

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)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

(博士課程)

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		小澤 弘樹	
論文審査 審査員		氏 名	職 名		氏 名	職 名
	主査	条 昭苑	教授	審査員	相澤 康則	准教授
	審査員	白木 伸明	准教授		立花 和則	准教授
		木村 宏	教授			
		山口 雄輝	教授			

論文審査の要旨（2000 字程度）

本論文は「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」と題し、以下の 4 章から構成されている。

第一章「背景」では、本研究の背景として、細胞代謝とエピジェネティクスを介した細胞制御、その中でも申請者の所属研究室で研究を続けてきた、ヒト多能性幹細胞におけるメチオニン代謝の役割と亜鉛動態の関係性、本研究で特に着目したヒストンメチル化修飾と転写制御について概説し、その上で本研究の目的について述べている。

第二章「3 次元培養におけるメチオニン欠乏培養の解析」では、ヒト iPS 細胞を 3 次元培養条件下でメチオニン欠乏培養した際の代謝物についてのメタボローム解析の結果について述べている。2 次元培養時と比較して、3 次元培養下では減少率は限定的であったものの、細胞内 SAM 濃度の減少が確認されたと述べている。続いて直接蛍光標識された抗ヒストン修飾抗体を用いた免疫細胞化学を用い、3 次元培養時にも H3K4me3 特異的なヒストンメチル化レベルの減少と、メチオニン特異的な遺伝子発現変化を確認し、その特異的な変化について論じている。

第三章「メチオニン欠乏が多能性と分化に与える影響の解析」では、まず短時間のメチオニン欠乏培養が内胚葉分化にどのように影響を与えるか、遺伝子発現変化を評価し、24 時間の段階で既に有意にメチオニン欠乏細胞で未分化マーカーの減弱と分化マーカーの亢進が確認出来たと述べている。続いて未分化細胞におけるメチオニン欠乏培養後、分化 24 時間のサンプルで RNA-seq, ChIP-seq を実施し、その結果を述べている。第二章で確認出来た通り、未分化細胞でのメチオニン欠乏は H3K4me3 特異的なヒストン修飾レベルを低下させた一方で、分化細胞ではその差は少なくなったと述べている。取得した RNA-seq / ChIP-seq のデータを直接比較し、ヒストン修飾の種類、及び H3K4me3 レベルに比例した遺伝子発現レベルについて確認した上で、メチオニン欠乏や分化によって遺伝子発現プロファイルに大きな変化がないことを述べている。多能性維持に関わる遺伝子に着目した解析により、*NANOG* に代表される未分化マーカー遺伝子の H3K4me3 レベルが全体的に減少し、分化培養においてゲノムワイドにヒストン修飾レベルが回復する中でも、多能性維持に関与する転写因子は、H3K4me3 レベルがより減少し、合わせて遺伝子発現レベルも減弱し、その結果、未分化状態からの脱却が促進されていると考察している。さらに、ゲノム全体のデータに目を移し、特に影響を受けている遺伝子セットを GO 解析で実施し、コレステロール生合成経路と、TGF β 受容体シグナル経路において、特異的に H3K4me3 レベルと遺伝子発現レベルが減少していることを確認し、これが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維持の破綻を引き起こすメカニズムの一端であると論じている。ヒト多能性幹細胞における、分化制御因子のエピゲノム制御機構として、H3K4me3 / H3K27me3 両修飾が付与されたバイバレントドメインについて背景を述べた上で、メチオニン欠乏後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の亢進と、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の H3K27me3 レベルの減少が起きていると述べている。これはヒト iPS 細胞におけるメチオニン欠乏培養が、細胞内 SAM 濃度の減少と H3K4me3 特異的なヒストン修飾の消失を経て、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機構の機序であると考察している。

第四章「結論」では、メチオニン欠乏におけるヒストン修飾を介した分化促進機構の要点を概説し、メチオニン欠乏培養などの代謝特性を活かした培養法の開発が、ヒト多能性幹細胞の産業応用に向けた大量培養系構築に有用であると、今後の展望を述べている。

以上を要するに、本論文では、多能性幹細胞の高い要求性を示す代謝特性について、培地中の栄養因子であるメチオニンを欠乏させた際の分化促進機構におけるヒストン修飾変化との関係性を解明したものであり、理学上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。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。