

mRNA 代謝が司る免疫制御機構の解明

Analysis of immune regulatory mechanisms mediated by
mRNA metabolism

課題番号：18H05278

竹内 理 (TAKEUCHI, OSAMU)

京都大学・大学院医学研究科・教授



研究の概要（4行以内）

本研究は、免疫制御における動的 mRNA 代謝調節機構とその役割を、mRNA の 1) 3' 非翻訳領域、2) コドンに潜む新たな制御情報、3) エピトランスクリプトームおよび修飾認識因子による mRNA 量調節機構、の観点から包括的に理解することを目的とする。この成果は、免疫システムの統合的理解や免疫制御のシーズ開発へ波及する事が期待される。

研究分野：免疫学

キーワード：サイトカイン、mRNA 分解

1. 研究開始当初の背景

免疫細胞は、病原体感染に対し、Toll 様受容体(TLR)や抗原受容体を介して炎症性サイトカインを産生するなどして免疫応答を惹起し、病原体を排除する。しかし、過剰な免疫応答は、自己免疫疾患を始めとした様々な炎症関連疾患を引き起こすため、サイトカインなどの発現は通常免疫細胞においては厳密に制御されている。我々は、過剰な免疫応答抑制に必須の RNA 分解酵素 Regnase-1 を発見し、この因子が炎症性サイトカイン Interleukin-6 (IL-6)などの mRNA をその 3' 非翻訳領域(UTR)を介して認識し、分解すること、これにより免疫応答に関連した mRNA 量が転写後レベルで調節されていることを見出した。また、Regnase-1 に加え別の RNA 結合タンパク質である Roquin の研究から、免疫関連 mRNA 量が時空間において動的に制御されることで、正常な免疫機能を発揮できることを解明した。

しかし、免疫応答に関連する mRNA 量の調節機構は Regnase-1 などによる 3' UTR 制御だけでなく、mRNA 修飾やコドン制御など「多くのパラメーターが動的、かつ複雑に絡み合った mRNA 代謝制御システム」であろうことは予想できるが、その分子機構は不明である。

2. 研究の目的

本研究では、免疫関連 mRNA の制御機構を多角的に解析し、これらを統合的に解析することにより免疫応答における動的 mRNA 代謝ネットワークを包括的に理解することを目

的とする。

3. 研究の方法

本研究では、免疫応答における mRNA 制御機構に対し、以下の観点から検討を加える。

- 1) mRNA 3' UTR を介した免疫細胞時空間制御機構の解析
- 2) 蛋白質コード領域に隠された新たな免疫応答分子制御機構の解析
- 3) mRNA エピトランスクリプトームを介した免疫制御機構の解析

さらに 1)~3) それぞれの mRNA 制御機構が互いにどのように関連しているのかを統合的に解析し解明することで、免疫応答における動的 mRNA 代謝ネットワークを包括的に理解することを試みる。

4. これまでの成果

1. mRNA 3' UTR を介した免疫細胞時空間制御機構の解析

3' UTR を介した Regnase-1 による mRNA の時間的制御機構と炎症調節における役割に関して検討を行った。その結果、1) Regnase-1 が、産生されて早期でパイオニアラウンド翻訳中の mRNA を認識し、素早くサイトカイン産生を調節していること、2) サイトカインなどタンパク質翻訳の終結に伴い、SMG1 キナーゼによる UPF1 のリン酸化が誘導され、Regnase-1 と UPF1 が結合すること、3) UPF1 による RNA の構造変化が起こり、これがトリガーとなって Regnase-1 による RNA 分解が起こることを明らかにした(論文 3)。このように本研究は、Regnase-1 による mRNA 分解

が、翻訳終結と共役した mRNA 構造変化をスイッチとして起こるという新たな分子機構であることを解明した。また、ヒト潰瘍性大腸炎 (UC) 患者腸上皮において、**Regnase-1** の発現を増強させる変異が高頻度に認められることを明らかにした (論文 1)。さらに **Regnase-1** が、肺上皮細胞において緑膿菌感染に対する自然免疫応答の制御に重要な役割を果たしていることを見出した (論文 6)。これらの結果は、**Regnase-1** による mRNA 分解を介した転写後制御が、ヒト炎症性疾患の抑制や感染制御に重要な役割を果たしていることを示すものである。

2. N4BP1 による RNA 分解を介した HIV-1 に対する抗ウイルス自然免疫機序の解明

N4BP1 は、免疫細胞に発現し、核内に存在する **Regnase-1** と相同性を示す RNase である。ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) に対する抗ウイルス効果を持つ RNA 結合タンパク質の解析から、N4BP1 が、CD4 陽性 T 細胞やマクロファージなど HIV-1 感染標的細胞で、ウイルス mRNA と結合し、これを分解することで、HIV-1 感染を抑制する能力を持つことを見出した。しかし、T 細胞受容体刺激で活性化 CD4 陽性 T 細胞では、N4BP1 が宿主タンパク質分解酵素 MALT1 により分解され、その機能を失うことも明らかとなった。この結果は、活性化 CD4 T 細胞において HIV-1 が増殖しやすい現象とも符合すると考えられる。また、近年問題となっている HIV-1 潜伏感染細胞においては、N4BP1 が発現しているが、潜伏感染細胞の抗原類似刺激に対して MALT1 による N4BP1 分解が誘導され、これが HIV-1 の再活性化に寄与していることを見出した (論文 4)。この結果は、**Regnase-1** ファミリー分子が、宿主 mRNA 分解を介した免疫制御だけではなく、ウイルス RNA を分解することで抗ウイルス自然免疫応答に関わる新たな概念を提示し、また、この機構が、HIV-1 潜伏感染細胞の再活性化にも関わる事を示すものである。

3. コドンバイアスによる新たなヒト mRNA 安定性制御システムの解明

ヒト同義コドン頻度の網羅的解析から、コドンがその 3 番目の塩基に G または C を持つものと A または T を持つものというグループに大別でき、これが、mRNA の安定性と相関することを見出した。このルールに従ってコドンを最適化、非最適化することにより、mRNA やタンパク質発現を制御しうることを明らかにした (論文 2)。これは、ヒトにおいてコドンバイアスが mRNA 安定性に関わる事を示す新たな研究成果であり、学術的にも重要なものである。また、mRNA 安定性制御機構を包括的に理解する上で、mRNA の 3' UTR だけではなく、タンパク質コード領域のコドンバイアスを考慮に入れる必要が有る事を示している。

5. 今後の計画

研究方法の 1)、2)、3)の項目に関し、新規制御因子同定とその機能解析を継続的に行うことで、それぞれの制御メカニズムに迫ると共に、個々の制御機構の相関を比較検討するし、mRNA 発現における各制御機構の寄与を明らかにする。この解析をゲノム上のすべての、もしくは免疫応答により変化する mRNA について行うことで、mRNA 制御機構、制御分子の結合状態などにより、アウトプットとしての mRNA 発現量やその変化、更にはサイトカイン産生などの強さを予測できるようになることが期待される。

6. これまでの発表論文等 (受賞等も含む)

1. Kakiuchi N, Takeuchi O, *Ogawa S. (54 著者中 51 番目) Frequent mutations that converge on the NFKBIZ pathway in ulcerative colitis. **Nature**. 577, 260-265. (2020)
2. Hia F, Yang SF, Shichino Y, Yoshinaga M, Murakawa Y, Vandenbon A, Fukao A, Fujiwara T, Landthaler M, Natsume T, Adachi S, Iwasaki S, *Takeuchi O. Codon bias confers stability to human mRNAs. **EMBO Rep**. 20, e48220. (2019)
3. Mino T, Iwai N, Endo M, Inoue K, Akaki K, Hia F, Uehata T, Emura T, Hidaka K, Suzuki Y, Standley DM, Okada-Hatakeyama M, Ohno S, Sugiyama H, Yamashita A, *Takeuchi O. Translation-dependent unwinding of stem-loops by UPF1 licenses **Regnase-1** to degrade inflammatory mRNAs. **Nucleic Acids Res**. 47, 8838-8859. (2019)
4. Yamasoba D, Sato K, Ichinose T, Imamura T, Koepke L, Joas S, Reith E, Hotter D, Misawa N, Akaki K, Uehata T, Mino T, Miyamoto S, Noda T, Yamashita A, Standley DM, Kirchhoff F, Sauter D, Koyanagi Y, *Takeuchi O. N4BP1 restricts HIV-1 and its inactivation by MALT1 promotes viral reactivation. **Nat Microbiol**. 4, 1532-1544. (2019)
5. Mino T, *Takeuchi O. Post-transcriptional regulation of immune responses by RNA binding proteins., **Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci**. 94, 248-258., 2018
6. .Nakatsuka Y, Vandenbon A, Mino T, Yoshinaga M, Uehata T, Cui X, Sato A, Tsujimura T, Suzuki Y, Sato A, Handa T, Chin K, Sawa T, Hirai T, *Takeuchi O. Pulmonary **Regnase-1** orchestrates the interplay of epithelium and adaptive immune systems to protect against pneumonia. **Mucosal Immunol**. 11, 1203-1218. (2018)

7. ホームページ等

<https://mc.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/>