

氏 名 澤 井 裕 美

学位（専攻分野） 博士(理学)

学位記番号 総研大甲第787号

学位授与の日付 平成16年3月24日

学位授与の要件 先端科学研究科 生命体科学専攻

学位規則第4条第1項該当

学位論文題目 Evolutionary Relationships of Major
Histocompatibility Complex Class I Genes
in Simian Primates

論文審査委員 主査教授 笠原 正典
教授 堀内 嵩
助教授 颯田 葉子
助教授 高野 敏行
助手 椎名 隆 (東海大学)

論文内容の要旨

Major histocompatibility complex (*MHC*) genes code for glycoproteins that can trigger the so-called acquired immune system by presenting non-self peptides to T cells. *MHC* class I genes evolved with rapid gene duplications and turnover. Indeed, comparative studies of marsupial and eutherian *MHC* class I genes have shown that the two mammalian subclasses express *MHC* class I genes of different evolutionary lineages. Furthermore, orthologous relationships have not been established among *MHC* class I genes of different mammalian orders, such as rodents, primates and so on. Until now, this also holds true even within primates, and New World monkeys (NWMs) occupy a critical phylogenetic position in elucidating the evolutionary process of *MHC* class I genes in primates. Although there have been many studies about primate *MHC* evolution, almost all studies have concentrated on humans, apes and Old World monkeys. These studies have revealed some orthologous relationships, but not with NWMs. To reconstruct the evolutionary history of primate *MHC* class I genes, it is imperative to examine NWMs.

In order to understand the evolutionary dynamics of primate *MHC* class I genes, the orthologous relationships of various *MHC* genes, particularly *B* and *G* related or group B and G genes, were examined in three species of NWMs. The 5' flanking region of class I genes was used in the analysis because this region contains a number of phylogenetically informative insertion elements and numerous nucleotide substitutions. From three subfamilies of Aotinae, Cebinae and Atelinae, the 5' flanking regions of 18 class I genes were obtained and phylogenetically examined in terms of their *Alu/LINE* insertion elements and nucleotide substitutions. Two pairs of genes from Aotinae and Atelinae are clearly orthologous to the *HLA-E* and *-F* genes. Among the remaining 14 genes, eight belong to a distinct group B, together with *HLA-B* and *-C*, but not with other *HLA* class I genes. These eight NWM genes are grouped into four, which are designated as *NWM-B1*, *-B2*, *-B3* and *-B4*. Of these, *NWM-B2* is orthologous to *HLA-B/C*. Orthologous relationships of *NWM-B1*, *-B2* and *-B3* are present between different families of Cebidae and Atelidae, which is in sharp contrast to the genus-specific gene organization within subfamily Callitrichinae. The other six genes belong to a distinct group G. However, a monophyletic clade of these six NWM genes is almost equally related to *HLA-A*, *-J*, *-G* or *-K*, and there is no strong support for their orthologous relationship to *HLA-G*. It is argued that class I genes in simian primates are extensively duplicated in their common ancestral lineage, and that their subsequent evolution in descendant species has

been facilitated mainly by the independent loss of genes.

Following on the above, DNA sequence data from *HLA* class I genes were analyzed, including pseudogenes, to estimate the time when previously functional *HLA* genes became pseudogenes. The functional constraint at nonsynonymous sites must have been relaxed since a *HLA* gene became a pseudogene. Using this change in functional constraint, I estimated the time of *HLA* pseudogenization. Four *HLA* pseudogenes (*HLA-H*, *-J*, *-K* and *-L*) were compared with functional *HLA* genes belonging to the most closely related groups (*HLA-A*, *-G*, *-G* and *-B*). The *HLA* dysfunctioning times were estimated as 1.3-6.6, 14.7-33.2, 36.6-45.9 and 46.2-46.6 million years (myr) ago for *HLA-H*, *-J*, *-K* and *-L*, respectively. It is suggested that there have always been six to eight functional *HLA* genes at any given time during the past 50 myr.

Finally, in order to explore the evolutionary trends of classical or nonclassical class I genes, I examined the *HLA* promoter region and peptide binding region (PBR), and discuss the functional changes of *MHC* class I genes in NWMs. The regulatory elements in *HLA* classical class I genes seem to be fairly well conserved. On the other hand, nonclassical class I genes display nucleotide sequence variations when compared to sequences of classical class I gene promoters. Promoter sequence analysis of *MHC* genes of *Aotus trivirgatus* shows that *Aotr-B1* and *-B2* have nonclassical-like characteristics, and *Aotr-B3*, *-G1* and *-G2* have classical-like characteristics. *Aotr-B1* lacks X2 and a TATA box, and *Aotr-B2* lacks almost all transcription binding sites. In *Aotr-G1* and *-G2*, all binding sites that are observed in classical class I genes are intact, whereas *Aotr-B3* lacks only a TATA box. A phylogenetic analysis of PBRs supports the above characteristics. Consequently, it is suggested that there is no obvious relationship between the groups defined by phylogenetic analyses and the division of classical and nonclassical class I genes.

論文審査結果の要旨

本学位論文は5章から構成されている。第1章は主要組織適合遺伝子複合体(MHC)についての概論であり、特に進化研究での問題点を指摘し、本研究の目的が「霊長類の進化過程におけるMHC遺伝子の獲得と決死角過程を明らかにすること」であることを述べている。第2章は、遺伝子の獲得過程に焦点を当てている。新世界猿からPCR法を用いて新たに18個のMHC遺伝子の塩基配列(上流の転写調節領域を含む3.4kb)を得た。ヒトMHCのゲノム配列データも加えた系統解析等の結果、ヒトの古典的クラスI遺伝子と共通祖先を持つ遺伝子が新世界猿に存在すること、新世界猿とヒトのMHC遺伝子の多くは、新世界猿とヒトの共通祖先で分化していたことを新たに見出した。さらに、今まで、遺伝子の一部の配列から推測されていた新世界猿で主要な役割を果たしていると考えられるG遺伝子の起源をゲノム配列情報から明らかにした。各種霊長類のMHC遺伝子の多様性は祖先集団で生じた変異のレパートリーの中から必要ない変異を選択するようにして形成されたという仮説に基づき遺伝子の獲得の過程を議論した。第3章では、遺伝子の欠失の過程に焦点を当てている。ヒトのMHC偽遺伝子に焦点を当て偽遺伝子化の時期の推定を行った。推定値には大きな標準誤差が伴うものの、5000万年にわたるMHC遺伝子の進化過程では機能を持ったMHC遺伝子の数が6~8個ほぼ一定となる傾向にあることを示した。このような現象をMHCが自己反応性のT細胞に対する自己の選択に関与していることと関連付けて議論した。第4章ではMHC遺伝子の機能分化の過程について解析を行った。新世界猿から得た18個のMHC遺伝子の転写調節領域配列を用い、転写調節にかかわる配列を網羅的に調べた。その結果、新世界猿においても、すべての体細胞で発現が見られるMHC遺伝子と一部の細胞に発現が限られるMHC遺伝子が存在する可能性を示唆した。第5章では第2~4の各章を短くまとめ、最後に進化的視点がMHC分子の機能・構造を理解する上でも重要であるとまとめている。

本学位論文では、霊長類におけるMHCの進化について、いくつかの興味深い新知見が得られている。これらを総合的に評価し、本論文は、総合研究大学院大学先導科学研究科の学位授与の水準を満たしていると判断した。なお、本論文の第2章の内容はGeneticsに投稿し受理されている。また、公開の論文発表会では、研究内容がわかりやすくまとめられ、質疑応答も適切なものであった。審査委員による口頭試問においても生命体科学及び関連分野に関して十分な能力を持っていると認められた。また、論文が英語で書かれており、十分な英語力を有することも認められた。以上の点から申請者は試験に合格したと判断した。