

# 論文審査の結果の要旨

氏名 金 井 昭 教

本論文は、ヒト培養細胞を用いて転写因子 STAT6 標的遺伝子の同定を行っている。これまでの転写因子の標的遺伝子を研究する際には細胞の種類、状態等を加味せずその全ての標的遺伝子を同列に扱っていたが、本論文ではヒト血球系 B 細胞 (Ramos 細胞) と気道上皮細胞 (BEAS2B 細胞) の 2 種類の細胞を用いてそれぞれの細胞での STAT6 標的遺伝子の比較を行い、それぞれの標的遺伝子の違いとその違いがどのようにして生まれてくるのかについて論じている。

標的遺伝子の同定のため超並列型シーケンサー Illumina GA を用いて STAT6 での ChIP-Seq を行い、Ramos 細胞、BEAS2B 細胞それぞれにおいて 556 種類、467 種類の STAT6 標的サイトを同定した。STAT6 結合サイトの検索のみでは細胞内での真の標的候補を絞り切れないため、実際に STAT6 が結合した近傍の mRNA が変化しているのか調べた。その方法論として mRNA の 5'末端を認識することの出来るオリゴキャップ法と次世代シーケンサーを組み合わせた TSS-Seq を用いた。TSS-Seq を用いることによって各 mRNA の転写開始点を正確に特定し各転写産物がどこから発現しているのか、またそれらを制御する転写因子が結合位置と転写開始点の位置との関係を詳細に示す事が可能となっている。さらにマイクロアレイによる発現解析では既知遺伝子を基にした設計されたプローブ範囲内という限られた領域しか検索出来ないが、シーケンサーを用いることで遺伝子間領域なども含んだゲノム全領域での転写産物との比較を可能としている。シーケンサーを用いてゲノム全体の解析が可能となっている点は ChIP-Seq においても同様である。STAT6 ChIP-Seq と TSS-Seq のデータを組み合わせる事によってゲノム全体で 133 ヶ所 (Ramos)、147 ヶ所 (BEAS2B) の STAT6 標的サイトを同定した。標的サイトと RefSeq 既知遺伝子モデルとの位置関係を調べると既知遺伝子プロモーター領域で 44 ヶ所 (Ramos) と 132 ヶ所 (BEAS2B)、選択的プロモーター領域で 45 ヶ所 (Ramos) と 9 ヶ所 (BEAS2B)、遺伝子間領域(推定非タンパク質コード遺伝子)で 34 ヶ所 (Ramos) と 6 ヶ所 (BEAS2B) にそれぞれ分類された。これらから STAT6 が標的とする遺伝子を両細胞系で比較しているがその種類、細胞内での役割は全く異なっており、各細胞から推測されるコンセンサス配列自体も異なっていた。このような違いを明らかにするために H3K4me3、H3Ac、RNA ポリメラーゼ II (Pol II) の ChIP-Seq を行った。その結果 IL-4 の刺激の有無にかかわらず STAT6 が結合する領域はクロマチンの状態が活性化されている事、またそれはその細胞内では STAT6 が結合していなくても他の細胞で STAT6 結合するサイトであれば同じようにクロマチンは活性化状態である事、さらに STAT6 標

的サイトへの Pol II の結合は Ramos 細胞では IL-4 非依存的であるが、BEAS2B 細胞では IL-4 依存的であり、細胞で転写制御が異なる可能性を示唆した。両細胞でのこのような転写制御の違いが細胞特異的な転写因子によって起きているのではないかと推定し、転写因子のコンセンサス配列と TSS-Seq のデータから Ramos 細胞では FAC1 などが、BEAS2B 細胞では CEBPG などの転写因子が細胞特異的な作用を担っている事を示唆した。

超並列型シーケンサーを用いて多段階による転写の様々なステップのゲノムワイドなデータを得る事によって、同じ転写因子であっても細胞によって全く異なる働きを促していることを明らかにするが可能となっている。今後、ゲノムデータから導き出された結果から細胞、組織、個体レベルの生化学的な検証へと進めていく必要があるが、本論文によって示されている STAT6 の細胞ごとの標的遺伝子のカタログ化は IL-4・STAT6 シグナルの免疫系での様々な役割を説明していく上で有用なリソースとなることが期待される。

なお、本論文は、鈴木健太氏・水島純子博士・鈴木穰博士・菅野純夫博士との共同研究であるが、論文提出者が主体となって実験及び解析を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。