



Title	Serological and nucleotide sequencing analyses of a novel DR52-associated DRB1 allele with the DR 'NJ25' specificity, designated DRB1*1307.
Author(s)	兼重, 俊彦
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/40877
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	かね しげ とし ひこ 兼 重 俊 彦
博士の専攻分野の名称	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 2 8 7 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 5 月 7 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Serological and nucleotide sequencing analyses of a novel DR52-associated DRB1 allele with the DR 'NJ25' specificity, designated DRB1*1307. (DR 'NJ25'特異性を持つ DR52 関連 DRB1 アリル, DRB1*1307の血清学的及び塩基配列の解析)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 越 智 隆 弘 (副査) 教 授 宮 坂 昌 之 教 授 白 倉 良 太

論 文 内 容 の 要 旨

[目 的]

独自に確立した HLA-DRB1 の高精度アリルタイピング法により発見した日本人由来の新規アリル, DRB1*1307 のハプロタイプ, 遺伝子頻度及び塩基配列の特徴と血清学的特異性の関連性について解析した。

[方法ならびに成績]

① HLA クラス II アリルの高精度タイピングの確立：猪子らより報告された方法を改良し, DRB1 アリルグループ(；血清学的特異性に対応するグループ)毎に PCR 増幅した後, アリルの変異部位を認識する制限酵素を用いたタイピング法(；PCR-restriction fragment length polymorphism, PCR-RFLP 法)を実用化した。その他のクラス II アリル, DRB3, DQA1, DQB1, DPB1 についても PCR-RFLP 法もしくは PCR-SSOP (sequence-specific oligonucleotide probe) 法によりタイピングを行った。血清学的タイピングは Terasaki 法 (NIH 標準法) により行った。②新規アリル DRB1*1307 の発見とその遺伝子頻度：上記の方法で既知のアリルと異なる RFLP パターンを示したことにより, 新規の DRB1 アリルを発見し, その塩基配列を決定した (WHO 公認名称 DRB1*1307)。日本人集団 652 例を対象とした解析においてこの DRB1*1307 は 0.24% の遺伝子頻度で存在し, B70 と強い連鎖不平衡 ($p < 0.001$) を持つハプロタイプを形成することが分かった。③塩基配列の特徴と血清学的特異性の関連性について：既知の DRB1 アリルの塩基配列との比較では, DRB1*1101 と最も相同性が高く, 第 2 エクソン内の 2 つのアミノ酸残基 (第 47 番, 第 58 番) だけが異なっていた。両者は DRB3*0202-DQA1*0501-DQB1*0301 のハプロタイプを共通して持つことから, DRB1*1307 は遺伝子変換または点突然変異により生じた可能性が考えられるが, DRB1*1307 の血清学的特異性は DRB1*1101 と対応する DR11 とは異なり, DR-NJ25 (DR6) と同定された。すなわち DRB1*1307 は DRB1*1101 と 2 つのアミノ酸が異なることで DR11 抗原特異性が消失したものと考えられる。一方 DRB1*1307 の血清学的反応性とよく相関した DRB1*1406 とのアミノ酸配列の比較において共通性のある特徴的なアミノ酸は見出せなかったことから, DR-NJ25 に関連する血清学的な特異性の多様性が示唆された。

[総 括]

HLA クラスIIアリの高精度タイピングを確立したことにより、従来法により型判定されてきた HLA 抗原の特異性を遺伝子レベルで詳細に解析する、すなわち従来の HLA 抗原の遺伝的多型性を推定されるアミノ酸の変異として理解することが可能となった。例えば今回の DRB1*1307の発見により、同種抗体により認識可能な抗 DR11 抗体の抗原決定基が特定のアミノ酸変異に由来することが明らかになった。同様に新規に発見された HLA アリはその変異部位と抗原特異性を比較することでエピトープの同定に有用な情報を提供するものである。また HLA 抗原の特徴の一つとして挙げられるもので、抗原座間での連鎖不平衡を示すハプロタイプ形成があるが、この生物学的意義について未だに不明な点が多い。このハプロタイプ形成の必然性についてもアリレベルの詳細な解析を行うことで系統進化を踏まえた情報を提供することが可能である。

一方、従来より示されていた HLA 抗原型と疾病の発症・病態との関連についても HLA アリタイピングにより、より詳細な解析が可能になった。特に HLA 分子に結合した抗原ペプチドを T セルレセプターが認識する様式の高次構造の解明を背景に、単に遺伝子マーカーとしてではなく、疾病発症に関与するその抗原ペプチドの推定も可能になりつつある。

論文審査の結果の要旨

ヒト主要組織適合性抗原である HLA は、T セルに対する抗原提示を担う分子であり、その特徴として高度な多型性を有することが知られている。独自に開発した遺伝子タイピング法を用いた日本人集団の HLA クラスII抗原アリの解析により、新規のアリ DRB1*1307を発見した。このアリは塩基配列の相同性上では DRB1*1101と最も近似するが、同種抗体による抗原特異性の解析では明らかな差異が認められ、DRB1 の $\beta 58\text{Glu}$ が抗 DR11 抗体の抗原決定基であることを推察した。一方、従来より保存領域とされる DQA1 の $\alpha 2$ ドメインで1アミノ酸 ($\alpha 160$) のみが異なる DQA1*03及び*05サブタイプの存在に着目し、これらのハプロタイプ形成がサブタイプ毎に進化経路上の選択圧を受けていることを証明した。このことにより DQA1 の $\alpha 160$ のアミノ酸変異がクラスII抗原分子の $\alpha\beta$ heterodimer の2量体化もしくは CD4 分子との結合に影響している可能性を推察した。以上の研究成果は HLA クラスII抗原の多型性を遺伝子タイピングにより詳細に解析した上で、特定のアミノ酸変異の意義を HLA の免疫学的機能面から解明したものであり、学位の授与に値すると考えられる。