

2025年2月17日

国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター (NCNP)

## 筋強直性ジストロフィー1型の病態に関わる可能性のある新規因子を明らかに ～筋強直性ジストロフィー患者由来 iPS 細胞で観察される CTG 繰り返し配列の 伸長を制御する因子を同定～

国立精神・神経医療研究センター (NCNP) 神経研究所疾病研究第五部の荒木敏之部長、加門正義研究員らの研究グループは、筋強直性ジストロフィー1型 (myotonic dystrophy type 1; DM1) の病態にかかわる可能性のある新規因子を同定しました。この研究においては、DM1 患者1人の細胞検体から作出した iPS 細胞から多数の細胞クローン (単一の細胞から増殖した細胞グループ) を分離採取し、DMPK 遺伝子の3'非翻訳領域にある3塩基 (CTG) 繰り返し数\*の異なる細胞どうしの間で、何が異なっているのかを検討しました。そして、CTG 繰り返し数の伸長を起こす因子として ZNF850 を同定しました。

厚生労働省の指定難病の一つである筋強直性ジストロフィー1型は、有病率が約2,100人に1人とされ、成人では最も多い遺伝性筋疾患であるといわれています。DM1 発症の原因遺伝子は、19番染色体上にある DMPK 遺伝子であり、病気の原因は DMPK 遺伝子がコードする蛋白ではなく、CTG の繰り返し配列の異常な伸長が原因であり、CTG 繰り返しが異常に伸長した変異遺伝子から生成される異常 RNA の毒性によるものであるとわかっています。CTG 繰り返し配列は長いほど DM1 の症状が重篤であることも知られています。

本研究成果は2025年2月15日に、雑誌「Human Molecular Genetics」に掲載されました。

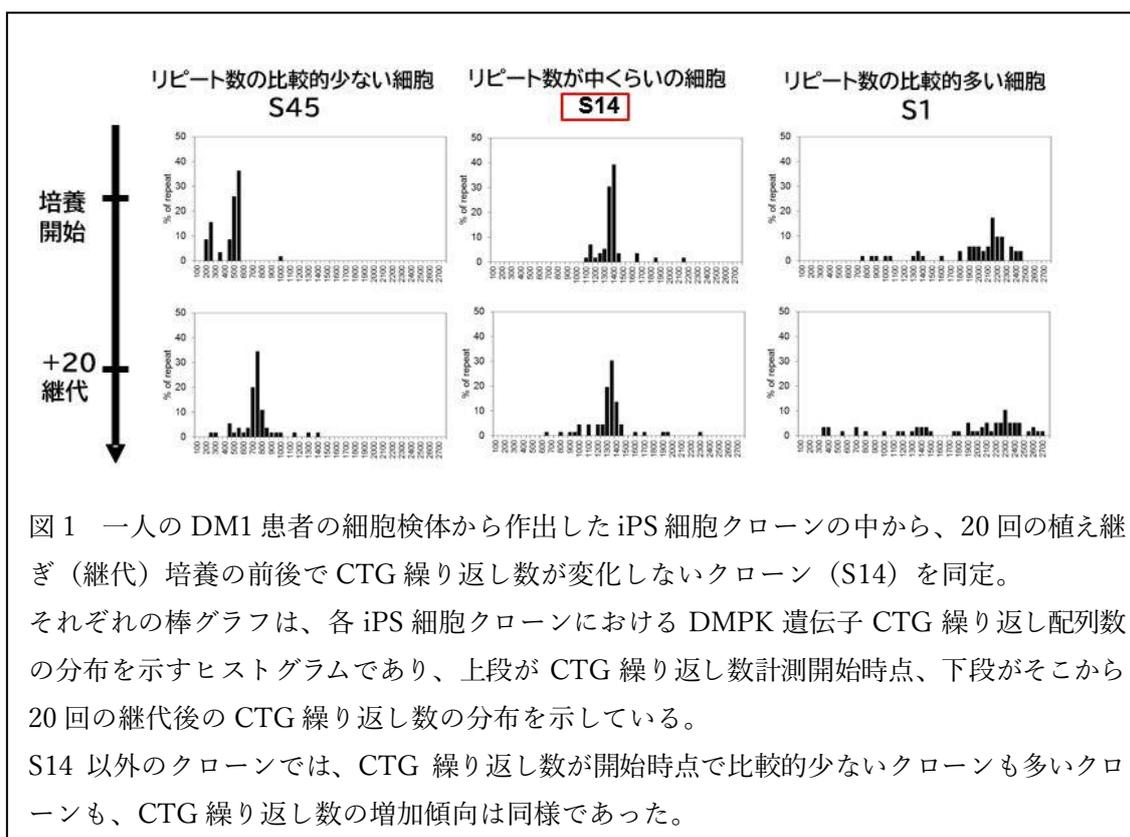
### ■研究背景・経緯

DM1 は遺伝により世代を重ねるとより症状が重篤化することが知られています (これを「表現促進現象」と呼びます)。ゲノム上で DMPK 遺伝子の CTG 繰り返し数が34回以上になっていると、減数分裂時にその長さが伸びることがあり、DM1 の発症リスクのある子供は親よりも長いリピート数を受け継ぐ可能性があることが原因であると考えられています。また、同一の患者においても、年をとるにしたがって、DMPK 遺伝子の CTG 繰り返し数が増大し、重症化する傾向があることも知られています。このような表現促進現象が起こる分子的なメカニズムを明らかにすることは、DM1 の病態の理解と治療法開発の上で重要であると考えられますが、これまで、CTG 繰り返し数の不安定性を、培養細胞や動物モデルで再現することは困難で、限られたモデルしか存在しませんでした。

これまでに我々は、京都大学 iPS 細胞研究所、大阪大学の研究者らとの共同研究により行った研究において「DM1 患者さんの細胞から作出した iPS 細胞は、増殖を繰り返すうちに、ゲノム上の DMPK 遺伝子の CTG 繰り返し数が増加し、平均的には繰り返し数が増加する傾向を示すとともに、異なる CTG 繰り返し数をもつ多様な細胞が出現する」ことを示しました。この現象は、DM1 患者において知られている表現促進現象を再現しているとはいえないが、DM1 患者に由来する細胞において観察される CTG 繰り返し数の変化であることは注目に値すると考えられました。しかし、そのメカニズムは明らかではありませんでした。今回、我々は、DM1 患者由来 iPS 細胞における CTG 繰り返し数の不安定性のメカニズムを明らかにすることを目指しました。

## ■研究内容

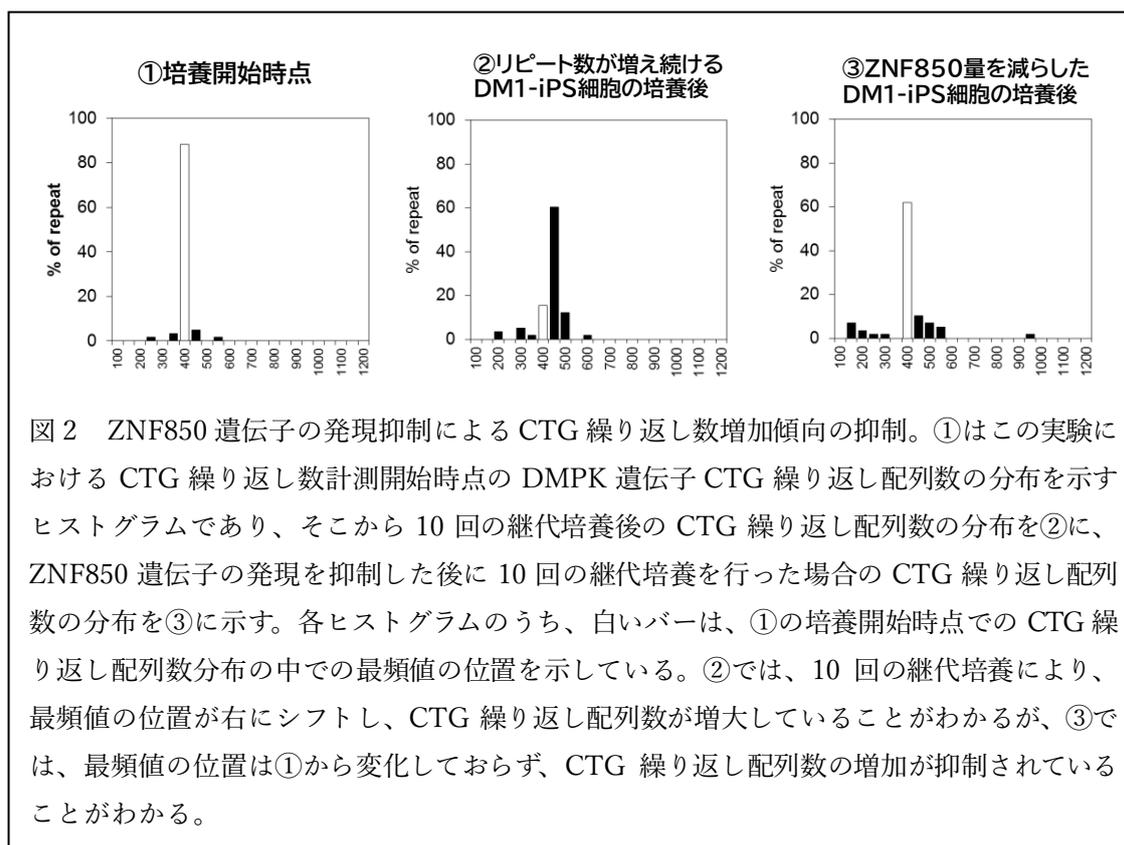
DM1 患者由来 iPS 細胞は、分裂増殖に伴って、ゲノム上の DMPK 遺伝子の CTG 繰り返し数に多様性を生じることから、我々は、DM1 患者一人の細胞検体から作出した iPS 細胞から多数の細胞クローン（単一の細胞から増殖した細胞グループ）を分離採取し、CTG 繰り返し数の異なる細胞どうしの間で、何が異なっているのかを検討しました。しかし、CTG 繰り返し数が相対的に少ない iPS 細胞でも多い iPS 細胞でも両者同様に培養継続に伴う CTG 繰り返し数の増加傾向を示し、また CTG 繰り返し配列周辺の DNA メチル化状態にも大きな差異はありませんでした。



このような検討を行うなかで、我々は、多数の細胞クローンの一つに、分裂増殖の前後で CTG 繰り返し数がほとんど変化しない細胞クローンがある (図 1) ことを発見し、このクローンの遺伝子発現の網羅的解析を行いました。そして、このクローンにおいて発現が強く抑制されている遺伝子として ZNF850 を同定しました。

ZNF850 遺伝子の、CTG 繰り返し数の変化における役割を調べるため、CTG 繰り返し数の増加傾向を示す DM1 患者由来 iPS 細胞における ZNF850 遺伝子の発現を抑制したところ、CTG 繰り返し数の増加傾向が抑制されました (図 2)。また、DM1 患者由来 iPS 細胞に ZNF850 遺伝子を過剰発現したところ、CTG 繰り返し数の増加傾向が促進されることがわかりました。これらのことから、ZNF850 遺伝子は、DM1 患者由来 iPS 細胞におけるゲノム上で DMPK 遺伝子の CTG 繰り返し数の不安定性を制御する因子であると考えられました。

ZNF850 遺伝子は、1090 アミノ酸からなる ZNF850 蛋白をコードしています。ZNF850 蛋白は、32 回繰り返す C2H2 型 Zinc フィンガー構造を持ちますが、そのほかには特徴的な配列はなく、これまでにこの蛋白・遺伝子の機能に関する研究報告はありません。また、これまでに DM1 患者の骨格筋における遺伝子発現を、健常対照者骨格筋の遺伝子発現との間で網羅的に比較検討した多くの研究結果がデータベースに登録・公開されていますが、ZNF850 遺伝子の発現レベルは、DM1 患者と健常対照者の間で明確な差異はありませんでした。しかしながら、DM1 患者のうち、CTG 繰り返し数の比較的少ない方と多い方の骨格筋における ZNF850 遺伝子の発現レベルを比較すると、CTG 繰り返し数が大きくなるにしたがって ZNF850 遺伝子の発現レベルが高くなる傾向がみられました (図 3)。



これまでに CTG 繰り返し数の不安定性にはゲノム DNA の修復に関連する酵素反応が関与していることが指摘されています。そこで、我々は、ZNF850 と DNA 修復関連酵素の関係について検討しました。ZNF850 は DNA 修復酵素のうち DM1 遺伝子の CTG 繰り返し数の不安定性に関与しているという報告のある MSH2、MSH3 と結合している（ごく近傍に存在する）ことを示し、我々は、ZNF850 蛋白は CTG 繰り返し配列に結合することも示しました。

これらのことから、ZNF850 蛋白は、DNA 修復関連蛋白が CTG 繰り返し配列を含む DNA の周辺にやってくる際の、いわば「足場」として機能し、DNA 修復蛋白が CTG 繰り返し配列付近で働きやすくすることによって、CTG 繰り返し数の不安定性を高めているのではないかと考えられました（図 4）。

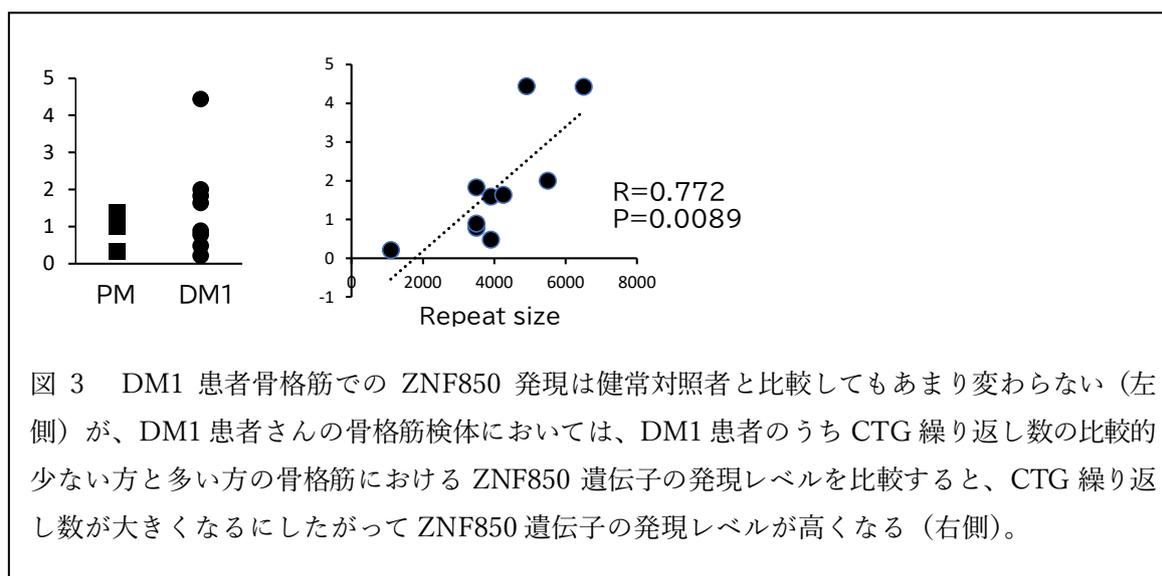


図 3 DM1 患者骨格筋での ZNF850 発現は健常対照者と比較してもあまり変わらない（左側）が、DM1 患者さんの骨格筋検体においては、DM1 患者のうち CTG 繰り返し数の比較的小さい方と多い方の骨格筋における ZNF850 遺伝子の発現レベルを比較すると、CTG 繰り返し数が大きくなるにしたがって ZNF850 遺伝子の発現レベルが高くなる（右側）。

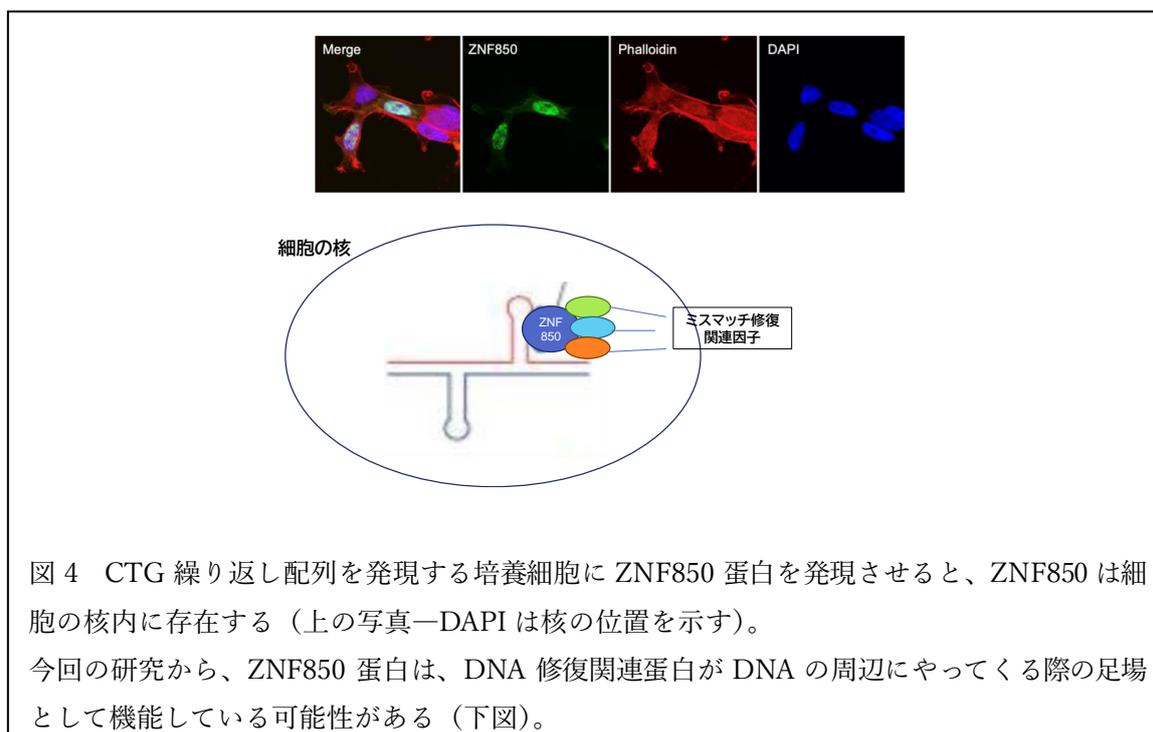


図 4 CTG 繰り返し配列を発現する培養細胞に ZNF850 蛋白を発現させると、ZNF850 は細胞の核内に存在する（上の写真—DAPI は核の位置を示す）。今回の研究から、ZNF850 蛋白は、DNA 修復関連蛋白が DNA の周辺にやってくる際の足場として機能している可能性がある（下図）。

## ■今後の展望

今回の研究では、ZNF850 が DM1 患者由来 iPSC 細胞における CTG 繰り返し数の不安定性に重要な役割を果たしていることを示しましたが、ZNF850 が実際の DM1 患者の CTG 繰り返し数の変化にどういった役割があるかは、今後さらなる検討が必要です。

また、DM1 における CTG 繰り返し配列のように、ゲノム上で 3 塩基繰り返し配列が存在し、その異常な伸長が、特に神経、筋肉の遺伝的な病気の原因となっている例がいくつもあります。近年の次世代遺伝子シーケンス技術の進展によりそれらは明らかになっており、前述の「表現促進現象」はそれら 3 塩基繰り返し配列の異常な伸長が惹起する病気に共通する現象です。そのため ZNF850 は DM1 以外の疾患の 3 塩基繰り返し配列の不安定性への影響も検討していく必要があると考えます。

## ■用語解説

**\* 3 塩基繰り返し配列の異常伸長による病気（トリプレットリピート病）**：ヒトのゲノム内の遺伝子にはさまざまな数と種類の塩基が繰り返す配列（リピート）があります。この中で 3 塩基の繰り返し配列（トリプレット・リピート）が異常に伸長することによっておこる一群の遺伝性神経疾患が知られています（トリプレット病、もしくは、トリプレットリピート病と呼びます）。これらの疾患においては、リピート長が遺伝学的に不安定で、親から子孫への疾患遺伝子の伝播に伴ってリピート長が変動することが多く、これは異なるトリプレットリピート病で共通する特徴となっています。トリプレット病におけるリピート長の伸長が病気を引き起こす機序はさまざま、遺伝子産物（タンパク質・RNA）の機能喪失 (loss of function) を介する場合、機能獲得 (gain of function) の機構を介する場合があります。DM1 の場合は、原因となる 3 塩基繰り返し配列が RNA に転写された際に異常な構造をとることにより毒性を獲得してしまうことが、発症の原因と考えられています。

（参照：脳科学辞典 <https://bsd.neuroinf.jp/wiki/%E3%83%88%E3%83%AA%E3%83%97%E3%83%AC%E3%83%83%E3%83%88%E7%97%85>）

## ■原論文情報

論文名：Identification of ZNF850 as a novel CTG repeat expansion-related gene in myotonic dystrophy type 1 patient-derived iPSCs

著者：Masayoshi Kamon, Shuji Wakatsuki, Masayuki Nakamori, Masanori P Takahashi, Madoka Mori-Yoshimura, Hirofumi Komaki, Toshiyuki Araki

掲載誌：Human Molecular Genetics Volume 34, Issue 4 (15 February 2025) Pages 327–337

DOI：10.1093/hmg/ddae186

URL：<https://doi.org/10.1093/hmg/ddae186>

## ■謝辞

本研究は、国立精神・神経医療研究センターが中心となって運営する神経筋疾患患者登録（Remudy）が発行する「Remudy 通信」を通じた呼びかけに応じて細胞検体をご提供くださった患者様のご協力により可能となりました。ここに改めて厚く御礼申し上げます。

## ■研究支援

本研究は、以下の研究費の支援により行われました。

日本医療研究開発機構 再生・細胞医療・遺伝子治療実現加速化プログラム（疾患特異的 iPS 細胞を用いた病態解明・創薬研究課題）（JP17bm0804005, JP18bm0804005, JP19bm0804005, JP20bm0804005, JP21bm0804005, JP22bm0804005, JP23bm1423001, JP24bm1423001）。

日本学術振興会科学研究費補助金（JP19K09565）。

国立精神・神経医療研究センター 精神神経疾患研究開発費(5-7)。

## ■お問い合わせ先

### 【研究に関する問い合わせ】

国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター

神経研究所 疾病研究第五部

部長 荒木 敏之

TEL: 042-346-1716 FAX: 042-346-1746

E-mail: taraki(a)ncnp.go.jp

### 【報道に関するお問い合わせ】

国立研究開発法人 国立精神・神経医療研究センター

総務課広報室

〒187-8551 東京都小平市小川東町 4-1-1

E-mail: kouhou(a)ncnp.go.jp

※E-mail は上記アドレス(a)の部分を変えて@に変えてご使用ください。