

Title	Evidence for Aberrant Activation of the Interleukin-2 Autocrine Loop by HTLV-1-Encoded p40x and T3/Ti Complex Triggering
Author(s)	丸山, 光生
Citation	
Issue Date	
Text Version	none
URL	<a href="http://hdl.handle.net/11094/37096">http://hdl.handle.net/11094/37096</a>
DOI	
rights	
Note	

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

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

【6】

氏名・(本籍)	丸 山 光 生
学位の種類	医 学 博 士
学位記番号	第 8 9 2 2 号
学位授与の日付	平成元年12月31日
学位授与の要件	医学研究科 生理系専攻 学位規則第5条第1項該当
学位論文題目	Evidence for Aberrant Activation of the Interleukin-2 Autocrine Loop by HTLV-1-Encoded p40 <sup>x</sup> and T3/Ti Complex Triggering (HTLV-1がコードする p40 <sup>x</sup> と T3 T細胞受容体複合体刺激による IL-2 システムの自律増殖機構の活性化の事実)
論文審査委員	(主査) 教授 谷口 維紹 (副査) 教授 祖父江憲治 教授 吉川 寛

論 文 内 容 の 要 旨

(目 的)

抗原特異的なT細胞の選択的増殖は、T細胞抗原受容体を介する細胞の活性化に伴い、T細胞増殖因子であるIL-2とその受容体(IL-2R)の遺伝子発現の誘導によって開始される。一方、ATL発症の機構とIL-2システムの関与が近年注目されており、HTLV-1のプロウイルスゲノムに存在するpX領域がコードする分子量40kdのタンパク質(p40<sup>x</sup> 或いはtat-1)がウイルス自身のLTR配列にトランスに働いて活性化させる事が明らかにされた。この事実はHTLV-1がいわゆる癌遺伝子を持たない事も考え併せるとp40<sup>x</sup>が細胞側の何らかの遺伝子に対してもトランスに働き、腫瘍性増殖へと導くのではないかという疑問を提起する。この様な観点に基づき、(1)p40<sup>x</sup>のIL-2並びにIL-2R遺伝子の転写活性化への影響、(2)マイトジェン或いは抗原刺激を受けたT細胞におけるIL-2及びIL-2R遺伝子の発現に対するp40<sup>x</sup>の影響を解析し、ATLとの関連を考察した。

(方法ならびに成績)

(1) p40<sup>x</sup>によるIL-2及びIL-2R遺伝子の活性化

IL-2及びIL-2R遺伝子の転写活性化に関与すると示唆される領域(各々、-319~-52、-1052~-32)を含むプラスミドpI319βcat、pRPXβcatを構築した。両CAT融合遺伝子各々をpX発現ベクターであるpMTPXと共にヒトT細胞株Jurkat細胞にDEAEデキストラン法を用いて導入した。結果、pI319βcat、pRPXβcat共に外部刺激を加えないと全く活性化されないにも関わらず、pMTPXと共に細胞内に導入する事により各々10.5%、50.0%のCAT活性を示した。IL-2R遺伝子に比べ、IL-2遺伝子に対してのp40<sup>x</sup>による活性化が顕著でない点は注目すべ

き事実である。またS1マッピング法により、mRNAレベルで両遺伝子が活性化される事も明らかにした。次にpI319 $\beta$ cat, pRPX $\beta$ catに加え、IL-2, IL-2R遺伝子の5'上流領域における種々の欠失変異プラスミドを構築し、Jurkat細胞へDEAEデキストラン法を用いて導入した。その結果、構築したCAT融合遺伝子を用いて解析した限りでは、IL-2, IL-2R遺伝子に関してマイトジェン刺激とp40<sup>x</sup>による活性化に必要なDNA配列とは区別できなかった。この事実は、p40<sup>x</sup>が抗原刺激に始まる正常T細胞の活性化機構の一部をバイパスする事によって、IL-2, IL-2R遺伝子を活性化することを示唆するものである。

## (2) T細胞活性化とp40<sup>x</sup>の影響

マイトジェン刺激単独によるpI319 $\beta$ cat, pRPX $\beta$ catの発現は、各々1.8%, 2.5%とp40<sup>x</sup>による発現誘導に比べ弱いCAT活性を示した。これに対しp40<sup>x</sup>の発現しているJurkat細胞に更にマイトジェン刺激を加えるとpI319 $\beta$ catはp40<sup>x</sup>, マイトジェン各々の単独刺激に比べ、約10倍に及ぶ著しい活性化が認められた。一方、pRPX $\beta$ catは既にp40<sup>x</sup>の効果で強い活性化を受け、マイトジェン刺激を加える事による相乗効果はpI319 $\beta$ cat程顕著ではなかった。また、この現象はS1マッピング法を用いた解析によりmRNAレベルでも確認された。更に、このIL-2遺伝子に見られるp40<sup>x</sup>とマイトジェン刺激による相乗的な転写活性化が、正常の抗原刺激を介する経路においても見られるかを検討した。その結果、p40<sup>x</sup>を発現させたJurkat細胞に抗T3抗体を用いてT3-T細胞受容体複合体をクロスリンクする事によっても、マイトジェン刺激時と同様、pI319 $\beta$ catの相乗的な転写活性化がみられた。この事実から、通常の抗原刺激とp40<sup>x</sup>の発現によっても同様の現象が惹起されるものと示唆される。

### (総括)

得られた実験結果より、ATL発症の初期段階におけるIL-2システムの関与について、p40<sup>x</sup>と抗原刺激という二つの異なるシグナルがIL-2, IL-2R遺伝子の制御を逸脱した異常発現を導く二段階モデルを考察した。即ち、HTLV-1に感染したT細胞はまず、自己のIL-2R遺伝子の発現が活性化され、その細胞表面にIL-2R分子が異常発現される。こうしてポリクローナルな増殖を続けるT細胞集団に更に、外界から何らかの抗原刺激が加わると、この段階にp40<sup>x</sup>+抗原刺激によるIL-2遺伝子の相乗的な転写活性化が関与し、生理的な調節を全く逸脱した異常なIL-2システムの自律増殖機構が働き、モノクローナルな増殖が起こる。こうしたT細胞クローンの異常増殖がATLにおけるさらに悪性度の高い状態に導く重要なステップと考えられる。

## 論文の審査結果の要旨

ATL(成人T細胞白血病)は、レトロウイルスがヒトの細胞の腫瘍化に關与する典型例として注目されて来た。すなわち、ヒトT細胞白血病ウイルス、HTLV-1が分離され、このウイルスがATLの原因ウイルスである証拠が数多く提出されている。HTLV-1は典型的なオンコジーンを持たないが、その

産物のひとつ p40<sup>tax</sup> (tax-1) は自らのLTRの転写を活性化させることが判明し、この因子が宿主遺伝子にも何らかの働きをする可能性が考えられた。実際ATL細胞にはT細胞増殖因子であるインターロイキン2 (IL-2) の受容体 (IL-2R) が異常発現していることが知られて居り、本研究は p40<sup>tax</sup> によるIL-2及びIL-2Rの発現の分子機構を明らかにしたものである。すなわち p40<sup>tax</sup> がIL-2及びIL-2R (IL-2R $\alpha$ 鎖) の遺伝子上流制御配列に働き、転写の活性化を促すという事実をはじめて明らかにしたもので、極めて価値ある研究であり、従って学位論文に値するものと考えられる。