

臼井 哲也 論文内容の要旨

主 論 文

Characteristic expression of HTLV-1 basic zipper factor (HBZ) transcripts in HTLV-1 provirus-positive cells.

HTLV-1 ウイルス陽性細胞における HBZ の発現について
臼井 哲也、柳原 克紀、塚崎 邦弘、村田 健、長谷川 寛雄、
山田 恭暉、上平 憲

published online Retrovirology 2008, 5:34 doi:10.1186/1742-4690-5-34

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科医療科学専攻
(主任指導教員:上平 憲教授)

緒 言

HTLV-1 は成人 T 細胞性白血病・リンパ腫(ATL、ATLL)の発病に関与するウイルスで主に Tax が発病に関与している。近年、我々を含め、新しいウイルス蛋白 HBZ が発癌に関与していると報告している。HBZ(HTLV-1 bZIP factor)は、3' LTR の U5 領域から転写されるスプライス型転写物と、Tax/Rex ORF から翻訳される非スプライス型(HBZ)がある。この HBZ 遺伝子は、HTLV-1 キャリアー細胞、ATL 細胞に発現していると言われるため、HBZ が腫瘍増殖に関与しているか不明である。今回、我々は感染細胞あたりの HBZ-SI、tax mRNA 量を比較し、HBZ の意義を検討した。

対象と方法

1. 対象:
HTLV-1 キャリアー31名、ATL患者35名(急性型、慢性型、寛解期)、および cell line(ATL 細胞/感染細胞由来株:SO4,ST1,KK1,KOB,OMT,Hut102,MT1,MT2,MT1s)を用いた。
2. 方法:
(1)HTLV-1SBH 法: EcoR I, Pst I の制限酵素を用い、ジゴキシゲニン標識 whole probe を用いた Southern blotting 法にてクロナリティーを判断した。
(2)HTLV-1 provirus 量: pX 領域を標的として LightCycler PCR 法にて絶対的定量した。
(3)HBZ-SI 定量: HBZ-SI 特異 primer にて cDNA 化し、HBZ-SI 相補的 Hybri probe を用いて、qRT-PCR 法にて定量した。
(4)tax 定量: Oligo(dT) primer より cDNA 化し、pX 領域を標的に、qRT-PCR 法にて定量した。

結 果

HTLV-1 provirus 量、HBZ-SI mRNA 量、tax mRNA 量の発現量の比較は、末梢血単核球あたりの補正前値と HTLV-1 感染細胞のみの 10^4 個あたりの補正後発現量にて比較検討した。

1. 末梢血単核球あたりの HBZ-SI 発現量は、HTLV-1 provirus 量に相関していることが示され

- た。
2. 補正後の感染細胞あたりの HBZ-SI は HTLV-1 キャリアーを1として ATL 細胞 6 倍、cell line は 6 倍と腫瘍化細胞に高発現であった。
 3. Tax の発現量は、HTLV-1 キャリアーを1として ATL 細胞はその 1/15 しか発現がなく、対照的に cell line では、900 と高発現していた。
 4. HBZ-SI の Tax に対する相対発現の比は、HTLV-1 キャリアーは 3.7、ATL330、cell line は 0.02 となり、HBZ-SI は、HTLV-1 キャリアーより ATL に著明に増加しており、HBZ-SI の深い関与が示唆された。
- 一方、ATL cell line では高 HBZ-SI、低 tax、感染細胞由来 cell line では、高 tax、低 HBZ-SI の キャリアー型に分類された。

考 察

過去の研究では Tax が ATL 発現の誘導に中心的な役割を果たしていることが示されている。しかし、ATL の約 6 割にしか Tax は発現しておらず、Tax の oncogenic な作用に疑問視する向きも多い。

一方、最近我々を含め HTLV-1 マイナス鎖の新しいウイルス因子 HBZ が発見され、ATL 細胞においては増殖的に作用すると示され、注目を浴びている。

しかしながら、これまでのところ HTLV-1 キャリアー細胞、ATL 細胞、cell line における HBZ-SI の発現量は一定しており、その作用に疑問視する向きも多い。

そこで、申請者は、HTLV-1 provirus 細胞のみに発現している HBZ を定量し、tax との相対的な発現量を比較することにより、病因論的な意義を考察した。

その結果、HTLV-1 キャリアー細胞に比し、ATL 細胞では、HBZ-SI が 300 倍と著明に増加し、腫瘍化に関与していることが示唆された。

このことは、ATL 細胞由来 cell line と HTLV-1 感染細胞由来 cell line の HBZ-SI と tax の対照的な関係から HBZ-SI の腫瘍化への関係を支持する所見を得た。

結論

結論として、感染細胞のみの HBZ-SI あるいは tax を評価することにより、的確に HBZ-SI の特性を発見し、その ATL 発病に対する病因論的意義を推測した。

今後、HBZ-SI を標的とした感染のマーカーや治療の標的としての応用が期待される。

HTLV-1 感染細胞中での HBZ-SI mRNA 量、tax mRNA 量比較では、ATL の HBZ-SI mRNA 量は HTLV-1 キャリアーより 6 倍高値を示し、tax mRNA 量の発現量は逆に HTLV-1 キャリアーの 1/15 しかなく、HBZ が Tax の動作を打ち消すことによって HTLV-1 生物学で重要な役割を演ずるかもしれないことが示唆されていたので、HBZ が ATL の腫瘍形成のために働いていることが予測された。

以上、HBZ-SI mRNA 量、tax mRNA 量、HTLV-1 provirus 量を量的、相対的に評価することは、HTLV-1 キャリアー、ATL、cell line の判別に有用と示唆された。