

トコンドリアが存在しており、一方神経突起内のミトコンドリアは減少していた。これらの結果から、ミトコンドリアの分裂阻害によりミトコンドリアの空間配置異常となり、その結果シナプス形成不全から神経細胞死を引き起こすのではないかと考えられる。胚の初期発生過程では不均等な細胞分裂と細胞分化により組織形成が進んでいく。初期発生時には神経以外にもミトコンドリアの分配制御が必須となる過程があり、その結果全身欠損マウスは胎生致死となるのではないかと考えられる。

6. お わ り に

ミトコンドリアの融合・分裂の生理機能を理解するために今後様々な組織特異的欠損マウスを解析することは極めて有用であると考えられる。併せて、マウス組織や発生・分化・病変などにおけるミトコンドリア形態と動態をより詳細に観察する必要がある。もう一つの重要な課題は、このミトコンドリアの動的変化の、ミトコンドリアの品質管理及びミトコンドリアゲノム増殖における効果である¹⁴⁾。ミトコンドリアの最大の特徴の一つは自身のゲノムを持つことであり、またその変異導入は様々な病態を引き起こすと考えられている。ミトコンドリアゲノムの遺伝様式、さらには変異ミトコンドリアゲノムの選別と排除の過程における、ミトコンドリア融合・分裂の効果の詳細はこれまでほとんど解析されていない。

さらに細胞内で障害を蓄積したミトコンドリアが選択的に除去され分解されることが近年明らかになりつつある¹⁵⁾。興味深いことに、パーキンソン病モデル系ショウジョウバエを用いた研究において、ミトコンドリアの融合・分裂を人為的に変動させることによる治療効果が報告されている¹⁶⁾。このようにミトコンドリア融合・分裂は様々なミトコンドリア関連疾患の新規治療ターゲットとしても期待されている。今後ミトコンドリアの動的な振る舞いが分子機構と生理機能の両面から理解されていくことにより、ミトコンドリアが関与する幅広い研究領域・疾患に新しい視点をもたらすことができるのではないかと考えている。

謝辞

本解説文は現所属の東京医科歯科大学細胞生理学（水島昇教授）、前所属の九州大学分子生命科学（三原勝芳教授）の研究室のメンバーと共に進めた研究を基にして寄稿した。特にマウス研究では九州大学病態制御内科の野村政壽講師、神経病理学の鈴木論准教授に多大なご協力を戴いて

いる。多くの共同研究者の方々に深く感謝致します。

- 1) 内海耕鎚, 井上正康 (2001) 新ミトコンドリア学, 共立出版.
- 2) Okamoto, K. & Shaw, J.M. (2005) *Annu. Rev. Genet.*, **39**, 503-536.
- 3) 林 純一ほか (2004) 二層膜オルガネラの遺伝学, 共立出版.
- 4) Ishihara, N., Jofuku, A., Eura, Y., & Mihara, K. (2003) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **301**, 891-898.
- 5) Nunnari, J., Marshall, W.F., Straight, A., Murray, A., Sedat, J. W., & Walter, P. (1997) *Mol. Biol. Cell*, **8**, 1233-1242.
- 6) Chen, H., Chomyn, A., & Chan, D.C. (2005) *J. Biol. Chem.*, **280**, 26185-26192.
- 7) Hales, K.G. & Fuller, M.T. (1997) *Cell*, **90**, 121-129.
- 8) Chen, H., Detmer, S.A., Ewald, A.J., Griffin, E.E., Fraser, S.E., & Chan, D.C. (2003) *J. Cell Biol.*, **160**, 189-200.
- 9) Sesaki, H. & Jensen, R.E. (1999) *J. Cell Biol.*, **147**, 699-706.
- 10) Suen, D.F., Norris, K.L., & Youle, R.J. (2008) *Genes. Dev.*, **22**, 1577-1590.
- 11) Taguchi, N., Ishihara, N., Jofuku, A., Oka, T., & Mihara, K. (2007) *J. Biol. Chem.*, **282**, 11521-11529.
- 12) Ishihara, N., Nomura, M., Jofuku, A., Kato, H., Suzuki, S.O., Masuda, K., Otera, H., Nakanishi, Y., Nonaka, I., Goto, Y., Taguchi, N., Morinaga, H., Maeda, M., Takayanagi, R., Yokota, S., & Mihara, K. (2009) *Nat. Cell Biol.*, **11**, 958-966.
- 13) Waterham, H.R., Koster, J., van Roermund, C.W., Mooyer, P. A., Wanders, R.J., & Leonard, J.V. (2007) *N. Engl. J. Med.*, **356**, 1736-1741.
- 14) Nakada, K., Sato, A., & Hayashi, J.I. (2009) *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, **41**, 1907-1913.
- 15) Ishihara, N. & Mizushima, N. (2009) *Dev. Cell*, **17**, 1-2.
- 16) Yang, Y., Ouyang, Y., Yang, L., Beal, M.F., McQuibban, A., Vogel, H., & Lu, B. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 7070-7075.

石原 直忠

(東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
細胞生理学分野)

Regulation and physiological roles of mitochondrial dynamics

Naotada Ishihara (Department of Physiology and Cell Biology, Tokyo Medical and Dental University, 1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan)

核内高分子ノンコーディング RNA の世界

1. は じ め に

多くの人はノンコーディング RNA といえば、「RNA サイレンシング」に関わる長さが 20-30 塩基の「小さな RNA」

のことを思い浮かべるであろう。一方、徐々にではあるが「小さな RNA」以外のノンコーディング RNA の機能解析も進められるようになり、最近では莫大な数の高分子ノンコーディング RNA の機能がおぼろげながら見えてくるようになった。本稿では近年進展著しい高分子ノンコーディング RNA 研究の現状を、特に核内に局在するものを中心に、簡単にまとめてみたい。

2. 核内高分子ノンコーディング RNA に注目する意義

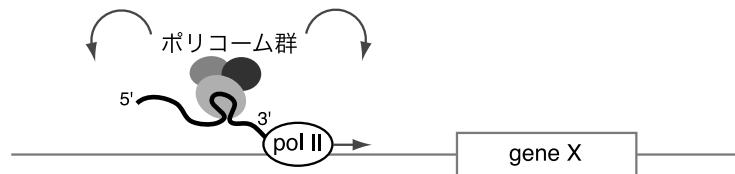
高分子ノンコーディング RNA とは何か。人によって定義は異なるが、「大規模なトランスクリプトーム解析で大量に存在が確認された転写産物のうち、タンパク質の読み枠を持たないもの」というのが最も一般的な分類であろう。そもそも高分子ノンコーディング RNA に共通な生理機能があるわけではなく、そこには「小さな RNA」の前駆体も含まれれば、100 アミノ酸以下の短いペプチドをコードしていることが明らかにされたものもある。転写のノイズとしか思われなようなマイナーな転写産物も数多く紛れ込んでおり、定義からして混乱極まりない。これらの分子群をあえて機能的に分類するための一つの判断基準は、その細胞内局在である。細胞の核内は翻訳活性がほとんど見

られないことから、ゲノムから転写された RNA がタンパク質へと翻訳されずに機能性分子として働く場として、極めて自然な環境であると考えられる。また、タンパク質をコードする mRNA は、イントロン除去などの転写後修飾を受けると速やかに細胞質へと輸送され、成熟産物は核内にはほとんど存在しない。従って、核内に安定して存在するようなノンコーディング RNA は核外輸送の面で特殊な制御を受けていることになり、核内に繫留されることで何らかの生理的な役割を積極的に果たしていることが期待される。現在知られている機能性の核内高分子ノンコーディング RNA を大きく大別すると、cis に働いて転写サイト付近の転写を制御するものと、trans に働いて核内構造体を形成するものの二つに分けられるが(図 1)、まずは cis に働くものから見てゆこう。

3. 遺伝子座からみて cis に働く核内高分子ノンコーディング RNA

最近になって行われたハイスループットな解析により、多くの遺伝子のプロモーター配列が実は RNA へと転写されていることが次々と明らかとなっている^{1,2)}。これらの発見によって「転写因子が結合する配列」という古典的なブ

転写サイト付近にタンパク質を呼び込むタイプ



核内構造体を形成するタイプ

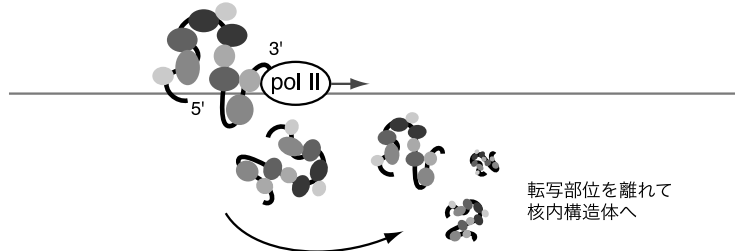


図 1 現在知られている核内高分子ノンコーディング RNA の主な機能
ノンコーディング RNA の転写部位から見て cis に働くものと trans に働くものの 2 種類がある。X 染色体を覆い尽くして丸ごと不活性化化する *Xist* はこの両者の性質を兼ね備えている。RNA (実線) には複数のタンパク質 (楕円) が結合していると考えられる。

ロモーターの概念は一変し、「プロモーターから転写される RNA が直近の遺伝子の発現を正や負に制御し得る」という新たな考え方が生まれている。なぜこれまでプロモーター由来の RNA の存在が見逃されてきたのかというと、それらが極めて不安定であり、また発現量が少ないものが多かったからである。ただし、類似の概念はハイスループットな解析が行われる以前より、個別の遺伝子について提唱されてきた。たとえば Hox クラスターから転写される一群のノンコーディング RNA はポリコム群をその遺伝子座に呼び込むことで付近のクロマチン修飾を誘導している³⁾。X 染色体を不活性化する *Xist* (X inactivation center specific transcript) は常に高分子核内ノンコーディング RNA 研究をリードしてきたが、広い意味でこの範疇に入れても良からう⁴⁾。インスリン受容体 *Igf2r* のゲノム刷り込みを制御するアンチセンス転写産物 *AIRN* (antisense Igf2r RNA) も、同様にクロマチン修飾を介して付近の遺伝子の発現を調節している⁵⁾。いずれにせよ、「ノンコーディング RNA の転写、その RNA が呼び込むタンパク質を介した遺伝子発現調節」という概念は、今後さまざまな遺伝子の発現調節の系で詳細に検討されてゆくことになるであろう。

4. 遺伝子座からみて trans に働く核内高分子ノンコーディング RNA

核内は均一な溶液の中に DNA が詰め込まれているわけではなく、特定の機能を持ったタンパク質の局在によって明確に区別される複数のコンパートメントに分かれていることが知られている。古典的に最も有名な核内構造体はリボソーム RNA の転写の場である核小体であるが、その他にもスプライシング因子の貯蔵庫として考えられている核スペckル、イノシン化 RNA が繫留されている場として考えられているパラスペckル、転写の調節に関わる PML (pro-myelocytic leukemia) が集積する PML 体、スプライシングを制御する snRNP (small nuclear ribonucleoprotein) の合成に関わると考えられているカハール体などがあげられる。いずれも「考えられている」とわざわざ付していることから分かるように、それぞれの核内構造体の機能は完全に解明されたわけではなく、その存在の生理的な意義に関しては今後の詳細な研究を待たなければならない。非常に興味深いことに、核内の構造体、特に不溶性の構造体については、RNA 分解酵素によりその構成成分が大きく変化することが古典的な実験により示されている。従って、核内構造体を維持するためには何らかの RNA 成分が必要であることが予想されるが、その分子的な実体と

いうのはごく最近まで不明であった。以下、転写産物が核内で安定な構造体を形成するユニークな高分子ノンコーディング RNA について紹介したい。

(1) パラスペckルの構造維持に必要な *MENε/β*

パラスペckルは p54^{nbs} (nuclear RNA binding 54kDa), PSP1 (paraspeckle protein 1), PSF (pre-mRNA splicing factor) という共通のドメイン構造を持った3種類のタンパク質が局在する核内構造体で、イノシン化修飾を受けた二本鎖 RNA が繫留される場であると考えられている。実際、分子内に逆位のレトロトランスポゾンの挿入を受けているような mRNA はイノシン化修飾を受け、パラスペckルに局在し、そこに繫留されることで負の発現調節を受けることが示されている⁷⁾。ヒトやマウスでは多くの遺伝子がレトロトランスポゾンの挿入を受けているので、このタイプの遺伝子発現調節機構はかなり重要な役割を果たしていると考えられる。

MENε と *MENβ* は多発性内分泌腫瘍症 (multiple endocrine neoplasia) の責任遺伝子座付近に存在する転写ユニットで⁸⁾、4 kb の短い産物が *MENε*、20 kb を超える長い産物が *MENβ* で、両者は共通の転写開始点を持つ。産業技術総合研究所の廣瀬らは、核内高分子ノンコーディング RNA の中でも比較的大きな沈降係数を持つものとして *MENε* と *MENβ* を同定し、これら二つの転写産物がパラスペckルに局在すること、*MENβ* をノックダウンするとパラスペckルが崩壊することを見出した⁹⁾。これは核内構造体を維持する RNA としては初めての報告であり、核内高分子ノンコーディング RNA の新たな機能を示した点で極めて重要な意味を持つ。奇しくも、廣瀬らの論文に続き、同様の報告が全く別の2グループによって立て続けになされており^{10,11)}、この分野の白熱ぶりがうかがえる。

なお、タンパク質をコードする mRNA は翻訳という機構を通して機能分子を増幅させるシステムを持っているが、そのようなシステムを持たない核内高分子ノンコーディング RNA が機能するためには、ある程度まとまった存在量が必要であると考えられる。実際、核内構造体を形成することが知られている高分子ノンコーディングは発現量が非常に高いものが多いが、それがゆえに発現パターンを指標とした様々なスクリーニングによって同定され、複数の名前が冠せられているものが多い。日本脳炎ウイルスの感染で発現量が上昇する遺伝子として同定された *VINC* (virus-induced noncoding RNA)、核に大量に存在する RNA として同定された *NEAT1* (nuclear enriched abundant transcript 1)、いずれも *MENε/β* 遺伝子座からの転写産物で

ある。

(2) 核スペckルに局在する *Malat1*

Malat1 (metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1) (別名 *NEAT2* (nuclear enriched abundant transcript 2)) はもともと転移がんで発現が上昇している遺伝子として同定された全長約 9 kb の遺伝子で、スプライシングに関わるタンパク質が集積する核スペckルに局在することが知られているが¹²⁾、生理的な機能は良く分かっていない。興味深いことに、*Malat1* の 3' 側は RNAseP によるプロセッシングを受け、5' 側の約 8 kb の RNA は核スペckルに局在し、tRNA と類似の構造を持つ 3' 側の 61 b の RNA は細胞質へと輸送されて安定に存在する¹³⁾。このような特殊なプロセッシングは *MENβ* の 3' 末端でも見られ、核内高分子ノンコーディング RNA の機能にどのような影響を与えているか、今後の検証が待たれるところである。

なお、*Malat1*、*MENβ* 共に、哺乳類以外の脊椎動物および無脊椎動物では相同遺伝子が見つからない。また、奇妙なことに、両遺伝子はヒトでは 11 番染色体、マ

ウスでは 19 番染色体上の隣接する位置に並んで存在している⁸⁾。この部分のシンテニー (複数の遺伝子の並びが保存されているゲノム領域) は哺乳類以外の脊椎動物では見られず、核内構造の進化を考える上で大変興味深い。

(3) 新規核内構造物を形成する *Gomafu*

Gomafu は我々が特定の神経細胞で発現している遺伝子を見つけてスクリーニングする過程で同定した、全長約 9 kb の核内高分子ノンコーディング RNA である¹⁴⁾。*Gomafu* の発現は神経系に特異的であり、マウスにおいては胎生 8.5 日目ごろから最終分裂を終えた新生ニューロンで強い発現が見られるようになる (図 2 左)。神経系における発現は胎生期だけでなく成体マウスでも観察され、特に嗅球の僧帽細胞、大脳皮質の錐体細胞、脊髄の運動神経細胞のように大型の細胞体を持つニューロンで強い発現が見られる傾向にある。*Gomafu* はマウスのゲノム上で七つのエクソンによってコードされており、スプライシングを終えた成熟転写産物は転写サイトから核質に拡散し、多数のドットとして観察される (図 2 右)。このドットは既知の核内構造マ

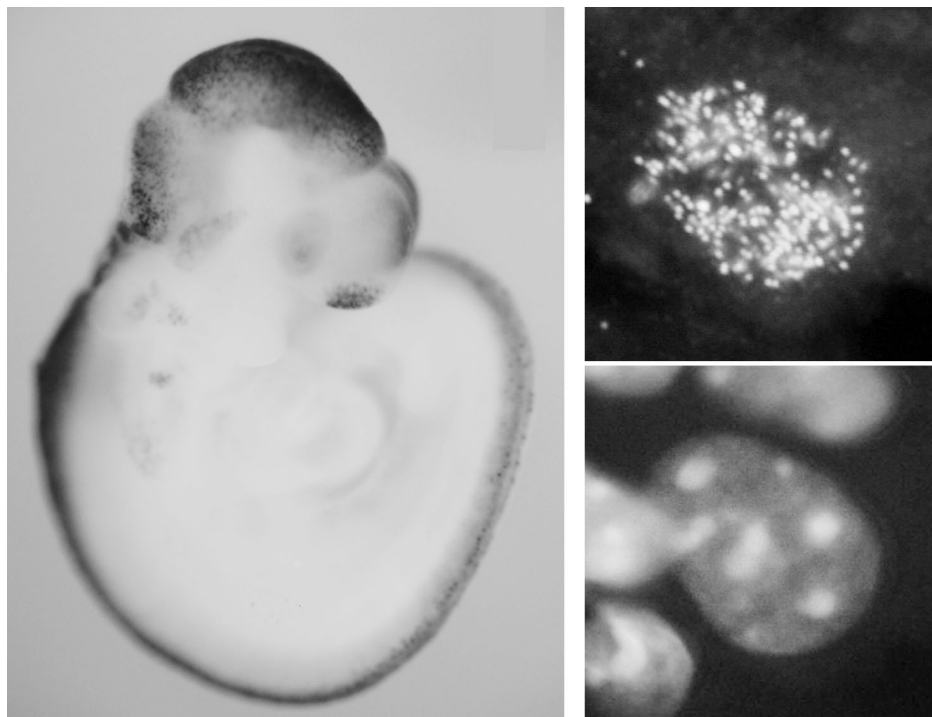


図 2 新規核内構造物を形成する *Gomafu* の発現

左：胎生 9.5 日目における発現。神経系に特異的に発現している。右上：成体マウス大脳皮質の錐体細胞における *Gomafu* の分布。右下：同一細胞の DAPI による DNA 染色。 *Gomafu* の転写産物は核質でドット状に観察される。

カーとは共局在しないことから、なにかしら新規の核内構造体を形成していると考えられているが、その実体は不明である。*Gomafu* の発現量は非常に多く、マウスの新生仔網膜においては全 mRNA のうちの 0.1% を占めるとも言われている (Seth Blackshaw (The John Hopkins University), 私信)。スプライシングを受けているにもかかわらず核内に安定に蓄積する RNA は *Gomafu* の他には *Xist* しか知られておらず、神経系において何らかの重要な役割を果たしていることが期待される。我々は *Gomafu* の生理的な機能を明らかにするために、この遺伝子を完全に欠失する変異マウスを作製した。*Gomafu* のノックアウトマウスは発生過程では異常が見られず、正常なメンデル比で出生する。しかしながら遺伝的背景を一致させた個体を用いて行動アッセイを行うと、各種テストで活動量が増加するという表現型が観察された (未発表)。従って *Gomafu* は神経活動をなんらかの形で制御していることが予想されるが、その細胞レベル、分子レベルでのメカニズムは全く分かっていない。

もう一つ *Gomafu* の生理的な機能を示唆する重要な知見が、全く別のアプローチからもたらされている。理化学研究所の田中らは大規模な SNP 解析を行い、ある高分子ノンコーディング RNA に特定の変異が入ると心筋梗塞になるリスクが 1.4 倍になることを突き止め、この遺伝子を *MIAT* (miocardial infarction associated transcript) と名付けた¹⁵⁾。*MIAT* と *Gomafu* はゲノム上でシンテニー領域に存在し、部分的に 90% 以上の配列の相同性を示すことから相同遺伝子であると考えられる。実際、*MIAT* を培養細胞に発現したところ、*Gomafu* 同様に核内でドット状の構造を形成することが分かった (未発表)。奇妙なことに *MIAT* の発現は心臓では全く見られず、マウス同様に神経系で特異的に発現している¹⁵⁾。神経系のどのような異常が心筋梗塞のリスクを高めるのか、今後の研究の進展が待たれるところである。

5. お わ り に

Xist を除いては核内高分子ノンコーディング RNA の研究の歴史は浅く、まだまだ未解明の部分が多い。特に核内構造体を形成するものについては生化学的な解析がほとんど行われておらず、今後その作用マシナリーの構成因子を同定しつつ動作原理を明らかにしてゆくことが重要となつてこよう。いずれにせよ確かなのは、既にカタログ作りは終わった、ということである。これからは詳細な動作メカニズムを明らかにする時代であるのは、ノンコーディング

RNA であろうとコーディング RNA であろうと、なんら変わりはない。

- 1) Carninci, P. (2009) *Nature*, 457, 974–975.
- 2) Buratowski, S. (2008) *Science*, 322, 1804–1805.
- 3) Rinn, J.L., Kertesz, M., Wang, J.K., Squazzo, S.L., Xu, X., Brugmann, S.A., Goodnough, L.H., Helms, J.A., Farnham, P.J., Segal, E., & Chang, H.Y. (2007) *Cell*, 129, 1311–1323.
- 4) Zhao, J., Sun, B.K., Erwin, J.A., Song, J.J., & Lee, J.T. (2008) *Science*, 322, 750–756.
- 5) Nagano, T., Mitchell, J.A., Sanz, L.A., Pauler, F.M., Ferguson-Smith, A.C., Feil, R., & Fraser, P. (2008) *Science*, 322, 1717–1720.
- 6) Sasaki, Y.T. & Hirose, T. (2009) *Genome Biol.*, 10, 227.
- 7) Prasanth, K.V., Prasanth, S.G., Xuan, Z., Hearn, S., Freier, S. M., Bennett, C.F., Zhang, M.Q., & Spector, D.L. (2005) *Cell*, 123, 249–263.
- 8) Guru, S.C., Olufemi, S.E., Manickam, P., Cummings, C., Gieser, L.M., Pike, B.L., Bittner, M.L., Jiang, Y., Chinault, A.C., Nowak, N.J., Brzozowska, A., Crabtree, J.S., Wang, Y., Roe, B.A., Weisemann, J.M., Boguski, M.S., Agarwal, S.K., Burns, A.L., Spiegel, A.M., Marx, S.J., Flejter, W.L., de Jong, P.J., Collins, F.S., & Chandrasekharappa, S.C. (1997) *Genomics*, 42, 436–445.
- 9) Sasaki, Y.T., Ideue, T., Sano, M., Mituyama, T., & Hirose, T. (2009) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 106, 2525–2530.
- 10) Clemson, C.M., Hutchinson, J.N., Sara, S.A., Ensminger, A.W., Fox, A.H., Chess, A., & Lawrence, J.B. (2009) *Mol. Cell*, 33, 717–726.
- 11) Sunwoo, H., Dinger, M.E., Wilusz, J.E., Amaral, P.P., Mattick, J.S., & Spector, D.L. (2009) *Genome Res.*, 19, 347–359.
- 12) Hutchinson, J.N., Ensminger, A.W., Clemson, C.M., Lynch, C. R., Lawrence, J.B., & Chess, A. (2007) *BMC Genomics*, 8, 39.
- 13) Wilusz, J.E., Freier, S.M., & Spector, D.L. (2008) *Cell*, 135, 919–932.
- 14) Sone, M., Hayashi, T., Tarui, H., Agata, K., Takeichi, M., & Nakagawa, S. (2007) *J. Cell Sci.*, 120, 2498–2506.
- 15) Ishii, N., Ozaki, K., Sato, H., Mizuno, H., Saito, S., Takahashi, A., Miyamoto, Y., Ikegawa, S., Kamatani, N., Hori, M., Nakamura, Y., & Tanaka, T. (2006) *J. Hum. Genet.*, 51, 1087–1099.

中川 真一

(理化学研究所基幹研究所)

Emerging world of nuclear long noncoding RNAs
Shinichi Nakagawa (RIKEN Advanced Science Institute,
Hirosawa 2-1, Wako, Saitama 351-0198, Japan)