

4. ウイルス発癌の新しい分子機構— レトロウイルス由来構造タンパク質エンベロープを利用した 細胞トランスフォーメーション

前田 直良^{1,2)}, 吉開 泰信¹⁾

九州大学

1 生体防御医学研究所附属感染防御研究センター 感染制御学分野

2 デジタルメディスン・イニシアティブ バイオインフォマティクス部門

レトロウイルスの中でも、宿主に腫瘍を引き起こす RNA 腫瘍ウイルスは、1908 年の最初の報告以来この 100 年の間に、トリ、マウス、ラット、あるいはヒトなどから分離、同定されている。その歴史上から RNA 腫瘍ウイルスは、急性発癌型と慢性発癌型とに分類されてきた。急性発癌型 RNA 腫瘍ウイルスは、基本的に自己複製欠損性であるが、細胞染色体由来の癌遺伝子を持ち、その発現によって短期間で宿主に腫瘍を引き起こす。最初に同定された癌遺伝子は、Rous sarcoma virus より分離された *src* と呼ばれる非受容体型チロシンキナーゼで、シグナル伝達において重要な役割を担っていることが知られている。一方、慢性発癌型 RNA 腫瘍ウイルスは、*gag*, *pro*, *pol*, *env* 領域のみで構成され、細胞由来の癌遺伝子を持たないが、自己複製可能であることから、宿主染色体への組み込み後、ウイルス long terminal repeat によってその近傍の原癌遺伝子を活性化することにより、長期間かけて腫瘍を引き起こす、いわゆる promoter insertion である。これまでの研究により、これらが RNA 腫瘍ウイルス発癌の分子機構として考えられてきていた。しかし非常に最近になって、ウイルス由来構造タンパク質であるエンベロープが直接宿主に腫瘍を引き起こす、あるいは培養細胞をトランスフォームすることが報告されてきている。これらは、エンベロープが細胞をトランスフォームする極めて稀な例である。本稿では、RNA 腫瘍ウイルスによる発癌分子機構の研究の歴史を振り返るとともに、レトロウイルスエンベロープタンパク質を介した細胞トランスフォーメーションの分子機構に関する最近の研究展開について論述する。

はじめに

レトロウイルスは、一本鎖 RNA を遺伝子として持ち、その遺伝子は大きく分けて long terminal repeat (LTR), *gag*, *pro*, *pol*, *env* 領域から構成され、感染後ウイルス由来の

逆転写酵素により RNA から相補的 DNA を合成し、インテグラーゼにより宿主染色体中にウイルス DNA を挿入するウイルスの総称である。レトロウイルスの中でも、宿主に腫瘍を引き起こす RNA 腫瘍ウイルスは、様々な様式で宿主に癌を引き起こす。本稿では、RNA 腫瘍ウイルスによる発癌の分子機構を大きく 4 つに分類し、それぞれの特徴を比較しながら論述する。

連絡先

〒 812-8582 福岡市東区馬出 3 丁目 1-1
九州大学
TEL: 092-642-6962
FAX: 092-642-6973
E-mail: maeda@bioreg.kyushu-u.ac.jp

1. 細胞由来ウイルス癌遺伝子による トランスフォーメーション

1908 年, Wilhelm Ellermann と Oluf Bang によるトリの白血病の報告が最も古いものと考えられている⁴⁴⁾. 1911 年, Peyton Rous がニワトリの腫瘍をすりつぶした濾過液

表1 主な RNA 腫瘍ウイルスと癌遺伝子/調節遺伝子
(グループ各数字は本文、及び図1に対応)

グループ	ウイルス	癌遺伝子/調節遺伝子
1	Rous sarcoma virus	<i>src</i>
	Fujinami sarcoma virus	<i>fps</i>
	Abelson murine leukemia virus	<i>abl</i>
	Avian erythroblastosis virus	<i>erbB</i>
	Avian retrovirus RPL30	<i>eyk</i>
	Avian sarcoma virus	<i>ros</i>
	Moloney murine sarcoma virus	<i>mos</i>
	Murine lymphoma virus AKT8	<i>akt</i>
	Murine sarcoma virus 3611	<i>raf</i>
	Harvey murine sarcoma virus	<i>H-ras</i>
	Kirsten murine sarcoma virus	<i>K-ras</i>
	Avian myelocytoma virus MC29	<i>myc</i>
	FBJ murine sarcoma virus	<i>fos</i>
Avian sarcoma virus 17	<i>jun</i>	
Simian sarcoma virus	<i>sis</i>	
2	Human T-cell leukemia virus	<i>tax</i>
	Simian T-cell leukemia virus	<i>tax</i>
	Bovine leukemia virus	<i>tax</i>
3	Avian leukosis virus	なし
	Moloney murine leukemia virus	なし
4	Friend spleen focus-forming virus	deleted <i>env</i>
	Avian hemangioma virus	<i>env</i>
	Jaagsiekte sheep retrovirus	<i>env</i>
	Enzootic nasal tumor virus	<i>env</i>
	Mouse mammary tumor virus	<i>env</i>

を正常なニワトリに注射してがんを起こすことに成功し、濾過液中のウイルスは Rous sarcoma virus (RSV) として広く知られている⁴⁴⁾。トリから始まった RNA 腫瘍ウイルス研究は、その後マウスやラットでも数多く分離された⁷⁴⁾(表1, グループ1)。興味深いことに、急性発癌型 RNA 腫瘍ウイルスは、*gag, pro, pol, env* 領域の一部分、あるいは大部分が欠失していることが多く、そのために自己複製ができない。その複製には、ヘルパーウイルスの混在が必要とされる。しかしながら細胞染色体由来の癌遺伝子を持ちあわせており、その発現によって比較的短期間で宿主に腫瘍を引き起こす(図1-1)。この事実は、ウイルスの増殖と発癌は、それぞれ別個の現象として考えることができるという概念を生み出した。1950年代になると、Renato Dulbeccoにより、殺細胞効果を示す動物ウイルスの定量法(プラークアッセイ)が開発され、更にその門下生 Harry Rubin と Howard Temin により、ニワトリ初代培養細胞を用いて、殺細胞効果を示さない RSV のプラークアッセイが開発され、1個のウイルスが細胞上に1個のフォーカスをつくることが示された。すなわちそれまで複雑だと考えられてきた個体の発癌が、単純に試験管内の培養細胞で再現可能と

なり、定量可能となった⁴⁴⁾。1970年、レトロウイルス粒子から、RNA から DNA の合成を触媒する逆転写酵素が David Baltimore と Howard Temin により発見された^{4,89)}。この逆転写酵素によりウイルス RNA は DNA へ変換され、更にプロウイルスとして宿主染色体に組込まれることが示され、その特有の生活環が明らかになった。逆転写酵素の発見、更に分子生物学的手法の発展により、RSV ウイルス癌遺伝子 *src* チロシンキナーゼが、実は細胞染色体中に存在することが、Harold Varmus と Michael Bishop により発見された⁸⁶⁾。その後、ウイルスゲノム中に同定された数多くの癌遺伝子は、非受容体型チロシンキナーゼ *src, fps, abl*, 受容体型チロシンキナーゼ *erbB, eyk, ros*, セリンスレオニンキナーゼ *mos, akt, raf*, Gタンパク質 *H-ras, K-ras*, 転写因子 *myc, fos, jun*, 増殖因子 *sis* など様々であるが、いずれも細胞増殖におけるシグナル伝達において機能する分子である⁷⁴⁾(表1, グループ1)。非常に重要な報告は1982年、Robert Weinberg らによるヒト膀胱癌からの *H-ras* 遺伝子の発見である⁶⁶⁾。もともとラットより分離された Harvey murine sarcoma virus に見出された *H-ras* 遺伝子が、ヒト癌において変異し活性化していたので

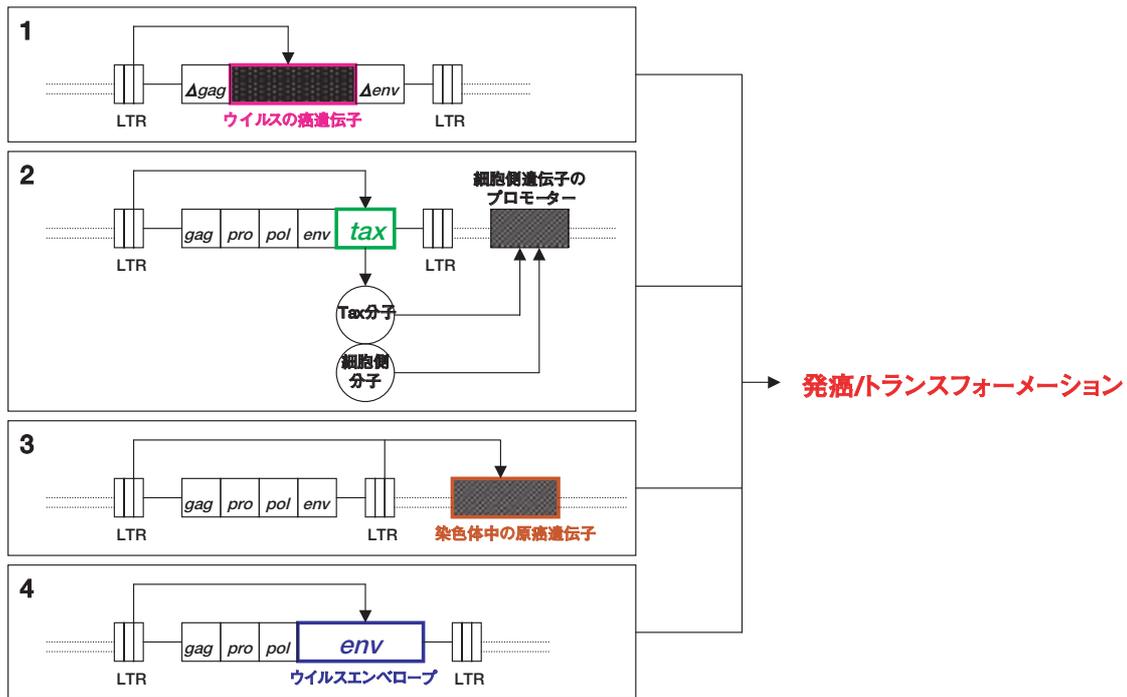


図1 RNA 腫瘍ウイルスによる発癌分子機構 (各数字は本文、及び表1に対応)

1. 細胞由来ウイルス癌遺伝子の発現
2. ウイルス調節遺伝子による細胞側遺伝子の *trans* 活性化
3. Promoter insertion による宿主染色体中の原癌遺伝子の *cis* 活性化
4. ウイルス由来エンベロープの発現

ある。これは、長い間別のもと考えられてきたウイルス発癌研究とヒト癌遺伝子研究とが結びついた瞬間である。その後ヒト癌研究は急速に展開し、様々な要因で発症する癌が、遺伝子の異常という共通の分子メカニズムで説明できるようになり、今日の癌遺伝子という概念の基礎となった。したがって、レトロウイルスの基礎研究は、現在の癌遺伝子、及びシグナル伝達経路の研究の発展において非常に重要な役割を演じてきた。

2. ウイルス調節遺伝子によるトランスフォーメーション

このような歴史上、レトロウイルスと発癌の研究は、主にトリやマウスのレトロウイルスを中心に展開されてきた。ヒトにおいては、1980年代になり、成人T細胞白血病 (adult T-cell leukemia; ATL) と呼ばれるTリンパ球の腫瘍⁹⁰⁾の発症に関与するRNA腫瘍ウイルスとして、ヒトT細胞白血病ウイルスI型 (Human T-cell leukemia virus type I; HTLV-I) が発見されている^{27,68)} (表1, グループ2)。ATL細胞中には、HTLV-Iがモノクローナルに組み込まれている。興味深いことに、HTLV-Iは細胞由来の癌遺伝子を持たないが、*gag*, *pro*, *pol*, *env*領域に加えて、*env*と3'側LTRの間に調節タンパク質群をコードする*pX*領域

が存在する⁹⁹⁾。この調節タンパク質の中の1つであるTaxは、LTRに作用してウイルス遺伝子の転写を増加させるだけでなく、宿主転写因子NF- κ B, CREB, SRFなどとの相互作用を介して細胞側遺伝子の転写を活性化したり、あるいは細胞周期因子CDKインヒビターp15^{INK4b}, p16^{INK4a}と相互作用することによりその阻害機能を抑制したりするなど、多くの機能を持つ⁹⁹⁾。すなわち、Taxによる細胞遺伝子の*trans*活性化である(図1-2)。このような複数の協調的な作用により、HTLV-Iは感染細胞の増殖を促進し、一方で細胞周期やアポトーシスを抑制することにより、ATLを発症するものと考えられている。事実、HTLV-IはT細胞をトランスフォームすることや^{50,98)}、またTaxがマウス線維芽細胞NIH-3T3やラット線維芽細胞Rat-1をトランスフォームすることから⁸⁸⁾、Taxが細胞腫瘍化に深く関与していることは間違いない。このような性質から、HTLV-IはむしろDNA腫瘍ウイルスに近いかもしれない。しかし、Taxは細胞傷害性Tリンパ球の主な標的抗原であるため、Taxの過剰発現は感染細胞にとって時に負の効果を伴う。また、発癌の最終段階であるATL細胞では、5'側LTRが欠損、あるいはCpGメチル化したプロウイルスを持つものが多く、ウイルス遺伝子発現が制御されているた

め Tax タンパク質を産生できない例がある⁴⁵⁾。これらの事実から、細胞腫瘍化の初期過程における *tax* 遺伝子発現の重要性と、HTLV-I 感染から ATL 発症までの長い潜伏期間中に宿主染色体変異が蓄積し、Tax に依存しない増殖能を ATL 細胞は獲得した可能性が示唆される。最近になって、3' 側 LTR から発現する mRNA, HTLV-I basic leucine zipper factor (HBZ) が同定された²³⁾。HBZ は、ATL 細胞株、及び新鮮腫瘍細胞の全てにおいて発現が見られ、また HBZ に対する RNAi の発現により ATL 細胞株の増殖が抑制されることから⁷⁹⁾、発癌において重要な役割があると考えられている。

3. promoter insertion による宿主染色体中の原癌遺伝子の活性化

それでは細胞由来の癌遺伝子、あるいは調節遺伝子を持たない、自己複製可能な慢性発癌型ウイルス (表 1, グループ 3) はどのような機構で腫瘍を引き起こすのであろうか? Avian leukosis virus (ALV) が誘導した B 細胞リンパ腫における、染色体中のウイルス組込み部位を検査した結果、染色体中の特定の部位にウイルスが挿入されていて、その下流に *myc* というトリの白血病を起こすウイルス遺伝子と相同性をもつ遺伝子が存在することが見出された^{26,53)}。この現象は、細胞内の *myc* 遺伝子の近傍にウイルス遺伝子が組込まれた結果、ウイルスの LTR を起点として *myc* 遺伝子が活性化されたものと考えられ、promoter insertion という概念が提唱された。すなわち、レトロウイルス LTR の組込みによる、宿主染色体上の原癌遺伝子の *cis* 活性化である (図 1-3)。レトロウイルス特有の生活環が引き起こす興味深い現象であり、複製をとまなうという特徴上、ウイルス感染後長い潜伏期間を経て腫瘍を形成する。

4. レトロウイルス由来エンベロープタンパク質によるトランスフォーメーション

以上の例が、レトロウイルス研究の歴史上、主要な発癌の分子機構と考えられてきた。しかしながら、近年これらの分子機構に加えて、レトロウイルス由来構造タンパク質エンベロープが直接宿主に腫瘍を引き起こす、あるいは培養細胞をトランスフォームすることが報告されてきている (図 1-4)。1990 年の最初の報告例である Friend spleen focus-forming virus から順に論述したい (表 1, グループ 4)。

(1) Friend spleen focus-forming virus (SFFV)

レトロウイルス由来のエンベロープタンパク質が発癌に関与すると報告された最初の例である³⁴⁾。SFFV は、Friend mink cell focus-inducing murine leukemia virus (F-MCF MuLV) に類似したマウスレトロウイルスであるが、F-MCF MuLV と異なり SFFV は erythropoietin 非依存的な erythroleukemia をマウスに発症する⁷⁸⁾。その違い

はどこに起因するのか? SFFV エンベロープは F-MCF MuLV と同様に外来性 polytropic エンベロープ遺伝子に由来する SU ドメイン gp70 と、F-MuLV エンベロープ遺伝子に由来する TM ドメイン p15E から構成されるが、SFFV エンベロープにおいては、gp70 から 107 アミノ酸、p15E から 88 アミノ酸が欠損した両ペプチドが再度共有結合した短縮型であり、gp55 と呼ばれている。この欠損によりエンベロープ加水分解領域も消失しているので、プロテアーゼによる gp55 の SU/TM ドメイン加水分解は起こらない⁷⁸⁾。また、p15E に相当する領域に 1 塩基対の挿入があり、通常より 34 アミノ酸短い細胞内領域となっている。このユニークな細胞内領域が SFFV の病原性を決定している因子の一つではないかと考えられている。この短縮型 *env* 遺伝子産物 gp55 が、erythropoietin レセプターと相互作用することにより、erythropoietin 非依存的な細胞増殖シグナル伝達経路を活性化し、標的細胞、特に赤芽球前駆細胞の増殖と終分化を強く誘導すると考えられている³⁴⁾。Erythroleukemia HCD-57 細胞を用いた解析により、Stat1/3^{58,59)}、Raf-1-MEK-MAPK⁵¹⁾、Ras⁵²⁾、protein kinase C⁵²⁾、PI3k-Akt⁵⁴⁾、JNK⁵⁶⁾ が恒常的に活性化することが報告されている。

その他の erythroleukemia 発症機構の因子として、Fv-2 が挙げられる。Balb/c マウスが SFFV に感受性を示す一方で、C57BL/6 などの一部のマウスでは、高い感染価の SFFV を感染させても erythroleukemia を発症しない。C57BL/6 らの系統が持つ SFFV 抵抗性遺伝子が、マウス 9 番染色体上に存在する Fv-2 である^{35,87)}。Fv-2 遺伝子は近年、造血系細胞で発現する受容体型チロシンキナーゼ Stk をコードしていることが報告された⁶⁷⁾。Stk²⁹⁾ はヒト RON⁷³⁾ のマウスホモログである。SFFV 感受性の Fv-2 アリルでは、全長型 Stk とともに、細胞外ドメインを欠失した短縮型 sf-Stk が発現している。SFFV 抵抗性の Fv-2 アリルでは、*stk* 遺伝子のイントロンに 3 塩基の欠失があり、その部位に存在する alternate プロモーター機能が欠損するため、短縮型 sf-Stk が発現しない。erythropoietin レセプターを強制発現させた BaF3 細胞中で、gp55 は erythropoietin レセプターと相互作用する一方で、sf-Stk とも相互作用することが示された⁵⁵⁾。これらタンパク質の crosstalk によって、sf-Stk はリン酸化を受け、更に SHIP, Cbl, Shc などのタンパク質と相互作用し、これらを恒常的にリン酸化している。また SFFV 感染マウスより樹立された erythroleukemia 細胞株 DS19 中においても、sf-Stk の恒常的なリン酸化が観察されている⁵⁵⁾。更に興味深いことに、sf-Stk を発現していない NIH-3T3 細胞やラット線維芽細胞 208F 細胞に sf-Stk を gp55 と共に強制発現させることにより、これらの細胞をトランスフォームすることが示された⁵⁷⁾。また、Jak2 はマウス線維芽細胞のトランスフォーメーションに必須ではないことが示された⁵⁷⁾。これらの事実から、SFFV 感染による細胞トランスフォーメーションにおいて、sf-Stk の

重要性が示唆されている。

(2) Avian hemangioma virus (AHV)

血管内皮細胞の異常増殖をもたらす血管腫瘍を誘導するトリのウイルスで、孵化時にウイルスを接種することにより、3～10ヶ月で全体の約30%に血管腫瘍を誘導する⁶⁾。誘導された腫瘍からウイルス粒子が観察され⁸³⁾、ウイルス遺伝子も分離されている。AHVは細胞由来の癌遺伝子を持たないが、他のトリレトロウイルス分離株と比較すると、エンベロープとLTRにユニークな塩基配列が存在している⁷⁾。SUドメインgp85の発現により、ウシ大動脈内皮細胞BAECにアポトーシスを誘導し、殺細胞効果を示す^{71,72,80)}。その一方で、全長のエンベロープgp122は、NIH-3T3細胞やサル上皮細胞BSC-1をトランスフォームすることが報告された²⁾。ただし、SUドメインgp85のみの発現では細胞はトランスフォームしないことから、TMドメインgp37が協調的にトランスフォーメーション活性に寄与していることが示唆されている。異なった細胞を用いてエンベロープを発現させると、アポトーシスと細胞増殖のどちらも誘導されたことは大変興味深い。また、自己複製可能なウイルスであることからSFFVとは異なっており、AHV特有のトランスフォーメーション機構の存在が考えられる。しかしながら、2000年の報告以降、その分子機構解析に関する続報がないため、その詳細については今のところ不明である。

(3) Jaagsiekte sheep retrovirus (JSRV)

ヒツジに肺腺癌 (ovine pulmonary adenocarcinoma; OPA) を引き起こすベータレトロウイルスである¹⁶⁾。細胞由来癌遺伝子を持たず、構造タンパク質をコードする *gag*, *pro*, *pol*, *env* 領域から成る単純レトロウイルスであるが、機能不明な *orf-x* 領域が *pol* 領域上に存在する⁶¹⁾。OPAはヒト細気管支肺胞上皮癌 (bronchioloalveolar carcinoma; BAC) に病理学的に類似しており、OPAはBACの唯一の動物モデルとして有用と考えられている。近年、JSRVのinfectious molecular clone pCMV2JSRV21の分離によって、培養細胞を用いた解析が可能となり^{61,62)}、またpCMV2JSRV21のヒト293T細胞中での強制発現によって産生したウイルス粒子の接種によって、ヒツジに肺癌を発症できることが報告された⁶¹⁾。すなわち、JSRV単独の発現により肺癌が発症することが証明されたのである。しかしながら、その肺癌発症機構に関しては長く不明であった。pCMV2JSRV21をNIH-3T3細胞、及びラット線維芽細胞Rat-6にトランスフェクションした結果、細胞上にフォーカス形成が観察され、JSRV自体に細胞をトランスフォームする能力があることが見出された⁴⁰⁾。また同手法にて、*env* 遺伝子領域にコードされる全長のエンベロープに癌遺伝子活性が存在することが見出された⁴⁰⁾。この過程で、*orf-x*

遺伝子領域は直接トランスフォーメーションに関与していないことも示された⁴⁰⁾。*orf-x* 遺伝子領域を欠損したウイルス粒子の接種により肺癌が誘導されたことから、*Orf-x*が直接肺癌誘導に関与していないことが明らかとなった¹⁴⁾。NIH-3T3細胞、Rat-6細胞以外にも、208F細胞^{1,10,28,36,37,49,70,100)}、トリ線維芽細胞DF-1^{3,100)}、ラット上皮細胞RK3E^{28,42,43)}、及びIEC-18⁹²⁾、イヌ上皮細胞MDCK³⁸⁾、ヒト上皮細胞BEAS-2B¹⁵⁾がエンベロープによってトランスフォームすることが報告されている。

ヒツジ染色体中には、約15から20コピーの内在性ヒツジレトロウイルスが存在し、少なくとも3つの分子クローンが分離されている⁶⁴⁾。その中の1つenJS56A1のエンベロープは、げっ歯類線維芽細胞をトランスフォームする能力が欠失していることが示された⁶⁵⁾。発癌性JSRVエンベロープ(615アミノ酸)と内在性enJS56A1エンベロープ(611アミノ酸)のアミノ酸配列を比較すると、細胞内領域を含んだC末端のアミノ酸配列は、JSRV(68アミノ酸)とenJS56A1(64アミノ酸)の間で保存されておらず、Variable region 3 (VR3)と呼ばれている⁶⁴⁾。JSRVエンベロープSUドメインのみの発現ではNIH-3T3細胞はトランスフォームしないことや⁴⁰⁾、TMドメインのみの発現で208F細胞がトランスフォームすることから¹⁰⁾、トランスフォーメーションにおけるJSRVエンベロープの細胞内領域の重要性が示唆されている。JSRVエンベロープのC末端細胞内領域44アミノ酸の全てを、一つ一つアラニンに置換して解析するアラニンスキニング法により、トランスフォーメーションに関与するアミノ酸と、関与しないアミノ酸にすみ分けされた²⁸⁾。中でも細胞内領域のチロシン残基Y590は、そのトランスフォーメーション活性の中心的役割を担っていると考えられている^{1,3,28,37,38,41,42,65,92,100)}。しかし、Y590を含め、JSRVエンベロープはリン酸化されておらず^{37,38)}、またキナーゼドメインを持たないため、どのようなタンパク質間相互作用によって細胞をトランスフォームするのかが大変興味深いところである。ひとつの可能性として、受容体型チロシンキナーゼRONの関与が示唆されているが^{15,38,49,92)}、その詳細は不明である。またSFFVと同様に、JSRVがそのレセプターと相互作用することにより、細胞内シグナル伝達経路を活性化し、トランスフォーメーションを起こすことが当初予想された。Human/Hamster radiation hybrid細胞株を用いたスクリーニングにより、ヒト染色体3p21.3上にJSRVのレセプターHyaluronidase-2 (Hyal-2)が同定された^{69,70)}。Hyal-2は、GPIアンカー型膜タンパク質であるが⁷⁰⁾、可溶性も存在する⁹³⁾。その生理学的機能はヒアルロン酸の分解であると考えられるが、それはJSRVエンベロープとの相互作用における機能に必須ではないことが報告されている⁹⁴⁾。Hyal-2は、ヒト肺癌などでしばしば欠失の見られる染色体3p21.3から分離されたことから、当初は癌抑制遺伝子として機能

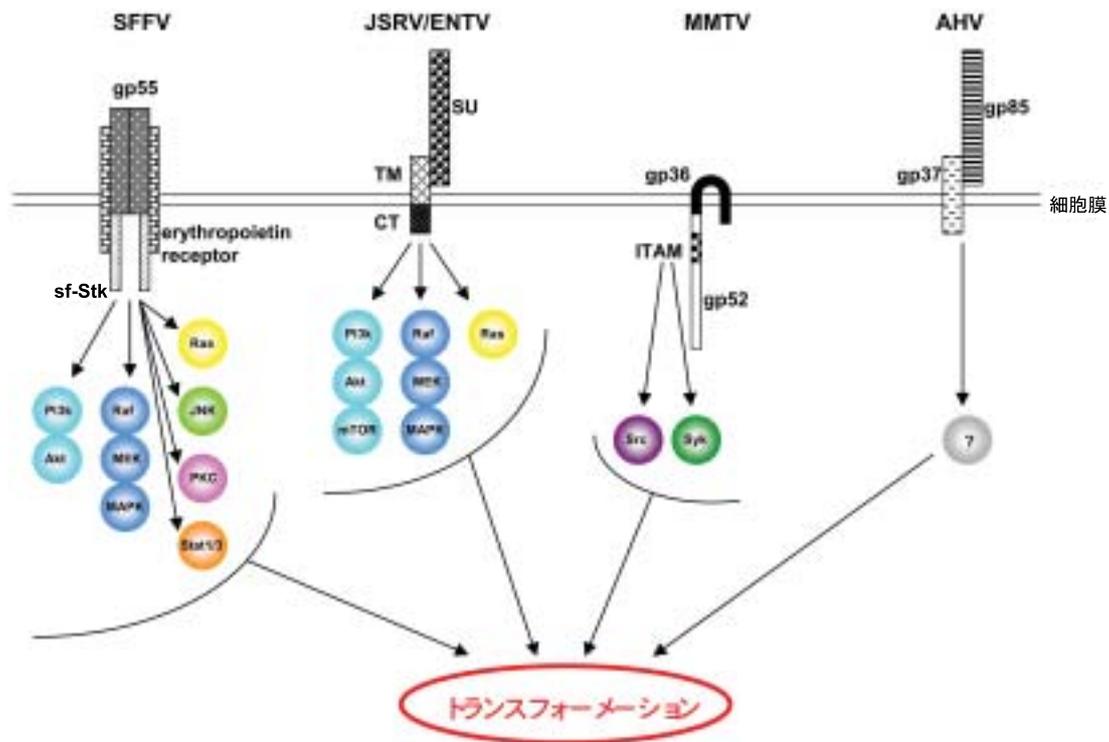


図2 レトロウイルス由来構造タンパク質エンベロープによるトランスフォーメーション機構

しているのではないかと考えられた。Hyal-2の強制発現は、細胞のトランスフォーメーションを抑制してしまうこと³⁶⁾、マウス由来のHyal-2はJSRVエンベロープと相互作用しないこと^{21,36)}、あるいはHyal-2結合部位を欠失したエンベロープにトランスフォーメーション活性が存在することから¹⁰⁾、Hyal-2の細胞トランスフォーメーションへの関与に関しては否定的である。また、トランスフォーメーションを起こさないenJS56A1もHyal-2と相互作用する⁸⁵⁾。

培養細胞をトランスフォームするシグナル伝達経路として、Ras-MEK-MAPK経路とPI3K-Akt-mTOR経路の関与が示唆されてきている⁴²⁾。興味深いことに、p38が恒常的に活性化していることも見出されている⁴²⁾。ヒツジ腫瘍組織の免疫染色により、Raf-1、MEK1/2、及びp44/p42 (ERK)のリン酸化が観察されており^{9,18,42)}、*in vitro*同様に、肺癌発症におけるRaf-MEK-MAPK経路の重要性が示唆されている。また、エンベロープ遺伝子のみを持った自己複製欠損性のウイルス接種により、ヒツジに肺癌を発症できることが示された⁹⁾。肺癌進行において、promoter insertionによる細胞遺伝子の活性化が関与している可能性は否定できず、ウイルス遺伝子組込み部位を解析した報告もあるが¹³⁾、エンベロープ単独発現による肺癌誘導が成功したことから、少なくとも肺癌発症においてはエンベロープタンパク質が関与していることは間違いないと考えられ

る。またC57BL/6バックグラウンドのRag-2ノックアウトマウスに、アデノ随伴ウイルス6型 (adeno-associated virus type 6; AAV6) ベクターによってJSRVエンベロープを発現させることにより、マウスにおいても肺癌が誘導されることが報告されている⁹⁵⁻⁹⁷⁾。

(4) Enzootic nasal tumor virus (ENTV)

JSRVに高い相同性を有するENTVは、ヒツジやヤギの鼻腔に腫瘍 (enzootic nasal adenocarcinoma; ENA) を形成するベータレトロウイルスである¹⁷⁾。これまでに、ENTV-1^{11,12)}、ならびにENTV-2⁶⁰⁾が分離、同定されている。JSRV同様にenv遺伝子領域にコードされる全長のエンベロープに、NIH-3T3細胞^{1,20,36,37)}、208F細胞^{1,36,37)}、RK3E⁴³⁾、イヌ上皮細胞MDCK³⁸⁾をトランスフォームする能力があることが示された。ENTVのレセプターもHyal-2であるが、未同定のセカンドレセプターの存在が示唆されている⁹¹⁾。Hyal-2のトランスフォーメーションへの関与に関しては、JSRV同様否定的である。腫瘍組織の免疫染色により、Raf-1、MEK1/2、及びp44/p42 (ERK)のリン酸化が観察されており^{18,42)}、Raf-MEK-MAPK経路の鼻腔内腫瘍発症への関与が示唆されている。JSRVエンベロープとENTVエンベロープのアミノ酸配列を比較すると、VR3のアミノ酸配列は、JSRV (68アミノ酸) とENTV (70ア

ミノ酸)の間でも保存されていないが、細胞内領域のチロシン残基 Y590 は保存されており、そのトランスフォーメーション活性の中心的役割を担っていると考えられている^{1,37,38}。これらの報告から、ENTV と JSRV の発癌分子機構は極めて類似しているものと考えられる^{1,37,38,43}。大変興味深いことに、C57BL/6 バックグラウンドの Rag-2 ノックアウトマウスに、AAV6 ベクターによって ENTV エンベロープを発現させると、JSRV エンベロープ同様に Rag-2 ノックアウトマウスに肺癌が発症することが報告された⁹⁶。これらの事実から、JSRV/ENTV のトロピズムを決定している因子はエンベロープではなく、LTR であると考えられている。マウス肺由来の細胞株 (type II pneumocyte 由来 MLE-15, 及び Clara 細胞由来 mtCC1-2) を用いたレポーターアッセイにおいて、JSRV LTR が両細胞中で特異的活性を示すことが示されており、その活性化には転写因子 hepatocyte nuclear factor 3 β (HNF-3 β) の結合が重要な因子の一つであることが報告されている^{46-48,63}。同レポーターアッセイにより、MLE-15, 及び mtCC1-2 中での ENTV LTR の活性は、JSRV LTR と比較して約 80 から 90% 低いことが示されており、その要因として、ENTV LTR 内の HNF-3 β 結合部位の欠失が考えられている⁴⁸。これらが、JSRV/ENTV の腫瘍発症部位の相違を決定している要因の一つであると考えられている。

(5) Mouse mammary tumor virus (MMTV)

1936 年に John Bittner によりミルク因子として発見された、細胞由来の癌遺伝子を持たない単純レトロウイルスであり⁸、また JSRV/ENTV と近縁のベータレトロウイルスである。したがってこれまでに、promoter insertion による染色体遺伝子 *Int1/Wnt1* や *Int2/Fgf3* などの関与⁸、また最近では *Int7/FLTL* の関与が報告されている³⁹。ところがその一方で、MMTV エンベロープによる細胞トランスフォーメーションが報告された^{31,77}。MMTV のエンベロープの SU ドメイン gp52 には、YXX (L/I) X₆₋₈-YXX (L/I) 配列として知られる immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM) が存在する。この配列を介して、チロシンキナーゼである Src や Syk と結合し、細胞内シグナル伝達経路を活性化することにより、マウス上皮細胞 NMuMG やヒト上皮細胞 MCF-10F をトランスフォームすると考えられている。エンベロープの SU ドメインは通常細胞外に存在し、ウイルス感染時などに機能すると考えられているが、gp52 中には疎水性アミノ酸で構成された細胞膜貫通領域が 4 箇所存在することから、ITAM が細胞内に位置できるような特殊な構造を形成する可能性が示唆されている³¹。ITAM が発癌に関与している例はレトロウイルス MMTV に限らず、ヘルペスウイルス Epstein-Barr virus (EBV) の latent membrane protein 2A (LMP2A)^{5,22} や Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) の

K1^{32,33}) においても報告がある。また、レトロウイルス bovine leukemia virus (BLV) のエンベロープ TM ドメイン gp30 が ITAM を持つことが報告されている⁵。BLV は HTLV に類似したデルタレトロウイルスであり (表 1, グループ 2), HTLV Tax 様調節タンパク質 p34^{tax} が H-ras と協調的に細胞をトランスフォームする能力があることが示されている²⁴。エンベロープ TM ドメイン gp30 の ITAM がトランスフォーメーションに関与しているという報告はないが、エンベロープに存在する ITAM としてその機能は大変興味深い。また、B 細胞レセプター抗原由来の ITAM を含んだ細胞内領域の発現により、細胞がトランスフォームすることも報告されている²⁵。最近 Mouse/Hamster radiation hybrid 細胞株を用いたスクリーニングにより、MMTV のレセプター mouse transferrin 1 (mTfR1) が同定されたが⁷⁶、mTfR1 の細胞トランスフォーメーションへの積極的な関与は今のところ報告されていない。

おわりに

本総説を通じて、これまでの RNA 腫瘍ウイルス発癌の歴史を振り返るとともに、エンベロープを介したトランスフォーメーション機構に関して論述した。それぞれのエンベロープにはそれぞれ特異的なアミノ酸配列や活性があり、トランスフォーメーション誘導機構は異なっている。しかし共通に言えることは、細胞内のチロシンキナーゼ、セリンスレオニンキナーゼ、あるいは G タンパク質などを巧みに利用し、細胞内シグナル伝達経路を恒常的に活性化することにより、細胞を増殖させる点である (図 2)。このようなエンベロープによってトランスフォーメーションを誘導できるこれらのレトロウイルスは、自己複製が可能であり、なおかつ癌遺伝子活性をも有する「スーパーウイルス」である。レトロウイルスは複製の過程で細胞の原癌遺伝子を取り込むことから、レトロウイルスの癌遺伝子は後からウイルスゲノム内に付加された外来因子である。ではエンベロープの発癌性は、もともとこれらのレトロウイルスが保有していたものなのであろうか? レトロウイルスの中には、エンベロープ遺伝子と癌遺伝子が融合した *mos*⁸¹、*mpl*⁸⁴、*ryk*³⁰、*sea*⁸²、*sis*¹⁹ などをそれぞれ持つものが報告されており、複製過程においてエンベロープの中に癌遺伝子のごく一部の領域が吸収された可能性はありうる。エンベロープが発癌性を持つことは、複製にともない細胞増殖をも誘導しうることから、宿主領域が必ずしも広くないウイルスにとっては有利にはたらくため、ウイルスが生存のために獲得した利点であるとも考えられる。

これまでに分離されたレトロウイルスの中には、細胞由来癌遺伝子を所有していないにもかかわらず、発癌誘導機構の詳細が不明なものも少なくない。また、ヒト疾患においても病因不明なものも数多く存在し、内在性、外来性問わずレトロウイルスの関与が示唆されているものもある。

今後さらに、レトロウイルスによる新しい発癌機構が発見されることが期待される。レトロウイルスと発癌、それは100年という長い歴史を通じて数多くの事象が解明されてきたにもかかわらずいまだに謎が多く、そしていまだに科学的な好奇心を寄せ付ける研究対象である⁷⁵⁾。

謝辞

本総説執筆にあたり、諸先生方に厚く御礼申し上げます（アルファベット順）。Dr. Hung Fan（University of California, Irvine）、小柳義夫先生（京都大学）、三輪正直先生（長浜バイオ大学）、柳雄介先生（九州大学）、山本直樹先生（国立感染症研究所）。

文献

- 1) Alberti A., Murgia C., Liu S.L., Mura M., Cousens C., Sharp J.M., Miller A.D., Palmarini M.: Envelope-induced cell transformation by ovine betaretroviruses. *J. Virol.* 76: 5387-5394, 2002.
- 2) Alian A., Sela-Donenfeld D., Panet A., Eldor A.: Avian hemangioma retrovirus induces cell proliferation via the envelope (*env*) gene. *Virology* 276: 161-168, 2000.
- 3) Allen T.E., Sherill K.T., Crispel S.M., Perrot M.R., Carlson J.O., DeMartini J.C.: The jaagsiekte sheep retrovirus envelope gene induces transformation of the avian fibroblast cell line DF-1 but does not require a conserved SH2 binding domain. *J. Gen. Virol.* 83: 2733-2742, 2002.
- 4) Baltimore D.: RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumor viruses. *Nature* 226: 1209-1211, 1970.
- 5) Beaufils P., Choquet D., Mamoun R.Z., Malissen B.: The (YXXL/I)2 signalling motif found in the cytoplasmic segments of the bovine leukaemia virus envelope protein and Epstein-Barr virus latent membrane protein 2A can elicit early and late lymphocyte activation events. *EMBO J.* 12: 5105-5112, 1993.
- 6) Burstein H., Gilead M., Bendheim U., Kotler M.: Viral aetiology of hemangiosarcoma outbreaks among layer hens. *Avian Pathol.* 13: 715-726, 1984.
- 7) Burstein H., Resnick-Roguel N., Hamburger J., Arad G., Malkinson M., Kotler M.: Unique sequences in the *env* gene of avian hemangioma retrovirus are responsible for cytotoxicity and endothelial cell perturbation. *Virology* 179: 512-516, 1990.
- 8) Callahan R., Smith G.H.: MMTV-induced mammary tumorigenesis: gene discovery, progression to malignancy and cellular pathways. *Oncogene* 19: 992-1001, 2000.
- 9) Caporale M., Cousens C., Centorame P., Pinoni C., De las Heras M., Palmarini M.: Expression of the jaagsiekte sheep retrovirus envelope glycoprotein is sufficient to induce lung tumors in sheep. *J. Virol.* 80: 8030-8037, 2006.
- 10) Chow Y.H., Alberti A., Mura M., Pretto C., Murcia P., Albritton L.M., Palmarini M.: Transformation of rodent fibroblasts by the jaagsiekte sheep retrovirus envelope is receptor independent and does not require the surface domain. *J. Virol.* 77: 6341-6350, 2003.
- 11) Cousens C., Minguignon E., Garcia M., Ferrer L.M., Dalziel R.G., Palmarini M., De las Heras M., Sharp J.M.: PCR-based detection and partial characterization of a retrovirus associated with contagious intranasal tumors of sheep and goats. *J. Virol.* 70: 7580-7583, 1996.
- 12) Cousens C., Minguignon E., Dalziel R.G., Ortin A., Garcia M., Park J., Gonzalez L., Sharp J.M., De las Heras M.: Complete sequence of enzootic nasal tumor virus, a retrovirus associated with transmissible intranasal tumors of sheep. *J. Virol.* 73: 3986-3993, 1999.
- 13) Cousens C., Bishop J.V., Philbey A.W., Gill C.A., Palmarini M., Carlson J.O., DeMartini J.C., Sharp J.M.: Analysis of integration sites of Jaagsiekte sheep retrovirus in ovine pulmonary adenocarcinoma. *J. Virol.* 78: 8506-8512, 2004.
- 14) Cousens C., Maeda N., Murgia C., Dagleish M.P., Palmarini M., Fan H.: *In vivo* tumorigenesis by Jaagsiekte sheep retrovirus (JSRV) requires Y590 in Env TM, but not full-length orfX open reading frame. *Virology* 367: 413-421, 2007.
- 15) Danilkovitch-Miagkova A., Duh F.M., Kuzmin I., Angeloni D., Liu S.L., Miller A.D., Lerman, M.I.: Hyaluronidase 2 negatively regulates RON receptor tyrosine kinase and mediates transformation of epithelial cells by jaagsiekte sheep retrovirus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 4580-4585, 2003.
- 16) De las Heras M., Gonzalez L., Sharp J.M.: Pathology of ovine pulmonary adenocarcinoma. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 275: 25-54, 2003.
- 17) De las Heras M., Ortin A., Cousens C., Minguignon E., Sharp J.M.: Enzootic nasal adenocarcinoma of sheep and goats. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 275: 201-223, 2003.
- 18) De las Heras M., Ortin A., Benito A., Summers C., Ferrer L.M., Sharp J.M.: In-situ demonstration of mitogen-activated protein kinase Erk 1/2 signalling pathway in contagious respiratory tumours of sheep and goats. *J. Comp. Pathol.* 135: 1-10, 2006.
- 19) Devare S.G., Reddy E.P., Law J.D., Robbins K.C., Aaronson S.A.: Nucleotide sequence of the simian sarcoma virus genome: demonstration that its acquired cellular sequences encode the transforming gene product p28^{sis}. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 80: 731-735, 1983.
- 20) Dirks C., Duh F.M., Rai S.K., Lerman M.I., Miller A.D.: Mechanism of cell entry and transformation by enzootic nasal tumor virus. *J. Virol.* 76: 2141-2149, 2002.
- 21) Duh F.M., Dirks C., Lerman M.I., Miller A.D.: Amino acid residues that are important for Hyal2 function as a receptor for jaagsiekte sheep retrovirus. *Retrovirology* 2: 59, 2005.
- 22) Fruehling S., Longnecker R.: The immunoreceptor tyrosine-based activation motif of Epstein-Barr virus LMP2A is essential for blocking BCR-mediated signal transduction. *Virology* 235: 241-251, 1997.

- 23) Gaudray G., Gachon F., Basbous J., Biard-Piechaczyk M., Devaux C., Mesnard J.M.: The complementary strand of the human T-cell leukemia virus type 1 RNA genome encodes a bZIP transcription factor that down-regulates viral transcription. *J. Virol.* 76: 12813-12822, 2002.
- 24) Gillet N., Florins A., Boxus M., Burteau C., Nigro A., Vandermeers F., Balon H., Bouzar A.B., Defoiche J., Burny A., Reichert M., Kettmann R., Willems L.: Mechanisms of leukemogenesis induced by bovine leukemia virus: prospects for novel anti-retroviral therapies in human. *Retrovirology* 4: 18, 2007.
- 25) Grande S.M., Katz E., Crowley J.E., Bernardini M.S., Ross S.R., Monroe J.G.: Cellular ITAM-containing proteins are oncoproteins in nonhematopoietic cells. *Oncogene* 25: 2748-2757, 2006.
- 26) Hayward W.S., Neel B.G., Astrin S.M.: Activation of a cellular *onc* gene by promoter insertion in ALV-induced lymphoid leukosis. *Nature* 290: 475-480, 1981.
- 27) Hinuma Y., Nagata K., Hanaoka M., Nakai M., Matsumoto T., Kinoshita K.I., Shirakawa S., Miyoshi I.: Adult T-cell leukemia: antigen in an ATL cell line and detection of antibodies to the antigen in human sera. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 6476-6480, 1981.
- 28) Hull S., Fan H.: Mutational analysis of the cytoplasmic tail of jaagsiekte sheep retrovirus envelope protein. *J. Virol.* 80: 8069-8080, 2006.
- 29) Iwama A., Okano K., Sudo T., Matsuda Y., Suda T.: Molecular cloning of a novel receptor tyrosine kinase gene, *STK*, derived from enriched hematopoietic stem cells. *Blood* 83: 3160-3169, 1994.
- 30) Jia R., Mayer B.J., Hanafusa T., Hanafusa H.: A novel oncogene, *v-ryk*, encoding a truncated receptor tyrosine kinase is transduced into the RPL30 virus without loss of viral sequences. *J. Virol.* 66: 5975-5987, 1992.
- 31) Katz E., Lareef M.H., Rassa J.C., Grande S.M., King L.B., Russo J., Ross S.R., Monroe J.G.: MMTV Env encodes an ITAM responsible for transformation of mammary epithelial cells in three-dimensional culture. *J. Exp. Med.* 201: 431-439, 2005.
- 32) Lee H., Veazey R., Williams K., Li M., Guo J., Neipel F., Fleckenstein B., Lackner A., Desrosiers R.C., Jung J.U.: Deregulation of cell growth by the K1 gene of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Nat. Med.* 4: 435-440, 1998.
- 33) Lee H., Guo J., Li M., Choi J.K., DeMaria M., Rosenzweig M., Jung J.U.: Identification of an immunoreceptor tyrosine-based activation motif of K1 transforming protein of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus. *Mol. Cell. Biol.* 18: 5219-5228, 1998.
- 34) Li J.P., D'Andrea A.D., Lodish H.F., Baltimore D.: Activation of cell growth by binding of Friend spleen focus-forming virus gp55 glycoprotein to the erythropoietin receptor. *Nature* 343: 762-764, 1990.
- 35) Lilly F.: *Fv-2*: identification and location of a second gene governing the spleen focus response of Friend leukemia in mice. *J. Natl. Cancer Inst.* 45: 163-169, 1970.
- 36) Liu S.L., Duh F.M., Lerman M.I., Miller A.D.: Role of virus receptor Hyal2 in oncogenic transformation of rodent fibroblasts by sheep betaretrovirus env proteins. *J. Virol.* 77: 2850-2858, 2003.
- 37) Liu S.L., Lerman M.I., Miller A.D.: Putative phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) binding motifs in ovine betaretrovirus Env proteins are not essential for rodent fibroblast transformation and PI3K/Akt activation. *J. Virol.* 77: 7924-7935, 2003.
- 38) Liu S.L., Miller A.D.: Transformation of madin-darby canine kidney epithelial cells by sheep retrovirus envelope proteins. *J. Virol.* 79: 927-933, 2005.
- 39) Lowther W., Wiley K., Smith G.H., Callahan R.: A new common integration site, Int7, for the mouse mammary tumor virus in mouse mammary tumors identifies a gene whose product has furin-like and thrombospondin-like sequences. *J. Virol.* 79: 10093-10096, 2005.
- 40) Maeda N., Palmarini M., Murgia C., Fan H.: Direct transformation of rodent fibroblasts by jaagsiekte sheep retrovirus DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 4449-4454, 2001.
- 41) Maeda N., Inoshima Y., Fruman D.A., Brachmann S.M., Fan H.: Transformation of mouse fibroblasts by Jaagsiekte sheep retrovirus envelope does not require phosphatidylinositol 3-kinase. *J. Virol.* 77: 9951-9959, 2003.
- 42) Maeda N., Fu W., Ortin A., De las Heras M., Fan H.: Roles of the Ras-MEK-mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase-Akt-mTOR pathways in Jaagsiekte sheep retrovirus-induced transformation of rodent fibroblast and epithelial cell lines. *J. Virol.* 79: 4440-4450, 2005.
- 43) Maeda N., Fan H.: Signal transduction pathways utilized by enzootic nasal tumor virus (ENTV-1) envelope protein in transformation of rat epithelial cells resemble those used by Jaagsiekte sheep retrovirus. *Virus Genes*, in press.
- 44) Martin G.S.: The road to Src. *Oncogene* 23: 7910-7917, 2004.
- 45) Matsuoka M., Jeang K.T.: Human T-cell leukaemia virus type 1 (HTLV-1) infectivity and cellular transformation. *Nat. Rev. Cancer* 7: 270-280, 2007.
- 46) Mcgee-Estrada K., Palmarini M., Fan H.: HNF-3beta is a critical factor for the expression of the Jaagsiekte sheep retrovirus long terminal repeat in type II pneumocytes but not in Clara cells. *Virology* 292: 87-97, 2002.
- 47) Mcgee-Estrada K., Fan H.: In vivo and in vitro analysis of factor binding sites in Jaagsiekte sheep retrovirus long terminal repeat enhancer sequences: roles of HNF-3, NF-I, and C/EBP for activity in lung epithelial cells. *J. Virol.* 80: 332-341, 2006.
- 48) Mcgee-Estrada K., Fan H.: Comparison of LTR enhancer elements in sheep betaretroviruses: insights into the basis for tissue-specific expression. *Virus Genes* 35: 303-312, 2007.
- 49) Miller A.D., Van Hoeven N.S., Liu S.L.: Transformation and scattering activities of the receptor tyrosine

- kinase RON/Stk in rodent fibroblasts and lack of regulation by the jaagsiekte sheep retrovirus receptor, Hyal2. *BMC Cancer* 4: 64, 2004.
- 50) Miyoshi I., Kubonishi I., Yoshimoto S., Akagi T., Ohtsuki Y., Shiraishi Y., Nagata K., Hinuma Y.: Type C virus particles in a cord T-cell line derived by co-cultivating normal human cord leukocytes and human leukaemic T cells. *Nature* 294: 770-771, 1981.
 - 51) Muszynski K.W., Ohashi T., Hanson C., Ruscetti S.K.: Both the polycythemia- and anemia-inducing strains of Friend spleen focus-forming virus induce constitutive activation of the Raf-1/mitogen-activated protein kinase signal transduction pathway. *J. Virol.* 72: 919-925, 1998.
 - 52) Muszynski K.W., Thompson D., Hanson C., Lyons R., Spadaccini A., Ruscetti S.K.: Growth factor-independent proliferation of erythroid cells infected with Friend spleen focus-forming virus is protein kinase C dependent but does not require Ras-GTP. *J. Virol.* 74: 8444-8451, 2000.
 - 53) Neel B.G., Hayward W.S., Robinson H.L., Fang J., Astrin S.M.: Avian leukosis virus-induced tumors have common proviral integration sites and synthesize discrete new RNAs: oncogenesis by promoter insertion. *Cell* 23: 323-334, 1981.
 - 54) Nishigaki K., Hanson C., Ohashi T., Thompson D., Muszynski K., Ruscetti S.: Erythroid cells rendered erythropoietin independent by infection with Friend spleen focus-forming virus show constitutive activation of phosphatidylinositol 3-kinase and Akt kinase: involvement of insulin receptor substrate-related adapter proteins. *J. Virol.* 74: 3037-3045, 2000.
 - 55) Nishigaki K., Thompson D., Hanson C., Yugawa T., Ruscetti S.: 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, 2001.
 - 56) Nishigaki K., Hanson C., Thompson D., Yugawa T., Ruscetti S.: Activation of the Jun N-terminal kinase pathway by friend spleen focus-forming virus and its role in the growth and survival of friend virus-induced erythroleukemia cells. *J. Virol.* 79: 12752-12762, 2005.
 - 57) Nishigaki K., Hanson C., Jelacic T., Thompson D., Ruscetti S.: Friend spleen focus-forming virus transforms rodent fibroblasts in cooperation with a short form of the receptor tyrosine kinase Stk. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102: 15488-15493, 2005.
 - 58) Nishigaki K., Hanson C., Ohashi T., Spadaccini A., Ruscetti S.: Erythroblast transformation by the friend spleen focus-forming virus is associated with a block in erythropoietin-induced STAT1 phosphorylation and DNA binding and correlates with high expression of the hematopoietic phosphatase SHP-1. *J. Virol.* 80: 5678-5685, 2006.
 - 59) Ohashi T., Masuda M., Ruscetti S.K.: Induction of sequence-specific DNA-binding factors by erythropoietin and the spleen focus-forming virus. *Blood* 85: 1454-1462, 1995.
 - 60) Ortin A., Cousens C., Minguillon E., Pascual Z., Perez de Villarreal M., Sharp J.M., De las Heras M.: Characterization of enzootic nasal tumour virus of goats: complete sequence and tissue distribution. *J. Gen. Virol.* 84: 2245-2252, 2003.
 - 61) Palmarini M., Sharp J.M., De las Heras M., Fan H.: Jaagsiekte sheep retrovirus is necessary and sufficient to induce a contagious lung cancer in sheep. *J. Virol.* 73: 6964-6972, 1999.
 - 62) Palmarini M., Sharp J.M., Lee C., Fan H.: In vitro infection of ovine cell lines by Jaagsiekte sheep retrovirus. *J. Virol.* 73: 10070-10078, 1999.
 - 63) Palmarini M., Datta S., Omid R., Murgia C., Fan H.: The long terminal repeat of Jaagsiekte sheep retrovirus is preferentially active in differentiated epithelial cells of the lungs. *J. Virol.* 74: 5776-5787, 2000.
 - 64) Palmarini M., Hallwirth C., York D., Murgia C., de Oliveira T., Spencer T., Fan H.: Molecular cloning and functional analysis of three type D endogenous retroviruses of sheep reveal a different cell tropism from that of the highly related exogenous jaagsiekte sheep retrovirus. *J. Virol.* 74: 8065-8076, 2000.
 - 65) Palmarini M., Maeda N., Murgia C., De-Fraja C., Hofacre A., Fan H.: A phosphatidylinositol 3-kinase docking site in the cytoplasmic tail of the Jaagsiekte sheep retrovirus transmembrane protein is essential for envelope-induced transformation of NIH 3T3 cells. *J. Virol.* 75: 11002-11009, 2001.
 - 66) Parada L.F., Tabin C.J., Shih C., Weinberg R.A.: Human EJ bladder carcinoma oncogene is homologue of Harvey sarcoma virus *ras* gene. *Nature* 297: 474-478, 1982.
 - 67) Persons D.A., Paulson R.F., Loyd M.R., Herley M.T., Bodner S.M., Bernstein A., Correll P.H., Ney P.A.: *Fv2* encodes a truncated form of the Stk receptor tyrosine kinase. *Nat. Genet.* 23: 159-165, 1999.
 - 68) Poiesz B.J., Ruscetti F.W., Gazdar A.F., Bunn P.A., Minna J.D., Gallo R.C.: Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77: 7415-7419, 1980.
 - 69) Rai S.K., DeMartini J.C., Miller A.D.: Retrovirus vectors bearing jaagsiekte sheep retrovirus Env transduce human cells by using a new receptor localized to chromosome 3p21.3. *J. Virol.* 74: 4698-4704, 2000.
 - 70) Rai S.K., Duh F.M., Vigdorovich V., Danilkovitch-Miagkova A., Lerman M.I., Miller A.D.: Candidate tumor suppressor HYAL2 is a glycosylphosphatidylinositol (GPI)-anchored cell-surface receptor for jaagsiekte sheep retrovirus, the envelope protein of which mediates oncogenic transformation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 4443-4448, 2001.
 - 71) Resnick-Roguel N., Burstein H., Hamburger J., Panet A., Eldor A., Vlodaysky I., Kotler M.: Cytocidal effect caused by the envelope glycoprotein of a newly isolated avian hemangioma-inducing retrovirus. *J. Virol.* 63: 4325-4330, 1989.
 - 72) Resnick-Roguel N., Eldor A., Burstein H., Hy-Am E., Vlodaysky I., Panet A., Blajchman M.A., Kotler M.: Envelope glycoprotein of avian hemangioma retro-

- virus induces a thrombogenic surface on human and bovine endothelial cells. *J. Virol.* 64: 4029-4032, 1990.
- 73) Ronsin C., Muscatelli F., Matgei M.G., Breathnach R.: A novel putative receptor protein tyrosine kinase of the met family. *Oncogene* 8: 1195-1202, 1993.
 - 74) Rosenberg N., Jolicoeur P.: Retroviral pathogenesis. In *Retroviruses* edited by Coffin J.M., Hughes S.H., Varmus H.E., Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York: 475-585, 1997.
 - 75) Rosenberg N.: New transformation tricks from a barnyard retrovirus: implications for human lung cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98: 4285-4287, 2001.
 - 76) Ross S.R., Schofield J.J., Farr C.J., Bucan M.: Mouse transferrin receptor 1 is the cell entry receptor for mouse mammary tumor virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99: 12386-12390, 2002.
 - 77) Ross S.R., Schmidt J.W., Katz E., Cappelli L., Hultine S., Gimotty P., Monroe J.G.: An immunoreceptor tyrosine activation motif in the mouse mammary tumor virus envelope protein plays a role in virus-induced mammary tumors. *J. Virol.* 80: 9000-9008, 2006.
 - 78) Ruscetti S.K.: Deregulation of erythropoiesis by the Friend spleen focus-forming virus. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 31: 1089-1109, 1999.
 - 79) Satou Y., Yasunaga J., Yoshida M., Matsuoka M.: HTLV-I basic leucine zipper factor gene mRNA supports proliferation of adult T cell leukemia cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 720-725, 2006.
 - 80) Sela-Donenfeld D., Korner M., Pick M., Eldor A., Panet A.: Programmed endothelial cell death by an avian hemangioma retrovirus is density dependent. *Virology* 223: 233-237, 1996.
 - 81) Singh B., Stocking C., Walker R., Yang Y.D., Ostertag W., Arlinghaus R.B.: *v-mos* proteins encoded by myeloproliferative sarcoma virus and its *ts159* mutant. *J. Virol.* 66: 1267-1272, 1992.
 - 82) Smith D.R., Vogt P.K., Hayman M.J.: The *v-sea* oncogene of avian erythroblastosis retrovirus S13: another member of the protein-tyrosine kinase gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 5291-5295, 1989.
 - 83) Soffer D., Resnick-Roguel N., Eldor A., Kotler M.: Multifocal vascular tumors in fowl induced by a newly isolated retrovirus. *Cancer Res.* 50: 4787-4793, 1990.
 - 84) Souyri M., Vigon I., Penciolelli J.F., Heard J.M., Tambourin P., Wendling F.: A putative truncated cytokine receptor gene transduced by the myeloproliferative leukemia virus immortalizes hematopoietic progenitors. *Cell* 63: 1137-1147, 1990.
 - 85) Spencer T.E., Mura M., Gray C.A., Griebel P.J., Palmari M.: Receptor usage and fetal expression of ovine endogenous betaretroviruses: implications for coevolution of endogenous and exogenous retroviruses. *J. Virol.* 77: 749-753, 2003.
 - 86) Stehelin D., Varmus H.E., Bishop J.M., Vogt P.K.: DNA related to the transforming gene(s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA. *Nature* 260: 170-173, 1976.
 - 87) Suzuki S., Axelrad A.A.: *Fv-2* locus controls the proportion of erythropoietic progenitor cells (BFU-E) synthesizing DNA in normal mice. *Cell* 19: 225-236, 1980.
 - 88) Tanaka A., Takahashi C., Yamaoka S., Nosaka T., Maki M., Hatanaka M.: Oncogenic transformation by the tax gene of human T-cell leukemia virus type I in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87: 1071-1075, 1990.
 - 89) Temin H.M., Mizutani S.: RNA-dependent DNA polymerase in virions of Rous sarcoma virus. *Nature* 226: 1211-1213, 1970.
 - 90) Uchiyama T., Yodoi J., Sagawa K., Takatsuki K., Uchino H.: Adult T-cell leukemia: clinical and hematologic features of 16 cases. *Blood* 50: 481-492, 1977.
 - 91) Van Hoeven N.S., Miller A.D.: Improved enzootic nasal tumor virus pseudotype packaging cell lines reveal virus entry requirements in addition to the primary receptor Hyal2. *J. Virol.* 79: 87-94, 2005.
 - 92) Varela M., Chow Y.H., Sturkie C., Murcia P., Palmari M.: Association of RON tyrosine kinase with the Jaagsiekte sheep retrovirus envelope glycoprotein. *Virology* 350: 347-357, 2006.
 - 93) Vigdorovich V., Strong R.K., Miller A.D.: Expression and characterization of a soluble, active form of the jaagsiekte sheep retrovirus receptor, Hyal2. *J. Virol.* 79: 79-86, 2005.
 - 94) Vigdorovich V., Miller A.D., Strong R.K.: Ability of hyaluronidase 2 to degrade extracellular hyaluronan is not required for its function as a receptor for jaagsiekte sheep retrovirus. *J. Virol.* 81: 3124-3129, 2007.
 - 95) Wootton S.K., Halbert C.L., Miller A.D.: Sheep retrovirus structural protein induces lung tumours. *Nature* 434: 904-907, 2005.
 - 96) Wootton S.K., Halbert C.L., Miller A.D.: Envelope proteins of Jaagsiekte sheep retrovirus and enzootic nasal tumor virus induce similar bronchioalveolar tumors in lungs of mice. *J. Virol.* 80: 9322-9325, 2006.
 - 97) Wootton S.K., Metzger M.J., Hudkins K.L., Alpers C.E., York D., DeMartini J.C., Miller A.D.: Lung cancer induced in mice by the envelope protein of jaagsiekte sheep retrovirus (JSRV) closely resembles lung cancer in sheep infected with JSRV. *Retrovirology* 3: 94, 2006.
 - 98) Yamamoto N., Okada M., Koyanagi Y., Kannagi M., Hinuma Y.: Transformation of human leukocytes by cocultivation with an adult T cell leukemia virus producer cell line. *Science* 217: 737-739, 1982.
 - 99) Yoshida M.: Discovery of HTLV-1, the first human retrovirus, its unique regulatory mechanisms, and insights into pathogenesis. *Oncogene* 24: 5931-5937, 2005.
 - 100) Zavala G., Pretto C., Chow Y.H., Jones L., Alberti A., Grego E., De las Heras M., Palmari M.: Relevance of Akt phosphorylation in cell transformation induced by Jaagsiekte sheep retrovirus. *Virology* 312: 95-105, 2003.

New molecular mechanisms of virus-mediated carcinogenesis: oncogenic transformation of cells by retroviral structural protein Envelope

Naoyoshi MAEDA^{1,2} and Yasunobu YOSHIKAI¹

¹Division of Host Defense, Research Center for Prevention of Infectious Diseases,
Medical Institute of Bioregulation, Kyushu University

²Division of Bioinformatics, Digital Medicine Initiative, Kyushu University
3-1-1 Maidashi, Higashi-ku, Fukuoka 812-8582 JAPAN

Tel : +81-92-642-6962

Fax : +81-92-642-6973

E-mail : maeda@bioreg.kyushu-u.ac.jp

RNA tumor viruses as classified in Retroviruses have been isolated and identified to induce tumors in a variety of animals including chickens, mice, and rats, or even in human in the last 100 years, since the first one has been reported in 1908. The RNA tumor viruses have been historically classified into two groups, acute transforming RNA tumor viruses and nonacute RNA tumor viruses. Acute transforming RNA tumor viruses are basically replication-defective and rapidly induce tumors by expressing the viral oncogenes captured from cellular genome in host cells. The first oncogene derived from Rous sarcoma virus was the *src* non-receptor tyrosine kinase, which has been identified to play the significant roles for signal transduction. On the other hand, nonacute RNA tumor viruses, which consist of only *gag*, *pro*, *pol*, and *env* regions but do not carry oncogenes, are replication-competent and could activate the cellular proto-oncogenes by inserting the viral long terminal repeat close to the proto-oncogenes to induce tumors with a long incubation period, as is termed a promoter insertion. These molecular mechanisms have been thought to induce tumors. However, very recently several reports have described that the retroviral structural protein Envelope could directly induce tumors *in vivo* and transform cells *in vitro*. These are very unusual examples of native retroviral structural proteins with transformation potential. In this review we look back over the history of oncogenic retrovirus research and summarize recent progress for our understanding of the molecular mechanisms of oncogenic transformation by retrovirus Envelope proteins.