

遺伝学部門

Department of Genetics

当部門においては、ヒトを対象として、その正常および異常な遺伝形質を分子レベルで解明し、医学の進展に寄与することを目的とする。このため免疫遺伝学、癌、原因不明の遺伝子病の各分野において研究を行った。

人事異動は次のとおりである。笹月健彦は平成2年4月より当研究所所長に就任した。上川路信博は平成2年4月より助手に就任した。江崎幸雄、薫 瑞平が平成2年4月より九州大学大学院生として、ニールス・エダムが平成2年11月より九州大学研究生として研究に参加している。

A. HLA 遺伝子による免疫応答の遺伝的調節機構の解析

HLAあるいは、これと密に連鎖した遺伝子による免疫応答性あるいは疾病感受性の個体差の形成機序に関して研究を進展させた。実験系として、従来の研究により、免疫低応答性が、HLAと連鎖した単純優性遺伝形質であることが明らかとなっているヒト末梢血T細胞の溶連菌細胞壁抗原(SCW)に特異的な*in vitro*二次免疫応答の結果として観察される増殖性免疫応答ならびにHLA-DRあるいはDQ遺伝子を、継代的に発現するトランスジェニックマウス(TGM)を用いた。本年度の研究により、HLA-DQの特定の対立遺伝子が、最終的に自己の抗原提示細胞に特異的な細胞障害性T細胞の活性化を誘導することにより、免疫低応答性を支配していることを明らかにした。また種々のHLA-TGMを樹立し、マウス個体に発現されたHLAクラスII遺伝子が主要組織適合抗原として機能し、T細胞レパトアおよび免疫応答の個体差を決定しうることを証明した。したがって、*in vivo*におけるHLA遺伝子の機能を解析するためのひとつのモデルが確立された。

A. a. 溶連菌細胞壁(SCW)抗原低応答者のDQ拘束性CD4⁺T細胞により誘導され、免疫抑制活性を有するCD8⁺T細胞の解析(吉住秀之, 上川路信博, 西村泰治, 笹月健彦)

昨年度、溶連菌細胞壁抗原(SCW)特異的DQw6拘束性CD4⁺T細胞株との共存で、より効果的に増殖し、抗原特異的CD4⁺T細胞の増殖に対し抑制活性を示すCD8⁺T細胞の存在を報告した。

今回、これらのCD4⁺T細胞およびCD8⁺T細胞を単離解析した。ヒトT細胞レセプターV領域に対するモノクローナル抗体による解析では、DQw6拘束性CD4⁺T細胞の大多数は、Vβ5.3を、CD8⁺T細胞の多くはVβ5.2およびVα2を発現していた(図1)。またCD8⁺T細胞はNKマーカーであるCD11b, CD16は陰性であった。

Donor	Phenotype		MHC restriction	Percentage of T cells bearing					
	CD	TCR		V α 2	V β 5.1	V β 5.2	V β 6	V β 8	V β 12
				(F1)	(W112)	(1C1)	(OT145)	(16G8)	(5511)
HY	CD4	$\alpha\beta$	DQw6	0	0	87.4	0	0	0
KF	CD4	$\alpha\beta$	DQw6	0	0	74.5	0	0	0
KT	CD4	$\alpha\beta$	DQw6	0	0	54.5	0	0	0
HY	CD4	$\alpha\beta$	DR4	0	0	0	0	0	0
AK	CD4	$\alpha\beta$	DR4	0	0	0	0	0	0
YY	CD4	$\alpha\beta$	DR4	0	0	0	0	0	0
HY	CD8	$\alpha\beta$	class I?	83.3	96.7	96.3	0	0	0

図1 TCR V α and V β usage in the SCW specific T cell lines

低応答者より樹立したSCWに特異的なCD4⁺ $\alpha\beta$ TCR⁺T細胞およびCD8⁺ $\alpha\beta$ TCR⁺T細胞をマウス抗ヒトTCRモノクローナル抗体を用いた間接蛍光抗体法により染色し、フローサイトメトリーにより解析した。DQw6拘束性CD4⁺T細胞はTCRV β 5.3を、CD8⁺T細胞はTCRV α 2、V β 5.2を発現していた。DQ4拘束性CD4⁺T細胞に関しては、そのTCRV α あるいはV β ファミリーを同定することはできなかった。

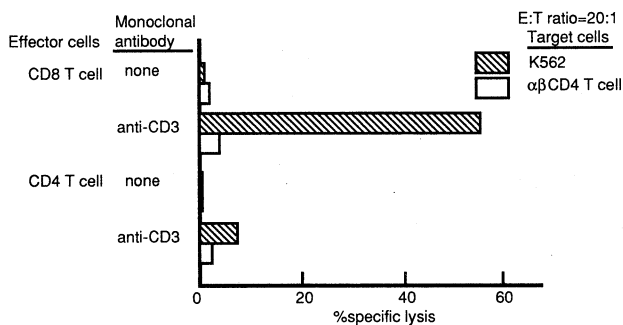


図2 Cytotoxic activity of $\alpha\beta$ CD8 T cell against K562 in the presense of anti-CD3mAb

1 \times 10⁵個のCD8⁺T細胞を標的細胞とともに抗CD3モノクローナル抗体の存在下または非存在下で6時間培養し、E:T比20:1で⁵¹Crを用いた細胞傷害活性の測定を行なった。

⁵¹Crを用いた細胞傷害活性試験では、CD4⁺T細胞、NK細胞の標的細胞であるK562に対しては細胞傷害活性を示さなかった。しかし、抗CD3モノクローナル抗体の存在下でK562に対する傷害活性を示した(図2)ことから、このCD8⁺T細胞はNK細胞とは異なり、CD3分子を介したシグナルにより細胞傷害活性を發揮し、免疫応答を抑制する可能性が示された。

CD8⁺T細胞は、その増殖に自己の抗原提示細胞とIL-2を必要とし、SCWは必要としなかった。また自己の抗原提示細胞を予めIFN- γ で処理することにより、CD8⁺T細胞の増殖は促進された。(図3)。

SCWに対する低応答性は、DQ拘束性CD4⁺T細胞により誘導されていることが示唆され、現在その拘束分子を検討中である。

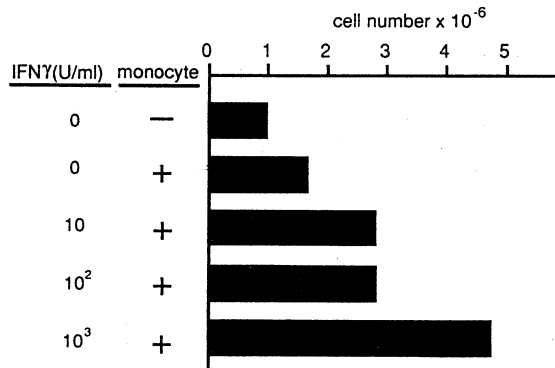


図3 Proliferation of $\alpha\beta$ CD8 T cell in the presence of monocyte treated with IFN- γ

5×10^5 個の $\alpha\beta$ CD8⁺T細胞を各濃度のIFN- γ で12時間処理し、放射線照射した自己の単球 5×10^5 個とともに7時間培養し、増殖した細胞数を算定した。CD8⁺T細胞は自己反応性T細胞の性格を有する。

A. b. 溶連菌壁抗原のT細胞エピトープの同定 (上川路信博, 柳川右千夫, 西村泰治, 笹月健彦)

これまでに、溶連菌壁抗原 (SCW) に対する免疫低応答性が、DQ拘束性CD4⁺T細胞に活性化されたCD8⁺T細胞によって制御されている可能性が示されている。これをさらに詳細に検討するために、DQw6およびDR4に拘束されたSCW特異的T細胞の認識するエピトープの同定を試みた。SCWは、溶連菌 (M12) より熱酸抽出した抗原で、これをSDS-PAGEにより解析すると、分子量56000, 41000, 37000の主要な蛋白が観察された。これらの分画をゲルから溶出し、アミノ酸シーケンサーによりN末端より30個の配列を同定したところ、いずれもこれまでに報告されているMタンパク (12型) のN末端の配列と一致し、また、3つの分画とも、DQw6あるいは、DR4に拘束されたSCW特異的T細胞株に対して刺激活性があった。溶連菌のM蛋白C末端側約200残基はすべての型に共通であり、それよりN末端側に各型に特異的配列があることが知られている。リコンビナントM6蛋白 (Rockefeller 大学 V.A.Fiscetti 博士より供与) に対する反応性を検討したところ、DQw6に拘束されたSCW特異的T細胞株は強い増殖反応を示したが、DR4に拘束されたSCW特異的T細胞は増殖反応を示さなかった。従って、DQw6およびDR4に拘束されたSCW特異的T細胞は、それぞれM12蛋白の異なる部分を認識していると考えられた。DQ分子による免疫応答とDR分子による免疫応答をin vitroのみならず、in vivoにおいても区別し、両者の差異を明確にするために、今後、M蛋白の各部分のペプチドを合成し、それぞれのエピトープを同定する予定である。

A. c. 溶連菌細胞壁抗原 (SCW) に特定なT細胞株中出现した $\gamma\delta$ T細胞の機能の解析 (土屋邦喜, 上川路信博, 西村泰治, 笹月健彦)

SCWに対する低応答性の発現機構を解析するため、低応答者よりSCW特異的T細胞株を樹

立したところ $\gamma\delta$ 型T細胞レセプターを有するT細胞が増殖してくることを観察した。この $\gamma\delta$ T細胞は $CD4^-CD8^-$ (DN) あるいは $CD4^-CD8^+$ の2種類が存在し、両者とも自己単球に対し細胞障害活性を示すとともに $\gamma\delta$ T細胞は $CD4^+$ T細胞の抗原特異的増殖反応を抑制したが、この現象は、おそらく抗原提示細胞の障害による、 $CD4^+$ T細胞への抗原提示の抑制に起因すると推測された。DN型 $\gamma\delta$ T細胞はHLAを共有しないアロ単球に対しても細胞傷害活性を示し、さらにこの細胞傷害性は抗HLAmAbによって阻止されず、HLA非拘束性と考えられた。また、DNは、ヒトT細胞Molt-4に対してNK様活性を示したが、K562に対しては示さなかった。SCWに対する低応答者ではDRあるいはDQに拘束された2種類のSCW特異的 $CD4^+$ T細胞が存在する。 $\gamma\delta$ T細胞の増殖には $CD4^+$ T細胞の共存が必須であったが、特にDQ拘束性の $CD4^+$ T細胞にこの作用が強く認められた。また、DNおよび $CD8^+\gamma\delta$ 型T細胞のいずれもV δ 1を発現していた。現在、 $\gamma\delta$ T細胞レセプターのリガンドおよび免疫抑制機構に関して検討中である。

B. HLAクラスII分子を発現するトランスジェニックマウスの作製とこれを用いたHLAによる免疫応答支配の遺伝的制御に関する研究

昨年度までに樹立したHLA-DQw6トランスジェニックマウスを用いた免疫遺伝学的解析を遂行した。さらに本年度はHLA-DQw4分子、HLA-DR α 分子を発現するトランスジェニックマウスを樹立した。

B. a. マウスを用いたヒト主要組織適合抗原の免疫学的機能の解析 --- HLA-DQw6トランスジェニックマウスに発現するDQw6分子のMHC抗原としての機能 --- (稲光毅, 西村泰治, 笹月健彦)

我々は、ヒト主要組織適合抗原HLA-DQw6遺伝子をB6マウスに導入したトランスジェニックマウス、DQw6-B6を用いてHLA-DQ遺伝子産物の機能解析を行ってきた。これまでに、DQw6-B6は、DQw6分子に対する免疫寛容を獲得していること、DQw6分子に拘束された抗原特異的免疫応答能を獲得していることを報告した。このDQw6-B6に発現するDQw6分子について、MHC抗原のもう1つの特性である混合リンパ球培養反応(MLR)の誘導について解析を行い、マウスにおいてDQw6分子がMHC抗原としての特性を発現しているか否かの検討を行なった。DQw6-B6に発現したDQw6分子に対するB6の免疫応答性を検討するために、2次MLRを行なった。一次MLRでDQw6-B6の脾細胞により刺激を受けたB6由来のリンパ節細胞は、二次MLRにおいて、刺激細胞をDQw6-B6の脾細胞とした場合に著明な増殖反応を示し、この増殖反応は、抗DQ抗体で阻止された。一方、反応細胞をDQw6-B6のリンパ節細胞とした場合には、一次反応で同様の処理をしたにも関わらずB6、DQw6-B6いずれの刺激に対しても増殖反応は示さなかった。これらの結果から、DQw6-B6に発現されたDQw6分子は、B6に対するMLR刺激活性を有

しており、このDQw6分子に対して、DQw6-B6は免疫寛容を獲得していることが確認された。さらに単クローン抗体を用いた反応阻止実験において、DQw6-B6の脾細胞に対する増殖反応は、DQに対する抗体で阻止されたが、I-Aに対する抗体 (25-9-17) では反応は阻止されなかった (図4)。以上の結果から、反応細胞は、主にDQw6分子そのものを認識して増殖していることが強く示唆された。

この反応細胞の特性を明らかにするために、DQw6-B6の脾細胞による刺激を重ねB6抗DQw6-B6MLR細胞株を樹立した。樹立したMLR細胞株由来のCD4⁺T細胞の増殖反応が、DQw6分子そのものを認識する反応であることを確認するために、刺激細胞としてDQw6遺伝子を導入した形質転換L細胞を用いた (図5)。L-DQw6上のDQw6分子の発現量をFACSを用いて定量し、発現量の高いものの中量のもの、低いものの三つを用いた。CD4⁺T細胞はDQw6分子の発現量の高いものに最も反応し、次の中量のもの、発現量の低いものにはほとんど反応しなかった。さらにこれらの反応は抗DQ抗体で阻止することができた。以上の結果から、CD4⁺T細胞はDQw6分子そのものを確認しているものと結論した。

これまでマウスを反応細胞とした異種間のMLRでは、異種抗原は、外来抗原と同様、マウ

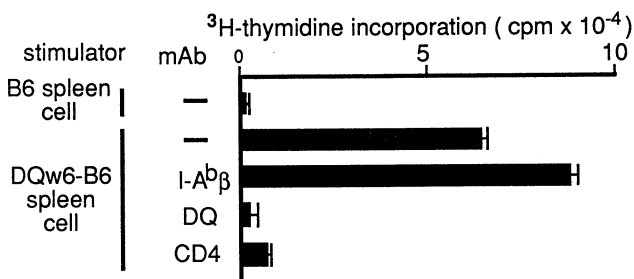


図4 Proliferative response directed against DQw6 molecules of B6 lymph node cells primed with DQw6-B6 spleen cells was inhibited by anti-DQ mAb

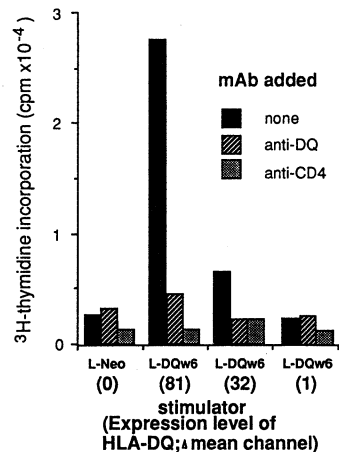


図5 Recognition of HLA-DQw6 molecules by CD4⁺T cells from B6 anti-DQw6-B6 MLR

スの抗原提示細胞によりプロセスされマウスの自身のクラスII分子に提示された形でマウスのCD4⁺T細胞に認識されることが報告されてきた。今回の我々の実験では、トランスジェニックマウスに発現するDQw6分子がマウスのCD4⁺T細胞のそのままの形で認識されることを示した。すなわち、B6マウスは、トランスジェニックマウスに発現したDQw6分子を、同種抗原と同様に、MHC分子そのものとして認識することを明らかにした。この違いを説明する一つの仮説として、トランスジェニックマウスにおいてDQw6分子が、マウス自身のクラスII分子を発現する抗原提示細胞上に発現していることから、様々な免疫反応に関わる接着因子が機能

しうる可能性が挙げられる。

以上、DQw6分子がマウスにおいてMHCクラスII分子としての特性であるMLR刺激活性を有していることを明らかにした。このシステムを用いることで、HLA領域に存在するそれぞれの対立遺伝子による、免疫応答の支配、疾患感受性に対する寄与を検討することが可能である。

B. b. HLA-DQw6遺伝子のマウス・コラーゲン誘導性関節炎に対する抑制効果（川原田富朗，岡本安弘，稲光毅，西村泰治，笹月健彦）

コラーゲン誘導性関節炎（CIA）は、II型コラーゲン（CII）をマウス，ラット，サル等に免疫することにより誘導される関節炎であり，その感受性は主要組織適合遺伝子複合体（MHC）に規定される。CIAの関節炎は，ヒトの慢性関節リウマチ（RA）の関節炎と組織学的に類似点をもつ。CIAは緩解と増悪がみられない等のRAとの相違点をもつ一方，CIAとRAはともにCIIに対して液性および細胞性免疫が成立していることや，発症にMHCが重要な役割を演じているなどの共通点を持ち，CIAはRAの有用な疾患モデルのひとつと考えられている。

今回の実験では，日本人RA患者群で有意に減少し，RAへの抵抗性に関与している可能性をもつHLA-DQw6遺伝子のCIIに対する自己免疫応答に及ぼす影響を検討するために，HLA-DQw6遺伝子を発現させたトランスジェニックマウスであるDQw6-B6とCIA感受性マウスであるDBA/1とを交配してF1プロジェニを作成し，牛のCIIを免疫しCIAを誘導した。免疫後10週目まで7日おきに，マウスの血清中の抗CII-IgG抗体価をELISA法で定量した。

DQw6（+）-F1群に誘導されたCIAは個体単位発症率（図6），肢単位発症率および関節炎重症度がDQw6（-）-F1群に比較して減少していた。また，DQw6（+）-F1群の抗CII-IgG抗体価は，DQw6（-）-F1群に比較して，減少した（図7）。F1プロジェニの両群において，免疫後5週目の抗CII-IgG抗体価の高低と関節炎重症度との間には相関がみとめられた（図8）。

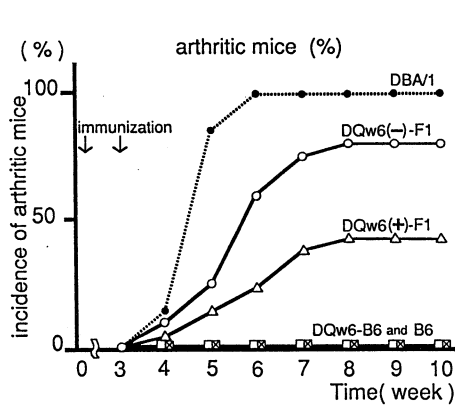


図 6

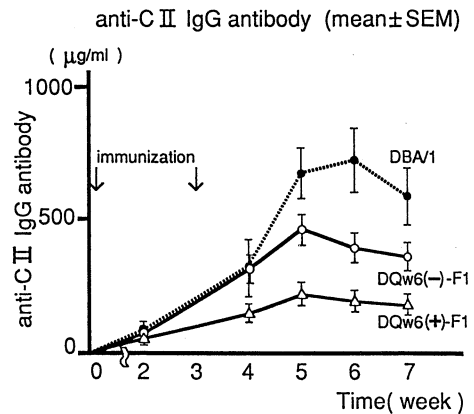


図 7

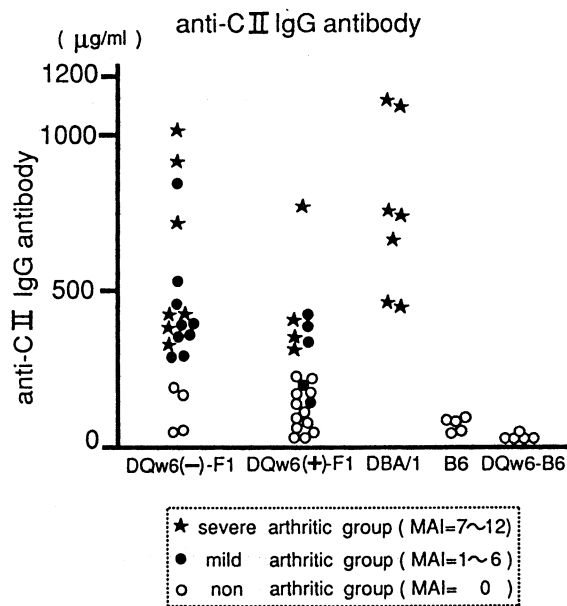


図 8

トランスジェニックマウスに発現した DQw6 分子は、CII に対する自己免疫応答を抑制し、CIA における関節炎の発症を抑制していると考えられた。以上の実験には、九州大学歯学部生化学、入部秀明博士、古賀敏生教授の御指導および御協力を頂いた。

B. c. HLA-DQ トランスジェニックマウスを用いた DQ 特異的溶連菌超抗原の解析 (須藤 徹, 西村泰治, 笹月健彦)

当教室で樹立した HLA DQw6 トランスジェニック C57BL/6 マウス (DQw6-B6) は、B6 マウスが M12 蛋白を主成分とする。溶連菌組織壁抗原 (SCW) に対し低応答性を示すのに対し、高応答性を獲得した。この SCW に対する T 細胞増殖性免疫応答は感作を受けていない DQw6-B6 のリンパ節 T 細胞にも観察された。さらに抗原提示細胞 (APC) が DQw6 分子を発現していれば、T 細胞はたとえ B6 に由来しても免疫応答が観察され、SCW をペプシンで分解することによりマイトジェンとしての機能は消失した (図 9)。一方ヒト分子の CD4⁺T 細胞の多くは APC によりプロセスされた SCW を、HLA 分子と共に認識し、古典的抗原としても働くことが知られている。M12 蛋白はピメンチンと共通抗原性を有する起腎炎性溶連菌から分離されたものである。M 蛋白に対する免疫応答は、感染防御免疫として重要な反面、自己免疫現象を惹起する。現在トランスジェニックマウスおよびヒトを対象として、溶連菌の病原性における M 蛋白の超抗原性の役割に関して検討中である。

免疫後の DQw6 (+) -F1 群と DQw6 (-) -F1 群において、HLA-DQw6 分子の発現によって I-A^a 分子の発現および T 細胞レパトアが影響をうけているかどうか調べた。脾細胞中の I-A^a 分子陽性細胞の割合は、両群とも約 70% であり、両群間に差は認められなかった。リンパ節の TcR V β 3, V β 5, V β 6, V β 8 V β 9 そして V β 11 の T 細胞レパトアにおいて、両群の間に差は認められなかった。

以上、HLA-DQw6 遺伝子によるコラーゲン誘導性関節炎の抑制機序については、今後の研究において解明しなければならないが、種を越えて

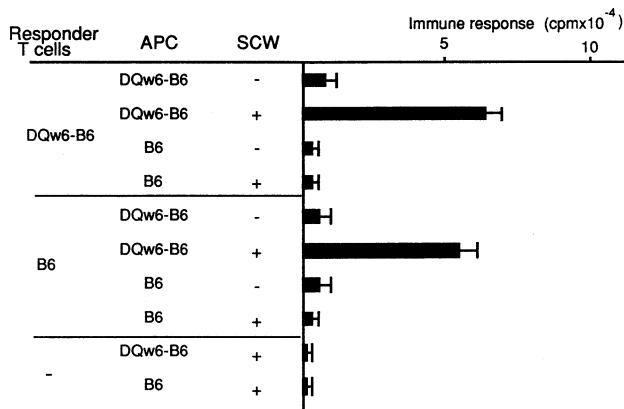


図9 Proliferative response of highly purified B6 T cells to SCW in the presence of DQw6-B6 monocytes

B. d. HLA-DQw6トランスジェニックマウスを応用した抗HLA-DR抗体の作製（岡本安弘、西村泰治、笹月健彦）

従来 HLA のタイピング用の抗血清は経産婦血清あるいは分娩血に由来するアロ血清が主流であったが、その一部は単クローン抗体にて代用されるようになってきた。しかしマウスにヒトの B 細胞を直接免疫して抗 HLA 抗体を作製すると、多くはそのフレームワークを認識し、アロエピトープ特異的な mAb をえることは比較的難しい。今回、我々は HLA-DQw6 遺伝子を導入した HLA-DQw6 トランスジェニックマウスを免疫動物として用い、ヒト EB 形質転換 HLA ホモ接合リンパ芽球様細胞をこれに免疫することにより HLA-DR1, DR4, DRw6 に特異な mAb, 2D9 (IgG2b) を得た。2D9 の認識するエピトープは B 細胞, 単球, 活性化 T 細胞に存在した。ヒト EB 形質転換 HLA ホモ接合リンパ芽球様細胞のパネルにて、2D9 は、DR1 (Dw1, 20), DR4 (Dw4, 14, 15), DRw6 を有する細胞と反応した。2D9 の認識部位は、HLA-DR α チェーンがモノモルフィックなことより、DR β チェーンのアミノ酸配列より考慮すると、67 番より 74 番近傍に存在し、とくに 70, 71, 74 番が重要と考えられた。この 2D9 の特異性は慢性関節リウマチに感受性を有する HLA と非常に類似しており、教室の土屋らがまとめた日本人リウマチ患者の HLA タイピングにより 2D9 陽性となる期待値を求めると健常人約 40% に対して、リウマチ患者は約 70% に陽性となった。2D9 は単に HLA タイピングに用いられるだけでなく、今後慢性関節リウマチの HLA スクリーニングに有用であり、モノクローナル抗体を用いた選択的な免疫抑制による慢性関節リウマチ治療に応用できる可能性を有する抗体であると期待される。

B. e. X染色体に導入されたHLADRA遺伝子のマウスT細胞レパトリー形成に及ぼす影響 (福井宣規, 江崎幸雄, 木村彰方, 西村泰治, 笹月健彦)

5' 上流300bpを含む7kbのHLA DRAゲノム遺伝子をC57BL/6に導入したトランスジェニックマウスを樹立した。このマウスにおいて、DR α E β 異種混合クラスII分子が脾細胞、胸腺髄質、皮質に発現していることをノザンブロット法及び免疫組織染色を用いて認識し、5' 上流300bpでHLA DRA遺伝子の組織特異的発現に十分であることが示唆された。交配実験よりHLA DRA遺伝子はX染色体に導入されていることがあきらかとなった。雌においてX染色体の一方は発生のごく初期に不活化されるという現象が知られている。このマウスにおいても、HLA-DRAに関してヘミ接合体の雄では、I-A^b陽性脾細胞のほとんどすべてはDR α E β 陽性であったが、ヘミ接合体の雌では、I-A^b陽性脾細胞の約50%がDR α E β 陽性で、その発現に関

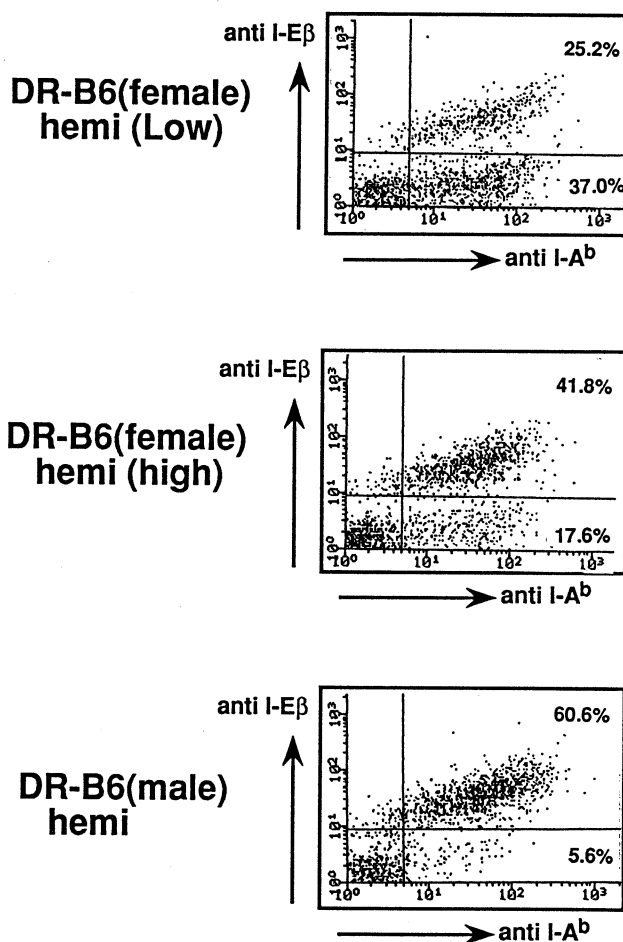


図10 Lionization in DR α E β xenogenic mixed isotype molecule of the female HLA-DR α transgenic mice

して個体差が大きかった (図10). ホモ接合体の雌においては, ヘミ接合体の雄と同様の profileであった. ヘミ接合体の雄では $E\alpha$ を導入したトランスジェニックと同程度の $TcRV\beta 5$, $V\beta 11$ の deletion が観察されたが, ヘミ結合体の雄においては, その deletion にばらつきが認められた (図11). またその deletion の程度は脾細胞の $DR\alpha E\beta$ 分子の発現と逆相関を示した (図12).

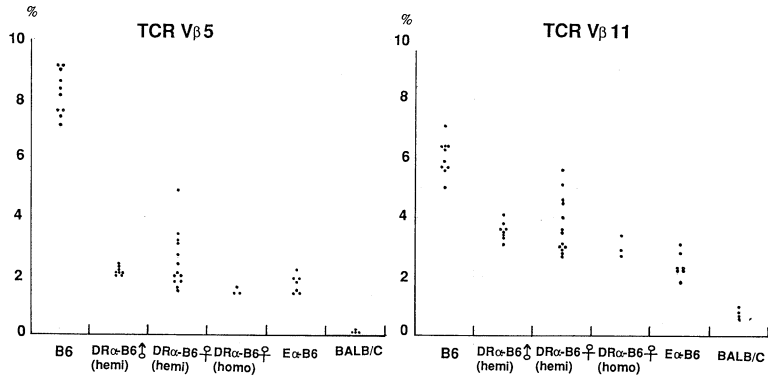


図11 Clonal deletion of lymph node T cells bearing TCR $V\beta 5$ and $V\beta 11$

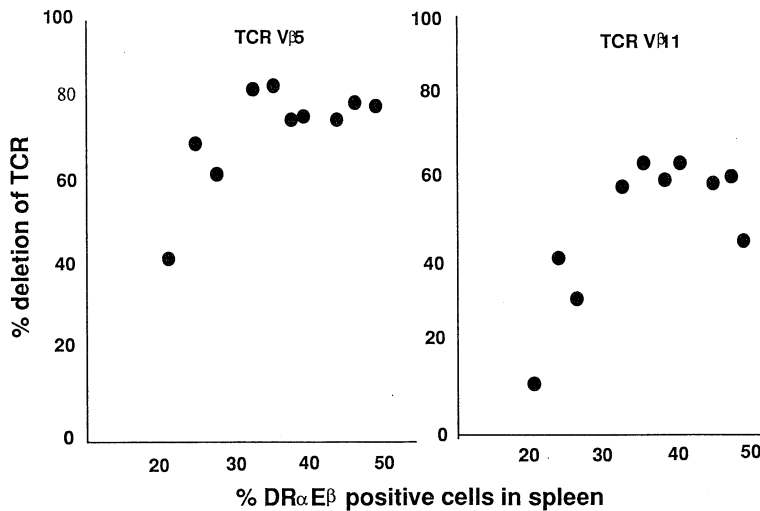


図12 Lionization in $DR\alpha E\beta$ xenogenic mixed hybrid molecule affects clonal deletion of T cells bearing TCR $V\beta 5$ and $V\beta 11$

B. f. HLA DQw4分子を機能的に発現したトランスジェニックマウスの樹立 (福井宣規, 江崎幸雄, 木村彰方, 西村泰治, 笹月健彦)

Dw15ハプロタイプ EB-YT よりクローニングした HLA-DQw4A 及び B をコードするゲムノ遺伝子を C57BL/6(B6) に導入したトランスジェニックマウスを樹立した. 各臓器より RNA を抽

出しそれより cDNA を合成し DQw4A および DQw4B 特異的プライマーを用いて PCR を行ない、DQw4A に関して胸腺、脾に、DQw4B に関して脳、胸腺、肺、脾、腎にバンドを認めた (図13)。DQw4 の脾細胞における発現は、単離直後においては極めて微弱であったが、IL4 50u/ml で培養することにより増強した。Dw15ハプロタイプのホモ接合体である EBYT を B6, DQw4-B6 に免疫し、DR4 及び DQw4 分子に対する抗体産生を L 形質転換細胞を用いて検討した。B6 は DR4, DQw4 のいずれに対しても抗体産生が認められたが、DQw4-B6 は、DR4 に対する抗体産生は認められるものの、DQw4 に対する抗体産生は消失していた (図14)。

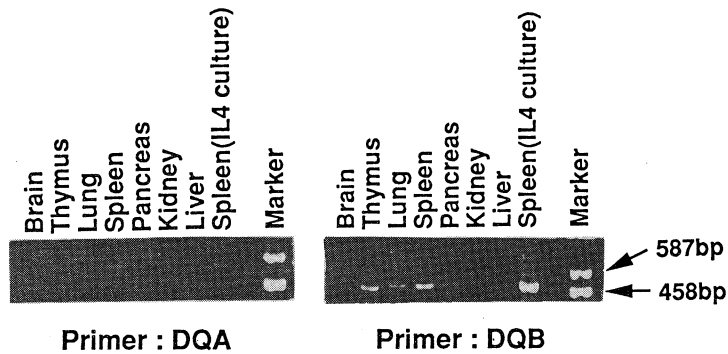


図13 Tissue distribution of transgenes transcripts by cDNA-PCR analysis

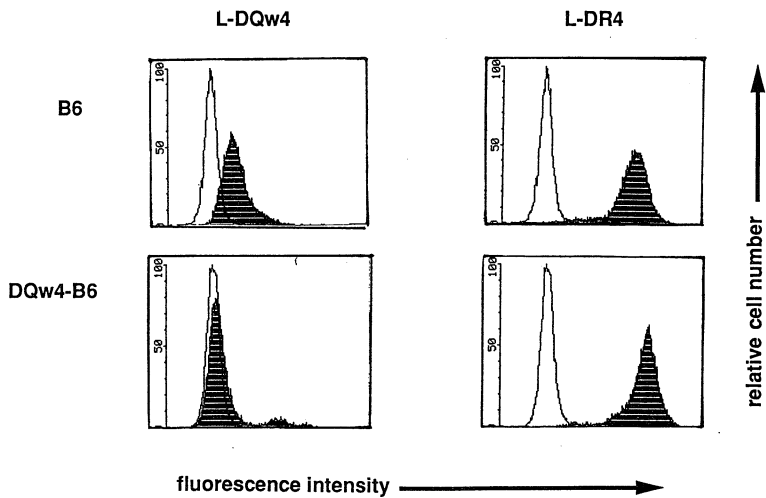


図14 Loss of antibody production against HLA-DQw4 molecule

C. HLA クラス II 遺伝子群の遺伝的多型性の解析とその機能的意義

HLA クラス II 遺伝子群は、ヒトにおいて最も遺伝的多型性に富む遺伝子群である。この遺伝的多型性は、クラス II 分子の細胞外ドメインのうち抗原、T細胞レセプターと相互作用を有する領域（第2エクソンにコードされる）に最も著明に認められるが、また細胞内ドメインをコードする領域（第5エクソン）や発現調節領域（プロモーター）にも他の遺伝子では観察されない特異的な遺伝的多型性の存在が見出された。このため、ヒトにおける HLA クラス II 遺伝子群の遺伝的多型性の全体像とその機能的意義を明らかにすることを目的とした研究を行った。

C. a. 第11回国際HLA ワークショップへの参加

1991年11月に横浜で開催される第11回国際HLA ワークショップでは、血清学的 HLA タイピングに加えて、PCR-SSO 法を用いたクラス II 遺伝子群の多型性解析（HLA-DNA タイピング）が方法論として採用されることになった。当教室は、笹月健彦、西村泰治、木村彰方の3名が本ワークショップの組織委員会に参画しているため、血清学的タイピングと DNA タイピングにより、健常日本人、中国人、パプアニューギニア人ならびに種々の自己免疫疾患（若年性糖尿病、慢性関節リウマチ、ベーチェット病、SLE、高安病など）患者を対象とした HLA 遺伝子群の遺伝的多型性の検討を行った。

C. b. HLA-DNA タイピング（木村彰方、董瑞平、笹月健彦）

第11回国際HLA ワークショップでのDNA タイピング方法論を確立した。すなわち、DRB 遺伝子群については座位特異的なPCR 法に加えて、DR1-DRB1, DR2-DRB1, DR4-DRB1, DRw52 associated DRB1, DRB 3等のグループ特異的な PCR 法を導入することで、より正確なタイピングが可能となった。塩基配列特異的なプローブ（SSO）を200種以上作製し検討した結果、DRB66種、DQA19種、DQB24種、DPA4種、DPB25種を用いることによって、既知の全てのHLA クラス II 対立遺伝子が検討されることを明らかにしたため、これらのSSOを全世界にわたる180以上の研究者に供給した。

これらのプライマーおよびSSOを用いて、健常日本人340名を対象にDNA タイピングを行った。表1～4にその結果を示すが、新しい対立遺伝子を数多く同定したことにより、日本人については、ほとんど全ての対立遺伝子の種類およびその頻度が明らかとなった。これらの標準パネルにおける各対立遺伝子頻度をもとに、種々の原因不明の疾患とHLAとの相関をDNAレベルで明らかにしていく予定である。

表 1 Genotype frequency of DRB1 alleles in Japanese

DR	alleles	freq%
1	0101	10.7
2	1501	13.9
2	1502	23.3
2	1602	0.6
3	0301	0.9
4	0401	4.4
4	0403	3.8
4	0405	28.1
4	0406	5.0
4	0407	0.3
4	* 4.9	2.8
11	1101	3.2
12	1201	7.5
NJ28	* 12.2	3.4
13	1301	0.6
13	1302	12.3
14	1401	4.4
14	1402	0.3
NJ25	* 14.3	2.5
14	* 14.4	4.1
NJ25	* 14.5	0.6
HR5	* 14.6	3.2
14	* 14.7	0.6
7	07	0.6
8	0802	6.3
8	0803	17.3
9	0901	30.3
10	1001	0.6

total no. examined=317

表 2 Genotype frequency of DQ alleles in Japanese

DQA alleles	freq%	DQB alleles	freq%
0101	20.2	0501	11.4
0102	24.9	0502	4.1
0103	39.1	0503	6.0
0201	0.6	0601	38.3
0301	68.1	0602	12.6
0401	2.8	0603	0.6
0501	16.1	0604	10.7
0601	4.4	6.5	1.6
		0201	1.6
		0301	22.7
		0302	14.2
		0303	31.2
		0401	28.4
		0402	6.0

total no. examined=317

表 3 Genotype frequency of DP alleles in Japanese

DPA	alleles	freq%
	01	60.0
	02	84.9
DPA	alleles	freq%
	0201	37.9
	0202	5.0
	0301	8.8
	0401	10.1
	0402	17.0
	0501	61.5
	0601	1.6
	0901	20.5
	1301	3.8
	1401	4.1
	1601	0.9
	1701	0.3
	1901	1.3

total no. examined=317

表4 Frequency of HLA class II haplotypes in Japanese

DR	DRB1*	DRB3*	DRB4*	DRB5*	DQ	DQA1*	DQB1*	freq. %
1	0101				5	0101	0501	10.4
1	0101				5	0101	0503	0.3
2	1501			0101	6	0102	0602	12.6
2	1501			0101	6	0102	0601	0.3
2	1501			0101	7	0501	0301	0.9
2	1502			0102	6	0103	0601	23.0
2	1502			0102	5	0101	0101	0.3
2	1602			02	5	0102	0502	0.6
3	0301	0202			2	0501	0201	0.9
4	0401		0101		7	0301	0301	4.4
4	0403		0101		8	0301	0302	3.8
4	0405		0101		4	0301	0401	27.8
4	0405		0101		4	0301	0402	0.3
4	0406		0101		8	0301	0302	5.0
4	0407		0101		8	0301	0302	0.3
4	4.9		0101		4	0301	0402	2.8
11	1101	0202			7	0501	0301	2.5
5	1101	0202			4	0501	0402	0.3
5	1101	0202			8	0501	0302	0.3
12	1201	0101			7	0501	0301	5.0
12	1201	0101			7	0301	0301	0.6
12	1201	0101			9	0301	0303	0.9
12	1201	0101			8	0301	0302	0.6
5	1201	0202			7	0601	0301	0.3
5 (HR6)	12.2	0301			7	0601	0301	3.2
5 (HR6)	12.2	0301			7	0601	0301#	0.3
13	1301	0101			6	0103	0603	0.3
13	1301	0202			6	0103	0603	0.3
13	1302	0301			6	0102	0604	10.7
13	1302	0301			6	0102	6.5	1.6
14	140.	0202			5	0101	0502	3.2
14	1401	0202			5	0101	0503	1.3
14	1402	0202			7	0501	0301	0.3
JX6	14.3	0101			7	0501	0301	2.5
14	14.4	0202			5	0101	0503	4.1
JX6?	14.5	0101			7	0501	0301	0.6
5 (HR5)	14.6	0202			7	0501	0301	3.2
14	14.7	0202			5	0101	0503	0.6
7	07		0101		2	0201	0201	0.6
8	0802				8	0301	0302	2.8
8	0802				4	0401	0402	1.9
8	0802				4	0301	0402	0.3
8	0802				4	0601	0402	0.3
8	0802				8	0401	0302	0.6
8	0802				8	0601	0302	0.3
8	0803				6	0103	0601	17.4
9	0901		0101		9	0301	0303	30.3
9	0901		0101		7	0301	0301	0.3
10	1001				5	0101	0501	0.6

total no. examined=317

C. c. 慢性関節リウマチ (RA) 患者のHLA-クラスII遺伝子の解析 (土屋邦喜, 木村彰方, 笹月健彦)

RAの遺伝要因としてのHLAとの相関を明らかにするため国立福岡病院整形外科の近藤正一氏との共同研究により日本人RA患者202名に関して血清学的タイピングをおこなってきた。HLAとDR4との相関をさらに遺伝子レベルで検討するため、本患者集団中のDR4陽性者に関しDR4 specific primerを用いたPCR-SSO法によるDNA-DRタイピングを行なった(表5)。日本人RA患者においてはDRB1*0405(Dw15)が最も強い相関を示し、一方DRB1*0406(DKT2)はDR4サブグループのなかでも相関の程度がきわめて弱く、第2エクソン内でのこの両者のアミノ酸配列を検討すると第70位および74位のアミノ酸の性質がRAの疾患感受性に関して必要であることが考えられた。現在specific primerを用いたDRBグループ特異的PCR法を用いて他のDRB1対立遺伝子に関してもDNA-DRタイピングを進めており、更にDNA-DPおよびDNA-DQタイピングをおこなってHLA-クラスII遺伝子とRAとの相関を総合的に検討中である。

表5 Association between RA and DRB1 allele in Japanese

		RA (N=202)	control (N=213)	odd's ratio
DR4	DRB1*0401	11	8	6.68
	DRB1*0403	5	5	4.86
	DRB1*0405	116	66	8.54
	DRB1*0406	8	14	2.78
	DRB1*4.9	8	6	6.48
DR1	DRB1*0101	20	21	4.63
DR9	DRB1*0901	65	62	5.09
DRw10	DRB1*1001	5	2	12.14
negative group		14	68	

C. d. 日本人ベーチェット病患者集団における疾患感受性および抵抗性遺伝子の解析 (川原田富朗, 董瑞平, 木村彰方, 西村泰治, 笹月健彦)

ベーチェット病では、HLA-B51, DRw52抗原との相関が指摘されている。現在我々は、従来の血清学的HLAタイピングに加え、アレルをさらに細分化することが可能なHLA-DNAタイピング法を用い、ベーチェット病患者群におけるDRB, DQA, DQB, DPAおよびDPB遺伝子の多型性を検討し、ベーチェット病と第1義的な相関を示す遺伝子を明らかにすることを目的として解析をすすめている。

C. e. 東洋人におけるDR2 ハプロタイプの解析 (木村彰方, 笹月健彦)

HLAはその著明な遺伝的多型性ゆえに、人種間の遺伝的相違を明らかにするマーカーとして用いられている。第11回国際HLAワークショップにおけるDNAタイピング法の開発と並行して、DR2ハプロタイプに特異的なDRB5遺伝子の多型性を解析し、DRB1, DQA1, DQB1 遺伝子群の解析とあわせて、東洋人に特徴的なハプロタイプを見出した。これまでに、DR2ハプロタイプにはDw 2, 12, 21, 22の4種のハプロタイプが存在することが、血清学、リンパ球混合培養、クラスII遺伝子群の塩基配列の決定から、明らかにされていた。我々は日本人および東南アジア人について、DR2ハプロタイプをPCR-SSO法によって解析した結果、これまで明らかにされていた以外にも6種のDR2ハプロタイプの存在することを明らかにした(図15)。これらの新たに同定されたハプロタイプは、既知のハプロタイプ間あるいは他のHLAハプロタイプとの間の相互組み換えによって生じたものと考えられた。さらに、東洋人においては既知のハプロタイプのうちDw21(欧米人に多い)、Dw22(アメリカインディアンに多い)の2つのハプロタイプは存在せず、これとDRB1, DRB5, DQA1, DQB1のいずれかが異なっていた。これらの知見は人類学的観点からのHLA-DNAタイピングの有用性を示唆した。

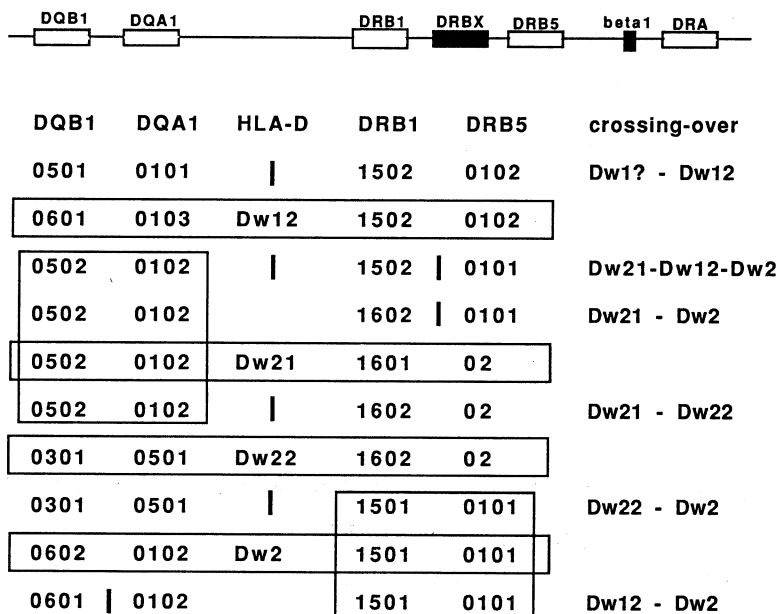


図15 Generation of variant DR2-haplotypes in oriental population

C. f. 第11回国際HLA ワークショップSerology部門 (大久保亮子, 角尚子, 徳安智子, 董瑞平, 木村彰方, 西村泰治, 笹月健彦)

1991年11月に横浜で行われる第11回国際HLA ワークショップに関し, Serology 部門として以下の企画および研究を行った. ①血清学的HLA タイピングと標準化血清の検討 ②健常人集団118名 (Japanese) におけるDNA タイピングを血清学的タイピングデータの比較検討 ③Disease Study として, インスリン依存性糖尿病 (IDDM)55 名, 全身性紅斑性狼瘡 (SLE) 54 名の各患者集団と健常人集団を血清学的, 及びDNA レベルでのタイピングを行いデータの比較検討を行っている.

IDDM 患者集団に関しては, 九州大学第2内科と共同で1989年に検討を行った40名を加えて患者集団を95名とし健常人集団238名を対象として解析を行った (表6).

IDDM 患者集団に関してHLA ハプロタイプ (遺伝子組合わせ) A24-Bw54-DR4-DQw4が有意に増加し, A24-Bw54-DRw15-DQw6が有意に減少した. 特にDRw15の減少が著しく, DNAタイピングのデータと今後比較検討を行う. これらの血清学的HLA タイピングのデータは, 本年度中に解析を終え, ワークショップに提出する.

表6 Association between HLA and IDDM in the Jpanese population

HLA	IDDM (N=95)		Controls (N=238)		Relative risk	X ²	P
	%	(N)	%	(N)			
Bw54	42%	(40)	13%	(30)	5.04	35.6	<10 ⁻⁵
DR4	61%	(58)	39%	(93)	2.44	13.2	<10 ⁻³
DQw4	59%	(56)	30%	(71)	3.38	24.4	<10 ⁻⁵
Bw52	11%	(10)	24%	(57)	0.37	7.6	<0.01
DR2	6%	(6)	40%	(96)	0.10	37.0	<10 ⁻⁵
DQw6	23%	(22)	62%	(148)	0.18	41.4	<10 ⁻⁵

C. g. HLA-DQB 遺伝子第5エクソンの機能解析 (千住寛, 木村彰方, 吉住秀之, 川上路信博, 西村泰治, 笹月健彦)

MHCクラスII抗原β鎖遺伝子において, その第5エクソンは, 細胞内ドメインのうち8アミノ酸をコードしている. 前年度までにDQB1*0503と*0601アレルのみが第5エクソンを使用可能であることを明らかにした. 本年度は, 第5エクソンの機能について検討する目的で, DQB1*0601遺伝子の第5, 6エクソン部分をDQB1*0401遺伝子と組み換えたDQB1*0601S遺伝子を作製し, マウスL細胞に導入した. この細胞の抗原提示機能は, 野性型DQB1*0601遺伝子を導入したL細胞とほぼ同等であり, 第5エクソンは抗原提示において必須ではないと考えられる.

C. h. クラスII遺伝子群の転写制御機構 (木村彰方, 笹月健彦)

昨年度までに、ヒトグリオブラストーマ細胞株を用いた解析により、HLA-DQA 遺伝子はその他のクラスII 遺伝子群 (DRA, DRB, DQB, DPAおよびDPB) とは全く異なる転写調節を受けることを明らかにして来た。すなわち、DQA 遺伝子は、他のクラスII 遺伝子に比して転写レベルが低く、またTNF α によってその発現が増加するという特徴を有する。これらのDQA 遺伝子特異的な発現調節は、①全てのクラスII 遺伝子群に共通な正の転写調節因子NF-Y の認識部位における単塩基置換を有するためNF-Y との結合親和性が低いこと、②TNF α によって誘導的に発現するNF κ B/KBFI 類似の正の転写調節因子NF-TRs がそのプロモーター領域に結合する、という2つの特徴的な転写因子との相互作用によってもたらされることを明らかにした。本年度は、著明な遺伝的多型性を有するクラスII 遺伝子群がその構造領域のみならず、転写を調節するプロモーター領域にも遺伝的多型性を有することを明らかにした。19種のHLA 領域ホモ接合体由来の細胞株 (表7) について、PCR 法によりDQA プロモーター領域

表7 Cell lines used for sequence determination of the 5' flanking region from DQA1 gene

Cell line	DQA1 prom	DQA1	DQB1	DRB1	DR	DQ
WT100BS	1.1	0101	0501	0101	1	W5
KASO11	1.2	0102	0502	1601	2	W5
SCHU	1.2	0102	0602	1501	2	W6
TOK	1.2	0103	0601	1502	2	W6
HHKB	1.3	0103	0603	1301	6	W6
EK	1.3	0101	0503	1401	6	W5
WT47	1.4	0102	0604	1302	6	W6
HO301	1.4	0102	0605	1302	6	W6
TAB089	1.4	0103	0601	0803	8	W6
PITOUT	2.1	0201	0201	0701	7	W2
DBB	2.1	0201	0303	0702	7	W9
MCF	3.1	0301	0301	0401	4	W7
YAR	3.1	0301	0302	0402	4	W8
YT	3.1	0301	0401	0405	4	W4
DKB	3.2	0301	0303	0901	9	W9
STEINLIN	4.1	0501	0201	0301	3	W2
BM21	4.1	0501	0301	1101	5	W7
MADURA	4.2	0401	0402	0801	8	W4
LUY	4.2	0601	0301	0803	8	W7

(-200~+20) を増幅後クローン化しその塩基配列を決定した (図16)。その結果, DQA プロモーターには9種の対立遺伝子の存在すること, いずれの対立遺伝子とも Y box 内に塩基置換を有すること, 発現調節に関わると推定される領域にも遺伝的多型性の存在することがわかった。さらに, DQA プロモーターのうち最も多型性に富む領域 (Hypervariable region) に対応するオリゴヌクレオチドを作成し, これをプローブとして, HLA 領域ホモ接合体細胞株81種および HLA 遺伝子型既知の日本人集団150名について, DQA プロモーターの遺伝的多型性を解析した結果, DQA プロモーターの多型性は, DQA 第2エクソンの多型性とは必ずしも一致せず, むしろ血清学時 DR タイプとよく相関した (表8)。このことから, HLA クラス II 遺伝子群の多型性は決してランダムな変異の集積ではなく, DR-DQ 遺伝子群は, その全体構造を保ったまま分岐し, 第2エクソンのみに組み換えあるいは遺伝子変換等によって更に変異を蓄積して来たものと考えられた (図17)。

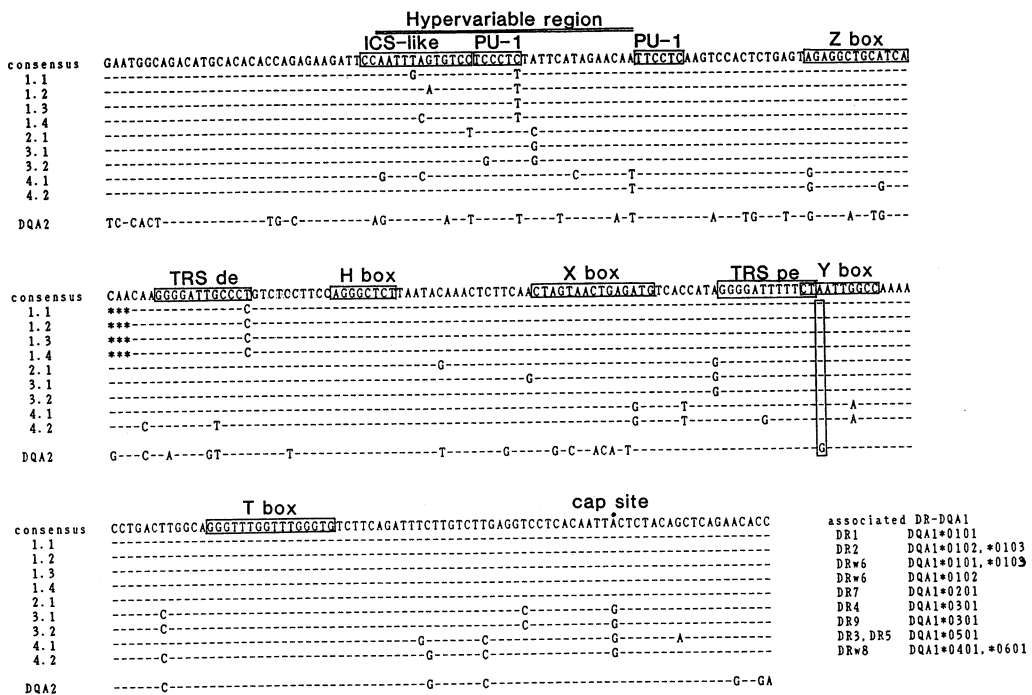


図16 Polymorphism in the 5' flanking region of DQA1 gene

表 8 Polymorphisms in promoter and exon 2 of DQA gene are closely associated with specific HLA-DR haplotype

DQA gene		HLA-DR
promoter	exon 2	
1.1	0101	DR1
1.2	0102	DR2
1.2	0103	DR2
1.3	0101	DR6(w14) DRw10
1.3	0103	DR6(w13)
1.4	0102	DR6(w13)
1.4	0103	DRw8
2.1	0201	DR7
3.1	0301	DR4
3.2	0301	DR9
4.1	0501	DR3, DR5(w11, w12), DR6(w14)
4.2	0401	DRw8
4.2	0601	DRw8, DR5(w12)

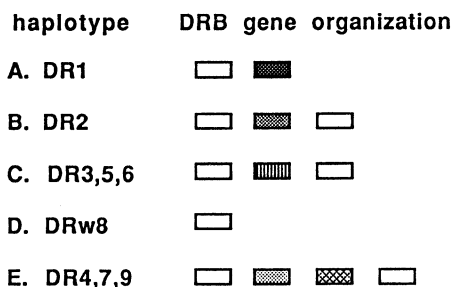
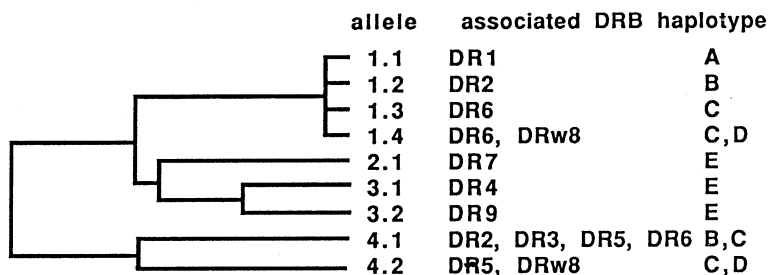


図17 Relation between alleles of DQA promoter

D. 家族性大腸ポリポーシスの遺伝学的解析 (柳川右千夫, 占部和敬, 利谷幸治, 白澤専二, 今村利朗, 笹月健彦)

高発がん性遺伝性疾患である家族性大腸ポリポーシス (FPC) の発症を規定する主遺伝子および発がんに関与する遺伝子の解明を目的として以下の解析を行っている。

D. a. 大腸腫瘍におけるp53遺伝子およびDCC 遺伝子の変異

FPCおよび非遺伝性の大腸がんにおいて第5, 17, 18, 22の各染色体に高頻度のヘテロ接合性の消失を検出し, これらの染色体上にがん抑制遺伝子の存在を示唆してきた。その中で, 第17染色体短腕に位置するp53遺伝子, 第18染色体長腕に位置するDCC 遺伝子が, がん抑制遺伝子として注目されており, 本症由来の大腸腫瘍および非遺伝性の大腸がんについて, 上記遺伝子の検索を行った。

p53遺伝子で系統的に保存されているエクソン5からエクソン7について, 腫瘍組織より抽出したDNAをPCRを用いて増幅し, 塩基配列の決定あるいは変性勾配ゲル電気泳動を用いて, p53遺伝子の体細胞突然変異の有無について検索し, 本症由来大腸腺腫45例中3例, 本症由来大腸癌15例中1例(7%), 非遺伝性大腸癌で15例中3例(20%)に変異を認めた。表9に本症および非遺伝性の大腸腫瘍におけるp53遺伝子の変異についてまとめた。また, 大腸癌細胞株ではエクソン5からエクソン10について解析し15例中9例に変異を認めた(表10)。一方,

表9 大腸腫瘍に検討されたp53遺伝子の変異

腫瘍	第17番 染色体の対立 遺伝子欠損	エクソン5～ エクソン6に おける遺伝子変異	エクソン7および イントロン7の 遺伝子変異	遺伝子変異の 割合
家族性大腸 ポリポーシス				
腺腫				3/45 (7%)
KUPL31A	+ ¹⁾	+ ³⁾ (13bp-deletion) ⁴⁾		
KUPL36A5	+		(²⁴¹ Ser → Cys)	
KUPL50A	NI ²⁾	+		
大腸癌				1/15 (7%)
KUPL40C	+	+ (²¹⁵ Ser → Gly)		
非ポリポーシス性 大腸癌				3/15 (20%)
KUCO1	NI	+		
KUCO13	+	+		
KUCO15	+	+		

- 1) + ; 遺伝子欠損が認められたもの。
- 2) NI ; 正常組織の DNA がホモ接合型のため解析できないもの。
- 3) + ; ホルムアミド変性ゲル電気泳動が正常組織由来のバンドと違った位置にバンドが認められたもの。
- 4) 塩基配列決定により、遺伝子変異を確認したもの。
- 5) 解析した腫瘍数を分母とし、変異が検討された症例を分子とする。括弧内はその頻度 (%)

表10 大腸癌細胞株におけるp53 遺伝子の変異

細胞株	コドン	塩基変化	アミノ酸化
SW 480	273	CGT → CAT	Arg → His
	309	CCC → TCC	Pro → Ser
SW 620	273	CGT → CAT	Arg → His
	309	CCC → TCC	Pro → Ser
SW 837	248	CGG → TGG	Arg → Trp
SW 48	273	CGT → CAT	Arg → His
	309	CCC → TCC	Pro → Ser
COLO 320	248	CGG → TGG	Arg → Trp
WiDr	273	CGT → CAT	Arg → His
DLD 1	241	TCC → TTC	Ser → Phe
HCT 15	241	TCC → TTC	Ser → Phe
KMS 8	234	TAC → TGC	Try → Cyp

DCC 遺伝子にはRFLP解析を行い、ヘテロ接合性の消失が本症由来の腫瘍29% (6/21)、大腸がんの75% (2/3) に認められた。さらにDCC 遺伝子の挿入変異について検索し、大腸がん細胞株3例に変異を認め、現在FPC 由来の大腸腫瘍におけるDCC 遺伝子の構造異常について解析中である。以上の結果は家族性大腸ポリポーシス症の腫瘍発生過程に本症主遺伝子の他にp53あるいはDCC の各遺伝子が関与している可能性を示唆している。

D. b. 大腸腫瘍における多種類の遺伝子変異

FPC 由来の腫瘍、大腸癌における遺伝子変異の解析結果を表11にまとめた。腺腫に比較して大腸癌に遺伝子変異の集積が認められ、癌の多段階説が支持される。また、第22染色体のヘテロ接合性の消失は特に大腸癌で多く認められ、腫瘍の悪性化に関与する遺伝子の局在が示唆された。

表11 家族性大腸ポリポージス症に由来の大腸腫瘍における遺伝子変異

腺腫	K-ras 変異	p53 変異	ヘテロ接合性の消失				
			5q	17q	18q	22	その他
KUPL36P2	+						
KUPL36P4	+						
KUPL40P1	+						
KUPL39P2							14
KUPL22P					●		
KUPL36P5		+		●			
KUPL40P3	+			●		●	
KUPL42P5			●		●		
KUPL30P	+				●		1
KUPL31P		+		●	●		6, 12

大腸ガン	K-ras 変異	p53 変異	ヘテロ接合性の消失				
			5q	17q	18q	22	その他
KUPL16C							14
KUPL14C				●		●	
KUPL24Cr			●		●	●	
KUPL15C					●	●	15
KUPL24Cs	+		●		●	●	
KUPL31C	+			●	●		2, 16
KUPL35C			●	●			1, 6, 11
KUPL22Li	+			●	●	●	1, 19
KUPL40C	+	+		●	●		1, 4, 21

E. 特発性心筋症の遺伝要因の解析 (西宏文, 木村彰方, 笹月健彦)

特発性心筋症 (肥大型心筋症, 拡張型心筋症) の発現に関与する遺伝要因の解明を目的として以下の解析を行った。

E. a. 肥大型心筋症 (HCM)

久留米大学医学部第三内科 (戸嶋裕徳教授) との共同研究により行っている連鎖検定を, 今年度も継続している。家系数も徐々に増えているが, これまでの検討で連鎖の示唆された PALB との間に組換えを認めなかった。更に家系数を増やし検討を行っていくと共に, PALB 自体の蛋白レベルの検討, および塩基配列の検討を行っている。

最近欧米人大家系を対象とした解析により, HCM 患者に心筋ミオシン重鎖遺伝子の変異が報告された。これに基づき, 我々は日本 HCM 患者 101 例を検討したが, 報告された心筋ミオシン重鎖遺伝子の点突然変異あるいは $\alpha\beta$ 融合遺伝子は見いだされず, 報告された変異は特殊な家系に限られたものと推測された。

E. b. 拡張型心筋症 (DCM)

厚生省特発性心筋症調査研究班において全国 9 施設より収集した DCM 患者を対象に, 免疫現象に関わる種々の遺伝子群と DCM との関連の検討を引続き行なった。T 細胞レセプター α 遺伝子 (pY14) をプローブとして用いた場合, 8.0kb (A1) と 2.1kb (A2) の多型がみられ, 健常対象群では, A1/A1, A1/A2 および A2/A2 がそれぞれ 8.9%, 46.7%, 44.4% みられる。一方, 血清中に抗心筋抗体陽性の DCM 36 例では, 33.3%, 42.4%, 24.2%, 陰性群では 4.2%, 25.0%, 70.8% と遺伝子型の頻度が異なり, 抗心筋抗体の出現にも遺伝要因が関与していると考えられた。(抗心筋抗体の分析は, 山口大学第二内科・福田信二先生によった。)

業績目録

原著論文

1. Todd, J.A., Fukui, Y., Kitagawa, T., and Sasazuki, T., 1990.
The A3 allele of the HLA-DQA1 locus is associated with susceptibility to type 1 diabetes in Japanese.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 87, 1094-1098.
2. Nakagawara, A., Ikeda, K., Higashi, K., and Sasazuki, T., 1990.
Inverse correlation between N-myc amplification and catecholamine metabolism in children with advanced neuroblastoma.
Surgery, 107, 43-50.
3. Nishimura, Y., Iwanaga, T., Inamitsu, T., Yanagawa, Y., Yasunami, M., Kimura, A.,

- Hirokawa, K., and Sasazuki, T., 1990.
Expression of human major histocompatibility complex, HLA-DQw6 genes alters the immune response in C57BL/6 mice.
J.Immunol., 145, 353-360.
4. Sasaki, M., Sugio, K., and Sasazuki, T., 1990.
K-ras activation in colorectal tumors from patients with familial polyposis coli.
Cancer, 65, 2576-2579.
5. Urabe, K., Kimura, A., Harada, F., Iwanaga, T., and Sasazuki, T., 1990.
Gene conversion in steroid 21-hydroxylase genes.
Am.J.Human Genet., 46, 1178-1186.
6. Sasazuki, T., 1990.
HLA linked immune suppression genes.
Jpn.J.Human Genet., 35, 1-13.
7. Ottenhoff, T.H.M., Walford, C., Nishimura, Y., and Sasazuki, T., 1990.
HLA-DQ molecules nad the control of Mycobacterium Leprae specific T cell nonresponsiveness in lepromatous leprosy patients.
Eur.J. Immunol., 20, 2347-2350.
8. Begovich, A.B., Helmuth, R.C., Oksenberg, J.R., Sakai, K., Tabira, T., Sasazuki, T., Stinman, L., and Erlich, H.A., 1990.
HLA-DP β and susceptibility to multiple sclerosis: an analysis of caucasoid and Japanese patient populations.
Hum. Immunol., 28, 365-372.
9. Muto, M., Yasuda, N., Urabe, K., Mashimo, M., Kimura, H., Suzuki, T., Nakamizo, Y., Asagami, C., and Sasazuki, T., 1990.
Genetic profiles of psoriasis vulgaris : Family and population study.
Proc. 6th Japan-Korea Joint Meeting of Dermatology, in press
10. Kamikawaji, N., Fujisawa, K., Yoshizumi, H., Fukunaga, M., Yasunami, M., Kimura, A., Nishimura, Y., and Sasazuki, T., 1990.
HLA-DQ restricted CD4⁺ T cells specific to streptococcal antigen exist in low responders but not in high responders.
J.Immunol. in press
11. Sugio, K., Nakagawara, A., and Sasazuki, T., 1991
Association of expression between N-myc gene and major histocompatibility complex class I gene in surgically resected human neuroblastoma.

Cancer, in press

12. 川原田富朗, 1990.
HLA-DQw6遺伝子のマウス・コラーゲン誘導性関節炎に対する抑制効果.
福岡医誌, 82, 印刷中
13. 稲光 毅, 1991.
トランスジェニックマウスに発現されたHLA-DQ分子の免疫学的機能に関する研究.
福岡医誌, 82, 印刷中

総 説

1. 西村泰治, 笹月健彦, 1990.
HLA-DQと免疫抑制
Annual review 免疫1990, 156-164.
2. 西村泰治, 1990.
HLA-DQトランスジェニックマウス.
医学のあゆみ, 154, 482.
3. 西村泰治, 1990.
免疫応答および疾患感受性を支配する遺伝要因.
日本体質学雑誌, 54, 45-47.
4. 西村泰治, 1991.
ヒト免疫応答の個体差とその遺伝. アレルギーの臨床, 印刷中
5. 西村泰治, 1991.
RFLP解析を用いたHLAクラスII遺伝子のタイピング.
Clinical Immunology Newsletter, 10. 60.
6. 西村泰治, 1991.
MHCトランスジェニックマウス.
Annual Review 免疫1991, 66-75.
7. 木村彰方, 1990.
HLA 領域遺伝子群.
肺と心, 37, 277-283.
8. 木村彰方, 1990.
HLA クラスII 遺伝子群.
蛋白質・核酸・酵素, 35, 3091-3103.
9. 木村彰方, 1990.
アロ反応性T細胞が認識するMHC構造およびペプチド.

- 臨床免疫, 22, 303-310.
10. 木村彰方, 笹月健彦, 1990.
HLA クラス II 遺伝子群の発現制御.
日本臨床, 48, 546-550.
 11. 木村彰方, 笹月健彦, 1990.
MHC 抗原の細胞分布
日本臨床, 48, 551-553.
 12. 木村彰方, 笹月健彦, 1990.
MHC 遺伝子の配置.
日本臨床, 48, 554-556.
 13. 稲光 毅, 西村泰治, 1990.
MHC と self peptide—免疫応答における self peptide の役割.
実験医学, 8, 77-80.
 14. 福井宣規, 西村泰治, 1991.
自己免疫性内分泌疾患の成因-遺伝要因としての HLA .
ホルモンと臨床, 印刷中.
 15. 占部和敬, 笹月健彦, 1990.
サザンブロット法による診断.
日本臨床, 48, 1795-1800.
 16. 土屋邦喜, 西村泰治, 笹月健彦, 1990.
DNA 解析による疾患感受性の検討 (RA と SLE).
内科, 66, 687-698.
 17. 土屋邦喜, 西村泰治, 笹月健彦, 1990.
分子遺伝学 : RA 感受性を支配する DRB1 遺伝子.
病理と臨床, 8, 1372-1375.
 18. 土屋邦喜, 西村泰治, 笹月健彦, 1990.
HLA タイピング.
現代医療, 23, 299-304.
 19. 吉住秀之, 笹月健彦, 1990.
HLA と免疫抑制遺伝子.
日本臨床, 607, 568-573.
 20. 柴村和久, 西村泰治, 1991.
免疫遺伝学からみたスギ花粉症.
科学, 61, 93-97.

21. 西 宏文, 木村彰方, 1990.
肥大型心筋症の遺伝要因.
内科, 66, 680-681.
22. 西 宏文, 木村彰方, 1990.
特発性心筋症の遺伝要因.
内科, 66, 886-889.
23. 西 宏文, 木村彰方, 1990.
拡張型心筋症の遺伝要因.
最新医学, 45, 1972-1976.

著 書

1. Sasazuki,T., Urabe,K., Harada,F., Iwanaga,T., and Kimura,A., 1991.
Structural analysis of the genes within the HLA class III region on chromosome 6.
New aspects of the genetics of molecular evolution (Kimura,M. and Takahata,N. eds.)
Academic press, in press
2. Kimura,A., Nishi,H., Sasaki,M., Matsuyama,K., Wakisaka,A., Koga Y., Toshima,H.,
and Sasazki,T., 1991.
Genetic linkage analysis of hypertrophic cardiomyopathy (HCM) in Japanese.
Cardiomyopathy Update 4 (Sugimoto,K.ed) Tokyo Univ. Press, Tokyo, in press
3. 木村彰方, 1990.
HLA
分子生物学の進歩14 ヒト遺伝子から医学へ(日本分子生物学会編) pp163-179, 丸善, 東京
4. 猪子英俊, 木村彰方, 1991.
自己と非自己の識別.
岩波講座「分子生物科学」(本庶裕編) 岩波書店, 東京, 印刷中.
5. 岡本安弘, 西村泰治, 笹月健彦, 1990.
慢性関節リウマチの理解のために, 5 遺伝.
「慢性関節リウマチ」(水島裕編), 南江堂, pp237-242.
6. 西村泰治, 上川路信博, 笹月健彦, 1991.
抗原特異的T細胞増殖反応による免疫抑制遺伝子の解析.
「生化学実験講座」第12 巻分子免疫学Ⅱ 免疫遺伝学・アレルギー, (日本生化学会編) 東京化学同人, 印刷中.
7. 西村泰治, 1991.
トランスジェニックマウスを用いたMHC の解析.

「生化学実験講座」第12 卷分子免疫学Ⅱ 免疫遺伝学・アレルギー，（日本生化学会編）東京化学同人，印刷中。

学会発表

1. Sasazuki, T. "Genetic control of immune response and disease susceptibility by HLA-DQ gene" The 7th International HLA/H-2 Workshop, Munich, May 2-5, 1990.
2. Sasazuki, T. "Genetic and molecular analyses of familial polyposis coli" France-Japan Cancer Symposium, September 23-26, 1990.
3. Sasazuki, T. "Genetic control of immune response and disease susceptibility by HLA-DQ gene" International symposium "Ir genes : From biology to medicine" Paris, October 31-November 2, 1990.
4. Sasazuki, T. "Mutations of oncogenes and tumor suppression genes observed in patients with familial polyposis coli" US-Japan Cancer Seminar, January 17 and 18, 1991.
5. Sasazuki, T. "HLA-DQ controls immune response and disease" WACIID meeting, Chiba, February 4-7, 1990.
6. Nishimura, Y. "Changes of T cell repertoire observed in HLA class II transgenic mice" The Ontario Cancer Institute Seminar, Toronto, December 12, 1991.
7. Kimura, A., Dong, R.P., and Sasazuki, T. (1990, 9/29-10/1).
Structural analysis of HLA class II genes in Japanese population.
ASEATTA 1990, Auckland.
8. Fukui, Y., Kimura, A., Yasunami, M., Ezaki, Y., Nishimura, Y., and Sasazuki, T. (1990, 7/30-7/31).
Establishment of transgenic mouse expressing HLA-DQw4 molecule.
IAHB, Fukui.
9. Inamitsu, T., Nishimura, Y., and Sasazuki, T., (1990, 7/30-7/31).
Recognition of class II gene products in the context of class I molecule by cytotoxic T lymphocytes.
IAHB, Fukui.
10. Dong, R.P., Kimura, A., Hatae, K., Senju, S., Nishi, H., and Sasazuki, T. (1990, 7/30-7/31).
Polymorphisms in HLA-class II genes.
IAHB, Fukui.
11. Kimura, A., and Sasazuki, T. (1990, 7/30-7/31).
Polymorphism in the promoter region from HLA-DQA gene.

- IAHB, Fukui.
12. Tsuchiya,K., Kondo,S., Kimura,A., Nishimura,Y., and Sasazuki,T. (1990, 7/30-7/31).
Molecular analysis of HLA class II genes susceptible to chronic rheumatoid arthritis.
IAHB, Fukui.
 13. Kawaharada,T., Okamoto,Y., Inamitsu,T., Nishimura,Y., Iribe,H., and Sasazuki,T.
(1990, 7/30-7/31)
Suppressive effect of HLA-DQw6 gene on collagen induced arthritis in mice.
IAHB, Fukui.
 14. Senju,S., Kimura,A., Yoshizumi,H., Kamikawaji,N., Nishimura,K., and Sasazuki,T.
(1990, 7/30-7/31).
Polymorphism in cytoplasmic domain of HLA-DQ β chain.
IAHB, Fukui.
 15. Yoshizumi, H., Kamikawaji,N., Tsuchiya,K., Nishimura,Y., and Sasazuki,T. (1990,7/30-7/31).
Analysis of T cells involved in an immune suppression by HLA-DQ molecule.
IAHB, Fukui.
 16. Kamikawaji,N., Yoshizumi,H., Kimura,A., Nishimura,Y., and Sasazuki,T. (1991, 7/30-7/31)
Genetic control of low responsiveness to streptococcal antigen.
IAHB, Fukui.
 17. 白澤専二, 占部和敬, 柳川右千夫, 利谷幸治, 笹月健彦 (1990, 8/1-8/4)
家族性大腸ポリポーシスにおけるp53遺伝子の変異.
第35回日本人類遺伝学会大会, 福井.
 18. 西 宏文, 木村彰方, 松山公明, 古賀義則, 戸嶋裕徳, 笹月健彦 (1990, 8/1-8/4)
肥大型心筋症の遺伝要因の解析.
第35回日本人類遺伝学会大会, 福井.
 19. 西 宏文, 木村彰方, 古賀義則, 戸嶋裕徳, 笹月健彦 (1990, 3/27-3/29).
拡張型心筋症の遺伝要因の検討
第54回日本循環器学会総会, 福岡.
 20. 白澤専二, 占部和敬, 柳川右千夫, 利谷幸治, 笹月健彦 (1990, 7/3-7/5).
家族性大腸ポリポーシス (FPC) の遺伝学的解析 (8)
本症大腸腫瘍におけるp53遺伝子の変異
第49回日本癌学会総会, 札幌
 21. 占部和敬, 白澤専二, 柳川右千夫, 利谷幸治, 押村光雄, 和氣徳夫, 笹月健彦 (1990, 7/3-

7/5)

微小核融合法による第18染色体の大腸癌細胞株への導入

第49回日本癌学会総会, 札幌

22. 利谷幸治, 柳川右千夫, 占部和敬, 白澤専二, 古市正人, 山本三毅夫, 笹月健彦 (1990, 7/3-7/5).

肝細胞の腫瘍化に関連した遺伝子クローニング

第49回日本癌学会総会, 札幌

23. 笹月健彦 (1990, 7/3-7/5)

前癌性病変の分子診断をめざして, 大腸がんにおける遺伝子変異

第49回日本癌学会総会, 札幌

24. 川原田富朗, 岡本安弘, 稲光 毅, 西村泰治, 入部英明, 笹月健彦 (1990, 5/29-5/31).

HLA-DQw6遺伝子のマウス・コラーゲン誘導性関節炎に対する抑制効果.

第34回日本リウマチ学会総会, 大阪.

25. 土屋邦喜, 近藤正一, 西村泰治, 笹月健彦, (1990, 5/29-5/31)

RAの臨床経過とHLA

第34回日本リウマチ学会総会, 大阪

26. 上川路信博, 笹月健彦 (1990, 10/19)

HLAによる溶連菌抗原に対する免疫応答の遺伝的抑制.

第10回日本サルコイドーシス学会総会, 福岡.

27. 木村彰方, 笹月健彦 (1990, 11/29-11/29)

HLA-DQA プロモーター領域の遺伝的多型性

第13回日本分子生物学会, 京都.

28. 西村泰治 (1990, 5/19)

遺伝要因としてのHLA .

第63回日本内分泌学会総会, 大阪.

29. 西村泰治 (1990, 11/13)

A群に型 β 溶連菌細胞抗原に対する免疫応答性は, M蛋白とHLA-DQを認識するCD4⁺T細胞により誘導される.

第64回日本細菌学会関東支部総会, 東京.

30. 西村泰治 (1990, 11/14)

HLA-DQと免疫抑制.

第40回日本アレルギー学会総会. 長崎.

31. 西村泰治

HLAによるヒト免疫応答の個体差の決定.

第463回新潟医学会シンポジウム, 新潟.

32. 董 瑞平, 木村彰方, 笹月健彦 (1990, 11/27-11/29)
HLA クラス II 遺伝子群の DNA タイピング.
第20回日本免疫学会総会, 東京.
33. 土屋邦喜, 近藤正一, 木村彰方, 西村泰治, 笹月健彦 (1990, 11/27-11/29).
慢性関節リウマチに高感受性を示す DRB1 遺伝子の解析
第20回日本免疫学会総会, 東京.
34. 上川路信博, 吉住秀之, 木村彰方, 西村泰治, 笹月健彦 (1990, 11/27-11/29).
HLA-DQ による溶連菌壁抗原に対する免疫低応答性の遺伝子支配.
第20回日本免疫学会総会, 東京.
35. 吉住秀之, 上川路信博, 土屋邦喜, 西村泰治, 奥村 康, 笹月健彦 (1990, 11/27-11/29).
溶連菌細胞壁抗原に対する免疫低応答性に関わる CD8⁺T 細胞の解析
第20回日本免疫学会総会, 東京.
36. 千住 覚, 木村彰方, 吉住秀之, 上川路信博, 西村泰治, 笹月健彦 (1990, 11/27-11/29).
HLA-DQ β 鎖細胞内ドメインの機能解析.
第20回日本免疫学会総会, 東京.
37. 福井宣規, 江崎幸雄, 木村彰方, 安波道郎, 西村泰治, 笹月健彦 (1990, 11/27-11/29).
DR α トランスジェニックマウスにおける DR α E β 分子の発現.
第20回日本免疫学会総会, 東京.
38. 江崎幸雄, 福井宣規, 木村彰方, 西村泰治, 笹月健彦 (1990, 11/27-11/29).
HLA-DQw4分子を発現したトランスジェニックマウスの樹立.
第20回日本免疫学会総会, 東京.
39. 稲光 毅, 西村泰治, 笹月健彦 (1990, 11/27-11/29).
トランスジェニックマウスにおける H-2D^b分子による HLA-DQ 分子 T細胞への提示.
第20回日本免疫学会総会, 東京.
40. 川原田富朗, 岡本安弘, 稲光 毅, 西村泰治, 入部英明, 笹月健彦 (1990, 11/27-11/29).
HLA-DQw6遺伝子のマウス・コラーゲン誘導性関節炎に対する抑制効果.
第20回日本免疫学会総会, 東京.
41. 岡本安弘, 稲光 毅, 西村泰治, 笹月健彦 (1990, 11/27-11/29).
HLA-DQw6トランスジェニックマウスを応用した抗 HLA クラス II 単クローン抗体の作製.
第20回日本免疫学会総会, 東京.