


(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Human T-cell leukemia virus type 1 Tax transactivates the *matrix metalloproteinase 7* gene via JunD/AP-1 signaling

(ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 Tax は JunD/AP-1 シグナルを介してマトリックスメ
タロプロテアーゼ 7 遺伝子を活性化する)

氏名 仲地 佐和子  印

論文要旨

【背景と目的】成人 T 細胞白血病 (ATL) は、HTLV-1 感染によって引き起こされる T 細胞腫瘍であり、臓器浸潤が特徴的である。腫瘍細胞の浸潤、転移の過程にマトリックスメタロプロテアーゼ (MMPs) が関与している。MMPs の多くは間質細胞によって産生されるが、MMP-7 を含む限られた MMPs は腫瘍細胞自身に発現している。本研究では、ATL における MMP-7 の発現制御機構と臓器浸潤への関与を明らかにした。

【方法】細胞は HTLV-1 感染 T 細胞株 (MT-2、SLB-1、MT-1、TL-OmI、HLN-ATL-O)、非感染 T 細胞株 (Jurkat、MOLT-4、CCRF-CEM、TY8-3、JPX-9)、ATL 患者及び健常人の末梢血単核球を用いた。組織での MMP-7 蛋白質発現の評価には免疫染色を、MMP-7 の局在は免疫蛍光染色で観察した。MAPK 関連蛋白質、JunD 及び HTLV-1 Tax の発現やリン酸化をウエスタンブロット法で、MMP-7、JunD 及び Tax mRNA 発現を RT-PCR 法で解析した。MMP-7 遺伝子発現制御の解析に EMSA とレポーターアッセイを用いた。浸

潤能の評価は細胞浸潤アッセイで行なった。




【成績】感染 T 細胞株と末梢血 ATL 細胞に MMP-7 の高発現がみられた。リンパ節に浸潤した ATL 細胞にも MMP-7 の発現が観察された。MMP-7 の局在は細胞質であった。TY8-3 細胞に HTLV-1 を感染させると Tax と MMP-7 の発現が誘導された。Tax の発現を CdCl₂ により誘導可能な JPX-9 細胞を用いて解析したところ、MMP-7 発現は Tax 単独で誘導された。Tax 応答配列は MMP-7 プロモーターに存在する AP-1 結合配列であり、Tax は AP-1 配列へ JunD の結合を誘導し、MMP-7 遺伝子を活性化した。転写活性領域を欠く JunD 変異体や JunD に対する siRNA を導入すると MMP-7 の発現が低下したことから、Tax 誘導性 MMP-7 の発現には JunD が不可欠であった。Tax は JNK や ERK、JunD のリン酸化を誘導し、JNK や ERK の阻害剤は JunD のリン酸化と MMP-7 の発現を抑制した。更に、リン酸化部位に変異を加えた JunD 発現プラスミドは Tax 誘導性 MMP-7 プロモーター活性を抑制した。JunD のノックダウンや MMP-7 に対する中

和抗体の添加により感染 T 細胞株の浸潤が阻害された。

【結論】 MMP-7 は HTLV-1 感染 T 細胞株や ATL 細胞で高発現しており、その原因として Tax 依存的な JunD の活性化が明らかとなった。Tax → JNK/ERK → JunD の活性化による AP-1 配列依存性の MMP-7 誘導は ATL の臓器浸潤機構において重要な役割を担っている。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第 号 論文博	氏名	仲地 佐和子
論文審査委員	審査日	平成 23年 6月 16日	
	主査教授	榎田 真一 GP  印	
	副査教授	松下 正之 	
	副査教授	高山 千利 	
(論文題目)			
Human T-cell leukemia virus type 1 Tax transactivates the matrix metalloproteinase 7 gene via JunD/AP-1 signaling			
(論文審査結果の要旨)			
上記論文に関して、研究にいたる背景と目的、研究内容、および研究成果の意義と学術的水準について慎重に検討し、以下のような審査結果を得た。			
1. 研究の背景と目的			
成人 T 細胞白血病(ATL)は、HTLV-1 感染によって引き起こされる T 細胞腫瘍であり、臓器浸潤が特徴的である。腫瘍細胞の浸潤、転移の過程にマトリックスメタロプロテアーゼ(MMPs)が関与している。MMPs の多くは間質細胞によって産生されるが、MMP-7 を含む限られた MMPs は腫瘍細胞自身に発現している。本研究では、ATL における MMP-7 の発現制御機構と臓器浸潤への関与を明らかにした。			
2. 研究内容：方法、結果および結論			
細胞は HTLV-1 感染 T 細胞株(MT-2、SLB-1、MT-1、TL-OmI、HLN-ATL-0)、非感染 T 細胞株(Jurkat、MOLT-4、CCRF-CEM、TY8-3、JPX-9)、ATL 患者及び健常人の末梢血単核球を用いた。組織での MMP-7 蛋白質発現の評価には免疫染色を、MMP-7 の局在は免疫蛍光染色で観察した。MAPK 関連蛋白質、JunD 及び HTLV-1 Tax の発現やリン酸化をウエスタンブロット			

法で、MMP-7、JunD 及び Tax mRNA 発現を RT-PCR 法で解析した。MMP-7 遺伝子発現制御の解析に EMSA とレポーターアッセイを用いた。浸潤能の評価は細胞浸潤アッセイで行なった。(結果)感染 T 細胞株と末梢血 ATL 細胞に MMP-7 の高発現がみられた。リンパ節に浸潤した ATL 細胞にも MMP-7 の発現が観察された。MMP-7 の局在は細胞質であった。TY8-3 細胞に HTLV-1 を感染させると Tax と MMP-7 の発現が誘導された。Tax の発現を CdCl₂ により誘導可能な JPX-9 細胞を用いて解析したところ、MMP-7 発現は Tax 単独で誘導された。Tax 応答配列は MMP-7 プロモーターに存在する AP-1 結合配列であり、Tax は AP-1 配列へ JunD の結合を誘導し、MMP-7 遺伝子を活性化した。転写活性領域を欠く JunD 変異体や JunD に対する siRNA を導入すると MMP-7 の発現が低下したことから、Tax 誘導性 MMP-7 の発現には JunD が不可欠であった。Tax は JNK や ERK、JunD のリン酸化を誘導し、JNK や ERK の阻害剤は JunD のリン酸化と MMP-7 の発現を抑制した。更に、リン酸化部位に変異を加えた JunD 発現プラスミドは Tax 誘導性 MMP-7 プロモーター活性を抑制した。JunD のノックダウンや MMP-7 に対する中和抗体の添加により感染 T 細胞株の浸潤が阻害された。(結論)MMP-7 は HTLV-1 感染 T 細胞株や ATL 細胞で高発現しており、その原因として Tax 依存的な JunD の活性化が明らかとなった。Tax→JNK/ERK→JunD の活性化による AP-1 配列依存性の MMP-7 誘導は ATL の臓器浸潤機構において重要な役割を担っている。

3. 研究成果の意義と学術水準

本研究は ATL における臓器浸潤機構について、複数の実験結果をもとに詳細に検討した報告である。ATL 治療に関する研究は多々あるが、いまだ治療法の確立には至っていない。このような現状の中で本研究の成果は分子標的療法としての一角を担うものであると期待される。本研究は ATL の発癌機能の解明、また治療法をさぐる上で重要な研究であると評価された。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A 4 とし縦にして左横書きとすること。
 - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
 - 3 *印は記入しないこと。