

令和 6 年 9 月 25 日現在

機関番号：12601

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化）

研究期間：2018～2023

課題番号：17KK0163

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に関する研究

研究課題名（英文）Study of long noncoding RNA in innate immune response

研究代表者

秋光 信佳（Akimitsu, Nobuyoshi）

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） 11,100,000円

渡航期間： 4ヶ月

研究成果の概要（和文）：自然免疫応答を制御する長鎖ノンコーディングRNAの機能および核内代謝制御機構を解明するため、核内RNA分解機構を専門とするデンマーク王国のTorben博士および免疫応答とRNA制御との関係を研究するアメリカ合衆国のAtasoy博士と国際共同研究を実施した。その結果、自然免疫応答を制御する長鎖ノンコーディングRNAであるNEAT1の核内分解がhnRNPHによって制御されていることを発見し、英文専門誌に成果発表した。さらに、メッセンジャーRNAの核内分解に関する新しい機構も発見し、現在も共同研究を継続している。

研究成果の学術的意義や社会的意義

免疫応答の仕組みを解明することは、基礎生物学の発展のみならず、医学・薬学の発展に不可欠である。そのため、免疫応答の仕組みを分子レベルで解明する本研究は、基礎から応用まで幅広いインパクトがある。また、このように重要な研究領域で日本が国際的リーダーシップを発揮してゆくためには、多国間国際共同研究を実施し、最新の科学的知見を共有し、そのうえで、新しい知見を発見することが重要である。このような観点から、免疫応答の専門家やRNA代謝制御の専門家と国際共同研究チームを構築できたことは本邦にとって大きな意義がある。

研究成果の概要（英文）：To elucidate the function of long non-coding RNAs that regulate innate immune responses and their nuclear metabolic control in mammalian cells, we conducted international collaborative research with Dr. Torben in Denmark, an expert in nuclear RNA degradation mechanisms, and Dr. Atasoy in the United States, an expert in immune responses. As a result, we discovered that the nuclear degradation of NEAT1, a long non-coding RNA that regulates innate immune responses, is controlled by hnRNPH, a nuclear RNA binding protein. We have published our findings in a scientific journal. Furthermore, we also discovered a new mechanism related to the nuclear degradation of messenger RNA and are currently continuing our collaborative research.

研究分野：薬学、分子生物学

キーワード：RNA 自然免疫

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1 . 研究開始当初の背景

21 世紀になり、ヒトを含めた様々な生物のゲノム配列が解読された。さらに、大規模トランスクリプトーム解析から、ゲノムからは多種多様な **RNA** が発現していることが判明した。このような **RNA** はタンパク質のアミノ酸配列をコードしていないと想定されたことから、**ノンコーディング RNA** と総称されるようになった。発生や分化に応じて**ノンコーディング RNA** の発現パターンがダイナミックに変動することから、**ノンコーディング RNA** は重要な生理機能を持つと期待された。しかしながら、**ノンコーディング RNA** の機能の全体像は解明されていないため、さらなる研究が求められる状況であった。

ノンコーディング RNA は多種多様であるが、そのサイズで 2 種類に大別される。すなわち、塩基長が 100 塩基未満の小分子**ノンコーディング RNA** と塩基長が 100 塩基以上の長鎖**ノンコーディング RNA** である。長鎖**ノンコーディング RNA** の多くがキャップ構造とポリ **A** テールを有するが、タンパク質のアミノ酸一次配列情報をコードしない。このことが**ノンコーディング RNA** と呼ばれるゆえんである。大規模トランスクリプトーム解析から、ヒトゲノムからは数万種類の長鎖**ノンコーディング RNA** が生み出されていることが判明した。さらに、長鎖**ノンコーディング RNA** が遺伝子発現の制御を通じて多様な生理機能に関わっていることが判明してきた。これらの知見から、長鎖**ノンコーディング RNA** は重要な生体分子であると想定された。さらに、疾患とも密接な関係があると期待された。実際、研究代表者らのチームは、核内長鎖**ノンコーディング RNA** の **MALAT1** が運動性遺伝子の発現を促進することでがん転移を促進することを見いだしている。また、がん抑制遺伝子 **TP53** の発現が **MALAT1** によって抑制されることも報告している。これらの発見はがんの理解を大きく進める発見であった。このように、長鎖**ノンコーディング RNA** の機能や発現制御を解明することは医歯薬学領域の発展に大きく貢献する。

申請者は、長鎖**ノンコーディング RNA** と疾患との関係について解析してきた。その過程で、核内長鎖**ノンコーディング RNA** である **NEAT1** がウイルス感染や病原菌感染で誘導されること、および誘導された **NEAT1** が転写リプレッサーを吸着隔離することで下流の遺伝子群を制御すること、制御を受ける遺伝子群に免疫応答関連遺伝子が多数含まれていること、を見いだしてきた。これらの結果をもとに、病原体感染によって発現する宿主細胞の核内長鎖**ノンコーディング RNA** についてさらに研究をすすめ、免疫応答の制御機構を解明することを目指した。この目的のため、核内 **RNA** の代謝制御を研究する **Torben Jensen** 博士（デンマーク王国オーフス大学の）、核内構造体の権威である **David Spector** 博士（アメリカ合衆国、**Cold Spring Harbor Institute**）、**RNA** 制御による免疫応答制御の専門家である **Ulus Atasoy** 博士（アメリカ合衆国、ミシガン大学）を国際共同研究を実施することにした。

2 . 研究の目的

このような背景のもと、本研究では、免疫応答に関与する**ノンコーディング RNA** の機能解明を目指す。また、**ノンコーディング RNA** の機能発現において、その発現量制御と細胞内局在制御が重要であるため、これらの観点から機能解明を進める。**ノンコーディング RNA** の研究は新しい研究分野であるため、標準的な研究手法が確定しておらず、その解析は手探りであり、また、日進月歩で新しい解析手法が提案されている。迅速な研究情報の獲得が生命線となるため、海外の研究者と強力なタッグを組むことが研究を進める上での鍵となる。そこで、ヨーロッパと米国の研究者と連携し、本研究を通じて、国際的な研究ネットワークを構築することも目的のひとつである。

3 . 研究の方法

病原体感染で誘導される長鎖**ノンコーディング RNA** を探索するため、サルモネラ感染し

ヒト培養細胞で発現が変動している長鎖ノンコーディング RNA を最初に探索することにした。サルモネラに感染後のヒト細胞から total RNA を抽出し、ポリ A 選択後、次世代シーケンス解析した。次世代シーケンスは、イルミナ社の stranded sequencing kit を用いて、75 single end 解析で 2000 万シーケンスリード (1.5G) 以上のスケールで解析した。

得られたシーケンスデータは、ヒトレファレンスゲノムに対してマッピングした。研究開始時点では hg19 に対してマッピングしたが、途中から hg38 に再マッピングして解析を行った。非感染コントロールに対して、発現量が 2 倍以上かつ DFR 値 0.05 未満の RNA を Cuffdiff ツールをつかって選択した。

同定した長鎖ノンコーディング RNA は、申請者が有する RNA 解析技術によって解析した。また、解析時には、Jensen 博士の次世代シーケンスデータベースや核内 RNA 分解因子データベースを活用した。免疫応答の研究では Atasoy 博士と共同研究を実施した。また、核内 RNA の局在を解析するため、Spector 博士の有する核内因子イメージング技術を導入した。

4. 研究成果

バイオフィーマティクス解析によって、サルモネラ感染によって発現増加するノンコーディング RNA を多数同定した。同定したノンコーディング RNA のなかに PROMPT ノンコーディング RNA (Jensen 教授が同定したノンコーディング RNA であり、大多数の PROMPT の機能は不明) を多数見いだした。すなわち、サルモネラ感染によって PROMPT が発現増加することを見いだした。この結果は、機能が不明であった PROMPT ノンコーディング RNA が免疫応答に関与する可能性をしめすものであった。

また、申請者がすでに免疫応答に関与することを報告していた NEAT1 についても解析を進めた。Jensen 博士の核内 RNA 分解経路タンパク質データを共同で解析した結果、NEAT1 の分解に hnRNPH1 が関与することが示唆された。そこで、RNA 干渉法をつかったノックダウンアッセイ、RNA-protein 相互作用解析、免疫共沈降実験を行い、NEAT1 が hnRNPH1-MTR4-exosome 経路で分解されていることを見いだした。また、Spector 博士が有するイメージングプロトコールをつかって、NEAT1 が構成する核内パラスペックル構造の定量イメージング解析をおこない、サルモネラ感染によってパラスペックルが大きくなることや一部の PROMPT が核内に顆粒構造を形成することを見いだした。

つぎに、hnRNPH1-MTR4-exosome 経路の生理的意義を明らかにするため、hnRNPH1 をノックダウンした細胞の遺伝子発現プロファイリングを調べた。その結果、IL8 や CXCL5 などの免疫応答関連遺伝子の発現が増加していることを見いだした。研究代表者は以前の研究で NEAT1 が転写リプレッサー-SFPQ を吸着隔離することで遺伝子発現を促進することを報告している。この結果をもとに、hnRNPH1 が NEAT1 発現増加を通じて免疫応答の制御に関与するというモデルを提案した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Tanu Tanzina, Taniue Kenzui, Imamura Katsutoshi, Onoguchi-Mizutani Rena, Han Han, Jensen Torben Heick, Akimitsu Nobuyoshi	4. 巻 18
2. 論文標題 hnRNPH1-MTR4 complex-mediated regulation of NEAT1v2 stability is critical for IL8 expression	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 RNA Biology	6. 最初と最後の頁 537 ~ 547
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1080/15476286.2021.1971439	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 3.Yamada T., Imamachi N., Imamura K., Taniue K., Kawamura T., Suzuki Y., Nagahama M., Akimitsu N.	4. 巻 31
2. 論文標題 Systematic Analysis of Targets of Pumilio-Mediated mRNA Decay Reveals That PUM1 Repression by DNA Damage Activates Translesion Synthesis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Cell Rep	6. 最初と最後の頁 107542
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.celrep.2020.107542	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5件（うち招待講演 0件/うち国際学会 4件）

1. 発表者名 秋光信佳
2. 発表標題 Glycolysis is enhanced under chronic hypoxia via RNA stabilization.
3. 学会等名 Eukaryotic mRNA turnover and viral biology（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 秋光信佳
2. 発表標題 HiNoCo body: a lncRNA-containing nuclear body formed by heat shock
3. 学会等名 EMBO meeting（国際学会）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 秋光信佳
2. 発表標題 Identification of functional targets reveals that suppression of Pumilio-mediated mRNA decay increases cell resistance to DNA damage
3. 学会等名 EMBO meeting (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 秋光信佳
2. 発表標題 Characterization of heat-responsible novel nuclear body containing MALAT1, a long noncoding RNA
3. 学会等名 CSH meeting (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 秋光信佳
2. 発表標題 Identification of Functional Targets Reveals that the Suppression of Pumilio-mediated mRNA Decay Increases Cell Resistance to DNA Damage in Human Cells
3. 学会等名 mRNA turnover meeting
4. 発表年 2019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
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	ヤンセン トーベン (Jensen Torben)	オーフス大学・Institut for Molekylærbologi og Genetik・Professor	
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	スペクター デイビッド (Spector David)	コールドスプリングハーバー研究所・Spector Lab・Professor	
主たる渡航先の主たる海外共同研究者	アタソイ ユーラス (Atasoy Ulus)	ミシガン大学・Department of Internal Medicine・Associate Professor	

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
---------	---------

デンマーク	オーフス大学			
アメリカ	ミシガン大学	Cold Spring Harbor Institute		