

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：20H05693
研究課題名：Regnase-1 を介した mRNA 管理機構の包括的理解
研究代表者氏名（ローマ字）：審良 静男（Shizuo AKIRA）
所属研究機関・部局・職：大阪大学・免疫学フロンティア研究センター・特任教授
研究者番号：50192919

研究の概要：

RNA 分解酵素 Regnase-1 は、標的遺伝子のメッセンジャーRNA (mRNA) を分解することで、炎症反応や T 細胞免疫応答を制御する。その一方で、Regnase 1 は免疫細胞を問わず様々な細胞の mRNA を分解することが近年明らかとなってきた。本研究では、Regnase-1 の様々な組織、細胞における RNA 発現調節機構を解明し、細胞、組織の機能維持における Regnase-1 の役割の解明を目指す。

研究分野：医歯薬学、免疫学

キーワード：Regnase-1、mRNA 安定制御、代謝調節、組織恒常性

1. 研究開始当初の背景

Regnase-1 は、IL-6、IL-12p40、IL-2 などの炎症に関わる遺伝子群の mRNA の 3' 末端側の非翻訳領域を認識して分解し、標的となるサイトカイン、ケモカイン遺伝子の産生を抑制することで、免疫応答の負の制御因子として作用する。Regnase-1 は、当初は炎症反応や T 細胞免疫応答などの、血球系細胞の関与する遺伝子発現制御に関わる制御因子として注目されていた。しかし近年の研究から、細胞増殖や代謝制御など、血球系細胞の関与しない細胞や臓器の遺伝子発現制御プロセスに Regnase-1 が関与していることが明らかとなり、Regnase-1 による炎症・免疫応答制御機構はこの遺伝子の有する機能の一端に過ぎないことが示唆された。また血球系細胞においても、マクロファージ、T 細胞、造血系幹細胞、2 型自然リンパ球などにおいて、Regnase-1 が各々の機能制御に関与していることが判明しており、多種多様な血球系細胞の機能制御における Regnase-1 の関与が想定される。

2. 研究の目的

本研究では、これまでに蓄積された Regnase-1 による免疫・炎症反応制御機構に関する知見を基にして、臓器の恒常性維持やそれらを構成する細胞の活性化のプロセスに Regnase-1 が関与しているかどうかを調べ、Regnase-1 による mRNA 産生制御機構の包括的かつ総合的な理解を深めることを目的とする。本研究課題では、免疫細胞（制御性 T 細胞、NK 細胞）や肝臓、脂肪組織などを研究対象として、それらの細胞・組織の機能維持における Regnase-1 による mRNA 安定性の寄与を明らかにし、RNA 生物学の新たな領域の開拓を目指す。また、Regnase-1 の機能を阻害する低分子化合物の取得を行い、Regnase-1 の機能を制御することによって、免疫機能を自在に活性化することができるかどうかの可能性を調べ、疾患治療への適用の道を切り開くことを目指す。

3. 研究の方法

本研究課題では、これまで Regnase-1 を介した mRNA 安定性制御機構の介在する細胞・組織の探索とそのメカニズムの検証、および Regnase-1 の機能改変による免疫細胞、組織に対する影響の解明とそれらの疾患治療への適応の妥当性の検証を行う。具体的には、(1) 各種 T 細胞サブセットおよび NK 細胞における Regnase-1 の機能的役割の解明、(2) Regnase-1 の RNase 活性阻害や蛋白質切断阻害を付与する点変異マウスの作製、およびそれらの機能改変が免疫系や組織恒常性に与える影響の検証、(3) 肝臓や脂肪組織における機能維持や代謝プロセスにおける Regnase-1 の役割の解明、(4) Regnase-1 の RNase 活性を阻害する低分子化合物の開発およびそれらの創薬応用への可能性の検証、を行う。

4. これまでの成果

(1) 各種 T 細胞サブセットおよび NK 細胞における Regnase-1 の機能的役割の解明

T 細胞サブセット特異的 Cre マウスおよび NK 細胞特異的 Cre マウスと、Regnase-1 flox マウスの交配により、それぞれの細胞特異的に Regnase-1 を欠損したマウスを取得した。NK 細胞特異的 Cre マウスは野生型マウスよりも強い抗腫瘍活性を示し、Regnase-1 を欠損した NK 細胞は腫瘍組織に高度に浸潤し、IFN γ や Preforin 等の抗腫瘍作用を持つ物質を顕著に産生していることが判明した。また野生型及び Regnase-1 欠損 NK 細胞に対するシングルセル解析を用いて、NK 細胞における Regnase-1 の標的遺伝子の探索を試みた。その結果、抗腫瘍作用に貢献する遺伝子群の発現を制御する特定の遺伝子の mRNA が Regnase-1 による分解を受けており、その遺伝子が Regnase-1 による産生制御を受

けることによって、NK細胞の抗腫瘍活性が調節されていることを見出した。

(2) Regnase-1のRNase活性阻害や蛋白質切断阻害を付与する点変異マウスの機能解析

Regnase-1蛋白質の酵素活性を欠失したアミノ酸変異を付与した変異マウス(D141Nマウス)を作製し、その変異が免疫機能に対して与える影響を評価した。D141N変異マウスは、Regnase-1遺伝子欠損マウスと同様の自己免疫疾患様の症状を発症するが、遺伝子欠損マウスと比較して軽微な疾患症状を呈した。また、このマウスの示す疾患症状は、主にT細胞の各臓器への浸潤と、浸潤したT細胞がもたらす炎症応答によって引き起こされることが判明した。これらのT細胞は、Regnase-1遺伝子欠損マウス由来のT細胞と同様にエフェクター・メモリー化が進んでおり、各臓器及び末梢血において長期間生存することが判明した。また、Regnase-1はT細胞の活性化時にMalt1プロテアーゼによる蛋白質切断を受けるが、その蛋白質切断を阻害するアミノ酸点変異を施したマウス(R111Aマウス)を作製して、その免疫応答に対する影響を調べた。この変異マウスに対して卵白アルブミン(OVA)蛋白質の吸入によるアレルギー疾患モデルを適用したところ、野生型マウスと比較して抗OVA IgE産生が向上し、なおかつ肺気道組織における炎症及び線維化が亢進しており、アレルギー疾患が増悪することが判明した。

(3) 肝臓や脂肪組織における機能維持や代謝プロセスにおけるRegnase-1の役割の解明

肝細胞特異的Cre発現マウス及び褐色脂肪細胞特異的Cre発現マウスとRegnase-1 floxマウスを交配することで、肝臓及び脂肪組織特異的にRegnase-1を欠損するマウスの作製に成功した。これらのマウスに対して細胞及び組織ストレスを付与するマウスモデル(肝臓:非アルコール性肝障害モデル、脂肪組織:低温ストレスモデル)を適用し、それらの疾患症状の進展を現在評価している。

5. 今後の計画

(1) 各種T細胞サブセットおよびNK細胞におけるRegnase-1の機能的役割の解明については、同定されたRegnase-1の標的遺伝子の機能解析を進め、各T細胞サブセットのエフェクター・メモリー化の分子メカニズムおよび、NK細胞の抗腫瘍活性亢進の分子メカニズムを詳細に解明する。(2) Regnase-1のRNase活性阻害や蛋白質切断阻害を付与する点変異マウスの機能解析について、D141N変異マウス由来T細胞におけるRegnase-1の標的遺伝子を同定し、それらの遺伝子発現制御パターンの解析を通じて、D141N変異によってもたらされるT細胞のエフェクター・メモリー化および活性化機構の解明を試みる。R111Aマウスについては、アレルギー疾患に関連するT細胞サブセットと点変異との関連を調べ、T細胞におけるRegnase-1蛋白質切断の役割についてより詳細な知見を得ることを試みる。(3) 肝臓や脂肪組織における機能維持や代謝プロセスにおけるRegnase-1の役割の解明については、作製した組織特異的Regnase-1欠損マウスに対してマウスモデルを適用することで、これらの臓器の機能制御においてRegnase-1によるmRNA産生制御機構が関与するかどうか、また関与した場合にその詳細な分子メカニズムの同定を試みる。(4) Regnase-1のRNase活性を阻害する低分子化合物の開発およびそれらの創薬応用への可能性の検証については、RNase活性の阻害を検証するための実験系を確立しており、化合物ライブラリーを入手し次第スクリーニングを実施する予定である。RNase活性を阻害する候補化合物を取得した後に、in vitroおよびin vivoの両面からそれらの化合物の活性及び安全性の評価を行う予定である。

6. これまでの発表論文等(受賞等も含む)

(研究代表者は二重線、研究分担者は一重下線)

<論文>

(1) Akira S, Maeda K. Control of RNA Stability in Immunity. Annu. Rev. Immunol. 39: 481-509, 2021 Review.

(2) Kawasaki T, Sugihara F, Fukushima K, Matsuki T, Nabeshima H, Machida T, Mitsui Y, Fujimura S, Sagawa R, Gaheun L, Kuniyoshi K, Tanaka H, Narazaki M, Kumanogoh A, Akira S, Satoh T. Loss of FCHSD1 leads to amelioration of chronic obstructive pulmonary disease. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 118: e2019167118, 2021

(3) Fukushima K, Akira S. Novel insights into the pathogenesis of lung fibrosis: the RBM7-NEAT1-CXCL12-SatM axis at fibrosis onset. Int. Immunol. 33: 659-663, 2021 Review.

<受賞>

(1) Shizuo Akira Highly Cited Researchers, Clarivate Analytics (2020)

(2) 審良静男、日本内分泌学会マイスター賞 (2021)

7. ホームページ等

<http://hostdefense.ifrec.osaka-u.ac.jp/ja/index.html>