

行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

腫瘤壞死因子- α 對第一型人類嗜T細胞病毒感染之T細胞之細胞凋亡作用的研究

Study on the susceptibility of HTLV-I-infected T cells to TNF- α -induced apoptosis

計畫編號：NSC 87-2314-B-002-288

執行期限：86年8月1日至87年7月31日

主持人：楊雅倩

執行機構：國立臺灣大學醫學院醫技系

一、中文摘要

第一型人類嗜T細胞病毒(HTLV-I)是引起成人型T細胞白血病/淋巴瘤的致病因子,而HTLV-I Tax蛋白則被認為與此病毒導致細胞癌化有密切相關。已有文獻報告:表現HTLV-I基因的T細胞株可降低對Fas所引發細胞凋亡的敏感度,此可能與T細胞感染HTLV-I後仍可存活進而有癌化的機會有關,然而TNF- α 對HTLV-I感染之T細胞引起細胞凋亡作用的變化則尚無報告。本計畫進行其相關的研究得到下列三點結論(1)成人的正常T細胞於休止狀態下無明顯的TNFR表現,經活化後其則主要表現出TNFR2。(2)HTLV-I陽性T細胞株HUT102, MJ和TATL-1可測得TNFR2的表現,而無TNFR1表現。(3)HUT102, MJ和TATL-1對於TNFR2抗體引發之細胞凋亡作用具有抗性

關鍵詞：第一型人類嗜T細胞病毒、細胞凋亡、腫瘤壞死因子 α

Abstract

HTLV-I has been implicated as the etiological agent of adult T cell leukemia/lymphoma. The Tax protein of HTLV-I is important for the transforming properties of this virus in vitro and is considered to be responsible for the early stages of leukemogenesis in infected hosts. Human T cell lines expressing HTLV-I have shown reduced susceptibility to anti-Fas-triggered apoptosis, but there is no report to elucidate the susceptibility of HTLV-I-infected cells to TNF- α -induced apoptosis. The research project sets out to determine whether T cell dysfunction associated with HTLV-I also leads to decreased sensitivity of infected cell to TNF- α -induced apoptosis. The results in this project are made as following: (1) TNFRs are not detectable on resting adult human T cells. After stimulating with PHA, TNFR2 are predominantly expressed on T cells. (2) TNFR2, instead of TNFR1, is detectable on HTLV-I-infected cell lines, such as HUT102, MJ and TATL-1. (3) HUT102, MJ and TATL-1 cell lines are shown reduced susceptibility to anti-TNFR2-triggered apoptosis

Keywords: HTLV-I, apoptosis, TNF- α

二、緣由與目的

細胞凋亡在維持T細胞的耐受性與恆定扮演重要的角色,包括:於胸腺或周邊組織中自體反應T細胞的去除;以及免疫反應中活化後T細胞的死亡。目前已知一般免疫反應後或不正常的T細胞至少可藉兩個途徑進行細胞凋亡:(1) Fas/Fas ligand途徑〔1〕;(2) TNFR 2/TNF- α 途徑〔2〕。許多研究報告指出:某些病毒感染細胞後會促使細胞發生凋亡,例如EB病毒引起感染性單核細胞增多症及HIV感染皆會發生細胞凋亡增加的情形;相反地,某些病毒則會干擾正常細胞對細胞凋亡機轉的調控,例如EB病毒感染細胞後可增加bcl-2致癌基因的表現而干擾細胞。結果顯示:所測試的三個T細胞株在抗體

E1B 蛋白會抑制細胞凋亡。而文獻上對於 HTLV- 的致癌機轉有許多方向的探討，包括表現此病毒基因的 T 細胞株可降低對 Fas 所引發細胞凋亡的敏感度 [3]，此可能與 T 細胞感染 HTLV- 後仍可存活進而有癌化的機會有關；然而 TNF- α 對 HTLV- 感染之 T 細胞引起細胞凋亡作用的變化則尚無報告，本計畫即研究 HTLV- 感染之 T 細胞株對於 TNFR 2/TNF- α 所引發細胞凋亡之敏感度的改變，以探討被此病毒感染之 T 細胞是否亦對此細胞凋亡機轉有較強之抗性，使其得以存活而有助於其後癌化之發生。

三、結果與討論

(1) 人類正常 T 細胞以 PHA 刺激後 TNFR1 和 TNFR2 的表現

三例人類正常 T 細胞於刺激前及 PHA 刺激二十四小時至七十二小時後，利用 CD3 及 TNFR1 或 TNFR2 抗體進行雙染色，來觀察 CD3⁺ 的細胞中 TNFR1 或 TNFR2 表現的情形，結果顯示：人類正常 T 細胞於刺激前無明顯的 TNFR1 或 TNFR2 表現，以 PHA 刺激後觀察至七十二小時仍無 TNFR1 的表現；而於二十四小時後則開始測得 TNFR 2 的表現，一直追蹤到七十二小時，甚至到刺激六天後三例 T 細胞仍有 TNFR2 的表現，八天後則有些維持 TNFR2 陽性，有些則轉為 TNFR2 陰性。

(2) HTLV- 陽性 T 細胞株之 TNFR1 和 TNFR2 的表現

在研究的 HTLV- 陽性 T 細胞株中 HUT102, MJ 和 TATL-1 可測得 TNFR2 的表現，而 MT-2, THAM-1, C91-PL 及 C81-66 則為 TNFR2 陰性。在 TNFR2 陽性之 T 細胞株中皆為 TNFR1 陰性。因此利用 HUT102, MJ 和 TATL-1 細胞株對於 TNFR2 抗體引發細胞凋亡之敏感度的研究。

(3) HTLV- 陽性 T 細胞株對於 TNFR2 抗體引發細胞凋亡之敏感度的研究

HUT102, MJ 和 TATL-1 細胞株利用 TNFR2 抗體以及二級抗體來引發細胞凋亡，觀察抗體作用後一天至四天細胞凋亡的情形。

所引發細胞凋亡之敏感度的改變，可能導致其得以存活而有助於其後癌化之發生。

作用一天至三天內皆無明顯細胞凋亡的現象，至第四天則發生不同程度的細胞凋亡，然而不加抗體僅以培養基培養的對照組至第四天亦有類似程度的細胞凋亡，因此，此時細胞凋亡的發生可能導因於培養基中營養成分的匱乏及廢料的累積。

綜合以上研究：人類 PBMC 以 PHA 刺激後，在 CD3⁺ 的細胞中主要是表現出 TNFR2 而無明顯的 TNFR1 表現，此結果與 Zheng 等學者在老鼠的研究報告：TNF- α 作用於活化之 T 細胞主要乃藉由 TNFR2 傳遞細胞凋亡之訊息相符合。而所研究之 HTLV- 陽性 T 細胞株雖然都有代表活化之 CD25 表面抗原的表現，但 MT-2, THAM-1, C91-PL 及 C81-66 皆為 TNFR2 陰性；其中，MT-2, THAM-1 及 C91-PL 三細胞株於培養中皆有不同程度黏貼於培養皿的現象，而 C81-66 細胞則因嵌入的是缺陷型 HTLV- 原病毒基因體，所以僅表現出病毒 *tax* 基因產物，這些因素或許與缺乏 TNFR 2 的表現有關。於細胞激素基因表現的研究中顯示：HUT102, MJ 和 TATL-1 細胞株皆有 TNF- α 基因的表現，因此其對於 TNFR2 抗體引發之細胞凋亡作用具抗性並非完全不可預期，至於產生抗性的可能機轉則有待進一步研究。根據 Sarin 等學者的報告指出：在其所測試的細胞激素中除了 IL-10 以外，包括 IL-2, IFN- γ , IL-1, IL-4 和 IL-12 皆有保護細胞免於 TNF 之細胞毒害作用；而上述之細胞株在 IL-2, IFN- γ 和 IL-1 三種細胞激素中皆至少有一種基因的表現，因此，細胞激素的保護作用可能是 HUT102, MJ 和 TATL-1 細胞株對 TNFR2 抗體引發之細胞凋亡作用產生抗性的機轉之一。

四、計畫成果自評

本計畫之研究了解正常活化 T 細胞以及 HTLV- 陽性 T 細胞株之 TNFR1 和 TNFR2 的表現情形。且 HTLV- 陽性 T 細胞株中 HUT102, MJ 和 TATL-1 確實對於 TNFR2 抗體引發之細胞凋亡作用具有抗性，顯示 HTLV- 感染之 T 細胞對於 TNFR2/TNF- α

後續將再進行 bcl-2, bcl-x_L 和 c-myc 等基因表現與上述細胞凋亡作用變化的關聯性，以及 HTLV-I Tax 蛋白是否影響 TNF- α 對 T 細胞之細胞凋亡作用。

五、參考文獻

1. Russell JH, Rush B, Weaver C, Wang R. 1993. Mature T cells of autoimmune lpr/lpr mice have a defect in antigen-stimulated suicide. *Proc Natl Acad Sci USA* 90:4409-4413.
2. Zheng L, Fisher G, Miller RE, Peschon J, Lynch DH, Lenardo MJ. 1995. Induction of apoptosis in mature T cells by tumour necrosis factor. *Nature* 377:348-351.
3. Copleland KFT, Haaksma AGM, Goudsmit JAAP, Krammer PH, Heeney JL. 1994. Inhibition of apoptosis in T cells expressing human T cell leukemia virus type I Tax. *AIDS Res Hum Retroviruses* 10:1259-1267.