

マウス APOBEC3 の生理機能と分子進化

宮澤 正顯^{1,2}, 博多 義之¹, 武田 英里^{1,3}, 李 君^{1,4}, 河原 佐智代¹

レトロウイルス DNA の染色体組込みに対抗するため、哺乳動物は逆転写産物を修飾する APOBEC3 酵素を獲得した。一方レトロウイルスは、宿主細胞 APOBEC3 に対抗する手段を獲得することで感染能を保っている。APOBEC3 が現存自然宿主の体内でレトロウイルス感染に対する生理的抵抗因子として機能していることは、マウスで最初に証明された。マウス APOBEC3 遺伝子には機能的な多型があり、抵抗性アリの産物は感受性アリの産物に比べて発現量が高く、エキソン 5 を欠き、N 末端側にアミノ酸置換を持つ。野生マウスの解析によって進化の跡をたどると、驚くべきことに最も祖先型の遺伝子はエキソン 5 を欠く型で、現存感受性系統の祖先が翻訳効率の低下するエキソン 5 をわざわざ取り込んだこと、一方現存抵抗性系統は N 末端側により高機能となるアミノ酸置換を獲得したことが明らかとなった。

1. APOBEC3 は生理的に機能しているか？

ウイルスは「彷徨える遺伝子」であり、宿主細胞内に侵入してその核酸およびタンパク質合成機構を乗っ取り、感染細胞をウイルス粒子複製の場に変えてしまう。ウイルス感染の標的細胞が中枢神経細胞や肝細胞、あるいは心筋細胞など、宿主の個体維持に決定的に重要な機能を担っている場合、急性感染が短期間に宿主の死につながることもあり、その例は多くの新興感染症に認められる。哺乳動物がウイルスに対して獲得した最も強力な防御反応は、疑いもなく細胞傷害性 T リンパ球を含む獲得免疫機能であり、T

リンパ球に対して抗原提示を行う主要組織適合遺伝子複合体 (major histocompatibility complex : MHC) の種を通じた多型が、人類発祥の地からの移動の過程で感受性個体の淘汰により次第に低下していったこと、一方地域別の対立遺伝子数とその地に蔓延するウイルス種の数と相関することが明らかになっている¹⁾。一方で、獲得免疫応答によらない細胞レベルの抵抗性機構も複数が知られている²⁾。

レトロウイルスは粒子内に逆転写酵素を持ち、一本鎖 RNA からなるウイルスゲノムを二本鎖 DNA に変換して、宿主細胞染色体に組込まれる。一般に、レトロウイルスの複製過程は強い細胞傷害効果を伴わず、感染細胞は染色体に組込まれたプロウイルスゲノムを保持したままで分裂・増殖を続け、出芽によりウイルス粒子を産生し続ける。プロウイルス組込みが生殖細胞染色体に生じれば内在性レトロウイルスとなり、子孫個体の体細胞と生殖細胞のすべてがあらかじめ染色体上にレトロウイルス遺伝子を持つ上、ウイルスゲノムの発現と再感染による組込み部位の増加が生じうる。このように、レトロウイルスは真核細胞ゲノムの同一性維持にとって最大の脅威であるため、哺乳類はその進化の過程で複数の対抗機構を獲得してきた。

レトロウイルスゲノムの逆転写過程で生じたマイナス鎖の一本鎖 DNA を一次標的とするシチジンデアミナーゼ APOBEC3 は、細胞内で機能する最も強力な抗レトロウイルス因子である。細胞レベルで機能するレトロウイルス抵抗性因子には、この他に TRIM5α や SAMHD1 があり、マウスの場合は細胞表面でウイルス受容体として利用される

¹近畿大学医学部免疫学教室 (大阪狭山市大野東 377-2)

²近畿大学アンチエイジングセンター (東大阪市小若江 3-4-1)

³大阪大学微生物病研究所 (吹田市山田丘 3-1)

⁴医潤会内視鏡クリニック (堺市堺区熊野町東 4-4-19)

Functional polymorphisms and molecular evolution of mouse APOBEC3

Masaaki Miyazawa^{1,2}, Yoshiyuki Hakata¹, Eri Takeda^{1,3}, Jun Li^{1,4} and Sachiyo Tsuji-Kawahara¹ (¹Department of Immunology, Kindai University Faculty of Medicine, 377-2 Ohno-Higashi, Osaka-Sayama, Osaka 589-8511, Japan, ²Kindai University Anti-Aging Center, 3-4-1 Kowakae, Higashiosaka, Osaka 577-8502, Japan, ³Research Institute for Microbial Diseases, Osaka University, 3-1 Yamadaoka, Suita, Osaka 565-0871, Japan, ⁴Ijunkai Medical Oncology, Endoscopic Clinic, 4-4-19 Kumanochi Higashi, Sakai-ku, Sakai, Osaka 590-0964, Japan)

DOI: 10.14952/SEIKAGAKU.2016.880582

© 2016 公益社団法人日本生化学会

タンパク質（その多くはアミノ酸や無機イオンの輸送体である）の多型や、受容体へのウイルス粒子結合に拮抗するタンパク質、あるいは逆転写産物とタンパク質の複合体である preintegration complex (PIC) の細胞内輸送に干渉する因子など（これらはいずれも、内在性レトロウイルスの産物である）が強力な効果を発揮することが知られているが^{2,3)}、進化の過程で最も強い制限効果を発揮してきたのは APOBEC3 であると考えられている⁴⁾。

APOBEC3 によるレトロウイルス複製制限効果は、最初試験管内でのヒト免疫不全ウイルス (HIV) 1 型 (HIV-1) 複製における、一件奇妙な「インプリンティング」現象として気づかれた。すなわち、生体から分離されたリンパ球やマクロファージにおける HIV-1 の複製にはアクセサリ遺伝子産物の一つである Vif (viral infectivity factor) が必要であるが、Vif 機能を欠損した HIV-1 (Δ vif) であっても、CD4 を発現する HeLa 細胞や 293T 細胞では複製できる。これらの許容性細胞で複製された Δ vif ウイルスは、リンパ球やマクロファージなどの非許容性細胞に感染してその染色体に組込まれるが、いったん非許容性細胞から出芽した Δ vif 由来ウイルスは、非可逆的に複製能が低下しており、非許容性細胞はもとより、許容性細胞でも感染価が著しく低下する⁵⁾。これら許容性細胞と非許容性細胞の遺伝子発現を比較することで、Vif の標的因子である APOBEC3 が同定された⁶⁾。

霊長類レンチウイルスが、それぞれ自然宿主の APOBEC3 に特異的に結合し、その分解を誘導するような Vif を獲得することにより、生体内での複製能を維持していることから、現存の感染性レトロウイルスは、いずれも自然宿主の APOBEC3 に対抗する手段を獲得することで感染能（と病原性）を維持していると考えられた。このため、APOBEC3 は現存哺乳類が過去に遭遇してきたレトロウイルスやレトロトランスポゾンに対しては効果を示していたが、現在感染性を示すレンチウイルスや病原性レトロウイルスに対しては、もはや制限効果を示せないとの考え方が一般的であった。その一方で、HIV 感染者であるパートナーと非防御的な性行為を継続しながら、数年間にわたり HIV 感染が成立しない HIV 曝露非感染者で、単球系細胞における APOBEC3G の発現量が健常者や感染パートナーに比べて有意に高いとの報告があり、直接証明ではないが、ヒトの APOBEC3G が、高発現条件下で現在でも HIV に対する制限効果を発揮する可能性が示されていた⁷⁾。

2. マウス APOBEC3 遺伝子多型の発見

Vif 欠損という条件下で試験管内でのレンチウイルス複製制限効果が示されていた APOBEC3 が、実際生理的にレトロウイルス感染抵抗性に関与していることを最初に示したのは、Susan Ross らであった⁸⁾。彼女らは、一部の系統のマウスで乳汁を介する垂直感染を繰り返しているベータ

レトロウイルス、マウス乳がんウイルス (mouse mammary tumor virus : MMTV) を用い、マウスの APOBEC3 が生体内で実際にレトロウイルス複製制限効果を示すことを初めて明らかにした。

マウス乳がんウイルスは、感染性の内在性 MMTV が発現した、あるいは母仔間感染を受けた成熟雌マウスの乳腺上皮で粒子形成が起こり、乳汁を介して新生仔に伝達される。消化管に侵入した MMTV は粘膜リンパ組織の樹状細胞に感染し、ウイルスゲノムの LTR 領域にコードされるスーパー抗原によって T リンパ球を活性化することで、全身リンパ組織の標的細胞を増殖させる。MMTV に感染したリンパ球が乳腺内に再循環することで、乳腺発育時および授乳期に活発に分裂する上皮細胞への感染が起こり、細胞がん遺伝子近傍へのプロウイルス組込みががん化につながると同時に、乳汁中へのウイルス粒子出芽を通じて、新生仔への垂直感染が起こる⁹⁾。Ross らは、マウス APOBEC3 が MMTV 粒子に取り込まれ、試験管内で MMTV 複製を阻害することを示した⁸⁾。さらに、APOBEC3 遺伝子を標的破壊したマウスを作製し、これに実験的に MMTV を感染させることで、MMTV スーパー抗原によるリンパ球活性化が 2 倍に高まり、ウイルス複製のレベルも 10 倍高まることを示して、マウス APOBEC3 が MMTV に対する生理的抵抗因子であることを立証した。さらに、乳腺上皮細胞で発現した APOBEC3 が MMTV 粒子に取り込まれ、複製能を低下させることを直接示している¹⁰⁾。図 1 には、我々が観察した APOBEC3 欠損マウスでの MMTV 関連乳がん発症例を示す。

マウス APOBEC3 が MMTV に対する生理的抵抗因子であることが Ross らにより明らかにされたのとほぼ同じ時期に、日米の少なくとも二つのグループが、まったく別のアプローチからマウス白血病ウイルス (murine leukemia virus : MuLV) に対する抵抗性因子としての APOBEC3 遺伝子多型を明らかにしつつあった。MuLV は発がんに関与するような宿主由来遺伝子 (v-onc) を持たず (オルソレトロウイルス亜科)、粒子複製に必要な構造遺伝子だけをゲノムに含む、ガンマレトロウイルス属に分類される感染性の内在性および外来性レトロウイルスであり、自然界 (野生マウス) および実験室系のマウスから分離されてきた。AKR 系統のマウスでは、マウスおよびラットに感染性を示す内在性の同種指向性レトロウイルス AKV が新生児期から発現して持続感染を起こし、染色体上の内在性多指向性 (polytropic) MuLV プロウイルスとの組換えを経て、主に T リンパ球系の白血病・リンパ腫を誘発する。AKV に類似した実験室系の MuLV 分離株にモロニー (Moloney : Mo) MuLV があり、新生仔への接種により、やはり内在性レトロウイルスとの組換え型出現を経て T リンパ球系の白血病を誘発する。一方、北米の野生マウスには野生マウス同種指向性 (wild mouse ecotropic : WM-E) MuLV の存在が知られており、水平感染および垂直感染による中枢神経疾患の発症と、リンパ腫・白血病の誘発が報告されてい

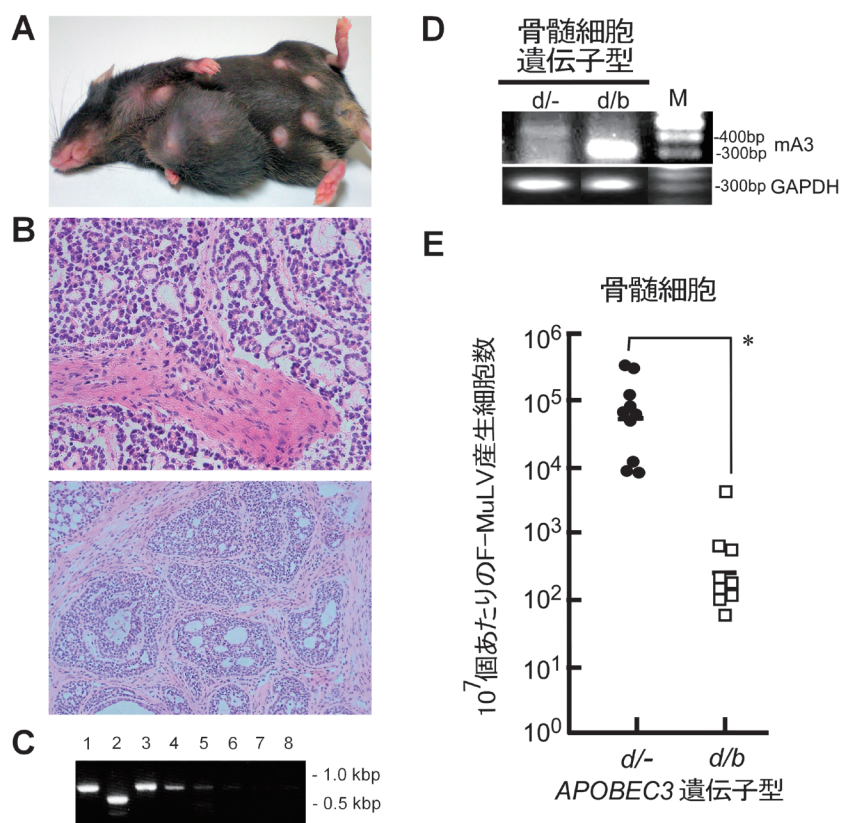


図1 マウス APOBEC3 遺伝子欠損の生体内効果

(A) APOBEC3 欠損 B6 マウスに発生した乳がんの肉眼像。(B) APOBEC3 欠損 B6 マウスに発生した乳がんの代表的な組織像。(C) APOBEC3 欠損 B6 マウスにおける MMTV 発現の検出。1: 乳がん発症マウスの脾臓, 2: 別個体乳がん発症マウスの胸腺, 3: 2 と同一個体の乳がん組織, 4: 3 か月齢 APOBEC3 欠損 B6 雄マウスの脾臓, 5, 6: 未経産 8 か月齢 (5) および 3 か月齢 (6) APOBEC3 欠損 B6 雌マウスの脾臓, 7, 8: 野生型 3 か月齢 B6 雌マウスの脾臓より, それぞれ mRNA を抽出し, RT-PCR 反応を実施した。スーパー抗原コード部位を含む MMTV LTR 領域の forward プライマー (TTCGGAGAACTCGACCTTCC) および reverse プライマー (GGACTGTTGCAAGTTTACTC) による増幅産物を電気泳動し検出した。(D) マウス骨髄細胞における APOBEC3 mRNA 発現の RT-PCR による解析³⁵⁾。APOBEC3 を欠損する B6 マウス ($mA3^{-/-}$) と野生型 BALB/c ($mA3^{d/d}$) マウスの F_1 ($mA3^{d/-}$) および野生型の (BALB/c \times B6) F_1 マウス ($mA3^{d/b}$) を比較した。(E) 抵抗性 $mA3^b$ アリル欠損による生体内 F-MuLV 複製の増強³⁵⁾。上記 (D) と同じ遺伝子型の F_1 マウスに 10^4 fluorescence focus units の F-MuLV を静脈注射によって感染させ, 6 日後に骨髄中の F-MuLV 産生細胞数を infectious center assay により定量した。* $P < 0.001$ 。(D) と (E) は文献 35 に初出の図を, 出版社の許可する著者権利により再録。

る¹¹⁾。

これら AKV や Mo-MuLV および WM-E ウイルスによる病変発症には, 新生仔への感染によるウイルス血症の持続が必要とされ, 実際免疫系が完成した成体マウスへの接種では, ウイルスの複製は獲得免疫反応により短期間で終息し, 白血病やリンパ腫が起こることはない。これに対して, 成体マウスへの接種で短期間に造血系細胞に増殖性病変を誘発し, 条件によって致死性病変に至らしめることができるのが, 実験室系の分離株であるフレンド (Friend) および類縁のラウシャー (Rauscher) 白血病ウイルスである。フレンドウイルス (FV) は, 実際には単一のレトロウイルスではなく, 複製能を有するガンマレトロウイルスであるフレンド MuLV (F-MuLV) と, 複製欠損性であるが急性病原性を有する脾限局巣形成ウイルス (spleen focus-forming virus: SFFV) から構成される複合体である¹²⁾。F-MuLV は, AKV や Mo-MuLV と同様, 新生仔への

接種で数か月の潜伏期とその間の内在性レトロウイルスとの組換えを経て, 赤芽球系または顆粒球・単球系細胞由来の白血病 (およびまれにはリンパ腫) を誘発する。しかし, 免疫系の完成した成体マウスへの接種では短時日のうちに排除され, 病原性を示すことはない。成体マウスにおける F-MuLV の排除には CD4 陽性 T リンパ球および B リンパ球が必要であり, T 細胞依存性の抗体産生が F-MuLV 排除の主要な機構であると考えられる¹³⁾。一方, F-MuLV と SFFV を複合体として同時接種すると, SFFV の *env* 遺伝子産物である gp55 が感染赤芽球の急激な増殖を誘発し, 成体マウスでも感染から 2 週間以内に正常重量の 10 倍を超える脾腫と, 多血症が引き起こされる^{3, 12)}。さらに条件が整えば, 増殖する赤芽球の中からオリゴまたはモノクローナルな赤白血病細胞が出現し, 赤芽球の分化停止によりヘマトクリットは低下して, 感染個体は著しい肝脾腫により 2 か月程度で死に至る³⁾。

FV複合体による白血病誘発は、免疫系の完成した成体マウスへの接種で起こるため、多彩な遺伝的背景を持つ純系マウス系統の組合わせと、コンジェニック系統や突然変異マウス、さらにトランスジェニック系統や標的遺伝子ノックアウト系統を活用した、宿主因子の解析が可能となった。実際、FVを用いて複数のレトロウイルス抵抗性宿主遺伝子の存在が記載され、その分子実体が同定されてきた。それらのうち、*Fv1*遺伝子は前述のPICの細胞内輸送と干渉する内在性レトロウイルス遺伝子産物をコードし¹⁴⁾、*Fv2*遺伝子はSFFVによる赤芽球増殖誘導に関わる造血細胞特異的受容体型チロシンキナーゼStk/Ronの多型をコードする¹⁵⁾。また、わが国で発見された*Fv4*は、細胞表面の同種指向性ウイルス受容体mCAT-1へのF-MuLV吸着と干渉する内在性レトロウイルス遺伝子産物をコードする¹⁶⁾。C57BL系のマウス系統、すなわちC57BL/6 (B6)やC57BL/10 (B10)は、Stk/Ron遺伝子座イントロン10の3塩基欠失により、受容体型チロシンキナーゼの細胞外部分を欠く短いアイソフォームsf-Stkが発現せず、SFFV感染赤芽球の増殖が誘導されないとされてきた。しかし実際には、B6マウスでもCD4陽性Tリンパ球欠損下ではSFFV感染に伴う赤芽球の増殖が(よりゆっくりとはあるが)起こり、多血症を経て赤白血病が生じる¹³⁾。Bリンパ球単独欠損のB6マウスでは(F-MuLVは排除できないが)SFFVが排除され、初期の脾腫が生じないことから、*Fv2*遺伝子効果は赤芽球増殖の有無をall-or-none的に決定しているのではなく、B6マウスではSFFV感染赤芽球が、CD4陽性Tリンパ球を介する細胞免疫応答で効率的に排除されていると考えられる。

成体マウスで病原性を示すFVと純系マウスやコンジェニックマウスの特性を活かして、レトロウイルス感染に対する宿主免疫応答を制御する遺伝子群を網羅的に記述し、その分子同定の基礎を築いたのは、Bruce Chesebroである。Chesebroは、ノーベル賞受賞者であるDulbeccoの下でウイルス学を学び、Harvard大学医学部に進学、在学中から免疫グロブリン分子の電子顕微鏡観察で現在も教科書に残る業績をあげた。医師免許取得後、高名なMHC研究者であるH.O. McDevittの下でポストドクを務め、この期間に、FV感染抵抗性はウイルス抗原に対する免疫応答遺伝子現象ではないかとの着想を得た。若くしてモンタナ州Rocky Mountain LaboratoriesでNIAIDのLab. chiefとなったChesebroは、多数のコンジェニックマウス系統を駆使し、*Fv1*や*Fv2*遺伝子の影響を除いても、なお別の複数の宿主遺伝子が主に免疫応答を介してFV感受性を制御することを明らかにした。

Chesebroが記載したFV抗原に対する免疫応答遺伝子のうち、*Rfv1*および*Rfv2*遺伝子はMHC領域にマッピングされ、*Rfv1*についてはクラスI分子をコードする*D*遺伝子座の対立遺伝子とその実体であると考えられている¹⁷⁾。実際に、抵抗性に関連する*D^b*対立遺伝子産物によって提示されるウイルス遺伝子産物由来のCD8陽性T細胞認識エ

ピトープが同定されており^{18,19)}、このエピトープに反応するTリンパ球の動態も詳しく解析されているが^{20,21)}、これが感染防御に直接関与するか否かは未確定である。*Rfv1*(=*D^b*)については、Chesebroによる発見の当初からホモ接合体とヘテロ接合体の間で遺伝子量効果(gene dose effect)が知られており、単純な免疫応答遺伝子現象(*D^b*分子による抗原提示の有無)だけではこれを説明できない²²⁾。一方、*Rfv2*遺伝子はクラスII領域の*Q/T*遺伝子座の対立遺伝子を実体と考えられるが²³⁾、その作用機序は不明である。MHC領域ではその後、クラスIIの*A*および*E*遺伝子座の対立遺伝子がFV抗原に対するCD4陽性Tリンパ球の応答能を直接制御していることが示され²⁴⁾、こちらは*A*および*E*遺伝子座の特定の対立遺伝子産物によって提示されるウイルス抗原エピトープが同定されて^{25,26)}、それらを単独で用いることによりFV感染抵抗性が誘導できることが示されている²⁶⁻²⁸⁾。したがって、免疫応答遺伝子現象としては、クラスII領域遺伝子の効果の方が明確である。

ところが、驚くべきことにMHCの全領域に抵抗性の対立遺伝子を持つ*H2^b*ハプロタイプのマウスであっても、MHC以外の領域に存在する抵抗性遺伝子を欠くとFVに感受性になってしまう。戻し交配による解析の結果、この非MHC遺伝子は単一の常染色体優性遺伝子であるとされ、*Rfv3*と命名された²⁹⁾。*Rfv3*遺伝子の表現型はきわめて興味深く、この遺伝子座に抵抗性の対立遺伝子を持つと考えられるB6やB10背景のマウスでは、FV感染後のウイルス血症が30日以内に消失するが、感受性の対立遺伝子を持つホモ接合体で持つと考えられたBALB/cあるいはA背景のマウスでは、BALB.BやA.BYなど*H2^b*ハプロタイプを持っていても、FV感染後30日以上ウイルス血症が持続する。その後、ウイルス血症持続の有無は、ウイルス中和抗体が早期に産生されるか否かで決定されるらしいことが示され³⁰⁾、*Rfv3*はFV感染に対する抗体産生を制御する、MHCとは異なる遺伝子と考えられるようになった。*Rfv3*遺伝子の実体解明は困難を極めたが、日米の二つのグループが互いに独立して多数の戻し交配マウスを用いたマッピングを行い³¹⁻³³⁾、22番染色体に*Rfv3*遺伝子座の存在範囲を絞り込んだ。そして、候補領域遺伝子の発現比較からAPOBEC3遺伝子が最終候補の一つとなり、実際にマウス系統間でAPOBEC3遺伝子に多型が存在することが明らかとなった³⁾。最終的に、両グループがAPOBEC3遺伝子をノックアウトしたB6マウスとその交配子孫の表現型を解析し、B6マウス由来のAPOBEC3対立遺伝子産物が、生体内でFV複製を強く制限する効果を示すことを明らかにした^{34,35)}(図1)。

3. マウスAPOBEC3遺伝子多型の実体と機能差

実験室系の純系マウスには、APOBEC3遺伝子座において、B6/B10マウスを代表とする抵抗性系統で発現する対立遺伝子(これを以下*mA3^b*アリルという)と、BALB/cや

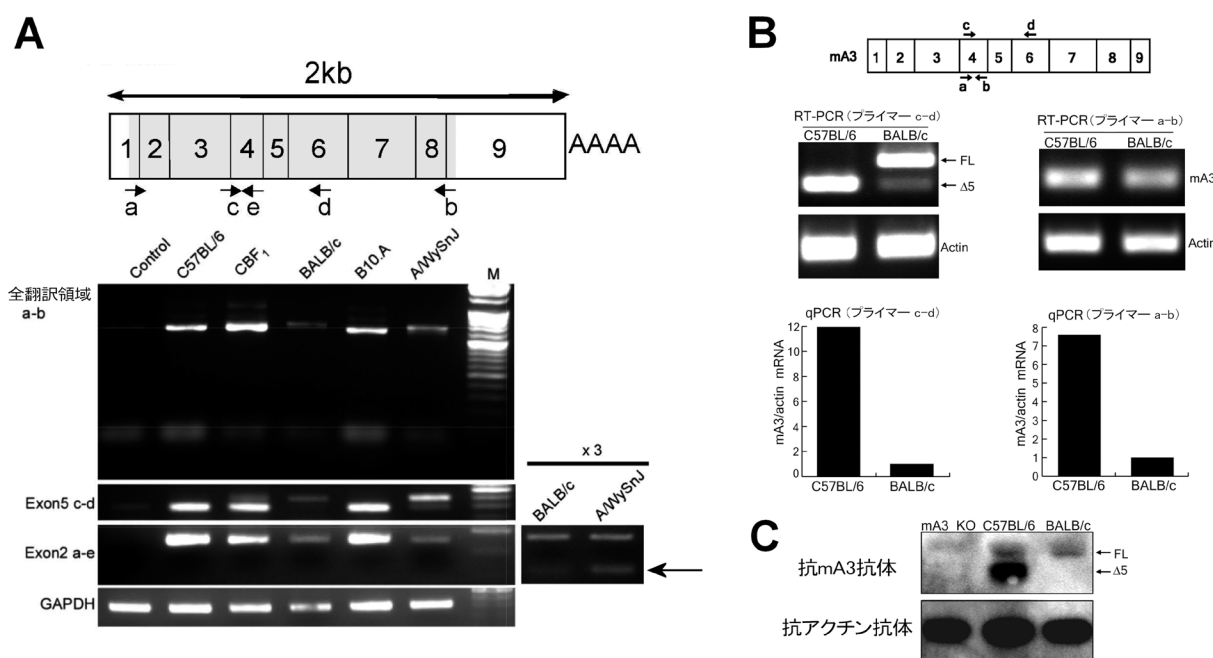


図2 マウス APOBEC3 対立遺伝子産物の発現

(A) 各系統マウス脾臓におけるマウス APOBEC3 mRNA の発現解析。文献³⁵と同様に RT-PCR 反応を行った。上段にマウス APOBEC3 mRNA のエクソン構成を模式的に示す。影つき部分が翻訳領域で、a-e は PCR プライマーの位置を示す。下段右側の×3 では、反応産物を 3 倍量泳動して、極微量のエクソン 2 欠損バンド (矢印) を検出している。(B) 生体内における mA3^b アリルと mA3^d アリルの発現量比較³⁷⁾。(A) と同様、最上段にプライマーの位置を示す。RT-PCR による解析 (中段) では 35 サイクルの増幅結果を示しており、mA3^d の発現産物にも微量に Δ5 があることがわかる。30 サイクルの増幅では mA3^d の全長型バンド (FL) もほとんど検出されず、発現量の差は定量的 PCR 反応 (下段) で確認できる。(C) タンパク質レベルでの mA3 各アリルの発現量の差³⁷⁾。(B) と (C) は文献³⁷に初出のデータを基に、出版社の許可する著者権利により改変。

A 系統のマウスで発現する感受性の対立遺伝子 (mA3^d アリル) の二つの遺伝子型が知られている^{35, 36)}。野生マウスに見いだされる APOBEC3 遺伝子型については後述する。マウス APOBEC3 遺伝子座の二つの対立遺伝子の分子実体と、その機能差については、これまでに以下のことが明らかとなっている。

B6/B10 マウスで発現する mA3^b アリルと BALB/c や A 系統マウスで発現する mA3^d アリルでは、DNA 塩基配列レベルで非常に多くの塩基置換や欠失・挿入があり、その多くはイントロン領域に集積している³⁷⁾。エクソン領域におけるアミノ酸配列多型は、N 末端側の Z2 ドメインに 6 か所、C 末端側 Z3 ドメインに 6 か所の相互置換があり、挿入やフレームシフトはない³⁵⁾。特徴的なことは mA3^b と mA3^d イントロン 2 の長さの違いであり³⁶⁾、mA3^b アリルではイントロン中に内在性異種指向性 (マウスの細胞で発現するが、現存マウスやラットに対する感染性がなく、ウサギや霊長類など、異種の細胞に感染する) レトロウイルスの LTR が組込まれていることである³⁸⁾。

mA3^b アリルの存在は MMTV や F-MuLV の複製に対して優性の抑制機能を発揮し、B6 マウスから mA3^b アリルを欠失させると、生体内での MMTV の複製がおよそ 10 倍に⁸⁾、F-MuLV の複製は 100 倍に高まって³⁵⁾、病原性が増す (図 1)。mA3^b 欠失マウスと mA3^d アリルを持つマウス

とを交配し、同一の遺伝的背景下で mA3^b アリルの効果を解析すると、mA3^b アリルは mA3^d アリルに対して、生体内で約 100 倍の F-MuLV 複製抑制活性を発揮すると考えられる。これは、以下に示す mRNA 発現量の差、エクソン 5 の有無、タンパク質翻訳効率の差、およびアミノ酸配列多型の影響の複合的な結果であると考えられる。

上記イントロン 2 への内在性レトロウイルス LTR の組込みは、イントロンエンハンサーとして働くと考えられ、脾細胞で比較すると mA3^b アリルからの mRNA 発現量は、mA3^d アリルからのその 10 倍以上高い³⁵⁻³⁸⁾ (図 2)。mRNA 発現量の差は、それ自体でレトロウイルス感染抵抗性に影響すると考えられ、実際インターフェロン α 処理などにより mA3 発現量を増強すると、MMTV に対する複製抑制効果が高まる³⁹⁾。一方、マウス APOBEC3 遺伝子の転写産物には複数のアイソフォームが存在する。全長型は九つのエクソンすべてを含むが、エクソン 5 欠損型 (Δ5) は Z2 ドメインと Z3 ドメインの間に位置する 33 アミノ酸残基を欠く (図 3)。この他に、エクソン 2 欠損型 (Δ2) があり、mA3^d の転写産物では Δ2 が多くを占めてこれがドミナントネガティブ型のタンパク質をコードし、APOBEC3 機能が低下すると報告されたが³⁴⁾、これは誤りである³⁶⁾。実際には、Δ2 の発現量はきわめてわずかで、生理的に意義はないと考えられる (図 2)。重要なことに、mA3^b アリルの転

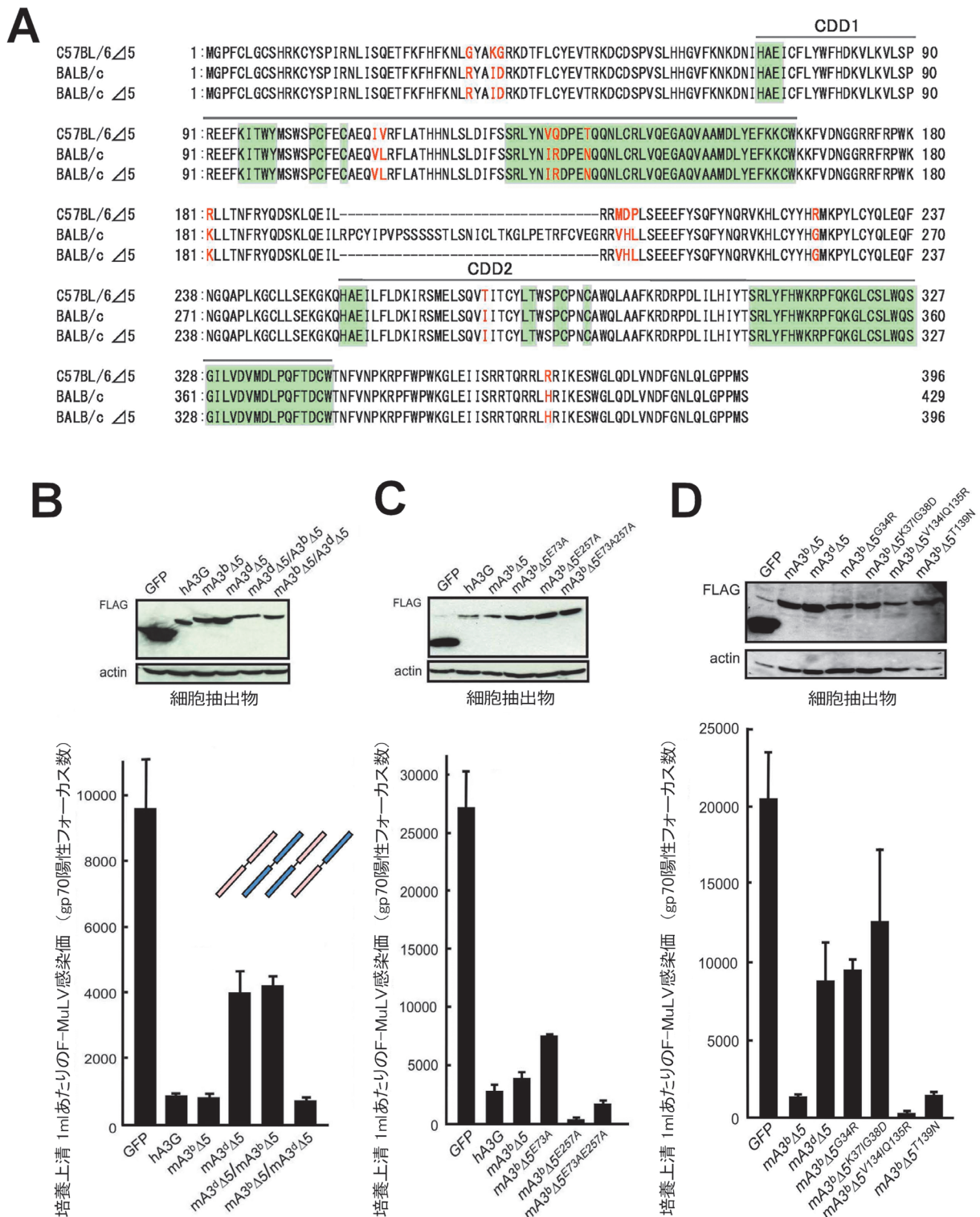


図3 マウス APOBEC3 多型による機能差の解析

(A) $mA3^b$ アリルに由来する $\Delta 5$ タンパク質, $mA3^d$ アリルに由来する全長型および $\Delta 5$ タンパク質のアミノ酸配列比較。N 末端側のデアミナーゼドメイン (CDD1) と C 末端側のデアミナーゼドメイン (CDD2) について, シチジンデアミナーゼ活性タンパク質に保存された一次構造に薄緑色の影をつけた。また, 二つのアリル間でアミノ酸配列が異なる部分を赤で強調した。数字は N 末端側からの残基数を示す。(B-D) $mA3^b$ と $mA3^d$ のキメラ分子, および部位特異的変異誘発により得られた変異または相互残基置換体の F-MuLV 複製抑制活性の比較。いずれも cDNA クローンのトランスフェクタントを得て, 細胞内での APOBEC3 タンパク質発現を western blot 法により確認し, これに F-MuLV を感染させて, 上清中に生じた二次粒子の複製能を, *Mus dunni* 細胞での感染フォーカス定量により比較した³⁵⁾。変異体および相互置換体では, 数字が (A) に示すアミノ酸残基の位置を表す。(B) と (C) は文献 35 に初出の図を, 出版社の許可する著者権利により再録。

写産物としては $\Delta 5$ が大半を占め、一方 $mA3^d$ アリの転写産物は全長型が主体で、 $\Delta 5$ はごく少量である(図2)。このように $mA3^b$ アリの転写産物にエキソン5が含まれず、 $mA3^d$ アリの転写産物がそれを含む主な理由は、エキソン5内部の一塩基多型(G/C SNP)がこのエキソンのスプライシングの有無に大きな影響を与えるからである³⁷⁾。すなわち、B6由来の $mA3^b$ ミニゲノムDNAとBALB/c由来 $mA3^d$ ミニゲノムDNAを用いて相互塩基置換を行い、スプライシング産物を比較すると、 $mA3^b$ の上記エキソンSNPをBALB/c型のCに置換しただけでエキソン5を含んだmRNAが主体となり、同じエキソン内の他の3か所のSNPの相互置換ではスプライシングパターンは変化しない。多数あるイントロン多型もエキソン5のスプライシングにはほとんど影響を与えず、わずかに効果を示すのはイントロン4のスプライシングアクセプター領域に位置する、投げ縄構造形成部位周辺の多型(TCCT反復の有無とT/C SNP)のみである³⁷⁾。

エキソン5の有無は、驚くべきことにマウスAPOBEC3タンパク質の翻訳効率に大きな影響を及ぼす。試験管内転写翻訳系を用い、ほぼ等量の $mA3^b$ および $mA3^d$ 転写産物を発現させた場合、 $mA3^b$ 由来 $\Delta 5$ タンパク質の翻訳はより急速に起こり、60分後になってもタンパク質発現量は $mA3^d$ 産物の2倍以上となる。これは、全長型マウスAPOBEC3タンパク質が $\Delta 5$ に比較して不安定で、より速く分解されるためではなく、翻訳効率が異なるためである。このため、もともとmRNA発現量の高い $mA3^b$ アリを持つマウスの脾臓では、 $mA3^d$ アリのホモ接合で持つマウスの脾臓に比べて、APOBEC3タンパク質の発現量が数倍高くなる(図2)。なお、同じ $mA3^d$ 由来の $\Delta 5$ と全長型をそれぞれトランスフェクションしてF-MuLVを感染させ、上清中のウイルスの複製能を比較すると、 $mA3^d$ 由来 $\Delta 5$ は、 $mA3^b$ 産物に比べ弱いながら有意な複製抑制活性を示す³⁵⁾。これは、 $\Delta 5$ の翻訳効率が高いため、粒子あたりにより多くのAPOBEC3分子が取り込まれるためかもしれない。また全長型がウイルス自身のプロテアーゼによりエキソン5内部で切断されるためかもしれない⁴⁰⁾。しかし、 $mA3^b$ 由来と $mA3^d$ 由来の $\Delta 5$ をそれぞれ単独発現させても、 $mA3^b$ の $\Delta 5$ の方がF-MuLV複製抑制効果がはるかに高いことから(図3)、エキソン5の有無だけでなく、二つの対立遺伝子産物間のアミノ酸配列の違いも、レトロウイルス複製抑制効果に影響することがわかる³⁵⁾。

$mA3^b$ の $\Delta 5$ cDNAと $mA3^d$ の $\Delta 5$ cDNAをそれぞれ単独でトランスフェクションした細胞にF-MuLVを感染させ、上清中に産生されたウイルスの二次標的細胞における複製効率を比較すると、10倍以上の差が認められる。この場合、最初に感染させたトランスフェクタントからのウイルス粒子産生数には有意な差はないので³⁵⁾、知られているとおり出芽した粒子中に取り込まれたAPOBEC3が、次に感染した細胞内で複製抑制効果を示すと考えられる。実際、トランスフェクタントから出芽したウイルス粒子中にAPOBEC3

の取り込みを検出できる³⁵⁾。そこで、N末端側Z2ドメインの多型とC末端側Z3ドメインの多型のどちらがF-MuLV複製抑制に重要なかを解析するため、両対立遺伝子に由来する $\Delta 5$ 型のcDNAクローン間で、Z2コード部分とZ3コード部分を相互に入れ替えたキメラクローンを作製した。これらをトランスフェクションした細胞にF-MuLVを感染させ、上清中に産生されたウイルス粒子の二次標的細胞での複製を比較したところ、N末端側Z2ドメインが $mA3^b$ 由来である場合に、そうでない場合と比べ明らかに強い複製抑制活性が認められた(図3)³⁵⁾。この場合、キメラ分子間で発現量はほぼ同じであるので、同一タンパク質量が粒子に取り込まれた場合でもアミノ酸配列多型の効果があり、N末端側のアミノ酸配列が $mA3^b$ 型であると、F-MuLV複製抑制活性が高いことが明らかである。そこで、N末端側Z2ドメインに認められる6個のアミノ酸配列多型について、相互の置換を行ってみた。その結果、驚くべきことにデアミナーゼ活性中心から離れた、N末端寄りの3か所のアミノ酸残基のいずれかを $mA3^d$ 型へと置換することにより、 $mA3^b$ 産物の示すF-MuLV複製抑制活性が失われることが明らかとなった(図3)。これらのアミノ酸残基は、進化の過程で正の選択圧が加わっていることが示されているものである³⁸⁾。

さて、APOBEC3は一本鎖DNAを標的とするシチジンデアミナーゼであり、その抗レトロウイルス効果は逆転写産物におけるシトシン塩基のウラシルへの置換が主な作用機序であると考えられてきた。ところが、 $mA3$ 各アリルcDNAのトランスフェクタントから出芽したF-MuLVに感染した標的細胞中のプロウイルスを調べてみると、ヒトAPOBEC3Gトランスフェクタントから出芽したF-MuLVの感染で生じたプロウイルスでは、プラス鎖のG-to-A塩基置換が有意に多数検出されたのに対し、 $mA3^b$ 発現細胞に由来するF-MuLVの感染により生じたプロウイルスでは、G-to-A変異の有意な増加は認められなかった³⁵⁾。そこで、マウスAPOBEC3のデアミナーゼ活性中心であるZ2ドメインの73番目のE残基をAに置換した変異体を作製し、これをトランスフェクションした細胞にF-MuLVを感染させて二次標的細胞での複製能を調べてみると、野生型の $mA3^b$ 由来 $\Delta 5$ を発現させた場合よりやや減弱はしたものの、なお強い複製抑制効果がみられた(図3)。このことは、マウスAPOBEC3によるF-MuLVの複製抑制が、少なくとも部分的にデアミナーゼ活性に依存しない機構によっていることを示す。同様に、マウスAPOBEC3によるMMTVの複製抑制もデアミナーゼ活性非依存性であると報告されている^{39,41)}。ところが面白いことに、AKVウイルスに対するマウスAPOBEC3の抑制活性は、デアミナーゼ機能に依存するという⁴²⁾。マウスAPOBEC3が示すデアミナーゼ活性に依存しないF-MuLVおよびMMTV複製抑制活性の分子機構は完全には解明されていないが、MMTVに対しては、その逆転写酵素活性を直接抑制することが示唆されている⁴¹⁾。

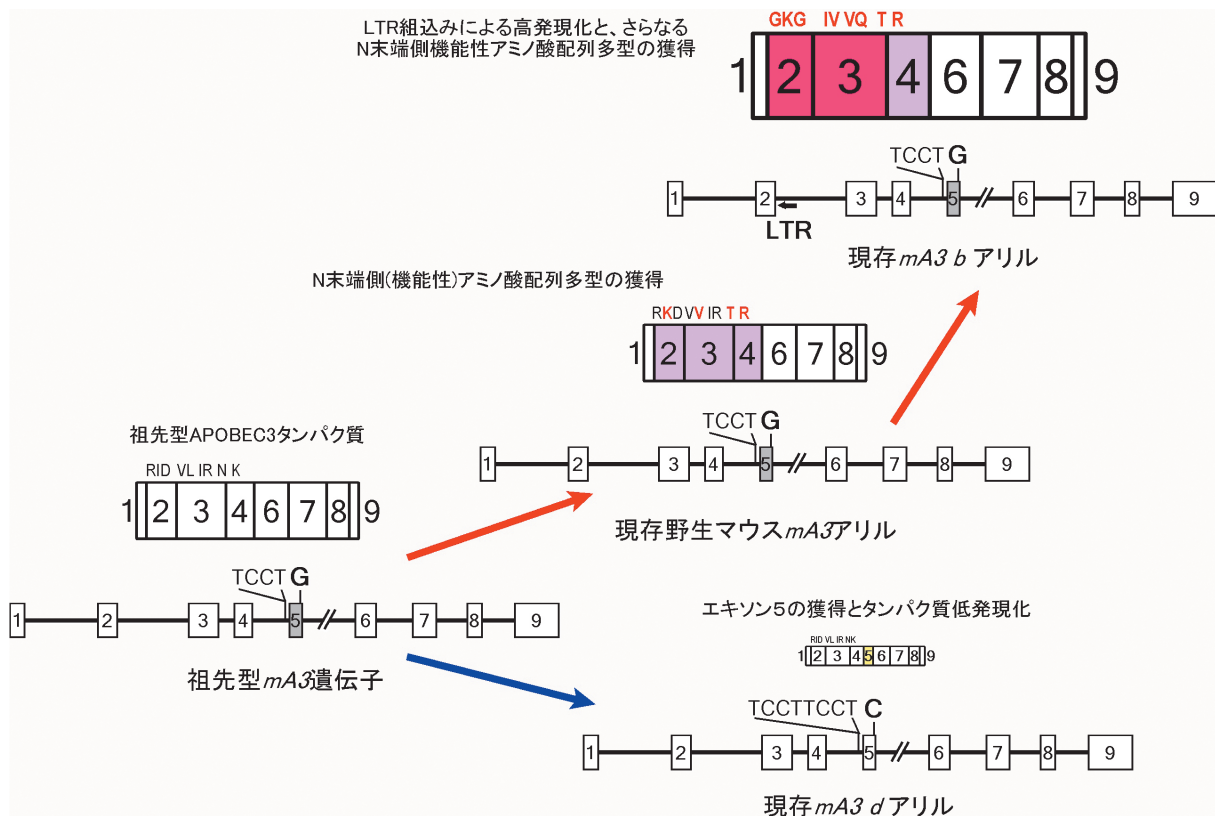


図4 マウス APOBEC3 遺伝子の分子進化

野生マウス種の APOBEC3 遺伝子領域ゲノム DNA およびその発現産物 cDNA について、塩基配列の比較解析を行った³⁷⁾。得られた結果を既知の分子系統樹による種分岐と比較し、APOBEC3 遺伝子の多型形成過程を推測した。元データは文献 37 を参照。

4. マウス APOBEC3 機能性多型の分子進化

上記の解析結果をまとめると、1) マウス APOBEC3 には遺伝子多型があり、実験室マウスの系統は B6/B10 型の $mA3^b$ か、BALB/c、A 型の $mA3^d$ かのいずれかの対立遺伝子を持つ^{35, 36)}、2) $mA3^b$ は $mA3^d$ に比べて生体内での MMTV および F-MuLV 複製抑制活性が高く、これらのウイルスに対する生理的な抵抗性因子として機能している^{8, 34, 35)}、3) $mA3^b$ は $mA3^d$ に比べて mRNA レベルでもタンパク質レベルでも発現量が高く、前者の転写活性が高いのは、 $mA3^b$ のイントロン 2 に組込まれた内在性レトロウイルス LTR が原因である³⁵⁻³⁸⁾、4) マウス APOBEC3 の発現量の多寡は、MMTV 感染抵抗性と相関する³⁹⁾、5) $mA3^b$ から発現する mRNA の大半がエクソン 5 を欠くのにに対し、 $mA3^d$ の転写産物は全長型が主体であって^{35, 36)}、全長型は $\Delta 5$ に比べて翻訳効率が低い³⁷⁾、6) $mA3^b$ の産物と $mA3^d$ の産物にはアミノ酸配列多型があり、N 末端側のごく少数のアミノ酸残基が $mA3^b$ アレル産物の高い抗 F-MuLV 活性と関連する³⁵⁾、となる。これらのことから最初に予想されるのは、B6/B10 マウスの祖先は、a) エクソン 5 に SNP を獲得することで翻訳効率の高い $\Delta 5$ を発現するようになり、b) N 末端側のアミノ酸置換によりレトロウイルス複製制限活性が高まり、c) イントロン 2 に異種指向性ウイルスの LTR が

内在化することで mRNA 転写効率が向上して、最終的にこれら系統の祖先個体が自然界に存在する病原性レトロウイルスに対して高い抵抗性を獲得した結果、現存子孫が MMTV にも F-MuLV にも抵抗性となっているのではないかとすることである。実際、 $mA3^b$ アレル産物 N 末端側の機能性アミノ酸配列多型に対しては、種の進化の過程で正の選択が加わっていた証拠がある³⁸⁾。

ところが、マウス APOBEC3 の分子進化に関する上記の仮説は、意外にも誤りであることが明らかとなった。ヒトの進化を人類発祥の地であるエチオピアからの移動の過程で追うことができるように、げっ歯類の進化も、それが最初に生まれたと考えられるインド亜大陸からの移動過程を追うことで推測できる。現存ネズミ科に属する野生マウス各種の APOBEC3 遺伝子エクソン 5 領域塩基配列およびその転写産物を互いに比較すると、驚くべきことに祖先型の APOBEC3 は $\Delta 5$ 型であり、現在の BALB/c や A マウスの祖先に当たる種が、カスピ海西岸から地中海沿岸に移動してアフリカ北部や西ヨーロッパに分布する過程で、エクソン 5 内部の SNP とイントロン 4 のスプライシングアクセプター部位多型を獲得して、全長型の APOBEC3 を発現するようになったと考えられた³⁷⁾。しかも、全長型を発現する種では、その N 末端側のアミノ酸配列は基本的に現在の $mA3^d$ アレルと同じであり、この部位のアミノ酸配列維

持に強い負の選択圧が加わっている (図4)。一方、カスピ海東岸を通してシベリア西部に至り、現在の東ヨーロッパから北ヨーロッパに分布した祖先種では $\Delta 5$ 型が維持され、そこに段階的にN末端側のアミノ酸配列置換が蓄積していった。そして、これとは独立に、ある時点で $\Delta 5$ 型を発現する祖先個体でイントロン2に異種指向性レトロウイルスのLTRが組込まれ、イントロンエンハンサーの獲得で $\Delta 5$ が高発現となった個体の子孫が、進化上の優位性を獲得して現在のB6/B10系統の祖先となったと考えられる。 $\Delta 5$ 型を発現する祖先種に、イントロンエンハンサー獲得とN末端アミノ酸置換に対する正の選択が加わって現在の $mA3^b$ アリルが生まれたことは想像にかたくないが、わざわざタンパク質低発現となる $mA3^d$ アリルが生まれ、しかもそのN末端側アミノ酸配列に対して強い維持圧力が加わっているのはなぜだろうか？

これについて興味深いのは、野生種マウスにおける染色体中の内在性異種指向性レトロウイルス分布⁴³⁾と、 $\Delta 5$ 型APOBEC3遺伝子の分布とがほぼ一致していることである。現在の野生型および実験室系マウスが染色体上に持つ内在性異種指向性ウイルスは、ラットを介して種間感染で他種生物に持ち込まれたものと考えられている⁴⁴⁾。現存の実験室系マウスは、その祖先が持っていた異種指向性ウイルスの受容体(XPR1)に多型を獲得しており、異種指向性ウイルスはその名のとおり実験室系統のマウスには感染できない⁴³⁾。しかし、機能性のXPR1を発現していたネズミ科の祖先が、カスピ海東岸からシベリア西部に移動する過程で、他種動物(ラット?)から繰り返し異種指向性レトロウイルスの攻撃を受けたことは間違いなく、その証拠としてこれら地域に分布する野生マウスとその子孫の実験室系統には、染色体上に多数の異種指向性ウイルスのプロウイルスが内在化している。

一方、地中海沿岸を西進したネズミ科の祖先に由来する現存野生マウスには、内在性異種指向性ウイルスが検出されない⁴³⁾。その一方で、これらのマウスの染色体中には多数の内在性多指向性ウイルスが存在する。多指向性ウイルスもXPR1を受容体とし、その被膜タンパク質は現存マウス系統のXPR1に結合できるが、内在性多指向性ウイルスのプロウイルスでは構造遺伝子の変異が蓄積しており、直接感染性粒子を作ることができない。内在性多指向性ウイルスが感染性を獲得するのは、AKVやMo-MuLVを新生仔に接種した場合のように、感染性の同種指向性ウイルスによるウイルス血症が持続し、組換え型ウイルスが形成される場合だけである。

興味深いことに、内在性多指向性ウイルスのプロウイルスには、APOBEC3によって生じたG-to-A変異が蓄積しているが、内在性異種指向性ウイルスのプロウイルスには、それがない⁴⁵⁾。このことは、 $\Delta 5$ 型のマウスAPOBEC3がデアミナーゼ非依存性の複製抑制活性を示すこと^{35, 39)}と符合する。すなわち、異種指向性ウイルスの複製抑制はデアミナーゼ活性に依存せず、APOBEC3タンパク質の発現

量とN末端側のアミノ酸配列多型が異種指向性ウイルスに対する抵抗性発揮に重要であるのに対し、多指向性ウイルスの複製抑制にはデアミナーゼ活性が必須であり、そのためにはエキソン5の獲得とN末端側のアミノ酸配列を $mA3^d$ 型に保つことが有利であったと推測される。このような理論的推測の当否は、今後実験的に検証していかなければならない。

5. 今後の課題

異種指向性レトロウイルスと多指向性レトロウイルスを選択圧と仮定してAPOBEC3遺伝子の機能的多型獲得の過程をたどることで、哺乳動物とレトロウイルスの相互作用による進化の過程が明らかにできるであろう。現存マウスの内在性多指向性ウイルスは複製能を失っているため、祖先型の感染性多指向性ウイルスを再構築する必要があるが、内在性多指向性プロウイルスの相互比較により、それは可能になると考える。

レトロウイルス抵抗性因子としてのマウスAPOBEC3を考えると、その多型が $Rfv3$ 遺伝子同定の過程で見いだされたことは忘れてはならない。すなわち、 $mA3$ アリルの機能差が、抵抗性および感受性の $Rfv3$ 遺伝子型を説明できるかを考える必要がある。Santiagoらは、APOBEC3多型は $Rfv3$ 遺伝子現象そのものであると主張し⁴⁶⁾、APOBEC3がウイルス中和抗体の体細胞突然変異に関与すると考えている⁴⁷⁾。一方、我々はウイルス中和抗体産生に対するAPOBEC3遺伝子多型の効果は、ウイルス複製阻害を介する間接的な効果と考えており⁴⁸⁾、Santiagoらも以前はその説に同意していた⁴⁹⁾。また、我々はフレンドウイルスに対する中和抗体産生には抗体遺伝子可変部の体細胞突然変異は必要でないことを示している(むしろ、早期のIgM抗体産生が重要である)⁵⁰⁾。APOBEC3 mRNAの発現には細胞種間の差があり、Bリンパ球での発現がTリンパ球におけるそれよりも明らかに高いのは事実であるが⁴⁸⁾、APOBEC3が抗体産生における体細胞突然変異に関与するならば、Bリンパ球の核内にAPOBEC3が検出されなければならない。今後、生体内の各細胞種間におけるAPOBEC3分子の核内分布の比較と、ウイルス感染に伴うその変化の解析が慎重に行われる必要がある。また、FV感染後の中和抗体産生は明らかにT細胞依存性であり⁵¹⁾、MHC遺伝子型($H2$ ハプロタイプ)によって抗体産生の速度は変わってくる⁵²⁾。 $Rfv3$ 遺伝子と $mA3$ アリルの異同を論じる場合に、 $H2$ ハプロタイプの異なるマウス間の比較はできないことを念頭に置く必要がある。

文 献

- 1) Prugnolle, F., Manica, A., Charpentier, M., Guégan, J.F., Guernier, V., & Balloux, F. (2005) *Curr. Biol.*, **15**, 1022-1027.
- 2) Duggal, N.K. & Emerman, M. (2012) *Nat. Rev. Immunol.*, **12**, 687-695.

- 3) Miyazawa, M., Tsuji-Kawahara, S., & Kanari, Y. (2008) *Vaccine*, **26**, 2981–2996.
- 4) Perez-Caballero, D., Soll, S.J., & Bieniasz, P.D. (2008) *PLoS Pathog.*, **4**, e1000181.
- 5) Rose, K.M., Marin, M., Kozak, S.L., & Kabat, D. (2004) *Trends Mol. Med.*, **10**, 291–297.
- 6) Sheehy, A.M., Gaddis, N.C., Choi, J.D., & Malim, M.H. (2002) *Nature*, **418**, 646–650.
- 7) Biasin, M., Piacentini, L., Lo Caputo, S., Kanari, Y., Magri, G., Trabatttoni, D., Naddeo, V., Lopalco, L., Clivio, A., Cesana, E., Fasano, F., Bergamaschi, C., Mazzotta, F., Miyazawa, M., & Clerici, M. (2007) *J. Infect. Dis.*, **195**, 960–964.
- 8) Okeoma, C.M., Lovsin, N., Peterlin, B.M., & Ross, S.R. (2007) *Nature*, **445**, 927–930.
- 9) Ross, S.R. (2010) *Viruses*, **2**, 2000–2012.
- 10) Okeoma, C.M., Huegel, A.L., Lingappa, J., Feldman, M.D., & Ross, S.R. (2010) *Cell Host Microbe*, **16**, 534–543.
- 11) Hoffman, P.M., Davidson, W.F., Ruscetti, S.K., Chused, T.M., & Morse, H.C. III. (1981) *J. Virol.*, **39**, 597–602.
- 12) Kabat, D. (1989) *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, **148**, 1–42.
- 13) Tsuji-Kawahara, S., Kawabata, H., Matsukuma, H., Kinoshita, S., Chikaishi, T., Sakamoto, M., Kawasaki, Y., & Miyazawa, M. (2013) *J. Virol.*, **87**, 13760–13774.
- 14) Best, S., Le Tissier, P., Towers, G., & Stoye, J.P. (1996) *Nature*, **382**, 826–829.
- 15) Persons, D.A., Paulson, R.F., Loyd, M.R., Herley, M.T., Bodner, S.M., Bernstein, A., Correll, P.H., & Ney, P.A. (1999) *Nat. Genet.*, **23**, 159–165.
- 16) Ikeda, H. & Sugimura, H. (1989) *J. Virol.*, **63**, 5405–5412.
- 17) Chesebro, B., Miyazawa, M., & Britt, W.J. (1990) *Annu. Rev. Immunol.*, **8**, 477–499.
- 18) Kondo, T., Uenishi, H., Shimizu, T., Hiramata, T., Iwashiro, M., Kuribayashi, K., Tamamura, H., Fujii, N., Fujisawa, R., Miyazawa, M., & Yamagishi, H. (1995) *J. Virol.*, **69**, 6735–6741.
- 19) Chen, W., Qin, H., Chesebro, B., & Cheever, M.A. (1996) *J. Virol.*, **70**, 7773–7782.
- 20) Takamura, S., Tsuji-Kawahara, S., Yagita, H., Akiba, H., Sakamoto, M., Chikaishi, T., Kato, M., & Miyazawa, M. (2010) *J. Immunol.*, **184**, 4696–4707.
- 21) Takamura, S., Kajiwara, E., Tsuji-Kawahara, S., Masumoto, T., Fujisawa, M., Kato, M., Chikaishi, T., Kawasaki, Y., Kinoshita, S., Itoi, M., Sakaguchi, N., & Miyazawa, M. (2014) *PLoS Pathog.*, **10**, e1003937.
- 22) Peterson, K.E., Stromnes, I., Messer, R., Hasenkrug, K., & Chesebro, B. (2002) *J. Virol.*, **76**, 7942–7948.
- 23) Miyazawa, M., Nishio, J., Wehrly, K., David, C. S., & Chesebro, B. (1992) *J. Immunol.*, **148**, 1964–1967.
- 24) Miyazawa, M., Nishio, J., & Chesebro, B. (1988) *J. Exp. Med.*, **168**, 1587–1605.
- 25) Iwashiro, M., Kondo, T., Shimizu, T., Yamagishi, H., Takahashi, K., Matsubayashi, Y., Masuda, T., Otaka, A., Fujii, N., Ishimoto, A., Miyazawa, M., Robertson, M.N., Chesebro, B., & Kuribayashi, K. (1993) *J. Virol.*, **67**, 4533–4542.
- 26) Sugahara, D., Tsuji-Kawahara, S., & Miyazawa, M. (2004) *J. Virol.*, **78**, 6322–6334.
- 27) Miyazawa, M., Fujisawa, R., Ishihara, C., Takei, Y.A., Shimizu, T., Uenishi, H., Yamagishi, H., & Kuribayashi, K. (1995) *J. Immunol.*, **155**, 748–758.
- 28) Kawabata, H., Niwa, A., Tsuji-Kawahara, S., Uenishi, H., Iwanami, N., Matsukuma, H., Abe, H., Tabata, N., Matsumura, H., & Miyazawa, M. (2006) *Int. Immunol.*, **18**, 183–198.
- 29) Chesebro, B. & Wehrly, K. (1979) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **76**, 425–429.
- 30) Doig, D. & Chesebro, B. (1979) *J. Exp. Med.*, **150**, 10–19.
- 31) Hasenkrug, K.J., Valenzuela, A., Letts, V.A., Nishio, J., Chesebro, B., & Frankel, W.N. (1995) *J. Virol.*, **69**, 2617–2620.
- 32) Super, H.J., Hasenkrug, K.J., Simmons, S., Brooks, D.M., Konzek, R., Sarge, K.D., Morimoto, R.I., Jenkins, N.A., Gilbert, D.J., Copeland, N.G., Frankel, W., & Chesebro, B. (1999) *J. Virol.*, **73**, 7848–7852.
- 33) Kanari, Y., Clerici, M., Abe, H., Kawabata, H., Trabatttoni, D., Lo Caputo, S., Mazzotta, F., Fujisawa, H., Niwa, A., Ishihara, C., Takei, Y.A., & Miyazawa, M. (2005) *AIDS*, **19**, 1015–1024.
- 34) Santiago, M.L., Montano, M., Benitez, R., Messer, R.J., Yonemoto, W., Chesebro, B., Hasenkrug, K.J., & Greene, W.C. (2008) *Science*, **321**, 1343–1346.
- 35) Takeda, E., Tsuji-Kawahara, S., Sakamoto, M., Langlois, M.A., Neuberger, M.S., Rada, C., & Miyazawa, M. (2008) *J. Virol.*, **82**, 10998–11008.
- 36) Okeoma, C.M., Petersen, J., & Ross, S.R. (2009) *J. Virol.*, **83**, 3029–3038.
- 37) Li, J., Hakata, Y., Takeda, E., Liu, Q., Iwatani, Y., Kozak, C.A., & Miyazawa, M. (2012) *PLoS Pathog.*, **8**, e1002478.
- 38) Sanville, B., Dolan, M.A., Wollenberg, K., Yan, Y., Martin, C., Yeung, M.L., Strebel, K., Buckler-White, A., & Kozak, C.A. (2010) *PLoS Pathog.*, **6**, e1000974.
- 39) Okeoma, C.M., Low, A., Bailis, W., Fan, H.Y., Peterlin, B.M., & Ross, S.R. (2009) *J. Virol.*, **83**, 3486–3495.
- 40) Abudu, A., Takaori-Kondo, A., Izumi, T., Shirakawa, K., Kobayashi, M., Sasada, A., Fukunaga, K., & Uchiyama, T. (2006) *Curr. Biol.*, **16**, 1565–1570.
- 41) MacMillan, A.L., Kohli, R.M., & Ross, S.R. (2013) *J. Virol.*, **87**, 4808–4817.
- 42) Langlois, M.A., Kemmerich, K., Rada, C., & Neuberger, M.S. (2009) *J. Virol.*, **83**, 11550–11559.
- 43) Kozak, C.A. (2010) *Retrovirology*, **7**, 101.
- 44) Hayward, A., Grabherr, M., & Jern, P. (2013) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **110**, 20146–20151.
- 45) Jern, P., Stoye, J.P., & Coffin, J.M. (2007) *PLoS Genet.*, **3**, 2014–2022.
- 46) Santiago, M.L., Smith, D.S., Barrett, B.S., Montano, M., Benitez, R.L., Pelanda, R., Hasenkrug, K.J., & Greene, W.C. (2011) *J. Virol.*, **85**, 189–199.
- 47) Halemanoa, K., Guoa, K., Heilmana, K.J., Barretta, B.S., Smitha, D.S., Hasenkrugc, K.J., & Santiago, M.L. (2014) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **111**, 7759–7764.
- 48) Tsuji-Kawahara, S., Chikaishi, T., Takeda, E., Kato, M., Kinoshita, S., Kajiwara, E., Takamura, S., & Miyazawa, M. (2010) *J. Virol.*, **84**, 6082–6095.
- 49) Santiago, M.L., Benitez, R.L., Montano, M., Hasenkrug, K.J., & Greene, W.C. (2010) *J. Immunol.*, **185**, 1114–1123.
- 50) Kato, M., Tsuji-Kawahara, S., Kawasaki, Y., Kinoshita, S., Chikaishi, T., Takamura, S., Fujisawa, M., Kawada, A., & Miyazawa, M. (2015) *J. Virol.*, **89**, 1468–1473.
- 51) Super, H.J., Brooks, D., Hasenkrug, K., & Chesebro, B. (1998) *J. Virol.*, **72**, 9400–9403.
- 52) Miyazawa, M., Nishio, J., Wehrly, K., & Chesebro, B. (1992) *J. Immunol.*, **148**, 644–647.

著者寸描

●宮澤 正顯（みやざわ まさあき）



近畿大学医学部教授（免疫学教室主任）、
近畿大学医学部共同研究施設長、医学博士（東北大学）。

■略歴 1982年東北大学医学部卒業、医師免許証取得。84年東北大学助手（医学部病理学講座）。86年アメリカ合衆国NIH, NIAID Visiting Associate。87年医学博士。90年東北大学助手復職。95年三重大学医学部助教授（生体防御医学講座）。

96年近畿大学医学部教授、現在に至る。

■研究テーマと抱負 レトロウイルス感染に対する宿主免疫応答の遺伝子支配機構を解明し、感染防御へと繋げること

■ウェブサイト <http://www.med.kindai.ac.jp/immuno/>

■趣味 クラシック音楽、庭の木々と芝生の手入れ。