

MHC

日本組織適合性学会誌

Major Histocompatibility Complex

Vol. 12 No. 1, 2005

Contents

日本組織適合性学会からのお知らせ	
第 14 回日本組織適合性学会大会のご案内	1
平成 17 年度認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ	6
[原著論文]	
Immunomodulatory effect of anti-HLA class I IgM antibody and soluble HLA class I on polymorphonuclear neutrophils Motoko Nishimura, Yoshihide Ishikawa, Minoko Takanashi, and Masahiro Satake	7
[総説]	
MHC クラス I 抗原認識受容体	平安恒幸, 屋部登志雄 17
[最新情報 “玉手箱”]	
最新アリアル情報	小林 賢 27
第 3 回日本組織適合性学会近畿地方会抄録	31
理研シンポジウム「動物 MHC のダイナミズムと機能—魚からヒトへ—」	47
[シンポジウム印象記]	
理研シンポジウム「動物 MHC のダイナミズムと機能」	竹嶋伸之輔 59
〈日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定〉	63
編集後記	65

日本組織適合性学会誌 MHC 編集委員会

編集委員長

徳永 勝士 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野

編集委員

間 陽子 理化学研究所分子ウイルス学研究ユニット
猪子 英俊 東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門
大谷 文雄 北里大学医学部免疫学講座
木村 彰方 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野
小林 賢 日本薬科大学生物学研究室
中島 文明 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部
成瀬 妙子 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野
安波 道郎 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野

編集協力者

石川 善英 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部
石谷 昭子 奈良県立医科大学法医学教室
今西 規 産業技術研究所生物情報解析研究センター
太田 正穂 信州大学医学部法医学教室
小河原 悟 福岡大学病院第4内科
柏瀬 貢一 東京都赤十字血液センター検査部
斎藤 敏 長野県赤十字血液センター検査課
佐治 博夫 HLA 研究所
佐田 正晴 国立循環器病センター研究所再生医療部移植外科
高原 史郎 大阪大学医学部泌尿器科学講座
滝口 雅文 熊本大学エイズ学研究センターウイルス制御分野
西村 泰治 熊本大学大学院医学研究科免疫識別学教室
能勢 義介 兵庫県赤十字血液センター検査課
平山 謙二 長崎大学熱帯医学研究所環境医学部門
福西 孝信 兵庫県立西宮病院腎移植センター
前田 平生 埼玉医科大学総合医療センター輸血細胞治療部
丸屋 悦子 HLA 研究所
森島 泰雄 愛知県がんセンター血液化学療法部
脇坂 明美 日本赤十字社血漿分画センター

● Contents ●

日本組織適合性学会誌 第 12 巻第 1 号 平成 17 年 5 月 31 日発行

日本組織適合性学会からのお知らせ

第 14 回日本組織適合性学会大会のご案内	1
平成 17 年度認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ	6

[原著論文]

Immunomodulatory effect of anti-HLA class I IgM antibody and soluble HLA class I on polymorphonuclear neutrophils

..... Motoko Nishimura, Yoshihide Ishikawa, Minoko Takanashi, and Masahiro Satake	7
---	---

[総説]

MHC クラス I 抗原認識受容体	平安恒幸, 屋部登志雄	17
-------------------------	-------------	----

[最新情報 “玉手箱”]

最新アリアル情報	小林 賢	27
----------------	------	----

第 3 回日本組織適合性学会近畿地方会抄録		31
-----------------------------	--	----

理研シンポジウム「動物 MHC のダイナミズムと機能—魚からヒトへ—」		47
---	--	----

[シンポジウム印象記]

理研シンポジウム「動物 MHC のダイナミズムと機能」	竹嶋伸之輔	59
-----------------------------------	-------	----

〈日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定〉		63
-----------------------------	--	----

編集後記		65
------------	--	----

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

JSHI

第14回 日本組織適合性学会大会のご案内

(学会ホームページ <http://jshi.umin.ac.jp/frame.html> にも掲載中)

第14回 日本組織適合性学会大会

大会長 西村 泰治

日本組織適合性学会・会員の皆様方におかれましては、益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。

本年度の日本組織適合性学会大会(第14回大会)を、本年10月に熊本市におきまして開催いたします。本大会では「**MHC 研究：基礎から臨床応用へ**」をメインテーマといたしまして、鋭意、準備を進めております。多くの皆様方の御参加を、心よりお待ちしております。

なお、事前参加登録のための参加費振込み口座につきまして、本年1月31日発行のMHC誌第11巻第3号におきましては、銀行口座のみを御案内申し上げておりましたが、新たに郵便振替口座も開設いたしました。こちらの方が、振込み手数料が割安(郵便：70円、銀行：約200～600円)となっております。参加費振り込みに際しましては、別途、会員の皆様方に演題募集案内と共に郵便ならびに銀行口座振込み用紙を郵送いたしましたので、御利用ください。

[会 期]

2005年10月2日(日) QC ワークショップ、認定試験、認定HLA検査技術者講習会ほか
3日(月)・4日(火) 総会、学術集会、懇親会、企業展示会ほか

[会 場]

熊本市市民会館(10月2日)

熊本市桜町1-3

TEL: 096-355-5235

FAX: 096-355-5239

HP: <http://www.city.kumamoto.kumamoto.jp>

/sangyo/kanren/shimin.html

KKR ホテル熊本(10月3日, 4日)

熊本市千葉城町3-31

TEL: 096-355-0121

FAX: 096-355-7955

HP: <http://www.kkr-hotel-kumamoto.com/>

[大会内容]

以下の学術プログラムを、確定いたしました。なお下記の1. および2. の中の指定された講演の受講をもって、指導者認定あるいは認定更新に必要な講習の受講に代える予定です。詳細につきましては、追って学会誌MHC第12巻第2号(9月発送予定)ならびに学会ホームページに掲載する予定ですので御参照ください。

1. 特別講演・教育講演(タイトルは変更される可能性があります。)

- James McCluskey (Professor, Department of Microbiology and Immunology, Melbourne University)

“Impact of natural HLA class I polymorphism on antigen presentation:

The power of one in HLA function and transplantation matching”

- 笹月 健彦(国立国際医療センター・総長)

『ゲノムから疾病へのアプローチ: ABO, HLA そして全ゲノム』

- 中尾 眞二(金沢大学大学院医学系研究科 細胞移植学講座・教授)
『免疫療法としての同種造血幹細胞移植』

2. シンポジウム

- 1) 臨床免疫学の最近の進歩(シンポジウムおよび講演のタイトルは仮題です。)
 - 豊嶋 崇徳(九州大学病院 遺伝子・細胞療法部)
『同種移植と免疫寛容』
 - 滝口 雅文(熊本大学エイズ学研究センター ウイルス制御分野)
『HIV-1 の細胞傷害性 T 細胞からの逃避機構』
 - 河上 裕(慶應義塾大学医学部 先端医科学研究所 細胞情報研究部門)
『T 細胞応答を利用した癌の免疫制御—ヒト腫瘍抗原と HLA—』
- 2) 臓器移植と組織適合性の最前線(シンポジウムおよび講演のタイトルは仮題です。)
 - 杉谷 篤(九州大学病院 腎疾患治療部 臨床腫瘍外科)
『腎移植, 脾移植における組織適合性検査の意義』
 - 村田 誠(名古屋大学医学部附属病院 血液内科)
『造血幹細胞移植とマイナー組織適合性抗原』
 - 池亀 和博(大阪大学大学院医学系研究科 血液腫瘍内科学講座)
『HLA 半合致(ハプロアイデンティカル)造血幹細胞移植』

3. 一般演題

一般演題募集要項

- 1) 発表形式: 発表は口演またはポスターにより行います。演者は本学会の会員であることが必要です。発表形式(口演またはポスター)については, プログラム委員会に一任させて頂きたく存じます。
- 2) 申し込み方法: 学会ホームページ (<http://jshi.umin.ac.jp/frame.html>) にも掲載中です。
 - ① E-mail による演題申し込み
 - 演題の申し込みは, 原則として E-mail でのみ受け付けます。
件名は「14JSHI 演題」とし, ① 抄録, ② 演題申し込み書の 2 つのファイルを, 添付書類として, 下記の第 14 回大会事務局 (senjusat@gpo.kumamoto-u.ac.jp) あてに送ってください。
 - ② 抄録の様式(下記の見本を参照してください。)
 - 抄録は Microsoft Word の文書ファイルを用いて作成してください。
 - 演題名, 演者(発表者に○印), 所属(正式名称が長い場合には省略所属名), 本文の順で作成してください。本文は 800 字以内を厳守し, 目的, 方法, 結果, 考察などに分類して記載してください。フォントは MS 明朝の 11 ポイントで作成してください。英数字は半角文字を使用し, 2 文字で 1 文字と数えます。また μ , γ などのギリシア文字は, Symbol を利用してください。
 - ③ 演題申し込み書の作成(下記の見本を参照してください。)
 - 抄録とは別に, 演題名, 演者, 所属, 代表者の連絡先住所, 電話番号, FAX, E-mail アドレスを記載したファイルを作成してください。

3) 抄録の見本(目的以下の本文は、MS 明朝の 11 ポイントで 800 字以内)

食道癌拒絶抗原 PP-RP 由来の HLA-A24 拘束性 T 細胞エピトープの同定○西村泰治¹⁾、吉武義泰^{1,2)}、○○○○¹⁾、○○○○³⁾、中村祐輔³⁾、中面哲也¹⁾¹⁾ 熊大・院医薬研究部・免疫識別学、²⁾ 顎口腔病態学、³⁾ 東大・医科研・ヒトゲノム解析センター**【目的】** 食道癌において、腫瘍拒絶抗原を同定する。○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○**【方法】** 食道癌組織において、9,216 種類の遺伝子について cDNA マイクロアレイ解析を行い、○○○**【結果】** 食道癌患者 26 名中 22 人で非癌部より癌部で高発現する、新規ヒト癌抗原 PP-RP を同定した。**【考察】** ○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○○

4) 演題申し込み書の見本

演題名：食道癌拒絶抗原 PP-RP 由来の HLA-A24 拘束性 T 細胞エピトープの同定

演者：○西村泰治¹⁾、吉武義泰^{1,2)}、○○○○¹⁾、○○○○³⁾、中村祐輔³⁾、中面哲也¹⁾¹⁾ 熊大・院医薬研究部・免疫識別学、²⁾ 顎口腔病態学、³⁾ 東大・医科研・ヒトゲノム解析センター

連絡代表者の氏名：西村 泰治

代表者の連絡先住所：〒860-8556 熊本市本荘 1-1-1

熊本大学大学院医薬研究部・免疫識別学分野

電話番号：096-373-5313 FAX 番号：096-373-5314

E-mail: mxnishim@gpo.kumamoto-u.ac.jp

4. 演題申し込みの締め切り：2005 年 5 月 31 日(火)必着 なお締め切りを延長する必要がある際には、学会ホームページ上で通知いたしますので御了承ください。

5. 演題受理通知および採択通知

演題受付後 7 日以内に、E-mail または FAX にて演題受理を通知いたします。申し込んだにも関わらず、演題受理の通知がなかった場合には、下記の事務局あてに、お問い合わせください。演題発表形式(口演またはポスター)および発表日時につきましては、2005 年 8 月下旬頃までに、E-mail または FAX にて通知いたします。

[2005 年度学術奨励賞の募集]

2005 年度学術集会大会に応募された一般演題の中から、特に優秀と認められた演題の筆頭演者に学術奨励賞が授与されます。応募を御希望の方は、学会誌 MHC 第 11 巻第 3 号(本年 1 月 31 日発行)に記載されている「2005 年度学術奨励賞の募集要項」を御参照のうえ、奮って御応募ください。

[参加登録費]

下記のように、事前登録を行います。

	理事・評議員	一般会員
事前登録 (2005年8月31日迄)	¥ 8,000	¥6,000
2005年9月1日以降 あるいは当日参加	¥10,000	¥8,000

事前登録参加者には、下記の銀行あるいは郵便振替口座に、お振り込みください。大会事務局より領収書を郵送いたしますので、学会当日に御持参ください。参加証は、学会当日に受付にてお渡しします。なお、振込の際に氏名の後に会員番号を必ずご記入ください。

【振込先】 肥後銀行 本店(普通)口座番号 2327028

第14回日本組織適合性学会大会 大会長 西村 泰治(にしむらやすはる)

郵便局 口座番号 01710-3-116564

第14回日本組織適合性学会大会

参加費振り込みに際しましては、会員の皆様方に演題募集案内と共に銀行ならびに郵便口座振込み用紙を別途、郵送いたしましたので御利用ください。なお複数の方の参加費を同時に振込まれる場合には、御面倒でも全員の御氏名を振込み用紙の表面の通信欄(郵便振込みの場合)、あるいは振込み用紙の振込通知書の裏面の通信欄または空白(銀行振込みの場合)に御記入ください。

[懇親会]

2005年10月3日(月)19時頃より、KKRホテル熊本ガーデン(雨天時は室内)にて懇親会を開催いたします。

[宿泊・交通の御案内]

本大会に御参加の皆様には、学会旅行センター熊本が宿泊、熊本学会バックの手配をいたします。下記のホームページ(HP)にアクセスいただき、お早めにお申し込みください。

連絡先: 860-0811 熊本市本荘 1-1-1 熊本大学病院恵和会内

TEL: 096-363-0865 FAX: 096-363-0867 E-mail: tabi@higo.co.jp

HP: <http://higo.co.jp/jshi14/>

[会場までの交通の御案内] 地図等については、学会ホームページの大会案内を御参照ください。

熊本市民会館(10月2日会場)

- JR 熊本駅から 市電(健軍町行き: 熊本城前下車), 徒歩 3分
- JR 熊本駅から タクシーで 12分
- 熊本空港から 空港リムジンバス(市内・熊本駅行き)で 40分(交通センター下車), 徒歩 3分
- 九州各地から 高速バス利用(交通センター下車), 徒歩 3分

KKR ホテル熊本(10月3日～4日会場)

- JR 熊本駅から 市電(健軍町行き: 市役所前下車), 徒歩 10 分
- JR 熊本駅から タクシーで 15 分
- 熊本空港から 空港リムジンバス(市内・熊本駅行き)で 40 分(通町筋下車), 徒歩 15 分
- 九州各地から 高速バス利用(通町筋下車), 徒歩 15 分

[大会事務局]

本大会に関するお問い合わせ, ならびに一般演題のお申し込みは, 下記大会事務局宛にお願いいたします。

〒860-8556 熊本市本荘 1-1-1

熊本大学大学院医学薬学研究部・免疫識別学分野内

第 14 回日本組織適合性学会大会事務局: 千住 覚

TEL: 096-373-5313 (直通) FAX: 096-373-5314

E-mail: senjusat@gpo.kumamoto-u.ac.jp

[その他]

- 2005 年度学術奨励賞の募集, QC ワークショップ, 認定試験, 認定 HLA 検査技術者講習会などにつきましては, 学会誌 MHC の前号・第 11 巻第 3 号(本年 1 月 31 日発行), ならびに本誌別頁を御参照ください。
- 大会情報は今後刊行されます MHC 誌上, および下記の日本組織適合性学会ホームページの「Annual Meeting 大会」サイトで随時, 更新いたします。(http://jshi.umin.ac.jp/frame.html)

組織適合性検査技術者認定制度 平成 17 年度・認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ

組織適合性検査技術者認定制度委員会

委員長 佐田 正晴

組織適合性検査技術者認定制度委員会教育部会

部会長 西村 泰治

日 時：平成 17 年 10 月 2 日(日曜日) 17:30～19:30 (時刻が変更されました!!)

場 所：熊本市市民会館(熊本市桜町 1-3, 電話：096-355-5235) 大会議室

参加費：2,000 円(テキスト代を含む)

内 容：各講習とも質疑応答を含めて、30 分を予定しています。なお講習のタイトルは、今後、若干変更される可能性があります。

- | | |
|---------------------------|-------------------------------------|
| (1) HLA タイピングの基礎 | 田中 秀則 先生(東京都赤十字血液センター) |
| (2) HLA 遺伝子多型の特徴と意義 | 大橋 順 先生
(東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野) |
| (3) 免疫系における HLA の役割 | 平山 謙二 先生(長崎大学熱研・疾病生態分野) |
| (4) 臓器移植と HLA; 特に心臓移植において | 福嶋 教偉 先生
(大阪大学大学院医学系研究科・臓器制御外科学) |

この講習会は、今後 HLA 検査技術者認定を取得、あるいは更新しようとする者を対象に実施されますが、それ以外の者であっても自由に参加することができます。受講希望者には、以下の申込書に必要事項を記入し、熊本大学大学院医学薬学研究部・免疫識別学分野宛に FAX (096-373-5314) で平成 17 年 6 月 24 日(金)までに送付してください。あるいは、E メールで件名を「HLA 講習会」とし、申込書の必要事項を書き込んで「midorifu@kaiju.medic.kumamoto-u.ac.jp」宛に、上記締め切り日までに送信してください。なお参加費は平成 17 年 8 月 31 日(水)までに、指定の郵便振替口座(口座番号：00160-7-482142, 口座名称：組織適合性技術者認定制度委員会)に振込んでください。振替用紙の通信欄に、受講(予定)者の所属、氏名とともに、「平成 17 年度認定 HLA 検査技術者講習会受講料」と記載してください。参加費前納者には、事前に講習会資料を送付させていただきます。なお受講申し込みをされ参加費を振り込まれた方で、当日欠席された方には返金できませんことを御了承ください。また、テキストの印刷部数は事前申込者数に応じて決定され、事前申込者に優先してテキストを配布します。このため当日の申込者が多い場合には、当該者にはテキストを配布できない場合がありますことを、あらかじめ御了承ください。

平成 17 年度認定 HLA 検査技術者講習会 受講申込書

(書き込み可能な申込書を、学会ホームページの「認定制度」関連サイトからダウンロードできますので、そちらも御利用ください。)

FAX 送信先：096-373-5314, E メール送信先：midorifu@kaiju.medic.kumamoto-u.ac.jp

氏 名：

所 属：

住 所：〒

電 話 番 号：

FAX 番 号：

E メールアドレス：

HLA 検査技術者認定取得予定 ☐なし ☐あり → 平成 年度を予定

● Original Article ●

Immunomodulatory effect of anti-HLA class I IgM antibody and soluble HLA class I on polymorphonuclear neutrophils

Motoko Nishimura¹⁾, Yoshihide Ishikawa²⁾, Minoko Takanashi¹⁾ and Masahiro Satake¹⁾

1) Research Section, Tokyo Metropolitan Red Cross Blood Center, 4-1-31 Hiro-o, Shibuya-ku, Tokyo 150-0012, Japan

2) The Japanese Red Cross Central Blood Center

(Received for Publication: October 22, 2004)

Summary: Background and Objective: Polymorphonuclear neutrophils (PMNs) are considered as components that play several important immunoregulatory roles. The aim of this study is to identify soluble mediators in normal human serum that may cause immunological reactions in which PMNs are strongly involved. **Methods:** For this purpose, the correlation between the amount of several soluble mediators in normal human serum and the cytotoxic activity of the serum against PMNs was investigated. **Results:** The investigation revealed a strong correlation between the amount of anti-human leukocyte histocompatibility antigen (HLA) class I immunoglobulin isotype M (IgM) antibody (Ab) and serum cytotoxic activity against PMNs, and a reverse correlation between the amount of soluble HLA class I (sHLA-I) in the serum and serum cytotoxic activity against PMNs. We also found that the addition of affinity-purified sHLA-I to anti-human HLA class I IgM-positive serum significantly reduces the serum cytotoxic activity against PMNs. In this case, an immune complex (IC) formed by anti-human HLA class I IgM Ab and purified soluble HLA class I (psHLA-I) markedly decreased serum cytotoxic activity. Moreover, it was observed that the IC formed by anti-HLA-I IgM and sHLA-I bound to PMNs via not only HLA class I antigens but also two kinds of low-affinity receptors for IgG, namely, CD16 and CD32, have protective roles against cytotoxic IgG attack. **Conclusion:** The present results indicate that anti-HLA class I IgM, sHLA-I and Fc γ R are strongly involved in the immunomodulatory reactions of PMNs.

Key words: Polymorphonuclear neutrophils, Anti-HLA class I antibody, IgM, Soluble HLA class I, R_c receptors.

Correspondence should be addressed to: Motoko Nishimura PhD
Research Section, Tokyo Metropolitan Red Cross, Blood Center,
4-1-31 Hiro-o, Shibuya-ku, Tokyo 150-0012, Japan

T E L (81) 3-3406-1211
F A X (81) 3-3406-7892
E-mail mo-nishimura@tokyo.bc.jrc.or.jp

Introduction

Human polymorphonuclear neutrophils (PMNs) are occasionally observed as main effectors in *in vivo* immunomodulation processes, such as nonhemolytic febrile transfusion reactions [1, 2], although the precise mechanisms underlying the regulation of the immune response by PMNs remain to be clarified. Several reports have described the roles of anti-human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-specific antibodies (Abs) and PMN-specific Abs in the immunological reactions of PMNs, such as transfusion-related acute lung injury (TRALI) [3–5].

Naturally occurring immunoglobulin isotype M (IgM) autoantibodies in normal human serum are considered to play some roles in immunological modulation, apoptosis induction, anti-inflammatory reactions and self tolerance [6–9]. Our previous experiment indicated a strong correlation between the amount of IgM in normal human serum and serum cytotoxic activity against PMNs [10]. Further investigation revealed a strong correlation between the amount of anti-HLA class I-specific IgM Ab in normal human serum and serum cytotoxic activity against PMNs.

In contrast, our recent experiments disclosed a reverse correlation between the amount of soluble HLA class I (sHLA-I) in normal human serum and serum cytotoxic activity against PMNs. Soluble HLA-I in normal human serum is known to have effects such as the inhibition of CD8⁺ or CD4⁺ T cell activity, leading to tolerance enhancement in cases such as transfusion and organ transplantation [11, 12].

The objective of our study is to clarify the immunoregulatory effects of IgM and sHLA-I in normal human serum. In the present report, we discuss the implications of the following three factors: 1) anti-HLA-I IgM Ab in normal human serum, 2) sHLA-I in normal human serum, 3) roles of HLA class I antigens and low-affinity Fc receptors (FcRs) for IgG [FcγRIII (CD16), FcγRII (CD32)] as receptors of an immune complex (IC), whose binding to PMNs was

verified using biotinylated psHLA-I in the presence of anti-HLA-I IgM-positive serum.

Materials and Methods

Reagents

Mouse anti-human CD16 (low-affinity FcR for IgG: clone 3G8), anti-CD32 (low-affinity FcR for IgG: clone KB61) and anti-HLA class I (clone W6/32) monoclonal antibodies (mAbs) were purchased from DakoCytomation A/S (Copenhagen, Denmark). Rat anti-human HLA class I (clone YTH 862.2) was obtained from Serotec (Oxford, UK). Horseradish peroxidase (HRP)-conjugated goat anti-mouse IgG was obtained from Bio-Rad Laboratories (Philadelphia, PA, USA). Peroxidase (POD)-conjugated streptavidin was obtained from Boehringer Mannheim Biochemica (Mannheim, Germany). Rabbit anti-human IgM mAb was obtained from DakoCytomation A/S. Fluorescence isothiocyanate (FITC)-conjugated streptavidin was purchased from Wako Pure Chemical Industries Ltd. (Tokyo, Japan). Mouse anti-human IgG mAb was obtained from Sigma-Aldrich Corp. (St. Louis, MO, USA). Mouse anti-human IgA was obtained from Southern Biotechnology Associates Inc. (Birmingham, AL, USA).

Preparation of PMNs

PMNs were prepared from peripheral whole blood derived from several healthy individuals by dextran sedimentation and discontinuous Percoll (Amersham Pharmacia Biotech K. K., Tokyo, Japan) gradient centrifugation as previously described [13]. The PMN purity was more than 98% (*n* = 450), as assessed using flow cytometer Cytron (Ortho Diagnostic Systems K. K. Tokyo, Japan) with PMN-specific FITC-conjugated mAb (anti-CD16b mAb, clone 1D3, Immunotech, Marseille, France). The viability of PMNs after the preparation was 99–100% (*n* = 450), estimated by the trypan blue dye exclusion method.

Preparation of purified sHLA-I and biotin-conjugated purified sHLA-I

Preparations of purified sHLA-I (psHLA-I) and biotin-conjugated psHLA-I (biotin-psHLA-I) were performed by the previously described methods [14, 15]. In brief, pooled PMNs derived from randomly selected six normal healthy individuals were solubilized with lysis buffer [Tris-buffered saline (TBS) + 0.5% Nonidet P 40]. The cell lysates were then treated with protein A-conjugated sepharose 4B (Amersham Pharmacia Biotech K. K.) with gentle rotation at 4°C for 30 minutes. After centrifugation to remove protein A-conjugated sepharose 4B, the lysates were mixed with mouse anti-human HLA class I mAb (clone W6/32)-conjugated protein G-sepharose 4B (Amersham Pharmacia Biotech K. K.) with gentle rotation at 4°C overnight. For the preparation of biotin-psHLA-I, the final concentration of 2 mM sulfo-NHS-biotin (Pierce, Rockford, IL, USA) was added to the mixture of anti-HLA class I mAb (clone W6/32)-conjugated protein G-sepharose 4B and PMN lysates with gentle rocking at 4°C overnight. Thereafter, protein G-sepharose 4B was washed five times with RIPA buffer [10 mM Tris-HCl (pH 7.4) + 150 mM NaCl + 5 mM EDTA (pH 7.4) + 1% Triton X-100 + 0.1% SDS]. Extraction of psHLA-I or biotin-psHLA-I was performed by the addition of 100 mM glycine (pH 2.5) with gentle rocking at 4°C for 2 hours. Then the product was dialyzed against RPMI 1640 medium (Nissui Seiyaku Co. Ltd., Tokyo, Japan) for neutralized. Western blotting of psHLA-I and dot blotting of biotin-psHLA-I were performed according to established methods using a combination of mouse anti-human HLA class I mAb and HRP-conjugated goat anti-mouse IgG (Bio-Rad Laboratories) for western blotting, and POD-conjugated streptavidin (Boehringer Mannheim Biochemica) for dot blotting. Color development of both was performed using reagents contained in an Immuno-Blotting Assay Kit (Bio-Rad Laboratories) according to the manufacturer's instruction.

ELISA of IgM, sHLA-I and biotin-ps HLA-I

The amount of total IgM in normal human serum was measured using an ELISA Development Kit (Funakoshi K. K., Tokyo, Japan) according to the manufacturer's instruction. The amount of sHLA-I in the serum was measured by conventional double-determinant ELISA using rat anti-human HLA class I mAb (clone YTH 862.2) as capture Ab and mouse anti-human HLA class I mAb (clone W6/32) as detection Ab. Color development was performed using 5000-fold-diluted HRP-conjugated goat anti-mouse IgG (Bio-Rad Laboratories) in TTBS (TBS + 0.05% Tween 20), followed by the treatment with substrate TMB (DakoCytomation A/S). Detection of biotin-psHLA-I was performed using 5000-fold-diluted POD-conjugated streptavidin (Boehringer Mannheim Biochemica), followed by the treatment with substrate TMB (DakoCytomation A/S). After rocking at room temperature for 30 minutes, stopping solution (H₂SO₄) was added and absorbance at 450 nm was measured using Microplate Reader Model 3550 (Bio-Rad Laboratories).

Detection of anti-HLA-I IgM, IgG and IgA Ab in the serum

Ten microliters of serum was inoculated into each well of Lambda Antigen Tray ELISA (One Lambda Inc., Canoga Park, CA, USA) with rocking at room temperature for 1 hour. After washing twice with 20 μ l/well of TTBS, 10 μ l/well of rabbit anti-human IgM or IgG mAb (500-fold diluted with TTBS), or mouse anti-human IgA mAb (500-fold diluted with TTBS) was added into each well with rocking at room temperature for 45 minutes. After another two washings with TTBS, 10 μ l/well of HRP-conjugated goat anti-rabbit IgG (1,000-fold-diluted with TTBS) for the detection of IgM or IgG or HRP-conjugated goat anti-mouse IgG for the detection of IgA (1,000-fold diluted with TTBS) was added with rocking at room temperature for 30 minutes. Thereafter, each well of the plate was washed twice with TTBS (20 μ l/well),

followed by the addition of 10 μ l/well of substrate TMB and rocking at room temperature for 15 minutes. Twenty microliters of H_2SO_4 was then added into each well to stop the reaction. The entire solution in each well (30 μ l/well) was transferred to a 96-well flat-bottomed ELISA plate (Nalge Nunc International: Rochester, NY, USA) and the absorbance at 450 nm was measured with Microplate Reader Model 3550 (Bio-Rad Laboratories).

Preparation of "CD16, CD32 or HLA class I antigen plate"

Each well of the 96-well ELISA plate (Nalge Nunc International) was added with 50 μ l of capture mAb solutions (anti-HLA class I, anti-CD16 or anti-CD32) diluted with carbonate buffer (0.05 mol/L) to make a final concentration of 10 μ g/ml and stored at 4°C overnight. Thereafter, the plate was washed three times with TTBS (100 μ l/well) and each well was blocked by 3% gelatin (Bio-Rad Laboratories) in TBS at 37°C for 1 hour with gentle rocking. After three washings, the plate was added with PMN lysates that were prepared according to the method previously described. In brief, 3×10^6 PMNs were dissolved in 100 μ l of lysis buffer (TBS + 0.5% Nonidet P 40), followed by five cycles of freeze (−80°C) and thaw (room temperature). The lysates were then centrifuged at 15,000 rpm for 10 minutes at 4°C and supernatants (3-fold diluted with TTBS) were added to the wells of the primary mAb-coated plate with rocking at room temperature for 1 hour. After washing three times with TTBS, the plate was used as a "CD16, CD32 or HLA class I antigen plate".

Removal of anti-HLA class I IgM Ab

For the removal of anti-HLA class I IgM Ab from sera, an HLA class I antigen plate was used. In brief, 25 μ l of serum was added into each well of the HLA class I antigen plate with gentle rocking at 4°C overnight. Supernatants were then harvested and used as anti-HLA class I IgM Ab-free sera. The complete re-

moval of anti-HLA class I IgM was confirmed using Lambda Antigen Tray ELISA (One Lambda Inc.).

⁵¹Cr-release assay

⁵¹Cr-labeled PMNs were treated with 50 μ l of test serum (2×10^5 cells/50 μ l serum) in each well of the 96-well round-bottomed plate (Nalge Nunc International) and incubated at 37°C for 4 hours. After 4-hour incubation, the plate was centrifuged at 2,000 rpm for 10 minutes, followed by determination of the radioactivity in the 40 μ l cell-free supernatant of each well using Auto Well Gamma System ARC-370M (Aloka, K. K., Tokyo, Japan). Percent specific lysis was calculated with the following formula: [cpm in test serum — cpm of minimum release (in FCS instead of test serum) / cpm of maximum release (in the wells with 0.1% Triton X-100 instead of test serum) — cpm of minimum release] $\times$ 100. In some experiments, 10 μ l of psHLA-I (corresponding to 120 ng as described below) was simultaneously added with test serum and persisted during 4-hour ⁵¹Cr-release assay. In another experiment, 10 μ g/ml of NaN_3 -free mAb solution (mouse anti-human CD16, CD32 or mouse anti-human HLA class I mAbs) diluted with serum-free RPMI 1640 medium (Nissui Seiyaku) was present during 4-hour ⁵¹Cr-release assay (100 μ l of mAb solution / 1×10^6 PMNs) in the presence or absence of psHLA-I.

Definition of high and low anti-HLA class I IgM sera

The absorbance value at 450 nm in the ELISA of IgM using an ELISA Kit (Funakoshi K. K.) was determined as the amount of IgM in the test serum. Simultaneously, the absorbance value at 450 nm of anti-HLA class I IgM using Lambda Antigen Tray ELISA (One Lambda Inc.) was measured. The ratio of the absorbance value of anti-HLA class I IgM / total IgM in each serum was calculated (n = 200). The mean $\pm$ SD was 0.25 ± 0.11 (range 0.10~0.82). Sera whose ratio of anti-HLA class I IgM / total IgM was over 0.58 (mean + 3SD) were arbitrarily considered

as high anti-HLA class I IgM sera. On the other hand, sera whose ratio was under 0.14 (mean - 1SD) were used as low anti-HLA class I IgM sera.

Detection of biotin-psHLA-I binding to PMNs by ELISA and flow cytometric analysis

The detection of antigens to which biotin-psHLA-I bound in the presence of high or low anti-HLA class I IgM Ab serum was performed essentially according to the monoclonal antibody-immobilized granulocytes antigen (MAIGA) test [16] with a slight modification using a CD16, CD32 or HLA class I antigen plate. In brief, 10 μ l of biotin-psHLA-I (corresponding to 20 ng as described below) was added to each well of the CD16, CD32 or HLA class I antigen plate with high or low anti-HLA class I IgM serum (50 μ l/well). The plates were rocked gently at room temperature for 1 hour followed by washing with TTBS. Then 5000-fold-diluted POD-conjugated streptavidin in TTBS was added to each well with gentle rocking at room temperature for 1 hour. After washing, color development was performed by the addition of substrate TMB (DakoCytomation A/S) with gentle rocking at room temperature for 30 minutes. Then stopping solution (H_2SO_4) was added to each well and the absorbance at 450 nm was measured using the plate reader (Bio-Rad Laboratories). In a flow cytometric analysis, FITC-conjugated streptavidin (Wako Pure Chemical Industries Ltd.) was used. In brief, PMNs from normal healthy individuals were treated with biotin-psHLA-I (corresponding to 120 ng as described below) in the presence of high or low anti-HLA class I serum at 37°C for 30 minutes, then washed twice with flow cytometry (FCM) buffer (PBS + 0.2% BSA + 0.1% NaN_3). Thereafter, 20-fold-diluted FITC-conjugated streptavidin was added and stored at 4°C for 30 minutes. PMNs were then washed once with FCM buffer and subjected to flow cytometric analysis using flow cytometer Cytron (Ortho Diagnostic Systems K. K., Tokyo, Japan).

Statistical analysis

A paired Student's *t*-test was used to determine the statistical significance of the data. A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results

The strong correlation between anti-HLA class I IgM amount and serum cytotoxic activity (Figure 1), but not between anti-HLA class I IgG or IgA amount and serum cytotoxic activity (data not shown), was observed. On the basis of this result, the removal of anti-HLA class I IgM indicate a significant degradation of serum cytotoxic activity against PMNs (Figure 1). In contrast, a reverse correlation between sHLA-1 amount in the serum and serum cytotoxic activity was observed (Figure 2).

Western blotting and dot blotting of psHLA-I and biotin-psHLA-I respectively are indicated in Figure 3. Three bands, namely β_2m (12K), HLA class I α and β chains (43K), and a β_2m complex with α and β chains (55K) were observed by western blotting. From 1.5×10^7 PMNs, approximately 0.75 μ g of psHLA-I was obtained with Luminescent Image Analyzer LAS-3000 (Fujifilm K. K., Tokyo, Japan) based on the band strengths obtained by western blotting compared to marker band strengths (Bio-Rad Laboratories).

We already clarified that the addition of sHLA-I-positive serum to high anti-HLA-I IgM serum reduces serum cytotoxic activity against PMNs (data not shown). On the basis of this result, an additional experiment was performed by the addition of psHLA-I with high anti-HLA-I IgM serum. The result revealed a decrease in cytotoxic activity against PMNs compared with intact serum (Figure 4).

High binding of biotin-psHLA-I to PMNs was observed in a flow cytometric analysis when treated with high anti-HLA class I IgM serum but not with low anti-HLA class I serum (Figure 5).

Notable bindings of biotin-psHLA-I to CD16, CD32 and HLA class I antigen plates were observed when treated with high anti-HLA class I IgM serum

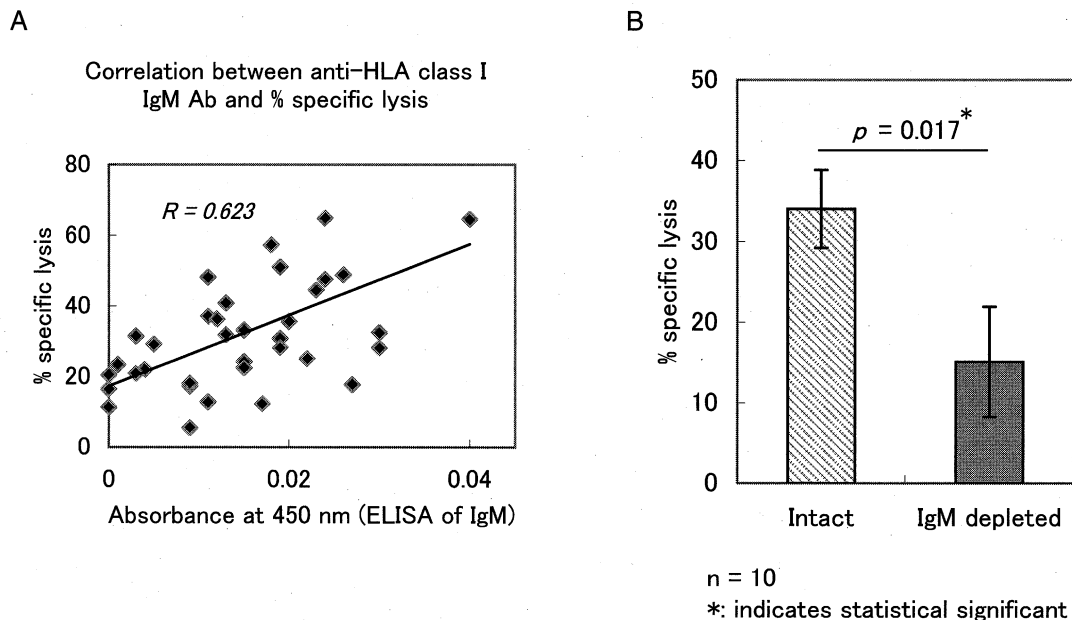


Figure 1. (A) Correlation between serum cytotoxic activity and the amounts of anti-HLA class I IgM (PMNs derived from healthy individuals were labeled with ^{51}Cr and then challenged with various samples of sera from healthy individuals (1×10^5 PMNs / $40 \mu\text{l}$ serum). After a 4-hour incubation at 37°C , radioactivity in cell-free culture supernatants was measured using a gamma counter. A representative result from 60 independent identical experiments is shown in each immunoglobulin. (B) Removal of anti-HLA-I IgM resulted in a significant decrease in serum cytotoxic activity against PMNs. The mean $\pm$ SD calculated with 10 independent experiments is shown.

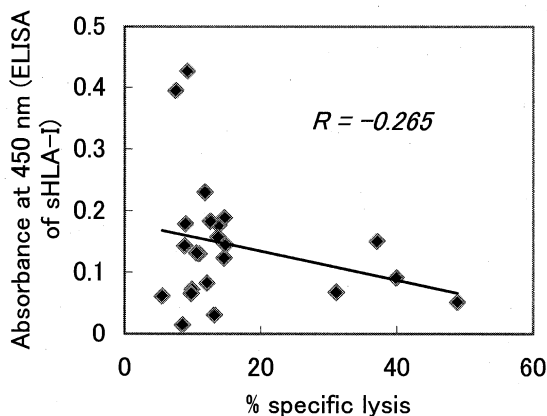


Figure 2. Reverse correlation between the amount of sHLA-I and serum cytotoxic activity against PMNs. The amount of sHLA-I in the serum was evaluated using an ELISA Kit. The cytotoxic activity of each serum was estimated by 4-hour ^{51}Cr -release experiment. A representative result from five independent identical experiments is shown.

but not with low anti-HLA class I serum (Figure 6).

Discussion

In this study, we have characterized the immunoregulatory functions of IgM in sera from normal healthy individuals. In addition, we have observed a high correlation between the amounts of anti-HLA-I IgM Ab and sHLA-I. The involvement of complement in serum cytotoxic activity is not likely, because the heat treatment (56°C , 30 minutes) of the serum failed to decrease serum cytotoxic activity (data not shown).

From our observation, the association of anti-HLA class I IgM Ab to HLA class I antigen on PMNs occurred only in the presence of sHLA-I. A previous report indicated that a spontaneous apoptosis in PMNs is prevented by ligation of HLA class I antigen via an F(ab')_2 fragment of anti-HLA class I mAb [17]. In line with this notion, one possible explanation in the present result is that anti-HLA-I IgM Ab associates

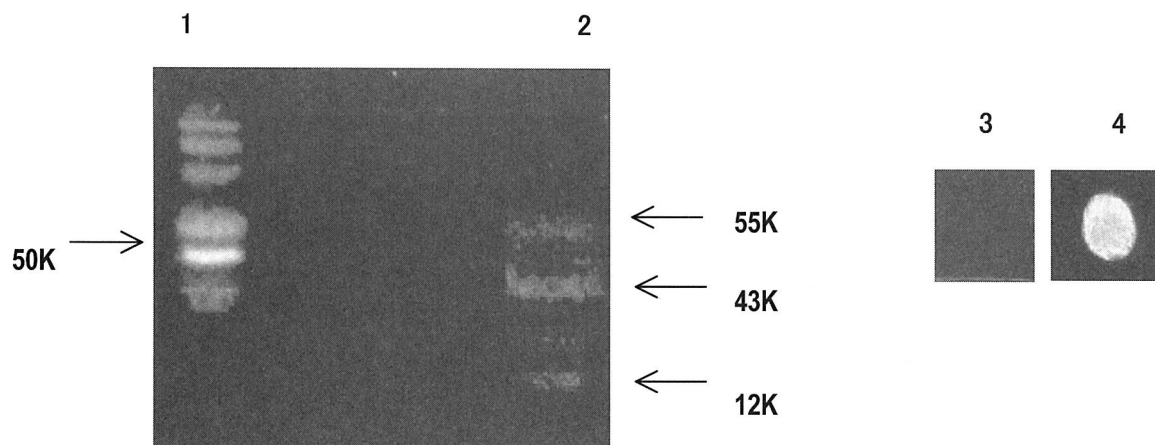


Figure 3. Results of western blotting of psHLA-I (left) and dot blotting of biotin-psHLA-I (right). Ten microliters of psHLA-I (120 ng) was subjected to SDS-PAGE and transferred to a nitrocellulose membrane. The membrane was reacted with anti-HLA class I mAb clone W6/32, followed by treatment with HRP-anti-mouse IgG. Ten microliters of biotin-psHLA-I was dot blotted on a nitrocellulose membrane. The membrane was then reacted with POD-conjugated streptavidin. Color development was performed using an Immuno-Blotting Kit (Bio-Rad Laboratories). A molecular marker (lane 1), HLA class I $\alpha\beta$ chains associated with β_2m (55k), β_2m -free $\alpha\beta$ chains (43k) and β_2m (12k) are indicated by arrows (lane 2). As a negative control in dot blotting, dialyzed medium (RPMI 1640) using neutralized biotin-psHLA-I was adopted (3). Dot blotting of biotin-psHLA-I using HRP-conjugated streptavidin is shown in (4). From the analysis using an image analyzer, 10 μ l of psHLA-I and biotin-psHLA-I corresponded to 120 ng.

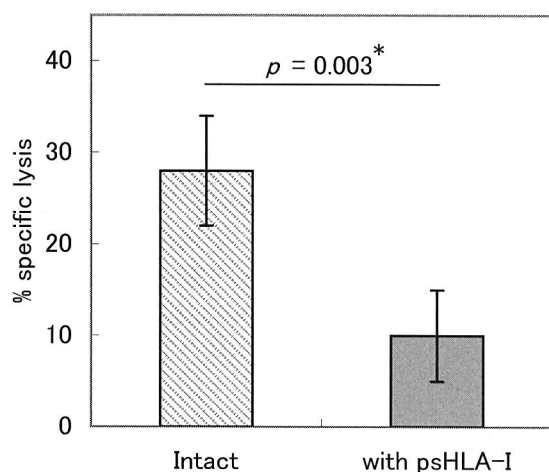


Figure 4. Decrease in serum cytotoxic activity by the addition of psHLA-I. Highly cytotoxic HLA-I IgM serum was subjected to 4-hour ^{51}Cr -release assay in the presence or absence of 10 μ l of psHLA-I (120 ng) with 2×10^5 PMNs in 50 μ l serum/well of a round-bottomed 96 well plate. The mean $\pm$ SD calculated from five identical experiments is shown.

with HLA class I antigen by cross-linking of HLA class I antigen through the formation of an IC with the help of sHLA-I.

Soluble HLA-I is also known to play several immunomodulatory roles through the regulation of T cell function. In this concept, sHLA-I exerts its inhibitory effect by binding to the CD8 antigen of CD8⁺ T cells. In CD4⁺ T cells, sHLA-I is suspected to inhibit the CD4⁺ T cell function by inhibiting the association of the T cell receptor and HLA antigens [18–21]. In contrast to T cells, the immunomodulatory effect of sHLA-I on PMNs has not been elucidated up to now. In this study, we propose the possibility that the IC formed by anti-HLA-I IgM Ab and sHLA-I inhibits the cytotoxic activity of anti-HLA-I IgM Ab itself in normal human serum.

A previous report described that the preferential binding of IC to one of the two low-affinity receptors for IgG, namely, Fc γ RIII (CD32), on apoptotic PMNs upregulates the phagocytosis and release of proinflam-

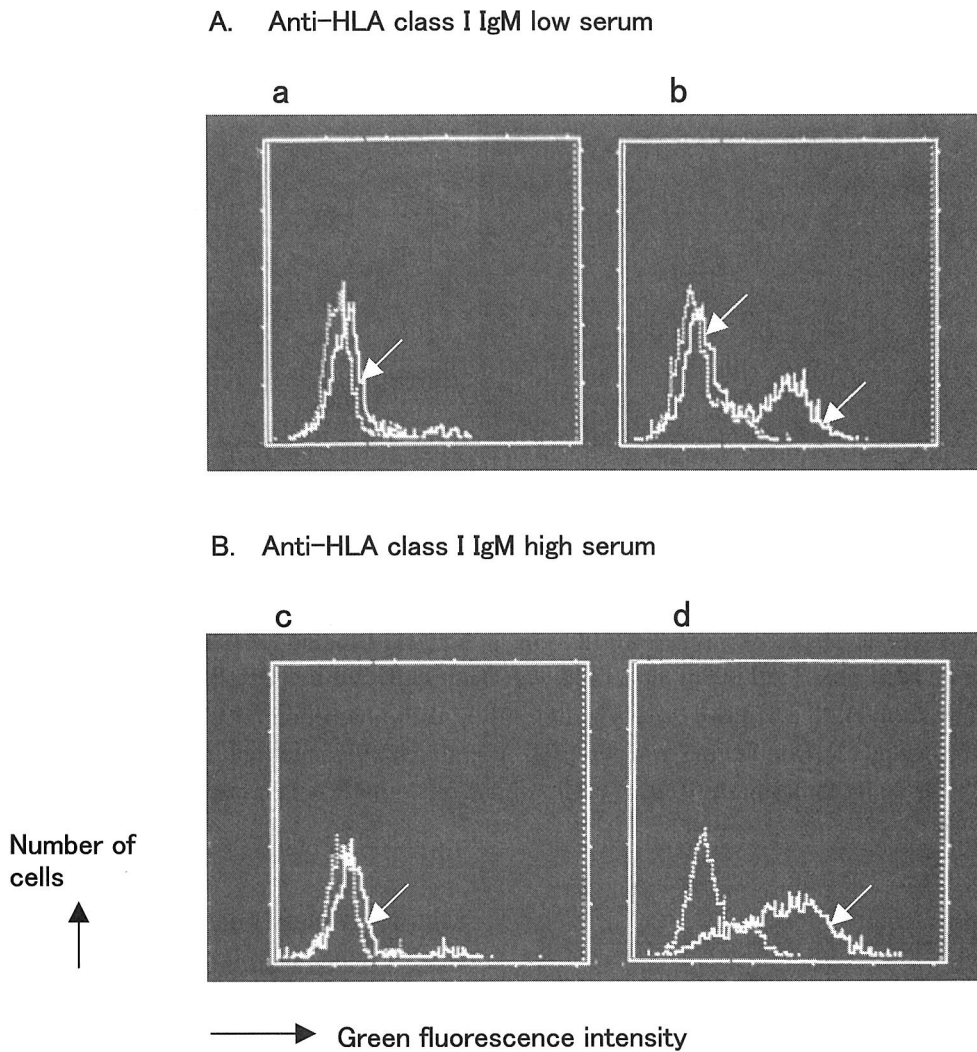


Figure 5. Binding of biotin-psHLA-I to PMNs in the presence of low (A) or high (B) anti-HLA-I serum. PMNs were treated with 10 μ l of biotin-psHLA-I (120 ng) with 50 μ l of low or high anti-HLA-I IgM serum at 37°C for 1 hour. Then cells were washed twice with FCM buffer, followed by the treatment of 40-fold-diluted FITC-conjugated mouse IgG (a and c: bold lines with arrow) or FITC-conjugated streptoavidin (b and d: bold lines with arrow). Dotted lines indicate the fluorescence patterns without treatment of biotin-psHLA-I. A representative result from five independent identical experiments is shown.

matory cytokines [22, 23]. Another report indicated that the specific binding of the IC to apoptotic PMNs involves an apoptosis-associated change in Fc γ R function [24]. In our study, the IC formed by anti-HLA-I IgM Ab and sHLA-I bound to Fc γ RII (CD16) and more preferentially to Fc γ RIII (CD32), and PMNs protected from apoptosis that were possibly produced by Fc γ Rs, such as complement-independent cytotoxic IgG Abs [25, 26]. It is interesting to note that Fc γ RII

has stronger potencies for IC binding than Fc γ RIII, as determined in this study and previous studies.

In conclusion, antigen-specific IgM (anti-HLA class I IgM Ab) and relevant soluble antigen (soluble HLA class I) in the serum derived from a normal healthy individual probably play immunoregulatory roles in immunological reactions, in which PMNs are strongly involved. The identification of the mechanisms of an IC-mediated anti-apoptotic reaction, pro-

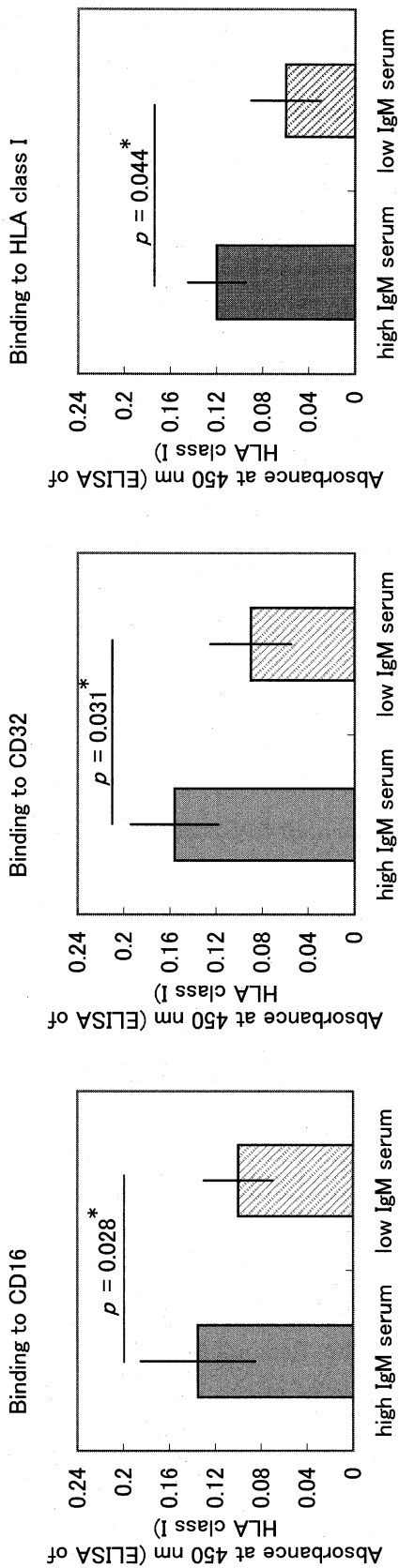


Figure 6. Binding of biotin-anti-HLA class I to CD16, CD32 and HLA class I antigen plates. High or low anti-HLA class I serum (50 μ l) was inoculated into the wells of CD16, CD32 and HLA class I antigen plates with 10 μ l of biotin-anti-HLA class I (120 ng). After washing, each well was treated with POD-conjugated streptavidin, followed by the treatment with substrate TMB. Significant binding of biotin-anti-HLA class I was observed when treated with high anti-HLA class I IgM serum but not with low anti-HLA class I IgM serum. The mean $\pm$ SD calculated from five identical experiments is shown.

foundly involving IgM class Abs, is now under investigation.

References

1. Perkins HA, Payne R, Ferguson J, *et al.*: Non-hemolytic transfusion reaction: Quantitative effects of blood components with emphasis on isoantigenic incompatibility of leukocytes. *Vox Sanguinis* **11**: 578–600, 1966.
2. Mangano MM, Chambers LA, Kruskal MS.: Limited efficacy of leukopoor platelets for prevention of febrile transfusion reaction. *American Journal of Clinical. Pathology* **95**: 733–738, 1991.
3. Popovsky MA, MacKenzie MP, Paglieroni TG, *et al.*: HLA class II antibodies in transfusion-related acute lung injury. *Transfusion* **41**: 1244–1248, 2002.
4. Kopko PM, Holland PV.: Transfusion-related acute lung injury. *British Journal of Haematology* **105**: 322–329, 1991.
5. Popovsky MA, Abel MD, Moore SB.: Transfusion-related acute lung injury associated with passive transfer of antileukocyte antibodies. *American. Review of Respiratory. Disease.* **128**: 185–189, 1985.
6. Boes M, Schmidt T, Linkemann K, *et al.*: Accelerated development of IgG autoantibodies and autoimmune disease in the absence of secreted IgM. *Immunology* **97**: 1184–1189, 2000.
7. Varambally S, Bar-Dayyan Y, Bayry J, *et al.*: Normal human polyreactive IgMs induce apoptosis of lymphoid cell lines and human peripheral blood mononuclear cells. *International. Immunology* **16**: 517–524, 2004.
8. Coutinho A, Kazatchkine MD, Avrameas S. *et al.*: *Current Opinion in Immunology* **7**: 812–818, 1985.
9. Boes M, Schmidt T, Linkemann K, *et al.*: Accelerated development of IgG autoantibodies and autoimmune disease in the absence of secreted

- IgM. *Immunology* **97**: 1184–1189, 2000.
10. Nishimura M, Ishikawa Y, Takanashi M, *et al.*: Normal human IgM is cytotoxic against polymorphonuclear neutrophils. *Transfusion* in press.
11. Zavazava N, Krönke M.: Soluble HLA class I molecules induce apoptosis in alloreactive cytotoxic T lymphocytes. *Nature Medicine* **2**: 1005–1010, 1996.
12. Puppo F, Indiveri F, Scudeletti M, *et al.*: Soluble HLA antigens: new roles and uses. *Immunology Today* **18**: 154–155, 1997.
13. Popovsky MA, Chaplin HC, Moore, SB.: Transfusion-related lung injury: a neglected serious complication of hemotherapy. *Transfusion* **32**: 589–592, 1992.
14. Flesch B, Ntambi E, Neppert J.: Biotinylation: A nonradioactive method for the identification of cell surface antigens in immunoprecipitates. *Electrophoresis* **16**: 757–762, 1995.
15. Meier T, Ami S, Malarkannan S, *et al.*: Immuno-detection of biotinylated lymphocyte-surface proteins by enhanced chemiluminescence: A non-radioactive method for cell-surface protein analysis. *Analytical Biochemistry* **204**: 220–226, 1992.
16. Bux J, Kober B, Kietel V, *et al.*: Analysis of granulocytes reactive antibodies using an immunoassay based upon monoclonal-antibody-specific immobilization of granulocytes antigens. *Transfusion Medicine* **3**: 157–162, 1993.
17. Frumeto G, Ottonello L, Bertolotto M, *et al.*: Spontaneous apoptosis in neutrophil is associated with downregulation of HLA class I and is prevented by ligation of class I. *Journal of Leukocyte Biology* **68**: 873–880, 2000.
18. Contini P, Ghio M, Brenci S, *et al.*: Soluble human MHC class I molecules induce soluble Fas ligand secretion and trigger apoptosis in activated CD8⁺ Fas (CD95)⁺ T lymphocytes. *International Immunology* **12**: 195–203, 2000.
19. Perosa F, Prete M., Luccarelli G, *et al.*: Beta-2 microglobulin-free HLA class I (FHC) A3 and/or A30 soluble products contribute only minimally to serum FHC expression. *European Journal of Immunology* **29**: 409–412, 2002.
20. Genestier L, Paillot R, Bonnefy-Berard N, *et al.*: Fas-independent apoptosis of activated T cells induced by antibodies to the HLA class I alpha 1 domain. *Blood* **90**: 3629–3639, 1997.
21. Woodle ES, Smith DM, Blustone JA, *et al.*: Anti-human class I MHC antibodies induce apoptosis by a pathway that is distinct from the Fas-mediated pathway. *Journal of Immunology* **158**: 3189–3196, 1997.
22. Hart SP, Alexander KM, Dransfield L.: Immune complexes bind preferentially to Fc gamma RIIA (CD32) on apoptotic neutrophils, leading to augmented phagocytosis by macrophage and release of proinflammatory cytokines. *Journal of Immunology* **172**: 1882–1887, 2004.
23. Hart SP, Jackson C, Kremmel LM, *et al.*: Specific binding of antigen-antibody complex to apoptotic human neutrophils. *American Journal of Pathology* **162**: 1011–1018, 2003.
24. Voice JK, Lachmann PJ.: Neutrophil Fc gamma and complement receptors involved in binding soluble IgG immune complexes and in specific granule release induced by soluble IgG immune complexes. *European Journal of Immunology* **27**: 2514–2523, 1997.
25. Stockmeyer B, Beyer T, Neuhuber W, *et al.*: Polymorphonuclear granulocytes induce antibody-dependent apoptosis in human breast cancer cells. *Journal of Immunology* **171**: 5124–5129, 2003.
26. Durand V, Pers JO, Renaudineau Y, *et al.*: Hermann M. Differential effects of anti-Fc gamma RIIIB autoantibodies on polymorphonuclear neutrophil apoptosis and function. *Journal of Leukocyte Biology* **69**: 233–240, 2001.

● 総 説 ●

MHC クラス I 抗原認識受容体

平安 恒幸^{1,2)}, 屋部 登志雄¹⁾

1) 東京都赤十字血液センター技術部

2) 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学

(平成 17 年 4 月 5 日受付)

はじめに

主要組織適合性遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Gene Complex, MHC) は名称の通り臓器移植時の適合性を担う同種(アロ)抗原の最強のものとして発見され, その後の解析から自己生体内において(外来)非自己抗原を T 細胞に提示する役割を担う獲得免疫反応誘導の中心分子であることが判明した。クラス I 抗原は全身の殆どの細胞表面に発現し, ペプチド結合溝内に自己ペプチドを結合している場合には正常自己細胞マーカーとして働く一方, ウィルス感染細胞やがん細胞においては細胞内で合成される非自己抗原ペプチドを結合して CD8 陽性キラー T 細胞に認識させ発現細胞の破壊除去を誘導することで免疫学的監視機構を構築している。多種多様な異物抗原ペプチドを結合溝内に結合して T 細胞受容体に提示するためにクラス I 抗原遺伝子座は高度な多型性を獲得したと考えられるが, それは同時に代償として強力なアロ反応性をもつことにもなった。このために移植時においてアロ特異性 T 細胞やアロ抗体によるクラス I 認識反応から強力な拒絶応答や GVHD 反応が引き起こされる。最近 Killer Ig-like Receptor (KIR) など主に自然免疫系において機能する受容体ファミリーもクラス I 抗原を認識し免疫応答調節を行うことが明らかとなってきた (1)。本稿ではこれらのクラス I 抗原認識受容体についてまとめた。なお KIR については本誌に千田昇平氏の詳細

な総説 (2) があるので補足的な記載に留めた。

クラス I 抗原認識受容体ファミリーの種類

クラス I 抗原認識受容体はその構造からイムノグロブリン (Ig) 様分子とレクチン様分子に, また機能の点から抑制型と活性化型に大別される。細胞外に Ig ドメイン構造をもつ Ig スーパーファミリーの Ig 様型には KIR, Leukocyte Ig-like Receptor (LILR), Paired Ig-like Receptor (PIR) 受容体がある。一方, Ly-49, NKG2 は動物レクチンファミリーの糖鎖認識ドメインと相同性を示す細胞外部分を持つことからレクチン様型受容体と呼ばれる。しかしリガンドクラス I 分子のアミノ酸配列部分を認識して結合することが示されており, 糖鎖との結合は(あっても)補助的なものと考えられる (3)。Ig 型はヒト 19 番染色体長腕 Leukocyte Receptor Complex (LRC) 領域およびマウス 7 番染色体に, レクチン様型はヒト 12 番染色体短腕およびマウス 6 番染色体の NK gene complex (NKC) 領域に局在している (4) (図 1)。抑制型受容体は長めの細胞質部分を持ち, そこに Immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif (ITIM) と呼ばれるチロシン残基を中心としたモチーフが存在する。受容体細胞外部分がリガンドクラス I 分子と結合すると ITIM チロシン残基リン酸化が起こり脱リン酸化酵素 (SHP1, SHP2, SHIP など) をリクルートする。これらが活性化経路中の分子を脱リン

代表者連絡先 〒150-0012 東京都渋谷区広尾 4-1-31
東京都赤十字血液センター技術部研究一課
屋部 登志雄

電 話 03-3406-1211
F A X 03-3406-7892
E-mail to-yabe@tokyo.bc.jrc.or.jp

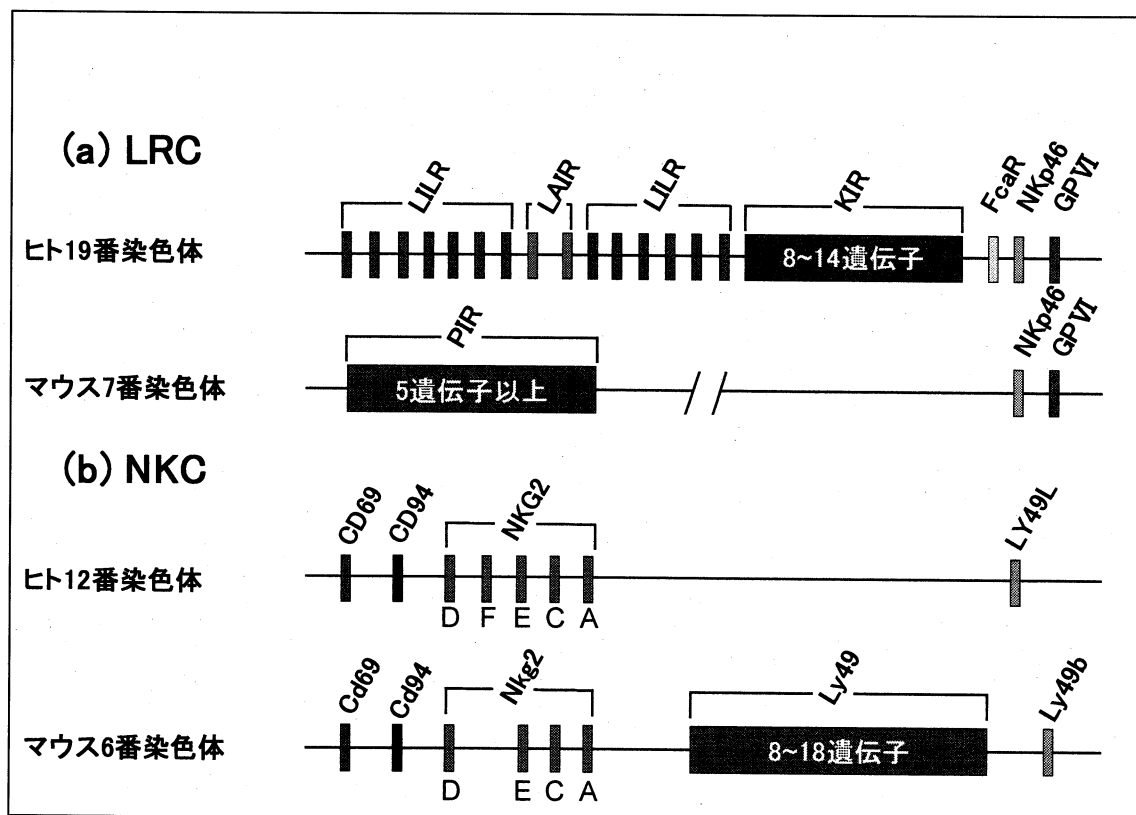


図1 LRCとNKC

KIR, Ly-49, PIR は個体間, 系統間により遺伝子座数が異なる。ヒトの Ly-49L は偽遺伝子である。

酸化することで正のシグナル伝達系が遮断され, 傷害性が起きなくなると考えられている。一方活性化型は抑制型に比べて細胞質部分は短く, シグナル伝達などのモチーフをもたないが膜貫通部分に正荷電のアミノ酸残基がありこの部分を介して Immuno-receptor tyrosine-based activation motif (ITAM) と呼ばれる領域をもつシグナル伝達分子の DAP12 や FcRγ 鎖と会合し複合体を形成している。細胞外部分がリガンドクラス I 抗原を結合するとシグナル伝達分子 ITAM のチロシン残基リン酸化が起こり, 活性化のカスケードが刺激され正のシグナル伝達が始まり, 細胞傷害性やサイトカイン分泌などが惹起される。NKG2D 以外は抑制型と活性化型の両方が存在する(ペア型受容体とも呼ばれる)が, 数的にも機能的にも抑制型の方が優勢の場合が多い。細胞発現では NK 細胞や CD8 陽性 T 細胞などのキラー細胞に発現するもの (KIR, Ly-49, NKG2) と主に抗原提示細胞群 (LILR, PIR) に発現するものがある。B 細胞

受容体(抗体)や T 細胞受容体に見られるような細胞分化途上の可変部遺伝子間の遺伝子再構成による膨大な抗原特異性レパトリーの獲得と抗原特異的クローンの増大という獲得免疫系に特徴的な多様性獲得機構は持っていないが, 多型性に富む複数の遺伝子座をもつ受容体が多く遺伝子構成ということでは MHC と類似性がある。標的細胞認識機所としては正常クラス I 抗原の発現低下を識別する場合 (Missing-Self), 正常細胞で未発現のクラス I 分子が発現誘導してきた場合を識別する場合 (Induced-Self), (非自己ペプチド結合などの)修飾を受けたクラス I 分子を認識する場合 (Modified-Self), ウィルスゲノムにコードされるクラス I 様分子 (Decoy-class I) を識別する場合などがある。リガンド特異性の面から以下に分類して概説する。

KIR (CD158), Ly-49

NK 細胞および CD8 陽性キラー T 細胞表面に発

現し主に古典的クラス I 抗原を認識する受容体がヒトの KIR およびマウス、ラットの Ly-49 受容体である。構造としては KIR が Ig 様、Ly-49 はレクチン様であるが、遺伝子座の構成、リガンド認識、発現様式、機能面などにおいて共通点が多く両者は実質的に相同分子とも考えられる。NK 細胞による Missing-Self 標的認識機構 (5) やハイブリッド抵抗性現象 (6) は主としてこれらの受容体の抑制性機能が担うことが証明されている (7)。KIR はクラス I の複数のアレルに共通するスーパータイプのエピトープ (C 抗原の 2 種類や Bw4) を認識し、Ly-49 は複数の H-2 ハプロタイプを識別するものが多く、 $\beta 2$ マイクログロブリン上の構造が認識に関与する場合も報告されている (8)。遺伝子再構成機構を持たない受容体群なのでクラス I 抗原の比較的保存されている部分を選択的に認識するようになったか、あるいはこれらの受容体認識を受けるためにクラス I 抗原側がこうしたエピトープを保存してきたとも考えられる。ガン化、ウイルス感染により古典的クラス I 抗原の細胞表面発現が低下することがあるが、これはキラー T 細胞監視からの逃避機構と考えられ、一方この変化を NK 細胞は KIR や Ly-49 を用いて Missing-Self として識別して細胞の排除を行っている。認識にクラス I 結合ペプチドが影響する報告があり Modified-Self 認識の可能性がある (9, 10)。KIR2DL4 は ITIM と同時に膜貫通部分に荷電アミノ酸があり抑制と活性化両方の特徴をもち DAP12 ではなく FcR γ 鎖と結合することが示された (11)。非古典的クラス I の HLA-G との結合性も示唆されており他の KIR とは異なる性格を持つようだ。Ly-49Q は樹状細胞、特にインターフェロン α 産生プラズマ細胞様樹状細胞で発現し NK 細胞では未発現の抑制型受容体で細胞接着に関与する (12)。活性化型受容体の古典的クラス I 結合性は抑制型よりも弱いとされている一方、Ly-49H はマウスサイトメガロウイルスのもつクラス I 様分子である m157 (Decoy クラス I 分子としても働く) を認識し、Ly-49D は異種であるハムスターのクラス I 抗原を認識し、それぞれ細胞傷害性を引き起こす活性化シグナル伝達を行う (13, 14)。

受容体遺伝子領域の構成は多数の遺伝子座 (KIR

が約 8–14 座、Ly-49 では 8–18 座) が密にほぼ均等な間隔で並んでおり (その結果として) おそらく度重なる非相同組み換えが起こり個体間での遺伝子座数に大きな差が生じたと考えられる。多くの遺伝子座で多型性が観察されている一方偽遺伝子座も存在する。これらの遺伝子領域の進化速度は MHC 抗原と比較して非常に速いものと推定されている (15)。興味深いことにヒトの Ly-49 は偽遺伝子座が 1 つ存在するだけであり (16)、一方マウス KIR ホモログは 7 番染色体上に現在の所見つかっていない。このように種により異なった構成を示すこれら古典的クラス I 認識受容体がりガンドクラス I との間でどのように遺伝子を共進化させてきたかは興味深い課題である。ヒト集団の KIR ジェノタイプの比較から、KIR では遺伝子座数の違いに加え、各遺伝子座のアレル構成についても集団間で大きな多様性があることが判明している (17)。こうした KIR 型多型性が NK や T 細胞機能に影響を及ぼすことが考えられ、実際に種々の疾患との相関や移植成績への影響が報告されている (18–21)。

LILR (CD85), PIR

LILR は LRC 領域にコードされるペア型の Ig 様受容体ファミリーである。ほぼ同時期に別々のグループが異なるアプローチによってクローニングしたため、LIR (leukocyte Ig-like receptor) や ILT (Ig-like transcripts) と呼ばれるが (22, 23)、最近では LILR に統一しようとする動きがある (<http://www.gene.ucl.ac.uk/nomenclature/genefamily/lilr.html>)。LILR は偽遺伝子も含めてこれまで 13 遺伝子座が存在していることがわかっている (図 2)。LILR は大きく分けてサブファミリー A (LILRA) とサブファミリー B (LILRB) に分けられる。LILRA の多くは、細胞質部分が短く細胞膜貫通部分に正電荷のアミノ酸を有しているので活性化型受容体と考えられている。LILRA は FcR γ 鎖と会合しており、リガンドと結合すると活性化のシグナルを細胞内に伝えると考えられている (24)。例外として LILRA3 は膜貫通ドメインがなく可溶化型のタンパク質と推定されており、集団の一部に欠損型の存在が確認されている (25, 26)。一方、LILRB は細胞質部分が長く ITIM

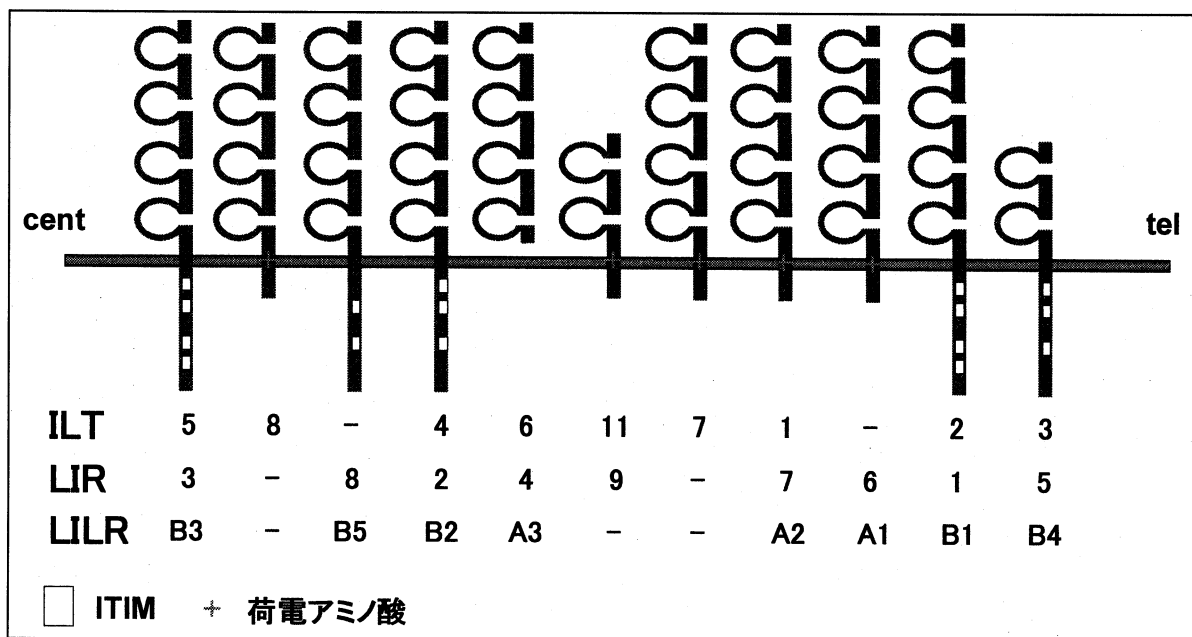


図2 LILR 受容体ファミリー

それぞれの遺伝子は染色体のセントロメア側からテロメア側へ向かって表示してある。ILT, LIR, LILR それぞれの名称で表記した。— は名称が付けられていないものを表している。ILT9 と ILT10 は偽遺伝子と考えられているため除いた。

領域を持つので抑制型受容体と考えられている。LILRB はリガンドと結合すると SHP-1 などをリクルートして抑制のシグナルを細胞内に伝える。LILR は、リンパ球、抗原提示細胞(樹状細胞、単球、B 細胞)、顆粒球など幅広く免疫細胞に発現している。細胞の分化にともなって LILR の発現パターンが変化することが報告されている。チンパンジー LILR との比較から、ヒト LILR は KIR ほどではないが進化速度が早いということがわかってきた。チンパンジー LILR はこれまで9つの遺伝子座が存在していることがわかっているが、そのうちの LILRA2, LILRB4, ILT7, LILRB5 がヒト LILR のオーソログと考えられており、他の LILR に関しては遺伝子間組み換えや遺伝子重複などによって進化してきたと考えられている (27)。興味深いことに、両種において抑制型は同数存在しているのに対して活性化型はヒトの方が多い。また、マウスにおいては、配列や発現パターンなどから PIR (Paired Ig-like Receptor) が LILR のホモログであると考えられている。PIR 遺伝子はマウスの7番染色体上にコードされており、活性化型の PIR-A と抑制型の PIR-B が存在

している。LILR とは異なり、活性化型の PIR-A は複数存在しているのに対し抑制型の PIR-B は1つしか存在しない (28, 29)。PIR も LILR と同様にマウスの MHC である H-2 との結合性が示された (30)。

LILR の中で現在までに HLA クラス I との結合性が確認されているのは LILRB1, LILRB2, LILRA1 である (31)。LILRB1 と LILRB2 は幅広く HLA クラス I を認識するが、LILRA1 はまだ HLA-B27 としか結合性は確認されていない。結晶構造解析などにより LILRB1 と LILRB2 は、 $\alpha 1$ ドメインを主に認識する KIR とは異なり認識に重要な結合部位が HLA の $\alpha 3$ ドメインであることが判明している (32, 33)。他の LILR に関してはまだ HLA との結合性が確認されておらず、HLA 以外のリガンドと結合する可能性もある。LILRB1 と LILRB2 は HLA クラス I 以外にもヒトサイトメガロウィルスのタンパク質 UL18 分子とも結合することができる (34)。UL18 は構造が MHC に類似した分子であり、ウィルス感染した細胞に表面発現している。ヒトサイトメガロウィルスは UL18 を擬似 MHC 分子として表面発現させて、それと結合する抑制型の受容体を介して

NK からの攻撃を逃れているのではないかと考えられていたが (35), CD8(+)T 細胞に発現する LILRB1 が UL18 を認識してウィルス感染細胞を傷害することが最近報告された (36)。また, 肺移植後にサイトメガロウィルス感染症を発症した患者において, サイトメガロウィルス DNA が検出されるよりも早期に LILRB1 の発現が増加してくることからサイトメガロウィルスと LILR とは深く関わっていることが考えられる (37)。

LILRB1, LILRB2, LILRA1 は, 強直性脊椎炎と強い関連のある HLA-B27 と結合することができることが明らかとなった (38)。B27 には $\beta 2$ マイクログロブリンのない H 鎖型が存在していることが知られているが, LILRB2 と LILRA1 は B27 の H 鎖型と結合できる。LILRB1 が B27 の H 鎖型と結合することができないことから, LILRB1 が HLA を認識する際には $\beta 2$ マイクログロブリンが重要であることが考えられ, LILRB2, LILRA1 は $\beta 2$ マイクログロブリン非依存型であると考えられる。強直性脊椎炎と B27 との因果関係は不明だが, これらの受容体が病態に関与していることも示唆される。HLA-G の発現分布には偏りがあり胎盤のトロホプラスト細胞で強く発現している。LILRB1 と LILRB2 は HLA-G とも結合することが示された (39–41)。しかもその結合力は古典的 HLA クラス I よりも強く, 免疫応答の制御に重要な役割を担っている可能性がある (33)。妊娠時の脱落膜に存在する NK 細胞に LILRB1 が発現していることから, LILR は妊娠の維持に関与していることが考えられる。また, HLA-G は特定の腫瘍細胞にも発現することが確認されている。腫瘍細胞は HLA-G を発現することによって LILR を介して免疫システムから逃れている可能性が考えられている (42)。マウスの骨髄移植モデルにおいて, PIR-B をノックアウトしたマウスでは GVHD が重症化することが報告された (30)。これは, 抑制がきかなくなつて活性化した宿主由来の樹状細胞がドナー T 細胞を活性化させるためではないかと考えられている。また, 心臓移植において拒絶反応を起こさなかった患者では, 患者のアロ特異的なサブプレッサー T 細胞がドナー抗原提示細胞の LILRB2 と LILRB4 の発現を増加させ患者ヘルパー

T 細胞をアナジー状態にすることが明らかとなった (43)。LILR は移植後の免疫応答においても重要な役割を果たしていると考えられる。

NKG2A/C (CD159)

NKG2A (抑制型)および NKG2C (活性化型)はレクチン様受容体でそれぞれ CD94 分子と SS 結合でヘテロダイマー構造をとり, NK 細胞と T 細胞の一部に発現する。リガンドはヒトでは HLA-E 抗原, マウスでは Qa-1^b 抗原であり, これらの非古典的クラス I (Class Ib) 分子は他のクラス I 分子シグナル配列(リーダーペプチド)中の疎水性アミノ酸 9 残基からなるペプチド(自身のシグナル配列中には存在しない)が結合すると初めて細胞表面に発現し NKG2 に認識されるようになるというユニークな特徴をもつ (44)。ヒトでは HLA-G と HLA-A, C の大部分, HLA-B の一部には抑制型の NKG2A のリガンドとなるペプチド配列が含まれている一方, HLA-G 由来ペプチドと結合した HLA-E 分子が活性化型 NKG2C と強く結合する (45)。また NKG2A と NKG2C の HLA-E 分子上の認識部位には違いがあることが報告されている (46)。この種を超えて保存されている『他のクラス I シグナル配列部分のペプチドを結合した非古典的クラス I とそれを認識する NK 受容体のシステム』の存在意義は何なのであろうか。ウィルスタンパクの中には HLA-E 結合ペプチドが含まれており (47), 病原微生物監視のために発達したシステムか, あるいはストレス誘導タンパク HSP60 由来のペプチドが HLA-E に結合することも (NKG2 とは反応しない)報告されている (48) ので Modified-Self 的な監視機構かもしれない。NKG2 は T 細胞の一部でも発現していて, T 細胞受容体の共刺激シグナルとして働くことやトレランス誘導に働く可能性も示唆されている。ヒト NKG2A, C 座は多型性に乏しいが, NKG2C 遺伝子欠損個体の存在が報告されている (49)。

NKG2D

NKG2D は NK 細胞, $\gamma\delta$ T 細胞, CD8 陽性 T 細胞で発現しているホモダイマーの活性化型受容体である (50)。NKG2D は他と異なり ITAM ではなく

PI3K にシグナル伝達するモチーフをもつ DAP10 と結合している (51), 古典的クラス I の発現低下がなくてもキラー細胞傷害が起こす可能性がある。抑制型のペアは見つかっていない。マウスではスプライシングの違いで細胞質部分の長さが短い NKG2DS が作られるがこれは NK 細胞において DAP12 とも結合することができる (52)。リガンドとしては非古典的クラス I の MICA, MICB, UL-16-binding proteins (ULBPs) (RAET1), マウスでは Rae1, H60, Mult1 などが報告されている (53)。MIC 以外は B-2 マイクログロブリンと会合していない。膜貫通領域をもつものと PI アンカー型がある。これらはいずれも恒常的な発現はないが種々の刺激(ストレス, ガン化, ウィルス感染など)により発現が誘導されることが多く細胞の異常のマーカーと考えられる。キラー細胞は NKG2D 受容体を用いてこうした細胞を傷害し排除するという Induced-self モデルが考えられている。結晶構造解析により受容体-リガンド結合面に共通する特徴があることがわかり多数の分子がリガンドとなる理由が判明した (54)。サイトメガロウィルスは MICA の細胞表面発現を抑制したり, Shedding により細胞表面から遊離させたりすることが報告されており, NKG2D による防御システムからの逃避機構と思われる (55)。T 細胞では NKG2D は T 細胞受容体の共刺激シグナルとして働くことが示されている。マウスの I 型糖尿病モデルにおいて β 細胞での Rae1 発現と NKG2D 発現 CD8 陽性 T 細胞の関与が報告されている (56)。

終わりに

新しく発見された MHC クラス I 認識受容体による多様なクラス I 認識からは従来の非自己ペプチドを CD8 陽性キラー細胞に提示する監視機構としての役割以外のクラス I の新たな存在意義が見出されようとしている。長く不明だった非古典的クラス I の機能もこれら受容体との関係から少しずつ明らかになってきた。さらにクラス I 分子のアロ抗原性を NK 細胞や抗原提示細胞も認識することから移植成績や妊娠への影響の解析が始められている。自然免疫系と獲得免疫系の両方に関与するこれらの受容体とクラス I との相互作用機構が如何に進化を遂げて

きたかが今後解明されることを期待したい。

参考文献

1. Parham P. MHC class I molecules and KIRs in human history, health and survival. *Nat Rev Immunol* **5**: 201–214. 2005.
2. 千田昇平, Geraghty, DE. Killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) 遺伝子領域の構造, ハプロタイプ, 及び多型に関する解析. *MHC* **10**: 33–44. 2003.
3. Matsumoto N., Ribaldo R.K., Abastado J.P., et al. The lectin-like NK cell receptor Ly-49A recognizes a carbohydrate- independent epitope on its MHC class I ligand. *Immunity* **8**: 245–254. 1998.
4. Trowsdale J. Genetic and functional relationships between MHC and NK receptor genes. *Immunity* **15**: 363–374. 2001.
5. Ljunggren H.G., and Karre K. In search of the 'missing self': MHC molecules and NK cell recognition. *Immunol Today* **11**: 237–244. 1990.
6. Bennett M., Yu Y.Y., Stoneman E., et al. Hybrid resistance: 'negative' and 'positive' signaling of murine natural killer cells. *Semin Immunol* **7**: 121–127. 1995.
7. Lanier L.L. NK cell receptors. *Annu Rev Immunol* **16**: 359–393. 1998.
8. Mitsuki M., Matsumoto N., and Yamamoto K. A species-specific determinant on beta2-microglobulin required for Ly49A recognition of its MHC class I ligand. *Int Immunol* **16**: 197–204. 2004.
9. Maenaka K., Juji T., Nakayama T., et al. Killer cell immunoglobulin receptors and T cell receptors bind peptide- major histocompatibility complex class I with distinct thermodynamic and kinetic properties. *J Biol Chem* **274**: 28329–28334. 1999.
10. 前仲勝実. NK 細胞表面レセプター群の分子認識. *生化学* **76**: 135–140. 2004.
11. Kikuchi-Maki A., Catina T.L., and Campbell K.S.

- KIR2DL4 Transduces Signals into Human NK Cells through Association with the Fc Receptor {gamma} Protein. *J Immunol* **174**: 3859–3863. 2005.
12. Toyama-Sorimachi N., Tsujimura Y., Maruya M., et al. Ly49Q, a member of the Ly49 family that is selectively expressed on myeloid lineage cells and involved in regulation of cytoskeletal architecture. *Proc Natl Acad Sci USA* **101**: 1016–1021. 2004.
 13. Arase H., Mocarski E.S., Campbell A.E., et al. Direct recognition of cytomegalovirus by activating and inhibitory NK cell receptors. *Science* **296**: 1323–1326. 2002.
 14. Furukawa H., Iizuka K., Poursine-Laurent J., et al. A ligand for the murine NK activation receptor Ly-49D: activation of tolerized NK cells from beta 2-microglobulin-deficient mice. *J Immunol* **169**: 126–136. 2002.
 15. Hao L., and Nei M. Rapid expansion of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in primates and their coevolution with MHC Class I genes. *Gene*. **347**: 149–159. 2005.
 16. Westgaard I.H., Berg S.F., Orstavik S., et al. Identification of a human member of the Ly-49 multi-gene family. *Eur J Immunol* **28**: 1839–1846. 1998.
 17. Yawata M., Yawata N., Abi-Rached L., et al. Variation within the human killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) gene family. *Crit Rev Immunol* **22**: 463–482. 2002.
 18. Khakoo S.I., Thio C.L., Martin M.P., et al. HLA and NK cell inhibitory receptor genes in resolving hepatitis C virus infection. *Science* **305**: 872–874. 2004.
 19. Martin M.P., Gao X., Lee J.H., et al. Epistatic interaction between KIR3DS1 and HLA-B delays the progression to AIDS. *Nat Genet* **31**: 429–434. 2002.
 20. Ruggeri L., Capanni M., Urbani E., et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* **295**: 2097–2100. 2002.
 21. 屋部登志雄. NK 細胞レセプターと同種免疫反応. *分子細胞治療* **3**: 500–505. 2004.
 22. Samaridis J., and Colonna M. Cloning of novel immunoglobulin superfamily receptors expressed on human myeloid and lymphoid cells: structural evidence for new stimulatory and inhibitory pathways. *Eur J Immunol* **27**: 660–665. 1997.
 23. Cosman D., Fanger N., Borges L., et al. A novel immunoglobulin superfamily receptor for cellular and viral MHC class I molecules. *Immunity* **7**: 273–282. 1997.
 24. Nakajima H., Samaridis J., Angman L., et al. Human myeloid cells express an activating ILT receptor (ILT1) that associates with Fc receptor gamma-chain. *J Immunol* **162**: 5–8. 1999.
 25. Wilson M.J., Torkar M., Haude A., et al. Plasticity in the organization and sequences of human KIR/ILT gene families. *Proc Natl Acad Sci USA* **97**: 4778–4783. 2000.
 26. Torkar M., Haude A., Milne S., et al. Arrangement of the ILT gene cluster: a common null allele of the ILT6 gene results from a 6.7-kbp deletion. *Eur J Immunol* **30**: 3655–3662. 2000.
 27. Canavez F., Young N.T., Guethlein L.A., et al. Comparison of chimpanzee and human leukocyte Ig-like receptor genes reveals framework and rapidly evolving genes. *J Immunol* **167**: 5786–5794. 2001.
 28. Kubagawa H., Burrows P.D., and Cooper M.D. A novel pair of immunoglobulin-like receptors expressed by B cells and myeloid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* **94**: 5261–5266. 1997.
 29. Yamashita Y., Fukuta D., Tsuji A., et al. Genomic structures and chromosomal location of p91, a novel murine regulatory receptor family. *J Biochem* **123**: 358–368. 1998.
 30. Nakamura A., Kobayashi E., and Takai T. Exacerbated graft-versus-host disease in Pirk^{-/-} mice. *Nat Immunol* **5**: 623–629. 2004.

31. Brown D., Trowsdale J., and Allen R. The LILR family: modulators of innate and adaptive immune pathways in health and disease. *Tissue Antigens* **64**: 215–225. 2004.
32. Willcox B.E., Thomas L.M., and Bjorkman P.J. Crystal structure of HLA-A2 bound to LIR-1, a host and viral major histocompatibility complex receptor. *Nat Immunol* **4**: 913–919. 2003.
33. Shiroishi M., Tsumoto K., Amano K., et al. Human inhibitory receptors Ig-like transcript 2 (ILT2) and ILT4 compete with CD8 for MHC class I binding and bind preferentially to HLA-G. *Proc Natl Acad Sci USA* **100**: 8856–8861. 2003.
34. Cosman D., Fanger N., and Borges L. Human cytomegalovirus, MHC class I and inhibitory signalling receptors: more questions than answers. *Immunol Rev* **168**: 177–185. 1999.
35. Reyburn H.T., Mandelboim O., Vales-Gomez M., et al. The class I MHC homologue of human cytomegalovirus inhibits attack by natural killer cells. *Nature* **386**: 514–517. 1997.
36. Saverino D., Ghiotto F., Merlo A., et al. Specific recognition of the viral protein UL18 by CD85j/LIR-1/ILT2 on CD8+ T cells mediates the non-MHC-restricted lysis of human cytomegalovirus-infected cells. *J Immunol* **172**: 5629–5637. 2004.
37. Berg L., Riise G.C., Cosman D., et al. LIR-1 expression on lymphocytes, and cytomegalovirus disease in lung-transplant recipients. *Lancet* **361**: 1099–1101. 2003.
38. Allen R.L., Raine T., Haude A., et al. Leukocyte receptor complex-encoded immunomodulatory receptors show differing specificity for alternative HLA-B27 structures. *J Immunol* **167**: 5543–5547. 2001.
39. Allan D.S., Colonna M., Lanier L.L., et al. Tetrameric complexes of human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-G bind to peripheral blood myelomonocytic cells. *J Exp Med* **189**: 1149–1156. 1999.
40. Colonna M., Navarro F., Bellon T., et al. A common inhibitory receptor for major histocompatibility complex class I molecules on human lymphoid and myelomonocytic cells. *J Exp Med* **186**: 1809–1818. 1997.
41. Navarro F., Llano M., Bellon T., et al. The ILT2 (LIR1) and CD94/NKG2A NK cell receptors respectively recognize HLA-G1 and HLA-E molecules co-expressed on target cells. *Eur J Immunol* **29**: 277–283. 1999.
42. Lefebvre S., Antoine M., Uzan S., et al. Specific activation of the non-classical class I histocompatibility HLA-G antigen and expression of the ILT2 inhibitory receptor in human breast cancer. *J Pathol* **196**: 266–274. 2002.
43. Chang C.C., Ciubotariu R., Manavalan J.S., et al. Tolerization of dendritic cells by T (S) cells: the crucial role of inhibitory receptors ILT3 and ILT4. *Nat Immunol* **3**: 237–243. 2002.
44. Braud V.M., and McMichael A.J. Regulation of NK cell functions through interaction of the CD94/NKG2 receptors with the nonclassical class I molecule HLA-E. *Curr Top Microbiol Immunol* **244**: 85–95. 1999.
45. Llano M., Lee N., Navarro F., et al. HLA-E-bound peptides influence recognition by inhibitory and triggering CD94/NKG2 receptors: preferential response to an HLA-G-derived nonamer. *Eur J Immunol* **28**: 2854–2863. 1998.
46. Wada H., Matsumoto N., Maenaka K., et al. The inhibitory NK cell receptor CD94/NKG2A and the activating receptor CD94/NKG2C bind the top of HLA-E through mostly shared but partly distinct sets of HLA-E residues. *Eur J Immunol* **34**: 81–90. 2004.
47. Tomasec P., Braud V.M., Rickards C., et al. Surface expression of HLA-E, an inhibitor of natural killer cells, enhanced by human cytomegalovirus gpUL40. *Science* **287**: 1031. 2000.
48. Michaelsson J., Teixeira de Matos C., Achour A., et al. A signal peptide derived from hsp60 binds

- HLA-E and interferes with CD94/NKG2A recognition. *J Exp Med* **196**: 1403–1414. 2002.
49. Miyashita R., Tsuchiya N., Hikami K., et al. Molecular genetic analyses of human NKG2C (KLRC2) gene deletion. *Int Immunol* **16**: 163–168. 2004.
 50. Yabe T., McSherry C., Bach F.H., et al. A multigene family on human chromosome 12 encodes natural killer-cell lectins. *Immunogenetics* **37**: 455–460. 1993.
 51. Billadeau D.D., Upshaw J.L., Schoon R.A., et al. NKG2D-DAP10 triggers human NK cell-mediated killing via a Syk-independent regulatory pathway. *Nat Immunol* **4**: 557–564. 2003.
 52. Rosen D.B., Araki M., Hamerman J.A., et al. A Structural basis for the association of DAP12 with mouse, but not human, NKG2D. *J Immunol* **173**: 2470–2478. 2004.
 53. Raulet D.H. Roles of the NKG2D immunoreceptor and its ligands. *Nat Rev Immunol* **3**: 781–790. 2003.
 54. Radaev S., Kattah M., Zou Z., et al. Making sense of the diverse ligand recognition by NKG2D. *J Immunol* **169**: 6279–6285. 2002.
 55. Salih H.R., Rammensee H.G., and Steinle A. Cutting edge: down-regulation of MICA on human tumors by proteolytic shedding. *J Immunol* **169**: 4098–4102. 2002.
 56. Ogasawara K., Hamerman J.A., Hsin H., et al. Impairment of NK cell function by NKG2D modulation in NOD mice. *Immunity* **18**: 41–51. 2003.

● 最新情報: “玉手箱” ●

最新アレル情報

小林 賢

日本薬科大学生物学

平成 17 年 2 月 1 日に 2004 年版の HLA システムの命名が 2 年ぶりに更新され, 「Nomenclature for factors of the HLA system, 2004」として「Tissue Antigens」4 月号などに公開された。この報告書によると 2002 年の命名から, 2 年間の間に 422 種類の HLA アレルと 1 種類の TAP アレル, そして 21 種類の MIC アレルが新しく見いだされ, 追加されている。内訳は, 平成 16 年 12 月 31 日現在において, HLA アレルでクラス I の HLA-A が 99, HLA-B が 137, HLA-C が 63, そして HLA-E と HLA-F が各 1 種類, それからクラス II の HLA-DRB1 が 79, HLA-DRB3 が 3, HLA-DRB4 が 1, HLA-DRB5 が 3, HLA-DQA1 が 6, HLA-DQB1 が 8, HLA-DPA1 が 2, HLA-DPB1 が 17, そして HLA-DMB と HLA-DOB が各 1 種類ずつである。また, HLA アレル以外では, MICA が 3 種類追加されたのをはじめ, MICB がまったく新たに 18 種類公式に命名された(表 1)。また, 新たに TAP1 アレルが 1 種類追加されている。現在までに命名されているアレル数を表 2 にまとめて示した。これらの新たに追加されたアレルやそれまでに命名されていたアレルに関する詳細は, http://www.anthonynolan.org.uk/HIG/nomen/reports/nomen_reports.html にアクセスすることで PDF ファイルとして入手が可能である。また, ここに示されている表には, アレルと血清学的特異性との関連も掲載されている。しかしながら, 実際には多くのアレルで血清学的特異性がブランク

になっているため実用的でないと思われる。血清学的特異性とアレルとの関連性をより詳細に知りたい方は, 2005 年 1 月に出版された「Tissue Antigens」に掲載されている「The HLA Dictionary 2004: a summary of HLA-A, -B, -C, -DRB1/3/4/5 and -DQB1 alleles and their association with serologically defined HLA-A, -B, -C, -DR and -DQ antigens」を推奨する。このファイルも PDF として提供されているので, <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/dictionary.html> にアクセスすることで入手可能である。

今回の報告でも塩基配列エラーが見いだされ, アレル名の削除情報が提供された。すなわち, HLA-E*0101 と HLA-E*0102 についてであり, HLA-E*0102 アレルの塩基配列を調べなおしたところ, HLA-E*0101 と同じであること判明したことから, HLA-E*0102 アレルが削除された。また, これまでに削除されたアレル名を含め, 表 3 に示した。

HLA-DPB1 アレルは 2003 年 10 月に HLA-DPB1*9901 が命名されたため, 2002 年の表記ルールにしたがい, HLA-DPB1*0102, DPB1*0203, DPB1*0302 が新しいアレルとして命名されるようになった。また, HLA-A*02 と HLA-B*15 についても 99 種類のアレルが命名された後は, HLA-A*92 と HLA-B*95 がそれぞれ新しいアレル名として用意されている。上記のアレルについてはタイピングされる際, 特に注意していただきたい。

筆者連絡先 〒362-0806 埼玉県北足立郡伊奈町小室 10281
日本薬科大学生物学
小林 賢

電話 048-721-1155
FAX 048-721-6634
E-mail kobayasi@nichiyaku.ac.jp

表 1 MICB アリルの表記

MICBアリル名	旧名称	由来となる細胞株など	アクセス番号
MICB*001	MICB	HeLa, IMR90	X91625
MICB*002	MICB, MICB002, MICB0103101, MICB0103102, MICB-002	BOLETH, DKB, OMW, RSH, TEM, VAVY, WT100BIS, OMW, BOLETH, H1905, E-117, E-5, KAS011, YAR, RSH, DO208915, MICBPat#3	U65416, U95729, AB003602, AB003612, AB003603, AB003613, AF021222
MICB*003	PERB11.2-IMX, MICB003, MICB0105	HSB2G6, DBB, TISI, DBB, DEM	U69978, U95730, AB003606, AB003616
MICB*004	MICB007, MICB0104	BM14, DHIF, SA, SCHU, SAVC, H0724, PLH	U95734, AB003605, AB003615
MICB*00501	MICB005	FPAF, J0528239	U95732
MICB*00502	MICB004, MICB01021, MICB-003	BM15, BM92, BTB, EHM, EJ32B, HOM-2, JESTHOM, JVM, KAS116, LWAGS, PF97387, PITOUT, PMG075, TAB089, WT24, SPO010, H2380, H2418, H0936, H1607, BM21, IBW9, HO301, BM16, LKT3, KOSE, AMAI, CB6B, SPO010, LBUF, LUY, WT51, MANIKA, QBL, MICBPat#1	U95731, AB003599, AB003609, AF021223
MICB*00503	MICB01022	H1500, E4181324	AB003600, AB003610
MICB*00504	MICB01023	RML	AB003601, AB003611
MICB*006	MICB006	SPACH	U95733
MICB*007	MICB0103103	H0409	AB003604, AB003614
MICB*008	MICB0106, MICB-001, MICB0106v	COX, MICBPat#4, WT49	AB003607, AB003617, AF021221, AJ251158, AJ251159
MICB*009N	MICB0107N	H2520	AB003608, AB003618
MICB*010	MICB-004	MICBPat#2	AF021224
MICB*011	MICB-005	MICBPat#5	AF021225
MICB*012	MICB-006	MICBPat#6	AF021226
MICB*013	MICB01022V	SWEIG007	AJ251160, AJ251161
MICB*014	MICB0103101v	EMJ	AJ251156, AJ251157
MICB*015	MICB	B692	AJ563706

表2 各 HLA 遺伝子座の公認アレル数

遺伝子座	公認アレル数	新規追加アレル数
HLA-A	349	99
HLA-B	627	137
HLA-C	182	63
HLA-E	5	1
HLA-F	2	1
HLA-G	15	0
クラスI (計)	1180	301
HLA-DRA	3	0
HLA-DRB1	394	79
HLA-DRB2	1	0
HLA-DRB3	41	3
HLA-DRB4	13	1
HLA-DRB5	18	3
HLA-DRB6	3	0
HLA-DRB7	2	0
HLA-DRB8	1	0
HLA-DRB9	1	0
HLA-DQA1	28	6
HLA-DQB1	61	8
HLA-DPA1	22	2
HLA-DPB1	116	17
HLA-DOA	8	0
HLA-DOB	9	1
HLA-DMA	4	0
HLA-DMB	7	1
クラスII (計)	732	121
TAP1	7	1
TAP2	4	0
TAP (計)	11	1
MICA	57	3
MICB	18	18
MIC (計)	75	21
総計	1998	444

平成16年12月31日現在

表3 削除されたアリルおよび命名替えされたアリル

削除されたアリル名	削除日	削除の理由	対応するアリル名
A*0105N	17 Jul, 2001	右のアリルと同一配列	A*0104N
A*0223	6 Aug, 1997	右のアリルと同一配列	A*0222
A*2401	11 Mar, 1995	塩基配列エラー	
A*2412	10 Jun, 1996	右のアリルと同一配列	A*2408
A*2416	30 Apr, 2002	右のアリルに命名替え	A*3108
A*3005	7 Aug, 1995	右のアリルと同一配列	A*3004
A*31011	10 Jun, 1996	右のアリルと同一配列	A*310102
A*3302	7 Nov, 1996	右のアリルと同一配列	A*3303
B*0701	11 Mar, 1995	塩基配列エラー	
B*1305	3 Oct, 1997	右のアリルと同一配列	B*1304
B*1522	9 Aug, 2002	右のアリルに命名替え	B*3543
B*1541	28 Jul, 1998	右のアリルと同一配列	B*1539
B*1559	9 Aug, 2002	右のアリルに命名替え	B*3544
B*1816	23 Nov, 2001	右のアリルと同一配列	B*1814
B*27051	11 Mar, 1995	右のアリルと同一配列	B*270502
B*2722	8 Apr, 2002	右のアリルと同一配列	B*2706
B*39012	28 Jun, 1993	右のアリルと同一配列	B*390101
B*3921	1 Dec, 2000	右のアリルと同一配列	B*3924
B*4017	15 Apr, 1998	右のアリルと同一配列	B*4016
B*4041	23 Nov, 2001	右のアリルと同一配列	B*4040
B*4203	11 Mar, 1998	アリルが存在しない	
B*4401	6 Mar, 1994	右のアリルと同一配列	B*4402
B*5003	21 Aug, 2003	右のアリルと同一配列	B*5002
B*5125	31 Jul, 2000	右のアリルと同一配列	B*5122
B*5506	2 Dec, 1998	右のアリルと同一配列	B*5504
B*5803	16 Nov, 1994	アリルが存在しない	
B*7901	6 Mar, 1994	右のアリルに命名替え	B*1518
Cw*0101	13 Feb, 1996	右のアリルと同一配列	Cw*0102
Cw*0201	13 Feb, 1996	右のアリルと同一配列	Cw*020202
Cw*0301	11 Mar, 1995	右のアリルと同一配列	Cw*0304
Cw*0402	8 Jun, 1999	右のアリルと同一配列	Cw*040101
Cw*0601	31 Jan, 1995	右のアリルと同一配列	Cw*0602
Cw*1101	14 Nov, 1991	塩基配列エラー	
Cw*1201	13 Feb, 1996	右のアリルと同一配列	Cw*120202
Cw*1301	9 Aug, 2002	塩基配列エラー	
Cw*1401	31 Jul, 1995	右のアリルと同一配列	Cw*1402
Cw*1501	13 Feb, 1996	右のアリルと同一配列	Cw*1502
Cw*1603	18 Aug, 1995	右のアリルと同一配列	Cw*1403
Cw*16042	3 Oct, 1997	右のアリルと同一配列	Cw*160401
Cw*1605	3 Oct, 1997	右のアリルと同一配列	Cw*160401
E*0102	30 Jun, 2004	右のアリルと同一配列	E*0101
DPA1*0101	28 Feb, 1995	右のアリルと同一配列	DPA1*0103
DPA1*0102	28 Feb, 1995	右のアリルと同一配列	DPA1*0103
DPB1*02011	7 Aug, 1996	右のアリルと同一配列	DPB1*020102
DPB1*0701	1 Aug, 1989	アリルが存在しない	
DPB1*1201	1 Aug, 1989	アリルが存在しない	
DPB1*4201	13 Oct, 1993	右のアリルと同一配列	DPB1*3101
DPB1*4301	13 Oct, 1993	右のアリルと同一配列	DPB1*2801
DQA1*03012	31 Jan, 1995	右のアリルと同一配列	DQA1*0302
DQA1*05013	21 Apr, 1998	右のアリルに命名替え	DQA1*0505
DQB1*03031	31 Jan, 1995	右のアリルと同一配列	DQB1*030302
DRB1*0702	6 Mar, 1994	右のアリルと同一配列	DRB1*0701
DRB1*08031	9 Oct, 1997	右のアリルと同一配列	DRB1*080302
DRB1*09011	29 Dec, 1996	右のアリルと同一配列	DRB1*090102
DRB1*12031	29 Dec, 1996	右のアリルと同一配列	DRB1*1201
DRB1*1606	27 Sep, 1995	右のアリルと同一配列	DRB1*1605
DRB4*0101102N	29 Dec, 1996	右のアリルと同一配列	DRB4*01030102N
DRB5*0201	3 Mar, 1997	右のアリルと同一配列	DRB5*0202
MICA*003	10 Oct, 1998	アリルが存在しない	

第3回日本組織適合性学会近畿地方会抄録

日 時： 2005 年 2 月 5 日(土)
 会 場： 参天製薬株式会社本社
 大阪市東淀川区下新庄 3-9-19
 TEL: 06-6321-7000
 当番世話人： 一戸 辰夫
 京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科
 〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54
 TEL/FAX: 075-751-3164
 共 催： 財団法人 大阪腎臓バンク

● オープニングセミナー ●

HLA-E, -F, -G update

下嶋 典子

奈良県立医科大学法医学教室

妊娠において胎児は、遺伝子の半分が父親由来であり、母体にとっては一種の同種移植片である。ドナーとレシピエントのHLAを適合させず移植を行った場合は、急激な拒絶反応が起こる。しかし全くHLAを適合させていないにも関わらず、母体がなぜ、この移植片を拒絶せず10ヶ月もの間生着させつけられるのかという疑問は、未だ解明されていない。しかし、1990年、母児の境界にあり、HLA-A、-Bやclass II抗原を発現していない胎盤トロホプラスト上に未知のHLA分子が発現しており、これが、HLA-Gであるということが明らかとなって以来、HLA-Gがこの母児免疫寛容を制御していると推測され、脚光をあびることとなった。HLA-Gを含む、class Ib遺伝子であるHLA-E、-F、-Gは1987年から1990年にGeraghtyらにより発見された遺伝子である。これらの遺伝子の共通点として非常に多型

に乏しいことがあげられる。

HLA-GはHLA-A、-B、class II分子を発現していない胎盤トロホプラストに局限して強く発現し、NK抑制レセプターの一つであるimmunoglobulin like transcript (ILT)-2や、ILT-4と結合し、NK細胞活性を抑制する。そのため、妊娠の母児免疫寛容に関わる分子と考えられている。HLA-Eは、他のclass I分子と異なって、主に、HLA-E以外のclass I分子のシグナルペプチドを提示して、HLAを発現するあらゆる細胞表面に発現し、NK細胞レセプターの一つであるCD94/NKG2と結合する。そのため、HLA-Eは自身が発現する細胞のHLA分子とその発現量をT細胞やNK細胞に提示し、これらの細胞の活性を調節していると推測されている。HLA-Fについては、その発現、機能解析の研究は始まったばかりであるが、現在、細胞表面にタンパク

として発現が確認されているのは、EBV を transfect した B 細胞と、後期胎盤のトロホプラストの細胞表面のみである。しかし、HLA-F がいかなるペプチドを結合し細胞表面に発現しているのか、あるいはペプチドを結合していないのかはわかっておらず、機能については明らかではない。我々は、これら 3 分子の全てが胎盤トロホプラストに発現していることから、母児免疫寛容に HLA-E, -F, -G 分子の相互作用が必要であると考えている。

しかし最近では、妊娠免疫以外におけるこれらの分子の機能に関する報告が多くみられる。HLA-E がウイルスや細菌由来のペプチドを提示しうることが報告されているが、さらに、この HLA-E を介しウイルスや細菌由来のペプチドを提示した感染細胞は、HLA-E 拘束性の T 細胞により排除されると報告された。また HLA-E の 2 種の多型により、ペプチド結合能や膜表面における発現の安定性が異なることが報告された。すなわちこれは HLA-E の 2 種の多型が、CD94/NKG2 レセプターを介する NK 細胞活性調節に影響を与える可能性を示唆している。HLA-G は、免疫抑制分子として腫瘍細胞に発現し、体内

の腫瘍免疫から回避させているということが相次いで報告され、同時にこれを否定する報告も相次いでいる。また、肝腎移植が成功した患者のリンパ球には、HLA-G が発現し、免疫寛容が誘導されているなど、妊娠免疫以外での免疫抑制分子として報告されているが、確定されていない。これらの報告は、HLA-E, -G が妊娠に関与しない免疫系においても、免疫調節分子として機能している可能性を示すものであるが、特に HLA-G の発現に関しては、相反する報告が多く、混沌としている。また、HLA-G の非翻訳領域における多型により、可溶性 HLA-G 抗原の産生能が異なり、その結果、人工受精卵の着床率や、さらには臓器移植においてその生着率に影響を与えるという報告もあるが、これも明らかではない。

我々はこれまで、これら HLA-E, -F, -G の 3 分子が妊娠における母児免疫寛容を維持しているのではないかと推測し、その発現を中心に報告してきた。今回は、これら 3 分子が母児免疫寛容にどのように関わっているか、さらには母児免疫寛容以外の免疫反応にいかに関与しているかについて考察したい。

● 特別講演 ●

「がん免疫療法への新戦略」

西村 泰治

熊本大学大学院医学薬学研究部 免疫識別学分野

癌細胞に対する免疫応答が、我々の体内において確実に生じていることは、免疫不全状態のヒトや動物において癌の発生率が高いことから明確である。HLA 分子は細胞の表面に発現する蛋白質であり、癌細胞では、その一部が癌特異的に発現する抗原蛋白質の分解産物であるペプチドを結合して、癌細胞の表面に提示する。HLA 分子により提示された癌特異抗原ペプチドを認識した T 細胞は、活性化されて癌細胞を殺したり、種々のサイトカインを分泌することにより、癌細胞を排除する免疫応答を開始する。我々は免疫療法に適した理想的な腫瘍抗原が備えているべき性格として、以下のような要件を考えている。1) 多くの癌患者のすべての癌細胞に高発現しているという汎用性、2) 癌細胞および腫瘍組織だけに発現し、成人の正常組織では発現が低いという特異性、3) 抗原性があり、癌化に関連した分子で癌細胞から脱

落しにくい性質。すなわち腫瘍拒絶能が高く、癌化に関連しているために抗原消失を起こしにくく、さらに自己免疫などの有害事象誘導の危険性が低いなどの観点から、免疫療法に応用可能な腫瘍抗原を厳選する必要があると考えている。我々は、東大医科研・ヒトゲノムセンターの中村祐輔博士との共同研究により、最新の cDNA マイクロアレイ解析データを利用して、このような理想的な癌特異抗原を複数同定すると共に、ES 細胞より分化誘導した樹状細胞の腫瘍免疫への応用の可能性を提案しているので紹介する。

1. 肝細胞癌とメラノーマに発現する新規癌胎児性抗原 Glypican-3 (GPC3)

肝細胞癌と正常組織における cDNA マイクロアレイ解析データを用いて、HBV, HCV 感染に関係なく、ほとんどの肝細胞癌で特異的に高発現する新しい癌胎児性抗原 Glypican-3 (GPC3) を同定した。GPC3 は胎生期の肝臓に高発現するが、成人では胎盤で高発現する以外は、他のあらゆる正常臓器において、ほとんど発現していない。GPC3 は GPI アンカー膜蛋白であるが肝細胞癌細胞株より分泌され、ELISA により肝細胞癌患者 40 人中 16 人 (40%) の血清中に GPC3 蛋白を定性的にも定量的にも検出できた。GPC3 蛋白は肝硬変・慢性肝炎などの他の肝疾患、健常人、さらには他の様々な癌患者の血清中には全く検出されなかった。また肝細胞癌を外科的に治療することにより、患者血清中の GPC3 濃度は、著明に減少した。したがって、血清 GPC3 は既知の α フェトプロテイン (AFP) および PIVKA-II につぐ、肝細胞癌の第 3 の腫瘍マーカーとして有用であることを証明した。

また、多くのヒトメラノーマ組織、細胞株および色素性母斑組織に GPC3 の mRNA および蛋白質が発現していた。ヒトメラノーマ細胞株 11 種類中 5 種類の培養上清中に GPC3 蛋白が検出されたが、培養メラノサイトの培養上清中には GPC3 蛋白は検出されなかった。術前メラノーマ患者 91 名中 36 名 (40%) の血清中に GPC3 蛋白が検出されたが、巨大色素性母斑 5 人ならびに健常人 60 人には、まったく検出されなかった。したがって血清 GPC3 は、メラノーマの腫瘍マーカーとしても有用であることを証明した。Stage 別にみると、Stage 0 (Carcinoma in situ) の患者であっても約 40% が血清 GPC3 陽性であった。Stage I, II, III, IV の患者でも約 40% が血清 GPC3 陽性であり、従来の腫瘍マーカーである 5-

S-cysteinyl-dopa (5-S-CD) が進行癌でのみ検出されるのと比較して、有意に高い診断率を示した。いずれの Stage においても、外科的に腫瘍を全摘された患者群では、血清 GPC3 は検出されなくなった。

さらに、HLA-A24 陽性肝細胞癌患者の末梢血単核球を、HLA-A24 結合モチーフを有する GPC3 由来ペプチドで刺激することにより、GPC3 特異的かつ HLA-A24 拘束性に肝細胞癌細胞株を傷害する複数のキラー T 細胞 (CTL) 株を樹立できた。また、GPC3 ペプチドで誘導した BALB/c マウスの CTL は、H-2K^d 拘束性かつ GPC3 抗原特異的に GPC3 遺伝子を強制発現させた大腸癌細胞株 Colon26-GPC3 を傷害した。そこで、GPC3 ペプチドを骨髄由来樹状細胞にパルスした樹状細胞ワクチンを用いて、GPC3 陽性腫瘍の発生の *in vivo* 予防モデルを構築した。Colon26-GPC3 細胞株の皮下腫瘍モデルでは、BALB/c マウスに樹状細胞ワクチンを腹腔内に 1 週間の間隔をおいて 2 回投与することにより、その 1 週間後に皮下に移植した Colon26-GPC3 細胞株の生着を、自己免疫現象を惹起したり、妊娠に影響を与えることなく、完全に拒絶できた。

2. 食道癌特異的な癌・精巣様抗原 Proliferation potential-related protein (PP-RP)

食道癌の cDNA マイクロアレイ解析データを利用することにより、食道癌に特異的に高発現する新規抗原、Proliferation potential-related protein (PP-RP) を同定した。PP-RP は正常組織では、胎盤や精巣などに限定して発現する核蛋白である。また、PP-RP を高発現している食道癌患者は、そうでない食道癌患者と比較して有意に生存期間が短かった。さらに食道癌細胞株における PP-RP の発現を RNAi により抑制したところ、細胞増殖が抑制された。したがって、PP-RP は食道癌の癌化と関連し、また患者

の予後予測因子となりうる可能性が示唆された。HLA-A24 陽性食道癌患者 5 症例の末梢血単核球を、HLA-A24 結合モチーフを持つ PP-RP 由来ペプチドを提示させた樹状細胞を用いて刺激した結果、5 症例のすべてより PP-RP ペプチドを認識し、PP-RP と HLA-A24 を発現する食道癌細胞株を傷害する CTL を誘導することができた。さらに食道癌細胞株を生着させたヌードマウスに PP-RP 特異的 CTL を養子免疫したところ、腫瘍の増殖抑制効果と生存期間の延長が観察された。

3. 抗原およびケモカイン遺伝子を発現させた ES 細胞より分化誘導した樹状細胞による腫瘍免疫の誘導

我々はマウスおよびサル ES 細胞から *in vitro* で

樹状細胞を分化誘導することに成功している。さらに遺伝子導入を確実に効率良く行うことができる ES 細胞の特徴を生かして、ES 細胞にモデル腫瘍抗原と T 細胞遊走活性をもつケモカインの遺伝子を発現させ、これより樹状細胞を分化誘導させた。これをマウスの腹腔内に投与した後に、モデル腫瘍抗原を発現するマウスメラノーマ細胞株を接種したところ、腫瘍の増殖が著明に抑制されるとともに、生存期間の延長が観察された。今後、倫理委員会の承認を得た後に、ヒト ES 細胞を用いた樹状細胞の誘導についても検討する予定である。

講演では、以上のような我々の研究成果とその臨床応用に関して、その可能性と問題点について論じる。

● シンポジウム ●

NK 細胞受容体 KIR, LILR 型適合性と 非血縁者間骨髄移植成績

屋部 登志雄¹⁾, 平安 恒幸¹⁾, 柏瀬 貢一¹⁾, 佐竹 正博¹⁾, 森島 泰雄²⁾

1) 東京都赤十字血液センター, 2) 愛知県がんセンター

造血幹細胞移植において MHC 抗原の適合が重要であることが非血縁者間骨髄移植成績と HLA 型解析から示されている。拒絶, GVHD 発症予防には出来る限り HLA 型を適合させたいが、一方で白血病患者への移植の場合にドナー細胞のアロ反応性による GVL 効果で腫瘍再発抑制が期待され HLA 型の一部不適合が有効な場合も考えられる。HLA クラス I 抗原を認識する受容体としては従来 T 細胞受容体, B 細胞受容体(抗体)が知られていたが, NK や T 細胞で発現する Killer Ig-like Receptor (KIR), 抗原提示細胞群にも発現する Leukocyte Ig-like receptor (LILR) ファミリーなどもクラス I 抗原を認識できることが明らかにされた。NK 細胞は腫瘍細胞やウイルス感染細胞を排除する機能をもつが, 強力なアロ反応性もあるため移植における役割が示唆され

てきたが KIR による標的認識機構の詳細が明らかとなり, 移植成績への NK 細胞の影響を評価できるようになった。また KIR が主なりガンドとして HLA-C 抗原上のエピトープを認識することから HLA-C 抗原適合性と移植成績についてもこれらを考慮した上で再評価することが必要となった。我々は国内非血縁者間骨髄移植ペアの KIR リガンド特異性を調べ移植成績との相関を解析し, GVH 方向 KIR リガンド不適合では急性 GVHD 発症が高く生存率が低下していることから KIR リガンド適合の重要性を報告した (Morishima Y et al. ASH meeting 2003)。これらは T 細胞除去処理を行わない通常の骨髄移植法によるものを解析したので, 移植細胞中に混在するドナー由来成熟リンパ球によるアロ反応性と考えられる。これとは対照的にペルージャ大学のグループは

血縁者間 HLA-haplo-identical 末梢血幹細胞移植において、KIR リガンド不適合 (GVH 方向) の場合に拒絶及び急性 GVHD 発症が抑制され、さらに AML 患者では腫瘍再発抑制により生存率が上昇したことから、NK のアロ反応性は移植成績を向上させると報告した (Ruggeri L et al. Science 295: 2097, 2002)。これらでは全症例において T 細胞除去処理ならびに CD34 選択処理を行っており移植幹細胞中にドナー由来成熟リンパ球の混入は殆どない状況なので、このアロ反応性はドナー幹細胞から患者体内で新たに分化してきた NK 細胞によるものと考えられる。このように NK 細胞アロ反応性の移植への影響は移植レジメの違いで大きく異なってくる。マウスにおいてクラス I 抗原を認識するペア型イムノグロブリン

様受容体 PIR (Paired Ig-like receptor) が GVHD 発症に関与することが報告された (Nakamura A et al. Nat Immunol. 5: 623, 2004)。ヒトの PIR 相同分子が LILR ファミリーであり 19 番染色体上の LRC (Leukocyte receptor complex) 領域内の KIR 座の隣に遺伝子座が局在している。PIR や KIR と同様に抑制型と活性化型が存在するペア型である。LILR には 10 個以上の遺伝子座があり一部で遺伝的多型性の存在がすでに報告されている。また LILR 分子の幾つかはクラス I 抗原との結合性が示されている。我々は分泌型と考えられる LILRA3 分子に注目し日本人集団における多型性と移植成績との関連を解析している。

同種免疫応答におけるマイナー組織適合性抗原の役割

村田 誠

名古屋大学医学部附属病院 血液内科

マイナー組織適合性抗原(マイナー抗原)とは、主要組織適合性抗原(ヒトでは HLA) の上に提示される細胞内タンパク由来のペプチド断片のうち、遺伝子多型または性差により患者とドナー間で異なるアミノ酸配列を持ち、T リンパ球の標的抗原となるものをさす。その内白血病細胞を含む造血細胞中心に発現しているマイナー抗原に対する T リンパ球応答は主として移植片対白血病 (GVL) 効果を誘導し、また上皮細胞など造血細胞以外の組織で発現しているマイナー抗原に対する T リンパ球応答は移植片対宿主病 (GVHD) を誘導すると考えられている。従ってマイナー抗原を同定しその組織分布を明らかにすることは、同種移植後の免疫応答の解明に役立ち、GVHD 発症の危険性の高い患者 / ドナーの組み合わせの予測や、GVL 効果の増強を目的とした再発予防法・治療法などの開発を可能にし、最終的には同種移植術の治療成績の向上をもたらすと期待されている。

ところで、移植後 T リンパ球免疫応答において重要な役割を果たしているマイナー抗原は、ヒトにおいて少なくとも数十個あるいはそれ以上存在するといわれている。しかしこれまでに分子レベルで同定されたヒト・マイナー抗原はわずか十個程にすぎない。それらは Y 染色体上の遺伝子に由来するものと(それらを HY と総称することがある)、常染色体上遺伝子に由来するものとに分類することが出来る。前者は Y 遺伝子と X 遺伝子の相違が抗原性をもたらすもので、即ち常に女性 (XX) に対し男性 (XY) が抗原陽性となる。一方、常染色体由来マイナー抗原の抗原機序としては、これまでのところ一塩基多型、一塩基挿入 / 欠失、遺伝子欠損などの遺伝子多型が報告されており、またそれぞれのアレル頻度はマイナー抗原の種類によってまた人種によってさまざまである。シンポジウムではこれら同定されたヒト・マイナー抗原について概説し、それぞれの臨床

的意義についてまとめたい。

GVHD 発症における炎症性サイトカインパラダイム —マクロファージにおける炎症性 サイトカイン産生の意義—

塚田 順一, 田中 良哉

産業医科大学医学部 第一内科学講座

同種造血幹細胞移植において, Graft versus Host Disease (GVHD) の発症は依然大きな問題であり, 時に致死合併症となる。急性 GVHD はドナー由来 T 細胞が宿主由来抗原提示細胞 (antigen-presenting cell; APC) を認識することにより誘導されるが, 移植前処置による宿主障害組織における tumor necrosis factor (TNF) α · interleukin (IL-1) · interferon (IFN) γ の産生亢進・これによるドナー由来 T 細胞および宿主由来 APC の活性化・ドナー由来 T 細胞の増殖や活性化による細胞障害性の亢進など, GVHD は発症までに多くのステップを経ることが明らかになった。この GVHD 発症・進展において, HLA 非関連分子である TNF α · IL-1 · IFN γ などの炎症性サイトカインは極めて重要な働きをしている。

事実, 炎症性サイトカイン産生を抑制する副腎皮質ステロイドや, 可溶性 TNF α や膜型 TNF α に結合し受容体へのシグナルを遮断する抗 TNF α 抗体 infliximab は, 急性 GVHD 治療薬として認知されつつある。特に infliximab は炎症を主要病態とする関節リウマチやクローン病などの自己免疫疾患に極めて高い有効性を示している。

さらに, ある一定の誘発因子に暴露されても発症には個体差が存在する。個体差を遺伝子レベルで説明する一つとして遺伝子多型があり, 炎症性サイトカイン IL-1 · TNF α 及び抗炎症性サイトカイン IL-10 の遺伝子多型がクローン病・潰瘍性大腸炎・慢性炎症性肺疾患・喘息・胃炎・歯周病などの炎症性疾

患や胃癌の発症に関連する。これは多型が遺伝子発現に影響を与えるためと考えられるが, 多型による炎症性・抗炎症性サイトカイン遺伝子の分子生物学的な機能変化は未だに解明されていない。ここにおいて, 近年, 炎症性・抗炎症性サイトカインもしくはその受容体の遺伝子多型が GVHD や移植後生存に影響しうることが報告されている。

移植に伴う生体内ストレスのターゲットとして, 最も強力な炎症惹起細胞であるマクロファージがあげられる。マクロファージはグラム陰性桿菌由来エンドトキシンやウイルス蛋白などにより活性化され極めて大量の IL-1 や TNF α を産生し, このマクロファージ活性化は GVHD 発症において重要であることが知られている。その産生機構は刺激の種類により異なり, さらにマクロファージには細胞特異的な産生機構が存在する。エンドトキシンは Toll/IL-1 レセプターファミリー (TIR) に属する Toll 様レセプター (TLR) 4 に結合し, MyD88 · IRAK · TRAF 経路を活性化する。さらに, ヒト IL-1 遺伝子活性化に不可欠な核内転写因子として PU.1 · NF-IL6 (C/EBP β) · CREB · LIL/STAT が同定された。これらの研究より, マクロファージ特異的な炎症性サイトカイン産生が, 受容体・転写因子の発現プロファイルという少なくとも 2 段階において規定されていることが明らかとなった。従来から GVHD 発症機構を解明し, それを制御しようとする数多くの試みがなされてきたが, 炎症機構を細胞の遺伝子・分子レ

ベルまで完全に解明することにより, GVHD 制御の

多くのヒントが得られる可能性がある。

● 一般演題 ●

Luminex 法による日本人 HLA 遺伝子多型性の検討

荒木 延夫, 秋田 真哉, 河村 久美子, 能勢 義介, 井本 しおん, 三戸 壽

兵庫県赤十字血液センター

【目 的】

今回, 我々は造血幹細胞移植前検査などの HLA タイピングを通じて, PCR-reverse SSOP 法の原理による蛍光マイクロビーズアレイシステム法 (Luminex 法) により, 日本人の HLA 遺伝子多型性を検討したので報告する。

【材料・方法】

材料は当センターに HLA タイピングを依頼された日本人検体を用いた。4 桁アリルタイピングは, Luminex 法を用い, ゲムノサイエンス社のジェノサーチ HLA-A, ジェノサーチ HLA-B, ジェノサーチ HLA-C, ジェノサーチ HLA-DRB1, そして, ジェノサーチ用日本人対象判定ソフトを使用した。

【結 果】

表に日本人に遺伝子の多型性が認められた HLA-A の日本人抗原頻度を特に示したが, これまで, 日本人にほとんど多型性がないと考えられている HLA-A24 に遺伝子の多型性が認められた。内訳は日本人にまれとされている A*2408 が A24 抗原陽性者 297 例中 3 例 (1.01%) そして, 極めてまれと報告されている A*2420 が 9 例 (3.03%) を示した。他の HLA-B, C, DRB1 についても併せて報告する。

表 日本人に遺伝子の多型性が認められた HLA-A の日本人抗原頻度 (低頻度により今回の調査で検出されなかったアリルを rare とした)

HLA-A (n=504)			
抗原名と 抗原頻度	アリル名	n	割合 (%)
A2 (n=263) 52.2%	A*0201	117	44.5
	A*0203	1	0.4
	A*0206	109	41.4
	A*0207	35	13.3
	A*0210	1	0.4
A3 (n=4) 0.8%	A*0301	3	75.0
	A*0302	1	25.0
A24(n=297) 58.9%	A*2402	285	96.0
	A*2408	3	1.0
	A*2420	9	3.0
A11 (n=70) 13.9%	A*1101	70	100
	A*1102	0	rare
A26(n=122) 24.2%	A*2601	76	62.3
	A*2602	24	19.7
	A*2603	22	18.0

Luminex を用いた抗体スクリーニング / 同定システムの構築について(その 1)

二神 貴臣, 二家本 哲生, 大沼 毅, 丸屋 かおり, 宮崎 豊人,
丸屋 悦子, 赤座 達也, 佐治 博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所

【はじめに】

近年, 造血幹細胞移植領域で, 移植方法の多様化が進み, 臍帯血移植などの HLA ミスマッチ移植症例が急増し, 急性拒絶または生着不全を経験する機会が増えている。よって液性免疫機序が造血幹細胞移植の予後に与える影響についての研究が急務となっている。Luminex 法を用いた液性抗体検査の利点は HLA のように多型性が多い抗原系について抗体特異性の同定を, HLA 抗原をコートした多種類のビーズを 1 本のチューブ内で反応させることにより, 血清学では何日も要した実験期間を 1 日に短縮でき, さらに蛍光抗体法を用いた検出系で高い感度が得られることである。この利点を最大限に生かし, 再現性の高い, コストパフォーマンスも良好な抗体検査をめざしスクリーニングシステムの構築をした。

【抗体スクリーニングシステムの概要】

1. 1 次スクリーニング: HLA 抗体 (class I & class II) の有無を判別
2. 2 次スクリーニング: 1 次スクリーニングで陽性となった検体につき抗体の特異性を同定。特に許容抗原の同定に重点を置く。
3. 3 次スクリーニング: 2 次スクリーニングで同定された特異性につき, さらに詳しい特異性の同定を行う。

【材料・方法】

上記システム構築のため, Luminex を用いた市販の抗体スクリーニングキット (LABScreen Mixed),

抗体特異性同定用キット (LABScreen PRA) について, 健康人 60 家系(夫, 妻, ベビーの DNA および夫・妻の妊娠 3 ヶ月, 8 ヶ月, 出産後の各血清)を用い, 以下のような方法で有用性の検定を試みた。

1. 夫・妻・ベビーの DNA を用い HLA-A, B, DR を判定し, 今回の妊娠での免疫原となりうる HLA 抗原を特定した。
2. 夫・妻の妊娠後の各血清 (n = 236) について, 2 種のキットを用いテストをした。
3. 結果の解析には, LABScreen Mixed はキット付属のソフトで LABScreen PRA は開発中のソフトを用いた。

【結果・考察】

◆ LABScreen Mixed による抗体スクリーニングは, 指定された判定基準では, 夫の血清にも陽性の結果が得られ, 非特異反応や cut off 値の設定・解析方法など改良しなければならない点がある。

◆ LABScreen PRA による特異性の同定を兼ねたスクリーニングにより免疫原である抗原の特異性の同定ができた。ただし, 血清により全体に高い反応がみられることがあり解析を困難にしている。この点を改良するため, 現在さまざまな方法を試みている。

Luminex を用いた抗体検出系の利点を十分発揮させるため, 更なる工夫が必要である。

ITP に早期胃癌を合併した 2 例の HLA 解析

山岡 学¹⁾, 松崎 龍典¹⁾, 阿部 操¹⁾, 細川 美香¹⁾,
岸本 裕二¹⁾, 石井 一慶²⁾, 野村 昌作²⁾, 福原 資郎³⁾

1) 関西医科大学輸血部 2) 岸和田市民病院血液内科
3) 関西医科大学第一内科

【はじめに】

特発性血小板減少性紫斑病 (ITP) と悪性腫瘍の合併は、一部の報告によると稀ではないとされている。これは、ITP と悪性腫瘍との合併に遺伝的免疫学的因子が関与していることを示唆している。一方、ヘリコバクターピロリは胃癌や胃潰瘍との関連性が指摘されているが、最近ピロリ菌の除菌による ITP 患者の血小板数増加効果が注目されている。今回我々は、早期胃癌を合併したピロリ菌陽性の ITP の 2 症例を経験し、その HLA の解析から興味ある知見を得たので報告する。

【症例 1】

55 歳女性。ITP にてステロイド治療中に、下血と貧血が出現し、胃内視鏡検査の結果早期胃癌(胃体下部前壁 III + IIc) と診断された。

【症例 2】

73 歳男性。健診で胃癌の疑いと血小板減少を指摘。入院後 ITP と診断されステロイド治療開始し、胃内視鏡検査で早期胃癌(胃体中部 II 型)と診断され

た。2 例とも γ グロブリン大量療法後、胃全摘術および摘脾を施行し、血小板数が正常化した。ともに、ピロリ菌陽性で、HLA 解析から DQB1*0301 が検出された。

【考 察】

1. 早期胃癌を合併した ITP の 2 症例を経験した。
2. 2 例とも γ グロブリン大量療法後、胃全摘術および摘脾を施行し、血小板数が正常化した。
3. とともに、ピロリ菌陽性で、HLA の解析からそれぞれのハプロタイプに胃癌の疾患感受性が報告されているアリル (DQB1*0301) が検出された。
4. ITP 57 症例の HLA 解析の結果、ピロリ菌への感受性・抵抗性を示すアリルは、本例とは異なっていた。
5. 本 2 例における胃癌と ITP 発症に対するピロリ菌の関与は、異なったメカニズムによると考えられた。

日本人先天性胆道閉鎖症患者における HLA 型 —生体肝移植レシピエント 392 人の解析—

辻 博昭¹⁾, 湯浅 健¹⁾, 木村 晋也¹⁾, 万木 紀美子¹⁾, 江川 裕人²⁾, 田中 紘一²⁾,
丸屋 悦子³⁾, 佐治 博夫³⁾, 浅野 弘明⁴⁾, 前川 平¹⁾⁵⁾

1) 京都大学医学部附属病院輸血細胞治療部, 2) 京都大学医学部附属病院移植外科, 3) HLA 研究所,
4) 京都府立医科大学医学部看護学科, 5) 京都大学医学部附属病院分子細胞治療センター

【背景】

先天性胆道閉鎖症 (biliary atresia: BA) は肝外胆管が線維的に閉塞することによって主に新生児期に発症する閉塞性胆管症である。Kasai 法などの外科的治療が行われているが成績は満足するものではなく, 現在も最終的に肝移植が施行されることが多い。心奇形や内臓逆位などの合併奇型を伴う *Embryonic* タイプと, 合併奇型を認めず新生児期に発症する *perinatal* タイプに分類されるが, 病因については明らかにされておらず, 遺伝子的要因, ウィルス説, 免疫異常説などの要因が考えられている。この研究では主として *perinatal* タイプの日本人 BA 患者の組織適合抗原 (human leukocyte antigen: HLA) の頻度を正常対照群と比較検討し, 疾患感受性を調べることを目的とする。

【対象と方法】

1990 年 6 月から 2003 年 11 月までの間に京都大学医学部附属病院にて施行された生体肝移植症例か

ら肝外奇形を合併した 13 例を除く 392 人の日本人 BA 患者を対象とし, 健康な日本人のボランティア (n = 828) を正常対照群とした。

【結果】

BA 患者では HLA-DR2 が有意に多く見られたが (odds ratio (OR) = 1.46, 95% CI = 1.5–5.1, $P = 0.029$), Two-locus 分析法では HLA-DR2 単独ではなく HLA-A24 および -B52 も BA 患者群に多く見られることがあきらかとなった。さらにハプロタイプ HLA-A24-B52-DR2 の頻度は文献上の日本人頻度よりも BA 患者群において著しく高かった (OR = 2.20, $P = 0.00124$)。

【結語】

HLA 近傍にある遺伝子が BA の病因に重要な役割をしているか, あるいは胆管上皮に発現する HLA-DR2 抗原が直接 BA の病因に関連していることが推測された。

日本人における慢性関節リウマチ疾患と KIR3DL1 の各 allele との相関関係

岡本 威明¹⁾, 亀岡 陽子¹⁾, 山下 隆博²⁾, 村田 紀和³⁾, 芦田 恒雄⁴⁾, 井手 武⁵⁾,
中西 真理¹⁾, Pyo Chul-Woo⁶⁾, 羽竹 勝彦¹⁾, Daniel E. Geraghty⁶⁾, 石谷 昭子¹⁾

1) 奈良県立医科大学・法医学, 2) 東京大学大学院医学系研究科・産婦人科学

3) 協和会病院リウマチセンター, 4) 芦田耳鼻咽喉科

5) 奈良県立医科大学・化学, 6) Fred Hutchinson Cancer Research Center

【目 的】

これまでの haplotype ならびに genotype 解析の結果では, Killer Immunoglobulin-like Receptor (KIR) 遺伝子と疾患との相関はほとんど認められなかったが, 慢性関節リウマチ (RA) 群において, わずかに *3DL1* 遺伝子のうちサブタイプの *3DL1B* において弱い相関が認められた。そこで, 試料数を増加させるとともに, この *3DL1* の allele typing を行い, *3DL1* 遺伝子のうちのいずれの allele が相関しているのかを明らかにした。

【方 法】

健常対照群 183 名, RA 群 114 名よりインフォームドコンセントを得て末梢血を採取し, それより DNA を抽出し DNA 解析に用いた。KIR 遺伝子の typing には, 我々のデザインした 24 セットの primer を, *3DL1B* allele typing には, Gardiner らの 4 セットの primer を用いて SSP 法により検討し, また *3DL1A* allele typing には direct sequence 法を用いて行った。

【結 果】

3DL1A サブタイプの各 allele についてはいずれも有意の相関は認められなかった。*3DL1B* サブタイ

プにおいては, 弱い有意の増加が認められた ($\chi^2 = 4.46$, odds ratio = 1.69, $P = 0.035$)。さらに, これを allele レベルで検討した結果, *3DL1B* に属する *3DL1*001* が有意に減少し ($\chi^2 = 3.85$, odds ratio = 2.66, $P = 0.049$), *3DL1*005* が有意に増加していた ($\chi^2 = 10.16$, odds ratio = 2.36, $P = 0.001$)。

すなわち, *3DL1*005* allele は RA の疾患感受性遺伝子の一つであると考えられる。日本人 DNA を用いた本研究においては *3DL1*002*, **004*, **006*, **008* allele 頻度は 0% であった。日本人の KIR 遺伝子の多型性の乏しさは遺伝子の種類のみならず, allele の種類においても乏しいと考えられる。

【考 察】

KIR3DL1 は抑制性 NK レセプターであり, *3DL1* の各 allele と KIR3DL1 に対する特異的モノクローナル抗体 DX9 との親和性においては, *3DL1*001* が高く, *3DL1*005* が低いことが報告されている。従って, RA 群において, KIR3DL1 と各種リガンドとの親和性が減少し, NK 細胞に対して負のシグナルが入力されず, その結果として NK 細胞の傷害活性が誘導されていることが示唆された。

HLA 遺伝子欠損: 移植後の再発で LOH を検出した 症例と A 座欠損遺伝子を疑う症例

二家本 哲生, 二神 貴臣, 大沼 豪, 丸屋 かおり, 宮崎 豊人,
丸屋 悦子, 赤座 達也, 佐治 博夫, 田中康博¹⁾

特定非営利活動法人 HLA 研究所, 1) 神戸市立中央病院血液内科

【はじめに】

造血幹細胞移植後の再発で, Mixed Chimera が認められ, 再移植を目的とした患者 HLA 型確認検査で LOH が発見された 1 症例, および HLA-A 欠損遺伝子が示唆された新たな 1 家系について報告する。

【材料・方法】

Case 1: 患者 (MDS) の移植後生着確認検査を以下の方法で行った。患者の口腔内粘膜細胞および患者移植後の末梢血 (PB) を全血 (WB)・T 細胞分画・non-T 細胞分画に分離し, それぞれを DNA に

分離し, サンプルとした。14 種のマイクロサテライト (MS) を用い患者とドナーを識別しうる MS のスクリーニングを行い, 該当した MS を用い各サンプル中の患者とドナーの混合比を求めた。口腔内粘膜細胞由来 DNA・移植後の各 DNA を用い HLA-A, B, DR タイピングをおこなった。

Case 2: 造血幹細胞移植希望患者とその家族 7 名の HLA-A, B, DR の allele typing を行なった。

【結果・考察】

母ハプロタイプ c の A 座遺伝子欠損が考えられ,

Case 1: 幹細胞移植後の患者 PB の MS 多型性は mixed chimera であり, %Recipient は細胞分画により異なり, WB で 82%, T cells で 6%, non-T cells で 98% であった。
各細胞分画の HLA 型は以下のとおりであった。

	HLA-A	HLA-B	HLA-DR
*口腔内粘膜由来 DNA	A*0201/A*3101	B*3501/B*4002	DRB1*0901/DRB1*1501
**T 細胞分画由来 DNA	A*0207/A*3101	B*0702/B*4006	DRB1*0901/DRB1*1502
***Non-T 分画由来 DNA	A*0201/-	B*3501/-	DRB1*1501/-
*Recipient 本来の HLA, **Donor の HLA, ***再発後増殖した Recipient 腫瘍細胞の HLA			

Case 2: 患者と両親および 4 人の同胞の HLA-A, B, DR 型を以下に示す。

続柄	A-locus		B-locus		DR-locus		haplo	
本人	*31	-(x)	*46	*35	*0803	*1406	a/c	a: A31-B46-DR8
父	*31	-	*46	*35	*0803	*0403	a/b	b: A31-B35-DR4
母	*02	-(x)	*3901	*35	*1501	*1406	c/d	c: A deficient (x)-B35-DR14
兄	*02	*31	*3901	*46	*1501	*0803	a/d	d: A2-B39-DR15
妹	*31	-(x)	*35	-	*1406	*0403	b/c	
弟	*02	*31	*3901	*46	*1501	*0803	a/d	
妹	*31	-(x)	*46	*35	*0803	*1406	a/c	

そのハプロタイプが3人の娘に遺伝していた。昨年報告した DRB1 欠損遺伝子に続き A 座欠損遺伝子の存在も示唆される。

腫瘍の免疫監視機構からのエスケープ戦略とされる LOH 現象はさほど稀な現象ではなく、HLA 遺

伝子に欠損遺伝子が存在する可能性が強くなった。造血幹細胞移植目的のタイピングではこのような現象の存在を把握しておくことが、ドナー選択と GVL 効果の評価に重要と考える。

腎移植後長期経過症例における液性因子 (抗 HLA 抗体)の影響

難波 行臣¹⁾, 石黒 伸¹⁾, 今村 亮一¹⁾, 史 屹¹⁾, 市丸 直嗣¹⁾, 高原 史郎²⁾,
奥山 明彦¹⁾, 小角 幸人³⁾, 京 昌弘⁴⁾, 守山 敏樹⁵⁾, 佐田 正晴⁶⁾

- 1) 大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学(泌尿器科), 2) 大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医学
3) 公立学校共済組合近畿中央病院泌尿器科, 4) 桜橋循環器クリニック
5) 大阪大学健康体育部健康医学第二部門, 6) 国立循環器病センター再生医療部

【目 的】

移植腎において液性因子は、急性期だけでなく慢性期においても移植腎機能低下の原因の一つとして重要である。2003 年、慢性液性拒絶反応診断基準案が提唱されが、長期生着例に対する検討は不十分である。腎移植後 10 年以上経過症例における慢性液性拒絶反応の影響を検討したので報告する。

【対 象】

腎移植後 10 年以上経過かつ抗 HLA 抗体の有無を検索した症例のうち、同時期に移植腎生検術を施行した 12 例。

【方 法】

抗 C4d 抗体を用いた免疫染色法、抗 HLA 抗体

(One Lambda 社)の有無および組織学的所見を用いて、C4d 陰性/PRA 陰性を A 群 (n=9 例), C4d 陽性/PRA 陽性を B 群 (n=3 例)とした。

この 2 群について 1 年後のクレアチニンクリアランス (CCr) 変化を検討した。

【結 果】

B 群は、A 群に比べて CCr の悪化は有意であった。(P=0.033)

【考 察】

慢性液性拒絶反応の有無は移植腎機能に影響を与えるが、移植後 PRA 検査陽性患者に対して腎生検による病理所見の検討は、治療方針決定に貢献する可能性が示された。

リシピエント HLA 抗体がドナー細胞クロスマッチ陽性の造血幹細胞移植に与える影響について

荒木 延夫¹⁾, 秋田 真哉¹⁾, 河村 久美子¹⁾, 能勢 義介¹⁾,
井本 しおん¹⁾, 三戸 壽¹⁾, 甲斐 俊朗²⁾, 原 宏²⁾

1) 兵庫県赤十字血液センター 2) 兵庫さい帯血バンク

【目 的】

非血縁者間臍帯血移植では、HLA 不一致の移植が数多く実施されているため、患者が HLA 抗体を保持する場合には、移植細胞との反応性と生着率・造血回復速度および予後との関連は、重要な検討課題と思われる。今回、我々は非血縁者間臍帯血移植前の HLA 適合検査において患者血清中の HLA 抗体スクリーニング及び、患者・ドナー間のクロスマッチを導入し、知見を得たので報告する。

【材料・方法】

HLA 抗体スクリーニングはワンラムダ社 LAT を用いて抗クラス I とクラス II 抗体の両方を実施した。また、抗クラス I 抗体陽性の場合、患者血清とドナーリンパ球によるクロスマッチ検査(ドナーリンパ球のクロスが不能な場合は、HLA タイプが同じ自家凍結リンパ球を使用した)を LCT 法、AHG-LCT 法を用いて実施した。

【結果及び考察】

抗体スクリーニング検査において、245 例中 26 例(陽性率 10.61%)の陽性を得た。抗体の内訳は、抗クラス I が 11 例、抗クラス II が 3 例そして、抗クラス I+II が 12 例であった。

クロスマッチ検査において、クラス I 抗体陽性患者 23 例中 6 例(陽性率 26.09%)の陽性を得た。クロスマッチ陽性は、移植後早期拒絶のリスクが考えられるため、内 2 例はドナー変更された。また、3 例に移植が行われたが、1 例は生着、他 2 例は生着不全であった。なお、他 1 例は移植予定である。

クロスマッチ陰性で抗クラス II 陽性が 15 例を示した。内 6 例(陽性率 40.00%)の抗クラス II 抗体がドナー細胞に陽性であると推定され、1 例が移植中止、3 例がドナー変更された。また、2 例に移植が行われたが、2 例共に生着不全であった。

抗クラス I、抗クラス II 抗体の不適合が生着率に関与する可能性が示唆される結果を得た。症例を追加し、更に検討していきたい。

新しいマイナー組織適合性抗原 ACC-2 適合性と a-GVHD および Relapse との相関

丸屋 悦子, 二神 貴臣, 二家本 哲生, 大沼 豪, 丸屋 かおり,
宮崎 豊人, 赤座 達也, 赤塚 美樹¹⁾, 佐治 博夫

特定非営利活動法人 HLA 研究所, 1) 愛知県がんセンター研究所 腫瘍免疫部

【はじめに】

HLA-B*4403 拘束性の新しいマイナー組織適合性抗原 (ACC-2) が最近同定され, 養子免疫療法への応用の可能性が示唆されている。SSCP を用いた ACC-2 の簡便な DNA typing 法を開発し, 日本人における遺伝子頻度および非血縁間・親子間・同胞間での不適合確率をもとめた。次に HLA identical sibling 間造血幹細胞移植例(161 例)での, ACC-2 適合性と a(acute)-GVHD 発症率および再発率との相関について, HLA 拘束性を含め解析したので報告する。

【解析対象と方法】

健康人 (n = 366) の DNA を用い, PCR-SSCP 法で ACC-2 のアリル (A/G) をタイプした。遺伝子頻度は直接カウント法を用い, 不適合確率は池亀らの方法を用い計算した。HLA-identical sibling 間造血幹細胞移植例(161 ペア)につき, ACC-2 のアリル型を決定し, HLA 拘束性は本来拘束性を示す B*4403 だけではなく HLA super family (HLA-A3 like, A2 like, B44 like, B7 like) ごとに a-GVHD や Relapse rate との相関の有無を解析した。

【解析結果と考察】

◆ ACC-2 の遺伝子頻度と GVH 方向不適合確率(塩基置換 A/G, A = ACC-2 positive)

ALLELE	#OBSERVED	FREQ.	ACC-2	ALLELE	FREQ.
A/A	13	3.55%	ACC-2 (+)	A	0.19
A/G	116	31.7%			
G/G	237	64.8%	ACC-2 (-)	G	0.81
Total	366				1.00

Pair ACC-2(-) Donor versus (+) Recipient

Unrelated pair	0.260	26% incompatible
Parent/ Offspring pair	0.156	16% incompatible
Sibling pair	0.143	14% incompatible

◆ ACC-2 の適合性と a-GVHD, Relapse との相関

HLA-B44 like* (N=81)	a-GVHD (≥1)	再発率
GVH 方向不適合群 (8)	75% (6/8)	25%
GVH 方向適合群 (73)	38% (28/73)	18%

HLA super family による拘束性での解析でも本解析対象中では不適合数が少なく解析不能であった。さらに B44 を保有する不適合ペアは 2 例しか得られず、今後の解析が期待される。

*HLA-B44 like superfamily = B37,B41,B44,B45,B49,B50,B60 & B61

理研シンポジウム

動物 MHC のダイナミズムと機能—魚からヒトへ—

会 期： 2005 年 4 月 15 日(金)

会 場： 理化学研究所 和光本所 大河内記念ホール

世話人： 間 陽子

理化学研究所 分子ウイルス学研究ユニット

協 賛： 日本組織適合性学会，日本動物遺伝育種学会，
日本獣医免疫学会

プログラム

10:00-10:10

開会の辞

間 陽子(理化学研究所)

10:10-11:50

§1 各生物種の MHC-1 【座長： 木村彰方(東京医科歯科大学)】

1. ヒト MHC 遺伝子群の特徴 (30 分)

猪子 英俊(東海大学)

2. ウシ MHC と感染症に対する抗病性 (20 分)

間 陽子(理化学研究所)

3. ブタ MHC—移植ドナーと実験動物としてのミニブタ利用— (20 分)

安藤 麻子(東海大学)

4. Genomic Organizations of the Major Histocompatibility
Complex in Cat and Dog (30 分)

Naoya Yuhki (National Cancer Institute, USA)

12:00-13:00 昼食

13:00-13:45

§2 各生物種の MHC-2 【座長： 安藤麻子(東海大学)】

5. アライグマの地理的分布 (15 分)

松崎 雄三(防衛医科大学校)

6. ペンギン進化と MHC 遺伝子多型 (15 分)

津田 とみ(徳島文理大学)

7. ニジマス MHC 遺伝子の多型性と機能 (15 分)

乙竹 充(農林水産省養殖研究所)

13:45-15:25

§3 MHC と進化 【座長：徳永勝士(東京大学)】

8. 自然選択による多型的 MHC 遺伝子座の制御 (25 分)

颯田 葉子(総合研究大学院大学)

9. MHC とゲノムパラロジ (25 分)

笠原 正典(北海道大学)

10. MHC 分子群の起源 (25 分)

橋本 敬一郎(藤田保健衛生大学)

11. MHC 領域の比較ゲノム解析 (25 分)

椎名 隆(東海大学)

15:25-15:55 コーヒーブレイク

15:55-16:30

§4 MHC 研究の将来 【座長：颯田葉子(総合研究大学院大学)】

12. MHC 統合データベースの構築 (20 分)

今西 規(産業技術総合研究所)

13. 将来に向けて(獣医学の視点から)―伴侶動物の病気と MHC (15 分)

北川 均(岐阜大学)

16:30-17:00

§5 総合討論 【座長：中西照幸(日本大学), 椎名隆(東海大学)】 (30 分)

17:00-17:10

閉会の辞

猪子 英俊(東海大学)

ヒト MHC 遺伝子群の特徴

猪子 英俊

東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学

ヒト主要組織遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex = MHC) である HLA 抗原 (Human Leukocyte Antigen) は, 病原体である細菌やウイル

スなどの蛋白由来のペプチドと結合し, T 細胞を活性化することにより, 免疫応答に深く関わっている。この HLA 遺伝子領域は第 6 染色体短腕部 6p21.3

に位置し、3.6 Mb よりなる。HLA 抗原は HLA-A, -B, -C に代表されるクラス I 抗原と、HLA-DR, -DQ, -DP に代表されるクラス II 抗原に分類される。HLA クラス I 抗原とクラス II 抗原遺伝子はそれぞれの領域にクラスターを形成しているが、両領域の間には、腫瘍壊死因子 TNF, 補体遺伝子などを含むクラス III 領域が存在する。この HLA 遺伝子を含む HLA 領域は 100 種以上の疾患の感受性遺伝子が含まれている、という興味ある特徴を有している。我々は、MHC シークエンシングコンソーシアムに参加し、HLA 全領域並びに HLA 領域とともに遺伝子重複によって生じた側系遺伝子領域 (paralogous) である第 1 染色体長腕部 1q21-22 の合計 4.7 Mb について、ゲノム塩基配列を決定した。その結果、次のことが明らかとなった。

- 1) HLA 領域はヒトゲノム中で最も高い遺伝子密度を有する。すなわち、3.6 Mb の領域に 239 個の遺伝子(これらのうち、偽遺伝子 88 個)が存在する。これらのうち、HLA 抗原をコードする遺伝子は 45 個であり、それ以外の遺伝子(非 HLA 遺伝子と呼ばれる。熱ショック蛋白 70, 腫瘍壊死因子 TNF, 補体遺伝子など)は 194 個である。これらは 15.1 kb に 1 個という高い遺伝子密度である。
- 2) HLA 遺伝子座は現在までに知られているヒト遺伝子のなかで最も高度な遺伝的多型性をしめす。すなわち、計 6 個の代表的な古典的 HLA 遺伝子座には、計 1,400 以上の対立遺伝子の存在が確認されている。
- 3) HLA 領域のゲノム基本構造は、MHC 祖先ゲノム領域が 2 回の大規模なゲノム倍化によって、他の 3 領域である 1q21-22, 19p13, 9q33-34 とともに形成された。すなわち、HLA 領域、とこれら 3 領域 1q21-22, 19p13, 9q33-34 は互いに側系遺伝子領域 (paralogous) の関係にある。
- 4) 2 回の大規模なゲノム倍化によって形成された HLA 祖先領域は、その後 30 kb を基本ユニットとするゲノム領域が 8 回以上の重複や欠失を繰り返して、現在の HLA 領域が形成された。我々は、決定された HLA 領域のゲノム塩基配列

をもとに、ポストゲノムシーケンシングプロジェクトとして、1) ゲノム多様性解析、と 2) 比較ゲノム解析に、発展させて研究を進め、次のような成果がえられている。

- 1) ゲノム多様性解析として、HLA 領域が 100 種以上の多因子性疾患の感受性遺伝子が含まれていることを利用し、HLA 領域をミニゲノムモデル領域として、多因子性疾患の感受性遺伝子を相関解析によるマッピングを、ゲノム塩基配列より設定した遺伝多型マーカーを用いて行なった。その結果、マイクロサテライトが疾患感受性遺伝子マッピングの優れた遺伝多型マーカーとして、感受性遺伝子候補領域を 100 kb までに効率よく絞り込めることが明らかとなった。この事実をもとに、我々は、ヒトゲノムに 30,000 個 (100 kb に 1 個) の多型マイクロサテライトを設定し、生活習慣病をはじめとする多因子性疾患の感受性遺伝子について、ゲノムワイドな相関解析によるマッピングと同定を進めている。
- 2) 比較ゲノム解析については、チンパンジー、アカゲザル、カニクイザル、ブタ、ラット、ウズラ、ニワトリ、ニジマス、サメ、ナメクジウオなどの各 MHC 領域について、計 10 Mb のゲノム塩基配列の決定を行なった。その詳細は共同研究者である椎名が詳細に報告する予定であるが、ヒト MHC である HLA ゲノム領域の形成にいたる進化の道筋は、MHC ゲノム領域の原型、すなわち MHC 祖先ゲノム領域は、脊椎動物が出現する以前の頭索動物であるナメクジウオの時代にすでに存在していた。しかしながら、それら脊椎動物以前には、MHC 遺伝子はいまだ存在せず、非 MHC 遺伝子のみが MHC 祖先領域の基本骨格を形成していた。やがて、脊椎動物が出現したすぐのち、すなわち現在より約 4~5 億年前に、この MHC 祖先ゲノム領域を含む領域が 2 回の大規模なゲノム倍化により、現在のヒト 6p21.3, 1q21-22, 19p13, 9q33-34 の 4 領域の原型が形成され、その結果軟骨魚類(サメなど)のゲノムに、これらの 4 つの側系遺伝子領域 (paralogous) が最初に出現し

た。このとき、軟骨魚類の出現とともに、6p21.3 領域に MHC 遺伝子が挿入、形成された。この MHC 遺伝子の出現は抗体や T 細胞レセプター遺伝子の出現と時を同じくする。その後のヒトに至る MHC 領域の進化の過程で、非 MHC 遺伝子は安定に保たれた一方、MHC 遺伝子はさまざまな種においてそれぞれの病原体の外來

環境に応じて、重複や欠失を繰り返すことにより、多重遺伝子族として可塑性に富む MHC 領域の骨格を形成し、抗体や T 細胞レセプター遺伝子とともに、適応免疫 (adaptive immunity) の主役となる分子として進化したことが推察された。

ウシ MHC と感染症に対する抗病性

間 陽子

理化学研究所 分子ウイルス学研究ユニット

ウシは四肢の先端に 2 つに割れた蹄を持つことから、偶蹄目 (Artiodactyla) に分類される。一方、ウマは蹄が 1 つであるため奇蹄目に分類され、これらは総称して有蹄動物と呼ばれる。偶蹄目と奇蹄目は約 6000 万年前に同じ祖先から分かれたとされるが、その後、次第に衰退していった奇蹄目に対し、偶蹄目は次第に勢力を伸ばしていき、現在ではヒツジ、カバ、イノシシ、ラクダ、キリンなどを含む大きなグループに発展し、有蹄動物全体の約 90% を占めている。偶蹄目の動物の多くは、4 つの胃をもち、一度食べた食物を吐き戻し噛み返すという反芻を行うことで、他の哺乳類が消化吸収できないセルロースなどを栄養として取り込むことが出来る。この強力な消化吸収能力が偶蹄目の動物が繁栄した一因とされている。反芻獣の主要組織適合抗原 (MHC) の研究はウシ、ヤギ、ヒツジの 3 種のウシ科動物を中心に進展してきた。ウシ MHC (Bovine Leukocyte Antigen: BoLA 遺伝子は、ウシ第 23 染色体上にクラスターを成して存在しているが、その詳細な遺伝子構成とゲノム配列情報がほとんど明らかになっていない。BoLA 領域は連鎖解析に基づき、セントロメア近くで DO, DY, DM, TAP, LMP などの非古典的クラス II 分子をコードする遺伝子を有するクラス IIb 亜領域と DR, DQ といった古典的 MHC 分子を

有するクラス IIa 亜領域の 2 つに分断される事が知られている。ヒツジ MHC (OLA) およびヤギ MHC (GoLA) も同様の構成をとることから、クラス II 領域が 2 つに分断されることが反芻獣の特徴の一つと考えられている。我々はこれまで、BoLA クラス II 遺伝子と牛白血病ウイルス (BLV) 誘発性牛白血病との関連性について検討してきた。BLV は、ヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV) に最も近縁なレトロウイルスで、悪性 B リンパ腫である地方病性牛白血病 (EBL) を引き起こすことから畜産界に及ぼす被害は甚大である。BLV はウシに抗体陽性の未発症健康、持続性リンパ球増多症 (PL), そして低頻度でしかも長い潜伏期間の後に EBL を誘発するが、その個体差の生成機構は未だ不明である。本発表では BoLA-DRB3 遺伝子が白血病発症の個体差に関与すること、および BLV の有用な動物モデルであるヒツジを用いた感染実験から白血病発症に対して抵抗性対立遺伝子が存在し、その対立遺伝子を有する個体は感染初期に高い免疫反応により BLV を排除し、プロウイルスロードが低く維持される結果として、白血病発症に至らない、という我々のデータを紹介したい。さらに、これまで十分な研究がなされてこなかった BoLA クラス II 遺伝子のタイピング方法の確立と多型解析の結果とその遺伝子産物の分子構

造, 発現および機能やクラス II 抗原が腫瘍マーカーであること, そしてそれに対する特異抗体を用いた

EBL の診断, 発症予知そして治療への可能性についても紹介したい。

ブタ MHC—移植ドナーと実験動物としてのミニブタ利用—

安藤 麻子

東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学

ブタの MHC (SLA) 抗原型は, 合成ペプチドやワクチン接種による抗体産生能, 並びに悪性黒色腫の発症との相関が報告されており, さらに SLA 領域周辺には, 背脂肪厚, 産子数などの各種の経済形質がマップされるという特徴がある。また, ブタは, 解剖学的・生理学的にヒトとの類似性が高く, 提供臓器不足の問題などから, ブタからヒトへの異種移植が注目されている。特にミニブタは, 同種, 異種の臓器移植実験の他, 肥満や循環器疾患, 悪性黒色腫などの疾患モデル動物や, 医療技術シミュレーションなどを目的とした実験動物として, 種々の領域の医学教育, 研究分野で用いられている。

我々は移植実験や再生医療などの実験動物として有用な SLA 純系ミニブタの開発と異種移植における SLA 抗原の関与の追求, 並びに悪性黒色腫などの疾患感受性の解析を進めるために, SLA 領域のゲノム塩基配列決定による構造解析と DNA タイピングによる SLA 遺伝子の多型性解析を行っている。

SLA 領域の構造解析については, 我々のグループと INRA 及び Sanger Inst. の共同研究により, 最近 2.4 Mb の SLA 全領域のゲノム塩基配列決定が完了した。得られた塩基配列情報に基づき, ブタ-ヒト間の MHC 領域の遺伝子構成を比較したところ, MHC

遺伝子群の数や遺伝子構成は両種間で大きな違いが見られたが, 多数の非 MHC 遺伝子の遺伝子構成は, 相互に高く保存されていた。特に SLA クラス I 遺伝子は, SLA クラス I 領域内に古典的並びに非古典的クラス I 遺伝子群の 2 つのクラスターから構成されており, HLA クラス I 遺伝子領域と比較して, 両種間の MHC 遺伝子の遺伝子構成に大きな相違が見られた。

また, SLA 遺伝子の多型性解析については, SBT 法, PCR-RFLP 法, PCR-SSP 法により, これまでにミニブタ 4 品種を含む 100 頭以上のブタについて, SLA クラス I とクラス II 遺伝子のタイピングを行ってきた。さらに得られたクラス I 遺伝子のアレル配列情報を用いて $\alpha 1$, $\alpha 2$ ドメインのアミノ酸置換の選択圧を解析し, SLA クラス I 分子は HLA クラス I 分子と比較的類似した特徴を示すことが明らかになった。また, DNA タイピングの結果に基づいた交配により, SLA タイプを固定した 5 種類のハプロタイプを持つ 2 品種の SLA 純系ブタを作成した。これらの SLA タイプがホモのブタは, 同種及び異種間の動物移植実験, 種々の抗原に対する免疫応答性の研究などに有用であると考えられる。

Genomic Organizations of the Major Histocompatibility Complex in Cat and Dog

NAOYA YUHKI

Laboratory of Genomic Diversity, National Cancer Institute at Frederick

Abstract: We have established gene organization and a draft sequence of domestic cat MHC, using methods of RH mapping, FISH, BAC/PAC mapping and shotgun sequencing. This study showed that unlike a majority of mammalian MHCs so far studied, the domestic cat MHC has a split genomic structure, one including extended class II, classical class II, class III and proximal class I regions which localize on peri-centromeric region of a long arm of chromosome B2 and other including a distal class I and extended class I regions which localize on a telomeric region of a short arm of the same chromosome B2. Previous comparative study indicated that the cat chromosome B2 was rearranged from the syntenic human chromosome 6 by two chromosome inversions, one including the entire short arm and other including a distal portion of the long arm. Our results support

this study and further suggest that a breakpoint of the short arm inversion resides on the MHC. Based on recently established two supercontig sequences for canine MHC assembled in the canine WGS sequencing project, we concluded that canine MHC also has the split gene organization as seen in the domestic cat MHC, however, one segment -extended class II, classical class II, class III and proximal class I regions localizes on chromosome 12 and other -distal class I and extended class I localizes on chromosome 35. Since the split in both feline and canine MHCs were found between TRIM39 and TRIM26 genes, we concluded that this MHC structure occurred as a single event before the split of feline and canine species, was maintained through species evolution and influenced unique gene organization of class I genes in both MHCs.

アライグマの地理的分布

松崎 雄三

防衛医科大学校

アライグマ (*Procyon lotor*) は、日本に生息するはずのない哺乳類、すなわち外来移入種であり、人気アニメに触発されたペットブームにより 1970 年代以降に個人飼育が急速に広がった北米原産の食肉

目である。しかし、アライグマは手先が器用で成獣になると凶暴になるため各地で逃亡や遺棄が相継いだ。野生化し定着したアライグマは、農業、畜産、水産業への被害をもたらしている。一方、アライグ

マは移入先の生態系の中で、それまでにあった生物間のバランスを変化させ、エゾタヌキなどの在来種を今までとは異なる生存競争にさらすため、特定種の個体数を激減させる場合も多い。また、人畜共通感染症である狂犬病やアライグマ回虫症などの媒介動物としての危険性もある。現在、環境省の鳥獣関係統計によれば、アライグマが狩猟獣に加えられた1994年以降の5年間に捕獲記録がある都道府県は33に上っている。われわれは国内に生息するアライグマの地理的分布と繁殖状態の実態を調査する目的

で mtDNA 多型を調べたところ、現在まで7道県(北海道、長野県、群馬県、千葉県、神奈川県、和歌山県、奈良県)で13タイプを確認している。その中で北海道には5タイプと最も多くのタイプが存在しており、それぞれ半径約20kmあるいはそれ以上の地理的分布を示していた。

本講演では、アライグマ MHC の一つである *PrLA-DRB1* 多型について、北海道のサンプルを解析し、より詳細な地理的分布と繁殖状態の調査について考察したい。

ペンギン進化と MHC 遺伝子多型

津田 とみ¹⁾, 猪子 英俊²⁾

1) 徳島文理大学人間生活

2) 東海大学医学部

現存の6属16種と数種の亜種のペンギン類は、9,000種にもおよぶ多種の鳥類のなかでも、陸上を移動する際の動作の特色ばかりでなく、成鳥が空を飛ばない点、ヒナは親の保護に完全に依存して成長する就巢性である点など、他の多くの鳥類に比べ異色の存在といえる。棲息地は南半球のみであるが、極寒の南極から、赤道直下のガラパゴス諸島まで、厳しい自然環境に生理学的な適応をしつつ、進化したと推測されている。

鳥類の祖先の始祖鳥が出現したのが15,500万年前～13,500万年前後であり、またペンギン類の祖先と考えられる海鳥類が急速に多様化したのは5,000万年前頃とされている。その後、いくつかの種の分岐が進み、現在のペンギン種の形成に至ったのであろう、と考えられてきた。しかしながら、これらは化石や形態的な研究のみにもとづいた推測であることから、我々は分子進化学的手法により、ペンギン種の分化に迫ることを考えた。

主要組織適合遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex; MHC) は、脊椎動物の免疫反応に

おいて細菌やウイルスなどの外来抗原と結合して、T細胞に提示するという免疫応答における中枢的な役割を担い、またそれらの機能を反映して、遺伝的な多型性に富むことが知られている。ペンギン類は、進化の過程で棲息環境の変化が拡大し、外来抗原とのかかわりも一様ではないことから、特徴的な MHC 多型を持つことが予測された。事実、我々の解析により、ペンギン MHC 遺伝子が多型性に富むことを確認し、またペンギン類に特徴的な塩基・アミノ酸配列を見出した。それらの MHC 領域の DNA 多型を指標として、現存する6属全種についての解析を目指して、我々は現在までにアデリーペンギン属の3種やフンボルトペンギン属の2種の MHC クラス II エキソン 2-3 領域の塩基配列の決定を行い、類縁関係の解明を行っている。本研究の成果は、海鳥であるペンギン類の進化研究のみにとどまらず、分類、亜種分類、個体識別や集団の遺伝的多様性の指標などへ多岐にわたる分野への応用が期待できる。本シンポジウムでは現在までのデータを紹介しながら、ペンギンの分子進化学の今後の展開について、

考察をしたい。

ニジマス MHC 遺伝子の多型性と機能

乙竹 充¹⁾, 中西 照幸²⁾

1) 水産総合研究センター 養殖研究所

2) 日本大学 生物資源科学部

多くの水産養殖現場で魚病が多発して深刻な問題となっており、養殖魚における耐病系統の樹立が各界から強く求められている。しかし、水産育種において疾病抵抗性の有用な指標は現在なく、耐病系統の確立は進んでいない。MHC は多型性を示し、鳥類やほ乳類では疾病抵抗性と関連していることが知られている。そこで、ニジマスの MHC クラス I 遺伝子に着目し研究を開始した。

本講演では、これまでに検討した以下の項目を紹介する。

- ! Ia 遺伝子 (Onmy-UBA) の塩基配列は、各領域とも哺乳類の Ia 遺伝子と相同性を示す。_3 領域にも多型が認められ、_1 領域と _2 領域の間には約 18 kbp のイントロンがある。
- ” Ia は 1 遺伝子座のみで発現している。
- # Ia 対立遺伝子の塩基配列から、_1 領域を 6 種類、_2 領域を 3 種類、_3 領域を 3 種類に分類することができる。_1 領域の各型と類似した配列が UBA とは別の座に存在する。

- \$ 5 種類の Ib (Onmy-UCA, UDA, UEA, UFA, UGA) が存在する。UBA に比べると明らかに発現量が低い。
- % Ia の遺伝子座は第 18 染色体の長腕の基部付近、Ib 領域は第 14 番染色体の短腕の基部付近に存在する。
- & MHC クラス I (Ia または Ib) 分子は、個体発生において胸腺で最も早期に認められる。Ia の発現は共優性を示す。
- ’ MHC クラス I 拘束性の細胞障害活性が認められる。
- (Ia の多型は、IHN (伝染性造血器壊死症) ワクチンの有効性と関連する。
-) Ia の多型は、移植片 (赤血球) の拒絶反応と関連する。
- * Ia の多型は、成長および行動様式と関連する (あるいは、との相関が認められる)。
- + Ib の多型は、IPN (伝染性脾臓壊死症) 耐病性と関連する。

自然選択による多型的 MHC 遺伝子座の制御

颯田 葉子

総合研究大学院大学

主要組織適合抗原 (MHC) は脊椎動物での獲得性免疫機構において T 細胞受容体 (Tcr), 免疫グロブリン (Ig) とともに重要な役割を担う分子の一つである。いずれの分子も無限の抗原と結合する必要性から個体内での多様性が高い。このような高い多様性は、重複した遺伝子座における分化が進化の原動力である。しかし、ゲノムレベルでの多様性の生成維持機構は、MHC と Tcr や Ig とは異なる。Tcr や Ig に比べて、MHC では限られた数の遺伝子座で高度な多型性を保つことにより全体の多様性を維持している。このような MHC の多様性には、1) 対立遺伝子の数が多くしかもその寿命が長い、2) ゲノム中の多型的な遺伝子座の数がほぼ一定である、といった進化学的な特性がある。

ゲノム中の多型的な遺伝子座の数を一定に保つ必要性、つまりゲノム中の多型的な遺伝子座の数には最適値があることは、Tcr リパトリの決定に MHC が関与しているためである。近年、魚を用いて多型的 MHC 遺伝子座数には最適値が存在することが実験的に示された。これは、ゲノムあたりの多型的 MHC 遺伝子座数が、遺伝子重複と偽遺伝子化のバランスによって保たれているだけでなく、遺伝子が機能を失う (偽遺伝子化) の過程にも自然選択が働く可能性があることを示唆する。本講演では、ヒトのゲノム配列を用いて MHC の進化における遺伝子重複 (それに続く遺伝的分化) と偽遺伝子化の過程を推定し、他の多重遺伝子族との関連で MHC における偽遺伝子化の意義を論ずる。

MHC とゲノムパラロジー

笠原 正典

北海道大学 大学院医学研究科 病態制御学専攻 病態解析学講座 分子病理学分野

ヒトのゲノムを詳細に観察すると、ブロック重複によって形成されたと考えられる遺伝子の集団 (クラスター) が 2-4 セット、典型的には 4 セット、異なった染色体上に存在する現象が認められる。この現象は、ゲノムパラロジー (genome paralogy) として知られている。われわれはこれまでに、1) ヒトの主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) がゲノムパラロジーを示す典型的な遺伝領域であること、2) MHC とブロック重複によって分岐したと考えられる領域

は、主として第 1, 9, 19 染色体上の限局された領域に存在すること、3) ブロック重複は有顎脊椎動物の共通祖先が出現するまでに 2 回起きたと推定されること、4) 2 回のブロック重複を経験していない生物 (無顎類とそれより原始的な生物) は MHC システムをもたないと考えられることなどを提唱してきた。さまざまなモデル生物のゲノム解析は、基本的にこの提唱を支持するものである。ここでは、この話題を中心にして、MHC というゲノム領域がどのよう

にして誕生し、そしてどのような変遷をへて今日に至ったのかについて述べる。

無顎類(ヤツメウナギ, ヌタウナギ)は MHC システムをもたないと考えられる最も高等な生物であるが、最近、これらの生物には有顎脊椎動物の抗原レ

セプターとはまったく異なる VLR (variable lymphocyte receptor) と命名されたレセプター様分子が存在することが明らかになった。Max Cooper, Zeev Pancer, Chris Amemiya 氏らとともにおこなったヌタウナギ VLR の解析についても紹介したい。

MHC 分子群の起源

橋本 敬一郎

藤田保健衛生大学総合医科学研究所

古典的 MHC 分子は、我々の獲得免疫及び自然免疫システム等において重要な役割を担っている。同様の分子構造を共有する MHC 分子群を構成するその他のメンバーも、生体内で種々の大切な機能を有していることが判って来ている。しかしながら、この MHC 分子群の由来については未だに大きな謎が解けていない。古典的 MHC 分子において細胞膜に近接する細胞外ドメインは、免疫グロブリンスーパーファミリーの C1 セットドメインであるが、抗原提示に必須なペプチド結合ドメインの由来は全く不明である。1987 年の MHC 分子構造解明により、 β シートと α ヘリックスから成るペプチド結合ドメインのユニークな構造が明らかにされたが、その由来は益々謎となった。演者が 1990 年に魚類 MHC 遺伝子群の存在を証明した時、同時にペプチド結合ド

メインの由来に関して、立体構造の大きな差異の認識の上で免疫グロブリンスーパーファミリー V セットドメインとの関係を支持する仮説を提示した。だが当時はまだ魚類の MHC 分子関係のデータはごく僅かであり、現在はそれ以来 15 年を経て多くのデータが集積し、哺乳類からも新しく幾つかの MHC 分子群のメンバーが報告されて来ている。また、より原始的な生物を用いた網羅的解析も進展を見せて来たが、最も原始的な脊椎動物に属する無顎類からは MHC 分子群の存在は報告がなく、また脊椎動物の祖先に近いと考えられる原索動物の全ゲノム解析からも MHC 分子群をコードする遺伝子は発見されていない。このような状況下にあって、MHC 分子群の分子進化の謎についてどの様に考えられるのか、今回の演題で概観を試みたい。

MHC 領域の比較ゲノム解析

椎名 隆

東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学

MHC 領域は進化学的に保存されている遺伝子が

数多く存在することや、各生物種の塩基配列情報お

よびマッピング情報が豊富であることから、遺伝子の動態を追究するには最適な領域といえる。そこで本研究では種の分岐点に位置する生物種の MHC 領域の塩基配列を決定し、比較解析することによりゲノム進化、形成の分子機構を解明し、MHC 領域が複雑な免疫系を獲得してきた経緯を明らかにすることを目的としている。これまでに 15 生物種より合計 16.5 Mb の塩基配列を決定した。これらの配列をもとに比較ゲノム解析をおこなった結果、生物種間に

おける基本的な遺伝子構造は大まかには保存されているが、それぞれの生活環境に適応するための MHC や MHC 関連遺伝子の birth and death により形成されてきたことが示唆された。また、現在のゲノムからその進化を遡ることが可能であること、さらにはナメクジウオのように MHC 祖先領域の構造を保持している生物種も現存することも明らかになってきた。本講演では、最新の情報とともに比較ゲノム解析の重要性について報告する。

MHC 統合データベース M-integra の構築

今西 規

産業技術総合研究所 生物情報解析研究センター

組織適合性複合体 (MHC) 遺伝子領域は、ヒトをはじめとするさまざまな生物種でそのゲノム解析が進められており、比較ゲノム研究によって興味深い事実が次々に明らかにされてきた。その膨大な知識を整理してデータベース化することには、大きな意義がある。そこでわれわれは、東海大学医学部との共同研究により、MHC 遺伝子領域の比較ゲノム統合データベース (M-integra) を構築している。まず、ヒトやヒトに近縁な生物種の MHC 領域のゲノム配列を入手し、データベース化した。さらに、遺伝子予測ソフトウェアを用いた遺伝子のアノテーションと相同性検索を用いた異種間の直系遺伝子 (ortholog) の同定を行い、データベースに格納した。これらの解析結果を視覚化するため、遺伝子マップの表示、比較遺伝子マップの表示、配列アラインメントの表示機能を用意し、さらに配列保存性のグラフ表示機能を用意した。この M-integra は現在公開準備中である。

M-integra の発展として、われわれはヒトとモデル生物の全ゲノム配列のアラインメントを作成し、その結果に基づいて、比較ゲノム解析 web ツール G-compass を構築した。ヒトとマウスの全ゲノム配列

のアラインメントを作成したところ、約 82 万個のアラインメント断片が得られた。そして、ヒトゲノムの全長の約 17% がアラインメントを作成できた。G-compass では、配列アラインメントを入手するだけでなく、ヒトとマウスのそれぞれの種の転写産物をマッピングした結果も表示されており、進化上保存されたゲノム領域を発見するためにも有用である。さらに、ヒト遺伝子の統合データベースである H-InvDB へのリンクも用意されており、遺伝子のアノテーション情報を容易に参照できるようになっている。G-compass は、<http://www.jbirc.aist.go.jp/g-compass/> から公開されている。

また、G-compass に含まれる MHC 遺伝子領域のアラインメント結果を詳細に解析したところ、ヒトの MHC 遺伝子領域はその大部分がマウスの第 17 染色体の配列とアラインメントがとれていた。しかし、意外なことに、マウスの他の染色体に対応するアラインメントもヒト MHC 遺伝子領域には多数混入していることが明らかになった。このことから、進化の過程で、ヒトとマウスの分岐後に多数回の染色体再編成が起こった可能性が示唆された。今後は、他の生物種のゲノム配列を加えた解析により、MHC

遺伝子領域のゲノム進化の道筋を詳細に明らかにし

てゆくことができるだろう。

将来に向けて(獣医学の視点から)—伴侶動物の病気と MHC—

北川 均

岐阜大学

獣医学の対象は、軍馬の時代から産業動物を主体とする時代になり、イヌやネコなどの小動物医療が大きな割合を占める状況になっている。イヌやネコが番犬や愛玩動物(ペット)といわれた時代から伴侶動物(コンパニオンアニマル)となり、獣医療が大きく変わっている。産業動物を対象とする場合は、経済性が大きな問題となるため、MHC 関連研究は、肉質などの経済的形質との関連性、感染症に対する感受性、およびワクチンに対する反応性などが主体となる。いっぽう、イヌやネコなどの伴侶動物では、個体の生命を深く追及する 경우가多くなり、感染症に加えて自己免疫疾患や移植医療などヒトの医療に近似する医療が実施されている。ネコでは、MHC クラス II 領域の塩基配列解読が終了し、MHC 遺伝子を中心としたこの領域の多型性検索の時代に入りつつあり、今後は、検出したアレルの臨床的意義、すなわち MHC の機能と動物の病気との関連性を考える必要がある。

ネコの感染症については、急性感染症は飼育環境の改善と予防により減少しているが、ネコの生活習慣(縄張り、集団生活など)がその発症に関与する猫白血病 (FeLV 感染症)、猫免疫不全ウイルス (FIV) 感染症、猫伝染性腹膜炎 (FIP、コロナウイルス感染症)などの慢性感染症が依然として見られる。これら

免疫関連感染症と MHC ハプロタイプとの関連性は容易に想像され、さらに病態が解明されれば、ヒトの疾患モデル動物として使用できる可能性があるが、現在のところ検討は進んでいない。現在のような社会では、伴侶動物が長期に生存することに対する要望が高まっており、移植医療の要望も少なくない。動物の移植は、心臓や肺などのドナーの生命に関わる移植は、動物愛護上の問題があり、実施は容易ではないが、ネコでは慢性腎不全に対する腎臓移植や、交通事故などによる皮膚欠損に対する皮膚移植などが試みられている。ネコの臓器移植では、混合リンパ球反応を行い、さらに MHC をマッチングさせてドナーとレシピエントを選択するという状況には至っていないが、実験的に FLA- DRB エクソン 2 領域を解析したネコにおいて同種皮膚移植を試み、DNA タイプが一致した場合は拒絶までの期間が延長することを認めている。動物では長期間連日の免疫抑制剤投与は、経済的に、そして技術的(少なくとも自主的には服用しない)に困難であり、移植臓器に対する免疫寛容の状態を導くことが好ましい。MHC 研究の進展に伴って、動物の移植においてもドナーとレシピエントの MHC タイプをマッチさせることは当然となる時代が来ることが期待されている。

● シンポジウム印象記 ●

理研シンポジウム「動物 MHC の
ダイナミズムと機能」を終えて

竹嶋 伸之輔

理化学研究所・分子ウイルス学研究ユニット

2005 年 4 月 15 日、「動物 MHC のダイナミズムと機能—魚からヒトへ—」と題したシンポジウムが盛大に開催された。このシンポジウムを行うにあたり、理化学研究所 間陽子先生、日本大学 中西照幸先生、東海大学 安藤麻子先生、椎名隆先生の他に、筆者も事務局に加えていただき、その運営に参加することができたうえ、印象記までを書かせていただけることに心より深く感謝する思いである。

シンポジウムは八重桜や葉桜が咲き誇る理化学研究所(埼玉県和光市)において行われた。理研は大正 6 年の創立以来、88 年の歴史を持つ日本で唯一の自然科学に関する総合研究所として、物理学、化学、生物学、医科学などの分野で、基礎から応用まで幅広く研究を行い、その成果を広く社会に普及してきた。分野を超えた萌芽的研究を推進する中央研究所、そして、先端的基礎研究を推進するためのフロンティア研究システム、脳科学研究センター、発生・再生研究科学総合センター、遺伝子多型研究センター、バイオリソースセンターおよび免疫・アレルギー科学総合研究センターが和光、横浜、神戸、播磨およびつくばに設置されている。

本シンポジウムはヒト MHC と比較して著しく研究の遅れている動物 MHC に光を当て、動物 MHC の研究者が一堂に会し、最新の研究進展状況を知り、活発に議論できる場を提供することを目的として企画された。本趣旨に賛同していただき、遠くはアメリカ、国内でも北海道から九州まで、総勢 103 名が出席する大成功のシンポジウムとなった。協賛の日

本組織適合性学会、日本動物遺伝育種学会および日本獣医免疫学会より多数の会員の方々が集い、活発に議論が行われたことが印象的であった。

まず、理化学研究所 間先生より開会の挨拶があり、午前の部「各生物種の MHC-1」が始まった。ここでは、東海大学 猪子先生よりヒト MHC について、理化学研究所 間先生よりウシ MHC について、東海大学 安藤先生よりブタ MHC について、そしてアメリカの National Cancer Institute の悠木先生によりネコとイヌの MHC について、それぞれの進展状況についての御講演があった。猪子先生の話題は MHC のゲノムシーケンスから比較ゲノム、そして MHC の成り立ちまで大変に広範囲に亘っている、スケールの大きい講演であった。ウシ MHC は未だゲノム塩基配列情報はほとんど得られていないが、間先生は、他の講演者とは異なり、感染症と MHC との相関性についてのお話をされた。MHC クラス II 分子がウイルス性発ガンと相関しており、今まで知られていない新たな MHC の細胞増殖制御機構がある可能性についてなどを論じた。続いて、安藤先生よりブタ MHC クラス I のゲノム解析について、そして、悠木先生よりネコとイヌの MHC のゲノム構造の特徴についての御講演があり、午前の部を終えた。

桜の名所であり、新緑に包まれた広沢池に面した広沢クラブで、レノバサイエンス株式会社と岩井化学株式会社から提供していただいたお弁当を囲みながらゆったりと団らんしていただけた昼休みとなっ

著者連絡先 〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2-1
理化学研究所・分子ウイルス学研究ユニット
竹嶋 伸之輔

電話 048-462-4420
FAX 048-462-4399
E-mail takesima@riken.jp

たことがとても嬉しかった。

午後の部「各生物種の MHC-2」では、野生動物の MHC として、アライグマやペンギン、ニジマスの MHC について、防衛医大の松崎先生、徳島文理大の津田先生、そして養殖研究所の乙竹先生より御講演があった。アライグマは、その土地に新しく住み着いた動物の MHC がどのように拡散してゆくかの良いモデルを提唱しており、大変に興味深かった。一方で、ペンギンでは、品種の分類に使用する遺伝子の一つとしてペンギン MHC に着目し、クラス II 分子のエクソン 2 とエクソン 3 の塩基配列決定法を構築して、その情報を用いて進化や分類、個体識別、親子判定などを可能とする道を拓くという内容であった。ペンギン MHC は品種間で同じ対立遺伝子は持たず、他の動物種とは MHC の分布に非常に違いがあることが感じられて興味深かった。ニジマスは他の 2 種とは異なり、クラス I のゲノムシーケンシングを行っており、その塩基配列情報を通して、クラス I 遺伝子の特徴と免疫機能の解析についてお話しいただいた。

続いて、「MHC と進化」と題して MHC 領域の自然選択について総研大の颯田先生、ゲノムパラロジーについて北大の笠原先生、MHC 分子群の祖先配列について藤田保健衛生大の橋本先生、そして様々な動物種の MHC のシーケンシングによる比較ゲノム解析について東海大の椎名先生より御講演があった。この中で、颯田先生は MHC 遺伝子の多型の特長として、対立遺伝子数の多さ、対立遺伝子の寿命の長さ、およびヘテロ接合度の高さをあげて、このような、他の遺伝子と異なる多型性を持つ理由が、MHC 分子が自己抗原に対する免疫不応答と外来抗原に対する応答という、相反する 2 つの機能を有するため、この両者を満足させるために多型的な遺伝子座の数は遺伝子重複と偽遺伝子化により一定に保たれているとの講演で、大変に興味深かった。他にも、ブロック重複、MHC 遺伝子の祖先配列、MHC のヒッチハイク効果など、普段では聴くことの出来ない話題が続き、非常に勉強させていただいた。

コーヒープレイクの後、「MHC 研究の将来」と題して、産総研の今西先生より MHC 統合データベ-

スの構築とその応用について、そして岐阜大学の北川先生より、ネコの疾患と MHC についての御講演があった。今後、次々に多くの生物種のゲノム情報が蓄積されてゆく中、それらの情報を統合的に扱い、そこから得られる情報を的確に掘り起こして行くためにはこのようなデータベースの開発は必須であり、大変に重要な仕事だと感じられた。最後に、愛玩動物の MHC について、獣医師の立場からの御講演を北川先生よりいただいた。大変に楽しい講演であり、また、動物 MHC の研究を臨床レベルで動物にどのように生かしていくかについて、いろいろと考えさせられる内容であった。

最後に日大の中西先生、東海大の椎名先生の座長で「今なぜ動物 MHC なのか？」について総合討論が行われた。議題は

- a) 免疫応答性や疾患感受性に関する MHC 研究の新たな動向
- b) 免疫研究以外の他分野における MHC 多型の応用
- c) 他分野における課題との関連、人間社会への貢献

であった。はじめに中西先生より、各生物種の MHC 遺伝子座の構造や他の遺伝子との関係が解析できるようになり、その結果、従来 variation としか捉えきれなかった遺伝子の変異が、遺伝子座に基づいた対立遺伝子の polymorphism として解析できるようになったことが動物 MHC の新しい時代の到来を意味しているのではないかと説明がなされたあとに、以下のような活発な議論が行われた。

1. 人類の難病がペットと密接に関与しているというような視点が重要ではないか？
2. 畜産分野では MHC 領域に乳質肉質などの経済形質の責任遺伝子があると古くから言われ続けている。詳細なゲノム情報が蓄積されてきた現在、そのような経済形質の責任遺伝子としての MHC 遺伝子の同定が必要ではないか？
3. 脳で発現する MHC について解析する必要があるのではないか？ MHC と行動や脳の関係が重要だ。
4. 各生物種の独特の免疫システムを問題にしてゆ

くことが大切ではないか？

5. 医学、獣医学と他の分野、各省庁の壁を打ち破ることが必要。

6. MHC のみならず、NK レセプターや TCR などの MHC と関連性のある分子の機能解析やタイピングも同調して行う必要があるのではないか？

7. MHC をやることによって全ゲノムシーケンスに evidence をもたらすようになることが重要。

8. MHC とペプチドの結合を阻害するような低分子化合物のスクリーニングが重要。

9. 人畜共通感染症が社会的に非常に注目されている中で安全・安心の社会構築における動物 MHC の重要性はより増してきている。つまり、新興再興感染症の発生源である野生動物の MHC についても研究をしていく必要があるのではないか？これらの感染症に対する MHC の意義を明らかにするために、人間と類似した病原体を持ち、類似の症状を示す生物種を見つけることによって、感染実験も可能となり、疾患感受性の個体差の生成機構が明らかとなる。一方、このような、ヒトに類似の感染症と本来の宿主系が確立することが、動物 MHC に求められている HLA 研究に貢献できる重要点ではないか？それが確立されたならば、上述の低分子化合物を用いた療法の効果を同定することが可能となり、HLA 研究が一層進むことに繋がる。一方、疾患感受性の個体差の生成機構を解明するために、マラリアの重症化の遺伝的要因を探ることが必要である。

10. MHC を研究することは病原体の歴史を探るこ

とにつながるのではないか？

上述のように、動物 MHC 研究の将来への展望など多岐にわたって活発な議論がなされた。そして、今回の事務局を中心に動物 MHC 研究会を発足すること、動物 MHC のシンポジウムを大きな学会で執り行うこと、そして、動物 MHC の分野で大型予算の獲得を目指すことなどが確認されて、猪子先生に閉会の辞をいただき、シンポジウムは終了した。

終了後の懇親会にも多数の先生方にご出席くださった。会場からは動物 MHC を発展させていこうという活気に溢れた空気が感じられて、大いに盛り上がっていた。多くの研究者が動物 MHC に興味を持ちながらも、発表場所のなさや、研究費の取りにくさなどがネックとなっており、本シンポジウムのような場所が非常に期待されていたことが伝わってきた。

本シンポジウムでは、各種動物 MHC の進捗状況やその進化学的解析、疾患との関連性、そして MHC 遺伝子の分布など、非常に多岐にわたって議論が行われた。普段ではなかなか、まとめて勉強する機会がない状況であり、筆者もウシ以外の動物種の MHC の構成や研究の進展状況では知らないことが非常に多く、大変に興味深い内容であった。今後、動物 MHC の研究者が集い、交流を深めて行く場を提供し、その中から動物 MHC に興味を持つ研究者が増えてゆき、この分野からヒトを越える大きな研究成果が陸續と出てくることを心から期待している。

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サイズでプリントアウトしたものの両者を提出する。ソフトはMSWordとする。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ドで、本文とは別頁に添付する。なお、掲載された論文等の著作権は、日本組織適合性学会に属し、インターネットを通じて電子配信されることがあります。

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、郵便番号、住所)を記す。タイトル、著者名、所属は次の様式にしたがう。

Nucleotide sequence for a Cw8 subtype, Cw8N, and its association with HLA-B alleles. Fumiaki Nakajima¹⁾, Yoshihide Ishikawa²⁾, Junko Nakamura¹⁾, Toshio Okano¹⁾, Chieko Mori¹⁾, Toshikazu Yokota¹⁾, Ling Lin^{2) 3)}, Katsushi Tokunaga¹⁾ and Takeo Juji¹⁾

- 1) Kanagawa Red Cross Blood Center, Kanagawa, Japan
- 2) Department of Research, Japan Red Cross Central Blood Center, Tokyo, Japan
- 3) Department of Transfusion and Immunohematology, University of Tokyo, Tokyo, Japan

HLA-Cw8 のサブタイプ “Cw8N” の塩基配列および

HLA-B 座との関連分析

中島 文明¹⁾, 石川 善英²⁾, 中村 淳子¹⁾, 岡野 俊生¹⁾, 森 知恵子¹⁾, 横田 敏和¹⁾, 林 玲^{2) 3)}, 徳永勝士²⁾, 十字 猛夫²⁾

- 1) 神奈川県赤十字センター, 検査課,
- 2) 日本赤十字中央血液センター, 研究一課,
- 3) 東京大学医学部附属病院, 輸血部,

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、出来上りA4版で2~4枚程度)を中心とする。もちろん、full article も歓迎する。また、新対立遺伝子、日本人に認められた希な対立遺伝子に関する報告も受け付ける。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.
- 1.1.1. 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 1.2. 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. Komatsu-Wakui M, Tokunaga K, Ishikawa Y, *et al.*: Wide distribution of the MICA-MICB null haplotype in East Asian. *Tissue Antigens* **57** (1): 1–8, 2001.
2. Tokunaga K, Imanishi T, Takahashi K, *et al.*: On the origin and dispersal of East Asian populations as viewed from HLA haplotypes. *Prehistoric Mongoloid Dispersals* (eds. Akazawa T, Szathmary

EJ), Oxford University Press, p. 187–197, 1996.

3. 徳永勝士，尾本恵市，藤井康彦ら：HLA に連鎖した遺伝標識に関するハプロタイプ調査，移植，**18**: 179–189, 1983.
4. 徳永勝士，大橋 順：疾患遺伝子の探索．わかる実験医学シリーズ「ゲノム医科学がわかる」(菅野純夫編)，羊土社，p. 48–55, 2001.

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

〒113-0033 東京都文京区本郷 7-3-1
 東京大学大学院医学系研究科
 人類遺伝学分野
 日本組織適合性学会誌 MHC
 編集長 徳永 勝士

TEL: 03-5841-3692

FAX: 03-5802-2907

E-mail: tokunaga@m.u-tokyo.ac.jp

編集後記

昨年の第13回組織適合性学会大会において大会長の発案により、抗体QCワークショップを行いました。HLA検査を日常的に行っている我々にしてみれば、抗原や遺伝子のタイピングと同様に抗体検査も重要な検査項目のひとつです。1990年代にタイピングは血清学的検査からDNA検査に遷移していきました。自家製試薬でHLAクラスII遺伝子の検出からはじまり、やがてクラスI遺伝子にも手を広げていきました。それはタイピング結果をより確実なものにしたいという一心からの行動であり、その間に市販試薬も追いつき今ではクオリティー・コントロールが確実に成された検査をあたりまえの様に行うことができるようになったのです。

一方、抗体検査ではそれを行うための様々な制約に悩まされていました。当然のことながら抗体の検出には抗原が必要であり遺伝子を調べても抗体は捕まえません。抗体を検出するにしろ同定するにしろ生細胞の抗原パネルが必要不可欠で、PRA (Panel-Reactive Antibody) 検査と呼ぶようにもなりました。検査法も抗原抗体反応を検出できる血清学的検査やELISAあるいはフローサイトメトリーなどありますが、一般的にはLCT法に頼らざるをえません。しかし、抗原パネルが手に入らなければPRA検査すら行えないという事実は同様でした。

最近になり、HLA精製抗原をTerasakiプレートやポリスチレン・ビーズに結合する技術が進歩し、それらを使用した市販試薬が誰でも入手できるようになり、このことが、抗体QCワークショップを実現できる契機となった訳です。この精製抗原はさらに進歩し、Single antigen typeなるものが登場しています。我々がこれまで扱ってきた抗原パネルは複数のローカスに各ローカスふたつの抗原があるということを常に意識して解析してきた訳ですが、そのような危惧？は全く必要なくなったということです。

さて、その検討結果ですがLCT法が補体を介した細胞障害性抗体のみを捕らえているのに対し、精

製抗原を用いた方法はストレートに結合した抗体のほとんどを捕らえているという違いを改めて認識させられたということです。感度は確かに後者の方が優れているようですが、LCT法が捕らえていない抗体がはたして臨床的にどれほどの影響をもっているのか定かではありません。現在のところ方法や感度の比較あるいは解析方法に重点がおかれてワークショップをおこなっていますが、今後は臨床データとの比較を試みていかなければならないと感じています。

抗体QCワークショップは本年より学会のQCワークショップ部会が担当し継続的に行える環境が整いましたので、ぜひとも皆様も参加していただきたいと願っています。 中島 文明

「MHC」バックナンバー

一冊¥2,000にて購入できます。学会事務局までお問い合わせ下さい。なお在庫僅少の号もありますので、万一品切れの際にはご容赦ください。

入・退会、所属・住所・連絡メールアドレス変更

各種の申請は、学会事務局で受け付けます。

日本組織適合性学会事務局

〒101-0062

東京都千代田区神田駿河台2-3-10

東京医科歯科大学 難治疾患研究所 分子病態分野内

電話 03(5280)8054

FAX 03(5280)8055

電子メール jshijimu.tis@mri.tmd.ac.jp

日本組織適合性学会ホームページ

学会活動に関する情報やHLA遺伝子の塩基配列情報が利用できます。

<http://square.umin.ac.jp/JSHI/mhc.html>

<http://jshi.umin.ac.jp/mhc.html>

MHC

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

2005年5月31日発行 12巻1号, 2005

定価 2,000円

発行 日本組織適合性学会(会長 木村 彰方)

編集 日本組織適合性学会編集委員会(編集担当理事 徳永 勝士)

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)

〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台2-3-10 東京医科歯科大学難治疾患研究所分子病態分野内

印刷・研究社印刷株式会社

〒352-0011 埼玉県新座市野火止7-14-8