

座談会：「HLAと疾患感受性の生物学」

これからの医療にHLAが貢献する道
新しいHLA Worldをめざしていこう

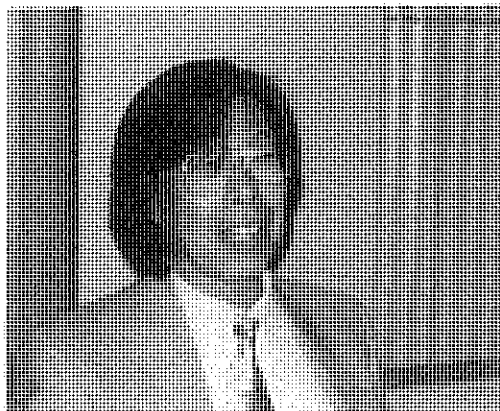
HLA生物学のそして免疫学の最先端を疾駆する学者をあつめて座談会を持った。豪華メンバーである。組織適合性学会の前夜であった。話は多岐にわたり、話題とその興味は尽きないものがあった。翌日のランチオンセミナーの打ち合わせを兼ねたから、文中にそのことが時にでてくるが、それも省かなかった。忠実に採録された内容は、いつに小林賢（防衛医科大学）の類まれなる才能と、寒夜に汗する努力の賜物である。難解な発言や意味不明とも思える記述がある。あえてそのまま掲載し、熱い討論の雰囲気そのままのかたちで伝えたい。気鋭の学者の心意気や思想をそのまま学んでいただければ幸甚である（さ）

出席者：西村 泰治（熊本大学大学院 免疫識別学）
徳永 勝士（東京大学 人類遺伝学）
木村 彰方（東京医科歯科大学 異常代謝分野）
南 陸彦（横浜市立大学 寄生虫学）
滝口 雅文（東京大学医科学研究所 癌体質学）

司 会：佐治博夫
（京都府赤十字血液センター研究部長）

HLA多様性の進化と疾患の関係

佐治 HLAがどのように進化してきたか、その進化の過程でどのようなことがあったのか。そして、その結果、色々な疾患を形づくるようになって、相関す



佐治先生

るようになって、というような話から入っていきたいと思います。まず進化について徳永先生に導人をお願いします。

徳永 進化といってもどのへんからお話ししたらよいのでしょうか。やはり人に近づいたところ辺りからでしょうか。HLAあるいはMHCといったらよいのでしょうか。この遺伝子群の一番の特徴は多型性の程度が桁違であるということです。今までに調べられている機能を持った遺伝子としては最高度の多型性を持っているということは間違いありません。その多型性がどのようにして生まれてきたのか、ということに関して非常に両極端な2つの考え方があります。一つは、変化のスピード自体は低くて、非常に長い時間をかけて今日の多型性が生まれたという考え方で、ドイツのJan Kleinが最初に提唱しているものです。もう一つの考え方は、もっと最近に主として遺伝子変換（gene conversion）、かなり短い遺伝子のセグメントあるいはモチーフを頻繁に組み換えることで非常に早いスピードの進化があったのではないかと考える考え方です。その極端な例が南米に居住しているインディオについてスタンフォード大学のPeter Parhamを中心としたグループが提唱しているものです。数万年前にもともとアジアにいた集団がアメリカに入り込んで、特に南米に到達することによって、その後、環境に存在する色々な感染性の微生物に対する適応として非常に早いスピードで突然変異を蓄積して新しいアレルができてきた。クラスIの遺伝子群に関してそのようなことが起こったというふうに考えています。

佐治 タイムスケールはどのくらいですか。

徳永 彼らが言っているのは数万年です。数万年の間に主として遺伝子変換、短いモチーフを単位にした遺伝子変換を頻繁に起して新しい遺伝子をどんどん生み出しているということです。

佐治 数万年というのはMHCの分子進化の歴史の中でいったらどれくらいになりますか。

徳永 Kleinたちが言っているDRB1の主なlineage、例え

ばDR2とDR4グループが大きく分かれる大もとが4千万年です。

佐治 4千万年の中の数万年ということですね。

徳永 非常に極端な2つの考え方があるのが現状です。

佐治 主にどの遺伝子座ですか。

徳永 Listen to evolutionというストーリーはHLAのクラスI遺伝子群、特に古典的クラスI遺伝子群のB座について言われています。CとかAもいくらか言われていると思いますが、特にBで顕著であるという考え方です。

佐治 たった数万年の間にベーリング地峡を渡って、それからアメリカ大陸を南下していった。その北アメリカを南下している間はそんなにdiversity（多様性）は増えてないけれども、南米に入って途端に増えたということですか。

徳永 はい、そうです。

佐治 そのこのところに関与しているものがparasite（寄生体）であるということですか。

徳永 それは仮説としてですね。それについては色々な説明が可能なのわけですが。それは一つの魅力的なおもしろい仮説だと思います。



徳永先生

滝口 集団が狭いということか、小さいということはどうですか。

徳永 それは当然あります。南米のそれぞれの各部族にはそのデータを見るとほんとうに数種類しかありません。主要なアレルが数種類しかないんです。明らかにbottle neckという、小集団で動いていったということは間違いないことです。HLAに限らず他の遺伝子の解析結果もだいたいそれで間違いないようです。

佐治 集団の大きさが小さいから、その多様性がないために、その多様性をつくる方向に行ったという意味ですか。大きな集団であつたらそんなことはなかったんだろうということですか。

滝口 そういうふうには考えているのではなくて、集団が小さいから遺伝学的に起きた変異がそのまま集団の中に保存されてしまうということです。それを保存させる要因にどこからのプレッシャーがあるかどうかというのは議論があるところです。

佐治 そうするとHLAの分子進化には2説あって、むしろ他の遺伝子よりもゆっくと進化して多様性が獲得されたという説ですね。もっとも最近のPeter Pahrmanの説ですと数万年ですね。数万年単位でいくつかのB座のアレルが、特にB15の多様性が増えてきたというデータが出てきた。だから決着がまだ付いていないというわけですね。

徳永 つかないわけです。

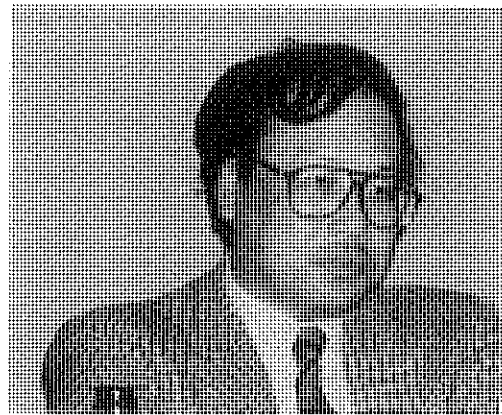
マラリアと人類の果てしないたたかい

佐治 それで、今日の座談会は疾患の感受性なんですけど、そのこのところへ持って行って欲しいのです。だから寄生体を取り上げていただけませんか。

滝口 では、ぼくが次につなぎます。マラリアの仕事です。¹¹⁾

佐治 先生は共同研究者でしたね。

滝口 HLA-B53が東アフリカ地域でマラリア抵抗ファクターのひとつであるという血清学的あるいはPCR法を利用した仕事です。マラリアの重症度と比較したら有意差がHLA-B53に出ました。それがなぜかというところから僕がちょっと顔を出したのです。もしかしたらHLA-B53というのはマラリア抗原に対して非常にpositiveに動いているんじゃないかと推定されました。HLA-B53が提示するマラリアのエピトープというのが優性形質ではないかと推定されたので、それを同定することから始めたわけです。いくつか調べてみたら、HLA-B53が提示するエピトープというのが実際、他のものが提示するエピトープよりも免疫原性が非常に強いという証拠が得られました。それが正しいとする



滝口先生

と、おそらくHLA-B53を持っている人が生存にとっては有利であるということになります。マラリアという病気は結構古く、おそらく人類誕生とともに存在しているということを考えると、数万年という時間の間にプレッシャーをかけてセレクションが起きているのではないかと。そうすると東アフリカでHLA-B53が約30%ですが、その蓄積というのがおそらくマラリアではないかということが推定されます。

佐治 そうしますと、それはホモサピエンス側が寄生体(パラサイト)であるマラリアに調和するためにMHCを合わせていったのですか。

滝口 合わせていったのか、プレッシャーをかけられてしまったのかは難しいです。マラリアという病気は特に乳幼児が問題となります。乳幼児が感染すると非常にシリアスです。死ぬか、非常に強い中枢神経系の後遺症を残します。そういう強い後遺症を残した場合か、死んでしまえば次の世代をつくれませんから、当然そこでセレクションがかかるということになります。HLAの多様性を決めていくのに、ひとつのnatural pressure (自然選択圧)があるのではないかとということがいつも議論されていたのですが、彼らが一つの証拠を出したのは事実だと思いますし、それが免疫学的に確かに強いエピトープであるということまでの証明が一応されています。

佐治 地球上の種同士がお互いに戦ったり、調和したりしていく歴史がずっとあったということですか。そういう観点からみると、マラリアというパラサイトに対して人類が歩み寄ったというか、戦ったり、仲良くしたりするということを繰り返している間にいろんな多様性が種に出てきたというふうにある部分とらえているわけです。そういう観点から見ると、HLA-B53のもとのアレルは何だったんですか。

滝口 HLA-B35との間にたぶん遺伝子変換が起きているのでしようけれども、本当はどちらが先かというのは厳密には非常に難しいことです。

佐治 どちらが先か分からないということですか。

滝口 計算では差が出ないと思います。

佐治 あその73から86番でしたですか。

滝口 あそのB4, B6エピトープでの入れ換えだけですから。

佐治 あそこだけでしたよね。あその遺伝子変換が一回だけでしたよね。

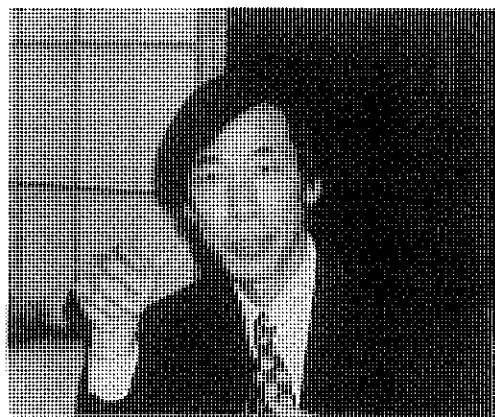
滝口 遺伝子変換は一回だけです。

佐治 どちらが先か分からない…HLA-B35のマラリア抵抗性はどうなんですか。

滝口 統計学的には有意差は出てないんですけども、データを厳密に見ると、傾向はあります。

佐治 抵抗性ですか。

滝口 抵抗性です。ただ統計処理をすると有意差は出ません。やはりHLA-B53の方がはっきりしています。たぶんHLA-B53と関連があるということはクラスIですから、マラリア感染防御におけるクラスIの役割という、蚊が刺してマラリアが侵入する一番最初の段階ですから、さっき乳児が問題だとおっしゃいましたが、まさしくそれは最初のマラリアが侵入する段階だと思います。



南先生

木村 HLA-B53とマラリアとの相関について僕が不思議だったのは、肝細胞はクラスI抗原をほとんど発現していないから、本当にeffectiveにHLA-B53でマラリアの抗原を提示できるかということがちょっとひっかかるわけで…それがこのストーリーの欠点だと思います。

滝口 HLA-B53が提示する抗原はそうなんですけれども、肝細胞というよりもliver stageなんですよ。本当に肝細胞なんですか。抗原提示細胞は肝細胞である必要はないですよ。肝臓の中には、抗原提示細胞はいっぱいありますから。

木村 そう考えないと、血液中に出ているマラリア原虫はクラスIのない赤血球の中にいるから当然認識はされない。そうすると、どこで一番effectiveに排除しているか。それを考えなくては行けないですよ。

南 キラーT細胞が効くのはたぶん侵入した直後の段階だけですよ。ところが、一旦感染して赤血球ステージへ移行してしまうとむしろ抗体とか、別のメカニズム、サイトカインとか、による防御ということになります。



木村先生

佐治 侵入ということは最初からですね。最初から抵抗性なんですか。

滝口 侵入して、liver stageまで来るにはすごく時間がありますから、そこはあり得ないです。やはり肝臓の中です。

木村 そうですね。

滝口 数時間で免疫はできませんから。

HLA多様性versusパラサイト 多様性を考えなければ・・・

徳永 別な観点なんですけど、人類の進化は旧石器時代までがほとんどなんですけれども、人類の歴史の中で、その期間に何が一番大事か。広く言えば感染症というのか、俗に言う流行病というのか、疾患として人類にとって一番脅威になったのはおそらくマラリアだと言われています。現代病は全然関係ないわけです。マラリアがやはり一番キーだったと思います。それで、HLAとの関係が出てきたということは非常に喜ばしいことです。人類が抵抗しなくてはならないのはマラリアだけではありません。だから、HLA-B53が明確に、誰から見ても間違いないぐらいマラリアに対するきっちりとした抵抗性を見せたら、それは逆におかしいのではないかと思います。つまり、マラリアに抵抗性があるということが、他の病原微生物に対しても抵抗性があるということにはならないからです。だから、少し良さそうだというのが見つかるということ。これがリアリティーであるのではないかと思います。逆に言うと、マラリアほど危険でなかったような病原微生物に関してはそれに対して感受性とか、抵抗性を持っているHLAタイプを特定するというのはかなり難しいと思います。ただ、環境中にあるいろんなタイプの寄生体に対していろんなタイプのHLAがなんとか凌いでいっ

たというのがHLAの多型性の元々の意味ではないかと思えます。

佐治 マラリアは人類という種の生存にとって非常に危険であったということはよろしいですか。

徳永 一番重要というか、激しい影響を与えたと思います。

佐治 その他に寄生体はマラリアだけではなくて、特にウイルスなんか来たり、去ったりしているわけで進化にどの程度影響を与えたと思えますか。

徳永 全体的なことを議論するとほんのちょっとしかないこととなります。一つ一つのタイプはあまり大きなプレッシャーにはなりません。一つ一つの特定のタイプは一つ一つのHLAのあるタイプには具合が悪かったかもしれないし、具合がよかったかもしれない。これはたぶん疾患とHLAとの関係につながってくると思います。ある特定の疾患の原因に対してはある特定のHLAはちょうど良くて、他のは少しうまくいかない。逆に別のもはいくらか抵抗性が強いとかいうこととなります。けれども、そのタイプが別の疾患にも強いとかいうとそういうことではない。やはりそれぞれいろいろなタイプに、それぞれいろんなタイプが良かったり、悪かったりしている。非常に漠然としたことになるんですけども、やはりそういう多様性と多様性の世界ではないかという気がします。

佐治 大雑把に進化のところで理解したいのは、ほとんどが中立なんだけれども、少々の淘汰のプレッシャーがあったようだという事ですね。

徳永 中立とは全然言えないと思います。このタイプの抗原にはこういうタイプを持っているのが抵抗性を示すし、逆に感受性を示すものもある。ところが環境中にあるのはそのタイプだけではないので他のタイプには同じタイプが具合悪かったりする。その総合的なものであると思います。

佐治 選択圧は弱いけれどもあったことは確かですか。

徳永 あることは間違いありません。

佐治 その中でもマラリアは最も強いものですか。

徳永 そうです。

佐治 そういうふうに理解したらいいですか。

徳永 そうです。

佐治 木村先生それでいいですか。

木村 たまたま選択圧が見えただけだということですね。

徳永 セレクションに関しては全く疑問の余地がないと思います。ただ、ヘモグロビンの鎌状赤血球とマラリアというような非常に一対一の明瞭なもので

はないということです。それはHLAの果たす機能が免疫系において色々な種類のものを提示するということがあります。多様な世界に対応するという装置であるということから必然的に、これはオールマイティーでこっちはダメという話ではありません。

佐治 あるHLAはこっちのバラサイトには弱いけど、別なやつには強いかもしれない。平たくいうとそういうことですよ。

徳永 そういうことです。

HLA多型性はなぜ疾患と相関するのか？

佐治 進化の方はだいたいこれでよろしいでしょうか。

HLAと疾患の相関を考える上でメカニズム別の分類というのか、それをどなたかお願いできませんか。

木村 私がHLAに連鎖した疾患感受性をマッピングしようというときに、これまでに報告されたHLA抗原と疾患との相関は本当にそうだろうか考えるわけです。それは単なる連鎖不平衡の反映ではないか、ということが一番の大きな関心なんです。今、僕たちがやっている高安病という病気がありますが、高安病はHLA-B52、DR2と相関するというのは昔から報告されていて、DNAタイピングまでやってもやはりB52、DRB1*1502、DPB1*0901、これらが相関するんです。ではこれらの全部が相関するという事は、どちらかに一つ原因があって、それとの連鎖不平衡で全部が相関を示すのか、あるいは一つのハプロタイプの中に2つ以上の、例えば今の場合でいえば、B52とDPB1*0901を両方持つということがその病気に感受性を決めるのかを区別しなければいけません。それで僕らがやったのは、HLA-B52だけを持っている場合、B52とDRB1*1502の両方を持っている場合、そしてDRB1*1502はあるけれどもB52がない場合、それぞれの場合のリスクを比較してみました。そうすると、HLA-B52があればリスクは高いのですが、B52がなくてDRB1*1502だけを持っているという人は決してリスクは高くないのです。全く同じことがB52とDPB1*0901に関してもいえます。確かに両方持っているリスクは高いのですが、DPB1*0901がなくてB52だけ持ってもやはりリスクは高いです。しかし、DPB1*0901だけあってもリスクは決して高くないのです。そういうことから僕らはB52それ自体、あるいはそのすぐ近くにあるものが、その原因遺伝子であろうと、そ

ういうマッピングをしたわけです。⁹

それと似たようなことをナルコレプシーについても今やっています。HLAと疾患との相関では非常に有名な話ですよ。ナルコレプシーはDQB1*0602と100%相関する。それはDQB1*0602が本当に原因なのか、あるいはそのすぐ近くに原因遺伝子があるんじゃないかと考えられるわけです。それを今スタンフォードのグループと一緒にやっていて、その戦略は、結局DQB1*0602というDQB1遺伝子だけをみると、確かに相関が出るんですが、その周りにある他のマーカー、僕らがやっているのはCAリピートマーカーだとか、プロモーターの多型性だとかです。そういうDQB1遺伝子のまわりの多型性を同時に調べることによって、疾患遺伝子が何処に本当に落ちてくるだろうかと、その組換えがないだろうかとということ調べているのです。結論からいいますとDQB1*0602そのものが原因になるだろうと考えられます。というのはDQB1*0602のすぐ近くのCAリピートマーカーを調べると、やはりリコンビナントがいるんです。組み換えている患者が。それで今の結論は、DQB1*0602そのものがナルコレプシー遺伝子であるということです。

佐治 それは書いてもいいんですか(笑)

木村 今、論文を投稿しているところです。DQB1遺伝子の周りのCAリピートをもともと調べ始めた理由は、一つは進化なんです。DQB1遺伝子だけを見ると、それは何か進化におけるセレクションがあるかもしれません。けれども、その周りのCAリピートなんていうのは遺伝子の間にあってなんにも機能していないだろうと思われまますから、そういうところだったらセレクションなんかかかりようがありません。それを調べることによってMHCの進化と言うものを何か考えられるのではないかと考えてやっています。

佐治 どれくらい近いのですか。

木村 調べたCAリピートはいくつかありますが、大体DQB1遺伝子と2 Kbpから25 Kbpぐらい離れています。HLAの領域の中からいえば、B遺伝子座とDRB1遺伝子座の間は1,000Kbp以上ありますから、そんなには離れていません。ほんのDQB1遺伝子のすぐ近くです。CAリピートを使って、系統樹を書くと、CAリピートだけで2つのグループに分かれるんです。リピートのタイプで2つに分かれた系統樹というのは、まさにDQB1だけで書いた系統樹と一致します。それは何かという、

DQB1でいうとDQ1のタイプ、*05タイプか*06タイプ、それが一群になります。そしてそれ以外のグループと大きな2つに分かれます。先程の徳永先生が紹介したJan Kleinのtrans species evolutionというのは、結局そのlineageをどう決めたかということがヒトになる前からもう決まっていたんだと言うことですね。そのサルの段階から、大きなlineageは決まっている。それと全く同じことですが、なんのセレクションもかかってないと思われるCAリピートでも同じ系統樹が書けるんです。もう一つおもしろいのはそのCAリピートを調べると、同じ系統樹になると言いましたが、それでわかるように連鎖不平衡が非常に強いんです。DQB1が*0601であったらCAリピートは107 bpというタイプになるし、*0602だったら103 bpになる。そういう一対一の対応が見られるんです。非常に興味深いのは一対一の対応が非常にストリクトに出るのはDQ1グループなんです。ところがそれ以外のグループ、DQ2, 3, 4のグループは、一つに決まらないんです。ものすごい幅があって、115 bpのタイプから121 bpのタイプまで、非常にばらついてしまいます。それがなぜかということ調べて、今シークエンスをしてるんです。そのCAリピートのシークエンスをすると、長さだけでいうと大きく2つのlineageになっていましたが、そのシークエンスを比べてみると、lineage間で非常に違うんです。2つのlineageにはじめから分かれていたようなタイプのシークエンスなんです。DQ1のタイプの方のlineageにきたCAリピートというのはあんまり長くありません。また、CAリピートはCACACA....と何回も続きますけど、途中にヶ所だけCがAに変わったためにAAAになっているんです。このCAリピートの進化とか組換えだとかいうことを考えるときに、同じシークエンスのリピートがずっとつながっていると、複製のときにslippageが起こって、長さが変わっていくということが大腸菌や酵母で分かっていますが、それが1ベースでも違ってたらそこで止まってしまうんです。Slippageが起こらなくなってしまう。非常に固定されてしまうということが分かっていて、まさにDQ1グループのCAリピートというのは途中に1ベースの違いがあるために、それ以上もう動けなくなっているんです。ある一定の長さで止まっているのです。けれどもDQ2, 3, 4グループのCAリピートというのはそこがずっとCACAと続いています。だからSlippageを起

すことによって、今でも動けるんです。これはヒトでは初めて証明された例ですが、そういうのを今やって、僕の興味はCAリピートを使った進化の解析にあるんですが、スタンフォードの連申の興味は病気の遺伝子は何処にマップできるかということにあります。

佐治 DQB1*0602に落ちつきそうなんですか。

木村 この前の第12回国際HLAワークショップのレポートの中にも出てきましたけれども、DR2を持たないナルコレプシーの患者をたくさん集めたんです。日本人患者は全員DR2を持っていますからね。100%がDRB1*1501で、DQB1が*0602であって、組み換えがないんです。しかし、他の人種の患者には一部DR2でない人がいるんです。

佐治 黒人？

木村 黒人が一番はっきりしています。DR2を持っている患者が30%ぐらいしかいませんから、ほとんどがnon DR2なんです。そういう集団を集めてきて、DQを調べる。或いは、その周辺のCAリピートマーカを調べるという戦略でいって、やはりDQB1*0602がプライマリーの相関だと、DRがなんであってもDQB1が*0602になるというタイプが黒人の患者にはいるということで、おそらくDQB1*0602が疾患遺伝子そのものだろうと考えられます。周りのCAリピートをタイピングしていくと、DQB1のすぐ近くは一定しているんですけども、ちょっと離れるともう組換えしている患者がいるということが分かっています。

佐治 なるほど。突然話変えますけど、どんどんおもしろくなっていくと思うんです。DQB1の*0602ってのはおもしろいことには、今度はIDDMでいうと。

木村 抵抗性ですね。

佐治 非常にprotectiveに働いているってことが段々はっきりしてきています。ここから、それとの関連は全くないですね。

木村 IDDMとナルコレプシーとは関係ないと思います。でもIDDMではDQB1*0602で本当にprotectiveかが問題ですね。

佐治 段々はっきりしてますよ。先生。

木村 ええ、まあ僕らも日本人とノルウェー人を調べて、protectiveなのはDQB1*0602か*0601か*0301ですね。DQB1*0301は、DQ7ですが。*

佐治 DQB1*0301もですか。

木村 はい。この3つはもう、連鎖するDRがなんであってもprotectiveなんです。従って、protectionとい

うのはおそらくDQB1で決まっているだろうというのが僕らの考え方です。

佐治 やはり表に見えてきているのがDR2なんですね。

木村 そうです。

佐治 日本人の場合は、あのDQB1*0602はDRB1*1501と連鎖するし、DQB1*0601はDRB1*1502だし、どうしてもDRが表に見えてくるんだけど、段々分かってきたのはDQBなんですよ。ここらへんでIDDMに移っていいですか。もうちょっとそのメカニズムの方を続けますか。というのはですね、IDDMにいくと、なんで日本人だけがDQの57のnon Asp説が当てはまらないのかという話をどうしてもしなければなりません。その前に、例えば、モチーフの話をしておいてもらいたいし、自己免疫のひとつのファクターにHLAがあるっていうことをちょっと話しておいてもらいたいのですがどなたか話していただけますか。それじゃあ自己反応性の話ですが、モチーフに絡めてというと、molecule mimicryがですね。HLAとの相関で、大事なファクターになるんです。最も典型的なのが、B27です。その辺の解説をひとつどなたかしていただけませんか。クレブシェーラの話。

HLA分子とパラサイト抗原の 相似性(molecular mimicry)仮説は？

徳永 B27のサブタイピングは一緒にやってきてるんですけどね。だから一番HLAと疾患ではよく分かって、解析されてきた例だと思うんです。けどまだ結論が出ているとはいえない状態です。そのmolecular mimicryでクレブシェーラとか、なんか、あとちょっと忘れちゃったけど。

佐治 強直性脊椎炎はクレブシェーラという細菌のnitrogenaseという酵素のアミノ酸シークエンスの一部がB27に非常によく似ていて、クレブシェーラ菌が侵入してきたときにレスポンスしたその抗体がB27と似てるために、ヒトのHLAと交叉反応で攻撃するという話です。

徳永 抗体というよりもT細胞系の方です。

佐治 T細胞ですね。

徳永 まあ両方可能性がありますから。実際に抗体で患者中にそういうmimicryな合成ペプチドをつくるわけです。非常にB27と似た部分、配列を持っているのは、実はそのクレブシェーラだけじゃなくて、いっぱいあるわけです。いっぱい見つかるんです。

佐治 もうたくさん見つかるんですか。

徳永 何種類も見つかります。これに対する免疫反応が自己に向かってしまうので自己免疫が起こる。そのB27の分子というの、それはまるごと反応しているのではなくて、B27が、自己のB27という抗原がプロセスされている。

佐治 それはT細胞の場合ね？

徳永 はい。

佐治 抗体の場合はもろでもいいんですか。

徳永 抗体はいいと思います。

佐治 もろでもいいですよ。

徳永 まあ、そうですね。

佐治 キラーT細胞の場合には、先生がいったように、B27のタンパク質が消化されて、表現されたものに対してT細胞が反応する。いいですよ。

南 T細胞ですか。それはキラーTじゃなくて、むしろMHCクラスII介在性なT細胞レスポンスですよ。

徳永 というふうには僕は考えています。

南 ですね。B27はただ単に抗原になっているだけです。

徳永 その場合はそうです。

南 B27抗原で、それがクラスIIと結合して、いわゆるヘルパーT細胞に提示される。

徳永 B27そのものがB27を提示できるらしいんです。だからそのクラスIIに限る必要はないと思います。

木村 ただ、僕はそのmolecular mimicryの最大の欠点は、例えば、抗B27ができたとして、なぜ強直性脊椎炎になるのが不明というところなんです。そんなものは、クラスIIで提示しているとすれば、B細胞にはすべてに出ているわけです。あるいはクラスIで提示しているとすれば、すべての細胞が出しているわけです。ところが、それらの細胞がやられないわけですよ。提示されているという考え方がそのストーリーの最大の欠点だと思います。最大の欠点で、しかも、それで疾患の組織特異性を説明できないですからね。だから僕は、B27との強直性脊椎炎の相関の話は、やっぱりB27と連鎖不平衡にある、すぐ近くの遺伝子というのが本当の原因じゃないかなというふうには考えますし、今でもその可能性を否定できないと思うんです。

佐治 ふーん、今のは魅力的な仮説ですね。

木村 もっとも、B27が提示しているということに関しては、疾患の組織特異性は、抗原が組織特異的であるならばクリアできると思うんですよ。

佐治 なるほど

木村 だけど、免疫応答におけるmolecular mimicryでは、組織特異性は絶対説明できません。

佐治 なるほど。

徳永 そこに関していえば、何も証拠がないけれども、一つの仮説を出すことはできます。要するに単一性遺伝子、単一性の疾患であるから、HLAそのものが決めている部分と、その疾患全体の発症の、最後の段階にいくまでに何か組織特異性を持った第二の遺伝子、第三の遺伝子が存在する。

佐治 B27がトリガーになっているだけということですか。

徳永 トリガーに？

佐治 そのトリガーが引かれなると第二、第三、第四のそのカスケードが動かないという説はどうですか。

木村 データがないので分かりません。

佐治 納得できますか。

木村 はい。推定は可能です。

自己免疫の組織特異性を説明できるか？

佐治 組織特異性っていう話が出てきました。僕がいま一生懸命サーチしているのはminor histocompatibility antigen、すなわち、HLAに表現されてT細胞に提示されるアロ抗原ペプチドなんだけど、そのペプチドってのは、身体中の細胞のHLAがおんなじものを同程度に表現しているのではなくて、肝臓は肝臓に多い自分のペプチドを表現し、脾臓は脾臓で、脾臓に多いペプチドを表現し、血管は血管で表現してる。そのために例えば、GVHDなんかは皮膚に特異的に起こったり、肝臓に特異的に起こったりする。そういう概念で、その今の組織特異性っていうのを考えてみたら理解しやすいと思います。Molecular mimicryには、最近、もう一つの観点が出てきたと思うんです。それはB27とかの多型性ではなくて、進化的に保存されたペプチド、例えば、invariant chain (Ii)などとのmolecular mimicryがあるんです。それから多型性のないDR α 、それから、クラスIのある非常に保存されたシーケンスのペプチドとある病原体との間にmimicryが発見されたりして、要するにMHCの産物そのものがですね、免疫原または自己抗原なんです。Mimicryが非常にたくさん発見されつつあるという現象が一つあります。一方でアレル特異的なペプチド配列がですね、B27のように、病原体と非常に相同性が高いという例もどんどん発見されつつあるわけです。その辺に

ついてみなさんのお考えは如何なもんですか。

木村 相関の高い配列が見つかったのは、たまたまじゃないですか。

佐治 たまたまですか。

木村 たまたまでしょう。大きな抗原分子の中のいくつかのシーケンスをデータベースであたれば、それはいくつでもあたると思うんです。

佐治 なんぼでもあたるのですか。

木村 僕自身はmolecular mimicryっていうストーリーがあんまり好きじゃないんです。どうも懐疑的ですけどもね。

佐治 結構たくさん出てきているんですよ。そう言う観点からいうと、MHCそのものが自己抗原とか、病原体 (pathogen) と似ていることが大事だという観点もあるんです。それは胸腺におけるポジティブセレクションの段階で、例えば、リウマチなんかいい例なんだけど、DR4のあるシーケンスとリウマチの病原体との間に相同性があるとか…

徳永 それは一番シンプルなモデルで、だからスタートとしては非常にいいんだけど、ちょっとやってその後、何もやってないから。

佐治 要するに、その反応すべきT細胞のレパートリーが、一番はじめに準備される必要があるわけでしょう。

徳永 だから、そう言うことだと思うんです。最初のトリガリングは、もしかしてそれはあってもいいのかもしれないという気がしてるんです。でもそれは先ほど出たように組織特異性は、絶対説明できないです。

佐治 DR4にDR4自身のペプチドが、ある程度表現されたら。

木村 それはいいと思うんです。MHCのクラスI分子に結合している自己ペプチドを調べるとクラスII分子の配列が出てきますからそれはMHCがMHCを提示しているという考え方は、MHC分子が豊富に発現していることはわかっているのだから、結合していてもいいと思うのです。

南 MHCがMHCに結合するパーセンテージはかなり高いです。

木村 高いですね。

南 だから、そのmolecular mimicryでMHCとの相関がとやかく言われるのは、逆にMHCが抗原として提示されるチャンスが高いために、自己抗原としてのMHCと自己免疫疾患との関連という逆の考え方が出てくると思うのです。

molecular mimicryのもうひとつの観点 ：ポジティブセレクション

佐治 そこにまたポイントがありましてね、MHC由来のペプチドは密度高いですよ、証拠も出てます。胸腺におけるポジティブセレクションは、僕の記憶では、低親和力、高密度の場合には、ポジティブセレクションが起こるとい説がありますよね。

西村 そうですね。正確にはT細胞とT細胞レセプター(TCR)のリガンドを発現する細胞との間の親和性の総和であるアビディティーが重要です。つまり、低いアビディティーでT細胞のポジティブセレクションがおこると考えられますね。TCRに親和性が高いリガンドでも細胞表面での密度が小さい場合、あるいはTCRに親和性が低いリガンドでも密度が大きければ、このような状態ができますよね。



西村先生

佐治 親和力が低く高密度の場合にポジティブセレクションが起こりやすいですよ？

西村 ですからアビディティーが低い状態で、positive selectionがおこり、これが高くなるとnegative selectionがおこるといことですね。

佐治 その場合に、例えばDR4の話をして今しているのですが、DR4をそのアレル特異的なペプチドが自分に表現されていて、それがポジティブセレクションされてしまう。そうすると、そのリウマチの病原体に対する反応性を持つべきレパトリーもその段階で用意されてしまうというような見解があると思うんです。だから、今後もmolecular mimicry仮説はやはりひとつのターゲットとして見ていくべきだと思うんです。

疾患感受性を解析し実証する実践的方法は？

木村 組織特異的に発現しているタンパクのレパトリー

のなかに似た配列があるかどうかという観点でみるというのが僕はひとつの方法だと思います。

西村 とにかく、やらなければいけないのはHLAとの相関の強い自己免疫疾患の患者さんから、自己反応性T細胞を片っ端からとって、そのエピトープを決めてやることですね。そのエピトープのひとつひとつが疾患感受性を示すHLA分子に対してどうい親和力を持っているのか、それをチェックしていくというのが次の段階でしょう。最後に何故その自己反応性T細胞がそういう特定のMHCペプチドに対して免疫寛容を獲得ができないかというところへ行き着かなくちゃいけないわけです。

佐治 特定のMHCに対する免疫寛容が…

西村 MHCペプチド複合体に対して免疫寛容ができてないわけです。

佐治 そうですね。

西村 最後にT細胞が認識して活性化されなければならぬわけですねから。MHCだけじゃもう解決しなくなると思うんです。

佐治 なるほど。

西村 自己免疫現象の標的となる自己抗原ペプチドには2通りあると思うんです。つまり、感受性アレルに高親和力でくっついて自己免疫を起こすタイプのペプチドと、それから圧倒的多数のものはものすごく親和力が低いペプチドである場合でしょう。このような低親和性自己抗原ペプチドとHLAの複合体が末梢でT細胞を活性化できるだけの密度を、ある時期に、なにかの要因で発現してしまうんですよね。あるいはHLA・自己抗原ペプチドの密度が増加しなくても何かco-stimulatory moleculeとか、そっちの方の発現が増えればいいし、 γ -インターフェロン、あるいはIL-4でクラスIIが増えてもいいでしょう。あるいはある特定のペプチドがあるストレスで非常に大量にできてもいいでしょうし、蛋白質に変異が起こってホールディングが崩れて、蛋白分解酵素により分解されやすくなり、ペプチドの産生量が増えてもいいし、いろんなケースがあり得ると思うんです。

Ignoranceのシステムが感染をきっかけに 自己免疫を起こす

南 むしろ、今の自己免疫が起こるメカニズムに関しては結構そういう考え方が強いですよ。トランスジェニックマウスを使って、感染を引きがねにしてきれいに自己免疫を引き起こすシステムはほとんどignoranceのシステムです。

佐治 Ignoranceについてちょっとご説明下さい。

南 Ignoranceというのは、従来、自分に反応しないメカニズムとして、もちろん胸腺でdeletionを起こす、すなわちnegative selectionが重要であります。もう一つの重要な機構はperipheral toleranceです。そのなかでanergyというメカニズムが最もよく研究されてきて、メカニズムが明らかになってきたことから、普段は自己に反応しない機構としてanergyがかなり大きな役割を果たしているだろうと考えられてきました。たしか、LCMVだと思わなければならない、そのウイルスの抗原を脾臓の β 細胞だけに発現させたトランスジェニックマウスを作成したのです。そして、さらに、そのウイルス抗原プラスMHCに反応するT細胞のT細胞レセプターの遺伝子をとってきまして、それをT細胞に発現させたダブルトランスジェニックマウスをつくったんです。もちろん最初の予測としてはそれで糖尿病が発症するだろうと考えましたが、予期に反して全く発症しなかったんです。これはanergyになっているのか、現実にはそのT細胞はきちっと反応しうるのかを調べるためにそのマウスの末梢のT細胞をとってきて、そのウイルス抗原に対する反応をin vitroで解析すると、そのT細胞はanergyでなくてきちんと反応するんです。

佐治 ほおー。

南 つまり、T細胞はanergyになっていない。末梢には、反応するT細胞はいるにもかかわらず、しかも、 β 細胞の上にはそのウイルス抗原が発現しているにもかかわらず、糖尿病は起こらない。ところが、そのマウスにLCMVを感染させたら見事に糖尿病が起こってきたんです。ちょうど自己免疫疾患の発症のひとつのモデルとなると考えられます。このような状態にignoranceという名前を付けたんです。

佐治 それでignoranceというんですか？

南 はい。その機構についてはさっき西村先生がおっしゃった、T細胞と抗原提示細胞との間の結合力が非常に弱いケース、それは、co-stimulatory moleculeのせいかもしれないし、T細胞レセプターの親和力のせいかもしれないし、とにかく結合力が弱い場合にそう言うことが起こるんだろうという考えです。

佐治 要するにターゲット分子もあって、それから反応しているT細胞もあるけども病気を起こしていない。ここにウイルス感染があって、そいつがまた別のHLAによって表現されて、T細胞レセプター

の親和力がもっとも強いT細胞が出てきて、それが出てきたために今まで付いたり離れたりしたやつが、べちゃっとくっついて、病気が起こってしまう。これでいいですか？

南 そうですね。

とりあえず、いままでの話をまとめると…

佐治 はじめに進化の話をして、HLAの進化は寄生体との戦いの歴史であって、選択圧が働いて中立でなくて分子進化してきたんだろうというはなしがあって、その最も顕著な例がマラリアとの果てしない戦いだろうと。他のウイルスについては、完全に中立でないけども、それほど大きなプレッシャーにはならなかったかも知れない。ただし、徳永先生がいうには、そのHLAと寄生体の関係を一対一の関係と考えちゃいけないと。例えばsickle-cell anemia (鎌状赤血球貧血) とマラリアみたいに一対一ではなくて免疫系といういいかげんなシステムの中でいろんなものをターゲットにしている場合に、もっとも複雑な進化があったんだろうという話で終わって…。次に、HLAと疾患の感受性って、仮説でいったら考えられることはいくつもあるということになって…。木村先生はそれらの仮説の多くを疑っている、連鎖をとにかく考えろ、という話が出まして、その次にmolecular mimicryの話が出て、そのmolecular mimicryは、アレル特異的なmolecular mimicryの例としてB27の話が出て、強直性脊椎炎の話が出ましたけど、あれもS抗原ですか？S抗原とのmimicryが今うんぬんされているわけです。それから、どこへいったかといいますとMHCのinvariantなもの、例えば、invariant chain (Ii) とか、あるいはDR α とか、それらのペプチドと病原体との間のmimicryがどんどん発見されている。木村先生は非常に皮肉に、そんなの見つけたいと思っただけでも見つかるとおっしゃるわけです。

といってるところに西村先生がやって来られて、T細胞のレパートリーがポジティブセレクションで準備される話になって…。

西村 ええ。

HLAに結合するペプチドモチーフが
疾患感受性を決めるのか？

佐治 HLAと疾患のメカニズム、仮説の中で一番重要な

ものはHLAとモチーフが1対1の関係にあるから、そのモチーフが、初期にきているんな疾患が起こっているのではないかということをおぼろげに覚えてはいい。それを先生に解説してもらいたくて待っていたんです。

西村 例えば、最近分かったのは、DQβ57残基のみの多型が、結合するペプチドの構造に結構大きな影響を与えると云うことです。あそこがAspかnon-Aspかで、ペプチド上のポジション8とか9番アミノ酸残基、ようするにC末端にあるアンカー残基なのですが、その部分に許容されるアミノ酸がずいぶん違うんです。その荷電の状態がすごく変わるといのは、まあリーズナブルなだけで、それ以外にも普通の中性で親水性なやつが、とにかく親水性なアミノ酸がアンカーとしてIDDM感受性を示すDQ分子、つまりDQβ57がnon-AspであるDQにはものすごく許容されるんです。ところが抵抗性アリルはいっさい受け付けないということを発見したわけです。平たくいうと、インシュリン依存型の糖尿病になりやすいDQ分子の方がいるんなアミノ酸を結合ペプチドのC末端側のアンカー残基として許容するんです。おそらく、ペプチドをくっつける自由度が高いとか、許容度が高いんでしょうね。いろんなものをくっつけてるんでしょうね。きっとそういうものの中に、僕が思うにGADペプチドのように膵臓のラ氏島β細胞に特異的に発現され、IDDM感受性DQ分子に低親和性を示すペプチド、そういうものがあって、IDDM患者ではそいつに対しては免疫寛容ができない。ところが、IDDM抵抗性DQってやつはまったくそれをくっつけないか、あるいは高親和力でしっかりくっつけて、ばっちり免疫寛容をつくらせている。あるいはMcdevittが言っているみたいに、IDDM抵抗性MHCクラスII分子とGADペプチドの複合体に対してもやはり免疫寛容はできてないんだけど、自己反応性T細胞はよりTh2優勢の方へ動いてしまうと、一見抵抗性のように見えてくるのではないのでしょうか。IDDMは、自己反応性Th細胞による病態と考えられますからね。

佐治 それは、結局モチーフの話ですね。

西村 そうです。HLAクラスII分子のペプチド収容溝にある特定のポケットには特定の残基しか来ないということで感受性アリルはきっとその許容度が高い。まあどっちがどっちだか今の所IDDMの話しかできませんけれども。データをもってませんから。今僕が一番興味を持っているのはCLIPなん

です。CLIPペプチドが自己免疫の鍵を握ってんじゃないかという気がするんです。CLIPというのはユニバーサルなモチーフを持ってるわけでしょう、すべてのHLAクラスII分子にくっつく。ところが僕はアリルごとにCLIPへの親和性は微妙に違うんだと思うんです。親和力が当然違うはずなんです。そうすると、不思議なのは日本人では、自己免疫の感受性アリルとしてDRB1*0405が必ず出てくるじゃないですか。それから、DRB1*1502は抵抗性を示しますよね。DRB1*0405ってのはあれは非自己抗原ペプチドの提示に関して非常に優秀なクラスIIであって、その理由ってというのは、CLIPとの親和性にあるんじゃないかと思うんです。

註：CLIP ペプチド：MHC class II分子に結合しているinvariant chain (Ii) が切断される。その際、小さい断片の一部がMHC class II分子に結合したまま残っているものをCLIPという。

CLIPのクラスII分子への親和性が結合ペプチドを決める？

南 たしかCLIPと各MHCクラスII分子との親和力についてはきれいなデータが出てますよね。

西村 出てます。

南 Direct bindingで出てます。

西村 出てますけども、あの実験ではきちんとした親和力の比較はできないです。

南 かもしれないですね。ちょっと飛んでしまうかもしれないかもしれませんが、CLIPの産生に関してはHLA-DMの要求性という点で、各MHCクラスIIの間で違ってますから。

西村 重要なのは自己ペプチドのレパートリーがどのくらい違うかです。CLIPと激しくくっつくクラスIIというやつは、きっと、クラスII分子に高親和性を示す自己ペプチドしかくっつけないでしょ。

佐治 そうですね。

西村 ということは、そいつに対してはばっちり免疫寛容ができていくでしょう。ところがCLIPに対して低親和性を示すクラスII分子ではCLIPがクラスII分子からばかっと直ぐはずれるから、クラスIIに低親和性を示す自己ペプチドもクラスII分子に結合すると考えられないでしょうか。

佐治 CLIPの親和力が低いと低親和性の自己ペプチドも提示されやすい。ですね？

西村 ええ。まず自己ペプチドとしてHLAクラスII分子

から溶出されてくるペプチドの中でCLIPがどのくらいのpmole (ピコモル) 出てくるかアレルごとに違うんです。これはもうはっきりストロミンジャーのところからJEMに発表されましたよね。そう、そういう目で見直してみるとアレルごとにやっぱり出てくるCLIPのモル数が違うんです。

佐治 CLIPの話が出てきたらHLA-DMの話はどうしたらいいですか。

南 何をしゃべればいいんですか。

佐治 HLA-DMがですね、クラスIIのアレルによって、その機能が高いやつと、低いやつとがあるとおっしゃってましたね。

南 というよりか、逆だと思えます。ようするに今西村先生がおっしゃったとおりで、クラスIIのタイプによってCLIPとの親和力が違うんです。非常に親和力が高いタイプでは、HLA-DMが欠損した場合に、細胞表面上でのCLIPをくっつけたクラスIIの頻度がものすごく高いんですね。たしかCLIPをくっつけたものだけに反応するモノクローナル抗体がありますから、それで簡単に調べることができると思うんです。HLA-DMが入ったケース、HLA-DMが入ると、すごくそれが減ってくるんです。そういうことから、もともとHLA-DMというのはCLIPをはずすんじゃないと言われておりました。さらにきれいにin vitroのシステムで、CLIPとそのMHCクラスIIとの結合がHLA-DMの存在により、分解していくことがいくつかの実験系でも証明されてます。従って、どうやってはずすのかということは別にしてHLA-DMがCLIPをはずすんだということは、まず間違いないことだと思います。

佐治 はい。分かりました。CLIPには多様性ないですね。

木村 そうです。

佐治 HLA-DMには少しありますよね。

南 あります。

佐治 HLA-DMA、HLA-DMBですね。あれ組み合わせから言うたら8種類か9種類あります。

南 はい。

佐治 できそうな、多様性ありますよね。CLIPには多様性がない。だけどそれを受け取る側のアレルに多様性があるって、その結合性が違うらしい。これにHLA-DMの機能、親和力とっていいのかわからない、はずす能力の高さ、低さも含めると、クラスIIへのペプチドの提示の段階で制御が働いているように、僕には感じられるんですが、どうなんでしょ

うか。いつも懐疑的な木村先生。(笑)

木村 直接的な証拠は何もないのですが、基本的にはほんの少しの違いが最終的には非常に大きな違いになってしまっているというふうには考えます。だから、実験的に証明できないからと言って、最終的な結果が変わらないはずだというふうには考えなくてもいいだろうと思います。

謎の日本人IDDM!、相関するのはDRかDQか?

佐治 分かりました。クラスIIのnon classicalなところをTAPとかDMとかの話は後でお話ししていただきます。せっかく西村先生がIDDMのDQβの57番目の話をしてくれたんで、おそらく読者なり、明日のランチョンセミナーの聴衆がですね、みなさんが同じように思っていることがあると思うんですね、まず、IDDMは白人の世界ではDR3、DR4のヘテロ、もっといえば、DQB1*0302、DQA1*0301ですか。*0301*0302がですね、非常に感受性、病気になるやすい。どうもDQB1*0602がこれは全人種、防衛的に働いている。ところが、日本人だけがそのDQβ57番目のnon Asp説があてはまらない、という謎があるんです。これみんなが持っている疑問だと思うんです。どなたかうまく解決していただけないか。

木村 それは、DQβが原因じゃないからです。

佐治 えっ!

木村 一番簡単なのはDQβ57番が病気と関係ないからです。

佐治 じゃあ、NODはどうなります。NODマウス。

木村 NODですか? あれはネズミの病気ですから。

佐治 人間のシュミレーションできない。

木村 ええ。IDDMに免疫応答が関与するという点に関してはシュミレーションできますが、自己抗原とか抗原提示分子まで同じようなものだとは考えなくていいと思います。

西村 IDDMとDQとの関係についてなにか問題かといったら、あれだけDQβ57non-AspとIDDMとの相関が出ているのに、未だに、DQ拘束性のGAD (glutamic acid decarboxylase) 特異的な自己反応性T細胞が報告されないんです。

木村 そうなんです。出ないんです。

西村 Lancetに2年前にGAD自己反応性T細胞がIDDM患者に高率に検出されると出ているでしょ。ところが誰も、これがDQ拘束性であると言う報告をしないんですよ。

- 佐治 GADというのは糖尿病に特異的に出てくる抗体です。Anti-GAD。
- 西村 そして彼らが何をやっているかという、今ワークショップをやっているんですよ。世界中で、4つのラボで。そしてMcdevittらがNODマウスにおけるIDDM発症に関係していると報告している自己抗原、つまりインシュリンだの、カルボキシペプチダーゼだの、GAD67抗原などを集めてIDDM患者のリンパ球にあててるわけです。そして拘束分子も当然解析されるでしょう。そしてDQが実際にこれらの自己抗原を自己反応性T細胞に提示している分子なのか、そのような解析データを持ち寄るワークショップが12月にメルボルンでありますよ。だからそこでなんかおかしなことが僕あるんだと思うんです。たぶんDQ拘束性の自己反応性T細胞じゃあないんですよ。そういうペーパーはけられているのかも知れませんが。たぶんどこかで誰か偉い人に。要するにまともなジャーナルにはacceptされないんじゃないですか。何か変なことがあるんだと思うんです。
- 佐治 不思議なことにしかもDRB1*0405がリンクしてるDQB1*0401ってのは、白人でみるとこれ非典型的なんですよ。
- 木村 白人のデータはありませんよね。DQB1*0401というのは白人ほとんどいないから。
- 佐治 そうですか。
- 西村 あれでしょ。変な集団がいるでしょ。DRB1*0405とDQの連鎖が日本人と全然違う。
- 木村 DQB1*0302っていうのがありますよね。
- 徳永 非常に強いですよ、それが。
- 佐治 サルジニアンでしたっけ？
- 木村 それから、僕らが前にDQの多型性を使ってIDDMの疾患感受性を考えたときにはですね、DQB1*0302は非抵抗性であって感受性ではなかったんですよ。
- 佐治 非抵抗性？
- 木村 疾患感受性は何が決めているかという、それはDRが決めているというのが僕らの結論だったんです。つまり同じDQB1*0302を持っていても、DRが*0406だとむしろ抵抗性ですからね。
- 佐治 そのDRってのは？
- 木村 DRB1ですね。白人でも同じでしょ。白人でDRB1が*0403だったら抵抗性ですから。同じDQB1*0302であっても。
- 佐治 DRB1*0403とDRB1*0406が抵抗性ですよ。
- 木村 そうです。そうするとDQB1*0302が感受性を決めているというふうにはいえないだろうと。
- 佐治 いえないです。しかも徳永先生、DRB1*0403、*0406は日本人にありますよね。
- 木村 リンクしているものは、DQB1*0302です。
- 佐治 DQB1*0302でしょ。57番Non Aspになるんですよ。しかも白人で最も病気になるやすいDQだと書かれてるのに、日本人ではそれがならないわけです。
- 徳永 だから、先ほど西村先生、木村先生も触られたようにですね、いろんな民族でその相関の違う連鎖、ハプロタイプの違うものを調べてくると、やはりそこで本当に第一義的なものが遺伝学的な研究だけでもあるといえてくる。そういう意味ではDQよりはDRじゃないかと僕も思います。全然僕はIDDMやったことないんで、外野ですけども。
- 佐治 そうしたらIDDMの発症率が最も多いのはサルディニアとノルウェーでしょ？その周辺地域ですよ。日本人の発症率が極端に低いんですよ。これだけDR4がありながら、DRB1*0405の頻度は世界一でしょ。
- 木村 それ2つの考え方があるはずですよ。集団自体が疾患感受性が少ないのは感受性アリルを持ったのが少ないためだというのが一番最初のMcdevittのグループの説です。Non Aspが日本人に元々少ないから発症率も低いんだと。だけど、もう一つの考え方は、トリガーになる内的な要因か、または外的なウイルスかもしれないけれども、そのトリガーの分布が全然違うからという考え方です。僕はそちらの方の可能性が高いと思います。
- 西村 あと第二、第三の遺伝子もあるんじゃないの？
- 木村 連鎖不平衡を利用してマップした遺伝子ね。
- 西村 Non MHC遺伝子の関与も重要ですよ。
- 佐治 Non MHCのね。6つか7つありますよね。
- 西村 断然MHCが強いですけどね。
- 佐治 後でその話してください。
- 徳永 いやいや、それは具体的なものがないですから。
- 西村 最近GAD特異的なT細胞をIDDM患者から取ったんです。なんとですね拘束分子はDR53なんですよ。その人はものすごく変わってて、日本人じゃないかもしれないんだけど、DR3とDR4のヘテロなんですよ。DQはもちろんnon Aspなんだけども。両方ともホモなんです。
- 木村 けどもDR53ってのは提示分子の可能性があるね。
- 西村 DR53って妙なんだよね。免疫寛容のできにくい妙なHLAかもしれませんね。PBCでも自己反応性

T細胞の多くがDR53拘束性と聞いています。

佐治 DRB4のことですね。

西村 その後たくさん日本人のDRB1*0405あるいはDR9陽性のIDDM患者の人からGAD特異的クローンがとれてるんで、それを片っ端からエピトープを調べたら、エピトープも全然違うんですよ。NODマウスでは、まず最初にC末端のエピトープに対してトレランスが破綻しますでしょ。ずいぶん右の方ですよ。僕らは百番台のところだもんね。N末端の方ですよ。

木村 それはDR53特異的という意味ですか。

西村 DR53に拘束されているT細胞しかとれてないんです。

南 いくつか取って全部DR53ですか？

西村 いやいや、まだそんなにとれてないんですよ。そこが恥ずかしいところで。まあ乞うご期待です。

佐治 ようするに日本人のIDDMの不思議なところは白人の集団で立てられたセオリーに合わない点です。同じ東洋人でも中国人ではちゃんとあうんです。中国人は白人のセオリーにちゃんとあうんです。

木村 僕はあれは違うと思うんです。中国人のデータは白人のセオリーに合ったものがパブリッシュされているんだと思います。そうだとしか思えないですよ。

徳永 本当にそうだと思います。

佐治 DR3が日本人に比べて結構あるんですよ。

徳永 基本的にいろんな集団に共通するファクターを抽出することは大事だけでも、やはり残念ながら、欧米で出たものに合わせて考えている習慣があるわけです。

佐治 なるほど。

疾患とHLA相関の人種特異性

西村 僕らMS (multiple sclerosis) でのものすごくおもしろいことを見つけたんです。MSって昔から日本人ではDRB1*1501との相関あやふやでしょ。九大の神経内科の吉良君ってのがMRIをやって、そうすると、昔から神経内科の人は気が付いてたんですが、視神経とか脊髄病変が出てくるMSが東洋人にだけ出てくる。明らかに臨床的に二つの型がある。そしてMRIで脳のフォーカスの数を数えてみたら、白人に多いタイプというのはたくさんフォーカスが出てきます。ところが、オリエンタルに出てくるやつは脳にはフォーカスが少ないんです。その代わり脊髄にぼこぼこ出てくるんです。

その二つに分けてHLAを調べたら、もうきれいに分かれました。

佐治 あらら。

西村 西洋人と同じパターンのMSはきれいにDRB1*1501との相関を示すんです。ところがオリエンタルに出てくるMSではDRB1*1501陽性者はゼロでした。

木村 DRB1*1501がね。

西村 そうゼロです。

木村 他には何か相関を示すHLAがあるわけですか。

西村 それはちょっとまだ。

佐治 公表できません？

木村 えー、公表できないんじゃないかって、相関がないんじゃない？

西村 いや、あるんですよ。あるんだけど数が足りないというところで、症例数を集めてるところです。いろんな自己免疫疾患をみて東洋人特異的自己免疫って結構あるじゃないですか。インシュリン自己免疫だってそうだし。

佐治 そうね。

西村 そうでしょ。

佐治 白人という人種と日本人という非常に特殊なね、僕は特殊な民族と思ってるんです。

徳永 白人と日本人というのは人類学的に全くレベルの違う話なんで、白人というのはthree major racesの内の一つです。

佐治 それ言われたな。ごめんなさい。

徳永 日本人とはモンゴロイド集団の中の一つでしかありません。だから、僕らはモンゴロイドの、ようするに中国人とか韓国人、或いは東南アジアの人たちの特長を十分知らない。データがちゃんと出てるわけじゃない。

佐治 だから、日本人としか今言いようがないわけです。モンゴロイドと言えない。モンゴロイドとは私は言えない。白人で分かったいろんな疾患とHLAの相関が日本人にあわないことが時々ある。それには二通りあって、白人の説が間違っているというのが木村説ですね。

西村 白人のは正しいんですよ。

佐治 正しいのかなあ。

西村 統計学的には正しいんです。

木村 統計学的には正しいんですよ。ただ、そのデータから疾患を考える時に、それで全てを一般化しようというところが間違っているんです。

西村 そうでしょうね。

佐治 一つは先生が言うように、白人の病気と日本人の

病気が違う。

西村 違う場合があると言うことです。

佐治 違って、それで相関が違うという場合がある。あたかも白人のたてた説にあわんように見えるIDDMだけど、これは病原体も自己抗原も違うのかな。

木村 僕は、アレルが違うから自己抗原も違うと思います。

佐治 病原体はどうですか？引き金になっているウイルスとか。

木村 それは違うんじゃないですか。

西村 ペプチドが違えば、違うと考えざるをえないでしょうね。

木村 というふう考えた方がいいと思います。

佐治 病態はどうですか。

木村 原因が違って同じ病態になることはいくらでもありますから、病態は同じでいいと思います。

佐治 ターゲットになってる臓器が同じだったら、抗原が違っていても。

木村 はい。

佐治 そうですか。そうすると、IDDMみたいに非常にユニバーサルに見える病態を持つるものでも、人種によって病原体が違う可能性がある。ということはターゲットが同じでも、ターゲットの分子が違う可能性があるという意味ですね。

木村 抗原ペプチドが違うという観点ですね。組織は同じでいいんですけども。

佐治 滝口先生、それでいいですか。さっきから黙ってるんだけど。

滝口 ええ。

西村 とにかくやらなきゃしょうがないですよ。NODでトランスがこわれているあの5つぐらいのプロテインに関して、がんが、日本人と白人でどこがエピトープになって、何が拘束分子になっているかというのを示していくということでそれで解決がつく。

佐治 MedevittのレクチャーでおもしろかったんはGADをばんばん注射したら、糖尿病がよくなったというのはどうですか。

西村 免疫寛容の積極的な誘導ですね。一番最初にT細胞のトランスがこわれる一番危ないところのペプチドに対して完全な免疫寛容を能動的に誘導してIDDMの発症を防ごうと言うやつですよ。

佐治 あれはよくなったのですか。それとも発症が遅らされたんですか。どっちですか。

南 発症が押さえられたんじゃないですか。どちらか

というneonatal tolerance（新生仔免疫寛容）に近いかたちの、非常に初期にやると発症が押さえられるということだと思っんです。

実際の治療に役立てるには…

佐治 ペプチドモチーフをどんどんやらなきゃしょうがないという議論がさっきからあるんだけど、モチーフをどんどんやっていって、実地医療にどう役立てるかという話にいいですか。

西村 僕自身やってますけどもね、自己免疫の解析によってモチーフはあんまり役に立たないと思うようになってきました。僕らの仮説では、自己免疫の標的となる自己抗原ペプチドは疾患感受性を示すHLAクラスII分子に対しておそらく低親和性を示すやつだろうから、モチーフを応用してそういうものまでも予言できないですよ。モチーフという仕事はstrong binderをある程度予言できるし、或いはどこかにdominant negativeのシークエンス、何かが入ったらくっつかなくなるとかいうそういう予言はできるんですけどね。非常に低親和力でくっつくものまでも正確に言い当てることはできません。

徳永 だから研究の戦略として、ということですね。

西村 そうそう。僕ら自己免疫を解析するときは必ずオーバーラッピングペプチドを作ります。そうしないと絶対モチーフでここなんだからとやっているとエピトープを逃してしまいます。

木村 がん特異的な抗原エピトープを探そうなんかという話も同じですよ。最初にモチーフから予言しようとするから間違っんで、やっぱり両側から攻めないといけないと思っんですよ。モチーフである程度この辺じゃないかと考えるのはいいんですけども、そういうことを全然無視して、さっき西村先生が言ったように自己反応性T細胞をとにかく取ってきて、それが何をみているかということを決めていくという方向ね、そっち側がないとやはり間違っと思っます。

佐治 滝口先生の戦略は。

滝口 僕は自己免疫の方をほとんどやっていませんから。

佐治 がんの方でもいいです。

滝口 がんもほとんどやってませんから。僕は今感染症だから。どちらかというとなんか正反対な、モチーフが最も有効に使える戦略ですから。先生たちが言ってるのはその通りだと思いますけど、やはり自己免疫はtwo wayでやるべきだと思います。

佐治 自己免疫はtwo way、その一つは？確認すると一つはなんでしたっけ。

滝口 ですから、モチーフから攻めるっていうだけではなくて、T細胞の方から攻めていく。T細胞をつくってそれが認識するペプチドを分離して、同定する。

がん治療へのアプローチ、 オーダーメイドの治療へ...

佐治 分かりました。がんの方はどなたか。

西村 僕らやってますよ。最近見つけたのはね、ガン抑制遺伝子の産物であるp53に対してヒトCD4+T細胞は免疫寛容ができてないんですよ。それもコアドメインという疎水性でぐるぐる巻きになっているところなんですけど。こいつに対してペプチドを作るといくらでもT細胞が取れてくるんです。ほとんどテストしたすべての人から。

南 正常人ですか。

西村 正常人です。

木村 それはp53に変異がないと言う意味ですね。

西村 変異はあっても、なくてもいいんです。

Recombinant proteinにもちゃんと反応するんですけど、変異の種類に関係なく、野生型にも反応するんですね。だから重要な問題は、免疫系が暴露されるp53蛋白の量ではないかと考えてます。自然には野生型のp53ってあつという間に分解されてなくなるんですよ。

木村 そうですよ。

西村 細胞内にp53蛋白を、たとえば抗体なんかを使って調べてみても検出できない。

木村 がんになるって変異が入るとp53蛋白は分解されにくくなるんですよ。

西村 変異が入るとp53蛋白の分解速度が遅くなり、細胞質内に検出される場合があるんですよ。

木村 ハーフライフが長くなりますね。

西村 そこだと思うんだよね。

滝口 T細胞とB細胞ってのは具体的にはヘルパーですか。

西村 CD4です。ヘルパーです。うちがやってんのは。

滝口 ヘルパーですか。CTLみたいな。

西村 我々のCD4+T細胞クローンは、細胞傷害性を示します。Th1型サイトカインも分泌しますからCTLも活性化できるはずですよ。

西村 まだですね、p53ペプチドにはもちろん反応してプロテインにも反応することぐらいまでは分かったんですけど、まるごとの腫瘍細胞に対してど

のくらいの破壊力があるのかはよく分からないです。

佐治 先生はがん御社のところをやってるんだと思うんだけど、それから展開していくといろんな戦略がある。好きなことを言うてください。

西村 僕は何とか成人病のワクチンじゃないけど、40才ぐらいになったらみんなP53のT細胞エピトープペプチドをばんばんうって免疫を高めておいて、腫瘍をin situの状態ではたたけないかと夢みています。p53反応性CD4+T細胞はすべて自己反応性で、野生型p53にも反応するんですけども、in vitroでみる限り自己反応性は見えないんですよ。どんなカルチャーでもspontaneousには増えたりしないですよペプチドがない限りは。

佐治 ということは、その...

木村 それは抗原提示の過程がうまくいってないだろうというふうを考えるわけですか。

西村 なのか、或いはばんばん壊されて、あつという間に粉々になってると。

佐治 その候補としてp53のあるペプチドを考えているわけですか。

西村 そうです。最初にp53の結晶がサイエンスに出たときにおもしろいことが書いてあって、あるポジションに変異が起ると、p53蛋白のホールディングがほどけて、protease sensitiveになるって書いてあるんですよ。そしたら僕らが思うのはprocessingがね、変わるんじゃないかと思えますよね。それでやってみたらね、ああやって出たんで、ところが如何なる変異でも高次構造が壊れるやつでも、壊れないやつでもみんな同じだったですよ、抗原性は。野生型だって、レスポンスは出るから、僕はこれきっとp53のタンパク質が細胞内にどのくらいあるかということに依存していると考えています。

木村 それは正しいと思います。

佐治 それはp53からあらゆるモチーフのペプチドが取れてきて、あらゆるモチーフのものが取れてくるはずなんですけど、ある特定の部分がですね、がんに対して保護的に働くというか、言葉悪いんですけど。

西村 何とかそれでヘルパーが動いてくれて、でも圧倒的多数の腫瘍ってクラスIIを出してないですからきっと腫瘍を直接には叩けないと思うんです。だから腫瘍を抗原提示細胞が食って、それでヘルパーを動かして、最後はやはりキラーが出てこないといけないと思います。

滝口 p53のキラーってのは

西村 もう報告されていますから我々は手を出しません。

滝口 結構報告されています。

西村 マウスではp53を標的とした抗腫瘍免疫がうまくいっているんですよね。

佐治 そのモチーフはHLAアレル特異性はないんですか。

西村 うちのはあります。p53特異的CD4+T細胞はDP拘束性が多いですね。クラスIはA2だったよね。

佐治 そうですか。一つのペプチドではだめなんですね。

西村 エピトープは、何ヶ所かにあります。何ヶ所かにあって拘束分子が違ってきます。

佐治 例えば、僕がA11, B54, B39, DR4、というタイプなんだけど、私に効くモチーフと、例えば徳永先生に効くモチーフとは違いますか。

滝口 それはモチーフはシーケンスに依存しますから、

佐治 依存性でしょ。

滝口 それはありますけど、それが実際にエピトープになってるかどうかってのは、まだ全部のアレルに関してはまだやられてないです。

佐治 やられてない。しかし最終的にそれを医療に利用しようと思うと、そういうことをしてもらわないとある特定の人にしか使えないということになります。

滝口 それは何でもそうですよ。

佐治 それでいいんだけど、もっともっと膨大な作業量があるってことですね。いろんなエピトープがあって、それぞれにそのエピトープに親和力の高いHLAのアレルがあるってことでしょ。そうすると、一番最後に残してあるんやけど、HLAによってオーダーメイドの医療をしなければならぬという木村説もあるんだけど、明日のランチョンセミナーもそこにもっていきたいのよ。いいですかそれで。

西村 ええどうぞ。

癌細胞の巧妙な生き残り戦略

木村 今の話で、p53もそうなんだけど、がんにとってクラスIを出していることは、認識される確率が高くなるから非常に不利なんですよ。

佐治 そうですね。

滝口 NKからみると、NKだと逆になるんですよね。

木村 NKがいるから、クラスIの発現を落としてしまうのも不利なんです。ではどのようにやっているかということ、片側の染色体上の遺伝子の発現だけ

を落とすんです。

滝口 がんはそういうの多いですよ。例えばメラノーマで、A座は意外と強く保存されている。

木村 Bだけを落とすとかわね。

滝口 Bはすごく低いんですよ。

木村 で、それはね、僕らも大腸がんでやってるんですけども、染色体2本あるでしょ、片っ方だけ落とす。或いは特定のBならBだけ落とす。

佐治 遺伝子座だけ落とす？

木村 そうすればNKから認識されなくて済むし、それで自分に特異的な何かimmunodominantになるようなエピトープを出さなくて済むっていう、そういう方式をとっているんです。

滝口 巧妙ですね。

佐治 巧妙だね、がんってのは。ランダムになってんだけど、そういうやつだけが残って。

木村 がんでクラスIの発現が低い理由として、僕がいちばん最初に考えたのは $\beta 2$ ミクログロブリンを壊すということでした。そうすればすべてのクラスIを壊さなくても済むでしょ。欠失なんかしなくても済む。ところが、 $\beta 2$ ミクログロブリンを、両方の染色体上の遺伝子とも壊しているのはほとんどいないんです。大腸がんを調べてると、確かに一部は $\beta 2$ ミクログロブリンの両方の染色体上の遺伝子に変異がある。そうなんだけど、HLAのロスが起こっていると思われる大半の大腸がんというのは、片っ方の染色体上の遺伝子だけ落としてるんです。

佐治 じゃあ、 $\beta 2$ ミクログロブリンはあるんですね。

木村 $\beta 2$ ミクログロブリンの片側の遺伝子に変異の入ったがんはいるんですけど、それでも片っ方の染色体上の遺伝子は正常に残っているんです。

佐治 残ってるんだね。

西村 自然じゃないの。変異の起こる頻度の問題じゃないの。両方起こるよりは、片っ方起こる方が起こりやすいよね。

木村 僕らがそれをやったのは、HNPPCてのがあって、大腸がんの多発家系、常染色体性優性に大腸がんが遺伝する家系があって、そういう家系のがんは複製エラーが起こって、塩基配列のslippageが起こるんですね。それでsimple repeat、CACACAみたいなところが長さが変わってしまう。 $\beta 2$ ミクログロブリン、これはWalter F. Bodmerらが最初に言い出したことなんだけど、 $\beta 2$ ミクログロブリンの遺伝子を見るとですね、コドンの12, 13, 14のところはCTCTCTCTと4回繰

り返すんですよ。そこがslippageのターゲットになってるんじゃないかと考えられるんですよ。複製エラーのあるがんを調べると、確かにそれターゲットになっているんですよ。*

佐治 そうですか。

木村 そのCTCTCTCTと4回繰り返しているところが2bpだけ欠失して3回になっている。そうするとフレームシフトですからね、片側の遺伝子の発現がなくなるんですよ。そういう変異は確かに起こっている。この変異は複製エラーのないがんではね、0%なんですよ。僕は相当調べたんですけども、まだ見つからないんですよ。確かに西村先生が言うように片側だけ起こる方が起こりやすいだろうと思います。ところがね、複製エラーの起こってるがんで片っ方がやられてるってのは、今のところ見つけてるのは2つですけどそのうちの1つは両方落としてるんですよ。

佐治 片っ方だけ落とすというのは。

木村 片っ方の染色体上の遺伝子にだけ変異が入っているということです。

佐治 $\beta 2$ ミクログロブリンでは片方じゃそういうことは起こりえないですね。

木村 片っ方を落としてもクラスIの発現はふつうに起こりますからね。

佐治 片っ方だけ落とすというのをもう少し説明してください。ヘテロ接合の片っ方、一つの遺伝子でやっているやつだけは発現しないようにする。それは $\beta 2$ ミクログロブリンでは全く説明できませんね。

木村 そうです。 $\beta 2$ ミクログロブリン変異でクラスIの発現を落とそうと思ったら、両方の染色体上の遺伝子を壊さない限りできませんよね。

佐治 遺伝子座特異的な欠失も $\beta 2$ ミクログロブリンでは説明できませんね。その落とすというのはどういうことなんですか。

木村 落とすというのは壊すということです。

佐治 遺伝子が変になる。どんなことでもいい。挿入でも欠失でもいい。

木村 今のところ見つけたやつはほとんどが挿入ですね。Walter F. Bodmerが言ったのは大腸がんの一部でHLAが発現してないのがあるが、その原因は $\beta 2$ ミクログロブリンの変異じゃないかと彼らは言った。確かに変異は起こってるんだけど、それではクラスIのロスが起こってるような大半の大腸がんは説明できないのです。彼らも最初にクラスIのロスが起こると言ったのには二つある、

例えばBならB35, B37とかいうときの片側だけ、B35だけが落ちていられるの両方とも落ちていられるの2種類があるということ言ってるんですよ。

佐治 NKのinhibitory receptorの考え方からいくと、クラスIが欠失されると、NKが働きやすいわけですね。

木村 クラスIが全部欠失しちゃうとですね。

佐治 なのに残ってるのはクラスI欠失が起こってるやつが多いわけですね。

木村 片側の染色体上のクラスIだけですね。片側は残ってるんですよ。

佐治 片側残ってるか……

木村 だからinhibitory sequenceは残っている。inhibitory sequenceはBだろうがAだろうが構わないですよ。

佐治 BでもAでもCでもいいんですよ。

木村 癌の生き残り戦略はそこなんですよ。

TAP発現異常もガンの生き残り戦術、 その検出法

佐治 だったら $\beta 2$ ミクログロブリンを壊してもいいし、TAP壊してもいいのではないですか。

南 確かTAPが発現せず、クラスIの発現が落ちたというのがあります。*

木村 卵巣がんかな。

南 卵巣がんじゃなくてね、子宮頸がんの例だと思います。確か温度を変えるときれいにMHCクラスIの発現が上昇してくるんですよ。

木村 そいつはTAPの遺伝子自体には変異がないって言うんですね。機能が落ちてる。

南 mRNAが出てこない。実際にタンパク質も出てこない。

佐治 さっきの温度の話、解説してください。みんなわからないと思うんです。

南 うちの部屋では白血病をやったんですが、クラスIを発現してないのが結構あるんです。これはまあ予想されることなんですけど、原因は単一でなくて、ある例は $\beta 2$ ミクログロブリンもクラスIもきちんとmRNAを発現してくるんですけど、TAPとLMPが、どっちが原因かわかんないんですけど、発現しない。そういう例は細胞表面で非常にMHCクラスIの発現が低くて、温度を下げると発現は上がってくる。それから滝口先生のところからペプチドをいただいて、ペプチドを加えるとやはり発現は上がるということがあります。

佐治 温度を下げると上がるというのはどういうことですか。

南 MHCのクラスIが発現するんですけど、MHCクラスIは、粗面小胞体の中で、ちょうどそれにマッチするペプチドをくっつける、要するにクラスIと β 2ミクログロブリンとペプチドという3つが複合体を作って初めて構造的にすごく安定する。小胞体内でペプチドが仮に無い場合、 β 2ミクログロブリンとクラスIだけの複合体が出きるわけですが、それは非常に不安定なんです。非常に壊れやすいんです。壊れやすいものでも温度を下げ、室温の25°C位にしておくと、壊れずに結構保たれるんです。例えばさっきから出ているTAPが欠損しているとペプチドが小胞体内へ入ってこない。そうするとペプチドを欠損したクラスI、emptyといってるんですけども、それが発現してくるのですが、壊れ易い。ところが温度を25°Cにしてやると、非常に壊れにくくなって、割合長く発現している。だから温度を室温ぐらいまで戻すと、発現が上がって、37°Cにすると発現が非常に低くなるというわけです。

佐治 実際には、TAPがちゃんと動いてるかどうかが確かめる実験に使っているんですか。

南 そうですね。

佐治 ペプチドがトランスポートされて、HLAクラスIのH鎖と β 2ミクログロブリンがちゃんと結合して安定な分子になっているかどうかの実験になるわけですか。37°CではHLAが検出できないが、室温まで下げてHLAがちゃんと表現されるか、を見る。

南 そういうことでしょうか。

佐治 あっそうなんすか。

滝口 そうです。間接的にはそういうことです。

佐治 間接的に。

西村 温度が下がるとどうなるのですか。

滝口 結論はまだ出てないんですよ。温度が下がると、だいたい壊されないんだろうということはわかりますけどもね。

佐治 Turnoverが長くなるんだ。

滝口 Emptyが壊されにくくなるんだろうということであって、それは分からないですよ。それから後は分からないですよ。壊されるって意味がどういう意味なのか。酵素的な反応なのか、メンブレンの安定化とか、或いは中に入っちゃうのか。全然わからないんです。

佐治 総合的に言えば、turnoverが長くなってるんでし

よ。要するに半減期が長く。

滝口 それはそうですね。そこに存在しますからね。

佐治 HLAクラスIにペプチドがちゃんと入った安定なhetero duplexが...

滝口 抗体をかけておいてやると意外と壊されないと言うことまでは僕らやったことがあるんだけどね。Emptyの分子に抗体をつけるんですよ、わざとですが。

木村 HLA抗体ですか。

滝口 HLA抗体を付けとくんですよ。それで戻すんですよ。37°Cに戻すんですよ。一次抗体だけつけておいてコントロールと比較して調べると落ちかたがぐんと減ったんです。全然落ちないと言うわけではありません。それだから何だと言われても分かりませんけども。酵素が反応しないのか、メカニズムは全然それじゃ分からないですけど。

徳永 それはクロスリンクしうるんですか。普通の抗体でも。

滝口 普通の抗体じゃしません。

西村 T2ではER(小胞体)でリーダーペプチドがクラスI分子に結合して、細胞表面に発現するというでいいんですか。

滝口 出てるやつはですか。T2はもうA2がほとんどなんですよ。クラスIは。あとB51が遺伝子的にあるんですけど、確かに出てくるんですけど、非常に僅かです。抗体でみる限りでは検出できないほど僅かなんですよ。ところがA2というのは結構強く発現しています。

西村 要するにアシルによってリーダーシークエンスペプチドに対する親和性が異なると言うとですね。

滝口 すごく親和力が強いということなんです。

西村 A2にくっついているリーダーってのはそんなにheterogeneityがないわけですか。全然文献をフォローしてないから教えてほしいんですけど。

滝口 その細胞に関してはheterogeneityだった。

西村 リーダーペプチドといってもいく種類もあるでしょう。

滝口 それは特定のリーダーシークエンスです。

西村 特定のリーダーね。要するにそれに対してA2は非常に親和性が高くうまく結合して細胞表面に発現したと。別な細胞ではそういうことになってないということではないかと考えているんですか。

滝口 もう一つのアシルのB51では、そういうことはない。くっついていないから出てこない。

西村 A2が一番リーダーペプチドとの親和性が高い、そう考えればいいですね。

- 木村 それはクラスIのアリルごとにモチーフが違うからでしょ。
- 佐治 まことに申し訳ないんですけど、さっきの癌の話に戻らせていただきます。
- 南 TAPが確かにmRNAで発現しないのもあるんですけども、もしかしたら、木村先生がさっきおっしゃったのと同じ型になるのかもしれませんが。全部mRNAでは発現してるのに、明らかにすごく下がって、或いはほとんど発現してないというケースがあるんです。それは、まだどこがどうなってるかっていうのは分からないんですけども。
- 佐治 それをワイルドな白血病で調べているのですか？ 要するに患者の白血病…
- 南 患者さんの白血病、初発のものを集めて調べています。
- 西村 それは子供ですか。大人ですか。
- 南 大人です。
- 西村 大人のものでしょうか。何か特定の細胞ですか。B細胞系とか、T細胞系とか。
- 南 特定しないでとにかく手に入るやつを全部調べてみよう。
- 西村 (HLAクラスIの発現が弱い例は) 結構あるんですか。
- 南 結構っていても、まあ複数例ぐらい。今のところ5例ぐらいです。
- 佐治 この話は書いてもいいですね。
- 南 それは構いません。
- 佐治 最先端の話はいちいち確認しなくてはなりません。おもしろいですね。
- 南 そうですね。もしかしたらさっきのNKの話なんかよりも、確かに一つ落とすという考え方もあると思うんですけども。例えば、中途半端に発現するという可能性もあると思うんですね、全然皆無になるのではないと。
- 滝口 癌細胞ってそういうこと多いですよ。僕は細胞株しか見てないけども。インターフェロンをかけるとわーっとクラスIを発現するけども、インターフェロンをかけないで普通の培養をしてみると発現はそんなに高くないと。今日の肝がんも、あれも肝細胞って言われちゃうとそれで終わりだけど、データを内科の先生が持ってきましたけど、インターフェロンをかけるのとかけないのでは10倍ぐらい違っちゃいますよね。すごく低いですよ。細胞株上ではやっぱりクラスIの発現ってのは抑制されてますよね。
- 佐治 何分の一ぐらいですか。
- 南 結局、我々さっき5例ぐらいクラスIの発現が低いというのを見つけて、その中ではっきりTAPとLMPのmRNAが下がっているというのは1例だけです。
- 佐治 何例ぐらい調べてそういうのを見つけられたんですか。
- 南 それは何十例という感じです。それくらいですから結構頻度高いですか。
- 佐治 それは明らかにクラスIの表現が悪いんですね。37°Cでどんどん壊れちゃって。
- 南 最初のスクリーニングは全部フローサイトメトリーでやってますから、ただ、そこまで温度をシフトさせてというのはそのケースに限ってやっているわけです。
- 佐治 スクリーニングはフローサイトメトリーでクラスI抗体で見られる…
- 南 クラスIです。
- 西村 先生は白血病細胞に対する腫瘍免疫をねらっていらっしゃるでしょ。本命は。
- 南 そうでもないですよ。むしろCTLとかクラスIの発現の機構とかそういったことをやっています。

感染症の制御に

ペプチドワクチンはつかえるか？

佐治 白血病にしても固形腫瘍にしても一番最後に治療の方にいくとして、滝口先生の感染症ね、最終的にワクチンの方につながると思うので、今やっておられることとかをお話してください。

滝口 幅広い意味でワクチンにつながると思うんですけどね、僕らがターゲットにしているのはちょっと難しいものなんです。簡単にワクチンにすればいいのかどうかという問題もあるんですよ。というのは、例えば、今一番ターゲットにしているのはHIVなんですけど、HIVのエピトープをモチーフの方から決めているんですけど、いくつか問題があるんです。HIVの場合、C型肝炎もそうなんですけども、抗原変異性が非常に激しいので一つのエピトープに対するワクチンをしても果たして効果的なのかどうかという問題があります。もう一つ僕らの研究で分かってきたのは、クラスI分子が提示できるエピトープの数っていうのは考えていたよりも多いのです。HIVは例えば、HIVって小さいウイルスなんですけど、ウイルスとしては、だいたいアミノ酸で千個ぐらいなんです。3 kbぐらいですか、遺伝子で。そんなに大きなウイルスじゃないんだけど、それでも例えば1個のア

リル、B35とか、A24のエピトープを決めていくと、それぞれ10個くらいエピトープがあるんです。

佐治 ほう、そんなにあるんですか。

滝口 一つのウイルスのシーケンスに対して、そういうのを混ぜてやればいいんじゃないかという簡単な発想もあるんですけども、確かに感染予防という意味ではそういうのが役に立つかもしれませんが、やはり患者さんをどうするかという問題になると、C型肝炎もやはり同じだと思うんですけど、慢性感染症が果たしてCTLがいいのか悪いのかっていう問題にぶちあたるのです。CTLを誘導させることが患者にとってpositiveに働くのかnegativeに働いてのが(症状が重くなったりしないか)、まだ分からないんです。ですからはっきり言って、それが今一番の悩みであり、かつ研究テーマでもあるんです。単純にCTLを誘導するということが、実際、慢性感染症の場合は、必ずしも簡単にはできないということです。やはり今は、ワクチンもターゲットなんですけど、やっぱりpathogenesisというか病態解明、慢性感染症が成立する病態とは何なんだろうかというのがやはり一番重要な課題なんです。その結果においては、例えば逆ということもあると思うんですよ。CTLを誘導させないためのワクチンということも考えなくてはいけないかもしれません。

佐治 Th2だけをちょっとアクチベートさせるとか…

滝口 感染してない人はCTLを誘導するワクチンだけで、感染してる人はある時期を境にして、逆をやんなくちゃいけないということもあるのかもしれませんが。その見極めというのが科学的に全くなされていません。HIVというのは、僕ら免疫学者にとって非常におもしろいターゲットで、また、抗原認識やっている人間とっても非常におもしろいターゲットなんで、今のめり込んでいます。しかしそれが一番議論されているところなんで、ですから今簡単にワクチンといわれても、なかなか難しい問題があります。がんのワクチンとは違います。がんの場合はやっつけちゃえばいいという考え方ですが、慢性感染症の場合やっつけて果たしていいのかということ。ターゲット、すなわち、肝臓の細胞をやっつけちゃっていいのか、或いはCD4陽性細胞をやっつけちゃっていいのかという問題があるんで、その辺が単純にはやれないところなんです。

佐治 単純な質問なんですけど、そういうウイルス感染症ですね、先生の場合、中和抗体とか、ヒトの免

疫で何とかできる部分ってあると思うんですけどね。

滝口 それはもちろんあると思います。

佐治 ありますね。だとすれば、CTLを誘導しないで、そのヘルパーだけ、Th2だけ誘導できるような戦略があればですね…

滝口 ただ、そういうウイルスっていうのは変異原性がだいたいエンベロップのタンパク質に多いんです。だから中和抗体ではある程度は押さえられるけれど、やはり押さえられないものはいずれ出てくる。複雑なエスケープ機構があるんですよ。

佐治 エスケープしよるんだよねえ、困ったことに…

滝口 だから非常に難しいんです。今ちょうどホットになっているchemokineのレセプターの話がAIDSで出てますけど、先週アメリカであったギャロが主催しているシンポジウムに行った先生から昨日聞いた話では、あれで説明できるのはわずかだったんですよ。感染しない理由を説明するケースとしては2%の人に対してはchemokine receptorの異常ではいいだろうけど、じゃあ残りの98%の感染しない人っていうのは、一体どういふふうに説明がつくのかということ、まだ分からないわけです。そうすると、やっぱりCTLはそういうときには働いているのかもしれないし、でも感染した人はCTLはどうなのかということ、それは全くまだ、暗黒の中です。しかしワクチンというのはもちろん感染予防に絶対必要です。

佐治 例えばマラリアとか。

滝口 HIVとかね。HIVでも、そこの流行しているウイルスの抗原性を全部調べて、コンピューター解析し、エピトープを決めて、合成ペプチドをつくれれば、大体T細胞が認識できるかわかるようになると思います。コンピューターで全部処理して、適切なワクチンのコンビネーションをつくるということはいずれできるようになると思います。

佐治 バージンケースに対してはある程度できるだろうと。

滝口 問題は感染した人ですよ。これが今世界中で2000万人ぐらいいるんですが、その2000万を対象とした場合に、それをどうするかということになると、CTLを誘導するワクチンをやっているのか、非常に論議のあるところで、CTLそのものを入れちゃおうという試みは実際アメリカやイギリスでやっています。

佐治 やってんの? 怖いね。

滝口 この前、Nature Medicineに出た論文は、一種類の

エピトープに対するワクチンを患者に入れたら悪くなったというケースが出たんですよね。それに関してまだ懐疑的な意見が非常に強くて、あれは特殊なケースだったんで、今やっているところはだいたいそれとは反対の考え方を持っています。もちろん全然結論は出てないんで、だからそういう結果も当然参考にしなけりゃいけないと思います。その他いろんな解析から、やはり慢性感染症、AIDSもそうだし、慢性肝炎もそうだし、慢性ウイルス性感染症のワクチン治療というのはやっぱり、もっともっと基本的なところの理解をしないとやれないかなという感じです。

DNAワクチンの可能性

西村 DNAワクチンってあれいけるんじゃないのかしら。

滝口 筋肉細胞に打ちますから。

西村 ちょっとダメージはあるだろうけれども。ペプチドよりも丸ごとという意味でいいのではないですか。

佐治 それちょっと説明していただけますか。

西村 要するにDNAを注射するんですよ。そうするとちゃんと細胞内に入って、タンパク質ができて、細胞質に入ればプロセスされてクラスIに結合して発現され、免疫がつく。アレルギーもそれで脱感作みたいなことをやろうとしています。

佐治 それはどういうDNAですか。

滝口 細胞内で、まあ筋細胞ですよ。筋注ですから、筋細胞で発現しやすい構造物をつくって、打つわけですよ。例えば1000個のうち1個の筋細胞に入れば、まあそれでいいわけです。それがあつてありますから、そこでCTLを誘導できる。

西村 ウイルスが感染したようなものですか。

佐治 ウイルスのDNAを入れるんですか。

滝口 それはウイルスのエピトープでもいいし、要するにこれはワクチンの方法論ですね。クラスIのCTLを誘導する方向のワクチン研究としてDNAワクチンというのは非常にいろんなところでやられています。

佐治 結局、それもクラスIという何かを経由したもんですよ。ワクチンってみんなそうだよ。

南 最近、Scienceだったか何かに、drosophila (キイロショウジョウバエ) 細胞の上にペプチドをまぶして打つのが非常にいいんじゃないかというのがちょっと出てましたですね。⁷⁾

佐治 Drosophilaって何ですか。

滝口 あれは、TAP欠損細胞にペプチドをまぶして、打つというのと基本的に同じで、ネズミで日医の高橋さんがやりましたよね。

南 キイロショウジョウバエがいい理由というのがあがっていたんですけど、それが崩壊がものすごく早いとかなんとか。つまり実際に打つても、それが残るとか、その意味で確が書いてあったような気がします。それともちろんemptyだってことです。

西村 それじゃあ、キイロショウジョウバエでMHCは何が出るんですか。

滝口 入れるんです。

南 トランスフェクトするんです。

西村 トランスフェクトしてね。

滝口 キイロショウジョウバエにMHCの遺伝子を入れて、それをいろいろなペプチド結合の研究のためのソースにしたりとか、結晶解析のソースにすることが非常に多いですからね。

パーハムのHLAクラスI多様性の 進化の計算は正しいか?

佐治 ぼちぼちやな。徳永先生、明日のセミナーはイントロやってくれる?

徳永 すみませんが、先程言い足りなかったことを言わせて下さい。僕はPeter Perhamのストーリーは疑問をもっています。

滝口 事実として。

徳永 彼らがリストアップしたうちの半分ぐらいは実際にアジアにあるわけですよ。

滝口 ああ、ありますよね。

徳永 ですからおもしろい仮説として先程紹介しましたが、証明されているわけじゃあないと。これ実際になかなか証明できない問題だと思います。

木村 この間、MHCの編集後記にも書いたように、調べるやつがいるから、ニューアリアルが見つかるんですよ。

徳永 日本人だけでも何十って見つかったもんね。

滝口 うちでB*5102って見つけたときにね、最初うちで見つけてパブリッシュしようとして投稿したんです。Perhamのところでもインディアンで見つけたから一緒に投稿しようって、投稿して1週間たって言ってきたのです。投稿したのをそのプロセス止めて、一緒に出したことがあるんです。結局、うちで日本人で偶然一個見つけた。それに対応するのが向こうで偶然あったっていうそれだけの話なんですよ。結局、調べれば、彼らがインディア

- ンにも結構あるっていうのは当然かもしれません。
- 徳永 そうだと思います。ただ、本当に遺伝子変換の頻度が高いんだったらindependentに全く同じものが生じてもいいわけですよ。この可能性に関して木村先生の話にもあったCAリピートなど遺伝子の周辺の多型マーカーを見るとかね。
- 木村 違う見方があるかどうかと言うことを考えないといけないですね。
- 佐治 CAリピートとか、或いは黒人にもあるとか。
- 徳永 頻度が高ければそういうことがあってもいいはずですよ。
- 滝口 数も半分くらいになってるよね。あの計算だいぶ変わってくるよね。
- 徳永 クラスIに関して、特にBに関して…
- 滝口 (進化の) スピード (の計算が) だいぶ変わるわけね。
- 徳永 全然変わります。
- 滝口 そうですね、半分だったらだいぶ変わりますよね。
- 徳永 系統樹っていうのはみんな点突然変異の蓄積だと仮定して作っていますから。アリアル系統樹をつくると枝の長さが突然長くなるのが散見されるんです。
- 佐治 なんで遺伝子変換がMHCに特異的に起こるんですか。
- 徳永 何故ですかねー。本当不思議です。
- 佐治 非常にシンプルな質問なんだけど、誰も答えられない。
- 徳永 単純な説明としては、実は他の遺伝子でも起こってるけれども、他の遺伝子ではいろんなサイトに変異がないために、分からないか。
- 佐治 あるいは消えて行くんだ。
- 徳永 とにかく、見かけ上、他の遺伝子ではほとんど見つからないことは確かです。他の遺伝子で変換が知られているのは遺伝子まるごとで変わる。もともと遺伝子変換はHLAで見つけられたわけではなくて、グロブリン遺伝子ですから。
- 佐治 なんで他のやつは点突然変異なのに、そのMHCだけが遺伝子変換なのか。
- 徳永 だから、見かけ上点突然変異が見えるだけであって、断片で変わっている。でも周りと同じだから分からない。
- 佐治 点突然変異に見えちゃうのか。
- 徳永 点突然変異があったにしてもですよ、それが拡がるとか、新しいアリアルができる場合には、相手側との組み合わせでもってね。
- 佐治 けども、遺伝子変換が同じアリアル同士で起こってたって同じになるわけでしょ。
- 徳永 そういことです。
- 佐治 ちょっとずれない限りでは、不等交差でない限りは同じことが起こるでしょ。遺伝子変換で多様性が増えていくためには、はじめに点突然変異がありきや。そうじゃないと多様性は増えていかないわけです。
- 徳永 そう。何らかの変異があったのは確かです。
- 佐治 点突然変異でも、挿入であっても構わないけど。
- 徳永 或いは、偽遺伝子ができてですね。
- 佐治 変換の前に何かで変異が起こらないと。
- 徳永 変異のソースは同じ遺伝子座である必要がないんで。
- 木村 それはそうですよ。Bの中にCが入ったり。
- 佐治 あっ。そうか。
- 徳永 Duplicationなんか起こして、偽遺伝子化したやつだとか、まだ機能があってもいいんですけど、そういう遺伝子の断片が入ってくる可能性があるし、まあ、いろんなことが考えられるんです。
- 佐治 A24なんておもしろいもんね。B座のあそこどころ(Bw4, Bw6を決めているところ)がぼーんとはいつてきてね。その抜けたやつもあるしさ、徳永先生のところで見つけてますよね。
- 木村 最近、Bの新しいアリアルのシークエンスをして、やはりCの一部だけが入ってくるというのがありました。大半のnew alleleは遺伝子変換とかただの交叉で説明できるんだけど、やはりCとBの間のcommunicationっていうのはあるみたいですね。
- 佐治 その一般的にはどう言われてるんですか。その核酸化学の方では。
- 木村 どうやってコンパートしているかですか。やっぱり、もっとも考えやすいのは染色体の不等交叉(unequal crossing-over)だと思いますけどね。遺伝子変換じゃあなくて。
- 佐治 遺伝子変換じゃなくて、不等交叉ですか。
- 木村 Double crossing-overですね。
- 佐治 その方が多いですか。
- 木村 配列を見ただけでは区別できませんから、どちらが多いのかは分かりませんが。
- 徳永 誰もそのメカニズムは知らない。でも実際にシークエンスをやっていれば、これは遺伝子変換としか思えないと言うのはいくらでも見つかるわけです。
- 木村 見つかりますね。

そろそろ締めたいのですが…

佐治 そろそろ締めたいんですけど、要するに、こうして聞いてくるとですね、寄生体、マラリアにしたって、ウイルスにしたって、がん細胞にしたって、人間の免疫監視機構とか、人間でなくてもいいんだけど、種がずっと獲得してきた多様性を潜り抜けて生き残ったやつがどうも人間に悪さをしていたり、その種に悪さをしている、という状況が疾患と考えるといいですね。しかもその結果として、それが引き金になったり、acceleratorになったりして起こるのがどうも自己免疫疾患みたいなふうには僕は今受け取ったんですけど…。僕らがターゲットにしているやつは、まあ言うたらエリートや、あらゆる困難な状況を潜り抜けたっていうか、一生潜り抜かならんものだけど、偶然に潜り抜けたエリートが僕らのターゲットになってるわけです。それに対して医療的立場っていうか、医学的立場、ではなくて生物学という科学の立場で考えたらどういう展望が開けるのか、これを医療と関係ない人からしゃべって欲しいんですけど、いつもイントロですいませんな。

HLAを基本にしたオーダーメイドの医療、 新しいHLA Worldを開いていこう…

徳永 何度も出ている話ですけど、免疫におけるHLAの働きというのを考える場合、HLAタイプによってやはり違うんであって、ターゲットになっているものが違うし、たぶん過程だって違うかもしれません。

佐治 病原体も…ね。

徳永 HLAがこのタイプだったら、それに相加的に働いてきて、発症に至るためのその他の遺伝子も、もしかしたらセットが違うかもしれないし、或いは同じ遺伝子座でも種類が違うものが関与しているかもしれない。だから、個人単位とまでは言わないけど免疫反応系の多様性にある程度対応した医療ってのが避けて通れないんじゃないかと、がんでもそうだし、自己免疫だってそうだし、何度も出てきたと思うんですけども。

佐治 同じことを木村先生がKAMON (No. 7) の12thワークショップの「カンファレンス印象記」に書いてくれてんですよ。だから先生、そのこと話して下さい。

木村 やはり、HLAをやっている人はすべてがアリル特異的であるという立場でやるべきだと思うし、それが新しいHLA worldを開くきっかけになるとい

うふうに思いますね。

佐治 HLA worldね。

木村 とにかく、実地医療をする場合にも必ずHLAをタイピングしなきゃいけないというその日が来ると思いますけどね。

佐治 そのためにはもっと簡単に正確にできなきゃいかんね。

徳永 それをずっと目指してきたんですよ。

佐治 木村先生と一緒にするタイピングのワークショップだけど、僕一分ほど時間欲しいんだけど。というのはアメリカのNMDPでね、クオリティーコントロールやったんですよ。なんと過誤率48.1%と悪いんですよ。

木村 クラスIでしょ。

佐治 クラスI、A、Bが48.1%よ。48.1%が一致してないんです。それは、ちゃんとみんなにいわなければならないと思います。

木村 日本はね、結構一致率が高いと思うんですけどね。まあアメリカにしる、ヨーロッパにしる、外国では一致率は低いですね。

佐治 アメリカは他人種国家だしね。バラエティーに富んでいる。まあこの話はおいて。徳永先生も木村先生も言うことにはHLAをキーにしてですね、個人個人に対する医療戦略をたてるという方向にねHLAのアプリケーションがいけばいいなど言うことですか。徳永先生はもっと他の遺伝子もありますということですね。

徳永 まあ、その通りです。

木村 もちろんそうだけど、他の遺伝子が分からない段階では、少なくとも分かっているHLAをやるべきだと思います。

徳永 他の遺伝子まで型を決めてということじゃなくて、やはりHLAが基本だと思うんです。

佐治 基本でしょ。同じこと感染症でそんなことで考えてることないですか。

滝口 一番早くもしかしたら結論出せるかもしれませんがね。相手が分かっていますからね。HIV、C型肝炎で変異があるにしてもね。逆に他のターゲットにすれば、変異性の少ないものにすればもっと早く結論が出るでしょうし、やっぱり感染症はそういう意味で僕は一番結論出すのには早いと思います。今言ったことがたぶん正しいと思いますけどね。

佐治 しかもオーダーメイドでなくていいかしらない。どうですかその辺は。

滝口 それは、やり方いろいろあると思いますけど。

佐治 HLAが違う人に別のagentを入れなくてはならない。

滝口 ワクチンと言うことだと思うんですけどね。

佐治 ワクチンを含めて。

滝口 一つのものしかいけないということであればそれはオーダーメイドになっちゃうけども、一つのものじゃなければコンビネーションで行くわけですからね。それはそんなに難しい問題ではないと思うんです。

佐治 感染症っていうのはそういう点では、アプリケーションが簡単にしやすいし、人間の多様性をそんなに考えなくてもできるということですね。

滝口 それはHLAっていうこと。

佐治 例えばHLA。

滝口 それは感染症でも何でもやはり多様性を考えなくてはだめだと思いますけども。感染症は答えを先にしやすから、そのときには考えてた上でも対応できるということが以外と早い機会にできると思います。

徳永 主要タイプについてまず調べておくことでしよう。ヘテロで主要タイプのどれかを持っている人は多いですから。

佐治 ちょっと計算してみてもらえますか？ハプロタイプね、例えばA-B-DRのハプロタイプでもいいんだけど、人間の8割までを網羅できるのにはメジャーなハプロタイプがいくつぐらいあればいいんですか。日本人の場合。

徳永 一方に主要なハプロタイプがあるということをお考えますとね、8割カバーするのですか。

木村 ハプロタイプと考えたら相当な数になっちゃうね。

滝口 ハプロタイプは難しいですよ。

佐治 ハプロタイプじゃだめか。

徳永 ハプロタイプである必要はないです。

滝口 ハプロタイプだったら大変ですよ。アレルだったら大したことじゃない。

佐治 2つ持つんだからさ、以外と少なくすむんじゃないかと思うんだけどさ。

徳永 頻度の高いハプロタイプ十種類ほどで合計35%ぐらいですね。

木村 そんなもんですかね。。

徳永 ハプロタイプの頻度でですよ。

佐治 ハプロタイプ頻度かける2よ。

滝口 ハプロタイプである必要がない。

佐治 ないですか。

滝口 全く必要ない。

佐治 アレルであれば。

滝口 アレルで。だからそんなに大した数じゃないと思うんですけど。ただあくまでもすべてアレルはすべて同数のエピトープを提示するという前提ですから、必ずしもそうじゃないと思うんですけどね、答えはね。だからやっぱりある程度はやらなきゃならないと思うんですけどね。

Non classical class IIの多様性は 疾患感受性を制御するか？

佐治 それじゃあ、南先生。先生やってることみなさんと少し違うんで、単なる推測でいいんですけど、自分はHLA屋ではないとおっしゃっているんですが、今やっておられるnon classical class IIですね。TAPとか、LMP2だとか、DMとか、或いはもっと他に何かあるかもしれないんですけど、それに多様性があることもはっきりしてますね。その多様性が疾患との相関にどの程度今後関与しうるのか。いうことはいかがですか。

南 疾患との関係が本当にあるかどうか分からないし、でもありうるとすればそれは結構おもしろい解析材料かなって感じがするんです。その理由は結構多型性があるし、組織特異性があるということが一つです。また、おそらく $\gamma\delta$ か $\alpha\beta$ のTセルリセプターか分かりませんがT細胞がたぶん認識するだろうという可能性がもう一つの理由です。それから、最近T細胞の認識との関連ということから言えば、non classicalクラスIの一部は変な抗原提示を行ないます。例えば、脂質を抗原提示するようなクラスIとか、しかもクラスIなんだけどもクラスIIに非常に似た過程で抗原提示してくるとかそういう変なタイプののがあります。そういうものの役割が今のところ全く分からないけれども、ある疾患と結構関わっているって可能性、特にどうしても説明がつかない病気の一部分がそういうものと関連している可能性があるのではないかと思います。

木村 最近、hereditary hemochromatosisがHLA-Hだということができましたけれども、あれなんかも、一つの典型例だと思うんですね。HLAと何か関連性があるけど、いろんな民族をやるとどうも一定のタイプには落ちないと言われていた。たけどhomozygosity mappingをやっていくと、その遺伝子がクラスIのテロメア側にマップされたんですよ。クラスIから離れて、もともとHLA-Hがあると言われていたこと違うんですけど。⁹

徳永 HLA-Hじゃないんですよ。偽遺伝子のHLA-Hじゃなくて。HemochromatosisのHなんですよ。

木村 そこにクラスII遺伝子があって、その遺伝子由来のcDNAを彼らはcDNA24という名前を付けている。それがHLA-Hと相同だというふうに言っていて、だから今までHLAをやっている人達に混乱が生まれたんだけれどもね。そういうニュークラスIというのが新しく見つかってます。そういう遺伝子が今後まだ見つかる可能性はあると思いますよ。僕はさっき言ったように、本当にそれが原因だと考えていいかということに疑問に思っているのはそういう意味なんです。相関が見つかる遺伝子じゃなくてすぐ近くにある別の遺伝子を探すべきじゃないかとね。特に免疫が関係しているというのが明らかな場合はいいと思うんですけども、そうでないような病気でHLAと関連性があるような疾患はやっぱりその近くの遺伝子を探さなきゃいけないと思います。

佐治 先生、どうもあくまで連鎖に拘りたいようですね。

木村 拘りたいですね。

佐治 すばらしいと思います。難しいけど。

木村 でもおもしろいです、HLAのハプロタイプというのは、やっぱり必然性があって、連鎖不平衡が成立したと考えられるんです。他のいろんな遺伝子を解析していると、そんなに連鎖不平衡ってないんですよ。けれどもHLAはあの広い領域に涉って連鎖不平衡を獲得しているんです。それは何か、Aがこれだったら、Bはこうなきゃいけないという、そういう選択圧っていうのがあるんじゃないかと思っています。

佐治 なるほどね。だいたい最後のところへボタンタッチする時間ですけど、例えばラットにおけるTAPの機能、ラットではクラスIの多様性が低いもんだから、TAPの多様性とリンクして全体のペプチドの表現多様性を獲得しておりますよね。人間にはその必要性がありません。ないぐらいにクラスIの多様性高いですけど。ところが、よく調べてみますとですね、TAPの多様性が結構高いということが分かってきたんです。徳永先生に教えてもらってTAP2のheterozygosity indexを出しましたところ、DQβとほぼ同じぐらいなんですよ。ということは、あの多様性はラットみたいにfunctionalにはペプチドの表現に関与しないかもしれないけれども、はじめの方でかなり話していたmolecular mimicryの考え方からいくと、そのTAPの多型性がこれだけ多いってことは、疾患感

受性のひとつのファクターとして考えてもいいわけ……。しかもあっちこちのエクソンに変異が飛び々々にあるんですよ。そういう意味で疾患との関係をもしやりたい人があったら僕はTAPを調べさせて欲しいとずっと思っているんです。と宣伝もしておいて、最後に、いつも西村先生を最後にして悪いんだけど。

ふたたびHLAの実地医療への展望

西村 明日の話は僕のところは、東洋人には東洋人に非常にユニークな自己免疫病態があって、それはおそらく東洋人に特異的な感受性HLAクラスIIアルルの存在で説明がつくだろうと。そういう病態に関してエピトープを決めてみると。そのエピトープは、例えばmyasthenia gravisは小児に発症するやつは東洋にしかありませんよね。アセチルコリンレセプターα鎖に自己反応性を示すT細胞に自己抗原ペプチドを提示しているのはDQだったと。そのエピトープ マップをしてみると、それは白人のmyasthenia gravisではレポートされていないところにマップされたわけです。東洋人には、DR9とDR13というヘテロ接合がある。そいつは小児発症のmyasthenia gravisを発症するリスクが高いわけです。クラスII分子はアセチルコリンレセプターα鎖に由来するペプチドをつけて、それには免疫寛容ができない何か特殊な事情がある。そのエピトープをマップしてみると非常に奇妙なalternative splicingを受けるエクソンにコードされている場所にあるんですよ。そうすると、alternative splicingによりできた2種類のメッセージがどっちがどのくらいどの筋肉で出ているかというのが次の問題なんだけれども、そこままだま答えはでていません。免疫寛容ができにくい事情というのはひょっとすると、そのalternative splicingにおけるエクソンにコードされていると云うことに関係しているのかもしれない。それがmyastheniaの話です。それからmultiple sclerosisの話では先ほどの話のように二つの病態があって、これを区別すると西洋型のMSではDRB1*1501では相関が観察されるが、アジア型MSではこれがない。次の疑問はアジアに多いタイプのmultiple sclerosisに対して感受性を示すクラスIIがあるのかなのか。それから西洋型MSでは自己免疫のターゲットになっているタンパク質が4種類くらいみつかってはいますが、果たしてアジア型のMSもそれで説明がつくのかどうか。

何故アジア型は脊髄と視神経に病変が出てくるのか、そこに特殊な自己抗原タンパク質があると考えざるをえない。そうするとアジア型のMSというのは西洋型MSとは全く違うものじゃないかと。そういう話の一つ。最後にIDDMの話をもってきて、DQβ57とIDDM感受性の関係について話します。そういうことで私たちがやるのはひたすら自己免疫の患者さんでどういうエピトープがどういうHLAにより自己反応性T細胞に提示されているかという問題について、統計学的に処理しようとしている。これを白人と対比させるという戦略で決めていく。エピトープが決まったら、次にやるのは結合アッセイで自己エピトープというものが果たして感受性アリルに対して低親和力なのか高親和力なのか細胞表面での密度は低いのか、高いのかという疑問も出てくるでしょう。たぶん低いだろうと思っています。

佐治 親和力レベル。

西村 感受性アリルに対する親和力がですね。

佐治 親和力がね。

西村 低いだろうと。そして、臓器特異的な自己免疫のターゲットになっている臓器でのクラスII・自己抗原ペプチド複合体の発現はきつと低いだろうとけれども、それがあつた時にペプチドが増えるか、クラスIIが増えるか、co-stimulatory moleculeが増えるかで末梢でT細胞を活性化できる閾値を越えてしまう。その時に自己免疫が始まるとか。そういうストーリーなのかと考えています。

佐治 親和力というのはペプチドと。

西村 感受性アリルとの。

佐治 アリルとの親和力ですね。T細胞レセプターじゃないですね。

西村 ないです。そこまで、T細胞レセプターまでいけばいいんですけど。そういう戦略で攻めていって、最後に行き着くのは、比較的低親和力で表面の密度が低ければ免疫寛容ができないというのはリーズナブルですよ。それは理解できますよね。だから、高親和力と出たときには今度はT細胞レセプターを考えないといけないですよ。そういう戦略で攻めていこうという話なんです。それと一つだけ夢のある話で、これは全くどうなるかわからないけど、アリル特異的なCLIPとの親和力がひよっとしたら疾患感受性を大きく決める、振り分ける要因になっている可能性を考えています。CLIPに低親和性を示すMHCクラスII分子というのは非自己を非常によく提示するから集団の

中で非常に保存されてきているけど自己免疫の危険性を孕んでますよと。そういう話をしようかなと。証言なしで。

佐治 それ何か利用できます？トリートメントに。

西村 トリートメントですか。トリートメントは僕ら抗原ペプチドのアナログで攻めているんですけども。僕は唯一ペプチド療法が可能だと思うのは自己免疫だと思ってます。それは非常に限定されたMHCペプチドに対する免疫寛容が病気を防げる唯一の例だと思います。

佐治 アナログペプチドを投与すること。

西村 アナログよりもやっぱり実際には自己タンパク質がいいと思いますよ。誰にだって効きますから。

佐治 まるごとタンパク質ですか。

西村 外にあればいいですよ。細胞外にタンパク質の状態であれば細胞内に入ってきますけども。ただのトランスフェクションでは遺伝子産物に由来するペプチドの多くはクラスI分子により提示されるんですよ。

佐治 じゃあ、食うちゅうわけにいかんですね。

西村 食うやつはいいです。食う場合には全部プロテインにしなくてははいけないですね。

佐治 プロテインも人間が食って。

西村 そうですOral tolerance (経口免疫寛容) でもいいと思います。

佐治 いいですか。最終臓器まで送ればいいんですね。

西村 というか、経口免疫寛容で、徹底的にTh1か、Th2のどちらかを誘導して病態を改善する。どっちでしたっけ。どっちかですよ。

ひとりひとりのための医療、キーワードはHLA

佐治 なるほど。もう疲れたし、やめようと思うんですが、いいですか。いつか僕どこかに書いたことあるんですけど、日本の医療の歴史見ていくと、はじめ民俗的な医療から始まって、そのうちに中国医学を取り入れて、和漢という医学が続いてきて、そこに蘭学が入って西洋医学が今の医学を席卷してきた。その蘭学が入って以来の西洋医学のターゲットとするのは人間を一つの、人間という生物に見立てあげて、熱が出たら熱をおさえる、菌が来たら菌を殺してしまうというユニバーサルな治療に移行してきたわけです。ところがヨーロッパ、アメリカは昔からそんなもんだから、一見ユニバーサルだけでも、それぞれ患者ごとに一人一人違うことを非常に重視してやっておられるように僕の友人からは聞いております。ところが日本はそ

の個人的に特異性を重視する医療すなわち和漢方が続いておって、それがあまりにも難しい概念であった。あたかも哲学みたいな概念であった。中国医学ってそんなもんですよね。そこから反転して非常にユニバーサルな理解しやすい医療、蘭学そして西洋医学にになってきた。ところが、そのユニバーサルな医療の中で発展してきた生物学、生物医学の発展がもたらした、HLA生物学が現れた。そのHLAがもう一度、次元が違うけれども、その中国医学の時代に、すなわち人それぞれによって患者一人一人に違う医療をするという時代に戻すような、圧力をかけている。そんなことを最近感じてるんです。それは明日のセミナーの結びにしたいと思ってるんですよ。ようするに、もういちど一人一人の人間を見つめ直して医療をして欲しいっていうのはですね、患者からのつよい要望でもあるんです。いっぱいひとからげにせんといてくれと、そういう強い願望が患者にあるわけです。その答えが、キーワードがHLAなのかもしれません。本日はありがとうございました。

【用語解説】

医学大事典より

【多発性硬化症】 *タハツイカカシヨク* multiple sclerosis (MS)

中枢神経系の白質に散在性の脱髄巣とグリオシスが出現する原因不明の疾患。病巣は側脳室周辺、脳梁、第三脳室周辺、導水管周辺、第四脳室周辺、視束、視索、橋、延髄、小脳歯状核付近、脊髄などに好発する。好発年齢は20～40歳で、全体の2/3がこの時期に発病する。初発症状は運動麻痺、眼症状、知覚異常などが多く、寛解と悪化を繰り返しながら進行性に悪化する。多くは10～15年の経過で死亡する。確実な治療法はないが、主として副腎皮質ホルモンが使用される

【重症筋無力症】 *ジヨウシヨクキンリヨクシヨク* myasthenia gravis

運動神経筋接合部の終板にあるアセチルコリン受容体に対する自己免疫疾患と考えられている。10万人に2～3人の有病率で、男女比は1：2である。眼筋障害にて発症し、四肢の筋力低下、球麻痺を伴うことも多い。呼吸筋麻痺が増悪してクレーゼとよばれる重篤な状態となることもある。筋症状は、同じ運動を繰り返すと増悪し、安静にて改善傾向を示す。運動神経反復刺激にてwaningを認める。塩化エドトロニウム筋注にて臨床症状、waningの著明な改善を認める。治療は抗コ

リンエステラーゼ剤を中心にするが、全身型では胸腺摘出術を行う。副腎皮質ホルモン、血漿交換療法が行われることもある

日経バイオ最新用語辞典より

【コストミュラトリー・シグナル】 co-stimulatory signal

T細胞の抗原認識で抗原・主要組織適合遺伝子複合体(MHC)以外の抗原提示細胞上の分子から細胞接着分子を経てT細胞に伝達されるシグナルのこと。抗原特異的なシグナルに対して、補助的なシグナルであることからコストミュラトリー・シグナルと呼ぶ。

抗原提示細胞による抗原特異的なT細胞の活性化は、MHCに提示された抗原ペプチドをT細胞抗原受容体が認識して、主要な活性化シグナルがT細胞に送られる。しかし、このシグナルだけではT細胞は十分に活性化せず、インターロイキン2などの産生も起こらずまったく不応答な状態になってしまう。抗原提示細胞の細胞表面上にある細胞接着分子CD80/86とT細胞上の接着分子CD28が接着すると補助的なシグナルであるコストミュラトリー・シグナルも送られて初めて、T細胞は活性化され、抗原特異的クローンの増殖とインターロイキン2産生などを行うようになる。

【p53遺伝子】 p53 gene

ほとんどのヒトのがんで異常が見いだされるがん抑制遺伝子。細胞周期を止める活性を持つ。最近では、通常の細胞周期の制御よりも、放射線、薬剤などによる傷を受けた細胞の周期を停止させたり、アポトーシスを引き起こさせるのに働いていると考えられている。p53が異常をきたすと損傷を受けた細胞がそのまま増殖することとなり、がんが発生すると考えられている。

p53は四量体を作って機能する転写調節因子で、細胞周期の制御に関与しているCDK(サイクリン依存性キナーゼ)/サイクリン複合体の阻害蛋白であるp21の転写を活性化する。活性化されたp21がCDK/サイクリン複合体の活性を抑え、細胞周期を抑えていると考えられている。p53のアポトーシス誘導機構は不明だ。

【トリガー】 trigger

生体内においてある反応を開始したり、構造変換を引き起こす引き金の役割を果たす物質または信号もしくは現象。

【アナログ】 analogue

ある物質のアナログとは、その物質に類似した機能を発揮するが、物理的には同一な物質でないもの。生物体中で特定の生理作用を果たす物質が、生物種により物質的にまったく異なるものであることがあり、これらは生物学的に相似であると表現される。

〈参考文献〉

- 1) Hill AV, Elvin J, Willis AC, Aidoo M, Allsopp CE, Gotch FM, Gao XM, Takiguchi M, Greenwood BM, Townsend AR, et al.: Molecular analysis of the association of HLA-B53 and resistance to severe malaria. *Nature*. 360:434-9, 1992.
- 2) Aidoo M, Lalani A, Allsopp CEM, Plebanski M, Meisner SJ, Krausa P, Browning M, Morris-Jones S, Gotch F, Fidock DA, Takiguchi M, Robson KJH, Greenwood BM, Druilhe P, Whitte HC.: Identification of conserved antigenic components for a cytotoxic T lymphocyte-inducing vaccine against malaria. *Lancet*. 345:1003-7, 1995.
- 3) Kimura A, Kitamura H, Date Y, Numano F :Comprehensive analysis of HLA genes in Takayasu arteritis in Japan. *Int J Cardiol* 54 : S65-S73 , 1996.
- 4) Yasunaga S , Kimura A , Hamaguchi K ,Ronningen KS , Sasazuki T : Different contribution of HLA-DR and -DQ genes in susceptibility and resistance to insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Tissue Antigens* 47 : 37-48, 1996.
- 5) Browning MJ , Krausa P , Rowan A , Bicknell DC , Bodmer JG , Bodmer WF . Tissue typing the HLA-A locus from genomic DNA by sequence-specific PCR : comparison of HLA genotype and surface expression on colorectal tumor cell line. *Proc.Natl.Acad.Sci.USA* 90:2842-2845,1993.
- 6)Cromme FV , Airey J , Heemels MT , Ploegh HL , Keating PJ , Stern PL , Meijer CJ , Walboomers JM : Loss of transporter protein, encoded by the TAP-1 gene, is highly correlated with loss of HLA expression in cervical carcinomas. *J Exp Med* 179 : 335-340,1994
- 7) Jackson, MR, et al.: Regulation of MHC class I transport by the molecular chaperone, calnexin (p80, IP90). *Science*, 263:384-7, 1994.
- 8) Feder JN , Gnirke A , Thomas W et al : A novel MHC class I -like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nature Genet* 13:399-408,1996

ASHI 22nd Annual Meeting 印象記
というより、“初めてのUSA訪問” 記です。

福岡県赤十字血液センター 河賀泰子

昨年10月11日から15日までサンディエゴで開かれたASHI Meetingへ私は友人の丸屋さんに誘われ、ちょっとそこまでという気分で行きました。関西空港からロスアンゼルス経由サンディエゴで往復7万5千円の航空運賃。北海道より安いし、ホテルその他は丸屋さんまかせでしたから。でもこのKAMONへの投稿は予定外。7月が滞在中は頭の中は昼行灯、帰国後もボーッとした状態が1、2週間続き、出発前のご気楽気分とはだいぶ違っていただけです。が、いざ復習もするつもりだった？のでいい機会と思い直し、「太郎サン」に向かいました。

【出発は10月11日の午後3時35分】

早々と搭乗手続きを済ませ、悠々と食事をし出発1時間前位に搭乗口に向かいました。とっても順調...が、途中の免税店を通り過ぎようとしたら、アラ！香水の香り。ついフラフラと入店、商売上手なお姉さんの口上に聞き惚れていたら、遠くで「NW026搭乗のお客様」の声、まだ余裕があるはずが出発10分前、かの叫びが強く追ってきたのに気づき、あたふたと搭乗口に駆けつけると「居ましたー！」の言葉で迎えられました。飛行機の入口には乗務員が立ち並び、それでもにこやかなお出迎え、第一声は“Oh sorry! I'm late”なんだ

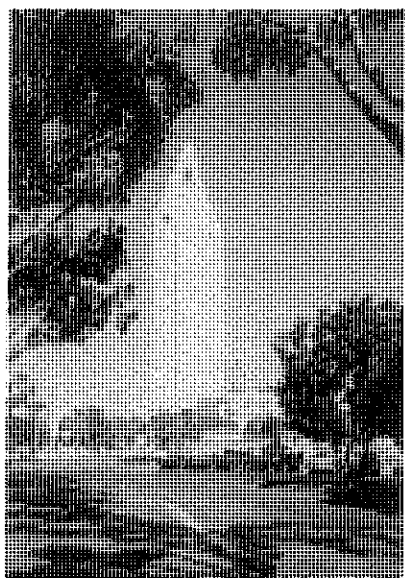
か学校に遅刻した気持ちでした。でも最後の乗客じゃなかったんですよ。念の為。

10月11日朝10時前後にロスに到着、入国手続は、前の日本人男性がしつこく聞かれていたのでちょっと緊張しましたが、私は瞬時に終わりました。次はサンディエゴへ。ロスからは車で2、3時間だそうですが、50分間の飛行予定。でも機内で待ってるほうが飛んでる時間より長かった。空港から会場であり宿泊場所であるハイアットホテルまでは、バンに数人の乗合で行きました。これが一番安い方法との事でしたが運転の荒いこと、チップは2人1ドルで充分だ。

【ASHIの会場：ハイアットリージェンシーに到着】

写真の通りの綺麗なホテルで、私たちが泊まった26階の部屋からはヨットハーバーやコロナドールという大きな橋が見渡せました。良い気分ですごくミーティングの登録に向きました。私は受付で予約名簿とのチェックを終えたのですが...どうも口動かないというか、

単純な英語すらでてこない事に気づきました。一体何が起こったのやら？ まあとにかく分厚いプログラムと Human Immunologyの抄録集を手にし、翌日午前8時からの Plenary



Sessionsに出席する事にして

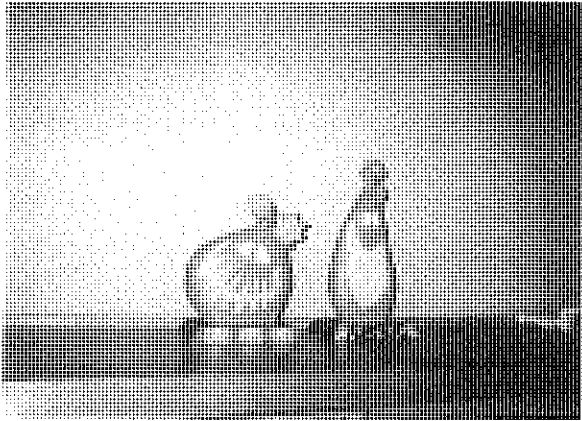
その日は「お終い」。

【ASHI Meeting において】

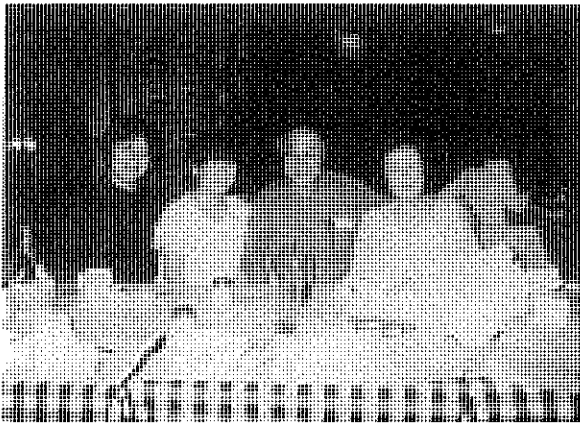
10月12日、午前8時のPlenary Sessionに出席、会場の大きなホールには、アフリカ系、西洋系、中南米系、東洋系といった人が、びっしりと集まっている状態でした。演者はスピード感溢れる英語をあやつり、質問者も負けず劣らずのしゃべり口。ここまできるとばかばかしくなって演者の顔を凝視、ただプログラムに各演者の発表抄録や文献が掲載されていたのでスライドを見ながら、これは読まなくてはその時は思っていたようで、判読不能な言葉や??が余白に残っています。テーマはMHCの抗原提示に関すること、

MHCと疾患、同種骨髄移植、臓器移植等多方面にわたってしていました。少しでも理解できた処があると嬉しく、が今思うときちんとした記憶にはなっていないようです。「度初めて学会に行った時と同じ状態でした。慣れが必要！と負け惜しみ。Workshopは DNA typing standards, QC, contamination, general problems (部に参加、ここでは検査するにあたっての留意点(検査環境、使用器具、キット等に関して)が詳しく述べられ、また初心者向けHLA DNA タイピング方法についてのワークブックが紹介されました。Fax で申し込めばこの小冊子(95ページあります)を送ってくれるというので、後日ジョージタウン医科大学へ所定の用紙で申し込んだ所ちゃんと送付してくれました。このような冊子が各施設で準備される事が必要なんですね。またDNA troubleshooting & optimizing PCR-SSPのworkshopでは、DNAタイピングについての基礎知識、PCR、泳動用ゲル、QC等、実際の検査における検討が述べられました。ある女性のDQのSSP でいい結果が得にくいという質問に始まって、バッファーにNH₄Clを加えたら良いというUCSAの男性と、通常のキットのバッファーで良いという演者の3人のすさまじい討論が続き私は頭痛がして部屋から退場。後で質問女性とUCSA男性が、歩きながら熱心に話しているのを見ましたので情報交換のいい機会ではあったのでしょうか。さてオーラルプレゼンテーションは丸屋さんが発表する骨髄移植のセッションに参加しました。なんとなく私までもが緊張の面もちでいましたが、最初のスピーカーの時はスライドがなかなか出ず、他の人は日本で言うところのつ弁であったり、はてまたものすごいスピードで話し持ち時間にギッチリ詰め込むという人もいたり、日本でも見かける光景に出会い楽な気分になりました。発表が終わると演者は拍手で送られ、労をねぎらわれるというのは良い習慣ですね。

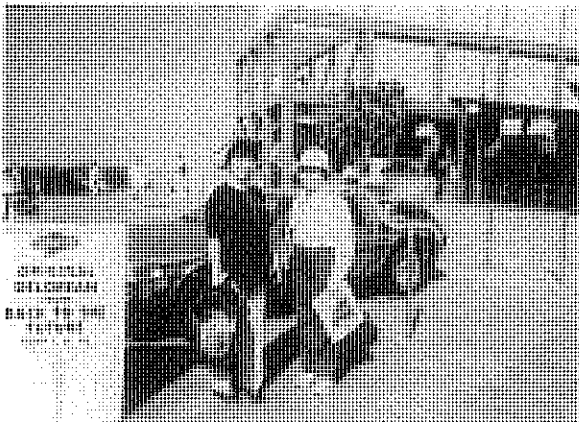
さて学会内容は丸屋さんをお願いして、私は会場での個人的なエピソードを1つ。大きなホールでは、飲料水が氷をいれたコップと一緒に準備されていました。空気が乾燥しているせいか喉が乾くのです。私の隣に座っていた女性はコップを床に置いた瞬間倒してしまい、水はカーペットの上に広がっていきます。彼女はアラ!といった感じでしたがそのままコップを立てただけでした。私の方はすぐにバッグを取り上げティッシュを出そうとしましたが、彼女が何もしないので止めました。考えてみれば水はこぼれてもシミにはならないでしょうし、講演中ゴソゴソする(博多弁かな)のは演者に失礼な事と思いました。私って貧乏性。



ハロウィーンも間近、かぼちゃの置物が売っていました。顔の形が娘に似ていたのでつい購入



テラサキ先生ご夫妻と



ユニバーサルスタジオにて

【Meeting 終了後】

16日、私達はロスへ向かいました。サンディエゴ空港には十分時間の余裕を持って到着、が、です。ロスの霧の為3時間以上飛行機の中で待機させられました。通路をはさんで隣座席のご夫婦は東京へ行かれる模様で、乗換え便の心配をされていました。といっても単にご主人のみが大声で騒いでいたのですが。ロスに着くとスチュワードが名前を読み上げ、乗換え便への連絡が行われた事を告げると、彼は”They do good job.”と叫びました。それはともかくうるさい人だと私は思い彼を盗み見すると奥さんの目と、目がバツクリ... (因みに彼女は大きな蝶結びのリボンを後髪に付けて、私の注意を引いた人でした) 彼女は笑ってウインクをしました。バレークーと思いましたが、私もニッと笑い返しました。ウインクの練習をしておけば良かったな。ロスではテラサキラボの訪問、ユニバーサルスタジオでの遊び、テラサキ先生ご夫妻と夕食を共にするなどの機会に恵まれ、楽しい日々でこの旅行は終わりました。帰りのフライトは滞りなく日本人をたくさん乗せた状態で閑空に着きましたが、機内での映画は日本語吹替え、中国語字幕のアメリカ映画、2本も見てしまいましたが、字幕が気になってしかたがなかったです。

【最後に】

今回の旅行で気になった事を、ニュージーランドの女性に尋ねてみました。一つは前述のこぼれた水の事、彼女曰く「そういう場合はほおっておけばいい、ホテルは良いクリーナーを持っているはずだ」二番目はあるアメリカの女性から「言葉をゆっくりしゃべるのは苦痛なの、相手が外国人であってもね」と言われた件、彼女は「日本人もゆっくり話してはくれないよ」三番目は英語は話す人の母国語なまりになるといったら、「でも全部英語、それらを聞き取れるようにする教育が日本ではできていない」

..ごもっともです。と言うことで B~y e.



移植学会リポート 演題は心臓・肝臓移植に移行

国立佐倉病院 酒巻 建夫

第32回日本移植学会が平明会長のもとで平成8年10月24日、25日の両日に鹿児島市民文化ホールおよび鹿児島サンロイヤルホテルにて開催された。学会期間中は南国の秋とはいえ気温が25度にも上昇し、強い南風が吹いていた。対岸の桜島もくっきりと眺望できたが、両会場が徒歩で5分程かかり、多少不便を感じた。

さきの解散された国会で議員立法として提出されていた臓器移植法案も廃案になり、移植学会としてガイドラインを独自に設け、心臓移植や肝臓移植にいかに道を開こうかと議論が行われつつあった。

組織適合性の分野では9月に東京で組織適合性学会が開かれたのと同時に腎移植ネットワークのHLAタイピング実務者の講習会が開かれたためか、あるいは遠隔地のためかはわからないが参加者も少なく寂しい学会であった。また中には組織適合性学会と同一演題も認められた。

一般演題では前田平生座長のもとに組織適合性のセッションがあったが半分はブタのMHCであり、ヒトHLAは3題であった。重複した時間帯に文化会館の会場で開かれたGVHDワークショップでは骨髄バンクによる非血縁骨髄移植におけるHLAと移植成績の発表があった。DNAレベルでのクラスI抗原の一致が重要であるとの発表があったが、ともすればクラスI抗原の一致のみが強調され、クラスIIの適合はなくてもよいという議論に流れがちであった。この班研究の中でDNAタイピングに参加させていただいた私としては、DR抗原は抗血清レベルですべて一致している症例であること、DQB1では検体数が少なく有意差こそ認められないが、一致しているほうが移植成績がよい傾向があることを付言しておきたい。示説においてもわずかな組織適合性演題が認められた。

教育講演として岡田俊郎教授による「日本人のHLA」があった。HTLV-1ウィルスの感染者の罹患率やHLA型による発症形態の違いにふれ、日本人の集団でも地域によるHLA頻度が異なることを示した。このことをふまえ、移植臓器はドナー発生地域を重視して配分すべきではないかとの主張があった。このことは全国レベルでの適合性の高い患者に移植するという現在の腎移植ネットワークの方針には全く矛盾するものではない。私の勤務している佐倉病院でも沖縄、奄美大島、鹿児島、北海道、東北出身者らが数多く勤

務しているのが現実であり、やはり全国レベルで適合性の高い患者に植えてゆくというのが原則ではないだろうか。もっとも県民の人口割合から見てもドナーの発生に偏りが認められる現在、ドナーが発生した地元 の努力に対して、HLA適合性が同じレベルであれば地元の患者を優先するという考え方には理解できるものがある。

第9ワークショップ「ネットワーク」のセッションでは私が、腎移植ネットワークにおけるHLA検査・検索での問題点を発表した。

移植学会は死体腎移植症例が低迷する中、演題の研究対象として腎臓や骨髄移植に傾いたものよりも心臓や肝臓などに移行している。さらに腎臓移植ネットワークや骨髄バンクがHLAの適合性を選択基準としているのに対し、患者救命を前提とした肝臓や心臓の移植とは本質的に異なる面がある。いまHLA検査は移植の臨床医の手から離れつつ、ネットワークやバンクにおいて登録・選択までの独立した位置を占め、DNA法を導入して精度向上を目指している。移植学会は平成9年には大阪で開かれる予定である。



第19回日本造血細胞移植学会レポート

参加者増で活発な議論が!

京都府赤十字血液センター 三川 浩

春れもおしせまった異様に寒い日12月19、20日の2日間、岡山駅に隣接するホテルで開かれた第19回日本造血細胞移植学会に出席しました。なかなかの盛会で1000名以上の参加者があったのではないのでしょうか。居眠りしないで聞いた講演の一部を報告します。

マウス多機能幹細胞を純化する

「造血幹細胞の純化」 筑波大 中内啓光
(ランチョンセミナー)

CD34、Sca-1+, c-Kit+, Lin-の細胞をセルソーターで精製。これが多機能幹細胞のようで多方面分化能と自己複製能を持ち、数個を移植しても生着、再構築できる。ヒトではSca-1がないので同様の方法は使えないが、大いなる期待あり。

サイトカイン網を断ってGVHDを防ぐ

「Cytokine Cascade of Acute GVHD」

J. L. M. Ferrara, Harvard (イブニング セミナー)
タイプ1サイトカイン (IL-2, IFN γ) とタイプ2サイトカイン (IL-2, 10) のバランスでBMT後の免疫反応、炎症反応が左右される。タイプ2がT細胞の宿主攻撃を遮るよう急性GVHDの抑制が期待できる。また、ドナーに投与されるG-CSFはT細胞のサイトカイン産生に影響を与えている事なども大きなヒントとなる。動物実験の紹介多数。

ここ2年ヨーロッパではPBSC Tが盛ん

「Allogenic PBCT vs BMT」 A. Gratwohl, EBMT
(イブニング セミナー)

95年までに行われたEBMT管轄59例のHLA一致兄弟間PBSC Tの解析。AML 23例、AAL 13例、CML 9例、リンフォーマ7例。各血球数は16-18日で回復。51%にII-IV度GVHDが出現。1年生存率は早期移植で67%、晚期移植で45%等などBMTとほぼ同じ成績であった。

T細胞上のCD28:ちょっとむづかしい話

「免疫制御の分子戦略」 奥村 康 順天堂大
(特別講演)

T細胞上のCD28とそのリガンドCD80/86は免疫寛容に重要な役割をはたしており、抗CD80/86抗体で免疫制御が可能である。また、抗FasL抗体で細胞死関連分子Fas/FasLをブロックすることGVHDの治療が期待できる実験結果が出つつある。

CML移植後経過をMRDでモニター

「CML・・・のMRDとGVL」

宮村耕一 名大 (シンポジウム)

PCR法でMRDを観察すると治癒過程とよく一致し、また、CML患者(8例)では幹細胞Fas抗原が強く発現しており、GVLとの関連が推定できる。

MRD:白血球微小残存病変

臍帯血バンク関連の発表

京都血液センターでも半年前から臍帯血の採取を始め、興味しんしん。辻(東大)は臍帯血中幹細胞は骨髄に比較し多数かつより未熟であり、移植材料またex vivo増殖に有用と主張。田所ら(日赤中セ)は臍帯血採取、保存の問題点を提起、西平(神奈川こども医セ)緒方(関西医大)はそれぞれ神奈川バンク、近畿バンクの現況を紹介。加藤ら(東海大)はわが国の同胞間臍帯血移植14例を解析、年齢1-5才(体重7-17Kg)の白血病・再生不良性貧血患者に44-140ml臍帯血由来幹細胞が移植され、全例生着、うち12例が無病生存中(1-16ヵ月)と発表。

白血球分離を多孔質膜で

「幹細胞回収を目的・・・多孔質膜による新しい白血球分離法」大村佳孝ら テルモ

造血幹細胞精製用にポリウレタン多孔質膜を開発、Ficol法、HES法と比較して良好な成績を得ており、臍帯血精製などからの幹細胞調製に應用可能としている。

ProCOUNTは使える

最近 Becton Dickinson 社から発売されたCD34測定キット: ProCOUNTの使用経験が3題発表された(政氏:札幌北楡、松浦:都立駒込、下山:奈良医大)。従来法に比し、簡便で成績もよく、CBやPBSCのCD34測定に適しておりデータ共通化に有用としている。

幹細胞から樹状細胞を誘導

「・・・CD34陽性細胞から cytokine による dendritic cell の分化誘導」熊本忠史ら 三重大
臍帯血からえたCD34+細胞をGM-CSF, SCF存在下で12日間培養すると約50%にCD83+の樹状細胞が得られた。これを stimulatorとして、正常末梢血単核細胞とでMLCを行うと、約4倍のTDRを取り込み、高いAPCを示した。

CD31タイピングでGVHDが予測できるか

「Acute GVHDとCD31多型の適合性・・・」

佐治博夫ら 京都赤十字血液センター

CD31 (PECOM-1)のexon8のcodon563, exon12のcodon670など4ヵ所に変異を見付け、HLA一致移植49例でこの変異とGVHDの発症を調べた。CD31多型適合性とGVHDには相関が認められた。我田引水ながらすばらしい!

この他、移植症例報告や移植看護に関する報告が山ほどなされたが、とても全部は聞けません。ロビーも人があふれ、あちこちで議論沸騰。看護関係と思われる参加者も多く華やかにして格調あり。ここ2、3年の幹細胞移植の進展を見るにつけ、来年はもっと増えるのでは。懇親会も盛会で料理は旨いし、地酒も振舞われた。

懇親会場を後に、コートのかげりを立てて夜道を歩く。ジングルベルが遠くに聞こえる。宴の後はなぜか悲しい。

シリーズ： HLA最前線



【HLAの臨床応用編】

『(社)日本腎臓移植ネットワークにおける
組織適合性検査業務の現状』

国立佐倉病院 (HLA総合センター) 組織適合検査室 山崎 正明

1、はじめに

平成7年4月、新しい献腎移植システムである(社)日本腎臓移植ネットワーク(以下、ネットワーク)が動き出した。その概要については、本誌KAMONのNo.5においてネットワークの山川和夫氏が説明されているので、そちらを参照されたい。今回は、われわれHLA検査実務者が実際に携わっている、組織適合性部門の業務状況について紹介したいと思う。

2、HLA検査体制

「腎移植医療を円滑に行う」という観点から、ネットワークに登録している施設は、HLA総合センター、HLA協力センター、HLA検査センターの3つの内のいずれかに区別されており、かつ(表1)の様な役割を担っている。

平成8年12月現在、ネットワークにHLA検査センター(以下、検査センター。総合・協力センターも含む)として約50施設が登録されている。多少の偏りがあるが、各都道府県に1ヶ所以上の検査センターが存在している(注:無いところも数県ある)。その運営(経営)母体は、国公立大学及び研究所関係・国公立病院・民間(法人)と様々である。献腎の斡旋業務を行うブロックセンターと同様な区分で、検査センターもブロック内である程度のつながりを持たせている。現在、ネットワークでは各検査センターの検査

体制(人員配置、24時間体制等)や実施検査項目(DNAタイピング、感染症検査等)を調査して、ドナー発生時の同一ブロック内検査センターの更なる連携を構築しているところである。

3、HLA検査業務

検査センターは「HLA検査センター運営要領」を基準に、通常のHLA検査業務(表2)を実施している。

各施設のHLA検査部門は、臨床検査部や輸血部、研究部などの部署に属しており、HLA検査室として独立して存在するのは稀である。

4、HLAタイピング共同研究会

実際のHLA検査に関する事柄は、ネットワークの組織適合性委員会の指示を受けて、その下部組織であるHLAタイピング共同研究会(以下、共同研究会。吉田孝人代表)が細則を決定している。この研究会の主な活動内容は、(表3)の通りである。

全国の検査センターが共通に使用するタイピングトレイは、平成8年5月より配布を開始した。このトレイは原則として、ネットワークに検査センターとして登録しないと供給されない。なお、トレイはJNOSと命名され、現在のところクラスI用のJNOS1、1とクラスII用のJNOS2.1の2種類がある(随時

ロット変更の予定)。JNOS 1.1は、主に腎移植関係施設や日赤血液センターから提供されたヒト由来アロ血清を使用して作成したものである。JNOS 2.1は、当初JNOS 1.1と同じくアロ血清での作成を目指し検討したが、タイピングに耐え得る精度のものができなかったため、その後、市販のモノクローナル抗体を使用したトレイ（ワン・ラムダ社）と同様なものを一括購入し、使用するに至った。各検査センターでのトレイの使用結果は、毎月HLA総合センターである当院が回収し、反応データとタイピング結果に食い違いがないかをチェックしている。当方は、必要であれば検査センターの担当者に連絡を行い、データの再検討を求めている。

研修会（全国HLA検査センター実務者研修会）は、「検査体制の確立と円滑な運営を実施するため」と「HLAタイピング技術レベルの標準化と質的向上を目指す」という目的で、平成8年5月と9月の2回開催された。ネットワークのシステムに関する説明やブロック毎の会議、DNAタイピング実習（DNAの抽出）等が行われた。

精度管理は、以前より腎移植関係施設間においてセルエクステンジ、DNAエクステンジ等が行われてきたが、今後も正式にネットワークの事業として継続して行くことが決定された。

DNAタイピングについては、「平成10年4月よりDNAタイピングでのデータをもとにした受腎者選択を行う」ことを受けて、現在、各HLA検査センターはDNA保存やDNA検査の導入、DNAタイピングに努めているところであり、共同研究会としても主に

機器整備の面でバックアップを行っている。

5、今後の課題

ネットワークの組織適合性部門については、正式に活動を開始してから1年が経っており、まだ試行錯誤の段階といった感があるが、各検査センターや関係各所の協力により順調に成長している。今後は、さらに活発な活動を展開し、移植センターと共に献腎移植時に大きく関わりを持つコーディネーター（会議）とも、より密接な関係を築き上げなければならないであろう。また、ブロック毎に若干違う検査項目の統一化や、各検査センターの検査体制の整備など、細かな内部面の見直しも必要であると思われる。

6、おわりに

献腎移植には、HLA型タイピングも含めたトータルな検査の迅速なデータ提出が要求される。ドナーの状態（急変）や家族・親族の社会的な問題が、常に付きまとうからである。そのために、われわれHLA検査実務者は、夜間、休日等の緊急呼び出しやボケケル体制、自宅待機などで肉体的や精神的な疲労が多いことは事実である。しかし、後に移植が成立した時の喜びは、他業務に従事していたら味わえないものであろう。これからも腎移植医療を底辺から支える者として、皆で一致団結して行きたいと思う。

以上、最後に多少の私情も述べさせて頂いたが、今後とも関係各位、各機関のより一層のご協力をお願いして、この稿を終えたい。

(表1) 検査体制と主な役割

- | |
|---------------------------------|
| ①HLA総合センター <全国で1ヶ所：国立佐倉病院> |
| ・検査センター業務 |
| ・全国共通タイピングトレイ（JNOS）の作成・配布とデータ管理 |
| ・HLA関連情報の提供 |
| ・HLA検査に関する教育・研修の支援 |
| ・HLA検査センターの業務補助（主としてDNAタイピング） |
| ②HLA協力センター <各ブロックに1施設：計7施設> |
| ・検査センター業務の他にブロック内の取りまとめを行う |
| ・夜間・土日・祝祭日等の緊急検査（ドナー発生時）への対応 |
| （参）各ブロックの協力センター |
| 北海道　　：市立札幌病院 |
| 東北　　　：仙台社会保険病院 |
| 関東甲信越：虎の門病院 |
| 東海北陸　：名古屋第二赤十字病院 |
| 近畿　　　：兵庫県立西宮病院 |
| 中国四国　：（未定） |
| 九州沖縄　：福岡赤十字病院 |
| ③HLA検査センター <各地> |
| ・通常のHLA検査業務を行う |
| ・可能な限り24時間体制でドナーに対応 |

(表2) HLA検査業務

-
- ① 献腎移植希望患者に関する事項
血清学的HLA型タイピング (可能であればDNAタイピングも実施)
血液型 (ABO式)
既存抗体 (PRA: Panel Reactive Antibody) 検査
検体 (全血、リンパ球、血清、DNAなど) の保存
- ② 献腎予定者 (ドナー) に関する事項
血清学的HLA型タイピング (可能であればDNAタイピングも実施)
リンパ球直接交差試験
血液型 (ABO式)
感染症検査 (HBV、HCV、HIV、HTLV-1など)
生化学的検査 (BUN、クレアチニンなど)
-
- 検体の保存
-

(表3) 共同研究会の活動内容

-
- 1、全国共通タイピングトレイ (JNOS) 関連事項
 - 2、研修会の開催
 - 3、精度管理 (セルエクスチェンジ、DNAエクスチェンジ等) の実施
 - 4、DNAタイピング導入の補助
 - 5、その他
-

【HLAの生物学編】

HLA分子の発現制御（その9）

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 木村 彰方

がん免疫に関わる免疫担当細胞は、大別すると表1に示す4種である。すなわち、“がん細胞特異的”内因性抗原ペプチドとクラスI分子との複合体を認識し、がん細胞を直接破壊するCTL (CD8 T) 細胞、抗原提示細胞上に提示された“がん特異的”外因性抗原ペプチドとクラスII分子との複合体を認識し、CTLや“がん抗原”特異的抗体の産生を誘導するヘルパーT (Th、CD4 T)細胞、クラスI分子の発現（正確にはNK抑制エピソードの発現）が欠損したがん細胞を認識し破壊するNK細胞、そして非特異的がん免疫に関わると考えられる $\gamma\delta$ T細胞である。これらのうち、“がん特異的免疫”は主にCD8 T細胞とCD4 T細胞によって担われる。従って、がん免疫を考える上で最も重要なことは、その個体がいかなるHLAを有するか、つまり、その個体のHLAが“がん特異的”抗原ペプチドを結合し得るか否かである。

表1 がん特異免疫に関わる免疫担当細胞とHLA

recognizing cells	Involved HLA genes	remarks
CD8 T cells	HLA class I	complex of tumor-specific antigenic peptide and HLA class I molecules
CD4 T cells	HLA class II	complex of tumor-specific antigenic peptide and HLA class II molecules
NK cells	HLA class I	loss of HLA class I molecule
$\gamma\delta$ T cells	MIC ?	antigenic peptide: unknown

ここで“がん特異的”抗原とは何かを考えてみよう。そのひとつは、がん細胞に生じた体細胞変異の結果としての変異蛋白である。大腸がんを例にとると、Ki-ras、p53、APCなどのがん関連遺伝子の変異産物である。表2に示すように、一般の大腸がん（RER陰性大腸がん）

表2 大腸がんにおけるRERとがん関連遺伝子変異の頻度

RER	n	familial case	Ki-ras	p53	APC	DCC	DPC4
++ (>20% loci)	11	64 %	36 %	18 %	0 %	29 %	33 %
+ (4-20% loci)	10	20	20	30	10	50	50
- (<3% loci)	61	18	38	44	21	52	48

DCC and DPC4: LOH on adjacent microsatellite loci

では、約40%にKi-rasやp53変異が存在し、20%程度にはAPC変異が存在する。逆に言えば、約半数のがんには変異が存在しない。また変異が存在する場合でも、それらは決して同じものではなく、患者毎、がん毎に異なっている。従って、HLA側の多型とがん変異の不均一性との両者において、がん免疫は“患者特異的”であつ“がん特異的”という2重の特異性を有する。すなわち、がん関連遺伝子変異をターゲットとする限り、がん免疫は個々の症例毎に考えなければならないことになる。一方、p53蛋白は、正常な場合その分解が早く半減期が極めて短い、変異が存在すると半減期が長くなることが知られている。つまり、変異p53蛋白はが

ん細胞内に集積しやすく、その結果、内因性ペプチドとしてクラスI分子によって提示されやすくなる。また、がん細胞が破壊された場合には、周辺の抗原提示細胞に取り込まれ、クラスII分子によって提示されやすいことにもなる。この場合のHLAによる提示は、必ずしも変異アミノ酸を含むp53由来ペプチドとは限らず、正常と同じ配列の部分でも良いことになる。このような正常p53ペプチドとクラスI分子との複合体も、広い意味での“がん特異的”抗原と言える。但し、この場合もp53に変異が存在することが前提であるため、やはり全ての患者に適用できるわけではない。

これに対して、がん細胞では、CEAや α フェトプロテインなどのような未分化抗原を発現することがある。このような未分化抗原は“がん”以外にも、正常な組織中の未分化細胞、再生肝のような再生組織などに発現する。メラノーマ抗原としてがん特異的免疫療法のターゲットとして使われているMAGE-1、乳がんや卵巣がんの一部で遺伝子増幅によりその発現が増強しているc-erbB2などもこの例である。これらの未分化抗原は、少なくとも抗原側にはアミノ酸配列上の特異性がないという点で、前記の“がん変異”よりは広く応用できると考えられる。しかしながら、この場合も全てのがんに適用できるわけではなく、またHLA側の多型も無視できない。事実、MAGE-1やc-erbB2で“がん特

異的”CTLの誘導が報告されているペプチドは、いずれもHLA-A2拘束性のものである。従って、やはり個体のHLA型を知ることが“がん免疫”を考える上で重要となる。

前回までに述べたように、大腸がんの一部（RER陽性がん）では、一般大腸がん（RER陰性がん）とは異なった変異が認められる。表3に示すように、TGFBRII遺伝子変異はRER陽性がんを高率に認められるが、B2MあるいはHLA変異（クラスI領域のLOH）もまたRER陽性がんを高率に生じている。特に興味深い点は、表4に示すように、RERの著明な大腸がんの91%（10/11）にB2M変異またはHLA変異が認められ、しかもこれらの両者に変異を有する大腸がんは観察されなかったことである。つまりRER陽性がんは、HLAクラスI分子の発現を、量的あるいは質的に、欠損させている点に特徴を有する。また表4に示すように、クラスI領域のLOHはHLA-B領域に最も高率に観察されることから、“大腸がん抗原”はHLA-B分子によって最も多く提示されている可能性が示唆される。

それでは、このようなクラスI分子の発現が欠損しているような患者では、どのようにすれば有効な“がん免疫”を成立できるであろうか？ 次回はその方策を考察してみよう。

表3 大腸がんにおけるRERと遺伝子変異の頻度

RER	n	TGFBRII	PolD	p21	p16	B2M	HLA	DPC4
++ (>20% loci)	11	91%	18%	9%	0%	45%	36%	0%
+ (4-20% loci)	10	10	0	0	0	0	10	0
- (<3% loci)	61	2	0	0	0	0	13	5

TGFBRII: alteration at (A)10 repeat and (GA)4 repeat
 PolB, B2M, p21, p16, and DPC4: by whole coding region
 HLA: LOH in HLA-A, B, or C

表4 大腸がんにおけるHLA関連遺伝子変異

Tumor ID	RER*	HLA class I heavy chain gene**				β2M gene**
		MICA	HLA-B	HLA-C	HLA-A	
G022T	++	-	-	-	-	93ins1
K23C	++	-	-	-	-	68del1
G106T	++	-	-	-	-	13del2
G001T	++	-	-	-	-	13del2/1Met
G092T	++	-	-	-	-	13del2
025T1	++	LOH	LOH	LOH	LOH	-
025T2	++	-	LOH	-	-	-
085T	++	LOH	LOH	LOH	LOH	-
070T	++	-	LOH	-	-	-
066T	+	-	-	LOH	LOH	-
093T	-	LOH	LOH	LOH	-	-
15C	-	LOH	LOH	LOH	LOH	-
032T	-	-	LOH	LOH	-	-
068T	-	-	LOH	-	-	-
1C	-	-	-	LOH	LOH	-
101T	-	-	LOH	-	-	-
14C	-	LOH	LOH	LOH	LOH	-
050T	-	-	LOH	LOH	LOH	-

*: RER in tumors, ++: > 20 loci, +: 4-20% loci, -: not detected in 32 loci.
 **: mutations in tumors, LOH: loss of one allele, -: mutation was not detected



シリーズ 知ってるつもり!?

TS-1はいつ生まれていつ消えたか?

愛知県赤十字血液センター 倉知 透

「はじめに」

畏れ多くも十字先生からバトンを渡されるというこの大役のお話があった時に、私は多くの教えをいただいた十字先生から指名されたこと、また十字先生が私の名を覚えていてくださったことに感動さえ覚えましたが、編集の方に「私にはもう新しいことは書けませんのでお断りします。」と申し上げたのです。ところが、「十字先生にそうおっしゃってください。」との一言でお受けする覚悟を決めました。そして、さてどんな内容にしようか、これから最近の事を勉強しようか、でも今からではみなさんが満足するようなものにできるだろうか、よし昔話だけにしよう!と、考えが巡り巡った結果書き出すことになりましたので、読者の方もそのへんをご了解の上お読みにいただくようお願いします。

「誕生」

「TS-1」が産声をあげたのはいつだったかを調べるために古い資料を探していたら、懐かしい資料がたくさん出てきました。1977年(昭和52年)の初夏(だったと思う)私はH.L.Aの仕事をはじめたのですが、その頃からの資料が捨てられずに残っていたことには救われました。わが血液センターH.L.A担当の人たちにまずお礼を言わなければなりません。

当時のH.L.A検査がどんな状況だったかという点、初めてタイピングトレイを作成したのが1978年(昭和53年)でした。現在中央血液センターにいらっしゃる赤座先生(当時は愛知県がんセンターに在職されていた)から第6回日本H.L.Aワークショップ(6JW)の残りやAY記号の付いた抗血清と、タイプライターできれいに作ったマスターシートをいただいて、腰の痛くなる高さの実験台に空のトレイを敷き詰めて、6連のディスペンサーを用いて当時の長谷川部長が1列ずつ血清を入れ、続いて私が流バラを入れるというパターンで作成しました。当時はB62、63ではなくB15の抗血清しかありませんでしたし、Bw22、B40という抗血清しかありませんでした。

1980年は第8回国際H.L.Aワークショップ(8IW)

に多くの日本人が参加し、MLCに取って代わることができるのではないかと期待されたDRタイピングが普及しはじめ、血清学の最盛期を迎えようという時でした。我が愛知センターも同年(昭和55年)の7JWに参加して初めてBリンパ球なるものを扱った頃でした。

この7JWに提出したパネルリストには、TS-1パネルのひとりで職員の方のTさん(現在はSさんで私の直属の部下になっています)のBローカスのひとつがblankになっていました。TS-1パネルだったもう一人のTさん(現在は退職)は反応性が悪いと判断されたのかワークショップにデータを提出した50パネルには含まれていませんでした。つまりこの時期には、TS-1はまだ生まれてなかったわけです。

1981年(昭和56年)に、赤座先生が、昭和54年に発足した中部H.L.A研究会の活動のひとつとして、第1回中部H.L.Aワークショップ(FCW)を開催されました。このFCWではクラス1の抗血清のみを対象として、中部地方の病院、検査センター及び血液センター等約20施設(福岡の徳永さんも参加されました)が参加し、トレイは2枚組、データ数約400パネルで解析が行われました。そしてその報告書には、Aローカス7種、Bローカス16種そしてCローカスはCw1がタイピングできたとか、Bw54とBw55を分けることができたことと記述されていました。そしてA26sの存在が確認されたこととB15がスプリットする可能性が示唆されたことも加えて記述されていました。

このころの分注表を見ると懐かしい特異性が書いてあります。現在のB67が39.2とかSN-2と記述されていたり、Bw22.1、B40.1、40.2、40.3、等々…、とにかくこの中部地区のワークショップでTS-1がオギャーといっただけ生まれたと言えます。今から思えば、このワークショップはTS-1を生むために存在した母なるワークショップでした。その後、第2回目のCWが最後で、中部H.L.A研究会も今は活動していません。現在も盛んに活動されている近畿H.L.A研究会に対して、ここに敬意を表します。

「元服」

日赤では昭和53年に第1回目の日赤HLAワークショップ（JRHW）を行い、その後抗血清の収集を主な目的として第4回までは1年に一度のペースで行いました（当時、日赤は閉鎖的だご批判がありました）。昭和56年の11月末だったと思うのですが（長谷川部長とスキーを担いで行って吹雪のニセコを経験した）札幌で第4回JRHWが開催されました。日赤としては初めてクラスIの抗血清を集め、初めてコンピューターを使用して解析を行ったワークショップでした。

このワークショップのセログラフを見ますと、TS-1パネルのTさん2人と、当時期待の新人職員（いまはドラえもんようになってしまった）のアサインは15sとされていました。（みなさんはセログラフを書かれたことがありますか？ 私は赤座先生にいただいた用紙に1パネルずつHLAタイプを写し、反応データを拾って色を塗り、セログラフを作成していました。当時は24色の色鉛筆が必需品でした。）

セログラフには、ピンク色を割り当てられた15sが7種の抗血清（ワークショップ血清は2種）と反応し、B15抗血清3種とは反応しなかったことが記されていました。また、この時すでに3パネルのうち1パネルが他の2パネルより反応する血清が少ないことを示していました。

翌年（1982年）5月には記念すべき8JWが開催されました。このワークショップで初めて「TS-1」という名でこの特異性を呼ぶことにしたのです。「15s」は幼名のようなものだったわけです。また、東京をほとんど知らなかった私が、山手線の混雑や眠らない町新宿を経験したワークショップでした（こんなことはどうでもいいですが）。

このワークショップは血清学的解析での最も華やかなワークショップであったと私は思います。何故なら、Bw22N、Bu、TS-1、Cw4s、SN2、NJ1-4、A26s、6Y、DR4s等々挙げたらキリがないほどの特異性がファミリーデータとして集められたからでした。また、それまで文献等でしか存じ上げなかったいわゆる「NEW」の発見者である諸先生方にお会いしてお話をしたことも、私の印象を強くした原因の一つだったでしょう。そんなワークショップでTS-1について発表する機会をもてた私は、それはまるで新人歌手のデビューのように感じたものでした。

表にはB15関連の反応パターンを示しました。Te78、Te79そして15Kは8JWでテラサキ・ラボから提出されたパネルにアサインされていた特異性ですが、私の解析ではTe78はひとつの特異性とはいえBw63や反応

性の良くなかったBw62やTS-1で、Te79はBw4とBw6がはっきりせずパネル数も3つしかなかったので良くわかりませんでした。15KはTS-1と酷似していて、ワークショップに提出されたデータ中に5家系あったTS-1ファミリーの内、反応する抗血清が一番少なかった1家系の反応パターンと同一の反応を示すパネルもありました。TS-1はBA4とAE3に反応しないで、U5、U6、A11及びX1と反応し、さらにはD4と反応することでBw62と区別すると整理しましたので、15KはTS-1であると言えなくもないのです。

ここでなぜ「TS-1」と名付けたかについてお話しましょう。

先に述べたように当時は頻繁に血清学的に新しい特異性が見つかりました。そしてその発見者は当然その特異性を既存のものと区別して呼ぼうとします。赤血球の新しい型が発見された時などはその由来となる人のイニシャルを使うことが多いことを私は知っていましたが、それまでに報告されていたHLAの新しい特異性は大別して既知の特異性に「s」を付けたり「1」「2」を付ける方法と、発見者本人に関連するアルファベットを付ける2通りが多いと思われたのです。TS-1は8JWの前までは「15s」と一応名付けていたのですが、赤座先生の一言が発端で呼び名を変えたのです（赤座先生は覚えていらっしゃらないかもしれませんが...）。ある日、愛知県がんセンターへ赤座先生を訪ねた時、もしかしたらデータ提出のためにコンピューターのパンチカードを打ちに行った日かもしれません。「先生、Te78とか15Kとか色々B15関連で新しい特異性があるんですね。」「そうだね。でも白木さんが見つけたやつとは違うんでしょ？」「ハイ、15sより短くて感じのものやパターンが異なるものだと思います。」「そう。でも15sって名じゃ間違えられちゃうかもしれないよ。」ってなことが発端で、すでにWHOに認められたCw7に話題が向けられたのです。「Cw7は8JWでCwTok-1って言ってたし、SN-1やSN-2も発見者のイニシャル付けてるし、いいんじゃない。」って言ったのは私ではありません。とにかくこの日に「TS-1」が決まったのです。あの日がなければ、「15s」だったかもしれません。しかし、赤座先生が「A26s」のまま8JWで報告されていたのにはちょっと胸に落ちない気がしましたが・・・。てなこともありまして、その後、何となく後ろめたい気がしていた私は、8JWの第2回目の会議で十字先生から名前の由来を問われたとき、「Tセルスペシャル1パターン」と答えてしまいました。恥の上塗り絵を絵に描いたようなものでした。

何はともあれ、「TS-1」と名付けられたこの特異性は

8 J Wで認知を受け暗れて日本における新しい特異性として扱われるようになったのですが、その後今日まで不明瞭なお騒がせな特異性になるなんて、当時誰が考えたでしょうか。

先にも書きましたが初めてTS-1に気がついた時から反応パターンに「土」があることを認めながらその整理を私は今日までしていません。無責任と言われても仕方がないと思いますが、8 J Wの時に考えたことは「TS-1はBw62とBw63とは異なるB15関連の特異性である」だったのです。誰も単一の特異性だとは言ってなかったのです。だから、B15関連の他の特異性を否定もしませんでした（同等だともいいませんでした）。B15という特異性だってそれにはBw62、Bw63があるんだからTS-1がいくつかの特異性の総称でも構わないじゃないか。それを一挙に整理するのではなく、まずBw62とBw63以外のB15を認めましょう、それをTS-1と呼びましょう、と私は言いたかったのです。まあ今頃強調しても仕方がないのですが・・・

「混乱」

その後J WやJ R H Wといったいくつかのワークショップにおいて、TS-1は常に「土」の反応パターンを残して整理されることになるのですが、Bw62やBw63から区別ができればそれで私は満足していたのです。加えて、TS-1を区別する良い血清が発見できなかったことと、9 I Wと10 I Wに出席しなかった（できなかった？）ため国際的な場で意見を交換することがなかったこと、そしてこれ以上細かく特異性を分けることが必要なかという疑問があったことも原因だと思います。

1983、1984年と日中赤十字協力事業の一貫として上海血液センター等と共同研究した時にも、SH-7とTS-1は同等であるという報告をしました。そして、1986年の第3回アジア・オセアニアHLAワークショップでも同様の報告をし、1991年の11 I WでBw75として認められるまでTS-1を細分することを行いませんでした。

一方、個人的には1987年からHLA検査を専任することができなくなって、さらに1992年からはほとんど事務職のようになってしまったので、HLA検査をしている方々から時々状況をお聞きするだけになってしまいました。その度に、TS-1が混乱しているとお聞きし、何もお手伝いできないことを申し訳なく思っていました。本当に言い訳になりますが、9 I Wの時にミュンヘンに行ってB15関連の討論をしていたらずいぶん違っていただろうなと思います。そして、もしかしたらあの頃TS-1は「死去」していたのかもしれない。

最近お聞きする情報からTS-1は、B75と15Nにわけてアサインすることが良いのではないかと思います。現在の私は詳しいことを述べる資格がありませんので、HLA検査の現役の方にお任せします。

「お詫びと結び」

長々と書いてきましたが、読み直してみるとTS-1について整理がしてなくて申し訳ないというお詫びばかりになっていることをお詫び(?)します。今回は「シリーズ知ってるつもり!？」の番外編と思ってください。TS-1という特異性でデビューした私は、徳永さんと同じで、その後その名が出るたびに恥しい思いをしてきました。が、みなさんにはこれも若気の至りと笑っていただけるなら、私たち(?)としては幸いです。

さて、次の担当者は、中央血液センターの柏瀬さんをお願いしたいと思います。彼には11 I Wの頃から血清学的解析に関する教えをいただきました。きっとTS-1のことも整理していただけるのではないかと期待します。

ベリタス注) TSとは「白木 透さん」(倉和さん)の頭文字である。というのが巷での常識です?

表：8 J W B15関連抗血清反応パターン

	B	A	P	A	A	U	U	U	A	X	F	V
	A	E	W	K					I			
特異性	4	3	2	1	2	7	6	5	1	1	4	3
B w 4 6	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±	—	+
B w 3 5	—	—	—	—	+	+	—	—	±	±	—	—
B w 6 2	+	+	+	+	—	+	+	+	+	+	—	—
T e 7 9	±	—	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—
T S - 1	—	—	±	±	±	+	+	+	+	+	+	—
B I 5 K	—	—	—	—	w	—	±	+	+	+	+	±
T e 7 8	+	—	—	—	+	—	—	—	+	+	—	—
B w 6 3	±	—	±	+	—	—	—	—	—	—	—	±
B u	—	—	—	—	—	—	±	+	—	—	—	—



日本人に見られるハプロタイプ(II)

日本赤十字社中央血液センター 田中 秀則

日本人と他の民族との関わり合いを知るために、前回に引き続き「日本人に見られるハプロタイプ」について紹介したい。前回は、日本人に多いハプロタイプのベスト3を紹介したが、今回は、4-6番目に多いハプロタイプおよび稀なハプロタイプであるが特徴的なタイプについて紹介する。

4. A2-Cw1-B46-BFS-C4A4-C4B2-DR8-DQ6

このハプロタイプは、日本人で4番目または5番目に多く見られるタイプであり、その頻度は約2-5%である。また、日本国内の各都道府県別の分布には、大きな特徴はみられない。他の民族では、韓国人や満族に見られ、その頻度は日本人より低く2%以下である。また、このハプロタイプとクラスIIハプロタイプ(DR9-DR53-DQ3)だけが違うタイプ、A2-Cw1-B46-BFS-C4A4-C4B2-DR9-DR53-DQ3は、中国南部の集団に多く見られるタイプである。これら2種類のハプロタイプは、どちらか(または別)のハプロタイプが基になって出来上がったことは推測されるが、どちらの(どのような)ハプロタイプが基になっているかは分からない。しかし、B46の遺伝子頻度について見た場合、中国南部の集団(South Han, Buyi, Miao)では、その頻度が15%以上になることから、B46を含むハプロタイプが中国南部の集団において発生し、その後この2種類のハプロタイプが広く分布したと思われる。

このハプロタイプのDNAタイプは、A*0207-Cw*0101-B*4601-DRB1*0803-DQA1*0101-DQB1*0602と考えられている。日本人に見られるA*0207 alleleのほとんどがこのハプロタイプに由来するものであり、また、最近の調査では、中国南部に多く見られるA2-Cw1-B46-DR9-DR53-DQ3ハプロタイプの、A2 alleleがA*0207であることが分かり、これらクラスIIの違う2種類のハプロタイプは、同じハプロタイプ(A*0207-Cw*0101-B*4601-BFS-C4A4-C4B2)に由来するものであることは、間違いないと考えられる。

5. A24(A11)-Cw1-B54-BFS-C4A3-C4B5-DR4-DR53-DQ4

このハプロタイプは、日本人全体で4番目または5番目に多いハプロタイプであり、その頻度は、約3-6%である(A24-B54-DR4での頻度)。しかし、沖縄県では、1番多いハプロタイプであり、その頻度は約8%であった。他の民族では、中国南部の集団で多く見られるタイプ

である。われわれの、これまでの調査で東北アジアの集団(満族、中国北部の集団)においても、このハプロタイプは見られているが、その頻度は1-2%であった。このハプロタイプのDNAタイプは、A*2402-Cw*0102-B*5401-DRB1*0405-DRB4*0101-DQA1*0301-DQB1*0401であり、その特徴はB*5401とそれに相関するCw*0102およびDRB1*0405-DRB4*0101-DQA1*0301-DQB1*0401といったクラスIIハプロタイプである。また、クラスIIIハプロタイプ(BFS-C4A3-C4B5)であり、なかでもC4B*5は、このハプロタイプに特徴的なタイプである。以上を組み合わせると、Cw*0101-B*5401-BFS-C4A3-C4B5-DRB1*0405-DRB4*0101-DQA1*0301-DQB1*0401といったハプロタイプが出来上がる。これと良く似たハプロタイプが、B59を含むハプロタイプ(A24-Cw1-B59-BFS-C4A3-C4B5-DR4-DR53-DQ4)である。血清学的な反応性から、B54はB22抗原群とされており、B59はB5関連抗原群に近いとされている。また、B59は一部のB8抗血清と交差反応性を示すことから見つかった抗原であり、血清学的な反応性からB54とB59の関連性を推測することは困難であった。しかし、何故これら2つの抗原が、良く似たハプロタイプに含まれているのか疑問であったが、B59の塩基配列が決定されることにより、その疑問も明らかとなった。詳しくは、A24-Cw1-B59-BFS-C4A3-C4B5-DR4-DR53-DQ4ハプロタイプの紹介で述べる。

6. A11-Cw4-B62-BFS-C4A3-C4B1-DR4-DR53-DQ3

このハプロタイプは、日本人で4-6番目に多いハプロタイプであり、その頻度は約2%である。各都道府県別の分布では中部日本、特に日本海側(石川県、福井県)で比較的高い頻度で見られており、その頻度は約3-4%であった。このKAMONの編集委員長は、このハプロタイプを持っており、中国の集団と日本人の関わりについて話をするときによくこのハプロタイプを使用する。その内容は、「私のHLAハプロタイプの一つはA11-Cw4-B62-DR4であり、このハプロタイプは中国でも揚子江近辺に多く分布している。私は釣りが大変好きであり、その理由として私の祖先が揚子江で好んで釣りをしていたからであろう……？」といった具合である。われわれのこれまでの調査では、韓国人(1.6%)や満族(2.3%)の東北アジアの集団で見られている。このハプロタイプのDNAタイプは、A*1101-Cw*0401-

DNA基礎講座：核酸化学の立場から ⑤

Polymerase Chain Reactionの副反応—
“テンプレート非依存的3'末端塩基付加”について

湧永製薬（株）バイオ研究所 山根 明男

連載②でPCRの3'末端塩基付加の副反応について一言ふれたが、今回は最近の新しい知見も得られたのでもう少し詳しくふれてみたいと思う。

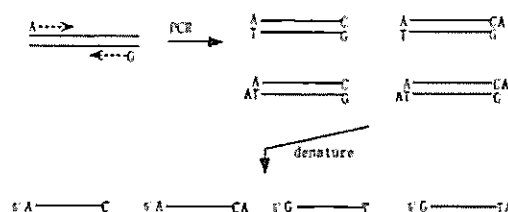
PCRの3'末端塩基付加反応とは、PCRで得られる2本鎖DNAの3'末端に突出した形で1塩基付加（ほとんどの場合アデニン）される反応であり、テンプレートに非依存的な反応である。PCRが発明されて間もない頃、平滑末端（2本鎖DNAフラグメントの末端が両方の鎖で揃っていること）にしたプラスミドベクターにPCR増幅物を挿入した際に、挿入の効率が悪いことから発見されたものである（DNAリガーゼ反応で突出末端と平滑末端はほとんど結合されない）。もともと、最初の頃はポリメラーゼの反応が不完全で、末端が揃っていないと考えられ、Klenowフラグメントを用いて埋めていたが、結果的には突出した末端を削っていたことになる。また、この反応はdsDNAに対してのみ起こり、ssDNAでは起こらないとされている。

この副反応が生じるため、PCRで増幅したDNAフラグメントをクローニングする場合、増幅フラグメントの末端に制限酵素の認識部位が導入されるようにプライマーを設計して増幅物をその制限酵素で切断してベクターと結合したり、増幅物の末端が平滑になるように酵素処理する方法がとられている。また、付加される塩基がほとんどアデニンであることから挿入するベクターの3'末端にチミンを付加したPCR増幅物クローニング用ベクター（TAベクター）も市販されている。ただし、増幅物の3'末端は以下に述べる理由で一定ではないため、TAベクターは万能ではない。

最近この副反応についてかなり詳しく調べられ、この反応はTaq DNAポリメラーゼに限らず原核生物、真核生物を問わずDNAポリメラーゼ共通の性質であることがわかってきた。ただし、Taq DNAポリメラーゼがもっともこの活性が強く、通常のPCRでは増幅物の半分程度にアデニンが付加されているケースが多い（アデニン以外の場合もある）。さらに、この反応には付加される側の塩基特異性があり、付加される直前の塩基（PCR生成物の塩基付加のない場合の3'末端）がアデニ

ンあるいはグアニン、特にアデニンの場合比較的起こりにくいらしい。それゆえ、プライマーの5'末端をチミンにしておけばそれと相補的な3'末端はアデニンになり、この反応をかなり抑えることができるであろう。逆にこの反応を進めるためには3'末端塩基がチミンであることが望ましく、プライマーの5'末端をアデニンにしておく必要がある。その他副反応に与える大きな因子としては、DNAポリメラーゼの伸長（extension）反応の時間が考えられており、2ステップ（PCRにおいて変性温度とアニーリング温度だけを設定）より3ステップ（変性温度、アニーリング温度、伸長反応温度の3点を設定）が、またPCRサイクルを終了したあとのextension反応を行えば行うほど3'末端の塩基付加は増加する。さらに、この反応は4℃でも進行することから、反応後の保存状態にも左右される。

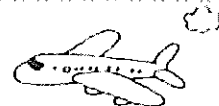
いまのところ、PCRの3'末端塩基付加はPCRフラグメントのクローニングや、増幅物の長さを一定にする必要のあるマイクロサテライトマーカーの検出などにおいて重要な問題とされている。しかしながら、この反応はDNAフラグメントの微細な変異を調べるDGGE（denaturing gradient gel electrophoresis）においてバンドシフトに影響を与えるとされており、HLAの分野でよく利用されているPCR-SSCPにおいても何らかの影響があるかもしれない。



1組のPCRにおける4種類のdsDNAとssDNA



海外移植事情 ④



—Wisconsin大学(Madison)における膵移植の経験—

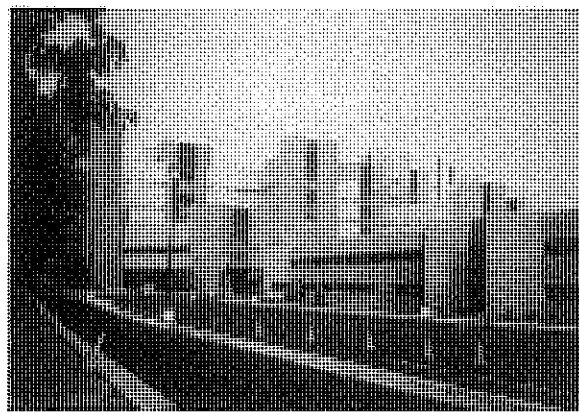
大阪大学第一外科 伊藤 壽記

近年本邦において、新たに透析導入される患者さんの中で糖尿病の占める割合が年々増加傾向にあり、最近では全体の約30%を占めると報告されている。こうした患者さんは透析導入後も適切なインスリン治療をして血糖を適切にコントロールしなければ、糖尿病による各種の合併症が進行していくとされている。糖尿病性合併症の中でもとりわけ、心臓や脳の血管障害は透析導入後の糖尿病の患者さんの生命予後を左右する大きな因子である。糖尿病性腎症で透析開始後5年の生存率は40%と慢性糸球体腎炎でのそれ(70%)に比して、著しく悪いことが知られている。こうした患者さんに対して行われている膵腎同時移植はQOLを向上させるばかりでなく、生命予後をも改善させることが期待される。この場合、膵臓移植の対象となるのは、若年で発症するインスリン治療が不可欠なインスリン依存型糖尿病(IDDM; insulin dependent diabetes mellitus)の患者さんで、一般的にはだいたい30歳代で腎症が進み透析に導入されることが多く、膵腎同時移植が考慮される。

1966年にアメリカのミネアポリスで初めて、ヒトで膵臓移植が行われて以来、これまでに約6300例の膵臓移植が欧米を中心に行われており、最近では年間約1000例の膵臓移植が行われている。この内、その大半(86%)が膵臓と腎臓を同じドナーから移植(膵腎同時移植)される。膵腎同時移植を受けた患者さんで、膵臓の生着率は一年で76%と、腎臓の一年生着率の84%と比べて、ほぼ満足のいく結果が得られており、膵腎同時移植はIDDMによる慢性腎不全の患者に対する医療として定着してきた。

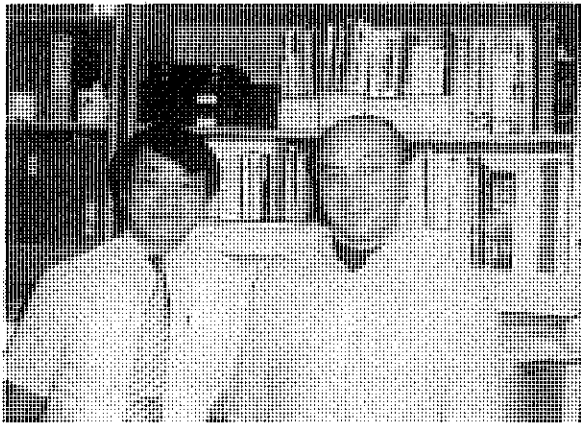
こうした状況に鑑み、我々第一外科一般・消化器外科グループは1990年から「同種膵臓移植の臨床応用」の為に準備を進めてきた。1992年12月末に脳死下における膵臓移植を医学部倫理委員会に申請し、1995年3月に同申請が許可された。これを受けて、レシピエント候補者を紹介して頂くために透析病院の訪問を開始した。また、倫理委員会への申請の頃より、海外での膵

移植の実際に接するべく欧米の移植施設の訪問を始めた。私自身1985年から1988年までの3年間、Los AngelesのUCLA(Terasaki's lab)に1年、引き続きHoustonのTexas大学(Kahan's lab)に2年、米国に留学する機会を得たが、いずれもresearch中心で臨床に接する機会はほとんどなかった。そこで、海外の学会に参加した際にはできる限り、短期間でもどこかの移植施設に立ち寄った。Hanover(Dr. Pichlmayr)やStockholm(Dr. Groth)やMadison(Dr. Belzer, Dr. Sollinger)を訪れ、臨床の移植に接する機会をもった。しかしながら、それぞれ1~2週間と短期間であったため、周術期管理を含めた移植医療の一連の流れを十分に身を持って体験することができず、つねに不満が残った。そこで、1993年の4月初めから7月初めまでの3ヶ月間、再度Wisconsin州 MadisonにあるUW(ウイシコンシン大学)のDr. Sollingerのもとを訪れることを決心した。丁度この時期は阪大病院が大阪中心部から北の郊外の吹田市にある万博公園跡地に移転するため休院直前の時期に当たり、研究活動も日常の診療もかなり縮小された状態となっており、そういう意味で私個人にとっても好都合であった。さて、本稿は少し前の話になるので、当時のメモを見て思い出しながら書いてみた。



University of Wisconsin Hospital & Clinics

Madisonはアメリカ中北部の五大湖の一つミシガン湖に近いWisconsin州の州都である。アメリカで臓器移植を行っている施設は不思議なことに五大湖周辺の都市、例えば、ミネアポリス、コロンバス（オハイオ）、ピッツバーグ、クリーブランド、ボルチモアといったいわゆる、“アメリカの冷凍庫”と言われる極寒地域に位置している。1993年4月5日、夜遅くMadison空港に着いた。春の暖かな兆しがみられた日本とは違って変わって、凍てつく風が頬に痛くあちこちにはまだ雪が積み上げられ、再び冬に戻ったのかと一瞬暗い気持ちになった。丁度、1年前にもこの地を訪れており、迷うことなく大学病院に近いホテルに着いた。途中、タクシーから見たMadisonのシンボルの州議会議事堂は地面からの光を受けて美しく輝いて印象的だった。Madisonは人口約20万の小さな酪農の田舎町で丁度、北海道の帯広を思わせるような牧歌的な香りのする所で、アメリカの中でも治安が良く、4人に1人が学生という大学町である。ウイスコンシン大学の外科のchairmanはDr. Belzerで、彼らが開発した臓器保存液(UW液)は臓器保存時間を飛躍的に延長させ、一躍有名になった。この下で、2人のprofessorがおり、ひとりとは今回私が訪ねることになった臓器移植を担当するDr.



筆者と Dr. Sollinger

Sollingerで、もう一人はトルコ人で臓器移植のDr. Kalayogluである。この他に移植内科医でassociate profのDr. Pirshと D'AlessandroとDr. Knechtleの2人のassistant profがstaffである。その他、transplant fellow3人とresidentが3人と全部で10人そこそこの人数で、年間腎移植が230-40例、肝移植および膵移植がそれぞれ60-70例をこなしている。

翌朝、病院までは歩いて10分そこそこの距離であったが、外気は予想以上に冷たく病院に着く頃までには、すっかり手足の先は麻痺していた。寒さはある程度覚悟していたが、4月に入れば少しはましであろうと高をくくっていた。しかしながら、5月までは寒い毎日が続

いた。大学病院の建物は一つのユニットが六角形をしており、それぞれが丁度蜂の巣のように東西南北に繋がっていて、中で一度迷うと大変なことになる。それでも1年前の記憶を辿りながら、何とか外科のユニットにたどり着いた。Dr. Sollingerのofficeを訪ねると、彼は術衣に白衣を纏い両足を机に挙げて自慢のパイプをくわえて、私を待っていてくれた。彼は40歳後半の若いドイツ人である。日本の移植事情や今回の訪問の目的などをしばらく話した後、昨日、multiple organ harvest (多臓器摘出)があつて今肝移植の最中だということで、早速OR (手術室)へ行くことにした。肝移植はProf. Kalayogluが術者で、レシピエントはアルコール性肝硬変の末期患者でまさに全肝を摘出しようとする所であった。手洗いするように言われ、OPに参加した。まもなくレシピエントの門脈血と下大静脈血とがbio-pumpを介して腹腔静脈にシャントされ、あつという間に萎縮した肝臓が摘出された。この時、近くの病院でドナーが出たという情報が入り、ハーベストに行かないかというので、時差ボケで頭はボーとしていたが、誘われるまま出かけることにした。ドナーは脳動脈瘤破裂で脳死となった50歳の男性で、肝・膵・腎・心臓弁・角膜が摘出され、すべてUWに持ち帰った。肝と膵は一塊に摘出されるため、すぐに分離のためのbench surgeryが始まった。肝も膵もともに移植に用いる場合、両グループの間で血管系の競合が生じる。すなわち、動脈は肝臓グループが腹腔動脈を主張するので、膵臓グループには脾動脈の断端と上腸間膜動脈が残ることとなる。これら2つの動脈は膵移植の直前に再びbench surgeryにて、ドナーの腸骨動脈(Yグラフト)と吻合されて1本の動脈となる。また、静脈系の門脈でも競合がみられるが、大抵の場合門脈は脾上縁から2cmの所で切離される。肝から分離された膵臓はビニールバッグに再び納められ、翌日の膵腎同時移植のために冷所保存される。一方、肝臓は生検が行われ、on callの病理医の所で移植臓器として使えるかどうかを、肝炎の有無や脂肪肝の程度によって決定される。ここWisconsinでは病的な肥満が多く、脂肪肝の頻度がかなり高いようである。幸いこの肝臓は脂肪肝の程度も軽度であったので肝移植のための準備が始まった。第1日目から、大変なスタートとなったが、明朝早々に始まる膵腎同時移植のため、ホテルに戻ることにした。翌朝は7:00AM過ぎからレシピエントがORに入室して、膵腎同時移植が始まった。レシピエントは31歳の男性で糖尿病(インスリン依存型)歴20年で、すでに網膜症や神経症などの合併症があり、半年前に透析導入となっていた。Dr. Sollingerと私がback tableでグラフト

の作成のため、前述のYグラフトを再建し、グラフトの十二指腸を10cm程として両端を閉鎖し、脾臓を摘出した。また、同時進行の形でchief residentがもう一人のresident相手にレシピエントのOPを開始し、両側の腸骨動静脈を剥離していた。完成した全脾十二指腸グラフトを十二指腸が遠位側となるよう90°回転させて右腸骨窩に移植した。血流再開とともに脾はピンク色となり、すぐにインスリンが分泌され術中からインスリン投与は不必要となった。また、十二指腸内は脾液のため張ってくるので、十二指腸を切開・減圧してから膀胱壁と吻合し脾液を膀胱へドレナージした。続いて、対側の腸骨窩に腎移植を行い約4時間半で手術が終了した。昼食を病院のカフェテリアで済ませ後、外科のchairmanであるBelzer教授を訪ねた。かれはその当時64歳で現役の移植外科医で、腎移植のパイオニアの一人である。彼はUCSF（カリフォルニア大学サンフランシスコ校）にて、1966年よりDr. Najarianとともに死体腎移植の実験ならびに臨床を開始した。Dr. Belzerは当初より死体腎の低温持続灌流の研究に従事し、その灌流装置（いわゆるBelzer Machine）を開発した。UCSFの教授を経て、1974年にUWの外科chairmanに就任した。

翌日からは3日間連続してドナーが出たので、ほとんど毎日のようにORでの生活が続いた。ORでは移植された臓器が流れ作業のごとく、順次処理されて行く。移植の順位は心・肺が最優先で行われ、ついで肝であり、脾・腎は大抵その翌日に予定が入る。最後にもう一つの腎は、mini-Belzer machineに接続されて保存され、翌々日の最初に移植される。肝移植はほとんどが夜中に行われるので、これに付き合っていると、徹夜して翌朝から脾腎移植のOPに入らねばならないので、しばらくは臓器のハーベストと脾腎移植のOPに専念することとした。Madisonに来て早々から多忙なスタートとなったわけだが、その週末にも1例ドナーが出たので、1週間で5例の脾腎同時移植を経験したこととなった。

このように一人のドナーが出ると、UWにレシピエントがいる限り、すべての臓器がUWに選ばれすべて移植される。私は、これまでアメリカでは1980年代に発足したUNOS（United Network of Organ Sharing）が臓器を平等に配分すべく調整していると思っていた。そこで、organ sharingの現況につき、UWのOPO（organ procurement organization）のdirectorであるDr. Hoffmannを訪ねることとした。ドナーが発生し、その地域のOPO（全米で約70施設）に連絡が入るとそのコーディネーターは血液型やHLA型などより、その地域

で適合するレシピエントを検索するとともに、UNOSにドナー情報を伝える。適合するレシピエントがいなければその周辺のOPOに照会されるが、大抵の場合、ほとんどの臓器がその地域内で移植されてしまう。例えば、UWの場合、腎は約500人、肝・脾は各々約50人前後の患者がつねにwaiting listにのり待機しているので、ほとんどの臓器はUWで移植されることになる。ただし、例外としてHLAの6抗原（A、B、DR）がすべて一致する場合は、UNOSが仲介してそのグラフトは最優先で地域を越えて全米内のどこにでも送ることが義務付けられている。

さて、多忙を極めた第1週目とは異なり、2週目はドナーの出現もなく静かな週となった。従って、病棟にいることが多く、朝からresident達と一緒に行動した。chief residentを含めてresidentはたったの3人である。chief residentは必ずOPに入るが、2人のresidentは術前・術後管理のみである。staffは9名であるが、コーディネーターは少なくとも10名はいて、各臓器（肝・脾・腎）別に分担されている。病棟は4階にあるtransplant unitがホームグラウンドであるが、その他、重症例の患者はTLC（trauma & life support center）、cardiac ICU、pediatric ICUにそれぞれ収容される。移植のための病床は50-60床で常に満床である。病室はすべて個室で、シャワー、トイレ、電話、テレビなどが装備されている。また、各病室にはガーゼ交換に必要な物品がすべて備え付けられている。ナースは受持制であり、ガーゼ交換は通常ナースが行う。看護記録は病室のすぐ外に置かれており、処置が終わればその場ですぐに記録する。従って、回診の医師はいつでもその記録を見ることができる。また、病棟には専属の栄養士、薬剤師がおり、栄養の評価や薬剤の調整を行う。回診は1日3回で、1回目は7:00AMからresidentの回診で、患者の訴えを聞き、診察して、創部をチェックする。2回目は11:00AMからのfellowの回診で、主として免疫抑制剤の量を調整する。3回目は2:00PMからのDr. Belzerの回診で全員が参加する。彼は回診の所々でresidentに質問し、彼らが判らなければfellowに向けられ、staffからはコメントが付け加えられる。時に回診していることを忘れて、廊下で議論に熱中することもある。回診の最後には、放射線科に立ち寄りシンチやCTなどの画像が検討される。こうして、Dr. Belzerの回診は午後手術が無い時には、2時間も続くが、我々外国からの訪問者にとっては大変有意義である。なお、この回診は土曜日も日曜日も行われる。回診が終わって、一息ついた後に5:00PMからはresidentとnurseが詰所に集まり、chief residentを中心に回診で変更になった事項や

追加の検査などが再確認される。

Dr. Belzerは当初肝移植もやっていたようだが、OPが夜中になることが多いので、Dr. Kalayogluに譲り、ほとんど腎移植だけをやっていた。何度か彼の腎移植のOPをみる機会があった。ORにはいつも白い長靴を履いて登場した。たいていのOPは、chief residentと2人でやるが、学生がいれば必ず手洗いさせる。そして、術中には事細かく学生に説明する。自慢のBelzer's retractorを用いて、後腹膜の術野を充分展開させて血管吻合を行う。Dr. Belzerの背筋を真っ直ぐ伸ばして、OPをしている後ろ姿はとて64歳とは思えない。血管吻合の際には両脇をぐっと締めて肘から先だけの動きだけで全く無駄な動きが無く、大変感銘を受けた。

第3週目は、5日間連続してドナーが出たので再び多忙な週となった。このうち1回ハーベストに出かけた。5人乗りの小型飛行機で約1時間かかり、Madisonの北西約300kmのEau Claireという所に着いた。ドナーは自動車事故にて脳死となった32歳の男性で、この日はUWのheart teamも来ていてほぼ同時に胸部と腹部の剥離操作が始まった。その操作を簡単に述べると以下の通りである。腹部は横隔膜を左右に大きく切離して、肝の靭帯を外した後に小網を開いて後腹膜に入り、横隔膜直下で大動脈にテーピングする。一方、大網を開き後腹膜に入り、脾臓を持ち上げ臍体尾部を起こす。また、十二指腸・脾頭部を後腹膜より起こし大動脈・下大静脈を露出する。十二指腸をその前後で切離し、結腸・小腸を尾側に落とし込み、これでほぼハーベストの準備が整ったこととなる。以上の操作に要する時間は約1時間でheart teamの準備ができ心停止液が注入されると同時に、横隔膜直下の大動脈がクランプされ、総腸骨動脈から挿入された灌流チューブからUW液が注入される。さらに胸腔内で下大静脈を切り脱血する。また、臍上縁の門脈へもチューピングされUW液による肝灌流を行う。その後肝・脾を一塊として摘出し、腎は最後に摘出する。摘出臓器はそれぞれ二重にビニール袋に入れてUWに持ち帰った。

4月終わりに、MadisonのdowntownでDT. Miller memorial symposiumが開かれた。Miller氏自身、腎移植を受けたレシピエントであり、また、その後UWのコーディネーターとなり移植医療に随分と貢献したそうである。無理が祟って10年前に亡くなった。彼を記念してこのシンポジウムは2年に一度UWが主催して開かれ、この年も大変な盛会で、移植を受けた人々、ドナーの家族やドナー病院のナースやコメディカルの人々が招待されていた。この会では、UWのstaffがUWでの移植成績や新しい試みを紹介し、また、レシピエ

ントやドナー家族も発言する。ドナー家族やドナー病院にも移植成績の他に、レシピエントの現況等の情報を還元することによって、彼らとの交流を如何に大切にしようとしているのか痛感させられた。

5月は週1~2例のペースでdonationがあり、病棟とORとの生活が続いた。5月中旬はHoustonで米国移植学会が開催され、私は1週間程この学会に参加した。この学会には、日本から我々の一般・消化器外科グループの若いDrが数人参加しており、学会の後、Madisonにも2週間程立ち寄り、急に賑やかになった。Houstonから戻っても、相変わらずdonationが続いた。

6月に入り、原発性胆汁性肝硬変の50歳代の女性が急に吐血し、意識レベルが低下して、緊急でmesocaval shuntをおき、数日後新しい肝臓に置換された。その翌日より意識が回復して、移植の持つ魔力とも言えるべき威力に感激した。移植前の肝硬変に有する患者は大抵、門脈圧亢進症による側副血行路が発達しており、移植時の肝摘出の際に出血が問題となる。そのため、移植前に門脈圧を下げる手段として、TIPS (transjugular intrahepatic portal systemic shunts) が積極的に行われており、良い結果が得られているようであった。6月20日、2歳の女兒に小腸+肝同時移植が行われた。胃壁破裂+腸回転異常で短腸症候群となった症例である。ドナーは遼寧重積から脳ヘルニアになり脳死に至った小児から全腹腔内臓器が摘出された。移植後は順調で、私が帰国する直前までは良好に経過していた。

6月29日の症例を最後に、3ヶ月間で24例の脾腎同時移植を経験した。これは週に平均2例あったことになる。また、ハーベストも10数回出かけた。ほとんどの症例のOPに最後まで参加でき、私にとって大きな自信となった。この中で、残念ながら1例は脾・腎の両方とも、また、もう1例は脾のみが拒絶反応のため摘出せざるを得ないこととなった。しかしながら、彼らはチャンスがあればもう一度移植を受けたいと語ってくれた。脾腎移植後の患者さんに移植後何か変わったことがあるか?と尋ねると、彼らは一様に“エネルギーが湧いてきた”とか“生き返った”とかを口にした。確かに、移植前には味気ない食事や水分制限、合併症との戦い等で生きているという実感があまりなかったのかもしれない。さらに、回診の度によく観察していると、患者さんは移植後一日一日と活気付く様子が手に取るように判った。入院期間は大体2~3週間で、UW近くのホテルに滞在して通院する。移植後1年間は臍液ドレナージに縛わる色々な合併症にて入退院を繰り返すが、その後は落ち着くようである。

この3ヶ月はあっという間に過ぎてしまったが、私に

とって大変有意義で貴重な経験となった。これまでにいくつかの移植施設を訪問しているが、そのどれもが1~2週間という短期間で、移植医療のごく一面だけしか見ていなかったように思う。この訪問では患者及び患者の家族とも接し、彼らの生の声を聞くことができ、彼らをとりまく様々な移植医療従事者とも話す機会に恵まれた。

さて、帰国してからしばらくして、Dr. Belzerが大腸癌で手術を受け、この時すでに肝転移があったことを聞き大変なショックを受けた。その後何度か手術を受け自宅療養していたが、症状が徐々に悪化し、1995年8月に亡くなられた。その後、Dr. Sollingerが後を継いで chairman となった。昨年、Barcelonaの国際移植学会で Dr. Sollinger に会った際、彼は膵液のドレナージを最初から膀胱ではなく腸管へと変更することにより、術後合併症の頻度が減って随分うまくいっていると話していた。帰国後、私はレシピエント候補者を紹介していただくため、透析施設の訪問を続けている。昨年末までにすでに4人の方が近畿の糖尿病専門医からなる膵移植適応評価委員会を経て、膵移植の適応有りと判断された。この4人の方々は現在、レシピエント候補として登録され、移植の機会を待っている。さらに、現在、レシピエント候補者のプールを近畿だけでなく、全国に広げその一元化をめざしてシステム作りが進められている。心停止下で摘出された膵臓を用いた膵臓移植については、東京女子医大の寺岡 慧先生の地道なご努力により、適切な条件下で摘出されれば、腎同様に膵も充分使用可能であることが示された。こうした結果

を受けて我々は、1995年6月心停止下における膵臓移植の申請を先進医療審査会に提出した。

一昨年の春から日本腎臓移植ネットワークが発足し、提供される腎臓に対して、一定のルールでレシピエントが決定される。しかしながら、膵・腎の両臓器の提供を待っているIDDMの患者さんにとっては、腎単独の提供を待っている患者さんに比べて、そのプールサイズが圧倒的に小さいため、現行の腎のルールに従えば、ほとんど臓器提供の機会に恵まれないのが現状である。従って、膵・腎の両臓器の提供を待っているIDDMの患者さんに対して、今後の課題として、どのような場合に両臓器を配分すべきかという基準を設けることが必要になる。

また、最近の膵臓移植におけるトピックスとして、米国では腎不全となる前に膵単独移植を行うことにより、IDDMによる合併症を予防しようとする試みが積極的に行われている。これはIDDMによる合併症の進行が不可逆となる時期 ("a point of no return") があり、この時期以前に膵単独移植をすれば合併症の進行を阻止できるであろうという仮説のもとに行われる方法である。しかしながら、膵単独移植の移植成績はまだ満足できるものでもなく、この仮説が果たして正しいのかどうか？、また、"a point of no return" が存在したとして、これがいかなる時期であるのかは今後の結果を待たねばならない。日本の移植医療は10年以上も遅れてしまったと言われている。しかしながら、昨今の日本の移植事情を思うに、この遅れが毎年縮まることなく、益々、開いて行くという気がしてならない。

佐治博夫の **まかせなさいっ!**

HLA New Worldは展開するか？ 在日米軍病院からの臓器提供申し出の波紋

hsaji@mb.infoweb or jpまたはsaji@hla.jrc.or.jp

Dr. ジミー・ジョンズという名前をご存知だろうか。移植領域ではかくれた有名人だが移植医ではない。沖縄の米軍病院に勤務する今年退官直前の小児外科医である。91年に沖縄に赴任した彼は臓器提供がままならぬ日本の状況を知ることになる。「日本に來たばかりのころ、脳死の患者が私のところに運び込まれました。アメリカにいた時のままに、臓器提供の可能性を考えて、家族と話

し合って準備をしたのですが日本では連絡先がわからないのです。アメリカではUNOSに電話を一本かけるだけでよかった。あとは自然にことが運んだ。いろいろな臓器の移植チームがすぐに摘出にやってくる（下村一之：海外移植事情③ニューヨーク移植事情、KAMON No.8, pp29-32, 1996にリアルに描かれている）各種臓器の行き先はUNOSがすべて手配してくれるからです……」結局、こ

のときは提供できなかった。さっそく日本の移植事情を調べはじめた彼は沖縄の腎移植医の名前を知る。

腎臓しか提供できなかった… と家族はがっかり

94年の暮、米軍の子供が交通事故で脳死状態となり選ばれてきた。連絡を受けた沖縄県腎移植推進情報センターは3つの条件を出した。①心臓停止後の腎摘出②アメリカの医師が摘出③脳死判定基準は日本の基準…というものであった。Dr. ジョーンズは同僚の医師と腎臓を摘出した。家族の意志にもかかわらず、肝臓、心臓、肺などは提供できなかった。日本側が受け入れてくれなかったからである「家族も私もがっかりしました。」日本ではあまり知らされなかったが、美談はアメリカの新聞をにぎわした。

米軍病院と日本の移植グループとの話し合いは進行中だという。腎臓は腎移植ネットワークと、角膜は日本アイバンクと、その他の臓器は日本移植学会と…というように個別の合意が必要になる。脳死法案が廃案になったいま、日本移植学会では「脳死者からの臓器提供に向けての行動指針」を作成中と聞く。有名になった野本理事長の発言がある「私たちは返り血をあびて血みどろになる覚悟である、現場の移植医もその覚悟を決めて欲しい…」本人に確認は取れていないが、あの先生ならそれぐらいのことはいいそう、というのがもっぱらの評価である。その理事会の中でも米軍病院からの申し出に対しては積極受入論と慎重論が交錯しているらしい。

日米の文化的背景の違いを学んだDr. ジョーンズは「はじめはフラストレーションを感じた…いまは提供者がみつければ日本の医師に電話をするだけにした。あとは日本のやり方に従う。臓器が無駄になっても仕方がない、と割り切れる。どうい臓器が提供できるか伝えるだけにしたい。あとは日本人が決めることだから…」

臓器移植領域にHLA New Worldはあるのか？

前回の日本組織適合性学会大会（十字猛夫会長、東京）で「疾患感受性とHLA」のパネルディスカッションが好評であった（その前夜の座談会が今

号に掲載されている）。好評の理由は「HLA New World（木村彰方の発言から）」の展開が予感できたからである。臓器移植以外のHLA領域は意気盛んである。臨床（骨髄移植、疾患の解析）への、そして免疫学への貢献度が高まっているからだろう。将来の医療のキーワードになりそうな予感と期待が「HLA New World」という言葉を引き出したのである。一方で臓器移植関連のHLAラボは現実の厳しさに耐えながら移植医療への貢献をめざして懸命の努力を強いられている。ベースにある移植医療の長い停滞がそれを強いている。腎移植ネットワークはそのブレイクスルーになるひとつのキーワードであろう。

「万機公論に決すべし」は死んだのか？

Dr. ジョーンズはいう「アメリカでは禁止する法律がなければそれをやっていた、と考える。日本ではそれを許諾する法律がないとできないと考える…」すなわち法律の保護の下に行動する日本人の特性がある、「犬型人間」が多いとされる日本の特性だろうか？本来、医療人は「猫型人間」に向いているとされる。医療が「猫型社会」すなわち決まりを超えた判断が日常的に必要な分野だからである。彼は続ける「日本では国民のコンセンサスが必要だとみんながいう、それにしても公開の議論があるようにも思えない。アメリカでは国民が喧喧諤諤の議論をする。日本では市民の議論でものごとが決まるより、交渉と決定が扉の内側で、非公開でなされるという印象を受ける。決定の過程の透明性が必要かもしれない…」いわゆる「nemawasi」が英語の辞書に登場するぐらい日本（官僚）独特の決定プロセスがあり、これを暗に批判する。果たして移植に対する「国民的コンセンサス」というのはありうるのか？少数派による少数派のための移植医療に「100%に近い国民のコンセンサス」を必要とするのか？ドナーと患者のコンセンサスは「国民的コンセンサス」にかき消されてよいものか？などは「脳死の法律的・技術的・倫理的議論」に隠れて、議論の対象にさえならないようだ。5年あまりの日本の生活で得た彼の日本評価は、ポイントをついているように思う。明治維新の「万機公論に決すべし」をもういちど噛み締めたい（さ）。

ダイナミック・ラボラトリー

シオノギバイオメディカル大阪ラボ

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JR京都線の千里丘から車で約15分広い道路を曲がると、その辺り一帯はシオノギの建物と緑の芝生が広がっていて、その一角にシオノギバイオメディカル大阪ラボの清楚なビルがありました。

中に入ると検査ラボらしく清潔で、整然としています。こちらのラボでは「染色体」というグループがHLAを担当しておられます。

ベ) 宜しくお願い致します。

兼) おてやわらかにお願いします。他の者も手が空きましたら加わりますので。それでよろしいですか。

ベ) もちろんです。こちらこそよろしくお願い致します。こちらのラボはいつ頃設立されたのですか。

兼) 昭和37年に「シオノギ製薬(株)」が築き上げてきたものを臨床の先生方、および社会に還元しよう。」という趣旨で、最初は大阪市福島区にあった中央研究所の一角に設立されました。当時は臨床検査自体がまだ1つの産業となっていない時代でした。現在は大阪、東京、名古屋にラボがあります。大阪では一般検査、RI検査、細菌・ウイルス検査、遺伝子検査などほとんどの項目を行っています。キット化された感染症の遺伝子検査は東京ラボにPCR専用の検査室があるのでこちらで大規模に行っています。我々のグループとしてはHLAの血清学的検査と、ガン・白血病・HLA

などに関するヒトの遺伝子検査をルーチンで行っています。また非定型の特殊な検査にも携わっております。他に業務としてヒトの遺伝子診断に関わる技法の開発や臨床医の先生と協同で実際の臨床適応等を色々と検討しております。

ベ) グループのメンバーをご紹介いただけますか。

兼) 全部で8人ですが、現在1名中央研究所に出向中です。

ベ) お仕事の分担はどのように。

兼) 森部君から紹介してくれる?

森) HLAに少なからず関わっているのが5人です。そのうちルーチンのHLAの血清学的タイピングを村上が、クラスIIのDNAタイピングを中谷が、それぞれほとんど1人で行っています。後の3人は2人のサポートをしながら、クラスIのDNAタイピングのA、B、Cをそれぞれ1項目ずつ担当しています。

兼) クラスIのDNAタイピングは今までに300例位は行っています。依頼が多くなったので、この11月から新規受託を始めましたが、うちでは全部4ケタで出しています。

ベ) 依頼の目的はどんなものが多いのですか。

兼) 研究目的が多いですね。クラスIについては基礎研究目的が多いです。疾患感受性というより、基礎免疫の領域に関するものですね。

森) 彼はHLA以外のヒトの遺伝子の解析をやっています。

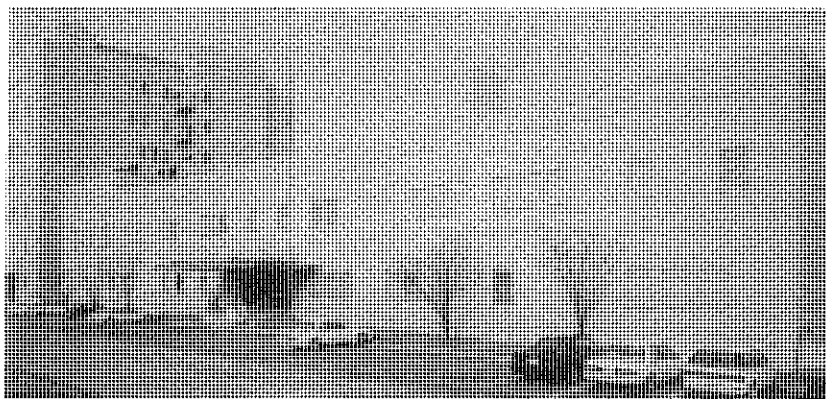
森) 彼はHLA以外のヒトの遺伝子の解析をやっています。

ベ) 一ヶ月あたりの検体数はどの位ですか?

兼) 血清の方はだいぶ減っていますね。

ベ) 減った分はDNAに移行しているのですか?

兼) クラスIIについてはDNAを始



シオノギバイオメディカル大阪ラボ

めたのが1991年からでしたので当初は研究目的の依頼が多く、血清の検体が減る、ということにはなかったのですが、最近はルーチンの依頼もDNAに移行してきています。

ベ) クラスⅠの方はいかがですか?

兼) どこの検査ラボでも全体的に減っているんじゃないですか? 骨髄移植財団が出来たまでの私設のバンクがあった時代は一番多かったですね。今はその波が引いてしまったので、毎年減ってきています。

ベ) DNAの方は?

兼) DNAの方は順調に伸びていますよ。

ベ) 日常検査の中からNewが見つかったことはありますか?

兼) 検査の中から純粋に見つかったものに、“DRB1*04052”があります。

ベ) お話を伺っていると、開発的なこともずいぶんなさっていますが、ルーチンのお仕事と、開発のお仕事ではどちらがメインなのですか。

兼) 半々ですね。というのはそれぞれが“ルーチンのお仕事”と、それ以外に“サブテーマ”を持って仕事にあたっていますから。診断医学事業部という背景があるので、少なくとも今の段階では診断に関連するようなことを中心にやっています。例えばH.L.AではC型肝炎との関連とか...これについては日本免疫学会で森部君が発表しました。

ベ) ルーチンのお仕事の上にご研究もなさるのは大変ですね。

兼) 従来の流れでやっている作業を出来るだけ合理化し圧縮し質も上げていく中で、「その捻出した時間を有効に使いましょう。」という考え方でやっています。仕事を効率良く終わらせて、「今日は何をやるのかな?」ということです。検査については各個人の能力が上がっている一方で、作業の標準化もかなり厳密に出来てきているので無駄がなくなってきました。

ベ) ご自分達で環境を作り上げていらしたわけですね。

兼) さっきから自慢話ばかりしているね?

ベ) いえいえ。そのような中でも何かご苦労がお有りなのでは?

兼・森、声をそろえて) 仕事の上では苦労していませんね。

ベ) 他に何かあるように聞こえますが... (笑い)

ベ) ところで兼重さんはいつ頃入社なさったのですか?

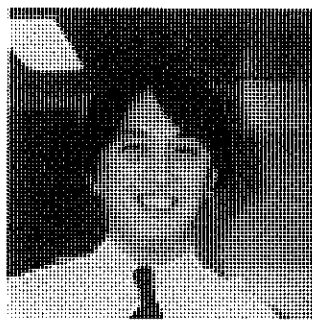
兼) 1980年に入社して2年半位経った時からH.L.Aを

やっています。それまでは臨床検査部の血液検査室にいました。ぼくはそもそも臨床検査が何をやるどころか知らなかった、業があることすら知らなかったんだから。ところが僕の所属したのは臨床検査部の中でも一番ガチガチの血液検査課。だから精度管理とか機械のメンテナンスばかりで、少々暗い日々でした。(笑い) 会社として1980年にH.L.AのA.B.Cを導入し、1982年にDRを導入するという事で移ってきました。

僕とH.L.Aとの歴史はベリタスさんとの歴史なんです。

DRを導入しなければならない、ということで、その頃十字先生の所にいらした荒木さん(現:内川千恵子さん)にご相談したら、ベリタスさんが抗体を輸入されているはずだから、ということで間を取り持っていたいただいたんです。

ベ) そうでしたが。



兼重さん

兼) DRを導入しなければならなくなったのは、ある大学から一度に200~300の検体がドーンときたんですよ。それをやるために色々と試行錯誤し、1985年にはもう完璧

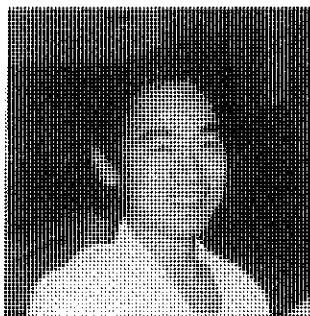
になりました。次にDNAを始めたのは、H.L.A関係の学会に行くと、結局各ラボの抗血清の勝負みたになってしまうような印象を持っていて、ところが我々にはH.L.A検査の歴史がなく、他の施設や研究機関との繋がりもなかったので、そういう特殊事情なことではなく、血清に頼らない標準的な方法論をセットアップしたくて1986年からサザンを始めました。最初は基礎設備を揃えるところから始めルーチンとの兼ね合いを考えルーチン検査の減る夏場などに期間限定で実験を組みました。サザンのR.F.L.Pでも血清との対応はつきましたがそれ以上の成果は余りなくその割には操作が大変でした。

ベ) まだPCRもなかったんですね。

兼) ええ、1987年になってPCRのペーパーが出てきました。何故僕らが比較的早くPCRを知ることができたかといえば、シータスのグループがH.L.AにPCRを応用したためです。H.L.Aに携わる人間にとってこれはラッキーな事でした。PCRをここでやり出してから白血病やガンの遺伝子

検査のセットアップなどをしていました。ですからH L Aを本腰を入れて始めたのは1990年頃からです。そのころすでにI Ithのプロトコールが木村先生によって書かれていました。1990年の終りに近畿H L A研究会があってその中でR D I Pの講習会と、どういふ方法が良いかを検討する検討会(ワークショップ)があって、僕はD R B Iの担当になったんです。そのためにペーパーを探し、アミノ酸から塩基配列を逆読みしたシーケンスのデータベースも自分で作りました。ですから現在の検査の原形は1991年頃のものです。

ベ) 森部さんはいつ頃?



森部さん

森) 僕は1992年に入社し、最初はC型肝炎をしていました。僕が卒業する頃「遺伝子診断」というのが言われ出したので臨床検査部に遺伝子診断関係の開発をするという

ことで入社したのですが、時代はすぐに遺伝子治療に移ってしまいました。その後1994年3月までH C Vの遺伝子の解析法の開発、改良をしていました。H C Vの仕事はペーパーになっています。ぼくは中学時代すでに「分子生物学」をやろうと決めていましたから。

ベ) 中学時代にですか?すごい!

森) そして大学に入る時、アフリカとかカンボジアでは深刻な食料難だったので、「今後必ず食料難の時代がやってくる。金を儲けるには食料だ!」と思って理学部生物学科に入学しました。

ベ) 人助けかと思ったら、金儲けでしたか。(笑い)

森) いやいや、人助けも出来るし、やはり食物育種かな?とにらんだんです。それで植物を専攻したんですけど、そういう時代は来なかったんですよ。でも現在一応遺伝子を扱う仕事をしているので「分子生物学をやる!」という大筋は外れていないと思います。道はずいぶん細くなっていますが...

ベ) 細くとは?

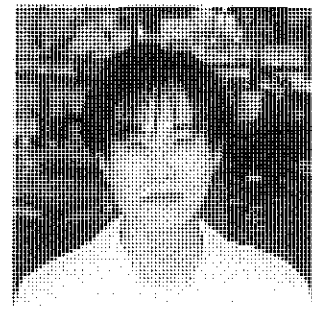
森) 最初は大通りを歩いていたつもりが、いつのまにか路地になっていた。(笑い)

ベ) 中谷さんの入社は?

中) 1990年に入社してからずっとH L Aです。

兼) この人はH L Aと日本酒一筋です。(笑い) 彼女は

ずっと血清をやっていたのですが、去年の1月からD N Aの担当になり、今はもうクラスIIは全部おまかせしています。よくやっていますよ。



中谷さん

ベ) 全てですか。大変

ですね。中谷さん、長年H L Aに携わって来られてのご苦労は?

中) ...

ベ) ご不満、ご苦労がない?不思議なラボですね。

中) 私の場合は常にでき上がったものを教えてもらってそのまま受け継いでやっているだけなので、そういう点で私は全く苦労していません。

兼) あるものを形だけ教えてもらっても、内容を理解してやっていなければ、過誤がおこったり...

森) それって誰かに向かって言ってますね?(笑い)

兼) 中谷さんは内容をちゃんと理解してこちらが動いて欲しいように動いてくれるし、中谷さんが血清とD N Aの両方のことをきちんと理解してくれていることが、うちでは大きいですね。「今最高のスタッフが揃っているな」という感じを持っています。人数も7~8人だと誰が何をやっているか見通せるし、丁度良い人数です。もう一つは東海大の猪子先生や県立西宮病院の福西先生、橋本先生などに色々ご指導を受けているという環境が後ろ盾にあることをとても感謝しています。僕らだけではここまで出来なかったです。H L A関係の方でなくてもおつきあひさせていただくことを良しとしてやってきましたので、期待に応えないといけないというプレッシャーは常に感じています。外とのおつきあひはうちのグループにとって厳しいけれどいい関係なんだと思います。共同研究も7~8ヶ所とやらせていただいているんです。現在それが出来るメンバーがいるからね。みんなそういう気概を持ってやっています。受けた検体に対し単にデータを出すだけではなく、基礎研究とか疾患との関連などその目的に合った周辺情報も提供していく、どうすれば社会のお役に立てるか、を常に考えてやっています。

ベ) ラボ設立時の趣旨が生きていますね。ところでお仕事に興味みたいな方々ですが自己紹介を兼ねてご趣味、今後の展望などお話しただけですか?

兼) 兼重です。血液型はA型、趣味はペーパーを書く

ことかな？

中) ウソー！

兼) 食べ歩き、飲み歩きと云ったところかな。おかげでブクブク太っていますが... (笑い) あとね、家族紹介ということではうちの嫁さんはDRが"1412"だったんですよ。残念ながら県西の橋本先生が見つけてペーパー出されたんですけど。セカンド・ネームで入っているのによしとしています。(笑い)

ベ) では森部さん

森) 森部です。血液型はB型、趣味はファミコンそれとシークエンスかな？

実はカッコ良くないけど僕はシークエンサー使っていないだよ。

ベ) ジャー、大変じゃないですか。

森) だからシークエンスが趣味だって...

ベ) やはり「仕事が趣味」の世界ですね。中谷さんは？

中) 中谷です。血液型はB型、趣味はピアノを習っています。初級ですけど。

森) そうそうピアノ、確か初級だったね。

中) 違います。黒帯です。(笑い)

ベ) 今後の展望は？

兼) 結婚はいいけれど、退職は許さないぞー。(笑い)

中) では、定年退職を目標にします。(笑い)

兼) 他の者も1段落したので、ご紹介します。

ベ) お疲れ様です。ただいま自己紹介を兼ねて皆さんのご趣味、今後の展望などお話をいただいているのですが。では村上さんからお願いいただけますか？

村) 中谷さんと同期ですが、1年前からHLAをやるようになりました。初めはトレーの判定が難しかったです。

ベ) もう慣れられましたか？

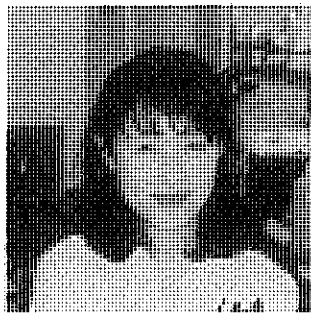
村) ちょっとだけ！ (笑い)

ベ) これからの目標は？

村) 取り敢えずは速くてきちんとしたデータを出していきたいです。

ベ) ご趣味は？

村) 旅行です。インドには何年かしたらもう一度行きたいです。



村上さん

ベ) インドですか、お腹はだいじょうぶでした？

村) 全然平気でした。

ベ) それは良かった。ところで血液型は？

村) 血液型はB型です。

ベ) 稲川さんは？

稲) 僕もB型です。

ベ) 稲川さんもBですが、このラボは兼重さんを除いて皆さんB型なんですね。そういえばHLAをやってらっしゃる方にはB型



稲川さん

が多いですよ。ところで入社されたのはいつですか？

稲) 1992年入社です。始めはHLAの血清を担当していました。

ベ) その頃のご苦労は？

稲) ないです。楽な人生を過ごさせていただいています。

ベ) ええーっどうしてですか？

稲) 最初から中谷さんがきちんと系を作って教えてくださいましたから。トレーもきちんとデータが得ますし。

ベ) 昨夜寝ないで考えてらしたって感じのお答えですね。(笑い) 現在は何を担当なさっているのですか？

稲) HLAではDNAのBの遺伝子です。Bは苦労の連続です。多すぎて...

ベ) ちょっとホッとしました。(笑い) これからの目標は？

稲) Bの完璧な系を作ることです。他の人がやってくればそれに越したことはないのですが。(笑い)

ベ) ご趣味はなんですか？

稲) 趣味は仕事です。

ベ) 本音は？

稲) 最近子育てに忙しくて趣味にあてる時間がなくて...

ベ) おいくつですか？

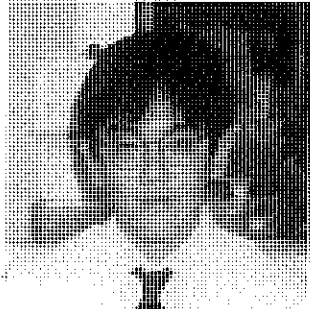
稲) 7ヶ月です。

ベ) ではお子さんがご趣味ということですね。

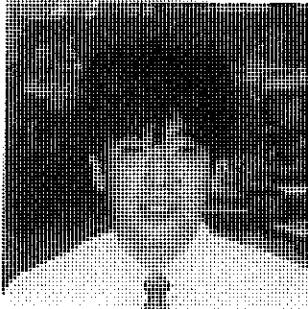
兼) 後の2人はHLAの担当ではないのですが。吉岡と、平松です。

吉) 吉岡です。T c e l l を主にやっています。僕もB型です。臆にならないようにガンバっています。

平) 平松です。ある疾患遺伝子の解析をやっています。



吉岡さん



平松さん

僕はO型です。迷惑をかけないように、と考えています。

ベ) お仕事をなさる上でのご苦労をおふたりにお伺いしたいのですが?

吉・平) 苦労はないです。(声をそろえて)

ベ) おふたりともですか? 昨日打ち合わせをなさったのでは?

皆) いえいえ。(笑い)

ベ) 皆さんご自分のお仕事にプライドを持ってなさってる

ということですね。

兼) 僕らが現意識しているのは「プロに徹しよう!」ということ。そういう意識を基調に仕事をしています。

ベ) 今日はありがとうございました。

人数の割には広いお部屋に機械・器具類がびっしり。きっと効率を考え、お1人でいくつものお仕事を並行してなさっておられる結果なのでしょう。当日敬意を表して下さって、男性の方には兼重さんより“ネクタイ着用令”がでていました。お氣遣いいただきありがとうございました。

アカデミックな雰囲気の中で、信頼し合い前向きにお仕事に取り組んでおられる姿に感銘を受けました。



HLAとこころ変われば



UCLA Tissue Typing Lab. 留学記

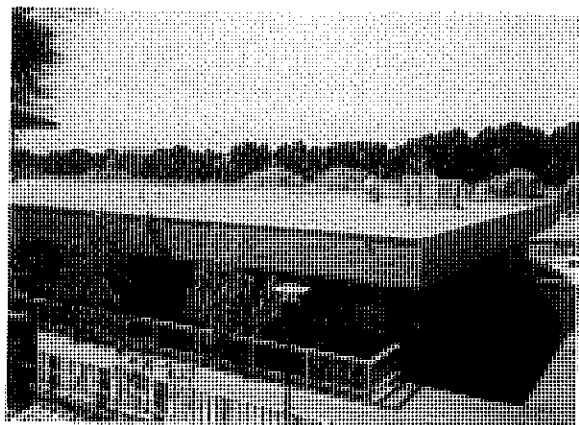
UCLA Tissue Typing Lab 秦 美暢

長蛇の列の入国審査を済ませると、どこまでも抜け
るように青いカリフォルニアの空が広がってしま
した.....実際にはスモッグで少しくすんでおりましたが。
現在、防衛医大検査部に大学院生として在籍しつつ関
口教授の紹介で一昨年10月よりUCLA Tissue Typing
Lab. に御世話になっております。

このラボについては今年3月の日本組織適合性学会誌
(MHC Vol.2 No.3)でも三石先生が紹介されてますので、
今回は友達に手紙でも書くつもりで御気楽な印象を述
べさせて頂きます。

このラボはすごいとは聞いておりましたが、留学し
てみるとやっぱりすごいと思いました。テラサキトレ
イという名前にもみられますように、現在の血清学的
HLAタイピング法を作られたTerasaki教授のもとで、
実にけた違いに大量のサンプルをタイピングしており
ます。また世界中のHLAラボとCell Exchangeを行い、
かつ全米の腎移植のデータを集積して毎年解析してい

るという、まさにHLAタイピングの総本山とも言えま
しょう。実際にこちらに来てみると、ラボ自体がいく
つもの建物に分かれていて一体何人の人が働いている
のかわからないくらい大きく(120人位でしたか)、タ

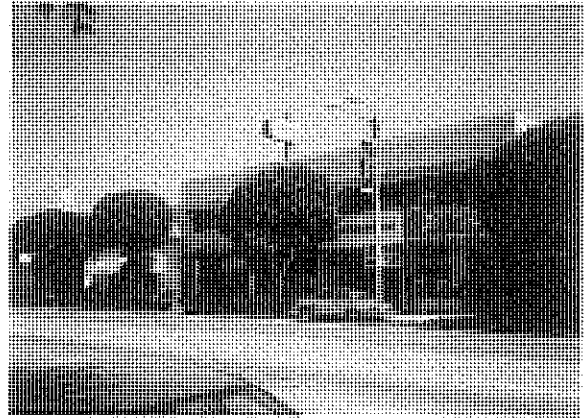


MARK TAPER Center
Terasaki教授以下、統計解析に携わる中心人物がこの建物にお
ります。セミナールームではセミナーやパーティーが開かれ、現在
ではASHI認定試験に向けてのテクニシャンの勉強会が毎週開か
れております。技術的なことにとどまらず統計や遺伝子の難しい
話まで実に幅広い素養が要求されているようです。

イピングの依頼も「昨日1000検体、今日も5000検体」という悲鳴が聞こえてくるほど集まってきます。こういう時にはラボ中の人々が検体処理に総動員されてバフイーコート採取やラベル貼りなどを一斉に行っております。自動化が進んでいるとはいえ、最後の鏡検はLambda Scanによる自動読み取りだけではなくタイパーの目による判定とのダブルチェックになっており、多いときには一人で一日100検体以上読まなければいけないという話を聞いております。また、腎移植では精度の高い血清学的タイピングで十分よい成績が得られている、とTerasaki教授が度々触れられておりますが、予想に反してこのラボではDNAタイピングも精力的に行われております。

私自身は先に触れました三石先生のグループでnon-classical class I分子の機能に関するリサーチに参加しています。このグループは三石先生のもと、3名のテクニシャン（全て女性、うち1名は以前防衛医大の泌尿器科で教務職員をしていた貴美子 Bibeeさん）および3名の留学生と、バイトの学生1名との総勢8名です。こじんまりした所帯ですが、三石先生の馬力に引っぱられて、class Iやclass IIのDNAタイピングやシークエンスの他、HLA-GやMICAなどnon-classical class I分子にも興味を持って精力的にリサーチを行っております。留学生の3名は、中国からのDr. Ping Ge（以前京都日赤にも数ヶ月間いたそうです）、そして日本からきた宮沢先生と私です。宮沢先生は歯科医ですが、歯科医が移植免疫をやってどうするんだと尋ねるTerasaki教授に「私はacademic dentistになりたいんです」と、意味不明のたんかをきって乗り込んできたつわものです。じつは彼は隣の整形外科のラボに留学していたのですが、三石先生のグループにいつしか巻き込まれてしまっていたのでした。名言にたがわず連日深夜まで頑張っており、こちらもついつい遅れが溜まり、よい結果が出たときには街で乾杯して更に帰宅が遅くなる、という学生時代のような暮らしをして家族のひんしゅくをかけております。この秋にも日本からまた2名いらっしゃるそうで、楽しみにしております。

ラボ全体を見渡して見ますと、血清学やDNAによるタイピングの他にも、FACSやELISAあるいはNK assayなどグループ単位で様々なことが行なわれており、妙にテラサキトレイが活用されているのが目立ちました。しかし、実際に利用してみると実に便利なものであると今更ながら感心しております。ボスに御世辞を言っているようで気恥ずかしいのですが、ELISAにせよNK



Gayley Building

一階は一般店舗が入っておりますが、二階にBone Marrowラボがあり、ここで数千単位の検体処理が行なわれております。遠くに見える塔はFoxの映画館で、この付近は治安もよく、夜中まで学生達が歩き回っております。

assayにせよ、量が10分の1以下ですむむということは、検体量だけでなく試薬代も10分の1ということでも助かります。自分の血液を頻繁に抜いて実験をしておりますので、テラサキトレイがなかったら今ごろ失血死していたでしょう。

あと気が付いたことといえば、インターネットがあたりまえのように普及していることと、ポリスが頻繁に巡回していることです。研究室だけでなく学生寮にもインターネット用のケーブルが引かれており、「安い試薬を誰か知ませんか？」と聞いてみたり共同研究の申し込みをしたりと、その便利さにはカルチャーショックを受けました。ちなみに私のE-mailはyhata@ucla.eduですので、私でよろしければ一度ひやかして見てください。そしてポリスですが、大学の中に警察署(Campus Police)があるのには驚きました。夜中にぐるぐると巡回しており、ラボに入ろうとした留学生がいきなり後ろからはがいじめにされたとも聞きます。私ではありません。私はやはり夜中に入ろうとして警察犬に押し倒されただけです。なかなかこわかったです。

最後に、過去幾多の大先輩方が訪れて来られたこの建物の写真を御紹介させて頂いて私の留学記も終わりとさせて頂きます。学問の香りに乏しい内容で申し分けありませんでした。では、今後ともよろしく御願ひ致します。



Rehabilitation Center

地階に三石先生のDNAラボ、一階に別のDNAラボやB cellラボ、Flowラボなどがあります。地階出口前には木と芝生が広がり、昼食は青空の下でピクニック気分でお食事をしております。

Dear everybody of Kyoto Red Cross and Kyoto Red Cross Blood Center

Kyoto is a very nice place and I really enjoy the time I spend in Kyoto. Your hard working and kindness give me a lot of memory and experience. I wish everybody good luck!

Geo Ping

苗 平

Sept. 17 1996

Los Angeles

Message from Dr. Ping

現在同じグループに所属していますDr. Pingより、以前御世話になった京都日赤の皆様へと御手紙を御預かりしました。この場を勝手に御借りして御紹介させて頂きました。

テクニック チップ

Dynabeads DNA DIRECT システムII らくらく使用体験

東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門 成瀬 妙子

[Dynabeads DNA DIRECTの歴史]

ビーズ大好きこのなるせは"ビーズでDNAが取れたらいいなー、RNAは取れるんだから..."とわけの解らないことを考えていたらホントに出てきたのが初代のDNA DIRECTでした。ととても画期的で楽でしたが、正直言って回収率はよくなかったのです。次に出た"Large Scale"は格段に進化してお気に入りになりました。でもいつの間にか商品名が"Dynabeads DNA DIRECT system II"に変更されていたことに気づかず使用していました！使ってみるとほんとにらく。さっそくいってみよー

[使い方]

以下の解説を視覚的にとらえたい方は、KAMON No.8の裏表紙をご覧ください。抽出法は1.血液を溶解する, 2.Dynabeadsを加える, 3.洗浄. ととてもシンプルです。しかしこれで終わると私の人となりになってしまうので、各ステップごとのポイントを加えて解説したいと思います。

1. **血漿は古い方がいい...**まず、2mlチューブ(底が丸い方がいい)によく混和した全血100 μ lを分注する。そこに添付のRed Cell Lysis Buffer (5 \times で供給されているので、1 \times に希釈する)1mlを加えて、赤血球層が完全

に溶血するまでゆっくり混和する。古い血液はすでに溶血が始まっているので、即時に出来るが、新鮮な血液は注意深く、3分間ぐらいは混和した方が賢明。その後12000gで1分間遠心して上清を一気に捨てる。

2. **ビーズにやさしく攪拌する...**ペレットに200 μ lのDynabeads DNA Directを加えて静かに混和する。いつものことながら、結合されたその時からビーズの気持ちになって、折角つかんだ相手を無理やり引き離すことのないよう、いたわってあげよう。間違ってもここから先はボルテックスなどかけないように。ペレットの姿が見えないところまで溶解したら、室温で5分間静置する。

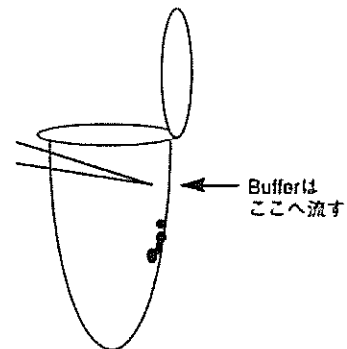


図 Washing Bufferの使い方

3.磁石はMPC-Qがいい...チューブを磁石にセットして、ビーズを集める。このときの磁石はMPC-Qがよいが、その理由はまた後ほど説明する。約30秒程でビーズが集結するので、変性蛋白を含んだ上清をチップでいねいに取り除く。磁石からチューブをはずし、1mlのWashing Buffer (10×で供給されているので、1×に希釈する)を加えてリンスする。この操作を3回行い、最後に添付Bufferまたは滅菌水に溶解すると、約100回分のDNAが得られる。

[回収率を上げるには]

上記のように誰でも簡単に、短時間で高純度の高分子DNAが精製できます。が、以下のポイントを知っておくとさらに回収率がアップするでしょう。

その1. MPC-Qはなぜよいか

MPC-Qの他に従来より使用しているMPC-E(チューブ1本立て)も使用することができるが、回収率はMPC-Qの方が高い。実際にどのくらい高くなるかというと、表の通りである。MPC-Eの場合は1.5mlチューブを使用するが底が平坦であるため、ペレットにビーズを加えた際の混和、結合の効率が下がるらしい。

その2. Washing Bufferの加え方

なにげなくやっている方も多いと思うが、結合後のビーズの洗浄の仕方にはコツがある。上清を取り除いた後に磁石からチューブをはずすと、ビーズはチューブの壁面に集合している。ここにBufferを加えるとき、ビーズの2~3mm上部にチップの先端を付けて静かに注入することでBufferの勢いを弱め、物理的な力が加わらなくなり、回収率アップにつながる(図参照)。

【もう一言】

なぜ私が一連のDynabeads製品を愛用しているかと言うと、ビーズで得られた試料は高純度であるからです。こうして得られたDNAでPCRを行うと、非特異的な増幅バンドのほとんど無い、美しい増幅産物が得られます。PCR-RFLP法やPCR-SSCP法ではいかに非特異的なバンドの出現を抑えるかにより判定がすこぶる容易になるので、この方法がおすすめです。精製時間は12分ですが、比較的短時間で抽出が行える方法の中では、私が使用した中で最も純度が高い方法でした。

こうるさい様ですが、最後に一言だけ、"PCRに使用する時はくれぐれもサスペンドをお忘れなく!(ごていねいに遠心にてビーズを洗めて使用した奴がいた...)

表 Dynabeads DNA DIRECT™ Large Scaleキットで得られた高分子DNA量の比較

磁石の違い(MPC-E, MPC-Q)による回収量の検討
(値は50μlの添付バッファーに溶解して測定し、3回の平均値を比較)

No.	1.5mlチューブ+MPC-E		2.0mlチューブ+MPC-Q	
	DNA濃度(ng/μl)	回収量(μg)	DNA濃度(ng/μl)	回収量(μg)
1	48.5	2.425	80.0	4.000
2	59.3	2.965	72.8	3.640
3	54.8	2.740	61.6	3.080
4	46.9	2.345	72.8	3.640
5	62.3	3.115	76.8	3.840

