

3. HIV-1 ゲノム動態に関与する宿主因子群とその制御

増田 貴夫

東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科免疫治療学分野

ウイルスと宿主の攻防は、個々の細胞内においても存在している。ヒト免疫不全ウイルス1型 (HIV-1) はウイルス粒子内の RNA ゲノムを DNA に逆転写し、宿主染色体に組み込むことで感染を成立させる。近年、HIV-1 のゲノムおよびその複合体に作用し、ウイルス感染を阻害する宿主抵抗性因子 (APOBEC3G, TRIM5 α) の存在が明らかにされた。さらに、HIV-1 のゲノムの最終目的地である染色体は細胞内では核膜に守られている。HIV-1 はこうした宿主細胞内に存在する数々の障壁をクリアして感染を成立させている。本稿では、HIV-1 感染成立に向けたウイルスゲノムの脱殻、逆転写、核内輸送、組み込みといった一連のウイルスゲノム動態を制御する宿主因子群に関して概説し、特に HIV-1 ゲノムの組み込みを触媒するインテグラーゼおよびプレインテグレーション複合体と相互作用する宿主因子群に関する最近の知見をまとめてみたい。

はじめに

HIV-1 を含むレトロウイルスは自らの遺伝子情報を一本鎖 (+) RNA として粒子内にパッケージしている。試験管チューブに入った mRNA を出発材料として、cDNA を合成し、発現ベクターにクローニング後、目的の細胞に導入し安定発現株を樹立することを考えてみれば、これら一連の仕事を瞬時に行うレトロウイルスの感染機構がどれほどよくできたシステムであるかはあらためて強調するまでもない。すなわち、レトロウイルスはその感染に際して、RNA 遺伝子を鋳型に二本鎖 DNA に逆転写 (cDNA 合成) し、宿主染色体 DNA に組み込む (インテグレーション反応) ことでウイルスゲノムの安定発現細胞を樹立する効率の良いシステムを獲得しているといえる (図 1)。逆転写反応およびインテグレーション反応はいずれもウイルス粒子内にゲノム RNA と共にパッケージされている逆転写酵素およびインテグラーゼにより触媒される。しかしながら、in

vivo で実際にウイルスが行っている反応すべてをこれらウイルス酵素のみで行うには不十分であることも明らかである。加えて、脱殻、逆転写、核移行、組み込みの各素過程をつなぐウイルスゲノムの動的変化 (本稿では“ウイルスゲノム動態”とよぶことにする) を支持する宿主因子のサポートはウイルス感染成立に必須であると考えられる。

宿主抵抗性 (restrict) 因子

近年、外来侵入微生物の各構成成分をパターンとして認識する Tol 様受容体を中心とした自然免疫機構の解析が進んでいる。HIV-1 のウイルス学研究からも、細胞内に侵入してくるウイルスゲノムおよびその複合体に作用し、ウイルス感染を阻害する宿主抵抗性因子の存在が明らかになり、こうした抵抗性因子は宿主のもつ自然免疫因子として認識されるまでに至った²⁵⁾。HIV-1 が旧世界ザルの細胞に感染できないという現象を基に、アカゲザル cDNA ライブラリーから HIV-1 抑制因子として TRIM5 α は同定された⁵⁶⁾。作用機序の詳細は不明だが、アカゲザル由来 TRIM5 α は HIV-1 キャプシド蛋白 (CA) に作用しウイルスゲノムの脱殻あるいは逆転写の開始を阻害しているようである。また興味深いことにヒト由来の TRIM5 α は HIV-1 の感染阻害効果が非常に弱いが、マウス白血病レトロウイルスの一部の株 (N-tropic MuLV) には阻害効果を示すとのことである。これらの結果から、HIV-1 は宿主であるヒト由来の TRIM5 α に対しては何らかの抵抗性を獲得しているものと考えられる。APOBEC3G は HIV-1 がコードする Vif 蛋白

連絡先

〒113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科
免疫治療学分野
TEL : 03-5803-5799
FAX : 03-5803-0235
E-mail : tmasu.impt@tmd.ac.jp

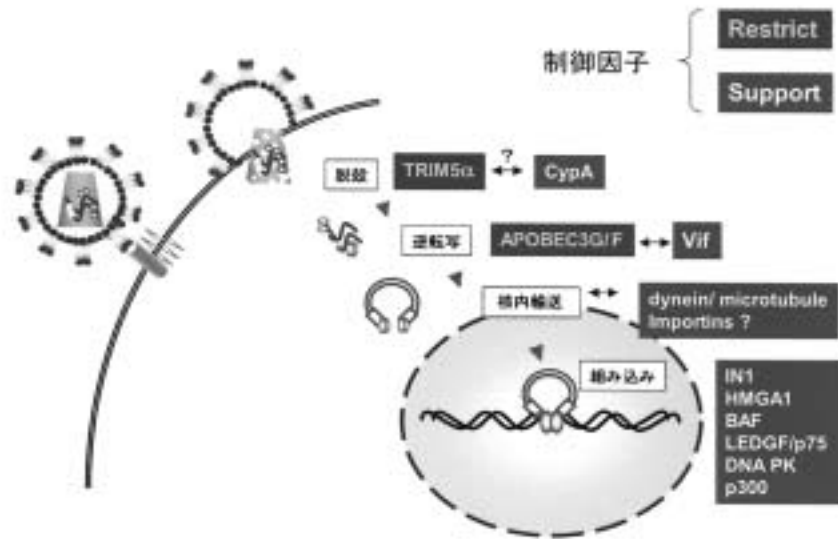


図1 HIV-1 ゲノム動態関連宿主因子とその制御

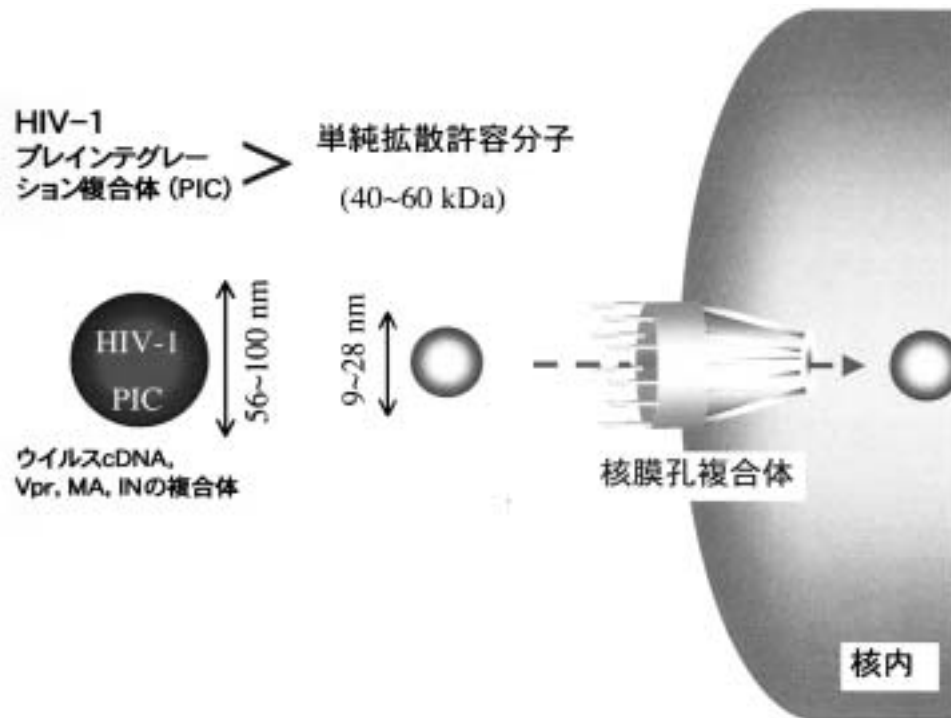


図2 HIV-1 プレインテグレーション複合体

の機能解析から同定された⁵²⁾。APOBEC3G は cytidine deaminase 活性を有しており、ウイルスゲノムの逆転写の際に (-) 鎖 DNA に作用し、dC を dU に変換させ遺伝子情報を不活化させることが抗ウイルス作用機構の一つとして報告された⁶⁶⁾。一方、Vif は APOBEC3G のウイルス粒子内への取り込みを阻害することで、APOBEC3G の抗ウイルス作用を回避していると考えられている⁴³⁾ (図1)。TRIM5 α 、APOBEC3G の詳細に関しては本誌“ウイルス”

にもすぐれた総説があるのでそちらを参照されたい^{72,75)}。

宿主支持 (support) 因子

脱殻：標的細胞に吸着／膜融合した HIV-1 は、ウイルス粒子内の RNA ゲノムを細胞質へと送り込み、この RNA を鋳型として逆転写反応を開始する。この過程を脱殻と呼ぶが、詳細は不明である。cyclophilin A は HIV-1 の脱殻および逆転写開始を支持する宿主因子として同定され²¹⁾、そ

の後、HIV-1 のキャプシド蛋白と結合することでヒト TRIM5 α の抗ウイルス作用からの回避に寄与しているとの報告もされた^{50,59)}。一方、旧世界ザル由来 TRIM5 α の抗 HIV-1 作用には、cyclophilin A が必要であるとの報告もあり³⁾、最近では、TRIM5 α と cyclophilin A の HIV-1 感染における役割はお互い独立したものではないかとの見解も報告された⁵⁵⁾。発見から 13 年間にもおよぶ多くの研究結果から、cyclophilin A の HIV-1 感染における真の役割に関しては、今後の再検討が必要となりそうだ。

細胞内輸送：ウイルス感染直後の細胞質分画には逆転写反応後のウイルスゲノム (DNA) を含む核酸-蛋白複合体が存在し、マトリックス蛋白、逆転写酵素、インテグラーゼに加えて Vpr 蛋白などがその構成蛋白として報告されている⁷⁾。この複合体はウイルス DNA を外来性のプラスミド DNA に組み込む活性があることが示され、プレインテグレーション複合体 (Preintegration complex) と名付けられた^{4, 18)}。HIV のプレインテグレーション複合体の、ストローク半径は約 28nm (直径にして \sim 56nm) と見積もられている⁴⁶⁾ (図 2)。細胞質は粘性が高くプレインテグレーション複合体が単純拡散により核に到達するのは難しいと考えられている⁴¹⁾。単純ヘルペス 1 型⁵⁴⁾ およびアデノウイルス⁵⁷⁾ は細胞内の微小管ネットワークを利用してウイルスゲノムの細胞内輸送をおこなっていることが以前に報告されていたが、HIV-1 ゲノムの細胞内エントリーおよび移動にもこの細胞内骨格系であるアクチンもしくは微小管の関与が示唆されている^{5, 35, 45)}。なかでも MacDonald らは、HIV-1 粒子内に GFP - vpr 融合蛋白を取り込ませることで、HIV-1 プレインテグレーション複合体の細胞内動態の可視化に成功したとの報告がなされた⁴⁵⁾。その報告によると、HIV-1 プレインテグレーション複合体は細胞内のダイニン/微小管ネットワークを利用して細胞核近傍に存在する MTOC (microtubule-organizing center) とよばれる部位まで到達するとのことである。ちなみに GFP - vpr でラベルされた粒子の time-lapse 顕微鏡による観察結果から、その移動速度は $1 \mu / s$ と概算され、これは微小管モーター蛋白の移動速度と一致しているとのことである。

核内輸送：MacDonald らは上述した論文のなかで、微小管にトラップされた HIV-1 ゲノム複合体を電子顕微鏡でとらえることにも成功し、大きさは直径約 100nm、長さ 400-700nm のシリンダー状の形状であることを報告した⁴⁵⁾。核膜孔を単純拡散により通過可能な分子のリミットが直径にして約 28 nm とされていることを考えれば、優にその許容範囲を超えていることになる (図 2)。したがって、非分裂細胞に感染を成立させるためには、ウイルスゲノムを効率よく核膜孔を通過させる必要がある。この核膜通過に関与する宿主因子としてこれまでに importin ファミリー蛋白^{20, 23, 26)} および核膜孔構成蛋白¹⁶⁾ が報告されている。しかしながら、いずれも間接的な証明にとどまっているに

過ぎず、その後 importin ファミリー蛋白の関与に関しては否定的な論文もあることなどから⁷¹⁾ 依然として確定的なものではないように思われる⁶⁾。

HIV-1 ゲノムの組み込みに関与する宿主因子

逆転写後、核内まで到達したウイルスゲノムは宿主染色体 DNA に組み込まれプロウイルスとなる。このプロウイルスから転写、翻訳されることで新たなウイルス粒子が形成され、細胞外へ放出される。したがって、組み込み過程は感染成立の最終ステップであり、ウイルス増殖の起点ともなる重要な素過程である⁷⁴⁾。ウイルス DNA に直接作用し、組み込みを触媒するのはウイルス由来の酵素インテグラーゼである。この組み込み反応は大きく 3 つのステップ ① 3'-プロセッシング反応、② ジョイニング反応、③ 修復に分けることができる (図 3)。インテグラーゼが直接触媒するのは① 3'-プロセッシング反応と② ジョイニング反応であり、最後の③ 修復は宿主細胞の DNA 修復酵素系によりおこなわれると考えられている⁶⁵⁾。表 1 に HIV-1 ゲノムの組み込みに関与するとの報告のあった宿主因子についてまとめた。

DNA-PK: 経路：哺乳動物では、非相同組換え (NHEJ: nonhomologous end-joining) 機構が二本鎖 DNA の切断の際、その修復に働くことが知られている³³⁾。NHEJ は DNA 依存性蛋白リン酸化酵素 (DNA-PK)、Ku, XRCC4, DNA ライゲース IV により触媒される。Daniel らは、DNA-PK が欠損している SCID マウス由来細胞を用いて、HIV-1 を含むレトロウイルスの組み込みに DNA-PK が必要であると報告した¹⁵⁾。しかしながら、組み込みの際に生じる染色体 DNA のギャップは 1 本鎖 DNA であること (図 3) や低-MOI (multiplicity of infection) での HIV-1 感染には DNA-PK は必ずしも必要でないことが報告された¹⁾。現時点では、宿主の NHEJ 機構は高-MOI での感染により、おそらく逆転写され、組み込み以前のウイルス DNA の末端を連結 (環状化) させることで、ウイルス DNA の末端によるアポトーシス誘導を回避しているとの見解に落ち着いている^{1, 37)}。

BAF: マウス白血病ウイルス (Mo-MLV)³⁶⁾ および HIV-1 プレインテグレーション複合体^{10, 39)} を塩処理して解離してくる宿主因子でウイルスゲノムの自分自信身のゲノムへの組み込み (autointegration) を防ぐ (barrier) ことで染色体 DNA への組み込みを促進する活性を持つことから BAF (barrier-to-autointegration) と呼ばれる。BAF の本来の機能に関しては、DNA 架橋能と核膜裏打ち蛋白との相互作用することで、染色体分配を含む核構築および核構造維持に関与すると考えられている⁶⁹⁾。近年、MoMLV のプレインテグレーション複合体から BAF と相互作用する宿主因子、lamina-associated protein (LAP) -2 α が同定された⁵⁸⁾。LAP-2 α はもともと、酵母 two-hybrid 法に

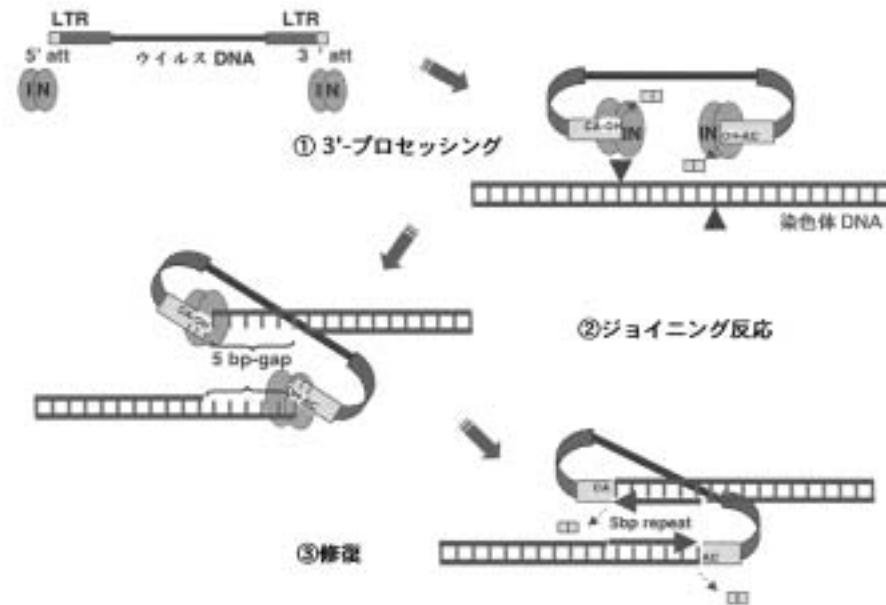


図3 レトロウイルス遺伝子組み込み機構

① 3'-プロセッシング反応：インテグラーゼは逆転写反応により DNA に変換されたウイルス DNA の両末端に作用し、各 3' 末端の 2 のヌクレオチド (HIV-1 の場合は GT) を切断除去する。② ジョイニング反応：3'-プロセッシング反応を終えたウイルス DNA は核内へ移行し、宿主染色体 DNA と会合する。3'-プロセッシング反応で生じた新たなウイルス DNA 3' 末端-OH 基の求核反応により宿主染色体 DNA は 5' 端が数塩基 (HIV-1 の場合 5 塩基) 突出したかたちで切れ目をいれる。それと同時に切断された宿主染色体 DNA の各 5' 末端リン酸基とウイルス DNA 3' 末端-OH 基が各々エステル結合する (ストランドトランスファー反応とも呼ばれる)。③ 修復：ウイルス DNA の両 5' 末端の一本鎖部分の 2 塩基 (HIV-1 の場合は CA) は切断除去され宿主染色体 DNA の一本鎖部分はその相補鎖の合成により埋められる。最後にウイルス DNA の各 5' 末端と宿主染色体 DNA の各 3' 末端が結合しインテグレーション反応は完結する。

より BAF と相互作用する因子として²²⁾ 同定されたものであが、BAF とプレインテグレーション複合体への相互作用を強めている可能性が示唆されている⁵⁸⁾。

HMGAI: クロマチンを構成する非ヒストン蛋白で当初は HMG (high mobility group) I (Y) とよばれていた。HIV-1 プレインテグレーション複合体を塩処理して解離してくる宿主因子でウイルスゲノムの両末端の協調的 (concerted) 組み込みを促進すると報告された^{17, 31, 38)}。しかしながら、HMGA1 を欠損している細胞でも HIV-1 の組み込みは障害されないことが報告された²⁾。一方、HMGA1 は転写因子 ATF-3 を HIV-1 LTR の AP-1 サイトにリクルートすることで、HIV-1 の転写促進に寄与するとの報告もある²⁹⁾。さらに、ATF-3 と HMGA1 はクロマチン再構築を担う SWI/SNF 複合体のリクルートを誘導することも明らかとなり³⁰⁾、現時点では、HMGA1 は HIV-1 の組み込みというよりもむしろ転写調節に働いている可能性が高いと考えられている。

上述した宿主因子はいずれも組み込み酵素であるインテグラーゼとの直接的な相互作用は確認されていない。また実際のウイルス感染 (in vivo) での組み込み過程への直接

的関与については今後の再検討が必要である。以下にインテグラーゼとの直接的な相互作用が確認された宿主因子についてまとめた。

インテグラーゼと相互作用する宿主因子

INI: クロマチン構造制御を担い、転写活性化に関与する SWI/SNF 複合体の構成因子で酵母 two-hybrid アッセイにより HIV-1 インテグラーゼと結合する宿主因子 (INI1: integrase interactor 1) として最初に同定された³⁴⁾。当初は精製インテグラーゼ蛋白とウイルスゲノム末端配列の合成基質オリゴ DNA を用いた無細胞 (in vitro) アッセイの実験結果より、INI1 は HIV-1 インテグラーゼの酵素活性 (組み込み) を促進する宿主因子と考えられていた。しかしながら、感染細胞内 (in vivo) での直接的な証拠はまだない。一方で、HIV-1 インテグラーゼ結合ドメインを含む INI1 部分断片を過剰発現させた細胞ではウイルス粒子の放出が 1 万～10 万分の一まで低下するとの報告⁶⁷⁾ や PML (promyelocytic leukemia protein) と協同して HIV-1 の核内輸送に関与するとの報告がなされた⁶¹⁾。INI1 の HIV-1 複製における役割は不明であるが、INI1 が クロマチン

表 1 HIV-1 ゲノムの組み込み過程に関する宿主因子

	細胞内機能	同定法	HIV-1 複製における機能	文献
INI1	クロマチン構造制御、 SW/SNF 複合体構成因子	YTH	組み込み (in vitro) 核内輸送 粒子形成/放出	(34) (61) (67, 68)
BAF	核構築および維持	PIC	組み込み (PIC アッセイ) 自己組み込 (auto-integration) 防止	(36) (10, 39)
HMGA1 (HMGI(Y))	クロマチン構成蛋白非ヒストン 蛋白 転写制御	PIC	組み込み (協調的) 転写制御	(17, 31, 38) (29, 30)
DNA-PK/Ku, XRCC4, DNA ligase IV	V(D)J 組換え DNA 切断修復	KO 細胞	組み込み (ギャップ修復) 抗アポトーシス ウイルス DNA の環状化	(15) (1, 37) (37)
LEDGF/p75	転写調節因子 ストレス抵抗性因子	インテグラー ゼ複合体	核内輸送 選択的組み込み	(12) (42)
P300	アセチル基転移酵素	インテグラー ゼ複合体	組み込み (in vitro/in vivo)	(9)

YTH:酵母 two-hybrid 法, in vitro : リコンビナント IN と合成基質 DNA を用いた組み込み反応,

PIC アッセイ: プレインテグレーション複合体を用いた組み込み反応, 協調的: ウイルスゲノムの両末端を協調的に組み込む反応,

KO : knock-out もしくは機能不全細胞

制御因子である SW/SNF 複合体構成因子であることを考えると、ウイルスゲノムの組み込み部位選択等における関与が推察されるが、この考えを支持する報告はまだない。

LEDGF/p75: コドンに至適化した HIV-1 インテグラーゼを安定発現させた 293T 細胞の核に存在するインテグラーゼ複合体 (~ 400kDa) から単離された¹²⁾。もともとは、転写補助活性化因子である PC4 と相互作用する 75kDa の蛋白として²⁴⁾、また後に lens epithelial 細胞由来の cDNA ライブラリーから白内障患者由来の抗体と反応する自己抗原として同定された⁵³⁾。LEDGF/p75 は細胞内で単独発現させた EGFP-インテグラーゼ融合蛋白の核局在に必須である⁴²⁾ ことなどから、HIV-1 プレインテグレーション複合体を染色体 DNA へと導く (tethering) 役割が示唆された。興味深いことに、LEDGF/p75 は HIV-1 およびネコ免疫不全ウイルス (FIV) 由来のインテグラーゼの核局在には必要だが、核局在能がないとされる Mo-MLV インテグラーゼには影響しないとのことである⁴⁰⁾。現在までに LEDGF/p75 と相互作用が確認されているインテグラーゼは HIV-1、HIV-2、FIV のいずれもレンチウイルス由来であり、 γ -レトロウイルスである MoMLV、RSV や Δ -レトロウイルスである HTLV-1 とは結合しないことが報告されている⁸⁾。こうした生化学的な事実に加え LEDGF/p75 と HIV-1 インテグラーゼの構造解析も進んでおり^{11, 13)}、今後新たな HIV-1 阻害剤開発にも貢献が期待されている。しかしなが

ら、RNAi により LEDGF/p75 を減少させた細胞においても、HIV-1 もしくは FIV の感染、およびその後の複製は見かけ上全く影響がないことも明らかにされた⁴⁰⁾⁶²⁾。以上の結果から、LEDGF/p75 はレトロウイルスの組み込み反応の基本的な部分に関与している可能性は低いと思われる。プロウイルスの組み込み部位は各レトロウイルス独自の指向性があり⁶⁴⁾⁴⁸⁾、HIV-1 は染色体 DNA 上の転写ユニット内に指向性が高いことが知られていた⁵¹⁾。この HIV-1 の組み込み部位の選択に LEDGF/p75 が関与している可能性が最近報告された¹⁴⁾。

上記の他にもアセチル基転移酵素 p300⁹⁾、Hsp60⁴⁹⁾、polycomb group EED 蛋白⁶³⁾ が HIV-1 インテグラーゼと相互作用する宿主因子として報告されており今後の展開が期待される。

HIV-1 インテグラーゼとゲノム動態

プレインテグレーション複合体を構成するウイルス蛋白のなかでも、インテグラーゼは最後のステップであるウイルス遺伝子を宿主染色体に組み込む酵素である⁷⁴⁾。したがって、逆転写反応の 1 本鎖 RNA から 2 本鎖 DNA 変換というダイナミックなゲノム変換の前後あるいは感染細胞の核膜通過中において、なんらかのかたちでウイルス遺伝子と相互作用において中心的役割を担う蛋白であろうと考えられる。著者らはインテグラーゼが本来の酵素活性の場であ

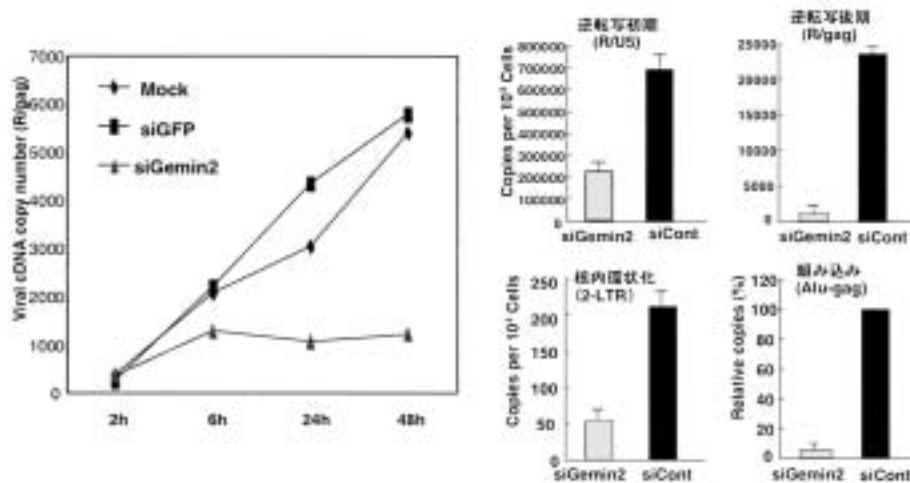


図4 Gemin2 knock-downによるHIV-1ウイルスゲノム動態への関与

ヒト健常末梢血単核球由来マクロファージにコントロール (GFP) もしくは Gemin2 を標的とした siRNA を導入後、HIV-1 を感染させた。感染後経時的に全 DNA を回集し、HIV-1cDNA の合成初期 (R/U5) 後期 (R/gag) および核内輸送 (2-LTR)、組み込み (Alu-gag) をリアルタイム PCR により定量解析した (文献 (27) より改変して引用)。

る組み込みに加え、脱殻⁴⁴⁾⁴⁷⁾、逆転写⁶⁰⁾、核移行等⁶⁰⁾³²⁾ ウイルス感染初期過程の各ステップにも機能的に関与していることを報告してきた⁷³⁾。また、最近では、インテグラーゼと逆転写酵素の物理的かつ機能的相互作用の報告もなされるようになった¹⁹⁾²⁸⁾⁷⁰⁾。こうした新たな知見は、HIV-1 ゲノム動態に関与する宿主因子をインテグラーゼとの相互作用する宿主因子から探る理論的基盤のひとつとして考えられる。

Gemin2: 我々も酵母 two-hybrid 法により HIV-1 インテグラーゼと結合する新規宿主因子 Gemin2 を同定した。この因子はスプライシングに関与する snRNP 複合体の細胞質内アッセムブリおよび核内輸送に関与する SMN 複合体の構成因子のひとつとして同定されていたが具体的な役割は未だ不明である。我々は、Gemin2 が HIV-1 感染後すみやかにインテグラーゼおよびプレインテグレーション複合体と相互作用し、ウイルスゲノムの逆転写反応およびそれ以降の核内輸送、組み込みに関与している可能性を示唆する結果を得た (図 4)。インテグラーゼと相互作用し、逆転写過程を含むウイルスゲノム動態に影響を及ぼす宿主因子の同定は、上述した組み込み以前の過程に生じたインテグラーゼ変異体の影響の説明および HIV-1 ゲノム動態を支える新規宿主因子の同定と作用機序解明の足がかりとなるものと期待される²⁷⁾。

おわりに

宿主の抵抗性因子群はウイルスをはじめ外来病原体にたいする自然免疫系の一旦をになう感染防御機構として理解が進んでいる。しかし、HIV-1 を代表とする宿主に持続感

染をもたらす病原体は獲得免疫をふくむ宿主免疫系から逃れる術をすでに獲得しているとも理解される。一方、ウイルス複製は宿主に依存していることも明らかな事実である。したがって、この宿主依存性こそがウイルスの弱点であると考えられる。インテグラーゼの新たな機能とその関与宿主因子の同定は、ウイルス感染成立におけるウイルスゲノムと宿主因子との相互作用機構の解明のみならず抗 HIV 阻害剤開発においてもあらたな戦略法を提示しうるものと期待される。

文 献

- 1) Baekelandt V, A Claeys, P Cherepanov, E De Clercq, B De Strooper, B Nuttin, and Z. Debyser. : DNA-Dependent protein kinase is not required for efficient lentivirus integration. *J Virol* 74:11278-85, 2000.
- 2) Beitzel B, and F Bushman. : Construction and analysis of cells lacking the HMGA gene family. *Nucleic Acids Res* 31:5025-32, 2003.
- 3) Berthoux L, S Sebastian, E Sokolskaja, and J Luban. : Cyclophilin A is required for TRIM5{alpha}-mediated resistance to HIV-1 in Old World monkey cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:14849-53, 2005.
- 4) Brown P O, B Bowerman, H E Varmus, and J M Bishop. : Correct integration of retroviral DNA in vitro. *Cell* 49:347-56, 1987.
- 5) Bukrinskaya A, B Brichacek, A Mann, and M Stevenson. : Establishment of a functional human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcription complex involves the cytoskeleton. *J Exp Med* 188:2113-25, 1998.
- 6) Bukrinsky M. : A hard way to the nucleus. *Mol Med* 10:1-5, 2004.
- 7) Bukrinsky M I, N Sharova, T L McDonald, T

- Pushkarskaya, W G Tarpley, and M Stevenson. : Association of integrase, matrix, and reverse transcriptase antigens of human immunodeficiency virus type 1 with viral nucleic acids following acute infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90:6125-9, 1993.
- 8) Busschots K, J Vercammen, S Emiliani, R Benarous, Y Engelborghs, F Christ, and Z Debyser. : The interaction of LEDGF/p75 with integrase is lentivirus-specific and promotes DNA binding. *J Biol Chem* 280:17841-7, 2005.
 - 9) Cereseto A, L Manganaro, M I Gutierrez, M Terreni, A Fittipaldi, M Lusic, A Marcello, and M Giacca. : Acetylation of HIV-1 integrase by p300 regulates viral integration. *Embo J* 24:3070-81, 2005.
 - 10) Chen H, and A Engelman. : The barrier-to-autointegration protein is a host factor for HIV type 1 integration. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:15270-4, 1998.
 - 11) Cherepanov P, A L Ambrosio, S Rahman, T Ellenberger, and A Engelman. : Structural basis for the recognition between HIV-1 integrase and transcriptional coactivator p75. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:17308-13, 2005.
 - 12) Cherepanov P, G Maertens, P Proost, B Devreese, J Van Beeumen, Y Engelborghs, E De Clercq, and Z Debyser. : HIV-1 integrase forms stable tetramers and associates with LEDGF/p75 protein in human cells. *J Biol Chem* 278:372-81, 2003.
 - 13) Cherepanov P, Z Y Sun, S Rahman, G Maertens, G Wagner, and A Engelman. : Solution structure of the HIV-1 integrase-binding domain in LEDGF/p75. *Nat Struct Mol Biol* 12:526-32, 2005.
 - 14) Ciuffi A, M Llano, E Poeschla, C Hoffmann, J Leipzig, P Shinn, J R. Ecker, and F Bushman. : A role for LEDGF/p75 in targeting HIV DNA integration. *Nat Med* 11:1287-9, 2005.
 - 15) Daniel R, R A Katz, and A M Skalka. : A role for DNA-PK in retroviral DNA integration. *Science* 284:644-7, 1999.
 - 16) Ebina H, J Aoki, S Hatta, T Yoshida, and Y Koyanagi. : Role of Nup98 in nuclear entry of human immunodeficiency virus type 1 cDNA. *Microbes Infect* 6:715-24, 2004.
 - 17) Farnet C M, and F D Bushman. : HIV-1 cDNA integration: requirement of HMG I(Y) protein for function of preintegration complexes in vitro. *Cell* 88:483-92, 1997.
 - 18) Farnet C M, and W A Haseltine. : Integration of human immunodeficiency virus type 1 DNA in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87:4164-8, 1990.
 - 19) Fassati A, and S P Goff. : Characterization of intracellular reverse transcription complexes of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 75:3626-35, 2001.
 - 20) Fassati A, D Gorlich, I Harrison, L Zaytseva, and J M Mingot. : Nuclear import of HIV-1 intracellular reverse transcription complexes is mediated by importin 7. *Embo J* 22:3675-85, 2003.
 - 21) Franke E K, H E Yuan, and J Luban. : Specific incorporation of cyclophilin A into HIV-1 virions. *Nature* 372:359-62, 1994.
 - 22) Furukawa K. : LAP2 binding protein 1 (L2BP1/BAF) is a candidate mediator of LAP2-chromatin interaction. *J Cell Sci* 112 (Pt 15):2485-92, 1999.
 - 23) Gallay P, T Hope, D Chin, and D Trono. : HIV-1 infection of nondividing cells through the recognition of integrase by the importin/karyopherin pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 94:9825-30, 1997.
 - 24) Ge H, Y Si, and R G Roeder. : Isolation of cDNAs encoding novel transcription coactivators p52 and p75 reveals an alternate regulatory mechanism of transcriptional activation. *Embo J* 17:6723-9, 1998.
 - 25) Goff S P. : Retrovirus restriction factors. *Mol Cell* 16:849-59, 2004.
 - 26) Haffar O K, S Popov, L Dubrovsky, I Agostini, H Tang, T Pushkarsky, S G Nadler, and M Bukrinsky. : Two nuclear localization signals in the HIV-1 matrix protein regulate nuclear import of the HIV-1 pre-integration complex. *J Mol Biol* 299:359-68, 2000.
 - 27) Hamamoto S, H Nishitsuji, T Amagasa, M Kannagi, and T Masuda. : Identification of A Novel Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase Interactor Gemin2 that facilitates efficient viral cDNA synthesis in vivo. *J Virol*:(in press), 2006.
 - 28) Hehl E A, P Joshi, G V Kalpana, and V R Prasad. : Interaction between human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase and integrase proteins. *J Virol* 78:5056-67, 2004.
 - 29) Henderson A, M Bunce, N Siddon, R Reeves, and D J Tremethick. 2000. High-mobility-group protein I can modulate the binding of transcription factors to the U5 region of the human immunodeficiency virus type 1 proviral promoter. *J Virol* 74:10523-34, 2000.
 - 30) Henderson A, A Holloway, R Reeves, and D J Tremethick. : Recruitment of SWI/SNF to the human immunodeficiency virus type 1 promoter. *Mol Cell Biol* 24:389-97, 2004.
 - 31) Hindmarsh P, T Ridky, R Reeves, M Andrade, A M Skalka, and J Leis. : HMG protein family members stimulate human immunodeficiency virus type 1 and avian sarcoma virus concerted DNA integration in vitro. *J Virol* 73:2994-3003, 1999.
 - 32) Ikeda T, H Nishitsuji, X Zhou, N Nara, T Ohashi, M Kannagi, and T Masuda. : Evaluation of the functional involvement of human immunodeficiency virus type 1 integrase in nuclear import of viral cDNA during acute infection. *J Virol* 78:11563-73, 2004.
 - 33) Jeggo P A. : DNA breakage and repair. *Adv Genet* 38:185-218, 1998.
 - 34) Kalpana G V, S Marmon, W Wang, G R Crabtree, and S P Goff. : Binding and stimulation of HIV-1 integrase by a human homolog of yeast transcription factor SNF5. *Science* 266:2002-6, 1994.
 - 35) Komano J, K Miyauchi, Z Matsuda, and N Yamamoto. : Inhibiting the Arp2/3 complex limits infection of both intracellular mature vaccinia virus and primate lentiviruses. *Mol Biol Cell* 15:5197-207, 2004.
 - 36) Lee M S, and R Craigie. : Protection of retroviral DNA from autointegration: involvement of a cellular factor.

- Proc Natl Acad Sci U S A 91:9823-7, 1994.
- 37) Li L, J M Olvera, K E Yoder, R S Mitchell, S L Butler, M Lieber, S L. Martin, and F D Bushman. : Role of the non-homologous DNA end joining pathway in the early steps of retroviral infection. *Embo J* 20:3272-81, 2001.
 - 38) Li L, K Yoder, M S Hansen, J Olvera, M D Miller, and F D Bushman. : Retroviral cDNA integration: stimulation by HMG I family proteins. *J Virol* 74:10965-74, 2000.
 - 39) Lin C W, and A Engelman. : The barrier-to-autointegration factor is a component of functional human immunodeficiency virus type 1 preintegration complexes. *J Virol* 77:5030-6, 2003.
 - 40) Llano M, M Vanegas, O Fregoso, D Saenz, S Chung, M Peretz, and E M Poeschla. : LEDGF/p75 determines cellular trafficking of diverse lentiviral but not murine oncoretroviral integrase proteins and is a component of functional lentiviral preintegration complexes. *J Virol* 78:9524-37, 2004.
 - 41) Luby-Phelps K. : Cytoarchitecture and physical properties of cytoplasm: volume, viscosity, diffusion, intracellular surface area. *Int Rev Cytol* 192:189-221, 2000.
 - 42) Maertens G, P Cherepanov, W Pluymers, K Busschots, E De Clercq, Z Debyser, and Y Engelborghs. : LEDGF/p75 is essential for nuclear and chromosomal targeting of HIV-1 integrase in human cells. *J Biol Chem* 278:33528-39, 2003.
 - 43) Mariani R, D Chen, B Schrofelbauer, F Navarro, R Konig, B Bollman, C Munk, H Nymark-McMahon, and N R Landau. : Species-specific exclusion of APOBEC3G from HIV-1 virions by Vif. *Cell* 114:21-31, 2003.
 - 44) Masuda T, V Planelles, P Krogstad, and I S Chen. : Genetic analysis of human immunodeficiency virus type 1 integrase and the U3 att site: unusual phenotype of mutants in the zinc finger-like domain. *J Virol* 69:6687-96, 1995.
 - 45) McDonald D, M A Vodicka, G Lucero, T M Svitkina, G G Borisy, M Emerman, and T J Hope. : Visualization of the intracellular behavior of HIV in living cells. *J Cell Biol* 159:441-52, 2002.
 - 46) Miller M D, C M Farnet, and F D Bushman. : Human immunodeficiency virus type 1 preintegration complexes: studies of organization and composition. *J Virol* 71:5382-90, 1997.
 - 47) Nakamura T, T Masuda, T Goto, K Sano, M Nakai, and S Harada. : Lack of infectivity of HIV-1 integrase zinc finger-like domain mutant with morphologically normal maturation. *Biochem Biophys Res Commun* 239:715-22, 1997.
 - 48) Narezkina A, K D Taganov, S Litwin, R Stoyanova, J Hayashi, C Seeger, A M Skalka, and R A Katz. : Genome-wide analyses of avian sarcoma virus integration sites. *J Virol* 78:11656-63, 2004.
 - 49) Parissi V, C Calmels, V R De Soultrait, A Caumont, M Fournier, S Chaignepain, and S Litvak. : Functional interactions of human immunodeficiency virus type 1 integrase with human and yeast HSP60. *J Virol* 75:11344-53, 2001.
 - 50) Sayah D M, and J Luban. : Selection for loss of Ref1 activity in human cells releases human immunodeficiency virus type 1 from cyclophilin A dependence during infection. *J Virol* 78:12066-70, 2004.
 - 51) Schroder A R, P Shinn, H Chen, C Berry, J R Ecker, and F Bushman. : HIV-1 integration in the human genome favors active genes and local hotspots. *Cell* 110:521-9, 2002.
 - 52) Sheehy A M, N C Gaddis, J D Choi, and M H Malim. : Isolation of a human gene that inhibits HIV-1 infection and is suppressed by the viral Vif protein. *Nature* 418:646-50, 2002.
 - 53) Singh D P, N Ohguro, T Kikuchi, T Sueno, V N Reddy, K Yuge, L T Chylack Jr, and T Shinohara. : Lens epithelium-derived growth factor: effects on growth and survival of lens epithelial cells, keratinocytes, and fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun* 267:373-81, 2000.
 - 54) Sodeik B, M W Ebersold, and A Helenius. : Microtubule-mediated transport of incoming herpes simplex virus 1 capsids to the nucleus. *J Cell Biol* 136:1007-21, 1997.
 - 55) Sokolskaja E, L Berthoux, and J Luban. : Cyclophilin A and TRIM5alpha independently regulate human immunodeficiency virus type 1 infectivity in human cells. *J Virol* 80:2855-62, 2006.
 - 56) Stremlau M, C M Owens, M J Perron, M Kiessling, P Autissier, and J Sodroski. : The cytoplasmic body component TRIM5alpha restricts HIV-1 infection in Old World monkeys. *Nature* 427:848-53, 2004.
 - 57) Suomalainen M, M Y Nakano, S Keller, K Boucke, R P Stidwill, and U F Greber. : Microtubule-dependent plus- and minus end-directed motilities are competing processes for nuclear targeting of adenovirus. *J Cell Biol* 144:657-72, 1999.
 - 58) Suzuki Y, H Yang, and R Craigie. : LAP2alpha and BAF collaborate to organize the Moloney murine leukemia virus preintegration complex. *Embo J* 23:4670-8, 2004.
 - 59) Towers G J, T Hatzioannou, S Cowan, S P Goff, J Luban, and P D Bieniasz. : Cyclophilin A modulates the sensitivity of HIV-1 to host restriction factors. *Nat Med* 9:1138-43, 2003.
 - 60) Tsurutani N, M Kubo, Y Maeda, T Ohashi, N Yamamoto, M Kannagi, and T Masuda. : Identification of critical amino acid residues in human immunodeficiency virus type 1 IN required for efficient proviral DNA formation at steps prior to integration in dividing and nondividing cells. *J Virol* 74:4795-806, 2000.
 - 61) Turelli P, V Doucas, E Craig, B Mangeat, N Klages, R Evans, G Kalpana, and D Trono. : Cytoplasmic recruitment of INI1 and PML on incoming HIV preintegration complexes: interference with early steps of viral replication. *Mol Cell* 7:1245-54, 2001.
 - 62) Vandegraaff N, E Devroe, F Turlure, P A Silver, and A Engelman. : Biochemical and genetic analyses of integrase-interacting proteins lens epithelium-derived growth factor (LEDGF)/p75 and hepatoma-derived

- growth factor related protein 2 (HRP2) in preintegration complex function and HIV-1 replication. *Virology*. 346: 415-26, 2005.
- 63) Violot S, S S Hong, D Rakotobe, C Petit, B Gay, K Moreau, G Billaud, S Priet, J Sire, O Schwartz, J F Mouscadet, and P Boulanger. : The human polycomb group EED protein interacts with the integrase of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 77:12507-22, 2003.
- 64) Wu X, Y Li, B Crise, and S M Burgess. 2003. Transcription start regions in the human genome are favored targets for MLV integration. *Science* 300:1749-51, 2003.
- 65) Yoder K E, and F D Bushman. : Repair of gaps in retroviral DNA integration intermediates. *J Virol* 74:11191-200, 2000.
- 66) Yu Q, R Konig, S Pillai, K Chiles, M Kearney, S Palmer, D Richman, J M. Coffin, and N R Landau. : Single-strand specificity of APOBEC3G accounts for minus-strand deamination of the HIV genome. *Nat Struct Mol Biol* 11:435-42, 2004.
- 67) Yung E, M Sorin, A Pal, E Craig, A Morozov, O Delatre, J Kappes, D Ott, and G V Kalpana. : Inhibition of HIV-1 virion production by a transdominant mutant of integrase interactor 1. *Nat Med* 7:920-6, 2001.
- 68) Yung E, M Sorin, E J Wang, S Perumal, D Ott, and G V Kalpana. : Specificity of interaction of INI1/hSNF5 with retroviral integrases and its functional significance. *J Virol* 78:2222-31, 2004.
- 69) Zheng R, R Ghirlando, M S Lee, K Mizuuchi, M Krause, and R Craigie. : Barrier-to-autointegration factor (BAF) bridges DNA in a discrete, higher-order nucleoprotein complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:8997-9002, 2000.
- 70) Zhu K, C Dobard, and S A Chow. : Requirement for integrase during reverse transcription of human immunodeficiency virus type 1 and the effect of cysteine mutations of integrase on its interactions with reverse transcriptase. *J Virol* 78:5045-55, 2004.
- 71) Zielske S P, and M Stevenson. : Importin 7 may be dispensable for human immunodeficiency virus type 1 and simian immunodeficiency virus infection of primary macrophages. *J Virol* 79:11541-6, 2005.
- 72) 中山英美、塩田達雄. TRIM5 α . ウイルス 55:259-266, 2005.
- 73) 増田貴夫. HIV-1 インテグラーゼの新たな機能：ウイルスゲノムの脱殻から組み込みまで. ウイルス 52:177-83, 2002.
- 74) 増田貴夫. HIV-1 インテグレーションと複製. ウイルス 48:19-25, 1998.
- 75) 高折晃史. APOBEC3 ファミリー蛋白. ウイルス 55:267-272, 2005.

Host factors that regulate the intercellular dynamics of HIV-1 genome during the early phase of infection

Takao MASUDA

Department of Immunotherapeutics
Graduate School of Medicine and Dentistry, Tokyo Medical and Dental University
1-5-45 Yushima, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8519, Japan
E-mail: tmasu.impt@tmd.ac.jp

An interplay or battle between virus and its host has been observed within a single cell. Upon an infection with retroviruses including human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1), the viral genome is subjected to several processes that include uncoating, reverse transcription of the viral genomic RNA into a cDNA copy, transport of this cDNA into the nucleus, and integration of the cDNA into the host chromosome. Antiretroviral restriction factors such as TRIM5 α and APOBEC3G have been recently identified. In addition, nuclear membrane protect host chromosomal DNA against incoming viral genome. For successful retroviral infection, viral genome must overcome these cellular barriers to establish proviral state, in which viral cDNA was stably integrated into host chromosomal DNA. In this review, I would summarize the host factors that regulate the intercellular dynamics of HIV-1 genome during the early phase of infection, especially focusing on factors interacting with HIV-1 integrase and the preintegration complex.