

令和 4 年 6 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18H02570

研究課題名(和文) 自然免疫応答を制御する長鎖非コードRNAの機能と発現制御メカニズムの解明

研究課題名(英文) Functional analysis of lncRNAs regulating immune response

研究代表者

秋光 信佳 (Nobuyoshi, Akimitsu)

東京大学・アイソトープ総合センター・教授

研究者番号：40294962

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：細胞内寄生細菌サルモネラは食中毒の原因細菌であり、サルモネラが細胞に侵入した際に、細胞内でどのような自然免疫応答が起きるかを理解することは基礎科学的にも薬学的にも重要な研究対象である。

我々は、これまで研究してきた長鎖ノンコーディングRNAに注目して、サルモネラが細胞に侵入した際に、細胞内で長鎖ノンコーディングRNAがどのように働くかを分子生物学的手法および細胞生物学的手法で調べてきた。その結果、細胞内のRNA分解の調節が重要であることを見いだした。この研究を通じて、核内lncRNAの分解制御による自然免疫応答の制御という新概念を提唱する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

核内lncRNAの分解制御による自然免疫応答の制御という新概念を提唱することを通じて、薬学、免疫学、分子生物学等の発展に大きく貢献する。とくに、自然免疫応答をコントロールする新たな分子機構の発見は、アレルギーなどの自然免疫関連疾患に対する新規創薬標的を提供できるため、薬学的な意義が高い。

研究成果の概要(英文)：We have been studying the cellular response against Salmonella infection in mammalian cells. In this study, we study the role of long noncoding RNA in response to Salmonella infection by techniques of molecular biology and cell biology.

We studied that NEAT1, one of most studied long noncoding RNA, and found that NEAT1 RNA degradation is highly regulated under Salmonella infection and revealed the molecular mechanism.

研究分野：分子生物学

キーワード：RNA サルモネラ 自然免疫

## 1. 研究開始当初の背景

長鎖非コード RNA (lncRNA) は翻訳されない機能性 RNA の総称であり、ヒトゲノムには数万種類がコードされている。世界的な研究競争によって、近年、その機能が明らかになってきた。申請者も、細胞核局在型 lncRNA である MALAT1 が癌転移を促進する遺伝子群の転写制御を担うことを発見した (Tano K. et al., FEBS Lett. 2010; Miyagawa R. et al., RNA 2012)。lncRNA の働きは主に発現量の調節で制御されるため、lncRNA の発現を規定する RNA 分解は重要な機構と考えられる。しかしながら、lncRNA の分解制御についてはほとんど未解明である。

自然免疫系は全ての多細胞生物が保有する感染防御機構であり、哺乳動物では獲得免疫の活性化にも関わる。また、自然免疫系の異常はアレルギーや自己免疫疾患の原因にもなるため、創薬の対象としても重視されている。そのため、自然免疫系の分子機構の解明は、薬学分野において極めて重要な研究領域と言える。

## 2. 研究の目的

我々は、lncRNA が自然免疫応答に関与する可能性を検討してきた結果、ウイルス感染に対する宿主細胞の自然免疫応答を核内 lncRNA がコントロールすることを報告した (Imamura K. et al., Mol. Cell, 2014)。この成果を発展させる過程で、核内 lncRNA の分解制御が自然免疫応答をコントロールする可能性を世界で初めて示した。本研究の目的は、これまで全く着手されていない「核内 lncRNA の分解制御を通じた自然免疫応答のコントロール機構」を解明し、薬学・免疫学・分子生物学の分野に新しい研究領域を切り開くことである。さらに、lncRNA は細胞機能をコントロールする天然の核酸医薬と考え得るため、lncRNA の

上記考案に立脚し、様々な病原体感染後の核内 lncRNA の動態を系統的に調べた。その結果、細胞内で寄生して増殖するサルモネラに感染すると核内 RNA 分解因子 (MTR4 と RRP6) が速やかに分解されることを見いだした (図 1、Imamura K. et al., EMBO J, (2018))。

本研究では、サルモネラ感染による核内 RNA 分解因子分解を担う分子機構の解明を目指した。そして、核内 RNA 分解による自然免疫応答の制御という新しい概念の提案を目指した。

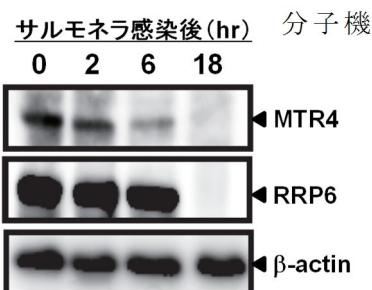


図 1: サルモネラ感染による RNA 分解因子 (MTR4, RRP6) の特異的タンパク質分解

## 3. 研究の方法

図 1 に示した MTR4 と RRP6 の分解を担う分子機構の解明することが本研究の目的である。そのための方法は以下である。

共同研究者と連携することによって、サルモネラの変異株を系統的に作出することによって、核内 RNA 分解をコントロールするサルモネラ側因子を特定する。すなわちバクテリアの分子遺伝学的手法を活用したアプローチを行った。

また、細胞内にはサルモネラ感染を検知して、その情報を下流に伝達するシグナル伝達経路が存在する。系統的ノックダウンスクリーニングおよび阻害剤スクリーニングによって、MTR4 と RRP6 分解に至るシグナル伝達経路を解明する。そして、MTR4 と RRP6 の分解を担う責任プロテアーゼの同定を目指した。

## 4. 研究成果

### 4-1 分子遺伝学的手法を用いた、サルモネラ側因子に関する研究

サルモネラが細胞内に侵入し、増殖する過程では、SPI-1、SPI-2 とカテゴライズされる一群のサルモネラタンパク質が重要であることが知られている。SPI-1、SPI-2 は特異的転写因子によって発現制御されることが知られている。そこで、まず、SPI-1 あるいは SPI-2 の発現ができないサルモネラ変異株を構築し、MTR4 と RRP6 の分解の有無を調べた。その結果、SPI-2 変異株が MTR4 と RRP6 の分解を引き起こさないことがわかった。

次に、SPI-2 因子を系統的に欠損させたサルモネラ変異株を 42 株作出し、サルモネラ変異株を HeLa 細胞に感染させたときの核内 RNA 分解の変化、および MTR4 と RRP6 の分解を調べた。その結果、6 種類の変異サルモネラが MTR4 と RRP6 の分解を引き起こさないことがわかった (Xiaoning S. et al., Biosci. Trends (2020))。たとえば、S 遺伝子変異サルモネラ株が MTR4 と RRP6 分解を引き起こさないことを見いだした。この結果は、特定のサルモネラ因子が宿主細胞の核内 RNA 分解をコントロールすることを示す発見である。

### 4-1 宿主側因子に関する研究

S 因子と相互作用する宿主側センサー分子 (レセプター分子) の同定を試みたが、本研究の実施期間中に特定するには至らなかった。

つぎに、シグナル伝達分子阻害剤ライブラリーを用いて、MTR4 と RRP6 の分解が阻害されるかを調べた。その結果、p38 を阻害することで、RRP6 の分解が阻害されるが、MTR4 の分解は阻害されないことがわかった。この結果は、想定される宿主側センサー分子の下流のシグナル伝達経路が分岐しており、分岐の一方が p38 経路であることを示す。

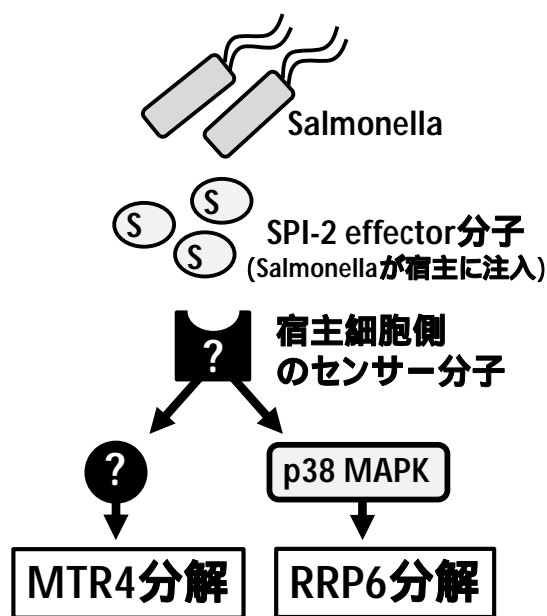


図2:サルモネラ感染による核内RNA分解因子(MTR4とRRP6)のタンパク質分解を引き起こすシグナル経路の解明

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sun Xiaoning, Kawata Kentaro, Miki Atsuko, Wada Youichiro, Nagahama Masami, Takaya Akiko, Akimitsu Nobuyoshi	4. 巻 14
2. 論文標題 Exploration of <i>Salmonella</i> effector mutant strains on MTR4 and RRP6 degradation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BioScience Trends	6. 最初と最後の頁 255 ~ 262
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.5582/bst.2020.03085	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 3件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 秋光信佳
2. 発表標題 長鎖ノンコーディングRNAによるストレス応答制御
3. 学会等名 HOKURIKU RNA CLUB 2019（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 秋光信佳
2. 発表標題 自然免疫応答を制御する長鎖
3. 学会等名 先端モデル動物支援・平成30年成果発表会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 秋光信佳
2. 発表標題 Analysis of host-pathogen interaction by
3. 学会等名 アジレント ゲノミクスフォーラム2018（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	埜 和之 (Tao Kazuyuki)  (00211996)	東京大学・アイソトープ総合センター・助教   (12601)	
研究分担者	高屋 明子 (Takaya Akiko)  (80334217)	千葉大学・大学院薬学研究院・准教授   (12501)	
研究分担者	小野口 玲菜(水谷玲菜) (Onoguchi Rena)  (30780697)	東京大学・アイソトープ総合センター・特任助教   (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------