

京都大学教育研究振興財団助成事業  
成果報告書

平成23年3月16日

財団法人京都大学教育研究振興財団  
会長 辻 井 昭 雄 様

所属部局・研究科 医学研究科 内科学専攻 血液・腫瘍内科学

職名・学年 リサーチレジデント

氏名 泉 泰輔

助成の種類	平成22年度 ・ 国際研究集会派遣助成		
研究集会名	第18回レトロウイルス及び日和見感染症会議		
発表題目	抗 HIV-1 宿主因子 APOBEC3G の N 末端ポケット構造の重要性		
開催場所	Hynes Convention Center, Boston, Massachusetts, US		
渡航期間	平成23年2月26日 ~ 平成23年3月9日		
成果の概要	タイトルは「成果の概要 / 報告者名」として、A4版2000字程度・和文で作成し、添付して下さい。「成果の概要」以外に添付する資料 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> 有( )		
会計報告	交付を受けた助成金額	200,000 円	
	使用した助成金額	200,000 円	
	返納すべき助成金額	0 円	
	助成金の使途内訳	航空運賃	160,000円
		宿泊費	50,000円
		超過分は私費による支払い	

## 成果の概要 / 泉 泰輔

第 18 回レトロウイルス及び日和見感染症会議に参加した成果として下記に 2 点挙げその概要を報告する

1. Xenotropic murin leukemia virus-related virus (XMRV) 論争
2. 抗 HIV-1 宿主因子 APOBEC3 研究の現状

### 1. Xenotropic murin leukemia virus-related virus (XMRV) 論争

XMRV は元来マウスに感染するシンプルレトロウイルスとして発見されたが、Xenotropic という名前に代表される様にヒトにも感染する multi-target virus である。XMRV はヒトの前立腺癌細胞株でよく増殖し、前立腺癌患者の多くが XMRV 陽性であったため、当初 XMRV 感染が前立腺癌を引き起こす病原因子であると考えられた。また、慢性疲労性症候群患者中でも XMRV 感染が観られたため、前立腺癌とともに慢性疲労性症候群を引き起こす病原因子として注目を集めた。しかし、他方では前立腺癌および慢性疲労性症候群患者から XMRV が検出されず、XMRV と病気の因果関係は議論の余地を残す事となった。最近、Retrovirology に XMRV に関する論文が 3 本同時に報告された。その報告ではこれまで PCR 法を用いて XMRV を検出していたが、患者ゲノム中にマウスゲノムがコンタミしておりそれを検出している可能性が示唆された。また、cDNA 作成時における逆転写酵素中に XMRV ゲノムがコンタミしており、それを用いて逆転写産物を作成した際、XMRV が擬陽性になってしまう可能性が示された。さらに、最後の一報は XMRV の存在自体に疑問を投げかけるものであった。XMRV が MLV とは根本的に違う gag の leader 配列 24 塩基の欠損が XMRV 特異的配列としてこの領域を PCR 法を用いて検定する事で XMRV と MLV を識別していた。ヒト細胞株を培養中にマウスの内在性レトロエレメント (IAP) やマウスミトコンドリアゲノムがコンタミし、それらも XMRV 擬陽性として PCR 法で検出される事から、gag 欠損 leader 配列自体が XMRV 特異的配列ではない事が示唆された。また、これまで解析されてきた慢性疲労性症候群患者検体に IAP やマウスミトコンドリアゲノムがコンタミしており、それらを PCR 法で検出する事で XMRV 擬陽性になってしまっている可能性が報告された。従って、これまでの PCR 法で検出してきた方法は多くが擬陽性であり、コンタミが原因として、病原性とウイルス感染の関連性は疑問視されていた。さらに、XMRV の病原性が疑問視されるだけでなく、XMRV 特異的 gag の leader 配列がそもそも XMRV 特異的配列ではない可能性が示唆された事から、その存在自体が疑問視される事となった。本学会での XMRV トピックとしてはやはり前立腺癌や慢性疲労性症候群と XMRV 感染の有無に相関性は観られず、XMRV のこれまでの報告はコンタミによる物であると言う結論に終止していた。また、NCI-Frederic の Dr Pathak らは XMRV の祖先が 2 種類のマウスレトロエレメント (preXMRV-1, preXMRV-2) で

有る事をつきとめた。これらのレトロエレメントは不完全であり、ウイルスを構成する事ができないが、この 2 つの内在性レトロエレメントが相同組み替えをおこし現在の XMRV の祖先が出来上がったと考えられた。また、ヒトの前立腺癌細胞株をマウスに移植した事で、この pre-XMRV がヒト前立腺癌細胞株に移り、その中で系代されるうちに変異が蓄積してレトロウイルスとしての機能を獲得した XMRV が誕生した。その様にしてマウスに移植した前立腺癌細胞株の中で系代され内在性レトロウイルスとして引き継がれて来たウイルスが現在の XMRV であり、前立腺癌を引き起こす病原因子というよりは実験系の歴史によってヒト前立腺で増殖可能となったマウスレトロウイルスであるという事が示唆された。本学会で XMRV は病原性との因果関係は認められないが MLV とは異なり XMRV というウイルスの存在は認められる形となった。

## 2. 抗 HIV-1 宿主因子 APOBEC3 研究の現状

2003 年に同定された抗 HIV-1 宿主因子 APOBEC3G は瞬く間にその研究は進み、この 8 年間でその機能の大部分が解明された。APOBEC3G はシチジンデアミナーゼ活性を有するタンパク質である。HIV-1 感染細胞において、ウイルス出芽の際にウイルス粒子中に取り込まれる。APOBEC3G を取り込んだウイルスが次の標的細胞に感染した際、逆転写過程でマイナス鎖 DNA のシトシンをウラシルに変換する事で、それを鋳型として合成されたプラス鎖 DNA にグアニンからアデニンへの変異を起こさせる (G-to-A hypermutation)。その結果、ウイルスゲノム中には優位にストップコドンが導入され、機能的なウイルスタンパク質の発現を阻害する事でウイルスの感染性を協力的に抑制している。一方で、HIV-1 は Vif というアクセサリタンパク質を持っており、ウイルス産生細胞中で Vif が APOBEC3G と結合し、ユビキチン化依存的に分解する事で、APOBEC3G のウイルス粒子中への侵入を抑制している。本学会では、APOBEC3G 研究の最終局面として APOBEC3G-Vif を標的とした創薬スクリーニング及び構造解析データが報告されていた。FRET assay 法を用いて、APOBEC3G と Vif の結合を阻害する低分子化合物をライブラリーからスクリーニングし、結合阻害が観られた数化合物を同定していた。また、漢方や植物などから抽出した低分子化合物ライブラリーを作成し、同様のスクリーニング系を用いて結合阻害活性をもつ化合物を同定していた。しかし、HIV-1 感染の抑制効果までは検定されておらず、今後の進展が多いに期待される演題であった。また、APOBEC3G は N 末端と C 末端に酵素活性部位をもつタンパク質である。Full-length の APOBEC3G は不溶性であり構造解析が難しいが、C 末端の構造が近年 NMR 法及び結晶構造解析法を用いて解き明かされた。APOBEC3G は N 末端同士 C 末端同士で 2 量体若しくは 4 量体を形成する事が報告されている。本学会では、C 末端構 2 量体の構造を NMR で解析しており、C 末端同士の結合様式が特定されていた。Vif の結合部位は APOBEC3G の N 末端であり、さらに Vif 結合と N 末端 2 量体化は相関し

ている事が示唆されている。N 末端の構造解析は未だ解き明かされていないが、本学会で報告されていた C 末端 2 量体化は N 末端 2 量体化をコンピューターでモデリングする際にとっても重要なテンプレートデータになる事は間違いない。

APOBEC3G に関する基礎研究はほぼ成熟してきており、現在は臨床応用を目指した創薬とそれに結びつける為の構造解析が主要なトピックになっている事が伺えた。我々も独自のスクリーニング方法を用いて APOBEC3G を標的とした創薬の完成を目指したい。