

## 腎移植ネットワークの成功へ向けて

## 新理事長に野本亀久雄 (九大生防医研・教授)

第31回日本移植学会・京都・1995

第31回日本移植学会(会長:岡隆宏教授;京都府立医科大学第2外科)は、1995年9月4日から6日にかけて、国立京都国際会議場において開催された。学会に先立ち、理事会が開催され、新理事長に九大医学部生体防御医学研究所の野本亀久雄教授(日本組織適合性学会監事)が選ばれた。学会行事は、開かれた移植医療をめざして、公開シンポジウム「移植医療の是非を考える」でスタートした。ここでは移植を受けた患者や、移植反対および慎重派の発言者からも率直な意見が述べられた。特別講演4題、シンポジウム2テーマ、ワークショップ10題にトピックスが濃縮され、一般口演216題、示説117題の他に、会長推薦口演6題が選ばれた。初日には第5回腎移植HLAタイパー会議(世話人:渡辺清子;京都府立医科大学)も開催された。

編集の都合でいささか旧聞になったが、広島大学医学部;福田康彦先生と、埼玉医科大学輸血部;前田平生先生に「独自の切り口」でレポートをお願いした。また、タイパー会議では、初めての試みとして、抗血清ワークショップ会議がもたれたので、兵庫県立西宮病院腎移植センター;橋本光男先生にまとめて頂いた。

サイトカインやシグナル伝達物質の  
意外な顔、治療への応用

特別講演は岸本忠三教授(阪大医学部第3内科):「免疫のしくみ;ノックアウトマウスから学ぶこと」が印象深かった。世界の注目を浴びる岸本先生の最新知見の「臨床応用」がほとんど網羅された講演内容は、満場のため息が出るほどの感動を与えた。リンパ球の活性化に関わる分子CD40、CD23、サイトカインの産出やシグナル伝達に関与するIL6(岸本先生が発見した)やgp130などという分子の働きと相互関係をノックアウトマウスを用いた実験からあきらかにし、それらがもつ思いもかけない生体内での働きを

究明していくストーリーは息をも継がせない展開であった。しかもその知見を臨床応用にまで発展させ、医療に貢献させようとする「臨床研究」は、これぞ臨床分野の研究だ!といわせる迫りに満ちていた。詳細については省略せざるを得ないが、今後の岸本先生の著書には注目すべきであろう。

臓器移植におけるキメリズム  
;免疫寛容獲得のメカニズム

前回の移植学会(広島)とつづく国際移植学会(京都)に引き続き、臓器移植後に観察される「キメリズム」(ドナー由来血液細胞がリシピエント血液中に存在する現象)に対する興味深い研究成果の数々が報告された。総論的にはAscher教授(カリフォルニア大学外科)が特別講演で述べた(chimerism in Organ Transplantation)。彼女はキメリズムの成因、免疫寛容への関与、原因か?結果か?移植臨床にどのように応用するか、などについて、自らの実験結果や自験例、文献的考察をふまえて述べた。

この分野の研究発表は、シンポジウム、ワークショップ、一般演題、会長推薦講演にも数多く見られた。とくにキメリズムを積極的に成立させて(骨髄移植をして)ドナー(臓器)特異的免疫寛容を誘導しようとする試みが注目された。

組織適合性(HLA)は  
臓器移植に貢献できるか?

日本移植学会における組織適合性の演題はますます影を薄くしてきた。先ごろの国際移植学会では、ひとつの大きなテーマとしてディスカッションの対象となっていたが、わが国の移植学会では年々その存在感が希薄になってきている。今回もワークショップ9で「組織適合性検査の新しい展開」が設けられたが、一般演題は10題に満たない寂しさとなった。(さ)

## 日本移植学会は異種移植研究の花盛り!

広島大学医学部 第二外科 福田 康彦

多くの移植学会会員は8月27日から30日までソウルで開催された第4回アジア移植学会に出席し、引き続き京都での第31回日本移植学会へ臨むというスケジュールとなり、小生も含めていささか疲れ気味の方々も見受けられた。また、アジア諸国の腎移植は言うに及ばず、心・肝移植の急増を背景とした元気づりに圧倒さ

れたせいもあってか、いささか盛り上りの欠けた学会のように感じられた。例の輸入腎問題も会員に暗い影を落としていたようである。

その中で比較的活気が感じられたのは異種移植の分野である。ワークショップ「異種移植」が生まれ、一般演題も2つの異種移植のセッションが設けられ、異

種移植に関連する総演題数は37題を数える盛況ぶりであった。

異種移植でもっとも研究が進んでいるのは免疫隔離の容易なラ氏島移植の分野である。改良型アガロースカプセル(京大)、Mesh-Reinforced Polyvinylalcohol Bag(京大)、Polycarbonate diffusion chamber(東京女子医大)などにラ氏島を封入することにより、concordantの組み合わせはもとよりブタ→ラット、ヒト→ラットなどのdiscordant間移植でも1-3カ月の機能維持が可能なが報告され、早期の拒絶反応は完全にクリアされている。今後は長期機能発現の工夫が必要であろう。

臨床応用を考えた時、ドナーとしては家畜用大動物の利用が現実的であり、ブタを想定した研究が多く見られた。言うまでもなくヒトにはブタに対する自然抗体が存在し移植後の超急性拒絶反応(HAR)が生じる。このHARは胎生ブタを用いれば避けることができるが(東海大 平賀)、成熟ブタでは種々の工夫が必要である。注目されたのはコブラ毒のHAR抑制効果で、ブタ→baboon間心移植でコブラ毒と免疫抑制剤の併用により25日間の生存が報告された(名大 小林)。ブタ血管内皮細胞に補体制御遺伝子(MCP, DAF, CD59)を導入することにより超急性拒絶反応を抑制する試みはここ数年試みられているが、特にDAF遺伝子導入の有効性が強調された(阪大 宮川)。その他discordant大動物間移植

の早期の反応機序やその抑制法の研究に有用な臓器灌流モデルの開発も注目された(京大 寺島、名大 片山)。

discordant間異種移植における細胞性免疫の機序に関する研究は、HARの無い異種皮膚移植モデルが用いられ、CD4,CD8リンパ球両者の関与(九大 内田)、中でもCD4リンパ球の重要性がCD4ノックアウトマウスで示された(九大 梅木)。今後はこれらの標的抗原の解析が必要であり、その意味では種々大動物の組織適合性抗原のDNAタイピングの開発は重要である(東海大 佐藤)。いずれにしても異種移植片の長期生着の研究は移植免疫最後の関門になるものと思われる。

“ドナー不足の現在、異種移植の研究は重要である”という一行が多くの抄録の冒頭に枕詞のように記されているのが目についたが、不足とは多くのドナーがあつての不足であつて、ドナーのまったくない日本では不足とは言えまい。ヒトからの臓器提供がないから動物をドナーとする異種移植に走るといふのであれば日本の臓器移植の将来はますます暗いと思われる。果たして日本国民は異種移植を受け入れるであろうか?異種移植の行く手にある倫理的・法的なバリエーはどのようなものであろうか?

ヒトからヒトへの臓器移植が十分に定着し、信頼を得た後に来るのが異種移植であるという基本的概念を忘れた異種移植の研究は実りないものとなる。異種移植の盛況に危うさを覚えるのは小生のみであろうか。

## 第31回日本移植学会記

埼玉医科大学総合医療センター 輸血部 前田 平生

### 科学性を重視した移植医療の必要性

第31回日本移植学会総会が、平成7年9月4日～9月6日に岡隆宏会長(京都府立医大第二外科教授)のもとに京都国際会館で開催された。日本腎臓移植ネットワークが本年4月に発足して以来初めての移植学会であり、新聞等で報道された所謂“US腎”問題が評議員会、総会でも議題となった。この問題に対して移植学会特別委員会(野本亀久雄委員長)が設置され、US腎移植は概ね妥当な医療行為であるが、移植学会理事長という公職にある太田和夫氏が、これにより社会に疑惑と不信を与えたことは遺憾であると報告した。この報告をうけて太田理事長より同内容の陳謝の意が表明された。移植医療は社会性(ネットワーク、行政)と科学性(関連学会)を兼備しつつ進めなければならないが、この問題の決着は、腎臓移植ネットワーク発足直後であり、しかも脳死法案が上程されている移植医療にとって極めて大切な社会環境を考え、社会性を

重視した報告となっている。ボールは学会側からネットワーク側に投げられたと言える。今後は、ネットワーク側がいかに関連学会と協議し、科学性を重視した移植医療の基盤整備を行なうかにかかっている。ネットワークは基本的には移植医療のサービス部門であり、科学性に基づき公平、公正なものでなければならず、かつ実効性のないサービス部門は単に規制を多くするばかりか、既得権から本来のサービスの遂行を妨げることにもなりかねない。ネットワーク、医療側、関連学会間で緊密な情報交換が行なわれ、オープンな運営と公平な評価が期待される。ネットワーク側も医療側も最終的なサービスの受手は患者であることを再認識し、サービスマンとしての職務を全うしなければならない。

前置きが長くなったが、以上が私の移植学会全体に対する感想である。本題の学会記に関しては、まず、上述の状況であるにもかかわらず、移植に関する組織

種移植に関連する総演題数は37題を数える盛況ぶりであった。

異種移植でもっとも研究の進んでいるのは免疫隔離の容易なラ氏島移植の分野である。改良型アガロースカプセル(京大)、Mesh-Reinforced Polyvinylalcohol Bag(京大)、Polycarbonate diffusion chamber(東京女子医大)などにラ氏島を封入することにより、concordantの組み合わせはもとよりブタ→ラット、ヒト→ラットなどのdiscordant間移植でも1-3カ月の機能維持が可能なが報告され、早期の拒絶反応は完全にクリアーされている。今後は長期機能発現の工夫が必要であろう。

臨床応用を考えた時、ドナーとしては家畜用大動物の利用が現実的であり、ブタを想定した研究が多く見られた。言うまでもなくヒトにはブタに対する自然抗体が存在し移植後の超急性拒絶反応(HAR)が生じる。このHARは胎生ブタを用いれば避けることができるが(東海大 平賀)、成熟ブタでは種々の工夫が必要である。注目されたのはコブラ毒のHAR抑制効果で、ブタ→baboon間心移植でコブラ毒と免疫抑制剤の併用により25日間の生存が報告された(名大 小林)。ブタ血管内皮細胞に補体制御遺伝子(MCP, DAF, CD59)を導入することにより超急性拒絶反応を抑制する試みはここ数年試みられているが、特にDAF遺伝子導入の有効性が強調された(阪大 宮川)。その他discordant大動物間移植

の早期の反応機序やその抑制法の研究に有用な臓器灌流モデルの開発も注目された(京大 寺島、名大 片山)。

discordant間異種移植における細胞性免疫の機序に関する研究は、HARの無い異種皮膚移植モデルが用いられ、CD4,CD8リンパ球両者の関与(九大 内田)、中でもCD4リンパ球の重要性がCD4ノックアウトマウスで示された(九大 梅木)。今後はこれらの標的抗原の解析が必要であり、その意味では種々大動物の組織適合性抗原のDNAタイピングの開発は重要である(東海大 佐藤)。いずれにしても異種移植片の長期生着の研究は移植免疫最後の関門になるものと思われる。

“ドナー不足の現在、異種移植の研究は重要である”という一行が多くの抄録の冒頭に枕詞のように記されているのが目についたが、不足とは多くのドナーがあつての不足であつて、ドナーのまったくない日本では不足とは言えまい。ヒトからの臓器提供がないから動物をドナーとする異種移植に走るといふのであれば日本の臓器移植の将来はますます暗いと思われる。果たして日本国民は異種移植を受け入れるであろうか?異種移植の行く手にある倫理的・法的的バリエーはどのようなものであろうか?

ヒトからヒトへの臓器移植が十分に定着し、信頼を得た後に来るのが異種移植であるという基本的概念を忘れた異種移植の研究は実りないものとなろう。異種移植の盛況に危うさを覚えるのは小生のみであらうか。

## 第31回日本移植学会記

埼玉医科大学総合医療センター 輸血部 前田 平生

### 科学性を重視した移植医療の必要性

第31回日本移植学会総会が、平成7年9月4日～9月6日に岡隆宏会長(京都府立医大第二外科教授)のもとに京都国際会館で開催された。日本腎臓移植ネットワークが本年4月に発足して以来初めての移植学会であり、新聞等で報道された所謂“US腎”問題が評議員会、総会でも議題となった。この問題に対して移植学会特別委員会(野本亀久雄委員長)が設置され、US腎移植は概ね妥当な医療行為であるが、移植学会理事長という公職にある太田和夫氏が、これにより社会に疑惑と不信を与えたことは遺憾であると報告した。この報告をうけて太田理事長より同内容の陳謝の意が表明された。移植医療は社会性(ネットワーク、行政)と科学性(関連学会)を兼備しつつ進めなければならないが、この問題の決着は、腎臓移植ネットワーク発足直後であり、しかも脳死法案が上程されている移植医療にとって極めて大切な社会環境を考え、社会性を

重視した報告となっている。ボールは学会側からネットワーク側に投げられたと言える。今後は、ネットワーク側がいかに関連学会と協議し、科学性を重視した移植医療の基盤整備を行なうかにかかっている。ネットワークは基本的には移植医療のサービス部門であり、科学性に基づき公平、公正なものでなければならず、かつ実効性のないサービス部門は単に規制を多くするばかりか、既得権から本来のサービスの遂行を妨げることにもなりかねない。ネットワーク、医療側、関連学会間で緊密な情報交換が行なわれ、オープンな運営と公平な評価が期待される。ネットワーク側も医療側も最終的なサービスの受手は患者であることを再認識し、サービスマンとしての職務を全うしなければならない。

前置きが長くなったが、以上が私の移植学会全体に対する感想である。本題の学会記に関しては、まず、上述の状況であるにもかかわらず、移植に関する組織



適合性の演題が極めて少ないことである。私は、組織適合性の一般演題7題の座長をしたが、それ以外にはワークショップ「組織適合性検査の新しい展開」で5題がみられたのみである。一般演題7題について記する。

#### 今後の討論を期待したい一般演題

演題156番は、市立札幌病院、西垣文敬氏によるもので、移植時のリンパ球クロスマッチで標準LCT法では検出できない抗リンパ球抗体をフローサイトメトリ(FCM)で検出し、早期移植腎廃絶について検討した。抗体陽性者は、統計学的に有意に高頻度に移植腎機能を廃絶した。この成績から、輸血、妊娠などで前感作されている患者は、FCMによるクロスマッチを行なうよう提唱した。

演題157番で東京女子医大、安尾美年子氏は、1ハプロタイプ適合血縁者間腎移植において、HLA-DRB1のDNAタイピングとMLRを実施し、ミスマッチDR間のβ1ドメインにおけるアミノ酸の相違数とMLRのS、Iとの関連、ならびにMLRと移植成績との関連を検討した結果、いずれも相関があり、DRおよびDRB1タイピングは1ハプロタイプ適合血縁者間移植のドナーの選択に有用であると結論した。

158番は、広島大学第二外科、新宅究典氏の発表で、腎移植症例でのHLAクラスIのDNAタイピングおよびマッチングに関する報告で、HLA-Aアレルタイピングによりマッチングカテゴリーが変更になり、DRB1、DQB1ゼロミスマッチ腎移植成績を検討した。その結果、移植廃絶した5例中3例にHLA-Aアレルレベルで1ミスマッチがあった。HLA-A抗原が組織適合性抗原として機能していることは十分に推定されるが、クラスI、IIともにアレルレベルでマッチングを考えると、現実には不可能であり、登録患者数、日本人のアレル頻度を考慮に入れた適切な選定基準の作成が急がれる。

159番は、中外製薬診断科学研究所、小林明氏による新しいHLA-DNAタイピング法、TMA-HPA法に関する報告である。本法は非RI検査であり、洗いが不要で、電気泳動などの操作を必要とせず、簡便なこと、DNA抽出を含めて7時間程度で結果が得られること、また、自動装置で測定を行ない省力化されていることなどから、多検体処理や移植医療などの緊急検査に好適な方法であると結論した。

160番、埼玉医科大学総合医療センター輸血部、平田蘭子氏は、腎移植登録患者の凍結保存検体を用いて、前演題のTMA-HPA法によりDRB1、DQB1のDNAタイピングを実施し、従来の血清法による結果と比較検討した。97例中95例で両法の結果は一致しており、1例で血清学のみタイプ、1例はDRサブタイプ

間の違いであった。したがって、血清法でも良質な抗血清が存在すれば、その精度はDNAタイピングと同程度であることが示された。また、タイピング結果をもとに、各HLAマッチングレベルでのドナーとマッチした登録患者の存在確率を検討したところ、B-D R B1一致のようにマッチングを厳しくすると、現在のタイピング精度、登録者数を考えると多くのドナーで一致したレシピントが存在しなくなり、患者選定のルールを再考せざるを得ず、現実的には血清学的レベルでのマッチングを行なうべきと提唱した。

161番は、国立佐倉病院、山崎正明氏によるHLAクラスIIタイピング用モノクローナルトレイの評価に関する演題である。精度としては、従来の同種抗血清によるトレイと同程度の評価であるが、DR14抗原では、良質な抗体が含まれており、更に詳細なサブタイプの同定が可能であった。このように、良質の抗体がモノクローナル抗体のごとく理論的には無限に供給されることが可能であるならば、タイピング方法に関しては、各医療施設の設備、人員、技術レベルに応じて選択すればよい。但し、血清学では判定不能な検体もあるのでDNAタイピングは補助検査法として重要である。

最後の162番は、国立佐倉病院、柏原英彦氏による死体腎移植におけるHLA-DNAタイピングの有用性に関する演題であり、多施設の過去の移植症例をretrospectiveにDRB1タイピングを行ない、血清学的DR型、DRB1アレル型適合度別に腎移植生着率を検討した。結果的には、血清学的DR特異性より、DRB1アレルの適合度の方が成績が優れていた。しかし、DR特異性がどの程度の精度(DR5であるのか、DR11、DR12であるのか)で行なわれていたのか明示されなく、DRB1アレルから現在のDR特異性に交換したデータ(演題160番をはじめ、多くの成績がある)での解析が望まれる。

以上7題が私が担当した演題であるが、いずれも今日の移植にとって多くの討論を必要とする内容の演題であった。しかし、学会初日にHLAタイパー会議(移植の組織適合性の実務者会議)が開催されたにもかかわらず、学会への参加は極く一部のタイパーのみで、参加者の少ないのには寂しい感じがした。ネットワークが求める臓器配分における公平、公正の担保は、HLAにあるといわれるが、その科学性(生着率の向上と臓器の有効利用)を実証するためにはHLA検査の標準化とその運用面での一定のルールが必要である。したがって、これこそ移植学会で議論する今日的な最大のテーマであり、来年の移植学会には多くの参加者が集い、活発な討論が行なわれることを期待してこの記を終える。

## 腎移植ネットワークの成功へ向けて

## 新理事長に野本亀久雄 (九大生防医研・教授)

第31回日本移植学会・京都・1995

第31回日本移植学会(会長:岡隆宏教授;京都府立医科大学第2外科)は、1995年9月4日から6日にかけて、国立京都国際会議場において開催された。学会に先立ち、理事会が開催され、新理事長に九大医学部生体防御医学研究所の野本亀久雄教授(日本組織適合性学会監事)が選ばれた。学会行事は、開かれた移植医療をめざして、公開シンポジウム「移植医療の是非を考える」でスタートした。ここでは移植を受けた患者や、移植反対および慎重派の発言者からも率直な意見が述べられた。特別講演4題、シンポジウム2テーマ、ワークショップ10題にトピックスが濃縮され、一般口演216題、示説117題の他に、会長推薦口演6題が選ばれた。初日には第5回腎移植HLAタイパー会議(世話人:渡辺清子;京都府立医科大学)も開催された。

編集の都合でいささか旧聞になったが、広島大学医学部;福田康彦先生と、埼玉医科大学輸血部;前田平生先生に「独自の切り口」でレポートをお願いした。また、タイパー会議では、初めての試みとして、抗血清ワークショップ会議がもたれたので、兵庫県立西宮病院腎移植センター;橋本光男先生にまとめて頂いた。

サイトカインやシグナル伝達物質の  
意外な顔、治療への応用

特別講演は岸本忠三教授(阪大医学部第3内科):「免疫のしくみ;ノックアウトマウスから学ぶこと」が印象深かった。世界の注目を浴びる岸本先生の最新知見の「臨床応用」がほとんど網羅された講演内容は、満場のため息が出るほどの感動を与えた。リンパ球の活性化に関わる分子CD40、CD23、サイトカインの産出やシグナル伝達に関与するIL6(岸本先生が発見した)やgp130などという分子の働きと相互関係をノックアウトマウスを用いた実験からあきらかにし、それらがもつ思いもかけない生体内での働きを

究明していくストーリーは息をも継がせない展開であった。しかもその知見を臨床応用にまで発展させ、医療に貢献させようとする「臨床研究」は、これぞ臨床分野の研究だ!といわせる迫りに満ちていた。詳細については省略せざるを得ないが、今後の岸本先生の著書には注目すべきであろう。

臓器移植におけるキメリズム  
;免疫寛容獲得の1メカニズム

前回の移植学会(広島)とつづく国際移植学会(京都)に引き続き、臓器移植後に観察される「キメリズム」(ドナー由来血液細胞がリシビエント血液中に存在する現象)に対する興味深い研究成果の数々が報告された。総論的にはAscher教授(カリフォルニア大学外科)が特別講演で述べた(chimerism in Organ Transplantation)。彼女はキメリズムの成因、免疫寛容への関与、原因か?結果か?移植臨床にどのように応用するか、などについて、自らの実験結果や自験例、文献的考察をふまえて述べた。

この分野の研究発表は、シンポジウム、ワークショップ、一般演題、会長推薦講演にも数多く見られた。とくにキメリズムを積極的に成立させて(骨髄移植をして)ドナー(臓器)特異的免疫寛容を誘導しようとする試みが注目された。

組織適合性(HLA)は  
臓器移植に貢献できるか?

日本移植学会における組織適合性の演題はますます影を薄くしてきた。先ごろの国際移植学会では、ひとつの大きなテーマとしてディスカッションの対象となっていたが、わが国の移植学会では年々その存在感が希薄になってきている。今回もワークショップ9で「組織適合性検査の新しい展開」が設けられたが、一般演題は10題に満たない寂しさとなった。(さ)

## 日本移植学会は異種移植研究の花盛り!

広島大学医学部 第二外科 福田 康彦

多くの移植学会会員は8月27日から30日までソウルで開催された第4回アジア移植学会に出席し、引き続き京都での第31回日本移植学会へ臨むというスケジュールとなり、小生も含めていささか疲れ気味の方々も見受けられた。また、アジア諸国の腎移植は言うに及ばず、心・肝移植の急増を背景とした元気づりに圧倒さ

れたせいもあってか、いささか盛り上りの欠けた学会のように感じられた。例の輸入腎問題も会員に暗い影を落としていたようである。

その中で比較的活気が感じられたのは異種移植の分野である。ワークショップ「異種移植」が生まれ、一般演題も2つの異種移植のセッションが設けられ、異

様々な分野で活発な討論が！

## 関心を呼ぶ新しいDNAタイピング法

American Society for Histocompatibility and Immunogenetics (ASHI) 1995 Annual Meetingが、10月6日から11日まで、アメリカのダラスで開催されました。ミーティングの会場となったAnatole Hotelは、ダウンタウンから車で10分ほどのところにあるとても大きなホテルで、初日の夜のレセプションも、その広大



Anatole Hotelのガーデン。左から、東京大学大学院人類遺伝学講座教授の徳永勝士先生、日赤中央血液センターの小川篤子さん、京都府赤十字血液センターの丸屋悦子さん、中国から来て中央血液センターで研究活動を行っている東京大学大学院生の林玲さん。

なガーデンでカウボーイスタイルの牧場のような雰囲気で開催され、まず、アメリカにきたという気持ちにさせてくれました。ただ、宿泊が同じホテルなうえに、どこに行くにも車がないとどうにもならない距離なので、日本のようにちょっと近くの赤提灯というわけには行かず、ほとんど缶詰状態でした。

ASHIミーティングは世界中から多くの研究者が集まると聞いていましたが、今回のミーティングに限って言えば、ヨーロッパや日本からの参加者は少ないという印象でした。しかし、さすがにアメリカの学会だけあって、その規模や質、それに活発な討論には感心させられました。プログラムは、10項目40題を越えるPlenary session (日本の学会でいうと最新の知見を盛り込んだ教育講演)、18項目のWorkshop (初心者や分野の違う人のために基礎的な知識を紹介するもの)、それに一般演題として講演形式のAbstract presentationが74題、Poster sessionが257題といった構成でした。MHCだけでなく免疫遺伝学全般の様々な分野の講演や発表がありましたが、印象に残ったことを書いてみたいと思います。

### (1) HLA - クラス I のアレルタイピングについて

21ST ASHI ミーティング・ダラス・1995  
東京都赤十字血液センター 坂内 誠

HLA-クラス I、特にB locusのすべてのアレルをタイピングする方法は、まだ発展途上です。その理由はB locusの場合、他のクラス I アレルや pseudogenes が増幅しない条件で、すべてのBアレルを増幅できるプライマーの設定が難しいことにありました。今回のミーティングで、イントロンのプライマーを積極的に使って、かなり簡便にB座特異的な増幅に成功していると思われる発表がありました。1つはN Cereb, SY Yangのグループの発表で、イントロン 1 上でHLAグループによって二種類の塩基配列があるところと、イントロン 3 上のHLA-B座特異的な配列のところをプライマーペアを設定して、エクソン 2 からエクソン 3 までを含む領域の増幅を行っていました。実際にはさらに4つ程のプライマーを用いて、エクソン 2、エクソン 3 を再度増幅し、SSO法でタイピングしているようでしたが、血清学的に希であったり判定が困難なタイプを含め、500人のタイピングが精度よくできたといっていました。もう一つは、アメリカ赤十字National HLA Reference LaboratoryのK Cao等のグループが、現在報告されている数少ないイントロンの塩基配列を基に、遺伝子座特異的なプライマーペアをA座、B座、C座それぞれ8種、25種、20種試作し、特異的な増幅を試みていました。増幅後、エクソン上の配列を基にしたプローブで各座の増幅産物の特異性を確認し、最も良いプライマーを選択していました。

これまでのDNAタイピングの報告と異なり、どちらのグループも「座特異性がある上に、アレル間の変異がほとんど無い。」というイントロンの特性を利用し、そこにプライマーを設定したのがポイントだと思われました。

他にDNAタイピングで関心を集めていたのはsequence based typing (SBT) 法で、ヘテロ接合型でもそのまま直接塩基配列決定してしまう方法です。アメリカでは研究している人も多く報告も数多くみられました。まだ決定的なものはないようですが、近い将来、1つの有力なタイピング法となると考えられます。

### (2) DR null

HLAのDNAタイピングの盲点となる null 型、つまり抗原無発現型は、中央血液センターの石川善英さん、田中秀則さん、京都センターの三根英子さん等が、クラス I で報告していて、京都センターの佐治博夫先生が



大きく取り上げていらっしゃるテーマの1つです。しかし、私の知っている範囲では、これまでクラスIIではあまり報告がなかったと思います。今回、DR型でDR 53 抗原は発現しているものの、DR 4 等の抗原の発現が見られない型のDRB1遺伝子を解析したところ、DRB1\*0401の codon 73の位置にinsertion があり、frame shiftによりcodon 87にstop codonが生じていたという報告がありました。この型の場合には、変異の場所が通常調べているエクソン 2 に存在するため、SSCP法や、SSO法等でも検出できると思われます。

(3) CD31の多型性とGVHDとの関係

Adhesion molecule の1つであるCD31のCDNAの塩基配列を調べ、この遺伝子にはcodon125の変異により2種類のアリルが存在することを示しました。そして、兄弟間の骨髄移植でCD31 アリルが一致した移植と一致しない移植を比較すると、一致しなかった場合にGVHDが起きやすかったと報告していました。骨髄移植の成績を向上させていくためには、今後、HLAのDNAアリルタイピング等と同様、こういったHLA以外の分子にも目を向けていく必要があると感じました。

ダラスのASHIミーティング参加に先立ち、UCLAのTerasaki先生の研究室を訪問しました。Terasaki先生はその夜、我々とTerasakiラボの日本人スタッフを、イタリア料理のレストランに招待してくださいました。先生も奥様もとてもよく心くばりをしてくださる方々でした。食事に行く前、ホテルには平服で来るようにとのメッセージを入れて下さっていましたし、レストランの席も、我々がくつろげるように、先生が割り振ってくださっていました。食事の後、Terasaki先生が自ら運転してくださったベンツで、先生のお宅にもご招待いただきました。アメリカではその前日に、元フ



Terasaki先生のお宅で。左からベリタスの大澤さん、小川さん、坂内、徳永先生。

警察の警備の中に入っていました。先生のお宅は博物館のような大邸宅で、乾燥地にもかかわらず庭に大きな木が生い茂り、プールもきれいに照明にてらされていました。それぞれの部屋にはおちついた感じの彫刻や絵画が飾られてありましたが、そのうちのいくつかは奥様の作品とのことでした。ケーキをいただきながら和やかなひとときを楽しむことができました。



Terasaki先生のお宅で。左から徳永先生、Terasaki先生、坂内。

ットボール選手のO. J. シンプソンの無罪判決が出てマスコミや人々はその話題ばかりという状態でしたが、先生のお宅はまさにそのO. J. シンプソンと同じ超高級住宅地の同じブロックにあるため、ベンツは夜道を



ダラスのThe Sixth Floor Museum (旧 Texas School Book Depository)。左側の建物)。オープンカーで下の道路を走っていたJ. Kennedy大統領は、この建物6階(上から2番目)の一番右側の窓から、オスワルドによって狙撃されたとされているが議論も多い。

多型性っておもしろい!

## 演題数が増加する日本免疫学会

第25回日本免疫学会・福岡・1995  
東海大学医学部 分子生命科学系遺伝情報部門 成瀬 妙子

あの阪神淡路大震災からもう一年。私はこの寒さの中、凍り付いた脳ミソから忘却のかなたにある昨年11月の福岡での記憶をよみがえらせようとしています。復旧作業はなかなか進まず、困難を極めているところでもあります...

## 多型性に富む演題

MHC関係の演題は11月の28、29の両日であったため、私は前日に福岡入りして体調を整えようと考えた。少し寒かった→鍋でも食べたい→と言えばふぐか...しかし懐も寒かったので鳥の水炊きで体を温めて学会に備えた。

さて当日、ここのところ免疫学会も非常に演題数が増加し、今回も電話帳のような抄録集を手にも、ポスター会場をうろろする。今回は一般演題はポスターのみなので、いつものような突っ込みの問答場面がなく少々おとなしかったが、内容は多型性に富んでいた。特に最近ではMHC領域に存在する非HLA遺伝子の解析や、異種のMHC、また疾患感受性因子の解明の為に多面的なアプローチなどが目立ってきている。その中でも異種を含めたTAP、LMP、DM遺伝子に関する演題が目にとまった。これらの遺伝子はHLAクラスII領域のDP-DQ間に存在する遺伝子として、1990年前後に相継いで報告され、TAP、LMPに関してはクラスI、DMはクラスIIの抗原提示に深く関与している事が解明されており、またそれぞれに多型性も報告されている。我々の研究室でもこれらの遺伝子の解析を行っているが、多型性の存在意義については謎である。まずTAP遺伝子に関する演題は日本人での連鎖解析と膠原病での解析の2題だが、TAP遺伝子の多型性が、直接疾患感受性因子として働いているとは考えにくく、HLA抗原遺伝子の連鎖不平衡による二次的な結果と考えられる印象を受けた。海外での疾患解析の報告でも、TAP遺伝子の多型性が直接的に高い相関を示した例はほとんど無く、同様の結果といえる。次にDM遺伝子に関する演題としては、IgA腎症での解析がなされていたが、DM遺伝子の多型性の関与はほとんど認められなかった。また、腎移植における拒絶についてDMB\*0101のホモ接合体の関与を示した演題もあったが、実際には日本人のDM遺伝子にも連鎖が存在することを考えると、直接の関与については今後の展開を

待ちたい。

## ウシのDM抗原遺伝子

ところで今回、理研の間陽子氏がウシのDM抗原遺伝子を同定した旨発表されていた。間氏はもともとウシ白血病ウイルス(BLV)の発症機序の解明に関連してウシのMHC (BoLA)遺伝子の同定をされていたようで、一昨年、ヒトのクラスII抗原遺伝子と相同性の低いウシのクラスII遺伝子について、DM遺伝子ではないかというディスカッションをさせていただいた。結局、その遺伝子はDMではなく、新たにDM遺伝子が同定されたようだが、マウスとヒト以外で報告されたのは初めてと記憶する。ヒトとの $\beta$ 2ドメインでの相同性は80%ということだが、ここは多型性を示す部分なので、ウシでの多型性についても興味のあるところである。特に最近、抗原提示におけるDM分子の機能についていくつかの推測がなされ、MIIC (MHC classII compartments)において、DM分子がクラスII抗原分子に挟まっていたIi鎖由来ペプチド(CLIP: classII-associated invariant chain peptides)を受け取り、クラスII様の自己のポケットに挟み込んでいるという仮説がたてられた。これが本当なら多型性は無の方が都合がいいことになるが、限定されているとはいえ、多型性は存在している。しかもポケットではない $\beta$ 2ドメインに。

## 多型性の意義は?

TAPやDM遺伝子の多型性が抗原提示にとって不都合であるなら、特定の対立遺伝子と疾患との相関があってもおかしくないが、現在のところはHLA抗原遺伝子との相関の方が強いようである。それでは多型性の意義は何なのか? この他にも東大の山下氏の今回の発表によると、HLA-G遺伝子の多型性解析では新対立遺伝子と見られるGJ3が日本人の典型的なハプロタイプであるA24-B52-DRB1\*1502に連鎖を認めると言うことである。このように様々な遺伝子の多型性が私たちに語りかけてくれている。多型性って面白い。

... そう言えば、原稿の依頼を受けたにもかかわらず、いっこうにポスターをメモる様子のない私を不安げに見つめながら、念を押しにいらした佐治編集長のお姿が印象的でした。ではレポート(になっていない)を終わります。



## 「ペプチドと抗原提示」

東京大学医科学研究所 癌体質学 富山 宏子・滝口 雅文

抗原ペプチドの提示機構の解明というテーマは、現在免疫学の分野で最もホットな話題を提供しているものの一つである。本学会においても、シンポジウムに2つのセッションが組まれたほか、一般演題においても多くの関連の報告がみられた。そのいくつかを紹介する。

抗原は、細胞内でペプチドまで断片され、MHC分子と結合し細胞表面に運ばれて、T細胞に提示される。MHC分子に結合するペプチドは、MHC分子のアリルごとにそのアミノ酸配列に一定の法則があることが知られている。MHCクラスI分子では、その構造から、結合ペプチドは、8-11のアミノ酸残基からなり、特に2番目とC末端にアンカーとなる特定のアミノ酸が位置するものが多いことが報告されている。この結合ペプチドのモチーフが明らかにされたことで、MHCクラスI分子結合ペプチドの解析がさらに進み、HLA-A\*3501,HLA-B\*3501,HLA-B\*5101分子に結合するペプチドでは、アンカー以外に位置するアミノ酸にも結合の親和性を作用するものがあることが発表された(演題1P12-17, 18, 19, 21)。これらの解析結果は、MHCクラスI分子結合ペプチドを予想する上で、重要な情報になるものと考えられる。

抗原ペプチドのモチーフ及び結合ペプチドの構造の解析は、T細胞エピトープを検索する上でも重要である。著者らは、HIV-I ウィルスタンパクのうち、HLA-B35分子に結合するペプチドのモチーフをもった9-11個のアミノ酸からなるペプチドを選びだし、そのうち、HLA-B35分子に結合するペプチドでHIV-I ウィルス患者の末梢血リンパ球よりペプチド特異的細胞傷害性リンパ球を誘導し、複数のペプチドがCTLのエピトープになっていることを報告した(シンポジウムS-13,演題

2P12-25)。

抗原の細胞内でのプロセッシング機構はまだ不明な点が多いが、MHCクラスI分子に結合する内在性のペプチドの断片化には、細胞内のプロテオソームが関係することが示唆されており、MHC-クラスII領域に遺伝子がコードされているLMP-2,LMP-7と呼ばれる2つのプロテオソームを構成するサブユニットが注目されている。徳島大学の田中らは、プロテオソームの新しいサブユニットの存在を示し、インターフェロニンにより、これらがインターフェロニン誘導型の構造に置換することを示した。また、このインターフェロニン誘導型プロテオソームは内在性抗原のプロセッシングを増強することを示唆し、インターフェロニンがプロテオソームによる抗原プロセッシングを調節していることを報告した(シンポジウムS-4-2)。抗原ペプチドがMHC-クラスI分子と結合するために、ペプチドは粗面小胞体(ER)に運ばなければならない。このペプチドの運搬には、ヒートショックプロテインhsp70,gp96などがかかわっていることが報告された。これらのヒートショックプロテインにより運搬されるペプチドの構造には、法則性が見られ、抗原ペプチドの選択がペプチド運搬の段階で始まっていることが示唆された(シンポジウムS-4-6,演題2P-12-15)。

紙面の関係でここでは紹介しなかったが、MHC-クラスIIにより提示されるペプチド及び、その提示機構に関する発表も多く見られた。また、腫瘍抗原も研究が非常にすすんでおり、特異抗原ペプチドが同定、報告されていた(シンポジウム腫瘍免疫の展望)。抗原ペプチドの提示に関する研究は、免疫機構を解明するためには非常に重要であり、今後も学会をにぎわせて行くであろうと考えられる。

## 「日本免疫学会リポート」

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 伊達 是志

久しぶりの九州だった。学会出席というより里帰りのつもりで、つまりは極めてお気楽に参加していたのが当たったのか、佐治先生に見事に捕まってしまう? 学会リポートなるものを書くハメになった。「型にはま

らなくていいですよ。」と何度も念を押されたので、忠実にそれを守って書いてみたいと思う。

興味深かった「市民公開講座」

さて、今回の学会で最も楽しみにしていたものに学

会前夜に催された「市民公開講座」があった。演者の3名の先生は何れもまさしく世界的な免疫学者で（最も利根川先生は「自分は免疫学者ではない」と力説しておられたが）、非常に興味深く拝聴した。最初の岸本忠三先生は、抗IL-6抗体投与により劇的に臨床症状が改善した関節リウマチ患者のビデオを紹介された。実用化までには幾つかの解決しなければならない問題もあるだろうが、長年リウマチと闘っている患者とその家族にとっては大変な朗報であろう。

何にもまして臨床に直結した研究を行っておられることに感銘を受けた。次に話された多田富雄先生の「スーパーシステム」に関する話も興味深かった。遺伝子の進化の過程が都市や企業などの成長の過程に似ているといった内容であったが、その達観した見識に感心させられた。最後の利根川進先生は、空間認識における海馬の役割をモデル動物を使った実験で分かり易く論じられた。全くと言ってもよいほど解明されていない記憶のメカニズムについて熱っぽく話されている姿を見るにつけ、興味が既に「免疫」から離れ「脳」へと向かっているようで、その貪欲なまでの好奇心に

驚かされた。

### 活気溢れた一般演題

翌日からの一般演題は何れの会場も満員で活気に溢れるものであったが、HLAのセクションも例外ではなくその関心の高さを物語っていた。個人的には自分が小児科医であることもあり、HLA-G遺伝子に関する発表に興味をひかれた。文字どおり血のつながった胎児もHLAという側面から見ると、母体にとってはあくまでも異物であるわけで、にも係わらず拒絶反応が起らないのはまさしく奇跡的とも言える。このミステリアスなメカニズムにおけるHLA-Gの果たす役割について興味は尽きない。また移植に関する演題についても関心を持った。現在、小児癌における骨髄移植の主流は血縁間、若しくは自家の移植であるが、今後骨髄バンクのドナー登録者数が順調に増加しシステムが確立されれば更に救命率が高まると期待される。

わずか3日間の滞在であったが非常に内容の濃い学会出席となった。もちろん久しぶりに旧友と喧った本場の魚の味も格別であったが――。

## 熱意あふれる演題の数々

### 5th AOHとスキヤキ

5 AOH Workshop・バンコック・1995

横浜市立大学医学部 眼科 鍵谷 雅彦

この度、第5回アジア・オセアニア組織適合性ワークショップ (5th AOH workshop)に参加する機会を得ましたので、僣越ながら学会の様子をご報告させていただきます。皆様にその概要をお伝えすることができましたら幸いです。5th AOH workshopは去る12月10日から13日の4日間、タイの首都バンコックのインペリアルホテルで開催されました。開催国であるタイはもとより、日本をはじめとするアジア諸国やオーストラリア、ニュージーランド、ヨーロッパ各国等、世界中から多数の参加があったようです。P. Chiewsilp会長や、東海大学において熱心に研究をされておられたK. Sujirachatoさん、その他タイの諸先生方の熱意で素晴らしい学会となりました。

演題数は、レクチャーとシンポジウムが約15題、ワークショップが約50題、一般演題（口演）が約20題およびポスターが約30題あり、それぞれ人類学、疾患感受性、自己免疫疾患、移植、可溶性HLA抗原、HLA class Iおよびclass II DNA typing、新たな non-HLA MHC遺伝子、new technique 等々の分野にわたり各施

設での精力的な姿勢がうかがえました。

### 印象的だった抗原頻度の報告

なかでも、私個人としては各国のHLA抗原頻度の報告が最も印象的でした。中国国内での人の移動を各地方のハプロタイプ頻度の相違から考察したものや、HLA-A2抗原の各対立遺伝子頻度の人種による相違は興味深く聞きました。たとえばA2グループの遺伝子頻度をみると、日本人ではA\*0201 (11.3%), A\*0206 (8.3%), A\*0207 (3.0%)と続きますが、タイ人ではA\*0207 (40.0%), A\*0203 (33.3%), A\*0206 (13.3%), A\*0201 (10.0%)となります。これがモンゴル人になるとA\*0206 (7.5%), A\*0205 (4.0%)となり、オーストラリアのアボリジニ人ではほぼ100%がA\*0201だそうです。これらの数字は私たちに何を語りかけているのでしょうか。こうした相異なる人種間での、HLA 遺伝子頻度の比較のような人類学的な研究は、各国の協力があってこそグローバルな見方ができるのだと再認識させられました。

### 次々開発される Typing 法

また、Dr. M Tilanusと、東海大の成瀬さんが

Sequencing Based Typing (SBT)の話をしていただきましたが、磁気ビーズを用いたSBT法は感度、精度とも良いそうです。HLA genotypingの方法も次々と開発されているようです。他に佐田先生がINNO-LIPA法によるHLA-class II DNA typingの発表をされておられました。さらに日本からの参加としまして、辻先生、徳永先生、猪子先生をはじめとする諸先生方の御発表、レクチャーがありました。

#### 大喝采のスキヤキ

一方レセプション関係ですが、12月10日の夜にwelcome receptionが、同じく12日の夜に conference dinnerが催され、各先生方はそれぞれ旧交を温めたり、情報交換をしたりと有意義なひとときを過ごされておりました。中でも12日は、民族楽器の演奏を交えてビ



リりと辛いタイ料理を食しましたが、東大の徳永先生と東海大の猪子先生、成瀬さんが指名を受けて、壇上で"Sukiyaki"（上を向いて歩こう）を合唱されたのは大喝采でした。また最終日の午後からはcomplimentary tourがあり、バスに分乗してチーク材で作られた世界最大の屋敷（タイ王家のものです）を見学に行きました。



アジア諸国も着々と研究成果をあげているとの印象を受けましたが、今後もますます周辺地域と情報交換をして、経済だけではなく研究でもホットなアジアの時代がいつか到来することを期待しています。次回のAOHはインドのProf. Mehraが会長と決まりましたので、1998年には日本からも多数の参加が期待される場所です。

## HLA最前線

### 【HLAの臨床応用編】

#### ホジキン病とHLA

千葉県ガンセンター 臨床病理 武内 利直

ホジキン病はホジキン、Reed-Sternberg細胞（H-RS細胞）を病理組織学的に見いだすことがその診断の基本である。しかし、好酸球、好中球、リンパ球、形質細胞、類上皮細胞や線維芽細胞等が種々の程度に出現する炎症性背景を伴うことが特徴であり、臨床像も炎症性疾患に類似し免疫学的異常が見られるなど、従来の悪性腫瘍の概念とは異なった点が多い。このため、従来からウィルス感染が疑われていたが、特定のウィルスとの関連が見いだされないまま悪性腫瘍の範疇に

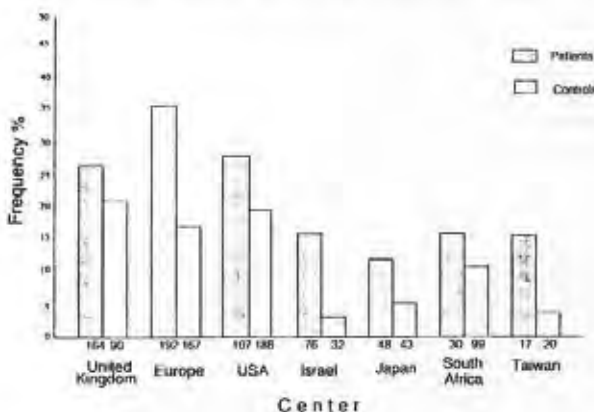
属するという考えが一般に受け入れられている。最近のH-RS細胞の形質発現解析はホジキン病がリンパ球系悪性腫瘍であることを示唆しているが、免疫系の異常、特徴的な組織像形成を伴うことや依然としてH-RS細胞起源の解明がなされておらず、未だ謎の多い疾患である。

ホジキン病とヒトの主要組織適合性複合体（MHC）であるHLAとの関わりは、以前はウィルス感染症の可能性が第一に考えられていたため免疫応答性との関連



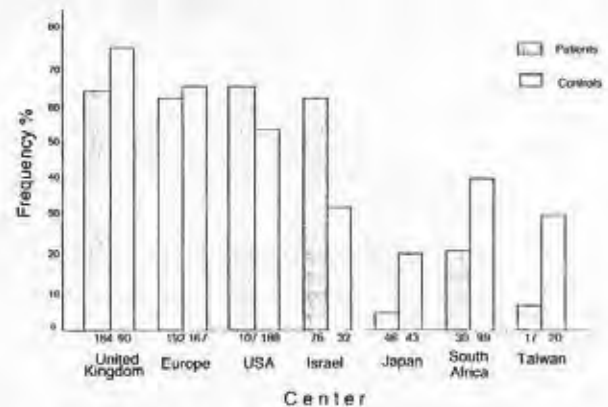
に注目してHLAとの相関を調べた1967年のAmielの報告から始まっている。そして、悪性腫瘍と認定されている現在ではヒト悪性疾患の中でHLAとの相関が見いだされた最初の疾患としての位置を占めている。ところが、はじめは4C（現在ではB15、Bw35、B5、とB18）との相関がいわれていたが、HLAとの相関は単純なものではなくその後多数の研究者が調べたが一貫しない結果が多かった。集積データではホジキン病患者群では健康人対象群に較べて、A1、B5、B8とB18の増加が認められたが相対危険率は1.3~1.5でありはっきりとしたHLAとの相関を見出すことは出来ず、家族発症家系を用いた連鎖実験からはホジキン病感受性とHLA遺伝子間の連鎖が示唆されるものの実際の関係は曖昧なままとなっていた。この原因としてはHLA領域の遺伝構築が明らかにされていなかったことや、タイピング技術の不備なども考えられた。そこで、以前には調べられておらず、しかも近年DNAを用いてより正確にタイピング出来るようになったDP抗原に焦点をあてて1991年の11月に開催された第11回国際HLAワークショップにおいて解析が行われた。

第11回国際HLAワークショップでは各国12の研究所が参加し計741名のホジキン病患者と686名の健康者についての25のSSOs (sequence-specific oligonucleotides) をプローブとしてPCR法を用いたDNAタイピングを行い相関が調べられた。741名のうち日本人患者は千葉大から提出した48名である。その結果の一部を表に示したが個々の研究所のデータ解析と併せて、調べた患者の人種差異が小さいものは例えばイギリス、フランス、ドイツ、イタリア、ハンガリーとアメリカは白人種として、日本と台湾は東洋人種として便宜上一括した解析を示してある。これによると、白人種ではDPB1\*0301のp<0.01レベルでの増加（相対危険率は1.95）が認められる（図1）。東洋人種ではDPB1\*0301は増加



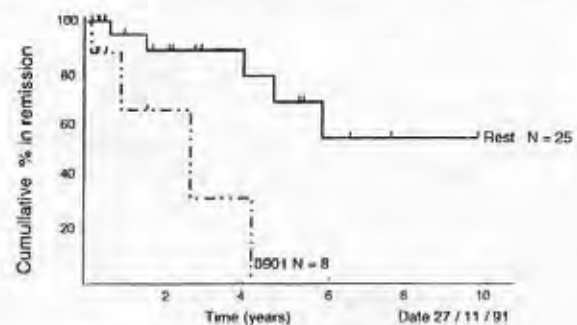
14 Frequency distribution of HLA-DPB1\*0301 by center. Values on x-axis indicate total numbers of patients / controls typed at each center (ref. 2)

しているが有意ではなく、DPB1\*0401のp<0.01レベルでの減少が認められた（図2）<sup>13</sup>。以上のことから、ホ



14 Frequency distributions of HLA-DPB1\*0401 by center. Values on x-axis indicate total numbers of patients / controls typed at each center (ref. 2)

ジキン病とHLA DPBとの相関は明らかに認められたが、個々のデータでは依然としてある程度のばらつきがあり、ホジキン病の疾患単位がheterogeneousであるのか、また別のHLA遺伝子座との相関があるのかや、今後問題を残した。組織型の他に年齢、寛解期間などといった臨床事項についても551名のホジキン病患者で検討されたが、このなかでは寛解期間とDPB1\*0901の間に相関が見いだされた。特に、この抗原頻度の高い日本人でこの抗原を持つ8名では寛解継続期間が他と比較して有意に短いという結果が得られた（図3）<sup>12</sup>。この結果はDPB1\*0901を持つハプロタイプに



13 日本人患者における寛解期間とDPB\*0901との関連 (ref. 1)

治療反応性に何らかの役割を果たしている遺伝子の存在を示唆しており、ホジキン病の病因と関連して興味もたれる。

いままで述べてきたのはホジキン病とHLA DPBとの間の古典的な意味での相関である。ホジキン病とHLA DPBとの間に相関が確認されたことは、確かに疾患の成立に遺伝性要因の存在を予想させ、特に、白人と東洋人の間で相関の違いが認められたことは、人種におけるホジキン病の発症頻度の差を説明する糸口となるかも知れない。ところが、ホジキン病の特徴的な病態像を考えると、病因を含めそこに免疫系の関与がある

ことは確実であると思われるが、実際の疾患感受性遺伝子が特定されたわけではなく、HLAがどのように関わっているのかは残念ながらにも判っていない。現象面からいうとホジキン病に免疫反応が関与していると思われる点は、①組織像に炎症性背景を伴うこと、②臨床像も炎症性疾患に類似し、免疫異常を伴うことが多い、という点である。特に、最近ではEpstein-Barr virus (EBV)が注目されており、報告例を合わせると約半数の症例で組織中のH-RS細胞よりEBVが証明されている。EBV陽性例と陰性例に分けて検討する必要があるが、症例数が少なく今までの検索ではHLAとの相関を含め陽性例と陰性例の間で特に違いは見いだされていない。また、機序については不明であるが、炎症性背景を伴う組織像からはサイトカインの関与が示唆され、組織中からも実際に検出されている。ホジキン病を解明するためには、今後はEBVの感染、サイトカインの産生という観点からホジキン病とHLAとの関連を調べていくというアプローチが重要である。

こうした経緯から最近、我々は何人かの未治療ホジキン病患者末梢血のT細胞受容体V $\beta$ の割合を調べて見た。何らかの感染が成立していたり、サイトカイン産生の機序が働いていれば末梢血レベルでT細胞受容体V $\beta$ の構成比率に変化の見られる可能性があるからである。その結果、調べた範囲ではCD4<sup>+</sup>T細胞のうちV $\beta$ 6の割合がホジキン病群と健康対象群の間で異なっているが、他のV $\beta$ には差異の見られないことが判明した。健康対象群では、CD4<sup>+</sup>V $\beta$ 6T細胞の割合は平均2.4 $\pm$ 1.3%であるのに対しホジキン病群では殆どの症例は1%以下であり、二症例においては健康者の最高値約6%より2倍以上増加していた。このようにCD4<sup>+</sup>T細胞V $\beta$ の構成比率に強く影響を与えるものとしてはスーパー抗原が知られている。スーパー抗原はT細胞受容体 $\beta$ 鎖にあるV $\beta$ と主要組織抗原クラスII分子の外側部と連結してT細胞の活性化(増殖、アポトーシ

ス、サイトカイン産生)をもたらす。H-RS細胞はHLAクラスII抗原であるDR抗原やIL-2などのサイトカインレセプターを発現しており、背景にはCD4<sup>+</sup>T細胞の浸潤が多く、更に腫瘍組織中には種々のサイトカインが検出されている<sup>3)</sup>。このことから、仮説ではあるが何らかのV $\beta$ 6特異的スーパー抗原がH-RS細胞上のHLAクラスII抗原(DR抗原)により呈示され、これによりCD4<sup>+</sup>V $\beta$ 6T細胞が活性化され増殖、アポトーシス、サイトカイン産生をきたしたものと考えることができる。H-RS細胞はこのサイトカイン依存性に増殖し、特徴的な組織像はこの結果として形成されたものであろう。現在、ヒトウイルス性スーパー抗原は同定されておらず、その発見と疾患への関与が注目されているが、EBV感染が関与しているホジキン病がこの最初の疾患となる可能性は高いと思われる。

HLAとの相関を調べることは遺伝性要因の存在を明らかにしていく上で重要であるが、HLAの生物学的意義の明らかとなってきた今日においては疾患の病因、病態への直接的なHLAの関与を解析していくというアプローチに一層の興味が持たれる。

#### <参考文献>

1. Bodmer, J.G. et al. In: Kimiyoshi, T., Aizawa, M. and Sasazuki, T.(eds), HLA 1991, vol. 1: 701-709, New York/Tokyo: Oxford University Press, 1992.
2. Oza A. M. et al. A clinical and epidemiological study of human leukocyte antigen-DPB alleles in Hodgkin's disease. *Cancer Res.*,54:5101-5105, 1994
3. Drexler, H.G. Recent results on the biology of Hodgkin and Reed-Sternberg cells. I. biopsy material. *Leukemia Lymphoma* 10:99-102, 1993



## 【HLAの生物学編】

## HLA分子の発現制御（その6）

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 木村 彰方

HLA分子の発現が生まれつき欠損している場合に先天性免疫不全症であるBare lymphocyte Syndromeが生ずることを以前に紹介した。では、後天的にHLA分子の発現が欠損する場合はどのような疾患と関連しているであろうか？

HLA分子の機能を考えると容易に推察できるとおり、一部のがん細胞ではHLAクラスI分子の発現が欠損している。一般的にいったがん細胞には多くの遺伝子に体細胞変異が生じている。正常な細胞が腫瘍化する際には、①正常なCell cycle制御からの逸脱と②免疫監視機構からの逸脱の2条件を満たさなければならない。

正常なcell cycleから逸脱した細胞では、増殖シグナルの異常（染色体転移に代表される遺伝子のリアレンジや点突然変異による細胞内情報伝達系の異常）が生じている。しかしながら、このような異常が生じただけでは、細胞は腫瘍化しない。異常な増殖シグナルを有する細胞は、通常アポトーシスに陥るためである。従って、このアポトーシス系路の異常（p53遺伝子変異に代表される）が同時に存在する場合に、腫瘍性の増殖が始まる。もちろん、腫瘍化はこのような単純なものではないと考えられるが、増殖シグナルとアポトーシスの両方に異常が生じており、それぞれの系路に関わる複数の遺伝子群のより多くに変異を有している細胞の方がより増殖に有利である。すなわち、実際に生じているがん細胞というものは、その遺伝子の多くに変異を有している。

変異した遺伝子の産物（変異蛋白）は、腫瘍細胞の中で合成され、その分解産物の一部はHLAクラスI分子に結合して細胞表面に発現する。変異蛋白は本来の自己成分とは異なるため、“非自己”として、免疫監視機構によって認識されることになる（図）。

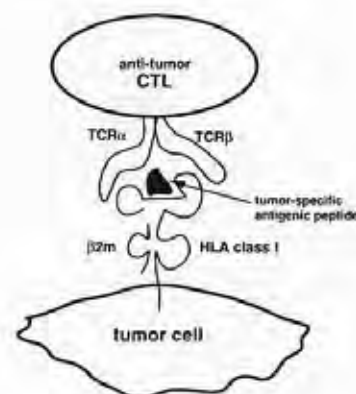
従って、がん細胞は、多かれ少なかれ、免疫監視機構からの逸脱方法を獲得している。この逸脱機構の一つがHLAクラスI分子の発現欠損である。

ここで、HLAクラスI分子の発現欠損が腫瘍細胞において、どのように獲得されているかを考えてみる。第一に考えられるのは、HLAクラスI遺伝子を含む領域全体或いは部分的な欠失である。このような遺伝子自体の欠失が一部の腫瘍細胞とくに培養腫瘍細胞で

報告されている。第二に考えられるのが $\beta 2$ ミクログロブリン遺伝子の欠損である。このような欠損は、培養腫瘍細胞でも報告されているが、がん組織とくに大腸がんの一部に観察される。最近、遺伝性非ポリポーシス大腸がんがミスマッチ修復酵素遺伝子変異に起因することが明らかにされたが、このような大腸がんでは1-数塩基のリピート部分に重複或いは欠損が生じている。 $\beta 2$ ミクログロブリン遺伝子には(CCT)<sub>n</sub>リピートが構造領域内にあり、このリピート数の変化すなわちフレームシフト変異が大腸がんの一部に見出される。第三に考えられるのは、TAP遺伝子変異であり、事実卵巣がんの一部ではTAPI遺伝子発現の欠損が報告されている。

このようなHLAクラスI分子発現系のいずれかに変異が生じた場合には、“非自己”を認識する腫瘍細胞特異的CTLによる腫瘍細胞の排除が行なわれないことになる。しかしながら、このような変異が見出されるがんは実際には全体のがんの数%に過ぎない。現実のがん患者には、そのがんに対する特異的CTLが生体内に存在しているが、その数が少ないか或いは機能が低下しているために、有効ながん細胞の排除が行なわれていないことになる。従って、このような実際に存在している抗腫瘍CTLをいかにして賦活化するかが“がんの免疫療法”を開発する上での鍵となる。

今回は、がん特異的免疫療法を確立するに当たっての考え方をHLA分子の発現という観点から眺めてみる。



図：腫瘍特異的CTLによる腫瘍細胞の認識  
腫瘍細胞表面に発現したHLAクラスI分子は“非自己”である腫瘍細胞特異的変異蛋白由来のペプチドを提示している。



# 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6 Sa1,LD-Wa,HOK-1,Hon,DR7J,DQWa

北海道大学医学部 第一病理 脇坂 明美

### 私が見つけたHLA抗原

私のHLAハプロタイプの本はA24-B54-DR4-DR53-DQ4で、いかにも日本人と言うものです。またこのハプロタイプで規定されるD抗原はDw15です。私はこのハプロタイプに特別な思い入れがあります。というのは私がこのハプロタイプを持っているばかりではなくこれらの抗原の発見に深く関与し、またこのハプロタイプがI型糖尿病、原田病と強く相関することを見出したからです。HLA系の研究は最初HLA-ABC抗原から始まり、次いでHLA-D抗原、DR抗原へ移り、更にDQ抗原の解析へと約15年かかって進んできました。このHLA研究のあゆみに歩調を合せるように、私はこのハプロタイプの抗原を順次明らかにしてきました。

### 1、Sa 1 (HLA-B54)

日本ではHLAの研究が始まって直ぐ(1973年)見出された抗原である。当時日本にはAmos教授、Terasaki教授より供与された抗血清が配られ、これにより日本人の手で初めてタイピングが行われた。まだ抗血清は極めて貴重でこれをパネルと呼び、何度も採血させていただいては日本人妊婦由来のHLA血清のスクリーニングと特異性決定に使っていた。その中で同じ反応性を示す一群の抗血清が見出された。この抗血清と反応するパネルの大半はHLA-B抗原(当時はFour抗原と言われていた)に少なくとも1個のプラックを有しており新抗原を同定するものと考えられSa 1 (Sapporo No.1)と名付けられた。殆ど同じ時期に十字先生(東大輸血部)もJ-1としてこの抗原を見出しておられた。ここまでは板倉克明先生の指導の下で当時大学院生の中山睿一先生(現岡山大学教授)が行ったものである。私はSa 1抗原の更なるcharacterizationの仕事を引き継いだ。これが私の研究の最初の仕事となった。板倉先生は新抗原としての御墨付きを貰おうとSa 1の抗血清をTerasaki教授へ送ったところ、意外やこの抗原はBw22(当時はHLA-W22)との返事が返ってきた。このことからSa 1抗血清はBw22と日本人にのみ存在する新しい抗原に反応することが明らかになり、この部分を'Sa1'と名付けた。Sa 1(すなわちBw22+Bw54)の抗血清は容易に見

つかるのにどういふ訳かmonospecificな'Sa 1'(すなわちBw54のみ)の抗血清は中々見つからず、このため第6回国際組織適合性ワークショップ(Arthus, 1975年)の中で日本人研究者同士が些細な違いを主張しあった。これが災いし、本来当然公認されるべき状況でありながらこの時の公認は流れてしまった。その後国内のワークショップで統一がなされ、またTerasaki教授がそのCell Exchangeプログラムで積極的に取り上げてくれたこともあって、'Sa 1'は第7回国際組織適合性ワークショップ(Oxford, 1977年)では国際的に認められるようになった。こうして'Sa 1'は日本人の手で見出された記念すべき最初のWHO公認抗原となった。

### 2、LD-Wa (HLA-Dw15)

1975年、新抗原Sa 1の解析をしている中で私自身がSa 1を持っていたため、私の家族から採血して家系調査を行った。弟がSa 1のホモ接合であることが明らかになったばかりではなく、共同研究者の矢倉英隆先生(現在都立神経研)が同時に行っていたリンパ球混合培養からHLA-D抗原もホモ接合(HTC)であることが判った。HLA-D抗原は当時LD抗原と呼ばれており、弟の細胞で同定される特異性をLD-Waと名付けられた。その時、既に私達は原田病がSa 1と相関があることが判っていたので、LD-Waのタイピングを始めた。通常HTCは一度の大量採血で凍結保存しておくものだが、弟は北大の学生で身近にいたので毎週教室に来てもらい、常にベストの状態でMLCを行うことが出来た。このおかげで原田病はLD-Wa抗原との相関の方がSa 1より遥かに強いことを明らかにすることが出来た。更に弟が卒業して帯広勤務になってからも、よく当時札幌一釧路間にあった「からまつ」という鈍行寝台列車でビールを飲み飲み一泊し、出勤前に採血しては札幌に戻って来たことを思い出す。思えば弟もよく協力してくれたものだ(但し母親は私を吸血鬼の様に思い、いつも弟が可哀想だと嘆いていた)。弟の細胞はその後EBウイルスでtransformされ、これが有名なEB-Waとなり、抗原の可溶化、DQ-Wa抗原の免疫源、塩基配列決定、

最近では西村先生（熊本大）のDR4分子の結合モチーフ決定などに用いられており、私よりも遥かにサイエンスに貢献している。LD-Waの発見当時、笹月先生がStanford大学でSa1 (Bw54)と相関するYTという細胞を見つけておられた。私はWaとYTの異同を調べてもらうために笹月先生に細胞を送り、両者は全く同一の特異性であることが確認された。私が笹月先生を知ったのはこの時で、以来この縁で公私共々ご指導頂き、この点でも第に頭が上がりません。

### 3、HOK-1 (HLA-B59)

1978年にもなるとHLAタイピングトレイも充実してきた。我々はNIHより提供されていた2本のHLA-B8抗血清をこのトレイに入れていた。既にHLA-B8は白人固有の抗原で日本人には無いと考えられていたが、この2本の内1本が稀に反応すること、しかも100%リンパ球をkillingすることを見出した。最初は誤反応かと思ったがこの血清と反応するパネルは全てHLA-B抗原に一個ブランクを有していることから新抗原と思うにいたった。これを確認するために多数のHLA-B8抗血清を集め、家系調査も行ってsegregationを確認し、HOK-1と名付けた。HOK-1はB8抗血清の一部と反応し、しかもBw4群に属することからB8とHOK-1の関係はB12の部分抗原B44 (Bw4群)とB45 (Bw6群)の様な関係ではないかと考えていた。HOK-1の頻度は日本人で3.7でCw1完全な連鎖不平衡を成していた。HOK-1はその後第1回アジア太平洋ワークショップ (箱根、1979年)、第8回国際組織適合性ワークショップ (Los Angeles、1980年)でB8のみならず、B5、B39の抗血清の一部とも交叉反応することが明らかにされHLA-B59として公認された。

### 4、Hon抗原 (DR53)

Hon抗原は1977年旭川医大片桐一教授がEB-Wa細胞から可溶化した抗原である。片桐先生はHon抗原分子がDR4抗原分子と異なるものであることを生化学的に証明しておられた。私はHon抗原陽性者がDR53 (当時はDR4x7) 陽性者と1対1に対応していることから、両者は同一であることを見出した。この事から血清学的に定義されていたDR53がDR4とは異なる遺伝子座の産物であることの証明になった。当時の第一病理のマドンナ (と本人が思っていた?) 守内順子先生と一緒に原田病、あるいはそれと類似する交感性眼炎患者ではHon抗原が100%陽性であることを見出した。現在横浜市大の大野先生がこの仕事を発展させておられるが100%の相関はまだ正しいようだ。

### 5、DR7J(DR9)

クラスIIタイピングは今では普通のことだが1977、8年頃は技術的に難しい問題だった。そこでワークショップでは必ずオーガナイザーは同一血清をタイプには判らない様に別名で入れてあり (hidden duplicate) その反応性の一致率が一定のレベルに達していないラボのデータは提出されても解析には用いてもらえないのだった。そこで如何に正確にタイプするかに皆苦心したものだった。幸い私達のラボは逸早くB細胞の分離に成功し、良好なDRタイピングが行われるようになった (UCLA岩城先生の情報に寄るところが大きい)。そうした技術で日本人パネルをタイプしてみると日本人ではDR7が全く反応しないことが分かった。にも拘わらずDR4とDR7のsupertypic抗原とされたDR4x7 (MT3とも呼ばれ、現在のDR53に当る)とDR4では反応性が異なり、その差を埋める血清が一群とし見出された。これは白人のDR7に相当するJapanese equivalentであるからという意味でDR7Jと名付けた。早速DR7Jを論文にしMicrobiology and Immunologyに投稿した。今読んでみると実に拙い英語で書かれているのであるが、当時は全霊を傾けて書き、しかも重要な発見をしたとの自負があったのでレフリーからJapanese equivalentとはどういう意味か、などあれこれクレームを付けられたのには強いショックを受け、遂に再投稿することなく幻になってしまった。投稿論文は必ずレフリーにコメントを付けられるものであることをよく知らなかったのである。この体験から今自分がレフリーになった時や学会で質問する時には細心の注意を払って著者の意欲を削がないようにしている。その意味ではDR7J私の人生観を変えた抗原と言える。結局DR7Jは、第8回国際ワークショップを通じていくつものラボで確認されDRw9となった。私の幻の論文はワークショップのニュース速報に形を変え、わずか1ページのミニペーパーとして公表された (1979年)。

### 6、DQWa (HLA-DQ4)

今まで述べてきた抗原は血清学的解析の中で偶然見出されたものだが、DQWaは明らかに意図を持って見出したものである。第9回国際組織適合性ワークショップ (Munich、1984年)の中で行われた2次元電気泳動法の解析を通じてクラスII抗原にはDR抗原以外にもう一つあることが明らかになり、DQw1、2、3抗原が血清学的に同定された。しかし先述のEB-Wa細胞はこれらの血清とは反応せず、第4のDQ抗原を持つということが分かった。私はインスリン依存性糖尿病、原田病と強い相関を成すであろうこの抗原を検出したいと思

った。そこでEB-Waを免疫源としてハイブリドーマを作製することにした。これをやってくれたのは大学院生の石川直先生（現在都立老人研）である。この時三つの工夫をした。一つは、通常ハイブリドーマの免疫動物としてはBalb/cマウスが専ら使われていたが、私達は既にこのマウスをさんざん使用し限られた特異性しか出来ないことを知っていたので、C3Hマウスを用いたこと、二つめは融合後細胞を薄くトレイに播き、ハイブリドーマが伸びて来たwellは最初から単一クローンとすること、三つめはスクリーニングを単純化することだった。KT、ER、EB-Waの3種DR4細胞でDQw3陽性の前2者とは反応せず、EB-Waと反応するクローンを捜すことだ。この条件に合うハイブリドーマが取

れるまでスクリーニングし、その間に出来た他のクローンは心を鬼にして全て投げた。こうして何度も何度も融合を繰り返し取れたのがHU-46のクローンだ。HU-46は2次元電気泳動解析でDR分子とは異なるクラスII抗原を認識することが判明し、DQWaと名付けられた。尚石川先生はこのDQWa抗原の解析で学位をとった。DQwa抗原はImmunogeneticsにすぐ掲載されたため、第10回国際組織適合性ワークショップ（New York, 1987年）では速やかに公認されDQw4抗原となった。DQw4の抗血清は得難くHU-46は今でも貴重な血清として使われている。

今回は福岡大学・腎センター教授の内藤先生にお願いしたいと思います。

## シルクロード辺縁諸国の人類遺伝学的調査 その3

湘南赤十字血液センター 安藤 等

今回は人類学並びに集団遺伝学について文献を引用しながら書かせていただきます。

人類を人種（遺伝的な特徴で比較的同質性を示す群）に分類するには、頭蓋の測定など人体の形態学的な特徴に基礎をおいた自然人類学的な研究があり、また人種の分化や社会の構造的、機能的なあり方についての、法則的な進化に基礎をおいた文化人類学の立場があります。加えて、文化人類学と密接な関係をもつ考古学や言語学の貢献もあります。

隣接諸科学からの様々なアプローチが行われていますが、古くから、人をいくつかの人種に分類したり、あるいは集団を特徴づける手段として、皮膚の色、顔貌、毛髪、頭蓋など形態学的な特徴や形質が用いられてきました。人類学の中で重視されてきたものの一つで、視覚的に最も識別しやすい皮膚の色は、人種の分類に長く用いられており、現在の三つの大きな人種群も（白人種＝コーカソイド、黒人種＝ニグロイド、黄色人種＝モンゴロイド）皮膚の色によって分類されています。

しかし、この分類の基礎になっている皮膚の色の違いは、現在では次のように説明されています。これは、高緯度地方に住む人々は、紫外線の透過を最大限にするために皮膚の色をできるだけ白く、低緯度地方に住む人々は、紫外線の透過を最小限にするために皮膚の色を黒く、その中間の地方に住む人々は、皮膚の色を両者の中間にすることによって、地球上の全人類について、ビタミンD合成の割合を生理的な範囲に維持す

るための、皮膚角質層の環境への適応の結果であると考えられています。

このような考え方によれば、人類は、当初から違った皮膚の色をもっていたのではなくて、これが集団として移動しその新しい環境の中で、長い年月を重ねた生理的な適応の結果として、このような皮膚の色の違いが生じたということになります。

1900年にランドスタイナーによって、初めてABO式血液型が発見され、メンデルの法則に従って、親から子に規則正しく遺伝することが明らかになった直後、1919年、ヒルスツフェルド夫婦は、ABO式血液型の分布が人種によって違いを示すことを見出し、人類学的な領域に初めて血液型を適応した例です。彼らは、A抗原をもつ人とB抗原をもつ人との比率を求め、これを「生物学的民族示数」と名づけました。この数値に基づいて、世界の民族をヨーロッパ型、アジアアフリカ型、中間型の三種類に分類し、これが血液型研究を人類学に應用するという新しい領域を開くことになりました。この業績が発表されてから、次々に発見される新しい血液型が人種の識別、特徴づけといった人類遺伝学的な研究に用いられるようになりました。HLA抗原も同様に研究の対照となりました。HLAの遺伝的な特徴をいくつかまとめますと、第一に非常に高度な多型性に富み、著しい個人差、集団差がみとめられます。第二にHLAはたった一つの遺伝子ではなくて、たくさんの遺伝子群が隣り合い、一つの「複合体」を形成して、染色体上に位置してい



ます。その結果として、このHLA複合体を構成する遺伝子のそれぞれが、また多型性を示すために、特定の遺伝子のセットが子孫に伝わってゆきます。

メンデルの法則に従って一つの世代から次の世代へと遺伝子が伝えられるような個体からなる集団を、「メンデル集団」といっています。そしてこのメンデル集団の中の各個体もっている配偶子の集団を、「遺伝子プール」といいます。この遺伝子プールの組成は、突然変異や混血によって少しずつ変化し、これが生物の進化に役立っています。したがって生物の進化は個体を基礎としてではなく、メンデル集団を基盤としておこるものです。

集団の遺伝学的な特徴をあらわすのに遺伝子頻度が用いられています。それは血液型の遺伝子座にある対立遺伝子プールの中にどのような割合で含まれているかを捉えるものであり、メンデル遺伝子をする形質について、ハーディーワインバークの法則（平衡）というものがあります。これは、たとえばある血液型の遺伝子頻度についてみると、その対立遺伝子の頻度の間には、世代を重ねても一定の比が保たれています。

例をあげると、Aとaという対立遺伝子で決定される血液型で、Aの遺伝子頻度をp、aの遺伝子頻度をqとすると、AAとAaとaaという三つの遺伝子型の相対頻度は $(p+q)^2$ を展開した各項に等しく、それは $p^2 \cdot 2pq \cdot q^2$ となります。すなわち、このような一定の平衡が保たれているということです。この法則が成立するためには、大きな集団で任意交配がおこなわれているということが要件です。血液型のような遺伝子の場合には、通常の集団ではこの法則が保たれ、観察値と期待値との間に、より一致がみられるのが普通であります。このハーディーワインバークの法則で説明できる関係は、ある条件の下ではいくら世代を重ねても、一つの大きな集団の中では、血液型の遺伝子頻度は一定の平衡状態が保たれており、大きな集団との混血などがない限り遺伝子頻度は変わらないというものであって、集団遺伝学の研究にとっては重要な法則であります。

突然変異は、すべての遺伝的な変異を生ずるものになるもので、生存や繁殖に不利なものは、自然淘汰によって除去され、有利のものだけが、次の代の遺伝子プールの中に受け継がれます。このように突然変異の結果として生じた遺伝子が、環境に適応できるかできないかによって選択されることが自然淘汰であり、伝染病の流行などは、自然淘汰の中でも最も大きな意味をもちます。

集団の一部が小さなグループに分かれたり、その中

で飢餓、戦争、あるいは悪疫の流行などによって、集団の大きさが急に小さくなったときに、遺伝子の頻度に偏りを生じます。このような効果を「瓶の首効果」と言います。少人数の移住集団の中に、ある劣性遺伝子をもつものがあると、長い年月の間に、その子孫にその遺伝子の拡散が起こります。これを「創始者効果」と言います。「創始者効果」や「瓶の首効果」は集団の中の遺伝的変異性を低下させる効果をもつが、血縁の遠いものが結婚して一緒になることによる「遠縁効果」は、逆に遺伝的変異性を増大させる効果をもっています。

小さな集団で長い間生活するうちに、比較的頻度の低い遺伝子が次第に失われていくことも考えなければなりません。族内結婚は夫婦が共通の祖先をもつことになるから、その子供たちには祖先由来のすべての座位の遺伝子について、任意交配の行われている大きな集団と比べると、ホモ接合がおこる可能性が高くなります。

一つの遺伝子が、ある人種あるいは民族から、その間にある障壁を越えて別の人種、あるいは民族の中に浸潤してゆくことを「遺伝子の流れ」と言っています。したがって、「瓶の首効果」のようなことが起こらない限り、新しい持ち込まれた遺伝子の頻度はその流れに従って、次第に小さくなるはずですが、先に説明した人種とか、民族といったレベルでみられる遺伝子頻度の違いは、移住、地理的な隔たり、自然淘汰といったようないろいろな条件に加えて、「瓶の首効果」などの条件もまた、その生成に大きな役割を果たしていると考えられています。

骨などにおこるような形態的なレベルの変化は決して一定の速度ではおこりません。系統ごとに、また時間によって、さらに環境によって大きく左右される性質のもので、これと対照的に「分子時計」ということができるDNAやタンパク質など情報分子に生ずる変化は、時間に比例してほぼ一定の速度で変化、蓄積されるもので、その変化はほぼ一定性を示すものとしてとらえられます。免疫グロブリンの平均的な変化速度については、W・バーカーら（1972年）は次のように説明しています。

哺乳類が放射状に分化して以来、共通の祖先から分化した後でいろいろの免疫グロブリン遺伝子におこった変化の数は、2種のタンパク（L鎖とH鎖）のそれぞれにおこった変異の数である「免疫グロブリン鎖相互間の進化距離の値」から計算できます。近時における免疫グロブリンの平均変化速度は、この平均のパーセント差から計算できます。

実際におこったにちがいない変異の数を、並行突然変異と重複突然変異とを考慮に入れて計算すると、100残基のアミノ酸について観測できる35回の変異は、実際には48回の変異に相当することがわかり、もし哺乳類の放射状の分化が7500万年前におこったと仮定すると、平均変異速度は一億年について、32PAM(100残基アミノ酸当たりの受容点突然変異の数)となります。免疫グロブリンはさまざまにアミノ酸配列の異なった可変部を持っていますが、定常部は一定であります。しかし、その「一定性」は定常部に全く突然変異がおこらなかったということを意味するものではありません。それは、免疫グロブリン各サブクラスのポリペプチド鎖の定常部が、一つの遺伝子座で作らされるのに対して、可変部が遺伝子の連結、再編成をおこすという機構による遺伝子組換えによって作られることに由来しています。

定常部も可変部とほぼ同じ速度で変化していることは明らかであります。ラットとヒトの分化以来、またはカッパL鎖とラムダL鎖の分化以来、蓄積されてきた変化からみても、このことは明らかであります。ヒトのカッパL鎖とラムダL鎖の可変部間にみられるパーセント差は、ヒトのカッパL鎖と、ラムダL鎖の可変部間にみられるものとほぼ同じであります。いいかえると、もし定常部と可変部の変化速度が異なっていたら、このような結果は得られないということです。

地球の誕生は、今から46億年くらい前であり、生命が地球に初めて生まれたのは20億年前と考えられています。やがて、簡単な構造をもつ無脊椎動物が生まれ、以後次第に進化が進み、魚類、両生類、原始的な爬虫類が生きた古生代(5億~2億3000万年前)をへて、爬虫類、鳥類の時代となり、また原始的な哺乳類の生まれた中生代(2億3000万年前頃に始まる)も、その末期になると爬虫類が後退して、哺乳類が進化し、やがて霊長類の時代である新生代にはいります。新生代は第3紀と第4紀に分けられます。第3紀の5800万年前に始まる暁新世をへて、始新世(約5400万年~3700万年前)になると、霊長類の初期の段階のものが生まれ、次の漸新世になると、霊長類は旧大陸に広く分布するようになりました。さらに中新世(2400万年~800万年前)になると、古代類人猿が現れます。次の鮮新世に入って猿人(380万年前)が誕生し、第4紀は大部分が洪積世(100万年~1万年前)であり、その後、完新世(現世)に移行します。この間に人類は原人(120万年~20万年前)、旧人(20万年~3万5000年前)の段階をへて、新人(4万~3万5000年前)へと進化

を遂げてゆきます。化石時代以前に生きていた生物の遺産は、その子孫である現代の生物の生化学的な機構の中にうけつがれています。それは、複雑な高分子物質の構造が高い保守性を維持しながら、ほぼ一定の速度で変化してきたものとして捉えることができます。したがって、われわれは現代の生物の生化学的な機構を研究することによっても、古い時代からの生物の辿ってきた姿を確実に捉えることができます。

人類の直接の祖先と考えられているアウストラロピテクスは、1925年、南アフリカのタウングでレイモンド・ダートによって発見され、その後アフリカの各地で相次いで発見されました。1960年代初頭、E・サイモンドとD・ビルビームはインドでラマピテクスを発見し、これが人類の遠い祖先(800万年前)と考えられています。しかし骨から抽出されたコラーゲン(タンパク)を用いての免疫反応によって、ラマピテクスはゴリラやチンパンジーとはやや遠く、オランウータンの祖先であることが明らかになりました。

最近、明らかになりつつあるアフリカ単一起源説によれば、10~20万年前に脱アフリカを果たした現生人類(ホモサピエンス)の祖先は、より広範囲なグループとして拡散し適応してゆきました。長い年月住み慣れた環境から、環境条件のすっかり異なった新しい地域へ拡散がはたせたことは、連続的におこった変異を蓄積しながら、人類は地球上のどこにでも適応できるような地球遍在性の動物としての変異を獲得してゆきました。そして今日広くみられるような民族的な違いとして認められる地理的変異の芽生えが、すでにできていたと考えられます。このようなそれぞれの地域への適応の結果として形成された地理的分化が、現在みられるような、かなりはっきりした民族的分化として受け継がれ、より明らかな地理的変異として捉えられていると思われます。

1975年にド・ブリースらの報告によると、1845年オランダ人が、農民として南アフリカのスリナムに移住し、到着後2週間で腸チフスが広がり、全体の半分が死亡しました。また6年後黄熱病が流行し、残りの20%の人々が死亡しました。このことは、全移住民の60%にあたる人々が新しい環境に適応できないで、死亡したことを意味しています。しかし、それ以後の死亡率は低くなっています。スリナムに生き残った人々とその子孫を含めて、これらのオランダ人について26種類の血液型遺伝子が調べられ、本国のオランダ人集団の成績を対照として比較検討されました。その結果として、HLA型、Gm型、GLO型などの遺伝子についてみられた遺伝子頻度の違いは、明らか



にオランダ人の集団にみられた血液型遺伝子と新しい環境への適応、ことに感染症に対する抵抗性のいかに深く関わっていることが明らかにされました。すなわち、これらの成績は特定の血液型遺伝子が腸チフスや黄熱病の流行に際して、生き残るために必要な遺伝的制御が自然淘汰を左右する要因となっていることが十分に考えられます。

このように新しい環境への適応を左右する要因となったと考えられるHLA、GLO、Gmといった血液型遺伝子は、HLAとGLOはヒトの第6染色体のMHC（拒絶反応を左右するような重要な遺伝子領域）という部分にその遺伝子座があり、一方Gm遺伝子座は第14染色体に位置しています。ここで重要なことは、この第6染色体上のHLA、GLOあるいは第1

4染色体上のGmといった血液型遺伝子座に連鎖して、それぞれ免疫反応を調整する遺伝子座があることです。このようなことからみても、ある人種あるいは民族が新しい環境に移住して、そこに適応してゆくためには、いろいろな要因の中でも、とりわけ感染症に対して抵抗性をもつような免疫的な機構がととのっていることが必須であることが考えられます。

このような意味で、HLA型は、人類遺伝学的な研究、とりわけ、人種の識別、民族の特徴づけや、特異的な遺伝子の存在を目安にして、遺伝子の流れとか遺伝的浮動とかいった事柄を含めて、先史時代の民族の移動や、混血といった問題の研究をすすめるために、有用な遺伝標識の一つとしてあげられます。

## DNA基礎講座；核酸化学の立場から ②

### Polymerase Chain Reactionの副反応—特に“recombination”について

湧永製薬（株）バイオ研究所 山根 明男

PCRが分子生物学に果たしている役割ははかりしれないが、HLA分野においてもまったく同様である。今回はそのPCRの副反応について考えてみる。

PCRの副反応としては、①テンプレートへの非特異的プライミング（非特異的増幅物、プライマーダイマーの生成）、②ポリメラーゼの読み違い（塩基置換、欠失）、③増幅物の3'末端への塩基付加（特に“dA”の付加、クローニングの効率の低下、クローニング部位付近での変異）、④さらに相同的な塩基配列間での“recombination”等があげられる。①～③については良く研究されており、条件の最適化、酵素の改良、クローニングベクターの開発などにより、それらの問題のかなりを解決することができる。④については相同的な配列間での“recombination”ということで必ずしも一般的ではないが、multigene familyを形成しているHLAの分野ではとりわけ重要な問題と思われ、以下考えてみることにする。

PCRにおける“recombination”とは、PCR反応中あるいはPCR増幅物を大腸菌にクローニングした場合、相同的な塩基配列間で組み換えを起こすことであり、生体内で起こるhomologous recombinationと類似の組み換え体が生成する。jumpingあるいはshufflingと呼ばれることもある。原因としては、PCR反応におけるポ

リメラーゼの伸長反応が何らかの理由で停止し、途中まで合成された断片がつぎのサイクルで相同的な配列をもつ異なる遺伝子にアニーリングし、プライマーとして機能すると考えられている。ポリメラーゼが途中で停止してしまうのは、テンプレートが増幅領域の途中で切断されている場合と、テンプレートが存在しているにも関わらず途中で停止してしまう場合がある。前者は保存状態の悪いサンプルを使った場合や、DNAをboilingで調製したときに起こりやすい。この場合、テンプレートの切断部位に上記③のメカニズムによって“dA”が挿入され、引き続き“recombination”を生じたものが確認されている。後者については、テンプレートが多すぎる場合、伸長反応の時間が短い場合、PCR生成物が長い場合また安定な2次構造を組みやすい配列の場合に起きやすいと考えられる。最近は“2 temperature”での短時間のPCRが好まれる傾向にあるが、はたして“recombination”を増加させることにはなっていないだろうか。また、PCR反応終了時に存在するheteroduplexをそのままクローニングすると、大腸菌の修復機能により“recombination”したクローンが得られることがある。この頻度は比較的高く、クローニングする場合はheteroduplexを組みにくいような条件で再度アニーリングする必要があるかもしれない。

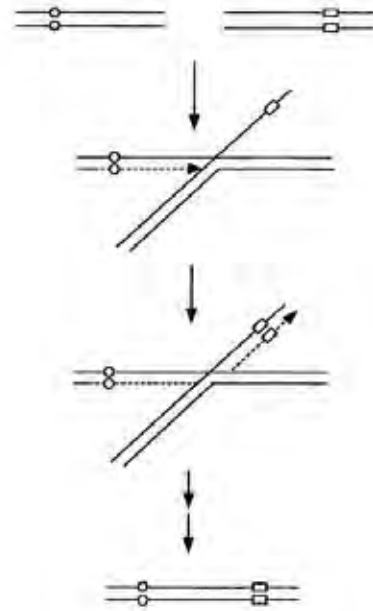


さらに最近になって、上述したメカニズムとは異なった“template-switching”でも“recombination”がおこることがわかってきた。“template-switching”とは、途中まで伸長した生成物が相同配列をもつ別の遺伝子をテンプレートとして乗り換えたり、同様に途中まで伸長した生成物が別のプライマーで伸長してきたものをテンプレートとして乗り換えてしまうことである。ポリメラーゼのこのような反応は、ウィルスの“recombination”では実際に起こっていると考えられている。template-switchingによる生成物としては上述の“recombination”と同様なものが得られるが、反応は1回の伸長反応でも生じることが証明されている。すなわち、伸長生成物が元のテンプレートと解離することなく別のテンプレートに乗り換えるわけである。条件によっては、伸長生成物の5-12.5%でrecombinationが起きることもある。このtemplate-switchingはテンプレート濃度が比較的高いとき、すなわちPCRサイクルの最後の方で起きやすいと考えられており、必要以上にサイクル数やテンプレート量を増やさない方が賢明である。

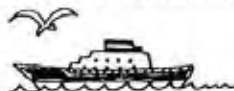
以上、PCRの副反応としての“recombination”について述べた。実際の頻度は数パーセント以下で、ルーチンのタイピング結果に影響を与えることは少ないと思われる。しかし、偽遺伝子も含め多数の相同的な配列をもつ遺伝子が存在するHLAの分野においては十分注意しておく必要がある。とくに、クローニングや

direct sequencingのバックグラウンドに与える影響は小さくないと思われる。今後クラスIのDNAタイピングが普及してくると増幅する鎖長が長くなり、危険性は高まるものと思われる。とりわけnested-PCRを行う場合は細心の注意（2回目のPCRの際テンプレート量を最少にする）が必要である。

次回はPCRにおけるpHについて考える。



Template Switching



## 海外移植事情



### スウェーデンの移植事情

埼玉医科大学 諏訪多 順二

#### はじめに

日本以外の欧米先進国では、すでに脳死の概念が普及しており脳死者からの善意の臓器提供が移植医療を支えている。わが国では1992年1月に出された脳死と臓器移植に関する臨時調査委員会の最終答申が出されたが、法案としての成立を見るに至っていない。このために、脳死からの臓器でない移植ができない肝臓、心臓の移植などは、いまだに外国に頼らなくてはならない状況である。スウェーデンは、北欧のスカンジナビア半島、バルト海側に位置し、移植医療のみならず福祉先進国としてよく知られている。今回、1993年末まで移植外科医として働いていたスウェーデンの移植





事情について、わが国と対比してすこし述べてみたい。

### 社会的背景

スウェーデンは、人口860万人、国土は、44万km<sup>2</sup>と日本よりやや広い。長年社会主義政党が政権を担当し、高負担高福祉型の社会保障制度を国家主導で進めてきたために、税金が非常に高い。夏期休暇は最低6週間、冬季休暇は2週間、その他にイースター休暇、ハロウィン休暇など、生活は大変豊かである(写真)。しかし、冬は日照時間がほとんどなく、曇天と夜ばかりでとても寒い。この時期、注意をしていないと鬱病に陥る。一般的に人々は口数が少なく、2週間一言も発しない同僚もいるくらいである。国内総生産(GDP)に対する医療支出の割合は8.6%(1990年)と、わが国の6.4%(1988年)と比較してやや高い。医療施設は、少数の小規模な診療所を除けば病院はほぼ100%公的機関であり、設備は非常に充実している。約20箇所の病院へ臓器摘出手術で訪問したが、どこもさすがに福祉先進国の名に恥じないりっぱな設備であった。基本的政策としては、わが国のような自由診療制ではなく、統制型の医療体制となっており地方自治体がこの責務を負っている。

### 臓器移植に対する考え方

移植医療の是非について、国会の指示により医療関係者、法律家、哲学者、宗教学者、倫理学者などが、最高裁判所長官の下に召集され委員会を組織した。検討開始後13年間の討議の末に1988年に基本理念として、1) 臓器移植以外に良好な成績の得られない疾患が存在すること、2) 臓器移植が他の治療に比較して高いQOL(Quality of life)を得られるとの合意に至った。これは、法律として施行され、脳死の概念も含まれている。討議に13年を要したのは、特に脳死ということは、死は誰にも必ず訪れるものであるから一人一人の問題として国民のコンセンサスを得なければいけないとの認識からである。この討議がされていた1975-1988年時点の、国民の70%は、脳死よりの移植に賛成、10%は反対、20%は意志未決定であった。討議を集成したスウェーデン語の書物は電話帳ほどの厚さがあり、現在では

それを要約したものが出版されている。わが国の脳死臨調の最終答申は、この要約に非常に類似している。その後、臓器移植に関する倫理規定、死者の尊厳保全に関する規定など、移植にとって重要な法律が整備されている。

### 臓器移植とコーディネーターシステム

1988年以降正式に脳死よりの臓器摘出が可能となり、心、肺、肝、脾、腎の移植が国内5大学病院で行われている。しかし、脳死よりの臓器提供はやや不足気味で、腎移植では生体腎移植も行われて、腎移植全体の20%程度を占めている。他の移植については100%脳死よりの臓器提供である。スウェーデン全体の移植症例数は、おおよそ腎移植は350例、脾移植は30例、肝移植は60例、心肺移植は40例であった(1991年)。移植するための臓器の摘出は、国内を4ブロックに分け、各々の地域を移植病院が分担するかたちをとっている。それぞれの病院には、コーディネーターと呼ばれる専門職の担当者があり、病院間の情報の交換、脳死よりの臓器摘出手術のための手配など、移植が円滑に行われるためのスケジュールの調整をブロック内で連絡を取り合っている。連絡は24時間体制で行われるかなりハードな仕事であるが、コーディネーターと呼ばれる人たちは実によく働く。彼らの移植にかける情熱が移植医療推進の大きな力となっていることは間違いない。また、移植情報交換や、患者情報、移植および臓器提供の年次統計、組織適合性検査の標準化、臓器の公平、有効かつ適正な配分についても、コーディネーター間で検討がされている。情報は北欧4国(デンマーク、ノルウェー、フィンランド、スウェーデン)で組織しているスカンジナビア移植情報システム(Scandinavian Transplant Unite)を通じて毎年出版物によって公開されている。

### おわりに

自然科学的な生命現象上の脳死診断については、日本を除く先進国ではすでに科学的な裏付けがされ規程が設けられている。スウェーデンは人口860万人という小国で、近隣諸国との協調をめぐりしては、自国の存在は保てないという事情がある。その点で、この国の移植医療はヨーロッパ地域におけるcommon senseの集約であるように思える。脳死、移植問題についての日本の現状は、移植患者の国外流出という現象に見られるように、国際的な問題児と捕らえられかねない状況である。問題が再び国際的に取り上げられる前に、国会での脳死法案の早期成立と、医療環境の整備を望む次第である。

参考文献  
諏訪多順二、他：日本医事新報3622：91-94、1993

佐治博夫の **まかせなさいっ!**

## インターネットに学ぶこと

京都府赤十字血液センター 佐治 博夫

世の中インターネットばやりである。語義は「ネットワークのネットワーク」であるが、発展途上の柔軟性の故であろうか、定義はまだ定まっていない。おおよその人のイメージは「世界のコンピュータをつなぐネットワーク」「ダイアルアップ接続によるコンピュータのネットワーク」というところであろう。パソコン通信の進化したものかという、そうではないらしい。本質的に思想的にあるいは哲学的に異なるものようである。パソコン通信は中央に巨大なホストコンピュータがあって、末端にパソコンがモデムを介してつながっている、いわば中央集権型である。インターネットはプロバイダというサービス機構はあるもののそれぞれのコンピュータが、大小問わず、平等につながっている。それどころか、パソコン通信のホストまでも取り込んでしまう。いわばデモクラティック・ネットワークで、管理者やボスがいないから制限や規制がほとんど働かない。自由自在なネットワークである。

### HLAはもともとインターネットの世界

HLAの分野はワークショップを繰り返して発展したとあってよい。それを通じて情報交換や情報処理の重要性を早くから認識して、独特の世界観をもった閉鎖社会を作ってきた。ワークショップの存在意義が論議される中で、振り返ってみるとインターネットに近いネットワークがHLAの世界に存在していたように思う。いま世界で日に日に蓄積される膨大なデータをいち早く共有する手段としてインターネットは欠かせない時代になった。実感するにはとりあえず、日本赤十字社中央血液センターのホームページにログインされるとよい。そこから World Wide Web (WWW) サービスで世界のHLAへの情報の窓が開ける。Document title: Japanese Red Cross Blood Center Home Page, URL: <http://w3.jrc.or.jp> へとかく入る。そこからいろんなホームページを経由して、WHOのNomenclature Comm.の事務局がある Imperial Cancer Res.Fund に入れば HLA Nomenclature monthly updates が苦もなく見られる。オランダのライデン大学にも、イギリスのBSHI、アメリカのASHIやロスのOne Lambdaや

Unosのページにも行ける。おまけに Medlineや Embase などで文献検索もできるし、もちろん日本の骨髓バンクの最新情報も掲示されている。WWWは小手調べ、もっともっと広大なインターネットの世界が待っている。

### インターネットは世界を変えるか?

インターネットは個人を重視した開放的な無規制の性格を色濃くもっていて、日本やアジアの権威主義的な体制とは対極の位置にある。強い権威や管理主義のもとで発展してきたわが国の学会の知識体系や構造に革命的なインパクトを与えようである。地球上の空間と時間の概念は、インターネット上では破壊される。制約から解放されるわけである。管理されないネットワークだから文化的な個性はそのままに、知的財産や情報の共有が一層進む予感がある。インターネットが仕事や生活に浸透するとき、それは世代の交代を伴うであろうが、世界は変わらざるを得ないと思う。

### 移植ネットワークは?

KAMON No. 4, p34 のこの欄で「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」と結んだ。わが国の医療界はひとも認める階層と権威主義のかたまりのようなどころがある。階層構造は強いが、ナショナルレベルで俯瞰すると、意外にインターネット型、クモの巣状のネットワーク構造を持っている。

問題は過去つねに指摘されてきた、権威主義と学閥のエゴである。これさえ希釈できれば、構造そのものはインターネット型で十分機能するはずとみる。中央集権型のネットワークに現存する権威主義が結びつくとき、過去の悲劇；機能しないネットワークが再現されるかも知れない。日本ではうまくいかない事業や計画があると、規制やルールでしぼりつけて、官僚主導で推進してきた経緯がある。移植ネットワークはいつそのことインターネット型で規制のできるだけ少ない方向を目指せばいかがであろう。



## ダイナミック・ラボラトリー 「宮崎県赤十字血液センター」

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

今回は宮崎県赤十字血液センターの職員の方々がご自分達で設計を考えられたというご自慢のセンターを取材させていただきました。



南国情緒あふれる宮崎センター

- ペ) 今日はよろしくお願ひ致します。立派な建物ですが、職員は全部でどの位いらっしゃるのですか？  
 迫) 職員の総数は77名です。  
 ペ) こちらの検査課のメンバーは何人ですか？  
 迫) 検査課長を含む7人です。



検査課のフルメンバー (真中が佐藤課長)

- ペ) メンバーをご紹介しますか？  
 迫) こちらが熊本君です。入社して丸4年経ちます



迫田係長



押川さん

、押川君の指導のもとでHLAをやっています。格好はイチローそっくり。野球も抜群に出来るの



熊本さん



遊畑さん

です(笑い)。こちらは遊畑君です。小林(熊本,鹿兒島と宮崎の県境)の出身で、実家では七面鳥を飼っています。PCRと感染症に興味を持っています。今年九州の輸血学会で学会デビューする予定ですので、皆さんよろしく。

いつも七面鳥を食わせるといいながらまだやねー。遊) まだ準備が整っていないので... (笑い)。

迫) こちらは入社後もうすぐ1年の鍋倉さんです。今一生懸命輸血に関する検査の勉強をしている最中です。今ここにいないのですが、もう一人若松さんという女性が居ります。宮崎センターでの感染

症の考え方を確立した技師で、検査室での人との接し方、気の使い方は若松さんが作ってきたものです。

ベ) HLAの他にはどんな検査をされているのですか?

迫) 血液型と感染症など輸血に関するもの全てですね。HLAの担当は2名です、ただHLAの担当というでも輸血全般やらないかんですが、他の事例を見てもそうですが異動があるとHLAの分野はどうしても伸びて行かないので、道筋が出来後輩が育つまでなるべく専門化しておきたいと考えています。

ベ) 現在のHLA検査数はどの位ですか?

押) 年間約5,000件位です。そのうち依頼検査はクラスIで約300、クラスIIで約200です。

ベ) DNA検査はどの位されるのですか?

押) DRは全部DNAで検査しています。

迫) セロロジーにはどうしても限界があるので、それ以上のものがあり、コスト面でもそんなに違いがなければ、信頼性のより高い方法でやるべきだと考えます。特にHLA検査の魅力は患者さんと直結しているところですね、だんだん検査は患者さんから離れて、物みたいな扱いとなって来ていますからね。

ベ) 依頼先は?

押) ほとんどが県立宮崎病院で、メインは骨髄移植です。

ベ) 骨髄ですと、結果は4ケタで出されるのですか?

押) 現段階では兄弟ばかりですからアイデンティカルか否かだけです。

ベ) こちらでHLAを始められたのはいつ頃ですか?

迫) 昭和56年からです。前課長が担当し、福岡センターの徳永先生の所に研修に行かれた、それから私を含めて3人ほど担当者が変わり、昭和57年に押川君がセンターに入ってきて翌年からHLAの担当になった。それまではローテーションしてたんですが彼が好きそうだから「おまえやれや」ということで。



若松さん



鍋倉さん

ベ) 押川さんはそれからずっとHLAをやっているんですか?

押) 始めた頃はナイロンカラムを使って一生懸命やっていました。名古屋の第二日赤の赤座先生の所にアポなしで行ったり、まだHLAが全然わからずに手探りで色々やっていました。

ベ) ああーまだ赤座先生が第二日赤にいらした頃ですか...歴史を感じますね。

押) その頃の手探りが今自動車整備に生かされています(笑い)。

ベ) 押川さんは手先が器用で車の整備、安い車のドレスアップなど何でもしちゃうから....

押) 59年位からポチポチ検体に来るようになりました、63年位にビーズが導入されて随分楽になりました。その頃は今よりも検体が多く月に100件くらいありました。

ベ) ちょうど登録が始まった頃ですね、それを押川さん1人でされていたんですか?

押) もうパニックでした。

ベ) ナイロンカラムでそれだけこなすのは大変ですよ、クラスIもクラスIIも両方ですからね。

迫) 1日のファイナルを決めようと、最初4検体という話がでたんですがそれでは100件はこなせれんから倍の8件やれ!というこで。

押) 残業が多かったですよ。ダイナビーズを使うようになってずいぶん楽になりました。でもビーズでやっても出来ないものもあるので、平成6年9月からSSPを導入しました。中にはDQを4ケタの結果も欲しいという先生も出てきたので、昨年の11月からイノリパも始めました。

ベ) この新しい血液センタービルに引っ越されたのはいつですか?

迫) 平成6年の5月からです。

ベ) こちらに変わられて一番のメリットは何ですか?

迫) 一番良かったのは、やはり広くなったことですね。まず通路のスペースを確保した上で機械の配置やラインを考え、見栄えを考えた上で物の置き方を考えました。ここを作る時にはかなり検査室の無理を聞いてもらいました。ダンボールを切って縮尺図を作って横からみたり、斜めからみたりなど色々検討しました。配置について夜中までの口論はしょっちゅうでした。だから自信をもって見せられます。

ベ) ここは柱も少ないですよ。ガラス張りで見学用に機械類もすべて外から裏側が見えないようになっているんですよ。見学ツアーもあるんでし



- よ?
- 押) しょっちゅうありますよ、動物園のサル状態ですよ
- べ) 見学ツアーってどんな方がいらっしゃるんですか? 献血にいらした方が「見学したいわー」とか?
- 迫) それもありますけれど、ほとんどが計画的なツアーです。地区ごとの献血推進のボランティア団体、県の団体などが100名単位で来られます。
- \*ベリタス注: 検査室前の廊下から検査室内部が見渡せ、そこには放送案内の流れるボタンもあり、それを押すと  
 『♪献血していただいた血液はこのフロアで検査されます。検査項目は....♪』とウグイス嬢の説明が流れる仕組みになっています。
- 迫) 見学者の方々に対応するため、検査室というのは他から隔絶されていなければならず、立ち入れでは困るので外から全てどんな検査をしているか見えるように、また機械類の配線が見えないように、そこまで考えて設計しました。また商業地、工業地から離れていますので興味を持ってもらえるような物にしないと、来てもらえないですから。
- べ) 血液センターにありがちな、いかにも「血を抜くぞー」という雰囲気がないですよ、仰々しくなくていいですね。
- 迫) これからがセンターの正念場でしょうね。
- べ) 人の配置も背を向くということがないようになってますよね。
- 迫) あまり見せることに懲りすぎると、機能的でなくなるので、それを防ぐためにまず通路を確保しました。一番はじから検体を持って洗浄室に行くまで、どこにもぶつからずに真直ぐ通り抜けられるように、入口から出口まで真直ぐ移動出来るようにと考えました。本当は柱をなくしたかったんですが構造上でダメだったので、柱を部屋の真中に持ってきて水まわりを柱の回りに持つてくることで、水回りを外から見えなくすることが出来ました。HLAだけではなく感染症や赤血球の検査もやるわけだから、誰かが休んだ時にもフォローしやすい部屋にしたかったのです。

- べ) それで広くてすっきりしているのですね。ところで皆さん、この立派なラボでこれからやりたいことはどんな事ですか?
- 熊) 去年の4月からHLAを始めました。横文字が多く勉強することが多いのですが、がんばって1つずつ押川さんに追い付きたいと思います。
- 遊) 感染症も赤血球同様奥が深く、楽しく仕事させてもらっています。学会で結果を出せるようがんばります。係長と議論し言い負かすことが出来る程、知識を身に付けたいと思います。
- 鍋) もうすぐ入社して1年になります。赤血球に関して少しでも上達すればと思っています。
- べ) 真打登場! 押川さん抱負をお願いします。
- 押) 今年はDNAに力を入れたいと思います。今までセロロジーでホモタイプだと思っていた人の中にDNAを調べるとヘテロタイプの人がいることが分かったので、移植のことを考えるとやはりDNAをやるべきですね。今年もう一台サーマルサイクラーを購入していただける予定なので、さらなる飛躍を、と考えています。技師会の輸血の班長をやっているので、輸血研究班の全体的なレベルアップを図りたいとも考えています。
- べ) 宮崎センターの方達は皆さんお仕事に前向きで、お話しを伺っていて楽しいですね。
- 迫) 私達技師にどんな仕事出来るかは、環境を整えてくれる仕事場の上司、大きなリスクを背負っても我々のわがままを聞いて大きいセンターを作ってくれた人達、そういうまわりの理解がなかったら、思いきった仕事も出来ないでしょうね。
- べ) 血液事業への意気込みを感じますね。来年は宮崎で事業学会があるんですよ、ガンバッテ下さい。
- 押) 宮崎は観光名所です。シーガイアもあります(笑)。皆様お誘い合わせの上、来年の事業学会に是非ご参加下さい。
- べ) 今日はどうもありがとうございました。

立派な研究室で、厳しく暖かい迫田係長の元、平均年齢の若い宮崎センターのパワーが炸裂する、将来が楽しみなラボでした。鍋倉さん、タイミング良くおいしいコーヒーをどうもありがとうございました。





## HLAところ変われば



## —HLAからみたモンゴルの民族性—

日本赤十字社中央血液センター 田中 秀則

A24-CBL-B52-BFS-C4A3+2-C4BQO-DR15といえば、皆さんご存知の“日本人で一番多くみられるハプロタイプ”である。私は、HLAを始めたころ（約10年前）からハプロタイプに興味を持っていた。そんな時、補体（BF,C4A,C4B：ヒトのMHCクラスⅢ領域でコードされている）のアロタイピングを習得するチャンスがあり、その技術を学んだ。また、第11回国際組織適合性ワークショップ（11thIHW）では、様々な民族における補体のアロタイピングを行い、HLAと補体のアロタイプから推定されるMHCハプロタイプ（B-BF-C4A-C4B-DR）の分布について解析を行った。この解析で、日本人に一番多いハプロタイプ（A24-CBL-B52-BFS-C4A3+2-C4BQO-DR15）は、日本人以外に韓国人、中国北部の集団にも認められた。また、HLAハプロタイプ（A24-CBL-B52-DR15-DQ1）では、モンゴル人にも認められ、この時から一度はモンゴルへ行ってみたいと思っていた。

今回のモンゴル訪問の日程は、昨年8月3日から10日までの8日間で、名古屋の小牧空港から直行便（チャーター便）で行くこととなった。ちなみに、小生の海外渡航経験は2回目、1回目はロシア（シベリア）であり、その時の発着空港は新潟空港であった（これまで成田から出発した経験はない）。いざ“小牧空港を出発、一路モンゴルへ”と思ったら、ソウル金浦空港に立ち寄ることになっているようで、乗客のなかでも知らない人も多かった。私は、韓国へ立ち寄ることがはじめてであり、少々興味はあったが、どうも日本人観光客の買い物期待した寄航のようである。PM 6:00 韓国出発、今度は“一路モンゴルへ”。ところで、今回乗った飛行機（ボーイング727）は、冷房の機能がないようで、飛行中は高度が上がり涼しくなるが、地上では外気温とほぼ同じかそれ以上であった。小牧空港出発時の外気温は、約36℃離陸までの間、汗だくの状態であった。PM 9:30 モンゴル到着、空港にはウランバートル血液センター所長（ウーランクール）さんと、モンゴル医科大学チムゲさんの迎えをうけ、2台の車で宿泊先のホテルへ。モンゴル医科大学のチムゲさんは、これまでに血清学

的方法でモンゴル人由来の1、600検体についてクラスIタイピングを行っており、リンパ球分離時にパフィーコートを凍結保存していた。今回は、このサンプルからDNAを抽出することが主な目的である。モンゴルでは、血液自体を直接海外に持ち出すことが困難なため、抽出したDNAの状態を日本に持ち帰ることになった。また、今回の共同研究では、抽出したサンプルを日本に持ち帰り、おもにクラスIIのDNAタイピングを行うことである。また、タイピングデータは、第12回国際組織適合性ワークショップのethnic study部門に提出するになっている。ところで、モンゴル医科大学のチムゲさんは、京都府赤十字血液センターの佐治部長の友人であり、以前中国で開催された国際HLAワークショップで知り合う機会があったようである。



ラボのメンバー

訪問二日目からDNAの抽出の準備として、一部のサンプルについて抽出を行うことにした。しかし、こちらから持って行ったチューブが、用意してあった遠心機では使えず、隣の血液センターから借りてくることで、どうにか抽出ができた。次に、抽出したDNAサンプルの量および質をチェックするために手動PCRを行った（当然であるがわたしにとってはじめての経験）。まず、恒温槽3台を準備し、それぞれあらかじめ日本で設定した温度にセットしようとしたが、用意してあった2台は温度が上がらず。今度は、違う研究室から恒温槽を借りてくることで、どうにか目的の温

度を確保し、いざ“PCRスタート”。タイマーを片手にPCR用チューブを、3台の恒温槽を移動させてゆく。約2時間後PCR終了、PCR産物確認のための電気泳動、染色を行う。UVランプの上にゲルをのせて、スイッチオン「あった!!」、目的とするバンドを確認、“ほっ”として二日目が終わった。その後、研究室のメンバーであるAyush、Bayarsaikhanらの協力によりDNAの抽出は、約3日間で終了し日本に持ち帰るDNAサンプルの準備ができた。また滞在期間中は、十字所長、赤座検査部長のモンゴル厚生大臣、モンゴル赤十字社社長の訪問や厚生大臣のディナーパーティーに同行させていただいた。また、ウランバートルの血液センターで十字所長の講演が行われた。

今回訪問期間中、ウランバートル市内を歩く機会があったが、やはり顔は日本人によく似ていた。しかし、一部ロシアのブリヤート族（モンゴロイドである）にも似ている人がみられた。ブリヤート族の特徴といっても、モンゴル人と大きな違いはないが、体格が少し違う（胸が厚い）ように思われる。また、モンゴルは西から東までに様々な民族がいるようであるが、その最大の集団はハルハと呼ばれる民族で、主にモンゴルの中部に分布している。東はモンゴルのブリヤート族、また西にはカザフ族などの様々な民族が分布しているようである。今回の調査では、ハルハを中心とした調査を行うことになっている。

これまで、チムゲさんがタイプしたHLAデータでは、日本人で多いハプロタイプ(A24-CBL-B52)の存在は、それほど多くはなかった(1%以下)。しかし、A33-Cw3-B17ハプロタイプが多いように思われた。このタ



イブは、以前わたしたちが調査したブリヤート族でも頻度の高いハプロタイプのひとつであった。このハプロタイプは、アジアの集団において、クラスIIのタイプが違う2種類のハプロタイプが確認されている。その一つは、A33-Cw3-B17-DR13-DQ1であり、もう一つはA33-Cw3-B17-DR3-DQ2である。前者は東北アジアに、後者は東南アジアに多く分布しており、ブリヤート族では前者の頻度が高く、モンゴル人でもこのタイプの頻度が高い可能性がある。また、B7の頻度が高くA24-Cw7-B7ハプロタイプの頻度が高い可能性がある。これまでの報告では、このハプロタイプは日本と韓国人に多く認められるだけで、その他の集団では、ほとんど認められていない。今後クラスIIのDNAタイピングにより、モンゴルにおけるハプロタイプの分布は明らかになり、アジアの様々な集団とモンゴル人の関連性がより明確になるとと思われる。

最後に、なま水・なま物には気を付けましょう...?。