

30P-pm10

KSHV 由来 RTA によるヒト IL-10 プロモーターの活性制御機構

○野口 耕司¹, 梅津 宏紀¹, 片山 和浩¹, 杉本 芳一¹(¹慶應大薬)

【目的と意義】発がんウイルスである KSHV/HHV8 のウイルスゲノムにコードされる転写調節因子 Replication and Transcription Activator (RTA/ORF50) は、ウイルス溶解感染を誘導する機能を持つ。また、このような KSHV 感染時に IL-10 の発現上昇が知られている。そこで本研究では、ウイルス感染時の IL-10 発現誘導に KSHV の RTA が関与しているかどうか検討した。

【材料と方法】ヒト IL-10 遺伝子の上流プロモーター領域 (IL-10 の ORF の 5' -上流の 1000bp) を pGL4.10 ベクターに搭載したレポータープラスミドを構築した。このレポータープラスミドを RTA 発現プラスミドと共にヒト細胞株に transfection し Luciferase Assay を行う事で IL-10 プロモーター活性への RTA の影響を検討した。また IL-10 プロモーターの欠失変異体 (IL-10 の ORF の 5' -上流の 713bp, 628bp, 524bp, 370bp, 265bp) のレポータープラスミドを同様に作成し、これら欠失変異プロモーター活性への RTA の影響を検討した。また、RTA の転写活性化能と IL-10 プロモーター活性化との相関を検討するため、種々の機能変異 RTA を作成し、これら変異 RTA 発現プラスミドによる IL-10 プロモーターの活性化を同様に解析した。

【結果と考察】KSHV の RTA は、ヒト IL-10 プロモーターの活性を上昇させることが明らかになった。さらに欠失変異プロモーターに対する RTA の作用を解析した結果、IL-10 の 5' -上流のプロモーター領域-1000bp から-713bp の間に RTA と良く反応する領域が存在すると予想された。変異体 RTA を用いたレポーターアッセイの結果から、RTA のウイルス遺伝子に対する転写活性化能や DNA 結合能が IL-10 プロモーターの活性化にも必要であることが明らかになった。これらの結果から、ヒト IL-10 遺伝子は、RTA の転写標的になっている可能性が示された。