

# 日本組織適合性学会誌

第 23 卷第 2 号 平成 28 年 9 月 20 日発行

## 目 次

日本組織適合性学会からのお知らせ

第 15 回日本組織適合性学会近畿地方会ご案内および演題募集 .....	77
認定 HLA 技術者講習会（大会教育講演を兼ねる） .....	78
認定制度指導者講習会 .....	79

平成 28 年度認定 HLA 検査技術者講習会テキスト

HLA の立体構造と免疫制御受容体の分子認識機構 .....	黒木喜美子, 喜多 俊介, 前仲 勝実	80
血小板輸血不応における HLA 抗体の臨床的意義 .....	高橋 大輔	96
造血幹細胞移植の現状と展望 .....	豊嶋 崇徳	108

総説 初心者講習会テキスト

HLA の基礎知識 1 .....	小川 公明	115
-------------------	-------	-----

追悼の言葉 Paul Terasaki 先生のご逝去を悼む

Terasaki 先生との思い出 .....	岩城 裕一	123
Terasaki 先生を偲んで .....	脇坂 明美	126
テラサキ先生との思い出 .....	一戸 辰夫	130

追悼の言葉 赤座 達也先生のご逝去を悼む

「赤座達也先生を想う」追悼文 .....	吉田 孝人	131
赤座先生の思い出 .....	徳永 勝士	134
赤座先生を偲んで .....	田中 秀則	136
赤座達也先生を偲ぶ .....	小川 公明	138

日本組織適合性学会 MHC 投稿・執筆規定（平成 28 年 2 月 1 日改訂） .....	139
編集後記 .....	142

## 第 15 回日本組織適合性学会近畿地方会ご案内および演題募集

残暑厳しき折、皆様には益々ご清祥のこととお慶び申し上げます。臨床と HLA 学の実りのある融合を目指して発足した日本組織適合性学会近畿地方会も、今回で 15 回目を迎えることとなりました。つきましては、以下の要項で演題の募集を致しますので、奮ってのご応募をお待ちしております。

**日 時：平成 29 年 2 月 4 日（土）**

世話人：野村 昌作（関西医科大学附属病院 血液腫瘍内科）

場 所：大阪府赤十字血液センター 7 階会議室（大阪市城東区森之宮 2 丁目 4 番 43 号）

JR 環状線・地下鉄中央線・地下鉄長堀鶴見緑地線、森ノ宮駅下車東へ 350 m TEL 06-6962-7001

会 費：正会員 2000 円

学 生 1000 円

世話人 3000 円 全て懇親会費も含まれます。

**抄録×切：平成 28 年 12 月 26 日**

抄録は A4 用紙 1 枚に、添付の様式（抄録作成要領）を参考にご作成ください。

字体は MS 明朝 サイズは 12 ポイント

図表がある場合は別途 A4 用紙 1 枚に添付して下さい。

抄録電子ファイル送信先：

『第 15 回日本組織適合性学会近畿地方会演題』という件名で、[yuketsu@med.kindai.ac.jp](mailto:yuketsu@med.kindai.ac.jp) まで送付ください。

**発表形式**

原則的には Windows Power Point（やむを得ない場合には Mac の Power Point でも可能ですが当日パソコンを持参ください）で作成していただき、ファイルを**平成 29 年 1 月 27 日（土）まで**に上記のメールアドレス宛にご送付ください。

発表時間：討論を含めて 10 分程度を目安として下さい。

\* 学会のお問い合わせ先

近畿大学医学部附属病院 輸血・細胞治療センター 金光 靖 [yuketsu@med.kindai.ac.jp](mailto:yuketsu@med.kindai.ac.jp)

## 認定 HLA 技術者講習会（大会教育講演を兼ねる）

本講習会は、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方々を対象に実施されます。大会参加者は自由に参加することができます。受講に関しましては、事前登録をしていただく必要はございません。

**日 時：**平成 28 年 10 月 22 日（土曜日）時刻：10 時 00 分～12 時 00 分

**会 場：**第 25 回・日本組織適合性学会 大会会場

北海道大学 学術交流会館

〒060-0808 北海道札幌市北区北 8 条西 5 丁目

**テキスト：**会場でのテキストの販売は、いたしません。学会ホームページに掲載されたテキストを必要に応じて印刷し、ご持参下さい。

**受講証明書：**認定制度に関わる受講証明書は、会場入口の受付にて受講者 1 につき 1 枚を発行いたします。各自で所属、氏名を記入していただき、講習会終了時に回収致します。途中退出、中途入場の場合は受講証明書を発行できませんので、ご留意ください。

### 内 容：

- (1) HLA に関する基礎医学的な講演  
前仲 勝実 先生（北海道大学薬学研究院 生体分子機能学研究室・教授）  
「HLA の立体構造と免疫制御受容体の分子認識機構」
- (2) HLA タイピングあるいは抗 HLA 抗体検査に関する講演  
高橋 大輔 先生（日本赤十字社 北海道ブロック血液センター検査一課）  
「血小板輸血不応における HLA 抗体の臨床的意義」
- (3) 臓器移植の臨床医学に関する講演  
豊嶋 崇徳 先生（北海道大学大学院医学研究科 血液内科学分野・教授）  
「造血幹細胞移植の現状と展望」

## 認定制度指導者講習会

第25回日本組織適合性学会大会中の下記の教育講演（認定HLA検査技術者講習会）、特別講演3企画、シンポジウム3企画、合計7企画から、3企画以上の受講をもって、指導者新規申請および更新申請に必要な講習を受講したものと認めます。会場入口に用意されている、受講者記帳名簿へのサインをもって受講証明といたします。

内 容：

1) 教育講演（認定HLA技術者講習会を兼ねる）：10月22日（土）10:00～12:00 2時間

① 前仲 勝実 先生（北海道大学薬学研究院）

「HLAの立体構造と免疫制御受容体の分子認識機構」

② 高橋 大輔 先生（日本赤十字社北海道ブロック血液センター）

「血小板輸血不応におけるHLA抗体の臨床的意義」

③ 豊嶋 崇徳 先生（北海道大学大学院医学研究科）

「造血幹細胞移植の現状と展望」

2) 特別講演Ⅰ：10月23日（日）11:30～12:30

田中 啓二 先生（東京都医学総合研究所理事長兼所長）

3) 特別講演Ⅱ：10月23日（日）15:00～16:00

伊達 洋至 先生（京都大学大学院医学研究科呼吸器外科学教授）

4) シンポジウムⅠ（臨床）：10月23日（日）16:00～17:30

臨床移植免疫学の新展開（仮）

5) シンポジウムⅡ（がん）：10月24日（月）8:30～10:00

腫瘍免疫学・免疫治療学の進歩

6) シンポジウムⅢ（基礎）：10月24日（月）10:00～11:30

MHCを視点とした免疫異常・感染症治療戦略の新展開

7) 特別講演Ⅲ：10月24日（月）11:30～12:30

Prof. John Trowsdale（ケンブリッジ大学教授）

## HLA の立体構造と免疫制御受容体の分子認識機構

黒木喜美子<sup>1)2)</sup>・喜多 俊介<sup>1)2)</sup>・前仲 勝実<sup>1)2)</sup>

<sup>1)</sup>北海道大学薬学研究院生体分子機能学研究室

<sup>2)</sup>創薬科学研究教育センター

HLA は非常に遺伝子多型性が高く、多数の遺伝子ファミリーを形成することによって多重性も獲得し、自己・非自己認識を担っている糖タンパク質である。通常、幅広い抗原由来のペプチドを T 細胞へ提示するが、さらに、様々な免疫制御受容体との相互作用を介して免疫応答を多面的に調節し、個体の恒常性を維持していることが明らかになってきた。このような HLA が持つ多面的機能の理解には、X 線結晶構造解析による立体構造の決定や物理化学的な相互作用解析が大きな貢献を果たしてきた。本稿では、HLA の分子構造から特に HLA クラス I と受容体群との分子認識機構に着目し、どのように HLA が免疫反応を制御しているかを概説するとともに、疾患との関連を考察する。

**キーワード：**HLA, KIR, LILR, NKG2/CD94, X 線結晶構造解析

### 1. はじめに

ヒト主要組織適合性複合体 (major histocompatibility complex: MHC) であるヒト白血球抗原 (human leukocyte antigen: HLA) は細胞表面に発現し、細胞内で消化されたペプチドを提示することによって、自己・非自己認識に関与している糖タンパク質である。非常に多型性が高く、HLA による免疫制御の破たんが、移植時拒絶反応をはじめ、自己免疫疾患、ウイルス感染症など多数の疾患と関連を示すことが多くの研究成果からも示唆されてきた。しかし、HLA と疾患との関連について、分子機構の理解は進んでおらず、未だ不明な点が多い。

HLA 遺伝子はヒト第 6 染色体短腕にコードされ、最も多型性の高い遺伝子であると同時に、特定の対立遺伝子間には強い連鎖不平衡があり、ハプロタイプを形成している。この特徴は、進化的にウイルスをはじめとする病原体などによる選択圧によって獲得されたものと考えられてきた。その後、組換えタンパク質調製法の確立と X 線結晶構造解析の発展により得られた HLA の分子構

造から、配列多様性が非常に高く、さらに、コードする遺伝子構造が異なるにも関わらず、HLA クラス I, クラス II は非常に相同性が高い分子構造を保持することが明らかとなった。一方で、多型残基はペプチドが結合する領域に集積していることがわかった。自己および非自己ペプチドを選択的に結合するペプチド収容溝に多様性を獲得することによって、提示されるペプチドレパートリーは HLA アリル依存的となる。さらに、提示されるペプチドの結合様式、その特異性、T 細胞受容体をはじめとする受容体を介したシグナル制御に関する多くの知見が立体構造情報から得られてきた。特に HLA クラス I は、ペプチドをキラー T 細胞受容体に提示するだけでなく、様々な免疫細胞上のペア型受容体を利用して広範な免疫応答を調整していることが明らかとなり、その特異性や結合部位と機能の相関が非常に興味深い。本稿では、HLA クラス I, クラス II の分子構造の比較から、特に多様な受容体と相互作用する HLA クラス I に着目し、受容体群との相互作用解析と X 線結晶構造解析から得られる知見を中心に概説する。

受付日：2016 年 6 月 28 日、受理日：2016 年 6 月 28 日

代表者連絡先：前仲 勝実 〒060-0812 北海道札幌市北区北 12 条西 6 丁目 北海道大学薬学研究院生体分子機能学研究室  
TEL: 011-706-3970 FAX: 011-706-4986 E-mail: maenaka@pharm.hokudai.ac.jp

## 2. HLA 分子の立体構造

### 1) HLA クラス I 分子

HLA クラス I は基本的にすべての有核細胞および血小板において発現する。本来の機能は、細胞内タンパク質がプロテアソーム等により分解されてできる、8-11 アミノ酸程度からなるペプチドと結合し、細胞表面でキラー T 細胞に提示することである。通常細胞においては内在性自己ペプチドを、感染細胞においてはウイルス由来非自己ペプチドを提示することによって、免疫反応を調節し、恒常性を維持している。クラス I は、T 細胞への抗原提示能をもつ古典的 HLA クラス I (HLA-A, B, C) と多様な機能を持ち、多型性の低い非古典的 HLA クラス I (後述) に大別されるが、通常、古典的クラス I のみをクラス I 分子と呼ぶことが多い。本稿でも古典的クラス I をクラス I とし、非古典的クラス I とは区別する。

HLA クラス I 分子は、3つのドメイン ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ) からなる重鎖と1つの免疫グロブリン様ドメインを形成する  $\beta 2$  ミクログロブリン ( $\beta 2m$ )、および細胞内で消化されたペプチドから形成されるヘテロ三量体である (図 1)。 $\beta 2m$  はヒト 15 番染色体上に存在する単一の非 MHC 遺伝子にコードされ、HLA クラス I 複合体の共通ユニットであり、重鎖  $\alpha 3$  ドメインに非共有結合的に相互作用している。分子の全体構造は古典的、非古典的いずれの HLA クラス I でも、アレルや提示するペプチドの種類に関わらず高度に保存されている。ペプチドが結合するペプチド収容溝は重鎖  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ドメインからなる 8 本の

逆並行  $\beta$  シートと 2 本の  $\alpha$  ヘリックスから形成されている (図 1B)。HLA クラス I は通常細胞表面に発現する時はヘテロ三量体であり、いずれかの構成因子を欠くと安定構造を保てないと考えられるが、活性化した細胞上では  $\beta 2m$  とペプチドが存在しない HLA クラス I 重鎖のみ (free heavy chain : fHC) として発現し、fHC 同士ホモ二量体または多数の他の受容体 (CD8, TCR/CD3, MHCI, MHCII, インスリン受容体など) とヘテロ二量体を形成しやすいとの報告もあり<sup>1)</sup>、機能解明がその生理的理解につながると期待されている。

### 2) HLA クラス II 分子

HLA クラス II (HLA-DR, DQ, DP) はマクロファージ、樹状細胞、B 細胞などの抗原提示細胞に発現し、細胞外抗原由来のペプチドをヘルパー T 細胞に提示することによって、抗原特異的免疫反応を誘起する。HLA クラス II はそれぞれ 2 つのドメインからなる  $\alpha$  鎖 ( $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ) と  $\beta$  鎖 ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ) およびペプチドからなるヘテロ三量体である。 $\alpha$  鎖と  $\beta$  鎖は非共有結合的に相互作用し、そのうち  $\alpha 1$  および  $\beta 1$  ドメインが立体障害無く組み合わせることで、クラス I と類似したペプチド収容溝を形成している (図 2)<sup>2)</sup>。クラス I と同様に、非常に多型性に富むにも関わらず、分子構造は高度に保存されているが、クラス I 分子では重鎖のみが膜貫通ドメインを持ち、細胞膜と結合しているのに比べて、クラス II 分子は  $\alpha$  鎖、 $\beta$  鎖ともに膜貫通ドメインを持ち、両方で膜に結合している (図 1A, 2A)。ペプチドは非共有結合により溝に結合し、ペプチド非存在下では安定な構造を保持できないため、クラス II の溝にペプチドが安定に結合した場合

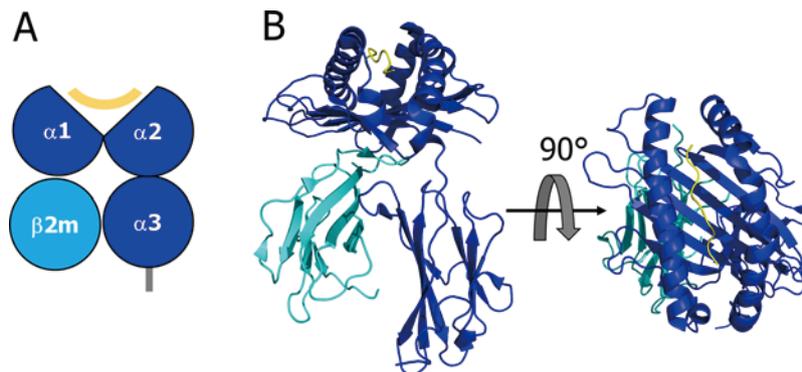


図 1 HLA クラス I の立体構造

A. HLA クラス I 分子の模式図。

B. HLA-A2 細胞外ドメインの結晶構造 (PDB ID: 2BCK) の正面図 (左) とペプチド収容溝を上から見た図 (右)。重鎖を青、 $\beta 2m$  をシアン、ペプチドを黄色、膜貫通ドメインおよび細胞内ドメインを灰色で示した。

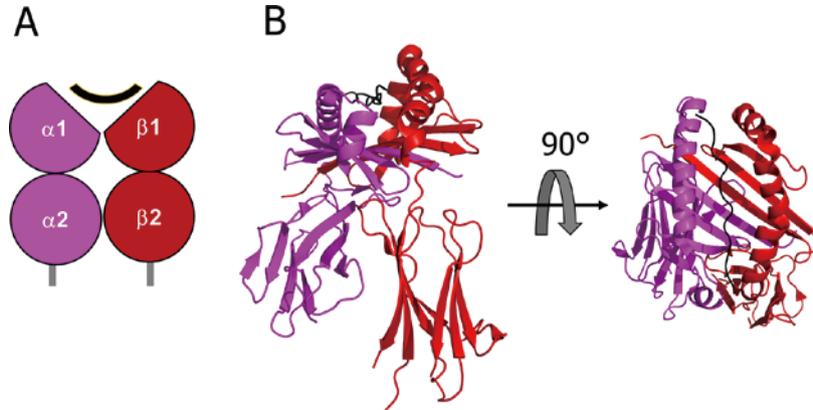


図2 HLA クラス II の立体構造

A. HLA クラス II 分子の模式図。

B. HLA-DR 細胞外ドメインの結晶構造 (PDB ID: 3C5J) の正面図 (左) とペプチド収容溝を上から見た図 (右)。α鎖をマゼンタ, β鎖を赤, ペプチドを黒, 膜貫通ドメインおよび細胞内ドメインを灰色で示した。

にのみ, 細胞外に輸送されると考えられる。

### 3) HLA のペプチド結合様式

前述したように, HLA クラス I とクラス II の全体構造は構成するサブユニットが異なるにも関わらず非常によく似ているが (図 1, 2), ペプチド収容溝に特徴的な差異が存在し, 一般的に HLA クラス I の方が溝の両端が閉じており, クラス II は開いている (図 3)。このことは, 提示するペプチドの長さにも関連し, クラス I が提示するペプチドは通常 8 ~ 11 アミノ酸残基に限定される傾向があるのに対し, クラス II は 10 ~ 30 残基以上のアミノ酸残基からなるペプチドを提示可能である。さらに近年, 通常速やかに細胞内で分解されるはずのミスフォールドタンパク質がクラス II 分子のペプチド収容溝に結合することによって細胞外へと輸送され, 自己反応性 B 細胞へと抗原提示すると報告され<sup>3)</sup>, 提示されるものがペプチド断片に限らない可能性が示唆された。自己抗体産生が寄与する自己免疫疾患発症に関与する新機構として興味深く, また, ミスフォールドタンパク質がどのようにクラス II 分子に提示されるのか, その構造情報の解明が期待される。

#### ① HLA クラス I 分子

クラス I 分子のペプチドは, ユビキチン化された細胞内の自己または非自己抗原が細胞質内でプロテアソームにより消化された後, transporter associated with antigen processing (TAP) を介して小胞体に輸送され, さらに小胞体内に存在するアミノペプチターゼによるトリミングを受けてクラス I 分子と結合する。プロテアソームで

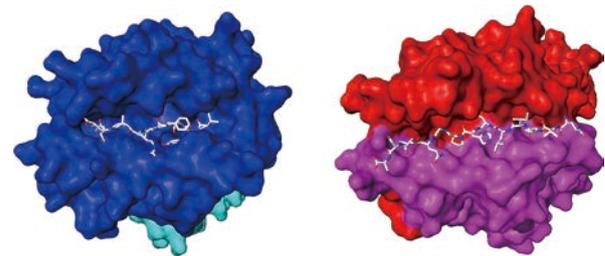


図3 HLA クラス I (左) とクラス II (右) のペプチド収容溝の比較

HLA-A2 と HLA-DR 分子をペプチド収容溝側からみた図。HLA を分子表面モデル, ペプチドをスティックモデルで示した。ペプチドはそれぞれ右が N 末端残基。

生成されるペプチド長は 8 ~ 16 アミノ酸であり, さらにトリミングを受けるため, クラス I に提示されるペプチドの長さはある程度固定される。近年, アミノペプチターゼの 1 種である endoplasmic reticulum aminopeptidase 1 (ERAP1) 多型と特定の HLA クラス I 陽性率が高い疾患との関連が報告された。強直性脊椎炎の HLA-B27 陽性患者においてのみ ERAP1 多型が有意な関連を示すこと<sup>4)</sup>, さらにベーチェット病においては HLA-B51 とエピスタシス的な関連を示すこと<sup>5)</sup> が明らかとなり, クラス I に提示されるペプチドレパートリーが直接疾患と関与する可能性を示す興味深い知見である。

クラス I に提示されるペプチドには, アンカー残基と呼ばれる重鎖が形成するペプチド収容溝内の特定のポケットと直接相互作用するアミノ酸残基が存在する。例えば, 強直性脊椎炎と強い関連を示す HLA-B27 はペプチド N 末端側から 2 番目のアミノ酸残基 (P2) がアル

ギニン残基 (Arg) である場合が多く、アンカーペプチドとして機能している (図 4)。クラス I の中には、ポケットの拘束性がそれほど高くないことも多く、アンカーペプチドとなるアミノ酸残基は HLA のアレル固有のものである。一方で、アンカー残基以外のアミノ酸残基は多様であり、幅広いペプチドを提示できる (図 4B)。

また、以前から薬剤副作用と HLA クラス I との関連が多数報告されていたが、近年、X 線結晶構造解析により、アバカビル過敏症の原因となる抗ウイルス薬が、遺伝的関連のある HLA-B\*5701 のペプチド収容溝に結合し、T 細胞に提示されるペプチドレパートリーを変化させることによって異常免疫反応を引き起こしているという分子機構が明らかになった<sup>6)</sup>。HLA と低分子との結合による疾患発症機構という新たな HLA の機能が今後注目される。

## ②クラス II 分子

クラス II 分子は主に細胞外タンパク質抗原由来のペプチドを提示する。抗原はエンドサイトーシスによって細胞内に取り込まれ、酵素的に消化され、断片化される。

クラス II が存在する小胞とペプチド小胞が融合することによって、ペプチドはそれまでクラス II のペプチド溝にはまっていた class II-associated invariant-chain peptides (CLIP) に置き換わる形でクラス II に結合し、そのまま細胞外に輸送される。クラス I がペプチドの両端で重鎖ポケットと相互作用していたのと対照的に、クラス II とペプチドとの相互作用は溝全体に分布した比較的保存されたアミノ酸残基で形成されるポケットとの相互作用による (図 5C)。クラス II のペプチド収容溝は前述の通り、クラス I に比べて両端が開いた構造をしているため、アンカーペプチドで相互作用したペプチドは溝の両端から露出しても結合できる。そのため、クラス II に提示されるペプチドの長さは多様である。

## 3. HLA と T 細胞受容体の相互作用

### 1) HLA クラス I

キラー T 細胞上の T 細胞受容体 (T cell receptor: TCR) は MHC クラス I の多型性の高い  $\alpha 1$ - $\alpha 2$  ヘリックスのペプチド溝および提示されたペプチドの中央部を認識することによって、自己の MHC クラス I に提示されたペプ

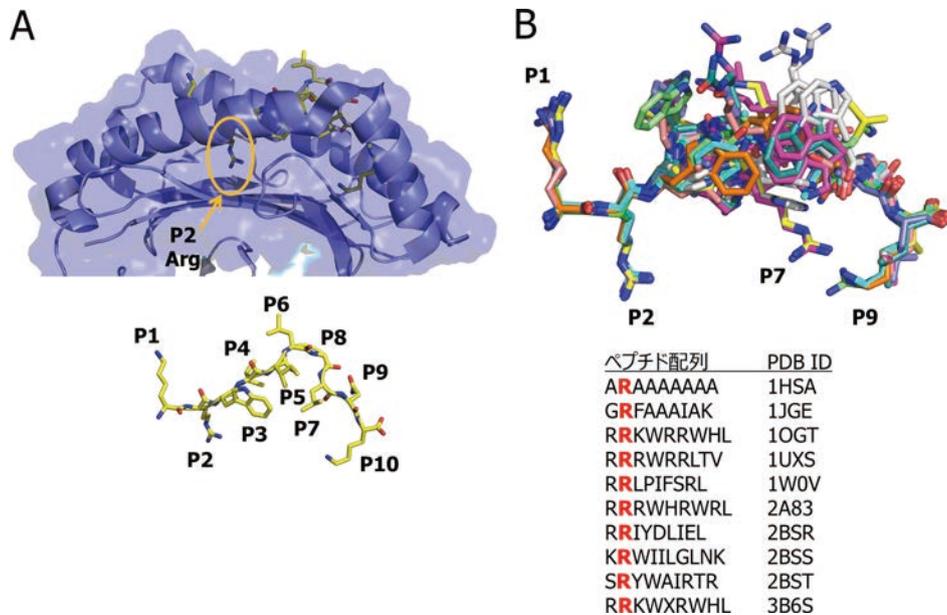


図 4 HLA-B27 結合ペプチド

A. HLA-B27/HIV ペプチド (KRWIILGLNK) の結晶構造 (PDB ID: 2BSS)。ペプチド収容溝部位 (上) とペプチドのみ (下)。HLA-B27 重鎖を分子表面モデルおよびリボンモデル (青) で、ペプチドをスティックモデル (黄) で示した。ペプチドのアミノ酸残基を N 末端から P1-P10 で示した。

B. 既知の HLA-B27 結晶構造のペプチドの重ね合わせ図。アンカー残基である P2 (Arg) と C 末端側のアミノ酸残基の配向が重鎖ポケット側に保存されている一方、中央部の残基には多様性が認められる。アライメントに用いたペプチド配列およびそれぞれの PDB ID を示した。

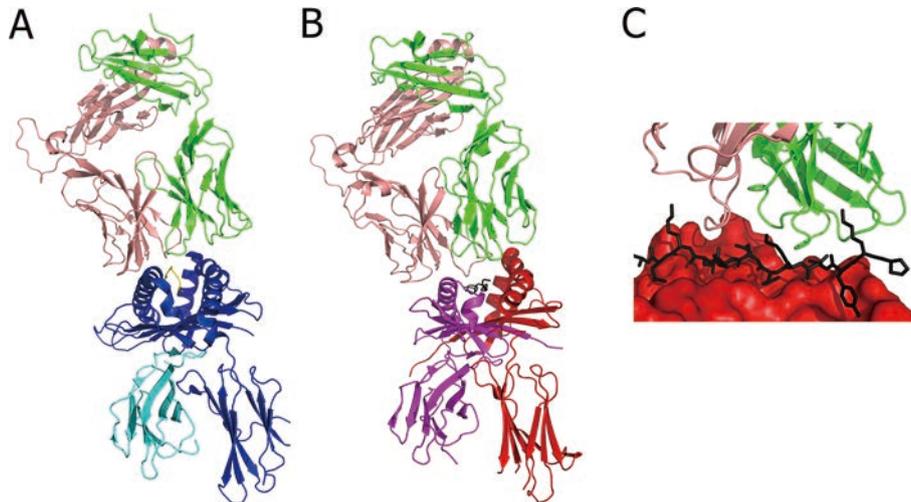


図5 HLA クラス I (左) およびクラス II (右) と TCR によるペプチド認識

A. HLA クラス I と TCR 複合体の結晶構造 (PDB ID: 2VLR)。

B. HLA クラス II と TCR 複合体の結晶構造 (PDB ID: 1FYT)。

C. B. の構造のペプチド結合部位の拡大図。クラス IIβ 鎖を分子表面モデル、ペプチドをスティックモデル、TCR をリボンモデルで示した。ペプチド全体にわたって重鎖の複数のポケットと作用している一方で、外側を向いているアミノ酸残基は TCR との相互作用に関与していることがわかる。

HLA の色は図 1, 2 と一致させた。TCR は α 鎖を緑、β 鎖をベージュで示した。

チドを識別している (図 5A)。前述の通り、クラス I ペプチドの中央部は多様かつ溝の外側に露出している場合が多く、TCR はこの部分および HLA 重鎖を認識し、免疫反応を調節している。自己ペプチドに対してキラー T 細胞は通常活性化されないが、ウイルス感染細胞や腫瘍細胞に提示された非自己ペプチドに対して活性化する。一方で、ウイルス側はその免疫機構を逃れるために、自己タンパク質のクラス I ペプチドエピトープ内に変異を導入することによって、MHC クラス I 重鎖あるいは TCR との相互作用を弱め、免疫反応の誘導を抑制している場合がある。そのため、例えば変異導入率の高い Human immunodeficiency virus (HIV) に対する宿主免疫はウイルスに逃避されやすく、制御が困難である。

## 2) HLA クラス II

通常はミスフォールドした自己タンパク質由来のペプチドが HLA クラス II のペプチド溝に結合し、反応したヘルパー T 細胞は活性化されないが、病原体由来のペプチドを提示した自己 HLA クラス II に反応したヘルパー T 細胞は共刺激分子を介する補助シグナルを得て活性化され、免疫反応を効果的に誘起する。T 細胞は HLA クラス II に提示されたペプチドのうち、外側に露出しているアミノ酸残基を認識する (図 5B, C)。近年、CLIP ペプチドが HLA-DR1 に通常とは逆向き (P1 ポケッ

ト側にペプチドの C 末端側) に結合すると報告され<sup>7)</sup>、ほかにも逆向きに提示され、TCR を介する免疫応答に関与するペプチドが存在するのか非常に興味深い。

## 4. 非古典的 HLA クラス I 分子

非常に高い多型性を持ち、明確な抗原提示能を示す古典的 HLA クラス I 分子 (HLA-A, B, C) に比べ、多型性が低く、限られたペプチドおよび非ペプチドを結合する (またはペプチド提示能を持たない) クラス I 分子を非古典的クラス I 分子と呼ぶ。構造の保存性が低いことを反映してその機能は多岐にわたっている (表 1)。

### 1) HLA-E

HLA-E は、すべての有核細胞に発現しており、古典的クラス I に比べて多型性がほとんどない。HLA-E の 10 種類の報告アレルのうち、実質上 HLA-E\*0101 と HLA-E\*0103 の 2 つのアレルの頻度が高く、それぞれ 50% ずつ存在しており、お互いに 1 か所のアミノ酸残基が異なるのみである (Arg107Gly)。この 2 つのアレル産物では、細胞表面の発現量やペプチドとの親和性、ヘテロ三量体としての熱安定性に差があるとの報告もあり<sup>8)</sup>、疾患との関連が興味深い。HLA-E は主に他の HLA クラス I のリーダー配列に由来するペプチド断片を提示し、その発現はクラス I リーダー配列の存在に依

表1 非古典的クラス I 分子のリガンドおよび機能

非古典的クラス I	提示する結合分子	受容体
HLA-E	HLA クラス I シグナルペプチド 由来のペプチド	NKG2/CD94
HLA-F	不明	LILR?
HLA-G	ペプチド	LILRB1, LILRB2, LILRA3, KIR2DL4
CD1a, 1b, 1c	糖脂質	T 細胞上の TCR
CD1d	糖脂質	NKT 細胞上の TCR
CD1e	提示しない	不明
MICA, MICB	なし	NKG2D

存する。HLA-E 特異的受容体 NKG2/CD94 は HLA-E との結合を介して間接的にクラス I の発現レベルの変化を感知している (後述)。HLA-E の構造は古典的クラス I と非常によく似ているが、アンカーペプチドの数が多く (P2, P3, P6, P7, P9), 結合できるペプチド選択性がせまいことと一致している。

## 2) HLA-G

HLA-G は、ヒトの胎盤や一部の腫瘍細胞などで局所的に発現する非古典的 HLA クラス I である。胎盤では胎児が母体免疫を逃れ妊娠を成立させるために、HLA-G が免疫抑制に寄与していると考えられる。最近では制御性 T 細胞にも発現することが報告され、HLA-G の免疫抑制機構についての解析が進められている。HLA-G は古典的クラス I には見られない多数のアイソフォーム (HLA-G1 ~ G7) を持つとともに、特徴的なフリーのシステイン残基 (Cys42) を分子表面に持っており、主要な保存されたヘテロ三量体を形成する主要なアイソフォーム HLA-G1 (および分泌型 HLA-G5) は生体内でジスルフィド結合を介したホモ二量体を形成することが知られている。筆者らは HLA-G1 ホモ二量体の立体構造を明らかにし、Cys42 を介するホモ二量体形成によりペプチド収容溝の構造は乱れないこと、N 型糖鎖が付加する Asn86 はホモ二量体の外側に露出し、二量体形成の影響を受けないことを明らかにした<sup>9)</sup>。このホモ二量体は単量体よりも効果的に抑制性受容体をリクルートすることによって強いシグナル伝達能および *in vivo* での免疫抑制効果を示した<sup>9,10)</sup>。また、ペプチド収容溝形成に寄与する  $\alpha 2$  ドメインを欠いた HLA-G2 (および分泌型 HLA-G6) アイソフォームが HLA-G1 同様免疫抑制能を保持していることもわかった<sup>11)</sup>。今後 HLA-G を用いたタンパク質製剤の可能性が期待される。

## 3) CD1

CD1 は HLA クラス I 様の分子で、ペプチドではなく脂質や糖脂質を抗原として提示する (図 6)。ヒト CD1 分子は、CD1a, 1b, 1c, 1d と 1e の 5 つのアイソフォームを持ち、配列相同性から 3 つのグループに分類される (グループ I : CD1a, 1b, 1c, グループ II : CD1d, グループ III : CD1e)。グループ I, II の CD1 分子はリガンドを提示するが、CD1e は細胞表面に発現せず、リガンドを提示しない。CD1e はエンドソーム・リソソームのネットワークを行き来し、リガンドを他の CD1 分子に受け渡す役割を果たすと考えられている。グループ I に属する CD1 分子はげっ歯類類では保存されていないが、他の哺乳類 (ブタ, イヌ, ウシ, ウサギなど) では保存されている。

CD1 は NKT 細胞や  $\gamma\delta$  型 T 細胞を活性化し、IFN- $\gamma$  や IL-4 などのサイトカインの産生を誘導する。NKT 細胞には大きく分けて、I 型 NKT 細胞と II 型 NKT 細胞がある。I 型 NKT 細胞はごく限られた種類の TCR を発現しているため、( $\alpha$  鎖は Va24Ja18,  $\beta$  鎖は V $\beta$ 11), invariant NKT (iNKT) 細胞, もしくは semi-invariant NKT 細胞などと呼ばれる (図 6)。I 型 NKT 細胞の大きな特徴は、糖脂質である  $\alpha$ -ガラクトシルセラミド ( $\alpha$ GalCer) を認識することである。 $\alpha$ GalCer は、 $\alpha$  結合型ガラクトース頭部とセラミド尾部 (18 炭素からなるスフィンゴシン鎖と 26 炭素からなるアシル鎖) を持ち (図 6), マウスを用いた実験で  $\alpha$ GalCer は抗腫瘍効果を持つ事が示されている。II 型 NKT 細胞は、CD1d 拘束性の細胞で、I 型 NKT 細胞と比較すると多様な TCR の組み合わせを発現しており、 $\alpha$ GalCer は認識しない。II 型 NKT 細胞の抗原特異性は、まだ完全には理解されていない。よく研究されている抗原の 1 つは、スルファチドである (図 7)。

CD1 分子は哺乳類に共通の骨格を持った内在性抗原

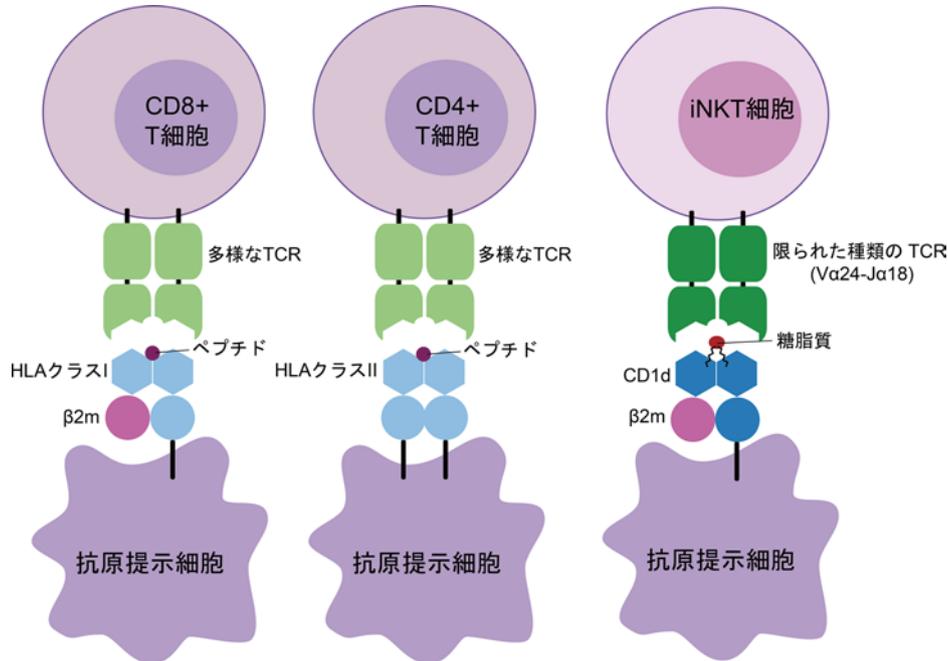


図6 HLA クラス I, HLA クラス II, CD1d による抗原提示の模式図

HLA クラス I は CD8 陽性 T 細胞, HLA クラス II は CD4 陽性 T 細胞にペプチドを提示する。他方, CD1d は iNKT 細胞に脂質や糖脂質を提示する。HLA クラス I や HLA クラス II が多様な TCR を介して T 細胞の活性を制御するが, CD1d は iNKT 細胞に発現している限られた種類の TCR を介して iNKT 細胞の活性を制御する。

から微生物に特有の外來性抗原まで, 幅広い種類のリガンドを認識する。iNKT 細胞による内在性抗原の認識は, 胸腺において起こると考えられている。しかし, 内在性抗原を認識する iNKT 細胞が外來性抗原も認識することから, 内在性抗原による反応と外來性抗原の反応は, ともに CD1 拘束性の T 細胞に必要であると考えられる。外來性抗原の 1 つである *Mycobacterium tuberculosis* の脂質は, グループ I に属する CD1 分子 (CD1a, 1b, 1c) によって提示される。これらはマイコレートや脂肪酸だけのミコール酸などの脂質, リポアラビノマンナンなどの糖脂質などを含む (図 7)。これらのリガンドによって活性化されるのは iNKT 細胞ではなく, T 細胞である。iNKT 細胞を活性化させるリガンドとして有名なのは  $\alpha$ GalCer である。このリガンドは人工的に合成されたリガンドであり, 類似化合物が天然に存在するかどうかは長らく疑問であったが, これまでに非病原菌である,  $\alpha$ -プロテオバクテリアの  $\alpha$  結合したスフィンゴ糖脂質が iNKT 細胞を活性化させることが判明した。内在性抗原に関しては, 哺乳類のホスホグリセリド, 例えばホスファチジルイノシトール, ホスファチジルグリセロール, ホスファチジリエタノールアミンなどが多様な NKT 細胞の集団

を活性化させることが知られている。また, ミエリンの主要な構成成分であるスルファチドも CD1a, 1b, 1c によって提示される自己抗原であり, T 細胞を活性化させることが知られている。

CD1 は他の MHC クラス I 様分子と同様,  $\alpha 1, \alpha 2, \alpha 3$  ドメインによって構成され,  $\beta 2m$  とヘテロ二量体を構成する。 $\alpha 1$ - $\alpha 2$  ドメインのリガンド結合ポケットは, MHC クラス I と比較して, 狭く深い溝となっており, 疎水性の残基が並んでいる (図 7)。CD1 分子のリガンド結合部位に共通する特徴として, リガンドが結合する溝は A' と F' ポケットと呼ばれる大きなポケットによって構成されており (MHC の A, F ポケットに相当), それぞれのポケットにリガンドの炭化水素鎖 (アルキル鎖) が収まることが結晶構造から示されている (図 7)。この 2 つの溝の大きさ, 形状はアイソフォームによって異なり, 各アイソフォームがそれぞれのリガンドに適したポケットを有することが判ってきた。例えば CD1b のポケットはファミリーの中で最も大きく, A' と F' ポケット以外に C' と T' ポケットを有する。全ての CD1 分子は, リガンド結合ポケットには F' ポケットの入り口に F' ポータルと呼ばれる入り口を持つが, CD1b, CD1c はそれ以

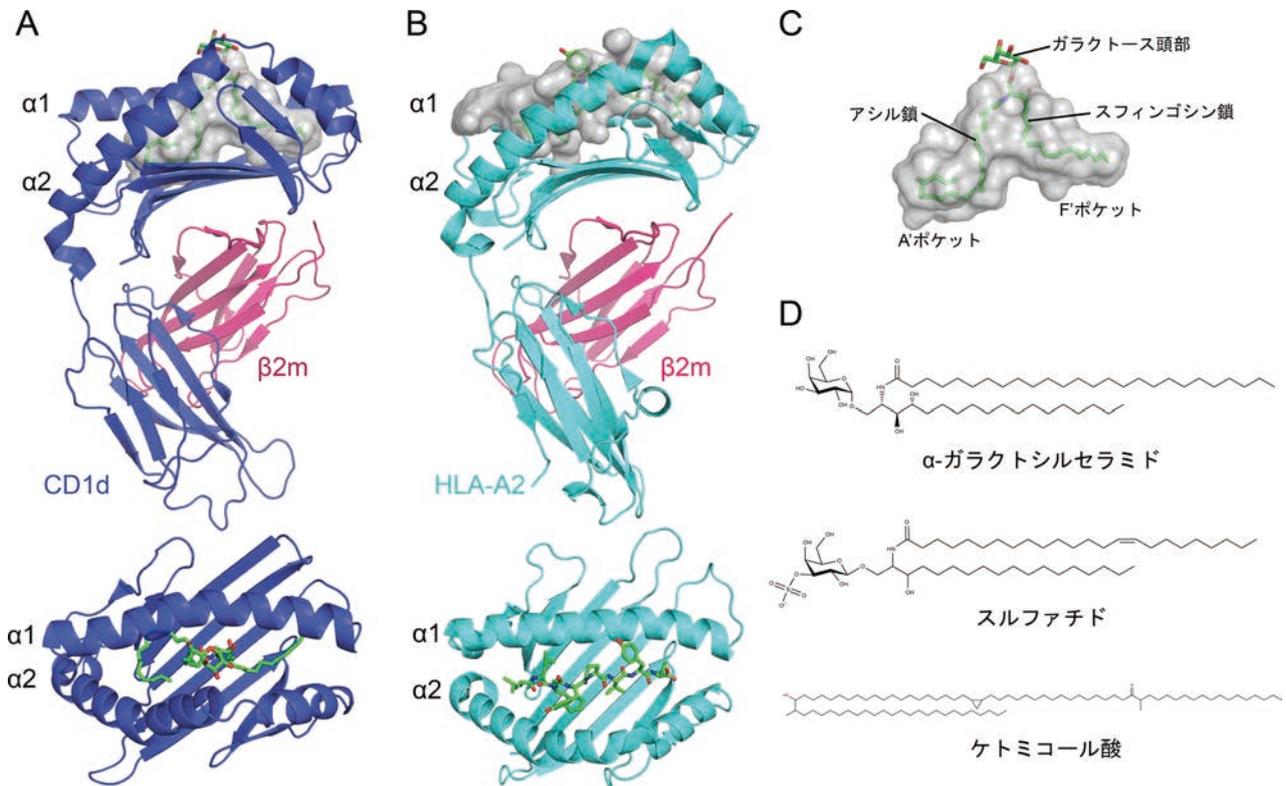


図7 CD1dとHLA-A2の全体構造とリガンド結合ポケットの比較

A. CD1dの結晶構造 (PDB ID: 1ZT4) の正面図 (上) と  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ドメインを真上から見た図 (下)。CD1dと $\beta 2m$ をリボンモデル,  $\alpha GalCer$ をスティックモデル, リガンド結合ポケットを分子表面モデルで示した。  
 B. HLA-A2の結晶構造 (PDB ID: 1DUZ) の正面図 (上) と  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ドメインを真上から見た図 (下)。HLA-A2と $\beta 2m$ をリボンモデル, ペプチドをスティックモデル, リガンド結合ポケットを分子表面モデルで示した。  
 C. Aにおける $\alpha GalCer$ とリガンド結合ポケットを拡大した図。  
 D. CD1dが提示するリガンドの構造式。

外にそれぞれC'ポータル, D'ポータルを有する。C'ポータル, D'ポータルは, 大きなリガンドの一部がTCRに認識されない形で, 外部に露出するために必要と考えられている。

これまでに幾つかのCD1分子について, TCRとの複合体構造が解明されており, CD1によって提示されたリガンドがTCRによってどのように認識されるかが明らかにされている (図8)。I型NKT細胞のTCR (V $\alpha 24$ -V $\beta 11$ )とCD1dとの複合体の構造, II型NKT細胞のTCR (Va1J $\alpha 26$ -V $\beta 16$ J $\beta 2.1$ )とCD1dとの複合体の構造は, これまで解析されたTCRとHLAとの複合体構造とはTCRの配向が異なった。TCRがMHCを認識する場合は, MHCの $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ヘリックスに対して平行になるように真上から結合していた。I型NKT細胞TCRの場合, TCRの $\alpha$ 鎖,  $\beta$ 鎖がCD1dの $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ヘリックスに対して平行になるように結合し, F'ポケットの方に少し傾い

ていた。CDR1 $\alpha$ ループは $\alpha GalCer$ を認識しており, CDR3 $\alpha$ ループはCD1dと $\alpha GalCer$ の両方を認識していた。また, CDR2 $\beta$ ループ (Tyr48, Tyr50)はCD1dのF'ポケットの上の部分の残基と相互作用していた。II型NKT細胞TCRの場合, TCRの $\alpha$ 鎖,  $\beta$ 鎖の並びがCD1dの $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ヘリックスに対して垂直になっており, A'ポケットの真上から結合していた。このTCRは, 主にCDR3 $\alpha$ ループがCD1dを認識しており, CDR3 $\beta$ ループが $\alpha GalCer$ を認識していた。さらに, 複数の異なるII型NKT細胞のTCRクローンを用いた変異体実験から, II型NKT細胞のTCRはそれぞれ異なる結合モードを持つことが示された。

## 5. HLAクラスI受容体との分子認識

### 1) HLAクラスI受容体群

非常に保存性の高いHLAクラスI構造を複数の免疫

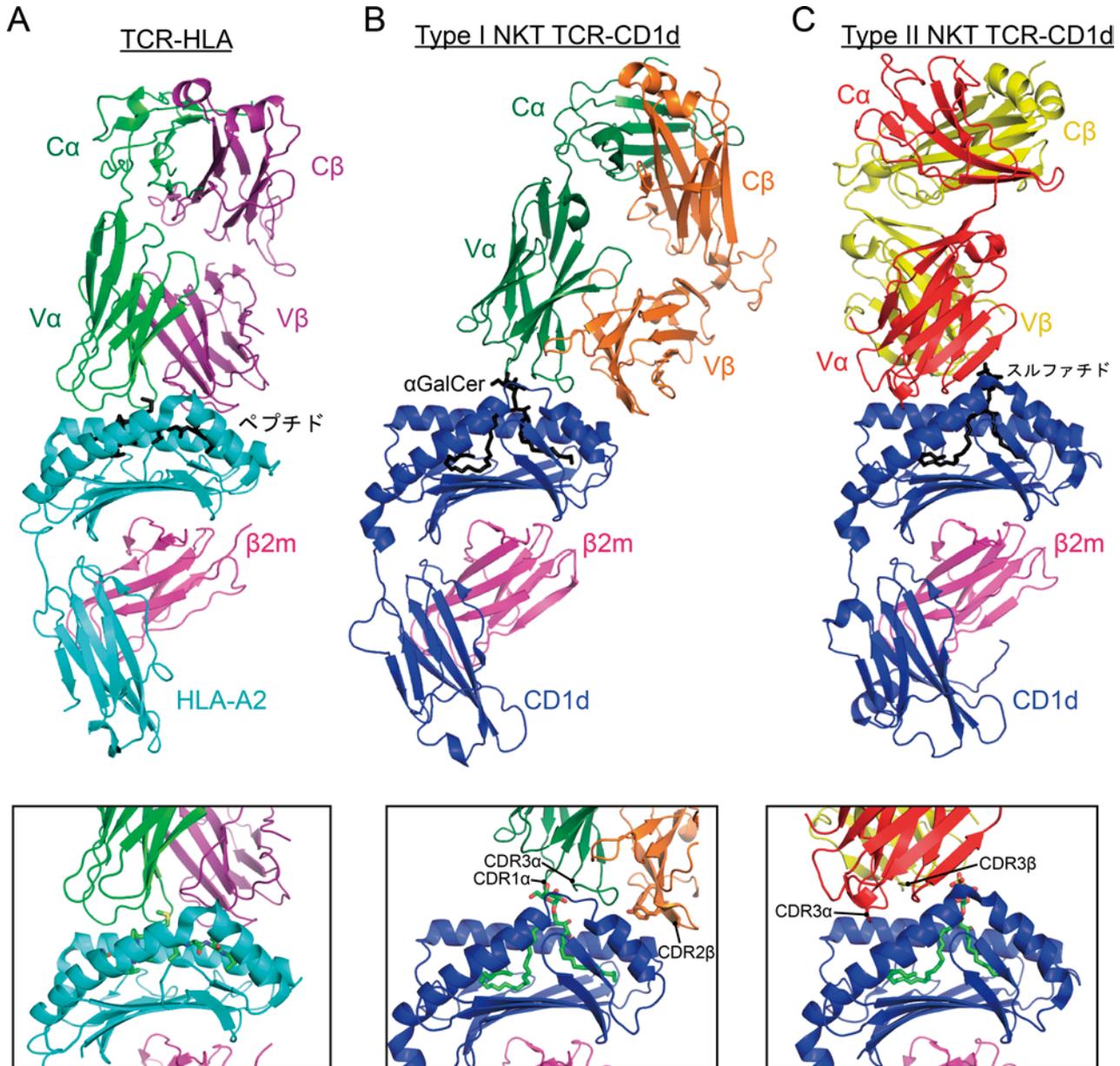


図8 TCR-HLA 複合体と TCR-CD1d 複合体の比較

A. TCR と HLA-A2 複合体の結晶構造 (PDB ID: 5D2L)。TCR, HLA-A2 と  $\beta 2m$  をリボンモデル, ペプチドをスティックモデルで示した。  
 B. I 型 NKT 細胞の TCR と CD1d 複合体の結晶構造 (PDB ID: 2PO6)。TCR, CD1d と  $\beta 2m$  をリボンモデル,  $\alpha GalCer$  をスティックモデルで示した。  
 C. II 型 NKT 細胞の TCR と CD1d 複合体の結晶構造 (PDB ID: 4EI5)。TCR, CD1d と  $\beta 2m$  をリボンモデル, スルファチドをスティックモデルで示した。

細胞受容体がどのように認識し、免疫反応制御を行っているのか、HLA クラス I と受容体の複合体構造解析により明らかとなってきた。HLA クラス I 受容体としては、TCR, CD8 に加え、ペア型受容体に属する killer cell immunoglobulin-like receptor (KIR) および leukocyte immunoglobulin-like receptor (LILR), CD94/NKG2 ファミリーが報告されている (表 2)。それぞれの受容体は自身の

構造やクラス I に対する結合様式、特異性が異なっており、HLA クラス I が多種の受容体を用いて多面的に免疫制御を行っていることがうかがえる。

KIR, LILR および CD94/NKG2 は、いずれも相同性の高いリガンド結合部位を含む細胞外ドメインを持つが、抑制性受容体と活性化受容体がそれぞれペアで存在するペア型受容体である<sup>12)</sup>。抑制性受容体は細胞内に immu-

表 2 HLA クラス I をリガンドとする受容体

受容体	シグナル	リガンド
KIR2DL1	抑制型	グループ 2 HLA-C
KIR2DL2	抑制型	グループ 1 HLA-C, 一部のグループ 2 HLA-C, HLA-B
KIR2DL3	抑制型	グループ 1 HLA-C, 一部のグループ 2 HLA-C, HLA-B
KIR2DL4	活性型	HLA-G
KIR2DL5	?	?
KIR3DL1	抑制型	HLA-Bw4, 一部の HLA-A
KIR3DL2	抑制型	HLA-A3, A11, CpG ODN
KIR3DL3	?	?
KIR2DS1	活性型	グループ 2 HLA-C
KIR2DS2	活性型	HLA-A11, グループ 1 HLA-C ?
KIR2DS3	活性型	グループ 2 HLA-C ?
KIR2DS4	活性型	一部の HLA-Cw4, A11
KIR2DS5	活性型	?
KIR3DS1	活性型	HLA-Bw4, 一部の HLA-A ?
LILRB1	抑制型	HLA-A, B, C, E, F, UL18
CD94/NKG2A	抑制型	HLA-E
CD94/NKG2C	活性型	HLA-E
CD94/NKG2E	活性型	HLA-E
NKG2D/NKG2D	活性型	MICA, MICB, ULBP

noreceptor tyrosine-based inhibitory motif (ITIM) を保持し、抑制性シグナルを伝達する一方、活性化受容体は細胞膜貫通ドメイン内の正電荷を持つ Arg や Lys 残基を介して immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM) を細胞内に持つアダプタータンパク質と会合することによって活性化シグナルを伝達する。抑制性受容体は HLA クラス I を認識し、自己細胞に対する免疫反応を抑制しているが、ペアとなる活性化受容体は同一クラス I 分子に対して親和性が低く、自己に対する免疫細胞活性化は誘起されにくいと考えられている。一方で、活性化受容体は非自己リガンドに高親和性で結合し、感染細胞や腫瘍細胞に対する免疫反応を誘導する役割を担っているとも予想され、実際に非自己リガンドが同定されているものもある (表 2)。

## 2) KIR ファミリー

### ① KIR 分子

KIR は NK 細胞と一部の T 細胞に発現し、塩基配列レベルでの多型に加えて遺伝子座自体の有無による多型が存在する顕著に多型性の高いペア型受容体である。Ig 様ドメイン (D0, D1, D2) を細胞外に 2 個 (KIR2D) または 3 個 (KIR3D) タンデムに持っており、細胞内領域の長さによって short (S:活性型) と long (L:抑制型) に分けられる (図 9) が、いずれも HLA クラス I アリ

ル特異的かつペプチド依存的に結合する。KIR2DL および KIR3DL は細胞内領域に ITIM を持ち、抑制性シグナルを伝達する。一方、KIR2DS および KIR3DS は細胞内領域が短く、特徴的なモチーフを持たないが、膜貫通ドメイン内のリジン残基 (Lys) を介して ITAM を持つ DNAX activating protein of 12 kDa (DAP12) などと会合することによって活性化シグナルを伝達する。抑制型、活性型 KIR の細胞外領域は非常に相同性が高く、例えば KIR2DL1 と KIR2DS1 の D1D2 配列を比較すると、異なるアミノ酸残基は 5 か所のみである。

### ② KIR2D の HLA 認識

KIR2D の細胞外ドメインは、2つの逆平行  $\beta$  シートからなる免疫グロブリン様ドメイン (D1, D2) が鋭角状に連なった構造を持ち (図 10A), HLA のアレル特異的に結合する (表 2)。その分子認識機構は X 線結晶構造解析によって明らかとなった。まず、KIR2D は HLA-C 特異的に結合するが、その特異性は HLA-C の 2 カ所のアミノ酸残基の組み合わせに依存しており、77 番目のアミノ酸が Ser, 80 番目のアミノ酸が Asn のグループ 1 HLA-C (Cw1, Cw3, Cw7, Cw8, Cw12, Cw13, Cw14) は KIR2DL2 と 2DL3, さらに結合能が大幅に落ちるものの KIR2DS2 に認識される。他方、77 番目のアミノ酸が Asn, 80 番目のアミノ酸が Lys のグループ 2

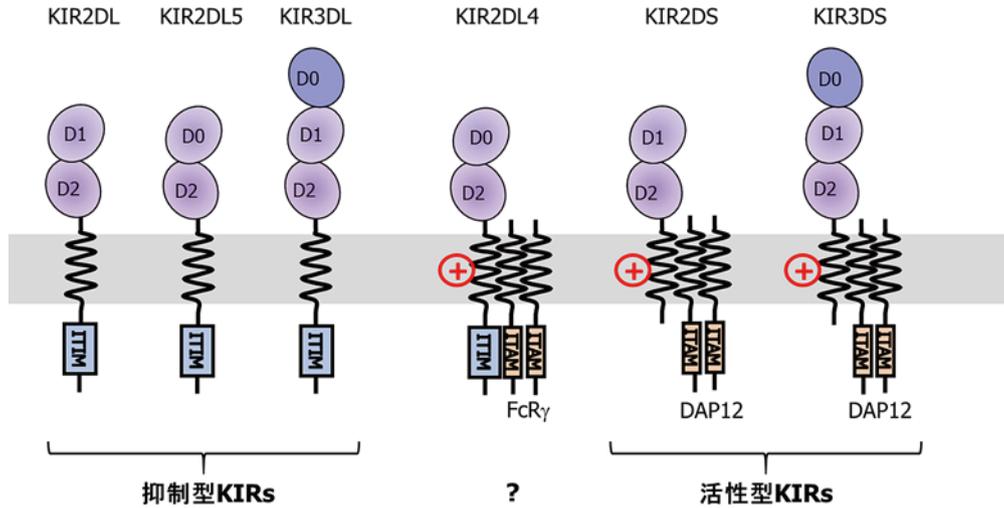


図9 KIRファミリー分子

KIR2D はドメインの配列相同性から D1-D2 のものと、D0-D2 のものに分類される。細胞内に ITIM を持つ抑制型 KIR と ITAM を持つアダプター分子と会合する活性型 KIR に分類される。例外的に KIR2DL4 は ITIM を保持するにも関わらず、ITAM を持つ FcR $\gamma$  と会合する。KIR2DL4 は可溶性 HLA-G に結合後、エンドソーム内に取り込み、血管新生促進サイトカイン分泌に関与するという特徴的なシグナル伝達経路を持つことが提唱されたが、未だ分子基盤は不明である。

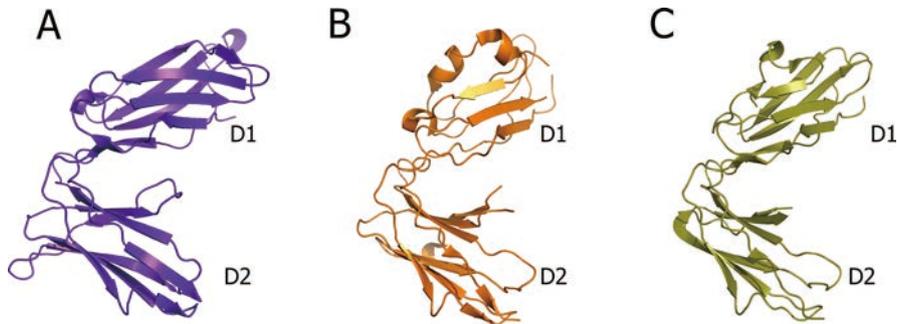


図10 HLA クラス I 受容体の結晶構造

- A. KIR2DL1 細胞外ドメインの構造 (PDB ID: 2VLR)。
- B. LILRB1 D1D2 の構造 (PDB ID: 1G0X)。
- B. LILRB2 D1D2 の構造 (PDB ID: 2GW5)。

HLA-C (Cw2, Cw4, Cw5, Cw6, Cw15, Cw17, Cw18) は KIR2DL1 あるいは、KIR2DS1 と弱く結合する (表 2)。また、HLA-Cw3 (グループ 1) /KIR2DL2 および HLA-Cw4 (グループ 2) /KIR2DL1 の複合体構造から、KIR はドメイン間のヒンジの部分で HLA-C の  $\alpha 1$ - $\alpha 2$  ヘリックスおよびペプチドの 7, 8 番目の残基を認識することがわかった (図 11A)。さらに、複合体の結合面から、HLA-C アリル特異性は、80 番目のアミノ酸に対して、KIR 側 D1 の 44 番目のアミノ酸が直接相互作用することにより生じることがわかった。KIR の 44 番目のアミノ酸がリジン残基 (Lys) である KIR2DL2 場合、グループ 1 HLA-Cw3 の Asn80 と間の水素結合

が、複合体の安定化に寄与している (図 11B)。一方、44 番目のアミノ酸がメチオニン残基 (Met) である KIR2DL1 と HLA-Cw4 との結合面では、HLA-Cw4 の Lys80 の側鎖が収容できるポケットが形成され、Lys80 が KIR2DL1 の Met44 と疎水結合し、さらにポケットに存在する Ser184 および Glu187 と水素結合や塩橋を形成していた (図 11C)。KIR2DL1 の Met44 を Lys に変異させた場合、その Lys が HLA-Cw4 の Lys80 との静電的な反発や立体的な障害が生じて HLA-Cw4 と結合できないことが推測され、KIR のアリル特異的リガンド認識機構が構造から説明できた。KIR のペプチド依存的リガンド認識については、筆者らが KIR2DL3 と 3 種類のペプチ

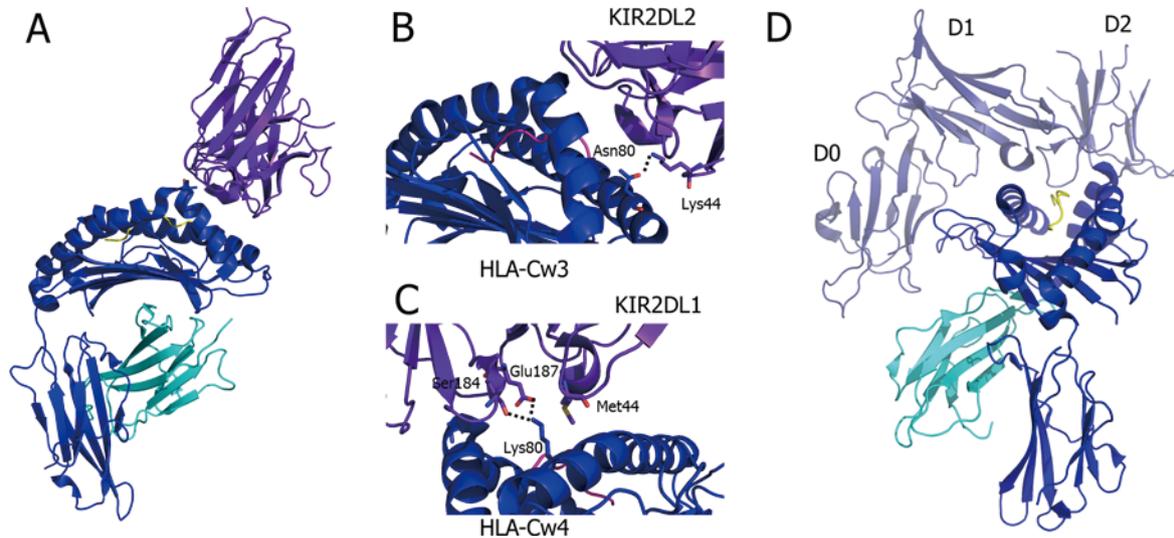


図 11 KIR と HLA クラス I の分子認識機構

- A. KIR2DL1 と HLA-Cw4 複合体の構造 (PDB ID: 1IM9)。提示されているペプチドは右が C 末端。  
 B. HLA-Cw3/KIR2DL2 複合体 (1EFX) の構造。HLA-Cw3 の Asn80 は、KIR2DL2 の Lys44 と水素結合を形成する  
 C. HLA-Cw4/KIR2DL1 複合体 (1IM9) の構造。HLA-Cw4 の Lys80 は、KIR2DL1 内に形成されたポケットに収容され、Met44 と極性や疎水性結合を形成する。Lys80 は、KIR2DL1 の Ser184 および Glu187 と水素結合および塩橋を形成する。  
 D. KIR3DL1 と HLA-B\*5701 複合体の構造 (PDB ID: 3VH8)。KIR2D の結合様式と同様にドメイン間ヒンジ領域でペプチドおよび重鎖をイン指揮していることがわかる。KIR3DL1 をグレーで示した。

ドを提示した HLA-Cw7 との結合親和性を調べたところ、ペプチド配列の違いが結合の強さに関与していることがわかった (KYFDEHYEY: 結合しない, RYRPGTVAL:  $K_d=6.9 \mu\text{M}$ , NKADVILKY:  $K_d=115 \mu\text{M}$ )。ペプチドによってリガンドである MHC I との結合が検出できないほど弱くなることは、自己/非自己ペプチドの認識機構の面からも興味深い。また、最近になって、KIR2DS2 のリガンドが HLA-A11 との報告があり、KIR2D は HLA-C 特異的というルールには当てはまらない例が出てきた。まだ KIR-HLA 認識には未同定の認識の組み合わせがある可能性があるため、網羅的な結合解析の必要性がある。

### ③ KIR3D の HLA 認識

他方、KIR3D は HLA-A および HLA-B の一部を認識する (表 2)。X 線結晶構造解析において、KIR3DL1D1 ドメインが HLA-B のペプチド C 末端部位を認識していること、KIR3D に特徴的な D0 ドメインは、リガンド認識の特異性には関与していないことがわかった (図 11D)。また、KIR3DL2 は HLA クラス I に加え、細菌由来の CpG oligodeoxynucleotide (ODN) に結合し、TLR9 シグナル伝達系を介して NK 細胞を活性化する。このことは、KIR が直接微生物を認識し、自己 HLA クラス I 以外の標的も利用して免疫制御を行っている可能性を強

く示唆するものである。リガンド未同定の KIR もまだ存在する (表 2) ため、今後、非自己リガンドを含めた KIR のリガンド探索が期待される。

### ④ KIR/HLA クラス I と疾患

KIR は非常に多型性が高く、疾患との関連が多数報告されているが、リガンドである HLA クラス I アリルとの組み合わせによってさらに免疫機構の制御能が異なると予想され、KIR/HLA クラス I アリルを組み合わせさせた疾患との関連研究も進められてきた<sup>13-15)</sup>。特に移植においては、移植に適したドナーと患者の選択には、KIR とリガンド HLA の正確なタイピングが重要である。KIR 多型産物の中には細胞表面に発現しないものや発現量が明らかに低いアリルが存在したり、KIR リガンドとしての MHC アリルも詳細に結合実験することで訂正されたりしている。最近、ハイスループットな KIR と HLA クラス I リガンドのタイピング法が開発され<sup>16,17)</sup>、今後正確なリガンド特異性の探索と迅速なタイピングによる、最適なドナー選択の実現が期待される。

### 3) LILR ファミリー

LILR ファミリーは偽遺伝子を除く計 11 個の糖タンパク質受容体からなり、抑制性受容体 (LILRB1-5)、活性化受容体 (LILRA1, 2, 4-6)、分泌型受容体 (LILRA3)

が存在し、リガンドについては未だ同定されていないものが多いものの、LILRB1, B2 は古典的クラス I だけでなく非古典的クラス I も広範に認識する (表 2)。KIR と LILR のアミノ酸配列の相同性は高いが、KIR に比べて LILR の多型性は低く、広範な免疫系細胞に発現している。細胞外の 4 つの免疫グロブリン様ドメインのうち、リガンド結合に寄与する N 末端側のリガンド結合ドメイン (D1D2) の立体構造は KIR2DL に類似しており、2 つのドメインが鋭角状に連なっている (図 10B, C)。構造的にも類似する KIR と LILR の HLA クラス I 認識における差異については、LILRB1/HLA-A2, LILRB2/HLA-G の結晶構造解析により明らかとなった。LILRB1, B2 ともに D1-D2 ドメイン間ヒンジ領域と  $\beta 2m$  が、D1 と  $\alpha 3$  ドメインが相互作用し、TCR や KIR の結合部位とは対照的であり、ペプチド周辺は結合に関与しないことが分かった (図 12)。免疫系の細胞に広く発現する LILR が多型性の低い  $\alpha 3$  ドメインと、共通の  $\beta 2m$  を認識する機能上の意味は、広範な自己 MHC クラス I を幅広く認識することで、全身の自己細胞に対する免疫反応を抑制することだと考えられ、ペプチドおよび HLA のアレル特異的に相互作用する TCR や KIR とは対照的な結合様式である。筆者らは、KIR と LILR の結合領域が異なることを、表面プラスモン共鳴法による競合阻害実験により、お互いの結合が競合しないことから確認した<sup>18)</sup>。一方で、機能的に広範なクラス I 分子と結合する必要がある T 細胞上の CD8 とは HLA クラス I に対して競合的に結合した<sup>18)</sup>。つまり、LILRB1, B2 は ITIM を介して抑制性シグナルを伝達すると同時に、CD8 が HLA クラス I に結合するのを物理的に競合することで、T 細胞活性化シグナル伝達の始動を制御している可能性が示唆された。さらに、予想された *in vivo* での T 細胞制御がマウスモデルにおいて確認された報告も出てきている<sup>19)</sup>。以上より、LILRB1, B2 は免疫系の細胞に広く発現し、自己 HLA クラス I を幅広く認識することで、全身の自己に対する免疫反応を制御していると考えられた。

興味深いことに、LILRB1, LILRB2 とも HLA-G とは強い親和性で結合することから、HLA-G の免疫抑制機能には LILR が関与していることが示唆された。また、LILRB1 はヒトサイトメガロウイルス (HCMV) HLA クラス I 様蛋白質 UL18 の受容体でもある。LILRB1/UL18

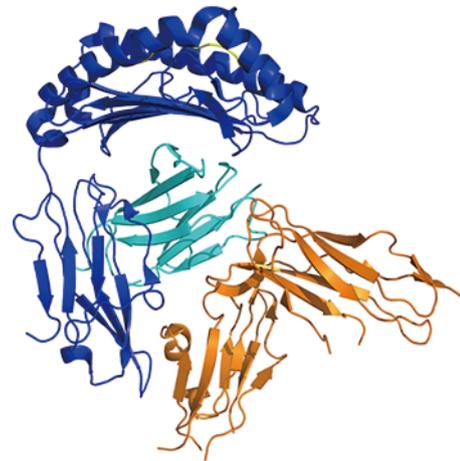


図 12 LILRB1 と HLA-A2 の分子認識機構 (PDB ID: 1P7Q)

TCR, KIR ファミリーと異なり、HLA クラス I 分子上部のペプチド収容溝は結合に関与せず、保存性の高い  $\alpha 3$  ドメインおよび  $\beta 2m$  の 2 か所で相互作用していることがわかる。LILRB1 をオレンジのリボンモデルで示した。

複合体の結晶構造解析から、LILRB1 は HLA クラス I と同様に UL18 の  $\alpha 3$  ドメインおよび  $\beta 2m$  と相互作用しているが、 $\alpha 3$  ドメイン内の配列が異なるために、HLA クラス I に比べて 1000 倍程度非常に強く結合する親和性の違いを反映していると考えられた。さらに、UL18 は分子表面が広く糖鎖で覆われることにより、TCR, KIR, CD8 が結合できず、結果的に、抑制型受容体である LILRB1 にのみ強く結合することで、効果的に宿主免疫を抑制していると予想された。

#### 4) CD94/NKG2 ファミリー

非古典的 HLA クラス I 分子である HLA-E は、NK 細胞による認識において非常に重要な役割を果たす。HLA-E は、HLA のリーダー配列となっている 9 残基の長さのペプチドを提示し、5 番目のアルギニン (Arg) 残基と 8 番目の疎水性残基は保存されている。HLA-E とペプチド複合体は、NK 細胞の表面に発現している NKG2 と CD94 ヘテロ二量体によって認識される。NKG2 と CD94 はともに C 型レクチン様受容体である。NKG2 ファミリーは 7 つのアイソフォーム (NKG2A, B, C, D, E, F, H) によって構成されている。NKG2 は NK 細胞の活性化制御に関与しており、アイソフォームによって、活性型と抑制型に分かれている (図 13)。CD94 は細胞質内にシグナル伝達モチーフを持たないため、活性型/抑制型の決定は NKG2 の細胞質内モチーフによって決定される。NKG2C, NKG2E, NKG2H は、膜貫通部分

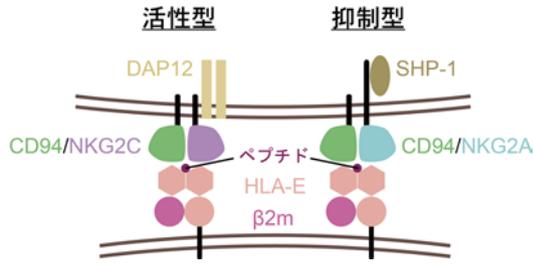


図 13 CD94/NKG2 シグナリングの模式図

CD94/NKG2 ファミリー分子は、HLA-E を認識し、活性化のシグナル、抑制性のシグナルを伝達する。NKG2C は、膜貫通部分でアダプター分子の DAP12 と相互作用し、活性化型のシグナルを伝達する。NKG2A は、細胞質に ITIM モチーフを持ち、抑制性のシグナルを伝達する。

に荷電残基を持ち、ITAM モチーフを持つアダプター蛋白質の DAP12 と結合し、活性化型のシグナルを伝達する。NKG2A と NKG2B は、細胞質内に ITIM モチーフを持ち、抑制型のシグナルを伝達する。NKG2D も活性化型であるが、HLA-E とは相互作用しない。NKG2A/CD94 は NKG2C/CD94 よりも HLA-E に対して約 6 倍強い親和性を示すなど、NKG2 アイソフォームによって HLA-E との親和性が異なることがわかってきている。複数の受容体を駆使して、活性化型と抑制型のシグナルバランスは巧妙に調節されている。

NKG2A/CD94 と HLA-G のリーダー配列 (VMAPRTLFL) を提示した HLA-E との複合体構造が報告されている (PDB IDs: 3CII and 3CDG) (図 14)。抗原提示を担う  $\alpha 1$ - $\alpha 2$  ドメインと提示されたペプチドは、NKG2A と CD94 の両方によって認識されていた。提示されたペプチドは、HLA-E の  $\alpha 1$ - $\alpha 2$  ドメインの溝に結合しており、P5 の位置にある Arg と P8 の位置にある Phe の側鎖は溝から突き出し、NKG2A/CD94 側を向いていた。この突出した Arg と Phe は、主に CD94 側の残基と水素結合や疎水性相互作用を介して認識されていた。HLA-E と NKG2A/CD94 の相互作用面も CD94 が優勢であることから、NKG2A/CD94 による HLA-E と提示ペプチドの認識には、CD94 が重要な役割を果たしている。HLA-E との親和性に 6 倍の差がある NKG2A/CD94 と NKG2C/CD94 では、NKG2 と CD94 の境界面の配列が異なり、この部分が提示される P5 の位置の Arg とも距離が近いことから、HLA-E との相互作用に影響していることが示唆されている。

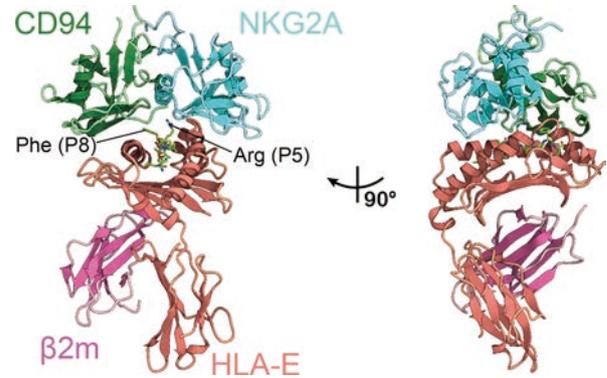


図 14 CD94/NKG2A と HLA-G のリーダー配列 (VMAPRTLFL) を提示した HLA-E との複合体構造 (PDB ID: 3CDG)

提示されたペプチドは、HLA-E の  $\alpha 1$ - $\alpha 2$  ドメインの溝に結合しており、P5 の位置にある Arg と P8 の位置にある Phe の側鎖は溝から突き出し、CD94/NKG2A 側を向いていた。

## 6. 今後の展望

以上のように、HLA は非常に保存された共通構造を保持しつつも、配列多様性を反映した立体構造をもち、TCR に限らず多様なレセプターとの相互作用により幅広い細胞の異常を感知する自己・非自己認識システムを確立していることがわかってきた。特に HLA-KIR 相互作用は移植をはじめとした多数の疾患との関連が強く示唆されており、これらのシグナル制御を目指すことが移植の成否や創薬開発につながると期待される。そのためには、HLA クラス I と受容体の分子認識機構を理解するために構造情報が必須となる。得られた構造情報を基に、早期に HLA を介する免疫制御機構の理解および創薬開発が進み、今後の臨床へと貢献することが期待される。

## 参考文献

- 1) Arosa FA, Santos SG, and Powis SJ: Open conformers: the hidden face of MHC-I molecules. *Trends Immunol* (28): 115–123, 2007.
- 2) Dai S, Crawford F, Marrack P, *et al.*: The structure of HLA-DR52c: comparison to other HLA-DRB3 alleles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (105): 11893–11897, 2008.
- 3) Jin H, Arase N, Hirayasu K, *et al.*: Autoantibodies to IgG/HLA class II complexes are associated with rheumatoid arthritis susceptibility. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (111): 3787–3792, 2014.

- 4) Keidel S, Chen L, Pointon J, *et al.*: ERAP1 and ankylosing spondylitis. *Curr Opin Immunol* (25): 97–102, 2013.
- 5) Kirino Y, Bertsias G, Ishigatsubo Y, *et al.*: Genome-wide association analysis identifies new susceptibility loci for Behcet's disease and epistasis between HLA-B\*51 and ERAP1. *Nat Genet* (45): 202–207, 2013.
- 6) Chessman D, Kostenko L, Lethborg T, *et al.*: Human leukocyte antigen class I-restricted activation of CD8+ T cells provides the immunogenetic basis of a systemic drug hypersensitivity. *Immunity* (28): 822–832, 2008.
- 7) Gunther S, Schlundt A, Sticht J, *et al.*: Bidirectional binding of invariant chain peptides to an MHC class II molecule. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (107): 22219–22224, 2010.
- 8) Iwaszko M, and Bogunia-Kubik K: Clinical significance of the HLA-E and CD94/NKG2 interaction. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* (59): 353–367, 2011.
- 9) Shiroishi M, Kuroki K, Ose T, *et al.*: Efficient leukocyte Ig-like receptor signaling and crystal structure of disulfide-linked HLA-G dimer. *The Journal of biological chemistry* (281): 10439–10447, 2006.
- 10) Kuroki K, Hirose K, Okabe Y, *et al.*: The long-term immunosuppressive effects of disulfide-linked HLA-G dimer in mice with collagen-induced arthritis. *Human immunology* (74): 433–438, 2013.
- 11) Takahashi A, Kuroki K, Okabe Y, *et al.*: The immunosuppressive effect of domain-deleted dimer of HLA-G2 isoform in collagen-induced arthritis mice. *Human immunology* 2016.
- 12) Kuroki K, Furukawa A, and Maenaka K: Molecular recognition of paired receptors in the immune system. *Frontiers in microbiology* (3): 429, 2012.
- 13) Williams AP, Bateman AR, and Khakoo SI: Hanging in the balance. KIR and their role in disease. *Mol Interv* (5): 226–240, 2005.
- 14) Parham P: MHC class I molecules and KIRs in human history, health and survival. *Nat Rev Immunol* (5): 201–214, 2005.
- 15) Carrington M, and Martin MP: The impact of variation at the KIR gene cluster on human disease. *Curr Top Microbiol Immunol* (298): 225–257, 2006.
- 16) Hong HA, Loubser AS, de Assis Rosa D, *et al.*: Killer-cell immunoglobulin-like receptor genotyping and HLA killer-cell immunoglobulin-like receptor-ligand identification by real-time polymerase chain reaction. *Tissue Antigens* (78): 185–194, 2011.
- 17) Bari R, Leung M, Turner VE, *et al.*: Molecular determinant-based typing of KIR alleles and KIR ligands. *Clin Immunol* (138): 274–281, 2011.
- 18) Shiroishi M, Tsumoto K, Amano K, *et al.*: Human inhibitory receptors Ig-like transcript 2 (ILT2) and ILT4 compete with CD8 for MHC class I binding and bind preferentially to HLA-G. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* (100): 8856–8861, 2003.
- 19) Liang S, Zhang W, and Horuzsko A: Human ILT2 receptor associates with murine MHC class I molecules in vivo and impairs T cell function. *European journal of immunology* (36): 2457–2471, 2006.

#### 参考になる読み物

エッセンシャル免疫学第2版 メディカルサイエンスインターナショナル社

## Structures and receptor recognition mechanism of HLA molecules

Kimiko Kuroki<sup>1)2)</sup>, Shunsuke Kita<sup>1)2)</sup>, Katsumi Maenaka<sup>1)2)</sup>

<sup>1)</sup>Laboratory of Biomolecular Science, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University.

<sup>2)</sup>Center for Research and Education on Drug Discovery, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Hokkaido University.

Human Leukocyte Antigens (HLAs) are glycoproteins that exhibit unusually high genetic polymorphism as well as high polygenecity by forming a wide variety of gene families. HLAs generally display peptides derived from intracellular proteins to T cells, and furthermore, they interact with various immune cell surface receptors to control broad aspects of immune responses pleiotropically, resulting in the maintenance of homeostasis in our body. X-ray crystallography has remarkably contributed to understanding of precise mechanisms for these HLA interactions. In this issue, we describe molecular structures of HLAs and HLA-receptor complexes, showing how HLA molecules regulate immune responses, and further discuss about their relationship with diseases.

**Key Words:** killer cell Ig-like receptors, leukocyte Ig-like receptors, X-ray crystallography, nonclassical HLA, CD94/NKG2 receptors

## 血小板輸血不応における HLA 抗体の臨床的意義

高橋 大輔<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>北海道ブロック血液センター品質部

HLA 抗体検査において広く用いられている Luminex を用いた蛍光ビーズ法は、簡便かつ高感度な検査法であるが、臨床的に問題がないと思われる低力価抗体や non-HLA 抗体も検出することが明らかとなっている。また、移植分野では IgG サブクラスなど抗体と移植成績について多くの報告があるが、輸血分野では十分な知見が得られていないのが現状である。本講演では当施設で実施している in vitro 血小板貪食試験を用いた HLA 抗体の臨床的意義の評価方法と現状について紹介する。

**キーワード：**HLA 抗体, 血小板輸血不応, 血小板貪食試験

### 1. はじめに

輸血分野における HLA 検査は、主に HLA 適合血小板製剤 (PC-HLA) を供給するために実施されている。PC-HLA は、現在、国内で年間約 20,000 本が製造・供給されており、全国 8 ブロックの血液センターで血小板輸血不応患者の HLA 抗体検査、および出庫前の交差適合試験が実施されている。HLA 抗体検査は、抽出精製抗原を用いた WAKFlow (湧永製薬) や LABScreen Single Antigen (One Lambda), また、出庫前の交差適合試験には ICFA 法 (湧永製薬) が用いられており、いずれの方法も蛍光ビーズを用いた高感度検査が導入されている。このような高感度検査法は、従来の LCT 法などで検出できない抗体による輸血不応の抑止に十分な効果を果たしてきたが、精製抗原やリコンビナントタンパクを用いた高感度化試薬に特有の臨床的意義に乏しいと考えられる低力価抗体や non-HLA 抗体の検出といった弱点が近年明らかになってきている。

### 2. 血小板輸血不応と HLA 抗体について

#### 1) 血小板輸血不応

血小板輸血は、血小板数の減少又は機能の異常により重篤な出血ないし出血の予測される病態に対して、血小板成分を補充することにより止血を図り (治療的投与)、又は出血を防止すること (予防的投与) を目的とする。しかし、血小板輸血を行っても、種々の要因により血小板の増加を認めない場合 (血小板輸血不応) がある。血小板輸血不応の原因は免疫学的機序と非免疫学的機序に大別され、中でも敗血症、発熱、脾摘等による非免疫学的な機序が全体の 80% を占めると言われている (図 1)。一方、免疫学的な血小板輸血不応の主因は、HLA 抗体、HPA (Human Platelet Antigen) 抗体などのアロ抗体によるものであり、中でも HLA 抗体によるものが 95% 以上を占める。

#### 2) 血小板輸血不応と輸血効果の評価

血小板輸血後には、輸血効果について臨床症状の改善の有無及び血小板数増加を評価する必要がある。血小板輸血の効果の評価するには、一般的に CCI (補正血小板増加数—corrected count increment) が指標として用いら

受付日：2016 年 6 月 28 日, 受理日：2016 年 6 月 28 日

代表者連絡先：高橋 大輔 〒063-0802 札幌市西区二十四軒 2 条 1 丁目 北海道ブロック血液センター品質部検査一課二係  
TEL: 011-613-6635 FAX: 011-613-6228

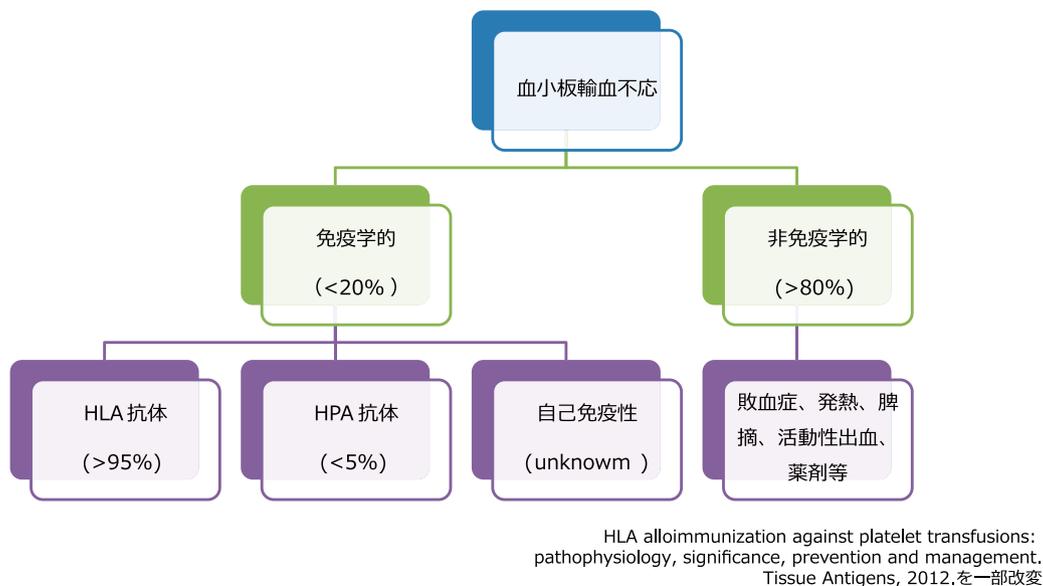


図1 血小板輸血不応の要因

CCI：補正血小板増加数 (Corrected Count Increment)

$$CCI = \frac{\text{血小板増加数 } (/\mu\text{L}) \times \text{体表面積 } (\text{m}^2)}{\text{輸血血小板総数 } (10^{11})}$$

輸血1時間後または24時間後のCCI  
(外来などで急いで効果を判定したい場合は輸血後10分値を測定)  
CCI (1h)  $\geq 0.75 \times 10^4$   
CCI (24h)  $\geq 0.45 \times 10^4$ が見込まれる

図2 血小板輸血効果の算出方法とその評価

れる。CCIは患者の輸血前の血小板数と、輸血1時間後、あるいは24時間後の血小板数から図2に示す式によって求めることができる。また、患者が何らかの血小板輸血不応状態にある場合、免疫学的あるいは非免疫学的機序によるものかを判別する必要があるが、図3に示す通り輸血1時間後のCCIが有効である。

### 3) 血小板輸血不応と HLA 抗体

HLA 抗体は、経産婦や頻回輸血が行われた患者に多くみられ、血小板輸血不応の原因となる。図4にアロ抗体による血小板貪食のメカニズムを示す。HLA 抗体を保有する患者は、患者が保有する HLA 抗体と反応しない HLA 型である血小板製剤 (PC-HLA) を使用することで輸血効果が得られることから、あらかじめ患者の HLA 抗体の特異性を詳細に把握し、抗体保有患者に適合する血小板製剤 (HLA 適合血小板-PC-HLA) を選択することが非常に重要である。図5に当施設において医療機関から依頼のあった患者の HLA 抗体の検出頻度を

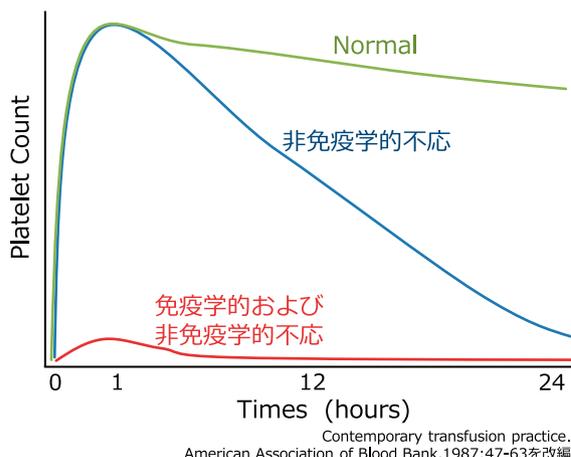


図3 血小板輸血効果の評価

血小板輸血後の血小板数の経時変化を示す。非免疫学的な要因による血小板減少 (青線) は、輸血後1時間値では血小板の上昇を認めることが多いのに対して、免疫学的な要因では輸血後1時間でも血小板の上昇を認めない (赤線)。

示す。男性と比較して女性に高頻度に HLA 抗体が認められ、妊娠における抗原感作が抗体産生に重要であることがわかる。

### 3. 血小板輸血不応における HLA 抗体検査とその問題点

HLA 抗体の検出は古くは LCT, AHG-LCT などのセルベースアッセイが実施されてきた。しかし、近年では Luminex を用いた蛍光ビーズ法が主流である (図6)。このような蛍光ビーズ法には、検査の目的に応じて様々

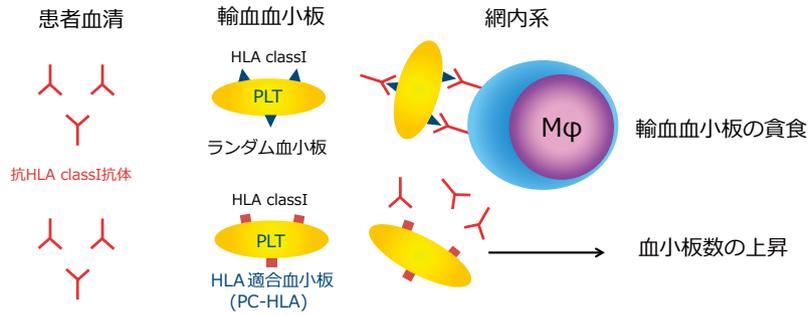


図 4 HLA 抗体による輸血不応の機序

HLA 抗体による血小板輸血法のメカニズムを模式的に示す。HLA 抗体を保有している患者に、抗体と反応してしまう HLA 抗原を持つ血小板が輸注されてしまうと、血小板に抗体が感作し、網内系のマクロファージによって貪食され、輸注した血小板が効果を発揮しないまま消費されてしまう (上段)。これを回避するには、患者の HLA 抗体と反応しない血小板 (PC-HLA 製剤) を輸血することが必要となる (下段)。

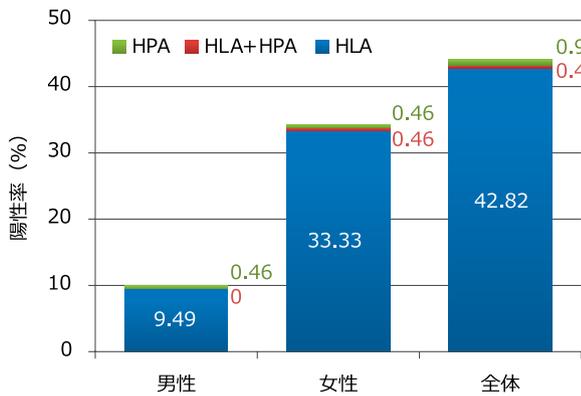


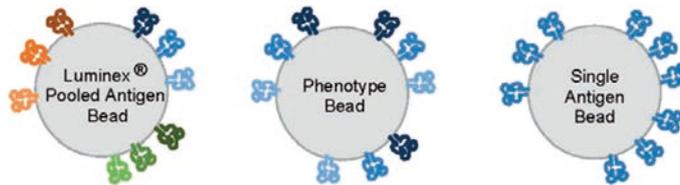
図 5 血小板輸血不応患者での抗体検出率

当センターで血小板輸血不応患者 (n=432) において、抗体スクリーニングした結果を性別、アロ抗体種別に示す。血小板輸血不応患者は女性に多く、また免疫学的な輸血不応の大部分が HLA 抗体によるものであることがわかる。

な製品がラインナップされており、いずれの試薬も高感度かつ簡便な操作、さらに短時間で結果が得られる優れた方法として上市されている。特に LABScreen Single Antigen (LS-SA) 試薬は個々の抗原に対する抗体が検出可能であり、本学会の QCWS における抗体部門において多くの施設で実施されている試薬である。また、これらの試薬は商業キットであるためクオリティコントロールが堅実になされているのも大きな利点である。しかし、その一方で以下に示す抗体も検出することが知られている。

1) non-HLA 抗体

表 1 に海外で報告されている non-HLA 抗体を示す<sup>1)</sup>。



用途	スクリーニング	スクリーニング 特異性試験	特異性試験
抗原密度	低	中	高
解像度	低	中	高
ビーズあたりの抗原	複数の個体から抽出・精製した抗原を固相	1人の個体から抽出・精製した抗原を固相	単一抗原を固相
商業キット	LABScreen Mixed, LABScreen Multi	WAKFlow MR, LABScreen PRA	LABScreen Single Antigen, WAKFlow HR, LIFECODES Single Antigens

Luminex and Its Applications for Solid Organ Transplantation, Hematopoietic Stem Cell Transplantation, and Transfusion. Transfus Med Hemother 2013. を改変

図 6 HLA 抗体スクリーニング法の種類と特徴

Luminex を用いた蛍光ビーズ法で用いられている種類と特徴を示す。

単一特異性を示すという特徴があり、その頻度も決して少なくないことがわかる。我々の調査では、non-HLA 抗体の検出頻度は医療機関から HLA 抗体検査の依頼のあった 366 例中、HLA 抗体陽性例 122 例のうち、non-HLA 抗体に特徴的な単一特異性、あるいはインタクトな細胞と反応しない抗体が少なくとも 7 例（抗体陽性例の 5.7%）認められている（図 7）。いずれの抗体特異性も A11.2, ないし A30+A31 といった特徴的な特異性を呈しており、抗体特異性からアロ抗体との鑑別は困難と考えられる。このように日常検査においても non-HLA 抗体が比較的多く検出されると考えられるが、すべての non-HLA 抗体を確実に鑑別するのは困難である。また、これらの抗体の臨床的意義についての明確なデータは存

在しない。

2) 低力価抗体

低力価 HLA 抗体（LCT 陰性、FlowPRA 陽性、LIFT-FCM 陽性）による血小板輸血不応が報告<sup>2)</sup>されてきたが、蛍光ビーズ法の導入によりこれまで検出できなかった低力価の抗体が検出可能となった。近年 LCT 陰性、蛍光ビーズ法陽性の低力価 HLA 抗体は血小板輸血不応に関与しないとの報告<sup>3,4)</sup>がなされているが、具体的にどの程度の抗体が不応に関与するかは依然として判別できず、適切なカットオフの設定が難しいのが現状である。

このように精製抗原を用いることによって non-HLA 抗体、あるいは低力価抗体などといった抗体を数多く検出していると考えられるが、このような抗体の力価や性状と輸血効果との関連についてはいまだ不明な点が多いのが現状である。加えて血小板輸血効果を知る上で重要な輸血後の血小板数が測定されないことが多く、このことが HLA 抗体と臨床的意義の関連の理解が進まない一因と考えられる。そこで我々は、pH 感受性色素を用いた in vitro 血小板貪食試験を開発し、血小板輸血不応患者における抗体の性状とその臨床的意義について調査を行っている。

表 1 これまで報告されている HLA 自然抗体

A locus	陽性率 (%)	B locus	陽性率 (%)
A*30:02	18.9	B*15:12	11.1
A*31:01	11.3	B*82:01	10.4
A*80:01	8.5	B*15:16	9.9
A*34:01	6.8	B*37:01	7.8
A*66:02	6.6	B*44:02	6.1
A*43:01	5.9	B*45:01	5.9
A*66:01	5.9	B*81:01	4.7

N=424  
Luminex and Its Applications for Solid Organ Transplantation, Hematopoietic Stem Cell Transplantation, and Transfusion. Transfus Med Hemot. 2013 を一部改変  
海外で報告されている自然抗体の一覧を示す。日本人の抗原頻度が 0.1% 以上の抗体を赤線で囲っている。これ以外に、日本人では A\*11:02 (10.6%), A\*01:01 (7.6%), A\*26:01 (3.8%), B\*07:02 (3.8%), Cw\*17:01 (24.2%) に対する自然抗体が報告されている。

4. in vitro 血小板貪食試験

1) 原理と方法

血小板貪食試験は、2002 年に Lim らによって報告<sup>5)</sup>され、輸血不応の評価に有用であることが報告されている。この方法は血小板にローダミン系蛍光色素である CMTMR を染色したのち貪食試験を行うため、貪食細胞の外側に接着している血小板も測定してしまうことによりバックグラウンドが上昇するといった問題があった（図 8）。我々はローダミン系 pH インジケーターである pHrodo (Thermo scientific) を使い、in vitro 血小板貪食試験を開発し臨床的意義の調査に利用している。pHrodo は酸性条件においてのみ蛍光を発する色素である。これによって血小板の細胞内への Internlization を検出することが可能となり、より正確に血小板の貪食を検出することが可能となる。具体的な原理と方法は、図 9、図 10 に示す通りであるが、まず洗浄した血小板に pHrodo を染色、被検血清を添加し緩衝液で十分に洗浄する。血清中に抗体が含まれていれば血小板上に抗体が感作され感作血小板となる。また、並行して Ficoll-paque (GE

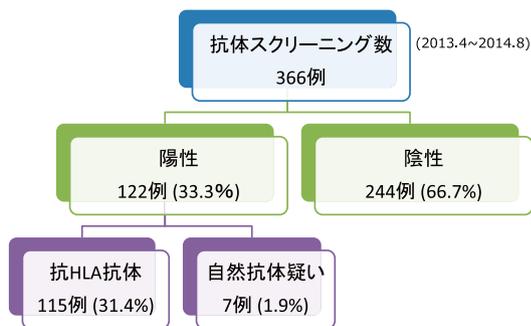


図 7 自然抗体が疑われる反応

当施設における自然抗体の検出頻度を示す。2013 年から 2014 年の 8 月まで、医療機関から HLA 抗体検査の依頼のあった 366 例中、陽性が 1/3 の 122 例、自然抗体に特徴的な単一特異性を持つ抗体、あるいはインタクトな細胞と反応しない抗体が少なくとも 7 例（スクリーニング検査陽性例の 5% 程度）に認められた。

healthcare) などの比重液により別に分離しておいた PBMC (Peripheral Blood Mononuclear Cells) をプラスチックプレートに播種しておき、一定時間インキュベートした後ウェルを洗浄し非付着性細胞を除去することで単球を分離する。ここに感作血小板を添加しインキュベートすると、抗体の Fc 部分を単球の FcγR が認識して、貪食が進行し感作血小板はリソソームへ Translocation される。pHrodo は酸性条件下で蛍光を呈するので、移動したリソソーム内の酸性条件下で蛍光を発するようになる。その後、単球をプレートから剥離し蛍光を発する単球をフローサイトメーターで測定することで貪食率、あるいは貪食インデックスを算出し輸血効果を評価することができる (図 11)。

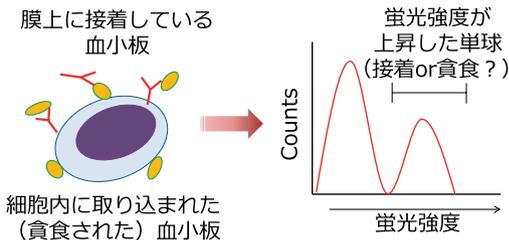


図 8 従来法による血小板貪食試験の問題点

従来法による血小板貪食試験の問題点を模式的に示す。従来法は、貪食反応前から血小板が蛍光を発しているため、単球上に血小板が接着していても単球の蛍光強度が上昇する (左図)。そのため、細胞内に取り込まれた血小板と細胞膜上に接着した血小板を区別するのが困難である (右図)。

2) in vitro 血小板貪食試験の注意点

本試験は、細胞を分離する器具ならびに技術、およびフローサイトメーターがあれば比較的容易に実施することが可能である。しかしながら、より正確な結果を出すには以下の点に注意が必要である。

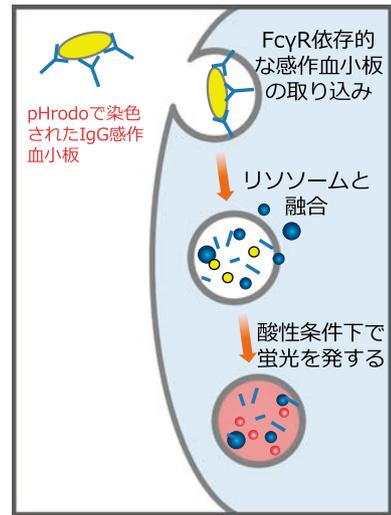


図 9 pH 感応性色素 (pHrodo) による血小板貪食試験の原理

pH 感応性色素を用いた血小板貪食試験の原理を示す。IgG によって感作された血小板は単球やマクロファージなどの貪食細胞によって FcγR 依存的に取り込まれる。取り込まれた血小板は、リソソームと融合し酸性条件下に暴露される。pHrodo は酸性条件下で蛍光を発する。蛍光を発している細胞をフローサイトメーター、あるいは蛍光顕微鏡で検出することで貪食反応を評価することが可能である。

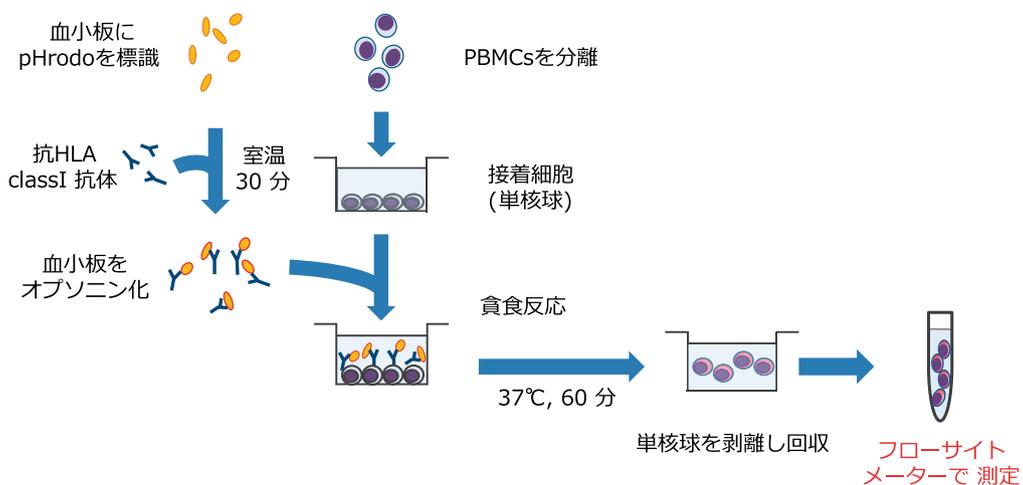


図 10 血小板貪食試験の概要

血小板貪食試験の概要を示す。pHrodo 染色済み血小板に抗体を感作させた感作血小板を、プラスチックプレートに接着させた細胞 (単球) に添加し貪食反応を行う。感作血小板は単球の FcγR を介して細胞内に取り込まれ (貪食), リソソームと融合し酸性状態におかれる。pHrodo は酸性状態で蛍光強度が増加するため、血小板を貪食した細胞を回収し、FCM (フローサイトメーター) で測定することで貪食の程度を数値化することができる。

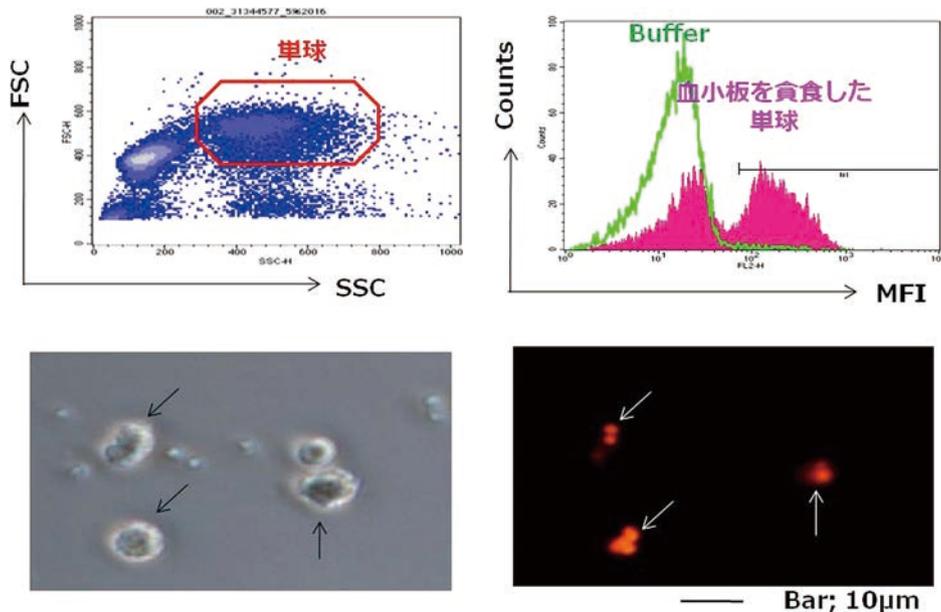


図 11 血小板貪食試験の実際

貪食試験の結果 (例) を示す。FSC と SSC から単球をゲートし、ヒストグラムに展開する (左上図) と血小板を貪食した単球は、Buffer に対して高い MFI を示すようになる (右上図)。pHrodo で染色した血小板が単球に貪食されると蛍光を発することが位相差顕微鏡で観察される (下図)。

a) 血小板

より新鮮な方が良好な結果が得られる。可能であれば採血後 24 時間以内が望ましい。採血後、時間が経過しているとバックグラウンドの上昇につながる。また、血小板浮遊液を調整する際は  $PGE_1$  を加え、血小板の凝集を防ぐことが肝要である。さらに、pHrodo を添加し染色する際は、染色する血小板数に対する蛍光色素の濃度を最適化しておく必要がある。

b) 単球

健常人から分離した単核球をプラスチックプレートに附着させ単球を分離するが、培養液に添加しておく FCS のロットによっては単球の接着が乏しいものもあるため、ロットチェックをしたものを使用すると良い。また、分離した単球を長時間保管しておくとう貪食能が落ちる傾向にあるため、分離後は速やかに実験すべきである。

c) フローサイトメーター

単球画分を FSC, SSC でゲートすることによりコンペンセーション不要で貪食細胞を検出することが可能である。FITC や APC など異なる色素を標識した CD14 を用いることで、より厳密に単球をゲートすることが可能であるが、その際はコンペンセーションが必要である。また、検出の際に剥離した単球をポリスチレン製の

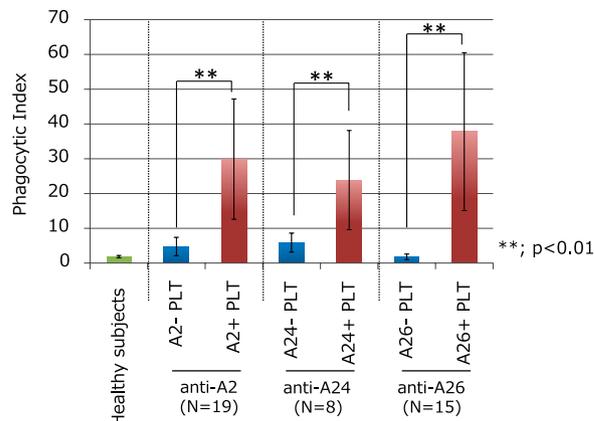


図 12 アロ抗体による血小板貪食結果

アロ抗体を用いた貪食試験結果を示す。HLA-A2, A24, A26 の特異性を有する複数の女性献血者由来血清を用い、抗体と反応する血小板および反応しない血小板を用い貪食試験を行った。対照として抗体を含まない健常人血清を用いた。

チューブに分取すると、時間経過とともに単球がチューブの底に接着してしまい、検出細胞数が極端に減少してしまうため、ポリプロピレン製のチューブを使う必要がある。

5. 血小板貪食試験の性能

1) アロ血清による血小板貪食

図 12 にアロ血清 (血清濃度 10%) を用いた貪食試験

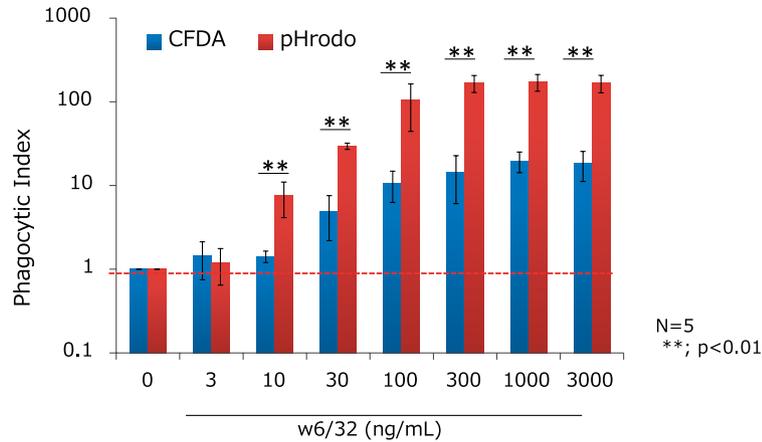


図 13 モノクローナル抗体を用いた従来法との感度比較

モノクローナル抗体 (w6/32) による貪食試験結果を示す。青のカラムが従来法 (CFDA)、赤のカラムに本法 (pHrodo) を示している。従来法と比較して、より高感度かつ広いダイナミックレンジで貪食を検出することが可能である。

結果を示す。抗体特異性と合致する抗原をもつ血小板においてのみ有意な血小板貪食を認め、抗原抗体反応依存的に貪食を検出可能であることがわかる。また、トレーサー用蛍光色素である CFDA 標識血小板を用いた従来法との比較において、従来法の検出限界は 30 ng/mL であったのに対し、本法は 10 ng/mL とより高感度に貪食を検出することが可能である (図 13)。また、本法ほどの抗体濃度においても従来法よりもダイナミックレンジが広く、より詳細に貪食の程度を知ることが可能である。

2) 患者血清を用いた血小板貪食試験と輸血効果

輸血不応患者血清を用いて輸血効果との比較を行った例を図 14 に示すが、血小板輸血効果の指標である CCI と貪食率は逆相関を示すことがわかる。また、図 15 に貪食試験と LS-SA, ICFA 法により測定した抗体量との

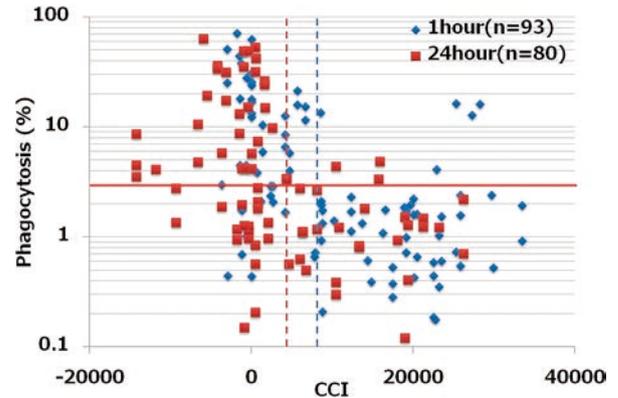


図 14 輸血効果と血小板貪食試験の関連

CCI (1 hr, 24 hrs) と貪食試験結果の散布図を示す。一部に不一致を認めるが、CCI 1 hr, 24 hrs いずれの指標も貪食試験結果と逆相関を認める。

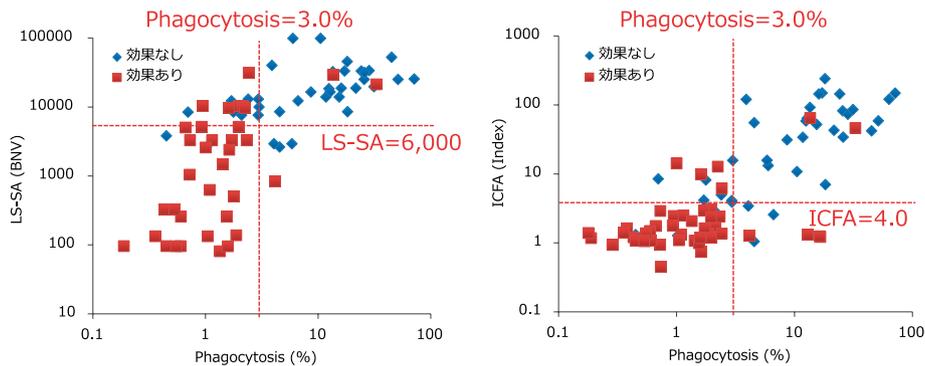


図 15 貪食試験の有用性

LS-SA, ICFA 法で測定した抗体の反応性と貪食試験結果の散布図を示す。LS-SA で BNV=6,000, ICFA で Index=4.0 までは輸血効果が期待できると考えられる。また、本貪食試験において貪食細胞率=3.0%をカットオフ値とすることで輸血効果を判別することが可能と考えられる。

関連を示すが本食試験は抗体価と有意な相関を認めることがわかる。さらに、血小板食率 3% をカットオフとすると、LS-SA で BNV が 4,000 ~ 6,000 程度、ICFA では Index が 4 ~ 5 程度の抗体が本食試験で検出可能であり、この値は輸血効果ともほぼ合致していた。この結果から、LS-SA で 4,000 ~ 6,000 以下や ICFA の Index が 4 ~ 5 以下の抗体は輸血不応に関与しない抗体であることが推測される。以上の結果から、in vitro 血小板食試験は十分な感度をもって血小板食を検出することが可能であり、血小板輸血不応の評価に有用と考えられる。しかしながら、図 14 において食試験が陽性にもかかわらず輸血効果を認める、あるいは陰性であるにもかかわらず輸血効果を認めない例が 20% 程度認められる。近年、補体非結合性抗体と輸血効果に関する報告がなされており、このような抗体の一部はサブクラスの dominantly の違いなど抗体の性状が関与していると推測される。以下に IgG サブクラスと食能について述べる。

6. 血小板輸血不応と抗体の性状

1) HLA 抗体とサブクラス

抗体依存的な食反応を規定する因子として IgG サブクラスが重要であることが知られている。表 2 に IgG サブクラスの特徴をまとめた表を示す。IgG のサブクラスは、IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 が存在し、食や ADCC などエフェクター活性には、補体結合能を有する IgG1 および IgG3 が特に重要である。臓器移植分野においては液性免疫が重要視されており、IgG サブクラスなどの抗体の性状と移植成績について種々の報告<sup>6-8)</sup>があるが、血小板輸血不応においては十分な知見が得られていないのが現状である。また、食反応にはマクロファージの FcγR と抗体の Fc 部分の親和性が重要であることが知られている。IgG の Fc 部分とインタラクションする Fcγ レセプターは表 3 のごとく多くの種類が知られ、各 IgG サブクラスとの親和性<sup>9)</sup>やその機能について広く報告さ

表 2 ヒトの免疫グロブリンクラスの主な機能

機能および血中濃度	IgG <sub>1</sub>	IgG <sub>2</sub>	IgG <sub>3</sub>	IgG <sub>4</sub>	IgM	IgA	IgE	IgD
中和活性	++	++	++	++	+	++	-	-
オプソニン活性	+++	+/-	++	+	+	+	-	-
ADCC 活性	++	-	++	-	-	-	-	-
マスト細胞の感作	+	-	+	-	-	-	+++	-
補体活性化能	++	+	+++	-	+++	+	-	-
胎盤通過能	+++	+	++	+/-	-	-	-	-
血清濃度 (mg/mL)	9	3	1	0.5	1.5	2.1	3×10 <sup>-5</sup>	0.04

表 3 ヒトの Fcγ レセプターの構造と機能

レセプター	FcγRI (CD64)	FcγRIIa (CD32A)	FcγRIIb (CD32B)	FcγRIIIa (CD16A)	FcγRIIIb (CD16B)
構造					
親和性	IgG <sub>1</sub> ≧ IgG <sub>3</sub> > IgG <sub>4</sub> >> IgG <sub>2</sub>	IgG <sub>3</sub> ≧ IgG <sub>1</sub> , IgG <sub>2</sub> >> IgG <sub>4</sub>	IgG <sub>3</sub> ≧ IgG <sub>1</sub> > IgG <sub>4</sub> > IgG <sub>2</sub>	IgG <sub>1</sub> , IgG <sub>3</sub> >> IgG <sub>2</sub> , IgG <sub>4</sub>	IgG <sub>1</sub> , IgG <sub>3</sub> >> IgG <sub>2</sub> , IgG <sub>4</sub>
発現細胞	マクロファージ 好中球 好酸球 樹状細胞	マクロファージ 好中球 好酸球 血小板 樹状細胞	マクロファージ 好中球 好酸球 樹状細胞 B 細胞 肥満細胞 好塩基球	NK 細胞 好酸球 マクロファージ 肥満細胞	好中球 好酸球
機能	食作用亢進 活性酸素の産生 傷害活性の誘導 サイトカイン産生	食作用亢進 活性酸素の産生 傷害活性の誘導 サイトカイン産生	刺激の抑制	食作用亢進 活性酸素の産生 傷害活性の誘導 サイトカイン産生 顆粒分泌	活性酸素の産生 傷害活性の誘導

ヒトの FcγR 分子群とその機能を示した。FcγRI, FcγIIa, FcγIIIa は、活性化モチーフである ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif) を有するのに対し、FcγRIIb は抑制性モチーフである ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) を有する。

れている<sup>9,10</sup>。IgG サブクラスのエフェクター活性は IgG3>IgG1>>IgG2>IgG4 であると報告されているが<sup>11</sup>、HLA 抗体の IgG サブクラス、Fcγ レセプター、ならびに血小板輸血不応との関連について詳細に検討したという報告はない。図 16 に我々が調査した血小板輸血不応患者における HLA 抗体の IgG サブクラスを示す。このように、多くの患者は IgG1 が dominant であり、IgG<sub>2</sub> や IgG<sub>4</sub> 単独の HLA 抗体は検出されなかったが、一部のサンプルで IgG<sub>2</sub> や IgG<sub>4</sub> などを含む抗体が存在している。特徴的な dominantly を示すサンプルについて、さらに LS-SA を用い各抗原のサブクラスを調べたところ、一部の抗原に対する抗体で種々のサブクラスで構成される

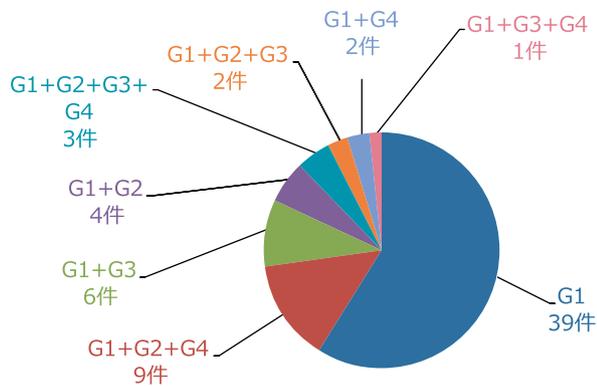


図 16 患者血清中の IgG サブクラス

血小板輸血不応患者 (N=66) の HLA 抗体サブクラスを LS-Mixed 試薬で測定した結果を示す。全例が IgG1 を含んでいる、HLA 抗体のサブクラスには様々なバリエーションがみられる。

HLA 抗体が検出された(図 17)。これらの抗体について、貪食反応と抗体価の関連を解析したところ、IgG<sub>1</sub> 単独に比べ IgG<sub>1</sub>+IgG<sub>3</sub> の場合は、他のサブクラスのバリエーションと比べ貪食率が高い傾向にあった。一方、IgG<sub>1</sub>+IgG<sub>3</sub> であっても IgG<sub>2</sub> や IgG<sub>4</sub> が含まれる抗体は IgG<sub>1</sub>+IgG<sub>3</sub> と比較して貪食率が低い傾向にあった。これは抗体価が同程度であっても、サブクラスの構成の違いによって貪食率、すなわち輸血効果に違いが生じることを示唆するデータと考えられた(図 18)。近年、ITAM モチーフをもつ FcγRIIIa と ITIM モチーフを持つ FcγRIIb の発現量の比が細胞の活性化に重要であると報告されている<sup>12</sup>。また、FcγRIIb が貪食を抑制的に制御していることが報告<sup>13</sup>されていることから、今後は IgG サブクラスや単球の Fcγ レセプターの多様性と貪食の関連を調査することで、HLA 抗体などのアロ抗体と血小板輸血不応のより詳細な関連が明らかになると考えられる。

2) その他の要因

IgG の糖鎖構造がエフェクター機能に重要であり、糖鎖がないと ADCC 活性が消失することがすでに知られている。最近、IgG1 の糖鎖の一部であるフコースの消失が新生児血小板減少の重症度と血小板の貪食に関与することや<sup>14,15</sup>、ADCC 活性が 50 倍以上増強するといったエフェクター機能に重要であることが示されており<sup>16</sup>、HLA 抗体による貪食と糖鎖の修飾についても検討する必要があると考えられる。また、IgM 性の抗体が

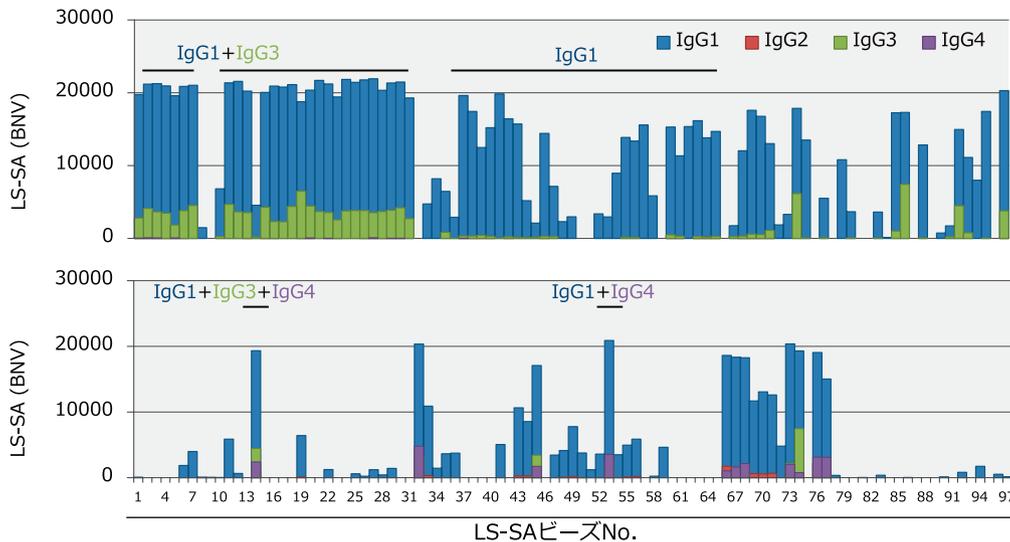


図 17 患者血清中の IgG サブクラス

図 16 で測定したサンプルのうち、2 例について LS-SA で IgG サブクラスの精査を行った結果を示す。どの抗原に対する抗体も IgG<sub>1</sub> を含んでいたが、抗体によっては IgG<sub>1</sub>、IgG<sub>1</sub>+IgG<sub>3</sub>、IgG<sub>1</sub>+IgG<sub>3</sub>+IgG<sub>4</sub>、IgG<sub>1</sub>+IgG<sub>2</sub>+IgG<sub>3</sub>+IgG<sub>4</sub> といったバリエーションが認められた。

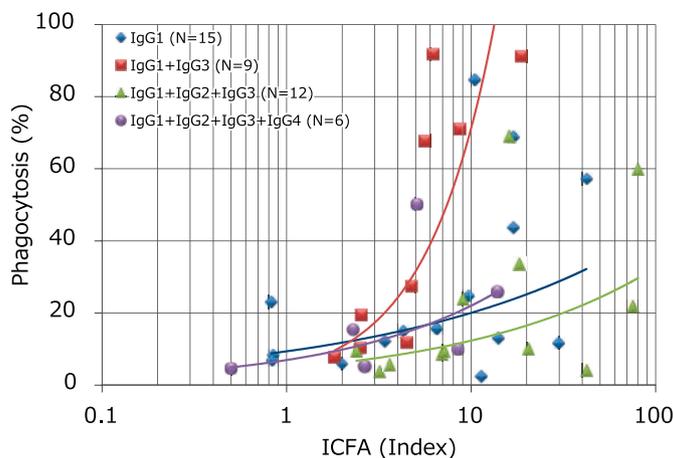


図 18 サブクラスと食食能

図 17 で検出された様々なサブクラスで構成される抗体を用いて食食試験を行った結果を示す。同程度の力価であってもサブクラスの構成の違いにより食食率が異なると考えられる。

血小板輸血不応に關与するとの報告<sup>17)</sup>もあるが、我々の検討においては IgM 抗体による食食反応を認めていない。この結果は赤血球など他の血液細胞でも同様である。しかし、近年補体の活性化により細胞表面に沈着した C3b と肝臓のクッパー細胞に存在する補体レセプター (CR1g) が強い親和性を示すことが明らかになっており<sup>18)</sup>、それによって細胞のクリアランスが上昇することが報告されている<sup>19)</sup>。今後は、補体結合性抗体を検出する試薬である C1q Screen (One Lambda) や LIFE CODE C3d Detection (Immucor) などを用い、抗体のサブクラスと補体の活性化との關連についても検討が必要と考える。

### 7. 終わりに

HLA 適合血小板の供給には、HLA 抗体の検出や血小板の輸血効果を評価することが非常に重要である。しかし、近年の検査技術の向上に伴い、non-HLA 抗体や低力価抗体などの抗体を検出してしまふこと、また輸血効果の評価に必要な輸血後の血小板数は、患者の負担や保険点数の算定、病院内での業務の問題といった理由から測定できない場合が多く、HLA 抗体検査と臨床的意義に乖離が生じていると考えられる。今後は CCI による輸血効果の確認や in vitro 血小板食食試験等の方法を用い、抗体の性状とその意義について検討していく必要があると考える。

### 参考文献

- 1) Lachmann N, Todorova K, Schulze H, *et al.*: Luminex and Its Applications for Solid Organ Transplantation, Hematopoietic Stem Cell Transplantation, and Transfusion. *Transfus Med Hemot* 40: 182–189, 2013.
- 2) Sato S, Sakurai T, Yamamoto Y, *et al.*: Earlier detection of HLA alloimmunization in platelet transfusion refractoriness by flow cytometric analysis. *Transfusion* 45: 1399–1401, 2005.
- 3) Beligaswatte A, Tsiopelas E, Humphreys I, *et al.*: The mean fluorescence intensities of anti-HLA antibodies detected using microbead flow cytometry predict the risk of platelet transfusion refractoriness. *British Journal of Haematology* 162: 409–441, 2013.
- 4) Jackman RP, Deng X, Bolgiano D, *et al.*: Low-level HLA antibodies do not predict platelet transfusion failure in TRAP study participants. *Blood* 121: 3261–3266, 2013.
- 5) Jihyang Lim, Yonggoo Kim, Kyungja Han, *et al.*: Flow cytometric monocyte phagocytic assay for predicting platelet transfusion outcome. *Transfusion* 42: 309–316, 2002.
- 6) Gao Z, McAlister VC, Wright JR, *et al.*: Immunoglobulin-G subclass antidonor reactivity in transplant recipients. *Liver Transplantation* 10: 1055–1059, 2004.
- 7) Kaneku H, O’Leary JG, Taniguchi M, *et al.*: Donor specific human leukocyte antigen antibodies of the immunoglobulin G3 subclass are associated with Chronic rejection and graft loss after liver transplantation. *Liver Transplantation* 18: 984–992, 2012.
- 8) Lowe D, Higgins R, Zehnder D, *et al.*: Significant IgG subclass heterogeneity in HLA-specific antibodies: Implications for pathogenicity, prognosis, and the rejection response. *Human Immunology* 74: 662–672, 2013.
- 9) Clark L, Anderson, Li Shen, Donald M. *et al.*: Phagocytosis mediated by three distinct Fc gamma receptor classes on human leukocytes. *J Exp Med* 171: 1333–1345, 1990.

- 10) Bruhns P, Iannascoli B, England P, *et al.*: Specificity and affinity of human Fc $\gamma$  receptors and their polymorphic variants for human IgG subclasses. *Blood* 113: 3716–3725, 2009.
- 11) Bruhns P: Properties of mouse and human IgG receptors and their contribution to disease models. *Blood* 119: 5640–5649, 2012.
- 12) Hunter S, Zena K, Indik, Moo-Kyung Kim, *et al.*: Inhibition of Fc $\gamma$  receptor mediated phagocytosis by a non-phagocytic Fc $\gamma$  receptor. *Blood* 91: 1762–1768, 1998.
- 13) Mirre EV, Breunis WB, Geissler J, *et al.*: Neutrophil responsiveness to IgG, as determined by fixed ratios of mRNA levels for activating and inhibitory Fc $\gamma$ R2 (CD32), is stable over time and unaffected by cytokines. *Blood* 108: 584–590, 2006.
- 14) Nagelkerke SQ, Dekkers G, Kustiawan I, *et al.*: Inhibition of Fc $\gamma$ R-mediated phagocytosis by IVIg is independent of IgG-Fc sialylation and Fc $\gamma$ R2b in human macrophages. *Blood* 124: 3709–3718, 2014.
- 15) Kapur R, Kustiawan I, Vestheim A, *et al.*: A prominent lack of IgG1-Fc fucosylation of platelet alloantibodies in pregnancy. *Blood* 123: 471–480, 2014.
- 16) Shinkawa T, Nakamura K, Yamane N, *et al.*: The absence of fucose but not the presence of galactose or bisecting N-acetylglucosamine of human IgG1 complex type oligosaccharides shows the critical role of enhancing antibody dependent cellular cytotoxicity. *J. Biol. Chem* 278: 3466–3473, 2003.
- 17) 齊藤ら: IgM 型 HLA クラス I 抗体の血小板輸血不応状態への関与. *日本輸血学会誌* 52: 405–413, 2005.
- 18) Helmy KY, Katschke KJ Jr, Gorgani NN, *et al.*: CR1: a macrophage complement receptor required for phagocytosis of circulating pathogens. *Cell* 124: 915–927, 2006.
- 19) He JQ, Wiesmann C, van Lookeren Campagne M: A role of macrophage complement receptor CR1 in immune clearance and inflammation. *Molecular Immunology* 45: 4041–4047, 2008.

## The clinical significance of HLA antibody in platelet transfusion refractoriness

Daisuke Takahashi<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Japanese Red Cross Hokkaido Block Blood Center

A fluorescent microbeads assay with the Luminex system, used for detection of HLA antibody (Ab), is simple and highly sensitive. However, this method is indicated to detect clinically insignificant Abs such as low-titer HLA Abs and non-HLA Abs. While the IgG subclass and complement activation are reported to affect the transplantation outcomes, the relationship of HLA Ab and platelet transfusion refractoriness (PTR) is not fully understood. In this brief review, I summarize the evaluation of clinical significance of HLA Ab in PTR using in vitro phagocytosis assay of platelets with a pH sensitive dye.

**Key Words:** HLA antibody, platelet transfusion refractory, in vitro platelet phagocytosis assay

## 造血幹細胞移植の現状と展望

豊嶋 崇徳<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 北海道大学大学院医学研究科医学専攻内科学講座血液内科学分野

造血幹細胞移植は白血病などに治癒をもたらす治療法として開発された。わが国におけるその発展の歴史は、骨髄移植が導入された 1970 年代の“黎明期”，移植細胞源の拡大，骨髄バンク，臍帯血バンクの創設，ミニ移植法の開発などが相次ぎ，移植の多様化と適応拡大へと進んでいった 1990 年代の“発展期”，そして HLA の壁にチャレンジし，必要な患者にタイムリーに移植を実施し，移植後の QOL も重視していこうという現在の“成熟期”に分類される（表 1）。このような大きな変遷の中で，従来，造血幹細胞移植の成功のために必須の 4 条件と考えられてきた，ドナーと患者間の HLA 適合，移植前の骨髄破壊的前処置の実施，移植後免疫抑制剤投与，無菌管理，は大きく様変わりし，移植医療の風景は一変した。本稿ではこのような歴史を振り返りながら，造血幹細胞移植の現状と展望を俯瞰する。

**キーワード：**HLA 半合致移植，移植前処置，抗胸腺細胞グロブリン，シクロホスファミド

### 1. はじめに

1945 年，米国のルーズベルト大統領は原子爆弾を開発するマンハッタン計画と並行して，アインシュタイン博士ら科学者のアドバイスを受け，被ばく対策の検討を命じた。1950 年頃，Jacobson や Lorenz らによって致死的な放射線被ばくをしたマウスを，脾臓の遮蔽，あるいは同系マウスからの脾臓や骨髄細胞の移植で救命できることが報告され，さらに 1957 年，Barnes らにより，救命されたマウスの血液細胞がドナー由来であることが証明され，造血幹細胞移植の概念が確立した。早くも 1958 年にはユーゴスラビアで起きた放射線被ばく事故に対しフランスで骨髄移植が行われ，被爆者は救命されたが，それは自己造血の回復によるものであり，移植としては失敗であったと考えられている。1959 年，のちにノーベル賞を受賞することとなるシアトルのトーマス博士らは，白血病の小児に対し一卵性双生児をドナーとして骨髄破壊的な全身放射線照射後に骨髄移植を行った

症例を報告した<sup>1)</sup>。ドナー血球の生着はすみやかにえられたが，白血病は寛解に至らなかった。この論文の中に，移植前処置のみでは白血病の根治は困難であり，同種ドナーからの移植が必要ではないか，しかしその場合には今日でいうところの移植片対宿主病（graft-versus-host disease: GVHD）のリスクがあると記述されており，その先見の明に感銘を受ける。その後，実際，白血病に対し同種移植が行われたが，予想されたように致死的な GVHD が発症し，骨髄移植の熱気は急速に冷え込んでいった。

そのような中でもシアトルのグループは犬を用いた研

表 1 わが国の造血幹細胞移植の歴史

年代	特徴	イベント
1970	黎明期	骨髄移植の開始，シクロスポリンの導入
1990	発展期	末梢血幹細胞移植，臍帯血移植，ミニ移植骨髄バンク，臍帯血バンク創設
2010	成熟期	移植推進法案，HLA 半合致移植

受付日：2016 年 6 月 28 日，受理日：2016 年 6 月 28 日

代表者連絡先：豊嶋 崇徳 〒060-8638 札幌市北区北 15 条西 7 丁目 北海道大学大学院医学研究科医学専攻内科学講座血液内科学分野

TEL: 011-706-7214 FAX: 011-706-7823 E-mail: teshima@med.hokudai.ac.jp

究をすすめ、組織適合性抗原適合の重要性を明らかにし、さらに移植後の免疫抑制剤の投与により安定した生着とGVHD 予防が可能となることを発見した。再度臨床応用にチャレンジし、1970年代後半に白血病患者の治癒例を報告し<sup>2)</sup>、骨髄移植は白血病に治癒をもたらす治療法として一気にリバイバルすることとなった。このような研究の中で、移植の成功のための4条件、すなわち、①ドナーと患者間のHLA 適合、②移植前の骨髄破壊の前処置の実施、③移植後免疫抑制剤投与、④無菌管理が明らかにされ、その功績に対し、1990年、トーマス博士はノーベル医学生理学賞を授与された。しかし、その後の医学の進歩の中で、この4条件は大きく変遷していった。

## 2. HLA 適合

ドナーとレシピエントのHLA 適合度は移植成績に大きな影響を及ぼし、HLA 適合が移植の原則である。一方、骨髄移植が開始されたころに比較し、わが国では少子化が進んでおり、HLA 適合家族ドナーが得られる確率は次第に低下している。1990年代には骨髄バンク、臍帯血バンクが設立され、血縁者内にドナーがえられない患者を救うための社会基盤が整備されていった<sup>3)</sup>。臍帯血移植では免疫細胞、とくにT細胞の絶対数が少ないことと機能的に未熟であることから、骨髄移植にくらべ、HLA 不適合でもGVHD のリスクが低いことが明らかとなり、この臍帯血移植が普及した時点で、HLA の壁は実質的に打破されたといえよう<sup>4,5)</sup>。

HLA 検査法の進歩に伴い、HLA-A, B, DR の6座の血清学的タイピングの時代からDNA タイピングへと移行し、さらにHLA2桁から4桁表示の精密DNA タイピングによるHLA-A, B, C, DR, DQ の10座合致へとHLA 適合の要求度は高まっていった。その結果、HLA 適合非血縁者間移植の成績は、HLA 適合血縁者間移植の成績に匹敵するようになった<sup>6)</sup>。しかし同時にGVHD 予防法も進歩したために、HLA 適合ドナーが得られない場合には、HLA 一座不適合ドナーからの移植も行われている<sup>7)</sup>。また骨髄バンクを介した移植成績の解析によって、ドナー、患者間のHLA 不適合の組み合わせによって、“許容できる不適合”と“許容されない不適合”があることが報告され、ドナー選択のための参考にされている<sup>8)</sup>。しかし、GVHD 予防法をはじめとする移植医療の

進歩により、その差は縮小し意義が薄れてきている<sup>9)</sup>。

マウスを用いた研究では、ドナーT細胞がGVHD の原因となり、移植片からT細胞を除去した場合、GVHD は発症しないことが明らかになっていった。イタリアの研究者らはこれをヒトに応用し、効率よいT細胞除去が達成されれば、たとえHLA 半合致(ハプロ)移植であってもGVHD のリスクは低く、移植後の免疫抑制剤の投与も必要ないことを報告した<sup>10)</sup>。このような研究によって、従来のHLA 適合にとらわれないHLA 半合致移植の研究の端緒が開かれていった。しかしこのようなT細胞除去法には高価な機器が必要であるため一般化しにくく、その代替法として抗リンパ球グロブリンや抗胸腺細胞グロブリン(antithymocyte globulin: ATG)を投与する方法が用いられてきた。しかし、T細胞除去効果が不十分なため、免疫抑制剤の投与が必要であり、それも相まって日和見感染症の増加が問題となってきた。しかし本法は兵庫医大や中国のグループによって改良が重ねられ、優れた成績が報告されている<sup>11,12)</sup>。

最近、移植後大量シクロホスファミド(posttransplant cyclophosphamide: PTCy)を用いたGVHD 予防法が注目され、これを用いた血縁者間HLA 半合致移植が国際的に急速に普及してきている(図1)<sup>13)</sup>。PTCyの作用機序として、移植後早期に同種抗原に反応して活性化したアロ応答性T細胞の選択的殺細胞効果が示唆されており、アロ非応答性T細胞が温存されるため免疫回復が良好である可能性が示されている。われわれは本法の安全性と有効性を検討するため、米国における原法をアレンジし、骨髄移植の代替として末梢血幹細胞移植を用いた全国多施設共同研究であるJSCT-Haplo13試験を実施した。

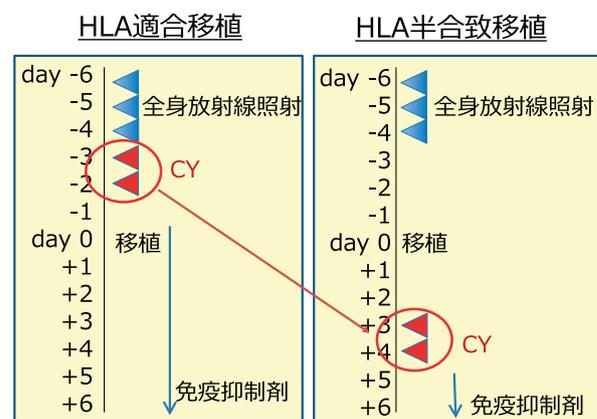


図1 HLA 適合移植と PTCy 法による HLA 半合致移植

その結果、高いGVHD抑制効果が認められ、本法が安全に実施可能であることが示唆された<sup>14)</sup>。GVHD治療としての全身ステロイド投与の必要性も低く、そのため感染症の頻度も低い可能性も示唆される。さらに、慢性GVHDの発症も低頻度である可能性もあり、移植後長期のQOLの観点からも期待される移植法である。続いて、骨髄破壊的前処置法を用いたHaplo14試験も実施完了し、現在はさらに条件を変更したHaplo16試験を開始した。これらの前向き試験の結果によって、ドナーの選択肢が広がり、骨髄バンク、臍帯血バンクとあわせ、移植が必要な患者により迅速でタイムリーな移植を実施できる体制が整備できるものと期待される。欧米からはHLA適合移植、CD34陽性細胞移植、臍帯血移植などさまざまな移植法との比較検討が行われ、PTCy法による血縁者間HLA半合致移植はこれらと遜色ない成績であると考えられるようになってきた<sup>15-18)</sup>。

現時点での同種造血幹細胞移植におけるドナー選択アルゴリズムは、HLA適合血縁者が第一選択で、次いで、HLA適合（～一座不適合）非血縁者、HLA一座不適合血縁者、臍帯血の中から患者の状況にとって最適なドナーを選択することが推奨される。さらに患者の状況によってはHLA半合致血縁ドナーからのハプロ移植も選択肢に入り、この場合、臨床研究に参加する施設ではPTCY法によるハプロ移植も考慮される。

### 3. 移植前処置

移植前処置の目的は、①悪性細胞の根絶、②レシピエントの免疫担当細胞と骨髄細胞の抑制による移植片拒絶の予防である。従来は、骨髄破壊的な前処置がドナー造血細胞の生着に必要と考えられてきたが、シアトルのストーブ博士らの犬を用いた研究によって、このセントラルドグマが否定され、免疫抑制を主体とした骨髄非破壊的な移植前処置によっても生着が得られることが明らかにされた。これにより、従来造血幹細胞移植の適応とならなかった高齢者や合併症によって臓器予備能の低下した患者へも移植適応が拡大された<sup>19)</sup>。

一般的には、若年者で再発リスクが高い場合には骨髄破壊的前処置が好まれ、高齢者や再移植、合併症を有する例など、強化前処置に適さないと考えられる場合には骨髄非破壊的前処置が用いられる。骨髄破壊的前処置は全身放射線照射（total body irradiation: TBI）を用いる前

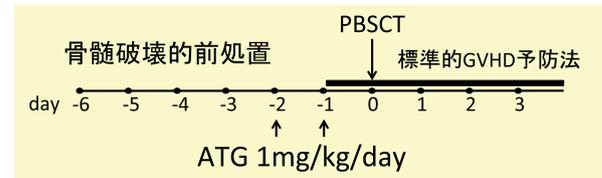


図2 少量ATGを用いたPBST (JSCT-ATG15試験)

処置と非照射レジメに大別されるが、急性リンパ性白血病では歴史的にTBIレジメが用いられるのに対し、骨髄系腫瘍では非照射レジメも用いられ、とくに欧米では非照射レジメが主流となっている。米国では非照射レジメの代表であったbusulfan+cyclophosphamide (BU/CY)レジメが減少傾向にあり、fludarabine+BU (Flu/BU)が増加している。後者では臓器毒性がより低いと考えられより高齢者に用いられる傾向がみられる一方、拒絶リスクの増加が危惧され、状況に応じて選択される。骨髄非破壊の前処置ではFlu/BU2やfludarabine+melfalan (Flu/Mel)が多く使用される。

さらに最近では移植後のQOLが重視されるようになってきた。すなわち、慢性GVHDと小児、若年者においては成長障害、不妊を回避しようとする考え方である。白血病のコントロールが困難な場合にはこれらを犠牲にしても最大の抗腫瘍効果を求めるのは仕方ないが、寛解期移植などある程度長期生存が期待される場合には、当然、白血病のコントロールと同時にこのような考慮も求められる。成長障害を避けるため小児では非TBIレジメが考慮され、不妊防止の観点からはTBIの際の卵巣遮蔽、非BUレジメの使用などが考慮される。また慢性GVHDは小児、成人に関わらず長期のQOLに影響する問題であり、とくに骨髄移植に較べ末梢血幹細胞移植 (PBST) で問題となっている<sup>20)</sup>。寛解期移植では避けたい問題であり、欧州では寛解期移植には移植前処置にATGを併用することが一般化しつつある<sup>21,22)</sup>。現在、わが国でもPBSTにおいて少量ATGを併用することでGVHDの減少が達成できるか臨床研究が行われている (図2)。また先述したPTCY法においても慢性GVHDの軽減が期待されている<sup>14,18)</sup>。

### 4. GVHD 予防

カルシニューリン阻害剤を用いたGVHD予防法は依然として主流であり、米国、日本ではtacrolimusが、欧

州では cyclosporine が用いられることが多い。併用される代謝拮抗薬の methotrexate は4回投与から3回投与へと、1回投与量も減じられる傾向がみられる。また臍帯血移植では生着の観点からわが国では保険適応外であるが mycophenolate mofetil (MMF) が頻用されている<sup>23)</sup>。

カルシニューリン阻害剤やステロイドなどの免疫抑制剤は移植後の制御性 T 細胞の再構築を阻害する可能性が示唆されており、免疫寛容導入の観点からカルシニューリン・フリーの GVHD 予防法の確立が模索されてきた<sup>24)</sup>。現時点で最も期待されるのは PTCy 法であり、HLA 適合移植では PTCy 単独の GVHD 予防の臨床研究が進んでいる<sup>25)</sup>。HLA 半合致移植では PTCy 単独では不十分であるため、その後にカルシニューリン阻害剤が投与されているが、今後は mechanistic target of rapamycin (mTOR) 阻害剤など制御性 T 細胞に影響を与える可能性が低いと考えられている薬剤を用いた臨床研究が進んでいくものと考えられる。

アロ応答性ドナー T 細胞が GVHD の原因であることから、CD34 陽性細胞移植では、ATG 以外の薬剤による GVHD 予防は必要ない<sup>10)</sup>。GVHD 予防の観点からは理想的な移植法であるが、医療コストの問題と日和見感染の問題があるため、一般臨床応用は困難である。

## 5. 無菌管理

造血幹細胞移植の成功には、無菌室の使用、腸内殺菌、無菌食による徹底した無菌管理があった。しかし、その後これらは見直され、無菌管理の簡素化が達成されている。無菌室の使用はアスペルギルス感染の予防が主目的であり、土壌から空中に拡散し病室へと侵入する真菌を防止するには、ヘパフィルターを使用して病室に送気することと、空気の流れを病室内から廊下へと一方通行にすることである。病院建築の進歩により、開放窓のない構造が増え、無菌室も高層階に設置されることが多くそもそも真菌が病院内へと侵入するリスクは以前よりも減少している。その他、耐性菌を持ち込まない点については、造血幹細胞移植に特異的な問題ではなく、標準的防御策で対応する。経口抗菌剤の投与もかつてのような腸内殺菌を目的とするというよりも、実際に感染症発症が減少するのか、一方耐性菌の増加はないかといった視点から行われている。食事についても現在のマニュアルに準拠して調理される病院食であれば、特別な無菌処理は

必要ないとされている。このような無菌管理の簡素化は、限られた経済的、人的資源を有効に使用し、移植医療を多くの患者に提供する基盤整備には極めて重要である。

## 6. 臨床経験から基礎医学へのフィードバック

このように造血幹細胞移植は基礎免疫学の進歩と並行して発展を遂げてきた。ある意味では、免疫学でえられた知見が検証される場でもあった。しかし、最近の HLA バリアへのチャレンジの成果は、逆に免疫学のセントラルドグマに疑問符を投げかけることとなった。HLA 半合致移植後には患者は血液系細胞と非血液細胞の HLA ハプロタイプの本が異なるキメラ状態が終生持続する。つまり T 細胞からみて非自己が存在し続けるにも関わらず、われわれの PTCy 法による HLA 半合致移植後には長期生存例の半数程度患者では免疫抑制剤を中止することができていることから、免疫寛容が成立しているものと考えられる。それはいったいなぜなのか？われわれはマウスでの研究からこの現象には免疫チェックポイント機構が関与した T 細胞疲弊が関与しているのではないかという知見をえた<sup>26)</sup>。そうだとすると、HLA 不適合移植後の血液悪性腫瘍の再発に対する免疫チェックポイント阻害剤の投与は免疫寛容をリバースしてしまう可能性がある。

HLA 半合致移植後には T 細胞は MHC 半合致である胸腺において分化成熟する。「MHC 拘束性」とは T 細胞性応答は自己と同一の MHC 分子によって抗原が提示された場合のみに起こるといえるものである。HLA 半合致移植後には、T 細胞と抗原提示細胞はドナー由来で MHC は完全一致であるが、体細胞は HLA 半合致である。しかし、PTCY 法による HLA 半合致移植後には、HLA 適合移植と比べ、感染症に難渋するということはない。これらのことから「MHC 拘束性」は一つのハプロタイプのみで成立し、また非自己 MHC が共存するなかでも成立することを示唆している。

PTCY 法による HLA 半合致移植では、HLA 半合致であるにも拘わらず移植直後に一切免疫抑制剤を投与しない。すると、移植翌日あたりから発熱がみられ、3日目あたりには 38-39°C 程度の高熱となることがしばしばである。移植 3-4 日目に大量 Cy を投与すると、解熱がみられることから、アロ応答性 T 細胞による「Haploimmunostorm syndrome」として知られる<sup>14)</sup>。アロ応答性 T

細胞はナイーブ T 細胞分画に存在するとされる。しかしナイーブ T 細胞の抗原特異的応答には数日かかるとされる。実際、輸血後 GVHD もこのような早期には発熱はみられない。移植前処置による炎症環境や、リンパ球減少環境では抗原特異的 T 細胞応答が早期化するのではないかと考えられる。このように多様化した造血幹細胞移植後の状況を詳細に観察し、疑問点を基礎医学にフィードバックし、研究を進めることが重要であると考えられる。

#### 参考文献

- 1) Thomas ED, Lochte HL, Jr, Cannon JH, *et al.*: Supralethal whole body irradiation and isologous marrow transplantation in man. *J Clin Invest* 38: 1709–1716, 1959.
- 2) Thomas ED, Buckner CD, Banaji M, *et al.*: One hundred patients with acute leukemia treated by chemotherapy, total body irradiation and allogeneic marrow transplantation. *Blood* 49: 511–533, 1977.
- 3) Gragert L, Eapen M, Williams E, *et al.*: HLA match likelihoods for hematopoietic stem-cell grafts in the U.S. registry. *N Engl J Med* 371(4): 339–348, 2014.
- 4) Kurtzberg J, Laughlin M, Graham ML: Placental blood as a source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients. *N Engl J Med* 335: 157–166, 1996.
- 5) 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(12): 3813–3820, 2004.
- 6) Kanda J, Saji H, Fukuda T, *et al.*: Related transplantation with HLA-1 Ag mismatch in the GVH direction and HLA-8/8 allele-matched unrelated transplantation: a nationwide retrospective study. *Blood* 119(10): 2409–2416, 2012.
- 7) 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(4): 1541–1547, 2003.
- 8) Kawase T, Morishima Y, Matsuo K, *et al.*: High-risk HLA allele mismatch combinations responsible for severe acute graft-versus-host disease and implication for its molecular mechanism. *Blood* 110(7): 2235–2241, 2007.
- 9) Kanda Y, Kanda J, Atsuta Y, *et al.*: Changes in the clinical impact of high-risk human leukocyte antigen allele mismatch combinations on the outcome of unrelated bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 20(4): 526–535, 2014.
- 10) Aversa F, Tabilio A, Velardi A, *et al.*: Treatment of high-risk acute leukemia with T-cell-depleted stem cells from related donors with one fully mismatched HLA haplotype. *N Engl J Med* 339(17): 1186–1193, 1998.
- 11) Wang Y, Liu QF, Xu LP, *et al.*: Haploidentical vs identical-sibling transplant for AML in remission: a multicenter, prospective study. *Blood* 125(25): 3956–3962, 2015.
- 12) Ikegame K, Yoshida T, Yoshihara S, *et al.*: Unmanipulated haploidentical reduced-intensity stem cell transplantation using fludarabine, busulfan, low-dose antithymocyte globulin, and steroids for patients in non-complete remission or at high risk of relapse: a prospective multicenter phase I/II study in Japan. *Biol Blood Marrow Transplant* 21(8): 1495–1505, 2015.
- 13) Luznik L, O'Donnell PV, Symons HJ, *et al.*: HLA-haploidentical bone marrow transplantation for hematologic malignancies using nonmyeloablative conditioning and high-dose, posttransplantation cyclophosphamide. *Biol Blood Marrow Transplant* 14(6): 641–650, 2008.
- 14) Sugita J, Kawashima N, Fujisaki T, *et al.*: HLA-haploidentical peripheral blood stem cell transplantation with post-transplant cyclophosphamide after busulfan-containing reduced-intensity conditioning. *Biol Blood Marrow Transplant* 21(9): 1646–1652, 2015.
- 15) Brunstein CG, Fuchs EJ, Carter SL, *et al.*: Alternative donor transplantation after reduced intensity conditioning: results of parallel phase 2 trials using partially HLA-mismatched related bone marrow or unrelated double umbilical cord blood grafts. *Blood* 118(2): 282–288, 2011.
- 16) Ciurea SO, Mulanovich V, Saliba RM, *et al.*: Improved early outcomes using a T cell replete graft compared with T cell depleted haploidentical hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 18(12): 1835–1844, 2012.
- 17) Bashey A, Zhang X, Sizemore CA, *et al.*: T-cell-replete HLA-haploidentical hematopoietic transplantation for hematologic malignancies using post-transplantation cyclophosphamide results in outcomes equivalent to those of contemporaneous HLA-matched related and unrelated donor transplantation. *J Clin Oncol* 31(10): 1310–1316, 2013.
- 18) Ghosh N, Karmali R, Rocha V, *et al.*: Reduced-intensity transplantation for lymphomas using haploidentical related donors versus HLA-matched sibling donors: a center for international blood and marrow transplant research analysis. *J Clin Oncol* 2016.
- 19) Gooley TA, Chien JW, Pergam SA, *et al.*: Reduced mortality after allogeneic hematopoietic-cell transplantation. *The New England journal of medicine* 363(22): 2091–2101, 2010.
- 20) Anasetti C, Logan BR, Lee SJ, *et al.*: Peripheral-blood stem cells versus bone marrow from unrelated donors. *The New England journal of medicine* 367(16): 1487–1496, 2012.
- 21) Finke J, Bethge WA, Schmoor C, *et al.*: Standard graft-versus-host disease prophylaxis with or without anti-T-cell globulin in haematopoietic cell transplantation from matched unrelated donors: a randomised, open-label, multicentre phase 3 trial. *Lancet Oncol* 10(9): 855–864, 2009.

- 22) Kroger N, Solano C, Wolschke C, *et al.*: Antilymphocyte globulin for prevention of chronic graft-versus-host disease. *N Engl J Med* 374(1): 43–53, 2016.
- 23) Iida M, Fukuda T, Ikegame K, *et al.*: Use of mycophenolate mofetil in patients received allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in Japan. *International journal of hematology* 93(4): 523–531, 2011.
- 24) Zeiser R, Nguyen VH, Beilhack A, *et al.*: Inhibition of CD4+CD25+ regulatory T-cell function by calcineurin-dependent interleukin-2 production. *Blood* 108(1): 390–399, 2006.
- 25) Kanakry CG, Tsai HL, Bolanos-Meade J, *et al.*: Single-agent GVHD prophylaxis with posttransplantation cyclophosphamide after myeloablative, HLA-matched BMT for AML, ALL, and MDS. *Blood* 124(25): 3817–3827, 2014.
- 26) Asakura S, Hashimoto D, Takashima S, *et al.*: Alloantigen expression on non-hematopoietic cells reduces graft-versus-leukemia effects in mice. *J Clin Invest* 120(7): 2370–2378, 2010.

## Current status and future perspective of hematopoietic stem cell transplantation

Takanori Teshima<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Hematology, Hokkaido University

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) cures various hematologic diseases such as leukemia. History of development of HSCT could be categorized as “age of dawning” in 1970’s, “age of expansion” in 1990’s, when various transplant procedures were developed and indication of HSCT was expanded by the use of alternative sources of hematopoietic stem cells, establishment of bone marrow and cord blood banking, and the current “age of maturation”, when HLA barrier is breaking and quality of life posttransplant is improved. During such a long history of refinement of HSCT, long-term assumption of the requirements for successful HSCT, including HLA matching between the donor and host, myeloablative conditioning regimen, posttransplant immunosuppression, and germ-free environment has been revisited. In this issue, current status and future perspective of HSCT is discussed.

**Key Words:** graft-versus-host disease, haploidentical transplantation, cyclophosphamide, antithymocyte globulin, calcineurin inhibitor

## HLA の基礎知識 1

小川 公明<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 特定非営利活動法人 白血病研究基金を育てる会

HLA は、ヒトの主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) として、1900 年代中ごろに発見されましたが、免疫応答を制御する重要な要素でありヒトの遺伝子の中で最も多型に富むことが知られています。今回は HLA 抗原の多型性および、HLA 抗原と遺伝子の解説を行います。

キーワード：生態防御，免疫，主要組織適合遺伝子複合体，HLA

### はじめに

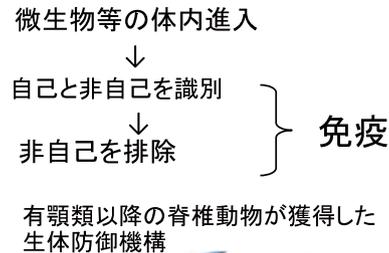
これまで、HLA 検査技術の習得は、主に習熟したラボへの研修で行われてきました。しかし、近隣に HLA 検査に習熟したラボが存在しない場合や HLA 検査について相談する相手が見つからない場合があることから、日本組織適合性学会では、初心者向けの講習会を過去 2 回実施してきました。これから HLA 検査を始めようとする会員と学会が認定する HLA 検査技術者の資格認定未取得者を対象に、HLA に関する基礎知識をまとめてみました。ベテランの方々には、釈迦に説法となることをお許し下さい。今後 3 回に分けて解説する予定です。

### 1. 免疫と HLA 発見の歴史

HLA はなぜ存在するのか、なぜ必要なのかを考える際、免疫（疫を免がれる）の仕組みを理解することが重要な基礎となります。そして、免疫は自己・非自己を如何に認識して、非自己を排除していくのが基本になります。自然界には様々な生存を脅かす微生物、ウイルス、カビ、毒素等が存在します。それらと闘い生存を維持する仕組みを生体防御と呼びます。その生体防御の中心が免疫能力であり、それを担っているのがリンパ球、単球

等の免疫担当細胞です。免疫能力を獲得したのは顎を有する脊椎動物からだと考えられています。顎を有する事により捕食活動の幅が広がりますが、一方で獲物の堅い骨などが口に刺さり、微生物が体内に侵入する可能性が拡大します。この時、侵入した微生物を非自己と認識して排除し、身を守ることが出来た動物が生き残って現在に繋がり、身を守ることが出来なかった動物は絶滅したと考えられます (図 1)。

植物はポリフェノール等の抗菌性タンパク質、抗病害虫性タンパク質などを分泌して雑菌・カビ・害虫 等と闘い身を守っています。植物には、自己・非自己の認識・



4.5億年前に獲得

図 1 生態防御である免疫  
顎のある脊椎動物以降の進化において免疫能力は引き継がれている。

受付日：2016 年 6 月 30 日，受理日：2016 年 8 月 2 日

代表者連絡先：小川 公明 〒105-0013 東京都港区浜松町 1-10-14 住友東新橋ビル 3 号館 5 階 特定非営利活動法人 白血病研究基金を育てる会

TEL: 03-5776-0048 FAX: 03-5776-0046 E-mail: kimiakiogawa@flrf.gr.jp

区別が有りませんので接ぎ木（移植）が可能です。しかも、カボチャとキュウリや、カボチャとスイカの様に種が違っていても一体化（異種移植）してしまいます。自己、非自己の認識については、1936年のSnellによるマウスを用いた重要な研究があります。純系マウス（遺伝的要素が均一の血統）の皮膚移植研究から、同系間での皮膚移植は生着するが、異系間での皮膚移植は拒絶されることが分かりました。そこで、A系とB系を交配させて得られた子供についてみると、子供はA系、B系の要素を共に持ち合わせているため、どちらの系から移植された皮膚でも自己と認識しますので、移植片が生着します。しかし、この子供の皮膚をA系に皮膚移植した場合には、子供が有するB系の要素がA系によって認識されること、B系に皮膚移植した場合には、子供の有するA系の要素が、B系によって認識されること、つまりそれぞれ非自己と認識され、結果として拒絶される事が観察されました。このことから、自己・非自己の認識は系統、つまり遺伝的背景によって決まること、移植片の拒絶や生着には方向性が存在することが分かりました（図2）。この自己・非自己を決める遺伝子群を主要組織適合遺伝子複合体（major histocompatibility complex ; MHC）と呼びます。その後、1950年代にフランスのDaussetは、頻りに輸血を受けた患者の血清中に他人の白血球を凝集させる抗体を発見しました。この抗体が認識する抗原は、その発見の由来から、ヒト白血球抗原（Human Leukocyte Antigen）と命名されました。現在はHLAと略されています。このような抗体はその後、経産婦や妊婦からも発見され、抗体を用いた血清学的検査であるリンパ球細胞障害性試験（lymphocyte cytotoxicity test; LCT）が1960年代にテラサキ（Paul Ichiro Tera-

saki）により考案されました。このことも相まって、多くの研究者がHLA研究に参加したことによりHLAの詳細が分かって来ました。このような研究から、ヒトの自己・非自己を決める因子がHLAであることが分かりました。まさにヒトのMHCがHLAでした（図3）。

## 2. HLA 抗原（分子）の種類

HLAには、非常に多くの種類の抗原があります<sup>1)</sup>（表1）。

これらのHLA抗原は、1960年代から1990年代までHLA検査の主流であったテラサキの考案したLCT法を用いた血清学的検査により細分化されたものです。HLA-A, HLA-B, HLA-Cは、リンパ球（T, Bリンパ球）を用いた血清学的検査により、解析されてきました。一方、HLA-Dは、細胞性免疫学的検査であるリンパ球混合培養（mixed lymphocyte culture; MLC）により、抗原を認識したT細胞が幼若化するかどうかで識別されたHLA遺伝子座です。その後、Bリンパ球を用いた血清学的検査により、HLA-Dとほぼ相関するHLA抗原が発見され、これがD-relatedの意味からHLA-DRと命名されました。さらに、その後もBリンパ球の検査で別のHLA抗原の遺伝子座が発見され、HLA-DQと命名されました。

これらに対して、HLA-DPは、MLCにより感作された免疫記憶細胞（T細胞）をストックしておき、これを再度被検体と培養を行うPLT検査（primed lymphocyte test）により識別される新たな遺伝子座として解析されてきました。

DNAタイピングが標準となった現在では、HLA-Dを決定する遺伝子座は存在せず、おもにHLA-DR（>HLA-

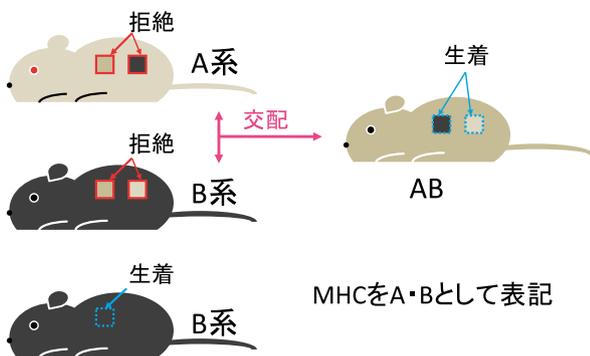


図2 スネルの移植法則  
純系マウスを用いた皮膚移植の実験により確認された。

### 自己・非自己を規定（1936・スネル）

- 主要組織適合遺伝子複合体
- MHC: Major Histocompatibility Complex

### 白血球の凝集反応として発見（1952・ドセー）

- ヒト白血球抗原
- HLA: Human Leukocyte Antigen



### ヒトのMHCがHLA!!

図3 HLAとは  
写真はドセー。

表 1 HLA 抗原の種類

A	B		C	D	DR	DQ	DP
A1	B5	B49(21)	Cw1	Dw1	DR1	DQ1	DPw1
A2	B7	B50(21)	Cw2	Dw2	<i>DR103</i>	DQ2	DPw2
<i>A203</i>	<i>B703</i>	B51(5)	Cw3	Dw3	DR2	DQ3	DPw3
<i>A210</i>	B8	<i>B5102</i>	Cw4	Dw4	DR3	DQ4	DPw4
A3	B12	<i>B5103</i>	Cw5	Dw5	DR4	DQ5(1)	DPw5
A9	B13	B52(5)	Cw6	Dw6	DR5	DQ6(1)	DPw6
A10	B14	B53	Cw7	Dw7	DR6	DQ7(3)	
A11	B15	B54(22)	Cw8	Dw8	DR7	DQ8(3)	
A19	B16	B55(22)	Cw9(w3)	Dw9	DR8	DQ9(3)	
A23(9)	B17	B56(22)	Cw10(w3)	Dw10	DR9		
A24(9)	B18	B57(17)		Dw11(w7)	DR10		
<i>A2403</i>	B21	B58(17)		Dw12	DR11(5)		
A25(10)	B22	B59		Dw13	DR12(5)		
A26(10)	B27	B60(40)		Dw14	DR13(6)		
A28	<i>B2708</i>	B61(40)		Dw15	DR14(6)		
A29(19)	B35	B62(15)		Dw16	<i>DR1403</i>		
A30(19)	B37	B63(15)		Dw17(w7)	<i>DR1404</i>		
A31(19)	B38(16)	B64(14)		Dw18(w6)	DR15(2)		
A32(19)	B39(16)	B65(14)		Dw19(w6)	DR16(2)		
A33(19)	<i>B3901</i>	B67		Dw20	DR17(3)		
A34(10)	<i>B3902</i>	B70		Dw21	DR18(3)		
A36	B40	B71(70)		Dw22			
A43	<i>B4005</i>	B72(70)		Dw23	DR51		
A66(10)	B41	B73		Dw24	DR52		
A68(28)	B42	B75(15)		Dw25	DR53		
A69(28)	B44(12)	B76(15)		Dw26			
A74(19)	B45(12)	B77(15)					
A80	B46	B78					
	B47	B81					
	B48	B82					
		Bw4					
		Bw6					

(Nomenclature : Listing of all recognised serological and cellular HLA specificities より改変, 文献1)  
初期の段階では A 座, B 座が同一の座と考えられていたため番号の数字 (HLA 抗原名称) に重複がない。

DQ>HLA-DP) の総合的な適合度を表していたことが判りました。HLA 抗原には, w が付記された抗原が存在しますが, この w とは, 歴史的にいうと数年におきに開催される国際組織適合性ワークショップにおいて抗原特異性として暫定的に公認されたものに workshop の頭文字を付したことに由来しています。HLA 抗原の特異性が明確に確認されれば抗原名から w が省かれるルールがあり, 1991 年に日本で開催された第 11 回国際組織適合性ワークショップにおいて殆どの HLA 抗原から w が省かれました。しかし, HLA-C については, 補体 (クラス III 領域) との混同を避けるため今後も w を付記す

ることになっています。また, HLA-DP は, 他の HLA 抗原と異なり細胞性免疫学的検査で解析されてきたため, 今後も w が付記されることになっています。HLA-B 座には, Bw4 と Bw6 の 2 つの抗原特異性に w が付記されていますが, これは HLA-B 抗原を 2 分するそれぞれに共通の抗原決定基があるためです<sup>2)</sup> (表 2)。

HLA 抗原はさらに, ブロード抗原, スプリット抗原, アソシエート抗原に分けられます<sup>3)</sup> (表 3)。

たとえば, 当初に HLA-B40 と公認された HLA 抗原は, その後解析が進むと二つに分類されることが確認され, HLA-B60(40) と HLA-B61(40) と命名されました。この

HLA-B40 をブロード抗原, HLA-B60 と HLA-B61 をスプリット抗原と呼びます。アソシエート抗原とは, 特定のアリル (対立遺伝子) に対して, 特異的な HLA 抗体が見出されたことにより命名された HLA 抗原です。たとえばアリル A\*02:10 の HLA 抗原は, A2 ではなくアソシエート抗原の A210 と命名されています。現在広く行われている DNA タイピング結果から推定される HLA 抗原は, スプリット抗原, アソシエート抗原のレベルで区別できていることが臨床上有用です。HLA 抗原は, 数年におきに開催される国際組織適合性ワークショップにおいて次々に公認されてきましたが, 一度公認された HLA 抗原は, 誤りが確定しない限り削除されません。一方, 誤りが確定した場合は, その HLA 抗原は削除されその番号は欠番とされます。現在, DNA タイピングでは, 新しいアリルの公認数が日々増えていますが,

表 2 Bw4 と Bw6 に関連する HLA 抗原

Bw4	B5, B5102, B5103, B13, B17, B27, B37, B38(16), B44(12), B47, B49(21), B51(5), B52(5), B53, B57(17), B58(17), B59, B63(15), B77(15) A9, A23(9), A24(9), A2403, A25(10), A32(19)
Bw6	B7, B703, B8, B14, B18, B22, B2708, B35, B39(16), B3901, B3902, B40, B4005, B41, B42, B45(12), B46, B48, B50(21), B54(22), B55(22), B56(22), B60(40), B61(40), B62(15), B64(14), B65(14), B67, B70, B71(70), B72(70), B73, B75(15), B76(15), B78, B81, B82

(Nomenclature : Bw4 and Bw6 associated specificities より改変, 文献 2)  
Bw4 には, A 座の一部抗原も関連している。

HLA 抗原の種類は, ヒトがヒトの抗原により免疫されたことで生じた反応の識別・分類であるとも言え, この表 1 に示したもので確定されています。

### 3. HLA 抗原 (分子) の構造

HLA 抗原の分子はアミノ酸が繋がって構成されており, HLA-A, B, C のクラス I 分子は, 45 kDa の  $\alpha$  鎖 (H 鎖) と  $\beta 2$  ミクログロブリンとで構成され,  $\alpha$  鎖には,  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$  の 3 個のドメインが存在します。これに対して, HLA-DR, DQ, DP のクラス II 分子は, 34 kDa の  $\alpha$  鎖と 28 kDa の  $\beta$  鎖とで構成され, それぞれ  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  および  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  のドメインが存在し, クラス I 分子とは異なった分子構造をしています。しかし, クラス I 分子もクラス II 分子も共に細胞膜の反対側の部分に溝があり, そこにクラス I 分子では内因性ペプチドが挟まり, クラス II 分子には外因性ペプチドが挟まっています。クラス I 分子の特異性を決めるアミノ酸配列の違いはこの溝を構成する  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ドメインに集中しています。また, クラス II 分子の特異性を決めるアミノ酸配列の違いは  $\beta 1$  ドメインに集中しています<sup>4)</sup> (図 4)。

HLA 分子の溝とそこに挟まるペプチドとの関係は, 上から見た場合には, ホットドックのようにパン (HLA) の溝にソーセイジ (ペプチド) が挟まった様な形を呈しています。クラス I 分子は, 生体内ではその溝に自己由来のペプチドを挟んでいる場合ならば免疫反応は起こら

表 3 ブロード抗原, スプリット抗原, アソシエート抗原

ブロード抗原	スプリット抗原, アソシエート抗原 (#)	ブロード抗原	スプリット抗原, アソシエート抗原 (#)
A2	A203#, A210#	B39	B3901#, B3902#
A9	A23, A24, A2403#	B40	B60, B61
A10	A25, A26, A34, A66	B51	B5101#, B5103#
A19	A29, A30, A31, A32, A33, A74	B70	B71, B72
A24	A2403#	Cw3	Cw9, Cw10
A28	A68, A69	DR1	DR103#
B5	B51, B52, B5102#, B5103#	DR2	DR15, DR16
B7	B703#	DR3	DR17, DR18
B12	B44, B45	DR5	DR11, DR12
B14	B64, B65	DR6	DR13, DR14, DR1403#, DR1404#
B15	B62, B63, B75, B76, B77	DR14	DR1403#, DR1404#
B16	B38, B39, B3901#, B3902#	DQ1	DQ5, DQ6
B17	B57, B58	DQ3	DQ7, DQ8, DQ9
B21	B49, B50, B4005#	Dw6	Dw18, Dw19
B22	B54, B55, B56	Dw7	Dw11, Dw17
B27	B2708#		

(Nomenclature : Broad, Splits and Associated Antigens より改変, 文献 3)

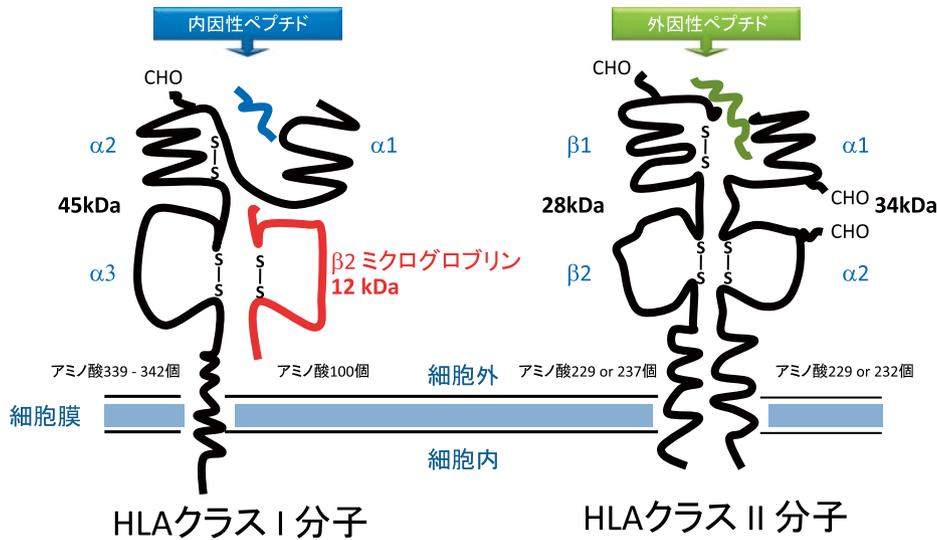


図4 HLA 分子模式図 (移植・輸血検査学 図2.1より改変, 文献4)  
HLA 分子は細胞膜を貫通している。

HLAクラス I 分子によるペプチド抗原提示

HLAクラス II 分子によるペプチド抗原提示

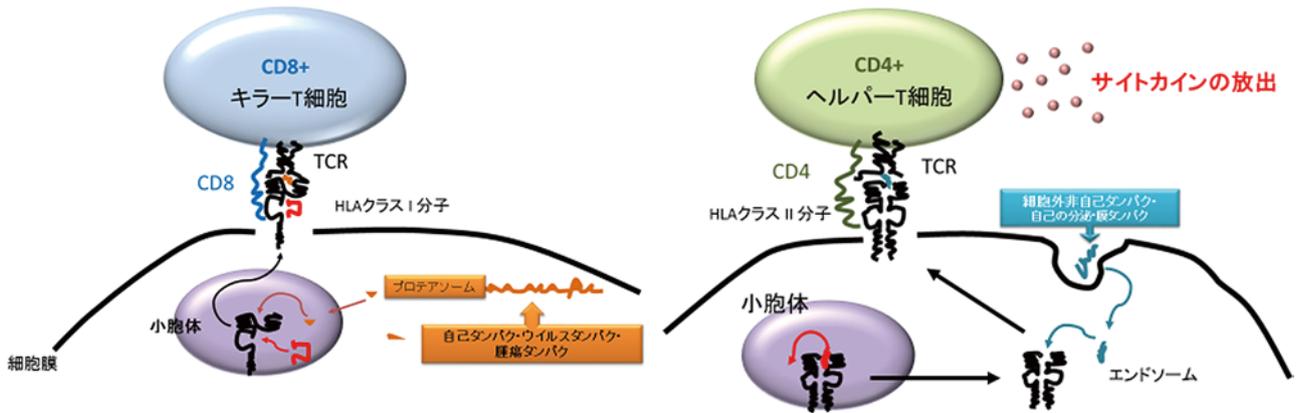


図5 HLA 分子の抗原提示 (移植・輸血検査学 図2.6, 図2.13, 図2.14より改変, 文献5, 6)  
HLA クラス I 分子は全ての有核細胞, HLA クラス II 分子は主に抗原提示細胞に発現している。

ないのですが、細胞ががん化したりウイルスに感染したりした場合には、がん特有のペプチドや、ウイルス特有のペプチドを挟み込みキラー T 細胞 (CD8 陽性 T 細胞) により、非自己に占領された細胞と判断されて、その細胞が殺されます。いわば、個 (細胞) を犠牲にして全体 (個体) を守る戦略です。この仕組みはがんワクチン療法にも応用されています。クラス II 分子は、細胞外に存在する様々な非自由由来のペプチドを挟み込み、これがヘルパー T 細胞 (CD4 陽性 T 細胞) に認識されることで情報を伝えて免疫を活性化します。そして、その非自己に対する攻撃力である抗体等を産生して生命を維持

します。このように HLA 分子は直接的に免疫機能に関与しています<sup>5,6)</sup> (図5)。

4. HLA 遺伝子領域の構成 (種類と構造)

HLA 抗原を決定する遺伝子は、第6染色体の短腕部の非常に狭い領域に存在します。遺伝子の存在する場所 (位置, 領域) を座 (locus) と呼びます。A 座, B 座, C 座の遺伝子によって作られる HLA 抗原 (分子) をクラス I 抗原 (分子) と呼び、核を有する全ての細胞および血小板の細胞膜に発現しています。これに対して、DR 座, DQ 座, DP 座の遺伝子によって作られる HLA

抗原（分子）をクラス II 抗原（分子）と呼び、免疫の主導権を握る抗原提示細胞（単球，マクロファージ，樹状細胞，B 細胞）に局限して発現しています。一方，クラス I 抗原（分子）の遺伝子が存在するクラス I 領域と，クラス II 抗原（分子）の遺伝子が存在するクラス II 領域の間をクラス III 領域と呼び，ここには補体等を規定する遺伝子が存在します（図 6）。

つぎに，HLA クラス I 分子と遺伝子構造を示します<sup>7)</sup>（図 7）。

HLA クラス I 分子の多型性（アミノ酸配列の違い）は， $\alpha 1$  ドメイン， $\alpha 2$  ドメインに集中しているため，DNA タイピングではエクソン 2，3 の情報が重要になります。HLA クラス II 分子と遺伝子構造を示

します<sup>8)</sup>（図 8）。

HLA クラス II 分子の多型性は，主に  $\beta 1$  ドメインに存在しますが， $\alpha 1$  ドメインにも若干の多型性が知られて

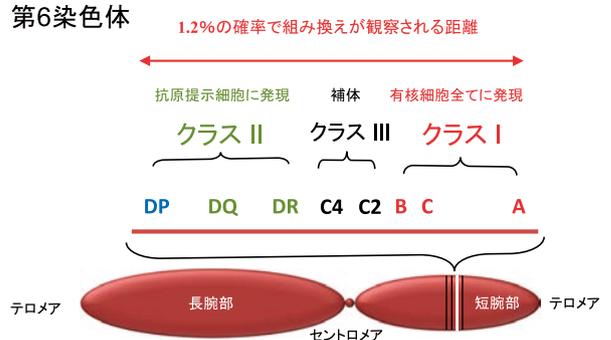


図 6 HLA 領域の遺伝子地図

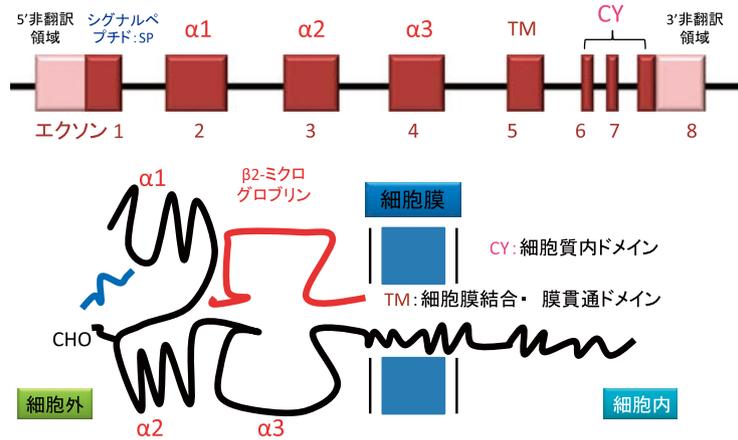


図 7 HLA クラス I 分子構造と遺伝子構造（移植・輸血検査学 図 2.3 より改変，文献 7）  
 $\beta 2$  ミクログロブリンには，遺伝的多型性がない。

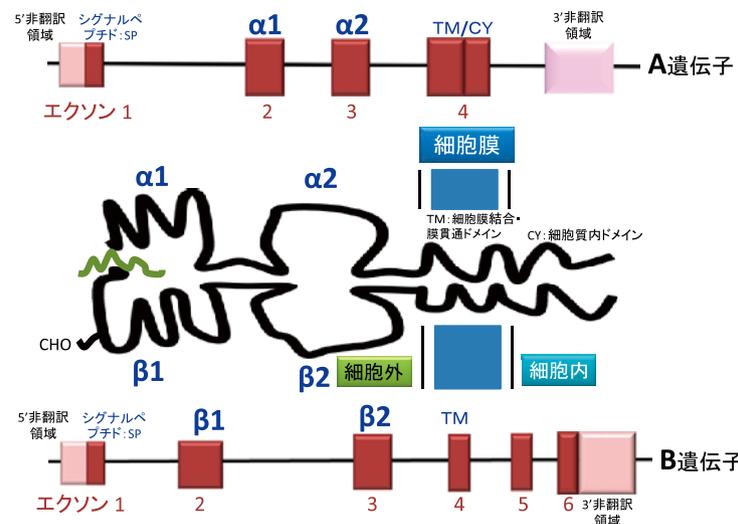


図 8 HLA クラス II 分子構造と遺伝子構造（移植・輸血検査学 図 2.10 より改変，文献 8）

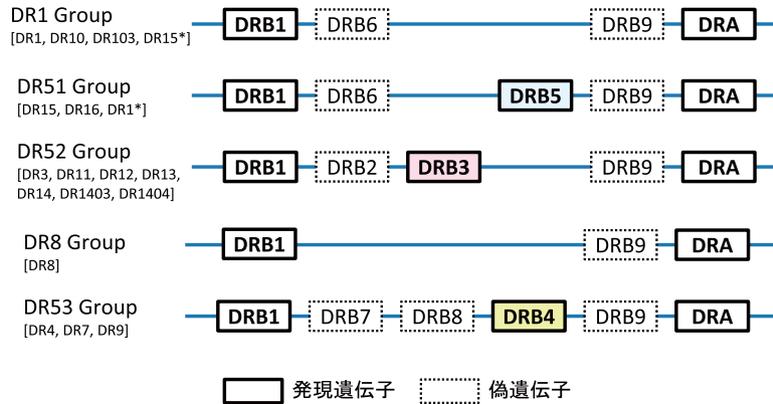


図9 HLA-DR 領域の遺伝子地図 (移植・輸血検査学 図 2.12 より改変, 文献7)

います。HLA クラス II 分子の  $\beta$  鎖を支配する遺伝子を B 遺伝子,  $\alpha$  鎖を支配する遺伝子を A 遺伝子と呼びます。表 1 に記載された, DR1 ~ DR18, DQ1 ~ DQ9, DPw1 ~ DPw6 の特異性を決めているのは主に  $\beta$  鎖ですが,  $\beta$  鎖は複数存在しており, なかでも生物学的に重要な鎖を 1 としています。つまり, DNA タイピングでは, DRB1, DQB1, DPB1 をタイピングすることにより, 前述の HLA 抗原の特異性を決めることができます。

DR 座はさらに複雑です。表 1 の DR の下段に DR51, DR52, DR53 と番号が飛んだ DR 抗原が記載されていますが, DR51 は DRB5 遺伝子, DR52 は DRB3 遺伝子, DR53 は DRB4 遺伝子にそれぞれ支配されています。また, それぞれが一部の DR 抗原と強く連鎖しています。たとえば, DR4 と DR13 を保有しているヒトは, DR52 と DR53 も保有しています<sup>7)</sup> (図9)。

(次号へつづく)

#### 文献

1) Nomenclature: Listing of all recognized serological and cellular HLA specificities. [http://hla.alleles.org/antigens/recognised\\_serology.html](http://hla.alleles.org/antigens/recognised_serology.html)

- 2) Nomenclature: Bw4 and Bw6 associated specificities. <http://hla.alleles.org/antigens/bw46.html>
- 3) Nomenclature: Broad, Splits and Associated Antigens. [http://hla.alleles.org/antigens/broads\\_splits.html](http://hla.alleles.org/antigens/broads_splits.html)
- 4) 大谷文雄: HLA 分子の種類と構造. 移植・輸血検査学 (猪子英俊, 笹月健彦, 十字猛夫 監修, 大谷文雄, 木村彰方, 小林賢, 鈴木洋司, 徳永勝士 編), 講談社, p. 24-25, 2004.
- 5) 椎名隆: HLA クラス I 分子の発現様式と機能. 移植・輸血検査学 (猪子英俊, 笹月健彦, 十字猛夫 監修, 大谷文雄, 木村彰方, 小林賢, 鈴木洋司, 徳永勝士 編), 講談社, p. 38-39, 2004.
- 6) 西村泰治: HLA クラス II 分子の発現様式と機能. 移植・輸血検査学 (猪子英俊, 笹月健彦, 十字猛夫 監修, 大谷文雄, 木村彰方, 小林賢, 鈴木洋司, 徳永勝士 編), 講談社, p. 50-53, 2004.
- 7) 椎名隆: HLA クラス I 遺伝子群の構造. 移植・輸血検査学 (猪子英俊, 笹月健彦, 十字猛夫 監修, 大谷文雄, 木村彰方, 小林賢, 鈴木洋司, 徳永勝士 編), 講談社, p. 34-36, 2004.
- 8) 西村泰治: HLA クラス II 遺伝子群の構造. 移植・輸血検査学 (猪子英俊, 笹月健彦, 十字猛夫 監修, 大谷文雄, 木村彰方, 小林賢, 鈴木洋司, 徳永勝士 編), 講談社, p. 45-50, 2004.

## Basic knowledge 1 of HLA

Kimiaki Ogawa<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Friends of Leukemia Research Fund (NPO)

HLA is a major histocompatibility complex in human. HLA was discovered at the mid-1900s and recognized as an important element of immune response reaction. HLA contains the most polymorphic genes in humans. I will comment on polymorphisms in the HLA antigen and HLA genes.

**Key Words:** biological defense, immunity, major histocompatibility complex, HLA

## Terasaki 先生との思い出

南カリフォルニア大学  
岩城 裕一

先生とは1975年からの関係なので、実に40年以上の長きにわたります。特に、1977年から1989年までの12年間は、直属の師匠として、本当にいろいろなことを教えていただきました。仕事では常に怖い存在であり続けていましたが、仕事を離れると気さくな先生であり、多く語り合ったことは、今でも私の記憶に鮮明に焼きついています。

私がPittsburgh大学に職を得るとき、Terasaki先生は、当時の移植学会のオピニオンリーダーであったSir Peter Morris, Dr. Tony Monaco, Dr. Oscar Salvatierra, Dr. Jon van RoodやDr. Gerhard Opelzなどを束ねて私のために就職応援団を作ってくださいました。生まれ育ち、医学教育を受けたのも日本という私が、当時39歳の若さでアメリカでの大学教授のポジションを得、今もアメリカで現役で頑張っているのは、あの時代のリーダー達のEndorseを取りまとめてくださったTerasaki先生のお陰である事はいつも自覚しています。

先生とはたくさんの旅、特に日本への旅をご一緒し、多くの会議にも同席させていただきました。先生が残された素晴らしい業績については、多くの方々から紹介されると思いますので、私は旅や会議でのエピソードを紹介して先生の人となりを変えて思い出してみたいと思います。

### エピソード1 下戸

Terasaki先生は全くお酒を飲めませんでした。会食ではどんな料理が出て飲み物はコココーラと相場は決まっていました。日本での宴会などでは多くの方が酒を注ぎにくるので、はじめは難儀していたようでした。ある日、これからは酒宴では必ず自分の隣に座るようにという先生の指示を受け、早速その晩の宴会から実行。

Terasaki先生は「ドクター岩城は私の隣に座らせてください」と一言。本来はホストが座席を決めるのですが、Terasaki先生のご意向とあれば仕方あるまい。先生は、酒注ぎを受けるたびに「私の代わりに岩城が飲みますので彼に注いで下さい」そして一言、「これで、二人ともハッピーです」

### エピソード2 日本での学会発表

渡米して間もない1977年、Terasaki先生が「日本の学会で私が英語で講演したら、どのくらいの参加者が理解してくれるだろうか？」と尋ねました。私は自分の英語力を鑑みて、「多分10%くら



いではないでしょうか」と答えた。すると先生は間髪をいれずに「では私が、日本語で発表したらどのくらいの方が分かりますか?」「ほぼ100%でしょう」と彼は「それでは、私は日本語で発表します。この英語の原稿を日本語にしてください」と。

当時はまだ、ワープロも、日本語に変換可能なコンピューターもない時代。30ページにもなった私の手書きの日本語訳を肌身離さず、幾度も練習していた Terasaki 先生を思い出すと涙が出てきます。当時の先生の日本語レベルは初級から中級。免疫は“men-eki”とハイフンを入れなければ“メネキ”と読んでしまいます。

その後、Terasaki 先生の日本語力は飛躍的に向上し、素直で丁寧な日本語を話していたことを付け加えておきます。

### エピソード3 日本語でのミーティング

Terasaki ラボでは、毎週月曜日に Terasaki 先生の部屋でランチを食べながらラボミーティングが開かれ、ポスドクやリサーチフェローが順番に研究成果を発表しておりました。当然、英語での発表です。その頃は、日本から留学研究者が常に数人おり、日本語訛りのつたない英語で皆頑張ってなんとか発表していました。ある時、突然、Terasaki 先生が、「自分も日本語を磨きたいので、これからは日本語でのラボミーティングも始めたいがみんな賛成してくれるだろうか」とのこと。ボスの希望は命令なので、その後速やかに日本語ラボミーティングが追加〔毎月〕になったことは自明。某フェローが日本語で研究成果を発表した際、

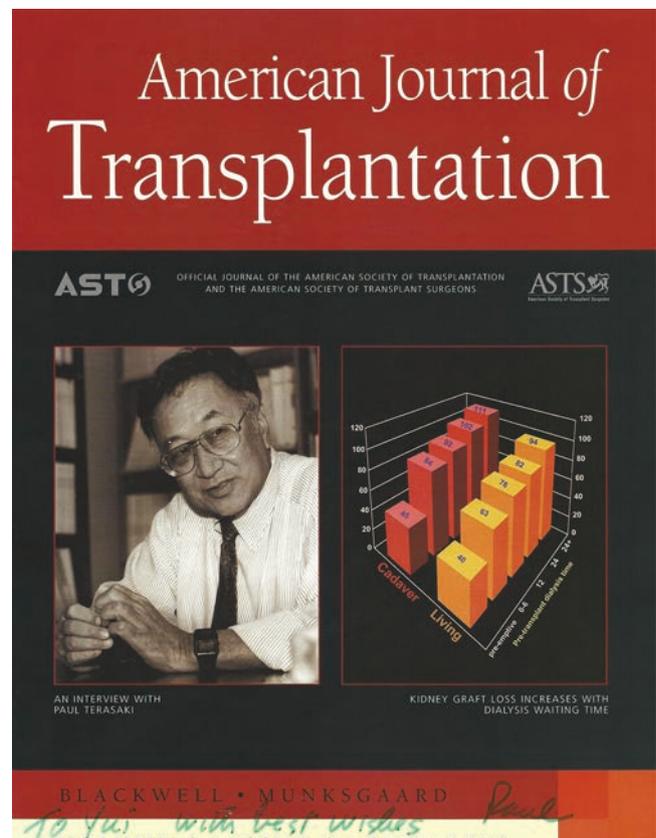
Terasaki 先生：「君は凄いことをしているんだね。

どうしてこんな大切なデータを論文にしないのですか？」

某フェロー：「今まで1年間発表してきた俺の英語が全く通じていなかったことが、本日、証明されました……。」

### エピソード4 日本移植学会の一般演題への応募

Terasaki 先生は毎年のように日本の色々な学会に招待をされていました。主に移植領域の学会が多かったのですが、外科学会、輸血学会、組織適合性学会、時には聞いたことのない学会にいたるまでです。毎年招かれていても決して同じ話をせず、常に新しいデータや提言を発信していましたので、ご自身も日本の学会で発表することを楽しみにしてい



たようでした。

ある時、どこの学会からも声がかからない年がありました。

Terasaki 先生：「今年こそ、発表したいデータがあるのに呼ばれないのはどうしてか？」

私：「わかりません」

Terasaki 先生「わかった、じゃあ一般演題で出そう」

私、「先生、一般演題の持ち時間は7分ですよ」

Terasaki 先生「7分もあれば大丈夫」

私、「では応募しましょう」

Terasaki 先生が英語で一般演題に応募したことは主催者側には衝撃だったようです。先生の演題発表は“特別に”25分にも延長され、大会場での発表とされたのです。この演題発表の後、なかなか拍手の鳴り止まない Standing Ovation を受けました。先生のこの行動こそが、学会の本質を突いていました。

### **エピソード 5 赤だしぶっかけご飯**

大阪の有名な料亭での会食のときでした。先方は6人、Terasaki 先生と私が上座です。宴もおわり近くなり、メのご飯と赤だし椀が出されたとき、先生は赤だしをご飯にかけて、「これが一番美味しいですよ」

それで、参加者全員も同じように赤だしぶっかけご飯をすすりながら、「これが一番美味しいですよね～」そして誰かが小さな声で、「Terasaki 先生は合理的ですね」

### **エピソード 6 先生はいつまで働くのですか**

ある時、先生に「どのくらいまでお仕事をなされる予定ですか？」とくだらない質問をしてしまったことがあった。

Terasaki 先生は「私の父は90歳を超えているけれどまだ現役ですよ」

これには参った。

Terasaki 先生。

先生は本当に最後まで仕事をしていましたね。でも90歳まで生きなかったのは約束が違うよ……天国でも赤だしぶっかけご飯を食べましたか。でもコーラご飯はまだですよ。

沢山のことを教えていただきました。本当にありがとうございました。ゆっくりお休みください。

合掌

## Terasaki 先生を偲んで

日本血液製剤機構 中央研究所  
協坂 明美

2016年1月25日、Paul Ichiro Terasaki 先生は御自宅で逝去されました。86歳でした。

Terasaki 先生は2年前から自宅で透析を受けてました。腎移植に生涯を捧げた Terasaki 先生がその果実を自分自身で味わえなかったのは非常に残念に思うと同時に、「真の研究者は自分が心血を注いできた研究した病気で亡くなる」との言葉を思い出し、Terasaki 先生が一流の研究者であった証なのだと自らを納得させました。

私が最後に Terasaki 先生にお会いしたのは2年前ロサンゼルス (LA) で開かれた Terasaki Festschrift (Terasaki 記念講演会) でした。Sir Walter Bodmer, Thomas Starzl 等、Terasaki 先生と交流の深かった400人以上の関係者が集い3日間に渡って会が開かれました。光栄にも私も招待されました。LAは30年前私達家族が過ごした思い出の場所なので、センチメンタルジャーニー宜しく孫を含めて一家6人で参加しました。Terasaki 先生は既に透析を受けられていましたが、主宰者として自身で講演をされ、招待者と歓談するなどお元気に見えました。この時 Terasaki 先生を囲んで家族全員で撮った写真が今は私の宝物になっています (写真1)。

Terasaki 先生は日系二世として、1929年LA近郊のBoyle Heightsに生まれました。第2次大戦中の3年間を連邦政府の指示により家族と一緒にアリゾナ州のGila River キャンプに強制収容されました (Regan 大統領は1988年この収容は誤りであったと日系人に正式に謝罪し、賠償しています)。

大戦後、1948年、Terasaki 先生はカリフォルニア大学ロサンゼルス校 (UCLA) に入学し、動物学で学士号 (1950年)、



写真1

修士号 (1952 年), 博士号 (1956 年) を取得しました。その後, ノーベル賞を受賞者で移植学の創始者と称されるロンドン大学 Peter Medawar 教授の下でポスドクフェローシップを受けました。この留学で Terasaki 先生は移植学をライフワークとし, その業績で 1996 年、国際移植学会から恩師の名を冠した Peter Medawar 賞を受賞しました。帰国後は UCLA 医学部外科学教授となり, 1998 年の退職までの 50 年間, 一貫して UCLA で組織適合性と移植の研究をされました。この間, Terasaki 先生は移植に関する幾つもの大きな業績を挙げています。

その第一は何といっても microcytotoxicity test の開発です。1964 年, Nature 誌に microdroplet assay として発表されています。この方法はわずか 1 uL の血清で 500 個のリンパ球を標的とする細胞障害性試験で, 従来の試験法の 100 倍も感度が良いことから, NIH の標準法に採用され, 世界中で HLA 検査に使われました。誰もが Terasaki tray と呼ぶ microcytotoxicity test 用 60 穴 plate の特許を取らなかった事も世界中で汎用された大きな理由です。

第二は HLA 抗原系の解明と検査の標準化です。この為に Terasaki 先生はいわゆる組織適合性ワークショップの積極的な推進と Cell Exchange Program そして HLA 検査用試薬の供給です。

- a) 組織適合性ワークショップ: Microcytotoxicity test の開発によって限りあるヒト HLA 抗血清を研究者間で交換が可能となり, 世界中の研究者がいわゆる国際組織適合性ワークショップに参加して複雑な HLA 抗原系を共同で解明する事が出来ました。国際組織適合性ワークショップは 2~4 年に一度開催され, UCLA はその中心ラボでした, Terasaki 先生自身も 1970 年 (第 4 回), 1980 年 (第 8 回) の 2 度ワークショップを主催しています。国際ワークショップの他, アジアオセアニアあるいは日本国内といった地域ワークショップも頻りに開催され, Terasaki 研究室は積極的にこれに参加してくれました。私は 1986 年, 第 2 回アジアオセアニアワークショップ (相沢 幹会長) の事務局を担当し Terasaki 先生に大変協力して頂きました。
- b) Cell Exchange Program: 腎臓の提供者と受容者間の組織適合性を合わせる為には何処の施設でも正しく型決め出来ること, 即ち HLA typing の標準化は極めて重要です。この為 1974 年, Terasaki 先生は Cell Exchange Program を始められました。毎月一度 UCLA から Beckman tube に入った 4 種類のリンパ球が世界の 200 研究室に送付され, 各研究室では自分たちの試薬を用いて HLA 型を決定し, 答を送り返しました。この program によって研究室の力量が世界中に知れ渡ることから私も非常に緊張して検査した思い出があります。
- c) HLA 検査用試薬の供給: 1984 年, Terasaki 先生は One Lambda 社を設立しました。複雑な HLA 検査には非常に沢山のヒト抗血清が必要で, 殆どの検査室では試薬の調達が出来ません。そんな中 One Lambda 社は必要な抗血清を分注した HLA typing tray を供給販売し, 世界中のどこでも正しい検査が出来る様になりました。

Terasaki 先生の第三の業績は Collins 博士と一緒に腎臓保存液を開発した事です。これにより摘出後 72 時間腎臓の保存が可能となりました。これは後に摘出腎を 6 抗原適合, つまり HLA-A, B, -DR の 6 個 HLA 抗原が適合した best 組み合わせの患者に送付可能となりました。1987 年から 2013 年の間に 26,800 件の HLA 適合間の腎移植が行われ, 良好な移植成績を挙げました。

Terasaki 先生の第四の業績は UCLA 腎移植成績登録の設立です。これは後に UNOS (全米臓器調達と移植ネットワーク) に引き継がれ, 全米の移植データベースとなり, 移植の成否を決定する要因の解析が出来る様になりました。Terasaki 先生は登録データを 1985 年から Clinical Kidney Transplant として毎年刊行し, 公開しています。

この様に Terasaki 先生は基礎から臨床まで移植全般に渡る貢献をしました。この為 Terasaki 先生は UCLA の大学人を紹介するホームページに「Paul Terasaki 100 万人に第 2 の人生を与えた」と紹介されています (写真 2)。

また UNOS のホームページでは「臓器移植について考える時, ほとんどの人は, 移植手術そのものか, あるいはそれを支える治療を思い描きますが, 成否に最も大きな影響を与えるのは組織適合性で, これが Terasaki 先生の業績なのである」と述べられています。

先述の如く, 1984 年, Terasaki 先生は One Lambda 社を設立し HLA typing tray を供給販売する事で世界中のどこでも

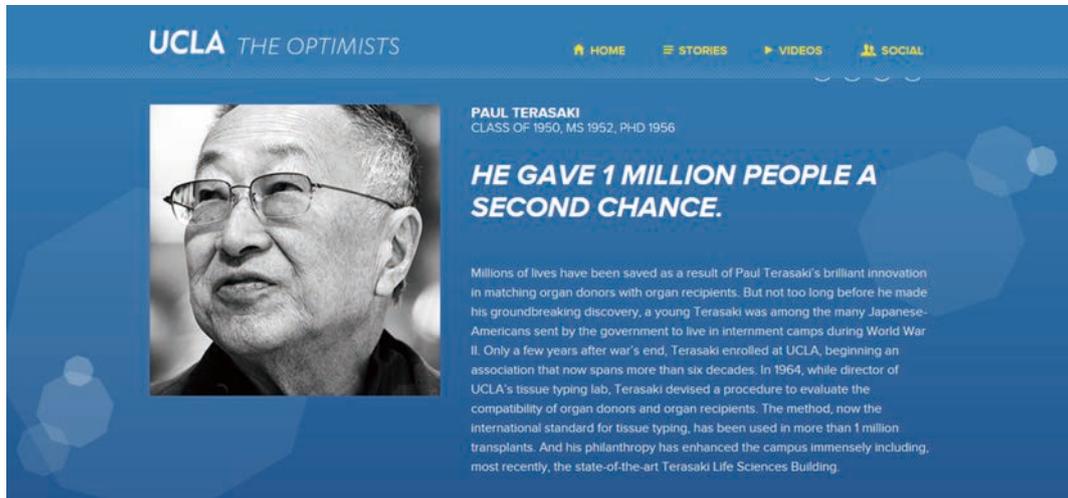


写真 2 <http://www.ucla.edu/optimists/biographies/terasaki>

正しい検査が出来る様になりました。これは先述の HLA typing の標準化に貢献したのですが、Terasaki 先生はこれで巨額の利潤をあげ、一時誤解を生みました。私は丁度 One Lambda 社の設立時に留学していたものですから、大学人が商売することに強い違和感を覚えました。Terasaki 先生はこれに対して「良い研究と言うものは人の役に立つ。人に役に立つものは金を生む。つまり良い研究は金を生む」と言われました。One Lambda 社のおかげでラボの研究費は潤沢となり、Terasaki 先生は Grant に依存する事なく自由に研究が出来て良かったと述懐しています。One Lambda 社は後に Thermo Fiscer Scientific に売却され、後述の様に売却金の殆どを UCLA に寄付しています。

これとは裏腹に、Terasaki 先生の日常生活は非常に質素で、研究室の luncheon seminar ではいつもコーラとスナックを昼食に食べていました。また教授でありながら車は当時燃費が最高といわれたホンダ CRX でした。Terasaki 先生は非常にユニークな発想をする人で、車通勤者の殆どは一人なのだから一人乗りの車を作り、渋滞を緩和すべきだが持論でした。

Terasaki 先生はヒトマネが嫌いで original な研究を大事にしました。多くの研究者は深い考えもなく流行の研究をしたがる。これは最初に始めた人の名声をたかめるだけである。研究テーマはじっくり考えた方がよい。またそれを正しくする以上に、正しい事をする事が大事である (Do right thing is more important than do it right) と教えて頂きました。

私は 1983 年から 1985 年の 3 年弱を UCLA Terasaki 教授の下で勉強しました。日本の大学の小さな講座で研究していた私は、Terasaki 研究室では 200 人もの人が働いているのに先ず驚きました。アメリカと言えどもこの規模は尋常ではないらしく、Terasaki 先生は、「私の全ては UCLA に負っている。UCLA は私に組織適合性の研究開発を行う大きな機会を与えてくれた。他の多くの大学では、私はこれ程自由にさせてくれる研究室を持つことは出来なかったでしょう」と述べています。Terasaki 先生は UCLA に対する思いは特別で、One Lambda 社の利潤・売却金 5800 万ドルを UCLA に寄贈しました。UCLA はこの寄付金で 2010 年、最新の生命科学を研究する Terasaki Life Sciences Building を建て先生を顕彰しました。また 2012 年に大学人として最高の荣誉である UCLA メダルを授与しました。

Terasaki 先生は日系アメリカ人社会においても非常に活躍され、国立日系米人博物館、日系米人文化共同センター、および日米協議会と深く関りを持っていました。彼はまた、日本へ留学する何人もの学生に費用を支援しております。

この様に Terasaki 先生は研究で得たお金を殆ど全てを大学と日系社会に還元した篤志家でもあります。

私は 1983 年、家内、小学校入学前の長男と生後 10 か月の娘を連れての留学でした。Terasaki 先生は本当に大きな包容力で自由に研究をさせてくれ、私の人生で最も輝いた時を過ごす事が出来ました。帰国時は自宅を開放してラボ全体で送別会を催して頂きました。

Terasaki 先生は非常に心温かい人で、帰国後も学会を利用しては研究室の同門会 (UCLA Union) を開き、お互い再会を喜ぶことが出来ました。



写真3 Terasaki Life Sciences Building の前で筆者



写真4

またこれまで2度、豪華な装丁の分厚い写真集を作成し弟子達へ配布してくれました。この写真集にはTerasaki 研究室の業績と出来事が詳細に記されています。研究室出身者が万遍無く載せられており、充実した目次が付いています。編集には膨大な時間がかかったと思われ、本当に感謝せずにはおられません。本原稿もこの写真集を参照して書いたものです。

尚、Terasaki 先生のお別れ会は2016年3月6日 UCLA Royce Hall で開かれました（写真4）。

Terasaki 先生のご冥福を心よりお祈りしています。

（合掌）

## テラサキ先生との思い出

広島大学原爆放射線医科学研究所  
血液・腫瘍内科研究分野  
一戸 辰夫

巨星墜つ。テラサキ先生の訃報に接し、まさに世界中の研究者が、HLA 研究の歴史的一幕が下りたことを強く感じたに違いない。「京都に Paul が遊びにくるよ」と、佐治博夫先生からお声をかけていただき、私がテラサキ先生と初めてお会いしたのは、京都聖護院にある老舗の蕎麦屋での会食にご同席させていただいた時であったと記憶している。世界的な大学者と初対面する、ということで私はかなり緊張していたが、奥様のヒサコ様の隣にお座りになられていたテラサキ先生は、想像していたよりも大変気さくな方であった。終始ニコニコした相貌を崩されず、おいしそうに天せいろをお召し上がりになりながら（寒い季節は、ニシンそばが定番であった）、京都の街の史跡や研究のテーマについて、次から次へと新しい質問を私や佐治先生にされていたことを今でも良く覚えている。その際に、当時、佐治先生・丸屋悦子先生が立ち上げられたばかりの HLA 研究所も訪問され、京都御所周囲の眺めが良い鴨川のほとりのラボで、私も HLA 不適合造血細胞移植や HLA 抗体検査の動向について非常に有意義な discussion をさせていただいた。そもそも、無学な臨床医である私が、HLA に学術的な関心をもったのは、今から 20 年ほど前に静岡市内のある病院で経験した骨髄移植について佐治先生のご指導をいただいたことがきっかけであるが、良く考えてみれば、そのご縁を通じて、この時にテラサキ先生と直接お話しする機会を得たことは人生の中でも滅多にない僥倖であった。

その次に、先生とお会いしたのは 2003 年 9 月に軽井沢で開催された第 7 回アジア・オセアニア組織適合性ワークショップの会場である。「Evidence from prospective trials that HLA antibody precedes kidney graft rejection」というテラサキ先生の特別講演を拝聴した後、会場でご挨拶をさせていただいたところ、以前に京都で私が質問したことを非常に正確に覚えて下さっており、その後の研究の進捗状況などを詳しく尋ねていただけたことには大変感動した。その後も、国際ワークショップなどでお姿を見かけるたびに、ご挨拶を続けていたが、私が少し困った相談をしても、あの笑顔で“You can do it”と仰っていただけると、なぜかいつも心の雲が晴れ、未来が開かれるような気持ちになるのであった。

最後にお会いしたのは五条堀先生が開催された 2011 年の静岡での組織適合性学会の席である。お聞きになられた会員も多いと思うが、大会最終日の朝一番に行われた plenary lecture: 「A 100 year history of the humoral theory of transplantation」は、まさにテラサキ先生の研究の集大成とも言える名講演で、獲得免疫系は必ず細胞性免疫と液性免疫の協調によって成立していること、同種抗体の正確なモニタリングが移植医療の成績向上には必須であること、液性免疫拒絶を予防するための臨床試験を開始したことなどが主なテーマであったが、いつまでも飽くなき探究心を保ち続け、人類の医療の向上に貢献しようとするテラサキ先生の少年のような情熱をまさに肌で感じ、心の奥底から深く感動した。

テラサキ先生に直接ご指導いただいたわけでもなく、テラサキ先生が足跡を残された大きく豊かな街道のただのパッセンジャーのような立場である若輩者が、このような追悼記事を執筆して本当に良かったのか、と面映ゆい気持ちが最後まで残る。今でも何か困り事ができると、肩を上下させながらククッとお笑いになるテラサキ先生の笑顔を思い出すようにしている。常に時代の最先端テクノロジーを駆使して行われる HLA タイピングの技術を世界中の医療現場に普及させたその功績は、まさに人類への不滅の貢献である。私自身は先人の爪の先にも及ばない不学の徒であるが、次に天界（私がそこに行けたら話であるが！）でテラサキ先生にお会いできるまでに、何か新しいご報告ができるように、もうしばらく「1 μ」からどれだけ豊かな世界を広げていくことができるのか、小人なりの努力を続けていきたい。

## 「赤座達也先生を想う」追悼文

浜松医科大学名誉教授  
吉田 孝人

赤座さん、一回り若いのに早すぎるよ。

二人とも時間が作れる年齢になったのでゆっくり奥さんも入れて4人で話したいと思っていた矢先だったのに。

AY シリーズの HLA タイピング血清は名古屋で生まれた。それらによって日本人に B40 サブタイプが発見された。そのデータをもってオックスフォードで開催された第7回国際 HLA ワークショップ・カンファランス (IHWC) に出席した。世界で役立つきっかけになった。

1970年のこと、赤座さんは名古屋大学理学部修士課程で植物の DNA を研究して、愛知がんセンター病院検査部に入っていたが、私が室長だった研究所ウイルス部・免疫研究室に  $\alpha$  フェトプロテインの検出をテーマに派遣されてきた。当時、私は自家腫瘍免疫の研究をしていた。一方、1969年、ボスの伊藤洋平部長が日中共同研究班長として、台湾大学の先生方と「EB ウイルスと上咽頭癌」の研究をしていたので、私はメンバーとして加わって、上咽頭癌患者に 40-50% 自己免疫患者と同様な抗核抗体をもっていることを見つけていた。その遺伝背景が知りたくて、辻公美先生（当時、慶應大・医）のラボを訪ね HLA タイピングの Amos 法を学び、Amos 先生 (Duke Univ.) からはタイピング血清を恵与された。赤座さんは癌患者の HLA タイピングを手伝ってくれた。患者のリンパ球は抗がん剤に曝されているせいか死に安く、特にアメリカからの他民族のタイピング血清はその傾向が強く、困ってしまった。とうとう自分達で日本人の妊婦から集めることにし、二人三脚で HLA 研究が本格化した。

赤座さんは出勤前に家に近い名古屋第一赤病院に立ち寄り、日本人妊産婦の血清を頂き、抗血清を選別、だんだん



赤座達也さんと筆者

(2011年8月、記念すべき第20回日本組織適合性学会にて)

と軌道に乗せてくれた。当時骨髄移植を始めた森島康雄先生も協力して下さり、仲間が増え、東海地区 HLA 研究会が発足することになった。

彼は血清学的タイピングの結果を家に毎日持ち帰り、晩酌をしながら、パズルを解く如く判定を試みると、はっきり見えてくるということであった。その正確さは稀にみるものがあった。正に与えられた天性としか考えられなかった。彼はそれを快感としていて、タイピングすることにはまって行った。

この頃より米国 NIH の HLA タイピング法が Terasaki 法を基に流動パラフィン下で反応させる NIH 法として国際的にスタンダード化された。

赤座さんの努力で Akaza, Yoshida の頭文字を取った AY シリーズの B26.1 や B40 のサブタイプを決める抗血清が続々と集められ、1974 年から始まった日本 HLA ワークショップに参画することが出来た。1977 年、第 7 回 IHWC (W. Bodmer, Oxford) に日本人の新抗原として B40 サブタイプのデータを持って、初めて国際ワークショップに赤座さんと参画した。Dr. Kissmeyer-Nielsen (デンマーク) 司会のグループで発表、前の年に彼らがイヌイットで見っていたものと同じ物と推定された。

このワークショップではリンパ球混合培養で決めていた HLA クラス II 抗原 DR が抗血清でタイプされ、そのデータが認められ、クラス I 抗原 (A, B, C) と肩を並べ、マウスの H-2 抗原レベルにまでなり、移植、免疫応答に重要であることが示され注目を浴びた。

正に人の免疫応答の遺伝背景を知ることが容易に出来ると興奮し、「癌と自己免疫現象の関係を解く鍵になるのではないか」と確信するようになった。

一週間、オックスフォード大・クライストチャーチに滞在し、国際 HLA ワークショップ・カンファランスに出席したことは、今、非常に強く心に残っている。

主催者側の配慮で、夏休みを利用した格安の宿泊プランが組まれていた。応募したところ、クライストチャーチという古く有名なカレッジに決まり、世界からの方達と一緒に過した。赤座さんとは同室で、オックスフォード大学生になった気分で一週間、高い大きなベッドに寝て、でっかい風呂に入った。窓越しには乳牛が見え、ゆったりと川が流れ牧歌的であった。大学生が教授達と食事をする大きな食堂で朝食を毎日とった。日曜日にはコンサートが建物の中心部にある礼拝堂で催された。厳粛で優雅であった。食堂の壁には卒業生の肖像画がかかっており、かの有名なヘンリー八世を筆頭に政治家の顔が並んでいた。この様な建物の中で、チュータリング方式で教育を受けたエリート達が大英帝国を築きあげてきたのだと思うと感無量であった。他の日本人の先生方は皆ホテルに泊まれた。

抗血清は仲間との交換でしか手に入らず、まさにダイヤモンドであり、麻薬のようなものでもあった。HLA 及び関連研究は世界に仲間を作り共同研究、ワークショップで成立していた。現在各界で流行っているワークショップの源泉は正に International Histocompatibility Workshop にあった。

赤座さんは HLA にのめり込み、タイピング結果を読む心眼は世界レベルになり、AY シリーズタイピング血清は世界に仲間入りし、本格的に活躍を始めた。

1988 年には浜医大微生物学教室とハルピン医科大学克山病研究所との共同研究に加わって下さりハルピンまでチームを組んで行き、オロチオン族の HLA タイピングに成功。1991 年の横浜での第 11 回 IHWC で人類の系統樹にオロチオン族は日本人の側に位置づけられ、新しい発見となった。帰路、赤座さんが一歳の時、お母さんに連れられて父上に会いにきた奉天(瀋陽)を一目見たいと汽車の窓から覗き見していた顔が忘れられない。

1980 年後半に吉田らは人の免疫応答遺伝子を検索する目的で HLA-DR の DNA タイピングをする TMA-HPA 法を開発した。また、日本人の HLA の生化学的解析・タイピングも行った。1990 年には第 10 回日本組織適合性ワークショップ(世話人：吉田孝人・赤座達也)を浜松医大で開催した際、血清学的タイピングに初めて DNA タイピングと生化学的タイピングを取り入れ、翌 1991 年 IHWC (世話人：辻公美, 相沢幹, 笹月健彦)になだれ込んだことが懐かしく思えて

ならない。

連鎖する偶然の人生の中で、赤座さんとは愛知がんセンターで出会った。奥様を東京から迎え、東海の宝と今永一総長に称えられるほどになり、がんセンターの奨学金を頂いて、Terasaki 先生のところへ短期留学し、益々、HLA にのめりこんだ。私は浜松医大・微生物学講座をまかされて1974年に移ったが、赤座さんを東海から連れて行ってはいけないと今永先生に言い含められた。十字猛夫先生からは強い要請があり、ご自身の意志で名古屋を離れ、奥様のご実家の東京へ移り、日赤本社で活躍し、皆に愛され、研究会・学会、社会のためにつくされた。地下鉄の広尾駅から坂を上って赤座さんをよく訪ね交流した時のことが思い出される。

赤座さんは終始 HLA タイピングを血清学的に実施し、DNA タイピングには手を出さなかった。どうしてか？ 聞いてみたかった一つである。また、天国で会いましょう。

謹んで突然の死を悼み、心からご冥福をお祈りいたします。

## 赤座先生の思い出

東京大学大学院医学系研究科人類遺伝学分野  
徳永 勝士

初めて赤座先生にお会いしたのは、1982年に十字猛夫先生が世話人として実施した第8回日本HLAワークショップの時に、私は博士課程の学生でした。当時すでに赤座先生は、日本を代表するHLAの血清学的検査・研究（当時はまだDNAタイピングはありません）のリーダーの一人であり、先生が独力で開発された「赤座プログラム」は当時から、その後1991年に日本が主催した第11回国際組織適合性ワークショップ・会議においても、最も有用な血清学的特異性分析用のプログラムでした。私にとって「HLAの血清学」は、赤座プログラムを用いて示された血清-リンパ球反応クラスターを、参加者一同が熱心に議論することから進んできた分野でした。私自身は、その成果を遺伝学的に分析させていただいたこととなります。

私は第11回国際組織適合性ワークショップ・会議が終わった1992年より3年余り、十字猛夫先生が所長になられた日本赤十字中央血液センターにおいて研究部課長を務めました。その時すでに名古屋から東京に移り、日赤中央血液センター検査部課長を務められていた赤座先生と、いわば同僚にならせていただいたわけです。私が十字先生より受けていた指示は、遺伝子解析研究のチームを作ることです。そのために何よりも重要なのは、赤座チームの血清学的成果に基づいて私達がHLA遺伝子解析をし、新たなアレルを同定して報告することと考えました。赤座チームが見出したことと私達が解析した結果を始終やり取りし、効率的に成果につなげるための手段として、赤座先生の課と私達の課の間の壁をパネルに作り替え、廊下に出ないでも自由に行き来できるよう提案したところ、快く同意していただきました。職人肌ですが、酒好きで快活な赤座先生を中心に両課のメンバーが生き生きと活躍し、多数のアレル報告論文など多くの成果を送り出すことができ、実に充実した時間を過ごさせていただきました。

プライベートで忘れられない思い出もひとつ述べさせていただきます。1993年に鹿児島で最後（第11回）の日本HLAワークショップ（世話人：鹿児島大学園田俊郎教授）があった際に、赤座先生に屋久島旅行を誘っていただきました。屋久島の素晴らしい自然、特に縄文杉の堂々たる姿を見た深い感動は今でも心にあり、あのような存在に少しでも



① 1990年、海外学術調査で韓国を訪問  
(左より、赤座先生、2人おいて、徳永、十字先生)



② 1993年，屋久島縄文杉の前で  
(左より，石川善英氏，赤座先生，徳永)



③ 1993年，屋久島で  
(左より2人目赤座先生，石川善英氏，徳永)

近づきたいというのが、私の人生の目標のひとつになっています。トビウオの干物の美味を堪能し、退役近いYS11に搭乗できたことも楽しい思い出です。

赤座先生のあまりに早い訃報は、まったく思いがけないことでただただ呆然とするしかありませんでした。まだ何度もお会いしてお話しできると思っていましたので残念の極みです。HLA という汲めども尽きぬ学問の泉に導いて下さった大先達に深い感謝を表すとともに、赤座先生のご冥福を心よりお祈り申し上げます。

## 赤座先生を偲んで

HLA研究所  
田中 秀則

私が赤座先生に最初にお会いしたのは広島大学で行われたHLAの技術研修でした。当時、私は山口赤十字血液センターに在職しており、HLAクラスIIタイピングのためのB細胞の分離技術に苦慮しており、純度の良いB細胞を分離する方法を取得するために躍起になっておりました。先生には技術的な指導を受けた記憶はあまりなく、基本的な考えを教わったような気がします…記憶は定かではありません。

その後、大きく先生との関わりを持つこととなったのが山口赤十字からの異動先である中央赤十字血液センターであり、上司として赤座先生と密接に関わることとなりました。

先生の一番の思い出に残ることは、パソコンによる様々な解析ソフト作成です。先生は、血清解析ソフト（血清の特異性解析）や抗血清を用いたHLAタイピングの「自動判定ソフト」を自前で作成されておりました。作成しては、チェック、修正し、再度チェックの繰り返しで、現場で問題が発生する度に、その内容を先生に伝えるのですが…「使い方が悪い!!」とか「どこが問題なのか？指摘してください…」とか言われました。しかし、開発者じゃないので、「使い方」とか「どこが」と言われても…といつも当惑しておりましたが、先生にとってプログラムとしての問題点を知りたかったのだと思います。

今回、先生との思い出を書くあたり写真を整理してみましたら、その多くがモンゴルに行った際の写真でした。写真①はモンゴルに到着した際の、ULAANBAATAR（ウランバートル）空港内の写真、写真②はモンゴル赤十字社前で撮った写真、写真③は馬頭琴の演奏流れるレストランで食事をした際の写真になります。当時、東北アジア5民族のHLA



① 1995年、ULAANBAATAR（ウランバートル）空港内にて  
（左より、赤座先生、十字先生）



② 1995年、モンゴル赤十字社前にて  
（左より、赤座先生、モンゴル大学のチムゲさん、筆者）



③ 1990年，モンゴルのレストランにて

(左より，十字先生，モンゴル大学のチムゲさん，チムゲさんの上司でバツーリさん，赤座先生)

分布の調査を行う研究の一環として，モンゴルで血清学的な HLA タイピングを行った凍結リンパ球から DNA を抽出し，日本に持ち帰り DNA タイピングを行うプロジェクトでした。モンゴルへの出張は，赤座先生，十字先生と私の 3 人であり，当然このメンバーですと DNA 抽出の作業を行うのは私だけで…。純度良い DNA を抽出する必要があったため，事前に抽出した DNA を手動 PCR (恒温槽 3 台使用) で，HLA 領域を増幅し確認を行いました。その間，両先生は…ゴビ砂漠に視察 (観光) …でした。

赤座先生とは，30 年以上お付き合いさせていただきましたが，今思えば，先生はいつもパソコンに向かい，何かプログラムを作成してらっしゃいました。何か HLA 検査に関することを手掛けていないと気が済まない性格だったのかもしれませんが…。最後に日本の HLA 検査に多大な貢献をされたことに心から尊敬すると共にご冥福をお祈りいたします。

## 赤座達也先生を偲ぶ

特定非営利活動法人 白血病研究基金を育てる会  
小川 公明

赤座先生との関わりは、1980年代後半の血清学的タイピングの大変革時。

つまり、リンパ球分離をダイナビーズの使用による機械化での大幅な工数の削減。染色もエオジンから PI, CFDA へ変わり、判定もテラスキャン (HLA 自動判定装置) による自動化が進む時代でした。この中で、肝心・要は測定結果から HLA 判定を行う解析の自動化です、この解析プログラムを作成したのが赤座先生でした、通称アカザソフトとの出会いでした。アカザソフトなくしてこの大変革は成就しなかったと思います。HLA を深く理解し、かつプログラムを自在に作れる唯一の人が赤座先生であったと思います。

赤座先生との直接の会いは、1990年の日本骨髄バンク設立準備の段階でした、当時、私が所属していた SRL は、日赤さんと共に HLA 検査に関わることになったためその準備の打ち合わせのためでした。当時、広尾にあった日赤中央血液センターの赤座先生を緊張した気持ちで訪問しましたが、赤座先生の患者を思う医療者としての優しい魂に共感でき、安堵したことを懐かしく思い出します。

赤座先生と深く付き合うようになったのは、私が 2005 年ベリタスの顧問として机を並べるようになってからです。ここでのメインテーマは、HLA 抗体の解析、つまり不可解な反応を如何に解釈するべきか、行き着いたのがエピトープを基礎にした解析でした。赤座先生得意の解析プログラムの作成です、出来上がったプログラムは、エピトープ解析を主としたため「エピマップ」と命名されました。このエピマップにより、HLA 抗体の交差反応などかなり明確に判明してきました。これで、全て解釈できると期待しましたが、現実には力価の異なる複合抗体などもあり、さらに複雑でした。今後も解析プログラムの開発を続けなくてはなりません。この開発が、赤座先生のやり残した仕事となってしまったのが残念でなりません。

赤座先生とは、素面の時も酒を酌み交わしながらも HLA について語り続けていました。ある時、雑談で邪馬台国に触れることができました。「邪馬台国は九州だよ、弥生時代後期の絹、鉄の鍬など、魏志倭人伝に記載されているものは、近畿より九州が圧倒的発掘されている。したがって九州だよ。エビデンスはもう揃っているよ」赤座先生は熱く語られていました。祖を九州におく私にとって非常に興味深く感じ入ってしまいました。赤座先生は HLA と同じように日本の歴史にも造詣が非常に深いのに驚きました。先生は、信心深い面もあり、それも正しいやり方に拘る性格です。ある時、神社に関する参考書を買込み勉強を開始されました。そして、一般財団法人日本文化興隆財団の主催する第一回目の神社検定を受検され見事に合格されました。

その頃から私は、機会があれば神社、寺、古墳を赤座先生とめぐむようになりました。一番記憶に残るのは、長崎 JSHI の大会後、レンタカーを借りて 1 週間かけて九州全県、延べ 1000 km を越す、縄文・弥生遺跡、古墳をめぐむ旅を過ごしたことです。もちろん毎晩、酒を酌み交わし、HLA と歴史をとことん語り尽くしました。

何事に対しても、真面目に全力で立ち向かう先生でした。HLA を深く愛していた赤座先生が、こんなにもはやく、テラサキ先生を追うように、逝かれてしまった事が残念でなりません。心よりご冥福をお祈り申し上げます。

## 【日本組織適合性学会 MHC 投稿・執筆規定】 (平成 28 年 2 月 1 日改訂)

### I. 概要

**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（もしくは掲載予定）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、ヘルシンキ宣言（「ヒトを対象とする医学研究の倫理的原則」、1964 年第 18 回世界医師会ヘルシンキ総会採択、2013 年フォルタレザ総会修正）に基づき、文部科学省が定める関連倫理指針（「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析に関する倫理指針」、「ヒト ES 細胞の分配及び使用に関する指針」、「ヒト iPS 細胞又はヒト組織幹細胞からの生殖細胞の作成を行う研究に関する指針」等）に従うと共に、当該施設の倫理委員会の審査を経て、施設長による承認を得たものでなければならない。また、遺伝子組換え実験は「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（いわゆるカルタヘナ法）」、動物を用いた研究については動物愛護管理法に基づく「実験動物の飼育及び保管等に関する基準」（2006 年環境省告示）などを遵守し、それぞれ所属施設における関連委員会等にて所定の手続きによる審査・承認のもとに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、加筆などを求める場合がある。

**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。とくに、原著、総説については、原則として科学技術振興機構（JST）

が運営する電子ジャーナル配信サイト（J-STAGE）にて配信される。

**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、投稿原稿にその旨を明記すること）。

**別 刷**：別刷（抜き刷り）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を明記すること）。

### II. 原著執筆書式

#### 1. 執筆要項

400 字詰め原稿用紙換算で 30 枚（刷り上がり 12 頁程度）以内とする。図、表、写真は、1 点につき原稿用紙 1 枚分に該当するものとし、それぞれに表題を記載し、挿入箇所を本文に明記する。また、図説は別紙で作成し、本文の最後に添付する。本文は Microsoft Word で作成し、表は Microsoft Word もしくは Microsoft PowerPoint、図、写真は Microsoft PowerPoint を使用する。原稿は記憶媒体（CDR 等）に保存もしくは Email 添付で投稿レターを添えて編集長に送付する（送付先は投稿・執筆規定の末尾を参照）。

#### 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に加えて、連絡責任者の住所、氏名、電話番号、FAX 番号、E-mail アドレスを記載する。なお、タイトル、著者名、所属の記載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>, Ki-yomi 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. 本文一：日本語での投稿

・2 頁目から、和文要旨 (400 字以内) および 250 words 以内の英文要旨、キーワード (日本語および英語、それぞれ 5 語以内) を記載する。なお、英文要旨について、著者グループのみでは作成が難しい場合には、編集委員会による対応も可能であるので、投稿ライターにその旨を明記すること。

・ページ替えて、「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, μl, %, °C など) を、数字はアラビア文字を用いる。
- ⑤遺伝子名 (シンボル) はイタリックで表記する。例えば、*HLA-DRB1* (タンパク名として用いる場合はイタリックにしない)

### 4. 本文二：英語での投稿

・2 頁目に 250 words 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, μl, %, °C など) を、数字はアラビア文字を用いる。
- ③遺伝子名 (シンボル) はイタリックで表記する。例えば、*HLA-DRB1* (タンパク名として用いる場合はイタリックにしない)

### 5. 本文三：略語一覧の作成【作成要項】

- ①略語はアルファベット順に並べる。
- ②略語の後に「:」を入れ、フルスペル (小文字) を記載する。  
例) LCT : Lymphocyte cytotoxicity test
- ③商品名は略語一覧に入れない

### 6. 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、引用順に一括して、以下の例に従って、著者名、論文名、雑誌 (もしくは書) 名 (英文の場合はイタリック表記)、巻 (号)、最初と最後のページ、発表年を記載する。著者名、編集者名は筆頭者から 3 名まで列記し、4 名以上は他または *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(1-3): 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. *血管外科* 17(1): 36-40, 2005.

4. 佐田正晴, 高原史郎: 腎移植一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 監修), 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字詰め原稿用紙換算で15枚(刷り上がり6頁程度)以内とする。図, 表, 写真は, 1点につき原稿用紙1枚分に該当するものとし, それぞれに表題を記載し, 挿入箇所を本文に明記する。また, 図説は別紙で作成し, 本文の最後に添付する。本文はMicrosoft Wordで作成し, 表はMicrosoft WordもしくはMicrosoft PowerPoint, 図, 写真はMicrosoft PowerPointを使用する。原稿は記憶媒体(CDR等)に保存もしくはEmail添付で投稿レターを添えて編集長に送付する(送付先は投稿・執筆規定の末尾を参照)。

### 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内  
日本組織適合性学会誌 MHC  
編集長 湯沢 賢治  
担当 谷本 佳澄 <E-mail: tanimoto@att.med.osaka-u.ac.jp>  
Tel: 06-6879-3746 Fax: 06-6879-3749

#### 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, 連絡責任者の住所, 氏名, 電話番号, FAX番号, E-mailアドレスを記載する。タイトル, 著者名, 所属等の記載は「原著」の形式に従う。

#### 3. 本文 (日本語および英語での投稿)

- 2頁目に, 英文要旨 (200 words 以内), キーワード (3語以内) を記載。
- 3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, 英語のいずれも可とする。総原稿枚数は編集委員会で指定し, 原著執筆書式に準じるが, 本文構成の一部(「材料と方法」, 「結果」, 「考察」等)については, 適宜変更することも可能である。

	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	英文原著 英文 250 words 以内 和文原著 英文 400 words 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	和文, 英文とも英文 200 words 以内	和英併記	3個以内	有り	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	1回

## 編集後記

本号では「Paul Terasaki 先生を偲ぶ」にて、岩城裕一先生，脇坂明美先生，一戸辰夫先生に，Terasaki 先生のご功績と日本の組織適合性研究者へのご尽力，温かいお人柄を紹介していただきました。

また「赤座達也先生を偲ぶ」では，吉田孝人先生，小川公明先生，田中秀則先生，徳永勝士先生に，日本の組織適合性研究の黎明期からごく最近のお仕事までの長きにわたっての，そして臓器移植・造血幹細胞移植から学会運営まで，赤座先生の広範なご活躍と「研究者を育てる」という意味でのご貢献を書いていただきました。

これらの内容は是非，若い世代の研究者の方々に読んでいただきたい，というのが編集担当者の願いです。今の組織適合性研究がどのような経緯で発展してきたのか？先達が何を試み，何を達成してきたのか？を知ることによってこれからの研究の方向性を探る重要な手掛かりとなります。

高原史郎

## 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/index.html>

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

## 学会事務局からのお知らせ

平成 23 年度総会で承認されました通り，平成 24 年度より，学会事務の一部を外部委託することとなりました。

委託業務は以下の通りです。

入退会手続

届け出事項の変更手続

年会費請求手続

学会誌等の発送

平成 24 年 5 月より，ご自身で会員情報にアクセスするオンラインシステムの利用が可能となりました。各種申請については，日本組織適合性学会ホームページ URL：<http://jshi.umin.ac.jp/> より行えます。

詳しくは，学会ホームページ URL：<http://jshi.umin.ac.jp/> にアクセスの上，「学会事務局からのお知らせ」をご覧ください。

また，これらに関するお問い合わせ，届け出については，学会事務支局 Email:[jshi@nacos.com](mailto:jshi@nacos.com) にて取り扱います。

その他の学会業務に関するお問い合わせは，従来通り学会事務局にて受け付けます。

## 学会事務局

〒 860-8556

熊本市中央区本荘 1-1-1

熊本大学大学院生命科学研究部 免疫識別学分野内

電話：096-373-5313

FAX：096-373-5314

E-mail：[jshijimu@kumamoto-u.ac.jp](mailto:jshijimu@kumamoto-u.ac.jp)

## 事務支局

〒 602-8048

京都市上京区下立売通東入ル

中西印刷株式会社 学会部内

日本組織適合性学会事務支局

電話：075-415-3662

FAX：075-415-3661

Email：[jshi@nacos.com](mailto:jshi@nacos.com)