



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、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

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、熱帯性痙性麻痺症 TSP (tropical spastic paralysis) 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 の発現はノザンブ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-I 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。