

医科学研究に重要な霊長類資源の繁殖・育成と疾患モデルの作製・解析 カニクイザル MHC class-Iの発現解析

分担研究者 高橋一郎 (医薬基盤研究所 霊長類医科学研究センター)

研究要旨

感染症を引き起こすウイルス感染に対して感受性があるか或いは抵抗性かは、MHC の class I の発現が重要な働きを担っていると考えられている。そこで基盤研霊長類センターで飼育管理されているカニクイザル個体より作成された株化 B 細胞株で MHC class I A ローカス、B ローカスからの発現している遺伝子を解析しデータベースより、タイプを同定した。

カニクイザル 8 個体より作成された B 細胞株で発現している MHC class I について A ローカスおよび B ローカス特異的なプライマーで増幅しクローニングしてシーケンス法で同定した。それぞれ 20 クローン以上クローニングしたクローンをとりシーケンスし、カニクイザル MHC データベースを検索し発現しているクローンタイプを同定した。

A. 研究目的

霊長類センターで飼育管理しているカニクイザルコロニーの遺伝学的解析を行うことにより、コロニーの特色を把握し実験用カニクイザルの高度化を図り資源としての価値を高める。またヒトの疾患モデルとしてカニクイザルを使用するための基礎データとして、MHC 遺伝子の発現情報を蓄積する。今年度は昨年度に引き続き情報を収集した。

アカゲザルでの MHC class-I のタイピングおよびゲノム解析した結果の整備がすすんでいるが、カニクイザルについては、体系的に進んでいない。そこで感染症に対する防御を担っている MHC class I を調べることで、実験動物のカニクイザルの資源の高度化を図ることを目的とする。

B. 研究方法

カニクイザル個体より採血された血液より B 細胞を株化した細胞を作製した。

カニクイザル B 細胞株については SIV 感染前に作成され、作製後に SIV 感染実験を行い感染の成立、感染の非成立が行われた。これら B 細胞株 8 株より遺伝子発現している RNA を抽出し MHC type I 特異的なプライマーで PCR 増幅後クローニングし約 20 クローンをシーケンスして塩基配列を IPD (Immuno Polymorphism Database) MHC データベースを検索し発現している MHC のタイプを同定した。

C. 研究結果

カニクイザル 8 頭より作製された不死化 B

細胞株より発現している MHC class I 遺伝子をクローニングしてクローンをと、それぞれ塩基配列を決定した。各個体の B 細胞株からそれぞれ A ローカス、B ローカス 20 数個のクローンを取りシーケンスしたが、解析できたのが、表の数字である。それをそれぞれカニクイザル MHC のデータベースを検索して対応するクローンを同定した。取れてくる大腸菌のクローンと発現しているクローンが同じ(クローニング効率がどれも同じ)と仮定すると単一なものしか発現していないもの、2クローンが発現しているもの主要なものが 1 個でマイナーなものが発現しているものなど、個体によりまちまちであった。B 細胞株より発現している MHC class I A ローカス、B ローカスは、複数発現しており、これらの塩基配列を決定し、クラスタ解析を行った。SIV ウィルス感染抵抗性個体と感染感受性個体との MHC クラス I の特異的なタイプは、個体の n 数が少ないのでできなかった。ただし近縁のアカゲザルの報告から抵抗性を付与すると考えられる分子の発現がみられる個体(#018)があった。また A ローカスがホモであると思われる個体が3頭 (#022, #053, #053) いた。B ローカスについて、ホモと思われる個体はいなかった。

D. 考察

霊長類の実験動物として最もポピュラーであるカニクイザルについて、MHC のタイピングは非常に重要な情報であるが個体で発現している MHC の情報はクローンの塩基配列情報の登録は多くなされているが、その MHC 分子の発現により知られている感染症ウィルス感染に対して感受性があるいは抵

抗性かは報告がない。これについては多くの個体で発現している MHC を解析し感染抵抗性の個体の数を増やして解析する必要がある。そしてデータを蓄積する必要がある。ヒトの MHC については、データベースが完備しルミネックス法で蛍光ビーズを使用し短時間で調べられる。ヒトとサルではニーズの要求も異なるので比較はできないが、できるだけ簡便で正確に同定できる方法の開発が待たれる。

またアカゲザルで感染抵抗性を付与すると報告のある Mamu-B*07:04 と相同性のある、Mafa-B*017:01 の発現が確認された。このようなデータの蓄積がヒトの医療への貢献ができると考えられるので、地道にデータを積み重ねていく努力は必要である。

E. 結論

MHC class I 抗原は感染症の抵抗性を付与することが知られており、あらかじめ抵抗性を付与する MHC class I 分子の発現を調べることができたとしたら実験動物としてのカニクイザル資源の高度化に役立つと考えられる。ただし MHC 分子の発現のデータの蓄積と解析が必要であると考えられる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

なし。

| 個体 | A locus | | B locus | |
|------|-------------------|----|------------------|---|
| #016 | Mafa-A1*002:01:01 | 5 | Mafa-B*121:01 | 3 |
| | Mafa-A1*003:03 | 3 | Mafa-B*136:02 | 2 |
| | | | Mafa-B*007:01:01 | 2 |
| | | | Mafa-B11L*01:04 | 2 |
| | | | Mafa-B11L*01:01 | 1 |
| | | | Mafa-B*050:01 | 1 |
| | | | Mafa-B*050:04 | 1 |
| | | | | |
| #018 | Mafa-A1*098:02 | 2 | Mafa-B*017:01 | 4 |
| | Mafa-A2*24:03 | 2 | Mafa-B*007:01:02 | 3 |
| | Mafa-A1*100:01 | 1 | | |
| | | | | |
| #022 | Mafa-A1*089:01 | 14 | Mafa-B*104:01:02 | 3 |
| | | | Mafa-B*073:01 | 2 |
| | | | Mafa-B*064:01 | 1 |
| | | | Mafa-B*144:02 | 1 |
| | | | | |
| #053 | Mafa-A1*089:03 | 8 | Mafa-B*099:01 | 3 |
| | | | Mafa-B*114:01 | 1 |
| | | | | |
| #054 | Mafa-A1*052:02 | 6 | Mafa-B*068:02 | 3 |
| | Mafa-A1*100:01 | 2 | Mafa-B*037:02 | 2 |
| | | | Mafa-B*033:02 | 2 |
| | | | Mafa-B*068:03 | 1 |
| | | | | |
| #055 | Mafa-A1*100:01 | 6 | Mafa-B*108:01 | 3 |
| | | | Mafa-B11L*01:04 | 2 |
| | | | Mafa-B*007:01:02 | 1 |
| | | | Mafa-B*033:03 | 1 |
| | | | | |
| #056 | Mafa-A1*010:02:01 | 7 | Mafa-B*058:01 | 5 |
| | Mafa-A1*068:01 | 2 | Mafa-B*153:01 | 3 |
| | Mafa-A4*14:04 | 2 | Mafa-B*043:01 | 2 |
| | | | | |
| #057 | Mafa-A1*097:01 | 4 | Mafa-B*007:01:01 | 4 |
| | Mafa-A1*003:01 | 2 | Mafa-B*121:01 | 3 |
| | | | Mafa-B*011:01 | 1 |
| | | | Mafa-B*004:03 | 1 |
| | | | | |

図: MHC class I 遺伝子 A ローカス、B ローカスの発現パターン