

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	萩 屋 啓 太
論文題目	ATF3, an HTLV-1 bZip factor binding protein, promotes proliferation of adult T-cell leukemia cells (HTLV-1 bZip factor 結合タンパク質 ATF3 は成人 T 細胞白血病細胞の増殖を促進する)		
(論文内容の要旨)			
成人 T 細胞白血病(ATL)は、ヒト T 細胞白血病ウイルス(HTLV-1)の感染により惹起される CD4 陽性 T 細胞の悪性腫瘍である。HTLV-1 bZIP factor(HBZ)はウイルスゲノムのマイナス鎖にコードされ、全ての ATL 症例で唯一発現が保たれている遺伝子である。中でもスプライス型 HBZ(sHBZ)は T 細胞増殖活性を持つことから、腫瘍化に重要であると考えられている。HBZ の T 細胞内での機能を解析する過程で、sHBZ と結合する転写因子、activating transcription factor 3(ATF3)を同定した。 ATF3 は ATF/CREB ファミリーに属し、細胞内外の刺激に対して早期に反応する初期応答遺伝子である。ATF3 の発現は通常は低いレベルで維持されており、ストレス等の刺激により一過的に上昇する。分子内の bZip 領域を介し、自身および他の ATF/CRE ファミリーの転写因子と複合体を形成し、ATF/CRE および AP-1 配列をもつ遺伝子プロモーターの転写制御を行う。ATF3 は癌抑制遺伝子として機能することが報告されている。一方で、癌遺伝子として、いくつかの癌種で高発現が報告されており、腫瘍細胞の増殖との関連が指摘されているが、増殖に寄与する機構は分かっていなかった。本研究では ATF3 発現が ATL 細胞に及ぼす作用を解析した。 ATF3 は全ての ATL 細胞株において、mRNA およびタンパク質レベルで高い発現を保っていたが、非 ATL の T 細胞株ではその発現は認められなかった。レポーターアッセイにより、ATF3 は Tax を介した 5' LTR の活性化を抑制することが分かった。ATL 細胞での ATF3 高発現の意義を探索するため、RNA 干渉法により ATF3 の発現抑制(KD)を行ったところ、細胞増殖能が抑制された。細胞周期解析の結果、KD 細胞では G1 期から S 期への移行が障害されていた。ATL 細胞について非 KD 細胞と KD 細胞との間で遺伝子発現の比較解析を行ったところ、KD 細胞では cell division cycle 2(CDC2)の発現が低下していた。そこで Jurkat 細胞において、ATF3 を強制発現させたところ、CDC2 の発現上昇が確認された。CDC2 のプロモーター領域に着目すると、ATF/CRE および AP-1 サイトが一箇所ずつ確認された。両サイトについて ChIP アッセイを行うと、AP-1 サイトにおいて ATF3 の結合が確認された。このことから、ATF3 は AP-1 サイトを介して CDC 2 を活性化することが明らかとなった。一方で、ATF3 には p53 の機能を増強する機能が報告されている。p53 応答配列を含むレポーターアッセイにより、T 細胞においても ATF3 は p53 の転写活性化能を増強した。sHBZ は単独では p53 の転写活性化能に影響を及ぼさなかったが、ATF3 による増強分については bZip 領域依存的に抑制した。これら三分子について免疫沈降実験を行ったところ、三者は複合体を形成しており、sHBZ は ATF3 と p53 の会合体に結合することで ATF3 の機能を抑制することが示唆された。 本研究の結果、ATF3 は ATL 細胞の細胞増殖を促進し、Tax の機能を抑制することが明らかとなった。また、sHBZ は ATF3 の癌抑制遺伝子としての機能を抑制することで ATL 腫瘍化に関与していることが示唆された。			

(論文審査の結果の要旨) 成人 T 細胞白血病(ATL)は、ヒト T 細胞白血病ウイルス(HTLV-1)感染により惹起される CD4 陽性 T 細胞の悪性腫瘍である。HTLV-1 bZIP factor (HBZ)が発がん機構で重要であり HBZ と結合する activating transcription factor 3(ATF3)を同定し解析した。 ATF3 は、いくつかの癌種で高発現が報告されており増殖との関連が指摘されている。ATF3 は ATL 細胞株において高発現していた。ATF3 発現抑制により ATL 細胞の増殖能が抑制され G1 期から S 期への移行が障害されていた。ATF3 の発現を抑制した細胞では cell division cycle 2 (CDC2)の発現が低下しており強制発現では CDC2 の発現上昇が確認され CDC2 のプロモーター領域の AP-1 サイトにおいて ATF3 の結合が検出された。ATF3 には p53 機能増強作用が報告されているが、HBZ は ATF3 による p53 機能亢進を bZip 領域依存的に抑制した。免疫沈降実験により HBZ, ATF3, p53 は複合体を形成していることが示された。本研究の結果、ATF3 が ATL 細胞の細胞増殖を促進する一方、HBZ は ATF3 による p53 機能増強を抑制するという機構で ATL の発がん過程に関与していることが示唆された。 以上の研究は HBZ による発がん機構の解明に貢献し難治性腫瘍である ATL の病態解明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 2 3 年 1 1 月 1 4 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			