

比較ゲノム解析に基づくヒト MHC 領域の進化形成過程の解明

●椎名 隆

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学

<研究の目的と進め方>

我々はヒトゲノムにおける進化形成過程を追究するモデル領域として、主要組織適合遺伝子複合体 (Major Histocompatibility Complex; MHC) 領域の比較ゲノム解析を遂行している。この領域はヒトの MHC 領域 3.6 Mb の場合、遺伝子密度が極めて高く、進化的に保存されている遺伝子や免疫系に働く遺伝子を数多く含むこと、100 を超える疾患感受性を規定すること、ヒトゲノムで最高の多型を有すること、遺伝子重複の痕跡が多く観察されることなど、生物学から医学までの多岐に渡る重要な特徴を数多く有しており、ゲノムの動態や多様性を効率良く解析するには最適な領域である。脊椎動物門に位置する進化的に興味深い 14 生物種間におけるこれまでの比較解析の結果、それらの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、MHC 遺伝子の誕生は脊椎動物の誕生時期と一致すること、ヒトとチンパンジーやマウス、ラットにおけるゲノム相違など数多くの知見を報告してきた。そこで本研究課題ではこれらの知見をさらに展開させるために、(1) 霊長類 MHC 領域の比較ゲノム解析、(2) 鯨類 MHC 領域のゲノム解析、(3) ほ乳類 MHC 領域の比較ゲノム解析、(4) ニワトリ MHC 領域におけるゲノム多様性解析、(5) サメ MHC 領域のゲノム構造解析をおこない、比較ゲノム解析に必要な情報を抽出することにより、現在のヒトの MHC 領域に至るまでの進化形成の過程を明確にすることを目的とする。

<2008 年度の研究の当初計画>

本研究課題では、既にゲノムシーケンシングを終了したオキゴンドウの詳細なゲノム解析を進めるとともに、前年度までに得られたゲノム情報を用いて、オーソログ関係に基づいてそれらを統合した比較ゲノム地図を作成し、比較ゲノム解析に重要なゲノム情報を抽出する。その後、ほ乳類祖先 MHC 領域の推定ならびにその祖先領域から現在のヒトの MHC 領域に至るまでの進化の過程を明確にすること、さらには、ゲノム進化と疾患感受性遺伝子生成との関連性や生活環境がゲノム構造に及ぼす影響を明らかにすることを計画とする。

<2008 年度の成果>

1) 霊長類 MHC 領域の比較ゲノム解析

アカゲザルの MHC-B 領域は基本的に MHC-B 遺伝子を含む約 70 kb を 1 ユニットとした 19 回の縦列重複により形成されているのに対して、マーモセットでは 20 ~ 40 kb を 1 ユニットした縦列重複により形成されているようである。興味深いことに、すべての *Cajal-B* 遺伝子の CDS は 8 個のエクソンから構成されるのに対して、アカゲザルでは 8 個と 7 個のエクソンから成るクラス I

遺伝子が混在しており、ヒトやチンパンジーではすべて 7 個のエクソンから構成される。このことから、MHC-B 祖先遺伝子は 8 個のエクソンから構成されていたが、ヒトに至る過程でこの遺伝子が欠落し、代わりに 7 個のエクソンの遺伝子を有するようになったと考えられた。これは MHC-B 祖先遺伝子は 8 個のエクソンから構成される MHC-A 領域からの重複により誕生したという仮説と矛盾しない。現在、最近公開されたゴリラのゲノム配列を含めてこのゲノム領域の形成過程の解明を進めている。

2) 鯨類 MHC 領域のゲノム解析

鯨類は、海棲哺乳類の中でも最も分化した生物であり、約 5000 万年前の始新世に陸上の偶蹄目から分岐してきたと考えられている。現在でも陸棲哺乳類と共通する特徴を数多く備えており、エコロケーションの獲得や形態の収斂進化などの水中生活への適応は、800 万年程度の短い期間で起きたことが化石の研究などから示唆されている。このように特異的な進化を遂げてきた鯨類のゲノム配列を決定し、その他の哺乳類と比較することは、哺乳類の進化や機能の解明に大きく貢献すると考えられることから、鯨類 MHC 領域と他の陸棲哺乳類とのゲノム構造の比較解析を進めている。オキゴンドウにおける MHC 領域の BAC シークエンシングより、MHC クラス I 領域側に位置する *ZNF311* からクラス II 領域側に位置する *DAXX* までの 2.20 Mb のゲノム配列を決定した。この配列には 2 カ所の GAP 領域 (クラス II 領域とクラス III 領域の間、クラス II 領域内) が含まれた。他陸棲ほ乳類よりも比較的近縁であるウシにも MHC クラス II 領域を分断する GAP が認められていることから、オキゴンドウの MHC 構造はウシ MHC 構造と類似すると予測された。また、他陸棲哺乳類と比較した場合、その領域の遺伝子構成、遺伝子長に大きな差異は認められなかったものの、この領域に相当するヒトゲノム配列の長さは 4.3 Mb であることから、オキゴンドウ MHC 領域は極めてコンパクトなゲノム構造を有することが明らかとなった。遺伝子マッピングから、この領域には 134 個の遺伝子が他のほ乳類と同様に同定された。ところが MHC クラス I 遺伝子において、ヒトで偽遺伝子を含めて 18 個が位置するが、オキゴンドウでは 6 個のみが同定されたことから、遺伝子重複や欠失などの証拠を明らかにするなどのゲノム構造についてさらに詳細な解析を進めている。さらに MHC 領域近傍に位置する *ZNF311* から *GABBR1* の間のゲノム長が他の陸棲哺乳類より極端に短かったことから、オキゴンドウのゲノム配列の保存性を明らかにするために、オキゴンドウとヒトの間のドットマトリックス解析を行った。その結果、ヒトでは嗅覚レセプター遺伝子群を含む約 580 kb がオキゴンドウでは認められなかった。ウシの相同領域においても同様な嗅覚レセプター遺伝子群が認められることから、鯨類は水中生活に適応していく過程で嗅覚が退化したためこれら遺伝子が欠失し

たものと考えられた。

3) ほ乳類 MHC 領域の比較ゲノム解析

MHC 領域のゲノム配列が完全あるいはほぼ決定されており、かつ公的データベースに登録されているほ乳類 10 種の比較ゲノム地図を作成した。この地図における顕著な特徴の一つとして、オポッサムを除く 9 種では MHC クラス II 領域の構造はよく保存されているのに対して、MHC クラス I 領域は種に特有な構造を有することが挙げられる。当初、ほ乳類では古くからヒトとマウスのみの MHC 領域の遺伝子地図が知られていたため、その他のほ乳類にも各クラス I 亜領域 (MHC-A/-G/-F 領域、MHC-E/-L 領域、MHC-B/-C 領域) にクラス I 遺伝子を有すると考えられていた。ところが、ブタ、ウシ、イヌ、ネコの MHC-A/-G/-F 領域には発現クラス I 遺伝子は認められないことから、元々この領域にはクラス I 遺伝子は存在せずに、後にマウス、ラットや霊長類にクラス I 遺伝子が誕生したと推定された。これに対して、約 120 個の非 MHC 遺伝子については種間にてよく保存されていた。現在、決定したオキゴンドウを含めた比較解析を進めている。

4) ニワトリ MHC 領域におけるゲノム多様性解析

ニワトリ MHC (B) 領域は HLA 領域と同様に免疫系の遺伝子を高密度に含み、多くの疾病および形質と関連する。この B 領域のゲノム多様性情報を収集することは比較ゲノム解析の次の段階として必須であるとともに、MHC 連鎖疾病および形質の責任遺伝子同定に利用可能な高密度多型マーカーの設定を可能にする。そこで主要な 14 種類の MHC ハプロタイプにおける B 領域全長 59 kb の塩基配列を決定、比較することで一塩基置換 (SNP)、挿入欠失 (Indel)、リピート配列およびコピー数多型などの多型情報を整理した。その結果、B 領域の遺伝子構成はハプロタイプ間で保存されていた。また、決定した B 領域の塩基配列を比較したところ、その多様性は交叉および遺伝子変換により形成され、その時期は家禽化以前であると推測された。さらに、検出された多様性情報をデータベース化し、MHC 連鎖疾患に対する抵抗性および感受性を規定する多型を検索することで、候補遺伝子を絞り込むことが可能であると考えられた。今後、この多様性情報を元に種内におけるゲノム形成過程の考察を進める予定である。

5) サメ MHC 領域のゲノム構造解析

ヒトの祖先と 4.4 億年前に種分岐した軟骨魚類は MHC 抗原の発現が確認されている最も古い有顎動物であり、その MHC 領域はその他の硬骨魚類よりも原始的なゲノム構造を有すると考えられる。そこで、ネズミザメ上目に属するコモリザメの MHC 領域、400 kb のゲノム配列を決定した結果、興味深いことに、ヒトをはじめその他の生物種では MHC 領域と連鎖しない、MHC クラス I 抗原と結合する B2M (β 2 ミクログロブリン) がこの領域に位置することを明らかにした。そこで、コモリザメが属するネズミザメ上目よりもより原始的な形態、運動能力を有するツノザメ上目、とりわけ板鰓類の中で古い形態を有するラブカ (ツノザメ上目カグラザメ目) に着目し、その BAC ライブラリーを作製した。今後、それらライブラリーを用いて MHC 領域のゲノム解析を実行し、MHC のみならず獲得免疫の起源やその進化過程を明らかにしていく予定である。

<国内外での成果の位置づけ>

MHC 領域の比較ゲノム解析の中核機関の一つである。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

オキゴンドウのゲノム配列との比較解析に用いるウシ MHC 領域のゲノム配列は未だ決定されておらず、その配列情報の整理に手間取ったことからオキゴンドウを含めた比較ゲノム解析に至らなかった。

<今後の課題>

多生物種間の比較ゲノム地図はおおむね完成しつつあるが、MHC 領域の進化過程を理解し、いかに視覚化できるかが今後の課題である。今後、直系遺伝子ごとの差異を特定することを課題とする。また、本研究にて、鯨類の全 MHC 領域の配列の決定に成功したことから、世界で問題となっている鯨類の多様性解析への応用が期待される。今後の展望として、その他陸棲哺乳類の比較ゲノム解析を行うことで、鯨類のより詳細な MHC 領域のゲノム構造を明らかにする予定である。そして、鯨類が水中という新しい生活環境に適応していくにつれて、免疫機構がどのような進化過程を遂げているのかについて考察を進めていく予定である。

<成果公表リスト>

1) 論文/プロシーディング (査読付きのものに限る)

0901131852

Iwamoto, S., Sato, S., Hosomichi, K., Taweetungtragoon, A., Shiina, T., Matsubayashi, H., Hara, H., Yoshida, Y., Kanzawa, K., Identification of heat shock protein 70 genes *HSPA2*, *HSPA5* and *HSPA8* from the Japanese quail, *Coturnix japonica*. *Animal. Sci. J.* 79: 171-181 (2008)

0806261532

Holland, L.Z., et al. The amphioxus genome illuminates vertebrate origins and cephalochordate biology. *Genome Res.* 18: 1100-1111 (2008)

0901131829

Hosomichi, K., Miller, M.M., Goto, R.M., Wang, Y., Suzuki, S., Kulski, J.K., Nishibori, M., Inoko, H., Hanzawa, K., Shiina, T., Contribution of mutation, recombination, and gene conversion to chicken MHC-B haplotype diversity. *J. Immunol.* 181: 3393-3399 (2008)

0901131838

Kulski, J.K., Shigenari, A., Shiina, T., Ota, M., Hosomichi, K., James, I., Inoko, H., Human Endogenous Retrovirus (HERVK9) Structural Polymorphism with Haplotypic HLA-A Allelic Associations. *Genetics* 180: 445-457 (2008)

0901141161

Shiina, T., Hosomichi, K., Inoko, H., Kulski, J.K., The HLA genomic loci map: expression, interaction, diversity and disease. *J Hum Genet.* In press.

2) データベース/ソフトウェア

なし