

20. エイズ研究センター

センター長 山本 直樹

概要

ヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染者とエイズ患者の数はこれまで、全世界で累積 6000 万人にもおよぶと言われる。このうち、サハラ砂漠以南のアフリカ諸国が、2250 万人と圧倒的に多い（2007 年末現在）。しかし新たな感染地域として、エイズ/HIV の魔の手は次第にアジアにも及んできた。中国やインドの状況は空恐ろしささえ感じる。我が国でも 2007 年度は感染者の数が過去最高、しかも 4 年連続で 1000 人を超えるなど、過去最高の新規感染者数を記録し、今後の感染拡大は大いに憂慮すべき状況である。

平成 11 年 10 月にいわゆるエイズ予防指針が策定され、わが国のエイズ対策の抜本の見直しと新方針が打ち出された。爾来、当センターはわが国のエイズ対策研究のための中核としての役割を果たしてきた。活動は大きく、施策的なものとワクチン開発や HIV 感染症の特効薬開発という研究要素の強いものに分けられるが、いずれもわが国における HIV 感染者やエイズ患者の QOL の向上、新規感染拡大の防止を第一の、そしてその成果を国際誌上で発信することで世界のエイズ、HIV 問題に貢献することを最大の目標に置いてきた。

HIV の感染予防研究に関しては、とくに BCG 及びワクシニア DIs ウイルスを用いた prime/boost ワクチン、これらに加え、ユニークな糖鎖変異ウイルスによる生ワクチンの臨床応用の可能性を強力に探っている。また HIV の多様性に対応可能な中和抗体の誘導の研究さらには種々のアジュバントを用いた粘膜免疫の誘導の研究に力を傾注している。一方、治療の面からは、HAART の効果には目覚ましいものがあり、感染者に大きな希望を与えている。しかし、そのコスト、慢性毒性、さらには薬剤耐性の獲得による治療困難症例の増加が大きな問題となっている。さらに HAART をもってしても、体内からウイルスを完全に駆逐することは今のところ不可能であり、感染予防のためのワクチン研究とともに、感染固体からのその根絶に向けた研究も重要である。このため今までにないような作用機序、とくに宿主因子を標的とした新たな抗 HIV 薬の開発が待望されている。一方、アジア、とくに中国やインドが AIDS/HIV の感染拡

大において中心の場となりつつある現状で、すでに高い評価を受けている当センターのアジアの分子疫学研究を推し進めてきた。

HIV 感染及び診断検査については、方法の標準化とその精度管理において、これまでどおりわが国の中心的役割を果たすことになる。また、感染者の治療については、直接あるいは間接的に感染者に還元できるような研究を推進している。その大きな柱の一つとして HAART を受けている患者の薬剤耐性のモニターがあり、それとともに耐性を出させない治療法についても研究を行っている。

当センターはまた、国際協力機構(JICA)のアジアやアフリカにおけるエイズプロジェクト等にも積極的に協力してきた。また、JICA との協力によりアジア、アフリカ諸国等からの研修員を対象に HIV 診断技術講習を実施しており、多数の研修員を指導してきた。このように、当センターの活動は一層国際的な展開をみせている。一方、厚生労働省、文部科学省、HS 財団等の研究費による班研究等にも多数参加しており、我が国エイズ研究の中核となっている。

人事では、本多三男第 1 研究グループ長が辞職（平成 19 年 6 月 30 日付）し、後任に梁明秀博士が横浜市立大学医学部（准教授）より就任（平成 19 年 10 月 1 日付）した。

当センターの運営に当たっては宮村達男所長、渡邊治雄副所長、佐多徹太郎感染病理部長、岡部信彦感染症情報センター長、山口一成血液・安全性研究部長、佐藤裕徳病原性ゲノム解析研究センター第 2 室長、保富康宏医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター長等多くの方の協力を得た。

研究の場に関しては第 3 室の村山から戸山への移転などで多少の改善がみられたものの、研究スペースの確保と統合は依然として悲願のままだ達成されておらず、最重要課題のひとつとなっている。

業績 調査・研究

・エイズワクチンの開発

1. BCG/DIs プライムブーストワクチン

(1) 発現改良型 T 細胞ワクチン開発の検討

HIV ワクチンの臨床効果の目処が混沌とした状態で、ワクチンの研究開発は基礎研究の立場から再検討する事が最優先事項の一つとなっている。本研究で、感染研第一研究グループと米国 NIH ワクチン開発センター (VRC/NIAID/NIH) との共同研究として、組み換え BCG・Ad のプライムブーストワクチン開発が進められた。その結果、マイコバクテリアベクターの低発現性の改良が緊急課題であることさらに T 細胞発現の特異性を明らかにした。従って、ベクター改良を含めた発現系を検討し、これまで得られなかった高分子蛋白の大量分泌系の開発を可能にした。その普遍性と生体発現の最適化を検討中である。

[本多三男、兼清 優、Gary J. Nabel(米国 NIH)、松尾和浩(日本 BCG 研究所)、山本直樹]

(2) 改変型 HIV-1 Env 抗原の BCG からの分泌発現の試み

昨年度報告した HIV-1 Env V3 ループの S-S 結合に近い位置のアミノ酸を部分的に欠失した gp140 遺伝子(菌体内で安定に発現)の N 末端近傍にさらにアミノ酸変異を導入し、alpha 抗原のプロモーター、シグナル配列を用いて BCG での分泌発現を解析した。シグナルペプチダーゼによる認識を改良するために Asp-Pro 残基を導入したものや、サイトカイン分泌に使われたスパーサー配列を挿入したものなどを試行したが、Env 抗原の菌体外への分泌は認められなかった。今後他のシグナル配列を用いて検討する。

[松尾和浩(日本 BCG 研究所)、佐藤香里(日本 BCG 研究所)、堀端重男(日本 BCG 研究所)、山本直樹、Gary J. Nabel(米国 NIH)、本多三男]

(3) BCG 東京株 I 型および II 型株のキャラクタリゼーション

組換え BCG の作製に用いている東京株シードロットは、I 型、II 型の混合物であることが明らかになっている。それらの型によって形質転換効率、プラスミド DNA の安定性、外来抗原発現能等が異なるかどうかを、HIV-1 Gag 及び Gag 変異体発現プラスミドを用いて調べた。野生型では、コロニー数、プラスミドの安定性について I 型 II 型で大差がなかったが、Gag の N 末端 2 アミノ酸を PheSer (野生型は GlyAla)に置換した変異体発現プラスミ

ドでは、II 型で多数のコロニーを生成するものの、プラスミドを欠失した形質転換体が多く観察され、DNA の安定性に差がある可能性が示唆された。今後、解析コロニー数を増やし、組換え BCG ベクターとして適した株を純化したい。

[松尾和浩(日本 BCG 研究所)、佐藤香里(日本 BCG 研究所)、堀端重男(日本 BCG 研究所)、山本直樹]

(4) コドンを最適化した HIV-1 subtype A、B、C 由来改変型 env 遺伝子を発現する組換え BCG の構築

各サブタイプ(A、B、C)の改変型 env 遺伝子(gp140、gp145)を alpha 抗原分泌シグナルの C 末端に直接つなぎ改変型 Env 抗原が発現するかを検討するため、これらのベクターを BCG に導入し、形質転換体を得た。菌体内での Env 抗原の発現及び培養上清中への分泌をウエスタンブロット法により解析した結果、菌体外への分泌は認められなかったものの、菌体内での発現が確認された。さらには、以前のベクターと比較すると alpha 抗原由来のシグナル外 C 末端領域のアミノ酸を除き、直接シグナルに改変型 env 遺伝子をつなぐことで Env 抗原の分解産物が減り、菌体内での Env 抗原の安定性が増すことがわかった。

[堀端重男(日本 BCG 研究所)、佐藤香里(日本 BCG 研究所)、松尾和浩(日本 BCG 研究所)、山本直樹]

(5) Tat 系分泌シグナルを有する HIV-1 subtype B 由来改変型 env 遺伝子を発現する組換え BCG の構築

alpha 抗原のシグナル遺伝子は、菌体内でのタンパク分泌系として知られている Sec 依存性であり、最近 Sec 系と異なる Tat (Twin-arginine translocase) 系による蛋白質分泌系が抗酸菌においても機能すること報告されているので、この系を利用するために Tat 依存性のシグナル遺伝子 (blaF) を有したベクターをもとにして改変型 env 遺伝子 (gp145B、gp140B) を導入することで、BCG 組換え体の Env 抗原の発現及び分泌能が向上するかどうかを調べた。組換えを行った結果、pSO-blaF145B 及び pSO-blaF140B により得られた組換え体では分泌能の向上は見られなかったものの、rBCG/pSO-gp140B 株の菌体内における Env 抗原の発現が劇的に増強された。

[堀端重男(日本 BCG 研究所)、佐藤香里(日本 BCG 研究所)、松尾和浩(日本 BCG 研究所)、山本直樹]

(6) 改変型 env 遺伝子を導入した組換え BCG のタイピングと導入遺伝子の安定性

既に BCG 東京株に関しては I 型、II 型が存在する事が

知られている。組換え体では形状の異なる2種類のコロナーが見られるが、形態によりタイプが分類可能なのかを調べるため、各種コロナーの単培養を行い、PCRによりBCGのタイピングを行った。その結果、組換え体(rBCG/pSO-blaFgp145B、gp140)は導入する遺伝子やコロナーの形状に関係なく全てII型であった(82/82)。さらに導入したベクター内にある改変型env遺伝子のBCG菌体内における安定性を調べるため、PCRで解析を行った結果、コロナー形態の違いによる導入遺伝子の安定性はrough>smoothであり、導入遺伝子から見た場合の安定性はgp140>g145であることがわかった。

[堀端重男(日本BCG研究所)、佐藤香里(日本BCG研究所)、松尾和浩(日本BCG研究所)、山本直樹]

(7) HIV-1 Gagを分泌発現する組換えBCGの構築

BCGベクターにおいて抗原を菌体外へ分泌させることは、菌自身へのストレスを軽減するとともに、抗原を免疫系に到達させるために有効と考えられる。そこで、組換えBCGからのGag分泌発現能を向上させるため、抗原85Bのシグナル配列に繋ぐGagのN末端領域にアミノ酸置換を導入した3種の変異体遺伝子を作製した。構築したベクターをBCGに導入したところ、全ての変異体でGagの分泌発現が認められ、特にN末端がDPAの変異体(野生型はGAR)において分泌能が上昇していた。このことから、N末端領域に変異を導入することは分泌能を上昇させるのに有効と考えられた。

[佐藤香里(日本BCG研究所)、堀端重男(日本BCG研究所)、山本直樹、松尾和浩(日本BCG研究所)]

2. エイズワクチンの免疫増強効果を目指したSOCS1阻害剤の開発に向けての技術基盤の構築

HIVに対するワクチンは有望な治療および予防の手段の一つであるが、これまでに臨床で得られた成果は限定的なものにとどまっている。最近の報告により、抗原提示樹状細胞(DC)のサイトカインシグナル伝達サブレッサーSOCS1をサイレンシングすると、抗原特異的な抗腫瘍免疫が大幅に亢進することが明らかになった。我々はエイズワクチンの免疫増強効果を目指したSOCS1を抑制する薬剤のスクリーニングを行うため、小麦胚芽を用いた無細胞タンパク質合成系とアルファスクリーンを用いたハイスループットアッセイ系を構築した。本法は384サンプルを同時に数分間で解析可能なハイスループットに阻害剤スクリーニング方法であり、同時にSOCS1のコピキチンリガーゼ活性を指標とした全く新しい薬剤スクリーニングが可能である。これらの技術は新規のSOCS1

特異的阻害剤の開発のみならず、免疫、ワクチンのあらゆる分野において活用していくことが可能であると考えられる。

[梁明秀、仲宗根正、澤崎達也(愛媛大学)、正岡崇志(愛媛大学)、西真由子、大庭賢二、山本直樹]

3. 抗V3中和抗体に対する耐性メカニズムの解析

HIV-1 env V3 core sequenceのGPGR配列を認識するモノクローナル中和抗体KD-247に対し、v3 loopにGPGR配列を有するB HIV-1 subtypeの中に中和耐性のウイルスが存在した。Env V3領域以外に中和感受性を決定する要因があると考えられる。中和耐性と感受性ウイルス亜株を分離し、そのEnv配列の解析を行った。その結果KD-247の中和エピトープからかなり離れているにも関わらず、JRFLにおいてC1領域にpoint mutationがあると中和感受性が7倍高くなることが判明した。Envの構造・機能および中和抗体の作用機序に関し、多くの示唆が得られると期待される。

[滝澤万里、草川茂、駒野淳]

4. 高い多様性を持つHIV-1に有効なエイズワクチンの開発

HIV-1の高い変異性は、感染地域により流行しているウイルス遺伝子型は異なっている。AIDS pandemicの原因となっているHIV-1 group Mはアミノ酸配列から10以上のsubtypeに分類される。各感染地域では複数のsubtypeによる感染が起こっている。アミノ酸配列の違いはGag、Polでは10%前後、それ以外の遺伝子では最大30%に達する。このような背景からHIVワクチンは複数のsubtypeに対する感染防御効果が求められている。これまでHIVワクチン開発は主に細胞性免疫を誘導するprime/boost法をベースに行われてきた。しかし米国NIHによるadenovirus vectorワクチンの臨床実験の失敗からワクチン開発戦略の見直しが迫られている。HIV-1感染抵抗性と関連する遺伝的性質、動物モデルにより実証されている生ワクチンによる感染防御の機序等、これまで軽視されてきたHIV感染制御の解明への研究の重点化が進んでいる。我々はエイズウイルスパイク表面の糖鎖修飾の減少がウイルスの弱毒化と生ワクチンとしての性質の獲得に働くことをSIV/アカゲザル感染モデルから明らかにした。スパイク表面を覆うN型糖鎖のうち3、5カ所に糖鎖欠失変異を導入した生ワクチンは野生型の高病原性SIVmac239感染をほぼ完璧に感染防御した。しかしHIV-1の多様性を考えると少なくとも複数のサブタイプへのワクチン効果がHIVワクチンに

求められる。動物モデルに用いられる SIVmac が属する SIVsm は自然感染において HIV-1 と同様のウイルス多様性を持つ。そこで複数の subtype に属する病原性 SIVsm を用いたワクチン効果の検討を開始した。まず SIVsmE543 を用いた解析を行っている。同 subtype SIVmac239 感染では見られなかった明らかな初期感染が約半数で検出された。しかしそのピーク値はワクチン未接種群と比較すると 1/1000 であった。さらに遅延してウイルス増殖が見られる個体、周期的にウイルス感染が検出される個体が確認されたが持続感染はなく、すべての個体で血中ウイルス量は測定感度以下に抑制された。このように生ワクチンは MHC 等の遺伝子多型の影響は小さい。ウイルス多様性、宿主遺伝的性質の違いに影響されない HIV 感染制御の機序の解明は新たな HIV ワクチン開発研究の手がかりとなることが期待される。

[杉本智恵、森一泰]

5. 糖鎖修飾ウイルス生ワクチンの中和抗体誘導と感染防御効果

高病原性 SIVmac239 Env gp120 には 23 か所の N 型糖鎖付加部位が存在するが、5 か所の糖鎖欠失変異によりウイルスは弱毒化した。糖鎖修飾はウイルスの細胞指向性と中和抗体感受性に影響することから、これらのウイルスの性質とウイルスの低病原性化、生ワクチンとしての感染防御効果について検討した。aa 79, 146, 171, 460, 479 に N Q 変異を持つ 5G に加え新たに 3 種の変異ウイルス： 5G-v1(aa71, 79, 146, 460, 479 に N Q 変異)、5G-v2(aa79, 146, 377, 460, 479 に N Q 変異)、3G(aa 146, 171, 460 に N Q 変異) を作成した。SIVmac239 は T 細胞指向性でマクロファージでの感染増殖性は非常に低い。5G は T 細胞、マクロファージでの感染増殖性を示す。この性質の違いは標的細胞のウイルスレセプター利用が関連する。SIVmac239 の感染には CD4 と CCR5 が必要だが 5G は CCR5 のみでも感染する性質を持つ。SIVmac239 は HIV 臨床分離株と同じように高い中和抗体抵抗性を有するが、5G は中和抗体誘導能があり最初の感染実験では 2/5 頭で中和抗体が検出された。5G の上記の性質は 5 か所の糖鎖欠失のうち 3 か所が関与することからその 3 か所のみを持つ 3G を作成した。また 171 の糖鎖付加部位の復帰変異により上記 5G の性質が変化したことから、171 の代わりに新たな糖鎖付加部位に変異を持つウイルス 5G-v1、5G-v2 を作成した。3G は 5G より 2 か所 N 型糖鎖修飾が多いが上記の in vitro の性質についてはほぼ同じであった。5G-v1 と 5G-v2 は 5G のマクロファージでの感染増殖性を失った。以上

の新たな変異ウイルスについてワクチン効果と中和抗体誘導について 5G と比較した。糖鎖修飾の違いは中和抗体誘導に影響し、感染ウイルスに対し 5G < 3G < 5G-v1 < 5G-v2 の順で高い中和抗体が誘導が検出された。

5G-v2 感染では 3/3 頭で感染 6 週には高い中和抗体が検出された。5G、3G 感染では 1/3 頭のみで有意な中和抗体が検出されたが、5G 感染では検出されたのは感染後 35 週以降であった。このようなワクチンウイルスに対する中和抗体誘導の違いにも関わらずチャレンジウイルス (SIVmac239, SIVsmE543) に対する中和抗体は誘導されなかった。4 種の糖鎖修飾変異ウイルスは in vitro でのウイルスとしての性質、中和抗体誘導において顕著な違いがあった。ところが生ワクチンとしての感染防御の誘導においては違いは見られなかった。ワクチンウイルスの野生株である SIVmac239 感染は検出限界以下に抑制された。subtype が異なる SIVsmE543 感染は、初期感染血中ウイルス量において 1/1000 以下に抑制された。

[杉本智恵、森一泰]

6. 粘膜免疫誘導アジュバントに関する研究

HIV ワクチン開発において粘膜免疫誘導が可能であれば、HIV の主な侵入門である生殖器粘膜での感染阻止が期待される。一昨年度サルを用いた感染防御試験の検討で十分なデータが得られなかったため、再度各種アジュバント候補を OVA を抗原としてマウスでスクリーニングを行った。その結果、微粒子状キトサンおよびカチオン化キトサンに高いアジュバント活性を認めた。さらに抗原を組換え HIV-1 env タンパクを用いて同様にマウスで検討した結果、キトサン関連物質にアジュバント効果を認めた。また電子顕微鏡にて形状を観察した。接種経路はこれまでの解析を行ってきた経鼻投与の他に経肺および経皮での免疫能の解析を行ったが、経鼻免疫以上の結果は得られなかった。さらに現在、HIV-1 精製タンパクを用いた免疫を行い抗体の中和活性の検討を行っている。カニクイサルを使用しているキトサン微粒子およびカチオン化キトサンと OVA を用いた経鼻投与実験では、血中に OVA 特異的抗体を検出すると共に血液生化学的な異常は検出されなかった。現在さらに詳細な検討を行っている。

特許出願

特願2007-192362「免疫アジュバント」平成19年7月24日出願

特願2007-192363「免疫アジュバント」平成19年7月24日出願

特願2007-192364「IgA抗体検出法」平成19年7月24日出願

願

[石川晃一、小林丘、福島健司]

・ HIV 感染症の治療と薬剤耐性に関する研究

1. Allele-specific RT-PCR法を用いた超高感度HIV薬剤耐性遺伝子定量法の開発

一昨年度までに開発したHIV-RT薬剤感受性迅速試験法の課題のひとつに、遺伝子学的薬剤感受性(ゲノタイプ)と生物学的薬剤感受性(フェノタイプ)との相関が挙げられる。特に軽度耐性例の遺伝子学的薬剤耐性は、既存の方法は定性試験のため、詳しい相関について検討ができない。その弱点を補うべく、昨年度より超高感度遺伝子学的薬剤耐性検査法開発を行っている。その結果、K103N遺伝子とM184V遺伝子を検出できる系が確立された。本系では、血漿中全ウイルス中に0.15%以上存在する耐性遺伝子(K103NまたはM184V)であれば検出される。今年度は数%以上存在するD67N耐性遺伝子を検出する系を新たに開発した。本系により、HIV-RT薬剤感受性・耐性についての詳細な解析が可能になれば、それぞれの感染者に応じたきめの細かい治療へとつながる事から、その意義は大きい。しかしながら、本系は耐性あるいは感受性コントロールの品質に依存する事が確認された。すなわち、この弱点を考慮しつつ、系の精度管理とともに測定数を増やして、酵素学的耐性と遺伝子学的耐性の定量的相関を明らかにすることが必要である。

[仲宗根正、西澤雅子、Sara Palmer(米国NCI)、杉浦 互]

2. 酵素活性を指標としたあたらしい HIV プロテアーゼ薬剤耐性検査法の開発

薬剤耐性HIV検査は新規感染者および長期療養患者に対する適切な治療を行う上で欠かせない検査と位置づけられている。しかしながら、現時点では実際の酵素活性を指標とした簡便かつ実用的な薬剤耐性検査法は確立されていない。我々は、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成システムと化学増幅型ルミネッセンス プロキシミティー ホモジニアスアッセイ(アルファスクリーン)を用いて、プロテアーゼタンパク質の活性を根拠としたあたらしい薬剤耐性検査の基盤技術を開発した。この手法は、薬剤耐性患者血清中HIV-1プロテアーゼ遺伝子をPCR法で増幅し、2nd PCR時に転写開始領域、エンハンサー領域、および3'UTR領域を付加するだけで、鋳型遺伝子の準備が可能となり、発現ベクターへのサブクローニング操作をまったく必要としない。これらから384種類のタンパク質を一晩で自動で生産できる自動タンパク質合成ロボットを用いタンパク質を合成後、その384ウェルプレート

そのまま用いて、アルファスクリーンにより酵素活性をハイスループットで測定することが可能である。この方法はGenotype法とPhenotype法を結ぶタンパク質レベルの薬剤耐性検査法として位置づけられ、短期間で安価に適切な薬剤情報を提供できるため、今後の実用化が見込まれている。

[正岡崇志(愛媛大学)、梁 明秀、杉浦 互、巽 正志、澤崎達也(愛媛大学)、山本直樹]

3. 抗 HIV-1 療法を受けている HIV/AIDS 患者の薬剤耐性モニタリング

我々は平成 8 年度より適切な抗 HIV-1 治療実現のための支援事業として、薬剤耐性 HIV-1 検査を実施してきた。薬剤耐性遺伝子検査の結果は約 3 週間で主治医に報告され、治療薬剤選択の指標として活用されてきた。平成 18 年度末までに参加した施設は 92 施設、解析を行った検体は平成 20 年 3 月の時点で累積 7897 検体に達している。平成 18 年度からは薬剤耐性遺伝子検査が保険収載されたため、検査は民間の検査会社にゆだねられることになり、我々のところで実施する検体は、精査を目的とするもの、経済的な理由により検査が困難なもの、そして次項に述べる疫学調査を目的としたものに限られるようになった。このため平成 18 年度、平成 19 年度とも保険収載前と比較して大幅に減少した。保険収載により検査へのアクセスが容易になったのとは反対に薬剤耐性 HIV の遺伝子情報の収集は困難となり、事実、平成 18 年度は情報が欠落してしまった。この点を補うために平成 19 年度より新たにアンケート調査を主体とする情報収集を開始し、わが国における薬剤耐性 HIV の状況把握を開始した。平成 19 年度は各地の拠点病院等における抗 HIV 療法の現状と薬剤耐性に関連するアンケート調査を実施した。その結果合計 133 例の薬剤耐性症例が報告された。またこれとは別に HIV/AIDS 治療患者の多い医療機関 25 施設に対してアンケートによる調査を実施した。その結果 16 施設より回答があり、多剤耐性症例 40 例が報告された。

[杉浦 互、宮崎菜穂子、三浦秀佳、鈴木寿子、藤野真之、山本直樹、松田昌和(三菱化学)]

4. 新規 HIV/AIDS 診断患者の動向調査

HAART が普及した今日、HIV/AIDS に新たに感染し、治療前にもかかわらず既に薬剤耐性を獲得している症例が世界各国で報告されており、その頻度は 10-20%ともいわれている。日本では新規 HIV 感染者数およびエイズ患者数報告数が年々記録を更新する勢いで増加しており、

また治療を受けている患者数も増加を続けている。このことから本邦においても新規 HIV/AIDS 診断確定未治療患者への薬剤耐性 HIV の拡大が大きな関心をもたれている。我々は 2003 年から 2007 年にかけて全国の治療拠点病院、衛生研究所等の協力のもとに新規 HIV/AIDS 診断患者を対象に耐性検査を実施した。薬剤耐性検査ではプロテアーゼおよび逆転写酵素領域を、サブタイピングでは *env* C2/V3 領域を RT-PCR にて増幅し、その配列解析を行った。対象症例は 03 年：267 例、04 年：307 例、05 年：429 例、06 年 395 例：07 年 508 例であった。いずれの年においても調査対象となった症例は 30-40 歳代の男性が中心で (>90%)、感染経路は同性間性的接触が 65-72%を占めていた。サブタイプは、いずれの年も 70%以上が B であり、次いで CRF_01AE であった。また少数ながらサブタイプ A、C、AG、G も観察された。薬剤耐性症例の頻度は 2003 年：4.5%、2004 年：4.2%、2005 年：4.5%、06 年 6.3%、2007 年：7.7%であった。クラス別に見るとヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤耐性の頻度は 03 年：3.4%、04 年：3.6%、05 年 2.6%、06 年 4.1%、07 年 4.7%であった。非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤では 03 年：0.4%、04 年 1.0%、05 年 0.9%、06 年 0.8%、07 年 0.8%、同プロテアーゼ阻害剤では 03 年：1.1%、04 年：0.3%、05 年：1.6%、06 年：1.5%、07 年 2.6%であった。

[藤野真之、鈴木寿子、三浦秀佳、西澤雅子、山本直樹、杉浦 互、松田昌和 (三菱化学)]

5 細胞内におけるプロテアーゼ阻害剤の薬剤濃度のモニタリング

薬剤感受性検査に利用されるレポータ細胞には HIV の宿主細胞の T 細胞系細胞株と非宿主である間質細胞系株があるが、これらの細胞内における薬物代謝および細胞内 PI 濃度の違いは明らかではない。そこで我々は T 細胞系細胞株である HPB-M(a)と CEM、代表的な間質細胞系株 HeLa 細胞の細胞内 PI 濃度を HPLC で測定し比較した。Nelfinavir(NFV)、saquinavir(SQV)、lopinavir(LPV)、ritonavir(RTV)で検討した結果、NFV と SQV は T 細胞系で約 100~70 倍、HeLa 細胞では約 200 倍に濃縮された。LPV は T 細胞系で約 10 倍、HeLa 細胞で約 40 倍、RTV は T 細胞系と HeLa 細胞で約 10 倍濃縮された。³⁷ と 4 で細胞内 PI 濃度を比較した結果、SQV 濃度は低温下で低下し、能動的な輸送機序が関与する可能性が示唆された。

[西澤雅子、山本直樹、杉浦 互、加藤真吾 (慶應義塾大学)]

6 新規抗 HIV 薬の開発に関する研究

既存の抗 HIV 薬に対して耐性を獲得した症例に対して有効な新規薬剤の開発に取り組んでいる。本研究では我々が開発したレポータ細胞を用いて、抗 HIV 活性を指標に低分子化合物ライブラリーのスクリーニングを行った。20000 個以上の化合物のスクリーニングを終了し、新規な機序により HIV の複製を抑制する化合物を複数見出すことに成功した。抗 HIV-1 活性の認められた化合物のうち有望なものについては類縁化合物を合成し、抗 HIV 活性の増強および毒性の軽減を試みた。その結果、IC₅₀ が既存の薬と同程度もしくは増強した化合物に合成に成功した。Hu-PBL-SCID を用いた抗ウイルス効果の確認では nevirapine と同程度の阻害活性が確認された。現在前臨床試験としての長期毒性評価など実用化に向けた *in vivo* 実験を実施している。

[三浦秀佳、岩谷靖雅、西澤雅子、村田大悟、杉浦 互、田中晴雄 (北里大学)、野村伸彦 (富山化学)]

7 CRF01_AE (サブタイプ E) HIV-1 ウイルスのプロテアーゼの結晶構造解析と数値モデル解析

従来の薬剤耐性研究はサブタイプ B を中心に行われてきたが、これにより得られてきた薬剤耐性に関する知見がそのまま non-B サブタイプにも当てはめることができるのか明確ではない。我々はいままでに CRF01_AE ではネルフィナビルに対する耐性変異が異なっておりサブタイプ B で主に観察される D30N を取る確率は低く、代わりに N88S が獲得されることを明らかにしてきた。CRF01_AE では D30N が獲得されないのかそのメカニズムを構造科学的に明らかにするために HXB2-D25N, NH1-D25N, NH1-D25N/L10F, NH1-D25N/N88S, NH1-D25N/L10F/N88S 各々のプロテアーゼの精製を行った。このうちの NH1-D25N については p1-p6 ペプチドを結合させた状態での結晶構造が得られた。その結果プロテアーゼの外側領域の側鎖が分子シミュレーションの予測とはこのなる位置関係にあることが明らかになった。活性のあるプロテアーゼの作製・生成。結晶化にも成功をしており、今後幾つかの阻害剤との結晶化を進めていく予定である。

[柿澤淳子、杉浦 互、松田昌和 (三菱化学)、大出裕高 (千葉大学)、松山 翔 (千葉大学)、星野忠次 (千葉大学)、Celia Schiffer (Univ. Massachusetts)]

8 タイ流行株 HIV-1 (CRF01_AE) における薬剤耐性変異獲得機序に関する研究

タイ政府が生産開始したジェネリック薬 GPOvir (d4T/3TC/nevirapine 合剤)の普及に伴い、耐性 HIV-1 株の流行が憂慮される。我々は、タイ流行株の GPOvir 耐性変異頻度に関するデータをタイ国 NIH と共同で平成 16 年から 17 年にかけてランパンコホートで回収された GPOvir 脱落症例 64 例について Gag, protease、RT 全域の遺伝子配列解析を行い、薬剤耐性遺伝子の獲得パターンについて解析を行った。対象症例中には初回治療症例だけでなく過去に NRTI 単剤投与などの治療履歴をもつ既往治療症例が含まれていたが、既知症例では初回治療症例に比して高い頻度で耐性変異が観察された。

[シリパン・センアローン(タイ国立衛生研究所)、ワタナ・オウワニット(タイ国立衛生研究所)、パニータ・パチパニッチ(ランパン病院)、吉田レイミント(長崎大学熱帯医学研究所)、有吉紅也(長崎大学熱帯医学研究所)、松田昌和(三菱化学)、杉浦 互]

9. 定量 PCR を利用した高感度薬剤耐性検査法の開発

米国疾病対策局(CDC)では定量 PCR を応用した高感度薬剤耐性検査法が開発されている。これは米国で流行の主流である Subtype B のみが検査対象となっているため、日本で 2 番目に頻度の高い CRF01_AE を対象とした高感度薬剤耐性検査の開発を試みた。日本で高い頻度で認められる逆転写酵素阻害剤耐性変異である M41L、K65R、D67N、K70R、K103N、Y181C、M184V、T215Y/F を対象として Primer の設計と検討を行い、現在 M41L と K70R について検査法を確立した。現在 K65R、M184V、K103N、T215Y/F について Primer の改良など検査法の検討を行っている。

[西澤雅子、山本直樹、杉浦 互、Jeffery Johnson(米国疾病対策局)、Jonathan Lipscomb(米国疾病対策局)、Jin-Fen Li(米国疾病対策局)、Xierong Wei、Walid Heneine(米国疾病対策局)]

10. 限界希釈法によるクローニング手法を用いた薬剤耐性 HIV-1 の分子進化解析

薬剤耐性変異が生体内でどのように選択進化していくか解明することは薬剤耐性の病態を理解するうえで重要である。中でもプロテアーゼとその基質である Gag タンパク間には相互に干渉しながら進化選択を受けていると推察されている。本研究ではプロテアーゼと Gag の相互干渉(共進化)を明らかにするためにプロテアーゼ阻害剤耐性変異を獲得した症例について定期的にサンプリングし、Gag 全域とプロテアーゼ約 3.0Kb を限界希釈法を応用した Single genome sequencing 法によって増幅・クロー

ニングし解析を行った。得られた配列は共進化解析プログラム CoMap を用いて解析し、同一分子内および分子間の干渉しあう変異の同定を行った。その結果、GagP453L とプロテアーゼ E35D、E35D とプロテアーゼ D30N/N88D の間に強い関連が示唆された。観察された変異を組み込んだリコンビナント・ウイルスを複数種作成し、そのウイルス学的意義について解析を行った。その結果、これらの変異が共存することでウイルスの複製が高まることが確認された。

[杉浦 互、松田昌和(三菱化学)、柿澤淳子、田中 博(東京医科歯科大学)、任 鳳蓉(東京医科歯科大学)、柴田潤子(東京医科歯科大学)]

11. 抗 Vpr 抗体の評価と臨床応用に向けた研究開発

オリエンタル酵母工業株式会社で開発された抗 Vpr 抗体の Vpr への反応性を検討し、特異的に Vpr を認識するマウスモノクローナルとウサギ抗血清をスクリーニングした。また Vpr への特異性は低いが細胞内で Vpr と同様の核膜局在を示す蛋白を認識するマウスモノクローナル抗体を見出し、この抗体が核膜タンパクの一つを特異的に認識することを免疫沈降法で確認した。この核膜タンパクと Vpr の機能の類似性については、Vpr の機能解明の糸口として今後の解析が期待される。また Vpr に対して特異性を持つ抗体・抗血清を用いた ELISA の測定系を開発し患者血漿中の Vpr の測定を行い感度や特異性について検討している。

[西澤雅子、山本直樹、岩谷靖雅、永田志保、杉浦 互、矢野竹男(オリエンタル酵母工業)]

12. 既存の治療薬がインテグラーゼに及ぼす影響について

新たに登場した新規薬剤インテグラーゼ(IN)阻害剤の導入にあたり、既存の抗 HIV 薬剤に対して薬剤耐性を獲得した症例への有効性を確認・評価を試みた。プロテアーゼ阻害剤や逆転写酵素阻害剤の投与がインテグラーゼ分子に及ぼす影響について検討するために多剤耐性変異を獲得した症例を選び、遺伝子配列解析を行った。薬剤耐性症例 93(サブタイプ B : 64, AE : 29)、未治療症例 48(サブタイプ B : 40, AE : 8)の解析を行った結果、薬剤耐性症例の方にインテグラーゼ領域の変異が集積している傾向が見られた。またサブタイプ B の薬剤耐性症例 2 例に IN 阻害剤ラルテグラビルによる耐性変異 E157Q が観察された。しかしその薬剤耐性のレベルは低くラルテグラビルの有効性に影響は無いものと考えられた。

[鈴木寿子、巖驥、藤野真之、西澤雅子、岩谷靖雅、杉浦互、松田昌和(三菱化学)]

13. プロテアーゼ阻害剤耐性 HIV-1 株に対するダルナピルの有効性についての解析

薬剤耐性遺伝子検査において既存 PI に対し、抵抗性を示す HIV 臨床分離株に対する darunavir(DRV)、atazanavir(ATV)、lopinavir(LPV)、amprenavir(APV)の有効性についての評価を試みた。多数の薬剤耐性変異の集積が認められた HIV 感染者から HIV の分離を実施した後、薬剤感受性検査を行った。分離されたウイルスは、Gag 領域に PI 耐性に伴って生じる変異を有していた。感受性検査の結果と遺伝子検査による耐性の評価は正の相関を示した。分離した 21 株のウイルスで >2 倍、2-5 倍、5-25 倍、25 倍以上の耐性を示した株は ATV で 4、1、5、11 株、LPV で 5、2、3、11 株、APV で 6、2、9、4 株そして DRV では 12、8、1、0 株であった。ATV、LPV、APV に対して 5 倍以上の耐性を示した臨床分離株の 56%、64%、75%は 5 倍未満、38%、29%、23%は 2 倍未満の耐性を DRV に対して示した。上記より、本邦における薬剤耐性症例を救済する選択肢として DRV は有効であると考えられた。

[藤野真之、鈴木寿子、三浦秀佳、西澤雅子、杉浦互]

14. HIV-1の逆転写酵素が持つRNase H活性に対する特異的阻害剤の開発

次世代抗エイズ薬として、RNaseH活性を阻害するエイズ治療薬の開発を試みた。スクリーニングにより、異なる HIV-1 流行株および薬剤耐性 HIV-1 由来の RT に内在する RNase H 活性を特異的に阻害する小分子化合物を複数同定した。中でも 5-Nitro-furan-2-carboxylic acid carbamoylmethyl ester が酵素活性阻害の中心的役割を果たす事が推測された。この作用機序は、候補化合物が RNase H の活性中心に結合することによる RNA の hydrolysis 阻害と推測された。また、細胞培養レベルでの抗 HIV-1 活性が検出された。電算機を利用した立体構造解析をもとに、これをリード化合物として RNase H を標的とした次世代抗エイズ薬を開発中である。

[駒野 淳、浦野恵美子、二橋悠子、藤 秀義(千葉大学)、星野忠次(千葉大学)、山本直樹]

15. In vitro免疫法を用いた完全ヒトモノクローナル抗体産生細胞樹立の高効率化技術の確立

エイズ治療と予防のための抗体医薬の創製のため、有用なモノクローナル抗体産生能力を有するヒト末梢血由

来B細胞株の樹立効率を増大させるための技術開発を行った。in vitro immunization法およびsystematic oligoclonal propagation法の併用によるB細胞株の樹立効率を評価した。本法によるB細胞株樹立効率は高く、有用な抗体産生細胞を高い確立で樹立することが出来たが、持続的な抗体産生能を維持することが困難であるという問題点が指摘された。抗体は本来生体分子であるため、マイクロピサイド、受動免疫による感染予防、薬剤耐性ウイルスに対するサルベージ療法としても迅速な臨床応用が期待できる。

[駒野 淳、浦野恵美子、濱武牧子、清水則夫(東京医科大学)、山本直樹]

16. HIV-1 receptor CXCR4 のリガンド非依存性 internalizationの制御機構に関する研究

HIV-1 receptorの一つであるCXCR4の機能・発現制御を分子レベルで理解することはHIV-1複製をコントロールするための方策を与える。我々はCXCR4のC末端細胞質ドメインにSDF-1alpha非依存的endocytosisを起こすアミノ酸モチーフがあることを発見し、それが3つのアミノ酸からなるSESモチーフであることを同定した。これはSDF-1alpha依存的endocytosisを起こすシグナルモチーフとは遺伝的に異なるものであった。両者のプロセスの分子機序について比較したところ、後者に必要と考えられるbeta-arrestinは前者に影響を与えないことが判明した。ウイルスレセプターの細胞表面発現を制御する事によりエイズ治療薬を開発しようとする創薬アプローチの基礎的知見を与えることが期待される。

[駒野 淳、浦野恵美子、二橋悠子、青木 徹、濱武牧子、松田善衛、山本直樹]

17. 経口投与可能な CXCR4 阻害剤の研究・開発

CXCR4 は HIV-1 の主要なコレセプターの一つであり、そのアンタゴニストは新しい作用機序を有する抗 HIV-1 剤の候補として期待されている。私達は、新規 CXCR4 アンタゴニスト KRH-3955 が経口投与可能で、in vitro、hu-PBL-SCID マウスモデルの両方で高い抗 HIV-1 活性を示すことを見出した。KRH-3955 は、1) CXCR4 に特異的に結合し、SDF-1 α の結合を強力に阻害した。2) それ自身ではシグナルを入れないレセプターアンタゴニストとして作用した。3) CXCR4 の ECL1、2、3 に対する mAb の結合を阻害したが、N 末端を認識する抗体の結合には影響を与えなかった。4) 臨床分離株、既存の抗 HIV 剤耐性株の X4 HIV-1 に対して強力な抗ウイルス活性を示した (EC₅₀: ~1 nM) で変異型 CXCR4 発現細胞を用

いた実験から KRH-3955 と相互作用する CXCR4 のアミノ酸は、His281 と推定され、AMD3100 で報告のある Asp171、Asp262、Asp288 の変異は薬剤と CXCR4 との相互作用に影響を与えなかった。KRH-3955 をラットに 10 mg/kg で経口投与したときの bioavailability は 26% に達した。hu-PBL-SCID マウスを用いた HIV-1 感染モデルにおいても自由飲水投与によって X4 HIV-1 感染を顕著に阻害した。以上の結果は、KRH-3955 はエイズに対する臨床応用に向けて有望な、経口投与可能な新規 CXCR4 アンタゴニストであることを示している。なお、現在 KRH-3955、3148 に対する耐性ウイルスの誘導実験を開始しており、耐性ウイルスが取得でき次第その解析を行う予定である。

[村上 努、浜武牧子、駒野 淳、田中勇悦(琉球大学)、田中礼子(琉球大学)、大隈 和(琉球大学)、熊倉 成(クレハ)、枝松剛生(クレハ)、谷中幹郎(クレハ)、前田洋助(熊本大学)、山本直樹]

18. HIV-1 マトリックスタンパク質 (MA) を標的としたペプチド阻害剤の開発

HIV を標的とする薬剤の基礎研究においてカプシドやマトリックスが標的の 1 つとして注目され、その部分ペプチドの一部が抗ウイルス活性を示すことが報告されている。しかし、ペプチドが細胞内に導入されているかどうかの検討はなされておらず、上記の抗ウイルス活性の作用機序についても十分解析されていない。そこで、細胞透過性を付加した HIV-1MA の部分ペプチドライブラリを合成し、抗ウイルス活性を有する部分ペプチドのスクリーニングを行った。今年度は、また、スクリーニングより見出されたペプチドをリードとして誘導体を設計し、抗 HIV 活性を有する非ペプチド性化合物の創出を試みる。MA の配列 (1 3 2 aa) の N 末端から 5 残基ずつオーバーラップさせた 1 5 mer の部分ペプチドライブラリを合成し、細胞内に導入するため N 末端に Octa-Arg を連結したものを作製し、NL4-3/MT-4 の MTT アッセイによって部分ペプチドの抗ウイルス活性を評価した。Octa-Arg を連結した部分ペプチドのいくつかは抗 HIV-1 活性を示したが、Octa-Arg を連結しないものはいずれも 50 μ M でほとんど抗ウイルス活性を示さなかった。今後は、今回抗 HIV-1 活性を示したペプチドについて R5HIV-1 の複製も阻害するか否かの検討などを行う予定である。

[村上 努、堤 浩(東京医科歯科大学)、仙田 唯(東京医科歯科大学)、玉村啓和(東京医科歯科大学)、山本直樹]

. HIV の分子疫学ならびにウイルス学的研究

1. 中国型 HIV-1 組換え型流行株(CRF07_BC, CRF08_BC) の東アジアにおける流行拡大の年代推定

CRF07_BC, CRF08_BC は、それぞれ中国北西部 (新疆ウイグル自治区) および東南部 (広西チワン族自治区) の注射薬物乱用者 (IDU) の間の流行株として同定された。われわれは、これら流行株の各地域への播種の時間スケールを明らかにするために、最新のデータ解析プログラム (BEAST) を用いて解析を進めた。その結果、CRF07_BC, CRF08_BC の共通の祖先株は、雲南省に生まれ、90 年代初頭から半ばにかけて、後者が中国東南部へ、前者は中国北西部に播種したと推定された。CRF07_BC は、1990 年代後半には、おそらく中国沿海部地域を經由して、台湾南部の IDU 集団に播種し、さらに、2000 年代初頭 (2001-2003) には、台湾中・北部に拡大して、台湾の IDU 間に未曾有の大流行を引き起こしたと推定された。またデータ解析の結果は、CRF08_BC が CRF07_BC の前駆体である可能性を示唆する。これらの知見は CRF07_BC, CRF08_BC の伝播経路とその年代を、確実な証拠をもってはじめて解明したものと考えられる。

[Kok Keng Tee、廖華南、上西理恵、長谷彩希、武部 豊、Oliver G. Pybus (オックスフォード大学)、Adeeba Kamarulzaman (マラヤ大学)、Xiao-Jie Li (上海交通大学)]

2. 我が国における CRF01_AE 感染クラスター

我が国における HIV 感染者の約 75-80% は欧米型の HIV-1 サブタイプ B で、それについて、東南アジアに起源をもつ CRF01_AE が全体の約 10-20% 前後を占める。ところが、我が国中央地域には、CRF01_AE が、全体の 80% 以上を占める重積地点があることが明らかとなった。感染は異性間感染ルートによる。一方、我が国の大都市圏では MSM 感染者が 70-80% と極めて大きな割合を占め、分布する遺伝子型もサブタイプ B が主体で、際立った違いがある。これらの知見は、我が国における HIV-1 感染症の広がりは一様ではなく、地域差、風土差を考慮した対策の必要性を示すものである。

[長谷彩希、上西理恵、廖華南、草川 茂、武部 豊、長野県エイズ拠点病院ネットワーク(代表:須坂病院 斎藤 博)]

3. マレーシアにおける第 2 の組換え型流行株候補の同定

われわれは、先にマレーシア大学医学部 (クアラルンプール市) との共同研究によって新しいタイプの組換え型流行株 (CRF33_01B) を見出した。CRF33_01B は、我が国研究機関から報告され、国際的データベースから正

式承認された初めての CRF となったが、さらに、マレーシア東部沿海地域の IDU に流布する流行株の解析の結果、新しいタイプの組換え型流行株 (CRF) 候補を同定した。この新しい CRF 候補株も CRF33_01B と同様、CRF01_AE とサブタイプ B からなるもので、解析途上であるが、相互に近縁であるが異なる組み換え構造をもつことが推定された。現在、全塩基配列決定による組換え構造の詳細な解析が進行中である。

[Kok Keng Tee、廖 華南、上西理恵、長谷彩希、Xiaojie Li、納富香子、草川 茂、武部 豊、Adeeba Kamarulzamen. (マラヤ大学)]

4. ベトナムにおける CRF01_AE 流行拡大の年代決定

HIV-1 CRF01_AE は東南アジア地域におけるエイズ流行の最も主要なウイルス株である。ベトナムでは、1990 年代に入って、HIV-1 CRF01_AE の流行が始まった。当初南ベトナムの注射薬物乱用者 (IDU) と売春婦の間で流行が始まり、ついで 90 年代半ばにはベトナム北部の IDU での流行が始まった。ベトナムにおける CRF01_AE 伝播の時間的・空間的なダイナミクスを解明するため、最新のデータ解析技術 (BEAST v1.4.2) を用いて解析を行った。その結果、ベトナムにおける CRF01_AE 株はタイや我が国に分布するものとは異なるクラスターを形成していること。またベトナムに流布するウイルス株は、南部の性感染者 (クラスター 1)、南部の IDU (クラスター 2) と北部および隣接する中国 Guangxi の IDU に分布するクラスター 3 の 3 つ区別され、クラスター 1, 2, 3 の共通祖先年代 (Time to the most recent common ancestor (tMRCA)) は、それぞれ 1986 年、1990 年、1993 年前後と推定された。これらの結果は、ベトナムにおける HIV-1 伝播が、南部の性感染のハイリスクグループ 南部 IDU

北部および隣接する中国 Guangxi の IDU へと、CRF01_AE 株流行の拡大ルートとその年代をはじめて明らかにするものと考えられる。

[廖 華南、Kok Keng Tee、長谷彩希、上西理恵、Xiao-Jie Li、草川 茂、武部 豊、Nguan tran Hien (ベトナム国立衛生疫学研究所)、Oliver Pybus (オックスフォード大学)]

5. HIV-2 感染後 36 年にわたる長期未発症例の解析：我が国における最古の HIV 感染症例の同定と同 HIV-2 分離株のほぼ完全長塩基配列の決定

われわれは、2006 年 6 月に我が国はじめての HIV-2 感染日本人症例 (77 歳男性) を同定した。本症例から HIV-2 株を分離し、ほぼ完全長の HIV-2 塩基配列を決定した。

その結果、本 HIV-2 株は、HIV-2 グループ A に属し、特にセネガル株 (60415K 株) 等との近縁性が見出された。本症例は、病歴から 36 年前 (1971 年) のセネガルでの輸血で感染したと推定されるが、塩基配列情報に基づく系統関係はその結論を裏付ける。HIV-2 ではエイズ発症までの潜伏期が HIV-1 に比べて長いと考えられているが、本症例は実に 36 年という極めて長期にわたって無症候であるという点で極めて興味深い。しかし、現在までのところ、塩基配列上での特別な特徴は見出されていない。[上西理恵、草川 茂、長谷彩希、廖 華南、小野木成美、武部 豊、内海孝信 (聖隷横浜病院)、永川博康 (聖隷横浜病院)]

6. 家族内感染例 NH3 に見出された高度薬剤耐性の発達機構への組換えの関与

HIV-1 のゲノム間に生じる遺伝子組換えは、遺伝子座間の連鎖を解消して新たな組み合わせを生じることで、ウイルスの多様性の増大に寄与していると考えられている。薬剤耐性変異の一部では複数遺伝子座の組み合わせによって fitness が低下するエピスタシスが予想され、実際に耐性変異の適応進化が組換えによって生じやすくなっている例もある。遺伝子組換えがウイルスゲノムの多様性の形成に果たす役割は明らかであるが、その寄与の程度については情報が少ない。ウイルスの生存を左右する遺伝子型の多様性に対する組換えと突然変異の様々な選択圧における寄与を集団遺伝学的手法で推測しそれらを比較するため、エピスタシスが観察される遺伝子型として、RT 領域の 41L, 69 位挿入変異、210W, 215Y の 4 つの遺伝子座に注目し、解析を進めている。in vivo の観察例として、AZT+ddI による治療によってこれらの耐性変異が生じた日本人の感染例 (Sato et al 2001) を用いた。また、組換え直前の遺伝子型を持つ患者由来ウイルスの感染性クローンを作成し、薬剤耐性試験と種々の NRTI 濃度下における in vitro 競合感染実験を行った。感染者の各治療時期と競合感染実験の感染後のいくつかの時期に、RT 領域の配列クローン (590bp or 626bp) を多数採集し、塩基配列を得た。組換えの存在は、bootscan 解析・subregion tree・phylogenetic network 解析・IDL 検定・および in vitro においては人工的な中立変異の直接観察により行った。In vitro 実験では、近接変異座間の組換え価から交叉率を推定した。連鎖の解消が観察される遺伝子座ペアの関係を coalescent モデルに基づいて解析することで、組換えによって生じた遺伝子型の集団中での生存時間を推測することができる。突然変異の集団中での生存時間も同様に推測可能であり、この 2 つの推測値の比を求め

ることで、多様性に関する組換えの寄与を知ることが可能となる (Charpentier et al. 2006)。これらの推定には、LDHatパッケージ中のpairwiseプログラムを用いた。様々な分子進化学的解析は、in vitro, in vivo双方で耐性変異座間の組換えの存在を示唆した。in vitro競合感染実験における遺伝子頻度の経時変化から、耐性変異の組み合わせに対する選択圧が確認されたが、個々の耐性変異には強い選択圧が観察されず、エピスタシスの状態にあることが示唆された。多様性に関する組換えと突然変異の寄与は、in vitroでは薬剤環境にかかわらず一定であったが、in vivoでは時期によって組換えの寄与が大きく変化することがわかった。

[椎野禎一郎、保科佳美、武部 豊]

7. 名古屋で検出されたユニークサブタイプB HIV-1

名古屋医療センター・臨床研究センターでは、名古屋地域に伝播している HIV-1 のサブタイプを明らかにするため、遺伝子型薬剤耐性検査と同時にサブタイプの判定を行っている。同センターでは、2003 年から 2006 年にわたり、組換え型流行株以外に 14 例のリコンビナント HIV-1 と思われる検体を検出している。このうち、5 例検出されたユニークサブタイプ B HIV-1 の遺伝子組み換え構造の解析を行った。ユニークサブタイプ B HIV-1 のほぼ完全長プロウイルス配列を決定し、bootscanning analysis および similarity plot analysis (ソフトウェア SimPlot version 2.5)、RIP を用いて組み換え構造を解析した。これらの方法で矛盾が生じた遺伝子領域に関しては、Phylogenetic network analysis (ソフトウェア SplitTree) を用いた。対象にした 5 例の HIV-1 は遺伝子構造上ほぼ同一のウイルスであった。サブタイプ D と組み換えが起きていた遺伝子領域は以下のとおりである：p17 遺伝子領域で 1 箇所、p24 遺伝子領域で 1 箇所、RNase 遺伝子領域で 1 箇所、integrase 遺伝子領域で 2 箇所、vif 遺伝子領域で 1 箇所、vpr 遺伝子領域で 1 箇所、vpu 遺伝子領域で 1 箇所、gp120 遺伝子領域で 1 箇所。サブタイプを特定できなかった短い 4 領域が存在したが、このユニークサブタイプ B HIV-1 は B/D リコンビナント HIV-1 であると思われる。

[椎野禎一郎、藤崎誠一郎 (名古屋医療センター臨床研究センター)、金田次弘 (名古屋医療センター臨床研究センター)]

・ HIV-1 感染性クローン樹立法ならびに各種研究技術の確立

1. 中国南西部における主要な HIV-1 流行株の感染性

分子クローンの樹立

中国南西部における地域特異的な HIV-1 流行株の研究の基盤を構築する目的で、中国雲南省において収集した臨床検体から分離したウイルスを材料として、中国南西部における 2 種類の主要な流行株の感染性分子クローンを樹立した。それぞれの全塩基配列を決定し、そのサブタイプ/CRF の同定を行ったところ、HH043 は、そのサブタイプ間組み換え構造の解析から CRF07_BC と同定された。DH002 は、その系統解析の結果からサブタイプ B' (アジア型サブタイプ B) と同定された。いずれのクローンもトランスフェクションによってこれまでに樹立されてきた感染性分子クローンと同等量のウイルスが産生され、産生されたウイルスは PHA 刺激 PBMC に感染性を有していた。また NP2/CD4/CXCR4 および /CCR5 細胞での増殖とシンシチウム形成を指標にコレセプター使用能を調べたところ、いずれも CCR5 を使用する R5 ウイルスであった。すでに樹立した CRF01_AE、CRF08_BC のクローンと合わせ、中国南西部における主要な流行株の感染性分子クローンが樹立できた。

[草川 茂、保科 佳美]

2. 感染性クローンの樹立と方法論の改良

著しい多様性を呈する HIV-1 をその特性を保持したまま迅速に感染性分子クローンを樹立することを目的に方法論の改良を引き続き試みている。HIV-1 全長ゲノム増幅に用いる PCR 酵素及び Primer 設計をさらに考慮したところ従来よりも迅速に多数の感染性分子クローンを樹立することが可能になった。本年度はこの方法論を本邦新規感染者の多くを占める同性間感染で増加傾向が認められる subtype B ウイルスとセンター第 2 研究グループで収集している薬剤耐性ウイルス、日赤から感染研 HIV パネル作成のため提供を受けた献血陽性検体及び BBI 社より購入した HIV Subtype Infectivity Panel (PRD320)由来ウイルスに応用し総計 577 個の感染性分子クローンを樹立し、その内 41 個のクローンについて全ゲノム塩基配列を決定した。

PCR 酵素選別による感染性クローン樹立の効率化

「HIV Trapping System」により感染性分子クローンが樹立できるようになったが、より効率化を図るため引き続き市販されている High Fidelity, High Processivity, High Yield の PCR 酵素数種類を比較検討している。本年度は新たに市販された Takara の PrimeSTAR GXL と Toyobo の KOD FX PCR DNA polymerase を現在までの当室での標準酵素である Roche 社の Pwo Master を用いた場合と感

染性クローン樹立効率を比較したところ、Pwo Mater によって増幅できない鋳型でも Takara PrimeSTAR GXL により効率的に感染性分子クローンが得られるウイルスが多いことが判明した。今後とも PCR 酵素の改良は進むものと期待されることから、Long PCR による「HIV Trapping System」はより有効になりうるものと期待される。

[竹川奈穂、武田 哲、巽 正志]

In-Fusion 酵素による One-Step HIV-1 Cloning 戦略の試み

当室では現在 HIV-1 ゲノムを上流、下流に区分し One Cut 制限酵素サイトを含む Primer で増幅した後繋ぎ合わせる Half & Half 戦略による「HIV Trapping System」を用いて感染性分子クローンを樹立している。現在主要な subtype/CRF のクローンが整備されたことから、より効率的な樹立法を確立するため制限酵素による繋ぎ合わせを必要としない方法論として Vaccinia Virus 由来の相同組換え酵素を用いた系の感染性分子クローン作成への応用を試みた。この酵素は Vector と組込む Insert に 15 塩基の相同性を認識して末端同士を結合する。HIV-1 の PBS 領域と 3'LTR の PolyA Signal 下流領域の塩基配列は多くの HIV-1 Group M で保存されている。これらの特徴を利用して求める HIV-1 の subtype/CRF が判明すれば、現在まで作成した感染性分子クローンから同じ subtype/CRF のクローンを選別し、Vector 側を pMT1/pMT4 の Not I サイト側を含む Primer と PBS 側で 5'LTR を含む Vector 片を用意し、標的の HIV-1 プロウイルスを 15 塩基配列が重複した PBS 領域配列と PolyA 下流領域と Vector Not I サイト領域を含んだ Primer Set で増幅し、両者を相同組換え酵素存在下で反応させる事で全長 HIV-1 クローンを樹立する方法論である。現在日赤検体由来ウイルス 2 株にこの戦略を応用して感染性分子クローンが得られているが、その樹立効率は実用にはまだ低い。今後さらに Primer 設計などの実験条件を精査し、実用化を目指す。

[竹川奈穂、巽 正志]

邦人感染者由来薬剤耐性ウイルス subtype B 感染性分子クローンの樹立と解析

昨年度まで本邦で流行している主要なウイルス株である HIV-1 subtype B と CRF01_AE 組換え体の Naïve ウイルス由来感染性分子クローンの標準株を整備した。本年度は様々な薬剤耐性プロファイルを呈する耐性ウイルスの感染性分子クローンを整備する目的で、治療中の患者由来で典型的な各種薬剤耐性プロファイルを呈するウイルス

3 株(DR5913, DR6174, DR6175)から総計 89 の感染性分子クローンを樹立した。そのうちから各株 2 クローンを選別し総計 6 クローンの全ウイルスゲノム塩基配列を決定し、近隣結合法によって分子系統樹を作成しその帰属を決定したところ全てのクローンは全長にわたり subtype B にクラスターされた。これらのクローンは薬剤耐性 subtype B の解析と耐性試験標準化に有用であることが期待される。

[竹川奈穂、西澤雅子、杉浦 互、巽 正志]

日赤献血由来陽性検体からのウイルス分離と感染性分子クローンの樹立

国内感染者由来検体からなる感染研 HIV パネル整備の為、日赤より提供を受けた HIV 陽性献血検体から磁気粒子と MAGIC-5 細胞株を用いてウイルス分離を試みたところ、84 検体中 7 検体からウイルスが分離された。7 検体のうち 6 検体は subtype B で 1 検体が CRF01AE であった。このうち subtype B の 3 検体は subtype B のなかで特異なクラスターに属する検体であった。これらの分離ウイルスから「HIV Trapping System」により総計 124 クローンの感染性分子クローンを樹立し、その内 14 クローンについて全ゲノム塩基配列を決定した。これらのクローンは今後献血行政における国内陽性検体対策立案に有用な情報を提供するものと期待される。

[竹川奈穂、巽 正志]

未だ整備されていない subtype/CRF HIV 感染性分子クローンの樹立と解析

これまで当室では国内で流通する HIV 感染診断キットの性能試験に資するため、著しい多様性を呈する HIV-1 グループ M の様々な subtype/CRF ウイルスの感染性分子クローンを整備してきた。国内外で流行する主要な subtype/CRF ウイルスに関しては薬剤耐性ウイルスも含めて複数クローンの樹立が成功しほぼ整備出来た状況であるが、国際交流が益々盛んになるにつれて現在では流行する HIV-1 ウイルスに国境はないものと考えられる。そこで未だ整備されていない subtype/CRF ウイルスの感染性分子クローンを樹立するため、欧米先進国において subtype/CRF の標準株として HIV 感染診断キットの性能試験に頻繁に用いられているウイルスを含む Boston Biomedica Inc. の HIV Subtype Infectivity Panel PRD320 を購入し、未だ整備されていない subtype/CRF と欧米で標準株として用いられているウイルス由来の感染性分子クローンパネルを整備することを開始した。現時点で新たに subtype D 2 株、 subtype F 2 株、 subtype G 2 株、

グループO2株及びHIV-2 1株の感染性分子クローンを樹立し、全ゲノムの塩基配列決定により、その帰属を確認した。引き続き残りの subtype/CRF のクローンを樹立する予定である。

[竹川奈穂、武田 哲、巽 正志]

・ HIV ライフサイクルと宿主因子の研究

1. HIV Gag タンパク質の細胞内輸送および安定性を制御する宿主因子の同定

我々は HIV 感染宿主細胞の細胞内免疫反応とその関連因子の同定を行なうため、Serial Analysis of Gene Expression(SAGE)法を用いて、HIV 感染特異的に誘導される宿主遺伝子および遺伝子産物の同定を行なった。その結果、サイトカインシグナル抑制因子である SOCS1 が HIV 感染 T 細胞において特異的にその発現が誘導されることを見出した。SOCS1 は HIV Gag タンパク質と複合体を形成し、Gag タンパク質の細胞内輸送と感染性ウイルス粒子の形成に重要な役割を果たすことが明らかになった。また siRNA を用いて SOCS1 を特異的に阻害すると、感染性ウイルス粒子の形成が顕著の抑制された。これらの結果は SOCS1 が HIV Gag の細胞内輸送に重要な役割を果たすことを示すとともに、SOCS1 を標的とした新規の HIV/AIDS 薬の有効性を示唆するものである(Ryo et al., PNAS, 2008)。

[梁 明秀、西真由子、大庭賢二、駒野淳、鶴谷直美(北里大学北里生命科学研究所)、森川裕子(北里大学北里生命科学研究所)、山本直樹]

2 . 濾胞樹状細胞 (FDCs) と HIV-1 感染細胞の P-selectin/PSGL-1 分子を介した細胞-細胞間直接的相互作用による HIV-1 複製刺激機構

HIV の感染中枢であるリンパ節に多く存在する FDC は、HIV-1 感染時その表面に感染性をもったウイルス粒子を長期間捕捉し、感染を拡大させることが知られているが、ウイルス複製に関する作用は不明であった。そこで我々は FDC の HIV-1 感染時における他の作用を解析することを試みた。FDCs を各種 HIV 慢性感染細胞株および感染末梢血単核球細胞(PBMCs)と共培養すると HIV-1 のウイルス産生が顕著に増加した。この作用は P-selectin/PSGL-1 分子を介した細胞-細胞間相互作用によるものであった。PSGL-1 の細胞内ドメインと相互作用するチロシンキナーゼ Syk の活性化が認められ、Syk の特異的阻害剤の処理により、HIV-1 の産生は有意に抑制された。これらの結果は、FDC による細胞-細胞間分子相互作用が直接的に感染細胞におけるウイルス増殖を促

進することを示すと同時にその詳細な分子機構を明らかにした。このことにより、これらを分子標的とした新たな治療法開発の可能性が示唆された。

[大庭賢二、西真由子、添田浩美、寺嶋一夫(東京医科歯科大学)、梁 明秀、山本直樹]

3 . P-TEFb(CyclinT/CDK9 複合体)の活性化を抑制する宿主因子 HEXIM1 による HIV-1 複製制御

Tat 依存的な転写は HIV-1 の複製を制御する治療の標的のひとつになると考えられている。HEXIM1 は 7SKsnRNA とともに P-TEFb に結合し、その機能を抑制することが明らかとなった。そこで我々は P-TEFb の宿主由来の阻害因子である HEXIM1 が培養細胞において HIV-1 の複製にどのような影響を与えるのかを検討した。その結果、HEXIM1 は HIV-1 の複製を負に制御する宿主因子であり、エイズ治療において新規の標的となるかもしれないことが明らかとなった。

[清水佐紀、浦野恵美子、二橋悠子、濱武牧子、武部 豊、山本直樹、駒野 淳]

4 . ミリストイル化非依存的な HIV-1 Gag の virus-like particle 産生と感染能の解析

レトロウイルス Gag タンパク質のミリストイル化が Gag の細胞膜 targeting ・ Gag 集合 ・ 細胞表面への輸送 ・ budding ・ 感染初期過程に与える影響を検証した。Gag のミリストイル化シグナルを欠失させ、N 末端にいくつかの異なる細胞膜移行シグナルタンパク質を融合させた。これらを細胞に発現させ、共焦点顕微鏡による細胞内局在、電顕による形態観察、培養上清中の VLP の有無、産生効率、物理的性質、感染能等を解析した。その結果、ミリストイル化は Gag のほぼ全ての機能に関して膜タンパク質と交換可能であることが判明した。ウイルスベクターの改良等に有用な知見であると考えられる。

[青木 徹、浦野恵美子、二橋悠子、濱武牧子、清水佐紀、寺嶋一夫(東京医科歯科大学)、村上 努、玉村啓和(東京医科歯科大学)、松田善衛、山本直樹、駒野 淳]

5 . HIV-1 複製後期過程に関与する宿主因子の解析

HIV-1 Env タンパクのウイルス粒子への取込みに関すると報告のあった TIP47 の HIV-1 複製における役割について検証・検討を行った。TIP47 過剰発現による HIV-1 Env のウイルス粒子への取込み量の増加は、細胞内 Env レベルの増加の結果をみている可能性が示唆された。一方、siRNA を用いた内因性 TIP47 の ノックダウン実験の結果は、TIP47 は Env のウイルス粒子への取込みというよりウ

イルスの細胞外への放出効率へ関与している可能性が示唆された。また、我々がHIV-1 GagまたはEnv存在下でTIP47と共沈するタンパク質として同定したactin-based motor proteinであるMyH9についてsiRNAを用いた内因性MyH9のノックダウン実験を行ったが、Envのウイルス粒子への取込みやウイルス放出効率への関与は認められなかった。現在は、主にGagの細胞内輸送やウイルス放出効率への関与を指標として小胞輸送に関与する一群のタンパク質であるRabタンパク質について検討を加えている。

[宮川 敬、村上 努、駒野 淳、佐野麻衣子、大崎雄樹(名古屋大学)、藤本豊土(名古屋大学)、福田光則(東北大学)、梁 明秀、山本直樹]

6. アポトーシス誘導因子 Daxx の分解機構の解明

Fas 結合タンパク質 Daxx は酸化ストレスなどの種々のアポトーシスシグナルの活性化に寄与しており、AIDS/HIV の領域では HIVGag と直接的に相互作用することによりウイルス複製や細胞死に関与することが示唆されている。今回我々は、Daxx を負に制御してアポトーシスを抑制する因子としてペプチジルプロリルイソメラーゼ Pin1 を同定した。Pin1 は Daxx の 178 番目のセリン残基にリン酸化特異的に結合し、Daxx のユビキチン-プロテアソーム系を介した分解を速やかに誘導する。Pin1 の発現の高い悪性膠芽腫細胞では、in vitro および in vivo の両方において、Daxx の発現が顕著に低下し、Fas リガンド刺激や酸化ストレスに対するアポトーシス抵抗性を示した。以上の結果より Pin1 はガン細胞や HIV 感染細胞におけるアポトーシス抵抗性に関与する可能性が示唆された (Ryo et al., JBC, 2007)。

[梁 明秀、西真由子、山本直樹]

7. HIV-1 の宿主細胞である CD4 陽性 T 細胞のアポトーシスのメカニズム：OX40/OX40L 系の関与

HIV-1 感染症では、宿主である CD4 陽性 T 細胞が細胞死 (アポトーシス) を起こし、その数が激減するが、その細胞死のメカニズムについては未だ不明な点が多い。我々は活性化 T 細胞マーカーのひとつである TNF レセプターファミリー分子 OX40 を強制発現させた CD4 陽性 T 細胞株の中に、OX40L 刺激により 10 時間以内に細胞死を引き起こすものを発見した。そこでこの OX40/OX40L 系の新たな機能、「細胞死誘導」のメカニズムについて調べた。Fas/FasL、DR/TRAIL や TNF-R/TNF 等が、間接的に OX40/OX40L による細胞死に関与している可能性があるため、様々な中和抗体を作用させてみたところ、抗

TNF 中和抗体によりこの細胞死が強く抑制された。また OX40L で刺激されたこの T 細胞株は数時間以内に TNF を誘導することもわかった。以上の結果から、OX40/OX40L 系は TNF-R/TNF 系を介して T 細胞死にも関与することが示唆された。

[高橋良明、田中勇悦(琉球大学)、田中礼子(琉球大学)、山本直樹]

8. HIV-1 アクセサリータンパク質 Nef と Hck による NF- κ B の活性化機構の解明

HIV-1 のアクセサリータンパク質 Nef は感染細胞における CD4 のダウンレギュレーションに関与することで AIDS/HIV 感染症の病態において重要な役割を果たす。一方で各種のシグナル伝達系を活性化させることにより、HIV の複製を制御することが知られている。今回我々は Nef が Src キナーゼファミリーの Hck と結合し、活性化させることにより、Hck の p65/RelA のリン酸化と NF- κ B シグナルの定常的活性化に寄与することを明らかにした。Hck は Nef の存在下のみにおいて p65 と結合し、濃度依存的に NF- κ B を活性化させる。逆に不活性型の Hck ではこれらの機能を抑制する。Nef と Hck を細胞に共発現させると、p65 のチロシン残基のリン酸化の度合いが顕著に増加していた。またこの現象は Hck の siRNA により完全にブロックされた。以上の結果より、Nef は宿主チロシンキナーゼ Hck と機能的に相互作用することにより、NF- κ B シグナルを活性化し、HIV の複製を正に制御する。[Jeong Soo-Jin, 梁 明秀、山本直樹]

・ HIV 感染動物モデルの開発に関する研究

1. サル・エイズモデルを用いた抗HIV候補薬のスクリーニング

これまでにいくつかのサル・エイズモデルを確立してきた。しかしながら、ヒト/HIV感染症の動物モデルとして理想的なモデルは未だ確立されていない。そのため理想的なモデルを目指していくつかの候補モデル開発を試行している。これまで実験終了後は安楽殺処分していたが、動物の有効利用の観点から、処分直前の感染サルを用いて治療候補薬剤のスクリーニングを始めている。今年度は2種の薬剤について、計6頭の感染サルを用いて評価を行った。その結果ひとつの薬剤については、治療ではなく感染予防内服剤としての可能性が示唆された。今後の検討が必要である。

[仲宗根正、楊 栄閣(中国科学院武漢ウイルス研究所)、村上 努、山本直樹]

2. Cell-associated virus経粘膜感染によるサル・エイズモデル開発（ウイルス曝露非感染モデル）

ウイルス曝露非感染サルモデルの重要性は次のようにまとめられる。人類の中にはHIVに濃厚に曝露されるも感染しないヒトが存在する。いわゆるウイルス曝露非感染者である。彼らは理想的な抗HIV免疫を獲得していると考えられているため、特にその粘膜免疫の解析はワクチン開発の重要課題となっている。しかしながら、症例の発掘が困難であり、なおかつ粘膜面の解析にはサンプリング量・回数ともに制限が大きい。また、チャレンジ実験が不可能なことから、その症例が真に抗HIV免疫を獲得しているのかという確認も不可能である。ウイルス曝露非感染サルモデルはそれらの問題を解決し、HIV防御免疫本態の詳細情報を提供すると考えられる。一昨年度確立したCell-associated virus経粘膜感染によるサル/エイズモデルを用いてウイルス曝露非感染サルモデル開発を行っている。まず、カニクイサル9頭について、50%感染成立量(AID50)の1/10という低力価でのウイルス感染細胞による頻回曝露実験を行った。今年度、これらのサルについて10倍のAID50を有するウイルス感染細胞、さらにはfree virusを攻撃接種することにより、防御免疫が誘導されているかを検討した。その結果、2頭のサルは、いずれの攻撃接種に対してもほぼ完全に防御した。現在、その防御免疫について解析中である。

[仲宗根正、兼清 優、吉野直人、梁 明秀、山本直樹、網康至(動物管理室)]

3. CCR5 tropic subtype C HIV-1の遺伝子を持つ新規SHIVの作製

HIV-1に対する候補ワクチンを評価するためのマカクザルの感染実験には、SIV、或いはSIVとHIV-1のキメラウイルス(SHIV)が広く用いられている。現在用いられているSHIVはsubtype B HIV-1由来の遺伝子を持つものが殆どであり、他のsubtypeのHIV-1遺伝子を持つSHIVの実用化が望まれている。本実験では、アフリカのザンビア共和国に由来するCCR5 tropic subtype C HIV-1の遺伝子を持つ新規SHIVを作製し、その性状をサルのリンパ球を含む種々の培養細胞を用いて解析、マカクザルの動物実験に有用と思われるものを選抜することを計画した。まず、HIV-1ウイルス株10株より得られた17種のHIV-1分子クローンをもとに、28種の組換えSHIVクローンを作製した。これらの感染性を、R5、及びX4 HIVが感染・増殖できるように改変したHeLa細胞(MAGIC-5細胞)を用いて調べた結果、13クローンが明瞭な感染性を示した。次

に、カニクイサルPBMCを用いて感染・増殖試験を行った結果、2クローンが感染の兆候を示した。

[阪井弘治、山本直樹]

4. エイズウイルス糖鎖修飾の感染組織特異性と病原性への影響

SIVmac239は5カ所のN型糖鎖修飾の減少により、エイズウイルス感染の特徴である慢性期における持続的なウイルス増殖性を失う。その機序を調べるために初期感染期の感染組織について病理学的解析を行った。SIVmac239または糖鎖欠失変異ウイルスΔ5Gをアカゲザルに静脈内接種し、SIVmac239感染では感染後7、9、12、21日にΔ5G感染では9、12、14、21日に安楽殺した。SIV感染組織を同定するために腸管粘膜組織：小腸（空腸、回腸）結腸、全身性リンパ組織：脾臓、扁桃、リンパ節（ソケイ、エキカ、顎下、深頸、肺門、膝下、深腸骨、腸間膜）を採取し、免疫組織染色法により解析した。腸管粘膜組織では両ウイルス感染で多数の感染細胞が集積した感染部位が散在していたが、感染の組織内分布、動態に違いがあった。SIVmac239感染ではすべての組織において感染部位が同定された。感染のピークは感染後9、12日で21日の組織には感染部位は確認されなかった。主要な感染部位はリンパ小節で粘膜固有層では稀に感染細胞が見られるだけであった。感染部位となったリンパ小節は複数のリンパ小節が近接して存在し免疫の活性化が推測された。Δ5G感染では、感染9日に最多の感染部位、感染細胞が検出され、12、12日では感染は減少していた。感染組織は9日では粘膜固有層であったが、12、14日ではリンパ小節であった。しかし孤立リンパ小節であり、SIVmac239感染で見られたような複数のリンパ小節の集積は少なかった。また結腸での感染は見られなかった。全身性リンパ組織においても両ウイルス感染は異なっていた。SIVmac239感染では7日では腸間膜リンパ節で、9、12日ではすべてのリンパ節で多数の感染細胞が検出された。ところがΔ5G感染では感染9日に腸間膜リンパ節等で感染部位が検出されたが感染細胞数はSIVmac239の1/10以下であった。12日以降は稀に感染細胞が確認されただけであった。末梢リンパ球の大部分は全身性リンパ組織由来であるが、両ウイルス感染での末梢リンパ球のSIV RNA,DNAのレベルの違いは全身性リンパ組織でのSIV感染の違いと一致した。SIVmac239は獲得免疫応答におけるinductive siteである2次リンパ組織のCD4+T細胞に感染していた。Δ5G感染はeffector siteのCD4+T細胞で感染が始まり、小腸粘膜を中心に一部のinductive siteのCD4+T細胞へ感染がシフトしたが、感染は短期間に収束

した。このような感染の違いが両ウイルスの慢性期の感染の違い、さらに病原性の違いの原理となっていると推測された。

[杉本智恵、森 一泰]

・その他

1. HIV感染症統合データベースの運用

エイズワクチン開発に重要な情報をデータベース(DB)化して公開(一部制限)し、HIV関連研究者に活用してもらうことを目的としてHIV感染症統合データベース(略名:HIV-DB、URL: <https://aids.nih.go.jp>)を構築し、運用している。

本DBでは、国立感染症研究所・エイズ研究センターにおいて1989年から解析中の日本およびタイ国HIV感染者からのウイルス分離結果、遺伝子配列、蛋白構造情報などのウイルス遺伝子生物学的情報に加えて、臨床データを時系列に管理・検索可能となる統合DBを構築しWEB上で提供する。

DB内容は、平成20年3月末現在、DDBJのHIV遺伝子DB(135,338件)に加えて、提供HIV感染者572、ウイルス分離解析数3,669、C2V3遺伝子解析数361、V3部蛋白構造解析数361(PDB形式)、対応臨床データ(生年、性別、CD4細胞数、血漿ウイルス量、血漿ウイルス逆転写酵素活性、薬剤履歴、その他)からなる。主機能は、DDBJのHIV遺伝子データに対する遺伝子相同性検索、遺伝子系統樹解析、genosubtyping、独自のdivision作成機能、V3部蛋白3次元構造の閲覧機能、臨床データ検索機能である。

本DBは、研究情報データベース化事業の1つとして国立感染症研究所と科学技術振興事業団と共同で開発され、平成14年10月にWEB公開された。

なお、本DBは更新目的のため、平成20年3月末より、一時閉鎖中である。

[仲宗根正、科学技術振興機構]

2. プロリルイソメラーゼ Pin1 による HTLV-1 Tax タンパク質の安定化機構の検討

ペプチジルプロリルイソメラーゼ Pin1 は多くの癌で高発現し、癌化および悪性化形質の維持に重要な役割を果たすことが知られている。今回我々は、Pin1 が HTLV-1 Tax タンパク質に結合し、そのユビキチン化とタンパク質分解を抑制することにより、Tax の活性化および癌化に寄与することを明らかにした。Pin1 は成人 T 細胞白血病(ATL)細胞株で Tax の発現に比例して発現量が増加していた。Pin1 は細胞周期依存的にリン酸化された Tax と結合し、Tax の分解を顕著に抑制した。Pin1 は Tax のユ

ビキチン化も抑制したが、Tax の分解はプロテアソーム阻害剤添加により回避されず、むしろライソソーム阻害剤の NH₄Cl 処理において顕著に抑制された。以上の結果より、Pin1 は Tax のユビキチン化およびライソソームへのターゲティングを抑制することにより、Tax タンパク質の分解を抑制し、細胞発癌を促進することが示唆された。

[Jeong Soo-Jin, 梁 明秀、正岡崇志、大庭賢二、山本直樹]

3. ポスト HAART 時代のエイズおよびエイズ関連感染症克服のための創薬シーズ探索:HCV エントリー阻害剤の同定とその解析

我が国の血友病患者における HIV/HCV 共感染率は97%を越える。1996年にHAARTの導入により、患者予後が大幅に改善された結果、HCVによる肝障害が死亡原因の大きな割合を占めるようになってきている。そのため、HCV感染症に対する有効かつ安全な治療法の開発は、「ポストHAART時代」の重要な医療課題の一つと考えられる。われわれは、脇田らによって樹立された感染性分子クローン JFH-1 を用いた infectivity assay を用いたスクリーニング系を確立・最適化することにより、新しい創薬シーズの探索を目指した。その結果、HCVのエントリーに対する阻害活性を有する数種の低分子化合物を見出した。そのうちの1種は、HCV エントリー受容体の一つである CD81 を直接の標的とすることが、コンピューターを用いた分子ドッキング解析によって予測される。現在、作用機構の詳細に関する解析と、構造最適化による創薬展開が進行中である。

[上西理恵、磯貝まや、納富香子、長谷彩希、廖 華南、加藤佳代子、武部 豊、鈴木亮介(ウイルス第二部)、鈴木哲朗(ウイルス第二部)、脇田隆宇(ウイルス第二部)]

品質管理に関する業務

・ HIV 感染診断のための標準品整備

1. 日赤献血由来陽性検体からなる国内感染者 HIV 感染研パネル整備

国内で市販される HIV 感染診断キットの公的性能試験を当室は担っている。現在診断キットの性能試験に用いている陽性検体の多くは HIV-1 流行初期の米国血液銀行より入手した血漿を供試している。HIV 感染診断キットの性能も技術革新により年々改良され、現在では第1次スクリーニング試験として抗原・抗体同時測定系が推奨され、ウィンドウ期を短縮するため HIV-1 p24 gag 抗原検出感度が更に高められた診断キットが欧米先進国において既に市場に導入されている。感染者増加が続く本

邦においては、感度と特異性に優れた HIV 感染診断キットの早期の導入は感染者の早期発見と適切な治療の開始のみならず、感染者の増加に歯止めをかけるため第 1 義的に重要であるが、これまで国内感染者検体入手が個人情報保護の側面から困難であったため承認前試験申請に遅延をきたす例が多かった。一方で国内献血における HIV-1 陽性検体数は日本赤十字社の検査目的の献血を防止するキャンペーンにもかかわらず増加し、昨年遂に年間 100 名を越えた陽性献血があった。このような状況の下、ここ数年に渡り日赤、本省医薬食品局審査管理課医療機器審査管理室及び医薬品医療機器総合機構医療機器審査部に承認前試験に供試するため公的な国内感染者検体からなるパネル整備の必要性を説き続けてきた。今年度になり関係各部の協力得て、日赤より 2004 年度から 2006 年度に互る HIV 陽性 84 検体と陰性 50 検体の譲渡を受けた。これらの検体は全て当室で分子遺伝学的特性付けを行い、また現在 HIV 感染診断キットを販売している主要な数社の協力を得て全検体の特性を検討した上で選別し、陽性 80 検体及び陰性 20 検体からなる公的感染研 HIV-1 パネルとして運営される予定である。

[田角栄二、竹川奈穂、武田 哲、阪井弘治、巽 正志、山本直樹、水落利明(血液・安全性研究部)、山口一成(血液・安全性研究部)、百瀬俊也(日赤血液事業本部中央研究所)、柚木久雄(日赤血液事業本部中央研究所)、日野学(日赤血液事業本部中央研究所)、田所憲治(日赤血液事業本部中央研究所)]

2. 日赤献血由来陽性検体の特性付け - subtyping -

上記のように譲渡を受けた陽性 84 検体により RNA を抽出し、HIV-1 gag p17 領域と env C2/V3 領域を標的とする RT-PCR により HIV-1 特異的 Amplicon を増幅し、得られた Amplicon を Direct Sequencing で感染ウイルスの subtyping を Blast 検索と NJ 法による系統樹作成により行なったところ、subtype B が 75/84 (8.1%)、CRF01AE が 9/84 (10.7%) 及び CRF08BC が 1/84 (1.2%) であった。中国本土で流行している CRF08BC 組換え体が既に献血陽性検体に見いだされたのは今後の対策として注目に値する。

[田角栄二、竹川奈穂、武田 哲、阪井弘治、巽 正志、山本直樹]

3. 日赤献血由来陽性検体の特性付け - Clustering -

上記で配列決定し所定の Primer で増幅出来た検体と別に第 2 グループ由来の薬剤耐性試験を受けているウイルス由来の感染性分子クローンの p17 gag 領域と env

C2/V3 領域で NJ 法により系統樹を作成し陽性検体ウイルスの特性を解析したところ、subtype B の検体で第 2 グループ由来ウイルスが 1 例も属さない特異なクラスターに gag p17 では 24/74 (34%)、env C2/V3 では 18/74 (24%) の有意な検体数が属していた。この特異なクラスターの存在は、今後の献血対策にとって有用な情報を提供するものと考えられる。

[田角栄二、竹川奈穂、武田 哲、巽 正志、山本直樹]

4. 日赤献血由来陽性検体の特性付け - ウイルスコピー数と抗体価 -

譲渡を受けた陽性 84 検体を現在国内で HIV 感染診断キットを販売している (もしくは販売予定) 数社の協力を得て、その各診断キットによる測定を依頼した。測定した診断キットは第 3 世代抗体検出診断薬は 3 キット、第 4 世代抗原・抗体同時検出診断薬は 7 キット、及び確認試験法として Western Blot 法 1 キットであり、HIV-1 RNA コピー数測定キットは当室で設定した測定を含めて 3 キットであった。

その結果原液血漿の 10000 倍希釈においても陽性を示す抗体価の高い検体が全体の 75% も占めており、感染から有る程度経過した検体が多いものと判断した。また抗体価が低い検体は Western Blot 法では判定保留となる検体であった。ウイルスコピー数は 3 測定法で検体によりバラつきが大きいものもあったが、その検体はフィブリンなどの凝固物の多い検体に該当していた。当室の測定でコピー数が比較的多い 7 検体から磁気パーティクル法によりウイルスを分離出来た。これらのウイルスの特性付け今後の献血対策に貴重な情報を提供するものと期待される。

[竹川奈穂、巽 正志、山本直樹]

5. 各種 subtype/CRF 感染性分子クローンを用いた抗原・抗体同時測定系の感度試験用標準パネルの作成

現在、本邦では HIV-1/2 感染診断の 1 次スクリーニング検査は、各保健所などで導入されている即日検査に用いられるイムノクロマト法を除いて、ウィンドウ期をより短縮するため抗原・抗体同時測定系が導入されている。各社より各種の検査キットが市販されているが、抗体出現前の抗原陽性期を如何に感度良く検出できるかは多くの場合 Seroconversion Panel を購入して対応しているが、この Panel が由来する HIV-1 subtype は限られており、その数量もまた限度があるなど、その標準抗原が国内外で依然として整備されていなく状況である。我々がこれまで樹立してきた各種 subtype/CRF 感染性分子クローン

が、これら抗原・抗体同時測定系における抗原検出の感度試験標準パネルとなりうるか、国内で市販されている検査キットを販売している検査会社の協力を得てその感度測定を行なっている。昨年度のサーベイより subtype/CRF 数を増やし、希釈抗原濃度も各診断キットが公称する感度 10 pg/mL 前後に振り、欧州で HIV-1 抗原測定デフォルトとされる Innotest による測定も行った。その結果 Innotest による抗原検出は設定抗原濃度 10 pg/mL まで検出していた。この成績は当室が整備した subtype/CRF 感染性分子クローンが偏ったウイルスからなる可能性を否定するものである。この条件で各種抗原抗体同時測定診断キットで測定したところ、各種診断キットにより subtype/CRF により検出感度が大きく異なることが改めて確認された。今後更に未だ樹立されていない subtype/CRF の感染性分子クローンを構築し、抗原検出の標準パネルとして整備に努める。

[竹川奈穂、巽 正志]

国際協力関係業務

・ JICA との共催による HIV-1 診断技術講習「第 5 回 HIV 感染者のケアとマネジメントのための高度診断技術コース」(平成 19 年 6 月 11 日-7 月 13 日)

現在世界的に拡大を続けている HIV-1 感染、AIDS 発症の予防のためには、HIV-1 の蔓延状況の正確な把握が欠かせない。このためには確固とした診断技術に基づいた HIV-1 感染診断が必須である。近年 HIV-1 の感染診断は従来の感染の有無のみを判断する血清学的診断に加えて、感染ウイルスの質、量を知ることができる PCR 法に基づいた診断法が重視されるようになってきている。しかし、現在感染の中心となっている第三世界では必ずしもこれらの診断技術が確立されていないのが現状である。これらの状況に対応するため当センターでは JICA との共催により第三世界の研修員を対象に HIV-1 の感染診断のための技術講習コースを毎年 1 回開催している。過去 2 フェーズ(各フェーズ 5 年)に渡って血清診断を中心とした研修を行ってきたが、近年の核酸に基づいた診断技術への需要に答えて、平成 15 年度からは「HIV 感染者のケアとマネジメントのための高度診断技術」と名称を改め PCR や塩基配列解析などを含めた研修を行っている。平成 19 年度(最終年度)には、中国、ガボン、ジャマイカ(2 名)、マラウイ、ミャンマー、パナマ、フィリピン、トーゴ、ウルグアイの 9 カ国 10 名の研修員を対象に 6 週間にわたって村山庁舎研修棟を中心として技術研修を行った。研修内容は診断に必要な関連分野の講義、診断技術実習、施設訪問等を組み合わせたもので、実習

は 3 つの小グループ制で行った。近い将来核酸技術に基づいた診断方法の導入予定の国が多いが、それを考慮して今回試みた PCR ワークショップが特に研修生から高い評価を得た。

[村上 努、仲宗根正、杉浦 互、鈴木寿子、藤野真之、武部 豊、椎野禎一郎、草川 茂、巽 正志、阪井弘治、武田 哲、森 一泰、石川晃一、駒野 淳、山本直樹、杉山和良(バイオセーフティ管理室)、横田恭子(免疫部)、多田有希(感染症情報センター)、俣野哲朗(東京大学医学科学研究所)、Jintana Ngamvithayapong-Yanai(財団法人結核予防会結核研究所)、若杉なおみ(早稲田大学)、菊池 嘉(国立国際医療センター)、増田道明(獨協医科大学)、小柳義夫(京都大学ウイルス研究所)、佐竹正博(東京都赤十字血液センター)、加藤真吾(慶應義塾大学)、畢 秀瓊(国立国際医療センター)]

・ その他

1. 日本学術振興会 外国人特別研究員受入(平成 19 年 5 月 14 日)[杉浦 互]

2. JICA ナイジェリア HIV 感染予防対策研修コース 講師「日本の HIV/AIDS の現状と対策、エイズ研究センターについて」(平成 19 年 9 月 7 日)[巽 正志、山本直樹]

3. 日本学術振興会 論博研究者受入(平成 19 年 10 月 14 日-12 月 7 日)[杉浦 互]

4. JICA ベトナム国立衛生疫学研究所能力強化プロジェクト研修受入(平成 19 年 11 月 26 日-12 月 13 日)[巽 正志]

研修業務

・厚生労働省による HIV 検査法、検査体制研究班による研修会「第 18 回 HIV-1,2 技術研修会」(平成 19 年 10 月 3 日-5 日)

都道府県・政令市・特別区の地方衛生研究所及びエイズ治療の地方ブロック拠点病院等の検査従事者を対象とした HIV 検査法(PCR 法等)を用いた HIV 感染症の診断技術研修会を行った。全国の地方衛生研究所等への普及と標準化を図り、わが国における検査体制の充実を図ることを目的とする。

[杉浦 互、武部 豊、椎野禎一郎、草川 茂、石川晃一、駒野 淳、鈴木寿子、藤野真之、西澤雅子、武田 哲、今井光信(神奈川県衛生研究所)、佐野貴子(神奈川県衛

生研究所) 瀧永博之(国立国際医療センター) 加藤真吾(慶應義塾大学)]

. その他

1. 医師卒後臨床研修プログラム 講師「エイズの現状と問題点」(平成19年12月13日)[山本直樹]

発表業績一覧

. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Ohba K, Yoshida S, Dewan MZ, Shimura H, Sakamaki N, Takeshita F, Yamamoto N, Okuda K: Mutant influenza A virus nucleoprotein is preferentially localized in the cytoplasm and its immunization in mice shows higher immunogenicity and cross-reactivity. *Vaccine* 25(21):4291-4300, 2007.
- 2) Qi X, Koya Y, Saitoh T, Saitoh Y, Shimizu S, Ohba K, Yamamoto N, Yamaoka S, Yamamoto N: Efficient induction of HIV-1 replication in latently infected cells through contact with CD4+ T cells: involvement of NF-kappaB activation. *Virology* 361(2):325-334, 2007.
- 3) Kondo K, Okuma K, Tanaka R, Zhang LF, Kodama A, Takahashi Y, Yamamoto N, Ansari AA, Tanaka Y: Requirements for the functional expression of OX40 ligand on human activated CD4 and CD8+ T cells. *Hum Immunol* 68(7):563-571, 2007.
- 4) Cho WK, Zhou M, Jang MK, Huang K, Jeong SJ, Ozato K, Brady JN: Modulation of the Brd4/P-TEFb interaction by the human T-lymphotropic virus type 1 tax protein. *J Virol* 81(20):11179-11186, 2007.
- 5) Someya K, Xin KQ, Ami Y, Izumi Y, Mizuguchi H, Ohta S, Yamamoto N, Honda M, Okuda K. Chimeric adenovirus type 5/35 vector encoding SIV gag and HIV env genes affords protective immunity against the simian/human immunodeficiency virus in monkeys. *Virology* 367(2):390-397, 2007.
- 6) Watanabe S, Ohta S, Yajima M, Terashima K, Ito M, Mugishima H, Fujiwara S, Shimizu K, Honda M, Shimizu N, Yamamoto N: Humanized NOD/SCID/IL2Rgamma(null) mice transplanted with hematopoietic stem cells under nonmyeloablative conditions show prolonged life spans and allow detailed analysis of human immunodeficiency virus type 1 pathogenesis. *J Virol* 81(23):13259-13264, 2007.
- 7) Ryo A, Hirai A, Nishi M, Liou YC, Perrem K, Lin SC,

Hirano H, Lee SW, Aoki I: A suppressive role of the prolyl-isomerase pin1 in cellular apoptosis mediated by the death-associated protein daxx. *J Biol Chem* 282(50):36671-36681, 2007.

- 8) Suzuki H, Fujino M, Matsuda M, Yan H, Iwatani Y, Sugiura W: Effects of Protease and reverse transcriptase inhibitor-resistance mutations on integrase polymorphism in multidrug resistance cases. *Antivir Ther* 12(1): S4, 2007.
- 9) Shibata J, Ren F, Nishizawa M, Fujino M, Iwatani Y, Matsuda M, Miura H, Tanaka, Sugiura W: Interference between Gag non-cleavage site mutation P453L and HIV-1 protease non-drug resistance mutation E35D. *Antivir Ther* 12(1): S143, 2007.
- 10) Saeng-Aroon S, Yoshida LM, Ariyoshi K, Taguchi M, Pathipvanich P, Rojanawiwat A, Matsuda M, Kannagi M, Sawanpanyalert P, Sugiura W, Auwanit W: An efficient tool for surveying CRF01_AE HIV type 1 resistance in Thailand to combined stavudine-lamivudine-nevirapine treatment: mutagenically separated PCR targeting M184I/V. *AIDS Res Hum Retroviruses* 23(12):1461-1468, 2007.
- 11) Satoh E, Li XK, Hara Y, Ogata K, Guo L, Kitazawa Y, Funeshima-Fuji N, Satoh T, Miyagi T, Sugiura W, Yamamoto N, Teramoto K, Arii S, Kimura H: Sensitization to enhanced green fluorescence protein minor histocompatibility antigen by gene transduction into dendritic cells and peritoneal exudate macrophages. *Transpl Immunol* 18(2): 73-84, 2007.
- 12) Iwatani Y, Chan DS, Wang F, Maynard KS, Sugiura W, Gronenborn AM, Rouzina I, Williams MC, Musier-Forsyth K, Levin JG: Deaminase-independent inhibition of HIV-1 reverse transcription by APOBEC3G. *Nucleic Acids Res* 35(21): 7096-7108, 2007.
- 13) Fujisaki S, Fujisaki S, Ibe S, Asagi T, Itoh T, Yoshida S, Koike T, Oie M, Kondo M, Sadamasu K, Nagashima M, Gatanaga H, Matsuda M, Ueda M, Masakane A, Hata M, Mizogami Y, Mori H, Minami R, Okada K, Watanabe, K, Shirasaka T, Oka S, Suigura W, Kaneda T: Performance and quality assurance of genotypic drug-resistance testing for human immunodeficiency virus type 1 in Japan. *Jpn J Infect Dis* 60: 113-117, 2007.
- 14) Ode H, Matsuyama S, Hata M, Hoshino T, Kakizawa J,

- Sugiura W: Mechanism of drug resistance due to N88S in CRF01_AE HIV-1 protease, analyzed by molecular dynamics simulations. *J Med Chem* 50(8):1768-1777, 2007.
- 15) Chiba-Mizutani T, Miura H, Matsuda M, Matsuda Z, Yokomaku Y, Miyauchi K, Nishizawa M, Yamamoto N, Sugiura W: Use of new T-cell-based cell lines expressing two luciferase reporters for accurately evaluating susceptibility to anti-human immunodeficiency virus type 1 drugs. *J Clin Microbiol* 45(2): 477-487, 2007.
 - 16) Hamatake M, Nishizawa M, Yamamoto N, Kato S, Sugiura W: A simple competitive RT-PCR assay for quantitation of HIV-1 subtype B and non-BRNA in plasma. *J Virol Methods* 142: 113-117, 2007.
 - 17) Gatanaga H, Ibe S, Matsuda M, Yoshida S, Asagi T, Kondo M, Sadamasu K, Tsukada H, Masakane A, Mori H, Takata N, Nakagiri I, Minami R, Tateyama M, Koike T, Itoh T, Imai M, Gejyo F, Ueda M, Hamaguchi M, Kojima Y, Shirasaka T, Kimura A, Yamamoto M, Fujita J, Oka S, Sugiura W: Nationwide survey of drug-resistant HIV-1 prevalence in patients newly diagnosed with HIV/AIDS in Japan. *Antiviral Res* 75(1): 75-82, 2007.
 - 18) Omura M, Furuya K, Kudo S, Sugiura W, Azuma H: Detecting immunoglobulin M antibodies against microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* polar tubes in sera from healthy and human immunodeficiency virus-infected persons in Japan. *Clin Vaccine Immunol* 14(2): 168-172, 2007.
 - 19) Kassu A, Fujino M, Matsuda M, Nishizawa M, Ota F, Sugiura W: Molecular epidemiology of HIV-1 in treatment naïve patients in north Ethiopia. *AIDS Res Hum Retroviruses* 23(4): 564-568, 2007.
 - 20) Deforche K, Camacho R, Grossman Z, Silander T, Soares MA, Moreau Y, Shafer RW, Van Laethem K, Carvalho AP, Wynhoven B, Cane P, Snoeck J, Clarke J, Sirivichayakul S, Ariyoshi K, Holguin A, Rudich H, Rodrigues R, Bouzas MB, Cahn P, Brigido LF, Soriano V, Sugiura W, Phanuphak P, Morris L, Weber J, Pillay D, Tanuri A, Harrigan PR, Shapiro JM, Katzenstein DA, Kantor R, Vandamme AM: Bayesian network analysis of resistance pathways against protease inhibitors. *Infect Genet Evol* 7(3): 382-390, 2007.
 - 21) Han X, Zhang M, Dai D, Wang Y, Zhang Z, Liu J, Geng W, Jiang Y, Takebe Y, Shang H: Genotypic resistance mutations to antiretroviral drugs in treatment-naive HIV/AIDS patients living in Liaoning Province, China: baseline prevalence and subtype-specific difference. *AIDS Res Hum Retroviruses* 23(3): 357-364, 2007.
 - 22) Utsumi T, Nagakawa H, Uenishi R, Kusagawa S, Takebe Y: An HIV-2-infected Japanese man who was a long-term nonprogressor for 36 years. *AIDS* 21(13): 1834-1835, 2007.
 - 23) Naito Y, Nohtomi K, Onogi T, Uenishi R, Ui-Tei K, Saigo K, Takebe Y: Optimal design and validation of antiviral siRNA for targeting HIV-1. *Retrovirology* 4(1): 80, 2007.
 - 24) Tee KK, Pybus OG, Liao H, Uenishi R, Hase S, Kamarulzaman A, Li X-J, Takebe Y: Chronology of the HIV-1 CRF07_BC expansion in Taiwan. *AIDS* 22: 156-158, 2007.
 - 25) Rie X-J, Uenishi R, Hase S, Liao H, Tee KK, Kusagawa S, Takebe Y: HIV/AIDS in Asia: The shape of epidemics and their molecular epidemiology. *Virologica Sinica* 22(6): 426-433, 2007.
 - 26) Matsuda Z, Iga M, Miyauchi K, Komano J, Morishita K, Okayama A, Tsubouchi H: In vitro translation to study HIV protease activity. *Methods Mol Biol* 375: 135-149, 2007.
 - 27) Kameoka M, Kitagawa Y, Utachee P, Jinnopat P, Dhepakson P, Isarangkura-na-ayuthaya P, Tokunaga K, Sato H, Komano J, Yamamoto N, Oguchi S, Natori Y, Ikuta K: Identification of the suppressive factors for human immunodeficiency virus type-1 replication using the siRNA mini-library directed against host cellular genes. *Biochem Biophys Res Commun* 359(3):729-734, 2007.
 - 28) Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y, Yamamoto N, Komano J: Inhibiting lentiviral replication by HEXIM1, a cellular negative regulator of the CDK9/cyclin T complex. *AIDS* 21(5): 575-582, 2007.
 - 29) Futahashi Y, Komano J, Urano E, Aoki T, Hamatake M, Miyauchi K, Yoshida T, Koyanagi Y, Matsuda Z, Yamamoto N: Separate elements are required for ligand-dependent and -independent internalization of metastatic potentiator CXCR4. *Cancer Sci* 98(3): 373-379, 2007.
 - 30) Pereira LE, Villinger F, Onlamoon N, Bryan P, Cardona

- A, Pattanapanyasat K, Mori K, Hagen S, Picker L, Ansari AA: SIV infection influences the level and function of Tregs in SIV-infected rhesus macaques but not SIV-infected sooty mangabeys. *J Virol* 81: 4445-4456, 2007.
- 31) Ansari AA, Pereira LE, Mayne AE, Onlamoon N, Pattanapanyasat K, Mori K, Villinger F: The role of disease stage, plasma viral load and regulatory T cells (Tregs) on autoantibody production in SIV-infected non-human primates. *J Autoimmun* 28: 152-159, 2007.
- 32) Tanaka-Takahashi Y, Yasunami M, Naruse T, Hinohara K, Matano T, Mori K, Miyazawa M, Honda M, Yasutomi Y, Nagai Y, Kimura A: Reference strand-mediated conformation analysis (RSCA) – based typing of multiple alleles in the rhesus macaques MHC class I Mamu-A and I Mamu-B loci. *Electrophoresis* 28: 918-924, 2007.
- 33) Kubo Y, Yokoyama M, Yoshii H, Mitani C, Tominaga C, Tanaka Y, Sato H, Yamamoto N: Inhibitory role of CXCR4 glycan in CD4-independent X4-tropic human immunodeficiency virus type 1 infection and its abrogation in CD4-dependent infection. *J Gen Virol* 88: 3139-3144, 2007.
- 34) Murakami T, Yamamoto N: AIDS: How do we overcome this social and biodisaster? *J Disaster Res* 2: 71-80, 2007.
- 35) Dewan MZ, Terunuma H, Takada M, Tanaka Y, Abe H, Sata T, Toi M, Yamamoto N: Role of natural killer cells in hormone-independent rapid tumor formation and spontaneous metastasis of breast cancer cells in vivo. *Breast Cancer Res Treat* 104(3): 267-275, 2007.
- 36) Kubo Y, Tominaga C, Yoshii H, Kamiyama H, Mitani C, Amanuma H, Yamamoto N: Characterization of R peptide of murine leukemia virus envelope glycoproteins in syncytium formation and entry. *Arch Virol* 152(12): 2169-2182, 2007.
- 37) Vermund SH, Yamamoto N: Co-infection with human immunodeficiency virus and tuberculosis in Asia. *Tuberculosis Suppl* 1: S18-25, 2007.
- 38) Yamaguchi K, Sugiyama T, Takizawa M, Yamamoto N, Honda M, Natori M. Viability of infectious viral particles of HIV and BMCs in breast milk. *J Clin Virol* 39(3): 222-225. 2007.
- 39) Watanabe M, Dewan MZ, Taira M, Shoda M, Honda M, Sata T, Higashihara M, Kadin ME, Watanabe T, Yamamoto N, Umezawa K, Horie R: IkappaBalpha independent induction of NF-kappaB and its inhibition by DHMEQ in Hodgkin/Reed-Sternberg cells. *Lab Invest* 87(4): 372-382. 2007.
- 40) Miyano-Kurosaki N, Kira J, Barnor JS, Maeda N, Misawa N, Kawano Y, Tanaka Y, Yamamoto N, Koyanagi Y: Autonomous proliferation of HTLV-CD4+ T cell clones derived from human T cell leukemia virus type I (HTLV-I)-associated myelopathy patients. *Microbiol Immunol* 51(2): 235-242. 2007.
- 41) Okada M, Okuno Y, Hashimoto S, Kita Y, Kanamaru N, Nishida Y, Tsunai Y, Inoue R, Nakatani H, Fukamizu R, Namie Y, Yamada J, Takao K, Asai R, Asaki R, Kase T, Takemoto Y, Yoshida S, Peiris JS, Chen PJ, Yamamoto N, Nomura T, Ishida I, Morikawa S, Tashiro M, Sakatani M: Development of vaccines and passive immunotherapy against SARS corona virus using SCID-PBL/hu mouse models. *Vaccine* 25(16): 3038-3040, 2007.
- 42) Shimakage M, Inoue N, Ohshima K, Kawahara K, Yamamoto N, Oka T, Tambe Y, Yasui K, Matsumoto K, Yutsudo M, Inoue H: Downregulation of drs mRNA expression is associated with the progression of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Int J Oncol* 30(6): 1343-1348, 2007.
- 43) Dewan MZ, Terunuma H, Takada M, Tanaka Y, Abe H, Sata T, Toi M, Yamamoto N: Role of natural killer cells in hormone-independent rapid tumor formation and spontaneous metastasis of breast cancer cells in vivo. *Breast Cancer Res Treat* 104(3): 267-275, 2007.
- 44) Dasgupta A, Jung KJ, Jeong SJ, Brady JN: Inhibition of methyltransferases results in induction of g2/m checkpoint and programmed cell death in human T-lymphotropic virus type 1-transformed cells. *J Virol* 82(1):49-59, 2008.
- 45) Jeong SJ, Dasgupta A, Jung KJ, Um JH, Burke A, Park HU, Brady JN: PI3K/AKT inhibition induces caspase-dependent apoptosis in HTLV-1-transformed cells. *Virology* 370(2):264-272, 2008.
- 46) Ryo A, Tsurutani N, Ohba K, Kimura R, Komano J, Nishi M, Soeda H, Hattori S, Perrem K, Yamamoto M, Chiba J, Mimaya J, Yoshimura K, Matsushita S, Honda M, Yoshimura A, Sawasaki T, Aoki I, Morikawa Y, Yamamoto N: SOCS1 is an inducible host factor during HIV-1 infection and regulates the intracellular

- trafficking and stability of HIV-1 Gag. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(1):294-299, 2008.
- 47) Takahashi Y, Tanaka R, Yamamoto N, Tanaka Y: Enhancement of OX40-induced apoptosis by TNF coactivation in OX40-expressing T cell lines in vitro leading to decreased targets for HIV type 1 production. *AIDS Res Hum Retroviruses* 24(3):423-435, 2008.
- 48) Okuma K, Tanaka R, Ogura T, Ito M, Kumakura S, Yanaka M, Nishizawa M, Sugiura W, Yamamoto N, Tanaka Y: Interleukin-4-Transgenic hu-PBL-SCID Mice: A Model for the Screening of Antiviral Drugs and Immunotherapeutic Agents against X4 HIV-1 Viruses. *J Infect Dis* 197(1): 134-141, 2008.
- 49) Furuya K, Omura M, Kudo S, Sugiura W, H Azuma: Recognition profiles of microsporidian Encephalitozoon cuniculi polar tube protein 1 with human immunoglobulin M antibodies. *Parasite Immunol* 30: 13-21, 2008.
- 50) Takebe, Y. Uenishi, R., and Li. X.-J: Global molecular epidemiology of HIV: Understanding the genesis of AIDS pandemic. "HIV-1: Molecular biology and pathogenesis" (ed. Kuan Teh Jeang). *Adv Pharmacol* 56: 1-25, 2008.
- 51) Sugimoto C, Nakayama EE, Shioda T, Villinger F, Ansari AA, Yamamoto N, Suzuki Y, Nagai Y, Mori K: Impact of glycosylation on antigenicity of simian immunodeficiency virus SIV239: induction of rapid V1/V2 specific non-neutralizing antibody and delayed neutralizing antibody following infection with an attenuated deglycosylated Mutant. *J Gen Virol* 89: 554-566, 2008.
- 52) Onlamoon N, Rogers K, Mayne AE, Pattanapanyasat K, Mori K, Villinger F, Ansari AA: Soluble PD-1 rescues the proliferative response of SIV specific CD4 and CD8 T cells during chronic infection. *Immunology* 124: 277-293, 2008.
- 53) Kubo Y, Yoshii H, Kamiyama H, Tominaga C, Tanaka Y, Sato H, Yamamoto N: Ezrin, Radixin, and Moesin (ERM) proteins function as pleiotropic regulators of human immunodeficiency virus type 1 infection. *Virology* 375(1): 130-140, 2008.
- 54) Amet T, Nonaka M, Dewan MZ, Saitoh Y, Qi X, Ichinose S, Yamamoto N, Yamaoka S: Statin-induced inhibition of HIV-1 release from latently infected U1 cells reveals a critical role for protein prenylation in HIV-1 replication. *Microbes Infect* 10(5): 471-480, 2008.
- 55) Koyanagi Y, Tanaka Y, Ito M, Yamamoto N: Humanized mice for human retrovirus infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 324: 138-148, 2008.
- 56) Ujike M, Nishikawa H, Otaka A, Yamamoto N, Yamamoto N, Matsuoka M, Kodama E, Fujii N, Taguchi F: Heptad repeat-derived peptides block protease-mediated direct entry from the cell surface of severe acute respiratory syndrome coronavirus but not entry via the endosomal pathway. *J Virol* 82(1): 588-592, 2008.
- 57) Yoshii H, Kamiyama H, Amanuma H, Oishi K, Yamamoto N, Kubo Y: Mechanisms underlying glycosylation-mediated loss of ecotropic receptor function in murine MDTF cells and implications for receptor evolution. *J Gen Virol* 89(Pt 1): 297-305, 2008.
- 58) Murakami T: Roles of the interactions between Env and Gag proteins in the HIV-1 replication cycle? *Microbiol Immunol*, in press.
- 59) Terunuma H, Deng X, Dewan MZ, Fujimoto S and Yamamoto N: Potential role of NK cells in the induction of immune responses: Implications for NK cell-based immunotherapy for cancers and viral infections, *International Reviews of Immunology*, in press.
- 60) Yajima M, Imadome K, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, Ito M, Shimizu N, Honda M, Yamamoto N, Fujiwara S: A new humanized mouse model of EBV infection reproducing persistent infection, lymphoproliferative disorder, and cell-mediated and humoral immune responses. *J Infect Dis*, in press.
- 61) Saito Y Yamamoto N. Dewan MZ, Sugimoto H, Martinez Bryun VJ, Iwasaki Y, Matsubara K, Qi X, Saitoh T, Imoto I, Inazawa I, Utsunomiya A, Watanabe T, Masuda T, Yamamoto N, Yamaoka S: Overexpressed NF-κB inducing kinase contributes to the tumorigenesis of adult T-cell leukemia and Hodgkin Reed-Sternberg cells. *Blood*, in press.

2. 和文発表

- 1) 松尾和浩、山本直樹、本多三男：AIDS 感染予防および治療ワクチン開発の戦略。(小池和彦編) 別冊医学のあゆみ。ウイルス感染症—研究と臨床の最前線。東京、医歯薬出版、p107-p114、2007。
- 2) 今井光信、中瀬克己、小島弘敬、加藤真吾、杉浦 互、

- 乗原 健、白阪琢磨: HIV 検査および検査体制-技術の進歩と今後の課題- 第 20 回 日本エイズ学会 シンポジウム記録. 9(3):202-208,2007 .
- 3) 松田昌和、杉浦 互: HIV 薬剤耐性検査. モダンメディア別冊 53 (11) :319-322, 2007 .
- 4) 西澤雅子、杉浦 互: 薬剤耐性 HIV の抱える諸問題: Considerable Issues of Drug Resistance. The Journal of AIDS Research 9(3): 197-201, 2007.
- 5) 杉浦 互: 抗ウイルス薬耐性獲得のメカニズム- HIV. 月刊薬事. 49(11): 31-36, 2007.
- 6) 岩谷靖雅、杉浦 互: DNA マイクロアレイ法. 臨床と微生物 34 増刊号: 479-481, 2007.
- 7) 杉浦 互: 薬剤耐性化と対策. 薬剤耐性化. HIV の耐性化機序. 日本臨床 65 増刊号 2:487-492, 2007.
- 8) 杉浦 互: 感染症の治療と薬剤耐性. 生体防御医学辞典. 朝倉書店. p66-p71, 2007.
- 9) 藤崎誠一郎、藤崎彩恵子、伊部史朗、浅黄 司、伊藤俊広、吉田 繁、小池隆夫、大家正泰、渡邊香奈子、正兼亜季、上田幹夫、瀧永博之、松田昌和、貞升健志、長島真美、岡田清美、近藤真規子、奏 眞美、溝上泰司、森 治代、南 留美、白阪琢磨、岡 慎一、杉浦 互、金田次弘: 日本における HIV-1 遺伝子型薬剤耐性検査のコントロールサーベイ. The Journal of AIDS Research 9(2): 136-146, 2007.
- 10) 長谷彩希、草川茂、武部豊: 逆転写酵素活性測定法³²P を用いた免疫不全ウイルス (HIV) のウイルス学的研究技術 . 秀潤社, 細胞工学別冊 RI の逆襲; アイソトープを活用した簡単・安全バイオ実験 . 127-131, 2007.
- 11) 村上 努、Heinrich G. Göttinger、森川裕子、駒野 淳、梁 明秀、佐藤裕徳: Gag 蛋白質の輸送と機能の制御. The Journal of AIDS Research 9(2):102-107, 2007.
- 12) 村上 努、駒野 淳: 抗レトロウイルス薬の世界的普及時代を迎えて ; エイズ研究センターの国際研修活動について 病原微生物検出情報 Infectious Agents Surveillance Report (IASR) 28(6): 164-166, 2007.
- 13) 村上 努: HIV複製研究の最前線 序論. The Journal of AIDS Research 10(1):1-2, 2008.
- Retrovirology HTLV and Related Viruses, May 21-25, 2007, Hakone, Japan.
- 2) Urano E, Shimizu S, Hamatake M, Morikawa Y, Yamamoto N, Komano J: Upregulating expression of cyclin K/CPR4 limits the replication of HIV-1. CSH Meeting on Retroviruses, May 22-27, 2007, Cold Spring Harbor, NY, USA.
- 3) Yoshida T, Kawano Y, Ando Y, Sato K, Komano J, Miura Y, Tanaka Y, Koyanagi Y: CD63 and its mutants inhibit fusion of CXCR4-containing vesicles to the plasma membrane and block X4 HIV-1 entry. CSH Meeting on Retroviruses, May 22-27, 2007, Cold Spring Harbor, NY, USA.
- 4) Aoki T, Shimizu S, Emiko U, Futahashi Y, Hamatake M, Terashima K, Murakami T, Yamamoto N, Komano J: Rerouting the plasma membrane targeting of HIV-1 and MLV gag by replacing myristoylation signal with membrane proteins. CSH Meeting on Retroviruses, May 22-27, 2007, Cold Spring Harbor, NY, USA.
- 5) Miyagawa K, Murakami T, Ohsaki Y, Komano J, Fujimoto T, Yamamoto N: Analysis of interaction between HIV-1 Gag and tip47 and its associated proteins. CSH Meeting on Retroviruses, May 22-27, 2007, Cold Spring Harbor, NY, USA.
- 6) Miyauchi K, Curran R, Matthews E, Komano J, Murakami T, Yamamoto N, Engelman DM, Matsuda Z: The specific phase of membrane-spanning helix of hiv-1 gp41 is critical for intracellular transport of env. CSH Meeting on Retroviruses, May 22-27, 2007, Cold Spring Harbor, NY, USA.
- 7) Suzuki H, Fujino M, Matsuda M, Yan H, Iwatani Y, Sugiura W: Effects of protease and reverse transcriptase inhibitor-resistance mutations on integrase polymorphism in multidrug resistance cases. 16th International HIV Drug Resistance Workshop, Jun. 12-16, 2007, Barbados, WestIndies.
- 8) Shibata J, Ren F, Nishizawa M, Fujino M, Iwatani Y, Matsuda M, Miura H, Tanaka H, Sugiura W: Interference between Gag non-cleavage site mutation P453L and HIV-1 protease non-drug resistance mutation E35D. 16th International HIV Drug Resistance Workshop, Jun. 12-16, 2007, Barbados, WestIndies.
- 9) Terashima K, Watanabe S, Ohba K, Dewan MZ, Taruishi M, Mochimaru Y, Matsuoka S, Shimizu N, Yamamoto N: Follicular Dendritic cells (FDC) and

学会発表

1. 国際学会

- 1) Jeong SJ, Lu H, Cho WK, Park HU, Pise-Masison C, Brady JN : CARM1 enhances transcription of the HTLV-1 LTR through a direct interaction with Tax protein. 13th International Conference on Human

- HIV-1. 13th International Congress of Immunology, Aug. 21-25, 2007, Rio de Janeiro, Brazil.
- 10) Uenishi R, Nohtomi K, Hase S, Suzuki R, Suzuki T, Wakita T, Takebe Y: Identification of new class of HCV inhibitors using newly developed JFH-1-based infectivity/ replication assay. 第7回あわじしま感染症・免疫フォーラム, Sept.1-5, 2007, 淡路島.
 - 11) Isogai M, Uenishi R, Hase S, Suzuki R, Suzuki T, Wakita T, Takebe Y: Identification of new class of HCV inhibitors targeting to the entry or late stages in HCV replication cycle using newly developed JFH-1-based infectivity/ replication assay. HCV 2007, Sept.9-13, 2007, Glasgow, UK.
 - 12) Sugimoto C, Suzuki Y, Nagai Y, Hirsch V, Yamamoto N, Mori K: Efficacy of deglycosylation mutants derived from SIVmac239 as live attenuated vaccines against SIVsmE543; A heterologous challenge model for vaccine against naturally occurred HIV diversity. 25th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Sept. 10-13, 2007, Monterey, USA.
 - 13) Takebe Y: Identification of novel antiviral small molecule compounds that are likely to block early processes in HCV replication cycle. 2nd Hepatitis C, Resistance and New Compounds Workshop, Oct. 31-Nov. 1, 2007, Boston. USA.
 - 14) Shibata J, Ren F, Nishizawa M, Tsang H, Iwatani Y, Matsuda M, Miura H, Tanaka H, Sugiura W: Gag and protease interference affect acquisition and selection of resistance viruses in antiretroviral treatment failure case. 8th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov.11-14, 2007, USA.
 - 15) Honda M, Kanekiyo M, Matsuo K, Kong W, Akahata W, Yang Z, Xu L, Wu L, Bonaparte K, Margulies D, Nabel GJ: Switching of CD8+ T cell responses specific to immunodominant antigenic- multideterminant of HIV-1 Env. VRC Scientific Training Retreat, Nov. 13-16, 2007, Philadelphia, USA.
 - 16) Bandaranayake R, Prabu-Jeyablab M, Kakizawa J, Sugiura W, Schiffer C: The effect of sequence polymorphisms on CrF01_AE protease structure. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb.3-6, 2008, Boston, USA.
2. 国内学会
- 1) 藤 秀義、辰巳絢子、栗田明宙、駒野 淳、星野忠次：コンピュータ支援による HIV-1 治療薬の開発。レトロウイルス研究会夏期セミナー2007。2007年8月3日，山梨県。
 - 2) 濱武牧子、駒野 淳、浦野恵美子、巖 驊、中原 徹、堤浩、宮内浩典、森川裕子、玉村啓和、杉浦 互、山本直樹：HIV-1 インテグラーゼ阻害活性を有する6アミノ酸モチーフの同定とその抗ウイルス活性。熊本エイズセミナー。2007年9月13-14日，熊本。
 - 3) Tee Kok-Keng, 廖華南、上西理恵、長谷彩希、武部豊：HIV-1 CRF07_BC の東アジアにおける流行拡大の年代決定：アジアにおけるエイズ流行の成り立ちに関する理解の深化に向けて。第55回日本ウイルス学会学術集会，2007年10月21-23日，札幌。
 - 4) 武部豊、上西理恵、納富香子、長谷彩希、鈴木哲朗、脇田隆字：感染性 HCV クローン JFH-1 を用いた感染・増殖アッセイに基づくスクリーニングによる新規標的をもつ HCV 阻害剤の同定とその解析。第55回日本ウイルス学会学術集会，2007年10月21-23日，札幌。
 - 5) 駒野 淳、浦野恵美子、巖 驊、中原 徹、堤 浩、濱武牧子、宮内浩典、森川裕子、玉村啓和、杉浦 互、山本直樹：HIV-1 インテグラーゼ阻害活性を有する6アミノ酸モチーフの同定とその抗ウイルス活性。第55回日本ウイルス学会学術集会，2007年10月21-23日，札幌。
 - 6) Emiko Urano, Saki Shimizu, Makiko Hamatake, Yuko Morikawa, Naoki Takahashi, Hidesuke Fukazawa, Naoki Yamamoto, and Jun Komano: Cyclin K/CPR4 による HIV-1 複製抑制とそのメカニズムの解析。第55回日本ウイルス学会学術集会 2007年10月21-23日，札幌。
 - 7) 杉本智恵、鈴木康夫、山本直樹、永井美之、森 一泰：アカゲザルにおける SIV 初期感染から見たエイズ発症機構。第55回日本ウイルス学会学術集会，2007年10月21-23日，札幌。
 - 8) 高橋良明、田中礼子、田中勇悦：CD4 陽性 T 細胞株における OX40 の新たな機能：OX40/OX40L システムによるアポトーシス誘導メカニズム。第37回日本免疫学会学術集会，2007年11月20-22日，東京。
 - 9) 梁明秀、澤崎達也、山本直樹：Post-translational regulation of HIV-1 proteins revealed a new type of virus-host cell interaction for HIV-1 replication and pathogenesis. 第21回日本エイズ学会学術集会，2007年11月28-30日，広島。

- 10) 大庭賢二、梁明秀、寺嶋一夫、山本直樹：濾胞樹状細胞 (FDC) による HIV-1 潜伏感染細胞からのウイルス複製刺激機構:P-selectin/RSGL-1 と Syk pathway の関与の可能性. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 11) 仲宗根正、兼清優、吉野直人、網康至、山本直樹：Cell-Associated Virus を用いた HIV/AIDS サル動物モデル. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 12) 栗原 健、吉野宗宏、佐野俊彦、小島賢一、日笠 聡、杉浦 互、白阪琢磨：拠点病院における抗 HIV 療法と薬剤関連アンケート調査結果 (第 4 報). 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 13) 中里俊文、高村 斉、大出裕高、清水 愛、杉浦 互、星野忠次：L90M 変異体に阻害作用をもつ抗 HIV 薬の設計・合成. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 14) 羽生勇一郎、山本紀生、日吉真照、黒崎直子、石川晃一、松田昌和、岡田誠治、杉浦 互、山本直樹、高久 洋：shRNA, decoy RNA 共発現レンチウイルスベクターによる HIV-1 複製阻害効果の検討. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 15) 田中理恵、栗原 健、杉浦 互、加藤真吾：HPLC によるダルナビルの血中濃度測定法の開発. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 16) 岩谷靖雅、杉浦 互：HIV-1 NC と APOBEC 3 G の逆転写反応への作用. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 17) 松山 翔、大出裕高、柿澤淳子、杉浦 互、星野忠次：臨床検体由来 Subtype C HIV-1 protease の薬剤耐性機構に関する構造化学的研究. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 18) 柿澤淳子、松山 翔、大出裕高、星野忠次、大高泰靖、岩谷靖雅、西澤雅子、Rajintha Bandaranayake、Celia A Sciffer、杉浦 互：CRF01_AE とサブタイプ B のプロテアーゼの構造解析. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 19) 長谷川直紀、杉浦 互、任 鳳蓉、松田昌和、柴田潤子、田中 博：HARRT 下における連続サンプルを用いた経時的な HIV の宿主内進化解析. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 20) 柴田潤子、任 鳳蓉、西澤雅子、藤野真之、松田昌和、岩谷靖雅、杉浦 互、田中 博：抗 HIV 薬剤投与下における protease と Gag の共進化に関する研究. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 21) 吉田いづみ、西澤雅子、藤野真之、仲宗根 正、岩谷靖雅、長谷川直紀、柴田潤子、杉浦 互、任 鳳蓉、田中 博：HIV-1 env 遺伝子の多様性進化. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 22) 近藤真規子、宮崎裕美、須藤弘二、佐野貴子、倉井華子、相楽裕子、岩室紳也、杉浦 互、武部 豊、今井光信：日本で流行している HIV-1 サブタイプ B の diversity. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 23) 藤野真之、三浦秀佳、西澤雅子、松田昌和、鈴木寿子、杉浦 互：プロテアーゼ阻害剤耐性 HIV-1 株に対するダルナビルの有効性についての解析. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 24) 杉浦 互、鴻永博之、吉田 繁、千葉仁志、小池隆夫、伊藤俊広、原 孝、佐藤武幸、石ヶ坪良明、上田敦久、近藤真紀子、今井光信、貞升健志、長島真美、福武勝幸、山元泰之、田中理恵、加藤真吾、宮崎菜穂子、岩本愛吉、藤野真之、仲宗根 正、巽 正志、椎野禎一郎、岡 慎一、林田庸聡、服部純子、伊部史朗、藤崎誠一郎、金田次弘、浜口基洋、上田幹夫、正兼亜季、大家正義、下条文武、田邊嘉也、渡邊香奈子、白阪琢磨、栗原 健、森 治代、小島洋子、中桐逸博、高田 昇、木村昭郎、南 留美、山本政弘、松下修三、健山正男、藤田次郎：2003-2006 年の新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性頻度の動向. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 25) 椎野禎一郎、佐藤裕徳、保科佳美、山本直樹、武部 豊：HIV-1 の RT 領域における遺伝子組換え価と突然変異率の多様性への寄与. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 26) 上西理恵、正兼亜季、近藤真規子、長谷彩希、廖華南、小野木成美、今井光信、上田幹夫、相良裕子、花房秀次、加藤真吾、草川茂、武部 豊：CRF01 とサブタイプ B からなる新規組み替えウイルス株 (URF) の同定とその公衆衛生上の意義. 第 21 回日本エイズ学会学術集会, 2007 年 11 月 28-30 日, 広島.
- 27) 草川茂、上西理恵、内海孝信、長谷彩希、Huonan Liao、

- 小野木成美、林明夫、永川博康、武部豊：HIV-2 感染後 36 年にわたる長期未発症例の同定とその解析：わが国における最古の HIV 感染症例。第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島。
- 28) 近藤真規子、宮崎裕美、須藤弘二、佐野貴子、倉井華子、相良裕子、岩室紳也、杉浦 互、武部 豊、今井光信：日本で流行している HIV-1 サブタイプ B の diversity。第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島。
- 29) Saki Hase, Yoshihoki Takayama, Mihoko Yotsumoto, Rie Uenishi, Huanan Liao, Narumi Onogi, Shigeru Kusagawa, Hiroshi Saito, Yutaka Takebe: Identification of unique CRF01_AE transmission cluster in Central Japan. 第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島。
- 30) Toru Aoki, Saki Shimizu, Emiko Urano, Yuko Futahashi, Makiko Hamatake, Hirokazu Tamamura, Kazuo Terashima, Tsutomu Murakami, Naoki Yamamoto and Jun Komano: Gag タンパク質の形質膜輸送シグナルがミリストイル化であることのウイルス学的意義について。第 21 回日本エイズ学会学術集会 2007 年 11 月 28-30 日，広島。
- 31) 杉本智恵、山本直樹、永井美之、森 一泰：糖鎖欠失 SIV の heterologous SIV チャレンジ感染に対する生ワクチン効果。第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島。
- 32) 鈴木雅也、小林丘、山下裕介、山南隆徳、山本直樹、石川晃一：各種アジュバント候補を用いた抗 HIV 抗体産生能の検討。第 21 回日本エイズ学会学術集会，2007 年 11 月 28-30 日，広島。
- 33) 山下裕介、小林丘、鈴木雅也、山南隆徳、山本直樹、石川晃一：粘膜免疫アジュバントを用いた抗 HIV 抗体産生能の検討。第 11 回日本ワクチン学会学術集会，2007 年 12 月 8-9 日，横浜。
- 34) 小林 丘、山下裕介、鈴木雅也、山南隆徳、山本直樹、石川晃一：キトサン関連物質の粘膜免疫アジュバント活性。第 11 回日本ワクチン学会学術集会，2007 年 12 月 8-9 日，横浜。
- 35) 浦野恵美子、奥長造之、森川裕子、駒野 淳：Co-chaperone タンパク質 DNA J/HSP40 family による HIV-1 複製抑制。BMB2007(第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会)，2007 年 12 月 11-14 日，横浜。
- 36) 濱武牧子、二橋悠子、青木 徹、山本直樹、駒野 淳：Biophysical analysis of homotypic interaction facets that mediate the clustering of the G-protein-coupled receptor CXCR4 in the absence of SDF-1alpha. BMB2007 (第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会)，2007 年 12 月 11-14 日，横浜。
- 37) Toru Aoki, Saki Shimizu, Emiko Urano, Yuko Futahashi, Makiko Hamatake, Hirokazu Tamamura, Kazuo Terashima, Tsutomu Murakami, Naoki Yamamoto and Jun Komano: 非ミリストイル化 Gag を用いたレトロウイルス Gag の Vps 輸送経路を通過することによる影響およびそのウイルス学的意義。BMB2007 (第 30 回日本分子生物学会年会・第 80 回日本生化学会大会 合同大会)，2007 年 12 月 11-14 日，横浜。
- 38) 藤 秀義、浦野恵美子、巖 驥、中原 徹、堤 浩、濱武牧子、宮内浩典、森川裕子、玉村啓和、杉浦 互、山本直樹、駒野 淳、星野忠次：ドッキングシミュレーションによる HIV-1 インテグラーゼ阻害活性を有するペプチドの分子設計。第 45 回日本生物物理学会年会，2007 年 12 月 21-23 日，横浜。
- 39) 辰巳絢子、藤 秀義、駒野 淳、根矢三郎、星野忠次：HIV-1 の RNaseH を標的とした新規抗 HIV 薬の設計・評価・合成、日本薬学会第 128 年会，2008 年 3 月 26-28 日，横浜。