

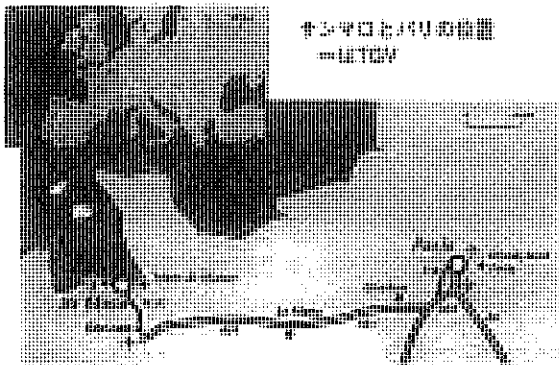
“HLAは実地医療に関われるか？”  
12th INTERNATIONAL WORKSHOP 開催は紺碧の海と空&花の都”

12th INTERNATIONAL  
HISTOCOMPATIBILITY  
WORKSHOP AND CONFERENCE  
GENETIC DIVERSITY OF HLA Functional and Medical Implications

Workshop Report Saint-Malo, June 3-8, 1996

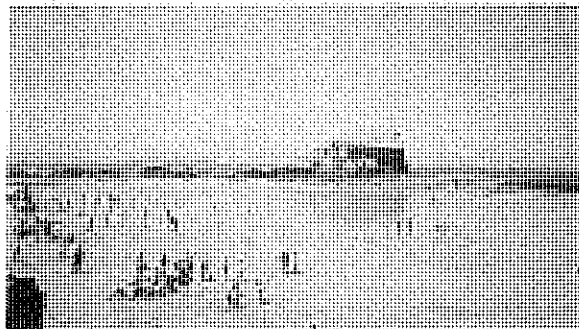
京都府赤十字血液センター 丸屋 悦子

第12回国際HLAワークショップ (D. Charron : chairman) が6月3日から8日までフランスのSaint-

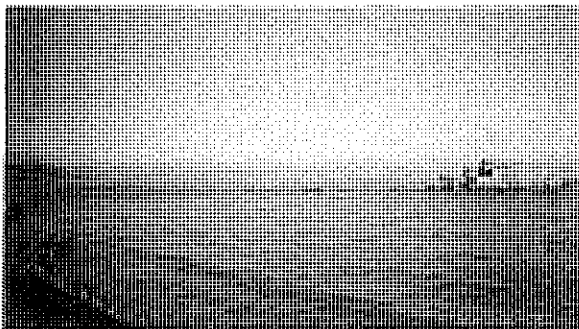


フランスの北西部の位置  
= Saint-Malo

Maloで開催された。Saint-Maloはパリからバスで8時間 (TGV=フランスの新幹線で約4時間) 離れたところ



WORKSHOP会場の窓から見える風景：  
引き潮で向こうの小さなお城まで歩いてゆけます



WORKSHOP会場の窓から見える風景：満潮時に海が深くなる。

ろにある、すばらしい海岸を持った小さな港町である。学会場のすぐ後ろが海岸で紺碧の海と空の分かれ目が



サンマロの城壁よりWORKSHOP会場  
を写した  
左上の建物、その向こうは海岸である

水平線であった。会場のおおきな窓枠は美しい風景画の額縁の役目をはたしていた。ワークショップのプログラムの概要を以下に示す。

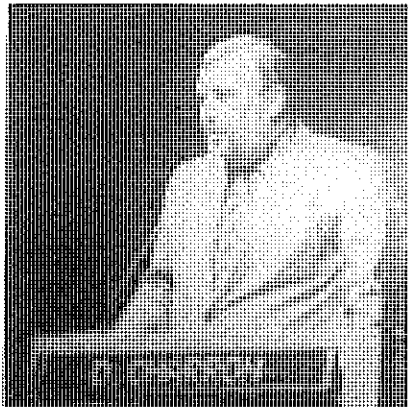
- June 3: Registration
- June 4: Opening Ceremony and Welcome : D. Charron, R. Fauchet
  - Introductory Remarks : J. Dausset
  - General Directives # Data Analysis # Anthropology # Allele and Haplotype Societies (AHS) # Other components
  - Working Group Discussions おもにAHS groupとnon classical HLA
- June 5 : Working Group Discussions # Anthropology # HLA and Disease # HLA and Transplantation
- June 6: Chairpersons Individual Reports # Techniques # Disease # Transplantation and Genetics
- June 7: Chairpersons Individual Reports # AHS Class I # AHS Class II # Anthropology
  - Chairpersons Individual Reports # Technical Component # Data analysis # 12th Workshop Cell Line # Anthropology # HLA and Cancer # New Genes # Transplantation
- June 8: Chairpersons Individual Reports # HLA and Disease # HLA and TCR # Allele and Haplotype Societies # Sequencing

以上のように多くのsessionが平行して行われた。HLA

Aが免疫学と深く関わっているため、関係する分野を可能なかぎり含めようとした素晴らしい計画のワークショップであった。私が参加したsessionについて報告する。

[Charronのオープニングセレモニー]

Welcome to San Malo, Welcome to Bretagne, Welcome to France, Welcome to Europeで始まった。今



Dr. Charronのオープニングセレモニー

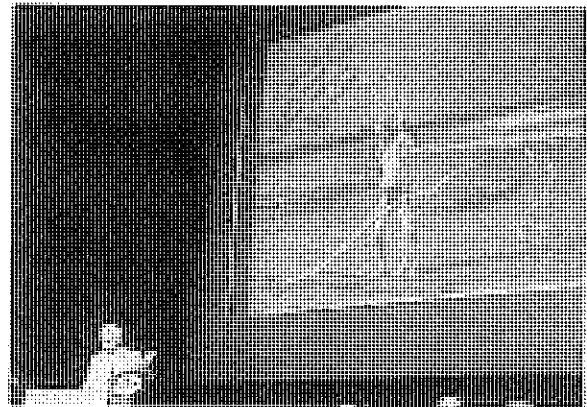
オープニング セレモニー

回のワークショップには50カ国の参加があった。彼が初めてHLAワークショップに参加したのは、今から24年前、1972年の第5回HLAワークショップ(Dausset: chairman, in Paris)であった。当時Dr. CharronはRose Paine (HLAの母)らが提出した多くの良い抗血清を湯水のごとく使いimmunoprecipitation testに熱中し、血清を浪費していたそうである。次に彼がワークショップに参加したのは、1980年Dr. P.I. Terasakiがchairmanのときで、今から16年前だった、そして今chairmanとしてワークショップを開催している。Chairmanを引き受けるについて、Soo young Yang (スローケタリングの研究者で、HLA抗原のIEFによる解析で有名)から次のように言われたそうである。「Dominic、あなたっておバカさんね。ワークショップを引き受けるなんて」そしてこの同じ言葉を第11回ワークショップの時、笹月先生にも言われたそうである。さらに付け加えられた言葉は「今までのchairmanもすべてオオバカなのよ」と。Dr. Charronはchairmanができるほど十分バカだそうである。すなわち彼女はDr. Charronが素晴らしいワークショップを開催するため、労をおしめず献身的な仕事ができる人と激励したように思われると今日に至るまでの思い出を話された。

また今回のワークショップで新しいことは、Chairmanがひとり(ひとつの国)ですべて統括する今までの方式とは違い、ヨーロッパ(EU) groupで協力しておこなったことであると説明され、このワークショップが第13回ワークショップへのone stepとなることを期待すると話しを締めくくられた。

[DaussetのIntroductory Remarks]

Daussetは白血球抗体を発見したことでノーベル賞を授賞した有名な研究者である。Introductory Remarksで、1972年第5回ワークショップ開催以来今日に至るまでHLA分野で貢献してきた研究者の名前とその業績を述べられた。特に1980年のワークショップ以後、16年間のHLA学の進歩が目覚ましかったことを強調された。たとえばHLA分子が免疫現象におおきく関わることが解明されたことや、技術的には血清学タイプ



Dr.Daussetのファニーなphoto

Dr.Daussetのファニーなphoto

ングから遺伝子タイピングができるようになったことなどをその例としてあげられた。このような時代を迎え今回のワークショップが大きな転換期にあたっていると指摘された。Dausset先生は締めくくりの言葉として「次に目指すことは特異的な免疫寛容の誘導である」と目標を提示された。

[AHS2 Report・A2/28 and A9]

AHS2はHLA-A2、A28とA9のAllele and Haplotype Societies (AHS) で、ChairmanはDr. T. Jujiである。このSocietyのテーマはAnalysis of New Alleles Association



[AHS#2ミーティング開始前] 打ち合せ会議か!

between Antigen, Protein, Allele (Serology, Isoelectric Focusing, DNA typing)であり、血清学で解析されるHLA-A2/28とA9抗原について、抗原タンパク分子の電気移動度の差による解析やその遺伝子の塩基配列による解析が行われた。血清学の解析結果はH. Tanakaにより報告され、DNA解析はY. Ishikawaにより、SBT TypingはBerlinのR. BlasczykとY. Ishikawaにより、IEF解析はParisのG. Semanaによりなされた。その他J.M. TiercyがNew allele A\*0217のSSOPによる解析、F. LianがA2 alleleの中国民族での多様性について、E. MaruyaがLIS-SSCPによるA2 allele typing法についてレポートした。

<HLA-A2/28:血清学とAllele type>

今回のワークショップに提出されたA2/28関連血清はモノクローナル抗体を含め58種でパネルセル556のうち



Dr. JM Tiercy A2 allele不適合BMTについてdiscussion

セレクトパネル349による解析がなされた。セログラフを図1に示す。A\*0203、A\*0210、A\*0217、A\*0218を区別する血清群があった。反応パターンを表1に示す。

表1. Reaction Patterns of A2 and A28 Group

No.	A2	A201 (A*0203)	A210 (A*0210)	A217 (A*0217)	A218 (A*0218)	A28	A29	Screen No. (AllSC2)
1	+	+	+	+	+	+	+	16,17,28,39
2	+	+	+	+	+	+	+	87
3	+	-	w/-	+	+	+	+	4,88
4	+	+	-	+	+	-	+	8,9
5	+	+	-	-	-	-	+	38,5
6	+	+	-	-	+	-	+	21,7,21,47,29
7	+	-	-	-	-	-	+	34
8	+	+	+	-	+	-	-	19,39
9	-	+	-	-	-	-	-	22,25,26
10	-	-	-	+	-	-	-	55,56,51
11	-	-	-	+	-	-	-	57,100
12	-	-	-	+	-	-	-	59,58
13	-	-	-	+	-	-	-	53
14	-	-	-	+	-	-	-	51,59,60

\* Other Specificity, A25,26,34  
\*\* Other Specificity, A9

<HLA-A2: DNA解析>

PCR-SSOPによるHLA-A2 allele 解析は4施設の参加があった。スイスのTiercyが87例、中国のF Lianが66例、大阪赤十字血液センター14例、中央血液センター12例で計179例のタイピングがなされた。例数が多いスイスと中国のA2 allele頻度を以下に示す。骨髄移植調査研究事業(笹月班)のデータによると日本人のA2中にしめるallele頻度はA\*0201、A0206、A\*0207、A\*0210それぞれ42.6%、38.8%、16.4%、2.2%である。A2 alleleの頻度はそれぞれの人種に特有の偏りを示していた。

A2 allele	0201	0202	0203	0204	0205	0206	0207	0208	0209	0210	0211
スイス	78	2	0	0	5	1	0	0	0	0	0
	(89.7)	(2.3)			(5.7)	(1.1)					
中国	16	0	11	1	0	10	36	0	0	0	0
	(21.6)		(14.9)	(1.4)		(13.5)	(48.6)				

A2 allele	0212	0213	0214	0215N	0216	0217	0218
スイス	0	0	0	0	0	1	0
						(1.1)	
中国	0	0	0	0	0	0	0

( ): A2 alleleの中でそのalleleがしめるパーセント

<HLA-A2: IEF 解析>

前回のワークショップでA2のIEFパターンは5種類(A2.1= band 1、A2.2= band 3、A2.3= band 5、A2.4= band 6、A2.5= band 7)に分類されていた。これらの

IEFパターンを示すパネルセルのalleleおよびlocal A2 cellsのIEFパターンとallelesを調べた結果、IEFパターンとalleleが対応することが判った。

IEF pattern	Allele type			
A2.1	A*0202	A*0205		
A2.2	A*0201	A*0207	A*0208	A*0210
A2.3	A*0203	A*0209		
A2.4	A*0204			
A2.5	A*0211			
A28.1	A*6802			
A28.2	A*6801			

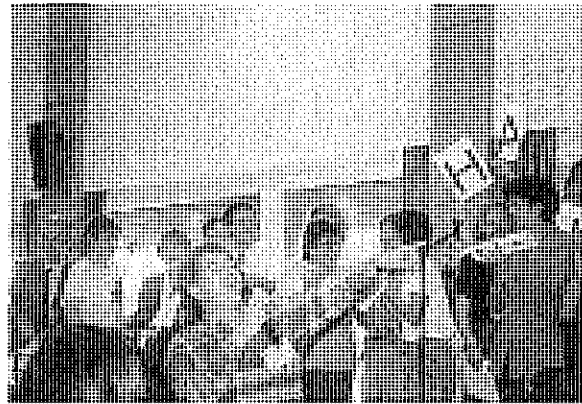


図1. 血清学的反応パターンとDNA解析結果

IEFパターンとallele typeが1対1に対応していないものが多い理由は判明していない。IEFの移動度の分離能力による限界とも考えられる。IEFパターンと血清学的反応パターンの相関が解析され、IEFパターン、A2.2、を3種類に分類すると考えられる血清群が提示されたが、血清解析担当者からweak反応を示す血清群であり、シーケンスデータもなかったため、今のところ保留し今後の検討課題となった。

<HLA-A2 diversity in Chinese>

Dr. F Lianが中国の雲南省の少数民族(Dai)と北京付近の主流民族であるHan族およびCaucasianとTurkishのA2 alleleの多様性について報告した。各人種のAllele頻度およびA2 alleleとB46との相関を以下に示す。

A2 allele	HLA-A2 allele frequencies of Han Chinese, Dai Chinese, Caucasian and Turkish			
	Dai (39)	Han (38)	Cauc (116)	Turk (39)
0201/0209	1	18	113	32
0202	0	0	0	0
0203	12	1	0	0
0204	1	0	0	0
0205	0	0	2	5
0206	1	12	0	1
0207/0215	30	14	0	0
0208	0	0	0	0
0210	0	0	0	0
0211	1	0	1	1
0212	0	0	0	0
0213	0	0	0	0
0214	0	0	0	0
0216	0	0	0	0
0217	0	0	0	1

\*0201とA\*0209およびA\*0207とA\*0215はexon 2と3は同一の塩基配列である。このstudyではexon 2と3の多型について検査されていた。

The association between A2 alleles and B46 in four population

	Dai	Han	Cauc	Turk
A*0201-B46	0	3	0	0
A*0201-non B46	1	13	113	32
A*0203-B46	6	0	0	0
A*0203-non B46	6	1	0	0
A*0204-B46	1	0	0	0
A*0204-non B46	0	0	0	0
A*0205-B46	0	0	0	0
A*0205-non B46	0	0	2	5
A*0206-B46	0	4	0	0
A*0206-non B46	1	7	0	0
A*0207-B46	21	7	0	0
A*0207-non B46	6	5	0	0

☆若干、前のデータと数が違っているが、発表どおり記載した。

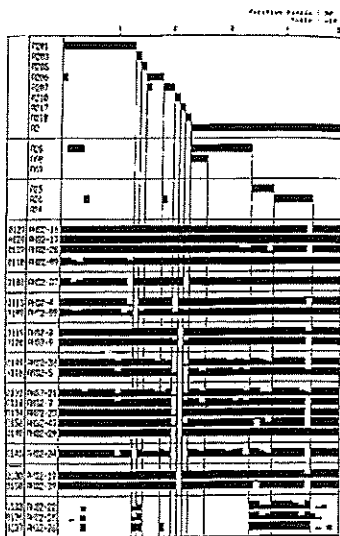
またA\*0207とB46の相関は日本人にもみられるが、これに連鎖するDR抗原が日本人ではDRB1\*0803であるがDai chineseではDR9であった。A2アリルとそのハプロタイプの人種による相違については、Y. Ishikawaより以下のような報告もあった。

A*0203-B52-DRB1*1404	5/6 (83%)	Manchurian
A*0205-Cw6-B50-DR7	5/8 (63%)	Mongorian
	5/11 (45%)	Buryat
A*0207-Cw0102-B*4601-DRB1*0803	5/9 (56%)	Japan
	1/5 (20%)	Korean
	0/11 (0%)	Manchurian
	1/4 (25%)	Buryat

<A2 new allele A\*0217について>

スイスのTiercyにより、A2のnew allele A\*0217について報告があった。

これは血小板輸血ドナーから検出されたnew alleleで当初A\*0204とタイプされていた。今回のワークショッププローブではっきりタイプできなかつた。シーケンス



21 The sequence of A2/A2A

によりA\*0217はA\*0204から95番目のアミノ酸がロイシン、99番目がフェニルアラニンに変異したタイプであり、このアリルを保有するハプロタイプはA\*0217-B5101-Cw15-DRB1\*0901であった。リボンダイアグラムによるA\*0201、A\*0204、A\*0217のアミノ酸変異部位を図2に示す。余談であるが、このalleleはsouth

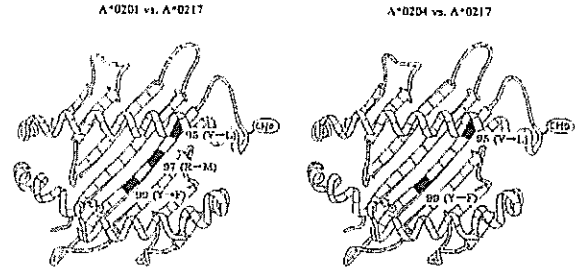
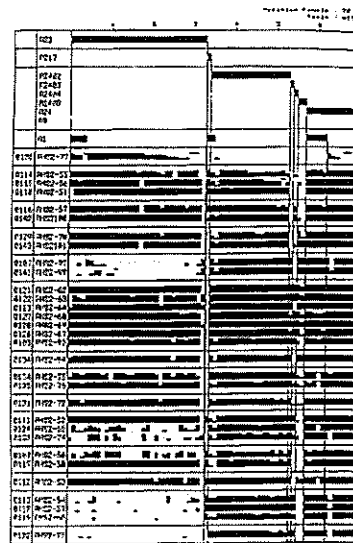


図2 A\*0217のアミノ酸変異部位

American IndianやTurkishでも見つけられている。

<A9> 興味深い抗血清群の発見

アロおよびモノクロナル抗体あわせて41の血清と369のセレクトパネルで血清学的解析がなされた。図3にセログラムを表2にReaction patternを示す。今回提出された血清で区別できるA24アリルはA\*2402、A\*2403、A\*2404、A\*2408であった。またA24の血清のなかにA\*0217をタイプできる血清群 (A\*0217と反応する血清群と反応しない血清群)があった。その他14の血清学的に異なるパターンが検出された。それらについては



23 The serograph of A9

表2. Reaction Patterns of A9 Group

No.	A23	A24	A2403 (A*2403)	A24AK (A*2404)	A9III (A*2408)	A217 (A*0217)	Scrum No.(A45#2)
1	+	-	-	-	-	-	77
2	+	+	-	-	-	+	55,56,51
3	+	+	-	-	-	+	57,100
4	+	+	-	w/-	+w	-	70,101
5	-	+	+	+	+	-	97,99
6	+	+	+	+	+w	-	62,63,64,68,69,67,53
7	+	+	+	-	+	-	44
8	+	+	+	+	-	-	75,76
9	+	+	+	-	-	-	72
10	+w	+	+	+	-	-	52,65,74
11	+w	+	+	-	-	+	50,58
12	-	+	+	+	+	+	53
13	-	+	+	+	+	+	54,59,60
14	-	+	+	+	-	-	73

シーケンスデータがないため、今回は保留とし、以後検討することになった。

これは興味深いと思ってA2とA24のアミノ酸配列(図4)を採り出し、A\*0217AがA24と共通するアミノ酸

部位を探した。95-99: LQMMPに共通アミノ酸あり、ただしこれはすべてのA24 alleleに共通である。血清の反応パターンは決してそうではない。するとこのアグレートープをもつペプチドにたいする抗体を含んでいる

のではないかなどと考えをめぐらす。そしてA\*0217はよくあるA\*0201とA24の gene conversionによりできたのかなど、ひとりいろんな仮説を立て楽しんでいった。このように十分いろんなネタの多いAHSであったことをお伝えしたい。

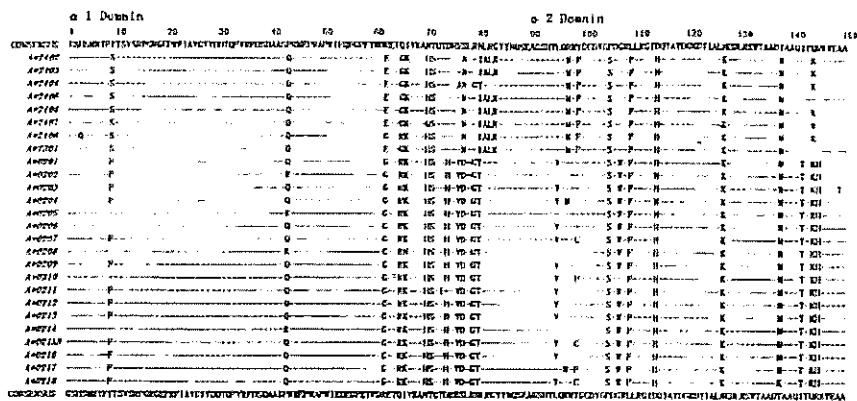


図4. HLA-A24 and A2 Amino Acid Sequences

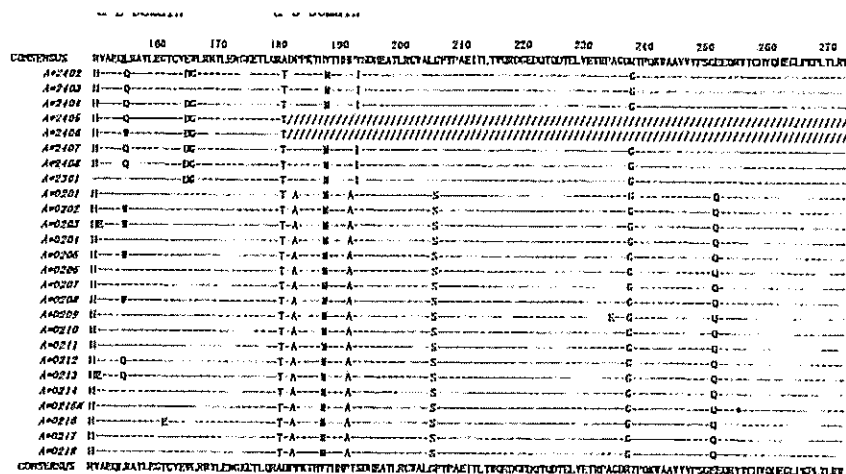


図4. HLA-A24 and A2 Amino Acid Sequences

<まとめ>

このsessionでH. Sajiからchairmanに対して次のようなコメントが求められた。

「アレル検索の臨床医学上の意義はなんですか？」

Dr. Jujiは日本ではA2 alleleの多型、A26およびB61 alleleの多型が非血縁間骨髄移植の成績におおきな影響を与えることが判っていると答えられた。またスイスのTiercyはCaucasianにはA2 alleleの多型性は少ないが、alleleの違いにより非血縁間骨髄移植の成績が悪い結果が得られているとコメントした。その他いろいろなdiscussionがおこなわれ、美しい窓外の風景にも負けないほど参加者の興味をそそる活発なAHSであった(さすが11thの解析グループとexcellent chairman and outstanding claguesであった)。

[HLA and IDDM] 膨大なヨーロッパのデータ

IDDM患者2390人のデータがコントロール2115人と比較し検討された。以下に患者群とコントロール群の人種の内訳および検査アレル数を示す。

患者の男女比はほぼ1で年齢は14才以下が67.6%、15~30が21.4%、31才以上が10.9%である。家族歴がある

	IDDM	Control
Total	2390人	2115
Caucasian	1936	2018
Northern Europe	797	459
Median Europe	1005	1289
Eastern Europe	134	260
Asian	92	60
Brazilian	93	37
DRB1	1883 (3386 alleles)	1810 (3620 alleles)
DRB1*4	898 (1034 alleles)	474 ( 520 alleles)
DQB1*	2290 (4580 alleles)	2050 (4100 alleles)

患者が261人であった。また疾患の予知と関連するauto antibody (ICA, LAL, GAD, anti-p37Ab, anti-p69Ab, anti-ia2Ab: これらのauto antibodyは患者の80%にみられた)の測定が行われ、疾患とHLAおよびauto antibodyの相関について検討された。

IDDMとHLAの相関をCaucasianデータで解析すると、DR3、DR4がpositive associationを示し、DR15がnegative associationを示した。Positive associationを示したDR3とDR4についてhomoとheteroの効果(relative risk (RR)で調べると、heterozygoteのとき一番高いRR値を示した。おそらくそれぞれの抗原に連鎖する微妙に異なる発症原因があり、2つを合わせ持つ場合は

より疾患になりやすいと考えられる。以下にそれぞれの組み合わせでのRR値を示す。

	RR
DR03/04	18.8
DR04/04	8.7
DR03/03	4.7

つぎにFrench 645例とNorwegian 797例におけるDR3、DR4のhomoとheteroとその頻度およびRRとの関係を示す。

French (645):	DR03/03	DR03/04	DR04/04	DR03/X	DR04/X	DRX/X
number	65	193	60	115	145	67
Frequency	0.10	0.30	0.09	0.018	0.22	0.10
RR	27.5	37.5	2.1	4.5	5.0	1.0

Norwegian (797)	DR03/03	DR03/04	DR04/04	DR03/X	DR04/X	DRX/X
number	47	345	97	75	196	28
Frequency	0.06	0.44	0.12	0.09	0.25	0.03
RR	43	114.0	50.0	7.0	5.4	1.0

次にFrenchの疾患群でpositive associationを示す抗原を除いた場合、さらにpositive associationを示す抗原を調べるとDR1であった。この抗原を加え同様の解析をFrenchおよびNorwegianの疾患群でをすると以下のような結果が得られた。

French (645)	03/03	03/04	04/04	03/01	04/01	01/01	03/X	04/X	01/X	X/X
number	65	193	60	40	45	2	75	100	15	50
Frequency	0.10	0.30	0.09	0.06	0.07	0.003	0.12	0.16	0.02	0.08
RR	28	38	21	11	11	1.5	3.5	4.5	1	1

Norwegian (797)	03/03	03/04	04/04	03/01	04/01	01/01	03/X	04/X	01/X	X/X
number	47	345	99	28	55	2	54	141	11	15
Frequency	0.06	0.44	0.12	0.03	0.07	0.002	0.07	0.18	0.01	0.02
RR	60	160	70	20	40	6	6	16	2	1

つぎにDRB1\*04内のアリルとIDDMの相関についてFrench sampleの解析結果が述べられた。

	DRB1*04 alleles in French Sample			
	IDDM		Control	
	number	Frequency	number	Frequency
DRB1*0401	242	0.575	109	0.540
DRB1*0402	54	0.128	10	0.050
DRB1*0403	5	0.012	2	0.010
DRB1*0404	62	0.147	40	0.198
DRB1*0405	53	0.126	15	0.074
DRB1*0406	1	0.002	2	0.079
☆DRB1*0407	0	0	16	0.079
DRB1*0408	4	0.010	8	0.040
Total	424		202	

DRB1\*0407がIDDM群で1例も検出されなかったのは大きな特徴であった。

<BasqueとIDDM>

Basque (バスク人:ピレネー山脈地方に住む) 人のIDDM患者96人とコントロール96人のDRB1、DQA1、DQB1を調べた結果、患者群でDR3、DR4があきらかに増加していた。Homoとheteroの影響を調べ、French、Norwegianと比較した。

	RR					
	DR3/DR3	DR3/DR4	DR4/DR4	DR3/DRX	DR4/X	DRX/X
Basque	15.1	169	79	8.4	4	1
French	27.5	37.5	21	4.5	5	1
Norwegian	43	114	50	7	5.4	1

RR値で比較すると3人種ともDR4とDR3のhetero接合体の場合最も強い相関を示すことは共通しているが、DR3とDR4の相関の強さを比べるとBasqueはDR4との相関が強くFrenchは逆にDR3との相関が強く、Norwegianはどちらの抗原とも同程度に相関していた。

<MexicanとIDDM>

110例のMexican IDDMとコントロール175例のデータが報告された。RR値の高かったDR抗原、DRB1 allele、DQA1 alleleを示す。

	RR
DR3	8.4
DR4	3.9
DRB1*0301	21.4
DRB1*0401	24.8
DRB1*0404	27.8
DRB1*0405	44.5
DQA1*0102/03011	10.7

つぎにpositive association、negative associationを示したhaplotypeをあげる。

Positive association			Negative association		
DRB1	DQA1	DQB1	DRB1	DQA1	DQB1
0301	0501	0201	0403	03	0302
0405	03	0302			
0404		0302			
0401	03	0302			

以上のようにIDDMでDR4は民族を超えてpositive associationを示す。そのアリルの相関を調べると、DRB1\*0405は共通のpositive association alleleで他のアリルは民族によってpositive associationを示すアリルとnegative associationを示すアリルがある。蛇足ながら、日本人のIDDMの場合、我々のデータではDRB1\*0405がpositive associationを示し、DRB1\*0406がnegative associationを示した。これらのデータより筆者の独断と偏見の意見を言わせてもらえれば、これはDR4のsplit抗原 (DR4.1とDR4.2) でpositive association、negative associationが分けられるのではないかと考えている。すなわち、DR4.1に属するアリルDRB1\*0405、0401、0404、0402はpositive associationでDR4.2に属するアリルDRB1\*0403、0406、0407はnegative associationとなる。となるとこのsplit抗原のepitopeら

しい74番目のアミノ酸 (Ala⇔Glu) が重要となるのであろうか? などと夢想し、なかなか興味深い発表であった。今回はFrenchとMexicanだけアレル解析までなされていた。ワークショップ後参加している他の民族についてのデータ解析が楽しみである。

<Auto antibodies>

今回のワークショップで患者の80%にみられたauto antibodyについていくつかの報告があったので紹介する。

自己抗体 (ICA, GAD, iA2, 37K, P63) が検出されたパーセントは順に50.1%, 53.8%, 38.0%, 30.9%, 21.6%であった。

-DR3, DR4とauto antibodyの関係-

IDDMとpositive associationを示すDR3, DR4とauto antibodyの関係を調べると

Antibody	DR3/4 Negative (221)	DR3/4 Positive (1472)	P値
ICA	34.5%	52.3%	0.0003
GAD	42.6%	57.0%	0.0006
iA2	25.5%	39.7%	0.0003
ICA/GAD/iA2	55.5%	73.0%	0.0002
non Ab.	31.2	26.0%	

DR3またはDR4を保有する患者にauto antibodies (ICA, GAD, iA2) も多く検出された。つぎにauto antibodiesとの関係をDR3, DR4別々に調べると、

DR3	ICA	GAD	iA2	GAD+/iA2-	GAD-/iA2+
positive	45.6%	55.5%	28.6%	41.7%	13.2%
negative	50.2%	51.0%	4.5%*	23.4%*	15.1%

DR3	ICA	GAD	iA2	GAD+/iA2-	GAD-/iA2+
positive	51.6%	60.0%	52.3%	23.2%	20.1%
negative	41.4%*	47.0%*	22.5%*	32.8%	9.9%*

\*: p< 5.0\*

DR3陽性のIDDMはiA2またはGAD陽性iA2陰性と相関し、DR4陽性のIDDMはICA, GAD, iA2またはGAD陰性iA2陽性と相関した。つぎにDR3陰性でDR4アレルとGAD, iA2の相関を調べると

	GAD	iA2
DRB1*0401	57.3	66.3
DRB1*0402	52.3	69.3
DRB1*0405	42.4	61.3

となり、positive associationを示すDR4アレルと両自己抗体は相関があった。

DQB1アレルでpositive (DQB1\*0302)、negative (DQB1\*0602) associationを示すDQB1アレルとiA2抗体の相関は以下のようなであった。

	DQB1X	DQB1*0602	DQB1*0302
iA2 positive	39.6%	35.2%	50.2%

<0.02

つぎにauto antibodyと患者年齢との関係について調べたデータが報告された。

Age	ICA	GAD	iA2
≤14	52.2%	65.3%	66.8%
15-30	53.2%	74.5%	32.0%
≥31	35.6%	53.6%	26.3%

またGAD, ICA, 37kd抗体とpositive association, negative associationを示すDR-DQハプロタイプについての報告があった。

GAD抗体				
DR	DQ	GAD+	GAD-	P
0401	0302	18.4%	11.3%	<0.05
0802	0402	0.5%	3.5%	<0.025
ICA抗体				
DR	DQ	ICA+	ICA-	P
0401	0302	21.8%	6.7%	<0.01
08	0402	2.5%	8.8%	<0.05
37kd抗体				
DR	DQ	37kd+	37kd-	P
0401	0302	26.9	12.7	<0.005

そしてauto antibodyの相互の関係を調べたデータが報告された。患者703例のうちICAまたはGADまたはiA2抗体を保有する患者は全体の69.5%、これら抗体を保有しない患者が27.6%で、これら3種の抗体すべてを保有する患者が20.9%であった。抗体相互の保有率 (%) を以下に示す。これらの結果より、GAD抗体がIDDMの最も良い指標となる抗体であると報告された。

ICA positive	GAD +	iA2 +	20.9%
	GAD -	iA2 +	11.2%
	GAD +	iA2 -	13.1%
	GAD -	iA2 -	4.7%
ICA negative	GAD +	iA2 +	3.3%
	GAD -	iA2 +	16.5%
	GAD +	iA2 -	2.7%
	GAD -	iA2 -	27.6%

IDDMに関して膨大なデータ (ただ人種に偏りがあったのが残念であるが) で興味深いワークショップであり、参加者で溢れていた。

[Unrelated Bone Marrow Transplantation]

Dr. D. Charron : chairman

このワークショップのテーマは「Study validate hierarchies the role of individual and/or combination of molecular assess HLA Region polymorphism gene marker in the qualitative and clinical outcome of un-BMT」で、参加ラボの代表者はB. Bradly, J Hansen/Peterdrof, M JeannetとE Gluckmanであった。研究対象は①1988年1月1日以後の移植例 ②Acute leukemia: AMLのCR1またはALLのCR2③Chronic myelogenous leukemia in first chronic phase (excluding blast crisis >30%) ④患者とドナーのDNAまたはcell lineが保存されているペア ⑤臨床データがわかっているケースとなかなか厳しい条件が付いていた。DNA解析としてclass I, class II, HLA-E and G, DMA and DMB、

TAP1 and TAP2, LMP 2 and 7, HLA Block matching, TNF, TGGE, heteroduplex matchingがなされた。実際の参加数は181ペアで、内訳はAustralia 79例、Belgium 4例、France 65例、Germany 22例、Ireland 9例であった。

HLA-C座タイピングはPCR-RFLPにより163例、TAP1 and 2はPSR-SSOまたはPCR-ARMSにより330例、DM A and BはPCR-SSOにより340例、HLA-EとGはPCR-SSOにより34例、Block matching ( $\alpha$  と  $\beta$ ) は110例検査された。今回解析されていたデータは93組 (62 Australian, 31 French) であり、DNA解析はA, B, DR, DQB1が93例、Cwが82例、TAPが69例、DMが68例、Block matchingで  $\alpha$  matching 28例、 $\beta$  matching 67例、 $\Delta$  matching 49例がなされた。患者の疾患の内訳は以下のとおりである。

Patients		
CML	chronic phase	32
	accelerated phase	15
	unknown	4
ALL	CR 1	11
	CR 2	6
	unknown	3
AML	CR 1	4
	CR 2	1
	unknown	9
	no remission	1
no data		8

—HLA-C locus matchingとGVHD—  
HLA-Cの適合性とGVHDの相関はなかった。以下にデータを示す。

	Cw match	Cw mismatch
GVH (0-1)	27	20
GVH (2-4)	24	16

P=0.08

### <Block matchingとGVHD>

#### —新しいDNA crossmatching法—

Block matchingとはB. Marshall (Dawkinsのグループ)らがMHC領域をancestral haplotype (7.1 AH?)を含む数個のblockに分類した(図5)。このうち $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\Delta$  blockをそれぞれ増幅しドナー・レシピエント間の適合性をみるものである。

$\alpha$  blockとはHLA-A, G, Fが含まれる。

$\beta$  blockとはHLA-B, Cが含まれる。

$\Delta$  blockとはHLA-DRA, DRB, DQA, DQBが含まれる。

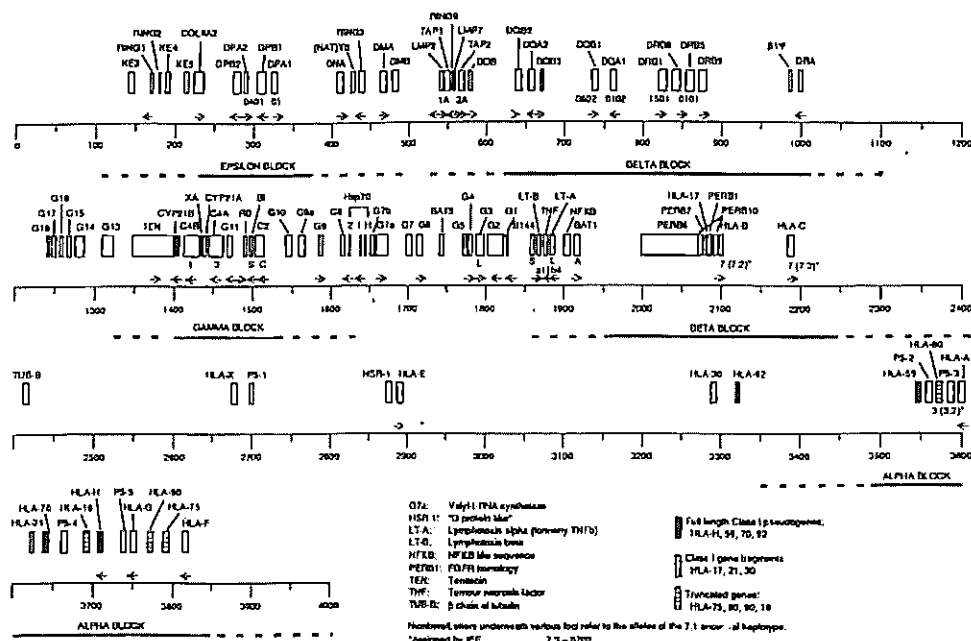


図5. Human major histocompatibility complex. The map of the 7.1 ancestral haplotype (7.1 AH) is shown, including the suggested location of the blocks that constitute this haplotype. The broken lines at the ends of blocks indicate that the exact limits of these blocks have not yet been determined. Arrows beneath the various genes indicate the direction of transcription. (Brendan Marshall et al. Hum. Immunol. 38, 24-29, 1993)



- β block matchingとGVHD -

GVHD	β block different	β block identical
0 - I	12	18
II - IV	18	11
Total	30	29

P=0.09

GVHD	Δblock different	Δblock identical
0 - II	15	17
III - IV	6	2
Total	21	19

ともに現時点でのワークショップデータでは有意な相関はみられなかった。簡単にこのmatching法を説明すると、ドナーとレシピエントの各block (かなり長い領域)を増幅し、増幅産物(プライマーに蛍光色素が付いている)をGenescannerにかけて解析する。これはオーストラリアで開発された方法であり、後にオーストラリア独自のデータ発表でも報告された。

<DMやTAPとGVHDの相関>

結論は今でているワークショップデータではどちらも相関はなかった。以下にデータを示す。

DM (n=65)		
GVHD	DM different	DM identical
0 - I	19	18
II - IV	14	14
Total	33	32

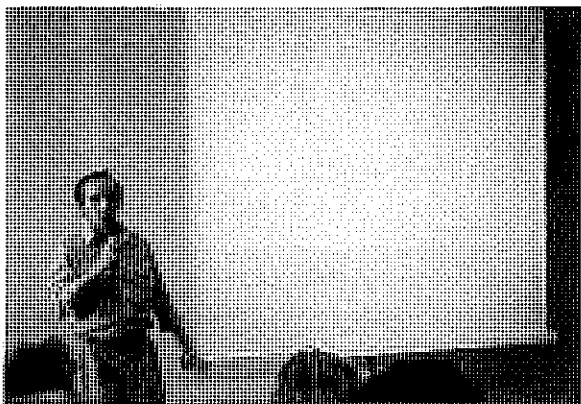
P=0.09

TAP 1 and 2 (n=57)		
GVHD	TAP identical	TAP different
0 - I	22	15
II - IV	12	18
Total	34	23

P=0.28

-Australian unrelated BMT- Jim. McCluskey  
アデレード血液センターのMcCluskeyにより報告された。

Australiaの非血縁間骨髄移植のためのドナーリクルートメントは1991年よりはじめられ、現在の登録ドナーは85,000である。1995年になされた移植は108例であり、これらの患者疾患はワークショップの基準よりも広い基準のものも含まれる。移植成績をengraftmentとGVHDで示す。



Dr. Jim McCluskeyの研究室に於いて撮影。

Engraftment	GVHD		
	Acute		Chronic
N=73	N=62		N=62
No	5%	No	16%
uncertain	14%	Grade 1	30%
Yes	81%	2	23%
mean time	22days	3	10%
		4	21%

次にclass IIの適合度を示す。DQA typingはほとんどが適合しているためデータにはならなかった。DQBのmismatchはDRB1が適合している場合でも起こった(DR4やDR7のハプロタイプの場合)。

5/79 (6%)	DRB1 mismatch
3/79 (4%)	DRB3 mismatch
7/79 (9%)	DQB1 mismatch
1/79	DQA1 mismatch
11/79 (14%)	DRB1 and/or DQB1 mismatch
75%	HLA-A、B、DRB1、DQB1 match

class Iの適合度は79例中12例がHLA-A and/or HLA-Bのmismatchであった。以下にclass Iの適合度を示す。

HLA-class I mismatch				
N=79	HLA-A	B	C	A-B-C
known	2*	2**	-	
unknown	6	4	20	
	8 (10%)	6 (8%)	20 (25%)	28 (35%)

\*: A10 vs A28、A3 vs A24

\*\* : B38 vs B39、B27 vs B40

9例のunknown mismatch (1例はAとBがmismatch : unknownは血清学では適合)のclass I alleleを調べると以下のような結果であった。

4例	A2 subtypes	A*0201 vs A*0205
1例	A2&B40 subtypes	A*0201 vs A*0203
		B*4001 vs B*400N
1例	B44 subtype	B*4403 vs B*4405
1例	B40 subtype	B*4001 vs B*4002
1例	B41 subtype	B*4102 vs B*4101
2例		さらに詳しいDNA解析が必要

HLA-class I、IIの適合度とGVHDの関係を調べると、HLA-A、B、DR、DQの適合度とGVHDとは相関がなかった。HLA-Cの適合度は少し影響があった。HLA-DPの適合度はGVHDと相関があった。

<まとめ>

HLA-A B DR DQの適合度はacute GVHDにはあまり影響を与えず、HLA-DPの適合度が重要であった。全移植例で15%がHLA-A and B不適合、25%がHLA-C不適合、92%がHLA-DP不適合であった。今回HLA-DPの適合度が重要であるというデータが得られたが、もっと例数を増やし、このデータを確認する必要がある。最後にオーストラリアのBMTシステムではサンプルも移植成績を得るにもお金が必要である。このような研究は研究費用が大変であるとのことであった (ジムさん苦笑

い)。シャロンさん、それに答えて、ワークショップ本部にはお金は無い。ジム！君の意欲的な仕事は素晴らしいし、このワークショップもそれに頼っている、ついでに「君の親切さ」にも頼ることにするよ。よろしくねとのことでした。いやはや世界はいろいろ、しかしこのたぐいのデータは値千金なのではないか？計画は素晴らしいワークショップですが、データが集まらなかったのはこのあたりに原因があるのでしょうか？データを得るにかかせない患者とドナーのメリットはなにか？と考えさせられた。

＜新しいDNA crossmatching法＞

今回2つのDNAクロスマッチ法が紹介された。

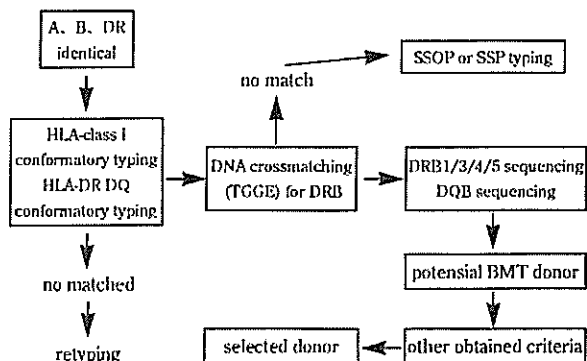
—TGGE method— M. Uhrberg—Dusseldorf 発

ドイツのUhrbergによりTGGE (temperature gradient gel electrophoresis) によるDNAクロスマッチング法が紹介された。これは方法とその利用法の紹介で、ワークショップデータは後日データブックで紹介されるとのことであった(まだすべてのテストが済んでいないとのことである)。

TGGEの原理：

ポリアクリルアミドゲルに温度のグラディエントを作る泳動装置を用い、ドナーとレシピエントのDRB領域を増幅した増幅産物を泳動する。おのおのの座(DRB1、DRB3、DRB4、DRB5)のアリルがそれぞれのmelting pointでゲル内で特有のDNA conformationを作る。このDNAを銀染色により検出し、ドナー・レシピエント・ドナーとレシピエントの混合物のパターンを比較する。適合の場合は同じバンドパターンが見られ、不適合の場合はmismatchバンドが見られる。不適合の検出率は99%以上と考えられる。ドイツではこのクロスマッチ法を非血縁間骨髄移植ドナーの検索に次に示すような手順で利用していると報告された。

Strategy for the selection of URBMT



—block matching— FT. Christiansen—Australia発

オーストラリアのChristiansenによりblock matchingについての報告があった。

Block matchingについては、このsessionのはじめに説明した。このワークショップで同一ペアにつきblock matchingを行った施設はオーストラリア(Perth)とパリとライデンの3カ所であった。この3施設のデータの一致率を比較した結果を以下に示す。

	β blocking match			Δ blocking match	
	Liden or Paris			Liden or Paris	
Perth	same	different	Perth	same	different
same	39	4	same	11	1
different	0	44	different	0	13

3施設のデータが完全一致ではないが、よい相関を示している。つぎにblock matchingと生存率の相関およびΔ block matchingとHLA matchingとの相関についてのデータを示す。

—β and Δ block matchingと生存率—

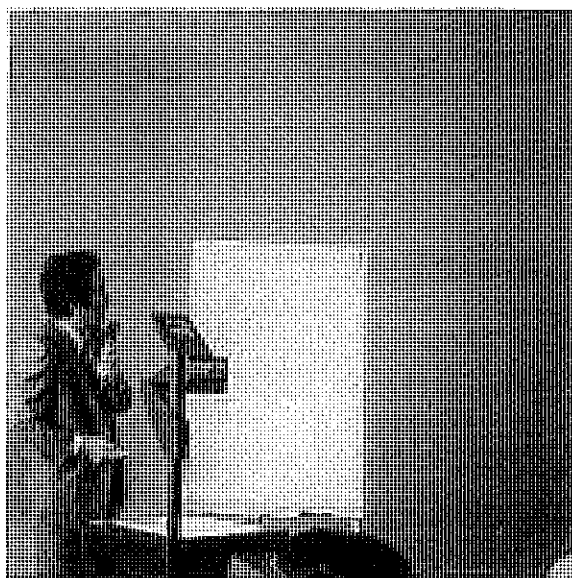
survival	β and Δ block matching	
	Matched (both)	Mismatched (or)
Yes	19	22
No	17	58

P=0.008

—Δ matchingとHLA-DR+DQ allele matching—

HLA-DR, DQ allele matching	Δ block matching	
	same	different
Matched	35	23
Mismatched	0	14

つぎにchairmanは今回得られたデータ(おもにヨーロッパとオーストラリア)が日本やアメリカのデータとは異なるため、ちょうど出席されていたDr. Jujiに日本の現状についてのコメントが求められた。以下にDr.

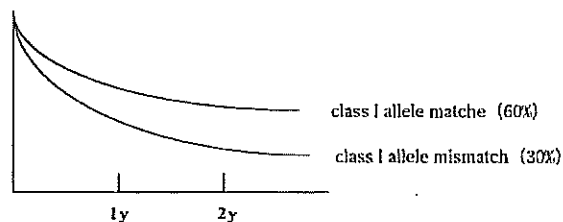


Dr. Juji 講演討論

ドミニク シャロンの要請に応じて“日本のBMTについて語る”

Jujiのコメントを述べる。

日本の非血縁間骨髄移植ではHLA-class I alleleの適合性と生存率に相関があり、特に3種の抗原(A2、A26、B61)のsubtypeの適合性が重要である。これらのアリル検査にはPCR-MPH法を用い検査しつつある。



その他のdiscussionはMLCの有用性についての質問があった。これについてはMLCテストは良い方法ではあるが、GVHDの予知能力がある検査法としては適せず、CTLpテストがHLA-class Iの適合性やminor histocompatibility antigensの適合性も検出できる良い方法であるとchairmanからコメントされた。また同時にこのワークショップについてはポストワークショップが必要であると付け加えられた。やはり準備不足であったことはchairmanも認められたようである。

[Technical Componentsより]

<HLA-class I SSOP typing report>

使用されたプローブはA locus 24、B locus 38、C locus 26で計88種である。ResolutionはARMS kitと同程度である。2,000検体について検査された結果、primerに問題があり、class IIに比べclass I typingの難しさが判ったと報告された。

<Reverse Dot Blot with sequence-specific Probe>-by H. Erlich

ロッシュのErlichによりStripに51種のプローブを固定したHLA-class I typing kitが紹介された。これは検査の全工程を機械でできるように設計されている。

使用されているStripはリトマス試験紙のようでpositive control用のプローブと51種の同定用プローブがついている。

Strip = 

今回のワークショップで2~3のプローブが不安定であることがわかりすぐに改良を加えると報告された。またこの方法はhighからlowまでいろんなresolutionでtypingすることが可能であり、結果のreadingもスキャナーが用いられるため、自動判定もでき多数検体から小数検体まで対応できる方法であると報告された。スライドをみているかぎり便利な方法と思えた。

<Class II PCR-SSOP>

Class II PCR-SSOPの方法は基本的に11thに従い行われた。変更点は次の5項目である。

1. DRBのprimerの5'primerをDRB6、7をも増幅するprimerを使用した。
2. Group specific reverse primer pairs (DBR86 AMP-G/V、DPBAMP-E/F)を使用した。
3. DR2-DRB5 specific amplificationを行ない、DR2、DRB5のalleleを決めた。
4. DRB4 specific amplificationを行ない、DRB4 alleleを決めた。
5. DQA1の exon 1と2を増幅し、DQA1\*0101とDQA1\*0104およびDQA1\*0301とDQA1\*0302を区別した。

以上のように変更され増加したプローブの数は282となり11th IHW (115)に比べ165増加した。Alleleの増加に伴いプローブも増加の一途をたどっている。

<SBT typing>

—究極のDNA typing法—sequence based typing

このワークショップでは主にheterozygoteのtypingについて検討された。

3種類のシーケンサーを用い、各遺伝子座のtyping法がSBT technical handbookに従い検討された。もっとも問題になった点はheterozygoteのtyping法である。すなわちMultisequence analysisを行うため、どのようなソフトウェア、シーケンスシステムを使用すべきかであった。今のところTaq-FSを使用したシーケンスでABIのシステムがもっともわかりやすいピークを示していた。ただheterozygoteの場合class I、II共にアリの組み合わせにより決定できない場合がある。すなわち塩基配列の類似によりどちらの組み合わせのalleleとでも判定できる場合である。以下にその組み合わせ又はその数を示す。

—Class I SBT exon 2 and 3の場合—

Locus	Number of alleles	Identical alleles	Ambiguous allele pairs
A	58	A*0207-A*0215 A*31011-A*31012	A*0210/0205-A*0202/0206
B	126	B*1512-1519 B*39011-39013 B*40011-40012	117 pairs
C	35	C*12021-12022	none

—class II SBT exon 2の場合—

Locus	Number of alleles	Identical alleles	Ambiguous allele pairs
DPB1	65	2	178
DPA1	8	0	0
DQB1	25	2	4
DRB1	135	0	865
DRB3	5	0	0
DRB4	3	2	0
DRB5	6	2	0

—DRB1 group specific amplification—

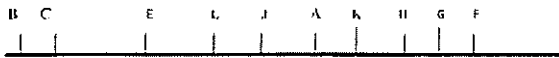
Locus	Number of alleles	Identical alleles	Ambiguous allele pairs
DR1	4	0	0
DR2	13	0	10
DR4	24	0	64
DR7 or 9	3	0	0
DR3/5/6/8	90	8	395
DR10	1	0	0

このようにheterozygoteの場合判別がつかないアリの組み合わせがある。今のところSBTのreference techniqueがあるのはDRとDPで他の座についてはまだ経験が少なくreferenceとなるものが無い。またDR、DPはsenseまたはanti-senseのsequenceが良いがDQB、DQA、class Iは両方向からのsequenceが必要である。今後の課題は患者のSBTをできるようにすること。Primerの設計を検討すること。Heterozygoteになっている塩基配列の位置を認識する方法や判別がつかないアリの組み合わせを判別する新しい対策をみつけることである。

SBTほど確実なタイピング法はないと考えていた筆者は、これらの報告を聞き、どのような方法も完全無欠な方法はないものだと適合検査における確認テストの必要性を感じた。

[New Class I Genes] — A. Arnaiz-Villena  
<HLA-Gについて>

HLA-class I Region



- \* A B C — classical HLA class I
- \* F G E — non classical HLA class I
- \* H K J L — pseudogenes

HLA-Gの多型は31と110番のアミノ酸にみられる。これらのpositionはペプチドの結合部位でもなく、TCRの接触部位でもない。よってこの分子の多型の機能はまだ不明である。以下にいままで知られている多型を示す。

	31	57	93	107	110
01011/0102	ACG	CCG	CAC	CCA	CTC
01012	---	--A	--T	---	---
01013	---	--A	---	--T	---
0103	T--	---	---	---	---
0104	---	--A	---	---	A--
	Thr→Ser	Pro	His	Gly	Leu→Ile

変異部位をリボンダイアグラムで示す(図6)。01011と0102は5', 3' translated region以外は塩基配列が同一である。

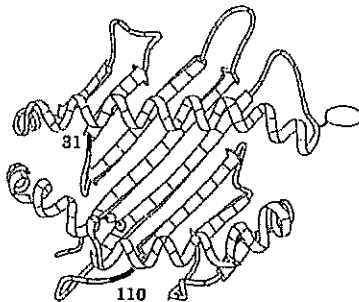
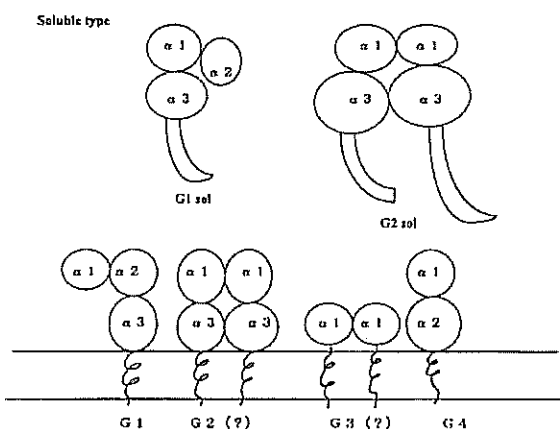


図6. HLA-Gのアミノ酸変異部位

HLA-Gには6種のisoformがある。Isoformの模式図を以下に示す。



α1はおそらくすべてのisoformにみられることから functional domain と考えられる。またGは抗原提示機能のある分子ではない。

参加施設は14で、このワークショップの目的はHLA-

G多型性のCaucasian、Oriental、Negroidのアリル頻度とHLA-A、B、C座との連鎖不平衡を調べ、新しいアリの塩基配列を決めることである。

— HLA-G allele Frequency (%) —

	Spaniard n=59	Italian n=46	Hungarian n=70	Danish n=100	French n=18	French n=24
G*01011	79.6	67.4	65.7	6.5	83.3	66.7
01012	81.4	71.7	21.4	6.2	61.1	66.7
01013	6.8	17.4	75.7	1.4	11.0	16.7
0103	3.4	4.3	0	0	0	0

G\*0104はDr. Jujiにより発見されたアリルでこのアリルを含めSpaniardとItalianのアリル頻度を調べると以下のような結果が得られた。

	Spaniards n=59	Italians n=46
G*01011	79.6	67.4
01012	61.0	56.5
01013	6.8	3.4
0103	3.4	4.3
0104	23.7	23.9

G\*0104はG\*01012に含まれていたことが判った。つぎにOrientalのHLA-G alleleの頻度を示す。

	Thai Chinese n=40	Chinese n=28	Japanese n=35
G*01011	52.5	64.2	45.7
01012	40.0	35.7	11.4
01013	47.5	28.5	8.6
0103	0	0	0
0104	40.0	32.1	80.0

Total allele Frequencyを次に示す。

— HLA-G allele frequency —

	Caucasoid n=299	Oriental n=161	Asian Indian n=30	Negroid n=24
G*01011	70.5	54.0	53.3	79.2
01012	57.9	75.1	93.3	79.2
01013	27.4	32.9	40.0	12.5
0103	1.3	0.0	0.0	0.0

次にHLA-A座との連鎖不平衡を示す。どの人種もよく似た連鎖不平衡があった。

- HLA-G\*01011—A2 — All populations
- HLA-G\*01012—A1 — Spanish only
- HLA-G\*01012—A2 — Spanish only
- HLA-G\*01012—A26 — Spanish only
- HLA-G\*01013—A11 — Not in Hungarians
- HLA-G\*0103—A33 — Spanish only
- HLA-G\*0104—A24 — Not in Chinese

またHLA-Eについてのallele頻度も検査されていたので、データを示す。

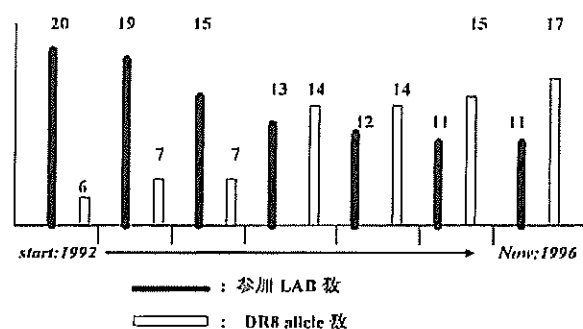
— HLA-E allele frequency —

alleles	Caucasian n=249	Oriental n=153	Asian Indian n=30	Negroid n=24
E*0101	76.4	71.5	74.2	75.0
0102	9.6	5.3	0.0	0.0
0103	54.6	45.0	45.7	37.5
0104	14.9	52.3	34.2	33.3
N1	0.4	0.6	0.0	0.0
N2	0.4	0.6	0.0	0.0
N3	0.4	9.2	5.7	12.5
N4	0.4	0.0	0.0	0.0
N5	0.4	0.0	0.0	0.0

[AHS 17 Report]

—The funniest report in all of AHS reports—

HLA-class IIのAHS reportのなかで最もウイットのきいたリポートを紹介する。それはDr. A. Amorosoによるリポートで、はじめに「The evolution of AHS#17 (DR8)」のタイトルでワークショップ開始以来この会議が開催されるまでの約4年間のAHS#17への参加ラボ数とHLA-DR8 alleleの増加数の推移を比較したグラフが示された。



このグラフから新しいalleleの増加（シーケンスによる確認）に伴いワークショップ（同じチームで行う共同作業）に参加する人が減少している。筆者の独断と偏見かもしれないが、これは端的に時代（ワークショップ）の移り変わりをあらわしていると思う。なぜなら11thおよびそれ以前では新しい抗原はワークショップに参加し世界的に認められ、はじめて公的な名前が付けられるシステムであった。11th以後、シーケンスも盛んになり、新しい抗原の塩基配列さえ決めれば新しいallele名がつけられる。よって新しい抗原（allele）の発見者たちのワークショップに対する興味が半減してしまったのかもしれない。この世界的な共同作業であるワークショップの意義も新時代を迎えようとしていることが感じられた。

このAHSへの提出血清数はアロ抗体16本、モノクロナール抗体10本の計26本であった。またexchange DNAとして39種のDNAが参加ラボに配布されていた。配布DNAの種類はhaplotype検索用12例、new allele検索用11例、残り15例であった。DR8 alleleの変異コドンのリストを示す。

Codon	12	32	36	37	57	60	67	74	85	86	90
0801	ACG	TAT	GAG	TAC	AGC	TAC	TTC	CTG	GTT	GGT	***
08022	---	---	---	---	GAT	---	---	---	---	---	ACG
08022	---	---	---	---	GAT	---	---	---	---	---	ACA
08031	---	---	GAA	---	---	---	ATC	---	---	---	ACA
08032	---	---	---	---	---	---	ATC	---	---	---	ACA
08041	---	---	---	---	GAT	---	---	---	---	---	GTG
08042	---	---	---	---	GAT	---	---	---	---	---	GTT
0805	---	---	---	---	---	---	---	GCG	---	---	***
0806	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	GTG
0807	---	---	---	---	GTT	---	---	---	---	---	ACG
0808	---	---	---	---	GCT	CAC	---	---	---	---	***
0809	---	CAT	---	TTC	GAT	---	---	---	---	---	***
0810	---	---	---	---	---	---	ATC	---	---	---	GTG
0811	---	---	---	---	GCT	---	---	---	---	---	ACG
0812	---	---	---	---	---	---	ATC	---	GCT	(7G)	ACA
0813	---	---	---	---	GAT	---	CTC	---	---	---	***
0814	AGG	---	---	---	---	---	ATC	---	---	---	ACA

今回のPCR-SSOPのプロープではDRB1\*08021と08022、DRB1\*0808と0811は区別できない。またDRB1\*0814も検出できなかった。

<DNA解析>

Exchange DNAのタイピング結果、参加ラボ間の一致率は良かったが、7例の不一致が検出された。おもな不一致例はDRB1\*0802 vs. DRB1\*0804であった。

DR8 alleleのハプロタイプ解析：今回のワークショップにはDRB1\*0812、0813、0814は提出されていないので、これらのデータについては解析できなかった。検出されたハプロタイプを示す。

DRB1	DQA1	DQB1	Number	Comment
0801	0401	0402	20	
0801	0301	0302	3	
0802	0401	0402	196	
0802	0301	0302	7	Japanese
0802	0102	0502	1	
08031	0103	0601	33	Japanese
0803	0601	0301	6	
08032	0103	0601	1	
08041	0401	0402	11	
0804	0501	0301	9	
0804	0401	0301	6	
805	?	?		
0806	0102	0602	3	
0807	0401	0402	2	Brazil
0808	n.l.	0402	1	Ethiopia
0809	0401	0402	1	Japanese
0810	0102	0402	1	Japanese
0811	0401	0402	1	Native American

発表スライドのまま記載、08032の存在については問題がある。

<AHS#18 HLA-DP>

—Dr. Tongio, Allele typingの精度評価—

HLA-DPのワークショップではTechniqueとして、つぎの3種類が行われた。

- Molecular Biology DPA1\* : PCR-SSO Dynal kit

- Molecular Biology DPB1\* : PCR-SSO  
Inno-Lipa kit  
PCR-RFLP  
PCR-SBT
- Serology  
Monoclonal antibodies — FACs analysis  
Human allo sera — LCT  
MAILA

—Molecular Biology DPB1\*—

このテーマへの参加施設は28あり、20施設はPCR-SSOを行い、23施設がInno-Lipa kit (reverse dot hybridization) を、8施設がPCR-RFLPを行った。28施設すべてがPCR-SBTのためのDNA (それぞれの施設でDNA typing済み) を送り、TitanusやInokoによりSBT-typingがなされた。提出DNAの総数は531で、374がPCR-SSOで、415がInno-Lipaで、149がPCR-RFLPで、490がPCR-SBTでタイプされた。これらのデータから各タイピング法の精度が評価された。

<Inno-Lipa法とPCR-SBTを比較して>

総検査数	413
相違数	30
Inno-Lipaによる誤判定率	7.5%

<PCR-SSOとInno-Lipaを比較して>

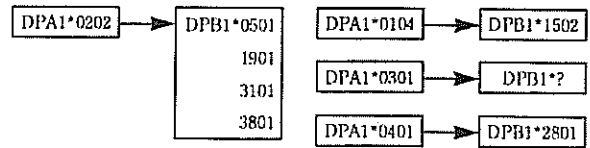
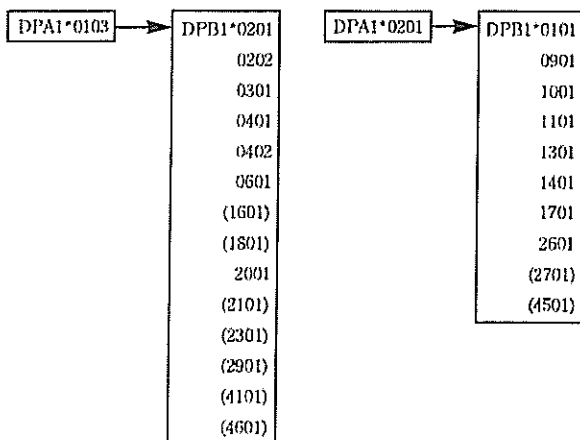
PCR-SSOとInno-Lipaを比較するとPCR-SSOで増幅できなかったDNAが2例あった。Inno-Lipaで2例の新しいallelesを検出できたが、PCR-SSOではできなかった。PCR-SSOのプロープ34種の評価をすると、20プロープは良い結果が得られ、5プロープは評価することができず、9プロープはよくない結果であった。この9プロープのうち、6プロープは多くの参加施設がよくない結果であったが、3プロープについては特定の施設のデータが悪かった。

<PCR-RFLPとPCR-SBTを比較して>

総検査数	149
相違数	27
PCR-RFLPによる誤判定率	18%

PCR-RFLPの誤判定は3施設が37%で2施設が4%であった。エラー率が高い施設の原因は酵素の不良であった。

—HLA-DPB1とDPA1の連鎖不平衡について—  
HLA-DPA1とDPB1の連鎖不平衡が高い組合せを示す。



( ) : only few cases analysis

<New alleles>

以下に示すアリルが今回検出できた新しいアリルであった。

DPB1\*5901 (0201/4501 or 1001/New)

: 発端者が家族の一員でこの家族は0201も4501も保有しなかった。

6501 (01011/0401 or 01011/New)

: PCR-SBTでnew alleleと確認、PCR-RFLP、Inno-Lipaでは01011/0401とタイプされていた。

6801 (0402/0801 or 0202/6801)

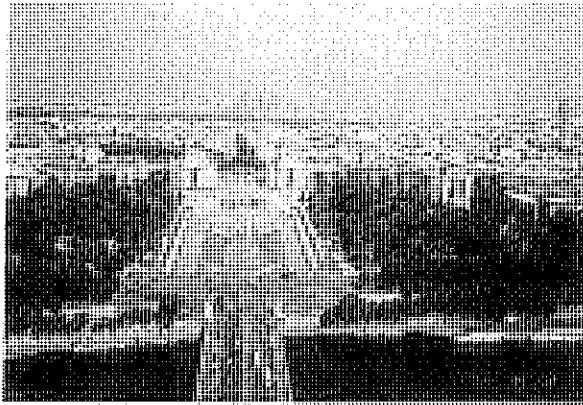
: 参加ラボの殆どが0402/0801とタイプしたが1施設のみタイプが違い、詳しく調べた結果0202/6801と判定された。

—ワークショップに参加して—

ワークショップの間、参加者全員が大ホールに集まり円卓を囲んで会話を楽しみながら昼食をとった。会議時間内ではできなかった討論の続きや、共同研究の計画などが話し合われていた。筆者はこの時間を利用して、各国の研究者に「何を目的にこのワークショップに参加しているのか」と尋ねてみた。ヨーロッパやアメリカ、一部のアジアなど比較的技術レベルの高い国の研究者は、世界的なDNA allele頻度を知ることおよび臨床的に重要なalleleの検索であった。またHLA以外のMHC分子に対する興味も深く免疫現象をMHC遺伝子全体の関わりで考えてゆく方向性が感じられた。技術レベルがルーチン的なDNAタイピングにまでいたっていない国ではDNA typingの方法論についての情報収集が主な目的であった。ポーランドの友人イボンヌは「Eurotransplantに加入するためにはDNAタイピングが必須だから・・・」と話していた。さらに血清学でのみタイピングをしている国では抗血清の交換先の検索と最新情報の吸収が目的であった。ロシアのセントペテルスブルグのラボから交換用血清リストを手渡された。この分野の世界の技術・知識水準はDNA typingということだけでもバラバラであった。日本は確かに世界のトップクラスで研究している施設が多いと感じられた。そしてこの国際ワークショップをきっかけに世界の平均的な技術レベルも向上するであろうし、これもひとつのワークショップの意味なのかもしれないと感じた。

## Conference Report Paris, June 9-12, 1996

Charronのopening/welcomeではこのconferenceに1,200人の出席者があり、900のabstractの提出があった。そのうち250がoral presentationされ、テーマはHLA diversity: Anthropology: HLA and Diseases: Antigen

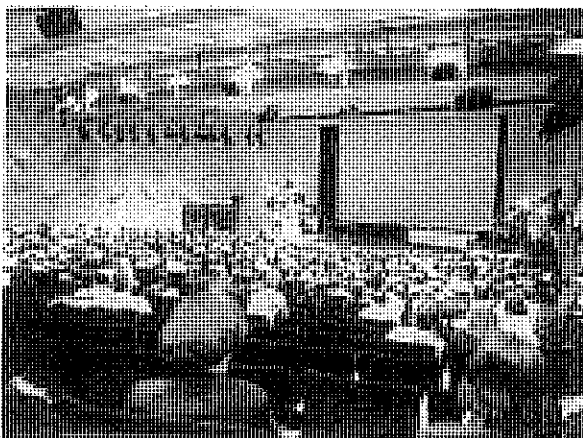


エッフェル塔からの眺め

右上いちだんと高いビル（コンコルドラファイエット）のふもとにある。エッフェル塔から写す。手前にセヌ川、左上にプロニュの森、その向こうに副都心



Palais des Congrès (会場) の外観



Palais des Congrès (会場) の様子

processing: Transplantation: New HLA region genes and markers: Reproductive Immunology: Modulation of HLA: HLA and cancerなどHLAがかかわる多種多様な分野を含んでいると説明された。また特別講演 (opening lecture, special lecture, plenary lecture) もデラックスで世界の著名な研究者による講演が16題あった。そのうちの数例について報告する。以下にこの期間中に行われた特別講演のリストを示す。

- Evolutionary diversity of HLA genes and molecules  
P. Parham (Stanford, USA)
- Ir genes from Biology to Medicine  
HO. McDevitt (Stanford, USA)
- Organisation and New Genes of the HLA region  
J. Trowsdale (London, UK)
- Three Dimensional structure of the Trimolecular Complex  
D. Garboczi (Cambridge, UK)
- Regulation of HLA expression  
B. Mach (Geneva, CH)
- Self and non Self peptides associated with HLA molecules  
H. Rammensee (Heidelberg, D)
- Nature of the minor histocompatibility antigens  
E. Goulmy (Leiden, NL)
- NK alloantigens and receptors  
L. Lanier (Palo Alto, USA)
- Assembly and traffic of HLA molecules  
H. Ploegh (Cambridge, UK)
- Antigen presentation: implications for autoimmunity  
J. McCluskey (Adelaide, AUS)
- HLA class II molecules in cell activation and apoptosis  
N. Mooney (Paris, F)
- Role of H2/HLA in experimental tumor control  
K. Karre (Stockholm, S)
- Strategies and future of HLA matching in Organ Transplantation  
G. Opelz (Heidelberg, D)
- HLA Biology in Haematopoietic stem cell transplantation  
J. Hansen (Seattle, USA)  
J. Hansen (Seattle, USA)
- Role of HLA in anti-tumor response and therapy  
T. Boon (Bruxelles, B)
- MHC transgenics in positive and negative selection of the T cell repertoire  
T. Sasazuki (Fukuoka, J)

#### Evolutionary diversity of HLA genes and molecules P. Parham (Stanford, USA)

Opening LectureはスタンフォードのParham (多くのHLA-class I allele sequenceを行ったことで有名) によるHLA遺伝子とその分子の進化による多様性についてであった。ChairmanであるE. Albertが講演内容をHLAのすべてのシーケンスについて、その分子の進化および機能についての話しをすると紹介をした。Parhamは冒頭でこの講演をするいきさつについて話した。私がCharron教授に初めて会ったのは1980年で、彼は私の研究に非常に興味を持ってくださった。ところがわたくしは彼をがっかりさせることばかりこの16年の間してきたような気がする。1987年のワークショップで私のはじめて講演をしたが、スライドの映写も悪くとてもまずい講演をしてしまった。そのとき彼が私の講演を聞いて、「ピーター、きみは神経質すぎるよ」といった。きっと私はその時も彼をがっかりさせたのだと思う。じつは今朝もとても神経質になっているのです。そして昨年のヨーロッパimmunogenetics

会議で、この会議で講演をするように彼から言われたのです。「なにか新しいことで、HLA分子の進化について話し続けるのはもうやめろよ」とドミニクは注文を付けたのです。だからエッケハルト (albert) あなたの要望とは違った講演を試みようとしているのです。私



オープニングレクチャーをするDr.P.Parham  
ネクタイをつけてスピーチ



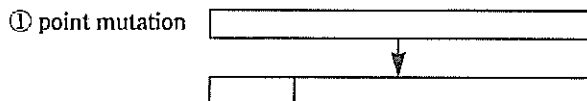
Dr.P.ParhamとDr.K.Tokunaga  
discussion:null alleleについて情報交換中  
Parham ノーネクタイに注意

の講演に新しいエッセンスを加えるにはまずネクタイをしめて服装から変えてそして方向性を変えなければ・・・と (笑い:なるほどピーターはネクタイを付けていた。11thのときタイをしていなかったかは忘れましたが)、アメリカ人らしくジョークをまじえながら講演が始まった。

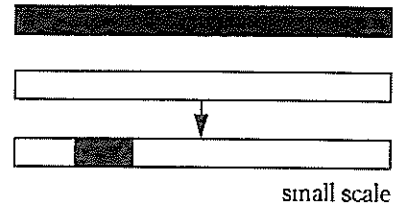
我々の研究の1つの面の話しをする。そして研究の方向性を本当に変えるにはさらに4年間この遺伝子と戦わなければならないと思う。

[The first aspect] - null 遺伝子とは何者 -

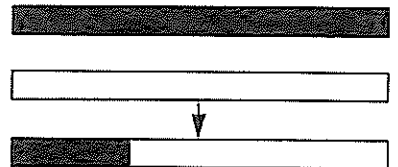
最近の10年間、HLA-class I の新しい遺伝子ができるメカニズムを追求してきた。いろいろな人種のHLA-class Iのシーケンスをし比較した結果、HLA-class Iの新しい遺伝子ができる様式には次の3通りがあることがわかった。



② gene conversion



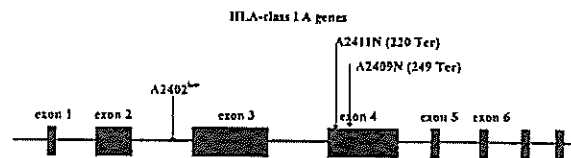
③ large scale gene conversion : single or double conversion, recombination



しかしこれらはただの現象にしかすぎずメカニズムではないことに気付いた。そして新しいHLA遺伝子ができるメカニズムを探るために膨大な研究を最近の4年間以下に示すの仲間といっしょに始めた。

1. Derek Middleton Stanford
2. Jim McCluskey Australia
3. X. Gao Cambera

当時DNA typing法にも興味もたれ、多くのDNA typingもなされていた。そこでGenotype (allele type) とPhenotype (serological Antigen) を比較することを始めた。そして血清学でホモザイゴウトにみえるが遺伝子ではヘテロザイゴウトであるケースを検索した。DerekはホモザイゴウトセルからA24 nullを見つけ、JimはA24/-をスクリーニングしA24の細胞表面への発現が少ないタイプを発見した。またフランスのDr. Tongioもおなじものを見つけた。その結果HLA-A座に3種のnull alleleが発見された。



遺伝子はあるが機能のないものをどのように研究してゆくかについてアイデアはまったくなく、単純な方法で研究しはじめた。シーケンスエラーに十分注意しながら、HLA-A2402と上記3種のnull DNAのシーケンスをした。驚いたことにこれらすべて同じalleleからのpoint mutationであった。A2409Nはexon 4でpoint mutationによるstop codonを形成し、A2411Nは同じくexon 4でnucleotid insertionによりreading frameが変化しstop codonができていた。A2409NやA2411NはDerekが5,000例中7例見つけている。JimやDr. Tongionにより見つけられたA2402\*\*はintronに変異がありその影響で抗原が通常の約1%しか細胞表面に発現されていない。A\*2409NはA\*2402のone point mutationであるがその他のA\*2411NやA\*2402\*\*はHLA-JやL (pseudogene) とA\*2402のgene conversionとも考えられる。またこれらのRNA



量を調べるとA\*2409N、A\*2411Nは検出できず、A\*2402<sup>h</sup>はごく少量が検出された。このようにほんの1塩基置換で機能が違ってしまふような変異はどのような影響を与えるのであろうか。抗原提示やTCRへの影響は強いものではないが移植の適合性には強烈な影響を与えると考えられる。これらのタイピングを可能にし移植の適合性を高めたい。その他このようなnull alleleはDr. JujiのA2 null、LeidenのA1 nullやJimのA3 nullが見つけれられている。興味深いことは多くの変異はexon 4で起こっており、そのうちDr. Jujiの発見したA2 null allele、A2\*0215Nは3'側で他の2つは5'側で起し、A2\*0215NはmRNAが検出できるが他の2つはできなかったことである。ではどうしてnull alleleの発見がA座に多くB座に少ないのが疑問となる。A座 allele数がB座allele数に比べ少ないことからA座の多様性がこれから増加することを示しているとも考えられる。よってnull alleleは新しいalleleができる移行期の状態かも知れない。

[The second aspect]

—チンパンジーのMHCとdisease association

つぎにチンパンジーのMHCを交えた話しをする。数年間私はチンパンジーのclass I, II geneを調べることをしてきた。何故かというチンパンジーはもっとも人に近いからである。そして人の新しいclass I alleleができるメカニズムを知るためには良いモデルになると考えたからである。ちょうどカイロン社 (Chris Walkerら) がチンパンジーを使ったC型肝炎ウイルスワクチンの開発研究を行っており、共同研究をした。チンパンジーは人と同様にC型肝炎にかかる。そしてチンパンジーのMHCと感染の相関を調べると、以下のデータのように、Pater-B\*17との相関がみられた。この抗原は人のHLA-B73に似た抗原である。

	Chronic Infection	Acute Infection	No Infection
Total	16	4	5
Patr-B*17	2	4	0

つぎにacute Infectionをおこしたチンパンジーのgenotypeを示す。

Chimpanzee	Alleles		
	A locus	B locus	C locus
Eve	Patr-A*0601	Patr-B*1702	Patr-C*0601
	Patr-A*1501	Patr-B*0101	Patr-C*0701
Miss Eve	Patr-A*1601	Patr-B*1703	Patr-C*0901
		Patr-B*1801	Patr-C*1001
Jena	Patr-A*0201	Patr-B*1701	Patr-C*0801
		Patr-B*0601	Patr-C*0801
Todd	Patr-A*0402	Patr-B*1701	Patr-C*0601
	Patr-A*0601	Patr-B*2001	Patr-C*1201

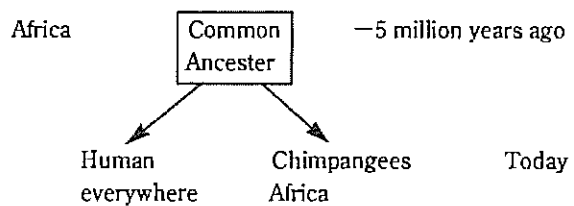
4匹ともほとんどのlocusがヘテロサイゴートであり、すべてがB17のalleleを保有している。ただし単一のalleleではなく、3種あるが、数が多いB\*1701がCTLを誘導していると考えた。これが我々の新しい発見である。

Patr-B\*17 alleleのアミノ酸配列でこのグループに特異的なアミノ酸は $\alpha 1$ 、 $\alpha 2$ 、 $\alpha 3$ およびTM domainにあり、allele間での違いは $\alpha 1$  domainにあった。特に注目してもらいたいのは、 $\alpha 2$ の129番目がプロリンであることで、これは特に特徴的な構造である。我々はこれに結合するペプチドが非常に特異的なものだろうと期待した。そしてモチーフを調べたがあまり特異的なものはなく人間とよく似ていた。

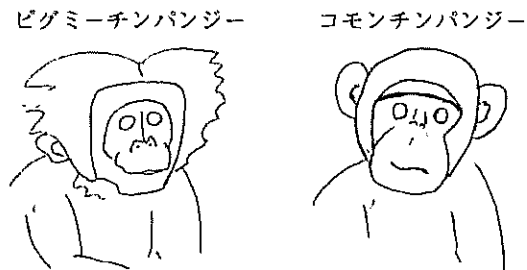
Epitope		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
		G	A	V	Q	N	E	I	T	L	
Motif	DOMINANT	A								L	
	STRONG			F	P	V	I				
				V	R	F					
				V	K	N					
						T					

[The third aspect]

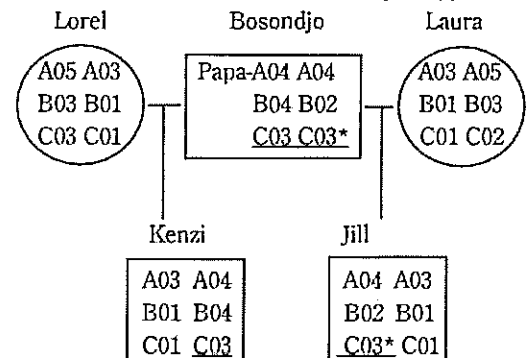
—人とチンパンジーの遺伝子が語ること—



人とチンパンジーの遺伝子配列やモチーフの比較調査からお互いに類似点があることがわかった。これらはおよそ五百万年前に分岐し今日に至っている。おそらくまったく同じタンパクを保持しているalleleは人とチンパンジーの間には存在しない。違った種の間でおなじalleleの存在はいままで経験がなかった。しかし最近、チンパンジーの2種 (ピグミーチンパンジーとコモントチンパンジー) のなかで同一のタンパクを持つalleleを発見した。



ピグミーチンパンジーの家系図およびgenotypeを示す。



この家系図のBosonjoのgenotypeからもわかるように、A座やC座がホモザイゴウトであってもB座はヘテロザイゴウトである。すなわちB座はすでに多様性に富み、つぎにA座でC座の進化はまだ進んでいないことがわかる。アメリカインディアンの研究からも同じ現象を見つけている（筆者註：Parham et al.: Science, 272:67-74,1996に詳述されている）。よって2つの種でC座のalleleが同じであっても不思議ではない。Class Iの中で一番進化が遅れていると考えられるC座のalleleについて人とゴリラ、チンパンジーの系統樹を作ってみると、人、ゴリラ、チンパンジーについてそれぞれの種でalleleのクラスターを作っているが、HLA-Cw7 (Cw\*0702) についてはゴリラとチンパンジーの間に人のCw7が位置していた。すなわち人のCw\*0702に似たC alleleがゴリラにもチンパンジーにもあり、その類似性は同一種の他のalleleよりも似ているということである。さきほど話したチンパンジーの2つの種で同じalleleを持っていたのはPatr-C09とPapa-C03であり、隣同上に位置している。このc-DNAレベルで同一の遺伝子配列をgenomicの配列と比較するとintronに4個の変異塩基があり、5個の変異で3個にはなかった。これはとても良いalleleを共有する例でありかつ重要な例である。ただしこれ以上の結果を得るには私共には時間がない。なぜならこのタンパクは2百万年はビグミーチンパンジーのなかに保持されるからである。

[The forth aspect] —HLA-class I糖鎖のなぞ—

これがわたしの最後のトピックスである。私がこの分野に入ったのは1972年血清学が華やかな頃で、私のテーマはHLA-A2の糖鎖の解析であった。このテーマはここ3年間でリンダ・バーバラによって完成された。糖鎖はHLA-class Iの非常に安定した（変異のない）86番目のアスパラギンに結合している。魚から人までのclass I heavy chainのアミノ酸を比べてもこの位置のアミノ酸は同一である。他の種ではこのほか $\alpha 2$ や $\alpha 3$  domainに糖鎖がついているものもある。このclass Iの糖鎖は変異がないのでなにか重要な機能があるのではないかと考えられ、糖鎖の精製に多くの研究がなされたが良い結果は得られなかった。リンダはトランスフェクタントを利用して、単一のclass I分子よりheavy chainを分離し精製に成功した。この糖鎖の構造は意外に大きく、4種（A、B、C、D）あり、A座とB座分子はこのうちの2種（A、B）の糖鎖構造を持ち、C座は4種の構造を持つ。ただしA、B、Cとも同一のdominantな糖鎖構造があることがわかった。40 unitの血液を血液センターから得て、class I分子を精製し糖鎖の解析をした。4種のパターンが得られ、そのうち圧倒的に大量のBタイプの糖鎖が得られた。40 unitの血液由来であるので、大部分のHLAアロタイプが含まれると考えられる。よって、HLA-class Iの糖鎖の構造はほとんど単一のものと考えてよい。

最近、Class Iの糖鎖の機能について重要と考えられる事実を発見した。Class I分子が細胞表面にあらわれるまでを図7のマンガで示すとHLA heavy chainが翻訳される（I、II）。次にシャペロンであるカルネキシンとheavy chainの糖鎖が結合する（III）。そうするとheavy chainの構造が変化しカルネキシンとheavy chainのタン

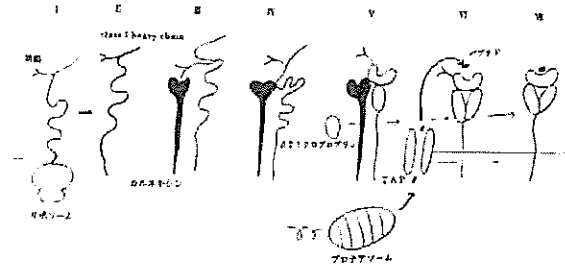


図7. HLA-class I分子の成熟過程

パク部分が結合する（IV）。次に $\beta 2$ ミクログロブリンがカルネキシンと結合したheavy chainに接近しheavy chainは $\beta 2$ ミクログロブリンと結合しclass Iの構造となる（V）。ペプチドがTAPを介してclass Iの割れ目に挟まれる（VI）。Class I分子のできあがり（VII）となる。HLA-A2分子を用いて、ステップIIでA2分子から糖鎖を除くとclass I分子が作られないが、ステップIVすなわちカルネキシンが存在する状態でclass Iの糖鎖を除いてもclass I分子は作られることを証明した。よってclass Iの糖鎖の機能はclass I heavy chainがシャペロンであるカルネキシンと結合するために重要な役割を果たすと考えられる。

次にclass Iの糖鎖の機能についてNK細胞のレセプターに関わるのではないかというスペキュレーションについて述べる。NK細胞のclass Iに対するレセプターはマウスではレクチン様の構造（LY49）を保有し糖鎖が関与していると考えられている。一方人のレセプターは2~3個のイムノグロブリンドメインを持つ構造でレクチン様構造はない。機能はclass I分子と結合し、NK活性を阻害する。NK細胞はHLA-class Iの77から83番のアミノ酸を認識することおよびこの位置は糖鎖の結合部位と非常に近いことを考えると、NK細胞のレセプターがこの糖鎖と結合しつぎに77から83番のアミノ酸部分と結合する（ちょうどカルネキシンが糖鎖と結合しheavy chainのタンパクと結合するように）とも考えられる。またclass I糖鎖はNK細胞のレセプターがclass Iに結合するときのconformationalな構造に関与しているかも知れない（図8）。今後の1年間にまたしなければならぬ多くの研究の内の一部を紹介した。Thank you very much

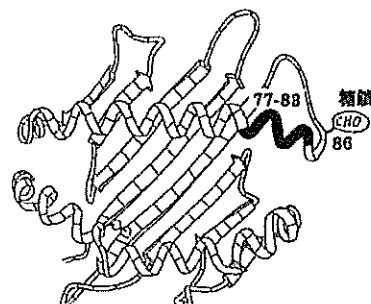


図8. NK細胞のHLA-class I結合アミノ酸部位と糖鎖

Workshop report —chairman reportより—

ここでworkshop reportの補足を付け加える。

HLA-class I

New sequenced variantsとして下記の4種類が検出された。

- B\*1532 (Thailand)
- B\*57 (to be confirmed) (Thailand)
- B\*18 (2) (to be confirmed)
- B\*35 (2) (to be confirmed)

これらの中ですでにシーケンスが行われている2種のnew variantはBest analysis prizeを獲得したタイのchandanayingyongのAHS#8から提出されたものである。[B\*1532]：血清学ではHLA-B62とタイプされ、1D IEFではB62.3やB15.3とタイプされた。またDNA typingではB\*1501とタイプされたがSBTでB\*15 newとタイプされた。シーケンスの結果exon 3のcodon 68 (A→C) とcodon 69 (C→T) の変異があった。

[B\*57 New]：血清学ではHLA-B57とタイプされ、1D IEFではB17.2とタイプされた。DNA typingではB\*5701とタイプされたがSBTでB\*57 newとタイプされた。シーケンスの結果 exon 3, 4と5に以下に示す変異があった。

Exon 3	Exon 4	Exon 5
codon 53 T→C	codon 18 T→G	codon 72 G→C
55 A→C	86 G→C	
61-62 GT→AG		

HLA-class I Putative New variants：シーケンスが未実施であるためnew variantとして疑わしい抗原群を下記に示す。

A locus	B locus	C locus
A2	B51.8	Cw1
A24	B73V	Cw2
A34 (34-1, 34-2)	B55V	Cw6
A66 (66-1, 66-2)	B67- (3910)	Cw14
	B41	Cw17
	B48	

HLA-class I rare variants

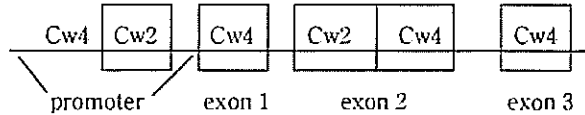
A locus	B locus
A80	B*0704
A11.3	B*7301
A*0217	B*1525
A26 subtype	B*3908
	B*3909

The common association between HLA-C alleles and B antigens

C allele	B antigen
Cw*1202	B51
1402	B51 B63
1403	B44
1502	B51 B61
1505	B7 B73
1601	B44 B45 B78
1602	B51
1701	B41 B42
1801	B81
1203	B38 B39 B35 B67 B18 B51

[HLA-C New allele : Cw\*0403]

このnew alleleのシーケンスはCw2とCw4の混合タイプ、promoter領域とexon 2にCw2の一部のシーケンスをもつ非常に興味深いalleleである。以下にその模式図を示す。



HLA-class II

HLA-class IIのリポートではnew alleleとしてDRB1\*1327が報告されていた。このalleleはDRB1\*1301の26番目のcodonがTTCからTATに変異していた。またいくつかの訂正されるalleleがあった。以下にそのリストをあげる。

AHS#16より

DR9のDRB1\*09011をDRB1\*09012と訂正  
DR53のDRB4\*0101102NをDRB4\*0103102Nと訂正

AHS#11より

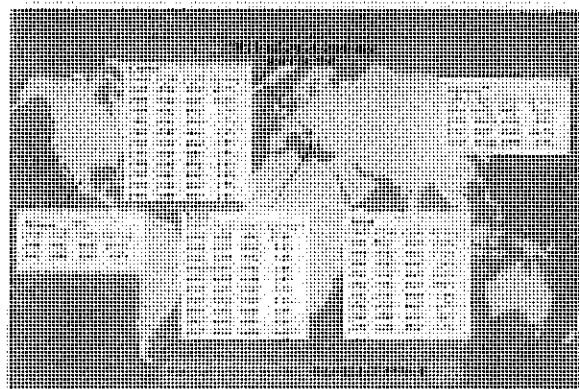
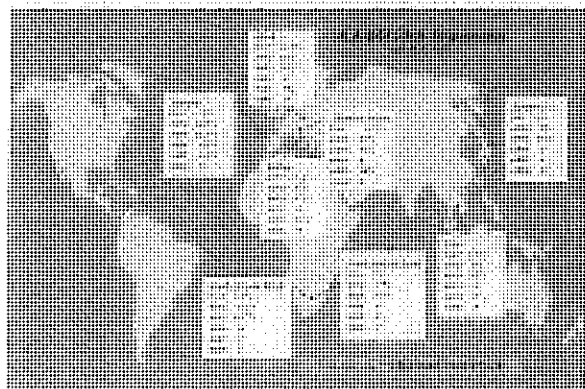
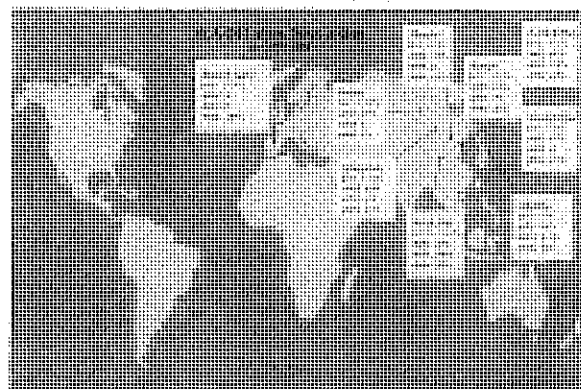
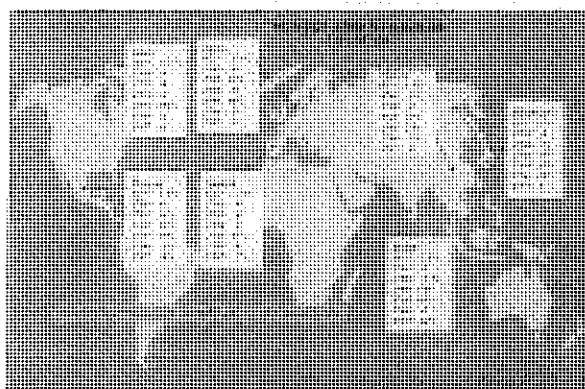
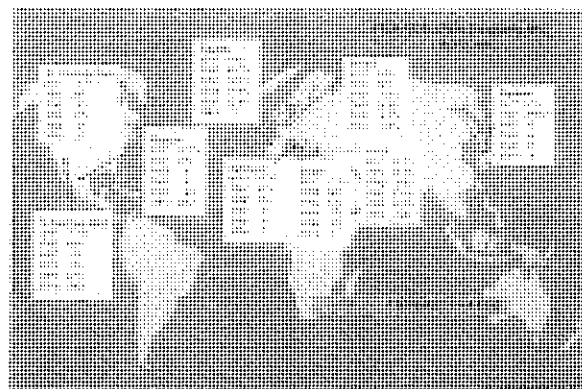
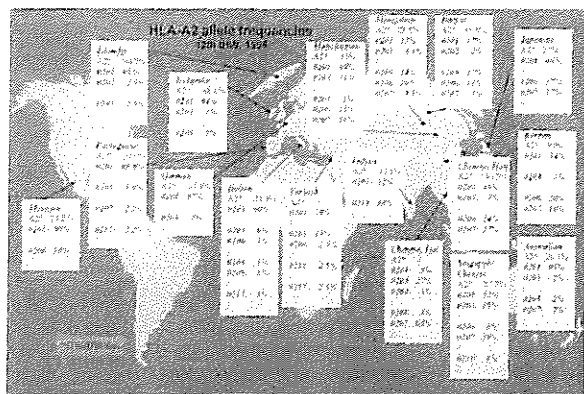
DR2のDRB1\*1603およびDRB5のDRB5\*0201は存在しない。

今回のワークショップで提出されたDNAから検出されたハプロタイプのリストがAHS# 13から発表された。

DRB1	DQA1	DQB1
0401	03	0201
0401	0302	0301
0401	0302	0302
0401	0301	0302
0401	03	0402
0401	0401	0301
0402	0302	0201
0402	03	0301
0402	0301	0302
0402	03	0402
0405	0103	0503
0405	0302	0201
0405	03	0301
0405	0302	0302
0405	0302	0401
0405	03	0402
0405	0501	0301
0406	0301	0302
0406	03	0402

[Anthropology]

Conferenceで発表されたデータを集め、人種によるalleleやhaplotypeの多様性を世界地図に記入した。提出されたすべてのデータが網羅できたわけではないが、ある程度のallele分布がわかるデータもある。今後のワークショップでこの世界地図のデータが本当の世界地図になることを期待したい。以下にそのデータを示す。



[筆者あとがき] 時間の都合上Conferenceについては次回号で続編を書きます。なにせ耳と目で得たデータや話(聞き違い、目の錯覚があるかもしれません)、ときには独断と偏見のまじった意見などもありどうかお許し願います。(次につづく)

## 12Th International Histocompatibility Conference 印象記

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 木村 彰方

1991年11月に横浜で開催された第11回から4年半、第12回国際HLAワークショップ・カンファレンス(IHWC)は、Dominique Charronをchairmanとしたヨーロッパグループにより、“Genetic Diversity of HLA: Functional and Medical Implications”をメインテーマとして1996年6月3日~12日の期間に開催された。ワークショップはSaint-Maloにおいて、カンファレンスはParisにおいて行われたが、このうちカンファレンスに参加した印象を記す。

カンファレンスの日程は6月10日朝~12日昼の2日半

であり、1つの大会場を使用したPrenary Session、6つの会場を使用したSymposium Sessionと回廊を使用したPoster Sessionとにより構成されていた。基本的にPrenary SessionとSymposium Sessionとの時間的重複はなかったが、Symposiumでは6つのテーマが同時に進行していたため、興味ある演題の全てを聴くことが困難であった。またPoster Sessionは独立した発表時間帯が設定されていず、会場内外でつかまえない限り発表者との個別のディスカッションができなかったなどの不満が残った。第1日目の午前中はワークショップレポー

トにあてられており、このため実際のカンファレンスの日程が2日間という短期間であったことがその最大の理由と思われる。「お祭りだから」と言ってしまえばそれまでだが、せめて3~4日の日程が組まれていればもう少し満足できたろうにと思うと残念である。なお第2日目の午後は第10回 European Foundation of Immunogenetics (EFI) Meetingとの共催であったが、12th IHWCの一部として、同形式で行われた。

自分が興味を持っている演題のみしか聞けなかったが、演者あるいは共同演者との“チーズパーティー”の席上や会場周辺のカフェでのディスカッションの内容を含めて、今回のIHWCにおけるHLAフィールドでの研究の進展についてそのいくつかを記す。

### 1.MHCの多型と結合するペプチドのレパートリー

前回のIHWCから今回のIHWCの間における最も大きな発見は“MHC分子の多型性はそこに結合するペプチドの多様性と対応する”ということであり、その観点からの演題が多く出されていた。MHC側の $\alpha$ ヘリックスおよび $\beta$ シート内の多型に依存してMHCポケットに結合するペプチドのアミノ酸配列が異なること、すなわち特定のアミノ酸配列を有するペプチドはそれぞれの対立遺伝子に対して大きく異なる親和性を有する。ここでMHC側の多型性に着目すると、多型性を示す部分では側鎖の大きなアミノ酸が選択されていることに気付く。実験的に個々のMHC多型をAlaのような短い側鎖を有するアミノ酸に置き換えた場合には、MHCのポケットに結合できるペプチドの種類が多くなるという結果が示されていた。つまり、MHCの多型は、“結合に関与する位置に側鎖の大きなアミノ酸を有することでポケットを狭小化させ、これによって結合できるペプチドの種類を限定している”と考えることができる。TCR  $\alpha/\beta$ /HLA-A2/tatペプチドの3者複合体のクリスタログラフィーによれば、ペプチドのN末側がTCRの $\beta$ 鎖、C末側が $\alpha$ 鎖と結合しており、ペプチド側のP4、P6、P8位がHLAポケット内への結合を、またP5位がTCRポケット内におさまっている。すなわち、TCRがHLAに結合したペプチドをHLAとの複合体として認識することが構造上直接的に証明されたわけであるが、上述のように、MHC側の多型が結合できるペプチドのレパートリーを限定するために存在することと合わせて考えると、特定の抗原への免疫応答を担うTCRおよび抗原ペプチドはMHC対立遺伝子毎にかなり限られていると考えられる。このことは、疾患とHLAとの関連を考える上で重要であり、感受性を規定するHLA-ペプチド複合体は抵抗性を規定するHLA-ペプチド複合体と

は全く異なり得ることを示す。事実HLA側の解析が最も進んでいると考えられるインスリン依存性糖尿病(IDDM)では、その感受性と抵抗性が共にDQ $\beta$ 鎖の異なる対立遺伝子(特に第57位の多型)によって規定されるとする説が主流であったが、今回のIHWC解析の結果を見ると、DR $\beta$ 鎖、DQ $\beta$ 鎖のそれぞれの対立遺伝子が感受性および抵抗性を規定する上で多かれ少なかれ寄与すると考えた方が良いでしょう。すなわち、疾患への感受性や抵抗性は特定のMHC上のアミノ酸残基多型によってのみ規定されるわけではない。さらに言えば、感受性と抵抗性は異なる抗原によって規定される可能性もある。

IDDMのモデルであるNODマウスの解析では、糖尿病(DM)感受性とGAD65への免疫応答性との関連が示されていた。一方、I-A $\beta$ dあるいはI-A $\beta$  NOD (PD)トランスジェニックNODマウスはDMを発症しない。この抵抗性を規定する抗原ペプチドは未だ同定されていないが、これらのマウスにおいてもGAD65に対する抗体産生は認められる。但し、この際の抗体産生は、NODと比較すると、IgG1、IgEクラスが多く、IgG2aクラスが少ないということで、免疫グロブリンのクラススイッチがDM発症に関与すると考えられる。また抗IL4抗体や抗IL10抗体をin vivoで投与することによって、これらのトランスジェニックマウスにもDMを発症させることができることから、NODにおけるDM感受性はTh1 type T cellによって、抵抗性はTh2 type T cellによって担われていると考えることができるようである。

Th1またはTh2 type T cellと個体レベルでの免疫応答との関連は、疾患のみならず特定の抗原(HBsやHIV)への免疫応答においても論じられていた。HBsへの低応答者にはDR1、DR2が少なくDR3、DR7が多いが、in vitro実験系ではDR1、DR2陽性者ではTh2 type、DR3、DR7陽性者ではTh1 typeが優位のHBsに対する免疫応答を示すことが報告された。一方、特定のHLA型を有することで特定の抗原に対する免疫応答能が変化する現象を、問題となる抗原内にそのHLAに対する結合モチーフがいくつ存在するかという観点から検討したグループがあった。HIV感染者のうちA28陽性者はrapid、B27、B5、B17陽性者はslowな臨床経過をとるが、結合モチーフをより多く有しているとそれだけ多くのCTLを誘導でき、従って臨床経過がよりslowになるということで説明できそうである。

### 2.MHCの発現制御

筆者らは第11回IHWCの際に、クラスII遺伝子プロモ

ーター（特に転写因子結合部位）の多型性を報告し、この多型に応じて対立遺伝子毎に発現レベルが異なることを示したが、今回のIHWGでは、クラスII遺伝子のいずれ（A、B、C）においてもプロモーター領域に多型性が存在すること、クラスII同様に転写因子結合領域の多型性によって発現レベルが異なることが示されていた。

クラスII遺伝子の転写制御については、Bare Lymphocyte Syndrome (BLS) との関連で新たな進展が見られている。クラスII遺伝子のプロモーター領域にはX box、X2 box、Y boxがあり、それぞれRF-X、X2BP、NF-Yという転写因子が結合する。これらの転写因子はいずれもヘテロダイマーとしてプロモーター領域に結合するが、これらとは別に、DNA結合活性を持たないが、RF-X、X2BP、NF-Yなどとの蛋白-蛋白相互作用により転写活性化に関わるCIITAという転写因子が存在する。これらの転写因子の発見は、BLS患者由来あるいは放射線照射によって作製されたクラスII発現欠損株における変異の同定に基づいている。BLSは4つの相補グループに区別されており、このうちA群はCIITA欠損、C群はRF-Xのlarge subunitであるp75 (RFX5) の欠損であることが知られていたが、D群がRF-Xのsmall subunitであるp36の欠損に起因することが明らかにされた。なおB群の原因はまだ不明である。CIITAはB cellで恒常的に発現し、またそれ以外の細胞ではIFN $\gamma$ で発現が誘導される転写因子であるが、このIFN $\gamma$ による発現誘導のシグナル伝達がJAK1、JAK2、STAT1を介していることが示され、さらにCIITAはクラスII遺伝子のみならずinvariant鎖およびDM $\alpha$ 、 $\beta$ 鎖の発現にも関与することが示された。また興味深いことに、CIITA遺伝子を導入した細胞では、クラスII遺伝子の発現は回復するが、抗原提示機能は回復しない。しかしながら、IFN $\gamma$ で処理した場合には抗原提示機能も回復することから、抗原提示にはクラスII分子の発現以外の要因が必要である。そこでこの要因の同定が試みられ、結局カテプシンSであると同定された。カテプシンSはIFN $\gamma$ で発現誘導を受け、B細胞では恒常的に発現し、かつCIITAによる発現制御を受けない蛋白であり、クラスII分子 ( $\alpha$ 、 $\beta$ ) とIiとの複合体においてIi分子をプロセスすることで、クラスII分子への抗原ペプチドの結合を促進するものである。

### 3. 移植とHLA

非血縁者間臓器移植とHLAマッチングの関連については、これが現時点で最も実用的なHLA研究であることから、非常に多くの演題があった。Overviewとして、

肝移植ではHLAマッチングの効果はほとんど認められないことが知られていたが、奇妙なことに、原発性胆汁性肝硬変患者への肝移植ではHLA型が一致するほど予後が悪いと報告された。これに対して、心移植、膵移植でも、腎移植同様にHLA型が一致した方が予後が良いことが示された。腎移植とHLAとの関連では、再移植例に限ってみると、HLA-DRB1型のみならずHLA-DQB1型も一致させたほうが予後は良いようである。但し、これらの解析では、DNAレベルでのHLA一致の検討はクラスII遺伝子についてのみ行われており、クラスIについては血清学レベルのみの検討であることを指摘しておく。

HLA型一致が最も大きな効果を有するのは骨髄移植 (BMT) であるが、非血縁者間BMTではHLA-D (DRB1) HLA-A、HLA-Bの順に、ミスマッチとGVHD発症との相関が認められている。DNAタイピングは主にクラスII遺伝子について多数例で施行されており、DRB1一致例についてみると、DQB1一致もGVHD発症に影響するとされる。なおDPB1不一致はほとんどBMTの臨床予後に影響しない。一方、厳密なcase control studyでは、生着不全例にはHLA-Cのみ、HLA-AとC、HLA-BとC、HLA-A、B、C全てミスマッチの例が有意に多いが、HLA-Aのみ、HLA-Bのみ、HLA-A+Bミスマッチ例は多くないことが示された。従って、このdataを見るかぎり、生着不良に最も効果を有しているのはHLA-Cミスマッチである。このことから、NK cellを含めたHLA-C分子を認識する細胞性免疫機構が、BMT生着不良に重要な役割を果たす可能性が示された。日本人例ではHLA-AおよびBのマイナーミスマッチが生着予後不良、GVHD発症と最も良く相関しているのに対し、欧米人ではDRB1ミスマッチが最も高い相関を示し、AあるいはBのマイナーミスマッチ（血清学でのサブタイプミスマッチ）はほとんど相関を示さない。この全く正反対とも云える相関が観察された背景には、人種の違い（すなわち同じ血清学でもどのくらいのサブタイプ相違が存在するかという人種差、あるいはminor antigen等のHLA以外の遺伝的背景における人種差）があるものと考えられる。

移植臓器長期生着例ではドナー由来細胞がレジエントに生存する状態（キメリズム）が観察される。このような状況を作る目的で、腎移植前に輸血を行いドナー特異的な免疫低応答性を獲得させようという試みがなされているが、この方法ではshared DRに対する低応答性を必ずしも獲得できないことが報告されていた。アロ反応性Th前駆細胞頻度 (HTLp) とHLAミスマッチとの関連を調査した報告では、骨髄移植例ではHTLp

とHLAミスマッチが相関を示す（DRB1が最も大きな効果を有すが、クラスIも同様の効果がある）のに対し、心移植および腎移植例ではそのような相関は全く観察されていない。従って、HLAと移植との関連は、移植する臓器毎にかなり異なるということを認識しなければならぬようである。

MHC一致ペア間の移植における拒絶抗原として同定されるminor antigenとして、HY抗原（A1、A2、B7、B60などで提示）、HA1-5（A2などで提示）などがある。HY抗原は転写因子SMCY（精子形成に関与）由来の11アミノ酸より成るペプチド、HA2はクラスIミオシン由来の9アミノ酸より成るペプチドであると同定されているが、このようなminor antigenはいずれも進化上よく保存された遺伝子の産物であることが示された。すなわち、進化上よく保存され、かつ個体間でアミノ酸配列が異なる（多型を有する）蛋白は、“HLA型に依存して”移植抗原となり得る。このような定義にあてはまる蛋白はかなり多量存在すると考えられるが、その多型の頻度が高く、かつ比較的commonなHLA対立遺伝子によって提示されているものがminor antigenとして同定されてきたものであろう。この意味で、現在までに同定されているものは“major” minor antigenと言えるわけであるが、翻ってみれば、レシピエントのHLA型毎にminor antigenは異なり、まだまだ未同定のものが多く存在すると考えられる。

#### 4.NKとHLA

最近のHLA研究におけるひとつのトピックスはNKレセプターとHLAとの関連である。NK cellはTCRを発現していないため、通常のCD4陽性T細胞あるいはCD8陽性T細胞とは異なり、MHC/ペプチド複合体を認識できない。一方、NK cellはクラスI分子を発現しない細胞をターゲットとしてkiller活性を示す。一部のがん細胞やウイルス感染細胞ではMHCクラスI分子発現のdown regulationが観察されるが、NK cellはこのような“MHCクラスI分子を発現しないことでT細胞による免疫監視機構から逃れる非自己細胞”を認識して破壊すると考えられる。すなわち、NK cellは何らかの方法でクラスI分子を認識しているはずである。

この現象は、現時点では以下のように説明される。NK cellには、活性化シグナルを入れるレセプター（これが何を認識しているかはまだ不明である）と逆に不活化シグナルを入れるレセプターが共存し、この不活化シグナルを入れるレセプターがMHCクラスI分子を認識する。この場合、クラスI分子に結合しているペプチドの種類は問わない。つまり、クラスI分子を発

現している細胞は、不活化レセプターを介するシグナルを入れることによってNK cellの活性化を抑制し、その結果破壊から逃れていることになる。最近いくつかの不活化レセプター（KIR）がクローニングされており、例えばNK1はBw4エピトープを、HP3E4はCw4を、GL183はCw3をそれぞれ認識することが明らかにされた。また、マウスのLy49もH-2クラスI分子を認識するNK不活化レセプターである。奇妙なことに、ヒトKIRとマウスLy49は、互いに機能的には相同でありながら、その構造は全く異なっている。このことから、NK不活化レセプターは、既に同定されたものが全てではなく、例えばHLA-A、HLA-Bw6、HLA-Gなどにそれぞれ対応しているものも存在すると推定される。

これまでに同定されたNK不活化レセプターは、驚くべきことにNK cell特異的なものではなく、CD3陽性T細胞の一部（CD8陽性T細胞を含む）にも発現しており、このT細胞はメモリーT細胞である。CD3陽性T細胞をSEBのようなスーパー抗原で刺激すると活性化が起こるが、この際に抗NK1抗体あるいは抗クラスI抗体を存在させKIRを介するシグナルを阻害すると、この活性化（IFN $\gamma$ 産生）はより増強する。逆にKIRを介するシグナルを入れることによって、この活性化は抑制される。すなわち、クラスI分子を発現する細胞は、KIRを介して、NK cellのみならずCD8陽性メモリーT細胞の活性化をも制御していることになる。

#### 5.がんとHLA

古くて新しいテーマのひとつは“がん特異抗原”に対するT細胞性免疫応答性の解析である。T細胞に認識される“がん抗原”は、①がんで特異的に発現が誘導される抗原（正常でも未分化な細胞には存在するが、そのような細胞にはMHCクラスI分子が発現していないためT細胞に認識されない）と、②がんにおける変異蛋白（アミノ酸変異自体がエピトープになるもの、フレームシフト変異によって新たに生じたアミノ酸配列がエピトープになるもの、あるいは変異アミノ酸の存在のためプロセシングの位置が変化してエピトープができるもの）に分類される。最もよく解析されているのはメラノーマ抗原であり、①の例としてMAGE、BAGE、GAGEなどのがん抗原ファミリーが、また②の例としてNA17-A、LB33-B遺伝子変異産物などがあげられる。これらの“がん抗原”は、ペプチドとしてHLA-A（MAGE1、MAGE3、NA17-Aなど）やHLA-C（BAGE、GAGEなど）の特定の対立遺伝子によって提示されている。従って、がん細胞の側から見れば、がん抗原ペプチドを結合する対立遺伝子のみを特異的に

不活化する方がNK cellを含めた細胞性免疫監視機構から逃れやすくなるが、事実HLA-A2で提示されるNAI7-A遺伝子変異産物を発現するメラノーマ細胞でA\*0201の変異を同時に有するものが見出されている。一方、がんの一部（特にDNA修復エラーを有するHNPCC由来の大腸がんの場合）では、 $\beta$ 2ミクログロブリン遺伝子にフレームシフト変異が高率に生じており、これもクラスI分子発現を低下させることでT細胞性免疫監視機構から逃れる手段と考えられる。

がん特異的CTLを効率良く誘導する試みはなされており、担癌個体にMAGE3ペプチドをin vivoで免疫することにより、メラノーマの縮小効果を認めた症例が提示された。一方、HLAの発現欠損を有するがんに対しては、前述のようにNK cellがMHCクラスI分子を発現しない細胞を破壊するという現象を利用する試みがなされている。そのひとつは、がん細胞を体外に取り出し、そのなかから $\beta$ 2ミクログロブリン遺伝子欠損株を選択し、これをin vivoで免疫することでがん細胞特異的NKを誘導する試みである。この方法が、少なくともマウスの移植腫瘍モデルでは、効果的であることが示されていた。またKIRを発現しているがん特異的CTLによるがん細胞破壊を効果的に行う手法として、抗KIR抗体と抗クラスI抗体を併用し、KIRを介する不活化シグナルをブロックする方法が紹介された。この方

法は少なくともin vitroの系では効果的であった。

このように、がん特異的免疫療法を考える上では、担癌個体がどのような性質のがん細胞（いかなるがん抗原を有するか、そのクラスI分子の発現はどうであるか）を有しているかと同時に、その個体がいかなるHLA対立遺伝子を有しているかが重要なポイントになる。すなわち、“がんの免疫療法”は万人に有効な手段ではなく、あくまでも“担癌個体特異的”な手段と考えなければならないことになる。

“Genetic Diversity of HLA: Functional and Medical Implications”がテーマであった12th IHWCのトピックスを拾ってみた。HLAを研究するものにとってHLA自体が生物学的に興味ある研究対象であることは言うまでもないが、HLAおたくあるいはHLAマフィアと揶揄されることを含めて、ともすれば自己満足に陥りがちであるという自省を胸に出席した学会であった。ここに紹介したトピックスは筆者の独断と偏見によって選んだものであるが、基礎研究が着実に実を結んでおり、移植医療に限らず、感染症、自己免疫疾患、がんなどを含めた疾患の治療においてもHLAタイピングが重視される“実地医療におけるHLAワールド”が近い将来確実に訪れるという印象を強く受けた。やっぱりHLAは大事よね!

## ワークショップ&カンファレンス旅行記

株式会社 ベリタス 大澤 敬子

### <出発>

6月2日、私達一行（同じ飛行機にいくつかのワークショップ参加グループが乗り合わせました。）を乗せたエールフランス機は、お昼少し前に予定通り日本を飛び立ちました。ここから約13時間に渡る長旅です。しかしこれから何がおこるのか、と期待に胸を膨らませた私たちは時間の経つのも感じず、無事に夕方のパリ、シャルル・ドゴール空港に到着しました。まあ、その空港の広いことと言ったら、恐らく同時に2、3機が離着陸できる程ではないかと思えます。飛行機がスポットまで移動している間、窓から見えるコンコルドや芝生の上をちょろちょろする穴ウサギを見て、一喜一憂しておりました。<ウサギ、飛行機にひかれなのかな?>

この日は空港近くに宿泊し、翌朝ワークショップの行われるサンマロへ向かいます。ホテルに着いてみると知った顔ばかり、日本人がどっと10人以上おりました。



た。その晩はパリに居ることをすっかり忘れるような居酒屋ムード。ただひとつ違っていたのは、フランス料理を前にワインを飲んでいただけでしょうか。

### <いざ、サンマロへ>

さて、いよいよサンマロへ向かいます。サンマロってどこ？

皆行くまで良く知りませんでした。パリから西へ約300キロ、24時間耐久レースでおなじみのルマンを越え、イギリス海峡に面したビーチリゾートだったのです。つまり湾のお向かいにはイギリスです。学会調達バスはドゴール空港を出発、パリ市内内へ向かう道は大渋滞でした。車中、私達の前列に東洋人男性2人が座っていました。（日本人？）きれいな英語。ひょっとしてアメリカ在住の日本人？などと思っているとそのうち日本



語が聞こえ、後に熊本大学の皮膚科の先生方であることが判りました。ハイウェイをひた走り、約8時間にも及ぶバスの旅は、それは辛いものでしたが、ホテル到着後、かわいらしいオーシャンビューの部屋、バルコニーから見えるきれいな海と砂浜がすっかり気に入った私たちは、旅の疲れも忘れて早速学会会場へ向かい、受け付けを済ませました。頂いたネームプレートは会場への入場券の役割を果たすのですが、それをその日のうちになくした人もいました。翌日再発行を受けたのですが、開会式の時にシャロン会長は「ネームプレートは再発行しませんから大事に扱って下さい...。」と述べられました。

そしてサンマロ初めての夕食を求めて、城壁に囲まれた旧市街へ繰り出しました。石畳の続く、とてもヨーロッパらしい街並です。そして適当に、とあるレス



サンマロのレストラン街

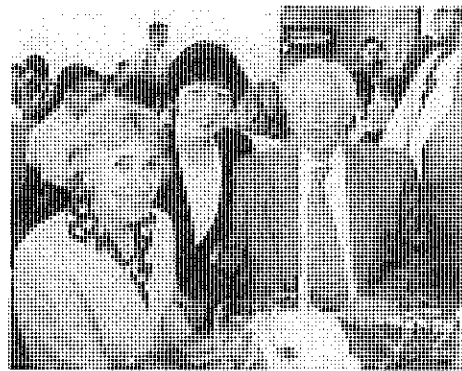
トランに入りました。確か隣のレストランでは生牡蠣を食べているアメリカからのグループがいた、この季節でも食べられるのかな？、ここの名物は何かな？と皆同じことを考えていたと思います。そしてメニューをもらってのぞいて見ると...。よっ読めない！当然ですが、フランス語で書かれてありました。皆頭をつけあわせてメニューを解説。〈おやっ？〉とりあえずコース料理を注文しました。クレープにパンケーキがメインディッシュの、どうも特別なレストランに入ってしまったようです。後で判ったのですが、ここサンマロはクレープ発祥の地。どこに行ってもクレープは食べられます。甘いデザートとしてのクレープからハムやチーズの入った食事としてのクレープまで色々あります。ここはその専門店といったところ。さて、私たちの頼んだお料理は？W製薬K氏はまず最初に出てきたスープに参ったようでした。「poison」（魚）というスープです。毒？どうも魚をまるごとペーストにして煮たようなちょっと生臭いスープでした。極めつけはK血液センターM女史の酸っぱいチョコレートクレープ。口直しに食べたチーズは思いつき癖のあるゴートチーズでした。私達にとってここでの食事が最もサ

ンマロの印象として残りました。お陰様でこの先これより印象に残る食事はありませんでした。

#### ＜ワークショップ in St.Malo＞

翌朝、学会のお迎えバス（ホテルが会場から遠い人達にはバスが出ました）を待っていましたが、遅れて来ること15分。翌日からは約20分海岸を散歩しながら会場に向かうことになりました。会場はとても近代的で出入り口の割に中は大変広く、約600名の参加者がごった返すようなことはありませんでした。入り口の受け付けにはいつもにこやかでやさしい、コンgresセンターのおねーさん達が私達のお世話をして下さいます。

毎日ランチチケットがついており、大きな食堂に大きな丸テーブルが沢山置いてあるところで、参加者皆で食べました。さすがフランス、毎日フルコースです。（当然フランス料理です。）ワインも自由に飲めて、たっぷり2時間かけてお昼を頂くことができました。そこで隣あわせた外人と（自分も外人ですが）カタコトで話しながら、自分の興味ある分野の話、実験の話など、やはりHLAの話に花が咲いておりました。近くのテーブルに、あのノーベル賞を受賞されたDr.ドセーがいらっしやる、ということを知りつけた私とM女史は、早速お願いして、一緒に記念写真を撮りました。これは収穫です♡（ちょっとミーハーですが...）



Dr.ドセー氏とM女史の記念写真（左）

さて、ここで気候の話ですが、フランスがこんなに暑いところ（それも6月で）だとは思いませんでした。ずっと好天が続きラッキーでしたが、昼間は30℃を越え、歩いているだけで頭皮がジリジリします。朝晩はとて涼しく快適でした。そしてここは、緯度が高いため昼間が大変長く、完全に暗くなるのは夜11時近くです。ですから、夕食に出かけても明るいからつい、暗くなるまでゆっくりしてしまいます。ディナータイムは日本人で11時、フランス人では12時頃まで続きます。そんな訳で毎晩就寝時間が遅くなってしまいました。朝は8時30分から学会が始まるため、起きるのが辛く、寝不足の日々が続きました。

学会会場であるPalais du Grand Largeの前は一面海で、遠浅の砂浜が広がっていました。昼間は遠足の小学生達が水遊びをし、凧上げをし、水曜日（どうもお休みの人が多いらしい）にもなると、トップレスのお姉様達が日光浴をしています。（S大学のO先生はホテルの窓からそれを双眼鏡でながめていらした、とか。）夜になると海は満潮を迎え、歩道まで波が上がります。そして朝、沢山打ち上げられた海草を掃除するお兄さんがあちらこちらで見られました。こんなのかな所を毎朝、学会で配られた皆お揃いのリュックを背負い、てくてく歩いて通いました。



ホテルからワークショップ会場への通勤姿

日程の中程で、学会主催のモンサンミッシェル観光ツアーがありました。会場からバスで1時間半程行くと、海中に立派なお城のごとくそびえ建つモンサンミッシェルが見えます。かつては潮の満ち引きで陸続きにも島のようにも見えたそうで、囚人が収容されていたとか。何段もの階段を汗を拭き拭き上りつめると、ひんやりとした、スタンドグラスのきれいな聖堂にた



モンサンミッシェル観光ツアー

どり着きます。いくつかの建築様式が取り入れられた素晴らしいものでした。建物の入り口に続く石畳の坂道にはホテルやみやげもの屋が立ち並び、この名物であるフワフワのオムレツも見事でした。

<フランス語の誤解?!>

ワークショップ中、日に2度のコーヒープレイクがありました。展示会場にもなっているホールで飲み物のサービスがあります。また有料でアルコールやコーヒを飲むことができるバーコーナーもありました。ある日、コーヒを飲みつつ歓談していると、C血液センターのT氏が壁にあるメニューを見て「あのザ15フランってなあに？」と聞かれるのです。見てみると確かにメニューにはコーヒやビールなどの飲み物に混じって、「THE—15FFr」とTHEが同じ15フランで売られているのです。あとから気付いたのですが、実はEの文字の上には´（てん）が付いており、フランス語で「THE（テ）」、つまり紅茶を意味することがわかりました。それ以来私達の間では紅茶を注文する時「ザを下さい」とか、「ザでも飲みに行きましょうか」と言っただけは笑いました。また、私達はとりあえずフランス語の「1、2、3（アン、ドゥ、トロワ）」は知っていますが、さてその次というのは案外知らないものだというお話があります。レストランでお料理を4皿注文したい、でも何というかわからない、さてあなたならどうしますか？K血液センターのM女史は考えました。そして彼女はピースサインを2度出しながら「ドゥ、ドゥ」（2が2回という意味です）と訴えておりました。果たしてそれはみごとに通じ、その印象が強かったのか、ついに帰るまで4は何て言うのかを覚えることができませんでした。

<サンマロの喰いだおれ君>

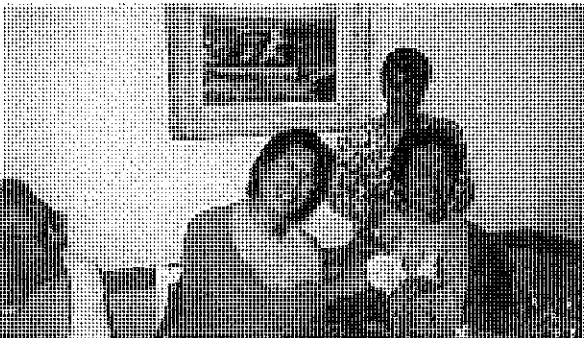
さて、私達が夕食に足しげく3度も通ったレストランがあります。小じんまりとしたフランス料理の店で、マダムとボーイのコンビがまた何とも言えない良い雰囲気でした。マダムはいつもニコニコして私達の英語を一生懸命理解してくれました。ある夜、生牡蠣を注文しようとしたT大学のN女史は、英語とフランス語を駆使してサイドオーダーで2皿（6個/皿×2）を頼みました。でもマダムが持って来た1枚のお皿には、牡蠣がちょこんと2つだけついていたのです。また次の晩、水槽のオマール海老やロブスターを選んで料理してもらえることが判った私達は、早速10人程で押しかけ、ほとんどの人がそれらを注文しました。マダムは網で水槽から生きの良いオマール海老やロブスターをすくい、キッチンへ運んで行きました。すると水槽にはたった1匹のロブスターが残っていました。何となく寂しそうに見えたのか、W製薬のK氏はパンをちぎって水槽に入れました。するとロブスターはハサミを縛られて使えないにもかかわらず、一生懸命パンを吸い寄

せてバクッと食べました。「あっ食べた！お腹すいているのかな？」と、もう一度パンを入れました。バクッ！どんどん食べるので皆で、明日までひとりで頑張れよ、明日は食べてもらえよ、とエサをやっておりました。するとこの騒ぎに気付いたボーイが、何かいたずらしているのではないかと心配そうに見に来ます。その彼は大阪はミナミの喰いだおれ人形にとっても似ていたのです。メガネ越しに目を丸くしてくるくると動かし、時にニヤリと笑う様は本当にソックリです。



サンマロの喰いだおれ君と

さて、お料理を頂く前に愛想の良いマダムが、ひとりひとりに赤い海老柄のエプロンをつけてくれます。男性達は何だかとてもうれしそうです。そして皆お地蔵さんのようなスタイルでお料理を頂きました。



うれしそうな十字先生と佐治先生

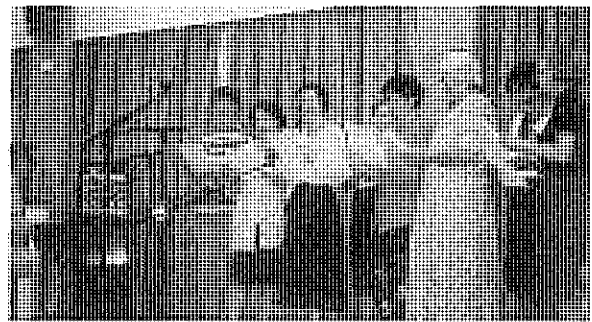
サンマロの日程も半分を過ぎた頃、パリへ移動する時の話になりました。往路はバスで8時間かかったので復路は電車を使おうということになり、TGVのチケットを買いに行くことになりました。たまたま私達はフランス人と一緒に買いに出かけたのですが、サンマロ駅の窓口に行ってみると、ワークショップ参加者が何人おりました。順番を待っている間、先にいたアメリカからの参加者とブルガリアからの参加者が窓口の人と戦っているのが見えました。窓口の方は英語が通じないらしく、その人達は英語の単語や地名をひとつひとつ、ゆっくりと子供に言い聞かせるように発音していました。そのうち身振り手振りが加わり、TGVのポスターを指差したり、タイムテーブルを指差した

りしていたようですが、結局チケットを手にする事ができず、私達と一緒に来たフランス人のお世話になりました。いつも英語で苦しんでいる自分の姿を見たような気がしました。

#### <Japanese エンターテイナー>

さて、海岸と言えば花火、と連想される方もいらっしゃるでしょう。(えっ？そんなことないって?) ハイ、私達もご多分にもれず海岸で花火をしたくなりました。そして、B大学のK先生とちょうどおみやげ屋で見つけたロケット花火(フランスにも同じ考えの人がいるのでしょうか)を購入し、明日はサンマロ最後の夜、クレーブパーティー(懇親会です)の後に花火をしましょう、と話しておりました。しかしK先生と私達は席が離れてしまい、結局パーティーの後もK先生を見つけることができませんでした。「どうしたんだろう、先生ひとりで砂浜で花火をしているのでは…? それでまさか警察に捕まって叱られているのでは?」と皆で心配し、ホテルに戻ると、無事T大学グループと花火を上げ、おまけに満潮の砂浜で波をかぶりずぶぬれになった、とのことでした。

クレーブパーティーでは沢山の「余興」が披露されました。ある程度まとまった人数で参加している国は、全員舞台上上がり、それぞれにその国の歌を歌われます。(イヤな予感。もしかしてそろそろ私達も…?) 案の上私達もご指名を受け、日本人全員集合で「スキヤキ」を歌いました。昨年バンコクのAOHでT大学のN女史が「スキヤキ」を歌って以来大人気です。そして今回の学会のオーガナイザーグループも歌いました。Dr. ボドマーのピアノ演奏で、「ドミニク・ニク・ニク



Dr. ボドマーのピアノ演奏で、「ドミニク・ニク・ニク」

…」と学会長をたたえる歌でした。(ちなみに学会長はDr. ドミニク・シャロンと言います。) 次に個人芸の部です。アメリカからはDr. デュクエスノイが、「子供の世代で流行っているラップに挑戦します。」と黒いサングラスを着け、シャツのボタンをはずし、リズムにのって始めました。「私はピッツバーグ大学から来た。腎臓、心臓、肝臓、何でも移植をする。でも、外科の先

生方が何と言おうと、移植はHLA抜きでは始まらないよ。」もう会場は爆笑です。後に彼はこの芸で賞をもらいました。彼はかつて血液センターに勤め、HLA適合血小板の先駆者であるとか。

もちろん日本の先生方も大健闘しました。福岡大学第二内科チームの「居合い」です。実はこの芸、サンマロに来てから福岡大に白羽の矢が当り、急遽考えられたとか。(このみごとな瞬間芸に敬意を表して演者は実名で入れさせて頂きます。)この芸の発案者である小河原先生が「居合い」を英語で説明し、これから行われる芸が超瞬間的なものであるため見逃さないように、とつけ加えられました。舞台には日本刀を掲げた、剣道の達人・長谷川先生とフランスパンを縦に構えた田中先生。観衆の視線が集まる中あまりに素早い(?)瞬間的な動きで、サヤの中の日本刀の刃すらも見えないうちに見事フランスパンは真ふたつ。あまりの早さに私達にはサヤから数センチ刀を抜いたようにしか見えませんでしたし、まるでパンは初めから切っていたかのようなようでした…。場内は笑いと拍手の渦。近々国内でも披露して下さることを楽しみにしております。ご苦労様でした。

#### <サンマロ風ホットドック>

さて、いよいよ思い出深いサンマロを離れる朝がやって来ました。外はあいにくの雨。タクシーでホテルから駅へ向かいました。タクシーを呼ぶと、今までに何度か乗せてもらったおばあちゃんの運転手さんでした。滞在中何度かタクシーを呼ぶことがありましたが、小さい街で台数に限りがあるのか、このおばあちゃんにはよくあたりました。タクシー会社に電話してもらい、「5分待ち」と言われると15分、「10分待ち」で30分、「15分待ち」で45分タクシーは来ません。学会場への送迎バスも約15分いつも遅れていました。私達はこれをサンマロ時間と呼んでいました。普段せかせかと生きている私達にとっては、良いことなのかもしれません。話がそれましたが、電車の時間があるため、ランチの時間も含めて早めに駅に行くことになり、サンマロ時間でそれも雨ときているため、かなり早くタクシーを呼びました。するとなぜかその日に限ってタクシーはすぐに来ました。お昼前に駅に着き、荷物をロッカーに入れていると、突然駅の売店がザーッとシャッターを下ろしました。そうか、売店も昼休みは閉めてしまうんだ、ということが判りました。(飲食店以外のほとんどの店はお昼休み2時間程度店を閉めてしまいます。)これから2時間を費やすため、駅前のレストランに入りました。そこでは変わったホットドックの作り方を

していました。細長い金属の棒が調理台から出ており、そこに長いフランスパンを突き刺してありました。あいた穴にケチャップとマスタードを入れてソーセージを突き刺してでき上がり。割れ目のないホットドックです。食べ始めるとC血液センターの方々が私達に気づき、レストランに入って来て、窓側の席は日本人だらけになりました。通りすぎる人々は見慣れない日本人の団体を不思議そうに見ます。さすがにこの辺りは日本人観光客もあまり来ないと見えます。

ゆっくりとランチをとった後、サンマロ駅からまずはローカル線に乗り、レンヌという駅でTGVに乗り換えます。TGVはご存じのようにフランスが誇る高速列車、言わば新幹線と言ったところ。違う点とせばローカル線と同じ線路を使っていること、陸続きで他の国にも行けてしまうことです。レンヌの駅ではワークショップに参加されていたお馴染みの顔が沢山見られました。私達の乗ったTGVは空いていて、乗ったとたんには缶ビールや乾き物がどこからともなく現われ、別車両にひとりで乗っていたN血液センターのSさんもお招きして、宴会の始まりです。ほとんど出張婦りのおとーさん達で溢れる新幹線のようなようでした。そして約2時間後、パリはモンパルナス駅に到着しました。

#### <パリのお上りさん>

しばらくのどかなサンマロの景色に慣れてしまっていた私達は、大都会パリにきよろきよろしてしまいました。「うわぁーパリだー!」という感じです。そしてすっかりサンマロ時間になった私達の体は、都会の動きの早さについて行けず、リカバリーには丸2日を要しました。タクシーでホテルに向かう途中、車窓に見えるエッフェル塔や凱旋門に一喜一憂し、本当にパリにいたことが実感されました。

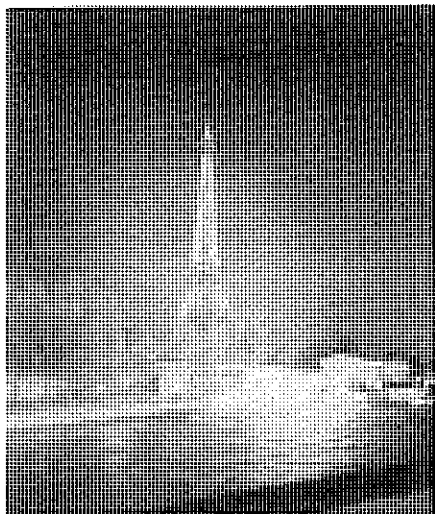
パリもサンマロ同様、毎日暑い日が続きました。それに加え湿気があるので蒸し暑いのです。さて、会場をパリに移し、カンファレンスが始まりました。オープニングレクチャーの後のコーヒブレイクでその人数の多さ(ワークショップの倍の約1200名)が実感されました。会場はコンコルドラファイエットホテルに隣接するPalais des Congresで、階下は大丸デパートを始めとする色々なお店が入っているショッピングセンターになっています。私達はホテルから毎朝地下鉄を2駅乗って通いました。44フランで回数券(10枚)を購入し、入り口で自動改札に入れ、その後降りる時は改札がなく、出口のゴミ箱に捨てます。フランスの地下鉄は、東京のように何線も通っていて大変便利です。乗り換えも判りやすく、安全な公共交通手段です。ド

アはハンドルを持ち上げる手動式で、閉まる時だけは自動で閉まります。車両の出入り口にもハネ上げ式の椅子がありますが、混んでくると座っていた人達は自主的に立ち上がり、少しでもスペースを広くしようとします。また、私達の泊っていたホテルのレストランが狭かったため、学会会場の地下のファーストフード店で毎朝朝食をとりました。そのシンプルなフランスパンのサンドイッチと食べ放題のピクルスが皆お気に入りでした。パリからはポスター発表も始まります。展示会場がやや狭かったのですが、サンマロの時よりずっと増え21社にのびりました。ポスターは通路という通路にはりめぐらされ、とても全部見切れない程でした。



ポスター発表の様子

初日の夜はウェルカムパーティーとして、ワインとチーズのシンプルなパーティーがありました。誰の挨拶もなく、時間になると適当に集まり、ビュッフェスタイルで適当に飲食・飲談し、適当に解散します。(お皿とナイフだけでなぜかフォークは置いていなかった。) その後ある外国企業のご招待で「クレージーホース」というキャバレーに行きました。ショーが見られて、お酒も飲めてという大人の社交場です。総勢150人程いたでしょうか。日本から参加された方もほとんどはいらしていたと思います。ここで見たショーは「き



ライトアップされたエッフェル塔

れいなおねーさん達の踊り」ですが、詳しい内容はナイショです。かぶりつき席にいたのは、K大学のO先生、S製菓のK氏と私達でした。O先生は「美しい!」を連発されていたとか。ショーの後はディナータイムで、近くのレストランに移動し、午前12時近くに夕食を頂きました。パリの飲食店はいつも遅くまで開いていて、朝も早くから開いています。レストランを出ると正面にライトアップされたエッフェル塔が見え、それがとても印象的でした。

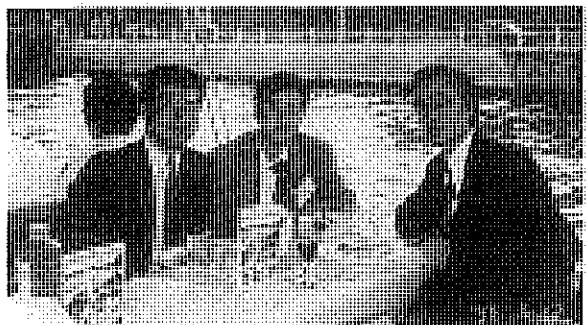
<危険な?花の都パリ>

翌日の夜はセーヌ川ディナークルーズ(懇親会)です。パトームシュと呼ばれる有名な船で、それを借り切って行われました。出発は午後8時30分でしたが、まだやっとならなかりかけたくらいの明るさで、皆正装して集まり乗船しました。適当にテーブルにつき、



地主、おいしゅうですお!!

お料理を取りに行きます。今回も誰の挨拶もなく、説明もなく始まりました。初めは各自テーブルで飲食・飲談していましたが、だんだんとめちやくちゃになり、気がつくと知らない外人と写真を撮っていた、という感じです。お酒が入って皆陽気になってきた頃、周囲はやっと暗くなってきて、ライトアップされた建物が映えて来ました。屋外の風が気持ちよく、素晴らしい12th International Workshop & Conference 最後の夜となりました。船から降りると私達はその勢いで「ラーメンを食べに行こう!」とT大学I先生の道案内でオペラ座の方へ向かって歩き出しました。「そんなに遠くないよ」の言葉を信じて。途中、あちらこちらで写真を



右から小幡先生、萩原先生、佐藤先生



右からラメンジー先生、竹内先生、滝口先生、田中先生、成瀬先生

撮りながら、かなり歩きました。歩き疲れて皆だんだんと無口になってきた頃、「あっ、閉まっている！」無残にも真つ暗なラーメン屋さんが目に入りました。40分は歩いたでしょうか。皆喉が乾いて、開いていたカフェに入り、それぞれに喉を潤していましたが、I先生はひとり元気にオムレツを食べていました。さすがにそこからはタクシーに乗ってホテルまで戻りました。翌日この付近まで買い物に来て、その遠さと歩いた距離に驚きました。同様に血液センターの方々もラーメンを求めて歩き回ったそうですが、その途中スリのグループに囲まれ、逃げ切った方あり、被害を受けられた方ありだったそうです。ポケットの現金は危険です。これから行かれる方は注意しましょう。(結局ラーメン屋は見つからずに皆すき腹をかかえて寝たそうです。)

カンファレンス最終日、午後はフリーです。昼食を会場近くの日本料理店でとりました。店内には既にO血液センターのN先生とOさんがいらっしやいました。フランスに来てから初めて口にした日本食です。それからそれまでできなかつた観光をしに、皆それぞれ出かけて行きました。エッフェル塔に上ったり、凱旋門に上ったり、美術館に行ったり、C血液センターのJ先生の引率で、先生の思い出の(?)モンマルトルへ行ったり。エッフェル塔はさすがにパリのシンボル、いつでもエレベーターは順番待ちの列ができています。展望台の一番高い所まで上ると、パリが一望できます。エッフェル塔は建てられてから既に100年以上も経っているなんて信じられません。また凱旋門の上から見た景色も素晴らしいものでした。そこから放射状に道路がのびており、そのうち一番賑わっているのがシャンゼリゼです。また「新凱旋門」と呼ばれる近代的なガラス張りの門も見え、その後ろにはラ・デファンスという新しいオフィスエリアがあり、沢山のビルが建ち並んでいます。ここはパリの少しはずれたところがあるので、さしずめ幕張といったところでしょうか。「モナリザ」で有名なルーブル美術館は、あまりの広さに皆さん全部は見切れなかつたようでした。フランス最後

の夜も、フランス料理を頂きました。それぞれに今回フランスで食べた料理のうち一番のお気に入りを注文しました。フォアグラ、トリュフ、キャビア、鴨、鳩、海老、ヒラメ、仔牛…。思い出ただけでも、お腹がすいてしまいます。

さて、いよいよフランスを飛び目がやってきました。フライトは夜なので、夕方までフリーです。皆でお土産を買いにオペラ座の方へ繰り出しました。この辺は特にスリが多いので皆気をつけて、リュックタイプの鞆が盗られにくいというので、それぞれに学会で配られたリュックをかついで行きました。デパートが並んでいるせいかすごい人で、人をかきわけデパートの前を歩いていました。すると通りすがりにぶつかった人同志が喧嘩を始めました。始めはこづき合いからしまいには蹴り合いになりました。私達は別に見とれてたわけでもなく、被害を被らないようにその人達を避けて人だかりから出ました。すると、なんと！リュックのフタが開いていてヒモすらもゆるんでいたのです。その瞬間、血の気が引きました。それぞれに中身を確認し、何も盗られていないことを確かめました。最後の最後でこんな目にあうなんて、やはり学会が終わり気がゆるんでいたのでしょうか。それにしても、喧嘩をしていた人達がスリの仲間、演技だったなら、痛い思いをして何も盗れなかつたとは…。実はパリに移ってからスリの被害にあった人が結構いたようです。日本人に限らず狙われていました。私の周囲では特に大きな被害を受けた人はいなかつたようですが、油断は禁物です。

<まだまだある、こんな話>

◇ T大学I研究所のT先生はパリに着いて観光していたところ、突然警官に呼び止められ、「麻薬を持っているか」等の職務質問をされ、パスポートを見せるまでフィリピン人と間違われていたそうです。

◇ C血液センターのJ先生は観光中に、パスポートを見せるよう言われ、さらに「パリではニセ札が沢山出回っているから調べる。」と警官もどきに持っていたお札を一枚一枚見られたそうです。その人はすかして見たり、匂をかいだり丹念に調べていたそうですが、周囲の方々にはこれはスリだと思って、本人よりもヒヤヒヤしていたそうです。先生、ちゃんと枚数を確認されましたか？ちなみにニセ札や偽造コインが出回っているのは本当です。

◇ テラサキ先生はご自慢のデジタルカメラをいつ

も持っていらっしゃいました。見たことのないものなので、先生に伺うと、こんなこともできる、あんなこともできる、と丁寧に説明して下さいます。パーティーの時など、色々な国の方から聞かれていたようで、説明をされている先生のお姿を何度も見かけました。先生はいったい、何回同じ説明をされたのでしょうか。

◇ TIS大学のK先生は、かつてバスツール研究所にいらしたので、「里帰りをしたような懐かしい気分です。」とおっしゃっていました。先生のフランス語を聞くことができなかつたのが残念です。

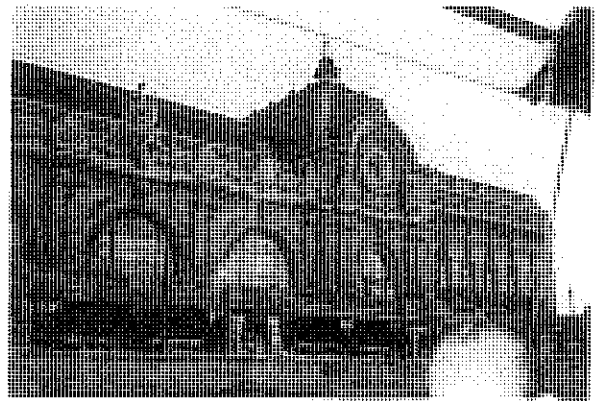
◇ 学会中、いつも私達に愛敬をふりまいていたのが国立JセンターのS先生が連れて来られたお嬢さんです。わずか1才とちょっとで、あの8時間にも及ぶバスの旅にもよく耐えました。また、観光先では他の国か

らの参加者からも大人気で、彼女なりにきちんと国際交流をしていました。

このように振り返って見ると、あっという間に過ぎていった12日間でした。旅行ガイドブックで見たよりもずっと気温が高かったのが予想外でしたが、ほとんど好天に恵まれ絶好の学会日より(?)ではなかつたかと思います。また、なかなか自分では行く機会のないサンマロへも行け、フランスのリゾートと都会の両方を味わうことができました。もし、この学会が英語圏の国で行われたのだったら、大都市だけで行われたのだったら、こんなに色々な出来事は起らなかったでしょう。つくづく言葉(コミュニケーション)の偉大さを感じました。私達はそれぞれにお土産と、帰ってから書かなければならない報告書のネタと、留守中に溜まった仕事の心配を胸に、フランスを後にしました。



わたちもさんかしました!



〈おまけ〉 私は誰でしょう?

---

## 輸血免疫の謎をめぐって

### 世界68カ国が参加 国際輸血学会が開催される = 幕張メッセ =

京都府赤十字血液センター 丸屋悦子

24th Congress of the International Society of Blood Transfusion ISBT'96 (国際輸血学会)に出席し「A comprehensive approach for the gene typing of HLA class I, II and TAP by PCR low ionic strength single stranded conformation polymorphism (PCR-LIS-SSCP)」についてポスター発表をした。学会の内容(興味深いテーマ)について報告する。

24Th ISBTは1996年3月31日から4月5日の6日間、Makuhari Messeで開催された。参加人数はおよそ1400人、日本以外68カ国の参加があった。初日は19の輸血

分野に関する教育講演(Blood Banking, Hematopoietic Stem Cell, Adverse Effect, Clinical Transfusion, Pediatric and Obstetric Transfusion, HLA, Transfusion-transmitted Infection, Apheresisなど)があり、2日目から6日までに45のシンポジウム、13の特別講演、18のポスターセッションがあった。総演題数723、1日平均して120の演題が発表されたことになる。これらのうち特に興味深かった以下のテーマについて述べる。

1. Immunomodulation in Blood Transfusion
2. Gene Therapy



## 3. GVHD

## 4. Unrelated Bone Marrow Transplantation; Cord Blood Transplantation

## Immunomodulation in Blood Transfusion

輸血が人の免疫系に与える影響（輸血免疫）には2種類ある。それは免疫誘導（例えば輸血により抗体ができる現象）と免疫寛容（例えば臓器移植の前に輸血をすると移植臓器の生着率がよくなる。すなわち他人を自分と誤認する）である。これらはまったく正反対の現象であるが同じ輸血により起こる現象である。輸血により誘導される免疫寛容現象のメカニズムは長い間謎であり、現在もまだその謎は解明されていない。また輸血による免疫誘導と寛容がどのように調節されるのかも解明されていない。このテーマについて最近の研究結果が発表された。

## HLA-DR Matched Blood Transfusion Improves Survival after Heart Transplantation

NetherlandsのDr. Claasらの研究は、“腎臓移植患者で移植前にHLA-DRを適合させたドナーの輸血が腎臓移植の成績を良くする効果については知られている”その効果が心臓移植の場合にも見られるかを100人の心臓移植例について調査したものであった。結果は心臓移植でも同様な現象がみられ、HLA-DR抗原適合輸血群と不適合輸血群では、移植7年後の生存率が83%（HLA-DR適合輸血群） vs. 66%（HLA-DR不適合輸血群）であったと報告した。

## Effect of Leukocyte-Depleted Blood Preservation on Immunological Function of Lymphocyte. An Experimental Study of Autologous and Allogenic Transfusion Models.

慶応大のDr. Katoらは輸血による免疫寛容を解明するため、生体外でつぎのような実験をした。5人の健康な人から200mlの血液を採取する。その100mlは白血球を除き、残り100mlはそのまま、それぞれ21日間4℃で保存する。保存している間、1週間ごとにそれぞれの血液から血漿をとる。この血漿中のProstaglandin E2（白血球が破壊されて放出される）やIL-6の量を測定すると、白血球除去群では血漿中のProstaglandin E2やIL-6の量に変化はみられないが、白血球を除かず保存した血液の血漿中ではこれらの量のあきらかな増加が見られ、Tリンパ球の活性化を阻害していた。よってこれらの結果より、彼らは血液保存中に血液中に存在する白血球が破壊され放出されるProstaglandin E2や活性化された単球などから放出されるサイトカイン（IL-6など）によりレシピエントのT細胞の免疫応答作用が抑

制され、輸血後の免疫寛容が起こっているのではないかと報告した。

## Posttransfusion Immunomodulation and The Th1/Th2 Dichotomy

Dr. MincheffらはDr. Katoらと同様、輸血による免疫寛容は血液の保存中にドナー白血球の破壊に起因しているとする点では一致しているが、そのメカニズムは異なる。彼らはメカニズムを以下のように考えた。ヘルパーT細胞には放出するリンフォカインの種類によりTh1型とTh2型がある。免疫反応が起こった場合どちらの型のT細胞が増えるかは、はじめの抗原提示の様式により異なる。組織の中のdendritic cellやリンパ節で抗原が提示される場合はTh1型が増え、細胞障害性T細胞が作られる。一方抗原提示が肝臓や脾臓でなされた場合はTh2型が増え、B細胞を刺激し、これにより補体結合性のないIgG抗体やIgE抗体が作られる。Th1とTh2はお互いの反応を抑制する作用（Th1が増殖するとTh2の作用は抑制される。またその逆もある）がある。血液が保存されている間にドナーの免疫担当細胞が徐々に破壊され、MHC抗原が可溶化された状態のもの、膜上に存在するもの（生きの良い細胞の表面のMHC抗原）の混合になっている。このような状態で輸血された血液はレシピエントの体内で、ドナーの生きの良い未成熟なdendritic cellらはTh1を増やす方向に働くが、保存中に破壊された（apoptotic）細胞のMHCは外来抗原としては認識されず、また可溶化された抗原はレシピエントの抗原提示細胞によって脾臓や肝臓で提示されTh2を増加させる。総合的にTh2が増加し、免疫が抑制された状態になると報告した。

## Leukocyte Depletion Reduces Postoperative Mortality in Patients Undergoing Cardiac Surgery

Leiden大学病院のDr. Wateringは心臓外科手術後の死亡率をフィルターによる白血球除去血を輸血することにより軽減できると発表し、心臓外科手術を受けた患者915人について、60日後の死亡率と死因を大部分の白血球を除いた赤血球輸血群（PC）と血液採取後すぐフィルターで白血球を除去した赤血球輸血群（FF）および保存血からフィルターで白血球を除去した赤血球輸血群（SF）で比較した。以下にそのデータを示す。

## Causes of death

	PC	FF	SF
Mortality	24/306 (7.8%)	11/305 (3.6%)	10/304 (3.3%)
Myoc. Inf.	4	4	3
Heart failure	6	3	4
Arhythria	4	3	2
Anastom. dehiscantion	3	0	0
Multi Organ Failure	7	1	1

大部分の白血球を除いた赤血球輸血群 (PC) では Multi Organ Failureによる死亡率が他の輸血群 (FF and SF: フィルターを使った白血球除去赤血球) より有意に高かった。

Multi Organ Failureは外科手術後すぐに輸血される血液によるActivation inflammatory response systemsにより起こるとされるsystemic Inflammatory Response Syndromeである。すなわち、血液保存中に白血球の活性化により放出されるリンホカインにより起こる致命的な副作用であることが示された。

これらの発表をまとめると、今のところ次のように考えられる。輸血による免疫寛容は血液中の白血球が保存中に活性化や破壊されることによりサイトカインが放出され、なんらかの免疫抑制作用が引き起こされる。これらのサイトカインは免疫反応を抑制 (例えばアロ移植片を長期間生着させることもできる。特に輸血されるドナーのHLA-DR抗原がレシピエントと一致しているとその効果が高い) するが同時に、外科手術後にMulti Organ Failureを引き起こし致命的な副作用を示すこともある。ただしこれらの作用を示すサイトカインがすべて同じものか、別々のサイトカインによる作用なのかは解明されていない。この作用を除くにはフィルターによる白血球除去輸血が有効である。

輸血免疫は安全な血液製剤を供給するためにも非常に大切な分野であり興味深い分野であると考えられる。

#### Gene Therapy

Gene TherapyについてDr. Blaeseによる特別講演があった。Gene Therapyはこれから注目される遺伝子疾患 (先天的に正常遺伝子の欠損による疾患) に対する治療法である。日本でも第1例目 (ADA欠損の患者) がすでに北海道でなされている。方法は患者のT細胞をフェーレーシスで採取し、試験管内で増殖させ、正常遺伝子が組み込まれたLASNレトロウイルスベクターと患者T細胞を混合し、レトロウイルスが患者T細胞に感染することにより、正常遺伝子を患者T細胞に入れることができる。このT細胞を患者に輸血することにより治療できる。またCD34陽性の臍帯血細胞 (造血幹細胞) に必要な遺伝子をLASNレトロウイルスを使って組み込むことも試みられている。次にこの治療法を悪性腫瘍の治療にも応用することが現在考えられ、研究されている。

#### GVHD

##### Posttransfusion GVHD

輸血後GVHDについて十字先生による講演とこれに

関する演題をまとめ紹介する。輸血後GVHDは輸血を受けた患者がドナーの血液中の免疫担当細胞を除去することができず、反対にこれらの細胞により攻撃され、発熱、発疹、下痢を輸血後7-30日で起こし死にいたる輸血副作用である。この副作用の防止には放射線照射により血液中の免疫担当細胞を不活化させる方法がある。1965年はじめてこの現象が免疫不全症の患者で発見された。当時は免疫機能に異常がある患者にのみ起こると考えられていた。しかし日本でこれによく似た症状を示す患者が外科手術後の患者に見られ、別名 (post operative erythroderma) で呼ばれた。なぜならこれらの患者が免疫不全症ではなかったからである。外科手術後の患者にPT-GVHD (post operative erythroderma) が起こった理由を以下に示す。HLA抗原が自己と非自己を識別する機能を持ち、輸血された血液 (ドナー) のHLA抗原を患者がすべて保有し、さらに患者は別の型のHLA抗原も保有する場合 (ドナーがHLAの同種接合体で患者が異種接合体)、患者は輸血された血液を他人として識別することができない。なぜなら輸血された血液が持つHLA型はすべて自分も持っているからである。一方輸血された血液は患者を他人として識別できる。なぜなら自分のHLA型以外のHLA型を患者が持つからである。これにより免疫不全の患者でなくてもドナーの血液は患者を攻撃し、輸血後GVHDが起こるのである。特に日本人にはHLA同種接合体の頻度が他の国に比べ高く、よって外科手術後に輸血後GVHDが起こる頻度も高いのである。もちろんその他免疫機能が成熟していない1才未満の子供、高齢者や癌患者などのように免疫機能の低下がみられる患者にも起こる。

輸血後GVHDについては上の特別講演の他に次のようなポスター発表もあった。

Transfusion-Associated Graft-VS-Host Disease (TA-GVHD) in Immunocompetent Patients: HLA 1-Way-Match in Class I -A and -B Antigens but not necessarily in Class II Loci

岐阜大学病院のDr. Otsukaらは輸血された血液のHLA-class II抗原がひとつ患者と違っていても、この輸血後GVHDが起こった症例を示し、日本人によくあるHLA型を持つ患者は放射線照射した血液を輸血すべきであったとした。

#### Survival Kinetics of Specific Donor Leukocyte Subset in Transfused Immunocompetent Patients

カリフォルニア大学のDr. Leeは大量出血を伴う外科手術の場合、輸血された血液が長期間 (数日) 患者のなかで生き残り、増加する現象を発表した。それはち

ようど患者とドナーのキメラズム（お互いがお互いを自己とみなす）が成立したかのようにみえる現象である。これも輸血免疫に関する新しい知見であった。

### Unrelated Bone Marrow Transplantation; Cord Blood Transplantation

非血縁間骨髄移植のなかに新しい方向性が現れた。それは移植する骨髄のソースとして兄弟・姉妹の骨髄やボランティアの骨髄が使用されている。これは骨髄採取時に提供者に大きな負担を与える方法である。最近、分娩後の臍帯血（出産後、ベビーの臍の緒を母親から切った後、残りの臍の緒に残っている血液）に、造血幹細胞が多く含まれることが判明した。この臍帯血を集め（臍帯血バンク）、骨髄移植を必要とする患者に輸血することが、アメリカをはじめイギリス、オーストラリアなどで活発に行われるようになった。

### The Placental Blood Program (PBP) of the New York Blood Center

ニューヨーク血液センター（臍帯血バンクで有名）のDr. Rubinsteinによる発表内容を示す。

#### Placental Cord Bloodの処理法

採取した臍帯血（およそ50ml~100ml）の量を軽減し保存を容易にするため精製をする。保存はバックを使用し液体チッソの液体の中に浸け、凍結保存をする。精製法は1% HESを臍帯血に加え、まず50g、5 mins遠心し赤血球を除く、次に400g、10 mins遠心し血漿を除き白血球を凍結防止剤（10% DMSO、1% Dextran 40、1% clinical HES in Saline）に浮遊させ凍結保存する。

#### 保存した臍帯血のHLAと患者HLAの適合度

HLA抗原完全適合（6抗原）のドナー臍帯血が得られる患者は患者全体の5%であるが、適合条件を1抗原ミスマッチとすると50%の患者は臍帯血移植（輸血）を受けすることができる

1993年~1995年までの106人の臍帯血移植（輸血）の経験について

#### \* 年代別移植数

Year	Number
1993	2
1994	19
1995	85

#### \* 月あたりの移植例数の推移

1993年~1994年あたりは月1~5例程度であったが1995年から現在まで月十数例、1996年2月には月20例、3月15例の移植が行われた。

#### \* 106例の非血縁間臍帯血移植（輸血）におけるHLA

#### 適合度

不適合抗原	不適合抗原数	患者数
なし	0	9
class I only	1	29
	2	4
class II only	1	13
	2	4
Both	2	32
	3	12

#### \* 臍帯血移植（輸血）を受けた患者の疾患名

病名	患者数
Leukemia	82
Genetic	22
Acquired	1
Solid Tumor	1

主に白血病と遺伝的疾患に対し行われている。

#### \* 移植成績

移植後30日以内に死亡または再発した患者（失敗例）	17
成功した患者	89(+2)
（内訳）はじめ生着したが後に拒絶された	9(+2)
移植後経過時間が短いため保留	1
生着	79

（ ）は再臍帯血移植例を示す

#### \* 臍帯血移植（輸血）が成功（生着）した79例について

生着し何事もなく日常生活を過ごしている患者	46
生着後、何らかの症状がでた患者	33

（その内訳）

再発	8
感染	10
Respiratory	6
GVHD (±Sepsis)	4
VOD (±Sepsis)	2
その他	3

以上の結果で特徴的なことはGVHDが少ないことである。

#### 移植に成功した79人の結果をまとめると

生存者	46 (58%)
死亡者	25 (32%)
再発者	8 (10%)

となった。

\* 移植後の患者の有核細胞・血小板の回復状況  
有核細胞は平均23日（13日~41日）で500のレベルを示し、

血小板は平均50日（29~105日）で20,000のレベルに

回復する.

臍帯血の場合、血小板の回復が遅い傾向を示す.

\* 臍帯血移植 (輸血) 成功例 (75) におけるGVHDについて

これらの患者に発症したGVHDの強度とその発症数を示す.

Grade	患者数
0	24 (32%)
1	19 (25%)
2	19 (25%)
3	9 (12%)
4	4 (5%)

強度 (Grade 2~3) のGVHDを示す患者は4割であった.

\* 臍帯血移植 (輸血) 73例におけるHLA適合度とGVHDの関係

HLA抗原はclass IIについては血清学で、DR抗原は遺伝子タイピングにより検査されている.

不適合抗原数	患者数	GVHD (grade 2~4)の発症率
0	6	17%
1	31	39%
2	28	39%
3	8	87%

HLA抗原の不適合数が増加するにつれGVHDの発症率も増加する.

\* HLA抗原適合度別、発症GVHDの強度の比較 (移植成功例73について)

HLA抗原が0ミスマッチ、1ミスマッチ、2ミスマッチ、3ミスマッチ群で、発症しているGVHDの強度を比べると0ミスマッチ群では重症なGVHDの発症率は低い. しかしミスマッチ度の増加に伴いGVHDの重症度が増加する傾向は見られない. なぜならば、3ミスマッチ群ではgrade 2のGVHDが著しく増加しているが、grade 3や4のGVHDの発症率は他の群とあまり変化しない. またgrade 2のGVHDが急増した理由も不明である.

\* HLA抗原適合度と生存 (健康で) 率の関係について  
HLA抗原はclass IIについては血清学で、DR抗原は遺伝子タイピングにより検査されている.

HLA抗原0ミスマッチ群では70%の生存率 (9例)

HLA-class Iのみミスマッチ群では50%の生存率 (33例)

HLA-class I and IIのミスマッチ群では30%の生存率 (44例)

HLA-class IIのみミスマッチ群では30%以下の生存率 (17例)

であった. HLA-class IIの適合が重要であることがわ

かる.

\* 移植 (輸血) された細胞の数と生存率の関係

≥60 m (in millions)/kgの移植 (輸血) 例では70%の生存率

35~59 m /kg (n=27)

20~34 m /kg (n=29) 40%の生存率

8~19 m /kg (n=23)

この2群間には明らかな有意差があり、移植される細胞数も移植成績に重要である.

\* 成人への臍帯血移植 (輸血) の成績 (1995年以前) 例

Age/Sex-病名	WBC/kg	Engraftment (生着)	生存 (日)
26/M-CML	10.3	No	Dead +12
47/F-CML	9.3	No	Dead +13
18/M-AML	11.2	No	Dead +13
25/F-CML	13.3	No	Dead +21
21/F-FA/MDS	21.0	No	Dead +26
21/M-ALD	18.9	Yes	Dead +106
42/M-AML	16.9	Yes	Dead +53
23/F-FA/MDS	62.6	Yes	Alive +377
25/F-CML	11.3	Yes	Alive +209

成人への臍帯血移植 (輸血) の成績 (1996年) 例

Age/Sex-病名	WBC/kg	Engraftment (生着)	生存 (日)
25/F-ANLL	-	Yes	Alive +76
25/M-ALL	13.9	Yes	Alive +52
39/F-AML	25.7	Yes	Alive +31
26/F-AML	14.4	Yes	Alive +30
38/F-AML	20.6	Yes	Alive +22
18/M-ALL	22.9	Yes	Alive +14
18/F-ANLL	25.4	Yes	Alive +1

1996年代の移植成績は良くなりつつある. 患者の年齢や移植細胞数によると考えられる.

結論

1. 臍帯血移植は優れた生着率を示す
2. 成人の移植にも適用できる
3. 移植後血小板の立ち上がりが遅い
4. 骨髄由来幹細胞の移植に比べGVHDの発症頻度が低い
5. 骨髄由来幹細胞の移植に比べ重症GVHDの発症頻度が低い
6. 移植後の生存率は患者の年齢・移植細胞数・HLAの適合度特にHLA-class IIに依存する

シンポジウム " Unrelated Bone Marrow Transplantation "での発表より

The Seattle Experience with Marrow Transplantation from Unrelated Donor/ Bone Marrow Transplantation from Unrelated Donor through Japan Marrow Donor Program (JMDP)

フレッド・ハッチンソンのDr. J. Hansenは非血縁間骨髄移植（ドナーの骨髄から造血幹細胞を採取する）のシアトルのCML患者についての成績を発表し、日本の非血縁間骨髄移植を代表し、森島先生による発表があった。アメリカと日本の結果で大きく違った点は、アメリカではHLA-class IIの適合性が重要で、日本ではHLA-class Iのアリルレベルの適合性が重要であるとしている。この相違点についてDr. Hansenは移植患者の疾患群の違いにより生じているとも考えられる。よって現時点で、どの抗原の適合が最も重要であるかを定めることはしないほうが良いとコメントした。

Minor Histocompatibility Antigens for Allogeneic Bone Marrow Transplantation

ライデン大学のDr. Goulmyは骨髄移植・臓器移植にとって重要となるMinor Histocompatibility Antigenについて報告した。Minor Histocompatibility AntigenはHLA抗原が一致している兄弟・姉妹間の骨髄移植においてもGVHDや拒絶を100パーセント回避できない理由を説明する抗原群である。つまり主要組織適合性抗原以外の組織適合性抗原をさす。現在、HA-1～HA-5まで発見されている。このうちHA-1抗原の適合性が移植後のGVHD発症に深く関わることを発表した。我々もMinor Histocompatibility Antigenの研究をはじめており、Dr. Goulmyと、直接会話の機会が持てたことは有意義であった。

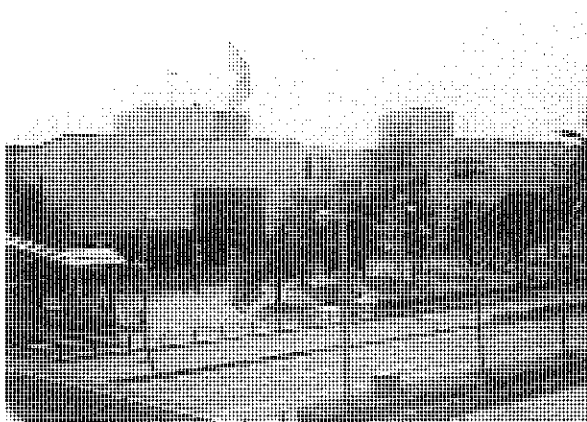
## 第24回国際輸血学会総会 (ISBT) に出席して

愛知県赤十字血液センター 倉知 透

○はじめに

第24回国際輸血学会総会は、本年3月31日から4月5日にかけて千葉の幕張メッセで順天堂大学の湯浅先生を総会長として開催されました。この総会は2年ごとに開かれているもので、日本では1960年に第8回の総会が開かれたと聞きましたが、36年ぶりの総会ということで多くの方が色々な仕事を分担され、たいへんなご苦労があっただろうと想像します。

そんな血と涙の得るような苦労の結果開催できた(大袈裟すぎますか?) 学会総会で、私は一応ポスター発表をしたのですが、ほとんど物見遊山で出かけたためacademicな報告はほとんどできないと思います。予めご了承下さい。

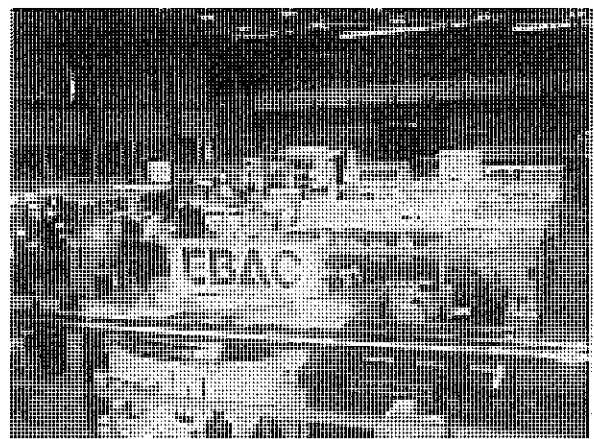


ISBT 幕張メッセ

○最近の興味 (個人的な)

最近の医療に係わる話題として世間を騒がしているのは「薬害エイズ」であることは、医療関係者のみならず多くの人が周知のことではありますが、近年の輸血医療において自己血輸血や輸血用血液への放射線照射という対応が実施されるようになったことは、全血輸血時代からその本来の輸血効果を目指した成分輸血時代へ移行し、さらに輸血副作用を未然に防ごうという意識の高まりから適正輸血時代(勝手に言葉を作ってしまった)に移行したと言えます。そのため赤十字でも安全な輸血を目指した対応を検討して実施したり、実施を予定していることが多々あります。

このようなことから、私の最近の興味は、輸血用血液の安全性を確保するための検査はどこまでやればよ



輸血用血液

いのだろうかとか、血液センター用のGMP（医薬品の製造管理及び品質管理に関する規則）が作れないかといったことに向いています。5年ほど前まではHLAに首まで（頭はパソコンに・・・）没かっていた自分が変われば変わるものだとか我ながら感じ入ってしまいます。

ここでは、そんな私がこの学会総会に出席して感じたこと等を綴らせていただきます。

#### ○国際輸血学会総会のプログラム

今回の国際輸血学会は色々なものに葛飾北斎の「富嶽三十六景神奈川沖」が印刷されました。アナウンスメント、プログラム、アブストラクト等々さらには記念品の写真立てにまで印刷され、日本情緒を感じさせる配慮だったと思います。

学会総会の構成は、教育講演、Plenary Lecture（日本語では何て言えば良いのでしょうか）、特別講演、シンポジウムおよびポスターセッションから成っていました。教育講演は、19題ありHLAの分野では3題ありました。この教育講演（Educational lecture）は、日本の輸血学会総会や事業学会総会では数多くは設けられないセッションですが、昨年11月にたまたま参加できましたAA BB年次総会でも多くの教育講演があり学会総会の意味づけを伺い知ることができ、また会場の参加者からは勉強しようという意欲が感じられる講演会になっていたことは、今後日本の学会も参加者も見習う必要があるのではないかと思います。

シンポジウム、ポスター及びその他の講演は日本の学会で開かれるものと大差ない雰囲気で行われましたが、総演題数が700を越える総会のプログラムを編成することはたいへんな苦労があったものと想像します。

#### ○シンポジウム

数あるシンポジウムの中で印象に残ったのは「Total Quality Assurance in Blood Centers」のセッションで、先に述べましたように血液センターのGMPに興味を持っているという理由だけではなく、日赤の同僚（先輩に対して失礼な言葉使いではありませんが）がシンポジストとして参加していたためでもありました。

5名のシンポジストのうち3人が日赤血液センターの職員で、内2人は私が数年前HLAに没頭していた時期に、兄と慕い一緒に仕事をさせていただいた人たちでした。そのため、内容よりも無事に発表が終わるかどうかが心配で（私が心配するなど本当は意味がないのですが）、3人の発表が終わるまで緊張をしていました。あんなに緊張して聞いたシンポジウムは今まで

ありませんでした。聞いているだけであんなに肩が凝ることは初めてでした。HセンターのC氏は、偶然にも私とホテルが同じでさらに部屋が隣り合わせであったのですが、シンポジウムの前々日から幕張に入り、ホテルの部屋で深夜まで同じセンターのM女史を相手に発表の練習をされたと聞いていましたし、FセンターのT氏は、前日のWelcome Receptionに参加せず、ホテルは会場に一番近い所をその一夜だけ予約し、深夜まで発表の中にどんな洒落を入れようかと悩んでいたとのことでした（T氏の洒落はそれなりに受けていましたが・・・ゴマ刈刈）。このような話を聞いて、二人を兄と慕う私にとっては心配をしないではいらなかったわけです。

トップバッターのN先生は、日本のGMPの現状とこれからどうTQAに取り組むことが必要かという意見を述べられました。C氏は、SOP（標準作業手順書）の必要性を強調されました。T氏はスピーチに洒落を2回入れていました（ふたつ目は私の英語力では理解できませんでした）。で、その発表内容は、ナイヨーなんちゃって・・・失礼。一番緊張して聴いて（見て）いましたので忘れてしまいました。

日本の3人の他、スペインとカナダから発表がありましたが、Blood BanksにおけるQAはどこでも課題となっており、どう対応していったら良いかについて方法論はあるが実行にはかなり困難があるという印象を持ちました。

昨年7月のPL法施行により、血液センターのGMPやQC・QAに多くの労力が向けられていることに対して色々な意見がありますが、良質な輸血用血液を安定供給するために基本的なことだけはクリアしなければならないことは誰もが理解できることで、その対応とそして維持をどう行っていくかについて検討し、実行することは欠かせないことと思います。

#### ○Plenary Lecture

Dr. Doddの「Transfusion-transmitted HIV」とDr. Nishiokaの「Transfusion-transmitted HBV and HCV」を聴くことができました。

米国において1985年から1995年ではAIDS発症患者中35例が輸血による感染と判定された。これまでの全AIDS患者の内輸血による感染と判定された患者は7,700例で、全体の1.6%であることを考えると、HIV抗体検査が始まってから輸血による感染がほとんどなくなったといえる。現行のHIV抗体検査は感染してから22～32日しないと検査で陽性とならない。このwindow periodはHIVのp24抗原検査を行うことによって10～12

日に、さらにPCR法を用いれば3~4日に短縮できる。米国における感染リスクは、1単位の血液を輸血した場合450,000-660,000に1回の確率であるが、抗原検査を導入すればこのリスクを低くできる。けれども抗原検査だけで良いわけではなく、抗原検査は今までの検査の追加試験的な位置づけになる。そうすると今度はcost-effectivityを考慮しなければならないとのことでした。

日本における輸血用血液の感染症関連検査の特徴は凝集法を用いていることである。HBs抗原検査(RPHA法)とHBc抗体検査(HI法)の導入は輸血後B型肝炎の発症を激減させProtection rateは限りなく100%に近づいた。HCVに関して二次世代のPHA法試薬あるいはPA法試薬の使用により、1993年のデータではProtection rateが96.63%であったとのことでした。

この2題は、これまでの検査の歴史と現状についての講演でした。今後は、感度の追求と経済効果の狭間でどのような検査法を採用していくかを検討してゆかなければならないし、また、十分には解析されていないけれどHGV等新しい感染症への対応についても検討して行かなければならない時期と思われる。

#### ○ポスターセッション

ポスターセッションには二つの発表形式があり、3分間のスピーチが要求されるものと、そうでないものでありました。私のポスターは後者の形式で発表するものであったため、壁新聞のように貼りっぱなしという如何にも物見遊山の参加者にmatchした発表でした。

ここで少し私の発表を紹介させていただきます。「HCV抗体検査陽性献血者に対するC型肝炎対策」という演題で、HCV抗体陽性者に対して陽性結果の通知と共に医療機関への受診を勧めるという対応を、県の医師会と協力して行った結果、献血者中のHCV陽性率が1.0%から0.5%以下に低下し、受診率は50%近くあったという内容の報告でした。



朝日新聞

#### ○Lunchheon Seminar

総会の会期中3つのメーカー主催でLunchheon Seminarが開かれました。昼食をとりながら勉強をするという過酷なスケジュールを、私も一度だけ経験してみました。ヘモネティクス社のSeminarで内容は「New trend in Donor Apheresis」でした。白血球を血小板アフエーシスキットに組み込んだフィルターで除去しながら血小板採取するシステムの話と、赤血球を採取の目的として行うアフエーシスシステムの話で、これは全血から血漿を分離し、新鮮血漿と濃厚赤血球(白血球の除去も考慮)の形で採取するシステムにより、製剤工程の省略ができるというものでした。

なお、ランチ・ボックスの中身は色々な物が入っていて食べきれないほどでした。味の方はご想像にお任せします。

#### ○その他

学会報告でこんな内容は・・・と思われることをここに報告します。

Participants Listを見て感じたことは、まずは圧倒的に日本人が多いということ。これは当たり前ではあるのですが、会場のフロアでは名古屋弁、博多弁等々が飛び交っていて、国際会議という雰囲気が薄かったです。1992年の11th IWの方が国際会議という印象が強いものでした。次にやはりアジアからの参加者が多いこと。見た目は日本人と変わらない方も多いため、会場で日本人ばかりと感じたのはそのためかもしれません。そして、以前からISBTはヨーロッパからの参加が多く、アメリカからの参加は少ないと思っていたのですが、リストを見る限りではUSAとして150人前後の参加があったようで意外に思いました。

さて、会期中は夜もセミナー等があったのですが、先にシンポジウムの項で紹介しました兄と慕うお二人の労をねぎらうために浅草へ食事に行ったことを報告します。

そのシンポジウムが終わった途端お二人は肩の荷が下りたのかホッとした表情をしていました。で、何かおいしいものを食べに行こうと誘いました。実は前日の夜から、C氏とは「どぜうを食べよう」等と相談はしていたのですが、浅草のむぎとろを食べに行くことにしました。その店をご存じの方も多いと思いますが、私は東京勤務のころ3、4回食事に行って、駒形どぜうとはまた違った味のある店と気に入っていたのです。

まずは雷門から仲見世を歩き、浅草寺でお参りをしました。この時T氏はプロテスタントということで参拝はしませんでした。そして目的の店へ・・・。まず

はむぎ湯から始めて、どの料理にもその食材にとろろ芋を使った7、8種類の料理が、しゃれた小鉢等色々な食器に少しずつ入って出てくる懐石風の食事です。我々の人格?には幾分matchしない雰囲気ではありましたが、みんな楽しく食事ができました。

楽しく食事をしていたのですが、途中で浅草の芸子さんが姿を見せ写真を取ろうとしたところから、それまでに飲んだ冷酒の影響が出てきたのです（一部の人に・・・）。ご存じの方には納得できるかもしれませんが、T氏はシンポジウムが終了した開放感からか、絶好調になってしまったのです。我々は小部屋にいたのですが、彼の奇声を聞いてお店の人が何事かとのぞきに来るほどになってしまったのです。キリスト教徒（プロテスタント）とはこういう人のことかと、知ってはいたのですが改めて考えてしまいました。また、食事の最後に名物のむぎとろ（むぎごはんにとろろをかけて食べる）が出てくるのですが、おなかが一杯になったと言いながら、みんなでお櫃のお代わりを2度、



ホッと一息、命の洗濯?

漬け物もとろろもお代わりをお願いしたのです。最後には「もう閉店ですので・・・」という声でお開きにしたのですが、2時間ぐらいの予定で食事をするつもりが3時間以上もかかってしまいました。こんなにお代わりをする客は初めてだと思われたでしょうし、あの店中に響きわたったと思われる奇声・・・。当分あの店には行けないなあと思っています。

#### ○反省

今回のような国際会議に出席すると思うのですが、語学力の、会話力のないことを痛切に感じます。学会等で発表を聞いたりして勉強することはとても大事なことでありますが、こういった機会には知人を増やすにも良い機会であるわけで、言い替えれば勉強はいつでもできますが、面識の無い人との会話はこの機会しかないとも言えるのではないのでしょうか。でも今回はほとんど知人を増やすことができませんでした。KセンターのS先生は「わたしは、40になってから会話の勉強を始めたんだぞ」とおっしゃいます。それを見習おうと思っているうちに私は40を越えてしまいました。今、これを反省し、すぐに努力しなければと思っています。

もうひとつ反省していることは、安請け合いしないこと。こうして原稿を書くことはもうやめようと反省しています。自分が恥をかくことはかまいませんが、知人の人格を傷つけることになってしまったのではないか、この「KAMON」の品を落としてしまったのではないか、それを心配しています。（この原稿を採用するかしないかでこの「KAMON」の品格が問われるのでは・・・）

以上!



# HLA最前線

【HLAの臨床応用編】

## 非血縁者間骨髄移植とHLA適合

日本赤十字社中央血液センター 赤塚達也

1992年に発足した日本骨髄バンクは、96年6月末現在で7万6千人を超える提供希望者の登録がなされています。一方4000人を超える患者さんが移植を希望して登録され、800例の移植がなされています。患者さんとドナーの適合の条件はHLA-A,B,DRの血清学

的な一致ですが、提供希望者の増加と共に適合率は上昇し、最近の実績によれば初めての検索で患者さんの約2/3に血清学的なHLA適合ドナーが見つかっています。しかしながらこの時点でも適合ドナーが1名も見つからない患者さんも600余名いて、現在も検索

を継続中です。最近の登録は月に1000人前後で伸び悩んでいます。さらに多くの患者さんに適合ドナーをみつけるためにドナーの増加が望まれます。

日本骨髄バンクでは発足当初からNMDP（アメリカ骨髄バンク）と同様に、本来のバンク事業に加え、移植の成績を上げるための研究も目的の一つに定め、将来の検査に必要な検体を保存していました。厚生省の平成7年度骨髄移植調査研究事業「HLA型適合に関する研究」として最近報告書が出されました。研究班協力者としてこの事業の一端を担ったものとして簡単に紹介するのが本文の目的です。

この研究班は笹月健彦（九州大学生体防御研究所）、十字猛夫（日本赤十字社中央血液センター）、柏原英彦（国立佐倉病院）、猪子英俊（東海大学）、吉田孝人（浜松医科大学）、木村彰方（東京医科歯科大学難治疾患研究所）、森島泰雄（名鉄病院）の7人の先生方で組織されています。研究班では3年にわたり、レトロスペクティブにすでに移植された363例（726検体）について、10種類のローカスにおけるアリルレベルのDNAタイピングをおこないました。1つのローカスができるだけ複数の施設でおこない、不一致の場合は再度検査をおこなって確定する方法がとられました。

表1に血清学的に適合したドナーと患者さんの間で、アリルの不適合のみられる頻度をみるため、DNAタイ

表1. 対象としたローカスと不適合数

ローカス	HLA 抗原数	アリル特異性数	不適合数
A	8	14	102
B	23	29	51
DRB1	12	23	72
DRB3	-	3	9
DRB4	-	3	0
DRB5	-	3	9
DQA1	-	10	51
DQB1	6	13	70
DPA1	-	4	220
DPB1	-	14	291

ピングをおこなった726検体でみられた、各ローカスのHLA抗原の特異性の数、アリルの特異性の数と、アリルの不適合数（1検体2抗原を各々集計）を示しました。まず適合検索の対象としていないローカスについてみますと、DRB1と連鎖の強いDRB3, DRB4, DRB5では、それぞれ9, 0, 9例に、DQA1, DQB1ではそれぞれ51, 70例に不適合がみられました。またこれらの不適合例においてDRB1が適合しているにもかかわらず、不適合であった移植例は、DRB3で1例、DQA1, DQB1で、それぞれ26, 34例でした。DQA1, DQB1アリルの不適合の半数がDRB1の不適合と関連していないことが解りま

した。DRB1と連鎖のあまりみられないDPA1, DPB1では、それぞれ220, 291例の不適合がみられ、DPまで適合させることは困難であることを示しています。

検索適合抗原であるクラスIのA, Bローカスについて詳しく見たのが、表2, 3です。Aローカスについてみると、不適合例の80%をA2が占め、他にA

表2 HLA-A 遺伝子と不適合

HLA	アリル名	アリル数	不適合例	%不適合
A2	0201	155	80	40%
	0206	143		
	0207	59		
	0210	7		
A11	A11.1	93	1	2%
	A11.2	3		
A26	A26.3	42	20	46%
	A26.1	18		
	A26.4	28		

表3. HLA-B 遺伝子と不適合

HLA	アリル名	アリル数	不適合例	%不適合
B13	B13	1301	2	26%
	B13N	1302		
B39	B39.1	33	3	17%
	B39.2	1		
	B39N	2		
B44	4402	6	2	3%
	4403	124		
B61	4002	104	40	40%
	4403	7		
	4406	91		

26, A11にも不適合がみられました。BローカスではB61がBローカスの不適合例の80%を占め、B13, B39, B44にも不適合がみられました。PCR法によるHLAのアリルタイピングは本来血清学でできない細かなタイプ(High Resolution)を目的としています。実際には抗血清がないため検査できない血清学的タイプや、サブタイプを決める方法としても大切です。今回も本来ルーチン検査用の血清があれば分けることのできるA26, A11, B13, B39のサブタイプもアリルレベルの不適合として扱わざるを得ませんでした。最も不適合数の多い、A2, A26及びB61に属するアリルの遺伝子頻度は、東洋人と白人で異なり、東洋人では複数のアリルが同じような頻度で存在するのに比べ、白人では1つのアリルが高い頻度を占めていますので、不適合になる確率は低いと考えられます。また、これらの抗原は今までのところ血清学的に分けられたという報告はありませんが、後で述べる移植の予後における重要性から考えると、血清学的スプリットの可能性を検討することは非常に興

味深い問題です。クラスⅡの適合検索対象であるDRB1については、表4に示しましたように、不適合の40%を

表4. HLA-DRB1遺伝子と不適合

HLA	アレル名	アレル数	不適合例	%不適合	
DR4	DR4.1	0401	6	32	20%
		0405	208		
		0410	15		
	DR4.2	0403	35		
		0406	47		
		0407	5		
DR8	DR8.2	0802	41	13	16%
	DR8.1	0803	119		
DR12		1201	35	3	11%
		1202	19		
DR13		1301	6	2	3%
		1302	112		
DR14		1401	28	13	50%
		1405	15		
	DR1403	1403	7		
	HR5	1406	2		
DR15		1501	111	9	5%
		1502	271		

DR4が占めていました。その他DR8, DR14, DR15, DR12, DR13などにも不適合がみられました。これらの表の中の不適合率とは、その抗原を持っている移植例の中での不適合の割合です(例A11:  $1 \div ((93+3) \div 2) \approx 2\%$ )。A2, A26, B61, DR14のように3つ以上のアレルに分かれ、2つ以上のアレルが同じような頻度で存在する場合に高い不適合率となっています。DRB1は移植例の後半の約半数が3次検査としてDRB1のアレル検査をして、ドナーの選択をしているにもかかわらず、MLCで3次検査をしていた前半と同じ約10%の不適合があり、ハプロタイプによっては、限られた時間内にアレルまで適合したドナーを探すことの難しさを反映しています。

次に各アレルの適合と、骨髄移植の予後との関係を見てみました。従来血清学的検査では(特に腎移植の結果から)、HLA-DR, B, Aの順で重要とされてきましたが、今回の解析からは予想に反して、HLA-A, B, A, DRB1の順で移植の予後に影響を与える結果が得られました。ただこの解析は、疾患、年齢、病状など、臨床情報については検討せずに、全例の移植の予後だけをみているので、今後さらに詳しい解析がなされていくことになるでしょう。他のローカスDRB3, DRB4, DRB5, DPA1, DPB1, DQA1では、ほとんど影響がありませんでしたが、DQB1についてはさらに調査が必要と思われます。図1はもっとも影響の強かったHLA-Aについて、適合している群と不適合群についての生存率をあらわ

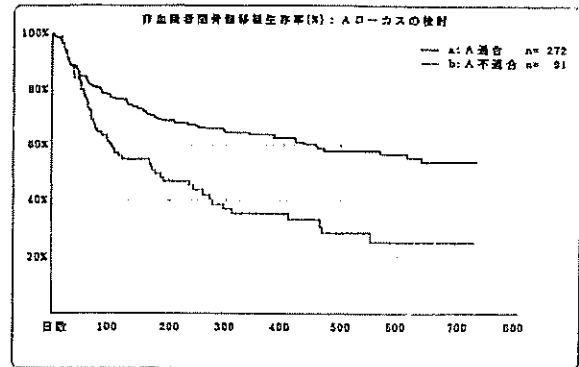


図-1

したものです。ここでは、Aローカスだけについての適合・不適合だけを見て、他のローカスの適合・不適合は考慮していません。また不適合群はGVH方向の不適合だけを選んでみます。移植後1年の推定生存率で約30%の差が見られ、統計学的にも有意に(P<0.001)低下していました。図2は現在適合検索の条件として

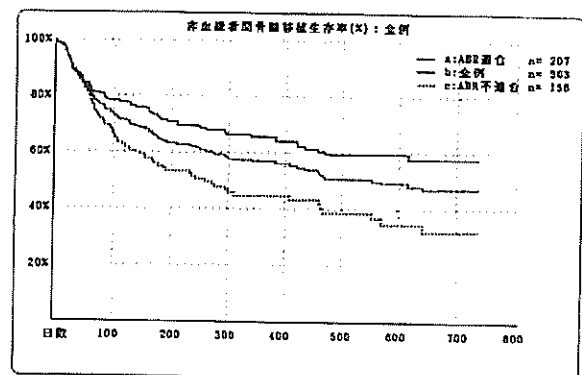


図-2

いるHLA-A, B, DRB1の3つが適合している群と不適合群と全体とを比較したものです。全体の生存率をみますと、1年で57%、約2年で47%になっています。それと比較して、適合、不適合群は約10%増減しています。

現在骨髄バンクでは、移植前のアレルレベルでの検査については、DRB1を行っています。HLA-A, Bのアレルレベルでの検査が重要であることから、可能な抗原について実施していく予定にしています。またできるだけ多くの患者さんが、この3つのローカスについてアレルレベルで適合しているドナーと移植できる体制にしてゆき、HLA一致の兄弟間移植の成績にできるだけ近づける努力を続けていくことが骨髄バンクにたずさわりの使命と思います。さらに研究として、DQB1ローカスの影響の検討を続けるとともに、現在未検査のHLA-Cローカスについても、今後、新たに検討していく予定です。

## 【HLAの生物学編】

## HLA分子の発現制御(その7)

東京医科大学 難治疾患研究所 木村 彰方

前回、がんとHLAとの関連について、その基本を述べたが、この点にもう少し詳しく触れてみる。がん細胞には種々の体細胞変異が生じており、まさに遺伝子変異の集積物である。変異の多くは点突然変異であり、従ってがん細胞内で合成された変異蛋白の分解産物の一部はHLAクラスI分子によって細胞表面に発現し、腫瘍特異的CTLに認識される。この変異蛋白の分解産物(ペプチド)こそが、がん特異的免疫療法を確立する上でのターゲット(真の意味でのがん特異抗原)と考えるべきである。これまでの腫瘍免疫では、がんが発現する未分化抗原(未分化ないし低分化細胞にのみ発現する遺伝子の産物)に着目し、これをターゲットとする考え方もあった。しかしながら、未分化抗原という名の示す通り、そのような"抗原"は、決してがんの特異的なものではなく、未分化な正常細胞にも発現する。従って、その正常な未分化細胞がHLAクラスI分子を発現すれば、これもまた"特異的CTL"<sup>1)</sup>によって排除されてしまうことになる。すなわち、"がん免疫療法"の副作用が生じる。このような"がん治療における副作用"は、"増殖(DNA合成、RNA合成)能が高い"というがん細胞の性質に着目した化学療法の副作用(骨髄抑制、消化器障害、脱毛など)にも、そのアナロジーをみることができる。

がんの一部においてHLAクラスI分子の発現低下ないし欠損が報告されている。特に大腸がんでは、その約10%でクラスI分子全てあるいは特定の対立遺伝子のみの発現欠損<sup>2)</sup>が観察される。この発現欠損の頻度は、大腸がんにおけるDNA修復異常の観察頻度(5~10%)とほぼ一致しており、「DNA修復とHLA分子の発現との間には関連がありそうである。」ここでDNA修復とがんと関連について述べると、図に示すように、DNA修復には大別して2つの機構が存在する。ひとつは、DNA複製時に生じたエラーの修復(ミスマッチ修復、図左)であり、ミスマッチの認識、エラー鎖の切断と除去、再合成の系路を経る。このミスマッチ部の認識と切断にはDNAミスマッチ修復酵素(hMSH2、hMLH1、PMS1、PMS2、GTBP1の複合体)が関与するが、このうちhMSH2、hMLH1、PMS1あるいはPMS2遺伝子に継世代変異が存在すると、大腸がん、子宮体がんなどを多発する(遺伝性非

ポリポーシス大腸がん<sup>3)</sup>、HNPCC)。発生したがんでは、両方の染色体上の修復酵素遺伝子が不活化(継世代変異のない側に体細胞変異が見出される。両方の染色体上の遺伝子のいずれもが体細胞変異によって不活化される場合もあるが、この場合はがん多発家系ではない)している。すなわち、このようながんでは、DNA複製時に生じたエラーを修復できず、複製エラー<sup>4)</sup>(replication error、RER)を蓄積することになる。一般的に、繰り返し配列(単塩基~数塩基リピート)の部分はRERが生じやすい。

もうひとつのDNA修復機構は、紫外線や化学物質(変異原物質)の作用によって生じたDNA損傷を修復する除去修復である(図右)。この除去修復に関わる酵素の欠損症が色素性乾皮症(xeroderma pigmentosa、XP)である。

HLA発現欠損と密接に関連するのは、上記のうち、ミスマッチ修復異常である。前述のように、RERは単純リピート部に生じやすいが、遺伝子の蛋白をコードする部分に単純リピートがあれば、そこにもRERが生じ得る。 $\beta 2$ ミクログロブリン遺伝子には(CT)<sub>n</sub>の繰り返し配列がコドン12~14にあり、RERの結果、このリピート数が変化し(CT)<sub>m</sub>や(CT)<sub>k</sub>になった場合には、フレームシフト<sup>5)</sup>が起こり正常な蛋白が産生できなくなる。同様なRERによる $\beta 2$ ミクログロブリン遺伝子の不活化は、コドン63~65の(GA)<sub>n</sub>、コドン67~68および94~95の(A)<sub>n</sub>のような単純リピート部のフレームシフト変異によっても生ずる。事実、筆者らの解析では、ミスマッチ修復異常のある大腸がんの約半数では $\beta 2$ ミクログロブリン遺伝子内の単純リピート部に変異が生じているが、RERのない大腸がんではこのような変異は認められない。さらに、HLA分子の発現欠損のある大腸がんには、高率にこの $\beta 2$ ミクログロブリン遺伝子内リピート変異が観察されることが報告されており、ミスマッチ修復異常とHLA発現欠損との直接的な因果関係が示されている。それでは、対立遺伝子特異的なHLA発現欠損は、いかなる機構でもたらされたものであろうか? 謎を解く鍵がHLA遺伝子内に単純リピートが存在するか否かにあることは容易に想像できよう。これまでに報告されたHLA-AあるいはB対立遺伝子特異的発現欠損の報告されたHLAク

ラス I 分子は、数が少ないので確定的ではないが、決してバラバラではない。クラス I 遺伝子の配列を決定した事のある読者はよく知っていると思うが、クラス I 遺伝子の第 2、第 3 エクソン内には (GA)<sub>n</sub>あるいは (CA)<sub>n</sub> リピートが存在し、このリピート部分に遺伝的多型性が存在する。すなわち、対立遺伝子によって、GAあるいはCA配列がくり返されることがあり、発現欠損の報告された対立遺伝子のいずれもがこの繰り返し配列を有する群に属していることは注目に値しよう。もちろん直接的な証拠は得られていないが、筆者らはこのような観点からがんにおける特定のHLA分子のみの発現欠損の分子機構を検討している。

今回は、がん特異的免疫を成立させるための条件、その方策等について考察してみる。

DNA repair and hereditary cancer

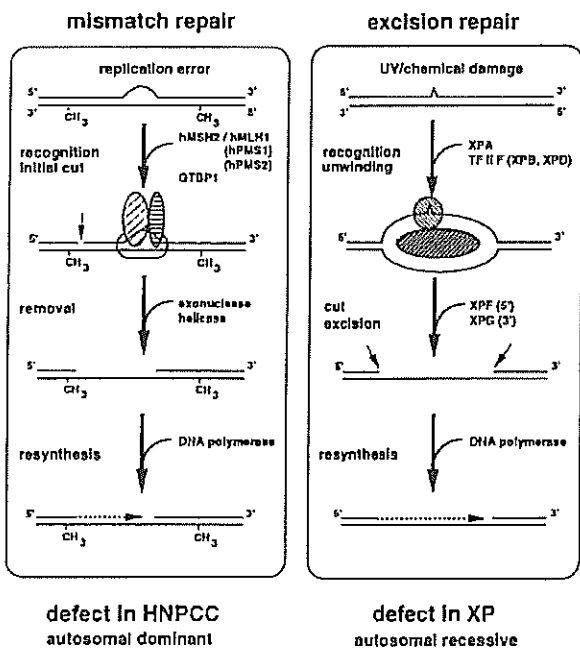


図. DNA修復とがんとの関連

左： ミスマッチ修復と遺伝性非ポリポシス大腸がん (HNPCC) の関連

右： 除去修復と色素性乾皮症 (XP) の関連

注 1) CTL: 細胞障害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte)

CD 8 分子を細胞表面に発現している細胞群で、キラー T 細胞 (Killer T) とも呼ばれる。CTL はウイルス感染細胞や突然変異により異常なタンパク質を産生ようになった細胞を攻撃、排除する役割を担っている。細胞質内で産生された異常タンパク質の断片 (ペプチド) は CLASS I 分子と複合体を形成し細胞表面に発現され、CTL は T 細胞受容体 (T cell receptor: TCR) と CD 8 分子と共にこの複合体を認識する。

注 2) 発現欠損

“発現”とはDNAの塩基配列に基づき特定のタンパク質が合成されることであるが、ウイルス感染や突然変異等により塩基の配列が異なってしまう結果的に正常なタンパク質が合成されなくなる。細胞質内で自己抗原やウイルス抗原はペプチド化され粗面小胞体 (ER) 内に運ばれ CLASS I  $\alpha$  鎖と  $\beta_2$  ミクログロブリンと共に結合し CLASS I 分子を形成する。細胞質内のペプチドは ER 膜上にある TAP (transporter associated with antigen processing) (TAP1, TAP2) と呼ばれるレセプターを介して ER 内に取り込まれるが、TAP の欠損あるいは変異が起こると CLASS I 分子はペプチドと結合できなくなり、その結果細胞表面上での CLASS I 分子の発現が著しく低下するか或いは出来なくなる。

注 3) 遺伝性非ポリポシス大腸癌 (遺伝性非腺腫性大腸癌)

Hereditary non-polyposis colorectal cancer (HNPCC) 家族性に多発する大腸癌でHNPCCの他に家族性大腸ポリポシス症 (Familial adenomatous polyposis:FAP) がある。遺伝子の多型性マーカーであるマイクロサテライトマーカー (microsatellite marker) を用いた連鎖解析により容易に患者、正常者の区別が可能である。

注 4) 複製エラー (replication error; RER)

DNA 中には数塩基の“繰り返し配列” (microsatellite DNA) が数多く認められているがDNA複製の際、この“繰り返し配列”のところの一本鎖DNAが誤ってずれ、異なった部位と結合し、(slippage) 複製されることがあり、この誤った複製が結果的に“繰り返し配列”の増減をもたらす。この現象が複製エラーでRERが認められた腫瘍はRER (+) と呼ばれる。本来複製エラーはDNAミスマッチ修復酵素により正しく修復されるが、RER (+) はこの修復異常によるものと考えられる。HNPCCでは2、3染色体p領域のDNA修復酵素であるMSH2、MLH1の異常が報告されているがその他、肝癌、胃癌でもRERが高頻度で認められる。RER因子が次世代に受け継がれた場合、家族性に癌が多発する可能性が大きくなる。(いわゆる癌体質の遺伝)。

注 5) フレームシフト (frame shift)

点突然変異 (point mutation) 等により3の倍数でない塩基 (3塩基→1アミノ酸) が挿入または欠損し、本来の塩基配列に“ずれ”が生じる現象。塩基配列の“ずれ”により本来合成されるべきアミノ酸が産生できなくなり、結果的に正常なタンパク質合成が不可能になったり、タンパク質の欠損が生じる。

## シリーズ 知ってるつもり!?

## 血清学的に発見された抗原の歴史

HLA抗原のルーツ その7 SN-1,SN-2,B40

福岡大学病院腎センター 内藤 説也

昭和44年(1969年)いわゆる大学紛争がたけなわの頃、九大医学部循環器内科の助手として、心臓カテーテル、腎動脈造影などの臨床に忙しく働いていたが、研究テーマは脈無し病(大動脈症候群)の病因、病態発生を明らかにすることで、家兎や豚を使って実験をしていたが、成果が得られず悩んでいた。本症はいわゆる自己免疫疾患と考えられており、うまくいかないのは私が免疫学の素養が全くないためであろうといわれ、紛争の最中でもあり、留学でもして免疫学を勉強してきたらと上司から忠告されていた。米国で主として免疫を研究し、しかも私を雇ってくれる施設はないかといろいろ手を廻していたところ、恩師荒川教授の米国の友人からUCLAのポール・テラサキという教授が免疫学の仕事でNIHから、莫大な研究費を貰っているという便りを受けて、早速applyしてみたところ、ECFMG<sup>TM</sup>に合格しているならすぐに来てもいいという返事を貰い、その年の7月勇躍ロスアンゼルスへと旅だった。ところがこの研究室は免疫学というよりは、HLAという私が初めて耳にするもののタイピングを専らしているところであった。私の志とは違っていたが、帰国する訳にも行かず、HLAの勉強を始めた次第である。これがその後二十数年も関わりを持つようになるとは夢にも思わなかった。

翌年(1970年)の1月、第4回のHLA国際ワークショップがバームスプリングで、またカンファレンスがロスアンゼルスでテラサキ教授が主催して開催された。ワークショップには、まだ殆ど英語は聞き取れなかったが、妻と2才の子供をつれて自家用車でバームスプリングまで行き、部屋が独立家屋となっているホテルに泊まって参加した。このワークショップにはTerasaki、Allen、Amos、batchelor、Bodmer、Ceppellini、Dausset、Engelfriet、Jeannet、Kissmeyer-Nielsen、Morris、Payne、van Rood、Walford、Zmijewskiの全世界で15の研究室が参加した。このワークショップで同定されたHLA抗原はfirst segregant series (A locus)でHL-A1、A2、A3、A9、A10、A11、W28の7抗原、second segregant series (B locus)

でHL-A5、A7、A8、A12、A13、W5、W10、W14、W15、W17、W18、W22、W2の13抗原、計20抗原であった。このときはW4、W6(現在のHLA-Bw4、Bw6)の存在をvan Roodが強力に主張して問題となった。もっとも私自身は英語が聞き取れず、これらは後でテラサキ研究室の同僚から解説を受けて知ったことである。ただ、ロスアンゼルスのカンファレンスには辻、十字の両先生が参加されていたが、ワークショップにはテラサキLABの一員としてはあるが、私が日本人としては最初に参加したと考えている。

当時テラサキ研究室にはAlbertやMittalが居りHLA抗原の解析には専ら彼等が取り組んでいたし、腎移植との関係ではテラサキ自身や後には、Opelzが熱心に取り組んでいたので私は臨床の医者ということもあり、その頃から研究され始めていた疾患との相関について手を付けた。いろいろな試行錯誤を繰り返しながら、UCLAの神経科の医師の協力もあって多発性硬化症とHL-A3と相関を確立し報告した。これは以後の多くのHLAと疾患の相関のなかでも最初の報告例であり、私の原著論文では最も多くの引用された論文であった。帰国後も九大神経内科の黒岩教授などから厚生省の多発性硬化症の研究班などに入れられ、神経専門医に囲まれて困惑したこともあった。

HLAのタイピングとしては1971年帰国後、テラサキ教授から頂いた抗血清を利用してぼちぼちと始めていたが、特に九大第一外科の許斐先生から、斎藤省一郎先生の学位の面倒を見てくれと依頼され、彼と一緒に仕事をすることになり進展がみられるようになった。更に私が新設された福岡大学に九大から移り、タイピングの道具などをすべて譲ってからは、仕事はしばらくは斎藤先生の独占するところとなった。最初に見つけた抗原はSN-1(斎藤-内藤の1番の意)であったが、これはほぼ同じ時期に独立して、相沢先生がSal、十字先生がJ1として報告されており、1975年デンマークのオーホスでの第6回ワークショップで3人が別々の発表をしたところ、ヨーロッパの女性の先生から相沢、十字、内藤の三人が呼び出され、お前

達は どうして日本で話し合っ て一本化して報告しないのかとこっぴどく叱られたのを記憶している。従ってその後のオックスフォードのワークショップからは日本までまとめてデータを出すようになった。この抗原は日本人に特徴的なHLA-B54として認められた。斎藤先生がみつけたSN-2もその時報告したが、この抗原が正式に認められるまでには時間が掛り、吉田孝人先生などのお力添えで1984年ミュンヘンのワークショップでようやくHLA-B67として認められた。この抗原を新抗原として斎藤先生が見つけたとき、私がいろいろクレームをつけてデータの再検討をさせた上に、この抗原についての論文は時間の関係で私が書いて筆頭者になっており、私が発見者のように思われているのは斎藤先生に大変相済みなく思っている。ただ、斎藤先生は現在は福岡日赤病院の外科部長で、腎移植を始めとする手術で忙しくHLAからは完全に足を洗っている状態である。もう一つ九大第一外科との関係の仕事は豊田清一先生によるHLA-B40の三分割(B60、B61、B48)の仕事である。これもTissue Antigenに論文として報告はしているが、吉田孝人先生のほうでも同じ時期に独立して発表している。私自身B48を持っており、祖母の17回忌に集まった父母と兄弟5人の血液を取って豊田先生に送ったことが懐かしく思い出される。豊田先生は現在宮崎県立病院の副院長としてやはり腎移植その他の外科の仕事で忙しい日々を送って居られる。HLA関係には顔をだされないが、腎移植ネットワークや臨床腎移植研究会などでお会いしている。HLA5135(HLA-B5102)の発見者としては橋本・福西らが有名でこれに異存はないが、私どもも独立して、この抗原を見つけ、第9回日本ワークショップに報告している。かなりの長期間九州共通トレイとして、主として福岡日赤血液センターの徳永和夫さんが出している血清か

ら構成されたものを使っていたが、このため、徳永さんが発見されたCw7、Bw22new、Fuなどの抗原の確立に協力させて頂いた。テラサキ教授の研究室には私の後、福岡からは斎藤先生、徳永さんが留学しているがその後が続かないのは残念である。

前にも記したように私は臨床の医者であり免疫学者でも遺伝学者でも血清学者でもないでHLAについては疾患との関連について最も興味があり(もっとも抗原が確立されていないとだめであるが)、帰国後にもこの方面の研究に最も力を尽くした。大動脈症候群とHLA-B5(実際はB52)、甲状腺機能亢進症(バセドウ氏病)とHLA-Bw46、IgA腎症とHLA-DR4など、微小変化型ネフローゼ症候群とHLA-DQ8、特発性膜性腎症とHLA-DRB1\*1501との相関を私どもの研究室から論文として報告しており、その他いくつかの例もまだ、論文にはなっていないが学会などで発表している。HLAタイピングも今や、DNAタイピングが主流となりつつあり、私のような年輩者にはなかなかついていなくなっている。血清反応パターンをグラフに記入し、ああでもない、こうでもないと思いを巡らしていた頃を懐かしく思い出しながら本稿を書いている次第である。私の次の執筆者は大変僭越ですが本邦のこの方面の第一人者であられる十字猛夫先生をご推薦致します。

注) ECFMG: Educational Council for Foreign Medical Graduate の略で、米国以外の大学の医学部または医科大学卒業者が米国で患者を対象に研究や検査をするため(診療ではない)の資格を問う試験で、筆記試験と口頭試験があり、70点以上で合格する。日本では年1~2回の割合で東京、大阪などで実施されている。

---

## シルクロード辺縁諸国の人類遺伝学的調査—その4

神奈川県湘南赤十字血液センター 安藤 等

---

近年、非常に大きな発展を遂げた分子進化の知識によると、タンパクの構造を支配している一つの遺伝子の変異の蓄積は、おおよそ進化的な時間に比例していると考えられています。したがって、タンパク質を形づくっているアミノ酸の変化、あるいはまたその情報をになっている遺伝子のDNA塩基組成の変化の程度を測定することによって、集団の間、亜種の間、種間の遺伝的な隔たりを推定することができます。

アメリカの人類学者Stem,C.は人種を「人種とは遺伝

的に多少とも他とは隔離された集団で、他のいかなる隔離集団とも異なる集団遺伝子組成を持っている」と定義しています。これは、人種の特徴というものを集団内の組成（遺伝子の割合）によって区別しようとするものです。たとえばよく知られているABO式血液型はA,B,Oの三つの遺伝子の組み合わせでA,B,O,ABという四つの表現型が表されています。表現型のそれぞれの頻度は、人種や集団によって異なっており、これは結局はその集団内の遺伝子の割合が違うということです。



現在、すべての人種は生物学的に一つの種、いわゆるホモサピエンスに属しており、普通に人種と言っているのは、ヒトの亜種とか、あるいは変種であると考えられています。遺伝因子の組み合わせの程度差によって一定の亜種、すなわち人種を他の亜種から区別することがだんだんできるといことになります。たとえば血液型のように単純な遺伝をする形質は、一対、あるいは少数の対立遺伝子によって決定されています。このことは、突然変異とか、遺伝子浮動(genetic drift)、伝染病などによる淘汰、混血などによる遺伝子の交流によって影響を受けやすいが、集団の遺伝子組成を目安にしていることから、非常に客観性があるという大きな利点をもっています。

したがって、そのような遺伝子の数を多く調べれば調べるほど、だんだん集団の遺伝子組成が明らかになっていきます。この意味から、あるヒト集団の起源とか、小進化を知るためには、たとえばHLA型などの遺伝的多型形質といわれるものについてDNAレベルで検査する必要が出てきています。

最近、遺伝学的なアプローチで遺伝的な距離をはかるといことがおこなわれるようになりました。その基礎を考えると、遺伝子の安定性ということがあります。これがあまりどんどん変異してしまうのでは、距離をはかるとい物差しにはなりません。たとえば遺伝子の突然変異というのは、1遺伝子当たり毎代 $10^{-6}$ ぐらいしか起こらないと大体考えられています。

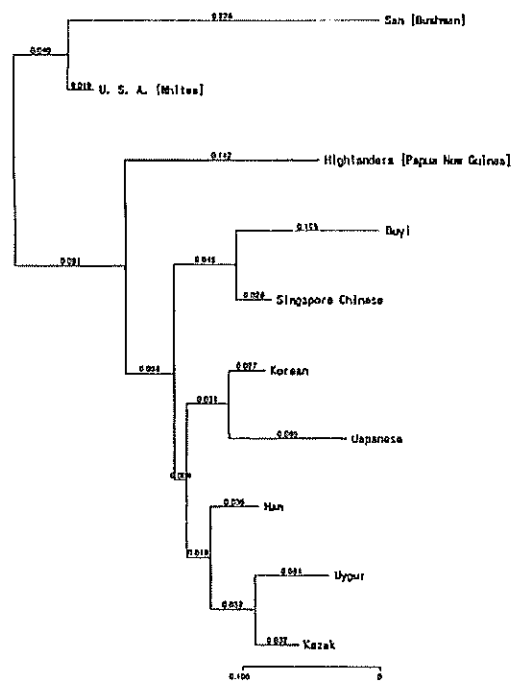
従来の形態学的な人種分類から脱却して、遺伝子を目安にした生化学的な分類が導入されたり、さらにコンピューターを使うことによって集団の血縁関係が遺伝的距離という形で数値化されてきています。そのため、1集団の分類は全く新しい観点から、もう一度ながめ直さなければなりません。そのためには集団について多数の形質を調べる必要があります。

たとえば、キャヴァリ・スフォルザ氏は民族間の分化について、同じ大陸に長く住んでいるお互いに関係のある民族集団の間では、その遺伝的距離について、0.1より低いf値が与えられると提唱しています。たとえばアフリカのグループの間では0.045の値を、オーストラリアの諸部族の間では0.040を、そして南アメリカ・インディアン諸部族の間では0.082の値を与えるにすぎません。三大人種については、黒人種と白人種の間で0.352、黒人種と蒙古系人種の間で0.416、そして白人種と蒙古系民族の間で0.242の値が得られます。このことは、黒人種と蒙古系人種との間の遺伝的距離が最も大きく、白人種は黒人種と蒙古系人種との間に位置し、しかも蒙古系人種よりであることを示しています。

また、根井正利氏は35種類のタンパク型遺伝子座についてのデータから遺伝的距離を計算し、この三大人種がいつごろ分化したかについて興味ある成績を得ています。これによりますと、まず12万年ほど前に将来白人種および蒙古系に別れるグループが黒人のグループと分化し、次に約6万年前になって蒙古系と白人種が分化しました。すなわち、蒙古系人種は黒人種よりも白人種にはるかに近いと遺伝的距離から述べています。

我々は中国北部に分布している漢民族、カザフ族およびウイグル族のHLAクラスII抗原をDNAタイピングで対立遺伝子を決定し、他の人種集団と比較し、遺伝的距離を計算したデータを一部紹介します。図は

HLA-DRB1, DQA1, DQB1, DPB1の遺伝子頻度をもとにした10民族集団の系統樹



近隣集合(NJ)法による遺伝的距離(D<sub>ij</sub>)

漢民族、カザフ族およびウイグル族と他の7種の民族集団について、HLA-DRB1, DQA1, DQB1, DPB1の遺伝子頻度を基にしてつくられた系統樹です。日本人は韓国人とまず最初にクラスターを形成し、次には北方漢民族、ウイグル族、カザフ族と同じグループになります。このように遺伝子頻度をもとにした系統樹による分析は集団を一つのまとまったものとしてとらえ、集団と他の集団の関係を考察するのに適しています。

これまで述べてきたように、血液型はメンデルの法則に従って単純な遺伝をする。別の言い方をすれば、血液型は親から子に規則正しく遺伝するものです。このような特徴によって血液型が発見されるとすぐに、個体の識別に非常に役に立つということが確かめられ

ました。数多くの血液型のDNAレベルでの検査が可能になればなるほど、その重要さは飛躍的に高くなっているといつてよいでしょう。

一つの目安として具体的に一例をあげてみますと、日本人の中から任意に二人をとりだして、30種の血液型を検査した場合、この二人の血液型が一致するチャンスは $1.06 \times 10^{11}$ という値になります。いいかえると、そのチャンスは943億回に一回よりも小さいということです。世界中で一人として同じ血液型をもつ人はいないというところまで検査ができるようになっていきます。血液型というものが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ということから、親子鑑定でも最もすぐれた形質として用いられることは周知のことです。

今後、できるだけいろんな形質を調べて、DNAレベル、遺伝子のもっと細かいレベルまで調べていくと、日本人のルーツもそう遠くないのではないのでしょうか。

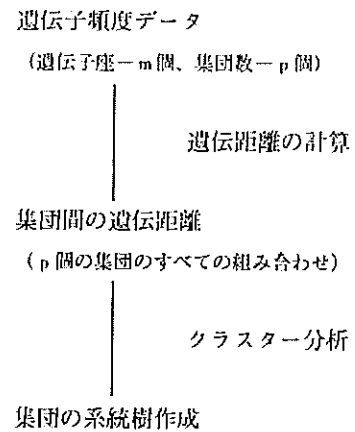
おわりに

この百年間、つねに人類学界的の中心的課題としてとりあげられてきた日本民族の起源論の多くは、これまで人類学の主流となっている骨を中心とした形態学的な特徴や計測値を用いる自然人類学の立場からのものでした。このシリーズにおいては血液学や遺伝学そして分子生物学という新しい立場にたつて、書かせていただきました。なお、HLA抗原をめぐる民族の流れに触れることができなかつたことは心残りではありますが、人類遺伝学において血液型特にHLA抗原の重要性を認識していただければ幸いです。

謝辞

推薦していただきました佐治編集委員長および読者の皆様、さらに執筆にあたり貴重なご助言とご校閲を戴きました猪子英俊教授に深く感謝いたします。

参考：遺伝距離分析



対立遺伝子の数は遺伝子により、また集団によっても異なることから、例えばHLA—DRB1、DQA1、DQB1、DPB1対立遺伝子を9集団で、4種類の遺伝子座の全部について表にします。これが、遺伝距離を求めるための基本的な情報です。理論に基づく数式を用いて、まず遺伝子座ごとに集団間の遺伝的な類似度を計算し、これらをすべての遺伝子座についてまとめて遺伝距離とします。遺伝距離の数値だけを見ても、集団間の関係が一目瞭然というわけではありません。そこで、次の段階として、集団の系統関係を図で示すことが必要となります。これは、類縁図または樹状図あるいは系統樹と呼ばれるもので、いろいろな作成法が提案されています。集団を数値により分類する方法は、一般に「クラスター分析」と呼ばれ、様々な分野で用いられていますが、遺伝子のデータによる系統樹は集団の系統関係を最もよく反映するものと考えられます。



## 海外移植事情



### 臍帯血同種移植と臍帯血バンクに向けて

日本赤十字社中央血液センター 費田 美江

#### はじめに

同種骨髄移植の役割は、造血器腫瘍、骨髄異形成症候群、再生不良性貧血、原発性免疫不全症候群および一部の先天性代謝異常症の治療において、すでに確立されたものとなっている。この同種骨髄移植の替りとして、臍帯血に含まれる造血幹細胞移植の臨床応用が始まり、造血器腫瘍と再生不良性貧血において良好な成績が報告されていることから、我が国においても臍帯血バンクの計画が考えられている。米国を中心とした臍帯血バンクの世界的動向と、私が二年半程勉強させていただいた、英国Bristol大学での臍帯血を用いた幹細胞の基礎研究並びに英国での臍帯血バンクの動向について、報告したい。

#### 同種臍帯血幹細胞による同種移植第一号

臍帯血には骨髄中に含まれる造血幹細胞に比し、より未分化の造血幹細胞が多数含まれているという基礎研究は、既に1980年代の初期からみられるが、実際にこれを臨床応用として最初に用いたのは、1988年フランスのGluckman等のグループによって、Fanconie's anaemiaの5才の少年による、HLA identical siblingからの同種臍帯血移植が初めてである。4×10<sup>7</sup>nucleated cells/kgの有核細胞が移植され、そこに含まれるCFU-GM (granulocyte-monocyte colonies)は、4.37×10<sup>6</sup>であった。Grade 1のacute Graft-Versus-Host Disease (GVHD)が発症しているが、methyl metrizamideの投与により回復し、移植後7年余り経過しているが、正常骨髄機能をもって健康である。

#### 同種幹細胞移植としての臍帯血の性状

臍帯血は成人骨髄に比し、より未分化の造血幹細胞が含まれていることは次の様なin vitroの実験結果から裏付けられている。造血幹細胞は一個の細胞からすべての成熟血球を産生する(多分化能)と共に、分裂した際自分と同じ能力を持った細胞を複製する(自己複製: self-renewal)能力を持った細胞と定義されている。移植された骨髄や末梢血から長期にわたり血球が産生されるためには、造血幹細胞の自己複製能は最も重要

な性質であり、造血幹細胞の存在はcolonies形成法によって確かめられている。このcolonies形成能において、臍帯血は、granulocyte, erythrocyte, monocyte, megakaryocyte colonies からなる混合coloniesを形成するのに対し、健常成人骨髄ではほとんどのcoloniesはより分化の進んだCFU-GM coloniesである。また、培養実験で確認できる最も幼若な造血幹細胞を長期間培養始原細胞 (long-term culture-initiating cell: LTC-IC) といい、骨髄支持細胞との共培養を4週間以上行った後でもcolonies形成能を有する細胞として定義されるが、臍帯血中には成人骨髄に比し、長期間colonies形成能を維持しうる造血幹細胞が含むことが示されている。細胞表面抗原としては造血細胞はCD34 positive, lineage negative (CD34<sup>+</sup>lin<sup>-</sup>cells)として定義され、造血幹細胞の分化が進むにつれて、CD34抗原を消失し、分化抗原、活性化抗原、接着分子およびチロシンキナーゼなどの酵素が発現されてくる。この様なin vitroでの実験結果からわかるように、臍帯血中には正常成人骨髄細胞に比し、幼若な細胞が高率に含まれていることから、同種骨髄移植における最大の問題点であるGVHD反応が減少することが推定され、Donorとしての臍帯血の選択においてRecipientとのHLA不適合性の程度が緩和されることが期待されている。

#### 世界における臍帯血バンクの現状

現在9000以上の臍帯血サンプルが凍結保存され、非血縁同種移植のために、その利用が待たれている。その内訳は5000サンプルがNew York臍帯血バンクに、残りの4000サンプルが、仏、伊、英国を始めとするヨーロッパの臍帯血バンクに凍結保存されている。1995年4月までにNew York臍帯血バンクから移植のために提供された150余りの臍帯血について、106件の移植成績が報告されているが、これによると移植後30日以前の死亡が17件、残りの89件のうち比較的早い時期に拒絶反応が起こり移植が不成功に終わったものが10件、その後生着した79件のうち、46件が完全に移植に成功しているが、残りの33件は再発もしくは死に至っている。ここで注目したいのは、評価を行うことができた79件のうち、4件がGVHDで死亡し、残りの75件についての

GVHDの結果はgrade(g)=0 24人、g=1 19人、g=2 19人、g=3 9人およびg=4 4人で、GVHDの程度が低いことが観察される。また、HLAの適合性との関連について、検討された73件の結果は以下の通りである。

No. of mismatch	No. of patients	% with Grade 2-4 GVHD
0	6	17
1	31	39
2	28	39
3	8	87

Donor (臍帯血) とRecipient間のHLA適合性の検討において、臍帯血同種移植においては、より未分化な造血幹細胞が含まれることから、HLA 1抗原不適合においても移植の成績が良いことが示唆されているが、上述の結果から見ると限りでは、Grade 2-4 GVHDの発症率は、2抗原不適合と1抗原不適合では変わりなく、3抗原不適合ではGVHDが急激に増加することが観察されている。

1996年5月現在、18人の成人に対し、臍帯血同種移植がなされているが、評価された16件のうち11件が移植に成功しており、有核細胞数は $11-25 \times 10^6/\text{kg}$  (median) で、成功例中最少移植有核細胞数は $6 \times 10^6/\text{cells}/\text{kg}$ であった。また報告された臍帯血によるsiblings間移植44例における結果では有核細胞数は $4.0 \times 10^7/\text{kg}$  (median) で、その範囲は $1.0-33.0 \times 10^7/\text{kg}$ で、成人骨髄移植 $2.0-3.0 \times 10^8/\text{kg}$ に比し低いという結果が得られている。

1992年9月に、The International Cord Blood Transplantation RegistryがJ.E.Wagner (University of Minnesota), N.A. Kernau (Memorial Sloan-Kettering), H.E. Broxmeyer (Indiana University) および E. Gluckmanによって設立され、臨床結果がまとめられている。

#### 英国での臍帯血バンクの動向とBristol大学 Stem Cell Lab. での基礎研究から

EnglandのBristol, Colindale, NewcastleとScotlandのEdinburghからなる4つのグループがUKCBB (UK Cord Blood Group) を構成し、これらのグループが向こう3年間に5,000-10,000の臍帯血バンクを目指して、臍帯血の採取、凍結、解凍等の様々なprocessingにおいて、未分化の造血幹細胞の損失をできる限り少なくし、いかにより多くの造血幹細胞が回収できるかを目的として、最適条件による標準化の検討が地道になされている。またin vitroでのcytokinesの組み合わせによる自己複製能をより強く持つ造血幹細胞の増殖条件についても、検討がなされている。わが国においても、すでに臍帯血の保存がいくつかの施設で行われている

が、多数の臍帯血凍結保存がなされていても、実際に解凍して移植を行おうとした場合に十分な造血幹細胞が得られなければ、時間、費用等様々な面で大きな損失であり、臍帯血バンクに先がけての全国的なStandardizationは非常に重要なことと考える。最後にBristol大学Stem Cell Lab.での基礎研究における結果を以下に記述するが、ご参考になれば幸いである。

CD34<sup>+</sup>細胞の回収率を指標として、次の条件でより高いCD34<sup>+</sup>の回収が達成された。

- 1) sampleの貯蔵空間の減少を目的として赤血球の除去を行う場合、Ficoll gradient等による方法に比べ、3%ゼラチンによるsedimentationが一番CD34<sup>+</sup>細胞の回収が高かった。
- 2) HES非存在下でDMSO 7.5-10%で凍結した場合にCD34<sup>+</sup>細胞の回収率は90%で、HESの添加は好ましくない。冷却速度は1°/minが最適であった。また細胞の凍結、解凍においてDNaseを加えるとclumpingを防止し、顕著にCD34<sup>+</sup>細胞の回収が高まることが観察された。
- 3) in vitroの細胞増殖系 (SCF, IL-3, IL-6, GM-CSF, GCS 10ng/ml) において、造血幹細胞 (LTC-IC およびCD34<sup>+</sup>/CD38<sup>-</sup> cells) の増加は10-40倍であった。
- 4) LTC-ICアッセイ法の1つとしてCorbstone areaの数を数える方法はコロニー形成アッセイ法の結果と良く一致し、臍帯血CD34<sup>+</sup>細胞におけるLTC-ICのfrequencyは第5週と8週の培養でそれぞれ $1/53 \pm 24$ 、 $1/175 \pm 113$ で8週後の培養においても造血幹細胞が高頻度で存在することが確かめられた。
- 5) 臍帯血中の細胞障害性T細胞のprecursorのfrequency (CTLpf) 単核細胞 $10^6/\text{cells}$ 当り約80で、成人末梢血CTLpf約130に対し、統計学的にsignificantではないが低いということがわかった。
- 6) 臍帯血同種移植は骨髄移植に比しGVHDの発症が少ないという報告は、GVHDの低下がGVL効果 (移植片対白血病) の減少と結び付いていくのではないかという懸念をもたらすが、K562をTrgetとして、NK細胞の単核細胞中に含まれるfrequencyを比べたところ、臍帯血は $62/10^6$ 、成人末梢血 $60/10^6$ でほとんど同じであることが確認された。興味あることはIL-2で一昼夜培養して、培養後にK562をkillingする細胞のfrequencyを調べたところ臍帯血の方が末梢血に比し4倍frequencyが高いことが判明した。このことはGVL効果という点で臍帯血の使用が好ましいものであると考えられた。



佐治博夫のまかせなさいっ!



## ええかげんのすすめ

京都府赤十字血液センター 佐治 博夫

## ええかげんさに戸惑う

12thIHWに参加するためフランスのサンマロに着いた。ブリタニー地方の海岸（イギリスに近い）の小さな保養地である。とりあえずホテルに着くが、まず入口がよく分からない。語学の問題ではなく表示がええかげんなのである。なんとかフロントにたどり着き、チェックインをする。やや時間がかかって（後でわかってくるのだが、このフロントクラークのおねえさんはフランスではきばき仕事を片づける方である）手続きが済むと、部屋の階を教えられるだけで、ポーターが案内してくれるわけでもなく、大きな荷物を持ってエレベーターを探し当ててほうほうのていで部屋に着く。さて、登録のためにワークショップの会場へタクシーを頼む。「5分お待ち下さい」、フロントで待つこと15分、親切なおばさん運転手のゆったりした走りが好ましい、と思うまもなく会場である。登録デスクに緊張感はない。パリから出張してきたらしいコングレス会社の美人たちがゆうゆうと説明してくれる。おかげで英語がよく分かる。

クレーブ専門店で夕食をとる（このくだりは今号：大沢敬子の旅行記に詳しい）。シェフがギャルソンも兼ねた小さな店であるが、客が込んできても慌てる様子もない、客たちも遅い料理を待ちながら会話を楽しんでいる。帰りはタクシーを拾うつもりが見当たらない。学会会場のフロントに頼んだら「15分お待ち下さい」、が30分待っても来ない。翌朝、学会さしむけのバスを待つ。時間が経っても来ない、「もう行ったのかなあ…」同宿の日本人たちの様子はみなさんの想像どおりであるが、ヨーロッパ人らしい人たちは慌てる様子もない。20分遅れたバスに平然と乗り、乗客とにこやかに挨拶を交わす。このころになってようやく気がついた。生活のペースが違うのである。

## ええかげんさに助けられる

初日の朝早々に名札を紛失したことに気がついた。夕べの散策のときに落としたりしい。超多忙

の美人の受付嬢に再発行をお願いしたら、「もうなくしたの?」といたずらっぽく笑って、登録を待つ列をしり目に新しい名札を作ってくれた。開会式、シャロン会長が最後に注意する「名札は入場チケットの役割をもっている、パリでも使用するから大事に扱うように、紛失しても再発行はしません…」なるほどルールはそうだったんだ。受付の、ええかげんさ、のおかげで助けられたわけである。ワークショップがはじまる。データがまとまっていない。データを採ろうにもコンピュータ室が満杯で入る余地がない。日本人チェアマンはそれなりに自家製のデータを配布して、会議のデザインもちゃんとして進めているが（後で分かったことだがタイのチャンダナインヨン先生がもっともデータアナリシスをよくやって、きれいに提示していたそうだ。最後のパーティーで表彰されていたから）、ほかのところは混乱状態であった。シャロン会長がチェアしたHLA and unrelated bone marrow transplantationが典型的だろう。メッセンジャーがコンピュータールームと会場を往復して、できたの解析データを急ぐでもなく運ぶ、マイナーなデータは出てくるのだが、肝心のものがなかなか出てこない。結局時間切れで、次回のワークショップで議論する?はめになった。

## ええかげんさよもう一度

同行の友人がホテルを変わりたいという。早速わがホテルのクラークに交渉するが、満室です。とそっけない。電話できらめるように伝える。ええかげんさが分かってきた小生は、翌朝でかけるまえに別のクラーク（前出のはきはきしたおねえさん）に念の為に交渉すると「ありますよ、ツインのシングルユースなら」「おいくら?」宿泊費はなんと小生のシングルルームと変わらない。すぐにおさえて友人を呼び寄せる（男性だよ、念の為）。部屋は海岸に面したバス付きである。小生のシングルはシャワーしかない。町向きのせまいもので、夜中に水道管が共鳴音を発するおまけ

つきである。

日本人たちのいらいも、そのころになるとあきらめに変わったのか、それとも同化したのか、治まっていったようだ。そして、うれしい言葉も聞かれるようになった。Juji (十字猛夫; A2, A24AHS; Antigen & Haplotype Societyのチェアマン)、Tokunaga, K (東大、人類遺伝)は別格としても、Saitoh S (長野の斉藤敏)やNakajima, H (神奈川の中島文明)の名前がチェアマンのサマリーレポートに再々出てくるのである。AHS 6 (B16)のチェアをしたオーストラリアのWilliamson, Jは小生の顔を見るなり「中島はどこだ?」「来ない」というと「ほんと? こんどもNakajimaに助けられたよ、again Nakajima…彼の血清がすべてだから…」とまじめに感謝していた。同様にAHS 3 (A10)の血清とデータはSaitohがすべてであったらしい。

#### パリもけっこうええかげん

パリへはTGV (新幹線)で向かった。車窓からは一面の麦畑や牧場、そして点在する葡萄畑である。フランスが農業国であることが実感される。アメリカの友人と日本の新幹線に乗ったことがある。3時間、熱心に車窓をながめていた友人は着くなり「東京から大阪まで人家が連なっているんだなあ」やたら感心して小生をおどろかした。フランスの新幹線沿線は大違いであった。モンパルナスの駅は巨大であるがせかせかはしていない。街に出ると「サンマルゴぼけ」の目には人の歩く速度が速い。東京や大阪に比べるとそれでもややゆったりしている。ここでもいろいろなええかげんさに出会うが、紙数の都合で1例にとどめる。カンファレンスは参加者が倍増する。ワークショップでは少なかったアメリカ人やHLAの著名人も増えた。ランチョンセミナーも大盛況。日本のランチョンはサンドイッチのバックをすばやく配って、約10分程度でセミナーが始まる。こちらは長いテーブル (ビュフェ)に人が並ぶ。まず飲み物。ビール、赤ワイン、白ワイン、コーク、水などがまず選ばれる。つぎに果物、ホットドッグ、サンドイッチなどを選ぶ。さらにチーズやデザートめいたものまで用意してあって、長い列ができあがる。約30分、しびれをきらした主催者がセミナーを始めようとするが、列は短くならない。まあいいわ、ということでセミナーは始まる。大会議場は飲食

物持ち込み禁止であるらしい。ここでもランチョンセミナーをやったのける。ロビーで食ってから入場せよ、ということらしいが、何人かはルールを無視して会場内で飲食している。われわれもそれに習ったが、咎める人はいない。セミナーに出ない人も自由にランチを採っている。日本でいう食い逃げである。もちろんだれも文句をつけない。採っているひとも堂々としている。

#### パーティーもええかげんで始まり ええかげんに終わる

いくつかのパーティーに出た。ワークショップのさよならパーティーは別として、カンファレンスのバンケットを含め、なんとなく始まり、挨拶も乾杯もなく、席順もない。徹談と適度の乱れがあって、そしてなんとなく終わる。なごりおしいままに、けじめなどは何にもないがめりはりが自然にできている。これが結構たのしいのである。

#### ええかげんのすすめ

たしかにはじめのうちはイライラした。そのうちに同化し、パリのええかげんな自由さが、ついには気に入ってしまった。十字先生につれられていったモンマルトルの丘も印象的であった。厳かな教会のまわりにたむろする芸術家たちのしたたかさ、胡散臭い街並みを通り抜けて丘を越えると、目のさめるような美しい街並みが現れる。規制の少ない自由がもたらした混在の美を見た。免疫現象も結構ええかげんであることがわかってきた。自己の(内因性の)ペプチドを提示するのがHLAクラスI分子である。外来抗原ペプチドはクラスII分子に表現される。対応するCD8リンパ球はキラーで、CD4はヘルパーで…、という図式は整理するには便利な概念であるが、多くの例外的な現象が観察されはじめている。頭の中がある概念でかたまってしまうと実験計画を間違ってしまう、という恐怖を持ってもらいたい。MHCのペプチドモチーフもどうやら結構ええかげんらしいし、抗体の特異性だってええかげんな面がある。生命現象そのものがええかげんなのかも知れない。ええかげんなコンセンサスで世の中が十分にうまくいっているのは、人間がええかげんな生物体であるからだろう。(さ)

## ダイナミック・ラボラトリー

### 「防衛医科大学校」

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させていただきます。

今回はHLAの黎明期からずっとご活躍を続けておられる防衛医大の関口先生のラボをご紹介致します。

防衛医科大学校は埼玉県の所沢に在り、最寄りの駅は西武新宿線の航空公園駅です。緑に囲まれて5分も歩くと広々とした敷地に見えて来る大きな建物群が防衛医科大です。秋は紅葉がとても美しい所です。

教授室に伺うと関口先生、HLA担当の小林先生、阿藤先生がにこやかに迎えて下さいました。

関) こんにちは、関口先生はHLAにごく初期からずっとと現在まで携わっていらっしゃるのです、今日は貴重なお話が伺えると楽しみにして参りました、宜しくお願い致します。

関) 宜しくお願いします。

関) まず最初に、関口先生がHLAをはじめられた動機は?

関) 僕は1958年に米国に留学し、ウイスコンシン州でインターンをしていた。1962年にシアトルに行き病理をやっていたが、ビザが切れたので1964年にカナダに行った。

関) どうしてカナダだったのですか?

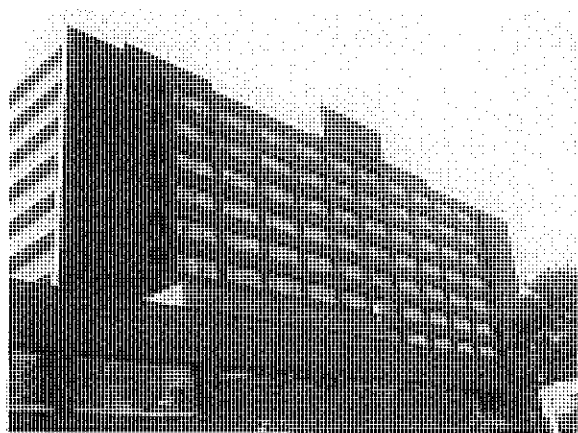
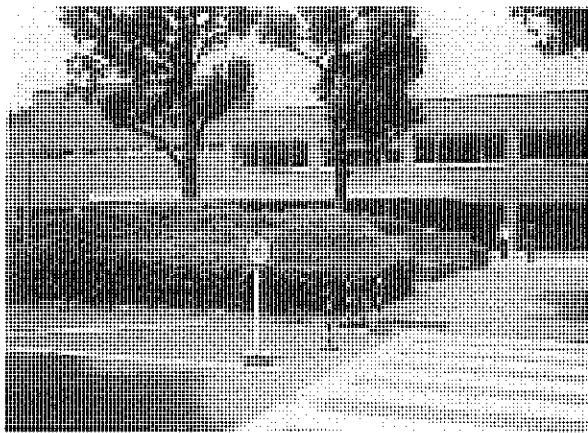
関) カナダは地続きで車で行けて手ごろだったから、後ろに子供を積んで...まだ2才だったかな。

カナダで生化学をやるか血液学をやるか、と言われ

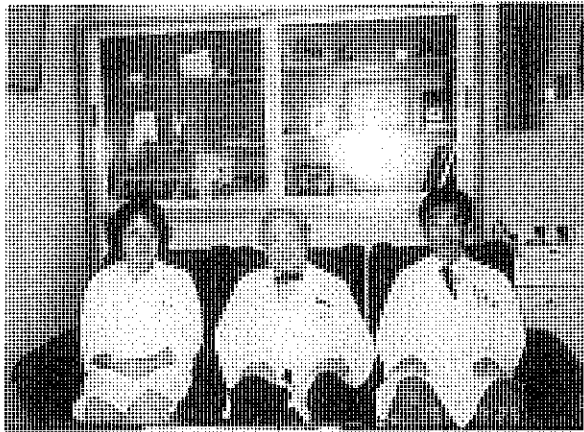
たので、血液を選んだ。ちょうど腎移植が始まったところでトロントに行くはずだったが移植がなかなか進まず、どうもABO型やRh型だけではダメらしいということになり、組織適合性が問題になって来た。その頃マックギル大学で白血球を混ぜるとプラスト化する、という報告が出たのでやってみた。白血球を混ぜて出来たプラストを一々目で数えたんだよ。

関) ええーっ、一々目で数えたんですか?信じられない。

関) 今と違って設備も整って無かったからね。これはきっと遺伝学的な違いだろう、と今度はリンパ球を分けて混合培養をした。そのうちマイトージェンを加えれば混合しなくても同じ結果が出るということが分かった、その頃はまだアイソトープでラベルするという方法もなかったからね。そうこうしているうちに移植が始まっちゃった。そこで生体腎移植の経過を観察することになったのだけれど、10日位でリジェクションが起こってくるが多かった。色々なこととの相関性を考えてみたが、一番相関性があったのは尿量の増減だった。(笑い) その頃韓国のドクターでマックギル大学にいた王(ワン)先生がサイトトキシクテストをやっている、という



緑に囲まれた防衛医大



HLAのメンバー 阿藤先生 関口先生 小林先生 (左から)

ことを知った。

ベ) ついにサイトトキシックテストの登場ですね。

関) ワン先生の方法は一回の血流量がとても多く必要で、染色もトリパンブルーだった。1967年頃UCLAのテラサキ教授(そのころは助教授)が微量のサイトトキシックテストを発明した。というので、UCLAに行ってみた。

ベ) テラサキ先生にお会いになった第一印象はいかがでしたか?

関) 目つきがすごくて、顔色も悪くて...今の方が若い感じだよ。初めは10日位、実際にはジョン・マッケランドとジョイス・ユゲに教わった。その頃砂とアラビアゴムをストローに詰めてリンパ球の分離に使ったんだけど透明なストローを探すのが大変だったんだ。

阿) 透明じゃないと詰まり具合がみえませんか。

関) 喫茶店に行く度にストローをチェックして、良さそうだと購入先を紹介してもらったりしてた。血液を送るためのバックもテラサキ先生が考案され、アラビアゴムを砂に混ぜて乾かして作ったんだ。

ベ) 砂?ですか。

関) 砂に赤血球を吸着させるためにね。これで血液を送れるようになったんだ。道路工事に使う砂が良かったんだけど、さすがにあれは譲ってもらえなかった。(笑い)

トレーもミネラルオイルをたっぷり入れないとダメだった。フアルコンのトレーもあったけれど高いから何度も洗って使ったんだ。だから底にキズがついて判定がしにくかった。

ベ) いろいろなご苦労がありましたね。

関) テラサキのところでは1968年にセルエクスチエンジが始まった。

ベ) ええーっ、1968年にもうセルエクスチエンジですか?

関) カナダでは僕が送ることになって、僕の血を600cc取って全国50ヶ所のラボにアラビアゴムバックに10cc位づつ入れて送ったよ。その頃は抗原数が少なくてAローカスが4つ、Bローカスが7つくらいだったな。1970年にテラサキがLos Angelesでやったワークショップで初めてCローカスが提唱された。

ベ) その頃白血球はどうやって分離したのですか、

関) 白血球を分ける方法はEDTAを使い750回転で10分間遠心してパフイーコートを探った。

探ったパフイーコートに抗A抗B抗Hを使い1~2秒遠心して、上澄みだけ採って使った。

ベ) この方法はどこで習ったのですか?

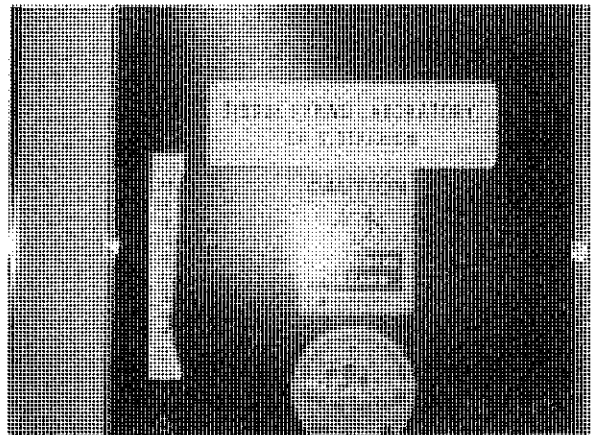
関) 最初にマックギルの所へ行った時に教わったよ。

ベ) では、比重液を使って分けるようになったのはもっと後になってからなんですね。日本に戻られたのはいつ頃ですか。

関) 1970年に戻ってきて中野総合病院に1年半位いたのかな。日本に戻る時に「TISSUE TYPING

LABORATORY」の看板を剥がして持ってきたんだ。

阿) 今もドアのところに掛けてあるのよ。(写真)



貴重な看板

ベ) 日本に戻られてからもHLAをやっておられたのですか?

関) 日本に帰ってきたらもうHLAは出来ないと思って1年間全くやらなかったら、「HLAをちゃんとやらしてやる。」と言われて1972年に川崎市立井田病院に移った。

阿) えっ、ちゃんとやらしてやるって、あの研究室ですか?(笑い) 前田さんは知らない? 残念だなあ

関) 木造の、もうなくなっちゃったね?

阿) ええ、今は駐車場になっています。

関) その時最初に有馬君にHLAを教えたんだ。

ベ) 有馬さんは今は何をしたらやるのですか?

関) 川崎市の職員なので異動で現在は保健所にいるよ。



それから八木田君、高田君、佐田君、小林君、此枝君らが次々に来て...阿藤君はいつ来たの？

阿) 此枝先生がUCLAに留学が決まって、研究室にHLAの出来る人がいなくなると困るということで。

阿) SRLから出張してきてもらったんだよね。

阿) SRLで一応細胞性免疫をやっていたので、リンパ球の分離などは出来るだろうということで。

阿) SRLからは一番最初に臼杵さんが、次に小川君がHLAを習いに来ていたんだよね。(KAMON No.4 P41 参照)

阿) これでみんな登場してきましたね。すごい人脈ですよ。

阿) メンツがそろいましたね。HLAの元締めって感じですね。ところで関口先生が防衛大に移られたのはいつ頃ですか？

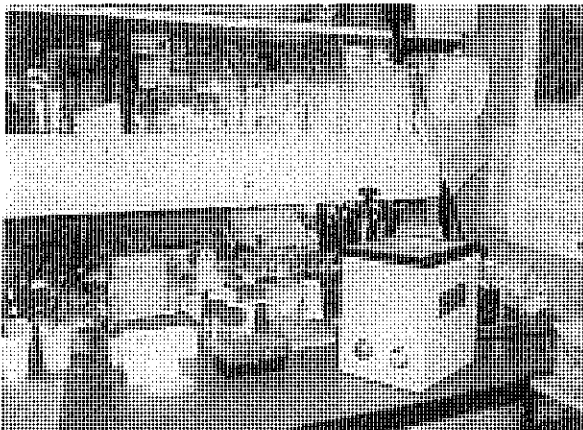
阿) 1983年です。

阿) その時阿藤さんも一緒に移られたんですよね。

阿) そうです。そして私が入った翌年に小林先生が東邦大森病院の輸血部から移って来たんですよね。

阿) 防衛大に移られた頃のご苦労は？

阿) 来た頃は何もなかったもので、井田病院から古い(日本の第1号機;今のものと色が違ってベージュ色)フィッシャー(写真)と久保田の遠心機、顕微鏡



日本第1号機 フィッシャー遠心機

など冷凍庫以外のものはほとんど持ってきました。移ってすぐに9th Workshop (Munch. Germany)があったので大変でした。Disease Workshopに参加するためにハンセン病患者のタイピングをすぐに始めなければならなかったんです。

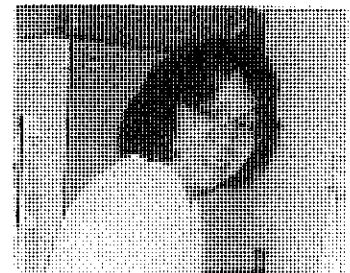
阿) ただ防衛大には奥の手があって、ハンセン病患者の多い沖縄から採血した血液を自衛隊機で入間基地まで運んでもらったんだ。自衛隊のC-1(輸送機)に乗せてもらって入間基地から飛び立ったんだ。

阿) 入間基地からですか。

阿) それにはおもしろい話があって、沖縄に着いたら向こうの隊長がお茶を出して下さって、「どのような目的でこられたのですか？」と聞かれたので、「ハンセン病の...」と言いかけたら、「えっ、反戦ですか」と飛び上がらんばかりに驚かされてしまった。あの頃沖縄はまだ反戦運動が盛んで大変だったんだ。(一同大笑い)



小林先生



阿藤先生

阿) 届いた血液を基地まで取りに行き、夕方からタイピングを始めたんです。

小) これは他のラボには絶対出来ないことだよ。

阿) いいですね。離島の血液集めはおまかせ！ですね。台湾に行かれたこともありましたよね。

小) 1990年の11月です。阿藤さんは大きなお腹をして行ったんだよね。

阿) その時のお子様もう来年一年生ですよ。よく行かれましたよね。

阿) ほんとによく行ったよ。

阿) 他にタイピング出来る人がいなくて、しかたなく...、その上、行く前に問い合わせたら、「フィッシャーも遠心機も倒立顕微鏡もみんなある。」という話だったのに、行ってみたら何もなくて、とても困った。日本と同じような感覚で行くと全然ちがうですよ。アバウトな国民性に泣かされました。

阿) 高砂族のタイピングでしたよね。何例ぐらいされたのですか？

阿) 全部で45例位、タイピング出来たのは20例位ですね。DRはDNAタイピングだったので出来ただけだけどABCはパイアビリティーが悪くて出来なかった。慣れない場所で、ろくな器材もなかったので本当に大変でした。

べ) ご苦労様でした。

関) 11th の International Workshop のためだった? 確か小林君が修士の時にも Workshop があったよね。

小) はい、1978年に第6回の Japan Workshop が関口先生の主幹で慶応大学で行われました。確か臨床講堂でしたよね。



関) そう、臨床講堂。その時慶応大理工学部の小沢先生がデータの処理をして下さった。

べ) 第6回のころのワークショップってどの位の規模だったんですか?

小) まだラボコードがアルファベットで一桁ですよ。確かMぐらいまでだった。

関) とにかく全員が臨床講堂に入れたんだから。確かその前年に広島で輸血学会がありほとんどの人が集まったので、そこに皆が血清を持ち寄ったんだよね。

小) はい、皆が持ち寄った血清をその場で交換して、それぞれ持って帰った。という印象深い学会でした。

関) その前が千葉大の宮島先生(当時)の所で、1977年の第5回ワークショップだったよね。

阿) えっ、毎年あったのですか?

関) うん、毎年やってた。

べ) 毎年じゃ大変でしたね。あっそうか、数が少ないからできたんですね。

阿) 今、毎年やったら死んじゃいますよ。

小) 第7回が国立循環器病センターの雨宮先生の所で、第8回が十字先生(当時女子医大)の所で...その頃で覚えているのが、東京医大の天野さん(現高田さんの奥様)が提出したサル由来の抗血清3本の内1本が意外に良かったこと(笑い)。

べ) なぜ、サルの抗血清なんですか?

阿) おもしろいよね。

関) 霊長類のHLAを共同研究していた人がいらしたんだよ。

小) おもしろかったのは、サル由来のA2の抗血清に人のA2のリンパ球は反応するけれども、人のA2

にサルのリンパ球は反応しなかったので、進化の過程かなあ、と感激した記憶がある。

べ) その後そのご研究はどうなったんでしょう?

阿) 聞いたことないですよ。

関) 共同研究の契約が切れたのでしょうか。

べ) 残念ですね。

小) ワークショップらしかったのは1980年の Los Angeles 8th の Inter National Workshop ぐらいまでですよ。

べ) どういう意味ですか?

関) いわゆる血清学的なワークショップの最後だったんじゃないか、ということ。それからはDNAが出て来たからワークショップもずいぶん変わって来た。

小) 血清をみんなで、ああだ、こうだ、と論議し合ったワークショップらしさはなくなってきてしまった。

べ) ところで検査部ではどの位の方がお仕事をなさっていらっしゃるのですか?

関) 技師長を入れて常勤が30人、非常勤が12人、医局に9人です。

中央診療施設の中の検査部という位置付けです。

べ) 病院の検査を一手に引き受けてらっしゃるのですね。HLAの検体はどの位あるのですか?

阿) 移植法案が通らないので、腎臓移植は頭打ち状態ですよ。

べ) 国会に提出されてから長いですよ。

関) ずーっと継続審議になっているからね。長引けば長引くほど反対は増えるよね、考え直したりして。

阿) 現在はほとんどが登録の検体で、院内での生体腎移植は年に1~2例です。死体腎移植はこちらに来てから3例だけです。前は清瀬小児病院からの検体が多かったのですが3年前に院内でやるようになって来なくなりました。立川共済病院の泌尿器科からの検体も減ってきてついに今年はゼロです。

べ) では検体は減っているのですか?

阿) ところがその分親子鑑定の検体が激増しています。直接は防衛大の法医学からの依頼ですが、埼玉県の裁判所から依頼されるようです。

べ) 年間どの位あるのですか?

阿) そうねえ、年間40~50例位あるわね。

べ) 関口ラボとしては、HLAの他にどんなことをなさっていらっしゃるのですか?

阿) 医局としては、授業、学生実習、BST (Bed Side Teaching) などを受け持っています。

小) 学生実習は冷房のない部屋で汗だくですよ。先日

やっと終わりました。

ベ) BSTはどんな事を?

阿) 全学生が5-6人のグループになり、半年ぐらいかけて一学年全員が検査部を回ります。

ベ) 半年もかかるのですか、大変ですね。

ところでこれからHLAはどのような方向に進んで行くとお考えですか?

関) 免疫学的な位置付けがもっと解明されるようになるし、抗原そのものの分子構造も分かってくる、また各抗原のサブタイプがどこに起因しているかもはっきりするだろう。

ベ) それにより疾患との関連も明確になってくるでしょうね。

関) 明確になってくることで、疾患を治療したり予防出来るのがこれからの課題だね。それと染色体の遺伝子マッピングも後5-6年でおそらく完成するだろうから、それとHLAとの結び付きがどうなっていくかだね。まあ、HLAの将来については今度の学会でテラサキにしゃべってもらうから、彼がどんな展望を持っているかとか...

ベ) そうそう、来年の日本組織適合性学会大会長は関口先生ですよ。

小) 宣伝しておいて。

1997年4月25日(金)~26日(土)に東京の「砂防会館」で開催します。

特別講演はUCLAのPaul I.Terasaki Ph.D.が「HLAの過去・現在・未来」というタイトルでお話されます。皆様是非ご参加下さい。演題もよろしくお願いします。

ベ) 小林先生の将来の夢は?

小) HLAと疾患との関連を明確にすることで、治療

したり予防するための新薬とかワクチンの完成にもっていったら...

ベ) 阿藤さんは



阿南先生

阿) HLAも治療や予防に生かされて欲しいと思う。DNAタイピングが出てきた時にはもうやる事が無くなるのかなと思ったけれど、今はDNAタイピングも血清学的タイピングと並行してやっていて、まだまだ自分にもやれることはありそうだから、がんばりたいです。

ベ) 今日は関口ラボの過去・現在・未来をお聞かせ下さりどうもありがとうございました。

関口先生がHLAの初期のお話やJapanとInternationalのWorkshopの1回目からいつ、どこで、だれが、どんな内容で、と次々お話になるのをお聞きし、すっかりHLAのタイムマシンに乗せていただいた気分でした。第6回日本組織適合性学会大会に向けてご多忙中、取材に応じて下さりどうもありがとうございました。



## HLAところ変われば

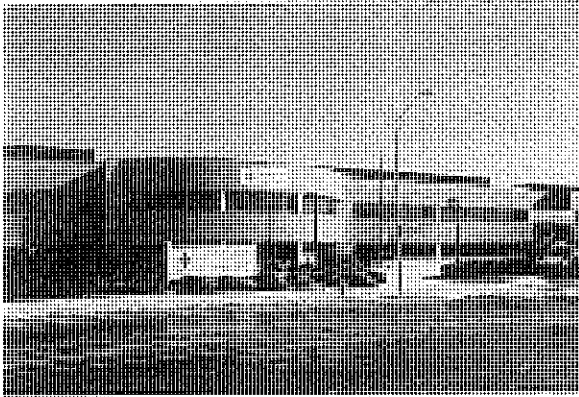


## アメリカ留学記 ～僕が触れたアメリカ その1～

福岡県赤十字血液センター 宮崎 卓

ペリタスの小林氏から「アメリカ留学記でも書いてよ」と言われて、つい「いいよ」と言ってしまったのが運の尽き。しかしどうもあの小林さんという人は憎めないねえ。僕がアメリカにいたのは1993年の11月から1994年の10月の終わりまでの1年間なので、帰国してもう1年半以上経ってしまったことになる。今更と言う気がしないでもないけれど、薄れてきた記憶を書き留めておきたいという個人的な気持ちも

あって引き受けることにした。編集者の前田女史にくだけた文章大いに結構と言うお墨付を頂いたので、HLA研究からはかなり離れた内容になってしまうかも知れないが、「僕が触れたアメリカ」ということで、経験したエピソードや感じたことを書いてみようと思う。ただし、僕が経験し知っているのはほんの一握りのアメリカだということを最初に断っておきたい。



ホランドラボ (本館)

立地環境は申し分ない。H L A ラボの敷地には散歩用の遊歩道があり、昼食後よく散策した。

○The Jerome H.Holland Laboratory

これを書かないと何をしにいったのかわからなくなるので、まず最初にラボの説明を書こう。僕の留学先のホランドラボは、アメリカンレッドクロス研究所であり、首都ワシントンDCの西北に位置するメリーランド州のロックビルという町にある。DC (地元の人にはワシントンDCのことを愛着をもってDCと呼ぶ) から車で1時間ほどのところで、郊外はいわゆるベッドタウンとなっている。途中の道沿い (355) に有

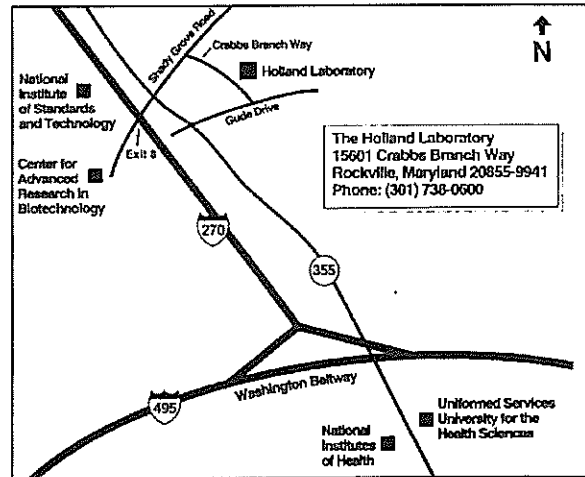


お別れパーティーの日の記念の一枚。僕の英語につきあってくれた忍耐強さは彼のフ

with Dr. Michael Chopek

名な研究機関であるNIHがある。DCにはメトロと呼ばれる地下鉄もあり、355沿いにレッドラインが走っているが、外交官関係者や研究留学の日本人が数多くこの沿線に住んでいる。レッドライン沿いの町は、アメリカ全土でも指折りの平均年収の高い地域で、比較的安全な場所でもある。

ホランドラボは写真にあるように茶色の2階建ての建物で、すっきりしたデザインでなかなか雰囲気が良い。丸くふくらんでいる部分の2階は図書室である。僕がいたH L A ラボも元はこの建物の中にあっただろうだが、手狭になったという理由で、道を挟んで反対側の敷地にある平屋の建物に移っていた。図書室や



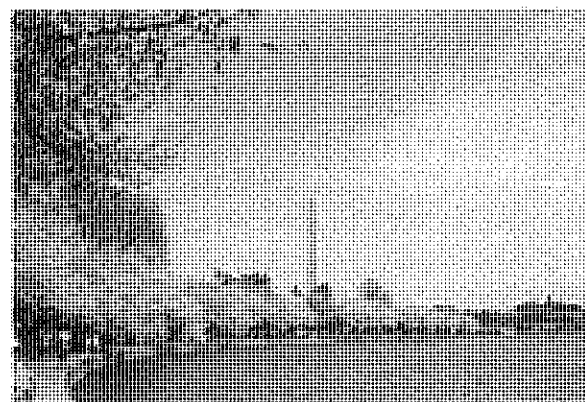
ホランドラボのロケーション

355はベルトウェイ(首都環状線)を横切りCDまでつながっている。ちなみにアメリカ赤十字本部はホワイトハウスの西隣りにある。写真現像に必要なフィルムディベロッパーを使うために本館に行く程度だったので、読者諸兄にホランドラボの説明ができるほど実は中のことをよく知らないのである。本館玄関に飾ってあったJerome H.Holland氏の肖像画は印象的でよく覚えているが、僕自身はそれほど本館に愛着があるわけではない。最近友人の手紙でH L A ラボが6月にボルチモア (DCから車で1時間ほど北の町) へ引っ越しするというを知り、少しだけ感傷的な気分になった。

○英語はてごわい その1

~NEW BORN BABY IN THE SKY~

賢明な読者諸兄のなかには英語ペラペラという方もいらっしゃると思うが、悲しいかな、僕は英会話があまりできなかったのが英語で結構苦労した。特にこれから留学したいと考えていらっしゃる方には、くどいくらい英会話をしっかり身につけておくようアドバイスしておきたい。アメリカ留学ということで当然のことながら英語にまつわるエピソードはたくさんある。



福地博士の墓

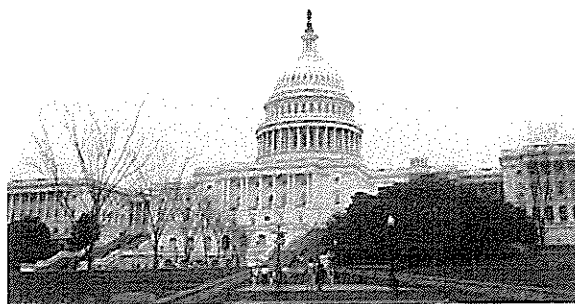
DCのボトマック河畔の桜並木は日本から送られたものとして有名。モニュメントは映画にもしばしば登場するDCのシンボルのひとつ。

いただいた枠内で印象に残ったいくつかを紹介したい。

福岡からワシントンDCまでは直行便があるのだが、僕はデトロイトで乗り継ぐ割安な便を選んでみた。家族と別れ不安を胸に抱えたままの飛行で、なかなか神経が休まらない。カナダ上空を飛行中、急に機内が騒がしくなった。フライトアテンダントが医者を捜している。乗客の2人ほどが手を挙げスタッフと一緒に後部の方に消えた(まるで映画の1シーン)。しばらくして機内放送があり、赤ちゃんが無事産まれたとのこと。乗客は皆拍手。口々に"We got a new passenger!"などはしゃいでいる。ここまではおめでたかったのであるが、母子を病院に移送するためカナダに緊急着陸したところから僕の英語での試練が始まったのである。案の定、中継地であるデトロイトに着いたときには乗り継ぎ便は出た後。航空会社のカウンターに行き事情を説明して、別の乗り継ぎ便の手配を頼み、ラボに電話して遅れる旨を説明しなければならなかった(ラボのスタッフに空港まで迎えに来てもらう手はずになっていた)。ご想像の通りこんなことがすらすらできるわけがない。これができなきゃ死んじまう状態に追い込まれた僕は、必死でへたくそな英語をしゃべりまくったのだが、対応してくれた人たちがなぜか皆親切で、事なきを得ることができたのである。きっと僕がものすごい形相をしていたからに違いないのだが、人間死んだ気になりやなんでもできるというのはあながち嘘ではない。こういう場合には旅行用の英会話ハンドブックが意外と役に立つことを知った。基本というのはバカにできないものである。

### ○ボスよ僕に研究的な仕事を与え賜え

留学先のボスが途中で交代するという珍しいハプニングがあり、僕は二人のボスを経験した。仕事内容やラボの雰囲気はボス次第ということがよく分かる。最初の半年間、Dr. John Leeがボスであった。彼はNMDPからのタイピング依頼を、どれだけ大量に処理できるかということを第一テーマに掲げており、(こっそり書くが研究目的の留学生には少々困ったテーマであり、特に中国本土からの留学生は、ひたすらタイピングに明け暮れた挙句、国に帰るといったパターンが多かったらしい)、HLAラボ全体で見ても、いわゆる研究的な仕事はほとんどしていなかったように思う。私が所属する部屋は当時、メンブレンドットプロットハイブリダイゼーションによるSSOPで、クラスIIのDNAタイピングを行っていた。1週間で2,000検体を受け入れるといったこともしばしばあり、DNA抽出、



キャピトル (米国国会議事堂)

アメリカの政治の中心。DCとその近郊にはこの他、ホワイトハウス、ペンタゴン、FBI本部など国家の中心機関が集まっている。PCR、電気泳動、ドットプロットハイブリダイゼーション、ケミルミによる検出とひたすら皆で働く日々で、留学している研究員の不満はたま一方であった。僕の場合は2ヶ月ほど経ったくらいから別に仕事をもらったので、それほどひどい状況ではなかったのだが、それでもルチン優先という図式は変わらず、かなり気分はブルーだった。それがある日突然降ってわいたようなボスの交代劇で、Dr. Michael Chopekに替わったとたん、「このラボはHLAのナショナルリファレンスラボである」というスローガンと共に、研究面が全面に押し出されてきた。僕が在籍している間は組織の変更や、人員配置の変更、他の施設との調整が山積みで、ボスも忙しかったため、仕事内容の変化は緩やかであったが、最近はずっかり研究施設としての成果を出し始めているようである。僕も後半はプレート法によるリバーサハイブリダイゼーションの検討をすることになり、この時に湧永製薬の山根氏や徳永勝士先生に助けていただいたものである。期間が短く、またボスも忙しく十分なディスカッションの時間が取れなかったこともあり、既存のキットを比較するようなことしかできなかったのが多少残念であるが、HLAラボ全体の雰囲気は好転していたので、居心地は悪くなかった。

### ○英語はてごわい 番外編

～ドゥユウハブツウベニス?～

まったくここまでくだけていいものかと思うエピソードがある。KAMONの品格を地に落としてしまうかも知れないが、強烈に頭に残っているので取って書いてみたい。あれはアメリカ到着後5日目でまだホテルに泊まっているときのことだった。意を決してバーキングのドライブスルーに夕食を買いに行ったのである(マイクを通して見えない相手と英語で会話するというのはまだ大冒険だったのである)。ドライブス

ルーにはいつも車の列ができているのだが、なぜかその時だけは僕の車1台だけ。いわゆる逢魔が刻でもあったのだろうか？ 心臓をドキドキさせながら何とか注文を無事に済ませ、お金を払う窓口に進めた。すると体のでかい黒人が窓から身を乗り出し、白い歯を見せてニカッと笑って言ったのである。”ドゥユウハブツウベニス？”。？？？これはいったいなに？？？ このままでは貞操が～……！！！！？？



住んでいたアパート

ロックビルより更に郊外のゲザスバーグ（X-FILESのラスト事件現場となった町）に住んでいた。この地区で日本人と会ったことは一度もない。

僕がなんと返事していいかわからずにしどろもどろしていると、更に彼は”ツウベニス！ツウベニス！”と大声で連呼するのである。わけがわからない僕は”何

だつて～？”と叫びだしたかったのだが、ここで相手を怒らせて、研究を始める前から命を落としてはいけないと思い、小声で”アイトンハブ”と答えてしまった。結局訳が分からないままなんとか支払いを済ませ夕飯を手に入れたのであるが、その店を離れようやく胸の高鳴りが静まった頃不意に謎が解けた。4ドル2セントの買い物に僕が5ドル紙幣を出したので、ツウベニス（＝2セント、1セントは1ペニーといいます）もってたらお釣りを1ドル紙幣で渡すよと親切で言ってくれたのである。悪魔の笑いと見えたのは、実は天使の微笑みなのであった。いやはや疑心暗鬼は恐ろしい。（ちなみに本物はピーナスと発音します。）で、僕がこのエピソードで何が言いたかったのかというと、日本語英語が氾濫しているこの日本で、正しい英語を身につけるのがいかに難しいかということでありました。皆さん英語は本物を勉強しておきましょう。

散漫にくだらないことばかり書いてしまい非常に恐縮している。前田女史に、もし～その2～を続けることをお許しいただければ、次号ではもう少し実のある話を書いてみたいと思っている。ほんとにそんなことができるかどうか疑わしいのだが……。

宮崎先生～その2～を期待しています。（編集部）

---

---

## テック チップ

### 『SSPクイックバッファ攻略Q & A』

防衛医科大学校検査部 小林 賢

---

**質問1** マニュアルに従って、DNAの抽出を行う場合のポイントは何かですか。

**答え** この方法は1.5 mlマイクロチューブを使用していますが、使用するCMLBがほぼチューブの口まで入ることになります。そのため、この溶液での処理後、ふたやチューブに溶血した血液が付着してしまいます。より効率のよい抽出を行うためには、この付着した血液を拭き取ることをお勧めします。また、この後の操作でペレットを浮遊するようになっていますが、この操作も大変重要です。この2点を確実に処理できればタンパク質の混入は大幅に改善されると思います。

**質問2** 1.5 mlからなるべく多くのDNAを抽出したい

のですが、どの部分に注意するとよいですか。

**答え** この方法の回収率はほぼ60%です。これはエタノール沈殿の収率に依存しています。ですからエタノール沈殿を使用しないでスピニング法を利用すれば回収率が90%以上になると思います。この方法はいたって簡単にNMLBを入れて攪拌した後、その溶液を限外濾過膜カップの入った1.5 mlチューブに入れ、数分間遠心するとDNAがカップの中に残り、溶液がチューブの底に濾過されます。その後滅菌蒸留水で2回洗えば終了です。詳細についてはミリポアに問い合わせてください。そのほかには、エタノールを加えた後、-20℃に30分程度放置することでも回収率が上がります。またエタノールを加えてDNAを析出させた後の遠心を15,000回転30分間にすることでも回収率はかなり改善されます。



ただし、この操作を行うと、DNAが非常に溶けにくくなります。

**質問3** スタートの血液量を増やした時の試薬の分量はどうするのですか。

**答え** すべての試薬を増やした血液量に比例して増加させてあげます。たとえば、スタートの血液量を2倍にしたなら、すべての試薬も2倍量加えます。ただし、血液量を増やした場合には、1.5 mlチューブでは試薬が入り切りませんので底が鋭角な15 ml遠心チューブなどが必要になります。この場合、ポリプロピレン製（半透明）のチューブを使用して下さい。ガラスや透明なプラスチックチューブを使用するとDNAの回収率が落ちてしまいます。

**質問4** フリーゼセルからDNA抽出を行いたい場合はどうするのですか。

**答え** まずDMSOなどの凍害防止剤の入っている場合と、ない場合では多少手順が異なります。DMSOが入っている場合には凍結細胞を溶かした後、PBSなどで洗浄した後、2回目のCMLB操作からスタートします。それ以降の操作方法は通常の操作と同じです。DMSOなどが入っていない場合、何かバッファが入っていたら遠心してバッファを取り除きます。その後、NMLBの操作からスタートします。後は通常通りの操作手順で行って下さい。すなわち、CMLBの操作を省くことができます。

**質問5** バッフィーコートからDNAを抽出する場合はどうするのですか。

**答え** 全血と全く同じです。その場合、使用する試薬量はバッフィーコート量ではなく、スタートの血液量になります。もし、バッフィーコート量で試薬を使用しますとタンパクの変性可溶化がうまくできず、タンパクの混入がひどくなったり、回収率が悪くなります。赤血球の混入の少ないバッフィーコートでしたら一回目のCMLBを省略してもかまいません。

**質問6** 抽出中にゼラチン状のゲルのようなものができたのですが、どうしたらよいでしょうか。

**答え** このゼラチン状の物質はタンパクです。もし気になるようでしたら、低回転でほんの1, 2秒遠心してその塊を沈めます。その後、上清のDNA溶液を別のマイクロチューブに移します。この塊はタンパク質ですから、たとえば質問1のような工夫をすることで析出しにくくなると思います。

**質問7** 2回目のCMLBを完全に捨てた後、細胞塊を完全にとかずとありますが、具体的にはどうするのですか。（よく叩いてもチューブの底に溶液が残っていないので、クランプがとれずに、ある程度塊になって壁にくっついている。）

**答え** 一番簡単な方法は、実験台の上にキムワイブを敷き、その上でトントントンと叩くことです。それでも多少の塊は残ることがありますが、あまり気にしないで下さい。次のNMLBで多少時間をかければ塊は確実になくなります。

**質問8** NMLBを入れた後、voltexを5~10秒かけるとありますが、この時、DNAがバラバラに切断される心配はないのでしょうか。

**答え** PCRを行う上で、この程度の攪拌ではほとんど心配する必要はありません。全く高分子なDNAよりも多少切断されている方がむしろPCRはかかりやすくなります。そのためわざわざ制限酵素で処理した後にPCRをかけることもあるのです。もし心配でしたら、ローテーターの回転板を45度ぐらいに傾け、10分間ぐらいゆっくり50℃のインキュベーター内で回転させてあげるとかなり高分子なDNAになります。

**質問9** 羽毛状のDNAが析出した後、5000回転、2~3秒遠心する理由は何ですか。

**答え** ここでの遠心はただDNAを沈めることだけを目的としています。それにより上清が捨てやすくなります。上清は、1 mlのチップ（ブルーチップ）である程度捨ててから、イエローチップに換えて残りを捨てることと完全に捨てることができます。その際、DNAのある面を上にして少し傾けて捨てることと処理しやすくなります。（次号へ続く）

