



2018年10月10日放送

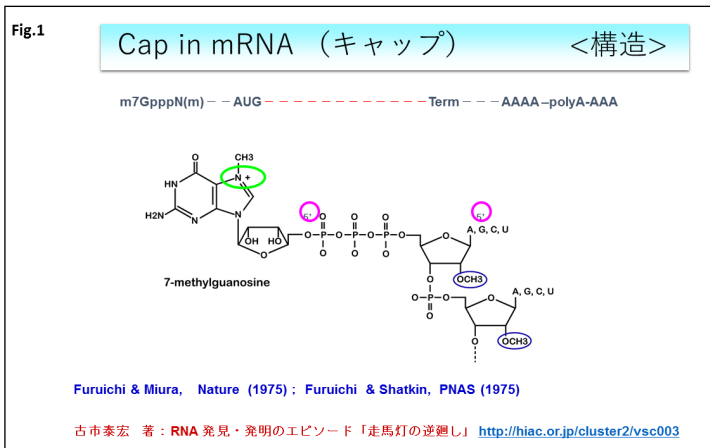
「キャップスナッチング—インフルエンザウイルスの増殖戦略」

元ロシュ分子生物学研究所室長・薬学博士 古市 泰宏

はじめに

ウイルスは、様々な戦略を駆使して、細胞の仕組みを巧みに利用しながら、生存と繁殖を、繰り返します。なかでもインフルエンザは、巧妙な方法で細胞を痛めつけ、新しいウイルスを作り、時には、爆発的に人間社会に多大の被害を与えます。思い起こせば、世界の人口が20億人だった1918年、5億人が感染し、5000万人が命をおとすことになったスペイン風邪の大流行から、今年、ちょうど100年目にあたります。この節目の年に、「キャップ依存性エンドヌクレアーゼ」というユニークな酵素を阻害して、ウイルスの複製を抑える新しいタイプの抗ウイルス剤、一般名バロキサビル マルボキシル、商品名ゾフルーザ、が誕生し、抗ウイルス剤の戦列に加わったことは喜ばしいことです。

この話を聞いていただける多くの方には、これまで、キャップという名前を聞かれたことがないかもしれません。しかし、生物の世界ではキャップは、タンパク質合成など、高等生物の遺伝子発現にはなくてはならない重要な働きをする構造体であり、それは、メッセンジャーRNA (mRNA) の頭について



います (Fig. 1)。私は、そのキャップの発見者でもあります。ここでは、バロキサビル マルボキシル、商品名ゾフルーザ誕生の背景や、作用機作を知るために、最初に、キャップの働きについてお話しします。次に、本日、これが最も大事なことです。インフルエンザウイルスが、感染細胞の mRNA からキャップを切り取り、自分の mRNA につける「キャップ拉致反応」の発見についてご紹介します。

キャップ構造の発見

さて、今から40年ほど前のことになりますが、私は、東大薬学部でDNAやRNAなどについて学び、三島市にある国立遺伝学研究所の分子遺伝部へ就職しました。部長一人・研究員一人・秘書一人という小さな部でしたが、部長の三浦謹一郎先生と、蚕に感染し、養蚕業に被害を与える「蚕細胞質・多核体病ウイルス」の遺伝子について、研究を始めました。そして、この研究から、ウイルス mRNA の5′末端には、2個のメチル基を含む、7meGppp (Ame-) という現在キャップというニックネームで呼ばれる奇妙な化合物がついていることをつきとめました。この結果を、古市・三浦の連名で、イギリスの有名な雑誌である Nature 誌に発表したところ、世界中の生物学者たちは、大変に驚きました。というのは、それまでの大腸菌や、ファージの研究からは、mRNA の頭は ppp- というようなリン酸が3個付いた構造であると信じられていたからです。

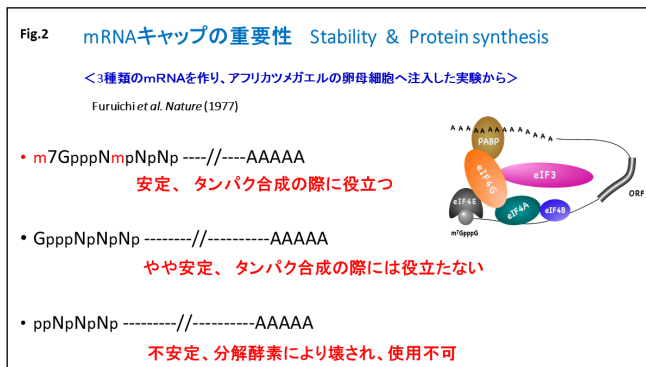
キャップの普遍性

Nature 論文を投稿した直後の1974年、私は米国ニュージャージー州 (NJ) にあるロシュ分子生物学研究所のアロン Shatkin 博士の研究室へ留学しました。そこでは、早くも、我々の日本での研究を知っていて、私の到着と共に、ヒトなど高等生物の細胞や、それに感染するウイルスに関するキャップ研究が始まりました。この研究には、ニューヨークにあるロックフェラー大学のジム Darnell 教授のグループが加わり、ハドソン川を挟んでロシュ分子生物学研究所とロックフェラー大学は、「キャップ研究の世界の中心」になりました。ウイルスについては、Shatkin 博士が、有名なウイルス学雑誌の編集長、であったことでもあり、多くのウイルス研究室と共同研究が組まれました。その結果、有核細胞は、酵母からヒトに至るまで、mRNA はキャップ構造を持つことが解かりました。

ウイルスの世界でも多くのウイルス mRNA はキャップをもっていることが判りましたが、インフルエンザウイルスについてはそれがはっきりしませんでした。

キャップの生化学的役割

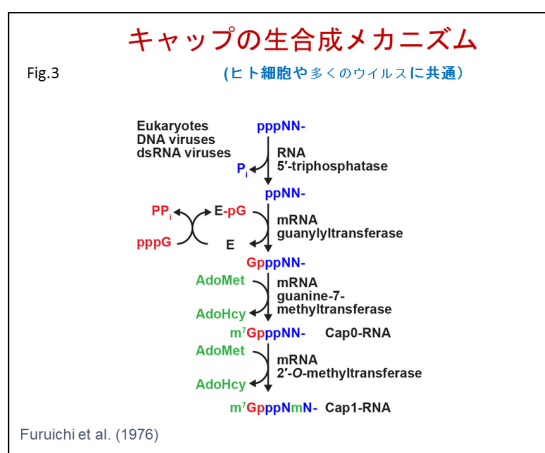
別の研究から、生物学的機能としては、キャップはタンパク質合成に必須で、重要であることがわかりました。すなわち、キャップは、リボソームがタンパク質合成をスタートする際に、メッセンジャー RNA に結合する目印となっていることがわかりましたし、これを補助するキャップ結合タンパクも、タンパク質合成の初期因子の中から見つかりました。



もう一点、重要なことですが、キャップは mRNA をエキソヌクレアーゼによる分解から守る働きをしていることも判りました (Fig. 2)。バクテリアのキャップレスの mRNA は 寿命が 30 秒以下なのに対して、高等生物のキャップを持つ mRNA は数日間も安定で存在できることなどの理由が、こうして判りました。ちなみに、キャップを外すと有核細胞のメッセンジャーRNA は、たちどころに端から分解されてしまいます。

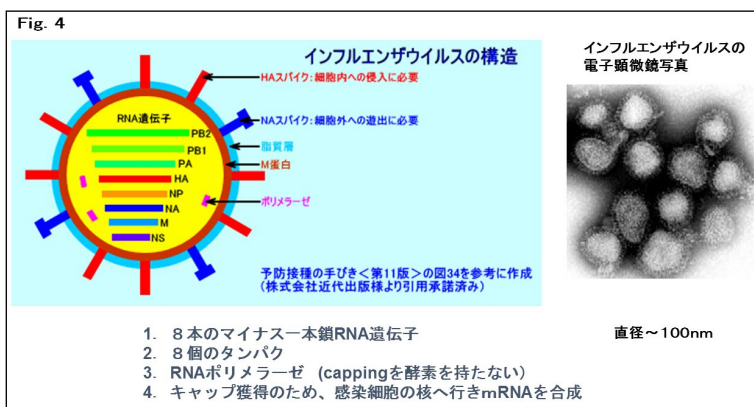
キャップはどうして作られるか？

私は、キャップの自然界での広範な存在と、タンパク合成の重要性を確認したあと、「キャップはどの様にして作られるのか」の疑問に答える研究に取りかかりました。その結果、少なくとも5種類の酵素により、5段階のステップにより作られることを突き止めました。いまでは、それらの反応やメカニズムが、正しいとがわかり、生化学の教科書などで紹介されていて、(Fig. 3)、そのキャップを作る反応は、キャッピングとも言われています。この、キャップやキャッピングという名前は、Darnell 教授や Shatkin 博士とそれに私が加わった3人で、論文を作っている時に、つけたニックネームで、今では世界中で定着しています。



インフルエンザのキャップスナッチング

さて、本日の主役インフルエンザウイルスのメッセンジャーRNA の合成はどうだったのでしょうか？この問題については、ロックフェラー大学の通りを挟んで向かいにあるスローンケタリングがん研究所のボブ Krug 博士が取り組んでいました。インフルエンザウイルスの粒子内には RNA ポリメラーゼがあるのでウイルスを感染細胞から集めて、転写反応に使うと、試験管内で“ウイルスメッセンジャーRNA らしき” RNA をつくるができます (Fig. 4)。しかしながら、それらの RNA にはキャップはついていませんでした。そんなことから、Krug 博士は、我々のグループと共同研究を始めました。そして、それは大正解でした。私たちが作ったキャップを持つ



短いオリゴヌクレオチドを試験管内での RNA 合成・反応液に加えたところ、インフルエンザウイルスは加えない場合に比べ、百倍以上の量の RNA を作る事がわかったのです。(Fig. 5)。これには、驚きですが、それは、まだ、驚きの第一歩にしか過ぎませんでした。というのは、Krug 博士らは、次に、短いキャップ・オリゴヌクレオチドに替えて、グロビンのメッセンジャーRNA など、フルサイズの長い mRNA をウイルスの転写系へ加えたところ、効率の良いメッセンジャーRNA 合成が起ることを発見したのです。

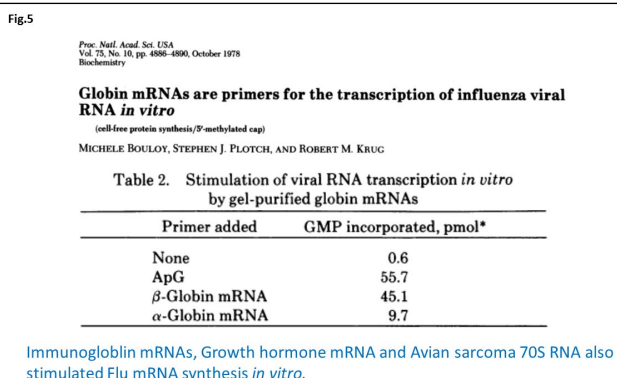
メッセンジャーRNA の合成反応に、別のメッセンジャーRNA を加えるなぞという、おかしな、未曾有のトライアルでしたが、見事に核心をついた実験でした。

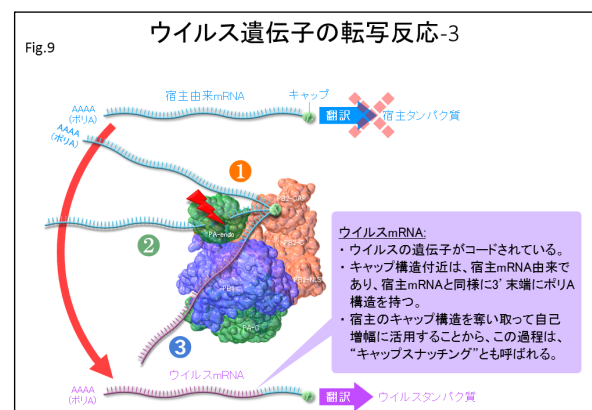
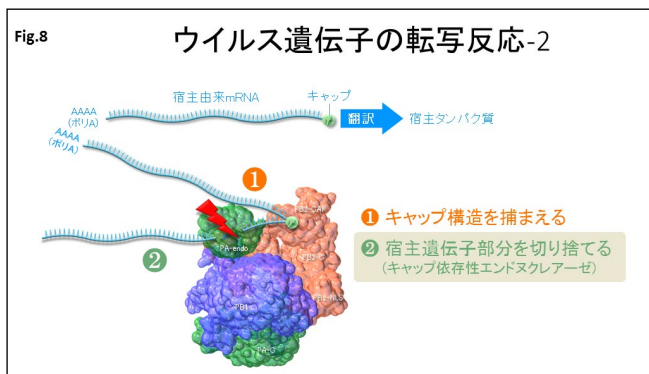
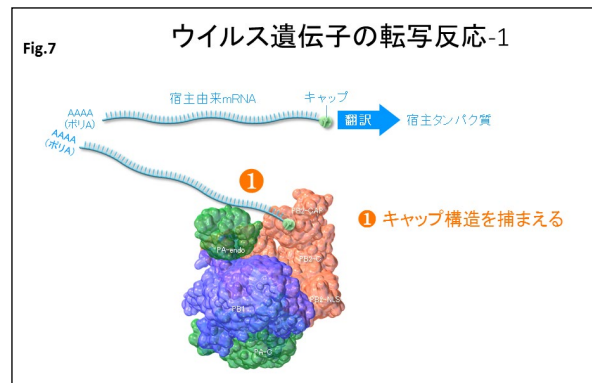
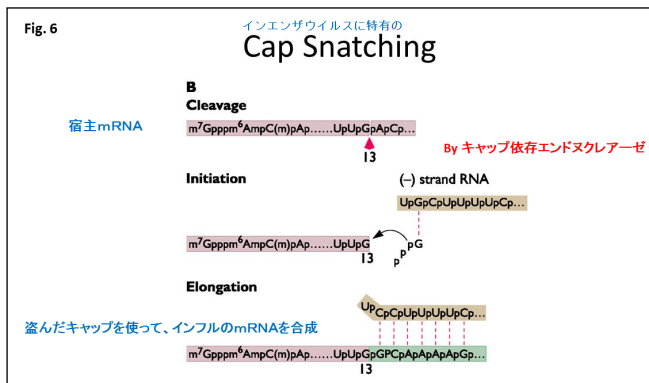
一方、この実験で、キャップをもたない RNA を加えたところ、ウイルスのメッセンジャーRNA はできませんでした。すなわち、インフルエンザウイルスは、キャップを持つ RNA に限って結合し、RNA 合成に利用していることが判ったのです。放射性的なリン酸でラベルした RNA を使った実験から、インフルエンザウイルスは、キャップの近くで RNA を切断し、そこで得られた短いキャップ・オリゴヌクレオチドをプライマーとして使っていることが判明しました。この反応は、インフルエンザウイルスに特有の反応で、「キャップスナッチング」と呼ばれるようになりました—キャップを拉致して、自分のものにしてしまうという意味です。キャップスナッチングは A タイプ、B タイプのウイルスでも起こりますし、鳥のウイルスでも豚のウイルスでも起こります。

インフルのキャップ拉致反応の仕組み

ところで、インフルエンザウイルスは、8本のマイナス鎖の RNA 遺伝子と RNA ポリメラーゼを持っていますが、他のウイルスとは異なり、キャップを作る酵素を持っていません (Fig. 4)。その替わり、キャップスナッチングのために、3種類のタンパク質を持っていることがわかりました。PB1 という RNA ポリメラーゼ、PB2 と呼ばれるキャップ結合タンパク、そして PA と呼ばれるエンドヌクレアーゼです。これらの3者は、寄りそって複合体をつくり、連携してキャップスナッチングをやるのです。そして拉致したキャップ・オリゴヌクレオチドをスターターとして RNA を合成するのです (Fig. 6~9)。実に、巧妙ですね。

この結果、拉致したキャップ・オリゴヌクレオチドはインフルエンザウイルスのメッセンジャーRNA につき、タンパク合成に使えるようになります。バロキサビル マルボキシル、商品名ゾフルーザは、この連携プレーの中の PA という「キャップ依存性のヌクレアーゼ」を低濃度で阻害する化合物として見出されました。

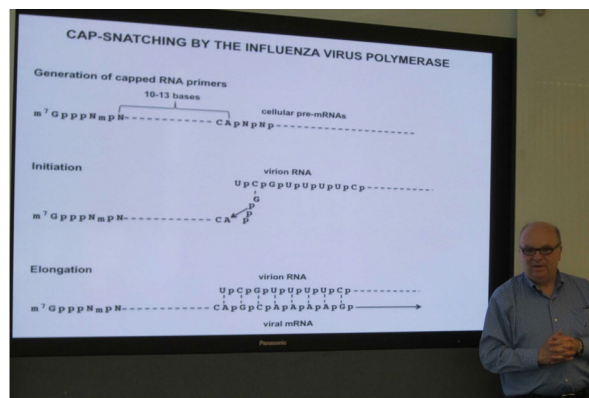




おわりに

さて、以上の華々しい発見と、驚きの連続はともかく、以前から、Krug 博士と我々は、インフルエンザウイルスが、感染に際して、細胞へ吸着後、細胞質を素通りして核へ移動することを不思議に思っていました。しかし、「キャップスナッチング」という不思議な現象を理解してからは、ウイルスが標的としたのは、実は、細胞質にある mRNA ではなく、核の中で合成途上の、メッセンジャーRNA の前駆体であった、一ということも、判りました。インフルエンザウイルスは、私が明らかにした 5 段階の難しいキャップ合成反応を避けて、既製品のキャップを盗用して使っているのです。これには感心しましたし、キャップの発見者でありながら、「ああ、キャップって本当に重要なんだな」と実感した次第でした。

インフルエンザウイルスの謎の多くは、こうして解けました。Krug 博士は、1980 年から Shatkin 博士のあとを継ぎ、ウイルス学雑誌 Journal of Virology の編集長として、見事に、10 年間務め、私も、准編集者として Krug 博士の編集活動に協力しました。私達は、この後は、抗インフルエンザウイルス薬、バロキサ



インフルのキャップ Snatching 反応を発見した R. Krug テキサス大教授

ビル マルボキシル、商品名ゾフルーザの活躍を、共に、見守りたく思っています。

最後になりますが、「キャップの発見」に貢献された三浦謹一郎博士は9年前に、また、「キャップスナッチングの発見」に協力した Shatkin 博士は、6年前に帰らぬ人となりました。お2人がご生存であればゾフルーザの誕生を真に喜ばれたことであろうと思う次第です。

エピログ

本日お話しした「キャップの発見」、「キャップスナッチングの発見」「ゾフルーザの発見」については、RNA学会の機関誌ニュースレターへの私の連載エッセイ「走馬灯の逆廻し」の中で、

第4話 (<http://www.rnaj.org/newsletters/item/402-furuichi-4>) と

第12話 (<https://www.rnaj.org/newsletters/item/614-furuichi-12>)

で書いているので、興味ある方は、ご覧ください。