

論文審査の結果の要旨

氏名 南波 宏枝

Epstein-Barr ウイルス (EBV) 陽性胃癌は遺伝子プロモーター領域において DNA 異常高メチル化を呈すること、また胃上皮細胞株への EBV 感染実験により EBV 感染自体が高メチル化の原因であることが知られる。この時メチル化誘導を受けるプロモーター領域の中には、転写開始点近傍 (TSS) のみメチル化の入らない遺伝子が存在する。これらメチル化に抵抗する領域や、メチル化が誘導されない遺伝子において、メチル化誘導に抵抗する何らかの因子の存在が考えられた。胃上皮細胞株に EBV を感染し、その前後での遺伝子発現を RNA-seq 解析により網羅的行ったところ、脱メチル化酵素として働く TET 酵素ファミリー、中でも *TET2* が EBV 感染後に発現低下することを認めた。本論文では *TET2* の機能解析を行い、以下 3 点について解明した。

1. 「*TET2* 強制発現による、ヒドロキシメチル化標的遺伝子と EBV 感染時メチル化標的遺伝子の重複」
TET2 強制発現株を作成し、hMeDIP-seq を行い、TET2 強制発現下に TSS 近傍にヒドロキシメチル化を獲得する遺伝子を抽出した。これらの TET2 標的遺伝子のうち有意に多くの遺伝子が ($P < 1 \times 10^{-15}$) EBV 感染によるメチル化標的遺伝子と重なった。それらの重複遺伝子は、TET2 強制発現によりヒドロキシメチル化を誘導した際メチル化レベルが低下していた。
2. 「*TET2* ノックダウン株への EBV 感染による更なる高メチル化」
コントロールの shRNA (shCTRL) を導入した細胞株で EBV を感染させると、新規メチル化誘導遺伝子は 1008 個であった。shTET2 導入株で EBV を感染させると、有意に多くの遺伝子にメチル化が誘導された。shCTRL 株の EBV 感染ではメチル化が誘導されなかったにも関わらず、shTET2 株の EBV 感染ではメチル化が誘導される遺伝子は 1419 個存在した。そのうち約半数の遺伝子では、プロモーター領域全体にメチル化が入っていたが、残りの半数ではプロモーター領域にメチル化の誘導は起きていたが転写開始点近傍のみメチル化が入っていなかった。続いて、shCTRL 株に EBV 感染したときに、メチル化が誘導されるも転写開始点近傍ではメチル化が入らないようなメチル化部分抵抗性遺伝子に着目した。そのうち 20% 以上の遺伝子が、shTET2 株で EBV 感染すると部分抵抗性が消失しプロモーター全域にメチル化が誘導された。遺伝子発現も、転写開始点近傍でメチル化に抵抗しているときは発現低下しないが、プロモーター全域にメチル化が入ると有意に発現低下を示した。
3. 「*TET2* ノックダウンのみによる効果」
shCTRL 株と shTET2 株を EBV 感染を行わない状態で比較し、TET2 ノックダウンのみによる効果を検討したところ、shCTRL 株に比べ shTET2 株で新たにメチル化する遺伝子は 1 つも抽出されなかった。

これらの内容から、EBV 感染によるメチル化誘導において、TET2 によるヒドロキシメチル化がメチル化抵抗因子として働き、TET2 発現低下による抵抗性の低下に加え、EBV 感染によるメチル化圧を上昇させる何らかの因子により、新規メチル化が誘導されることが示された。

以上の結果は論文提出者が主体となって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 (医科学) の学位を授与できると認める。

以上 1413 字