

ノンコーディングRNA研究の潮流を読み、 そして乗るために

塩見美喜子

「ノンコーディングRNA」。この言葉を、ライフサイエンスのさまざまな分野で頻繁に聞くようになったのはいつ頃だろう。その記憶は今となっては定かでないが、ここ数年、RNA研究者、非RNA研究者を問わず、多くのライフサイエンス研究者が「ノンコーディングRNA」に熱い視線を注いでいることは紛れもない事実である。一方で、ノンコーディングRNAを研究したくて、あるいは勉強しようと、関連論文を漁って読もうにも、PubMedに掲載されている論文数は半端ではなく、ここ十数年ノンコーディングRNAの研究を続けている筆者ですら、「勘弁してよ」と音をあげたくなるのが現状である。ちなみに、今日（2015年10月22日現在）、PubMedにアクセスして“non-coding RNA”で検索してみたところ、134,689報の論文が抽出された。同様に“mRNA”で検索してみたところ、抽出された論文数は541,945報であった。抽出期間を2005年と限定すると、non-coding RNAが826報なのに対しmRNAが3,681報（22対100）、2014年に至ってはnon-coding RNAが15,068報でmRNAが26,622報（57対100）である。ノンコーディングRNAは“non-coding RNA”，“noncoding RNA”，“ncRNA”など表記の仕方が複数あるため本当にぎっくりとした検索ではあるが、non-coding RNA研究の高揚を伝えるには十分な結果ではないだろうか。

本書編者の一人である中川真一氏も後述しているように（第2章 総論）、ノンコーディングRNAは文字通り「タンパク質をコードしない」という「負」の性質によって定義されており、この点においては類がなく興味深いものの、大雑把でつかみどころのない印象をもつ人もいるだろう。しかし、そうはいつても機能や大きさ、細胞内局在によってカテゴライズすることは可能で、実際そうしてみると少しは輪郭が見えてくる（図1）。

さて、図1もさることながら、本書自体にはRNAの代表格mRNAは登場しない。本書のタイトルからして「ノンコーディングRNA」を謳っているのだから、この理由は単純で、読者のみなさまも受け入れやすいであろう。一方、tRNAやrRNAといった研究の歴史が非常に長い、いわゆる古典的RNAは、図1には登場するもののやはり本編には登場しない。この差別化の理由は何か。

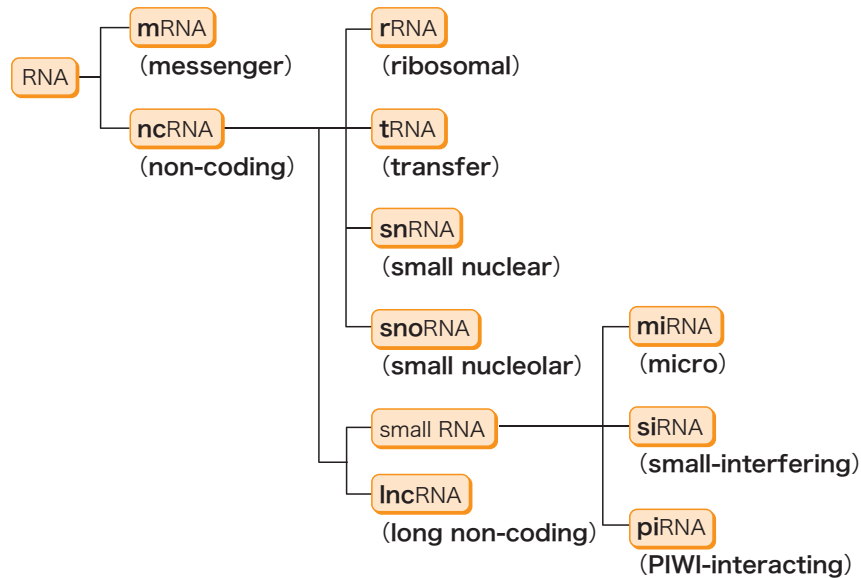


図1 RNAの種類と分類

rRNA, tRNA, snRNA, snoRNA, small RNA, lncRNA はいずれも ncRNA であるが、small RNA と lncRNA の研究の歴史は他の ncRNA のそれと比べると比較的短い。

先にも示したとおり、ノンコーディング RNA 関連の論文数は毎年増加傾向にある。また、ウェット・ドライに限らず新しく開発される実験手法やバイオインフォマティクスなどの解析法も多く、ノンコーディング RNA 研究は急速に進展している。そこで、ここら辺りでいっそのこと近年進展の著しい「ノンコーディング RNA」に特化したテキストブックを編んでみたい、と考えたことが正直な理由であり、本書編集の狙いである。しかしもちろん、tRNA や rRNA といった長い歴史をもつ RNA もまだ多くの謎に包まれており、その研究は国内外で精力的になされ、すばらしい発見が次々に発表されている。そこで本稿では、本書では取り上げなかったが、今なお進展を続けている古典的 RNA 研究のなかから、tRNA, rRNA, snRNA の 3 つにしぼり、最新の研究成果の一端を紹介する。





断片型 tRNA によるがん抑制効果とその分子基盤

tRNA (transfer RNA) は、アミノ酸を翻訳マシナリーであるリボソームに運搬し、伸長しつつある新生ペプチドにそのアミノ酸を供給する役目を担う。各アミノ酸に対して数個の tRNA が存在し、例えばヒトゲノムは全体で 497 個の tRNA 遺伝子を有する。tRNA が tRNA としての機能を発揮するには、その全長が保たれていなくてはならない。つまり断片化されるとその機能を全うすることはできない。しかし、先行研究から、低酸素などストレス下にある細胞では断片化された tRNA が蓄積することが知られていた。

2015 年、Goodarzi らは、彼らが新たに同定した、断片型グルタミン酸 tRNA、アスパラギン酸 tRNA、グリシン tRNA、チロシン tRNA の解析を進めることによって、これら断片化した tRNA、つまり tRF (tRNA fragment) にはがん増殖やがん転移を抑制する効果があることを見出した¹⁾。本研究で同定された tRF は共通する塩基配列をもち、その配列には RNA 結合タンパク質 YBX1 が結合する。YBX1 は通常、がん化促進能をもつ pro-oncogenic 遺伝子の mRNA と結合することによってその安定性を保つが、ストレス条件下では増加した tRF が YBX1 を pro-oncogenic mRNA から引きはがすことによって不安定化し、その結果、がん転移が抑制されることがわかった。また、これとは逆に、転移活性の高いがん細胞は tRNA の断片化を抑制することによってがん抑制経路を阻害することも見出した。断片化された tRNA という条件つきではあるものの tRNA の新機能の発見につながった (図 2)。

大小サブユニットに解離できない人工リボソームの作出と機能

rRNA (ribosomal RNA) は、翻訳マシナリーであるリボソームの主要構成因子である。リボソームは、大サブユニットと小サブユニットの 2 つのサブユニットからなるが、各サブユニットはそれぞれ異なる rRNA (大腸菌の場合、23S rRNA と 16S rRNA がそれに相当する) と、複数のリボソームタンパク質によって形成される。翻訳を行っていない大サブユニットと小サブユニットは、通常解離した状態にある。しかし、翻訳開始時には鋳型となる mRNA 上で合体し、モノソームを形成する。モノソームは mRNA 上を進むにつれて新生タンパク質を伸長し、翻訳終了時には mRNA から離れ、再び大サブユニットと小サブユニットに解離する。

翻訳を行うすべての生物においてリボソームは大小の 2 つのサブユニットからなり、

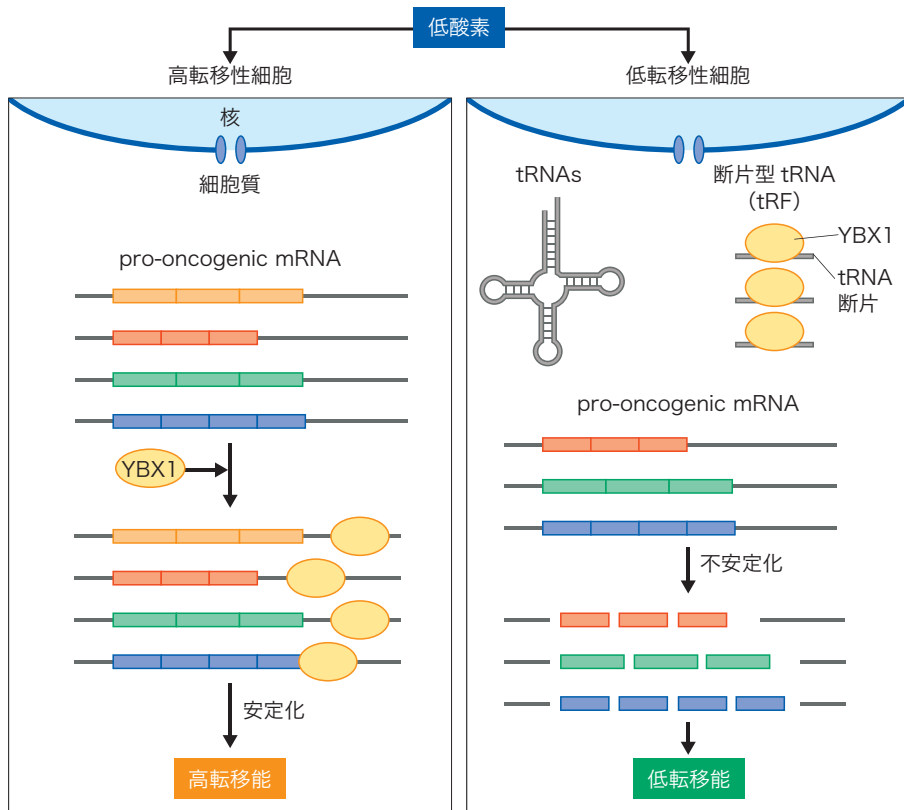


図2 断片型 tRF の機能

通常、YBX1 は pro-oncogenic mRNA の 3'UTR に結合することによってそれら mRNA の安定性を高めている。これによって、細胞転移性が上昇する。低酸素などストレス下においては、YBX1 は、pro-oncogenic mRNA の 3'UTR ではなく tRF に結合する。そのため pro-oncogenic mRNA は不安定になり、細胞の転移性が減少する。文献1をもとに作成。

大サブユニットと小サブユニットが結合し一体化した生物はいない。これは、翻訳の効率や正確性を守るしくみ、つまり生命の知恵であると考えられている。しかし、Orelleらは、大サブユニットの23S rRNAと小サブユニットの16S rRNAを短いリンカーRNAによって連結させ、サブユニットに解離することのできないリボソーム「Ribo-T」を作製した(図3)²⁾。興味深いことに、Ribo-Tは*in vitro*でも*in vivo*でも翻訳を行うことができる。さらに興味深いことに、内在性リボソームの代わりにRibo-Tを有した大腸菌はきちんと生育することができることから、Ribo-Tの生理学的機能が証明された。翻訳OFFの状態ではリボソームが2つのサブユニットに解離することは、生物にとって(おそらく)必要条件である。しかし、リボソーム研究者に

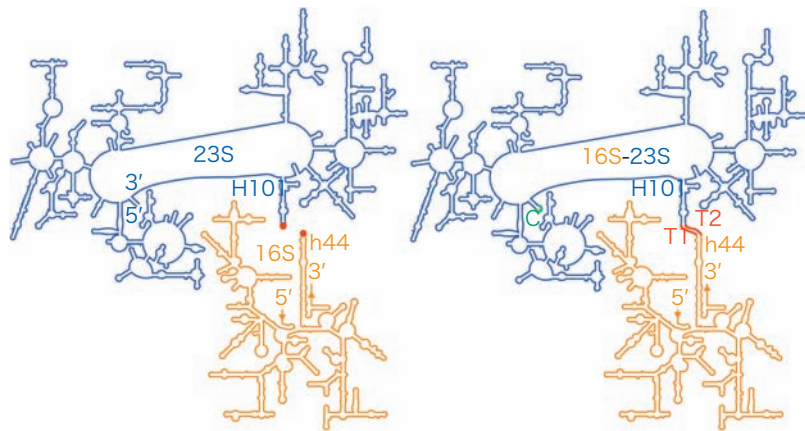


図3 Ribo-Tの構造

野生型rRNAの二次構造(左)およびRibo-T rRNAの二次構造(右)をしめす。Ribo-T rRNAは、野生型16S rRNAと23S rRNAを連結することによって形成されている。野生型rRNA上の2つの赤い点(16S rRNAのh44と23S rRNAのH10に相当)は連結部位を、T1とT2は連結のために使われた配列を示す。文献3より引用。

とっては、時として、それが研究を妨げるやっかいな代物であった。しかし、Ribo-Tの到来で直交性遺伝システム[※]も可能となった今、リボソーム(rRNA)研究のさらなる発展が期待される。

巨大複合体スプライソソーム U4/U6.U5 snRNPの構造解析

snRNA (small nuclear RNA) はスプライシングマシナリーであるスプライソソームの主要構成因子である。スプライソソームは、mRNA前駆体からイントロンを切り出してエキソンをつなげることによって成熟型mRNAを産生する。スプライソソームのコア因子は5種類のsnRNP(U1, U2, U4, U5, U6)である。いずれのsnRNPも、固有のタンパク質とsnRNAからなる。mRNAスプライシングは、これら5種類のsnRNPが順次集結し、反応を触媒することによって成り立つ。まず、U1 snRNPと

※ 直交性遺伝システム

ここで直交性とは、改変(人工)型リボソームが細胞内で(つまり内在性のmRNAやtRNAなど翻訳を起こすために必要なものがそろった環境で)人工型mRNAだけを鋳型としてタンパク質合成を行う様、内在性翻訳反応とは独立して、またそれを干渉することなく、つまり細胞の生命を脅かすことなく、翻訳反応の要求性(rRNAにおける必須塩基やリボソームタンパク質の必須アミノ酸など)を探索することができる。

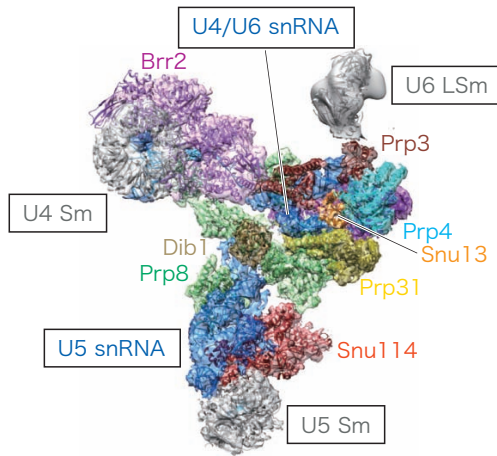



図4 U4/U6.U5 複合体の構造
U4 Sm, U5 Sm, U6 LSmはグレーで、U5 snRNAとU4/U6 snRNAは青で示されている。Brr2, Dib1, Prp3, Prp4, Prp8, Prp31, Snu13, Snu114はそれぞれ異なった青で示されている。文献3より引用。

U2 snRNP が mRNA 前駆体に作用して複合体 A を形成する。その後、U4/U6.U5 snRNP 三者複合体がこれに結合して複合体 B となる。複合体 B ではさまざまな分子の動的変化が生じ、これによって活性型複合体 B*（不活性型と区別して B* と表記される）となる。スプライシング反応が終結すると各 snRNP は解離する。2015 年、Nguyen らは、低温電子顕微鏡単粒子再構築法を用いて出芽酵母の U4/U6.U5 snRNP 三者複合体の構造を明らかにした³⁾。U4/U6.U5 snRNP 三者複合体は、U4, U5, U6 という 3 つの snRNA と約 30 種類のタンパク質からなり、その大きさは 1.5 MDa と非常に大きい。ちなみに大腸菌のモノソームは 2.5 MDa と見積もられている。スプライソソームの研究は長い歴史をもち、その分子機構の概要や snRNP の構成因子はすでによく理解されているものの、この構造解析によって複合体 B* が形成される過程やスプライシング活性部位の詳細な情報が得られたこととなった (図 4)。



さて、目次でも明らかなように本書は 4 章で構成されている。第 1 章「small RNA のマイルストーン研究」と第 2 章「長鎖ノンコーディング RNA のマイルストーン研究」では、文字通り、ノンコーディング RNA 研究の歴史の中でマイルストーンとなった発見(論文)を端的に紹介するとともに重要キーワードを解説する。両章で紹介する論文は合計で 200 報である。いずれも今からノンコーディング RNA の研究をはじめめる研究者のみならず、すでにこの領域にいる研究者にとっても有益なコンテンツを厳選した。RNA 研究者になる、ならないに限らず、ライフサイエンスの常識として、



研究者の卵である学生や大学院生にもぜひ読んでほしいと願う。両章で紹介する論文はすべて、本書巻末付録に「ncRNA年表～マイルストーン研究特選200報～」として、各研究の一言ポイントを添えつつ発表年代順にリストアップした。ノンコーディングRNA研究のこれまでの流れが一目でわかるように工夫されているので、本編とあわせてぜひ参考にさせていただきたい。

第3章ではノンコーディングRNA研究と疾患、診断、創薬の接点を扱う。miRNAの研究は比較的新しいもののすでに歴史があり、その疾患との関連が謳われるようになって久しい。本章では、miRNAとがん、生活習慣病、骨・関節との関連に関して新知見を解説する。Long non-coding RNAに関しては、研究の歴史はまだ浅く、例えば同じ哺乳動物であっても生物間の保存性が低いため研究がより困難ではあるものの、疾患やRNA修飾との関連に関する情報は集積されつつあるため、その現状を解説する。診断に関しては、最近注目度が高まっているエクソソームを中心に、さらには、ノンコーディングRNA研究を基盤とした核酸医薬とそのデリバリーシステムの開発について、基礎研究から国内外の製薬分野における動向までを追う。

第4章ではノンコーディングRNA研究を新たにはじめる研究者にとって、これは知っておいて損はない、といった一連のメソッドを紹介する。バイオインフォマティクス的な核酸塩基配列解析からモノクローナル抗体作製、イメージングまで網羅されており、また、CLIPやCRISPRといった比較的新しい、しかしすでに多くの研究者に広く利用されている実験手法も含まれているため、その有用性は非常に高いと自負する。

本書の編集にあたっては、RNA研究者、非RNA研究者を問わず、基礎研究者から製薬・医療関係者まで、ノンコーディングRNAに興味を抱くすべての人にとって、これまでになく有益なテキストブックとなることをめざした。本書を通じて、読者と世界のノンコーディングRNA研究の活況を共有し、国内外のノンコーディングRNA研究の裾野の広がりに貢献できればと願う。

文献

- 1) Goodarzi H, et al : Cell, 161 : 790-802, 2015
- 2) Orelle C, et al : Nature, 524 : 119-124, 2015
- 3) Nguyen TH, et al : Nature, 523 : 47-52, 2015