

京都大学	博士（医科学）	氏名	秋藤千晶
論文題目	MYCL promotes iPSC-like colony formation via MYC Box 0 and 2 domains (MYCLはMYC Box 0及び2ドメインを介してiPS細胞様コロニーの形成を促進する)		
<p>(論文内容の要旨)</p> <p>ヒト人工多能性幹細胞(hiPS細胞)は体細胞から樹立され、三胚葉系の細胞へと分化することができる。hiPS細胞はヒト胚性幹細胞(hES細胞)と同等の機能を有するが、受精卵の胚盤胞の一部である内部細胞塊の取り出しが必要なく、運用面でのメリットがあるため再生医療への応用が期待されている。hiPS細胞の樹立はOCT3/4、SOX2、KLF4、及びc-MYCの4つの遺伝子を体細胞に導入し初期化を誘導することで初めて成し遂げられた。以来、いくつもの新たな初期化手法が開発されているが、現状の方法ではコストが高く、hiPS細胞の製造は技術的に難しい。また、hiPS細胞のクローン間の分化能の幅広い差はhiPS細胞の応用化をより難しくしている。</p> <p>ヒトのMYCファミリー遺伝子はがん遺伝子として知られており、c-MYC、MYCN、及びMYCLが報告されている。c-MYCは高い形質転換活性を示し、腫瘍化を引き起こす可能性があるため、c-MYCを用いた初期化は臨床用のiPS細胞の作製に不向きと考えられる。しかし、c-MYCを使わない場合の初期化の効率は極めて低い。c-MYCの代替として初期化誘導時にMYCLを用いた場合、iPS細胞のコロニー数が増加し、三胚葉系の細胞への分化能も維持される。さらに、MYCL由来のiPS細胞を移植したキメラマウスでは腫瘍化による致死がほぼ起こらないのに対し、c-MYC由来のiPS細胞を移植したキメラマウスでは2年間の経過観察中で50%以上が腫瘍化によって死亡した。MYCLを使うことで、c-MYCよりも効率よく質の良いiPS細胞が作製できるということは明らかにされたが、その機能及びc-MYCとMYCLで初期化促進に違いが生じる機構については分かっていない。</p> <p>MYCタンパク質は6つのMYC Box(MB)ドメイン、MB0、1、2、3a、3b、4をN末端領域に持ち、bHLHLZドメインをC末端領域に持つ。MYCLはMB3aドメインを持たない。c-MYC及びMYCLのC末端領域はDNAとの結合に必要なMAXタンパク質と結合するため初期化に不可欠である。N末端領域はトランス活性化ドメイン(TAD)として知られ、標的遺伝子の発現制御に重要であると言われている。N末端領域を欠損させたc-MYCの変異体は低い形質転換活性を示し初期化を促進することがわかっているが、初期化での詳しい機能については不明である。</p> <p>そこで、本研究では、N末端領域のどのドメインが重要であるかを明らかにし、プロテオーム解析によってその機能に関する新たな知見を獲得した。まず、MYCLがc-MYCよりも効率的に多くのiPS細胞様コロニーを形成すること、及びc-MYCでは非iPS細胞様コロニーが形成されることを明らかにした。次に、MYCタンパク質のドメイン欠損型変異体を用いてMB0及びMB2ドメインがMYCの初期化に重要であり、MB0ドメインの機能がc-MYCとMYCLで違うことを明らかにした。また、プロテオーム解析を行い、MB0ドメインの働きによって細胞接着関連因子の発現上昇が起こることを明らかにした。さらに、MYCLのMB2ドメインの96番目のアミノ酸部位が初期化に重要であることを同定するとともに、部分的な組み換えタンパク質を用いたアフィニティーカラム精製によって同部位での結合タンパク質を同定し、MYCLはMB2ドメインを介してRNA結合タンパク質(RBP)と相互作用することを明らかにした。さらに、MYCLのMB0ドメインが翻訳後修飾を受けると考えられる結果を獲得した。</p> <p>以上の結果から、MYCLは細胞接着関連因子の発現制御、及びRNAプロセッシングに関与することでc-MYCに比べて効率良く初期化を促進する可能性を明らかにした。さらに、MYCLによる初期化の促進にはそれらの機能を通して、初期化に重要とされている間葉一上皮転換の制御に影響を与えている可能性が示唆された。</p>			

<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>MYCLとc-MYCはがん遺伝子として有名なヒトのMYCファミリー遺伝子である。初期化因子としてヒト人工多能性幹細胞(hiPS細胞)の作製にも寄与する。MYCLはc-MYCより初期化効率が高く、腫瘍化リスクの低いiPS細胞の作製が可能である。しかし、その機構の違いは不明でありMYCLの機能についても知見が少ない。本研究は、MYCLの機能解明を目的として初期化過程のMYCLとc-MYCの表現型の違いに着目し解析を行った。その結果、MYC Box (MB) 0及びMB2ドメインの機能によって、c-MYCでは非iPS細胞様コロニーが多く形成され初期化が抑制されるのに対し、MYCLでは効率的に多くのiPS細胞様コロニーが形成され初期化が促進することを明らかにした。さらに、プロテオーム解析を用いて、MYCLはMB0を介して細胞接着関連因子の発現を制御し、MB2を介してRNAプロセッシングに関与する可能性を示した。また、MYCLのMB2ドメインは96番目のアミノ酸部位が初期化に重要であることを示した。以上の結果から、MYCLは複数のメカニズムを介して、初期化の促進に寄与する可能性が示唆された。</p> <p>以上の研究は高効率な初期化機構及びMYCLタンパク質の機能の解明に貢献し、iPS細胞の作製手法の改善及びMYCL研究の進展に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医科学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、令和4年2月25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。</p>
<p>要旨公開可能日： 年 月 日以降</p>