

第16回日本エイズ学会シンポジウム記録

HIVによるMHCクラスIIの発現抑制の分子機構とAIDS発症機構

金澤 智¹⁾, 岡本 完²⁾, 岡本 尚¹⁾

¹⁾名古屋市立大学大学院医学研究科生体機能分子医学講座細胞分子生物学

²⁾東京女子医科大学膠原病リウマチ痛風センター

要旨: HIVの複製は、自身がコードする転写活性因子 Tat の働きにより劇的に促進される。これは、Tat が細胞側の転写伸長因子 positive elongation factor b (P-TEFb) を転写された HIV 自身の RNA 上にリクルートすることによるものである。この過程を詳細に検討することで HIV の複製を転写レベルで抑制できる可能性がある。一方 P-TEFb が細胞内においてリミティングファクターとなる場合、感染細胞、例えば抗原提示細胞 (antigen-presenting cells : APC) における HIV の複製は細胞側の転写産物の産生量に直接影響を及ぼすことになる。本研究において APC の抗原提示機能の抑制は、このようなメカニズムによるものであることを明らかにした。またこの現象は可逆的で、例えば IFN- γ 处理により感染細胞の抗原提示能を上げることで、HIV の複製 (増殖) を阻害できることが明らかとなった。

キーワード: Tat, P-TEFb, IFN- γ , 転写伸長, 抗原提示

日本エイズ学会誌 5: 82-85, 2003

はじめに

HIV はマクロファージ・単球系細胞や CD4⁺ T 細胞を標的とし、感染者を AIDS に導く。CD4⁺ T 細胞の急激な減少に先立ち、感染初期においても免疫監視機構が抑制されていることが示唆されていた。実際に HIV 感染標的細胞では、MHC class I および class II 両者の発現減少が見られ、特に class II の減少は転写レベルで起こっている¹⁾。また Viscidi らは、細胞外 Tat が抗原刺激による白血球の増殖を阻害することを報告している²⁾。この阻害は細胞内に取り込まれた細胞外 Tat が、抗原提示機能または抗原提示の過程そのものを阻害するものと推定された。これらのことから HIV は、感染直後からも異なる方法で免疫系の監視機構から逃れ、最終的に潜伏感染を成立させるものと考えられる。

Tat は、HIV LTR 内の cis-acting transactivation element (TAR) 領域内、特にバルジ部位を特異的に認識する。また Tat の活性はヒト細胞においてのみ存在し、マウス細胞においてはその活性が検出されないことが知られていた³⁾。これらの事実から Wei らは、野生型 Tat に直接結合する因子を検索し、その因子が P-TEFb であることを同定した⁴⁾。P-TEFb は CDK9 およびサイクリン T1 から成る複合体で、RNA エロンゲーションステップに関与する。

著者連絡先: 金澤 智 (〒467-8601 名古屋市瑞穂区瑞穂町川澄
1 名古屋市立大学大学院医学研究科生体機能分子
医学講座細胞分子生物学)
Fax: 052-859-1235, E-mail: kanas@med.nagoya-cu.ac.jp

2003年4月2日受付

CIITA は、APC に特異的な発現を示し、全ての MHC クラス II 遺伝子群および抗原提示機能に関わる遺伝子群の発現を制御している。また IFN- γ による細胞刺激は JAK/STAT シグナル伝達系を介して CIITA の転写を直接誘導し、新たに発現した CIITA が、MHC クラス II の発現を誘導する⁵⁾。本研究から CIITA, Tat 間には P-TEFb を介する競合関係があり、これが初期～中期の AIDS 発症機構に関与することが示唆された^{6,9)}。

研究方法

細胞表面 MHC の解析

FACS により HeLa 細胞表面の MHC クラス II (HLA-DR および HLA-DP) の発現を分析した。

抗原提示機能解析

RM3 細胞 (CIITA 欠損 B 細胞) に CIITA および/または tat を遺伝子導入する。NFAT レポーター遺伝子導入 Jurkat 細胞を準備する。スーパー抗原、staphylococcal enterotoxin D (SED) を用い APC (RM3) 側の de novo 合成された MHC クラス II と Jurkat 細胞側の T 細胞抗原レセプター側を架橋する。架橋後得られる T 細胞の活性化状態を NFAT の活性を指標として測定する。

タンパク質間の相互作用の解析

GST-cyclinT1 と ³⁵S-CIITA を結合させ、これに 10 倍量の ³⁵S-Tat を加え SDS-PAGE、オートラジオグラフィーを行い解析した。

CIITA による HIV 複製の抑制の解析

pNL4-3 または pHXB2 を種々の濃度の CIITA 遺伝子と同時に 293T 細胞に遺伝子導入し 48 時間後に細胞培養上

清を集め。上清中の p24 抗原の濃度を ELISA にて測定した。

結果および考察

HIV 感染細胞のみならず Tat 単独でも、MHC クラス II

の発現を抑制することが分かった(図 1A)。さらに Tat は、抗原提示機能そのものを阻害することも明らかとなった(図 1B)。これら一連の結果から CIITA が転写を進める際、P-TEFb のうちサイクリン T1 と結合し、実際の転写伸長を進める可能性が示唆された。そこで CIITA、サイクリ

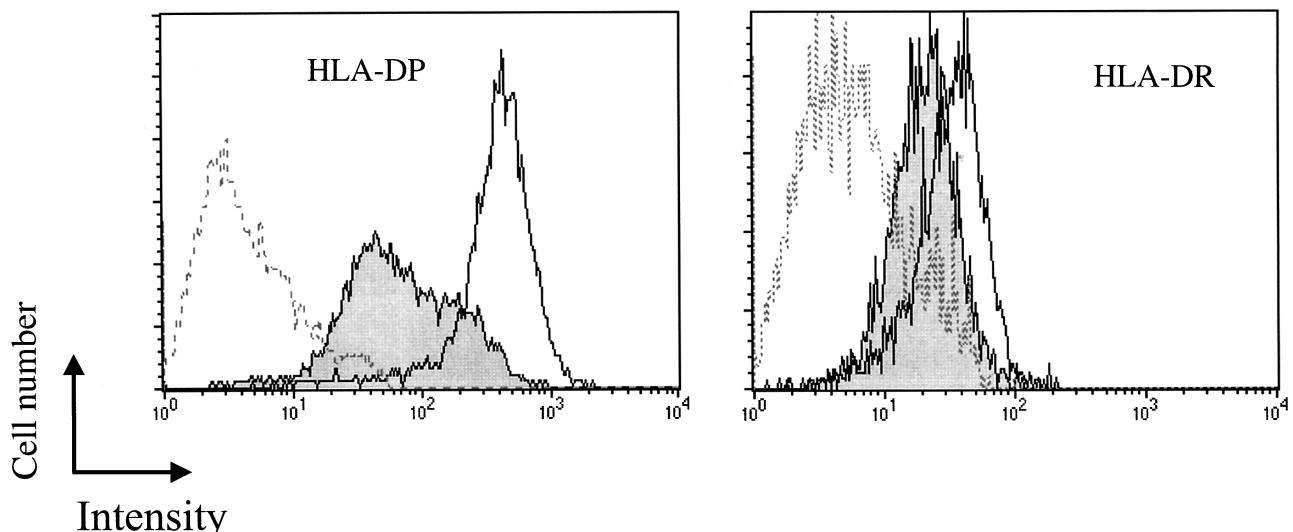


図 1A Tat による MHC クラス II の発現の抑制

Tat を発現する HeLa 細胞を IFN- γ にて処理後 MHC クラス II (HLA-DP, -DR) の発現を FACS にて解析した。実線は、IFN- γ 処理 HeLa 細胞、グレーの実線は、IFN- γ 処理 Tat 発現 HeLa 細胞、破線は、IFN- γ 未処理の Tat 発現 HeLa 細胞。HIV 感染のみならず Tat 単独でも MHC クラス II の発現の抑制が起こることが分かった。

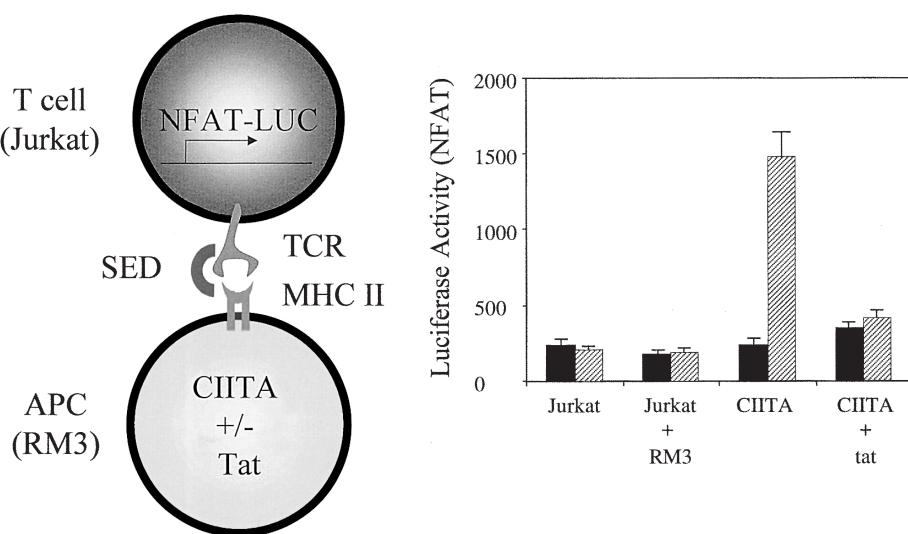


図 1B Tat による抗原提示機能の抑制

RM3 細胞は、CIITA 欠損 B 細胞であるため、MHC クラス II を発現していない。RM3 細胞に CIITA および/または tat を遺伝子導入する。CIITA は、MHC クラス II を発現誘導する。抗原を含む MHC クラス II と Jurkat 細胞側の T 細胞抗原レセプターをスーパー抗原 (SED) により架橋し、T 細胞活性化能を NFAT レポーター遺伝子を指標として解析した。黒は、SED 未処理、斜め線は、SED 処理。Tat は、CIITA が誘導する抗原提示機能を阻害した。

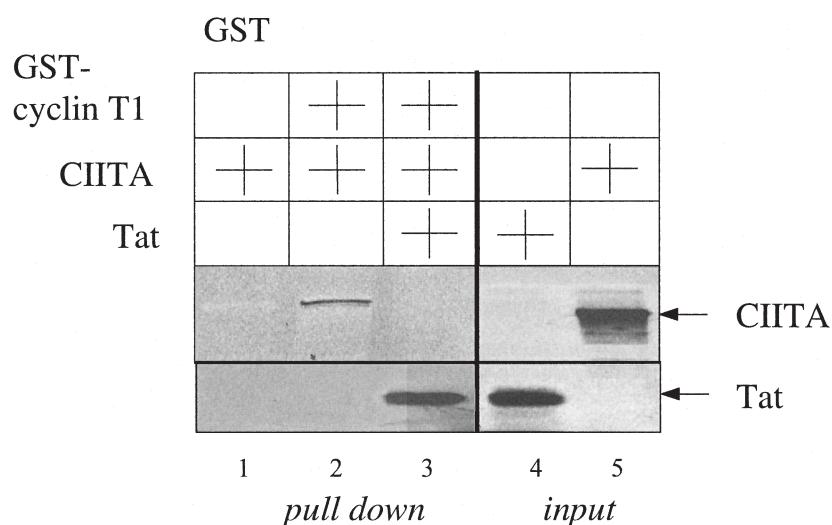


図 2A 過剰量の Tat は、CIITA とサイクリン T1 間の結合を阻害する
レーン 1~3 は、GST を用い pull down を行った。レーン 4, 5 は、CIITA, Tat それ
ぞれのインプットを示す。過剰量の Tat は、GST-cyclinT1 と結合し、CIITA,
GST-cyclinT1 間の結合を阻害した（レーン 3）。

T1 間の結合を過剰量の Tat が阻害するか否かを検討した。図 2A に示すように過剰量の Tat は、サイクリン T1 に対する CIITA の結合をほぼ完全に阻害した。そこで逆に過剰量の CIITA 発現は、HIV の複製（増殖）を阻害できるものと考え、これを検討した。図 2B に示すように CIITA 濃度依存的に HIV-p24 産生量が減少した。これらのことから、HIV 感染時の MHC クラス II の転写伸長の過程を阻害することで、MHC クラス II の転写伸長の過程を阻害することによるものと結論づけた⁶⁻⁸⁾。

これらの事実から、HIV 感染に伴う免疫不全病態の少なくとも一部は、Tat と CIITA による競合状況に依存している可能性があることが示唆される⁹⁾。このため Tat 阻害剤の使用または個体レベルでの IFN- γ 誘導等により、進行する免疫不全の状態を抑制し、AIDS の病態を改善させることができると可能性がある。また、HAART 療法と併用することにより AIDS 治療の効果を著しく増強し、しかも薬剤耐性の予防にもつながることも考えられる。

謝辞：本研究の一部は、厚生科学研究費補助金創薬等ヒューマンサイエンス総合研究推進事業「HIV 潜伏感染の維持と破綻の分子メカニズムに関する研究」の分担研究として行われた。また本研究の一部は、UCSF の B. M. Peterlin およびフィリピン大の L. Sarol との共同研究である。

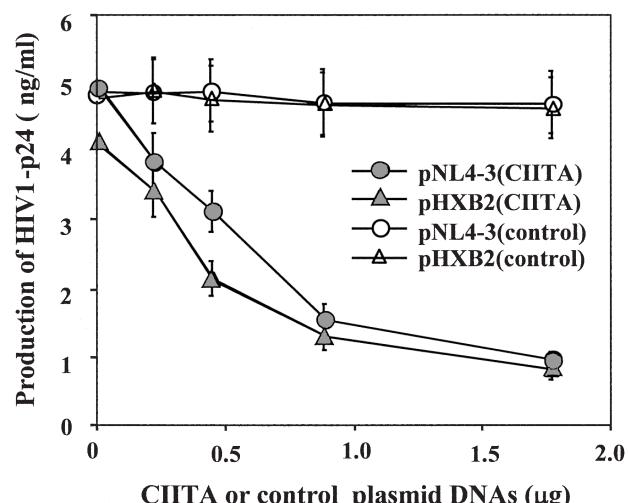


図 2B 過剰量の CIITA は、HIV の複製（増殖）を阻害する
HIV の複製（増殖）として、細胞培養上清中の
p24 産生量を ELISA にて測定した。CIITA は、
濃度依存的に p24 産生量を減少させた。

文 献

- Polyak S, Chen H, Hirsch D, George I, Hershberg R, Sperber K : Impaired class II expression and antigen uptake in monocytic cells after HIV-1 infection. J Immunol 159 : 2177-2188, 1997.
- Viscidi RP, Mayur K, Lederman HM, Frankel AD : Inhibition of antigen-induced lymphocyte proliferation

- by Tat protein from HIV-1. *Science* 246 : 1606–1608, 1989.
- 3) Jones KA, Peterlin BM : Control of RNA initiation and elongation at the HIV-1 promoter. *Annu Rev Biochem* 63 : 717–743, 1994.
- 4) Wei P, Garber ME, Fang SM, Fischer WH, Jones KA : A novel CDK9-associated C-type cyclin interacts directly with HIV-1 Tat and mediates its high-affinity, loop-specific binding to TAR RNA. *Cell* 92 : 451–462, 1998.
- 5) Fontes JD, Kanazawa S, Nekrep N, Peterlin BM : The class II transactivator CIITA is a transcriptional integrator. *Microbes Infect* 1 : 863–869, 1999.
- 6) Kanazawa S, Okamoto T, Peterlin BM : Tat competes with CIITA for the binding to P-TEFb and blocks the expression of MHC class II genes in HIV infection. *Immunity* 12 : 61–70, 2000.
- 7) Okamoto H, Asamitsu K, Nishimura H, Kamatani N, Okamoto T : Reciprocal modulation of transcriptional activities between HIV-1 tat and MHC class II transactivator CIITA. *Biochem Biophys Res Commun* 279 : 494–499, 2000.
- 8) Sarol LC, Imai K, Asamitsu K, Tetsuka T, Barzaga NG, Okamoto T : Inhibitory effects of IFN- γ on HIV-1 replication in latently infected cells. *Biochem Biophys Res Commun* 291 : 890–896, 2002.
- 9) Kanazawa S, Peterlin BM : Repression of MHC determinants in HIV infection. *Microbes Infect* 3 : 467–473, 2001.