

第25回日本エイズ学会 ECC 山口メモリアルエイズ研究奨励賞受賞研究

脱アミノ化酵素 APOBEC3 ファミリータンパク質と
HIV-1 との相互作用の研究

Interaction between APOBEC3 Family Proteins and HIV-1

池田輝政

Terumasa IKEDA

熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター 病態制御部門 分子ウイルス・遺伝学分野

Division of Molecular Virology and Genetics, Joint Research Center for
Human Retrovirus Infection, Kumamoto University

日本エイズ学会誌 27: 122-127, 2025

1. はじめに

ウイルスは、自立的に複製することができない核酸タンパク質複合体であり、その増殖には宿主細胞の機能を巧妙に利用する必要がある。この特性ゆえ、ウイルスと宿主との間にはつねに何らかの相互作用が生じる。筆者はこれまで、ウイルスと宿主が繰り返す攻防の本質を分子生物学的観点から解明することを目的に研究を進めてきた。具体的には、ウイルスがどのようにして宿主細胞内で感染を成立させるのか、宿主側にはどのような抗ウイルス防御機構が備わっているのか、そして、それらの防御機構に対してウイルスがどのように適応・進化し、それを乗り越えていくのかといった一連のプロセスに焦点を当てて解析を行ってきた。本稿では、宿主に備わる防御機構の1つとして、筆者が長年研究している脱アミノ化酵素 APOBEC ファミリータンパク質とヒト免疫不全ウイルス (HIV-1) との相互作用について紹介する。また、HIV-1 研究を基盤として展開してきた新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) に関する研究成果も紹介する。

2. 長期抗レトロウイルス療法下における HIV-1 挿入部位の研究

後天性免疫不全症候群 (AIDS) は、HIV-1 感染によって引き起こされるウイルス性疾患である。2023 年時点で、HIV-1 感染者数は全世界で約 4,000 万人、AIDS による年間死亡者数は約 63 万人と推定されており、HIV-1 感染症/AIDS は依然として世界的な公衆衛生上の重要課題である。

抗レトロウイルス療法 (ART) の開発により、HIV-1 感

染の早期診断と適切な治療介入によってウイルス複製を抑制し、AIDS の発症を防ぐことが可能となった。しかしながら、ART によっても HIV-1 を体内から完全に排除することは困難であり、根治には至っていない。その主な原因は、HIV-1 が宿主ゲノム内に組み込まれて潜伏感染状態を維持し、残存するからである。

筆者らはこの課題に対し、ART により血中ウイルス量が長期間にわたり検出限界以下で維持されている HIV-1 感染者を対象として、体内に残存する HIV-1 DNA の挿入部位を長期にわたり解析した¹⁾。その結果、同一の挿入部位を有する感染細胞が長期にわたって体内で増殖・残存していることを、世界で初めて明らかにした¹⁾ (図 1)。この知見は、その後、複数の研究グループにより追試・再現され、現在では本分野における重要な共通認識となっている。

3. レトロウイルスおよびレトロトランスポゾンに対する APOBEC1 タンパク質の抑制活性の研究

APOBEC ファミリータンパク質は、一本鎖 DNA または RNA のシトシン (C) をウラシル (U) へ変換するシトシン脱アミノ化酵素群である。ヒトでは AID, APOBEC1 (A1), A2, 7 種の A3 (A3A から A3H), および A4 の計 11 種で構成されるが、このファミリーの構成は生物種によって異なる。たとえばマウスには A3 が 1 種類しか存在しないが、ヒトを含む霊長類では A3 遺伝子の数が増加しており、これは過去のレトロウイルス感染に対する進化的適応と考えられている。

筆者が大学院生の頃、HIV-1 に対する宿主防御因子として A3 ファミリータンパク質に注目が集まっていた。しかし、同じファミリーに属する A1 は、ヒト由来のものが HIV-1 に対して活性を示さないことから、ほとんど研究されていなかった。HIV-1 は、ヒトおよびチンパンジーにしか感染しない宿主域の狭いウイルスであり、その宿主域の

著者連絡先：池田輝政 (〒860-0811 熊本市中央区本荘 2-2-1 熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター 病態制御部門 分子ウイルス・遺伝学分野)

2025 年 5 月 27 日受付

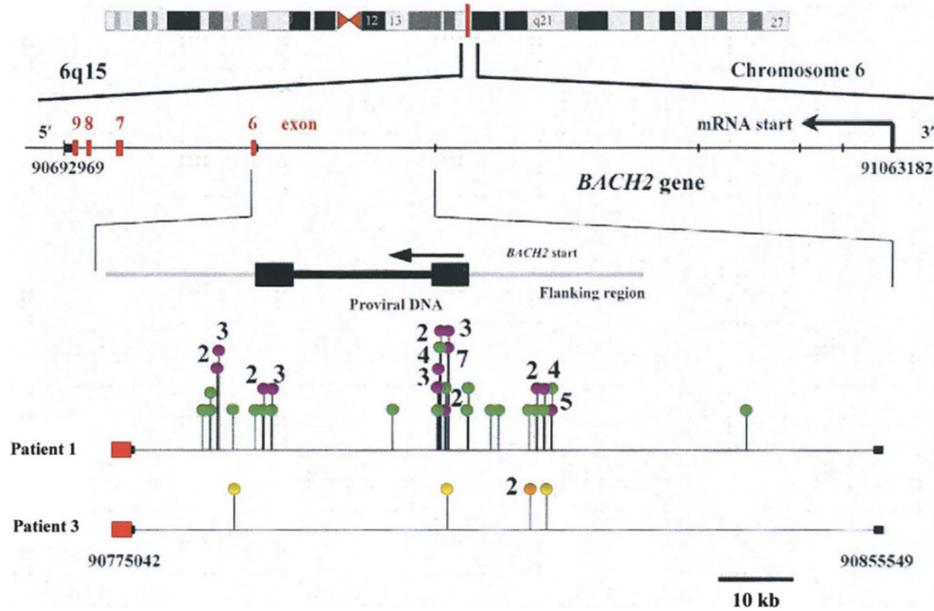


図 1 BACH2 遺伝子への HIV-1 挿入部位数と位置¹⁾

狭さは、A3 タンパク質による抗ウイルス活性が一因と考えられる。A3 による C→U [相補鎖ではグアニン (G)→アデニン (A)] 変異の蓄積は、ウイルス複製を著しく阻害する。

筆者らは、齧歯類、ウサギ、およびオポッサム由来の A1 タンパク質が、ヒト由来 A1 タンパク質よりも高い DNA および RNA 編集活性を持つことに注目し、それらの A1 タンパク質の抗 HIV-1 活性を培養細胞で評価した^{2,3)}。その結果、いずれも HIV-1 に対して顕著な抑制効果を示し、さらにサル免疫不全ウイルス (SIV) やマウス白血病ウイルス (MLV) に対しても同様の活性を有することが確認された^{2,3)} (図 2)。加えて、これらの A1 タンパク質が内在性レトロウイルスや LINE-1 などのレトロトランスポゾンに対しても抑制活性を示し、その作用機序についても明らかにした^{3,4)} (図 2)。

A1 タンパク質は本来、コレステロール代謝の制御に関与する酵素として知られているが、筆者らの知見は、A1 タンパク質がウイルスやレトロエレメントに対する防御因子としても機能している可能性を示唆している。今後は、その生理的意義と生体内機能の解明が期待される。

4. APOBEC3 ファミリータンパク質と HIV-1 の相互作用に関する研究

筆者はポストドク時代、約 9 年間にわたり、この分野の第一人者である Reuben Harris 先生 (当時はミネソタ大学: 現在はテキサス大学健康科学センター・サンアントニオ校) の下で、ヒト A3 ファミリータンパク質の研究に従事した。

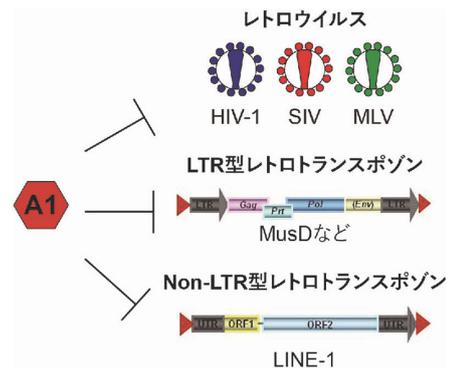


図 2 齧歯類やウサギ由来 A1 の抗 HIV-1 活性と抗レトロエレメント活性

HIV-1 は、CD4 陽性 T 細胞やマクロファージなどの免疫細胞に感染し、最終的に免疫不全を引き起こす。しかし感染を成立させるためには、これらの免疫細胞に発現する多様な宿主防御因子を克服しなければならない。その代表例が、7 種類からなるシトシン脱アミノ化酵素 A3 ファミリータンパク質である。実際には、最大で 5 種類の A3 タンパク質が抗 HIV-1 活性を持ち、ウイルスゲノムに G→A 変異を導入することで、ウイルス複製を効果的に阻害する (図 3)。一方で HIV-1 は、ウイルスタンパク質 Vif を介して、A3 タンパク質をユビキチン・プロテアソーム経路で分解し、その抗ウイルス活性を抑制している (図 3)。Vif は、HIV-1 が免疫細胞で効率的に複製するために必須の因子である (図 3)。

これまで、HIV-1 が Vif に依存せずに A3 ファミリータ

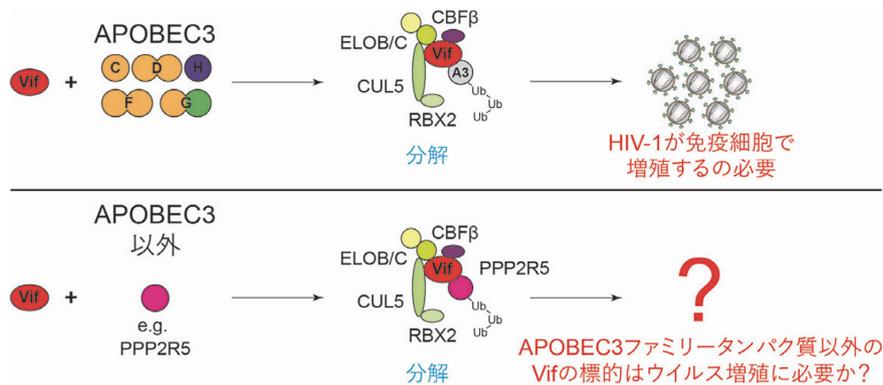


図 3 Vif と A3 ファミリータンパク質の関係

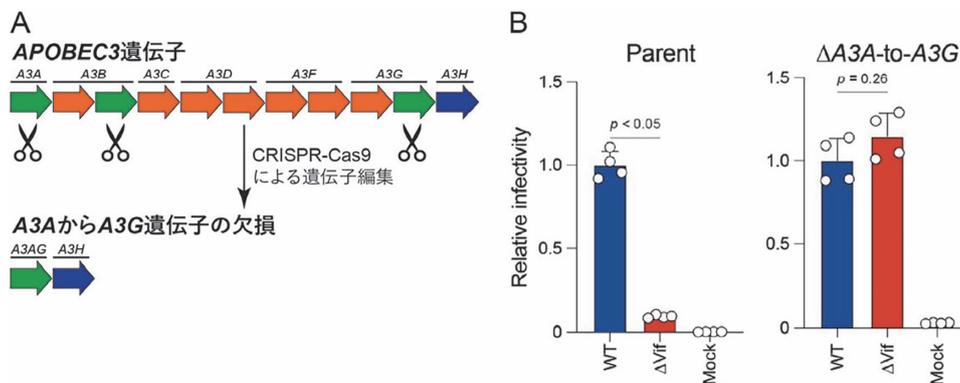


図 4 A3A-A3G 遺伝子欠損細胞の樹立と HIV-1 感染性への影響¹¹⁾

ンパク質の抑制を回避する機構については、あまり明らかにされていなかった。そこで筆者は、Vif 欠損 HIV-1 変異株を用い、A3 ファミリータンパク質の 1 つである A3G に耐性を獲得するようウイルスを進化させ、その作用機序を解析した⁹⁾。その結果、env 遺伝子に蓄積した変異が逆転写酵素活性を間接的に高め、A3G による阻害を回避していることが判明した。この研究は、HIV-1 が Vif 非依存的に A3G 耐性を進化させ得ることを示したものである。さらにアメリカ滞在中には、A3C および A3H の遺伝子多型が、それぞれの抗 HIV-1 活性に影響を与えることも明らかにした^{6~8)}。

帰国後も、筆者は A3 ファミリータンパク質と Vif の相互作用に関する研究を継続している。Vif は A3 タンパク質以外にも PPP2R5 ファミリーなどを標的とすることが知られている⁹⁾、HIV-1 が感染する免疫細胞内で A3 以外の Vif 標的が存在するかは未解明だった (図 3)。そこで筆者らは、骨髓性白血病細胞株 THP-1 において、約 150 kbp にわたる A3 遺伝子クラスターのうち、A3A から A3G 遺伝子までを欠損させた細胞株を樹立した。この細胞を用いて HIV-1 感染性に対する Vif の必要性を解析した結果、HIV-1 感染

における Vif の主要な標的は A3 ファミリータンパク質であることを明確に示すことができた^{10,11)} (図 4)。

5. SARS-CoV-2 新規変異株の性状解析

SARS-CoV-2 研究においては、流行初期から多数の HIV/エイズ研究者が参入し、国際的な一流誌に多くの成果が報告された。この傾向は日本にかぎらず、世界的にも共通して見られた現象である。The Genotype to Phenotype Japan (G2P-Japan) Consortium には、筆者を含め、佐藤佳先生 (東京大学)、齊藤暁先生 (宮崎大学)、本園千尋先生 (熊本大学) など、HIV-1 研究に長年携わってきた研究者が数多く参加している。HIV 研究は 40 年近い歴史を持つ非常に成熟した分野であり、そこで培われた多様な実験技術や人的ネットワークは、SARS-CoV-2 の性状解析研究において大きな貢献を果たした。今後も新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) のような新興ウイルス感染症のパンデミックが再び発生する可能性は十分にあり、これに備えた持続的な研究体制の整備と、次世代のウイルス研究者育成は、きわめて重要な課題である。

SARS-CoV-2 は、感染拡大の過程でさまざまな変異を蓄

積してきたが、遺伝子配列の情報のみではウイルスの性状を正確に予測することは困難であり、迅速かつ精緻な実験的解析が不可欠である。筆者らは、G2P-Japan Consortiumの一員として、新たに出現する SARS-CoV-2 変異株の性状を継続的に解析してきた。その結果、①デルタ株におけるスパイク (S) タンパク質の L452R 変異および P681R 変異が、ウイルスの性状 (ウイルスの感染性や細胞膜融合活性など) に与える影響を明らかにした^{12,13)}。②オミクロン株 (BA.1 株, BA.2 株, BA.5 株, BA.2.75 株など) については、それぞれの変異株の病原性や免疫回避能、および薬剤耐性の特性を明らかにした^{13~17)}。

6. SARS-CoV-2 S タンパク質の細胞膜融合活性の評価

筆者はこれまで、ウイルス進化により獲得された遺伝子変異がウイルスの性状に及ぼす影響を解明することを目的に、さまざまなウイルス学的手法を駆使して研究を行ってきた。SARS-CoV-2 の新規変異株の解析においては、感染性ウイルスを用いた複製能の評価、シールドウイルスを用いた中和アッセイなど、多角的なアプローチにより各変異株のウイルス学的特性を検討してきた。

さらに筆者らは、ヒト気管支上皮腺がん細胞株 Calu-3 などを用いて、SARS-CoV-2 新規変異株由来 S タンパク質の細胞膜融合活性を定量的に評価した¹⁸⁾ (図 5)。この評価系とハムスターを用いた病原性解析より、細胞膜融合活性の高さとウイルスの病原性との間に相関がある可能性が示唆された^{13~16)}。

本アッセイ系は、SARS-CoV-2 変異株の性状解析において有用であるのみならず、今後出現しうる他の新興ウイルスにも応用可能な基盤技術である。将来的には、この系を発展・汎用化させることで、未知のウイルスによるパンデミックに備えた研究体制の強化を目指していく。

7. SARS-CoV-2 S タンパク質の細胞膜融合活性と相関する他のウイルス学的因子の探索

筆者らはこれまでに、SARS-CoV-2 S タンパク質の細胞膜融合活性がウイルスの病原性に関与している可能性を示してきた^{13~16)}。しかし、そのメカニズムはいまだ明らかではなく、S タンパク質機能に関するさらなる解析が必要である。そこで筆者らは、11 種類の S タンパク質 [Wuhan, B.1.1 (D614G), Alpha, Beta, Gamma, Delta, Lambda, Mu, BA.1, BA.2, BA.5] の発現ベクターを作製し、それぞれの細胞膜融合活性を定量的に評価した。その結果、オミクロン株の出現を境に、S タンパク質の細胞膜融合活性に明確な変化が認められた。さらに S タンパク質の細胞膜融合活性と他のウイルス学的性質との相関関係を解析したところ、S1/S2 切断効率および臨床分離株により形成されるブランクサイズと細胞膜融合活性との間に強い正の相関が確認された (表)。一方、シールドウイルスの感染性、標的細胞への侵入効率、臨床分離株の複製効率との相関は弱い傾向にあった (表)。これらの結果から、S タンパク質の S1/S2 切断効率やブランクサイズの解析が、SARS-CoV-2 新規変異株の病原性を予測する指標となる可能性が示唆された¹⁹⁾。

8. おわりに

ヒト (宿主) はさまざまな防御機構を備えてウイルス感染を防いでいるが、ウイルスもまた進化と適応を通じてこれらの防御を乗り越え、感染を成立させている。筆者らは、こうした宿主とウイルスの「攻防」のメカニズムを、分子・細胞・個体レベルで解明することで、ウイルス感染症の克服を目指した研究に取り組んでいる。

現在は主に基礎ウイルス学的なアプローチを中心に研究を展開しているが、宿主-ウイルス間相互作用を理解するには、さまざまな視点や専門性を取り入れた解析が不可欠である。そのため、基礎ウイルス学の枠にとどまらず、多様な研究バックグラウンドを持つ方や、分野横断的な関心

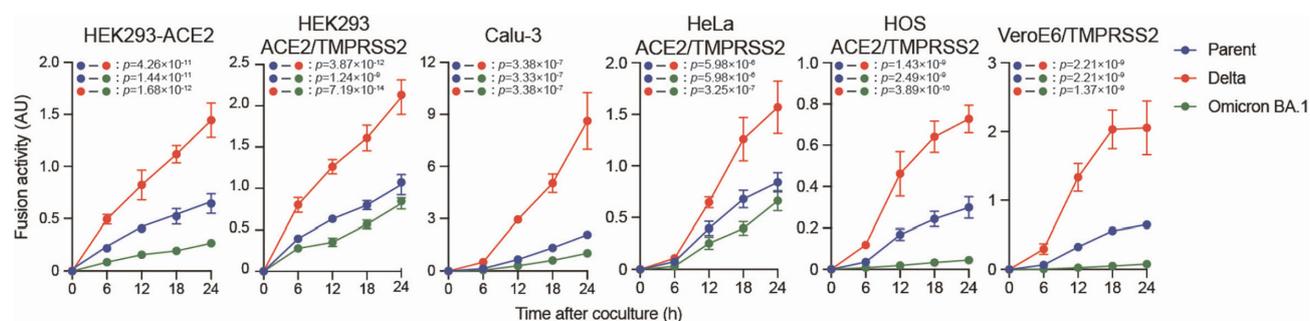


図 5 SARS-CoV-2 S タンパク質を介した膜融合活性の定量化¹⁸⁾

表 新型コロナウイルス S タンパク質の細胞膜融合活性と他のウイルス学的因子の関係¹⁹⁾

	r^a	R^{2b}	p^c	Correlation
Compard to S protein fusion activity				
S1/S2 cleavage efficiency in 293T	0.7730	0.5975	0.0053	Strong positive correlation
Plaque size	0.8356	0.6982	0.0014	Very strong positive correlation
Pseudoviral infectivity per incorporated S protein	-0.3849	0.1482	0.2424	Weak negative correlation
Pseudovirus entry efficiency per incorporated S protein	0.03684	0.0014	0.9144	Very weak positive correlation
Viral replication in VeroE6/TMPRSS2	0.1233	0.0152	0.7180	Very weak positive correlation
Viral replication in Calu-3	0.3927	0.1542	0.2322	Weak positive correlation

^a Pearson correlation coefficient. ^b Correlation squared. ^c The p value was calculated by a two-tailed test.

を持つポストドク・学生の参加を歓迎している。

ともに研究室を築き上げ、次なるパンデミックに備えるため、ウイルス研究全体のレベルアップを図っていききたい！

謝辞

令和6年度 ECC 山口メモリアルエイズ研究奨励賞を賜るにあたり、これまでご指導いただきました熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センターの松下修三先生、元熊本大学の小糸厚先生、原田信志先生、テキサス大学健康科学センター・サンアントニオ校の Reuben Harris 先生に、心より深く御礼申し上げます。そして、本賞へのご推薦を賜りました上野貴将先生にも、厚く御礼申し上げます。また、SARS-CoV-2 研究の遂行にあたり多大なるご支援とご助言をいただきました東京大学の佐藤佳先生、宮崎大学の齊藤暁先生、熊本大学の本園千尋先生、ならびに G2P-Japan Consortium のメンバーの皆様にも、深く感謝申し上げます。最後に、本研究の推進にあたり日々ご支援くださっている熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センターの先生方、分子ウイルス・遺伝学分野のメンバー、そしてつねに励まし支えてくれた家族に、心から感謝の意を表します。

利益相反：本研究において利益相反に該当する事項はない。

文 献

- Ikeda T, *et al* : Recurrent HIV-1 integration at the BACH2 locus in resting CD4+ T cell populations during effective highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 195 : 716-725, 2007.
- Ikeda T, *et al* : The antiretroviral potency of APOBEC1 deaminase from small animal species. *Nucl Acids Res* 36 : 6859-6871, 2008.
- Ikeda T, *et al* : Opossum APOBEC1 is a DNA mutator with retrovirus and retroelement restriction activity. *Sci Rep* 7 : 46719, 2017.
- Ikeda T, *et al* : Intrinsic restriction activity by apolipoprotein B mRNA editing enzyme APOBEC1 against the mobility of autonomous retrotransposons. *Nucl Acids Res* 39 : 5538-5554, 2011.
- Ikeda T, *et al* : HIV-1 adaptation studies reveal a novel Env-mediated homeostasis mechanism for evading lethal hypermutation by APOBEC3G. *PLoS Pathog* 14 : e1007010, 2018.
- Refsland EW, *et al* : Natural polymorphisms in human APOBEC3H and HIV-1 Vif combine in primary T lymphocytes to affect viral G-to-A mutation levels and infectivity. *PLoS Genet* 10 : e1004761, 2014.
- Anderson BD, *et al* : Natural APOBEC3C variants can elicit differential HIV-1 restriction activity. *Retrovirology* 15 : 78, 2018.
- Ebrahimi D, *et al* : Genetic and mechanistic basis for APOBEC3H alternative splicing, retrovirus restriction, and counteraction by HIV-1 protease. *Nat Commun* 9 : 4137, 2018.
- Salamango DJ, *et al* : HIV-1 Vif triggers cell cycle arrest by degrading cellular PPP2R5 phospho-regulators. *Cell Rep* 29 : 1057-1065 e1054, 2019.
- Ikeda T, *et al* : HIV-1 restriction by endogenous APOBEC3G in the myeloid cell line THP-1. *J Gen Virol* 100 : 1140-1152, 2019.
- Ikeda T, *et al* : APOBEC3 degradation is the primary function of HIV-1 Vif determining virion infectivity in the myeloid cell line THP-1. *mBio* 14 : e0078223, 2023.
- Motozono C, *et al* : SARS-CoV-2 spike L452R variant

- evades cellular immunity and increases infectivity. *Cell Host Microbe* 29 : 1124–1136 e1111, 2021.
- 13) Saito A, *et al* : Enhanced fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Delta P681R mutation. *Nature* 602 : 300–306, 2022.
- 14) Kimura I, *et al* : Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2 subvariants, including BA.4 and BA.5. *Cell* 185 : 3992–4007 e3916, 2022.
- 15) Suzuki R, *et al* : Attenuated fusogenicity and pathogenicity of SARS-CoV-2 Omicron variant. *Nature* 603 : 700–705, 2022.
- 16) Yamasoba D, *et al* : Virological characteristics of the SARS-CoV-2 Omicron BA.2 spike. *Cell* 185 : 2103–2115 e2119, 2022.
- 17) Tamura T, *et al* : Virological characteristics of the SARS-CoV-2 XBB variant derived from recombination of two Omicron subvariants. *Nat Commun* 14 : 2800, 2023.
- 18) Nasser H, *et al* : Monitoring fusion kinetics of viral and target cell membranes in living cells using a SARS-CoV-2 spike-protein-mediated membrane fusion assay. *STAR Protoc* 3 : 101773, 2022.
- 19) Begum MM, *et al* : Virological characteristics correlating with SARS-CoV-2 spike protein fusogenicity. *Front Virol* 4, 1353661, 2024.