

R-GIROの活動報告

Project Theme アンチセンス転写物による発現調節機構を用いた創薬の研究

生薬の薬効に見出したアンチセンスRNAの遺伝子発現制御機能

mRNAの量を調節するアンチセンスRNAの機能を世界に先駆けて解明しました。

私たちのプロジェクトでは、RNAの一種でメッセンジャーRNA (mRNA) と相補的な塩基配列を持つアンチセンスRNAに着目し、その機能を研究しています。DNAに書き込まれた遺伝情報は、mRNAに転写され、タンパク質に翻訳されます。一方アンチセンスRNAは、mRNAをコードするDNA鎖の逆鎖から読まれるRNAで、遺伝子情報を持たず、何のタンパク質もコードしないため、役に立たないジャンク(くず)と考えられていました。私たちは、このアンチセンスRNAが重要な機能を持っていることを世界に先駆けて解明してきたのです。

世界的にも大きなインパクトを与えたのが、アンチセンスRNAがmRNAを安定化することで炎症を抑制するメカニズムを発見したことです。ウイルスや細菌が体内に入り炎症を起こすと、サイトカイン(細胞間の情報を伝達するタンパク質)が肝細胞を刺激し、誘導型一酸化窒素合成酵素(iNOS)が発現して一酸化窒素(NO)が作られてウイルスの増殖を抑えます。しかしNOは過剰に作られると細胞や組織を障害して炎症を悪化させ、敗血症ショックなどを引き起こすことがあります。私たちは、ラットの肝細胞内でiNOS遺伝子のmRNAとアンチセンスRNAの両方が転写されることを発見するとともに、アンチセンスRNAがiNOS mRNAと結合してこれを安定化していることを明らかにしました。

さらにこのアンチセンスRNAがmRNAを安定化する作用に注目し、逆

にmRNAとアンチセンスRNAの結合を阻止することで、mRNAを分解に導き、NOの合成を抑える方法を見つけました。アンチセンスRNAを標的としてmRNAの量を調節することから、この方法をNATRE (Natural Antisense Transcript-targeted Regulation: ネイチャー) テクノロジーと名づけています。さらに実験の結果、多くの遺伝子で普遍的にアンチセンスRNAが転写され、mRNA量を調節していることが分かってきました。

肝細胞を保護する生薬が、iNOS遺伝子のアンチセンスRNAを抑制することを発見しました。

続いて私たちは、感染や炎症に薬効のある生薬に目を向け、それらにもiNOS mRNAや多くのサイトカインのmRNAの発現系を調節する成分がないかを探っています。本学薬学部と連携することで、生薬に関する情報収集、および単離した成分の同定も進んでいます。

その一つが、茵陳蒿湯(インチンコウトウ)です。茵陳蒿湯は、茵陳蒿、山梔子(サンシジ)、大黄(ダイオウ)など3種類の生薬からなり、黄疸の改善に用いられる漢方薬です。肝細胞の保護に働くと考えられる症例があることから、私たちは、本学薬学部、関西医科大学との共同研究で、茵陳蒿湯の肝細胞の障害に対する働きについて検討しました。その結果、茵陳蒿湯を投与すると、iNOSタンパク質の合成およびmRNAの発現が阻害され、NOの産生が抑制されることを確認しました。同時にiNOS mRNAの合成量とmRNAの安定性が減少して、アンチセンスRNAの発現も抑制されているこ

とも確かめました。このことからアンチセンスRNAの発現を抑制することでiNOSの発現を抑制し、結果的に肝細胞を障害するNOの産生を抑え、肝細胞を保護するメカニズムが推察されました。

次いで肝臓保護作用があるとされる金銀花(キンギンカ)についても同じように調べたところ、クロロゲン酸という成分が働き、iNOSとアンチセンスRNA、サイトカイン、ケモカインの発現を抑制することを見出しました。

さらにNOの誘導を抑制する働きを有するいくつかの生薬について、NO産生抑制成分の抽出を試みました。アオジソについては、主成分であるロスマリン酸やコーヒー酸に加え、強力なNO産生抑制活性を有するアピゲニンとルテオリンという二つの成分を単離しました。同じく五味子(ゴミシ)についてもNO産生抑制作用を明らかにするとともに、その抑制成分としてゴミシンとγ-シザンドリンを単離することに成功しました。

以上のように、肝細胞保護に関わると推察される生薬20~30種類を順次検討すると、その多くの肝細胞保護のプロセスでiNOSアンチセンスRNAの発現抑制が見られました。このことから、iNOSアンチセンスRNAを肝臓保護に働く生薬成分の有無をスクリーニングするためのバイオマーカーとして活用する可能性も見出しています。

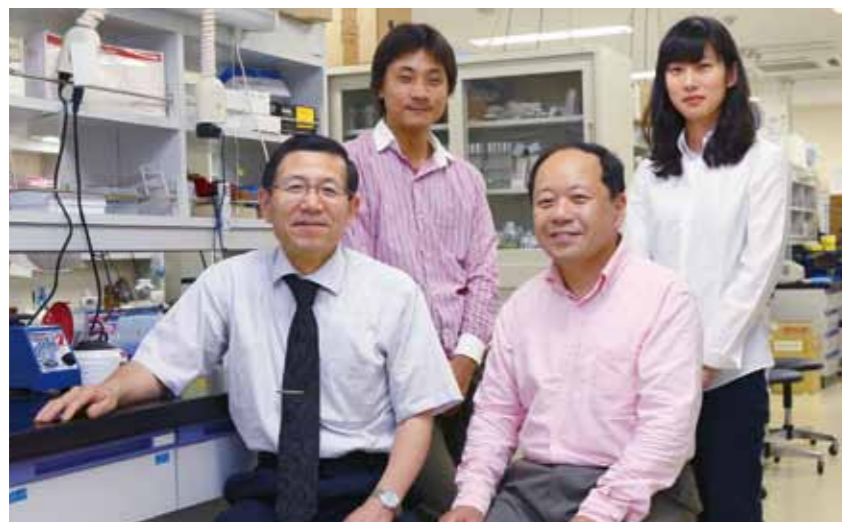
生薬成分の多くは、従来の化学合成法での合成が難しく、また細胞内のどの分子に作用するのかもよくわかっていません。作用機序と有用性を明らかにすることができれば、漢方薬の医療分野への積極的な応用もいっそう広がるものと期待されます。さらに私たちの研究によって、これらの生

薬の成分がmRNAやアンチセンスRNAに影響を与えるメカニズムの解明が進めば、特定のサイトカインの量を調節し、新たな治療薬の開発にもつながるはずです。

生薬に含まれる長寿・抗老化成分の分析からアンチセンスRNAの新たな作用を探っています。

私たちはさらに、肝細胞以外でのアンチセンスRNAの働きを探るといった新しい挑戦に着手しています。ヒントとなったのが、肝臓の機能改善や保護作用といった効果を持つ生薬の多くが、古来不老長寿の漢方薬に配合されているという事実です。現在、線虫を用いて生薬と、長寿などの高次生命現象との関わりを調べています。

はじめにNO産生を抑制するシタケ由来の機能性食品AHCCで調べてみました。AHCCは肝細胞でiNOSアンチセンスRNAを減少させますが、AHCCを線虫に与えると線虫の寿命が延長されることを見出しました。人参などの生薬に含まれる成分も、肝細胞でNO産生を抑制してiNOSアンチセンスRNAを減少させるとともに、線虫の生存率も改善することも分かりました。これらの事実から、肝細胞でのNO産生を抑制する作用やアンチセンスRNAを減少させる作用は、線虫の寿命と相関があるのではないかと考えています。今後は線虫を用いた生薬作用のアッセイ系を確立し、生薬に含まれる長寿や抗老化に関わる成分の単離同定を進めていくつもりです。



[写真 前列右]
生命科学部 教授
西澤 幹雄 プロジェクトリーダー

[写真 前列左]
薬学部 教授
池谷 幸信

[写真 後列右]
生命科学部 助教
吉開 会美

[写真 後列左]
立命館グローバル・イノベーション研究機構 ポストドクトラルフェロー
奥山 哲矢



スイカズラ
花と蕾を乾燥させたものが、生薬の金銀花(キンギンカ)になる



チョウセンゴミシ
実を乾燥させたものが、生薬の五味子(ゴミシ)となる



立命館大学が有する貴重な生薬。左から金銀花(キンギンカ)、大黄(ダイオウ)、山梔子(サンシジ)

- 参考文献 / 1 Regulation of inducible gene expression by natural antisense transcripts. Front. Biosci. 17, 938–958 (2012). 2 Japanese herbal medicine, inchinkoto, inhibits inducible nitric oxide synthase induction in interleukin-1beta-stimulated hepatocytes. Hepatol. Res. 42, 76–90 (2012). 3 Chlorogenic acid from the Japanese herbal medicine Kinginka (Flos Lonicerae japonicae) suppresses the expression of inducible nitric oxide synthase in rat hepatocytes. HOAJ Biology 1, 2 (2012).
- 連絡先 / 立命館大学びわこ・くさつキャンパス 西澤研究室 電話: 077-561-2876 <http://research-db.ritsumei.ac.jp/Profiles/40/0003903/profile.html>