

Title	ヒトT細胞白血病ウイルス1型の発癌機構における遺伝子編集酵素AIDの関与
Author(s)	森, 直樹
Citation	癌と人. 36 P.45-P.47
Issue Date	2009-05-11
Text Version	publisher
URL	http://hdl.handle.net/11094/23521
DOI	
rights	
Note	

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/repo/ouka/all/>

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型の 発癌機構における遺伝子編集酵素 AID の関与

森 直 樹*

1. 背景と目的

成人 T 細胞白血病 (ATL) は、ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-1) 感染により、60 年という長い潜伏期間を経て発症する最も予後不良の白血病・リンパ腫である。HTLV-1 の侵淫地域は西南日本であり、沖縄県も高い感染率を有し、毎年、多くの方がこの病気で亡くなっている。HTLV-1 は CD4⁺T 細胞に感染後、ウ

イルスゲノム RNA から逆転写酵素により二本鎖 DNA を合成し、インテグラーゼによって宿主ゲノムに組み込む。これがプロウイルスであり、感染細胞の増殖に伴い宿主ゲノムと共に複製される。HTLV-1 はウイルス粒子ではなく感染細胞から細胞へという直接的な細胞接着を介する感染様式をとる。このため HTLV-1 がコードする調節遺伝子の作用により感染細

胞を増やすという戦略がとられている。このような戦略の副産物として癌である成人T細胞白血病(ATL)が引き起こされると考えられ、HTLV-1がコードする調節遺伝子が重要な働きをしていることが予想されてきた。この調節遺伝子群の中でも tax 遺伝子は、ウイルスの long terminal repeat を活性化してウイルス遺伝子の発現を強力に誘導するとともに、その多面的な細胞増殖促進作用、アポトーシス阻害作用、発癌促進作用から中心的な役割を果たすものと考えられ、研究が進められてきた。我々も今までに、Tax タンパク質がその発現を誘導する遺伝子として、種々のサイトカイン、ケモカイン、細胞接着分子、マトリックスメタロプロテアーゼ、細胞周期関連分子、アポトーシス阻害分子などを報告してきた。また、細胞ゲノムの不安定性の誘導は癌化に必須の基盤であり、Tax タンパク質は細胞の DNA 修復機構の阻害と細胞周期のチェックポイント制御の逸脱を誘導することが知られているが、その詳細は不明である。

一方、AID(activation-induced cytidine deaminase)は、シチジン脱アミノ活性をもち、ヒトの免疫グロブリン遺伝子に変異を挿入する活性をもった分子(遺伝子を改変する能力を有する遺伝子編集酵素)である。AID は抗原刺激を受けたリンパ球において、組換え酵素の mRNA 上のシチジンを脱アミノ化し、その改編された mRNA が翻訳されて生み出すタンパク質が DNA に切断を入れる。その結果、抗体遺伝子可変領域の点突然変異と抗体のクラススイッチが起こる。これまで AID は、活性化した B リンパ球でのみ発現し、生理的に機能しているものと考えられてきた。しかしながら、最近の研究で、抗体遺伝子だけでなく、その他の遺伝子にも変異を導入し、発癌との関連が示唆されるようになってきた。Helicobacter pylori による胃癌の発症や C 型肝炎ウイルスによる肝癌の発症に、AID の関与が報告されている。これらの癌組織では、AID が高発現しており、in vitro で細胞に AID を高発現させると p53、

c-myc、Bcl-6 などの遺伝子に点突然変異が誘導される。また、AID トランスジェニックマウスでは T 細胞性悪性リンパ腫が発生する事実は、同じ T 細胞性悪性腫瘍である ATL の発症における AID の関与を強く示唆させる。

ATL 症例では高度な染色体異常が存在しており、癌抑制タンパク質である p53、p15INK4B、p16INK4A などコードする遺伝子に点突然変異が生じている。そこで、HTLV-1 の発癌機構に関して、CD4⁺T 細胞の遺伝子変異の蓄積における Tax の関与を解明するために、そのプレイヤーとして AID を想定し、それを立証することとした。

2. 方法および結果

まず、HTLV-1 感染 T 細胞株と非感染 T 細胞株における AID mRNA の発現を RT-PCR 法で比較検討した。AID mRNA は Tax を発現している HTLV-1 感染 T 細胞株でのみ発現が認められた。また、ATL 患者と健常人の末梢血単核球(PBMC)における AID mRNA の発現を比較検討したところ、ATL 細胞での高い発現が観察された。ATL リンパ節における AID の発現を免疫染色で調べたところ、6 例全例で腫瘍細胞の細胞質に AID の強い発現を認めた。HTLV-1 感染 T 細胞株 MT-2 を非感染 T 細胞株 TY8-3 と共培養し、HTLV-1 を感染させたところ、AID mRNA の発現誘導を認めた。健常人の PBMC に同様の方法で HTLV-1 を感染させても、AID mRNA の発現は誘導された。ATL 細胞では 5' 側 long terminal repeat の DNA メチル化により Tax 発現が抑制されているが、ex vivo で発現が回復する。Ex vivo で回復した Tax 発現に伴い、AID mRNA の発現も誘導された。さらに、Tax の発現をカドミウムで誘導できる JPX-9 細胞を用いて、Tax による AID mRNA の発現誘導を確認した。AID 遺伝子のプロモーター領域を含むルシフェラーゼ発現プラスミドと Tax 発現プラスミドを非感染 T 細胞株 Jurkat に導入し、ルシフェラーゼアッセイを行うことで、Tax による AID 遺

伝子の発現制御機構を検討した。Tax は AID プロモーターを活性化し、Tax 応答領域は転写開始点より上流 - 121/ - 22 bp であった。Tax 変異体を用いた解析では、NF- κ B の活性化能を欠失した変異体では AID プロモーターの活性化がみられなかった。さらに、NF- κ B シグナル伝達経路において重要な分子である NIK, IKK α , IKK β , IKK γ , I κ B α , I κ B β の優性抑制変異体の導入により、Tax 誘導性 AID プロモーター活性が阻害された。そこで、- 121/ - 22 bp 内の NF- κ B 配列を検索したところ、1つの配列を見出した。AID の NF- κ B 配列をプローブとしてゲルシフトアッセイを行ったところ、HTLV-1 感染 T 細胞株や Tax の発現を誘導した JPX-9 の核抽出液でシフトしたバンドが認められた。MT-2 細胞に NF- κ B 阻害薬である Bay 11-7082 や LLnL を添加すると、AID mRNA の発現が減弱し、NF- κ B の DNA 結合も阻害された。

3. 考察およびまとめ

HTLV-1 感染や Tax 発現は CD4⁺T 細胞に AID の発現を誘導した。Tax による AID の発現誘導には、NIK/IKK の活性化を介した NF- κ B シグナル経路の活性化が重要であった。今後は、ATL 症例や Tax トランスジェニックマウスを用いて、AID 発現と p53 などの遺伝子変異の関連を検討するとともに、AID 発現誘導による CD4⁺T 細胞における遺伝子変異の頻度増加を解析する予定である。

本研究を遂行するにあたり、大阪癌研究会から平成 19 年度一般学術研究助成金を賜りましたことを深く感謝します。貴財団のさらなる発展を心よりお祈り申し上げます。

*琉球大学大学院医学研究科病原生物学分野
平成 19 年度一般学術研究助成金交付者