

Characteristics of induced pluripotent stem cells from clinically divergent female monozygotic twins with Danon disease

| | |
|-------|---|
| メタデータ | 言語: eng 出版者: 公開日: 2018-09-07 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属: |
| URL | http://hdl.handle.net/2297/00052115 |

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



論文内容の要旨及び審査結果の要旨

受付番号 医薬保博第 156 号 氏名 吉田 昌平
論文審査担当者 主査 横田 崇
副査 平尾 敦
大黒 多希子

学位請求論文

題 名 Characteristics of induced pluripotent stem cells from clinically divergent female monozygotic twins with Danon disease.
臨床的表現型の異なるダノン病の女性一卵性双生児から樹立した iPS 細胞の特徴

掲載雑誌名 Journal of Molecular and Cellular Cardiology 11月 23日 114号 234-242 項
doi:10.1016/j.jmcc.2017.11.019

ダノン病は肥大型心筋症、近位筋の筋力低下、知能障害を 3 主徴とし、X 染色体短腕上に存在する LAMP2 の変異を原因とするライソゾーム病である。LAMP2 蛋白はオートファゴソームとライソゾームの融合に関わる蛋白であり、その異常により細胞内にオートファゴソームが蓄積する。この蓄積物は自己貪食空胞といわれ、ダノン病の特徴的病理所見とされる。また、2006 年には、体細胞に Oct3/4、Sox2、c-Myc、Klf4 を導入することで胚性幹細胞と類似する細胞が作製出来ることが報告され、induced pluripotent stem cell(iPS 細胞)と名付けられた。

本研究では心臓において表現型の異なるダノン病女性一卵性双生児の末梢血 T リンパ球から iPS 細胞を樹立、心筋細胞へ分化させ、その特徴を比較した。双生児双方から野生型の LAMP2 が発現する iPS 細胞(WT-iPSCs)と異常 LAMP2 が発現する iPS 細胞(MT-iPSCs)が樹立でき、更に iPS 細胞を心筋へと分化させた(MT-iPSC-CMs, WT-iPSC-CMs)。心筋細胞において LC-3 のウエスタンプロット、mRFP-GFP-tandem fluorescent tagged LC3 を用いて、ダノン病の特徴であるオートファジー不全を検討すると、MT-iPSC-CMs のみでオートファジー不全が認められた。更に電子顕微鏡での観察においては MT-iPSC-CMs の細胞質内に、ダノン病の自己貪食空胞と類似した空胞の蓄積が認められた。

双生児双方から二種類の表現型を持つ iPS 細胞が樹立されたことに対して、X 染色体の不活性化に着目した。Trimethyl-Histone H3 (Lys27) の免疫染色では母親由来、父親由来いずれかの X 染色体が不活性化されている状態であることが示唆された。アンドロゲン受容体遺伝子上の CAG リピート数の差異を評価すると、MT-iPSC は父親由来の、WT-iPSC は母親由来の X 染色体が偏って不活性化されており、この X 染色体の不活性化の偏りが表現型の違いに寄与していることが示唆された。

X 染色体の不活性化は臓器毎に異なることが明らかとなっており、心筋細胞の直接の評価をしない限り末梢血から推測することは困難であるが、今回双生児双方から MT、WT 双方の心筋細胞が作製されたことからは、その臨床的表現型の違いも X 染色体の不活性化で説明できる可能性が示唆された。また、本研究からは適切な X 染色体の不活性化によって表現型を正常化できる可能性も示唆しており、X 染色体の不活性化を操作するような薬剤のスクリーニングも期待された。

当研究はダノン病女性一卵性双生児から iPS 細胞を作製、iPS 細胞由来心筋細胞の表現型の差異を X 染色体の不活性化に着目して説明した点で新規性のある研究であり、学位授与に相当するものと考えられる。