

氏 名	宮 崎 真 紀
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 3141 号
学位授与の日付	平 成 19 年 7 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	Preferential Selection of HTLV-1 Provirus Lacking the 5' LTR during Oncogenesis (発がん過程における 5' LTR を欠失するヒト T 細胞白血病ウイルス I 型プロウイルスの選択)
論文調査委員	(主 査) 教 授 淀 井 淳 司 教 授 小 柳 義 夫 教 授 前 川 平

論 文 内 容 の 要 旨

ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-I) は成人 T 細胞白血病 (ATL) の原因ウイルスであり、長い潜伏期間を経て約 5% の感染者に ATL を起こす。HTLV-I がコードする *tax* 遺伝子はウイルス遺伝子の転写活性化のみならず細胞側因子と相互作用し増殖促進・アポトーシス抑制などの作用を有しており発がんにおいて重要であると考えられてきた。しかし、ATL では約 60% の症例で *Tax* の産生が認められない。これは *Tax* が細胞傷害性 T リンパ球の主な標的分子であるため、腫瘍細胞が *Tax* の発現を失うことで宿主免疫機構から逃避しているためと考えられている。

Tax 発現消失の原因として、*tax* 遺伝子の遺伝的変化 (変異・欠失・挿入)、5' long terminal repeat (LTR) の DNA メチル化、5' LTR の欠損 (2 型欠損プロウイルス) の 3 つが同定されている。本研究では 5' 側 LTR を欠失する欠損型プロウイルス (2 型欠損型プロウイルス) の発生機構を明らかにするため、ATL 細胞における HTLV-I プロウイルスの組み込み部位を *inverse PCR* 法を用いて同定した。HTLV-I 組み込み部位では、プロウイルスの両端に 6 塩基の繰り返し配列が形成される。検索を行った 12 例の 2 型欠損型プロウイルスの中で 8 例に 6 塩基の繰り返し配列がみられた。また、8 例中 5 例では 5' 末端の 6 塩基の繰り返し配列が直接、*pol* 又は *env* の CA 塩基に連結されていた。このことからプロウイルスは組み込み前に 5' LTR を欠損していたことが示唆された。6 塩基の繰り返し配列を有しない 4 例については、組み込み部位のヒトゲノムの短い欠損がみられた (6-26 塩基)。これらのプロウイルスは組み込み後に 5' LTR を含む領域を欠損したものと考えられた。HTLV-I キャリアにおける 2 型欠損型プロウイルスの頻度を明らかにするために *real time PCR* による解析を行った。その結果、HTLV-I キャリアでの 2 型欠損型プロウイルスの頻度は 3.9% 以下であった。これは ATL 症例の 27.8% と比較すると明らかに低値であり、2 型欠損プロウイルスは発がん過程で選択されていると考えられた。次に白血病細胞におけるウイルス遺伝子の役割を明らかにするために 2 型欠損型プロウイルスの全塩基配列を決定した。欠失の大きな 2 型欠損型プロウイルスは *tax*, *rex*, *p30* の第 2 エクソンを欠失しており、組み込み前に形成されたプロウイルスにも、そのような欠失が認められた。第 2 エクソンの欠失により、*Tax* タンパク質は *NFkB*, *CREB* 経路活性化能を有しないことが明らかになっており、*Tax* が有する活性の中で発がんにおいて重要であると考えられた活性が必ずしも腫瘍化に必要ではないと考えられた。一方、本研究で解析した 12 例全例で HTLV-I マイナス鎖にコードされ 3' LTR から転写される HTLV-I bZIP factor (HBZ) 遺伝子配列が保たれており、HBZ 遺伝子の発がん過程における重要性が示唆された。

以上の結果より、5' LTR を欠損するプロウイルスは組み込み前と後に形成されることが明らかとなった。本研究からウイルス遺伝子の中で HBZ 遺伝子が発がんにおいて重要な役割を果たしている可能性が示された。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

成人 T 細胞白血病 (ATL) 細胞では、しばしばヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-I) プロウイルスに欠損が認められる。ATL 細胞における 5' long terminal repeat (LTR) を欠失するプロウイルス (2 型欠損型プロウイルス) の解析を行

った。

組み込み部位では、プロウイルスの両端に 6 塩基の繰り返し配列が形成される。本研究では HTLV-I プロウイルスの組み込み部位塩基配列を同定し、6 塩基の繰り返し配列が直接、*pol* 又は *env* の CA 塩基に連結されている場合と、繰り返し配列を有しない場合があることを明らかにした。繰り返し配列を有しない場合はゲノムに欠失を認めたためプロウイルスはゲノムに挿入後に欠失が生じたことが示唆された。このことから 5'LTR を欠失するプロウイルスは組み込み前と後に形成されることが考えられた。

HTLV-I キャリアにおける 2'型欠損型プロウイルスの頻度は ATL 症例と比較すると明らかに低値であり、腫瘍化に伴い、この欠損型プロウイルスが選択されていることが示唆された。次に 2 型欠損型プロウイルスの全塩基配列を決定したところ、本研究で解析した 12 例全例で HTLV-I マイナス鎖にコードされ 3'LTR から転写される HTLV-IbZIP faotot (HBZ) 遺伝子配列が保たれており、HBZ 遺伝子の発がん過程における重要性が示された。

以上の研究は HTLV-I 欠損型プロウイルスの形成機序、HTLV-I による発がん機構の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 19 年 5 月 15 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。