

## lck(リンパ球特異的チロシンキナーゼ)は IL-2非依存ATL由来細胞株では発現されない

古賀 泰裕, 木村 元喜

目的: ヒトT細胞が成人型T細胞白血病(ATL)の原因ウイルスであるHTLV-Iに感染しウイルスゲノムを組み込まれると、ウイルス由来遺伝子産物の一つであるp40<sup>x</sup>により感染T細胞表面にはIL2レセプターが多量に発現誘導される。IL2レセプターを多量に発現した感染T細胞は、細胞増殖に関して有利な状態となる。しかしこの状態では細胞はまだ増殖に関してIL2依存性であり癌としての特徴は有していない。細胞を癌へと方向づけるさらに何らかの変化が生じて感染T細胞は最終的に癌化して白血病となりこの時点で大部分のATL細胞は増殖に関してIL2非依存性となる。

HTLV-I感染T細胞はどのような機序によりIL2依存性の段階からIL2非依存性の段階へと変化するのか、分子レベルにおいてどのような遺伝子の発現調節がその変化に関わっているのかを解明するのがATL発症機構解明の上で重要と思われる。

lckにコードされた遺伝子産物 p56<sup>lck</sup>

はチロシンキナーゼ活性ドメインを有しsrcに似た構造を有する。その遺伝子発現はヒトではT細胞系列の組織、細胞にのみに認められる。即ち胸腺、末梢血Tリンパ球、HTLV-Iゲノムを組み込んでいない種々のT細胞ラインにおいて多量の発現が認められる。最近、lckはCD4分子と細胞内において物理的に連結しているとの報告も出された。これらの事実はlckがT細胞の増殖分化に重要な役割を果たしていることを示唆する。今回、我々はノーザン法を用いてlck遺伝子発現を種々のATL由来細胞株について調べた。

方法: ノーザン法。10% FCS 添加 RPMI1640 培地で継代した種々の細胞株よりグアニジン塩酸法を用いて tRNA を抽出した。それぞれの 10 $\mu$ g を用いてノーザンフィルターを作成し、lckの cDNA をプローブとしてハイブリダイゼーションを行なった。Nuclear transcription 法。0.5% NP40 により細胞よ

り細胞核を取り出し  $^{32}\text{P}$ -UTPを用いて核内で翻訳された RNA をラベルした。別にニトロセルロースフィルターに *lck*、チューブリン、CD4 の cDNA をそれぞれ  $10\mu\text{g}$  プロットしたものを、ラベルした RNA とハイブリダイズさせた。

結果：（非ATL由来細胞株での *lck* 発現）ヒト胸腺組織、正常末梢血Tリンパ球、および11種類の非ATL由来ヒトT細胞株全てにおいて例外なく *lck* の発現が認められた（図1）。T細胞株では分化度の高い細胞株（HSB2、JURKAT）が低い細胞株（P30/OKUBO、KE37）に比べ高く発現していた。ヒト非T細胞株、RPMI1788（B細胞由来）、EL2K（赤芽球由来）では *lck* は発現していなかった。

（ATL由来細胞株での *lck* 発現）次にATL由来細胞株である HUT102、OCH、KAN、MT-1、MT-4 について *lck* 発現の有無を調べたところ、全ての細胞株で、*lck* の発現が認められなかった（図2）。コントロールとしてのチューブリンメッセージはこれらの細胞株でも発現していた。なおこれらのATL由来細胞株は、すべて増殖に関してIL2非依存性であった。

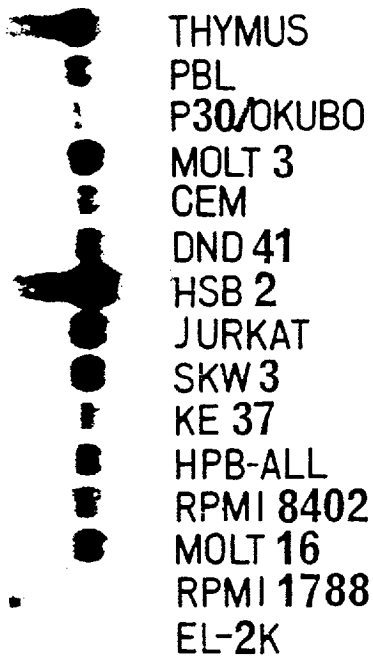
（IL2依存性ATL由来細胞株での *lck* 発現）増殖に関してIL2依存性であるATL由来細胞株、HIMI、NOBE、TOM-1 について *lck* の発現をみたところ全ての細胞株で発現していた。（図3）。図2で調べた以外の、他のIL2非依存性ATL由来株、

MT-2、H582、IT607、KT252、TON-1では同様にいずれも発現していなかった。

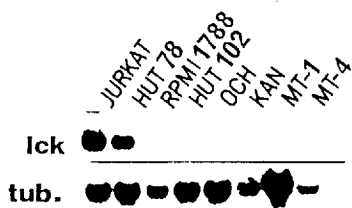
（*lck* 遺伝子発現消失の段階）*lck* を発現しないIL2非依存性ATL株と *lck* を発現するIL2依存性ATL株よりDNAを抽出し種々の制限酵素で切断した後、*lck* の cDNA をプローブとしてサザン法を行ったところ、両者においてgenome レベルにおいての、欠失、増幅等は認められなかった。Nuclear transcription 法で *lck* の翻訳を調べたところ、IL2非依存性ATL株では翻訳が認められなかった。

考察：IL2依存性ATL株では *lck* 遺伝子発現が認められるのに対し、IL2非依存性となったATL株ではその発現が翻訳レベルで消失していた。このことはATL細胞株においては増殖に関してIL2依存性の段階から非依存性の段階へ変化する際に *lck* 遺伝子の発現も消失することを示した。すなわち *lck* はIL2レセプターの情報伝達装置である可能性も示唆される。また一方では *lck* は CD4分子と連結しているとの知見もあり、今後の *lck* のATL発癌における役割の解明が待たれる。

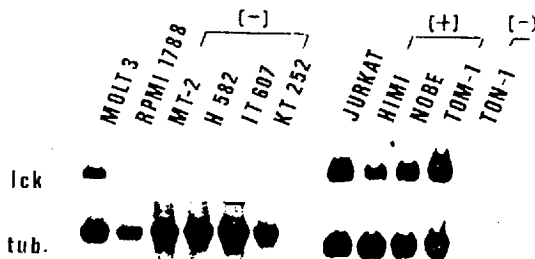
(图 1)



(图 2)



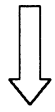
(图 3)





## 検索用テキスト OCR(光学的文字認識)ソフト使用

論文の一部ですが、認識率の関係で誤字が含まれる場合があります



目的: ヒトT細胞が成人型T細胞白血病(ATL)の原因ウイルスであるHTLV-1に感染しウイルスゲノムを組み込まれると、ウイルス由来遺伝子産物の一つであるp40xにより感染T細胞表面にはIL2レセプターが多量に発現誘導される。IL2レセプターを多量に発現した感染T細胞は、細胞増殖に関して有利な状態となる。しかしこの状態では細胞はまだ増殖に関してIL2依存性であり癌としての特徴は有していない。細胞を癌へと方向づけるさらには何らかの変化が生じて感染T細胞は最終的に癌化して白血病となりこの時点で大部分のATL細胞は増殖に関してIL2非依存性となる。

HTLV-1感染T細胞はどのような機序によりIL2依存性の段階からIL2非依存性の段階へと変化するのか、分子レベルにおいてどのような遺伝子の発現調節がその変化に関わっているのかを解明するのがATL発症機構解明の上で重要と思われる。

lckにコードされた遺伝子産物p56lckはチロシンキナーゼ活性ドメインを有しsrcに似た構造を有する。その遺伝子発現はヒトではT細胞系列の組織、細胞にのみに認められる。即ち胸腺、末梢血Tリンパ球、HTLV-1ゲノムを組み込んでいない種々のT細胞ラインにおいて多重の発現が認められる。最近、lckはCD4分子と細胞内において物理的に連結しているとの報告も出された。これらの事実はlckがT細胞の増殖分化に重要な役割を果たしていることを示唆する。今回、我々はノーザン法を用いてlck遺伝子発現を種々のATL由来細胞株について調べた。