

No.	23-3032	
Project Title	APOBEC3ファミリータンパク質によるウイルス感染やレトロエレメント制御における役割の解明に向けた基盤研究	
Principal Investigator	Terumasa Ikeda (Kumamoto University・Professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Kei Sato (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo・Professor)
	Project Member (s)	清水凌 (熊本大学ヒトレトロウイルス学共同研究センター・大学院生)
	Project Member (s)	伊東潤平 (感染・免疫部門システムウイルス学分野・准教授)

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書（年次終了・研究完了）【国内】

共同研究報告（研究完了）

APOBEC3 (A3) ファミリータンパク質は、一本鎖DNA中のシトシンをウラシルへと変換する脱アミノ化酵素であり、ヒトではA3AからA3Hまでの7つの遺伝子から構成される。A3タンパク質は、ヒト免疫不全ウイルス（HIV-1）をはじめとするレトロウイルスのみならず、EBウイルスなどのDNAウイルスや内在性レトロエレメントも阻害する重要な宿主防御因子である（Jonathan and Ikeda, *Front Virol*, 2023; Leong et al., *Int J Mol Sci*, 2025）。さらに、A3A、A3B、A3Hの発現異常ががん細胞の進化に関与することも示唆され、ゲノム変異の供給源としても注目されている（Olson et al., *Cell Chem Biol*, 2019）。

A3ファミリータンパク質の特徴は、単一の抗ウイルス機能を複数のA3タンパク質が担う点にある。申請者らはこれまでに、7つのA3タンパク質のうち5つ（A3C I188、A3D、A3F、A3G、安定型A3H）がHIV-1感染抑制に関与することを明らかにしてきた（Refsland, Ikeda et al., *PLoS Genet*, 2014; Anderson, Ikeda et al., *Retrovirology*, 2018; Ikeda et al., *J Gen Virol*, 2019）。このような機能的重複性を踏まえ、2023年度に申請者らは、単球性細胞株THP-1を用いて、A3AからA3Gまでの6遺伝子を欠損させた2種類のサブクローンを樹立した。Whole genome sequencing (WGS) 解析により、guide RNA (gRNA) 標的部局周辺の配列を確認してA3AからA3G遺伝子の欠損を実証するとともに、標的部局以外に大きな欠損が生じていないことも検証した。さらに、このA3A-A3G欠損THP-1細胞を用いてA3ファミリータンパク質のHIV-1感染性への寄与を解析した結果、 Δ Vifウイルスの感染性は野生型レベルまで完全に回復した。従来、HIV-1タンパク質VifはA3ファミリー以外の宿主因子も標的とすると報告されているが、本研究により、感染性ウイルス産生に必須なVif機能はA3ファミリータンパク質の分解によって説明できることが示された。この成果はmBio誌に報告された（Ikeda et al., *mBio*, 2023）。

2024年度には、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染におけるA3ファミリータンパク質の影響をA3A-A3G欠損THP-1細胞で検証した。THP-1細胞ではACE2発現が検出されずウイルス複製は認められなかったが、ACE2安定発現THP-1細胞を樹立することで複製が可能となった。一方、ACE2発現THP-1#11-4細胞では感染初期にウイルス複製が認められたものの、継代に伴い複製能は低下した。これらの結果は、THP-1細胞に発現するA3ファミリータンパク質がSARS-CoV-2複製に関与する可能性を示唆している（Begum et al., *Viruses*, 2024）。

2024年度から2025年度にかけては、I型インターフェロン（IFN）またはPMA処理したA3A-A3G欠損THP-1細胞におけるHIV-1感染性への影響を検証した。その結果、I型IFNおよびPMAはいずれもVif非依存的機序を介してウイルス産生を著明に抑制した一方、刺激した親細胞由来の Δ Vifウイルスは感染性が著しく低下していた。これに対し、A3A-A3Gを欠損させると、 Δ Vifウイルスの感染性はすべての条件下で野生型レベルまで完全に回復した。さらに、G-to-A変異はIFN刺激下およびPMA刺激下のいずれにおいてもA3タンパク質に起因していた一方、IFNにより誘導されるA3非依存的な逆転写阻害はVifによって打ち消されなかった。これらの知見は、Vifの本質的役割がA3の抗ウイルス活性に対する拮抗作用によって説明されること、またVifに加わる進化的選択圧の主要因が、A3による抗ウイルス作用および変異導入であることを示している。本研究成果は現在mBio誌に投稿中であり、査読中である。

さらに、レトロエレメント制御やがんゲノム進化におけるA3ファミリータンパク質の役割を明らかにするため、A3A-A3G欠損THP-1細胞を長期培養した。THP-1細胞ではIFN処理により複数のA3ファミリータンパク質の発現が上昇することから、IFN存在下での長期培養も並行して実施した。現在、約1年間培養した細胞を用いて、WGSおよびRNAseq解析を進めている。

加えて、2023年度には佐藤教授との共同研究により、新型コロナウイルスの性状解析に関する研究成果を8報の論文として報告した（Tamura et al., *Cell Host Microbe*, 2024; Begum et al., *Front Virol*, 2024 など）。2024年度には、SARS-CoV-2およびコウモリコロナウイルスの性状解析に関する研究成果を3報の論文として発表し（Fujita et al., *eBioMedicine*, 2024; Tsujino et al., *Microbiol Immunol*, 2024; Kaku et al., *Lancet Infect Dis*, 2024）、2025年度にはSARS-CoV-2の性状解析に関する1報を報告した（Tsujino et al., *Nat Commun*, 2025）。