The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

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. 2009, 36, p. 45-47
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/23521
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

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られている。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などを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-κB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-κBシグナル伝達経路において重要な分子であるNIK，IKKα，IKKβ，IKKγ，IκBα，IκBβ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-κB配列を検索したところ，1つの配列を見出した。AIDのNF-κB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-κB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-κB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-κB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