

氏 名 丸岡 尊子

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 1078 号

学位授与の日付 平成 19 年 3 月 23 日

学位授与の要件 先導科学研究科 生命体科学専攻  
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 MHC クラス I 様遺伝子族の進化

論文審査委員 主 査 教授 嶋田 葉子  
教授 堀内 嵩  
助教授 深川 竜郎  
教授 笠原 正典（北海道大学）  
教授 松浦 晃洋（藤田保健衛生大学）

## 論文内容の要旨

主要組織適合遺伝子複合体(MHC)古典的クラス I 遺伝子は高い多型性を持ち、ほとんどユビキタスに発現している。これらは CD8 陽性 T 細胞にペプチド抗原を提示するクラス I 分子の H 鎖( $\alpha$  鎖)をコードしている。このような古典的クラス I 遺伝子に加えて、哺乳類はいくつかの MHC クラス I 様遺伝子を持っている。これまでの研究で、軟骨魚類から哺乳類にいたるすべてのクラスの有顎脊椎動物に存在することが報告されており、従ってこれらの遺伝子の起源については証明されている。

古典的クラス I 遺伝子に加えて、哺乳類のゲノムは *CD1*、*PROCR*、*AZGP1*、*FCGRT*、*MR1*、*RAET1ULBP*、*MICM11*、そして *HFE* のようないくつかのクラス I 様遺伝子を含んでいる。これらの遺伝子は、特化された抗原提示から NK 細胞の活性化、IgG の輸送、フェロモンの感知、脂質の運搬と異化に及ぶ多様な機能を持っている。いくつかのクラス I 様遺伝子、特に MHC の外側にコードされる遺伝子については哺乳類の出現に先立って誕生したと一般に推測されているが、これらの起源については不明の点が多い。

最近、ニワトリのドラフトゲノム配列が一般に利用できるデータベースとして公開された。ニワトリはドラフトゲノム配列が公開されている哺乳類でない脊椎動物の中でもっとも哺乳類に近縁な動物で、MHC クラス I 様遺伝子の起源を探るための良い出発点として役に立つと思われる。この研究で、ニワトリドラフトゲノム配列を解析し、2つのファミリーのクラス I 様遺伝子である *CD1* と *PROCR* を同定した。ニワトリは2つの *CD1* 遺伝子、*CD1.1* と *CD1.2* を持っていて、お互いの距離が 840bp ほどの場所にタンデムに位置している。ニワトリ *CD1.1* と *CD1.2* はグループ 1 でもグループ 2 様でもなく、そのことはこの2つの *CD1* のグループが哺乳類の系統において出現したことを示している。データベースにはこれらの染色体上の位置についての情報はなかったが、ニワトリ *CD1* 遺伝子が 16 番染色体上にコンティグされた MHC B system に隣接して存在していることを発見した。FISH を用いて *CD1* が B system につながっていることを確認した。また、ニワトリは1つの *PROCR* 遺伝子を持っている。既知のクラス I 様遺伝子の中では、*PROCR* は *CD1* に最も近く、そのことは *CD1* と *PROCR* が哺乳類の出現に先立ってクラス I 様遺伝子のサブファミリーを形成したことを示している。*CD1* と *PROCR* の起源をさらに遡って調べるために、フグ、ゼブラフィッシュ、*Xenopus tropicalis* のゲノムデータベースを用いてコンピュータ解析を行った。しかしこれらの動物において *CD1* と *PROCR* の存在を確認することは出来ず、このことは *CD1* と *PROCR* が二弓類とシナプシドの共通祖先、つまりすべての羊膜類の共通祖先において誕生したことを示している。

ニワトリやそれより原始的な脊椎動物のゲノム配列において *CD1* と *PROCR* 以外のクラス I 様遺伝子ファミリーを同定することが出来なかったため、それらは *CD1* や *PROCR* より最近に誕生したのではないかと判断した。有袋類オポッサムのゲノムデータベースのコンピュータ検索の結果、*PROCR*、*AZGP1*、*FCGRT*、*MR1*、*HFE*、そして3つの NKG2D リガンド様遺伝子を同定することが出来、このことはこれらの遺伝子が有袋類と真獣類の系統が分岐する前に誕生したことを示している。3つの NKG2D リガンド様遺伝子、*L1*、*L2*、*L3* は細胞外領域の配列に基づいた分類では *RAET1ULBP* ファミリーとも *MICM11* ファミリーとも簡単に分類することは出来なかったため、これらの cDNA クローンを単離した。*L1* と *L3* は *RAET1ULBP* ファミリーのように2つの細胞外領域( $\alpha 1$  と  $\alpha 2$ )を持っている一方で、*L2* は *MICM11* ファミリーのように 3

つの細胞外領域( $\alpha 1 \sim \alpha 3$ )を持っている。しかしながら、全長のアミノ酸配列を用いた系統樹解析では *L1*~*L3* を *RAET1ULBP* ファミリーとも *MICMIII* ファミリーとも明確に分類されなかった。面白いことに、*L1* と *L3*、そして *MIC* はそれぞれオポッサムとヒトのゲノムの同じ場所を占めている。反対に、*L2* は MHC の外側に位置し、そしてヒトゲノムの対応する場所にクラス I 様遺伝子は含まれていない。

これらの結果は、今回の研究で *CD1* と *PROCR* が羊膜類の共通祖先において出現したことを示している。*HFE*、*MR1*、*FCGRT*、そして *AZGP1* は哺乳類において誕生し、有袋類と真獣類の系統が分岐する前に出現したと考えられる。NKG2D リガンド様遺伝子のファミリーも哺乳類で誕生したが、*RAET1ULBP* ファミリーと *MICMIII* ファミリーの明らかな分岐は真獣類のみで見られる。NKG2D リガンド様遺伝子の存在と一致して、オポッサムゲノムに NKG2D レセプター様遺伝子の存在を確認した。

## 論文の審査結果の要旨

古典的な主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラス I 分子は、抗原タンパク質の分解産物 (ペプチド) をキラーT 細胞に提示することにより、同細胞を活性化する。このしくみは有顎脊椎動物すべてに共通しており、古典的 MHC クラス I 遺伝子は軟骨魚類から哺乳類に至るまで、その存在が確認されている。これに対し、MHC クラス I 様遺伝子族 (古典的 MHC クラス I 遺伝子と構造的に類似しているが、多型性に乏しく、しばしば MHC 領域外でコードされており、機能的にも多彩) の起源と進化に関しては不明な点が多い。本博士論文は、最近公開されたニワトリ (鳥類) とオポッサム (有袋類) のドラフトゲノム配列を検索することにより、MHC クラス I 様遺伝子族の起源と進化について解析したものである。論文は大きく 2 部からなり、第 1 部ではニワトリでの解析結果が、第 2 部ではオポッサムでの解析結果が報告されている。

まず、第 1 部では、代表的な MHC クラス I 様遺伝子族 (*CDI*, *PROCR*, *FCGRT*, *MILL*, *MICA/B*, *RAET/ULBP*, *MRI*, *HFE*, *AZGP1*) のうち、ニワトリゲノムにおいて同定可能なのは、*CDI* と *PROCR* のみであること、したがって、ほとんどの MHC クラス I 様遺伝子族は哺乳類に特有のものと考えられることが報告されている。さらに、*CDI* と *PROCR* は MHC クラス I 様遺伝子族の中で互に最も近縁な遺伝子族であり、両遺伝子は羊膜動物の共通祖先の段階で出現したと推測されることが示されている。ニワトリのゲノムには二つの *CDI* 遺伝子 (*CDI.1* と *CDI.2*) が隣り合って存在するが、本論文では、詳細な contig 解析ならびに二色 fluorescence in situ hybridization 解析により、*CDI.1* と *CDI.2* が MHC 領域に存在することを明らかにしている。哺乳類では MHC 領域外に位置している *CDI* 遺伝子が、ニワトリでは MHC に位置しているという知見は、MHC 領域の進化、*CDI* 遺伝子の起源を考えるうえで重要な手がかりを与えるものであり、注目に値する。

次いで、第 2 部では、有袋類オポッサムにおける MHC クラス I 様遺伝子族の解析が報告されている。ここでは、1) オポッサムは *PROCR*, *FCGRT*, *MRI*, *HFE*, *AZGP1* 遺伝子をもって、明らかな *CDI* 相同遺伝子はみつからなかったこと、2) オポッサムには 3 個の NKG2D リガンド様遺伝子が存在するが、*MILL*, *MICA/B*, *RAET/ULBP* 各遺伝子族への分化は起きていない可能性が高いことなどが報告されている。

以上に述べたように、本博士論文には MHC クラス I 様遺伝子族の起源と進化について多数の重要な新知見が盛り込まれており、本論文は博士 (理学) に十分値するものであると判断した。なお、本論文の第 1 部に相当する部分は、出願者を筆頭著者として、免疫学分野における国際学術誌である *Immunogenetics* 誌に掲載されている。