



皮膚特異的ノンコーディング RNA から産生される機能的タンパク質 ー 皮膚損傷治癒への応用に期待 ー

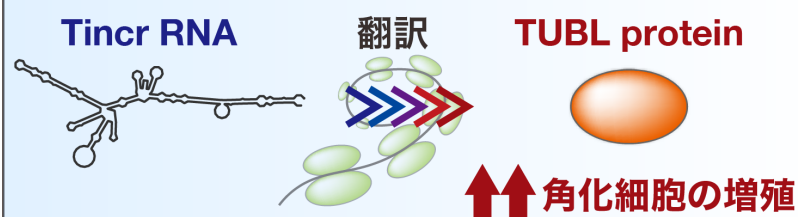
九州大学生体防御医学研究所の中山 敬一 主幹教授、松本 有樹修 准教授、仁田 暁大 研究員（現 熊本大学・助教）、広島大学大学院医系科学研究科の保田 朋波流 教授、大阪市立大学大学院医学研究科の小澤 俊幸 准教授らの研究グループは、皮膚特異的ノンコーディング RNA（※1）として考えられていた TINCR（※2）から、機能的なタンパク質が産生されていることを明らかにしました。

TINCR は 2013 年に皮膚特異的に発現するノンコーディング RNA として同定・報告されていました。そのため、TINCR RNA からタンパク質ができるとは誰も想定していませんでした。

本研究グループは、TINCR RNA の一部の領域がヒトとマウスで高度に保存されており、この領域の配列は、ユビキチン様ドメイン（※3）を持つことを突き止めました。さらに、この領域にタグ配列をノックインしたマウスとタンパク質が翻訳されないノックアウトマウスを作製し、TINCR から翻訳されるタンパク質の存在の確認に成功し、そのタンパク質を TUBL（※4）と命名しました。そこで、TUBL タンパク質過剰発現角化細胞と TUBL ノックアウトマウスを作製し、角化細胞とマウス皮膚での機能解析を行いました。その結果、TUBL タンパク質を過剰発現すると、角化細胞の細胞増殖が亢進し、TUBL タンパク質をノックアウトすると逆に細胞増殖が低下しました。また、TUBL ノックアウトマウスは皮膚の傷害実験で傷の修復が遅延することが明らかとなりました。さらに、TUBL の分子機能を評価すると、タンパク質分解を制御するプロテアソーム（※5）の構成因子との結合が認められ、プロテアソームを介した細胞周期制御を行っていることが示唆されました。

本研究により、これまではノンコーディング RNA として考えられてきた TINCR から機能的なタンパク質である TUBL が産生され、皮膚の角化細胞の細胞増殖に寄与していることが明らかとなりました。本研究成果は、2021 年 8 月 5 日（木）午後 14 時（米国東部時間）に国際科学雑誌「PLOS Genetics」で公開されました。なお、用語解説は別紙を参照。

TUBLはTINCR RNAから翻訳される



研究者からひとこと：TINCR は皮膚科学の業界で最も有名なノンコーディング RNA の一つです。今回の発見は、これまでの常識が、実際には異なるというケースの一例です。科学の進歩によって、今後も真の生物学が詳らかになることが期待されます。

（参考図）TINCR RNA から翻訳される TUBL タンパク質
2013 年にノンコーディング RNA として報告されて以来、皮膚科学におけるノンコーディング RNA としての地位を確立してきた TINCR が、実際には TUBL タンパク質を翻訳しており、これが角化細胞の細胞増殖に機能していることを明らかにしました。



中山主幹教授

【お問い合わせ】 生体防御医学研究所 主幹教授 中山 敬一（なかやま けいいち）
TEL : 092-642-6815 FAX : 092-642-6819
Mail : nakayak1@bioreg.kyushu-u.ac.jp

皮膚特異的ノンコーディング RNA から産生される機能的タンパク質 ー 皮膚損傷治癒への応用に期待 ー

<研究の背景と経緯>

TINCR は皮膚特異的なノンコーディング RNA として報告された、ノンコーディング RNA としても非常に有名な遺伝子の一つです。そもそもノンコーディング RNA の定義は、100 アミノ酸以上の有意な ORF (※6) を持たないものとして分類されるため、実際には、100 アミノ酸以下の小さなタンパク質が産生されている場合でも、それがノンコーディング RNA として分類される可能性があります。近年、これらノンコーディング RNA として定義された遺伝子の中に、実際には翻訳され、小さなタンパク質として機能しているものがいくつか報告されてきました。そこで、われわれは、ノンコーディング RNA 遺伝子の中で進化的に高度に保存されている ORF の存在を網羅的に解析することで、TINCR を同定し、タンパク質として翻訳されている可能性を見だし、その機能を評価しました。

<研究の内容>

これまでに同定されているノンコーディング RNA 遺伝子（特に 200 塩基以上の遺伝子長を持つ長鎖ノンコーディング RNA）について、進化的に保存されている ORF 領域の存在を insilico で評価しました。その結果、皮膚特異的なノンコーディング RNA として TINCR の一部の領域が高度に保存されていることが明らかとなりました。さらに、その領域が翻訳された場合のアミノ酸配列を評価すると、ユビキチン様ドメインを持つことが明らかとなり、タンパク質の存在が強く示唆され、この TINCR RNA から翻訳されるタンパク質を TINCR-encoded ubiquitin-like protein (TUBL) と名付けました（図 1）。

実際に、TUBL タンパク質が産生されるのかを評価するために、TUBL タンパク質領域の末端にタグ配列を挿入したノックインマウスを作製すると、TUBL タンパク質の存在が認められました（図 1）。次に、TUBL の機能を評価するために、TUBL を過剰発現した角化細胞を用いて RNA シークエンス (※7) を行うと、細胞周期関連遺伝子の発現上昇が認められ、さらに細胞周期解析により細胞周期 (※8) が亢進していることが明らかとなりました（図 2）。しかし、この状態では、この領域の RNA 構造が機能している可能性が否定できないため、RNA の構造は全く異なるが、同一のタンパク質を翻訳するような変異体を作製し、細胞周期解析を行いました。その結果、RNA の構造は関係なく、タンパク質の機能により、角化細胞の細胞周期が亢進していることが明らかとなりました。

次に、TUBL ノックアウトマウスを作製し、表皮の遺伝子発現パターンを RNA シークエンスで評価し、野生型マウスと TUBL ノックアウトマウスから樹立した初代角化細胞を用いて同様に細胞周期解析を行うと、TUBL ノックアウト初代角化細胞では、過剰発現細胞とは逆に細胞周期関連遺伝子の発現低下と細胞周期の遅延が認められました。そこで、マウスの皮膚の損傷実験を行い、皮膚の損傷からの治癒を経時的に評価すると、TUBL ノックアウトマウスの皮膚は、治癒の時間が遅れていることが明らかとなりました。

最後に、TUBL タンパク質の機能を評価するために、TUBL と直接結合する遺伝子を網羅的に同定しました。その結果、TUBL は細胞周期に深く関与するタンパク質分解酵素であるプロテアソームの構成因子と複結合することが明らかとなりました。

以上の結果より、TUBL タンパク質はプロテアソームに結合することで、角化細胞の増殖を制御している可能性が示唆されました。

<今後の展開と治療応用への期待>

本研究結果は、これまでノンコーディング RNA と考えられていた TINCR が、実際は TUBL タンパク質を産生しており、TUBL タンパク質は皮膚角化細胞の細胞周期を亢進させていることが明らかとなりました。TINCR は皮膚以外の臓器において、がんで高発現するという報告もあり、これは TUBL タンパク質の高発現によるものである可能性が考えられます。今回の発見は、皮膚の再生や種々の臓器でのがん治療の一助となることが期待されます。

TUBLタンパク質の存在

2013年にTINCRはノンコーディングRNAとして同定された。

LETTER

10 JANUARY 2013 | VOL 493 | NATURE

doi:10.1038/nature11661

Control of somatic tissue differentiation by the long non-coding RNA TINCR

Markus Kretz¹, Zurab Siprashvili^{1*}, Ci Chu^{1*}, Dan E. Webster^{1*}, Ashley Zehnder¹, Kun Qu¹, Carolyn S. Lee¹, Ross J. Flockhart¹, Abigail F. Groff¹, Jennifer Chow¹, Danielle Johnston¹, Grace E. Kim¹, Robert C. Spitale¹, Ryan A. Flynn¹, Grace X. Y. Zheng¹, Subhadra Aiyer², Arjun Raj², John L. Rinn³, Howard Y. Chang^{1,4} & Paul A. Khavari^{1,5}

タグノックインマウスにより
TUBL タンパク質が検出された。

		皮膚				
		真皮	表皮			
組織	遺伝子	検出	検出	検出	検出	検出
脳	TUBL	+	+	+	+	+
肺	TUBL	+	+	+	+	+
肝臓	TUBL	+	+	+	+	+
腎臓	TUBL	+	+	+	+	+
腸	TUBL	+	+	+	+	+
脾臓	TUBL	+	+	+	+	+
膵臓	TUBL	+	+	+	+	+
心臓	TUBL	+	+	+	+	+
筋肉	TUBL	+	+	+	+	+
骨	TUBL	+	+	+	+	+
脂肪	TUBL	+	+	+	+	+
血液	TUBL	+	+	+	+	+

タグ抗体

TUBL タンパク質

図1 TINCR RNAから翻訳されるTUBLタンパク質

TINCRは2013年にノンコーディングRNAとして同定された遺伝子で、これまでその機能はRNAにあると考えられていました（左図）。しかし、本研究により、TINCR RNAからTUBLタンパク質が翻訳されることが明らかとなりました（右図）。

TUBL過剰発現による細胞周期亢進

細胞周期関連遺伝子

細胞周期解析

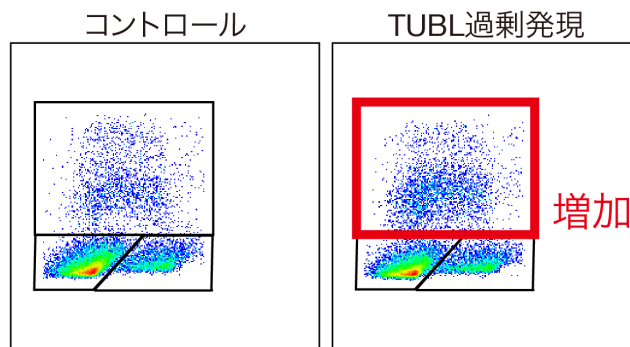
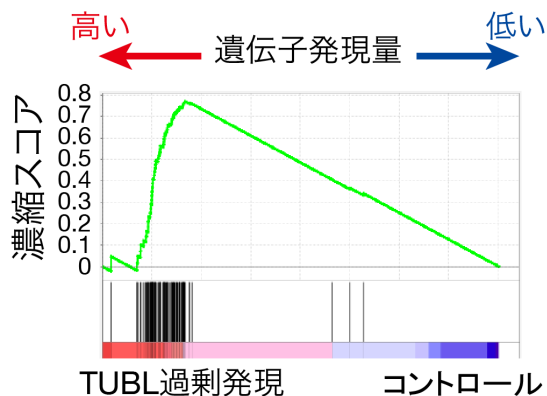


図2 TUBLタンパク質過剰発現は角化細胞の細胞周期を亢進する

TUBLタンパク質をヒトの正常角化細胞に過剰発現すると、細胞周期関連遺伝子の発現がコントロールに比べて上昇していました（左図）。さらに細胞周期解析を行うと、TUBLタンパク質過剰発現で細胞周期が亢進していることが明らかとなりました（右図）。

TUBLノックアウトによる細胞周期遅延

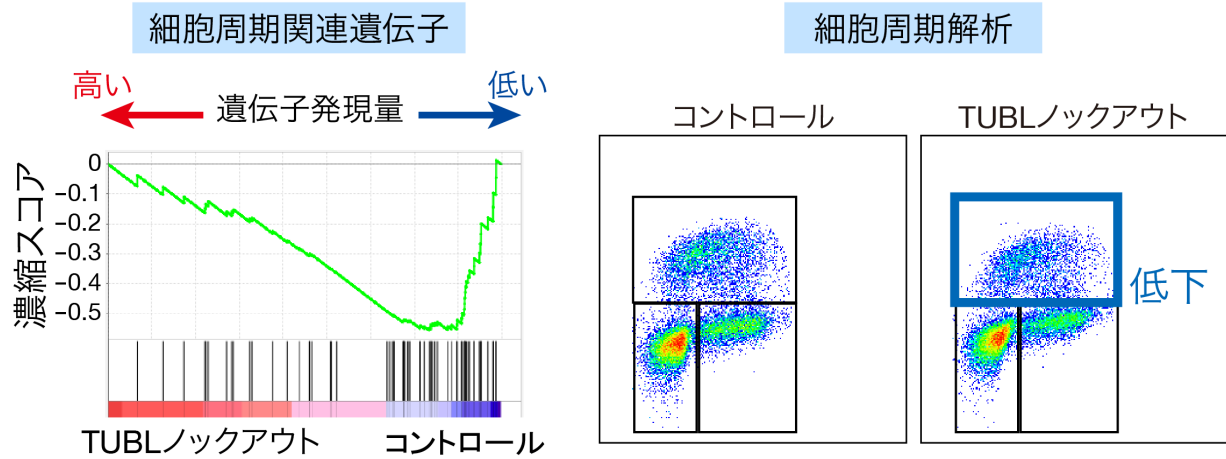


図3 TUBL ノックアウト角化細胞は細胞周期が遅延する

TUBL 過剰発現角化細胞は細胞周期が亢進しますが、逆に TUBL ノックアウトマウスの表皮の RNA シーケンス解析を行うと、細胞周期関連遺伝子の発現が減少し（左図）、TUBL ノックアウト初代角化細胞はコントロールの細胞と比較して、細胞周期が遅延することが明らかとなりました（右図）。

マウス皮膚損傷治癒実験

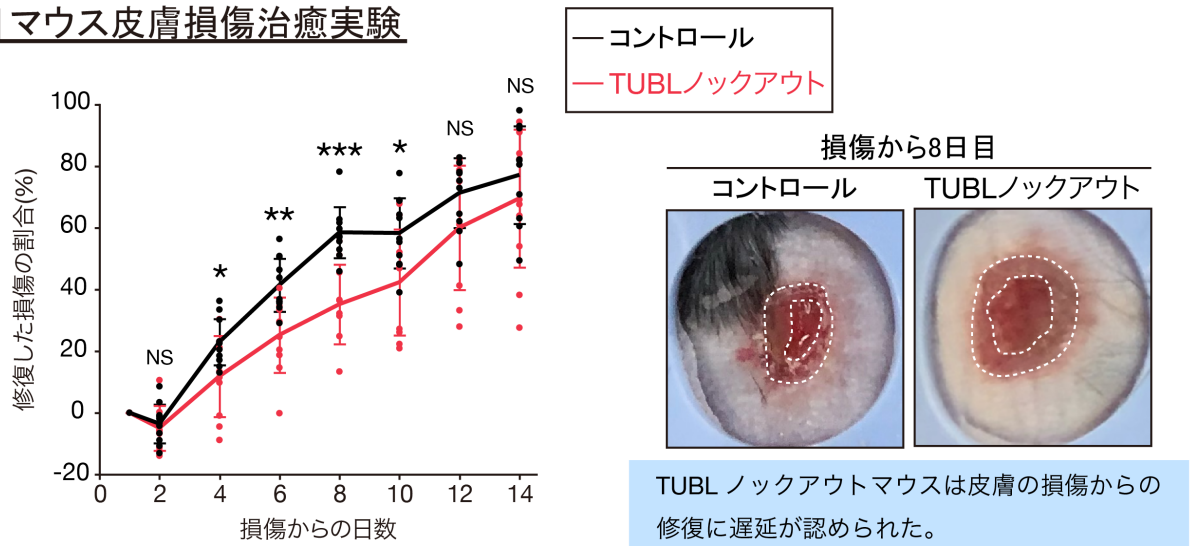


図4 TUBL ノックアウトマウスは皮膚損傷からの治癒に遅延が生じる

TUBL ノックアウトマウスは皮膚損傷からの修復がコントロールマウスと比較して有意に遅延することが明らかとなりました。左図は損傷してから修復するまでの経時変化を示したもので、右図は、修復の遅延により特に差が大きくなった損傷から8日目の損傷領域の写真です。

<用語解説>

- (※1) ノンコーディング RNA: タンパク質に翻訳されず、RNA そのものに機能がある遺伝子の総称です。
- (※2) TINCR: Terminal differentiation-Induced Non Coding RNA (TINCR) の略で、皮膚の分化と共に発現が上昇するものとして同定された遺伝子で、これまではノンコーディング RNA と考えられてきました。
- (※3) ユビキチン様ドメイン: ユビキチンという 76 アミノ酸からなるタンパク質に類似した配列を持ち (ユビキチン様)、それが特定の機能や構造をもつことで他とは区別できる領域 (ドメイン) の事を指します。
- (※4) TUBL: TINCR-encoded ubiquitin-like protein の略で、TINCR からコードされるタンパク質の名称です。
- (※5) プロテアソーム: 細胞内でタンパク質を選択的に分解することができる、複数の構成因子からなる巨大な複合体で、様々な生理現象に関与しています。
- (※6) ORF: Open ReadinG Frame の略で、特定の二本鎖 DNA がタンパク質をコードする場合、実際に遺伝子としてタンパク質をコードしている読み枠のことです。
- (※7) RNA シーケンス: 細胞から回収した RNA を、次世代シーケンサーを用いて大量に読み込むことで、遺伝子の発現量を網羅的に解析する手法です。
- (※8) 細胞周期: 細胞が増殖する際に、DNA 複製、染色体の分配、核分裂、細胞質分裂を経て 1 つの細胞が 2 つの細胞に分裂するまでのサイクルのことです。

<論文情報>

タイトル: “A ubiquitin-like protein encoded by the “noncoding” RNA TINCR promotes keratinocyte proliferation and wound healing”

(ノンコーディング RNA の TINCR にコードされているユビキチン様タンパク質は角化細胞の増殖と損傷治癒を促進する)

掲載誌: PLOS Genetics, 2021

著者名: Akihiro Nita, Akinobu Matsumoto, Ronghao Tang, Chisa Shiraishi, Kazuya Ichihara, Daisuke Saito, Mikita Suyama, Tomoharu Yasuda, Gaku Tsuji, Masataka Furue, Bumpei Katayama, Toshiyuki Ozawa, Teruasa Murata, Teruki Dainichi, Kenji Kabashima, Atsushi Hatano, Masaki Matsumoto, Keiichi I. Nakayama

本成果は、以下の事業・研究領域・研究課題によって得られました。

科学研究費補助金・特別推進研究

研究課題名: 「幹細胞における細胞周期の制御と代謝系との連関に関する総合的研究」

研究代表者: 中山 敬一 (九州大学 生体防御医学研究所 主幹教授)

研究期間: 平成 30 年 4 月～令和 5 年 3 月

科学研究費補助金・学術変革領域研究 (A)

研究課題名: 「ノンコーディング RNA から産生されるタンパク質の生理機能」

研究代表者: 松本 有樹修 (九州大学 生体防御医学研究所 准教授)

研究期間: 令和 2 年 11 月～令和 7 年 3 月

<お問い合わせ先>

【研究内容に関すること】

九州大学 生体防御医学研究所 主幹教授 中山 敬一（なかやま けいいち）

TEL : 092-642-6815 FAX : 092-642-6819

Mail : nakayak1@bioreg.kyushu-u.ac.jp

【報道に関すること】

九州大学 広報室

TEL : 092-802-2130 FAX : 092-802-2139

Mail : koho@jimui.kyushu-u.ac.jp