

氏 名	たけ だ さとし 武 田 哲
学 位 の 種 類	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2686 号
学位授与の日付	平 成 16 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	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学位論文題目	Genetic and epigenetic inactivation of <i>tax</i> gene in adult T-cell leukemia cell (成人T細胞白血病細胞における <i>tax</i> 遺伝子の遺伝的、後生的不活化)
論文調査委員	(主 査) 教 授 内 山 卓 教 授 下 遠 野 邦 忠 教 授 松 岡 雅 雄

論 文 内 容 の 要 旨

成人T細胞白血病 (adult T-cell leukemia: ATL) はヒトT細胞白血病ウイルス I 型 (human T-cell leukemia virus type I: HTLV-I) 感染により発症するヘルパーT-リンパ球の腫瘍である。これまでの研究からウイルスタンパク質である Tax は NF- κ B や CREB 経路の活性化や癌抑制遺伝子である p53 の機能的抑制により腫瘍化において主要な役割を果たしていると考えられる。それと同時に Tax タンパクは細胞傷害性 T リンパ球の主要認識抗原であり、腫瘍化において正と負の作用を有している。急性型やリンパ腫型などの高悪性度の ATL 細胞では Tax を発現できないプロウイルスが認められることがあり、腫瘍化における Tax の関与には依然として不明な点が多い。そこで、HTLV-I 由来細胞株および ATL 症例を用い、*tax* 遺伝子を解析した。

HTLV-I 関連細胞株には白血病由来のものと非白血病由来のものの 2 種類が存在する。非白血病由来の細胞株では、3 例中 3 例すべてで Tax タンパクの発現が認められたのに対し、白血病由来の細胞株では 5 例中 3 例で Tax タンパクの発現が認められなかった。タンパク発現が認められない原因を調べたところ、nonsense mutation および deletion といった genetic な変異やプロウイルスのプロモーターである 5'-LTR のメチル化といった epigenetic な変異が認められた。メチル化されていることにより発現の認められない細胞株においては、脱メチル化処理することにより発現の回復を認めた。さらに、完全にメチル化が起きており転写が認められない細胞株と、部分的にしかメチル化が起きておらず転写の認められる細胞株でヒストンテイルの修飾状態を確認したところ、5'-LTR のメチル化とヒストンのアセチル化には負の相関が認められた。次に ATL 症例で同様の実験を行ったところ、nonsense mutation, deletion あるいは insertion といった genetic な変異によって正常な Tax タンパクが発現できないものは 47 例中 5 例 (11%) であった。RT-PCR により mRNA の発現を調べることできた 41 例では 14 例 (34%) で発現が認められた。正常な Tax タンパクを発現できない genetic な変異が認められた 5 例中 mRNA の発現を調べることできた 4 例はすべて *tax* mRNA の発現が認められた。この結果は *tax* 遺伝子に変異の認められるものについては、転写抑制の必要がないことを示唆している。また、28 例中 19 例 (68%) で 5'-LTR のメチル化が認められたが、転写の silencing を引き起こす完全なメチル化は、4 例のみ認められた。ATL 症例のうち、5'-LTR のメチル化が認められない 1 例でのみヒストンテイルの修飾状態を確認することが出来たが、高度のアセチル化されており、この症例でも 5'-LTR のメチル化とヒストンのアセチル化には負の相関が見られた。5'-LTR の不完全なメチル化とヒストン遺伝子の転写を完全には抑制出来ないにもかかわらず、*tax* 遺伝子の転写が認められない症例が存在したことから、5'-LTR のメチル化以外に転写抑制に関わる epigenetic な変化が存在することが強く示唆された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

成人T細胞白血病 (Adult T-cell leukemia: ATL) はヒトT細胞白血病ウイルス I 型 (human T-cell leukemia virus type I: HTLV-I) 感染により惹起されるヘルパーT-リンパ球の腫瘍である。これまでの研究から HTLV-I がコードする

TaxがNF- κ BやCREB経路の活性化や癌抑制遺伝子であるp53の機能的抑制により腫瘍化において中心的な役割を果たしていると考えられてきた。同時にTaxタンパクは生体内において細胞傷害性Tリンパ球の主要認識抗原であり腫瘍化において正と負の作用を有している。このようにTaxは発がんにおける中心的ウイルス蛋白質と考えられているがATL細胞におけるTaxの発現は未解明な部分が多く残されていた。従ってATL細胞におけるtax遺伝子の解析は腫瘍化におけるTaxの関与を明らかにする上で重要な課題である。

申請者はATL細胞株および患者由来ATL細胞を解析し1) tax遺伝子自体における non-sense mutation, deletion, insertionなどの遺伝的変化, 2) 5'-LTRのメチル化による転写抑制, 3) 5'-LTRの欠失などの機序によりATL細胞の中にはTaxを産生できないことが多く存在することを明らかにした。特にtax遺伝子に変異を有する症例ではtax転写産物が検出され、5'-LTRのメチル化による転写阻止も認められなかったことからTaxが蛋白質として産生されない場合は転写抑制が起こらないことが示唆され、これはtax遺伝子の不活化が宿主の細胞性免疫からの逃避機構であることを示している。また5'-LTRのメチル化がヒストンの脱アセチル化と関連することも明らかにしている。

以上の研究はATLの発がん過程におけるtax遺伝子の不活化機構を明らかにするとともに、ATLの発がん機構解明、免疫療法の開発に寄与するところが多い。

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、平成16年1月8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。