京都大学	博士（医科学）	氏　名	我　妻　慶　祐
論文題目	STAT5 Orchestrates Local Epigenetic Changes for Chromatin Accessibility and Rearrangements by Direct Binding to the TCRγ Locus (STAT5はT細胞受容体γ遺伝子座に直接結合することでクロマチンのアクセシビリティと再編成のための局所的なエピジェネティクス変化を制御する)		

（論文内容の要旨）

インターロイキン７受容体（IL-7R）は転写因子 STAT5 を活性化し、T 細胞受容体(TCR)γ遺伝子座のアクセシビリティと再編成を制御する。STAT 結合配列が Jγプロモーターや Eγエンハンサーに保存されているが、TCRγ遺伝子再編成におけるその生体内機能は未だ不明である。この問題を明らかにするため、３つの STAT モチーフを含む 940 塩基対の Jγ1 プロモーター領域を欠失した $J\gamma1P^{\Delta/\Delta}$マウスと、Jγ1 プロモーター内の３つの STAT モチーフに点変異を導入した $J\gamma1P^{mS/mS}$ マウスを作製した。まず、$J\gamma1P^{mS/mS}$ マウス胸腺細胞において、STAT5 の Jγ1 プロモーターへの結合が完全に障害されていることを確認した。次に、$J\gamma1P^{\Delta/\Delta}$および $J\gamma1P^{mS/mS}$ マウス胸腺細胞において、クロマチンのアクセシビリティの指標である germline 転写、ヒストン H3 アセチル化、H3 リジン 4 のメチル化を解析したところ、いずれも Jγ1 遺伝子に特異的に著しく低下していた。また、クロマチンリモデリング因子の触媒サブユニット BRG1 の Jγ1 領域への結合も著しく低下していた。さらに、$J\gamma1P^{\Delta/\Delta}$および $J\gamma1P^{mS/mS}$ マウス胸腺細胞において Jγ1 遺伝子の DNA 二重鎖切断と組換えが著しく低下しており、Jγ1 遺伝子と組換えをおこす Vγ2、Vγ5 遺伝子を発現するγδ T 細胞が、胸腺や小腸上皮で大きく減少していた。同様に $J\gamma1P^{\Delta/\Delta}$および $J\gamma1P^{mS/mS}$ マウス胎仔胸腺細胞において Jγ1 遺伝子の組換えが著しく低下しており、成体における Vγ3 陽性表皮内 γδ T 細胞が減少していた。最後に、Jγ1 プロモーターと Eγ1 エンハンサーのループ形成を Chromosome Conformation Capture (3C)法を用いて解析したところ、コントロールマウス胸腺細胞では Jγ1 と Eγ1 が結合していたが、$J\gamma1P^{mS/mS}$ マウスではそれが著しく障害されていた。以上の結果から、STAT5 が Jγプロモーターの STAT モチーフへ結合することが、Jγ領域の局所的なアクセシビリティと Jγと Eγクロマチンのループ形成に必須であり、TCRγ遺伝子座の組換えを誘導することが示された。

（論文審査の結果の要旨）

インターロイキン７受容体（IL-7R）は転写因子 STAT5 を活性化し、T 細胞受容体(TCR)γ遺伝子座のアクセシビリティと再編成を制御する。STAT 結合配列が Jγプロモーターや Eγエンハンサーに保存されているが、TCRγ遺伝子再編成におけるその生体内機能は不明であった。そこで申請者は、STAT モチーフを含む Jγ1 プロモーター領域を欠失した $J\gamma1P^{\Delta/\Delta}$マウスと、Jγ1 プロモーター内の STAT 結合モチーフに点変異を導入した $J\gamma1P^{mS/mS}$ マウスを作製し解析した。

$J\gamma1P^{\Delta/\Delta}$および $J\gamma1P^{mS/mS}$ マウス胸腺細胞において、Jγ1 遺伝子における germline 転写、ヒストン H3 アセチル化、H3 リジン 4 のメチル化、クロマチンリモデリング因子 BRG1 の結合が特異的に低下していた。また、Jγ1 遺伝子の DNA 二重鎖切断と組換えが顕著に低下しており、Jγ1 と組換えをおこす Vγを発現したγδ T 細胞が大きく減少していた。さらに、Jγ1 プロモーターと Eγ1 エンハンサーのクロマチンループ形成が $J\gamma1P^{mS/mS}$ マウスでは著しく障害されていた。以上の結果から、STAT5 が Jγプロモーターの STAT モチーフへ結合することが、Jγ領域の局所的なアクセシビリティと Jγと Eγのループ形成に必須であり、TCRγ遺伝子座の組換えを誘導することが示された。

以上の研究はリンパ球抗原受容体遺伝子再編成の分子機構の解明に貢献し免疫細胞の分化機構の研究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、平成２７年１２月１１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