研究成果報告書

1．研究課題名：新規に同定したマイクロ RNA 制御因子によるウイルス感染細胞の細胞運命スイッチング機構の解明

2．研究代表者氏名：高橋 朋子

3．研究発表（論文、著書、学会発表等があれば記載してください）

論文（投稿中）

- Kubota H, Takahashi S, Iuchi H, Kawasaki J, Yoneyama M, Fukunaga T, Hamada M, **Takahashi T**. センダイウイルス感染誘導性 lncRNA の機能に関する原著論文（題名は公開前につき一部省略）

学会発表（国際・国内）

- Shibata K, Moriizumi H, Onomoto K, Kaneko Y, Yoneyama M, Ui-Tei K, **Takahashi T**. Functional conversion of the RNA silencing factor TRBP regulates the balance between interferon responses and apoptosis during viral infection. The 31th Annual Meeting of the RNA Society, Canada, 2026
- **Takahashi T**. 抗ウイルス RNA-based immunity と Protein-based immunity の進化と現在. 第 26 回日本蛋白質科学会年会, 鳥取, 2026

4．研究実績（必要であれば図を用いても構いません）

【研究背景と目的】

ウイルス感染細胞では、I 型インターフェロン（IFN）応答によって抗ウイルス遺伝子群を誘導して感染拡大を抑制する一方、アポトーシスによって感染細胞そのものを排除する。このような「生存」と「細胞死」の応答の切り替え、すなわち細胞運命スイッチングの分子基盤を解明することが、本研究課題の中心的な目的である。申請者らはこれまで、microRNA（マイクロ RNA）の成熟化を促進する制御因子 TRBP とウイルス RNA 認識因子との相互作用が、microRNA を介した遺伝子発現制御ネットワークを変化させ、感染細胞のアポトーシスに影響することを明らかにしてきた（Takahashi et al. 2018 NAR; Takahashi et al. 2020 NAR; Takahashi et al. 2021 PLoS Pathog.）。また、感染後の TRBP のプロセシングが RNA サイレンシングと IFN 応答の機能的連携に関わることも報告した（Shibata et al. 2024 NAR）。これらの成果を踏まえ、本研究では microRNA 制御因子を起点として、RNA による感染応答の調節と細胞運命スイッチングを理解するための研究を進めた。

【ウイルス感染時に誘導されるノンコーディング RNA の探索】

microRNA 制御因子による細胞運命スイッチング機構に焦点を当てつつも、同時にウイルス感染時の生存・細胞死のバランスを捉えるには、microRNA 制御ネットワークのみならず、感染に応じて発現する他のノンコーディング RNA が関与する可能性も検討する必要がある。そこで、研究課題の基盤にある「RNA を介した感染細胞の応答選択」という視点から、長鎖ノンコーディング RNA（lncRNA）にも解析対象を広げた。ヒト肺由来 A549 細胞にセンダイウイルス（SeV）を感染させ、感染後の遺伝子発現変化を RNA-seq により網羅的に解析した。対照としてウイルス感染により誘導される代表的な抗ウイルス性サイトカインである I 型インターフェロン（IFN-α1）処理細胞も解析し、感染による発現誘導と IFN 刺激単独による誘導を比較した。その結果、感染後の複数の時点で発現が増加する一方、同じ解析条件下の IFN-α1 処理では有意な誘導が認められない lncRNA 群を抽出した。これは、IFN 応答と並行して働きうる RNA 制御層を検討するための手がかりとなった。

【候補 lncRNA の細胞内局在とウイルス RNA との関連】

続いて、ウイルス RNA への関与が予測される候補を絞り込むため、RNA 間相互作用予測法を用いて宿主 lncRNA と SeV RNA との相互作用可能性を評価した。感染に伴う発現変化と予測結果を踏まえ、特徴の異なる複数の候補 lncRNA について実験的検証を進めた。細胞を核画分と細胞質画分に分離し、各 lncRNA の細胞内分布を調べたところ、候補はいずれも感染細胞の細胞質画分から検出され、その分布には候補ごとの違いが認められた。さらに RNA pulldown 法を用いて、宿主 lncRNA とウイルス RNA との関連を調べた。その結果、一方の候補では特定の SeV RNA 領域との有意な共精製が認められたが、もう一方の候補では、調べた SeV RNA との有意な共精製は確認されなかった。これらの結果は、宿主 lncRNA が異なる分子機構を介して感染細胞内で機能する可能性を示唆する。ただし、共精製は直接的な RNA–RNA 塩基対形成の証明ではなく、相互作用の分子実体については今後の検証を要する。

【ウイルス RNA 蓄積とアポトーシス応答への影響】

各候補 lncRNA の機能を評価するため、アンチセンスオリゴヌクレオチドを用いて発現を抑制した細胞に SeV を感染させ、ウイルス RNA 量とアポトーシスに関連する指標を解析した。その結果、解析したいずれの候補についても、発現抑制によって細胞内の SeV RNA 量が減少するとともに、caspase-3/7 活性が上昇した。すなわち、感染によって誘導される宿主 lncRNA が、ウイルス RNA の蓄積を促す方向に働き、感染細胞のアポトーシス応答にも影響することが示された。一方で、RNA 量の減少と caspase 活性の上昇が直接因果的に結びついているか、あるいは lncRNA がそれぞれを独立に制御しているかは、現段階では明らかでない。また、ウイルス RNA との共精製が検出された候補と検出されなかった候補で共通した機能的変化が認められたことから、lncRNA による感染制御には複数の作用経路が存在する可能性が考えられる。

【研究成果の意義と今後の展望】

本研究は、microRNA 制御因子を中心とする RNA サイレンシングと抗ウイルス応答の連携に関するこれまでの知見を基盤として、ウイルス感染細胞の細胞運命スイッチングをより広い RNA 制御ネットワークの観点から検討したものである。今回の解析では、感染誘導性 lncRNA の発現抑制により、ウイルス RNA 蓄積の減少とアポトーシス関連指標の上昇が並行して認められた。この知見は、IFN 応答とアポトーシスのバランスを理解する上で、microRNA やその制御因子に加えて他のノンコーディング RNA の寄与を考慮する重要性を示している。ただし、今回解析した lncRNA が TRBP や microRNA 制御因子を介して作用すること、あるいは IFN 応答とアポトーシスの切り替えを直接決定することを実証したものではない。今後は、各 RNA の作用経路とウイルス RNA 蓄積・アポトーシスの因果関係を検討し、RNA 制御因子群が感染細胞の応答選択に果たす役割を統合的に解明する。関連成果は原著論文として現在投稿中であり、謝辞には本財団による助成を記載した。論文審査中のため、本報告書では個別の候補 RNA 名や詳細数値・図表は公開せず、研究成果の概要を報告する。

※以降コピーして頁数を記載のうえ使用ください