

招 請 講 演

雄性決定遺伝子と性腺分化における H-Y 抗原の意義

シティー・オブ・ホープ研究所特別研究員

大 野 乾

皆様御存知の様に進化過程は非常に保守的でありまして、遺伝子とか、基礎代謝過程になりますと人類でもマウスでも大綱には全然違いがありません。性決定機構についても同じことがいえますが、皆様は医師ですのでヒトを中心として話を進めてまいりましょう。

1) 第二次性決定機構を支配する遺伝子

人類では、ライオンとか鹿と同様に、男女の性差が非常に顕著であります。身長、体重ともに男の方が一回り大きいだけでなく、男は髭等の男性の象徴を持っております。従いまして、男性は女性の持つていない遺伝子を多数持つていないかという幻想を抱きがちであります。事実は全く異なりまして、男性独特のY染色体が直接決定するのは睪丸だけあります。男性性器その他の発育は、alfred Jost がウサギの胎児で行ないました古典的な実験が示しましたように男性ホルモンのテストステロンが誘導したに過ぎません¹²⁾¹³⁾。ここで大切なことは、遺伝的なXY男性個体と、XX女性個体を比較した場合に、テストステロンに対する感受性については、全く性差がないことです。その理由は、非常に簡単で各種テストステロン標的(target)器官の感受性が一様にX-染色体の遺伝子によつて作られるただ1種類の核細胞質アンドロゲンレセプター蛋白によつて支配されているからです⁸⁾¹⁹⁾³⁰⁾。従つて相同の標的細胞のレセプターレベルを比較しますと男女の差は見つかりません。このレセプター蛋白は、5 α -デヒドロテストステロンに対し、テストステロンと較べて2倍の親和性を示します。前者に対するKdは $0.8 \times 10^{-9} \text{M}$ 、後者に対するKdは $1.5 \times 10^{-9} \text{M}$ です。では何故、ウォルフ管は5 α -環元酵素を持たず、urogenital sinusは、この酵素を持つていのでしょうか。その理由は、片方(原則として右側)に睪丸を持ち、他方に卵巣を持つ雌雄同体(lateral true hermaphrodites)の患者の性器の発達を調査されれば一目瞭然だと思います。この場合、ウォルフ管は、睪丸側のものだけが副睪丸(epididymis)、輸精管その他の分化に成功しており、卵巣側のウォルフ管は消失しております。逆にミューラー管の方は、睪丸側は消失し、卵巣側だけが卵管と子宮に分化しております。こ

こで思い出して頂きたいことは、ウォルフ管はテストステロンが無ければ、自動的に消失しますが、ミューラー管の方は、胎生睪丸が分泌する抗ミューラー管ペプチッドによつて積極的に破壊されないで消失しないという事実です¹²⁾¹³⁾。従いまして、上記の雌雄同体が教えてくれます知見は、ウォルフ管はミューラー管が抗ミューラー管ペプチッドを受け入れると同じ方法で、テストステロンを血行を通じてでなく、同側の睪丸から直接受け入れるということです。ウォルフ管は、男性胎児血中テストステロン濃度よりもはるかに高い局所濃度下で分化するわけですから、テストステロンを5 α -デヒドロテストステロンに環元しなくても男性化は十分おこるわけです。次に、もし胎生男性血中テストステロン濃度が正常の2倍であれば5 α -環元酵素がなくとも、urogenital sinusはペニスおよび陰嚢に分化出来ることを証明致しましょう。この酵素は常染色体の遺伝子に指定されますがドミニカ共和国では、この酵素の欠乏症が劣性遺伝として頻繁に起ります。この酵素を欠乏したXY男性の場合、新生児期には、ウォルフ管は既に完全に男性化しておりますが、urogenital sinus由来の外陰部は雄性化が不十分なために一見女性のそれに見えます。結果として、欠乏症の人々は女性として育てられます。ところが、12歳となつて男性胎児テストステロン血中濃度の2倍に近い血中濃度にさらされだしますと、5 α -環元酵素の無いurogenital sinusも男性分化を完了し、正常男子と同様なペニスと陰嚢を作ります¹¹⁾。同地ではこの欠乏症を「12歳でペニス」と呼んでいるそうです。

上記から哺乳類の第2次性決定機構は男女平等に発現されるX染色体及び常染色体上の遺伝子に支配されていることを納得頂けたと思います。

2) 進化途上の遺伝子調整機構の合理化

では、雄性化だけに必要なアンドロゲンレセプター蛋白や5 α -還元酵素の発現を妨げる遺伝子調整機構がなぜ女性に発達しなかつたかという疑問が起ると思いますが、これは進化上の合理化的節約と解釈すべきだと思います。正常個体に関するかぎり、男女の血中テストステロン濃度差はほぼ20倍であります。さらにレ

セプター蛋白のテストステロンに対する親和性は都合よく女性血中濃度には反応しないように調整されていますから、わざわざ新しい調整機構を作つてレセプター蛋白および5 α -還元酵素の発現を男性だけに制限する必要は皆無なわけです。

上記の不必要な遺伝子調整機構は作らないという進化上の合理化は第1次性決定機構についてもいえます。Y-染色体上の遺伝子は、H-Y細胞膜上抗原を通じて、第1次性決定機構を司るというわれわれの提唱²⁸⁾は、卵巣臓器構成に必要な遺伝子は哺乳類雌雄平等に発現されているという前提に基づいたものであります。さらに、H-Y抗原が睪丸臓器構成を司るためには、抗原と反応する細胞膜上の特異的なレセプターの存在が必要であります。この細胞膜上のH-Y抗原に対するレセプターの遺伝子の表現は、性腺内の体細胞に限られています。その代り雌雄平等の表現であります。事実われわれがヒトH-Y抗原を精製するために使つたのはH-Y抗原に占拠されていない牛胎仔雌性腺(卵巣)体細胞膜上のH-Yレセプターであります¹⁷⁾。またハツカネズミの胚盤胞期の受精卵2つを結合して1匹のマウスにしたXX/XYキメラの大部分が正常睪丸を構成し雄となる観察は、XX性腺体細胞もH-Y抗原と対するレセプターは持つているという知見でないと説明出来ません⁴⁾。人類でも稀にあるXX/XY、またはXO/XYモザイク個体は大体男性であることは御存知の通りであります。

自身のレセプターの表現が既に性腺体細胞に限定されておりますから、H-Y抗原の方は自身の表現を特定の細胞系に限定する必要は皆無であります。したがって、よく調べられたハツカネズミの場合、XY受精卵は8細胞期からH-Y抗原の表現を始め⁶⁾¹⁴⁾、その後は、雄全身の細胞がこの抗原を持ちます。

興味あることには、雄体内でH-Y抗原を表現しない唯一の細胞系はXY精原細胞らしいことでもあります¹⁶⁾。そのためかXY精原細胞でも睪丸という環境に置かれない限りは、卵細胞の方向へ分化するようにプログラムされているようです²⁷⁾。逆にH-Y抗原の発現は、遺伝的な雄に限定されていますから、そのレセプターの表現まで雄に限定する必要はないわけで、事実レセプターの表現は、既述のごとく、雌雄同等であります¹⁷⁾¹⁹⁾。必要のない遺伝子調整機構は備えないという節約による進化上の合理化が、哺乳類の第1次性決定機構にも明瞭に見えます。

3) H-Y抗原第1次性決定機構支配説の理論的および血清学的難点

H-Y抗原が睪丸臓器構成を誘導することによつて

哺乳類の第1次性決定機構を支配するという説²⁸⁾には理論的な難点が1つあります。H-Y抗原の血清学的検出には主要臓器移植拒否抗原(MHC)のハプロタイプがH-2^bであるC57BLACK 6または10の純系の雌マウスに同系の雄細胞を連続注射することによつて得た抗血清を原則として使いますが、この方法によりますと、H-Y抗原が雄独特に表現されますのは、雄がヘテロ性でXYである哺乳類等だけで雌がヘテロ性でZWである脊椎動物、例えば鳥類、蛇類等ではH-Y抗原は雌にだけ検出できます²⁹⁾。上記の血清学的所見をそのまま無批判に受けとりますと、哺乳類では睪丸臓器構成を支配する細胞膜抗原が鳥類では卵巣臓器構成を支配するという説明しにくい矛盾に直面します。上記の血清学的な知見から学ぶべきことは、多分脊椎動物全体を通じて睪丸構成を支配する細胞膜抗原と卵巣構成を支配する細胞膜上抗原は、祖先を共有した非常に似た蛋白であるということだと思えます。

下等脊椎動物である魚類および両棲類の大部分では、XとY染色体だけはZとW染色体が未だ同じ大きさ、形態の相対染色体として存在していますから、性は同じ遺伝子座の対立遺伝子によつて決定されるものと思われまゝ。Yまたは、W染色体上の対立遺伝子が、XまたはZ染色体上の遺伝子に対して優性に働きますれば性決定機構が成立するわけですから²⁰⁾。従つて、高等脊椎動物でも同じ遺伝子座の対立遺伝子由来のものに指定される睪丸構成支配抗原と卵巣構成が残存する酷似性を示しても一向に不思議はないわけです。

事実哺乳類だけに適応しても、上記の抗H-Y血清は雄細胞に対して非常に弱い結合親和性しか示さず、また雌細胞と頻繁に交叉反応を示します。免疫された雌が抗原として使われた雄細胞のH-Y抗原と酷似したものを自家抗原として持つているからでしょう。

もう一つH-Y血清学で心得ておくべきことは、細胞免疫機構だけでなく、抗体そのものも、H-Y抗原を単一に認識する力はなく、H-Y抗原と[β_2 -ミクログロブリン+第1級主要臓器移植拒否抗原(マウスのH-2D, H-2K, 人類のHLA-A, HLA-B, HLA-C)]との複合物を認識するということです²¹⁾。

これの一番よい例は、オランダで兄から臓器移植を受けた少女の血清中に見つかった抗H-Y抗体であると思えます。この抗体は人類女性の細胞とはいつさい交叉反応を起さない代りに、男性由来の細胞でも、HLA-A-2型のものとだけしか反応致しません¹⁰⁾¹⁵⁾。つまりこのH-Y抗体はH-Y抗原と(β_2 -ミクログロブリン+HLA-A-2抗原)との複合物にしか結合親和性を示さないわけです。

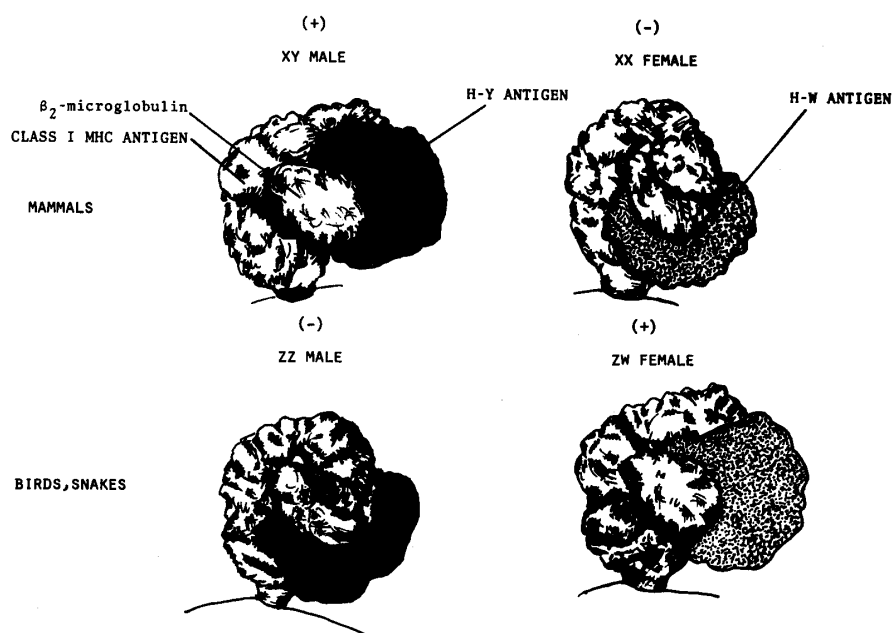
ここで脊椎動物全体を通じて、睪丸臓器構成を支配する細胞膜上蛋白を H-Y 抗原と定義し卵巣臓器構成を支配する細胞膜抗原を H-W 抗原と呼ぶことに定めましょう。マウスの抗哺乳類 H-Y 抗体が鳥類、蛇類細胞に遭遇しますと、H-Y 抗原よりも H-W 抗原に結合親和性を示す理由は図 1 に示しますように抗体が上記の複合体を認識するからだと考えればよいと思います。つまり鳥類、蛇類の場合は、H-Y + (β_2 -m + MHC) 複合体よりも H-W + (β_2 -m + MHC) 複合体の方が哺乳類の H-Y + (β_2 -m + MHC) 複合体と似た 3 次構造を見せるからだと考えるわけです。事実マウス H-Y 抗血清は、いつでも脊椎動物の雌雄を区別できるわけではありません。例えば爬虫類でもアリゲーターとかクロコダイルでは、抗 H-Y 血清で雌雄の区別ができません。

以上から H-Y 血清学には色々と技術的な問題があることを御理解頂いたと思いますが、最近になつて、ラットの抗 H-Y 血清を使う人々が、睪丸が無いにも拘らず人類 XO 婦人は H-Y 抗原陽性であると提唱した為に³¹⁾³²⁾、H-Y 抗原第 1 次性決定機構支配説の信憑性が疑われてまいりました²⁴⁾。XO 婦人が H-Y 抗原陽性に間違われる理由は、Y 染色体上の H-Y 抗原遺伝子と多分 X 染色体上にその対立遺伝子的に存在する H-W

抗原遺伝子が酷似しているからだけでなく、それぞれの遺伝子が自身の退化中コピー (pseudogenes) をいくつか持っているためと思われます (図 2)。生物進化中に新しい機能を持った新しい遺伝子を獲得する方法は 1 つしかありません。既存の遺伝子を重複することによつて、エキストラのコピーを作り、そのコピーを自然淘汰の厳しい監視から逃がれさせ、突然変異を無選択的に集積する方法です²²⁾。ただこの方法の成功率は非常に低く、大部分のエキストラコピーは無選択的に突然変異を集積した結果として退化してしまい pseudogene となります。キリスト教の古訓 “*salvandum paucitas, damnandum multitudo*” がそのまま当てはまるわけです。従つてどの遺伝子でもクローンしようとする、その近辺に必ず pseudogene が見つかります。Y 染色体上の H-Y 抗原遺伝子についてもそれと対立遺伝子的な X 染色体上の H-W 抗原遺伝子について同じことがいえると思います。

退化にも各種の段階がありまして、比較的若い pseudogene の場合には、DNA から RNA への転写が起るだけでなく、RNA から機能をなくした蛋白への翻訳も起ります。このような退化抗原をラットの抗 H-Y 血清が H-Y 抗原と誤認するために XO 婦人が H-Y 抗原陽性と誤診されたのだと思います (図 2)。

図 1 全脊椎動物を通じて、睪丸臓器構成は H-Y 抗原 (黒塊) に支配され、卵巣臓器構成は H-W 抗原 (斑点塊) に支配されるが、両者が酷似している上に、抗 H-Y 抗体は、上記の抗原そのものではなく、抗原と β_2 ・ミクログロブリンと MHC (主要臓器移植拒否抗原) 抗原の複合体を認識するから、血清学では一見、ヘテロの哺乳類雄と、ヘテロの鳥類、蛇類の雌だけが H-Y 抗原を持っているように誤認する。



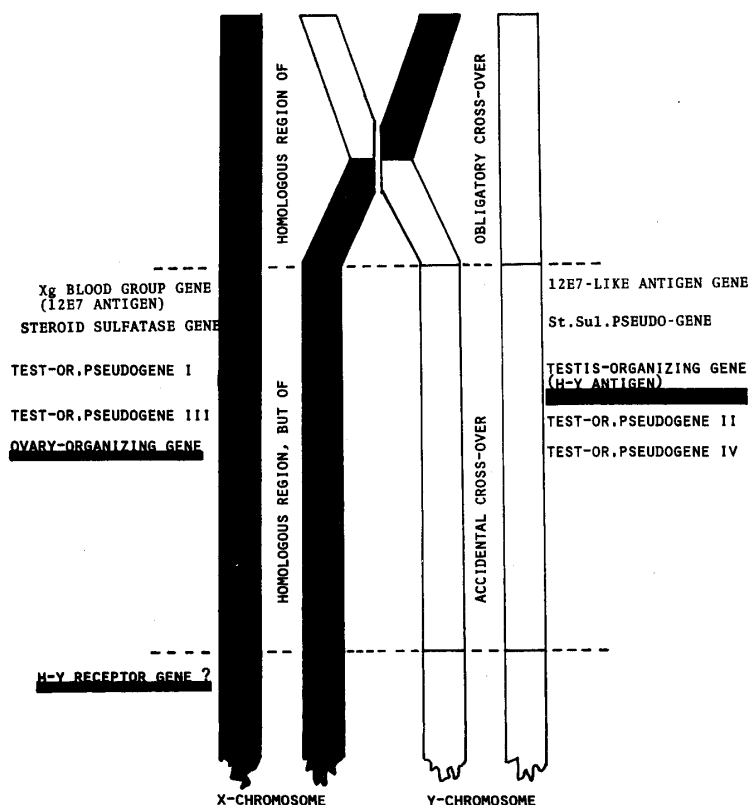
4) 第1次性決定機構支配遺伝子のX-Y染色体相同部近辺集中

男性第1次減数分裂中に、精母細胞内の人類X染色体とY-染色体は両短腕の末端で接合し、1つキアズマを作つてDNAを交叉により交換致します。この染色体末端部の塩基配列はXとYとで相同なはずですが、一見相同部は非常に小さく見えます。ところが人類X-染色体DNA, Y-染色体DNAを別々にクローンして、それぞれの塩基配列を比較致しますと、相同部は、顕微鏡下で見るよりも、ずっと広汎に拡がっているようです³⁾²³⁾。つまり、図2に示しますように、必ず交叉が起るX, Y短腕末端の相同部の直下に、交叉は原則として起らないが、塩基配列はX-Y間で相同であるものと長い部分が存在しているようです。

大切なことは、この相同部にY-染色体上の睪丸臓器構成支配(H-Y抗原)遺伝子が座していることです。

その理由を述べましょう。人類XX男性は、大体男子新生児5,000人当り1人の頻度で生まれると申しますが、その大部分は家系遺伝型ではなく、父親の精母細胞減数分裂中に起つた間違いが原因のようです。これに最初に気づいたのはFerguson-Smith⁷⁾であります。人類X染色体短腕末端に一番近い既知の遺伝子は、Xg血液型抗原を指定しますが、XX男性の両親がXg血液型についてinformativeであつた場合、つまり X_g^{a+}/Y 父親 $\times X_g^{a-}X_g^{a-}$ 母親の場合、XX男性はあたかも父親からX染色体を貰わなかつたごとく、ほとんど必ず $X_g^{a-}X_g^{a-}$ の表現型を示します。父親の精母細胞減数分裂中に原則としては交叉の起らない相同部(図2)にたまたま交叉が起つて X_g^{a+} 遺伝子はXからYに移り、その交換にX染色体がYから睪丸臓器構成支配遺伝子を貰つたためにXX男性が誕生したというわけです⁴⁾。非交叉相同部にあるX-染色体上の遺伝子は必ず

図2 人類のメタセントリックなX-染色体の短腕末端(黒)と、アクロセントリックなY染色体の極小短腕末端(白)を拡大したもの。両者最末端では男性減数分裂中に必ず交叉が起るが、この部分には、遺伝子はなく、その直下に、相同性は保っているが、原則的には交叉が起らない部分がありここにX-染色体側ではXg血液型遺伝子、ステロイドサルファターゼ遺伝子、睪丸臓器構成支配H-W抗原遺伝子およびその退化中コピー(pseudogenes)があり、またY-染色体側では、Xgに対立する12E7抗原遺伝子、ステロイドサルファターゼ遺伝子相当退化DNA、睪丸臓器構成支配H-Y抗原遺伝子およびその退化中コピー(pseudogenes)が存在する。



Y-染色体上に相当する遺伝子又は塩基配列を持ち、Y-染色体上の遺伝子は必ずX-染色体上にそれに相当するDNAを持っているはずで、例えばX-染色体上のXg血液型遺伝子について永い間Y-染色体との関係は考えた人もなかったのですが、昨年になってGoodfellow⁹⁾は、X-染色体上とY-染色体上の遺伝子が似て非なる12E 7細胞膜抗原を指定し、 X_g^{a+} と X_g^{a-} はX-染色体上12E 7遺伝子座の対立遺伝子によつて指定されるという証明を始めました。次のX-染色体上のsteroid sulfatase 遺伝子については、今のところ相当するY-染色体上のDNA塩基配列は退化してpseudogeneになったものと思われます(図2)。それでは、Y-染色体上で一番大切な睪丸臓器構成支配(H-Y抗原)遺伝子に相当するX-染色体上の遺伝子は何をするのでしょうか？ 私は、このX-染色体上の遺伝子こそ、H-W抗原を指摘することによつて、卵巢臓器構成を支配するものと思っております。ただしそれぞれが進化中にいくつかのコピーを作りその中の1つ宛がいまだに機能を行つているわけでしょうから、Y-染色体上のH-Y抗原遺伝子とX-染色体上のH-W抗原遺伝子との間に厳密な意味で未だに位置的な相当関係が残っているとは一寸思えません(図2)。

5) 進化上保守されて来た性染色体独特の繰り返しDNA塩基配列、その転写RNA産物及びH-Y抗原

SinghとJonesは、インド産蛇2種類(*Elaphe radiata*と*Bungarus fasciatus*)に限つては、雌独特のW-染色体に集中している塩基配列が簡単に超遠心分離の結果satellite DNAとして遊離出来ることを知りました。さらにこのsatellite DNAは、他の蛇だけでなく、鳥類においても、雌独特のW染色体上に集中、温存されていることが判り、H-Y血清学知見と似て、哺乳類に応用した場合は今度は雄独特のY-染色体上に同じ塩基配列が集中していることを知りました²⁵⁾。いつそうこの進化的に温存された性染色体独特のDNA塩基配列の意義が深長となつたのは、彼等のマウスで行つた下記の実験からです²⁶⁾。Cattanachは私共の研究所におりました時に、Sxrという遺伝子をマウスで見つけました²⁾。この遺伝子を持つた雄を正常の雌に交配しますと、XX個体の半数がこの遺伝子を受けついで雄となります。このSxr遺伝子は、長い間常染色体上の優性遺伝子と思われていたのですが、SinghとJonesは、上記の蛇由来のsatellite DNAをプローベに使いますと、正常マウスのY-染色体とSxr遺伝子を持つているY-染色体とが一目瞭然に区別できることを知りました。マウスのY-染色体はやはりアクロセントリックで、一番大切な睪丸臓器構成支配遺

伝子は、人類のYと同様、そのごく短い短腕部に座しておりまして、蛇以来温存されて来た塩基配列も、同じ大切な場所に分布しております²⁶⁾。ただし、人類のYと違つてマウスのY-染色体がX-染色体と共有する交叉相同部は反対側の長腕末端にあります。CattanachのマウスのSxrを持つたYは、一番大切な短腕部のDNA塩基配列をもう1度、長腕末端交叉相同部の下に重複しているわけです²⁶⁾。従いまして、雄の減数分裂の結果、この交叉相同部下に重複した睪丸臓器構成支配遺伝子は必ずX染色体の2つの娘染色系の1つに乗り移ります。当然XX個体の半数は父親からこの睪丸臓器構成遺伝子の乗り移つたX-染色体を貰つて雄となるわけです。

上記の所見をそのまま受け取りますと、H-Y血清学の所見と同様で一見同じDNA塩基配列が哺乳類では雄性第1次性決定遺伝子として働き、鳥類、蛇類では雌雄第1次性決定遺伝子として働くかに見えます。事実は、睪丸臓器構成支配遺伝子と卵巢臓器構成支配遺伝子は、全脊椎動物を通じて非常に似ているということだと思ひます。

実験的にも上記の蛇由来のSatellite DNAに相当する塩基配列は80%前後が哺乳類のY、鳥類のW染色体に集中しておりますが、残りの20%はX-染色体および特定の常染色体上に分布しております。

SinghとJonesの上述の所見は興味深いのでわれわれは蛇*Elaphe radiata*のW-染色体に集中しているSatellite IIIおよびIV DNAを大腸菌でクローンしその塩基配列を定めました⁵⁾。興味あることに全脊椎動物に温存されている要素はGATA 4塩基体の繰り返しと、その一塩基置換体GAGAの繰り返しでした。日本語ではガタガタ・ガサガサ繰返しとでも申し上げましょうか。上記のような短い塩基配列の繰返しは、原則として遺伝子の無い染色体のヘテロクロマチン部か、または遺伝子間のスペーサー部に座しているはずなのですが、このGATAとGAGA両者の繰返しは、進化上の温存の有意義さを裏づけて、幾つかの遺伝子内にその一部として組み込まれていることが判りました。細胞質内のpoly-Aの尻尾を持つたRNAは原則として活動中の遺伝子からRNAポリメラーゼIIが転写したメッセージャーであります。脊椎動物雌雄両者の細胞質から抽出したpoly-Aの尻尾を持つたRNAの中には、必ず上記のガタガタとガサガサの相補塩基配列であるUAUCとUGUCの繰返しを含んだメッセージャーが数種類含まれております。本論文で展開した色々の考案を総合して判断しますと、全脊椎動物を通じて、睪丸臓器構成支配H-Y抗原、卵巢臓器構成H-W抗

Figure 3a

NII-Electronic Library Service

してある。その一塩基置換誘導体の中で一番頻発するTGTC ACAGも2重構造で示し、それぞれのコピーは下白枠によつて同定されている。図3a第10列から図3b第9列迄のペプチッドを指定する3つの翻訳読み枠の中で長い251個と196個のアミノ酸からなるペプチッドを作りうる読み枠には相当するアミノ酸配列を伴わせてある。

図 3b

(67)	-H-R V-A-L T-Y-R L-E-U S-E-R C-Y-S L-E-U S-E-R V-A-L T-Y-R L-E-U S-E-R V-A-L T-Y-R H-I-S M-E-T S-E-	(83)
(115)	-P C-Y-S L-E-U S-E-R I-L-E M-E-T S-E-R V-A-L C-Y-S L-E-U S-E-R I-L-E C-Y-S L-E-U S-E-R T-Y-R V-A-L	(130)
803	CTGTCTATCTATCATGTCTGTCTGTCTATCTATCTGTCTATCATATGTCT ACAGATAGATAGACAGACAGACAGATAGACAGATAGACAG	851
(84)	-R V-A-L C-Y-S L-E-U S-E-R I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-R T-Y-R V-A-L C-Y-S L-E-U S-E-R I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-	(100)
(131)	C-Y-S L-E-U S-E-R I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-R I-L-E I-L-E C-Y-S L-E-U S-E-R V-A-L T-Y-R L-E-U S-E-R I-L-E	(147)
852	TGTCTGTCTATCTATCTATCTATCATATGTCTGTCTGTCTATCTATCTATC ACAGACAGATAGATAGATAGATAGACAGACAGACAGATAGATAGATAG	902
(101)	-R I-L-E T-Y-R V-A-L S-E-R I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-R I-L-E T-Y-R H-I-S M-E-T S-E-R V-A-L P-H-E H-I-S L-	(116)
(148)	T-Y-R L-E-U C-Y-S I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-R I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-R T-Y-R V-A-L C-Y-S L-E-U S-E-R S-E-	(164)
903	TATCTATGTATCTATCTATCTATCTATCTATCATATGTCTGTCTTTTCATC ATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGACAGACAG	952
(117)	-E-U S-E-R V-A-L C-Y-S L-E-U S-E-R I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-R T-H-R T-Y-R H-I-S M-E-T S-E-R V-A-L T-Y-R H-	(133)
(165)	-R I-L-E C-Y-S L-E-U S-E-R I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-R I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-R T-Y-R V-A-L C-Y-S L-E-U S-E-	(181)
953	TATCTGTCTGTCTATCTATCTATCTATCTATCTATCATATGTCTGTCTATC ATAGACAGACAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGACAGACAGATAG	1003
(134)	-I-S P-R-O S-E-R T-H-R T-Y-R H-I-S M-E-T L-E-U S-E-R I-L-E S-E-R S-E-R T-H-R T-Y-R H-I-S M-E-T S-E-	(150)
(182)	-R S-E-R I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-R T-Y-R A-L-A V-A-L T-Y-R I-L-E I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-R T-Y-R V-A-L	(198)
1004	ATCCATCTACCTATCATATGTCTGTCTATATCATCTACCTATCATATGTCT ATAGACAGATAGATAGATAGACAG	1052
(151)	-R V-A-L T-Y-R S-E-R S-E-R I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-R S-E-R I-L-E T-Y-R L-E-U C-Y-S I-L-E T-Y-R H-I-S L-	(166)
(199)	C-Y-S L-E-U L-E-U I-L-E T-Y-R L-E-U P-R-O I-L-E I-L-E T-Y-R L-E-U S-E-R M-E-T T-Y-R L-E-U S-E-R S-E-	(215)
1053	TGTCTACTCATCTATCTACCTATCATCTATCTATCTATGTATCTATCATC ACAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAG	1102
(167)	-E-U S-E-R V-A-L C-Y-S V-A-L C-Y-S V-A-L C-Y-S I-L-E T-Y-R V-A-L C-Y-S M-E-T T-Y-R V-A-L C-Y-S I-L-E	(183)
(216)	-R I-L-E S-E-R L-E-U C-Y-S V-A-L C-Y-S M-E-T T-Y-R I-L-E C-Y-S M-E-T T-Y-R V-A-L C-Y-S M-E-T T-Y-R L-	(231)
1103	TATCAGTCTGTGTGTGTGTATGTATATATATGTATGTATGTATGTATGTATGTATC ATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAGATAG	1152
(184)	C-Y-S L-E-U A-R-G V-A-L G-L-Y S-E-R I-L-E H-I-S A-L-A I-L-E V-A-L A-S-N I-L-E	(196)
(232)	-E-U S-E-R A-L-A C-Y-S G-L-Y G-L-U H-I-S T-H-R C-Y-S H-I-S S-E-R L-Y-S H-I-S I-L-E G-L-U I-L-E A-	(247)
1153	TGTCTGCGTGTGGGGAGCATACATGTCCATAGTAAACATAATAGAGATCA ACAG	1200
(248)	-R-G G-L-Y G-L-N P-R-O	(251)
1201	GAGGACAGCCTTGAGGCTACATTTCTTGCCCTTCCATTTGGTTCAACATTAT	1250
1251	CTAAAGGTTAACTGGCCAAACAAATTTCTAGGGAGTCTCCTGTCTCTGTCTGT	1300
1301	AGGGACTCAGAGATTACAAAGCATACTATTATACCTGGCTTTACATGTGGT	1350
1351	TCTGGAGATTTGAGGCCCAAGTCTTTATGTTTTCATAGCCTCCACCCTGATCC	1400
1401	CGCTAAAGTCAACCCTCCAAAGCTCACATGAGTCCCTCATTTTATGTATGATAGG	1450
1451	ACTGTGTTATGTCAGGAATGAGAGAGAAGATCAATAATATGTTATCTCCTTT	1500
1501	TAGACTCTTCTGTATACTTAAAGCTGTTGTTGGGCTCTGAAGGTGGTGTTT	1550

原, それぞれに似て非なる退化中抗原はこの同じ繰り返し塩基配列を共通に持つ1群のメッセンジャーRNAから翻訳されるものと思えます。マウスの場合, 上述のUAUCとUGUC繰り返しを含んだメッセンジャーは長さからいつて3種類に分けられます。その中, 大体1,300塩基からなるメッセンジャーだけが雄独特であります⁹⁾。但し, 上述のごとく, 睾丸用のH-Y抗原と卵巣用のH-W抗原は, 全ての意味で非常に似ているはずですから, 一見だけで雄独特のものがH-Y抗原用だとは即断しかねます。決定をするためには, それぞれの遺伝子を遊離し, マウスのXX受精卵に注射して, それがXXを雄として発育させる力を持つているかを定める他に手がありません。但しこの1群のpolyを尻尾に持ったRNAの塩基配列は非常に似ていますから, 1つの塩基配列を決めておけば睾丸用H-Y抗原および卵巣用H-W抗原のペプチッドのアミノ酸配列の特徴は大体とらえることができるはずで, マウスの場合, 上述の1,300塩基からなる雄独特のメッセンジャーのほかに2,500塩基からなるものと, 短い1,000塩基からなるものとがこの群に属します。但し, 後述しますように2,500塩基の長さのものでも, ペプチッドのアミノ酸配列を指定する部分は750塩基に過ぎませんから, この長さのものは1,000塩基からなっているものの前駆体である可能性は大いにあります。さらに, 2,500塩基, 1,000塩基級のRNAは, 雌雄両細胞に見つかりますが, 雌雄に共通なのは卵巣臓器構成支配H-W抗原用RNAと睾丸臓器構成支配H-Y抗原用RNAの長さだけであるかも知れません。

図3 aと3 bに示してあります, 長さ1,550塩基の配列は, マウス雄細胞のcDNAライブラリーから探しあてた上記2,500塩基級転写RNA_sの1つに相当するものの5'側3/5部であります。残りの3'側1,000塩基にはペプチッドを指定する情報が入っていないので省略致しました。

最初の20個のGはバクテリア由来なので無視すると, 図3 aの第1列から9列迄には進化上温存されてきたTATC 4塩基体およびその1塩基置換体TGTCの繰り返しが全く含まれておりません。またこの自然淘汰に無視されてきた5'末端には, 実に29個の翻訳終止コドン(TAA 15個, TAG 7個及びTGA 7個)が存在しますので, ペプチッドを指定する可能性は皆無であります。それに比べて図3 a第10列から始まって図3 bの第8列に終る750個の塩基配列の中には, 元祖TATC 4塩基体の89コピーとその1塩基置換誘導体3種類であるTGTCの38コピー, TCTCの5コピー(図3 a, 第11列), TATGの8コピー(6コ

ピーは図3 b第7列内)が含まれております。全長2,500塩基からなるこの大きな転写RNAのcDNAコピーの中でペプチッドを指定できるのは上記の750個塩基配列の部分だけであります。さらに非常に珍しいことは, 上記の塩基配列は3つの読み枠で, それぞれ84個, 196個, 251個のアミノ酸からなる3つのペプチッドを作る潜在力があることです。色々の理由から本当にできるのは196個アミノ酸ペプチッドだけだと思います(図3の第13列最左翼メチオニン・コドンATGから始まって, 図3 b, 第8列最右翼翻訳終止コドンTAGに終る)。但し, 図3 aと3 bには, 251個からなる潜在的ポリペプチッドのアミノ酸配列をも示してあります。

両アミノ酸配列を比較していただければ, 一群の同じ4塩基体繰り返しを含んだ転写RNAから数々の似て非なるペプチッドができるという事実が一目瞭然となるからです。この潜在ペプチッド指定部は図3 a第10列左翼のメチオニン・コドンATGから始まり, 図3 b第9列最初の翻訳終止コドンTGAで終わります。この本物と思われる196個のアミノ酸からなるペプチッドと251個のアミノ酸からなる架空と思われるペプチッドを図3 a, 3 bで比較致しますと, 両者は原祖4塩基体TATCの繰り返しによつて指定されるLeu-Ser-Ile-Tyrのtetrapeptidic periodicityを共有致しております。ところが相当部のアミノ酸配列を詳細に比較致しますと, 両者の違いは実に77個アミノ酸置換と4個のアミノ酸除去によつて代表されております。つまり両ペプチッド相同部のホモロジーは60%に足りません。一見雌雄共有に見える2,500塩基級と1,000塩基級のTATCの繰り返しを含んだメッセンジャー群の中の1種類が雄独特の睾丸臓器構成支配H-Y抗原を指定し, 他種類が似て非なる卵巣臓器構成支配H-W抗原を指定しても一向に不思議でないわけです。

それでは, 図3 aと3 bに示してある196個のアミノ酸からなるペプチッドは, 以前われわれが同定した人類H-Y抗原の単位ペプチッドとどれ位の共通性を示すでしょうか。

正常の雄細胞膜上では図1に示しましたように, H-Y抗原は β_2 -ミクログロブリンとMHC(主要臓器移植拒否)抗原と一緒に複合体を作っております。従いまして, β_2 -ミクログロブリンとHLA抗原を表現出来ないDaudi人類男性Burkittリンパ腫系細胞膜上ではH-Y抗原は細胞膜に留まることが出来ず, 培養液に溶解して放出されます。この溶解した人類H-Y抗原中で他の哺乳類の雌胎児性腺を臓器培養しますと, 卵巣となるべき雌性腺が睾丸化して細精管様およびTunica

albuginea 様の構造を示します^{11,17)}。この溶解した人類 H-Y 抗原を牛胎児雌性腺（卵巢）体細胞膜上に使われないで待機する H-Y 抗原特異のレセプターを使つて遊離しますと、H-Y 抗原は、分子量18,000の非常に疎水性なペプチッドが数々の鎖間 S-S 結合によつて重合したものであることが判りました¹⁷⁾。図 3 a と 3 b の塩基配列が本当に作るはずのペプチッドは196個のアミノ酸からできておりますから、その分子量は大体18,000に近いはずで、さらに196個のアミノ酸の中、疎水性の非常に強いロイシン、イソロイシン、チロシン、ヴァリンが15%, 16%, 17%, 10%ですから、このペプチッドは全体として非常に疎水性であるはずで、また15個のシステニン基が含まれていますから、S-S 結合でどんどん重合していきけるはずで、

以上から図 3 a と 3 b に示した塩基配列は Y-染色体の睪丸構成支配 H-Y 抗原遺伝子から直接に転写されたメッセンジャー RNA のものである可能性はかなり強いと思います。もしそうでなくても、上記の Y-染色体 H-Y 抗原遺伝子に X-染色体上卵巢臓器構成支配 H-W 抗原遺伝子およびそれぞれの重複退化中コピー (pseudogenes) を加えた 1 群の遺伝子中 1 個の転写産物であることは間違いのないと思います。

最後にもう一つ面白い経験を記録しておきましょう。前述の β_2 -ミクログロブリン (-), HLA (-) の Daudi 人類男性 Burkitt リンパ腫細胞培養液を過剰のレセプターで連続吸収することによつて、活性のある溶解した H-Y 抗原を全部除いてしまいます。その後残った培養液に抗 H-Y 抗体を加えますと、驚いたことに分子量18,000の疎水性の強いペプチッドの S-S 結合でできた重合物が未だにかなり多量に沈澱してまいります^{17,18)}。レセプター活性、従つて睪丸構成能力は失ったが、H-Y 抗原性だけは持つている此の残存ペプチッドはきつと H-Y 抗原遺伝子の退化コピー (pseudogene) によつて指定されたものでしょう。H-Y 血清学が非常に困難で誤りを犯しやすいはずで、

6) 概要

哺乳類の発生基礎計画は先験的に雌型である。Y-染色体の役割りはその睪丸臓器構成支配 H-Y 抗原遺伝子を通じて、卵巢の代りに睪丸を作ることだけである。Y 染色体はテストステロンの有無によつて決められる第 2 次性決定機構には直接関与しない。全身のテストステロンに対する感受性は唯 1 種類の核細胞質アンドロゲン・レセプター蛋白に支配され、このレセプター蛋白は、X 染色体上の雌雄平等に表現される遺伝子に指定されるから、雌雄の差はテストステロンの感受性に関する限り存在しない。

Y-染色体上の睪丸臓器構成支配 H-Y 抗原遺伝子は非交叉なれど相同な部分に座しているために、X-染色体上に相当する遺伝子が存在するはずである。このものが、卵巢臓器構成支配 H-W 抗原遺伝子であるかも知れない。さらにそれぞれが幾つかの退化中コピー (pseudogenes) を持つているようである。この 1 群の遺伝子から転写された RNA は、元祖 TATC 4 塩基体およびその 1 塩基置換誘導体の繰返し塩基配列を多量に含み、従つて非常に疎水性の強い S-S 結合による重合用のシステニン基を相当数含んだペプチッドを指定する。H-Y 抗原は上記のペプチッド群の一員である。

文 献

1. Benhaim, A., Gangnerau, M.N., Tettane-Casanova, M., Fellous, M. and Picon, R.: Effects of H-Y antigen on morphologic and endocrine differentiation of gonads in mammals. *Differentiation*, 22: 53, 1982.
2. Cattaneach, B.M., Pollard, C.E. and Hawkes, S. G.: Sexreversed mice: XX and Xo males. *Cytogenetics*, 10: 318, 1971.
3. Daiger, S.P., Wildin, R.S. and Su, T.-S.: Sequences on the human Y chromosome homologous to the autosomal gene for argininosuccinate synthetase. *Nature*, 298: 682, 1982.
4. de la Chapelle, A.: The etiology of maleness in XX men. *Human Genet*, 58: 105, 1981.
5. Epplen, J.T., McCarrey, J.R., Sutou, S. and Ohno, S.: Base sequence of a cloned snake W-chromosome fragment and identification of a male-specific putative mRNA in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 79: 3798, 1982.
6. Epstein, C.J., Smith, S. and Travis, R.: Expression of H-Y antigen on preimplantation mouse embryos. *Tissue antigens*, 15: 63, 1980.
7. Ferguson-Smith, M.A.: X-Y Chromosome interchange in etiology of true hermaphroditism and of XX Klinefelter's syndrome. *Lancet*, ii: 475, 1966.
8. Gehring, U., Tomkins, G.M. and Ohno, S.: Effect of the androgen-insensitivity mutation on a cytoplasmic receptor for dihydrotestosterone. *Nature New Biol.*, 232: 106, 1971.
9. Goodfellow, P.: Expression of 12E7 antigen is controlled independently by genes on the human X-and Y-chromosomes. *Differentiation*, in press.
10. Goulmy, E., Bradley, B.A., Leeuwen, A., van Lansberg, O., Munro, A., Termijtelen, A. and van Rood, J.T.: The immunogenicity in women of male cells bearing H-Y and HLA-A2.

- I. Serology. *Tissue Antigens*, 10 : 248, 1977.
11. Imperato-McGinley, J., Guerrero, L., Gautier, T. and Peterson, R.E. : Steroid 5 α -reductase deficiency in man: An inherited form of pseudohermaphroditism. *Science*, 186 : 1213, 1974.
12. Jost, A. : Sur les effets de castration precoce de L'embryon male de lapin. *C.R. Soc. Biol. Paris*, 141 : 126, 1947a.
13. Jost, A. : Action de la testosterone sur L'embryon male castré de lapin. *C.R. Soc. Biol. Paris*, 141 : 275, 1947b.
14. Krco, C.J. and Goldberg, E.H. : H-Y (male) antigen : Detection on 8-cell embryos. *Science*, 193 : 1134, 1976.
15. Leeuwen, A. van, Goulmy, E., Bradley, B.A. and Rood, J.T. van : The immunogenicity in women of male cells bearing H-Y and HLA-A2. II. Cellular response. *Tissue Antigen*, 10 : 249, 1977.
16. Müller, U., Wolf, U., Siebers, J.W. and Günther, E. : Evidence for a gonad-specific receptor for H-Y antigen: Binding of exogenous H-Y antigen to gonadal cells is independent of β_2 -microglobulin. *Cell*, 17 : 331, 1979.
17. Nagai, Y., Gicarese, S. and Ohno, S. : The identification of human H-Y antigen and testicular transformation induced by its interaction with the receptor site of bovine fetal ovarian cells. *Differentiation*, 13 : 155, 1979.
18. Nagai, Y., Iwata, H., Stapleton, D.D., Smith, R. C. and Ohno, S. : Testis-Organizing H-Y antigen of man may lose its receptor binding activity while retaining antigenic determinants. In *Testicular Development, Structure and Function* (ed. A.E. Steinberger), 41. Raven Press, New York, 1980.
19. Ohno, S. : Major sex determining genes. *Endocr. Monog. Ser.* 11 Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg New York, 1979.
20. Ohno, S. : Sex chromosomes and sex-linked Genes *Endocr Monog. Ser.* 1. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg New York, 1975.
21. Ohno, S. : The original function of MHC antigens as the general plasma membrane anchorage site of organogenesis directing antigens. *Immunol. Rev.*, 33 : 59, 1976.
22. Ohno, S. : Evolution by gene duplication. Springer-Verlag. Berlin-Heidelberg-New York, 1970.
23. Page, D., Martinville, B. DeBarker, E., Wyman, A., White, R., Francke, U. and Botstein, D. : Single copy sequence hybridizes to polymorphic and homologous loci on human X and Y-chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 79 : 5352, 1982.
24. Silvers, W.K., Gasser, D.L. and Eicher, E.M. : H-Y antigen serologically detectable male antigen and sex determination. *Cell*, 28 : 439, 1982.
25. Singh, L., Purdom, I.F. and Jones, K.W. : Sex chromosome associated satellite DNA : Evolution and conservation. *Chromosoma*, 79 : 137, 1980.
26. Singh, L. and Jones, K.W. : Sex reversal in the mouse (*Mus musculus*) is caused by a recurrent nonreciprocal crossover involving the X and an aberrant 7-chromosome. *Cell*, 28 : 205, 1982.
27. Upadhyay, S. and Zamboni, L. : Ectopic germ cells: A natural model for the study of germ cell sexual differentiation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 79 : 6584, 1982.
28. Wachtel, S.S., Ohno, S., Koo, G.C. and Boyse, E.A. : Possible role of H-Y antigen in primary sex determination. *Nature*, 257 : 235, 1975.
29. Wachtel, S.S., Koo, G.C. and Boyse, E.A. : Evolutionary conservation of H-Y (male) antigen. *Nature*, 254 : 270, 1975.
30. Wilson, J.D. and Macdoland, P.C. : Male pseudohermaphroditism due to androgen resistance: Testicular feminization and related syndromes. in *The metabolic basis of inherited disease* chapter. 42, 894. McGraw-Hill, New York, 1978.
31. Wolf, U., Fraccaro, M., Mayerova, A., Hecht, T., Marasichio, P. and Hameister, H. : A gene controlling H-Y antigen on the X-chromosome: Tentative assignment by deletion mapping to Xp223. *Human Genet.*, 54 : 149, 1980.
32. Wolf, U., Fraccaro, M., Mayerova, A., Hecht, T., Zuffardi, O. and Hameister, H. : Turner syndrome patients are H-Y positive. *Human Genet.*, 54 : 315, 1980.