

氏名（本籍）	藤田 晋一郎		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 9924 号		
学位授与年月	令和 3 年 3 月 25 日		
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当		
審査研究科	人間総合科学研究科		
学位論文題目	in silico analysis of RNA expression profiles as potential biomarkers under spaceflight (宇宙飛行中のバイオマーカー候補を探索するための RNA 発現プロファイルのインシリコ分析)		
主査	筑波大学准教授	博士（科学）	尾崎 遼
副査	筑波大学講師	博士（医学）	日下部 学
副査	筑波大学助教	博士（医学）	宮寺 浩子
副査	筑波大学助教	博士（医学）	関屋 健史

論文の内容の要旨

藤田晋一郎氏の博士学位論文は、RNA 発現プロファイルのインシリコ分析によって宇宙飛行中のバイオマーカー候補の探索したものである。その要旨は以下のとおりである。

序章「Introduction」では、著者は本論文の研究背景として、将来的に宇宙飛行がより身近になると予想される中で、宇宙飛行中の低重力、閉鎖環境、宇宙放射線といった地上とは異なるストレス因子が心身に様々な影響を及ぼすことを先行研究に基づいてまとめている。また、宇宙生物学において宇宙飛行ストレスを研究するための実験系について概説している。著者は、宇宙飛行の免疫システムへの影響を調べるために宇宙飛行士の血液サンプルから免疫系の各種パラメーターを調べる研究が行われている背景を踏まえた上で、血液サンプルを免疫機能の評価だけでなく組織の状態の評価に用いることができれば低侵襲バイオマーカーによって宇宙飛行ストレスを分子レベルでモニタリングできるだろう、と述べている。

第 1 章「Integrated RNA-seq analysis indicates asynchrony in clock genes across tissues under spaceflight conditions」で著者は、宇宙飛行が末梢組織の遺伝子発現へ及ぼす影響を調べた研究について述べている。NASA GeneLab から公開されている、宇宙飛行下のマウス由来の末梢組織（副腎、肝臓、腎臓、長指伸筋、腓腹筋、四頭筋、ヒラメ筋、前脛骨筋）の RNA-seq データを再解析し、宇宙飛行中（spaceflight; FLT）と地上の対照（ground control; GC）マウスにおける遺伝子発現を比較している。これらのマウスは、明期：暗期=12：12 時間サイクル下の 16 週齢の雌マウス（C57BL/6J）である。まず、すべてのサンプルを用いた主成分分析の結果、PC1 は筋肉組織とそれ以外の組織サンプル、PC2 は FLT と GC のサンプルをそれぞれ分離することを見出した。次に、8 種類の組織ごとに FLT と GC のサンプル間での発現変動遺伝子を抽出し、遺伝子機能エンリッチメント解析を行った結果、多くの組織において宇宙飛行によって時計遺伝子群が発現変動を示すことを明らかにしている。加えて、上流配列解析や PPI ネットワーク解析の結果、ARNTL や CLOCK といった概日リズム関連の転写因子が濃縮しているこ

とを見出している。さらに、その中でも遺伝子発現リズムが互いに逆位相であることが知られる *Arntl* と *Per2* の各組織に着目し、多くの組織において *Arntl* と *Per2* が逆方向の変動を示すこと、その傾向が特に筋肉組織とそれ以外の組織の間で異なる傾向になることを見出している。以上の結果から著者は、宇宙飛行が末梢組織に及ぼす影響に関する先行研究も踏まえつつ、宇宙飛行条件下において末梢組織間で概日リズムが脱同調しているだろうと考察している。

第2章「in silico analysis of miRNA expression profile during simulated-microgravity conditions using liquid biopsy」では、著者は、特定の組織における宇宙飛行の影響を反映する miRNA バイオマーカー候補を探索した研究について述べている。ここで、擬似的な宇宙飛行ストレスとして hindlimb unloading (HU) を施したマウス、HU を施したあと HU をやめたマウス、コントロールの3種類のマウス由来の血漿サンプルの miRNA-seq を行ったところ、66 の発現変動 miRNA (HU-DEMs) が見出され、これらには組織特異的 miRNA が含まれていた。特に、HU 条件で増加していた miRNA は神経系パスウェイに関連したものが多く、miRNA の標的予測から HU-DEMs にはストレス関連転写因子を標的とするものが含まれること、中でも miR-3535 がいくつかの神経系パスウェイを制御しうること、miR-3535 がヒトでも保存されていることを見出している。以上の結果から著者は、miR-3535 が宇宙飛行ストレスのバイオマーカー候補となると考察している。

終章「Conclusion」では、著者は、ここまでの研究を踏まえ、今後の展望および研究の限界について述べている。特に、サンプリングの方法やスケジュール、サンプルの取り扱いによって実験結果が大きく影響を受けることを考慮することが、マルチオミクス解析やデータ統合を宇宙飛行ストレスの評価や原因解明に活用する際に重要となることを述べている。

審査の結果の要旨

(批評)

宇宙飛行ストレスのモニタリングや原因解明が重要になりつつある中で、著者は2つの研究を通じ、宇宙飛行ストレスがトランスクリプトームへ及ぼす影響について詳細な検討を行っている。第1の研究は、宇宙飛行ストレスが末梢組織における遺伝子発現に対して影響を及ぼすこと、特に末梢時計の概日リズムに異常が生じることを示唆するものであり、遺伝子レベルの影響と生理学的機能レベルの影響とを接続する点でも意義深い研究と考えられる。第2の研究は、血漿 miRNA-seq から、宇宙飛行ストレスによって増加する miRNA を発見したもので、これらの中にはヒトとマウスの間で保存された miRNA も含まれ、宇宙飛行ストレスに対する低侵襲バイオマーカー候補の発見として重要な結果である。いずれも様々なデータ解析と十分な背景知識に基づく考察が含まれており、質の高い博士論文として評価される。

令和2年12月24日、学位論文審査委員会において、審査委員全員出席のもと論文について説明を求め、関連事項について質疑応答を行い、最終試験を行った。その結果、審査委員全員が合格と判定した。

よって、著者は博士(医学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認める。