

HTLV-I p40^{tax} と結合する細胞因子の検索

(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^o、永田欽也、菅村和夫

要約 HTLV-IのpX遺伝子産物であるp40^{tax}は、ウイルスのみならず細胞遺伝子の転写促進作用をもち、T細胞腫瘍化に重要な役割を果たしていると考えられている。p40^{tax}はDNAへの直接の結合能はなく、遺伝子の転写促進に際し、エンハンサーDNAに直接結合する細胞の転写因子を用いていることが明らかとなった。しかし、p40^{tax}がどの段階で作用しているのかは依然不明である。この点を解明するために、p40^{tax}に対する抗体による免疫沈降法により、p40^{tax}に直接結合する細胞因子を検索した。その結果、p40^{tax}と比較的安定に結合していると思われる細胞因子を2種類(p60, 95)を見出した。その内の1つp60を精製し、1部のアミノ酸配列を決定したところ、今までには知られていない分子であることがわかった。

見出し語：トランスアクチベーション, 免疫沈降, 細胞因子

研究方法：重金属によりp40^{tax}の発現が誘導可能なヒトT細胞株Jurkat由来のJFX-9細胞より、種々の条件下での細胞抽出液を調整した。蛋白質のラベルは³⁵S-アミノ酸を用いた。細胞抽出液をp40^{tax}に対するモノクローナル抗体(Lt-4：北里大 戸澤先生)を用いて免疫沈降を行い、2次元電気泳動で解析した。

結果：Cd²⁺でp40^{tax}を誘導したJFX-9の細胞抽出液をLt-4で免疫沈降すると、p40^{tax}とともに分子量9万5千(p95)と6万(p60)の少なくとも2種類の細胞蛋白質が特異的に共沈することを見出した。この共沈現象は、HTLV-I発現細胞では例外なくみられたが、HTLV-I感染細胞でHTLV-Iを発現していない細胞ではみられず、またコントロール抗体では認められないことより、p40^{tax}に特異的な共沈と考えられ、これらの細胞因子はp40^{tax}と何らかの関連があるものと思われる。p95に対するポリクローナル抗体を作成し、その抗体でJFX-9の細胞抽出液を

免疫沈降したところ、p40^{tax}誘導前にはp95のバンドのみが特異的に認められたが、p40^{tax}を誘導後ではp95とともにp40^{tax}が共沈してきた。また、p40^{tax}を誘導していないJFX-9を³⁵S-アミノ酸でラベルし、細胞抽出液を調整した。その細胞抽出液と、p40^{tax}を誘導し³⁵S-アミノ酸でラベルしていないJFX-9の細胞抽出液を混合後、Lt-4で免疫沈降した。すると、明確なp60のバンドが認められ、p40^{tax}とp60はin vitroでも複合体を形成することが示唆された。p60をゲル電気泳動的に単一まで精製し、アミノ酸配列の一部を決定した。そのアミノ酸配列は今まで知られたものと一致するものではなく、未知の細胞成分である。

考察：HTLV-I p40^{tax}はいくつかの遺伝子の発現を誘導する。その活性はエンハンサーの活性化を通して行われるが、p40^{tax}そのものにはエンハンサー側分子である可能性があり、また細胞の遺伝子発

^o 東北大学医学部細菌学教室(Dept. of Microbiology, Tohoku University School of Medicine)

に直接結合する能力は認められていない。p40^{tax}は、細胞の遺伝子発現のための情報伝達系の途中に入り込んでその活性を発揮しているものと思われるが、その機構の詳細は不明である。今回我々が同定したp60やp95は、p40^{tax}が直接作用する細胞側分子である可能性があり、また細胞遺伝子発現のための情報伝達経路の途中に位置する分子であることが想像される。これら分子の機能の解明は、HTLV-Iによる細胞癌化機構を知る上ばかりでなく、細胞の遺伝子発現のための情報伝達機構を知る上でも意義深い。

文献

- Ohtani, K. et al., Electroporation: Application to human lymphoid cell lines for stable introduction of a transactivator gene of human T-cell leukemia virus type I. *Nucleic Acids Res.*, 17, 1589, 1989.
- 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. Beusset), UCLA Symposia on Molecular and Cellular Biology, New Series, Vol. 87, Alan R. Liss Inc., New York, pp 103-116, 1989.
- Nakamura, M., et al., Differential activation of the 21-base-pair enhancer element of human T-cell leukemia virus type I by its own *trans*-activator and cyclic cAMP. *Nucleic Acids Res.*, 17, 5207, 1989.
- Nagata, K., et al., Activation of endogenous *c-fos* proto-oncogene expression by human T-cell leukemia virus type I-encoded p40^{tax} protein in the human T-cell line, Jurkat. *J. Virol.*, 63, 2422, 1989.
- Saito, S., et al., Detection of HTLV-I genome in seronegative infants born to HTLV-I seropositive mothers by polymerase chain reaction. *Jpn. J. Cancer Res.*, 80, 808, 1989.
- Nakamura, M., et al., Cell line-dependent response of the enhancer element of simian virus 40 to transactivator p40^{tax} encoded by human T-cell leukemia virus type I. *J. Biol. Chem.*, 264, 20189, 1989.



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- の pX 遺伝子産物である p40tax は、ウイルスのみならず細胞遺伝子の転写促進作用をもち、T 細胞腫瘍化に重要な役割を果たしていると考えられている。p40tax は DNA への直接の結合能はなく、遺伝子の転写促進に際し、エンハンサー DNA に直接結合する細胞の転写因子を用いていることが明らかとなった。しかし、p40tax がどの段階で作用しているのかは依然不明である。この点を解明するために、p40tax に対する抗体による免疫沈降法により、p40tax に直接結合する細胞因子を検索した。その結果、p40tax と比較的に安定に結合していると思われる細胞因子を 2 種類(p60,95)を見出した。その内の 1 つ p60 を精製し、1 部のアミノ酸配列を決定したところ、今までには知られていない分子であることがわかった。