

2018年10月11日

学校法人高宮学園 代々木ゼミナール
理事長 高宮英郎

ノーベル賞「PD-1の働き」について考察する問題を 今年の第2回東大入試プレ(11月実施)で出題

2018年のノーベル生理学・医学賞を、京都大学の本庶佑特別教授が受賞しました。免疫の働きを抑える物質「PD-1」を発見し、がん治療薬「オプジーボ」の開発などに貢献されたことによるものです。大学進学教育の一端に関わる者として心よりお祝いを申し上げます。

さて近年、大学入試において最先端の研究分野が各教科・科目の入試問題として取り上げられるケースが増えており、弊学園では常に最新の話題にも目を配り模擬試験やテキストに反映してきました。また現行課程の生物(生物基礎・生物)では免疫が詳細に解説されており、入学試験で免疫をテーマとした出題が増えています。これらを受け、今年の第2回東大入試プレ(11月実施)の理科-生物では「PD-1」の働きについて考察する問題を出題し、解説で「オプジーボ」を紹介しました。

産学連携という用語に端的に表れているように、社会の要請やニーズに応えられる教育や研究の在り方が問われ、大学教育につながる高校教育、大学入試のあるべき姿が「高大接続」の課題として議論されています。このような教育改革全般にかかわる文脈の中に、今回の出題は位置付けられます。弊学園は今後も、社会が関心を寄せ注目するテーマを模擬試験やテキストで取り上げてまいりたいと存じますので、どうぞご期待ください。

<本件に関する報道・関係各位のお問い合わせ先>

SAPIX YOZEMI GROUP

担当：代々木ゼミナール広報企画部（四島）

TEL：03-3379-5221 E-mail：s_shishima@yozemi.ac.jp

Webサイト：<https://www.yozemi.ac.jp/>

【添付資料】

SAPIX YOZEMI GROUP

2017 年度
第 2 回東大入試プレ問題
理科 - 生物
第 1 問
(問題・解答解説)

※ 「PD-1」 関連部分

(2017 年 11 月実施)

生 物

第1問

次の文1と文2を読み、IとIIの各問に答えよ。

〔文1〕

免疫とは、外来性および内因性の異物(抗原)を認識・排除し、個体の恒常性を維持する機構である。免疫システムには、自然免疫と獲得免疫(適応免疫)という2つの異なる機構が存在する。

自然免疫では、⁽⁷⁾パターン認識という方法で病原体や寄生虫を認識する。パターン認識をつかさどる構造のうち主要なものが であり、ヒトの場合は、10種類の が発見されている。受容体が病原体などを認識すると、さまざまな遺伝子の転写が生じ、免疫細胞が活性化され、サイトカインの分泌に至る。 はマクロファージや樹状細胞などに発現しており、それらは抗原提示細胞として機能することにより、自然免疫から獲得免疫への橋渡しとなる。

一方、⁽⁴⁾獲得免疫の抗原認識は極めて精緻であり、分子のわずかな差異も識別する。獲得免疫の特に重要な機能の1つとして、抗原情報を記憶し、同じ抗原に再度遭遇したときに速やかに排除することが挙げられる。獲得免疫は細胞性免疫と体液性免疫に分類される。細胞性免疫の例として、 による結核症発病予防や移植片の拒絶反応、がん細胞の排除などがある。

獲得免疫システムをコントロールする遺伝子の1つとして、*PD-1* 遺伝子が発見された。*PD-1* 遺伝子産物(PD-1)はT細胞の表面に発現している。*PD-1* 遺伝子欠損マウスは を発症することから、*PD-1* 遺伝子は免疫反応を負に制御している。一方、がん細胞の表面にはPD-L1という分子が発現し、T細胞のPD-1と相互作用する。すると、がん細胞の周辺領域は の状態となり、T細胞による免疫監視から逃避できることが明らかになった。実際、予後の悪いがん患者のがんは、予後のよい患者のがんよりもPD-L1の発現が高かった。

そこで、PD-1 および PD-L1 の機能をさらに調べるため、以下の実験 1 および実験 2 を行った。

実験 1 抗 PD-1 抗体をがんのマウスに投与すると、がん細胞の増殖およびがんの転移を抑制した。

実験 2 抗 PD-L1 抗体をがんのマウスに投与すると、がん細胞の増殖およびがんの転移を抑制した。

獲得免疫の司令塔となる細胞はヘルパー T 細胞である。ヒト免疫不全ウイルス (HIV) はヘルパー T 細胞に感染し、これを破壊する。後天性免疫不全症候群 (AIDS) は HIV の感染によって生じ、重篤な日和見感染症や悪性腫瘍を引き起こす状態をいう。近年、治療薬の開発が飛躍的に進み、AIDS 発症に至る前の血中ウイルス濃度の低い期間に抗 HIV 薬を投与すると、HIV の増殖を効果的に抑制できるようになった。このような時期の HIV 感染者に抗 HIV 薬を投与する臨床試験を行った。

臨床試験 血中ウイルス濃度の低い HIV 感染者に、抗 HIV 薬を 0 日目から継続して投与し、血しょう 1 mL 中の HIV の RNA 量を毎日測定した。図 1 - 1 にその結果を示す。ただし、図 1 - 1 の期間、抗 HIV 薬でウイルスの増殖が完全に抑えられているとする。

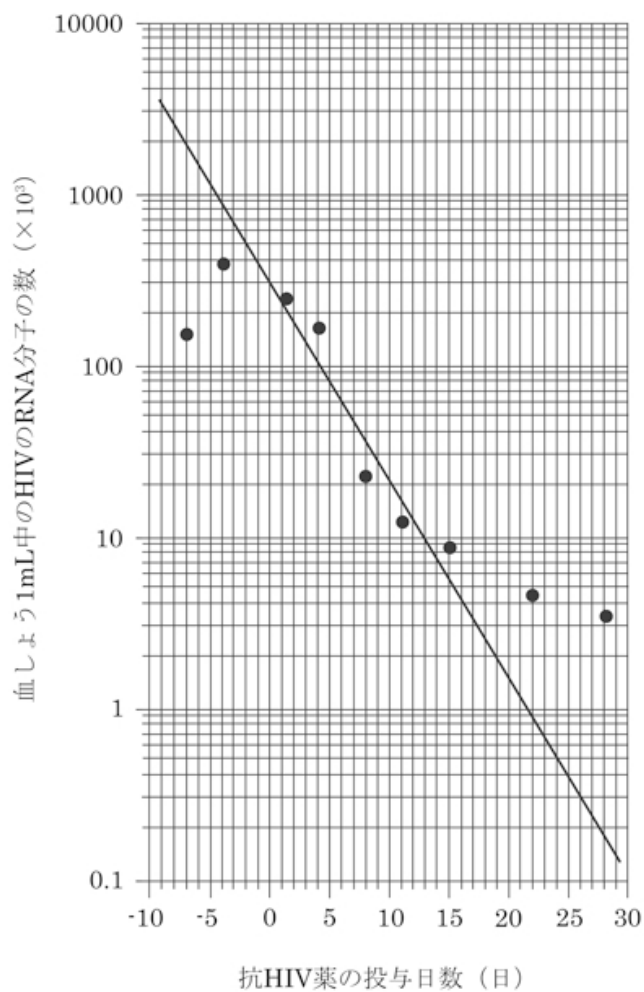


図1-1 抗HIV薬の投与日数と血しょう1mL中のHIVのRNA分子の数
ただし、0日以前については、0日以降の直線を延長して示したものである。

[文2]

細菌や古細菌などの原核生物の多くは、CRISPR-Cas(クリスパー・キャス)獲得免疫システムと呼ばれる防御免疫システムを持っている。このシステムは原核生物の DNA の CRISPR という領域と、その領域近傍の *cas* 遺伝子群にコードされる Cas タンパク質群で構成される。CRISPR は約 25 ～ 50 塩基対からなる反復配列とスペーサー配列の繰り返しで構成されている。さらに、CRISPR と隣接する *cas* 遺伝子群を含めて、CRISPR 座位と呼ぶ(図1-2)。

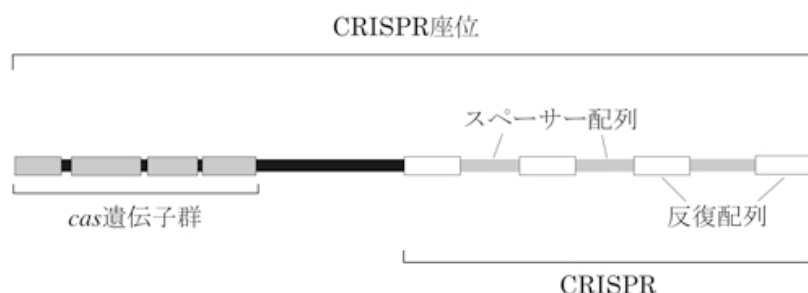


図1-2 原核生物の DNA 中の CRISPR 座位の構造

CRISPR 座位は *cas* 遺伝子群と CRISPR で構成される。さらに、CRISPR は反復配列とスペーサー配列からなる。反復配列は定まった塩基配列が何度も繰り返されている。

このシステムを持つ細菌や古細菌では、ウイルスが侵入すると、ウイルス DNA の一部を切り取り、スペーサー配列として自身のゲノムの CRISPR 領域に取り込む。再び同じ侵入者を検知すると、スペーサー配列を鋳型として転写を行い、CRISPR RNA (crRNA) を合成する。crRNA は Cas タンパク質 (Cas9 と呼ばれる) と会合して複合体を形成する。crRNA はウイルスの核酸と相補的な配列をもつので、crRNA がガイド役になって侵入 DNA の相補的な部位に Cas9 を誘導する。すると、Cas9 がウイルス DNA の 2 本鎖を両方とも途中で切断し、ウイルスなどの攻撃を排除する(図1-3)。

現在45種の異なるCasタンパク質が報告されており、侵入DNAの切断、CRISPR座位への新しいスペーサー配列の取り込み、crRNAの合成など、それぞれ異なる役割を担うことが分かっている。

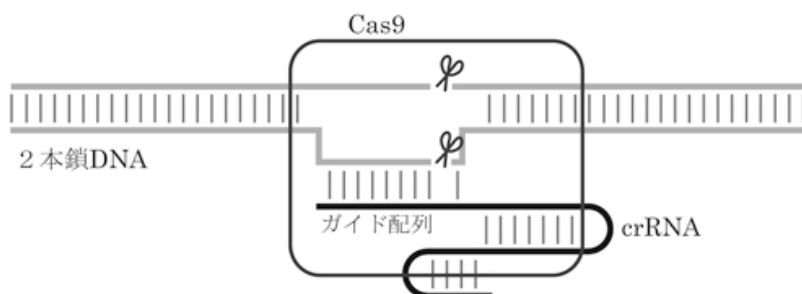


図1-3 外来DNAを切断するcrRNA-Cas9複合体

crRNAはCas9を目的の配列へと導くガイド役となる。crRNA-Cas9複合体はウイルスDNAと何度も衝突し、crRNAと適合する配列を見出すと、Cas9がその部位のDNA鎖を切断する。なお、実際にはcrRNA以外のRNAもこの反応に関与するが、本問では説明を簡略化している。

DNAの2本鎖を切断すると、細胞はDNAの修復過程を誘起する。DNAの修復には2通りある。1つの方法は、切断部分を単に再結合させる非相同末端連結で、修復用の鋳型DNAが存在しない場合に生じる。^(x)もう1つの方法は相同組換え修復で、修復用の鋳型DNAが存在する場合に生じる。もし図1-4のように、両端の塩基配列は同じで、中央部分の塩基配列の異なる修復用の鋳型DNAを与えて修復を促せば、切断部位にその配列を取り込ませることが可能となる。この現象を応用し、^(y)標的のDNA部位に対応するRNA(crRNAに相当するガイド役となるRNA)を人工合成し、これをCas9とともに細胞に導入すれば、標的DNAを任意の箇所で、ピンポイントで切断し、外来の塩基配列を特定の位置に挿入できる。

CRISPR-Cas9 システムを利用したゲノム編集技術は、病気の原因遺伝子の特定や改変を可能にすると共に、生物の形質を改変できると期待されている。実際、ヒト体細胞のゲノム編集は、臨床応用をめざすところまで進んでいる。例えば、CRISPR-Cas9 システムによるゲノム編集で PD-1 をもたない免疫細胞をつくり、肺がん患者に投与する臨床試験が行われている。

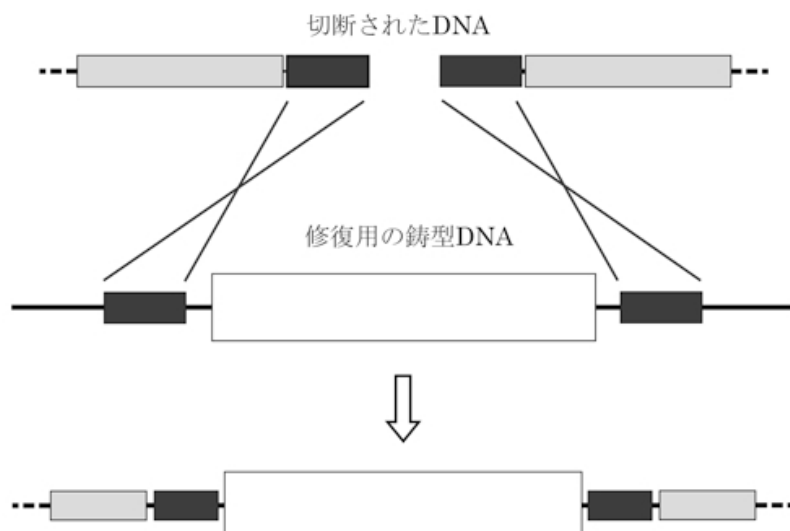


図1-4 相同組換え修復を利用した塩基配列の挿入

CRISPR-Cas9 システムを利用して標的配列を切断後、修復用の鋳型 DNA を加えることで、ゲノム編集が可能になる。

〔問〕

I 文1について、以下の小問に答えよ。

A 空欄1・2にあてはまるもっとも適切な語句を、以下の選択肢①～⑨の中から選べ。解答例：1－①，2－②

- | | | |
|-------|--------|--------|
| ① BCR | ② TCR | ③ TLR |
| ④ MHC | ⑤ HLA | ⑥ BCG |
| ⑦ CTL | ⑧ EPSP | ⑨ IPSP |

B 空欄3・4に適切な語句を記入せよ。解答例：3－〇〇，4－△△

C 下線部(ア)について。空欄1によるパターン認識とはどのようなものか。1行程度で簡潔に説明せよ。

D 下線部(イ)について。体外の異物は膨大な種類があり、ヒトは抗体を少なくとも100億種類以上作らないと、体液性免疫は十分に機能しないと見積もられている。一方、ヒトの遺伝子数は2万数千個と推定されている。では、どのような仕組みで膨大な種類の抗体産生が可能になるのか。その仕組みを表す生物学用語を記せ。また、その仕組みの解明でノーベル生理学・医学賞を受賞した科学者の人名を記せ。 解答例：仕組み－〇〇，人名－△△

E 実験1および実験2で、抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体の投与で、がん細胞の増殖を抑制できたのはなぜか。2行程度で説明せよ。

F 図1-1について。以下の問(a)と(b)に答えよ。

(a) 0日目のウイルス数がおよそ1/1000倍になるのは、投薬何日目か。日数を整数で答えよ。

(b) ウイルスの半減期(ウイルス濃度が半減するのに要する日数)を小数点以下1桁まで答えよ。

II 文2について、以下の小問に答えよ。

A 図1-2に示したスペーサー配列に関する記述として正しいものを、以下の

(1)~(5)から2つ選べ。

- (1) スペーサー配列は転写頻度を制御する領域である。
- (2) スペーサー配列は細菌または古細菌ゲノムに固有なものではない。
- (3) スペーサー配列は代々子孫細胞に受け継がれる。
- (4) スペーサー配列の塩基配列に共通性はないが、塩基対の長さは同じである。
- (5) スペーサー配列の塩基配列には共通性がある。

B 下線部(ウ)について。細菌や古細菌の持つ CRISPR-Cas システムは獲得免疫の一種である。[文1]の内容も踏まえて、その理由を3行程度で説明せよ。

C 下線部(エ)について。ヒト体細胞の場合、修復用の鋳型 DNA を与えなくても正確に相同組換え修復ができる。その理由を1行程度で答えよ。

D 下線部(オ)について。CRISPR-Cas9 システムによるゲノム編集は、近年で最も画期的な生命科学技術の一つとされており、人類の未来を大きく発展させる可能性をもつと考えられている。一方、CRISPR-Cas9 システムが開発される以前にも、ウイルスを利用して外来遺伝子を細胞内ゲノムに導入することが行われてきた。CRISPR-Cas9 システムと比較して、ウイルスを用いた導入方法にはどのような問題点があるのか。2行程度で説明せよ。ただし、導入する遺伝情報自体には有害性がないものとする。

生 物

解 答

第1問 (20点)

I A 1-③ 2-⑥

B 3-自己免疫疾患(自己免疫病) 4-免疫寛容(トレランス, 免疫トレランス)

C 特定のグループの病原体に共通した構成分子のパターンを認識すること。(33字)

D 仕組み-遺伝子再構成(遺伝子再編成), 人名-利根川進

E 抗体により PD-1 と PD-L1 の相互作用が阻害され, 免疫反応の抑制シグナルが解除された。その結果, T 細胞が活性化し, がん細胞を攻撃した。(68字)

F (a) 26日 (b) 2.6日

II A (2)・(3)

B 標的配列と相補的な RNA をガイドとして外来 DNA を特異的に切断するため, 抗原認識が極めて精緻である。また, スペーサー配列として抗原情報を保存し, 同じ抗原に再度遭遇すると速やかにこれを排除する免疫記憶をもつ。(103字)

C 二倍体生物の場合, 相同染色体を修復用の鋳型 DNA として利用するから。(34字)

D ウイルスを利用すると, 外来遺伝子がゲノムのランダムな場所に挿入されるため, ゲノムの特定の位置に効率よく外来 DNA を入れることが困難である。(69字)

〈配点 I A・B: 各1点×4, C: 2点, D: 各1点×2, E: 2点, F(a): 1点, (b): 2点,

II A: 各1点×2, B: 2点, C: 1点, D: 2点〉

解説

第1問 (免疫, ゲノム編集)

出題のねらい

2011年のノーベル生理学・医学賞を受賞したTLRと自然免疫を出題した。また、将来ノーベル賞が期待されるCRISPR-Cas9システムによるゲノム編集(Doudna博士とCharpentier博士)と、がん免疫療法の免疫チェックポイント阻害剤(本庶佑博士)を取り上げた。特に、CRISPR-Cas9システムを利用したゲノム編集は、山中伸弥博士も「この25年の中でおそらく最も画期的な生命科学技術」と呼んでおり、今後、出題の増加が予想されるため、本問を通してこの技術の背景と意義を正しく理解しておきたい。

加えて、グラフの読み取りと計算問題も出題した。出題者の誘導を手掛かりとして、解析する力を試した。

I A 頻繁に使用される略号は正確に知っておきたい。

- ① BCR B細胞抗原受容体。B細胞の細胞膜に発現。
- ② TCR T細胞抗原受容体。T細胞の細胞膜に発現。
- ③ TLR Toll様受容体。樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞に発現する受容体。(←)
- ④ MHC 主要組織適合遺伝子複合体。

〈MHC分子〉

○抗原ペプチドと結合してT細胞に提示する抗原提示分子

○ペプチドを収容する溝部分に顕著な多型性を示す

→ 免疫応答の個体差を決定

○最初、移植の際の組織適合性を規定する遺伝子群として同定

○MHCクラスI分子：キラーT細胞に対して抗原を提示

○MHCクラスII分子：ヘルパーT細胞に対して抗原を提示

- ⑤ HLA ヒトのMHC分子のこと。マウスのMHC分子はH-2分子と呼ぶ。
- ⑥ BCG 弱毒結核菌ワクチン。BCGの効果(※)については、入試に時折出題される。(←)
- ⑦ CTL 細胞傷害性T細胞(Cytotoxic T Lymphocytes)。高校生物では「キラーT細胞」の名称で扱われている。
- ⑧ EPSP 興奮性シナプス後電位。脱分極性の後電位。
- ⑨ IPSP 抑制性シナプス後電位。過分極性の後電位。

B 3 「PD-1遺伝子は免疫反応を負に制御する」とあるから、この遺伝子は免疫反応を抑制している。PD-1遺伝子欠損マウスは免疫反応を抑制できず、過剰な反応を発症すると考えられる。したがって、に入る用語は、アレルギーか自己免疫疾患と推定できる。ただ、問題文中では、PD-1がT細胞による免疫監視から逃避する免疫寛容と結び付けられていることから、「自己免疫疾患」という用語が適当である。

※ Toll様受容体

樹状細胞やマクロファージなどの抗原提示細胞に発現する受容体。HoffmannとBeutlerは、TLRが自然免疫系に重要な役割を果たすことを発見し、2011年ノーベル生理学・医学賞を受賞。

※ BCGの効果

BCGの接種後1～2カ月の間にツベルクリン反応は陽性に転化し、約1年あるいはそれ以上、その状態が持続する。この間に結核菌に感染しても、免疫があるために、発病率は有意に減少する。

ただし、BCGの効果は永続せず、ツベルクリン反応が陰性に戻れば、接種を繰り返さなければならない。

4 自己成分に対して、動物は免疫寛容になっている。がん細胞は自己の細胞に由来するが、正常細胞には存在しないタンパク質を発現しており、厳密には非自己である。しかし、がん細胞の表面のPD-L1が、T細胞のPD-1と相互作用することで、下図の(a)のようにT細胞が不活性化し、結果として、「免疫寛容」を示すことになる。

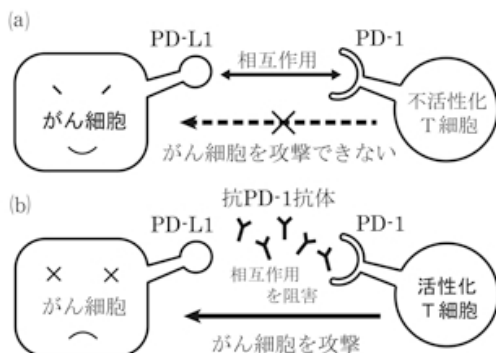
〔免疫寛容(トレランス)の特徴〕

- 自己成分に対する免疫非応答性は遺伝的に決定されておらず、後天的に成立する
- 自己トレランスの成立誘因は自己抗原である
- 胸腺で、自己反応性T細胞が除去される(負の選択)
- 胸腺や二次リンパ器官での制御性T細胞の生成によっても、トレランスが維持されている

C 自然免疫で働くTLRなどのパターン認識受容体は膜貫通タンパク質であり、自然免疫において病原体センサーの役割を担う。TLRは、病原体や寄生虫のもつ核酸、リポ多糖、リポタンパク質など特定の分子パターンを認識する。通常ならば体内に存在するはずのない物質に遭遇すると、自然免疫が活性化する。

D 抗体の可変部は複数の遺伝子からなり、各遺伝子はDNA上で遺伝子群を形成している。遺伝子群には多数の遺伝子断片が存在し、それぞれの遺伝子群から遺伝子断片が1つずつ選択され、再構成される。「利根川進」は、リンパ球の多様性がこの「遺伝子再構成」で生じることを解明し、ノーベル賞を受賞した。生物で知っておくべきノーベル賞受賞者と業績を右(☞)にまとめる。

E がん細胞は自己組織に由来するため自己と非自己の判別がつきにくい存在である。しかし、PD-1欠損マウスで自己免疫疾患が発症するという事実は、PD-1シグナルをブロックすることで、がん細胞を攻撃できる可能性を示している。抗PD-1抗体または抗PD-L1抗体をがんのマウスに投与すると、下図の(b)のように、免疫反応の抑制シグナルの解除と共にT細胞が活性化され、がん細胞の増殖や転移を抑制することができる。これは、PD-1とPD-L1の相互作用を、抗体が阻害するためである。



☞免疫寛容

特定の抗原に対する免疫応答が抑制されている状態。

特に、自己成分に対しては寛容性を示す。

☞ノーベル賞受賞者

・利根川進(1987)

多様な抗体を生成する遺伝的原理の解明

・下村脩(2008)

GFP(緑色蛍光タンパク質)の発見と生命科学への貢献

・山中伸弥(2012)

種々の細胞に分化できる能力を持つiPS細胞の作製

・大村智(2015)

線虫の寄生によって引き起こされる感染症に対する新たな治療法に関する発見

・大隅良典(2016)

オートファジーの仕組みの解明

☞抗PD-1抗体

免疫チェックポイント阻害剤(オプジーボなど)として、がんの治療に用いられている。

F ここでは、 10^{-3} 倍 $\approx 2^{-10}$ 倍の近似を用いる。

解答のポイント：半減期の計算法

- ① 0 日目は 300×10^3 分子、26 日目は 0.3×10^3 分子
→ 26 日間に 10^{-3} 倍
- ② 10^{-3} 倍 $\approx 2^{-10}$ 倍 (← 10 回の半減を示す)
- ③ 26 日間に 10 回半減
→ 1 回の半減におよそ 2.6 日を要する

II A 最初に、正しい選択肢 ((2)・(3)) を検討する。

- (2) スペーサー配列は原核生物のゲノムに固有のものではなく、感染したウイルス DNA や外来プラスミドに由来する。なお、固有とは「他から与えられたのではなく、もともと持っていること。本来備わっていること。」を意味する。
- (3) スペーサー配列は細菌や古細菌の DNA に組み込まれているため、分裂によって子孫細胞に伝達される。

次に、誤っている選択肢 ((1)・(4)・(5)) を検討する。

- (1) スペーサー配列は調節領域 (☞) ではない。スペーサー配列自体が転写を受ける。
- (4)・(5) (2) の解説を参照。スペーサー配列ごとに異なるウイルスや外来プラスミドの情報が挿入されているため、塩基配列の共通性はない。塩基対の長さも約 25 ~ 50 塩基対の範囲でまちまちである。

B 文 1 の内容を参考にして、獲得免疫の特徴と CRISPR-Cas9 システムを比較すると、次の 2 点が明らかになる。

解答のポイント

- ① 自然免疫のパターン認識受容体と比べて、抗原認識が極めて精緻である。
⇔ 標的配列と相補的な RNA を利用して外来 DNA を特異的に切断する。
- ② 抗原情報を記憶し、同じ抗原に再度遭遇したときに速やかに排除する。
⇔ スペーサー配列内に抗原情報の記憶がある。

C ヒトの体細胞は二倍体なので、相同染色体を修復用の鋳型 DNA として利用できる。

D 「ウイルスの遺伝情報をヒトの細胞に導入するのは危険である」などの解答は不可。ただし書きに「導入する遺伝情報自体には有害性がない」と記されている点に注意する。

ウイルスを利用した場合、外来遺伝子をゲノムの特定の位置にピンポイントで挿入することが困難である。外来 DNA はゲノムのランダムな位置に挿入されてしまうため、特定の遺伝子の機能を改変することが難しかった。CRISPR-Cas9 システムが画期的なのは、外来の塩基配列を標的 DNA の狙った位置に挿入できる点である。

☞ 近似を用いた計算

細胞の増殖などの問題では、 $10^3 \approx 2^{10}$ の近似を用いることが時折ある。

☞ 調節領域

転写因子や RNA ポリメラーゼが塩基配列を認識して結合する DNA 上の領域。転写の調節に関与する。

☞ CRISPR-Cas9 システムを利用したゲノム編集の問題点

この技術は、2013 年に初めて発表された。すでに、ヒト胚の遺伝子改変が報告されており、倫理性や安全性に関する懸念が生じている。また、特定の生物の形質の改変や駆除など生態系に対しての大きな影響が予想されている。