できるよと言いたくなるが、彼女の言う先住民が今回の対象なのである。彼女も言ったように先住民のインディヘナ(マヤの末裔)が人口の60%を占め、この国の特徴となっている。

但しマヤの末裔とはいっても、決して純粋の子孫でないことは歴史を見れば明らかである。



Photo2

Photo 2は国立考古学博物館の入口にあるマヤの英雄の立像であるが、彼はスペイン人のいわゆるレコンキスタの際、勇敢に立ち向い他のマヤ人と共に皆殺しにされている。その後残ったマヤの遺伝子は1倍体の染色体遺伝子とながしかのミトコンドリア遺伝子のみであったろう。誰かひまな人がいたら彼等のミトコンドリアがすべてマヤ由来であることを証明し、スペインの戦争責任を追及することも可能かもしれない。



Photo 3

私は古都アンディグア (photo3) からさらに山奥のインディヘナの部落の教会をのぞきに行ったことがある。彼等はカトリックであるが、教会の中はスペイン系の金ぴかな内装とマヤからの古い太陽神とが混在して独特の空間を作っていた (photo 4)。街の中心あたりには大きなメルカド (市場) であり、彼等の主食であるトルティージャ (トウモロコシ粉から作る丸く平べったいパン) を景気よく焼いて皆の食欲を満たしていた (photo 5)。路上には特産品である色彩やかなグアテマラ織りを広げて売っている (photo 6)。彼等の古い言い伝えでは最初の間人はトウモロコシから生まれたとされている。そして小さな舟に乗って遠い海から渡ってきた。これはアリューシャン-北米経由の流れと、南太平洋ミクロネシアからの流れを暗示している。我々のHLA研究は、こういう視点から見ても興味深いかもしれない。

猪子先生のRFLP法でちょっとだけタイピングしてみると、私が親しみをもつほどには日本人と似てなく、スペインのDRB1*1301とアメリカインディアンのDRB1*0804がなんとなく多いようである。

常春の気候で物価の安いグアテマラシティーでのんびりしていると、ついスペイン人ならずとも遺伝子の1つも残したくなるような魅力的な国である。



Photo 4



Photo 5



Photo 6



チェックチェック

震災時、HLAラボの被害を食い止めるには？

阪神大震災が1月17日の早朝に発生してから早や半年が経ちました。この間兵庫県下で被害に遭われたHLAラボの方々は、ライフラインを断たれた中で、どのように検査室を立ち上げ、復興なさったのでしょうか？我々は兵庫県赤十字血液センターの能勢先生、荒木先生、稲葉先生と兵庫県立西宮病院の橋本先生にご協力をいただき、当時の状況、復興への道筋、そこから得た貴重なアドバイスなどを伺って参りました。

兵庫県赤十字血液センター検査課の場合

【まず、震災後ラボをご覧になられた第一印象は？】

建物があってホッ！とした。当日やっとの思いでセンターに到着したら、物がそこら中に散乱していて、臭いが充満していた。タオルを口に巻いて検査室に入ったら、丁度在庫したての酢酸が全部割れていた。



地震直後のお部屋の様子。コンピューターはセーフ！



平常に復帰したお部屋

【被害の状況はいかがでしたか？】

- ▼建物に亀裂が入った。
- ▼地下の倉庫のボンベ置場を囲むパーティションが曲がってしまった。
- ▼本棚が倒れた。
- ▼検査台の中を通っている水道管が折れてしまった。
- ▼電話-15時間、電気-18時間、水道-8日間、ガス-48日間 それぞれ止まった。
- ▼自家発電もあったのだが、4時間分しかなく、役に立たなかった。
- ▼制限酵素などは、全部だめになった。
- ▼親音開きの戸の中味は全部出ていた。
- ▼壁の下方にあるコンセントに物が当たり、破損や断線があった。
- ▼フリーザーが12台中1台故障した。
- ▼ガスボンベが倒れた。(ボンベ転倒防止チェーンは役に立たなかった)



パーティションが曲がったボンベ置場

【復興への道筋は？】

△上層部から「被害状況を早く知らせるように！」といわれ、精密なチェックは出来なくても破損箇所の有無・断線はないか？のチェックのため、各メーカーに大阪や姫路のセンターから連絡してもらい、メンテナンスをしてもらった。業者の対応は非常に速く、震災の翌日に到着したところもあった。

△当初交通が寸断されていたので、職員は皆片道平均4~5時間かかって通勤していた。当日出勤できた職員は25%程度だった。

△職員はご家庭でも被害にあわれており出勤がままならず、人員の確保が大変だった。

△大阪、岡山、姫路など近県のセンターから血液と共に水と弁当を運んでもらった。

△震災当日の検体は大阪センターに運んで、検査し



克明な記録を持つ能勢課長

てもらった。
△5日後に遠く長野県の水道局から給水車が来てくれ、タンクに入れてくれた。

△蒸留水はバケツで水を運んで作った。

△大阪センターから終わった検体を貸してもらって、検査機器の慣らし運転をした。

△センターの暖房が昨年よりガスセントラルヒーティングになっていたもので、48日間寒い思いをした。

△室温が低いので、HLAの反応が低下し、偽陰性が増えてしまうので、ふ卵器でトレーを暖めて使った。

△2月6日から明石・塚口両献血ルームから少しづつ復帰した。この頃JRが復旧したので、職員は神戸から歩いて通勤していた。

△当日血液のオーダーがこなかった。血液は必ず必要なのにオーダーがないのは連絡が取れないためと考え、血液供給の出前班を作って行動した。出前に行くと、「待ってたんですわあー！」と喜んでもらえた。マニュアルどおりにいかない時には想像力を働かせて自分で判断して動くことが一番大切！

【貴重なご経験からのアドバイスをいただけますか？】



ヘルメットをかぶる荒木さん

壁ぎわの棚などは、固定した方が良い。

コンピューター、ラックなどキャスターの付いているものはロックしない方が良い。

試薬棚の扉は引き戸の方が良い。

化学反応を起こすような試薬は下の戸に入れ、鍵をかける。

試薬の収納は余裕があると、かえって割れやすい。

ガラス類は出来るだけ下の方に仕舞う方が良い。

一部のフリーザーが壊れた時中味を移動させる

ため、収納には余裕をもつ。

物を置く台はしっかりしたものが良い。

電動の物の復旧が一番早い。

【震災時に有ったら良かった物を教えて下さい。】

携帯電話・自家発電・無線機・自転車・ミニバイク・ポリ容器・ウェットティッシュ・軍手・マスク・ヘルメット・灯油・軽油・救急用品・携帯用酸素ボンベ・タンカ・車イス・防水カップ・乾電池・簡易ベット・ガスコンロ・ガスボンベ・職員の連絡網等々

【もう完全に元の状態に戻られたのですか？】

まだ、完全には戻っていませんねえー、血液の供給も元の8割位です。三の宮ルームはつぶれたままですし。新しいルームが8月10日にオープンするので、その日ではほぼ通常に戻れるのかな。

【震災前・震災後で人生観が変わられましたか？】

自分だけ不幸、相手だけ不幸ということは良くありますけど、全体がこういう不幸に陥ることは滅多にないから---、精神的に強くなりますねえ。普段やらない助け合いを皆がやっていて、いい経験になりました。

【最後に何か一言ございましたら---】

近隣、そして全国のセンターの皆様色々とお世話になり、どうもありがとうございました。

*克明な能勢メモをお見せ下さりありがとうございました。10日ぶりに何時間も待って入った感激の銭湯のお話が印象的でした。



当時を振り返る稲葉さん

兵庫県立西宮病院組織適合検査室の場合



震災後の県立西宮病院

【被害の状況はいかがでしたか？】

▼建物に亀裂が入った。壁のタイルも一部剥がれ落ちていた。

(KAMON No.1 P14で燦然と輝いていた新棟が、痛々しい姿を曝していた)

- ▼怪我人が外来の廊下に寝かされていて、50年昔に戻ったようだった。
- ▼スチール棚に置いてあった試薬は全部床に落ちて割れた。
- ▼有機溶媒の化学反応でPタイルの床が変色していた。
- ▼ブレイクルームの食器戸棚が倒れ、ガラス戸が割れていた。
- ▼試験室とブレイクルームの間のパーティションのガラスが割れていた。
- ▼PCRの機械が載せていた台から少しはみ出していたので台から落ちてしまった。
- ▼ミリボアの純水装置が倒れた。
- ▼電気-1日、ガス-約1ヶ月、水道-2ヶ月それぞれ止まった。
- ▼縦型冷凍庫の蓋が開いてしまった。
- ▼液体窒素のボンベが地震の揺れで、あふれ、こぼれ出てしまった。当然中味も駄目になった。
- ▼ボンベも倒れた。ボンベ台は役に立たない。

【復興への道筋は?】

- △水が出ないので、病院の機能自体がストップしていた。重い患者は大阪に移し、手術も出来ず、クリニック状態が続いていた。
- △4月末位にやっと普通に通勤出来るようになった。

【貴重なご経験からのアドバイスをいただけますか?】

- ♡震度7が来たら何をしても被害は避けられない。だから試薬類の在庫はなるべく控える。少し高くてもキットを使う。ガラス製品は極力買わない。
- ♡昼食は店がなくて、特に独身者は困った。

♡今回の地震は南北に弱く、東西に強い地震だったので、貴重な物は色々な方向に分散して置くこと。

♡普段からなるべく整理整頓しておく。

♡貴重なデータは必ずフロッピーに落とす。バックアップもしっかり取っておく。

♡使い勝手は悪くても、横型冷凍庫の方が安定している。

【震災時に有ったら良かった物を教えてください。】

(兵庫センターでリストアップされなかった物で) 台車(水を運ぶ時など)・体力・十円玉

【もう完全に元の状態に戻られたのですか?】

5月の連休明けからルーチンな仕事出来るようになった。新棟の下層は今ごろになって改修工事中ですが---

【震災前・震災後で人生観が変わられましたか?】

『自然の力は恐ろしいデス!』植物はどれも倒れていなかった。倒れていたのは人間の作ったものだけだった。歴史の差やね。「HLAのタイプの差?そんな小さい、小さい!!」

【最後に何か一言ございましたら---

全国の皆様より励ましのお手紙、お電話をありがとうございました。今度どこかで地震が起きたら、飛んで行くことをお約束します。

*長期間のご不便なご通勤お疲れ様でした。一日も早く再び新棟が燦然と輝くことをお祈りしています。

◎このページをご覧になり、今一度ご自分のラボを再点検して下さいれば幸いに存じます。(ま)



細かいアドバイスを下さる
橋本さん