

氏 名	ひ し き たか ゆき 日 紫 喜 隆 行
学位(専攻分野)	博 士 (生命科学)
学 位 記 番 号	生 博 第 131 号
学位授与の日付	平 成 19 年 11 月 26 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	H T L V - 1 L T R からの転写制御機構に関する研究

論文調査委員 (主 査)
教 授 杉 田 昌 彦 教 授 米 原 伸 教 授 永 尾 雅 哉

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 type1: HTLV-1) は病原性を示すヒトのレトロウイルスとして初めて同定され, 成人T細胞白血病 (Adult T-cell Leukemia: ATL) の原因ウイルスであることが明らかにされた。ATLは発症までに, 約50年の長い潜伏期間が存在する。しかしながら, HTLV-1による感染Tリンパ球の腫瘍化機構そのものについては未だ明らかになっていない。ウイルスタンパク質Taxは宿主のタンパク質との相互作用を介して, 転写, シグナル伝達, 細胞周期, DNA修復など細胞の生理的制御を攪乱し, 細胞の不死化能を獲得すると考えられている。一方, ATL腫瘍細胞ではウイルス遺伝子の発現が見られない場合も存在する。それらの細胞ではTaxの発現が無いにもかかわらずTaxの作用で起こされる細胞のさまざまな異常と似た現象が認められる。それらの細胞においては, HTLV-1のゲノム構造が保持されているにもかかわらず, 主なウイルス遺伝子発現が抑制されている場合が多くみられる。つまりATL腫瘍細胞においては, HTLV-1遺伝子発現が抑制され, 潜伏感染状態になっている。このことは, HTLV-1遺伝子発現に転写プロモーターとしての役割を果たすlong terminal repeat (LTR) からの転写が, 細胞の種々の増殖条件により正および負の制御を受けている可能性を示しているが, その制御の詳細な分子機能については不明な点が多い。

HTLV-1のLTRからの転写には, 自身のゲノム上にコードされる転写活性化因子Taxと宿主細胞内の転写因子CREBとの相互作用が重要である。近年, CREBの転写コアクチベーターとしてTransducers of Regulated CREB (TORCs) が見いだされ, CREBによる転写を正に制御することが明らかにされた。さらにTORCsはCREB存在下にTaxによるLTRからの転写を相乗的に増強することが報告されている。一方, ウイルスの潜伏感染を考えると, LTRからの転写抑制の分子機構も存在すると考えられたので, その手がかりを探る目的で, TORCsを介したLTRからの転写活性化の詳細なメカニズムを解析した。そのためにTORC isoformのひとつであるTORC3をベイトにして酵母two-hybrid法を用いて新規相互作用因子を探索した。その結果, TORC3と相互作用する因子として, B-cell chronic lymphatic leukemia protein 3 (BCL3) を同定した。まずTORC3とBCL3との相互作用を解析した結果, TORC3のN末端側に存在するcoiled-coil domainを含む領域とBCL3のアンキリンリピートが結合する事が示された。次にレポーターアッセイにより, BCL3はTORC3によるLTRからの転写を負に制御することが示された。さらに, siRNA発現により内在性BCL3の発現量を低下させると, TORC3によるLTRからの転写が有意に亢進した。また, LTR上の転写因子複合体をDNA affinity precipitation法およびchromatin immunoprecipitation法により解析した結果, BCL3依存的にHDAC1がリクルートされる事が示された。以上の結果は, HTLV-1 LTRからの転写制御にBCL3はHDAC1を介して抑制的に作用している可能性を示唆した。また, TaxによりBCL3の発現が亢進したことから, TaxによるLTRからの転写制御には正・負両方の機構があり, これらの機構が感染細胞内におけるウイルス遺伝子産生の調節に寄与していると考えられた。

論文審査の結果の要旨

ヒトT細胞白血病ウイルス1型 (Human T-cell Leukemia Virus type1: HTLV-1) は成人T細胞白血病 (Adult T-cell Leukemia: ATL) の原因ウイルスである。HTLV-1遺伝子発現に転写プロモーターとしての役割を果たすlong terminal repeat (LTR) からの転写が、細胞の種々の増殖条件により正および負の制御を受けている。この制御のひとつは自身のゲノム上にコードされる転写活性化因子Taxと宿主細胞内の転写因子CREBとの相互作用によっておこなわれていることが知られている。近年、CREBの転写コアクチベーターとしてTransducers of Regulated CREB (TORCs) が見いだされ、CREBによる転写を正に制御することが明らかにされた。さらにTORCsはCREB存在下にTaxによるLTRからの転写を相乗的に増強することが報告されている。しかしながら、TORCsによるLTRから転写制御の詳細な分子機構についてはほとんど不明であった。

申請者は、まず酵母ツーハイブリッド法により、TORC3と相互作用する分子としてB-cell chronic lymphatic leukemia protein 3 (BCL3) を同定した。レポーターアッセイ法を用いることによりTORC3によるLTRからの転写活性化に対してBCL3が抑制的に働くことを見出し、また、BCL3に対するsiRNAを用いた内在性BCL3の発現抑制により、TORC3によるLTRからの転写活性化が亢進されることを示した。以上の結果からBCL3はTORC3の抑制因子として機能すると結論した。さらにこの転写抑制機構の詳細を調べるために、DNA affinity precipitation (DNAP) アッセイおよびクロマチン免疫沈降法によりLTR上の転写因子複合体を解析した結果、BCL3依存的にヒストン脱アセチル化酵素1 (HDAC1) がそこにリクルートされ、ヒストンの脱アセチル化を誘導することが判明した。このことからBCL3は相互作用したHDAC1によるヒストンの脱アセチル化によりTORC3によるCREB依存的な転写活性化を抑制することが推定された。このBCL3遺伝子がTaxにより発現誘導されることがわかったためLTRからの転写制御が巧妙に行われている事実の一端が明らかになった。本研究はウイルス遺伝子発現制御機構の解析から、新たな転写抑制因子とその抑制メカニズムの一端を明らかにしており、ウイルスに限らず遺伝子発現機構に関する研究の発展に寄与すると考えられる。

以上より、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、平成19年10月9日論文公聴会を開催し、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。