

京都大学	博士 (医学)	氏 名	越智 陽太郎
論文題目	<b>Combined Cohesin-Runx1 Deficiency Synergistically Perturbs Chromatin Looping and Causes Myelodysplastic Syndromes</b> (コヒーシンおよび RUNX1 欠失によるクロマチンループ破綻および骨髄異形成症候群発症)		
(論文内容の要旨) 近年の次世代シーケンサーによる遺伝子解析で、急性骨髄性白血病(AML)や骨髄異形成症候群(MDS)の10-20%にコヒーシン遺伝子変異が認められることが明らかになった。そのうち、 <i>STAG2</i> が最も高頻度な標的遺伝子である。コヒーシンはエピジェネティック制御において中心的役割を果たすことが明らかになりつつあるが、白血病発症における役割はほとんど分かっていない。また、 <i>STAG2</i> 遺伝子変異は高頻度に他の遺伝子変異と共存するが、遺伝子変異間の協調作用についても不明な点が多い。 上記の背景より、まず遺伝子変異間の共存関係を明確にするため、3,047例のMDS/AMLのメタ解析を行ったところ、MDS/AMLの一群において、転写制御に関わる <i>STAG2</i> 、 <i>RUNX1</i> 、 <i>SRSF2</i> 、 <i>ASXL1</i> の四つの遺伝子変異が極めて高頻度に共存し、これらの遺伝子変異が複数認められる症例は著しく予後不良であることを見出した。従って、これらの遺伝子変異がMDS/AMLの病型進展に協調的に作用すると考えられた。 そこで、これらの遺伝子変異を特徴とする骨髄腫瘍の発症機構を解明するため、上述のように近年同定されたコヒーシン <i>STAG2</i> 変異に特に着目した。 <i>Stag2</i> コンディショナルノックアウト(KO)マウスモデルを作成したところ、血球数・形態の異常、骨髄造血幹細胞分画の増加、自己複製能の向上、分化異常といった造血細胞異常が認められたが、 <i>Stag2</i> 遺伝子単独の異常では致命的造血腫瘍の発症に至らなかった。マウス幹細胞分画におけるRNA-seqおよびATAC-seqでは、造血幹細胞の維持、分化に重要とされる転写因子Runx1の発現、活性の上昇を認めた。 以上の結果を踏まえ、複数遺伝子異常による造血器腫瘍モデルとして、 <i>Stag2</i> と <i>Runx1</i> の両遺伝子KOマウスを作成した。両遺伝子KOマウスでは、単独KOマウスより造血幹細胞分画の増加や分化異常が顕著となり、最終的に全例がMDSを発症し、造血不全死に至った。 ChIP-seqでは、コヒーシンStag2がRunx1や他の転写因子、Mediator、RNAポリメラーゼ等とエンハンサーにおいて共局在しており、エンハンサー・発現制御にStag2やRunx1等が協調的な役割を果たす可能性が考えられた。Hi-Cを含めた統合的シーケンス解析では、両遺伝子KOマウスは単独KOマウスと比べ、より広範な遺伝子発現、転写因子活性の異常を呈する他、エンハンサー・プロモーター間の染色体ループ形成が顕著に減弱することを示した。更に、こうしたループ形成の破綻は一元的な遺伝子発現量の低下に必ずしも至らず、プロモーター近傍におけるRNAポリメラーゼIIの転写一時停止が生じる遺伝子群の選択的な発現低下に帰結することを示した。 最後に、転写一時停止を特徴とする遺伝子群の発現低下は、コヒーシン/ <i>STAG2</i> 遺伝子変異を有するMDSやAMLのRNA-seqデータの再解析でも認められ、 <i>RUNX1</i> 、 <i>SRSF2</i> 、 <i>ASXL1</i> の変異が加わることでより顕著となることも確認された。 以上より本研究において、コヒーシンStag2と転写因子Runx1が協調的にエンハンサー、プロモーター間のループ形成を制御しており、その破綻が遺伝子発現異常およびMDSを引き起こすことが明らかになった。			

(論文審査の結果の要旨)

急性骨髄性白血病や骨髄異形成症候群において、高頻度に *STAG2* などのコヒーシン遺伝子変異が認められるが、これらの変異により白血化が起こる詳細な分子機序は不明であった。そこで、(1) 3000 症例以上の急性骨髄性白血病や骨髄異形成症候群症例の変異データを用いたメタ解析、(2) コヒーシン *Stag2* 遺伝子ノックアウトマウスの作成および解析、(3) 次世代シーケンサーを駆使した統合的なエピジェネティック解析 (RNA-seq、ATAC-seq、ChIP-seq、Hi-C)、を実施した。その結果、(1) 骨髄異形成症候群症例において、転写制御に関わる *STAG2*、*RUNX1*、*SRSF2*、*ASXL1* の四つの遺伝子変異が極めて高頻度に共存すること、(2) マウスにおいて *Stag2* と *Runx1* 遺伝子が両方ノックアウトされると、造血細胞の広範な分化異常を来し、最終的に骨髄異形成症候群を発症すること、(3) その分子機序として、コヒーシンが造血系転写因子 Runx1 と協調的にエンハンサー・プロモーター間の高次ループ形成を制御しており、その破綻により、プロモーター近傍における RNA ポリメラーゼ II の転写一時停止が生じるような遺伝子群の発現が選択的に低下すること、を明らかにした。

以上の研究はコヒーシン変異を有する骨髄異形成症候群の分子機序の解明に貢献し、同疾患の病態解明や新規治療開発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、令和2年7月20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。

要旨公開可能日： 年 月 日以降