

RNAサイレンシングの実行因子であるアルゴノートタンパク質の分解機構を解明 特定の遺伝性疾患の病態理解にも可能性

発表者：

小林 穂高（東京大学定量生命科学研究所 RNA機能研究分野 助教：研究当時、
米国アルバートアインシュタイン医科大学 リサーチフェロー：現在）
泊 幸秀（東京大学定量生命科学研究所 RNA機能研究分野 教授）

雑誌名：「Cell Reports」

日本時間 7月31日（水）午前0時（米国東部夏時間：7月30日（火）午前11時）

DOI番号：10.1016/j.celrep.2019.07.003

発表のポイント：

- ◆遺伝子の発現調節に重要なアルゴノートは、「VCP」と呼ばれる因子を介してオートファジーによって分解されることを発見しました。
- ◆細胞内からVCPが無くなると、正常なRNAサイレンシングが起こらなくなることを見出しました。
- ◆VCPは遺伝性疾患の原因遺伝子としても知られることから、本研究成果はVCP関連疾患の病態理解にも貢献する可能性があります。

発表概要：

アルゴノート(注1)と呼ばれるタンパク質は、マイクロRNA(注2)と呼ばれる小さなRNAと結合することで、きわめて多様な遺伝子の発現を抑制します。この現象はRNAサイレンシング(注3)と呼ばれており、発生・免疫・神経機能といった様々な生命現象において重要な役割を果たしています。不思議なことに、アルゴノートはマイクロRNAと結合した状態では安定である一方、マイクロRNAと結合していない「空の」状態ではすぐに分解されてしまいます(図1)。しかしながら、一体どのような仕組みで空のアルゴノートを分解しているのかについては、十分に理解されていませんでした。

今回、東京大学定量生命科学研究所の小林穂高助教（研究当時）、泊幸秀教授らの研究チームは、空のアルゴノートがオートファジー(注4)によって分解されることを見出し、その分解にはVCP(注5)と呼ばれる因子が必須であることを見出しました(図2)。さらに、VCPを細胞内から無くすと、正常なRNAサイレンシングが起こらなくなることを見出しました。重要な点として、VCPは様々な遺伝性疾患の原因遺伝子として知られています。従って、本研究成果はアルゴノートの分解機構を明らかにしただけでなく、偶然にもVCPの知られざる機能を見出したという点において、将来的にVCPの関連疾患（IBMPFD、ALS、パーキンソン病など）の病態理解にも貢献する可能性があるかと期待されます。

発表内容：

アルゴノートはマイクロRNAと結合することで、タンパク質とRNAから成る複合体を形成します(図1)。この複合体は、マイクロRNAの塩基配列と相補的な配列を持ったメッセンジャーRNA(注6)を認識し、その遺伝子発現を抑制する機能を持っています。私たちヒトの

細胞内には 2000 種類以上のマイクロ RNA が存在しており、全遺伝子の半数以上が RNA サイレンシングによる発現調節を受けるものと考えられています。アルゴノートとマイクロ RNA は多様な生命現象に深く関与しており、RNA サイレンシングが正常に機能するための仕組みを明らかにすることは、生命科学において極めて重要です。

アルゴノートはマイクロ RNA と結合していない空の状態では、ユビキチンと呼ばれる因子を付加され、すぐに分解されてしまいます (図 1)。一見すると不思議なこの現象は、マイクロ RNA と結合する能力が低下したような「品質の悪い」アルゴノートを細胞内から除去するための仕組みであると考えられています。実際に、空のアルゴノートの分解を止めると、細胞内に異常なアルゴノートが蓄積し、RNA サイレンシングの効率が低下することが報告されています。しかしながら、その重要性にも関わらず、一体どのようにして空のアルゴノートが分解されているのか、特にユビキチン化された後の分解機構については、これまで良く分かっていませんでした。

今回、東京大学定量生命科学研究所の小林穂高助教 (研究当時)、泊幸秀教授らの研究チームは、空のアルゴノートがオートファジーによって分解されることを見出し、このオートファジーを介した分解機構について詳細な解析を行いました。液体クロマトグラフィー質量分析法 (注 7) を用いた解析の結果、ユビキチン化された空のアルゴノートは、選択的オートファジーに寄与する VCP と呼ばれる因子によって認識されることが分かりました。VCP はアダプターと呼ばれる仲介因子を介してユビキチン化されたタンパク質を認識することが知られています。そこで、空のアルゴノートに結合する因子群をさらに解析したところ、VCP は Ufd1-Npl4 と呼ばれるアダプターを介して空のアルゴノートを認識することが明らかになりました。これらの結果を受けて、VCP および Ufd1-Npl4 を細胞内から無くしたところ、空のアルゴノートの分解は起こらなくなりました。従って、空のアルゴノートは Ufd1-Npl4 アダプターを介して VCP によって認識されることで、オートファジーによる分解へと導かれることが分かりました (図 2)。上記のように、空のアルゴノートの分解が起こらなくなると、RNA サイレンシングの効率が低下することが報告されています。実際に、VCP および Ufd1-Npl4 を無くした細胞では、正常な RNA サイレンシングが起こらなくなることが見出されました。本成果は、RNA サイレンシングを正常に引き起こすための細胞内の仕組みを新たに解明したという点において、生命科学の観点から重要と考えられます。

特筆すべきことに、VCP は IBMPFD、ALS、パーキンソン病といった様々な疾患の原因遺伝子として知られています。しかしながら、VCP 遺伝子への変異が何故これほどまでに多くの遺伝性疾患の原因になるのかについては、十分に理解されていません。本研究成果は「空のアルゴノートを分解へと導き、正常な RNA サイレンシングを担保する」という VCP の知られざる機能を明らかにした点において、将来的に VCP が関わる遺伝性疾患の病態理解にも貢献する可能性を秘めています。

発表雑誌：

雑誌名：*Cell Reports*

論文タイトル：VCP machinery mediates autophagic degradation of empty Argonaute

著者：Hotaka Kobayashi†, Keisuke Shoji, Kaori Kiyokawa, Lumi Negishi and Yukihide Tomari† (†責任著者)

DOI 番号：10.1016/j.celrep.2019.07.003

問い合わせ先：

東京大学 定量生命科学研究所 RNA 機能研究分野
教授 泊 幸秀（とまり ゆきひで）

用語解説：

注1「アルゴノート」

英語表記は *Argonaute*。アルゴノートは細菌からヒトに至るまで幅広い生物が持っており、マイクロ RNA といった小さな RNA と共に複合体を形成することで、RNA サイレンシングを実行します。

注2「マイクロ RNA」

RNA は Ribonucleic acid の略であり、日本語ではリボ核酸とも表記されます。最も一般的な RNA であるメッセンジャーRNA は、タンパク質を作るための設計図として働きますが、マイクロ RNA はタンパク質の設計図としては働かず、RNA サイレンシングを誘導することによって、逆にタンパク質が作られない様にする役割を果たしています。

注3「RNA サイレンシング」

マイクロ RNA といった小さな RNA によって、その塩基配列と相補的な配列をもった遺伝子の発現が抑制される現象のことを指します。

注4「オートファジー」

細胞内のタンパク質などを分解するための主要な機構の一つ。オートファゴソームと呼ばれる細胞内小器官によってタンパク質などを含む細胞質成分が包み込まれ、オートファゴソームが細胞内分解の場であるリソソームと融合することで内容物が分解されます。オートファジー研究の第一人者である大隅良典博士には、2016年にノーベル生理学・医学賞が授与されました。

注5「VCP」

VCP は valosin-containing protein の略であり、酵母からヒトに至るまで幅広い生物が持っています。アダプターと呼ばれる仲介因子を介してユビキチン化されたタンパク質を認識し、分解へと導く機能などをもちます。オートファジーとは異なる細胞内の分解系、ユビキチン-プロテアソーム系において重要な役割を果たすことが良く知られていますが、近年の研究により選択的オートファジーにも寄与することが明らかになっています。VCP 遺伝子への変異は様々な遺伝性疾患の原因になることが報告されています。

注6「メッセンジャーRNA」

DNA がもつ遺伝情報が RNA 合成酵素によって写し取られたものであり、タンパク質を作るための設計図として働きます。メッセンジャーRNA の塩基配列をもとに、リボソームと呼ばれるタンパク質複合体によってアミノ酸が一つ一つ繋がられていき、タンパク質が作られます。

注7「液体クロマトグラフィー質量分析法」

英語表記は liquid chromatography tandem mass spectrometry。略称は LC-MS/MS。実体が明らかでないタンパク質がどういったタンパク質であるのか明らかにしたい時などに使用され

ます。タンパク質を細断化したのちに、そのタンパク質の断片の質量を正確に測定し、その質量をデータベースと照合することで、そのタンパク質の実体を明らかにします。本研究では空のアルゴノートに結合するタンパク質を精製した後に、LC-MS/MSにより解析することで、こういったタンパク質が空のアルゴノートに結合するのか明らかにしました。質量分析法の発展に大きく貢献したジョン・フェン博士と田中耕一博士には2002年にノーベル化学賞が授与されました。

添付資料：

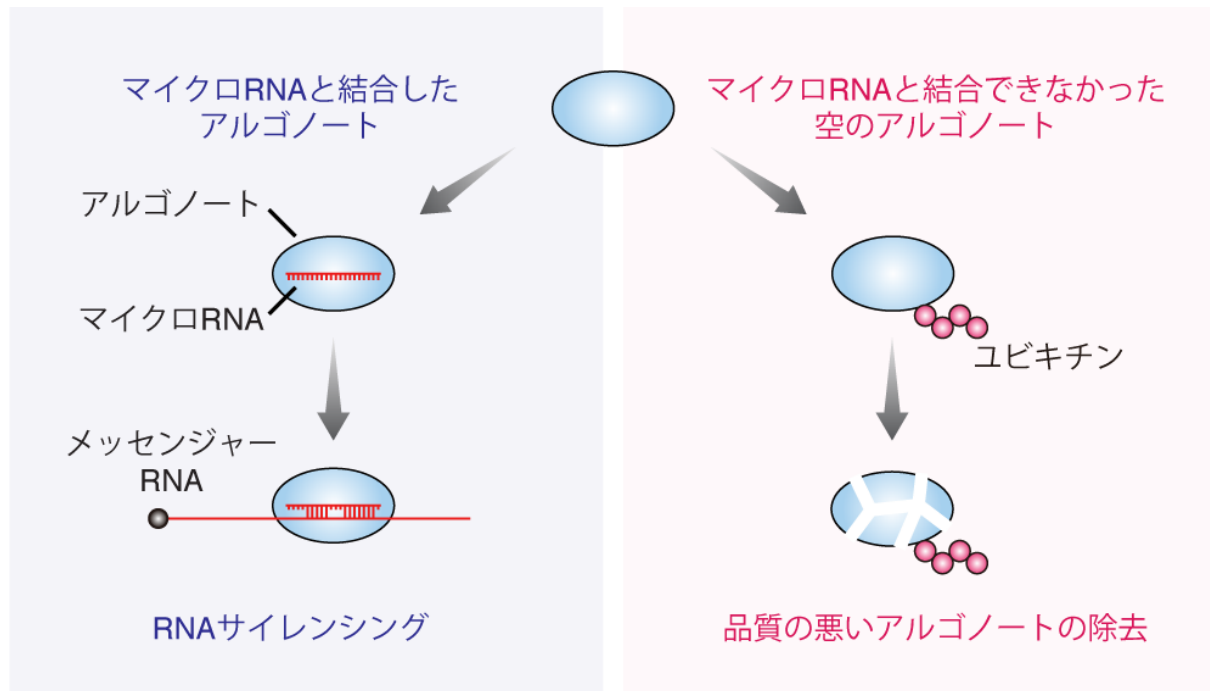


図1：空のアルゴノートの分解

マイクロRNAと正常に結合できたアルゴノートはRNAサイレンシングを引き起こします。一方で、マイクロRNAと結合できなかった空のアルゴノートについては、ユビキチン化され分解されます。

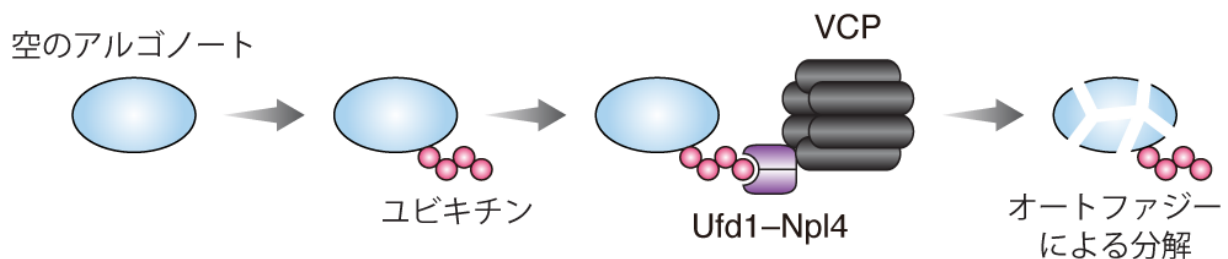


図2：VCPによる空のアルゴノートの分解機構

ユビキチン化された空のアルゴノートは、Ufd1-Npl4アダプターを介してVCPによって認識され、オートファジーによる分解へと導かれます。この分解経路が破綻すると、正常なRNAサイレンシングを起こせなくなります。