

分子精神医学

別刷

ヒトと類人猿のゲノム比較からわかること

北野 誉* 斎藤成也[§]

KEY WORDS

- ・チンパンジー
- ・非同義置換
- ・SNP
- ・系統樹

SUMMARY

ヒトゲノムと類人猿ゲノムの塩基配列比較について，われわれの研究グループが最近発表した結果について紹介する．一つはヒトと類人猿3種における蛋白質コード遺伝子103個の比較である．もう一つは，国際共同研究として行われたチンパンジー22番染色体のゲノム配列決定とヒトゲノムとの比較である．どちらの場合も，塩基配列という限界があるので，表現型の進化につぎつぎと迫っていくというわけにはいかないが，塩基配列は生物学の根本情報なので，そこから比較を出発させることはこれまでも今後も重要である．

はじめに

ヒトに最も近い生物は，チンパンジー（およびボノボ）であるが，ヒトゲノムの塩基配列がほぼ完全に決定された現在，チンパンジーをはじめとする類人猿のゲノム配列とヒトゲノムとの比較が進められるようになった．ゲノム研究の基本は塩基配列情報であり，それらについて，われわれの研究グループが関与した最近の研究成果を紹介したい．

1. ヒトと類人猿の種の系統樹と，遺伝子の系統樹

ヒトと類人猿の系統関係をみる場合，種の系統樹では，ヒトに最も近縁な生物はチンパンジーとなる．しかしながら，個々の遺伝子の系統樹をみたとき，それは必ずしも種系統樹と同じになるわけではない．われわれ

は，ヒト，チンパンジー，ゴリラ，オランウータンの4配列すべてが登録されている蛋白質コード遺伝子をDNAデータベースから検索した結果，103個を発見した．そしてそれぞれの遺伝子の系統樹を作成し，その比較解析を行った¹⁾．

全103個の遺伝子のうち，45遺伝子は明確な関係は示されなかったが，残りの58遺伝子のうち，34遺伝子(59%)はヒトとチンパンジーが最も近縁な種としてクラスターを形成した．一方，10遺伝子(17%)はチンパンジーとゴリラが，また14遺伝子(24%)ではヒトとゴリラがそれぞれクラスターを形成した．つまり，遺伝子の6割ぐらゐは，種の系統樹と同じパターンを示すが，残りの2割ずつは，種の系統樹と異なる2つのパターンを分け合うという結果となった．

この原因として，以下のようなことが考えられる．ヒトとチンパンジーの種分岐はおよそ500~600万年前で

KITANO Takashi, SAITOU Naruya/ *山形大学医学部環境病態統御学講座法医病態診断学分野，§国立遺伝学研究所集団遺伝学部門，総合研究大学院大学生命科学研究科遺伝学専攻

表 1. それぞれの遺伝子の系統樹におけるヒトの枝と類人猿の枝での同義置換数と非同義置換数の比較

遺伝子	ヒト n/s	類人猿 n/s	p (n/s)	p (A. I.)
BRCA1	17/2	40/24	0.027*	0.001**
APOE	6/3	7/7	0.670	0.004**
PRM2	8/3	14/7	1.000	0.005**
HCR	7/5	17/20	0.520	0.032*
FOXP2	2/1	1/19	0.034*	0.048*
ZFY	2/1	1/6	0.183	0.048*

n: 非同義置換数, s: 同義置換数, p (n/s): 非同義置換数と同義置換数を比較したときのフィッシャーの直接確率, p (A. I.): 加速係数 (acceleration index) の確率, *: 5%レベルで有意, **: 1%レベルで有意.

(Kitano T *et al*, 2004¹⁾より改変引用)

あると考えられている。それに対して、ヒトとチンパンジーの共通祖先がゴリラと分岐したのは、およそ700万年前であると考えられている。つまり、ヒト・チンパンジー・ゴリラの共通祖先からゴリラが分岐してから、ヒトとチンパンジーが分岐するまでの期間が比較的短いと考えられている。このように2つの種分岐の間の時期が短ければ短いほど、種の系統樹と異なる遺伝子の系統樹のパターンが偶然に起こる可能性が高くなると考えられる。ヒト・チンパンジー・ゴリラにおける遺伝子系統樹のこのような多様性は、他の研究でも同様の傾向が示されている^{2)~4)}。

われわれは、こうして確定したそれぞれの遺伝子の系統樹において、塩基の同義置換数（アミノ酸を変えない塩基の変化）と非同義置換数（アミノ酸を変える塩基の変化）をヒトの枝で生じたものと類人猿（チンパンジー、ゴリラ、オランウータン）の枝で生じたものとに分けて比較を行った。塩基の同義置換数と非同義置換数を比較することによって、その遺伝子における自然淘汰のパターンを解析することができる。

それぞれの遺伝子において、ヒトの非同義置換数と同義置換数の割合 (nonsynonymous substitution/synonymous substitution: n/s) を類人猿のそれ (n/s) と比較したとき、2つの遺伝子 (BRCA1 と FOXP2) において有意な差異がみられた (表1)¹⁾。また、ヒトの枝における非同義置換数の蓄積が、類人猿の枝での非同義置換の蓄積と比較してどのくらい加速されているかを示す指標となる加速係数 (acceleration index)⁵⁾を比較した

ところ、6個の遺伝子においてヒトの枝で非同義置換数の蓄積の速度が有意に上がっているということがみられた。大多数の遺伝子は自然淘汰に対して有利でも不利でもなく中立に進化しており、さらに、ヒトと類人猿のような近縁種では進化のパターンもほぼ同じである。しかしながら、ごく一部の遺伝子においては、正の自然淘汰のパターンがみられ、しかもそれが系統によって変化している場合もある。そのような遺伝子が、ヒトと類人猿との大きな差異を生み出している一因を担っていると考えることもできる。たとえば、FOXP2はポリグルタミン領域とフォークヘッドDNA結合ドメインをもつ転写因子とされており、これはヒトの言語能力の獲得につながる発生過程に関与すると考えられている^{6)~7)}。

さらにわれわれは、ヒトとチンパンジーの共通祖先からヒトが分岐してから、どのくらいのアミノ酸置換が蓄積したかを概算した。上記で用いたデータセット (合計26,199アミノ酸残基) からは、147個のアミノ酸置換がヒトの枝で観察された (0.56%)。ヒトの遺伝子の総数が約32,000個で、各遺伝子の平均のアミノ酸数は447残基と仮定すると⁸⁾、ヒトの枝で生じたアミノ酸置換数はおよそ80,000個 (32,000×447×0.0056) であると概算される。このような計算は、ヒトだけではなく、類人猿のデータの蓄積によって可能となるものである。このように、ヒトの独自性の解析には、類人猿のゲノムを用いた比較解析が重要であると思われる。

2. チンパンジーのゲノム配列解析

2002年に, ヒトとチンパンジーを比較する, 世界ではじめてのゲノム地図が完成した⁹⁾. これは, 64,116のチンパンジーの細菌人工染色体 (bacterial artificial chromosome: BAC) を用い, 末端配列を決定して, それをヒトのゲノム配列と比較することによって行われた. このヒトとチンパンジーの比較ゲノム地図の完成は, ヒトとチンパンジーのゲノムの構造比較研究を進めていくうえでの第一歩となるものであり, ヒトの特定遺伝子領域に対応するチンパンジーの BAC クローンを容易に単離することが可能となった. また, 得られた末端配列をもとに, ヒトとチンパンジーのゲノム全体の塩基配列の差異は 1.23%と概算された.

2004年には, ヒト以外の霊長類ではじめての一つの染色体の全塩基配列の決定が, チンパンジーの 22 番染色体について行われた¹⁰⁾. この塩基配列決定は, わが国の 2 グループ (理化学研究所・ゲノム科学総合研究センター, 国立遺伝学研究所), ドイツの 3 グループ (マックスプランク分子遺伝学研究所, ドイツ生命工学センター, ドイツ分子生命工学研究所), 中国の上海ヒトゲノム解析センター, 韓国の韓国生命工学研究所および台湾の国立陽明大学ゲノムセンターの 8 研究機関の国際共同によって行われた. チンパンジーの 22 番染色体は, ヒトでは 21 番染色体に相当し, 21 番染色体はヒトでは最も短い染色体である. チンパンジーの 22 番染色体はおよそ 33.3 Mb で, その配列決定には 304 個の BAC クローンをを用いて行われた. 染色体の長さを比較すると, ヒトの 21 番染色体は, チンパンジーの 22 番染色体とくらべて, およそ 1%長かった. このおもな原因としては, レトロ転移などによる反復配列の挿入の頻度がヒトのほうでやや高くみられたためであると考えられる. 特に, 若い Alu 配列の挿入頻度がヒトの 21 番染色体とチンパンジーの 22 番染色体のあいだで大きく異なっていた.

また, ヒトの 21 番染色体とチンパンジーの 22 番染色体の全体の塩基の違いは 1.44%であった. この値は, 末端配列をもとに概算されたヒトとチンパンジーのゲノム全体をもとに求められた値 (1.23%) より若干高かった.

チンパンジーの 22 番染色体上では, 272 の遺伝子が注釈づけられた. 一方, ヒトの 21 番染色体上では, 284 の遺伝子が注釈づけられている. これら比較された遺伝子の 83%では, 生産される蛋白質の機能に何らかの相違を生ずると思われるような差異がみられた. また, 遺伝子構成の大きな差異としては, H2BFS という遺伝子 1 つと KAP という遺伝子 5 つの合計 6 つの遺伝子がヒトにおいてのみみられるのに対して, HNRPA1 LK1, RPLP1 LK1, FAM28 ALK1 という 3 つの遺伝子がチンパンジーにおいてのみみられた. これらはいずれもイントロンのない遺伝子であり, おそらくヒトとチンパンジーが分岐したあとにそれぞれで逆転写によって挿入された遺伝子であると考えられる. また, ヒトでは偽遺伝子になっているリボソーム蛋白遺伝子 (RPL13A) がチンパンジーにおいては損なわれていない形でみられ, 一方, ヒトでみられる 4 つの遺伝子 (C21orf81, C21orf115, C21orf104, C21orf19) はチンパンジーでは不完全な形になっていた.

また, 塩基の同義置換サイトあたりの同義置換数と非同義置換サイトあたりの非同義置換数を 231 遺伝子について比較したところ, 全体のおよそ 10%の遺伝子で同義置換数よりも非同義置換数の割合のほうが高いということがわかった. 一方, 非同義置換数よりも同義置換数の割合のほうが非常に高い遺伝子もいくつか確認されており, それらは純化淘汰 (purifying selection) によって進化していると考えられた.

さらに, チンパンジーの 22 番染色体のゲノム配列を決定したことにより, ヒトの 21 番染色体における一塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP) の祖先型を推定することができる. つまり, ヒトのある SNP が, 'A' と 'T' というように確認されたとき, それに相当するチンパンジーのサイトで 'T' であれば, 'T' が祖先型であり, 'A' がヒトの系統で生じて, そのサイトで 'A' と 'T' の多型となったと推測することができる. この方法を用いて, ヒトの 21 番染色体上の 21,435 の SNP のうち 19,985 の SNP の祖先型を推定し, 塩基置換のパターンを解析した. 予想どおり, 塩基のトランジション置換のほうがトランスバージョン置換よりも多くみられたが, トランジション置換のなかでも

表 2. ヒト 21 番染色体とチンパンジー 22 番染色体の塩基置換パターン

a. ヒトの塩基置換の割合 (%)

		新しい塩基			
		A	T	C	G
もとの塩基	A	—	2.9 (703)	3.6 (880)	14.0 (3422)
	T	2.8 (681)	—	15.1 (3654)	3.5 (838)
	C	4.4 (747)	20.3 (3424)	—	4.5 (760)
	G	19.6 (3292)	4.5 (762)	4.9 (822)	—

b. チンパンジーの塩基置換の割合 (%)

		新しい塩基			
		A	T	C	G
もとの塩基	A	—	3.6 (252)	3.7 (261)	12.6 (893)
	T	2.9 (206)	—	13.2 (930)	4.0 (284)
	C	5.1 (250)	19.2 (946)	—	5.2 (258)
	G	20.8 (1024)	4.4 (215)	5.3 (262)	—

括弧内の数字は実際に観察された塩基置換数

(Watanabe H *et al.*, 2004¹⁰⁾より引用)

‘G → A’ や ‘C → T’ のような変化 (それぞれ 19.6%と 20.3%) のほうが, ‘A → G’ や ‘T → C’ のような変化 (それぞれ 14.0%と 15.1%) よりも多くみられた (表 2 a)¹⁰⁾. このことは, 「ヒトのゲノムでは GC 含量が 50% 以下である」という事実⁸⁾に矛盾しないものであった. 同様に, チンパンジーの 22 番染色体の 5,781 の SNP を解析したところ, ‘A → G’ や ‘T → C’ のような変化 (それぞれ 12.6%と 13.2%) がヒトのそれよりも若干低く観察された (表 2 b)¹⁰⁾. なお, チンパンジーの 22 番染色体の SNP は BAC クローンのオーバーラップ領域の解析から得ている. これらの情報を用いて, GC 含量が今後どのように変化していくかを推測すると, 現在はヒトとチンパンジーともに GC 含量は約 41%であり, ヒトでは 42.2%と若干 GC 含量が増えていく方向にある一方で, チンパンジーでは 40.5%と現状を維持するような傾向がみられた.

おわりに

上記のほかにも, チンパンジーの BAC クローンを用いた解析は, Y 染色体や, HOXA クラスター領域, Rh クラスター領域, 主要組織適合遺伝子複合体 (major histocompatibility complex : MHC) 領域などにおいて進められている. また 2003 年 12 月には, 全ゲノム

ショットガンシーケンスによるチンパンジーゲノムのアセンブル配列データが, 米国のブロード研究所とワシントン大学医学部のゲノムシーケンスセンターからリリースされて, DNA データベース上で利用可能となっている. このように, チンパンジーの配列データは急速に蓄積されている. DNA Data Bank of Japan (DDBJ) の統計によると, 生物種で 14 番目に多いエントリーが登録されており, 2005 年 3 月の時点で, 194,009 エントリー, 458,320,365 bp となっている. ヒトという生物種の特徴性を解析していくための有用な参考種として, 今後も増えていくことと思われる. ここで注意が必要なのは, ヒトとチンパンジーの配列を比較したとき, そこにヒトとチンパンジー間で塩基の差異があっても, ヒトの系統とチンパンジーの系統のどちらでその変化が起こったかを確認することはできないということである. つまり, その変化がヒトとチンパンジーが分岐したあとに, ヒトの系統で生じたのか, チンパンジーの系統で生じたのかは, 2 種間の比較のみからでは, 明らかにすることはできない. その変化がどちらの系統で生じたのかを確認するためには, ゴリラやオランウータンなどの外群が必要になる. そのため, チンパンジーだけではなく, ゴリラやオランウータンといったほかの類人猿のゲノム配列解析も今後は必要となってくる

であろう。



文 献

- 1) Kitano T, Liu YH, Ueda S *et al* : Human-specific amino acid changes found in 103 protein-coding genes. *Mol Biol Evol* **21** : 936-944, 2004
- 2) Satta Y, Klein J, Takahata N : DNA archives and our nearest relative : the trichotomy problem revisited. *Mol Phylogenet Evol* **14** : 259-275, 2000
- 3) Chen FC, Li WH : Genomic divergences between humans and other hominoids and the effective population size of the common ancestor of humans and chimpanzees. *Am J Hum Genet* **68** : 444-456, 2001
- 4) O'hUigin C, Satta Y, Takahata N *et al* : Contribution of homoplasy and of ancestral polymorphism to the evolution of genes in anthropoid primates. *Mol Biol Evol* **19** : 1501-1513, 2002
- 5) Zhang J, Webb DM, Podlaha O : Accelerated protein evolution and origins of human-specific features : Foxp 2 as an example. *Genetics* **162** : 1825-1835, 2002
- 6) Lai CS, Fisher SE, Hurst JA *et al* : A forkhead-domain gene is mutated in a severe speech and language disorder. *Nature* **413** : 519-523, 2001
- 7) Enard W, Przeworski M, Fisher SE *et al* : Molecular evolution of FOXP 2, a gene involved in speech and language. *Nature* **418** : 869-872, 2002
- 8) International Human Genome Sequencing Consortium : Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* **409** : 860-921, 2001
- 9) Fujiyama A, Watanabe H, Toyoda A *et al* : Construction and analysis of a human-chimpanzee comparative clone map. *Science* **295** : 131-134, 2002
- 10) Watanabe H, Fujiyama A, Hattori M *et al* : DNA sequence and comparative analysis of chimpanzee chromosome 22. *Nature* **429** : 382-388, 2004