

生命環境研究領域
(神経細胞生物)

椎名伸之 (准教授)

1) 専門領域：細胞生物学、神経生物学

2) 研究課題：

- a) mRNA 輸送・局所的翻訳を制御する RNA 粒子タンパク質ノックアウトマウスの解析
- b) RNA 粒子複合体構成分子の同定と解析

3) 研究活動の概略と主な成果：

- a) 神経樹状突起への特定の mRNA の輸送およびそれに伴う局所的な翻訳制御は、重要な遺伝子発現システムのひとつである。このシステムによって、刺激入力のあったシナプスでのみタンパク質を合成し、そのシナプスが選択的に強化されて神経ネットワークが形成される。神経樹状突起へ輸送される mRNA は、「RNA 粒子」と呼ばれる構造体に取り込まれる。RNA 粒子は mRNA、リボソーム、RNA 結合タンパク質等で主に構成される高次複合体で、mRNA 輸送と局所的翻訳制御において中心的役割を担う。我々は、マウスを用いて mRNA 輸送と局所的翻訳を制御する分子メカニズムを解析し、そのシナプス形成、神経ネットワーク形成、ひいては記憶や学習における役割について研究を進めている。

我々は以前、RNA 粒子の構成因子として RNG105 という RNA 結合タンパク質を新規に同定した。RNG105 は樹状突起への mRNA 輸送に関与し、その機能が局所的翻訳、さらに神経ネットワークの構築に必要であることを明らかにした (Shiina *et al.*, *J. Neurosci.* **30**, 12816-12830, 2010)。RNG105 ノックアウトマウスを作成したが、胎仔期において脳神経細胞の細胞死が起り、呼吸不全で生後間もなく致死であった。記憶や学習といった高次脳機能への RNG105 の関与を調べるために、我々は Cre/loxP システムを用いた RNG105 コンディショナルノックアウト (cKO) マウスを新たに作成した。Cre リコンビナーゼを発現誘導するプロモーターとして、胎仔期では働かず生後に大脳で活性化する CaMKII α プロモーターを用いた。その結果、成体まで成長する RNG105 cKO マウスを得ることに成功した。オープンフィールド行動実験では、通常のマウスは新しい環境に置いても数回の試行を繰り返すと探索行動が低下していくが、RNG105 cKO マウスは数回の試行後でも探索行動が低下しなかった。この結果は、RNG105 cKO マウスが新しい環境に慣れる上で何らかの問題があることを示している。現在我々は、RNG105 cKO マウスの学習や記憶の能力に問題がないかどうかの詳細な解析に着手している。

RNG105 と RNA 結合ドメインを共有しているパラログとして、RNG140 の解析もおこなっている。RNG105 と RNG140 は、異なった種類の RNA 粒子に局在し、異なった時期、すなわち、RNG105 は胎仔期の脳に、RNG140 は成体の脳に発現する、という点で性質を異にする (Shiina and Tokunaga, *J. Biol. Chem.* **285**, 24260-24269, 2010)。我々は RNG140 ノックアウトマウスを得ており、これは

cKO ではなくても成体まで成長することを確認した。このマウスを用いて RNG140 の高次脳機能解析および行動解析をおこなうべく、B6 系統に戻し交配をおこなっている。

- b) RNA 粒子は神経細胞には存在するが、他の多くの細胞種には存在しない。しかし、そのような細胞も酸化ストレスやウイルス感染などのストレスに曝されると、RNA 粒子の形成が誘導される。この RNA 粒子は「ストレス粒子」と呼ばれ、構造的にも機能的にも神経の RNA 粒子に非常に良く似ている。我々は以前、RNG105 が神経 RNA 粒子のみならずストレス粒子の構成因子であること、また、RNG105 を繊維芽培養細胞に過剰発現すると mRNA を取り込んだストレス粒子の形成が誘導されることを明らかにした。我々はストレス粒子の構成因子群をさらに同定・解析し、神経 RNA 粒子の研究へと展開することを目指している。

我々は、ストレス粒子の構成因子として NFAR2 を新規に同定した。NFAR2 は RNG105 と共にストレス粒子に局在し、ストレス粒子の形成を促進することを明らかにした。ストレス粒子の形成には、ストレス環境下で活性化する PKR 等のキナーゼがマスター制御因子であることがわかっているが、NFAR2 は PKR によってリン酸化され、そのリン酸化によってストレス粒子への局在が増加し、ストレス粒子形成をさらに促進することも明らかにした。さらに、NFAR2 の結合パートナーである NF45 は NFAR2 によるストレス粒子形成を抑制するが、NFAR2 のリン酸化によってその抑制が効かなくなることも明らかにした。以上の結果から、通常は NF45 のような抑制因子が働き、NFAR2 によるストレス粒子形成は抑制されているが、ストレスによって PKR が活性化し NFAR2 がリン酸化されると、抑制に打ち勝ち、ストレス粒子が形成されるというモデルが考えられた。ノックアウトマウスを用いた実験により、PKR が記憶や学習に関わるということが報告されていることから、今回我々が明らかにした分子メカニズムが脳神経細胞の RNA 粒子においてどのような役割を果たすかを解析することは非常に興味深いと考えられる。

5) 著書、総説

椎名伸之, “RNA granule による樹状突起への mRNA 輸送と局所的タンパク質合成” 細胞工学, **31**, 655-659 (2012).

7) 招待講演

椎名伸之 「mRNA 輸送・翻訳制御粒子の形成・解体メカニズム」、第3回神経科学と構造生物学の融合研究会、大阪大学、2012年10月。

8) 学会および社会的活動

学会誌編集委員

The Journal of Biochemistry, Advisory Board (2011-)

Cell Structure and Function, Editorial Board (2013-)

11) 外部獲得資金

科研費新学術領域研究、「包括型脳科学研究推進支援ネットワーク」、椎名伸之（分担）
(2010年-2014年).

科研費挑戦的萌芽研究、「神経シナプス機能の基盤となるスパイン形態の解析」、椎名伸之（代表）（2011年-2012年）.