

科学研究費助成事業（基盤研究（S））公表用資料
〔令和4（2022）年度 中間評価用〕

令和4年3月31日現在

研究期間：2020年度～2024年度
課題番号：20H05682
研究課題名：ゲノム免疫：内在性ウイルスの抗ウイルス活性の動作原理解明と機能資源としての確保

研究代表者氏名（ローマ字）：朝長啓造（TOMONAGA Keizo）

所属研究機関・部局・職：京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・教授
研究者番号：10301920

研究の概要：

私たちのゲノムには、ウイルスに由来する遺伝配列（内在性ウイルス）が存在している。本研究は、抗ウイルス活性を示す内在性ウイルス配列、特に内在性ボルナウイルスの配列的特徴、発現機構、そして抗ウイルスの分子機構を詳細に解析し、ゲノム免疫の動作原理を解明するとともに、それらの知見から、任意のウイルスに対して抵抗性を示す「ウイルス耐性配列」の構築を試みる研究である。

研究分野： ウイルス学、動物生命科学、ゲノム生物学、進化生物学

キーワード： 内在性ウイルス、ボルナウイルス、感染、遺伝

1. 研究開始当初の背景

私たち生物のゲノム DNA には、レトロウイルスに由来する配列（内在性レトロウイルス）が数多く存在している。近年の研究により、内在性レトロウイルスの一部が宿主の機能遺伝子として利用されていることが明らかとなった。哺乳動物では、胎盤形成に関与する遺伝子として内在性レトロウイルスが用いられている。また、外来性レトロウイルスに対する感染防御に機能する内在性レトロウイルスも知られている。このような内在性レトロウイルスの外適応は、ゲノムの新機能獲得や進化原理を明らかにする大きな手掛かりとなっている。2010年、研究代表者は哺乳動物のゲノムに RNA ウイルスであるボルナウイルスに由来する配列（内在性ボルナウイルス）を発見した。それ以降、様々な種類のウイルスが動物ゲノムに内在化していることが示され、私たちのゲノムには、これまで考えられていた以上にウイルス由来の遺伝配列が多く蓄積していることが明らかとなった。このパラダイム変化は、生物進化におけるウイルス感染の意義を再構築し、ゲノムにおける内在性ウイルス配列の役割を解明する必要性を示した。

2. 研究の目的

研究代表者は、内在性ボルナウイルスが RNA に転写されていること、そしてタンパク質に翻訳される配列も存在することを明らかにした。一方、内在性ボルナウイルスから産生された RNA もしくはタンパク質が、ボルナウイルスの感染を抑制することも証明した。これらの成果から、我々哺乳類も、細菌の抗ウイルスシステムである CRISPR/Cas 機構のように、一度感染したウイルスを自らのゲノムに記憶することで、繰り返される感染を阻止するゲノムに刻まれた抗ウイルス機構「ゲノム免疫」を持つのではないかという仮説を得た。そこで本研究の目的は、ヒトを含む様々な哺乳動物ゲノムにおいて、抗ウイルス活性を示す内在性ウイルス配列、特に内在性ボルナウイルスの特徴と作用の分子機構を解析し、ゲノム免疫の動作原理を解明するとともに、新たな抗ウイルス機構として応用することにある。

3. 研究の方法

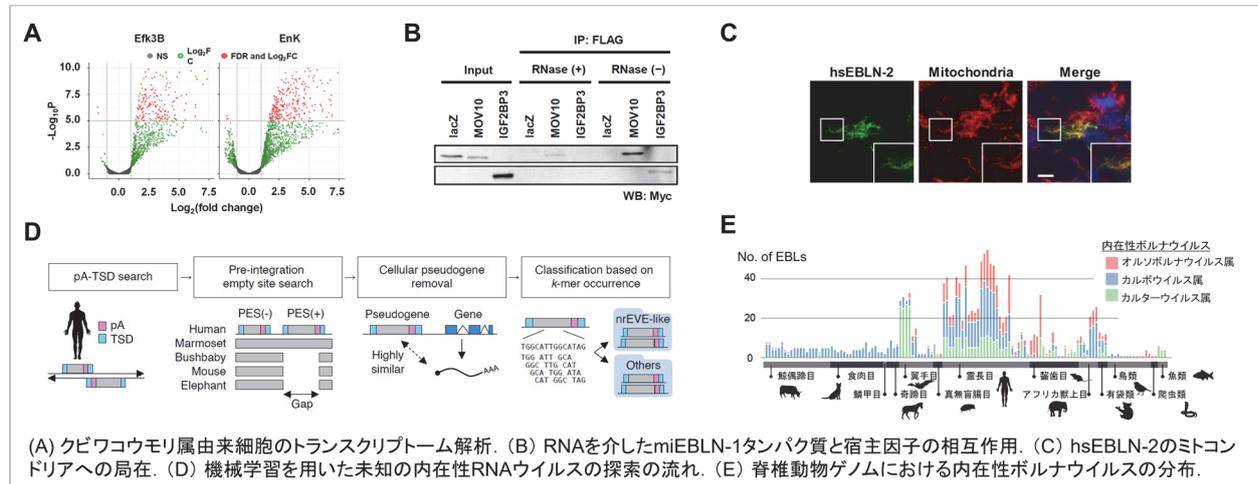
本研究課題は、朝長グループ（京都大学）と Parrish グループ（理化学研究所）で遂行している。研究方法ならびに計画を各実施項目に分けて記載する。実施項目1「内在性ウイルス配列の抗ウイルス活性の動作原理解明」では内在性ボルナウイルスの抗ウイルス活性を解明するとともに、内在性ボルナウイルスから転写される RNA の網羅的解析を行う。実施項目2「内在性ウイルス由来 RNA の配列的特徴と発現機構の解明」では、内在性ウイルス由来 RNA の配列的特徴と内在性ウイルス配列の転写機構の解明を実施する。実施項目3「RNA 配列に基づく抗ウイルス活性の制御機構解明」では、RNA 配列の改変による抗ウイルス活性の制御を試みる。実施項目4「抗ウイルス作用発現のための配列設計」では、抗ウイルス活性を持つミニマム配列の設計を行う。また、実施項目5「ウイルス耐性配列カセットの作製と発現細胞・動物の樹立」では、ウイルス耐性カセットを作製し、ウイルス耐性細胞の確立を目指す。

4. これまでの成果

上記の実施項目1および2に関連する主な成果と進捗状況を記載する。

①コウモリゲノムにおける内在性ウイルス配列に関して、クビワコウモリ属由来細胞のトランスクリプト

トーム解析を実施するとともに (図 A)、ユビナゴコウモリ属ゲノムに存在する内在性ボルナウイルス miEBLN-1 が RNA 結合タンパク質として機能性を獲得していることを示した (図 B)。②ヒト 3 番染色体上の内在性ボルナウイルス hsEBLN-2 が、細胞生存に関与するミトコンドリアに局在タンパク質を発現していることを明らかにした (図 C)。③ヒト 9 番染色体に存在する hsEBLN-3 が、ボルナ病ウイルスの感染を負に制御する lncRNA を発現していることを突き止めた。④教師付き機械学習法であるサポートベクターマシンを用いて内在性 RNA ウイルス配列とその他のヒトゲノム配列の特徴を区別することに成功し、ヒトゲノムから既知のウイルスとは配列相同性を持たない未知の内在性 RNA ウイルス配列を同定した (図 D)。⑤脊椎動物ゲノムの内在性ボルナウイルス配列を網羅的に解析し、新たな内在性ボルナウイルスの遺伝子座を多数同定した。その成果からボルナウイルス感染が繰り返し起こった地質年代を明らかにし、過去における感染流行を推定した (図 E)。



5. 今後の計画

2022 年度も引き続き、タンパク質もしくは RNA として機能する内在性ボルナウイルスの作用機序の詳細な解析を推進する。主な解析対象は、ボルナウイルスの RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ遺伝子と相同性を持つコウモリゲノムの eEBLN-1、ボルナ病ウイルスの感染を抑制する lncRNA を発現するヒトゲノムの hsEBLN-3、そしてマウスゲノムにおいてウイルス特異的な piRNA を発現する mmEBLN である。2023 年度までに、これら内在性ボルナウイルス由来分子の動作原理を明らかにし、配列依存的にその機能を制御することを可能にする。これらの知見を活用し、最終年度の 2024 年度までには、ウイルス耐性細胞の確立を目指す。さらに、また、抗ウイルス活性の進化基盤を解明するためにも、哺乳動物における内在性ボルナウイルスの進化と宿主適応に関する解析も同時に進める。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

- Lin HH, Horie M, Tomonaga K. A comprehensive profiling of innate immune responses in Eptesicus bat cells. **Microbiol Immunol.** 66(3):97-112. (2022) 査読有
- Mukai Y, Horie M, Kojima S, Kawasaki J, Maeda K, Tomonaga K. An endogenous bornavirus-like nucleoprotein in minipterid bats encodes a 1 protein that retains the RNA binding properties of the original viral gene. **FEBS Lett.** 596(3):323-337. (2022) 査読有
- Takahashi T, Heaton SM, Parrish NF. Mammalian antiviral systems directed by small RNA. **PLoS Pathog.** 17(12):e1010091. (2021) 査読有
- Kawasaki J, Kojima S, Mukai Y, Tomonaga K, Horie M. One hundred million years history of bornavirus infections hidden in vertebrate genomes. **Proc Natl Acad Sci USA.** 118(20):e2026235118. (2021) 査読有
- Fujino K, Horie M, Kojima S, Shimizu S, Nabekura A, Kobayashi H, Makino A, Honda T, Tomonaga K. A human endogenous bornavirus-like nucleoprotein encodes a mitochondrial protein associated with cell viability. **J Virol.** 95(14):e02030-20. (2021) 査読有
- Kojima S, Yoshikawa K, Ito J, Nakagawa S, Parrish NF, Horie M, Kawano S, Tomonaga K. Virus-like insertions with sequence signatures similar to those of endogenous non-retroviral RNA viruses in the human genome. **Proc Natl Acad Sci USA.** 118(5):e2010758118. (2021) 査読有「論文投稿日が研究開始日より前だが、本基盤 S の成果を追加して、2020 年 12 月 4 日に改訂 (リバイス) した論文である。」

7. ホームページ等

<https://t.mvivirus.virus.kyoto-u.ac.jp/>

<https://www.facebook.com/TomonagaLab/>