

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	メチオニン欠乏によるヒストン修飾変化を介したヒトiPS細胞分化促進機構の解明
Title(English)	
著者(和文)	小澤弘樹
Author(English)	Hiroki Ozawa
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12283号, 授与年月日:2022年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:糸 昭苑,木村 宏,山口 雄輝,立花 和則,相澤 康則,白木 伸明
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12283号, Conferred date:2022/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

博士論文要約

メチオニン欠乏によるヒストン修飾変化を介した ヒト iPS 細胞分化促進機構の解明

小澤 弘樹

東京工業大学生命理工学院 生命理工学系生命理工学コース博士課程

【はじめに】

ヒト iPS 細胞は無限の増殖性と三胚葉への分化能を有し、その機能的な分化細胞は疾患モデルの構築、創薬研究、再生医療の原材料など、有用なツールとしてその応用が進められている。私は細胞代謝に着目をした多能性幹細胞の細胞制御について特に興味を持っている。細胞代謝物は、修飾基質の直接の供給源、エピジェネティック関連酵素の補酵素・補因子として機能するものが多数存在し、代謝とエピゲノム、細胞形質の相互作用には深い関係性がある。ヒストンメチル化の中でも、H3K4me3 (正の制御) と H3K27me3 (負の制御) が特に転写制御に重要な修飾として知られている。以前、ヒト多能性幹細胞はメチオニン経路の代謝物である S-アデノシルメチオニン (SAM) の高い要求性を有していることが示された (Shiraki et al, 2014)。メチオニン欠乏培養は H3K4me3 のヒストンメチル化修飾を減少させ、各種ストレス応答と多能性転写因子 NANOG の発現低下を引き起こし、長期間のメチオニン欠乏は細胞死に至る。また多能性幹細胞におけるメチオニン欠乏の種々の細胞応答は、細胞内亜鉛動態を介して引き起こされることも明らかとされた (Sim et al, 2022)。一方で、細胞内 SAM 濃度減少によるヒストン修飾変化を介した分子機序の関与については、未だ明らかとなっていなかった。本研究は多能性幹細胞の 3 次元培養時におけるメチオニン欠乏培養の効果と、その分子メカニズムを解明することを目的として実施した。

【方法と結果】

1. 3 次元培養におけるメチオニン欠乏培養の解析

2 次元・3 次元両方の培養条件下において、5 時間のメチオニン欠乏培養処理した細胞をメタボローム解析に供した。3 次元培養時においてメチオニン欠乏培養はヒト iPS 細胞内 SAM 濃度を急速に減少させたが、その減少率については 2 次元培養時と比較して限定的であった。それでも 2 次元と同様に、H3K4me3 特異的にヒストンメチル化レベルを減少させ、エピジェネティック修飾に伴う転写ネットワーク変化を引き起こしていた。

2. メチオニン欠乏が多能性と分化に与える影響の解析

メチオニン欠乏培養がヒストン修飾に影響を及ぼす遺伝子座の同定、及び発現変化が引き起こされる遺伝子を解析し、メチオニンがヒト iPS 細胞に影響を及ぼす分子メカニズムについてエピジェネティクス制御の切り口で評価を行うこととした。多能性幹細胞はゲノムワイドに H3K4me3 修飾を有しており、ユークロマチン構造を形成している。特に多能性転写因子においては未分化遺伝子ネットワークと連動して高い H3K4me3 レベルを維持している。未分化状態から特定の細胞系譜へ分化するにあたり、多能性転写因子の H3K4me3 修飾が消失し、転写抑制されていた。メチオニン欠乏培養は未分化状態において *NANOG* に代表されるこれら転写因子の H3K4me3 レベル及び発現を抑制しており、分化培養でグローバルな H3K4me3 が回復される中でも、多能性転写因子の H3K4me3 レベルは一層減少し、未分化状態からの脱却が促進されていた。またコレステロール生合成、TGF β シグナル経路の H3K4me3 レベルがカスケード全体に亘って減弱されており、メチオニン欠乏による未分化ヒト iPS 細胞の増殖停止及び多能性の抑制のメカニズムの一端であることが示唆された。

一方で、各細胞系譜ごとに重要な分化制御因子は H3K4me3 の他に H3K27me3 も合わせて修飾されている（バイバレントドメイン）。これらバイバレントドメインは分化進行に伴い、関連する制御因子の H3K27me3 レベルが減少し、H3K4me3 モノバレント化と転写活性化が促進される。メチオニン欠乏は、ヒト iPS 細胞の初期内胚葉分化において中内胚葉分化に関わる遺伝子発現を亢進し、*GATA6* をはじめとする重要な転写因子、Wnt シグナル経路遺伝子において H3K27me3 修飾の消失を促進していた。以上本研究は、ヒト iPS 細胞においてメチオニン欠乏培養は、細胞内 SAM 濃度、H3K4me3 特異的なヒストン修飾の消失を通し、ダイナミックなエピジェネティック変化を介した多能性の破綻と分化促進を引き起こすことを示した。