

4. HIV プロウイルスからの正および負の転写制御機構について

岡 本 尚

名古屋市立大学大学院医学研究科細胞分子生物学

エイズウイルスを始めとするレトロウイルスは、宿主細胞への感染後ウイルス粒子内の RNA ゲノムが細胞質でプロウイルス DNA に変換され、プロウイルスが細胞のゲノム DNA と一体化して細胞遺伝子同様にふるまう。このウイルス遺伝子の複製過程を遺伝情報の増幅過程として考えると、RNA → DNA の過程ではこの反応を担う逆転写酵素の持つ RNaseH によって 2 本鎖目の DNA の合成される前に RNA ゲノムが分解されるため、ウイルス遺伝情報量の増大はない。他方、プロウイルス DNA からの「転写」過程では宿主遺伝子と同様に mRNA の複製が同じ鋳型 DNA から繰り返し起こる。しかも、エイズウイルスでは特有の転写活性化因子 Tat によってこの段階が特に転写伸長過程も含めて著しく亢進している。すなわち、エイズウイルスの持つ強い感染性と個体内での激しい病原性の根底には著しく効率の高まった転写特性が存在する。

また、エイズウイルスに感染した個体内ではウイルスが 10 - 20 年もの間潜伏感染を持続させている。この潜伏感染の維持に多数の宿主細胞由来の転写抑制因子 (AP-4, YY-1 など) が関わっている。他方、潜伏感染している細胞に外部から多くの要因が作用すると、宿主由来の複数の転写活性化因子 (NF- κ B, NFAT-1, Sp-1 など) が仲介してまず転写レベルでウイルスの複製が開始される。さらに、細胞内でプロウイルス DNA を取り巻くクロマチン構造が転写活性に決定的な作用を及ぼすことが明らかになった。例えば、ある種の嫌気性菌は嫌気性解糖の最終産物として多量の酪酸を産生するが、酪酸はヒストン脱アセチル化酵素阻害作用を持ち、転写抑制的なクロマチン構造を構成する脱アセチル化ヒストンに作用してそのアセチル化を促す結果、潜伏感染ウイルスの転写を誘導する。

本シンポジウムでは、演者らがこれまで報告して来た正負の作用を持つ種々の転写因子、NF- κ B, Tat, AP-4 および Sp1 の作用に加え、クロマチン構造に関わる種々のヒストン修飾因子によるエイズプロウイルスの転写活性調節機構について総括的に報告し、これらの結果をもとに今後の新しいエイズ治療法について提案したい。

1. はじめに

エイズウイルスを始めとするレトロウイルスは、宿主細胞への感染後ウイルス粒子内の RNA ゲノムが細胞質でプロウイルス DNA に変換され、プロウイルスが細胞のゲノ

ム DNA と一体化して細胞遺伝子同様にふるまう。このウイルス遺伝子の複製過程を遺伝情報の増幅過程として考えると、RNA → DNA の過程ではこの反応を担う逆転写酵素の持つ RNaseH によって 2 本鎖目の DNA の合成される前に RNA ゲノムが分解されるため、ウイルス遺伝情報量の実質的な増大は皆無である。しかし、プロウイルス DNA からの「転写」過程では宿主遺伝子と同様に mRNA の複製が同じ鋳型 DNA から繰り返し起こる。しかも、エイズウイルスでは、固有の転写活性化因子 Tat によってこの段階が特に転写伸長過程も含めて著しく亢進している。すなわち、エイズウイルスの持つ強い感染性と個体内での激しい病原性の根底には、この著しく効率の高まった転写特性が存在すると考えることができる¹⁾。

また、エイズウイルスに感染した個体内ではウイルスが

連絡先

〒467-8601

名古屋市瑞穂区瑞穂町川澄1

名古屋市立大学大学院医学研究科細胞分子生物学

TEL: 052-853-8205

FAX: 052-859-1235

E-mail: tokamoto@med.nagoya-cu.ac.jp

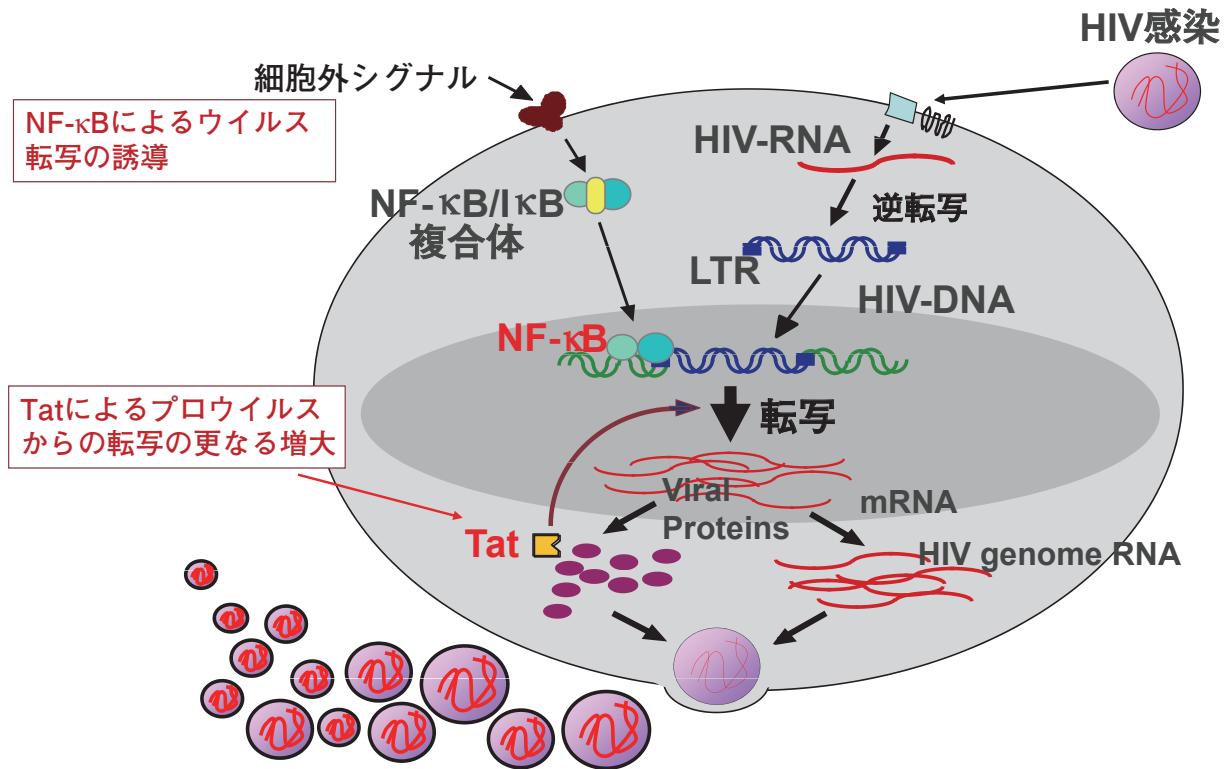


図1 HIVの細胞への感染から仔ウイルス産生までのウイルス遺伝情報の流れ。HIVのRNAは逆転写の際に分解されるので、1コピーのRNAからできるプロウイルスDNAのコピー数は最大でも1を超えない。しかし、プロウイルスからの転写の段階では1コピーのDNAから数千から数万コピー以上のウイルスゲノムRNAが産生される。

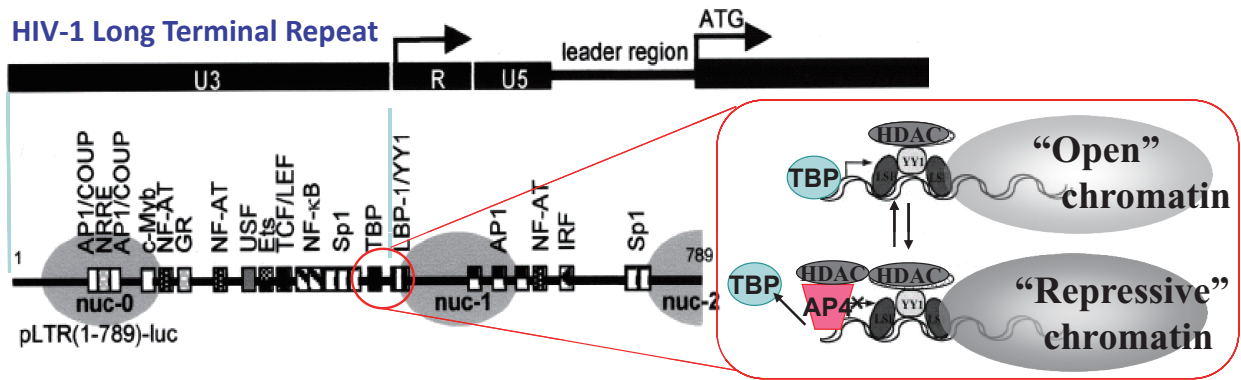
10 - 20年もの間細胞内で潜伏感染を持続させている。この潜伏感染の維持に多数の宿主細胞由来の転写抑制因子(LBP-1, AP-4, YY-1など)が関わっている事が明らかになった^{2,3,4}。潜伏感染している細胞に外部から多くの要因が作用すると、宿主由来の複数の転写活性化因子(NF-κB, NFAT-1, Sp-1など)が仲介してまず転写レベルでウイルスの複製が開始される。さらに、細胞内でプロウイルスDNAを取り巻くクロマチン構造が転写活性に決定的な作用を及ぼすことが明らかになった^{5,6}。例えば、ある種の嫌気性菌は嫌気性解糖の最終産物として多量の酪酸を産生するが、酪酸はヒストン脱アセチル化酵素阻害作用を持ち、転写抑制的なクロマチン構造を構成する脱アセチル化ヒストンに作用してそのアセチル化を促す結果、潜伏感染ウイルスの転写を誘導する⁷。

ここでは、演者らがこれまで報告して来た正負の作用を持つ種々の転写因子、NF-κB, Tat, AP-4およびSp1の作用に加え、クロマチン構造に関わる種々のヒストン修飾因子によるエイズプロウイルスの転写活性調節機構について総括的に報告し、これらの結果をもとに今後の新しいエイズ治療法について提案したい。

2. HIVのライフサイクル

HIVが宿主細胞に感染して仔(progeny)ウイルスを産生するに至るまでのライフサイクルの各ステップの詳細が徐々に明らかにされてきた。感染症の研究は、病原微生物の複製過程の中の「抵抗脆弱部 locus minoris」を探し出すという重要な任務があり、従来からの医学ではそのステップに対して治療の集中砲火を浴びせるということが行われて成功を納めてきた。果たして現在行われている治療法がこの原則に合致しているのだろうか。

図1はHIVが感染して仔ウイルスを放出するまでの過程を模式化して示している⁸。HIVはまず宿主細胞に吸着・侵入し、細胞質と一体化することによってふんだんに存在するヌクレオチドを逆転写酵素(RT)が使ってRNAゲノムがプロウイルスDNAへと変換される。この際に、2本鎖目のDNAが合成される前にRTの持つRNaseH活性によってウイルスRNAは分解される。その後、プロウイルスDNAはVprと共に核内に移行し、RTの持つ第3の酵素活性であるインテグラーゼ活性を利用して宿主細胞のゲノムDNAへと挿入される。この状態でHIVは潜伏感染を続けるが、炎症やストレスおよび他の微生物の感染などを契機にNF-κBなどの宿主転写因子が活性化し、プロウイ



- U3上流 NRE (negative regulatory element) (+/-) : AP-1, c-Myb, NF-AT, etc
- TATA box 近傍 : NF-κB(++), Sp1(+/-), AP-4(-)
- R領域内 : TAR element: Tat(+++), LBP1(-)
- その他、globalなヌクレオソーム制御 (epigenetic)
Histone 修飾 (アセチル化(++), 脱アセチル化(-), メチル化(+/-), リン酸化(+), etc.)
DNAメチル化 (--)

図2 HIV プロウイルス DNA から転写を制御するシス (cis) エLEMENTとそれらに結合する転写因子。ヌクレオソームもほぼ一定のところに形成される (灰色の楕円で示した)。図の下の枠内にそれぞれのELEMENTに結合する転写因子と転写に対する効果 (+, 正; -, 負) を示した。詳しくは本文を参照のこと。

ルスからのウイルス mRNA の合成が始まる⁹⁾。HIV ではこのプロウイルスからウイルス mRNA 合成の過程が著しく効率化されており、それは HIV のコードする転写活性化因子 Tat による^{10,11)}。その結果、他のレトロウイルスでは見られない程のウイルス mRNA の産生が起こる。ウイルス mRNA からウイルス蛋白の翻訳が起こると、細胞膜近傍でウイルス蛋白および糖蛋白分子が集合し、ウイルス粒子が細胞膜上に形成されて、表面張力に従って直径 100-120 nm 程の粒子として細胞から放出される。この過程を「出芽」と呼ぶ。この図からも明らかのように、HIV の遺伝子情報量が増幅されるのは唯一「転写」の段階でのみ起こる。

3. HAART の問題点と課題

1985年に満屋らが、ヌクレオチド誘導体 AZT が逆転写酵素の阻害を介して HIV 複製を著明に抑制することを明らかにし、HIV 感染症に対する化学療法の有効性が証明された^{12,13)}。以来、多くの逆転写酵素阻害剤 (RTI) が開発され、さらに HIV プロテアーゼの立体構造解析を契機に標的構造特異的な多数のプロテアーゼ阻害剤が開発された。その後、両者を使用した「カクテル療法」¹⁴⁾ の著明な臨床効果が明らかにされ、これら2種類の薬剤を3種類

用いる HAART 治療法が開発されて今日に至っている。しかし、AZT を使い続けた HIV 感染者の間に、AZT に耐性のウイルスが薬剤投与1年後に出現してくることが明らかになった¹⁵⁾。ことを始めに、これらの薬剤に耐性を獲得する HIV の報告が相続き、今日ではしばしば HIV 初感染者からも当初より薬剤耐性 HIV が見つかる状況となっている。薬剤耐性ウイルスの出現は、抗 HIV 剤の持つ強いかつ高頻度の副作用と薬剤価格の高いことと相まって、現在の HIV/AIDS 治療の最大の脅威である。その後もインテグラーゼ阻害剤やウイルス吸着阻害剤など新たな抗 HIV 薬が開発されているが、ウイルス蛋白を標的とする以上薬剤耐性ウイルスの出現は不可避である。その背後には、著しいウイルスの複製効率があり、そのほとんどの部分は HIV プロウイルス DNA から転写が担っているのである。以上の理由より、次世代の抗 HIV 治療薬が標的とするべきなのは HIV の持つ独特な転写制御機構と考えられる。

4. HIV 転写の制御機構：正と負の転写因子群による調節

それでは HIV プロウイルスからの転写制御機構はどのようなになっているのであろうか。HIV の転写プロモーターの役割はプロウイルス DNA の LTR (long terminal repeat) 領域が担っている。1984年に筆者らが初めて HIV-1 LTR

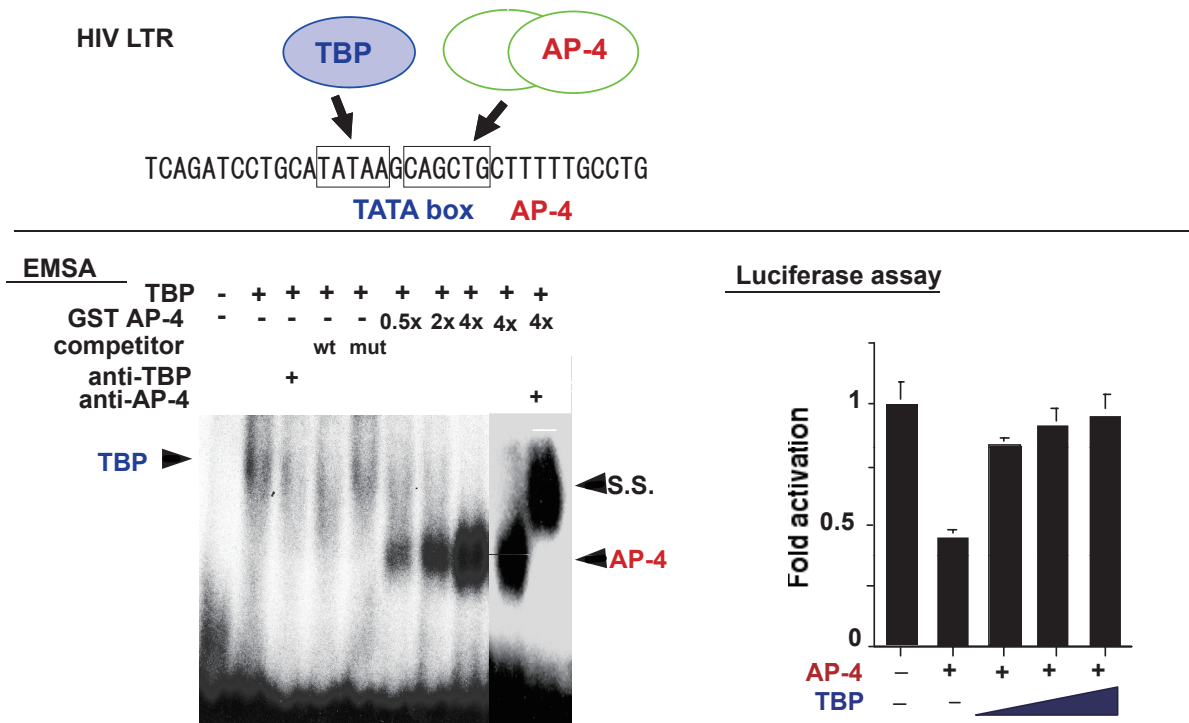


図3 HIV 転写抑制因子 AP-4 により基本転写因子 TBP が TATA ボックスへの結合が競合的に阻害される。上の図は HIV-1 LTR 内で TBP と AP-4 の結合部位が近接しているため、蛋白分子レベルで両者の結合が拮抗することを表す。下の図は、HIV-1 LTR の TATA ボックス周辺の DNA 配列を用いたゲルシフトアッセイの実験結果。TBP とプロモーター DNA との結合が AP-4 蛋白によって阻害されることを表す。非標識競合 DNA は DNA 結合の配列特異性を示す。文献4) より引用。

の塩基配列を決定した際に TATA ボックス、GC ボックス (転写因子 Sp1 が結合) およびタンデムに並んだエンハンサーボックス (NF- κ B が結合) の存在を指摘した¹⁶⁾。その後、数多くの転写制御のための種々の cis 制御エレメントが明らかにされ、さらに mRNA の 5' 上流に形成される Tat の作用標的である TAR (trans-activation responsive) エレメントに対応する DNA エレメントが同定された¹⁷⁾。また、潜伏 HIV 感染を維持するために必要なヌクレオソーム形成も明らかにされた^{5,6)}。これらを一括して図 2 に示した。

興味深いのは LTR 上流に存在する巨大な NRE (negative regulatory element) である^{17,18)}。この領域内に存在する多くの cis エレメントは、AP-1, c-Myb, NF-AT などの通常は転写を正に制御する転写因子の結合部位であるが、全体としては強い転写抑制効果を持つ (転写はおおよそ 3 分の 1 に減弱される)。その他、LTR からの転写抑制に関与する cis-element として、逆説的ではあるが当初「エンハンサー領域」として同定された NF- κ B 結合部位および当初より転写抑制作用が示された LBP-1 結合部位などがある²⁾。数年前に筆者らも TATA ボックス近傍のより転写開始部位に近い位置に AP-4 結合部位を見いだした⁴⁾。

転写「活性化」因子の結合部位が実際のプロモーターコンテキスト (個々の遺伝子毎に異なる cis エレメントと細

胞種との組み合わせ、という意味) の中では転写抑制に働くメカニズムとしては様々なものが知られているが、ここでは HIV-1 LTR に即してわかっている範囲で述べてみよう。まず、「エンハンサー領域」に結合する蛋白質であるが、これは NF- κ B の結合する領域であるが、実際には細胞が未刺激状態の場合には NF- κ B を構成する p50 サブユニットの二量体が結合していることが示された¹⁹⁾。よく知られているように NF- κ B は多くの場合 p50 と p65 のふたつのサブユニットから成り立ち、p65 は転写活性化領域を持つが、p50 ホモダイマー (p50)₂ は DNA 結合能を持つが転写活性化領域を持たない (KBF1 と呼ばれた²⁰⁾)。このため、(p50)₂ が結合していると転写を活性化する作用のある NF- κ B の結合は妨げられることになる。LBP1 および YY1 は転写のコプレッサーである HDAC 蛋白質と結合して転写を抑制する。他方、AP-4 はその名の示すように元来 activator protein として分離されたものであるが、筆者らの調べたところでは明らかに転写抑制作用を示していた⁴⁾。その実験結果のあらましを図 3 に示した。

AP-4 と HIV-1 LTR との結合位置から、AP-4 が TBP (TATA 結合蛋白質) と TATA ボックスとの結合を阻害する可能性をゲルシフトアッセイで調べた (図 3 左下)。TBP と TATA を含む DNA 断片との結合は元来弱いものであるが、AP-4 存在下では著明に抑制された。さらに、

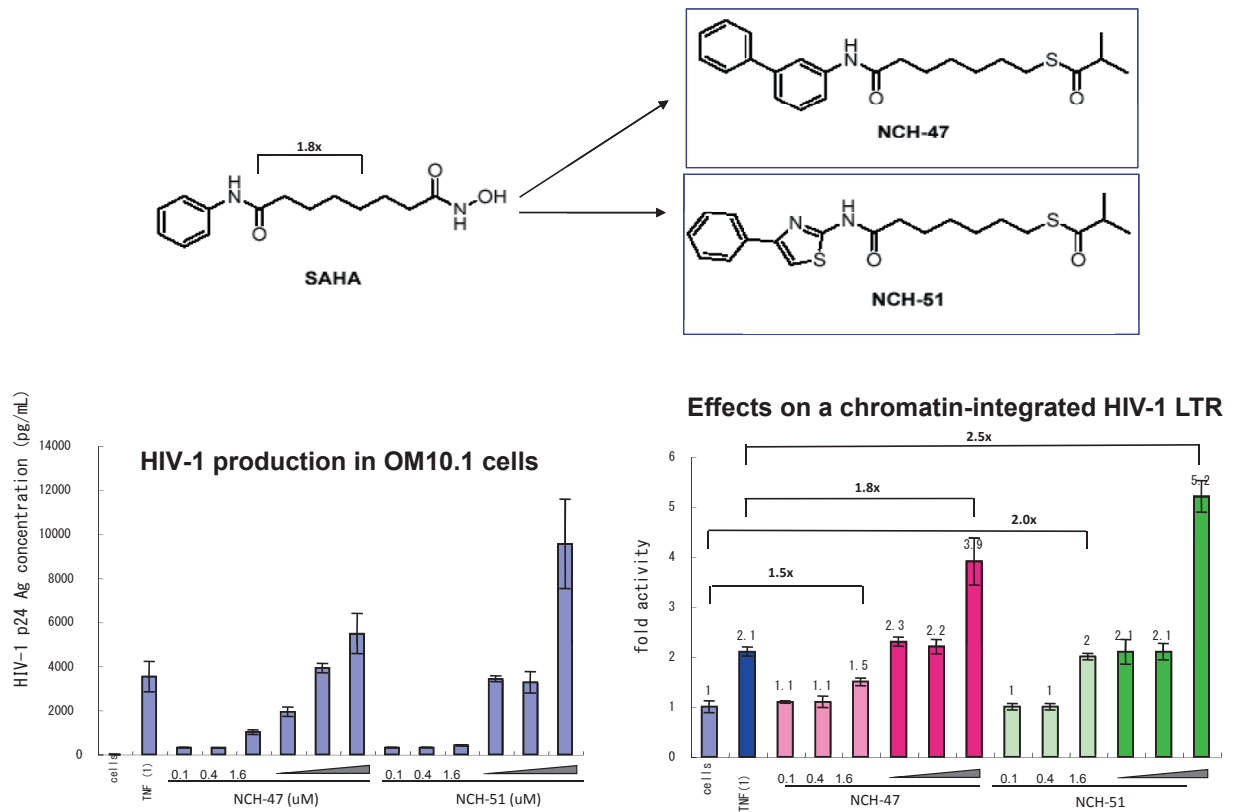


図4 HDAC 阻害剤 NCH-51 による潜伏感染 HIV-1 の複製誘導. NCH-51 は既知化合物 SAHA の誘導体. NCH-47 は別の誘導体であるが HDAC 阻害活性は NCH-51 の方がやや高い. いずれの化合物でも HIV-1 潜伏感染細胞 OM10.1 からのウイルス産生が量反応性に誘導される. 右の図は HIV-1 LTR-luciferase レポーター遺伝子からの遺伝子発現に対する NCH-51 と NCH-47 の効果を示したもので, この効果が転写レベルで起こっていることを示す. 文献 23) より引用.

AP-4 部位に変異を加えた上で LTR 上の別の位置に AP-4 部位を挿入したところ, 転写活性化因子の結合する場所とは別の場所に AP-4 を結合させても HIV-1 LTR からの転写は抑制された (not shown). 図 3 (右下) は細胞内および in vitro で AP-4 と HDAC1 および HDAC2 と結合することを示している. このように, AP-4 は少なくとも二つの異なる分子機構で転写を抑制している. そうなると AP-4 が転写を活性化するにはどのようなメカニズムが関与しているのか興味を持たれる (紙面の都合上ここでは省略).

このように HDAC が HIV-1 転写を抑制し潜伏感染の維持に関わっていることが明らかになった. このことは HDAC 阻害剤を用いると HIV 潜伏感染を破綻させて HIV の再活性化が誘導されることを示唆する.

5. HDAC 阻害剤による HIV-1 の転写活性化と潜伏感染 HIV-1 の複製誘導

HDAC が多くの場合転写抑制に関与することから, HDAC の阻害剤は多くの遺伝子にかかっている転写抑制を解除する可能性がただちに考えられる. HDAC 阻害剤は転写抑制状態にあるがん抑制遺伝子などの転写を誘導して抗がん活性を示すことが期待されたため製薬企業を含め

た多くの研究者がその開発に携わった. 初期の研究からバルプロン酸や酪酸などの小分子量脂肪酸分子が HDAC 活性を阻害することが明らかになり, その後トリコスタチン A (TSA) や SAHA (別名 volinostat) などの HDAC 阻害作用が明らかにされた.

すでに述べたように HIV 潜伏感染が現行の HAART 療法の妨げになっているのは事実であるが, この潜伏感染が HDAC のコプレッサー作用によって維持されているのであれば, HDAC 阻害剤を用いればウイルス産生を誘導でき, 直ちに強力な HAART 療法を実施すれば潜伏感染細胞を退治することが可能ではないか, と想像できる. Lehman ら²¹⁾ は, 実際にこの治療法を 4 名の HIV 感染者に適用した. 強力な HAART 治療薬の存在下で HIV 感染者に 3 ヶ月間バルプロン酸を投与し, HIV 潜伏感染細胞数を前後で比較したところ, 4 名中 3 名で HIV-1 に感染している休止期 CD4+ 細胞の数が有意に減少した. この結果は, HDAC 阻害剤を抗 HIV 治療に加えることによって HIV 潜伏感染細胞プールのサイズを有効に減少できる可能性を示唆した. しかしながら, 現行の抗 HIV 薬の臓器移行性に不均衡があれば (実際に多くの薬剤は中枢神経系や生殖器に容易には移行しない, とされている), たとえ

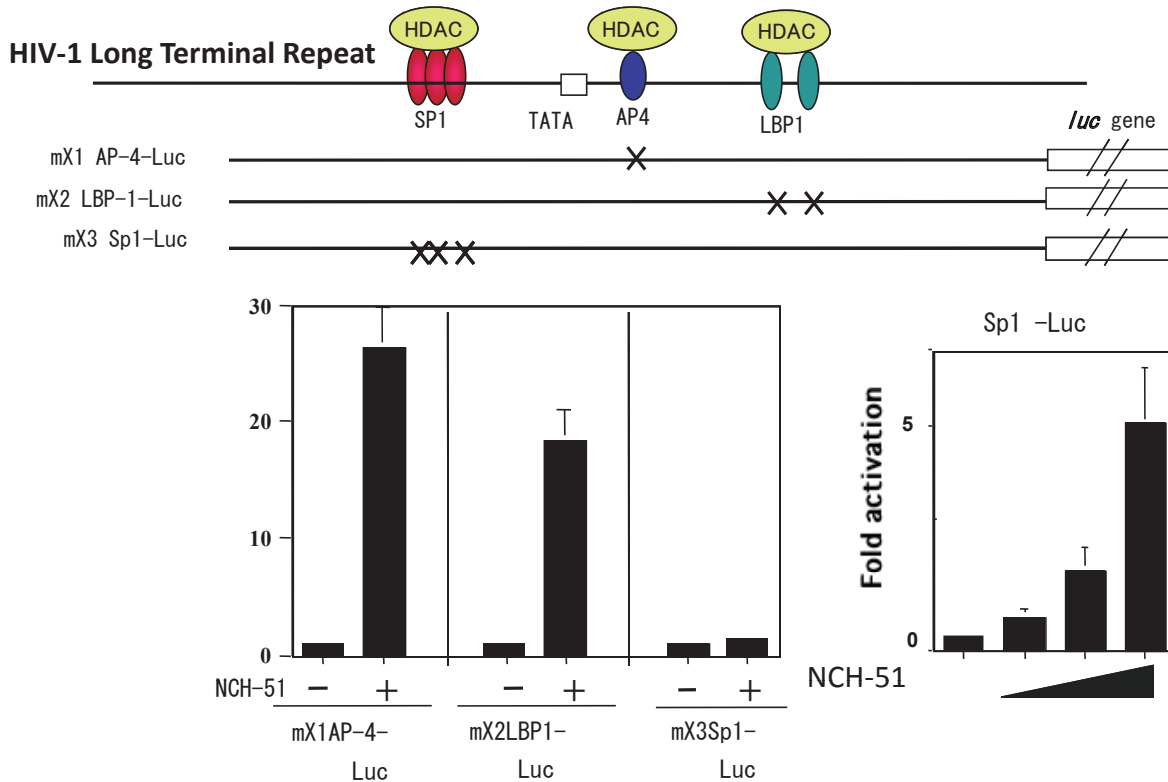


図5 HDAC 阻害剤 NCH-51 による HIV-1 転写誘導に必要な cis エレメントと結合する転写因子. 上に HIV-1 LTR 領域に存在する cis エレメントとこの実験で用いた LTR 領域の欠失変異体を示す. 図より明らかなように, HDAC 阻害剤による HIV-1 転写誘導には Sp1 が必須であることがわかる. 文献 24) より引用.

血中からの HIV 駆逐はできたとしても, この治療法を継続していくにつれて徐々に脳や精巣などに多量の HIV が蓄積し, 治療を中止したすぐ後に大きなウイルス量のリバウンドが起こるか, さもなくとも AIDS-dementia complex などの中枢性 AIDS 症候が早期に引き起こされる可能性は否定できない. 全身臓器への移行性の良い抗 HIV 剤との組み合わせが可能になるまでの間, この治療法はリスクが高いと言わざるを得ない.

我々は名古屋市大薬学研究所の宮田直樹教授らとの共同研究で, SAHA よりも生体内での安定性が高く HDAC に対する選択性も高い NCH51²²⁾ という新規に合成された HDAC 阻害剤を HIV-1 潜伏感染細胞に使用した. その結果, 図 4 に示すように, 予想通りに HIV の転写を誘導し, 潜伏感染細胞からの HIV 複製を誘導した²³⁾. さらに, その際に関与する転写因子を明らかにするために HIV-1 LTR の種々の cis エレメントに変異を加えたプロモーターを作成して調べたところ, Sp1 結合領域を変異させると従来の結果通り LTR からの転写が著しく減弱するが, 図 4 で見られた HDAC 阻害剤の作用が抑制された (図 5). さらにクロマチン免疫沈降法で調べてみると, TNF 刺激と比べて少し遅い時期に HDAC1 と Sp1 が HIV プロモーター DNA から遊離するので, Sp1 の可逆的な翻訳後修飾が起こるこ

とによってその転写活性化作用が抑制に転じ, HDAC 阻害剤によって Sp1 自体の遊離も起こることが示された. すなわち元来 HIV 転写の活性化をしている Sp1 が潜伏感染細胞内では HDAC と結合して転写抑制を担っていることが明らかになったのである.

何故 Sp1 を始め多くの転写「活性化」因子が HIV のプロモーターコンテキストの中では転写抑制を担うようになるのであろうか. また, かかる「プロモーターコンテキスト」の実態は果たして何なのであろうか. この課題には我々も継続して取り組むが, 読者諸氏の自由な発想にも託したいと思う.

6. 酪酸産生を特徴とする歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* による潜伏感染 HIV の誘導

さて, 筆者の研究グループに歯科医の資格を持った同僚 (今井健一博士, 現在は日本歯科大学微生物学講師) が加わったが, 彼は以上の事実をもとに, 歯周病を引き起こす嫌気性菌 *Porphyromonas gingivalis* (かつては *Bacteroides* と呼ばれた) から産生される酪酸によって HIV の転写誘導が起こるかを調べたい, と提案した. その結果, 予想通りにこの細菌の培養産物によって潜伏感染 HIV の転写と複製の活性化が起こり, 予想以上にその反響は大きかった. この結果は直ちに科学雑誌にアクセプトされ²⁴⁾, それば

WB with Anti-HIV Ab (cell extract)

HIV p24 ELISA (culture sup)

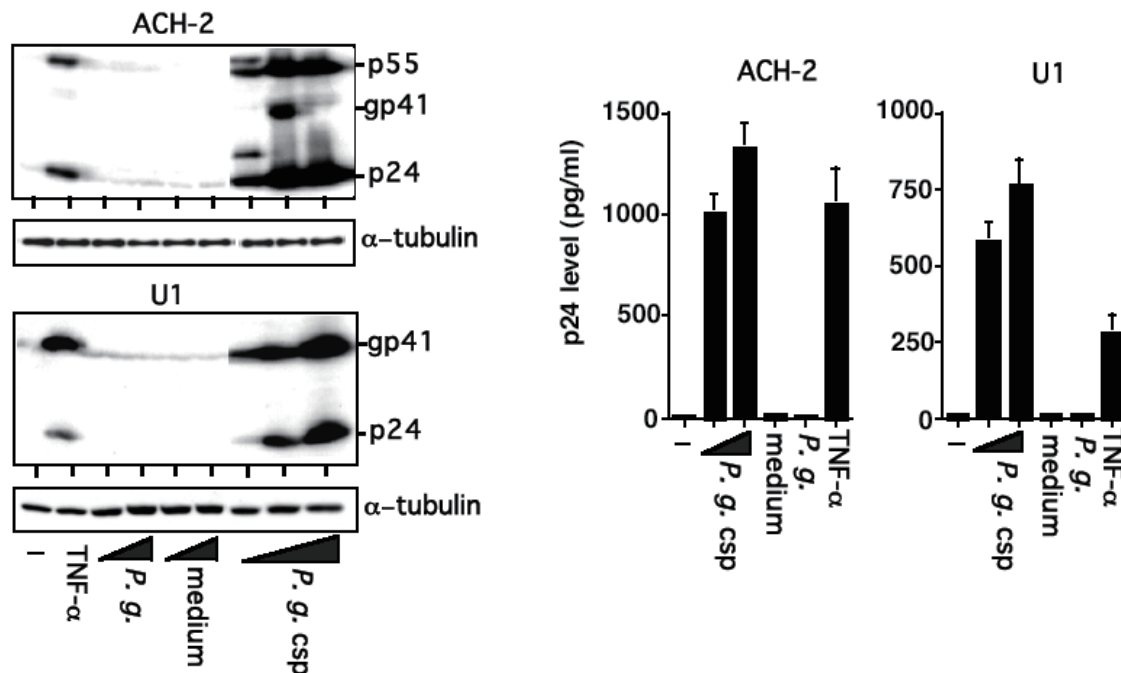


図6 歯周病菌 *Porphyromonas gingivalis* の産生する酪酸 butyric acid による潜伏感染 HIV-1 の発現誘導. ACH-2 は CD4(+) ヒト T 細胞株, U1 はヒト単球細胞株でいずれも HIV-1 に潜伏感染している. ここで加えた細菌培養液は最大で細胞培地の 10% (およそ 2-3 mM の酪酸に相当). 左側は細胞抽出液の抗 HIV 抗体によるウエスタンブロット, 右側は HIV-1 p24 ELISA キットによる培養上清中の HIV 定量. 文献 24) より引用.

かりかその当時の一般のインターネットや一部の新聞でも大きな話題になった。

この研究の一部を紹介する。酪酸は、生体が解糖を進めてエネルギーを獲得する一連の生化学的過程の中で酸素が欠乏した条件下で起こるある種の「発酵」現象の最終産物のひとつとして一部の嫌気性菌によって作り出される。従って、その濃度は数 mM からしばしば数十 mM に達する。この酪酸を含む細菌培養液を HIV 潜伏感染細胞に加えると、著しい HIV 産生誘導が起こり、その作用は通常我々が潜伏感染 HIV の複製誘導を起こすために使う TNF α よりも強いものであった (図 6)。また、この効果は H3 と H4 ヒストンのアセチル化と関連した。他方、菌体成分だけではこのような作用はなかった。我々の体内に常在する嫌気性細菌は歯周病菌以外にも多数あり、腸管や膈などに常在菌として存在する。このような細菌の多くは嫌気性環境下で酪酸を産生し、同様に潜伏感染 HIV の複製誘導を起こすことが明らかになった (Imai et al., 投稿中)。

すなわち、HIV 感染に伴う細菌、原虫、真菌およびウイルスなどの日和見感染や普段から感染している常在菌の感染は様々なレベルで HIV の複製に関わっている。これらの要因が全体として HIV に感染したヒトの体内での免疫不全症の進行や直接の死亡原因に関わっているのである。

7. まとめ

HIV の転写制御の問題は古くて新しい側面を持っている。真核細胞における転写制御の研究も次々に新しい研究領域を開拓している。HIV 研究は時にこの転写研究を先導することもあるが、多くの場合においてその後追いをしている点是否定できない。しかし、この論文の中で紹介したいくつかの事実は、既成の事実がしばしば新しい概念によって再発見されたり、新しい発見へと導くことのあることを示している。果たして転写活性化因子として知られている転写因子がどのような因果で転写抑制を担うのであろうか。例えば Sp1 のように元来は転写活性化因子であるものが、潜伏感染 HIV ではその転写を負に制御しており、しかも HDAC 阻害剤による転写活性化に主要な役割を演じていることは冒頭で述べた negative regulatory element に結合する多くの転写「活性化」因子による転写抑制の作用機構を暗示しているようにもみえる。

HIV の遺伝子レベルの複製と増幅は転写の段階のみが担っているが、現在行われている治療法ではウイルス転写を阻害する作用を持つ薬剤は含まれていない。これは、抗ウイルス剤としての基本原則であるウイルスに対する特異性に優れた化合物がまだ見つかっていないことによる。し

かし、RT やプロテアーゼおよびインテグラーゼなどを標的とする現行の抗 HIV 剤でしばしばみられるように容易に薬剤耐性の変異ウイルスが出現し、しかも AIDS のように悪性腫瘍なみに死亡率が高い場合にはこの原則に改訂が必要なのではないであろうか。すでに悪性腫瘍の治療では、正常の細胞・組織に対する副作用があっても腫瘍細胞に対する選択性が高ければ、しかるべき治療段階を経てヒトへの適用が進められている。ワクチン効果に関してもしばしば相反する結果の出る HIV 感染症/AIDS の治療法の開発を一步でも前進させるためには、まず古典的な治療原則を見直す必要があるのではないだろうか。

8. 引用文献

- 1) Persaud, D., Zhou, Y., Siliciano, J.M., and Siliciano, R.F.: Latency in human immunodeficiency virus type 1 infection: no easy answers. *J. Virol.* 77: 1659-1665, 2003.
- 2) Kato, H., Horikoshi, M. and Roeder, R.G.: Repression of HIV-1 transcription by a cellular protein. *Science* 251: 1476-1479, 1991.
- 3) Margolis, D.M., Somasundaran, M. and Green, M. R.: *J. Virol.* 68: 905-910, 1994.
- 4) Imai, K. and Okamoto, T.: Transcriptional repression of human immunodeficiency virus type 1 by AP-4. *J. Biol. Chem.* 281: 12495-12505, 2006.
- 5) Verdin, E. DNase I-hypersensitive sites are associated with both long terminal repeats and with the intragenic enhancer of integrated human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol.* 65: 6790-6799, 1991.
- 6) Van Lint, C., Emiliani, S., Ott, M., and Verdin, E.: Transcriptional activation and chromatin remodeling of the HIV-1 promoter in response to histone acetylation. *EMBO J.* 15: 1112-1120, 1996.
- 7) Riggs, M.G., Whittaler, R.G., Neumann, J.R., and Ingram, V.M.: n-Butyrate causes histone modification in HeLa and Friend erythroleukemia cells. *Nature* 268: 462-464, 1977.
- 8) Freed, E.O. and Martin, M.A.: HIVs and their replication in *Fields Virology 4th* (Eds., Knipe, D.M. and Howley, P.M.), Lippincott Williams & Wilkins (Philadelphia, USA), pp. 1971-2041.
- 9) Quivy, V., Adam, E., Collete, Y. et al.: Synergistic activation of human immunodeficiency virus type 1 promoter activity by NF-kappaB and inhibitors of deacetylases: potential perspectives for the development of therapeutic strategies. *J. Virol.* 76: 11091-11103, 2002.
- 10) Dayton, A.I., Powell, D.M., Dayton, A.I. The trans-activator gene of the human T cell lymphotropic virus type III is required for replication. *Cell* 44: 941-947, 1986.
- 11) Fisher, A.G., Feinberg, M.B., Josephs, S.F. et al.: The trans-activator gene of HTLV-III is essential for virus replication. *Nature* 320: 367-371, 1986.
- 12) Mitsuya, H., Weinhold, K.J., Furman, P.A. et al.: 3'-Azido-3'- deoxythymidine (BW A509U): An antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/ lymphadenopathy-associated virus in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 82: 7096-7100, 1985.
- 13) Fischl, M.A., Richman, D.D., Gioco, M.H., et al.: The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS- related complex. A double-blind, placebo-controlled trial. *N. Engl. J. Med.* 317: 185-191, 1987.
- 14) Gulick, R.M., Mellors, J.W., Havlir, D. et al. : 3-year suppression of HIV viremia with indinavir, zidovudine, and lamivudine. *Ann. Intern. Med.* 133: 35-39, 2000.
- 15) Coffin, J.M.: HIV population dynamics in vivo: Implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* 267: 483-489, 1995.
- 16) Starcich, B., Ratner, L., Josephs, S.F., Okamoto, T., Gallo, R.C. and Wong-Staal, F.: Characterization of long terminal repeat sequence of HTLV-III. *Science* 227: 538-540, 1985.
- 17) Rosen, C.A., Sodoroski, J.G., and Haseltine, W.A.: Location of cis-acting regulatory sequences in the human T cell lymphotropic virus type III (HTLV-III/LAV) long terminal repeat. *Cell* 41: 813-823, 1985.
- 18) Yamamoto, K., Mori, S., Okamoto, T, Shimotohno, K. and Kyogoku, Y.: Identification of transcriptional suppressor proteins that bind the negative regulatory element of the human immunodeficiency virus type 1. *Nucleic Acids Res.* 19:6107-6112, 1991.
- 19) Williams, S.A., Chen, L.-F., Kwon, H., et al.: NF- κ B p50 promotes HIV latency through HDAC recruitment and repression of transcriptional initiation. *EMBO J.* 11: 139-149, 2006.
- 20) Plaksin, D., Baeuerle, P.A., and Eisenbach, L.: KBF1 (p50 NF- κ B homodimer) acts as a repressor of H-2K^b gene expression in metastatic tumor cells. *J. Exp. Med.* 177: 1651-1662, 1993.
- 21) Lehman, G., Hogue, I.B., Palmer, S., et al.: Depletion of latent HIV-1 infection in vivo: a proof-of-concept study. *The Lancet* 366: 549-555, 2005.
- 22) Suzuki, T., Kouketsu, A., Itoh, Y., et al.: Highly potent and selective histone deacetylase 6 inhibitors designed based on a small-molecular substrate. *J. Med. Chem.* 49: 4809-4812, 2006.
- 23) Victoriano, A.F.B., Imai, K., Togami, H., Ueno, T., Asamitsu, K., Suzuki, T., Miyata, N., Ochiai, K., and Okamoto, T.: Novel histone deacetylase inhibitor NCH-51 activates latent HIV-1 gene expression. *FEBS Letters* 2011 (in press).
- 24) Imai, K., Ochiai, K., and Okamoto, T.: Reactivation of latent HIV-1 infection by the periodontopathic bacterium *Porphyromonas gingivalis* involves histone modification. *J. Immunol.* 182: 3688-3695, 2009

Positive and negative regulation of transcription from HIV provirus

Takashi OKAMOTO, M.D., Ph.D.

Department of Molecular and Cellular Biology
Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

The RNA genome of retroviruses including human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) will be converted into DNA, called "provirus". This proviral DNA will be integrated into host cell genome and behave like host genes. Since the step at which the viral RNA genome is converted into DNA will not allow any increase of viral genetic information because of the presence of RNaseH activity inherent to the reverse transcriptase and is responsible for the degradation of viral RNA in forming the DNA:RNA hybrid as the intermediate molecule for this conversion. However, during transcription from proviral DNA into viral RNA, hundreds and even thousands of mRNA encoding viral information will be synthesized by the action of host cellular RNA polymerase II, thus producing a large amount of progeny viral particles after translation and assembly. HIV is unique in that it contains virus-specific transcriptional activator called Tat

