

2000/034 ~ 1050/

創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業

平成12年度

エイズ医薬品等開発研究

研究報告書

財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

平成12年度

エイズ医薬品等開発研究

研究報告書

目 次

課題番号

第1分野 抗エイズウイルス薬、エイズ不随症状に対する治療薬の開発に関する研究

10101	国内未承認エイズ治療薬等を用いたHIV感染症治療薬及びHIV感染症至適治療法の開発に係る応用研究	福武 勝幸	……	1
10102	エイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究	棚元 憲一	……	13
10103	HIV第二受容体拮抗剤を基盤分子とする戦略的抗エイズ剤の創製と実用化	藤井 信孝	……	16
10104	HIVインテグラーゼおよび複製を制御する蛋白質を標的とする抗ウイルス剤の開発	藤原 民雄	……	22
10105	アポトーシス抑制作用を有する新規抗エイズ薬の開発	吉野公一郎	……	28
10106	細胞性因子を標的にした抗HIV薬の開発研究	金岡 昌治	……	35
10107	カリニ肺炎のゲノム創薬研究	西村 暹	……	46
10108	逆転写酵素阻害剤の併用療法に関する研究	湯浅 聡	……	51
10109	難薬剤耐性且つ多機能を指向した抗エイズ薬の開発及び抗CCR5-CXCR4キメラ環状テトラデカペプチド抗体による感染防御	加藤 英夫	……	61
10110	遺伝子発現制御機能を持つ亜鉛サイクレン錯体による抗エイズ薬の研究	山本 直彦	……	72
10111	HIV-1の細胞侵入機構の解析による抗エイズウイルス薬の開発	鈴木 達夫	……	77
10113	新規クロニング翻訳調節蛋白やIL-15、IL-16、CD26阻害剤によるエイズおよびエイズ付随症状の治療・診断研究	岩倉洋一郎	……	88

第2分野 エイズワクチン等エイズ発症防止薬の開発に関する研究

10201	HIV日本人株及び東南アジア株に対するワクチンの開発とAIDS予防法に関する研究	小室 勝利	……	99
10202	HIV-1vpr遺伝子を用いたHIV感染細胞のアポトーシスによる排除技術の開発	森田 裕	……	115
10204	HIVによる免疫機能不全を治療・予防する新規ワクチンの開発	金子有太郎	……	121

第3分野 抗エイズ薬開発のための基盤技術の開発等に関する研究

10301	エイズ治療薬開発のための評価スクリーニング系の開発	永井 美之	……	133
10303	HIVの病原性遺伝子Nefを標的とした抗AIDS薬開発のための基盤研究	松田 道行	……	144

第1分野

抗エイズウイルス薬、エイズ不随症状
に対する治療薬の開発に関する研究

HIVインテグラーゼおよび複製を制御する蛋白質を標的とする抗ウイルス剤の開発

所属 塩野義製薬株式会社 創薬研究所
抗ウイルス研究部門長
主任研究者 藤原 民雄

要 旨

HIVのターゲット細胞への吸着・侵入から、宿主染色体へのインテグレーションまでの過程は、未だ不明な点が多い。これらの過程に関与する蛋白質を明らかにし、メカニズムを解明することにより、新たな抗HIV薬のターゲットを明らかにし、阻害剤スクリーニング系開発を目指している。昨年度は、HIVインテグラーゼの酵素アッセイ系を用いて、タイの薬用植物50種を検索し、17植物、31エキスに阻害活性を見出した。その中から、*Coleus parvifolius* 地上部を取りあげ、精製したところローズマリン酸を活性成分として単離し、同時に、含まれるフラボノイドにも活性を見出した。このインテグラーゼの感染細胞内における機能メカニズムを解明するために、HIV粒子の侵入後からはじまる、ウイルスの逆転写、DNAの核内移行、そして、染色体へのインテグレーションを一度に把握する定量法の開発に成功した。この方法により、感染細胞内の逆転写過程の中間体ウイルスDNA量、さらに、インテグレーション前後のDNA量を把握できた。一方、HIV特有の制御蛋白質として知られているVif、Nef、Vpr、Vpu、Envの新たな作用を証明し、これらの蛋白質が新たな治療薬の標的となり得る可能性を示唆した。

1. 研究組織

- (1) 富山医科薬科大学 和漢薬研究所 教授 服部 征雄
- (2) 京都大学ウイルス研究所 がんウイルス研究部門 助教授 酒井博幸
- (3) 東北大学 医学系研究科 微生物学 教授 小柳義夫
- (4) 徳島大学 医学部 ウイルス学 教授 足立昭夫
- (5) 塩野義製薬株式会社 創薬研究所 抗ウイルス研究部門長 藤原民雄

2. 研究目的

新規作用機作を有する抗HIV剤の開発を目標とし、HIVのインテグラーゼ阻害剤アッセイ系に関する研究と阻害剤の探索及び、HIVの複製を制御する蛋白質の機能解析とそれに基づく抗ウイルス剤アッセイ系の確立および阻害剤の探索を行なう。

3. 研究方法

遺伝子組換え技法を用いて蛋白質の発現精製や、変異蛋白質、変異ウイルス作製を行なった。生化学的手法で阻害剤アッセイ系を確立し、スクリーニングを行なった。ウイルス増殖能は細胞学的、ウイルス学的技法を用い、制御蛋白質の機能解析にはレポーター遺伝子を組み込んだウイルス、および細胞を用いた。DNA合成過程、核内移行量の測定には、特異的なプライマーを用いたリアルタイムPCR法を用いた。

4. 研究成果

(1) タイ薬用植物中のインテグラーゼ阻害物質の同定

昨年度に、タイ民間薬50種を入手し、脂溶性画分を多く含むアルコールエキス、水溶性成分を多く含む水エキス、計100エキスを調製し、HIVインテグラーゼ阻害プレートアッセイ法で検索した。その結果、17種の植物に活性が見出された。そのうち*Coleus parvifolius* 地上部を取りあげ、そのアルコールエキスを脂溶性画分、水溶性画分に分け、活性のあった脂溶性画分はさらにヘキサン可溶部、酢酸エーテル可溶部、ブタノール可溶部とに分けた。酢酸エーテル可溶部からローズマリン酸を活性成分として単離し

た。また、含まれるフラボノイドにも活性が見出された。ローズマリン酸に活性が見出されたことから、カフェイン酸、ローズマリン酸、リトスペルミン酸、リトスペルミン酸 B と重合度の差による阻害活性を比較したところ、重合度の上昇と共に活性は強くなり、四量体の Mg^{2+} 、あるいは Ca^{2+} 塩が最も強い阻害活性を示した。また、181 種のフラボノイドのインテグラーゼ阻害活性を検索した結果、6-hydroxyluteolin, scutellarein, pedalin, scutellarin, baicalein dimer, baicalein に強い阻害活性が見出された。

(2) インテグラーゼ阻害物質測定系の開発

昨年度までに HIV インテグラーゼ阻害薬探索に適した多検体の定量的アッセイ法を確立したが、このアッセイ法を用いて化合物ライブラリーのスクリーニングを行うと複数の系統の化合物に阻害活性が認められた。これらの中には非特異的なものも多く含まれており、種々の二次アッセイによって構造活性相関の研究を行うためのリード化合物を選別する必要が生じてくる。そこで本年度は 2 段階のインテグレーション反応のうち、ストランドトランスファーのみをアッセイできる基質 DNA (プレカット型) を合成してアッセイ系を構築した。この方法により、各阻害剤の作用機構が①複合体形成の段階、② 3' プロセッシング反応の段階、③ ストランドトランスファー反応の段階かを区別することができるようになり、より正確な薬剤選択が可能になった。

(3) インテグラーゼの感染細胞内における機能メカニズムの解明

HIV の複製はウイルス自身の酵素により、決定的に制御されている。その中で、インテグラーゼは詳細な分子メカニズムが不明な点が多いため、これに対する阻害剤の開発がもっとも遅れている。このインテグラーゼの感染細胞内における機能メカニズムを解明するために、HIV 粒子の侵入後からはじまる、ウイルスの逆転写、DNA の核内移行、そして、染色体へのインテグレーションを一度に把握する定量法の開発を試み、それに成功した。この方法により、感染細胞内の逆転写過程の中間体ウイルス DNA 量、さらに、インテグレーション前後の DNA 量を把握できた。この測定系は、正確で迅速であるばかりでなく、定量性にも優れており、今後のインテグレーション反応の解析に大いに役立つ技術である。

(4) HIV の複製を制御する蛋白質の作用機作の解明

HIV-1 の Env・TM 蛋白質には長い細胞質内ドメインが含まれており、この特徴はレンチウイルスに共通に認められる。この領域がウイルス粒子への Env 蛋白質の取り込みに重要であると同時に、取り込み時の Env 蛋白質の選別に関わっていることが示された。この過程に細胞選択性があることから細胞質内ドメインと細胞性因子の相互作用が Env の選択的取り込みに関与していると考えられた。次に、gp120/gp41 の開裂部位の変異体が dominant negative mutant として機能することを明らかにした。この研究で作成した新しい packaging cell line (RIPH) は HIV-1 の感染性に対して同様の働きを持つ蛋白質の検索に有効であることを同時に報告した。また、Nef による HIV-1 感染性増強作用の解明のため、HIV-1 の近縁の株である NL432 と LAI を比較して、その感染性への Nef 変異効果の違いに着目し、Gag 蛋白質の一部が Nef の活性を規定していることを示した。この結果は、Nef の作用発現に細胞の kinase を介した Gag のリン酸化が関わっている可能性を示すものである。Vpu については、Vpu がウイルスの感染性制御にも関わることを示し、その作用機序が Nef の作用と相関を持つことを明らかにした。更にこの機構に CD4 分子の down-regulation という共通の作用が関与している可能性を示した。

(5) HIV アクセサリー蛋白質の機能解明

HIV-1 のアクセサリー蛋白質である Vif は PBL やマクロファージでのウイルス複製、Vpr はマクロファージでのウイルス複製に必須であるが、Nef は全ての細胞におけるウイルス複製に必須でない。Vif、Vpr、および Nef につき変異体を用いて分子生物学的な解析を行ない、Vif の標的細胞特異性、Nef の MHC-I down-regulation 能、Vpr のアポトーシス誘導能を実験的に証明した。Vif の標的細胞特異性はまだ報告がなく、Nef の MHC-I down-regulation 能が培養細胞でのウイルス感染性と無関係であることも初めての報告である。Vpr には、抗アポトーシス活性も報告されているが、我々の用いた HIV-1/VSV シュードウイルスのシステムではアポトーシス活性のみが認められた。これらの成績から、Vif の作用機構は今まで報告されている程単純ではないこと、また、Nef や Vpr は、感染個体がエイズ発症に至るまでの重要な役割を荷っており、特に免疫担当細胞と相互に作用することが示唆された。

5. 考察・まとめ

HIV 感染症に対する治療法として、プロテアーゼ阻害剤を含む多剤併用療法が行われるようになって、AIDS 患者の死亡率、AIDS 発症率の大幅な減少が見られ、抗ウイルス療法の有効性と重要性が認識されるようになった。しかし、このような治療を行っても治癒は望めず、継続するうちに薬剤耐性株の出現による治療失敗例が数多く発生し、治療薬剤を変更しなければならない例は多い。その際には交差耐性を示さない薬剤を選択する必要がある。そのために作用機作の新しい新規抗 HIV 薬の開発が非常に要望されている。インテグラーゼや複製を制御するウイルス蛋白質はいずれもこのような観点から抗 HIV 薬のターゲットとして重要である。昨年度に、インテグラーゼ阻害薬アッセイ系を用いて、タイ植物抽出液の中から、抗インテグラーゼ阻害活性のあるものが見つかった。本年度に、さらに分画、精製を進めた結果、阻害物質の構造を決定した。フラボノイドと HIV インテグラーゼ阻害活性の構造と活性相関に関して考察した結果、隣接した 2 つ、または 3 つの水酸基が存在する場合、特に強い阻害活性が見られた。これら官能基は、酵素分子中のアミドや他のアミノ酸側鎖と水素結合を形成し易いため、フラボノイドが非特異的に酵素の核酸結合部位に結合してインテグラーゼ活性を阻害するものと思われる。また、逆転写酵素の阻害様式で示されたように、基質の核酸と結合して酵素反応を阻害することも考えられる。また、ウイルス感染初期の各段階を詳細に解析できる測定系、インテグラーゼの各段階を詳細に区別できる測定系も確立できた。さらに、ウイルス複製を制御する蛋白質についてはその機能やウイルス増殖サイクルのどの時期に作用するかが解明でき、これらの蛋白質はエイズ発症抑制のための新しい標的となりうることが示唆できた。今後は、ウイルス複製、特に感染初期の過程について、詳細に基礎検討を続け、効率のよい阻害薬アッセイ系構築が今後の課題である。

6. 研究発表

1) 論文発表

- 1) El-Mekkawy, S., Meselhy, M. R., Nakamura, N., Hattori, M., Kawahata, T. and Otake, T.: Anti-HIV-1 phorbol esters from the seeds of *Croton tiglium*. *Phytochemistry*, 53, 457-464 (2000).
- 2) Ma, C., Nakamura, N., Hattori, M., Kakuda, H., Qiao, J. and Yu, H.: Inhibitory effects on HIV-1 protease of constituents from the wood of *Xanthoceras sorbifolia*. *J. Nat. Prod.*, 63, 238-242 (2000).
- 3) Ma, C., Nakamura, N. and Hattori, M.: Chemical modification of oleanene type triterpenes and their inhibitory activity against HIV-protease dimerization. *Chem. Pharm. Bull.*, 48, 1681-1688 (2000).
- 4) Min, B., Nakamura, N., Miyashiro, H., Kim Y. and Hattori M.: Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase and ribonuclease H activities by constituents of *Juglans mandshurica*. *Chem. Pharm. Bull.*, 48, 194-200 (2000).
- 5) Min, B., Miyashiro, H. and Hattori M.: Inhibitory effects of quinones on RNase H activity associated with HIV-1 reverse transcriptase. *Phytotherapy Researchn*, (in press).
- 6) Ono, T., Iwatani, Y., Nishimura, A., Ishimoto, A. and Sakai, H.: Functional association between the nef gene product and gag-pol region of HIV-1. *FEBS Letters*, 466, 233-238 (2000).
- 7) Nishimura, A., Ono, T., Ishimoto, A., Dowhanick, J. J., Frizzell, M. A., Howley, P. M. and Sakai, H.: Mechanisms of human papillomavirus E2 mediated repression of viral oncogene expression and cervical cancer cell growth inhibition. *J. Virol.*, 74, 3752-3760 (2000).
- 8) Zhang, F., Ya, L. T., Iwatani, Y., Higo, K., Suzuki, Y., Tanaka, M., Nakahara, T., Ono, T., Sakai, H., Kuribayashi, K. and Ishimoto, A.: Resistance to friend murine leukemia virus infection conferred by the Fv-4 gene is recessive but appears dominant from the effect of the immune system. *J. Virol.*, 74, 6193-6197 (2000).
- 9) Iwatani, Y., Ono, T., Nishimura, A., Zhang, X., Hattori, T., Ishimoto, A., Ito, M. and Sakai, H.: Mechanisms of cell-type dependent modification of virus infectivity by cytoplasmic tail of HIV-1 TM protein. *Virus Res.*, 74, 75-87 (2001).
- 10) Iwatani, Y., Kawano, K., Ueno, T., Tanaka, M., Ishimoto, A., Ito, M. and Sakai, H.: Function of hetero-oligomeric Env proteins containing mutant Env protein of human immunodeficiency virus

- type 1 in viral infectivity. *Virology*, (in press).
- 11) Takahashi, K., Baba, S., Chattopadhyay, P., Koyanagi, Y., Yamamoto, N., Takaku, H. and Kawai, G. : Structural requirement for the two-step dimerization of human immunodeficiency virus type-1 genome. *RNA*, 6, 96-102 (2000).
 - 12) Momoi, Y., Ichiyama, K., Chowdhury, I.H., Koyanagi, Y. and Yamamoto N. : Pertussis toxin enhances human immunodeficiency virus-1 replication. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 16, 373-379 (2000).
 - 13) Tsunetsugu-Yokota, Y., Kato, T., Yasuda, S., Matsuda, Z., Suzuki, Y., Koyanagi, Y., Yamamoto, N., Akagawa K., Cho M. and Takemori T. : Transcriptional regulation of HIV-1 LTR during antigen-dependent activation of primary T-cell by dendritic cells. *J. Leu. Bio.*, 67, 432-440 (2000).
 - 14) Takahashi, K., Baba, S., Hayashi, Y., Koyanagi, Y., Yamamoto, N., Takaku, H. and Kawai, G. : NMR analysis of intra- and inter-molecular stems in the dimerization initiation site of the HIV-1 genome. *J. Biochem.*, 127, 681-686 (2000).
 - 15) Miura, Y., Misawa, N., Maeda, N., Inagaki, Y., Tanaka, Y., Ito, M., Kayagaki, N., Yamamoto, N., Yagita, H., Mizusawa, H. and Koyanagi, Y. : Critical contribution of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) to apoptosis of human CD4⁺ T cells in HIV-1-infected hu-PBL-NOD-SCID mice *J. Exp. Med.*, 193, 651-660 (2001).
 - 16) Kusagawa, S., Takebe, Y., Yang, R., Motomura, K., Ampofo, W., Brandful, J., Koyanagi, Y., Yamamoto, N., Ishikawa, K., Sata, T., Nagai, Y. and Tatsumi, M. : Isolation and characterization of full-length molecular DNA clones of Ghanaian HIV-1 intersubtype A/G recombinant (CRF02_AG) which is replication-competent in restricted host-range. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, (in press).
 - 17) Yoshida, A., Shimomoto, J., Koh, K.-B., Fujita, M. and Adachi, A. : The H9/M8166 tropism of various HIV is determined by distinct cellular factors. *Int. J. Mol. Med.*, 5, 291-294 (2000).
 - 18) Akari, H., Arold, S., Fukumori, T., Okazaki, T., Strebel, K. and Adachi, A. : Nef-induced major complex class I down-regulation is functionally dissociated from its virion incorporation, of viral infectivity, and CD4 down-regulation. *J. Virol.*, 74, 2907-2912 (2000).
 - 19) Akari, H., Fukumori, T. and Adachi, A. : Cell-dependent requirement of human immunodeficiency virus type gp41 cytoplasmic tail for Env incorporation into virions. *J. Virol.*, 74, 4891-4893 (2000).
 - 20) Yoshida, A., Miyaura, M., Sakurai, A., Fukumori, T., Fujita, M., Akari, H. and Adachi, A. : MHC-I in HTLV-1-positive and -negative cells. *Int. J. Mol. Med.*, 6, 83-86 (2000).
 - 21) Koyama, A.H., Arakawa, T. and Adachi, A. : Characterization of apoptosis induced by sorbitol: a unique for the detection of antiapoptotic activities of viruses. *Microbes Infect.*, 2, 599-606 (2000).
 - 22) Hashinaka, K., Nishikata, I., Hashida, S., Adachi, A., Oka, S. and Ishikawa, E. : Preparations of recombinant p66 antigen to improve the specificity of immune complex transfer enzyme immunoassay of antibody IgG to reverse transcriptase. *J. Clin. Lab. Anal.*, 14, 169-179 (2000).
 - 23) Miyaura, M., Yoshida, A., Sakurai, A., Fujita, M., Koyama, A.H. and Adachi, A. : Mutational analysis of Gag proteins. *Int. J. Mol. Med.*, 6, 265-269 (2000).
 - 24) Koh, K.-B., Fujita, M. and Adachi, A. : Elimination of HIV-1 plasmid DNA from virus samples obtained from by calcium-phosphate co-precipitation. *J. Virol. Methods* 90, 99-102 (2000).
 - 25) Fukumori, T., Akari, H., Yoshida, A., Fujita, M., Koyama, A.H., Kagawa, S. and Adachi, A. : Regulation of cycle and apoptosis by HIV-1 Vpr. *Microbes Infect.*, 2, 1011-1017 (2000).
 - 26) Akari, H., Yoshida, A., Fukumori, T., and Adachi, A. : Host cell-dependent replication of HIV-1 mutants with in gp41 cytoplasmic tail region is independent of the function of Vif. *Microbes Infect.*, 2, 1019-1023 (2000).
 - 27) Koyama, A.H., Fukumori, T., Fujita, M., Irie, H. and Adachi, A. : Physiological significance of apoptosis in virus infection. *Microbes Infect.*, 2, 1111-1117 (2000).
 - 28) Hashinaka, K., Hashida, S., Nishikata, I., Adachi, A., Oka, S. and Ishikawa, E. : Recombinant p51 as antigen an immune complex transfer enzyme immunoassay of immunoglobulin G antibody to

human immunodeficiency type 1. *Clin. Diag. Lab. Immunol.*, 7, 967-976 (2000).

- 29) Koh, K.-B., Miyaura, M., Yoshida, A., Sakurai, A., Fujita, M. and Adachi, A.: Cell-dependent gag mutants HIV-1 are crucially defective at the stage of uncoating/reverse transcription in non-permissive cells. *Microbes Infect.*, 2, 1419-1423 (2000).
- 30) Isaka, Y., Miki, S., Kawauchi, S., Suyama, A., Sugimoto, H., Adachi, A., Hayami, M., Yoshie, O., Fujiwara, T. and Sato, A.: Isolation and characterization of simian immunodeficiency virus variants that are resistant to reverse transcriptase inhibitors. *Arch. Virol.* 145, 2481-2492 (2000).
- 31) Isaka, Y., Miki, S., Kawauchi, S., Suyama, A., Sugimoto, H., Adachi, A., Miura, T., Hayami, M., Yoshie, O., Fujiwara, T. and Sato, A.: A single amino acid change at Leu-188 in the reverse transcriptase of HIV-2 and SIV them sensitive to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Arch. Virol.*, (in press).

2) 学会発表

- 1) 馬 超美、中村憲夫、宮代博継、服部征雄、大竹 徹、川畑拓也：オレアナン型トリテルペン誘導体の HIV-1 プロテアーゼ阻害活性について。日本薬学会第120年会、2000年3月、岐阜。
- 2) Tewtrakul, S., Miyashiro, H. and Hattori, M.: Screening of Thai medicinal plant extract on HIV-1 integrase inhibitory activity. 日本薬学会第120年会、2000年3月、岐阜。
- 3) Park, J.C., Park, J.G., Hur, J.M., Park, S.J., Park, K.Y., Shin, D.Y., Kim, M.S., Miyashiro, H., Yokozawa, T. and Hattori M.: Anti-HIV-1 protease activity and phytochemical study on the aerial parts of *Orostachys japonicus*. 韓国薬学会、2000年4月、釜山、韓国。
- 4) Nakamura, N., Ma, C. and Hattori, M.: Survey of anti-HIV agents among traditional medicines. The Third International Symposium on Natural Medicine and Microflora, 2000, 7/31-8/3, Hohhot, China.
- 5) Hattori, M.: Searching for anti-HIV agents among traditional medicines. The First International Conference for Pharmaceutical Industry in Egypt and the Middle East, 2000, 9/27-29, Cairo.
- 6) Hattori, M.: Development of anti-HIV agents from natural sources. The Fifth NRCT-JSPS Joint Seminar on Pharmaceutical Sciences. 2000, 11/15-17, Bangkok.
- 7) Hattori, M.: Anti-HIV agents from traditional medicines. Asian Symposium on Plants, Spices and Other Natural Products (ASOMPS X), 2000, 11/18-23, Dhaka, Bangladesh.
- 8) 上野孝治、田中正和、川野久美、石本秋稔、酒井博幸：HIV-1 vpr 遺伝子産物の機能発現メカニズムに関する研究。第14回日本エイズ学会学術集会、京都、2000年。
- 9) 田中正和、上野孝治、川野久美、石本秋稔、酒井博幸：Vpu および Nef による CD4 down-regulation のウイルス感染初期過程における意義について。第14回日本エイズ学会学術集会、京都、2000年。
- 10) 田中正和、上野孝治、川野久美、石本秋稔、酒井博幸：HIV-1 感染における CD4 down-regulation の意義について。第48回日本ウイルス学会学術集会、津、2000年。
- 11) 中原知美、西村聡子、石本秋稔、酒井博幸：HPV E1、E4 タンパク質の生化学的性状と細胞内分布の検討。第48回日本ウイルス学会学術集会、津、2000年。
- 12) 西村聡子、中原知美、石本秋稔、酒井博幸：HeLa 細胞増殖制御におけるテロメラーゼ活性の意義。第48回日本ウイルス学会学術集会、津、2000年。
- 13) 西村聡子、石本秋稔、酒井博幸：HPV 遺伝子産物細胞増殖およびテロメラーゼ活性制御機構。第59回日本癌学会総会、横浜、2000年。
- 14) Miura, Y., Misawa, N., Maeda, N., Inagaki, Y., Tanaka, Y., Ito, M., Kayagaki, N., Yamamoto, N., Yagita, H., Mizusawa, H. and Koyanagi Y.: CD4 killing in HIV-1 infected spleen of hu-PBL NDO-SCID mouse through bystander cell. *Retroviruses*, Cold Spring Harbor, 2000.
- 15) Suzuki, Y., Sato, C., Yamamoto, N. and Koyanagi, Y.: Measurement of HIV-1 DNA in cytoplasm and nucleus. *Retroviruses*, Cold Spring Harbor, 2000.
- 16) 三浦義治、三沢尚子、水澤英洋、山本直樹、小柳義夫。HIV-1 感染リンパ組織内の bystander cell による TRAIL 依存性 T 細胞の破壊。第48回日本ウイルス学会、津、2000年。

- 17) Miura, Y., Tanaka, Y., Ito, M., Yamamoto, N., Yagita, H., Mizusawa, H. and Koyanagi Y.: TRAIL is a major signal of CD4⁺ T cell killing in HIV-1 infected hu-PBL NOD-SCID mice through bystander cell. 第 30 回日本免疫学会、仙台、2000.
- 18) 高橋良明、田中勇悦、山下篤哉、小柳義夫、中村正孝、山本直樹. TNF レセプターファミリー分子 OX40 の gp34 による刺激は HIV-1 感染培養 T 細胞のウイルス産生を強力に促進させる. 第 30 回日本免疫学会、仙台、2000 年.
- 19) 武内寛明、鈴木陽一、蝦名博貴、小柳義夫. PCR による感染性 HIV-DNA の構築とその問題点. 第 14 回日本エイズ学会、京都、2000 年.
- 20) 高橋良明、田中勇悦、山下篤哉、小柳義夫、山本直樹. HIV-1 潜伏感染 T 細胞株の OX40 を介した刺激によるウイルス産生と細胞死の誘導. 第 14 回日本エイズ学会、京都、2000 年.
- 21) Miura, Y. and Koyanagi, Y.: Critical contribution of TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) to apoptosis of CD4⁺ T cells in HIV-1-infected hu-PBL-NOD-SCID mice The Development of Antiviral Therapies. "The Development of Antiviral Therapies" Palm Spring, 2001.
- 22) 藤田美歌子、櫻井明子、吉田亜希子、宮浦麻記、足立昭夫. HIV-1 Vif 変異体の機能解析. 第 48 回日本ウイルス学会学術集会、三重県津市、2000 年.
- 23) 足立昭夫、宮浦麻記、吉田亜希子、櫻井明子、藤田美歌子. HIV-1 宿主依存性 gag 変異体の複製欠損部位. 第 48 回日本ウイルス学会学術集会、三重県津市、2000 年.
- 24) 藤田美歌子、櫻井明子、宮浦麻記、吉田亜希子、足立昭夫. HIV-1 Vif 変異体の機能解析. 第 14 回日本エイズ学会学術集会、京都、2000 年.
- 25) 佐藤彰彦、三木 茂、杉本裕彦、藤原民雄、足立昭夫、速水正憲、義江 修. 逆転写酵素阻害剤耐性 SIVagm の分離. 第 14 回日本エイズ学会学術集会、京都、2000 年.

平成12年度

エイズ医薬品等開発研究
研究報告書

平成13年11月30日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号

共同ビル（小伝馬町駅前）4F

電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社

