

主要組織適合抗原を制御するユビキチンリガーゼファミリー

石 戸 聡

二つの膜貫通領域を持つ膜結合型 E3 ユビキチンリガーゼファミリー、MIR (modulator of immune recognition) ファミリーは、抗原提示に関連する分子群をユビキチン化し分解を促す。MIR ファミリーメンバーはアミノ末端に RING variant type である RING-CH ドメインを持ち、分子中央の二つの膜貫通ドメインを用いてユビキチン化する標的分子を認識していると考えられている。このファミリーは、ウイルス分子群とほ乳類分子群の二つに大別される。ウイルス分子群は免疫回避に関連すると考えられており、さらに、ほ乳類分子群の生理機能についてはその一部が明らかとなりつつある。今回はこれらの分子群の研究状況とその方向性について包括的に紹介する。

はじめに

ユビキチン化は、様々な生命現象に関与しており、単にタンパク質分解のみではなく、遺伝子の活性化、タンパク質輸送のシグナルともなっている。ユビキチン化とは、E1；ユビキチン活性化酵素、E2；ユビキチン結合/転移酵素、E3；ユビキチンリガーゼの三つの酵素が連続的に反応を起こし、標的分子のリジン残基にユビキチン分子をイソペプチド結合により付加する反応である¹⁾。標的分子の選択性は、最終反応に関係する E3 によって規定されていることが明らかとなっている。この E3 の活性ドメインとして RING 型、HECT 型のものが知られているが^{2,3)}、現在でもさらに新たなドメインを持つ新規 E3 ファミリーが発見されつつある。その中で、我々を含めたいくつかのグループにより膜結合型、RING variant ドメインを持つ新たな E3 ファミリー MIR ファミリーが発見された⁴⁻⁶⁾。

このファミリーは、はじめにウイルスの免疫回避分子として発見された。ウイルスは、増殖するために我々宿主を

必要とする。従って、ウイルスは我々宿主の免疫機構を回避し生き延びる必要がある。興味深いことには、これらのウイルスタンパク質 (MIR1, 2 と呼ばれている。後述参照) は免疫を起動する重要な分子である MHC クラス I をユビキチン化することによりリソソームでの分解に導くタンパク質であった。さらに、他のファミリーメンバーが我々ヒトのゲノムから見出された。このように、新たな機能を持つ分子がウイルスゲノムから見出されることから、生命科学全体のためにも微生物学は重要であると考えられる。本総説では、我々を含めたグループが MIR ファミリーを見出すに至った経緯、そして、MIR の研究状況と将来の展望について述べたいと思う。

1. MIR ファミリーの発見

(1) ウイルス分子群の発見

ウイルスは必要最小限のシステムのみしか持っていないために、増殖し生存するためには、宿主の代謝システムを必要とする。しかしながら、ウイルスは宿主の免疫によって排除を受ける。そのため、ウイルスは免疫から逃れるシステムを持つ必要がある。現在までにそのために働く多彩なウイルスタンパク質とそれらの機能が報告されている⁷⁾。我々は、ウイルスの新たな免疫回避機構を探索することを目的に、カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス (KSHV) に注目した。さらに、MHC クラス I の機能を抑制するタンパク質の発見を目標に探索を開始した。MHC クラス I はウイルスが感染した細胞において発現が増強し、プロテア

理化学研究所、免疫・アレルギー科学総合研究センター、感染免疫応答研究チーム (〒230-0045 横浜市鶴見区末広町 1-7-22)

An E3 ubiquitin ligase family for MHC molecules
Satoshi Ishido (Laboratory for Infectious Immunity, RIKEN Research Center for Allergy and Immunology (RCAI), RIKEN Yokohama Institute, 1-7-22, Suicho-cho, Tsurumiku, Yokohama, Kanagawa 230-0045, Japan)

表1 ウイルス MIR ファミリーメンバー

遺伝子	ウイルス	標的分子	参考文献
K3/MIR1		MHC I, CD 1d	(9) (10) (36)
K5/MIR2	カポジ肉腫関連ヘルペスウイルス	MHC I, ICAM-1, B7-2, CD 1d, MICA, MICB, AICL	(20) (37) (21, 36)
MV-LAP/M153R	粘液腫ウイルス	MHC I, Fas-CD95, CD4	(38) (39)
mK3	マウスγヘルペスウイルス 68	MHC I	(11) (40)
ORF 12	Herpesvirus saimiri	N/D	(41)
IE-1A, IE-1B	牛ヘルペスウイルス 4 型	N/D	(42)
S153R	シヨープ線維腫ウイルス	N/D	(43)
C7L	豚痘ウイルス	N/D	(44)
5L	Yaba-like disease virus	N/D	(45)
010	塊皮病 (ランピースキン病) ウイルス	N/D	(46)

ソームで分解されたウイルスタンパク質の一部を細胞表面で提示する膜タンパク質である。この“ウイルス抗原提示”によって、ウイルス抗原を特異的に認識する T 細胞レセプターを持った細胞傷害性 T 細胞 (CTL) がウイルス感染細胞を障害し排除する。これにより、我々は感染症から治療することができる。すでに、MHC クラス I の機能を様々な方法で抑制するウイルスタンパク質が報告されている⁸⁾。

すでに報告されている MHC クラス I を抑制するウイルスタンパク質には、ウイルス感染の初期に発現する膜タンパク質であるという共通の特徴が見出される。我々は、KSHV タンパク質の中でその条件を満たすタンパク質をクローニングし、MHC クラス I の発現を抑制するものを探索した。その結果 MIR1, MIR2 が見出された⁹⁾。この発見は、同時にカリフォルニア大学の Ganem のグループからも報告され¹⁰⁾、さらに、ケンブリッジ大学の Stevenson のグループがマウスヘルペスウイルス (MHV) にも同様の機能を持つタンパク質 mK3 を発見したこと¹¹⁾、新たな MHC クラス I の発現抑制タンパク質として注目を浴びることとなった。MIR1, 2, mK3 が二つの膜貫通領域を持ち、PHD ドメインと類似した Zn フィンガードドメインを持つというユニークな構造をとっていることから、他のウイルスにおいても探索がなされ、表 1 に示されているような MIR1, 2 と構造の類似したウイルスタンパク質が見出されている。

(2) ほ乳類分子群の発見

KSHV の MIR1, 2 が発見された後、これらの分子の由来に興味を持たれた。なぜならば、免疫システムを攪乱する多くのウイルスタンパク質は、宿主分子を模倣したものと考えられているからである^{7,12)}。Zn フィンガードドメインとの構造的な相同性から、ほ乳類ゲノムデータベースの探索が行われた。その結果、いくつかの相同分子の存在が明らかとなった (表 2 参照)。興味深いことには、それぞれ相同性を持つ二つの分子が対となって存在していることが明らかとなった^{5,13)}。具体的には、MARCH-I と c-MIR/

表2 MARCH ファミリーメンバー

遺伝子	標的分子	参考文献
MARCH I	MHC クラス II, B7-2, Fas-CD95, Tfr	(15, 25)
MARCH II	Tfr, B7-2	(15)
MARCH III	N/D	
MARCH IV	MHC クラス I, CD4	(15)
MARCH V	Mfn1	(35)
MARCH VI	N/D	
MARCH VII	N/D	
c-MIR/MARCH VIII	B7-2, Fas-CD95, Tfr	(14) (15)
MARCH IX	MHC クラス I, CD4	(15)
MARCH X	N/D	
MARCH XI	N/D	

MARCH-VIII, MARCH-II と MARCH-III, MARCH-IV と MARCH-IX がそれぞれ相同関係にある。このことから、機能的に重複した分子群が存在していることが示唆されている。最初に機能が明らかにされたものが、2003 年に我々が報告した c-MIR である¹⁴⁾。その後、米国の Fruh らのグループによりほ乳類分子群が MARCH と名付けられた¹⁵⁾。現在、11 種類の MARCH ファミリーメンバーが報告されており、c-MIR は MARCH VIII とされている (表 2 参照)。

2. MIR ファミリーは E3 ユビキチンリガーゼである。

MIR1, 2 が、MHC クラス I の細胞表面における発現を強力に抑制することは明らかであったが、その生化学的機構は不明であった。Ganem らのグループと Stevenson らのグループは、MIR1, 2 の Zn フィンガードドメインが MHC クラス I の抑制に不可欠であることをヒントに、MIR が E3 ユビキチンリガーゼではないかと推測した。検討の結果、MIR1, 2 は MHC クラス I の細胞内領域のリジン残基をユビキチン化する E3 ユビキチンリガーゼであることが見出された。発見当初は、PHD 型の活性ドメインを持つ E3 であるとされていたが、NMR による活性ドメインの解析から RING ドメインに構造が似ており、現在では亜系 RING ドメイン (RINGv) とされている¹⁶⁾。この発見を基

に、すべてのMIRファミリーメンバーはE3活性を持つユビキチン化酵素であることが明らかとなった。

3. ウイルスMIRのウイルス感染症への関与

ウイルスMIRはMHCクラスIをユビキチン化することによって分解することから、ウイルスの免疫回避機構に関与すると予測された。この仮説は、変異型MHV-68を用いた実験で証明された。StevensonらはMHCクラスIを抑制するmK3を欠損したMHV-68ウイルスを作成し検討した。mK3欠損は*in vitro*のウイルス増殖には全く影響がなかったが、マウスを用いた感染実験の結果、mK3を欠損するウイルスは潜伏感染を効率よく成立させることができなかった。さらに、変異型ウイルスに対するCTLの誘導が高率に認められた¹⁷⁾。これらのことから、mK3によるMHCクラスIの抑制は、ウイルスの潜伏感染成立に重要であることが明らかとなった。

KSHV感染症へのMIR1, 2の関与についての検討は、現在残念ながら進んでいない。しかし、いくつかの重要な知見が集まりつつある。以下にその現状を述べる。MIR1, 2はMHCクラスIを抑制し、CTLを抑制すると考えられるが、MHCクラスIはNK細胞の抑制においても重要な役割をしている。すなわち、NK細胞は活性化経路と抑制経路を持っており、この二つのバランスでNK細胞の活性化が規定されている。具体的には、MHCクラスIとKIR (NK inhibitory receptor) の結合により抑制経路が活性化され、一方ICAMやB7等の結合シナプスに関与する分子が活性化経路に関与している。このことは、MIR1, 2によるMHCクラスIの抑制が、NK細胞の活性化を起こす可能性を示唆している。事実、多くのウイルス感染細胞、がん細胞ではNK細胞を活性化する方向へバランスが傾いており、このことによってNK細胞が異常細胞

を排除し生体内の恒常性を維持している¹⁸⁾。しかしながら、後天性免疫不全症候群の原因ウイルスであるHIVではnef遺伝子による選択的MHCクラスIの抑制によってNK細胞の活性化を誘導しないと報告されている。それによると、MHCクラスIのアロタイプであるHLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-Eのうち、NefはA, Bを抑制し、C, Eは抑制せず、この保たれたHLA-C, Eによって、NK細胞の活性化が抑制されているとしている¹⁹⁾。これらのことより、MIR1, 2によるMHCクラスIの選択的抑制について検討した。その結果、MIR1はすべてのアロタイプを抑制し、MIR2はA, Bを強く抑制するが、C, Eの抑制は弱いことが明らかとなった⁹⁾。このことは、MIR1はNK細胞を活性化するが、MIR2による活性化は弱いことを示唆している。さらに、MIR2にはMHCクラスI以外の基質分子が存在することが明らかとなった。まず、我々によってMIR2がNK細胞を活性化するB7-2, ICAM-1を抑制することが明らかとなった²⁰⁾。また、最近、ケンブリッジ大学のLehnerらは、MIR2はNK細胞を活性化させるMHC class I-related chain A (MICA), MICB, activation-induced C-type lectin (AICL)をもユビキチン化し機能を抑制することを報告している²¹⁾。これらのことから、我々は図1に示す仮説を提唱している。すなわち、KSHVはMIR1, 2を用いてMHCクラスIを抑制しCTLからの回避を行う。しかしながら、MIR2によるMHCクラスIの抑制はMIR1よりも弱いため、CTLからの回避にはMIR1とMIR2の両者が必要であると考えられる⁹⁾。その一方で、MHCクラスIの抑制によるNK細胞からの障害を受けるために、MIR2はさらにNK細胞の活性化レセプターを抑制し、CTL, NK細胞両者からの回避を行っていると考えている。近年、南カリフォルニア大学のJungらはKSHV感染モデルの作成に成功しており²²⁾、このシス

図1 MIR1, MIR2による免疫回避機構の仮説

(A)MIR1のみでは、MHCクラスIの抑制によってCTL(細胞傷害性T細胞)からは回避できるが、NK細胞から障害を受けるため、感染細胞は排除される。(B)MIR2のみでは、MHCクラスIのアロタイプであるHLA-C, Eの発現が保たれること、さらにNK細胞活性化分子であるICAM-1等が抑制されることにより、NK細胞から回避することができる。しかし、HLA-A, Bの発現はMIR2のみでは完全に抑制できないために、CTLからの回避ができない。(C)MIR1とMIR2の両者が発現すると、CTL, NK細胞の両者から回避することができ、感染細胞は宿主の中で潜伏することができる。

図2 MARCH-Iによる免疫制御に関する仮説

非感染状態では、MARCH-I (E3)によるMHCクラスIIのユビキチン化と分解が行われており、常に新たな分子と入れ替えがなされている。一旦感染が起こると、病原体由来の抗原(赤い丸で示している)を提示しているMHCクラスIIのユビキチン化がMARCH-I (E3)の発現抑制によって消失し、細胞表面において安定化する。抗原を提示している安定化されたMHCクラスIIは、CD4 T細胞を活性化し免疫を起動する。感染の後期になると、安定化されたMHCクラスIIを介した抑制性のシグナルが発生し、樹状細胞の機能を抑制することにより免疫を終息へ向かわせる。

図3 MIR2によるMHCクラスI抑制に関する仮説

MIR2とMHCクラスIは細胞表面でそれぞれの膜貫通領域を介して結合する。UbcH5b/cあるいはUbc13から、MIR2のRINGvドメインを介して、ユビキチンがMHCクラスIの335番目のリジン残基へ転移される。最終的にK11リンクとK63リンクの混合ユビキチン鎖が形成され、epsin1がMHCクラスIにリクルートされる。epsin1はクラスリン依存的エンドサイトーシスを誘導し、MHCクラスIをリソソームでの分解へと向かわせる。

テムを用いて MIR2 の関与への仮説の証明がなされると期待される。

4. ほ乳類分子群, MARCH ファミリーメンバー

現在, いくつかのグループがプロテオミクスによって MARCH ファミリーメンバーの基質探索を行っている^{23,24)}. その結果, MARCH ファミリーメンバーの中にウイルス MIR と同様に抗原提示関連分子をユビキチン化により抑制する分子群が存在する可能性が示唆された(表2参照). しかしながら, これらの結果はそれぞれのファミリー分子を過剰発現した結果であり, それぞれが真の基質であるのか否かについては現在もすべてが明らかにはなっていない. 我々は生理的な基質分子の探索のために, MARCH ファミリーメンバーの欠損マウスを作成し検討を行った. その結果, MARCH-I が MHC クラス II をユビキチン化する生理的な E3 であることが明らかとなった²⁵⁾. さらに, B7-2 も MARCH-I の生理的な基質分子である可能性が強く示唆された²⁶⁾. MARCH ファミリーメンバーの中で, MARCH-I に関する我々の研究につき紹介する.

5. MARCH-I の生理学的機能

MARCH-I の遺伝子改変マウスの解析と発現様式から, MARCH-I の機能が少しずつ見えつつある. MARCH-I の発現は, 脾臓, リンパ節等の二次リンパ組織に限局していた. さらに, 脾臓における MARCH-I の発現細胞を検討したところ, 興味深いことには MHC クラス II を発現し CD4 T 細胞へ抗原提示する細胞(樹状細胞, B 細胞, マクロファージ)に強く発現していることが明らかとなった. これらのことから, MARCH-I は抗原提示細胞において MHC クラス II の機能を制御する E3 であることが示唆された. 実際, MARCH-I の欠損樹状細胞では, MHC クラス II の発現が顕著に上昇している. 樹状細胞における MARCH-I の機能を検討するために, 樹状細胞の活性化状態と MARCH-I の発現変化を検討した. 樹状細胞は, 病原体による刺激によって MHC クラス II の発現増強, B7-2 等の抗原提示補助分子の発現増強を行い, 病原体に対する免疫応答を起動する中心的な細胞である. MARCH-I の発現は, 病原体刺激によって急速に減少し, その減少に並行して MHC クラス II のユビキチン化も減少することが明らかとなった^{27,28)}. さらに重要な点は, ユビキチン化される MHC クラス II はインバリエント鎖が結合していない成熟した MHC クラス II, すなわち抗原を提示することができる MHC クラス II であることが明らかとなっている^{29,30)}. これらのことから, 病原体由来の抗原を提示している MHC クラス II が MARCH-I 発現抑制によるユビキチン化消失によって安定化し, 免疫が効率よく行われると考えられる(図2参照).

次の疑問は, なぜ免疫が起動する必要がない時(言い換えれば非感染状態)において, MARCH-I の発現, MHC クラス II のユビキチン化が必要であるのか? である. この点について, MARCH-I 欠損マウスを用いて検討を行った. MARCH-I 欠損マウスをモデル抗原にて免疫を行い, T 細胞の活性化, 抗体産生機能を検討した. その結果, MARCH-I 欠損マウスにおいて免疫応答の減弱を認めた. その原因を追求した所, 抗原提示細胞として重要な樹状細胞の機能異常によることが明らかとなった²⁶⁾. 具体的には, 樹状細胞は感染刺激によって IL-12, TNF-alpha 等の T 細胞を刺激するサイトカインを産生するが, MARCH-I が欠損している樹状細胞ではサイトカインの産生機能が低下していた. さらに, モデル抗原を提示する機能が低下していた. このように, MARCH-I による MHC クラス II のユビキチン化は非感染状態において重要であることが示唆された.

では, 本当に MHC クラス II のユビキチン化が非感染状態における樹状細胞の維持に重要であるのだろうか? MARCH-I 欠損樹状細胞では, B7-2 の発現も顕著に上昇していることから, その機能異常の原因として B7-2 の過剰発現も考慮に入れる必要がある. そこで我々は, MARCH-I 欠損マウスからさらに MHC クラス II を欠損させた. この二重欠損マウスにおいては B7-2 発現亢進が樹状細胞で認められるにもかかわらず, 樹状細胞の機能は完全に回復していた. さらに, MARCH-I によってユビキチン化される MHC クラス II のリジン残基を欠損させた遺伝子改変マウスを作成し, MHC クラス II だけがユビキチン化されないマウスを作成し検討した. その結果, この遺伝子改変マウスの樹状細胞において, MARCH-I 欠損マウスと同様の機能異常が認められた. これらのことから, 確かに, MARCH-I による MHC クラス II のユビキチン化は非感染状態における樹状細胞の維持に重要であることが証明された²⁶⁾.

6. MHC クラス II のユビキチン化欠損による免疫異常は何を意味するのか?

MHC クラス II は病原体由来の抗原を T 細胞に提示し, 病原体に対する免疫を起動する中心的分子である. 従って, ユビキチン化の抑制によって MHC クラス II の発現が亢進すれば免疫応答は亢進すると予想される. しかし, 事實は異なり, MHC クラス II を発現する抗原提示細胞の機能異常を引き起こす. 抗原提示細胞である樹状細胞は感染刺激によって成熟樹状細胞となるが, この際に MHC クラス II のユビキチン化消失が起こる. これは, 病原体由来の抗原を提示するために必要であると考えられるが, その一方で, この状況は MARCH-I 欠損マウスと全く同様であるとも考えられ, 感染刺激を受けた樹状細胞も, 安定化し

たMHCクラスIIから機能異常を引き起こす同様のシグナル(抑制性シグナル)を受けていると考えられる(図2参照)。すなわち、成熟化した樹状細胞は、MHCクラスIIのユビキチン化抑制により、病原体抗原の抗原提示を効率よく行うと同時に、樹状細胞自身の機能の抑制を受ける可能性があると考えられる。これらを基に我々は、現在、図2に示すような仮説を立てている。MHCクラスIIのユビキチン化消失の初期には抗原提示が安定化し免疫が効率よく誘導できるが、その後期には樹状細胞の機能抑制を誘導し免疫を終息へ向かわせると考えた。この仮説を実証するにあたって、どのような分子機構で樹状細胞の機能抑制が誘導されるのかを明らかにしているところである。

7. MIRによる抑制の分子機構

(1) MIRによる細胞内輸送機構

MIRファミリーメンバーはいくつかのメンバーを除いて、その中央に二つの膜貫通領域を持つ膜結合型のE3ユビキチンリガーゼである。それぞれ、異なる膜タンパク質をユビキチン化することができる(表2参照)。我々は、c-MIR/MARCH-VIIIとB7-2を用いて、c-MIRによる抑制の分子機構の検討を行った³¹⁾。まず、B7-2のユビキチン化と細胞内輸送の詳細を検討する目的で、c-MIRの発現をテトラサイクリンで誘導できるシステムを構築した。さらに、B7-2にはそのアミノ末端にタグを挿入し精製できるように改変した。細胞表面に存在するB7-2の状況を検討した結果、c-MIR発現によってB7-2のエンドサイトーシスが亢進することが明らかとなった。さらに、エンドサイトーシスとユビキチン化との関連を検討したところ、細胞表面においてユビキチン化が行われ、ユビキチン化によってエンドサイトーシスが誘導されることが明らかとなった。すでにユビキチン化がエンドサイトーシスのシグナルとして働いていることは知られており、その知見に合致するものであった。c-MIRのE2酵素を検討した結果、UbcH5b/cが関与していることを見出した。ウイルスMIR1, 2においては、UbcH5b/cの他にUbc13が関与していると報告されている³²⁾。c-MIRによってユビキチン化されたB7-2の分解は、V-ATPaseの阻害剤で抑制され、さらにエンドサイトーシスを受けたB7-2は後期エンドソームのマーカーであるLAMP2と共局在することから、ユビキチン化されたB7-2はリソソームで分解されると考えられる。

これらのことからMIRは基質分子のユビキチン化によるエンドサイトーシスを誘導すると考えられるが、その詳細な検討をウイルスMIR2を用いて行った。ポリユビキチン鎖は、ユビキチン分子の7カ所のリジン残基(K6, 11, 27, 29, 33, 48, 63)に別のユビキチン分子が付加されて形成される。そこでまず、MIR2によってMHCクラスI

にどのようなポリユビキチン鎖が付加されるかを質量分析法で解析した。その結果、MHCクラスIの細胞内領域に存在する335番目のリジン残基にK11リンクとK63リンクの両者を持つと考えられるポリユビキチン鎖が付加されることが明らかとなった。さらに、このユビキチン鎖にUIM(ubiquitin-interacting motif)ドメインを持つepsin1が結合することによりエンドサイトーシスが誘導されることが明らかとなった(論文修正中、図3参照)。epsin1はENTHと呼ばれる膜結合ドメインと、DPWと呼ばれるクラスリン結合ドメインを持ち、クラスリン依存性エンドサイトーシスを誘導するアダプター分子として知られている。K11鎖とK63鎖を用いた実験から、K63鎖にepsin1が結合することが明らかとなった。c-MIR等の他のMIRメンバーにおいても、基質分子にK11リンクとK63リンクが混合されたユビキチン鎖の合成が確認されており、MIRによるエンドサイトーシスには複雑なユビキチン反応が関与している可能性が強く示唆される。K11リンクがMHCクラスIに形成されることはLehnerらのグループからも報告されており³³⁾、そのエンドサイトーシス誘導への関与について、今後さらなる検討が必要である。現在までに考えられているMIR2による抑制の分子機構を図3にまとめた。

(2) MIRによる基質認識機構

表1, 2に示すように、MIRは異なる基質のセットを持っている。我々は基質認識機構の解明にも取り組んでいる。c-MIRはB7-2をユビキチン化し抑制するが、MHCクラスIをユビキチン化しない。よって、B7-2とMHCクラスIとのキメラ分子を作成し、c-MIRによるB7-2の認識部位を検討した。その結果、B7-2の膜貫通領域のみ存在すればc-MIRによるユビキチン化、分解を受けることが明らかとなった³¹⁾。さらに、ウイルスMIR1, 2のキメラ分子を用いた検討から、MIR2の二つの膜貫通領域によってB7-2が抑制されることが明らかとなった³⁴⁾。これらのことから、MIRはその膜貫通領域と基質の膜貫通領域との相互作用により、基質分子をユビキチン化していると考えられる。認識機構の詳細については、MIRの膜貫通領域の構造を明らかにすることにより初めて議論できると考えられる。

8. 今後の展開

我々は、ウイルスの免疫回避分子の探索から、免疫学、細胞生物学(特にタンパク質輸送に関して)、生化学(ユビキチン化に関して)へ研究を展開しつつある。このような流れの研究はすでにがん研究の発展に大きな貢献をしているが、さらに、今まで予期されていなかった生命現象を解き明かす原動力になるものと考えられる。

MIRファミリー研究において一番重要な課題は、ファ

ミリーメンバーの生理学的、病理学的意義の追求である。ウイルス MIR に関して KSHV MIR2 の感染症への関与は未だ不明である。さらに、MARCH-I についても、実際どのような疾患と関連するのかを追求しなければならない。今回は紹介できなかったが、MARCH-V (表2参照) はミトコンドリアに存在し、Mfn1 (ミトコンドリアの融合を促す GTPase) を制御する E3 であり³⁵⁾、その欠損は胎生致死となる。このように、他の MARCH ファミリーメンバーの解析からも新たな疾患機序の発見がなされると考える。

MIR は膜貫通領域における相互作用により基質分子を認識することから、構造学的にも重要な知見が得られるものとする。MIR による基質認識機構が明らかとなれば、様々な膜タンパク質を標的とする新たな創薬の道が拓かれることも夢ではない。構造学的解析、さらには MIR の生化学的解析を推進するためには、MIR の機能を *in vitro* で再構築する必要がある。現在、様々な手法を用いて挑戦している所である。

参 考 文 献

- Hershko, A. & Ciechanover, A. (1998) *Annu. Rev. Biochem.*, **67**, 425-479.
- Joazeiro, C.A. & Weissman, A.M. (2000) *Cell*, **102**, 549-552.
- Lu, Z., Xu, S., Joazeiro, C., Cobb, M.H., & Hunter, T. (2002) *Mol. Cell*, **9**, 945-956.
- Coscoy, L. & Ganem, D. (2003) *Trends Cell Biol.*, **13**, 7-12.
- Ohmura-Hoshino, M., Goto, E., Matsuki, Y., Aoki, M., Mito, M., Uematsu, M., Hotta, H., & Ishido, S. (2006) *J. Biochem. (Tokyo)*, **140**, 147-154.
- Ishido, S., Goto, E., Matsuki, Y., & Ohmura-Hoshino, M. (2009) *Curr. Opin. Immunol.*, **21**, 78-83.
- Alcami, A. & Koszinowski, U.H. (2000) *Trends Microbiol.*, **8**, 410-418.
- Ploegh, H.L. (1998) *Science*, **280**, 248-253.
- Ishido, S., Wang, C., Lee, B.S., Cohen, G.B., & Jung, J.U. (2000) *J. Virol.*, **74**, 5300-5309.
- Coscoy, L. & Ganem, D. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 8051-8056.
- Stevenson, P.G., Efstathiou, S., Doherty, P.C., & Lehner, P.J. (2000) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **97**, 8455-8460.
- Choi, J., Means, R.E., Damania, B., & Jung, J.U. (2001) *Cytokine Growth Factor Rev.*, **12**, 245-257.
- Nathan, J.A. & Lehner, P.J. (2009) *Exp. Cell Res.*, **315**, 1593-1600.
- Goto, E., Ishido, S., Sato, Y., Ohgimoto, S., Ohgimoto, K., Nagano-Fujii, M., & Hotta, H. (2003) *J. Biol. Chem.*, **278**, 14657-14668.
- Bartee, E., Mansouri, M., Hovey Nerenberg, B.T., Gouveia, K., & Fruh, K. (2004) *J. Virol.*, **78**, 1109-1120.
- Dodd, R.B., Allen, M.D., Brown, S.E., Sanderson, C.M., Duncan, L.M., Lehner, P.J., Bycroft, M., & Read, R.J. (2004) *J. Biol. Chem.*, **279**, 53840-53847.
- Stevenson, P.G., May, J.S., Smith, X.G., Marques, S., Adler, H., Koszinowski, U.H., Simas, J.P., & Efstathiou, S. (2002) *Nat. Immunol.*, **3**, 733-740.
- Raulet, D.H., Vance, R.E., & McMahon, C.W. (2001) *Annu. Rev. Immunol.*, **19**, 291-330.
- Cohen, G.B., Gandhi, R.T., Davis, D.M., Mandelboim, O., Chen, B.K., Strominger, J.L., & Baltimore, D. (1999) *Immunity*, **10**, 661-671.
- Ishido, S., Choi, J.K., Lee, B.S., Wang, C., DeMaria, M., Johnson, R.P., Cohen, G.B., & Jung, J.U. (2000) *Immunity*, **13**, 365-374.
- Thomas, M., Boname, J.M., Field, S., Nejentsev, S., Salio, M., Cerundolo, V., Wills, M., & Lehner, P.J. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 1656-1661.
- Chang, H., Wachtman, L.M., Pearson, C.B., Lee, J.S., Lee, H. R., Lee, S.H., Vieira, J., Mansfield, K.G., & Jung, J.U. (2009) *PLoS Pathog.*, **5**, e1000606.
- Bartee, E., McCormack, A., & Fruh, K. (2006) *PLoS Pathog.*, **2**, e107.
- Hor, S., Ziv, T., Admon, A., & Lehner, P.J. (2009) *Mol. Cell. Proteomics*, **8**, 1959-1971.
- Yatsuki, Y., Ohmura-Hoshino, M., Goto, E., Aoki, M., Mito-Yoshida, M., Uematsu, M., Hasegawa, T., Koseki, H., Ohara, O., Nakayama, M., Toyooka, K., Matsuoka, K., Hotta, H., Yamamoto, A., & Ishido, S. (2007) *EMBO J.*, **26**, 846-854.
- Ohmura-Hoshino, M., Matsuki, Y., Mito-Yoshida, M., Goto, E., Aoki-Kawasumi, M., Nakayama, M., Ohara, O., & Ishido, S. (2009) *J. Immunol.*, **183**, 6893-6897.
- De Gassart, A., Camosseto, V., Thibodeau, J., Ceppi, M., Catalan, N., Pierre, P., & Gatti, E. (2008) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 3491-3496.
- Young, L.J., Wilson, N.S., Schnorrer, P., Proietto, A., ten Broeke, T., Matsuki, Y., Mount, A.M., Belz, G.T., O'Keefe, M., Ohmura-Hoshino, M., Ishido, S., Stoorvogel, W., Heath, W.R., Shortman, K., & Villadangos, J.A. (2008) *Nat. Immunol.*, **9**, 1244-1252.
- Shin, J.S., Ebersold, M., Pypaert, M., Delamarre, L., Hartley, A., & Mellman, I. (2006) *Nature*, **444**, 115-118.
- van Niel, G., Wubbolts, R., Ten Broeke, T., Buschow, S.I., Ossendorp, F.A., Melief, C.J., Raposo, G., van Balkom, B.W., & Stoorvogel, W. (2006) *Immunity*, **25**, 885-894.
- Goto, E., Mito-Yoshida, M., Uematsu, M., Aoki, M., Matsuki, Y., Ohmura-Hoshino, M., Hotta, H., Miyagishi, M., & Ishido, S. (2008) *PLoS ONE*, **3**, e1490.
- Duncan, L.M., Piper, S., Dodd, R.B., Saville, M.K., Sanderson, C.M., Luzio, J.P., & Lehner, P.J. (2006) *EMBO J.*, **25**, 1635-1645.
- Boname, J.M., Thomas, M., Stagg, H.R., Xu, P., Peng, J., & Lehner, P.J. (2010) *Traffic*, **11**, 210-220.
- Sanchez, D.J., Coscoy, L., & Ganem, D. (2002) *J. Biol. Chem.*, **277**, 6124-6130.
- Park, Y.Y., Lee, S., Karbowski, M., Neutzner, A., Youle, R.J., & Cho, H. (2010) *J. Cell Sci.*, **123**, 619-626.
- Sanchez, D.J., Gumperz, J.E., & Ganem, D. (2005) *J. Clin. Invest.*, **115**, 1369-1378.
- Coscoy, L. & Ganem, D. (2001) *J. Clin. Invest.*, **107**, 1599-1606.
- Guerin, J.L., Gelfi, J., Boullier, S., Delverdier, M., Bellanger, F.A., Bertagnoli, S., Drexler, I., Sutter, G., & Messud-Petit, F. (2002) *J. Virol.*, **76**, 2912-2923.
- Mansouri, M., Bartee, E., Gouveia, K., Hovey Nerenberg, B.T., Barrett, J., Thomas, L., Thomas, G., McFadden, G., & Fruh, K. (2003) *J. Virol.*, **77**, 1427-1440.
- Lybarger, L., Wang, X., Harris, M., & Hansen, T.H. (2005)

- Curr. Opin. Immunol.*, 17, 71-78.
- 41) Albrecht, J.C., Nicholas, J., Biller, D., Cameron, K.R., Biesinger, B., Newman, C., Wittmann, S., Craxton, M.A., Coleman, H., Fleckenstein, B., et al. (1992) *J. Virol.*, 66, 5047-5058.
- 42) van Santen, V.L. (1991) *J. Virol.*, 65, 5211-5224.
- 43) Willer, D.O., McFadden, G., & Evans, D.H. (1999) *Virology*, 264, 319-343.
- 44) Massung, R.F., Jayarama, V., & Moyer, R.W. (1993) *Virology*, 197, 511-528.
- 45) Lee, H.J., Essani, K., & Smith, G.L. (2001) *Virology*, 281, 170-192.
- 46) Tulman, E.R., Afonso, C.L., Lu, Z., Zsak, L., Kutish, G.F., & Rock, D.L. (2001) *J. Virol.*, 75, 7122-7130.
-