

京都大学	博士 (医科 学)	氏名	細 川 元 靖
論文題目	Loss of RNA-Binding Protein <i>Sfpq</i> Causes Long-Gene Transcriptopathy in Skeletal Muscle and Severe Muscle Mass Reduction with Metabolic Myopathy (RNA 結合タンパク質 <i>Sfpq</i> の骨格筋特異的欠損は長鎖遺伝子発現異常と代謝性ミオパチーを伴う重篤な筋量減少を引き起こした)		
(論文内容の要旨)			
<p>哺乳類では 100kbp を超える長い遺伝子 (超長鎖遺伝子) が多く発現しており、なかでも筋ジストロフィーの原因遺伝子としてよく知られている <i>Dystrophin (Dmd)</i> は全長 2200 kbp を超える。このような超長鎖遺伝子の全長を転写するためにどのような制御がされているか長年の謎であったが、RNA 結合タンパク質 SFPQ が超長鎖遺伝子の転写伸長機構に必須であることが京都大学大学院医学研究科形態形成機構学においての先行研究で明らかになった。RNA 結合タンパク質は細胞および組織ごとにそれぞれ特異的な標的遺伝子および機能単位を制御することが知られている。骨格筋は <i>Dmd</i> をはじめとする長鎖遺伝子の発現がその発生や機能に重要であることから、SFPQ の生理機能、標的遺伝子、分子機能を解明するため、骨格筋特異的 <i>Sfpq</i> 欠損マウス (KO-マウス) を用いて解析を行った。</p> <p>KO-マウスは、若年死亡、成長遅延、後彎などの表現型と、運動機能の低下を呈した。この KO-マウスの骨格筋における異常を検討するために病理組織学的解析を行った。HE 染色では筋線維径の縮小が見られたが、筋ジストロフィーに見られる明らかな炎症・浸潤・中心核などの像は見られなかった。さらにゴモリ・トリクローム変法、NADH-TR、PAS 染色により詳細な解析を行った。その結果、骨格筋構造の明らかな異常は見られなかったが、グリコーゲン蓄積およびミトコンドリア活性の低下を示す像が見られた。定量的な評価を行った結果、骨格筋におけるグリコーゲン含有量の増加、ミトコンドリア呼吸鎖複合体量の発現の低下が確認されたことから、SFPQ 欠損が代謝性ミオパチーを引き起こしていることが明らかとなった。次に、SFPQ 欠損による RNA 制御異常を網羅的に同定するため、Primary myoblast を用いた次世代シーケンサーによるトランスクリプトーム解析を行った。<i>Sfpq</i> 欠損により <i>Dmd</i> を含む 100kbp 以上の長鎖遺伝子の発現減少が見られたことから、SFPQ は骨格筋において超長鎖遺伝子の発現を制御していることが明らかとなった。Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) を使用して標的遺伝子群の機能を解析した結果、グルコース、ピルビン酸、アミノ酸など様々な代謝経路に関連した遺伝子群の発現が減少していた。これは KO-マウスの代謝性ミオパチーの表現型とも一致する結果であった。GSEA において同定された代謝関連の発現減少遺伝子の 50%(16 遺伝子)が 100kbp を超える長鎖遺伝子であり、それらの多くは SFPQ 欠損下で転写伸長阻害の傾向を示したことから、SFPQ は代謝関連長鎖遺伝子を標的としていることが示された。これら SFPQ 標的の代謝関連遺伝子は、筋量が</p>			

大きく増加する P14~P28 の時期に発現が上昇し、KO-マウスの異常も同時期に認められることから SFPQ は筋の成長に伴う代謝遺伝子発現誘導に必須であることが示唆された。以上より、SFPQ は骨格筋において、複数の代謝経路に関連する長鎖遺伝子群の発現を制御し、筋のエネルギー代謝・筋量の維持に必須であることが明らかとなった。また、KO-マウスでは血糖値の低下が観察され、骨格筋のエネルギー制御が全身代謝に深く関与することが示唆されたので、今後 KO マウスを用いてさらに解析を進めることで筋代謝と全身代謝のネットワークの解明が期待できる。

(論文審査の結果の要旨)

骨格筋は *Dystrophin* 等の超長鎖遺伝子の発現がその発生や機能に重要な組織である。本研究は、脳において超長鎖遺伝子の転写伸長制御因子として同定された RNA 結合タンパク質 SFPQ の骨格筋における生理機能・標的遺伝子・分子機能を解明するために行われた。骨格筋特異的 *Sfpq* 欠損マウスは重篤な筋量減少を伴う代謝性ミオパチーを呈した。トランスクリプトーム解析の結果、*Sfpq* 欠損により 100kbp 以上の長鎖遺伝子特異的な発現減少および、様々な代謝経路に関連した遺伝子の発現減少が示された。さらに、発現減少した代謝関連長鎖遺伝子の多くは *Sfpq* 欠損下で転写伸長阻害の傾向を示し、SFPQ の標的遺伝子であることが示唆された。これらの結果から、骨格筋における SFPQ は複数の代謝経路に関連する長鎖遺伝子を標的として発現を制御しており、筋のエネルギー代謝・筋量の維持に必須の因子であることが明らかとなった。

以上の研究は、骨格筋における RNA 結合タンパク質による代謝遺伝子発現制御の解明に貢献し、筋代謝と筋量の相互作用の理解に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士 (医科学) の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和元年 5 月 15 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。