

学位授与番号	医博甲第1334号		
学位授与年月日	平成11年3月25日		
氏名	Dorjsuren Dorjbal (ドルジスレン ドルジバル)		
学位論文題目	RMP, A Novel RNA Polymerase II Subunit 5-interacting Protein, Counteracts Transactivation by Hepatitis B Virus X Protein		
論文審査委員	主査	教授	福田 龍二
	副査	教授	小林 健一
		教授	山本 博

## 内容の要旨及び審査の結果の要旨

B型肝炎ウイルスX蛋白質 (HBx) は宿主の増殖及び炎症関連遺伝子をトランス活性化することが知られ、肝細胞がん発症に関与することが示唆されている。HBxがRNAポリメラーゼサブユニット5 (RPB5) 及び転写基本因子TFIIBに結合し、転写開始効率を上げる正の転写仲介因子 (co-activator) として働くことを報告してきた。この過程でHBxに拮抗する宿主因子の存在が推定されたため、RPB5に結合しHBxのトランス活性化に拮抗する因子の単離を行った。得られた結果は以下のように要約される。

1. HepG2細胞のcDNAのラムダgt11ライブラリーからFar-Western法を用いてRPB5と結合するクローンを選択し、更に5', 3'RACE法で1.5kbpの全長cDNAを単離した。このcDNAは508アミノ酸からなり、データベースと照合の結果、新規蛋白質と推定されたので、RMP (RPB5-mediating protein) と命名した。
2. Northern法を用いて、ヒトの各種の組織から1.5kb長のRMP mRNAが普遍的に検出され、ヒト及びサルの培養細胞全抽出液から約76kダルトンの蛋白質が抗RMP抗体を用いたWestern法で検出された。
3. 精製組み換え型RMPを用いたFar-Western法の結果、RMPはRPB5と特異的に結合したが、TBPやHBxとは結合しなかった。RPB5結合領域はRMPの中央部に限定され、RMP結合領域はRPB5のN端2/3を含む広い領域に限定された。RNAポリメラーゼの他のサブユニットに対する抗体を用いた免疫沈降物中にRMPが特異的に検出され、他方、抗RMP抗体の免疫沈降物中にはRPB5と共にRPB1とRPB6が検出されたので、RMPはRNAポリメラーゼ中に集めたRPB5と会合することが示された。
4. HepG2細胞中で強制発現したRMPはHBxによるトランス活性化を量依存的に抑制し、この効果にはRPB5との結合能が必須であった。他方、RMPのこの負の効果は過剰のHBxにより解消された。RMPの阻害効果はHBxに限定されるのではなく、HBx非存在下においても転写活性化を阻害することが示され、その阻害にもRPB5結合領域が必要であった。

以上の結果は、今回単離同定した新規蛋白質RMPがRNAポリメラーゼと直接結合する負の転写仲介因子 (co-repressor) として機能し、RMPとHBxは機能的な拮抗因子として働くことが推定された。RMPの生物学的機能と遺伝学的解析が今後の課題として残された。

本研究はRNAポリメラーゼと結合し転写を修飾する新規転写因子、RMPを単離・同定し、それがHBxのトランス活性化に拮抗する機能を持つことを明らかにした研究であり、遺伝子転写、及び肝炎ウイルスの分子生物学の進歩に寄与する労作であると高く評価された。