

氏名	蒲 香苗		
学位の種類	博 士 (生物科学)		
学位記番号	博 甲 第 9 4 5 5 号		
学位授与年月日	令和2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	生命環境科学研究科		
学位論文題目	Dissecting the Intracellular Molecular Mechanisms to Address Pathogenesis of Multifactorial Diseases (多因子疾患の病態形成における細胞内分子メカニズムの解析)		
主査	筑波大学教授	博士 (医学)	千葉 智樹
副査	筑波大学教授	学術博士	橋本 哲男
副査	筑波大学教授	博士 (理学)	稲垣 祐司
副査	筑波大学助教	博士 (工学)	鶴田 文憲

論 文 の 要 旨

多因子疾患の病態形成を理解するためには、多数の遺伝的素因から派生した複雑な細胞内分子ネットワークを解明することが重要である。今日、様々なオミックスデータが活用できるようになり、間接的な相関関係も含んだ分子間ネットワークを客観的かつ網羅的に解析することが可能となっている。そこで本研究において著者は、定量的な解析が可能な遺伝子発現データを活用して、異なる表現型を示すがん細胞サブタイプや患者層の遺伝子発現プロファイルを解析し、多因子疾患の病態に重要な分子メカニズムを解明した。

まず第1章で著者は、様々なサブタイプの存在する急性骨髄性白血病 (AML) の病態に着目した。AML は、複数の遺伝子異常が蓄積する過程でエピジェネティックな特性が変化し、発癌性の遺伝子発現プログラムが実行される多段階発症モデルを示す。Lysine Specific Demethylase 1 (LSD1) はヒストン H3 のリジン残基の脱メチル化酵素であり、エピジェネティックに転写を抑制する転写リプレッサーとして機能する。特に血球系の細胞分化関連因子の発現制御に寄与し、AML において高発現するため、AML 発症及び病態進行との関連性が示唆されている。LSD1 阻害剤を用いて複数の AML 細胞での増殖抑制効果を検証した結果、急性赤白血病(AEL)及び急性巨核芽球性白血病(AMKL)が特に高感受性を示した。そこで AEL 細胞を用いて LSD1 阻害剤処理による遺伝子発現変動を解析した結果、AEL 細胞の特徴である赤芽球様の遺伝子群の発現が低下した一方で顆粒球様の遺伝子群の発現が一様に亢進し、さらに細胞の核も顆粒球様の形態に分葉した。本化合物によって AEL 細胞が顆粒球様細胞へと分化転換したメカニズムを解析した結果、赤芽球系と巨核球系譜への分化に必須な転写因子 Growth Factor-Independent 1B (GFI1B) が LSD1 と相互作用できなくなるために、下流の転写抑制が解除される事が判明した。AEL 細胞のゼノグラフトモデルにおいても、化合物単回投与により顆粒球マーカーである CD86 の発現亢進が認められ、連投による薬効試験では強い抗腫瘍効果が認められた。以上、LSD1-GFI1B 系を含む転写制御因子複合体は血球分化を規定することが判明し、LSD1 阻害化合物が赤芽球系から顆粒球系への分化転換を誘導するモデルが提唱された。

第2章で著者は、治療後の再発率が依然として高いクローン病について解析した。クローン病は免疫細胞側と腸管上皮など非免疫細胞側が相互に影響し合って炎症が慢性化する疾患である。現在の治療薬は抗 TNF α 抗体医薬等、全て免疫細胞を標的としており、非免疫細胞を標的とする薬剤は存在しない。そこで著者は、再発の原因が非免疫細胞においておこる病態メカニズムにあると仮説をたて、その分子メカニズムの抽出を試みた。抗 TNF α 抗体医薬インフリキシマブによる治療で寛解導入した患者群に着目し、インフリキシマブ

投与前後でのクローン病患者大腸の遺伝子発現変化と健常人の遺伝子発現とを比較解析した結果、臨床的寛解に達しても残存する特徴的な遺伝子群があることを見出した。その遺伝子群のエンリッチメント解析の結果、免疫細胞における炎症反応は抑制されていた一方で、腸管上皮細胞において異常増殖と最終分化の抑制を示す遺伝子群の残存していることが予測された。この腸管の異常増殖を示唆する遺伝子群の発現を健常人レベルに正常化させる阻害剤が寛解維持に有効であると考え、*in silico* スクリーニング解析を実施した。疾患特異的遺伝子発現パターンと薬剤特異的遺伝子発現パターンを比較した結果、Mitogen-Activated Protein Kinase (MAPK) 経路の阻害剤が上記遺伝子群と有意に負に相関することが判明した。そこで、その MAPK 活性を抑制する MEK 阻害剤を用いて細胞及び動物モデルでの検証を行った。大腸癌細胞株に MEK 阻害剤を処理した結果、腸管の異常増殖を示す遺伝子群の発現は正常化された。また腸管上皮のバリア機能を模倣した実験系において、MEK 阻害剤処理は腸管上皮の増殖を抑制する一方で細胞分化を誘導することが明らかとなった。さらに大腸炎モデルマウスにおいても薬効及び病理症状の改善が認められた。これらの解析から、*in silico* スクリーニングにより予測された MAPK 経路がクローン病の寛解時に残存する腸管上皮異常増殖に寄与することが実験的に実証された。

以上、著者は膨大な遺伝子発現データから関連分子ネットワークを抽出・予測し、病態形成のメカニズムの一端を解明した。そして分子ネットワークの全体像を解明するには、遺伝子発現情報に加えて、SNP情報、エピジェネティクス制御、プロテオーム、メタボロームなど多階層にまたがるマルチオミックスデータも活用することが重要であると提唱した。

審 査 の 要 旨

本研究で著者は、多因子疾患の遺伝子発現データを活用することで、その病態に関わる複雑な細胞内分子ネットワークを発見することに成功した。さらに本研究では、*in silico*スクリーニングも実施し、今回発見した分子ネットワークが病態形成に重要であることを阻害剤試験で実証した。一連の研究は、病態が複雑である多因子疾患の病態理解に貢献するばかりでなく、新たな治療法を提案するものとして高く評価される。また将来の個別医療に向けた新たな創薬スキームとしてマルチオミックスデータを活用することの重要性を示唆した点で、その学術的価値は高い。

令和2年2月5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に論文の審査及び最終試験を行い、本論文について著者に説明を求め、関連事項について質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって合格と判定された。

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