

審査の結果の要旨

氏名 藤岡 洋成

本研究は、RUNX1関連蛋白質であるAML1/ETOおよびAML1/Evi1とPcG複合体との結合をもとにこれらのキメラ遺伝子がPcG複合体と協調してエピジェネティックな制御を介して転写を制御する標的遺伝子の同定を試みた研究である。

まず、筆者の所属研究室で以前より明らかにされていたAML1/ETOとPcG複合体との結合を、免疫沈降法により再確認した後、更なる実験研究により以下の新たな結果を得た。

1. AML1/ETOと同様にAML1/Evi1はPcG複合体に結合することが免疫沈降法により示された。
2. 不死化細胞AML1/ETOおよびAML1/Evi1とこの両者を強制発現させたマウスc-kit陽性骨髄細胞をそれぞれPRC2の構成要素であるEZH2のノックダウンを行い、qRT-PCRにてmRNA発現を測定した。その結果、PcG複合体の標的遺伝子をAML1/ETOでは、PU.1、MPO、IEX1が、AML1/Evi1では、CD41、IEX1が候補として抽出された。
3. 2の結果に基づき、上述の候補遺伝子の転写活性を測定すべく、各候補遺伝子のluciferase assayを行った。その際にはAML1と結合するレポーターベクターの他に、コントロールとして、mutagenesis assayにてAML1結合部位に変異を挿入したレポーターベクターも使用した。その結果、AML1/ETOとAML1/Evi1ともに、PcG複合体の標的遺伝子として転写制御を受ける可能性のある候補としてIEX1を同定した。

以上、本論文はこれまで明らかにされていなかったPcG複合体とAML1/Evi1との結合を明らかにした。また、AML1/ETOおよびAML1/Evi1におけるPcG複合体の標的遺伝子としてRUNX1の既知の標的遺伝子のうちIEX1のみを抽出した。これにより、RUNX1関連キメラ蛋白質であるAML1/ETOおよびAML1/Evi1とPcG複合体の協調によって制御される標的遺伝子は、N-CoR、HDACやmSin3Aなどとは異なる機序で制御されている可能性があることを示し、これはPcG複合体のその他の鍵分子が解明されれば今後の治療標的になり得ることを示唆しており、学位の授与に値するものと考えられる。