

3. アクセサリー蛋白質と抗 HIV 細胞因子

野間口 雅子, 足立 昭夫

徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部微生物病原学分野

ヒト免疫不全ウイルス (HIV) ゲノムは、他のレトロウイルスには存在しないアクセサリー蛋白質と総称されるユニークな蛋白質をコードしている。これらの蛋白質を欠損させたウイルスであっても、多くの細胞で増殖が可能であるというアクセサリ-性などのために、その本来のウイルス学的機能は長い間謎であった。しかしながら、近年の研究により、アクセサリ-蛋白質のウイルス複製における重要な役割が明らかになってきた。HIV-1 と HIV-2 には合計 5 種類のアクセサリ-蛋白質 (Vif, Vpr, Vpx, Vpu および Nef) が存在するが、それぞれ、宿主の防御機構を抑制・制御することなどによりウイルスの複製を最適化し、その存続・伝播・病原性発現に大きな役割を果たしている。本稿では、アクセサリ-蛋白質の機能、抗 HIV 細胞因子 (Vif/APOBEC3 蛋白質群, Vpx/マクロファージ因子, Vpu/tetherin) に対する作用機序、および生物学的意義について概説する。

はじめに

HIV は、すべてのレトロウイルスに共通して存在する構造蛋白質 (Gag, Pol, および Env) に加えて、HIV-1 などの霊長類免疫不全ウイルスに特異的な調節蛋白質 (Tat および Rev)、およびアクセサリ-蛋白質 (Vif, Vpr, Vpx, Vpu, および Nef) をコードしている (図 1a)。構造蛋白質および調節蛋白質は、感染性ウイルス粒子の形成やウイルス遺伝子発現に関与し、すべての細胞種でのウイルス複製に必須である。アクセサリ-蛋白質は、ある特定の細胞でのウイルス複製に必須な Vif および Vpx と、どのような細胞種においても非必須である Vpr, Vpu, および Nef に分類される (図 1b)。このアクセサリ-性ゆえに、ウイルス複製におけるこれらの蛋白質の機能解析は困難なものであった。一方、宿主はウイルス複製を抑制・制御するための様々な因子を有している。近年の精力的な研究により、アクセサリ-蛋白質は宿主の抗 HIV 活性を持つ因子と拮抗し

ていることが示され、ウイルス複製、伝播、および病原性発現におけるアクセサリ-蛋白質の重要な役割が明らかにされつつある。本稿では、それぞれのアクセサリ-蛋白質に対する抗 HIV 細胞因子発見の経緯などを含め、アクセサリ-蛋白質の機能・作用機序について概説するとともに、病原性との関係や今後の課題についてまとめてみたい。

1. HIV の遺伝子構造

HIV-1 と HIV-2 の遺伝子構造を図 1a に示す。HIV-1 はチンパンジーの免疫不全ウイルス (SIVcpz) を祖先とし、HIV-2 はマカク属のサル免疫不全ウイルス (SIVmac) と同じウイルスで、スーティマンガベイ由来の SIVsmm から進化してきたと推測されている¹⁵⁾。いずれの HIV にも構造遺伝子 (*gag*, *pol*, *env*) と調節遺伝子 (*tat*, *rev*) が存在する。構造遺伝子がコードする蛋白質は感染性ウイルス粒子の形成や HIV 複製での逆転写・組み込み過程に重要な役割を果たし、調節蛋白質はウイルス遺伝子発現の調節を司る。HIV がコードする蛋白質のうち、Vif, Vpr, Nef は HIV-1 と HIV-2 に共通しているが、Vpu は HIV-1 に特異的であり、Vpx は HIV-2 に特異的な蛋白質である。

2. HIV の細胞内複製過程における アクセサリ-蛋白質と抗 HIV 細胞因子

アクセサリ-蛋白質に関する主な知見を表 1 にまとめた。これらの機能のうち、HIV 複製過程における抗 HIV 細胞因子の存在が明らかになっているものについて図 2 に示した。

連絡先

〒770-8503
徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部
微生物病原学分野
TEL: 088-633-7078
FAX: 088-633-7080
E-mail: adachi@basic.med.tokushima-u.ac.jp

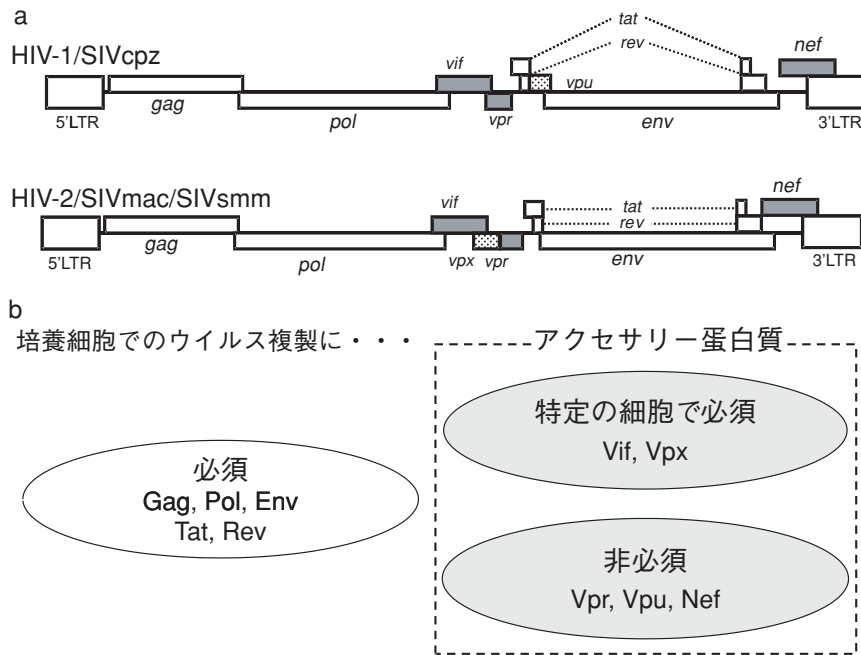


図1 (a) HIV-1 と HIV-2 のゲノム構造. アクセサリ-蛋白質をグレー, それぞれの HIV に特異的に存在するアクセサリ-蛋白質をドットで表した. (b) HIV 蛋白質を標的細胞 (T 細胞やマクロファージなど) でのウイルス複製に必須かどうかで分類した.

HIV 複製は, 受容体への吸着・侵入に始まり, RNA ゲノムの逆転写, ウイルス DNA の宿主染色体への組み込み (プロウイルスの形成), ウイルス遺伝子の発現を経て, ウイルス粒子の形成, 感染性子孫ウイルス粒子の放出という過程で進行する. 近年の研究により, (1) Vpx はマクロファージなどの非分裂細胞において, 逆転写反応より前かその間に作用し, ウイルス DNA の蓄積を促すこと^{10, 40, 44}), (2) Vif は APOBEC3 蛋白質群 (APO3) のユビキチン・プロテアソーム系による分解を媒介することにより, APO3 のウイルス粒子への取り込みを阻害し, 抗 HIV 活性を中和すること^{29, 42}), (3) Vpu は HIV のみならず, レトロウイルスやフィロウイルスなどのウイルス粒子放出を抑制する宿主因子 tetherin を負に制御することによりウイルス粒子放出を促進すること^{19, 35}) が示された.

3. Vif

Vif (Virion Infectivity Factor) は, その名の通り, 自然宿主細胞でのウイルス複製に必須であることが示されていた⁴⁵). HIV 複製における Vif 発現の必要性は細胞種特異性がある³⁷). つまり, Vif 欠損 HIV は 293T, HeLa, CEM-SS 等では複製可能であるが (これらの細胞を許容細胞と呼ぶ), HIV の自然宿主細胞である初代リンパ球やマクロファージ, CEM 等では複製できない (非許容細胞). また, 許容細胞と非許容細胞との融合細胞でも Vif 欠損 HIV は増殖せず, 非許容細胞には Vif により中和される抗 HIV 活性を持つ因子が存在することが示唆されていた⁴³). Sheehy

らは, CEM と CEM-SS を用いて cDNA サブトラクションを行い, 抗 HIV 因子として APOBEC3G (A3G) を同定し, A3G を導入した 293T 細胞が非許容細胞の表現型となることを示した⁴²). その後, Vif がユビキチン・プロテアソーム系を介して A3G を分解し, その抗 HIV 活性を阻害すること, A3G 以外の APO3 (A3F など) も抗 HIV 活性を有することなどが明らかにされた. さらに Vif の機能には種特異性があり, SIVmac などの Vif はヒト A3G/F を抑制するが, HIV-1 Vif はサル A3G/F の抗 HIV 活性を中和できない. このことは HIV-1 の宿主域を決定する要因の 1 つとなっている. これらの機構については最近の総説 (17, 47) を参考にしてほしい.

Vif と A3G/F との結合領域は Vif 変異体を用いて解析が進められ, Vif は A3G および A3F と異なる領域で結合することが示された^{14, 53}). Vif と A3G は新たな創薬ターゲットとなっており, 最近, Vif 存在下で A3G のウイルス粒子への取り込みを助長し, 抗 HIV 活性を発揮させる低分子化合物が報告された³⁴). A3G の C 末端領域 (デアミナーゼドメイン) の構造は報告されているが¹⁶), Vif の構造は未解明のため解析の進展が望まれる.

4. Vpr/Vpx

Vpx は霊長類レンチウイルスの HIV-2/SIVmac/SIVsmm lineage に存在する蛋白質である. Vpx と Vpr のホモロジーが高いため, 当初 vpx は vpr の duplication により生じたと提案されたが⁴⁸), 現在では, アフリカミドリザル免疫

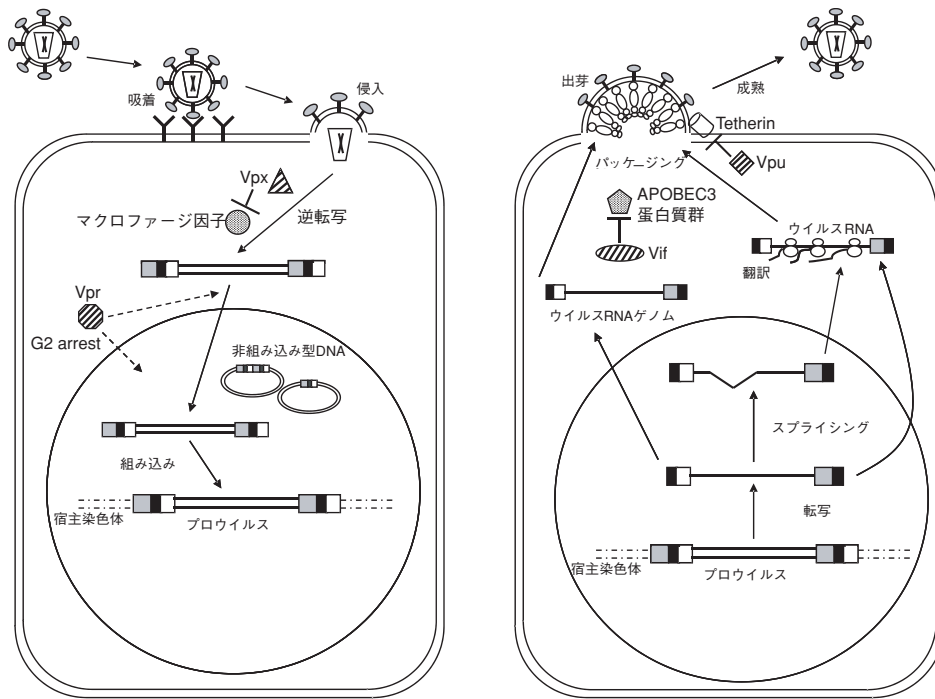


図2 HIVの細胞内複製過程におけるアクセサリー蛋白質とその抗HIV細胞因子

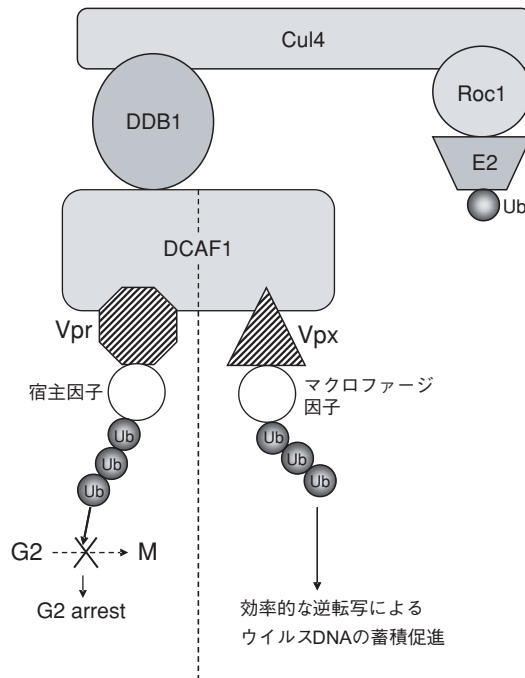


図3 Cullin4-DDB1-DCAF1/VprBP E3 ligase 複合体と Vpr/Vpx との相互作用モデル。Vpr および Vpx は、ターゲットとする細胞因子 (未同定) をリクルートするアダプターとして働き、ユビキチン・プロテアソーム分解に導く。これにより Vpr は G2 アレストを誘導し、Vpx はマクロファージなど非分裂細胞での効率的な逆転写を促進する。

不全ウイルス (SIVagm) の *vpr* の獲得により生じたのではないかと考えられている⁴¹⁾。

Vpx は株化細胞や初代リンパ球でのウイルス複製には非

必須であるが、単球由来のマクロファージ (MDM) での増殖に必須であることが示されていた^{21, 54)}。Vpx は Gag の C 末端領域と結合してウイルス粒子に多量に取り込まれ、

表1 HIV アクセサリー蛋白質に関する主な知見

蛋白質名	粒子中のコピー数	構造解析	機能	作用	文献
Vif	1 ~ 50	未解明	APOBEC3 蛋白質群による抗ウイルス活性の中和	APOBEC3 蛋白質群への結合・プロテアソーム分解によりウイルス粒子への取り込みを阻害。	29, 42
Vpr	HIV-1 ~ 700 HIV-2 ~ 50	NMR structure	(1) 細胞周期の停止 (G2 arrest) (2) PIC の核移行 (3) LTR や標的遺伝子のトランスアクチベーター (4) アポトーシス	細胞周期の停止に関しては, Cullin4-DDB1-DCAF1 E3 ligase 複合体においてアダプターとして働き, 宿主因子 (未同定) の認識・分解に関与。その他に関しては文献 (27) を参照。	18, 22, 28, 33
Vpx	~ 3000	Homology modeling	非分裂細胞 (マクロファージや樹状細胞など) でのウイルス複製に必須であり, 効率的な逆転写反応によりウイルス DNA の蓄積を促進。	Cullin4-DDB1-DCAF1 E3 ligase 複合体においてアダプターとして作用し, 宿主抑制因子 (未同定) の認識・分解に関与。	10, 13, 22, 23, 40, 44
Vpu	0	NMR structure	(1) ER での CD4 の分解促進 (2) ウイルス粒子放出の促進	(1) Cullin1-SCFTrCP 複合体においてアダプターとして作用し, CD4 の認識・分解に関与。 (2) 抗ウイルス因子 Tetherin のアンタゴニスト。	3, 35
Nef	~ 10	Crystal or NMR structure	(1) 細胞表面分子 (CD4, MHC-I, CXCR4, CD28) のダウンレギュレーション (2) ウイルス粒子感染性および PBMC でのウイルス複製の増強 (3) 細胞のシグナル伝達経路の modulation による T 細胞活性化	Nef は様々な宿主蛋白質と相互作用することにより機能。	11, 24, 25, 50

文献(46)を基に作成。

Vpx 以外は, 注釈のない限り, HIV-1 アクセサリー蛋白質の機能等について記載した。

感染初期から標的細胞に多量に存在すること^{22, 51)}, 侵入後のウイルス複製初期過程に役割を持つこと²¹⁾が示唆されていた。事実, 初期の研究では Vpx は感染マクロファージでのプレインテグレーションコンプレックス (PIC) の核移行に必要であると報告された⁷⁾。しかし, 最近の研究により, Vpx がマクロファージや樹状細胞などでの HIV-2 RNA ゲノムの効率的な逆転写に必須であり, これによりウイルス DNA の蓄積を促進すること^{10, 13)}, Vpx が Cullin4-DDB1-DCAF1 E3 ligase 複合体に, これらの細胞に存在する抑制因子をリクルートし分解に導くこと (図 3)^{40, 44)}が示されている。

HIV-1 Vpr はその多機能性が (表 1)²⁷⁾ 注目されている。これらの機能のうち, HIV-2 Vpr は細胞周期の停止を誘導するが, 核移行には機能しないようである⁹⁾。HIV-1 Vpr が MDM でのウイルス複製に著しく影響すること, Vpr が PIC の核移行に機能し, これに関与する宿主因子の存在を示唆する報告がある²⁷⁾。しかし, Vpr 欠損 HIV-1 であっても MDM で増殖可能であり⁸⁾ (投稿準備中), Vpr を欠損している MLV/HIV キメラウイルスでも, なお非分裂細胞に感染する⁵²⁾ という報告もある。一方, HIV-1 Vpr も HIV-2 Vpr も細胞周期の停止を誘導する。図 3 に示すように, Vpx と同様に, Vpr は Cullin4-DDB1-DCAF1 E3 ligase

複合体においてユビキチン化のターゲットとなる宿主因子のアダプターとして働き, これを分解に導くことにより G2 アレストを誘導することが示唆されている^{5, 18, 28)}。

Vpr/Vpx はいずれもユビキチン・プロテアソーム系を介して, それぞれ G2 アレストや効率的な逆転写を誘導するが, ターゲットとなる宿主因子は同定されておらず, 今後の課題として残っている。加えて, G2 アレストは他のウイルス感染 (ヒトパピローマウイルスや単純ヘルペス 1 型など) によっても誘導され⁴⁾, ウイルス増殖にとって重要であると推察されるが, その生物学的意義についてはさらに解明していく必要があると考えられる。

5. Vpu

Vpu は霊長類レンチウイルスの HIV-1/SIVcpz lineage に特異的に存在する。Vpu の主要な機能は, (1) ER における CD4 の分解 (ER での CD4 による Env のトラップを抑制), および (2) ウイルス粒子放出の促進, である (表 1)。Vpu による CD4 分解機構については文献 (3) に譲る。Vpu によるウイルス粒子放出の促進については, (1) 細胞種特異性があること, つまり, Vpu 欠損 HIV-1 の放出は HeLa, T 細胞, マクロファージ等では抑制されるが (Vpu 依存性細胞), 293T, HT1080, COS-7 等では全く影響され

表2 アクセサリー蛋白質のウイルス増殖およびエイズ発症に及ぼす影響

変異体	ウイルス増殖		エイズ発症
	培養細胞内	個体内	
SIVmac239 (wt)	1.0	1.0	+
SIVmac239 Δ Vpx	0.01>	0.1	+
SIVmac239 Δ Vpr	~ 1.0	0.5	+
SIVmac239 Δ Vif	0.01>	0.00005	-
SIVmac239 Δ Nef	~ 1.0	0.01	-
SIVmac239 Δ Vpx Δ Vpr	0.05	0.01	-
SHIV _{KU-1bMC33} (wt)	+	+	+
SHIV _{KU-1bMC33} Δ Vpu	+	+	+

文献(2)

SHIV_{KU-1bMC33} に関しては、文献(30)を基に記載した。

ないこと (Vpu 非依存性細胞)³⁸⁾, (2) Vpu 欠損 HIV-1 粒子は、Vpu 依存性細胞の表面に留まること²⁶⁾, が早くから明らかにされていた。また、HeLa と COS-7 の融合細胞は Vpu 依存性の表現型を示し、Vpu 依存性細胞にウイルス粒子放出抑制因子が存在していることが示唆されていた⁴⁹⁾。Neil らは、インターフェロン α (IFN α) 処理した 293T や HT1080 細胞では Vpu 依存性が高まることを見出し、IFN α 処理/未処理の細胞で発現した mRNA のマイクロアレイ解析を行った。その結果、CD317/Bst-2/HM1.24 をウイルス放出抑制因子の候補分子として獲得した³⁵⁾。次いで、この分子が HeLa 細胞で恒常的に発現していること、293T や T 細胞では IFN α 処理によりその発現が増加すること、加えて、この分子を導入した 293T 細胞が Vpu 依存性となることなどから、ウイルス粒子放出抑制因子として同定し、tetherin と名付けた。Tetherin によるウイルス粒子放出抑制機構や Vpu による拮抗作用機構については、現在、盛んに研究が行われている^{6, 12, 31, 32)}。

Tetherin によるウイルス粒子放出の抑制は HIV-1 に特異的なものではなく、レトロウイルスやフィロウイルスでも起こる¹⁹⁾。HIV-2 Env には Vpu 様活性があること³⁾, エボラの glycoprotein は tetherin と拮抗すること²⁰⁾, が示唆されている。従って、*vpu* を持たないウイルスも tetherin に対する何らかの拮抗作用を持つ蛋白質をコードしているのではないかと推察される。一方、tetherin の抗 HIV 活性には種特異性がある^{12, 31)}。Vpu 依存性ヒト細胞では HIV-1 Vpu によりウイルス粒子放出が促進されるが、マウスやサル由来の tetherin は HIV-1 粒子放出を抑制し、かつ HIV-1 Vpu に対し抵抗性を示す³¹⁾。しかしながら、HIV-1 と SIV のキメラウイルス (SHIV) やサル指向性 HIV-1 は、Vpu の存在に関わらずサル細胞で増殖し、Vpu 依存性ヒト細胞であっても、Vpu 欠損 HIV-1 が増殖しなくなるわけではない¹⁾ (未発表データ)。この点で、Vif/A3G とは対照的

であり、Vpu と tetherin がウイルス増殖にどれだけ関わっているか、細胞レベルでの解析は難しいかもしれない。個体レベルで Vpu/tetherin がウイルス増殖にどのような影響を及ぼすか、同時に Vpu が HIV-1 lineage 特異的に存在するウイルス学的意義があるのか否か、興味ある問題である。

6. Nef

シンポジウムでは触れなかったが、Nef について少し記載しておきたい。Nef という名称は、当初、ウイルス複製を負に制御するという実験結果により *negative factor* として分類されたことに由来する⁹⁾。しかし、*nef* 欠損 SIVmac239 はアカゲザルに病原性を示さないことから (表 2)、今では霊長類レンチウイルスの重要な病原性因子であると考えられている。Nef は表 1 に示すように多くの機能を持つことが報告されている (詳細は文献 11, 24 を参照)。これらの機能は霊長類レンチウイルス Nef に共通している。しかし、SIVs や HIV-2 とは対照的に、HIV-1 Nef は T cell receptor を構成する CD3 の発現抑制ができない、という違いがある。結果として、SIVs や HIV-2 では T 細胞活性化が抑えられ、逆に HIV-1 では T 細胞活性化がより強く誘導され、慢性の免疫活性化が引き起こされる³⁹⁾。この免疫活性化の差が、HIV-1 はヒトでエイズを発症するが、SIVsmm や SIVagm などは自然宿主に持続感染してもエイズを発症させない要因の 1 つとされている³⁶⁾。興味あることに、CD3 発現抑制能を持つ Nef をコードする HIV-2/SIV lineage は Vpu をコードせず、逆に *vpu* が存在する HIV-1 lineage では Nef の CD3 発現抑制能が欠如している³⁹⁾。最近、Kirchhoff はこの点に関する次のような OPINION を提案した²⁵⁾。SIVs から HIV-1 が進化してくる過程で、Nef は CD3 発現抑制能をなくし、*vpu* を獲得した。HIV-1 Nef は CD3 発現抑制ができず、感染 T 細胞は活性化される。感染 T 細胞の活性化によりプロウイルスの転写やウイルス複製は高

められるが、反面、感染細胞の寿命は短くなり、宿主免疫系もより活性化され、ウイルス増殖に望ましくない環境にもなる。Vpuはこの環境下でもHIV-1粒子を効率よく放出させる因子として働く。従って、*vpu*の獲得により、HIV-1は強い慢性の免疫活性化を引き起こすレンチウイルスと成りえたのではないかと論じている。無論、Nefの1機能とVpuだけでHIV-1の病原性が決まるわけではないし、Vpuをコードせず、NefのCD3発現抑制能を持つSIVmacがなぜ免疫活性化を誘導し、サルでエイズを発症するかなどの疑問も残るが、HIV-1の進化とVpuの存在意義について述べた興味深い論文である。

7. アクセサリー蛋白質と病原性との関わり

表2にSIVmac239のアクセサリー遺伝子変異体によるアカゲザルでの病原性発現の結果をまとめた。Vpuについては、SHIV/ブタオザル感染サルモデルでの解析結果を定性的に示した。Vpuを除くいずれの変異体も、細胞レベルと個体レベルとではウイルス増殖への影響に違いがある。Vpx, VprやVpuの欠損ウイルスはエイズを発症するが、野生型に比べて、ウイルス増殖や病原性は低下する。加えて、サルエイズとヒトエイズの病態進行の違いや、SIVs NefとHIV-1 Nefとの機能の違い、Vpuの有無等を考慮に入れると、HIV-1アクセサリー蛋白質の真のウイルス学的意義や病原性に果たす役割を知るためには、サル指向性HIV-1を用いたサル感染実験が必要であると考えられる。

おわりに

HIV-1アクセサリー蛋白質の機能やその標的である抗HIV細胞因子、およびこれらの作用機序の解析は急速に進んでいる。しかしながら、個々のアクセサリー蛋白質の機能のうち、個体内でのウイルス複製や病原性発現に重要な役割を果たすものは分かっていない。これを明確にするためには、サル指向性HIV-1とアカゲザルなどの霊長類を用いた動物実験が必要欠くべからざるものであると考え、我々はサル病原性HIV-1クローンの構築を進めている。HIV-1/エイズサルモデルの確立は、個体内でのウイルス複製や病原性発現におけるアクセサリー蛋白質の機能解明などの基礎研究のみならず、臨床研究にも大きく貢献すると考えられる。

文献

- 1) Adachi A, Miyaura M, Sakurai A, Yoshida A, Koyama AH, Fujita M.: Growth characteristics of SHIV without the *vpu* gene. *Int. J. Mol. Med.* 8:641-644, 2001.
- 2) Adachi A, Kamada K, Hachio K, Yamashita T, Uchiyama T, Nomaguchi M.: Functional roles of HIV-1 accessory genes for its pathogenicity. *Tanpakushitsu Kaku-san Koso* 52:1261-1267, 2007.
- 3) Bour S, Strebel K.: The HIV-1 Vpu protein: a multi-functional enhancer of viral particle release. *Microbes Infect.* 5:1029-1039, 2003.
- 4) Davy C, Doorbar J.: G2/M cell cycle arrest in the life cycle of viruses. *Virology* 368:219-226, 2007.
- 5) Dehart JL, Planelles V.: Human immunodeficiency virus type 1 Vpr links proteasomal degradation and checkpoint activation. *J. Virol.* 82:1066-1072, 2008.
- 6) Dubé M, Roy BB, Guiot-Guillain P, Mercier J, Binette J, Leung G, Cohen EA.: Suppression of Tetherin-restricting activity upon human immunodeficiency virus type 1 particle release correlates with localization of Vpu in the trans-Golgi network. *J. Virol.* 83:4574-4590, 2009.
- 7) Fletcher TM 3rd, Brichacek B, Sharova N, Newman MA, Stivahtis G, Sharp PM, Emerman M, Hahn BH, Stevenson M.: Nuclear import and cell cycle arrest functions of the HIV-1 Vpr protein are encoded by two separate genes in HIV-2/SIV(SM). *EMBO J.* 15:6155-6165, 1996.
- 8) Freed EO, Englund G, Martin MA.: Role of the basic domain of human immunodeficiency virus type 1 matrix in macrophage infection. *J. Virol.* 69:3949-3954, 1995.
- 9) Freed EO, Martin MA.: HIVs and their replication. 2007 In Knipe, D.M., and Howley, P.M. (eds), *Fields virology*, 5th ed, vol.2, Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- 10) Fujita M, Otsuka M, Miyoshi M, Khamsri B, Nomaguchi M, Adachi A.: Vpx is critical for reverse transcription of the human immunodeficiency virus type 2 genome in macrophages. *J. Virol.* 82:7752-7756, 2008.
- 11) Geyer M, Fackler OT, Peterlin BM.: Structure-function relationships in HIV-1 Nef. *EMBO Rep.* 2:580-585, 2001.
- 12) Goffinet C, Allespach I, Homann S, Tervo HM, Habermann A, Rupp D, Oberbremer L, Kern C, Tibroni N, Welsch S, Krijnse-Locker J, Banting G, Kräusslich HG, Fackler OT, Keppler OT.: HIV-1 antagonism of CD317 is species specific and involves Vpu-mediated proteasomal degradation of the restriction factor. *Cell Host Microbe.* 5:285-297, 2009.
- 13) Goujon C, Arfi V, Pertel T, Luban J, Lienard J, Rigal D, Darlix JL, Cimarelli A.: Characterization of simian immunodeficiency virus SIVSM/human immunodeficiency virus type 2 Vpx function in human myeloid cells. *J. Virol.* 82:12335-12345, 2008.
- 14) He Z, Zhang W, Chen G, Xu R, Yu XF.: Characterization of conserved motifs in HIV-1 Vif required for APOBEC3G and APOBEC3F interaction. *J. Mol. Biol.* 381:1000-1011, 2008.
- 15) Ho DD, Bieniasz PD.: HIV-1 at 25. *Cell* 133:561-565, 2008.
- 16) Holden LG, Prochnow C, Chang YP, Bransteitter R, Chelico L, Sen U, Stevens RC, Goodman MF, Chen XS.: Crystal structure of the anti-viral APOBEC3G catalytic domain and functional implications. *Nature* 456:121-124, 2008.
- 17) Holmes RK, Malim MH, Bishop KN.: APOBEC-mediated

- ated viral restriction: not simply editing? *Trends Biochem. Sci.* 32:118-128, 2007.
- 18) Hrecka K, Gierszewska M, Srivastava S, Kozackiewicz L, Swanson SK, Florens L, Washburn MP, Skowronski J.: Lentiviral Vpr usurps Cul4-DDB1[VprBP] E3 ubiquitin ligase to modulate cell cycle. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 104:11778-11783, 2007.
 - 19) Jouvenet N, Neil SJ, Zhadina M, Zang T, Kratovac Z, Lee Y, McNatt M, Hatzioannou T, Bieniasz PD.: Broad-spectrum inhibition of retroviral and filoviral particle release by tetherin. *J. Virol.* 83:1837-1844, 2009.
 - 20) Kaletsky RL, Francica JR, Agrawal-Gamse C, Bates P.: Tetherin-mediated restriction of filovirus budding is antagonized by the Ebola glycoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 106:2886-2891, 2009.
 - 21) Kawamura M, Sakai H, Adachi A.: Human immunodeficiency virus Vpx is required for the early phase of replication in peripheral blood mononuclear cells. *Microbiol. Immunol.* 38:871-878, 1994.
 - 22) Kewalramani VN, Park CS, Gallombardo PA, Emerman M.: Protein stability influences human immunodeficiency virus type 2 Vpr virion incorporation and cell cycle effect. *Virology* 218:326-334, 1996.
 - 23) Khamisri B, Murao F, Yoshida A, Sakurai A, Uchiyama T, Shirai H, Matsuo Y, Fujita M, Adachi A.: Comparative study on the structure and cytopathogenic activity of HIV Vpr/Vpx proteins. *Microbes Infect.* 8:10-15, 2006.
 - 24) Kirchhoff F, Schindler M, Specht A, Arhel N, Münch J.: Role of Nef in primate lentiviral immunopathogenesis. *Cell. Mol. Life Sci.* 65:2621-2636, 2008.
 - 25) Kirchhoff F.: Is the high virulence of HIV-1 an unfortunate coincidence of primate lentiviral evolution? *Nat Rev Microbiol.* 2009; doi: 10.1038/nrmicro2111.
 - 26) Klimkait T, Strebel K, Hoggan MD, Martin MA, Orenstein JM.: The human immunodeficiency virus type 1-specific protein vpu is required for efficient virus maturation and release. *J. Virol.* 64:621-629, 1990.
 - 27) Le Rouzic E, Benichou S.: The Vpr protein from HIV-1: distinct roles along the viral life cycle. *Retrovirology* 2:11, 2005.
 - 28) Le Rouzic E, Belaïdouni N, Estrabaud E, Morel M, Rain JC, Transy C, Margottin-Goguet F.: HIV1 Vpr arrests the cell cycle by recruiting DCAF1/VprBP, a receptor of the Cul4-DDB1 ubiquitin ligase. *Cell Cycle* 6:182-188, 2007.
 - 29) Mariani R, Chen D, Schröfelbauer B, Navarro F, König R, Bollman B, Münk C, Nymark-McMahon H, Landau NR.: Species-specific exclusion of APOBEC3G from HIV-1 virions by Vif. *Cell* 114:21-31, 2003.
 - 30) McCormick-Davis C, Dalton SB, Hout DR, Singh DK, Berman NE, Yong C, Pinson DM, Foresman L, Stephens EB.: A molecular clone of simian-human immunodeficiency virus (DeltavpuSHIV (KU-1bMC33)) with a truncated, non-membrane-bound vpu results in rapid CD4(+) T cell loss and neuro-AIDS in pig-tailed macaques. *Virology* 272:112-126, 2000.
 - 31) McNatt MW, Zang T, Hatzioannou T, Bartlett M, Fofana IB, Johnson WE, Neil SJ, Bieniasz PD.: Species-specific activity of HIV-1 Vpu and positive selection of tetherin transmembrane domain variants. *PLoS Pathog.* 5:e1000300, 2009.
 - 32) Miyagi E, Andrew AJ, Kao S, Strebel K.: Vpu enhances HIV-1 virus release in the absence of Bst-2 cell surface down-modulation and intracellular depletion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 106:2868-2873, 2009.
 - 33) Morellet N, Bouaziz S, Petitjean P, Roques BP.: NMR structure of the HIV-1 regulatory protein VPR. *J. Mol. Biol.* 327:215-227, 2003.
 - 34) Nathans R, Cao H, Sharova N, Ali A, Sharkey M, Stranska R, Stevenson M, Rana TM.: Small-molecule inhibition of HIV-1 Vif. *Nat. Biotechnol.* 26:1187-1192, 2008.
 - 35) Neil SJ, Zang T, Bieniasz PD.: Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV-1 Vpu. *Nature* 451:425-430, 2008.
 - 36) Pandrea I, Sodora DL, Silvestri G, Apetrei C.: Into the wild: simian immunodeficiency virus (SIV) infection in natural hosts. *Trends Immunol.* 29:419-428, 2008.
 - 37) Sakai H, Shibata R, Sakuragi J, Sakuragi S, Kawamura M, Adachi A.: Cell-dependent requirement of human immunodeficiency virus type 1 Vif protein for maturation of virus particles. *J. Virol.* 67:1663-1666, 1993.
 - 38) Sakai H, Tokunaga K, Kawamura M, Adachi A.: Function of human immunodeficiency virus type 1 Vpu protein in various cell types. *J. Gen. Virol.* 76:2717-2722, 1995.
 - 39) Schindler M, Münch J, Kutsch O, Li H, Santiago ML, Bibollet-Ruche F, Müller-Trutwin MC, Novembre FJ, Peeters M, Courgnaud V, Bailes E, Roques P, Sodora DL, Silvestri G, Sharp PM, Hahn BH, Kirchhoff F.: Nef-mediated suppression of T cell activation was lost in a lentiviral lineage that gave rise to HIV-1. *Cell* 125:1055-1067, 2006.
 - 40) Sharova N, Wu Y, Zhu X, Stranska R, Kaushik R, Sharkey M, Stevenson M.: Primate lentiviral Vpx commandeers DDB1 to counteract a macrophage restriction. *PLoS Pathog.* 4:e1000057, 2008.
 - 41) Sharp PM, Bailes E, Stevenson M, Emerman M, Hahn BH.: Gene acquisition in HIV and SIV. *Nature* 383:586-587, 1996.
 - 42) Sheehy AM, Gaddis NC, Choi JD, Malim MH.: Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature* 418: 646-650, 2002.
 - 43) Simon JH, Gaddis NC, Fouchier RA, Malim MH.: Evidence for a newly discovered cellular anti-HIV-1 phenotype. *Nat. Med.* 4:1397-1400, 1998.
 - 44) Srivastava S, Swanson SK, Manel N, Florens L, Washburn MP, Skowronski J.: Lentiviral Vpx accessory factor targets VprBP/DCAF1 substrate adaptor for cullin 4 E3 ubiquitin ligase to enable macrophage infection. *PLoS Pathog.* 4:e1000059, 2008.
 - 45) Strebel K, Daugherty D, Clouse K, Cohen D, Folks T, Martin MA.: The HIV 'A' (sor) gene product is essential for virus infectivity. *Nature* 328:728-730, 1987.
 - 46) Swanson CM, Malim MH.: Snap Shot: HIV-1 proteins.

- Cell 133: 742, 2008.
- 47) Takaori A.: Antiviral defense by APOBEC3 family proteins. *Uirusu* 55:267-272, 2005.
- 48) Tristem M, Marshall C, Karpas A, Petrik J, Hill F.: Origin of vpx in lentiviruses. *Nature* 347:341-342, 1990.
- 49) Varthakavi V, Smith RM, Bour SP, Strebel K, Spearman P.: Viral protein U counteracts a human host cell restriction that inhibits HIV-1 particle production. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 100:15154-15149, 2003.
- 50) Welker R, Kottler H, Kalbitzer HR, Kräusslich HG. Human immunodeficiency virus type 1 Nef protein is incorporated into virus particles and specifically cleaved by the viral proteinase. *Virology* 219:228-236, 1996.
- 51) Wu X, Conway JA, Kim J, Kappes JC.: Localization of the Vpx packaging signal within the C terminus of the human immunodeficiency virus type 2 Gag precursor protein. *J. Virol.* 68:6161-6169, 1994.
- 52) Yamashita M, Emerman M.: Retroviral infection of non-dividing cells: old and new perspectives. *Virology* 344:88-93, 2006.
- 53) Yamashita T, Kamada K, Hachio K, Adachi A, Nomaguchi M.: Identification of amino acid residues in HIV-1 Vif critical for binding and exclusion of APOBEC3G/F. *Microbes Infect.* 10:1142-1149, 2008.
- 54) Yu XF, Yu QC, Essex M, Lee TH.: The vpx gene of simian immunodeficiency virus facilitates efficient viral replication in fresh lymphocytes and macrophages. *J. Virol.* 65:5088-5091, 1991.

Accessory proteins of HIV and innate anti-retroviral factors

Masako NOMAGUCHI and Akio ADACHI

Department of Microbiology, Institute of Health Biosciences,
The University of Tokushima Graduate School, 3-18-15, Kuramoto, Tokushima 770-8503, JAPAN
E-mail : adachi@basic.med.tokushima-u.ac.jp

The HIV genome encodes several accessory proteins (Vif, Vpr, Vpx, Vpu, and Nef) unique to primate lentiviruses, in addition to the structural (Gag, Pol, and Env) and regulatory (Tat and Rev) proteins. Early studies showed that deletion of accessory proteins has a small or no effect on virus replication in cell cultures. However, recent studies have clearly demonstrated that these proteins are essential for efficient viral replication, dissemination, pathogenicity, and disease progression. Here, we summarize the current knowledge of HIV accessory proteins and their cellular targets, and discuss the functional roles of these biologically unique and important viral proteins for virus replication *in vitro* and *in vivo*.