

氏 名	まつもと じゅん 松 本 潤
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学位記番号	生 博 第 43 号
学位授与の日付	平成 17 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当
研究科・専攻	生命科学研究科高次生命科学専攻
学位論文題目	HTLV-1 ゲノムの相補鎖にコードされる蛋白質 HBZ の機能解析

論文調査委員 (主 査) 教授 下遠野邦忠 教授 垣塚 彰 教授 清水 章

論 文 内 容 の 要 旨

ヒトレトロウイルスに属するヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) は、成人 T 細胞白血病 (ATL) を引き起こす原因ウイルスである。ATL は CD4 陽性 T リンパ球の異常増殖を特徴とする悪性腫瘍であり、HTLV-1 感染者の約 4 % が平均 50 年以上の潜伏期間を経て発症するとされている。現在までのところ、ATL 患者に対する効果的な治療法は確立されておらず、発症後の予後は不良である。このため、治療法開発へ向けた、HTLV-1 による細胞増殖制御機構の解明が重要な課題となっている。

ATL 発症に至る過程において重要な役割を果たすと考えられているのが、HTLV-1 にコードされる転写調節因子 Tax である。Tax はさまざまな細胞遺伝子のプロモーターに作用し、宿主細胞の転写制御機構を破綻させることによって、細胞をがん化へと導くとされる。Tax により活性が制御される転写因子の一つとして、Activating Protein-1 (AP-1) が挙げられる。AP-1 は AP-1 ファミリー因子のホモあるいはヘテロ二量体により形成される転写因子であり、細胞増殖、分化、アポトーシス、腫瘍形成など多くの生理機能に関わることが知られている。Tax は *c-jun*, *junD*, *c-fos*, *fra-1* など、いくつかの AP-1 ファミリー遺伝子の発現誘導を介して AP-1 活性を上昇させることが知られており、HTLV-1 による細胞増殖制御の一部を説明するものと考えられている。しかしながら、感染細胞内における AP-1 活性の詳細な制御メカニズムについては、いまだ明らかではない。

近年、HTLV-1 ゲノムの相補鎖にコードされる蛋白質として、HBZ (HTLV-1 bZIP factor) が同定された。HBZ は N 末端に転写活性化ドメイン、C 末端に DNA 結合配列である bZIP (basic leucine-zipper) ドメインを有する核内蛋白質である。これまでの報告から、HBZ は転写因子 ATF-4 と相互作用し、ATF-4 によるウイルスプロモーターの転写活性化を抑制することが示されたが、それ以外の機能についてはほとんど明らかでない。本研究において、HBZ の機能をさらに明らかにするため、酵母ツーハイブリッド法を用いて HBZ と相互作用する宿主因子を探索した。その結果、HBZ は AP-1 ファミリーに属する Jun 蛋白質 (*c-Jun*, JunB および JunD) と相互作用することが明らかとなった。これらのうち、最も強力な転写活性化因子として知られる *c-Jun* に着目してさらに解析を進めたところ、HBZ はロイシンジッパーを介して *c-Jun* と直接相互作用し、*c-Jun* による AP-1 結合配列からの転写活性化を負に制御することを見いだした。この抑制メカニズムとして、HBZ は *c-Jun* の DNA 結合能を阻害することに加え、細胞内における *c-Jun* 蛋白質の発現レベルをプロテアソーム依存的に低下させることが明らかとなった。HBZ の欠失変異体を用いた実験から、*c-Jun* の DNA 結合の阻害には HBZ の bZIP ドメインが、*c-Jun* 蛋白質量の低下には HBZ の bZIP ドメインと N 末端領域が必要であることが明らかとなった。また、HBZ が *c-Jun* による転写活性化を十分に抑制するには、HBZ の N 末端領域と bZIP ドメインの両方が必要であった。これらの結果から、HBZ は二つの異なる機構によって *c-Jun* の機能を低下させ、*c-Jun* により誘導される AP-1 活性の上昇を効果的に抑制していることが示唆された。以上のことより、HTLV-1 は二つのウイルス蛋白質、Tax と HBZ を用いて宿主細胞における AP-1 活性を亢進あるいは抑制し、それによって細胞増殖をコントロールしている

可能性が考えられる。今後、HBZの機能をさらに理解することで、HTLV-1による細胞増殖制御機構の一端が明らかとなるかもしれない。

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)は成人T細胞白血病(ATL)と呼ばれる悪性腫瘍の原因ウイルスである。HTLV-1は主にCD4陽性T細胞に感染し、50年以上の長い潜伏期間を経て、一部の感染者にATLを発症させる。現在までのところ、ATLに対する効果的な治療法はなく、治療法開発へ向けた、HTLV-1による細胞増殖制御機構の解明が重要な課題となっている。これまでの研究から、HTLV-1のコードする転写調節因子Taxなど、いくつかのウイルス蛋白質がHTLV-1による細胞のがん化において重要な役割を果たすことが推察されているが、これらの蛋白質のみではHTLV-1による細胞がん化を必ずしも説明できるまでには至っていない。

近年、HTLV-1プロウイルスゲノムの相補鎖にコードされる蛋白質としてHBZ(HTLV-1 bZIP factor)が同定された。HBZはN末端領域に転写活性化ドメイン、C末端領域にbZIP(basic leucine-zipper)ドメインをもつ核内蛋白質であり、転写因子ATF-4との相互作用を介して、ATF-4によるウイルスプロモーターの活性化を抑制することが報告されているが、HBZのその他の機能については不明である。申請者はHBZの機能解析を通して、HTLV-1による新たな細胞増殖制御機構を明らかにすることを目的として解析を行った。申請者はまず、酵母ツーハイブリッド法を用いてHBZと相互作用する宿主因子の探索を行い、Jun蛋白質(c-Jun, JunB, および JunD)を得た。この中で最も強い転写活性化能を有し、HTLV-1感染細胞において高発現が認められるc-Jun蛋白質に特に着目し解析を進めた。その結果、申請者は、HBZがc-Junとの相互作用を介してc-JunによるAP-1配列からの転写活性化を顕著に抑制することを見いだした。この抑制メカニズムとして、HBZがc-JunのAP-1配列への結合を阻害することに加え、c-Jun蛋白質のプロテアソームを介した分解を促進することを明らかにした。さらに、HBZの欠失変異体を用いた解析から、c-Junとの相互作用にはHBZのbZIPドメインが、c-Jun蛋白質の分解促進にはHBZのbZIPドメインに加え、N末端領域の60アミノ酸が重要であることを明らかにした。このことは、HBZが二つの異なる機構によりc-Junの機能を低下させ、c-Junにより誘導されるAP-1転写活性化を効果的に抑制することを示している。これらの結果は、HTLV-1がAP-1の転写活性化因子であるTaxと抑制因子であるHBZにより、細胞増殖を調節していることを示唆する。

以上の結果は、HTLV-1 HBZによるAP-1転写活性調節の分子メカニズムに関する新たな知見を与え、HTLV-1による細胞増殖制御機構の解明に寄与するものと考えられる。よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。また、申請者は平成17年2月2日に行われた論文内容とそれに関連した口頭試問を受け、合格と認められたものである。