

審査の結果の要旨

氏名 伊 澤 直 広

本研究は骨代謝に重要な役割を果たす破骨細胞の分化過程におけるエピジェネティクスの働きを明らかにするため、マウスから採取した骨髄マクロファージを M-CSF、RANKL により破骨細胞へ分化誘導する系において、ヒストン修飾の変化と転写因子の結合部位の網羅的な解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. マウス由来の骨髄マクロファージと破骨細胞へ分化誘導した細胞に対して、H3K27ac ChIP-seq と FAIRE-seq を行うことによりゲノム上の活性化領域を抽出した。これら活性化領域にはいずれの細胞での PU.1 の結合モチーフが濃縮していた。
2. 骨髄マクロファージおよび破骨細胞で PU.1 ChIP-seq を行い PU.1 結合領域を抽出した。2つの細胞間での PU.1 結合領域の部位は異なり、骨髄マクロファージに固有の PU.1 結合領域には IRF の結合モチーフが、破骨細胞固有の PU.1 結合領域には NFATc1 の結合モチーフが濃縮していた。
3. IRF8 は骨髄マクロファージの分化に重要な遺伝子である事が知られており、RNA-seq で骨髄マクロファージから破骨細胞への分化過程で発現が減少することが示された。また、NFATc1 は破骨細胞の分化過程で重要な遺伝子であることが知られており、RNA-seq では破骨細胞の分化に伴いその発現が大きく上昇した。これらのことから骨髄マクロファージにおいて IRF8 ChIP-seq を、破骨細胞において NFATc1 ChIP-seq をおこなった。
4. これらの ChIP-seq から得られた結果の重なりを解析すると、骨髄マクロファージ固有の PU.1 結合領域には NFATc1 と比較して有意に IRF8 が、また破骨細胞固有の PU.1 結合領域には IRF8 と比較して有意に NFATc1 が多く重なっていた。また、骨髄マクロファージ固有の PU.1 結合領域で IRF8 も結合する領域の近傍の遺伝子群では破骨細胞よりも骨髄マクロファージで発現が有意に上昇しており、逆に破骨細胞固有の PU.1 結合領域のうち NFATc1 も結合する領域の近傍の遺伝子群では骨髄マクロファージに比べて破骨細胞において発現が有意に上昇していた。
5. 以上の結果から、RANKL 誘導性破骨細胞分化過程において、PU.1 がそのパートナー転写因子を IRF9 から NFATc1 にスイッチしてその結合領域を変化させ、細胞特異的な遺伝子群の発現を制御していることが明らかとなった。

以上、本論文はマウス由来骨髄マクロファージを用いた破骨細胞の分化誘導系に

において、ヒストン修飾と転写因子結合領域の網羅的解析から、**IRF8** と **NFATc1** の発現変化による **PU.1** の結合領域の変化および **IRF8** と **NFATc1** により制御される遺伝子の変化を明らかにした。それぞれの転写因子について破骨細胞分化との関与は既知であったが、**PU.1** と **IRF8**、**NFATc1** との共役関係の変化については未知であった。破骨細胞分化におけるこれらの転写因子の挙動による細胞運命決定が解明されたことは今後の破骨細胞を含めた骨代謝研究に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。