

高等生物繁栄の鍵「獲得免疫システム」の起源

高場 啓之 (医学系研究科病因・病理学専攻 博士研究員^{注)})
西住 裕文 (生物化学専攻 助教)

脊椎動物は獲得免疫系を備えることにより、新奇の病原体に応答できる一方、一度罹った病気に罹りにくくなる。近年、原始的な脊椎動物である無顎類が、独自に発達させた獲得免疫系をもつことが明らかとなって来た。今回われわれは、他の脊椎動物（有顎類）と同様に無顎類にも、自己反応性抗体を排除する負の選択機構が存在する事を示すと共に、MHCに相当する候補分子としてアロ白血球抗原を同定した。この成果は、獲得免疫の理解やMHC分子の起源に迫るのみでなく、組織移植時の拒絶反応や自己免疫疾患の理解にも繋がる事が期待される。

脊椎動物は、限られた種類の抗原（外敵）に対応するための自然免疫系に加え、5億年前のカンブリア大爆発の頃に高次免疫機構である獲得免疫系を入手した。この獲得免疫系の特徴は、リンパ球が生後に遺伝子再編成を伴って多種多様な抗原受容体をつくり出すことにより、新奇の病原菌に対しても特異的に応答できる点にある。さらに、一度侵入した病原菌の抗原を記憶し、二度目の侵入では速やかな応答も可能である。しかしこの機構に破綻や狂いが生じると、免疫系が自分を攻撃し始め、自己免疫疾患やアレルギーの原因と成る。よって獲得免疫系に於いて、自己に反応するリンパ球がいかに排除されるのかを解明する事は、非常に重要である。

脊椎動物の中でも軟骨魚類から哺乳類までの有顎類では、リンパ球でイムノグロブリン (Ig) 型の抗原受容体 (すなわち抗体) が作られ、主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) 分子を介して自己反応性リンパ球が除去される事 (負の選択) が知られている。一方、原始的な脊椎動物である無顎類 (ヌタウナギ

やヤツメウナギ) では、variable lymphocyte receptor (VLR) と呼ばれる全く異なる種類の抗原受容体が、遺伝子再編成によって凡そ 10^{14} も作られることが近年分かって来たが、有顎類の Ig と同様に負の選択機構が存在するのか、また MHC 分子に相当する分子が存在するのかどうかは全く不明であった (図)。

我々はまず、無顎類ヌタウナギの抗体である VLR-B と白血球を用いた血清学的試験を行い、VLR に負の選択が存在するかどうかを検証した。その結果、VLR-B は別個体の白血球に反応するが、自分の白血球には反応しないことから、ヌタウナギの VLR に於いても負の選択が存在し、自己反応性リンパ球が排除されていることが示唆された。そこで VLR-B が認識した白血球抗原の同定を試み、多型性に富む膜タンパク質がアロ白血球抗原 (同種抗原: allogenic leukocyte antigen; ALA) である事を見出した。ALA の型 (ハプロタイプ) の違いの程度に依存して血清交差反応性が大きくなり、VLR-B は自己の ALA には反応せず、他個体の ALA に対して反応する結果から、ALA が VLR-B の主要な白血球抗原と考えられる。また、異物をヌタウナギに投与すると、ALA 陽性白血球中で、取り込まれた異物と ALA が共局在することが顕微鏡による観察などから明らかとなり、ALA が有顎類の MHC 分子の様に外来抗原の認識に関わる可能性が強く示唆された。

これらの研究成果は、獲得免疫の理解や MHC 分子の進化的な起源に迫るのみでなく、クローン選択説の自己免疫寛容のメカニズムを再考する上で重要な知見であり、将来的には組織移植時の拒絶反応や自己免疫疾患の理解にも繋がる事が期待される。本研究は H.Takaba *et al.*, *Scientific Reports* 3, 1716 (2013) に掲載された。

(2013年4月25日プレスリリース)

	無顎類 	有顎類 
抗原受容体	Variable lymphocyte receptor (VLR)	T細胞抗原受容体 (TCR) B細胞抗原受容体 (BCR)
抗原受容体遺伝子の組換えの機構	コピーチョイス	V(D)J 組換え
リンパ球のクローン選択	負の選択 	正の選択 負の選択
抗原提示分子	アロ白血球抗原 (ALA)? 	主要組織適合遺伝子複合体 (MHC)

■ 無顎類の獲得免疫系と有顎類の獲得免疫系の比較

注) 生物化学専攻 博士課程修了

グラフェンの量子ファラデー効果

島野 亮 (物理学専攻 准教授)
青木 秀夫 (物理学専攻 教授)

ファラデーといえば電磁誘導で馴染み深いですが、光と磁気が絡む現象の先駆者でもあり、「ファラデー効果」(磁性体や、磁場中の物質に直線偏光を入射すると透過光の偏光が回転する現象、光のアイソレータなどに利用されている)を発見している。ファラデー効果は通常、試料の厚さと磁場あるいは磁化に比例する。今回われわれは、炭素原子わずか一層の物質であるグラフェンのファラデー効果の観測に成功し、さらに、偏光の回転角が、電気伝導でみられる量子ホール効果に対応する量子化値をとり、「量子ファラデー効果」を示すことを明らかにした。

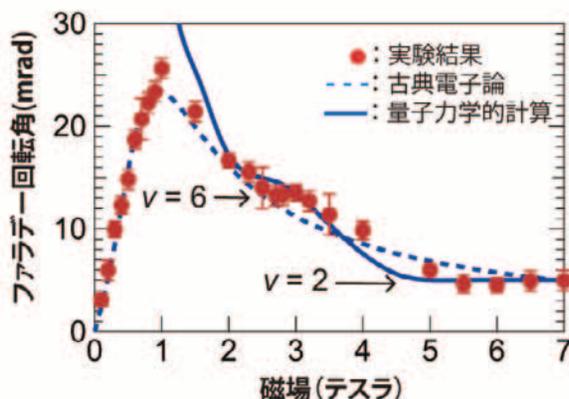
グラフェンが、2010年ノーベル物理学賞の対象になったのは記憶に新しい。グラフェン中の電子は特殊な性質(相対論的なディラック粒子で質量がゼロ)をもち、「固体中のニュートリノ」とも呼ばれ、その速度は光速の約1/300と非常に速い。グラフェンが示す興味深い現象のひとつに量子ホール効果(「物理学のキーワード」2009年9月号参照)がある。ホール効果は、磁場中に置かれた半導体などに磁場と垂直に電流を流すと、磁場および電流と直交する方向に(ホール)電圧が生じる現象で、発見されたのはファラデー効果よりは後のことである。半導体界面などにできる2次元電子系では、強磁場下でこのホール効果が“量子化”する。電流とホール電圧の比を与えるホール伝導度は、通常は磁場に滑らかに依存(反比例)するが、低温、強磁場下では磁場の関数として階段状となり、段の平坦部分では、物質に因らず基本定数 $e^2/h \sim (25.8 \text{ k}\Omega)^{-1}$ (e は電気素量、 h はプランク定数)の整数倍になる。これが整数量子ホール効果である。電気伝導という身近な現象に顕著に現れる純粋に量

子力学的な効果であり、通常はヘリウムが液化するほどの低温かつ強磁場でのみ生じる。驚くことにグラフェンでは、この現象が室温、あるいは比較的低磁場でも発現する。量子ホール効果は強磁場下で電子の円運動が量子化する状況で生じるが、その量子化エネルギー準位(通常は電子の質量に反比例した等間隔)が、質量ゼロのディラック電子では特殊な準位構造をとるためである。

実はファラデー効果とホール効果は密接に繋がっている。金属(導体)では、直流ホール効果の光版がファラデー効果である。となると、“頑強な”量子ホール効果を示すグラフェンを光でみたらどうなるだろうか。光(ここでは周波数が約1 THz、波長約300 μm の光、テラヘルツ光を用いた)をグラフェンに垂直に入射させ、ファラデー回転角を測定した。磁場を増加させていくと、図のように、古典電子論の予想(図の点線)から外れ、微細構造定数(電磁相互作用の結合定数を表す基本定数)を単位として階段状の値をとる様子が明瞭に現れた。これは、光領域の量子ホール効果として最近理論的に予言されていたもので(青木秀夫、森本高裕、2009年9月14日理学部プレスリリース参照)、実際、量子ホール効果の原因である電子局在の効果厳密対角化という手法で考慮した光理論(図の実線)とも驚くほどよく一致する。光領域の量子ホール効果は最近、2次元電子系でも観測されていたが、グラフェンではより顕著にかつ低磁場で観測され、グラフェンの「ニュートリノ的性質」のひとつの発現といえる。ファラデー効果の発見から160年余り後、量子ファラデー効果がグラフェンのディラック電子系を舞台に明瞭に見出されたことになる。

本研究は、物理学専攻大学院生の湯本郷(修士課程)、柳済允(博士課程)、松永隆佑助教、理化学研究所の森本高裕博士、NTT物性科学基礎研究所の日比野浩樹博士、田邊真一博士との共同研究であり、Nature Communications(オンライン版:5月14日)に掲載された。R. Shimano *et al.*, *Nature Communications* 4, 1841 (2013)

(2013年5月15日プレスリリース)



周波数1THzの電磁波に対するグラフェンのファラデー回転角(絶対値)の磁場依存性。図中の矢印の位置で、回転角は磁場に対して階段状になる(量子ファラデー効果)。そのときの回転角の大きさは、物理学の基本定数である微細構造定数と、基板(SiC)の屈折率で決まる比例係数に、グラフェンの整数量子ホール効果値(2,6,10,...)を乗じたもので決まる。実線は、厳密対角化とよばれる理論手法で計算した結果。

ホタルの光で生体内の pH 変化を可視化する

服部 満 (化学専攻 特任研究員)
小澤 岳昌 (化学専攻 教授)

細胞がさまざまな疾患や障害下におかれると、細胞内部の pH が変化することが知られている。このような pH の変化を、マウスのような生きた動物個体内で長時間安定して観測することはこれまで容易ではなかった。われわれは、人工的につくり出したホタルの発光酵素 (発光タンパク質ルシフェラーゼ) の明滅反応を利用して、生体内での pH 環境を観測する方法を確立した。本システムは、pH 観測を通して生体内の異常を検査する技術に繋がると期待される。

正常な細胞では、細胞内の pH がおよそ 7.2 に保たれている。しかし、細胞がガン化した低酸素状態になると、細胞内の pH が低下する。そのため、個々の細胞内の pH のみならず、もっと大きな細胞集団、たとえば身体の組織や臓器などの pH 変化をとらえることができれば、炎症化や腫瘍肥大といった病態の変化を判断する際に有効な指標となる。しかしながら、従来の蛍光プローブによる pH 測定法では、細胞自体の自家蛍光による発光のために正確な値を測ることが困難であった。したがって、生きた動物個体内で長時間安定して pH を観測する技術の開発が急務であった。

そこでわれわれは、生物発光を利用したプローブの開発を行った。生物発光は自発的な発光反応であり、励起光の強度で発光強度が変わる蛍光とは異なり、安定して光を発する利点がある。新しく開発した発光プローブには、発光タンパク質ルシフェラーゼとともに、植物に含まれる光応答タンパク質 Phototropin 内の LOV2 というタンパク質領域を用いた。この LOV2 は、青色

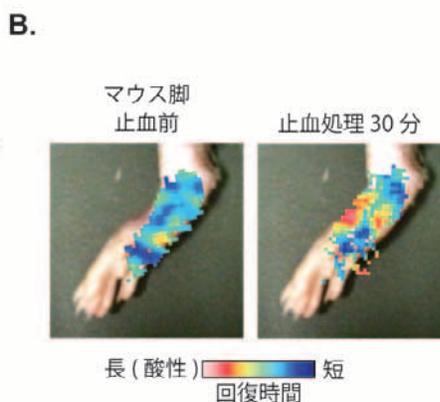
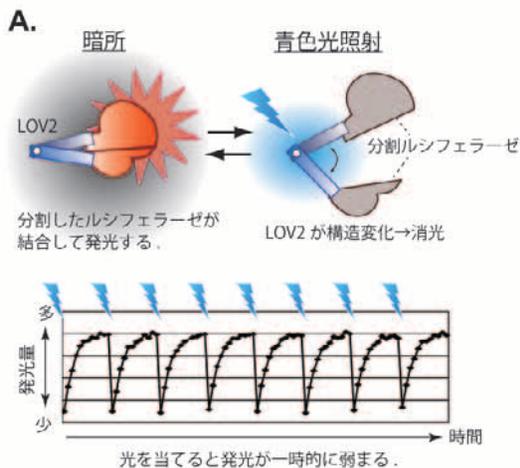
光を照射すると分子構造の変化を起こし、また照射を止めると元の構造に戻る性質がある。この元の構造に戻る速度は、周囲の pH の値に依存する。一方で、2つに分割したルシフェラーゼは接近すると結合して再び発光活性を取り戻すという「再構成」の性質をもつ。そこで、LOV2 の両端にそれぞれルシフェラーゼの断片を繋げたところ、暗所では再構成を起こして発光を生じた。また、青色光の照射により、発光が一時的に弱まり、そのあと元の発光の強さに回復した (図 A)。この新しい発光プローブ、PI-Luc (Photo-Inactivatable Luciferase) の発光の回復時間を各 pH 毎に計測した結果、周りの pH が酸性であるほど回復が遅くなることが明らかとなった。つまり、回復時間を測ることで周囲の pH を観測することができる。

PI-Luc を生きたマウスの脚に導入し、外から青色光を照射して、PI-Luc の発光が回復する時間を画像のピクセル毎に計算し色変換することで、pH 環境をイメージング化した (図 B)。このイメージング技術を用いることで、虚血したマウスの足での pH の低下を時間経過とともにとらえることができた。

多くの炎症や悪性腫瘍はそのマーカーとなる物質が開発されていない。今回開発した PI-Luc を用いた pH の測定法は、生体内の異常を簡便に検査する技術への応用が期待される。

本開発成長は M. Hattori *et al.*, *Proc.Nat.Acad.Sci. USA* 110, 9332 (2013) に掲載された。

(2013年5月20日プレスリリース)



開発した発光プローブ「PI-Luc」。暗所ではルシフェラーゼ断片が互いに接近して再構成を起こし発光する。青色光を当てると LOV2 に構造変化が生じ、ルシフェラーゼ断片間の距離が広がるため消光する。下のグラフは、PI-Luc を導入した細胞に青色光を定期的に照射した場合の発光値の変化。照射後に発光量は一時的に減少するが、数分後に元の値に回復する。

発光回復時間を利用したマウス脚の pH 変化イメージング。PI-Luc を導入したマウス脚に青色光を照射して、発光回復時間を色変換することで pH 変化を画像化した。止血時に酸性領域が増加する様子がとらえられている。

地球型惑星 2つのタイプ

濱野 景子 (地球惑星科学専攻 特任研究員)
阿部 豊 (地球惑星科学専攻 准教授)

地球型惑星は巨大衝突によって形成され、衝突直後には惑星全体が溶けマグマで覆われると考えられている。私たちは、この惑星の固化と、それと同時に進行する初期大気形成・進化とを統合的に検討した。これまで「地球型惑星」とひとくくりになされてきた中にも、軌道によって、早く冷却固化して海を形成するものと、長い間溶けている間に水を失い干からびるものの2タイプがあることを明らかにした。同じような質量をもち「双子の星」ともいわれる地球と金星も、実は初期進化から全く異なる別のタイプの惑星であった可能性がある。

現在の惑星形成論によると、地球や金星を含む地球型惑星は原始惑星どうしの巨大衝突を経て形成される。よって形成直後の惑星は全体が溶けマグマの海（マグマ・オーシャン）で覆われていたと考えられ、その進化はこのマグマ・オーシャンの冷却固化から出発する。

これまで惑星が固化するのにかかる時間は、単純に惑星の質量で決まると理解されていた。これによると、同程度の質量である地球と金星は、初期進化の時点では似ていたことになる。しかし実際には惑星の固化は、同時に進行する初期大気形成・進化と、大気による温室効果や脱ガスによる物質交換を通して、相互に密接に影響し合う。

そのため私たちは、マグマ・オーシャンの固化、内部からの脱ガスと惑星外への散逸による大気量変化、さらにそれに伴う大気構造の進化とを同時に統合的に検討した。その結果、形成

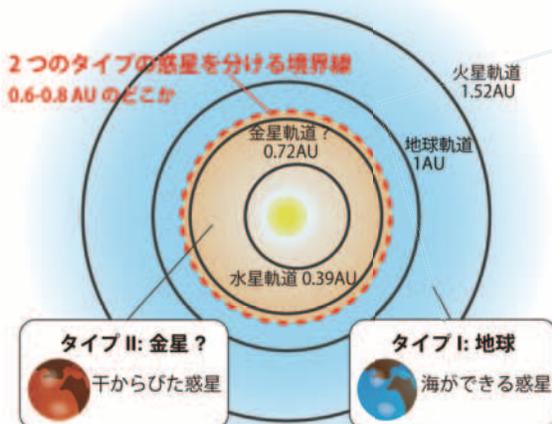
直後の惑星のサイズ・組成が全く同じでも、ある軌道を境に全く異なる特徴をもつ2タイプの地球型惑星が存在することがわかった。

1つ目のタイプは中心星から十分遠くに形成した惑星で、数百万年以内に固化し初期海洋を形成する（タイプI）。もう1つはより中心星に近い軌道に形成した惑星で、その固化時間は惑星が初期にもっていた水を失う速さで支配される（タイプII）。このタイプIIの惑星では、形成の段階で獲得した水の量に応じて固化するまでの時間が長くなり、その間に初期にもっていた水のほとんどを惑星外へ失ってしまう。これら2つのタイプの惑星の境界となる軌道半径は、太陽系の条件では0.6-0.8AU（天文単位）付近に位置する。

地球は太陽から1AUの距離にあり、タイプIの惑星に分類される。いっぽう、金星の軌道は地球よりも太陽に近く(0.72AU)、どちらのタイプも可能性がある。しかし固化した時点で水を失っているというタイプIIの惑星の特徴は、現在の金星をよく説明している。また、水(H₂O)の構成成分のうち、軽い水素は逃げやすく、惑星には酸素が相対的に多く残ると考えられるが、現在の金星大気中に酸素はみあたらない。これも、地表マグマの酸化に酸素が消費されたと考えれば説明できる。

以上のように、地球と金星は少しの軌道の差で、進化初期から全く異なるタイプの惑星だったという可能性が新たに示された。またこれまで地球型惑星としてひとくくりになされてきた中に、進化が全く異なる2つのタイプが見いだされたことで、惑星の多様性の起源についても新たな視点を提案した。とくにタイプIIの惑星では水の量に応じてマグマ・オーシャンの継続時間が長くなる。そのため、太陽系外の惑星系には形成直後からずっと溶けたままの惑星が普遍的に存在する可能性がある。本研究成果は K.Hamano *et al.*, *Nature* 497, 607 (2013) として掲載された。

(2013年5月27日プレスリリース)



地球型惑星の初期進化は、太陽系の条件下で0.6-0.8AU付近を境に大きく異なる（タイプI・II）。金星の軌道はこの境界付近に位置するため、形成直後の質量や組成が全く同じであったとしても、地球とは全く異なる初期進化をたどった可能性がある。