

ハイテクリサーチセンターシリーズ

レトロウイルス感染と宿主因子：エイズ制圧を目指して

宮澤正顯¹ 河原佐智代¹ 金成安慶^{1,2} 武田英里^{1,3} 坂本真由美¹
阿部弘之^{1,4} 木下さおり¹ 湯浅貴恵^{1,3,5} 梶原栄二¹ 馬野奈津子¹

¹近畿大学医学部免疫学教室
センター

²キャノン財団ヨーロッパ
⁴帝京大学医学部解剖学講座

³近畿大学大学院医学研究科ハイテクリサーチ
⁵株式会社ファーマフーズ

はじめに

国連共同エイズ計画 (UNAIDS) の推計によれば、2007年末現在全世界に3,300万人のヒト免疫不全症候群ウイルス (HIV) 感染者があり、2007年一年間でおおよそ250万人が新たに感染、210万人が後天性免疫不全症候群 (エイズ) を発症して死亡したとされる¹。15歳から49歳までの年齢層における HIV 陽性率は世界平均でおおよそ0.8%であり、性活動期にある年齢層の120人に一人は HIV 感染者となる。南アフリカ共和国やボツワナでは既に1990年代後半から成人層の HIV 陽性率が20~30%で推移しており、若年で感染して青年期にエイズを発症、死亡するため、2020年までに平均寿命が25年も短縮するだろうと言われている。このことは皮肉にも、性活動期年齢層の人口減少をもたらし、サハラ以南のアフリカでは今後 HIV 感染者数の増加は頭打ちになると予想されている。これに代わって現在最も急速に HIV 感染者数が増加しているのはアジアであり、インドは2005年に国内の感染者数570万人と発表して、南アフリカ共和国を抜く HIV 陽性者数世界一の国となった。この数値はその後下方修正されたが、それでも2007年末の生存感染者数が250万人は下らないと推計されている。中国については2010年までに HIV 感染者数が1,000万人から1,500万人になるとの推計が発表されたことがあり、中国政府はエイズ対策を打ち出して、2010年の感染者数を250万人に抑え込むと目標を設定している²。男性同性愛者における HIV 陽性率は上海で1.7%、北京では3.1~4.6% (実に二十数名に一人) という報告もある¹。アジア全体で、2007年末に500万人以上の HIV 感染者が生存しており、少なくとも年間44万人が新たに感染したものと考えられ、世界における HIV 感染爆発の中心はサハラ以南のアフリカからアジアへと確実に移りつつある。

作用点の異なる複数の抗 HIV 薬を併用する HAART (highly active antiretroviral therapy)

の普及以来、欧米先進国における HIV 感染者の死亡率は減少し、アメリカ合衆国ではエイズ発症によって死に瀕した感染者が HAART 療法の奏効により職場復帰を果たしたなどの劇的事例も報告されており、現在では HIV に感染してもエイズを発症することなく天寿を全う出来るかの誤解が生じつつある。しかしながら、HAART 療法によって可能となったのは HIV 感染からエイズ発症までの期間を引き延ばすことだけであり、一旦感染が成立すれば体内から HIV 産生細胞を排除することは未だに不可能である。また、HAART 療法には鬱状態・脂質代謝障害と体内の脂肪分布変化 (リポディストロフィー)・肝機能障害などの重大な副作用があり、服薬中断の主要な原因となる。服薬が中断されれば却って変異ウイルスの出現が速まるため、急速なエイズ発症に結び付く可能性がある。また、服薬者および国家の経済的負担は極めて大きく、アジアで最も感染者の多いインドでは、抗レトロウイルス薬を服用可能な HIV 陽性者の割合は、これを必要とする者の15%にも満たない。更に、アメリカ合衆国など HAART 療法の普及した先進諸国では、HIV 感染者の年間死亡率が低下した結果、却って感染者一人あたりの性活動パートナー数が増え、HAART 療法普及と同時に男性同性愛者の肛門淋菌感染症が増加した^{3,4}。これから明らかな通り、現時点でも最も求められているエイズ対策は HIV 感染予防であり、サハラ以南のアフリカやインドにおける感染爆発が、少なくとも部分的に若年者や女性に対する教育機会が妨げられていることに起因することを考えると、それら性的弱者を感染から護るためにも、ワクチン開発が果たすべき役割は大きい。

あらゆる感染症に関して、その感染防御法・治療法開発の基礎となるのは「自然抵抗性」の機構解明である。Jenner による種痘の発明は、痘瘡ウイルスどころか、「濾過性病原体」としてのウイルスの概念が発見されるよりも更に100年も前に行われている。即ち、ウイルスの複製機構はわからなくても、自然

経過の中で（この場合は搾乳時の牛痘感染により）感染抵抗性を獲得した宿主の存在を見出し、そこから類推を行うことで、弱毒生ワクチンの概念は構築可能であった。同じように、ペニシリンの発見というセレンディピティも、自然淘汰の過程でカビが獲得した細菌に対する拮抗因子を、「抗菌薬」として再発見したものと捉えることができる。

本項ではレトロウイルス感染に対する宿主抵抗性を決定する遺伝的因子の研究を、歴史を遡って解説し、これがエイズワクチン開発に与えるヒントを、我々の研究成果を交えて解説したい。

1. レトロウイルスとその複製過程

1-1. ウイルス粒子の標的細胞への吸着

レトロウイルスはその粒子内に逆転写酵素を持ち、一本鎖 RNA から成るウイルスゲノムを二本鎖 DNA に変換して、感染細胞染色体内にプロウイルスとして組込まれる。ウイルス感染における最初期の過程は粒子の標的細胞への吸着と粒子被膜の細胞膜との融合である。ウイルス被膜は粒子を産生した細胞の原形質膜に由来するが、その脂質組成は細胞膜のそれと比較してコレステロールとスフィンゴ糖脂質の割合が高い⁵。これは、レトロウイルスの出芽がいわゆる細胞膜の「ラフト」密集部分から起こるためと考えられる。被膜の外側は陰性電荷を持ったリン脂質・糖脂質に富み、被膜糖タンパク質も陰性電荷の糖鎖に富むため、同じく陰性電荷を帯びたリン脂質・糖脂質に富む細胞膜の表面にレトロウイルス粒子が近づくためには、先ず電荷による反発に打ち勝つ必要がある。生体内ではウイルス産生細胞と標的細胞とが物理的に近接する機会を持つこと（例えば HIV 感染の場合、末梢組織からリンパ節へと HIV 粒子を運んだ樹状細胞が、CD4 陽性 T 細胞と「免疫シナプス」を形成すること⁶）により、これが達成されるものと考えられる。一方、試験管内で cell-free のレトロウイルス粒子を細胞に感染させようとする、その効率は極めて低い。これは、上記の電荷による反発のため、ウイルス粒子が細胞膜に十分に近付くことが、極めて低い確率でしか起こらないためである。このため、実験的に cell-free のウイルス粒子を細胞に感染させようとする場合には、しばしば培養液中にポリカチオン（例えば多価 4 級アミンである polybrene や DEAE-デキストランなど）を添加する。強い正電荷を帯びたポリカチオン分子が、負電荷を帯びたウイルス粒子と細胞膜との仲立ちをすることになる。

1-2. ウイルス受容体

ウイルス粒子が標的細胞膜に十分近づくことが出

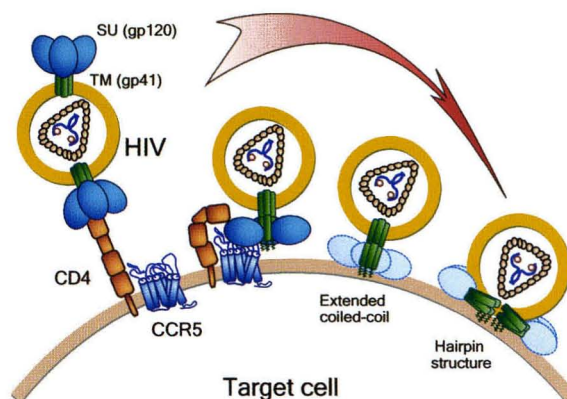


図1 HIV粒子の標的細胞への吸着と、ウイルス被膜と細胞膜の融合

来れば、ウイルス被膜の糖タンパク質（Env）と標的細胞膜の受容体分子との相互作用により、レトロウイルス粒子は細胞膜に吸着する。ここで「ウイルス受容体」と述べた分子は、勿論「ウイルス感染を受けるために」細胞が発現している蛋白質ではない。標的細胞の表面に存在する、細胞機能に必須なタンパク質のどれかを、粒子吸着に利用するようにウイルス側が進化したと考えるべきである（これについてはしかし、より刺激的な解釈があり、レトロウイルスは「細胞から外に出るために」細胞表面受容体と結合出来る分子を獲得したとする考え方もある⁷）。後述のようにマウスレトロウイルスはアミノ酸トランスポーターや無機リン酸トランスポーターを細胞側受容体として利用する。また、ヒト免疫不全ウイルス（HIV）が利用するのはCD4陽性T細胞が発現するMHC class II分子結合蛋白質であるCD4そのものと、ケモカイン受容体であるCCR5またはCXCR4である（図1）。

1-3. ウイルス被膜と細胞膜の融合

レトロウイルス粒子表面のEnv糖タンパク質と細胞側受容体分子との結合は、ウイルス被膜と標的細胞膜の融合を引き起こす。この過程の分子機構はHIVの場合について特に詳細に解析が進んでいる^{8,9}。即ち、HIVの被膜表面糖タンパク質（SU）であるgp120は粒子中で3量体を形成しており、gp120の3量体とT細胞表面のCD4分子が結合することにより、gp120の立体構造変化が起こって副受容体であるケモカイン受容体CCR5またはCXCR4への結合部位が露出する。gp120のCCR5またはCXCR4への結合により、env遺伝子産物のC-末端側ポリペプチドである膜貫通（TM）タンパク質gp41が、棒状に伸びたextended coiled-coilの立体構造をとって露出し、そのN-末端側に存在する疎水性アミノ酸に富むペプチド（fusion peptide）が、細胞膜の脂質二重層に挿入される。この結果、ウイルス被膜と細胞膜の融合が起こり、ウイルスゲノムが細胞内に注入される。

部分が標的細胞膜に潜り込む。その後 gp41 分子の立体構造変化が起こり、 α ヘリックスより成る二つのドメイン HR1 と HR2 が、両者の間にあるランダムコイル部分の折り返しによりお互いに重なり合い、ヘアピン構造を形成することで、ウイルス粒子被膜の脂質二重層と標的細胞膜とが引き寄せられ、ウイルス被膜と細胞膜の融合が起こる (図 1)。

1-4. 逆転写

ウイルス粒子被膜と細胞膜の融合が起こると、細胞質から粒子内に二価イオン (Mg^{++} または Mn^{++}) や核酸前駆体が到達することにより、直ちにウイルスゲノムの逆転写が開始される (なお、HIV については、最初の一本鎖 DNA の合成が既に粒子内で開始しているとの考え方もある¹⁰⁻¹²⁾)。DNA の複製開始点にはプライマーの存在が必須であるが、レトロウイルス粒子内には感染細胞由来の t-RNA が含まれており、これが RNA ゲノム 5' 末端近くのプライマー結合部位 (primer binding site: PBS) に相補的に結合している。PBS の塩基配列によってどのアミノ酸を運ぶ t-RNA が結合するかが変わるので、プライマーとなる t-RNA の種類は、しばしばレトロウイルス、特に内在性レトロウイルスの分類に用いられる (例えばヒト内在性レトロウイルス HERV-W は、トリプトファンの t-RNA をプライマーとして結合するレトロウイルスの一群である)。ゲノム RNA を鋳型とする一本鎖 DNA の合成は、t-RNA プライマーからウイルスゲノム RNA の 5' 末端に相補的な配列へと進むが、このままではそこで複製が停まってしまう (strong-stop DNA)。ところが、レトロウイルスゲノムの両末端には約 100 塩基程度の繰り返し配列 R がある。PBS から 5' 末端に特徴的な配列 U5 を経て、R にまでマイナス鎖 DNA の合成が進むと同時に、逆転写酵素 (RT) と同一のポリペプチドが持つ RNA 分解酵素 (RNaseH) の活性により、ヘテロ二重鎖形成部のウイルスゲノム RNA は分解されて一本鎖 DNA が露出する (なお、マウスレトロウイルスでは RT と RNaseH は一繋がりポリペプチドであるが、HIV では一部 RT ドメインと RNaseH ドメインが分断されている場合もある)。そこで R 配列に相補的な一本鎖 DNA の末端は、ウイルスゲノムの 3' 側末端にある R 配列とヘテロ二重鎖を形成し、これがプライマーとなって、今度はウイルスゲノムの 3' 側から相補的な一本鎖 DNA の合成が始まる。こうして、U3-R-U5 の配列から成る LTR (long terminal repeat) 構造を 3' 末端に持った、マイナス鎖のウイルス DNA が形成されることになる。更に RNaseH 活性によりウイルスゲノム RNA が分解され、マイナス鎖 DNA 上に

残ったウイルス RNA 断片をプライマーとしてプラス鎖 DNA の合成が進行する。マウスレトロウイルスの場合、プラス鎖合成のプライマーとなるのは、ウイルスゲノム 3' 末端近くの polypurine tract (PPT) 配列で、ここから 3'LTR 方向に向かってプラス鎖 DNA の合成が進む。しかし、プラス鎖の合成は PBS までで再び strong-stop となる。これは鋳型となるマイナス鎖 DNA が t-RNA プライマーで終わっているためである。プライマー t-RNA が RNaseH 活性で取り除かれると、末端に露出した PBS 配列の一本鎖 DNA はマイナス鎖 5' 側の PBS 配列に結合し、以下 gag 遺伝子以降の構造遺伝子を含むプラス鎖 DNA の合成が進行する。その後 RT ポリペプチドの持つもう一つの酵素活性である DNA ヘリカーゼ活性によって LTR 領域の DNA が一本鎖に開き、さらに DNA 合成が続くことで両端に LTR を持った直鎖状二本鎖 DNA のウイルス DNA が出来上がる。

1-5. preintegration complex の核移行とプロウイルス組込み

このようにしてウイルス被膜融合部近くの細胞質で形成された二本鎖ウイルス DNA には、gag 遺伝子産物 N-末端部に相当する MA タンパク質、pol 遺伝子のもう一つの産物であるインテグラーゼ (IN)、RT、それに宿主細胞側に由来する複数のタンパク質が結合して、核移行のための複合体 preintegration complex (PIC) が形成される¹³。HIV の PIC にはウイルス遺伝子産物である VPR タンパク質も含まれる。PIC はアクチンフィラメントに結合して、細胞質内を核に向かって運ばれる。マウスレトロウイルスなど C-型レトロウイルス群の場合は、原則として細胞分裂を経ないと染色体へのプロウイルス組込みは生じないが、HIV などレンチウイルスは (静止状態の CD4 陽性 T 細胞を例外として) 非分裂細胞の染色体にも組込まれる。従って、レンチウイルスでは PIC が核膜孔を能動的に通過して核内に入ることが必要となる⁵。PIC の核への局在には、少なくとも MA タンパク質の含む核移行シグナル (NLS) が必要である¹³。PIC の核移行後、ウイルスの IN は染色体 DNA にニックを入れ、生じた一本鎖断端にウイルス DNA の 3' 末端が結合する。その後細胞由来の DNA リガーゼにより一本鎖部分が埋められることにより、LTR の両側に数塩基対分の反復配列 (direct repeat) が加わった状態で、ウイルス DNA はプロウイルスとなる。

プロウイルスとして宿主細胞染色体に組込まれたレトロウイルスは、染色体 DNA の複製に伴って細胞ゲノムの一部として複製され、細胞分裂の過程に

より娘細胞へと分配される。このように、一旦感染細胞染色体に組込まれたプロウイルスは、その後細胞 DNA としての複製を繰り返すことになる。プロウイルス組込が生殖細胞の染色体に起これば、これに由来する受精卵から生じた子孫の個体には、最初から全ての体細胞及び生殖細胞にプロウイルスが存在することとなり、組込まれたプロウイルスはメンデルの法則に従って延々と子孫に伝えられていく。これが内在性レトロウイルスであり、ヒト染色体の数%は、霊長類はもとより哺乳動物の発生以前から動物細胞染色体に組込まれている内在性レトロウイルスのプロウイルスによって占められている。

1-6. プロウイルスの発現

一方、染色体上にプロウイルスとして組込まれたレトロウイルスは、その LTR が持つプロモーター活性により mRNA へと転写される。プロウイルスがどの程度活発に mRNA として発現するかは、組込まれた LTR に結合する転写制御因子がその細胞にどれだけ存在するかによる。実際、多くのレトロウイルスの LTR には AP-1 や NF-AT など、血球系細胞あるいはリンパ球で特異的に発現する転写制御因子の結合配列が存在する。そのため、例えば HIV プロウイルスの発現は、T細胞が活性化する時核内に移行する転写制御因子によって著しく促進される。同じことは、実は内在性レトロウイルスの発現についても言える。例えば、マウスの染色体上にはウイルス粒子を形成出来るほど完全な内在性レトロウイルスのプロウイルスが数十コピー存在するが(図2)、それらの少なくとも一部は、血球系細胞の特定の分化段階で発現が誘導され、あるいは免疫系細胞の活性化に伴ってその発現が高まる。一部の系統のマウスでは、特定の内在性レトロウイルスの発現が血球系細胞のある分化段階で特徴的に起こり、一種の分化マーカーとして使えるほどである¹⁴。後

に触れるが、このような内在性レトロウイルスの発現は、細胞表面受容体レベルでの干渉現象によって、それを発現する系統のマウスに外部からのレトロウイルス感染に対する抵抗性を賦与する。このような現象は、ヒトを含む多数の動物種が染色体上に内在性レトロウイルスを獲得しつつ進化してきたことの「生理的意味」であると解釈することも可能であろう。

1-7. 粒子再形成と出芽

プロウイルスゲノムの発現により染色体上のウイルス DNA が転写されると、その一部は全長型の mRNA として、また一部はスプライシングを受けた後、核膜を通じて細胞質内へと運ばれる。細胞質へと出た全長型の mRNA には直ちにリボソームが結合し、*gag* 遺伝子から始まる翻訳が起こる。*gag* 遺伝子産物は一続きのポリペプチドとして翻訳され、ウイルス粒子の出芽後に *pol* 遺伝子の産物であるプロテアーゼの作用により複数の機能性タンパク質へと断片化する。Gag ポリペプチドの N-末端に位置する粒子内 MA タンパク質相当部分は、翻訳開始点のメチオニン残基が除かれると新たに N-末端となったグリシンがミリスチル化を受ける。こうして、合成が始まったばかりの Gag タンパク質は、全長型の mRNA を結合したままで細胞膜の裏打ちへと移動する。ここで、合成が進む Gag タンパク質前駆体は細胞膜直下で多量体化し、全長型 mRNA を取り込んでウイルス粒子コア部分を形成する¹⁵。細胞膜の裏打ちに結合した状態でウイルス粒子のコア部分が形成されれば、*env* 遺伝子産物が無くてもウイルス様粒子の出芽が起こることがわかっている。ウイルスゲノムとなる mRNA の粒子出芽部位への取り込みには、5' 末端近くにある Ψ 配列が重要な役割を果たす。実際、 Ψ 配列を破壊したレトロウイルスゲノムは、粒子中に取り込まれない。

一方、全長型レトロウイルス mRNA の一部について、翻訳の過程で *gag* 遺伝子の特定塩基配列部分で読み枠のずれ (wobbling) が起こると、その下流側で *pol* の open reading frame (ORF) が翻訳され、*gag* 遺伝子産物の一部と *pol* 遺伝子産物が融合したタンパク質が合成される。開始コドンを持たない *pol* 遺伝子の産物が翻訳されるのは、この機構による。*gag* から *pol* への読み枠のずれは極めて低い頻度でしか起こらず、その確率がウイルス粒子内での Gag タンパク質と Pol タンパク質の比率を決定している。

一方、核内でスプライシングを受けた *env* 遺伝子の mRNA は、ウイルス被膜の糖タンパク質をコードする。*env* 遺伝子の産物は一繋がりポリペプチ

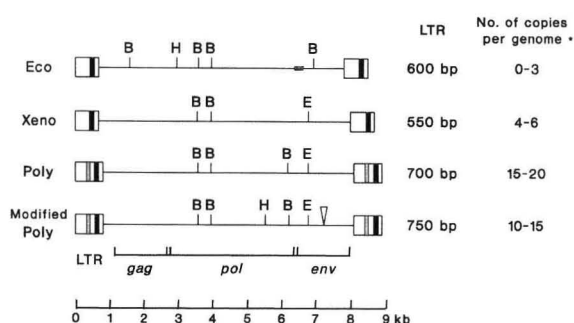


図2 マウス染色体中の内在性レトロウイルスの、プロウイルスゲノム構造からの分類
B, BamHI, E, EcoRI, H, HindIII による切断部位。*コピー数は代表的な実験室系マウス系統における概数。

ドとして小胞体内に取り込まれ、糖鎖の付加・修飾を経て細胞表面に移動する。Env ポリペプチドは細胞のタンパク質分解酵素によって前述の表面糖タンパク質 SU と被膜貫通タンパク質 TM とに分割されるが、両者の間はジスルフィド結合で結ばれている。最初に述べた通り、SU-TM から成る被膜糖タンパク質はウイルス粒子上で三量体を形成し、これが機能単位となっている(図1)。感染細胞表面のウイルス粒子出芽部位では、前述のようにN-末端がミリスチル化された *gag* 遺伝子産物が膜の裏打ちに集積し、そこから粒子の出芽が起こる。この際、細胞膜を貫通する TM の細胞質内部分と Gag ポリペプチド N-末端の MA タンパク質部分との相互作用により、出芽部位に Env タンパク質が集積するものと考えられる^{13,16}。

こうして、ウイルス感染細胞からは全長型 mRNA をウイルスゲノムそのものとする子孫粒子が出芽する。レトロウイルスの出芽は直接に細胞膜を傷害する過程ではないし、染色体に組み込まれたプロウイルスの発現過程は宿主細胞遺伝子の発現と何ら異なるところはない。従って、原則としてレトロウイルス(特にC-型レトロウイルス)はほとんど全く細胞傷害効果(CPE)を示さない。実際、マウスレトロウイルスの持続感染細胞株は光学顕微鏡レベルで未感染細胞株と区別することは難しいし、普通に分裂増殖を続けたままでウイルス粒子を産生し続ける。これは *in vivo* でも同じであって、例えばモロニーマウス白血病ウイルス(Moloney murine leukemia virus: Mo-MuLV)を新生仔に接種すれば、感染マウスの体内ではリンパ系細胞で一生に亘ってウイルス産生が持続する。HIV 感染の制御が困難であるのも、基本的には同じ理由による。

このようにして、レトロウイルスは感染細胞染色体の複製による娘細胞への伝達と、子孫ウイルス粒子の形成という二つの経路で自らのコピーを増やして行く。HIV の感染初期や Mo-MuLV を新生仔に感染させた場合などは、ウイルス粒子の複製が極めて活発に起こるのに対し、ヒトTリンパ球向性ウイルス(HTLV-I)感染による成人T細胞白血病発症の場合には、粒子の形成よりもむしろ感染細胞の分裂増殖によるプロウイルスゲノムの増加が、ウイルス複製の主要な経路となっていると考えることが出来る。

なお、HIV などレンチウイルス(レトロウイルスは、LTR に囲まれた *gag*, *pol*, *env* の3構造遺伝子を基本ゲノム構造とするオンコウイルス亜科と、複数の調節性遺伝子をゲノム中に持ち、持続感染により緩徐な病変発生を起こすレンチウイルス亜科、及

び感染細胞に空胞状変性を誘導するスプーマウイルス亜科に大別される)の感染においては、ウイルスゲノム中に短い ORF として存在する複数の調節性遺伝子が複製制御に重要な役割を果たすが、本項ではそれらを詳述しないことをお断りしておく。

2. レトロウイルス複製を制御する宿主遺伝子

2-1. フレンド白血病ウイルスと赤白血病の発症

レトロウイルスの感染・複製とこれに伴う病変形成は、複数の宿主遺伝子による制御を受ける。このことが最初期に明らかとなったのは、マウスのフレンド白血病ウイルス感染系の解析を通じてであった¹⁷⁻²⁰。現在 HIV 感染とその霊長類モデルの系で極めて活発に進んでいるレトロウイルス感染・発症の宿主因子解析は、その殆どがフレンドウイルス感染系で見出された事実の焼き直しと言っても過言ではない。

フレンド白血病ウイルス(フレンドウイルス複合体:FV)は、複製能を備えたC-型レトロウイルスであるフレンド白血病ヘルパーウイルス(Friend murine leukemia virus:F-MuLV)と、複製欠損性であるが造血系細胞に対する増殖誘導能を持つ脾限局巣形成ウイルス(spleen focus-forming virus:SFFV)とから成るレトロウイルス複合体である。F-MuLV は *gag*, *pol*, *env* の構造遺伝子を備えた典型的C-型レトロウイルスであって、マウス細胞に感染してプロウイルスとして染色体中に組み込まれ、試験管内では細胞傷害効果を生じることなく持続感染状態が成立する。F-MuLV を成体マウスに接種しても、感染性ウイルスは数週間以内に体内から検出されなくなる。これは、ウイルス遺伝子産物に対して宿主免疫応答が成立し、ウイルス産生細胞の排除と、ウイルス中和抗体による感染拡大の防止が起こるためである。ところが、同じF-MuLV を新生仔に接種した場合、半年ほどの潜伏期を経て主に赤芽球系由来の白血病が生じる。新生仔への接種は宿主に免疫寛容を誘導するため、一生に亘るウイルス血症が生じる。ウイルス血症そのものは宿主に傷害を与えないが、何らかの原因で宿主がF-MuLV 遺伝子産物に対する免疫応答を起こすと、流血中に免疫複合体が形成され、糸球体腎炎や関節炎を発症することがある。この場合の病態は、例えばリンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス(lymphocytic choriomeningitis virus:LCMV)を新生仔に接種して持続感染状態が生じた場合と殆ど同じである²¹。但し、複製能のあるマウスレトロウイルスを新生仔に接種し、ウイルス血症が持続する状態となると、感染した動物の体内で、予め染色体上に存在する内在性レトロウイルス

合だけでは赤芽球系前駆細胞の増殖誘導を十分効率的に起こすことは出来ず、造血系細胞に発現するチロシンキナーゼ型受容体である *Stk/Ron* の細胞外ドメイン欠損型 *sf-Stk* が、gp55 と結合して Grb2 を介するシグナルが伝えられることも必要である^{24,25}。このようにして、SFFV に感染した赤芽球系前駆細胞は強い分裂・増殖能を獲得する。

大多数の系統のマウスは、*Stk/Ron* 遺伝子座の産物として全長型の受容体 *Stk* タンパク質とともに、細胞外ドメインを欠く *sf-Stk* も発現する。ところが、C57BL/6 (B6) や C57BL/10 (B10) 系統のマウスは、*Stk/Ron* 遺伝子のイントロンにおける変異のため、*sf-Stk* を発現しない²⁶。このため、SFFV に感染した赤芽球系の前駆細胞でも *sf-Stk* を介するシグナルが細胞内に伝えられず、細胞増殖の程度は弱い。実際、B6/B10 系統が持つこの *Stk/Ron* 遺伝子変異は FV 抵抗性遺伝子型 *Fv2^r* として、FV 研究の初期から記載されていた²⁷。

SFFV の感染とそれによる増殖誘導の標的である赤芽球系前駆細胞は、EpoR 発現細胞であり、血球の分化段階としては BFU-e の前段階から CFU-e に相当する。これらの赤芽球系前駆細胞は、EpoR からのシグナルにより分裂増殖するとともに、成熟赤芽球へと分化して脱核し、赤血球になる。従って、SFFV に感染した赤芽球系前駆細胞は骨髓と脾臓の赤芽球数を増やし、末梢血の赤血球数を増加させるが、これは多血症であって白血病ではない。赤白血病とは、分化を停止した赤芽球系前駆細胞が不死化したものでなければならない。実際、F-MuLV を含まない SFFV のみの接種では、一過性の多血症は生じて赤白血病は起こらない²⁸。赤芽球前駆細胞の増殖が白血病に結び付くためには、もう一段階以上のステップが必要である。FV 複合体は、そのステップを引き起こすことが出来る。

FV 感染マウスで白血病化に際して起こるのは、F-MuLV または SFFV プロウイルスの組込による宿主細胞染色体上の遺伝子発現・構造変化である¹⁷。SFFV 感染により増殖して数が増した赤芽球系前駆細胞に、複製により粒子数を増した SFFV または F-MuLV が再感染すると、ランダムに起こるプロウイルス組込が、ある細胞では細胞増殖を制御する遺伝子の近傍に起こることがある。細胞がん遺伝子 (cellular oncogene) として機能するような宿主遺伝子の近傍にプロウイルスの組込みが起こると、LTR のプロモーター (或いはエンハンサー) 機能により、近傍の細胞がん遺伝子の発現が恒常的に高まることが起こりうる。或いは、がん抑制遺伝子として機能する宿主遺伝子にプロウイルスの組込みが起

こり、遺伝子構造の破壊によってこれが機能を失う場合もあり得る。このようにして、*Fli-1*、*Spil* などの転写制御因子が恒常的に高発現となった、または p53 の発現が欠損した白血病細胞がモノクローナルな増殖を示したものが、FV 誘発白血病細胞である^{17,29-31}。

プロウイルス組込みが宿主のどの遺伝子周辺または内部に起こっているかは、inverse PCR 法により解析することが可能である。原理的には、FV を構成する F-MuLV と SFFV の割合により、また感染個体内での SFFV 感染赤芽球系細胞の分裂増殖と F-MuLV 複製の速度比により、特定部位への SFFV プロウイルス組込みによって不死化した細胞と、F-MuLV プロウイルスの組込により不死化した細胞の両方が、ある確率で生じてくると予想される。ところが、実際には宿主側の因子により、SFFV プロウイルスの特定部位への組込により生じた白血病細胞ばかりが増殖してきたり、F-MuLV プロウイルス組込による白血病ばかりが生じたりすることを、我々は見出している。そこには、宿主免疫応答による SFFV 感染細胞の排除と、F-MuLV 複製の制御が重要な役割を果たす。

2-2. 組換え型レトロウイルスの出現

1-6でも述べたが、マウスの染色体上にはタンパク質をコード可能な ORF を備えた多数の内在性プロウイルスが予め存在している (図 2)。これら内在性レトロウイルスは、血球系細胞などの特定の分化段階において、或いはリンパ球などでは細胞外からの活性化刺激に応じて、その発現が誘導される。実際、マウスの血球系細胞を調べると、常時複数の内在性レトロウイルス転写産物が発現していることがわかる。このような状況下で外来性の F-MuLV が感染すると、内在性レトロウイルス転写産物がその Ψ 配列を介して、出芽しようとする F-MuLV 粒子に取り込まれることがある。個々のレトロウイルス粒子は、通常同一な 2 コピーの RNA ゲノムを粒子内に含むが、感染細胞が内在性レトロウイルス転写産物を発現している場合は、出芽する粒子の中に含まれる mRNA が内在性レトロウイルス転写産物に置き換えられてしまう場合や、感染ウイルスのゲノム RNA と内在性レトロウイルス転写産物とがそれぞれ一つずつ出芽粒子に取り込まれる場合が生じ得る。前者の場合は、次の感染細胞染色体に内在性レトロウイルスのプロウイルスが更に増える (コピー数の増加)。一方後者の場合、逆転写の過程で相同配列における組換えが生じ、F-MuLV と内在性レトロウイルスの組換え型プロウイルスが形成される可能性がある。このようなことは、粒子内に組込まれた

内在性レトロウイルス転写産物が、その3'末端にLTR由来の配列を含む場合極めて容易に起こるだろうことは直ちに理解されるであろう。即ち、前項で述べた逆転写によるウイルスDNA合成過程において、PBSからU5を経てR配列に達したマイナス鎖DNAが、ウイルスゲノムRNAの3'側R配列と相補的に結合する際、F-MuLVゲノムと内在性レトロウイルス転写産物とが同一粒子内に含まれていれば、容易に前者から後者へと鋳型の乗換えを生じ、内在性レトロウイルスゲノム由来のU3及びenv遺伝子配列を含む組換えウイルスDNAが形成される。F-MuLVによるウイルス血症が持続した状態では、このようにしてF-MuLVと内在性レトロウイルスとの組換え型ウイルスが生じ、それが感染性を維持している場合には、組換え型ウイルスによるウイルス血症も生じることとなる。

2-3. マウスレトロウイルスの宿主域と、その組換えによる拡大

ここで、マウスレトロウイルスの宿主域と、それを決定する宿主細胞側の遺伝子について述べる必要がある。感染性のマウスレトロウイルスは、その宿主域によって大きく4種類に分類することができる。マウス細胞から出芽して、マウスまたはラット細胞を標的として感染するレトロウイルスを同種指向性(ecotropic)ウイルス、マウス細胞から出芽するにもかかわらず、マウス細胞に感染することができず、ラット・ミンク・サル・ヒトなど異種細胞を標的として感染するウイルスを異種指向性(xenotropic)ウイルス、マウスとマウス以外の両種の細胞に感染することの出来るウイルスを両指向性(amphotropic)ウイルスと呼ぶ。両指向性ウイルスは、元々野生マウスで水平感染していた外来性ウイルスであり、実験室系のマウス系統には存在しなかった。また、マウスの内在性レトロウイルスには、感染性の同種指向性ウイルスと組換え型ウイルスを形成した際に、マウス以外の種への感染能を獲得するものがあり、その宿主域は両指向性ウイルスとは異なっているため多指向性(polytropic)ウイルスと呼ばれる。実験室系マウスの染色体上にはそれぞれ複数の内在性異種指向性及び多指向性レトロウイルスのプロウイルスが存在するのが普通であり(図2)、一部の系統では内在性の同種指向性ウイルスが存在する場合もある³²。内在性異種指向性ウイルスに粒子形成能を持つものがあるのに対し、内在性多指向性ウイルスは通常ウイルス粒子形成能を欠く。しかし、上述の機構により内在性多指向性ウイルスのenv遺伝子を組込んだ組換え型マウスレトロウイルスは、マウス細胞にもマウス以外の種の細胞に

Host range groups	Infectivity to cells of					Cell surface receptor
	Mouse	Rat	Mink	Rabbit	Human	
Ecotropic	+	+	-	-	-	mCAT1 (cationic AA transporter)
Xenotropic	-	+	+	+	+	XPR1 (G-protein coupled receptor?)
Polytropic	+	+	±	+	-	
Amphotropic	+	+	+	+	+	Pit2 (Pi transporter)

図5 マウスレトロウイルスの宿主域と、対応する細胞表面受容体

も感染性を示すようになり、しばしばミンク細胞に対して特殊な細胞変性効果を発揮する。このため、多指向性ウイルスのenv遺伝子を持つ感染性の組換え型マウスレトロウイルスをmink cell focus-inducing virus (MCFウイルス)と呼ぶ。

これら感染性マウスレトロウイルスの宿主指向性を決定するのは、細胞表面のウイルス受容体とウイルス粒子被膜糖タンパク質SUとの相互作用である(図5)。同種指向性マウスレトロウイルスは、マウス細胞の塩基性アミノ酸トランスポーターCAT1を細胞吸着の受容体として利用する³³⁻³⁵。同種指向性ウイルスのSU分子はマウス及びラットのCAT1分子に結合出来るが、これら以外の種のCAT1分子には結合出来ない。異種指向性マウスレトロウイルスの受容体は、G-タンパク質結合型受容体と考えられる複数回膜貫通タンパク質XPR1である³⁶⁻³⁸。XPR1分子には種間多型があり、異種指向性マウスレトロウイルスのSU分子はマウス細胞の発現するXPR1には結合出来ないが、ヒトを含むマウス以外の種が発現するXPR1分子と相互作用出来る。XPR1分子の種間多型は、組換え型多指向性ウイルスの宿主域を多様なものとする原因となる³⁹。多指向性ウイルスは、異種指向性ウイルスとの間でXPR1を受容体として共有するが、個々の多指向性ウイルスが持つSU分子のアミノ酸配列の違いにより、ある種由来のXPR1分子には結合でき、別の種由来のXPR1分子には結合できないという差を生じる。このため、同じXPR1を受容体としながら、異種指向性ウイルスはミンクの細胞にもヒトの細胞にも感染出来る一方、マウスの細胞には感染出来ないが、多くの多指向性ウイルス分離株はミンクの細胞だけでなくマウス細胞にも感染するといった宿主域の違いが生じる。この場合、後者の多指向性ウイルスは、異種指向性ウイルスが結合できないマウスのXPR1分子を使えるということになる。両指向性マウスレトロウイルスの受容体は、ナトリウム依存

性の無機リン酸トランスポーター Pit2 である^{40,41}。

F-MuLV は典型的な同種指向性ウイルスであって、マウスまたはラットにしか感染できない。しかし、マウスの新生仔に F-MuLV を接種してウイルス血症が生じると、感染性の F-MuLV と染色体上の内在性レトロウイルスとの間に組換えを生じる機会が生まれる。こうして、内在性多指向性ウイルスの *env* 遺伝子を取り込んだ F-MuLV 由来の組換え型ウイルスが生じると、それは XPR1 を感染受容体として使えることになる(図 5)。そのような組換えウイルスは、勿論 XPR1 を発現しているマウス細胞にも感染するが、マウス以外の種に対する感染能も獲得する。前述の通り、実験室レベルではミンク細胞を標的として用いることにより、これを(フレンド) MCF ウイルスとして検出できることになる。

2-4. 受容体への競合による干渉現象

細胞への吸着レセプターとして同一分子を利用するレトロウイルスは、受容体への競合的結合により互いに拮抗する。これをレトロウイルス感染における干渉現象と呼ぶ。例えば、既に同種指向性レトロウイルスに感染し、ウイルスゲノムが発現しているマウス細胞は、それ自体の持つ CAT1 受容体が産生中の同種指向性ウイルス *env* 遺伝子産物によって塞がれている。このため、ウイルス遺伝子産物が発現した状態で同種指向性ウイルスに感染しているマウス細胞は、それ以上同種指向性ウイルスの重感染を受けない。しかし、組換え型の多指向性マウスレトロウイルスは、CAT1 とは異なるマウス XPR1 を受容体として利用するので、同種指向性ウイルスが既に感染した細胞にも多指向性ウイルスの重感染が起こる。同様にして、同種指向性マウスレトロウイルスが感染したマウス細胞であっても、両指向性ウイルスの感染は妨げられない。しかし、異種指向性マウスレトロウイルスが感染したラットの細胞に、多指向性ウイルスが重感染することはできない。これは異種指向性ウイルスと多指向性ウイルスがともに XPR1 を受容体とするためである。

我が国で見出され分子レベルの研究が進んだフレンドウイルス抵抗性遺伝子 *Fv4* は、まさにこのような干渉現象によりレトロウイルス感染抵抗性をもたらす宿主因子である(図 4)。*Fv4* は当初、新しいマウス系統 G が持つフレンドウイルス抵抗性遺伝子として記載され⁴²、その後我が国で捕獲された野生マウスの多くが同様の優性抵抗性遺伝子を持つことが見出された⁴³。さらに、元々フレンドウイルス感受性の BALB/c マウスに野生マウスからこの抵抗性遺伝子を戻し交配で導入することにより、単一の常染色体優性遺伝子が抵抗性を賦与することが確認され

た⁴⁴。野生マウスには神経変性疾患を引き起こす神経向性の同種指向性レトロウイルスが水平感染していることが多いが、*Fv4* 遺伝子を持つマウスは実験室で見出された FV だけでなく、自然界に存在するこのような同種指向性ウイルスに対しても感染抵抗性を与える。そもそも、同種指向性ウイルスはマウスの細胞で複製して体内で他の細胞に感染を拡げることが出来るし、他個体に水平感染を起こすことも出来る。同種指向性ウイルスが感染した細胞では偶然にがん遺伝子が活性化することもあり得るし、プロウイルスの組込みによって細胞機能に重要な遺伝子が破壊される可能性もある。実際、感染性の内在性同種指向性ウイルスを染色体上に持つ AKR などの系統は、白血病を自然発症する。従って、同種指向性ウイルスの存在はマウスにとって自己の(個体としての、また種としての)遺伝的同一性に対する重大な脅威である。同種指向性ウイルスの感染を防止できる *Fv4* 遺伝子が野生マウスに存在するのは、これを持つマウスが進化上の優位性を獲得しているためと考えられる。

驚くべきことに、*Fv4* 遺伝子の実体はマウスの CAT1 に結合出来る同種指向性ウイルス型の *env* 遺伝子を含んだ、内在性レトロウイルスである^{45,46}。当然のことながら、この内在性レトロウイルスは *env* 遺伝子のみが機能性で、ウイルス粒子形成に必要な他の構造遺伝子は欠いている。*Fv4* 遺伝子が発現する細胞では、その遺伝子産物と外から感染しようとする同種指向性ウイルスとの間で CAT1 受容体に対する競合を生じ、同種指向性ウイルスの感染が妨げられる。但し、マウス個体レベルの感染抵抗性は必ずしも上記の干渉現象だけで説明できる訳ではなく、例えば *Fv4* 遺伝子を持つマウスであっても、Tリンパ球の発生を欠くヌードマウス背景であると FV が感染できるようになる⁴⁷。即ち、受容体レベルでの干渉現象と、宿主免疫応答の相乗作用が、*Fv4* 遺伝子による個体レベルの感染防御に必要である。

細胞表面受容体レベルでの干渉現象が、レトロウイルスの感染と病態発生に重大な影響を与えるもう一つの例として、*Rmfc* 遺伝子がある。既に述べた通り、同種指向性の F-MuLV をマウスの新生仔に接種すると、ウイルス血症が持続する。F-MuLV そのものには直接の病変誘発能がないが、持続感染状態で内在性レトロウイルスとの間で *env* 遺伝子に組換えを生じ、多指向性の MCF ウイルスが形成される。こうして生じたフレンド MCF ウイルスは、既に F-MuLV が感染している細胞にも、XPR1 を利用して再感染出来る。このため、プロウイルス組込み部

位が増加し、細胞がん遺伝子の活性化する機会が生じて白血病が発症すると考えられている。

レトロウイルス誘発白血病の発症に組換え型 MCF ウイルスが果たす役割は、染色体上に感染性の内在性同種指向性ウイルスを持つ AKR マウスで詳しく解析されてきた。AKR マウスでは出生直後から同種指向性ウイルスによるウイルス血症が持続するが、生後1ヶ月程度から胸腺などリンパ系組織で組換え型 MCF ウイルスが検出されるようになる。当初から発現する同種指向性ウイルスを、内在性の同種指向性ウイルスを持たない別系統のマウスに接種した場合は、半年以上の潜伏期の後にリンパ腫や白血病が発症する。一方、生後ひと月以上過ぎた AKR マウスから分離した MCF ウイルスを別系統マウスに接種すると、同種指向性ウイルスを接種した場合に較べてリンパ腫発症までの期間が短縮される。即ち、リンパ腫発症に直接関わるのは MCF ウイルスである。MCF ウイルスの形成がリンパ腫発症に関わる機構は、分子レベルの解析からある程度明らかになっている。即ち、AKR マウス体内での MCF ウイルス形成は少なくとも二段階で起こるが、先ず初期に出現する class I ウイルスでは内在性異種指向性ウイルス (図2) から LTR の取り込みが起こり、続いて出現する class II ウイルスが内在性多指向性ウイルスの *env* を獲得して、既に CAT1 受容体が塞がれている内在性同種指向性ウイルス発現細胞にも組換えウイルスが感染できるようになる⁴⁸。class I ウイルスで取り込まれた内在性異種指向性ウイルスの LTR は、極めて強力なプロモーター活性を持ち、これが多指向性ウイルスの *Env* 獲得によってリンパ系細胞に導入されることにより、リンパ腫の発症に結び付くと考えられる。

2-5. 白血病抵抗性遺伝子 *Rmcf*

この点で興味深いのが、レトロウイルス誘発白血病抵抗性遺伝子 *Rmcf* である。前述の通り、内在性レトロウイルスの発現は造血系細胞などで分化段階に特異的に誘導され、或いは細胞の活性化に伴って生じることが多い。一部の系統のマウスでは、赤芽球系細胞の特定の分化段階で内在性多指向性ウイルスの *env* 遺伝子が発現し、これによってコードされる gp70 (SU) 分子が赤芽球系細胞の「分化マーカー」となる¹⁴。このような系統のマウスでは、例えばフェニルヒドラジンなどの薬剤投与により溶血性貧血を誘発すると、骨髄や脾臓で内在性多指向性ウイルス gp70 陽性の細胞が一過性に増加する。

ところが、このようにして赤芽球系前駆細胞に内在性多指向性ウイルスの *env* 遺伝子が発現する系統のマウスでは、その発現がない系統に較べて、

新生仔に F-MuLV を接種した場合の白血病発症率が極めて低い。これは、F-MuLV の接種後に生じた、内在性多指向性ウイルスと F-MuLV との組換え型である MCF ウイルスが、赤芽球前駆細胞表面に発現する内在性多指向性ウイルス gp70 分子との干渉により、XPR1 受容体を利用できないためと考えられる。実際、白血病抵抗性遺伝子 *Rmcf* の分子実体は、系統間で多型のある内在性多指向性ウイルスの *env* 遺伝子であることが明らかにされている⁴⁹。

2-5. *FvI* と TRIM5 α

これまで述べてきた干渉現象は、細胞表面でのウイルス受容体レベルで生じる競合が原因であったが、ウイルス粒子の標的細胞への吸着後、逆転写から染色体へのプロウイルス組込までの過程でも、これに干渉する宿主因子がある。その中で最も早くから表現型が捉えられていたのが *FvI* 遺伝子である。

前述のように、FV は成体マウスへの接種により急性の赤芽球系細胞増殖とその後の白血病発症を引き起こすが、一部の系統のマウスは FV 誘発白血病に対して自然抵抗性を示す。この自然抵抗性の機構を解析する過程で、マウスレトロウイルスは、特定の系統群で効率良く複製し別の系統群では複製効率が著しく低いグループと、系統間の複製効率の違いが上記とは逆になるグループとに分かれることが明らかとなった。具体的には、マウスレトロウイルスのある分離株は、BALB/c マウスや B6 マウス由来の胎仔線維芽細胞では極めて効率良く複製するが、NIH Swiss マウスやこれに由来する純系である NFS マウス系統由来の胎仔線維芽細胞では複製効率が1/100以下に低下する。これと逆に、NIH Swiss マウス由来の胎仔線維芽細胞で極めて効率よく複製するが、BALB/c マウスや B6 マウス由来の胎仔線維芽細胞では複製効率が低い分離株も存在する。前者を BALB/c 指向性という意味で B-tropic ウイルスと言い、後者を N-tropic ウイルスと呼ぶ。BALB/c マウスと NIH Swiss マウスを交配した F₁ マウスから胎仔線維芽細胞を得てマウスレトロウイルス各種分離株の複製効率を調べると、F₁ の細胞では B-tropic ウイルスも N-tropic ウイルスもその複製が抑制され、感染抵抗性が優性であることが明らかとなった。そこで、この抵抗性遺伝子座を *FvI* と名付け、BALB/c マウスや B6 マウスは *FvI^b* の遺伝子型を、NIH Swiss マウスは *FvIⁿ* の遺伝子型を持つと定義された。細胞レベルでは、*FvI^b* アリルを持つ細胞を B-type の細胞、*FvIⁿ* アリルを持つ細胞を N-type の細胞と呼ぶ。

注意が必要なのは、*FvI* 遺伝子型によるレトロウイルス抵抗性は all-or-none 的なものではなく、抵抗

性の遺伝子型を持つ細胞において感受性細胞に於けるよりも複製効率が1/100から1/1000程度に低下するだけであると点である。また、この表現型は胎仔線維芽細胞では強く表れるが、樹立細胞株になると弱くなる。実際、BALB/3T3細胞とNIH 3T3細胞を用いた検定では、B-tropicウイルスとN-tropicウイルスの差は、複製効率にして10倍程度にしか現れないことも多い。

*Fv1*の実体は、マウス染色体上の内在性レトロウイルス *gag* 遺伝子である⁵⁰ (図4)。*Fv1* 遺伝子座に相当する内在性レトロウイルスは、感染性マウスレトロウイルス類似の同種指向性・異種指向性・多指向性内在性レトロウイルスの仲間ではなく、ヒト染色体上の内在性レトロウイルス (HERV) との相同性がより高い、新規のプロウイルス (MuERV) である^{50,51}。*Fv1* 遺伝子産物である MuERV Gag タンパク質は、ウイルスゲノム逆転写後の PIC が細胞質から核内へと運搬される過程に干渉し、結果としてプロウイルス組込みを (少なくとも部分的に) 阻止する。*Fv1*^b アリルの遺伝子産物と *Fv1*ⁿ アリルの遺伝子産物では、2ヶ所でアミノ酸残基が異なり、*Fv1*ⁿ アリルに存在する欠失のため、C-末端側のアミノ酸配列が違っている^{50,51}。これに対応するウイルス側の決定基は *gag* 遺伝子にコードされる CA タンパク質にあり、主に1残基のアミノ置換が B-tropic ウイルスと N-tropic ウイルスの差を決めている^{52,53}。

Fv1 はマウス細胞中で機能する多型性遺伝子産物であるので、当然のことながらその影響を受けるのはマウス細胞に感染するレトロウイルスのみである。ところが、分子生物学の発達に伴ってレトロウイルスベクターが構築されるようになり、同種指向性マウスレトロウイルスの *gag/pol* 遺伝子を持ち、被膜タンパク質は異種指向性または両指向性ウイルスの *env* 遺伝子産物、或いは無関係な vesicular stomatitis virus (VSV) の G タンパク質であるという組換えウイルスが得られるようになった。このような組換えウイルスを利用すると、例えば CA タンパク質が B-tropic ウイルスに由来するレトロウイルス粒子と N-tropic ウイルスに由来するレトロウイルス粒子のプロウイルス組込み効率を、ヒト細胞で比較することが可能となる。その結果、驚くべきことにヒト細胞への N-tropic ウイルスの組込みは高効率で起こるが、B-tropic ウイルスは組込が抑制されることが明らかとなった^{50,53,54}。この意味では、ヒト細胞は *Fv1* の表現型が N-type と言える。ヒトにおけるこの *Fv1* 類似のマウスレトロウイルス複製制限機構は、細胞質の TRIM5 α タンパク質によ

り担われていることが明らかにされている⁵⁴。TRIM5 α の標的となるウイルスタンパク質は *Fv1* 遺伝子産物の場合と同じく CA で、B-tropic ウイルスの複製制限に関わる CA タンパク質上の決定基も *Fv1* の場合と同じである⁵³。但し、TRIM5 α の作用点は PIC の運搬ではなく、ウイルス粒子被膜と細胞膜との融合の後、粒子コア部分が細胞質内に遊離し、逆転写過程にあるウイルスゲノム RNA が露出する過程に干渉すると考えられている。

2-6. DNA mutator 酵素 APOBEC3

レトロウイルスはそのゲノム RNA 逆転写産物が感染細胞の核内に移行し、プロウイルスとして染色体 DNA に組込まれる。組込みによって生じた細胞ゲノムの変化は娘細胞にそのまま伝えられるから、レトロウイルスの存在は細胞ゲノムの同一性にとって最大と言って良い脅威である。従って、哺乳動物は進化の過程で、レトロウイルスゲノムの組込と複製に対抗する複数の手段を獲得してきた。既に述べた内在性レトロウイルス遺伝子産物による受容体への拮抗や *Fv1*, TRIM5 α による PIC 形成・運搬の抑制はそれらの例であるが、最近最も注目を集めているのは逆転写産物を標的とする DNA 突然変異誘発酵素 APOBEC3 である。

Apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like (APOBEC) タンパク質群は、哺乳動物細胞の持つ DNA mutator として知られている。活性化Bリンパ球に発現して免疫グロブリン遺伝子の体細胞高頻度突然変異とクラススイッチに関与する activation-induced cytidine deaminase (AID) と類縁のシチジン脱アミノ化酵素である APOBEC3 は、レトロウイルスゲノムの逆転写過程で形成されるマイナス鎖の一本鎖 DNA を標的として、そのシトシン残基をウラシルに置換する。その結果、ゲノム RNA の分解後にマイナス鎖を鋳型に合成されるプラス鎖 DNA には、GからAへの変異が生じることになる。このようにして G-to-A mutation が集積したプロウイルスは、LTR の発現調節能力に異常を生じたり、ORF にストップコドンが導入されたり、アミノ酸置換のために翻訳産物の機能が低下したりするため、ウイルスとしての複製能力が低下する^{55,56}。また、ヘテロ二重鎖における塩基置換はヌクレオチド間の対合を妨げ、ニック形成を誘導する。さらにウラシルを含んだ DNA はウラシル DNA グリコシラーゼによる脱ウラシル化を受け、これらがマイナス鎖の分解に繋がる。更に最近では、APOBEC3 が RT 活性そのものを抑制するという報告もある。ヒトゲノム上には第22染色体の狭い領域に APOBEC3 遺伝子座が重複して存在してお

り、そのうち APOBEC3G と 3F が特に強い抗レトロウイルス活性を示す。

面白いことに、HIV を含む霊長類のレンチウイルス群は、宿主細胞の APOBEC3 に対抗する手段を獲得している。それが virion infectivity factor と呼ばれるタンパク質をコードする *vif* 遺伝子である⁵⁷⁻⁵⁹。*vif* を欠く HIV はヒトの APOBEC3G 及び 3F に感受性で、これらタンパク質を欠く細胞でないと効率的に複製出来ない。一方、*vif* を有する野生型の HIV は、APOBEC3 を発現する霊長類の細胞でも複製出来る。霊長類における APOBEC3 遺伝子の獲得は HIV の祖先であるサル免疫不全症ウイルス (SIV) の出現以前に起こっており⁶⁰、SIV は霊長類に感染を重ねる過程で *vif* を獲得して APOBEC3 耐性となったと考えられる。

ところが、霊長類細胞の APOBEC3 はマウスやブタのレトロウイルスに対して複製抑制効果を示すし、マウスの APOBEC3 は、*vif* の有無に関わらず HIV の複製を抑制する⁶¹。このことから、APOBEC3 はそもそも異種生物からのレトロウイルス感染に対抗する手段ではないかと考えられている（この点では、ネコとある種の霊長類が共通に持つ感染性レトロウイルスが、マウスの感染性異種指向性レトロウイルスと極めて高い相同性を有する点が興味深い。恐らく、食物連鎖を介して、マウスの異種指向性レトロウイルスがネコやサルに感染したものと考えられる⁷⁾。

最近、一部の系統のマウスに存在するマウス乳癌ウイルス (mouse mammary tumor virus: MMTV) の複製が、マウスの APOBEC3 によって強く抑制されることが示された⁶²。一方、MMTV よりもはるかに多くの系統のマウスに分布し、野生マウスにも存在するマウス白血病ウイルスの仲間については、それがマウスの APOBEC3 によって複製抑制を受けるとするデータは示されていなかった。我々は、次に述べる FV 感染抵抗性遺伝子の一つ *Rfv3* を分子同定する過程で、FV 感染に対して抵抗性を示す系統のマウスが APOBEC3 の特定のスプライシングバリエーションを多量に発現していることを見出し、これが生体内で機能する生理的なマウスレトロウイルス感染抵抗性因子であることを初めて証明した⁶³。*Rfv3* 遺伝子と APOBEC3 の関係については後に再度触れる。

3. 宿主免疫応答によるフレンド白血病の発症制御

3-1. 免疫応答遺伝子

これまで述べてきたレトロウイルス複製に直接関わる宿主遺伝子が全て感染・複製に感受性の遺伝子

型を示す場合でも、生体内でのレトロウイルス感染では、宿主免疫応答によるウイルス感染防御および感染細胞の排除が起こる。一例として、B10 系統と A 系統の F₁ マウスを考えてみたい。これらの系統のマウスには、MHC など一部の遺伝子座のみ対立遺伝子型が異なり、それ以外の遺伝子座については対立遺伝子型が同じである congenic マウスや、特定の遺伝子座の突然変異マウスが多数存在し、ウイルス感染に対する宿主遺伝子の効果を解析するために有用である。

B10 系統と A 系統はともに *Fv1^b* アリルのホモ接合体であるので、B-tropic ウイルスは感染出来るが N-tropic ウイルスの複製は制限される。また前述の通り B10 系統は FV 抵抗性の *Fv2^r* アリルを持つが、(B10×A) F₁ の雑種とすれば、A 系統の持つ野生型 Stk/Ron 遺伝子の働きにより sf-Stk が発現するので、SFFV による赤芽球系前駆細胞の増殖は誘導される（つまり、*Fv2^r* は劣性遺伝子として振る舞う）。また、これら系統は何れも *Fv4* 遺伝子を発現しない。従って、(B10×A) F₁ マウスに B-tropic の FV 複合体を感染させれば、白血病の発症が起こるはずである。

ところが実際には、(B10×A) F₁ マウスに B-tropic の FV を感染させた場合、大多数の個体には白血病が起こらない。一部の個体は感染 3 週間後から 4 週間後にかけて軽度の多血症を発症し、少数の個体では脾腫も起こるが、このような病変はその後「自然に消退し」、ごく僅かの個体が死亡するのみである¹⁸⁻²⁰。一方、同じ (B10×A) F₁ 背景のマウスであっても、主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) のハプロタイプが異なる (B10.A×A) F₁ マウスに FV を感染させると、ひと月以内に 90% 以上の個体に体外から触診可能な脾腫が生じ、60% 以上の個体が 100 日以内に白血病を発症して死亡する。この場合、(B10×A) F₁ マウスと (B10.A×A) F₁ マウスの遺伝的な違いは、前者の MHC ハプロタイプが H2^{b/a} であり、後者が H2^{a/a} であるということだけである。従って、これはまさに MHC に連鎖した免疫応答遺伝子の効果であり、H2^b ハプロタイプを持つマウスは H2^a ハプロタイプの個体よりも FV に対して強い免疫応答を示すものと予想される。

3-2. 免疫学的抵抗性遺伝子の染色体マッピング

MHC 領域内に FV 感染に対する抵抗性を制御する遺伝子座が存在すると言うことがわかれば、次に行うべきは MHC 領域内で染色体の乗換えが生じたり、遺伝子突然変異が起こったりしている系統を調べることである。B10 系統には H2 領域内で染色体の乗換えが起こった recombinant congenic マウ

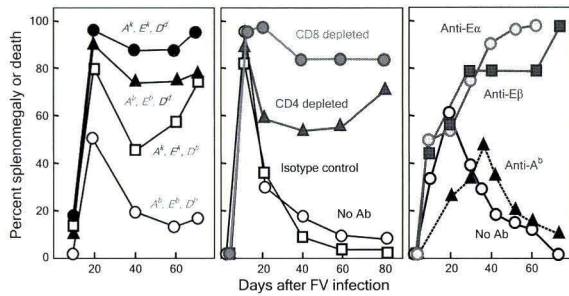


図6 FV感染による脾腫と白血病の発症経過に対する宿主MHCの遺伝子型の効果 左：MHC領域内で染色体乗換えのある系統を用いた、抵抗性遺伝子座のマッピング。Class IのD遺伝子座とclass IIのA, E遺伝子座の両方にbアリルを持つと初期の脾腫が自然に退縮する。何れにもbアリルを欠くと脾腫の退縮は起こらず死亡する。中：自然抵抗性を示すH2^bマウスからCD4陽性またはCD8陽性Tリンパ球を除去した場合の効果。何れの細胞ポピュレーションも脾腫の退縮に必要なことがわかる。右：同じく自然抵抗性を示すH2^{a/b}マウスへの抗class II分子抗体投与の効果。E分子に対する抗体投与で自然抵抗性が完全に失われる。

スやH2 mutant マウスが存在するので、これらを駆使することでMHC領域内のFV抵抗性遺伝子座をマッピングできる(図6)。その結果、抵抗性遺伝子座の一つはclass IのD領域にあってD^bアリルを持つと発症率が低下し、D^dアリルやD^kアリルの場合は発症率が高いこと、もう一つの遺伝子座はclass II領域にあり、class Iとclass IIの両方の遺伝子座がH2^bハプロタイプに由来するアリルである場合に最も抵抗性となることが明らかとなった⁶⁴。class II領域の遺伝子座については、A遺伝子座に突然変異を持つ系統を用いた遺伝的解析と、*in vitro*での機能解析、及びclass II分子に対する抗体を生体内に投与する実験により、A遺伝子座とE遺伝子座の両方がFV感染抵抗性に影響を示すこと、抵抗性のアリルはそれぞれA^bとE^bであること、生体内ではE遺伝子座の影響の方が大きいと考えられることがわかっている^{65,66}。更に、class Iとclass IIの遺伝子型は(B10.A×A.BY)F₁マウス(H2^{a/b})と同一であるがよりテロメア側のclass Ib領域の遺伝子型が異なる(B10.D2×A.BY)F₁マウス(H2^{d/b})を用いることにより、ナチュラルキラー(NK)細胞受容体のリガンドをコードするQ/T領域の遺伝子座も、FV誘発白血病の発症頻度に影響を与えることが示された⁶⁷。

このようにMHC領域の遺伝子座がウイルス感染抵抗性に影響を与えることは、MHC分子の機能から当然予想されることである。即ち、MHC分子は

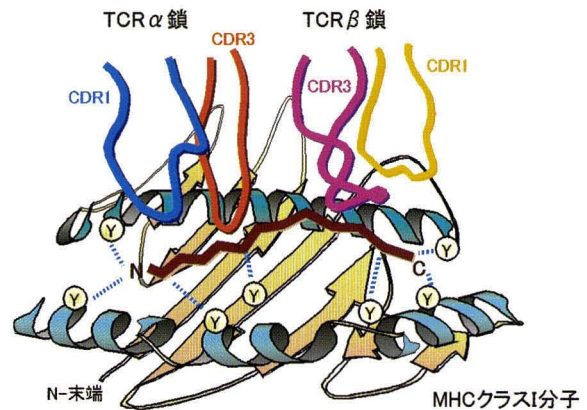


図7 MHC分子による抗原ペプチド提示の模式図 ペプチド結合溝に嵌った抗原ペプチドと、その周囲の溝を構成するアミノ酸残基の両方が、T細胞抗原受容体の相補性決定領域(CDRs)と相互作用することに注意。

タンパク質抗原の分解によって生じたオリゴペプチドを結合溝に嵌めて細胞表面に運搬し、Tリンパ球抗原受容体(TCR)に対して提示する(図7)。TCRが認識するのは、ペプチド結合溝の周辺を構成するMHC分子のアミノ酸残基と、溝の中に填った抗原ペプチドが相互作用することによって形作られた、MHCタンパク質-ペプチド複合体の構造である。当然、ペプチド結合溝の底及び側壁を構成するアミノ酸の側鎖によって、溝に強く結合することのできる抗原ペプチドのアミノ酸配列が変わるし、同一の抗原ペプチドが嵌っても、溝のアミノ酸配列によって表面に露出するペプチドの側鎖も変わってくる。MHC分子の多型による免疫応答遺伝子現象とは、特定のアミノ酸配列を持つペプチド結合溝(特定のMHC対立遺伝子の産物)に対して、ある抗原ペプチドは効率良く嵌ることができ、別の抗原ペプチドは安定して嵌ることができないことの現れであると説明される。実際、MHC分子へのペプチドの結合親和性は、標識ペプチドを用いて測定することも可能である。但し、注意しなければいけないのは、MHC分子のペプチド結合溝と抗原ペプチドとの相互作用は、抗原抗体反応のような高い選択性を備えたものではないということである。実際、単一のMHC分子が結合させることの出来るペプチドの数は、限りはあるが膨大である⁶⁸。そうでなければ、多重性があるとはいえ個体あたり高々数種類ずつのclass I及びclass II分子で、生涯に出会う数百・数千の微生物種に対応出来るはずがない。実際、細胞表面から分離したMHC分子に(自然に)結合しているペプチドを酸処理などで分離して解析すれば、一つのMHC分子に数十種類のペプチドが結合していることが観察される。従って、免疫応答遺伝子現象のし

ペプチドセルフ		Tリンパ球の 反応性
	YHQFERRAKYKR	-
	YHQFERRYKYKR	-
	YSQFERRYKYKR	-
	YSQFERRYKHKR	+
FV抗原ペプチド	YSQFEKSYRHKR	+

図8 F-MuLV *env* 遺伝子産物中の E^b 拘束性 CD4 陽性 T 細胞認識エピトープと、ペプチドセルフの関係

くみは、MHC 分子の多型によるペプチド結合能の違いよりも、むしろ MHC-抗原ペプチド複合体の構造が MHC-自己ペプチド複合体の構造と区別不能であるために生じる、「TCR レパトアの孔」で説明する方が理解し易いであろう。

その実例は、我々が同定した FV 遺伝子産物上の CD4 陽性 T 細胞認識エピトープである⁶⁹⁻⁷⁰。E^b 拘束性の gp70 分子 C-末端側エピトープ中で、T 細胞による認識に最小限必要なのは、図8の最下段に示す 13 アミノ酸残基のペプチドである。この 13 残基のペプチドが、H2^{d/b} のハプロタイプを持つ (BALB/c × B6) F₁ (CB6F₁) マウスを免疫した場合に、感染防御に最小限必要な抗原構造単位であることも確認している⁷¹⁻⁷³。ところで、マウスはその染色体上に複数の内在性レトロウイルスを持つから (図2)、内在性レトロウイルス遺伝子産物は「自己抗原」そのものであり、それらに対しては免疫寛容が成立している筈である。即ち、内在性レトロウイルス遺伝子産物上のエピトープを認識出来る TCR は胸腺で排除されていなければならない。実際、FV 遺伝子産物上に我々が同定した上記の E^b 拘束性エピトープと最も相同性の高い内在性レトロウイルス遺伝子産物上由来のペプチド (ペプチドセルフ) に対しては、T リンパ球は反応性を示さない。機能的に同一グループに属するアルギニン (R) とリジン (K) を除けば、これら二つのペプチドの間には 4 アミノ酸残基の違いがあるが、実際にペプチドセルフのアミノ酸残基を一つ一つ FV 抗原ペプチドのそれに置換してみると、図の S, Y, H の 3 残基が FV 抗原型に置換されたところで、T 細胞の反応性が生じた。一方、class II E^b 分子への結合に最も重要な役割を果たす F 残基は、ペプチドセルフと FV 抗原ペプチドで共通である。このことから、免疫応答遺伝子現象の大半は、ペプチドセルフとの配列類似性による TCR レパトアの孔によるものと予想される。

3-3. T リンパ球が認識する FV 抗原エピトープ

FV 感染時に宿主 T リンパ球が認識するウイルス

抗原エピトープは、分子生物学的手法により同定されてきた (図3)。CD8 陽性細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) が認識する MHC class I 結合性の FV 抗原エピトープとして最初に報告されたのは、*env* 遺伝子産物上の AGTGDRLLNLVQGAYQA (一文字法によるアミノ酸配列) である⁷⁴。H2^b ハプロタイプを持つマウスが感染後 FV 産生細胞を排除して自然抵抗性を示す時、その体内から検出される CD8 陽性 CTL は、主に *env* 遺伝子産物を認識すると考えられているが⁷⁵、上記の CD8 陽性 T 細胞認識エピトープが主要な免疫原性を発揮している (immunodominant である) のかどうか、また *env* 遺伝子産物上に他の CTL エピトープが存在しないのかは、現在でも明らかでない。また、上記の CTL エピトープを単独で用いて FV に対する感染防御を達成したという報告もない。

一方、FV 誘発白血病細胞である FBL3 を同系 B6 マウスまたは CB6F₁ マウスに皮下接種すると、一旦形成された腫瘍が免疫応答により自然に退縮する。面白いことに、FV 感染に対して感受性の免疫応答遺伝子型である H2^{d/b} を持つ (DBA/2 × B6) F₁ マウスには、FBL3 が生着して腫瘍死を誘発する⁷⁶。B6 マウスにおける FBL3 腫瘍の排除には、CD4 陽性 T 細胞と CD8 陽性 T 細胞の両方が重要な役割を果たすことが知られており、FBL3 細胞で免疫を繰り返した B6 マウス及び CB6F₁ マウスから、FBL3 細胞特異的な増殖反応を示す CD4 陽性及び CD8 陽性の T 細胞クローンが複数樹立された。そこで、FV を構成する F-MuLV と SFFV の *env* 及び *gag* 遺伝子、及びそれらの部分断片をワクシニアウイルスベクターに組み込み、抗原提示細胞で発現させることにより、我々のグループは FBL3 腫瘍特異的な CD4 陽性及び CD8 陽性 T 細胞クローンが認識する FV 抗原エピトープを、世界に先駆けて複数同定することに成功した^{69,70,77,78}。

樹立された CD4 陽性 T 細胞クローンの多くは、class II の A^b 分子によって提示される *env* 遺伝子産物上のエピトープ DEPLTSLTPRCNTAWNRLKL を認識するが、別のクローンは E^b 分子によって提示される VYSQFEKSYRHKR を認識する。これ以外に、現時点で未同定である *env* 遺伝子産物上の第3のエピトープを認識していると考えられるクローンもある。FV 特異的な CD4 陽性 T 細胞クローンに A^b 拘束性の一群と E^b 拘束性の一群があることは、H2^{a/b} ハプロタイプを持つ (B10.A × A.BY) F₁ マウスを組換えワクシニアウイルスで免疫して誘導した F-MuLV *env* 遺伝子産物特異的な CD4 陽性 T 細胞を、F-MuLV 抗原で刺激した場合の反応が、

抗 A^b 抗体または抗 E^b 抗体の存在下で強く抑制されること⁶⁵、及び同じ (B10.A×A.BY)F₁ マウスにおける FV 感染細胞の排除が、抗 E^b 抗体投与により強く抑制され、本来 FV 感染に自然抵抗性を示すこの系統が、白血病死を起こすようになること⁶⁶ (図 6) と一致する。

3-4. gag 遺伝子産物と CTL エピトープ

一方、同様にして樹立された CD8 陽性 CTL クローンの認識エピトープを解析すると、驚くべきことに調べた全てのクローンが gag 遺伝子産物 N-末端部のペプチドを認識することが示された⁷⁸⁻⁸⁰。マウスやネコの C-型レトロウイルスでは、その gag 遺伝子が本来の翻訳開始点 ATG の上流に同じ読み枠でもう一つの翻訳開始点を獲得している (図 3)。この上流翻訳開始点は、Kozak のコンセンサス配列に一致した CTG を開始コドンとするが、ウイルス構造タンパク質としての gag 翻訳開始点である ATG と、この上流 CTG 開始点との間の塩基配列によってコードされるアミノ酸には、疎水性側鎖を持つ残基が多く、この部分は小胞体シグナル (リーダー) ペプチドとして機能する。このため、マウスレトロウイルス感染細胞中では、上記の CTG コドンから翻訳された gag 遺伝子産物が小胞体内腔に入り、糖鎖の付加を受けて細胞表面に発現する⁸¹。こうしてマウスレトロウイルス感染細胞表面に発現する Gag タンパク質を、glycoGag と呼ぶ。

glycoGag は、一見ウイルス複製とは何の関わりも無いように思われるが、人工的に上記のリーダーペプチド部分を改変して停止コドンを挿入、あるいは複数のウイルス株間で断片の入れ替えを行うと、試験管内でのウイルス複製には殆ど影響しないものの、生体内に接種した場合の複製効率や病原性に大きな影響を与えることがわかっている^{82,83}。しかも、リーダーペプチド部分を改変して停止コドンを挿入したウイルスを新生仔に接種して経過を追うと、感染50日後前後には glycoGag を発現できるようになった復帰変異体が出現する。それら復帰変異体の塩基配列を解析すると、本来のリーダーペプチド部分とほぼ同じアミノ酸配列をコード出来るようになっていることが確認された⁸²。即ち、少なくとも *in vivo* では、glycoGag を発現することにウイルス複製上の優位性が存在する。

極めて興味深いことに、複数のグループによって解析された FV 誘発腫瘍特異的 CTL クローンの大半が、この glycoGag リーダーペプチドに含まれるエピトープ配列 CLCCLTVFL を認識していた⁷⁸⁻⁸⁰。しかも、マウスをこのペプチドで免疫して誘導された CTL は、FV 誘発白血病である FBL3 細

胞を傷害した⁷⁹。更に、Mo-MuLV によって誘発された腫瘍細胞に対する CTL 反応を解析しても、glycoGag リーダーペプチド中の全く同一のエピトープ (CLCCLTVFL) が immunodominant であることが示され⁸⁴、少なくともマウスレトロウイルス誘発腫瘍に対する CD8 陽性 T 細胞の反応においては、この glycoGag リーダーペプチド中のエピトープが極めて重要な役割を果たすものと考えられた。

ところが、FV 感染マウスにおける宿主免疫反応で、glycoGag リーダーペプチドに対する CTL が主要な役割を果たすという証拠は殆ど無い。前述の通り H2^b ハプロタイプを持つマウスが FV 感染細胞を排除する際には、CTL の多くが *env* 遺伝子産物上の抗原エピトープを認識していると思われる⁷⁵、組換えワクシニアウイルスを用いて FV 感染に対する防御免疫を誘導する場合、gag 遺伝子を単独で発現させて感染抵抗性を誘導することが可能だが、リーダーペプチド配列を除いて ATG 開始コドンからのみ翻訳が起こるように構築された gag 発現組換えワクシニアウイルスであっても、上流の CTG 開始コドンを含む gag 遺伝子全長を発現する組換えワクシニアウイルスと感染防御能に差は見られない⁸¹。さらに、上記の CTL エピトープ配列のみを ATG 開始コドンの下に発現するように構築された組換えワクシニアウイルスによる免疫では、FV 感染を防御することが出来なかった²⁰。このことから、FV または Mo-MuLV 誘発腫瘍細胞では immunodominant な CTL 認識エピトープとして機能する glycoGag リーダーペプチドの CLCCLTVFL は、ウイルス感染免疫応答では宿主防御にほとんど無関係であると考察される。

なお、組換えワクシニアウイルスによる免疫で明らかにされた gag 遺伝子産物中の感染防御に有効なエピトープは、我々の手によるその後の解析で、MA タンパク質中に存在する CD4 陽性 T 細胞認識配列 IVTWEAIAVDPPP であることが明らかとなっている⁸⁵。

4. ワクチンによるレトロウイルス感染防御

4-1. 単一エピトープワクチン

上記のように、FV 誘発腫瘍細胞を用いた T リンパ球認識抗原エピトープの解析が、必ずしも FV 感染制御に有効な免疫反応の理解に繋がらないことが明らかとなった。既に述べたように、F-MuLV や Mo-MuLV を成体マウスに接種しても、数週間のうちに免疫反応により感染性ウイルスが体内から排除されるだけであり、通常腫瘍性の病変は生じない。これらのウイルスによって白血病・リンパ腫を誘発

するためには、新生仔にウイルスを接種し、ウイルス血症を持続させる必要がある。ところが、FV は免疫系が完成した成体マウスへの接種によって、急性の赤芽球増殖症とこれに続く赤白血病の発症を誘発することができる。従って、FV 感染系はレトロウイルス感染症防御免疫を細胞レベル・分子レベルで解析出来る、殆ど唯一の小動物モデルと言って良い。

FV 遺伝子産物中にT細胞認識エピトープが同定されたことにより、単一遺伝子産物或いは単一エピトープによる免疫が感染防御効果を示すかどうかを検定することが可能となった。例えば、F-MuLV *env* 遺伝子を単独で発現する組換えワクシニアウイルスは、レトロウイルス感染症防に有効な最初の組換えウイルスとして報告されたものであり⁸⁶、後のエイズワクチン開発競争に大きな影響を与えた。また、*gag* 遺伝子が単独で感染防御効果を示すことも、FV 感染の実験系で最初に報告された⁸¹。

組換えワクシニアウイルスを用いた遺伝子断片の発現でT細胞認識エピトープ存在範囲が絞り込まれ、続いて合成オリゴペプチドを用いてT細胞認識エピトープの最小構造が同定されると、単一エピトープを用いた免疫でレトロウイルス感染症防御が可能かどうかを検定出来るようになった。F-MuLV *env* 遺伝子産物上に我々が同定した A^b 拘束性および E^b 拘束性の CD4 陽性T細胞認識エピトープは、単一エピトープによるレトロウイルス感染症防御の可能性を示した最初の事例である⁷¹。

初期の感染実験は、H2^{a/b} の (B10.A×A.BY) F₁ または (B10×A) F₁ マウスを単一の CD4 陽性T細胞認識エピトープを含む合成ペプチドワクチンで免疫し、高い感染価 (1,500~3,000 spleen focus-forming units) の FV を接種することにより行われた⁷¹。しかし、3-1に述べたように、H2^{a/b} マウスはFV 感染に対して自然抵抗性を示すので、実はこの実験は自然に起こるFV 感染細胞の排除をペプチドワクチン接種によって促進出来るか否かを検定したものであった。とはいえ、その効果は目覚ましく、対照未免疫マウスではFV 接種の4日後から8日後にかけて脾細胞中のウイルス感染細胞数が100倍以上に増加したのに対し、E^b 拘束性の単一エピトープペプチド VYSQFEKSYRHKR でたった一回だけ免疫されたマウスでは、同じ期間におけるウイルス感染細胞数の増加が10倍以下に留まり、さらに感染8日目から12目までの間に、感染細胞数が1/1,000以下に減少した。つまり、単一の CD4 陽性T細胞認識エピトープによるたった一回の免疫により、FV 感染後2週間以内にウイルス産生細胞をほぼ完全に体内から排除出来るような防御免疫反応が誘導され

たことになる。

同じ実験系で A^b 拘束性のペプチドによる免疫効果も検討したが、こちらは一回免疫での防御効果は弱く、同一ペプチドによるブースター免疫後に始めて赤芽球増殖による脾腫の発症を抑制する効果が認められた。A^b 拘束性エピトープによる免疫効果が E^b 拘束性エピトープによる免疫効果より弱いことは、H2^{a/b} マウスにおけるFV 感染に対する自然抵抗性が、抗 A^b 抗体の投与では殆ど影響を受けないが、抗 E^b 抗体の投与によって強く抑制されるという結果⁶⁶ (図6) と良く符合する。

4-2. ペプチドワクチン投与により活性化されるエフェクター機構

単一 CD4 陽性T細胞認識エピトープによる FV 感染防御の研究は、さらにFV 感染に対して最も感受性の高いCB6F₁ マウスを用いて詳細なエフェクター機構の解析を行うことへと発展した。H2^{d/b} ハプロタイプを持つCB6F₁ マウスは、(B10×A) F₁ マウスと異なり、極めて低い感染価のFV 接種により、2ヶ月以内にほぼ全個体が死亡する^{20,72}。ところが、このようにFV 感受性の高いCB6F₁ マウスであっても、E^b 拘束性のF-MuLV *env* 遺伝子産物由来CD4 陽性T細胞認識エピトープペプチド、VYSQFEKSYRHKR でたった一回免疫するだけ

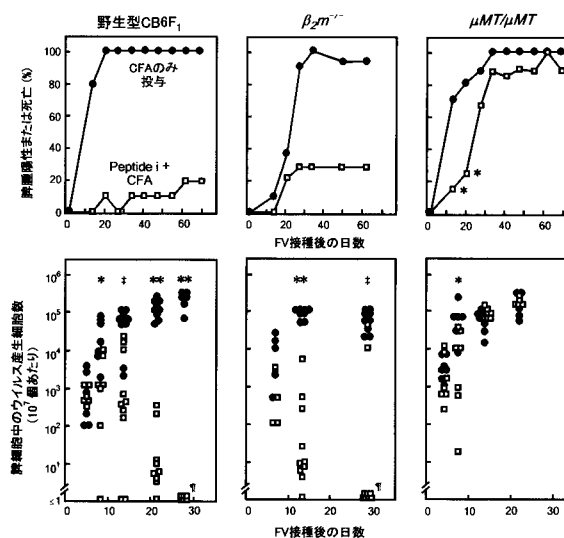


図9 単一エピトープ免疫によるFV 感染抵抗性の誘導 FV 感染に対して極めて感受性の高いCB6F₁ マウスを図8に示したCD4 陽性T細胞認識エピトープペプチドで一回だけ免疫し、FV 感染の経過を追った。上段は脾腫発症または白血病による死亡率、下段は脾臓中のウイルス産生細胞数を計量した結果。何れも□がペプチド免疫マウス、●が対照の非免疫マウス。非免疫群とペプチド免疫群間の統計的有意差は、*, P<0.04; **, 0.001<P<0.01; ‡, P<0.001。

で、ほぼ完全な感染防御が実現出来る^{72,73}。

そこで、CB6F₁ 背景の各種免疫系遺伝子ノックアウトマウスを交配作製し、ペプチドワクチン免疫個体でFV 感染後に活性化されるエフェクター機構は何であるかを解析した⁷³(図9)。当然のことながら、ペプチドワクチンで免疫したCB6F₁ マウスから抗体投与によってCD4 陽性T細胞を取り除いてしまうと、FV 感染に対する抵抗性は失われ2ヶ月以内に全個体が死亡する。そこで、遺伝的にCD8 陽性T細胞が形成されない β_2 -ミクログロブリン遺伝子ノックアウト($\beta_2m^{-/-}$)マウスと、Bリンパ球が形成されない免疫グロブリン μ 鎖ノックアウト($\mu MT/\mu MT$)マウスをCB6F₁ 背景で作製し、これらに上記のペプチドワクチンを投与後、FV 感染を行った。大方の予想に反して、CD8 陽性Tリンパ球が存在しない環境下でも、単一のCD4 陽性T細胞認識エピトープによるたった一回の免疫で、大多数の個体がFV 感染に抵抗性となった⁷³。しかも、抵抗性を示した個体では、FV 接種から4週間目までに脾臓中からウイルス感染細胞が完全に排除され、全脾臓細胞を用いてウイルス産生細胞の検出を試みても、一つの感染性粒子も検出されなかった。このことは、効果的なCD4 陽性T細胞認識の活性化により、完全なウイルス排除に結び付く防御免疫(sterilizing immunity)が誘導出来ることを明瞭に示す。従来、ウイルス感染防御にはCD8 陽性CTL細胞の活性が不可欠と考えられてきた常識を覆す結果である。

ところが、B細胞を欠く μMT マウスでは、ペプチ

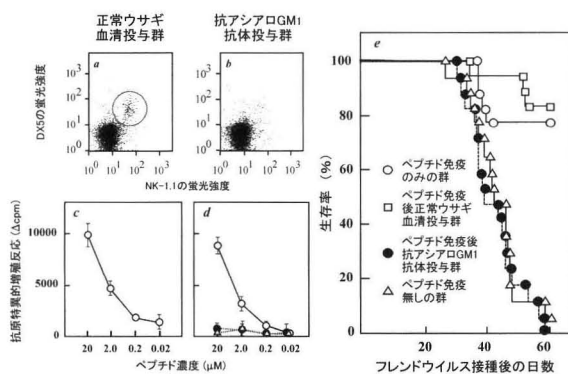


図10 NK細胞除去によるペプチドワクチン効果の消失 図9と同様にCB6F₁ マウスをペプチドワクチンで免疫し、抗体投与によってNK細胞を除去した。a, cは対照群, b, dは抗体投与群における、NK細胞の検出(上段)とCD4 陽性T細胞の反応性。対照群において丸で囲った範囲に見えているNK細胞(a)が抗体投与群ではほぼ完全に消失している(b)が、CD4 陽性T細胞の抗原特異的な増殖反応は全く影響を受けない(c, d)。しかし、NK細胞の除去により、ペプチドワクチン効果は完全に消失する(e)。

ド免疫によりFV 感染初期のウイルス産生細胞数が僅かに減少したものの、結局ほぼ全個体が死亡し、ワクチン効果が全く認められなかった。このことは、レトロウイルス感染防御における抗体産生の重要性を示す。

しかし、抗体のみで感染防御のエフェクター機構として必要十分である訳ではない。同じようにペプチドワクチンによる免疫を受けたCB6F₁ マウスから、抗体の投与によりNK細胞を完全に排除してしまうと、ワクチン免疫の効果が完全に失われ、未免疫マウスと同じようにFV 接種後2ヶ月ほどで全個体が死亡した⁷² (図10)。

実は、FV 感染の初期にはNK細胞の活性化が起こる。CB6F₁ マウスでは恒常的にNK細胞の活性が高いが、元々NK細胞の活性が低い(B10×A)F₁ マウス系統でも、FV 感染から10日程度でNK活性が上昇する。同じようなNK細胞の活性化は、SIVを実験的に感染させたアカゲザルでも観察されており⁸⁷、ヒトでもHIV感染者でNK活性の高さとウイルス血症の程度が逆相関することが報告されている⁸⁸。我々は既に、NK細胞がFV感染細胞を認識する分子機構を明らかにしており、FV感染に伴って赤芽球系細胞に発現が誘導されるNK受容体リガンドと、これを認識するNK細胞側の分子を同定済みである。

5. ウイルス中和抗体の産生を制御する宿主遺伝子

5-1. MHCとは無関係な *Rfv3* 遺伝子の発見

4-2.に述べたペプチドワクチン効果のエフェクター機構から明らかな通り、マウスレトロウイルス感染防御に果たす抗体産生の役割は大きい。実際、ウイルス中和抗体の産生は、FV感染抵抗性の前提条件である。

既に述べて来たように、FV感染に対する宿主抵抗性は、MHC遺伝子型による免疫応答遺伝子効果を強く受ける(図6)。実際、感染防御免疫応答の誘導に最も有効なF-MuLV *env* 遺伝子産物上のCD4陽性T細胞認識エピトープは、MHC class IIのE^b分子上に提示されるし、FV誘発白血病細胞が発現するimmunodominantなCTL認識エピトープは(そのFV感染防御における意義は不明であるが)D^b分子上に提示される。従って、H2^bハプロタイプを持つマウスはFV抗原に対するTリンパ球応答を効果的に起こすことが出来るし、H2^bハプロタイプを欠くマウスでは、FV抗原に対するTリンパ球応答が効率的に起こらない⁶⁵。H2^{a/b}の(B10.A×A.BY)F₁マウスがFV感染から自然に回復するのに対して、H2^{a/a}の(B10.A×A)F₁マウスは大多数の

個体が白血病を起こして死に至る⁶⁴。

ところが、FV 抗原に対して効果的な T 細胞応答を起こせるはずの H2^b ハプロタイプのマウスでも、MHC 以外の遺伝子型が異なることによって FV 感染に極めて感受性となりうる。例えば、A.BY マウスは H2^b ハプロタイプを有するが、FV 接種後ほぼ全個体が脾腫を発症し、90 日程度で死亡する¹⁸。ところがこれを同じ H2^b ハプロタイプを持つ B10 マウスと交配して (B10×A.BY) F₁ 雑種マウスとすると、大部分の個体は FV 感染から自然に回復し、死亡率は低い。この両系統における病態の差異を調べるため、FV 感染後 30～60 日の間に末梢血を採取して血漿を分離し、ウイルス血症の有無を調べると、A.BY マウスでは大半の個体でウイルス血症が持続し、一方 (B10×A) F₁ マウスでは FV 接種後 30 日以内にウイルス血症が見られなくなっていた。同様の比較を H2^a ハプロタイプの A/WySn 及び B10.A マウスを用いて行くと、A/WySn マウスでは感染後 30 日以降にウイルス血症が持続しており、(B10.A×A/WySn) F₁ マウスでは FV 接種後 30 日以内にウイルス血症が終息していた。そこで、これら (B10×A) F₁ 系の雑種マウスをそれぞれの親系統である A 系マウスに戻し交配すると、H2 ハプロタイプの如何によらず、約半数の個体で FV 感染後 30 日以上ウイルス血症が持続し、残りの半数ではウイルス血症が終息することが明らかとなった^{18,89}。

即ち、MHC とは無関係な一つの宿主遺伝子がウイルス血症の持続の有無を決定していると考えられ、A 系統マウスは劣性のウイルス血症持続型の対立遺伝子を持ち、優性の抵抗性対立遺伝子を持つ B10 系統のマウスでは、ウイルス血症が早期に終息するものと解釈される。FV 感染後のウイルス血症持続の有無を制御するこの非 MHC 宿主遺伝子は *Rfv3* と名付けられ、A マウスの持つ対立遺伝子が劣性の *Rfv3*^s (s=susceptible)、B10 マウスの持つ対立遺伝子が優性の *Rfv3*^r (r=resistant) と定義された⁸⁹。

5-2. *Rfv3* 遺伝子の効果はウイルス中和抗体産生に現れる

我々は、*Rfv3* 遺伝子の効果はウイルス中和抗体の産生を介して現れるのではないかと考え、*Rfv3*^{s/s} の遺伝子型を持つ A/WySn マウスと *Rfv3*^{r/r} の遺伝子型を持つ (B10.A×A/WySn) F₁ マウスに FV を接種後、経時的に採血を行って血清中のウイルス中和抗体価を定量した⁹⁰。ウイルス中和抗体価は、一定感染価の F-MuLV 分子クローンと段階希釈した被検血清とを反応させ、F-MuLV の複製に対して一切の抑制性遺伝子を持たない *Mus dunni* 細胞にお

ける感染フォーカス形成数を定量することにより測定できる⁹¹。(B10.A×A/WySn) F₁ マウスでは、FV 接種後 14 日目から中和抗体が検出可能となり、感染 20 日目に向かって抗体価が上昇したが、A/WySn マウスでは感染 20 日目でも中和抗体が検出されなかった。しかし、何れの系統のマウスでも、FV 感染から 60 日に達すると血清中にウイルス中和抗体が検出できるようになった。この結果は、FV 誘発白血病細胞を標的として細胞表面に結合する「抗白血病細胞抗体」を検出した過去のデータ^{18,89} と良く一致した。

5-3. *Rfv3* 遺伝子座の染色体マッピング

そこで、*Rfv3*^{r/s} の遺伝子型を持つ (B10.A×A/WySn) F₁ マウスを A/WySn マウスと交配し、2 回に分けてそれぞれおよそ 150 から 300 匹の退交配マウスを作製、全個体のウイルス中和抗体価を測定するとともに、染色体上のマイクロサテライトマーカーについて遺伝子型の決定を行った。最初の群では FV 感染後 17 日目に中和抗体価を測定したが、その結果抗体陽性の個体数と陰性の個体数の比が予想された 1:1 とはならず、抗体陽性の個体が 64% 見られた。この群の解析では中和抗体価を制御する遺伝子が第 15 染色体のテロメア寄りに存在することがわかったが、それ以上の解析は不可能であった。そこで、第 2 群では注意深く感染 14 日目と 21 日目で中和抗体価の測定を行い、14 日目の表現型を集計すると中和抗体陰性の個体と陽性の個体の割合が 1:1 と

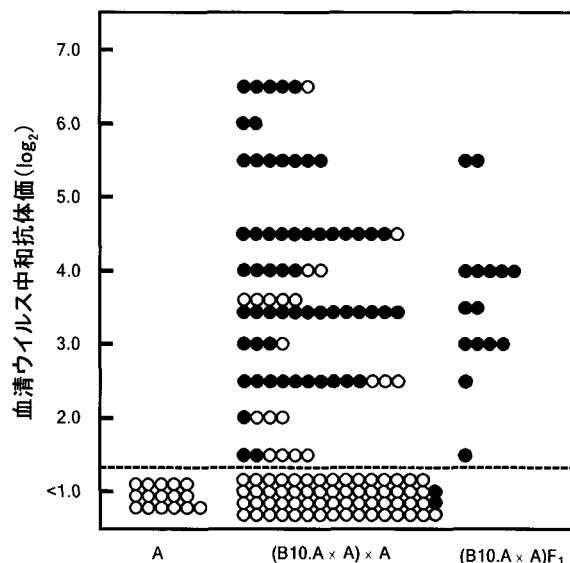


図11 ウイルス中和抗体価と第15染色体マーカー遺伝子型の相関 退交配マウス個体について、FV 感染14日後の血清ウイルス中和抗体価を縦軸にプロットしてある。●は D15Mit71 に B10.A 由来の遺伝子型を持つ個体、○はこれを欠き、D15Mit71 が A/WySn 由来対立遺伝子のホモである個体。

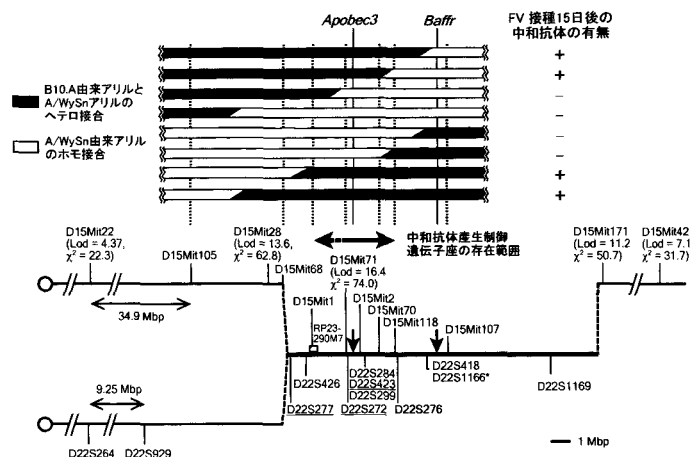


図12 ウイルス中和抗体産生制御遺伝子の染色体マッピング クリティカルな染色体乗換えを待つ個体の遺伝子型を上段に示す。最下段はマウス第15染色体とヒト第22染色体のシンテニーマップ

なることを確認した(図11)。その結果、中和抗体価と最も強く相関する遺伝的マーカーが第15染色体上のD15Mit71であることが明らかとなった。さらに、この周辺で染色体の乗換えが乗じている退交配個体についてより詳細なマイクロサテライト遺伝子型の決定を行い、これを各個体の中和抗体価と比較した結果、FV感染14日目のウイルス中和抗体の有無を決定する遺伝子は、D15Mit71よりややセントロメア寄りから、D15Mit118までの範囲に存在するものと考えられた(図12)。

このマッピング範囲は、FV感染後のウイルス血症持続の有無を指標に別に絞り込まれた*Rfv3*遺伝子座の存在範囲^{92,93}に含まれ、遺伝学的にも、*Rfv3*遺伝子はウイルス中和抗体の産生を介してウイルス血症の持続を制御するものと考えられた。

5-3. *Rfv3* 遺伝子の分子実態

我々がウイルス中和抗体の産生を指標に*Rfv3*遺伝子の存在範囲を絞り込んだマウス第15染色体の領域には、IL2受容体のβ鎖など、もしも多型があるとなれば免疫系の機能に直接影響を及ぼしそうな遺伝子座が複数ある。しかし、この領域だけで染色体上に100以上のORFが存在し、*Rfv3*遺伝子の実体を同定するのは容易ではなさそうと思われた。そこで我々はDNAマイクロアレイを用い、この領域に存在する全てのORFについてその発現を系統間で比較した。それぞれのORFについてはその長さに応じて2～10ヶ所の配列特異的プローブを設定し、各々のプローブはマイクロアレイ内の6点に重複配置して万全を期した。その上で、FV感染9日後の脾臓における各遺伝子mRNAの発現量を、(B10.A×A/WySn) F₁とA/WySnマウスのそれぞれ複数個体を用いて比較した。系統間で脾臓における発現量が異なる遺伝子が複数見出されたが、最も注目されたのが*APOBEC3*と*Baffr*であった。

*APOBEC3*は既に述べたが、レトロウイルス複製

の過程で逆転写時のマイナス鎖DNAに作用するDNA mutatorである。real-time PCR法による確認の結果、A/WySnマウスではFV感染後の日数に関わりなく*APOBEC3*の発現が低く、(B10.A×A/WySn) F₁マウスにおける発現量の1/5以下であることがわかった²⁰。一方、同時に測定したF-MuLV *env* 遺伝子の発現量は感染5日後では系統間にほとんど差がないが、感染7日後になるとA/WySnマウスで(B10.A×A/WySn) F₁マウスの2～5倍に増加していた。

APOBEC3 遺伝子座についてゲノム塩基配列を比較決定した結果、B6マウスとB10マウスの*APOBEC3* 遺伝子座塩基配列は全く同一であり、A/WySnマウスの*APOBEC3* 遺伝子塩基配列はBALB/cマウスのそれと完全に相同であるが、B6/B10とBALB/c及びA/WySnの組の間では、多数の塩基置換による多型が見られることが明らかとなった。そこで我々はB6/B10型のマウス*APOBEC3* 遺伝子を*mA3^b*アリル、A/WySnとBALB/cに共通なそれを*mA3^d*アリルと名付け、両者の発現及び機能の違いを解析した⁶³。

5-4. マウス *APOBEC3* の多型と機能差

骨髄や脾臓など、造血系組織における*APOBEC3* 遺伝子の発現をRT-PCRによって解析すると、BALB/cやA/WySnマウスでは全長型のmRNAが主体を占めるのに対して、B6/B10マウスでは第5エクソンを欠損するアイソフォーム(これをΔ5と呼ぶ)が主要な発現産物であった。*mA3^b*アリルでは*mA3^d*アリルと比較して第4イントロンのスプライシング関連配列に多型が見られ、これが*mA3^b*アリルの発現産物が殆どΔ5で占められる原因となっている可能性がある。最近の報告ではΔ5型mRNAの翻訳産物である短縮型の*APOBEC3* タンパク質は、全長型の*APOBEC3* タンパク質に比べてマウスレトロウイルス粒子に取り込まれ易いと

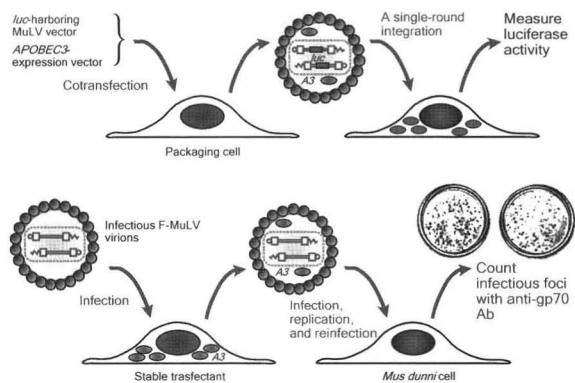


図13 これまで行われてきた APOBEC3 活性検出法と、我々があるべき形と考える APOBEC3 のウイルス複製抑制活性検定法 APOBEC3 は出芽するウイルス粒子の中に取り込まれ、標的細胞に吸着・侵入後に作用すると考えられている

言われている⁹⁴。しかし、系統間で $\Delta 5$ 発現量に差があるか否か、またそれがマウスレトロウイルス感染抵抗性と関係があるか否かは全く調べられていなかった。

そこで我々は、BALB/c マウス由来の $mA3^d$ アリル発現産物である全長型 cDNA と $\Delta 5$ 型 cDNA、及び B6 マウス由来の $mA3^b$ アリル発現産物である $\Delta 5$ 型 cDNA を、それぞれ発現ベクターに組み込み、 $mA3^d$ 、 $mA3^d\Delta 5$ 、 $mA3^b\Delta 5$ タンパク質をそれぞれ単独で持続発現する細胞株を樹立した。このような細胞株を樹立したのは、これまで行われてきた APOBEC3 の機能解析は、ほとんど全てレトロウイルスベクターにルシフェラーゼなどの指標遺伝子を組み込み、これを APOBEC3 発現ベクターとともにパッケージング細胞に導入して、得られた組換えウイルスを標的細胞に感染させるという形でしか行われてこなかったからである(図13)。一般に行われているこのような方法では、APOBEC3 遺伝子産物を含む組換えレトロウイルスが1サイクルだけの逆転写を行い、標的細胞に組み込まれるだけで、感染細胞からの粒子形成はない。確かに逆転写からプロウイルス組み込みまでの過程に APOBEC3 が及ぼす効果は測定可能であるが、「レトロウイルス複製」の全過程を見ているわけではない点が、我々には不満であった。

マウス APOBEC3 の各アイソフォームを持続発現する細胞株が得られれば、これに F-MuLV を感染させ、複製によって得られた粒子を *Mus dunni* などの標的細胞に感染させて、その複製効率を感染フォーカス数として定量出来る。これこそが(「逆転写と組み込み」ではなく)レトロウイルス感染・複製に対する APOBEC3 の効果を見ることになる

我々は考えた。

実際に実験を行ってみると、B6 マウス由来の $mA3^b\Delta 5$ 産物は試験管内での F-MuLV 複製を強く阻害し、その効果はヒトの APOBEC3G に匹敵した。一方、同じ $\Delta 5$ 型のアイソフォームであっても BALB/c 由来の $mA3^d\Delta 5$ 産物は F-MuLV の複製抑制効果が弱く、感染フォーカス数は対照の半分に低下する程度であった。また、全長型の $mA3^d$ 産物は F-MuLV に対する複製抑制効果を示さなかった。さらに、これら複製抑制効果の差が確かに APOBEC3 の遺伝子の多型によって決定されていることを確認するため、 $mA3^b\Delta 5$ 産物と $mA3^d\Delta 5$ 産物のアミノ酸配列上の差が集積している 5' 末端側について、両者を入れ換えたキメラ分子を作製すると、N-末端側に $mA3^d\Delta 5$ 由来のアミノ酸配列を持つキメラ分子では F-MuLV 複製抑制能が低下した。

これらの結果は、APOBEC3 の遺伝子多型がその発現産物の F-MuLV 複製抑制効果の差として現れ、B6 マウスの持つ $mA3^b$ アリルは、BALB/c マウスの $mA3^d$ アリルより明らかに強い F-MuLV 複製抑制効果に結び付くことを示している。

5-5. APOBEC3 を欠く B6 マウスでは FV の複製と病原性が高まる

そこで、マウス APOBEC3 が生体内で FV 感染に対する抵抗性に関与しているかどうかを解析するため、B6 マウスの背景を持つ APOBEC3 ノックアウト ($mA3^b$ -OK) マウスを作製した。FV を接種した $mA3^b$ -KO マウスでは、野生型の B6 マウスに比べて骨髄及び脾細胞中のウイルス感染細胞数が100倍程度高まった。さらに、 $mA3^b$ -KO マウスを BALB/c マウスと交配して CB6F₁ マウスを作製し、FV を接種して赤芽球増殖誘導の経過を観察した。その結果、 $mA3^b$ -KO の CB6F₁ マウスでは、FV 感染後骨髄で検出されるウイルス感染細胞数が対照の野生型マウスに比べて明らかに増加し、感染3週間後のヘマトクリット値も有意に高くなって、赤芽球の増殖が促進されていることが明らかとなった⁶³。即ち、マウス APOBEC3 遺伝子多型は、明らかに FV の複製とこれによる病態発生に影響を与える、生理的な FV 抵抗性因子の一つである。

5-6. APOBEC3 多型は *Rfv3* 遺伝子の実体か?

それならば、*Rfv3* 遺伝子の実体は APOBEC3 の多型であろうか? FV 感染抵抗性の B6 マウスが持つ $mA3^b$ アリルの産物が FV 複製抑制活性を示し、感受性の BALB/c マウスが持つ $mA3^d$ アリルの産物が示す FV 複製抑制活性が弱いこと、そして BALB/c 系統と A/WySn の APOBEC3 遺伝子型

が共通であることは、最初に記載された *Rfv3* 遺伝子の表現型である「ウイルス血症持続の有無」^{18,19} が、*APOBEC3* 多型による FV 複製抑制の有無の現れである可能性を示唆する。しかし、*APOBEC3* 分子によるウイルス複製の抑制だけで、FV 接種後30日以内でウイルス血症が消失ようになるであろうか？

我々は既に、*mA3^{dlb}* の遺伝子型を持ち、従って複製抑制活性の強い *APOBEC3* が発現するはずの CB6F₁ マウスであっても、 μ MT マウスとして B リンパ球を欠損させるとウイルス感染細胞を排除出来ず、脾細胞中に多数のウイルス産生細胞が検出され続けることを示している⁷³(図9)。また、B6- μ MT/ μ MT マウスでは、野生型マウスに比べ、FV 感染後の血中ウイルス感染価、即ちウイルス血症の程度が高値となることがわかっている⁹⁵。これらの事実は、ウイルス血症の終息のためにはウイルス中和抗体の産生が不可欠であることを示唆する。実際、*Rfv3^s* マウスにウイルス中和抗体を移入することで、*Rfv3^r* マウスの表現型を得ることが可能である⁹⁶。

APOBEC3 遺伝子が直接にウイルス中和抗体の産生を制御する可能性はないので、考えられることがあるとすれば、FV 複製制御を介する免疫応答への間接的効果である。実際、FV は免疫系の完成した成体マウスへの接種により白血病を誘発出来るが、そのためには FV 複製がある期間持続することが前提となっており、感染に伴って何らかの「免疫抑制」が起こっているはずである。そうでなければ、B 細胞が欠損しているわけでもない野生型の A.BY マウスや A/WySn マウスで、感染30日以降までウイルス血症が持続するはずがない。FV によって誘発されると考えられる免疫抑制状態の実態は実はほとんどわかっておらず、これに *APOBEC3* の遺伝子多型がどのように関わるかは、まさに今後の課題である。

5-7. BAFF 受容体とその異常

この点で注意を引くのは、A/WySn マウスが B リンパ球の分化・活性化に関する BAFF 受容体遺伝子 (*Baffr*) に変異を持つことである。B-cell activation factor belonging to the TNF family (BAFF) は腫瘍壊死因子 (TNF) 類似のサイトカインであり、B リンパ球の分化・成熟と活性化に関係する⁹⁷。BAFF-R は3種類ある BAFF の受容体のうち、ただ一つ BAFF のみをリガンドとする受容体であり、この分子の機能が欠損すると未熟 B リンパ球が成熟 B リンパ球に分化できず、活性化した B リンパ球の寿命が短くなる⁹⁸⁻¹⁰⁰。A/WySn マウスでは *Baffr* 遺伝子の第3エクソンにレトロトランスポ

ゾンの挿入があり、フレームシフトによって BAFF-R の細胞質内部分のアミノ酸配列が変化している⁹⁸。このため受容体機能に異常が生じ、脾臓における成熟 B リンパ球の割合が低い、末梢血 B リンパ球数が極端に少ない、抗原刺激後に形成されるリンパ濾胞のサイズが小さく、その存続期間も短いなどの異常が見られる。A/WySn マウスにおけるこれら B リンパ球機能の異常は、*Baffr* ノックアウトマウスや、*Baff* 遺伝子ノックアウトマウスに見られる表現型と良く一致する¹⁰⁰。

我々は最近、レンチウイルスベクターを用いて A/WySn マウス受精卵に B6 マウス由来の *Baffr* cDNA を導入し、B リンパ球特異的に野生型の *Baffr* を発現するトランスジェニック (Tg) マウスを樹立した。得られた複数系統の *Baffr*-Tg マウスのうち一部では、成熟 B リンパ球数がやや回復したが、末梢血の B リンパ球数は少ないままであった。A/WySn マウスの変異型 *Baffr* 遺伝子産物が、同時に発現している正常 BAFF-R 分子の機能を阻害しているものと考えている。

A/WySn マウスにこのような B 細胞機能の異常が存在することは、*Rfv3* 遺伝子の表現型であるウイルス中和抗体の産生の遅れが *Baffr* 遺伝子異常で説明出来る可能性を示す。ところが、第15染色体上の *Baffr* 遺伝子座は、ウイルス中和抗体価を指標に退交配マウスを用いてマッピングした *Rfv3* 遺伝子の存在範囲から外れている²⁰(図12)。さらに、*Rfv3* 遺伝子マッピング範囲周辺に染色体乗換えのある個体について *Baffr* の遺伝子型を調べてみると、近傍のマイクロサテライト遺伝子型と良く一致し、*Baffr* 遺伝子型が野生型であるにも拘わらず中和抗体が検出されない個体も、*Baffr* 遺伝子型が A/WySn タイプの変異型であるにも拘わらず中和抗体が産生される個体もあることがわかった。

既に述べたように、A系統の H2^b コンジェニックマウスである A.BY では、FV 感染30日以降もウイルス血症が持続する¹⁸。即ち、表現型から考えられる A.BY マウスの *Rfv3* 遺伝子型は *Rfv3^s* であるが、我々の調べたところ、A.BY マウスの *Baffr* 遺伝子型は野生型であった。これらのことから、現時点では、*Rfv3* 遺伝子の分子実体は *Baffr* 遺伝子多型であるよりは *APOBEC3* 遺伝子多型である可能性が高いと考えている。

Rfv3 遺伝子の実体とウイルス中和抗体の産生制御機構については、しかし「中和抗体」のウイルス抗原特異性は何か (*env* 遺伝子産物だけではないかも知れない)、非中和性の抗ウイルス抗体と中和抗体の産生経過はどう違うのか、SFFV による赤芽球系

細胞増殖誘導が宿主免疫応答にどのような影響を与えるか、そして、そもそも成体マウスへの接種後にウイルス血症が持続するような「免疫抑制」状態がFV感染で生じるのはなぜかなど、未解決の問題が山積している。

6. HIV 感染抵抗性の宿主因子

6-1. HIV 感染抵抗者の存在

これまでマウスレトロウイルスについて述べてきたような宿主抵抗性因子は、実はヒトの HIV 感染においても存在が知られている。HIV 感染に対する「自然抵抗性」の存在が最初期に気付かれたのは、HIV 感染妊婦から生まれた非感染児や、HIV 感染者を性的パートナーとする非感染者の中に、HIV 感染細胞を傷害する CD8 陽性 CTL を持つ例があることが報告されたことによる^{101,102}。これらの事例は、HIV 抗原による感作が「感染防御」免疫応答の誘導に繋がっている例ではないかと考えられた¹⁰³。その後、ナイロビの商業的売春女性集団 (commercial sex workers: CSW) を長期観察した結果、大多数の CSW 女性は従事開始から半年以内に HIV に感染するが、約15%の女性は従事開始後1年を経ても感染が成立せず、後者の女性群は、長期にわたり経過観察してもその後に感染が成立する割合が低いことが明らかにされた¹⁰⁴。即ち、HIV 曝露環境で1年以上非感染状態が続いた場合には、何らかの感染抵抗性が獲得され、その後長期間にわたってこの抵抗性が持続するものと考えられた。

同様の HIV 感染抵抗性は、その後複数のハイリスク集団で報告された。例えば、我々が共同研究を行っている北タイのランパン県コホートでは、100名を超す未感染エイズ寡婦の存在が把握されている。これらの未感染エイズ寡婦は、HIV 感染者を夫として通常の性的接触を続けており、多くは感染した夫との間に子供を設けているが、夫のエイズ死までその感染事実を知らなかったという例である。すなわち、極めて高い HIV 感染リスクに長期間曝されながら、HIV 感染が成立していない一群の「感染抵抗者」が確かに実在すると考えられる¹⁰⁵。

6-2. HIV 感染抵抗性の分子機構

ヒトにおける HIV 感染抵抗性の分子機構として、最初に報告されたのは細胞表面の HIV 副受容体 CCR5 の発現欠損である¹⁰⁶⁻¹⁰⁸。HIV の標的細胞への吸着侵入は、既に述べた通り被膜 SU 分子である gp120 の CD4 分子への結合とそれに続く立体構造変化、およびケモカイン受容体 CCR5 または CXCR4 への結合から開始される (図1)。通常、性的接触を介する HIV の初感染は CCR5 を副受容体

とする CCR5-tropic ウイルスによって起こる¹⁰⁹。感染者の体内に CXCR4 指向性の、いわゆる T-tropic ウイルスが増加してくるのは、エイズ発症の近づく感染後期に入ってからである。CCR5 は、リンパ節におけるナイーブT細胞の活性化により、エフェクター細胞に分化した段階で発現するケモカイン受容体であり、これを発現したT細胞はリンパ節を出て末梢組織に移行する。末梢組織に出たエフェクターT細胞の大部分は、その機能を発揮した後にアポトーシスを起こして消失するが、一部は末梢メモリー細胞となって次回の抗原侵入に局所で備える。従って、末梢組織にある CD4 陽性T細胞は CCR5 陽性のエフェクターメモリー細胞が主体となる。HIV の初期感染は CCR5 指向性ウイルスによって起こるため、最初に感染するのは末梢組織の CCR5 陽性エフェクターメモリー細胞であり、感染初期にこれらの細胞が激減する。

CCR5 の遺伝子に32塩基対の欠失を持つ *CCR5Δ32* 変異の遺伝子型を持つ場合には、CCR5分子の第3エクソンにフレームシフトが起こり、翻訳産物では第3細胞外ループとなるべき部分以下が欠失する。このような変異分子は細胞表面に運ばれることなく小胞体内で分解されてしまうので、*CCR5Δ32* 変異をホモ接合で持つ個体では細胞表面への CCR5 分子発現が起こらない。即ち、*CCR5Δ32* 遺伝子型ホモ接合個体は CCR5 陰性となり、HIV 感染に抵抗性となる¹⁰⁶⁻¹⁰⁸。このような事例が、ハイリスク状態にありながら長期にわたり HIV 陰性を示すアフリカの CSW の中に少数見出され、HIV 感染抵抗性の分子機構として大きな注目を集めた。

CCR5Δ32 遺伝子型は、ヨーロッパの白人には約10%の頻度で見られるので、CCR5 発現欠損となるホモ接合個体の割合はおよそ1%である。実際に *CCR5Δ32* ホモ接合個体群と正常遺伝子型個体群で HIV 感染陽性率を比較すると、両者の間には極めて強い有意差があり、*CCR5Δ32* 変異がヒト集団における HIV 感染抵抗性に寄与していることは疑いの余地がない¹¹⁰。ところが、その後アフリカやタイなどのハイリスク集団を解析した複数の報告では、高い感染リスクに曝されながら HIV 陰性状態を保っている個体群で *CCR5Δ32* 遺伝子型ホモ接合個体が見出される割合は、僅か2~12%に過ぎない¹¹¹。即ち、ハイリスクでありながら未感染状態が持続しているヒト集団で、*CCR5Δ32* 変異ホモ接合で説明出来るものの割合は意外に低く、他の遺伝的要因が存在する例が多いものと考えられた。

6-3. HIV 感染後長期未発症者

HIV 感染に対する抵抗性と言う点では、ハイリス

ク未感染者よりも、長期末発症者の存在の方が一般によく知られているであろう¹¹²。HAART療法の普及以前は、HIV感染からエイズ発症までの時間経過は、通常数年から十年程度とされていた。ところが、HIV感染の診断から未治療のままで10年以上を経ても、エイズ発症に至らないばかりか末梢血のCD4陽性T細胞数が500/μl以上を維持している症例が報告されるようになり、長期末発症者（long-term non-progressors：LTNP）の概念が生まれた。LTNPの定義は記載者によって異なっているが、一般に未治療状態での末梢血CD4陽性T細胞数を指標とし、HIV感染陽性の診断から7年ないし12年以上にわたってその低下が少ない場合をLTNPとすることが多い。

欧米ではHIV発見の当初から感染者集団のコホート解析体制が整備され、感染経路、感染陽性の診断及びエイズ発症診断の日時、CD4陽性T細胞数減少の経過、末梢血ウイルスコピー数の変動などのデータが綿密に記録された多数の個体について、遺伝的解析のためのウイルスゲノムcDNAや、EBウイルス不死化Bリンパ芽球株などが保管されている。このため、考えられる多くのヒト遺伝子多型について、その遺伝子型毎に、感染から発症までの期間や末梢血HIVコピー数の差を統計的に解析することが可能である^{110,113}。

これらの解析の結果、HIV感染からエイズ発症までの期間に有意な差を生じる複数の宿主遺伝子多型が見出されてきた。例えば、CCR5Δ32変異のホモ接合体がHIV感染に対して抵抗性となることは既に述べたが、同じ変異遺伝子型のヘテロ接合体が野生型かで、感染から発症までの期間が有意に異なることが明らかとなっている。また、CCR5受容体リガンドの発現量に影響を与えると考えられるプロモーター多型やリガンド遺伝子座の多重性、CXCR4のリガンドであるSDF-1の遺伝子多型なども、HIV感染の診断からエイズ発症までの期間に有意な影響を与える¹¹⁴⁻¹¹⁶。

6-4. 長期末発症状態とMHC遺伝子多型

同様の研究から、ヒトのMHCであるHLAの遺伝子型がHIV感染からエイズ発症までの期間に有意な影響を与えることが明らかにされている^{117,118}。即ち、MHC class I分子であるHLA-Bの遺伝子座について、その遺伝子型がB*57であるとHIV抗原に対するCTL反応が強く、血中ウイルスコピー数が低くなる。一方HLA-B27分子はgag遺伝子産物であるp24の、特定のエピトープ提示に強くかかわる。エイズ発症との関連が最も強いのはB*35であって、白人ではこの対立遺伝子の存在は

早期発症のリスクファクターとなる。この場合、大変興味深いことに、B*35対立遺伝子のうち、その産物がC-末端にチロシン以外のアミノ酸残基を持つペプチドを提示出来るものは、有意に早いエイズ発症と相関する^{119,120}。つまり、これはまさにMHCによるT細胞抗原認識の制御に基づいた免疫応答遺伝子現象（図7）であることが明らかである。

6-5. セットポイントウイルスコピー数を制御する宿主遺伝子

ヒトゲノム全体をカバーするSNPs遺伝子型のデータベース構築と、マイクロアレイを用いたSNPs遺伝子型の同時多数解析技術が進歩したことにより、6-3で述べたような大規模なHIV感染者コホートを利用して、そのウイルス学的あるいは免疫学的パラメータとゲノムワイドな遺伝子型情報との相関を抽出する研究が実施可能となった。このような研究により、新たなHIV感染抵抗性遺伝子型が発見されるかと期待されたが、意外にも見出されたのは従来から知られていたMHC遺伝子型の効果であった¹²¹。

HIV感染の初期には、CD4陽性T細胞で活発なウイルスの複製が起こるが、やがて宿主免疫応答の成立に伴い、最盛期に10⁵/ml以上に達した血中のウイルスコピー数は低下していく。感染後4ヶ月から1年ほどが経過すると血中ウイルスコピー数は従来検出限界に近付き、その後数年から十数年にわたって血中ウイルスコピー数が低く保たれたいわゆる無症候期が続く。急性感染期が終わり無症候期に移った時の末梢血ウイルスコピー数をセットポイントウイルス価（set-point viral load）というが、この値には感染者間で1,000倍以上の個体差があり、多くの感染者は2,000コピー/ml以上を維持し続けるが、ごく一部の感染者では未治療状態でこれが50コピー/ml以下に保たれる。このように、著しく低いセットポイントウイルス価を達成出来る個体を、最近エリート感染者（elite controller）と呼ぶようになった。エリート感染者とそうでないグループについてゲノムワイドで遺伝子多型の解析が進められている。アカゲザルのSIV感染モデルではヒトにおけるエリート感染者と類似した表現型がMHC class Iの遺伝子型により決定されているらしい証拠が示されている^{122,123}。

6-6. HIV曝露非感染者とその表現型

我々は、全く新しいアプローチから、これまで報告されていなかったHIV感染抵抗性遺伝子の存在を指摘した⁹⁰。これは、マウスのFV感染系で我々が見出してきたウイルス中和抗体産生制御遺伝子のヒトホモログを探ろうとする考え方である。

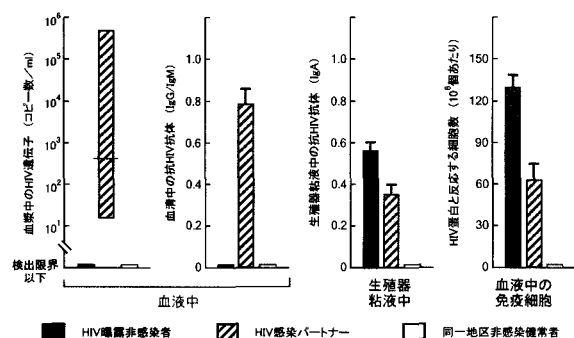


図14 イタリア・トスカナコホートの HIV 曝露非感染者の表現型

前述の通り、HIV 感染のハイリスク状態にありながら、長期間にわたって感染が成立しない感染抵抗者の存在が知られている。そのようなグループの中に、HIV 曝露非感染者として定義されている群が複数存在する。我々が共同研究を行っているイタリア・ミラノ大学医学部とフィレンツェの聖母受胎告知病院のグループは、トスカナ地方の HIV 感染者集団を長期にわたって観察する間に、そのような曝露非感染者の存在に気がついた¹²⁴。

イタリア・トスカナ地方の HIV 曝露非感染者は、特定の HIV 感染者と婚姻・同棲など一対一の継続した性的関係を維持しており、解析開始の時点で当該感染者と 4 年間以上にわたりコンドーム無しで性行為を続けているが、HIV 感染の証拠が得られない者として定義される。これら曝露非感染者はその後数年間にわたって経過観察を受けているので、最低でも 7 年以上にわたってハイリスク性交渉を重ねていながら未感染状態が継続している。申告によるこの間の性交渉回数は、最低年間 4 回から 40 回以上までばらつきがあるが、平均しておよそ 100 回以上、特定の感染者とコンドーム無しで性交渉を行っているを見て良い。曝露非感染者に HIV 感染の無いことは、単に血清中の抗 HIV 抗体の有無だけでなく、末梢血 HIV コピー数及び末梢血中単核球を用いた PCR 反応による HIV プロウイルスの検出によっても確認されている^{20,90}。

ところが、驚くべきことにこれら未感染者の末梢血単核球を HIV 抗原で刺激すると、T リンパ球からインターフェロン (IFN)- γ などサイトカインの産生が検出される。末梢血単核球を HIV 抗原で刺激して検出される IFN- γ 産生細胞数の割合 (ELISPOT) は曝露非感染者の方が HIV 感染者よりも高い⁹⁰。また、曝露非感染者は、その定義上も末梢血中の抗 HIV 抗体が陰性 (seronegative) であるが、尿道粘液や膣粘液を調べると、HIV と反応する IgA が検出される¹²⁴⁻¹²⁷。これらのことから、トスカ

ナ地方の HIV 曝露非感染者は、その T リンパ球が HIV 抗原で感作を受けており、B リンパ球も、IgG は産生しないが IgA は産生出来るという特殊な形で HIV 抗原に感作されていると理解される。末梢血単核球を HIV 抗原で刺激すると IFN- γ 産生細胞が検出されるのは、HIV 抗原特異的なメモリー細胞の再活性化を観察していることになる。

このような観察事実から、トスカナ地方の HIV 曝露非感染者は、明らかに「抗原としての」HIV に曝露されており、これにより免疫系が活性化されているが、恐らく免疫学的な抵抗性の成立によって HIV 感染が成立しない状態となっているものと解釈される。その意味では、このような曝露感染者の存在は有効な HIV 感染防御ワクチンの開発に希望を与える「免疫学的自然抵抗者」であると考えられる。

6-7. HIV 曝露非感染者の遺伝的特徴

我々はマウスレトロウイルス感染時に中和抗体産生を制御する宿主遺伝子 (*Rfv3* そのものと考えられる) を同定する実験の過程で、ヒトにもそのオソログが存在する可能性を考えた。そこで、*Rfv3* 遺伝子マッピング領域のマウス第 15 染色体に相当するヒトの第 22 染色体領域について、その部に存在するマイクロサテライトマーカーの遺伝子型をトスカナ地方の HIV 曝露非感染者とその感染パートナーの間で比較した (図 12)。驚くべきことに、マウスで *Rfv3* 遺伝子をマップした領域のほぼ中央に相当する位置にあるマイクロサテライトマーカー D22S423 の遺伝子座では、曝露非感染者群に特定の対立遺伝子型が有意に集積しており、優性遺伝子仮説でオッズ比が 4.2 ($P=0.0087$) となった⁹⁰。さらに、遺伝子型を決定したマイクロサテライトマーカーについて互いの連鎖不平衡を解析すると、HIV 感染者や同一地区の未感染健康人には見られない連鎖不平衡の切れ目が、曝露非感染者群でのみ、マウスで *Rfv3* 遺伝子存在領域のテロメア側限界とした D15Mit118 とほぼ対応する位置にある、ヒト第 22 染色体の D22S276 を境界として観察された。このことは、曝露非感染者群の祖先でのみ、この部位で染色体の乗換えが起こっていたことを示唆する。実際、同じ領域の既知単一塩基多型 (SNPs) を用いて行ったさらに詳細な遺伝的解析で、D22S276 の両側に当たる rs202642 と rs139562 の間の連鎖不平衡が、HIV 感染者群には認められたが、曝露非感染者群には見出されなかった²⁰。

マウスの場合と同じく、候補領域となる第 22 染色体の D22S277 から D22S276 の範囲に存在する全ての ORF をカバーした DNA マイクロアレイによる

発現解析と、曝露非感染者群において HIV 抗原刺激後に発現の上昇する遺伝子周辺の塩基配列解析により、我々は既に、曝露非感染状態の原因となると考えられる一つの遺伝子多型を同定することに成功している。この遺伝子多型はまた、その遺伝子の発現を制御する機能を持ち、試験管内での HIV 複製を抑制する作用も示すことも明らかにしている。その詳細な作用機序については、現在解析が進んでいるところである。

なお、マウスの場合と全く同じく、曝露非感染状態を決定すると考えられる遺伝子のマッピング領域中央には、ヒトの *APOBEC3* 遺伝子群が存在している。我々が別に行った解析で、曝露非感染者群と HIV 感染者群を比較すると、末梢血単核球、特に CD14 陽性単球における *APOBEC3G* 遺伝子発現及びタンパク質量に、群間で有意な差が認められた¹²⁸。前述のように、ヒトの *APOBEC3* は *vif* 遺伝子を持つ野生型の HIV に対して効果を示さないと考えられるため、観察した *APOBEC3G* 発現量の差が、曝露非感染者における HIV 感染抵抗性と直ちに結び付くとは考えにくい。しかし、ヒト *APOBEC3G* の遺伝子発現量が HIV 感染のウイルスコピー数と相関するという報告もあり¹²⁹、マウスにおけると同様、この領域の複数の遺伝子の機能が HIV 感染抵抗性及び抗 HIV 免疫応答を制御している可能性を追求していく必要がある。

おわりに

我が国では、「薬害エイズ」問題に対する配慮からか、アジアにおける HIV 感染爆発の現状やエイズ発症者の病態の現実について、現時点で十分な啓蒙活動が行われているとは言えない。最初に述べたインドや中国の現状は、決して対岸の火事ではないことを、我々医学教育に携わるものは十分に伝えなければならない。例えば、宮澤が結果説明の手伝いをしている神戸市保健所の無料匿名エイズ検査では、受診者300名に一人に近い高率で感染者が検出されている。感染者の多くは若年層であり、感染機会の大半は異性間性交渉である。また、我が国における感染者の男女比は、10代・20代では女性が半数以上を占めていることに注意しなければならない。

有効なエイズワクチン開発への道のりはまだ遠く、もうワクチン開発は諦めた方が良いとする意見もあるが、一方ではサルを用いた前臨床試験で有効性が示されたワクチン候補もある¹³⁰。HIV 感染からエイズ発症に至る経過の中で、CD4 陽性 T 細胞減少の鍵を握るのは、感染個体内における急速な HIV の抗原変異である。一方、高い感染リスクに曝され

ながら未感染状態を保っている曝露非感染者の存在は、感染者体内でどれだけの抗原変異が起ころうとも、一旦免疫学的感染抵抗性を獲得した非感染個体であれば、その後も防御免疫が機能し続けることを示している。つまり、ワクチン開発にとって最も大切な目標は、感染の「極めて初期に」完全にウイルス産生細胞を排除できるような免疫応答を誘導することである。その点では、感染個体内での急速な抗原変異が起こらない（と思われている）マウスレトロウイルスの感染系であっても、HIV ワクチンモデルとして機能する可能性がある。

免疫系細胞で機能すると考えられるレトロウイルス感染抵抗性遺伝子の分子実体と作用機序を探る研究は、HIV 感染の初期段階に対する新しい理解と、感染防御ワクチン開発への方策の両方に、重要な寄与を成すものと信じたい。

文 献

1. Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS) (2007) AIDS Epidemic Update: December 2007. UNAIDS, Geneva, Switzerland (<http://www.unaids.org/en/KnowledgeCentre/HIVData/EpiUpdate/EpiUpdArchive/2007/default.asp>)
2. Shao Y (2006) AIDS epidemic at age 25 and control effort in China. *Retrovirology* 3: 87
3. Van de Ven P, Kippax S, Knox S, Prestage G, Crawford J (1999) HIV treatments optimism and sexual behaviour among gay men in Sydney and Melbourne. *AIDS* 13: 2289-2294
4. Stolte IG, Dukers NH, de Wit JB, Fennema JS, Coutinho RA (2001) Increase in sexually transmitted infections among homosexual men in Amsterdam in relation to HAART. *Sex Transm Infect* 77: 184-186
5. Raulin J (2002) Human immunodeficiency virus and host cell lipids. Interesting pathways in research for a new HIV therapy. *Prog Lipid Res* 41: 27-65
6. Piguet V, Sattentau Q (2004) Dangerous liaisons at the virological synapse. *J Clin Invest* 114: 605-610
7. Kim FJ, Battini JL, Manel N, Sitbon M (2004) Emergence of vertebrate retroviruses and envelope capture. *Virology* 318: 183-191
8. Markovic I, Clouse KA (2004) Recent advances in understanding the molecular mechanisms of HIV-1 entry and fusion: revisiting current targets and considering new options for therapeutic intervention. *Curr HIV Res* 2: 223-234
9. Liu S, Fan S, Sun Z (2003) Structural and functional characterization of the human CCR5 receptor in complex with HIV gp120 envelope glycoprotein and CD4 receptor by molecular modeling studies. *J Mol Model* 9: 329-336
10. Lori F, di Marzo Veronese F, de Vico AL, Lusso P, Reitz MS Jr, Gallo RC (1992) Viral DNA carried by

- human immunodeficiency virus type 1 virions. *J Virol* 66: 5067-5074
11. Trono D (1992) Partial reverse transcripts in virions from human immunodeficiency and murine leukemia viruses. *J Virol* 66: 4893-4900
 12. Zhu J, Cunningham JM (1993) Minus-strand DNA is present within murine type C ecotropic retroviruses prior to infection. *J Virol* 67: 2385-2388
 13. De Rijck J, Vandekerckhove L, Christ F, Debyser Z (2007) Lentiviral nuclear import: a complex interplay between virus and host. *Bioessays* 29: 441-451
 14. Buller RS, Van Zant G, Eldridge PW, Portis JL (1989) A population of murine hematopoietic progenitors expresses an endogenous retroviral gp70 linked to the Rmcf gene and associated with resistance to erythroleukemia. *J Exp Med* 169: 865-880
 15. 小野 陽 (2007) HIV-1 のウイルス粒子形成はどこで起こるか. *ウイルス* 57: 9-18
 16. Freed EO, Martin MA (1996) Domains of the human immunodeficiency virus type 1 matrix and gp41 cytoplasmic tail required for envelope incorporation into virions. *J Virol* 70: 341-351
 17. Kabat D (1989) Molecular biology of Friend viral erythroleukemia. *Curr Top Microbiol Immunol* 148: 1-42
 18. Chesebro B, Miyazawa M, Britt WJ (1990) Host genetic control of spontaneous and induced immunity to Friend murine retrovirus infection. *Annu Rev Immunol* 8: 477-499
 19. Miyazawa M (2004) Host genes that influence immune and non-immune resistance mechanisms against retroviral infections. *Recent Res Devel Virol* 6: 105-118
 20. Miyazawa M, Tsuji-Kawahara S, Kanari Y (2008) Host genetic factors that control immune responses to retrovirus infections. *Vaccine* 26: 2981-2996
 21. 宮澤正顯 (1994) ウイルス感染と自己免疫病—レトロウイルスを中心に. 自己免疫疾患 (山本一彦: 編). 羊土社 (東京), pp114-129
 22. Watanabe N, Nishi M, Ikawa Y, Amanuma H (1990) A deletion in the Friend spleen focus-forming virus env gene is necessary for its product (gp55) to be leukemogenic. *J Virol* 64: 2678-2686
 23. Constantinescu SN, Liu X, Beyer W, Fallon A, Shekar S, Henis YI, Smith SO, Lodish HF (1999) Activation of the erythropoietin receptor by the gp55-P viral envelope protein is determined by a single amino acid in its transmembrane domain. *EMBO J* 15: 3334-3347
 24. Finkelstein LD, Ney PA, Liu QP, Paulson RF, Correll PH (2002) Sf-Stk kinase activity and the Grb2 binding site are required for Epo-independent growth of primary erythroblasts infected with Friend virus. *Oncogene* 16: 3562-3570
 25. Nishigaki K, Thompson D, Hanson C, Yugawa T, Ruscetti S (2001) The envelope glycoprotein of Friend spleen focus-forming virus covalently interacts with and constitutively activates a truncated form of the receptor tyrosine kinase Stk. *J Virol* 75: 7893-7903
 26. Persons DA, Paulson RF, Loyd MR, Herley MT, Bodner SM, Bernstein A, Correll PH, Ney PA (1999) Fv2 encodes a truncated form of the Stk receptor tyrosine kinase. *Nat Genet* 23: 159-165
 27. Lilly F (1970) Fv-2: identification and location of a second gene governing the spleen focus response to Friend leukemia virus in mice. *J Natl Cancer Inst* 45: 163-169
 28. Berger SA, Sanderson N, Bernstein A, Hankins WD (1985) Induction of the early stages of Friend erythroleukemia with helper-free Friend spleen focus-forming virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 6913-6917
 29. Ben David Y, Prideaux VR, Chow V, Benchimol S, Bernstein A (1988) Inactivation of the p53 oncogene by internal deletion or retroviral integration in erythroleukemic cell lines induced by Friend leukemia virus. *Oncogene* 3: 179-185
 30. Moreau-Gachelin F, Tavittian A, Tambourin P (1988) Spi-1 is a putative oncogene in virally induced murine erythroleukaemias. *Nature* 331: 277-280
 31. Ben-David Y, Giddens EB, Bernstein A (1990) Identification and mapping of a common proviral integration site Fli-1 in erythroleukemia cells induced by Friend murine leukemia virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 1332-1336
 32. Stoye JP, Coffin JM (1987) The four classes of endogenous murine leukemia virus: structural relationships and potential for recombination. *J Virol* 61: 2659-2669
 33. Albritton LM, Tseng L, Scadden D, Cunningham JM (1989) A putative murine ecotropic retrovirus receptor gene encodes a multiple membrane-spanning protein and confers susceptibility to virus infection. *Cell* 57: 659-666
 34. Kim JW, Closs EL, Albritton LM, Cunningham JM (1991) Transport of cationic amino acids by the mouse ecotropic retrovirus receptor. *Nature* 352: 725-728
 35. Wang H, Kavanaugh MP, North RA, Kabat D (1991) Cell-surface receptor for ecotropic murine retroviruses is a basic amino-acid transporter. *Nature* 352: 729-731
 36. Taylor CS, Nouri A, Lee CG., Kozak C, Kabat D (1999) Cloning and characterization of a cell surface receptor for xenotropic and polytropic murine leukemia viruses. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 927-932
 37. Battini JL, Rasko JE, Miller AD (1999) A human cell-surface receptor for xenotropic and polytropic murine leukemia viruses: possible role in G protein-coupled signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 1385-1390
 38. Yang YL, Guo L, Xu S, Holland CA, Kitamura T, Hunter K, Cunningham JM (1999) Receptors for polytropic and xenotropic mouse leukaemia viruses encoded by a single gene at Rmc1. *Nat Genet* 21: 216-219

39. Marin M, Tabor CS, Nouri A, Kozak SL, Kabat D (1999) Polymorphisms of the cell surface receptor control mouse susceptibilities to xenotropic and polytropic leukemia viruses. *J Virol* 73: 9362-9368
40. Miller DG, R. Edwards H., Miller AD (1994) Cloning of the cellular receptor for amphotropic murine retroviruses reveals homology to that for gibbon ape leukemia virus. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 78-82
41. Related Articles, Linksvan Zeijl M, Johann SV, Closs E, Cunningham J, Eddy R, Shows TB, O'Hara B (1994) A human amphotropic retrovirus receptor is a second member of the gibbon ape leukemia virus receptor family. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 1168-1172
42. Suzuki S (1975) FV-4: a new gene affecting the splenomegaly induction by Friend leukemia virus. *Jpn J Exp Med* 45: 473-478
43. Odaka T, Ikeda H, Moriwaki K, Matsuzawa A, Mizuno M, Kondo K (1978) Genetic resistance in Japanese wild mice (*Mus musculus molossinus*) to an NB-tropic Friend murine leukemia virus. *J Natl Cancer Inst* 61: 1301-1306
44. Odaka T, Ikeda H, Yoshikura H, Moriwaki K, Suzuki S (1981) Fv-4: gene controlling resistance to NB-tropic Friend murine leukemia virus. Distribution in wild mice, introduction into genetic background of BALB/c mice, and mapping of chromosomes. *J Natl Cancer Inst* 67: 1123-1127
45. Ikeda H, Laigret F, Martin MA, Repaske R (1985) Characterization of a molecularly cloned retroviral sequence associated with Fv-4 resistance. *J Virol* 55: 768-777
46. Ikeda H, Sugimura H (1989) Fv-4 resistance gene: a truncated endogenous murine leukemia virus with ecotropic interference properties. *J Virol* 63: 5405-5412
47. Higo K, Kubo Y, Iwatani Y, Ono T, Maeda M, Hiai H, Masuda T, Kuribayashi K, Zhang F, Lamin TY, Adachi A, Ishimoto A (1997) Susceptibility of nude mice carrying the Fv-4 gene to Friend murine leukemia virus infection. *J Virol* 71: 750-754
48. Evans LH, Malik FG (1987) Class II polytropic murine leukemia viruses (MuLVs) of AKR/J mice: possible role in the generation of class I oncogenic polytropic MuLVs. *J Virol* 61: 1882-1892
49. Jung YT, Lyu MS, Buckler-White A, Kozak CA (2002) Characterization of a polytropic murine leukemia virus proviral sequence associated with the virus resistance gene *Rmcf* of DBA/2 mice. *J Virol* 76: 8218-8224
50. Best S, Le Tissier P, Towers G, Stoye JP (1996) Positional cloning of the mouse retrovirus restriction gene *Fv1*. *Nature* 382: 826-829
51. B  nit L, De Parceval N, Casella J-F, Callebaut I, Cordonnier A, Heidmann T (1997) Cloning of a new murine endogenous retrovirus, MuERV-L, with strong similarity to human HERV-L element and with a gag coding sequence closely related to the *Fv1* restriction gene. *J Virol* 71: 5652-5657
52. Kozak CA, Chakraborti A (1996) Single amino acid changes in the murine leukemia virus capsid protein gene define the target of *Fv1* resistance. *Virology* 225: 300-305
53. Lassaux A, Sitbon M, Battini J-L (2005). Residues in the murine leukemia virus capsid that differentially govern resistance to mouse *Fv1* and human *Ref1* restrictions. *J Virol* 79: 6560-6564
54. Goff SP (2004) Retrovirus restriction factors. *Mol Cell* 16: 849-859
55. Chiu YL, Greene, WC (2006) Multifaceted antiviral actions of APOBEC3 cytidine deaminases. *Trends Immunol* 27: 291-297
56. Chiu YL, Greene WC (2008) The APOBEC3 cytidine deaminases: an innate defensive network opposing exogenous retroviruses and endogenous retroelements. *Annu Rev Immunol* 26: 317-353
57. Conticello SG, Harris RS, Neuberger MS (2003) The Vif protein of HIV triggers degradation of the human antiretroviral DNA deaminase APOBEC3G. *Curr Biol* 13: 2009-2013
58. Marin M, Rose KM, Kozak SL, Kabat D (2003) HIV-1 Vif protein binds the editing enzyme APOBEC3G and induces its degradation. *Nat Med* 9: 1398-1403
59. Yu X, Yu Y, Liu B, Luo K, Kong W, Mao P, Yu XF (2003) Induction of APOBEC3G ubiquitination and degradation by an HIV-1 Vif-Cul5-SCF complex. *Science* 302: 1056-1060
60. Sawyer SL, Emerman M, Malik HS (2004) Ancient adaptive evolution of the primate antiviral DNA-editing enzyme APOBEC3G. *PLoS Biol* 2: e275
61. Mariani R, Chen D, Schrof  lbauer B, Navarro F, Konig R, Bollman B, Munk C, Nymark-McMahon H, Landau NR (2003) Species-specific exclusion of APOBEC3G from HIV-1 virions by Vif. *Cell* 114: 21-31
62. Okeoma CM, Lovsin N, Peterlin BM, Ross SR (2007) APOBEC3 inhibits mouse mammary tumour virus replication in vivo. *Nature* 445: 927-930
63. Takeda E, Tsuji-Kawahara S, Sakamoto M, Langlois M-A, Neuberger MS, Rada C, Miyazawa M (2008) Mouse APOBEC3 restricts Friend leukemia virus infection and pathogenesis in vivo. *J Virol*: in press
64. Miyazawa M, Nishio J, Wehrly K, Chesebro B (1992) Influence of MHC genes on spontaneous recovery from Friend retrovirus-induced leukemia. *J Immunol* 148: 644-647
65. Miyazawa M, Nishio J, Chesebro B (1988) Genetic control of T cell responsiveness to the Friend murine leukemia virus envelope antigen: Identification of class II loci of the H-2 as immune response genes. *J Exp Med* 168: 1587-1605
66. Perry LL, Miyazawa M, Hasenkrug K, Wehrly K, David CS, Chesebro B (1994) Contrasting effects from

- a single major histocompatibility complex class II molecule (H-2E) in recovery from Friend virus leukemia. *J Virol* 68: 4921-4926
67. Miyazawa M, Nishio J, Wehrly K, David CS, Chesebro B (1992) Spontaneous recovery from Friend retrovirus-induced leukemia. Mapping of the Rfv-2 gene in the Q/TL region of mouse MHC. *J Immunol* 148: 1964-1967
 68. Huseby E, Kappler J, Marrack P (2004) TCR-MHC/peptide interactions: kissing-cousins or a shotgun wedding? *Eur J Immunol* 34: 1234-1242
 69. Iwashiro M, Kondo T, Shimizu T, Yamagishi H, Takahashi K, Matsubayashi Y, Masuda T, Otaka A, Fujii N, Ishimoto A, Miyazawa M, Robertson MN, Chesebro B, Kuribayashi K (1993) Multiplicity of virus-encoded helper T-cell epitopes expressed on FBL-3 tumor cells. *J Virol* 67: 4533-4542
 70. Uenishi H, Iwanami N, Yamagishi H, Nakatani T, Kawasaki T, Tamamura H, Fujii N, Kuribayashi K (1998) Induction of cross-reactivity in an endogenous viral peptide non-reactive to FBL-3 tumor-specific helper T-cell clones. *Microbiol Immunol* 42: 479-484
 71. Miyazawa M, Fujisawa R, Ishihara C, Takei YA., Shimizu T, Uenishi H, Yamagishi H, Kuribayashi K (1995) Immunization with a single T helper cell epitope abrogates Friend virus-induced early erythroid proliferation and prevents late leukemia development. *J Immunol* 155: 748-758
 72. Iwanami N, Niwa A, Yasutomi Y, Tabata N, Miyazawa M. Role of natural killer cells in resistance against Friend retrovirus-induced leukemia. *J Virol* 75: 3152-3163
 73. Kawabata H, Niwa A, Tsuji-Kawahara S, Uenishi H, Iwanami N, Matsukuma H, Abe H, Tabata N, Matsumura H, Miyazawa M (2006) Peptide-induced immune protection of CD8+ T cell-deficient mice against Friend retrovirus-induced disease. *Int Immunol* 18: 183-198
 74. Ruan K, Lilly F (1991) Identification of an epitope encoded in the env gene of Friend murine leukemia virus recognized by anti-Friend virus cytotoxic T lymphocytes. *Virology* 181: 91-100
 75. Robertson MN, Spangrude GJ, Hasenkrug K, Perry L, Nishio J, Wehrly K, Chesebro B (1992) Role and specificity of T-cell subsets in spontaneous recovery from Friend virus-induced leukemia in mice. *J Virol* 66: 3271-3277
 76. Morioka A, Iwashiro M, Matsubayashi Y, Teramura Y, Kuribayashi K (1994) Effects of non-MHC background genes on the induction of CD4+ T cells that prevent rejection of a highly immunogenic tumor, FBL-3. *Int Immunol* 6: 839-846
 77. Shimizu T, Uenishi H, Teramura Y, Iwashiro M, Kuribayashi K, Tamamura H, Fujii N, Yamagishi H (1994) Fine structure of a virus-encoded helper T-cell epitope expressed on FBL-3 tumor cells. *J Virol* 68: 7704-7708
 78. Kondo T, Uenishi H, Shimizu T, Hirama T, Iwashiro M, Kuribayashi K, Tamamura H, Fujii N, Fujisawa R, Miyazawa M, Yamagishi H (1995) A single retroviral gag precursor signal peptide recognized by FBL-3 tumor-specific cytotoxic T lymphocytes. *J Virol* 69: 6735-6741
 79. Chen W, Qin H, Chesebro B, Cheever MA (1996) Identification of a gag-encoded cytotoxic T-lymphocyte epitope from FBL-3 leukemia shared by Friend, Moloney, and Rauscher murine leukemia virus-induced tumors. *J Virol* 70: 7773-7782
 80. Uenishi H, Iwanami N, Kuribayashi K, Tamamura H, Fujii N, Nakatani T, Kawasaki T, Yamagishi H (1998) Overlapping epitopes of Friend murine leukemia virus gag-encoded leader sequence recognized by single cytotoxic T-lymphocyte clones. *Immunol Lett* 62: 33-38
 81. Miyazawa M, Nishio J, Chesebro B (1992) Protection against Friend retrovirus-induced leukemia by recombinant vaccinia viruses expressing the gag gene. *J Virol* 66: 4497-4507
 82. Corbin A, Prats AC, Darlix JL, Sitbon M (1994) A nonstructural gag-encoded glycoprotein precursor is necessary for efficient spreading and pathogenesis of murine leukemia viruses. *J Virol* 68: 3857-3867
 83. Portis JL, Fujisawa R, Mcatee FJ (1996) The glycosylated gag protein of MuLV is a determinant of neuroinvasiveness: analysis of second site revertants of a mutant MuLV lacking expression of this protein. *Virology* 226: 384-392
 84. Milan G, Zambon A, Cavinato M, Zanovello P, Rosato A, Collavo D (1999) Dissecting the immune response to moloney murine sarcoma/leukemia virus-induced tumors by means of a DNA vaccination approach. *J Virol* 73: 2280-2287
 85. Sugahara D, Tsuji-Kawahara S, Miyazawa M (2004) Identification of a protective CD4+ T-cell epitope in p15gag of Friend murine leukemia virus and role of the MA protein targeting to the plasma membrane in immunogenicity. *J Virol* 78: 6322-6334
 86. Earl PL, Moss B, Morrison RP, Wehrly K, Nishio J, Chesebro B (1986) T-lymphocyte priming and protection against Friend leukemia by vaccinia-retrovirus env gene recombinant. *Science* 234: 728-731
 87. Giavedoni LD, Velasquillo MC, Parodi LM, Hubbard GB, Hodora VL (2000) Cytokine expression, natural killer cell activation, and phenotypic changes in lymphoid cells from rhesus macaques during acute infection with pathogenic simian immunodeficiency virus. *J Virol* 74: 1648-1657
 88. Kittilil S, Chun T-W, Mori S, Liu S, McLaughlin M, Hallahan CW, Maldarelli F, Corey L, Fauci AS (2003) Innate immunity in human immunodeficiency virus infection: effect of viremia on natural killer cell function. *J Infect Dis* 187: 1038-1045

89. Chesebro B, Wherly K (1979) Identification of a non-H-2 gene (Rfv-3) influencing recovery from viremia and leukemia induced by Friend virus complex. *Proc Natl Acad Sci USA* 76: 425-429
90. Kanari Y, Clerici M, Abe H, Kawabata H, Trabattoni D, Lo Caputo S, Mazzotta F, Fujisawa H, Niwa A, Ishihara C, Takei YA, Miyazawa M (2005) Genotypes at chromosome 22q12-13 are associated with HIV-1-exposed but uninfected status in Italians. *AIDS* 19: 1015-1024
91. 宮澤正顕, 武井祐美子 (1995) ウイルス a) 抗ウイルス抗体のアッセイ法. 免疫研究の基礎技術 (高津聖志, 瀧伸介: 編), 羊土社 (東京) pp298-305
92. Hasenkrug KJ, Valenzuela A, Letts VA, Nishio J, Chesebro B, Frankel WN (1995) Chromosome mapping of Rfv3, a host resistance gene to Friend murine retrovirus. *J Virol* 69: 2617-2620
93. Super HJ, Hasenkrug KJ, Simmons S, Brooks DM., Konzek R, Sarge KD, Morimoto RI, Jenkins NA, Gilbert DJ, Copeland NG, Frankel W, Chesebro B (1999) Fine mapping of the Friend retrovirus resistance gene, Rfv3, on mouse chromosome 15. *J Virol* 73: 7848-7852
94. Abudu, A., Takaori-Kondo A, Izumi T, Shirakawa K, Kobayashi M, Sasada A, Fukunaga K, Uchiyama T (2006) Murine retrovirus escapes from murine APOBEC3 via two distinct novel mechanisms. *Curr Biol* 16: 1565-1570
95. Messer RJ, Dittmer U, Peterson KE, Hasenkrug KJ (2004) Essential role for virus-neutralizing antibodies in sterilizing immunity against Friend retrovirus infection. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 12260-12265
96. Britt WJ, Chesebro B (1983) Use of monoclonal anti-gp70 antibodies to mimic the effects of the Rfv-3 gene in mice with Friend virus-induced leukemia. *J Immunol* 130: 2363-2367
97. Thompson JS, Bixler SA, Qian F, Vora K, Scott ML, Cachero TG, Hession C, Schneider P, Sizing ID, Mullen C, Strauch K, Zafari M, Benjamin CD, Tschopp J, Browning JL, Ambrose C (2001) BAFF-R, a newly identified TNF receptor that specifically interacts with BAFF. *Science* 293: 2108-2111
98. Yan M, Brady JR, Chan B, Lee WP, Hsu B, Harless S, Cancro M, Grewal IS, Dixit VM (2001) Identification of a novel receptor for B lymphocyte stimulator that is mutated in a mouse strain with severe B cell deficiency. *Curr Biol* 11: 1547-1552
99. Lents VM, Cancro MP, Nashold FE, Hayes CE (1996) Bcmd governs recruitment of new B cells into the stable peripheral B cell pool in the A/WySnJ mouse. *J Immunol* 157: 598-606
100. Rahman ZSM, Rao SP, Kalled SL, Manser T (2003) Normal induction but attenuated progression of germinal center responses in BAFF and BAFF-R signaling-deficient mice. *J Exp Med* 203: 1157-1169
101. Ranki A, Mattinen S, Yarchoan R, Broder S, Ghrayeb J, Lähdevirta J, Krohn K (1989) T cell response towards HIV in infected individuals with and without zidovudine therapy, and in HIV exposed sexual partners. *AIDS* 3: 63-69
102. Rowland-Jones SL, Nixon DF, Aldhous MC, Gotch F, Ariyoshi K, Hallam N, Kroll JS, Froebel K, McMichael A (1993) HIV-specific cytotoxic T-cell activity in an HIV-exposed but uninfected infant. *Lancet* 341: 860-861
103. Shearer GM, Clerici M (1996) Protective immunity against HIV infection: has nature done the experiment for us? *Immunol Today* 7: 21-24
104. Fowke KR, Nagelkerke NJD, Kimani J, Simonsen JN, Anzala AO, Bwayo JJ, MacDonald KS, Ngugi EN, Plummer FA (1996) Resistance to HIV-1 infection among persistently seronegative prostitutes in Nairobi, Kenya. *Lancet* 348: 1347-1351
105. Miyazawa M, Lopalco L, Mazzotta F, Lo Caputo S, Veas F, Clerici M (2008) The immunologic advantage of HIV-exposed seronegative individuals. *AIDS*: in press
106. Dean M, Carrington M, Winkler C, Huttley GA, Smith MW, Allikmets R, Goedert JJ, Buchbinder SP, Vittinghoff E, Gomperts E, Donfield S, Vlahov D, Kaslow R, Saah A, Rinaldo C, Detels R, O'Brien SJ (1996) Genetic restriction of HIV-1 infection and progression to AIDS by a deletion allele of the CCR5 structural gene. *Science* 273: 1856-1862
107. Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R, MacDonald ME, Stuhlmann H, Koup RA, Landau NR (1996) Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. *Cell* 86: 367-377
108. Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Farber CM, Saragosti S, Lapoumeroulie C, Cognaux J, Forceille C, Muyldermans G, Verhofstede C, Burtonboy G, Georges M, Imai T, Rana S, Yi Y, Smyth RJ, Collman RG, Doms RW, Vassart G, Parmentier M (1996) Resistance to HIV-1 infection in Caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* 382: 722-725
109. Douek DC, Picker LJ, Koup RA (2003) T cell dynamics in HIV-1 infection. *Annu Rev Immunol* 21: 265-304
110. O'Brien SJ, Nelson GW, Winkler CA, Smith MW (2000) Polygenic and multifactorial disease gene association in man: Lessons from AIDS. *Annu Rev Genet* 34: 563-591
111. Kulkarni PS, Butera ST, Duerr AC (2003) Resistance to HIV-1 infection: Lessons learnt from studies of highly exposed persistently seronegative (HEPS) individuals. *AIDS Rev* 5: 87-103
112. Cohen OJ, Kinter A, Fauci AS (1997) Host factors in the pathogenesis of HIV disease. *Immunol Rev* 159:

- 31-48
113. O'Brien SJ, Nelson GW (2004) Human genes that limit AIDS. *Nat Genet* 36: 565-574
 114. Winkler C, Modi W, Smith MW, Nelson GW, Wu X, Carrington M, Dean M, Honjo T, Tashiro K, Yabe D, Buchbinder S, Vittinghoff E, Goedert JJ, O'Brien TR, Jacobson LP, Detels R, Donfield S, Willoughby A, Gomperts E, Vlahov D, Phair J, O'Brien SJ (1998) Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant. *Science* 279: 389-393.
 115. Liu H, Chao D, Nakayama EE, Taguchi H, Goto M, Xin X, Takamatsu JK, Saito H, Ishikawa Y, Akaza T, Juji T, Takebe Y, Ohishi T, Fukutake K, Maruyama Y, Yashiki S, Sonoda S, Nakamura T, Nagai Y, Iwamoto A, Shioda T (1999) Polymorphism in RANTES chemokine promoter affects HIV-1 disease progression. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 4581-4585
 116. Gonzalez E, Kulkarni H, Bolivar H, Mangano A, Sanchez R, Catano G, Nibbs RJ, Freedman BI, Quinones MP, Bamshad MJ, Murthy KK, Rovin BH, Bradley W, Clark RA, Anderson SA, O'Connell RJ, Agan BK, Ahuja SS, Bologna R, Sen L, Dolan MJ, Ahuja SK (2005) The influence of CCL3L1 gene-containing segmental duplications on HIV-1/AIDS susceptibility. *Science* 307: 1434-1440.
 117. Carrington M, Nelson G, Martin MP, Kissner T, Vlahov D, Goedert JJ, Kaslow R, Buchbinder S, Hoots K, O'Brien SJ (1999) HLA and HIV: Heterozygote advantage and *B*35-Cw*04* disadvantage. *Science* 283: 1748-1752
 118. Martin MP, Gao X, Lee J-H, Nelson GW, Detels R, Goedert JJ, Buchbinder S, Hoots K, Vlahov D, Trowsdale J, Wilson M, O'Brien SJ, Carrington M (2002) Epistatic interaction between *KIR3DS1* and HLA-B delays the progression to AIDS. *Nat Genet* 31: 429-434
 119. Carrington M, O'Brien SJ (2003) The influence of HLA genotype on AIDS. *Annu Rev Med* 54: 535-551
 120. Carrington M, Bontrop RE (2002) Effects of MHC class I on HIV/SIV disease in primates. *AIDS* 16: S105-S114
 121. Fellay J, Shianna KV, Ge D, Colombo S, Ledergerber B, Weale M, Zhang K, Gumbs C, Castagna A, Cossarizza A, Cozzi-Lepri A, De Luca A, Easterbrook P, Francioli P, Mallal S, Martinez-Picado J, Miro JM, Obel N, Smith JP, Wyniger J, Descombes P, Antonarakis SE, Letvin NL, McMichael AJ, Haynes BF, Telenti A, Goldstein DB (2007) A whole-genome association study of major determinants for host control of HIV-1. *Science* 317: 944-947.
 122. Loffredo JT, Maxwell J, Qi Y, Glidden CE, Borchardt GJ, Soma T, Bean AT, Beal DR, Wilson NA, Rehauer WM, Lifson JD, Carrington M, Watkins DI (2007) Mamu-B*08-positive macaques control simian immunodeficiency virus replication. *J Virol* 81: 8827-8832
 123. Maness NJ, Yant LJ, Chung C, Loffredo JT, Friedrich TC, Piaskowski SM, Furlott J, May GE, Soma T, León EJ, Wilson NA, Piontkivska H, Hughes AL, Sidney J, Sette A, Watkins DI (2008) Comprehensive immunological evaluation reveals surprisingly few differences between elite controller and progressor Mamu-B*17-positive Simian immunodeficiency virus-infected rhesus macaques. *J Virol* 82: 5245-5254
 124. Mazzoli S, Trabattoni D, Lo Caputo S, Piconi S, Blé C, Meacci F, Ruzzante S, Salvi A, Semplici F, Longhi R, Fusi ML, Tofani N, Biasin M, Villa ML, Mazzotta F, Clerici M (1997) HIV-specific mucosal and cellular immunity in HIV-seronegative partners of HIV-seropositive individuals. *Nat Med* 3: 1250-1257
 125. Biasin M, Caputo SL, Speciale L, Colombo F, Racioppi L, Zagliani A, Blé C, Vichi F, Cianferoni L, Masci AM, Villa ML, Ferrante P, Mazzotta F, Clerici M (2000) Mucosal and systemic immune activation is present in human immunodeficiency virus-exposed seronegative women. *J Infect Dis* 182: 1365-1374
 126. Bélec L, Ghys PD, Hocini H, Nkengasong JN, Tranchot-Diallo J, Diallo MO, Ettiègne-Traore V, Maurice C, Becquart P, Matta M, Si-Mohamed A, Chomont N, Coulibaly IM, Wiktor SZ, Kazatchkine MD (2001) Cervicovaginal secretory antibodies to HIV type 1 that block viral transcytosis through epithelial barriers in highly exposed HIV-1-seronegative African women. *J Infect Dis* 184: 1412-1422.
 127. Lo Caputo S, Trabattoni D, Vichi F, Piconi S, Lopalco L, Villa ML, Mazzotta F, Clerici M (2003) Mucosal and systemic HIV-specific immunity in HIV-exposed but uninfected heterosexual males. *AIDS* 17: 351-358.
 128. Biasin M, Piacentini L, Lo Caputo S, Kanari Y, Magri G, Trabattoni D, Naddeo V, Lopalco L, Clivio A, Cesana E, Fasano F, Bergamaschi C, Mazzotta F, Miyazawa M, Clerici M (2007) Apolipoprotein B mRNA-editing enzyme catalytic polypeptide-like 3G: a possible role in the resistance to HIV of HIV-exposed seronegative individuals. *J Infect Dis* 195: 960-964.
 129. Jin, X., A. Brooks, H. Chen, R. Bennett, R. Reichman, and H. Smith (2005) APOBEC3G/CEM15 (hA3G) mRNA levels associate inversely with human immunodeficiency virus viremia. *J Virol* 79: 11513-11516
 130. Matano T, Kobayashi M, Igarashi H, Takeda A, Nakamura H, Kano M, Sugimoto C, Mori K, Iida A, Hirata T, Hasegawa M, Yuasa T, Miyazawa M, Takahashi Y, Yasunami M, Kimura A, O'Connor DH, Watkins DI, Nagai Y (2004) Cytotoxic T lymphocyte-based control of simian immunodeficiency virus replication in a preclinical AIDS vaccine trial. *J Exp Med* 199: 1709-1718