

Title	PAX6 Isoforms, along with Reprogramming Factors, Differentially Regulate the Induction of Cornea-specific Genes
Author(s)	佐々本, 弦
Citation	大阪大学, 2016, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/55817
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 ＜a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">大阪大学の博士論文について＜/a> をご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

論文内容の要旨

Synopsis of Thesis

氏 名 Name	佐々本 弦
論文題名 Title	PAX6 Isoforms, along with Reprogramming Factors, Differentially Regulate the Induction of Cornea-specific Genes (PAX6アイソフォームはリプログラミング因子と共に差異的に角膜特異的遺伝子の誘導を制御する)
論文内容の要旨 〔目的(Purpose)〕 PAX6は眼発生に重要な転写因子で、DNA結合領域の構造の違いから2つのメジャーなアイソフォーム (PAX6 isoform-a, isoform-b) がある。角膜上皮におけるこれらアイソフォームの役割は不明である。そこで2つのPAX6アイソフォームをPAX6陰性の口腔粘膜上皮細胞に遺伝子導入し、角膜特異的遺伝子(ケラチン12 [KRT12]、ケラチン3 [KRT3])を誘導し、その制御機構を明らかにすることを目的とした。 〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕 2つのPAX6アイソフォームおよびリプログラミング因子(山中4因子: OCT4、SOX2、KLF4、c-Myc)を口腔粘膜上皮細胞にレンチウイルスを用いて遺伝子導入した。すると、PAX6 isoform-b-OCT4-KLF4の組合せでKRT12が誘導され、PAX6 isoform-a-KLF4もしくはPAX6 isoform-a単独で十分なKRT3が誘導された。 レポーターアッセイではPAX6 isoform-aがKRT3の上流に作用することが示された。PAX6のDNA結合領域 (PAI domainとRED domain)の変異体を用いると、角膜上皮特異的ケラチンの誘導効率は下がり、PAI domain、RED domainがともに角膜上皮特異的ケラチンの誘導に必要であった。RNA-seqのデータから遺伝子制御ネットワークを予測することで、PAX6を含む様々な転写因子とそれにより制御される遺伝子との関係が明らかになった。シングルセル遺伝子発現解析からはKRT12の誘導には導入遺伝子の高レベルでの発現が必要であることがわかった。Nanogなどの多能性マーカーの発現解析およびG9a histone methyltransferase選択的阻害剤併用実験の結果から、KRT12の誘導にはOCT4によるエピゲノム修飾が関わっている可能性が考えられた。また、異なる胚葉由来の細胞数種を用いて角膜上皮特異的ケラチンの誘導を試みたところ、表面外胚葉由来細胞がその誘導に適していることが明らかになった。 〔総括(Conclusion)〕 2つのPAX6アイソフォームは上皮細胞において異なる遺伝子制御能を示し、リプログラミング因子と組み合わせることで角膜上皮特異的遺伝子の誘導が可能であった。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名)		佐々本 弦	
論文審査担当者	(職)	氏 名	
	主 査	大阪大学教授	西田 孝二
	副 査	大阪大学教授	高 島 太二
	副 査	大阪大学教授	玉 中 克一

論文審査の結果の要旨

本研究は、上皮細胞における転写因子PAX6の2つのアイソフォーム（アイソフォームaとアイソフォームb）およびプログラミング因子のOCT4とKLF4の役割を解明したものである。角膜特異的遺伝子のケラチン3がPAX6アイソフォームaの遺伝子導入により、ケラチン12がPAX6アイソフォームb、OCT4、KLF4の同時遺伝子導入により誘導された。また、角膜特異的遺伝子等がどのように誘導されたかを詳細に検討し、KLF4は上皮分化を促すこと、ケラチン12の誘導にはエピゲノム修飾が必要なこと、表面外胚葉由来細胞が角膜特異的遺伝子の誘導に有利であることなどを明らかにした。これらの知見は、将来、口腔粘膜上皮細胞などの非角膜上皮細胞から角膜上皮細胞を誘導し、角膜上皮疾患患者の治療に用いる、という治療法の確立に欠かせないものである。

上記のような理由から本研究は学位に値するものと認める。