

令和元年6月5日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05199

研究課題名(和文) マウスAPOBEC3のプロテアーゼ抑制機構解明による新規抗レトロウイルス薬開発

研究課題名(英文) Designing novel protease inhibitors based on the interference of mouse APOBEC3 with retroviral Gag-Pol autocatalysis

研究代表者

宮澤 正顯 (MIYAZAWA, Masaaki)

近畿大学・医学部・教授

研究者番号：60167757

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 11,100,000円

研究成果の概要(和文)：APOBEC3はデアミナーゼ活性非依存的にレトロウイルス複製を阻害するが、その分子機構は不明である。我々はマウスAPOBEC3がウイルス構造タンパク質切り出しと粒子成熟を阻害することを発見した。その分子機構は次の通り：1) マウスAPOBEC3はレトロウイルスGag-Pol前駆体に結合し、プロテアーゼ切り出しを阻害する。2) 生理的発現量のマウスAPOBEC3が、プロテアーゼ切り出しを阻害出来る。3) この阻害にデアミナーゼ活性中心は必要でない。4) 阻害活性はAPOBEC3のC-末端側半分が担う。5) マウスAPOBEC3はウイルスプロテアーゼの65から105番アミノ酸残基の範囲に結合する。

研究成果の学術的意義や社会的意義

抗レトロウイルス薬の多剤併用により、先進国ではHIV-1感染者の生命予後が非感染者のそれに近付いているとされる。しかし、現在用いられている抗レトロウイルス薬では耐性株出現が不可避であり、若年感染者が短期間に治療を必要とするようになる現状からも、新たな作用機序を持つ抗HIV薬開発が喫緊の課題である。プロテアーゼ阻害薬は、活性部位への結合や二量体化の抑制を指標に開発されて来た。我々の研究成果を基礎に、Gag-Pol前駆体からのプロテアーゼ切り出しを阻害する薬物のシーズを宿主因子の分子構造から探ることにより、有効かつ副作用の少ない新規抗レトロウイルス薬の開発に貢献できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Mouse APOBEC3 (mA3) inhibits murine leukemia virus (MuLV) replication through a deamination-independent mechanism in which the reverse transcription is considered the prime target process. However, other steps in virus replication can also be targeted by mA3. We have investigated the possible effect of mA3 on viral protease-mediated processes. We found that mA3 directly bound both mature viral protease and Pr180gag-pol precursor. Furthermore, the autoprocessing of Pr180gag-pol was impeded by mA3, resulting in reduced production of mature viral protease. Exon 5-containing and -lacking isoforms of mA3 equally exhibited this antiviral activity, and physiologically expressed levels of mA3 impeded Pr180gag-pol autocatalysis and Pr65gag processing. This blockade was independent of the deaminase activity and required the C-terminal half of mA3. These results suggest that Pr180gag-pol autoprocessing can be a critical step for mA3 to exert its deaminase-independent antiretroviral activity.

研究分野：ウイルス学

キーワード：レトロウイルス 宿主因子 複製阻害 プロテアーゼ APOBEC3 粒子成熟 Gag-Pol前駆体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

抗レトロウイルス薬の多剤併用により、保険医療制度の充実した先進国では HIV-1 感染者の十年単位での生命予後が非感染者のそれに近付いているとされる。しかし、現在用いられている抗レトロウイルス薬は HIV を体内から完全に排除出来るものではなく、耐性株出現が不可避であり、若年感染者が短期間に治療を必要とするようになっている現状からも、新たな作用機序を持つ抗 HIV 薬の開発は喫緊の課題である。

Apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like 3 (Apolipoprotein B editing complex 3 と呼ぶ: APOBEC3) は、哺乳類が進化の過程で獲得した細胞内抗ウイルス因子の一つであり、一本鎖 DNA を標的として、そのシトシン塩基をウラシルに変換する。APOBEC3 の主要な標的はレトロウイルス複製過程で逆転写酵素活性により生じた一本鎖 DNA であり、霊長類の内在性レトロウイルスには、他の如何なる複製制限因子によるよりも APOBEC3 による複製抑制の証拠が多く残されている。一方、現存哺乳類に感染する外来性レトロウイルスは、自然宿主の APOBEC3 に対抗する手段を獲得することで複製能を保っており、霊長類レンチウイルスは、種特異的に APOBEC3 の細胞内分解を促進する Vif タンパク質を獲得している。このため、2006 年頃までは、APOBEC3 は現在感染性を示す同種由来レトロウイルスに対して無効化しているとの考え方が主流となっていた。

これに対し、Ross らは 2007 年に、一部の系統のマウスに分布するマウス乳癌ウイルス (MMTV) を用いて、C57BL/6 (B6) マウスから APOBEC3 を欠損させると MMTV の複製能が著しく増し、病原性が高まることを証明した (Okeoma, C. M. *et al. Nature* **445**: 927-930, 2007)。また、我々と Greene らは、より多くの系統に高い頻度で分布するマウス白血病ウイルス (MuLV) に対し最も強い抵抗性を賦与する宿主遺伝子 *Rfv3* を同定する過程で、互いに独立に、マウス *APOBEC3* 遺伝子の系統間多型を発見し、B6 マウスから抵抗性対立遺伝子を欠損させると生体内で MuLV 複製が促進され、病原性が高まることを報告した (Santiago, M. L. *et al. Science* **321**: 1343-1346, 2008; Takeda, E. *et al. J. Virol.* **82**: 10998-11008, 2008)。

マウス APOBEC3 の作用機序について、我々はフレンド MuLV 複製抑制がデアミナーゼ活性によるプロウイルス DNA の塩基置換を殆ど伴わないこと、デアミナーゼ活性中心にアミノ酸置換を導入しても複製抑制活性が保たれることを証明し、マウス APOBEC3 による MuLV 複製抑制はデアミナーゼ活性に依存しない新規機能によるものと推測していた (Takeda, E. *et al. J. Virol.* **82**: 10998-11008, 2008)。一方、Ross らは最近、我々の提供したマウス APOBEC3 各対立遺伝子の発現ベクターを用い、抵抗性と感受性の対立遺伝子産物間でデアミナーゼ修飾標的部位の塩基配列パターンが異なること、MMTV 複製抑制過程におけるデアミナーゼ修飾の程度は低いこと、抵抗性対立遺伝子産物は逆転写酵素活性を強く抑制することを示した (McMillan A. L. *et al. J. Virol.* **87**: 4808-4817, 2013)。従って、マウス APOBEC3 によるデアミナーゼ非依存的複製抑制機構の一部は、逆転写酵素活性抑制によると示唆されるが、それ以外の作用機序が存在する可能性も考えられる。

本研究開始時点で我々は、マウス APOBEC3 が前駆体タンパク質からのウイルスプロテアーゼ切り出しと粒子成熟を強く阻害する可能性を見出していた (図 1)。また、マウス APOBEC3 が HIV-1 の Gag-Pro-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出しも阻害するらしいことを観察していた。

従来のレトロウイルスプロテアーゼ阻害薬は、プロテアーゼ活性部位への結合や、プロテアーゼ自体の二量体化の抑制を指標に開発されて来た。我々は、前駆体からのプロテアーゼ切り出しを阻害する薬物のシーズを宿主因子の分子構造から見出せば、極めて有効でかつ副作用の少ない新規抗レトロウイルス薬の開発に貢献できる可能性があると考え、本研究の着想を得た。

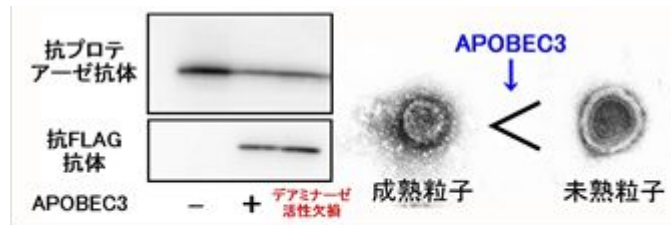


図1. FLAG 標識野生型 (+) またはデアミナーゼ活性欠損 APOBEC3 発現による MuLV 粒子成熟抑制と粒子内プロテアーゼの減少

2. 研究の目的

本研究は、マウス APOBEC3 がレトロウイルス Gag-Pol 前駆体タンパク質からのプロテアーゼ切り出しを阻害する可能性があるとの我々の観察を基礎に、APOBEC3 部分断片や変異体のプロテアーゼ切り出し阻害効果を比較解析して、Gag-Pol 前駆体とマウス APOBEC3 との相互作用部位をアミノ酸残基レベルまで同定し、もって新規抗レトロウイルス薬開発のシーズとすることを目標とした。

具体的には、本研究の期間内に以下に記す未解明の疑問を解決することを目標とした： 1) マウス APOBEC3 によるレトロウイルス Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出し阻害は、APOBEC3 N-末端ドメインの機能が、それとも C-末端ドメインの機能が、或いはこれには両ドメインの存在が必要か？ 2) マウスレトロウイルス複製抑制活性の異なる APOBEC3 対立遺伝子産物とアイソフォームは、プロテアーゼ切り出し抑制活性に差があるか？ あるとすれば、それはどのアミノ酸残基の多型に起因するか？ 3) マウス APOBEC3 によるレトロウイルス

Gag-Pol 前駆体タンパク質からのプロテアーゼ切り出し阻害は、前駆体の二量体化阻害がその機構か？それとも、マウス APOBEC3 は二量体化後のプロテアーゼの機能を抑制するのか？
4) マウス APOBEC3 によるプロテアーゼ切り出し阻害は、APOBEC3 と Gag-Pol 前駆体との直接結合によるか？直接結合があるとするれば、結合部位はそれぞれの分子のどこにあるか？
5) 既に報告されている逆転写酵素 (RT) 活性の阻害と、プロテアーゼ切り出し阻害とは互いに関係するか？Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出し阻害と同様、RT の切り出し阻害が逆転写活性抑制の原因か？

3. 研究の方法

研究開始時点でマウス APOBEC3 各対立遺伝子の発現ベクターを保有しており、それらの部分断片発現系やキメラ作成・変異導入法を確立していた。また、MuLV 及び HIV-1 の Gag-Pol 前駆体及びプロテアーゼ単体と、それらの活性欠損変異体の発現ベクターも保有していた。これらと、自製の抗プロテアーゼ抗体を含む特異抗体を用い、Western blot 法で Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出しに対する APOBEC3 各多型発現産物、部分断片、及び変異体の阻害効果を比較解析した。また、コムギ胚芽系による GST 標識 APOBEC3 発現・精製と試験管内転写翻訳系による Gag-Pol 前駆体発現により、pull-down による直接相互作用の検討を行い、Gag-Pol 前駆体と APOBEC3 の結合に関与するアミノ酸残基はどこにあるのかを解明しようと試みた。具体的には、

1) マウスレトロウイルスの Gag-Pol 前駆体を、我々の保有する *in vitro* 転写翻訳系 (Li, J. *et al. PLOS Pathogens* 8: e1002478, 2012) で発現させ、プロテアーゼ切り出しが生じることを確認した上で、これと標識マウス APOBEC3 発現プラスミドを用いて、Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出しがマウス APOBEC3 によって定量的に阻害されるかを解析した。さらに、マウス APOBEC3 の全長、N-末端側ドメイン、C-末端側ドメインをそれぞれ単独で発現させ、定量的に Gag-Pol 前駆体の試験管内転写翻訳系に加え、Western blot 法でプロテアーゼ切り出しの程度を比較した。

2) マウス APOBEC3 遺伝子には多型があり、B6 マウスで発現する対立遺伝子の産物はマウスレトロウイルス複製抑制活性が高く、一方 BALB/c マウスで発現する対立遺伝子の産物はマウスレトロウイルス複製抑制活性が低い。そこで、これら対立遺伝子間の機能差が、Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出し阻害活性の差によるか、また対立遺伝子間の機能差は HIV-1 プロテアーゼ切り出しに対しても認められるか否かを、上記 1) と同様に Western blot 法を用いて検定した。

3) マウス APOBEC3 による MuLV プロテアーゼ活性抑制は、両者の直接結合によりプロテアーゼ前駆体の二量体化が抑制されるためか、それともプロテアーゼとそのリガンド分子との結合が阻害されることによるのかを直接検証するため、GST 標識したマウス APOBEC3 の各対立遺伝子産物を、コムギ胚芽系を用いて試験管内で発現させる一方、タグ標識した MuLV プロテアーゼを *in vitro* 転写翻訳系で発現させた。両者を混合してグルタチオン-セファロースカラムによるプルダウンを行い、共沈降したプロテアーゼを抗体により検出した。この際、プロテアーゼが予め自己二量体化しているとマウス APOBEC3 と結合出来ない可能性があるため、我々が見出したプロテアーゼ機能欠損型変異体 (G2509C) を用い、野生型と比較した。

4) レトロウイルスプロテアーゼとマウス APOBEC3 の結合部位を絞り込むため、上記の pull-down 系においてプロテアーゼ分子の C-末端側欠損変異体を複数用い、APOBEC3 との結合に必要なアミノ酸残基の存在範囲を限定することを試みた。

5) レトロウイルス複製過程では、Gag 及び Gag-Pol 前駆体はその N-末端がミリスチル化され、宿主細胞膜の裏打ちに同存在する。この過程は粒子形成に必須であり、Gag-Pol 前駆体の粒子への取り込みもこの過程を介する。そこで、我々が新たに樹立したタグ標識 APOBEC3 発現マウス系統の細胞を用い、APOBEC3 と Gag-Pol 前駆体の細胞内共存在を解析した。

4. 研究成果

1) マウス APOBEC3 によるレトロウイルス Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出し阻害

マウスレトロウイルス分子クローン発現プラスミドと APOBEC3 発現プラスミドの一過性発現系から上清中のウイルス粒子を精製し、Gag-Pol 前駆体と成熟プロテアーゼの両方に反応する自家製抗体を用いて、プロテアーゼ切り出し効率の変化を解析した。この際、細胞内でのウイルスタンパク質発現量を Gag 前駆体 Pr65 を検出することにより確認し、ウイルス粒子形成量を gp70 検出により確認した。

全長型及び第 5 エキソン欠損型マウス APOBEC3 の共発現により、マウスレトロウイルス Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出しがおおよそ 70% 阻害され、全長型と第 5 エキソン欠損型で阻害活性に有意差はなかった。また、マウス APOBEC3 は HIV-1 の Gag-Pro-Pol 前駆体からの成熟プロテアーゼ切り出しも有意に阻害することが明らかとなった。

2) マウス APOBEC3 によるレトロウイルス Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出し阻害のデアミナーゼ活性非依存性

上記のウイルス粒子産生系を用いて、発現させるマウス APOBEC3 に点突然変異 (E73A)

を加え、デアミナーゼ活性を持たない変異体とした。デアミナーゼ活性欠損変異体は、野生型と同じく、Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出しを阻害することを確認した。

3) マウス APOBEC3 によるレトロウイルス Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出しの定量的阻害

試験管内転写翻訳系を用いてマウスレトロウイルス Gag-Pol 前駆体と第 5 エキソン欠損型マウス APOBEC3 を共発現させ、Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出しに対する APOBEC3 共存の影響を定量的に評価した。

まず、試験管内転写翻訳系で時間経過を追うことにより、4 時間、20 時間、48 時間と発現開始からの時間が増すに従って、Gag-Pol 前駆体が減少し、成熟プロテアーゼの量が増えること、即ち Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出し過程が試験管内で再現出来ることを確認した。この系にマウス APOBEC3 発現プラスミドを共存させると、APOBEC3 発現量が増加するに従って Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出し量が減少した。従って、マウス APOBEC3 は Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出しを定量的に阻害することが示された。

4) Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出し阻害活性は、マウス APOBEC3 の C-末端ドメインが担う

上記の試験管内転写翻訳系を用いて、マウス APOBEC3 の N-末端側及び C-末端側ドメインを単独で発現させ、Gag-Pol 前駆体からのプロテアーゼ切り出しに対する影響を検定した。その結果、全長型に比べてやや劣るものの、C-末端側ドメイン単独でもプロテアーゼ切り出しが強く阻害された。また、この際に免疫沈降を行ったところ、全長型 APOBEC3 及びその C-末端側ドメインが Gag-Pol 前駆体と直接結合することが示されたが、N-末端側ドメインと Gag-Pol 前駆体との有意な結合は認められなかった。

さらに、1) と同じ粒子形成系を用いてウイルス粒子内にマウス APOBEC3 の全長型または C-末端側ドメインを取り込ませたところ (N-末端側ドメインは粒子内に取り込まれないことがわかっている) C-末端側ドメイン単独でも、粒子内での Gag-Pol 前駆体プロセッシングを有意に阻害することが確認された。

5) マウス APOBEC3 とウイルスプロテアーゼの直接結合及び結合部位の解析

試験管内転写翻訳系で発現させたマウスレトロウイルスプロテアーゼ及びその断片と、コムギ胚芽系で作成した GST 標識 APOBEC3 を用いて、APOBEC3 とプロテアーゼの直接結合の証明と、結合部位の絞り込みを試みた。

プロテアーゼの自己消化機能による成熟過程を模するため、プロテアーゼ配列の両端に Gag-Pol 前駆体中の前後配列 (N-末端側はヌクレオカプシドタンパク質の一部、C-末端側は逆位転写酵素の一部) を 20 アミノ酸残基ずつ加えたポリペプチドを設計した。また、プロテアーゼの活性中心に点変異 (2509 G/C) を導入した。野生型のプロテアーゼ配列を含む発現産物は自己消化により両端の 20 アミノ酸残基部分が取り除かれたが、G/C 変異を含む場合 ($^{20}G/C^{20}$) は自己消化が起こらなかった。

Pull-down 解析の結果、第 5 エキソンコード部分を欠損する APOBEC3 は野生型プロテアーゼも $^{20}G/C^{20}$ も結合することが示されたが、成熟プロテアーゼの結合は $^{20}G/C^{20}$ よりも弱かった。

$^{20}G/C^{20}$ への結合部分が前後 20 残基部分でないことを証明し、また APOBEC3 との結合部分を絞り込むため、 $^{20}G/C^{20}$ の C-末端側欠損変異体を発現させた。その結果、全長型及び第 5 エキソン欠損型の APOBEC3 は、何れも $^{20}G/C^{20}$ を結合すること、プロテアーゼ分子の 106 番残基から C-末端側を欠損させても結合能は保たれるが、66 番残基から C-末端側を欠損させるとこれが失われることが明らかとなった (図 2)。従って、ウイルスプロテアーゼと APOBEC3 の結合には第 5 エキソンコード部分は関係がなく、 $^{20}G/C^{20}$ の N-末端側に付加したヌクレオカプシド由来残基も結合に関与しないこと、一方 C-末端側に付加した逆転写酵素由来残基がなくても結合は起こり、APOBEC3 との結合に関与するのは、プロテアーゼそのものの恐らく 66 番から 105 番残基の部分であることが明らかとなった。

以上の解析結果は、英文原著論文として投稿済み (改訂版審査中) である。

6) マウス APOBEC3 の細胞内局在

APOBEC3 分子の生理的な細胞内局在を解析するため、ゲノム編集により FLAG タグを付加した APOBEC3 を発現するマウス系統を確立した。共焦点レーザー顕微鏡を用いて B リンパ

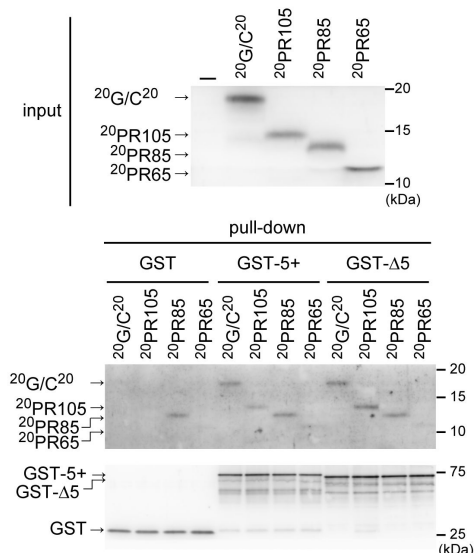


図 2 . GST 標識 APOBEC3 によるレトロウイルスプロテアーゼ断片の pull-down

球について解析を行った結果、APOBEC3 分子は細胞膜の内側、核膜に近い部分と、核膜のすぐ内側とに局在する可能性が考えられた。今後ウイルス感染細胞を用いて、APOBEC3 と Gag-Pol 前駆体及び Gag 前駆体タンパク質との膜の裏打ちでの相互作用の可能性を解析していく。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計 7 件)

- 1) 塚本 徹雄, 河原 佐智代, 宮澤 正顯. フレンドウイルス感染マウスにおける白血病発症機構. *Bio Clinica* **34**: 629-635, 2019. (査読有)
- 2) Hakata, Y., H. Michiue, T. Ohtsuki, M. Miyazawa, and M. Kitamatsu. A leucine zipper-based peptide hybrid delivers functional Nanog protein inside the cell nucleus. *Bioorg. Med. Chem. Let.* **29**:878-881, 2019. (DOI: 10.1016/j.bmcl.2019.02.004) (査読有)
- 3) Yonesaka, K., K. Haratani, S. Takamura, H. Sakai, R. Kato, N. Takegawa, T. Takahama, K. Tanaka, H. Hayashi, M. Takeda, S. Kato, O. Maenishi, K. Sakai, Y. Chiba, T. Okabe, K. Kudo, Y. Hasegawa, H. Kaneda, M. Yamato, K. Hirotoni, M. Miyazawa, K. Nishio, and K. Nakagawa. B7-H3 negatively modulates CTL-mediated cancer immunity. *Clin. Cancer Res.* **24**:2653-2664, 2018. (DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-2852) (査読有)
- 4) Fujino, M., H. Sato, T. Okamura, A. Uda, S. Takeda, N. Ahmed, S. Shichino, T. Shiino, Y. Saito, S. Watanabe, C. Sugimoto, M. Kuroda, M. Ato, Y. Nagai, S. Izumo, K. Matsushima, M. Miyazawa, A. Ansari, F. Villinger, and K. Mori. SIV targeting of CXCR3+CD4+ T cells in secondary lymphoid organs associates with robust CXCL10 expression in monocyte/macrophage subsets. *J. Virol.* **91**:e00439-17, 2017. (DOI: 10.1128/JVI.00439-17) (査読有)
- 5) Yoshikawa T., J. F. Wu, M. Otsuka, T. Kishikawa, N. Suzuki, A. Takata, M. Ohno, R. Ishibashi, M. Yamagami, R. Nakagawa, N. Kato, M. Miyazawa, J. Han, and K. Koike. Repression of miRNA function mediates inflammation-associated colon tumorigenesis. *Gastroenterology* **152**:631-643, 2017. (DOI: 10.1053/j.gastro.2016.10.043) (査読有)
- 6) Takamura, S., H. Yagi, Y. Hakata, C. Motozono, S. R. McMaster, T. Masumoto, M. Fujisawa, T. Chikaishi, J. Komeda, J. Itoh, M. Umemura, A. Kyusai, M. Tomura, T. Nakayama, D. L. Woodland, J. E. Kohlmeier, and M. Miyazawa. Specific niches for lung-resident memory CD8+ T cells at the site of tissue regeneration enable CD69-independent maintenance. *J. Exp. Med.* **213**:3057-3073, 2016. (DOI: 10.1084/jem.20160938) (査読有)
- 7) 宮澤 正顯, 博多 義之, 武田 英里, 李 君, 河原 佐智代. マウス APOBEC3 の生理機能と分子進化. *生化学* **88**:582-592, 2016. (doi:10.14952/SEIKAGAKU.2016.880582) (査読無)

[学会発表](計 13 件)

- 1) Yoshiyuki Hakata, Jun Li, Takahiro Fujino, Yuki Tanaka, Rie Shimizu and Masaaki Miyazawa. Mouse APOBEC3 interferes with proteolytic autoprocessing of Gag-Pol polyprotein and inhibits Gag processing. **The 30th International Workshop on Retroviral Pathogenesis**, 2018.
- 2) Sachiyo Tsuji-Kawahara and Masaaki Miyazawa. The requirement of B cell-intrinsic TLR7 for the production of retrovirus-neutralizing antibodies is overcome by T helper cells in an epitope-specific manner. **The 30th International Workshop on Retroviral Pathogenesis**, 2018.
- 3) Shigeki Kato, Chihiro Motozono, Sachiyo Kawahara and Masaaki Miyazawa. Fate determination with a selected epitope facilitates follicular helper T cell differentiation and protection against acute retroviral infection. **The 30th International Workshop on Retroviral Pathogenesis**, 2018.
- 4) Tetsuo Tsukamoto and Masaaki Miyazawa. Expression of galectin-9 in normal bone marrow and Friend virus-induced erythroleukemia cells. **The 30th International Workshop on Retroviral Pathogenesis**, 2018.
- 5) 宮澤 正顯. エピトープ特異性による CD4 陽性エフェクター T 細胞機能の制御と腫瘍免疫. **第 69 回日本皮膚科学会中部支部学術大会 (招待講演)**, 2018.
- 6) Masaaki Miyazawa, Yoshiyuki Hakata, Jun Li, Takahiro Fujino and Yuki Tanaka. Mouse APOBEC3 disrupts proteolytic autoprocessing of retroviral Gag-Pol precursors through direct binding to the protease domain. **The 29th International Workshop on Retroviral Pathogenesis**, 2017.
- 7) 宮澤 正顯. T 細胞受容体親和性による感染防御性 CD4 陽性 T 細胞分化の制御. **第 26 回日本組織適合性学会大会 (招待講演)**, 2017.
- 8) Masaaki Miyazawa, Chihiro Motozono, Sachiyo Tsuji-Kawahara and Shigeki Kato.

T-helper cell fate determination and Toll-like receptor 7 overriding by priming with a selected retroviral epitope. **The 28th International Workshop on Retroviral Pathogenesis**, 2016.

- 9) Sachiyo Tsuji-Kawahara, Yuri Kawasaki, Chihiro Motozono, Shiki Takamura and Masaaki Miyazawa. B cell-intrinsic TLR7 signaling is required to prevent the generation of recombinant viruses following retrovirus infection. **The 44th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology**, 2016.
- 10) Shiki Takamura and Masaaki Miyazawa. Autophagy-independent maintenance of resident memory CD8+ T cells in the lung. **The 44th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology**, 2016.
- 11) Chihiro Motozono, Sachiyo Tsuji-Kawahara, Shiki Takamura, Hideki Yagi and Masaaki Miyazawa. Vaccine-elicited preferential induction of germinal center follicular helper T cells is associated with protection against retroviral infection. **The 44th Annual Meeting of the Japanese Society for Immunology**, 2016.
- 12) 宮澤 正顯. CD4 陽性 T 細胞認識エピトープが決める感染防御免疫応答の行方. **2016 年度眼科 COI 学術講演会**, 2016.
- 13) Masaaki Miyazawa. Functional evolution of retrovirus restriction enzyme APOBEC3: Genetic polymorphisms and isoforms. **The 2nd International Symposium on Molecular Basis of Virus-Host Interactions**, 2016.

〔図書〕(計 1 件)

- 1) 宮澤 正顯. 免疫. **解明病理学 第 3 版**(青笹克之、加藤光保、菅野 祐幸編), 医歯薬出版, 2017: pp89-136.

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

近畿大学医学部免疫学教室: <https://www.med.kindai.ac.jp/immuno/>

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名: 博多 義之

ローマ字氏名: HAKATA, Yoshiyuki

所属研究機関名: 近畿大学

部局名: 医学部

職名: 講師

研究者番号(8桁): 30344500

(2)研究協力者

研究協力者氏名:

ローマ字氏名:

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。