

ノンコーディングRNAによる自然免疫応答の制御

秋光 信佳

1. はじめに

21世紀に入ってから爆発的に進展した大規模トランスクリプトーム解析の結果、ヒトゲノムからは数万種類にも及ぶ新しい転写産物が発現していることが判明した。これら新規の転写産物はタンパク質のアミノ酸一次配列情報をコードしていないことからノンコーディングRNA (noncoding RNA: ncRNA, 非翻訳RNA, 非コードRNAとも呼ばれる) と呼ばれるようになった。ncRNAは、20塩基長から200塩基長程度の小分子ncRNAと全長が数百塩基長から数十万塩基長の長鎖ncRNAに大別される。代表的な小分子ncRNAであるマイクロRNAは標的となるメッセンジャーRNAの3'非翻訳領域と相補的に結合して、標的メッセンジャーRNAの分解促進と翻訳抑制を引き起こすことで遺伝子発現を制御する(図1)。一方、長鎖ncRNAはさまざまなRNA結合タンパク質と結合し、RNA結合タンパク質の細胞内局在、タンパク質間相互作用、酵素活性制御などを通じて多様な生理機能を発揮する(図1, 図2)。すなわち、基本的にマイクロRNAがメッセンジャーRNAの機能制御を通じて生理機能を発揮するのに対し、長鎖ncRNAは主に結合タンパク質の機能を制御することで生理機能を発揮する。

本稿では、自然免疫応答の制御に関与するncRNAについて概説する。

2. マイクロRNA

ヒトゲノムには約1000種類程度のマイクロRNAが存在し、発生・分化等における遺伝子発現の調節分子として重要な役割を果たしている¹⁾。そして、マイクロRNAは病原体感染に対する宿主細胞の免疫系の制御においても重要な役割を果たしている²⁾。ヒトを含む哺乳動物の免疫系は獲得免疫系と自然免疫系に大別される。獲得免疫は、後天

的に外来異物の刺激に応じて形成される免疫であり(ゆえに獲得免疫と呼ばれる)、高い特異性と長期にわたる免疫性(免疫記憶と呼ばれる)を特徴とし、B細胞が産生する抗体が異物認識に主要な役割を果たしている。一方、無脊椎動物から備わる自然免疫系は、獲得免疫に比べると異物認識の特異性は低いが、免疫応答の初動で重要な役割を果たす即時対応型のシステムである。自然免疫系では、マクロファージなどの免疫担当細胞がリポ多糖(lipopolysaccharide: LPS)等の病原体に固有の分子(病原体関連分子パターン)を認識して病原体を排除する。この自然免疫系の制御においてもマイクロRNAは重要な役割を担っている。細菌やウイルス感染によってToll様受容体(Toll-like receptor: TLR)が活性化されたときや腫瘍壊死因子 α (tumor necrosis factor- α : TNF- α)などの炎症性サイトカインのシグナルによっていくつかのマイクロRNAが誘導されることが知られているが、その中には宿主細胞の自然免疫系を制御するものが存在する。たとえば、エプスタイン・バーウイルス(Epstein-Barr virus)感染等で誘導されるmiR-146はIRAK1, IRAK2, TRAF6などのTLRシグナル経路に関わる分子をコードするメッセンジャーRNAを阻害して自然免疫応答を負に制御している。また、miR-155はT細胞、B細胞、マクロファージ、樹状細胞といった広範な免疫担

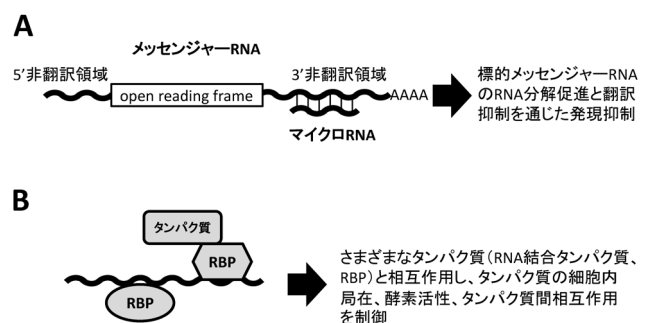


図1 マイクロRNAと長鎖ノンコーディングRNAの違い (A)マイクロRNAは23塩基長程度のRNA分子であり、マイクロRNAと相補的配列を有するメッセンジャーRNAに結合して標的メッセンジャーRNAの分解促進と翻訳抑制を行う。その結果、標的メッセンジャーRNAの遺伝子発現が抑制される。(B)長鎖ノンコーディングRNAの多くはタンパク質との相互作用を通じて生理的機能を発揮する。すなわち、さまざまなタンパク質と直接的あるいは間接的に相互作用して、それら相互作用タンパク質の活性、細胞内局在、タンパク質間相互作用などを制御する。

東京大学 アイソトープ総合センター (〒113-0032 東京都文京区弥生2-11-16)

Regulation of innate immune responses by long noncoding RNAs
Nobuyoshi Akimitsu (Isotope Science Center, the University of Tokyo, 2-11-16 Yayoi, Bunkyo-ku, Tokyo 113-0032, Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2015.870385

© 2015 公益社団法人日本生化学会

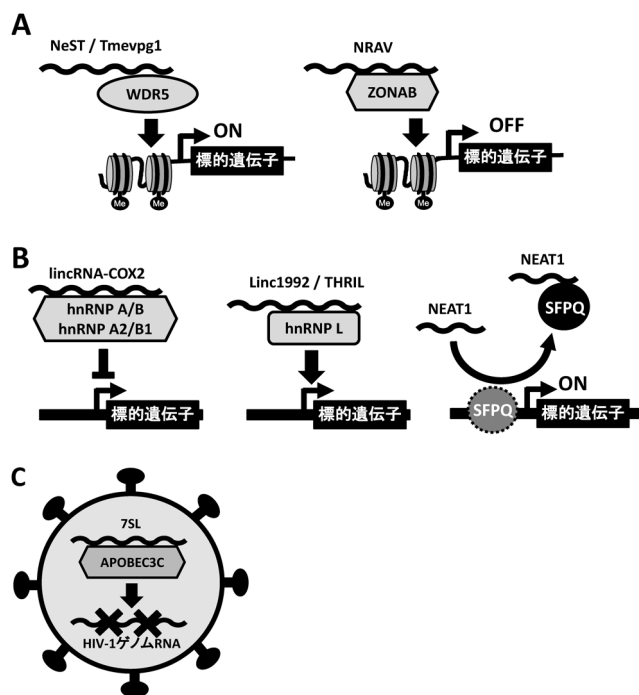


図2 遺伝子発現制御における長鎖ノンコーディングRNAの作用様式

(A) ヒストン修飾などを通じてエピジェネティックな遺伝子発現制御を行う作用様式。(B) 転写制御因子等と相互作用して標的遺伝子の転写活性を制御する作用様式。(C) RNA結合タンパク質と協同してウイルスゲノムやウイルスタンパク質を不活性化作用様式。

当細胞で免疫刺激に応答して発現誘導され、JAK/STATシグナル経路を制御するSOCS1や転写因子PU.1/Spi1のメッセンジャーRNAの抑制を通じて、これら免疫担当細胞の働きを制御する。miR-155はマクロファージや樹状細胞などの自然免疫系の細胞とT細胞、B細胞、制御性T細胞(Treg)などの獲得免疫系細胞の両者を制御することから、自然免疫系と獲得免疫系との協調的制御を担っていると考えられている。さらに、miR-155はMYD88, TAB2, IKK ϵ などのシグナル分子、FOXP3, C/EBP β などの転写因子なども制御するとの報告があり、免疫系では中心的に働くマイクロRNAの一つである³⁾。一方、宿主細胞に侵入したウイルス由来のメッセンジャーRNAを標的とする宿主由来マイクロRNAも存在する。miR-29aはヒト免疫不全ウイルス(human immunodeficiency virus: HIV-1)複製反応を、miR-32はサル泡沫状ウイルス(simian foamy virus)由来のRNAをそれぞれ標的としてウイルス増殖を阻害している。このように、マイクロRNAは宿主由来RNAとウイルス由来RNAの双方を標的として自然免疫応答の制御に役立っている。ウイルス感染に応答して機能するマイクロRNAに比べ、細菌感染時に働くマイクロRNAに関する知見は少ないが、細菌感染に対する自然免疫系の応答でもmiR-155

とmiR-146が重要な役割を担っている⁴⁾。

また、病原体自身がマイクロRNAを発現する例も知られる。ヘルペスウイルス(herpesvirus)、ポリオマウイルス(polyomavirus)、そしてアデノウイルス(adenovirus)などのDNAウイルスがマイクロRNAを発現する⁵⁾。ウイルス由来のマイクロRNAは、ウイルス由来メッセンジャーRNAを制御してウイルス複製を促進することに加え、宿主細胞由来のメッセンジャーRNAの発現を抑制することを通じてウイルス複製にとって有利な細胞内環境を作り上げる。さらに、C型肝炎ウイルス(hepatitis C virus)は宿主由来のmiR-122を自身のゲノム複製に利用している。ちなみに、C型肝炎ウイルスのmiR-122利用機構を逆手にとって、miR-122を吸着するアンチセンス核酸医薬品の開発が現在進んでいる⁶⁾。最近では細胞が放出する小胞であるエクソソーム小胞中にマイクロRNAが含まれ、エクソソーム小胞中のマイクロRNAががん細胞の判別に役立つことも示されてきている。このように、宿主と病原体の攻防を理解する上でもマイクロRNAはきわめて興味深い生体分子であるだけではなく、その作用機序等を理解することで医薬品開発のシーズともなる。応用の観点からもマイクロRNAは興味深い生体分子であるといえる。

3. 長鎖ncRNA

数万種類も存在する長鎖ncRNAの生理機能解明はマイクロRNA研究に比べて立ち遅れていた。マイクロRNAの作用機構が基本的に標的メッセンジャーRNAとの相補的結合に立脚したシンプルな様式であるのに対し、長鎖ncRNAは多様なRNAやRNA結合タンパク質と相互作用して生理機能を発揮することから、機能解明が一筋縄ではない事情があった。しかしながら、近年のRNAおよびRNA結合タンパク質の解析技術の発達で長鎖ncRNAの生理機能を徐々に明らかにしている。

1) 細菌感染時に働く長鎖ncRNA

Pam₃CSK₄(細菌のリポタンパク質構造を模倣したトリアシル化リポタンパク質で、Tlr2のリガンド)で刺激したマウス骨髄由来マクロファージで誘導されるlincRNA-Cox2*は、ヘテロ核リボスクレオタンパク質A/B(heterog-

*転写活性を示すヒストン修飾パターンが遺伝子間領域にも見いだされたことから遺伝子間にも未知の転写産物が発現していることが判明し、このような新規転写産物に対してlincRNAという名称が2009年に米国のLanderらのグループから提唱された。発表当初はlarge intervening non-coding RNAsと名づけられていたが、途中からlarge intergenic non-coding RNAsと改名された。lincRNA-Cox2は、prostaglandin-endoperoxide synthase 2 [*Ptgs2* (Cox2)]の近傍に存在するlincRNAであることからこのように名づけられた。

enous nuclear ribonucleoprotein A/B : hnRNP A/B) および hnRNP A2/B1 と相互作用することで一群の自然免疫関連遺伝子 (インターフェロン応答遺伝子群, Ccl5 や Il-6 などのケモカイン類) の発現を正あるいは負に制御 (Ccl5 の発現抑制, Il-6 の発現促進) して自然免疫応答をコントロールしている⁷⁾. また, lincRNA-Cox2 は LPS (Tlr4 リガンド) 刺激で樹状細胞にも誘導されることから, lincRNA-Cox2 は異なる TLR (少なくとも Tlr2 と Tlr4) のシグナル伝達経路の制御下にある長鎖 ncRNA といえる. 一方, hnRNP A/B と hnRNP A2/B1 は核局在型長鎖 ncRNA である mrhl RNA (マウス精原細胞において Wnt シグナルを負に制御することが知られていた) と相互作用することが最近報告されており, hnRNP A/B と hnRNP A2/B1 は異なる長鎖 ncRNA との相互作用を通じて多様な遺伝子発現制御機構に関わっていると思われる. また, 同じく Pam₃CSK₄ を使った刺激実験から, linc1992/THRIL という長鎖 ncRNA も同定されている. linc1992/THRIL は hnRNP L と複合体を作って, TNF α などの一群の免疫関連遺伝子の転写を制御する⁸⁾. 他にも, LPS 刺激で誘導される lnc-IL7R が E-selectin, VCAM-1, IL-6, IL-8 などの発現を制御することが報告されている. このように, LPS 刺激によって多様な長鎖 ncRNA が誘導され, 協調的に自然免疫応答の制御に機能していると考えられる.

T 細胞とナチュラルキラー細胞で発現する NeST [nettoie Salmonella pas Theiler's (cleanup Salmonella not Theiler's)]/Tmevpg1 はサルモネラ感染に対する抵抗性を与える核局在型長鎖 ncRNA である (図 2A). NeST/Tmevpg1 は, MLL/SET1 ヒストン H3 リシン 4 メチルトランスフェラーゼ複合体の構成因子 WDR5 と相互作用して INF- γ 遺伝子領域のエピジェネティックな転写を制御する⁹⁾. 一方, NeST 発現はタイラーマウス脳脊髄炎ウイルス (Theiler's murine encephalomyelitis virus) に対する感受性を増加させるが, このように相反する効果が生じる原因は不明である.

2) ウイルス感染時に働く長鎖 ncRNA

哺乳動物細胞の核には, 核小体などの構造体が存在する. このような核内構造体は現在までに約 10 種類ほど知られており, 遺伝子発現などの核機能の制御に関与していると考えられている. このような核内構造体の一つとして知られるパラスペックルを形成するために必要な構造 RNA として発見された核局在型 ncRNA の NEAT1 は, インフルエンザウイルスやヘルペスウイルス感染によって誘導される. 誘導された NEAT1 は転写リプレッサー SFPQ を転写プロモーターから乖離させ, 一群の遺伝子 (サイトカインや病原体関連分子パターン認識受容体) の転写誘導を通じて自然免疫系を促進する働きを発揮する (図 2B)¹⁰⁾.

ちなみに, プロテアソーム活性の阻害によっても NEAT1 が転写誘導されることが知られている¹¹⁾.

ある種の長鎖 ncRNA は宿主タンパク質がウイルス粒子へ取り込まれる過程で機能を発揮する. 宿主細胞由来のタンパク質であるシチジンデアミナーゼの APOBEC3 は, レトロウイルスの一種である HIV-1 のウイルス粒子に組み込まれ, ウイルス粒子中で HIV-1 の RNA ゲノムに塩基修飾を導入することで効率的に遺伝子変異を誘発する抗ウイルス因子として働く. APOBEC3 が HIV-1 ウイルス粒子に封入されることが抗ウイルス作用の発揮に必要なことが, この封入を 301 塩基長の ncRNA である 7SL が補助することが判明し, 7SL はレトロウイルスに抵抗するための自然免疫系の一端を担うことがわかった (図 2C)¹²⁾. 7SL はシグナル認識粒子 (signal recognition particle : SRP) の構成成分として新規合成される分泌タンパク質や膜タンパク質が小胞体膜内へ移行する反応にも関与しており, ひとつの長鎖 ncRNA が複数の生理的働きを有しうることを示す例となっている.

一方, ウイルスの増殖に利用される宿主由来長鎖 ncRNA も知られている. VIN は A 型インフルエンザウイルス感染で誘導され, インフルエンザの増殖を促進する機能を有する¹³⁾. NRAV (negative regulator of antiviral response) 長鎖 ncRNA は, ZONAB (ZO-1-associated nucleic acid binding protein) と相互作用して標的遺伝子群のヒストン修飾を制御し, その結果, IFITM3 や MxA などのインターフェロン応答遺伝子群の発現を抑制することでインフルエンザウイルスの複製を促進する¹⁴⁾. 興味深いのは, インフルエンザウイルス感染に反応して NRAV 発現が抑制されることが宿主細胞の抗ウイルス戦略となっている点である. その他にも, インターフェロン経路を抑制する lncRNA-CMPK2 が HCV 増殖を促進する例や, TNF α 刺激で誘導される Lethe が NF- κ B サブユニットの RelA に結合して自然免疫応答関連遺伝子の発現を抑制する例 (NF- κ B のネガティブフィードバック) が知られる.

ウイルス自体も多様な長鎖 ncRNA を発現している. 紙面の関係で詳細は省くが, ヘルペスウイルスの HSUR やカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus) の PAN がウイルス増殖に有利な細胞環境を作り出すことが報告されている.

4. おわりに

以上にまとめたように, 病原体も宿主も多様な ncRNA を利用して自分自身に有利な細胞内環境を確立しようとしている. この攻防において, 宿主細胞はウイルスに対抗する自然免疫応答の一環として自身の翻訳反応を抑制することが古くから知られていた. ncRNA は翻訳されずに機能

する生体分子であることから、宿主細胞の翻訳が抑制された環境下でも機能を発揮できる。つまり、ncRNAの「翻訳されない」あるいは「翻訳を必要としない」という分子特性は自然免疫応答中の細胞環境下できわめて有利な特性であり、自然免疫系においてncRNAが機能することは理にかなっていると筆者は考えている。この考えを拡張すると、熱ショックなどの翻訳を抑制するストレス環境下でもncRNAが重要な生理機能を果たしていることが予想される。現在、この仮説を基に、筆者はストレス環境に応答する長鎖ncRNAの解析を進めている。

文 献

- 1) Bartel, D.P. (2009) *Cell*, **136**, 215–233.
- 2) Lee, H.-M., Nguyen, D.T., & Lu, L.-F. (2014) *Front. Genet.*, **5**, 1–8.
- 3) O'Neill, L.A., Sheedy, F.J., & McCoy, C.E. (2011) *Nat. Rev. Immunol.*, **11**, 163–175.
- 4) Eulalio, A., Schulte, L., & Vogel, J. (2012) *RNA Biol.*, **9**, 742–750.
- 5) Cullen, B.R. (2011) *Genes Dev.*, **25**, 1881–1894.
- 6) Baek, J., Kang, S., & Min, H. (2014) *Arch. Pharm. Res.*, **37**, 299–305.
- 7) Carpenter, S., Aiello, D., Atianand, M.K., Ricci, E.P., Gandhi, P., Hall, L.L., Byron, M., Monks, B., Henry-Bezy, M., Lawrence, J.B., O'Neill, L.A., Moore, M.J., Caffrey, D.R., & Fitzgerald, K.A. (2013) *Science*, **341**, 789–792.
- 8) Li, Z., Chao, T.C., Chang, K.Y., Lin, N., Patil, V.S., Shimizu, C., Head, S.R., Burns, J.C., & Rana, T.M. (2014) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 1002–1007.
- 9) Gomez, J.A., Wapinski, O.L., Yang, Y.W., Bureau, J.F., Gopinath, S., Monack, D.M., Chang, H.Y., Brahic, M., & Kirkegaard, K. (2013) *Cell*, **152**, 743–754.
- 10) Imamura, K., Imamachi, N., Akizuki, G., Kumakura, M., Kawaguchi, A., Nagata, K., Kato, A., Kawaguchi, Y., Sato, H., Yoneda, M., Kai, C., Yada, T., Suzuki, Y., Yamada, T., Ozawa, T., Kaneki, K., Inoue, T., Kobayashi, M., Kodama, T., Wada, Y., Sekimizu, K., & Akimitsu, N. (2014) *Mol. Cell*, **53**, 393–406.
- 11) Hirose, T., Virnicchi, G., Tanigawa, A., Naganuma, T., Li, R., Kimura, H., Yokoi, T., Nakagawa, S., Bénard, M., Fox, A.H., & Pierron, G. (2014) *Mol. Biol. Cell*, **25**, 169–183.
- 12) Wang, T., Tian, C., Zhang, W., Luo, K., Sarkis, P.T., Yu, L., Liu, B., Yu, Y., & Yu, X.F. (2007) *J. Virol.*, **23**, 13112–13124.
- 13) Winterling, C., Koch, M., Koeppl, M., Garcia-Alcalde, F., Karlas, A., & Meyer, T.F. (2014) *RNA Biol.*, **11**, 66–75.
- 14) Ouyang, J., Zhu, X., Chen, Y., Wei, H., Chen, Q., Chi, X., Qi, B., Zhang, L., Zhao, Y., Gao, G.F., Wang, G., & Chen, J.L. (2014) *Cell Host Microbe*, **16**, 616–626.

著者寸描

●秋光 信佳 (あきみつ のぶよし)

東京大学アイソトープ総合センター教授。博士(薬学)。

■略歴 1971年に福岡県で生まれる。気性の荒い筑豊地区で成長する。94年に九州大学薬学部を卒業後、九州大学薬学部助手、東京大学薬学部助手、海外ポスドク留学(スイス連邦バーゼル市に所在するFriedrich Miescher Institute)、産業技術総合研究所研究員と渡り歩き、2008年より現在の所属に着任。14年より現職。

■研究テーマと抱負 基礎研究を深める中で創薬に貢献したいと考えている。

■ウェブサイト <http://www.ric.u-tokyo.ac.jp/akimitsu/>