

## 血液細胞分化における左巻き Z 型 RNA 制御の役割の解明

中濱泰祐

大阪大学大学院医学系研究科 神経遺伝子学

### 【研究の背景】

ウイルスなどが感染すると、宿主はこれを感知し自然免疫を活性化させる。この際、生体は、外因性分子に共通するパターンを認識しており、RNA であれば長さ、本数、修飾の有無などが識別ポイントとなっている<sup>1)</sup>。自然界に存在する 2 本鎖 RNA のほとんどは右巻き(A 型)である。一方、左巻き(Z 型)構造も in vitro では形成可能であることが示されていたが<sup>2)</sup>、その生物学的意義は長らく不明であった。

生体内には、Z 型 RNA への結合( $Z\alpha$ )ドメインを持つ RNA 編集酵素 ADAR1 やウイルスセンサー分子 ZBP1 などが存在する<sup>3)</sup>。申請者はこれまでに、ADAR1 の Z 型 RNA 結合活性を喪失させた W197A KI マウスを作製し、自然免疫の活性化を伴う造血障害や生後致死が生じることを見出した<sup>4)</sup>。この知見は、Z 型 RNA が自然免疫システムに外因性分子として認識されるリスクを持ち、その回避のために ADAR1 による制御機構が存在することを示唆している。しかし、この Z 型 RNA 制御異常がどのように造血障害を引き起こすのかは未だ不明である。

### 【目 的】

本研究では、ADAR1 による Z 型 RNA 制御異常が引き起こす造血障害の分子機構を解明することを目的とした。

### 【方 法】

W197A KI マウスが示す造血障害を詳細に解析するため、骨髄細胞を用いてシングルセル RNA-seq 解析を実施した。さらに、本病態における I 型インターフェロン(IFN)シグナルおよび ZBP1 の関与を検証するため、W197A KI マウスを IFN 受容体欠損(KO)マウスまたは ZBP1 KO マウスと交配し、骨髄細胞分化および遺伝子発現を解析した。

### 【結 果】

骨髄細胞を用いてシングルセル RNA-seq 解析を行ったところ、W197A KI マウスでは造血幹細胞クラスターが著しく減少していた。さらに、LT-HSC から MPP 細胞への分化が停滞していることが判明した。そこで、当該クラスターにおいて有意に発現変動した遺伝子について Gene Ontology (GO) 解析を行った結果、「response to virus」や「response to interferon-beta」などの GO term が検出され、I 型インターフェロン(IFN)誘導遺伝子群(ISG)が有意に濃縮されていることが明らかになった。このことから、IFN シグナルの関与を調べるために W197A KI マウスを IFN 受容体 KO マウスと交配したところ、致死性および造血障害は完全に正常化した。一方、 $Z\alpha$ ドメイン保有タンパク質 ZBP1 は ISG の一種であることから、次に IFN シグナル下流における ZBP1 の関与について検証した。その結果、W197A KI マウスを ZBP1 KO マウスと交配すると致死性は消失し、造血障害も部分的に正常化した。以上より、ADAR1 は造血幹細胞分化において、IFN シグナルを介した ZBP1 の異常活性化を制御していることが明らかになった。

## 【考 察】

本研究により、ADAR1 による Z 型 RNA 制御の破綻が、IFN を介して ZBP1 を誘導し、造血障害を引き起こすことが明らかとなった。ZBP1 も Z $\alpha$ ドメインを有することから、ADAR1 と ZBP1 が内在性 Z 型 RNA に対して競合的に作用していることが示唆された。一方で、どのような RNA が Z 型構造を形成し、ZBP1 の標的となっているかは不明であり、今後の課題である。また、IFN 受容体欠損に比べ、ZBP1 欠損では造血障害が部分的にしか改善されなかったことから、本病態には他の ISG も関与していると考えられ、現在解析を進めている。

## 【臨床的意義・臨床への貢献度】

ADAR1 は、Aicardi-Goutières 症候群 (AGS) と呼ばれる自己炎症疾患の責任遺伝子の一つである<sup>5)</sup>。AGS は脳症を主症状とするが、造血障害を含む多彩な症候を示し<sup>6)</sup>、多くの患者が 10 歳未満で死亡する。しかし、その病態には不明な点が多く、根治的な治療法も確立され得ていない。一方、本研究では、ADAR1 による Z 型 RNA 制御不全が引き起こす造血障害に、IFN シグナルおよび ZBP1 が関与することを明らかにしたため、これらの分子が新たな AGS 治療の標的となり得る可能性が示唆された。

## 【参考・引用文献】

1. Takeuchi O, Akira S. Innate immunity to virus infection. *Immunol Rev*. 2009 Jan;227(1):75-86.
2. Hall K, Cruz P, Tinoco I Jr, Jovin TM, van de Sande JH. 'Z-RNA'--a left-handed RNA double helix. *Nature*. 1984 Oct 11-17;311(5986):584-6.
3. Zhong Y, Zhong X, Qiao L, Wu H, Liu C, Zhang T. Zalpha domain proteins mediate the immune response. *Front Immunol*. 2023 Sep 12;14:1241694.
4. Nakahama T, Kato Y, Shibuya T, Inoue M, Kim JI, Vongpipatana T, Todo H, Xing Y, Kawahara Y. Mutations in the adenosine deaminase ADAR1 that prevent endogenous Z-RNA binding induce Aicardi-Goutières-syndrome-like encephalopathy. *Immunity*. 2021 Sep 14;54(9):1976-1988.e7.
5. Rice GI, Kasher PR, Forte GM, Mannion NM, Greenwood SM, Szykiewicz M, Dickerson JE, Bhaskar SS, Zampini M, Briggs TA, Jenkinson EM, Bacino CA, Battini R, Bertini E, Brogan PA, Brueton LA, Carpanelli M, De Laet C, de Lonlay P, del Toro M, Desguerre I, Fazzi E, Garcia-Cazorla A, Heiberg A, Kawaguchi M, Kumar R, Lin JP, Lourenco CM, Male AM, Marques W Jr, Mignot C, Olivieri I, Orcesi S, Prabhakar P, Rasmussen M, Robinson RA, Rozenberg F, Schmidt JL, Steindl K, Tan TY, van der Merwe WG, Vanderver A, Vassallo G, Wakeling EL, Wassmer E, Whittaker E, Livingston JH, Lebon P, Suzuki T, McLaughlin PJ, Keegan LP, O'Connell MA, Lovell SC, Crow YJ. Mutations in ADAR1 cause Aicardi-Goutieres syndrome associated with a type I interferon signature. *Nat Genet*. 2012 Nov;44(11):1243-8.
6. Adang LA, Gavazzi F, D'Aiello R, Isaacs D, Bronner N, Arici ZS, Flores Z, Jan A, Scher C, Sherbini O, Behrens EM, Goldbach-Mansky R, Olson TS, Lambert MP, Sullivan KE, Teachey DT, Witmer C, Vanderver A, Shults J. Hematologic abnormalities in Aicardi Goutieres Syndrome. *Mol Genet Metab*. 2022 Aug;136(4):324-329.