

令和 3 年 5 月 31 日現在

機関番号：15301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K19449

研究課題名（和文）生命現象をバックグラウンドで支えるレトロエレメント-宿主間相互作用の解明

研究課題名（英文）Elucidation of biological significance of interactions between retroelements and hosts

研究代表者

本田 知之（Honda, Tomoyuki）

岡山大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：80402676

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、レトロエレメント-宿主間相互作用の生物学的意義の解明を試みた。レトロエレメントのうち、内在性ボルナウイルス配列は抗ボルナウイルス活性を、内在性レトロウイルスは自然免疫を、レトロトランスポゾンLINE-1は細胞増殖を、それぞれ制御することを見出した。がんウイルスは、レトロエレメント-宿主間相互作用を破壊し、LINE-1の転移活性を亢進させることでがんを発生する可能性を見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、レトロエレメント-宿主間相互作用が様々な細胞現象を制御することを実証したものであった。今後、さらなるレトロエレメント-宿主間相互作用研究が必要であることは明らかであり、その基盤構築が達成できた。またレトロエレメント-宿主間相互作用の破綻ががんなどの病態を引き起こすことも明らかとなった。レトロエレメント-宿主間相互作用に着目することで、原因不明病態の解明や様々な病態の新しい治療法を提案できる可能性が考えられた。

研究成果の概要（英文）：In this study, we elucidated the biological significance of retroelement-host interactions. Among the retroelements, we found that an endogenous bornavirus-like element exhibits anti-bornavirus activity, an endogenous retrovirus regulates innate immunity, and retrotransposon LINE-1 regulates cell proliferation. We also demonstrated that oncoviruses may develop cancer by disrupting the retroelement-host interaction and enhancing the retrotransposition activity of LINE-1.

研究分野：ウイルス学

キーワード：レトロエレメント ウイルス LINE-1 内在性レトロウイルス 免疫

1. 研究開始当初の背景

ウイルスはそれ単体では増殖することが出来ず、宿主細胞の様々な機構と相互作用し、増殖する。一方、宿主側もウイルスの様々な因子と相互作用し、抗ウイルス防御を行なっている。この宿主-ウイルス間相互作用は、様々な病態を引き起こすことが知られ、多彩な生命現象の原動力と言えるが、必ずしもウイルス感染細胞でのみ認められるものではない。ヒトをはじめとする様々な生物ゲノムには、レトロエレメントと呼ばれるウイルス様のエレメントが存在する。宿主は、それに対して、常時抗レトロエレメント防御を行っている。このレトロエレメント-宿主相互作用は、すべての細胞において常時バックグラウンドで起動されているにも関わらず、従来の生命科学研究では注目されてこなかった。

申請者は 2010 年に、RNA ウイルスであるボルナウイルス配列が宿主のレトロエレメントの 1 つである LINE-1 によって逆転写され、宿主ゲノムにインテグレーションされることを見出した(Horie, Honda et al., *Nature* 2010)。このようなインテグレーション配列を持つ動物は、BDV が感染しにくく感染しても不顕性である傾向があった(Honda and Tomonaga, *Mob Genet Elements* 2016)。このことから、レトロエレメント-宿主相互作用により、宿主は抗ウイルス機能を獲得する可能性が推測される。このように、常時バックグラウンドで起動しているレトロエレメント-宿主間相互作用も、ウイルス-宿主間相互作用同様、様々な生命現象の原動力になりうるかと推察されるが、上述の通りその詳細ははっきりしていない。

2. 研究の目的

本研究では、レトロエレメント-宿主間相互作用の生物学的意義を明らかにする。この相互作用は、すべての細胞で常時バックグラウンドとして起動されているにも関わらず、これまで無視されてきた研究対象である。このシステムを理解することは、その破綻による病態を発見することにつながり、そのような病態に対する全く新しいレベルでの治療戦略の構築に貢献できると考えられる。

3. 研究の方法

(1)レトロエレメント-宿主間相互作用が制御する細胞現象の解明

内在性ボルナウイルス配列による抗ウイルス活性の解析

以前の研究から、ジリス内在性ボルナウイルス (itEBLN) が抗ボルナウイルス活性を持つことが示されていた。そこで、そのメカニズムを解析するために、ボルナウイルス感染を数理モデル化し itEBLN の抗ボルナウイルス活性を定量することにした。まず、非感染細胞の中に少量のボルナウイルス感染細胞を混在させることで、ボルナウイルス感染細胞から非感染細胞にウイルスが伝播していく系を立ち上げた。経時的な総細胞数、感染細胞数を定量し、細胞間ウイルス伝播をモデリングした。次に、非感染細胞を itEBLN 発現細胞に置換し、itEBLN 発現による伝播抑制効果を定量した。

さらに、ボルナウイルスの核内での複製活性のみを評価するために、ミニゲノム系を用いた。経時的にミニゲノム活性の変化を測定し、モデリングした。その後、itEBLN 発現細胞における、ミニゲノム活性の抑制効果の定量を行なった。

ワクチン接種によるレトロエレメントの変容の意義の解明

ワクチン接種によるレトロエレメント発現の変化を接種者の末梢血 RNA-seq データを用いて解析した。ワクチン摂取により大きく変化したレトロエレメントについて、発現プラスミドを作成した。そのレトロエレメントの自然免疫に対する生理機能を解析するために、IFN プロモーター活性を測定した。

レトロエレメント発現の制御法の開発と生理意義の解明

レトロエレメントのうち、LINE-1 (L1 と呼ぶ) のアンチセンスプロモーター (ASP) を特異的に活性化させる系を構築するために、LINE-1 アンチセンスプロモーターを認識するガイド RNA を作成し、CRISPR-Cas9 システムを用いて LINE-1 ASP の活性化を試みた。この手法で LINE-1 ASP を活性化したのちに、RNA-seq 解析を行った。さらに、LINE-1 ASP が細胞増殖を促進させるか、細胞増殖の検討を行った。

(2)レトロエレメント-宿主間相互作用の破綻がもたらす病態の解明

がんウイルスによるレトロエレメントの活性化の解析

がんウイルスのカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) が LINE-1 を活性化するか、LINE-1 転移アッセイを用いて検討した。また責任遺伝子を同定する目的で、KSHV 潜伏感染遺伝子を発現させ、LINE-1 転移アッセイを行った。vFLIP 発現 3T3 細胞を樹立し、軟寒天培養によりがん特性を獲得するか検討した。

がん発生におけるレトロエレメントの役割の解析

ハダカデバネズミ(NMR)はがんになりにくい。その原因が LINE-1 の低い転移活性ではないかと仮説を立て、NMR ゲノムから NMR-L1 をクローニングし、転移活性測定系を構築した。それを用いて、ヒトやマウスの LINE-1 との転移活性比較を行った。

4. 研究成果

(1)レトロエレメント-宿主間相互作用が制御する細胞現象の解明

内在性ボルナウイルス配列による抗ウイルス活性の解析

itEBLN 発現によるボルナウイルスの細胞間伝播抑制効果及び核内ウイルス複製抑制効果は、それぞれ 75%減少、34%減少であった。そのため、itEBLN によるボルナウイルス抑制は、核内の複製過程抑制が半分寄与するが、細胞間もしくは細胞質内でのウイルスの移動過程の抑制というメカニズムが残り半分寄与すると考えられた。

ワクチン接種によるレトロエレメントの変容の意義の解明

ワクチン接種により変動するレトロエレメントを探索し、MLT-int を同定した。MLT-int を過剰発現すると、免疫刺激がない状態で IFN プロモーター活性を抑制した。一方、免疫刺激をすると、MLT-int による IFN プロモーター抑制効果は認めなかった。MLT-int は免疫刺激により発現誘導がかかった。以上のことから、免疫刺激により自然免疫は活性化するが、免疫刺激が消失した後速やかに自然免疫活性化状態を終結させるために MLT-int が寄与する可能性が考えられた。

レトロエレメント発現の制御法の開発と生理意義の解明

LINE-1 の ASP 領域にガイド RNA を作成し、ASP を活性化するガイド RNA をスクリーニングした。得られたガイド RNA を用いて、L1 ASP を活性化し、RNA-seq を行った。GO 解析から、細胞周期や細胞増殖に関わる遺伝子群が変化することが明らかとなった。そこで、細胞増殖アッセイを行ったところ、L1 ASP を活性化した細胞は増殖が早くなることが明らかとなった。以上のことから、世界に先駆け L1 ASP が細胞増殖に関わっていることの実証に成功した。

(2)レトロエレメント-宿主間相互作用の破綻がもたらす病態の解明

がんウイルスによるレトロエレメントの活性化の解析

LINE-1 転移アッセイを用いて、KSHV 感染細胞において LINE-1 転移が活性化していること、KSHV 潜伏感染遺伝子のうち vFLIP が LINE-1 転移の活性化に寄与していることを見出した。LINE-1 の過剰な転移はゲノム不安定化やがん変異の誘発につながるため、vFLIP が LINE-1 を介してがん特性を獲得するか検討した。vFLIP 発現細胞は軟寒天上で増殖するがん特性を示したが、LINE-1 転移阻害剤を添加することでそれを抑制することができた。このことから、LINE-1 阻害剤が新しい抗がん薬として利用できる可能性が考えられた。

がん発生におけるレトロエレメントの役割の解析

NMR ではがんはほとんど発生しない。また NMR ゲノムにはヒトや他の齧歯類よりも LINE-1 などのレトロエレメントの配列が少ない。このことから、NMR の L1 の転移活性が低いのではないかと仮説を立案した。NMR ゲノムから NMR-L1 をクローニングすることに成功し、その転移活性測定系を構築した。NMR-L1 の転移活性は、ヒト LINE-1 やマウス LINE-1 と比較して、極めて低かった。このことから、NMR の LINE-1 は転移活性が低く、がんが発生しにくい一つの要因である可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計17件（うち査読付論文 17件／うち国際共著 4件／うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Teng D, Obika S, Ueda K, Honda T.	4. 巻 10
2. 論文標題 A Small Interfering RNA Cocktail Targeting the Nucleoprotein and Large Protein Genes Suppresses Borna Disease Virus Infection.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front Microbiol.	6. 最初と最後の頁 2781
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2019.02781.	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 -
1. 著者名 Yamamoto Y, Tomonaga K, Honda T.	4. 巻 10
2. 論文標題 Development of an RNA Virus-Based Episomal Vector Capable of Switching Transgene Expression.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Front Microbiol.	6. 最初と最後の頁 2485
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fmicb.2019.02485.	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 -
1. 著者名 Honda T, Nakayama R, Kawahara Y, Yuge L, Ueda K.	4. 巻 276
2. 論文標題 Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus is cell-intrinsically controlled in latency in microgravity.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Virus Res.	6. 最初と最後の頁 197821
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.virusres.2019.197821.	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 -
1. 著者名 Komatsu Y, Takeuchi D, Tokunaga T, Sakurai H, Makino A, Honda T, Ikeda Y, Tomonaga K.	4. 巻 14
2. 論文標題 RNA Virus-Based Episomal Vector with a Fail-Safe Switch Facilitating Efficient Genetic Modification and Differentiation of iPSCs.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Mol Ther Methods Clin Dev. 2019 May 28;14:47-55.	6. 最初と最後の頁 47-55
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.omtm.2019.05.010.	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 Honda T, Takemoto K, Ueda K.	4. 巻 20(12)
2. 論文標題 Identification of a Retroelement-Containing Human Transcript Induced in the Nucleus by Vaccination.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Int J Mol Sci.	6. 最初と最後の頁 2875
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20122875.	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 -

1. 著者名 Honda Tomoyuki, Sofuku Kozue, Matsunaga Hidenori, Tachibana Masaya, Mohri Ikuko, Taniike Masako, Tomonaga Keizo	4. 巻 62
2. 論文標題 Prevalence of antibodies against Borna disease virus proteins in Japanese children with autism spectrum disorder	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microbiology and Immunology	6. 最初と最後の頁 473 ~ 476
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/1348-0421.12603	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 -

1. 著者名 Matsunaga Hidenori, Fukumori Akio, Mori Kohji, Honda Tomoyuki, Uema Takeshi, Tomonaga Keizo	4. 巻 71
2. 論文標題 Two Neuropsychiatric Cases Seropositive for Bornavirus Improved by Ribavirin	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Japanese Journal of Infectious Diseases	6. 最初と最後の頁 338 ~ 342
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.7883/yoken.JJID.2017.585	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 -

1. 著者名 Yang Zunlin, Honda Tomoyuki, Ueda Keiji	4. 巻 522
2. 論文標題 vFLIP upregulates IKK , leading to spindle morphology formation through RelA activation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Virology	6. 最初と最後の頁 106 ~ 121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.virol.2018.07.007	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 -

1. 著者名 Nishikawa Yuki, Nakayama Ryota, Obika Shunsuke, Ohsaki Eriko, Ueda Keiji, Honda Tomoyuki	4. 巻 19
2. 論文標題 Inhibition of LINE-1 Retrotransposition by Capsaicin	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 3243 ~ 3243
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms19103243	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 -

1. 著者名 Hossain Md. Golzar, Ohsaki Eriko, Honda Tomoyuki, Ueda Keiji	4. 巻 9
2. 論文標題 Importance of Promyelocytic Leukemia Protein (PML) for Kaposi ' s Sarcoma-Associated Herpesvirus Lytic Replication	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 2324
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2018.02324	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 -

1. 著者名 Honda Tomoyuki, Rahman Md.	4. 巻 20
2. 論文標題 Profiling of LINE-1-Related Genes in Hepatocellular Carcinoma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 International Journal of Molecular Sciences	6. 最初と最後の頁 645 ~ 645
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ijms20030645	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 -

1. 著者名 Nakayama Ryota, Ueno Yumiko, Ueda Keiji, Honda Tomoyuki	4. 巻 38
2. 論文標題 Latent infection with Kaposi ' s sarcoma-associated herpesvirus enhances retrotransposition of long interspersed element-1	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncogene	6. 最初と最後の頁 4340-4351
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41388-019-0726-5	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 -

1. 著者名 Kim Kwang Su, Yamamoto Yusuke, Nakaoka Shinji, Tomonaga Keizo, Iwami Shingo, Honda Tomoyuki	4. 巻 94
2. 論文標題 Modeling Borna Disease Virus In Vitro Spread Reveals the Mode of Antiviral Effect Conferred by an Endogenous Bornavirus-Like Element	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e01204-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.01204-20	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 Honda Tomoyuki, Nishikawa Yuki, Nishimura Kensuke, Teng Da, Takemoto Keiko, Ueda Keiji	4. 巻 10
2. 論文標題 Effects of activation of the LINE-1 antisense promoter on the growth of cultured cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 22136
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-79197-y	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 -

1. 著者名 Yamaguchi Shunichi, Nohara Shizuka, Nishikawa Yuki, Suzuki Yusuke, Kawamura Yoshimi, Miura Kyoko, Tomonaga Keizo, Ueda Keiji, Honda Tomoyuki	4. 巻 11
2. 論文標題 Characterization of an active LINE-1 in the naked mole-rat genome	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 5725
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-021-84962-8	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 -

1. 著者名 Rahman Md. Arifur, Ueda Keiji, Honda Tomoyuki	4. 巻 10
2. 論文標題 A Traditional Chinese Medicine, Maoto, Suppresses Hepatitis B Virus Production	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Cellular and Infection Microbiology	6. 最初と最後の頁 581345
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fcimb.2020.581345	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 該当する

1. 著者名 Hossain Md Golzar, Mahmud Md Muket, Rahman Md Arifur, Akter Sharmin, Nazir K. H. M. Nazmul Hussain, Saha Sukumar, Wada Masami, Ohsaki Eriko, Honda Tomoyuki, Ueda Keiji	4. 巻 9
2. 論文標題 Complete Genome Sequence of a Precore-Defective Hepatitis B Virus Genotype D2 Strain Isolated in Bangladesh	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiology Resource Announcements	6. 最初と最後の頁 e00083-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MRA.00083-20	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 該当する

[学会発表] 計14件(うち招待講演 2件/うち国際学会 4件)

1. 発表者名 Rahman MA, Ueda K, Honda T.
2. 発表標題 Loss of Tropomyosin (TPM) family proteins impaired HBV production.
3. 学会等名 第9回肝炎ウイルス研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Rahman MA, Ueda K, Honda T.
2. 発表標題 Screening for novel anti-HBV Kampos.
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Honda T, Takemoto K., Ueda K.
2. 発表標題 Identification of an ERV-containing human transcript induced by vaccination
3. 学会等名 第67回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Da T, Ueda K, Honda T.
2. 発表標題 A small interfering RNA cocktail suppresses Borna disease virus infection.
3. 学会等名 第13回若手研究フォーラム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Da T., Ueda K., Honda T.
2. 発表標題 Suppression of Borna disease virus infection using RNA interference
3. 学会等名 The 18th Awaji International Forum on Infection and Immunity (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Honda T, Takemoto K., Ueda K.
2. 発表標題 Identification of an intranuclear ERV-containing human transcript induced by vaccination
3. 学会等名 The 18th Awaji International Forum on Infection and Immunity (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 本田 知之、中山 椋太、西川 祐樹、上田 啓次
2. 発表標題 ヘルペスウイルスによる新しいがん化メカニズムの探索
3. 学会等名 第33回ヘルペスウイルス研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Honda T, Nakayama R, Nishikawa Y, Ueno Y, Ueda K.
2. 発表標題 Gamma herpesviruses enhance retrotransposition of long interspersed element-1.
3. 学会等名 The 3rd Korea-Japan International Symposium for Transposable Elements (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Da T, Ueda K, Honda T.
2. 発表標題 Elucidation of microRNA change during borna disease virus infection.
3. 学会等名 第11回若手研究フォーラム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Honda T, Liu X, Garcia BC, Parrish NF, Tomonaga K.
2. 発表標題 Small RNAs derived from an endogenous bornavirus element in mice suppress expression of a reporter with Borna disease virus sequences in GC2 cells.
3. 学会等名 NSV 2018 (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kubota Y, Honda T, Saito T, Nishino Y.
2. 発表標題 Dexamethasone enhances infection of Borna disease virus type 1 in mouse primary culture neuron
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nakayama R, Honda T, Ueda K.
2. 発表標題 Possible interaction between Kaposi ' s sarcoma associated herpesvirus and retrotransposon
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yamamoto Y, Honda T, Tomonaga K.
2. 発表標題 Development of a BoDV vector capable of controlling the expression of foreign genes
3. 学会等名 第66回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Rahman MA, Ueda K, Honda T.
2. 発表標題 Screening of novel anti-HBV therapeutics.
3. 学会等名 第12回若手研究フォーラム
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>大阪大学大学院医学系研究科ウイルス学HP http://www.med.osaka-u.ac.jp/pub/virus/ 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病原ウイルス学HP http://www.okayama-u.ac.jp/user/virology/index.html</p>
--

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
研究協力者	岩見 真吾 (Iwami Shingo)		
研究協力者	竹本 経緯子 (Takemoto Keiko)		

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