

令和元年度 共同研究報告書

研究区分		
研究課題		NEAT1 ノンコーディング RNA の生理機能解明
新規・継続の別		新規 ・ 継続
研究代表者	所属	薬学研究院
	職名・氏名	教授・中川 真一
研究分担者 (適宜行を追加して下さい)	所属	
	職名・氏名	
	所属	
	職名・氏名	
受け入れ教員	職名・氏名	教授・廣瀬 哲郎
概要 (100～150 字程度)		RNA 生体機能分野では、マウス培養細胞を用いて、NEAT1 RNA 配列中に存在するパラスペックル形成に必要な作動エレメントの同定を進めており、これまでにいくつかの重要領域を同定した。これらの情報を用いて NEAT1 部分」欠失変異マウス個体を作製してその表現型を解析するほか、変異個体におけるパラスペックルの構造変化を 3D-SIM 超解像レーザー顕微鏡などの最先端の光学機器を利用して解析する。
研究目的 (300 字程度)		NEAT1 は、全長 20 kb にも及ぶ巨大な長鎖ノンコーディング RNA(ncRNA)で、パラスペックルと呼ばれる核内構造体の骨格因子として働いている。Neat1 のノックアウトマウスはパラスペックルを欠損し、妊孕性の著しい低下や乳腺の形成不全など多岐にわたる異常を示すほか、培養細胞を用いた実験により、Neat1 の発現異常がウイルス応答の異常や前立腺癌の転移能の増加を引き起こすことも報告されている。本研究では、Neat1 及びパラスペックルの作用機序をさらに詳細に明らかにするため、RNA 生体機能分野において同定された Neat1 の作動エレメント(機能モチーフ配列)の変異マウスを作製し、その表現型を解析することを目的としている。
研究内容・成果 (1000 字程度)		RNA 生体機能分野では、パラスペックルの骨格として機能する Neat1_2 と、パラスペックルに局在するものの構造体形成活性を持たない Neat1_2 のアイソフォームの発現を制御するエレメントを同定していた。そこで、このアイソフォームスイッチの生理的な機能を明らかにするために、Neat1_1 の生成に必要なエレメントを欠失する変異マウス (Neat1 ΔPAS) を作製し、その表現型解析を行った。Neat1 ΔPAS マウスの組織では予想どおり Neat1_1 は完全に消失しており、Neat1_2 の発現上昇が見られた。それに伴い、パラスペックルの数が増加も観察された。ただし、組織によって

	Neat1_2 の発現上昇の程度には大きな差が見られた。例えば、唾液腺においては通常は Neat1_1 のみが発現しており Neat1_2 の発現はほとんど見られないが、Neat1 ΔPAS で Neat1_1 は消失する一方、Neat1_2 の発現の上昇はほとんど観察されなかった。したがって、このような組織においては Neat1_2 を安定化するための因子が発現しておらず、Neat1_1 から Neat1_2 へのアイソフォームスイッチを誘導しても、そこで作られた Neat1_2 が不安定なために発現の上昇がおきないということが考えられた。一方、肝臓においては、通常は Neat1_1 はほとんど発現していないにもかかわらず、Neat1 ΔPAS マウスにおいては顕著な Neat1_2 の発現の上昇が見られた。このことは、肝臓においては通常は Neat1_1 を安定化する因子が発現していない一方で Neat1_2 を安定化する因子は揃っており、Neat1_1 から Neat1_2 へのアイソフォームスイッチを誘導することで Neat1_2 の発現が上昇したと考えられる。そのほか、Neat1 ΔPAS の小腸の粘膜上皮の中間一基底部においては、Neat1_1 の発現の消失に伴った Neat1_2 の異所的な発現の上昇、並びにパラスペックルの過形成が観察された。 次に、これらのアイソフォームスイッチによって何らかの異常が現れるかどうか、特に Neat1_1 の強い発現が見られる唾液腺に注目して組織学的な解析、並びに細胞分化マーカーの発現を調べた。その結果、Neat1_1 の発現の消失にもかかわらず、唾液腺には異常が観察されなかった。また、Neat1_2 の異所的な発現誘導とそれに伴うパラスペックルの過形成が見られる小腸の粘膜上皮についても同様の解析を行ったが、こちらも異常は見られなかった。Neat1 のノックアウトマウスも通常の飼育環境下では顕著な表現型を示さないことが知られており、これらの結果は、パラスペックルは特殊な環境下において初めてその生理機能を発揮するという考え方を支持するものであった。
成果	【学会報告】
	【論文発表】 Isobe, M. et al. Forced isoform switching of Neat1_1 to Neat1_2 leads to the loss of Neat1_1 and the hyperformation of paraspeckles but does not affect the development and growth of mice. RNA 26, 251-264 (2020). IF = 4.94
	【新聞報道】