

## 〔最新情報：“玉手箱”〕

## 臍帯血細胞移植療法

西平 浩一

神奈川県立こども医療センター，腫瘍科

## 要約

臍帯血の幹細胞を利用した造血幹細胞移植療法につき概説した。臍帯血細胞移植は分娩後の胎盤臍帯より採取した臍帯血の幹細胞を骨髄細胞の代わりに使用する。一つの胎盤より採取される幹細胞数は体重が20-30kgの小児の骨髄再生に必要な量が得られる。欧米では同胞間および臍帯血バンクを利用した非血縁者で約150例に移植されて、骨髄移植とほぼ同等の成績である。GVHDはきわめて少なく、2 locus mismatchedでも致死的なGVHDは発生してない。本来廃棄処分していたものを利用するので提供者の負担は全くない。われわれも急性白血病の3歳児の同胞間での臍帯血細胞移植に成功し、また神奈川臍帯血バンクも設立し臍帯血を保存している。臍帯血細胞移植は今後幹細胞移植の分野で重要な手段となるであろう。

キーワード：臍帯血，造血幹細胞，胎盤，臍帯血細胞移植，骨髄移植

## はじめに

骨髄移植に代表される造血幹細胞移植療法(以下幹細胞移植)は造血幹細胞を移植し生着させることである(1,2)。同種骨髄移植は白血病，再生不良性貧血などの難治性血液疾患，先天性代謝異常，一部の悪性固形腫瘍等の治療手段の一つとしてその有効性は広く認められている。従来，幹細胞移植の種類はその幹細胞の供給源によって骨髄移植(同種および自家)，自家末梢血幹細胞移植が知られていた。

最近，造血幹細胞の新しい供給源として『へその緒』の血液(臍帯血)にある幹細胞が注目されている。そして臍帯血を骨髄血の代わりに使用した骨髄移植，すなわち臍帯血細胞移植によって白血病や再生不良性貧血などの治療が可能になっている(3~6)。

わが国では1995年12月現在，神奈川県立こども医療センター(3)，東海大学などの数施設で7人の患者に臍帯血細胞移植が実施されている。欧米ではすでに150人以上に実施されており，成功例も増加しています。

そこで臍帯血中の造血幹細胞を利用した移植療法

の有用性，臍帯血バンクの設立の必要性などにつき概説いたします。

## 1. 臍帯血細胞移植療法とは

臍帯血は臍帯の血管の中にある血液であり生直後の新生児末梢血液と同じである。臍帯の血管は胎盤とつながっているため胎盤には臍帯血が含まれています。移植に利用するのは『へその緒』を切ったあと胎盤に残っている臍帯血である。胎盤は分娩後は不要のものであり，廃棄処分されている。しかし，その胎盤に残っている臍帯血を採取し，それに含まれる幹細胞を移植して骨髄造血機能を再生させるのが臍帯血細胞移植療法である。そこで，まず臍帯血が骨髄血の代わりになる理由を述べる。

一般に幹細胞移植療法に際しては移植する幹細胞の質的および量的なことが重要である。臍帯血には増殖能の高い幹細胞が多数あること，量的な面では骨髄ほど多量に採取できないが，一つの胎盤臍帯血管から小児の移植に足りる幹細胞数が採取可能であることがその理由である。以後，その詳細を解説す

ることとします。

幹細胞の種類にはすべての血液細胞(白血球, 赤血球, 血小板)を産生する能力を有する多能性幹細胞や分化の方向が決定されていて1種類の血液細胞たとえば, 顆粒球あるいは赤血球だけしか産生しない単能性幹細胞までさまざまな段階の幹細胞が存在することはよく知られたことである。幹細胞移植では多能性幹細胞が最も重要であるが, この種の細胞は同定することが困難で, 臨床の実際面ではその数を算定して移植を行うまでには至っていない。そのため現段階では試験管内で幹細胞を培養し, 幹細胞コロニー形成法による顆粒球系幹細胞コロニー(CFU-GM: Colony Forming Unit-Granulocyte, Macrophage), 赤血球系幹細胞コロニー(BFU-E: Burst Forming Unit-Erythroid), 巨核球系幹細胞コロニー(CFU-MK: Colony Forming Unit-Megakaryocyte), 混合コロニー(CFU-mix)の数を算定し, 特にCFU-GM数が標準的指標にして移植が成功するだけの幹細胞があることを確認している。そこで臍帯血と骨髄血の中のこれら幹細胞数や幹細胞の質的な違いをコロニー形成法で比較検討した成績を述べる。

## 2. 臍帯血の造血幹細胞の特徴

臍帯血幹細胞は骨髄の幹細胞より質的に優れており増殖能力が高い。

### 2.1. 幹細胞コロニー形成法による検討

幹細胞コロニー形成法により検討した臍帯血幹細胞の特徴は小児や成人の骨髄それに比較し増殖能が著しく高いことである(6, 11)。われわれの検討した成績の概要は次のようである(6)。コロニー形成法はメチルセルロース法で, コロニー形成刺激因子としてG-CSF, エリスロポエチン, インターロイキン-3(IL-3), Stem cell factor(SCF)を使用した。臍帯血は娩出直後の胎盤臍帯血管より採取した。対象とした骨髄は血液学的に異常のない検体である。図1に培養して2週間後, 臍帯血および骨髄血の幹細胞に由来するコロニー(血液細胞の集団)の位相差顕微鏡写真を示した。図で明らかなように臍帯血由来コロニーは骨髄のそれに比較して, 著しく大きなものが多数を占めており, 顕微鏡を使用しなくてもコロニーの種類がほぼ区別できるほどである。これらのことは増殖能の高い幹細胞が多数存在していることを示唆している。

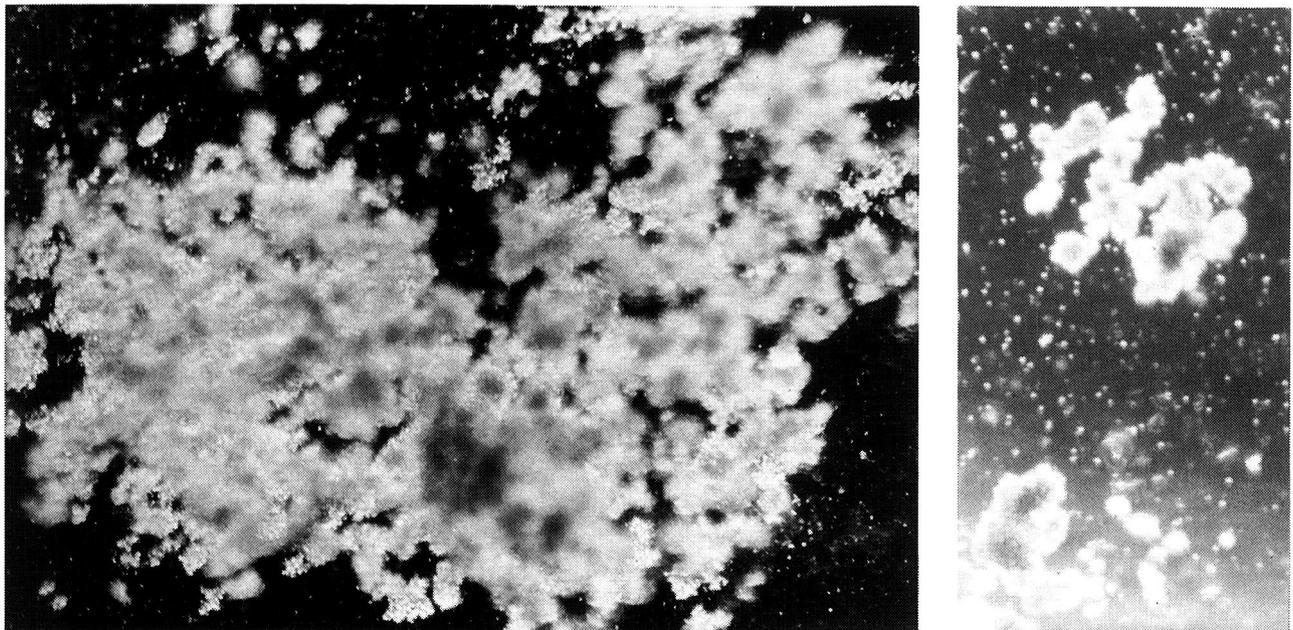


図1 赤血球コロニーの位相差顕微鏡写真  
(Original magnification,  $\times 40$ )  
左: 臍帯血由来; 右: 骨髄由来

## 2.2. 液体培養による幹細胞数の増加率

以上のことを量的に示すために試験管内でインターロイキン-3を添加した液体培養による幹細胞数の増加率につき臍帯血、骨髄を検討したわれわれの成績では、臍帯血では増加率は4.6倍から22.7倍、平均10.7倍であった。一方、骨髄では平均2.6倍であり、臍帯血の幹細胞は成人骨髄の幹細胞よりも約4倍高い増殖能がみられた。その他、国内外の多数の報告でも臍帯血には増殖能の高い未分化な細胞が多く、長期培養が可能で、量的ならびに質的に骨髄よりも幹細胞の供給源として優れていることが述べられている。臍帯血と骨髄細胞を液体培養で比較検討した実験成績では、臍帯血では3カ月以上も顆粒球の増殖がみられたが成人の骨髄や末梢血では2-3週後は増殖がみられなくなったとの報告、臍帯血では液体培養6週後も未分化な幹細胞コロニーをはじめ各種コロニーが検出されたとの報告もある。

このように臍帯血には骨髄に比し増殖能の高い未分化な幹細胞が多数存在していることは移植する細胞数が少なくても移植が成功する可能性が高いことを示唆しており、幹細胞移植に利用するに極めて有利なことである。

以上、幹細胞の質的な面で骨髄より優れていることを述べた。次に幹細胞の量的問題を述べる。

## 3. 臍帯血の幹細胞の密度

臍帯血には成人の末梢血液に比較して幹細胞数は著しく増加していることは以前から知られていた。われわれは18年前に在胎週数の少ない未熟児の臍帯血には成人の約100倍高い濃度で幹細胞が存在することを報告した。最近われわれは在胎週数別の臍帯血の1 ml中に含まれるCFU-GM, BFU-E, CFU-mixの数を検討した結果、在胎週数と相関関係がみられること、また多量の幹細胞が存在しており、臨床的に幹細胞移植への応用が可能であることが明らかになりました(4,7,10)。また、巨核球コロニーも多量に存在していることがrecombinant thrombopoietinを使用した培養方法で明らかになっている(18)。

## 4. 臍帯血の採取法と移植に必要な幹細胞の採取法

これまで述べたように臍帯血の幹細胞は増殖能が著しく高く幹細胞が質的に優れていること、ある一定量の血液中に存在する幹細胞数は成人末梢血液の50-100倍、骨髄移植のとき使用する骨髄血の5-10倍高い密度であることを述べました。しかし、分娩後の胎盤から採取できる臍帯血の血液量は限られているので採取方法を工夫する必要がある。次にわれわれの行っている採取方法を示す。

### 4.1. 胎盤から臍帯血を効率よく採取する方法

臍帯血採取は図2に示した臍帯血採取セットを使用して行った。すなわち、新生児が出産後、臍帯が切断され、次いで胎盤が娩出します。胎盤が出て来たなるべく早く臍帯血の採取を行うことがもっとも重要なことです。胎盤全体を10%イソジン液で消毒し、臍帯の血管にある血液を胎盤の方へ戻し、胎盤に近い部位で臍帯を切断します。臍帯を縛るのは通常分娩と同様に行い、臍帯静脈に7Frのカテーテルを挿入する。抗凝固剤(ACD液)の入った注射器をカテーテルに接続し血液を吸引して採血バックに入れる。これらの採取過程はすべて無菌操作が必要である(9)。

### 4.2. 採取可能な臍帯血液量

#### 4.2.1. 採取された血液量

検討された50個の胎盤では採取できた臍帯血の血液量は30mlから240mlで中央値80mlでありました。有核細胞総数は $1.5-11.6 \times 10^8$ (中央値  $4.15 \times 10^8$ )であった。

#### 4.2.2. 採取された臍帯血幹細胞総数(7)

一つの胎盤から一人の患者の移植に必要な幹細胞が採取可能か否かにつき、胎盤30検体を対象に検討したわれわれの結果を示す。幹細胞数はCFU-GM, BFU-E, CFU-mixの各コロニー数で示した。表1に示したようにCFU-GM数は $1.5 \times 10^5-33.1 \times 10^5$ (median  $5.3 \times 10^5$ )であり、BFU-E数は $1.1 \times 10^5-22.7 \times 10^5$ (median  $5.7 \times 10^5$ )、CFU-mixは $0.15 \times 10^5-2.7 \times 10^5$ (median  $0.72 \times 10^5$ )であった。

すでに多数例について臍帯血細胞移植を実施している Broxmeyer ら(4)の報告では採取されたCFU-

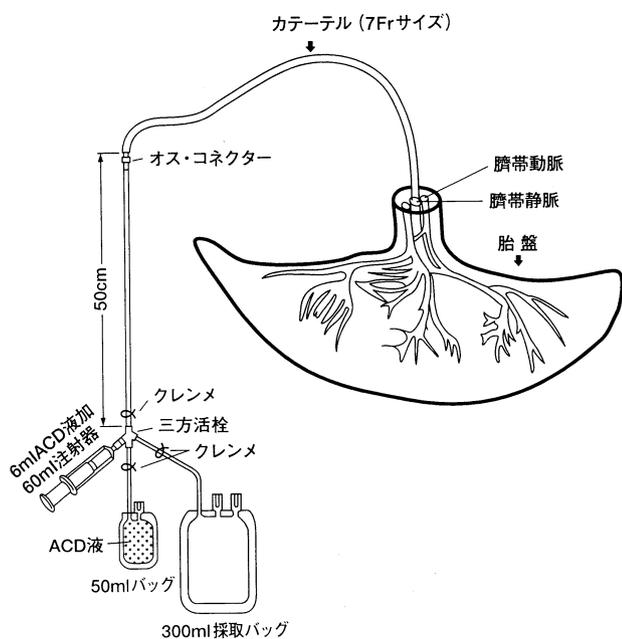


図2 胎盤臍帯血採取法  
(神奈川県立ごとも医療センター方式)

GM コロニー数は平均  $2.4 \times 10^5$ であったので、これとほぼ同程度の採取量であった。

### 5. 幹細胞移植療法に必要な幹細胞数

これまで報告されている臍帯血細胞移植例では移植に必要な CFU-GM 数は体重あたり  $2 \times 10^4$  コ/kg が標準的な数とされている (8)。したがって、今回のわれわれの採取量は体重 20-30kg 以下の患者に対しては移植に必要な幹細胞は得られたと思われる。すでに一般に行われている同種骨髄移植や末梢血幹細胞移植では CFU-GM 数は  $10^5$ /kg が必要とされているので、臍帯血幹細胞移植ではその 5分のまたは10分の1で足りることになる。また、有核細胞数で比較しても同種骨髄移植の  $3 \times 10^8$ /kg に対し、臍帯血では  $4 \times 10^7$ /kg と約10分の1で生着している。このように、小児期における幹細胞移植の対象となる患者では臍帯血でも十分骨髄再構築が可能と思われる。

### 6. 臍帯血幹細胞移植の現状

Gluckman ら (5) は 1988 年に臍帯血幹細胞移植を行った。症例は 5 歳の男児、疾患は Fanconi 貧血、

表1 胎盤臍帯より採取可能幹細胞総数

CB	NCC	Total Number of Colonies		
		CFU-GM	BFU-E	CFU-mix
1.	$3.4 \times 10^8$	$3.5 \times 10^5$	$4.6 \times 10^5$	$0.55 \times 10^5$
2.	$2.4 \times 10^8$	$3.1 \times 10^5$	$1.1 \times 10^5$	$0.34 \times 10^5$
3.	$1.8 \times 10^8$	$4.9 \times 10^5$	$6.8 \times 10^5$	$0.71 \times 10^5$
4.	$10.8 \times 10^8$	$33.1 \times 10^5$	$20.5 \times 10^5$	$2.7 \times 10^5$
5.	$7.6 \times 10^8$	$14.9 \times 10^5$	$11.9 \times 10^5$	$1.07 \times 10^5$
6.	$1.3 \times 10^8$	$11.5 \times 10^5$	$22.7 \times 10^5$	$2.38 \times 10^5$
7.	$3.2 \times 10^8$	$5.9 \times 10^5$	$7.0 \times 10^5$	$0.56 \times 10^5$
8.	$3.6 \times 10^8$	$2.9 \times 10^5$	$1.2 \times 10^5$	$0.15 \times 10^5$
9.	$2.5 \times 10^8$	$1.5 \times 10^5$	$1.7 \times 10^5$	$0.23 \times 10^5$
10.	$5.6 \times 10^8$	$5.6 \times 10^5$	$3.0 \times 10^5$	$0.73 \times 10^5$
11.	$6.5 \times 10^8$	$2.2 \times 10^5$	$1.7 \times 10^5$	$0.31 \times 10^5$
12.	$4.5 \times 10^8$	$2.5 \times 10^5$	$3.5 \times 10^5$	$0.58 \times 10^5$
13.	$9.2 \times 10^8$	$10.2 \times 10^5$	$9.4 \times 10^5$	$1.50 \times 10^5$
14.	$8.1 \times 10^8$	$4.1 \times 10^5$	$3.8 \times 10^5$	$0.40 \times 10^5$
15.	$9.8 \times 10^8$	$5.3 \times 10^5$	$4.1 \times 10^5$	$0.50 \times 10^5$
16.	$2.3 \times 10^8$	$1.5 \times 10^5$	$2.2 \times 10^5$	$0.35 \times 10^5$
17.	$4.0 \times 10^8$	$1.8 \times 10^5$	$4.0 \times 10^5$	$0.65 \times 10^5$
18.	$13.0 \times 10^8$	$13.5 \times 10^5$	$11.2 \times 10^5$	$4.80 \times 10^5$
19.	$4.6 \times 10^8$	$2.9 \times 10^5$	$4.1 \times 10^5$	$0.64 \times 10^5$
20.	$4.8 \times 10^8$	$0.8 \times 10^5$	$1.4 \times 10^5$	$0.24 \times 10^5$
21.	$11.5 \times 10^8$	$6.4 \times 10^5$	$8.1 \times 10^5$	$4.95 \times 10^5$
22.	$9.6 \times 10^8$	$3.0 \times 10^5$	$4.1 \times 10^5$	$1.70 \times 10^5$
23.	$7.4 \times 10^8$	$6.7 \times 10^5$	$5.8 \times 10^5$	$2.07 \times 10^5$
24.	$9.7 \times 10^8$	$5.4 \times 10^5$	$7.3 \times 10^5$	$3.00 \times 10^5$
25.	$12.4 \times 10^8$	$11.7 \times 10^5$	$9.6 \times 10^5$	$3.94 \times 10^5$
26.	$1.6 \times 10^8$	$2.3 \times 10^5$	$1.7 \times 10^5$	$0.51 \times 10^5$
27.	$9.8 \times 10^8$	$3.3 \times 10^5$	$5.4 \times 10^5$	$1.90 \times 10^5$
28.	$16.3 \times 10^8$	$28.2 \times 10^5$	$35.1 \times 10^5$	$7.23 \times 10^5$
29.	$5.0 \times 10^8$	$5.2 \times 10^5$	$3.1 \times 10^5$	$1.30 \times 10^5$
30.	$19.2 \times 10^8$	$11.8 \times 10^5$	$5.4 \times 10^5$	$4.30 \times 10^5$
Range	1.3~19.2 $\times 10^8$	0.8~33.1 $\times 10^5$	1.2~35.1 $\times 10^5$	0.15~7.23 $\times 10^5$
Median	$5.2 \times 10^8$	$4.5 \times 10^5$	$4.1 \times 10^5$	$0.57 \times 10^5$

CB:placental cord blood, NCC:nucleated cell count

妹の臍帯血幹細胞を移植し生着が得られ、血も治癒している。その後、臍帯血幹細胞移植の症例は増加し、1995年9月までに欧米では同胞間および非血縁者間移植は150例以上に達している。臍帯血のドナーが同胞であった44例に関する Wagner らの成績は次のとおりである (8)。移植を受けた患者の年齢は8カ月から16歳であり、対象疾患は白血病などの小児がん25例、再生不良性貧血、先天性免疫不全など非腫瘍性疾患19例であった。患者の体重は7kg-50kg、臍帯血と移植を受けた患者の HLA の一致例は34例、不一致例10例であった。移植された臍帯血の血液量は42-282ml(中央値100ml)、有核細胞数は  $1 \times 10^7$ - $33 \times 10^7$ /kg(中央値  $5.2 \times 10^7$ /kg)であり、移植 CFU-GM 数は中央値  $2.42 \times 10^4$ /kg であった。移植幹細胞生着率は約80%であった。好中球数 500/ul 以上に達した日数は中央値22日(12-46日)であり、血小板50,000/ul 以上に達した日数は中央値49日(15-117日)であった。急性 GVHD(grade II-IV)は3%にみられ極めて少なかった。生存率は1

年6カ月の時点で62%であった。死因は原病再発がもっとも多かった。HLAが半分しか一致してない(haplo-identical)臍帯血を移植して生着したとの報告もある(13, 14)。このように、HLAが一致しなくても、致死的なGVHDは現在のところみられていない。これらの報告から臍帯血幹細胞移植は骨髄移植に比較して移植有核細胞数は5分の1から10分の1で生着が得られており、またHLAは一部不適合でも致死的なGVHDは発生は少ないなどの有利な点がある。

## 7. 臍帯血幹細胞移植の利点と欠点

### 7.1. 利点：

- 1) 臍帯血採取は簡単で危険がまったくなく、提供者にたいする負担がない。
- 2) 移植に使用する細胞は凍結保存してあるので、必要なときにすぐに使用できる。
- 3) HLAが完全に一致しない移植でもGVHDが少ない。
- 4) 未分化な幹細胞数の密度が高く、少量の臍帯血(体重1kg当たり3-5ml)で移植が成功する。

### 7.2. 欠点：

- 1) 採取量に限度があり、体重30-40kg程度までの患者にしか移植できない。
- 2) 分娩の時間は決まってないので、臍帯血を採取するスタッフの確保がやや困難である。
- 3) 細胞保存のための費用がかかる。

## 8. 臍帯血バンク

これまで述べたように小児の同胞間では臍帯血幹細胞移植は骨髄移植に劣らない成績が得られている。そこで、次の段階として臍帯血幹細胞バンクを設立し、非血縁者間でも臍帯血幹細胞を利用した移植が可能になるようなシステムが出来れば、骨髄バンクのドナー不足をある程度解消できるものと思われる。欧米では臍帯血バンクを利用した移植が開始されている(15~17)。米国では約5億円の研究費用を政府が拠出しニューヨーク血液センターのRubinstein博士ら中心になり臍帯血を保存している。ヨーロッパではパリのGluckman教授らが中心

になりEUROCORDと呼ばれる臍帯血バンクを設立した。これら臍帯血バンクを利用した非血縁者間の移植はすでに90例に達し成果を上げている。

## 9. 神奈川臍帯血バンクの設立

平成7年9月に神奈川県立こども医療センター、横浜市立大学、横浜市立愛児センター、昭和大学藤が丘病院、神奈川赤十字血液センターなどが中心になり神奈川臍帯血バンクを設立し、臍帯血の保存を開始し非血縁者間でも臍帯血幹細胞移植が出来るように計画している。これを設立するには多くの解決しなければならない問題があり、特に保存、血液検査(HLAなど)に必要とする経費がもっとも大きなことである。これは国、地方自治体など公的資金の援助が是非とも必要である。臍帯血を実際に採取するスタッフも問題である。これには産科医の理解と協力が必須条件である。これらの問題が解決出来たら、本邦では1年に約100万件の分娩があるので、その10分の1でも臍帯血が採取でき、保存システムが整備されたら、小児で幹細胞移植を必要としている患者の大部分のドナーの代わりを臍帯血で充足するものと思われる。現在すでに機能している骨髄バンクと連携することにより、造血幹細胞移植療法はさらに完全なものになるものと思われる。したがって今後、臍帯血細胞移植は幹細胞移植療法の分野で重要な地位を占めるものとおもわれる。

## 参考文献

- 1) Thomas ED, Storb R, Clift RA, *et al.* : Bone marrow transplantation. *N. Engl. J. Med.* **292** : 832, 1975.
- 2) 西平浩一, 気賀沢寿人, 鈴木信寛ら : 小児がんおよび血液疾患に対する骨髄移植の経験. *日小血会誌* **1** : 112, 1987.
- 3) 大沼圭, 豊田恭徳, 西平浩一ら : 臍帯血幹細胞移植を施行した急性前骨髄球性白血病の一例. 第18回日本骨髄移植研究会抄録, 1996 ; p.89.
- 4) Broxmeyer HE, Douglas GW, Hangoc G, *et al.* : Human umbilical cord blood as a potential source of transplantable hematopoietic stem/progenitor cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*

- USA 86 : 3828-3832, 1989.
- 5) Gluckman E, Broxmeyer HE, Auerbach AD, *et al.* : Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N. Engl. J. Med.* **321** : 1174, 1989.
  - 6) 西平浩一, 本多康次郎, 豊田恭徳 : 臍帯血幹細胞移植療法および臍帯血幹細胞バンク. 今日の移植 **7** : 451-460, 1994.
  - 7) 西平浩一, 本多康次郎, 豊田恭徳ら : 臍帯血幹細胞移植療法に関する研究—胎盤臍帯血より採取可能な造血幹細胞総数について. 日本小児血液学会雑誌 **9** : 13-17, 1995.
  - 8) Wagner JE, Ernán NA, Steinbuch M, *et al.* : Allogeneic sibling umbilical-cord-blood transplantation in children with malignant and non-malignant disease. *Lancet* **346** : 214-219, 1995.
  - 9) 西平浩一, 豊田恭徳, 本多康次郎 : 臍帯血幹細胞移植ならびに末梢血幹細胞移植. 小児科 **36** : 329-338, 1995.
  - 10) 西平浩一, 豊田恭徳 : 在胎週数別の新生児末梢血液および臍帯血の造血幹細胞数ならびに増殖能に関する検討. 日小血会誌 **7** : 558-563, 1993.
  - 11) Nishihira H, Kigasawa H : Growth of human erythroid and erythro-granulocytic colonies in culture without addition of exogenous erythropoietin. *Br. J. Haematol.* **49** : 563-567, 1981.
  - 12) Wagner JE, Kernan NA, Broxmeyer HE, *et al.* : Allogeneic umbilical cord blood transplantation: Report of results in 26 patients. *Blood* **82**(Suppl. 1) : 86a, 1993.
  - 13) Kurtzberg J, Miller S, Ciocci G, *et al.* : Haploidentical transplantation of umbilical cord blood mononuclear cells in a pediatric patient. *Blood* **82**(Suppl. 1) : 634a, 1993.
  - 14) Jouet JP, Noel MP, Facon T, *et al.* : Haploidentical familial cord blood transplantation in a case of refractory acute lymphoblastic leukemia. *Blood* **86**(Suppl 1) : 3790, 1995.
  - 15) Stone R : Banking on umbilical cords. *Science* **257** : 615-616, 1992.
  - 16) Gluckman E, Devergle A, Thierry D, *et al.* : Clinical applications of stem cell transfusion from cord blood and rationale for cord blood banking. *Bone Marrow Transplantation* **9** (Suppl. 1) : 114-117, 1992.
  - 17) Kurtzberg J, Laughlin M, Olsen SJ, *et al.* : Umbilical cord blood : An alternative source of hemopoietic stem cells for bone marrow reconstitution in unrelated donor. *Blood* **86** (Suppl 1) : 1147, 1995.
  - 18) Nishihira H, Toyoda Y, Miyazaki A, *et al.* : Growth of macroscopic human megakaryocyte colony from cord blood in culture with recombinant human thrombopoietin and the effects of gestational age on frequency of colonies. *Brit. J. Haematol.* **92** : 1996 (in press).

## 〔最新情報：“玉手箱”〕

## 最新アリル情報

小林 賢

防衛医科大学校, 検査部

## 1. はじめに

前号では、1995年の命名委員会が発表したHLA命名表などを掲載した(1)。今回は、前号の原稿を書き上げた直後にクラスIおよびクラスIIのDNA塩基配列がTissue Antigensに掲載された(2)ので、それに基づいてDR-Bについての塩基配列を載せることにした。

## 2. 塩基配列の訂正

以前に発表されたclass II塩基配列(3,4)でミスが判明したものの[DQA1\*01021 (DQA1\*0102), DQA1\*0302, DQA1\*05013, DQB1\*06011, DPA1\*02011 (DPA1\*0201)]については修正がなされている。表1にその訂正箇所を示す。

表1. 塩基配列の訂正

アリル	コドン	旧	新
DQA1*01021	134	GAT	GGT
	157	CTT	CTC
	158	CCC	CCT
DQA1*0302	7	CAC	CAT
DQA1*05013	201	GGA	GGG
DQB1*06011	51	ACC	ACG
DPA1*0201	228	ACC	CCC

## 3. 塩基配列およびアミノ酸配列のファイル入手方法

Tissue Antigensに掲載された塩基配列については、インターネットを利用することによりHLA領域の塩基配列およびアミノ酸配列(class I, class

II, TAP)をコンピューターファイル(テキストファイル)として入手することができる。インターネットにアクセスしてファイルをコンピューターに得る(get)には次のような2つの方法がある。

## 3.1. FTP (File Transfer Protocol) と呼ばれるプロトコルを使用する方法

マッキントッシュコンピューターを例にすると、各施設でインターネットに接続している場合には、もっとも一般的なFTPツールであるFetchというアプリケーションをダブルクリックして立ちあげる。これはフリーソフトであるので、インターネット関係の書籍に付属したCD-ROMに収録されているので簡単に入手できる。Fetchが立ち上がると、図1のウィンドウが表示される。続いて、Host欄に“ftp.ebi.ac.uk”と入力し、次にDirectory欄に“/pub/databases/hla”と入力する。なお、User IDは“anonymous”のままにしておく。またPasswordは自分のアドレスをフルに入力する。最後にOKをクリックすると、図1の上を示したウィンドウに転送できるファイル名が表示される。目的としたファイルをクリックし、“Get file...”をクリックすると自分のコンピューターにファイルが転送・保存される。もし、複数のファイルを同時に転送したい場合は、“shift”キーを押しながら、必要なファイル名をクリックする。ここで保存されたファイルはテキスト形式であるのですべてのマッキントッシュ、ウィンドウズを問わず、どのワープロソフトでも開くことが可能である。

今後もアクセスすることがある場合には、ログインしている間に“Add Bookmarks”コマンドでFetchにアドレスを登録しておくことができる。

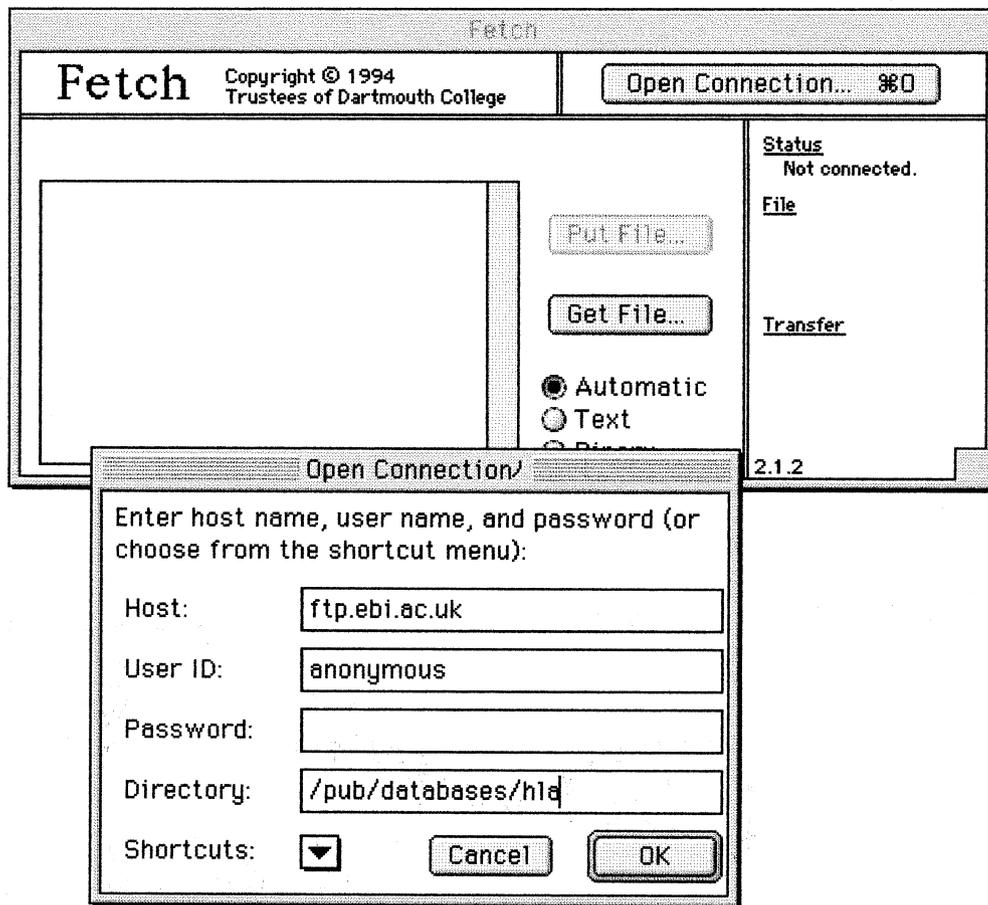


図1. FTPドライバFetchの入力ウインドウ

各自でインターネットプロバイダーと契約している場合には、MacTCPを各自のインターネットサーバに設定し、PPP (Point to Point Protocol) を利用するためのMacPPPドライバ (これは2種類のファイルからなり、ひとつはconfigPPPでコントロールパネル内にある。もう一つはPPPで機能拡張フォルダに納められている) でそのプロバイダーにダイアルアップIP接続する。それ以降の操作方法は全く同じである。MacPPPもインターネット関連書籍の付録として入手できる。なお、MacTCPはMacOS漢字Talk 7.1以上のシステムに含まれている。

### 3.2. e-mail を利用して転送する方法

マッキントッシュを例にすると、Eudora-Jがe-mailアプリケーションとして広く利用されている。初めてEudora-Jを使用する場合は、操作メニューの設定変更を選択し、必要事項を入力する。次にe-

mailの送信アドレスを“Netserv@ebi.ac.uk”に設定し、最初の送信文入力行に“HELP HLA”と入力した後、送信する。すぐに返事が届くのでその内容を開いて、次に行う手順と利用可能なファイル名を確認する。再び、最初の送信文入力行に“GET HLA: xxxx”と入力し、同じアドレスに返信するとそのデータがe-mailで送られてくる。なお、xxxxはファイル名を表す。

### 3.3. インターネットを利用できない方

マッキントッシュ、Windowsのいずれの形式で使用するかを明記して、筆者まで3.5インチ2HDフロッピーディスクを送っていただければ、希望遺伝子座の塩基配列ファイルをコピーして返送する。

## 4. HLA-DRB の塩基配列

DRB 遺伝子座の塩基配列を図2に示す。

DRB sequences

	1	10	20	30
DRB1*0101	GGG GAC ACC CGA CCA CGT TTC TTG TGG CAG CTT AAG TTT GAA TGT CAT TTC TTC AAT GGG ACG GAG CGG GTG CGG TTG CTG GAA AGA TGC ATC TAT AAC CAA			
DRB1*0102	---	---	---	---
DRB1*0103	---	---	---	---
DRB1*0104	---	---	---	---
DRB1*15011	---	---	---	---
DRB1*15012	---	---	---	---
DRB1*15021	---	---	---	---
DRB1*15022	---	---	---	---
DRB1*1503	---	---	---	---
DRB1*1504	---	---	---	---
DRB1*1505	---	---	---	---
DRB1*1601	---	---	---	---
DRB1*1602	---	---	---	---
DRB1*1603	---	---	---	---
DRB1*1604	---	---	---	---
DRB1*1605	---	---	---	---
DRB1*1606	---	---	---	---
DRB1*03011	---	---	---	---
DRB1*03012	---	---	---	---
DRB1*0302	---	---	---	---
DRB1*0303	---	---	---	---
DRB1*0304	---	---	---	---
DRB1*0305	---	---	---	---
DRB1*0401	---	---	---	---
DRB1*0402	---	---	---	---
DRB1*0403	---	---	---	---
DRB1*0404	---	---	---	---
DRB1*0405	---	---	---	---
DRB1*0406	---	---	---	---
DRB1*0407	---	---	---	---
DRB1*0408	---	---	---	---
DRB1*0409	---	---	---	---
DRB1*0410	---	---	---	---
DRB1*0411	---	---	---	---
DRB1*0412	---	---	---	---
DRB1*0413	---	---	---	---
DRB1*0414	---	---	---	---
DRB1*0415	---	---	---	---
DRB1*0416	---	---	---	---
DRB1*0417	---	---	---	---
DRB1*0418	---	---	---	---
DRB1*0419	---	---	---	---
DRB1*0420	---	---	---	---
DRB1*0421	---	---	---	---
DRB1*0422	---	---	---	---
DRB1*11011	---	---	---	---
DRB1*11012	---	---	---	---
DRB1*1102	---	---	---	---
DRB1*1103	---	---	---	---
DRB1*11041	---	---	---	---
DRB1*11042	---	---	---	---
DRB1*1105	---	---	---	---
DRB1*1106	---	---	---	---
DRB1*1107	---	---	---	---
DRB1*11081	---	---	---	---
DRB1*11082	---	---	---	---
DRB1*1109	---	---	---	---
DRB1*1110	---	---	---	---
DRB1*1111	---	---	---	---
DRB1*1112	---	---	---	---
DRB1*1113	---	---	---	---
DRB1*1114	---	---	---	---
DRB1*1115	---	---	---	---
DRB1*1116	---	---	---	---
DRB1*1117	---	---	---	---
DRB1*1118	---	---	---	---
DRB1*1119	---	---	---	---
DRB1*1120	---	---	---	---
DRB1*1121	---	---	---	---
DRB1*1122	---	---	---	---
DRB1*1201	---	---	---	---
DRB1*12021	---	---	---	---
DRB1*12022	---	---	---	---
DRB1*12031	---	---	---	---
DRB1*12032	---	---	---	---
DRB1*1301	---	---	---	---
DRB1*1302	---	---	---	---
DRB1*1303	---	---	---	---
DRB1*1304	---	---	---	---
DRB1*1305	---	---	---	---
DRB1*1306	---	---	---	---
DRB1*1307	---	---	---	---
DRB1*1308	---	---	---	---
DRB1*1309	---	---	---	---
DRB1*1310	---	---	---	---
DRB1*1311	---	---	---	---
DRB1*1312	---	---	---	---
DRB1*1314	---	---	---	---
DRB1*1315	---	---	---	---
DRB1*1316	---	---	---	---
DRB1*1317	---	---	---	---
DRB1*1318	---	---	---	---
DRB1*1319	---	---	---	---
DRB1*1320	---	---	---	---
DRB1*1321	---	---	---	---
DRB1*1322	---	---	---	---
DRB1*0101	GGG GAC ACC CGA CCA CGT TTC TTG TGG CAG CTT AAG TTT GAA TGT CAT TTC TTC AAT GGG ACG GAG CGG GTG CGG TTG CTG GAA AGA TGC ATC TAT AAC CAA			

図2-1. HLA-DRB1の塩基配列















## 5. おわりに

今後、組織適合性学会誌では定期的に「最新アレル情報」で HLA の命名や塩基配列を掲載していく予定にしている。今回掲載できなかった DQ, DP や TAP などについては次回に載せる予定である。また、これらのデータはテキストファイルとして必要な方に配布していく予定である。必要な方は、フロッピーディスクを同封し、防衛医大検査部 小林賢までご連絡ください。

## 参考文献

1. 小林 賢：最新アレル情報。 *MHC* 2:71-75, 1995.
2. Marsh SG, Bodmer JG: HLA class II region nucleotide sequences, 1995. *Tissue Antigens* 45: 258-280, 1995.
3. Marsh SG, Bodmer JG: HLA class II nucleotide sequences, 1991. *Tissue Antigens* 37: 181-189, 1991.
4. Marsh SG, Bodmer JG: HLA class II nucleotide sequences, 1992. *Tissue Antigens* 40: 229-243, 1992.