

Vol.4 No.1
1997

MHC

Major Histocompatibility Complex

日本組織適合性学会誌 第4巻第1号 平成9年8月1日発行

Contents

〔原著論文〕 HLA 1-ハプロタイプ適合間腎移植におけるDRB1とMLR安尾 美年子 ¹⁾ , 小林 博人 ²⁾ , 伊藤 文夫 ²⁾ , 田辺 一成 ²⁾ , 東間 紘 ²⁾ , 太田 和夫 ³⁾	1
〔原著論文〕 PCR-MPH low resolution plateにおいて未確定となるHLA-DR型についての検討河賀 泰子, 内田 純子, 徳永 和夫, 佐藤 博行, 前田 義章	6
〔総説〕 MHC抗原の進化論 An evolutionary tale of MHC antigens大野 乾, Susumu Ohno	9
〔シリーズ：血清学〕 HLA分子とそのエピトープー 血清学を中心にして丸屋 悦子	18
〔海外ラボ紹介〕 North Shore University Hospital (Biomedical Science Research Center) ー Jack Silver 教授の研究室ー伊藤 巧一	53
Q & A小川 公明	55
〔シリーズ：HLA研究者の個人史〕 HLAタイピングをはじめたころ (愛知県がんセンター時代)赤座 達也	56
日本組織適合性学会からのお知らせ.....	61
<日本組織適合性学会誌MHCの投稿規定>.....	64
編集後記.....	66

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

J S H I

Contents

〔原著論文〕 HLA 1-ハプロタイプ適合間腎移植におけるDRB1とMLR安尾 美年子 ¹⁾ , 小林 博人 ²⁾ , 伊藤 文夫 ²⁾ , 田辺 一成 ²⁾ , 東間 紘 ²⁾ , 太田 和夫 ³⁾	1
〔原著論文〕 PCR-MPH low resolution plateにおいて未確定となるHLA-DR型についての検討河賀 泰子, 内田 純子, 徳永 和夫, 佐藤 博行, 前田 義章	6
〔総説〕 MHC抗原の進化論 An evolutionary tale of MHC antigens大野 乾, Susumu Ohno	9
〔シリーズ：血清学〕 HLA分子とそのエピトープー血清学を中心にして丸屋 悦子	18
〔海外ラボ紹介〕 North Shore University Hospital (Biomedical Science Research Center) ーJack Silver教授の研究室ー.....伊藤 巧一	53
Q & A.....小川 公明	55
〔シリーズ：HLA研究者の個人史〕 HLAタイピングをはじめたころ (愛知県がんセンター時代)赤座 達也	56
日本組織適合性学会からのお知らせ.....	61
<日本組織適合性学会誌MHCの投稿規定>.....	64
編集後記.....	66

〔原著論文〕 HLA 1-ハプロタイプ適合間 腎移植におけるDRB1とMLR

安尾 美年子¹⁾, 小林 博人²⁾, 伊藤 文夫²⁾, 田辺 一成²⁾, 東間 紘²⁾, 太田 和夫³⁾

¹⁾ 東京女子医大腎臓病総合医療センター, 移植免疫研究室, ²⁾ 泌尿器科学, ³⁾ 第三外科

(平成9年1月31日 受付)

要約

HLA 1-ハプロタイプ適合家族間の生体腎移植において, 異なる DRB1 タイプの 1 ミスマッチの中から適合性の良いドナーを選択するため, DRB1 タイプと MLR との関係と比較検討した. その結果 DR および DRB1 タイプの違いにより, いずれも同様に MLR に差が認められた. DR 1, DR 2 についてはとくに反応が強く, DR 8, DR 9 は明らかに弱い反応を示した. また急性拒絶反応の発生率も同様の傾向であったが DR 4 のサブタイプミスマッチについては MLR が弱い組み合わせでも拒絶反応が認められた.

キーワード:

HLA 1-ハプロタイプ適合, DRB1 タイプ, MLR

はじめに

生体腎移植のドナーの多くは HLA 1-ハプロタイプ適合の血縁家族の中から選択される. そのため拒絶反応に強く関わりと考えられている DR 抗原タイプは 1 ミスマッチとなり, ドナー候補者が複数で異なるミスマッチ DR タイプを持つときには適合性検査としての選択の基準が必要となる. そのためわれわれはクラス II 抗原のなかでも DR タイプの影響が最も強いと考えられている MLR (リンパ球混合培養反応) を用いて, 刺激細胞側の DRB1 タイプの違いによる免疫反応の強さを比較検討し, 急性拒絶反応との関連について調べたので報告する.

材料と方法

1. リンパ球混合培養反応 (MLR)

生体腎移植希望患者およびその家族の末梢血リンパ球より作成した反応細胞とこれをマイトマイシン C で処理した刺激細胞のそれぞれを 1×10^6 個/ ml の細胞数に調整し, これらを 20% AB 型ヒト血清を含むメディウム RPMI1640 に再浮遊させ, 96 ウエ

ルマイクロテストプレート中で各 $50 \mu l$ 混合して $36.5^\circ C$ 5% CO_2 インキュベーター内で 6 日間培養した. 各ウエルに 3H -サイミジン ($22 KBq$) を添加し, 3 時間インキュベート後, ハーベストして β カウンターにて cpm 値を測定した.

なお, MLR S.I. (stimulation index) は刺激細胞を加えた反応細胞の cpm 値を, 反応細胞に自己の刺激細胞を加えた自己反応の cpm 値で徐して求めた.

また, 反応細胞側のミスマッチ DR の影響を除外するため, 反応細胞が 1 マッチ DR のホモ接合体である MLR を用いて, 刺激細胞の 1 ミスマッチ DRB1 による MLR の参考値とした.

2. HLA-DRB1 タイピング

DRB1 の DNA タイピングは modified PCR-RFLP 法に従って行った (1). すなわち, group specific primer を用いて, PCR 法により増幅された DNA に各種制限酵素を作用させて, その切断の有無と切断パターンから DRB1 タイプを決定した.

3. ミスマッチ DR 間の DR 抗原 β 1 ドメインにおける異なるアミノ酸数の検討

反応細胞・刺激細胞間におけるミスマッチ DR のアミノ酸の相違数を, DR 抗原 β 1 ドメインのアミノ酸配列より算出し, MLR との相関性を検討した.

4. DR・DRB1 タイプと移植予後の検討

適合性検査症例中, すでに移植を行なった症例についてミスマッチの DR および DRB1 のタイプ別に急性拒絶反応の有無を調べ, ミスマッチ DR タイプの違いによる移植予後について検討した. なお移植症例については MLR を行っていない症例も加えた.

結果

1. HLA 1-ハプロタイプ適合間 MLR

1-ハプロタイプマッチで, DR が1 ミスマッチである MLR において, 刺激細胞側のミスマッチの DR タイプ別に MLR S.I. を比較検討したところ DR 1 が最も強く, つづいて DR 15, DR 14, DR 13, DR 11, DR 4, DR 12, DR 8, DR 9 の順に低値を示した. MLR S.I. の平均値はそれぞれ 98.8 ± 24.77 ($n=4$), 90.6 ± 28.7 ($n=18$), 63.2 ± 28.2 ($n=12$), 61.1 ± 30.5 ($n=12$), 53.7 ± 19.8 ($n=9$), 50.5 ± 12.0 ($n=17$), 47.7 ± 20.4 ($n=13$), 24.6 ± 10.7 ($n=15$), 23.9 ± 8.9 ($n=16$) であった. これらの MLR S.I. を DRB1 タイプ別に分類して検討したところ, $n=3$ 以上の平均値については血清学的 DR タイプによる分類と同様の傾向を示した. またこれらのうち DR 15, DR 14, DR 4 (0406), (0405), DR 12, DR 9 については1 マッチ DR のホモ接合体の反応細胞に対する MLR S.I. がそれぞれ 95.3 ± 8.0 ($n=4$), 55.0 ± 11.3 ($n=4$), 51.3 ± 3.5 ($n=4$), 23 ($n=1$), 23.5 ± 3.5 ($n=2$), 18.7 ± 4.0 ($n=3$) となり, 0405・1201を除いては MLR の平均値に近い値であった (表1, 表3).

DR 4 のサブタイプミスマッチ MLR については, 1 マッチの DRB1 が DR 4 である場合に, 互いの1 ミスマッチが DR 4 のサブタイプであるとき, MLR S.I. は4 組が10 以下であり2 組が30 以上を示した. 一方, 不特定の1 マッチ DR タイプをもつ MLR に

表1 DRB1 1ハプロタイプマッチ MLR

stim.	resp.	MLR SI	異なるアミノ酸
DR1			
0101 0406	0802 0406	131	14
0101 1302	1502 1302	95	9
0101 1502	1302 1502	98	15
0101 0405	07 0405	71	15
DR2			
1501 1302	0901 1302	139	17
1501 0401	0803 0401	86	12
1501 0406	07 0406	70	16
1501 1401	0405 1401	62	10
1501 1102	0901 1102	113	17
1501 0901	0401 0901	79	9
1501 0405	0101 0405	55	10
1502 0901	1403 0901	62	12
1502 1401	0901 1401	113	17
1502 07	0901 07	95	15
1502 0405	0901 1405	154	15
1502 0405	1201 0405	101	18
1502 0405	1302 0405	59	9
1502 1401	0405 1401	60	10
反応細胞がホモまたはサブタイプミスマッチ			
1502 0405	0405 0405	89	-
1501 0406	0405 0406	92	10
1501 0405	0403 0405	107	9
1502 0405	0410 0405	93	9
DR13			
1301 0405	1403 0405	60	6
1302 0803	07 0803	101	18
1302 0101	0803 0101	67	7
1302 0405	1403 0405	28	5
1302 0405	0803 0405	52	8
1302 1501	0405 1501	43	17
1302 0405	1501 0405	43	10
1302 0405	0901 0405	63	17
1302 0405	1502 0405	132	18
1302 0803	1201 0803	55	12
DR14			
1401 0901	1201 0901	92	13
1401 0410	1102 0410	84	11
1401 1102	0901 1102	119	16
1402 0401	0803 0401	25	8
1403 0901	1502 0901	42	12
1403 0901	0405 0901	55	11
1403 0405	1302 0405	37	5
反応細胞がDRホモ			
1401 0405	0405 0405	59	
1401 0406	0410 0406	48	12
1401 0406	0403 0406	44	11
1401 0405	0401 0405	69	14

において, 1 ミスマッチが DR 4 のサブタイプである場合, MLR S.I. は 25.2 ± 19.4 ($n=16$) であった. 下段の1 マッチが DR 4 で刺激細胞のみが DR 4 サブタイプミスマッチでは 22.2 ± 16.8 ($n=3$) となった (表2).

2. DR 抗原 β 1 ドメインにおけるアミノ酸の相違数と MLR

反応細胞・刺激細胞間における, ミスマッチ DR のアミノ酸配列の相違を DR の β 1 ドメインについて検討したところ, DR 12, DR 9, DR 4 サブタイプミスマッチを除いてはそのアミノ酸の相違数の平

均値に差が認められなかった。また、DR 11, DR 13, DR 14, DR 15 については同一 DR タイプ内で MLR S.I. とそのアミノ酸の相違数との間に相関が認められた ($r = 0.536$, $r = 0.716$, $r = 0.751$, $r = 0.719$) (表 3)。

3. DR・DRB1 タイプの急性拒絶反応

ドナー側のミスマッチ DR タイプ別に急性拒絶反応の有無を調べたところ、DR 1 の 100%, DR 14 の 86%, DR 15 の 85% に急性拒絶反応が認められたが、DR 8, DR 13, DR 9 についてはそれぞれ 56%, 50%, 42% であった (表 4)。また DR 4 のサブタイプミスマッチの 9 例中 8 例 (89%), に拒絶反応がみられた (表 5)。

表 2 DR 4 サブタイプミスマッチ MLR

1 マッチ (DR 4) - DR 4 サブタイプミスマッチ MLR					
0401	0406	0410	0406	6.6	3
0401	0405	0406	0405	8.0	4
0406	0403	0410	0403	3.2	3
0406	0405	0401	0405	39	4
0410	0403	0406	0403	7.0	3
0410	0406	0401	0406	30	3
1ハプロタイプマッチ - DR4 サブタイプミスマッチ MLR					
0401	1401	0403	1401	51	3
0401	1401	0405	1401	12	2
0403	0802	0405	0802	6.2	3
0403	0901	0405	0901	21	3
0403	1401	0401	1401	18	3
0403	1502	0406	1502	30	1
0405	0802	0403	0802	5.7	3
0405	0901	0403	0901	13	3
0405	1502	0403	1502	28	3
0405	1501	0410	1501	10	1
0405	0803	0403	0803	23	3
0405	1401	0401	1401	48	2
0406	1502	0403	1502	78	1
0410	1501	0405	1501	8.5	1
0406	1401	0405	1401	28	4
0405	1201	0403	1201	23	3
0403	0405	1501	0405	20	(9)
0405	0403	1302	0403	40	(12)
0401	0403	0802	0403	6.6	(10)

表 3 HLA 1-ハプロタイプマッチ MLR

Stim.MMDR	MLR S.I.	DRB1	MLR S.I.	異なるアミノ酸数	resp.homo MLRSI
DR1	98.8±24.7 (n=4)	0101	98.8±24.7 (n=4)	13.3±2.9	
DR2 (15)	90.6±28.7 (n=18)	1501	89.2±26.8 (n=9)	12.2±3.5	92,107
		1502	91.8±30.4 (n=9)	13.1±3.6	89,93
DR4	50.5±12.0 (n=17)	403	46.7±14.5 (n=3)	13.7±4.6	
		405	49.2±14.1 (n=12)	10.7±2.1	23
		406	57.2 (n=1)	11	53,53
		410	47.3 (n=1)	10	
DR4 サブタイプ	22.6±18.0 (n=25)			2.7±0.9	
DR8	24.6±10.7 (n=15)	802	21.3±11.0 (n=9)	11.9±3.2	
		803	32.0±12.2 (n=6)	10.8±2.3	
DR9	23.9±8.9 (n=16)	901	23.9±8.9 (n=16)	15.5±1.8	18.7±4.0
DR11	53.7±19.8 (n=9)	1101	69.3±20.4 (n=3)	13.0±5.6	
		1102	45.8±15.5 (n=6)	10.5±10.4	
DR12	47.1±22.4 (n=15)	1201	42.8±20.1 (n=13)	14.5±3.4	20,27
		1202	75.0±18.3 (n=2)	19	
DR13	61.1±30.5 (n=11)	1301	60.7 (n=1)	6	
		1302	64.9±32.4 (n=10)	12.4±5.2	
DR14	63.2±28.2 (n=12)	1401	73.6±26.7 (n=7)	12.8±1.9	55.0±11.3
		1402	25.0 (n=1)	8	
		1403	53.5±19.22 (n=4)	10.0±3.4	

HLA 1-ハプロタイプマッチ MLR において、刺激細胞の 1 ミスマッチ DR および DRB1 タイプ別に MLR S.I. の平均値を示した。

stim.MMDR : 刺激細胞の DR タイプ

※ $P < 0.0001$

resp.homo MLRSI : 反応細胞の 1 マッチ DR タイプがホモ接合体である場合の各刺激細胞に対する MLR

表4 ミスマッチDRタイプと急性拒絶反応

stim. MM DR	急性拒絶反応発生率
DR1	100% (n=7)
DR15	85% (n=13)
DR4	73% (n=11)
DR8	56% (n=9)
DR11	75% (n=4)
DR12	60% (n=5)
DR13	50% (n=6)
DR14	86% (n=7)
DR9	42% (n=19)

考察

DNA タイピングにより血清学的には同一だった DR タイプが異なるタイプ (サブタイプ) として判定されるようになった. とくに DR 4 などは MLR により複数のサブタイプの存在が推測されていたが, その違いが明らかとなった. 一方, MLR は以前より移植成績との強い相関が報告 (2~4) されてきたにもかかわらず, 培養条件や手技により誤差が大きいことなどから, DNA タイピングの普及以降はほとんど行われなくなった. しかし, われわれは異なる DR タイプの 1 ミスマッチをもつ家族間でドナーを選択する際には, 各 DR タイプについて MLR の強さを知る必要があると考えた. MLR に関わるクラス II 抗原は DR だけではないが, DR 抗原の影響が最も強いと考えられており (5), その遺伝子の中でも DRB1 が最も多型性に富むことから, 刺激細胞側の DR および DRB1 に対する MLR を比較検討したところ, その強さに差が認められた. とくに強い DR 抗原タイプは DR 1 および DR 2 であり, 弱いタイプは DR 8, DR 9 であった. またこれらを DRB1 で分類したところ, n 数が少なく明らかではないが, DR の分類と同様の傾向であった. このうち DR 1 については MLR の例数が 4 と少ないが, ドナーが DR 1 のミスマッチをもつ移植症例の 7 例がすべて急性拒絶反応を経験していることから, DR 1 の MLR が高値であることが推測された. 他の DR タイプについても, 症例数は少ないが, MLR の強さと移植予後 (急性拒絶反応の有無) に関連が

表5 DR 4 サブタイプミスマッチと急性拒絶反応

	donor		recip.		MLR S.I.	拒絶反応
LD 900	0410	0403	0406	0403	7.0	無
LD 906	0406	0405	0401	0405	39	有
LD 929	0403	1502	0406	1502	30	有
LD 951	0401	1401	0403	1401	51	有
LD 960	0406	1401	0405	1401	28	有
LD 977	0403	0405	1501	0405	20	有
LD 987	0405	0403	1302	0403	40	有
LD 998	0405	1201	0403	1201	23	有
LD 1005	0401	0403	0802	0403	6.6	有

みられたことから, ミスマッチの DR タイプにより免疫反応を引き起こす強さに差があることが推測された. また MLR が強い DR タイプについては, 同一の DR タイプ内での β 1 ドメインのアミノ酸の相違数と MLR の強さとの間に相関が認められることから, DR および DRB1 タイピングにより MLR の強さを推定することが可能と考えられた. 一方, DRB1 サブタイプの多い DR 4 については, 1-サブタイプミスマッチ間において, アミノ酸の相違数が少ないにもかかわらず MLR の高い組み合わせがみられた. これについてはクラス II の他の locus に属する抗原の関与も考えられるが, 能勢らは DR 4 が同一で D 抗原が異なる HTC を用いた MLR で, DRB1 遺伝子第 2 エクソンの 37~74 番目の異なるアミノ酸数が多いほど, 高い MLR を示すと報告している (6). われわれの結果からはまだ明らかではないが, 37 番目のアミノ酸が異なる 0406 からの MLR には強い反応を示すものもみられた. しかし, DR 4 のサブタイプミスマッチの移植症例には MLR が低い組み合わせが含まれるにもかかわらず, その 9 例中 8 例に急性拒絶反応が認められた. このことは MLR の強さが移植予後に強く関わるという考えと矛盾する. その原因については各サブタイプの n 数が少ないため明らかではないが, これらのうち MLR が低値であったものについては培養条件の不良による低値である可能性も考えられるためさらに検討しなければならない. 他の DRB1 サブタイプミスマッチについては今回は n 数が少なく検討してい

ないが、DR 4についてはとくにサブタイプミスマッチが拒絶反応の引き金になると考えられるためDR 4のDRB1サブタイプミスマッチを判定することは重要であると考えられた。以上よりDRB1タイプニングによりMLRの強さおよび移植予後を推測できる可能性が示唆された。今後は長期生着率との関連についても検討する予定である。

参考文献

1. Ota M, Seki T, Fukushima H, *et al.* : HLA-DR-B1 genotyping by modified with group-specific primer. *Tissue Antigens* **39** : 187-202, 1992.
2. Berg B, Ringden O : Correlation between relative responses in mixed lymphocyte culture, HLA-D and DR typing, and graft survival in renal transplantation. *Transplantation* **33** : 291-297, 1982.
3. Walker J, Opelz G, Terasaki PI : Correlation of MLC response with graft survival in cadaver and related donor kidney transplants. *Transplant. Proc.* **10** : 949-951, 1978.
4. Ringden O, Moller E, Lundgren G. *et al.* : Role of MLC compatibility in intrafamilial kidney transplantation. *Transplantation* **22** : 9-17, 1976.
5. 能勢義介, 稲葉洋行, 荒木延夫ら : HLA class IIのDNA typingとMLC, 日本輸血学会雑誌, **39** : 1031-1034, 1993.
6. 能勢義介, 荒木延夫, 稲葉洋行ら : 同一DR1でDRB1遺伝子が異なるMLC反応, *MHC & IRS* **1** : 81-82, 1994.

Studies on DRB1 and MLR in HLA 1-haplotype matched relations.

Mineko Yasuo¹⁾, Hirohito Kobayashi²⁾, Fumio Ito²⁾, Kazunari Tanabe²⁾, Hiroshi Toma²⁾, Kazuo Ota³⁾.

1) Tissue Typing Laboratory, Kidney Center, Tokyo Women's Medical College, Tokyo, Japan.

2) Department of Urology, Kidney Center, Tokyo Women's Medical College, Tokyo, Japan.

3) Third Department of Surgery, Kidney Center, Tokyo Women's Medical College, Tokyo, Japan.

Summary

We examined MLR about one-mismatched HLA DRB1 to each other, for the purpose of selection of better matching donor in the HLA one-haplotype matched relation. Each DR-DRB1 type has different strength of MLR. DR 1・DR 2 showed strong stimulation and DR 8・DR 9 did weaker one. Occurrence rate of acute rejection showed similar tendency. But DR 4 subtype mismatched pairs showed high occurrence rate of acute rejection in spite of low MLR.

Key words :

HLA 1-haplotype match, DRB1 type, MLR

〔原著論文〕 PCR-MPH low resolution plateにおいて 未確定となるHLA-DR型についての検討

河賀 泰子, 内田 純子, 徳永 和夫, 佐藤 博行, 前田 義章

福岡県赤十字血液センター, 検査課

(平成9年2月3日 受付)

要約

PCR-MPH (micro plate hybridization) low resolution plate は PCR により増幅された DNA を用い、16 種類のプローブに対する反応パターンにより HLA-DR タイピングを行う方法で、多量検体を短時間で処理できる良い方法である。しかし、DR 13 / -, DR 11 / -, DR 1403 / - と判定された場合、それらの検体においては DR 14 の有無は未確定である事も知られている。

この度 PCR-MPH low resolution plate を用いて 1391 検体の HLA-DR をタイピングしたが、上述の DR 型は 60 例 (4.3%) 存在した。その内訳は DR 13 / - が 42 検体、DR 11 / - が 8 検体、DR 1403 / - が 10 検体であった。PCR-SSCP により、それらの検体における DR 14 の有無の確認及び DRB1 のアレルの判定を行った。その結果、DR 13 / - の検体におけるアレルは DRB1*1302 / -, DRB1*1302 / DRB1*1401, DRB1*1302 / DRB1*1405, DRB1*1302 / DRB1*1406 と判定され、各々 8 例, 18 例, 9 例, 7 例存在した。DR 11 / - の検体は DRB1*1101 / - が 1 例, DRB1*1101 / DRB1*1401 が 5 例, DRB1*1101 / DRB1*1405 が 1 例, DRB1*1101 / DRB1*1406 が 1 例判定された。DR 1403 / - の検体においては、DRB1*1401 / - が 1 例, DRB1*1403 / DRB1*1401 が 6 例, DRB1*1403 / DRB1*1405 が 3 例であった。

結果として DRB1*14 のアレルは、その存在が未確認であった 60 検体中 50 検体 (83%) に見出された為、確認試験の必要性を認識した。

キーワード :

PCR-MPH, PCR-SSCP

はじめに

PCR-MPH low resolution plate (1) (湧永製薬以下 MPH low とする) は多量検体を短時間で処理できる HLA DR タイピングの為の良い方法で、PCR により増幅された DNA の、16 種類のプローブに対する反応パターンにより HLA 型を決定する。しかし DR 13 / -, DR 11 / -, DR 1403 / - の結果が得られた場合は、DR 14 の有無は確認されない。この度 MPH low を用いて HLA-DR をタイピングし、DR 13 / -, DR 11 / - 及び DR 1403 / - とタイピングされた検体について DR 14 の存在とアレルの判定を

試みた。

材料と方法

1. 対象

1995年4月から1996年7月までの期間で、1391 検体について PCR-MPH low により HLA-DR のタイピングを実施した。うち今回の検査対象となる DR 14 の存在が未確認と考えられる DR 型とその検体数は、DR 13 / - が 42 例, DR 11 / - が 8 例, DR 1403 / - が 10 例で計 60 検体であった。

2. PCR-SSCP法

PCR は 11th IHW で用いられた DRBAMP-3 と DRBAMP-B のプライマーを使用し、94℃ 5分、(94℃ 30秒-62℃ 30秒-72℃ 60秒)を35サイクル、72℃ 5分、4℃ホールドの条件で行った。

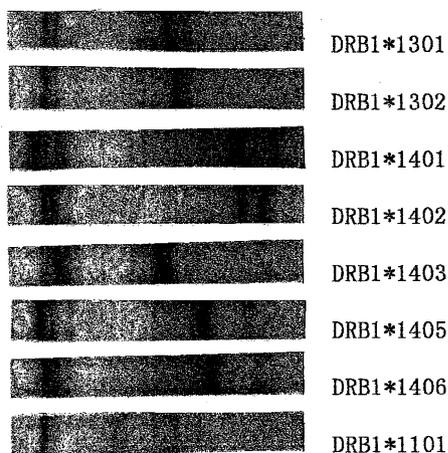
次いで7 μ l のホルムアミドダイに PCR 産物 1 μ l を加えた各々の検体を、96℃で5分間加熱処理後、氷水に5分間浸し、10%ポリアクリルアミドゲル(%C=2%)を用いて30mAで1時間、電気泳動を行った後、ゲルを銀染色(第一化学)し、判定した(2)。

結果

PCR-SSCP 法による判定結果

各アレルの泳動パターンを図1に示す。パターンの違いによりアレルの判定が可能である事がわかる。DR 13/-の42例について PCR-SSCP 法を用いた検査結果は、DRB1*1302/-は8例、DRB1*1302/DRB1*1401は18例、DRB1*1302/DRB1*

図1 PCR-SSCPによる各アレルの泳動パターン



1405は9例、DRB1*1302/DRB1*1406は7例であった(図2)。

DR 11/-の8例については、DRB1*1101/-は1例、DRB1*1101/DRB1*1401は5例、DRB1*1101/DRB1*1405は1例、DRB1*1101/DRB1*1406は1例(図3)、DR 1403/-の10例についてはDRB1*1403/-は1例、DRB1*1403/DRB1*1401は6例、DRB1*1403/DRB1*1405は3例(図4)であった。

図2 DR13/- 検体のPCR-SSCP検査結果

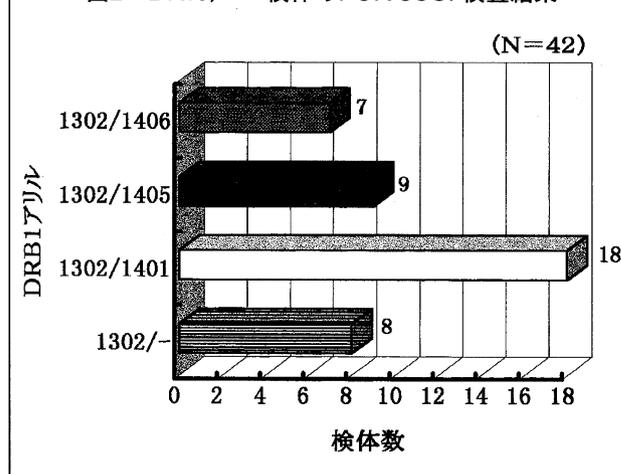


図3 DR11/- 検体のPCR-SSCP検査結果

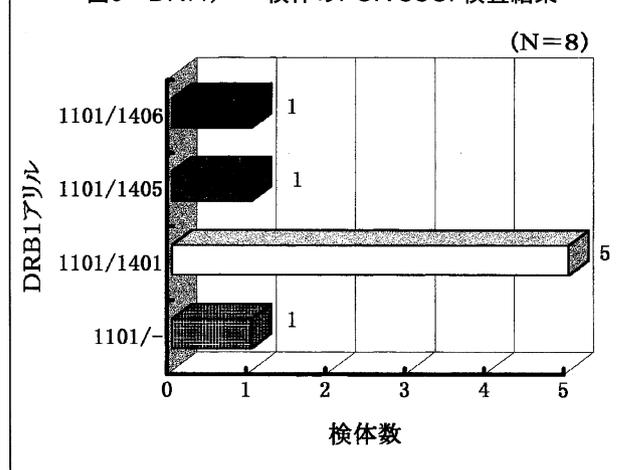
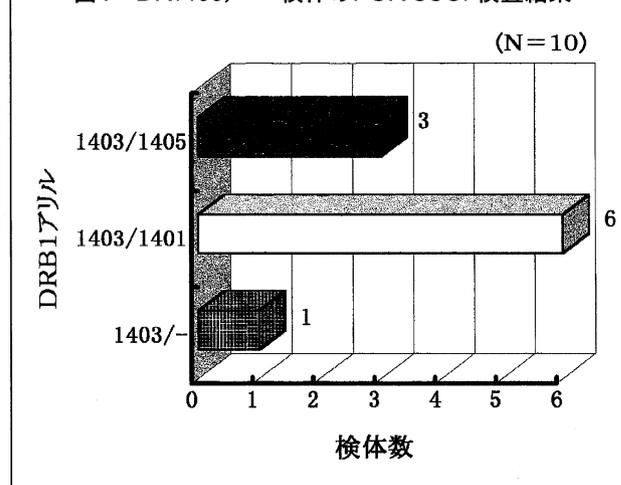


図4 DR1403/- 検体のPCR-SSCP検査結果



考察

MPH low により DR13/-, DR11/-, DR1403/- の判定が得られた場合, DRB1*14のアリルは, 60 検体中 50 検体 (83%) に見出された為, 確認試験の必要性を認識した.

参考文献

- 1) 前川尻真司, 川井信太郎, 徳永勝士ら: PCR-MPH 法による簡便な HLA class II 遺伝子のタイピング. *MHC & IRS* 1: 57-58, 1994.
- 2) Bannai M, Mazda T, Tokunaga K, *et al.*: DNA single strand conformation polymorphism method to distinguish DR4 alleles. *Lancet* 341: 769, 1993.

Analysis of HLA-DR types which were not confirmed by PCR-MPH low resolution plate.

Yasuko Kawaga, Junko Uchida, Kazuo Tokunaga, Hiroyuki Sato, Yoshiaki Maeda
Fukuoka Red Cross Blood Center, Fukuoka, Japan.

Summary

PCR-MPH (micro plate hybridization) low resolution plate provided with 16 SSOs is a convenient DNA-based typing method for HLA-DR. A large number of samples were treated to define their HLA-DR types using this method in a short term.

However it is known that some identifications like DR 13 / -, DR 11 / - and DR 1403 / - are unable to ascertain whether DR 14 antigen is present or not. Of 1391 typed samples, we had the 60 samples to be not ascertained (4.3%). The details of them were 42 DR13 / -, 8 DR11 / - and 10 DR1403 / -. By PCR-SSCP we confirmed the existences of DR 14 antigens in these samples and their DRB1 alleles consequently. The DR 13 / - samples were identified with DRB1*1302 / -, DRB1*1302 / DRB1*1401, DRB1*1302 / DRB1*1405 and DRB1*1302 / DRB1*1406. The numbers of them were 8, 18, 9 and 7 respectively. The DR 11 / - samples were typed to, one DRB1*1101 / -, five DRB1*1101 / DRB1*1401, one DRB1*1101 / DRB1*1405 and one DRB1*1101 / DRB1*1406. The DR1403 / - samples were defined, one DRB1*1403 / -, six DRB1*1403 / DRB1*1401 and three DRB1*1403 / DRB1*1405.

As a result of this study, DRB1*14 antigens existed in 50 samples (83%) and we recognized the necessity of further testing in regard to the unconfirmed DR types from the PCR-MPH low resolution plate.

Key words :

PCR-MPH, PCR-SSCP

〔総説〕 MHC抗原の進化論 An evolutionary tale of MHC antigens

大野 乾, Susumu Ohno

Beckman Research Institute of the City of Hope

免疫学とは、非常に奇妙な学問で、構成因子の精細な分析が進む程、免疫機構の全貌が臆げにしか見えなく成って仕舞うと言う面妙な特質を持っているようである。此处では、MHC 抗原の由来に就いて、通説とは逆の議論を展開して見たいと思う。何事も一方向からばかり見て居ると袋小路に追い込まれて既成概念が内蔵する矛盾に気附かなく成って仕舞う恐れがある。先ず、脊椎動物に独特な病原体に対する生体防禦機構を、俗に Adaptive immune system と呼ぶが、其の adaptive には如何なる意味が含まれているのであろうかを考えて見よう。

1. THE ADAPTIVE IMMUNE SYSTEM は、脊椎動物特異では無く、恒温動物独特なものであると言う事実

同じ抗原に二度目に遭遇すると、我々の免疫機構は、先の接触以来、準備万端に整備を整えて待機していた訳であるから、反応は迅速を極め、其の特定抗原に対して非常に高い親和性を持った、主に IgG 型、抗体を大量生産して速戦即決に抗原を処理して仕舞う。二度目の反応が最初の反応に比べて極めて高能率で迅速であるから、adaptive と呼ばれる訳である。Adaptive に成る過程を考えて見よう。特定の抗原に最初に接触すると細胞膜上に IgM 及び IgD 抗体を展開して待機して居た相当の B 細胞が目覚まし helper T 細胞の刺激で細胞分裂によってクローンを拡大すると共に、IgM 抗体を分泌し始める。但しこの体液中に分泌され始めた IgM 抗体の抗原親和性は極めて低いのが原則である。Germline からランダムに選んだ軽鎖と重鎖の variable 領域のコンビネーションが隅々特定抗原に対して結合親和性を示した丈であるから、親和性が低いのが当たり前と言

えよう。続いて、IgM から主に IgG へのクラス・スイッチが起るが、此处で両鎖の variable 領域が高頻度の体細胞突然変異に依って陸続と変わり、変わる事によって、特定抗原に対して高親和性を獲得した抗体を造り出した B 細胞だけが、再び helper T 細胞の助けでクローンとして拡大をはじめ。特定の抗原に対して高度親和性を示す第二次反応の IgG 抗体はどちらかと言うとオリゴクローナルであるから、有意義量の抗体を生産する為には、それぞれのクローンの細胞数が少なくとも千万に到達すべきであろう。二十回細胞分裂を繰り返すと一つの細胞から百万細胞より成るクローンが生まれるが、十日の内に此れだけのクローンを拵え様とすれば、B 細胞は十二時間毎に細胞分裂を繰り返せばならず、十日の内に千万前後の細胞より成るクローンを造ろうとすれば、約十時間毎の細胞分裂が必要となる。平均 37 度の体温を恒常に保てる哺乳類と鳥類だけにしか上記の様な迅速なクローン拡大と言う芸当は出来まい。そうすると厳密な意味での adaptive immune system は哺乳類と鳥類より成る恒温動物独特の機構であると言う結論に落ち着く(1)。

2. 両棲類、魚類の免疫機構

両棲類、魚類の体細胞の組織培養を試みた方は良く御存知であろうと思うが、恒例の 37 度の保温器では細胞は死滅するから、17 度前後の温度で培養を試みるしか無く、細胞の数が倍に成るのに数日は掛かる。上記の様な考察からすると、抗体の抗原特殊性に依存する免疫機構は、爬虫類、両棲類、魚類等その他大勢の脊椎動物にとっては、要を失った扇の如き不能率な生体防禦機構の様に思われる。其れでも鱘、鮫、エイに代表される板魚目までは IgM 型

の抗体を持って居るし、T細胞リセプターの遺伝子も持っていれば、MHC 抗原も存在するらしい。要点では無いので文献の引用はしないが、此の分野に多大な貢献をした人々は、スイス・バーゼル免疫研究所の du Pasquier 氏、米国フロリダの Littmann 氏、スウェーデン・ウメオの松永氏、名古屋の黒沢、橋本両氏等である。ともあれ恒温動物では無い脊椎動物では、哺乳類、鳥類に見られる第二次反応の時の高抗原親和性抗体に相当する抗体は絶対出来ない様であるし、MHC 抗原非相同性に基づく移植皮膚の拒絶反応も極めて延々とした慢性のものである様である。此処で一つ面白い実験に思い付く。最近、終末期の恐竜は恒温動物であったと言う議論が又活発に復活している。恐竜は実験の対照に成り得ないが、現存の魚類の仲にも体温を恒温に保てる種がある。時速 30 ノット以上で遊泳する鮪の類である。遠洋で魚釣りを楽しんだ方は、御存知だと思うが、鮪を釣ろうとすると快速船を雇わなければならない。一回針を吞ませて、鮪と細い糸で戦うと、引き上げるのに 2 時間は掛かる。其の間に鮪の群は 70 マイル位先に行って仕舞って居るからである。斯様に高速度で泳げる魚のメタボリズムは正に恒温体温でないと維持出来ない。従って鮪の体内では B 細胞の迅速なクローン拡大が可能な筈である。魚類は、IgM 用の重鎖恒常部遺伝子しか持っていないが、IgG に匹敵する小型 IgM は造り得る。もし鮪で、第二次反応独特の高抗原親和性小型 IgM 抗体が出来る事を証明すれば、variable 領域を選択的に犯す体細胞突然変異機構が魚類の時代に既に備わっていた事の証明となる。

3. 初期生物は自己・非自己の識別はし無かったと云う事実

先述の如く、脊椎動物中鱧、鮫、エイに代表される板魚目魚類迄のゲノムには、俗に言う免疫機構の主要構成因子の遺伝子が既に含まれて居る。処で、カンブリア紀の初めに突然と現れた最初の脊椎動物 conodonts は無顎の魚類であった。其の寄生生活に依って著しく変形した末裔が円口目に属するヤツメ・ウナギ及びメクラ・ウナギである。此の無顎魚類の時代で、補体 (complements) を除いて、全て

の免疫機構に關与する構成因子が忽然と姿を消す。動物界中現存する諸門の殆ど全ては、5.4 億年前のカンブリア初紀近々 600 万年の間に爆発的に殆ど同時発生した訳であるが、此の時代の生物には我々が理解する免疫機構は存在しなかったと言って差し支え無いであろう。吾が地球での最初の細胞の出現は、ずっと古く 37 から 35 億年前であったが、最初の細胞は、言う迄も無く原核生物であり乍ら光合成の出来るシアノバクテリア (藍藻) であった(2)。続いて発生した最初の真核生物は、矢張り光合成の出来る青緑藻であった様だが、其の光合成工場である葉緑体は、前記のシアノバクテリアの真核細胞内寄生に依って真核生物が獲得したものらしい(3)。此の寄生現象は、もう一度起こる。シアノバクテリア続いて青緑藻に依っても、炭酸ガスを消費して光合成を行い分子酸素を水中に放出したと言う、長年の努力に依って、水中の分子酸素の含量は徐々に上昇したのであろう。此処で分子酸素を消費する原核生物、好酸性バクテリアが誕生する。此の好酸性バクテリアの細胞内寄生によって、殆ど全ての真核生物が分子酸素に依る磷酸化反応の工場をエネルギー源として獲得した。これがミトコンドリオンである(4)。生命誕生初期の真核生物に非自己を拒絶する識別力が無かった事は、誠に幸いであったと言うべきであろう。

4. 無脊椎動物の生体防禦機構

動物最古の病原体に対する防禦機構は、2 種の白血球、つまり顆粒球、マクロファージが持つ貧食機能である。これらの白血球には、遊走能が有るから、感染局所に集合して貧食能に依って侵入して来た細菌その他を消化に依って除去出来るし、ヴィールス感染の為に死亡した宿主細胞を片付ける事も出来る。上記の貧食能力のある白血病は、カンブリア紀直前に、他の門の先んじて発生した海綿動物門及び腔腸動物門に既に認められる(1)。此の二門の動物体は上皮と内皮とのみ成り、間葉が無い、diploblastic と呼ばれる由縁である。白血球が間葉の出現に先行したと言う事実その者が意味深長であるが、無脊椎動物の体腔液には、上記の最古の防禦機構を補佐する物質が他種類含まれている。大別して、二種類に

分かれる様である。第一は、レクチンの類である。自己が持つ多糖類合成酵素 (sugar transferases) では出来ない多糖類を病原体細胞膜上に認識して、病原体を凝集し、白血球に依る貧食を促すのであろう。第二は、細菌殺害能力を持った小蛋白である。最初に見つかった者は、Cercopia と呼ばれる巨大蛾の幼虫の体液に含まれて居たからセルコピンと名付けられた。31 残基より成る塩基性蛋白でアルファ螺旋を造る。グラム陽性、陰性菌共に有効であるが、黴及び真核細胞には無害であるという。その後、此の種の抗菌蛋白は各種非脊椎動物だけで無く哺乳類の体液中でも陸続と見付けられた(5)。面白いのは、セルコピンの作用機序である。細胞膜上に、イオン・チャネルを拵えて細菌を殺すらしい。此处で、補体の作用機序を想起して頂きたい。抗体を通じても、通じなくても、補体の複雑な作用は、矢張り細胞膜上にイオン・チャネルを拵える事に依って完成する訳ではないか。更に、無顎魚類を代表する円口目に属するメクラ・ウナギの体液には抗体は未だ存在し無いが、C3に相当する補体は既に健在である事も想起して頂きたい(6)。以上から、動物の病原体に対する生体防禦機構は、免疫機構に頼らなくても可能と言う事実を御理解頂いたと思う。実際、体温を恒常に維持出来ない脊椎動物に関する限り、つまり魚類、両棲類、爬虫類に就いては、生体防禦を免疫機構に依頼した方が良かったが、無脊椎動物型のレクチン、抗菌蛋白に助けられる貧食作用を基礎にした防禦機構に依頼した方が良かったか、甲乙つけ難いと思う。The adaptive 免疫機構の本髄は、抗体 variable 領域を選択的に犯す体細胞突然変異に依って生まれた抗原高親和性抗体を造り得るB細胞の迅速クローン拡大に有ると思うからである。

5. 自己・非自己識別を必要としない免疫機構の可能性

無脊椎動物の生体防禦機構の一環であるレクチンは、己から自己・非自己の識別をして居る。レクチンが自己多糖類と反応すれば、自然淘汰が抹殺して呉れるからである。従って現存するレクチンは非自己である病原体独特の多糖類と反応する者だけである。此のレクチンを各種病原菌独特の多糖類と結合

出来る高親和性抗体に置き変えて見よう、斯様な抗体の生産には、個別毎の自己・非自己の識別を全く必要とし無い。もう一つ自己・非自己の識別を必要とし無い極めて有効な抗体がある。不思議な事に殆ど全ての単細胞生物の細胞膜外側には、燐酸コリンが突出して居るが、多細胞生物の細胞膜では、燐酸コリンは細胞内側の方に顔を出して居る(7)。従って燐酸コリンに対する限り多細胞動物は自己破壊の心配なく高親和性抗体を生産し得る。上記の様に自己・非自己の識別を必要とし無い、極めて有効な免疫機構は存在可能である。其れでは、何故我々が理解する免疫機構が class I 及び class II MHC 抗原を通じての個体毎の自己・非自己識別と言う煩雑極まり無い泥沼に陥没して仕舞ったのであろうか？ 私見では、ヴィールス感染の防禦を試みる処まで、免疫機構が手を伸ばし過ぎて仕舞ったからで有ると思う。ヴィールスのゲノムは、極めて矮小であるから、自身の独立生活は不可能で、自己遺伝子の転写、翻訳迄、宿主細胞機構に依存しないと生きて行け無い。従って、ヴィールスに対して抗原特殊性の免疫反応を誘起するとすれば、ヴィールス蛋白を対照とせざるを得ない。其の為には、ヴィールス蛋白と宿主自己蛋白とを識別する事が必須となる。Class I 及び class II MHC 抗原が、多糖類の断片では無く蛋白のペプチド断片を自己・非自己の識別の為に提示せざるを得なく成ったのは、当然の帰結と言うべきであろう。それでは、ヴィールスの感染防禦迄、免疫機構に手を伸ばした事は賢明であったのであろうか？ エイズの問題だけで無く、B型肝炎に罹った人は、殆ど必ず肝癌に苦しむ事を考えると、現存免疫機構はヴィールス感染の防禦には余り効率が良く無いと言わざるを得まい。但し、恒温動物の体内では、ヴィールスの増殖も加速度的に迅速に成って来るから、免疫機構が干渉せざるを得なかったのも事実であろう。ともあれ、ペプチド断片を通じての自己・非自己の識別は至難の業であって、此の試みの為に、多数の自己免疫病が発生する破目と成った事は間違い無いであろう。

6. 自己・非自己の識別法の各種

自己・非自己の識別機構は免疫系の先駆者として

免疫機構より、先に存在して居たのでは無いかと言う概念が長い間横行して居た。細胞免疫機構（今で言えば、T細胞由来）が、体液免疫（B細胞由来）の先駆者であったであろうと言う概念は上記概念の亜流に過ぎなかったと言えるであろう。此処で指摘したい事は、自己・非自己の識別は、色々な方法が使えるから、免疫機構とは、全く無関係で有り得ると言う事実である。

植物では、接ぎ木が可能であって、一つの木に蜜柑とオレンジを同時に実らせる事が出来る。原則として自己・非自己の識別をしないからこそ、接ぎ木が可能なのである。一方で植物の受精は、風に任せるか、昆虫、蜂、鳥等に媒介して貰っている。従って、自己受精の危険が非常に大きい。其れを避ける為に多数の植物が花粉と柱頭間で自己・非自己の識別をしている。菜種（Brassica）の場合、糖蛋白をコードする一遺伝子座の10種類のアレルが識別に使われて居る(8)。此の場合に限って、非自己が許容され自己が拒絶される訳ではあるが、多数の個体が一緒に成って一集合個体（colonyforming organisms）を形成すると言う生活法式は非常に古く、カンブリア紀の動物の爆発的同時進化の直前迄遡る。カンブリア紀直前に出現したのは、腔腸門と海綿門に属する動物であった事は既述したが、当時の腔腸門を代表したのが、恰も木の葉の如き形の *Chidaria* であった。これが、集合個体の始まりと言うべきであろう。今日、同じく腔腸門に属する、珊瑚が同じ生活法式を取っている。何故か一集合個体の構成因子である各個体は相互、遺伝子に近似である事を前提とするらしい。強異である2集合体が接近すると境界で、恰も拒絶反応の如き現象が起こるらしい。此の一連の実験は、長年知己であった UCLA の故 Hildenman 氏に依るものであるが、上記の実験結果が、自己・非自己の識別、従って細胞免疫、が免疫機構の前駆体であったであろうと言う概念の設立に大いに貢献した。成るほど、拒絶反応が起こって居る当たりには、顆粒球及びマクロファージ様の細胞の遊走が見られる。但し、此の拒絶反応に MHC 抗原が関与していたと言う証拠は皆無である。以下のシナリオを考えて頂きたい。珊瑚の拒絶反応には、先述の植物、菜種の場合の如く MHC 抗原と全く無関係な糖蛋白

をコードする著しく多型な一遺伝子が関与していたとする。更に異なる上皮が接触すると、相互にアポトーシスのシグナルが送られて、両方の上皮が死亡するとする。死亡した上皮細胞を始末する為に白血球が動員されるのは当たり前では無いか。上記の様に考えると、珊瑚集合体の拒絶反応と脊椎動物、特に哺乳類、鳥類に見られる免疫機構との間に進化上の関連を見付け様と言う試みはコジツケと言う他は無理暴論と結論すべきでは無いただろうか？(1)。

集合体（colony-forming organisms）間の拒絶反応は、もっと身近な種にも見られる。我々脊椎動物は、厳密に言つて Chordata 門の一亜門に属するが、此の門の内では一番原始的と思われるのがホヤの類、詰まり尾索動物亜門（Urochordata）である。成体は、口と肛門を持った袋に過ぎ無いが、其のオタマジャクシの様な幼体に脊椎動物の原体型が見られる。但し、尾索動物亜門と脊椎動物亜門は、カンブリア初紀に殆ど同時発生したと言う事実も、常に念頭に置いておいて頂きたい。ともあれ、ホヤの類にも珊瑚の如く集合体を造って生活する種が多数ある。其の内の日本近海産の物で、拒絶反応が多型の一遺伝子座の支配下にある事を見事に証明されたのが、岡氏である(9)。此れら colony-forming urochordata のゲノムに最古の MHC 抗原をコードする遺伝子が見付かるのではないかと言う希望は誰しも抱いたであろう。事実、スタンフォードの Weissman 氏が数年に渡って探索したが、未だに成果が上がったと言う話を聞かない処から考えると存在しなかったのであろう(10)。結論として、無脊椎動物だけでなく、脊椎動物でも一番原始的と考えられる無顎魚類の末裔であるメクラ・ウナギ、ヤツメ・ウナギ（円口類に属する）には MHC 抗原は存在し無いようである。詰まりカンブリア初紀に殆ど同時に発生した動物全門に共通のゲノムには、MHC 抗原をコードする遺伝子は含まれていなかったのであろう(11)。

7. MHC 抗原は動物のカンブリア初紀爆発的同時発生後に生まれた脊椎動物独特の遺伝子によってコードされて居ると言う概念への有力な傍証

1960年頃迄は、植物進化の原動力と成った倍数体化は、動物進化には全然貢献しなかったであろうと

言うのが定説であった。研究対象として頻繁に使われたショウジョウバエが属する爬虫類、ハツカネズミが属する哺乳類では、性決定機構が既に不可逆的な処迄進化して仕舞って居るから、事実倍数体化に依る進化不可能である。但し脊椎動物でも、性決定機構が未だ流動的である両棲類、魚類の場合は左に有らず、倍数体種が1966年以来陸続と発見された。動物で最初の4倍体種 *Odontophrynus americanus* (ブラジル産蛙) を発見したのは私がポスト・ドクであった Becak 夫妻である(12)。もっと馴染みの深い種で言うと、鯉 (*Cyprinus carpio*) は草魚 (*Ctenopharygodon idellus*) に比べて4倍体種である。上記の事を念頭に置いて諸脊椎動物のゲノム・サイズの比較をすると、今日ナメクジウオに代表される頭索動物亜門と脊椎動物亜門の間に2回連続した4倍体化が起こったと考えざるを得ない。最も *Yunnanozoon lividum* が代表する最初の頭索類と *Onodonts* に代表される最初の脊椎動物である無顎魚類はカンブリア初紀(約5.4億年前)に殆ど同時発生した訳だから、此の時期の無顎魚類は、頭索動物同様2倍体種であったと思われる。2連続4倍体化が起こったのは、其の後デヴォン紀の始まり、詰まり約3億年前と思われる(11)。これが、近代化した、私の1970年の提唱であった(13)。幸い近年の人及びマウスのゲノム・プロジェクトの御蔭で、今日でも哺乳類ゲノム中には3億年以上前に起こった2連続4倍体化の痕跡が濃厚に残っている事が明らかに成って来た(14)。植物倍数体種ゲノム内の倍数体化に依る *homology* は、通常 *homeology* と呼ばれるが、哺乳類の場合は、倍数体化から余りにも時間が経過している為に Lundin 氏は *homeology* を *paralogy* と呼ぶ事にした(14)。最も *paralogy* という言葉其の者は化成り古く、随分昔に重複した遺伝子対や染色体領域を *paralogous* と呼ぶ習慣は既に出来て居た。ともあれ人及びマウスのゲノム(1倍体)染色体上には、*paralogous* な断片が広範に分布して居るだけでは無く、其の *paralogous* な断片の総数は最大必ず4と成り、4を越える事は無い。哺乳類ゲノムが過去2回4倍体化を繰り返したであろうという推測(13)を強力に支持する事実である(14)。適例を *Hox* (*homeobox*) 遺伝子群を含んだ断片で示そ

う。DNA 結合蛋白をコードする此の遺伝子群は Edward B. Lewis 氏が最初にショウジョウバエで見付けた者で、カンブリア初紀に爆発的に同時出現した全動物門に就いて、各動物特有の頭尾分化を支配する。今まで調べられた全動物門では、1染色体上に一連の *Hox* 遺伝子(線虫では4個、昆虫では8個)が順序良く並んで居るのが原則である。我々が属する *Chordata* 門でもナメクジウオが代表する頭索動物亜門では、矢張り1染色体上に、10個の *Hox* 遺伝子が存在するだけである(15)。処が、脊椎動物になると、無顎魚類を除いて、全て4種の違った染色体(人類の場合、第2, 7, 12, 17染色体)が、それぞれ一連の *Hox* 遺伝子を担って居るだけでは無く、各連の *Hox* 遺伝子総数が13個に増加している(16)。最も4連と成った重複に依る冗長の為に、各連の13個の *Hox* 遺伝子中の平均30%は退化して機能を失い *Pseudogenes* と成って仕舞って居る。上記の事実其のものが、既に無顎類を除いた脊椎動物のゲノムは2回の4倍体化を経過して確立したと言う概念を強力に支持する者であるが、更に、其の周辺に *paralogous* な遺伝子が群がっている(14)。図1に示す様に人類第2染色体短腕P12帯、第7染色体短腕P14帯、第12染色体長腕Q12帯及び第17染色体長腕Q21帯は、カンブリア初紀には同一染色体の一部であった者が、2回の4倍体化に依って重複されて生まれたものだと考えるべきであろう。図1を更に詳細に観察されると、*paralogy* は2分され、第2染色体P12帯と第7染色体P14帯の間及び第12染色体Q12帯と第17染色体Q21帯の間に特に濃厚である事に気附かれるであろう。上記は第1回の4倍体化と第2回の4倍体化との間に可成りの時間が経過したであろう事を示す。進化時間の時計であるから、短くても数百万年の間隔を置いたのであろう。2番目の4倍体化で生まれた各対の間により強い *paralogy* が歴然なのは寧ろ当然と言うべきであろう。

処で人類のMHC抗原であるHLA Class I及びClass II抗原をコードする遺伝子群は第6染色体短腕P21.3帯に蟠踞するが、上記両者の中間に、俗にClass III領域といわれるMHC抗原と関係の無い蛋白をコードする遺伝子群が介在する事は可成り前から知られていた；例えば補体因子(Complement

TWICE THE TETRAPLOIDY HOMEOLY IN HUMAN CHROMOSOMES

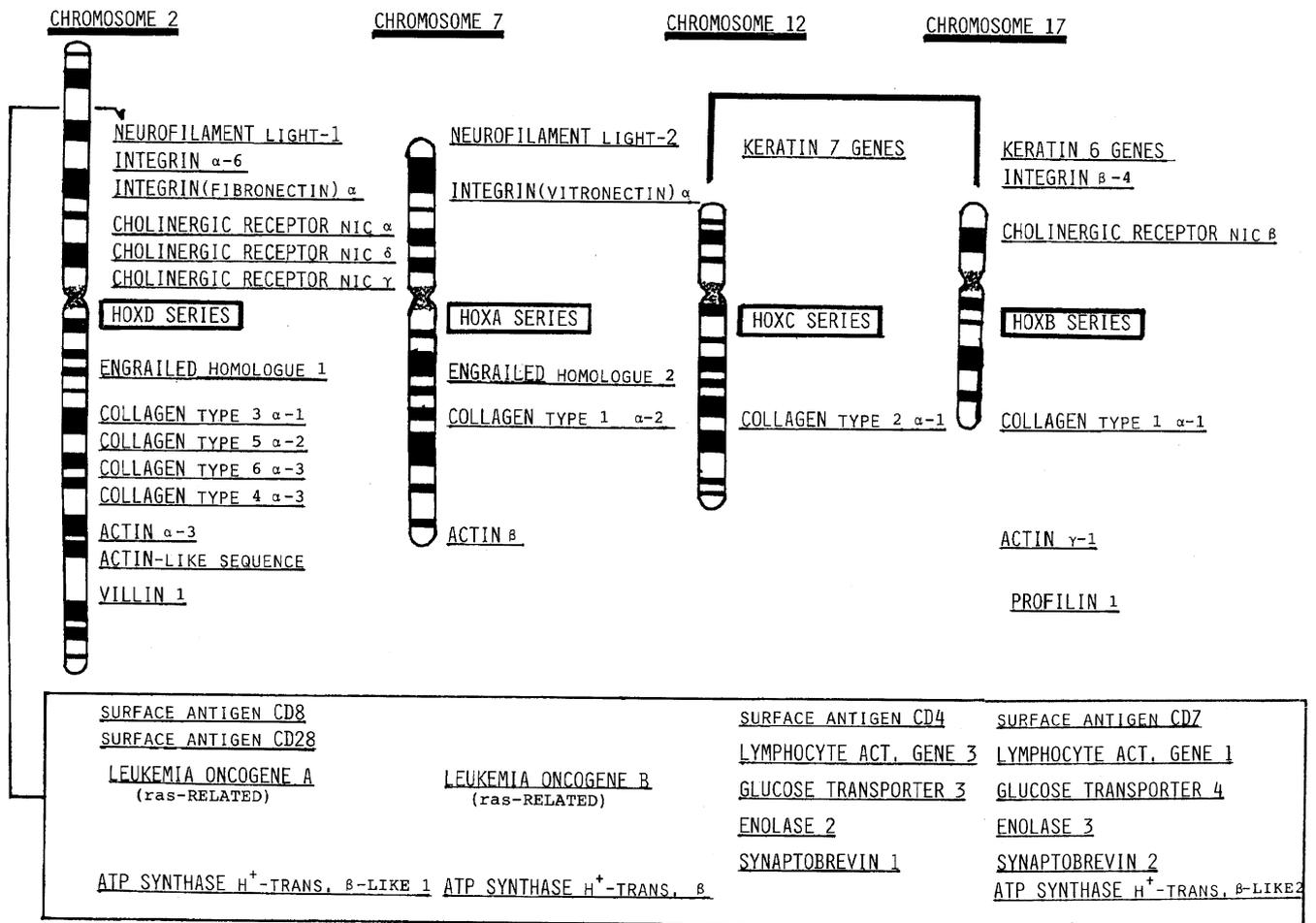


図1 4連のHox遺伝子群を中心とした、人類4染色体上に分布されているParalogous領域(14)。左から第2染色体短腕P12帯周辺、第7染色体短腕P14帯周辺、第12染色体長腕Q12帯周辺及び第17染色体長腕21帯周辺に蟠踞するparalogous遺伝子群。底部箱内の遺伝子群の実際所在位置は最上部。

Components) C 2, C 4 A, C 4 B, steroid 21 hydroxylase 等をコードする遺伝子群。更に、Class I 及び Class II 領域其の者にも MHC 抗原と無関係な遺伝子群が混在して居る事が最近になって判って来た。図1に示した4染色体上に分布する一連宛のHox遺伝子群の周辺同様、此等第6染色体P21.3帯上のMHC抗原に無関係な遺伝子群に関する限り、paralogousな領域が他3染色体上に存在する事が今年になってから急速に判って来た。第1染色体、第9染色体、第19染色体が第6染色体とparalogous領域を分け合っている(17)。此れを最新情報(18)の考慮に依って抜粋したのが図2に示してある。遺伝子座の相互位置に就いては、頻繁に訂正がある事を念頭に置いて

見て頂きたい。図1と似て図2でも、第6染色体P21.3帯(HLA領域)と第9染色体Q33-34帯間のparalogyが特に強い事に気付かれるであろう。同じ事が第1染色体Q21-25帯と第19染色体の一部に就いて言えるかどうかは、後者に就いての情報が余りに貧弱なので断言し難い。更に第1染色体Q21-25帯とHLAを担う第6染色体Q21.3帯の間で分け合うparalogous遺伝子(17)の多数は図2から省略してある。ともあれ、第6染色体P21.3帯と第9染色体Q33-34帯が分け合うparalogousな遺伝子群の内の特筆すべきは、proteasomeと呼ばれる巨大構造の中の3種のsubunitsであろう。此の巨大proteasome構造は、細胞内蛋白をペプチド断片に分断するのが仕事であ

HUMAN CHROMOSOME 6
(HLA CHROMOSOME)

HUMAN CHROMOSOME 9

HUMAN CHROMOSOME 1

HUMAN CHROMOSOME 19

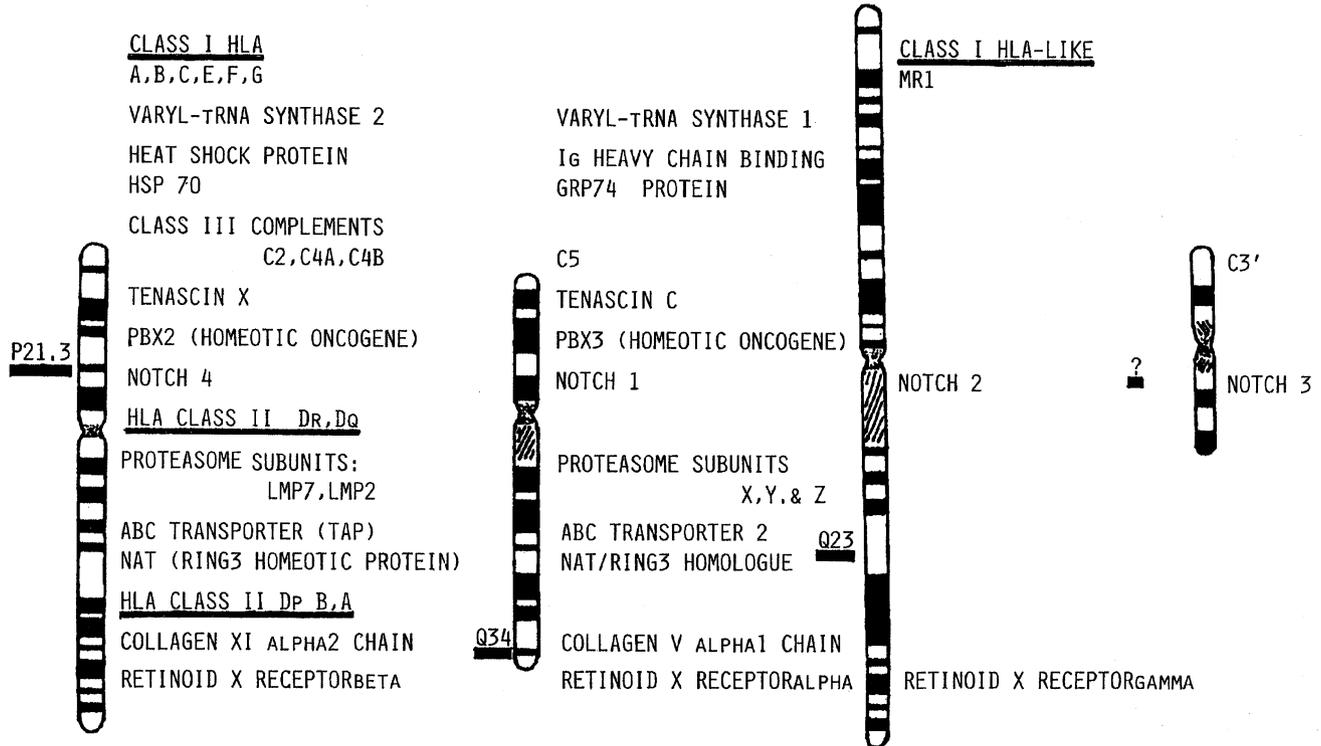


図2 人類のMHC抗原であるHLA抗原をコードする遺伝子群は第6染色体短腕P21.3帯周辺に位置するが(最左端), 此の領域とparalogousな領域が他の3染色体に分布して居る. 左2番目から第9染色体長腕Q34周辺, 第1染色体長腕Q23帯周辺及び第19染色体?帯周辺(17, 18, 19, 20).

るが, 全体細胞が共有する proteasome の3 subunits X, Y, Zをコードする遺伝子群は第9染色体Q34帯に含まれている. 処が, Class I及びClass II HLA抗原が表示するペプチド断片の供給の為に特殊化した proteasome の上記3 subunits に相当する LMP2, LMP7をコードする遺伝子群は第6染色体P21.3帯中の HLA Class II領域に含まれて居る(19).

結論として, HLA Class III領域にも含まれる補体をコードする遺伝子を中心にした, 可成り広範な paralogous 領域は, 人類でもハツカ・ネズミでも, 4染色体上に分布している. それにも拘わらず MHC 抗原をコードする遺伝子群は, 必ず1染色体上にしか存在しない; 人類では第6染色体, ハツカ・ネズミでは第17染色体.

上記の知見を正直に解釈すると, 私が前から述べた様に, カンブリア初紀に出現した最初の脊椎動物

であった無顎魚類コノドントのゲノムには, MHC 抗原をコードする遺伝子は未だ存在していなかった事と成る. 2回目の4倍体化を終わって現れたデボン紀の最初の有顎魚類のゲノムに MHC 抗原遺伝子が忽然と現れたからこそ, 其の存在が必ず1染色体上に限定されて居るのであろう. 但し, 第1回目の4倍体化の後に最初の MHC 抗原遺伝子は既に生まれて居たと言う可能性もある. 人類第1染色体長腕Q25帯に MR1 という Class I HLA 抗原に似た抗原をコードする遺伝子が存在すると言う報告が有るからである(20). 第1染色体Q25帯は, 第6染色体 HLA 領域と paralogous なQ23帯の近所である(図2). 若しそうであれば, ハツカ・ネズミでも MRI 相当の遺伝子が予想出来る場所に存在すべきで有るし, 寧ろ第6と第1染色体間に見られなければならない; 6P21.3と1Q23-25の間. 事実, そ

う言う見解も出て居る(17).

8. おわりに

無脊椎動物にも自己・非自己識別に依る拒絶反応が時に見られる処から、免疫機能の進化論の定説は、先ず MHC 抗原に依る自己・非自己識別の能力が獲得され、続いて T 細胞を中軸とした細胞免疫機構が生まれ、最後に抗体を作る B 細胞を中心とした体液免疫機構が誕生したと言うものであった。私は、先ず上記定説の数々の矛盾を指摘し、次に、我々が知る免疫機構は、恒温動物である哺乳類、鳥類が誕生する迄は本当の威力を発揮出来なかったと議論した。免疫機構が自己・非自己の識別を必要としたのは、ウイルスに対する感染防禦の為に多糖類、磷酸コリンに加えて蛋白迄を反応対象とし始めたからで、従って MHC 抗原は免疫機構の元祖では無く、其の二次的産物であると論じた。事実約 5.4 億年前に現れた最初の脊椎動物であった無顎魚類コノドントのゲノムには MHC 抗原遺伝子は存在し無かった様である。其の変形した末裔である今日の円口類メクラ・ウナギ、ヤツメ・ウナギに MHC 抗原が見付から無いのは、寧ろ当たり前と言えよう。其の後二回連続の 4 倍体化が起こり約 3 億年前のデボン紀に有顎魚類が生まれた時に、其の 1 染色体上に MHC 抗原遺伝子群が誕生したようである。事実人類でもネズミでも MHC 領域相応の palalogous が四染色体上に分布しているが、実際に MHC 抗原遺伝子を担っているのは、其の中の一つだけである。但し、一回目の 4 倍体化後に誕生した可能性を匂わせる様なデータも一つ有る。

参考文献

1. Ohno S : The origin of immunoglobulins and T-cell receptors is likely to be the cell death sensor of macrophages. *Res. in Immunol.* 147 : 247- 253, 1996.
2. Schopf JW : Microfossils of the early Archean apex chert : New evidence of the antiquity of life. *Science* 260 : 640-645, 1993.
3. Cavalier-Smith. T : Eukaryotic cell evolution, *Proc. 13th Internatl. Botanical Congress*, 1988 ; p. 203- 223.
4. Margulis L : *Origin of Eukaryotic Cells*. Yale Univ. Press, New Haven, 1970.
5. Boman HG : Peptide antibiotics : Holly or heretic grails of innate immunity? *Scand. J. Immunol.* 43 : 475-482, 1996.
6. Ishiguro H, Kobayashi Y, Suzuki M, *et al.* : Isolation of hagfish genes encoding a complement component. *EMBO J.* 11 : 829- 837, 1992.
7. Ohno S : MHC evolution and development of a recognition system. *Annal. New York Acad. Sci.* 712 : 13- 19, 1994.
8. Nastalla JB, Kao TH, Chen CH, *et al.* : Amino acid sequence of glycoproteins encoded by three alleles of the S locus of Brassica oleracea. *Nature* 326 : 617- 619, 1987.
9. Oka H : *Profiles of Japanese Science and Scientists* (ed. Ukawa H). Colony specificity in compound tunicates, Kodansha Publishers, Tokyo, 1970.
10. Stoner DS, Weissman IL : Somatic and germ cell paraticism in a colonial ascidian : Possible role for a highly polymorphic allorecognition system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93 : 15254- 15259, 1996.
11. Ohno S : The notion of the Cambrian pananimalia genome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93 : 8475- 8478, 1996.
12. Becak ML, Becak W, Rabello MN : Biological evidence of constant tetraploidy in the bisexual South American frog, *Odontophrynus americanus*. *Chromosoma* 19 : 188- 193, 1966.
13. Ohno S : *Evolution by Gene Duplication*. Springer-Verlag, Heidelberg-New York, 1970.
14. Lundin LG : Evolution of the vertebrate genome as reflected in paralogous chromosomal regions in man and the house mouse. *Genomics* 16 : 1- 19, 1993.
15. Garcia-Fernandez J, Holland PWH : Archetypal organization of the amphioxus Hoxgenes. *Nature* 370 : 563- 566, 1994.
16. Holland PWH, Garcia-Fernandez J, Williams NA, *et al.* : Gene duplications and the origins of vertebrate development. *Development Suppl.* :

- 125-133, 1994.
17. Katsanis N, Fitzgibbon J, Fisher EMC : Paralogy mapping : Identification of a region in the human MHC triplicated onto human chromosomes 1 and 9 allows the prediction and isolation of novel PBX and NOTCH loci. *Genomics* 35 : 101-108, 1996.
 18. 安藤麻子 猪子英俊 : HLA 領域のゲノム解析, *細胞工学* 14 : 39-47, 1995.
 19. Kasahara M, Hayashi M, Tanaka K, *et al.* : Chromosomal localization of the proteasome Z subunit gene reveals an ancient chromosomal duplication involving the major histocompatibility complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 93 : 9096-9101, 1996.
 20. Hashimoto K, Hirai M, Kurosawa Y : A gene outside the Kuman MHC related to classical HLA class I gene. *Science* 269 : 693-695, 1995.

〔シリーズ：血清学〕 HLA分子とそのエピトープ —血清学を中心にして

丸屋 悦子

京都府赤十字血液センター 研究部

はじめに

近年の HLA 学の進歩はめざましく、HLA の構造 (1, 2) とその機能の解明 (3) および遺伝子構造の解析 (4- 9) と研究は進み、生体内で HLA が関る機能の調節法へと研究は続いている。およそ 20 年前、HLA-DR 抗原を検出できる抗体が経産婦血清中に存在し、typing 用の抗血清として使用可能 (10) であることが解った頃、私は HLA マフィアの一員となった。当時 HLA とは“どんな形？”，“生体にとってどんな役割を果しているのか？”また“医療の中でどれくらい重要なものでしょう？”など漠然と考えながら HLA 抗血清探しに夢中になっていた。血清の解析を進めれば進むほど、同種免疫により作られる HLA 抗体の反応性の複雑さがわかり、“いったいこれらの複雑な抗体を作る HLA 分子の抗原エピトープ (当時このような用語は理解していなかったが) は何？，ひとつの分子にいくつのエピトープが存在するのか？”について強い関心を持つようになった。そして抗体スクリーニング (年に 2~3 回、陽性血清の特異性の同定作業を行っていた) で検出される特異抗体の頻度は免疫原である抗原頻度が類似しているものであっても同程度の頻度ではない。“これは偶然の結果か？”このように HLA は不思議なことで満ち溢れた世界であった。

第 11 回国際 HLA ワークショップが開催される頃には多くの HLA 抗原のアミノ酸配列の解析も進み、その配列を比較することにより抗原特異的または抗原群特異的なエピトープ (11- 14) の推定が可能になっていた。いちはやくこの種の仕事の準備をはじめていたのは、血清学で有名な UCLA, Terasaki Lab. の Dr. Park (15, 16) であった。図 1 に

血清学的交差反応性を示す HLA-A locus および B locus 抗原を示す。これは Dr. Park の長年に亘る血清解析結果より作成されたものである。2 本線で結ばれる抗原同士は強い交差反応性を示し、1 本線は交差反応性があることを示す。この図で示される交差反応性を示す抗原群は単一のエピトープを有するのであるか？ それとも単にそれぞれの抗原に対する抗体のたし算の結果であろうか？ 筆者も HLA-A 9 と A 1 に反応する抗体を検出し、この抗体が HLA-A 9 と A 1 の共通エピトープに対する抗体であることを吸収実験により確認 (17) したことがあり、Multi-specific 抗体のエピトープ (18) についても興味深かった。

このようなバックグラウンドで、HLA-抗体のエピトープについてアメリカ (American Red Cross, Jerome H. Holland Lab. および UCLA, Terasaki Lab.) で行った仕事をまとめて紹介する。

1. HLA class I 抗原のエピトープ解析とその免疫原性について

1.1 材料・方法

1.1.1. 血清とパネルセル

経産婦血清や分娩血 (USA, Japanese, Korean, Thai, Mongolian から得られた) 23, 548 例についてパネルセル 209 例を用い、リンパ球細胞毒障害 (LCT) テストにより HLA 抗体同定を行った。パネルセルには各人種特異的な抗原を持つセルを含み、各抗原について最低 2 個以上その抗原を保有するセルが含まれる。ただし HLA-A 43, B 703, B 5103, B 5102 については含まれていない。

1.1.2 血清解析

血清学的解析は全パネルセルに対し陽性率が2%以上でSI (strength index) が25%以上を示す血清を解析の対照とした。相関係数, inclusion index (inc) およびセログラムによる解析を行った。

1.1.3. Immunogenicity index

血清学的解析により得られた血清特異性を示すエピトープの immunogenicity index (immuno. index) は以下の式を用い計算した。

chance of immunization (CI) (19) = $GF \times (1 - PF)$
 GF : gene frequency, PF : phenotype frequency, N = total number of screening

Sera number of getting chance of immunization (SCI) = $N \times CI$

Percent positive (P%) = $\frac{\text{total number of positive (PS)}}{N}$

Expectation number of anti epitope sera (EAb) = $N \times CI \times P\% = N \times CI \times PS \div N = PS \times CI$

Immunogenicity index (immuno. index) = $\frac{\text{Actual number of sera}}{EAb}$

各抗原のGFは第11回国際HLAワークショップデータ(20)から抗血清が収集された人種; USA, Japanese, Korean, Thais, Mongolian, North American Blacks, North African Blackの各データの平均値を使用した。

1.1.4. エピトープの推定

塩基配列が決定されたHLA-A, B, C locus 抗原のアミノ酸配列を比較し, 抗原および抗原群に特異的なアミノ酸の組み合わせをアミノ酸1個から数個(最少限度)の組み合わせで検索し, 推定上のエピトープ候補としてあげた。例えば図1に示す specific combination of amino acid residues および possible other combination に記載している組み合わせでアミノ酸が1個の場合はそのアミノ酸がある抗原および抗原群に特異的であった場合(HLA-A 2は74番目のヒスチジンが他の抗原にはない特異的なアミノ酸である)で, 062-G; 066-K, 067-V, 070-H, 138-M, 163-Tのように, “;” でくぎられたあと “,” で羅列される場合は62番目のアミノ酸(G)が必須

(キー)で, かつ066-Kまたは067-Vまたは070-Hまたは138-Mまたは163-Tのアミノ酸のうちの1個のアミノ酸を組み合わせることによりHLA-A 2になることを示す。また, 例えばA 10 groupにおけるA 25, A 26, A 34, A 66の063-N; 152-E; 246-S, 253-Qの場合は“;”でくぎられた二つのアミノ酸がいずれも必要であることを示す。すなわち063-Nと152-Eは双方必要でかつ246-Sまたは253-Qとの組合せでエピトープが形成され得ることを示している。よってエピトープとなり得るアミノ酸が1個の場合や複数個必要とする場合でもキーとなるアミノ酸とペアを組むアミノ酸が隣接した位置にある場合はその部位および周辺が抗体のエピトープとなりうる。また非常に離れた部位のアミノ酸の組み合わせがエピトープ候補である場合(例えば α ヘリックスと β シート上や「対岸」の α ヘリックス上に存在するアミノ酸)は conformational エピトープと考えられる。もちろんこれらの組み合わせはあくまでも推定上のものであり, エピトープを構成するアミノ酸の数を増やすことにより違った組合せのアミノ酸でそのエピトープ特異的な組合せを検索することができる。

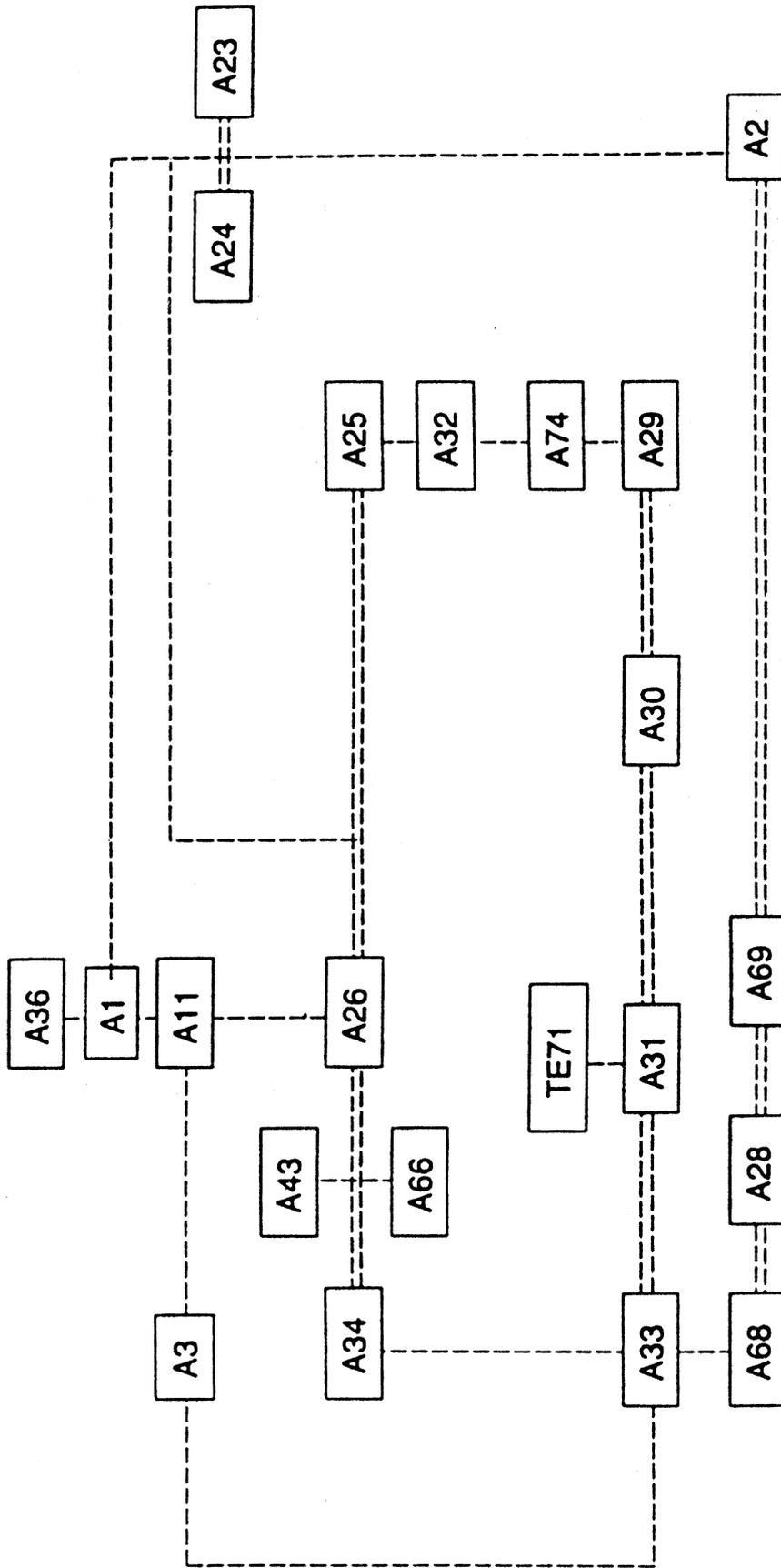
1.2 結果・考察

1.2.1 HLA-A locus 分子のエピトープ

スクリーニング血清23,548中, 相関係数(R)が0.85以上, inclusion index が0.8以上であるHLA-A locus に対する特異性を示す血清が1,298例(5.5%)検出された。表1に検出された血清の特異性と数を示す。スクリーニング血清は白人・黒人・東洋人由来のものが含まれ, どの人種にも存在する抗原であるHLA-A 2に対する抗体が一番多く検出された。ただしHLA-A 2を含む multi specific 抗体は mono specific な抗体に比べ検出頻度は低かった。免疫の機会から考えると multi specific 抗体のほうが免疫の機会が多いはずである。これは明らかにエピトープによる免疫原性に違いがあることを示唆するデータである。しかしこの傾向はエピトープにより異なる。例えばHLA-A 24とA 23およびその共通抗原であるA 9(A 23, A 24)に対する抗体の出現頻度を比べれば明らかである。すなわちこれらの特異性に対する抗体の検出頻度は免疫の機会が多い順に従っている。

表 1. The specificities of HLA-A locus antisera
in 23, 548 sera

Specificity ($R > 0.85$ inc > 0.8)	Number of sera	Freq. (%)
A2	308	25.1
A2 A68 A69	137	11.2
A23 A24	98	8.0
A24	63	5.1
A11	57	4.7
A1	55	4.5
A3	49	4.0
A25	40	3.3
A30 A31	40	3.3
A25 A26 A34 A66	39	3.2
A25 A26 A34 A66 (A43)	39	3.2
A1 A36	38	3.1
A23	33	2.7
A30	33	2.7
A68 A69	30	2.4
A25 A26	28	2.3
A2 A69	27	2.2
A29	23	1.9
A29 (A43)	23	1.9
A25 A32	15	1.2
A26	13	1.1
A26 (A43)	13	1.1
A1 A11 A36	13	1.1
A23 A24 A25 A32	11	0.9
A32	10	0.8
A26 A34 A66 (A43)	9	0.7
A1 A23 A24	8	0.7
A1 A3 A11 A25 A26 A34 A36 A66 (A43)	8	0.7
A11 A25 A26 (A43)	7	0.6
A26 A34	4	0.3
A26 A34 (A43)	4	0.3
A3 A11	4	0.3
A1 A24	4	0.3
A33	3	0.2
A2 A24 A68 A69	3	0.2
A34	2	0.2
A36	2	0.2
A66	1	0.1
A31	1	0.1
A1 A11 A25 A26 A34 A36 (A43)	1	0.1
A11 A25 A26 A66 (A43)	1	0.1
A2 A23 A24	1	0.1
Total	1298	5.5



☒ 1. Serological crossreaction of HLA-A antigens

HLA 抗原のグループ (HLA-A 2, A 9, A 10, A 11, A 1, A 19 complex, A 3, A 36) ごとに推定されるエピトープと immuno. index による解析を行ないエピトープを形成し得るアミノ酸の種類や位置および免疫原性との関連を調べた。

図2に HLA-A 2 と A 28 (A 68, A 69) 分子に対する抗体のエピトープを形成し得るアミノ酸の候補とそのエピトープの免疫原性を immuno. index で示した。また各エピトープごとにアミノ酸の“部位”と“種類”をリボンダイアグラム上に示した。HLA-A 2のエピトープの候補として74番目のアミノ酸(H)がある。また62番目のアミノ酸(キーとなるアミノ酸)とその他リボンダイアグラム上に示す多くのアミノ酸のうちの1個のアミノ酸を組み合わせると、A 2特異的なエピトープが構成できる。よって抗原提示される HLA-A 2特異的なペプチドとして α 1ドメインのヘリックス上のアミノ酸で62番目または74番目を含む多くの部位が候補となり得る。ゆえに immuno. index が期待値(1.0)に比べおよそ2倍、すなわち免疫原性が通常の2倍強いことも容易に考えられる。また検出頻度の低い抗体の推定上のエピトープは conformation により形成される場合が多い。おそらく conformational なエピトープの免疫原性は低いと考えられる。図のリボンダイアグラム中アミノ酸の位置番号に下線がひかれているアミノ酸はエピトープを形成する上でキー(必須)となるアミノ酸を意味する。

図3に HLA-A9 (A 23, A 24) 分子に対する抗体のエピトープを形成し得るアミノ酸の組み合わせとその免疫原性を示す。またアミノ酸の位置および種類をリボンダイアグラムで示す。HLA-A 23, A 24のエピトープを構成する候補アミノ酸は1個のアミノ酸では2種類(062-E, 065-G)あり、2個のアミノ酸の組合せではキーアミノ酸が 09-S でペアを組むアミノ酸候補は30種類(個所)存在する。しかしこれらのエピトープは conformational epitope であるため、見かけ上は HLA-A 2分子と同様にエピトープ形成候補アミノ酸数は多いが、HLA-A 2エピトープほどの強い免疫原性は認められなかった。このような結果からエピトープを構成するアミノ酸の位置とその組合せ数が免疫原性と強い相関があることが

示唆された。

図4～8に HLA-A 10, A 11, A 1, A 3, A 19 group antigen 分子の推定上のエピトープと immunogenicity を示す。

表2に HLA-A locus epitope と immunogenicity を示す。特異性が明瞭な抗体エピトープの約60%の immuno. index が期待値(1.0)の半分以下である。すなわち HLA-A locus 分子の抗体エピトープの免疫原性はおしなべて弱いと考えられる。但し HLA-A 2 と A 25 エピトープの免疫原性は通常より強いことが解った。

1.2.2. HLA-B locus 分子のエピトープ

スクリーニング血清 23,548 中、相関係数(R)が0.85以上、inclusion index が0.8以上である HLA-B locus に対する特異性を示す血清が1,206例(5.1%)検出された。表3に検出された血清の特異性と数を示す。

図10から15に各 HLA-B locus 抗原 group (B 5, B 7, B 13, B 40, B 48, B 22, B 42, B 12, B 17, B 14, B 16, B 15, B 37, B 46, B 8) の抗体エピトープを形成しうるアミノ酸の組合せとそのエピトープの免疫原性を immuno. index で示した。また各エピトープごとにアミノ酸“部位”と“種類”をリボンダイアグラム上に示した。表4に HLA-B locus epitope と immunogenicity を示した。

HLA-B locus epitope の immunogenicity も HLA-A locus epitope の場合と類似した傾向が見られた。すなわち、immunogenicity が強い epitope (HLA-B 7) は HLA-A 2 と同様に α ヘリックス上のキーとなるアミノ酸の周辺に特異的なエピトープを形成するアミノ酸候補が複数個存在する。よってペプチドとして提示される確率が高いと考えられる。また HLA-B 13 の場合、HLA-A 25 と同様に77, 80, 82番(図には示していない)のアミノ酸が特異的なエピトープを形成し得るアミノ酸に含まれる。但しこの部位がエピトープを構成するアミノ酸候補となり得るエピトープで免疫原性の弱いものも存在する。

全体的に免疫原性と推定上のエピトープの関連をみると次のような法則性が考えられる。

エピトープを形成するキーとなるアミノ酸(必須)

No. Specificity (R>0.85 inc>0.8)	A2 group sera (%)	Total sera (%)	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid residues	Possible other combination
1 A2	60.9	25.1	1.70	062-G; 066-K, 067-V, 070-H, 138-M, 163-T	074-H
2 A2 A68 A69	27.1	11.2	0.75	142-T; 145-H	
3 A68 A69	5.9	2.4	0.60	145-H; 074-D, 070-G, 066-N, 063-N, 062-R	
4 A2 A69	5.3	2.2	0.15	095-V	063-N, 076-V
5 A2 A24 A68 A69	0.6	0.2	0.02	127-K; 151-H	
6 A2 A23 A24	0.2	0.1	0.01	066-K; 127-K	
Total		506			

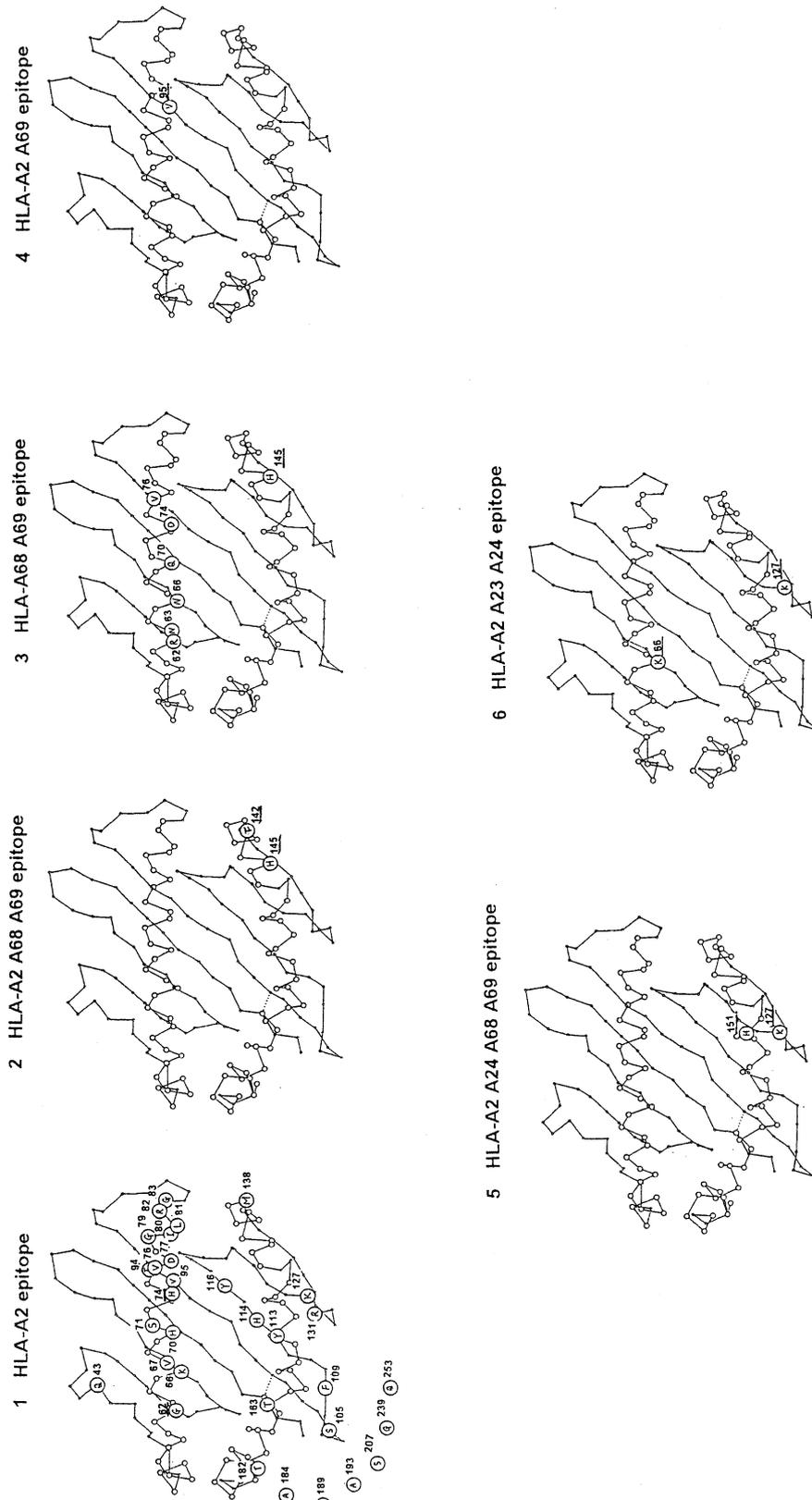


Fig. 2. The putative epitopes of HLA-A2 and A28 molecules and Immunogenicity

No. Specificity (R>0.85 inc>0.8)	A9 group sera (%)	Total sera (%)	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid. residues	Possible other combination
1 A23 A24	44.3	8.0	0.59	062-E	065-G
2 A24	28.5	5.1	0.47	156-Q; 062-E, 097-M, 099-F, 166-D, 167-G	
3 A23	14.9	2.7	0.51	151-R; 166-D, 167-G, 062-E, 144-K	
4 A23 A24 A25 A32	5.0	0.9	0.06	070-H; 080-I, 081-A, 082-L, 083-R	
5 A1 A23 A24	3.6	0.7	0.04	166-D; 167-G	
6 A1 A24	1.8	0.3	0.02	151-H; 166-D, 167-G	
7 A2 A24 A68 A69	1.4	0.2	0.02	127-K; 151-H	
8 A2 A23 A24	0.5	0.1	0.01	066-K; 127-K	
Total		221			

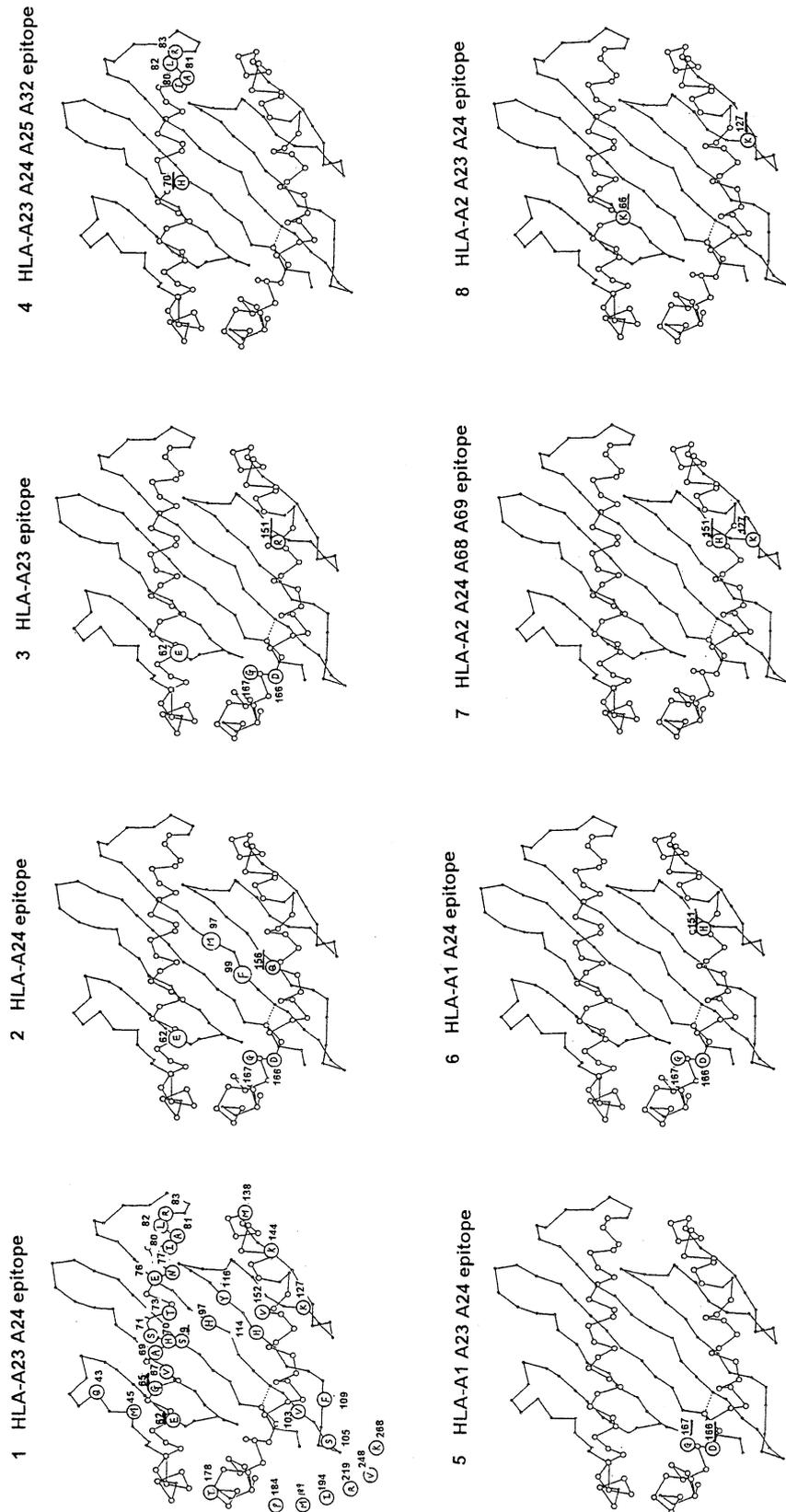
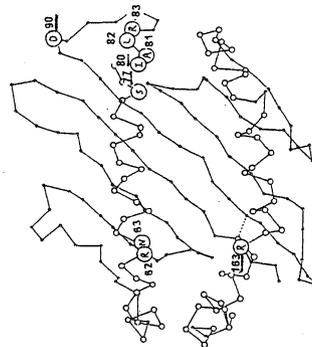


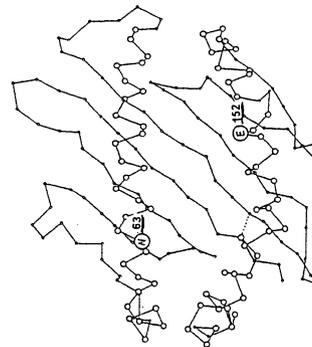
Fig 3. The putative epitopes of HLA-A9 molecule and Immunogenicity

No.	Specificity (R>0.85, inc>0.8)	Number of sera	A10 group sera (%)	Total sera (%)	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid residues	Possible other combination
1	A25	40	18.3	3.3	1.99	090-D, 163-R; 080-I, 081-A, 082-L, 083-R	077-S; 080-I; 062-R, 063-N, 090-D
2	A25 A26 A34 A66	39	17.9	3.2	0.41	063-N; 152-E; 246-S, 253-Q	156-W; 246-S
3	A25 A26 A34 A66 (A43)*	39	17.9	3.2	0.41	149-T	063-N; 070-H; 073-T
4	A25 A26	28	12.8	2.3	0.39	063-N; 163-R	
5	A25 A32	15	6.9	1.2	0.39	077-S, 114-G; 080-I, 081-A, 082-L, 083-R	
6	A26	13	6.0	1.1	0.24	063-N; 076-A	
7	A26 (A43)*	13	6.0	1.1	0.23	076-A; 077-N; 156-W	076-A, 077-N; 070-H; 067-V
8	A23 A24 A25 A32	11	5.0	0.9	0.06	070-H; 080-I, 081-A, 082-L, 083-R	
9	A26 A34 A66 (A43)	9	4.1	0.7	0.11	079-G; 151-H; 152-E, 246-S, 253-Q	
10	A1 A3 A11 A25 A26 A34 A36 A66 (A43)	8	3.7	0.7	0.04	095-I; 116-D; 151-H	
11	A11 A25 A26 (A43)	7	3.2	0.6	0.05	163-R; 166-E; 167-W	
12	A26 A34	4	1.8	0.3	0.05	090-D; 079-G; 063-N	
13	A26 A34 (A43)*	4	1.8	0.3	0.05	090-D; 079-G; 156-W, 152-E, 149-T	
14	A34	2	0.9	0.2	0.09	066-K; 090-D	
15	A1 A11 A25 A26 A34 A36 (A43)	1	0.5	0.1	0.01	090-D; 116-D, 095-I, 109-F	
16	A66	1	0.5	0.1	0.11	163-E; 151-H, 149-T, 138-M	
17	A11 A25 A26 A66 (A43)	1	0.5	0.1	0.01	066-N; 144-G; 151-W	
Total		218					

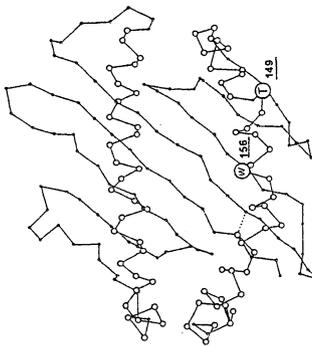
1 HLA-A25 epitope



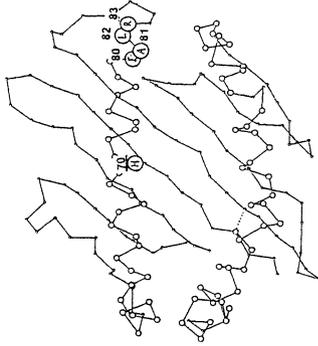
2 HLA-A25 A26 A34 A66 epitope



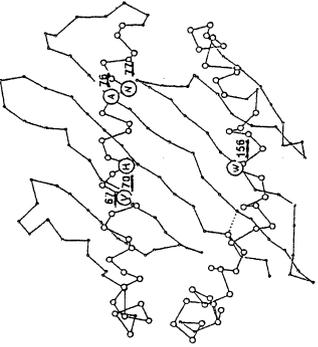
3 HLA-A25 A26 A34 A43 A66 epitope



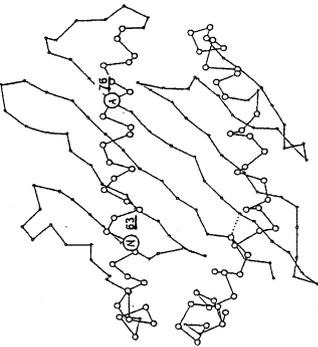
8 HLA-A23 A24 A25 A32 epitope



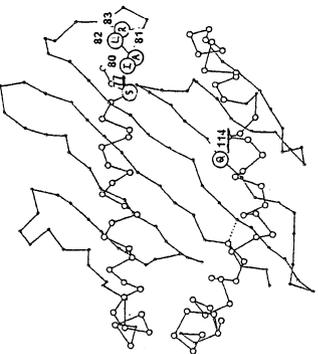
7 HLA-A26 A43 epitope



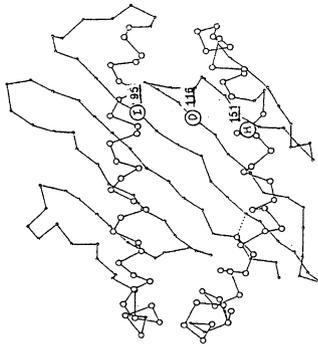
6 HLA-A26 epitope



5 HLA-A25 A32 epitope



10 HLA-A1 A3 A11 A25 A26 A34 A36 A43 A66 epitope



No.	Specificity (R>0.85 inc>0.8)	Number of sera	A11 group sera (%)	Total sera (%)	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid residues	Possible other combination
1	A11	57	65.5	4.7	0.52	163-R; 076-V, 077-D, 156-Q	
2	A1 A11 A36	13	14.9	1.1	0.08	090-D; 097-I, 114-R	
3	A1 A3 A11 A25 A26 A34 A36 A66 (A43)	8	9.2	0.7	0.04	095-I; 116-D; 151-H	
4	A11 A25 A26 (A43)	7	8.0	0.6	0.05	163-R; 166-E, 167-W	
5	A11 A25 A26 A66 (A43)	1	1.1	0.1	0.01	066-N; 144-Q; 151-W	
6	A1 A11 A25 A26 A34 A36 (A43)	1	1.1	0.1	0.01	090-D; 116-D, 095-I, 109-F	
Total		87					

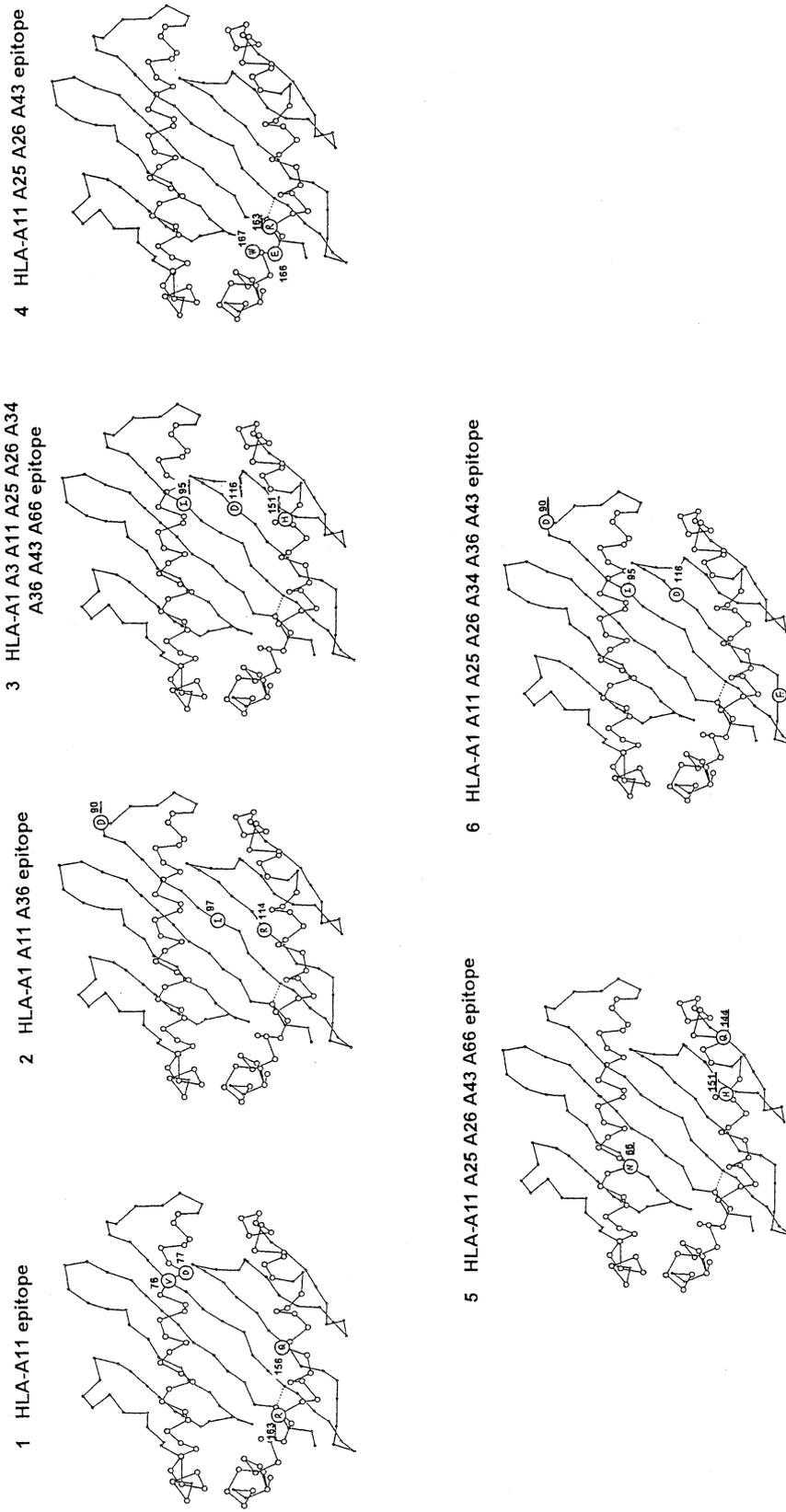


Fig 5. The putative epitopes of HLA-A11 molecule and Immunogenicity

No. Specificity (R>0.85 inc>0.8)	Number of sera	A1 group sera (%)	Total sera (%)	Immu. Index	Specific combination of Amino acid residues	Possible other combination
1 A1	55	43.3	4.5	0.84	163-R; 166-D; 167-G; 158-V	158-V; 163-R; 166-D; 167-G
2 A1 A36	38	29.9	3.1	0.47	156-R; 152-A; 151-H; 150-S; 144-K; 138-M	158-V
3 A1 A11 A36	13	10.2	1.1	0.08	090-D; 097-I; 114-R	
4 A1 A3 A11 A25 A26 A34 A36 A66 (A43)	8	6.3	0.7	0.04	095-I; 116-D; 151-H	
5 A1 A23 A24	8	6.3	0.7	0.04	166-D; 167-G	
6 A1 A24	4	3.1	0.3	0.02	151-H; 166-D; 167-G	
7 A1 A11 A25 A26 A34 A36 (A43)	1	0.8	0.1	0.01	090-D; 116-D; 095-I; 109-F	
Total	127					

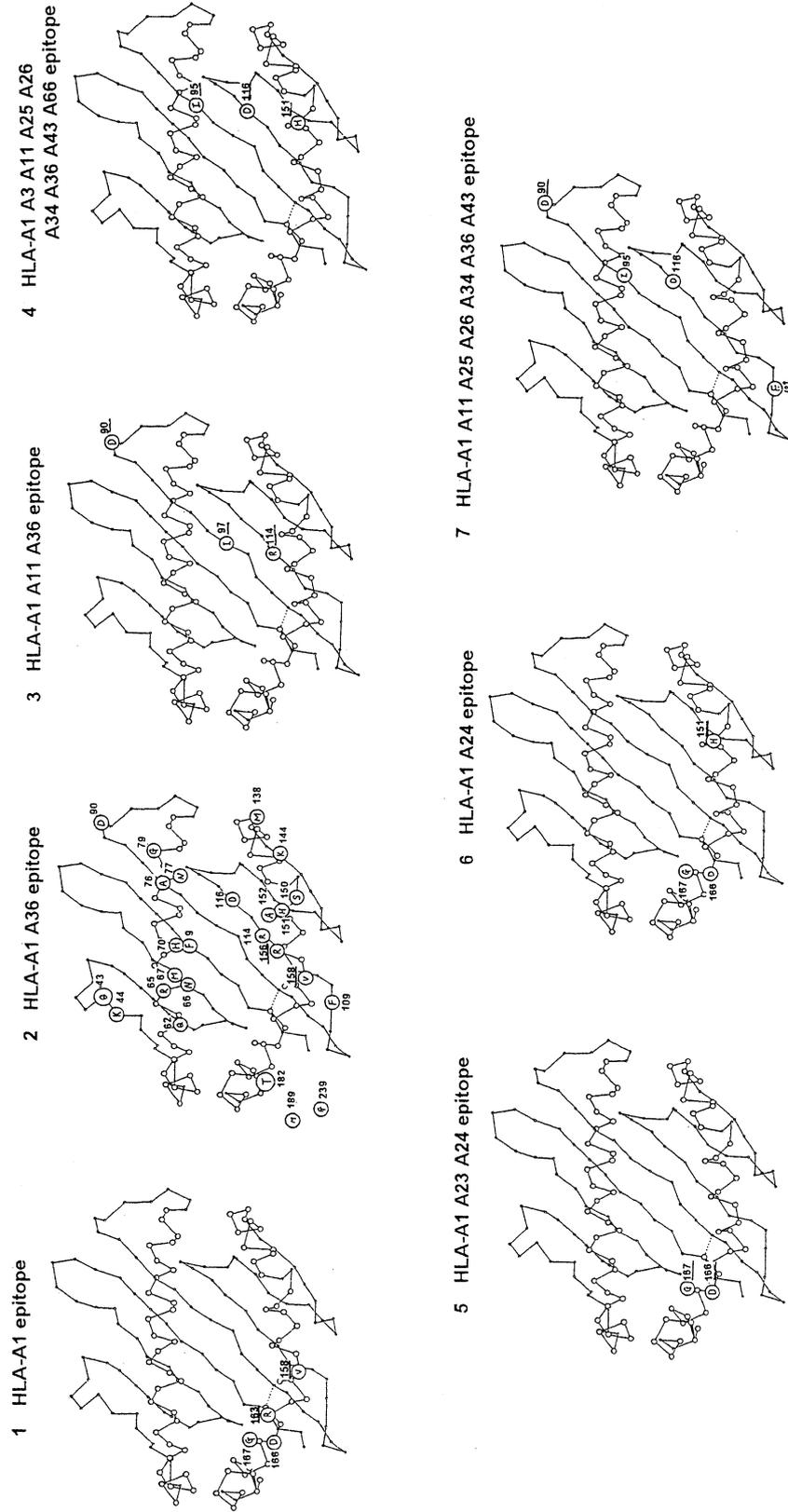
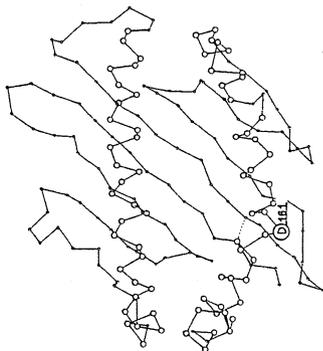


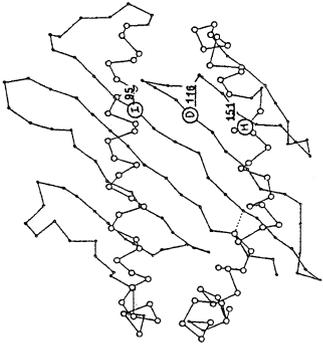
Fig 6. The putative epitopes of HLA-A1 molecule and Immunogenicity

No.	Specificity (R>0.85 inc>0.8)	Number of sera	A3 group	Total sera	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid residues	Possible other combination
1	A3	49	80.3	4.0	0.83	161-D	
2	A1 A3 A11 A25 A26 A34 A36 A66 (A43)	8	13.1	0.7	0.04	095-I; 116-D; 151-H	
3	A3 A11	4	6.6	0.3	0.03	077-D; 156-Q	
Total		61					

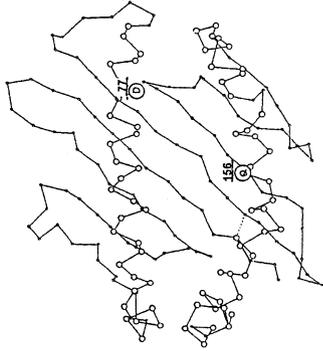
1 HLA-A3 epitope



2 HLA-A1 A3 A11 A25 A26 A34 A36 A43 A66 epitope

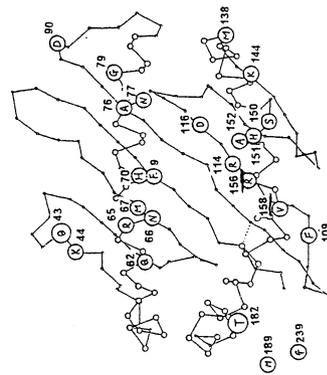


3 HLA-A3 A11 epitope

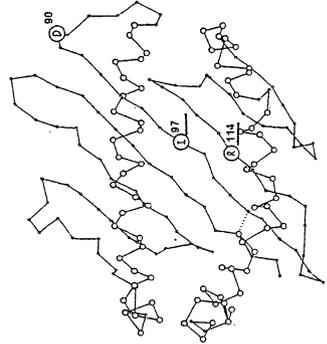


No.	Specificity (R>0.85 inc>0.8)	Number of sera	A36 group	Total sera	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid residues	Possible other combination
1	A1 A36	38	71.7	3.1	0.47	156-R; 152-A; 151-H; 150-S; 144-K; 138-M	158-V
2	A1 A11 A36	13	24.5	1.1	0.08	090-D; 097-I; 114-R	
3	A36	2	3.8	0.2	0.10	158-V; 166-E; 167-W	
Total		53					

1 HLA-A1 A36 epitope



2 HLA-A1 A11 A36 epitope



3 HLA-A36 epitope

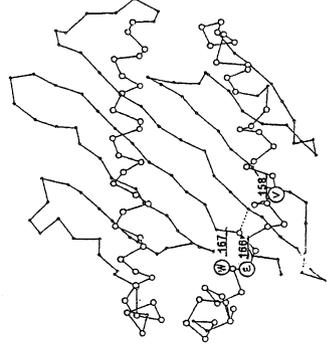
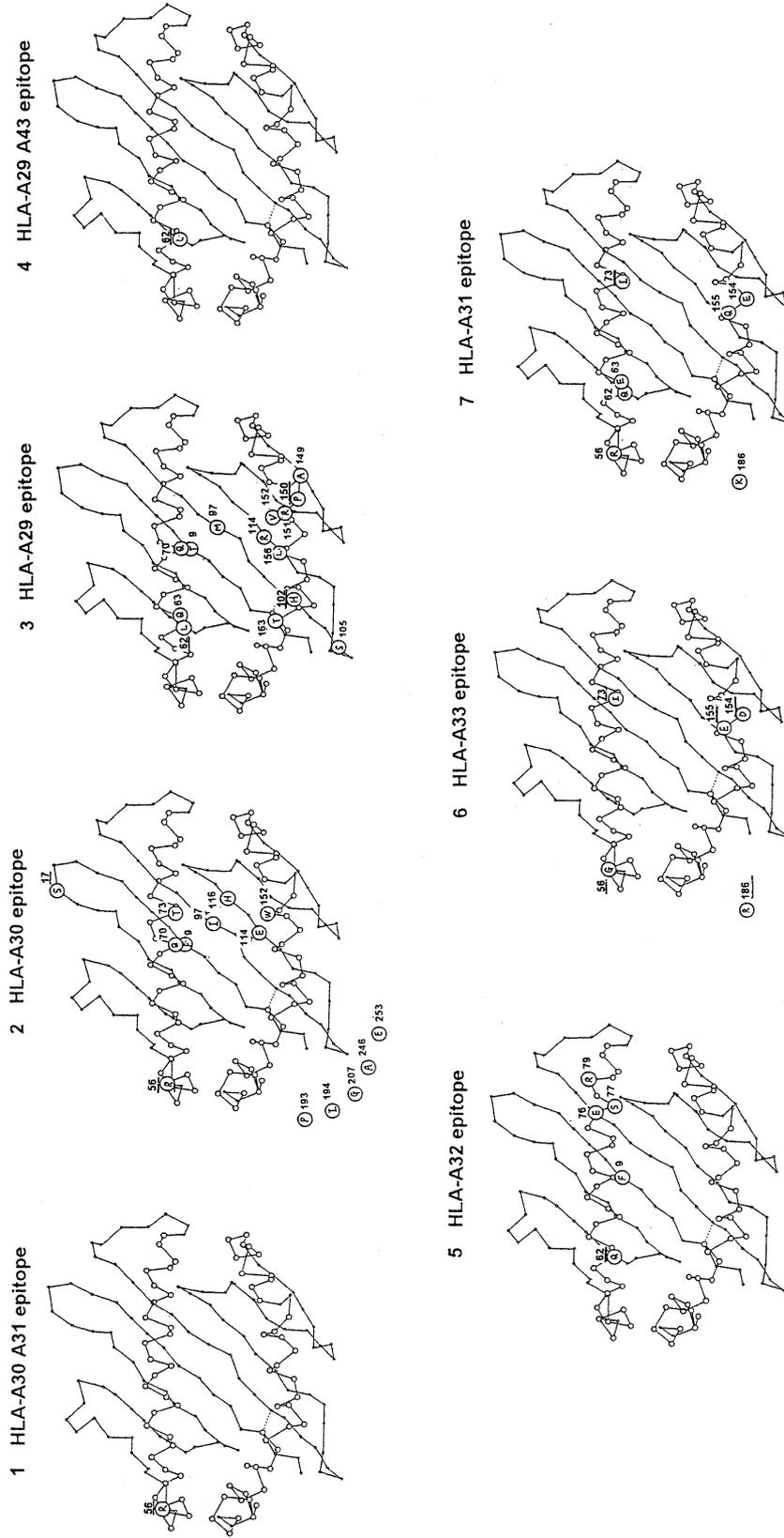


Fig 7. The putative epitopes of HLA-A3 and A36 molecules and Immunogenicity

No. Specificity (R>0.85 inc>0.8)	A19 group sera (%)	Total sera (%)	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid. residues	Possible other combination
1 A30 A31	30.1	3.3	0.46	056-R	056-R; 152-W, 070-Q, 073-T 150-P
2 A30	24.8	2.7	0.60	017-S	
3 A29	17.3	1.9	1.09	102-H	
4 A29 (A43)*	17.3	1.9	1.04	062-L	
5 A32	7.5	0.8	0.52	062-Q; 076-E, 077-S, 079-R	009-F; 076-E 155-E
6 A33	2.3	0.2	0.03	154-D	
7 A31	0.8	0.1	0.03	073-I; 154-E, 155-Q, 063-E, 062-Q, 056-R, 186-K	



8. The putative epitopes of HLA-A19 group antigen molecules and Immunogenicity

表 2. The immunogenicity of epitopes
on HLA-A locus molecules

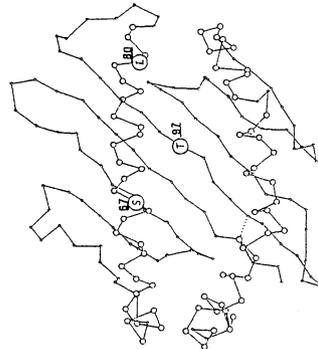
Specificity (R>0.85 inc>0.8)	Number of sera	Freq. (%)	Immuno. Index
A25	40	3.3	1.99
A2	308	25.1	1.70
A29	23	1.9	1.09
A29 (A43)	23	1.9	1.04
A1	55	4.5	0.84
A3	49	4.0	0.83
A2 A68 A69	137	11.2	0.75
A68 A69	30	2.4	0.60
A30	33	2.7	0.60
A23 A24	98	8.0	0.59
A11	57	4.7	0.52
A32	10	0.8	0.52
A23	33	2.7	0.51
A24	63	5.1	0.47
A1 A36	38	3.1	0.47
A30 A31	40	3.3	0.46
A25 A26 A34 A66	39	3.2	0.41
A25 A26 A34 A66 (A43)	39	3.2	0.41
A25 A26	28	2.3	0.39
A25 A32	15	1.2	0.39
A26	13	1.1	0.24
A26 (A43)	13	1.1	0.23
A2 A69	27	2.2	0.15
A66	1	0.1	0.11
A36	2	0.2	0.10
A34	2	0.2	0.09
A1 A11 A36	13	1.1	0.08
A23 A24 A25 A32	11	0.9	0.06
A26 A34 A66 (A43)	9	0.7	0.05
A11 A25 A26 (A43)	7	0.6	0.05
A26 A34	4	0.3	0.05
A26 A34 (A43)	4	0.3	0.05
A1 A23 A24	8	0.7	0.04
A1 A3 A11 A25 A26 A34 A36 A66 (A43)	8	0.7	0.04
A3 A11	4	0.3	0.03
A31	1	0.1	0.03
A33	3	0.2	0.03
A1 A24	4	0.3	0.02
A2 A24 A68 A69	3	0.2	0.02
A1 A11 A25 A26 A34 A36 (A43)	1	0.1	0.01
A11 A25 A26 A66 (A43)	1	0.1	0.01
A2 A23 A24	1	0.1	0.01
Total	1298		

**表 3. The specificities of HLA-B locus antisera
in 23, 548 sera**

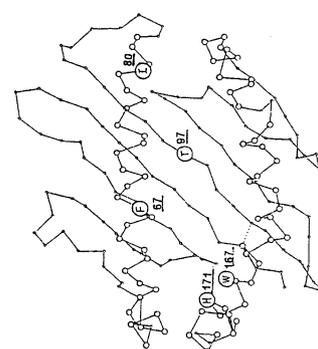
Specificity ($R > 0.85$ inc > 0.8)	Number of sera	Freq. (%)
B7	116	11.3
B13	83	8.1
B7 B48 B60	75	7.3
B44 B45	72	7.0
B14	67	6.5
B13 B47 B60 B61	66	6.4
B35 B51 B52 B53 B78 B5102 B5103	56	5.5
B51	55	5.4
B48 B60 B61	51	5.0
B57 B58	50	4.9
B27	44	4.3
B7 B42	44	4.3
B8	36	3.5
B54	31	3.0
B7 B27	30	2.9
B44	27	2.6
B37	23	2.2
B18	21	2.0
B7 B42 B55 B56	20	1.9
B41	19	1.9
B45	16	1.6
B49 B50	16	1.6
B48 B60	14	1.4
B38 B39	12	1.2
B62	12	1.2
B57	11	1.1
B46	11	1.1
B51 B52 B5102 B5103	11	1.1
B7 B8 B41 B42 B48 B60 B61	11	1.1
B49	10	1.0
B51 B52 B78 B5103	10	1.0
B39	9	0.9
B51 B78	8	0.8
B42	7	0.7
B52	7	0.7
B14 B38 B39	7	0.7
B41 B48 B60 B61	6	0.6
B54 B55	5	0.5
B56	4	0.4
B48	4	0.4
B45 B50	4	0.4
B35 B53	4	0.4
B18 B35 B51 B53 B78 B5102 B5103	4	0.4
B38	3	0.3
B13 B27 B47	3	0.3
B63	2	0.2
B42 B55 B56	2	0.2
B60	2	0.2
B49 B52	2	0.2
B55	1	0.1
B41 B44 B45 B47 B49 B50 B60 B61	1	0.1
B42 B54 B55 B56	1	0.1
Total	1206	5.1

No.	Specificity (R>0.85 inc>0.8)	Number of sera	B5 group sera (%)	Total sera (%)	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid residues	Possible other combination
1	B52	7	3.4	0.7	0.15	067-S; 080-I; 097-T	
2	B51*	55	27.0	5.4	0.77	067-F; 080-I; 097-T; 167-W; 171-H	
3	B51 B78	8	3.9	0.7	0.30	067-F; 095-W; 152-E	
4	B51 B52 B78 B5103	10	4.9	1	0.09	097-T; 163-L; 171-H	
5	B51 B52 B5102 B5103	11	5.4	1.1	0.10	080-I; 097-T	
6	B51 B5102 *	55	27.0	5.4	0.77	067-I; 080-I; 097-T; 170-R	
7	B51 B5102 B5103 *	55	27.0	5.4	0.77	067-F; 080-I; 097-T	
8	B49 B52	2	1.0	0.2	0.03	067-S; 080-I	
9	B49	10	4.9	1.0	0.54	080-I; 116-L	
10	B49 B50	16	7.8	1.6	0.51	009-H; 152-E	
11	B35 B53 B5102 *	4	2.0	0.4	0.04	067-F; 171-Y; 194-V	
12	B35 B53 *	4	2.0	0.4	0.04	067-F; 116-S	
13	B35 B51 B52 B53 B78 B5102 B5103	56	27.5	5.5	0.34	045-T; 113-H; 194-V; 069-T; 070-N; 071-T	
14	B18 B35 B51 B53 B78 B5102 B5103	4	2.0	0.4	0.03	045-T; 063-N	
15	B18	21	10.3	2.0	0.65	030-G	
Total		204				009-H; 045-T; 063-N; 099-Y; 113-H	

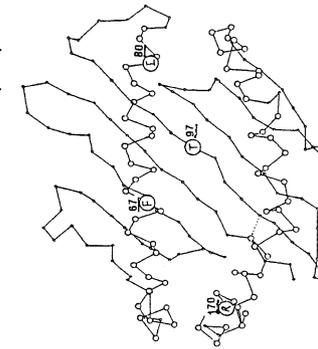
1 HLA-B52 epitope



2 HLA-B51 epitope



6 HLA-B51 B5102 epitope



7 HLA-B51 B5102 B5103 epitope



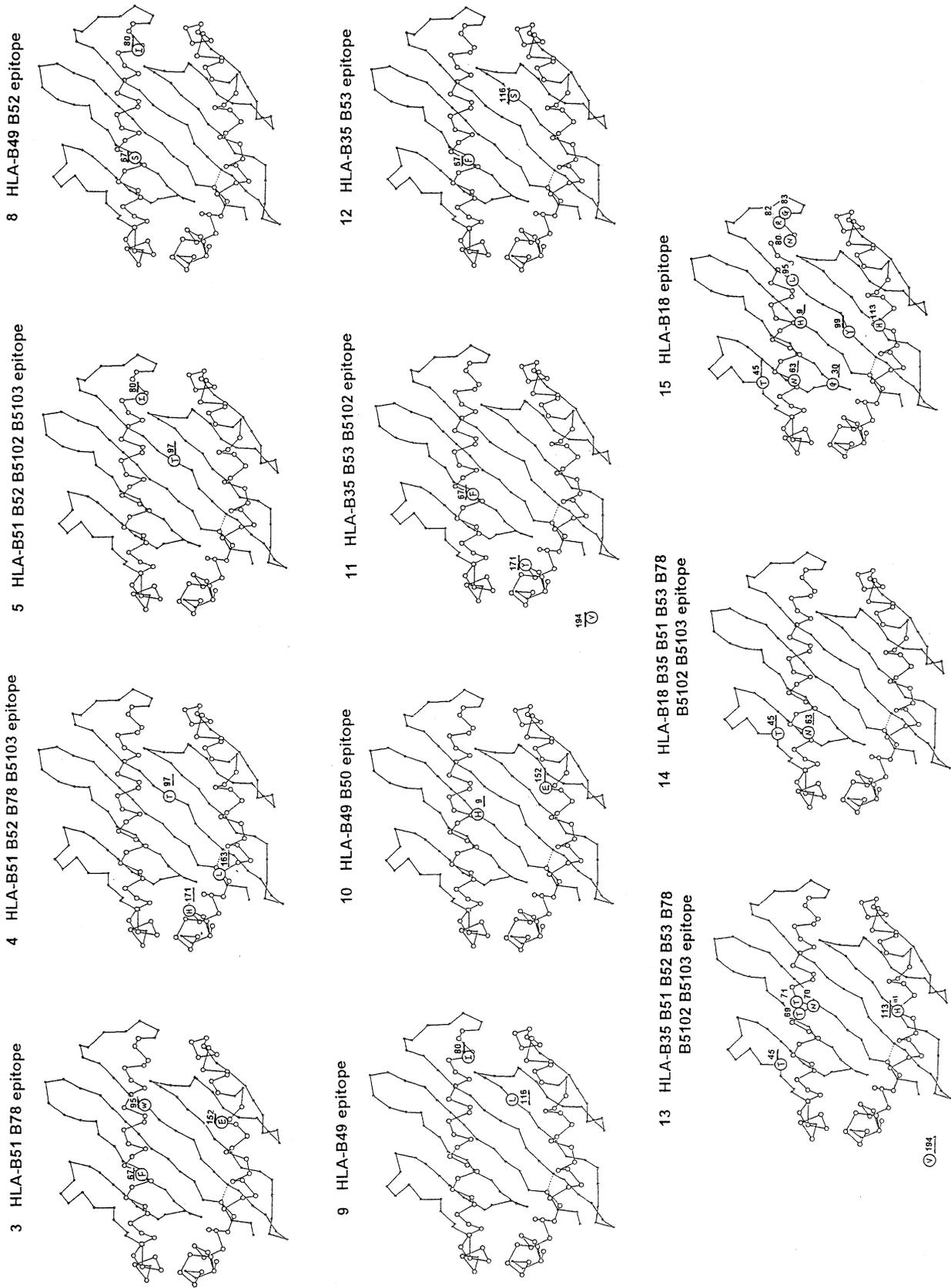
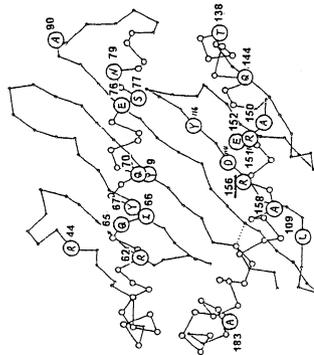


図10. The putative epitopes of HLA-B5 group molecules and Immunogenicity

* : HLA-B5102, B5103抗原はパネルに含まれない為、抗血清にそれらの特異性が含まれる可能性は否定できない。参考にHLA-B51とB35, B53の特異性の血清で、HLA-B5102, B5103の特異性の有無によるアミノ酸の組合せの違いを示した。

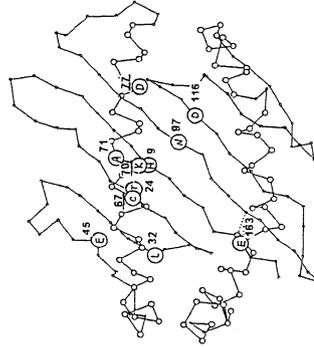
No.	Specificity (R>0.85 inc>0.8)	B7 B13		Total sera (%)	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid residues	Possible other combination
		Number of sera	group (%)				
1	B7 B8 B41 B42 B48 B60 B61	11	1.9	1.1	0.06	180-E	
2	B7 B48 B60	75	12.7	7.3	0.65	178-K	
3	B7 B42 B55 B56	20	3.4	1.9	0.20	063-N; 045-E; 071-A	
4	B7 B42	44	7.5	4.3	0.56	071-A; 067-Y; 113-H; 177-D; 180-E	
5	B7 B27	30	5.1	2.9	0.32	045-E; 071-A; 163-E	
6	B7	116	19.7	11.3	1.85	156-R; 158-A; 152-E; 151-R; 150-A; 144-Q; 138-T	
7	B27	44	7.5	4.3	1.15	070-K	077-D; 067-C
8	B60	2	0.3	0.2	0.04	178-K; 009-N; 012-M; 024-T; 032-L; 041-T; 04	147-L; 143-S; 097-R
9	B48	4	0.7	0.4	0.16	178-K; 147-L; 143-S; 032-Q; 009-Y; 045-E	245-T
10	B48 B60 B61	51	8.7	5.0	0.45	147-L	
11	B48 B60	14	2.4	1.4	0.20	143-S; 146-L; 178-K	156-D; 095-W; 167-W; 113-H; 131-R
12	B41	19	3.2	1.9	1.08	177-D; 180-E; 095-W	
13	B41 B48 B60 B61	6	1.0	0.6	0.05	180-E; 074-Y	
14	B41 B44 B45 B47 B49 B50 B60 B61	1	0.2	0.1	0.01	067-S; 024-T	
15	B13 B47 B60 B61	66	11.2	6.4	0.51	163-E; 012-M; 011-A; 041-T; 024-T	
16	B13 B27 B47	3	0.5	0.3	0.04	024-T; 163-E; 082-L; 083-R	
17	B13	83	14.1	8.1	1.76	145-L	97-T; 163-E
Total		589					

6 HLA-B7 epitope

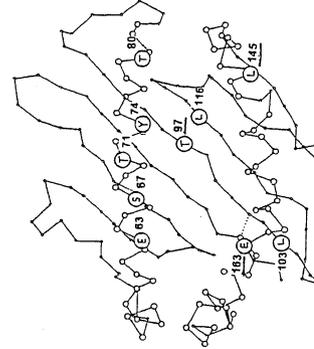


① 189

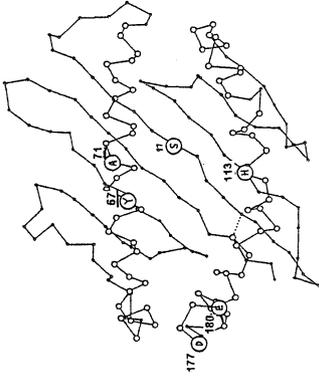
7 HLA-B27 epitope



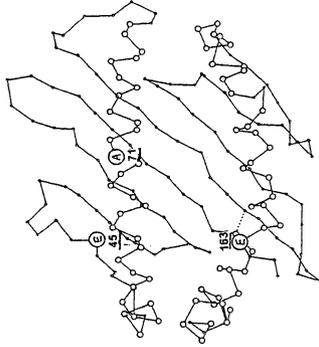
17 HLA-B13 epitope



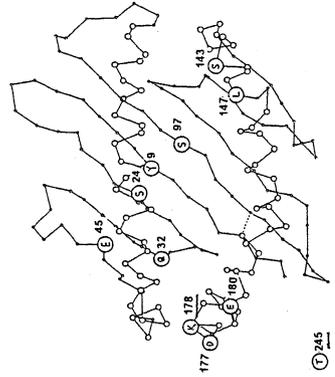
4 HLA-B7 B42 epitope



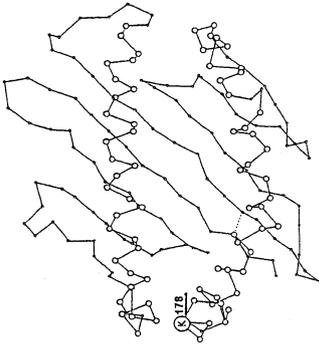
5 HLA-B7 B27 epitope



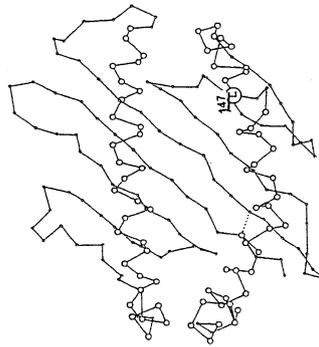
9 HLA-B48 epitope



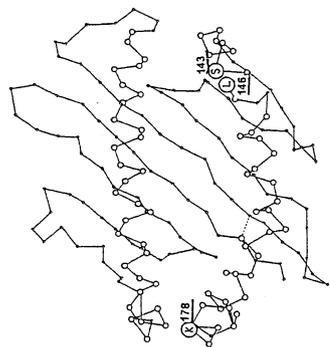
2 HLA-B7 B48 B60 epitope



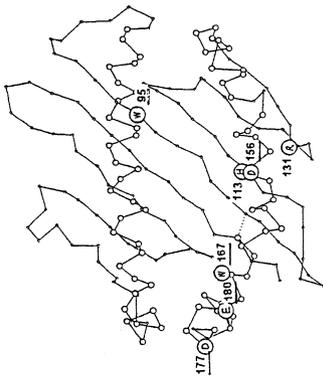
10 HLA-B48 B60 B61 epitope



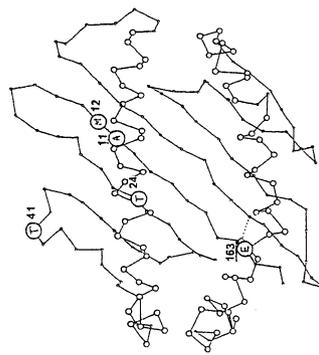
11 HLA-B48 B60 epitope



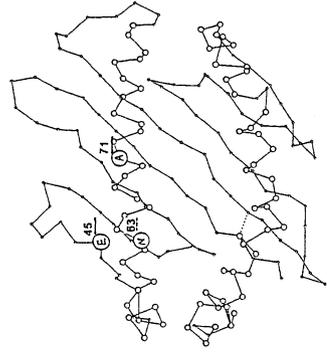
12 HLA-B41 epitope

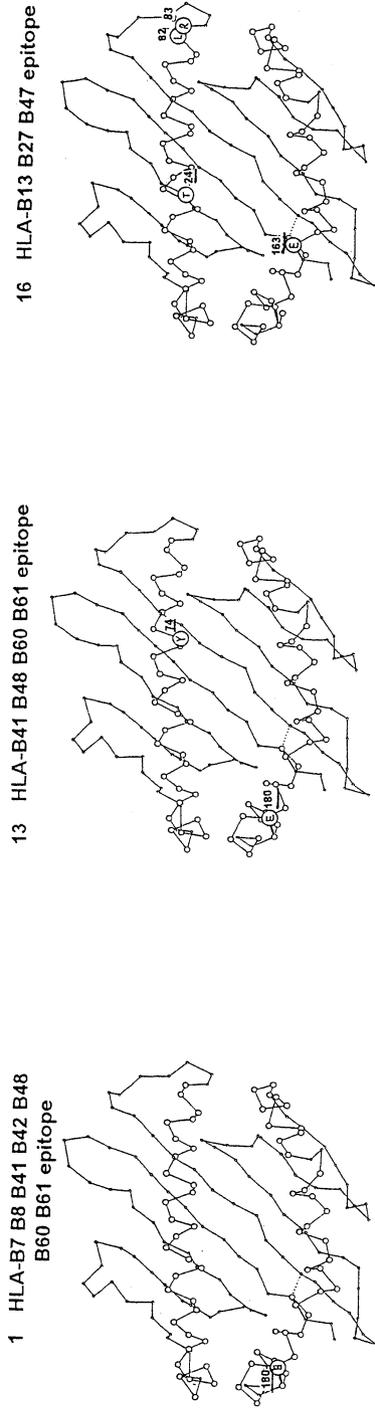


15 HLA-B13 B47 B60 B61 epitope



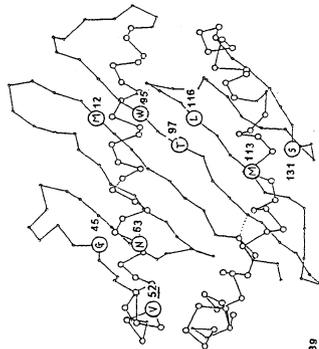
3 HLA-B7 B42 B55 B56 epitope



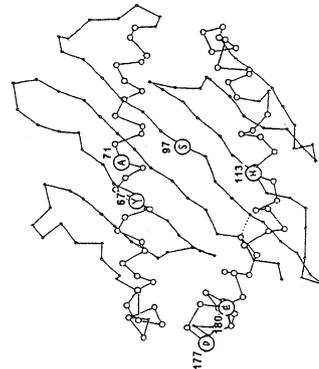


No	Specificity (R>0.85 inc>0.8)	B22 B42		Total sera (%)	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid residues	Possible other combination
		Number of sera	group sera (%)				
1	B42	7	6.1	0.7	0.36	156-D; 097-S; 067-Y, 071-A	177-D, 180-E, 178-T; 045-E, 069-A, 067-Y, 070-Q, 11-S, 009-Y, 071-A
2	B42 B54 B55 B56	1	0.9	0.1	0.01	063-N; 071-A; 114-N	
3	B42 B55 B56	2	1.7	0.2	0.04	045-E; 063-N, 067-Y, 071-A; 114-N	
4	B7 B42	44	38.3	4.3	0.56	071-A, 067-Y; 113-H, 177-D, 180-E	
5	B7 B42 B55 B56	20	17.4	1.9	0.20	063-N; 045-E; 071-A	
6	B54	31	27.0	3.0	1.18	052-V, 045-G; 012-M, 095-W, 113-H, 063-N	
7	B54 B55	5	4.3	0.5	0.10	163-T; 116-L; 067-Y, 063-N, 071-A	
8	B55	1	0.9	0.1	0.04	152-E; 116-L; 163-T, 081-L, 098-T, 046-E, 063-N	045-E; 103-L; 152-E, 163-T
9	B56	4	3.5	0.4	0.41	045-E; 103-L; 152-V, 163-L	
Total				115			

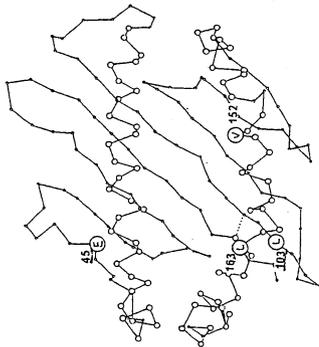
6 HLA-B54 epitope



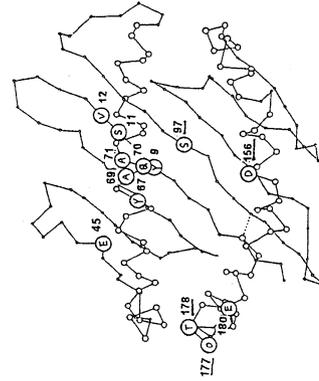
4 HLA-B7 B42 epitope

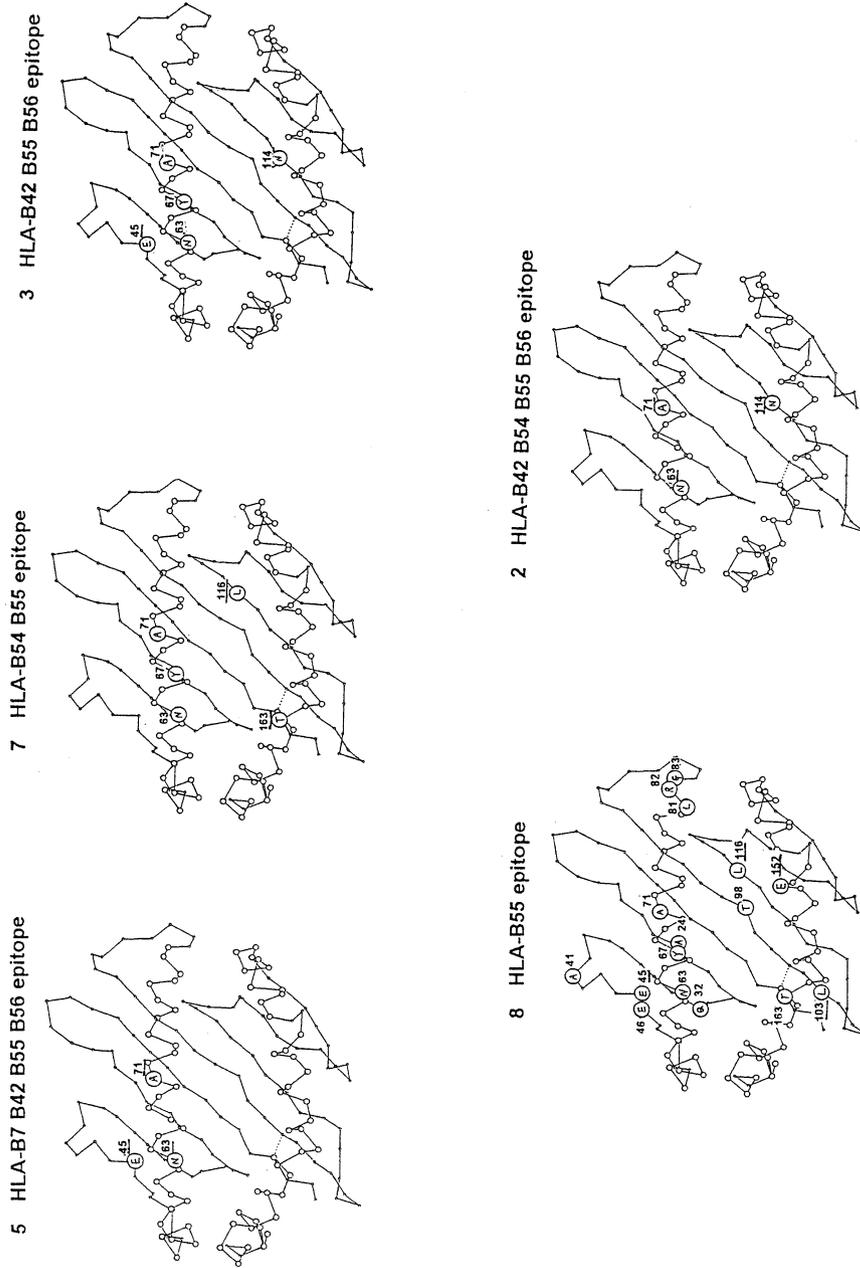


9 HLA-B56 epitope



1 HLA-B42 epitope





⊠12. The putative epitopes of HLA-B22 B42 group molecules and Immunogenicity

No	Specificity (R>0.85 inc>0.8)	Number of sera	B12 group sera (%)	Total sera (%)	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid residues	Possible other combination
1	B44	27	22.7	2.6	0.36	094-I; 067-S; 024-T, 077-N, 080-T, 081-A, 083-R	082-A 163-L; 156-D 156-D; 116-L, 103-L
2	B44 B45	72	60.5	7.0	0.85	167-S	
3	B45	16	13.4	1.6	1.13	167-S; 009-H, 095-W, 114-N, 116-L	
4	B45 B50	4	3.4	0.4	0.14	080-N; 095-W; 097-R; 103-L	
Total		119					

No	Specificity (R>0.85 inc>0.8)	Number of sera	B17 group sera (%)	Total sera (%)	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid residues	Possible other combination
1	B57	11	18.0	1.1	0.31	094-I, 095-I, 067-M, 070-S, 071-A; 097-V, 045-M	
2	B57 B58	50	82.0	4.9	0.65	094-I, 095-I; 067-M, 070-S, 071-A	
Total		61					

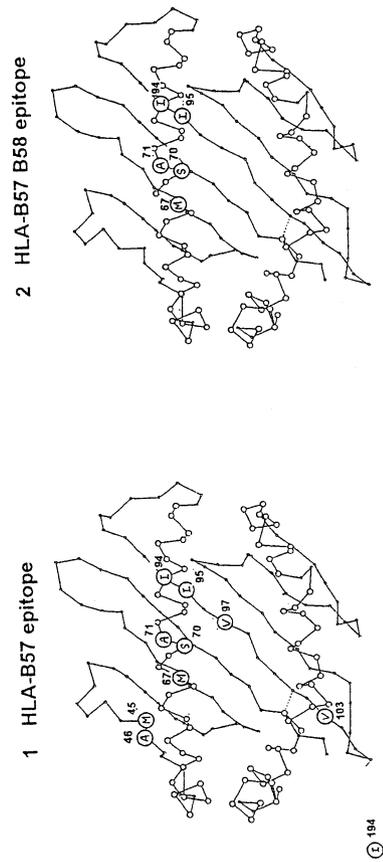
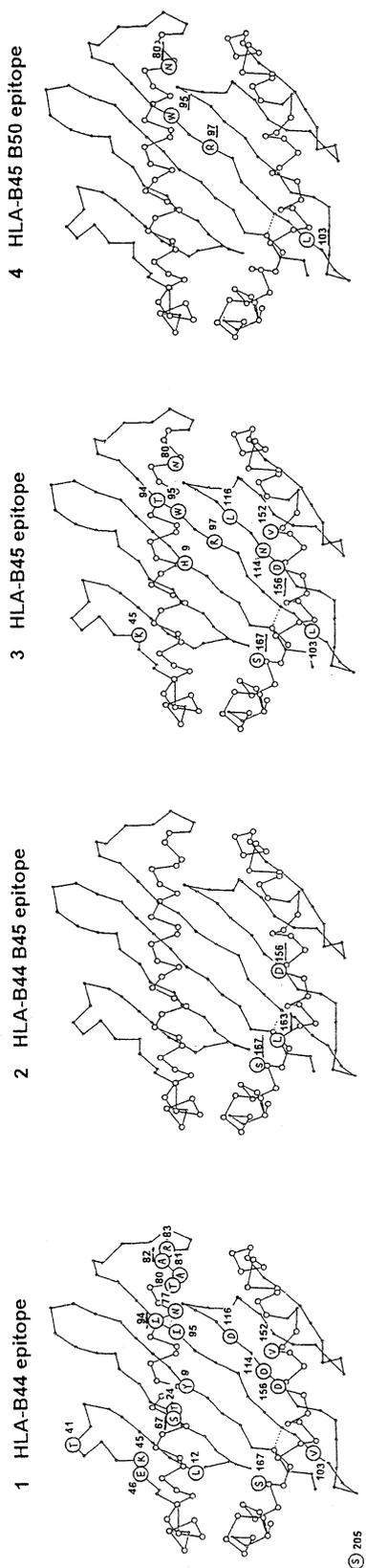


Fig. 13. The putative epitopes of HLA-B12 and B17 molecules and Immunogenicity

No. Specificity (R>0.85 inc>0.8)	B14 B16		Total sera (%)	Immuno. Index	Specific combination of Amino acid residues	Possible other combination
	Number of sera	group sera (%)				
1 B14	67	68.4	6.5	1.54	171-H; 045-E; 067-C; 074-D; 097-W; 113-Y	171-H; 152-E; 116-F; 024-S; 194-I; 163-T
2 B14 B38 B39	7	7.1	0.7	0.10	067-C; 116-F; 132-S	
3 B38	3	3.1	0.3	0.14	158-T; 080-I; 074-Y; 077-N; 081-A; 082-L; 083-R	
4 B38 B39	12	12.2	1.2	0.24	158-T	
5 B39	9	9.2	0.9	0.30	158-T; 074-D; 077-S; 080-N; 081-L; 082-R; 083-G	113-H; 116-F
Total	98					

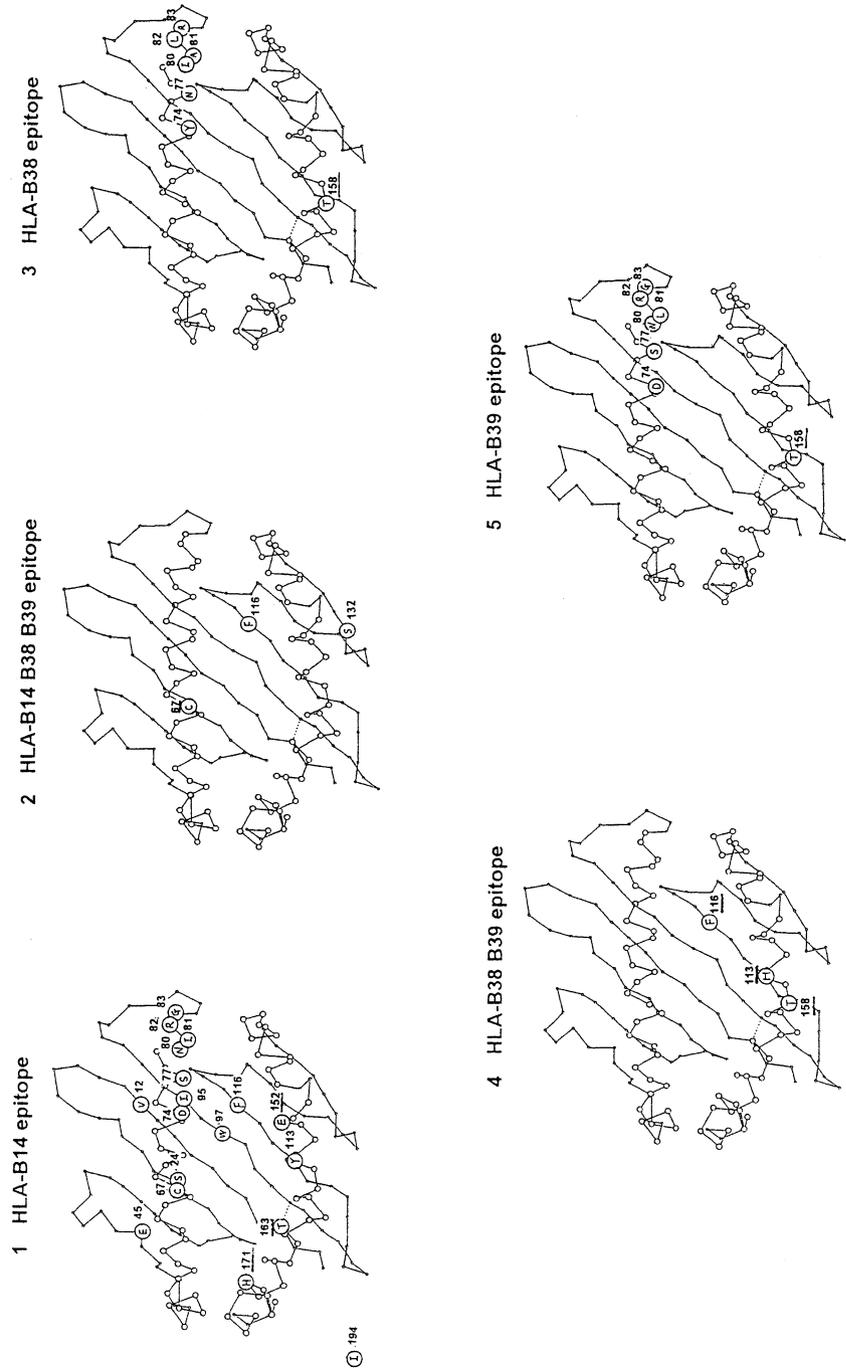


Fig. 14. The putative epitopes of HLA-B14 B16 group molecules and immunogenicity

表 4. The immunogenicity of epitopes
on HLA-B locus molecules

Specificity (R>0.85 inc>0.8)	Number of sera	Freq. (%)	Immuno. Index
B7	116	11.3	1.85
B13	83	8.1	1.76
B14	67	6.5	1.54
B54	31	3.0	1.18
B27	44	4.3	1.15
B45	16	1.6	1.13
B41	19	1.9	1.08
B37	23	2.2	1.05
B8	36	3.5	0.87
B44 B45	72	7.0	0.85
B51	55	5.4	0.77
B7 B48 B60	75	7.3	0.65
B57 B58	50	4.9	0.65
B18	21	2.0	0.65
B7 B42	44	4.3	0.56
B49	10	1.0	0.54
B13 B47 B60 B61	66	6.4	0.51
B49 B50	16	1.6	0.51
B48 B60 B61	51	5.0	0.45
B56	4	0.4	0.41
B44	27	2.6	0.36
B42	7	0.7	0.36
B35 B51 B52 B53 B78 B5102 B5103	56	5.5	0.34
B7 B27	30	2.9	0.32
B57	11	1.1	0.31
B39	9	0.9	0.30
B46	11	1.1	0.27
B38 B39	12	1.2	0.24
B7 B42 B55 B56	20	1.9	0.20
B48 B60	14	1.4	0.20
B62	12	1.2	0.19
B48	4	0.4	0.16
B52	7	0.7	0.15
B45 B50	4	0.4	0.14
B38	3	0.3	0.14
B51 B78	8	0.8	0.11
B63	2	0.2	0.11
B51 B52 B5102 B5103	11	1.1	0.10
B14 B38 B39	7	0.7	0.10
B54 B55	5	0.5	0.10
B51 B52 B78 B5103	10	1.0	0.09
B7 B8 B41 B42 B48 B60 B61	11	1.1	0.06
B41 B48 B60 B61	6	0.6	0.05
B35 B53	4	0.4	0.04
B13 B27 B47	3	0.3	0.04
B42 B55 B56	2	0.2	0.04
B60	2	0.2	0.04
B55	1	0.1	0.04
B18 B35 B51 B53 B78 B5102 B5103	4	0.4	0.03
B49 B52	2	0.2	0.03
B41 B44 B45 B47 B49 B50 B60 B61	1	0.1	0.01
B42 B54 B55 B56	1	0.1	0.01
Total	1206		

が α ヘリックス上に存在し、その近傍に特異的なエピトープを形成するに必要なアミノ酸候補が複数存在する場合、そのエピトープの免疫原性は期待値(1.0)以上である。

エピトープを形成する組合せのアミノ酸がお互いに離れている場合 (conformational epitope) は免疫原性が弱い。

β シート上にエピトープを形成しうるアミノ酸の組合せがある場合、その免疫原性は弱い。

以上のことが膨大な数の抗血清を解析し、得られた抗体の特異性を数をベースに、各抗原のアミノ酸配列を比較し抗体の特異性を示しうる推定上のエピトープを比べることにより得られた結果である。これらのデータはあくまでも推定である。つぎに HLA 抗体のエピトープを直接的に解析するため合成ペプチドを用いてその部位の決定を試みたデータを示す。

2. Monoclonal antibody H-199のエピトープについて (21)

従来、sequence comparison や site-directed mutagenesis で行われてきた HLA 抗原エピトープ解析を、直接的にみるため合成ペプチドを用いた。

2.1 方法・材料

2.1.1. エピトープ解析の対象

HLA-B 27に対する monoclonal antibody, H-199を用いた。

2.1.2. 合成ペプチド作成法

HLA-B*2705のアミノ酸配列に従い、10個のアミノ酸からなるペプチドをアミノ酸2個ずつずらして順次セルロース膜上に Fmoc solid phase peptide synthesis により合成した。HLA-B27のその他の allele (B2701, 2702, 2703, 2704, 2706, 2707)で2705と異なるアミノ酸配列を示す部位は別に合成した。

2.1.3. ELISA assay

1次抗体はマウス monoclonal antibody (H-199: anti-HLA-B27), 2次抗体は β galactosidase conjugated anti-mouse Ig を用い、セルロース膜上で

ELISA を行ない発色させ、発色したペプチドの位置から抗体のエピトープを推定した。

2.2 結果・考察

反応したペプチドのシーケンスと HLA-B*2705上での位置を図16に示す。これらのペプチド配列の共通点を検索すると α ヘリックスの隣り合い近接する2ヶ所のアミノ酸がアルギニンとグルタミン酸の組み合わせのペプチドが反応していることが解った。リボンダイアグラム上にエピトープの位置を示す(図17)。

マウスの HLA-B27に対する monoclonal 抗体のエピトープは sequence comparison などから推定できる部位とは異なる位置に、そして複数の部位に反応が見られた。これらのことより次の2つの可能性が考えられた。

① Monoclonal antibody と反応した合成ペプチドの特異性は HLA-B*2705または HLA-B27に特異的な組み合わせのアミノ酸ではないが、B27に特異的な70番のアミノ酸 (リジン) の影響によりこの monoclonal antibody が B27特異的に反応する (この仮説を証明するには site directed mutagenesis により HLA-B*2705分子の70番のアミノ酸をリジン以外のアミノ酸に置換した分子との反応性を調べる必要がある)。

② 抗体の結合部位は直線的なペプチドでは検出できない。

もちろん mouse monoclonal antibody とヒトアロ抗体の結合様式は異なる可能性もあり①の仮説も有り得るかもしれない。しかしこの仮説の正誤を確認できる技術と時間がなく、この仕事は中断している。

3. HLA-allele typed panel cell を用いた HLA-class II アロ抗体エピトープの推定

アロ抗体による DR 4多型性は、4.1/4.2が知られている。この split 抗原の特徴として次の2項目があげられる。

- ① 特異的なハプタイプがある。DR4.1-DQ4/DR4.2-DQ3
- ② Dw特異性と強い相関を示す。DR4.1=Dw15, DR4.2=Dw10/13/14

Peptide sequences which reacted with H-199 monoclonal antibody

position	12	13	14	15	16	17
amino acid	V	R	S	P	G	R
position	34	35	36	37	38	39
amino acid	V	R	F	D	S	D
position	48	49	50	51	52	53
amino acid	R	A	P	W	I	E
position	58	59	60	61	62	63
amino acid	E	Y	W	D	R	E
position	76	77	78	79	80	81
amino acid	E	D	L	R	T	L
						(2705, 2703, 2707)
						(2701)
						(2702)
						(2704, 2706)
position	154	155	156	157		
amino acid	E	Q	L	R		
position	166	167	168	169		
amino acid	E	W	L	R		

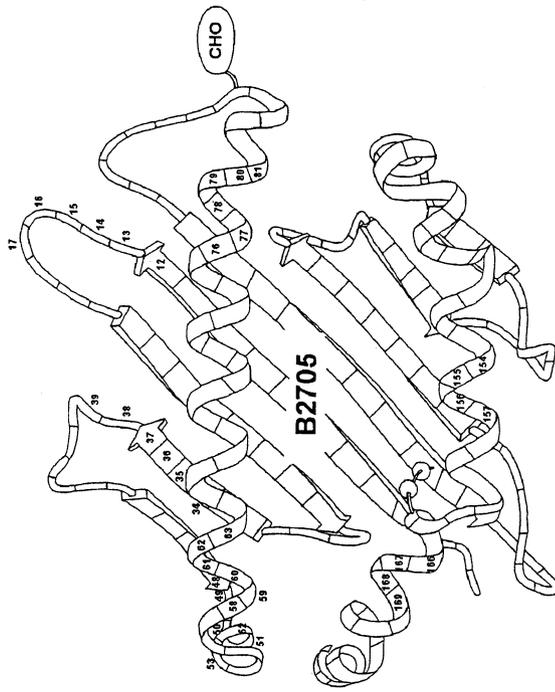


Fig. 16. The peptide sequence recognized by H-199 monoclonal antibody and the same sequence site on HLA molecule

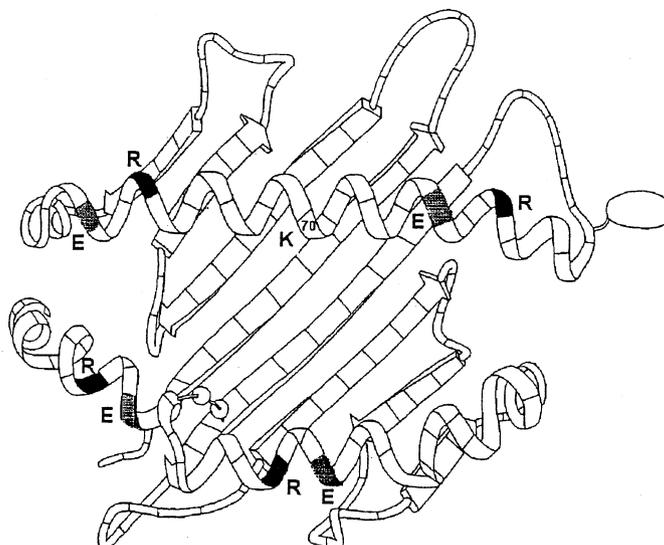


図17. Monoclonal antibody (H-199)-defined epitopes

これら抗原が存在する信頼性は高いが国際的な公認には至っていない。

DR 8 多型性ははじめ MT-1 (現在の DQ1) との相関で推定されていた。その後特異的な抗血清が得られ、血清学的多型性として確認された。この split 抗原の特徴は DR 4 の場合と同じく特異的なハプロタイプ (DR 8.1-DQ1) があり, Dw 特異性との相関 (DR 8.1 \rightleftharpoons Dw 8.3, DR 8.2 \rightleftharpoons Dw 8.1/8.2) も見られる。ただしこれらの抗原は国際的には公認されていない。

3.1 方法・材料

献血者由来の抗 DR 4.1, 4.2 (特異性は第10回日本 HLA ワークショップおよび第11回国際 HLA ワークショップで解析済み) を用い, 日本人献血者および米国骨髄バンク登録者をタイプした。DR 4 陽性の場合 PCR-RFLP 法により allele type を決めた。DR 8 についても同様の方法で split 抗原のエピトープを推定した。

3.2 結果・考察

3.2.1. HLA-DR4.1/4.2のエピトープについて (22)

日本人 (東洋人), 白人, 黒人, Hispanic あわせ

て184例が血清学・DNA とともにタイプされ, DRB1*04 allele 12種類のうち11種 (0401-0411) が検出された。DR 4.1と判定された138例は DRB1*0401, 0402, 0404, 0405, 0408, 0409, 0410のいずれかにタイプされ, DR 4.2の46例は DRB1*0403, 0406, 0407, 0411のいずれかであった (表5)。DR 4 グループ内多型性が見られるアミノ酸, 37, 57, 67, 70, 71, 74, 86を解析したところ, DR 4.1は74-Ala, DR 4.2は74-Gluであった。DR 4 特異的なアミノ酸置換は13-His で β シート上にあり, 74番目のアミノ酸 (α ヘリックス) の近傍の位置を占める。よって DR 4.1/4.2 エピトープは13と74番目のアミノ酸の conformation により形成されると推定できる。DR 4.1/4.2のアロ血清は非常にまれな血清であることからそのエピトープが conformational epitope である可能性が高い。図18に推定上のエピトープ部位を示す。表6に5人種での DRB1*04 allele 頻度を示す。DR 4.1/4.2はどの人種にも存在するが, それらの頻度には人種による偏りが見られる。すなわち白人・日本人では DR 4.1が DR 4 の約8割を占めるがその他の人種 (Hispanic, Native American, Black) では DR 4.1と4.2はおおよそ 1:1 の割合で存在する。

今回のデータは DR 4.1や DR 4.2の特異性を示した

ある2種類のアロ抗体を用い、それぞれの抗体が認識しているであろうエピトープの解析結果である。DRB1*0402がDR4.1およびDR4.2の双方に属さず、DR4.3であると報告されているデータもあり、使用するアロ抗体により異なった結果が得られる場合も考えられる。

3.2.2 HLA-DR8.1/8.2のエピトープについて(23)

日本人(東洋人)、白人、黒人、Hispanic 合わせて80例が血清学・DNAともにタイプされ、DRB1*08 allele 5種類のうち4種(0801-0804)が得られた。

DR8.1と判定された33例はDRB1*08032または0803とタイプされ、DR8.2の47例はDRB1*0801, 0802, 0804のいずれかであった(表7)。DR8グループ内多型性が見られるアミノ酸57,67,86を解析したところDR8.1は67-Ile, DR8.2は67-Pheであった。DR8特異的アミノ酸置換は67-Phe or Ileと70-Aspと74-Leuで α ヘリックス上にある。よってDR8.1/

8.2エピトープは α ヘリックス上で隣接する3部位のアミノ酸67/70/74によって形成されると推定できる(図19)。

あとがき

以上述べた仕事はHLAアロ抗体が認識する部位の直接的な解析ではなく、間接的な推定にとどまっている。その間接的な推定(sequence comparisonなど)が真のエピトープを予測している可能性も不明である。筆者が記述するのも変であるが、内容が伴わない話で申し訳ない。ただしHLA抗血清がHLA抗原を簡便に検出できる方法として30年以上使用され、現在も細胞表面のHLA抗原の発現を簡単・迅速に確認できる方法である。この抗血清の収集の難易度と明瞭な特異性を示す血清ではあるが、その正確な結合部位の解析の難易度について理解していただけたのではないかと考える。これほどHLAアロ血清は複雑怪奇であり、不思議な魅力を秘めている。

表 5. Association of serologically defined HLA-DR4 split specificities(DR4.1/DR4.2) and DRB1*04 alleles

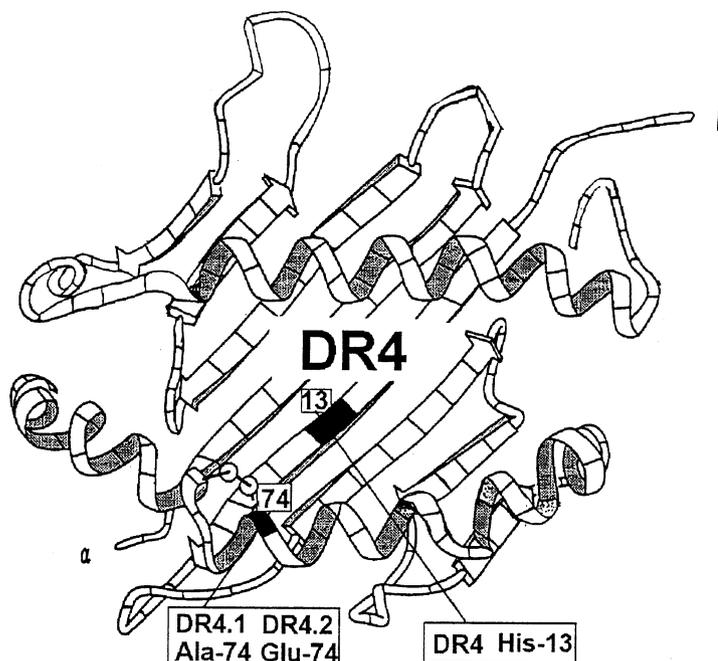
DRB1*04 allele	HLA-DR4.1 (N=138)						HLA-DR4.2 (N=46)					
	C	B	H	M	A	Total	C	B	H	M	A	Total
0401	36	1	3	0	1	41	0	0	0	0	0	0
0402	8	0	6	0	0	14	0	0	0	0	0	0
0404	17	0	6	0	1	24	0	0	0	0	0	0
0405	5	3	2	0	26	36	0	0	0	0	0	0
0408	13	0	1	1	0	15	0	0	0	0	0	0
0409	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
0410	1	0	1	0	5	7	0	0	0	0	0	0
0403	0	0	0	0	0	0	8	0	3	1	4	16
0406	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	3	7
0407	0	0	0	0	0	0	8	0	13	0	0	21
0411	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2

C; Caucasian, B; Black, H; Hispanic, M; Mexican, A; Asian (Japanese, Chinese)

表 6. HLA-DRB1*04 allele frequencies among five races

DRB1*04 alleles	Native				
	Caucasian (%)	Hispanic (%)	American (%)	Black (%)	Japanese (%)
0401	35.8	8.5	6.4	20.0	2.6
0402	7.3	9.9	0.0	0.0	0.0
0404	17.4	16.9	34.0	5.0	0.0
0405	5.5	7.0	0.0	20.0	65.8
0408	14.7	5.6	6.4	5.0	0.0
0409	0.9	0.0	0.0	0.0	0.0
0410	0.9	2.8	0.0	5.0	13.2
0403	7.3	11.3	34.0	40.0	10.5
0406	2.8	0.0	2.1	0.0	7.9
0407	7.3	32.4	17.0	0.0	0.0
0411	0	5.6	0	5	0.0

Number of cells which were typed DR4 by serology: Caucasian (109), Hispanic (71), Native American (47), Black (20), Japanese (38)

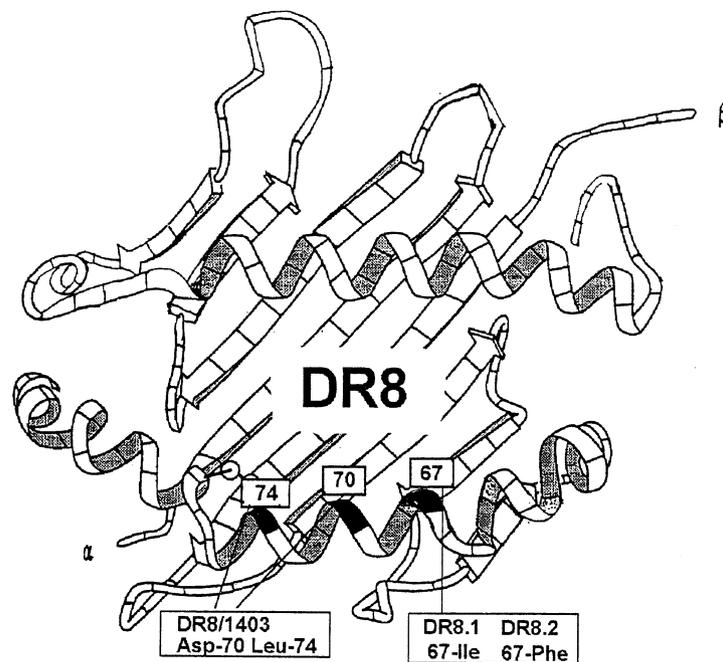


☒18. The provable epitope of DR4.1/4.2

表 7. Association of serologically defined HLA-DR8 split specificities(DR8.1/DR8.2) and DRB1*08 alleles

DRB1*08 alleles	positions of amino acids			observed number of DR8 split antigens		Races
	57	67	86	DR8.1	DR8.2	
0801	S	F	G	0	18	C; 17, H; 1
0802	D	F	G	0	26	C; 2, H; 14, J; 8, O;
0804	D	F	V	0	3	B; 1, O; 2
0803	S	I	G	30	0	C; 2, H; 1, J; 16, O;

C; Caucasian, H; Hispanic, B; Black, J; Japanese, O; Other



☒ 19. The provable epitope of DR8.1/8.2

参考文献

1. Bjorkman PJ, Saper M A, Samraoui B, *et al.* : Structure of the human class I histocompatibility antigen, HLA-A2. *Nature* **329** : 506-512, 1987.
2. Brown J H, Jardetzky TS, Gorga JC, *et al.* : Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature* **364** : 33-39, 1993.
3. Bjorkman PJ : Structure, function, and diversity of class I major histocompatibility complex molecules. *Annu. Rev. Biochem.* **59** : 253-288, 1990.
4. Bodmer WF : *Immunobiology of HLA. Vol. 2* (ed. Dupont B), HLA 1987. Springer-Verlag, New York, 1989; p. 1-9.
5. Parham P, Lawlor DA, Salter RD, *et al.* : *Immunobiology of HLA. Vol. 2* (ed. Dupont B), HLA-A, B, C : Patterns of polymorphism in peptide-binding proteins. Springer-Verlog, New York, 1989; p. 10-32.
6. Orr HT : *Immunobiology of HLA. Vol. 2* (ed. Dupont B), HLA class I gene family : Characterization of genes encoding non-HLA-A, B, C proteins. Springer-Verlag, New York, 1989; p. 33-39
7. Bell JI, Todd JA, Mcdevitt HO : *Immunobiology of HLA. Vol. 2* (ed. Dupont B), Molecular structure of human class II antigens. Springer-Verlag, New York, 1989; p. 40-48.
8. Lee JS : *Immunobiology of HLA. Vol. 2* (ed. Dupont B), Regulation of HLA class II gene expression. Springer-Verlag, New York, 1989; p. 48-61.
9. White PC : *Immunobiology of HLA. Vol. 2* (ed. Dupont B), Molecular genetics of the class III region of the HLA complex. Springer-Verlag, New York, 1989; p. 62-72.
10. 丸屋悦子, 佐治博夫, 細井武光 : 抗 HLA-DR 血清の収集 : 女性献血者スクリーニングについて, 第28回日本輸血学会総会, 1980.
11. Zinszner H, Masset M, Bourge JF, *et al.* : Nucleotide sequence of the HLA-A26 class I gene : Identification of specific residues and molecular mapping of public HLA class I epitopes. *Hum. Immuol.* **27** : 155-166, 1990.
12. Salter RD, Parham P : Mutually exclusive public epitopes of HLA-A, B, C molecules. *Hum. Immuol.* **26** : 85-89, 1989.
13. Harpprecht J, Olde K, Westphal E, *et al.* : Serological mapping of HLA-epitopes with monoclonal antibodies and its interpretation by sequenced HLA-molecules. *Tissue Antigens* **34** : 170-178, 1989.
14. Orr HT, Lopez de Castro JA, Parham P, *et al.* : Comparison of amino acid sequences of two human histocompatibility antigens, HLA-A2 and HLA-B7 : Location of putative alloantigenic sites. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76** : 4395-4399, 1979.
15. Park MS, Clark BD, Maruya E : *Clinical Transplants 1991* (eds. Terasaki PI, Cecka JM), HLA class I epitopes accounted for by single residues. UCLA, Los Angeles, 1991; p. 335-345.
16. Park MS, Lau Marie, Geer LI, *et al.* : *Clinical Transplants 1994* (eds. Terasaki PI, Cecka JM), International sera exchange analyses in relation to DNA sequences : Summary report from 1990 to 1994. UCLA, Los Angeles, 1994; p. 467-488.
17. 丸屋悦子, 佐治博夫, 細井武光 : HLA-A1とA9 (w 24) との交差反応性について, 第32回日本輸血学会総会, 1984.
18. Fuller AA, Rodey GE, Parham P, *et al.* : Epitope map of the HLA-B7 CREG using affinity purified human alloantibody probes. *Hum. Immuol.* **28** : 306-325, 1990.
19. Konoeda Y, Terasaki PI, Wakisaka A, *et al.* : Public determinants of HLA indicated by pregnancy antibodies. *Transplantation* **41** : 253-259, 1986.
20. Imanishi T, Akaza T, Kimura A, *et al.* : *HLA 199 Vol. 1* (eds. Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T), Allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci in various ethnic groups. Oxford University Press, Oxford, 1992; p. 1065-1220.
21. 丸屋悦子, Terasaki PI, Lee HJら : HLA 抗原エピトープの合成ペプチドによる解析 (予報), 第2回日本組織適合性学会大会抄録集, p. 74, 1993.
22. 丸屋悦子, 佐治博夫, 新野一恵ら : HLA-DR 4.1 /

4.2のエピトープ, 第1回日本組織適合性学会大会抄録集, p. 74, 1992.

23. 佐治博夫, 丸屋悦子, 新野一恵ら: HLA-DR 8.1 / 8.2のエピトープ, 第1回日本組織適合性学会大会抄録集, p. 76, 1992.

〔海外ラボ紹介〕 North Shore University Hospital (Biomedical Science Research Center) — Jack Silver 教授の研究室 —

伊藤 巧一

科学技術振興事業団，加藤たん白生態プロジェクト

はじめに

ロングアイランドは，ニューヨーク州のマンハッタン島に隣接する東西に細長く伸びた島（面積は日本の四国の約1/3）で，有名な避暑地の1つとしてよく知られ，夏ともなると多くの人々がバカンスを楽しむために訪れる．私が留学していた North Shore University Hospital の Biomedical Science Research Center は，マンハッタンからイーストリバーを渡り，ロングアイランドに入り，車で40分程のところのマンハセット市にある．ここは，マンハッタンのイメージとは異なり，縁豊かな落ち着いた雰囲気のある町である．周辺には，Cold Spring Harbor などの有名なラボも点在しており，学問をするうえで最高な環境ばかりでなく，マンハッタンに近いことから，最新の文化や芸術を楽しむ場所でもある．

North Shore University Hospital (Biomedical Science Research Center)

私が留学していたころの病院の経営母体は，コーネル大学医学部であったが，現在は，ニューヨーク州立大学医学部に移行している．総合病院の規模としては中規模であるが，救急体制がよく整っており，多くの救急を要する患者が，毎日のようにヘリコプターで搬送されてくる．研究部門は，病院の中ではなく1つの独立した Research Building が同じ敷地内で建っており，この中には，Jack の研究室を含めて計9つのラボがある．それぞれの研究室のテーマは，免疫学，薬理学，放射線学，老化現象の解析といったように様々である．

Jack Silver 研究室と研究課題

ラボの構成としては，Jack をトップに他4名のスタッフがおり，その下に計13名のポストドクとテクニシャンがついている．以下に簡単にスタッフと主な研究テーマを列記する．

Jack Silver : HLA が T-cell receptor の repertoire 形成に与える影響

Sanna M. Goyert : CD14の生理学的役割

Peter K. Gregersen : 各種自己免疫疾患に関わる T-cell receptor のクローナリティーの解析

Stuart Macphil : スーパー抗原 (SEB) とマウス TCR との結合部位の特定

Ming-der Y. Chang : スーパー抗原 (TSST-1) とヒト MHC との結合部位の特定

私自身は，1992年7月から1996年2月までの約3年半，Jack Silver 研究室で乳癌患者中で増殖している T 細胞をクローニングし，その T 細胞上に発現している TCR を同定することを試みた．ここで，Jack Silver という人物について少し紹介しておく．Jack は，もともと純粋な分子生物学が専攻で，当初，免疫学に接する機会はなかった．しかし，ここ North Shore University Hospital に来る前にいたマンハッタンのマウントサイナイ病院で HLA-class II 抗原の塩基配列決定を行ったことが，免疫学に入るきっかけとなった．彼の特に優れた点は，今何をやるべきかを正確に見抜ける洞察力を備えていることがある．おそらく彼は，どの分野に身を投じても成功する人物であろう．彼の研究上でのポストドクに対す

る接し方は、基本的には必要以上の干渉をしないやり方である。研究のテーマ自体は大筋で決められているが、研究の進め方については研究者自身に委ねられている。実験が開始されて1カ月近くは、個人的な discussion が全くない場合もある。しかし、ある程度ものになる結果が出そうになると、今度は逆に毎日のように Jack と discussion しなければならない日々が続く。Jack を最もがっかりさせることは、実験で失敗したときではない。では次に何をすればよいか、その対策が考えられていないときである。研究を離れた Jack は、夏休みにはラボのメンバーを自分の別荘に招待し、自ら料理を作ってご馳走してくれる大変気さくな人柄である。現在、Jack の研究室では、上記の列記したように全員が免疫関係の仕事に従事している。特に、Jack の興味の焦点は、TCR の repertoire 形成が本当に HLA と関わっているのかということなので、この問題を解決するために、複数の一卵性双生児のペアーを研究の材料として用いている。また、Jack の右腕である Peter（近々独立の予定）も、どの TCRV β が自己免疫疾患患者中でクローン化しているかを、T-cell の phenotype と関連づけて調べている。

当研究室では、週に1回、持ち回りで Nature, Science, J.Immunol, Cell, JEM および PNAS の中から T-cell recognition や antigen presentation といった最新的话题をラボのメンバーに提供する Journal Club がある。また、これとは別に、3カ月に1回の割合で仕事の進行状況を発表する Progress Report がある。特に後者では、誰もが実験方法であるとか、実験結果に対する遠慮のない批評を浴びせられる。この時は、本当に胃が痛む思いがした。しかし、他人からのアドバイスが以外と実験がいきづまっていたとき助けになり、そういった意味では大変有意義であった。また、1カ月に2回の割合で、招待講演があり多くの有名な免疫学者の話も聞くことができた。

ポスドクは、まさに世界各国から集合している。ほぼ同年代のメンバーが多かったので、留学してすぐに多くの友人ができた。また、幸いにも研究の最終目的は違うものの、手法などは共通している部分が多かったので実験がいきづまった時、お互いに意見交換し、問題点を解決していくことができた。さらに、留学中

の思い出深い経験の1つに、summar student との出会いはある。アメリカでは、医学部を目指す学生が、夏休みを利用して短期間ではあるが、研究の体験にやってくる。私自身も3年半の間に3名の summar student と出会った。彼等は皆、希望に燃えており、初めての実験にもかかわらず1度きっちり説明するとすぐに研究の意図することを理解してくれたように覚えている。また、私自身の英語力も彼等との会話によって磨かれたと思う。日本に帰国する前、彼等全員から医学部合格の連絡をもらった。

留学を通して

研究上で学んだことは、実験を始める前にいかによくプランを練り上げておくかである。極端に言えば、実験を始める前にすでに結果だけ空欄の論文ができあがっているくらいに。そのためには、自分が何をやりたいのかという意識を常に頭の中にとどめておくことである。人間として学んだことは、多国籍なニューヨークで生きていくには、Yes, No がはっきりと言えることである。これはとりわけ日本人にとって苦手な部類のことかもしれないが、Yes, No とははっきり意思表示できないと、アメリカでは会話が成り立たなくなってしまう。私は、このことを念頭に置いてこれからの研究生活を実践していきたい。

おわりに

現在、留学を考えておられる研究者の方もたくさんおられることでしょう。もしお悩みでしたら思い切って留学することを勧めます。特に、アメリカでは、サイエンスの領域におしみなく巨額の研究費が投じられており、好きなだけ試薬類や消耗品を購入できることに最初、戸惑いを覚えるほどである。このような恵まれた環境下で自分自身の potentiality を試すことは、将来的に価値のある遺産となろう。また、文化を全く異にする人々とのふれ合いは、人生観を広げ、自信を与えてくれよう。

謝辞

この原稿の執筆の機会を与えて下さいました猪子英俊教授（東海大学医学部）ならびに大谷文雄講師（北里大学医学部）に感謝いたします。

Q & A

小川 公明

エスアールエル, 免疫血清部

Q. MLC 検査には one way 法と two way 法がありますが, どのように異なりますか.

A. MLC 検査はレシピエントとドナーのリンパ球を混合培養することにより互いに自己と異なったクラス II 抗原を認識して幼若化反応を起こします. この幼若化反応の程度を DNA 合成に必要なチミンに³Hを標識することによりその取り込み能として測定されます. 一方のリンパ球をX線照射, あるいはマイトマイシンで処理して幼若化能力を抑えた刺激細胞と, 他方は処理を行わず, 幼若化能力を保持させた反応細胞とで MLC 検査を行うことにより幼若化反応の方向を知ることができます. これが one way 法です. ドナーを刺激細胞, レシピエントを反応細胞とした MLC 検査は拒絶反応の方向を表します. その逆の組み合わせは GVHD (graft versus host disease) 方向を表し, 骨髄移植では特に重要です.

Two way 法とは, 幼若化能力を抑えるような処理を実施せずに MLC 検査を行うものです. 反応の方向性は分かりませんが, 適合か否かは簡単に分かります. Two way 法は検査工程が簡略でき, リンパ球の損失も少ないため患者のリンパ球数などが少ない場合に実施します.

Q. MLC 検査はレシピエントとドナー以外に非血縁者の細胞が必要とされますが何故ですか.

A. MLC 検査で不適合な場合はだいたい数万カウントという高い値になります. 適合の場合には非常に低く, 数百~数千カウントぐらいです. 患者のリンパ球が病気や治療などにより免疫能が低下して

いるような場合やリンパ球の生存率が低い場合などでもカウントが低く出ることがあります. これらを識別するためには HLA 抗原が完全には適合していない非血縁者との MLC 検査を同時に実施しコントロールとします. もし, カウント数は高ければその反応は正しく測定されたことを意味します. 非常に稀ではありますが, 患者と非血縁者の HLA 抗原が完全に適合してしまいカウント数が低くなることもあるため注意が必要です.

〔シリーズ：HLA研究者の個人史〕 HLAタイピングをはじめたころ (愛知県がんセンター時代)

赤座 達也

日本赤十字社中央血液センター，検査部

編集委員の徳永勝士先生から、この欄の執筆を電話で依頼された時に気安く引き受けてしまった。慌てて前の能勢、脇坂両先生のものを読み返してみて、さて私は何を書いたらいいのか、はたと困った。2度も職場を替わっているのに、昔の記録は手元になく、年のせいか記憶も薄れかけ、その上文才もない。締め切りをとくに過ぎているので、なにか書かなければとワープロに向かっているが、全体のことを見直す余裕はないので、最初の職場である、愛知県がんセンター時代のことについて書くことに決めたものの、学会誌の一部として掲載していただくのがもったいない内容しか書けないとは思いつつ書きなぐるので、以下、読まないことが上、読み飛ばして頂くのが中、著者に批評をいうのが下と承知してお読み下さい。

HLA を始めた頃

日本の HLA の歴史は30年になろうとしている。パイオニアの何人かの先生方が切り開き、それに続く人達と共に、欧米から10年以上の遅れているといわれていた、日本の HLA を欧米と肩を並べるところまで発展させてきた。そんな歴史の中で、私が HLA と初めて接したのは、1970年だったと思う。私は、1968年に地元名古屋の大学の理学部を出て、設立後、まもない、愛知県がんセンターの臨床検査部に就職した。当時検査部長であった、須知泰山先生が検査部に、少し毛色の変ったのが必要と考えられ、医療資格がないと洩る人事担当を説得して採用された。仕事はルーチン3割、研究(的な仕事)7割でよいとされ、細菌血清検査室に配属された。当時の検査部は、できたばかりで、寄り道をしてい

て26才で初めて働いた私より若い人、女性が多い職場で、須知先生の人柄もあって進取の気風のある雰囲気、経歴の違った私にも居心地がよかった。検査として担当したのは、当時、始まったばかりの免疫学的な検査で、イムグロブリンの定量、血清免疫電気泳動を手探りで始めた。一方研究的な仕事として、併設の研究所ウイルス部の、当時室長であった吉田孝人先生の下で、仕事をする事となった。当時、吉田先生は、補体やがんウイルス抗体などをテーマとして研究されており、免疫学的な検査法に詳しく、人脈も豊かで、いろいろなことを教えていただいた。HLA タイピングを始める前は、オーストラリア抗原、アルファフェトプロテインのオクタロニー法の検査など、吉田先生から教えていただいて、キット化される前に、検査部で応用したものも多くあった。吉田先生は当時、免疫は、がん免疫、自己免疫、移植免疫と総合的に研究する必要があると思われており、なんのきっかけは忘れたが、その一端として、HLA も取り上げることとなった。そのころ中学の同級生で皮膚科の医師であった池谷敏彦君が、吉田先生の研究室に補体の研究にきていた。吉田先生から池谷君とふたりで、HLA をテーマにといわれ、当時、慶応大学にみえた辻公美先生の研究室を訪れることとなった。ふたりとも妻が東京出身なのでよるこんでいった覚えがある。辻先生の研究室は地下室にあり、そこで HLA についてのお話を初めて伺った。辻先生は Amos の研究室で HLA を研究されて帰国されて間もない頃ではなかったかと思うのですが、Amos 法を丁寧に教えてくださった。Amos 法は現在ではほとんど使われていないが、反応液をスナッピングで捨てる操作があり、助手

の女性が辻先生のスナッピングでテクニックにはかなわないと言っていたことを覚えている。名古屋に帰っても抗血清がないので、当面検査できない状態であった。そのうちに池谷君は臨床にもどり、現在では愛知医科大学の教授になっている。須知先生との相談の結果、HLA タイピングは検査部でおこなうこととなり、NIHのマニュアルと血清のリストを吉田先生が持ってみえたので、相談しながら器具を揃えていった。抗血清は、日米会議を通じて吉田先生が入手されたものを使い、パネルは、職場の人達の協力を得るなど、徐々に体制を作っていた。その後吉田先生とは、国際ワークショップには「YOS」、日本ワークショップは「F」のコード名で共同で参加したり、「東海 HLA 研究会」や「東海地区 HLA ワークショップ」を開催したりした。吉田先生の直接部下となることはなかったが、公私共にお世話になり、現在までお付き合いいただいている。

腎臓移植と HLA

当時、がんセンター総長の今永一先生は、がんの治療は切ることばかりでなく、切った後の治療として臓器移植が必要と考えられていた。HLA タイピングを開始後、しばらくすると、米国で腎臓移植を研究されていた高木弘先生が、がんセンター病院の外科に着任された。がんセンターでも腎臓移植を研究的に行うこととなり、HLA タイピングは検査部でおこない、MLC 検査などをするため、臓器移植研究室がつくられた。高木先生は、自分で HLA の研究室を作るつもりで、最新の器具、情報をもって帰国された。器具のほとんどはゆずっていただいたが、情報も豊富で、その一つが、比重法によるリンパ球の分離法であった。原理は、赤血球を凝集させる働きのあるフィコールと、極めて比重の高い水溶液の血管造影剤のコンレイを混ぜて、浸透圧を生食水と同じにして、比重を1.077に調節し、血管細胞を比重差で分けるものである。それ以前は、デキストラン溶液を血液に混ぜ、赤血球に沈殿させ、白血球層に鉄粉を混ぜたり、ガラス球カラムを通過させたりして、多核白血球を取り除くものであった。比重法の検討をするため、放射線部からコンレイのテ

スト用の余ったアンプルをもらい、10mlのメスフラスコで比重の測定と、浸透圧を測ったりして条件を確認し、リンパ球の分離法として確立されていった。腎臓移植は血縁者間移植から開始されたので、血縁者の適合ドナーをみつけるため、患者家族の HLA の検査を担当した。HLA のスプリット抗原や、新抗原の確認の手段として、当時もっとも有力な方法であった、家系の HLA タイピングを数多くできたことは、HLA を理解するうえで私には大変役にたった。家族には様々なドラマがあることも知り、父親由来で説明できない HLA 抗原が、子供に出現する例が1%前後みられたが、母親由来で説明できない抗原はなかった。今だに疑問を持ちつづけている家系は、5人兄弟でまん中の子だけがB51で、他の父親由来のB52を持っていた。当時B51とB52に分けることができてもないことではあったが、あきらかに反応は他の兄弟と異なっていた。当時の HLA タイピングでは、それ以上に調べようがないので、主治医から母親に密かに聞いてもらったところ、即座に「わたしはそんな不始末をしたことはない」と即座に否定された。赤血球抗原を調べるため保存しておいたが、もうがんセンターには残っていないであろう。MLC 検査については、奈良県立医科大学から来ていた研修医の森本先生と加村さんが担当して、移植成績や、HLA との関係をこつこつと研究し、ワークショップにも参加していた。森本先生は外科医としてがんセンターに残り、加村さんは、名古屋第二赤十字病院の組織適合検査に移動された。

Terasaki 研究室

HLA を本格的に勉強するには一度、米国へ行って習った方がよいと吉田先生から強く勧められていた。私の英語が苦手なことは人並みではない。中学一年で、「フラワー」の発音でつまずいて以来の筋金入りの英語嫌いで、高校一年の時に結核で一年休学したあとに復学したころは、英語はまったく読めない状態であったし、浪人したのも英語の成績だけのためと固く信じている。そんな私なので海外に行く気はまったくなく、最初に Dr.Amos のところに行かないかといわれたのは、簡単に断ってしまった。

しかし HLA がおもしろくなるにつれ、自分では解決できない疑問もでき、進んだ研究室を見たいと思うようになった。結局、2回目の Dr.Terasaki の研究室へ行く話は断りきれず、1975年の11月に家族4人で行くこととなった。当時 Terasaki の研究室には日本から二人の外科医、千葉大学の木内政寛先生と、大阪大学の松山正経先生が来ておられた。松山先生は帰国後も大阪大学で HLA の研究をされていたが、現在は奈良で開業されている。木内先生は帰国後、法医学に移られ、教授となられている。たった5カ月の滞在ではあったが、お二人に大変お世話になり、家族ともども楽しく、有意義に過ごせた。Terasaki 研究室をみて、検体数の多さ、職員の多さ、分業化のシステム、マニュアルの整備、コンピュータ管理システムなど学ぶことが多かった。規模の違いは圧倒される程で、当時名古屋でも妊産婦血清を集めはじめていたが、年間1,000本程度で、Terasaki に抗血清の収集について聞かれ、正直に答えたところ、なんとも言えない顔をされてしまった。出発前に吉田先生と相談して、我々の日本人のパネルを Terasaki 研究室で同定してもらおうと計画し、私の到着後、日本から分離したリンパ球を送ってもらったが、血小板が完全に取り除いてなかったため、保存液が酸化して黄色くなっており、殆ど死に絶えていて残念ながらタイプできなかった。手弁当で行っているのもノルマもなく、自由にさせてもらって過ごした。滞在の後半は、コンピュータで整理された宝の山と感じる程の大量のデータを使わせてもらい、解析する方法を学ぶことにした。当時のコンピュータは大学本部にある大型機の端末を使っているため、経費の計算が厳密で、使用時間数と支払い費用付きで、データが出力されるようになっていた。新たに並び替えたデータを出力するときは、Terasaki の許可がなければ、出してくれなかった。データをアパートに持って帰り、色鉛筆で塗り分けて整理していると、子供が自分もしたいといっていたのも懐かしい思い出である。帰る頃になって B40 関連のデータで、ブランクを持つパネルと、反応している血清があり、日本でも当時 B40 のスプリットの可能性を考えていたので、Terasaki に報告したところ、おもしろいからもう少し残って調べてみない

かといわれたが、子供の入学のこともあって帰国した。日本で疑問におもっていた、HLA の検査としての信頼性の確認、データの管理など、基本的に同じ状況であることがわかり、HLA の検査を続けていくうえでの自信となり、Terasaki の好意にあらためて感謝している。

HLA タイピング

HLA タイピングを本格的に始めると、東海地方では唯一の検査施設であったため、いろいろなところから検査依頼があった。当時の検査部の技師は25名ほどいたが、細菌血清検査室は、私と、細菌検査を担当していた中村多美夫君のふたりだけであった。当時、細菌検査室では、血液寒天培地を作っており、そのために兎を飼っていた。HLA 検査には、補体が必要であるが、当初ヒトやラットの補体も使っていたが、兎が一番良いとなってきた。中村君は兎の耳や心臓から採血する名人で、何羽もの兎から採血し、補体価を調べて、5羽に1羽ぐらいいた、補体インヒビターの高いものを除いてプールしていたので、補体については、質量共に心配したことがなかった。また、中村君には臨床検査や、検査部のことについていろいろ教えて頂いたが、不運にも海水浴中の事故で7年ほど前に亡くなられた。HLA タイピングや抗血清の収集を本格的に行おうとしても、人手は足りないが、増員するわけにはいかなかった。須知先生の許可をもらって、アルバイトを雇うことにした。大学の先輩で椋山女子大学の中島馨子教授の紹介で、何人かに来てもらった。アルバイトと二人三脚で、家族調査、依頼検体、ワークショップなどの HLA タイピングをこなしていった。HLA の検査結果をほとんど独りで判定したので、データは安定しており、ワークショップで一定の評価をされたのではないかと思う。アルバイトの女性は、安い賃金で皆さんよくやっていただいた。疾患との関連の仕事では、琵琶湖の大島の集団調査に加わったり、五島列島の疫学調査に参加したが、当時の HLA タイピングレベルでは充分解析できず、HLA のデータとしてまとめることなく終わってしまった。抗血清の収集は Terasaki の研究室に行く1年ほど前から始めた。高木先生の紹介で、名古屋で

一番出産数の多い、名古屋第一赤十字の産科センターが協力してくれることになった。自宅からがんセンターとは反対の方向であったが、車で通勤していたので気にならず、週2回回収に立ち寄ることが、がんセンターをやめるまで続いた。出産血からの血清分離法も手探りで、コストと手間をかけないことをモットーに集め、保存もハルンカップにふたをしないで重ねて省スペースを心掛けた。須知先生は、常々、サンプルを保存することの重要性、特にがんセンターのような病院は貴重なサンプルが集まるので大切であると、説いてみえた。そのため、血清検査の残りの検体をすべて保存するための、フリーザーは確保されていたので、その一部を利用させてもらった。不思議なもので、集めだして1月近く、60本目まではまったく陽性血清がなく、なにか間違っているかと不安になったが、61本目からは普通の陽性率で次々と陽性血清がみつかり、最初は抗A2血清でもうれしかった。その後、運もあって、A26.1やB40関連の新抗原などの発見に至る血清や、B52, DR 5などの貴重な血清を確保することができた。抗血清は番号をつけようと、吉田先生の案でAYシリーズとすることとした。70年後半から、Bリンパ球が分離できるようになり、HLA クラス(II)の検査が始まった。抗血清の同定も大変であったが、Bリンパ球の分離にも悩まされた。Bリンパ球の純度をみるのは、羊血球でロゼットを形成させて、Tリンパ球を数える方法が使われていたが、羊血球が古かたりすると反応が悪くなり、正確な割合を出せなくなる。血液検査室に小池孝一君がいてT, Bの割合を正確にだして、リンパ腫の分類をするために、Bリンパ球とイースト菌でロゼットを形成させる方法を確立した。羊血球とイースト菌を用いればBリンパ球の純度が正確にわかるようになり、クラス(II)のタイピングのためのBリンパ球分離の改良に役立たせてもらった。

もうひとつ、がんセンター時代に始めだして、今の仕事にまで結ぶついているのが、コンピューターである。研究所の疫学部には日立製の中型コンピューター、Hitac 2000といったかと思う、があり、疫学部の黒石さんと小川さんに教えていただいた。当時の入力は、パンチカードを使っており、国際ワー

クショップのデータも自分でパンチして送っていた。また、コンピューターの必要性が広がり始めたころで、センター内で「FORTRAN」の講習会があったり、「BASIC」で100行ほどのプログラムをできるシャープのポケコン(10万円!)を、やりくりして買い、 χ 二乗の計算をする簡単なプログラムをつくったりしていた。そんな状況の中で、プログラム作りの基礎となる、「FOR……NEXT」と「IF……THEN」を覚えたことが、日赤に移動してから作ったプログラムの基となった。またこの頃、千葉大学の宮島先生から、血清の特異性を解析する「FORTRAN」のプログラムをいただき、自分でパンチカードに入力して試行錯誤でテストするうちに、プログラムの構造と考え方を学ぶことができた。宮島先生は、非常に馬力のあった方で、日本ワークショップの強力な推進者であったが、その後HLAの世界から去っていかれたことは残念であるし、日本のHLA学会にとっても損失であったと思う。もう一つコンピューターの重要性を気付かせてもらったのが、北大の板倉先生である。国際ワークショップの日本の打ち合わせのときに、日本のデータにミスが多いことに業を煮やして、「コンピューターがしっかりできない施設は参加すべきでない」と発言され、これはしっかりせねばと発憤したものだ。その板倉先生も亡くなられて久しい。東海地方では最初のHLAタイピング施設なので、多くの施設から検体の依頼もあったが、習いにくる人もあり、多くの人と知り会えた。その中で、今でも関りのある方のひとりが、名古屋大学の第一内科の森島先生で、骨髄移植や白血病の患者のHLAタイピングのため私達の検査室にしばしば訪れてみえた。その後、森島先生は名古屋骨髄移植グループのリーダーとして、東海骨髄バンクや日本骨髄バンクの設立に深く関り、中央血液センターにある中央骨髄データセンターとして一緒に仕事をさせていただいている。森島先生は昨年、部長となって、愛知県がんセンターに赴任されて、診療に当たってみえる。愛知県赤十字血液センターからは、最初に検査課長をしていた、長谷川先生が、続いて、卒業したばかりの倉知透(旧姓:白木)さんが、習いにきた。白木さんはTS1(B75)の発見にまでいたるほど、HLAの世界に

のめりこんでいったが、残念ながら今は別の仕事をされている。このお二人の仲立ちで、赤十字血液センターの「白血球抗原研究班」と関係するようになり、「HLA ばかの会」と呼ばれる赤十字センターのグループの人達とも付き合いだし、ミイラ取りがミイラになって、今までどっぴりと赤十字血液センターの HLA の世界に埋没している。

最後に

がんセンターではその後、今永総長が引退され、吉田先生が浜松医科大学の、高木先生が名古屋大学の教授としてそれぞれ赴任された。1981年に名古屋第二赤十字病院に、腎臓移植センターが作られ、組織適合検査センターも併設された。センターの設立を推進していた高木先生から、HLA 専任で仕事をしないかと誘われ、1年待つて1982年の3月に14年間お世話になったがんセンターを退職した。HLA タイピングを、がんセンターで集めた抗血清も含めて、移動することになるにもかかわらず、須知先生は快く認めてくださった。最初から最後までお世話になりっぱなしであったとつくづく思う。

こうして振り返ってみると、がんセンターで私の現在の方向付けのほとんどをしてきたことを改めて感じた。私のがんセンターにいた時期は、場所にも、人にも恵まれ臨床検査が確立されていく時代の中、HLA の勃興期であり、新抗原の発見、疾患との関係、移植への応用など、携わっているだけで楽しい思いを沢山させていただいた。今から思えば簡単にできたはずのことや、もっとしっかりやっておけばよかったと思うことも多く、力不足で期待に添えなかったことも多くあった。今、愛知県がんセンターは、HLA タイピングにはまったく関係なくなっているが、東海地方のがん専門病院として、何度も改築され、ますます設備の充実した病院となって、本来の役目を果たしている。

日本組織適合性学会からのお知らせ

平成 8 年度決算・平成 9 年度予算

[収入]

	平 8 決算額	平 9 予算額	平 8 予算額
前年度繰越金	6,539,804	6,879,706	6,539,804
個人会員会費	1,903,500	2,000,000	1,600,000
賛助会員会費	1,100,000	1,400,000	1,400,000
学会誌広告費	830,000	1,050,000	900,000
学会誌販売	28,000	30,000	50,000
預金利息	37,476	35,000	30,000
計	10,438,780	11,394,706	10,519,804

[支出]

大会援助金	500,000	500,000	500,000
学会誌作成費	2,658,327	2,500,000	2,100,000
旅費	52,200	200,000	250,000
通信費	249,335	300,000	300,000
事務費	6,482	50,000	100,000
会議費	42,730	100,000	500,000
社団正会員会費	50,000	0	50,000
繰越金	6,879,706	7,744,706	6,719,804
計	10,438,780	11,394,706	10,519,804

平成 8 年度会員状況

[会員]

年度始め会員数	3 3 0 名
新規入会者	6 4 名
退会者	1 2 名
名誉会員	2 名
年度末会員数	3 8 4 名

[賛助会員]

1 4 社

[評議員]

3 6 名

第7回日本組織適合性学会大会のお知らせ

第7回日本組織適合性学会
大会長 猪子英俊

第7回日本組織適合性学会大会を下記のとおり開催致します。今回は趣向を変え、温泉地での開催とさせていただきます。この機会にMHCに携わる様々な分野の方々と活発な交流がなされることを期待しております。会員の皆様には何卒多数ご参加いただきますようお願い申し上げます。

記

会期 1998年7月16日(木)～17日(金)

会場 箱根 湯本富士屋ホテル

神奈川県足柄下郡箱根町湯本

小田急電鉄箱根湯本駅下車 徒歩3分

主な開催内容(予定)

1. シンポジウム: HLAクラスI抗原 DNAタイピングの開発と現状
2. シンポジウム: MHCの進化と多型性の形成
3. ワークショップ: HLA DNA タイピングのQC
4. 一般演題

※なお、演題募集等詳細につきましては追ってご案内をさせていただきます。

大会問い合わせ先

〒259-11

神奈川県伊勢原市望星台

東海大学医学部分子生命科学系 遺伝情報部門内

第7回日本組織適合性学会事務局

TEL: 0463-93-1121 内線2653 FAX: 0463-94-8884

日本組織適合性学会ホームページ運用開始のお知らせ

日本組織適合性学会 ホームページ運営委員会

委員長 赤座 達也

日本組織適合性学会では本年8月1日からインターネット上でホームページを公開することになりました。会員の情報源としてお役に立てば幸いです。また、ご意見・ご要望などがございましたら、学会事務局までご連絡ください。皆様のアクセスを心よりお待ちしております。

日本組織適合性学会ではホームページ公開に伴い学会のロゴマークを募集します。ふるってご応募ください。応募用紙は特にありませんが、氏名、所属、住所、電話番号とロゴデザインの書かれたA4用紙を学会事務局まで郵送でお送りください。採用者には記念品をお送りいたします。なお、著作権は本学会に帰属することになります。予めご了承ください。

ホームページアドレス：<http://square.umin.ac.jp/JSHI/mhc.html>

＜日本組織適合性学会誌MHCの投稿規定＞

1. 投稿規定

1.1. 原稿様式

提出原稿がそのまま電算写植で印刷できるように、原稿は全て、コンピューターのフロッピーディスクとA4サイズとプリントアウトしたものの両者を提出する。一般的なワープロソフトを使用し、ソフト名を明記する。字体、サイズ、行の字数、行間、などの体裁は自由とする。また、図表については、写植でそのまま掲載できるものを提出するが、挿入箇所を本文に指定する。図については天地を明示する。印刷の際に、縮小または拡大する場合があるので、考慮すること。また、図表の題や説明はワープロで、本文とは別頁に添付する。

1.2. 原著論文

会員からの投稿を原則とするが、編集委員会が依頼することもありうる。日本語、英語を問わない。最初の一頁はタイトルページとし、タイトル、著者名、所属、脚注として代表者とその連絡先（電話、FAX、E-mail、アドレス）を記す。タイトル、著者名、所属は次の様式にしたがう。

Serological and nucleotide sequencing analysis of a novel DR 52-associated DRB1 allele with the DR*13:01 specificity designated DRB1*1307.

Toshihiko Kaneshige¹⁾, Mitsuo Hashimoto²⁾,
Yayoi Murayama¹⁾, Tomoko Kinoshita²⁾,
Tsutomu Hirasawa¹⁾, Kiyohisa Uchida¹⁾,
Hidetoshi Inoko³⁾

- 1) Shionogi Biochemical Laboratories, Shionogi Company, Osaka, Japan
- 2) Kidney Transplantation Center, Hyogo Prefectural Nishinomiya Hospital, Hyogo, Japan
- 3) Department of Molecular Life Science, Tokai University School of Medicine, Kanagawa, Japan

HLA class II の DNA typing と MLC

能勢 義介¹⁾, 稲葉 洋行¹⁾, 荒木 延夫¹⁾, 浜中 泰光¹⁾, 阪田 宣彦¹⁾, 土田 文子²⁾, 辻 公美²⁾, 成瀬 妙子³⁾, 猪子 英俊³⁾

- 1) 兵庫県赤十字血液センター, 検査課
- 2) 東海大学医学部, 移植免疫学
- 3) 東海大学医学部, 分子生命科学

内容は、二頁目よりはじめ、要約 (Summary), はじめに (Introduction), 材料と方法 (Materials and Methods), 結果 (Results), 考察 (Discussion), 参考文献 (References) の順に記載する。また、要約の末尾に日本語で5語以内のキーワードを加える (英文の場合には英語の Key words を加える)。脚注は適宜、設けてもよい。日本語で投稿の場合には、末尾に英語のタイトル、著者名、所属 (様式は上述に従う)、英語の要約と英語で5語以内の Key words をつける。枚数に特に指定はないが、速報的な短報 (全体で、2,000~3,000字、出来上がりA4版で2~4枚程度) を中心とする。もちろん、フルペーパー (full paper) も歓迎する。なお、参考文献 (References) の記載については、下記 1.5 を参照すること、オリジナル1部にコピー3部を添えて、編集長宛 (下記 3 参照) に送付する。

1.3. 総説、シリーズその他

編集委員会からの依頼を原則とするが、会員からの投稿も大いに歓迎する。日本語を原則とする。タイトル、著者名、所属は上記 1.2. の通りにしたが、要約と要約の末尾に日本語で5語以内のキーワードを添える。その他の体裁は自由とするが、構成がいくつかの章、節などから成る場合には、次の番号に従い、適当な見出しを添える。

1. 2. 3. 4. ……
- 1.1. 1.2. 1.3. 1.4. ……
- 1.1.1. 1.1.2. 1.1.3. ……

脚注は適宜，設けてもよい．なお，参考文献 (References) の記載については，下記1.5.を参照すること．

1.4. 校正

校正は編集委員が行い，特別な場合を除き，執筆者は校正を行わない．

1.5. 参考文献

参考文献は，本文中に数字で，例えば (3)，の様に表示し，末尾にまとめて，次のようなスタイルで記載する．ただし，著者名，または編集者名は，筆頭3名まで記載し，以下は省略する．

1. Kaneshige T, Hashimoto M, Murayama A, *et al.* : Serological and nucleotide sequencing analysis of a novel DR52-associated DRB1 allele with the DR'NJ25' specificity designated DRB1*1307. *Hum. Immunol.* **41** : 151-160, 1994.
2. Inoko H, Ota M : *Handbook for HLA Typing Techniques* (eds. Bidwell J, Hui KM), PCR-RFLP. CRC Press, Boca Raton, 1993 ; p. 1-70.
3. 能勢義介, 稲葉洋行, 荒木延夫ら : HLA class II のDNA TypingとMLC, 輸血, **39** : 1031-1034, 1993.
4. 猪子英俊, 木村彰方 : 岩波講座分子生物科学11巻, 生物体のまもりかた (本庶佑編), 自己と他の識別, 岩波書店, 東京, 1991; p. 129-194.

2. 別刷

原著論文については，別刷は有料とする．その費用は部数，頁数による．

3. 原稿送付先

〒259-11 神奈川県伊勢原市望星台

東海大学医学部 分子生命科学系遺伝情報部門 日本組織適合性学会誌MHC
編集長 猪子 英俊

TEL : 0463-93-1121 内線 2312

FAX : 0463-94-8884

E-mail : hinoko@is.icc.u-tokai.ac.jp

編集後記

4月に開催された組織適合性学会大会では、移植、疾患感受性、DNAタイピングなどに加えて異種のMHCやゲノム解析の成果も多く発表され、学会員の輪が一段と広がったように思います。この輪がさらに成長し、基礎系の方々も臨床系の方々も集いあって、MHCの多型性にも負けないくらい多様な研究成果を披露しあう場になることを期待しています。そしてその成果を本誌にもどんどん投稿されるよう、学会員の方々の一層の御協力をお願いいたします。
(徳永勝士)

本号は大野乾先生より新しい視点から見たMHCに関する総説を御寄稿賜わり、目が洗われる思いです。大野先生は、また「祖先物語」という祖先に関する深い洞察を加えた論文も最近発表されています。今後とも我々を啓蒙しつづけていただくことをお願いするとともに、ご寄稿いただいた感謝の意をこの場を借りて表したいと思います。
(猪子英俊)

MHC
Major Histocompatibility Complex
Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics
1997年8月1日発行 4巻1号, 1997
定価 2,000円
発行 日本組織適合性学会(会長 片桐 一)
編集 日本組織適合性学会編集委員会(編集担当理事 猪子 英俊)
平成8年7月24日 学術刊行物認可

日本組織適合性学会事務局(事務担当理事 十字 猛夫)
〒150 東京都渋谷区広尾4-1-31 日赤血液センター内
印刷・(株)栄文舎印刷所
〒229 神奈川県相模原市相原2-12-1