

RNA/DNA シトシン脱アミノ化酵素

紙谷 浩之 (29 期 1986 年卒)

ほとんどの生物(ウイルスも含めた広義の生物)の遺伝情報は、RNA ウイルスを除き、基本的に DNA の塩基配列に基づいている。すなわち、アデニン(A)・グアニン(G)・シトシン(C)・チミン(T)の4文字の並びである。DNA が転写されて RNA となり、RNA が翻訳されて、私たちの生命活動を担っている蛋白質が産生される [注 1]。しかし、RNA 分子の中には processing を受けて、DNA 配列から予想されるものとは異なる蛋白質アイソフォーム [注 2] をコードするようになる場合がある。その processing の一つが RNA 編集と呼ばれるもので、A からヒポキサンチン(ヌクレオシドがイノシンであるため I と略されることが多い)や C からウラシル(U)の脱アミノ化反応により生じる(図 1)。A→I 編集は adenosine deaminase acting on RNA (ADAR) 蛋白質ファミリーが、C→U 編集は数多くのシトシン脱アミノ化酵素が触媒している。シトシン脱アミノ化酵素で著名なもの は 、 activation-induced cytidine deaminase/apolipoprotein B mRNA-editing enzyme,

catalytic polypeptide-like (AID/APOBEC) ファミリーである [注 3]。AID/APOBEC ファミリーには RNA に作用するもの、DNA に作用するもの、その両者に作用するものが知られている。

AID は一本鎖 DNA に作用するシトシン脱アミノ化酵素であり、5'-(A/T)-(A/G)-C-3'の C を標的とする。AID の生理学的基質は、免疫グロブリン(抗体)遺伝子中の C であると考えられている。AID は、免疫グロブリン遺伝子の体細胞高頻度変異(somatic hypermutation)やクラススイッチ組換え(class switch recombination)を誘導して [注 4]、抗体多様化に貢献している¹⁾。抗体の抗原結合部位(可変領域)に相当する DNA の体細胞高頻度変異により、様々な抗原を認識する B 細胞の集団が生じる。また、抗原刺激によって B 細胞から最初に免疫グロブリン M (IgM) が誘導された後に、クラススイッチが生じて IgG 等の高親和性抗体が作られるが、AID が定常領域上流のスイッチ領域を標的とすることでこのクラススイッチが生じるとされている [注 5]。

ヒト APOBEC1 は小腸で発現しており、生理学的な標的分子は apolipoprotein B (APOB) mRNA である。APOB mRNA の 6666 番目の C が U に特異的に脱アミノ化されると終止コドンが生じるため、短い APOB 蛋白質が産生される²⁾。一方、マウス APOBEC1 は主として免疫細胞で発現し、小腸や肝臓を含む様々な臓器でも発現している。マウスにおいては、APOBEC1 により編集された RNA が 100 種類以上も見出されている。

APOBEC2 は心筋・骨格筋で発現している蛋白質で、RNA や DNA を脱アミノ化する作用は報告されていない。しかし、DNA 結合能があり重要な機能を有する可能性がある³⁾。また、APOBEC4 は精巣で発現しているが機能はよくわかっていない。

APOBEC3 はマウスにおいては単一の遺伝子により

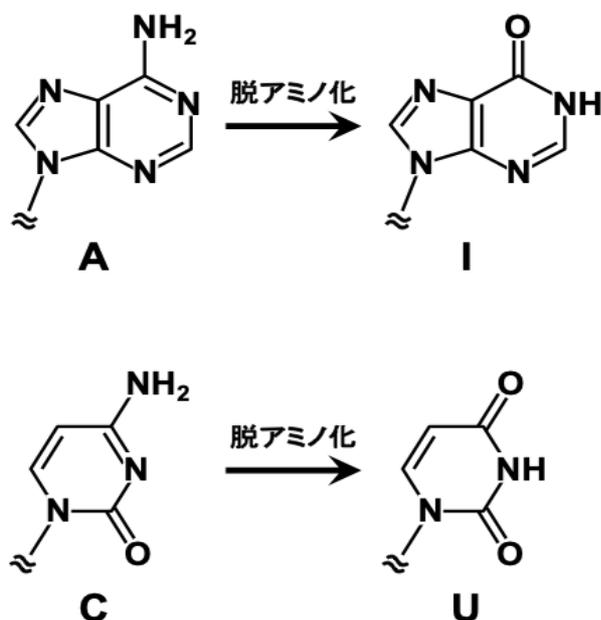


図 1

コードされているが、ヒト(霊長類)においては、7つの遺伝子から発現している(APOBEC3A、APOBEC3B、APOBEC3C、APOBEC3D または APOBEC3DE、APOBEC3F、APOBEC3G、APOBEC3H)⁴⁾。APOBEC3の分子種のうち、抗HIV-1因子(HIV1はAIDSの原因ウイルスである)として同定されたものがAPOBEC3Gである⁵⁾[注6]。このように、APOBEC3蛋白質はウイルスRNAや逆転写によって生成された一本鎖DNAを脱アミノ化し、ウイルスから私たちを防御していると考えられる。脱アミノ化されたRNA/DNAが切断されて分解されればウイルスの増殖が抑制される。しかし、脱アミノ化されたものの切断に至らない場合は、ウイルスの変異を誘発することになるため、ウイルスの進化を促進すると考えられる(後述)。7分子種のうち、APOBEC3G以外は5'-TC-3'配列(DNAの場合)のCを、APOBEC3Gは5'-CC-3'配列の3'-側のCを脱アミノ化しやすいことが知られている。

さて、私たちの生活を一変させた新型コロナウイルス(Severe Acute Respiratory Syndrome CoronaVirus 2、SARS-CoV-2)は、RNAウイルスの一種である。様々な配列の変化(変異)がデータベースに登録されているが、その膨大なデータを基に生じた変異のパターン(変異シグネチャー)が解析され、主として3つのシグネチャーが見出された⁶⁾。その一つがC→T/G→A変異であり、APOBEC3による変異と推定されている(SARS-CoV-2はRNAウイルスであるが、データベースとの整合性のためにDNAの塩基として記述する)。また、残りの二つはG→T/C→AとA→G/T→C変異であり、それぞれ、活性酸素で生じる損傷塩基(8-oxo-7,8-dihydroguanine(8-hydroxyguanine))とADAR(上述)によるものと推定された。一方、別の研究グループは、SARS-CoV-2の配列のうち、変化している割合が高いのはスパイク蛋白質をコードするS遺伝子であり、生じた変異のほとんどがC→Tであると報告している⁷⁾[注7]。S遺伝子はG:Cの割合が低いため一本鎖になりやすい可能性があり[注8]、それはAPOBECが一

本鎖核酸を基質にしやすい性質と合致していると指摘している。さらに、別の研究グループは、RNAを基質とするAPOBEC1、APOBEC3A、APOBEC3Gをヒト細胞に発現させ、その細胞にSARS-CoV-2の配列の一部(その中にはS遺伝子の一部も含まれている)を導入してRNAに生じる変異を観察した⁸⁾。その結果、3者共にRNAに変異を導入させる能力があることを示した。一方、同研究グループは、これらの蛋白質の1種を発現する細胞を作製し、その細胞にSARS-CoV-2を感染させた。いずれの蛋白質を発現させた場合でもウイルスRNAの量は減少しないことから、これらの蛋白質の抗SARS-CoV-2作用は低く、むしろSARS-CoV-2の進化を促進しているだけである(残念な)可能性を指摘している。SARS-CoV-2とシトシン脱アミノ化酵素との関連を調べた論文は他にもあるので、興味がある方は調べられたい。

最後に、がんとの関連について述べる。様々ながんで見出された変異のシグネチャーを解析した論文が報告されている。それによると、APOBEC3が原因と推定される変異が多くのがんで見出されている⁹⁾。微生物に感染した際に食細胞が活性酸素を放出すると、周辺組織のゲノムDNAを酸化しがん化に寄与することが考えられていた。がんゲノム解析研究の進展により得られた結果は、感染によりAPOBEC3が発現亢進するとゲノムDNA中のCを脱アミノ化し、この現象もがん化に寄与することを示唆している。また、APOBEC1もDNAを脱アミノ化することができ、がんとの関連も予想されている¹⁰⁾。なお、紫外線で生じる損傷塩基(皮膚がん)や前述した酸化損傷塩基である8-oxo-7,8-dihydroguanineなども重要な変異の原因と推定されている。

さて、手前味噌で恐縮だが、最近、私たちは、8-oxo-7,8-dihydroguanineの存在によりAPOBEC3による変異が損傷部位から離れた場所で生じることを見出した(遠隔作用変異と命名した)¹¹⁾。がんの重要な原因であると考えられている二つの要因である酸化損傷塩基

と APOBEC3 がリンクしていることも考えられ、様々な観点からの研究を行っているところである。

以上、シトシン脱アミノ化酵素に関して述べてきたが、この一群の蛋白質は免疫などに関与し私たちヒトを含む生物にとって有益であるとともに、がん化や感染症に関係する微生物の進化にも関わっている二面性がある。今後もさまざまな観点からの研究が進展していくものと思われる。

注

[1] マイクロ RNA (miRNA) や長鎖ノンコーディング RNA (lncRNA) のような蛋白質に翻訳されないものも存在する。

[2] 同一遺伝子や同一ファミリーの遺伝子に由来する蛋白質であるが、アミノ酸配列が完全に同一ではなく、生物学的な役割も多少異なるとされている。基本的な機能に関わるアミノ酸部分は同一である。

[3] RNA 中の C(リボースと結合したヌクレオシド名はシチジン)を脱アミノ化することから cytidine deaminase と呼ばれることが多いが、DNA に作用する分子を考慮して、本稿ではシトシン脱アミノ化酵素 (cytosine deaminase) と呼ぶ。

[4] ヒトを含めた哺乳動物の抗体には、抗原に結合する部位と抗原との結合に関与しない部位がある。抗原結合部位に相当する遺伝子の領域は、抗体を産生する B 細胞において、通常の体細胞変異と比較してはるかに高い頻度で変異を蓄積する。この現象を体細胞高頻度変異あるいは体細胞超変異と呼ぶ。様々な抗原を認識する多様な抗体を産生するための仕組みと考えられる。また、抗体の定常領域(抗原との結合に関与しない部位)には、大別して 5 種類があり、その違いにより抗体が 5 つのクラス(IgG、IgM、IgA、IgE、IgD)に分類される。クラススイッチ組換えとは、抗体遺伝子中での組換えにより、抗体の定常領域が別のクラスの定常領域に変わる現象のことをいい、B 細胞中で生じる。

[5] ただし、本庶佑研究室の web site では、体細胞高頻度変異とクラススイッチ組換えが AID の DNA シトシン脱アミノ化酵素に依存するという考え方に疑問を呈している (http://www2.mfour.med.kyoto-u.ac.jp/aid_project.html)。

[6] 一方で、HIV はアクセサリ蛋白質 Vif をコードする遺伝子を有する。Vif はユビキチン・プロテアソーム系を介して選択的に APOBEC3G を破壊する。興味深いことに、ウイルス産生細胞内で発現する APOBEC3G がウイルス粒子内に取込まれると次の感染細胞において逆転写反応等を阻害する。

[7] この論文の著者は、ウイルスの「生存」に有利な変異が選択される現象の影響を避けるために、同義語コドンへの変異(コードするアミノ酸の変化を伴わない変異)のみに着目している。

[8] G:C 塩基対は A:T(または A:U) 塩基対に比較して熱的に安定である。これは前者には 3 本の、後者には 2 本の水素結合があることに由来している。

参考文献

- 1) M. Muramatsu, et al. *Cell* 102, 553–563 (2000).
- 2) B. Teng, CF. Burant, NO. Davidson, *Science* 260, 1816–1819 (1993).
- 3) Y. Sato, et al. *J. Biol. Chem.* 285, 7111–7118 (2010).
- 4) RS. LaRue, et al. *J. Virol.* 83, 494–497 (2009).
- 5) AM. Sheehy, et al. *Nature* 418, 646–650 (2002).
- 6) A. Graudenzi, et al. *iScience* 24, 102116 (2021).
- 7) X. Liu, et al. *RNA* 28, 917–926 (2022).
- 8) K. Kim, et al. *Sci. Rep.* 12, 14972 (2022).
- 9) LB. Alexandrov, et al. *Nature* 578, 94–101 (2020).
- 10) IB. Rogozin, et al. *Cancers* 11, 211 (2019).
- 11) T. Suzuki, et al. *DNA Repair* 111, 103276 (2022).

同窓会 HP:2022 年 11 月 25 日公開