

(続紙 1)

| | | | |
|--|---|----|--------|
| 京都大学 | 博士 (生命科学) | 氏名 | 水戸部 悠一 |
| 論文題目 | HTLV-1 bZIP factor (HBZ) RNA とタンパク質は T 細胞の増殖、生存に異なる影響を与える | | |
| (論文内容の要旨) | | | |
| <p>ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (human T-cell leukemia virus type-1 : HTLV-1) は成人 T 細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) および HTLV-1 関連脊髄症 (HTLV-1 associated myelopathy: HAM), HTLV-1 ぶどう膜炎 (HTLV-1 uveitis: HU) など慢性炎症性疾患の原因ウイルスである。現在まで HTLV-1 による発がん機構の研究ではプラス鎖にコードされる Tax が中心的な役割を担うと考えられてきた。Tax は E2F1 など様々な増殖因子を活性化し、細胞死に関わる経路を抑制する。また Tax を発現するマウスではリンパ腫を含め様々ながんを引き起こすことから強力ながん遺伝子として知られている。しかしながら約 60% の ATL 症例では <i>tax</i> の発現を認められないことから、HTLV-1 による ATL 発症機序には、<i>tax</i> 以外の遺伝子の関与が示唆されていた。</p> <p><i>HTLV-1 bZIP Factor (HBZ)</i> は HTLV-1 のマイナス鎖にコードされるウイルス遺伝子で 2002 年に発見された。他の HTLV-1 遺伝子と異なり、<i>HBZ</i> は全ての ATL 症例で発現していることから ATL の発症、維持に対して重要な役割を担っていることが示唆された。さらに <i>HBZ</i> はコードされるタンパク質としてだけでなく、RNA としても機能を有することが報告されているが、その詳細な機能、メカニズムは不明であった。本研究ではマウス初代培養 CD4 陽性 T 細胞を用いて <i>HBZ</i> RNA、タンパク質の細胞生存に対する影響の詳細な解明を試みた。</p> <p>GFP competition assay やその他の実験の結果、<i>HBZ</i> タンパク質は細胞増殖を促進するものの細胞死を強く誘導するため細胞生存率を低下させた。<i>HBZ</i> RNA は増殖を促し、同時に細胞死を抑制することで生存率を上昇させることが明らかとなった。以上の結果から <i>HBZ</i> RNA とタンパク質は同じ遺伝子にコードされる因子にも関わらず、細胞の生存性に対し相反する機能を持っていることが示唆された。また変異体を用いた実験より <i>HBZ</i> RNA のコーディング領域の初めの 11 から 50 塩基が <i>HBZ</i> RNA の活性に必須であることが明らかとなった。</p> <p>またマイクロアレイによる発現解析では <i>HBZ</i> RNA は細胞増殖、生存に関わる遺伝子である <i>survivin</i>、<i>mcm5</i>、<i>aurkb</i> などの発現を増強することが明らかとなった。またデータベースを用いたパスウェイ解析で <i>HBZ</i> RNA は細胞増殖、生存に関わる経路、またタンパク質は免疫に関わる経路にそれぞれ影響を与えており、<i>HBZ</i> RNA とタンパク質はそれぞれ異なる経路に関与していることが示唆された。<i>HBZ</i> RNA の標的遺伝子のプロモーターをクローニングし <i>HBZ</i> RNA の機能を調べたところ、<i>survivin</i>、<i>ccna2</i>、<i>top2a</i>、<i>bub1b</i>、<i>cenph</i>、<i>mcm5</i>、<i>ccnb2</i>、<i>rrm2</i>、<i>aurkb</i> のプロモーターからの転写を <i>HBZ</i> RNA が活性化することが判明した。さらに <i>survivin</i> の阻害剤である YM155 は、<i>HBZ</i> RNA によって亢進した細胞生存率の上昇を抑制し、また ATL 細胞株の増殖を強力に抑制した。この結果は <i>HBZ</i> RNA による <i>survivin</i> 発現の亢進が ATL の生存に重要であることを示している。</p> <p>以上の結果より HTLV-1 は、その限られたウイルス遺伝子をタンパク質としてだけではなく、RNA としても効率的に利用することで巧妙に感染を維持していると考えられた。</p> | | | |

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

ヒトT細胞白血病ウイルス1型 (HTLV-1)にコードされるHTLV-1 bZIP factor (HBZ)はタンパク質としてだけでなく、mRNAとしても機能を有していることが知られていたが、その詳細な機能は不明であった。申請者は初代培養T細胞を用いてHBZタンパク質とmRNA (HBZ RNA)の機能について包括的な解析を行った。

その結果、HBZ RNAは細胞増殖を促進し、また細胞死を抑制することで細胞生存性を上昇させ、一方HBZタンパク質は細胞増殖、細胞死の両方を誘導することで細胞生存性を低下させることを見いだした。また変異体を用いた実験からHBZ RNAのコーディング領域の初めの11-50塩基がHBZ RNAの活性に重要であることを明らかとした。またマイクロアレイを用いた発現、パスウェイ解析では、HBZ RNAは細胞増殖や細胞死に関わる経路、またタンパク質は宿主免疫能に関わる経路に影響を与えることを明らかにした。マイクロアレイから得られたHBZ RNAの標的遺伝子のプロモーターをクローニングし、レポーターアッセイを行ったところ、HBZ RNAが標的遺伝子の転写を活性化させることを明らかにした。さらに申請者はHBZ RNAの標的遺伝子の中から*survivin*に着目をし、*survivin*プロモーターに関する詳細な解析を行ったところ、HBZ RNAは*survivin*プロモーターの-84bpから+34bpの領域に作用することを明らかにした。最後に申請者は*survivin*阻害剤であるYM155がHBZによる細胞生存率増強効果を抑え、またATL細胞株、HTLV-1感染細胞株の育成を強力に抑制することを明らかにした。

本論文は、初代培養T細胞におけるHBZ RNA、タンパク質の機能を包括的に解析し、HBZが極めて巧妙に白血病や炎症性疾患の発症に寄与していることを明らかにしている。またHBZ RNAの標的遺伝子のひとつである*survivin*がHBZ発現細胞、ATL細胞の生存に重要な役割を担っていることを明らかにした。これまでタンパク質をコードするRNAがタンパク質合成以外の機能を持っているという報告は極めて少なく、本論文は生命科学の理解・発展に貢献するところが多い。

このように本論文は生命科学の理解・発展に寄与する新しい発見と概念を提示している。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文としての価値あるものと認めた。さらに、平成27年10月27日に公聴会を実施し、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。(ただし、学位規則第8条の規定により、猶予期間は学位授与日から3ヶ月以内を記入すること。)

要旨公開可能日： 年 月 日