

# MHC

日本組織適合性学会誌

## Major Histocompatibility Complex

Vol. 14 No. 1, 2007

### Contents

日本組織適合性学会からのお知らせ

編集委員長就任のご挨拶 .....	1
編集委員会からのお知らせ .....	2
第 16 回日本組織適合性学会大会のご案内 .....	3
平成 19 年度認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ .....	5
2007 年認定技術者・認定指導者更新手続きに関する通知 .....	6
組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿 (2007 年) .....	7

[シリーズ: MHC の比較ゲノム]

ウシ主要組織適合遺伝子複合体 (BoLA) の構造・機能・進化と疾患感受性 ..... 竹嶋伸之輔, 間 陽子	9
ブタ MHC 領域のゲノム解析—医学, 畜産学分野におけるゲノム解析研究の応用— ..... 安藤麻子	23

[シリーズ: 移植医療と組織適合性]

第 1 回

同種造血幹細胞移植の現状と免疫遺伝学の新たな課題 .....	一戸辰夫 39
臓器移植と MHC .....	水谷一夫 55
第 5 回日本組織適合性学会近畿地方会抄録 .....	71
日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定(改定) .....	81
編集後記 .....	84

● Contents ●

日本組織適合性学会誌 第 14 卷第 1 号 平成 19 年 5 月 31 日発行

日本組織適合性学会からのお知らせ

編集委員長就任のご挨拶 .....	1
編集委員会からのお知らせ .....	2
第 16 回日本組織適合性学会大会のご案内 .....	3
平成 19 年度認定 HLA 検査技術者講習会のお知らせ .....	5
2007 年認定技術者・認定指導者更新手続きに関する通知 .....	6
組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿 (2007 年) .....	7

[シリーズ: MHC の比較ゲノム]

ウシ主要組織適合遺伝子複合体 (BoLA) の構造・機能・進化と疾患感受性 ..... 竹嶋伸之輔, 間 陽子	9
ブタ MHC 領域のゲノム解析—医学, 畜産学分野におけるゲノム解析研究の応用— ..... 安藤麻子	23

[シリーズ: 移植医療と組織適合性]

第 1 回

同種造血幹細胞移植の現状と免疫遺伝学の新たな課題 .....	一戸辰夫 39
臓器移植と MHC .....	水谷一夫 55

第 5 回日本組織適合性学会近畿地方会抄録 .....	71
日本組織適合性学会誌 MHC 投稿規定(改定) .....	81
編集後記 .....	84

Major Histocompatibility Complex

Official Journal of Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics

JSHI



## 日本組織適合性学会誌「MHC」編集委員長就任のご挨拶

平成 19 年度から編集委員長を拝命いたしました。

近年、臓器移植や造血幹細胞移植の臨床現場では、クロスマッチ検査の重要性が高まっています。特に腎臓移植では免疫抑制療法の進歩によって組織適合性の価値が疑問視される時期もありました。しかし最近 10 年間の FACS クロスマッチおよび Flow PRA などの検査法の進歩と普及、そして血漿交換、免疫グロブリン大量療法、抗 CD20 抗体などを用いた既存抗体陽性症例に対する予防法・治療法が開発され、臓器移植における抗体検査の免疫学的意義が明確になりました。

現在、日本組織適合性学会は基礎系中心の学会と認識されています。学会誌としての「MHC」も、基礎的内容の学術誌と理解されています。

私の責務は「MHC」を基礎と臨床の統合した学術誌にすることです。具体的には、基礎的な内容の質と量は維持しつつ、臨床面での内容を充実させることです。そして臨床の会員(読者)が読めば、MHC の基礎的研究の意義を理解でき、基礎分野の会員が読めば日頃の検査・研究の成果が臨床でどのように生かされているかを認識できる学術誌とすることです。

さらに従来原著論文に加え、short communication 的な短報論文を新たに設け論文投稿の間口を広げるべく投稿規定も変更いたします。

最初の企画として、造血幹細胞移植と臓器移植のトピックス[シリーズ: 移植医療と組織適合性]を毎号各 1 つずつ、世界のエキスパートに解説していただきます。

本号から開始します。ご期待ください。

大阪大学大学院医学系研究科・先端移植基盤医療学  
高原 史郎



## 日本組織適合性学会誌 MHC 編集委員会

### 編集委員長

高原 史郎 大阪大学大学院医学系研究科先端移植基盤医療学

### 編集委員

赤座 達也 特定非営利活動法人 HLA 研究所  
一戸 辰夫 京都大学医学部附属病院血液腫瘍内科  
江川 裕人 京都大学医学部附属病院臓器移植医療部  
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  
佐治 博夫 特定非営利活動法人 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  
下嶋 典子 奈良県立医科大学細菌学教室  
椿 和央 近畿大学医学部奈良病院血液免疫内科  
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  
難波 行臣 兵庫県立西宮病院泌尿器科

### 編集協力者

安藤 麻子 東海大学医学部基礎医学系分子生命科学  
石川 善英 日本赤十字社血液事業本部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  
猪子 英俊 東海大学医学部分子生命科学系遺伝情報部門  
太田 正穂 信州大学医学部法医学教室  
大谷 文雄 北里大学医学部免疫学講座  
小河源 悟 福岡大学病院腎臓・膠原病内科  
小幡 文弥 北里大学医療衛生学部免疫学  
柏瀬 貢一 東京都赤十字血液センター検査部  
小林 賢 日本薬科大学 生物学研究室  
酒巻 建夫 国立病院機構千葉東病院 HLA 検査室  
杉谷 篤 九州大学大学院医学系研究科臨床腫瘍外科学分野  
千住 覚 熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学分野  
田中 秀則 東京都赤十字血液センター検査部  
田邊 一成 東京女子医科大学泌尿器科  
徳永 勝士 東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野  
中島 文明 日本赤十字社中央血液研究所研究開発部  
永尾 暢夫 神戸常盤短期大学衛生技術科  
西村 泰治 熊本大学大学院医学薬学研究部免疫識別学講座  
平山 謙二 長崎大学熱帯医学研究所環境医学部門疾病生態分野  
森島 泰雄 愛知県がんセンター中央病院  
安波 道郎 長崎大学熱帯医学研究所国際連携研究戦略本部  
屋部登志雄 日本赤十字社中央血液センター製剤部

## 第16回 日本組織適合性学会大会のご案内

第16回 日本組織適合性学会大会  
 大会長 赤座 達也

初夏の候、皆様には益々御清祥のこととお慶び申し上げます。

第16回日本組織適合性学会大会を下記の要領で開催致します。今大会は、「MHCと抗体の新時代—臨床への展開」をテーマとしますので、会員の皆様の多数のご参加をお待ち致しております。

会 期： 2007年9月9日(日)～9月11日(火)

会 場： ばるるプラザ京都

京都市下京区東洞院通七条下ル東塩小路町 676 番 13 (JR 京都駅北口東横)

TEL: 075-352-7444

### 大会内容(いずれも予定)

1. Terasaki シンポジウム 「エピトープによる抗体特異性解析の基礎と臨床応用」(仮題)
  - 1) 基調講演 P.I.Terasaki Terasaki Foundation Laboratory  
 「HLA epitopes and their role in alloimmunization」
  - 2) 報 告 基礎的検討・妊娠・輸血・移植における抗体のエピトープレベルの解析の試み
2. ワークショップ:「ようこそ組適塾へ!」: 移植医療(臓器移植と造血幹細胞移植)の症例について、主治医からの質問を、会場の参加者がクイックレスポンスで回答し、集計した結果を表示します。それを司会者とコメンテーターが解説し、参加者と共に討論する新しい方式のワークショップを目指します。
3. 特別講演: 木村 彰方 東京医科歯科大学・難治疾患研究所・難治病態研究部門  
 「難治性循環器疾患の病因と病態形成機構の解明に向けて」  
 特別講演: 徳永 勝士 東京大学医学部人類遺伝学講座  
 「HLA の多型性に学ぶ」
4. 一般演題・学術奨励賞発表
5. QC ワークショップ (DNA タイピング部門, 抗体部門), 認定技術者講習会
6. イブニングセミナー
7. ランチョンセミナー, その他

### 参加登録費

参加費は事前登録を行います。

	理事・評議員	会員・非会員
事前登録(2007年7月31日受付まで)	¥8,000	¥6,000
当日参加(2007年8月1日以降)	¥10,000	¥8,000

事前登録参加費は下記の銀行口座に振り込みをお願いします。入金確認後、大会事務局より参加証の引き換え券を郵送致します。参加証(領収書兼用)は、当日学会受け付けにてお渡し致します。なお、お振り込みの際には、お名前を、複数の場合はその人数分の名前をご記入願います。

(振込先) UFJ 銀行 東松原支店  
普通 口座番号 3746449  
第 16 回日本組織適合性学会大会事務局 赤座達也

#### 懇親会

2007 年 9 月 10 日(月) 18:30 (予定)より懇親会を開催致します。奮ってご参加ください。

#### 宿泊・交通について

本大会の宿泊、交通に関しましては、各自ご手配願います。京都市内のホテルは混雑が予想されますので、お早めに予約されることをお勧め致します。

#### 大会事務局

本大会に関するお問合せは、下記の大会事務局にお願いいたします。  
〒606-8396 京都市左京区川端丸太町下ル下堤町 82  
特定非営利活動法人 HLA 研究所  
第 16 回日本組織適合性学会大会 事務局  
Tel: 075-762-5201 FAX: 075-762-5202 E-Mail: 16jshi-jimu@hla.or.jp

#### その他

大会情報は今後の MHC 誌上、および日本組織適合性学会ホームページで随時更新いたします。

## 組織適合性検査技術者認定制度 平成 19 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 19 年 9 月 9 日(日) 16～18 時ごろの予定(詳細は次号ならびに学会ホームページにて御案内いたします。)

場 所：ばるるプラザ京都(京都市下京区東洞院通七条下ル東塩小路町 676 番 13 JR 京都駅北口東横)

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、35 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) 臓器移植と HLA——組織適合性検査と HLA 抗体——  
佐藤 壯 先生 (札幌北楡病院・臨床検査科)
- (2) 骨髄バンクにおける HLA 適合の考え方  
加藤 和江 先生 (日本赤十字社 中央骨髄データセンター)
- (3) 造血幹細胞移植の臨床  
日野 雅之 先生 (大阪市立大学大学院医学研究科 血液病態診断学)

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 19 年 7 月 31 日(月)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。テキストは、申込数に応じて作成し、申込者に優先して配布します。そのため当日の申し込み者については、テキストの配布を受けられない場合がありますことを、あらかじめご了承ください。なお参加費は平成 19 年 8 月 31 日(木)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 19 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。

### 平成 19 年度認定 HLA 検査技術者講習会 受講申込書 (学会ホームページ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



## 2007年認定技術者・認定指導者更新手続きに関する通知

日本組織適合性学会・組織適合性技術者認定制度委員会  
委員長 佐田 正晴

既に更新手続きに関しては JSHI ホームページおよび MHC 誌 Vol. 13, No. 3, 2007 に掲載されているところですが、今年は 2002年(平成14年) に特例認定を受けた、認定検査技術者および認定指導者の更新年にあたります。

認定制度が開始されてから初めての更新のため、種々混乱が予想されますが、更新申請のための書類提出に関していくつかの変更・留意点がありますので、お知らせします。

### 1. 申請書類提出期限の延長について

当初、提出締め切り日を 4月13日(金)としていましたが、MHC 誌の発行からの期間が短いため、これを **6月29日(金)事務局必着**に変更します。

### 2. 更新申請要領の訂正について

MHC 誌 Vol. 13, No. 3, 2007 の P. 179 「4. 提出書類」の記載に誤りがありました。

- 認定 HLA 検査技術者更新者申請書類は **様式 4, 様式 2 の 1~6** です。
- 認定組織適合性指導者更新者申請書類は **様式 5, 様式 2 の 1~6** です。

### 3. 貼付用台紙(様式 2 の 5)への添付書類について

学会参加証, QCWS 参加証, 講習会参加証などを事務手続きのために提出したり誤って廃棄したため原本を貼付出来ない場合は、コピーでも構いません。また、学会, QCWS 集会, 講習会に参加したものの参加証原本もコピーも保管していない場合は、その旨を台紙(様式 2 の 5)に記載して下さい。

### 4. QCWS 参加の扱いについて

QCWS への参加と学会期間中に開催される QCWS 集会への参加を誤解釈されている認定指導者の方がおられます。

認定検査技術者および認定指導者の認定更新には、前年度までの 5 年間に QCWS への参加(指導者の場合は 集会のみの参加も可)が必須となっていますので、お間違いなきようお願いいたします。今回の更新対象となる方々について言えば、平成 14 年の第 6 回 QCWS (QCWS 集会)から平成 18 年の第 10 回 QCWS (QCWS 集会)のいずれかへの参加が必須です。

\*その他、更新手続きに関して不明な点がありましたら、組織適合性技術者認定制度事務局まで、原則としてメール(jshiqcws.tis@mri.tmd.ac.jp)にてお問い合わせ下さい。

## 組織適合性技術者認定制度委員会・部会名簿 (2007年)

### 組織適合性技術者認定制度委員会

委員長：佐田 正晴

副委員長：小林 賢

委員：赤座 達也，石川 善英，猪子 英俊，太田 正穂，木村 彰方，酒巻 建夫，佐治 博夫，  
田中 秀則，中島 文明，成瀬 妙子，西村 泰治，徳永 勝士

### 資格審査部会

部会長：小林 賢

副部会長：田中 秀則

部員：柏瀬 貢一，中島 文明，成瀬 妙子

### 教育部会

部会長：西村 泰治

副部会長：成瀬 妙子

部員：太田 正穂，小河原 悟，木村 彰方，小林 賢，酒巻 建夫，佐治 博夫，佐田 正晴，  
徳永 勝士，中島 文明，平山 謙二，丸屋 悦子

### 試験問題検討部会

部会長：太田 正穂

副部会長：石川 善英

部員：石谷 昭子，大橋 順，小河原 悟，柏瀬 貢一，木村 彰方，小林 賢，高原 史郎，  
田中 秀則，徳永 勝士，中島 文明，西村 泰治，平山 謙二，丸屋 悦子，屋部 登志雄

### QCワークショップ部会

部会長：木村 彰方

副部会長：成瀬 妙子

DNA部門長：酒巻 建夫

DNA副部門長：安波 道郎

抗体部門長：赤座 達也

抗体副部門長：中島 文明

部員：太田 正穂，柏瀬 貢一，小林 賢，田中 秀則，佐田 正晴，丸屋 悦子



## ● 総 説 ●

# [シリーズ: MHC の比較ゲノム] ウシ主要組織適合遺伝子複合体 (BoLA) の構造・機能・ 進化と疾患感受性

竹嶋伸之輔, 間 陽子

理化学研究所 中央研究所

**要約:** ウシはヒトの感染症と大変に類似した感染症を発症することから、感染症のモデル動物としての可能性も指摘されている。ウシ主要組織適合抗原 (BoLA) をはじめとした反芻動物の MHC 領域はヒトやマウスと同様にクラス I, クラス II およびクラス III 領域が存在し、その領域を構成する遺伝子も保存されている。一方で BoLA 領域には興味深い特徴として、クラス II が IIa と IIb の二つの領域に大きく分断されていることが挙げられる。クラス IIa には DR, DQ 等の古典的クラス II 分子をコードする遺伝子が、IIb には非古典的クラス II 分子や TAP, LMP といった細胞内での抗原提示機構を担う分子が集まっている。また、ウシクラス II の特徴として、ヒトやマウスとは異なり DP 分子が存在しないこと、および反芻動物に特異的に存在が認められる DY 分子が存在する事などがある。この BoLA のアレル頻度はウシ品種ごとに大きく異なっていることを示し、さらにウシと他の動物種との比較した結果、BoLA は特に強い正の選択圧を受けていることが示唆された。BoLA と疾患との相関は様々な感染症において指摘されているが、地方病性牛白血病および乳房炎については両者とも BoLA-DRB3 および DQA1 のハプロタイプが疾患感受性とよく相関していることが見いだされた。

**キーワード:** ウシ主要組織適合抗原 (BoLA), 疾患感受性, 機能発現, ゲノム構造, 進化解析

## 1. はじめに

四肢の先端に 2 つに割れた蹄をもつ偶蹄目は 6000 万年前に奇蹄目と同じ祖先から別れて、現在ではブタ、ラクダ、カバ、シカなど様々な動物が属している大きなグループを形成している。中でも世界中で最も個体数が多いものがウシである。偶蹄目の多くは 4 つの胃を持ち、一度食べた物を吐き戻し、嘔み返すという反芻によって消化する反芻目目に属している。第一胃には多くの微生物が生息し、その発酵により他の哺乳動物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できるようになってきている。このような特徴がウシおよび反芻動物の免疫機構にどのような影響を与えているのかは明らかとなっていないが非常に興味深い。また、ウシの特徴として、エイズやウイルス性白血病といった、ヒトと類似した感染症を発症し、その症状もよくヒトと類似しているということが挙げられる。またウシは主要な畜産動物であることから、その研究成果は経済や食の安全に与える影響も多大である。さらにスイギュウやヒツジ、ブタなどウシに近縁な

筆者連絡先 〒351-0198 埼玉県和光市広沢 2 丁目 1 番  
理化学研究所 中央研究所 辻本細胞生物学研究室(分子ウイルス)  
間 陽子

電話 048-462-4408  
FAX 048-462-4399  
E-mail aida@riken.jp



動物の研究の進展も著しいことから、実験動物としての利用価値も高まる可能性もある。このような中、筆者らはウシの免疫応答の解明を目指して、その最も中心となるウシ MHC (BoLA) 領域の研究を行ってきた。本稿では、最新の知見を交えながら、BoLA のゲノム構造と発現、疾患との関係性および品種間や他の動物との比較を通して BoLA 研究を紹介したい。

## 2. ウシ MHC (BoLA) のゲノム構造と発現

ヒト MHC (HLA) 領域やマウス MHC (H2) 領域は、クラス I, クラス II およびクラス III の三つの領域が染色体上の約 4000kb に渡る領域に集中して存在している。一方、BoLA 遺伝子領域はウシ第 23 番染色体に位置し、セントロメア側からクラス IIb, クラス IIa, およびクラス I/III 領域から構成されている (図 1A)。その最大の特徴はクラス II 領域が大きく分断されていることである。ウシゲノムプロジェクトは米国を中心として、2003 年よりヘレフォード種を基幹種として開始され、2004 年にはド

ラフトシーケンスが公開された。しかしながら、非常に多くの重複遺伝子が高密度にマップされている BoLA 領域の正確なシーケンスは明らかとなっておらず、詳細な情報が得られているのは現在クラス IIb 領域のみである<sup>1)</sup>。

### 2.1 BoLA クラス I 領域

BoLA クラス I の血清学的タイピングのための国際ワークショップが 1979 年から 1996 年にかけて開催され、その間に 50 以上の血清型が見いだされた<sup>2)</sup>。クラス I 遺伝子のアレル番号は、遺伝子座を決定することが困難であることから遺伝子座ごとには分けずに、全てのアレルを N\*00101 といった N に続く 5 桁の統一番号で表している<sup>3)</sup>。現在では N\*50001 以降アレル番号がついている非古典的クラス I 配列 9 シーケンスと 2 つの偽遺伝子を含めて、62 の異なったクラス I の塩基配列が IPD MHC database に登録されている (表 1) (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/bola/nomenclature.html>)。これらのアレルは一部を除いて血清学的タイピングとの関連性も公開さ

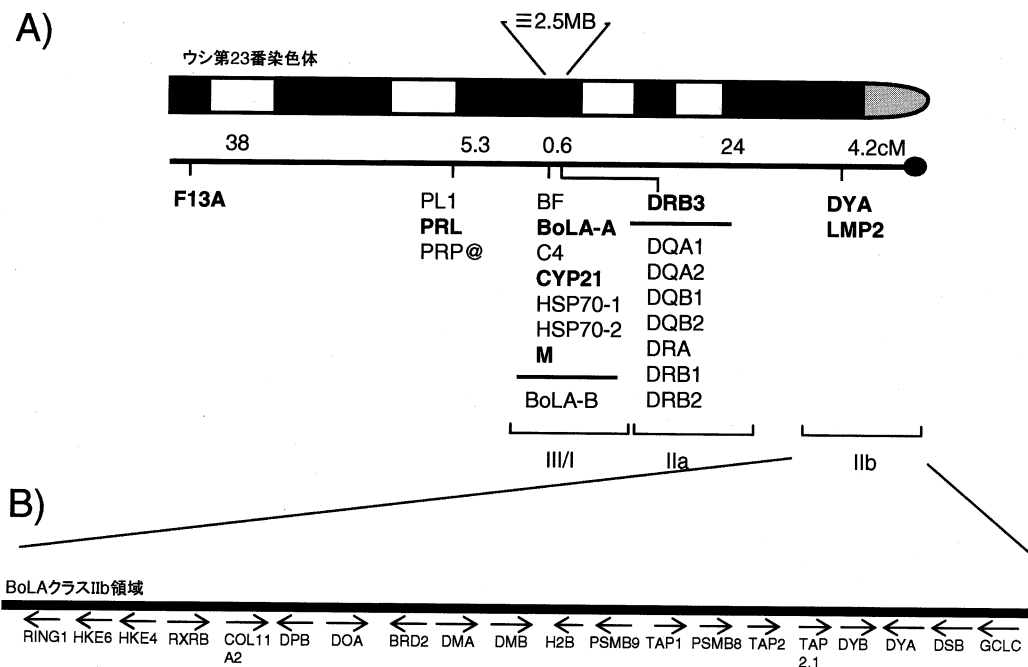


図 1 ウシ第 23 番染色体の遺伝子構成。A) 遺伝子地図。Illinois Reference/Resource Families の遺伝子距離を使用した。遺伝距離の表示にはセンチモルガン (cM) を使用した。太字の遺伝子は実際に使用したマーカー。B) BoLA クラス IIb 領域のゲノムシーケンスに基づく遺伝子構成。矢印は遺伝子の方向を示す。

表1 BoLA クラス I 全長の塩基配列

配列名称	抗 BoLA 抗体に対 する特異性	配列名称	品種	アクセシ ョン番号
N*00101	A10	5.1	Boran	M69206
N*00102	A10	JSP.2	Boran	DQ001408
N*00103	A10	JSP.3	N'Dama	DQ001409
N*00201	A10	JSP.1	Holstein	X92870
N*00301	KN104	KN104	Boran	M69204
N*00401	A33	BL3-6	Hereford	M21044
N*00402	A2/A30	BSA	Angus	L02832
N*00501	A33	BL3-7	Hereford	M21043
N*00601	A2/A30	BSF	Angus	L02834
N*00602	A17	BSFv	Holstein	DQ304657
N*00701	A2/A30	BSX	Angus	U01187
N*00801	A17,A12(A30)	MAN1	Angus,	AJ010863
	A12(A30)	AH12-B	Holstein	DQ140357
	C15(A30)	AH60-B		DQ140376
N*00802	A2/A30	BSN	Angus,	DQ304658
	A17		Holstein	L02835
N*00901	A15	A15.1	Holstein	AY960156
N*01001	A2/A30	BSC	Angus	L02833
N*01101	A10/A11	pBoLA-1	Holstein	M24090
N*01201	A10	A10.2	Holstein	DQ304655
		T2a		AB245424
N*01301	A18(A6)	HD6	Holstein	X80934
N*01302	A18	4321	Holstein	DQ001407
N*01401	A19(A6)	MAN2	Angus,Holstein	AJ010861
N*01402	A19(A6)	AH19-B	Holstein	DQ140358
N*01501	A17(A6)	3349.1	Holstein	AJ010862
N*01502	A17	3349.1v	Holstein	DQ304656
N*01601	A19(A6)	MAN8,	Holstein	AJ010866
		AH19A		DQ140359
N*01701	A11	D18.2,	Holstein	DQ140360
		A11-A		Y09206
N*01801	A11	D18.3	Holstein	Y09207
N*01802	A11	AH11-B	Holstein	DQ140361
N*01901	A12(A30)	4221.1,	Holstein	AJ010865
		AH12-A		DQ140362
N*02001	A12(A30)	MAN3	Angus	AJ010864
N*02101	A31(A30)	HD1	Holstein	X80933
N*02201	A31(A30)	HD7	Holstein	X80935
N*02301	A14	D18.4	Holstein	Y09208
N*02401	A14,A15	D18.1	Holstein	Y09205
N*02402	KN12	E223.2	Boran	AY188803
N*02501	A14,A15	D18.5	Holstein	AJ010867
N*02601	A20	A20.1	Holstein	DQ112553
N*02602	A20	AH20-A	Holstein	DQ140363
N*02701	A20	A20.2	Holstein	DQ124874
N*02702	A20	AH20-B	Holstein	DQ140364
N*02801	KN12	E223.1	Boran	AY188802
N*02901	A25	E55.1		AY188804
N*03001	A25	E55.2		AY188805
N*03101	A13	AH13-A	Holstein	DQ140365
N*03201N	A13	AH13-B	Holstein	DQ140366
N*03301N	A11	AH11-C	Holstein	DQ140367
N*03401	c15(A30)	AH60-A	Holstein	DQ140368
N*03501			Holstein	DQ190936
N*03601			Holstein	DQ190937
N*03701			Holstein	DQ190938
N*03801			Holstein	DQ190939
N*03901			Holstein	DQ369725
N*04001	A14	Gene Z	Holstein	DQ425110
N*04101			Jersey	AB259012
N*50001	Many	Gene X	Holstein	AY188807
N*50002	A19(A6)	AH19-D	Holstein	DQ140369
N*50003	A12(A30)	AH12-D	Holstein	DQ140370
N*50101	Many	HD15	Holstein	X80936
N*50102	A19(A6),	AH19-C,	Holstein	DQ140372
	A11	AH11-D		DQ140377
N*50201	A19(A6),	AH19-K,	Holstein	DQ140373
	A11	AH11-K		DQ140378
N*50301	A12(A30)	AH12-C	Holstein	DQ140374
N*50401	A11	AH11-G	Holstein	DQ140375
N*50501	A11	AH11-E	Holstein	DQ140371

れている。現在、BoLA クラス I 領域には 10 以上のクラス I 遺伝子と偽遺伝子がマップされている。また、Holmes ら<sup>4)</sup>は、cDNA の系統樹解析によりクラス I 分子は、膜貫通ドメインおよび細胞内領域のアミノ酸配列が遺伝子によって異なっており、判別可能であることを示し、少なくとも 6 種類の発現可能なクラス I が存在することを明らかにした。

ヒト MHC 領域において HLA-A、-B、および -C の三つの多型的なクラス I 分子が一つのハプロタイプに存在することが知られている。では、ウシでは同一ハプロタイプにはいくつの古典的クラス I 分子が発現しているのだろうか？ 筆者らは、ウシ B 細胞腫瘍細胞由来 KU-1 細胞の cDNA ライブラリーを用いた実験を行った。このライブラリーから、DMA、DMB、DRA、DRB3、DQA1、DQA2、DQB1 および DQB2 の mRNA を単離したが、いずれもホモであったことから、KU-1 細胞由来のウシは MHC 領域がホモであると考えられた。このライブラリーより我々は 2 つの古典的クラス I 遺伝子の mRNA を単離し、一つのハプロタイプに少なくとも 2 つのクラス I 遺伝子が発現していることを見いだした(未発表データ)。また、Ellis ら<sup>5)</sup>は MHC クラス I ホモのウシを調べた結果、1 ハプロタイプあたり 1 種類から 3 種類の古典的クラス I 分子が発現している事を報告している事からも、ウシではハプロタイプによって、クラス I 遺伝子の発現数が異なっていることが示されている。

## 2.2 BoLA クラス II 領域

BoLA 領域を含む反芻動物の MHC クラス II 領域は、ヒトやマウス等の他の哺乳動物と大きく異なる。最も大きな点はクラス II 領域が IIa と IIb に大きく分断されていることである。もう一点の特徴は、ヒト DPA、DPB に相当すると考えられる遺伝子は見つかっておらず、その代わりにヒト遺伝子との対応不明で反芻動物に特異的な DYA、DYB 遺伝子がある事である。これらの結果から、ヒトとは異なる反芻動物に特異的な免疫応答の存在する事が示唆されている。

### 2.2.1 クラス IIb 領域

ウシクラス IIb 領域は IIa やクラス I/III などが存

在する MHC 領域から大きくセントロメア側に離れた場所に存在している。我々の研究室では、このクラス IIb 領域にマップされる遺伝子として初めて、DMA および DMB の cDNA の単離に成功した<sup>6)</sup>(表 2)。DM 分子は DR 分子に結合しているインバリエント (Ii) 鎖由来の CLIP を外して、抗原ペプチドを結合させる分子である。我々はこの Ii 鎖も同時に単離して解析を行った結果、DM との結合に重要な残基はウシ、ヒト、マウスおよびラットで完全に保存されていることを見いだした<sup>7)</sup>。さらに、これらの残基と相互作用する DR $\alpha$  鎖のアミノ酸配列および DM $\alpha$  鎖のアミノ酸配列も高度に保存されていたことから、ウシもヒトと同様の MHC クラス II 抗原を介する抗原提示経路を有することを初めて明らかにした。さらに B 細胞において DM 分子の機能を制御する DO 分子をコードする DOA および DOB の単離に成功した (Takeshima *et al.*, 投稿準備中)。古典的 MHC クラス II は Class II MHC transactivator (CIITA) と呼ばれるトランス活性化因子により転写活性化される事が知られている。ヒトやマウスにおいて、DOA 遺伝子は CIITA により制御されているが DOB 遺伝子の転写機構は DOA や古典的クラス II 遺伝子とは異なっており、DOB 鎖が B 細胞などにしか発現しないことから DO 分子が他の細胞に存在しないことの原因となっている。そこで、KU-1 細胞およびウシ末梢血リンパ球におけるウシ DOA 遺伝子および DOB 遺伝子の発現量を確かめたところ、ヒト、マウスと異なり DOB 遺伝子の発現量は一定であったが、DOA 遺伝子は KU-1 細胞では発現しておらず、末梢血リンパ球でも非常に発現量が変動していることを突き止めた。KU-1 細胞では、DRB3、DRA、DQA および DQB といった古典的クラス II 遺伝子は発現していることから、ウシでは DOA 遺伝子の発現が CIITA 依存性ではない可能性が示された。今後、その転写開始部位の詳細な解析が必要であろうと考えられる。さらに我々はトランスポーター遺伝子である TAP1 および TAP2 遺伝子の cDNA の単離にも成功し、TAP 遺伝子が多型的であることを見いだしている(未発表データ)。

一方で最近、クラス IIb 領域約 450 kbp はゲノムシーケンスが公開され、その遺伝子構成が明らか

表2 BoLA クラス II 遺伝子の構造と特徴

遺伝子名	分子構造	参考文献*
BoLA クラス IIa		
BoLA-DRA	229 aa からなる成熟蛋白質をコードする。α2 ドメインの 118 番目の糖鎖付加部位が欠損している。多型なし。	8
BoLA-DRB1	偽遺伝子 (β1 と膜貫通ドメインに停止コドンが存在)。多型性は低い (2 アリル)	23
BoLA-DRB2	発現が低い。β 1 ドメインの 19 番目の糖鎖付加部位が欠損。多型なし。	23
BoLA-DRB3	高発現。238 aa からなる成熟蛋白質をコードする。高度な多型性 (103 アリル)	9, 23
BoLA-DQA1	232 aa からなる成熟蛋白質をコード。高度な多型性 (31 アリル)	12, 23
BoLA-DQA2	232 aa からなる成熟蛋白質をコード。高度な多型性 (13 alleles)	11, 23
BoLA-DQA3	232 aa からなる成熟蛋白質をコード。高度な多型性 (2 alleles)	23, 24, 25
BoLA-DQA4	232 aa からなる成熟蛋白質をコード。多型なし。	23, 25
BoLA-DQA5	232 aa からなる成熟蛋白質をコード。多型なし。	23, 26
BoLA-DQB1	229 aa からなる成熟蛋白質をコード。	10, 23
BoLA-DQB2	229 aa からなる成熟蛋白質をコード。	10, 23
BoLA-DQB3	229 aa からなる成熟蛋白質をコード。	23, 27
BoLA-DQB4	229 aa からなる成熟蛋白質をコード。	23
BoLA-DQB5	229 aa からなる成熟蛋白質をコード。	28
BoLA クラス IIb		
BoLA-DMA	234 aa からなる成熟蛋白質をコード。転写されている。多型なし。	6, 23
BoLA-DMB	244 aa からなる成熟蛋白質をコード。転写されている。多型なし。	6, 23
BoLA-DOA	250 aa からなる成熟蛋白質をコード。転写されている。多型なし。	23, 未発表
BoLA-DOB	271 aa からなる成熟蛋白質をコード。転写されている。多型なし。	23, 未発表
BoLA-DYA	253 aa からなる成熟蛋白質をコード。一部の細胞で転写されている。低い多型性 (3 アリル)。	23, 29
BoLA-DYB	259 aa からなる成熟蛋白質をコード。一部の細胞で転写されている。多型なし。	23, 29
BoLA-DSB	EST データベースにより転写されていることを確認。	1
TAP1	転写されている。一部の塩基配列が決定されている。	未発表
TAP2	720 aa からなる成熟蛋白質をコード。転写されている。多型あり (2 アリル)。	23, 30, 未発表
TAP2.1	転写の確認はされていない	1
PSMB8(LMP2)	プロテアソーム関連シークエンス。一部のゲノム配列が決定。発現。	23, 31
PSMB9(LMP7)	プロテアソーム関連シークエンス。一部の cDNA 配列が決定。発現。	23, 31, 32

となり、その一部については発現も確認された<sup>1)</sup>(図 1B, 表 2)。この領域には、DMA と DMB の他に抗原のプロセッシングに参与する PSMB8 (proteasome subunit beta type 2, C7-I) と PSMB9 (proteasome subunit beta type 8, LMP7), TAP1, TAP2, DOA, DOB, DYB が同定されている。また、新たに DRB 遺伝子と非常に相同性の高い DSB 遺伝子の存在が確かめられた。この遺伝子はウシ EST データベース見いだされることから、転写されていることが示唆されている。また、他の反芻動物には見られないウシに特有の遺伝子として TAP2.1 が見いだされている。TAP2.1 は、該当する遺伝子が EST データベースでは未だ登録されておらず、その転写

および発現は確かめられていない。しかし、TAP2.1 はウシと近縁なヒツジやヤギでも見いだされておらず、ウシおよびスイギュウでのみ見つかっていることから、比較的最近生成した遺伝子であると考えられている。また、ゲノムシーケンスにより新たに反芻動物には存在しないとされる DPB exon 3 遺伝子の一部も見いだされていることから、反芻動物に進化する際に MHC クラス II 領域が分断され、切断点で逆位を起し、DP 遺伝子が消失したことが示唆されている。新たに見つかった DSB 遺伝子は DRB 遺伝子と最もホモロジーが高く、DYA および DYB は DQA および DQB とホモロジーが高いことから、DRB-DQA-DQB ハプロタイプがゲノム転移の際に



表3 トランスフェクタントに発現した BoLA クラス II の特徴

方法	トランスフェクタント				
	DRA: DRB3	DQA1: DQB1	DQA1: DQB2	DQA2: DQB1	DQA2: DQB2
抗 BoLA クラス II 抗体による間接蛍光抗体法	+a	-	+	+	+
抗 BoLA クラス II 抗体によるフローサイトメトリー解析	+	-	+	+	+
リンパ球混合反応 (MLR)	3,328 <sup>b</sup>	ND <sup>c</sup>	ND	1,450	1,720

<sup>a</sup>+, 陽性; -, 陰性

<sup>b</sup> 単位は一分あたりのカウント(cpm). 正常な COS-1 細胞の平均は 1,528cpm.

<sup>c</sup>ND, 検出不可

遺伝子重複を起こし, DSB-DYA-DYB 遺伝子が生じたことが示唆されている。

### 2.2.2 クラス IIa 領域

クラス IIa 領域には DR と DQ の各遺伝子亜領域がマップされている。DR 遺伝子亜領域には, セントロメア側から DRB1-DRB2-DRB3-DRA の順に各遺伝子が位置しており, 一方, DQ 遺伝子領域には現在までに DQA と DQB 遺伝子が各 5 個ずつ同定されている。DQA と DQB 遺伝子は, ハプロタイプによって数や構成が異なっており, 一つあるいは二つの DQ 分子を形成している(表 2)。

このように複数の発現遺伝子と偽遺伝子が密に連鎖して存在している BoLA クラス II 遺伝子群の中で, 多型性に富み, 機能的にも重要な遺伝子座を同定した。著者らが研究を開始した 1993 年には, BoLA クラス II 遺伝子の一部の塩基配列が決定されているだけで, その遺伝子構成, 発現および機能についての情報は皆無といっても過言ではなかった。そこで, HLA クラス II 遺伝子の cDNA をプローブとするコロニー・ハイブリダイゼーション法および PCR 法によって, ウシ B リンパ腫細胞株の cDNA ライブラリーから,  $\alpha$  鎖および  $\beta$  鎖のコード領域全長をカバーする複数の cDNA を単離<sup>8, 9, 10, 11, 12</sup>), 様々な組み合わせで COS-1 細胞に一過性に導入し, それらの発現と抗原提示能を調べた<sup>13</sup>)。その結果, BoLA-DR 遺伝子亜領域には, 偽遺伝子である BoLA-DRB1 と-DRB2 の他に, BoLA-DRA との組み合わせにより細胞表面への発現と強い抗原提示

能を誘導できる BoLA-DRB3 の存在が確認された。BoLA 遺伝子の中でこの DRB3 が, 最も機能的で多型に富んでいることが明らかになっており, 現在までに 103 の対立遺伝子が見出されている(表 3)。一方, BoLA-DQ 遺伝子座には, 弱い抗原提示能を持つ DQ 分子をコードする, BoLA-DQA1, -DQA2, -DQB1 および -DQB2 の存在が証明された。興味深いことに, ウシにおいて機能遺伝子である BoLA-DQA2 と -DQB2 は, ヒトにおいては mRNA や蛋白レベルでの発現が確認されていないことが明らかとなった。また, ヒト DR 遺伝子座には機能蛋白をコードする遺伝子が複数存在するが, ウシでは DRB3 のみであることも示された。

### 3. 日本で飼育されているウシにおける BoLA-DRB3 アリルの多様性と進化解析

筆者らの研究室にて開発した PCR-SBT 法を用いて, BoLA-DRB3 の一般的なアリル頻度を, 日本に広く分布している 4 品種, ホルスタイン, 日本短角, ジャージー種および黒毛和種のゲノム DNA に絞って解析を行い, 各品種によって最も高頻度に認められるアリルが異なっていることを明らかにした<sup>14, 15</sup>)。どの品種もヘテロ接合度は 88.7%~94.1% と非常に高かったことから, 少なくとも BoLA-DRB3 遺伝子は, 日本で飼育されているウシにおいては非常に良くその多様性が維持されていることが推察された。さらに, アリルの塩基配列を元に系統樹を作成したところ, 品種に特異的に認められたアリルは特定の

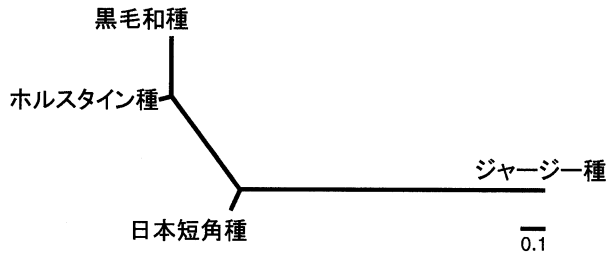


図2 BoLA-DRB3 遺伝子のアレル頻度に基づく黒毛和種、ホルスタイン種、ジャージー種および日本短角種の無根系統樹。遺伝子距離は Nei's genetic distance 法を使用して計算し、Neighbor-joining 法により系統樹を構築した。

クラスターを形成しなかった。このような結果は、品種間に塩基配列による特徴は存在しないということを示唆している。さらに、アレル頻度に基づき4品種の遺伝距離を算出し、系統樹を作成した(図2)。ホルスタインと黒毛和種は4品種の中で最も近縁で、ジャージー種は他の3品種とかなり離れていることが明らかとなった。本研究において、種特異的なアレルが認められる一方、品種間で共通なアレルも存在することから、同一の祖先から分岐した4品種が、それぞれ独自の選抜を受けて異なるアレル頻度を持つに至った可能性が示唆された。

本研究で用いた4品種のうち、ホルスタイン種およびジャージー種は海外からの輸入品種であり、MHCの頻度は日本特有ではないと考えられる。一方、日本短角種および黒毛和種は、国内のウシに、明治以降海外の様々なウシを掛け合わせて作成された品種であり、日本特有の特徴と外国種の特徴を併せ持っていると考えられる。これらの中で、ホルスタイン種と黒毛和種は、他の2品種と比較しても圧倒的に国内の飼育頭数が多い品種であり、これらが似通った頻度を示したのは、この2種が日本の飼育環境に最も適応した結果であるかもしれない。

#### 4. MHC クラス II DR 分子の進化的手法による比較解析

ウシ品種間の DR の多様性の特徴は示されたが、ウシと他の動物のクラス II はどの様に異なるのだろうか？ 我々はこのことを調べるために、哺乳動物間で高度に保存されている DR 分子に着目し、そ

の構造上の特徴を進化的手法を用いて解析した。古典的 MHC クラス II 分子である、DR, DQ および DP は、立体構造上非常に似通っており、種間の機能の違いが明らかとするのは困難である。そこで我々は哺乳類間でもっともよく保存されている DR 分子のペプチド収容溝を形成する  $\beta$ 1 ドメインに注目し、進化的手法を用いてイヌ MHC (DLA)-DRB1, ネコ MHC (FLA)-DRB1, ブタ MHC (SLA)-DRB1, ウシ BoLA-DRB3, ヒツジ MHC (OLA)-DRB1 およびヒト HLA-DRB1 の6種の哺乳類の DR $\beta$  鎖の機能比較を自然選択圧の解析により行った(未発表データ)。選択圧には正と負が存在し、正の選択圧がかかるアミノ酸残基は多型性を増加させる方向で進化し、MHC では主に抗原認識部位で認められ、負の選択圧がかかるアミノ酸残基はアミノ酸置換を制限する方向で進化することが知られている。これらの動物の中でネコ・ブタでは負の選択圧が強いのに対し、ウシ・イヌでは正の自然選択圧が強いことが明らかとなった。さらに、個別のアミノ酸配列にかかる自然選択圧を推定すると、ウシ・イヌではARSで正の選択圧のかかっている残基が多いのに対し、ブタ・ネコ・ヒトは負の選択圧がかかっている残基が多く、さらにブタ・ネコはその場所も同じである傾向を示した。結論として、ブタとネコの DRB の進化的な機能が非常に似通っていることが示唆された。このような特徴の類似は、動物種の分類とは明らかに異なっており、MHC は他の遺伝子とは異なる進化をしている可能性が考えられ、非常に興味深い情報を提供することができた。

#### 5. BoLA 領域と疾患および経済形質との関連性

BoLA は、表4に示すような種々の疾患や免疫応答との相関性が報告されている。はじめに、BoLA クラス I の血清学的タイピングが可能となり、ヒト血清アルブミン (HSA) に対する抗体産生能には遺伝的差異があるという免疫応答遺伝子の存在が証明された。また、BoLA-W16 を持つものは抗体産生能が高く乳房炎に易罹患性であること、一方、BoLA-W2 を持つものは抗体産生能が低く乳房炎に相対的に抵抗性であることが示された。さらに、様々な感染症やその他の疾患、および乳量や肉質などといっ

表4 BoLA と形質との関連性

形質	BoLA (品種)	効果	参考文献
<b>疾患感受性</b>			
<b>ウイルス感染症</b>			
地方病性牛白血病	A14 (Holstein):A21 (Guernsey)	遅延	33, 34
血清陽転	A15 (Holstein): DA6.2, A12 (Guernsey)	促進	33
PL または B-cell 数	DA7 (Shorthorn): A8 (I. Shorthorn): A14, A13, DRB2*2A, DRB3(ER motif) (Holstein)	抵抗性	34, 35, 36, 37, 38, 39
	DA12.3 (Shorthorn): A6, EU28R(I. Shorthorn): A12 and A15, DRB2*1C (Holstein)	感受性	34, 35, 36, 37, 38
白血病発症	DRB3 (ATY motif) (Japanese Black)	感受性	21, 40
	DRB3 (ERV motif) (Japanese Black)	抵抗性	21, 40
<b>細菌感染症</b>			
<b>乳房炎</b>			
臨床性乳房炎	A2 (Norwegian Red): A11 (Holstein)	抵抗性	41, 42, 43, 44, 45
	A16, A11 (Norwegian Red): DQ1A (Swedish Red and White): DRB3*0101-DQA1*0101-DQB1*0101, (Holstein): DRB3*2703 (Canadian Holstein)	感受性	42, 46, 47, 48, 49
SSC	A19 (Icelandic): A15 (Simmental or Simmental x Red Holstein):	上昇	50, 51
CMT	A14 (Holstein)	低下	45
デルマトフィルス症	DRB3.2*09/45, DQB*1804 (Brahman)	感受性	52
<b>寄生虫感染症</b>			
寄生虫血症	A7, CA36 (Belmont Red)	抵抗性	53
Nematodes	A9 (Africander x Hereford)	感受性	54
<b>ダニ症</b>			
Boophilus microplus	A6, CA31 (Brahman x Shorthorn): DRB3-184 (Crossbreed)	感受性	55, 56
	A19, A7 (Belmont Red)	抵抗性	53
<b>その他の疾患</b>			
後部脊髄麻痺症	A8 (Holstein)	感受性	57
ケトン症	A2, A13(Norwegian Red)	抵抗性	44
遺残胎盤癒着	適合 (Dutch Friesian)	感受性	58
<b>免疫応答</b>			
様々な形質	いくつかのアリル (Holstein)		59
(T,G)-A-L	A8, A20 (Norwegian Red)	高反応性	60
ヒト血清アルブミン	A2 (Norwegian Red)	低反応性	60
ヒト血清アルブミン	A6, A16 (Norwegian Red)	高反応性	60
オバルブミン	ED99, A10 (Friesian)	低反応性	61
オバルブミン	A11, ED85 (Friesian)	高反応性	61
オバルブミン	EDF9 (Friesian)	無反応性	62
Theileria parva	A6, A10, A11 (Boran, Friesian)	Predominant	63
	DRB3*2703	p67 ワクチン成立	64
FMDV ペプチド	EDF アリル (Friesian)	様々な効果	65
<b>生産性</b>			
生育	様々なアリル	様々な効果	66
赤肉量	A2 vs. A28	増加	67
乳量	A14	増加	45
乳脂量	A11	増加	68
乳脂量	A11	減少	45
乳脂量	A15	増加	45
乳脂率	A10	増加	69
乳脂率	A10, A11	増加	68
乳脂率	A16	減少	68
乳脂率	A11, A31	減少	45
乳脂率	A20	増加	45
乳中蛋白量	A19	増加	68
妊娠期間	A14	増加	68
発情期	W12.2	減少	68
健康コスト	A14	低下	45
収入/給飼コスト	A14	増加	45
率丸重量	A19	増加	70
産子数	A2	増加	44

た経済形質との相関性も示されてきた。多くの研究がクラス I との相関性の有無を調査するものであったが、van Eijk ら<sup>16)</sup>がクラス II DRB3 遺伝子の PCR-restriction fragment length polymorphism (RFLP) による遺伝子タイピング法を開発したことから、疾患感受性とクラス II 遺伝子との相関性の研究が進められてきた。Xu ら<sup>17)</sup>により牛白血病ウイルス (BLV) による持続的リンパ球増多症の感受性を BoLA-DR $\beta$  鎖が規定していることが報告された。また、PCR-RFLP により、大規模に DRB3 遺伝子をタイピングすることが可能となったため、DRB3 と乳房炎との相関性を調査した報告もなされてきた<sup>18)</sup>。しかし、PCR-RFLP は全てのアリルを区別することが出来ないこと、判定方法が煩雑でミスタイピングが起りやすいこと、および新規アリルの同定が出来ない事といった欠点があった。そこで、筆者らは新しく BoLA-DRB3 および BoLA-DQA1 の PCR-

sequence based typing (SBT) 法を世界に先駆けて開発した<sup>19,20)</sup>。このことにより、大量のサンプルを、新規アリルも含めて正確にタイピングすることが可能となった。そこで、乳房炎および牛白血病の発症と相関する BoLA クラス II ハプロタイプの同定を試みた。

乳房炎は毎年 1000 億円以上の被害を畜産界に与える、発病しやすい上に極めて治りにくい疾患であり、世界的に共通して家畜の最難治疾病の一つとされている。この病気は、5 種類の原因菌(黄色ブドウ球菌、無乳性連鎖球菌、表皮ブドウ球菌、環境性連鎖球菌および大腸菌群)の感染により引き起こされる疾患で、以前から BoLA クラス II の多型と発症との間に相関関係が有ることが示唆されている。我々は、乳房炎と BoLA-DQA1 との相関性を調べるために、日本におけるホルスタイン種の BoLA-DQA1 アリル頻度を、全国から無作為に抽出した 95 頭のサン

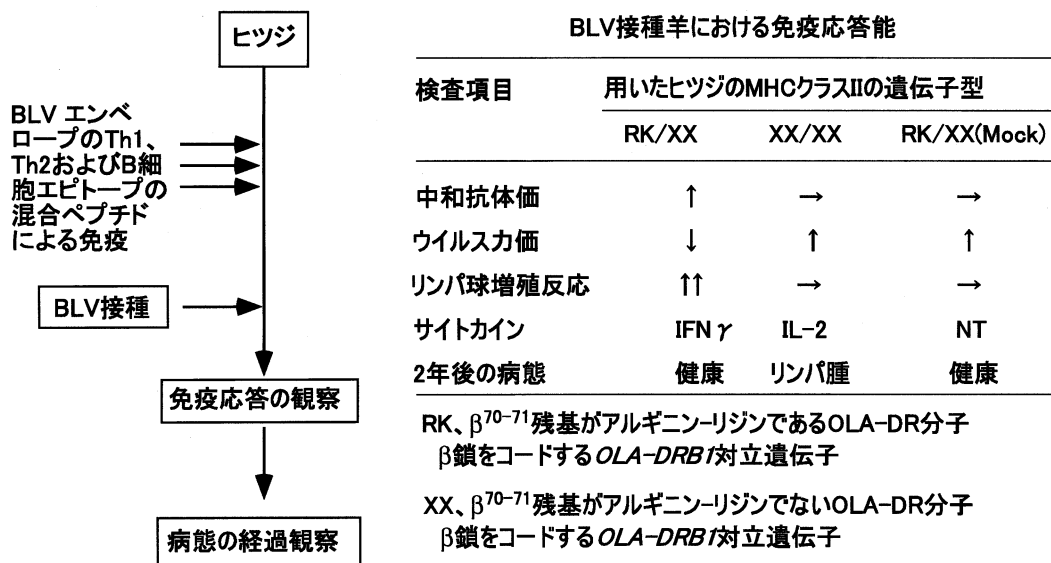


図 3 ヒツジを用いた BLV 感染実験の概要と結果。ヒツジに BLV 接種後、発症と健康群に大別し、OLA-DRB1 遺伝子 (BoLA-DRB3 に相当する) の塩基配列を決定した。OLA-DR 分子  $\beta$  差の 70~71 位のアミノ酸残基が Arg-Lys (RK) であるアリルを有する個体は、白血病発症に対して抵抗性と推察された。続いて、BLV 感染防御実験を行った。白血病発症に対して抵抗性あるいは感受性が予測されるヒツジに、BLV エンベロープ蛋白の合成ペプチドを 3 回免疫後、BLV で攻撃接種した。抵抗性アリルを有する RK/XX (X は任意のアミノ酸残基) のヒツジではペプチド免疫後に中和抗体価の上昇、高い免疫応答の誘導と BLV 攻撃後のウイルス増殖の著しい抑制が認められ、白血病に至らなかった。一方、XX/XX の個体では中和抗体価は上昇せず、BLV 攻撃接種後に急激なウイルス増殖が観察され、2 年後にリンパ肉腫に進行した。



プルを用いて、新しく開発した DQA1 の PCR-SBT 法によりタイピングし、算出した。続いて千葉県下の 4 地区より採取したホルスタイン種 188 頭の乳房炎発症牛の DNA を PCR-SBT 法によりタイピングした。その結果、野外牛と比較して発症牛では DQA1\*1201 の頻度が有意に低下していることが見いだしている(未発表データ)。

BoLA クラス II の多型性と強く相関する疾患としては、牛白血病ウイルス (BLV) 誘発性白血病発症がある。BLV は、世界中に蔓延しており、その被害は増加の一途をたどり、畜産界に与える被害は甚大である。BLV に感染した個体は、その 70% が BLV 抗体陽性であるが、臨床的に無症状である健康牛、30% が持続的リンパ球増多症となり、長い潜伏期間を経て、約 1% は白血病を発症するとされている。この疾患感受性の個体差に BoLA が強く関与していることが示唆されている。我々は牛白血病発症と相関する BoLA クラス II ハプロタイプを同定するために、BLV 感染健康牛、白血病発症牛及び BLV 感染牛の DRB3, DQA1 及び DQA2 をタイピングし相関解析を行った<sup>21)</sup> (Aida *et al.*, 投稿準備中)。その結果、発症牛群で有意に減少している 2 つのハプロタイプを見いだした。さらに、この 2 つの抵抗性ハプロタイプを有する個体は、BLV 感染細胞率が有意に減少していることを見いだした。このことから、抵抗性クラス II ハプロタイプ上に BLV 感染細胞数を制御し、疾患感受性の個体差が生じる原因となっている遺伝子が存在する可能性が示唆された。さらに、BLV の発症に MHC クラス II 遺伝子の多型が関与していることを確かめるために、短期間で BLV 誘発性白血病を発症する事から地方病性牛白血病的モデルとして用いられている、ヒツジを用いた感染実験を行った<sup>22)</sup> (図 3)。その結果、白血病発症に抵抗性のアリルを有するヒツジは BLV 感染後、発症に感受性の DRB アリルを持つ個体と異なり、ウイルス力価が抑えられ、中和抗体力価が上昇し最終的に白血病を発症しないとの知見を得ている。このことから、特定のクラス II アリルを有することが BLV 感染初期における強い免疫応答を誘導し、白血病発症を抑制している事が示唆される。

## 6. まとめ

ウシの MHC 領域はクラス II 領域の分断による、非古典的クラス II の MHC 領域本体との分離をはじめとした、他の哺乳類とは異なる様々な特徴を持っている。また、品種内の MHC の多型性も維持されており、ヒトと類似した感染症を発症することから、感染症の発症に MHC がどのように関与するかを調査するには格好の素材である。今後、MHC 領域の全塩基配列が決定され、その遺伝子構成が明らかになる事で、MHC の未知の機能を証明してゆく突破口となることを期待している。

## 参考文献

- Childers CP, Newkirk HL, Honeycutt DA, *et al.*: Comparative analysis of the bovine MHC class IIb sequence identifies inversion breakpoints and three unexpected genes. *Anim Genet* **37**: 121–129, 2006.
- Davies CJ, Joosten I, Bernoco D, *et al.*: Polymorphism of bovine MHC class I genes. Joint report of the Fifth International Bovine Lymphocyte Antigen (BoLA) Workshop, Interlaken, Switzerland, 1 August 1992. *Eur J Immunol* **21**: 239–258, 1994.
- Ellis SA, Bontrop RE, Antczak DF, *et al.*: ISAG/IUIS-VIC Comparative MHC Nomenclature Committee report, 2005. *Immunogenetics* **57**: 953–958, 2006.
- Holmes EC, Roberts AF, Staines KA, *et al.*: Evolution of major histocompatibility complex class I genes in Cetartiodactyls. *Immunogenetics* **55**: 193–202, 2003.
- Ellis SA, Holmes EC, Staines KA, *et al.*: Variation in the number of expressed MHC genes in different cattle class I haplotypes. *Immunogenetics* **50**: 319–328, 1999.
- Niimi M, Nakai Y, Aida Y.: Nucleotide sequences and the molecular evolution of the DMA and DMB genes of the bovine major histocompatibility complex. *Biochem Biophys Res Commun* **217**: 522–528, 1995.

7. Niimi M, Nakai Y, Aida Y.: Identification of bovine invariant chain (Ii) gene by nucleotide sequencing. *Biochem Biophys Res Commun* **222**: 7–12, 1996.
8. Aida Y, Kohda C, Morooka A, *et al.*: Cloning of cDNAs and the molecular evolution of a bovine MHC class II DRA gene. *Biochem Biophys Res Commun* **204**: 195–202, 1994.
9. Aida Y, Niimi M, Asahina M, *et al.*: Identification of a new bovine MHC class II DRB allele by nucleotide sequencing and an analysis of phylogenetic relationships. *Biochem Biophys Res Commun* **209**: 981–988, 1995.
10. Dikinienė N, Aida Y.: Cattle cDNA clones encoding MHC class II DQB1 and DQB2 genes. *Immunogenetics* **42**: 75, 1995.
11. Morooka A, Asahina M, Kohda C, *et al.*: Nucleotide sequence and the molecular evolution of a new A2 gene in the DQ subregion of the bovine major histocompatibility complex. *Biochem Biophys Res Commun* **212**: 110–117, 1995.
12. Nishino Y, Tajima S, Aida Y.: Cattle cDNA clone encoding a new allele of MHC class II DQA1 gene. *Immunogenetics* **42**: 306–307, 1995.
13. Aida Y.: Characterization and expression of bovine MHC class II genes. *Bull Soc Fr-Jpn Vet* **6**: 17–24, 1995.
14. Takeshima S, Saitou N, Morita M, *et al.*: The diversity of bovine MHC class II DRB3 genes in Japanese Black, Japanese Shorthorn, Jersey and Holstein cattle in Japan. *Gene* **316**: 111–118, 2003.
15. Takeshima S, Nakai Y, Ohta M, *et al.*: Characterization of DRB3 alleles in the MHC of Japanese shorthorn cattle by polymerase chain reaction-sequence-based typing. *J Dairy Sci* **85**, 1630–1632, 2002.
16. van Eijk MJ, Stewart-Haynes JA, Lewin HA.: Extensive polymorphism of the BoLA-DRB3 gene distinguished by PCR-RFLP. *Anim Genet* **23**, 483–496, 1992.
17. Xu A, van Eijk MJ, Park C, *et al.*: Polymorphism in BoLA-DRB3 exon 2 correlates with resistance to persistent lymphocytosis caused by bovine leukemia virus. *J Immunol* **151**: 6977–6985, 1993.
18. Sharif S, Mallard BA, Wilkie BN, *et al.*: Associations of the bovine major histocompatibility complex DRB3 (BoLA-DRB3) alleles with occurrence of disease and milk somatic cell score in Canadian dairy cattle. *Anim Genet* **29**: 185–193, 1998.
19. Takeshima S, Ikegami M, Morita M, *et al.*: Identification of new cattle BoLA-DRB3 alleles by sequence-based typing. *Immunogenetics* **53**: 74–81, 2001.
20. Takeshima S, Miki A, Kado M, *et al.*: Establishment of a sequence-based typing system for BoLA-DQA1 exon 2. *Tissue Antigens*, in press, 2007.
21. Aida Y, Takeshima S, Nagaoka Y, *et al.*: The relationship between polymorphism of the MHC class II DR gene and resistance and susceptibility to bovine leukemia virus-induced lymphosarcoma; *Proceedings of the International Veterinary Cytokine and Vaccine Conference, Japan*, pp 159–162, 2000.
22. Nagaoka, Y., Kabeya H., Onuma M., *et al.*: Ovine MHC class II DRB1 alleles associated with resistance or susceptibility to development of bovine leukemia virus-induced ovine lymphoma. *Cancer Res* **59**: 975–981, 1999.
23. Davies CJ, Andersson L, Ellis SA, *et al.*: Nomenclature for factors of the BoLA system, 1996: report of ISAG BoLA Nomenclature Committee. *Anim Genet* **28**: 159–168, 1997.
24. Ballingall KT, Luyai A, McKeever DJ.: Analysis of genetic diversity at the DQA loci in African cattle: evidence for a BoLA-DQA3 locus. *Immunogenetics* **46**: 237–244, 1997.
25. Ballingall KT, Marasa BS, Luyai A, *et al.*: Identification of diverse BoLA DQA3 genes consistent with non-allelic sequences. *Anim Genet*

- 29: 123–129, 1998.
26. Gelhaus A, Forster B, Wipperf C, *et al.*: Evidence for an additional cattle DQA locus, BoLA-DQA5. *Immunogenetics* **49**: 321–327, 1999.
  27. Mareello KL, Gallagher A, McKeever DJ, *et al.*: Expression of multiple DQB genes in *Bos indicus* cattle. *Anim Genet* **26**: 345–349, 1995.
  28. Gelhaus A, Forster B, Horstmann RD. Evidence for an additional cattle DQB locus. *Immunogenetics* **49**: 879–885, 1999.
  29. Ballingall KT, Ellis SA, MacHugh ND, *et al.*: The DY genes of the cattle MHC: expression and comparative analysis of an unusual class II MHC gene pair. *Immunogenetics* **55**: 748–55, 2004.
  30. Ambagala AP, Feng Z, Barletta RG, *et al.*: Molecular cloning, sequencing, and characterization of bovine transporter associated with antigen processing 2 (BoTAP2). *Immunogenetics* **54**: 30–38, 2002.
  31. Eleuteri AM, Kohanski RA, Cardozo C, *et al.*: Bovine spleen multicatalytic proteinase complex (proteasome). Replacement of X, Y, and Z subunits by LMP7, LMP2, and MECL1 and changes in properties and specificity. *J biol chem* **272**: 11824–11831, 1997.
  32. Cannon MJ, Pate JL.: Expression and regulation of interferon gamma-inducible proteasomal subunits LMP7 and LMP10 in the bovine corpus luteum. *Biol Reproduct* **68**: 1447–1454, 2003.
  33. Palmer C, Thurmond M, Picanso J, *et al.*: Susceptibility of cattle to bovine leukemia virus infection associated with BoLA type. *Proc 91st Ann Meeting of US Anim Health Assoc* **218**, 1987.
  34. Lewin HA, Wu MC, Stewart JA, *et al.*: Association between BoLA and subclinical bovine leukemia virus infection in a herd of Holstein-Friesian cows. *Immunogenetics* **27**: 338–344, 1988.
  35. Lewin HA, Bernoco D.: Evidence for BoLA-linked resistance and susceptibility to subclinical progression of bovine leukaemia virus infection. *Anim Genet* **17**: 197–207, 1986.
  36. Stear MJ, Dimmock CK, Newman MJ, *et al.*: BoLA antigens are associated with increased frequency of persistent lymphocytosis in bovine leukaemia virus infected cattle and with increased incidence of antibodies to bovine leukaemia virus. *Anim Genet* **19**: 151–158, 1988.
  37. Zanotti M, Poli G, Ponti W, *et al.*: Association of BoLA class II haplotypes with subclinical progression of bovine leukaemia virus infection in Holstein-Friesian cattle. *Anim Genet* **27**: 337–41, 1996.
  38. van Eijk MJ, Stewart-Haynes JA, Beaver JE, *et al.*: Development of persistent lymphocytosis in cattle is closely associated with DRB2. *Immunogenetics* **37**: 64–68, 1992.
  39. Xu A, van Eijk MJ, Park C, *et al.*: Polymorphism in BoLA-DRB3 exon 2 correlates with resistance to persistent lymphocytosis caused by bovine leukemia virus. *J Immunol* **151**: 6977–6985, 1993.
  40. Aida Y.: Influence of host genetic differences on leukemogenesis induced bovine leukemia virus. *AIDS Res Hum Retrovirus* **17**: S12, 2001.
  41. Solbu H, Spooner RL, Lie O.: A possible influence of the bovine major histocompatibility complex (BoLA) on mastitis. *Proc Second World Congress Genet Appl Livestock Product* **7**: 368, 1982.
  42. Solbu H, Lie O.: Selection for disease resistance in dairy cattle. *Proc Fourth World Congress Genet Appl Livestock Product* **16**: 445, 1990.
  43. Vage DI, Lingaas F, Spooner RL, *et al.*: A study on association between mastitis and serologically defined class I bovine lymphocyte antigens (BoLA-A) in Norwegian cows. *Anim Genet* **23**: 533–536, 1992.
  44. Mejdell CM, Lie O, Solbu H, *et al.*: Association of major histocompatibility complex antigens (BoLA-A) with AI bull progeny test results for mastitis, ketosis and fertility in Norwegian cattle. *Anim Genet* **25**: 99–104, 1994.
  45. Weigel KA, Freeman AE, Kehrl ME, Jr., *et al.*:

- Association of class I bovine lymphocyte antigen complex alleles with health and production traits in dairy cattle. *J Dairy Sci* **73**: 2538–2546, 1990.
46. Larsen B, Jensen NE, Madsen P, *et al.*: Association of the M blood group system with bovine mastitis. *Anim Blood Group Biochem Genet* **16**: 165–173, 1985.
  47. Lunden A, Sigurdardottir S, Edfors-Lilja I, *et al.*: The relationship between bovine major histocompatibility complex class II polymorphism and disease studied by use of bull breeding values. *Anim Genet* **21**: 221–232, 1990.
  48. Park YH, Joo YS, Park JY, *et al.*: Characterization of lymphocyte subpopulations and major histocompatibility complex haplotypes of mastitis-resistant and susceptible cows. *J Vet Sci* **5**: 29–39, 2004.
  49. Sharif S, Mallard BA, Wilkie BN, *et al.*: Associations of the bovine major histocompatibility complex DRB3 (BoLA-DRB3) with production traits in Canadian dairy cattle. *Anim Genet* **30**: 157–160, 1999.
  50. Oddgeirsson O, Simpson SP, Morgan AL, *et al.*: Relationship between the bovine major histocompatibility complex (BoLA), erythrocyte markers and susceptibility to mastitis in Icelandic cattle. *Anim Genet* **19**: 11–16, 1988.
  51. Arriens MA, Ruff G, Schallibaum M, *et al.*: Possible association between a serologically detected haplotype of the bovine major histocompatibility complex and subclinical mastitis. *J anim breed genet* **111**: 152, 1994.
  52. Maillard JC, Berthier D, Chantal I, *et al.*: Selection assisted by a BoLA-DR/DQ haplotype against susceptibility to bovine dermatophilosis. *Genet select evol* **35 Suppl 1**, S193–200, 2003.
  53. Stear MJ, Hetzel DJ, Brown SC, *et al.*: The relationships among ecto- and endoparasite levels, class I antigens of the bovine major histocompatibility system, immunoglobulin E levels and weight gain. *Vet Parasitol* **34**: 303–321, 1990.
  54. Stear MJ, Tierney TJ, Baldock FC, *et al.*: Class I antigens of the bovine major histocompatibility system are weakly associated with variation in faecal worm egg counts in naturally infected cattle. *Anim Genet* **19**: 115, 1988.
  55. Stear MJ, Nicholas FW, Brown SC, *et al.*: Class I antigens of the bovine major histocompatibility system and resistance to the cattle tick (*Boophilus microplus*) assessed in three different seasons. *Vet Parasitol* **31**: 303–315, 1989.
  56. Acosta-Rodriguez R, Alonso-Morales R, Balladares S, *et al.*: Analysis of BoLA class II microsatellites in cattle infected with *Boophilus microplus* ticks: class II is probably associated with susceptibility. *Vet Parasitol* **127**: 313–321, 2005.
  57. Park CA, Hines HC, Monke DR, *et al.*: Association between the bovine major histocompatibility complex and chronic posterior spinal paresis — a form of ankylosing spondylitis — in Holstein bulls. *Anim Genet* **24**: 53–58, 1993.
  58. Joosten I, Sanders MF, Hensen EJ.: Involvement of major histocompatibility complex class I compatibility between dam and calf in the aetiology of bovine retained placenta. *Anim Genet* **22**: 455–463, 1991.
  59. Weigel KA, Kehrli ME, Jr., Freeman AE, *et al.*: Association of class I bovine lymphocyte antigen complex alleles with in vitro blood neutrophil functions, lymphocyte blastogenesis, serum complement and conglutinin levels in dairy cattle. *Vet Immunol Immunopathol* **27**: 321–335, 1991.
  60. Lie O, Solbu H, Larsen HJ, *et al.*: Possible association of antibody responses to human serum albumin and (T, G)-A — L with the bovine major histocompatibility complex (BoLA). *Vet Immunol Immunopathol* **11**: 333–350, 1986.
  61. Glass EJ, Oliver RA, Spooner RL.: Variation in T cell responses to ovalbumin in cattle: evidence for Ir gene control. *Anim Genet* **21**: 15–28, 1990.

62. Glass EJ, Oliver RA, Spooner RL.: Bovine T cells recognize antigen in association with MHC class II haplotypes defined by one-dimensional isoelectric focusing. *Immunology* **72**: 380–385, 1991.
63. Morrison WI, Goddeeris BM, Teale AJ, *et al.*: Cytotoxic T-cells elicited in cattle challenged with *Theileria parva* (Muguga): evidence for restriction by class I MHC determinants and parasite strain specificity. *Parasit Immunol* **9**: 563–578, 1987.
64. Ballingall KT, Luyai A, Rowlands GJ, *et al.*: Bovine leukocyte antigen major histocompatibility complex class II DRB3\*2703 and DRB3\*1501 alleles are associated with variation in levels of protection against *Theileria parva* challenge following immunization with the sporozoite p67 antigen. *Infect Immun* **72**: 2738–2741, 2004.
65. Glass EJ, Oliver RA, Collen T, *et al.*: MHC class II restricted recognition of FMDV peptides by bovine T cells. *Immunology* **74**: 594–599, 1991.
66. Stear MJ, Pokorny TS, Muggli NE, *et al.*: The relationships of birth weight, preweaning gain and postweaning gain with the bovine major histocompatibility system. *J Anim Sci* **67**: 641–649, 1989.
67. Beever JE, George PD, Fernando RL, *et al.*: Associations between genetic markers and growth and carcass traits in a paternal half-sib family of Angus cattle. *J Anim Sci* **68**: 337–344, 1990.
68. Batra TR, Lee AJ, Gavora JS, *et al.*: Class I alleles of the bovine major histocompatibility system and their association with economic traits. *J Dairy Sci* **72**: 2115–2124, 1989.
69. Hines HC, Allaire FR, Michalak MM.: Association of bovine lymphocyte antigens with milk fat percentage differences. *J Dairy Sci* **69**: 3148–3150, 1986.
70. Stear MJ, Pokorny TS, Echtenkamp SE, *et al.*: The influence of the BoLA-A locus on reproductive traits in cattle. *J Immunogenet* **16**: 77–88, 1989.

## ● 総 説 ●

# ブタ MHC 領域のゲノム解析 —医学, 畜産学分野におけるゲノム解析研究の応用—

安藤 麻子

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

**要約:** 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, 並びにメラノーマ(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。本稿では, 最近ゲノム配列解読が完了した SLA 領域の遺伝子構成と多型性などの特徴について紹介し, 臓器移植実験や抗病性を指標とした育種改良などへの SLA 研究の応用の可能性について述べる。

**キーワード:** ブタ MHC, 比較ゲノム, ハプロタイプ, 多型性, ミニブタ

## はじめに

ブタは, 解剖学的・生理学的にヒトと類似性が高く, 血液生化学的数値もヒトと近いことが知られている。このようなヒトとの解剖学的, 機能的類似性により, ブタからヒトへの異種移植を目指した研究が行われており, 近年, ブタ-ヒト間の異種移植で問題となる  $\alpha 1, 3$  ガラクトース転移酵素 ( $\alpha$  Gal-T) 遺伝子のノックアウトミニブタが作成され, 超急性拒絶反応がほぼクリアされた<sup>1)</sup>。異種移植において, 次に問題となるのは, 移植抗原である主要組織適合遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex; (MHC) や KIR (Killer Immunoglobulin-like receptor) などの遺伝子の種間の違いを明らかにし, 急性及び慢性拒絶反応を克服することであると考えられる。ミニブタは, このような異種移植を目指したドナーとしての研究の他, 同種移植, 再生医療, 医薬品, 化学物質などの安全性試験のための中型実験動物や外科学領域における臨床技術のシミュレーション

用動物としても利用されている。さらに, ミニブタは癌や糖尿病, 循環器病疾患などの各種ヒト疾患の疾患原因遺伝子や肥満などのヒトの遺伝形質を規定する遺伝子の同定, 並びにこれらの疾患の発症機構の解明と治療のシミュレーションを行うためのモデル動物としての重要性も指摘されている。これらの研究を進める基盤として, ブタとヒトのゲノム相同性やゲノム多様性の理解が必要であると考えられる。このような観点から, 現在, 2008 年 6 月完成を目指したブタ全ゲノム配列解読が, Schook らのグループ(米)を中心に, イギリス, フランス, 日本など計 7 カ国の国際的なプロジェクトにより, 進行中である (<http://www.piggenome.org>)。また, ブタ全ゲノム配列解読は, ヒトとブタの比較ゲノム解析により, ヒトの進化過程やその遺伝的複雑性の理解を助けるという進化学領域への貢献も期待されている。ブタの場合も他の動物種と同様に全ゲノム配列解読計画の本格的な進行に先立ち, MHC (ブタでは, Swine

筆者連絡先 〒259-1193 神奈川県伊勢原市下糟屋 143  
東海大学医学部基礎医学系分子生命科学  
安藤 麻子

電話 0463-93-1121 (内線 2653)  
F A X 0463-94-8884  
E-mail aando@is.icc.u-tokai.ac.jp

Leukocyte Antigen (SLA) と呼ばれる)全領域の解読が 2005 年に完了した<sup>2)</sup>。SLA 全領域のゲノム塩基配列情報に基づいた遺伝子発現や多型性に関する研究は、上述の同種及び異種移植予後における SLA の役割を解明する上で重要であるのみならず、ブタの各種感染症に対する疾患抵抗性やこの領域と相関を示す形質を解析する上で多大な進歩を導くと考えられる。この総説では、ゲノム塩基配列情報による SLA 領域の遺伝子構成や多型性などの特徴、並びにこれらの情報に基づいた臓器移植実験や抗病性を指標とした育種改良などの SLA 研究の応用の可能性について紹介する。

### 1. SLA 領域の遺伝子構造

SLA 領域は、HLA 領域と同様にクラス II, III, I の 3 領域から構成されている(図 1)。さらにこの領域は、第 7 染色体 7p1.1-7q1.1 マップされ、クラス II (長腕)とクラス III, I (短腕)領域間にセントロメ

アが位置するという特徴がある<sup>3)</sup>。ブタ以外の動物種における MHC 領域内のセントロメアの存在については、ネコがクラス I 領域内、ウマがクラス II とクラス III 領域間にその存在が報告されている<sup>4,5)</sup>。

SLA 領域は、クラス II 領域 580 kb, クラス III 領域 674 kb, クラス I 領域 1,112 kb の合計 2.4 Mb の領域から構成されており、この SLA 全領域をカバーする H01 ハプロタイプ由来 BAC クローンの全塩基配列解読が、Nat. Inst. of Agronomical Res. (INRA (仏)), Wellcome Trust Sanger Inst. (英)と筆者ら東海大学の合計 3 グループの共同研究により行われた<sup>2,6-9)</sup>。塩基配列解読に用いられた H01 ハプロタイプはヨークシャー/ラージホワイト種などの産業用ブタに多く見られるハプロタイプである。我々のグループは、SLA クラス I 領域の古典的 SLA クラス I (クラス Ia) 遺伝子群と非古典的クラス I (クラス Ib) 遺伝子群間並びに、クラス Ia 遺伝子群のテロメア側に位置する合計 7 個の BAC クローンの塩基配

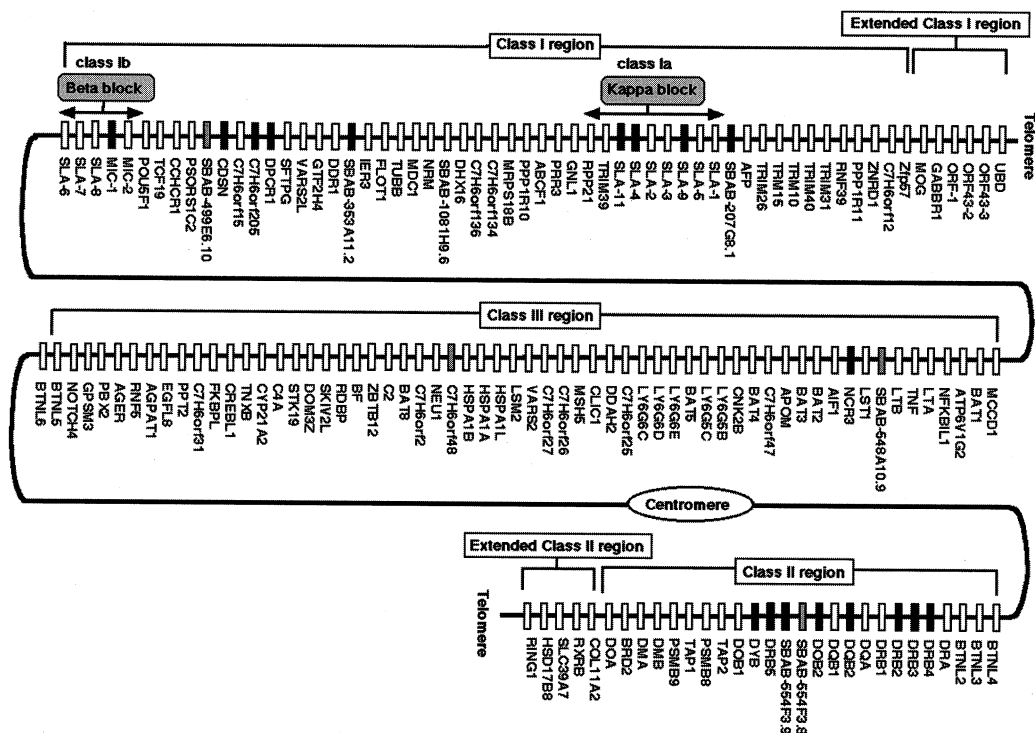


図 1 SLA 領域の遺伝子地図

第 7 染色体 7p1.1 の伸長クラス I, III 領域から、第 7 染色体 7q1.1 の伸長クラス II 領域に同定された遺伝子を示す。白色ボックスは発現または、発現が推定される遺伝子、灰色ボックスは新たに見出された発現候補遺伝子、黒色ボックスは偽遺伝子を示す。

列決定を行った<sup>8,9)</sup>。解読された2.4 MbのSLA全領域の塩基配列情報から、151個の遺伝子が同定され、これらの遺伝子の中で機能していると予測される遺伝子は121個、偽遺伝子は18個、新たなprotein coding sequence (CDS) であると考えられる遺伝子は8個、転写が予測される新遺伝子は3個、分類困難な遺伝子が1個である(2, 図1)。SLA領域の平均遺伝子密度は、15.8 kbに1遺伝子であり、HLA領域の15.1 kbに1遺伝子と同様に高い遺伝子密度を示す。また、伸長HLA領域には、15個以上のtRNA遺伝子が報告されているが<sup>10)</sup>、今回塩基配列解読されたSLA領域には、15個のRNA遺伝子(tRNA 6個, snoRNA 5個, rRNA 2個, miRNAとsnRNA各1個)が見出されている<sup>2)</sup>。

以下にSLA全領域の塩基配列解読により明らかになったSLAクラスI, II, III各領域の遺伝子構成とその特徴について述べる。

1.1 SLAクラスI領域の遺伝子構成と特徴

ブタのSLAクラスI遺伝子は、1.1 MbのSLAクラスI領域内に、7個の古典的SLAクラスI (Ia) 遺伝子群と3個の非古典的SLAクラスI (Ib) 遺伝子群が、2つのクラスターを形成して存在する(図1, 2)。図2は、ブタのリンフォトキシンβ (LTB) 遺伝子からユビキチンD (UBD) 遺伝子間の2つのSLAクラスI遺伝子クラスターを含むSLAクラスI全領域と相当するHLA領域の遺伝子構成を比較した図である。ブタではこの領域は10個のSLAクラスI遺伝子を含むSLAクラスI全領域に相当し、ヒトでは、クラスIII領域の一部に相当するLTB-BAT1遺伝子間領域も含まれている。LTB~UBD遺伝子間の距離はヒトでは2,050 kbであるのに対し、ブタでは約1,161 kbであり、ブタのこの領域はヒトより約890 kb短く、この領域のMHC遺伝子の遺伝子構成は、ブタ-ヒト間で大きく異なっている。すなわちブタの非古典的クラスI遺伝子群 (SLA-6~8, MIC1, MIC2) が位置する160 kbは、ヒトでは

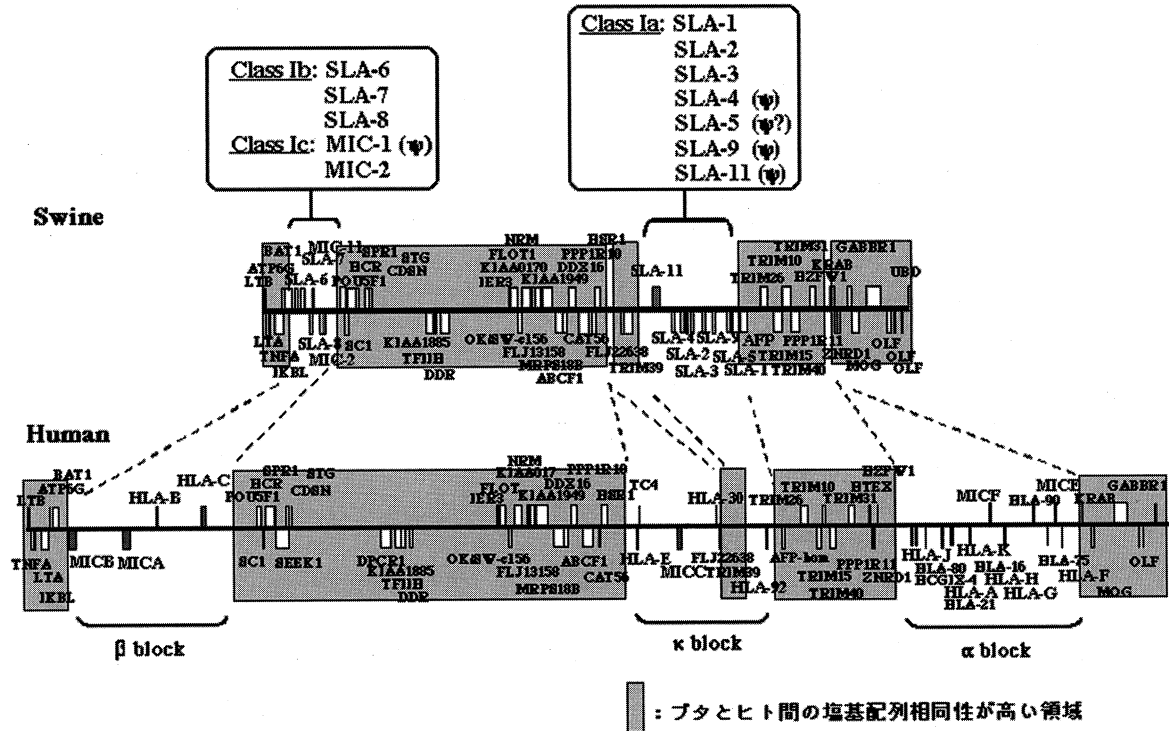


図2 ブタとヒトのMHCクラスIII-I遺伝子領域(LTB~UBD遺伝子間)の遺伝子構成の比較

MHCクラスIII-I遺伝子領域(LTB~UBD遺伝子間)は、ヒトでは、β, α, κブロックを含み、2,050 kbであるのに対して、ブタでは、αブロック及びκブロックの一部を欠き、1,161 kbである。



MICB~HLA-C 遺伝子間( $\beta$ ブロック)に相当し、ブタ古典的クラス I 遺伝子群 (SLA-1~5, SLA-9, SLA-11) が位置する領域は、HLA-92 遺伝子付近に相当する。さらに LTB~UBD 遺伝子間の領域はヒトでは、 $\beta$  及び  $\kappa$  ブロックの他、11 個の HLA 遺伝子を含む領域である  $\alpha$  ブロックが存在するのに対して、ブタでは  $\alpha$  ブロックに相当する ETF1P1~HLA-F 遺伝子間の領域 (375 kb) を欠いていること、並びに  $\kappa$  ブロックの一部に相当する HLA-E~HLA30 遺伝子間 (210 kb) を欠いており、両種間のクラス I 遺伝子の数と位置が異なっている。これに対して、ヒトとブタの LTB~UBD 遺伝子間の領域において、MHC 遺伝子以外の遺伝子が位置する領域では、ヒト-ブタ間で遺伝子構成は高度に保存されている他、各遺伝子間の領域も含めて互いに塩基配列相関性が高いことが明らかになった<sup>2,11)</sup>。このようなクラス I

遺伝子を含む  $\alpha$  ブロックの欠損は、ブタ以外には、ネコ<sup>4)</sup>や、ウマ<sup>5)</sup>でも報告されている。したがって、この  $\alpha$  ブロック領域のクラス I 遺伝子は、ブタ、ネコなどの動物種またはそれらの祖先でそれぞれ独立に欠損が生じた、あるいはヒトを含む霊長類/齧歯類の祖先で挿入されたという、いずれかの可能性が考えられる。

また、7 個の古典的 SLA クラス I 遺伝子のクラスターが位置する領域は、ドットプロット解析により、これらクラス I 遺伝子とその周辺の共通する保存された領域には、SCRE (ヒトでは HERV に相当)と呼ばれる繰り返し配列が重複ユニットとして存在することが明らかになっている<sup>12)</sup>(図 3)。

ヒトとブタの MHC クラス I 領域の繰り返し配列の密度と種類を比較すると、ヒトでは繰り返し配列の割合は、全塩基配列中 46.0% であるのに対し、ブタ

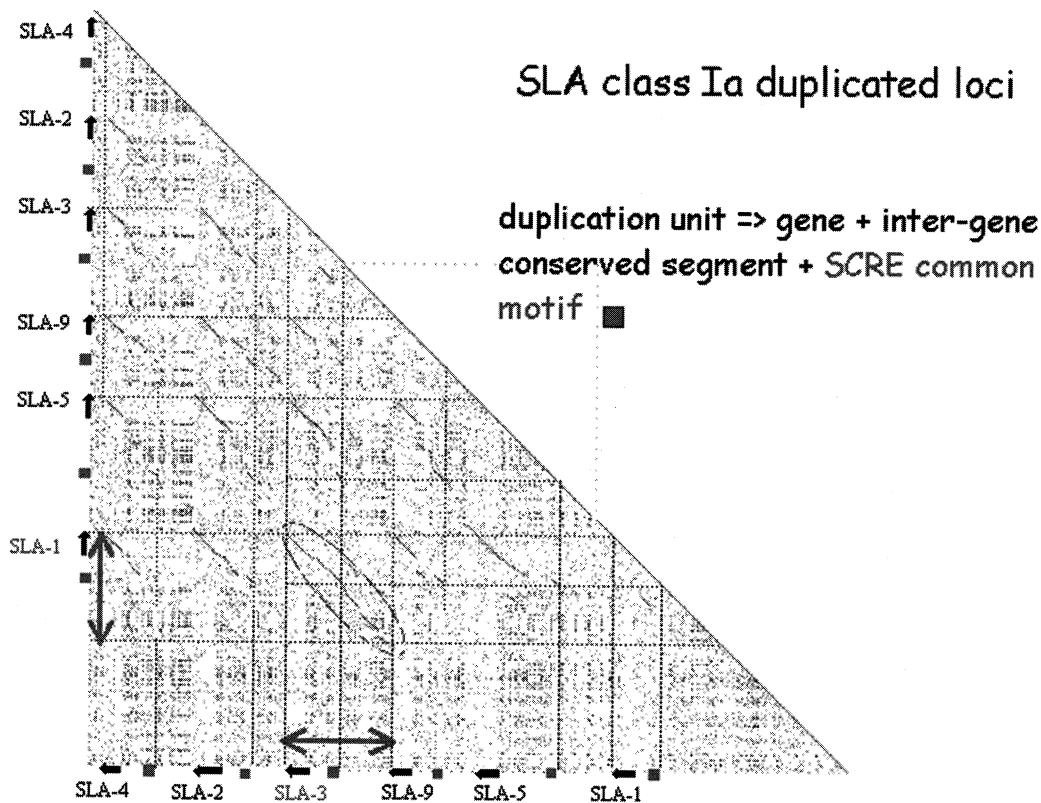


図 3 SLA クラス Ia 遺伝子周辺の重複ユニット

6 個の SLA クラス Ia 遺伝子周辺の重複ユニットは、クラス Ia 遺伝子と SCRE 共通モチーフを含む Ia 遺伝子周辺の保存領域から構成されている。矢印は、SLA-1 と SLA-3 遺伝子間に見られる SCRE を含む重複ユニットを示す。

では35.4%と低い。さらにこれらの繰返し配列中で、特にブタはLINEとLTRの割合がヒトより低いことが明らかになった。したがって、ヒトとブタとのLTB遺伝子からUBD遺伝子間の距離の相違は、上述したヒトとブタとのMHCクラスI遺伝子の構成の違い、並びに繰返し配列の種類と密度の違いによるものと考えられる。

ブタ古典的クラスI遺伝子群のテロメア側のGABBR1~UBD遺伝子間には3個の嗅覚受容体(OR)遺伝子が存在し、互いに95%以上の高い塩基配列相同性を示す。一方、このGABBR1~UBD遺伝子間領域には、ヒトは3個、マウスは5個のOR遺伝子が報告されており、アミノ酸配列の相同性と系統樹解析の結果から、ブタの3個のOR遺伝子は、ヒトOR2H2、マウスOlf-90遺伝子と共通の祖先遺伝子から分岐した後、種特異的な重複により、形成されたと推定される(9, 図4)。

SLAクラスIa遺伝子の座位数については、H01ハプロタイプでは、7個のIa遺伝子座位が確認されているが、血清学的タイピングやSLA-1遺伝子の転写産物の解析などにより、以前から、ハプロタイプ間でのIa遺伝子座位数の相違があると推定されていた<sup>13,14)</sup>。実際、H01ハプロタイプ以外のハプロタイプを持つランドレース種ブタのBACクローンの塩

基配列解読により、この個体では、少なくとも9個のIa遺伝子座位が存在すると考えられている(上西他、私信)。

## 1.2 SLAクラスIII領域、及びセントロメア周辺の遺伝子構成と特徴

非古典的SLAクラスI遺伝子クラスターのセントロメア側のSLAクラスIII領域は、MCCD1~BTNL6遺伝子間に61個の遺伝子が同定されており、その遺伝子構成は、HLAクラスIII領域と高い相同性を示している。ヒトとの高い相同性を示すクラスIII領域において、ブタに見いだされ、ヒトには見られない遺伝子としては、NOTCH4遺伝子のセントロメア側に位置するButyrophilin family 遺伝子であるBTNL5, BTNL6遺伝子、及び転写されると推定される新遺伝子として、LTB遺伝子のセントロメア側に位置するSBAB-548A10.9遺伝子が同定されている<sup>2)</sup>。また、クラスIII領域の中央部に位置するRCCXモジュールとして知られている4個の遺伝子(C4B, CYP21A2, TNXA, STK19P)は、ヒト<sup>10)</sup>やマウス<sup>15)</sup>ではハプロタイプにより、遺伝子数が異なることが報告されているが、ブタではハプロタイプによる違いは報告されていない<sup>16)</sup>。

上述のButyrophilin family 遺伝子は、ブタではク

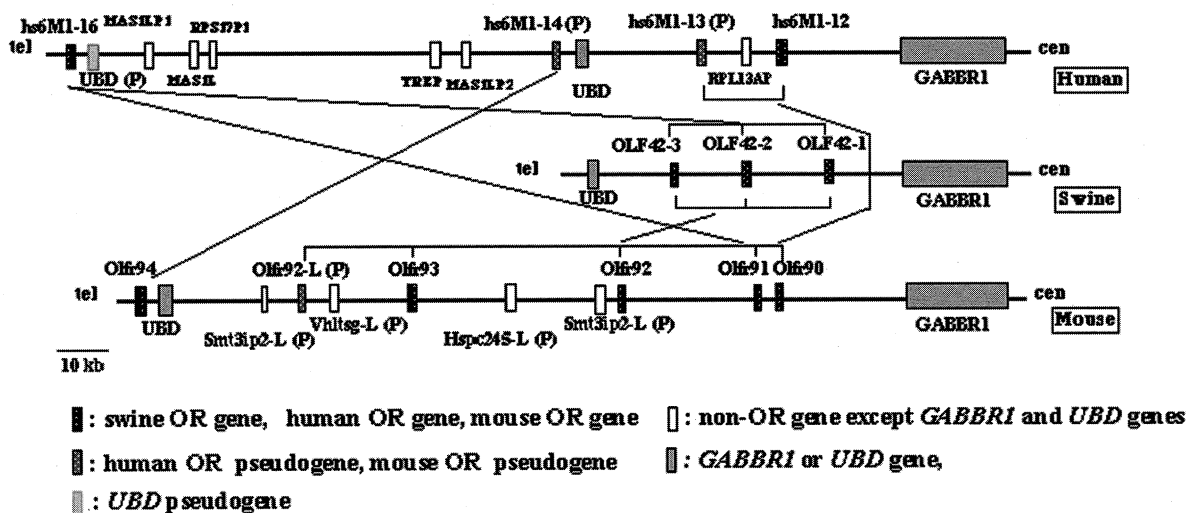


図4 GABBR1とUBD遺伝子周辺に位置するブタ、ヒト、マウスの嗅覚受容体(OR)遺伝子クラスターの比較

動物種間の線で結ばれた遺伝子は、互いに相同性が高い遺伝子であることを示す。

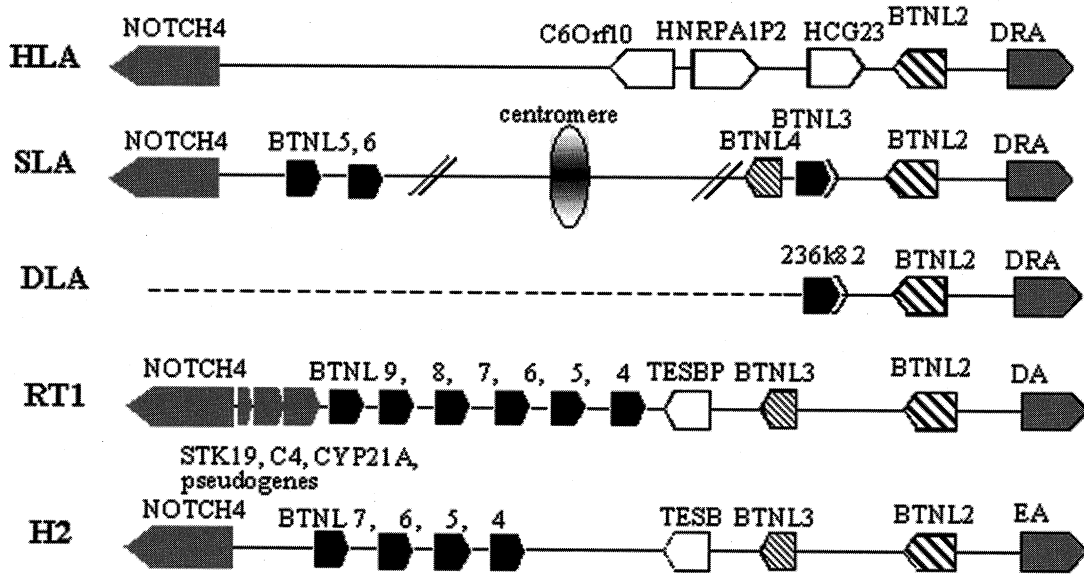


図5 各種動物のMHC領域におけるButyrophilin-like (BTNL) 遺伝子周辺の比較

ヒト (HLA), ブタ (SLA), イヌ (DLA), ラット (RT1), マウス (H2) のクラス II-III 領域間に位置する BTNL 遺伝子周辺の遺伝子構成の比較。各動物間の同一パターンボックスは、互いにオースログであることを示す(文献2より改変)。

クラス III 領域の BTNL5, BTNL6 遺伝子以外に, セントロメアと DRA 遺伝子間のクラス II 領域にさらに3個の BTNL 遺伝子 (BTNL2, BTNL3, BTNL4) が見出されている。これらの Butyrophilin family 遺伝子は, IgV と IgC 様ドメインを共通に持つが, SPRY や PRY ドメインの有無は遺伝子によって異なる。BTNL2 遺伝子は, ほとんどすべての哺乳動物に共通して存在し, 系統樹解析から祖先型の BTNL 遺伝子と考えられている<sup>2)</sup>。実際, ヒトにはこの BTNL2 遺伝子のみが DRA-HCG23 遺伝子間に存在する。また, BTNL4, BTNL5, BTNL6 遺伝子と高い相同性を示す遺伝子は, 齧歯類に複数個存在する。一方, BTNL3 遺伝子はイヌにそのオースログの存在が認められている(図5)。

また, HLA クラス II-III 領域間に存在する C6orf10, HNRRA1P2, HCG23 の3遺伝子は, SLA 領域には存在せず, これは SLA クラス II-III 領域間へのセントロメアの挿入の結果であると考えられるが, この領域のセントロメアの存在は SLA 領域の遺伝子構成に大きな影響を与えてはいない。

### 1.3 SLA クラス II 領域の遺伝子構成と特徴

MHC クラス II 領域は, ヒトでは, 0.7 Mb の領域に DR, DQ, DP, DM, DO の各重領域に位置する HLA クラス II 遺伝子群を含め, BTNL2~RING1 遺伝子間に合計35個の遺伝子が存在する領域であるのに対し, ブタのクラス II 領域は, 0.58 Mb の領域に14個の SLA クラス II 関連遺伝子を含む合計30個の遺伝子が BTNL4~RING1 遺伝子間に見出されている(図6)。すなわち, 両種間でクラス II 領域の長さは比較的保存されているが, クラス II 領域のブタの遺伝子数はヒトのそれより5個少ない。この両種間の遺伝子数の違いのひとつは, ヒトでは5個の遺伝子から構成される DP 遺伝子重領域が, ブタでは欠損していることと, 上述したように, ブタでは Butyrophilin family 遺伝子として, クラス II 領域に BTNL2 以外にヒトには見られない BTNL4, BTNL5 の2個が存在することなどに起因する。また, ブタの DR 遺伝子群は, ゲノム塩基配列解読に用いた H01 ハプロタイプでは, 1個の DRA 遺伝子と5個の DRB 遺伝子が存在するが, これら DRB 遺伝子の中で DRB1 遺伝子のみが完全長であり, DRA 遺伝子との組み合わせにより, DRB 抗原を

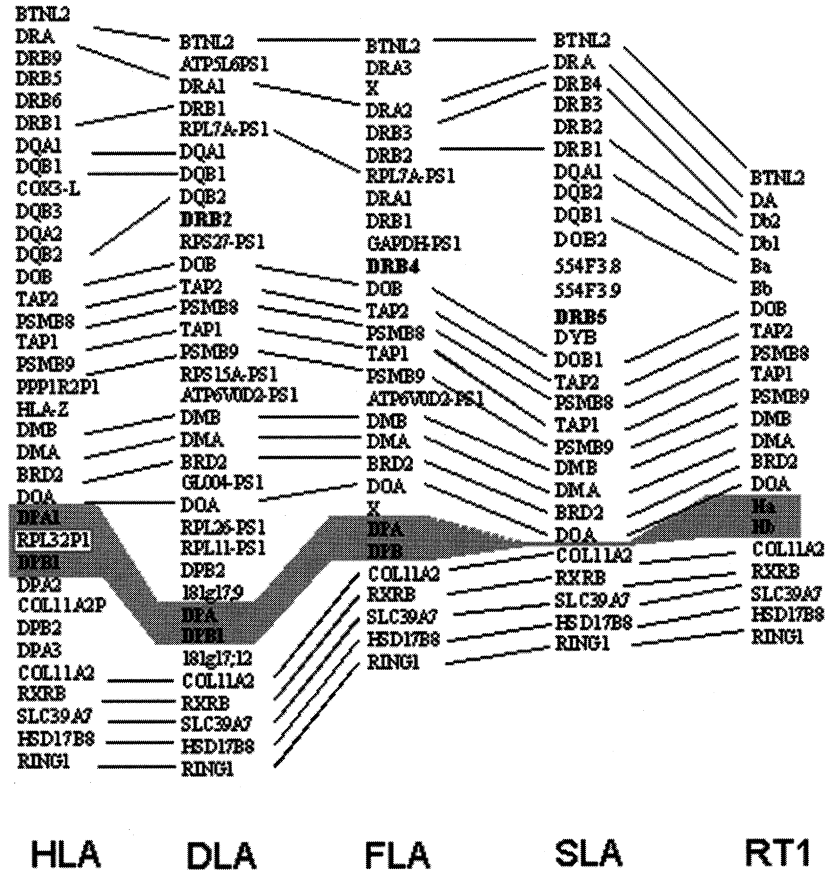


図 6 各種動物の MHC-クラス II 領域の比較ゲノム地図

ヒト (HLA), ブタ (SLA), イヌ (DLA), ラット (RT1), マウス (H2) のクラス II 領域 (BTNL2?RING1 遺伝子間) の遺伝子構成の比較。灰色のボックスは DP 遺伝子, 太字は SLA-DRB5 遺伝子とオーソログと考えられる DRB 偽遺伝子を示す。

コードしている。DRB1 遺伝子以外の DRB 遺伝子である DRB4 はエクソン 1 を, DRB2 と DRB5 はエクソン 6 を, DRB3 はエクソン 1 とエクソン 6 をそれぞれ欠失している偽遺伝子である。ヒトの DRB 遺伝子数は, ハプロタイプにより異なることが知られているが<sup>10)</sup>, ブタでもゲノム塩基配列解読に用いた H01 ハプロタイプ以外のハプロタイプを持つランドレース種ブタでは, DRB 遺伝子の数が異なることが示唆されている (上西他, 私信)。

また, ブタの発現 DQ 遺伝子は, DQA と DQB1 の各 1 遺伝子であり, その他 1 個の DQB2 偽遺伝子が存在する。

DQB1~DOB1 遺伝子間は, 機能不明の新規発現遺伝子と考えられる SBAB-554F3.8 の他, DYB 遺

伝子を含む 3 個の偽遺伝子 (TAP2 と相同性を示す SBAB-554F3.9, DOB2, DYB) が存在する。DY 遺伝子は, 反芻動物であるウシやヒツジで報告され, 発現分布は DO 分子と類似性を示し, DQ 遺伝子から進化した遺伝子と考えられている<sup>17)</sup>。これらの反芻動物では DQ~DO 遺伝子間は 17~30 cM の間隔で 2 つの領域に分かれている (18, 19)。SLA-DYB 偽遺伝子は, エクソン 2 とエクソン 3 から構成され, これらのエクソンは BoLA-DYB 遺伝子のエクソン 2, エクソン 3 と相同性を示す。したがって, SLA-DYB 偽遺伝子が位置する DQB1~DOB1 遺伝子間領域は, 偶蹄目 MHC 領域の形成時に DO や DY 関連遺伝子が挿入されたと考えられる。

また, HLA クラス II 領域には, PSM9~DMB 遺

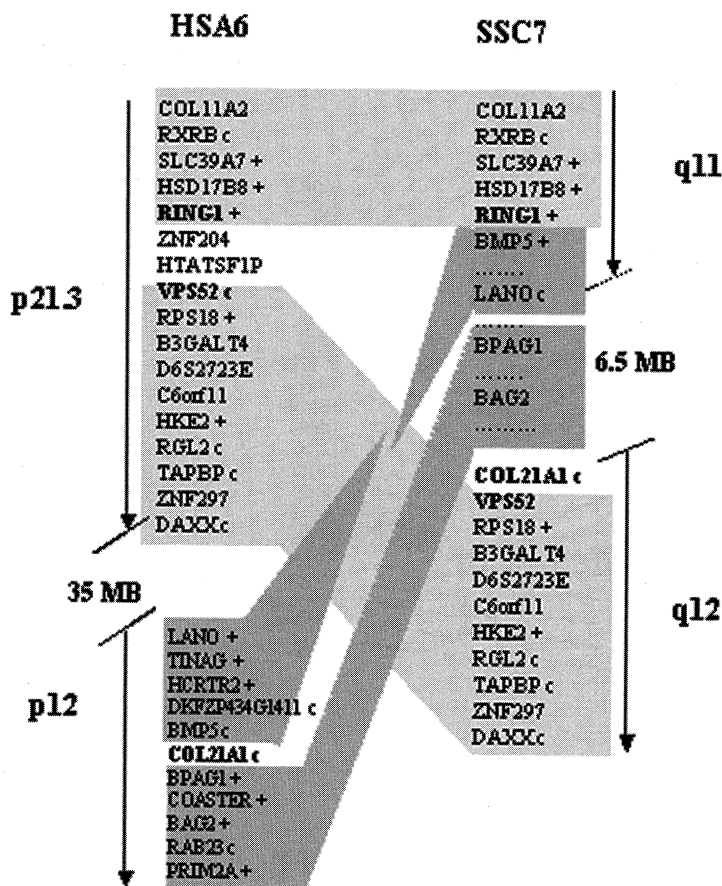


図7 ブタとヒトの伸長クラスII領域の比較ゲノム地図

+とcは、遺伝子の転写方向を示す。ヒトの伸長クラスII領域(HSA6p21.3)のVP52~DAXX遺伝子間に相当する領域(薄い灰色ボックス)は、ブタではBMP5やBAG1遺伝子などが位置する6.5Mbの領域(濃い灰色ボックス)により第7染色体7q11と7q12の2ヶ所に分断されている。+,cは遺伝子の方向を示す。

伝子間にクラスI偽遺伝子であるHLA-Zが存在するが、ブタではこの相同遺伝子はSLA領域に見出されていない<sup>2)</sup>。

さらに、ヒト-ブタ間のクラスII領域の主な違いは、クラスII領域の両端にあり、上述したように、ブタではDRA~セントロメア間に、ヒトBTNL2遺伝子のオーソログを含め、3個のBTNL遺伝子によるクラスターが存在する。また、クラスII領域のテロメア側の領域は、ヒトのクラスI遺伝子のプロセッシングに参与するTAP結合蛋白をコードするTapasin(TAPBP)遺伝子を含むVPS52(Vacuolar protein sorting 52)~DAXX遺伝子間の領域が、ブタではRING1遺伝子よりさらに約6.5Mbテロメア側の7q12の領域に存在する<sup>20,21)</sup>。すなわち、ブタRING1遺伝子の5kb下流に切断点があり、ヒトではDAXX遺伝子より35Mbセントロメア側の6p12付近に位置するLANOからPRIM2A-BMP5遺伝子間の相同遺伝子がこの切断点に逆位を伴って入り

込み、伸長クラスII領域はヒト-ブタ間で少なくとも3ヶ所の遺伝子クラスター間に、入れ替わりが認められている(図7)。

## 2. SLA抗原と発現

### 2.1 SLAクラスI抗原

古典的クラスI遺伝子クラスターには、3個のクラスIa発現遺伝子(SLA-1~3)と2個の偽遺伝子(SLA-9,SLA-11)、並びに1個の転写の認められない遺伝子(SLA-5)がある。SLA-5遺伝子は、プロモーター領域のインターフェロン結合部位や、X,Yドメインに数ヶ所の変異があり、これらの変異が発現に影響している可能性がある。したがって、SLA-5遺伝子は、相同性を示すESTも見出されていないが、低レベルの発現の可能性も除去できない<sup>7)</sup>。

一方、非古典的クラスI遺伝子クラスターは、3個のクラスIb発現遺伝子(SLA-6~8)より構成されており、これらのブタクラスIb遺伝子のアミノ酸配列

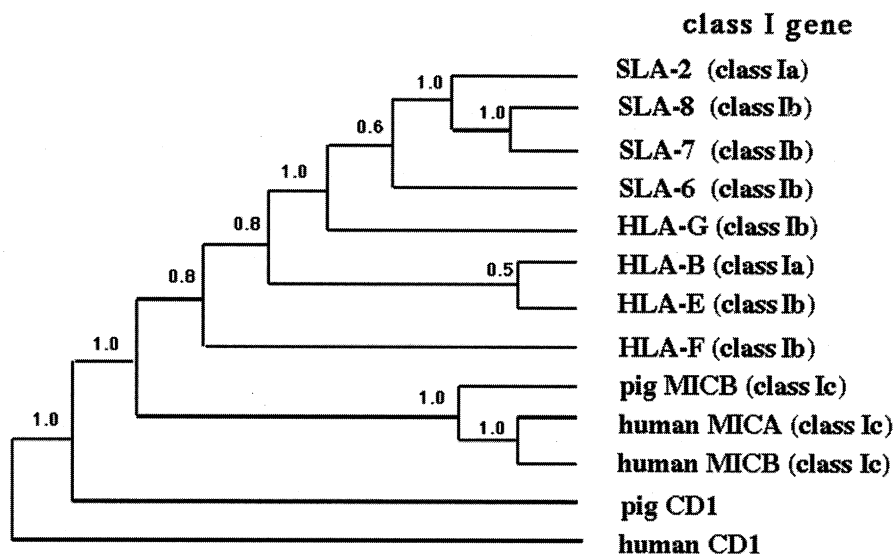


図8 プタとヒトの種々の MHC クラス I 分子の系統樹  
 文献 23 より改変。

は、特定のヒトやマウスのクラス Ib 遺伝子との高い相同性は認められず、その機能は未解明である<sup>9)</sup>。非古典的クラス I 遺伝子の発現部位としては、SLA-6 と SLA-8 遺伝子の転写産物は脳以外の種々の組織に見られるのに対して、SLA-7 遺伝子は、胸腺で高い発現を示し、腎臓や末梢血の単核球では発現が認められないという限局した発現分布を示す<sup>22)</sup>。

非古典的クラス I 遺伝子クラスター内のクラス Ic 遺伝子としては、2 個の MIC 遺伝子 (MIC-1, MIC-2) が存在し、塩基配列解析から MIC-2 のみが発現していると考えられている。

SLA クラス I 遺伝子間のコーディング領域におけるアミノ酸相同性は、SLA-Ia 遺伝子間が 90% 前後、Ia, Ib, Ic 遺伝子間が 65~75% である。クラス Ib 遺伝子の SLA-7 と SLA-8 は、SLA-6 より、Ia 遺伝子である SLA-2 に相同性が高く、Ib 遺伝子は、1 個の祖先型 Ia 遺伝子から進化したと考えられる (図 8<sup>23)</sup>)。

## 2.2 SLA クラス II 抗原

SLA クラス II 領域には、上述の「1.3 SLA クラス II 領域の遺伝子構成と特徴」の項目で述べたように、DRA/DRB1, 及び DQA/DQB1 遺伝子の組み合わせにより、DR と DQ の 2 種類の SLA クラス IIa

抗原がコードされている。さらに、DO と DM の 2 種類のクラス II 分子が、DOA/DOB, DMA/DMB 遺伝子の組み合わせにより、コードされていると考えられる。

SLA クラス II 抗原の発現は、B 細胞、マクロファージで認められる他、血中 T 細胞の 60~70% の分画や血管内皮細胞で発現が認められ、CD8 陽性 T 細胞にもクラス II 抗原が発現しているという特徴がある<sup>24)</sup>。クラス II 抗原は、この他腎臓実質の細胞でも検出されるが肝臓の実質細胞では検出されていない<sup>25)</sup>。このプタに特有のクラス II 抗原の発現分布の機能的意味は現在のところ未解明である。

## 3. SLA 遺伝子の多型性

### 3.1 SLA クラス I 遺伝子の多型性

発現している 3 個の SLA クラス Ia 遺伝子 (SLA-1~3) は、多型性が高く、HLA-Ia 遺伝子と同様に、細胞外ドメインである  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ドメインの抗原認識部位に、アレル間のアミノ酸の多様性が認められる場合が多い<sup>26)</sup>。さらに、アミノ酸置換に関与する選択圧を解析するソフトウェアである Adaptsite を用いた解析により、HLA-Ia 遺伝子で正の選択圧を受けている  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ドメインの 14 ケ所のアミノ酸部位の中で 10 ケ所は、SLA-Ia 遺伝子でも同様の正の選択

圧が示される。しかしながら、HLA-Ia 遺伝子では正の選択圧が見られるアミノ酸部位で負の選択圧が認められる部位もあり、細胞傷害性 T 細胞の認識に関わるアミノ酸部位のいくつかは、ヒト-ブタ間で異なると推測されている<sup>27)</sup>。

SLA クラス Ia 遺伝子の塩基配列は、互いに相同性が高く、特に SLA-1 と SLA-3 遺伝子の 5' 及び 3' 非翻訳領域や、SLA-1 と SLA-2 遺伝子の  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ドメインの塩基配列相同性が高く、部分的な塩基配列解析による遺伝子座の決定は困難な場合がある<sup>27,28)</sup>。SLA-2 遺伝子のシグナルペプチドは、24 アミノ酸であり、SLA-1, SLA-3 遺伝子より 3 アミノ酸長いという特徴がある他、SLA-3 遺伝子のエキソン 1 (+9: CC, +10: CC, +51: T) と、エキソン 2 (+118: A), エキソン 3 (+559: GC, +560: GC) の数ヶ所の塩基配列は、SLA-3 遺伝子に特徴的である<sup>12,29)</sup>。

SLA クラス I 遺伝子とアレル名について、国際動物遺伝学会の SLA Nomenclature committee により、2005 年に初めて公式な遺伝子名とアレル命名法が報告され<sup>14)</sup>、現在 80 種類以上の SLA クラス I 遺伝子アレルと 17 種類の SLA クラス I ハプロタイプが IPD-MHC データベースに登録されている (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/sla/index.html>)。登録されている SLA クラス Ia 遺伝子アレルは、系統樹解析により、SLA-1 遺伝子が 13 グループ、23 アレル、SLA-2 遺伝子が 14 グループ、34 アレル、SLA-3 遺伝子が 7 グループ、20 アレルに分類されている。クラス Ib 遺伝子は、他の動物種と同様にブタでも多型性は低く、これらのデータベースの中で、SLA-6 遺伝子については、3 グループ、7 アレルに分類されている<sup>14)</sup>。

### 3.2 SLA クラス II 遺伝子の多型性

SLA クラス II 遺伝子とアレル名についても、国際動物遺伝学会の SLA Nomenclature committee により、2005 年に初めて公式な遺伝子名とアレル命名法が報告され<sup>29)</sup>、現在 100 種類以上の SLA クラス II 遺伝子アレル、及び 17 種類の SLA クラス II ハプロタイプが IPD-MHC データベースに登録されている (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/sla/index.html>)。

SLA クラス II 遺伝子の多型性の特徴のひとつとしては、他の動物種では多型性がほとんど見られない DRA 遺伝子の  $\alpha 1$  ドメインに 2 カ所の多型が見られることである。これらの多型は、286 と 297 番目の 1 塩基置換による多型であり、前者の多型は非同義置換である。これらの多型は、cDNA クローン塩基配列解読の他、PCR-SSP 法によっても確認されている。したがって、SLA-DRA 遺伝子は、これらの塩基置換による多型を含み、3 グループ、12 アレルに分類されている。一方、SLA-DRB1 遺伝子は、高度な多型性を示し、合計 12 グループ、51 アレルに分類されている。また、4 個の DRB 偽遺伝子は、各遺伝子座に特徴的な欠失や終止コドンを含み、DRB2 遺伝子は、9 アレル、DRB3 遺伝子は、5 アレルの多型が報告されている。また、SLA-DQA 遺伝子は、中程度の多型性を示し、少なくとも 4 グループ、16 アレルに分類されている。SLA-DQB1 遺伝子も DRB1 遺伝子と同様に、高度な多型性を示し、合計 9 グループ、27 アレルに分類されている。

SLA クラス IIb 遺伝子の多型性としては、現在 DMA, DOA, DOB 遺伝子について、それぞれ数アレルの報告があるのみである<sup>29)</sup>。

### 3.3 マイクロサテライトマーカーによる SLA 領域の多型性

SLA 領域は、様々なマイクロサテライト (MS) 繰り返し配列が存在し、この領域の 2, 3, 4, >4 塩基繰り返し配列は、それぞれ 94, 131, 78, 236 個存在する。すなわち、SLA 領域繰り返し配列の密度は、2 塩基繰り返し配列が、クラス I 領域は 25 kb に 1 マーカー、クラス II と III 領域は 36 kb に 1 マーカー、3 塩基繰り返し配列が、クラス I 領域は 25 kb に 1 マーカー、クラス II と III 領域は 13 kb に 1 マーカーの頻度で見出される。

SLA 領域のゲノム多型性を明らかにするために、H01 ハプロタイプの 2.4 Mb の SLA 領域のゲノム塩基配列情報に基づき、平均 59 kb に 1 個の密度で、40 個の MS マーカーが設定された。11 品種 96 個体のブタを用いたこれらの MS マーカーの多型性の検証により、heterozygosity と polymorphic information content (PIC) の平均値は、それぞれ 0.71,

0.68 であり、HLA 領域と同程度の密度と多様性を示すマーカーが設定されたことが明らかになった<sup>30)</sup>。上述の「3.1 SLA クラス I 遺伝子の多型性」の項目で述べたように、SLA クラス Ia 遺伝子の塩基配列は、互いに相同性が高く、部分的な塩基配列解析による遺伝子座の決定は困難な場合があり、アリの種類によっては発現している 3 個の SLA クラス Ia の各遺伝子座に特異的なプライマーの設定による DNA タイピングが難しい例が数多く存在する。したがって、SLA 領域に設定した MS マーカーは、SLA ハプロタイプの同定に役立つものと考えられる。

#### 4. SLA 研究の医学及び畜産学分野への応用と発展性

「はじめに」の項目で述べたように、ミニブタは、同種、異種移植に関連した研究の他、医学研究の様々な分野において、実験動物として利用されている。ブタを実験動物として利用する際には、遺伝的背景の明らかなブタの使用が望まれる。ブタでは、マウスのように純系が確立された系統はないが、SLA が固定化されたブタは、同種、異種移植実験、各種抗原に対する免疫応答性実験などに有用である。これまでに、SLA が固定化されたブタとしては、a, c, d, 及び g, h の 5 種のハプロタイプを持つ NIH (MGH) ミニブタが良く知られているが、販売されていないことから、日本で NIH ミニブタを入手するのは、困難である (g は c と d, h は a と d のクラス I とクラス II 領域の組換えハプロタイプである)。このような状況から、我々はこれまでに、SLA が固定された 2 品種のブタを作成している。そのひとつは、クラウン系ミニブタであり、小型の特徴を持つゲッチング系ミニブタと耳の大きいオーミニ系ミニブタを掛け合わせた F1 に、ランドレースと大ヨークシャーを掛け合わせた F1 同士を交配してできた品種である。この品種のミニブタは、1978 年に鹿児島大学へ雄 1 頭、雌 2 頭が導入されて、繁殖が開始され、その後(株)ジャパンファームクラウン研究所で交配を続けている。我々は、SLA-DNA タイピング法を開発し、クラウン系ミニブタについて、4 種類 (c1~c4) の SLA ハプロタイプを同定した。これらのハプロタイプの中で、c3 と c4 は c1 と c2 のクラス I とクラス II 領域の組換えハプロタイプである<sup>31)</sup>。さ

らにこれらの SLA タイプに基づいた交配を行い、現在 c1, c2 ハプロタイプについては、これらのハプロタイプをホモまたはヘテロに持つ SLA 固定ミニブタとして供給、販売され、各種移植実験や免疫抑制剤の評価試験などに使用されている。また、クラス I とクラス II 領域間の組換えハプロタイプのブタは、クラウンミニブタ間の臓器移植のドナーとレシピエント間において、クラス I マッチ、クラス II ミスマッチの組み合わせ、または、クラス II マッチ、クラス I ミスマッチの組み合わせの移植が可能であり、これらのブタは、移植予後と SLA クラス I または、クラス II 遺伝子タイプの適合度の重要性を検証する上で有用であると考えられる。

また、クラウンミニブタ以外の品種の SLA 固定ブタの作成としては、雄、雌各 1 頭のデュロック種ブタの交配から兄妹交配を 7 代継続して岐阜県畜産研究所において行っている。このブタの第 3 世代から第 7 世代までの SLA タイプを解析し、d1, d2 の 2 種の SLA ハプロタイプに固定されていることが確認された。したがって、このブタについても 2 種類の SLA ハプロタイプをホモまたはヘテロに持つ SLA 固定ブタとして供給が可能である<sup>32)</sup>。

以上述べた SLA 純系のクラウンミニブタとデュロック種ブタに認められた 6 種のハプロタイプ (c1, c2, c3, c4, d1, d2) は、これまでに報告されている NIH や Yucatan, Sinclair ミニブタなどのハプロタイプと異なっている (ハプロタイプ表記は、最近、SLA Nomenclature committee により、表 1, 2 に示すように、クラス I, II ハプロタイプ別に、改訂されている (<http://www.ebi.ac.uk/ipd/mhc/sla/haplotypes.html>)。これらのクラス I ハプロタイプの中で 2.0 (a (NIH)) ハプロタイプの SLA-3 遺伝子、3.0 (c (NIH)) ハプロタイプとクラウン c2 ハプロタイプの SLA-1 遺伝子は、共に null の可能性がある。さらに、2.0 (a (NIH)), 8.0 (Westran), 12.0 (e (Hanford)) 及び、デュロック種ブタの d1 の各ハプロタイプでは、SLA-1 遺伝子が 2 個あると推測される。すなわち、これらのハプロタイプのブタでは、「1.1 SLA クラス I 領域の遺伝子構成と特徴」の項目でも述べたように、発現 SLA クラス I 遺伝子の数が異なることが示唆された<sup>14)</sup>。



表 1 SLA クラス I ハプロタイプ

Haplotype	Breed	Previous Designation	SLA-1	SLA-3	SLA-2	SLA-6
1a.0	Large White	H01	0101	0101	0101	0101
1b.0		H28	01rh28	01rh28	0101	
2.0	NIH	a (NIH)	0201, 0701	null	0201	02sa01
	Sinclair	b (Sinclair)				
	Hanford					
3.0	NIH	c (NIH)	null	0301	0301	01sc01
4a.0	NIH	d (NIH)	0401	0401	0401	0102
4b.0	Yucatan	x (Yucatan)	0401	0401	04sx01	01sx01
5.0	Yucatan	w (Yucatan)	0401	05sw01	08sw01	null
6.0	Yucatan	y (Yucatan)	w08sy01	0601	05sy01	03sy01
7.0	Yucatan	z (Yucatan)	w08sz01	0701	05sz01	0101
8.0	Westran		02wa02, 04wa01	0302	07we01	01we01
9.0	Sinclair	a (Sinclair)	0601	0501	0601	
	Hanford					
10.0	Sinclair	c (Sinclair)	0501	?	?	
11.0	Sinclair	d (Sinclair)	0101	0701sm19	0501	
12.0	Hanford	e (Hanford)	w08sm08, w09sm09	05sm14	10sm01	
13.0	Hanford	f (Hanford)	w10sm21	0401	w13sm20	
14.0		H12	0102	01rh12	07rh12	
15.0		H34	0102	07rh34	05rh34	
	Clawn	e1 (Clawn)	0401	06an03	w09an02	
	Clawn	e2 (Clawn)	null?	03an02	06an03	
	Duroc	d1 (Duroc)	w08an03, 06an04	0101	01an06	
	Duroc	d2 (Duroc)	-an02	05sm14	w10an01	

■: SLAが固定されたクラウンミニブタと近交系デュロック種ブタのハプロタイプ  
 下線: 同一遺伝子座に認められた複数アリル

MHC 領域は、種々の疾患との相関が報告されており、HLA 領域では、100 以上の疾患との有意な相関が報告されているが、SLA 領域では、メラノーマとの有意な相関が知られている他、各種の免疫パラメーター(ウイルスや細菌感染に対する感受性、合成ペプチドや羊赤血球などに対する反応性)が特定の SLA ハプロタイプと相関することが報告されている<sup>33)</sup>。

メラノーマを高頻度に自然発症するミニブタについては、SLA 領域を含め複数の染色体領域との連鎖が報告されているが、相関を示す SLA 領域や SLA 領域以外の染色体領域の MS マーカーによる多型性解析により、メラノーマの発症に感受性のハプロタ

イプの解析や疾患遺伝子の探索も進みつつある<sup>34)</sup>。ブタのメラノーマは、ヒトのメラノーマと病理組織学的に高い類似性を示し、診断や治療のための疾患モデルミニブタとして、利用可能であると考えられることから、これらのハプロタイプ解析の結果は、疾患モデル動物としてメラノーマミニブタを利用するための基礎的データとして、有用である。

また、SLA 領域周辺のマーカーを用いた連鎖解析から、この領域周辺には、背脂肪厚や、増体重量などの産業動物として重要な経済形質に関する quantitative trait locus (QTL) がマップされている。さらに、これらの形質及び、出生時の産子数、体重、排卵数などの繁殖性に関連する形質と SLA ハプロタ

表 2 SLA クラス II ハプロタイプ

Haplotype	Breed	Previous Designation	DRA	DRB1	DQA	DQB1
0.1	Large White	H01	0101	0101	101	101
0.2	NIH Sinclair Hanford	a (NIH) b (Sinclair)	0101	0201	201	201
0.3	NIH	c (NIH)	0201	0301	102	301
0.4	NIH	d (NIH)	0101	0201	202	401
0.5	Yucatan	x (Yucatan)	0203	0501	203	201
0.6	Yucatan	w (Yucatan)	0202	0501	103	801
0.7	Yucatan	y (Yucatan)	0203	0601	01my01	601
0.8	Yucatan	z (Yucatan)	0101	0801	204	202
0.9	Westran		0101	0201	03we01	402
0.1	Sinclair Hanford	a (Sinclair)		0401		801
0.11	Sinclair	c (Sinclair)	0202	0901		402
0.12	Sinclair	d (Sinclair)	0202	0602	301	701
0.13	Hanford	e (Hanford)		0403		303
0.14	Meishan	m (Meishan)		0901		801
0.15	Meishan	n (Meishan)		0401		201
0.16	Clawn	c1 (Clawn)		w11ac21		601
0.17	Clawn	c2 (Clawn)		0801		501
	Duroc	d1 (Duroc)		w11an01		05an01
	Duroc	d2 (Duroc)		0403		0303

■: SLAが固定されたクラウンミニブタと近交系デュロック種ブタのハプロタイプ

イプとの相関も報告されている<sup>35)</sup>。しかしながら、これらの相関のデータは、すべて血清学的な SLA タイピングによる結果であり、相関を示す SLA 遺伝子座や SLA タイプなどは不明である。これらのウイルスや細菌感染に対する感受性や免疫応答性などの抗病性に関与する形質並びに、肉質などの経済形質に関与する遺伝子の同定や相関するマーカーの検出は、畜産学分野において抗病性家畜や産業動物として優れた経済形質を有する家畜の育種選抜を行う上で、必須の条件である。現在、ブタ全ゲノム配列解読解析が進展しつつあることから、今後は SLA 領域を含めたブタゲノム塩基配列情報を駆使することにより、これらの SLA と相関を示す形質の責任遺伝子の同定、及び相関を示す SLA 遺伝子座や SLA

タイプの解明を通じて、SLA と各種の形質との相関の機構が明らかになり、家畜の育種選抜に役立つ情報が得られることが期待される。

#### おわりに

本稿では、SLA 研究の現状について、SLA 領域のゲノム解析と多型性を中心に概説し、これらの情報を医学や畜産学などの分野における応用の可能性について述べた。

今後は作成した 2 品種 6 ハプロタイプの SLA 固定純系ブタについて、これらのブタを利用したクラス I, II 遺伝子適合性と移植後との関連性の解析が期待される。さらに、異種移植に適した SLA 遺伝子改変ミニブタの作成、SLA 固定純系ブタを用いた

投薬などの治療のシミュレーションへの応用, 並びに病原微生物の感染実験やワクチン接種後の抗体産生能など各種抗原に対する免疫応答性の解析などにおいても, これらの SLA 固定純系ブタの利用拡大が進むことが望まれる。ワクチン接種後の抗体産生能については, 現在筆者らのグループが, 数種の細菌やウイルスに対する ワクチン接種後の抗体価と SLA タイプとの関連性について, SLA 固定純系ブタを用いて解析を進めている。

## 謝 辞

本稿で述べた筆者らのデータは, 重成敦子, 河田寿子, 椎名 隆, 猪子英俊(東海大・医), 上西博英(農業生物資源研), 太田正穂(信州大・医), 佐田正晴(国立循環器病センター), 北川 均(岐阜大・応用生物科学), 今枝紀明(岐阜県畜産研), Patrick Chardon (INRA), Stephan Beck (Wellcome Trust Sanger Inst.), Jerzy K. Kulski (Murdoch Univ.), 新村(三吉)由佳里, 鳥取潤一((株)ジャパンファームクラウド研), 各氏との共同研究である。ここに深く感謝いたします。

## 参考文献

- Lai L, Kolber-Simonds D, Park KW, *et al.*: Production of alpha-1,3-galactosyltransferase knockout pigs by nuclear transfer cloning. *Science* **295**: 1089–1092, 2002.
- Renard C, Sehra HK, Beasley HR, *et al.*: The genomic sequence and analysis of the swine major histocompatibility complex. *Genomics* **88**: 96–110, 2006.
- Smith TP, Rohrer GA, Alexander LJ, *et al.*: Directed integration of the physical and genetic linkage maps of the swine chromosome 7 reveals that SLA spans the centromere. *Genome Res* **5**, 259–271, 1995.
- Beck TW, Menninger J, Murphy WJ, *et al.*: The feline major histocompatibility complex is rearranged by an inversion with a breakpoint in the distal class I region. *Immunogenetics* **56**: 702–709, 2005.
- Gustafson AL, Tallmadge RL, Ramlachan N, *et al.*: An ordered BAC contig map of the equine major histocompatibility complex. *Cytogenet Genome Res* **102**: 189–195, 2003.
- Chardon P, Rogel-Gaillard C, Cattolico L, *et al.*: Sequence of the pig major histocompatibility region containing all non-classical class I genes. *Tissue Antigens* **57**: 55–65, 2001.
- Renard C, Vaiman M, Chiannikulchai N, *et al.*: Sequence of the pig major histocompatibility region containing the classical class I genes. *Immunogenetics* **53**: 490–500, 2001.
- Shigenari A, Ando A, Renard C, *et al.*: Nucleotide sequencing analysis of the swine 433-kb genomic segment located between the non-classical and classical SLA class I gene clusters. *Immunogenetics* **55**: 695–705, 2004.
- Ando A, Shigenari A, Kulski JK, *et al.*: Genomic sequence analysis of the 238-kb swine segment with a cluster of TRIM and olfactory receptor genes but no class I genes located at the distal end of the SLA class I region. *Immunogenetics* **57**, 864–873, 2005.
- Horton R, Wilming L, Rand V, *et al.*: Gene map of the extended human MHC. *Nature Genet Rev* **5**: 889–899, 2004.
- Ando A, Chardon P: The swine major histocompatibility complex: Gene organization and polymorphism. *Anim Sci J* **77**: 127–137, 2006.
- Renard C, Chardon P, Vaiman M: The phylogenetic history of the MHC class I gene families in pig, including a fossil gene predating mammalian radiation. *J Molec Evol* **57**: 420–434, 2003.
- Ruohonen-Lehto MK, Renard C, Rothschild MF, *et al.*: Variable number of pig MHC class I genes in different serologically defined haplotypes identified by a 3'-untranslated region probe. *Animal Genetics* **29**, 178–184, 1998.
- Smith DM, Lunney JK, Martens GW, *et al.*: Nomenclature for factors of the SLA class-I system, 2004. *Tissue Antigens* **65**, 136–149, 2005.

15. Xie T, Rowen L, Aguado B, *et al.*: Analysis of the gene-dense major histocompatibility complex class III region and its comparison to mouse. *Genome Res* **13**: 2621–2636, 2003.
16. Geffrotin C, Renard C, Chardon P, *et al.*: Marked Genetic-Polymorphism of the Swine Steroid 21-Hydroxylase Gene, and Its Location between the Sla Class-I and Class-II Regions. *Anim Genetics* **22**: 311–322, 1991.
17. Ballingall KT, Ellis SA MacHugh ND, *et al.*: The DY genes of the cattle MHC: expression and comparative analysis of an unusual class II MHC gene pair. *Immunogenetics* **55**: 748–755, 2004.
18. Amills M, Ramiya V, Norimine J, *et al.*: The major histocompatibility complex of ruminants. *Rev Sci Tech* **17**: 108–120, 1998.
19. Jarrell VL, Lewin HA, Da Y, *et al.*: Gene-Centromere Mapping of Bovine Dya, Drb3, and Prl Using Secondary Oocytes and First Polar Bodies - Evidence for 4-Strand Double Crossovers between Dya and Drb3. *Genomics* **27**: 33–39, 1995.
20. Barbosa A, Demeure O, Urien C, *et al.*: A physical map of large segments of pig chromosome 7q11-q14: comparative analysis with human chromosome 6p21, *Mammalian Genome* **15**, 982–995, 2004.
21. Tanaka M, Suzuki K, Morozumi T, *et al.*: Genomic structure and gene order of swine chromosome 7q1.1 q1.2. *Anim Gent* **37**, 10–16, 2005.
22. Crew MD, Phanavanh B, Garcia-Borges CN: Sequence and mRNA expression of non-classical SLA class I genes. *Immunogenetics* **56**, 111–114, 2004.
23. Chardon P, Renard C, Rogel-Gaillard C, *et al.*: The porcine major histocompatibility complex and related paralogous regions: a review. *Genet Se Evol* **32**, 109–128, 2000.
24. Rescovitz MD, Sachs DH, Lunney JK, *et al.*: Localization of class II MHC antigens on porcine renal vascular endothelium. *Transplantation* **37**, 627–630, 1984.
25. Davies HFFS, Taylor JE, White DJG, *et al.*: Major transplantation antigens of pig kidney and liver. *Transplantation* **25**, 290–295, 1978.
26. Chardon P, Renard C, Vaiman M.: The major histocompatibility complex in swine. *Immunological Review* **167**, 179–192, 1999.
27. Ando A, Kawata H, Shigenari A, *et al.*: Genetic polymorphism of the swine major histocompatibility complex (SLA) class I genes, *SLA-1*, *-2* and *-3*. *Immunogenetics* **55**, 583–593, 2003.
28. Martens GW, Lunney JK, Baker JE, *et al.*: Rapid assignment of swine leukocyte antigen haplotypes in pedigreed herds using a polymerase chain reaction- based assay. *Immunogenetics* **55**: 395, 2003.
29. Smith DM, Lunney JK, Ho CS, *et al.*: Nomenclature for factors of the SLA class-II system, 2005. *Tissue Antigens* **66**: 623–639, 2005.
30. Tanaka M, Ando A, Renard C, *et al.*: Development of dense microsatellite markers in the entire SLA region and evaluation of their polymorphisms in porcine breeds. *Immunogenetics* **57**: 690–696, 2005.
31. Ando A, Ota M, Sada M, *et al.*: Rapid assignment of the swine major histocompatibility complex (SLA) class I and II genotypes in Claw miniatur swine using PCR-SSP and PCR-RFLP methods. *Xenotransplantation* **12**: 121–126, 2005.
32. 今枝紀明, 吉岡豪, 大谷健ら: ブタ組織適合性抗原 (SLA) タイプが固定された近交系実験動物用ブタの作出, 医学のあゆみ, **213**: 775–776, 2005.
33. Lunney JK: Current status of the swine leukocyte antigen complex. *Vet Immunol Immunopathol* **43**: 19–28, 1994.
34. Geffrotin C, Crechet F, Le Roy P, *et al.*: Identification of five chromosomal regions involved in predisposition to melanoma by genome-wide scan in the MeLiM swine model. *Int J Cancer*

**110:** 39–50, 2004.

35. Vaiman M, Chardon P, Rothschild MF, *et al.*: Por-

cine major histocompatibility complex. *Rev sci  
tech Off int Epiz* **17:** 95–107, 1998.

## ● 総 説 ●

# [シリーズ：移植医療と組織適合性]

## 第 1 回

### 同種造血幹細胞移植の現状と免疫遺伝学の新たな課題

一戸 辰夫

京都大学大学院医学研究科 血液・腫瘍内科学

**要約：**同種造血幹細胞移植 (allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation, allo-HSCT) の臨床応用が開始されて以来、今日まで、ほぼ半世紀が経過した。移植プロトコルや幹細胞ソースの多様化を背景として、近年、allo-HSCT に対する需要はますます増大しつつあるが、依然としてその治療関連毒性は高く、生着不全や移植片対宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) に代表される免疫学的合併症の克服が大きな課題とされている。移植関連合併症のリスクを最小化するためには適切なドナー選択が必要との立場から、科学的な根拠に基づいた「組織適合性基準」を確立することを目指して、ヒトの免疫遺伝学は同種免疫応答とその制御にかかわる様々な問題の解決を要請されてきた。Allo-HSCT の領域で得られたその成果は膨大であり、HLA の DNA タイピング技術の向上と国際的な臨床データベースの充実に伴い、HLA クラス I・クラス II 遺伝子群のアリル型適合性あるいは HLA クラス I 分子とキラー細胞免疫グロブリン様受容体 (killer cell immunoglobulin-like receptors, KIRs) の適合性と移植成績との関連が、現在も詳細かつ継続的に解析されている。また、ヒトゲノム配列解読や全染色体ハプロタイプ地図 (HapMap) 作成プロジェクトの進展により、マイナー組織適合性抗原・サイトカイン遺伝子多型・自然免疫応答遺伝子多型など、HLA 領域以外に存在するゲノム多様性の移植臨床における意義を網羅的に探索することも実現可能となりつつあり、今後これらの研究成果を通じて、allo-HSCT の安全性と有効性が一層向上することが強く期待されている。

**キーワード：**移植片対宿主病 (GVHD), HLA アリル型適合性, キラー細胞免疫グロブリン様受容体 (KIRs), 免疫応答遺伝子多型

#### 1. はじめに

1950 年代、それまでの動物実験を経て、Thomas や Mathé らにより同種骨髄移植 (allogeneic bone marrow transplantation, allo-BMT) のヒトへの臨床応用が開始されてから、今日までおよそ半世紀が経過した。未だ「組織適合性」の概念が十分確立され

ていなかった黎明の時代、この「実験的治療」の門出はきわめて苦難に満ちたものであり、Mathé の 1968 年の報告によれば、21 名に実施した初期の骨髄移植の成績として、6 名は生着不全のために、11 名は移植片対宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) あるいはそれに関連する合併症のために、

著者連絡先 〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町 54  
京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科  
一戸 辰夫

電話 075-751-3153  
F A X 075-751-4963  
E-mail nohe@kuhp.kyoto-u.ac.jp

そして残りの4名は白血病再発のために、いずれも移植後20ヶ月を越える生存を得ることはできなかつたとされている<sup>1)</sup>。その後、Daussetやvan RoodらによるHLAの発見を受けて、「主要組織適合性抗原の一致した同胞」をドナーに選択することが可能となると、致命的な免疫学的合併症が出現する頻度はようやく許容可能な範囲にまで減少し、ここに骨髄移植が「普及可能な医療技術」として確立されることとなったのは周知の通りである。それ以降も、カルシニューリン阻害剤によるGVHD予防法をはじめとして、移植後合併症に対応するためのさまざまな技術が導入されたにもかかわらず、移植の安全性を担保するためには、ドナーとレシピエントの間に最も厳格なHLAの適合性を要求してきた点で、同種造血幹細胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT)は現代の移植医療の中でも特異な位置を占めてきた。

さて、最近10年間において、allo-HSCTの実地臨床には、その適応とドナー選択基準に見直しを迫るような、言わばパラダイム変換と見なしえるほどの大きな変化がもたらされている。そのひとつは毒性を減じた移植前処置の開発によってレシピエントの「年齢の障壁」が60歳代後半程度にまで引き上げられたことであり、もうひとつは非血縁者間臍帯血移植の普及によって「HLAの障壁」が相対的に低いものとなりつつあることである。このような状況下において、移植成績向上のために免疫遺伝学が対応すべき課題もさらなる進化を遂げており、そこでは単純なHLAの適合性という枠組みを越え、個々のHLAアレル型不一致の質的な相違を評価することや、移植後の免疫制御に関与するHLA以外の遺伝子多型を明らかにすることが重要な研究領域となりつつある<sup>2),3)</sup>。

本稿では、このような歴史的変革期にあるallo-HSCTの現状を概観するとともに、今後allo-HSCTの「組織適合性」評価の上で、臨床現場においても重要となることが予測される新たな免疫遺伝学的知見のいくつかを紹介する。

## 2. 多様化する同種造血幹細胞移植

### 2.1. 幹細胞ソースの多様化

1980年代後半に至るまで、allo-HSCTの実施に当たっては、ほぼ唯一の幹細胞ソースとして骨髄が利用されていたが、幹細胞生物学の発展、顆粒球コロニー刺激因子(granulocyte-colony stimulating factor, G-CSF)の臨床開発などを背景として、1988年には臍帯血を用いた移植が初めて行なわれ<sup>4)</sup>、1993年にはG-CSFを用いて動員された同種末梢血幹細胞移植の成功例が報告された<sup>5)</sup>。以後、これら2つの幹細胞ソースは急速な普及を見せ、本邦においてもドナーからのG-CSFによる末梢血幹細胞採取が保険適応となった2000年以降においては、血縁者間移植における幹細胞ソースとして末梢血が骨髄を上回るようになり、非血縁者間移植の幹細胞ソースとしても、2003年以降、臍帯血の使用が骨髄の70~90%程度にまで達するに至っている(図1)(2006年の非血縁者間骨髄移植の実施件数は949件、臍帯血移植の実施件数は692件)。

それぞれの疾患、それぞれの病態に対して、骨髄、末梢血幹細胞、臍帯血のうち、いずれの幹細胞ソースを選択するのが最適であるのかに関しては、現時点においては十分に明らかにされていない。HLA一致同胞間における末梢血幹細胞移植と骨髄移植との比較に関しては、複数の前向き臨床研究が実施されており、2005年にそれらを総括するメタアナリシスの結果が公表されている<sup>6)</sup>。その結果によれば、末梢血幹細胞移植では骨髄移植と比較し、生着が早く、原疾患の再発率は低いものの、III度以上の急性GVHDおよび慢性GVHDの発症リスクが高く、また、治療関連死亡に関しては両群間に有意差は認められず、進行病期例においては末梢血幹細胞移植群の生存率が高かったと結論されている。本邦においては、谷本らによって同様の比較検討が後方視的に行なわれているが、末梢血幹細胞移植群では、生着が早く、慢性GVHDの発症リスクが有意に高かった以外、急性GVHD・治療関連死亡・原疾患の再発・生存に関して、骨髄移植群との間に有意な差は認められていない<sup>7)</sup>。以上のような経験から、同種末梢血幹細胞移植は、従来の骨髄移植と比較して、生着の点では有利であるものの慢性GVHDの発症リ

(報告件数)

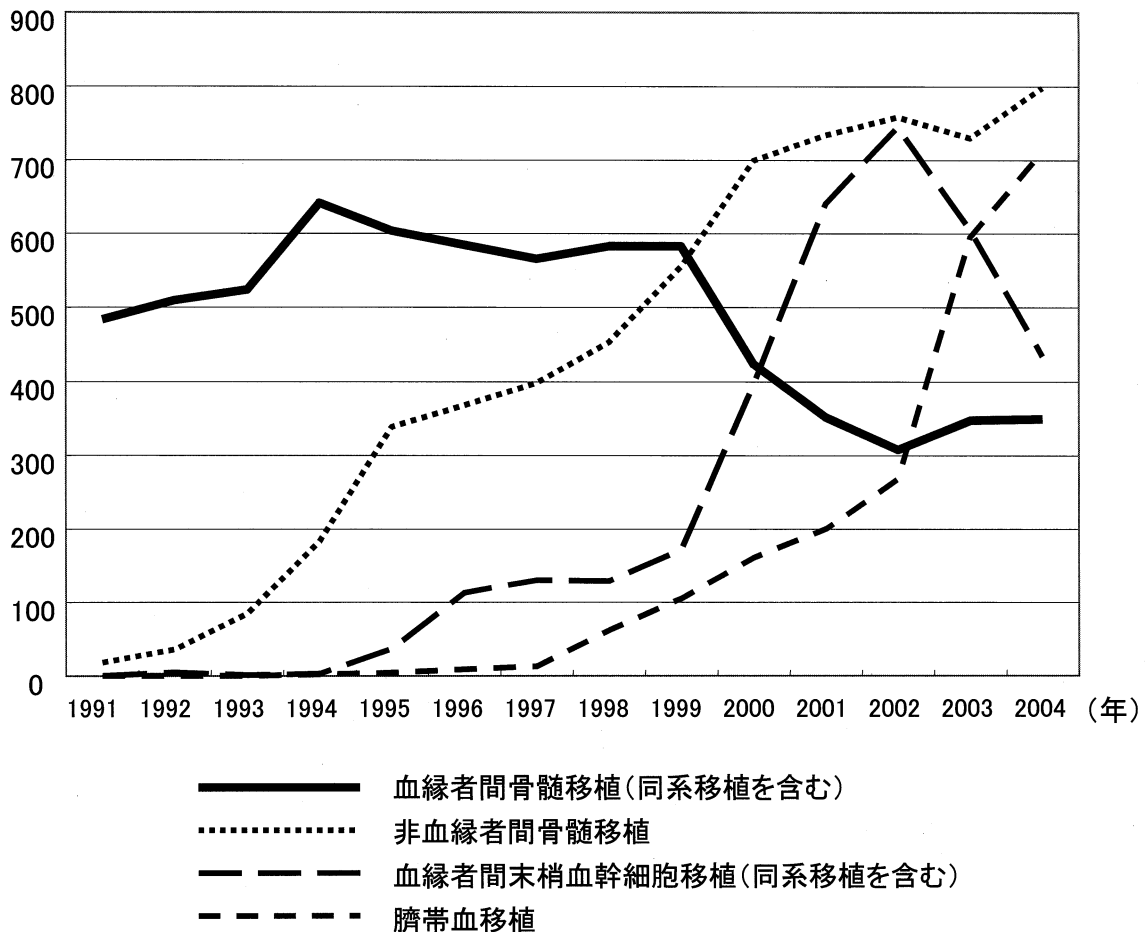


図1 本邦における幹細胞ソース別の年次毎同種造血幹細胞移植実施件数

血縁者間移植の件数は日本造血細胞移植学会平成17年度全国調査報告書に基づく。非血縁者間骨髄移植・臍帯血移植の実施件数は、骨髄移植推進財団および日本さい帯血液バンクネットワークの広報資料による。

スクが高い可能性があり、その生存に対する長期的影響はさらに検討が必要と考えるのが妥当と思われる。

臍帯血移植と骨髄移植の比較に関しては、これまでいくつかの後方視的研究結果が報告されている。HLA一致同胞間で移植が実施された小児例を対象とした研究では、臍帯血の使用は、生着の点では不利であったものの、急性GVHD・慢性GVHDいずれの発症リスクも軽減に導き、生存率は骨髄を用いた場合と有意差が認められなかったとされている<sup>8)</sup>。また、成人に対する移植例をも含んだ非血縁者間臍帯血移植と非血縁者間骨髄移植との比較研究がヨーロッパと北米から独立して報告されており、HLA-A、

HLA-Bの適合性を血清学的タイピングのレベル、HLA-DRB1の適合性をアレル型レベルで判定した場合、HLA2抗原以内不一致の臍帯血移植群はHLAの適合した骨髄移植群と比較して、ヨーロッパでの研究においては、生着率は劣るものの、急性GVHDの発症リスクは低く、慢性GVHD・治療関連死亡・無病生存率には有意差は認められないとする結果が得られており<sup>9)</sup>、一方、北米の研究では、急性GVHDに関しては有意差が見られなかったものの、慢性GVHDの発症と治療関連死亡のリスクに関しては臍帯血移植群で高かったとされている<sup>10)</sup>。

なお、臍帯血移植では適応や移植プロトコールに関して施設間における不均一性が高いことが指摘さ



れており、上記の結果は、さまざまなバイアスを含んだものとして慎重な解釈が必要と思われる。実際、単一施設において比較的均一な方法で移植が行なわれた場合の結果として、本邦の高橋らにより、成人造血器腫瘍への臍帯血移植は、非血縁者間骨髄移植より有意に高い生存率を示し、血縁者間移植と同等のすぐれた成績が得られていることが報告されている<sup>11), 12)</sup>。したがって、非血縁者間臍帯血移植は、10%前後に見られる生着不全のリスクが大きな課題ではあるものの、移植ユニットの選定に当たってHLA-A, -B, -DRのうち2抗原までの不一致を許容してもGVHDの重症化が起こりにくいという大きな利点を有しており、移植プロトコルや合併症管理技術の改良により、今後、治療成績がさらに向上するポテンシャルを有した移植法と思われる<sup>13)</sup>。

## 2.2. 移植前処置の多様化

従来、allo-HSCT実施に当たっての大きな障壁は大量の化学療法と放射線照射に伴う造血器官以外の臓器への治療関連毒性であり、そのため、1990年代前半まで一般にその適応は、問題となる臓器障害を有していない50歳以下程度の比較的若年者に限定されてきた。しかし、その後、同種移植による抗腫瘍効果の主体は、前処置よりもむしろドナー由来T細胞などを介する免疫学的な機序に依存しているとする立場から、移植前処置をドナーの造血幹細胞を生着させるために必要な免疫抑制法として見直す考え方が生まれ、1990年代後半に至り、骨髄非破壊的前処置(non-myeloablative conditioning)、治療強度を緩和した前処置(reduced-intensity conditioning)などと呼ばれる、毒性を軽減化した前処置を用いた移植法の臨床開発が進められるようになった<sup>14), 15), 16), 17)</sup>。

これらの移植方法は、従来の「骨髄破壊的」な前処置を用いた移植と比較した場合、理論的に生着不全や原疾患の再発リスクを増加させる可能性もたれるものであったため、その最も初期においては、実験的な治療として欧米の一部の施設で行なわれるにとどまっていたが、その後わずか数年程度の間、世界中の移植施設において多数の臨床試験が推進されることとなった。European Group for Blood and

Marrow Transplantation (EBMT)が行なっているactivity surveyによれば、reduced-intensity conditioningを用いた移植の行なわれている比率は、地域毎に普及の速度に差が見られているものの、2004年の時点ですべての同種移植中31%を占めるに至っているとされており<sup>18)</sup>、本邦でもほぼ同様の傾向が確認されている。

このようなreduced-intensity conditioningの急速な普及の背景には、新たな移植前処置薬として、G<sub>0</sub>期のリンパ球に対してもアポトーシスを誘導可能という強力な免疫抑制作用を有しているにもかかわらず<sup>19)</sup>、骨髄抑制作用が軽微で非血液毒性も少ないという利点を持つプリン誘導体のフルダラビンが導入されたことが大きな役割を果たしている。現在のところ、reduced-intensity conditioningとして国際的に標準的とみなしえるものは確立していないが、これまでに報告されたレジメンのほとんどがフルダラビンを使用したものであり、それにブスルファンやメルファランなどのアルキル化剤や低線量(200~400 cGy)の全身放射線照射を組み合わせる方法が一般的である<sup>20)</sup>。

なお、reduced-intensity conditioningを用いた移植時におけるHLA適合性に関しては、まだ十分な検討が行なわれていないが、非血縁者間で実施される場合には、HLA-A, -B, -DRB1を適合させても生着不全のリスクが高い可能性が示唆されており<sup>21), 22), 23)</sup>、本邦で行なわれた後方視的な調査では、HLA1抗原不一致血縁者をドナーとする場合の成績は、HLA一致血縁者をドナーとする場合と比較して急性GVHD・慢性GVHDの発症リスクが高まるものの、生存に関しては同等の成績が得られていることが報告されている<sup>24)</sup>。また、年齢の障壁とHLAの障壁をあわせて克服可能な試みとして、reduced-intensity conditioningを用いた臍帯血移植の開発も行なわれており、新規治療薬の開発が遅れている比較的高齢者の骨髄異形成症候群や急性白血病に対する有望な治療法になり得るものとして期待されている<sup>25), 26)</sup>。

## 2.3. 移植片対宿主病(GVHD)予防法の多様化

臓器移植の領域と比較すると、allo-HSCTへの新

規免疫抑制薬の導入は、少なくとも過去10年間においては緩やかに行なわれてきた。移植後最大の合併症であるGVHDの予防プロトコールに関しても、1980年代にシクロスポリンと短期メソトレキセートによる標準的方法が確立されて以来、タクロリムスの導入を除けば、大きな変更は行われていない<sup>27), 28), 29)</sup>。また、allo-HSCTにおけるGVHD予防法の強化は、移植片対腫瘍(graft-versus-tumor, GVT)効果の減弱や感染性合併症リスクの増大と背中合わせの関係にあり、従来は必ずしも生存率の向上に結びついてこなかった<sup>30), 31)</sup>。しかし、骨髄非破壊的な前処置を用いた移植方法の開発過程において、移植前後の免疫抑制法の選択は、レシピエント免疫担当細胞の機能を抑制することを通じて移植片の生着にも影響を与える因子となることが再認識されたことも契機となり<sup>32), 33)</sup>、最近では、ミコフェノール酸モフェチルやシロリムスを組み込んだ新たなGVHD予防法の有用性が検討され始めている<sup>35), 36), 37)</sup>。とりわけ、現在ボストンのグループによって開発されているタクロリムスとシロリムスの二剤によるプロトコールは、生存率の低下を招くことなくきわめてすぐれたGVHD発症抑制効果を達成することに成功しており<sup>37)</sup>、血栓性微小血管障害(thrombotic microangiopathy, TMA)のリスクが増加する可能性などの課題が存在するものの<sup>38)</sup>、非常に有望な薬剤として注目を集めている。現在、全米においてタクロリムスとメソトレキセートを対照群とした無作為化比較試験が実施されている。また、シロリムスはmammalian target of rapamycin (mTOR)の活性を抑制することを通じて、移植後のウイルスや腫瘍の増殖に対しても抑制的に作用することが期待されている<sup>39), 40)</sup>。

#### 2.4. 移植対象疾患の多様化

従来、allo-HSCTの適応疾患としては難治性白血病、先天性の免疫不全症や代謝異常症、先天性・後天性の造血障害が主要なものとされてきたが、1990年代後半以降、前術のように比較的高齢者に対しても適用可能な移植技術が開発されたことを背景として発症年齢のピークが60歳台以降にある悪性リンパ腫・骨髄腫に対するallo-HSCTの実施件数が増加し

つつある。また、転移性腎細胞がんに対するGVT効果の発見を受けて<sup>41)</sup>、固形腫瘍に対するallo-HSCTの有効性の検討も引き続き行われている(表1)。1991年から2004年までに実施された初回の同種移植として日本造血細胞移植学会全国調査に報告されている件数が上位の3疾患は急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病であるが(表2)、分子標的薬の登場によって、慢性骨髄性白血病に対する移植の機会は2001年以降急速に減少しており、国際的にも同様の傾向が報告されている<sup>18)</sup>。また、本邦からのユニークな貢献としては、難治性で知られる成人T細胞白血病・リンパ腫に対しても病勢によってはallo-HSCTが有効な治療法であることが明らかにされている<sup>42), 43)</sup>。

### 3. HLA適合性に関する最近の知見

#### 3.1. HLAアレル型不一致の定義

Allo-HSCTのドナー選択は、歴史的に、血縁者間・非血縁者間を問わず、血清学的タイピングによるHLA-A, HLA-B, HLA-DR抗原の適合性に基づいて行なわれてきたが、それぞれのHLA遺伝子座のアレル型を容易に決定することが可能となった現在では、その基準にも見直しが迫られている。現在、日常的に使用されているHLAのDNAタイピング法には、PCR-SSP(sequence-specific primer)法、PCR-SSO法(sequence-specific oligonucleotide)法、蛍光ビーズ法、PCR-SBT(sequence-based typing)法などがあり、これらの解像度が様々であるため用語上の混乱を招いている場合もあるが、allo-HSCTにおけるHLA適合性を定義する場合には、従来の血清型に対応する2桁で表示されるタイピングで見出される不一致を「低解像度の不一致(low resolution mismatch)」、低解像度レベルでは一致しているが、HLAアレル型に対応する4桁以上で表示されるタイピングのレベルで見出される不一致を「高解像度の不一致(high-resolution mismatch)」として厳密に区別して扱うことが妥当と思われる<sup>45), 46)</sup>。

#### 3.2. 血縁者間移植

HLA一致同胞以外の血縁者をドナーとするallo-HSCTを対象として、高解像度タイピングレベルで

表1 同種造血幹細胞移植の実施対象とされてきた代表的な疾患

疾患カテゴリー	適応基準*	移植の対象とされてきた疾患・疾患群
1・造血器悪性腫瘍及び類縁疾患	A B	急性骨髄性白血病、急性リンパ性白血病、慢性骨髄性白血病、骨髄異形成症候群 悪性リンパ腫、多発性骨髄腫、成人T細胞白血病・リンパ腫、慢性リンパ性白血病 慢性骨髄性白血病以外の骨髄増殖性疾患
2・原発性免疫不全症	A B	重症複合型免疫不全症(SCID)及びその類縁疾患 Wiskott-Aldrich症候群、X連鎖高IgM血症、家族性血球貪食性リンパ組織球症 食細胞機能不全症(慢性肉芽腫症、Chediak-Higashi症候群、好中球接着不全症)
3・先天性代謝異常症	B	ライソゾーム病(ムコ多糖症、Gaucher病、Krabbe病、異染性白質ジストロフィーなど) ペルオキシソーム病(副腎白質ジストロフィー)
4・先天性造血障害	A B C	Fanconi貧血、異常ヘモグロビン症(サラセミア、鎌状貧血) Diamond-Blackfan症候群、Shwachman-Diamond症候群、先天性無巨核球性血小板減少症 先天性角化異常症(dyskeratosis congenita)
5・後天性造血障害	A B	再生不良性貧血 発作性夜間血色素尿症
6・固形腫瘍	C	腎細胞がん、乳がん、卵巣がん、膵がん、大腸がん
7・その他の疾患	B C	慢性活動性EBウイルス感染症 骨形成不全症(osteogenesis imperfecta)、大理石骨病、自己免疫性疾患(Evans症候群)

## \*適応基準

A: 同種造血幹細胞移植の適応がほぼ確立している疾患

B: 一部に対して同種造血幹細胞移植の有効性が示されているが、適応や標準的移植方法が十分に確立していない段階の疾患

C: 同種造血幹細胞移植の有効性が検討されている段階の疾患

表2 本邦における疾患別・幹細胞ソース別の同種造血幹細胞移植実施件数

	血縁者間 骨髄移植	血縁者間 末梢血幹細胞 移植	非血縁者間 骨髄移植	臍帯血移植	合計
急性骨髄性白血病	1,687	715	1,497	313	4,212
急性リンパ性白血病	1,548	442	1,455	313	3,758
慢性骨髄性白血病	1,066	271	1,100	61	2,498
骨髄異形成症候群	573	351	628	160	1,712
非ホジキンリンパ腫	375	400	315	98	1,188
成人T細胞白血病	37	86	79	28	230
多発性骨髄腫	60	61	26	3	150
固形腫瘍	83	95	4	17	199

1991年から2004年の間に実施された初回の同種移植として日本造血細胞移植学会に平成17年度全国調査の時点までに報告された移植実施件数を示す。

のHLAアレル型不一致の臨床的意義を検討した報告は少なく、今後の重要な研究課題と思われる。本邦で実施された後方視的な解析では、低解像度のレベルにおけるクラスI、クラスIIいずれの不一致もHLA一致同胞間移植と比較して、急性GVHDの発

症リスクを増加させるとされている<sup>47)</sup>。また、HLA-A、HLA-B、HLA-DRB1のアレル型が一致している同胞間においても、HLA-DRB1とHLA-DPB1の間にはHLA領域内で最も遺伝子組み換えの頻度が高いhot spotが存在しているため<sup>48)</sup>、5%前後の頻度で

*HLA-DPBI* の不一致が存在している可能性があり、GVH 方向の不一致となっている場合には II 度以上急性 GVHD の発症リスクを高めることが報告されている<sup>49), 50)</sup>。

### 3.3. 非血縁者間骨髄移植

非血縁者間骨髄移植においては、高解像度レベルでの HLA アリル型の適合性が移植成績に強い影響を与えることが明らかにされており、これまで主に本邦の骨髄バンク (Japan Marrow Donor Program,

JMDP) および米国の骨髄バンク (National Marrow Donor Program, NMDP) を介する移植例を対象として、*HLA-A*, *HLA-C*, *HLA-B*, *HLA-DRB1*, *HLA-DQA1*, *HLA-DQB1*, *HLA-DPA1*, *HLA-DPBI* の不一致の臨床的意義が詳細に検討されている。(表 3)<sup>46), 51-58)</sup>。特に、これまでの検討結果から、*HLA-A*, *HLA-C*, *HLA-B*, *HLA-DPBI* の不一致は急性 GVHD の発症リスクを増加させることが知られており、*HLA-A*, *HLA-B* の不一致は生存率の低下に関与するとされている。また、興味深いことに、最近 JMDP

表 3 非血縁者間骨髄移植において HLA アリル型不一致が移植成績に与える影響

遺伝子名	移植成績への影響	文献
<i>HLA-A</i>	急性GVHD・慢性GVHDの発症リスクを増加させ、生存率の低下に関連(JMDP)。	(51-53)
	急性GVHD・慢性GVHDの発症リスクを増加させ、生存率の低下に関連(NMDP)。	(46)
<i>HLA-C</i>	急性GVHD・慢性GVHDの発症リスク増加に関連(JMDP)。	(51-53)
	生着不全・急性GVHDの発症リスクを増加させる傾向あり、生存率を低下させる(NMDP)。	(46)
<i>HLA-B</i>	急性GVHDの発症リスクを増加させ、生存率を低下させる(JMDP)。	(51-53)
	急性GVHDの発症リスクを増加させる傾向あり、生存率の低下に関与(NMDP)。	(46)
<i>HLA-DRB1</i>	生着不全・急性GVHD・慢性GVHD・生存のいずれにも影響なし(JMDP)。	(51-53)
	III度以上急性GVHDの発症リスクを増加させる傾向があり、生存率の低下に関与(NMDP)。	(54)
<i>HLA-DQA1</i>	生存率への影響なし(JMDP, NMDP)。	(51, 54)
<i>HLA-DQB1</i>	生着不全・急性GVHD・慢性GVHD・生存のいずれにも影響なし(JMDP)。	(51-53)
	生存率への影響なし(NMDP)。	(54)
<i>HLA-DPA1</i>	急性GVHD・生存率への影響なし(JMDP)。	(51, 56)
	生存率への影響なし(NMDP)。	(54)
<i>HLA-DPBI</i>	急性GVHDの発症リスクを高めるが、生存率への影響はなし(JMDP)。	(53)
	生存率への影響なし(NMDP)。	(54)
	急性GVHDを増加させ、生存率を低下させる。	(56)
	2組の不一致が存在すると急性GVHDが増加し、生存率も低下。	(57)
	急性GVHDの発症リスクを高めるが、再発リスクは低下(T細胞除去移植を主体とした解析)。	(58)

JMDP, NMDP は本文参照。JMDP での *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-DRB1* の解析以外は、low-resolution mismatch をも含めて行なわれた結果。

で行なわれた解析では、これらのアリル型不一致が移植成績に与える影響は疾患毎に異なっていることも明らかにされており、たとえば急性骨髄性白血病に対する移植では *HLA-A* のアリル型不一致の生存への影響は認められないことや、慢性骨髄性白血病に対する移植では *HLA-DPBI* の不一致が再発の低下に関連することが報告されている<sup>53)</sup>。

### 3.4. 非血縁者間臍帯血移植

非血縁者間臍帯血移植においては、移植ユニットの選択時に、低解像度レベルで *HLA-A*, *-B*, *-DR* のうち少なくとも2抗原までの不一致が許容されており、高解像度レベルでの *HLA* アリル型不一致が移植成績に与える意義に関する報告は少ない。ドイツで行なわれた122例を対象とする *HLA-A*, *HLA-B*, *HLA-C*, *HLA-DRB1*, *HLA-DQB1* の適合性の検討では、高解像度タイピングによって判明したアリル型の不一致が2組以下の移植例は36例のみであり、約半数にあたる59例においては4組以上の不一致が存在していたにもかかわらず、不一致アリル数の多寡による生存への影響は認められなかった、と報告されている<sup>59)</sup>。

## 4. HLA 遺伝子群以外の免疫遺伝子多型

### 4.1. ヒトゲノム多様性と組織適合性

HapMap プロジェクトなど国際的なゲノムプロジェクトの進展に伴い、現在、ヒトゲノム構造の多様性とその生物学的意義の解明に大きな関心が集まりつつある。ゲノム構造の多様性をもたらす要素としては、一塩基多型 (single nucleotide polymorphisms, SNPs) の他、特定の遺伝子配列の欠損や逆位、コピー数多型 (copy number variants, CNVs) などが知られており、これらが個体間における疾患感受性や免疫応答、薬物感受性などの相違に関与していることが明らかにされている<sup>60)</sup>。Allo-HSCTにおける同種免疫応答も、大局的見地からは、ドナーとレシピエント間におけるゲノム構造の相違の総和として規定されているものと考えられ、現在、移植成績に影響を与える *HLA* 以外の遺伝子多型として、キラー細胞免疫グロブリン様受容体 (killer cell immunoglobulin-like receptors, KIRs), マイナー組

織適合性抗原, サイトカイン遺伝子, 自然免疫応答に関与する遺伝子の多型などの関与が報告されている(表4)。

### 4.2. キラー細胞免疫グロブリン様受容体 (KIRs)

1970年代に「hybrid resistance」(異なった純系マウスの交配によって生まれた第一世代の雑種が両親と同じ系統のマウスの骨髄を拒絶する現象)への関与が示唆されて以来、抗原特異的な受容体を持たないNK細胞による同種免疫応答の機序は長らく不明であったが、現在では、主に *HLA* クラスI分子あるいはクラスI類縁分子を認識するNK細胞受容体によって担われていることが明らかにされている<sup>61)</sup>。NK細胞受容体は、比較的良く保存された構造を持つ「レクチン型受容体 (CD94: NKG2 ヘテロダイマー)」と多型性に富んだ「キラー細胞免疫グロブリン様受容体 (KIRs)」の2群に大別され、それぞれの群には細胞内に活性化シグナルを伝えるものと抑制性シグナルを伝えるものが存在する。NK細胞の機能は、これらの受容体を介する正負のシグナルのバランスによって決定されており、非自己 *HLA* を発現する同種移植片や、クラスI分子を欠失した腫瘍細胞など抑制型受容体のリガンドを発現していない細胞を認識すると、NK細胞は細胞傷害性を発揮するものと考えられている (“missing self” 理論)。

個々のNK細胞表面におけるNK細胞受容体の発現様式はさまざまであるが、そのクラスI分子特異性は、主にKIRのレパートリーによって決定されており、たとえば抑制性受容体であるKIR2DL1はN末端から80番目のアミノ酸としてリジン (Lys) を持つ *HLA-C* 分子、KIR2DL2/3は80番目がアスパラギン (Asn) である *HLA-C* 分子、KIR3DL1はBw4モチーフを有する *HLA-B* 分子をそのリガンドとしている。本邦に分布するKIRハプロタイプの多くは活性化型受容体が1種類 (KIR2DS4) しかコードされていないハプロタイプAと呼ばれるものである<sup>62)</sup>。また、NK細胞は自己への細胞傷害性を発揮しないために、従来、自己 *HLA* を認識する抑制受容体を最低1種類は発現しているものと考えられてきたが、最近では、抑制型受容体を持たないNK細胞にも自己へのトレランスを獲得しているものが存

表 4 同種造血幹細胞移植後の免疫応答に影響を与える HLA 以外の遺伝子群

		遺伝子名
<b>1) マイナー組織適合性抗原</b>		
常染色体上		<i>KIAA0023(HA-1), MYO1G(HA-2), LBC(HA-3), KIAA0020(HA-8), HB-1, BCL2A1(ACC-1, ACC-2), UGT2B17, P2X5, PANE1, ECGF-1, SP110</i>
Y染色体上		<i>DDFRY, SMCY, UTY, DBY, RPS4Y, TMSB4Y</i>
<b>2) キラー細胞免疫グロブリン様受容体(KIR)</b>		
抑制性受容体		<i>KIR2DL1, KIR2DL2/3, KIR3DL1, KIR3DL2, KIR3DL3</i>
活性化型受容体		<i>KIR2DS1, KIR2DS2, KIR2DS3, KIR2DS4, KIR2DS5, KIR3DS1, KIR2DL4</i>
<b>3) サイトカイン遺伝子</b>		
		<i>TNF, TNFRSF1B, IFNG, IL1A, IL1B, IL1RN, IL2, IL6, IL10, IL10RB, TGFB,</i>
<b>4) 自然免疫応答遺伝子</b>		
		<i>MBL2, NOD2/CARD15, MPO, FcGRIIA, BPI</i>

在していることが報告されている<sup>63)</sup>。

Allo-HSCTの実施時には、ドナーとレシピエントの間で KIR のレパートリーや KIR のリガンドである HLA クラス I 分子の不一致が発生する場合があります。現在、その移植成績への影響が精力的に研究されている<sup>64), 65)</sup>。当初、イタリアのグループにより、HLA 不一致血縁者間における T 細胞除去移植においては、KIR リガンドとしての HLA クラス I の不適合が存在すると、ドナー NK 細胞による「GVL 効果」によって白血病の再発リスクが低下するとともに、GVHD の発症も抑制される(「リガンド対リガンド」モデル)という報告がなされたことはよく知られているが<sup>66)</sup>、その後の検討においては controversial な結果が得られており、このような効果は必ずしも確認されていない。最近では、ドナーの KIR レパートリーとレシピエントの HLA の組み合わせに基づいたモデル(「受容体対リガンド」モデル: ドナーの KIR レパートリーがレシピエントの HLA によって抑制されない組み合わせとなっている場合に NK 細胞による抗白血病効果が得られやすいと考える)を用

いる方が、より適切であるとする報告が行なわれており<sup>67)</sup>、T 細胞除去を行わない移植においては、KIR リガンドの不一致がむしろ移植成績を悪化させる可能性も指摘されている<sup>68)</sup>。なお、移植後に再構築される NK 細胞受容体のプロファイルはおおむねドナー型になるものの必ずしも均一なパターンを示さず、HLA の一致した同胞あるいは非血縁者をドナーとする移植後の末梢血を用いた検討では、ドナー型に類似しているが KIR の発現量が少なく CD94: NKG2A の発現量が多い場合、ドナーともレシピエントとも異なる独特のレパートリーの形成が認められる場合なども認められることが報告されている<sup>69)</sup>。

#### 4.3. マイナー組織適合性抗原

マイナー組織適合性抗原 (minor histocompatibility antigens, mHAs) は、HLA 分子に提示される細胞内タンパク質のペプチド多型のうち、同種の CD8 + T 細胞あるいは CD4 + T 細胞によって HLA 拘束的に認識され、同種免疫応答の発生に関与するものと定義され<sup>70)</sup>、1995 年ライデン大学の Goulmy らのグ

ループによって分子としての同定が初めて行われて以来<sup>71), 72)</sup>, 現在まで常染色体上に存在するもの, Y染色体上に存在するものがそれぞれ10種類以上見出されている。動物モデルを用いた研究により, ドナーとレシピエントの間に複数のmHAの相違が存在する場合, それらすべてに対する同種免疫応答が均一に発生するのではなく, ある特定のmHAに対する応答が優位になるいわゆる“immunodominance”とよばれる現象が知られているが<sup>73)</sup>, 現時点では, 単独のmHAとして移植片の拒絶やGVHDに明らかな関連があるものは見出されてていない。また, 現実的には, GVHDを回避するためにmHAをすべて適合させたドナーを選択することは困難であり, むしろその発現の臓器特異性を利用して, 白血病を含む悪性腫瘍に対するmHAを標的とした養子細胞免疫療法の開発が試みられている<sup>74)</sup>。

#### 4.4. サイトカイン遺伝子多型

急性GVHDは移植前処置による組織の損傷を基盤として発症する炎症としての側面を有していることから, これまで様々な炎症性サイトカインあるいは炎症抑制性サイトカインの遺伝子多型とGVHDの発症リスクとの関連についての検討が行なわれている。

SeattleのLinらは, allo-HSCTが実施された1000組以上のHLA一致同胞のペアを対象として, 5種類のサイトカイン遺伝子(*IL1B*, *IL1RA*, *IL6*, *IL10*, *TNFA*)に存在する7種類のSNPsと急性GVHD・治療関連死亡との関連を検討した<sup>75)</sup>。その結果, レシピエントの*IL10*遺伝子プロモーター領域における-592Aまたは-592CのSNPがIII度以上の急性GVHD発症リスクに強く関連しており, *IL10*-592Aのアリルを有するレシピエントでは重症GVHDが発症しにくく, 特に*IL10*-592A/Aのハプロタイプを有する群では, -592A/Cや-592C/Cの群と比較して移植関連死亡のリスクが有意に低かったことが判明した。ここで, 興味深いことは, コーカソイドにおいては, *IL10*-592Aのアリル頻度が日本人と比較して低い点であり, このようなサイトカイン遺伝子多型の分布頻度の相違が民族間における急性GVHDの発症リスクに影響している可能性も

想定される<sup>76)</sup>。また, 同じ研究グループにより, ドナー側のIL-10受容体遺伝子(*IL10RB*)内の非同義置換をもたらすSNPsが同様に急性GVHDの重症度に関連するとする報告もなされており, 急性GVHDの発症や制御過程におけるIL-10の役割があらためて注目されている<sup>77)</sup>。

また上記の研究以外にも, 急性GVHDの発症に関与し得るサイトカインとして, tumor necrosis factor (TNF), IL-1, IL-2, IL-6, インターフェロン $\gamma$ などの遺伝子多型の影響に関する報告がある<sup>3), 78), 79)</sup>。

#### 4.5. 自然免疫応答に関与する遺伝子群の多型

自然免疫(innate immunity)に関与する遺伝子群は, 一般に種を越えて強く保存されているものが多いが, 個体間においては塩基配列に部分的な相違が存在しており, 最近, これらの多型が感染症への感受性や移植後の免疫学的合併症に関与する可能性が報告されている。

マンノース結合レクチン(mannose-binding lectin, MBL)は病原体表面の糖鎖に結合し, 抗体非依存性に補体を活性化させる分子であるが, それをコードする*MBL2*遺伝子の多型の相違により, その血清中の発現量は個体間で大きく異なっている。MBLの少ない個体では感染症を発生しやすいとされており, ドナー側およびレシピエント側の*MBL2*遺伝子内に存在するSNPsが, allo-HSCT後の感染性合併症のリスクに関連していることが報告されている<sup>80), 81)</sup>。また, 移植後の重篤な感染症の発症リスクとの関連では, Fc受容体遺伝子やmyeloperoxidase(*MPO*)遺伝子の多型との相関を示唆する報告がある<sup>82)</sup>。

これらの他, 細菌細胞壁成分の細胞内センサーとしてNF- $\kappa$ Bの活性化に関与するnucleotide oligomerization domain 2(*NOD2*)遺伝子のドナー・レシピエント双方における多型が, HLA一致同胞間移植後の重篤な急性GVHDや治療関連死亡率に関連するとの報告が相次いでなされている<sup>83-85)</sup>。また, SeattleのChienらは, 自然免疫応答に関与する15種類の遺伝子に69種類のtag SNPsを設定し, allo-HSCT後の閉塞性肺合併症のリスクに相関する遺伝子多型として, ドナー及びレシピエントのbactericidal/permeability-increasing(*BPI*)遺伝子のハプロ

タイプが関与していることを報告している<sup>86)</sup>。

## 5. おわりに

およそ40年前、レシピエントとドナー候補者のHLAタイピングから開始された造血幹細胞移植における「組織適合性」の解析は、現在では、その手法の点からも対象の点からも大きな発展を遂げており、さまざまな移植後合併症の発症リスクを個体レベルでゲノムの多様性と関連させて説明することを可能としつつある。また、今後、特定の合併症に関与するSNPハプロタイプの同定が進み、移植の実施に当たって簡便にゲノムワイドな組織適合性の評価が実施可能となる日もそれほど遠くはないものと期待される<sup>87), 88)</sup>。今後も需要に応じて造血幹細胞移植はさらに多様化を遂げていくものと思われるが、その組織適合性の評価に当たっても、HLAの一致という基準を超えて、同種免疫応答を複眼的に理解することが必要な時代が到来しつつあると思われる。

## 参考文献

1. Kersey JH. Historical background to hematopoietic stem cell transplantation. in *Clinical Bone Marrow and Blood Stem Cell Transplantation*. (eds. Atkinson K, Champlin R, Ritz J, et al.), Cambridge University Press, p. 1–10, 2004.
2. Mullally A, Ritz J: Beyond HLA: the significance of genomic variation for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* **109**: 1355–1362, 2007.
3. Mullighan CG, Petersdorf EW: Genomic polymorphism and allogeneic hematopoietic transplantation outcome. *Biol Blood Marrow Transplant* **12**: 19–27, 2006.
4. Gluckman E, Broxmeyer HE, Aurebach AD, et al.: Hematopoietic reconstitution in a patient with Fanconi's anemia by means of umbilical-cord blood from an HLA-identical sibling. *N Engl J Med* **321**: 1174–1178, 1989.
5. Russell NH, Hunter A, Rogers S, et al.: Peripheral blood stem cells as an alternative to marrow for allogeneic transplantation. *Lancet* **341**: 1482, 1993.
6. Stem Cell Trialists' Collaborative Group: Allogeneic peripheral blood stem-cell compared with bone marrow transplantation in the management of hematologic malignancies: an individual patient data meta-analysis of nine randomized trials. *J Clin Oncol* **23**: 5074–5087, 2005.
7. Tanimoto TE, Yamaguchi T, Tanaka Y, et al.: Comparative analysis of clinical outcomes after allogeneic bone marrow transplantation versus peripheral blood stem cell transplantation from a related donor in Japanese patients. *Br J Haematol* **25**: 480–493, 2004.
8. Rocha V, Wagner J, Sobocinski KA, et al.: Graft-versus-host disease in children who have received a cord-blood or bone marrow transplant from an HLA-identical sibling. Eurocord and International Bone Marrow Transplant Registry Working Committee on Alternative Donor and Stem Cell Sources. *N Engl J Med* **342**: 1846–54, 2000.
9. Rocha V, Labopin M, Sanz G, et al.: Transplants of umbilical-cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with acute leukemia. *N Engl J Med*. **351**: 2276–2285, 2004.
10. Laughlin MJ, Eapen M, Rubinstein P, et al.: Outcomes after transplantation of cord blood or bone marrow from unrelated donors in adults with leukemia. *N Engl J Med*. **351**: 2265–2275, 2004.
11. Takahashi S, Iseki T, Ooi J, et al.: Single-institute comparative analysis of unrelated bone marrow transplantation and cord blood transplantation for adult patients with hematologic malignancies. *Blood* **104**: 3813–20, 2004.
12. Takahashi S, Ooi J, Tomonari A, et al.: Comparative single-institute analysis of cord blood transplantation from unrelated donors with bone marrow or peripheral blood stem-cell transplants from related donors in adult patients with hematologic malignancies after myeloablative conditioning regimen. *Blood* **109**: 1322–30, 2007.
13. Schoemans H, Theunissen K, Maertens J, et al.:



- Adult umbilical cord blood transplantation: a comprehensive review. *Bone Marrow Transplant* **38**: 83–93, 2006.
14. Slavin S, Nagler A, Naparstek E, *et al.*: Nonmyeloablative stem cell transplantation and cell therapy as an alternative to conventional bone marrow transplantation with lethal cytoreduction for the treatment of malignant and nonmalignant hematologic diseases. *Blood* **91**: 756–763, 1998.
  15. Giralt S, Estey E, Albitar M, *et al.*: Engraftment of allogeneic hematopoietic progenitor cells with purine analog-containing chemotherapy: harnessing graft-versus-leukemia without myeloablative therapy. *Blood* **89**: 4531–4536, 1997.
  16. Khouri IF, Keating M, Korbling M, *et al.*: Transplant-lite: induction of graft-versus-malignancy using fludarabine-based nonablative chemotherapy and allogeneic blood progenitor-cell transplantation as treatment for lymphoid malignancies. *J Clin Oncol*. **16**: 2817–2824, 1998.
  17. McSweeney PA, Niederwieser D, Shizuru JA, *et al.*: Hematopoietic cell transplantation in older patients with hematologic malignancies: replacing high-dose cytotoxic therapy with graft-versus-tumor effects. *Blood* **97**: 3390–3400, 2001.
  18. Gratwohl A, Baldomero H, Frauendorfer K, *et al.*: EBMT activity survey 2004 and changes in disease indication over the past 15 years. *Bone Marrow Transplant*. **37**: 1069–85, 2006.
  19. Barrett AJ, Savani BN: Stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning regimens: a review of ten years experience with new transplant concepts and new therapeutic agents. *Leukemia*. **20**: 1661–1672, 2006.
  20. Sandoval A, Consoli U, Plunkett W: Fludarabine-mediated inhibition of nucleotide excision repair induces apoptosis in quiescent human lymphocytes. *Clin Cancer Res*. **2**: 1731–1741, 1996.
  21. Bornhauser M, Thiede C, Platzbecker U, *et al.*: Dose-reduced conditioning and allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors in 42 patients. *Clin Cancer Res*. **7**: 2254–62, 2001.
  22. Maris M, Niederwieser D, Sandmaier BM, *et al.*: HLA-matched unrelated donor hematopoietic cell transplantation after nonmyeloablative conditioning for patients with hematologic malignancies. *Blood* **102**: 2021–2030, 2003.
  23. Wong R, Giralt SA, Martin T, *et al.*: Reduced-intensity conditioning for unrelated donor hematopoietic stem cell transplantation as treatment for myeloid malignancies in patients older than 55 years. *Blood* **102**: 3052–3059, 2003.
  24. Teshima T, Matsuo K, Matsue K, *et al.*: Impact of human leucocyte antigen mismatch on graft-versus-host disease and graft failure after reduced intensity conditioning allogeneic haematopoietic stem cell transplantation from related donors. *Br J Haematol* **130**: 575–87, 2005.
  25. Miyakoshi S, Yuji K, Kami M, *et al.*: Successful engraftment after reduced-intensity umbilical cord blood transplantation for adult patients with advanced hematological diseases. *Clin Cancer Res* **10**: 3586–3592, 2004.
  26. Barker JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, *et al.*: Rapid and complete donor chimerism in adult recipients of unrelated donor umbilical cord blood transplantation after reduced-intensity conditioning. *Blood* **102**: 1915–1919, 2003.
  27. Morishima Y, Morishita Y, Tanimoto M, *et al.*: Low incidence of acute graft-versus-host disease by the administration of methotrexate and cyclosporine in Japanese leukemia patients after bone marrow transplantation from human leukocyte antigen compatible siblings; possible role of genetic homogeneity. The Nagoya Bone Marrow Transplantation Group. *Blood* **74**: 2252–2256, 1989.
  28. Nash RA, Antin JH, Karanes C, *et al.*: Phase 3 study comparing methotrexate and tacrolimus with methotrexate and cyclosporine for prophylaxis of acute graft-versus-host disease after mar-

- row transplantation from unrelated donors. *Blood* **96**: 2062–2068, 2000.
29. Hiraoka A, Ohashi Y, Okamoto S, *et al.*: Phase III study comparing tacrolimus (FK506) with cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* **28**: 181–185, 2001.
  30. Ratanatharathorn V, Nash RA, Przepiorka D, *et al.*: Phase III study comparing methotrexate and tacrolimus (prograf, FK506) with methotrexate and cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Blood* **92**: 2303–2314, 1998.
  31. Yanada M, Emi N, Naoe T *et al.*: Tacrolimus instead of cyclosporine used for prophylaxis against graft-versus-host disease improves outcome after hematopoietic stem cell transplantation from unrelated donors, but not from HLA-identical sibling donors: a nationwide survey conducted in Japan. *Bone Marrow Transplant* **34**: 331–337, 2004.
  32. Yu C, Seidel K, Nash RA, *et al.*: Synergism between mycophenolate mofetil and cyclosporine in preventing graft-versus-host disease among lethally irradiated dogs given DLA-nonidentical unrelated marrow grafts. *Blood* **91**: 2581–2587, 1998.
  33. Giaccone L, McCune JS, Maris MB, *et al.*: Pharmacodynamics of mycophenolate mofetil after nonmyeloablative conditioning and unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *Blood* **106**: 4381–4388, 2005.
  34. Vogelsang GB, Arai S: Mycophenolate mofetil for the prevention and treatment of graft-versus-host disease following stem cell transplantation: preliminary findings. *Bone Marrow Transplant* **27**: 1255–1262, 2001.
  35. Nieto Y, Patton N, Hawkins T, *et al.*: Tacrolimus and mycophenolate mofetil after nonmyeloablative matched-sibling donor allogeneic stem-cell transplantations conditioned with fludarabine and low-dose total body irradiation. *Biol Blood Marrow Transplant* **12**: 217–225, 2006.
  36. Cutler C, Antin JH.: Sirolimus for GVHD prophylaxis in allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* **34**: 471–6, 2004.
  37. Cutler C, Li S, Ho VT, *et al.*: Extended follow-up of methotrexate-free immunosuppression using sirolimus and tacrolimus in related and unrelated donor peripheral blood stem cell transplantation. *Blood* (in press).
  38. Cutler C, Henry NL, Magee C, *et al.*: Sirolimus and thrombotic microangiopathy after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* **11**: 551–557, 2005.
  39. Sehgal SN: Sirolimus, its discoveries, biological properties, and mechanism of action. *Transplant Proc* **35**(3 suppl): 7S–14S, 2003.
  40. Marty FM, Bryar J, Browne SK, *et al.*: Sirolimus-based graft-versus-host disease prophylaxis protects against cytomegalovirus reactivation after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a cohort analysis. *Blood* (in press).
  41. Ueno NT, Childs R: What's past is prologue: lessons learned and the need for further development of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for renal cell carcinoma. *Biol Blood Marrow Transplant* **13**: 31–33, 2007.
  42. Utsunomiya A, Miyazaki Y, Takatsuka Y, *et al.*: Improved outcome of adult T cell leukemia/lymphoma with allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* **27**: 15–20, 2001.
  43. Fukushima T, Miyazaki Y, Honda S *et al.*: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation provides sustained long-term survival for patients with adult T-cell leukemia/lymphoma. *Leukemia* **19**: 829–834, 2005.
  44. Kato K, Kanda Y, Eto T, *et al.*: Allogeneic bone marrow transplantation from unrelated human T-

- cell leukemia virus-I-negative donors for adult T-cell leukemia/lymphoma: retrospective analysis of data from the Japan Marrow Donor Program. *Biol Blood Marrow Transplant* **13**: 90–99, 2007.
45. Petersdorf EW: HLA matching in allogeneic stem cell transplantation. *Curr Opin Hematol* **11**: 386–391, 2004.
  46. Flomenberg N, Baxter-Lowe LA, Confer D, *et al.*: Impact of HLA class I and class II high-resolution matching on outcomes of unrelated donor bone marrow transplantation: HLA-C mismatching is associated with a strong adverse effect on transplantation outcome. *Blood* **104**: 1923–1930, 2004.
  47. Kanda Y, Chiba S, Hirai H, *et al.*: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from family members other than HLA-identical siblings over the last decade (1991–2000). *Blood* **102**: 1541–1547, 2003.
  48. de Bakker PI, McVean G, Sabeti PC, *et al.*: A high-resolution HLA and SNP haplotype map for disease association studies in the extended human MHC. *Nat Genet* **38**: 1166–1172, 2006.
  49. Buchler T, Gallardo D, Rodriguez-Luaces M, *et al.*: Frequency of HLA-DPB1 disparities detected by reference strand-mediated conformation analysis in HLA-A, -B, and -DRB1 matched siblings. *Hum Immunol* **63**: 139–142, 2002.
  50. Gallardo D, Brunet S, Torres A, *et al.*: HLA-DPB1 mismatch in HLA-A-B-DRB1 identical sibling donor stem cell transplantation and acute graft-versus-host disease. *Transplantation* **77**: 1107–1110, 2004.
  51. Sasazuki T, Juji T, Morishima Y, *et al.*: Effect of matching of class I HLA alleles on clinical outcome after transplantation of hematopoietic stem cells from an unrelated donor. Japan Marrow Donor Program. *N Engl J Med* **339**: 1177–1185, 1998.
  52. Morishima Y, Sasazuki T, Inoko H, *et al.*: The clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) allele compatibility in patients receiving a marrow transplant from serologically HLA-A, HLA-B, and HLA-DR matched unrelated donors. *Blood* **99**: 4200–4206, 2002.
  53. Morishima Y, Yabe T, Matsuo K, *et al.*: Effects of HLA allele and killer immunoglobulin-like receptor ligand matching on clinical outcome in leukemia patients undergoing transplantation with T-cell-replete marrow from an unrelated donor. *Biol Blood Marrow Transplant* **13**: 315–328, 2007.
  54. Petersdorf EW, Kollman C, Hurley CK, *et al.*: Effect of HLA class II gene disparity on clinical outcome in unrelated donor hematopoietic cell transplantation for chronic myeloid leukemia: the US National Marrow Donor Program Experience. *Blood* **98**: 2922–2929, 2001.
  55. Schaffer M, Aldener-Cannava A, Remberger M, *et al.*: Roles of HLA-B, HLA-C and HLA-DPA1 incompatibilities in the outcome of unrelated stem-cell transplantation. *Tissue Antigens* **62**: 243–250, 2003.
  56. Varney MD, Lester S, McClusky J, *et al.*: Matching for HLA DPA1 and DPB1 alleles in unrelated bone marrow transplantation. *Hum Immunol* **60**: 532–538, 1999.
  57. Loiseau P, Espérou H, Busson M, *et al.*: DPB1 disparities contribute to severe GVHD and reduced patient survival after unrelated donor bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* **30**: 497–502, 2002.
  58. Shaw BE, Marsh SG, Mayor NP, *et al.*: HLA-DPB1 matching status has significant implications for recipients of unrelated donor stem cell transplants. *Blood* **107**: 1220–6, 2006.
  59. Kogler G, Enczman J, Rocha V, *et al.*: High-resolution HLA typing by sequencing for HLA-A, -B, -C, -DR, -DQ in 122 unrelated cord blood/patient pair transplants hardly improves long-term clinical outcome. *Bone Marrow Transplant*

- 36: 1033–1041, 2005.
60. Feuk L, Carson AR, Scherer SW: Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet* **38**: 86–92, 2006.
  61. Natarajan K, Dimasi N, Wang J, *et al.*: Structure and function of natural killer cell receptors: multiple molecular solutions to self, nonself discrimination. *Annu Rev Immunol* **20**: 853–885, 2002.
  62. Yawata M, Yawata N, McQueen KL, *et al.*: Prevalence of group A KIR haplotypes in Japanese associated with diverse NK cell repertoires of KIR expression. *Immunogenetics* **54**: 543–550, 2002.
  63. Raulet DH, Vance RE: Self-tolerance of natural killer cells. *Nat Rev Immunol* **6**: 520–531, 2006.
  64. Dupont B, Hsu KC: Inhibitory killer-Ig-like receptor genes and human leukocyte antigen class I ligands in haematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Immunol* **16**: 634–643, 2004.
  65. Bignon JD, Gagne K: KIR matching in hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Immunol* **17**: 553–559, 2005.
  66. Ruggeri L, Capanni M, Urbani E, *et al.*: Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants. *Science* **295**: 2097–2100, 2002.
  67. Leung W, Iyenger R, Turner V: Determinants of antileukemia effects of allogeneic NK cells. *J Immunol* **172**: 644–650, 2004.
  68. Sun JY, Dags A, Gaidulis L: Detrimental effect of natural killer cell alloreactivity in T-replete hematopoietic cell transplantation (HCT) for leukemia patients. *Biol Blood Marrow Transplant* **13**: 197–205, 2007.
  69. Schilling HG, McQueen KL, Cheng NW: Reconstitution of NK cell repertoire following HLA-matched hematopoietic cell transplantation. *Blood* **101**: 3730–3740, 2003.
  70. Goulmy E: Minor histocompatibility antigens: from transplantation problems to therapy of cancer. *Hum Immunol* **67**: 433–438, 2006.
  71. den Haan JM, Sherman NE, Blokland E, *et al.*: Identification of a graft versus host disease-associated human minor histocompatibility antigen. *Science* **268**: 1476–1480, 1995.
  72. Wang W, Meadows LR, den Haan JM, *et al.*: Human H-Y: a male-specific histocompatibility antigen derived from the SMCY protein. *Science* **269**: 1588–1590, 1995.
  73. Wolpert EZ, Grufman P, Sandberg JK *et al.*: Immunodominance in the CTL response against minor histocompatibility antigens: interference between responding T cells, rather than with presentation of epitopes. *J Immunol* **161**: 4499–4505, 1998.
  74. Hambach L, Goulmy E: Immunotherapy of cancer through targeting of minor histocompatibility antigens. *Curr Opin Immunol* **17**: 202–10, 2005.
  75. Lin MT, Storer B, Martin PJ, *et al.*: Relation of an interleukin-10 promoter polymorphism to graft-versus-host disease and survival after hematopoietic-cell transplantation. *N Engl J Med* **349**: 2201–2210, 2003.
  76. Oh H, Loberiza FR Jr, Zhang MJ *et al.*: Comparison of graft-versus-host-disease and survival after HLA-identical sibling bone marrow transplantation in ethnic populations. *Blood* **105**: 1408–1416, 2005.
  77. Lin MT, Storer B, Martin PJ, *et al.*: Genetic variation in the IL-10 pathway modulates severity of acute graft-versus-host disease following hematopoietic cell transplantation: synergism between IL-10 genotype of patient and IL-10 receptor beta genotype of donor. *Blood* **106**: 3995–4001, 2005.
  78. Ishikawa Y, Kashiwase K, Akaza T: Polymorphisms in TNFA and TNFR2 affect outcome of unrelated bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* **29**: 569–575, 2002.
  79. Nordlander A, Uzunel M, Mattsson J *et al.*: The TNFd4 allele is correlated to moderate-to-severe acute graft-versus-host disease after allogeneic

- stem cell transplantation. *Br J Haematol* **119**: 1133–1136, 2002.
80. Mullighan CG, Heatley S, Doherty K, *et al.*: Mannose-binding lectin gene polymorphisms are associated with major infection following allogeneic hemopoietic stem cell transplantation. *Blood* **99**: 3524–3529, 2002.
81. Granell M, Urbano-Ispizua A, Suarez B, *et al.*: Mannan-binding lectin pathway deficiencies and invasive fungal infections following allogeneic stem cell transplantation. *Exp Hematol* **34**: 1435–1441, 2006.
82. Rocha V, Franco RF, Porcher R: Host defense and inflammatory gene polymorphisms are associated with outcomes after HLA-identical sibling bone marrow transplantation. *Blood* **100**: 3908–3918, 2002.
83. Holler E, Rogler G, Herfarth H, *et al.*: Both donor and recipient NOD2/CARD15 mutations associate with transplant-related mortality and GvHD following allogeneic stem cell transplantation. *Blood* **104**: 889–894, 2004.
84. Holler E, Rogler G, Brenmoehl J, *et al.* Prognostic significance of NOD2/CARD15 variants in HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation: effect on long-term outcome is confirmed in 2 independent cohorts and may be modulated by the type of gastrointestinal decontamination. *Blood* **107**: 4189–4193, 2006.
85. Elmaagacli AH, Koldehoff M, Hindahl H, *et al.*: Mutations in innate immune system NOD2/CARD 15 and TLR-4 (Thr399Ile) genes influence the risk for severe acute graft-versus-host disease in patients who underwent an allogeneic transplantation. *Transplantation* **81**: 247–254, 2006.
86. Chien JW, Zhao LP, Hansen JA, *et al.*: Genetic variation in bactericidal/permeability-increasing protein influences the risk of developing rapid airflow decline after hematopoietic cell transplantation. *Blood* **107**: 2200–2207, 2006.
87. Li S, Kawata H, Katsuyama Y, *et al.*: Association of polymorphic MHC microsatellites with GVHD, survival, and leukemia relapse in unrelated hematopoietic stem cell transplant donor/recipient pairs matched at five HLA loci. *Tissue Antigens* **63**: 362–368, 2004.
88. Kikuchi T, Naruse TK, Onizuka M, *et al.*: Mapping of susceptibility and protective loci for acute GVHD in unrelated HLA-matched bone marrow transplantation donors and recipients using 155 microsatellite markers on chromosome 22. *Immunogenetics* **59**: 99–108, 2007.

## ● 総 説 ●

# [シリーズ: 移植医療と組織適合性]

## 第 1 回

### 臓器移植と MHC

水谷 一夫

Terasaki Foundation Laboratory

**要約:** 主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) は臓器移植の発展と大きな関わりがあり, MHC の作用の解明や検査方法が発見されなければ臓器移植がこれほど一般的な医療となることはなかったと考えられる。MHC はヒトでは HLA と呼ばれ, 免疫応答をつかさどる遺伝子座として定義される。移植に関係する HLA 遺伝子はクラス I, II 遺伝子に大きく分類され, 現時点でもそのアレル数は増加し続け, その働きがすべて解明されたわけではないのが現状である。この多型性をもつ HLA が臓器移植の拒絶反応を引き起こすため HLA の型を適合や抗 HLA 抗体を調べることは臓器移植にとって重要であり, 今後の更なる研究が期待される。

**キーワード:** MHC, HLA, Anti-HLA antibody, Organ Transplants

#### はじめに

主要組織適合遺伝子複合体 MHC (Major Histocompatibility Complex) は同種移植片の拒絶・生着を遺伝的に規定する遺伝子座として定義される。ヒト MHC は HLA (Human Leucocyte Antigen ヒト白血球型抗原) と呼ばれ, 免疫応答の制御にかかわる分子をコードする遺伝子群を中心とした多数の遺伝子によって構成される。MHC の関係する範囲は免疫全般に大きく, それを紹介するだけで膨大なものになってしまうため, 今回は紙面の都合もあり主に MHC と臓器移植を中心に簡単に紹介することとする。

#### 移植と MHC の歴史

臓器移植は 100 年以上の歴史を持っており, 1902 年に Ullman が犬の腎臓をその頸部に移植し, 尿の排泄を確認したことに始まる。この実験で腎臓は他

の場所に移しても機能することが確認された。一方, 同年 Carrel は血管吻合法を発表し, その手技を用いて 1905 年には腎移植の実験を同種の犬などで行った。Carrel は移植腎は一時的に機能するが, その後, 機能がなくなることを確認した。人への移植では 1906 年 Jaboulay が動物の腎臓を人に移植し, 1908 年には Carrel が人の自家腎移植に成功, 1933 年には Voronoy が同種移植を行った。しかし, 自己の臓器は生着するが, 自己以外の臓器はすべて機能がなくなり拒絶されることが続いた。その後, Murray が 1954 年に一卵性双生児間での腎臓移植を施行し長期生着がもたらされるまで自己以外の臓器の生着は待たなければならなかった。(表 1)<sup>1)</sup>

このように基本的な血管吻合などの手技は早くに出来上がっていたといえるが, 治療として移植を行うためには免疫の進歩を待たなければならなかった。現在では臓器移植における拒絶反応はよく知られて

代表者連絡先 Terasaki Foundation Laboratory  
11570 W. Olympic Boulevard Los Angeles, CA 90064  
水谷 一夫

電話 310-479-6101  
F A X 310-445-3381  
E-mail kazuomizutani@terasakilab.org

表1 移植とMHCの歴史

1902	Ullman	最初の腎移植の実験
	Carrel	血管吻合法の発見
1905	Carrel	腎移植の動物実験で一時正常に機能するがやがて機能廃絶
1906	Jaboulay	豚の腎臓を人へ移植
1908	Carrel	人の自家腎移植施行
1923	Williamson	同種移植片の生着に血液型の関与を示唆
	Holman	同種移植片の生着に免疫の関与を示唆
1933	Voronoy	人での同種移植
1936	Snell	マウスの血液型に関連したH-2抗原を発見
1944	Medawar	免疫学的拒絶反応の発見
1952	Dausset	HLAの発見
1954	Murray	人の一卵性双生児間での移植に成功
1965	Terasaki	ドナー選択への組織適合性検査への応用

いるが、この自己と非自己をつかさどるものはどのように発見・解明されてきたのであろうか。1923年にWilliamsonはこれを血液型などによるものと考え、Holmanは人の同種皮膚移植片の拒絶反応から免疫の関与を疑った。その後、Medawarは同種移植片の拒絶される機序を詳細に検討し、リンパ球などによる細胞性免疫反応によって拒絶反応が起こり、ドナー抗原に特異的な能動的獲得免疫によることを明らかにした。また、1936年にはSnellがマウスの血液型に関連した抗原を発見し、その抗原を支配する遺伝子領域が皮膚移植片に対する拒絶反応に大きく影響することを見だし、これをH-2抗原と名づけた。Daussetは1952年に頻回に輸血を受けた患者血清中に白血球を凝集させる抗体を見出し、これに対応する抗原をMac抗原(現在のHLA-A2抗原)と命名した。Benacerrafはマウスの免疫応答をつかさどる遺伝子がMHC領域にあることを示すなどSnell, Dausset, Benacerrafの3者は同種間での腫瘍免疫や皮膚移植の解析が行い同種移植において強い抗原性をしめす主要組織適合遺伝子複合体抗原の存在を明らかにし、移植におけるMHCの存在が認識されるようになった。この業跡によりSnell, Dausset, Benacerrafは1980年にノーベル賞を受賞した。またZinkernagelとDohertyはMHCの本態が蛋白抗原由来のペプチド断片をT細胞に提示する抗原提示分子であること、つまり免疫反応のMHC拘束を発見し1996年にノーベル賞を受賞している。

このMHCを用いた試験をドナー選択の組織適合性検査として1965年にTerasakiが発表して以来、こ

の方法は広く移植の世界で用いられるようになった。免疫抑制剤の開発・改善と共に組織適合性検査は移植成績に大きく貢献し、臓器移植はMHCの研究とともに進歩してきたといえる。更に現在ではHLAは人類学、法医学、疾患感受性といった様々な分野にも応用されている。

組織適合性試験はその後、長期にわたり世界で利用されてきたが近年、DNAのタイピングが可能となりHLA検査の分野にも変化が訪れている。移植のタイピング検査はDNAを用いた遺伝子タイピングが中心になりつつあるが、移植や輸血ではタイピングに加え抗体検査やクロスマッチが重要で、検査の詳細は他稿にゆずるが、検査方法の理解や適応も重要な問題である。

### MHC 遺伝子

Daussetが命名したMac抗原はその後、HLA抗原と命名されたがこれは人の第6染色体短腕部のp21.3の約3500kbp内に存在し、MHC領域によりコードされた遺伝子群により支配される遺伝子産物である。(図1)<sup>2),3)</sup>マウスのMHC領域はH-2 (histocompatibility-2)と呼ばれ、第17染色体上にある。

HLA遺伝子は単純なメンデルの遺伝法則に従い遺伝し、共優性的に形質が産生される。つまり、各個体は2つ(2ハプロタイプ)で1組の遺伝子を持ち、両親からそれぞれ1つずつのハプロタイプを受け継ぎ、子供の細胞表面には母親由来と父親由来のハプロタイプの抗原を発現することとなる。(図2)

HLA遺伝子には120個以上の発現遺伝子と約30

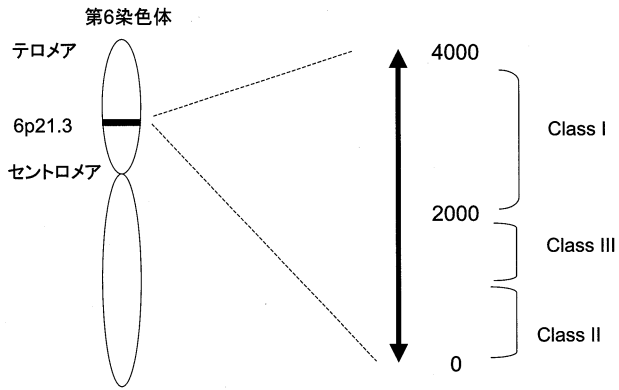


図1 HLA 遺伝子

個の発現不明な遺伝子および約 90 個の偽遺伝子(機能のない遺伝子)が存在する。HLA はクラス I, II, III に分類され、染色体のテロメア側(末端側)からセントロメア側(中心側)に向かってクラス I, III, II の順となっている。(図 1, 3) クラス I およびクラス II 分子は独自の構造上の特色を持ち、複数のクラス I およびクラス II 遺伝子が MHC 領域に存在するがいずれの遺伝子産物も全体として類似した構造を持っている。一方、クラス III 領域は 20 以上の遺伝子を含んでおり、補体の第二経路の構成物をコードする

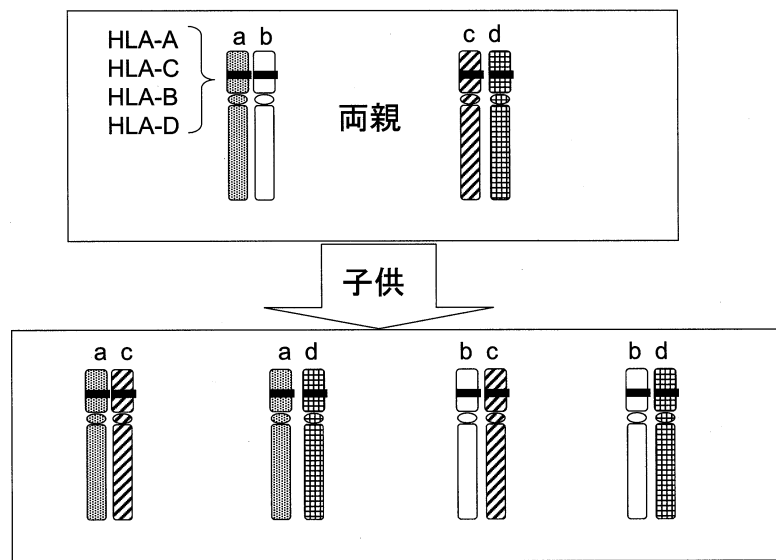


図2 HLA のハプロタイプの遺伝

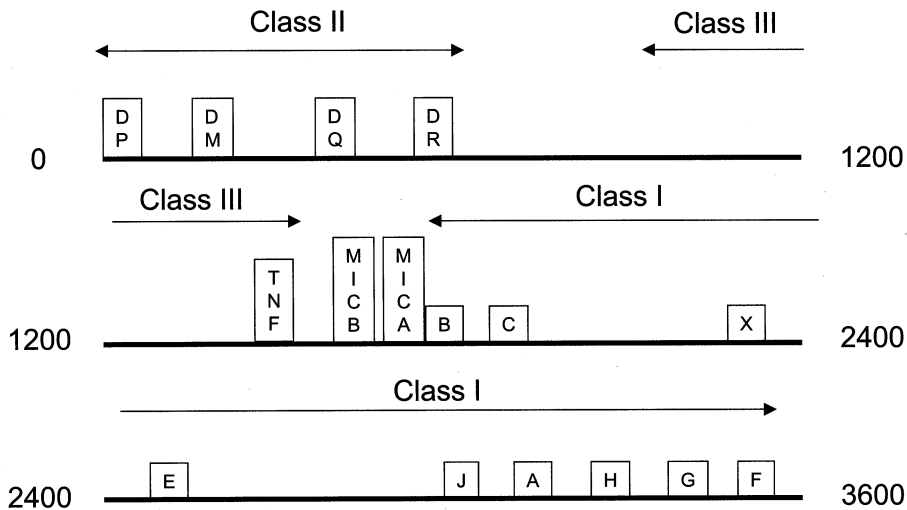


図3 HLA 遺伝子の配置

Anthony Nolan Research Institute <http://www.anthonynolan.com/HIG/data.html> より改変



遺伝子やステロイド代謝に重要な 21-OH ヒドロキシラーゼ, TNF スーパーファミリーなどをコードする遺伝子も存在する。クラス III 領域のうち, TNF スーパーファミリーなどの炎症にかかわる遺伝子群はクラス IV と分類されることもある。クラス III 遺伝子産物とクラス I およびクラス II 分子間での機能的および構造的な類似性は認められていないので, 今回は主に移植に関係したクラス I およびクラス II を取り上げることにする。

前述したように, それぞれの個体は何種類もの MHC 分子のを持ち, それを同時に発現させている。各 MHC は父親由来と母親由来の別々の組の遺伝子を持っているため, 非常に多型性にともむこととなり MHC は様々な抗原に対応できる。また, 多型性により自己と非自己を区別することができ, 実際に T 細胞は MHC により自己と異なる MHC 分子を異物とみなし攻撃・排除しようとする。更に, ヒト T 細胞中にはアロ(同種異系)の HLA を認識するものが高い頻度で存在するため, HLA の違いは臓器移植における拒絶反応の最大の原因となる。

一方では, MHC 分子は免疫を司るため MHC 分子の違いにより特定の疾患に対する感受性が個々で異なる可能性がある。更に近年, この MHC 分子の立体構造が決定され, その細胞ドメインの先端部分にはペプチドを収容するための複数のポケットを有する溝が存在することが明らかとなった。このポケットの研究を通して MHC 分子に結合する自己お

よび非自己のペプチドの解析が進んだ結果, MHC 分子と結合するペプチドのアミノ酸の構造が解析され, MHC 分子の多型性がこの結合に大きな影響を与えることが示された。以上のように多型性に起因する免疫応答や疾患感受性などの個体差が HLA と関係していることが解明され, 将来的にはオーダーメイド医療にもつながる可能性が出てきた。

HLA は非常に多くの多様性を持つが, それほどの部位にでも起こるのではなく, クラス I またはクラス II 分子では変異が特定の領域に集中している。クラス I では  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$  ドメインの主な 3 つの領域のアミノ酸配列に変異は集中しているが,  $\alpha_3$  ドメインのアミノ酸配列はかなり保存されている。クラス II 分子においては変異の頻度はその領域のポリペプチド鎖に依存し, ほとんどの多型は DR と DQ  $\alpha$  鎖にみられる。

同じ遺伝子であるが多少異なるものを対立遺伝子 (Allele: アリル) というが, これら HLA の多型性の数は現在でも図 4 のように増加し続けている。表 2 に血清学的な HLA の多型を示すがこれは大きく変化していないため, この増加は遺伝子のシーケンスによる解析が可能となった結果, 容易にその Allele が発見されるためと考えられる。これら新しい Allele は GenBank に送られ, その後に IMGT/HLA website (<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/>) を通して WHO にも送られ登録される。表 3 に現在のそれぞれの HLA アリルと蛋白質の数を示した。これ

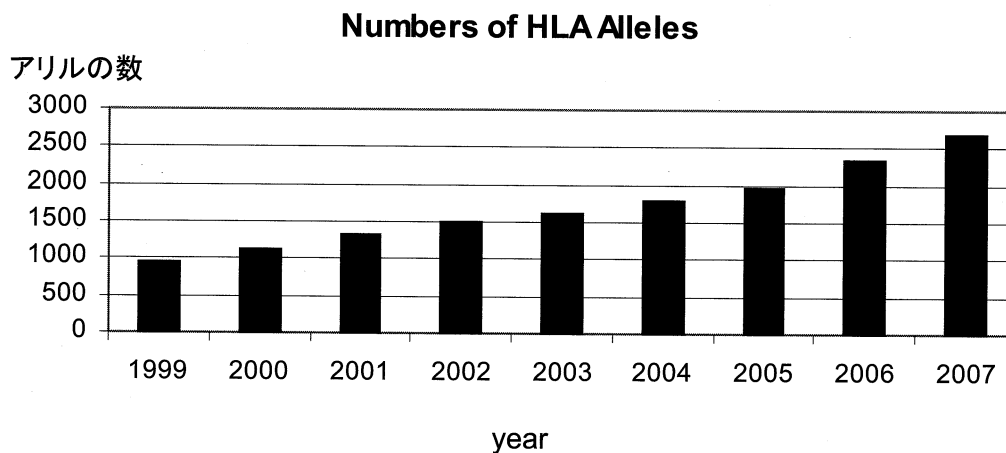


図 4 HLA アリルの数の変化

<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/stats.html> より作成

表2 血清学的 HLA タイピング

<b>A</b>	A1	A2	A203	A210	A3	A9	A10	A11	A19	A23(9)
	A24(9)	A2403	A25(10)	A26(10)	A28	A29(19)	A30(19)	A31(19)	A32(19)	A33(19)
	A34(10)	A36	A43	A66(10)	A68(28)	A69(28)	A74(19)	A80		
<b>B</b>	B5	B7	B703	B8	B12	B13	B14	B15	B16	B17
	B18	B21	B22	B27	B2708	B35	B37	B38(16)	B39(16)	B3901
	B3902	B40	B4005	B41	B42	B44(12)	B45(12)	B46	B47	B48
	B49(21)	B50(21)	B51(5)	B5102	B5103	B52(5)	B53	B54(22)	B55(22)	B56(22)
	B57(17)	B58(17)	B59	B60(40)	B61(40)	B62(15)	B63(15)	B64(14)	B65(14)	B67
	B703	B71(70)	B72(70)	B73	B75(15)	B76(15)	B77(15)	B78	B81	B82
	Bw4	Bw6								
<b>C</b>	Cw1	Cw2	Cw3	Cw4	Cw5	Cw6	Cw7	Cw8	Cw9(w3)	Cw10(w3)
<b>D</b>	Dw1	Dw2	Dw3	Dw4	Dw5	Dw6	Dw7	Dw8	Dw9	Dw10
	Dw11(w7)	Dw12	Dw13	Dw14	Dw15	Dw16	Dw17(w7)	Dw18(w6)	Dw19(w6)	Dw20
	Dw21	Dw22	Dw23	Dw24	Dw25	Dw26				
<b>DR</b>	DR1	DR103	DR2	DR3	DR4	DR5	DR6	DR7	DR8	DR9
	DR103	DR11(5)	DR12(5)	DR13(6)	DR14(4)	DR1403	DR1404	DR15(2)	DR16(2)	DR17(3)
	DR18(3)	DR51	DR52	DR53						
<b>DQ</b>	DQ1	DQ2	DQ3	DQ4	DQ5(1)	DQ6(1)	DQ7(3)	DQ8(3)	DQ9(3)	
<b>DP</b>	DPw1	DPw2	DPw3	DPw4	DPw5	DPw6				

<http://www.anthonynolan.com/HIG/lists/specs.html> より作成

表3 HLA アリルと蛋白質の数

Class I	Alleles	Proreins	Class II	Alleles	Proreins	Other	Alleles	Proreins
HLA-A	506	405	HLA-DRA	3	2	TAP1	7	5
HLA-B	851	729	HLA-DRB	559	462	TAP2	4	4
HLA-C	276	219	HLA-DQA1	34	25	MICA	61	52
HLA-E	9	3	HLA-DQB1	81	59	MICB	30	20
HLA-F	21	4	HLA-DPA1	23	14			
HLA-G	23	6	HLA-DPB1	126	113			
HLA-H	12	0	HLA-DMA	4	4			
HLA-J	9	0	HLA-DMB	7	7			
HLA-K	6	0	HLA-DOA	12	3			
HLA-L	5	0	HLA-DOB	9	4			
HLA-P	4	0						

Jan-07

<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/intro.html> より作成

らの結果は IMGT/HLA website に示されており、その詳細な一例も図5に示した。

このように多数の HLA アリルが判明した結果、必ずしも今までのタイピングの方法では2組以上のア

リルの組み合わせが否定できない(この状態を Ambiguity という)ことが増え、問題視されてきている。<sup>4)</sup> また、HLA アリルが詳細に判明したことで抗体検査が進歩したことにより、モノクローナル抗体でも

1	*	Exon 1		100	*	
				Exon 1   Exon 2		
	CONSENSUS	ATGCGGGTCA	TGGCGCCCG	AACCCTCCTC	CTGCTGCTCT	CGGGGGCCCT
A*0101	--GCC--	-----	-----	A-----	C-----	G----- -----T--
A*0102	--GCC--	-----	-----	A-----	C-----	G----- -----C--
A*0103	*****	*****	*****	*****	*****	***** -----T--
A*02011	--GCC--	-----	G-----	A-----	T-----	C----- G----- -----T--
A*02012	*****	*****	*****	*****	*****	***** -----T--
A*0202	*****	*****	*****	*****	*****	***** -----T--
A*0203	--GCC--	-----	G-----	A-----	T-----	C----- G----- -----T--
A*0204	--AC---	T-----	G-----	A-----	T-----	C----- G----- -----T--
A*0205	--GCC--	-----	G-----	A-----	T-----	C----- G----- -----T--
A*0206	--GCC--	-----	G-----	A-----	T-----	C----- G----- -----T--
A*0207	--GCC--	-----	G-----	A-----	T-----	C----- G----- -----T--

図5 HLA アリルデータの例

<http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/download.html> より

様々なHLA抗原に対して反応を起こすことがわかってきた。これは抗体の認識部位が各抗体によって異なり、例えHLAが異なっている部分でもある部分ではアミノ酸配列が同一であり、それを抗体が認識することより起こると考えられている。テラサキ等はこれをエピトープと呼び、アミノ酸とHLAの関係の例を示している。<sup>5)</sup>

特にHLA領域内ではヒトゲノム中の一塩基多型(single nucleotide polymorphism, SNP)が他の遺伝子領域より多く、そのパターンも他の部分より多いことがHLAの多型性を形作っていると考えられる。しかしながら、これは抗原ペプチドとの結合に関連する部分に限られ、その結果としてHLAの型によってT細胞が認識できるペプチドの構造が規定され、免疫応答の個体差がもたらされる。

この多型性を持つMHC分子は細胞表面に存在する細胞膜貫通型糖蛋白分子であり、多型性を利用して細胞内の様々な蛋白質の断片を細胞表面に提示する働きをもつ。細胞に感染したウイルスや癌抗原、抗原提示細胞に貪食されたペプチドなどがMHC分子に結合して細胞表面に提示され、それがT細胞に抗原として認識され免疫反応によりウイルスや異種蛋白を攻撃排除する方向へと働く。以下にクラスI, IIに分けてその構造と作用を簡単に紹介する。

### HLA クラス I 分子

HLA クラス I 分子は major 抗原とされる A, B, C (古典的クラス I またはクラス Ia) と minor 抗原の E, F, G (非古典的クラス I またはクラス Ib) に分け

られる。

構造的には HLA クラス I 分子は糖鎖が付加した分子量約 45kDa の膜結合型蛋白の  $\alpha$  鎖と分子量約 12kDa で第 15 染色体上の遺伝子に支配されている  $\beta_2$ -ミクログロブリン鎖の 2 つが非共有結合した二量体である。これにペプチド抗原が結合し三量体として細胞表面に発現している。 $\alpha$  鎖には 3 つの細胞外ドメイン ( $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3$ ) と膜貫通領域および細胞質内領域から構成されている。(図 6)

この HLA クラス I 分子は先端部分に細胞質に存在する蛋白質や細胞に感染したウイルスなどの蛋白質に由来するペプチドが結合し細胞表面に発現する。HLA クラス I 結合性ペプチドは 8-12 個(主に 9 個)のアミノ酸からなるペプチドで、クラス I 分子の先端にあるポケットに収納され、このポケットは HLA の型により異なっている。ウイルスや腫瘍由来のペプチドを CD8 陽性細胞障害性(キラー) T 細胞が認識して標的細胞を攻撃し、細胞死を誘導する。このように HLA クラス I 分子は感染細胞や腫瘍細胞の排除に関係している。(図 7, 8, 9)<sup>6), 7)</sup>

HLA クラス I 分子は、ほとんどの有核細胞および血小板の細胞表面に発現するが、赤血球には発現していない。各細胞の発現の程度にはそれぞれの細胞で差があり、インターフェロン、TNF などのサイトカインによりその発現が調節を受けることが知られている。また、悪性腫瘍においては HLA クラス I 分子の発現の低下が見られる場合があり、腫瘍細胞が免疫監視機構から逃れていると考えられる。

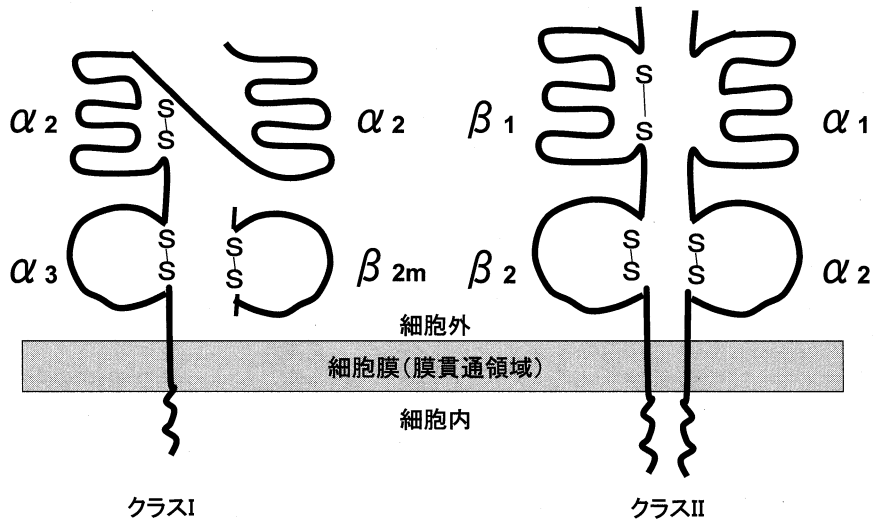
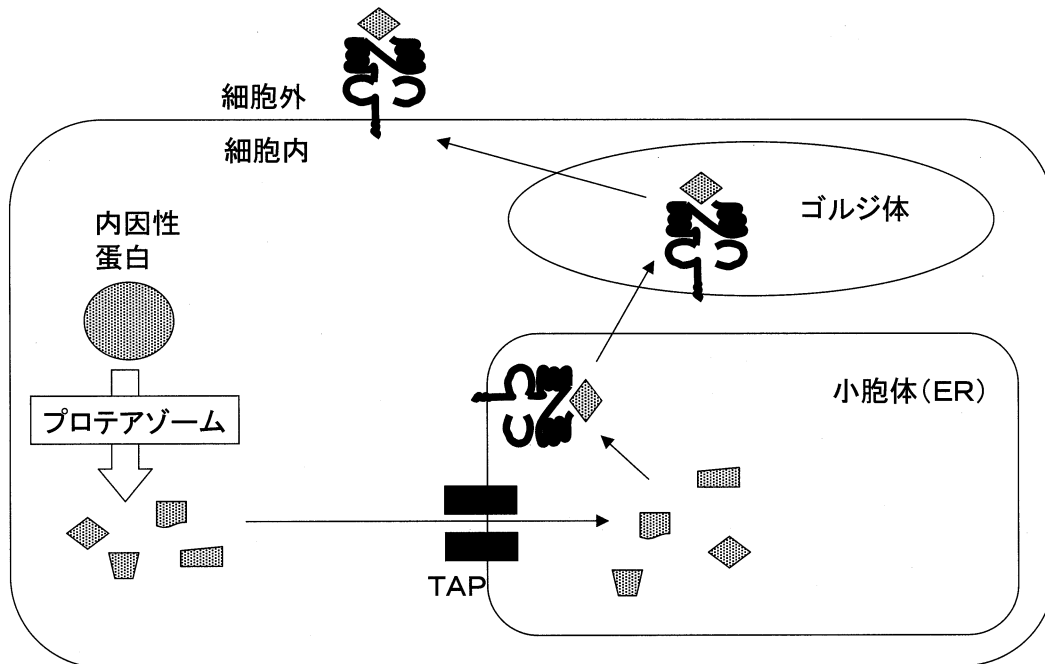


図6 HLA 分子



TAP: Transfer associated with antigen processing

図7 HLA クラス I 分子

**HLA クラス II 分子**

HLA クラス II 分子は、マクロファージや樹状細胞、活性化 T 細胞、B 細胞などの抗原提示細胞を含め、限られた細胞にのみ発現している。クラス II 分子は 34kDa の糖蛋白である  $\alpha$  鎖と 29kDa の糖蛋白の  $\beta$  鎖の非共有結合をした重合体であり、それぞれ 2 つの膜貫通領域、細胞内領域からなり、 $\alpha$  鎖には 2 つのドメイン ( $\alpha_1, \alpha_2$ ) から、 $\beta$  鎖も  $\beta_1, \beta_2$  の 2 つの

ドメインからなり、遺伝子としては少なくとも 7 個の  $\alpha$  鎖遺伝子と 10 個の  $\beta$  鎖が存在する。(図 6)

クラス II 分子はヒトでは DR, DQ, DP に分類され、各種サイトカインなどによりその発現は誘導される。DR 抗原は 1 種類の  $\alpha$  鎖と 4 種類の  $\beta$  鎖の内の一つが会合して形成され、DQ, DP 抗原は 2 対の  $\alpha$  鎖遺伝子と  $\beta$  鎖遺伝子を含んでいる。

エンドサイトーシスにより抗原提示細胞に取り込

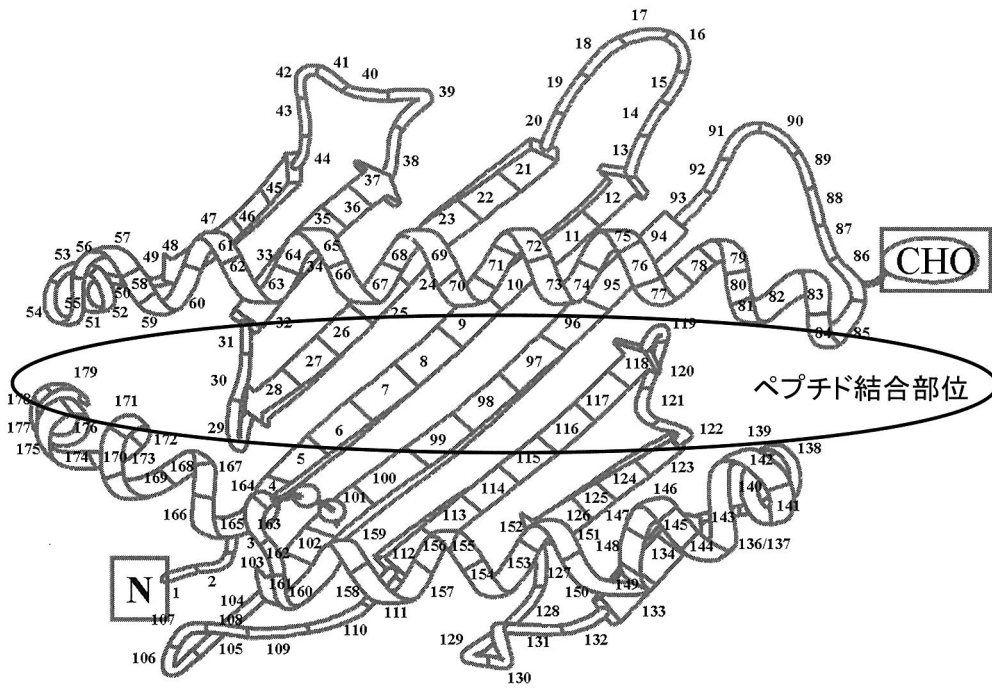


図8 HLA クラス I 分子の多型性とペプチド結合部位 (Top view)

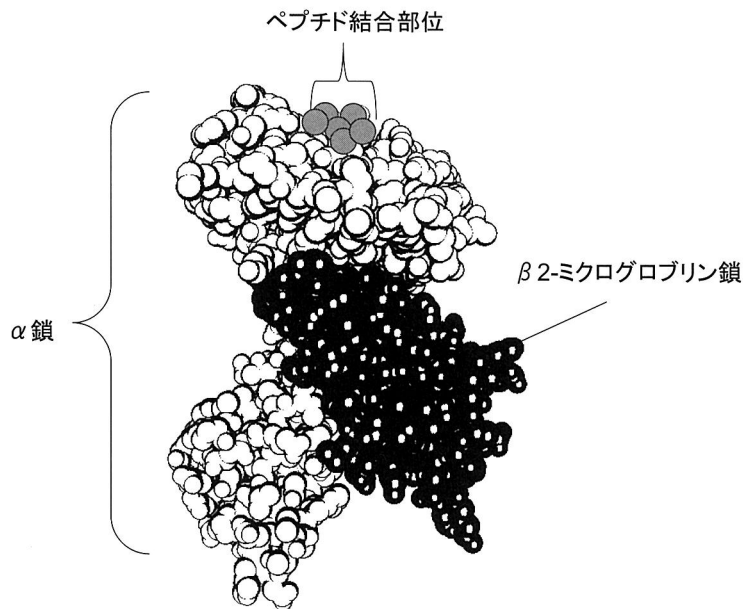


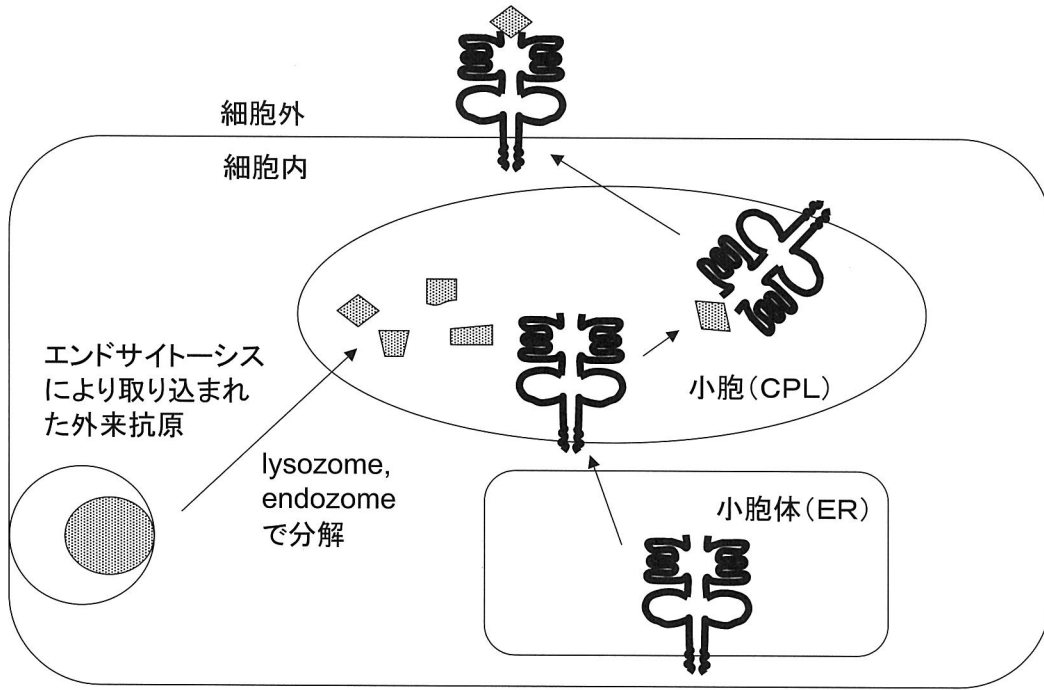
図9 HLA クラス I 分子の側面像

まれた外来抗原は、抗原提示細胞内のエンドソームなど蛋白分解酵素により消化され、ペプチド断片に分解、細胞内で α 鎖と β 鎖とともに複合体を形成し細胞表面に発現し、抗原を提示、CD4 陽性細胞を活性化させる。これを MHC 拘束性と呼んでいる。活性化した CD4 陽性細胞は細胞障害性 T 細胞やその他の免疫細胞を活性化し異物を攻撃する。クラス

II に結合する抗原ペプチドはクラス I 結合性ペプチドより長く、通常 12-23 個のアミノ酸からなる。(図 10, 11)<sup>6), 8), 9)</sup>

**MICA 分子と MICB 分子**

MHC 関連の遺伝子として最近話題となっているものとして MICA (MHC class I chain-related anti-



CPL: compartment for peptide lading

図 10 HLA クラス II 分子

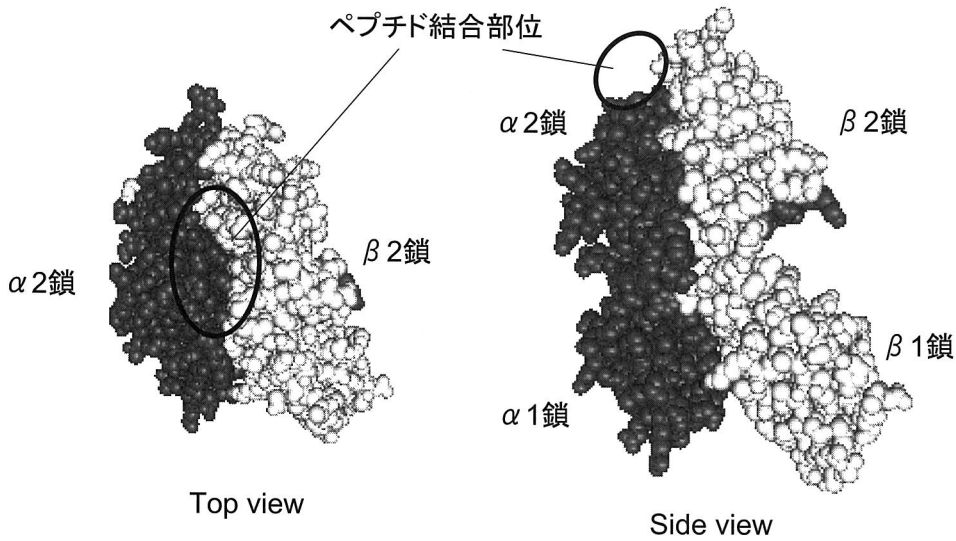


図 11 HLA クラス II 分子の側面像

gen A) と MICB (MHC class I chain-related antigen B) がある。MICA と MICB は他の HLA 遺伝子と同様、第 6 染色体上にあり、HLA B 遺伝子の近傍に位置している。(図 3) MIC の種類としては MICC, MICD など全部で 7 種類あるが MICA と MICB を除いては免疫学的な機能はほとんどないといわれて

いる。MICA と MICB はそれぞれ多型性を持ち、現在 IMGT/HLA データベースには MICA は 61 種類、MICB は 30 種類が登録されている。(表 4) MICA は細胞外ドメイン ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\alpha_3$ ), 膜貫通領域, 細胞内領域からなり、MICA 蛋白は  $\gamma\delta$ T 細胞や NK 細胞などのリガンドとして NKG2D レセプターを介し

表4 MICA と MICB の多型性

MICA		MICB
MICA*001	MICA*024	MICB*001
MICA*00201	MICA*025	MICB*0020101
MICA*00202	MICA*026	MICB*0020102
MICA*004	MICA*027	MICB*003
MICA*005	MICA*028	MICB*0040101
MICA*006	MICA*029	MICB*0040102
MICA*00701	MICA*030	MICB*0050101
MICA*00702	MICA*031	MICB*0050201
MICA*00703	MICA*032	MICB*0050202
MICA*00801	MICA*033	MICB*0050203
MICA*00802	MICA*034	MICB*0050204
MICA*00803	MICA*035	MICB*00503
MICA*00804	MICA*036	MICB*00504
MICA*00901	MICA*037	MICB*006
MICA*00902	MICA*038	MICB*007
MICA*010	MICA*039	MICB*008
MICA*011	MICA*040	MICB*009N
MICA*01201	MICA*041	MICB*010
MICA*01202	MICA*042	MICB*011
MICA*013	MICA*043	MICB*012
MICA*014	MICA*044	MICB*013
MICA*015	MICA*045	MICB*014
MICA*016	MICA*046	MICB*015
MICA*017	MICA*047	MICB*016
MICA*01801	MICA*048	MICB*017
MICA*01802	MICA*049	MICB*018
MICA*019	MICA*050	MICB*019
MICA*020	MICA*051	MICB*020
MICA*021	MICA*052	MICB*021N
MICA*022	MICA*053	MICB*022
MICA*023		

2007年1月現在 <http://www.anthonynolan.org.uk/HIG/lists/otherlist.html> より作成

て認識され、それら細胞を刺激すると考えられている。MICA は T 細胞や B 細胞には発現されず、単球や血管内皮細胞などに発現されている。(図 12)<sup>10)</sup>

#### MHC と疾患

MHC 遺伝子は高度な遺伝的多型性に富んでおり、免疫応答に密接な関わり合いを持つことから、MHC 遺伝子が様々な疾患に関係していることはよく知られている。例えば自己免疫疾患やアレルギーなど多岐にわたる。(表 5, 6) この表以外にも様々な報告があり、疾患に対する負の感受性として西アフリカの子供では B53 を持つ子供のほうがマラリアに対する抵抗性が強いという報告もある。これら研究は患者集団と健康対照集団との間で HLA 遺伝子の頻度を

比較することにより疾病感受性遺伝子の存在を推定することによって研究がなされてきたが、人種が異なると相関を示す HLA が異なる場合もある。

また、これら疾患は血清学的には同一の抗原を示しているにもかかわらずアミノ酸配列では異なった相関を示すものがある。例えば慢性間接リウマチと IDDM は DRB1\*0405 と相関するが、インスリン自己免疫症候群では DRB1\*0406 と相関することが上げられ、現在では一部の疾患で HLA 検査が取り入れられている。

悪性腫瘍における MHC は、上記疾患と同様、ある特定の HLA が癌の罹患率に相関があるという報告が散見されるが、それ以外には細胞が癌化することによって HLA の発現にしばしば低下や消失がみ

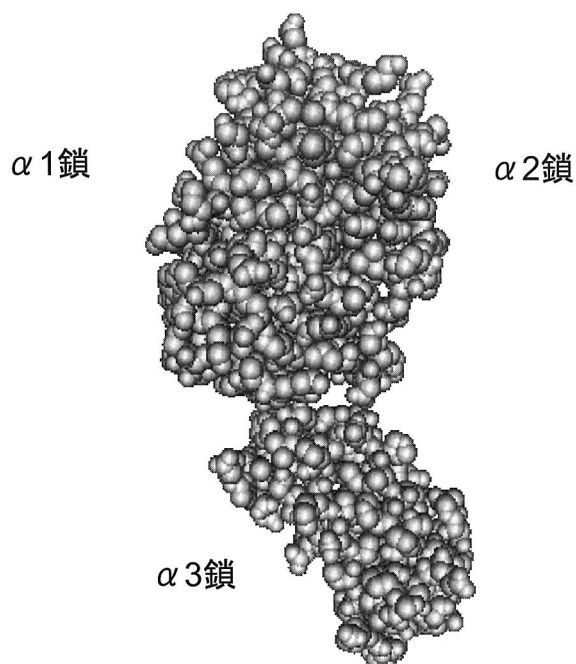


図 12 MICA 分子

られ、そのため免疫応答から逃れ癌の進展や転移に影響することがある。つまり、癌細胞の一部はHLAクラスIを発現していない場合があり、その場合には癌細胞は腫瘍抗原が存在していたとしても細胞表面には発現されず、細胞障害性T細胞への抗原提示が阻害され傷害されない。この結果、癌細胞が増殖し癌の進展が早まる可能性がある。このHLAクラスIの発現低下の率は15-80%と報告により様々ではあるが、この発現低下の機序としてHLAクラスIの発現がまったくない場合、片方のハプロタイプのみが欠損する(染色体の一部欠損)場合、特定のHLAアレルが欠損する(例えばmelanomaにおいてHLA A2が欠損するなど)場合、 $\beta 2$ -microglobulinの欠損など多くの報告があり、かつ、これが癌の発症や進展のどの段階で影響するかによって異なり、報告により発現低下の率が異なる理由の1つとなっている。

しかし、一方でこのようなHLAクラスIを発現していない細胞を好んで傷害する細胞があり、NK(ナチュラルキラー)細胞と呼ばれている。NK細胞

表 5 HLA と関係する自己免疫疾患

クラスI	クラスII
天疱瘡	グッドパスチャー症候群
ベーチェット病	多発性硬化症
重症筋無力症	SLE
グレーブス病	シェーグレン症候群
I型糖尿病	アジソン病
強直性脊椎炎	I型糖尿病
	グレーブス病
	重症筋無力症
	橋本病
	天疱瘡
	関節リウマチ

シンプル免疫学 第3版 南江堂 2006 より

表 6 アレルギー感受性への HLA クラス II 遺伝子の関与

	患者群で増加しているHLA
ブタクサ	DRB1*1501, DRB1*11
ホソムギ	DR3
ヤケヒョウダニ	DR3
カバノキ花粉	DRB3*0101
ネコ皮削アレルギー	DR1
アルテルナリアカビ	DR4
日本スギ花粉	DPA1*02022, DPB1*0501

免疫の仕組みと疾患 羊土社 1997 より



は宿主 HLA クラス I 抗原を特異的に認識する抑制化レセプターを用いて、HLA クラス I 抗原の発現が低下している細胞を見つけ、傷害する。つまり宿主特異的 HLA クラス I 抗原を発現している細胞を自己とみなし、発現していない細胞を非自己と認識するのであるが、このレセプターを KIR (killer-cell inhibitory receptor/killer cell immunoglobulin-like receptor) と呼び、構造の異なるものが複数存在する。この KIR と HLA の組み合わせが様々な疾患に関係することが近年解明されてきた。(表 7)<sup>11), 12), 13)</sup>

### MHC と輸血

移植と同様に対内へ非自己蛋白が入る機会として輸血が上げられ、輸血を頻回に受けている患者では、HLA 抗体などが産生されることが知られている。そのため血小板を輸血してもほとんど効果がない場合があり、その時にはドナーのリンパ球と患者血清の間で交差試験を行い、適合した血小板を輸血するか、または HLA 抗原が適合した血小板の輸血が必要となる。

移植との関係においては移植前にドナー抗原を注入する(輸血)ことにより、移植の生着率の改善が認められ(能動的エンハンスメント)、この作用を移植に利用することが以前は行われていた。これはドナー特異的輸血と呼ばれ、しくみとして輸血による無反応(アネルギー)の導入などが考えられている。しかしこの方法は輸血により移植前のレシピエントにドナー特異的な抗体ができてしまうこともあり、

免疫抑制剤の進歩とともに現在では用いられなくなった。

移植に関する他の輸血の問題として GVH (graft versus host disease) がある。これは輸血血液中のドナーリンパ球がレシピエントの組織を攻撃することで起こるが、ドナー・レシピエントの遺伝的な関係によるものであったり、レシピエントの免疫応答能力が欠如している(免疫抑制状態にあるなど)ために生じる。通常人の輸血で発生する場合にはレシピエントの HLA 抗原の一方をドナーがホモとして有している場合に起こることが多い。HLA ホモ接合体(a/a)の供血者血液が HLA ヘテロ接合体(a/b)の患者に輸血される場合、供血者リンパ球は患者の抗原成分のみで構成されているので、患者リンパ球は供血者リンパ球を他人と認識できない。逆に、供血者リンパ球は患者 HLA 抗原を他人と認識する。この結果、供血者リンパ球は患者体内から排除されず、供血者リンパ球が一方的に患者体組織を攻撃する。次に免疫応答の欠如している場合としては移植などがあり、特に GVH 反応は骨髄移植においては最も重要な合併症であり、発熱、紅斑、黄疸、肝障害、下痢、下血などの症状を引き起こし、汎血球減少や、敗血症などを最終的に引き起こし死亡にいたる場合が多い。

### MHC と妊娠

妊娠においても HLA 抗体の産生が認められ、妊娠回数と共にこの抗体陽性の割合は増加するが、胎

表 7 各疾患における KIR と HLA 遺伝子の関係

Disease	KIR	HLA	Disease Progression
AIDS	3DS1	HLA Bw4Ile80	Decreased
	3DS1 homozygous	No HLA Bw4Ile80	Increased
HCV infection	2DL3 homozygous	HLA-A1 homozygous	Decreased
Cervical neoplasia (HPV-induced)	3DS1	HLA-C1 homozygous and no HLA-Bw4	Increased
	No 3DS1	HLA-C2 and/or HLA-Bw4	Decreased
Malignant melanoma	2DL2 and/or 2DL3	HLA-C1	Increased
Psoriatic arthritis	2DS1 and/or 2DS2	HLA-C1 homozygous or HLA-C2 homozygous	Increased
Type I diabetes	2DS2	HLA-C1 and no HLA-C2, no HLA Bw4	Increased
Preeclampsia	2DL1 with fewer 2DS(mother)	HLA-C2(fetus)	Increased

Reference 12 より抜粋

児は拒絶されない。胎盤が多量の抗胎児 HLA 抗体を除去するための吸着体として働くといわれている。また胎盤では HLA-C, -G, -E が発現されているが HLA-C の発現は弱く、また HLA-G, -E は KIR に結合し抑制シグナルを生ずることが知られ、胎児はこれらを利用して細胞障害性を回避していると考えられている。流産などにこの HLA-G, -E の多型性が関与しているという報告もあるが、今後の研究成果が待たれる。

### MHC と臓器移植

現時点で移植においては短期の成績は免疫抑制剤の進歩によりかなり改善され、長期における成績の改善が問題となっており、この点を今回は中心に述べることにする。

臓器移植と HLA の関係は 1965 年に Terasaki らが移植の成績と HLA の適合度に対する発表後、多くの研究がなされてきた。その結果、ドナーとレシピエントの HLA のミスマッチの数により移植臓器の生着率に差があることがわかり、移植前にドナーとレシピエントの HLA を合わせることでその生着率を高める努力がなされている。(図 13) アメリカの臓器移植ネットワークである UNOS (United Network for Organ Sharing) の登録では腎移植の場合、HLA-A, B, C, DR, DQ, DP までの記載が可能となっている。しかし、現時点で実際にレシピエントの選択に使用されているのは HLA-A, B, DR の

みであり、必ずしも HLA のみで決定されるわけでもないため、現実には図 14 のようなミスマッチの数で腎移植が行われている。

このドナーとレシピエントの HLA 抗原の違いにより抗原提示細胞を介して異種抗原の認識が行われ、拒絶反応が起こる。早期には主に CD8+ 細胞を介した細胞障害性 T 細胞 (CTL) による拒絶反応が引き起こされ、それ以外に CD4+ Th 細胞を介した遅延型過敏反応によるもの、B 細胞を介してドナー臓器に対する抗体を産生する大きく分けて 3 通りの経路でドナー臓器の排除・攻撃が起こる。(図 15) その結果、臓器への血流障害が生じて最終的にはその臓器が機能廃絶にいたると考えられる。この抗体による機能廃絶の考え方を humoral rejection theory と呼び、Terasaki らによって提唱され移植の長期における機能廃絶の大きな原因と考えられている。<sup>14)</sup>

腎移植における長期の成績では移植後における HLA 抗体の発現が重要であるが、この HLA 抗体と移植の生着率の報告を見てみると、図 16 のように抗体を持つ患者群と抗体を持たない患者群では移植の生着率に差が出ている。<sup>15)</sup> この報告では常時抗体が出現しているかどうかはわからないが、一時期でも抗体の存在が認められれば、それが移植腎の生着に関係することがわかる。HLA 抗体もつ腎移植患者の具体例として図 17, 18 を示す。<sup>16)</sup> 図 17 の例は移植後にクラス II に対する PRA が上昇し、最期には機能廃絶に至った例である。図 18 の例からは抗体の存

Unadjusted Graft Survival, Deceased Donor non-ECD Kidney Transplants

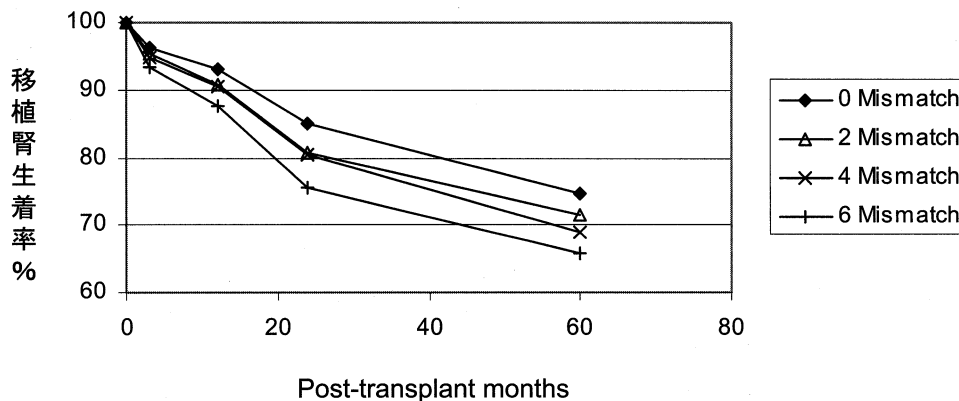


図 13 HLA ミスマッチと移植腎生着率

OPTN/SRTR 2006 Annual Report より作成

Recipients of Deceased Donor non-ECD Kidney Transplants

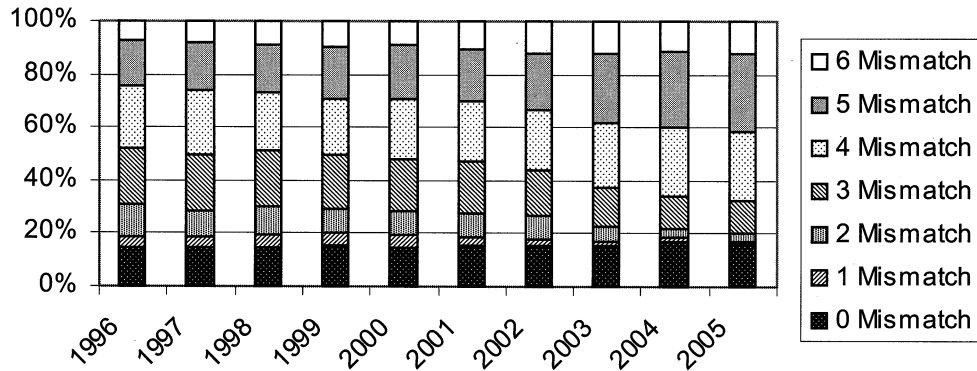


図 14 HLA ミスマッチと腎移植の割合  
OPTN/SRTR 2006 Annual Report より作成

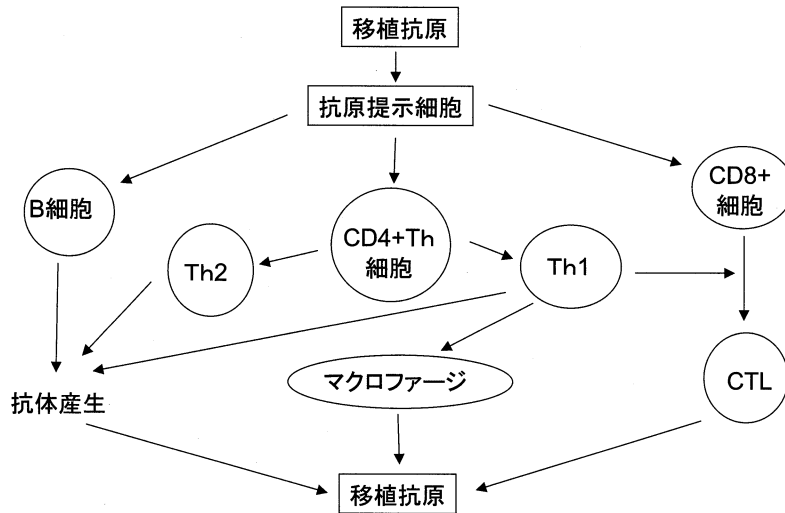


図 15 拒絶反応

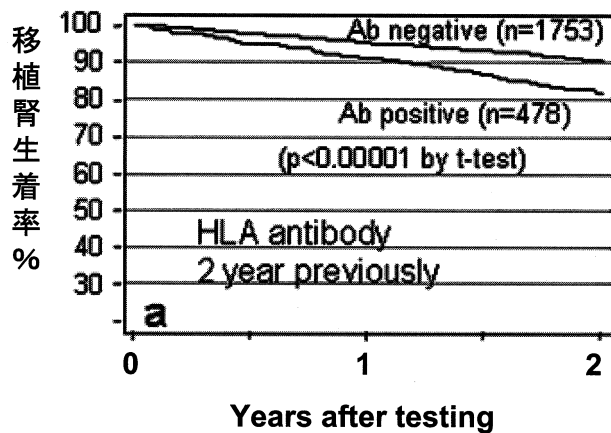


図 16 抗 HLA 抗体と移植腎生着率  
Ab: 抗体 Reference 15 より

在が移植臓器の生着に関係していることがわかるが、必ずしも抗体がいつも存在しているわけではなく、抗体は一旦上昇するが、機能廃絶に向かって減少している。これは抗体が移植腎に吸着されているためかもしれない。

また今後の抗体の問題点としてマイナー抗原や non-HLA 抗体の問題、ドナー特異的抗体とエピトープを含めた HLA の多型性の問題と検査法の問題を挙げておく。

HLA 抗体以外に新しい MHC に関連する抗体として MICA 抗体や MICB 抗体が報告されるようになってきたが、特に MICA 領域は多型性が高く、HLA と同様に多型性により抗体が産生され移植臓器への障害を起こすと考えられている。<sup>16), 17)</sup> HLA 領域では他にも多型性を持つものがあり、今後も同様なマイナー抗原として新しい HLA 関連の抗体が見つ

かる可能性がある。また、HLA の抗体ではないが、soluble HLA-G の存在は移植の生着にいい影響を与えるという報告もあり、今後も HLA の研究が必要とされる。<sup>18)</sup>

ドナー特異的抗体に関しては、理論的にはドナーに対する特異的抗体が臓器を傷害するのであり、ドナー特異的抗体が廃絶例に認められたという報告は多い。<sup>14), 16)</sup> しかし、ドナー特異的抗原がたとえ 1 つであっても、それに対する抗体は抗原の認識部位の違いにより複数の抗体が存在する可能性がある。また HLA 抗原が異なってもアミノ酸配列が等しいエピトープの問題もあり、HLA における抗体の研究はまだ未解決な部分も多いのが現状である。<sup>5)</sup>

検査の問題は他稿に譲るが、MICA 抗体や MICB 抗体などが報告された現在では細胞を使用する検査ではそれを HLA 抗体に対する検査として厳密に同

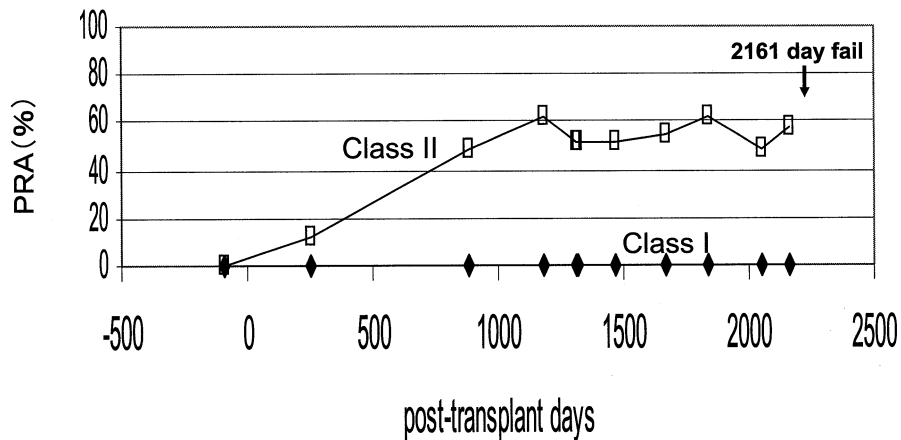


図 17 抗 HLA 抗体陽性の腎移植例(1)

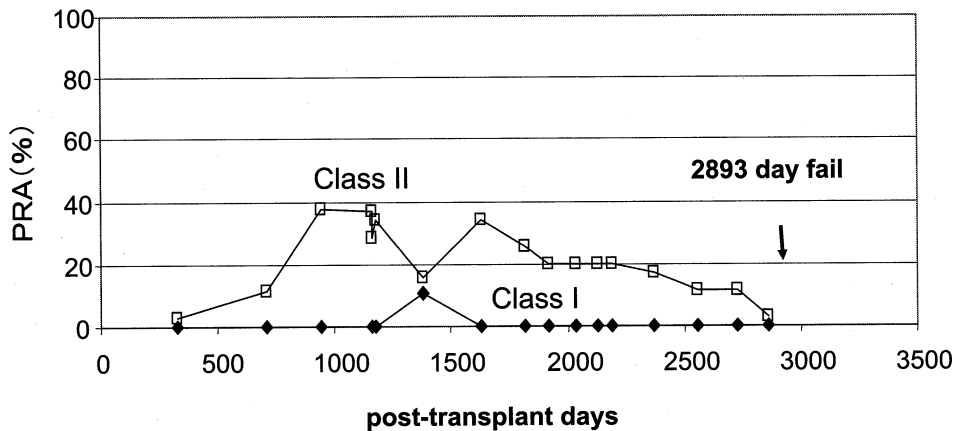


図 18 抗 HLA 抗体陽性の腎移植例(2)

じものとして扱うことはできないかもしれない。現実には多くの PRA 陽性患者では HLA 抗体は陽性であり、臨床的には差が見つけにくいのが現状であるが、これについても今後の研究成果を待ちたい。

#### 最期に

今まで述べてきたように HLA には多型性が存在し、これが臓器移植の拒絶反応を引き起こすため HLA 型を適合させることや、HLA 抗体を調べることは臓器移植にとって非常に重要であると考えられる。移植と MHC の歴史は長いですが、検査法が進歩し研究が進むにつれ更に新しい問題が出てきているのが現実であろう。今後も移植医療が進歩していくためには MHC を含めた免疫の研究が不可欠であり更なる研究が期待される。

#### 参考文献

1. 東間 紘, 大島伸一, 長谷川昭: 腎移植マニュアル, 中外医学社 1993: p1-4.
2. <http://www.anthonynolan.com/HIG/data.html> を参照
3. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mapview/maps.cgi?ORG=hum&SET=CLOSE&MAP0=loc&BEG=&END=&MAP1=gb4&R1=on&MAP2=sts&MAP3=cntg&MAP4=&MAP5=&MAP6=&LINKS=ON&VERBOSE=ON&SIZE=20&CHR=6> を参照
4. <http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/ambig.html> を参照
5. Cai J, Terasaki P, Mao O, et al. Development of Non-donor-Specific HLA-DR Antibodies in Allograft Recipients Is Associated with Shared Epitopes with Mismatched Donor DR Antigens. *Am J Transplant* 2006; 6: 2947-2954
6. Abbas A, Lichtman A, Pober J.: Cellular and Molecular Immunology, W. B. Saunders Company. 2000: p79-101
7. Pamer E, Cresswell P. Mechanisms of MHC class I-restricted antigen processing. *Annual review of Immunology* 1998; 16: 323-358
8. Chapman HA. Endosomal proteolysis and class II MHC function. *Current Opinion in Immunology* 1998; 10: p93-102.
9. Chapman HA. Endosomal proteases in antigen presentation. *Current Opinion in Immunology* 2006; 18: p78-84
10. Stastny P. Introduction: MICA/MICB in Innate Immunity, Adaptive Immunity, Autoimmunity, Cancer, and in the immune response to transplants. *Hum Immunol.* 2006; 67: 141-144.
11. Williams A, Bateman A, Khakoo S. Hanging in the Balance. KIR and Their Role in Disease. *Mol Interv.* 2005; 5: 226-240.
12. Rajagopalan S, Long E. Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *JEM.* 2005; 21: 1025-1029.
13. Ruiz-Cabello F, Garrido F. HLA and Cancer: from research to clinical impact. *Immunology Today.* 1998; 19: 539-542.
14. Terasaki P. Humoral Therapy of Transplantation. *Am J Transplant.* 2003; 3: 665-673
15. Terasaki P, Ozawa M. Predictive value of HLA antibodies and serum creatinine in chronic rejection: results of a 2-year prospective trial. *Transplantation.* 2005; 15: 1194-1197.
16. Mizutani K, Terasaki P, Rosen A, et al. Serial ten-year follow-up of HLA and MICA antibody production prior to kidney graft failure. *Am J Transplant.* 2005; 5: 2265-2272.
17. Terasaki P, Ozawa M, Castro R. Four-year follow-up of a prospective trial of HLA and MICA antibodies on kidney graft survival. *Am J Transplant.* 2007; 7: 408-415.
18. Qiu J, Terasaki P, Miller J, et al. Soluble HLA-G expression and renal graft acceptance. *Am J Transplant.* 2006; 6: 2152-2156.

# 第5回日本組織適合性学会・近畿地方会 プログラム

会 期： 2007年2月3日(土) 10:00~18:00

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)

世話人： 甲斐 俊朗(兵庫医科大学輸血部)

## 【オープニングセミナー】

- 1) HLA-Fの膠原病, 移植への応用に向けて

座長： 佐田正晴(国立循環器病センター)

○石谷 昭子<sup>1)</sup>, Ni Lee<sup>2)</sup>, 下嶋 典子<sup>1)</sup>, Daniel E. Geraghty<sup>2)</sup>

1) 奈良県立医科大学法医学, 2) Fred Hutchinson Cancer Research Center

- 2) 造血幹細胞移植とドナー/レシピエント適合性

座長： 能勢 義介(兵庫県血液センター)

○丸屋 悦子

NPO 法人 HLA 研究所

- 3) 好中球, 単球, T/B リンパ球, 血小板を対象とした免疫蛍光抗体法  
(5-cell lineage IFT) を用いた白血球抗体の検出

座長： 永尾 暢夫(常磐短期大学)

○松山 宣樹, 保井 一太, 平山 文也, 小島 芳隆, 谷上 純子, 石井 博之,  
福森 泰雄, 谷 慶彦, 柴田 弘俊

大阪府赤十字血液センター

## 【シンポジウム】

### 『HLA 不適合造血幹細胞移植』

—HLA 適合血縁 / 非血縁ドナーがない場合の選択—

座長： 椿 和央(近畿大学附属奈良病院)

佐治 博夫(NPO 法人 HLA 研究所)

- 1) HLA 不一致非血縁者間骨髓移植 —JMDP での成績から—

—戸 辰夫(京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科)

- 2) IPA/NIMA 移植の利点と課題

島崎 千尋(京都府立医科大学血液・腫瘍内科)

魚嶋 伸彦(松下記念病院血液科)

吉原 隆夫(松下記念病院小児科)

3) T細胞非除去 HLA2-3 抗原不適合移植

小川 啓恭 (兵庫医科大学 内科学講座血液内科)

4) HLA 非適合非血縁者間臍帯血移植

長村登紀子 (東京大学医科学研究所 セルプロセッシング・輸血部)

5) HLA 抗体と臍帯血移植

荒木 延夫 (兵庫県赤十字血液センター)

【特別講演】

座長: 甲斐 俊朗 (兵庫医科大学病院)

『NK 細胞と造血幹細胞移植』

田中 淳司 (北海道大学血液内科)

● 一般演題 ●

# 1) 口腔内粘膜細胞からの DNA 分離法の検討

○小島 裕人, 二神 貴臣, 大沼 豪, 辻野 貴史, 林 晃司,  
落合 直也, 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】

造血幹細胞移植のドナー検索用組織適合検査の検体採取法として、スワブで採取した口腔内粘膜細胞を用いることは、採血よりも被験者にとって痛みを伴わず、輸送も簡便で安価である。NMDP では2006年より検体採取をフィルター血痕からスワブ採取と郵送に切り替えている。当研究所でも口腔内粘膜細胞による検査依頼数が血液検体による依頼数と同等になってきている。今回、市販 DNA 分離キットを用いた口腔内粘膜細胞からの最良の DNA 分離法を求め検討をおこなったので報告する。

【材料・方法】

口腔内粘膜細胞: 職員と一般依頼検査用検体

口腔内粘膜採取キット: Whatman 社, Sterile foam tipped applicator

口腔内粘膜細胞からの DNA 分離キット: JetQuick (Genomed 社), Clean Columns (Nexttec 社),

QuickGene (FujiFilm 社)

- 検討項目: ① 口腔内粘膜細胞の採取方法: 採取前のうがいの有無  
② 口腔内粘膜細胞の溶解方法  
③ DNA の収量と純度, HLA 検査の再検率  
④ 分離所要時間

【結果・考察】

- ① 口腔内粘膜細胞の採取方法の検討: 口腔内粘膜細胞採取前のうがいの有無による影響を5人の左右の頬を用い、JetQuick 法で検討した結果、回収される細胞数にあきらかな差はないが、DNA 濃度はうがいのない群が若干良好であった。  
② 口腔内粘膜細胞の溶解方法の検討: 各キットにつき細胞溶解液の最大の能力を検出するため細胞沈査の量で検討した結果すべてのキットで1

mm の沈査を溶解することができた。

- ③ DNA の収量と純度: DNA の純度は Luminex 法による HLA-class I, II の再検査率で判断した。以下に各キットの収量と再検査率を示す。  
 JetQuick (総分離件数: 228 件), 平均 DNA 収量 600 ng, 再検査率 24%  
 Clean Columns (総分離件数: 154 件), 平均 DNA 収量 720 ng, 再検査率 27%  
 QuickGene (総分離件数: 106 件), 平均 DNA

収量 700 ng, 再検査率 0%

- ④ 分離所要時間: 各キットともに 1 時間 30 分と同等であった。  
 以上の結果より QuickGene による分離法が最適であることが分かった。キットのコストは 235 円~409 円と差があるが, コストパフォーマンスは得られることもわかった。口腔内粘膜細胞は造血幹細胞移植ドナー検索用組織適合性検査の検体としてもっとも有用なソースとなり得る。

## 2) HLA Class I とサルコイドーシスの臨床

○立花 暉夫<sup>1)</sup>, 小野 明子<sup>2)</sup>, 石井 博之<sup>3)</sup>, 福森 泰雄<sup>2)</sup>, 谷 慶彦<sup>2)</sup>

- 1) 大阪簡易保険総合健診センター  
 2) 大阪府赤十字血液センター

### 【研究目的, 方法】

- サルコイドーシス 74 症例の HLA Class I DNA typing を実施し,
  - サルコイドーシスの疾患感受性と HLA Class I allele との関連性を検討した。
  - サルコイドーシス症例を経過良好例, 経過不良例にわけて, サルコイドーシスの臨床経過と HLA Class I allele との関連性を検討した。さらに, サルコイドーシスの全身性病変の中で最も重要な心病変と HLA Class I allele との関連性を検討した。
- 既にイタリア, チェコ症例で報告されているサルコイドーシス疾患感受性や臨床経過と HLA Class I allele の関連性とも比較検討した。

### 【成績】

- HLA-B\*1301, HLA-B\*5502 は健康人に比してサルコイドーシス患者に高頻度で, HLA-C\*0401 は健康人に比してサルコイドーシス患者に低頻度であった。
  - 前回報告したサルコイドーシス経過不良例で

経過良好例に比して高頻度な HLA Class II allele (HLA-DRB1\*0803) のような allele, HLA Class II ハプロタイプ (HLA-DRB1\*0803-HLA-DQB1\*0601) のようなハプロタイプは HLA Class I では認めなかった。また, サルコイドーシス心病変に高頻度な HLA-DQB1\*0601 のような HLA Class I allele も認めなかった。

- イタリア, チェコのサルコイドーシス症例でも高頻度な HLA-B8 は我々の症例では認めなかった。またチェコ症例で経過良好例に比し, 経過不良例に高頻度な HLA-A1, B13, B27 は我々の経過不良例で特に高頻度でなかった。

### 【結論】

- 我々の検討で, HLA-B\*1301, HLA-B\*5502 はサルコイドーシスに感受性の allele であり, HLA-C\*0401 はサルコイドーシスに抵抗性の allele であった。サルコイドーシス経過不良例で, 良好例に比して高頻度な HLA Class I allele, HLA Class I ハプロタイプは認めなかった。心



病変症例に高頻度な HLA Class I allele も認めなかった。

2. イタリア, チェコのサルコイドーシス症例でも高頻度な HLA Class I allele は, 我々の症例では認めなかった。またチェコ症例で, 経過不

良例に高頻度な HLA Class I allele も我々の経過不良例で特に高頻度でなかった。HLA Class I とサルコイドーシスの関連, 臨床経過との関連で人種差がみられた。

### 3) 母親の自己の HLA 抗体が原因と推定される NAIT 症例

○西村 千恵<sup>1)</sup>, 稲葉 洋行<sup>1)</sup>, 荒木 延夫<sup>1)</sup>, 能勢 義介<sup>1)</sup>, 井本 しおん<sup>1)</sup>,  
三戸 壽<sup>1)</sup>, 井上 進<sup>2)</sup>, 森田 庄治<sup>2)</sup>, 前田 真治<sup>3)</sup>

1) 兵庫県赤十字血液センター

2) 埼玉県赤十字血液センター

3) 兵庫県立塚口病院小児科

#### 【目的】

NAIT (新生児血小板減少症)は HPA 抗体や稀には HLA 抗体が原因となる。今回, 母親の自己の HLA 抗体が原因と推定される NAIT 症例を経験した。

#### 【症例, 方法】

患児は第 1 子, 血小板数 11,000/ $\mu$ L, NAIT の疑い。患児, 母の HLA 抗体検査は LABScreen PRA, LABScreen Single Antigen, HPA 抗体検査は MPHA 法(血小板抽出抗原; n = 8), MACE (modified antigen capture ELISA) 法を実施。母と父の交差試験は LCT 法, AHG-LCT 法, MPHA 法(インタクト血小板)を使用した。

#### 【結果】

出生時の患児, 母血清中共に HLA クラス I 抗体は 55 ビーズ中 1 ビーズ (A2, A32, B42, B58, Cw10, Cw17) がスコア 4 の弱陽性。クラス II 抗体は患児が 35 ビーズ中 30 ビーズにスコア 4 または 6 の陽性, 母が 35 ビーズ中 33 ビーズにスコア 4 または 6 の陽性。HPA 抗体は患児, 母共に陰性。リンパ球交差試験は陰性, 血小板交差試験は母血清原液で陰性,

2~8 倍希釈で 1+, 16~128 倍希釈で 2+ のプロゾーン現象を観察(母の自己対照は陰性)。インタクト血小板 (n = 18) による population study は 18 セル中 16 セルがプロゾーン現象による陽性, 2 セルは陰性を示し, クロロキン処理により反応性に減弱もしくは消失が認められた。

そして, 出生半年後の母血清中に HLA クラス I 抗体が HLA-A2+A11+B76+B77+ $\alpha$ , クラス II 抗体が DR15+DR16+DR11+DR13+DR1+ $\alpha$  を検出した。また, HPA 抗体は血小板抽出抗原 8 セル中 3 セルに陽性を示し, クロロキン処理により 8 セル中 2 セルの反応性が失活した。なお, HPA 抗体の反応性は A2, A11 の特異性は示さなかった。HLA タイプは患児が HLA-A\*0206, A\*2605, B\*5101, B\*5101, Cw\*1402, Cw\*1502, DRB1\*1302, DRB1\*1401, 父が HLA-A\*0206, A\*2402, B\*5101, B\*5201, Cw\*1202, Cw\*1402, DRB1\*1302, DRB1\*1502, 母が HLA-A\*0206, A\*2605, B\*1301, B\*5101, Cw\*0304, Cw\*1502, DRB1\*1401, DRB1\*1501。HPA タイプは患児が HPA-1a/1a, 2a/2a, 3a/3b, 4a/4a, 5a/5a, 6a2/a2, Naka+, 父が HPA-

1a/1a, 2a/2a, 3a/3a, 4a/4a, 5a/5a, 6a2/a2, Naka+, 母が HPA-1a/1a, 2a/2a, 3b/3b, 4a/4a, 5a/5a, 6a2/a2, Naka+.

#### 【考察】

今回の症例は出生時の母血清は血小板抽出抗原では陰性、インタクト血小板ではプロゾーン現象が観

察され、また、クロロキン処理により反応性が減弱した。そして、出生半年後の母血清中に母の自己抗体と思われる HLA-A2 様抗体が出現した。また、血小板抽出抗原で陽性を示し、クロロキン処理により反応性が減弱した。母親由来の自己の HLA-抗体? が NAIT の原因と推定される。

## 4) 心臓移植患者においてレトロスペクティブに DSA (Donor-Specific Antibody) を認めた 1 症例

○山本 賢<sup>1)</sup>, 百富 麻美<sup>2)</sup>, 角谷 勇実<sup>1)</sup>, 佐野 隆宏<sup>1)</sup>, 佐藤 清<sup>2)</sup>,  
佐田 正晴<sup>3)</sup>, 永谷 憲歳<sup>3)</sup>, 鎌倉 史郎<sup>2)</sup>, 中谷 武嗣<sup>4)</sup>

1) 国立循環器病センター 輸血管理室

2) 同 臨床検査部

3) 同 再生医療部

4) 同 臓器移植部

#### 【はじめに】

当センターでは心臓移植患者の液性免疫能を評価するため、Flow PRA を用いて HLA 抗体の推移をモニタリングしている。しかし、日常検査では HLA 抗体スクリーニング検査のみを実施しているため、ドナー特異抗体 (DSA: Donor Specific Antibody) の確認ができず、治療を有する液性拒絶の把握が遅れ、臓器生着に影響する可能性がある。今回、Flow PRA が陽性であった症例について、レトロスペクティブに Flow PRA Single Antigen を用い HLA 抗体特異性を確認したところ、移植前後に DSA を認めた症例を経験したので報告する。

#### 【対象】

心臓移植手術を受けた 40 代男性。LVAS 装着後 3 年待機し、輸血を施行して %PRA 上昇を認めた。ドナー発生時、LCT (Lymphocyte Cytotoxicity Test) 法による direct crossmatch が陰性だったため移植を施行した。免疫抑制療法は OKT3 導入を行い、その後、タクロリムス、MMF (Mycophenolate Mofetil)、

ステロイドの 3 剤併用療法を行った。

#### 【方法】

HLA 抗体スクリーニング検査は FCM による Flow PRAI & II Screening Test (One Lambda) を用い、Negative Control から右方に推移した % を %PRA とした。また HLA 抗体特異性はレトロスペクティブに心臓移植直前、移植後 5, 10, 15, 39, 119 日後の検体について Flow PRA Single Antigen (One Lambda) を用い測定した。分析機器は FACS Calibur、測定解析ソフトは Cell Quest を使用した。

#### 【結果】

心臓移植時に HLA class I 抗体が検出され (%PRA: 40% 以上)、移植翌日には 10% 以下となり陰性化した。移植 5 日目から %PRA が急激に上昇。その後約 1 ヶ月間は 80% 前後で推移していたが、35 日目で降徐々に低下し始め、173 日目には陰性であった。HLA 特異性については移植直前、移植後 5 日目に DSA である HLA-B61 抗体が検出され、CREG (Cross Reactivity Group) も同時に検出された。10

日目を降 DSA は消失したが、CREG は認められた。心筋バイオプシー所見では治療を必要とする細胞性および液性拒絶を認めなかった。

#### 【考察】

レトロスペクティブに移植前後に DSA を認めた症例を経験した。HLA 抗体、特に DSA は移植予後に大きな影響を与え、超急性あるいは急性拒絶を引き起こすリスクも高い。本症例では LCT 法による

直前の direct crossmatch 陰性を確認し移植が行われたが DSA による超急性拒絶は認められなかった。同種抗体に対し、高応答性を示す移植患者において、HLA 抗体の検出感度の高い FCM 法を用いた HLA 抗体有無や特異性の推移を把握することは、免疫抑制療法を含む移植後管理に重要な情報を与えられ考えられる。

## 5) Flow PRA における非特異反応の検討

○山本 賢<sup>1)</sup>, 佐藤 清<sup>2)</sup>, 佐田 正晴<sup>3)</sup>, 永谷 憲歳<sup>3)</sup>, 鎌倉 史郎<sup>2)</sup>, 中谷 武嗣<sup>4)</sup>

- 1) 国立循環器病センター 輸血管理室
- 2) 同 臨床検査部
- 3) 同 再生医療部
- 4) 同 臓器移植部

#### 【はじめに】

Flow PRA における当センターの陰性の基準としてヒストグラム (HG) がシングルピークを示し、かつ %PRA (negative control から右方に推移した %) が 10% 以下を目安としている。しかしながら、HG がシングルピークで右方にシフトし、さらにコントロールピーズの HG も右方にシフトすることがある。この場合、非特異反応によるものとして報告している。今回、心臓移植症例および 2006 年の 1 年間で Flow PRA で非特異反応を示した症例について検討したので報告する。

#### 【対象】

当センターにおいて心臓移植を行った 20 例および 2006 年 1 月～12 月までに Flow PRA の測定を行った 44 例(心臓移植患者を除く)を対象とした。

#### 【方法】

HLA 抗体スクリーニング検査はフローサイトメーターによる Flow PRAI & IIScreening Test (One Lambda), HLA 抗体特異性は Flow PRA Single Antigen (One Lambda) を用い測定した。非特異反

応が認められた症例については非特異物質吸着試薬 Adsorb Out を用い、患者血清を処理後、再度 Flow PRA の測定を行った。また、これらの対象患者はほとんどが手術時にヘパリンを使用しているため、この影響を確認するために患者血清にプロタミンを添加し、再度 Flow PRA の測定を実施した。分析機器は FACS Calibur, 測定解析ソフトは Cell Quest を使用した。

#### 【結果】

心臓移植患者の 4 例 (20%), Flow PRA 測定患者の 7 例 (15.9%) に非特異反応を認めた。これら 11 例のうち 1 例において、Adsorb Out 後、特異的な HLA 抗体が検出された。残りの 10 例ではほとんど変化は認められなかった。非特異反応を示した症例についてプロタミン添加試験を行った結果、完全に非特異反応が消失した。

#### 【考察】

今回 Flow PRA 測定で 17% (11/64) に非特異反応が認められた。HLA 抗体のモニタリングを移植後の拒絶診断や治療効果判定に応用する場合、正確な

HLA 抗体の有無と特異性の把握は必須である。今回、Adsorb Out により 1 例のみ特異抗体が検出されたが、完全に非特異反応が消失するものではなかった。また Adsorb Out により非特異反応が消失しなかった症例についてプロタミンを添加することにより、非特異反応が完全に消失した。このため検体に

混入するヘパリンが非特異反応の原因の 1 つであると考えられた。Flow PRA の測定において非特異反応が認められた場合、いかに非特異物質の影響を最小限にし、正確な測定を行うかが重要であると考えられる。

## 6) 新しい HLA-B48/40 系アレルについて

○二神 貴臣<sup>1)</sup>, 大沼 豪<sup>1)</sup>, 小川 貴裕<sup>2)</sup>, 小島 裕人<sup>1)</sup>, 辻野 貴史<sup>1)</sup>,  
林 晃司<sup>1)</sup>, 前川尻真司<sup>2)</sup>, 松下 正毅<sup>2)</sup>, 落合 直也<sup>1)</sup>, 丸屋 悦子<sup>1)</sup>,  
赤座 達也<sup>1)</sup>, 佐治 博夫<sup>1)</sup>

1) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

2) 湧永製薬株式会社

### 【はじめに】

我々は造血幹細胞移植におけるドナー検索を目的として、日常業務において Luminex 法を用い、家族の HLA 型検査を 4 桁レベルで行っている。その中の一家系の HLA-B 座において新しいアレルを示唆する反応を検出した。ダイレクトシーケンスとクローニングにより変異を特定し、new allele であることを確認した。

### 【材料・方法】

材料として患者、父、母、兄の末梢血を使用した。

1, 患者、父、母、兄の HLA タイピングを Luminex 法 (WAKFlow) で行った。2, 患者と父の exon2 と exon3 のダイレクトシーケンスを行った。3, 患者と父の exon2 と exon3 のクローニングとシーケンスを行った。

### 【結果・考察】

1, WAKFlow によるタイピング結果(ハプロタイプ解析)

父を a/b, 母を c/d, 患者を a/c, 兄を b/c とする。

■ IPA ハプロタイプ a: A\*2402 - KYBX - C\*0803 - DRB1\*1406

□ NIPA ハプロタイプ b: A\*2402 - B\*5201 -

C\*1202 - DRB1\*1502

● IMA ハプロタイプ c: A\*2402 - B\*5201 - C\*1202 - DRB1\*1502

○ NIMA ハプロタイプ d: A\*2402 - B\*5201 - C\*1202 - DRB1\*1502

患者と父の B 座において、B\*5201 が検出されたが、その特異性を示すプローブ以外にも exon2, exon3 で複数の強い反応を示すプローブがあるにもかかわらず既知アレルとしては特定できず、KY-BX と仮に表記した。

2, ダイレクトシーケンスの結果、B\*520101 は特定できたが、片方のアレルは特定できなかった。

3, クローニングの結果、exon2 は B\*4801 と一致し、exon3 について一致する既知アレルはなく、最も類似性の高いアレルが B\*4059 であり、113 番目 (H → Y) · 114 番目 (D → N) · 116 番目 (S → F) でアミノ酸変異が検出された。KYBX の祖先遺伝子を考察すると 2 通りの可能性がある。① exon 2 と exon3 のはじめ(105 番目のアミノ酸付近まで)が B\*4802 で、残りの exon3 が B\*4801 である遺伝子、② exon2 は B\*4801 又は B\*4802, exon3 が B\*4059 である遺伝子、どちらの場合も KYBX は 105 番目

から 130 番目のアミノ酸部位で B\*1401 または B\*3701 などの遺伝子と gene conversion の結果生

じたアリルと考えられる。

## 7) 移植後キメリズム検査における興味深い症例について —造血幹細胞移植片に多機能幹細胞が含まれるか?—

○大沼 豪, 二神 貴臣, 小島 裕人, 辻野 貴史, 林 晃司, 落合 直也,  
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】

マイクロサテライト多型を利用し, 移植後のドナー/体細胞比率を DNA キメリズム解析として感度良く検出できる。我々は日常業務(移植後キメリズム検査)において同種造血幹細胞(SCT)移植後の患者口腔内粘膜(体細胞)由来 DNA のキメリズム解析の結果, ドナータイプ(70-80%)が検出された興味深い2症例を経験した。

### 【材料・方法】

症例 1: DR1 座ミスマッチ (Pt vs Do: DRB1\*1101 vs \*1401) の妹をドナーとして骨髄移植を施行し, 移植後 10 年の移植後キメリズム検査

使用サンプル: 患者: 爪, 口腔内粘膜, 末梢血, ドナー: 末梢血

症例 2: 重症多発性骨髄腫の患者, 子からの haplo-identical, 同種末梢血幹細胞移植を施行, 移植後 9 ヶ月, 16 ヶ月の移植後キメリズム検査

使用サンプル: 患者: 爪, 移植後 9 ヶ月, 16 ヶ月の口腔内粘膜細胞, 末梢血

キメリズム解析: ドナーとレシピエントのマイクロサテライト多型性を約 15 種検査し, Chimerism に informative 遺伝子を 2-3 種選択し, 移植後レシピエント PB/BM のマイクロサテライトを PCR で増幅後, 分子量多型性の差から, そのキメリズムを観察

し, 蛍光強度より半定量をおこなった。

DNA typing: Luminex 法 (WAKFlow) でミスマッチ HLA 座につき検査した。

### 【結果・考察】

症例 1: 移植後 10 年の患者爪は 100% 患者型, 口腔内粘膜は 80% ドナー型, 末梢血は 100% ドナー型を示した。

症例 2: 移植後 9 ヶ月目の爪は 100% 患者型, 口腔内粘膜は約 80% ドナー型, 末梢血: 100% ドナー型であり, 16 ヶ月目の爪は 100% 患者型, 口腔内粘膜: 約 20% ドナー型, 末梢血: 100% ドナー型であった。

SCT 施行後の患者の口腔内粘膜細胞の大多数がドナー型を示した 2 症例を経験した。通常, 移植前検体がない場合の代用とし患者口腔内粘膜細胞を使用する場合, 数 % のドナー細胞が検出される例はある。口腔内粘膜での GVHD 発症時のドナーリンパ球の浸潤と推定し, GVHD の診断としての価値を考えていた。今回, 造血幹細胞移植のソースに多機能幹細胞が含まれることを示唆する実例を経験し, 今後, 移植後キメリズム検査時に患者体細胞検体も同時に検査することで, 造血幹細胞移植におけるドナーの多機能幹細胞の動態と, その生着・分化を知る糸口を見つけたいと考える。

## 8) HLA 不一致同胞間末梢血幹細胞移植例における HLA 抗体の吸収と抗体価の推移

○高 陽淑<sup>1)</sup>, 小島 芳隆<sup>1)</sup>, 井上なおみ<sup>1)</sup>, 山口 真弓<sup>1)</sup>, 岡 綾子<sup>1)</sup>,  
 尼岸 悦子<sup>1)</sup>, 松山 宣樹<sup>1)</sup>, 谷上 純子<sup>1)</sup>, 福森 泰雄<sup>1)</sup>, 谷 慶彦<sup>1)</sup>,  
 柴田 弘俊<sup>1)</sup>, 渡邊 光正<sup>2)</sup>, 通堂 満<sup>2)</sup>

1) 大阪府赤十字血液センター

2) 大阪赤十字病院

### 【はじめに】

今回我々は、移植ドナーに対する HLA 抗体を保有する患者において、抗体産生細胞 (Bcell) を傷害する Rituximab (CD20 抗体) の投与とドナー血小板の大量輸血および末梢血幹細胞移植によりその抗体価がどのように推移するかを検討する機会を得たので報告する。

### 【症例および経過】

患者は骨髓異形成症候群で 30 歳の男性。当初は、PC-HLA 輸血を目的として当センターに HLA 抗体の検査依頼があった。その後、病状が進行し急性骨髓性白血病へ移行したために、HLA 2 座不一致の兄をドナーとした末梢血幹細胞移植が予定されたが、患者はドナーの抗原 (A24, B54) に対する HLA 抗体を保有していた。そこで HLA 抗体の減弱および吸収を目的とした Rituximab の投与とドナー血小板 40 単位の輸血を経て移植が施行され、移植後 14 日で生着が確認された。

### 【方法】

HLA 抗体スクリーニングは LCT, AHG-LCT 法, 蛍光ビーズ法 (LABScreen, One Lambda 社) で実施した。移植前後に、数回に亘って採取した患者血清を用いて、A24 抗原保有パネルセルに対する抗体価を LCT 法で測定した。また同様に A24 および B54 抗原保有パネルセルを用いてフローサイトによる全血 LIFT 法でも HLA 抗体を測定した。

### 【結果】

HLA 抗体スクリーニングの結果は LCT 法および AHG-LCT 法で陽性, LABScreen PRAI で陽性, PRAII で陰性であった。これらのスクリーニングの結果から患者は A24 +  $\alpha$  (広範囲) の HLA 抗体を保有していると推定され、A24 に対する抗体価は LCT 法で 16 倍であった。また B54 抗体については AHG-LCT 法, LABScreen 法でのみ検出された。その後数回の PC-HLA 輸血を経て、10 ヶ月後に採血した検体で測定した A24 の抗体価は 4 倍, Rituximab 投与終了後には 2 倍にまで減弱していた。そして、ドナー血小板 40 単位の輸血を経た移植直前の患者検体では A24 抗原保有パネルとの反応は LCT 法で陰性, 全血 LIFT 法で陽性であった。そこで翌日、末梢血幹細胞の追加輸注が施行された。その後数回に亘って採取した検体については LCT 法, 全血 LIFT 法共にドナーの抗原 (A24, B54) に対しては陰性となった。しかし、ドナーの保有していない抗原に対する一部の抗体は移植後の患者血清中に検出された。

### 【まとめ】

- ① 患者血清中に存在したドナーの抗原に対する HLA 抗体は Rituximab 投与およびドナー血小板大量輸血を経て LCT 法での検出感度以下となり、移植後には全血 LIFT 法でも検出感度以下となった。
- ② ドナーの抗原以外に対する一部の抗体に関しては移植後の患者検体からも検出された。

## 9) Host-versus-graft (HVG) 方向不一致 HLA 抗原を複数有する HLA 部分不一致血縁者からの造血幹細胞移植

○諫田 淳也<sup>1)</sup>, 一戸 辰夫<sup>1)</sup>, 近藤 忠一<sup>1)</sup>, 石川 隆之<sup>1)</sup>, 渡邊 光正<sup>2)</sup>, 通堂 満<sup>2)</sup>, 落合 直也<sup>3)</sup>, 丸屋 悦子<sup>3)</sup>, 佐治 博夫<sup>3)</sup>, 内山 卓<sup>1)</sup>

1) 京都大学医学部附属病院 血液・腫瘍内科

2) 大阪赤十字病院 血液内科

3) 特定非営利活動法人 HLA 研究所

### 【緒言】

移植適応がある高リスク造血器腫瘍に対して HLA 一致同胞あるいは HLA 一致非血縁者といった一般的なドナー候補が見出せない場合、代替ドナーとして HLA-A, -B, -DR 抗原の graft-versus-host (GVH) 方向の不一致が 1 抗原以内である HLA 不一致血縁者が選択されることがある。しかしながら host-versus-graft (HVG) 方向の不一致 HLA 抗原が複数存在する場合には、生着不全等の移植関連合併症のリスクが高まる可能性があり、そのようなドナーを一般的に選択することの妥当性に関しては十分な検討が行われていない。

### 【方法】

1999 年 12 月から 2006 年 8 月までの間に京都大学医学部附属病院と大阪赤十字病院において成人を対象として実施された HLA 部分不一致血縁者をドナーとする造血幹細胞移植のうち、低解像度タイピングによる HLA-A, -B, -DR の不一致が GVH 方向に 1 抗原以内であり、FK506 を含む GVHD 予防法が用いられていた 40 例を対象として、中高解像度タイピングによる HLA-A, HLA-C, HLA-B, HLA-DRB1 の HVG 方向のアリル型不一致数が生着および生存に与える影響を後方視的に検討した。

### 【結果】

40 例中 35 例に生着(ドナー型造血による持続的な

好中球数  $> 500/\text{mm}^3$  への回復)を認め、生着に要した日数の中央値(範囲)は 15 日(12-26 日)であった。早期死亡を 2 例に認め、残り 3 例に一次生着不全を認めたが、同一あるいは別のドナーより救援幹細胞移植が施行され 3 例とも追加移植片による生着を得た。また急性 GVHD (grade II 以上)は、評価可能な 35 例のうち 20 例(57%)に認めた。次いで、HLA-A, -C, -B, -DRB1 の HVG 方向のアリル型不一致の数が 0 から 1 個の群(0-1 アリル不一致群; 12 例)と、2 個から 4 個の群(2-4 アリル不一致群; 28 例)を比較すると、年齢や疾患などの患者背景に関して二群間に有意な差は認められなかったが、day30 における累積生着率は、2-4 アリル不一致群が有意に劣っていた(100% vs 86%,  $p = 0.049$ )。一方、4 年生存率に関しては 0-1 アリル不一致群と 2-4 アリル不一致群に有意な差は認められなかった(19% vs 55%,  $p = 0.08$ )。なお、比例ハザードモデルを用いた多変量解析では、HVG 方向の複数不一致アリルの存在のみが、生着不全の危険因子として抽出された。

### 【結論】

GVH 方向 HLA-A, -B, DR 一抗原以内不一致血縁者は、HVG 方向に複数の HLA アリル型不一致が存在する場合には生着不全のリスクに留意する必要があるものの、他に適切なドナーが見出されない場合には有力なドナー候補者になり得ると考えられた。

# 日本組織適合性学会誌 MHC の投稿規定

## I. 投稿について

**内 容:** MHC に関する基礎研究から臨床研究まで全てを対象にし、未発表の論文、他誌に投稿中でないものに限る。

**資 格:** 著者(共著者を含む)は原則として本学会会員に限る。

**倫 理:** ヒトおよびヒトの試料を用いた臨床研究・基礎研究の場合、1980年ヘルシンキ宣言(第18回 World Medical Assembly にて採択)に基づくと共に、当該施設の倫理委員会の承諾を得たものでなければならない。また動物を用いた研究については「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」(1980年日本学術会議決議)などを遵守し行われた研究でなければならない。

**種 類:** 原著, 総説, シリーズ, 短報(研究速報, 技術速報などを含む), 症例報告などとし, 日本語, 英語を問わない。

**審 査:** 投稿論文掲載の採否は当誌編集委員会において決定し, 審査は複数の査読制で行う。審査の結果を踏まえ修正, 削除, 加筆などをお願いする場合がある。

**著作権:** 本誌に掲載された論文などの著作権は日本組織適合性学会が有し, インターネットを通じて電子配信されることがある。

**掲載料:** 掲載は無料であるが, カラー写真など特別印刷に関わる経費は著者の実費負担とする(カラー印刷を希望の場合にはその旨明記)。

**別 冊:** 別冊は有料とし, その経費は別冊部数やページ数による(別冊希望の場合は著者校正の際にその旨明記)。

## II. 原著執筆書式

### 1. 執筆要項

400字詰め原稿用紙30枚(刷り上がり12頁程度)以内とする。図, 表, 写真は1個につき原稿用紙1枚分に該当しタイトルを必ず記載し挿入箇所を本文に明記する。本文は Microsoft Word で作成し, 図,

表, 写真は Microsoft PowerPoint を使用する。原稿は全て CD-ROM に保存し, CD-ROM に A4 サイズで プリントアウトした原稿1部 を添えて編集長宛に送付する。

### 2. 第1頁目

表紙とし「原著」を明記し, 日本語と英語でタイトル, 著者全員の氏名と所属を記し, 脚注として連絡責任者の住所, 氏名, 電話, FAX, E-mail アドレスを記載する。タイトル, 著者名, 所属は下記の形式に従う。

Susceptibility gene for non-obstructive azoospermia in the HLA class II region: correlations with Y chromosome microdeletion and spermatogenesis. Tetsuya Takao<sup>1)</sup>, Akira Tsujimura<sup>1)</sup>, Masaharu Sada<sup>2)</sup>, Reiko Goto<sup>2)</sup>, Minoru Koga<sup>3)</sup>, Yasushi Miyagawa<sup>1)</sup>, Kiyomi Matsumiya<sup>1)</sup>, Kazuhiko Yamada<sup>2)</sup>, Shiro Takahara<sup>1)</sup>

- 1) Department of Urology, Osaka University Graduate School of Medicine, Suita, Osaka, Japan
- 2) Department of Regenerative Medicine, National Cardiovascular Center, Suita, Osaka, Japan
- 3) Department of Urology, Osaka Central Hospital, Osaka, Japan

心移植における FlowPRA 法を用いた HLA 抗体検出の意義

山本 賢<sup>1)</sup>, 佐藤 清<sup>1)</sup>, 佐田 正晴<sup>2)</sup>, 永谷 憲歳<sup>2)</sup>, 中谷 武嗣<sup>3)</sup>

- 1) 国立循環器病センター臨床検査部
- 2) 国立循環器病センター再生医療部
- 3) 国立循環器病センター臓器移植部

### 3. 本文—1: 日本語での投稿

• 2頁目に400字以内の英文要旨, 日本語および英語のキーワード(5語以内)を記載する。尚, 英文要旨作成については編集委員会による対応も可能(希望の



場合、400字以内の日本語要旨を記載しその旨明記)。

• 3頁目より、「はじめに」、「材料と方法」、「結果」、「考察」、「引用文献」の順に記載する。

- ① 専門用語以外は常用漢字、新かなづかいに従い記述する。
- ② 本文中の英単語は固有名詞を除き全て小文字で統一する。
- ③ 地名、人名、学名は原語のまま用い、薬品名は一般名を用い商品名は括弧内に記す。
- ④ 単位、数量は国際単位 (cm, ml, g, Kg, pg,  $\mu$ l, %,  $^{\circ}$ C など) を、数字はアラビア文字を用いる。

#### 4. 本文—2: 英語での投稿

• 2頁目に400字以内の要旨、キーワード(5語以内)を記載する。

• 3頁目より、「Introduction」、「Materials and Methods」、「Results」、「Discussion」、「References」の順に記載する。

- ① 地名、人名、学名は原語のまま用い、薬品名は一般名を用い商品名は括弧内に記す。
- ② 単位、数量は国際単位 (cm, ml, g, Kg, pg,  $\mu$ l, %,  $^{\circ}$ C など) を、数字はアラビア文字を用いる。

#### 5. 引用文献

引用文献は本文中の引用箇所の右肩に片カッコ付きで番号を付し、引用順に一括し記載する。著者名、編集者名は筆頭者から3名まで列記し、他または et al. とする。

1. Shi Y, Yoshihara F, Nakahama H, *et al.*: A novel immunosuppressant FTY720 ameliorates proteinuria and alterations of intrarenal adrenomedullin in rats with autoimmune glomerulonephritis. *Regulatory Peptides* (127): 233–238, 2005.
2. Tongio M, Abbal M, Bignon JD, *et al.*: ASH#18: HLA-DPB1. *Genetic diversity of HLA Functional and Medical Implication* (ed. Charron D), Medical and Scientific International Publisher, p. 134–

136, 1997.

3. 難波行臣, 今尾哲也, 石黒 伸 他: 既存抗体陽性生体腎移植後に生じた抗体関連型拒絶反応に対して血漿交換および免疫グロブリン大量療法 (IVIg) が奏効した1例. *腎移植・血管外科* 17: 36–40, 2005
4. 佐田正晴, 高原史郎: 腎移植—組織適合と拒絶反応. 新図説泌尿器科学講座6「腎疾患, 神経泌尿器科, 老年泌尿器科」(吉田 修 監), Medical View 社, p. 120–125, 2000.

### III. 短報(研究速報, 技術速報などを含む), 症例報告執筆書式

#### 1. 執筆要項

400字詰め原稿用紙15枚(刷り上がり6頁程度)以内とする。図, 表, 写真は1個につき原稿用紙1枚分に該当しタイトルを必ず記載し挿入箇所を本文に明記する。本文は Microsoft Word で作成し, 図, 表, 写真は Microsoft PowerPoint を使用する。原稿は全て CD-ROM に保存し, CD-ROM に A4 サイズでプリントアウトした原稿1部を添えて編集長宛に送付する。

#### 2. 第1頁目

表紙とし「短報」「症例報告」を明記し, 日本語と英語でタイトル, 著者全員の氏名と所属を記し, 脚注として連絡責任者の住所, 氏名, 電話, FAX, E-mail アドレスを記載する。タイトル, 著者名, 所属は「原著」の形式に従う。

#### 3. 本文(日本語および英語での投稿)

- 短報, 症例報告には要旨は不要。
- 2頁目以降は, 原著執筆書式3.の3頁目以降に準じる。

#### IV. 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。総原稿枚数は編集委員会で指定し, 原則的に原著執筆書式に準じる。

## V. 原稿送付先

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘 2-2  
 大阪大学大学院医学系研究科 J8  
 先端移植基盤医療学  
 日本組織適合性学会誌 MHC  
 編集長 高原 史郎

Tel: 06-6879-3746

Fax: 06-6879-3749

E-mail: takahara@att.med.osaka-u.ac.jp

	総原稿枚数 (図表, 文献含む)	図表数	文献数	要旨	原稿タイトル 所属, 著者	キーワード数	査読	著者校正
原著	30 枚以内	5~10 個以内	20 個以内	英文 400 字以内	和英併記	5 個	有り	1 回
短報, 症例報告	15 枚以内	5 個以内	10 個以内	なし	和英併記	なし	なし	1 回
総説, その他	その都度指定	適宜	20~30 個前後	和文 400 字以内	和英併記	5 個	なし	なし

### 編集後記

この編集後記は桜が満開で入学式・入社式真っ盛りの時期に書いている。新入生を迎えた活気がそこかしこに溢れており、こちらまで新たな出発気分浸っている。さて、本号は高原史郎理事が編集長に就任しての最初を飾る号である。MHCは吉田孝人初代編集長、猪子英俊次代編集長、そして徳永勝士前編集長と基礎医学・生命科学系の研究者が歴代編集長を担当してきたが、高原新編集長は就任挨拶にもあるように臨床医学系の研究者である。日本組織適合性学会は、「組織適合性・MHC」をキーワードとして、生命科学・基礎医学から検査学・臨床医学までの幅広い領域をカバーする横断的・学際的な学問領域であるが、幅広い領域であるがゆえに、個々の会員は常に新たな情報に接し、それを吸収し、次の発展に生かすことが求められよう。高原新編集長のもと、さらなる複合研究領域の融合と発展を目指したMHCをお届けする。

木村 彰方

### 「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

2007年5月31日発行 14巻1号, 2007

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 高原 史郎)

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 木村 彰方)

〒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