

ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型(human T-cell leukemia virus type 1: HTLV-1)は、成人 T 細胞白血病(adult T-cell leukemia: ATL)の原因レトロウイルスである¹⁾。HTLV-1 プロウイルスのマイナス鎖にコードされている *HTLV-1 bZIP factor (HBZ)* は、すべての ATL 症例で恒常的に発現している唯一の HTLV-1 遺伝子であり²⁾、ATL 発症での重要性が示唆されてきた。HBZ タンパク質のみならず *HBZRNA* も感染細胞の増殖に寄与することが報告されているが³⁾、それらの詳細な分子機序は不明であった。本研究では、HBZ タンパク質の機能に着目し、細胞増殖におけるその分子機構を解析した。

細胞の増殖制御において、Rb/E2F-1 経路は中心的な役割を担っていることが知られる⁴⁾。E2F-1 は細胞周期の開始を誘導する転写因子であるが、E2F-1 の過剰活性化は p53 や p73 を活性化し、その結果アポトーシスも誘導すると報告されている^{5,6)}。一方 Rb は E2F-1 の転写活性を抑制し、細胞周期開始を制御するがん抑制タンパク質である⁴⁾。ヒトパピローマウイルス(HPV)の E7 タンパク質やアデノウイルスの E1A タンパク質など、いくつかのがんウイルスタンパク質は Rb と相互作用し、Rb を不活化することが知られていた^{7,8)}。

そこで先ず、HTLV-1 の HBZ タンパク質が、Rb と相互作用することで細胞増殖に寄与していると推測し、共免疫沈降実験により検討した。HEK293FT 細胞に Rb および HBZ を過剰発現させたところ両者の相互作用が検出され、さらにドメイン欠失変異体を用いた解析により、Rb の B pocket domain と HBZ の activation domain が Rb/HBZ 相互作用に必須であることが明らかになった。解析した 7 種の HTLV-1 感染細胞株すべてで Rb タンパク質の発現が認められた。このうち MT-4 細胞を用いて共免疫沈降実験を行い、内在性の HBZ と Rb のタンパク質間相互作用を確認した。

Rb はヒストン脱アセチル化酵素(HDAC)を E2F-1 にリクルートすることで、E2F-1 の転写活性を抑制すると考えられている⁸⁾。HBZ が Rb/E2F-1 間や Rb/HDAC 間の相互作用に影響していると考え解析を進めた。予想に反し、HBZ による Rb/E2F-1 相互作用への影響は見出されなかった。一方 Rb/HDAC3 相互作用は HBZ の存在下で抑制されることが明らかになった。HDAC と Rb の相互作用には、Rb の B pocket domain が必要であることが知られているため⁸⁾、HDAC と HBZ は Rb と相互作用する際に競合関係にあるのかもしれない。これらの結果から、HBZ が Rb 複合体を改変し、E2F-1 活性を増強する可能性が示唆された。

次に、レトロウイルスベクターを用いてマウス CD4 陽性 T 細胞に HBZ を強制発現させ、E2F-1 標的遺伝子の発現変動を解析した。HBZ 導入細胞では細胞周期を誘導する E2F-1 標的遺伝子(*Ccna2*, *Cdc6*, *Pcna* 等)のみならず、p53/p73 依存アポトーシスを誘導する E2F-1 標的遺伝子(*Arf*, *TAp73*)の発現上昇が認められた。同様の遺伝子発現変動は HBZ トランスジェニックマウス(HBZ-Tg)由来の CD4 陽性 T 細胞でも観察された。これらの HBZ-Tg 由来細胞では細胞増殖だけでなくアポトーシスの亢進も認められた。また、p53/p73 依存性アポトーシスを阻害することが知られる薬剤 pifithrin- α ^{9,10)}で細胞を処理したところ、X 線照射後に認められる HBZ-Tg 由来 CD4 陽性 T 細胞のアポトーシスが強く抑制されたことから、

p53/p73 の活性化が HBZ によるアポトーシス亢進に関与していることが示唆された。

HBZ RNA の機能を排除し HBZ のタンパク質の機能のみを *in vivo* で解析するために、HBZ 遺伝子の全てのコドンにサイレント変異(silent mutation: SM)を導入した HBZ トランスジェニックマウス(SM-Tg)を作成した。CD4 陽性 T リンパ球で野生型 HBZ を発現するトランスジェニックマウスでは、増殖の亢進、エフェクター・メモリー細胞の増加、Foxp3 陽性 T 細胞の増加が認められている¹¹⁾。SM-Tg 由来の CD4 陽性 T 細胞で同様の変化が確認されたことから、これらの形質は HBZ タンパク質によることが明らかになった。これらの結果から、HBZ タンパク質は Rb を不活化することで E2F-1 活性を増強し、感染細胞の増殖と ATL の発症に寄与していることが示唆された。

本研究で我々は、HBZ タンパク質が Rb/E2F-1 経路を標的とし、CD4 陽性 T 細胞の細胞増殖およびアポトーシスを促進することを明らかにした。また、E2F-1 の過剰活性化に伴う p53/p73 活性化が、HBZ によるアポトーシス亢進に関与していることが示唆された。

HBZ 遺伝子は、HBZ タンパク質と HBZ RNA がともに機能的で、それぞれが細胞増殖に関与している点で興味深い HTLV-1 遺伝子である。本研究で我々は HBZ タンパク質による細胞増殖の制御機構を解析したが、HBZ RNA による細胞増殖亢進の分子機序は不明である。HBZ タンパク質と HBZ RNA が協調的に働くことで、HTLV-1 ウイルスは感染細胞の性質を調節しているのかもしれないが、これらは未解明であり今後の研究の課題である。

参考文献一覧

- 1) Matsuoka M, Jeang KT. Human T-cell leukaemia virus type 1 (HTLV-1) infectivity and cellular transformation. *Nat Rev Cancer* 2007; 7: 270-280.
- 2) Satou Y, Yasunaga J, Yoshida M, Matsuoka M. HTLV-I basic leucine zipper factor gene mRNA supports proliferation of adult T cell leukemia cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 720-725.
- 3) Mitobe Y, Yasunaga J, Furuta R, Matsuoka M. HTLV-1 bZIP Factor RNA and Protein Impart Distinct Functions on T-cell Proliferation and Survival. *Cancer research* 2015; 75: 4143-4152.
- 4) Trimarchi JM, Lees JA. Sibling rivalry in the E2F family. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2002; 3: 11-20.
- 5) Irwin M, Marin MC, Phillips AC, Seelan RS, Smith DI, Liu W et al. Role for the p53 homologue p73 in E2F-1-induced apoptosis. *Nature* 2000; 407: 645-648.
- 6) Polager S, Ginsberg D. p53 and E2f: partners in life and death. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 738-748.
- 7) Boyer SN, Wazer DE, Band V. E7 protein of human papilloma virus-16 induces degradation of retinoblastoma protein through the ubiquitin-proteasome pathway. *Cancer research* 1996; 56: 4620-4624.

- 8) Dick FA, Rubin SM. Molecular mechanisms underlying RB protein function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14: 297-306.
- 9) Komarov PG, Komarova EA, Kondratov RV, Christov-Tselkov K, Coon JS, Chernov MV et al. A chemical inhibitor of p53 that protects mice from the side effects of cancer therapy. *Science* 1999; 285: 1733-1737.
- 10) Davidson W, Ren Q, Kari G, Kashi O, Dicker AP, Rodeck U. Inhibition of p73 function by Pifithrin-alpha as revealed by studies in zebrafish embryos. *Cell Cycle* 2008; 7: 1224-1230.
- 11) Satou Y, Yasunaga J, Zhao T, Yoshida M, Miyazato P, Takai K et al. HTLV-1 bZIP factor induces T-cell lymphoma and systemic inflammation in vivo. *PLoS Pathog* 2011; 7: e1001274