

山田 兼史 論文内容の要旨

主 論 文

Tgat, a Rho-specific guanine nucleotide exchange factor, activates NF- κ B via physical association with I κ B kinase complexes

(Rho 特異的グアニンヌクレオチドイクスチェンジファクター、Tgat は I κ B キナーゼ複合体との物理的会合を介して、NF- κ B を活性化する)

山田 兼史、森内 良三、森 剛志、岡崎 英子、河野 友子
永安 武、松山 俊文、片峰 茂
(BBRC, in press, accepted 15 January 2007)

長崎大学大学院医学研究科新興感染症病態制御学系専攻
(指導教授：片峰 茂)

<緒言>

腫瘍形成における NF- κ B の重要性は数多く報告されてきた。あるウイルス蛋白質が IKK 複合体と相互作用し、NF- κ B を活性化することで発癌に関与していることが知られている。例えば、Epstein-Barr virus (EBV) は、latent membrane protein 1 (LMP-1) や EBV nuclear antigen-2 (EBNA-2) が持続的に NF- κ B を活性化することで、バーキットリンパ腫やホジキン病、移植後白血病、胃癌、鼻咽頭癌といったリンパ系や上皮系の悪性腫瘍に関与している。カポジ肉腫、原発性滲出液リンパ腫、キャッスルマン病などの原因物質とされるカポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) は、p21-activated kinase 1 (Pak 1) を介して NF- κ B を活性化している。

成人 T 細胞白血病 (ATL) の原因ウイルスである Human T-lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) がコードする Tax は、転写活性化因子として HTLV-1 プロウイルス LTR からの転写を増加させるだけでなく、宿主側の CREB、SRF 及び NF- κ B 活性を増強させることが知られている。ATL 腫瘍細胞でも NF- κ B が活性化されているが、ATL 腫瘍細胞はほとんど Tax を発現していないこと、ならびに NF- κ B 活性化機構が Tax によるものとは異なることが知られており、ATL 腫瘍細胞における恒常的 NF- κ B 活性化の分子機構は未解明のままである。本研究では、ATL 腫瘍細胞に特異的な NF- κ B 活性化分子を分離同定する目的で、ATL 腫瘍細胞由来の cDNA 発現ライブラリーを機能的スクリーニングし、Tgat (*trio-related transforming gene in ATL tumor cells*) を同定した。

<対象と方法>

- 1) 新鮮 ATL 腫瘍細胞由来の発現 cDNA ライブラリーを作成し、NF- κ B の活性化を指標にした発現クローニング法を用いて、ATL 腫瘍細胞特異的 NF- κ B 活性化分子をスクリーニングした。
- 2) 分離同定した Tgat を 293T 細胞株に導入後、レポーターアッセイ、EMSA、キナーゼアッセイを用いて NF- κ B 活性能およびパスウェイ解析を行った。
- 3) 免疫共沈実験により、Tgat と IKK 複合体間の物理的会合の有無を検討した。

<結果>

我々が同定した cDNA は、既に当研究室で NIH3T3 細胞のトランスフォーマーシオン能を指標として分離同定した分子 Tgat (J Biol Chem. 2004 Oct 15; 279(42): 43998-4004) と同一であった。Tgat は 293T 細胞株を用いたレポーターアッセイにより Tax と同程度の NF- κ B 活性能を有することを確認した。Tax で活性化された NF- κ B は主として p50/c-Rel のダイマーから構成されるが、Tgat の場合は ATL 腫瘍細胞で認められる p50/RelA ダイマーが主たる構成分子であることがスーパーシフトアッセイの結果から明らかとなった。IKK1/2、I κ B α のドミナントネガティブ変異体を用いたレポーターアッセイにより NF- κ B 活性化能が抑制されたこと、並びに NF- κ B2/p100 プロセッシングが確認された。また、Tgat による NF- κ B 活性化には、カルボキシル末端を介した IKK 複合体との物理的会合が必要であることも明らかにした。すなわち、Tgat は IKK 複合体と結合し活性化するが、さらに ATL 腫瘍細胞において認められる canonical, non-canonical pathway 両方の活性化に関与することが解明された。

<考察>

Tgat は Tax と同様に NF- κ B を活性化するが、その作用機序は異なる。Tgat による NF- κ B 活性化の方が ATL 細胞における NF- κ B 活性化機構に類似していることが明らかとなった。今後、ATL 治療において Tgat と IKK 複合体の会合を阻止するような方法が新しい治療法として可能性を秘めているのではないかと期待される。