

【目的】 遺伝子の発現は、ゲノムから mRNA が転写され、転写された mRNA からタンパク質が翻訳される。一方で、その量的な関係 (mRNA の量とタンパク質の量) は必ずしも相関しないことが知られている。これまでに、ヒト人工多能性幹細胞 (iPSC) と分化した三胚葉の細胞群の比較を行い、mRNA 量とタンパク量が独立して制御される遺伝子群が特に多能性幹細胞特異的に存在することを明らかにした。これら遺伝子群の中に、特に希少疾患に関わる遺伝子群が濃縮されていた。そのうちの 하나가 2 型顔面肩甲上腕型筋ジストロフィー (FSHD) の原因遺伝子として知られている SMCHD1 遺伝子である。FSHD は遺伝性の進行性筋ジストロフィーであり、骨格筋細胞を減少させる効果を持つ DUX4 遺伝子の異常発現が原因と考えられ、その異常発現の原因遺伝子として SMCHD1 が知られている。SMCHD1 はエピジェネティックなクロマチン制御因子であり、健常細胞では DUX4 の上流塩基配列を高度にメチル化する役割を担っているが、FSHD の疾患細胞では SMCHD1 遺伝子の量低下による DNA 低メチル化を伴うクロマチン構造の変化により、DUX4 遺伝子が発現してしまう。近年、FSHD 患者由来の疾患 iPSC 細胞が樹立され、疾患 iPSC 細胞から分化させた骨格筋細胞は特に酸化ストレスに弱くなることで DUX4 が増加し、骨格筋に悪影響を与えているということが示唆された。疾患 iPSC 細胞での骨格筋分化後には SMCHD1 遺伝子自体の量も減少していたことから、SMCHD1 遺伝子の量的な制御は疾患発症に重要であるが、その量制御機構の詳細は明らかになっていない。本研究では、SMCHD1 遺伝子に着目し、多能性幹細胞特異的にタンパク量が制御されている機構および疾患発症における量制御機構の役割解明を目指す。

【方法】 すでに樹立された FSHD 疾患 iPSC 細胞と、疾患 iPSC 細胞から遺伝子変異箇所を修復した Isogenic 細胞を用いて骨格筋を分化誘導し、iPSC 細胞状態から分化誘導後 10 日まで 7 点で細胞を回収した。細胞は RNA 解析用とタンパク質解析用の二種類に分け、RNA 解析用試料は RNA-seq による遺伝子発現解析を行い、タンパク質解析用試料は WES (Simple Western 社製の自動ウェスタンブロットング機器) および質量分析法によるプロテオーム解析を行った。

【結果】 骨格筋分化誘導過程の細胞を用いて質量分析法によるプロテオーム解析を行ったところ、すべての細胞試料から約 1 万タンパク質が同定・定量された。SMCHD1 タンパク質も同定・定量されており、iPSC 細胞の状態からすでに Isogenic 細胞と比較して疾患由来細胞では SMCHD1 タンパク量は約半量であることが分かった。骨格筋細胞の分化誘導途中で SMCHD1 と同様の挙動を示す遺伝子群をクラスター解析により抽出した結果、158 種類の遺伝子群が抽出された。量的変動が一致している遺伝子群は細胞内で相互作用していると考えられ、今後はこれらの細胞内機能の解明を目指す。

本研究で明らかにする、SMCHD1 遺伝子のタンパク量制御機構解明の概略図

