

# 樹状突起における microRNA による PSD-95 mRNA の翻訳調節

日本大学大学院薬学研究科博士後期課程 1 年 田中 融

## Reversible Inhibition of PSD-95 mRNA Translation by miR-125a, FMRP Phosphorylation, and mGluR Signaling

Ravi S. Muddashetty, Vijayalaxmi C. Nalavadi, Christina Gross, Xiaodi Yao, Lei Xing, Oskar Laur, Stephen T. Warren, and Gary J. Bassell  
*Molecular Cell*, **42**, 673-688 (2011)

microRNA (miRNA) は RNA-induced silencing complex (RISC) と相互作用し mRNA の翻訳に影響を及ぼす。神経組織において、miRNA は高度に発現しており樹状突起にも分布して、神経系の発達に重要な役割を演じている。一方、神経細胞において、ある特定のタンパク質の mRNA は樹状突起に運ばれ、神経刺激に応じて短時間で翻訳が調節されて、シナプスの可塑性に関与することが知られている。PSD-95 mRNA はそのような mRNA の一つで、group 1 metabotropic glutamate receptor (gp1 mGluR) を介した刺激によって翻訳が活性化されて、spine の安定化や形態形成に関与する。このような局所的翻訳調節には様々な mRNA 結合タンパク質や miRNA が関わることを考えられるが、その中で Fragile X mental retardation protein (FMRP) は、mGluR を介した神経刺激に応じて PSD-95 mRNA を含む様々な mRNA の翻訳を調節することが知られており、また PSD-95 mRNA の 3' UTR に直接結合すると報告されている。さらに FMRP は RISC の主要な構成成分である eIF2C2 (AGO2) や miRNA とも相互作用することが分かっている。本論文は PSD-95 mRNA の翻訳調節に関わる miRNA を同定し、これが mGluR を介したシグナル伝達と FMRP にどのように関与するのかを解析したものである。

まず、FMRP は PSD-95 mRNA の 3' UTR に相互作用することから、3' UTR のみで翻訳の調節が起こるのかを luciferase-PSD-95 3' UTR reporter を用いて調べたところ、gp1 mGluR のアゴニストである DHPG で処理した培養神経細胞では処理後 15 分で luciferase-PSD-95 3' UTR の発現が増加した。このとき、AGO2 と PSD-95 mRNA 3' UTR との相互作用は減少した。このことから、mGluR 刺激による PSD-95 mRNA の翻訳活性化には 3' UTR を介した AGO2 の相互作用の変化が関与すると考えられ、AGO2 は miRNA と結合するので、3' UTR に相補性をもつ miRNA の存在が予想された。

筆者らは PSD-95 mRNA の翻訳調節に関わる miRNA として、PSD-95 mRNA 3' UTR との相互作用が示唆されている miR-125a に着目した。miR-125a が PSD-95 mRNA の翻訳に関与するか否かを、miR-125a や anti-miR-125a を発現させた細胞で解析したところ、miR-125a では PSD-95 の発現が減少し、逆に anti-miR-125a では増加した。続いて、mGluR との関わりを調べるために anti-miR-125a を発現させた細胞を DHPG で処理して、PSD-95 の発現を調べたところ大きな変化は観察されなかったことから、miR-125a が mGluR シグナルを介した翻訳調節に関与することが確認された。ところで、miR-125a

の細胞内分布は、樹状突起に高度に発現しており、DHPG 処理によって樹状突起における分布が減少するのが観察された。Anti-miR-125a を過剰に発現させると、PSD-95 の増加を介して spine の密度および数の増加がみられた。

次に、FMRP が PSD-95 mRNA に対する AGO2 や miR-125a の結合性に与える影響について調べるために、FMRP をノックアウトしたマウスを用いて解析した。すると、樹状突起における AGO2 および miR-125a と PSD-95 mRNA との相互作用は減少し、PSD-95 の発現が増加した。このことから FMRP は PSD-95 mRNA の翻訳調節に重要であり、AGO2 および miR-125a と PSD-95 mRNA 3' UTR の相互作用に必要であることが示唆された。また、FMRP の 499 番目にあるセリン (S499) のリン酸化が、ターゲット mRNA の翻訳調節に重要な役割を果たすことが報告されていたことから、筆者らはこれに着目し、S499 のリン酸化がもたらす影響について解析した。S499 がリン酸化された場合、PSD-95 の翻訳は大きく減少し、またこのとき PSD-95 mRNA のポリソームにおける割合が減少することと、PSD-95 mRNA に対するリン酸化 FMRP および AGO2 の結合の増加が観察された。以上のことから、リン酸化された FMRP を介して、AGO2 と miR-125a を含む翻訳抑制複合体が PSD-95 mRNA 3' UTR に結合してその翻訳を抑制することが分かった。

この研究は、神経活動に応じた樹状突起での mRNA の局所的な翻訳調節の分子メカニズムの解明に大きく貢献し、mRNA 結合タンパク質と microRNA の関係性について良く解析されており非常に興味深い内容である。しかしながら、実際に mRNA 上のコドンを読み取ってペプチドに変換するのはリボソームであり、今後は、miR-125a を含む翻訳抑制複合体がどのようにリボソームの翻訳反応に影響を与えているかについてさらなる解析が必要である。

