



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Ewing 肉腫原因遺伝子 EWS-FLI1 の クロマチンリモデリング機能と FOXQ1 との協調作用 [論文内容及び審査の要旨]
Author(s)	清水, 六花
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(歯学)
Dissertation Number	甲第13057号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70720
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Rikuka_Shimizu_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称 博士（歯学） 氏 名 清 水 六 花

主査 教授 北 川 善 政
副査 教授 鄭 漢 忠
副査 教授 田 村 正 人
副査 部長 中 村 卓 郎
(がん研究会がん研究所)

学 位 論 文 題 名
Ewing 肉腫原因遺伝子 EWS-FLI1 の
クロマチンリモデリング機能と FOXQ1 との協調作用

審査は審査担当者全員の出席のもと、はじめに申請者より提出論文の概要の説明が行われ、審査担当者が提出論文の内容および関連した学問分野について口頭により試問する形式で行われた。審査論文の概要は以下の通りである。

骨軟部肉腫の一部では腫瘍特異的な染色体転座によって生じた融合遺伝子が腫瘍の増殖、維持、転移に大きな役割を果たしている。小児や若年者で多く発症するEwing肉腫(ES)の原因遺伝子EWS-FLI1(EF)はESの発生や進展に深く関与している。EFは、ETS binding site (EBS) やGGAA microsatellites(GM) に結合して下流遺伝子 発現を制御しており、とくにGMへの結合はクロマチン構造を変換し、標的遺伝子の発現を活性化することが報告されている。しかし、ゲノム上のGMの分布は動物種により全く異なっている。当研究室で作製したヒトESと病理組織学的特徴及び遺伝子発現が類似したESマウスモデルを利用してEFの機能を検討した。マウスES細胞株を用いてクロマチン免疫沈降シークエンス(ChIP-seq)により、EFの結合領域と周囲のエピゲノム環境を明らかにした。またマイクロアレイ解析によるマウスESの遺伝子発現データと比較してEF標的遺伝子を同定するとともに、その機能解析を行った。

ChIP-seqの結果、EFの結合ピーク576が同定された。結合ピークのモチーフ解析にてEBSやGMが多く検出され、GMを含む結合領域の88%はHistone H3K27Acの結合ピークと重複していた。また、EFの結合領域内にFox family転

写因子の結合モチーフが多く検出された。ヒトとマウスのESでは、Foxq1の発現亢進がみられ、Foxq1は融合型FLI1に特異的に結合することが免疫共沈実験によって確認された。ChIP-seqと遺伝子発現プロファイルの比較から同定されたEFの標的遺伝子候補26個の内、GMとFox結合配列の両者が近接するTrib1、Nrg1のEF結合領域が、EFとFoxq1に制御されるエンハンサー領域である可能性が示唆された。さらに、Trib1またはNrg1をノックダウンするとESの増殖抑制効果が認められた。

以上の結果から、マウスESにおいてもヒトと同様に、EFのGMを介した制御機構が重要である可能性が示唆された。さらにEFとFoxq1の会合は、EWSを介した両者の物理的結合がTrib1やNrg1をはじめとする一部のEF標的遺伝子の協調的発現制御に重要であると考えられた。

論文審査にあたり、論文申請者による研究要旨の説明後、本研究ならびに関連する研究について口頭試問が行われた。主な質問事項は、1) EWS-FLI1とFoxq1の協調作用は転写産物のタンパク質を介しての相互作用によるものか、2) 免疫共沈実験に使用した細胞の性質について、3) EWS-FLI1とFoxq1の協調支配をうける標的遺伝子候補の選出方法、4) ヒトとマウスESでのゲノム上の相違の解釈、5) 他のがんでのGMを介した転写制御機構の有無、6) 本研究の今後の展望等であった。

これらの質問に対し、申請者から適切かつ明快な説明が得られ、今後の研究計画を含め研究の立案および遂行、結果の収集とその評価について申請者が十分な能力を有していることが確認された。本研究ではESにおけるGMを介したEFの種を超えた機能の重要性を示したことに加え、Foxq1がEFの協調遺伝子としてESの増殖に関与する新規標的遺伝子Trib1とNrg1の転写制御に関与していることが示され、新たな治療法開発の可能性に繋がる内容が学術的に高く評価された。申請者は関連分野にも十分な学識を有していることが確認され、発展的研究に対しての意欲においても将来有望であると評価された。以上のことから、本研究業績が博士（歯学）の学位に値するものと認められた。