研究ノート

免疫グロブリンスーパーファミリーのドメイン2

Immunoglobulin Superfamily Domain (2)

大　堀　兼　男

はじめに
IgSFの検索と系統樹の作成
IgSFタンパク質の数
IgSFsdの検索
おわりに

はじめに

免疫グロブリンスーパーファミリー (IgSF)は、免疫グロブリン(Ig)ドメインを共通に持つタンパク質のグループであるが、このグループに属するタンパク質は動物などにおいて様々なものが存在し、多様性に富んでいる。すなわち、IgSFには、抗体やT細胞受容体など免疫現象で働くもの、細胞接着タンパク質として働くもの、細胞膜に存在して受容体として化学信号の伝達に働くものなど種々ある。とくに、細胞接着タンパク質は、多細胞生物において細胞から組織・器官等を構築して維持しているときに重要な役割を果たしている。また、哺乳類では、免疫反応に関与するIgSFが多く知られており、抗体(免疫グロブリン)は中心的な役割を果たしている。このように、多細胞生物において、IgSFは重要なタンパク質のグループといえる。

一方、ゲノム研究の進展に伴い、様々な動物のゲノム情報が明らかにされている。その結果、単一のタンパク質の研究ではなく、様々な動物における相同なタンパク質の相同関係が検討できるようになった。そこで、IgSFの進化を探るために、前論文[1)]では脊椎動物に至る進化の系列の動物を対象に、IgSFの中で単一の免疫グロブリン(Ig)ドメインを持つタンパク質(IgSFsd)の相同性について検討した。これらの動物を通して、共通の IgSFsdの存在は認められなかったが、脊椎動物での共通のIgSFsdの存在が認められた。本論文では、前論文において検討対象ではなかった無脊椎動物のIgSFのIgSFsdを同様に検索し、その進化について検討する。

IgSFの検索と系統樹の作成

対象とした無脊椎動物は、平板動物のセンモウヒラムシ、刺胞動物のイソギンチャク、軟体動物のナスビカサガイ、環形動物のヒル、線形動物の線虫と節足動物のショウジョウバエである。動物は側生動物と真正後生動物とに大きく分けられる[2)]。側生動物には、海綿動物と平板動物が含まれる。つぎに、真正後生動物は放射相称動物と左右相称動物とに分けられる。放射相称動物には刺胞動物が含まれる。一方、左右相称動物はさらに前口動物と後口動物とに分けられる。前口動物はさらに冠輪動物と脱皮動物とに分類される。冠輪動物の中に軟体動物と環形動物が存在する。脱皮動物には、線形動物と節足動物が含まれる。後口動物には、棘皮動物、半索動物及び脊索動物が含まれる。すなわち、対象とした動物は脊椎動物以外の分類のレベルでは「門」の動物のグループから採用した。

各動物のIgSFは、SUPERFAMILY 1.75(Wilson et al. (1999))のデータベースから検索し、ドメイン構造はInterProt(Hunter et al.(2011))およびSMART(Letunic et al.(2012))で決定した。また、

1) 大堀(2013)

2) 無脊椎動物の分類については、白山(2000)、佐藤(2004)および藤田(2010)を参照のこと。

表1　各種生物が保有する免疫グロブリンスーパーファミリー数

生物名	種　名	動物群	タンパク質数	ドメイン数
センモウヒラムシ	Trichoplax adhaerens	平板動物	73	165
イソギンチャク	Nematostella vectensis	刺胞動物	195	451
ナスビカサガイ	Lottia gigantes	軟体動物	236	539
ヒル	Helobdella robustu	環形動物	261	600
線虫	Caenorhabditis elegans	線形動物	183	1718
ショウジョウバエ	Drosophila melanogaster	節足動物	444	3044

タンパク質の相同検索には、UnitPro(Wu et al.(2006))を使用した。タンパク質間の相同性を検討するため、Clustal 2(Larkin et al.(2007))を使用して系統樹を作成した。系統樹の作成には、Njplot(Perrière and Gouy(1996))を利用した。

IgSFタンパク質の数

SUPERFAMILYは、スーパーファミリーレベルでのタンパク質のドメイン分類に基づくモデルを含むデータベースである。このデータベースにより、様々な動物からのタンパク質のドメイン分類が行われている。そこで、このSUPERFAMILYに基づくドメインの分類を引用して、検索対象とした無脊椎動物のIgSFのタンパク質数とドメイン数を表1にまとめた。平板動物のセンモウヒラムシのIgSFの数が最も少なく、節足動物のショウジョウバエのIgSFが多かったが、他の無脊椎動物ではその数は200前後であまり違いはみられなかった。一方、前論文に載せたカイメンのIgSFの個数は314個であり、他の無脊椎動物と比較してやや多かった。また、脊椎動物の有顎類では1000以上となり、脊椎動物の段階で複雑さの程度が進んだことが推測される。

IgSFsdの相同検索

センモウヒラムシのIgSFsdは、SUPERFAMILYのデータベースより10個見つけたが、アミノ酸数の少ないものや類似配列のものを除き、4個が相同検索の対象となった。これらのタンパク質と類似のIgSFsdはなかったが、B3RQR3[3]は同じ動物のタンパク質B3RQR1の1番目のドメインと類似していた(アミノ酸配列の類似性は26.5%)。B3RQR1はIgドメインを6個、フィブロネクチンタイプⅢ(FNⅢ)ドメインを3個持つ構造であり、細胞接着タンパク質のL1[4]と類似の構造を持っていた。すなわち、平板動物という初期の動物の段階ですでに2種類のドメインを持つ複雑なIgSFに属するタンパク質を持っていたことになる。

刺胞動物のイソギンチャクのIgSFsdは、SUPERFAMILYのデータベースより22個が見つかったが、アミノ酸数が少ないものや類似配列を除き、3個のタンパク質について相同検索を行なった。しかし、3個(A7SKR5、A7RYF7およびA7T483)とも類似のIgSFsdは見つからなかった。この中、A7SKR5は、イソギンチャクの他のIgSFのタンパク質(A7RYZ8とA7RWV8)と類似のIgドメインを持っていた。しかし、両者とも複数のドメインを有しており、A7SKR5とは異なる構造になっている。つぎに、A7RYF7は同じ動物のA7SDB2の3個のIgドメインの一つと類似していた。このように、刺胞動物であるイソギンチャクにおいても、IgSFは複数個のIgドメイン構成が多くなっていると思われる。

軟体動物のナスビカサガイのIgSFsdは33個あったが、同様に検索対象にしたのは、10個のタンパク質だった。これらのタンパク質は4つのグループに分類できた。1つはV4B7A5である。このタンパク質は他の動物に類似の

3) 以後、タンパク質の名称はUnitProで使われているAccessionコードを使うことにする。

4) L1については、Moos(2002)や Kiefel(2012)を参照のこと。

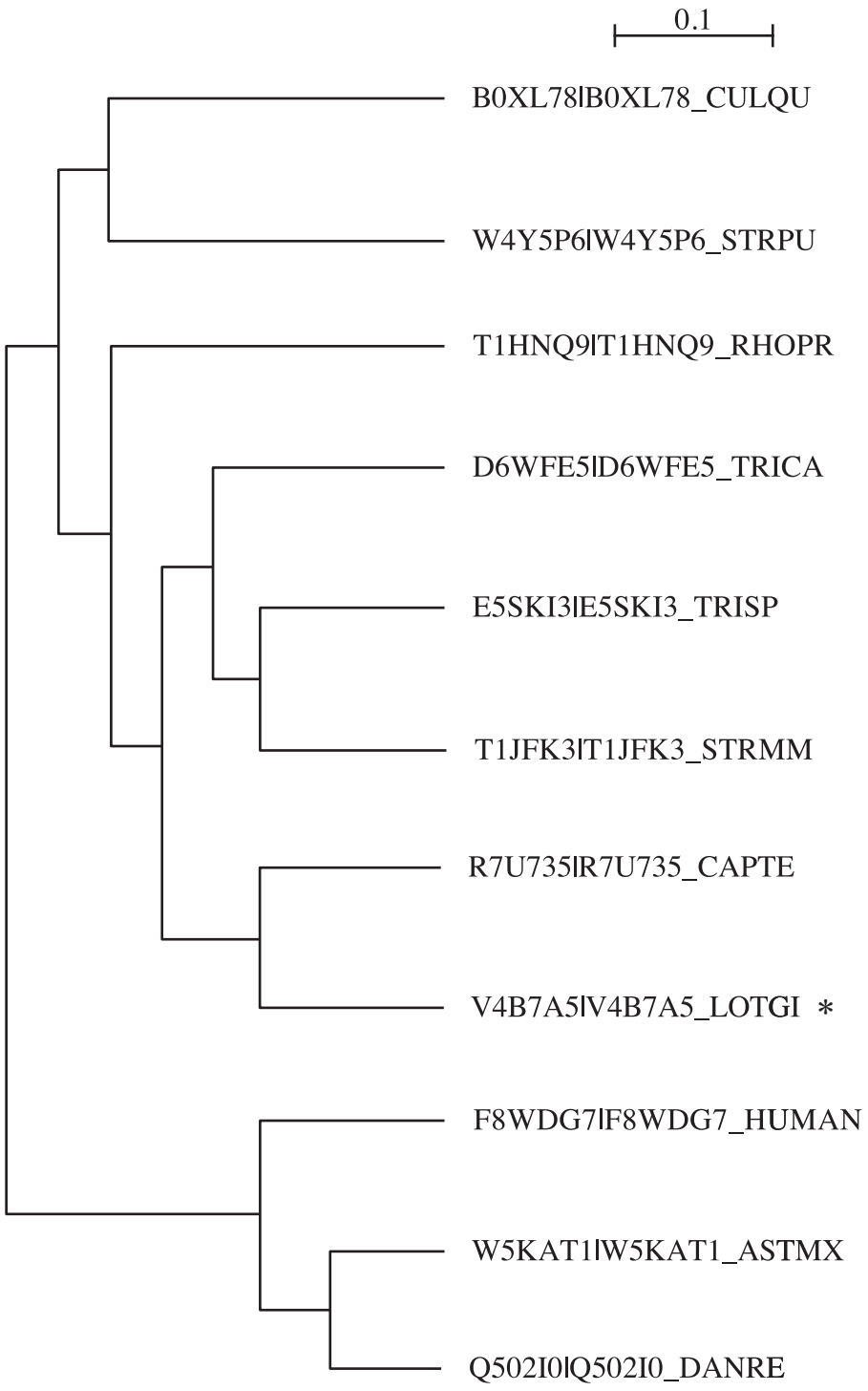

図1　ナスビカサガイのIgSFsdの系統樹

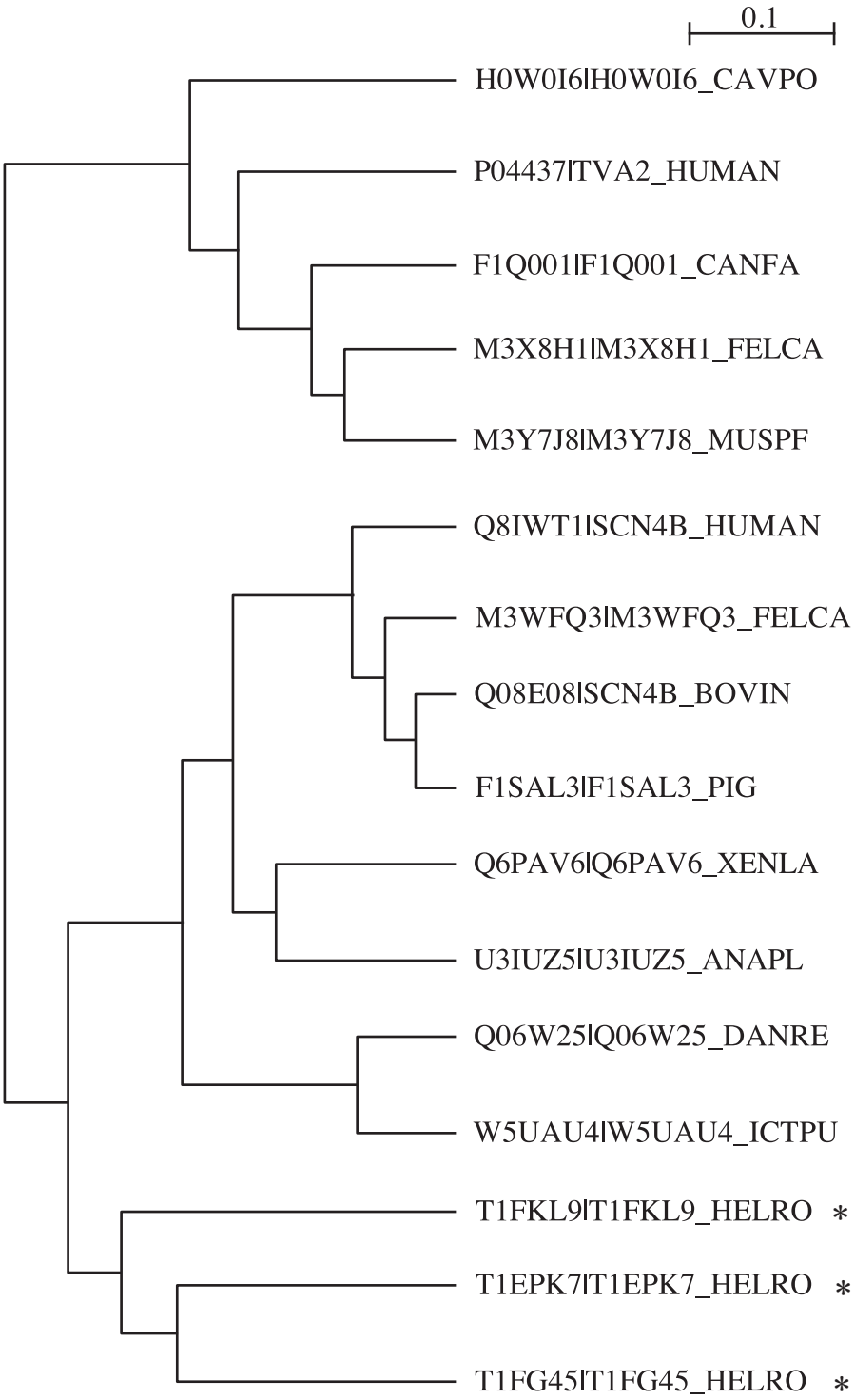

図2　ヒルのIgSFsdの系統樹(その1)

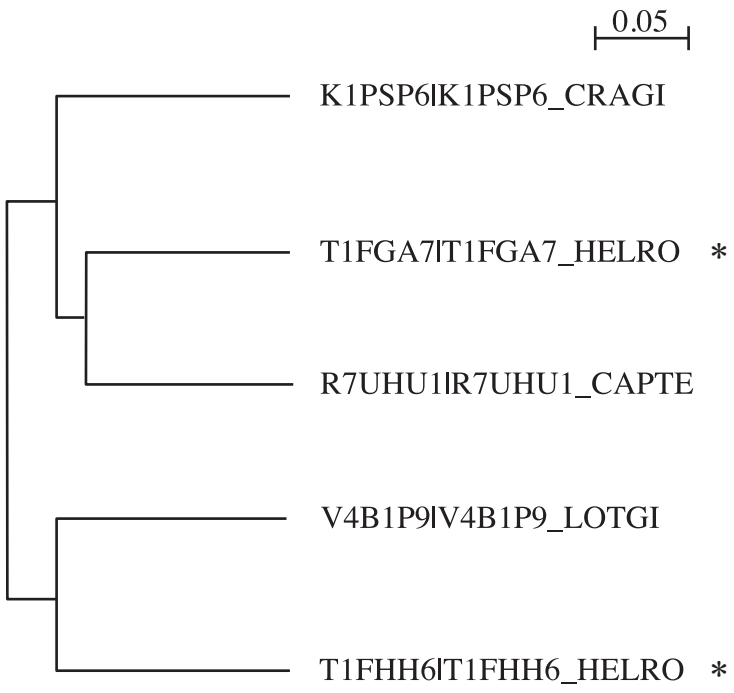

図3　ヒルのIgSFsdの系統樹(その2)

IgSFsdが見つかった。動物のグループとしては、環形動物、線形動物、節足動物、棘皮動物、脊椎動物が含まれる。これらのタンパク質の系統樹を図1に示した。ヒトの類似IgSFsdはF8WDG7であるが、このタンパク質は不活性型のチロシンタンパク質キナーゼ7である。このタンパク質はIgドメインは持っているが、キナーゼのドメインが欠けている。また、興味深いのは、検索でV4B7A5と類似のドメインを持つヒルのT1EE45を見つけたことである。T1EE45はIgドメインを7個とキナーゼドメインを1個を持っており、チロシンキナーゼと考えられる。2つ目のグループは4個あったが、同じグループを形成し、他の動物では近縁の環形動物で類似のタンパク質が見つかっている。3つ目のグループは2個のタンパク質で、同じグループを形成しているが、他の動物などには類似のものは見つかっていない。4つ目のグループは3個のタンパク質があるが、これらは類似のタンパク質が全く見つかっていない。

環形動物のヒルのIgSFsdは33個あったが、検索対象になったのは17個だった。1つ目のグループは、3個のタンパク質(T1FKL9、T1EPK7、T1FG45)を含み、他の動物にも類似のタンパク質がある。これらのタンパク質は、ナトリウムイオンチャネルβ4とT細胞受容体α鎖のグループであった(図2)。2つ目のグループは2個のタンパク質(T1FHH6とT1FGA7)で、環形動物や軟体動物のタンパクと類似している(図3)。T1FHH6はナスビカサガイのV4B1P9に近く、T1FGA7はイトゴカイ(環形動物)のR7UHU1やマガキ(軟体動物)のK1PSP6に近い。3つ目のグループは、T1FI29だけだが、イトゴカイのR7UPB3と類似している。4つ目のグループもT1EUA5だけだが、他の動物に類似のタンパク質は見つからなかった。しかし、IgSFファミリーのタンパク質であるBasiginの第2番目のドメインと類似している。残り10個のタンパク質は類似なIgSFsdは見つからな

かった。

線虫のIgSFsdは6個あったが、検索対象としたのは4個であった。これらのタンパク質は3つのグループに分かれる。1つ目のグループは、Q5WRU0とQ9N5Z2である(図4)。これらのタンパク質に類似のものが、節足動物、線形動物および棘皮動物に見つかった。その中で、アメリカムラサキウニ(棘皮動物)のW4ZJB4は、同じ動物の他のタンパク質(D2T1S8)のドメインの1つと類似であった。D2T1S8は線維芽細胞成長因子受容体類似タンパク質で、Igドメイン3個を持っている。2つ目のグループはQ9NAF4であり、他の線形動物のタンパク質に類似のものが見つかった。3つ目のグループはQ22575であり、他に類似のタンパク質はなかった。

ショウジョウバエのIgSFsdは5個あったが、検索対象としたのは4個だった。Q9VTG8とQ8SX06は同じグループに属し、線虫の1つ目のグループに属することがわかった(図4)。つぎに、Q9W258は他の動物と類似のタンパク質は見つけられなかったが、ショウジョウバエのQ9W259の1番目のドメインと類似していた。Q9W259は4個のドメインを持ち、3個がIgドメイン、1個がFNⅢのドメインである。このタンパク質は、ニューロトリミニンに類似している。ただし、大多数のニューロトリミニンはFNⅢドメインは持っていない。最後に、Q9W257は他のショウジョウバエで類似のタンパク質が見つかっている。

おわりに

動物の起源は、立襟鞭毛虫のような単細胞生物が群体化して、多細胞化したものと考えられている。最初の動物は海綿動物であるが、細胞間の結合はゆるく、細胞の分化はあるが、明確な器官は見られない。進化上、海綿動物のつぎの動物は平板動物で、個体性が明瞭になった。さらに、口と消化管を持つ刺胞動物と有櫛動物が出現した。これらの動物は放射相称だった。その後、左右相称性の動物が出現した。これらの動物は、発生の段階でできる原口がそのまま成体の口となる前口(旧口)動物と、原口が成体の肛門となり、口が新しくできる後口(新口)動物とに分岐した。後口動物から、棘皮動物が進化し、さらに尾索動物、頭索動物、脊椎動物が進化した。一方、前口動物は、脱皮動物(線形動物、節足動物)と冠輪動物(環形動物、軟体動物)とに分岐した。そこで、本論文では、おもに平板動物から前口動物までの進化の経路の動物のIgSFsdを対象に相同性を検討した。

前論文と同様に、今回の無脊椎動物においても共通のIgSFsdの存在は認められなかった。一方、初期の動物である平板動物でも、2つのドメインを持つ複雑なドメイン構成を有するIgSFがすでに存在していた。このタンパク質を含め、平板動物の段階でIgSFの多様化が進んでいたと思われる。

無脊椎動物において共通のIgSFsdが存在しなかったということは、これらのタンパク質の分子進化速度が速かったことが考えられる。中立進化説[5)]によれば、機能の重要でないタンパク質ほど進化速度は高いことが推定されている。たとえば、ヒストンはDNAと結合してクロマチンを形成し、それが染色体となる。このことから、ヒストンは染色体の安定化に対して重要な機能を持っているといえ、その進化速度は低い。また、ヘモグロビンは全動物を通して存在しているが、その進化速度はヒストンについで低い。それは、ヘモグロビンが酸素を運搬する働きがあり、呼吸生物であれば必須であるからである。このようなことから、IgSFsdは単一ドメインゆえに他のタンパク質でも代替可能な機能を持っていたと推定され、進化速度が早かった。したがって、大きな動物分類群の間では、相同なタンパク質が残っていなかったと推測できる。

一方、動物では、複数のドメインを持つIgSFのタンパク質群が出現し、その結果、重要な機能を有するようになり、様々なIgSFのメンバーが種々の動物で機能するようになったと思われる。動物のIgSFは多くのメンバーが存在し、とくに、脊椎動物では細胞接着タンパク質や受容体のグループに加えて、免

5) 中立説については、Kimura(1983)を参照のこと。

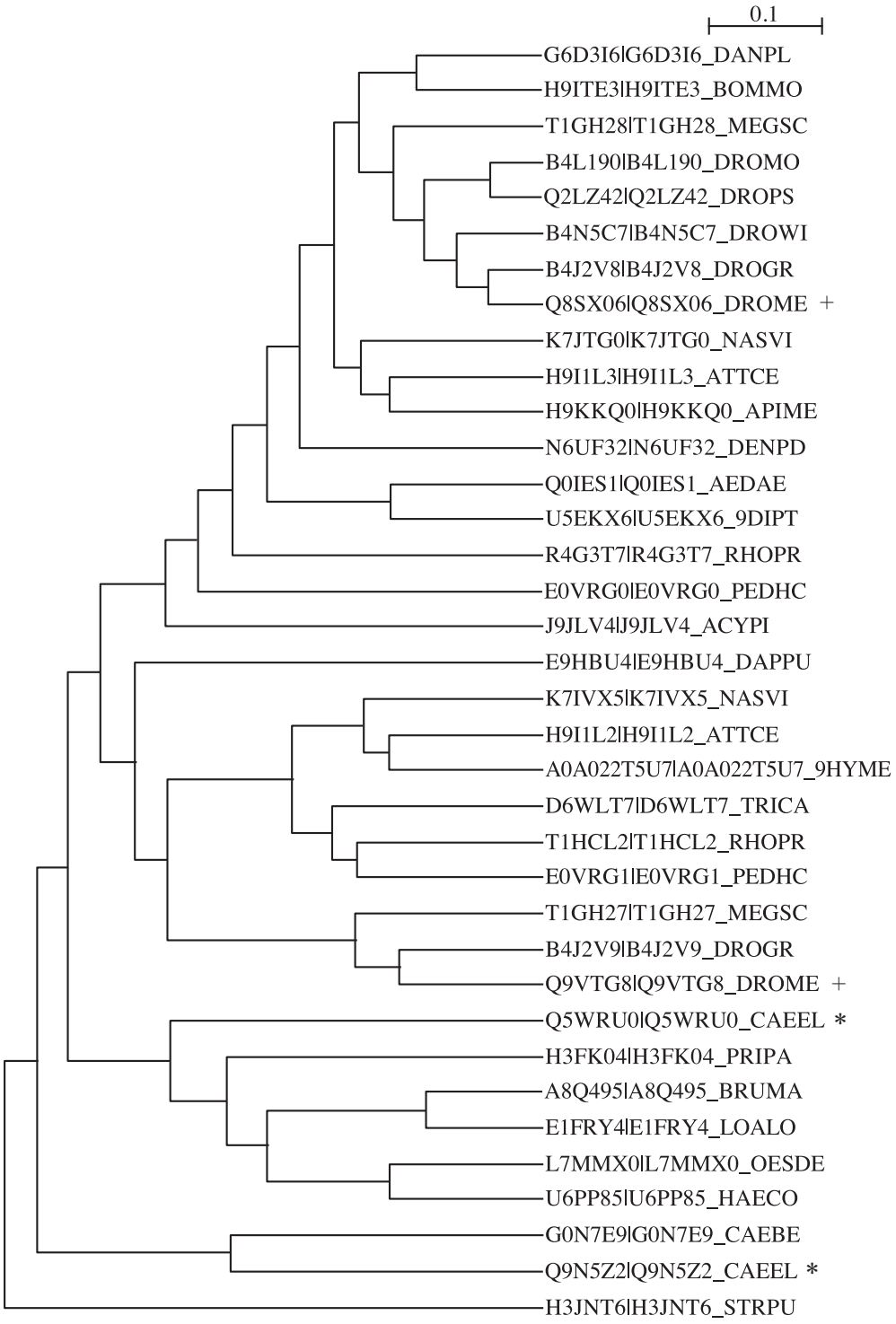

図4 線虫のIgSFsdの系統樹

＊は線虫のIgSFsd　＋はショウジョウバエのIgSFsd

疫グロブリンなどの免疫系で働くIgSFのメンバーが多数見られる。

このようなことは、調べたいくつかの無脊椎動物でも、IgSFsdに類似のドメインを含めて複数のドメインを持つIgSFが見つかっていることからも支持される。たとえば、センモウヒラムシのIgSFsdは、IgドメインとFNIIIドメインを持つIgSFと類似性があった。軟体動物のナスビカサガイでは、IgSFタイプのチロシンキナーゼと類似のIgSFsdが見つかっている。線虫のIgSFsdは線維芽細胞成長因子受容体類似タンパク質のIgドメインと類似であった。ショウジョウバエでは、IgドメインとFNIIIドメインを持つニューロトリミニンのIgドメインと類似のIgSFsdがあった。また、環形動物のヒルではナトリウムイオンチャネルβ4とT細胞受容体α鎖と類似のIgSFsdが見つかっている。この場合は、他のタンパク質と結合して複合体を作っている。

すなわち、無脊椎動物の進化の段階で、IgSFsdは複数のドメインを持つIgSFに進化して、様々なタンパク質のグループとして働いている。とくに、動物は多細胞化を経て進化してきたことから、細胞間の接着に関与する細胞接着タンパク質の出現は重要であったと思われる。このことは、平板動物ですでに細胞接着タンパク質が存在することからも支持される。B3RQR1はIgドメインを6個、FNⅢドメインを3個を持っており、L1とその構造が類似していることから、細胞接着タンパク質と考えられる。また、同じセンモウヒラムシのB3SCK6は、Igドメイン6個、FNⅢドメイン5個を持っている。また、C末端にはL1と類似のドメインを有する。これもまた、細胞接着タンパク質であることが推定される。IgドメインとFNⅢドメインをもつIgSFに属するタンパク質は、L1を含めて動物界に広く分布しており、組織・器官の形成に重要な役割を果たしていると思われる。つまり、多細胞生物である動物では、細胞の接着が必須であることから、細胞接着タンパク質の存在が必要である。そこで、今後はIgSFに属する細胞接着タンパク質についての研究が必要であると考えられる。

文献

大堀兼男『免疫グロブリンスーパーファミリーのドメイン』環境と経営、第19巻第2号、2013年157～166ページ

佐藤矩行、野地澄晴、倉谷滋、長谷部光泰『発生と進化』岩波書店、2004年

白山義久『無脊椎動物の多様性と系統』裳華房、2000年

藤田敏彦『動物の系統分類と進化』裳華房、2010年

Kiefel, H., Bondong, S., Hazin, J., Ridinger, J., Schirmer, U., Riedle, S. and Altevogt, P. “L1CAM: A major driver for tumor cell invasion and motility”, Cell Adhesion & Migration, Vol. 6, 2012, pp.374 - 384

Kimura, M. The Neutral Theory of Molecular Evolution, Cambridge, Cambridge Univ. Press, 1983

Larkin, M.A., Blackshields, G., Brown, N.P. , Chenna, R., McGettigan, P.A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I.M. , Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J.D., Gibson, T.J. and Higgins, D.G. “ Clustal W and Clustal X version 2.0”, Bioinformatics, Vol. 23, 2007, pp. 2947 - 2948

Letunic, I., Doerks, T. and Bork, P. “SMART 7: recent updates to the protein domain annotation resource”, Nucleic Acids Res., Vol. 40, 2012, pp. D302-D305

Hunter, S., Jones, P., Mitchell, A., Apweiler, R., Attwood, T. K., Bateman, A., Bernard, T., Binns, D., Bork, P., Burge, S., de Castro, E., Coggill, P., Corbett M., Das, U., Daugherty, L., Duquenne, L., Finn R. D., Fraser, M., Gough J., Haft, D., Hulo, N., Kahn, D., Kelly E., Letunic, I., Lonsdale, D., Lopez, R., Madera, M., Maslen J., McAnulla, C., McDowall, J., McMenamin, C., Mi H., Mutowo-Muellenet, P., Mulder, N., Natale, D., Orengo, C., Pesseat, S., Punta, M., Quinn A. F., Rivoire, C., Sangrador-Vegas, A., Selengut, J. D., Sigrist, C. J. A., Scheremetjew, M., Tate, J., Thimmajanarthanan, M., Thomas, P. D., Wu,

C. H., Yeats, C. and Yong, S.-Y. “InterPro in 2011: new developments in the family and domain prediction database”, Nucleic Acids Research, 2011, doi, 10.1093/nar/gkr948

Moos, M., Tacke, R., Scherer, H., Teplow, D., Fruh, K. and Schachner, M. “Neural adhesion molecule L1 as a member of the immunoglobulin superfamily with binding domains similar to fibronectin”, Nature, Vol. 334, 2002, pp.701 - 703

Perrière, G. and Gouy, M. “WWW-Query: An on-line retrieval system for biological sequence banks.“, Biochimie, Vol. 78, 1996, pp. 364-369

Wilson, D., Pethica, R., Zhou, Y,. Talbot, C., Vogel, C., Madera, M., Chothia, C., and Gough J. “SUPERFAMILY - Comparative Genomics, Datamining and Sophisticated Visualisation”, Nucleic Acids Res., Vol. 37, 2009, pp. D380 - 386

Wu, C.H., Apweiler, R., Bairoch, A., Natale, D.A., Barker, W.C., Boeckmann, B., Ferro, S., Gasteiger, E., Huang, H., Lopez, R., Magrane, M., Martin, M.J., Mazumder, R., O’Donovan, C., Redaschi, N. and Suzek, B. “The Universal Protein Resource (UniProt): an expanding universe of protein information”, Nucleic Acids Res., Vol. 34, 2006, pp. D187 - 191