

HTLV-I p40^{tax}による内在性c-fos遺伝子の活性化

(分担研究：成人T細胞白血病ウイルス(HTLV-I)の感染メカニズムの解明)

中村正孝*

要約：HTLV-Iは成人T細胞白血病(ATL)の原因ウイルスであり、in vitroで正常T細胞を腫瘍化するヒトの発癌性レトロウイルスである。HTLV-Iによる発癌機構は今までの動物のレトロウイルスによる発癌機構では説明できず、不明である。その中でHTLV-IのもつpX領域の産物であるp40^{tax}は、エンハンサーに作用するトランス活性化因子で、この作用と細胞腫瘍化の関連が注目されている。本研究では、p40^{tax}の発現プラスミドを安定に組み込んだヒトT細胞株Jurkatを用い、細胞側の癌遺伝子であるc-fosの転写が、p40^{tax}により誘導されることを証明した。なお他の細胞側の癌遺伝子c-myc、c-myb、c-junの発現はp40^{tax}により影響を受けなかった。

見出し語：トランス活性化因子，癌遺伝子，電気穿孔法

研究方法：p40^{tax}の発現ベクター(pMAXneo)を電気穿孔法でヒトT細胞株Jurkatに導入した。pMAXneo中のp40^{tax}遺伝子はメタロチオネイン・プロモーターによりその発現が制御されているため、Ca²⁺の処理によりp40^{tax}の発現を誘導することができる。p40^{tax}、インターロイキン2(IL-2)レセプター(α鎖)の発現は蛍光抗体法、ウエスタンブロット法、ノーザンブロット法で検出した。核型癌遺伝子の発現はノーザンブロット法で調べた。

結果：p40^{tax}発現に伴う細胞側核型癌遺伝子の発現の変化を調べるため、p40^{tax}遺伝子

を安定に組み込み、かつp40^{tax}の発現が誘導可能な遺伝子導入株を作成した。HTLV-Iゲノム陰性のヒトT細胞株JurkatにpMAXneoを電気穿孔法で導入した。ヒトT細胞株では一般に遺伝子導入効率が非常に悪く、DEAEデキストラン法では遺伝子導入株の樹立が困難であったが、電気穿孔法により10⁻⁴程度の効率でp40^{tax}遺伝子導入株を得ることができた。この中から通常はp40^{tax}の発現がみられずCa²⁺処理により著しくp40^{tax}の発現が誘導できるクローン(JPX-9)を選択した。JPX-9においてp40^{tax}遺伝子が宿主染色体に組み込まれていることをサザンブロット法で、予想される大きさのmRNAがCa²⁺処理で発現誘導されることをノーザンブロット法で、p40^{tax}蛋白の発現を蛍光抗体法で確認した。既

*東北大学医学部細菌学教室

に一過性の遺伝子導入実験で報告されている、p40^{tax}によるIL-2レセプター(α鎖)の活性化が安定な遺伝子導入株であるJPX-9でも起こることを確認した。JPX-9でCd²⁺処理によりp40^{tax}の発現が誘導されるに伴いIL-2レセプター(α鎖)の発現が誘導される。また蛍光二重染色によりIL-2レセプター(α鎖)はp40^{tax}を発現している細胞にのみ発現していることが観察された。このことはIL-2レセプター(α鎖)の発現がp40^{tax}により直接誘導されることを示している。IL-2の産生もPHA依存下でp40^{tax}の発現に伴い誘導されることを確認した。細胞側核型癌遺伝子の発現に対するp40^{tax}の影響をノーザンブロッティング法により調べた。その結果、p40^{tax}の発現に伴いc-fosの発現亢進が認められた。一方、正常T細胞の活性化に伴い発現が誘導されることが知られている他の核型癌遺伝子c-myc, c-mybはp40^{tax}による顕著な変化は認められなかった。また線維芽細胞株においてc-fosと同様の挙動を示すc-junの発現に対しても顕著な影響は認められなかった。このように、様々な細胞外からの刺激に対して同様の挙動を示す一群の細胞性癌遺伝子のなかでもp40^{tax}の標的になりうる遺伝子は限られていることが明らかになった。また、c-fos及びIL-2レセプター(α鎖)に対するp40^{tax}の作用は一過性ではなく、持続的にこれらの遺伝子を活性化しうることが経時的観察により示された。

考察：本研究により、従来より知られているIL-2, GM-CSF, IL-2レセプター(α鎖)等のリンフォカインやそのレセプター遺伝子以外にも細胞性癌遺伝子であるc-fosがp40^{tax}の標的にな

ることが示された。このことは検索の手を拡げれば未知・既知をとわず、p40^{tax}の標的となる細胞側遺伝子がある可能性を示している。JPX-9細胞はこれら研究に有用であると考えられる。c-fosは他の細胞側核型癌遺伝子c-junと共役して特定の遺伝子群の転写調節に働いていることが明らかになっており、HTLV-Iによる細胞腫瘍化においてp40^{tax}によるc-fosの活性化が何らかの役割をになっているのかもしれない。

文献

- Saito, S., et al., Trans-activation of the simian virus 40 enhancer by a pX product of human T-cell leukemia virus type I. *J. Virol.*, 62, 644-648, 1988.
- Nakamura, M., et al., Regulation of the promoter activity of human T-cell leukemia virus type I. in "Gene Transfer and Gene Therapy" (Eds. by I. Verma, R. Mulligan & A. Beauset), UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology, New Series, Vol. 87, Alan R. Liss Inc., New York, in press.
- Nakamura, M., et al., Functional Mapping of the activity of the R region in the HTLV-I long terminal repeat to increase gene expression. *Virus Genes*, in press.
- Ohtani, K., et al., Electroporation: Application to human lymphoid cell lines for stable introduction of a trans-activator gene of human T-cell leukemia virus type I. *Nucl. Acids Res.*, in press.



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



要約:HTLV-1は成人T細胞白血病(ATL)の原因ウイルスであり、in vitroで正常T細胞を腫瘍化するヒトの発癌性レトロウイルスである。HTLV-1による発癌機構は今までの動物のレトロウイルスによる発癌機構では説明できず、不明である。その中でHTLV-1のもつpX領域の産物であるp40taxは、エンハンサーに作用するトランス活性化因子で、この作用と細胞腫瘍化の関連が注目されている。本研究では、p40taxの発現プラスミドを安定に組み込んだヒトT細胞株Jurkatを用い、細胞側の癌遺伝子であるc-fosの転写が、p40taxにより誘導されることを証明した。なお他の細胞側の癌遺伝子c-myc,c-myb,c-junの発現はp40taxにより影響を受けなかった。