

# 1. HIV 感染増殖とその宿主細胞性因子の概略： 細胞への侵入者の軌跡

小柳 義夫

京都大学ウイルス研究所エイズ研究施設・感染病態研究領域

HIVの発見後20年以上を経ても、このウイルスの感染増殖メカニズムを説明する新たな発見が続いている。ウイルスの感染増殖には種々の細胞性因子が必須であるが、最近、APOBECやTRIM5 $\alpha$ などのウイルス感染を抑制する分子が次々と明らかになってきた。このウイルスの細胞内での感染過程において宿主細胞性因子がどのように介在しウイルスを増殖させるかを概説する。

## はじめに

外界と脂質二重膜によって隔絶された細胞は自己増殖能、ならびに、己の環境を守るための恒常性維持能を備えたことにより、地球上に生息する最小単位として君臨することになった。この細胞生命体と異なる生活環を有するものがウイルスである。ウイルスは遺伝情報体であるRNAあるいはDNAをそのゲノムがコードする蛋白質が内包し、細胞に感染する能力をもった粒子である。このウイルスのなかで、遺伝情報体としてのRNAをDNAに変換し、もっとも安定な設計図としての情報体である染色体DNAにウイルス情報を組み込む能力を有するのがレトロウイルスである。これは、おそらく細胞自身から生まれ、そして、細胞外に飛び出し、他の細胞へ侵入、遺伝子を増幅するという能力を獲得したことにより、レトロウイルス生命体となったと考えても矛盾はない。ウイルス感染とは細胞生命体と異なる遺伝情報体の細胞への侵入、その仲間の増殖、そして、細胞外への進出であると理解できる。そして、細胞にとっては、そのウイルスの遺伝子の侵入により、がんウイルスの場合には細胞不死化が起こり、HIVのような細胞変性効果 (cytopathic effect, CPE) を起こすウイルスの場合に

は細胞死が誘導される。ウイルスはきわめて小さな侵入者であるが、最近の分子生物学の進歩により、この侵入者の軌跡がかなりはっきりしてきた。今回はレトロウイルスのなかで急速に解析が進み、そして、全世界に感染者が4000から5000万人と爆発的に増え医学的にきわめて重大な問題になっている human immunodeficiency virus (HIV) の感染増殖、そして、その宿主細胞性因子について紹介する。

サンフランシスコやニューヨークのゲイの人たちに、1980年ごろよりこれまで知られていなかった進行性の呼吸器症状により死亡する例が相次いだ。患者らはカリニ原虫という本来はほとんど病原性がない寄生虫が肺胞内に充満する肺炎を合併していた。同時に体内のCD4陽性リンパ球が急速に減少ないし消失していた。すなわち、なんらかの原因により免疫不全状態を呈していると考えられた。そして、この疾患は後天性免疫不全症候群 (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) と名づけられた。この病気は欧州にも広がり、そして、1983年にフランス Pasteur 研究所から、1984年にはアメリカ NIH と UCSF (後に NIH のものはフランスの分離株の混入であることがわかった<sup>5</sup>) から新しいレトロウイルスの分離が報告された<sup>1-5</sup>。フランスのは lymphadenopathy virus (LAV)、NIH のは、それまで日本、そして、アメリカで分離された human T-lymphotropic virus-I, II (HTLV-I, II) に似ていると考えられたことより HTLV-III と、UCSF のは AIDS-related virus (ARV) と名づけられたが、その後、HIV という名で統一された<sup>6</sup>。そして、このウイルス分離の翌年にはウイルスの受容体が CD4 であることが判明し<sup>7, 8</sup>、さらに1年後にウイルスの全塩基配列が決定された<sup>9-11</sup>。

## 連絡先

〒606-8507 京都市左京区聖護院川原町53  
京都大学ウイルス研究所エイズ研究施設・感染病態研究領域  
FAX : 075-751-4812  
E-mail : ykoyanag@virus.kyoto-u.ac.jp

## HIV の受容体への結合

細胞外をさまよっている感染性のウイルス粒子が細胞表面、すなわち、細胞性因子であるウイルス受容体を認識し、ウイルス RNA が細胞膜を貫通して細胞質内に侵入する。HIV の場合は上述したように 1984 年には CD4 がウイルス受容体であることが、その時には CD4 に対する単クローン抗体がすでに存在し、そして、この抗体がウイルス感染を完全に阻害することより、きわめて早くわかった。しかし、その後の研究から CD4 だけではウイルスを侵入させることはできないことが判明し、第 2 の受容体（補助受容体、コレセプターともいう）の存在が疑われ<sup>12)</sup>、コレセプターの発見にはさらに 10 年以上の時間が必要であった。それは炎症の際に白血球を引き寄せるケモカインに対する受容体であった<sup>13)</sup>。発見のきっかけは、その前年に、ケモカインが HIV の感染を抑制するという実験結果<sup>14)</sup>、そして、ウイルス感染（実際はウイルスと細胞膜の融合過程）を補助する細胞性因子のワクチニアウイルスベクターによる遺伝子導入系によるスクリーニングの結果である<sup>13)</sup>。そして、ケモカイン受容体はすべて 7 回膜貫通型の G 蛋白質であるが、HIV のコレセプターとなりうる主なものは、本来はケモカイン SDF-1 の受容体である CXCR4 と  $\beta$  ケモカインの受容体である CCR5 であること、さらに T 細胞にのみ感染するウイルスである T 細胞親和性ウイルス（X4 ウイルスともいう）が前者の CXCR4 を、T 細胞とマクロファージに感染するウイルスであるマクロファージ親和性ウイルス（R5 ウイルスともいう）が後者の CCR5 を、それぞれ侵入の際に利用することがわかった<sup>15-17)</sup>。ウイルスエンベロープに表出している糖蛋白質 gp120 は CD4 にまず結合し、次に gp120 のきわめて広範囲な領域が構造変換し<sup>18)</sup>、コレセプターに結合する。R5 ウイルスはマクロファージを標的とするばかりでなく、他にメモリー CD4 陽性 T 細胞に対して優位に感染する。さらに重要なことに、ウイルスがはじめて個体に侵入したときである急性感染時に、そして、その後の臨床的無症候ならびに発症後も慢性的に R5 ウイルスは存在している<sup>19-21)</sup>。一方、X4 ウイルスはエイズを発症する直前の限られた病期に存在し、その標的細胞は胸腺細胞を含めたナイーブ CD4 陽性 T 細胞である<sup>22)</sup>。さらに、分子構造解析の結果、gp120 は 3 量体を形成しており、CD4 と結合したかたちと CD4 に結合前の立体構造には大きな差異があり、ウイルスがどのように進化してきたか、今後の解明が期待されている<sup>18)</sup>。

## ウイルスの侵入と脱殻

コレセプターと構造変換した gp120 とが結合後、膜貫通型ウイルスエンベロープ糖蛋白質であり 3 量体を形成している gp41 の構造変換がおこり、ウイルスエンベロープ膜と標的細胞の脂質膜との細胞膜融合が起きる。この融合過

程には gp41 の構造変換が重要な役割を担っており、少なくとも 3 段階以上の過程が考えられている<sup>23)</sup>。それは、結合前、gp41 のプレヘアピン中間体、そして、ヘアピン形成といわれ、コレセプター結合後、1 から 4 分以内にプレヘアピン中間体が形成され、gp41 の N 末端疎水性領域（fusion domain）が標的細胞膜に貫通する。次に 20 分以内に 3 量体の gp41 分子内にヘアピン形成が起きる。gp41 の細胞外領域の C 末端側には 2 つのアルファヘリックス構造があり、そのアミノ基側もカルボシキル基側もコイル状に配位し、これらはお互いに安定に結合しヘアピン構造を形成する<sup>23,24)</sup>。このコイル状に配位する構造は coiled-coil 構造と呼ばれ、インフルエンザウイルスの HA2 蛋白質やエボラウイルスのエンベロープ蛋白質も同様な立体構造をとっている。この構造はきわめて安定な構造であり、この coiled-coil 構造の形成は融合前段階の必須の過程である。そして、この coiled-coil 構造を特異的に阻害する 36 個の合成ペプチド（T20）は実際にエイズ治療薬として使われている<sup>25)</sup>。HIV の侵入の場合はエンドサイトーシスなどは介在せず、ウイルス膜と細胞膜との膜融合は細胞膜表面上の脂質ラフトにおいて起きる。そして、細胞内へウイルス遺伝子が運ばれ、細胞質内に遊離される。この段階を脱殻（図 1 の uncoating）という。ウイルスゲノムは、細胞膜直下において脱殻し、コアより遊離し、すぐに次の逆転写へ移行すると考えられている。この段階の分子メカニズムはほとんど解明されていない。しかし、2004 年サルから分離された TRIM5 $\alpha$  は、この脱殻の過程においてウイルス感染を抑制していると考えられている<sup>26)</sup>。また、ウイルス Gag 蛋白質に結合しウイルス粒子内に取り込まれるサイクロフィリンはこの脱殻、あるいは、逆転写の開始に関与しているようである<sup>27)</sup>。詳しくは本特集の別項に譲る。

## 逆転写とウイルス遺伝子の細胞内移送

次に、ウイルス粒子により持ち込まれた tRNA (lys) をプライマーとしてウイルス RNA 5 プライムの Non coding 領域のプライマー結合領域（PBS）から逆転写酵素（RT）により、RNA は逆転写（図 1 の reverse transcription）される<sup>28)</sup>。まず、5 プライム末端のくり返し配列である R 領域までマイナス鎖 DNA が合成され、ウイルス RNA の 3 プライム末端にも配位する同じ R 領域へ、転位（first jump）し、そのままウイルス RNA 配列の残りを鋳型としてマイナス鎖 DNA 合成が完了する。この逆転写の段階において新たに分離された APOBEC3G という DNA mutator である cytidine deaminase が、G から A へのウイルス遺伝子置換を誘導していることが分かってきた<sup>30)</sup>。APOBEC については本特集の別項に詳細を譲る。DNA 合成と同時にウイルス RNaseH によりウイルス RNA が除去されるが、一部除去されない RNA をプライマーとして次にプラス鎖 DNA が合成され、2 本鎖 DNA に変換される。この過程に

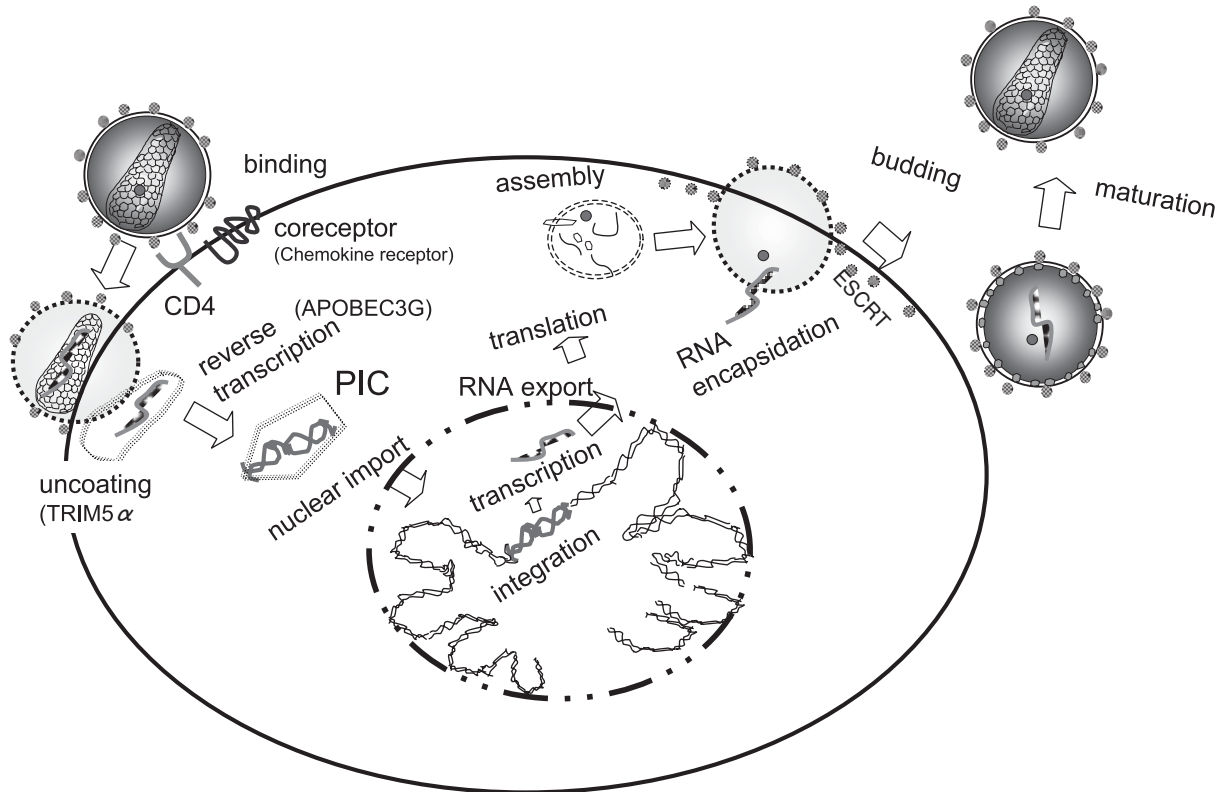


図1 HIV 増殖過程.

HIVは細胞に感染し増殖する過程は、CD4とcoreceptorに結合(binding)し、脱殻(uncoating)、逆転写(reverse transcription)、DNAの核移行(nuclear import)と組み込み(integration)、provirusからの転写(transcription)、ウイルスRNAの核外移行(RNA export)、翻訳(translation)、蛋白質の集合(assembly)とウイルスRNAの取込み(RNA encapsidation)、そして、ウイルス粒子の遊離(budding)と成熟(maturation)に区分される。

においては重合したアクチンと結合した逆転写酵素複合体(reverse transcription complex: RTC)を形成する<sup>30)</sup>。そして、逆転写後のウイルス2本鎖DNAは染色体に己のDNAを組み込ませるインテグラーゼ(IN), Gag蛋白質の中でEnvの裏側にあるマトリックス蛋白質(MA), そして、ウイルス増殖に必ずしも必要でないアクセサリ蛋白質のひとつながら細胞をG2/M期に停止させ病原性に関わるVpr蛋白質などと複合体(preintegration complex, PIC)を形成し、細胞内の微小管に沿って、核膜孔を越えて移動する(図1のnuclear import)<sup>31)</sup>。RTCとPICの分子的異同についてはまだ明らかになっていない。ところできわめて分子量の大きいPICが核膜孔を通過する核移行の過程にはimportin7が関与するという報告があるが<sup>32)</sup>、まだ結論は得られていない。INあるいはVpr蛋白質そのものにある核移行シグナルがPICの核移行過程に重要であるという意見もある<sup>33,34)</sup>。

#### ウイルスDNAのインテグレーション

PICの中ではINの作用により、おそらく細胞質において3'末端の二塩基のDNAが除去(3' end processing)さ

れ、3プライムのOH基が露出し、核内に移行して染色体DNA鎖へ転移結合する(strand transfer)。そして、宿主DNAとウイルスDNAとの間に生じた5プライムのgapは細胞の修復酵素により埋められ、インテグレーション(図1のintegration)が完了する。この修復酵素はDNA-PKという染色体DNAの修復因子ではないかと疑われたが、まだ、結論は得られていない<sup>35)</sup>。このようにして染色体上にできたウイルスDNAをプロウイルスという。PICが細胞質において形成される段階において本来は核内に局在する蛋白質BAF(barrier-to-autointegration factor)は、ウイルスDNAが核内でウイルス自身のDNAにインテグレーションしないように結合し<sup>36)</sup>、転写調節に関与する分子群のひとつであるHMGa1(high mobility group protein 1)はインテグレーション活性に必須の細胞性因子である<sup>37)</sup>。最近、INの結合蛋白質として分離されたLEDGF(lens epithelium-derived growth factor)は本来は転写のコアクチベーターであること、また、HIVが転写活性の高い部位にインテグレーションすることからも、HIVがインテグレーションする際の染色体部位の選別において役割を演じているようである<sup>38,39)</sup>。HIVのインテグレーション部位がなぜ転写活

性の高い部位に多いのか、また、マウスレトロウイルスである MLV のそれはなぜプロモーター領域に多いかは、レトロウイルスベクターによる遺伝子治療法開発の観点から重要である。

### ウイルス RNA の発現

染色体 DNA にウイルス遺伝子は組み込まれたことにより、そのウイルス遺伝情報はきわめて安定になったといえる。そして、プロウイルスから mRNA が合成され己の子孫の設計図を増やす段階に入る。プロウイルスから合成されるウイルス RNA は、細胞染色体 DNA にコードされる mRNA とまったく同じように RNA ポリメラーゼ II (Pol II) の作用により mRNA として合成されるが、この段階で 1 分子のプロウイルスがおそらく、数千分子のウイルス RNA へ変換増幅される (図 1 の transcription)。このウイルス RNA の転写効率はプロウイルス DNA の 5 プライムの非翻訳領域に存在するプロモーターに結合する SP-1、そして、エンハンサーに結合する NF- $\kappa$ B などの細胞性転写因子に依存している<sup>40)</sup>。すなわち、細胞の mRNA 発現系を完全に利用している。さらに、このウイルスの転写は Tat というウイルス由来の核内蛋白質により制御されている。Tat 蛋白質は CDK9 という核内細胞性因子と結合し、そして、Pol II の C 末端の高リン酸化による機能的安定化を促すことによりウイルス RNA の伸張反応を誘導するとともに HIV 転写開始効率の活性化を誘導する<sup>41)</sup>。

### ウイルス RNA の核外移行とウイルス蛋白質の翻訳

転写反応により合成されたウイルス RNA は分子量の違いにより、それぞれ 2.0 kb, 4.0 kb, 9.2 kb の分子がある。2.0 kb のものは double splicing されたものであり、低分子量であるので核膜孔を受動的に通過し、細胞質のリボソームに到達し Tat 蛋白質とこれから述べる 4.0kb と 9.2kb のウイルス RNA の核内から核外への移行を実行する Rev 蛋白質にそれぞれ翻訳される。一方、高分子 RNA である single spliced RNA (4.0 kb) と unspliced RNA (9.2 kb) は単独では核膜孔を越え細胞質には移行できず、核外移行因子 Crml (chromosome region maintenance) と RanGTPase の作用によりはじめて能動的に核膜孔を通過できる<sup>42)</sup>。Rev は核内においてこれら高分子 RNA と結合した結果、Crml・RanGTPase と結合し、核外に移行 (図 1 の RNA export) することにより、ウイルス構造蛋白質の翻訳 (translation) が実行される。ここでも宿主細胞性因子がきわめて重要な役割を担う。

### ウイルス蛋白質の集合と粒子の組み立て (assembly)

ウイルス粒子をかたちつくる Gag 蛋白質と次の感染過程に必要な酵素群 (RT, IN) のそれぞれの前駆体 (GagPol),

そして、それを取り囲むエンベロープ蛋白質は、前二者は翻訳後、細胞質において RNase L のインヒビターのひとつである HP68 により多量体を形成し、さらに粒子内に package されるウイルス RNA と結合 (図 1 の RNA encapsidation) して細胞質膜に移行する<sup>43)</sup>。細胞質膜では HP68 は遊離し、Gag 蛋白質は多量体する。細胞質膜への結合は Gag 蛋白質の N 末端のミリストイル化領域ならびに pleckstrin 類似領域を介在することが知られている。一方、エンベロープ蛋白質は ER、そして、ゴルジ体を経て糖鎖修飾され、T 細胞では細胞質膜の脂質ラフトにおいて、マクロファージでは細胞内の late endosome 膜においてエンベロープ蛋白質と会合し最終的にウイルス粒子として組み立てられる (図 1 の assembly)<sup>44)</sup>。

### ウイルス粒子の遊離と成熟

次に、ゲノムが内包されたウイルス粒子が細胞内より細胞外へ遊離 (図 1 の budding) される。最近、この遊離過程には、細胞表面から種々の受容体分子が細胞内へ輸送され、そして、リソソームにおいて破壊される過程に関わる ESCRT (endosomal sorting complex required for transport) 分子群が直接関与することが明らかになった<sup>45)</sup>。ESCRT は 3 段階の連続した過程からなっており、それぞれ ESCRT-I, II, III という。発見のヒントは、Gag 蛋白質の C 末端の p6 中の Pro-Thr-Ala-Pro 部位 (PTAP モチーフ、あるいは、late domain といわれている) の変異体は、ウイルス粒子の遊離に障害があるという結果から得られた<sup>45)</sup>。そこで、p6 の PTAP モチーフに結合する蛋白質の探索が 2 ハイブリッド法により行われ、TSG101 という ESCRT-I の構成成分が、ユビキチン化された p6 と結合すること、そして、TSG101 の発現を RNA 干渉法、あるいは、そのドミナントネガティブ変異体の導入により、さらに、ESCRT 全体の機能を阻害する AAA ATPase である VPS4 のドミナントネガティブ変異体の導入によっても、HIV 粒子の遊離は強力に抑制されることがわかった<sup>46)</sup>。詳細は特集の別項に譲る。細胞外に遊離後、ウイルス粒子内のプロテアーゼが活性化し、前述したように Gag 蛋白質、ならびに、Pol 蛋白質が切断され、それぞれ成熟ウイルス粒子を形成し、そして感染性ウイルスが次の標的細胞へ感染する。これが、ウイルスの細胞内における感染増殖である。

### おわりに

HIV は細胞内に侵入し、このような軌跡を経て感染性ウイルス粒子として細胞外へ遊離され、再び新たな標的細胞へ感染する。ウイルスはこのように巧妙に宿主細胞性因子を利用して子孫を増やす生き残り戦略をとっている。しかし、細胞にとっては異物であり、細胞側からの排除機構が最近明らかになってきた。

## 文 献

- 1) Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, Dautgnet C, Axler-Blin C, Vezinet-Brun F, Rouzioux C, Rozenbaum W, Montagnier L: Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 220: 868-871, 1983.
- 2) Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, Gallo RC: Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* 224: 497-500, 1984.
- 3) Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, Shearer GM, Kaplan M, Haynes BF, Palker TJ, Redfield R, Oleske J, Safai B, et al: Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science* 224: 500-503, 1984.
- 4) Sarngadharan MG, Popovic M, Bruch L, Schupbach J, Gallo RC: Antibodies reactive with human T-lymphotropic retroviruses (HTLV-III) in the serum of patients with AIDS. *Science* 224: 506-508, 1984.
- 5) Levy JA, Hoffman AD, Kramer SM, Landis JA, Shimabukuro JM, Oshiro LS: Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science* 225: 840-842, 1984.
- 6) Coffin J, Haase A, Levy JA, Montagnier L, Oroszlan S, Teich N, Temin H, Toyoshima K, Varmus H, Vogt P, et al: Human immunodeficiency viruses. *Science* 232: 697, 1986.
- 7) Dalglish AG, Beverley PC, Clapham PR, Crawford DH, Greaves MF, Weiss RA: The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature* 312: 763-767, 1984.
- 8) Klatzmann D, Champagne E, Chamaret S, Gruest J, Guetard D, Hercend T, Gluckman JC, Montagnier L: T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. *Nature* 312: 767-768, 1984.
- 9) Wain-Hobson S, Sonigo P, Danos O, Cole S, Alizon M: Nucleotide sequence of the AIDS virus, LAV. *Cell* 40: 9-17, 1985.
- 10) Ratner L, Haseltine W, Patarca R, Livak KJ, Starcich B, Josephs SF, Doran ER, Rafalski JA, Whitehorn EA, Baumeister K, et al: Complete nucleotide sequence of the AIDS virus, HTLV-III. *Nature* 313: 277-284, 1985.
- 11) Sanchez-Pescador R, Power MD, Barr PJ, Steimer KS, Stempien MM, Brown-Shimer SL, Gee WW, Renard A, Randolph A, Levy JA, et al: Nucleotide sequence and expression of an AIDS-associated retrovirus (ARV-2). *Science* 227: 484-492, 1985.
- 12) Maddon PJ, McDougal JS, Clapham PR, Dalglish AG, Jamal S, Weiss RA, Axel R: HIV infection does not require endocytosis of its receptor, CD4. *Cell* 54: 865-874, 1988.
- 13) Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, Berger EA: HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science* 272: 872-877, 1996.
- 14) Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK, Gallo RC, Lusso P: Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science* 270: 1811-1815, 1995.
- 15) Deng H, Liu R, Ellmeier W, Choe S, Unutmaz D, Burkhart M, Di Marzio P, Marmon S, Sutton RE, Hill CM, Davis CB, Peiper SC, Schall TJ, Littman DR, Landau NR: Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature* 381: 661-676, 1996.
- 16) Dragic T, Litwin V, Allaway GP, Martin SR, Huang Y, Nagashima KA, Cayanan C, Maddon PJ, Koup RA, Moore JP, Paxton WA: HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature* 381: 667-673, 1996.
- 17) Alkhatib G, Combadiere C, Broder CC, Feng Y, Kennedy PE, Murphy PM, Berger EA: CC CKR5: a RANTES, MIP-1alpha, MIP-1beta receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science* 272: 1955-1998, 1996.
- 18) Chen B, Vogan EM, Gong H, Skehel JJ, Wiley DC, Harrison SC: Structure of an unliganded simian immunodeficiency virus gp120 core. *Nature* 433: 834-841, 2005.
- 19) Zhu T, Mo H, Wang N, Nam DS, Cao Y, Koup RA, Ho DD: Genotypic and phenotypic characterization of HIV-1 patients with primary infection. *Science* 261: 1179-1181, 1993.
- 20) Takeuchi H, Suzuki Y, Tatsumi M, Hoshino H, Daar ES, Koyanagi Y: Isolation and characterization of an infectious HIV type 1 molecular clone from a patient with primary infection. *AIDS Res Hum Retroviruses* 18: 1127-1133, 2002.
- 21) Koyanagi, Y., S. Miles, R. T. Mitsuyasu, J. E. Merrill, H. V. Vinters, I. S. Y. Chen: Dual infection of the central nervous system by AIDS viruses with distinct cellular tropisms. *Science* 236: 819-822, 1987.
- 22) Schuitemaker, H., M. Koot, N. A. Kootstra, M. W. Dercksen, R. E. de Goede, R. P. van Steenwijk, J. M. Lange, J. K. M. E. Schattenkerk, F. Miedema, M. Tersmette: Biological phenotype of human immunodeficiency virus type 1 clones at different stages of infection: progression of disease is associated with a shift from monocytopathic to T-cell-tropic virus population. *J Virol* 66: 1354-1360, 1992.
- 23) Chan DC, Fass D, Berger JM, Kim PS: Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. *Cell* 89: 263-273, 1997.
- 24) Eckert DM, Malashkevich VN, Hong LH, Carr PA, Kim PS: Inhibiting HIV-1 entry: discovery of D-peptide inhibitors that target the gp41 coiled-coil pocket. *Cell* 99: 103-115, 1999.
- 25) Kilby JM, Hopkins S, Venetta TM, DiMassimo B, Cloud GA, Lee JY, Alldredge L, Hunter E, Lambert D, Bolognesi D, Matthews T, Johnson MR, Nowak MA, Shaw GM, Saag MS: Potent suppression of HIV-1 replication in humans by T-20, a peptide inhibitor of gp41-mediated virus entry. *Nat Med* 4: 1302-1307, 1998.
- 26) Stremmlau M, Owens CM, Perron MJ, Kiessling M, Autissier P, Sodroski J: The cytoplasmic body compo-

- nent TRIM5alpha restricts HIV-1 infection in Old World monkeys. *Nature* 427: 848-853, 2004.
- 27) Luban J, Bossolt KL, Franke EK, Kalpana GV, Goff SP: Human immunodeficiency virus type 1 Gag protein binds to cyclophilins A and B. *Cell* 73: 1067-1078, 1993.
- 28) Darlix JL, Lapadat-Tapolsky M, de Rocquigny H, Roques BP: First glimpses at structure-function relationships of the nucleocapsid protein of retroviruses. *J Mol Biol* 254: 523-537, 1995.
- 29) Harris RS, Liddament MT: Retroviral restriction by APOBEC proteins. *Nat Rev Immunol* 4: 868-877, 2004.
- 30) Bukrinskaya A, Brichacek B, Mann A, Stevenson M: Establishment of a functional human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcription complex involves the cytoskeleton. *J Exp Med* 188: 2113-2125, 1998.
- 31) Sherman MP, Greene WC: Slipping through the door: HIV entry into the nucleus. *Microbes Infect* 4: 67-73, 2002.
- 32) Fassati A, Gorlich D, Harrison I, Zaytseva L, Mingot JM: Nuclear import of HIV-1 intracellular reverse transcription complexes is mediated by importin 7. *EMBO J* 22: 3675-3685, 2003.
- 33) Heinzinger NK, Bukinsky MI, Haggerty SA, Ragland AM, Kewalramani V, Lee MA, Gendelman HE, Ratner L, Stevenson M, Emerman M: The Vpr protein of human immunodeficiency virus type 1 influences nuclear localization of viral nucleic acids in nondividing host cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 7311-7315, 1994.
- 34) Ikeda T, Nishitsuji H, Zhou X, Nara N, Ohashi T, Kannagi M, Masuda T: Evaluation of the functional involvement of human immunodeficiency virus type 1 integrase in nuclear import of viral cDNA during acute infection. *J Virol* 78: 11563-11573, 2004.
- 35) Daniel R, Katz RA, Skalka AM: A role for DNA-PK in retroviral DNA integration. *Science* 284: 644-647, 1999.
- 36) Chen H, Engelman A: The barrier-to-autointegration protein is a host factor for HIV type 1 integration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95: 15270-15274, 1998.
- 37) Farnet CM, Bushman FD: HIV-1 cDNA integration: requirement of HMG I(Y) protein for function of preintegration complexes in vitro. *Cell* 88: 483-492, 1997.
- 38) Schroder AR, Shinn P, Chen H, Berry C, Ecker JR, Bushman F: HIV-1 integration in the human genome favors active genes and local hotspots. *Cell* 110: 521-529, 2002.
- 39) Vanegas M, Llano M, Delgado S, Thompson D, Peretz M, Poeschla E: Identification of the LEDGF/p75 HIV-1 integrase-interaction domain and NLS reveals NLS-independent chromatin tethering. *J Cell Sci* 118: 1733-1743, 2005.
- 40) Okamoto T, Sakurada S, Yang JP, Merin JP: Regulation of NF-kappa B and disease control: identification of a novel serine kinase and thioredoxin as effectors for signal transduction pathway for NF-kappa B activation. *Curr Top Cell Regul* 35: 149-161, 1997.
- 41) Mancebo HS, Lee G, Flygare J, Tomassini J, Luu P, Zhu Y, Peng J, Blau C, Hazuda D, Price D, Flores O: P-TEFb kinase is required for HIV Tat transcriptional activation in vivo and in vitro. *Genes Dev* 11: 2633-2644, 1997.
- 42) Cullen BR: Nuclear mRNA export: insights from virology. *Trends Biochem Sci* 28: 419-424, 2003.
- 43) Zimmerman C, Klein KC, Kiser PK, Singh AR, Firestein BL, Riba SC, Lingappa JR: Identification of a host protein essential for assembly of immature HIV-1 capsids. *Nature* 415: 88-92, 2002.
- 44) Ono A, Freed EO: Cell-type-dependent targeting of human immunodeficiency virus type 1 assembly to the plasma membrane and the multivesicular body. *J Virol* 78: 1552-1563, 2004.
- 45) Morita E, Sundquist WI: Retrovirus budding. *Annu Rev Cell Dev Biol* 20: 395-425, 2004.
- 46) Garrus JE, von Schwedler UK, Pornillos OW, Morham SG, Zavitz KH, Wang HE, Wettstein DA, Stray KM, Cote M, Rich RL, Myszkowski DG, Sundquist WI: Tsg101 and the vacuolar protein sorting pathway are essential for HIV-1 budding. *Cell* 107: 55-65, 2001.

# **Outline of the HIV Replication and its Cellular Factors: the Track of an Invader in Cell**

**Yoshio KOYANAGI**

Laboratory of Viral Pathogenesis  
Institute for Virus Research, Kyoto University  
53 Shougoinkawahara cho, Sakyou-ku, Kyoto 606-8507, Japan  
e-mail : [ykoyanag@virus.kyoto-u.ac.jp](mailto:ykoyanag@virus.kyoto-u.ac.jp)

A number of novel findings with reference to HIV replication have been reported even though it passed more than 20 years after a first HIV isolation. Although many cellular factors are known to be involved in the HIV replication, recently investigators discovered novel HIV-suppressive cellular factors such as APOBEC or TRIM5  $\alpha$  . Here, I describe and discuss how HIV uses the cellular machinery for its replication.