

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 金 井 朋 子

ブタ (*Sus scrofa domestica*) は家畜として、また実験動物として非常に重要な動物である。1940年代中頃からアメリカ合衆国、日本、ドイツなどで実験動物用ミニチュアブタ (ミニブタ) の開発研究が始められ、生物学的・医学的研究に汎用されるようになった。本論文に用いられたCSK系ミニブタはゲッチンゲン系ミニブタに由来し、1975年に我が国へ導入されてから実験動物用にクローズドコロニーとして開発・維持されている。主要組織適合型複合体 (Major histocompatibility complex: MHC) は自己・非自己の認識を司り、免疫応答の開始、及び様々な免疫応答性の制御など免疫系の要とも言うべき役割を担う。広く脊椎動物でMHCに認められる多型性は、移植におけるドナーとレシピエントの組織適合性や各種疾病に対する個体の感受性と関連すると考えられている。一方、ブタのMHCはSLA (Swine leukocyte antigen) と呼ばれ、1970年に初めて報告された。近年ミニブタは同種または異種移植における実験動物として注目されており、米国立衛生研究所におけるSLA純系ミニブタの作出 (1976年) を筆頭に、SLA分子の研究が世界中で行われるようになった。本論文は、ミニブタの免疫系を理解する上で必要不可欠なSLA分子、特にクラスII分子に着目し、他の哺乳動物のクラスII分子との比較、対立遺伝子に認められる多型性とその多型性が生じる機構、さらにその多型性に起因して起こる同種抗原反応について明らかにすることを目的としている。

第一章では、ブタ、ヒト、マウスにおけるMHCクラスII β 鎖コード領域の比較、及びSLAクラスII β 鎖コード領域における対立遺伝子の比較を行った。本章ではDR及びDQ β 鎖コード領域全長を含む遺伝子を同定したが、これらはともにそれぞれの遺伝子座において3本目の対立遺伝子の報告であった。推定されるアミノ酸配列の比較では、両遺伝子ともにマウスよりもヒトと共通のアミノ酸を多く有することが示された。MHCクラスII遺伝子のクラスター解析では、同種の異なる遺伝子座の遺伝子間よりも異種の相同遺伝子間の方が近いクラスターに属することが明らかとなった。一方、対立遺伝子の比較により、現在認められるSLAクラスII遺伝子の多型性が進化の過程で起こるポジティブセレクションの影響を受けていることが示唆された。

第二章では、SLAクラスII遺伝子において対立遺伝子に多型性が生じた機構について推察した。本章では、DRB1については11対立遺伝子、DQBについては7対立遺伝子の塩基配列を新たに明らかにした。既知の遺伝子も含めて塩基配列の比較を行った結果、両遺伝子ともに β 1ドメインコード領域に4箇所のGC-rich配列が認められ、さらに一番目と二番目のGC-rich配列には遺伝子組み換えシグナルと推定される χ 様配列が含まれていた。クラスター解析及びアミノ酸配列の比較を行ったところ、これら2箇所の χ 様配列を組み換え点とした対立遺伝子間での遺伝子変換が示唆された。これらの結果より、現在

認められる *SLA-DRB1* 及び *-DQB* 遺伝子の多型性が、突然変異に加えて対立遺伝子間での遺伝子変換が一因となって生じていることが推察された。

第三章では、*SLA-DR* 及び *DQ β* 鎖コード領域の多型性を検出することを目的として、RT-PCR-RFLP 法による遺伝子タイピングを行った。その結果、既知の 25 *DRB1* 対立遺伝子は 23 タイプに、24 *DQB* 対立遺伝子は 18 タイプに分類された。同じタイプに分類された異なる対立遺伝子は、塩基置換がアミノ酸置換を伴わない同義的塩基置換または抗原ペプチドとの結合には関係しない部位の塩基置換を有していた。本方法による遺伝子タイピングは簡便で、またアミノ酸置換の集積する抗原ペプチド結合部位周辺の多型性の検出に有用であることから獣医臨床上の応用も可能であり、さらに未知の *SLA-DRB1* 及び *-DQB* 遺伝子の検出にも有用であると考えられた。

第四章では、様々な *SLA-DRB1* 及び *-DQB* 対立遺伝子を待つ個体のリンパ球を用いて混合リンパ球反応試験 (MLC) を行い、*SLA-DR* 及び *DQ* 分子が同種抗原反応性に及ぼす影響の違いについて考察した。CSK ミニブタ 13 個体について遺伝子タイピング及び MLC を行った結果、各遺伝子ともに全く同じタイプの組み合わせにおいてはほとんど同種抗原反応は認められなかったが、全く異なる組み合わせでは強い同種抗原反応が認められた。また、*DQB* の適合性の方が *DRB1* の適合性よりも MLC における同種抗原反応性に及ぼす影響が大きい可能性が示された。ヒト MHC の研究では *DR* 分子の方が *DQ* 分子よりも発現量が多く、同種抗原反応性に及ぼす影響も大きいと考えられている。本章では、*SLA-DR* 及び *DQ* 分子がヒト MHC とは異なる役割を待つ可能性が示された。

本研究の成果は *SLA* の構造と機能に関わる情報にとどまらず、① MHC 分子の系統発生及び多型性の成り立ちに関する比較免疫学的研究において有用な知見であり、② 獣医臨床への応用として疾病感受性の遺伝的背景を明らかにする上で必要な情報となり、③ 移植研究では同種及び異種移植における組織適合性を検討する上で有用な知見及びタイピング法を提供するものである。よって、審査委員一同は、本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。