



Title	The Mechanism of Angiopoietin-1 Up-regulation in KSHV-infected PEL Cell Lines
Author(s)	Zheng, Xin
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/51926
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。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

論 文 内 容 の 要 旨
Synopsis of Thesis

氏 名 Name	Zheng Xin
論文題名 Title	The Mechanism of Angiopoietin-1 Up-regulation in KSHV-infected PEL Cell Lines (KSHV感染PEL細胞で高発現するANGPT-1発現制御機構の解析)
論文内容の要旨 〔目 的(Purpose)〕 KSHV感染した原発性浸出液リンパ腫(Primary effusion lymphoma, PEL)細胞株においてアンギオポエチン-1(ANGPT-1)が発現亢進していることを見出した。ANGPT-1は血管再構築、リンパ管形成過程および血管外漏出防止などにおいて重要な働きをする因子であるため、AIDS病態下でPELが発生する場合に、ANGPT-1は多彩な病態形成に関与すると思われる。そこで、KSHV感染PEL細胞株で発現亢進するANGPT-1の発現制御機構の解析を行った。 〔方法(Methods)〕 1) KSHV感染PEL細胞・非感染細胞株等における細胞培養上清中のANGPT-1をELISAにより濃度を測定し、また免疫沈降-ウェスタンブロット法による検出を試みた。 2) 発現制御に関わるとされるANGPT-1遺伝子の upstream 約1kbをクローニングし、ルシフェラーゼレポータープラスミドを構築した。またその5' からの欠損変異体を作製した。レポーターアッセイにより、最小単位のANGPT-1発現制御責任領域の同定を試みた。 3) 発現制御領域に結合する蛋白因子の存在についてはEMSAで解析した。質量分析により結合因子の同定を試みた。 4) ゲルシフトEMSA及びChIP-qPCRを用いて、転写因子とANGPT-1の結合を確認した。 〔成績(Results)〕 1) KSHV感染PEL細胞(BC-1, BCBL1, TY1, BC3)における培養上清中のANGPT-1は有意に高く、一方、KSHV非感染細胞(LacZ-V5His/BJAB, LacZ-V5His/293, Raji, Namalwa)では検出できなかった。免疫沈降-ウェスタンブロット法により約72 kDaのバンドとして検出した。 2) KSHV感染細胞と非感染細胞のレポーターアッセイにより、KSHV感染細胞でANGPT-1の転写活性は有意に高いことを認めた。また、ANGPT-1プロモーター upstream 約900bpからの欠損変異体のレポーターアッセイにより、転写開始部位 upstream にある約19bpの領域が必要かつ十分であることを確認した。尚、現在のところ、KSHV潜伏感染因子; LANA、v-サイクリン、vFLIP及びvIRF3の単独一過性発現では転写活性化誘導は確認されなかった。 3) KSHV感染細胞(BCBL1)の核抽出物特異的に19bp発現制御領域に結合する因子OCT-1の存在を検出した。 4) OCT-1がKSHV感染細胞でANGPT-1に結合する 〔総 括(Conclusion)〕 KSHV感染PEL細胞でOCT-1がcore因子になってANGPT-1の転写制御に関わる。この現象はAIDS病態下でのPEL発症による患者病態に大きな影響を与えるものと思われる。	

論文審査の結果の要旨及び担当者

(申請者氏名) Zheng Xin		
論文審査担当者	(職)	氏 名
	主 査	大阪大学教授 上田 啓次
	副 査	大阪大学教授 松浦 美治
	副 査	大阪大学教授 塩田 達也
論文審査の結果の要旨		
カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV, ヒトヘルペスウイルス8, HHV-8) はAIDS病態下でカポジ肉腫やprimary effusion lymphoma (PEL)やキャッスルマン病といった悪性腫瘍や悪性腫瘍様病態の発症に密接に関わる。本研究はKSHV感染した原発性浸出液リンパ腫(Primary effusion lymphoma, PEL)細胞株において、血管とリンパ管形成過程に関与する因子：アンギオポエチン-1 (ANGPT-1) の発現が亢進していることを見出した。そこで、KSHV感染PEL細胞株で発現亢進するAngpt-1の発現制御機構の解析を行った。 ANGPT-1はKSHV感染PEL細胞で高発現&分泌している。また、<i>Angpt-1</i>転写開始点上流にある約19bpの領域がKSHV感染細胞特異的に発現制御責任領域として機能している。Oct-1は19bpのANGPT-1発現制御領域に結合して、ANGPT-1の転写活性を制御する。この現象はAIDS病態下におけるPEL発症患者の病態に大きな影響を与える可能性が示唆された。 本研究は博士(医学)の学位授与に値するものと認める。		