

京都大学	博士 (医学)	氏名	三谷 忠宏
論文題目	Principles for the regulation of multiple developmental pathways by a versatile transcriptional factor, BLIMP1 (転写制御因子 BLIMP1 による多様な発生経路における転写調節の原理)		
(論文内容の要旨)			
<p>個体は多様な細胞種によって構成されるが、これは同一のゲノム情報に基づいて各細胞種の形成に必要な遺伝子群を発現することによっている。転写制御因子はこの機構において重要な役割を果たしている。興味深いことに、単一の転写制御因子が、発生過程において異なる細胞において繰り返し用いられることが知られている。しかし、異なる細胞種における単一の転写制御因子の作用機序はゲノム上の結合部位を含めほとんど明らかにされていない。</p> <p>B lymphocyte-induced maturation protein1 (BLIMP1) は主に抑制的に作用する転写制御因子である。BLIMP1 はマウスにおいて始原生殖細胞や形質細胞など多数の細胞種の発生において重要な役割を果たしていることが報告されている。そこで、BLIMP1 の N 末端に EGFP タグを付与し、EGFP-BLIMP1 fusion protein を発現するノックインマウスを用いて、胎生期から成体における BLIMP1 発現細胞を包括的に調べた。この結果、BLIMP1 は視神経前駆細胞や歯乳頭など 3 胚葉に由来する細胞、始原生殖細胞および胎盤組織など、発生系譜が全く異なる様々な細胞において発現が認められることが分かり、上記の問題に対し良いモデルになると考えられた。</p> <p>異なる細胞種間における BLIMP1 の作用機序を解明するためには、様々な細胞種におけるゲノム上の結合部位の同定とそれらの発現に対する影響を包括的にかつ定量的に調べることが重要である。そこで BLIMP1 を発現する細胞の中から代表的な 4 つの細胞種 (視神経前駆細胞、胎生期の小腸上皮細胞、B 細胞を終末分化させた形質芽細胞、始原生殖細胞) を選び BLIMP1 の結合部位の同定を行った。このために、フローサイトメトリーにて細胞を精製後、GFP に対する抗体を用いてクロマチン免疫沈降シーケンス (ChIP-seq) を行った。</p> <p>BLIMP1 の結合部位の同定後、結合部位における正規化したリードカウントの散布図を用いて異なる細胞種間での結合パターンを評価した。この結果、大部分は個々の細胞種に固有の結合部位であり、一部は異なる細胞種で共通した結合部位であることが分かった。そこで、BLIMP1 の結合部位を細胞種特異的に結合が認められる部位と、複数の細胞種において共有される部位に分類定義し、これらの発現への影響を調べた。複数の細胞種において共有される結合部位は、プロモーター近傍の既知の認識配列に対して強く結合するにも関わらず、意外なことに発現に対する影響は小さいことが分かった。また複数の細胞種において共有される結合部位の一部が結合する DNA 認識配列として、GGGAAA リピート配列を新たに同定した。一方で、細胞種特異的な結合部位は、プロモーターに対して遠位に存在し、既知の認識配列を含んでいるものは少なかった。しかし、これらは目的とは異なる細胞種への分化に関わる遺伝子などの発現を抑制していることが明らかになった。細胞種特異的な結合部位においては、他の転写因子のモチーフの存在は発現への影響がないこと、BLIMP1 が結合することで H3K27me3 のヒストン修飾が付加されることから、他の転写因子と協調的に働くのではなく BLIMP1 が単独でポリコーム群を介して転写抑制を行っている機序が示唆された。</p> <p>以上のように、本研究は多様な細胞種の横断的解析により、BLIMP1 の転写制御機</p>			

構の原理を明らかにしたものである。これらの成果は、哺乳類における転写制御機構の解明や細胞分化の分子学的基盤の解明などに寄与することが期待される。

(論文審査の結果の要旨)

単一の転写因子が多くの細胞種の運命決定過程を制御することが知られているが、その作用機序は、特に転写抑制因子について不明な点が多い。本研究では、多数の細胞種の運命決定・恒常性維持に重要である BLIMP1 が、異なる発生過程においてゲノムを制御する機構の多様性と共通性の解明を目的とした。

まず 4 つの細胞種 (視細胞前駆細胞、胎生期小腸上皮、形質芽細胞、始原生殖細胞) における BLIMP1 結合部位を、クロマチン免疫沈降シーケンス (ChIP-seq) を用いて同定した。次に、BLIMP1 結合部位を、細胞種に特異的な結合部位と複数の細胞種に共通する結合部位に分類し、それぞれの結合部位の性質と遺伝子発現への影響を明らかにした。その結果、各細胞種の分化を特徴づける遺伝子発現変化の制御には、主に細胞種特異的結合部位が関わっていることがわかった。細胞種特異的結合部位は、既知の BLIMP1 認識配列の含有率が低く、転写開始点の遠位に分布し、BLIMP1 の結合は弱く、転写抑制に関与するヒストン修飾が濃縮していた。一方で、複数の細胞種に共通する結合部位は転写開始点の近傍に存在し、BLIMP1 認識配列の含有率が高く、BLIMP1 の結合が強いにも関わらず、遺伝子発現への影響は小さかった。これらの解析により、多様な細胞種の発生過程における、BLIMP1 による遺伝子発現制御のモデルが示された。

以上の研究は BLIMP1 の作用機序の解明に貢献し、一般的な転写制御因子によるゲノムの制御機構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、平成 29 年 11 月 14 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。

