

現生ウミユリを用いて後口動物免疫系の起源を探る

The origin of deuterostome immune system explored by using a living crinoid

プロジェクト代表者：日比野 拓 (埼玉大学教育学部・准教授)

Taku Hibino (Associate Professor, Faculty of Education, Saitama University)

1 研究の概要

有柄ウミユリ類は、古生代には海底を覆いつくすほど繁栄したが、現在は深海にわずかに生息するのみであり、生きた化石と呼ばれている。相模湾・駿河湾には比較的浅い水深に有柄ウミユリ類の1種トリノアシ *Metacrinus rotundus* が生息している。このトリノアシは、祖先型の発生様式を保有していることに加えて、最近の分子系統解析によりウミユリ綱の中でも系統が古いことが明らかになったことを考慮すると、後口動物の進化を明らかにする鍵となるゲノム情報や遺伝子レパートリーを保有している可能性がある。

脊椎動物がもつ精巧な免疫系（免疫グロブリンの多様性による獲得免疫と Toll 様受容体による病原体構成要素の認識による自然免疫）が後口動物の系統上いつ出現し、どのように進化したのか、2006年のウニゲノム解読によって多くの知見が得られた(図1) (Hibino et al. 2006)。

図 1

	免疫グロブリン	RAG1&2	IL-17	その他IL	TNF	補体系 MASP	Factor I C6/7/8/9	Toll様受容体
新口動物								
ウニ	-	+	25	-	4	-	-	222
ナメクジウオ	-	-	9	-	24	+	-	48
ヒト	+	+	5	+	18	+	+	10
シロクサウバ	-	-	-	-	1	-	-	9

(1) ウニゲノムには免疫グロブリン遺伝子は無いが、脊椎動物において免疫グロブリンの再構成を行う酵素 RAG1, RAG2 様の遺伝子は存在する。

(2) 補体系の構成分子 C6/7/8/9, Factor I, Mannose Binding Protein Associated Serine Protease (MASP) はウニゲノムには無い。

(3) ウニ Toll 様受容体はハエ Toll タイプと脊椎動物 Toll 様受容体タイプの両タイプを持ち、脊椎動物 TLR タイプが甚だしく重複し、脊椎動物の 10~20 倍の遺伝子数を持つ。

しかし、これらの結果は棘皮動物の系統の中で派生的な動物であるウニを用いた研究であり、トリノアシを用いることで、後口動物の祖先型がもっていた免疫系の解明に迫ることができると考える。そこで、本助成をもとにトリノアシ内臓 cDNA のトランスクリプトーム解析を行い、免疫関連遺伝子の同定を試みた。

2 結果と考察

次世代シーケンサー Roche GS Junior を用いてトリノアシ内臓 cDNA のトランスクリプトーム

解析を行った。2 ラン行い、合計約 22 万リード、8 千 8 百万塩基対を解読した。これをデータベース化し、HMM2.0 によるドメイン検索と Blast による相同性検索により、免疫関連遺伝子候補を探索した。その結果、

- (1) 免疫グロブリン遺伝子や RAG1, RAG2 様遺伝子は発見できなかった。
- (2) MASP 様の遺伝子断片が 2 種類発見された。
- (3) TIR ドメインを含む遺伝子断片が約 20 種類発見された。

MASP 遺伝子は、ゲノムが解読されている無脊椎動物の脊索動物であるユウレイボヤとナメクジウオには存在するが、ウニには無いことが明らかになっている。今回トリノアシから MASP 様遺伝子断片が発見できたことは、棘皮動物の祖先、および後口動物の祖先はこの遺伝子を保有していたものの、その後棘皮動物の系統上で遺伝子消失が起こったことを示唆している。この遺伝子をより詳しく解析し、今後現生ウミユリを用いた補体系免疫機構の進化を明らかにしていきたい。

3 研究成果発表状況

A novel third complement component *C3* gene of *Ciona intestinalis* expressed in the endoderm at the early developmental stages. Hibino T, Nonaka M. Invertebrate Survival Journal, 10: 29-37, 2013

Slow transport of foreign objects to the distal end of the sea urchin larval arms. Hibino T, Kanamori A, Naka D. The 12th Congress of International Society of Developmental and Comparative Immunology (2012 年 7 月 10 日)

バフンウニ発生過程における ALP 活性パターンと遺伝子発現解析. 能城光子、日比野拓
日本動物学会第 65 回関東支部大会 (2013 年 3 月 16 日)

トリノアシにおける IL-17 遺伝子の探索. 酒寄成美、日比野拓
日本動物学会第 65 回関東支部大会 (2013 年 3 月 16 日)