

HLA-E, -F, -G の発現と機能

—胎児 / 母体間免疫のブラックボックスは開きうるか—

奈良県立医科大学法医学教室

石谷 昭子

EXPRESSION AND FUNCTION OF HLA-E, -F AND -G

AKIKO ISHITANI

Department of Legal Medicine, Nara Medical University

Received February 18, 2002

抄 録: いかなる HLA class II も HLA-A, -B も発現していない胎盤トロフォブラスト上には, 多型性の乏しい HLA-E, -F, -G が発現している. これらの分子の相互作用がどのように妊娠の維持に働いているかについて述べる. また最近, HLA-G がアロ反応性 T 細胞のアポトーシスを誘導する等の免疫寛容に係わっているという報告がでて, 移植免疫の分野においても脚光を浴び始めている. これら分子の基礎と最新の知見について考察する.

Key words: HLA-E, HLA-F, HLA-G, placenta, immunotolerance

緒 言

妊娠において胎児は, 遺伝子の半分が父親由来で, 母体にとっては一種の同種移植片である. 臓器移植においては常に拒絶反応は引き起こされ, 特に移植片の HLA 型がレシピエントのそれと異なる場合は急激な拒絶反応が開始される. 妊娠においては HLA の適合性が考慮されているわけではないにもかかわらず, 母体は妊娠期間中, 胎児を拒絶せず生着させている. この母児の接点における免疫機構の疑問は 1950 年代から問われ続け, 未だに解明されていない. これまで, この免疫機構を解明するひとつの鍵として母児の接点である胎盤トロフォブラスト上の HLA について多くの研究がなされてきた.

HLA 遺伝子は, 第 6 染色体短腕上に存在し, これらは class I と class II に分類され, class I はさらに HLA-A, -B, -C の class Ia と HLA-E, -F, -G の class Ib に分類される. class Ia 遺伝子は非常に多型に富み, 多くの(全てではないが)体細胞の細胞表面に発現しており, 機能としては, 内因性抗原を T 細胞に提示し, 一連の免疫反応を開始させる機能, および NK 細胞の抑制性レセプターに結合し, 細胞傷害活性を抑制する機能が知られている.

一方, class Ib 遺伝子の HLA-E, -F, -G¹⁻³⁾は 1987 年~1990 年に Geraghty らにより HLA class I 領域の gene

mapping において発見されたもので, 当時, これらは多型性が著しく乏しいこと以外はその発現や機能についてはほとんど知られていなかったため, 偽遺伝子等と同一視され, 進化の過程で生じた遺伝子の「くず」であるとも言われていた. しかし 1990 年, 既知の HLA は class I も class II も発現していない胎盤トロフォブラスト上に未知の HLA 分子が発現しており, それが HLA-G であることが 2 次元電気泳動法等により明かにされ^{4,5)}以来, この遺伝子は脚光を浴びることとなった. その後, モノクロナル抗体の作製⁶⁻⁸⁾により, HLA-G 遺伝子の発現部位が母体と胎児のまさしく接点である胎盤トロフォブラストに限局されていることが明らかになり⁹⁾, この多型性の乏しい HLA-Gこそが, 母体の免疫学的拒絶から, 半移植片としての胎児を保護しているのではないかと推測され, 産婦人科あるいは移植免疫領域において多数の研究がなされてきた. また HLA-E については 1998 年, モノクロナル抗体によりトロフォブラスト上には HLA-E も発現していること^{10,11)}, およびこの遺伝子の特異的な発現様式^{12,13)}が明らかにされてから, この遺伝子の機能に多くの研究者が惹きつけられた. HLA-F については最近ようやくモノクロナル抗体が作製され^{10,14,15)}, 研究の緒についたところである.

最近, HLA-G の発現が胎盤トロフォブラスト以外の

細胞, ある種の癌組織, 移植片に発現しているとか, 活性化T細胞が可溶性HLA-G抗原を分泌し, それが免疫寛容を引き起こすというように, 癌免疫や移植免疫に直接関係した報告が出されている. 本稿においては, これら遺伝子に関する基礎的知見を解説するとともに, 疾患に関連した最新の知見についても考察したい.

多 型 性

class Ib 抗原の構造は class Ia と全く同様に, 細胞膜外の $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ の3つのドメイン, 膜貫通領域および細胞質領域よりなる. そして $\alpha 3$ ドメインにおいて $\beta 2$ ミクログロブリンと非共有結合により結合し, HLA class I の立体構造を保っている. 全体として, class Ia と Ib の相同性は, class Ia の-A, -B, -C 間における相同性と大きくは変わらない¹⁻³⁾.

ただ class Ib 遺伝子の重要な特性としては多型性が非常に乏しいことがある. 多型性の有無はその遺伝子の機能と深く関連するものと考えられ, これまで HLA-G および HLA-E 遺伝子の多型性について多くの研究がなされてきたが, 検出された多型は Fig. 1 に示すように著しく乏しいものであった.

HLA-G のアミノ酸レベルの多型については, 110 番のアミノ酸がロイシンからイソロイシンに変異したアレルが人種により約 20~50% 存在しているのみ^{16, 17)}で, 他は非常に頻度の低い多型についての報告がわずかにみられ

る程度である¹⁶⁾. かつて, van der Ven と Ober が African American において 26ヶ所に蛋白レベルの変異が存在するという, class Ib 遺伝子の常識をゆるがすような報告を出して驚かせた¹⁸⁾が, 我々が再検したところ, 他の人種と大差なく, そのような多型性は認められなかった¹⁹⁾.

ただ, アフリカ系の人種にはコドン 130 の C が欠損し, $\alpha 2$ ドメインの中頃から蛋白が合成されない null allele が数%の頻度で存在している^{19, 20)}.

HLA-E については, 107 番目のアミノ酸がグリシンあるいはアルギニンである 2種類のアレルがほとんど全ての人種においてほぼ同率存在するのみである^{16, 21)}. その他には 83 番の多型がごくわずかに存在するという報告があるが, かつて 157 番における多型が Oriental においては約 50% の頻度で存在していると報告された^{16, 22)}が, これも我々が再検したところ, この多型はまったく検出されなかった^{21, 23)}.

HLA-F については, これまで, 2箇所の多型が報告されているが, まだ確認されてはいない²⁴⁾.

HLA-E と HLA-G の多型については多くの解析がなされてきたが, 結局, ほぼ 2 種のアレルが存在するのみである. すなわち, 進化の過程でそれぞれ 2 種のアレルのみを保ってきたということは, それら遺伝子の機能上, 多型性の発生が不利に作用するものと考えられ, 多種の多型性を保っている class Ia 遺伝子とは異なった, なんらかの重要な機能を示唆するものであろう.

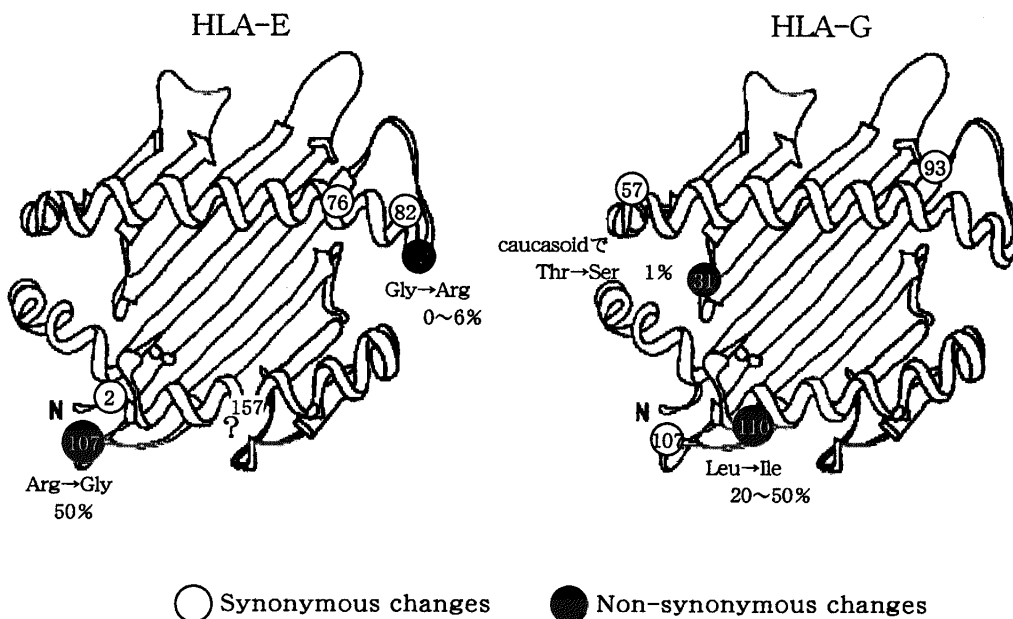


Fig. 1 Polymorphisms of HLA-E and HLA-G genes
White circles show synonymous changes and black circles show non-synonymous changes.

遺伝子の発現と機能

遺伝子の発現については mRNA および蛋白としての発現を調べなければならないため、多くの研究者がモノクロナル抗体の作製を試みてきたが、多くは成功していない。我々はこれまでに、Table 1 に示すように、HLA-E, -F, -G に対する 7 種のモノクロナル抗体^{8, 10, 11)}の作製に成功し、これらを用いて、これら遺伝子の解析を行ってきた。

1, HLA-G

a) 胎盤における発現

胎盤トロフォブラスト上に発現している未知の HLA が HLA-G であることが明らかにされて^{4, 9)}以来、HLA-G の発現について多くの研究がなされてきたが、蛋白として検出されるのは胎盤トロホプラストに限定されている。mRNA については、皮膚、眼、T, B 細胞、精子等に発現しているという報告が相次いだが、我々が抗 HLA-G モノクロナル抗体⁹⁾を用いて人体組織全般について HLA-G 抗原の検索を行った結果、胎盤以外ではいずれにも検出されなかった⁹⁾。

胎盤においては、HLA-G は母体組織に侵入しつつある extravillous cytotrophoblast (ext. CT) には膜結合性 HLA-G 抗原が非常に強く発現されており、絨毛の最外部にあり、絨毛間腔の母体血に接している syncytiotrophoblast (ST)、そのすぐ内側にある villous cytotrophoblast (vil. CT) には可溶性 HLA-G 抗原が発現・分泌されている。さらに絨毛間腔の母体血中にも可溶性抗原が検出されている^{9, 10)} (Fig. 2)。この HLA-G 抗原の局在性はいずれの妊娠ステージにおいても同様の傾向を示したが、初期において最も強く発現していた⁹⁾。このように、母体の免疫細胞と接するすべてのトロフォブラスト上に多

型性の乏しい HLA-G が発現し、それらの細胞から“非自己”と認識されないように保護していると考えられる。

また我々は、Fig. 3 に示すように、HLA-G は選択的スプライシングにより、可溶性 HLA-G および 3 種の isoform の mRNA を産生することを明らかにした^{7, 25)}。これら isoform については、全ドメインをもつものを HLA-G1, $\alpha 2$ ドメインを欠くものを G2, $\alpha 2\alpha 3$ ドメインを欠くものを G3 と命名した。これらの分子はすべて、RNase Protection 法により胎盤組織内に有意の量が存在することが明らかになり、それぞれに、何らかの機能を持っているものと推測される。我々は、G1 は class I 抗原としての機能を果たし、また G2 はそのドメイン構造の類似から 2 分子で homodimer を形成して class II 分子と類似した構造をとっている可能性があるかと推測している。このように、HLA-G は選択的スプライシングにより class I, class II および可溶性抗原等の分子を作り出し、トロホプラスト上の MHC の役割をひとりで多役果たしているように見える。

b) 胎盤以外における発現

癌組織、移植において

胎盤以外における蛋白レベルの発現が、癌組織等について近年報告されはじめている。

癌細胞は通常 class I 抗原の発現が低下しているにもかかわらず NK 細胞の攻撃から免れているが、これが HLA-G の発現によるものではないかという推論に基づいている。Paul ら²⁶⁾は melanoma の組織 23 サンプル中 5 サンプルは HLA-G mRNA および蛋白を発現していたと報告している。また、Pangault ら²⁷⁾は肺がん組織等に浸潤しているマクロファージや樹状細胞に HLA-G が発現していることを報告している。しかし Real²⁸⁾らは 50 種の癌組織と 31 種の tumor cell line について調べ、ほと

Table 1. Anti-HLA-E, -F, and -G monoclonal antibodies

Monoclonal antibody	specificity	cross-reactivity	Isotype	FACS	Immuno-precipitation	ELISA	histology	western blot
87G	HLA-G1, HLA-G1 sol	nc	IgG2a	+	weak	+	+	-
olG	HLA-G1	nc	IgG2a	+	+	+	+	-
16G1	HLA-G1 sol	nc	IgG1	-	+	+	+	+
3D12	HLA-E	nc	IgG1	+	+	+	+	-
4D12	HLA-E	nc	IgG1	+	+	nt	+	+
3D11	HLA-F	nc	IgG1	+	+	+	+	+
4D11	HLA-F	HLA-Cw04 ^a	IgG1	+	+	+	weak	+

^a crossreacts with the Cw*0401-3, *0405 but not *0404

nt, indicates not tested

nc, indicated no crossreactivity with tested HLA-A, -B and -C specificities

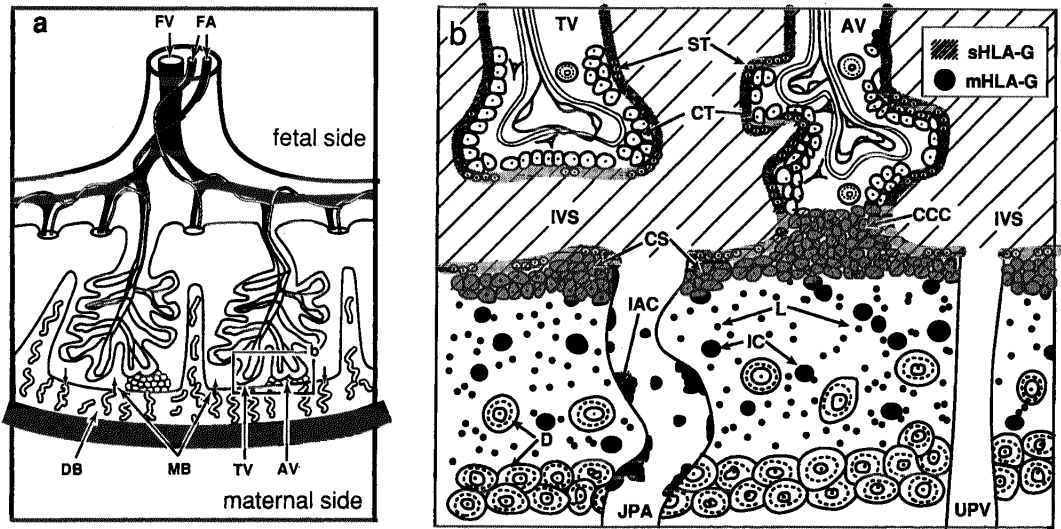


Fig. 2. The expression of HLA-G1 and HLA-G1 sol on placenta
 a) The cartoon of placenta, b) magnification of □ region in (a)
 HLA-G1 is expressed in extravillous trophoblast (CCC, CS, IC, IAC), HLA-G1 sol is expressed in CT, ST, IVS, and extravillous trophoblast.
 FV: fetal vein, FA: fetal artery, DB: decidual basement, TV: floating villi, AV: anchored villi, MB: maternal blood, IVS: intervillous space, ST: syncytiotrophoblast, CT: cytotrophoblast, CCC: cytotrophoblast cell column, CS: cytotrophoblastic shell, D: decidual cell, IC: interstitial cytotrophoblast, IAC: intra-arterial cytotrophoblast.

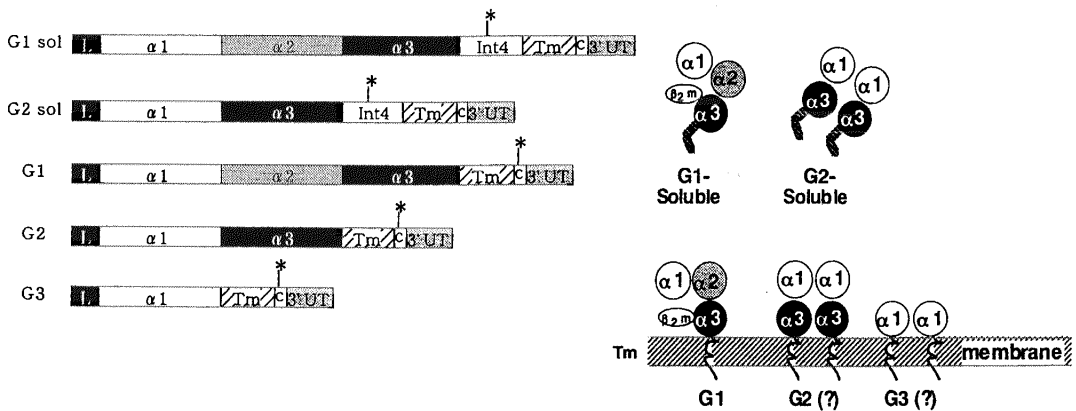


Fig. 3. Summary of the alternative splicing of HLA-G transcripts and the encoded proteins.
 Left, schematic drawings of the alternative forms of the HLA-G mRNA. Right, drawings of known and hypothetical HLA-G proteins. The lower cartoons indicate the surface-bound protein whereas those above represent the soluble forms. G1 is the full-length HLA-G protein and G2 and G3 represent proteins encoded by the G2 and G3 mRNAs (left). The soluble forms of G1 and G2 are indicated above with the unique 21 amino acid carboxyl terminus indicated as a hatched line.
 * indicates the position of a stop codon ending the open reading frame in each of the mRNAs.

んどの場合に mRNA は RT-PCR で検出されたが、3 種のモノクロナル抗体 (87G, oIG, G223) を用いて調べた蛋白としての発現は、いずれの場合も検出されなかったと報告している。このように癌組織における HLA-G の発現については多くの相矛盾した報告がなされている。今、HLA-G の蛋白の正確な検出法の確立が求められている。

一方、Lila ら²⁹⁾は心臓移植後それが生着している患者の血清や生検組織に HLA-G が発現しており、この HLA-G を産生している細胞が CD4+ T 細胞であることを報告した。リンパ球混合培養試験を行い、ある種の responder/stimulator の組み合わせにおいて、responder の allo-specific CD4+ T 細胞が可溶性 HLA-G を分泌すること、そして、その可溶性 HLA-G は T 細胞のアロ反応を抑制することを報告している。

産婦人科領域の臨床において

体外受精において、Fuzzi ら³⁰⁾は in vitro で受精させた卵の培養液中に可溶性 HLA-G が分泌されていることを報告した。そしてこの受精卵を可溶性 HLA-G を分泌しているものと、していないものとにグループ分けしたところ、分泌していないグループの受精卵は体内に戻されても妊娠には至らず、分泌しているグループの受精卵の 24% が妊娠に成功したと報告している。すなわち、可溶性 HLA-G を分泌することは、受精卵が母体内で妊娠期間着床するための必須条件であって、十分条件ではないようである。

また、妊娠中毒症の胎盤においては脱落膜中に侵入しているトロフォブラストの HLA-G の発現が消失しているという報告^{31, 32)}がいくつかある。しかし、これについて我々^{33, 34)}が調べたところ、HLA-G を消失しているトロフォブラストはすべてネクロシスを起こして、ほとんど死細胞に近い状態にあって、他の酵素活性等も無くなっていた。すなわち、HLA-G を消失しているのはそれが妊娠中毒症の原因というよりは、結果でしかないように見られた。

c) 抗原提示能について

HLA-G が抗原提示を行っているかどうかについての直接的証明はまだみあたらないが、これを支持する傍証はいくつか報告されている。まずこの分子が内因性抗原のペプチドと結合するかどうかについて、我々⁸⁾が、HLA-G 遺伝子を導入した細胞を用いて調べたところ、その結合ペプチドは class Ia と同様に、細胞質内蛋白由来のペプチドで、しかも HLA-G の発現も TAP 依存性であった。すなわち、HLA-G は細胞質内蛋白由来のペプチドを結合することができると考えられる。そこで次

に、in vivo でも同様のペプチドを結合しているかどうかを知るために、胎盤から HLA-G を抽出し、その結合ペプチドを分析したところ、驚いたことに、in vitro と全く異なって、ほぼサイトカインレセプター由来ペプチド種類のみであった(未発表)。このことから、抗原提示は HLA-G の主たる役目ではないのではないかと推測される。

一方、HLA-G トランスジェニックマウスを用いた実験において、HLA-G が MHC 拘束分子として機能し、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の反応を惹起することを示した報告³⁵⁾がある。しかしこのトランスジェニックマウスの場合は、HLA-G はマウス組織全体に発現しており、ヒトの場合とは異なり、おそらく class Ia 分子として機能しているのではないかと考えられる。また、HLA-G が抗原提示を行っているもうひとつの傍証として、HLA-G は CD8 を認識して結合するという報告³⁶⁾や、さらに近年、その CD8 と HLA-G の親和性がかなり高いという報告³⁷⁾が出されている。しかしこれらの報告に対して、CD8 と可溶性 HLA-G のこの反応は Fas/Fas-ligand を介したもので、T cell receptor (TCR) 非依存性であることを示し、HLA-G が活性化 CD8 T 細胞のアポトーシスを誘導するという報告³⁸⁾が出された。すなわちこれらの結果も、我々の仮説、「HLA-G は抗原提示をしていない」を支持しているように考えられる。

d) NK 傷害活性抑制能について

HLA-G の NK 傷害活性抑制能に関しては、抑制能があることについては一致していたのであるが、いかなるレセプターと結合するのかについて長期間混沌としていた。この理由については HLA-E の項で述べる。1998 年に入り、HLA-G の結合する NK レセプターは immunoglobulin-like transcript (ILT) 2 および ILT4^{39, 40)}であることが明かにされた。さらに、killer immunoglobulin-like receptor (KIR) 2DL4⁴¹⁾も HLA-G と結合することが報告され、1999 年にはこの KIR2DL4 は全ての NK 細胞に発現し、HLA-G にのみ特異的に結合し、他の class I 分子とは反応しないと報告⁴²⁾された。すなわち、HLA-G はほとんど全ての NK 細胞に発現する ILT2 および ILT4 や KIR2DL4 のリガンドとなって NK 傷害活性の抑制に働いていると考えられる。

2, HLA-E

a) 発現

HLA-E 蛋白は class Ia と同様に多くの組織に発現しており、しかも class Ia とは異なって胎盤トロフォブラストにも発現している¹⁰⁾。

近年、HLA-E が急激に注目を浴び始めた。それはこ

の遺伝子が他の HLA と非常に異なった特性を持っていることが明らかにされたためである。すなわち、他の class I 抗原が全く発現していない細胞においては HLA-E は膜上には発現され得ないのである。通常 HLA class Ia 蛋白は、細胞内蛋白由来のペプチドをその HLA 分子内に結合し、そのことで分子が安定化し、細胞膜上に輸送され、そこでこのペプチドを T 細胞に提示するという機能を持っている。ところが HLA-E は、細胞内蛋白由来のペプチドとはほとんど結合することができず、細胞内の他の HLA class I のシグナル・ペプチドのみを結合し、始めて膜表面に発現できるのである。そして、このシグナル・ペプチドも全ての class I 由来のものが結合できるわけではなく、HLA-B27 や B51 のシグナル・ペプチドは結合しない。一方、class Ib の HLA-G 由来のものは結合できるということが明らかになった¹¹⁾。このような HLA-E の結合ペプチドに対する強い選択性は結晶解析により得られた HLA-E 蛋白分子のペプチド結合溝の構造¹²⁾からも十分理解されるものである。

b) 抗原提示能について

このような特殊な発現様式やペプチド結合における特性は、この HLA の機能を現しているものであろうことは容易に推定される。内在する他の HLA class I 分子を T 細胞あるいは NK 細胞に提示することがこの分子の機能なのではないであろうか。HLA-E 遺伝子のマウスにおけるホモログと考えられる Qa-1¹⁴⁾が、マウスの class Ia 遺伝子 H-2D のシグナルペプチドと結合して、アロ反応性 T 細胞にこれを提示することが報告されている。ヒトの HLA-E も同様に、細胞内に存在する HLA-E 以外の HLA のシグナル・ペプチドを T 細胞に提示する機能を持っている可能性も考えられる。しかし、これまで HLA-E が T cell receptor と結合するという報告はされていない。一方、influenza virus および Epstein-Barr virus の 2 種の virus 蛋白を HLA-E が結合しようという報告¹⁵⁾が最近出されたが、HLA-E の抗原提示能についてはまだ多くは解明されていない。

c) NK 傷害活性抑制能について

HLA-E は、C タイプレクチン・スーパーファミリーに属する抑制性 NK レセプター、CD94/NKG2A と結合して NK 傷害活性を抑制するすることが 1997 年 Geraghty ら¹²⁾および McMichel ら¹³⁾により報告されて以来、同様の結果が多数報告され、今や定説となった。CD94/NKG2A レセプターは非常に幅広い種類の NK 細胞もっていることが知られているが、この分子が、人体中ほとんどの組織に発現している HLA-E に対するレセプターとして機能しているということは理にかなうものと考えられる。

ちなみに、胎盤脱落膜中の NK 細胞の多くもこのレセプターをもっている。

これまで HLA の NK 細胞に対する作用を調べるに当たっては、いかなる HLA class I も細胞表面に発現していない 721.221 human lymphoblastoid cell line (.221)、およびその細胞に各種 class I 遺伝子を導入した細胞を標的細胞として各種 NK 細胞の傷害活性が調べられてきた。この .221 細胞は HLA-E 以外の class I 遺伝子は欠損しており、しかも HLA-E も細胞質内にはその蛋白が合成されているが、細胞膜上には発現されていない。ところが、この .221 に他の class I 遺伝子を導入すると、導入された HLA 分子のみならず、その HLA のシグナルペプチドを結合して HLA-E 分子も膜上に発現されるのである¹¹⁾。そのため、これまで HLA-A2 とか Cw4 等 class Ia 分子がリガンドであるとされていた NK レセプターのうち CD94/NKG2A レセプターのすべて、あるいはほとんどの場合が class Ia ではなく、HLA-E がリガンドであったことが明らかにされた。HLA-G も一時期は CD94/NKG2A レセプターのリガンドと考えられていたが、同様の理由で、すべて HLA-E がリガンドとして機能していたのであった。

この HLA-E と CD94/NKG2A レセプターの反応についてはさらに興味のある結果が Geraghty と Lopes-Botet のグループから報告された¹⁶⁾。HLA-E は結合するペプチドの種類によりその作用が異なってくるというものであった。HLA-E は class Ia 由来のペプチドを結合している場合は CD94/NKG2A と結合して NK 活性を抑制するが、活性化レセプターの CD94/NKG2C とはほとんど結合しない。一方 HLA-G 由来のペプチドを結合している場合は NKG2A とも結合するが、他のペプチドを結合している場合よりもその抑制能は低く、むしろ、NKG2C とより結合しやすく、NK 活性を活性化させると報告¹⁶⁾している (Fig. 4)。HLA-G の発現する胎盤において、NKG2A と NKG2C の存在する比率はまだ調べられていないが、このことは、HLA-E が複雑な NK 活性の調節に携わっていることを示唆しているようである。

3, HLA-F

HLA-F の発現について我々¹⁰⁾はモノクロナル抗体を用いて検索したところ、これまで調べた cell line すべてにおいて、細胞表面には発現しておらず、細胞の種類によっては細胞質内にその蛋白が発現していた。胎盤においてはトロフォブラストの細胞内に発現していたが、満期胎盤の脱落膜中に侵入しているトロフォブラストのみにおいては細胞膜上に強く発現していた。これは抗 HLA-G と抗 HLA-F 抗体の二重染色をし、共焦点顕微鏡

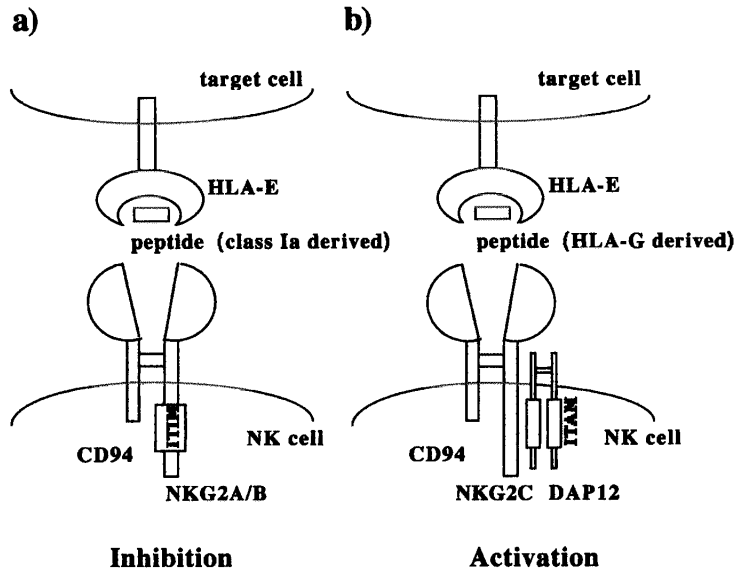


Fig.4. Interaction of HLA-E and -G with NK receptors, CD94/NKG2

a) NKG2A/B forms hetero-dimer with CD94 by S-S bond. This complex recognizes HLA-E associating with peptide derived from HLA class Ia and sends the inhibitory signal to inhibit the cytotoxicity through the ITIM.

b) NKG2C forms hetero-dimer with CD94. NKG2C associates with the homo-dimer of DAP12 by S-S bond. This complex recognizes HLA-E associating with peptide derived from HLA-G and sends the activated signal through the ITAM of DAP12.

により解析したもので、さらにこれらの細胞を分離し、FACSで表面抗原の確認をする必要があるであろう。

機能についてもHLA-Fの4量体を用いて、これがILT2とILT4NKレセプターと結合しうることが報告⁴⁷⁾したものが出されたところで、まだほとんど報告は無い。しかし、多型の乏しさ、発現が限局されていること、そして母体内に侵入しているトロフォブラストのみにおいて細胞表面に発現していること等から、この遺伝子に何らかの特殊な機能がうかがえる。

HLA-E, -F, -G分子の胎盤における相互作用

HLA class Iaやclass IIが発現していない(HLA-Cが弱く発現しているという報告はあるが)胎盤トロフォブラスト上には、HLA-E, -F, -Gが共に発現していることが明かにされてきた。HLA-Fについては今後の研究を待たざるをえないが、HLA-GとHLA-Eは密接な相互作用を行っているようである。

一つのNK細胞上に同時に発現するILT2とCD94/NKG2AレセプターはそれぞれHLA-GとHLA-Eを認識することは確かめられている⁴⁹⁾。一方、HLA-EはHLA-G由来ペプチドを結合した場合のみはCD94/NKG2Cなどの活性化レセプターと結合し、NK細胞

を抑制よりは活性化する方に作用する。胎盤においては存在するHLA分子は主としてHLA-Gであって、わずかにHLA-Cも存在するかもしれない。従って、胎盤においてHLA-EはHLA-G由来ペプチドを結合し、NK細胞を活性化させる方向に働き、同じNK細胞をHLA-GはILT2を介して傷害抑制に働く。すなわち、HLA-Eと-Gは共にNK細胞に働きかけ、一方は傷害性を抑制し、他方は活性化することにより各種のサイトカインを分泌させるという、妊娠維持にむけて複雑な働きをしていると考えられる。

また、サイトカインの一つ $INF\gamma$ がHLA-Gの産生を誘導するという報告が見られる。HLA-Gを導入したマウス線維芽細胞cell lineを $INF\gamma$ で刺激するとHLA-GのmRNA量および蛋白量を増加するという報告⁵⁰⁾や、急性白血病細胞を $INF\gamma$ で刺激することにより、それまで発現していないHLA-Gの発現が誘導されるという報告⁵¹⁾がある。

一方、HLA-Gの発現が、サイトカインの分泌を誘導するという報告も出されている。健康者の末梢血単核球をHLA-Gを発現していない.221細胞と、あるいはHLA-Gを導入した.221-G細胞と共培養し、単核球からのサイトカインの分泌量を測定したところ、.221-Gの場

合は、妊娠維持にはたらくとされている IL-3 と IL-1 β の分泌量が増加し、流産の方向にはたらく TNF- α は低下したと報告⁵²⁾している。ところが、同様の実験を習慣性流産患者の単核球について行った場合⁵³⁾は、単核球による IL-3 の分泌量は .221-G と .221 との間に差がなかったと報告⁵⁴⁾し、習慣性流産患者の単核球は HLA-G に反応して IL-3 を分泌する機能が低下しているのではないかと推測している。すなわち HLA-G は妊娠維持に有利にはたらくサイトカインの分泌を促進し、不利なものを減少させるとしている。しかし、この分野についてもまだ、確定されたものは無く、さらなる報告が待たれる。

ここでひとつ、興味ある報告が出されている。Ober⁴⁸⁾が HLA-G の null 遺伝子 HLA-G*0105N 遺伝子をホモで持っている成人女性で、無事子供を出産した例を報告している。このことは HLA-G は妊娠の維持に必須ではないのかという疑問を引き起こす。この遺伝子の場合、すべてのドメインを持つ HLA-G は全く産生されないが、G2, G3 の isoform⁷⁾は産生される (Fig. 3 参照)。Ober は、G1 がなくても、G2 isoform の分子が、HLA-G として機能しているのではないかと推測している。しかし、 $\alpha 2$ ドメインのない G2 isoform が class Ib 分子としてはたらくのかは、疑問がある。あるいは HLA-G のシグナルペプチドは産生されるため、これを結合した HLA-E が class I としての機能を代行するのであろうか。すなわち、HLA-G の役割は、HLA-E にペプチドを提供することにあるとも考えられる。しかしこの事例において、その同胞のうち 3 名は流産で産まれていないことから、null 遺伝子のホモの女性が子供を無事出産できたのは、HLA-E あるいは HLA-C による代替機能が特にうまく働いた幸運な 1 例であったかもしれない。とにかく現時点では推測の域をでない。

以上述べてきたように、HLA-G と HLA-E との巧妙な相互作用や HLA-G のアロ反応抑制機能等がようやく明かにされはじめて、母児免疫のブラックボックスが少し覗き見できるような状態になってきた。HLA-F についても、脱着膜に深く侵入したトロフォブラストにのみ細胞表面に強く発現するということから、特異な機能がうかがわれ、HLA-G と HLA-E と共に今後の研究が待たれるところである。

文 献

- 1) Geraghty, D. E., Koller, B. H. and Orr, H. T. : A human major histocompatibility complex class I gene that encodes a protein with a shortened cytoplasmic segment. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **84** : 9145-9149, 1987.
- 2) Koller, B. H., Geraghty, D. E., Shimizu, Y., DeMars, R. and Orr, H. T. : HLA-E, A novel HLA class I gene expressed in resting T lymphocytes. J. Immunol. **141** : 897-904, 1998.
- 3) Geraghty, D. E., Wei, X., Orr, H. T., and Koller, B. H. : Human leukocyte antigen F (HLA-F), An expressed HLA gene composed of class I coding sequence linked to a novel transcribed repetitive element. J. Exp. Med. **171** : 1-18, 1990.
- 4) Ellis, S. A., Palmer, M. S. and McMichael, A. J. : Human trophoblast and the choriocarcinoma cell line BeWo express a truncated HLA class I molecule. J. Immunol. **144** : 731-735, 1990.
- 5) Kovats, S., Main, E. K., Librach, C., Stubblebine, M., Fisher, S. J. and DeMars, R. : A class I antigen, HLA-G, expressed in human trophoblasts. Science. **248** : 220-223, 1990.
- 6) Loke, Y. W., King, A., Burrows, T., Gardner, L., Bowen, M., Hiby, S., Howlett, S., Holmes, N. and Jacobs, D. : Evaluation of trophoblast HLA-G antigen with a specific monoclonal antibody. Tissue Antigens. **50** : 135-146, 1997.
- 7) Ishitani, A. and Geraghty, D. E. : Alternative splicing of HLA-G transcripts yields proteins with primary structures resembling both class I and class II molecules. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **89** : 3947-3951, 1992.
- 8) Lee, N., Malacko, A. R., Ishitani, A., Chen, M.-C., Bajorath, J., Marquardt, H. and Geraghty, D. E. : The membrane-bound and soluble forms of HLA-G bind identical sets of endogenous peptides but differ with respect to TAP association. Immunity. **3** : 591-600, 1995.
- 9) Hirano, Y., Ishitani, A. and Geraghty, D. E. : The expression of HLA-G antigen in different human tissues and placentas at different stages of pregnancy. J. Nara Med. Ass. **45** : 616-625, 1994.
- 10) Ishitani, A., Sageshima, N., Geraghty, D. E. : A set of monoclonal antibodies which distinguish alternative protein of HLA-G and HLA-E. submitted
- 11) Lee, N., Goodlett, D. R., Ishitani, A., Marquardt, H. and Geraghty, D. E. : HLA-E surface expression depends on binding of TAP-dependent peptides derived from HLA class I signal sequences.

- J. Immunol. **160** : 4951-4960, 1998.
- 12) Lee, N., Llano, M., Carretero, M., Ishitani, A., Navarro, F., Lopez-Botet, M. and Geraghty, D. E. : HLA-E is a major ligand for the natural killer inhibitory receptor CD94/NKG2A. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **95** : 5199-5204, 1998.
 - 13) Braud, V. M., Allan, D. S., Wilson, D. and McMichael, A. J. : TAP- and tapasin- dependent HLA-E surface expression correlates with the binding of an MHC class I leader peptide. Curr. Biol. **8** : 1-10, 1998.
 - 14) Wainwright, S. D., Biro, P. A. and Holmes, C. H. : HLA-F is a predominantly empty, intracellular, TAP-associated MHC class Ib protein with a restricted expression pattern. J. Immunol. **164**(1) : 319-328, 2000.
 - 15) Lepin, E. J., Bastin, J. M., Allan, D. S., Roncador, G., Braud, V. M., Mason, D. Y., van der Merwe, P. A., McMichael, A. J., Bell, J. I., Powis, S. H. and O'Callaghan CA : Functional characterization of HLA-F and binding of HLA-F tetramers to ILT2 and ILT4 receptors. Eur. J. Immunol. **30** (12) : 3552-3561, 2000.
 - 16) Arnaiz-Villena, A., Chandanayingyong, D. and Chiewsilp, P. : Non classical HLA class I antigens. In : Charron, D., et al., editors. Genetic Diversity of HLA : Functional and Medical implications. EDK. pp. 151-159, 1997.
 - 17) Yamashita, T., Fujii, T., Watanabe, Y., Tokunaga, K., Tadokoro, K., Juji, T. and Taketani, Y. : HLA-G gene polymorphism in a Japanese population. Immunogenetics **44** : 186-191, 1996.
 - 18) van der Ven, K. and Ober, C. : HLA-G polymorphism in African Americans. J. Immunol. **153** : 5628-5633, 1994.
 - 19) Ishitani, A., Kishida, M., Sageshima, N., Yashiki, S., Sonoda, S., Hayami, M., Smith, A. G. and Hatake, K. : Re-examination of HLA-G polymorphism in African Americans. Immunogenetics. **49** : 808-811, 1999.
 - 20) Suarez, M. B., Morales, P., Castro, M. J., Fernandez, V., Varela, P., Alvarez, M., Martinez-Laso, J. and Arnaiz-Villena, A. : A new HLA-G allele (HLA-G*0105N) and its distribution in the Spanish population. Immunogenetics. **45** : 464-465, 1997.
 - 21) Geraghty, D. E., Stockschleider, M., Ishitani, A. and Hansen, J. A. : Polymorphism at the HLA-E locus predates most HLA-A and -B polymorphism. Hum. Immunol. 174-184, 1992.
 - 22) Ohya, K., Kondo, K. and Mizuno, S. : Polymorphism in the human class I MHC locus HLA-E in Japanese. Immunogenetics **32** : 205-209, 1990.
 - 23) Grimsley, E., Kawasaki, A., Gassner, C., Sageshima, N., Nose, Y., Hatake, K., Geraghty, D. E. and Ishitani, A. : Definitive high resolution typing of the HLA-E polymorphisms. Tissue Antigen 2002 in press
 - 24) Uchiqiri, C., Mizuno, S., Wada, K., Tsutsumi, M., Kato, T., Kamiya, T., and Ozawa, K. : An identification of the HLA-F null allele in Japanese. Immunogenetics **45** : 466-467, 1997.
 - 25) Fujii, T., Ishitani, A. and Geraghty, D. E. : A soluble form of the HLA-G antigen is encoded by a messenger ribonucleic acid containing intron. J. Immunol. **153** : 5516-5524, 1994.
 - 26) Paul, P., Cabestre, F. A., Le Gal, F. A., Khalil-Daher, I., Le Danff, C., Schmid, M., Mercier, S., Avril, M. F., Dausset, J., Guillet, J. G. and Carosella, E. D. : Heterogeneity of HLA-G gene transcription and protein expression in malignant melanoma biopsies. Cancer Res. **59** : 1954-1960, 1999.
 - 27) Pangault, C., Le Friec, G., Caulet-Maugendre, S., Lena, H., Amiot, L., Guilloux, V., Onno, M. and Fauchet, R. : Lung Macrophages and dendritic cells express HLA-G molecules in pulmonary diseases. Human Immunology **63** : 83-90, 2002.
 - 28) Real, L. M., Cabrera, T. and Garrido, F. : Expression of HLA-G in human tumors is not a frequent event. Int. J. Cancer **81** : 512-518, 1999.
 - 29) Lila, N., Rouas-Freiss, N., Dausset, J., Carpentier, A. and Carosella, E. D. : Soluble HLA-G protein secreted by allo-specific CD4+ T cells suppresses the allo-proliferative response : A CD4+ T cells regulatory mechanism. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **98** : 12150-12155, 2001.
 - 30) Fuzzi, B., Rizzo, R., Criscuoli, L., Noci, I., Melchiori, L., Scarcelli, B., Bencini, E., Menicucci, A. and Baricordi, O. : HLA-G expression in early

- embryos is a fundamental prerequisite for the attainment of pregnancy. *Eur. J. Immunol.* **32** : 311-315, 2002.
- 31) Hara, N., Fujii, T., Yamashita, T., Kozuma, S., Okai, T. and Taketani, Y. : Altered expression of human leukocyte antigen G (HLA-G) on extravillous trophoblasts in preeclampsia : Immunological demonstration with anti-HLA-G antibody "87G" and anti-cytokeatin antibody "CAM5.2". *Am J Reprod Immunol.* **36** : 349-358, 1996.
- 32) Goldman-Wohl, D. S., Ariel, I., Greenfield, C., Hochner-Celnikier, D., Cross, J., Fisher, S. and Yagel, S. : Lack of human leukocyte antigen-G expression in extravillous trophoblasts is associated with pre-eclampsia. *Mol. Hum. Reprod.* **6** : 88-95, 2000.
- 33) 下嶋典子, 石谷昭子, 羽竹勝彦 : 胎盤絨毛外栄養膜細胞における HLA-G 発現の消失に関する検討 : 奈良医学雑誌 **51** : 332-334, 2000.
- 34) Sageshima, N., Ishitani, A., Omura, M., Akasaki, M., Umekage, H., Katabuchi, H., Okamura, H., and Hatake, K. : Necrotic feature of the trophoblasts lacking HLA-G expression in normal and preeclamptic placentas ; submitted
- 35) Horuzsko, A., Antoniou, J., Tomlinson, P., Portik-Dobos, V. and Mellor, A. L. : HLA-G functions as a restriction element and a transplantation antigen in mice. *Int. Immunol.* **9** : 645-653, 1997.
- 36) Sanders, S. K., Giblin, P. A. and Kavathas, P. : Cell-cell adhesion mediated by CD8 and human histocompatibility leukocyte antigen G, a nonclassical major histocompatibility complex class I molecule on cytotrophoblasts. *J. Exp. Med.* **174** : 737-740, 1991.
- 37) Gao, G. F., Willcox, B. E., Wyer, J. R., Boulter, J. M., O'Callaghan, C. A., Maenaka, K., Stuart, D. I., Jones, E. Y., Van Der Merwe, P. A., Bell, J. I. and Jakobsen, B. K. : Classical and nonclassical class I major histocompatibility complex molecules exhibit subtle conformational differences that affect binding to CD8 α α . *J. Biol. Chem.* **275** : 15232-15238, 2000.
- 38) Fournel, S., Aguerre-Girr, M., Huc, X., Lenfant, F., Alam, A., Toubert, A., Bensussam, A. and Le Bouteiller, P. : Soluble HLA-G1 triggers CD95/CD95 ligand-mediated apoptosis in activated CD8⁺ cells by interacting with CD8. *J. Immunol.* **164** : 6100-6104, 2000.
- 39) Colonna, M., Navarro, F., Bellon, T., Llano, M., Garcia, P., Samaridis, J., Angman, L., Cella, M., Lopes-Botet, M. : A common inhibitory receptor for major histocompatibility complex class I molecules on human lymphoid and myelomonocytic cells. *J. Exp. Med.* **186** : 1809-1818, 1997.
- 40) Colonna, M., Samaridis, J., Cella, M., Angman, L., Allen, R. L., O'Callaghan, C. A., Dunbar, R., Ogg, G. S., Cerundolo, V. and Rolink, A. : Human myelomonocytic cells express an inhibitory receptor for classical and nonclassical MHC class I molecules. *J. Immunol.* **160** : 3096-3100, 1998.
- 41) Ponte, M., Cantoni, C., Biassoni, R., Tradori-Cappai, A., Bentivoglio, G., Vitale, C., Bertone, S., Moretta, A., Moretta, L. and Mingari, M. C. : Inhibitory receptors sensing HLA-G1 molecules in pregnancy : Decidua-associated natural killer cells express LIR-1 and CD94/NKG2A and acquire p49, an HLA-G1-specific receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **96** : 5674-5675, 1999.
- 42) Rajagopalan, S. and Long, E. O. : A human histocompatibility leukocyte antigen (HLA)-G-specific receptor expressed on all natural killer cells. *J. Exp. Med.* **189** : 1093-1100, 1999.
- 43) O'Callaghan, C. A., Tormo, J., Willcox, B. E., Braud, V. M., Jakobsen, B. K., Stuart, D. I., McMichael, A. J., Bell, J. I. and Jones, E. Y. : Structural features impose tight peptide binding specificity in the nonclassical MHC molecule HLA-E. *Mol. Cell* **1** : 531-541, 1998.
- 44) Kurepa, Z. and Forman, J. : Peptid binding to class I b molecule, Qa-1b. *J. Immunol.* **158** : 3244-3251, 1997.
- 45) Ulbrecht, M., Modrow, S., Srivastava, R., Peterson, P. A. and Weiss, E. H. : Interaction of HLA-E with peptides and the peptide transporter in vitro : implications for its function in antigen presentation. *J. Immunol.* **160** : 4375-4385, 1998.
- 46) Llano, M., Geraghty, D. E. and Lopez-Botet, M. : HLA-E-bound peptides influence recognition by inhibitory and triggering CD94/NKG2A receptors

- : preferential response to an HLA-G-derived nonamer. *Eur. J. Immunol.* **28** : 3947-3951, 1998.
- 47) **Lepin, M., Bastin, J. M., Allan, D., Roncador, G., Braud, V., Mason, D., van der Merwe, P., McMichael, A., Bell, J., Powis, S. and O'Callghan, C.** : Functional characterization of HLA-F and binding of HLA-F tetramers to IL2 and ILT4 receptors. *Eur. J. Immunol.* **30** : 3552-3561, 2000.
- 48) **Ober, C., Aldrich, C., Rosinsky, B., Robertson, A., Walker, M. A., Willadsen, S., Verp, M. S., Geraghty, D. E. and Hunt, J. S.** : HLA-G1 protein expression is not essential for fetal survival. *Placenta.* **19** : 127-132, 1998.
- 49) **Navarro, F., Llano, M., Bellon, T., Colonna, M., Geraghty, D. E. and Lopez-Botet, M.** : The ILT2 (LIR1) and CD94/NKG2A NK cell receptors respectively recognize HLA-G1 and HLA-E molecules co-expressed on target cells. *Eur. J. Immunol.* **29** : 277-283, 1999.
- 50) **Yang, Y., Chu, W., Geraghty, D. E. and Hunt, J. S.** : Expression of HLA-G in human mononuclear phagocytes and selective induction by IFN-gamma. *J. Immunol.* **156** : 4224-4231, 1996.
- 51) **Mizuno, S., Emi, N., Kasai, M., Ishitani, A. and Saito, H.** : Aberrant expression of HLA-G antigen in interferon gamma-stimulated acute myelogenous leukaemia. *Br. J. Haematol.* **111** : 280-282, 2000.
- 52) **Maejima, M., Fujii, T., Kozuma, S., Okai, T., Shibata, Y. and Taketani, Y.** : Presence of HLA-G-expressing cells modulates the ability of peripheral blood mononuclear cells to release cytokines. *Am. J. Reprod Immunol.* **38** : 79-82, 1997.
- 53) **Hamai, Y., Fujii, T., Yamashita, T., Miki, A., Kozuma, S., Geraghty, D. E. and Taketani, Y.** : Peripheral blood mononuclear cells from women with recurrent abortion exhibit an aberrant reaction to release cytokines upon the direct contact of human leukocyte antigen-G-expressing cells. *Am. J. Reprod Immunol.* **40** : 408-413, 1998.