

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ヒト間葉系幹細胞分化システムを利用した新規遺伝子の探索と機能解析
Title(English)	
著者(和文)	伊藤智哉
Author(English)	Tomoya Itou
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第9678号, 授与年月日:2014年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:相澤 康則,林 宣宏,長田 俊哉,廣田 順二,立花 和則
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第9678号, Conferred date:2014/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	伊藤 智哉		
論文審査 審査員		氏 名	職 名		氏 名	職 名
	主査	相澤 康則	講師		立花 和則	准教授
	審査員	林 宣宏	准教授	審査員		
		長田 俊哉	准教授			
		廣田 順二	准教授			

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「ヒト間葉系幹細胞分化システムを利用した新規遺伝子の探索と機能解析」と題し、6章で構成されている。

第1章「序論」では、ヒト遺伝子の構造機能相関に関する研究の現状を解説している。配列情報だけを指標に遺伝子として予測されている仮説的遺伝子 (hypothetical protein gene) や、トランスクリプトーム解析によって発見された遺伝子候補群である TUF (transcript of unknown function) の配列的特徴を挙げると共に、その機能発現の可能性について推測している。その後、遺伝子機能探索に有用なヒト間葉系幹細胞 (hMSC) の分化誘導系を紹介したのち、hMSC を用いて新規遺伝子を上記の2つの候補遺伝子群から同定し、その機能や機能発現機構を解明することが、セントラルドグマを基本とする遺伝子発現原理への新しい理解に繋がることを論じ、それを本博士論文研究の目的としたことを述べている。

第2章「間葉系幹細胞の分化過程で発現変動する新規遺伝子の探索」では、hMSC の脂肪細胞分化に関わる可能性の高い仮説的遺伝子をマイクロアレイ法でスクリーニングする際、擬陽性を大幅に減らすための方法論を新たに設計・構築したことを述べている。hMSC を脂肪細胞へ分化させるためには4種類の試薬を細胞に作用させる必要がある。そこで対照実験として1種類の試薬のみを作用させた時に有為に発現量が変化する遺伝子群を、4種類の試薬を作用させた時に発現量が変化する遺伝子群から除くことにより、どれほど擬陽性を減らすことができるかどうかを検証している。その結果、約60%の遺伝子が1種類の試薬でも有為に発現量を変化させることが明らかとなったことと、さらにその後の解析の結果、これまで脂肪分化との関連性が全く報告されていなかった12種類の遺伝子を新たに脂肪分化関連遺伝子として同定したと述べている。最後に、本章で構築した実験手法は、hMSC の脂肪細胞分化に特化した解析手法ではなく、複数のシグナル伝達経路の協調的な働きによって起こる細胞現象に関わる遺伝子探索に応用可能な手法であると提唱している。

第3章「新規タンパク質遺伝子 OGU1 の発見と機能予測」では、hMSC 分化誘導系を用いて同定した TUF (OGU1 と命名) が新規遺伝子である可能性を検証している。ヒト TUF を対象としたカスタムマイクロアレイによって、hMSC 骨芽細胞分化の過程で発現変動する TUF として同定された OGU1 は当初、ノンコーディング RNA と考えられていたが、本研究において OGU1 転写産物の詳細な解析により、転写開始点がこれまでよりも正確に特定され、その結果、OGU1 が、アミノ酸配列レベルで配列保存性の高いタンパク質遺伝子であることを見いだしている。加えて、OGU1 タンパク質配列内に予測される膜貫通領域が、ショウジョウバエの TRP チャネル制御遺伝子の膜貫通領域と類似していることを指摘しており、このことから OGU1 が哺乳類 TRP チャネルの機能制御に関わる可能性について言及している。

第4章「OGU1 タンパク質による TRPC チャネル制御メカニズム」では、前章での OGU1 機能に関する仮説を実験的に検証している。まず OGU1 が、哺乳類の TRP チャネルの制御因子であることを検証するため、Fura-2 試薬を用いたカルシウム流入測定を行い、TRPC ファミリーに属する7種類のチャネルの中で、一部の TRPC チャネルが、OGU1 によってカルシウムイオン流入量を有為に上昇することを報告している。次に shRNA を用いた発現抑制実験により、内在性 OGU1 タンパク質がラット神経細胞株内で TRPC チャネルによるイオン流入を活性化することを実証している。さらに免疫沈降実験とウエスタンブロット実験から、OGU1 は TRPC チャネルと細胞内で複合体を形成し、TRPC チャネルの翻訳後修飾状態を変化させる実験結果を示した。この翻訳後修飾の変化を引き起こす細胞内輸送経路の変化が、OGU1 タンパク質による TRPC チャネル活性化の鍵機構であることを考察している。

第5章「総括」では、以上の結果をまとめ、今後の展望が議論されている。

第6章「試薬と方法」では、本論文で行った実験の詳細なプロトコルを記述している。

以上を要するに、本論文は hMSC の分化システムを有効に活用することで、独自の遺伝子探索法を開発するだけでなく、一般的にノンコーディング RNA と考えられている TUF のなかから、細胞内機能に関与する新規タンパク質遺伝子が存在することを実証したものであり、理学的貢献するところが大きい。よって、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分な価値があるものと認められる。