

**【目的】** 亜鉛の恒常性は、亜鉛トランスポーターによって制御されており、亜鉛トランスポーターを介する亜鉛イオンは、細胞内外でシグナル分子（亜鉛シグナル）として機能する。亜鉛トランスポーターSLC39A13/ZIP13（ZIP13）は、ゴルジ体に局在する細胞内亜鉛トランスポーターで、ゴルジ体から細胞質側への亜鉛輸送を担っている。最近、ZIP13の遺伝的変異（G64D型）により機能喪失した新しい脊椎手掌異形成型エーラス・ダンロス症候群（EDSSPD3）が発見された。当該患者は、骨・軟骨等の全身的な結合組織の脆弱性を有するだけでなく、骨格筋の筋力低下や反射の鈍化等を示す筋緊張低下を呈することが見出されている。当該疾患は、希少難病に指定されているが、治療方法が現時点で存在していない。これまで、「亜鉛シグナルがどのように骨格筋の形成と機能にかかわるのか」については、明示されていない。したがって、本研究では、当該患者由来の人工多能性幹細胞（iPS細胞）から骨格筋細胞への分化誘導法を確立し、EDSSPD3の骨格筋における病態再現とその機序を明らかにすることを目的とした。

**【方法】** EDSSPD3患者2名（女性および男性）の皮膚繊維芽細胞にヒトiPS細胞誘導用エピソーマルベクターを導入することで、iPS細胞を作製した。iPS細胞から骨格筋細胞への分化誘導は、Doxycycline（Dox）存在下で発現する骨格筋分化制御因子ヒトMyogenic differentiation 1（hMyoD1）とmCherry遺伝子が繋がった発現カセット（*hMYOD-mCherry*）を導入する手法を用いた。すなわち、この発現カセットを健常者およびEDSSPD3患者由来iPS細胞のゲノムに挿入し、Dox制御*hMYOD-mCherry*安定発現iPS細胞株を樹立した。これらのiPS細胞株から骨格筋細胞への分化誘導は、Doxを添加することで行った。そして、誘導した健常者およびEDSSPD3患者iPS細胞由来骨格筋細胞に対し、筋関連因子の蛍光免疫染色とリアルタイムPCRを行うことで、形態および遺伝子発現変化を比較解析した。さらに、筋機能を検討するため、グルコース取り込み能を比較解析した。

**【結果】** EDSSPD3患者2名の皮膚繊維芽細胞にヒトiPS細胞誘導用エピソーマルベクターを導入したところ、細胞表面上に未分化幹細胞マーカーが高発現したiPS細胞コロニーが誘導されたことから、女性および男性EDSSPD3患者由来iPS細胞を作製した。これらのiPS細胞に対し、Dox制御*hMYOD-mCherry*を導入したところ、Dox添加によりmCherry発現が見られたことから、*hMYOD-mCherry*安定発現iPS細胞株を樹立できた。次に、Dox添加による骨格筋分化誘導法を適用したところ、骨格筋タンパク質が強力に発現した繊維状の骨格筋細胞を作製することに成功した。EDSSPD3患者iPS由来の骨格筋細胞の形態は、健常者由来と比較したところ、女性では変化は見られなかったが、男性では筋繊維化が減弱していた。次に、筋関連遺伝子の発現を解析したところ、EDSSPD3患者iPS由来骨格筋細胞において女性および男性共に、有意に減少した。さらに、女性EDSSPD3患者iPS由来骨格筋細胞では、グルコース取り込み能も減少した。以上の結果は、ZIP13-G64D点変異によるEDSSPD3患者の骨格筋において、筋関連因子発現の減少によりグルコース取り込み能などの筋機能が減弱し、筋疾患を呈することを示唆している。本研究成果により、EDSSPD3の骨格筋における病態再現できたことで、本疾患への治療法開発に貢献すると考えられる。

健常者およびEDSSPD3患者iPS細胞由来の骨格筋細胞

