

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	川 月 章 弘
論文題目	HTLV-1 bZIP factor protein targets the Rb/E2F-1 pathway to promote proliferation and apoptosis of primary CD4 ⁺ T cells (HTLV-1 bZIP factor タンパク質は Rb/E2F-1 経路を標的とし、CD4 陽性 T 細胞の増殖とアポトーシスを促進する)		
(論文内容の要旨)			
ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型(human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1)は、成人 T 細胞白血病(adult T-cell leukemia: ATL)の原因レトロウイルスである。<i>HTLV-1 bZIP factor</i>(<i>HBZ</i>)は、HTLV-1 プロウイルスのマイナス鎖にコードされ、すべての ATL 症例で恒常的に発現している唯一の HTLV-1 遺伝子である。HBZ タンパク質のみならず <i>HBZ</i>RNA も感染細胞の増殖に寄与することが報告されているが、その詳細な分子機序は不明であった。本研究では HBZ タンパク質の機能に着目し、細胞増殖におけるその分子機構を解析した。 共免疫沈降実験により、HBZ タンパク質は宿主がん抑制タンパク質であるレチノブラストーマ(retinoblastoma: Rb)タンパクと相互作用することを見出した。Rb と HBZ のタンパク質相互作用は、遺伝子導入による過剰発現の実験系のみならず、ATL 患者由来細胞株である MT-4 細胞でも検出された。Rb タンパク質は、ヒストン脱アセチル化酵素 (histone deacetylase: HDAC)を E2F-1 にリクルートすることで、E2F-1 の転写活性を抑制することが知られている。E2F-1 は細胞周期の開始および p53/p73 依存性アポトーシスを誘導する転写因子である。HEK293FT 細胞に Rb, E2F-1 および HBZ を導入し免疫沈降実験を行った結果、これらはタンパク複合体を形成するが、HBZ 存在下では Rb と HDAC3 の相互作用が阻害されることが明らかになった。これらの結果は、HBZ が E2F-1 活性を増強する可能性を示唆していた。 レトロウイルスベクターにて <i>HBZ</i>遺伝子を強制発現させたマウス CD4 陽性 T 細胞において、E2F-1 の標的遺伝子の発現が上昇していた。同様の遺伝子発現変動は HBZ トランスジェニックマウス(HBZ-Tg)由来の CD4 陽性 T 細胞でも観察された。さらに、これらの HBZ-Tg 由来細胞では細胞増殖およびアポトーシスの亢進が認められた。また、p53/p73 依存性のアポトーシスを阻害することが知られる薬剤である pifithrin-αで細胞を処理したところ、X 線照射後に誘導される HBZ-Tg 由来 CD4 陽性 T 細胞のアポトーシスが強く抑制されたことから、p53/p73 の活性化が HBZ によるアポトーシス亢進に関与していると示唆された。 <i>HBZ</i>RNA の機能を排除し HBZ のタンパク質の機能のみを <i>in vivo</i> で解析するために、<i>HBZ</i> 遺伝子の全てのコドンにサイレント変異(silent mutation: SM)を持つ HBZ トランスジェニックマウス、SM-Tg を作成した。SM-Tg 由来の CD4 陽性 T 細胞では、野生型マウスと比較して、増殖細胞の割合が亢進し、エフェクターメモリー T 細胞、Foxp3 陽性細胞の増加も認められた。従って、これらの形質は HBZ タンパク質によることが明らかになった。これらの結果から、HBZ タンパク質は Rb を不活化することで E2F-1 活性を増強し、感染細胞の増殖と ATL の発症に寄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 細胞白血病の原因ウイルスであるヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) の HTLV-1 bZIP factor (HBZ) タンパク質が細胞増殖に及ぼす影響を解析した。
共免疫沈降実験により、HBZ タンパク質は Rb タンパク質と相互作用していた。内在性 Rb と HBZ のタンパク質相互作用も検出された。Rb, E2F-1 および HBZ はタンパク質複合体を形成するが、HBZ 存在下では Rb と HDAC3 の相互作用が阻害された。この結果は、HBZ が E2F-1 活性を増強することを示唆した。 <i>HBZ</i> 遺伝子を強制発現させたマウス CD4 陽性 T 細胞において E2F-1 標的遺伝子の発現が上昇しており HBZ トランスジェニックマウス (HBZ-Tg) 由来細胞では細胞増殖およびアポトーシスの亢進が認められた。また、p53/p73 依存性アポトーシスを阻害する pifithrin- α で細胞を処理すると、X 線照射後に誘導される HBZ-Tg 由来 CD4 陽性 T 細胞のアポトーシスが強く抑制されたことから、p53/p73 の活性化が HBZ によるアポトーシス亢進に関与していることが示された。HBZ タンパク質は Rb を不活化することで E2F-1 活性を増強し、感染細胞の増殖とアポトーシス亢進に寄与していた。
以上の研究は HBZ の細胞増殖亢進作用の解明に貢献し HTLV-1 研究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 8 年 2 月 1 9 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。