

京都大学	博士（医学）	氏 名	櫻 田 麻 希
論文題目	HTLV-1 bZIP factor impairs DNA mismatch repair system (HTLV-1 bZIP 因子はDNA ミスマッチ修復系を阻害する)		
(論文内容の要旨)			
成人T細胞白血病 (Adult T-cell leukemia; ATL) は、human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) 感染により生じる成熟T細胞腫瘍である。HTLV-1 感染者の3～5%が数十年の潜伏期間を経てATLを発症する。 DNA ミスマッチ修復 (mismatch repair; MMR) の破綻によりマイクロサテライト不安定性 (Microsatellite instability; MSI) が生じるが、ATL細胞にMSIを認めるとする既報が散見される。大規模な網羅的シーケンス解析がなされている中、ATL細胞においてMMR遺伝子の変異はこれまでに報告されていない。ATL細胞において、どのようにMMR異常がMSIを引き起こしているか、その機序は十分に明らかにされていない。 ATL細胞に恒常的に発現し種々の蛋白への相互作用によって病態進行に寄与しているとされているHTLV-1 ウイルス蛋白であるHBZ (HTLV-1 bZIP factor) に着目し、HBZがMMRに及ぼす作用を検証した。MMR機構が正常とされているTK6細胞株にHBZを形質導入したところ、既報においてATL患者検体で観察されたような比較的短い塩基長のMSIが誘導された。MMRを担う主要分子であるMSH2あるいはMLH1のノックアウトによっても類似の短い延期長のMSIが誘導された。また、TK6細胞におけるHBZ発現によって<i>MSH2</i>、<i>MLH1</i>、<i>MLH3</i>、<i>PMS1</i>のmRNA発現低下が認められ、MSH2、MSH3、MSH6、MLH1、PMS1、PMS2の蛋白発現低下を認めた。これらの結果から、HBZが複数のMMR因子の発現を抑制することが示唆され、これがMMR機能異常とMSIの誘導に関与している可能性が考えられた。 ATL患者検体の各MMR因子の発現レベルを、公開されているマイクロアレイデータベース (GSE43017) を用いて調べたところ、急性型ATLにおいて<i>MSH2</i>が有意に低下していた。HBZが転写因子NRF-1と相互作用しその転写活性を抑制することが既に知られていたことから、上述のMMR因子の発現抑制についてもNRF-1活性低下を介しているのではないかと仮説を立てた。MSH2のプロモーター領域にNRF-1 binding motifが存在し、実際にENCODE ChIPデータベースにて同部位におけるNRF-1の結合を認めた。MSH2プロモーターの転写開始点から様々な長さの上流配列を有する luciferase レポーターコンストラクト (MSH2-Luc) をHEK293T細胞へ発現させたところ、NRF-1 binding motifを含むコンストラクトではMSH2-Lucの高い活性を認めたが、binding motifを欠くコンストラクトではMSH2-Lucの活性が顕著に低下した。NRF-1の過剰発現はMSH2プロモーター活性を増強し、さらにその上にHBZを共発現させると効果が相殺された。また、TK6-HBZ細胞株においても、NRF-1を発現させるとMSH2の発現レベルの回復を認めた。これらのデータから、HBZは転写因子NRF-1の阻害を介してMSH2の発現を抑制していることが示唆された。 以上より、HBZがMMRに異常を引き起こすことが示唆され、HTLV-1による腫瘍化促進機序の一つである可能性が考えられた。			

（論文審査の結果の要旨） 成人T細胞白血病（Adult T-cell leukemia: ATL）はhuman T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) 感染により生じる成熟T細胞腫瘍である。ATLでmicrosatellite instability (MSI)を認める報告がある中、その機序は十分に明らかにされていない。本研究ではHTLV-1 bZIP factor（HBZ）に着目し、そのMMR系への影響について検証した。 Mismatch repair（MMR）が正常のTK6細胞株を用い、これにHBZを導入したところMSIが誘導された。また、複数のMMR因子の発現を低下させた。既報の患者検体マイクロアレイデータにおいて急性型ATLでは健常人Tリンパ球に比べて<i>MSH2</i>の発現が有意に低下していたため、本研究ではHBZによる<i>MSH2</i>発現低下に焦点を当てその機序を探索した。既報のChIP databaseを解析したところ、転写因子NRF-1の<i>MSH2</i>プロモーターへの結合を認めた。HEK293T細胞への発現系を用いたプロモーターアッセイにより、MSH2プロモーター活性がNRF-1により亢進しHBZにより抑制されることを示し、HBZ/NRF-1 axisがMSH2発現抑制に寄与していることが示唆された。 以上の研究は、HBZがMMR異常を引き起こす機序の解明に貢献し、ATLの腫瘍化機序の理解を進め、治療法開発への示唆を与えるものである。 したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。 なお、本学位授与申請者は、令和6年9月10日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。			
要旨公開可能日： 年 月 日 以降			