

[課程一 2]

審査の結果の要旨

氏名 牧 宏彰

本研究は造血幹細胞の生理的機能及び急性白血病の臨床における治療抵抗性・予後の増悪において重要な役割を演じていると考えられる遺伝子*BAALC*の機能を明らかにするため、*BAALC*発現細胞より抽出した蛋白質について質量分析を用いて、*BAALC*に結合しその機能に関与していると考えられる蛋白質の同定及び同蛋白質と*BAALC*との相互作用の解明を試みたものであり、下記の結果を得ている。

1. *BAALC*遺伝子を遺伝子導入したHEK293T細胞及びJurkat細胞から蛋白質を抽出し、免疫沈降反応を行い*BAALC*とその結合蛋白質をaffinity-purificationし、抽出した蛋白質をSDS-PAGE gel にて電気泳動し、ゲルを染色後*BAALC*発現性蛋白質に特異的に認められるバンドについて質量分析を行った結果、遺伝子*DBN1*の翻訳蛋白質Drebrin1を同定した。また免疫沈降-ウェスタンブロット (IP-WB) アッセイを行い、*BAALC*とDrebrin1の結合を確認した。

2. *BAALC* と Drebrin1 の細胞内局在を解析するため Cos7 細胞に *BAALC* 及び *DBN1* を遺伝子導入し、免疫染色を行った結果、それぞれ単独を遺伝子導入すると両者は細胞質全体に存在していたが、両者を同時に導入した際には、細胞質でも特に細胞膜下細胞質に局在することが示された。

3. Drebrin1 の機能である接着能に対する *BAALC* 過剰発現の影響を解析するため、*BAALC* / mock をレトロウイルス導入した Ba/F3 細胞のフィブロネクチンに対する接着能を細胞接着アッセイにて検証した結果、*BAALC* 発現細胞の接着細胞数が増加しており、adhesion 機能が上昇していた。

4. *BAALC*発現細胞においてニッチにおいて細胞の遊走・接着を制御しているSDF1-CXCR4の機能を解析するため、SDF1と反応した結果生じるCXCR4の339番目のセリンのリン酸化の発現レベルを、抗リン酸化CXCR4抗体を用いたWBで検証した結果、*BAALC*発現細胞ではリン酸化CXCR4の発現が上昇し、*DBNI*をノックダウンした細胞では*BAALC*発現によるリン酸化CXCR4の上昇がキャンセルされmock細胞とほぼ同程度の発現に低下した。

以上、本論文はヒト白血病関連遺伝子*BAALC*の結合蛋白質として、質量分析による解析からDrebrin1を新規結合蛋白質として明らかにした。本研究はこれまで未解明であった*BAALC*の急性白血病における治療抵抗性に影響する作用機序の解明に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。