

論文審査の結果の要旨

氏名 木村 鮎子

本論文は三章からなり、第一章では二胚葉動物イソギンチャクの補体系遺伝子の網羅的な単離と発現解析について、第二章では円口類ヤツメウナギの肝臓 EST 解析による補体系および凝固系遺伝子の網羅的な探索について、第三章では軟骨魚類サメからの補体系膜傷害因子遺伝子の単離について述べている。

補体系は、哺乳類の血中において、主に感染初期の生体防御反応に関わるほか、抗体分子による殺菌作用を補う働きも持つ、自然免疫系の主要構成員の 1 つである。哺乳類補体系は 30 種以上の因子によって構成され、3 つの活性化経路と膜障害経路に加えて、幾つかの活性制御機構を有する非常に複雑で洗練された反応系であるが、その主要因子の多くは複雑で固有なドメイン構造を共有する 5 つのモザイク蛋白質ファミリーに分類される。これらの因子はエクソンシャプリングによって生じた共通祖先型分子が、さらに遺伝子重複・機能分化を経てできたものと考えられている。

本論文は、血中補体系の起源と進化過程を明らかにするために、固有のドメイン構造をもつ 5 つの補体系因子ファミリーがエクソンシャプリングと遺伝子重複・機能分化によって成立してきた過程に着目した解析について述べている。

これまで、新口動物ホヤやナメクジウオでは補体系遺伝子ファミリーの網羅的な探索が既に行われており、ほぼ全ての遺伝子ファミリーが既に存在することが分かっている。新口動物以外の動物では、旧口動物カブトガニから *C3*・*factor B* 遺伝子が、旧口動物イカと二胚葉動物サンゴからは *C3* 遺伝子の存在が報告されているが、各補体系遺伝子ファミリーの出現時期を特定する情報は存在しなかった。また、補体系遺伝子ファミリー内での遺伝子重複・機能分化の生じた時期についても、重要な系統的位置を占める無顎脊椎動物である円口類における体系的な情報の不足のため、明らかではなかった。

本論文の第一章では、ドラフトゲノム配列に基づく RT-PCR・RACE-PCR により、補体系遺伝子ファミリーのうちの 3 つ、*C3*・*factor B*・*MASP* ファミリーの遺伝子が二胚葉動物イソギンチャクから初めて単離された。これらの遺伝子は、哺乳類の補体系因子の機能に必須と考えられる固有のドメイン構造とアミノ酸配列をほぼ完全に保持しており、二胚葉動物の補体系因子が哺乳類のものと類似の生理機能を持つことが示唆された。また、ドラフトゲノム検索の結

果から、これらの遺伝子が平板動物、カイメンやエリベンモウチュウのゲノム中には存在しないことも分かり、これら三つの補体系因子が、二胚葉・三胚葉動物の共通祖先において生じたことを明らかにした。また、これらの遺伝子がいずれも内胚葉性組織、特に触手の内胚葉において強く発現していることが *in situ hybridization* によって明らかになった。この結果は、二胚葉動物の原始補体系が、内胚葉に接した未分化の胃腔(胃体腔)内で働く系であることを強く示唆した。

第二章では、円口類ヤツメウナギの肝臓 EST 解析により、円口類には補体系経路のうち、抗体依存的経路や膜障害経路で働く因子をコードする、遺伝子重複・機能分化後の哺乳類タイプの遺伝子が全く存在しないことが明らかになった。また、有顎脊椎動物以外の動物で初めて *factor I* 遺伝子を単離して、そのドメイン構造の起源が円口類の分岐以前に遡れることを示し、また *C6* ファミリーについては遺伝子そのものが円口類に存在しない可能性の高いことを明らかにした。

第三章では、これらの動物から全く見つからなかった *C6* 遺伝子ファミリーの起源を明らかにするために、軟骨魚類サメの肝臓の RNA を用いて、*C6* ファミリー遺伝子の全配列に共通した縮退プライマーを用いた RT-PCR および RACE を行った。結果としてサメから、ヒト *C6* と全く同じドメイン構造をもつ *C6* 遺伝子が単離され、補体系膜障害経路に関わる *C6* 遺伝子ファミリーの出現時期が軟骨・硬骨魚類の分岐以前であることを明らかにした。

これらの結果を総合して本論文は、多成分から構成される哺乳類補体系の原型が、これまでの認識より遥かに古く、二胚葉・三胚葉動物の分岐以前から存在していたことを明らかにした。また、血管系や体腔を持たない二胚葉動物においては、胃体腔が補体系による生体防御の場として機能する可能性を示した。さらに、遺伝子重複・機能分化による原始的な無脊椎動物型の補体系から複雑な哺乳類型の補体系への劇的な進化は、円口類と有顎脊椎動物の分岐以降に集中して起こったことが初めて明らかになった。これらの研究成果は、補体系および自然免疫系の進化過程についての従来の概念を大幅に変えるものである。

なお、本論文第一章は、坂口 絵里・野中 勝との共同研究であり、第二章は池尾 一穂・野中 勝との共同研究であり、第三章は野中 勝との共同研究であるが、いずれも論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士(理学)の学位を授与できると認める。