



Title	IL-6発現におけるHTLV-1 Taxと転写因子NF-IL6の相乗効果
Author(s)	松阪, 泰二
Citation	大阪大学, 1993, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://doi.org/10.11501/3065794
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

The University of Osaka

氏名 松阪泰二

博士の専攻分野の名称 博士(医学)

学位記番号 第10623号

学位授与年月日 平成5年3月25日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

医学研究科生理系専攻

学位論文名 IL-6 発現における HTLV-1 Tax と転写因子 NF-IL 6 の相乗効果

論文審査委員 (主査) 教授 田中亀代次

(副査) 教授 岸本 忠三 教授 平野 俊夫

論文内容の要旨

(目的)

IL-6 の恒常的発現は、慢性関節リウマチ、多発性骨髓腫、カポシ肉腫等様々な疾患の発症や病態形成に深く関わっていて、そのメカニズムの解明は重要である。

正常T細胞は、ほとんどIL-6を分泌しないが、成人T細胞性白血病の原因ウイルスである HTLV-1 で形質転換したT細胞は、IL-6を構成的に発現している。HTLV-1の產生する Tax は、DNA結合能は持たないが、HTLV-1 LTRの転写を活性化するとともに、種々の細胞側の遺伝子の転写も活性化することが報告されている。Taxによる IL-6 発現誘導のメカニズム解明のため、IL-6 の発現に重要な転写因子 NF- κ B および NF-IL 6 と、Tax の間の相互作用を検討した。

(方法)

IL-6 遺伝子の発現を、胎児性癌細胞株 P19 を用いたルシフェラーゼアッセイで評価した。リポーター遺伝子として、IL-6 (-179 ~ +12) ルシフェラーゼ融合遺伝子を用い、それとともに、NF- κ B p50, NF- κ B p65, NF-IL 6, HTLV-1 Tax の各発現ベクターを、種々の組み合わせで、リン酸カルシウム法で導入して、48時間後ルシフェラーゼ活性を測定した。

また、NF- κ B 結合部位、および NF-IL 6 結合部位を、それぞれ変異させたリポーター遺伝子を作製し、同様の実験を行った。

(成績)

1. 野生型 IL-6 遺伝子に対する効果

p50, p65, NF-IL 6 それぞれ単独では、1.2 から 2.2 倍のルシフェラーゼ活性の増加を示した。p50 と NF-IL 6 の間に相乗効果は認められなかったが、p50-p65 および p65 と NF-IL 6 の間には、3.4 倍、8.5 倍の強い相乗効果が認められた。

次にこれらの系に tax を加えて、その効果を検討した。tax 単独では 1.8 倍の増加を示し、p50, p50-p65, p65 に tax を加えると、それぞれ相加的な増加が認められた。これに対して、NF-IL 6 に tax を加えると、2.7 倍の相乗的な増加が認められた。また、p50 + NF-IL 6 に tax を加えると、4.4 倍の増加が認められたが、p50-p65 + NF-IL 6 および p65 + NF-IL 6 に tax を加えても、1.2 倍～1.3 倍の増加しか示さなかった。

したがって、IL-6の強力な発現には、NF-IL6とp65が必要であるが、Taxは、NF-IL6あるいはNF-IL6+p50と相乗的に作用することにより、p65がない状態でも、IL-6を発現させることが示された。

2. NF-IL6結合部位を変異させたIL-6遺伝子に対する効果

NF-IL6単独によるルシフェラーゼ活性の増加は認められなかったが、p50-p65およびp65と、NF-IL6の間に、2.9倍、3.1倍の相乗効果が認められた。またtaxは、NF-IL6およびp50+NF-IL6を1.8倍、2.3倍に増加させた。

したがって、NF-IL6は、DNAと結合しなくとも、p50-p65、p65およびTaxと相乗的に働くことが示された。

3. NF-κB結合部位に変異させたIL-6遺伝子に対する効果

リポーター遺伝子のみのルシフェラーゼ活性の野生型の4分の1に減少し、NF-κBによる増加は認められなかった。

tax単独で1.3倍、NF-IL6単独で2.6倍の増加が認められ、tax+NF-IL6では5.8倍で、相乗効果は残存した。またp50-p65およびp65と、NF-IL6の間の相乗効果は、認められなかった。

したがって、IL-6の有効な発現には、NF-κBがDNAに結合していることが必須であることが示された。またTaxはNF-κBを介さずにNF-IL6を増強しうることも示唆された。

(総括)

以上の結果より、IL-6の発現機構を次のように説明できる。未刺激のT細胞の核内には、NF-κB p50と少量のNF-IL6が存在するが、NF-κB p65は細胞質に留まっている。したがって、IL-6の転写はほとんど起こらない。刺激によりp65が核内に移行すると、NF-IL6と相乗的に作用して、強力にIL-6の転写が誘導される。HTLV-1感染時は、TaxがNF-IL6と相乗的に作用することにより、p65が核内に存在しない状態でも、IL-6を構成的に発現させると考えられる。

論文審査の結果の要旨

未刺激の正常T細胞はほとんどIL-6を分泌しないが、マイトージエンなどの刺激によりIL-6を分泌する。また、Human T-Cell leukemia virus-1(HTLV-1)で形質転換したT細胞は構成的にIL-6を発現している。

本研究は、以上の現象のメカニズムを明らかにしようとしてなされた。その結果、IL-6の遺伝子発現において、NF-IL6とNF-κBが相乗的に作用すること、またHTLV-1の産生する転写活性化因子TaxとNF-IL6が相乗的に作用すること、およびその相乗効果はNF-κB結合部位の変異により著しく減弱することが明らかにされた。この結果は、炎症時においても、HTLV-1感染時においても、NF-IL6とNF-κBの双方の重要性を示しており、IL-6の遺伝子発現の分子メカニズムを明らかにするうえで重要な新しい知見で、学位授与に値すると考えられる。