

## ノンコーディング RNA 動態解明の最前線



谷 英 典

### 1 はじめに

ノンコーディング RNA (non-coding RNA ; ncRNA) とは、タンパク質をコードしない RNA (タンパク質に翻訳される配列を持たない RNA) の総称である。昨今の DNA マイクロアレイ技術や次世代シーケンサによって、ヒトゲノム配列の約 90 % が転写され、その大部分がノンコーディング RNA であることが明らかになったことから、その生物学的意義に注目が集まっている。ノンコーディング RNA は、20 塩基程度の microRNA に代表される短鎖ノンコーディング RNA と、数百から数万塩基長の長鎖ノンコーディング RNA に大別できる。短鎖ノンコーディング RNA については解析が進んでおり、すでに 1400 種以上が同定され、発生、細胞増殖、<sup>がん</sup>癌化等の様々な生理機能や疾患に関与することがわかってきた。一方、長鎖ノンコーディング RNA の研究はやや遅れ気味であったが、最近になって、長鎖ノンコーディング RNA の生理機能や疾患との関連が続々と明らかになってきた。本稿では、新たな分析対象の生体分子としてのノンコーディング RNA について紹介する。

### 2 短鎖ノンコーディング RNA

1993 年、線虫で最初の microRNA である lin-4 が発見され<sup>1)</sup>、1998 年に、2 本鎖 RNA により誘導される配列特異的な抑制現象である RNA 干渉 (RNA interference ; RNAi) が発見された後<sup>2)</sup>、2000 年には、別の microRNA である let-7 がヒトも含めた多くの生物種に広く保存されていることが解明されたことで<sup>3)</sup>、生体内での短鎖ノンコーディング RNA の認識が劇的に変化した。これまでの研究成果により、microRNA は RNA 干渉 (RNAi) による遺伝子発現調節の中心的な役割を果たし、細胞質で AGO タンパク質に取り込まれて RISC 複合体を形成した後、標的メッセンジャー RNA

(mRNA) の 3' 非翻訳領域に結合して、mRNA の不安定化や翻訳抑制を誘導することで標的遺伝子の発現を抑制することがわかっている。特に、近年話題となっているのが、細胞が分泌する小さな粒子であるエクソソーム (細胞外小胞とも呼ばれる) による microRNA の伝搬である<sup>4)</sup>。エクソソームは直径 20~100 nm の脂質二重膜で覆われた膜小胞であり、血液、尿、唾液などの体液に存在し、microRNA 等を内包することで、RNA 分解酵素により microRNA が分解されるのを防ぎつつ、受け手側の細胞に microRNA を届ける役目を担う。すなわち、microRNA は細胞内における遺伝子発現調節因子であるだけでなく、エクソソームを介して細胞間を移動し、他の細胞の遺伝子調節まで行うことを示している。また、がん細胞において正常細胞と比較して多くの種類・量のエクソソームが分泌されていることから、超早期がん診断マーカーとして非常に期待されている。しかし、エクソソーム中の microRNA の分析には大きな壁がそびえたっている。それは、どのようにして体液中からエクソソーム中の microRNA を分離するかという問題である。エクソソームは極めて小さいサイズであり、かつ含有されている microRNA も微量であるため、効率的に回収し、高感度・高精度に解析することは困難であり、現状の技術では非常に手間と時間のかかる方法しか存在しない。そのため、実際の臨床診断への応用には、次世代型のナノバイオデバイスの開発や、最新鋭の質量分析装置の画期的な利用法の開発が、今後重要になってくるであろう。

### 3 長鎖ノンコーディング RNA

1991 年に、ヒトの X 染色体を不活性化させる XIST という長鎖ノンコーディング RNA が発見されているが<sup>5)</sup>、長鎖ノンコーディング RNA が急速に脚光を浴びるようになったのは、2007 年の HOTAIR の発見からである<sup>6)</sup>。HOTAIR は約 6000 塩基長の長鎖ノンコーディング RNA であり、ポリコム複合体 (PRC2) と結合して、HOTAIR とは異なる染色体上にあるホメオティック遺伝子クラスターである HOXD 遺伝子領域に PRC2 をリクルートすることで、転写不活性のエピジェネティックマークである H3K27 のメチル化を誘発して転写を抑制する。HOTAIR 同定論文の翌年から、長鎖ノンコーディング RNA の研究成果が一流誌に続々と報告され始めた。その中でも特に研究が進んでいるのが、細胞核内に大量に存在する二つの長鎖ノンコーディング RNA である、MALAT1 及び NEAT1 である。MALAT1 は約 8000 塩基長の長鎖ノンコーディング RNA であり、核内構造体である核スペckルに局在する。MALAT1 は転写制御やスプライシングへの関与が指摘されているほか、がんの転移にも関与していることが報告されている<sup>7)</sup>。一方、NEAT1 は約 3700 塩基長

と約 23000 塩基長の 2 種類のアイソフォームを持ち、同じく核内構造体であるパラスペックルに局在する。NEAT1 はパラスペックルの形成と維持に必須のアーキテクチャル RNA (構造建築 RNA) であることが報告されており、2014 年には、転写因子 SFPQ の局在を変化させることで、遺伝子発現を制御していることが解明された<sup>8)</sup>。特に、単純ヘルペスウイルスやインフルエンザ感染によって NEAT1 の発現が誘導され、パラスペックルが肥大化することで、遺伝子発現が巧みに調節されるという現象は、長鎖<sup>かんが</sup>ノンコーディング RNA の役割を鑑みる上で非常に興味深い。現在、これら長鎖ノンコーディング RNA の動態解析に最も有用な分析技術は、次世代シーケンサであろう。次世代シーケンサの登場により、既知配列しか検出できない DNA マイクロアレイ解析では取りこぼしていた未知配列を読み取ることが可能になり、結果として大量の長鎖ノンコーディング RNA の発見につながった。さらに、次世代シーケンサを利用した RNA 分解速度の網羅的な分析技術である BRIC-seq 法が開発されたこと<sup>9)</sup>、半減期が長い RNA にはハウスキープ様 RNA が多く含まれ、半減期が短い RNA には RNA が多く含まれることが判明している。今後のさらなる長鎖ノンコーディング RNA の動態解明にあたって、このような新しい発想による分析技術の開発が期待される。

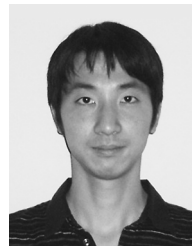
#### 4 おわりに

本稿では、ノンコーディング RNA の動態に重きをおいて紹介したが、ノンコーディング RNA は、2 次構造の変化や、メチル化などの核酸修飾によって、その機能が劇的に変化することが報告され始めている。従って、今後はそのような変化を網羅的に検出する分析技術の開発がますます重要になってくると予想される。科学の進

歩がしばしば分析技術の進歩に依存しているのは、その歴史が大いに物語っている。本稿が、ノンコーディング RNA 分野への分析化学者の参入の一助となれば幸いである。

#### 文 献

- 1) R. C. Lee, R. L. Feinbaum, V. Ambros V : *Cell*, **75**, 843 (1993).
- 2) A. Fire, S. Xu, M. K. Montgomery, S. A. Kostas, S. E. Driver, C. C. Mello : *Nature*, **391**, 806 (1998).
- 3) B. J. Reinhart, F. J. Slack, M. Basson, A. E. Pasquinelli, J. C. Bettinger, A. E. Rougvie, H. R. Horvitz, G. Ruvkun : *Nature*, **403**, 901 (2000).
- 4) M. Yanez-Mo, P. R. Siljander, Z. Andreu, A. B. Zavec, F. E. Borrás et al. : *J. Extracell. Vesicles*, **14**, 27066 (2015).
- 5) C. J. Brown, A. Ballabio, J. L. Rupert, R. G. Lafreniere, M. Grompe, R. Tonlorenzi, H. F. Willard : *Nature*, **349**, 38 (1991).
- 6) J. L. Rinn, M. Kertesz, J. K. Wang, S. L. Squazzo, X. Xu, S. A. Brugmann, L. H. Goodnough, J. A. Helms, P. J. Farnham, E. Segal, H. Y. Chang : *Cell*, **129**, 1311 (2007).
- 7) K. Tano, R. Mizuno, T. Okada, R. Rakwal, J. Shibato, Y. Masuo, K. Ijiri, N. Akimitsu : *FEBS Lett.*, **584**, 4575 (2010).
- 8) T. Hirose, G. Virnicchi, A. Tanigawa, T. Naganuma, R. Li, H. Kimura, T. Yokoi, S. Nakagawa, M. M. Benard, A. H. Fox, G. Pierron : *Mol. Biol. Cell.*, **25**, 169 (2014).
- 9) H. Tani, R. Mizutani, K. A. Salam, K. Tano, K. Ijiri, A. Wakamatsu, T. Isogai, Y. Suzuki, N. Akimitsu N : *Genome Res.*, **22**, 947 (2012).



谷 英典 (Hidenori TANI)

産業技術総合研究所環境管理研究部門 (〒305-8569 茨城県つくば市小野川 16-1)。早稲田大学大学院理工学研究科博士後期課程修了。博士 (工学)。《現在の研究テーマ》哺乳動物細胞を用いた化学物質に対する生物応答機構の解明。《趣味》音楽鑑賞、作曲。  
E-mail : h.tani@aist.go.jp