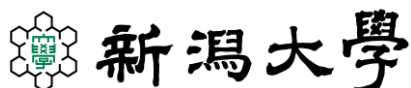


真の強さを学ぶ。



平成 29 年 10 月 13 日

新 潟 大 学  
慶應義塾大学医学部

## 《新規の神経幹細胞制御因子として Quaking5 の機能を解明》

— 幅広い精神・神経疾患、癌の病態解明や新薬開発に期待 —

このたび、新潟大学大学院医歯学総合研究科神経生物・解剖学分野の矢野真人准教授、矢野佳芳研究員(日本学術振興会特別研究員 RPD)と慶應義塾大学医学部の岡野栄之教授の研究グループは、武田薬品工業(株)湘南インキュベーションラボとの共同研究により、新たな神経幹細胞制御因子として、RNA 結合タンパク質(注 2)である Quaking5(Qki5,注 3)を同定しました。包括的 RNA マッピング技術(HITS-CLIP 法)(注 1)を用い、Qki5 が、標的 RNA との結合部位により神経幹細胞を制御する新しい分子メカニズムを解明しました。

中枢神経系は、神経細胞及びグリア細胞(アストロサイトやオリゴデンドロサイト)を中心に構成されています。大脳皮質の形成過程においては、神経幹細胞(注 4)が順序立てて多様な神経細胞やグリア細胞を生み出すことが知られており、それが破綻すると多様な精神・神経疾患や癌に繋がると言われています。今回、矢野准教授らの研究グループが新たな神経幹細胞制御因子として同定した Qki5 は、RNA(リボ核酸)に結合する RNA 結合タンパク質の一種であり、神経幹細胞において細胞間接着に関わる分子群の RNA の多様性の制御を介して、胎生期大脳皮質の神経幹細胞の機能保持および神経細胞の産生に重要な役割を果たすことを解明しました。

この成果は、幅広い精神・神経疾患や癌などの病態解明や新薬開発につながることを期待されます。

### 【本研究成果のポイント】

- 新規の神経幹細胞制御因子として RNA 結合タンパク質 Quaking5(Qki5)を同定した。
- 包括的 RNA マッピング技術を用いて Qki5 の RNA 結合部位、制御の法則性を解明した。
- Qki5 は RNA 制御を介して、神経幹細胞の細胞接着を調節し、幹細胞の機能保持および適切な神経細胞の産生に寄与している。
- 本研究成果は幅広い精神・神経疾患や癌の病態解明、新規治療法の開発へと波及する。

### I. 研究の背景

2017 年は、イントロンとスプライシングの発見から 40 年の節目の年にあたります。mRNA スプライシング(注 5)は、多様なタンパク質を生み出す駆動力として、分子メカニズムの基礎研究、様々な疾患の病態解明、さらには難病における新規の治療法開発まで、世界中で研究が進展しています。この分子機構を司るのが RNA 結合タンパク質です。

真の強さを学ぶ。



新潟大学



慶應義塾大学

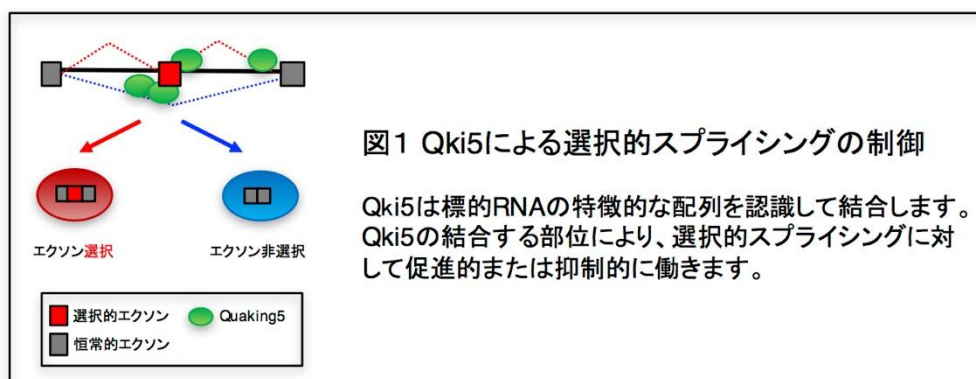
中枢神経系は、神経細胞及びグリア細胞を中心に構成されています。脳の形成過程においては、適切な時期に適切な場所で、順序立ててニューロンやグリア細胞が産み出される必要があります。そのために、自己複製能(幹細胞を維持する能力)と多分化能(様々な種類の細胞に分化能力)を有する神経幹細胞が非常に重要な役割を担っており、胎生期における脳の形成過程の異常は様々な精神・神経疾患や癌などの病気に直結します。

これまでの研究で、神経系の発生過程においても RNA に結合するタンパク質が重要な働きをしていることが当研究グループらによって明らかにされています。先行研究において、矢野准教授らのグループは、包括的 RNA マッピング技術(HITS-CLIP 法)を用いて、RNA 結合タンパク質 Nova2 の RNA 結合部位を同定しました。そして、多くの結合する mRNA の中でも、Dab1 と呼ばれる分子の選択的スプライシング(注 5)を制御することにより、神経前駆細胞の移動を正常に保っていることを明らかにし、世界に先駆けて大脳新皮質の形成に RNA の制御が重要であることを明らかにしました。

## II. 研究の概要と成果

本研究では、RNA 結合タンパク質 Qki が神経幹細胞における機能を調べるため、マウス神経幹細胞を培養し、特定の遺伝子の転写量を減少させるロックダウン法を用いて Qki の発現の抑制を試みました。この状況のもと、mRNA-seq(注 6)解析を用いて、神経幹細胞における転写産物を包括的に解析したところ、①Qki が神経幹細胞の維持に重要な機能を持っていること、さらに②mRNA の選択的スプライシングに働いていることが示唆されました。Qki ファミリーの中でも Qki5 は、核移行シグナルを持ち、核内イベントであるスプライシングに大きく寄与していることが考えられるため、Qki5 に絞り研究をさらに進めました。

胎生期マウスの脳において Qki5 の制御機能を明らかにするため、包括的 RNA マッピング(HITS-CLIP 法)を行い、一塩基解像度で全転写産物における結合部位を突き止め、892 個の標的 RNA を同定しました。Qki5 は標的 RNA のタンパク質をコードしていないイントロンと呼ばれる領域に結合し、近傍に存在するタンパク質をコードしているエクソンの選択性(選択的スプライシングと呼ばれる機構)を制御すること及び選択的スプライシングを制御する法則性を明らかにしました(図 1)。



さらに、892 個の直接的な標的 RNA を介してどのような生物学的に意義のある細胞機能を調節しているのかを解明するために、ゲノム解読に利用されるバイオインフォマティクス解析を行いました。その結果、Qki5 は標的 RNA を介して、細胞間接着に関するシグナル経路に収束されることを見出しました。そこで、生体内で Qki5 が胎生期神経幹細胞で細胞間接着を制御しているかを確認するために、神経系で特異的に Qki を欠損させたマウスの脳を調べました。

真の強さを学ぶ。

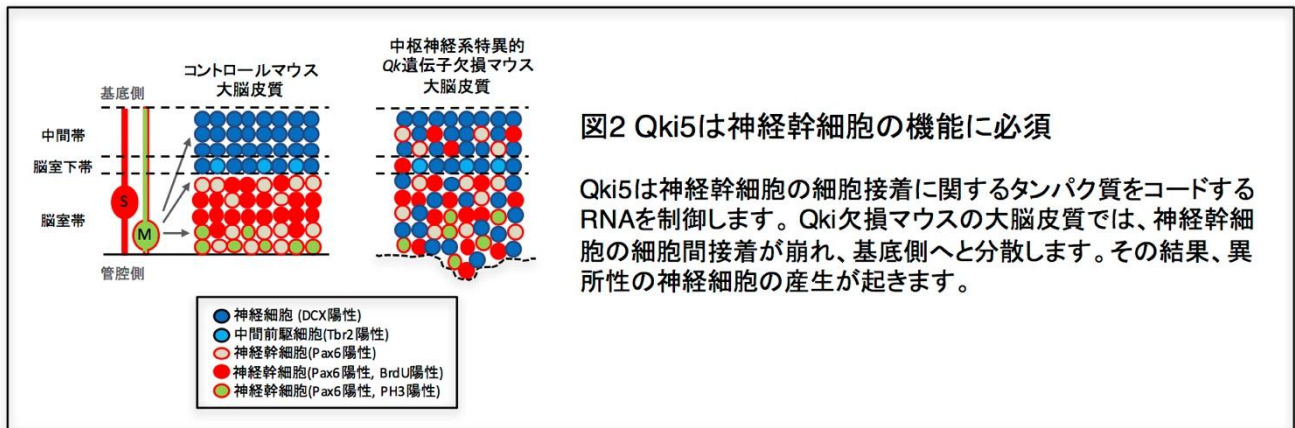


新潟大学

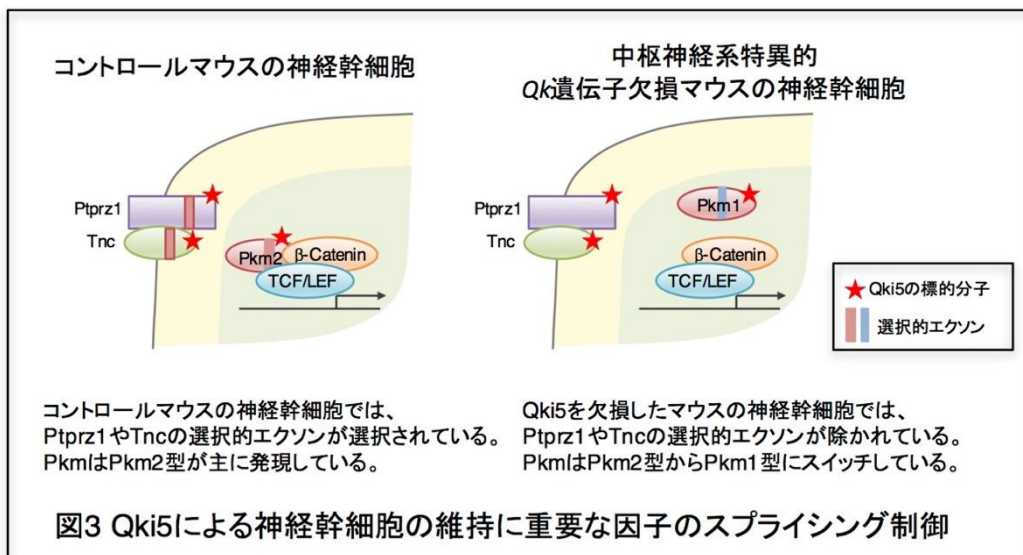


慶應義塾大学

マウス脳の組織解析の結果、*Qki* を欠損したマウスの神経幹細胞では N-カドヘリンやβ-カテニンなど細胞間接着に必須のタンパク質の発現の低下及び局在の変化が見られ、脳室帯に存在する神経幹細胞の細胞間接着に、異常があることが明らかになりました。*Qki* を欠損したマウスに比して、正常マウスでは脳室帯に存在する Pax6 陽性の神経幹細胞が、脳室の管腔側から逸脱、脳室下帯にまで分散し、その周辺領域では異所性の神経細胞の産生が見られました(図 2)。



*Qki* を欠損したマウスの神経幹細胞では、どの細胞間接着に関わる標的 RNA のスプライシングに変化があるのか、分子群の増幅量を解析する qRT-PCR 法で調べたところ、神経幹細胞性の維持に重要な経路の分子群である *Tnc* や *Ptprz1*、さらに癌細胞の糖代謝にも関連する *Pkm* のスプライシング異常が見られ、その結果、神経幹細胞の細胞接着に異常を来たしていることが明らかになりました(図 3)。



以上の結果から、*Qki5* が胎生期神経幹細胞において RNA を制御し、細胞間接着を調節することで神経幹細胞の適切な機能の保持に働いていることが、世界に先駆けて明らかとなりました。

本研究は、主に武田薬品工業株式会社湘南インキュベーションラボラトリー(SIL)及び文部科学省(MEXT)/日本学術振興会(JSPS) 新学術領域「ノンコーディング RNA ネオタクソノミ」などの助成を受けて実施されました。

【用語説明】

真の強さを学ぶ。



新潟大学



慶應義塾大学

(注1) HITS-CLIP (high-throughput sequencing UV cross-linking and immunoprecipitation) 包括的 RNA-タンパク質相互作用部位マッピング技術。ゲノムから転写された全転写産物のどこに RNA 結合タンパク質が結合しているかを生体内において捉え、一塩基レベルの解像度で結合配列を明らかにすることができる方法。

(注2) RNA 結合タンパク質

RNA(リボ核酸)に結合するタンパク質群の総称。ヒトでは 1542 種存在することが知られている。

(注3) Quaking

KH タイプの RNA 結合タンパク質。選択的スプライシングにより Qki5、Qki6、Qki7 の異なるアイソフォーム (同一遺伝子より産生され、一部の構造、機能が異なると推測されるタンパク質) が存在する。RNA に結合することで mRNA の選択的スプライシング (成熟した mRNA が作られる機構)、安定化、翻訳制御、miRNA、ciRNA の生合成を制御している。これまでに、神経系ではグリア細胞の一つであるオリゴデンドロサイトの細胞系譜における機能が詳しく解析されてきた。

(注4) 神経幹細胞

神経系の組織幹細胞。自己複製能(幹細胞を維持する能力)と多分化能(様々な種類の細胞に分化する能力)を有する。順序立てて多様な神経系の細胞を産み出し、神経系の構築および維持に重要な役割を持つ。

(注5) スプライシング

ゲノム DNA の遺伝子には、たんぱく質をコードしているエクソンと呼ばれる領域がたんぱく質をコードしていないイントロンと呼ばれる領域によって分断されている構造が存在する。ゲノム DNA から RNA に転写されたのちに、不要なイントロンが除去され成熟した mRNA が作られる機構をスプライシングと呼ぶ。エクソンは常に選択されてたんぱく質に翻訳される恒常的エクソンとスプライシングを行う部位や組み合わせが変化する選択的エクソンが存在する。その選択的エクソンを制御する機構が選択的スプライシングであり、機能的たんぱく質の多様性に寄与している。

(注6) RNA-seq (RNA シークエンス)

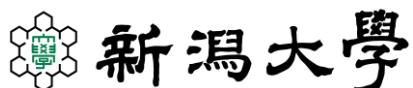
次世代シークエンス法を用いて全転写産物の配列情報をバイアスなく読み込み、発現量を定量する方法。

### Ⅲ. 今後の展開

本研究成果は Qki5 が新規の神経幹細胞の制御因子であり、神経幹細胞の機能にかかわることを明らかにしたことから、幅広い神経疾患や癌の病態解明や新規治療法の開発へと波及することが考えられます。

### Ⅳ. 研究成果の公表

真の強さを学ぶ。



これらの研究成果は、本研究成果は平成 29 年 10 月 12 日 4 時 (日本時間) に、米国コールド・スプリング・ハーバー研究所が出版する生物学に関する学術雑誌「Genes & Development」誌の Advanced online 版に掲載されました。

論文タイトル：An RNA-binding protein Qki5 regulates embryonic neural stem cells through pre-mRNA processing in cell adhesion signaling

(邦訳：RNA 結合蛋白質 Qki5 は、細胞接着シグナルに関わる mRNA スプライシングを担うことにより、胎生期神経幹細胞を制御している)

著者：矢野(早川)佳芳\*、陶山智史\*、野上真宏、湯上真人、古家育子、周麗、阿部学、崎村健司、竹林浩秀、中西淳、岡野栄之\*\*、矢野真人\*\* (\*共同筆頭著者 \*\*共同責任著者)

doi : <http://www.genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.300822.117>.

#### 本件に関するお問い合わせ先

新潟大学大学院医歯学総合研究科

神経生物・解剖学分野

准教授 矢野 真人 (やの まさと)

E-mail: [myano@med.niigata-u.ac.jp](mailto:myano@med.niigata-u.ac.jp)

慶應義塾大学医学部生理学教室

教授 岡野 栄之 (おかの ひでゆき)

E-mail: [hidokano@a2.keio.jp](mailto:hidokano@a2.keio.jp)