

京都大学	博士 (医科学)	氏名	鄒 兆南
論文題目	Elucidating drug modes of action through transcription factor binding profiling (転写因子結合プロファイリングによる薬剤作用機序の解析)		
(論文内容の要旨)			
<p>医薬品は様々な効能を発揮するが、その分子機序は不明であることが多い。その解明のため、近年、ビッグデータを活用した戦略が注目されている。例えば、疾患時と投薬時の遺伝子発現プロファイルの逆相関関係に着目した方法が薬効予測に利用されている。しかしながら、投薬から遺伝子発現変化に至る過程がブラックボックスのままであり、作用機序へのさらなる理解には薬剤の標的分子の特定が急務である。薬剤の作用標的は多岐にわたるが、本研究では大規模 ChIP-seq データを解析し、薬剤摂動に応答する遺伝子群を統合的に制御する転写因子の特定を目指した。</p> <p>本研究では、薬剤 ($n=434$) 投与によって発現が変動する遺伝子 (DEG) の情報を CTD データベースより取得した。次に、ヒトの転写因子の ChIP-seq データ ($n=13,558$) を ChIP-Atlas データベースより取得し、投薬による DEG の近傍に結合がエンリッチする転写因子を特定し、薬剤の「転写因子結合プロファイル」を作成した。既知の薬剤作用標的情報 (KEGG) を参照した ROC 曲線解析により、本手法が薬効の発現に重要な転写因子を高精度に推定できることが示された (mean AUROC = 0.7063)。さらに、予測で得られた薬剤標的転写因子の性格を概観するために、これらの転写因子に関連疾患情報というアノテーションをつけ、薬剤-転写因子-疾患相関を構築した。その結果、薬剤の適応可能疾患や潜在的な副作用が推定された (mean AUROC = 0.7026)。この手法により、(1) シスプラチンは TP53 ファミリーメンバーの抗腫瘍活性を促進するが MYC による癌誘発を抑制すること、(2) TLE3 促進と RELA 抑制はレフルノミドが抗増殖・炎症活性を示す上で極めて重要であること、(3) CHD8 はバルプロ酸誘発性自閉症に関与していることなどが推定された。このように、遺伝子発現制御を担う転写因子を中心とした薬剤の作用機序を解明することにより、疾患の新たな治療法の開発や新規創薬標的分子の発見、既存薬の新たな適用や副作用リスクの仮説構築などにつながることを期待される。</p> <p>一方、本手法の欠陥として、薬剤の転写因子結合プロファイルを作成する上で DEG の「近傍」へ結合する転写因子しか考慮していないことが挙げられる。これは、用いた ChIP-Atlas にはゲノム上の蛋白結合情報 (ChIP-seq) しか収録されておらず、これらのデータのみでは転写因子が実際に結合するエンハンサーなどの転写調節領域が特定できないためである。そこで、本研究では DNA メチル化領域やオープンクロマチン領域などのエピゲノム情報を ChIP-Atlas に新たに統合した。NCBI SRA で公開されている 6 つの生物種の</p>			

Bisulfite-seq ($n=51,074$) と ATAC-seq ($n=66,104$) の配列生データを取得し、リファレンスゲノムへのアライメントとピークコールを行った。これにより、従来、多大なコストと時間を要したシスエレメントの同定を *in silico* で進めることができるようになった。これをもとに、投薬によって活性化状態が変動するゲノム領域に着目し、そこへの転写因子結合プロファイリングを行うことで、薬剤の作用機序がより正確に推定されることが予想される。また、これらの実験データをフル活用した共同研究では、心房細動の発症に最も寄与する転写因子の特定に成功しており、ChIP-Atlas は遺伝性疾患の成り立ちの理解に有用であることが示された。

(論文審査の結果の要旨)

薬物が疾患に対する効果を発揮する分子機序を解明するため、投薬時と疾患時の遺伝子発現プロファイルの逆相関関係に着目した解析手法が利用されている。しかしながら、薬物がいかにして遺伝子発現に影響するかが不透明であり、作用機序への理解を深めるためには、遺伝子よりもプライマリな標的分子の特定が重要である。

本研究では、薬物投与によって発現が変動する遺伝子 (DEG) の情報を入力とし、1 万件以上の公共 ChIP-seq 実験データをフル活用することで、投薬による DEG の近傍に結合がエンリッチする転写因子を特定するという、「転写因子結合プロファイリング」法を提案した。その結果、薬物摂動にプライマリに応答する転写因子が特定され、遺伝子発現プロファイルのみに着目する既存手法よりも高い精度 (AUROC) で、薬物の適応可能疾患が推定された。さらに、提案手法を改善するために、ゲノム上のオープンクロマチン (ATAC-seq) 情報をすべて統合したデータベースを開発した。これを活用することで、DEG の近傍のみならず、遺伝子座から離れたエンハンサーに結合する転写因子も解析対象になりうる。これにより、薬物の転写因子結合プロファイリングのさらなる精度向上が期待される。

以上の研究は、遺伝子発現制御を担う転写因子を中心とした薬物の作用機序の解明に貢献し、疾患の新たな治療法の開発や新規創薬標的分子の発見、既存薬の新たな適用や副作用リスクの仮説構築に寄与するところが多い。

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。

なお、本学位授与申請者は、令和 5 年 1 月 23 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。