

審査の結果の要旨

氏名 間野かがり

本研究は神経細胞におけるアルツハイマー病(AD)の転写制御機構を明らかにするため、剖検脳から神経細胞核を分取しヒストン修飾解析を行う系を確立させると共に、確立した系を用いて AD における神経細胞特異的なヒストン修飾解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. 神経細胞特異的に網羅的なヒストン修飾解析を行うにあたり、神経細胞核を FACS(fluorescence activated cell sorting)を用いて分取の上、ChIP(Chromatin immunoprecipitation)-seq を行なった。その系の確立においては、ヒストンタンパクとゲノム DNA とを固定するタイミングを核のソートよりも前に行うことが DNA の収率の安定化につながった。また、収率と S/N 比の良いデータの取得には免疫沈降の際に使用するヒストン修飾の抗体量を適切に設定することが必要であった。
2. 確立させた系を用いて、剖検脳からバルク脳、神経細胞、非神経細胞の核を取得し、ChIP-seq の上、得られたヒストン修飾情報を比較検討した結果、神経細胞特異的なヒストン修飾情報が存在することが示された。
3. AD20 例および正常コントロール(NC)20 例の剖検脳から神経細胞核を取得し、active promotor 領域と関連のある H3K4me3 及び、active enhancer 領域と関連のある H3K27ac について AD 特異的なヒストン修飾変化を探索した。その変化を捉えるにあたり、転写が活性化しているオープンクロマチン領域を ATAC-seq (Assay for Transposase Accessible Chromatin Sequencing)を用いて同定した上でその領域に特化したヒストン修飾情報の絞り込みを行なうことでより感度を高めることができた。最終的に疾患特異的なヒストン修飾領域を H3K4me3 ChIP-seq からは 22 領域、H3K27ac ChIP-seq からは 4 領域を特定した。
4. AD 特異的に変化の見られたヒストン修飾領域に対して、転写制御メカニズムを考慮しアノテーション付けを行なった結果、AD の神経細胞でヒストン修飾状態が変化している遺伝子を 42 個見いだした。それらの中には、AD における脳内蓄積タンパク質である A $\beta$  の産生や代謝に関与することが知られる遺伝子を含む他、本研究において初めて AD における発現変動が示唆された遺伝子を 28 個認めた。また、変化の大きな領域に対する Gene ontology 解析では、H3K4me3 ChIP-seq 解析の結果から、オートファジーに関連する term が濃縮され、term に割付される遺伝子のコードするタンパク質の多くは、mTOR, Beclin1 を中心とするパスウェイ上に存在しており、同経路の転写制御機構にヒストン修飾が関わっていることを示唆する結果であった。
5. AD 特異的なヒストン修飾変化領域に対してモチーフ解析を行なった結果、どちらの

ヒストン修飾においても **C2H2 finger class** のモチーフが検出され動員される転写因子の共通性が示唆された。

以上、本論文は神経細胞特異的なヒストン修飾解析の系を確立させた上、AD の神経細胞における探索を行い、 $A\beta$  代謝経路の一部やオートファジーの主要経路にヒストン修飾による転写制御機構が存在する可能性を示した。本研究はアルツハイマー病の神経細胞における転写制御機構の解明に重要な貢献をなすと考えられる。

よって本論文は、博士(医学)の学位請求論文として合格と認められる。