

氏名	朴 賢英		
学位の種類	博士（医学）		
学位記番号	博甲第 8763 号		
学位授与年月	平成 30年 4月 30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	機能性 SNP rs7074440 による C-FOS を介した TCF7L2 遺伝子発現調節機構		
主査	筑波大学教授	博士（医学）	野口 恵美子
副査	筑波大学准教授	博士（生物科学）	村谷 匡史
副査	筑波大学准教授	博士（医学）	福田 綾
副査	筑波大学講師	博士（医学）	酒井 俊

論文の内容の要旨

朴賢英氏の博士学位論文は、2型糖尿病と関連が報告されている TCF7L2 遺伝子に存在する一塩基置換多型（single nucleotide polymorphism, SNP）である rs7903146 と強い連鎖不平衡にある遺伝子多型を機能的に評価し、TCF7L2 遺伝子の発現を制御する SNP として rs7074440 を検出している。培養肝細胞を用いた検討では、rs7074440 は転写因子である C-FOS との結合を介して TCF7L2 遺伝子発現を調節していることを見出している。その要旨は以下のとおりである。

（目的）

著者はまず、2型糖尿病の遺伝的要因ならびに全ゲノム関連解析に関する先行研究を概観し、TCF7L2 の SNPs が様々な人種を用いた多くの研究によって 2型糖尿病と強く関連すること、その中でも rs7903146 が最も関連が強い SNP であること、しかし、rs7903146 はイントロン領域に存在することからどのようなメカニズムにより遺伝子発現に影響を与え、2型糖尿病発症の原因となりうるかに関しては未解明のままであることを明らかにしている。そこで著者は rs7903146 を含む周辺の SNPs の中に、TCF7L2 遺伝子の発現を直接制御する機能性 SNP が存在すると着想した。

（対象と方法）

著者は、遺伝子発現調節に影響を与える可能性がある機能性 SNP の同定を目的として rs7903146 と強い連鎖不平衡($r^2 > 0.6$)にある SNPs を検出し、それぞれの SNPs の各アレルについて、肝細胞株 HepG2 ならびに Huh7 細胞を用いて、ルシフェラーゼレポーターアッセイを用いて評価を行っている。ルシフェラーゼレポーターアッセイにより検出された機能性 SNP 候補については転写因子を同定するため、Transcription factor expression library (TFEL) を用いたゲノムワイドな探索を行っている。TFEL 法で検出された転写因子の確認は Electrophoretic mobility shift assay (EMSA) 法および Chromatin immunoprecipitation (ChIP) 法を用いて確認を行っている。

（結果）

著者は rs7903146 と強い連鎖不平衡($r^2 > 0.6$)にある 21 個の候補 SNPs を検出し、その中で

rs7074440($r^2=0.85$)の各アレルについてレポーターアッセイを用いた検討で変化があることを確認している。次に rs7074440 に結合する転写因子を同定するため、TFEL を用いたゲノムワイドな探索を行った結果、C-FOS が結合因子であることを明らかにしている。C-FOS の SNP rs7074440 への結合は Electrophoretic mobility shift assay (EMSA) 法や、Chromatin immunoprecipitation (ChIP) 法によっても確認されている。HepG2 ならびに Huh7 細胞を用いた C-FOS のノックダウン実験では、TCF7L2 遺伝子の有意な発現低下があることを明らかにしている。

(考察)

著者は、2型糖尿病との関連が報告されている *TCF7L2* の rs7903146 と強い連鎖不平衡にある rs7074440 の各アレルの発現に与える影響をレポーターアッセイにより検討し、rs7074440 がリード SNP rs7903146 の機能性 SNP である可能性を明らかにしている。さらに rs7074440 に結合する転写因子として C-FOS を検出している。*TCF7L2* に関しては膵β細胞においても多くの解析がなされており、マウス培養膵β細胞株ではリード SNP rs7903146 自体が *TCF7L2* の遺伝子発現に影響を与えるエンハンサーであることが報告されている。しかし、著者が行った培養ヒト肝細胞を用いた解析では rs7903146 がエンハンサー活性を有することは追認されず、これらの結果より SNP のエンハンサー活性は細胞や組織ごとに異なると考えた。また、著者は、C-FOS および JUN は肝細胞において糖新生遺伝子発現を負に調節すること、さらには、*TCF7L2* は肝臓での糖新生を抑制するという報告があるため、本研究で見出された C-FOS による *TCF7L2* 遺伝子の発現調節メカニズムは、肝臓における糖新生遺伝子発現に深く関係し、2型糖尿病の発症機序にも関与しうる可能性があることを明らかにしている。

(結論)

著者は、2型糖尿病発症と最も関連のあるリード SNP である rs7903146 と連鎖不平衡にある rs7074440 が、肝細胞において転写因子 C-FOS との結合を介して *TCF7L2* 遺伝子発現を調節している機能性 SNP であることを明らかにした。

審査の結果の要旨

(批評)

著者は本論文において、2型糖尿病発症と最も関連のあるリード SNP である rs7903146 と連鎖不平衡にある rs7074440 が、肝細胞において転写因子 C-FOS との結合を介して *TCF7L2* 遺伝子発現を調節している機能性 SNP であることを示している。rs7074440 の 2型糖尿病発症に与える影響に関しては今後の更なる検討が必要であるが、本論文の 2型糖尿病発症機序解明に果たす意義は大きく、博士論文として優れた内容を有している。

平成 30 年 3 月 7 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。