

## 2006 年ノーベル医学生理学賞：RNAi

2006 年のノーベル医学生理学賞は、二本鎖 RNA (dsRNA) による遺伝子サイレンシング、すなわち、RNAi (RNA interference, RNA 干渉) の発見を評価して、Andrew Fire と Craig C. Mello に与えられた。

受賞対象となった論文 (Fire et al. 1998) の発表当時、既に、RNA の細胞内への導入によって遺伝子の発現抑制を引き起こせることが知られていた。その機構として考えられていたのは、その内の antisense RNA が mRNA と結合して翻訳を阻害するというものであった。しかしながら、実際に起こる現象とモデルとの間には大きな隔たりがあった。その一つは、RNA の sense 鎖でも antisense 鎖でも抑制が観察されることであった。また、導入した RNA の量に対して効果が大きすぎるのも問題であった。線虫 *Caenorhabditis elegans* ではなんと次世代にまで効果が持続するのである。

Fire らは、antisense RNA ではなく、dsRNA が重要であると考えた。彼らがターゲットに選んだ遺伝子 *unc-22* は大量に転写翻訳されるが、必要不可欠ではない筋繊維タンパク質をコードしている。その mRNA は筋細胞毎に数千コピーもあるので、変化が見やすい。*unc-22* タンパク質の量が減ると体が曲がる傾向が強くなり、完全欠失変異体では、筋肉の構造に顕著な障害が見られ、行動にも支障が出る。同じ 742 nt の領域の sense RNA と antisense RNA では大量にインジェクションしないと影響は観察されなかった。一方、両方の鎖を混ぜた場合では片方だけの場合の 100 分の 1 以下の量で効果が見られた。両方の鎖を混ぜた場合には RNA はインジェクションの前に dsRNA になっていた。しかし、これは必須条件ではなく、sense 鎖と antisense 鎖を別々にインジェクションしても遺伝子のサイレンシングは観察された。

続いて遺伝子の発現への影響が dsRNA の配列に依存しているのかが調べられた。*unc-22* 以外の配列の場合には、*unc-22* の発現に影響は見られなかった。また、この現象が *unc-22* に特異的である可能性を排除するために、他の 3 種類の遺伝子 (*unc-54*, *fem-1*, *hlh-1*) についても dsRNA を作成し、インジェクションした結果、遺伝子破壊と全く同様の表現型が得られた。もちろん、一本鎖 RNA ではそのような効果は観察されなかった。

ここまでは個体レベルでの表現型を見ているが、細胞レベルでの発現の変化も見るために、Fire らは、筋細胞で GFP が発現するトランスジェニック系統に GFP の dsRNA をインジェクションした。dsRNA の量が多い場合には全細胞で GFP の発現が抑制された。一方、dsRNA が少ない場合には、発生の初期に分化する筋細胞では GFP の発現が抑制されていたのに対して、孵化後に分化する筋細胞では多少 GFP が発現するのが観察された。

もちろん当時は現在のように詳細な機構がわかっているわけではないが、彼らの解析ではいくつかの重要な特徴が記述されている。(1)イントロンやプロモーター領域に設計された dsRNA は目に見える形の遺伝子抑制を引き起こさない。(2)dsRNA のインジェクションにより、内在性の mRNA の量が減少するか全く観察されないほどになる。(3)dsRNA による遺伝子抑制は細胞を超えて広がることができる。(1)(2)は PTGS(Post Transcriptional Gene Silencing)の特徴であり、いわゆる RNAi で最も顕著な性質である。もちろん、現在は、プロモーター領域の dsRNA が転写の抑制 TGS(Transcriptional Gene Silencing)を引き起こすことが知られている。(3)は systemic RNAi と呼ばれ、SID-1 などが関与して dsRNA を細胞から細胞へ移動させることによって起こる。残念ながら(3)は線虫など一部の生物でしか報告されていない。

Fire らの論文の考察はまさに現在の RNAi 研究の流れと、その意義を示しているものといえる。考察は2つに分かれ、その内容は、遺伝子の機能解析への応用と RNAi の遺伝子抑制機構である。そもそも RNA のインジェクションは遺伝子の発現抑制のために始められた実験であり、dsRNA が antisense 以上に効率的に遺伝子の発現抑制を行えることは応用面で非常に重要である。Fire らはとりわけトランスジェネシスの行えない生物で RNAi が遺伝子の機能解析に役立つのではないかとコメントしている。線虫での網羅的 RNAi による遺伝子機能解析をはじめ、この面で RNAi が生命科学に貢献した例は枚挙に暇がない。我々ヒトを含む哺乳類では、dsRNA により配列非特異的に細胞死が誘発されるので、RNAi そのままの機構は利用できないが、dsRNA から切断された後の状態である siRNA を模することで病気の治療への応用が進められている。これらの応用面での発展は、Fire と Mello が医学生理学賞を受賞した最大の理由であろう。しかし、特筆すべきは、RNAi が人為的なものではなく、自然界に目的を持って存在する機構であることである。Fire らは考察の中で、RNA がリボザイム活性を持つことから RNA を標的とした機構の可能性は否定できないとしている。また、クロマチン構造や転写に RNA が作用する可能性を提示している。実際には線虫での RNAi の機構は、dsRNA を切断して siRNA を生成し、siRNA の配列をシグナルとして相補的な mRNA を切断し不活性化するという、当初想定された antisense RNA モデルにかなり近いものであった。siRNA の生成において一本鎖 RNA が基質とならない点が、dsRNA で RNAi が起こり一本鎖 RNA では起こらない原因である。siRNA が mRNA と結合するだけで切断しない場合もあると言うからより antisense RNA モデルに近い。しかし、同時に Fire らが予測したようにクロマチン構造に作用し、ヘテロクロマチン化することで転写を抑制する機構も存在することが示されている。更には、内在性の dsRNA である miRNA が発生を制御し、反復配列に由来する rasiRNA が転移因子を抑制するなど RNAi に関連し

た現象は大きな広がりを持つことが明らかになってきており、今後も拡大していくに違いない。

Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC.

Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*.

Nature. 1998 Feb 19;391(6669):806-11.

2006/10/24

小島 健司 著

禁 無断複写転載