

論文審査の結果の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（歯学）	氏名	中野 将志
学位授与の条件	学位規則第4条第①・2項該当		
論文題目 機械学習によるシングルセルレベルでのマウス骨芽細胞の多様性 (The diversity of mouse osteoblasts at the single cell level, using machine learning)			
論文審査担当者			
主査	教授 柴 秀樹	印	
審査委員	教授 二川 浩樹		
審査委員	教授 谷本 幸太郎		
〔論文審査の結果の要旨〕			
<p>骨髄間葉系幹細胞は骨芽細胞，脂肪細胞，軟骨細胞等複数の細胞に分化する。骨形成を終えた骨芽細胞の多くはアポトーシスにより死滅する一方，一部は骨細胞またはライニング細胞に分化するが，これらの運命決定を担う機構は不明な点が多い。近年の次世代シーケンサーの登場により，塩基配列の解析速度および精度は飛躍的に向上したため，シングルセルレベルでの解析が可能となり，個々の細胞の性質を多面的に追うことが出来るようになった。本研究では，機械学習による骨芽細胞の多様性に関わる分子基盤をシングルセルレベルで推定することを試みた。また，同解析により得られた <i>Cd34</i> の発現を特徴とするユニークなクラスターの存在を <i>in vivo</i> で確認した。</p> <p>骨芽細胞の細胞膜に蛍光タンパク <i>Venus</i> を発現するレポーターマウスを作製し，同マウスより単離した <i>Venus</i> 陽性骨芽細胞のシングルセル RNA-Seq を行った。得られたシーケンスデータより発現変動の大きい上位 3,000 遺伝子を対象としてプロファイリングしたところ，5 つのクラスターを得た。既存の骨芽細胞系譜マーカーの発現は全てのクラスターに認められたが，マーカー遺伝子の発現量から，クラスター1 およびクラスター2, 3, 4, 5 という2つのグループに集約された。さらに疑似系列解析を行ったところ，クラスター2, 3, 4, 5 はクラスター2, 3, 4 またはクラスター2, 5 で構成される2系列が見出された。GO 解析では一方の系列にアポトーシスや細胞間コミュニケーションと関連する GO ターム，他方では骨芽細胞分化や細胞接着に関する GO タームに変動を認めた。これらは骨細胞や骨ライニング細胞，アポトーシス等異なる運命を辿ると予想される細胞の亜集団である可能性が示唆された。</p> <p>クラスター1 では骨芽細胞マーカーの発現レベルが低値であり，造血幹細胞マーカー <i>CD34</i> を発現するユニークな特徴を認めた。<i>Venus</i> 陽性かつ <i>CD34</i> 陽性であ</p>			

る細胞は、頭頂骨表層の Venus 陽性、CD34 陰性細胞の間に散在性に認められた。一方大腿骨成長板直下の一次海綿骨および皮質骨には検出されなかった。

以上の結果より、本論文はマウス骨芽細胞について、シングルセルレベルで遺伝子発現をプロファイリングし、機械学習による骨芽細胞の多様性を明らかにした。

よって審査委員会委員全員は、本論文が中野将志に博士（歯学）の学位を授与することに十分な価値があるものと認めた。