

Title	A human isogenic iPSC-derived cell line panel identifies major regulators of aberrant astrocyte proliferation in Down syndrome
Author(s)	川谷, 圭司
Citation	大阪大学, 2021, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/85293
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。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

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

Osaka University

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	川谷 圭司
論文題名 Title	A human isogenic iPSC-derived cell line panel identifies major regulators of aberrant astrocyte proliferation in Down syndrome (同一遺伝的背景をもつヒトiPS細胞由来細胞株パネルを用いて、ダウン症候群におけるアストロサイト異常増殖の主要調節因子を同定する)
論文内容の要旨	
<p>〔目的(Purpose)〕</p> <p>ダウン症候群は先天性心疾患、認知障害、血液疾患など様々な合併症を生じる最も頻度の高い症候群である。21番染色体トリソミーによる遺伝子発現量の増加がダウン症候群の症状を引き起こすと考えられているが、どの遺伝子の組み合わせが病態につながるのかわからない。我々は疾患特異的ヒトiPS細胞とゲノム編集技術を組み合わせ、ダウン症候群における病態責任遺伝子の同定を可能にする実験モデルの樹立を目指した。</p>	
<p>〔方法ならびに成績(Methods/Results)〕</p> <p>健常児の剖検脳と比べ、ダウン症候群の剖検脳ではアストロサイトが多く存在するとされ、過剰なアストロサイトが認知障害の一因となると考えられている。我々はすでにダウン症候群由来iPS細胞から分化させたアストロサイト前駆細胞 (Tri21 APC) が、健常児由来と比べ増殖速度が亢進するという表現型を見出し、本研究での標的細胞をAPCとして増殖速度に関する責任遺伝子特定を目指した。</p> <p>病態責任遺伝子を同定するためには、21番染色体上の遺伝子発現量が多様な組み合わせで3コピー、あるいは2コピー分となった部分トリソミーiPS細胞ライブラリの樹立と、それら発現量の違いによってもたらされる明確な細胞表現型を見出すことが重要となる。我々は染色体不活化をもたらす<i>XIST</i>遺伝子に注目し、これを3本ある21番染色体の1本のみに挿入することで、21番染色体1本の不活化、つまりダイソミー化を行うことを目指した。ダウン症候群由来iPS細胞の21番染色体のうち1本に、Tet発現誘導性<i>XIST</i>を挿入した細胞株 (<i>XIST</i>-Tri21 iPSC) を樹立した。Doxycycline 投与なし (Dox OFF)、投与あり (Dox ON)、一定期間Dox投与後に再度中止 (Dox removal) することでの<i>XIST</i>-Tri21 APCの表現型の変化を解析した。APCの増殖速度、遺伝子発現プロファイルなどの解析を行い、APC異常増殖の責任遺伝子の特定を試みた。</p> <p><i>XIST</i>-Tri21 APCは、Dox OFFの状態では健常細胞に比較して増殖速度は亢進したが、Dox ONにより増殖速度は低下し健常細胞と同程度となった。Dox removalではAPCの増殖速度は再び上昇した。この表現型を遺伝子発現プロファイルと比較することで、責任遺伝子を<i>DYRK1A</i>、<i>PIGP</i>、<i>DSCR3</i>の3つに絞り込んだ。<i>DYRK1A</i>に対してCRISPR/Cas9 systemを用いて、<i>DYRK1A</i>の発現コピー数を減少させることで、APCの増殖速度が低下することを見出した。<i>DYRK1A</i>阻害剤を用いても同様にAPCの増殖速度は低下した。また、<i>PIGP</i>、<i>DSCR3</i>に関しては、<i>piggyBac</i> transposon systemを用いて、それぞれ遺伝子の強制発現を行うことで解析を行った。<i>PIGP</i>の強制発現においてAPCの増殖速度は亢進したが、<i>DSCR3</i>に関しては増殖速度に変化はなかった。またそれぞれSiRNAを用いてknockdownを行うと、SiPIGPでは増殖速度は低下したが、SiDSCR3では増殖速度に変化はなかった。以上の結果より、APC異常増殖に関連する遺伝子として<i>DYRK1A</i>、<i>PIGP</i>を同定した。</p>	
<p>〔総括(Conclusion)〕</p> <p>遺伝的背景が同一である細胞株パネルを用いて、APC増殖責任遺伝子を特定した。今後もこの実験モデルを用いて他の細胞においても実験を行い、ダウン症候群における病態解明をさらに進めていきたい。</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) 川谷 圭司	
論文審査担当者	(職) 氏 名
	主 査 大阪大学教授 大岡 恵一
	副 査 大阪大学教授 湖井 陽夫
	副 査 大阪大学教授 山下 俊英
論文審査の結果の要旨	
<p>申請者は、ダウン症候群由来iPS細胞 (Tri21 iPSC) に対して様々なゲノム編集技術を用いて、細胞株パネルを作成し、iPS細胞から分化させたアストロサイト前駆細胞 (APC) の増殖促進遺伝子の特定を行った結果を論文として発表した。Tri21 iPSCの21番染色体のうち1本に、Tet発現誘導性<i>XIST</i>を挿入した細胞株 (<i>XIST</i>-Tri21 iPSC) を樹立した。Doxycycline投与なし (Dox OFF)、投与あり (Dox ON)、一定期間Dox投与後に再度中止 (Dox removal) することでの<i>XIST</i>-Tri21 APCの表現型の変化を解析した。結果は、<i>XIST</i>-Tri21 APCは、Dox OFFの状態では健常細胞と比較して増殖能は亢進したが、Dox ONにより増殖能は低下し健常細胞と同程度となった。Dox removal とすると、APCの増殖能は再び亢進した。この表現型を遺伝子発現プロファイルと比較し、また追加のゲノム編集を行い、APC異常増殖に関与する遺伝子 (<i>DYRK1A</i>・<i>PIGF</i>) を同定した。今後もこの実験モデルを用いることでダウン症候群のさらなる病態解明が期待される結果であった。以上の論文を審査した結果、学位に値するものと認める。</p>	