

学位論文 博士（理学）

棘皮動物イトマキヒトデ幼生に着目した原始的な  
生体防御システム及びその制御メカニズムの解析

2012年9月

慶應義塾大学大学院理工学研究科

古川 亮平

# 主 論 文 要 旨

報告番号	甲 乙 第	号	氏 名	古川 亮平
主論文題目： 棘皮動物イトマキヒトデ幼生に着目した原始的な生体防御システム及びその制御メカニズムの解析				
(内容の要旨)				
<p>自然免疫は、全ての多細胞動物に備わった生体防御システムである。「系統進化における生体防御システムの共通性と多様性はどのようなものか？」という問いは、自然免疫を深く理解するために重要な命題である。本論文では、系統進化的に原始的な棘皮動物であるイトマキヒトデに焦点を当て、幼生の間充織細胞が示す防御行動及びその制御メカニズムを解析した。</p> <p>第1章では、細胞性免疫研究の祖であるメチニコフによる貪食作用発見の科学史を紐解きながら、棘皮動物ヒトデの系統進化的位置と、<i>in vivo</i> 及び <i>in vitro</i> における個体発生を通じた比較免疫学の研究材料としての有用性を述べる。</p> <p>第2章では、幼生の生防御機能が発動する生理学的あるいは病的状況に鑑み、間充織細胞が効率の良い空間的配置を取ること示す。また、注射された種々の異物に対し、間充織細胞が、異物への移動、凝集塊形成、細胞融合、包囲化作用、貪食作用といった多様な防御行動を示すことを述べる。さらに、間充織細胞は、同種細胞を特異的に認識し、同種と認識できないあらゆる対象を異物と見なすことにも言及する。</p> <p>第3章では、間充織細胞の防御行動を細胞質側で制御する候補分子として、DOCK180 superfamily に属するタンパク質 (ApDOCK タンパク質) の機能解析を行った。無機的及び有機的異物の注射実験から、ApDOCK タンパク質は、細胞融合と貪食作用には関与しないが、異物への移動、ならびに包囲化の維持に必須であることを見出した。さらに、培養下での解析から、間充織細胞が伸展させる葉状仮足先端において、ApDOCK タンパク質がアクチン重合を正に制御している事実を指摘する。</p> <p>第4章では、防御行動の細胞外における制御分子として、Scavenger Receptor Cysteine-Rich ドメイン (SRCR ドメイン) を有するタンパク質 (ApSRCR1 タンパク質) の発現及び機能解析を行った。ApSRCR1 タンパク質は、間充織細胞の小胞膜に局在するが、バクテリア感作により細胞外に分泌され、バクテリアとの結合を介して間充織細胞の貪食作用を促進するオプソニン作用を有する可能性を示唆した。</p> <p>以上の研究成果及び予備的データに基づき、第5章では、ヒトデ幼生の間充織細胞と哺乳類のマクロファージの機能類似性について述べる。これを受け、進化の過程における、免疫細胞の防御行動を支える細胞内外の制御メカニズムに関して考察する。さらに、変態を介した異物認識戦略の変化も含め、成体の生体防御システムの制御メカニズム解明に向けた今後の展望を述べる。これらを通して、イトマキヒトデが自然免疫メカニズムをより深く理解するために有用な実験モデルとなり得ることを提唱する。</p>				

## SUMMARY OF Ph.D. DISSERTATION

School Fundamental Science and Technology	Student Identification Number 81045233	SURNAME, First name FURUKAWA, Ryohei
<b>Title</b> Analysis of the primitive defense system and its regulatory mechanisms in the larva of the starfish, <i>Asterina pectinifera</i>		
<b>Abstract</b> <p>All multicellular organisms have an innate immune mechanism that represents a phylogenetically ancient defense mechanism. From an evolutionary viewpoint, the functional commonalities and diversities in the defense system provide deep insight into the innate immune mechanism. In this thesis, I focus on the starfish, <i>Asterina pectinifera</i>, which is a phylogenetically primitive animal, and analyze the larval mesenchyme cells for defensive behaviors and their regulatory mechanisms at the cellular and molecular level.</p> <p>In Chapter 1, I describe the phylogenetic position of the starfish and its availability as an <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> research model for developmental and comparative immunology, while introducing the history of the discovery of phagocytosis by Metchnikoff, which provided a platform for cellular immunology.</p> <p>In Chapter 2, I show that the spatial distribution of mesenchyme cells is effective for host defense under physiological and pathological situations. I describe how, when experimentally injected with various foreign bodies, the mesenchyme cells exhibit a wide variety of defense behaviors such as directional migration, aggregate formation, cell-to-cell fusion, encapsulation and phagocytosis. Furthermore, I demonstrate that mesenchyme cells both identify allogeneic cells and recognize non-allogeneic targets as foreign bodies.</p> <p>In Chapter 3, I characterize the function of a DOCK180 superfamily protein, termed <i>ApDOCK</i> protein, as a candidate protein that intracellularly regulates the defense behaviors of larval mesenchyme cells. In injection experiments using inorganic or organic foreign bodies, I show that <i>ApDOCK</i> protein is essential for the migratory congregation and persistence of encapsulation of mesenchyme cells, but not is associated with their cell-to-cell fusion or phagocytosis. In addition, in analyses using mesenchyme cells in culture, I demonstrate that <i>ApDOCK</i> protein promotes the organization of cytoskeletal actin at the leading edge of the lamellipodium of mesenchyme cells.</p> <p>In Chapter 4, I demonstrate the expression profile and function of a scavenger receptor cysteine-rich-domain-containing protein, termed <i>ApSRCR1</i> protein, as an extracellular regulator of mesenchyme cells. I show that <i>ApSRCR1</i> protein is specifically localized to cytoplasmic vesicles as a membrane-bound protein in naive mesenchyme cells. Furthermore, I raise the possibility that <i>ApSRCR1</i> protein is secreted from the mesenchyme cells by bacterial stimuli and acts as an opsonin to promote phagocytosis of the mesenchyme cells through the binding of bacteria.</p> <p>On the basis of these findings and other preliminary data, in Chapter 5 I describe the functional similarity between larval mesenchyme cells of the starfish and mammalian macrophages. Given this, I provide insight into features of the intracellular and extracellular regulatory mechanisms that underlie the defense behaviors of immune cells during the evolutionary process. In addition, I discuss the future prospects about the regulatory mechanisms of the adult defense system, including the self/nonself recognition strategies that change via metamorphosis. Taking all of the data together, I propose that <i>A. pectinifera</i> is a useful research model that will enable us to further understand the innate immune system.</p>		