

# 理研シンポジウム

## 動物 MHC のダイナミズムと機能—魚からヒトへ—

会 期： 2005 年 4 月 15 日(金)  
 会 場： 理化学研究所 和光本所 大河内記念ホール  
 世話人： 間 陽子  
 理化学研究所 分子ウイルス学研究ユニット  
 協 賛： 日本組織適合性学会, 日本動物遺伝育種学会,  
 日本獣医免疫学会

### プログラム

10:00-10:10

開会の辞

間 陽子(理化学研究所)

10:10-11:50

§1 各生物種の MHC-1 【座長：木村彰方(東京医科歯科大学)】

1. ヒト MHC 遺伝子群の特徴 (30 分)

猪子 英俊(東海大学)

2. ウシ MHC と感染症に対する抗病性 (20 分)

間 陽子(理化学研究所)

3. ブタ MHC—移植ドナーと実験動物としてのミニブタ利用— (20 分)

安藤 麻子(東海大学)

4. Genomic Organizations of the Major Histocompatibility  
 Complex in Cat and Dog (30 分)

Naoya Yuhki (National Cancer Institute, USA)

12:00-13:00 昼食

13:00-13:45

§2 各生物種の MHC-2 【座長：安藤麻子(東海大学)】

5. アライグマの地理的分布 (15 分)

松崎 雄三(防衛医科大学校)

6. ペンギン進化と MHC 遺伝子多型 (15 分)

津田 とみ(徳島文理大学)

7. ニジマス MHC 遺伝子の多型性と機能 (15 分)

乙竹 充(農林水産省養殖研究所)

13:45-15:25

§3 MHC と進化 【座長：徳永勝士(東京大学)】

8. 自然選択による多型的 MHC 遺伝子座の制御 (25 分)

颯田 葉子(総合研究大学院大学)

9. MHC とゲノムパラロジ (25 分)

笠原 正典(北海道大学)

10. MHC 分子群の起源 (25 分)

橋本 敬一郎(藤田保健衛生大学)

11. MHC 領域の比較ゲノム解析 (25 分)

椎名 隆(東海大学)

15:25-15:55 コーヒーブレイク

15:55-16:30

§4 MHC 研究の将来 【座長：颯田葉子(総合研究大学院大学)】

12. MHC 統合データベースの構築 (20 分)

今西 規(産業技術総合研究所)

13. 将来に向けて(獣医学の視点から)―伴侶動物の病気と MHC (15 分)

北川 均(岐阜大学)

16:30-17:00

§5 総合討論 【座長：中西照幸(日本大学), 椎名隆(東海大学)】 (30 分)

17:00-17:10

閉会の辞

猪子 英俊(東海大学)

## ヒト MHC 遺伝子群の特徴

猪子 英俊

東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学

ヒト主要組織遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex = MHC) である HLA 抗原 (Human Leukocyte Antigen) は, 病原体である細菌やウイルス

スなどの蛋白由来のペプチドと結合し, T 細胞を活性化することにより, 免疫応答に深く関わっている。この HLA 遺伝子領域は第 6 染色体短腕部 6p21.3

に位置し、3.6 Mb よりなる。HLA 抗原は HLA-A, -B, -C に代表されるクラス I 抗原と、HLA-DR, -DQ, -DP に代表されるクラス II 抗原に分類される。HLA クラス I 抗原とクラス II 抗原遺伝子はそれぞれの領域にクラスターを形成しているが、両領域の間には、腫瘍壊死因子 TNF, 補体遺伝子などを含むクラス III 領域が存在する。この HLA 遺伝子を含む HLA 領域は 100 種以上の疾患の感受性遺伝子が含まれている、という興味ある特徴を有している。我々は、MHC シークエンシングコンソーシアムに参加し、HLA 全領域並びに HLA 領域とともに遺伝子重複によって生じた側系遺伝子領域 (paralogous) である第 1 染色体長腕部 1q21-22 の合計 4.7 Mb について、ゲノム塩基配列を決定した。その結果、次のことが明らかとなった。

- 1) HLA 領域はヒトゲノム中で最も高い遺伝子密度を有する。すなわち、3.6 Mb の領域に 239 個の遺伝子(これらのうち、偽遺伝子 88 個)が存在する。これらのうち、HLA 抗原をコードする遺伝子は 45 個であり、それ以外の遺伝子(非 HLA 遺伝子と呼ばれる。熱ショック蛋白 70, 腫瘍壊死因子 TNF, 補体遺伝子など)は 194 個である。これらは 15.1 kb に 1 個という高い遺伝子密度である。
- 2) HLA 遺伝子座は現在までに知られているヒト遺伝子のなかで最も高度な遺伝的多型性をしめす。すなわち、計 6 個の代表的な古典的 HLA 遺伝子座には、計 1,400 以上の対立遺伝子の存在が確認されている。
- 3) HLA 領域のゲノム基本構造は、MHC 祖先ゲノム領域が 2 回の大規模なゲノム倍化によって、他の 3 領域である 1q21-22, 19p13, 9q33-34 とともに形成された。すなわち、HLA 領域、とこれら 3 領域 1q21-22, 19p13, 9q33-34 は互いに側系遺伝子領域 (paralogous) の関係にある。
- 4) 2 回の大規模なゲノム倍化によって形成された HLA 祖先領域は、その後 30 kb を基本ユニットとするゲノム領域が 8 回以上の重複や欠失を繰り返して、現在の HLA 領域が形成された。我々は、決定された HLA 領域のゲノム塩基配列

をもとに、ポストゲノムシーケンシングプロジェクトとして、1) ゲノム多様性解析、と 2) 比較ゲノム解析に、発展させて研究を進め、次のような成果がえられている。

- 1) ゲノム多様性解析として、HLA 領域が 100 種以上の多因子性疾患の感受性遺伝子が含まれていることを利用し、HLA 領域をミニゲノムモデル領域として、多因子性疾患の感受性遺伝子を相関解析によるマッピングを、ゲノム塩基配列より設定した遺伝多型マーカーを用いて行なった。その結果、マイクロサテライトが疾患感受性遺伝子マッピングの優れた遺伝多型マーカーとして、感受性遺伝子候補領域を 100 kb までに効率よく絞り込めることが明らかとなった。この事実をもとに、我々は、ヒトゲノムに 30,000 個 (100 kb に 1 個) の多型マイクロサテライトを設定し、生活習慣病をはじめとする多因子性疾患の感受性遺伝子について、ゲノムワイドな相関解析によるマッピングと同定を進めている。
- 2) 比較ゲノム解析については、チンパンジー、アカゲザル、カニクイザル、ブタ、ラット、ウズラ、ニワトリ、ニジマス、サメ、ナメクジウオなどの各 MHC 領域について、計 10 Mb のゲノム塩基配列の決定を行なった。その詳細は共同研究者である椎名が詳細に報告する予定であるが、ヒト MHC である HLA ゲノム領域の形成にいたる進化の道筋は、MHC ゲノム領域の原型、すなわち MHC 祖先ゲノム領域は、脊椎動物が出現する以前の頭索動物であるナメクジウオの時代にすでに存在していた。しかしながら、それら脊椎動物以前には、MHC 遺伝子はいまだ存在せず、非 MHC 遺伝子のみが MHC 祖先領域の基本骨格を形成していた。やがて、脊椎動物が出現したすぐのち、すなわち現在より約 4~5 億年前に、この MHC 祖先ゲノム領域を含む領域が 2 回の大規模なゲノム倍化により、現在のヒト 6p21.3, 1q21-22, 19p13, 9q33-34 の 4 領域の原型が形成され、その結果軟骨魚類(サメなど)のゲノムに、これらの 4 つの側系遺伝子領域 (paralogous) が最初に出現し

た。このとき、軟骨魚類の出現とともに、6p21.3領域に MHC 遺伝子が挿入、形成された。この MHC 遺伝子の出現は抗体や T 細胞レセプター遺伝子の出現と時を同じくする。その後のヒトに至る MHC 領域の進化の過程で、非 MHC 遺伝子は安定に保たれた一方、MHC 遺伝子はさまざまな種においてそれぞれの病原体の外來

環境に応じて、重複や欠失を繰り返すことにより、多重遺伝子族として可塑性に富む MHC 領域の骨格を形成し、抗体や T 細胞レセプター遺伝子とともに、適応免疫 (adaptive immunity) の主役となる分子として進化したことが推察された。

## ウシ MHC と感染症に対する抗病性

間 陽子

理化学研究所 分子ウイルス学研究ユニット

ウシは四肢の先端に2つに割れた蹄を持つ事から、偶蹄目 (Artiodactyla) に分類される。一方、ウマは蹄が1つであるため奇蹄目に分類され、これらは総称して有蹄動物と呼ばれる。偶蹄目と奇蹄目は約6000万年前に同じ祖先から分かれたとされるが、その後、次第に衰退していった奇蹄目に対し、偶蹄目は次第に勢力を伸ばしていき、現在ではヒツジ、カバ、イノシシ、ラクダ、キリンなどを含む大きなグループに発展し、有蹄動物全体の約90%を占めている。偶蹄目の動物の多くは、4つの胃をもち、一度食べた食物を吐き戻し噛み返すという反芻を行うことで、他の哺乳類が消化吸収できないセルロースなどを栄養として取り込むことが出来る。この強力な消化吸収能力が偶蹄目の動物が繁栄した一因とされている。反芻獣の主要組織適合抗原 (MHC) の研究はウシ、ヤギ、ヒツジの3種のウシ科動物を中心に進展してきた。ウシ MHC (Bovine Leukocyte Antigen: BoLA 遺伝子は、ウシ第23染色体上にクラスターを成して存在しているが、その詳細な遺伝子構成とゲノム配列情報がほとんど明らかになっていない。BoLA 領域は連鎖解析に基づき、セントロメア近くで DO, DY, DM, TAP, LMP などの非古典的クラス II 分子をコードする遺伝子を有するクラス IIb 亜領域と DR, DQ といった古典的 MHC 分子を

有するクラス IIa 亜領域の2つに分断される事が知られている。ヒツジ MHC (OLA) およびヤギ MHC (GoLA) も同様の構成をとることから、クラス II 領域が2つに分断されることが反芻獣の特徴の一つと考えられている。我々はこれまで、BoLA クラス II 遺伝子と牛白血病ウイルス (BLV) 誘発性牛白血病との関連性について検討してきた。BLV は、ヒト T 細胞白血球ウイルス (HTLV) に最も近縁なレトロウイルスで、悪性 B リンパ腫である地方病性牛白血病 (EBL) を引き起こすことから畜産界に及ぼす被害は甚大である。BLV はウシに抗体陽性の未発症健康、持続性リンパ球増多症 (PL), そして低頻度でしかも長い潜伏期間の後に EBL を誘発するが、その個体差の生成機構は未だ不明である。本発表では BoLA-DRB3 遺伝子が白血球発症の個体差に関与すること、および BLV の有用な動物モデルであるヒツジを用いた感染実験から白血球発症に対して抵抗性対立遺伝子が存在し、その対立遺伝子を有する個体は感染初期に高い免疫反応により BLV を排除し、プロウイルスロードが低く維持される結果として、白血球発症に至らない、という我々のデータを紹介したい。さらに、これまで十分な研究がなされてこなかった BoLA クラス II 遺伝子のタイピング方法の確立と多型解析の結果とその遺伝子産物の分子構

造, 発現および機能やクラス II 抗原が腫瘍マーカーであること, そしてそれに対する特異抗体を用いた

EBL の診断, 発症予知そして治療への可能性についても紹介したい。

## ブタ MHC—移植ドナーと実験動物 としてのミニブタ利用—

安藤 麻子

東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学

ブタの MHC (SLA) 抗原型は, 合成ペプチドやワクチン接種による抗体産生能, 並びに悪性黒色腫の発症との相関が報告されており, さらに SLA 領域周辺には, 背脂肪厚, 産子数などの各種の経済形質がマップされるという特徴がある。また, ブタは, 解剖学的・生理学的にヒトとの類似性が高く, 提供臓器不足の問題などから, ブタからヒトへの異種移植が注目されている。特にミニブタは, 同種, 異種の臓器移植実験の他, 肥満や循環器疾患, 悪性黒色腫などの疾患モデル動物や, 医療技術シミュレーションなどを目的とした実験動物として, 種々の領域の医学教育, 研究分野で用いられている。

我々は移植実験や再生医療などの実験動物として有用な SLA 純系ミニブタの開発と異種移植における SLA 抗原の関与の追求, 並びに悪性黒色腫などの疾患感受性の解析を進めるために, SLA 領域のゲノム塩基配列決定による構造解析と DNA タイピングによる SLA 遺伝子の多型性解析を行っている。

SLA 領域の構造解析については, 我々のグループと INRA 及び Sanger Inst. の共同研究により, 最近 2.4 Mb の SLA 全領域のゲノム塩基配列決定が完了した。得られた塩基配列情報に基づき, ブタ-ヒト間の MHC 領域の遺伝子構成を比較したところ, MHC

遺伝子群の数や遺伝子構成は両種間で大きな違いが見られたが, 多数の非 MHC 遺伝子の遺伝子構成は, 相互に高く保存されていた。特に SLA クラス I 遺伝子は, SLA クラス I 領域内に古典的並びに非古典的クラス I 遺伝子群の 2 つのクラスターから構成されており, HLA クラス I 遺伝子領域と比較して, 両種間の MHC 遺伝子の遺伝子構成に大きな相違が見られた。

また, SLA 遺伝子の多型性解析については, SBT 法, PCR-RFLP 法, PCR-SSP 法により, これまでにミニブタ 4 品種を含む 100 頭以上のブタについて, SLA クラス I とクラス II 遺伝子のタイピングを行ってきた。さらに得られたクラス I 遺伝子のアレル配列情報を用いて  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$  ドメインのアミノ酸置換の選択圧を解析し, SLA クラス I 分子は HLA クラス I 分子と比較的類似した特徴を示すことが明らかになった。また, DNA タイピングの結果に基づいた交配により, SLA タイプを固定した 5 種類のハプロタイプを持つ 2 品種の SLA 純系ブタを作成した。これらの SLA タイプがホモのブタは, 同種及び異種間の動物移植実験, 種々の抗原に対する免疫応答性の研究などに有用であると考えられる。

# Genomic Organizations of the Major Histocompatibility Complex in Cat and Dog

NAOYA YUHKI

Laboratory of Genomic Diversity, National Cancer Institute at Frederick

**Abstract:** We have established gene organization and a draft sequence of domestic cat MHC, using methods of RH mapping, FISH, BAC/PAC mapping and shotgun sequencing. This study showed that unlike a majority of mammalian MHCs so far studied, the domestic cat MHC has a split genomic structure, one including extended class II, classical class II, class III and proximal class I regions which localize on peri-centromeric region of a long arm of chromosome B2 and other including a distal class I and extended class I regions which localize on a telomeric region of a short arm of the same chromosome B2. Previous comparative study indicated that the cat chromosome B2 was rearranged from the syntenic human chromosome 6 by two chromosome inversions, one including the entire short arm and other including a distal portion of the long arm. Our results support

this study and further suggest that a breakpoint of the short arm inversion resides on the MHC. Based on recently established two supercontig sequences for canine MHC assembled in the canine WGS sequencing project, we concluded that canine MHC also has the split gene organization as seen in the domestic cat MHC, however, one segment -extended class II, classical class II, class III and proximal class I regions localizes on chromosome 12 and other -distal class I and extended class I localizes on chromosome 35. Since the split in both feline and canine MHCs were found between TRIM39 and TRIM26 genes, we concluded that this MHC structure occurred as a single event before the split of feline and canine species, was maintained through species evolution and influenced unique gene organization of class I genes in both MHCs.

## アライグマの地理的分布

松崎 雄三

防衛医科大学校

アライグマ (*Procyon lotor*) は、日本に生息するはずのない哺乳類、すなわち外来移入種であり、人気アニメに触発されたペットブームにより 1970 年代以降に個人飼育が急速に広がった北米原産の食肉

目である。しかし、アライグマは手先が器用で成獣になると凶暴になるため各地で逃亡や遺棄が相継いだ。野生化し定着したアライグマは、農業、畜産、水産業への被害をもたらしている。一方、アライグ

マは移入先の生態系の中で、それまでにあった生物間のバランスを変化させ、エゾタヌキなどの在来種を今までとは異なる生存競争にさらすため、特定種の個体数を激減させる場合も多い。また、人畜共通感染症である狂犬病やアライグマ回虫症などの媒介動物としての危険性もある。現在、環境省の鳥獣関係統計によれば、アライグマが狩猟獣に加えられた1994年以降の5年間に捕獲記録がある都道府県は33に上っている。われわれは国内に生息するアライグマの地理的分布と繁殖状態の実態を調査する目的

で mtDNA 多型を調べたところ、現在まで7道県(北海道, 長野県, 群馬県, 千葉県, 神奈川県, 和歌山県, 奈良県)で13タイプを確認している。その中で北海道には5タイプと最も多くのタイプが存在しており、それぞれ半径約20kmあるいはそれ以上の地理的分布を示していた。

本講演では、アライグマ MHC の一つである *PrLA-DRBI* 多型について、北海道のサンプルを解析し、より詳細な地理的分布と繁殖状態の調査について考察したい。

## ペンギン進化と MHC 遺伝子多型

津田 とみ<sup>1)</sup>, 猪子 英俊<sup>2)</sup>

1) 徳島文理大学人間生活

2) 東海大学医学部

現存の6属16種と数種の亜種のペンギン類は、9,000種にもおよぶ多種の鳥類のなかでも、陸上を移動する際の動作の特色ばかりでなく、成鳥が空を飛ばない点、ヒナは親の保護に完全に依存して成長する就巢性である点など、他の多くの鳥類に比べ異色の存在といえる。棲息地は南半球のみであるが、極寒の南極から、赤道直下のガラパゴス諸島まで、厳しい自然環境に生理学的な適応をしつつ、進化したと推測されている。

鳥類の祖先の始祖鳥が出現したのが15,500万年前～13,500万年前後であり、またペンギン類の祖先と考えられる海鳥類が急速に多様化したのは5,000万年前頃とされている。その後、いくつかの種の分岐が進み、現在のペンギン種の形成に至ったのであろう、と考えられてきた。しかしながら、これらは化石や形態的な研究のみにもとづいた推測であることから、我々は分子進化学的手法により、ペンギン種の分化に迫ることを考えた。

主要組織適合遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex; MHC) は、脊椎動物の免疫反応に

おいて細菌やウイルスなどの外来抗原と結合して、T細胞に提示するという免疫応答における中枢的な役割を担い、またそれらの機能を反映して、遺伝的な多型性に富むことが知られている。ペンギン類は、進化の過程で棲息環境の変化が拡大し、外来抗原とのかかわりも一様ではないことから、特徴的な MHC 多型を持つことが予測された。事実、我々の解析により、ペンギン MHC 遺伝子が多型性に富むことを確認し、またペンギン類に特徴的な塩基・アミノ酸配列を見出した。それらの MHC 領域の DNA 多型を指標として、現存する6属全種についての解析を目指して、我々は現在までにアデリーペンギン属の3種やフンボルトペンギン属の2種の MHC クラス II エキソン 2-3 領域の塩基配列の決定を行い、類縁関係の解明を行っている。本研究の成果は、海鳥であるペンギン類の進化研究のみにとどまらず、分類、亜種分類、個体識別や集団の遺伝的多様性の指標などへ多岐にわたる分野への応用が期待できる。本シンポジウムでは現在までのデータを紹介しながら、ペンギンの分子進化学の今後の展開について、

考察をしたい。

## ニジマス MHC 遺伝子の多型性と機能

乙竹 充<sup>1)</sup>, 中西 照幸<sup>2)</sup>

1) 水産総合研究センター 養殖研究所

2) 日本大学 生物資源科学部

多くの水産養殖現場で魚病が多発して深刻な問題となっており、養殖魚における耐病系統の樹立が各界から強く求められている。しかし、水産育種において疾病抵抗性の有用な指標は現在なく、耐病系統の確立は進んでいない。MHC は多型性を示し、鳥類やほ乳類では疾病抵抗性と関連していることが知られている。そこで、ニジマスの MHC クラス I 遺伝子に着目し研究を開始した。

本講演では、これまでに検討した以下の項目を紹介する。

- ! Ia 遺伝子 (Onmy-UBA) の塩基配列は、各領域とも哺乳類の Ia 遺伝子と相同性を示す。\_3 領域にも多型が認められ、\_1 領域と \_2 領域の間には約 18 kbp のイントロンがある。
- " Ia は 1 遺伝子座のみで発現している。
- # Ia 対立遺伝子の塩基配列から、\_1 領域を 6 種類、\_2 領域を 3 種類、\_3 領域を 3 種類に分類することができる。\_1 領域の各型と類似した配列が UBA とは別の座に存在する。

- \$ 5 種類の Ib (Onmy-UCA, UDA, UEA, UFA, UGA) が存在する。UBA に比べると明らかに発現量が低い。
- % Ia の遺伝子座は第 18 染色体の長腕の基部付近、Ib 領域は第 14 番染色体の短腕の基部付近に存在する。
- & MHC クラス I (Ia または Ib) 分子は、個体発生において胸腺で最も早期に認められる。Ia の発現は共優性を示す。
- ' MHC クラス I 拘束性の細胞障害活性が認められる。
- ( Ia の多型は、IHN (伝染性造血器壊死症) ワクチンの有効性と関連する。
- ) Ia の多型は、移植片 (赤血球) の拒絶反応と関連する。
- \* Ia の多型は、成長および行動様式と関連する (あるいは、との相関が認められる)。
- + Ib の多型は、IPN (伝染性脾臓壊死症) 耐病性と関連する。

## 自然選択による多型的 MHC 遺伝子座の制御

颯田 葉子

総合研究大学院大学

主要組織適合抗原 (MHC) は脊椎動物での獲得性免疫機構において T 細胞受容体 (Tcr), 免疫グロブリン (Ig) とともに重要な役割を担う分子の一つである。いずれの分子も無限の抗原と結合する必要性から個体内での多様性が高い。このような高い多様性は、重複した遺伝子座における分化が進化の原動力である。しかし、ゲノムレベルでの多様性の生成維持機構は、MHC と Tcr や Ig とは異なる。Tcr や Ig に比べて、MHC では限られた数の遺伝子座で高度な多型性を保つことにより全体の多様性を維持している。このような MHC の多様性には、1) 対立遺伝子の数が多くしかもその寿命が長い、2) ゲノム中の多型的な遺伝子座の数がほぼ一定である、といった進化学的な特性がある。

ゲノム中の多型的な遺伝子座の数を一定に保つ必要性、つまりゲノム中の多型的な遺伝子座の数には最適値があることは、Tcr リパトリの決定に MHC が関与しているためである。近年、魚を用いて多型的 MHC 遺伝子座数には最適値が存在することが実験的に示された。これは、ゲノムあたりの多型的 MHC 遺伝子座数が、遺伝子重複と偽遺伝子化のバランスによって保たれているだけでなく、遺伝子が機能を失う(偽遺伝子化)の過程にも自然選択が働く可能性があることを示唆する。本講演では、ヒトのゲノム配列を用いて MHC の進化における遺伝子重複(それに続く遺伝的分化)と偽遺伝子化の過程を推定し、他の多重遺伝子族との関連で MHC における偽遺伝子化の意義を論ずる。

## MHC とゲノムパラロジー

笠原 正典

北海道大学 大学院医学研究科 病態制御学専攻 病態解析学講座 分子病理学分野

ヒトのゲノムを詳細に観察すると、ブロック重複によって形成されたと考えられる遺伝子の集団(クラスター)が 2-4 セット、典型的には 4 セット、異なった染色体上に存在する現象が認められる。この現象は、ゲノムパラロジー (genome paralogy) として知られている。われわれはこれまでに、1) ヒトの主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) がゲノムパラロジーを示す典型的な遺伝領域であること、2) MHC とブロック重複によって分岐したと考えられる領域

は、主として第 1, 9, 19 染色体上の限局された領域に存在すること、3) ブロック重複は有顎脊椎動物の共通祖先が出現するまでに 2 回起きたと推定されること、4) 2 回のブロック重複を経験していない生物(無顎類とそれより原始的な生物)は MHC システムをもたないと考えられることなどを提唱してきた。さまざまなモデル生物のゲノム解析は、基本的にこの提唱を支持するものである。ここでは、この話題を中心にして、MHC というゲノム領域がどのよう

にして誕生し、そしてどのような変遷をへて今日に至ったのかについて述べる。

無顎類(ヤツメウナギ, ヌタウナギ)はMHCシステムをもたないと考えられる最も高等な生物であるが、最近、これらの生物には有顎脊椎動物の抗原レ

セプターとはまったく異なるVLR (variable lymphocyte receptor) と命名されたレセプター様分子が存在することが明らかになった。Max Cooper, Zeev Pancer, Chris Amemiya 氏らとともにおこなったヌタウナギVLRの解析についても紹介したい。

## MHC 分子群の起源

橋本 敬一郎

藤田保健衛生大学総合医科学研究所

古典的MHC分子は、我々の獲得免疫及び自然免疫システム等において重要な役割を担っている。同様の分子構造を共有するMHC分子群を構成するその他のメンバーも、生体内で種々の大切な機能を有していることが判って来ている。しかしながら、このMHC分子群の由来については未だに大きな謎が解けていない。古典的MHC分子において細胞膜に近接する細胞外ドメインは、免疫グロブリンスーパーファミリーのC1セットドメインであるが、抗原提示に必須なペプチド結合ドメインの由来は全く不明である。1987年のMHC分子構造解明により、 $\beta$ シートと $\alpha$ ヘリックスから成るペプチド結合ドメインのユニークな構造が明らかにされたが、その由来は益々謎となった。演者が1990年に魚類MHC遺伝子群の存在を証明した時、同時にペプチド結合ド

メインの由来に関して、立体構造の大きな差異の認識の上で免疫グロブリンスーパーファミリーVセットドメインとの関係を支持する仮説を提示した。だが当時はまだ魚類のMHC分子関係のデータはごく僅かであり、現在はそれ以来15年を経て多くのデータが集積し、哺乳類からも新しく幾つかのMHC分子群のメンバーが報告されて来ている。また、より原始的な生物を用いた網羅的解析も進展を見せて来たが、最も原始的な脊椎動物に属する無顎類からはMHC分子群の存在は報告がなく、また脊椎動物の祖先に近いと考えられる原索動物の全ゲノム解析からもMHC分子群をコードする遺伝子は発見されていない。このような状況下において、MHC分子群の分子進化の謎についてどの様に考えられるのか、今回の演題で概観を試みたい。

## MHC 領域の比較ゲノム解析

椎名 隆

東海大学医学部 基礎医学系分子生命科学

MHC 領域は進化学的に保存されている遺伝子が

数多く存在することや、各生物種の塩基配列情報お

よびマッピング情報が豊富であることから、遺伝子の動態を追究するには最適な領域といえる。そこで本研究では種の分岐点に位置する生物種の MHC 領域の塩基配列を決定し、比較解析することによりゲノム進化、形成の分子機構を解明し、MHC 領域が複雑な免疫系を獲得してきた経緯を明らかにすることを目的としている。これまでに 15 生物種より合計 16.5 Mb の塩基配列を決定した。これらの配列をもとに比較ゲノム解析をおこなった結果、生物種間に

おける基本的な遺伝子構造は大まかには保存されているが、それぞれの生活環境に適応するための MHC や MHC 関連遺伝子の birth and death により形成されてきたことが示唆された。また、現在のゲノムからその進化を遡ることが可能であること、さらにはナメクジウオのように MHC 祖先領域の構造を保持している生物種も現存することも明らかになってきた。本講演では、最新の情報とともに比較ゲノム解析の重要性について報告する。

## MHC 統合データベース M-integra の構築

今西 規

産業技術総合研究所 生物情報解析研究センター

組織適合性複合体 (MHC) 遺伝子領域は、ヒトをはじめとするさまざまな生物種でそのゲノム解析が進められており、比較ゲノム研究によって興味深い事実が次々に明らかにされてきた。その膨大な知識を整理してデータベース化することには、大きな意義がある。そこでわれわれは、東海大学医学部との共同研究により、MHC 遺伝子領域の比較ゲノム統合データベース (M-integra) を構築している。まず、ヒトやヒトに近縁な生物種の MHC 領域のゲノム配列を入手し、データベース化した。さらに、遺伝子予測ソフトウェアを用いた遺伝子のアノテーションと相同性検索を用いた異種間の直系遺伝子 (ortholog) の同定を行い、データベースに格納した。これらの解析結果を視覚化するため、遺伝子マップの表示、比較遺伝子マップの表示、配列アラインメントの表示機能を用意し、さらに配列保存性のグラフ表示機能を用意した。この M-integra は現在公開準備中である。

M-integra の発展として、われわれはヒトとモデル生物の全ゲノム配列のアラインメントを作成し、その結果に基づいて、比較ゲノム解析 web ツール G-compass を構築した。ヒトとマウスの全ゲノム配列

のアラインメントを作成したところ、約 82 万個のアラインメント断片が得られた。そして、ヒトゲノムの全長の約 17% がアラインメントを作成できた。G-compass では、配列アラインメントを入手するだけでなく、ヒトとマウスのそれぞれの種の転写産物をマッピングした結果も表示されており、進化上保存されたゲノム領域を発見するためにも有用である。さらに、ヒト遺伝子の統合データベースである H-InvDB へのリンクも用意されており、遺伝子のアノテーション情報を容易に参照できるようになっている。G-compass は、<http://www.jbirc.aist.go.jp/g-compass/> から公開されている。

また、G-compass に含まれる MHC 遺伝子領域のアラインメント結果を詳細に解析したところ、ヒトの MHC 遺伝子領域はその大部分がマウスの第 17 染色体の配列とアラインメントがとれていた。しかし、意外なことに、マウスの他の染色体に対応するアラインメントもヒト MHC 遺伝子領域には多数混入していることが明らかになった。このことから、進化の過程で、ヒトとマウスの分岐後に多数回の染色体再編成が起こった可能性が示唆された。今後は、他の生物種のゲノム配列を加えた解析により、MHC

遺伝子領域のゲノム進化の道筋を詳細に明らかにし

てゆくことができるだろう。

## 将来に向けて(獣医学の視点から)―伴侶動物の病気と MHC―

北川 均

岐阜大学

獣医学の対象は、軍馬の時代から産業動物を主体とする時代になり、イヌやネコなどの小動物医療が大きな割合を占める状況になっている。イヌやネコが番犬や愛玩動物(ペット)といわれた時代から伴侶動物(コンパニオンアニマル)となり、獣医療が大きく変わっている。産業動物を対象とする場合は、経済性が大きな問題となるため、MHC 関連研究は、肉質などの経済的形質との関連性、感染症に対する感受性、およびワクチンに対する反応性などが主体となる。いっぽう、イヌやネコなどの伴侶動物では、個体の生命を深く追及するケースが多くなり、感染症に加えて自己免疫疾患や移植医療などヒトの医療に近似する医療が実施されている。ネコでは、MHC クラス II 領域の塩基配列解読が終了し、MHC 遺伝子を中心としたこの領域の多型性検索の時代に入りつつあり、今後は、検出したアレルの臨床的意義、すなわち MHC の機能と動物の病気との関連性を考える必要がある。

ネコの感染症については、急性感染症は飼育環境の改善と予防により減少しているが、ネコの生活習慣(縄張り、集団生活など)がその発症に関与する猫白血病 (FeLV 感染症)、猫免疫不全ウイルス (FIV) 感染症、猫伝染性腹膜炎 (FIP、コロナウイルス感染症)などの慢性感染症が依然として見られる。これら

免疫関連感染症と MHC ハプロタイプとの関連性は容易に想像され、さらに病態が解明されれば、ヒトの疾患モデル動物として使用できる可能性があるが、現在のところ検討は進んでいない。現在の社会では、伴侶動物が長期に生存することに対する要望が高まっており、移植医療の要望も少なくない。動物の移植は、心臓や肺などのドナーの生命に関わる移植は、動物愛護上の問題があり、実施は容易ではないが、ネコでは慢性腎不全に対する腎臓移植や、交通事故などによる皮膚欠損に対する皮膚移植などが試みられている。ネコの臓器移植では、混合リンパ球反応を行い、さらに MHC をマッチングさせてドナーとレシピエントを選択するという状況には至っていないが、実験的に FLA- DRB エクソン 2 領域を解析したネコにおいて同種皮膚移植を試み、DNA タイプが一致した場合は拒絶までの期間が延長することを認めている。動物では長期間連日の免疫抑制剤投与は、経済的に、そして技術的(少なくとも自主的には服用しない)に困難であり、移植臓器に対する免疫寛容の状態を導くことが好ましい。MHC 研究の進展に伴って、動物の移植においてもドナーとレシピエントの MHC タイプをマッチさせることは当然となる時代が来ることが期待されている。