

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※ 甲 第 12841 号
------	---------------

氏 名 安藤 達哉

論 文 題 目

Identification of differentiation regulators based on transcriptional heterogeneity
(転写の不均質性に基づく分化制御因子の特定)

論文審査担当者

主査	名古屋大学	教授	本多 裕之
委員	名古屋大学	教授	清中 茂樹
委員	名古屋大学	准教授	中柄 昌弘
委員	名古屋大学	准教授	加藤 竜司
委員	名古屋大学	准教授	清水 一憲

論文審査の結果の要旨

安藤達哉氏提出の論文「Identification of differentiation regulators based on transcriptional heterogeneity (転写の不均質性に基づく分化制御因子の特定)」は、不均質性の中でも遺伝子転写のばらつきに注目し、神経細胞やグリア細胞分化における転写ばらつき変化とその制御を体系的に解析することで転写ばらつきの基本的な性質を明らかにするとともに、分化過程でのばらつき挙動を利用して分化制御因子を特定した。本論文は、研究背景を記述する第1章、神経細胞分化における転写のばらつきから神経分化制御遺伝子を特定した第2章、転写不均質性解析をアストロサイト分化にも拡張できることを示した第3章、および本論文の結論を与える第4章の合計4章から構成されている。各章の概要は以下の通りである。

第1章では、細胞集団の不均質性研究の歴史と現在までの知見、不均質研究と疾患治療応用への課題、近年の測定技術や解析理論の発展による新しい研究の可能性について述べている。細胞集団間の不均質性はこれまで実験的に証明することが難しいことから、その現象の多くが無視され、生物学的に意味のあるばらつきというより技術的なノイズとして扱われてきた。細胞分化という現象においては、少数の分化マーカーなどの前もって選ばれた遺伝子に注目して、いくつかの細胞およびタンパクや遺伝子発現の不均質性の研究が行われてきた。近年、細胞塊集団の平均値でなく1細胞ごと遺伝子発現プロファイルを測定できるSingle cell RNA-seq技術が開発され、細胞間の転写ばらつきをより正確に評価できるようになってきた。しかし、神経細胞やアストロサイト分化における転写ばらつき挙動を体系的に解析した研究はなかった。また、細胞などの急激な状態変化を扱う動的システム理論の生物学分野での発展から、急激な変化前に現れる指標を解析することの着想を得て、実現可能性が高くなってきた新規データ解析手法を提案している。

第2章では、動的システム理論に基づくデータ解析により、神経細胞分化における転写のばらつきの挙動を明らかにし、特徴的な挙動を示す遺伝子を検出することで神経分化制御因子を特定した。本データ解析法は、マウスの胚性幹細胞において互いに発現パターンの似ている（共発現している）遺伝子群の大きなばらつきが、神経分化とともに小さくなるという現象を検出できた。これらばらつきと共発現の指標が神経分化により大きく減少する遺伝子群は、体節の調整や神経の移動、転写制御など分化や発達に関わる遺伝子を有意に多く含むことを見出した。さらにこれらの遺伝子群は神経分化に遺伝的に関連し、神経分化を上流で制御している遺伝子が有意に多いということを示した。これらの結果から分化前のばらつき挙動変化の検出は、神経分化を予測可能なバイオマーカーとなりうるが、それだけでなく分化制御因子の特定にも有用である可能性が考えられた。また、これらの遺伝子の転写挙動変化は、マウス胚性幹細胞の神経分化だけでなく、ヒトiPSC細胞でも同様に見られることを示した。

第3章では、第2章の神経分化での転写不均質性解析をアストロサイトに拡張し、最近公開されたアストロサイト分化時の1細胞転写プロファイルデータを動的システム理論の観点から解析することで、アストロサイト分化における転写不均質性の解明を行った。神経幹細胞において互いに共発現している遺伝子の転写ばらつきを、未分化状態とアストロサイト細胞分化状態で比較したところ、未分化状態で大きいばらつきが分化状態では小さくなっていることを見出した。これは神経分化時で検出できた転写不均質性と同じ挙動であった。転写のばらつきと類似性が大きく変化する遺伝子を特定したところ、アストロサイト分化に関わる遺伝子が有意に多く含まれることも示した。転写メカニズムとして、これらの遺伝子は既知の神経幹細胞での振動遺伝子である転写因子Ascl1に制御されている可能性が高いことを示唆する結果を得た。ばらつきおよび他の遺伝子との発現パターンの類似性が分化により大きく変化し、Ascl1と同一転写制御下にあるNstr2を化合物で阻害したところ、Nstr2が神経幹細胞からアストロサイト分化の初期細胞運命決定に重要な役割を果たすことを見出すことができた。

第4章では、本研究の結論を与えている。

以上のように、本論文では事前の仮説なしで体系的に転写データを解析する基盤となるワークフローを構築し、これらを分化時遺伝子発現データに適用することで細胞不均質性の特性や分子メカニズムに対する洞察を得ることを示した。さらにデータ駆動型仮説生成により不均質性解析から分化制御因子を特定できるという仮説を立て、生物学的実験によりこの仮説を実証した。本研究で構築したデータによる仮説生成から実験検証に至る細胞不均質性研究の基盤は、再生医療に必要な細胞の製造工程を変革し、効率的で安全なものにし、細胞医療の実現を加速するものと期待され、工学の発展に寄与するところが大きいと判断できる。よって、本論文の提出者である安藤達哉氏は博士（工学）の学位を受けるに十分な資格があると判断した。