

(別紙様式第3号)

論 文 要 旨

論 文 題 目

Resistance to Apo2L/TRAIL-Mediated Apoptosis and Constitutive Expression of Apo2L/TRAIL in Human T-Cell Leukemia Virus Type 1-Infected T-Cell Lines

(ヒトT細胞性白血病ウイルス1型感染T細胞株におけるApo2L/TRAIL誘導性アポトーシスへの抵抗性とApo2L/TRAILの恒常的発現)

氏名 松田竹広 (印)

【背景と目的】成人T細胞性白血病(ATL)は、human T-cell leukemia virus type 1(HTLV-1)感染により引き起こされる成熟CD4陽性T細胞の白血病である。ATLは難治性であり、新規治療法の確立が求められている。Apo2 ligand/TNF-related apoptosis-inducing ligand(Apo2L/TRAIL)はTNFファミリーに属し、腫瘍細胞に対して選択的にアポトーシスを誘導する。本研究では、HTLV-1感染T細胞のApo2L感受性やApo2L発現について解析を行った。

【方法】細胞生存率の検討はWST-8法を用いて行った。アポトーシスはミトコンドリア膜上7A6抗原の発現をフローサイトメトリーにより解析することで検討した。Apo2L、Apo2L受容体、cFLIP mRNAの発現はRT-PCR法で、またTax mRNAの発現はノーザンブロット法で解析した。細胞表面のApo2L受容体は抗体を用いたフローサイトメトリーで解析した。I κ B α 、Bcl-2、Bcl-x_L、Bax、IAP-2、survivin、Aktの発現およびAktのリン酸化はウエスタンブロット法で解析した。TaxによるTRAIL発現誘導の

検討には誘導性Tax発現JPX-9細胞を用いた。Apo2Lプロモーターの解析はレポーターアッセイにより行なった。転写因子のDNA結合は、核抽出液を用いたゲルシフトアッセイにより行なった。




【結果】 HTLV-1感染T細胞株やATL細胞は非感染T細胞株や活性化T細胞に比べ、Apo2L刺激アポトーシスに抵抗性であった。さらに興味あることに、HTLV-1感染T細胞株やATL細胞はApo2L mRNAを恒常的に発現していた。そこで、HTLV-1感染T細胞におけるApo2Lの発現制御機構を明らかにするため、HTLV-1のトランスフォーミングタンパクTaxとの関連を検討した。非感染T細胞株にTaxを発現誘導すると、TRAIL mRNAの発現が亢進した。レポーターアッセイおよびゲルシフトアッセイの結果、TaxはApo2Lプロモーターの-74/-65 bpに存在するNF- κ B結合配列を介して転写を活性化することがわかった。HTLV-1感染T細胞のApo2L抵抗性の機序を明らかにするために、Apo2L感受性との関連が報告されている

Apo2L受容体やcFLIPの発現、Aktのリン酸化を調べたが、関連は見いだされなかった。HTLV-1感染T細胞株は恒常的にNF- κ Bが活性化している。そこで、NF- κ B阻害剤で細胞を処理すると、Apo2Lに感受性となった。この分子機序を明らかにするため、NF- κ B阻害剤処理後のアポトーシス関連タンパクの発現を検討したが、変化は認められなかった。しかし、Apo2L受容体のうち、デスシグナルを誘導可能なDR4とDR5の発現がNF- κ B阻害剤により著明に増強することが確認された。

【総括】HTLV-1感染T細胞はTaxによるNF- κ B活性化を介してApo2Lを発現しており、さらにこのNF- κ B活性化はApo2L刺激デスシグナルを抑制し、アポトーシスに抵抗性となることが明らかとなった。NF- κ B阻害によりApo2L感受性となることから、Apo2LとNF- κ B阻害剤との併用といった新規治療法の可能性も示唆された。

(別紙様式第7号)

論文審査結果の要旨

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏名	松田竹広
		平成17年 2月 1日		
論文審査委員	主査教授	松崎吉河		
	副査教授	田中勇悦		
	副査教授	斎藤 厚		
(論文題目) Resistance to Apo2L/TRAIL-mediated apoptosis and constitutive expression of Apo2/TRAIL in human T-cell leukemia virus type-1-infected T-cell lines.				
(論文審査結果の要旨)				
<p>1. 研究の背景と目的: Human T-cell leukemia virus type-1 (HTLV-1)感染により引き起こされる成人T細胞白血病(ATL)は難治性であり、新しい治療が求められている。ATL細胞への細胞死誘導による治療の可能性を検討するために、TNF superfamily の一員である Apo2 ligand (L)の HTLV-1 感染細胞に対するアポトーシスによる細胞死誘導を検討した。</p> <p>2. 研究内容: HTLV-1 感染細胞株と ATL 細胞は、Apo2L によるアポトーシス誘導に抵抗性であった。また、これらの細胞は Apo2L それ自身を高発現しており、これは HTLV-1 の Tax による NFκB の活性化を介したものであった。実際に、Apo2L 遺伝子のプロモーター部位に NFκB を結合し転写を活性化する塩基配列を新たに同定した。一方、NFκB インヒビター存在下では、Apo2L により HTLV-1 感染細胞株のアポトーシスが誘導されるようになり、同時に Apo2L レセプター DR4 及び DR5 の発現増強が認められた。</p> <p>3. 研究成果の意義と学術的水準: 本研究から、HTLV-1 感染細胞株では NFκB 依存性の Apo2L 発現増強と、Apo2L 誘導アポトーシスへの耐性が認められることが判明した。この知見は、Apo2L に NFκB 抑制を併用することにより ATL 細胞にアポトーシスを誘導する可能性を示唆し、今後、ATL の新しい治療法を開発する上で重要と考えられる。また本研究では、Gel shift assay による Apo2L 遺伝子プロモーター部位の NFκB に対する反応部位と結合蛋白の同定を行っており、学術的な水準も非常に高いものである。</p> <p>以上の結果から、本論文は学位授与に十分値するものと判断した。</p>				

- 備考 1 用紙の企画は A4 とし縦にして左横書きとすること。
 2 要旨は 800~1200 字以内にまとめること。
 3 *印は記入しないこと。