

2011 年度修士論文要旨

HTLV-I の癌遺伝子産物 Tax による *cdk7* 遺伝子の活性化

関西学院大学大学院理工学研究科
生命科学専攻 大谷研究室 倉橋 由起

ヒト T 細胞白血病ウイルス (Human T-cell leukemia virus type I: HTLV-I) は日本人によってヒトで初めて同定されたレトロウイルスであり、ヒトの T 細胞に感染し、成人 T 細胞白血病 (Adult T-cell leukemia: ATL) を引き起こす。HTLV-I は転写制御因子 Tax をコードしており、この Tax が HTLV-I の癌化に主要な働きをしていると考えられている。Tax の働きとして、転写因子 cAMP responsive element binding factor (CREB) を介して、ウイルス自身のプロモーターである long terminal repeat (LTR) を活性化することにより、ウイルスの遺伝子発現と複製を増強することが明らかにされた。続いて、Tax は少なくとも 3 つの転写因子、CREB、nuclear factor- κ B (NF- κ B)、serum responsive factor (SRF) を介して宿主細胞の増殖関連遺伝子を発現誘導し、細胞増殖を促進することがわかった。ゆえに HTLV-I による細胞のがん化には、Tax による細胞側遺伝子の活性化が重要であると考えられる。

当研究室では、HTLV-I 感染による宿主 T 細胞のがん化機構の詳細を明らかにするために、Tax の新しい標的遺伝子を探索している。先行研究でヒト T 細胞株 Kit 225 細胞を用いて行われた DNA マイクロアレイにより、Tax の新規標的遺伝子の候補が多数同定された。私はその中から *general transcription factor (GTF) 2A2*、*GTF 2H4*、*coactivator-associated arginine methyltransferase-1 (CARM1)*、*cyclin dependent kinase 7 (CDK7)* を選び出した。さらに CDK7 のパートナーである cyclin H を加え、5 つの遺伝子について Tax による発現誘導を確認した。その結果、Tax は *GTF 2A2*、*CARM1*、*cdk7* 遺伝子の発現を誘導することが確認された。

本研究ではサイクリン依存性キナーゼ (CDK) 活性化キナーゼ (CAK) の構成因子であり、かつ基本転写因子の 1 つでもある CDK7 をコードする *cdk7* 遺伝子を詳しく解析した。Tax は Kit 225 細胞だけでなく、ヒト T 細胞株である Jurkat 細胞、ヒト正常末梢血リンパ球でも、*cdk7* 遺伝子の発現を誘導した。また、これらの細胞で Tax は CDK7 タンパク質の発現を誘導した。したがって、*cdk7* 遺伝子は Tax の新規標的遺伝子であることが強く示唆された。そこで Tax

による *cdk7* 遺伝子の発現誘導機構を調べるために、CDK7 プロモーターをクローニングし、解析した。クローニングした CDK7 プロモーターは、Tax が細胞周期の進行を促進する Kit 225 細胞では Tax により活性化された。しかし、Tax が細胞周期の進行を促進できない Jurkat 細胞では活性化されなかった。そのため、Kit 225 細胞における Tax による CDK7 プロモーターの活性化は、Tax による細胞周期進行の促進による間接的なものであり、クローニングした CDK7 プロモーターに、Tax による活性化の直接の反応性エレメントが含まれていない可能性が考えられる。または Tax による直接の活性化をルシフェラーゼアッセイで検出できていない可能性が考えられる。

また Tax による *cdk7* 遺伝子の活性化の意義を検討するために、Tax による CDK7 の発現誘導が Tax による細胞周期進行に貢献しているか否かを調べた。そのために、CDK7 に対する shRNA (shCDK7) の発現ベクターと shCDK7 を発現する組換えアデノウイルスを作製し、CDK7 のノックダウンが Tax による細胞周期進行の促進に及ぼす影響を検討した。まず、shCDK7 が Kit 225 細胞において CDK7 タンパク質の発現を抑制することを確認した。また Kit 225 細胞において、細胞周期の進行に伴って活性化される転写因子 E2F の Tax による活性化が shCDK7 により減少した。

以上の結果から、Tax の新規標的として *cdk7* 遺伝子が同定された。また、Tax による *cdk7* 遺伝子の活性化が Tax による細胞周期進行に貢献している可能性が示唆された。