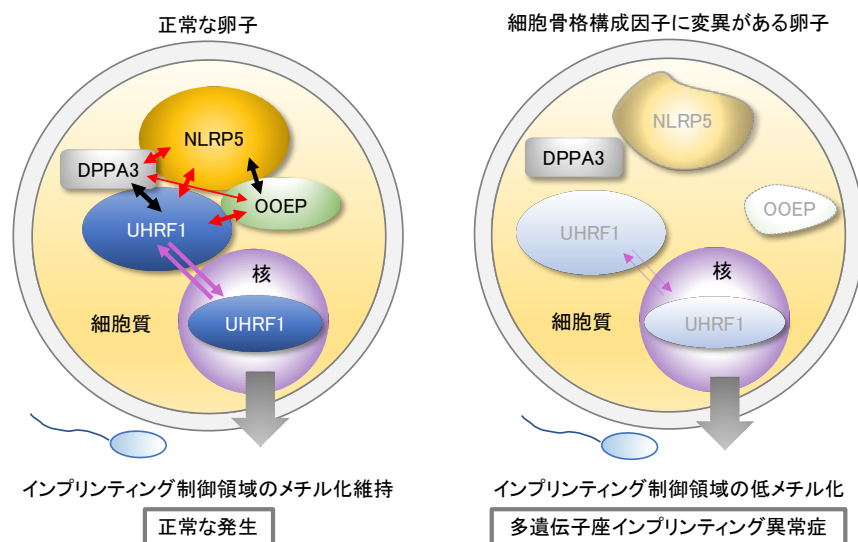


細胞骨格構成因子の先天性変異が DNA メチル化異常症を引き起こす謎に迫る ——多遺伝子座インプリンティング異常症の発症メカニズム解明に光明——

発表のポイント

- ◆卵子の細胞骨格構成因子の1つである NLRP5 蛋白質が DNA メチル化維持に必須の UHRF1 蛋白質と結合し、安定化する事を発見しました。
- ◆卵子の細胞骨格構成因子の変異が原因で起こる多遺伝子座インプリンティング異常症 (MLID) は、複数のインプリンティング制御領域のメチル化が低下する病気です。今回、長年の謎であった細胞骨格と DNA メチル化をつなぐ糸口を世界で初めて見出しました。
- ◆今回の結果より、MLID の原因遺伝子に変異を持つ女性が健康な子供を授かる方法が見つかる事が期待されます。



細胞骨格構成因子とインプリンティング制御領域の DNA メチル化維持をつなぐ分子メカニズムの模式図

概要

東京大学 大学院医学系研究科 国際保健学専攻の鷓木元香准教授と、九州大学 生体防御医学研究所の佐々木裕之名誉教授・特別主幹教授らによる研究グループは、卵子の細胞骨格を構成する蛋白質 (SCMC) (注1) の変異が、多遺伝子座インプリンティング異常症 (MLID) (注2) を引き起こす分子メカニズムに迫る重要な発見をしました。

本研究では DNA に付加されたメチル化修飾の維持に重要な UHRF1 蛋白質 (注3) の卵子における局在を模した細胞を作製する事で、SCMC の1つである NLRP5 が細胞質でも核でも UHRF1 蛋白質を安定化する事を世界で初めて見出しました。この研究成果は、細胞質において安定化した UHRF1 の一部が核内に移行する可能性を示唆しており、今後 SCMC 構成蛋白質をコードする遺伝子に変異を持つ女性が子供を希望する場合に、核置換法 (注4) を用いて、卵子もしくは受精卵の細胞質を正常にする事で、細胞質の UHRF1 が核内移行してインプリンティング制御領域 (ICR) のメチル化を維持し、健康な子供を授かれる可能性を示唆しています。

発表内容

これまでの先行研究で、MLID 患者は、先天的に SCMC 構成蛋白質に変異を持っている事がわかっていましたが、なぜこの変異が ICR の低メチル化を引き起こすのかについては謎に包まれていました。本研究チームは先行研究として、DNA のメチル化修飾の維持に必要不可欠である UHRF1 蛋白質を卵子で欠損させると、SCMC 構成蛋白質が不安定化し、細胞骨格が崩壊する事を見出していました。そこで本研究チームは、SCMC 構成蛋白質と UHRF1 が結合し、お互いの蛋白質安定性を高めるのではないかと考え、この度、その仮説を検証しました。

UHRF1 は卵子および受精直後の胚では、大部分が細胞質に移行し、核内に留まった少量の UHRF1 が ICR など、一部の領域のメチル化修飾を維持します。一方、卵子および受精直後の胚以外では、UHRF1 は全て核内に移行し、細胞分裂に伴う DNA 複製時にメチル化修飾を複製します。卵子を用いた実験は制約を伴うため、本研究チームは、ヒトの培養細胞を用いて、SCMC を構成するコア蛋白質のうち、NLRP5 と OOEP が、UHRF1 と結合する事を突き止めました。また、本研究チームは、卵子と同様、細胞質に局在するように改変した UHRF1 (cUHRF1 と命名: 図 1) を、薬剤で誘導できる細胞株を作製し、NLRP5 と OOEP の存在下で、cUHRF1 の蛋白質安定性が変化するかを検討しました。そうしたところ、OOEP の存在下では cUHRF1 の安定性は変化しませんが、NLRP5 の存在下では cUHRF1 の安定性は 2 倍以上に増加する事がわかりました (図 2)。また、NLRP5 欠損マウスの卵子では、UHRF1 蛋白質の量が、細胞質と核の両方で減少している事もわかりました。この結果は、細胞質において安定化した UHRF1 の一部が核内に移行後も安定して存在する可能性を示唆しています。

SCMC 構成蛋白質をコードする遺伝子に変異を持つ女性は不妊症と診断される事が多く、せっかく授かった子供も MLID を発症する事が多いのですが、これまで有効な治療法はありませんでした。今回の結果と先行研究で実施した UHRF1 欠損卵子の核置換実験の結果は、ミトコンドリア病の治療などで注目され始めた核置換法を用いて、正常な女性の無核にした卵子由来の細胞質に、変異を持つ女性の核を入れる事で、正常な細胞質から安定化した UHRF1 の一部が核内に移行し、罹患女性が健康な子供を授けられる可能性を示唆しています。なお核置換法による治療のアイデアは、浦川立貴医師 (国立成育医療研究センター研究所分子内分泌研究部、長崎大学小児科) から頂きました。



図 1 : 細胞質に局在する cUHRF1 の作製

UHRF1 蛋白質に核輸送シグナルを付加し、複数ある核局在シグナルの 1 つを削除することで、細胞質に局在する UHRF1 (cytoplasmic UHRF1 = cUHRF1) を作製しました。

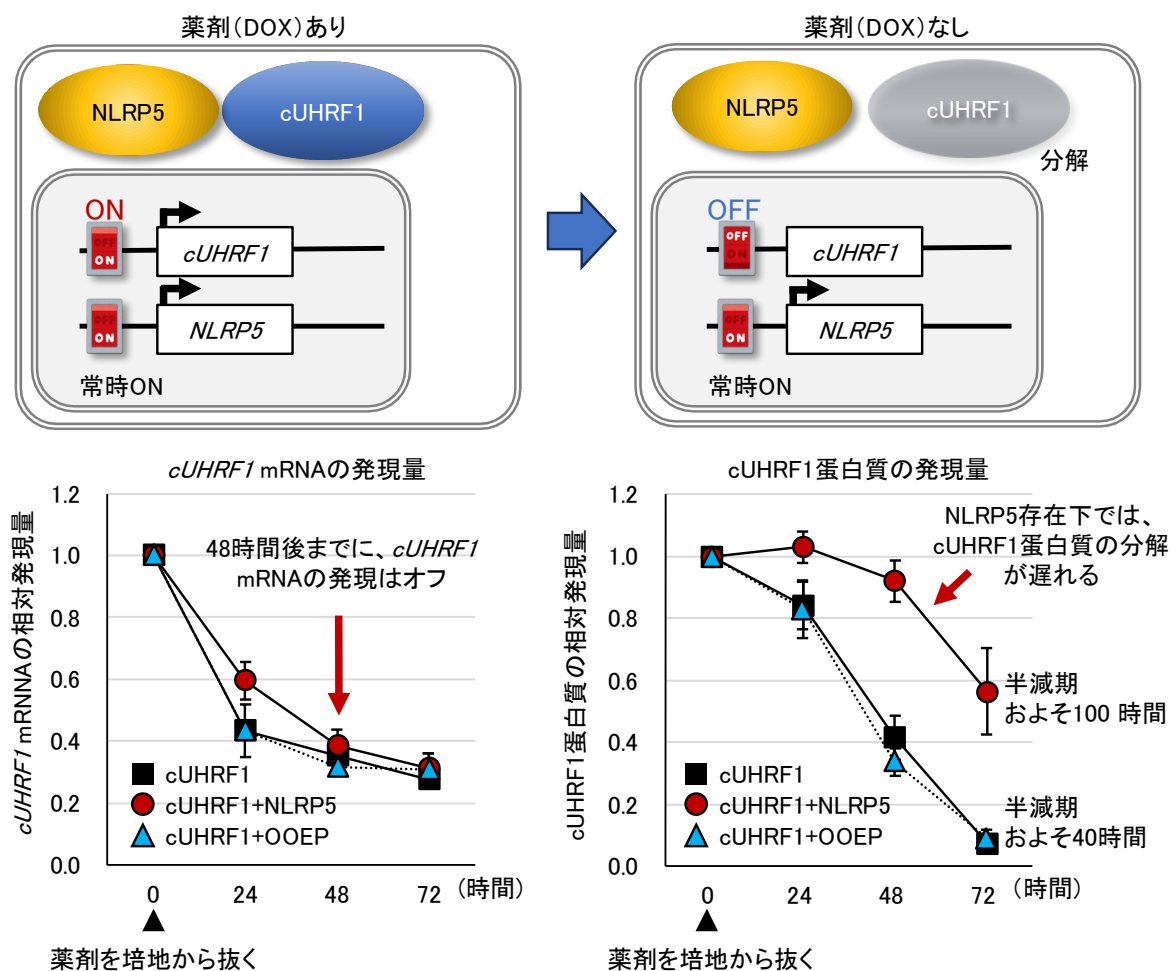


図2 : cUHRF1 の発現を ON/OFF できる細胞株を用いた cUHRF1 の安定性の測定

薬剤（ドキシサイクリン：DOX）を培地に添加する事で cUHRF1 を誘導できる細胞株を作製し、NLRP5 もしくは OOEP を恒常的にその細胞に発現させた細胞株も作製しました。これらの細胞株を薬剤入りの培地で数日間培養後、薬剤を抜いて、cUHRF1 蛋白質が分解されるまでの時間を測定したところ、NLRP5 の存在下では、cUHRF1 の分解速度が遅くなることがわかりました。

発表者・研究者等情報

東京大学大学院医学系研究科
 鵜木 元香 准教授

論文情報

雑誌名 : Human Molecular Genetics

題名 : The maternal protein NLRP5 stabilizes UHRF1 in the cytoplasm: Implication for the pathogenesis of multilocus imprinting disturbance

著者名 : Motoko Unoki (責任著者), Shuhei Uemura, Akihiro Fujimoto, and Hiroyuki Sasaki

DOI: 10.1093/hmg/ddae096

URL: <https://academic.oup.com/hmg/advance-article/doi/10.1093/hmg/ddae096/7691776>

研究助成

本研究は、科研費「新学術領域研究（課題番号：JP19H05740）」、「基盤研究（C）（課題番号：13K05728）」、「基盤研究（C）（課題番号：23K05728）」、「特別推進研究（課題番号：JP18H05214）」の支援により実施されました。

用語解説

（注1） 皮質下母性複合体（SCMC）

皮質下母性複合体（SCMC）と呼ばれる蛋白質複合体は、卵子や受精直後の胚の皮質下（細胞膜の直下）に局在し、初期発生に重要である事が知られていましたが、最近では、SCMC は皮質下のみならず、細胞質全体に局在し、細胞骨格を構成している事が明らかにされています。

（注2） 多遺伝子座インプリンティング異常症（MLID）

父親由来ゲノムと母親由来ゲノムからの発現量が異なる遺伝子をインプリンティング遺伝子と呼び、この発現量の違いは正常な発生に重要で、インプリンティング制御領域（ICR）のDNAのメチル化修飾が由来ゲノムによって異なることに起因します。多遺伝子座インプリンティング異常症（MLID）患者では、複数のICRの低メチル化が認められます。MLID患者の重篤度や症状は、低メチル化領域の違いや程度によって、異なります。

（注3） UHRF1 蛋白質

DNAのメチル化は、遺伝子の発現制御やゲノムの安定性に重要な化学修飾の1つです。私たちの体を構成する大部分の細胞では、親細胞が娘細胞に分裂する前にDNAポリメラーゼがDNAの複製をおこない、その際にメチル化修飾も複製されます。このメチル化の複製には、維持メチル化酵素であるDNMT1とその補助因子であるUHRF1が核内で重要な役割を果たしています。一方、卵子と受精直後の初期胚では、UHRF1の大部分は細胞質に局在し、一部のUHRF1が核内に留まって、ICRなど限られた領域のメチル化を維持します。維持されなかった大部分のゲノム領域のメチル化は消失し、初期胚はさまざまな細胞に分化する能力（＝万能性）を獲得します。

（注4） 核置換法

核置換法には、非罹患女性の卵子と父親の精子を人工授精させた受精卵と、罹患女性の卵子と父親の精子を人工授精させた受精卵の前核を置換する前核期核置換法や、非罹患女性と罹患女性の卵子の核（正確には核膜崩壊後の紡錘体-染色体複合体）を置換する紡錘体置換法があり、ミトコンドリア病の遺伝を防ぐため、2024年現在、英国と豪州でこの技術の使用が許可されています。

問合せ先

（研究内容については発表者にお問合せください）

東京大学 大学院医学系研究科 国際保健学専攻 人類遺伝学分野
准教授 鵜木 元香（うのき もとこ）

Tel : 03-5802-3693 E-mail : unokim@m.u-tokyo.ac.jp

東京大学 大学院医学系研究科 総務チーム

Tel : 03-5841-3304 E-mail : ishomu@m.u-tokyo.ac.jp