

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：13101

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K17822

研究課題名（和文）MAGI-1による成人性T細胞白血病の亜ヒ酸感受性制御機構

研究課題名（英文）Regulation of arsenite sensitivity in adult T-cell leukemia by MAGI-1

研究代表者

垣花 太一（KAKIHANA, Taichi）

新潟大学・医歯学系・助教

研究者番号：60746907

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：ヒトT細胞白血病ウイルスI型（HTLV-1）は成人T細胞白血病（ATL）の原因ウイルスである。ウイルス蛋白Taxが、宿主因子としてMAGI-1（Membrane Associated Guanylate Kinase, WW And PDZ Domain Containing 1）に結合することを同定していた。本研究では、TaxがMAGI-1の機能を阻害することで、細胞増殖やROS産生を亢進させていることを明らかにした。さらに、MAGI-1の発現を上昇させることで、Taxの機能を阻害できることがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトT細胞白血病ウイルスI型（HTLV-1）は成人T細胞白血病（ATL）の原因ウイルスである。日本では約110万人がHTLV-1に感染しており、そのうち約5%がATLを発症する。世界全体では、約2000万人がHTLV-1に感染しているが、その多くは発展途上国に集中している。このような背景から、HTLV-1感染症に対する治療薬の開発は、先進国である日本が先駆けて推進すべき重要課題である。本研究から、MAGI-1がHTLV-1の癌蛋白Taxの機能を阻害する治療標的となり得ることがわかった。

研究成果の概要（英文）：Human T-cell leukemia virus type I (HTLV-1) is the causative virus of adult T-cell leukemia (ATL). The viral protein Tax had been identified to bind to MAGI-1 (Membrane Associated Guanylate Kinase, WW And PDZ Domain Containing 1) as a host factor. In this study, we found that Tax enhances cell proliferation and ROS production by inhibiting the function of MAGI-1. Furthermore, we found that Tax function could be inhibited by MAGI-1.

研究分野：ウイルス学

キーワード：MAGI-1 ATL Tax

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

- (1) ヒト T 細胞白血病ウイルス I 型 (HTLV-1) は成人 T 細胞白血病 (ATL) の原因ウイルスである。ATL は CD4 陽性 T 細胞の白血病・リンパ腫である。日本では約 110 万人が HTLV-1 に感染しており、そのうち約 5% が ATL を発症する。世界全体では、約 2000 万人が HTLV-1 に感染しているが、その多くは発展途上国に集中している。このような背景から、HTLV-1 感染症に対する治療薬の開発は、先進国である日本が先駆けて推進すべき重要課題である。
- (2) 亜ヒ酸 (As_2O_3) は、急性前骨髄性白血病 (APL) の有効な治療薬である。近年、ATL に対しても、亜ヒ酸併用療法の臨床試験が行われ、高い有効性が示された (引用文献)。しかしながら、亜ヒ酸感受性には、患者間の個人差が観察された。従って、ATL への臨床応用のための重要な課題として、亜ヒ酸感受性を決める作用機序および感受性マーカー分子の同定が重要である。
- (3) HTLV-1 は ATL の原因ウイルスである一方で、HTLV-2 は ATL の発症には関与しない。所属研究室では、HTLV-1 と HTLV-2 の病原性の違いに、ウイルス蛋白 Tax (HTLV-1 の Tax と HTLV-2 の Tax2) が関与することを明らかにした。これらの解析の中で、Tax に結合し、Tax2 に結合しない宿主因子として MAGI-1 (Membrane Associated Guanylate Kinase, WW And PDZ Domain Containing 1) を同定した。MAGI-1 は癌抑制遺伝子 PTEN (phosphatase and tensin homolog) と結合し、癌遺伝子 AKT の活性化を抑制する。しかしながら、Tax による癌化における MAGI-1 の機能は不明のままであった。

2. 研究の目的

HTLV-1 の癌蛋白質である Tax を T 細胞に発現させると、ROS 産生とアポトーシスを促進する (引用文献)。そこで、申請者は MAGI-1 の ROS 産生に対する機能を解析したところ、MAGI-1 が ROS 産生を抑制することを発見した。さらに MAGI-1 の発現が低下した ATL 細胞株 (MAGI-1 陰性 ATL 細胞) が亜ヒ酸への耐性を獲得していることを見いだした。これらの細胞では ROS が恒常的に産生され、ROS への耐性を獲得していることが予測された。そこで、下記の 2 点を明らかにするため研究を行った。

- (1) Tax は細胞増殖を促進すること、MAGI-1 は PTEN を介して増殖抑制活性を低下させることがわかっている。Tax による ROS 産生と細胞増殖促進活性に MAGI-1 が関与するかどうかを明らかにする。
- (2) Tax は細胞内で凝集体を形成すること、この凝集体に MAGI-1 が含まれることを明らかにしている (引用文献)。Tax による MAGI-1 の凝集体への隔離が、MAGI-1 の蛋白質分解に関わるかどうかを明らかにする。Tax による MAGI-1 の凝集体への隔離が、MAGI-1 の機能を阻害することを明らかにする。

3. 研究の方法

- (1) マウス T 細胞の CTLL-2 細胞に、Tax もしくは、Tax と MAGI-1 を遺伝子導入し、細胞増殖能や ROS 産生量を調べる。
- (2) HEK293T 細胞を用いて、プロテアソーム阻害薬もしくは、リソソーム阻害薬を処理し、内在性の MAGI-1 の細胞内局在を調べる。
- (3) Tax 過剰発現細胞における内在性 MAGI-1、および過剰発現した MAGI-1 の細胞内局在を調べる。
- (4) Tax と MAGI-1 を共発現した細胞における、AKT 経路の活性を調べる。

4. 研究成果

- (1) Tax による細胞増殖促進活性に MAGI-1 が関与するかどうかを CTLL-2 細胞を用いて解析を行った。CTLL-2 細胞に Tax を過剰発現させると、細胞増殖および ROS 産生が亢進した。一方で、Tax と MAGI-1 を共発現させると、細胞増殖および ROS 産生が減衰した。Tax が MAGI-1 の機能を抑制することで細胞増殖および ROS 産生を促進させること、さらに、MAGI-1 の過剰発現が Tax の機能を抑制することが示唆された。
- (2) Tax による MAGI-1 の凝集体への隔離が、MAGI-1 の蛋白質分解に関わるかどうか調べた。Tax を過剰発現すると、細胞内に p62、MAGI-1 陽性、LAMP1 陰性の凝集体が形成された (図 1、2)。このことから、この凝集体はサイトソルで形成されていることが示唆された。次に、MAGI-1 を共発現させて、Tax の凝集体形成を調べた。その結果、MAGI-1 が、Tax の凝集体形成を抑制することがわかった。

(3) Tax と MAGI-1 を共発現した細胞における、AKT 経路の活性を調べた。Tax を過剰発現すると、AKT-T308 のリン酸化が亢進した。MAGI-1 を共発現させたところ、AKT-T308 のリン酸化が減弱した。

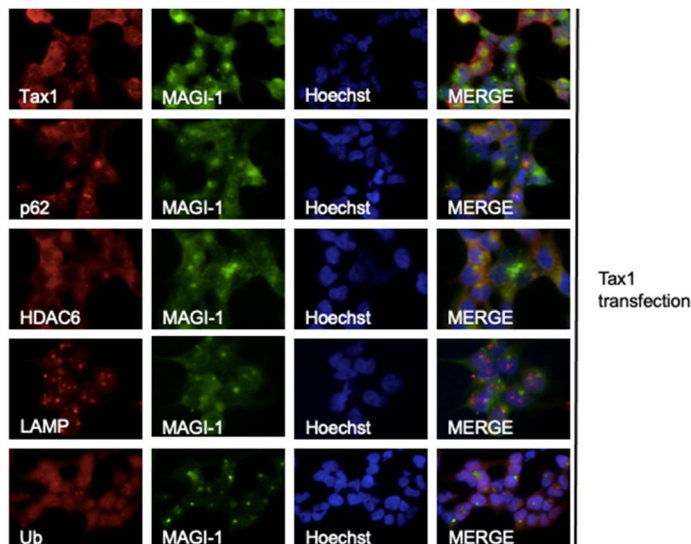


図 1. Tax/MAGI-1 凝集体とマーカー蛋白質の局在解析

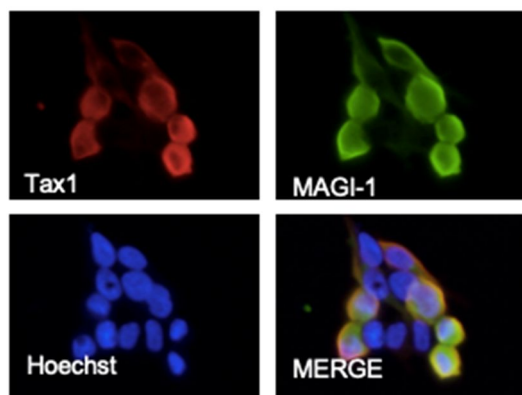


図 2. MAGI-1 過剰発現による Tax の凝集体形成の抑制

以上のことから、Tax による ROS 産生や細胞増殖の亢進は、Tax 凝集体への MAGI-1 の隔離による機能阻害の結果、AKT 経路が活性化されるためであることが示唆された。一方で、MAGI-1 を共発現することで、Tax の凝集体形成やその下流の細胞増殖亢進活性を阻害できることがわかった。MAGI-1 の発現誘導経路を明らかにすることで、MAGI-1 を標的とした、治療薬開発に結びつくと考えている。

<引用文献>

Phase 2 study of the efficacy and safety of the combination of arsenic trioxide, interferon alpha, and zidovudine in newly diagnosed chronic adult T-cell leukemia/lymphoma (ATL).

Kchour G, Tarhini M, Kooshyar MM, El Hajj H, Wattel E, Mahmoudi M, Hatoum H, Rahimi H, Maleki M, Rafatpanah H, Rezaee SA, Yazdi MT, Shirdel A, de Thé H, Hermine O, Farid R, Bazarbachi A.

Blood. 2009 Jun 25;113(26):6528-32.

HTLV-1 Tax oncoprotein stimulates ROS production and apoptosis in T cells by interacting with USP10.

Takahashi M, Higuchi M, Makokha GN, Matsuki H, Yoshita M, Tanaka Y, Fujii M.

Blood. 2013 Aug 1;122(5):715-25.

Makokha GN, Takahashi M, Higuchi M, Saito S, Tanaka Y, Fujii M.

Human T-cell leukemia virus type 1 Tax protein interacts with and mislocalizes the PDZ domain protein MAGI-1.
Cancer Science, 104(3):313-320, (2013).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Piatnitskaia S, Takahashi M, Kitaura H, Katsuragi Y, Kakihana T, Zhang L, Kakita A, Iwakura Y, Nawa H, Miura T, Ikeuchi T, Hara T, Fujii M.	4. 巻 9(1)
2. 論文標題 USP10 is a critical factor for Tau-positive stress granule formation in neuronal cells	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep.	6. 最初と最後の頁 10591
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-47033-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Anisimov S, Takahashi M, Kakihana T, Katsuragi Y, Kitaura H, Zhang L, Kakita A, Fujii M.	4. 巻 9(1)
2. 論文標題 G3BP1 inhibits ubiquitinated protein aggregations induced by p62 and USP10	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 12896
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-019-46237-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 垣花太一、藤井雅寛
2. 発表標題 Optineurin prevents aberrant stress granule formation by reducing TIA1 expression
3. 学会等名 第92回生化学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------