

22. NF90-NF45 複合体による microRNA (miRNA) を介した筋成熟機構の解明

戸高 寛^{1),4)}, 樋口 琢磨^{1),4)}, 矢生 健一¹⁾, 池 恩燮¹⁾, 山口 史佳¹⁾, 森澤 啓子¹⁾,
福島 敦樹²⁾, 津田 雅之³⁾, 杉山 康憲¹⁾, 坂本 修士¹⁾

¹⁾高知大・総合研究セ・分子生物学, ²⁾高知大・医・眼科,

³⁾高知大・総合研究セ・動物施設, ⁴⁾日本学術振興会特別研究員 DC1

Nuclear Factor 90 (NF90) は、二本鎖 RNA 結合モチーフを有する RNA 結合タンパク質である。NF90 は結合パートナーである Nuclear Factor 45 (NF45) と複合体 (NF90-NF45) を形成し、核に局在することがわかっている。これまでに我々は、NF90-NF45 が microRNA (miRNA) 前駆体である primary-miRNA (pri-miRNA) に結合することで、そのプロセッシングを抑制することを明らかにした。さらにプロセッシング抑制に伴って pri-miRNA が蓄積し、mature-miRNA の産生が低下することを報告した (Sakamoto *et al*, Mol. Cell Biol., 2009)。この報告より、NF90-NF45 は miRNA 産生制御を介した様々な生命現象に関与することが示唆されたが、*in vivo* における NF90-NF45 の生理的機能解析は行われていない。そこで本研究では、NF90-NF45 の *in vivo* における役割を明らかにするために NF90 及び NF45 を過剰発現させた double Transgenic (dbTg) マウスを作出し、その解析を行った。作出した dbTg マウスは野生型マウスと比べ骨格筋において NF90 及び NF45 の高い発現がみられ、体重の減少が観察された。そこで、dbTg マウスの体重減少の原因を検討するために X 線 CT 解析を行った。その結果、野生型と比べ dbTg マウスは骨格筋量が低下していることが明らかとなった。次に、この骨格筋量の低下を詳細に解析するために、野生型及び dbTg マウス骨格筋における組織化学的解析を行ったところ、dbTg マウス筋繊維の断面積は野生型マウスに比べ小さいことが分かった。加えて野生型マウスの筋繊維における細胞核は繊維の辺縁に局在するのに対し、dbTg マウスでは繊維の中心に核が局在する未成熟な筋繊維が観察された。実際に分子レベルで骨格筋が未成熟であるか検討を行うために、筋成熟後に発現低下する筋分化制御因子 (p21 及び myogenin) の発現検討を行った。その結果、野生型マウスに比べ dbTg マウス骨格筋において p21 及び myogenin の高い発現が観察された。以上の結果より、NF90-NF45 は筋成熟に抑制的に作用すると考えられた。さらに、この未成熟な筋繊維の形成においてどのような miRNA が関与するか調べるために、野生型及び dbTg マウスの骨格筋における miRNA 発現を miRNA アレイ法と qRT-PCR 法を用いた解析を行った。これらの解析により、dbTg マウス骨格筋において筋成熟を正に調節する miR-133a, -133b, -1 及び -378 の発現が有意に低下していることが明らかとなった。さらに、これらの miRNA の産生低下が NF90-NF45 を介する pri-miRNA プロセッシング抑制によるものかを検討するため、pri-miRNA の蓄積を qRT-PCR により測定した。その結果、WT と比べ dbTg において pri-miR-133a, -133b 及び -378 の蓄積がみられた。以上より、NF90-NF45 が miR-133a, -133b, -1 及び -378 の発現を抑制することで筋成熟を負に制御する可能性が考えられる。