

渡邊 丈久氏の学位論文審査の要旨

論文題目

肝細胞癌におけるヒト TNF/LT 遺伝子座の高次クロマチン変換と
遺伝子制御

(Spatiotemporal regulation of higher-order chromatin and gene expression
in human TNF/LT locus in hepatocellular carcinoma cells)

細胞の炎症応答は、一連の遺伝子発現プログラムで実行されている。TNF/LT α /LT β のサイトカインは炎症・組織修復や腫瘍化に関わっており、これらの遺伝子は TNF/LT 遺伝子座に位置して NF- κ B 経路で調節されている。このような遺伝子クラスターでは、プロモーター、エンハンサー、インスレーター（クロマチンの境界）が重要な役割を果たすことが判明してきたが、ヒト TNF/LT 遺伝子座における転写調節と高次クロマチンの制御については不明である。本論文では、炎症と腫瘍化が強く関連する肝細胞において、インスレーターと高次クロマチン構造に関わる CCCTC-binding factor (CTCF) が TNF/LT 遺伝子座の制御に果たす役割、炎症応答における TNF/LT 遺伝子座の 3 次元のクロマチン構造の変換を明らかにすることを目的とした。

申請者は、TNF/LT 遺伝子座にエンハンサー遮断活性をもつ 4 つの CTCF 集積部位 (TC1~TC4)、TNF 刺激応答性のエンハンサー (TE2) を見出した。そのうち TC3 は、NF- κ B 経路で早期に活性化される LT α /TNF プロモーターと TE2 を含むドメイン、遅れて活性化される LT β プロモーターを含むドメインの間に位置してクロマチン境界と考えられた。CTCF をノックダウンした Hep3B 細胞では、TNF の発現は低下し、他方、LT β の発現は増加した。3C 法では、TNF 刺激の後、最初に TNF/LT 遺伝子座全体が収縮して、TE2 と LT α /TNF プロモーターが相互作用した。その後遺伝子座全体が弛緩し、TE2 と LT β プロモーターが相互作用していた。肝細胞癌組織で TNF のみ陽性、TNF/LT β の共陽性は認めしたが、LT β のみ陽性の症例はなかった。

審査においては、①慢性疾患、肝硬変における TNF/LT 遺伝子座の時空間的動態との関連、② TNF/LT 遺伝子座の各制御配列の相互作用の機序、④ TNF/LT 遺伝子座の時空間的動態モデルの作用機序、⑤ CTCF の結合配列の多様性と疾患との関連、⑥ CTCF の量的な制御の有無について、⑦今後の研究の方向性などについて質疑応答がなされ、発表者から概ね適切な回答が得られた。

本論文は、CTCF は、TNF/LT 遺伝子座の転写調節とともに、高次クロマチン構造の時空間的な変換に関与することを明らかにしたものであり、肝細胞における NF- κ B 経路の活性化に伴い、インスレーターの相互作用でクロマチン構造の収縮、その後の弛緩が調節されて、エンハンサーとプロモーターの選択性がなされている可能性を示したものであり、クロマチン高次構造による遺伝子転写制御の分子機構の解明、そして炎症と腫瘍化の病態解明に寄与する可能性が期待され、学位の授与に値するものと評価した。

審査委員長 多能性幹細胞学担当教授

岸 昭 範