

論文の内容の要旨

論文題目 ヒト角膜における細胞種特異的な遺伝子発現およびクロマチン構造解析

氏名 中川卓

角膜上皮は、非角化重層上皮であり、特異的なマーカーとして **KRT12** と **KRT3** が報告されているが、このような角膜上皮細胞の特異性を規定する転写因子は明らかでない。本研究では、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行うことにより、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の同定を目的とした。

まず、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 **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。

次に、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。

さらに、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。

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** 近傍の角膜上皮特異的エンハンサー領域にモチーフが確認され、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。