



Title	HTLV-I LTRの転写抑制領域の解析
Author(s)	奥村, 晃市
Citation	大阪大学, 1999, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/41207
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

氏 名	奥 村 晃 市
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 4 2 4 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 11 年 1 月 14 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	HTLV-I LTR の転写抑制領域の解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 西原 力 (副査) 教 授 那須 正夫 教 授 土井 健史 教 授 本田 武司

論 文 内 容 の 要 旨

ヒトT細胞白血病ウイルスI型(HTLV-I)は、1981年に世界で最初に成人T細胞白血病ATLの病原因子として同定されたヒトレトロウイルスである。また、HTLV-IはATLのようなT細胞の腫瘍性増殖による疾患以外にも、非腫瘍性の疾患であるHTLV-I関連脊髄症HAM(HTLV-I associated myelopathy)や、熱帯性痙攣性麻痺症TSP(tropical spastic paraparesis)と呼ばれる末梢神経性の疾患の病原因子であることが示されている。

HTLV-IはCD4陽性のT細胞(ヘルパーT細胞)に感染することによって感染細胞の悪性化に関与すると考えられている。悪性化に関しては、pX領域にコードされている転写活性化因子Taxの過剰発現により細胞が癌化することから、HTLV-Iの発現が細胞の癌化に関与することが示唆されている。一方、発症に関しては、感染後、HTLV-Iは染色体に組み込まれ、その後20~50年にも及ぶ長期間の潜伏感染期を経てATLを発症することが知られている。しかしながら、潜伏感染機構についてはほとんどわかっていない。

潜伏感染機構として考えられるもののひとつは遺伝子発現に関するものである。すなわち、健康キャリアーや患者の新鮮末梢血単核球に存在するHTLV-I感染細胞において、ウイルスmRNAの発現はノザンプロット法などでは検出できない。最近になって、RT-PCR法を用いて健康キャリアーや患者の新鮮末梢血単核球の感染細胞からtax/rex mRNAの発現が検出された。この結果より、ごく少量であるがウイルス自身の持つ転写活性化因子が発現していることが明らかとなった。感染細胞内でTaxが発現してウイルス遺伝子の発現が活性化されると考えられるが、実際には発現は低いままに抑えられている。

以上の点から、ウイルス遺伝子は感染細胞内で転写活性化の刺激に対して発現を抑制され、ウイルスmRNAの発現が低い状態に保たれていると考えた。Taxの過剰発現により細胞が癌化することを合わせて考えると、遺伝子発現の抑制と潜伏感染期が密接に関係していると思われたので、まず、ウイルス遺伝子の発現の抑制機構に着目しLTRの解析を試みた。HTLV-I遺伝子発現の調節は、5'側のlong terminal repeat(LTR)と呼ばれる領域で調節されており、様々な細胞側の転写因子が関与している。そこで、LTR上に転写抑制領域の有無について、LTRのU5領域を欠失させたレポーター遺伝子を細胞にトランジェントに導入することによって解析した。その結果、U5領域に転写抑制活性

を示す配列(U5RE)が存在し, Tax の存在の有無に関わらず機能していることを明らかにした。ゲルシフトアッセイを用いて U5RE に結合する蛋白質の同定を試みたところ複数の因子が結合していることが明らかとなった。結合特異性の弱いものとして Ku 抗原が結合していることを抗体を用いて同定した。競合実験により U5RE 中の CACCC 配列を特異的に認識するものを検出し, それらが Sp1, Sp3 を含んでいることを抗体を用いて明らかにした。さらに, 発現クローニングにより HUB1 を単離し, C 末側に Kruppel type の Zinc finger 領域を 5 回繰り返し持つ転写因子であり, CACCC 配列を特異的に認識することを明らかにした。HeLa 細胞を用いて機能解析を行い, HUB1 は U5RE を介して転写抑制活性を持ち, Tax 存在下でも機能することを明らかにした。HUB1 の機能領域を解析した結果, 転写抑制活性を持つ領域を示すことができた。その転写抑制領域は新規のアミノ酸配列を持つことより, HUR 領域と名付た。

以上の結果より, HTLV-I の潜伏感染期にウイルス遺伝子の発現が低く抑えられていることに着目して解析を進め, HTLV-I LTR 上に転写抑制活性を示す配列が存在することを明らかにした。さらに, その配列を介して転写抑制活性を示す細胞側因子 HUB1 を同定した本研究は, 発症機構を理解する上で非常に重要な情報を与えたものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

奥村君は, ヒトT細胞白血病ウイルスI型(HTLV-I)の潜伏感染がその遺伝子の発現抑制と密接に関連すると考え, その解析を試みた。その結果, Long Terminal Repeat(LTR)部位のU5領域に転写抑制活性を示す配列(U5RE)が存在することを示した。さらにU5REに結合する細胞側因子を複数個同定し, そのうちのひとつは新規抑制因子であり, HUB1と名づけその機能解析を行った。そして, HUB1はU5REを介してLTRからの転写を抑制することやHUB1蛋白質の75~184番目のアミノ酸領域が転写抑制に関与することなどを明らかにした。

これらの成果は, HTLV-1の潜伏感染, ひいては発症機構に対して貴重な知見を与えるものであり, 学術的に高く評価され, 博士(薬学)学位論文として充分価値あるものと認められる。