

Title	イトマキヒトデにおける成体型免疫系の発生及び調節機構の解析
Sub Title	Analysis of the development and regulation of the adult-type immune system in <i>Patiria pectinifera</i>
Author	倉石, 立(Kuraishi, Ritsu)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2024
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2023.)
JaLC DOI	
Abstract	本研究では、成体型免疫系の発達に関わる造血関連遺伝子ネットワークを探索するとともに、成体型免疫系で発達している液性免疫に着目し、成体の体腔細胞による細胞性免疫応答との相互作用について解析した。 造血関連マーカー遺伝子の探索については、稚ヒトデ期に到達後に毎日6個体ずつサンプリングした約100個体の1個体RNA-seqデータから、免疫系の発生に関わる遺伝子ネットワークを抽出した。その結果、免疫細胞の分化に関わる多くの転写因子がネットワークを形成していることが明らかになった。そしてこれらの転写因子の最上流に、SP1転写因子が存在する可能性が浮かび上がってきた。現在、in situ hybridizationにより、変態過程におけるSP1遺伝子の発現解析を進めているところである。 成体における液性免疫系の解析では、先行研究で明らかとなった、成体の体腔液に大量に存在する細胞外小胞 (EVs) に着目した。In vitroにおいて、体腔細胞を含む体腔液からEVsを除去すると、体腔細胞が異物に対して形成する凝集塊のサイズが減少することが明らかになった。そこで、免疫応答時の体腔細胞を走査型電子顕微鏡で観察したところ、体腔細胞表面周辺で膨大な数のEVsが確認された。また、EVsの主要な供給源は、体腔細胞の葉状仮足や糸状突起であることがわかった。蛍光ラベルしたEVsを体腔細胞に添加すると、エンドソーム内にEVsが取り込まれている様子に加え、EVs中の蛍光色素が、エンドソームから細胞質中に移動している様子も観察された。これらの結果から、EVs中に含まれる物質が、体腔細胞間で伝達されている可能性が示唆された。 成体型免疫系の調節因子については、最も原始的な炎症性サイトカインの1種であるマクロファージ遊走阻止因子(MIFs)についても着目した。MIFsは進化的に保存されている一方、進化的に保存された受容体は発見されていない。体腔細胞表面タンパク質から、MIFsと結合するタンパク質をアフィニティークロマトグラフィーによって探索したところ、受容体候補として、予測サイズ35〜75kDaのタンパク質が検出された。 In this study, we searched for hematopoietic-related gene networks involved in the development of the adult-type immune system. We also focused on the humoral immune system, which is developed in the adult-type immune system, and analyzed its interaction with the cellular immune response by adult coelomocytes. For the search for hematopoietic-related marker genes, a gene network related to the development of the immune system was extracted from time-series single-individual RNA-seq data of approximately 100 individuals sampled six individuals each day after reaching the juvenile starling stage. The results revealed that many transcription factors involved in the differentiation of immune cells form a network. The possibility that the SP1 transcription factor exists at the upstream of these transcription factors has emerged. We are currently analyzing the expression of SP1 gene during metamorphosis by in situ hybridization. The analysis of the humoral immune system in adults focused on extracellular vesicles (EVs), which are present in large quantities in the body fluids of adults. In vitro, the removal of EVs from coelomic fluids containing coelomocytes decreased the size of coelomocyte aggregates formed against foreign substances. Scanning electron microscopy of coelomocytes during the immune response revealed a huge number of EVs around the surface of the cells. Furthermore, the major source of EVs was found to be the lamellipodia and filopodia of somatic cells. When fluorescently labeled EVs were added to coelomocytes, in addition to the uptake of EVs into the endosomes, the fluorescent dyes in EVs were observed to migrate from endosomes to the cytoplasm. These results suggest that substances contained in EVs may be transmitted between coelomocytes. Regarding the regulators of the adult immune system, we also focused on macrophage migration inhibitory factors (MIFs), one of the most primitive proinflammatory cytokines. While MIF is evolutionarily conserved, no evolutionarily conserved receptors have been found. Affinity chromatography was used to search for proteins that bind to MIFs from coelomocyte surface proteins, and proteins with predicted sizes of 35-75kDa were detected as receptor candidates.
Notes	
Genre	Research Paper

URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2023000013-20230029
-----	---

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2023年度 学事振興資金（共同研究）研究成果実績報告書

研究代表者	所属	文学部	職名	准教授	補助額	1,340千円
	氏名	倉石 立	氏名（英語）	Ritsu Kuraishi		
研究課題（日本語）						
イトマキヒトデにおける成体型免疫系の発生及び調節機構の解析						
研究課題（英訳）						
Analysis of the development and regulation of the adult-type immune system in Patiria pectinifera						
研究組織						
氏 名 Name		所属・学科・職名 Affiliation, department, and position				
倉石立（Ritsu Kuraishi）		文学部・生物学教室・准教授				
古川亮平（Ryohei Furukawa）		文学部・生物学教室・助教				
田口瑞姫（Mizuki Taguchi）		分学部・生物学教室・助教				
1. 研究成果実績の概要						
本研究では、成体型免疫系の発達に関わる造血関連遺伝子ネットワークを探索するとともに、成体型免疫系で発達している液性免疫に着目し、成体の体腔細胞による細胞性免疫応答との相互作用について解析した。 造血関連マーカー遺伝子の探索については、稚ヒトデ期に到達後に毎日6個体ずつサンプリングした約 100 個体の 1 個体 RNA-seq データから、免疫系の発生に関わる遺伝子ネットワークを抽出した。その結果、免疫細胞の分化に関わる多くの転写因子がネットワークを形成していることが明らかになった。そしてこれらの転写因子の最上流に、SP1 転写因子が存在する可能性が浮かび上がってきた。現在、in situ hybridizationにより、変態過程におけるSP1遺伝子の発現解析を進めているところである。 成体における液性免疫系の解析では、先行研究で明らかとなった、成体の体腔液に大量に存在する細胞外小胞（EVs）に着目した。In vitroにおいて、体腔細胞を含む体腔液からEVsを除去すると、体腔細胞が異物に対して形成する凝集塊のサイズが減少することが明らかになった。そこで、免疫応答時の体腔細胞を走査型電子顕微鏡で観察したところ、体腔細胞表面周辺で膨大な数のEVsが確認された。また、EVsの主要な供給源は、体腔細胞の葉状仮足や糸状突起であることがわかった。蛍光ラベルしたEVsを体腔細胞に添加すると、エンドソーム内にEVsが取り込まれている様子に加え、EVs中の蛍光色素が、エンドソームから細胞質中に移動している様子も観察された。これらの結果から、EVs中に含まれる物質が、体腔細胞間で伝達されている可能性が示唆された。 成体型免疫系の調節因子については、最も原始的な炎症性サイトカインの1種であるマクロファージ遊走阻止因子(MIFs)についても着目した。MIFsは進化的に保存されている一方、進化的に保存された受容体は発見されていない。体腔細胞表面タンパク質から、MIFsと結合するタンパク質をアフィニティクロマトグラフィーによって探索したところ、受容体候補として、予測サイズ35~75 kDaのタンパク質が検出された。						
2. 研究成果実績の概要（英訳）						
In this study, we searched for hematopoietic-related gene networks involved in the development of the adult-type immune system. We also focused on the humoral immune system, which is developed in the adult-type immune system, and analyzed its interaction with the cellular immune response by adult coelomocytes. For the search for hematopoietic-related marker genes, a gene network related to the development of the immune system was extracted from time-series single-individual RNA-seq data of approximately 100 individuals sampled six individuals each day after reaching the juvenile starling stage. The results revealed that many transcription factors involved in the differentiation of immune cells form a network. The possibility that the SP1 transcription factor exists at the upstream of these transcription factors has emerged. We are currently analyzing the expression of SP1 gene during metamorphosis by in situ hybridization. The analysis of the humoral immune system in adults focused on extracellular vesicles (EVs), which are present in large quantities in the body fluids of adults. In vitro, the removal of EVs from coelomic fluids containing coelomocytes decreased the size of coelomocyte aggregates formed against foreign substances. Scanning electron microscopy of coelomocytes during the immune response revealed a huge number of EVs around the surface of the cells. Furthermore, the major source of EVs was found to be the lamellipodia and filopodia of somatic cells. When fluorescently labeled EVs were added to coelomocytes, in addition to the uptake of EVs into the endosomes, the fluorescent dyes in EVs were observed to migrate from endosomes to the cytoplasm. These results suggest that substances contained in EVs may be transmitted between coelomocytes. Regarding the regulators of the adult immune system, we also focused on macrophage migration inhibitory factors (MIFs), one of the most primitive proinflammatory cytokines. While MIF is evolutionarily conserved, no evolutionarily conserved receptors have been found. Affinity chromatography was used to search for proteins that bind to MIFs from coelomocyte surface proteins, and proteins with predicted sizes of 35-75 kDa were detected as receptor candidates.						

3. 本研究課題に関する発表			
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行 年月 (著書発行 年月・講演 年月)
Taguchi, M., Minakata, K., Sato, H., Tame, A., Furukawa, R.	Prediction of the process for the immune system maturation in the sea star, Patiria pectinifera.	he 15th congress of the International Society of Developmental and Comparative Immunology	2023年8月
南方宏太, 田口瑞姫, 多米晃裕, 倉石立, 古川亮平	イトマキヒトデ成体の免疫細胞 における細胞外小胞の分泌と取 り込み	日本比較免疫学会第34回学術集会	2023年9月
田口瑞姫, 古川亮平	イトマキヒトデの個性確立メ カニズムの解明を目指した時系 列1個体RNA-seq解析	日本比較免疫学会第34回学術集会	2023年9月