

解禁時間:平成 28 年 7 月 15 日(金)午前3時(日本時間)

プレス通知資料 (研究成果)



国立大学法人
東京医科歯科大学

報道関係各位

平成 28 年 7 月 14 日

国立大学法人 東京医科歯科大学

「DNAメチル化制御による筋肉の再生メカニズムを解明」 —骨格筋幹細胞から筋肉を再生させる新規治療法開発への期待—

【ポイント】

- 長らく謎であったDNAメチル化と筋肉の発生との関係をつきとめました。
- DNAメチル化制御遺伝子 Dnmt3a が筋肉の幹細胞であるサテライト細胞の他の遺伝子発現に作用して筋肉再生を調節する仕組みを解明しました。
- 筋損傷や加齢による筋肉量の低下(サルコペニア)の病態解明と新規治療法開発への応用が期待できます。

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科システム発生・再生医学分野の浅原弘嗣教授、内藤昌志大学院生、森雅樹講師の研究グループは、東京大学医学部整形外科、国立成育医療研究センター、国立長寿医療研究センター及び米国スクリプス研究所との共同研究で、DNAメチル化と筋肉の発生との関係をつきとめました。この研究は文部科学省科学研究費、国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)の戦略的創造研究推進事業(CREST)ならびに米国国立衛生研究所(NIH,NIAMS)などの支援のもとでおこなわれたもので、その研究成果は、国際科学誌 PLoS Genetics(プロスジェネティクス)に、2016年7月14日午後2時(米国東部時間)にオンライン版で発表されます。(文献1)

【研究の背景】

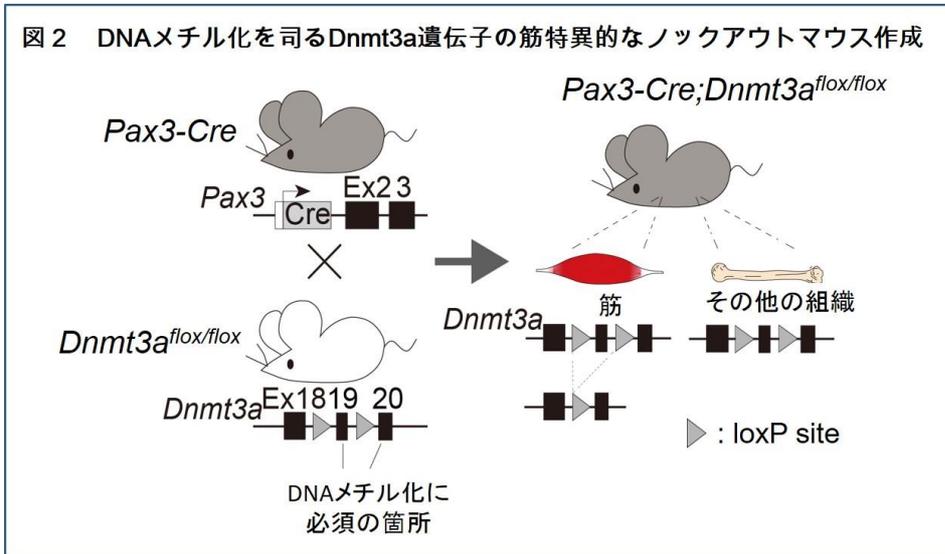
遺伝子のオン・オフを行うスイッチの一つに DNAメチル化という機構があり、筋肉の細胞が形成されるためには DNAメチル化が重要であることは古くから知られていましたがその詳細は長らく不明でした。一方、加齢による筋肉量の低下が転倒や寝たきりの原因となることが超高齢社会となった近年の日本において問題となっており、筋肉量の低下を抑える薬剤の開発が強く望まれます。そのためには DNAメチル化により筋肉の発生と再生が制御されるメカニズムを解明することが必要であると考えられていました(図 1)。しかし、その詳細な仕組みは長らく不明でした。

図1 DNAメチル化による筋の分化制御機構

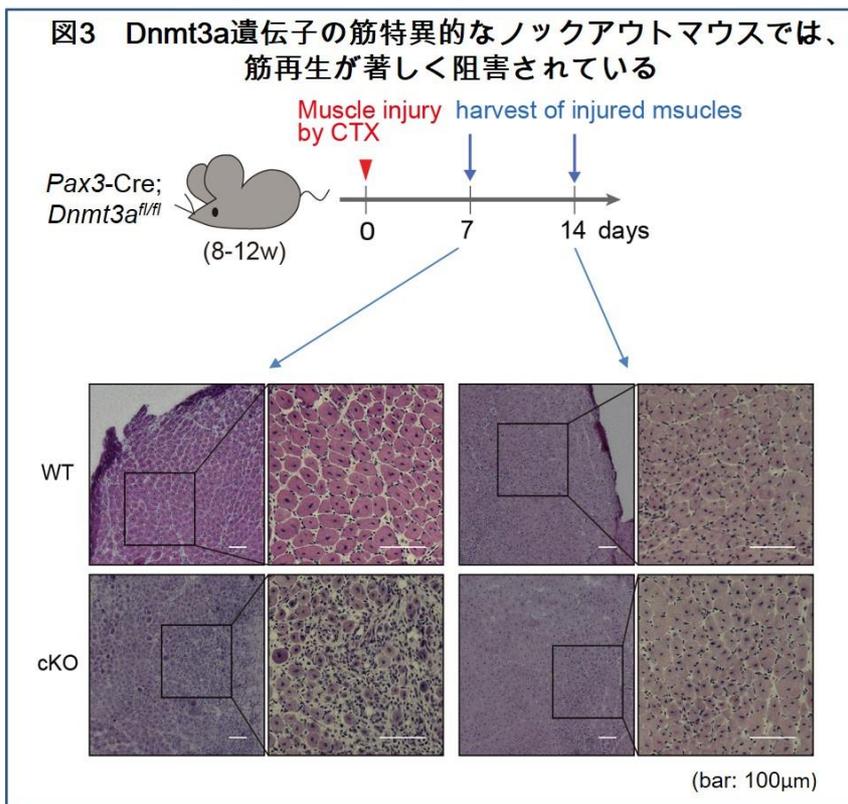


【研究成果の概要】

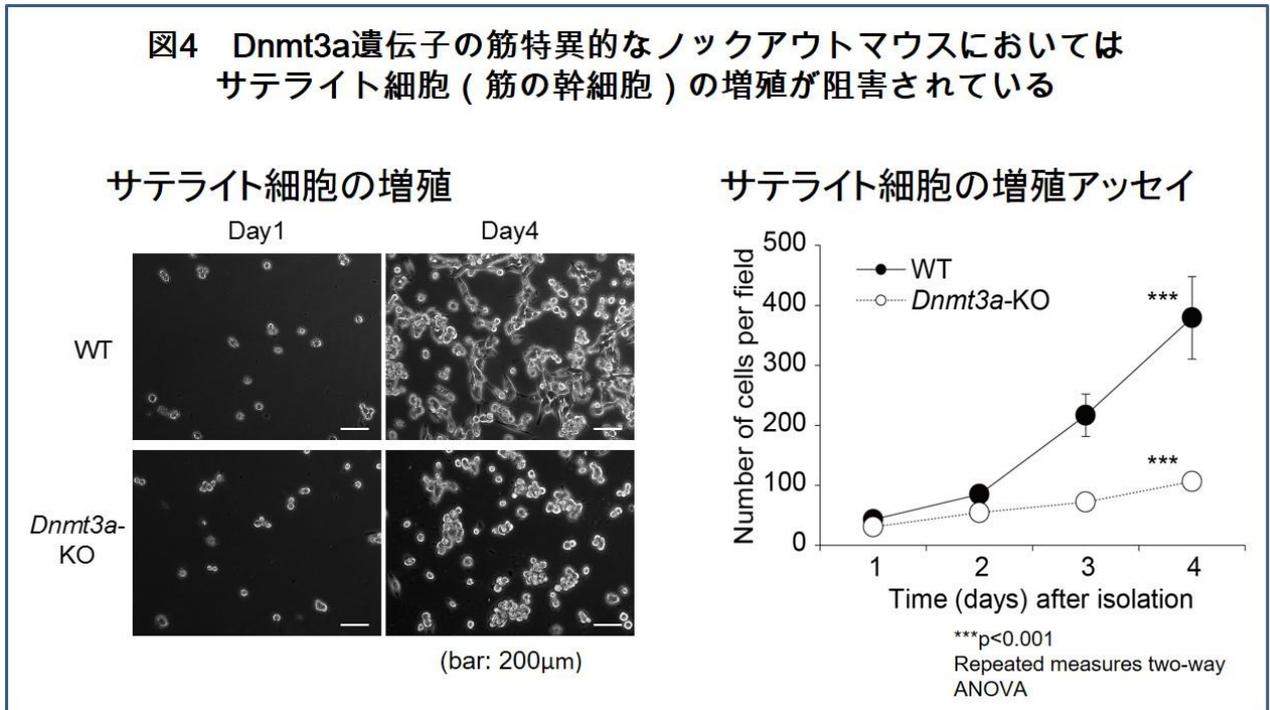
DNAメチル化が、筋再生においてどのように関わっているかを探るため、本研究においては、まず、DNAメチル化を司る Dnmt3a という遺伝子を筋において特異的に欠損したマウス(Dnmt3a ノックアウトマウス)を作製しました(図2)。



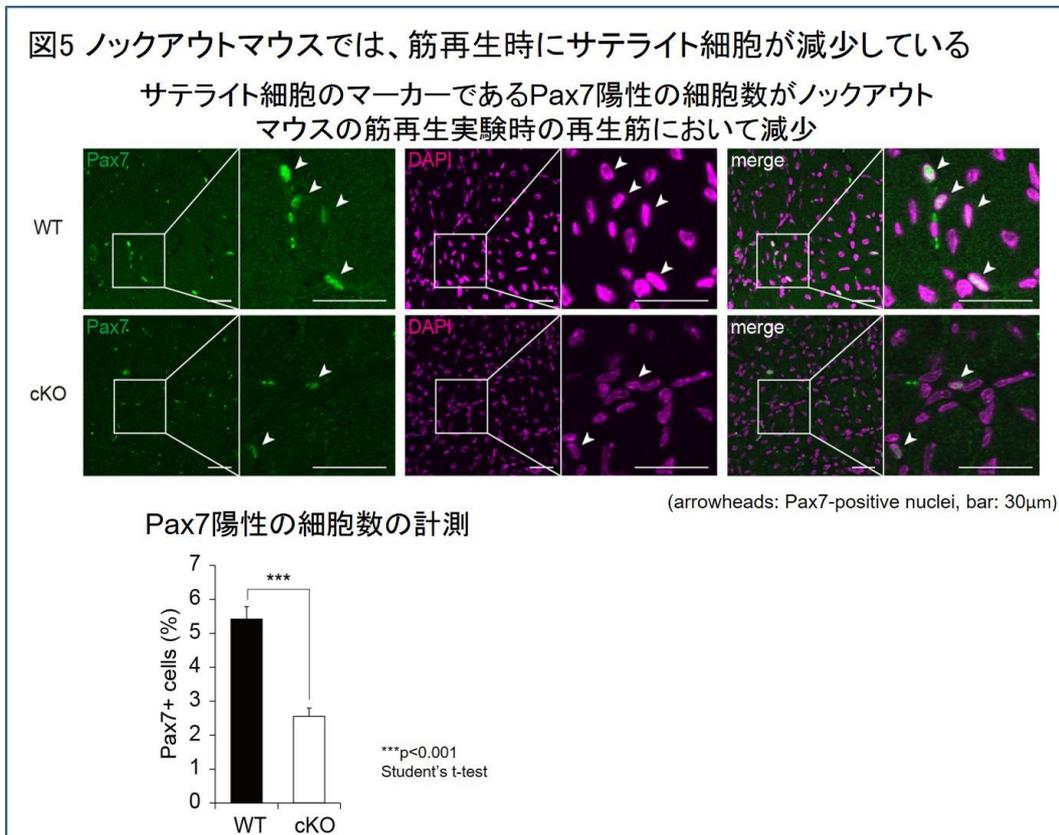
このマウスは正常なマウスより筋肉量が少ない傾向がみられましたが、正常なマウス同様、一見普通に活動、成長して大人になることがわかりました。しかし、筋が損傷を受けた後の筋再生を観察したところ、ノックアウトマウスにおいては、再生能力が著しく障害されていることがわかりました(図3)。



このノックアウトマウスをさらに詳細に解析すると、筋肉の元となる細胞(幹細胞)である筋サテライト細胞の増殖が障害されていることがわかりました(図4)。



実際、筋再生時において、DNAメチル化を十分行うことのできないノックアウトマウスにおいては、サテライト細胞の指標となるPax7陽性細胞の数が激減しており、サテライト細胞が十分増えることができないため、筋の損傷が治癒しづらいことが考えられました(図5)。

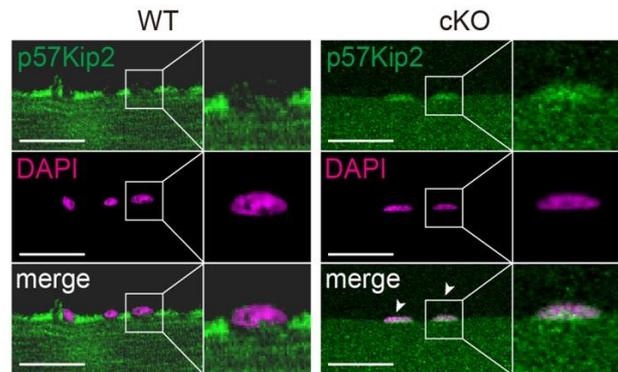
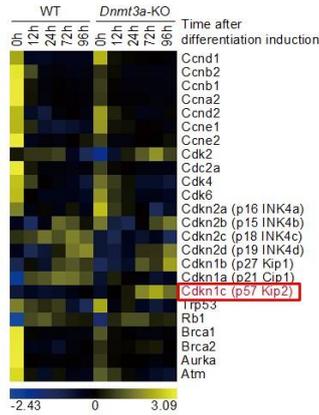


さらに、ノックアウトマウスの筋サテライト細胞の異常の原因を探るため、筋サテライト細胞における遺伝子の発現をマイクロアレイという手法で解析したところ、本来なら低く保たれているはずの *p57Kip2* 遺伝子の発現がノックアウトマウスの筋サテライト細胞において異常に上昇していることがわかりました(図6)。

図6 Dnmt3a遺伝子の筋特異的なノックアウトマウスにおいてはサテライト細胞における*p57Kip2*の発現に異常がみられる

マイクロアレイによる遺伝子発現解析にて *p57Kip2* の遺伝子発現がノックアウトマウスのサテライト細胞で上昇

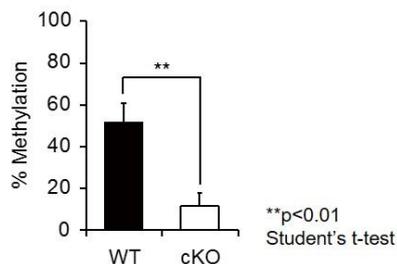
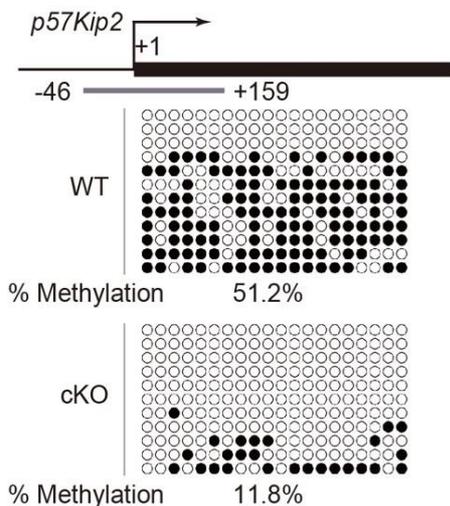
免疫染色においても、ノックアウトマウスのサテライト細胞で *p57Kip2* の発現上昇を確認



DNAメチル化を司るDnmt3aという遺伝子を欠損したマウスにおいて、このような症状がみられたことから、この遺伝子とDNAメチル化との関係が予測されました。そこで、バイサルファイト法というDNAメチル化部位を解析する手法を用いて検討したところ、予測されたとおり、ノックアウトマウスから得られた筋サテライト細胞の *p57Kip2* 遺伝子近傍では本来あるべきDNAメチル化修飾が有意に減少していることがわかりました(図7)。

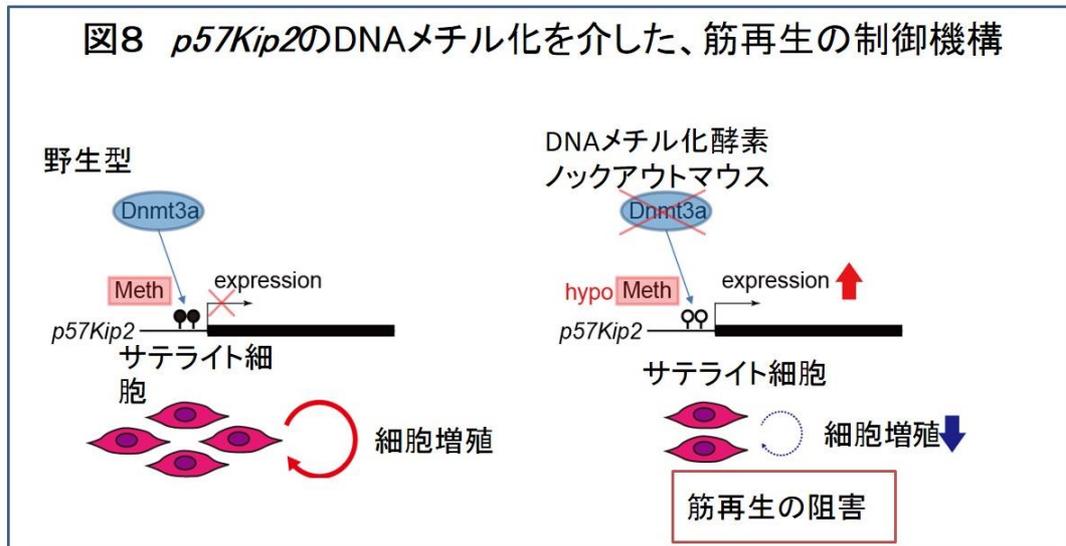
図7 *p57Kip2*近傍のメチル化がノックアウトマウスで減少

バイサルファイト法によるDNAメチル化解析で *p57Kip2*近傍のメチル化がノックアウトマウスで減少



さらに今回の論文においては、この *p57Kip2* 遺伝子の異常な発現上昇を抑えてやると、サテライト細胞の増殖が一部回復することも報告しています。

以上のことから、筋肉の再生には十分な量の細胞、組織を作るため、*p57Kip2* という遺伝子近傍の DNA メチル化というスイッチをつかって、筋サテライト細胞を増殖させることがわかりました(図8)。



【研究成果の意義】

本研究ではじめて、DNA メチル化というエピジェネティクス修飾が、筋再生に必須であること、そしてその詳細なメカニズムが明らかとなりました。

1980年代後半に、DNA メチル化阻害剤を用いて、筋分化のメカニズムを見出した米国ハロルド・ワイントraub (Harold Weintraub)の世紀の発見は、今尚、再生医療、発生学の根幹をなすものとされています。この一連の研究は転写因子によるあらゆる組織、臓器の形成のモデルとなったばかりか、その逆回しによる山中博士のiPS細胞の発明にも繋がっています。しかしながら、どのようにDNA メチル化が筋分化、再生に関わるか、そのメカニズムは長らく謎でした。

本研究では、DNA メチル化を司る遺伝子の筋特異的なノックアウトマウス作成と解析を行うことで、筋分化・再生においてDNA メチル化が必須であることの遺伝学レベル、個体での世界で最初の報告となります。

さらに、本研究では、その詳細なメカニズムも明らかにしました。*p57Kip2* という遺伝子は、ヒトにおいて成長に異常を来す病気の原因となることが示唆されています。今回の研究の結果、DNA メチル化は筋肉の幹細胞の増殖を調節して、十分な筋肉の再生を行う役割を担っていることがわかりました。この成果を応用すれば、筋の損傷時の十分かつ早い回復や、加齢による筋肉量の低下を抑えるような薬剤が開発でき、その結果、高齢者の転倒や寝たきりを減らすことが期待できます。

【問い合わせ先】

<研究に関すること>

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
システム発生・再生医学分野 浅原弘嗣(アサハラ ヒロシ)
TEL:03-5803- 5015 FAX:03-5803- 5810
E-mail: asahara.syst@tmd.ac.jp

<報道に関すること>

東京医科歯科大学 広報部広報課
〒113-8510 東京都文京区湯島 1-5-45
TEL:03-5803-5833 FAX:03-5803-0272
E-mail: kouhou.adm@tmd.ac.jp

文献

1. Naito M, *et al.* (2016) Dnmt3a regulates proliferation of muscle satellite cells via p57Kip2. *PLoS Genet.* Online.