

氏 名	あき た かず まさ 秋 田 一 雅
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 40 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-1Tax と p21 ^{WAF1} による NF- κ B 活性化機構の解析

論文調査委員	(主 査) 教 授 下 遠 野 邦 忠	教 授 米 原 伸	教 授 佐 邊 壽 孝
--------	------------------------	-----------	-------------

論 文 内 容 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) の原因レトロウイルスとして 1980 年に発見された。HTLV-1 のキャリアは日本国内で約 100 万人と推定されており、年間数百人が ATL を発症している。ATL は極めて予後の悪い白血病であり、現在まで骨髄移植を除いて根本的な治療法はない。また ATL の発症までは通常数十年の潜伏期を経ることからその過程を詳細に検証することは困難であり、ATL 発症の分子機構は不明な点が多い。HTLV-1 にコードされているウイルス蛋白質 Tax は多くの細胞性因子との相互作用を介して宿主細胞内において様々なシグナル伝達機構に影響を与えることが知られている。Tax によって活性化されるシグナル伝達機構の 1 つである NF- κ B シグナルは免疫応答、炎症反応、細胞増殖、アポトーシスなど種々の生命現象に関与しており、Tax によるラット繊維芽細胞のトランスフォーメーションには NF- κ B シグナルの恒常的な活性化が必須であることから HTLV-1 感染細胞の不死化や癌化にも Tax による NF- κ B シグナルの活性化が重要な役割を果たしていると思われる。また HTLV-1 感染細胞では Tax の発現により様々な細胞周期関連蛋白質の発現異常が報告されている。細胞増殖阻害蛋白質のひとつである p21^{WAF1} は HTLV-1 感染細胞において著しく発現量が上昇している。HTLV-1 感染細胞では p21^{WAF1} の発現量が上昇しているにも関わらず、細胞周期の遅延は認められず、HTLV-1 感染細胞では p21^{WAF1} が細胞周期の停止とは異なる機能を果たしていると考えられる。

これまでに申請者の研究室では p21^{WAF1} が Tax による NF- κ B シグナルの活性化を増強することを見いだしているがその分子機構は不明であった。そこで本研究ではプロモーターのメチル化により p21^{WAF1} を発現していないラット繊維芽細胞株である Rat-1 細胞と、Tax のみまたは Tax と p21^{WAF1} の両方を恒常的に発現させた Rat-1 由来細胞とを比較することで p21^{WAF1} の Tax 依存的 NF- κ B シグナルに与える影響について検討した。その結果、p21^{WAF1} の発現が NF- κ B ファミリー蛋白質の 1 つである p100/p52 や c-Rel の発現を Tax との共存下において誘導していることが示された。このことから p21^{WAF1} は NF- κ B ファミリー蛋白質の発現を誘導することで NF- κ B シグナルに影響を与えていることが示唆された。さらに Tax と p21^{WAF1} の両方を発現する細胞株では抗アポトーシス作用を有する Bcl-2 が過剰発現していることが明らかとなった。このことは Tax 発現細胞における抗アポトーシスが p21^{WAF1} によっても担われていることを示していると思われる。

本研究においてラット繊維芽細胞における p21^{WAF1} の Tax 依存的 NF- κ B シグナル活性化機構や抗アポトーシス作用の一端が明らかとなった。本研究は HTLV-1 による ATL 発症の分子機構を考える上で有用な知見であり、また p21^{WAF1} による NF- κ B シグナルの修飾という新たな機能を考える上でも重要な知見である。

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) の原因レトロウイルスとして 1980 年に発見された。ATL は極めて予後の悪い白血病であり、現在まで骨髄移植を除いて根本的な治療法はなく、ATL 発症メカニズ

ムの解明は急務である。ATLの発症には HTLV-1 にコードされているウイルス蛋白質 Tax による作用が大きいと考えられている。Tax によるラット繊維芽細胞のトランスフォーメーションには NF- κ B シグナルの恒常的な活性化が必須であることから HTLV-1 感染細胞の不死化や癌化にも Tax による NF- κ B シグナルの活性化が重要な役割を果たしていると思われる。また HTLV-1 感染細胞では Tax の発現により細胞増殖阻害蛋白質のひとつである p21^{WAF1} の発現量が著しく上昇している。HTLV-1 感染細胞では p21^{WAF1} の発現量が上昇しているにも関わらず、細胞周期の遅延は認められず、HTLV-1 感染細胞では p21^{WAF1} が細胞周期の停止とは異なる機能を果たしていると考えられる。

これまでに申請者らのグループは p21^{WAF1} が Tax による NF- κ B シグナルの活性化を増強することを見いだしているがその分子機構は不明であった。そこで申請者はプロモーターのメチル化により p21^{WAF1} を発現していないラット繊維芽細胞株である Rat-1 細胞と、Tax のみまたは Tax と p21^{WAF1} の両方を恒常的に発現させた Rat-1 由来細胞とを比較することで Tax と p21^{WAF1} による NF- κ B シグナル活性化の分子機構を解析した。p21^{WAF1} を発現していない Rat-1 細胞を用いることで Tax による作用と p21^{WAF1} による作用とを明確に区別でき Tax と p21^{WAF1} による NF- κ B シグナル活性化の分子機構をより詳細に解析することができる。その結果、Tax は p21^{WAF1} の有無に関わらず NF- κ B ファミリー蛋白質の1つである RelB の発現を誘導することで NF- κ B シグナルを活性化していることが示唆された。また p21^{WAF1} は NF- κ B ファミリー蛋白質の1つである p100/p52 や c-Rel の発現を Tax との共存下において誘導していることが示された。特に p52 の発現量の増加は RelB を介する NF- κ B シグナル経路が活性化されていることを示している。これらの結果から Tax と p21^{WAF1} による NF- κ B シグナル活性化には RelB を介する経路が重要な役割を果たしていることが示された。さらに Tax と p21^{WAF1} の両方を発現する細胞株では抗アポトーシス作用を有する Bcl-2 が過剰発現していることが明らかとなった。このことは Tax 発現細胞における抗アポトーシスが p21^{WAF1} によっても担われていることを示していると考えられる。

以上の結果は HTLV-1 感染細胞における p21^{WAF1} の生理的意義の解明に寄与するものであり、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、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。