

令和元年6月21日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K15286

研究課題名(和文)獲得免疫系起源の研究

研究課題名(英文)The origin of adaptive immunity

研究代表者

名川 文清(Nagawa, Fumikiyo)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・講師

研究者番号：10241233

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文):獲得免疫系は、外界から侵入してくる病原体を特異的に認識・排除するために脊椎動物が持つ高度なシステムであり、軟骨魚類からヒトに至るまでの生物では、多様なイムノグロブリン型の抗原受容体を用いている。一方、軟骨魚類より下等な脊椎動物であるヤツメウナギやヌタウナギなどの無顎類の抗原受容体は、Ig型ではなく、LRR(leucine-rich repeat)からなるVLRである。VLR遺伝子も、V(D)J組み換えとは異なる遺伝子再編成により極めて大きな多様性を創出している。われわれは、この遺伝子再編成の仕組みを解析するため、ヌタウナギのVLR遺伝子に関し、部分再編成体を多数単離し、その構造を解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

獲得免疫系の起源と進化を探る研究であり、ヒトの免疫系が何故現在のようになっているのかを理解するために重要な研究である。しかし、本研究期間内に得た研究結果からは、確実な知識を得ることはできていない。

研究成果の概要(英文):Jawless vertebrates possess antigen receptors called variable lymphocyte receptors (VLRs), which consist of several leucine-rich repeat (LRR) modules. All types of VLRs (A, B, and C) are diversified by gene rearrangement. To generate mature VLR genes, several germline LRR (gLRR) gene segments are chosen from multiple copies scattered near the germline VLR (gVLR) locus, and then copied into the gVLR gene. To elucidate the mechanism of VLR gene assembly, we sequenced multiple gLRR segments and partially assembled VLRC genes from hagfish. The results revealed that gene assembly can occur at both ends simultaneously. Furthermore, some of the partially assembled VLRC genes contained a duplication at the site of insertion, resembling a structure generated by transposition. The existence of such duplications suggests that VLR gene assembly is initiated by DNA nicks rather than double-strand breaks.

研究分野：分子生物学

キーワード：獲得免疫系 無顎類 VLR 遺伝子再編成

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

獲得免疫系は、外界から侵入してくる病原体を特異的に認識・排除するために脊椎動物が持つ高度なシステムである。軟骨魚類からヒトに至るまでの生物では、多様なイムノグロブリン(Ig)型の抗原受容体遺伝子(>10¹⁴種類)をV(D)J組み換えにより創出しているが、この組み換えは、原始抗原受容体遺伝子にトランスポゾンが偶然に挿入されることによって開始されたと考えられている。

一方、軟骨魚類より下等な脊椎動物であるヤツメウナギやヌタウナギなどの無顎類は、LRRからなる抗原受容体VLRを持っている。現在のところ、ヤツメウナギやヌタウナギにはVLRが3種類(VLRA、VLRB、VLRC)見出されており、ヤツメウナギではVLRAまたはVLRCを発現する細胞は哺乳類のT細胞に、一方VLRBを発現する細胞はB細胞に相当すると考えられている。

VLR遺伝子も、遺伝子再編成により極めて大きな多様性(～10¹⁴種類)を創出しているが、この遺伝子再編成の仕組みは、V(D)J組み換えとは極めて異なったものである。再編成前の定常領域遺伝子座にLRRは存在せず、周辺にある数百個のLRR遺伝子セグメントから数個を選んで定常領域遺伝子座にコピーすることにより機能型遺伝子を創出している。

申請者らは、この遺伝子再編成をヤツメウナギ(*Lethenteron Japonicum*)を用いて詳細に解析し、“copy choice”と呼ばれる遺伝子再編成機構が関与していることを報告した(Nagawa et al. *Nature Immunology*, 8:206-213, 2007)。“copy choice”とは複製の際にDNA polymeraseが短い繰り返し配列の間で基質をswitchする現象であり、“template switching”とも呼ばれている。

申請者らはまた、ヌタウナギから1000個を超えるsingle cellを単離し、PCRにより解析した結果、基本的に1つのリンパ細胞あたり1つのalleleだけが機能型VLR遺伝子として再編成されていること、さらに、機能型遺伝子が作られると他のalleleの再編成を抑える「フィードバック制御」が存在することを報告した(Kishishita et al. *EMBO reports*, 11:126-132, 2010)。この結果は、VLR遺伝子再編成も、V(D)J組み換えと同様、精緻な調節を受けていることを示している。

VLR遺伝子再編成は、今まで知られている遺伝子再編成とは極めて異なった特徴を有しており、このような遺伝子再編成は無顎類以外には知られておらず、一体どのような機構によりVLR遺伝子の再編成が起こっているかは極めて興味深い問題となっている。

2. 研究の目的

ヤツメウナギやヌタウナギなどの無顎類は、イムノグロブリン型の抗原受容体ではなく leucine rich repeat (LRR) からなる variable lymphocyte receptor (VLR) を抗原受容体として利用している。VLR の遺伝子も、遺伝子再編成により極めて大きな多様性を創出しているが、この遺伝子再編成の仕組みは、V(D)J 組み換えとは極めて異なったものである。本研究課題では、VLR 遺伝子再編成システムについて詳細に解析し、獲得免疫系の起源について明らかにすることを旨とした。

3 . 研究の方法

部分再編成体の同定と解析

VLR 遺伝子再編成の仕組みの仕組みを明らかにするため、部分再編成体を同定し解析した。リンパ細胞の中には、VLR 遺伝子の再編成が途中まで進行した部分再編成体がまれに検出される。これらの大半は、LRR セグメントをいくつか取り込んだものである (Nagawa et.al., 2007 Nature Immunology)。本研究では、ヌタウナギから、このような部分再編成体を VLR 遺伝子に関して多数得ることにより、それぞれの遺伝子に関して、遺伝子再編成の過程を明らかにすることを旨とした。

4 . 研究成果

われわれは、ヌタウナギ (*Eptatretus burgeri*) の VLR 遺伝子に関し、遺伝子再編成が途中で停止したと考えられる部分再編成体を多数単離し、その構造を解析した。その結果、VLRA /VLRC 遺伝子の部分編成体の中に、LRR 遺伝子セグメントの挿入に伴い、定常領域の配列が重複しているものを多数見いだした。これらは、挿入された LRR 遺伝子セグメントの両端に direct repeats が存在する形になっており、LRR 遺伝子セグメントが定常領域にトランスポーズしたような構造になっていた。これらの部分再編成体が、リンパ細胞でのみ見られるのかどうかを検討したが、今のところ明確な結果が得られていない。

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：大島 健志朗

ローマ字氏名：Oshima, Kenshiro

所属研究機関名：東京大学

部局名：大学院新領域創成科学研究科

職名：特任准教授

研究者番号（8桁）：40537411

研究分担者氏名：高橋 宜聖

ローマ字氏名：Takahashi, Yoshinobu

所属研究機関名：国立感染症研究所

部局名：免疫部

職名：室長

研究者番号（8桁）：60311403

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。