

Title	グリア細胞におけるPKM制御と神経細胞へのエネルギー供給の意義の解明
Sub Title	Regulatory mechanism of the PKM1/2 ratio in glial cells and its biological implication in the CNS
Author	矢野 (早川), 佳芳(Hayakawa-Yano, Yoshika) 矢野, 真人(Yano, Masato) 古川, 貴子(Furukawa, Takako)
Publisher	
Publication year	2025
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2024.)
JaLC DOI	
Abstract	神経系のニューロンとグリア細胞には、解糖系代謝において大きな差異があり、細胞機能を支持する基盤の1つとなっている。乳酸代謝の律速酵素ピルビン酸キナーゼ(PKM)をコードする遺伝子は相互排他的exonによる制御を受け、exon9によりPKM1型、exon10によりPKM2型となり、酵素活性を介した代謝経路が異なる。本研究では、グリアにおいてRNA結合蛋白質Quaking5(Qki5)が、選択的スプライシングによりPKM1/2比率を制御する分子機構を明らかにした。さらに細胞種横断的な解析により、Qki5の発現とPKM1/2比には相関が認められ、Qki5は解糖系代謝の制御因子である事を明らかにした。 Neurons and glial cells in the central nervous system differ greatly in glucose metabolism, which is one of the bases supporting the specific cellular function. The gene encoding pyruvate kinase (PKM), the rate-limiting enzyme for lactate metabolism, is regulated by mutually exclusive exons, with exon9 resulting in PKM type 1 and exon10 resulting in PKM type 2. The metabolic pathways via enzyme activity varies between these two isoforms. In the present study, we have elucidated the molecular mechanism by which the RNA-binding protein Quaking5 (Qki5) regulates the PKM1/2 ratio through alternative splicing in glial cells. Furthermore, comparative analysis using various types of neural cells revealed a correlation between Qki5 expression and PKM1/2 ratio, indicating that Qki5 is a major regulator of glycolytic metabolism.
Notes	研究種目：基盤研究 (C) (一般) 研究期間：2022～2024 課題番号：22K06879 研究分野：分子神経生物学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_22K06879seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

令和 7 年 6 月 4 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2022～2024

課題番号：22K06879

研究課題名（和文）グリア細胞におけるPKM制御と神経細胞へのエネルギー供給の意義の解明

研究課題名（英文）Regulatory mechanism of the PKM1/2 ratio in glial cells and its biological implication in the CNS

研究代表者

矢野 佳芳（早川佳芳）（Hayakawa-Yano, Yoshika）

慶應義塾大学・殿町先端研究教育連携スクエア・特任講師

研究者番号：60397320

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：神経系のニューロンとグリア細胞には、解糖系代謝において大きな差異があり、細胞機能を支持する基盤の1つとなっている。乳酸代謝の律速酵素ピルビン酸キナーゼ(PKM)をコードする遺伝子は相互排他的exonによる制御を受け、exon9によりPKM1型、exon10によりPKM2型となり、酵素活性を介した代謝経路が異なる。本研究では、グリアにおいてRNA結合蛋白質Quaking5(Qki5)が、選択的スプライシングによりPKM1/2比率を制御する分子機構を明らかにした。さらに細胞種横断的な解析により、Qki5の発現とPKM1/2比には相関が認められ、Qki5は解糖系代謝の制御因子である事を明らかにした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

身体を構成する細胞は、それぞれ特殊な役割を果たしており、糖代謝の制御はそれらを支持する基盤の1つである。例えば、神経系におけるニューロンとグリア細胞、あるいは正常な細胞と癌細胞では、解糖系において大きな違いがあり、乳酸代謝の律速酵素であるピルビン酸キナーゼ(PKM)のタイプ、PKM1/2比率によって、制御されていることが明らかになっている。本研究では、神経系に発現するRNA結合蛋白質Quaking5(Qki5)がPKM1/2比の制御に関わる分子機構を明らかにした。これにより、神経系細胞における糖代謝の生理的な制御、癌細胞などの病態における制御の分子基盤の解明に繋がる基礎的な知見が得られた。

研究成果の概要（英文）：Neurons and glial cells in the central nervous system differ greatly in glucose metabolism, which is one of the bases supporting the specific cellular function. The gene encoding pyruvate kinase (PKM), the rate-limiting enzyme for lactate metabolism, is regulated by mutually exclusive exons, with exon9 resulting in PKM type 1 and exon10 resulting in PKM type 2. The metabolic pathways via enzyme activity varies between these two isoforms. In the present study, we have elucidated the molecular mechanism by which the RNA-binding protein Quaking5 (Qki5) regulates the PKM1/2 ratio through alternative splicing in glial cells. Furthermore, comparative analysis using various types of neural cells revealed a correlation between Qki5 expression and PKM1/2 ratio, indicating that Qki5 is a major regulator of glycolytic metabolism.

研究分野：分子神経生物学

キーワード：RNA結合蛋白質 Quaking Qki5 RNA制御 選択的スプライシング ピルビン酸キナーゼ オリゴデンドロサイト

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

1. 研究開始当初の背景

申請者は、これまで神経系の発生と疾患における RNA 結合蛋白質の役割の解析を行ってきた。特に RNA 蛋白質-RNA 相互作用のマッピング技術 HITS-CLIP 法と mRNAseq によるトランスクリプトームの統合解析により、RNA 結合蛋白質による選択的スプライシング制御機構および神経系における生物学的意義を解明しており、その過程において、RNA 結合蛋白質 Quaking5 (Qki5) が、ピルビン酸キナーゼ(PKM)1/2 の量比を選択的スプライシングにより制御し、乳酸代謝を調節していることを見出した。

中枢神経系におけるニューロンとグリア細胞には、糖代謝において大きな差異があり、それぞれの細胞機能を支持する基盤の1つとなっている。例えば、グリア細胞においては PKM2 が優位で、ピルビン酸は乳酸に代謝され、一方、ニューロンでは PKM1 優位でピルビン酸は TCA 回路へと代謝される、という生化学的に決定的な違いがあるが、その制御の詳細な分子機構は明らかになっていない点が多い。

グリア細胞の一つであるオリゴデンドロサイトは、主要な機能としてニューロンの軸索に髄鞘を形成し、伝導効率を加速する役割を担っているが、オリゴデンドロサイトが髄鞘を介して乳酸を供与することで、ニューロンにエネルギーを供給するなど、細胞間の相互機能が報告されている。さらに、もう一つのグリア細胞であるアストロサイトも、グリコーゲンの形でエネルギーを貯蔵しており、乳酸に代謝しニューロンに供給することで、長期記憶の形成に寄与しているとの報告がある。このように、グリア細胞によるニューロンの代謝系における支持機構は、神経系の機能を支える基盤として重要であることが示唆されている。

2. 研究の目的

本研究では、RNA 結合蛋白質 Qki5 による PKM1/2 の制御機構を中心に、アストロサイト、オリゴデンドロサイトを含むグリア細胞における乳酸代謝制御を担う分子機構を明らかにし、その生物学的意義を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) グリア細胞における Qki5 による選択的スプライシング制御機構について明らかにするため、初代培養マウスオリゴデンドロサイト前駆細胞(OPC)、アストロサイト細胞株を用いて培養を行う。上記の細胞において Qk に対する siRNA を導入しノックダウン(KD)を行い、KD 細胞、コントロール細胞より、RNA を抽出して、RNAseq によりトランスクリプトーム解析を行う。さらに、OLego-Quantas 解析により選択的 exon の発現レベルを解析し、変動 exon を網羅的に同定する。

(2) Qki5 の結合 RNA 部位情報については、既報の胎生期マウス脳を用いた HITS-CLIP 解析データを用いる。Qki5 の結合 RNA 部位情報と RNAseq 解析の統合解析を行い、アストロサイト、オリゴデンドロサイトの細胞種特異的な exon を明らかにすることで、グリア細胞の特性を規定する RNA プログラムを明らかにする。

4. 研究成果

(1) オリゴデンドロサイトにおける Qki5 による選択的スプライシング制御機構について明らかにするため、培養 OPC を用いて、Qk-KD を行い、OLego-Quantas 解析ツールを用いて、変動 exon の網羅的解析を行った。その結果、2914 の選択的 exon の変動が認められ、Qki による多くの制御が明らかになった。また、OPC と皮質由来ニューロンの選択的 exon について比較し、164 個の OPC 特異的 exon 及びニューロン特異的 exon を同定し、さらに Qki5 が OPC 特異的 exon の約半数(79/164, 48%)を制御していることが明らかとなった(図 1)。

(2) 次に HITS-CLIP 情報との統合解析を行い、変動 exon について制御ルールの解析を行うと、Qki はオリゴデンドロサイト特異的な選択的 exon を促進し、ニューロン特異的な選択的 exon を抑制することがわかった(図 1)。従って、Qki はオリゴデンドロサイト特異的 RNA プログラムの創出において、主要な役割を果たしていることが明らかになった。

(3) さらに Qki5 制御 exon の一つとして、解糖系の律速酵素である PKM1/2 の選択的スプライシング制御とその結合部位を同定した。PKM は相互排他的(mutually exclusive)exon の制御を受けており、exon9 選択により PKM1 型、exon10 選択により PKM2 型となる。Qki5 は exon9 の上流

intron の ACUAAY を含む配列に結合をする。Qk を KD した OPC では、exon9 を含む PKM1 の抑制が解除され、それにより PKM1 の発現が上昇し、exon10 を含む PKM2 の発現が減少が見られた。よって、Qki5 は exon9 を抑制することで、相対的に PKM2 型の発現を促進し、乳酸代謝の制御をしていることが明らかとなった。さらに、複数種の細胞を用いて横断的解析を行い、Qki5 の発現と PKM1/2 比率の関連性について検討した。その結果、皮質由来のニューロンは Qki5 が陰性であるため PKM1 優位、オリゴデンドロサイトは Qki5 陽性であるため PKM2 優位となり、Qki5 の発現と PKM1/2 の RNA 比率に相関性があることがわかった。一方で、アストロサイト細胞株 U-251 細胞では Qki5 依存的な PKM1/2 比率の変動が少なかった。これは、他の RNA 結合蛋白質の関与の可能性および U-251 が腫瘍由来の細胞株である可能性も排除できない。そのため、正常培養アストロサイトを用いたさらなる検討が必要である。

(4) また我々は、ニューロンの中でも脊髄運動ニューロンは Qki5 を発現する特殊なニューロンであり、Qki5 が運動ニューロン特異的なトランスクリプトーム形成に寄与していることを報告している (Hayakawa-Yano et al, *PNAS* 2024)。興味深いことに、この運動ニューロンは Qki5 を発現しているニューロンであるため、PKM1/2 比率においては、PKM1 優位な皮質由来のニューロンと PKM2 優位なオリゴデンドロサイトとの中間に位置し、PKM1 と PKM2 の両方を発現していることが明らかになった。以上により、Qki5 の発現と PKM1/2 の比率には一定の相関性が認められ、Qki5 は神経系の異なる細胞種間における解糖系代謝の制御因子であることがわかった。

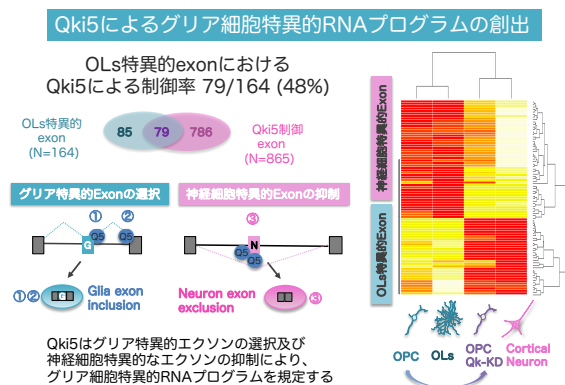


図 1: Qki5 はオリゴデンドロサイト(OL)特異的 exon の主要な制御因子である

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Hayakawa-Yano Y, Furukawa T, Matsuo T, Ogasawara T, Nogami M, Yokoyama K, Yugami M, Shinozaki M, Nakamoto C, Sakimura K, Koyama A, Ogi K, Onodera O, Takebayashi H, Okano H, Yano M	4. 巻 121
2. 論文標題 Qki5 safeguards spinal motor neuron function by defining the motor neuron-specific transcriptome via pre-mRNA processing	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 e2401531121
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1073/pnas.2401531121	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 —

1. 著者名 Yugami Masato, Hayakawa-Yano Yoshika, Ogasawara Takahisa, Yokoyama Kazumasa, Furukawa Takako, Hara Hiroe, Hashikami Kentaro, Tsuji Isamu, Takebayashi Hirohide, Araki Shinsuke, Okano Hideyuki, Yano Masato	4. 巻 26
2. 論文標題 Sbp2l contributes to oligodendrocyte maturation through translational control in Tcf7l2 signaling	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 108451
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2023.108451	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 —

1. 著者名 Nogami Masahiro, Sano Osamu, Adachi-Tominari Keiko, Hayakawa-Yano Yoshika, Furukawa Takako, Iwata Hidehisa, Ogi Kazuhiro, Okano Hideyuki, Yano Masato	4. 巻 15
2. 論文標題 DNA damage stress-induced translocation of mutant FUS proteins into cytosolic granules and screening for translocation inhibitors	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Frontiers in Molecular Neuroscience	6. 最初と最後の頁 01-14
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3389/fnmol.2022.953365	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 —

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 1件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 古川貴子、矢野佳芳、近藤梓、矢野真人	
2. 発表標題 Roles of SECIS binding protein2(SBP2) in selenoprotein synthesis and neuronal function	
3. 学会等名 第25回日本RNA学会、東京 6月	
4. 発表年 2024年	

1. 発表者名
Masato Yano, Yoshika Hayakawa-Yano, Takahisa Ogasawara, Kazumasa Yokoyama, Takako Furukawa, Hiroe Hara, Kentaro Hashikami, Isamu Tsuji, Hirohide Takebayashi, Shinsuke Araki, Hideyuki Okano, and Masato Yugami
2. 発表標題
Sbp2l contributes to oligodendrocyte maturation through a translational control in Tcf7l2 signaling.
3. 学会等名
NEURO2024(第47回日本神経科学学会大会, 第67回日本神経化学学会大会), 福岡 7月
4. 発表年
2024年

1. 発表者名
Takako Furukawa, Yoshika Hayakawa-Yano, Azusa Kondo, Hirohide Takebayashi, Hideyuki Okano, and Masato Yano
2. 発表標題
Roles of SECIS binding protein 2 (SBP2) in selenoprotein synthesis and neuronal function
3. 学会等名
NEURO2024(第47回日本神経科学学会大会, 第67回日本神経化学学会大会), 福岡 7月
4. 発表年
2024年

1. 発表者名
Norihisa Bizen, Yui Toyomasu, Yoshika Hayakawa-Yano, Masato Yano, Hirohide Takebayashi.
2. 発表標題
RNA helicase Ddx20 is essential for the survival of spinal motor neurons.
3. 学会等名
APW2025第130 回日本解剖学会総会・全国学術集会, 幕張 3月
4. 発表年
2025年

1. 発表者名
Yoshika Hayakawa-Yano, Hideyuki Okano, Masato Yano
2. 発表標題
運動ニューロンにおけるRNA結合タンパク質Quakingの役割
3. 学会等名
第46回日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年
2023年

1. 発表者名 Masato Yano, Takako Furukawa, Yoshika Hayakawa-Yano, Hideyuki Okano
2. 発表標題 神経変性へ至る分子経路に共通するRNA制御ハブ分子群同定の試み
3. 学会等名 第46回日本神経科学学会大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Masahiro Nogami, Osamu Sano, Keiko Adachi-Tominari, Yoshika Hayakawa-Yano, Takako Furukawa, Hidehisa Iwata, Kazuhiro Ogi, Hideyuki Okano, Masato Yano
2. 発表標題 DNA damage stress-induced translocation of mutant FUS proteins into cytosolic granules and screening for translocation inhibitors
3. 学会等名 CSHL-Asia ~The Now and Future of RNA therapeutics~ (国際学会)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Yoshika Hayakawa-Yano, Takako Furukawa, Kenji Sakimura, Osamu Onodeara, Hirohide Takebayashi, Hideyuki Okano, Masato Yano
2. 発表標題 Deficiency of Quaking results in the dysregulation of RNA metabolism and motor neuron degeneration
3. 学会等名 Neuro2022(第45回日本神経科学大会、第65回日本神経化学学会大会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masato Yano, Hideyuki Okano, Hirohide Takebayashi, Osamu Onodera, Kenji Sakimura, Takako Furukawa and Yoshika Hayakawa-Yano
2. 発表標題 Deficiency of Quaking results in the dysregulation of RNA metabolism and motor neuron degeneration
3. 学会等名 第23回RNA学会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 矢野 真人, 矢野 (早川) 佳芳	4. 発行年 2023年
2. 出版社 ニュー・サイエンス社	5. 総ページ数 2
3. 書名 Medical Science Digest Vol 49、FUS 蛋白質の細胞質顆粒移行の分子機序とその阻害低分子化合物の同定	

〔産業財産権〕

〔その他〕

プレスリリース:RNA結合蛋白質Sbp2Lがオリゴデンドロサイトの成熟に寄与する仕組みを解明 https://www.niigata-u.ac.jp/wp-content/uploads/2023/11/231120rs.pdf
変異型 FUS 蛋白質が細胞質顆粒へ移行する分子機構と その移行を阻害する低分子化合物を発見 https://www.niigata-u.ac.jp/wp-content/uploads/2022/12/20221220rs1.pdf

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	矢野 真人 (Yano Masato) (20445414)	新潟大学・医歯学系・准教授 (13101)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	古川 貴子 (Furukawa Takako)		

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------