

本研究は、角膜上皮細胞の特異的遺伝子と特異性を規定する転写因子を明らかにするため、ヒト角膜上皮細胞のAffymetrix Human Exon 1.0 ST array (Exon array)とmRNA-sequencing (mRNA-seq)による網羅的遺伝子発現解析とFormaldehyde-Assisted Isolation of Regulatory Elements (FAIRE)-sequencingによるゲノムワイドなクロマチン構造解析を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. Exon arrayにて81個のヒト正常組織・培養細胞と比較して角膜上皮細胞(組織)で特異的に発現しているマーカー遺伝子候補を52個見出した。その中には既報のマーカー遺伝子であるKRT12、KRT3も含まれていた。特にKRT12は、今回調べた81個のヒト正常組織・培養細胞に発現しているサンプルは認められず、最も特異性の高いマーカー遺伝子であることが示された。
2. 無血清・無フィーダー培養による初代培養角膜輪部上皮細胞と、角膜上皮細胞株におけるマーカー遺伝子の発現をmRNA-seqを用いて探索した。初代培養細胞において発現(FPKM>1)が確認できたのは、52個の角膜上皮特異的遺伝子のうち47個であり、KRT12、KRT3のいずれも発現が確認された。一方、細胞株において発現(FPKM>1)が確認できたのは、52個の角膜上皮特異的遺伝子のうち30個に留まり、KRT12、KRT3は発現していなかった。初代培養細胞では52個のマーカー遺伝子の多くが発現している一方、角膜上皮細胞株ではその発現が限定されることが示された。
3. 角膜上皮細胞(組織)のFAIRE-seqを行い、ゲノムワイドに35,952箇所のヌクレオソーム・フリー領域を同定した。ヒト9細胞と比較することにより、2,622箇所の角膜上皮特異的エンハンサー領域を同定した。角膜上皮特異的マーカーKRT12やKRT3近傍にも角膜上皮特異的エンハンサー領域が存在した。
4. 2,622箇所のエンハンサー領域に濃縮している特徴的な転写因子の結合配列(モチーフ)を解析したところ、モチーフが濃縮しておりかつ角膜上皮細胞で発現が上昇している転写因子が13個同定された。このうち7転写因子はKRT12近傍のエンハンサー領域にモチーフが確認されたことから、角膜上皮の特異性を規定する可能性が高い転写因子と考えられた。

以上、本論文はヒト角膜上皮細胞において、ゲノムワイドな遺伝子発現とヌクレオソーム・フリー領域の解析から、角膜上皮細胞の特異性を規定する可能性のある7転写因子を明らかにした。本研究はこれまで未知に等しかった、角膜上皮細胞の特異性を規定する転写因子のネットワーク網の解明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。