

図2 SeV-Gag プースト後 1 週目の末梢血中の Gag 特異的 T リンパ球誘導 (上段: サル R046、下段: サル R048)。末梢血 CD4 陽性 (左側) および CD8 陽性 (右側) T リンパ球における Gag 特異的刺激後の細胞内 IFN- γ 誘導を調べた。

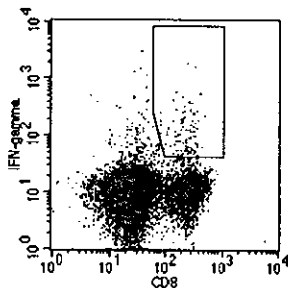


図3 SeV-Gag プースト後 1 週目の扁桃中の Gag 特異的 T リンパ球誘導 (サル C59)。扁桃より分離した T リンパ球における Gag 特異的刺激後の細胞内 IFN- γ 誘導を調べた。

D. 考察

これまでの研究から、SeV-Gag の複製レベルは、経鼻接種後 1 週間以内にピークに達することが示されていた。本研究で、SeV 特異的 T リンパ球が経鼻接種後 1 週間以内に出現することが示されたことから、サルレベルでの SeV 複製の抑制における SeV 特異的細胞性免疫の関与が示唆された。この迅速かつ強力な免疫反応は、組換え SeV ワクチンの安全性を支持している。一方、この迅速かつ強力な SeV 特異的 T リンパ球反応にもかかわらず、Gag 特異的 T リンパ球誘導も認められたことから、組換え SeV ワクチンの複数回接種も有効性向上の選択肢となりうると考えられた。なお、以前のマカクサル実験では、組換え SeV の複数回接種後も病的臨床所見は認められておらず、組換え SeV ワクチン複数回接種は安全性の面では問題ないと考えられる。

SeV-Gag 単独接種サルでは、経鼻接種後 2 週目より、Gag 特異的 T リンパ球が検出可能なレベルとなった。一方、DNA プライム後のサルでは、SeV-Gag 経鼻接種後 1 週目より、顕著なブースター効果が認められ、単独接種サルと比較して迅速かつ高レベルの Gag 特異的 T リンパ球誘導が認められた。この結果は、DNA/SeV-Gag プライム・ブーストワクチンの優れた抗原特異的 T リンパ球誘導能を示している。

これまでのマウスの実験から、nasal-associated lymphoid tissue (NALT)における免疫反応レベルが、粘膜免疫の重要な指標の一つとされていた。霊長類動物の粘膜免疫機構については、マウスと相違点があることは知られているが、霊長類動物の扁桃は、マウスの NALT に相当すると考えられている。SeV-Gag 経鼻接種後、この扁桃由来のリンパ球中に特異的 T リンパ球の誘導が認められたことは、組換え SeV 経鼻ワクチンが粘膜免疫誘導能を有することを示している。

E. 結論

マカクサルにおける組換え SeV 経鼻接種後の、SeV 特異的免疫の解析では、接種後 1 週目より高レベルの SeV 特異的 T リンパ球の誘導が認められ、この SeV 特異的免疫反応が組換え SeV 複製の抑制に重要な役割を果たしていることが示唆された。一方、抗原特異的免疫の解析では、単独接種と比較して、DNA プライム・組換え SeV プースト後の特異的 T リンパ球の反応は、迅速かつ高レベルであることが明らかとなった。さらに、末梢血リンパ球中だけでなく、扁桃由来

のリンパ球中にも、高レベルの特異的 T リンパ球の誘導が認められ、組換え SeV ベクター経鼻ワクチンの粘膜免疫誘導能が示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

Matano T, Kano M, Nakamura H, Takeda H, Nagai Y: Rapid appearance of secondary immune responses and protection from acute CD4 depletion after a highly pathogenic immunodeficiency virus challenge in macaques vaccinated with a DNA-prime/Sendai viral vector-boost regimen. J Virol, 75:11891-11896, 2001.

2. 学会発表

Kano M, Matano T, Kato A, Nakamura H, Takeda A, Suzaki Y, Ami Y, Nagai Y: Primary antigen-expression and cellular immune responses in macaques immunized intranasally with a recombinant Sendai viral vector. 第2回熊本エイズセミナー2001年9月20日.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

特許申請中。

5. ヘルペスウイルスベクターの安全性の評価技術の 開発に関する研究

分担研究者 西山 幸廣 名古屋大学大学院医学研究科教授

研究要旨 悪性腫瘍の治療を目的とした増殖型、弱毒化単純ヘルペスウイルス (HSV) の有効性、安全性を評価するために、Immunocompetent マウスを担がん動物とした評価系を作製した。その結果、UL56 遺伝子を欠く弱毒化 HSV (HSV-1 HFclone10) が優れた抗腫瘍作用を有することが明らかになった。また、遺伝子治療、及び癌治療の目的に沿った最良の HSV ベクターを開発するための基礎的情報の蓄積のためにウイルス遺伝子産物の機能について解析し、UL14、UL56、US3 などの遺伝子産物の役割についての新たな知見を得た。

A. 研究目的

現在、単純ヘルペスウイルス (HSV) をベースとしたベクターは、二つの方向での利用が考えられている。一つは、HSV の細胞傷害性、およびチミジンキナーゼ (TK) を利用した悪性腫瘍治療用ベクターとしての方向、他の一つは特定の細胞群への遺伝子導入用ベクターとしての方向である。しかし、現在用いられている HSV ベクターは、標的細胞の選択、細胞傷害性の制御などに成功しているとはいえ、臨床応用には有効性、安全性の上でも問題点が多い。本研究では HSV を悪性腫瘍治療用ベクターとして開発し臨床応用するために、有効性及び安全性評価のための実験系を確立するとともに、対象となる悪性腫瘍に応じた replicatio n-competent な弱毒化ウイルスの作製を試みる。

B. 研究方法

1) ノードマウスを用いたヒト膵臓癌の腹膜播種モデルに対してリボヌクレオチドリダクラーゼ (UL39) を欠失する HSV の投与が極めて有効であることを示してきた。本年度は、Immunocompetent なマウスを担がん動物とした評価系を樹立し、弱毒化 HSV とくに UL56 欠損 HSV 1 型 (HF clone 10) の有効性と安全性について検討を加えた。

2) HSV は少なくとも 74 種類の遺伝子をコードするが半数近くは機能がほとんどわかっていない。ヘルペスウイルスベクターの安全性、有効性を高めるためにはこれらの遺伝子産物の機能についても明らかにすることが重要である。そのために各遺伝子産物に対する特異抗体、真核発現系の作製、及び遺伝子欠損ウイルスの作製を行い、それらを用いて各遺伝子産物のウイルス増殖、病原性発現における役割について検討する。

(倫理面への配慮)

本研究は名古屋大学医学部倫理委員会の基準を満たしている。

C. 研究結果

I. 腹膜播種モデル、固形腫瘍モデルにおける弱毒化 HSV の抗腫瘍効果

1. Immunocompetent マウスを担がん動物とした評価系の作製

C3H 由来の肉腫細胞 NfSa を用いて、腹膜播種モデル、頸部腫瘍モデルを作製し、接種細胞数と生存率、生存日数について検討した。6 週令の C3H/He

(雌)の腹腔内に NfSa1×10⁷ 個を接種すると、20 日以内にすべて死亡した。1×10⁶ 個では 30 日を越えて生存するものもあったが、3 ヶ月までにはすべて死亡した。以上の結果から、以後の実験では 5×10⁶ 個の細胞を接種することとした。

2. リボヌクレオチドリダクターゼ欠損株 (hrR3) との比較

HF 株からランダムにクローン化した clone 10 の病原性と抗腫瘍性について hrR3 と比較検討した。clone10、hrR3 とともに 6 週令 C3H の腹腔内に 10⁷PFU 接種しても明らかな病原性を示さなかった。NfSa 細胞を接種後 7 日目に 1×10⁷PFU のウイルスを投与し、体重変化、生存率を調べた。PBS を投与したコントロール群では 18 日目までにすべて死亡したが、hrR3 投与群では 15 日目に約半数、28 日目までに 100%死亡した。一方、HFclone10 投与群では、23日目になって死亡するものが出現し、34日目までにすべて死亡した。

3. HF clone10 連続接種の効果と抗腫瘍免疫の成立

NfSa の接種後、7 日目から 3 日間連続で 1×10⁷PFU の HF clone10 を投与したところ、コントロール群が 100%死亡したのに対し、約 90%のマウスが生残した。また、約 3 ヶ月後に、NfSa を再接種した所、同じ週令のコントロール群が 100%死亡したのに対し、すべて生残した。このことは HF clone10 がすぐれた抗腫瘍作用をもっていることを示すとともに、生残マウスに NfSa に対する腫瘍免疫が成立したことを示唆するものである。

4. HF clone10 の遺伝子構成

HF clone10 の遺伝子構成を明らかにするため制限酵素による切断パターン、PCR 法、塩基配列の決定によって解析を行った。その結果、ORF としては UL56 遺伝子の欠損、L 領域の倒置反復配列の部分的欠損、及び挿入があることが明らかになった。

II. HSV 遺伝子機能の解析

1. これまでに US3 産物が antiapoptotic な活性をもつプロテインキナーゼであり、種々のストレスによって活性化される JNK シグナル伝達系に対して抑制的に作用することを明らかにしてきた。誘導型の US3 発現細胞を樹立し、その細胞の性状について検討してきたが、二次元電気泳動法で比較したところ US3 発現細胞では分子量 48K 蛋白質の産生が明らかに上昇していることがわかった。48K 蛋白質を回収し、エンドペプチダーゼによる消化後、質量分析器を用いて解析した。その結果、この蛋白質はサイトケラチン 17 (CK17) であることが示され、US3 発現細胞で CK17 の発現、リン酸化、分解が亢進していることが明らかになった。また In vitro phosphorylation の結果、CK17 は US3PK の基質になることがわかった。
2. UL56 遺伝子産物が C-terminal anchored type II membrane protein であることを示してきた。今回、新たにこの蛋白質がゴルジ装置や early endosome に分布すること、また細胞膜の機能ドメインとして注目されている lipid raft に会合していることがわかった。UL56 産物は vesicular trafficking に関与している可能性がある。
3. UL14 遺伝子産物が分子シャペロン機能をもっていることを明らかにしてきた。さらに UL14 発現細胞は種々のアポトーシス誘導因子に対して有意に抵抗性であることがわかった。これはアポトーシス関連蛋白質のウエスタンブロット法による検討でも確認された。以上の結果は後期蛋白質の一つ UL14 産物も抗アポトーシス作用をもつことを示唆するものである。

D. 考察

Immunocompetent マウス-悪性腫瘍の評価系を用いての検討から、UL56 遺伝子を欠損する増殖型弱毒 HSV HF clone10 に優れた悪性腫瘍抑制作用があることが示された。腫瘍塊内部に

はウイルス抗原が検出されたが、ウイルス感染による細胞死だけによってこれらの弱毒化 HSV の抗腫瘍性を説明できる種ではなかった。そのメカニズムについては免疫系の関与も含めて今後の検討課題である。

E. 結論

Immunocompetent マウスを担がん動物とした評価系を作製し、UL56 欠損弱毒化 HSV が優れた抗腫瘍性を示すことを明らかにした。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Murata, T., Goshima, F., Koshizuka, T., Takakuwa, H., and Nishiyama, Y. A single amino acid substitution in the ICP27 protein of herpes simplex virus type 1 is responsible for its resistance to Leptomycin B. *Journal of Virology* 75: 1039-1043 (2001)
2. Yamauchi, Y., Wada, K., Goshima, F., Takakuwa, H., Daikoku, T., Yamada, M., and Nishiyama, Y. The UL14 protein of herpes simplex virus type 2 translocates the minor capsid protein and the DNA cleavage and packaging UL33 protein into the nucleus of coexpressing cells. *Journal of General Virology* 82: 321-330 (2001)
3. Yoshikawa, T., Ihira, M., Suzuki, K., Suga, S., Asano, Y., Asonuma, K., Tanaka, K., and Nishiyama, Y. Primary human herpesvirus 6 infection in liver transplant recipients. *Journal of Pediatrics*, 138:921-925 (2001)
4. Zhu, H.-Y., Merata, T., Goshima, F., Takakuwa, H., Koshizuka, T., Yamauchi, Y., and Nishiyama, Y. Identification and characterization of the UL24 gene product of herpes simplex virus type 2. *Virus Genes*, 22:321-327 (2001)
5. Yamauchi, Y., Shiba, C., Goshima, F., Nawa, A., Murata, T., and Nishiyama, Y. Herpes simplex virus type 2 UL34 protein requires UL31 protein for its relocation to the internal nuclear membrane in transfected cells. *Journal of General Virology*, 82:1423-1428 (2001)
6. Ito, M., Kimura, H., Hara, S., Kido, S., Ozaki, T., Nishiyama, Y., and Morishima, T. Investigation of varicella-zoster virus DNA in lymphocyte subpopulations by quantitative PCR assay. *Microbiology and Immunology* 45: 267 - 269 (2001)
7. Inagaki-Ohara, K., Iwasaki, T., Watanabe, D., Kurata, T., and Nishiyama, Y. Effect of the deletion of US2 and US3 from herpes simplex virus type 2 on immune responses in the murine vagina following intravaginal infection. *Vaccine*, 20: 98 - 104 (2001)
8. Goshima, F., Watanabe, D., Suzuki, H., Takakuwa, H., Yamada, H., and Nishiyama, Y. The US2 gene product of herpes simplex virus Type 2 interacts with cytokeratin 18. *Archives of Virology*, 146: 2201 - 2209 (2001)
9. Yoshikawa, T., Ihira, M., Ohashi, M., Suga, S., Asano, Y., Miyazaki, H., Hirano, M., Suzuki, K., Matyunaga, K., Horibe, K., Kojima, S., Kudo, K., Kato, K., Matsuyama, T., and Nishiyama, Y. Correlation between HHV-6 infection and skin rash after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 28: 77 - 81 (2001)
10. Koshizuka, T., Takakuwa, H., Goshima, F., Murata, T., and Nishiyama, Y. The US11 gene product of herpes simplex virus has Intercellular trafficking activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 288(3):597-602 (2001)
11. Takakuwa, H., Goshima, F., Koshizuka, T., Murata, T., Daikoku, T., and Nishiyama, Y. Herpes simplex virus encodes a virion-associated protein which promotes long cellular processes in overexpressing cells. *Genes to Cells* 6:955-966 (2001)
12. Inagaki, K., Kawabe, T., Hasegawa, Y., Hashimoto, N., and Nishiyama, Y.

- Critical involvement of CD40 in protection against herpes simplex virus infection in a murine model of genital herpes. *Archives of Virology* 147:187-194 (2002).
13. Yoshikawa, T., Asano, Y., Ihira, M., Suzuki, K., Ohashi, M., Suga, S., Kuto, K., Horibe, K., Kojima, S., Kato, K., Matsuyama, T., and Nishiyama, Y. Human herpesvirus 6 viremia in bone marrow transplant recipients: clinical features and risk factors. *Journal of Infectious Disease*, in press.
 14. Yoshikawa, T., Asano, Y., Akimoto, S., Ozaki, T., Iwasaki, T., Kurata, T., Goshima, F., and Nishiyama, Y. Latent infection of human herpesvirus 6 in astrocytoma cell line and alteration of cytokine synthesis. *Journal of Medical Virology*, in press.
 15. Ohashi, M., Yoshikawa, T., Ihira, M., Suzuki, K., Enomoto, Y., Suga, S., Tada, S., Sakui, H., Iida, K., Saito, Y., Nishiyama, Y., and Asano, Y. Reactivation of human herpesvirus 6 and 7 in pregnant woman. *Journal of Medical Virology*, in press.
 16. Nishimura, H., Ohata, M., Watase, T., Yajima, T., Goshima, F., Daikoku, T., Nishiyama, Y., and Yoshikai, Y. IL-15-dependent $\gamma \delta$ T cells impair host defense mechanisms against intravaginal infection with herpes simplex virus type 2. *Journal of Virology*, in press.
 17. Yoshikawa, T., Ihira, M., Asano, Y., Tomitaka, A., Suzuki, K., Matsunaga, K., Kato, H., Hiramitsu, S., Tanaka, N., Kimura, H., and Nishiyama, Y. Fatal adult case of severe lymphocytopenia associated with reactivation of human herpesvirus 6. *Journal of Medical Virology*, in press.
 18. Ihira, M., Yoshikawa, T., Ishiji, J., Ohashi, M., Enomoto, Y., Suga, S., Iida, K., Saito, Y., Nishiyama, Y., Asano, Y. Serological analysis of human herpesvirus 6 and 7 in patients with coronary artery disease. *Journal of Medical Virology*, in press.
 19. Nishiyama, Y., and Murata, T. Antiapoptotic protein kinase of herpes simplex virus. *Trends in Microbiology*, in press.
 20. Nozawa, N., Daikoku, T., Goshima, F., Yamauchi, Y., Takakuwa, H., Yoshikawa, T., and Nishiyama, Y. Identification and characterization of the UL7 gene product of herpes simplex virus type 2. *Virus Genes*, in press.
 21. Kimura, H., Ito, Y., Futamura, M., Ando, Y., Yabuta, Y., Hoshino, Y., Nishiyama, Y., and Morishima, T. Quantitation of viral load in neonatal herpes simplex virus infection and comparison between type 1 and type 2. *Journal of Medical Virology*, in press.
 22. Ito, Y., Emi, N., Mizuno, H., Saito, H., Nishiyama, Y., Hata, K., and Ueda, M. Gene gun-mediated gene transfer to cultured human oral mucosal epithelium. *Tissue Engineering*, in press.
 23. Murata, T., Goshima, F., Yamauchi, Y., Koshizuka, T., Takakuwa, H., and Nishiyama, Y. Herpes simplex virus type 2 US3 blocks apoptosis induced by sorbitol treatment. *Microbes and Infection*, in press.
2. 学会発表
1. 吉川哲史、岩崎琢也、倉田毅、西村直子、尾崎隆男、秋元史帆、浅野喜造、五島典、西山幸廣。上皮細胞における HHV-6 感染ならびにそれに伴う表面抗原の変化。第 49 回日本ウイルス学会学術集会・総会、11/18-20. 2001 (大阪)。
 2. 井原勝、吉川哲史、榎本喜彦、大橋正博、秋元史帆、須賀定雄、浅野喜造、西 49 回日本ウイルス学会学術集会・総会、11/18-20. 2001 (大阪)。
 3. 腰塚哲朗、五島典、高桑弘樹、大黒徹、西山幸廣。単純ヘルペスウイルス 2 型 (HSV-2) UL56 遺伝子と細胞内小胞との関係。第 49 回日本ウイルス学会学術集会・総会、11/18-20. 2001 (大阪)。
 4. 野沢直樹、大黒徹、五島典、高桑弘樹、西山幸廣。単純ヘルペスウイルスのアクセサリ遺伝子産物 UL7、UL51 の性状解析。第 49 回日本ウイルス学会学術集会・総会、11/18-20. 2001 (大阪)。
 5. 山内洋平、高桑弘樹、村田貴之、五島典、西山幸廣。単純ヘルペスウイルス 2 型 (HSV-2) UL14 蛋白質は分子シャペロンの機能を有する。第 49 回日本ウイルス学

- 会学術集会・総会、11/18-20. 2001 (大阪)。
6. 村田貴之、五島典、高桑弘樹、西山幸廣。HSV-2gD の培養液中への放出。第 49 回日本ウイルス学会学術集会・総会、11/18-20. 2001 (大阪)。
 7. 高桑弘樹、五島典、吉川哲史、佐田徹太郎、倉田毅、西山幸廣。悪性腫瘍治療用ペクターとしての単純ヘルペスウイルス HF 株の有効性評価とゲノムの解析。第 49 回日本ウイルス学会学術集会・総会、11/18-20. 2001 (大阪)。

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし。

6. カニクイザルの免疫学的特性に関する研究

分担研究者	山田 章雄	国立感染症研究所獣医科学部長
協力研究者	棚林 清	国立感染症研究所 筑波医学実験用霊長類センター主任研究官
協力研究者	宇田 晶彦	国立感染症研究所 筑波医学実験用霊長類センター協力研究員

研究要旨 カニクイザルにおいては一部の個体が CD3 に対する単クローン抗体（FN18）に反応しないことが知られている。我々はこの現象が CD3 分子の遺伝的多形性によるものであること、 ϵ 鎖の 67 番目のアミノ酸が Glu から Gly への変異すると FN18 との反応性が消失することを明らかにしてきた。今年度は CD3 の多型性を RFLP で簡便に検出するシステムを確立し、多数のサルについて調べたところ、原産地によって、遺伝子頻度に大きな偏りのあることが明らかとなった。

A. 研究目的

医学実験用霊長類を用いた遺伝子治療用ベクターの有効性及び安全性を評価するシステムを確立する上で、実験に供されるサル類の生理学的、免疫学的特性が明らかにされている必要がある。組織適合性抗原複合体（MHC）に関する情報は移植を必要とする実験や、細胞性免疫をパラメーターとする実験系では特に重要である。しかしながら本邦で頻繁に使用されるカニクイザルの免疫学的特性に関するデータは乏しい。そこで本研究ではカニクイザルの免疫細胞およびその関連タンパク質を詳細に検討することを目的とした。カニクイザルにおいては一部の個体が CD3 に対する単クローン抗体（FN18）に反応しないことが知られている。我々はこの現象が CD3 分子の遺伝的多形性によるものであることを明らかにしてきた。更に CD3 分子を構築する γ 、 δ 、 ϵ 鎖のクローニングと遺伝子配列の決定を行った結果、 ϵ 鎖の 67Glu の Gly への変異が FN18 との反応性を規定していることを明らかにできた。今年度はこの遺伝的多形性のカニクイザルコロニーにおける頻度を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

筑波医学実験用霊長類センターで繁殖・育成されたカニクイザルを対象とし、FN18 との反応性とリンパ球サブセットの解析は FACS によった。Phenotype と Genotype の相関を調べる為に、177 頭のカニクイザルから DNA を精製し restriction fragment length polymorphism (RFLP) 解析を行った。

（倫理面への配慮）

カニクイザルの採血はケタミンによる麻酔下で行うが、これは通常のカニクイザルの健康管理にも必須の作業でもあり、サルに無用な苦痛を与えないよう十分配慮されている。

C. 研究結果

1. PCR で特異的に増幅した CD3 ϵ 遺伝子断片 (207bp) を制限酵素 (MboI) で消化すると FN18+ の個体では切断された 2 本 (94bp, 113bp) のバンドが検出されたが、FN18- の個体では 1 本 (207bp) のバンドとして検出された。FN18+ の個体では 207bp, 113bp,

94bp の 3 本のバンドが検出される場合があり、これは不完全消化によるものではなくヘテロであることが明らかとなった。

2. 1 家系 7 頭のカニクイザルに付いて、PCR-RFLP と FACS 解析を行った結果、67Glu をホモに持つ個体及びヘテロに持つ個体では FN18+ であったが、67Gly をホモに持つ個体では FN18- である事が明らかになった。
3. PCR-RFLP を用いて allele の大規模調査を行った所、トータルにおいて、67Glu/Glu、67Glu/Gly、67Gly/Gly の遺伝子頻度は各々 0.576、0.339、0.085 であった。しかし、カニクイザルの産地別に遺伝子頻度を調査すると、フィリピン産由来のカニクイザル (N=53) においては、67Glu/Glu、67Glu/Gly、67Gly/Gly の遺伝子頻度は、0.226、0.566、0.208 であった。同様に、マレーシア産 (N=47) は、0.808、0.149、0.043 で、インドネシア産 (N=77) では 0.675、0.299、0.026 であった。フィリピン産由来のカニクイザルにおける FN18+ と FN18- の頻度は、0.509 と 0.491 であり、マレーシア産では、0.883 と 0.117 で、インドネシア産では 0.825 と 0.175 であった。

D. 考察

これまでにカニクイザル CD3 分子のポリモルフィズムについて検討してきたが、今年度は RFLP 解析にて、迅速に多数のサルの分子多形を検出するシステムを確立し、これを用いて、筑波医学実験用霊長類センターで、育成されている産地の異なるサルについて、多形の頻度を調べた。その結果フィリピン原産のサルではマレーシア、インドネシア原産のサルに比較して、FN18- の頻度が極めて高く半数近くに及ぶことが明らかになった。この形質がフィリピン原産のサルに多いことの理由は定かではないが、少なくともこの形質が生存その他に不利に働いてはいないことを示唆していると考えられる。FN18- の個体には調べた限りにおいては免疫反応に異常のないことと考え合わせると、この知見はこれらの個体における CD3 分子は機能的に正常であることを示していると考えられる。

E. 結論

カニクイザルの免疫学的特性を CD3 の多型性について解析した。CD3 の多型性を RFLP を用いて簡便に検出するシステムを確立した。このシステムを多数のサルで検討しその有用性を証明した。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Uda, A., Tanabayashi, K., Mukai, R., Yachi, M., Nam, K. H., and Yamada, A. (2001): CD3 polymorphism in cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*). *J. Med. Primatol.*, 30, 141-147, 2001
2. Takano, J., Narita, T., Fujimoto, K., Mukai, R., and Yamada, A. (2001): Detection of B virus infection by the enzyme-linked immunoassay using simian agent 8 as antigen. *Exp. Anim.*, 50, 345-347, 2001
3. Tanabayashi, K., Mukai, R., and Yamada, A. (2001): Detection of B virus antibody in monkey sera using glycoprotein D expressed in mammalian cells. *J. Clin. Microbiol.*, 39, 3025-3030, 2001

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

なし。

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	刊名	ページ	出版年
Goshima F, Watanabe D, Suzuki H, Takakuwa H, Yamada, H, Nishiyama Y	The US2 gene product of herpes simplex virus Type 2 interacts with cytokeratin 18.	Arch Virol	146	2201 - 2209	2001
Iwasaki T, Muraki R, Kasahara T, Sata T, Kurata T	Pathway of viral spread in herpes zoster: detection of the protein encoded by open reading frame 63 of varicella-zoster virus in biopsy specimens.	Arch Virol [suppl]	17	109-119	2001
Igaki H, Nakagawa K, Aoki Y, Ohtomo K, Kukimoto I, Kanda T	Characterization of the Bi-directional Transcriptional Control Region between the Human UFD1L and CDC45L Genes.	BBRC	283	569-576	2001
Koshizuka T, Takakuwa H, Goshima F, Murata T, Nishiyama Y	The US11 gene product of herpes simplex virus has intercellular trafficking activity. Biochem. Biophys.	Biochem Biophys Res Commun	288	597-602	2001
Yoshikawa T, Ihira M, Ohashi M, Suga S, Asano Y, Miyazaki H, Hirano M, Suzuki K, Matyunaga K, Horibe K., Kojima S, Kudo K, Kato K, Matsuyama T, Nishiyama Y	Correlation between HHV-6 infection and skin rash after allogeneic bone marrow transplantation.	Bone Marrow Transplant	28	77 - 81	2001
Mitsuishi T, Kawashima M, Matsukura T, Sata T	Human papillomavirus type 58 DNA in Bowen's disease of the elbow.	Br J Dermatol	144	393-395	2001
Mitsuishi T, Kawashima M, Egawa K, Sata T	Novel intracytoplasmic inclusion bodies in human papillomavirus associated warts.	Br J Dermatol	145	171-173	2001
Sato-Matsumura KC, Matsumura T, Nabeshima M, Katano H, Sata T, Koizumi H	Serologic and immunohistochemical detection for human herpesvirus 8 in Kaposi's sarcoma after immunosuppressive therapy for bullous pemphigoid.	Br J Dermatol	145	633-637	2001
Katano H, Sato Y, Sata T	Expression of p53 and human herpesvirus 8 (HHV-8)-encoded latency-associated nuclear antigen (LANA) with inhibition of apoptosis in HHV-8-associated malignancies.	Cancer	92	3076-84	2001
Sairenji T, Tajima M, Kanamori M, Takasaka N, Gao X, Murakami M, Okinaga K, Satoh Y, Hoshikawa Y, Ito H, Miyazawa Y, Kurata T	Characterization of EBV Infected Epithelial Cell Lines from Gastric Cancer Bearing Tissues.	Curr Top Microbiol Immunol	258	185-198	2001
Takakuwa H, Goshima F, Koshizuka T, Murata T, Daikoku T, Nishiyama Y	Herpes simplex virus encodes a virion-associated protein which promotes long cellular processes in overexpressing cells.	Genes Cells	6	955-966	2001

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	刊名	ページ	出版年
Foreman KE, Friberg J, Chandran B, Katano H, Sata T, Mercader M, Nabel GJ, Nickoloff BJ	Injection of human herpesvirus-8 in human skin engrafted on SCID mice induces Kaposi's sarcoma-like lesions.	J Dermatol Sci	26	182-93	2001
Shimoda M, Nakamura T, Takahashi Y, Asanuma H, Tamura S, Kurata T, Mizuochi T, Azuma N, Kannno C, Takemori T	Isotype-specific Selection of High Affinity Memory B Cells in Nasal-associated Lymphoid Tissue.	J Exp Med	194	1597-1607	2001
Yamauchi Y, Wada, K, Goshima F, Takakuwa, H, Daikoku T, Yamada M, Nishiyama Y	The UL14 protein of herpes simplex virus type 2 translocates the minor capsid protein and the DNA cleavage and packaging UL33 protein into the nucleus of coexpressing cells.	J Gen Virol	82	321-330	2001
Yamauchi Y, Shiba C, Goshima F, Nawa A, Murata T, Nishiyama Y	Herpes simplex virus type 2 UL34 protein requires UL31 protein for its relocation to the internal nuclear membrane in transfected cells.	J Gen Virol	82	1423-1428	2001
Katano H, Sato Y, Itoh H, Sata T	Expression of human herpesvirus 8 (HHV-8) encoded immediate early protein open reading frame 50, in HHV-8-associated diseases.	J Hum Virol	4	96-102	2001
Uda A, Tanabayashi K, Mukai R, Yachi M, Nam KH, Yamada A	CD3 polymorphism in cynomolgus monkeys (<i>Macaca fascicularis</i>)	J Med Primatol	30	141-147	2001
Yoshikawa T, Ihira M, Suzuki K, Suga S, Asano Y, Asonuma K, Tanaka K, Nishiyama Y	Primary human herpesvirus 6 infection in liver transplant recipients.	J Pediatrics	138	921-925	2001
Murata T, Goshima F, Koshizuka T, Takakuwa H, Nishiyama Y	A single amino acid substitution in the ICP27 protein of herpes simplex virus type 1 is responsible for its resistance to Leptomycin B.	J Virol	75	1039-1043	2001
Kawana Y, Kawana K, Yoshikawa H, Taketani Y, Yoshiike K, Kanda T	Human Papillomavirus 16 Minor Capsid Protein L2 N-terminal Region Containing a Common Neutralization Epitope Binds to the Cell Surface and Enters the Cytoplasm.	J Virol	75	2331-1336	2001
Sakurada S, Katano H, Sata T, Ohkuni H, Watanabe T, Mori S.:	Effective human herpesvirus 8 infection of human umbilical endothelial cells by cell-mediated transmission.	J Virol	75	7717-7722	2001
Kukimoto I, Kanda T	Displacement of YY1 by Differentiation Specific Transcription Factor hSkn-1a Activates P670 Promoter of Human Papillomavirus Type 16.	J Virol	75	9302-9311	2001

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	刊名	ページ	出版年
Matano T, Kano M, Nakamura H, Takeda A, Nagai Y	Rapid appearance of secondary immune responses and protection from acute CD4 depletion after a highly pathogenic immunodeficiency virus challenge in macaques vaccinated with a DNA-prime/Sendai viral vector-boost regimen.	J Virol	75	11891-11896	2001
Kanamori M, Murakami M, Takahashi T, Kameda N, Tajima M, Okinaga K, Miyazawa Y, Kurata T, Sairenji T	Spontaneous reduction in Epstein-Barr virus (EBV) DNA copy number in EBV-infected epithelial cell lines.	Microbes Infect	3	1-7	2001
Kanamori M, Murakami M, Takahashi T, Kamada N, Tajima M, Okinaga K, Miyazawa Y, Kurata T, Sairenji T	Spontaneous reduction in Epstein-Barr virus (EBV) DNA copy number in EBV-infected epithelial cell lines.	Microbes Infect	3	1085-1091	2001
Ito M, Kimura H, Hara S, Kido S, Ozaki T, Nishiyama Y, Morishima T	Investigation of varicella-zoster virus DNA in lymphocyte subpopulations by quantitative PCR assay.	Microbiol Immunol	45	267 - 269	2001
Ohyama M, Fukui T, Tanaka Y, Kato K, Hoshino R, Sugawara T, Yamanaka M, Ijiri R, Sata T, Itani Y	Measles virus infection in the placenta of monozygotic twins.	Mod Pathol	14	1300-1303	2001
Suda T, Katano H, Delsol G, Kakiuchi C, Nakamura T, Shiota M, Sata T, Higashihara M, Mori S	HHV-8 infection status of AIDS-unrelated and AIDS-associated multicentric Castleman's Disease.	Pathol Int	51	671-679	2001
Kawana K, Kawana Y, Yoshikawa H, Taketani Y, Yoshiike K, Kanda .	Nasal Immunization of Mice with Peptide Having a Cross-Neutralization Epitope on Minor Capsid Protein L2 of Human Papillomavirus Type 16 Elicits Systemic and Mucosal Antibodies.	Vaccine	19	1496-1502	2001
Inagaki-Ohara K, Iwasaki T, Watanabe D, Kurata, T, Nishiyama Y	Effect of the deletion of US2 and US3 from herpes simplex virus type 2 on immune responses in the murine vagina following intravaginal infection.	Vaccine	20	98 - 104	2001
Katano H, Ogawa-Goto K, Hasegawa H, Kurata T, Sata T	Human-herpesvirus-8-encoded K8 protein colocalizes with the promyelocytic leukemia protein (PML) bodies and recruits p53 to the PML bodies.	Virology	286	446-455	2001
Fukuda M, Ikuta, K, Yanagihara K, Tajima M, Kuratsune, H, Kurata T, Sairenji T	Effect of transforming Growth Factor β 1 on the Cell Growth and Epstein-Barr Virus Reactivation in EBV-Infected Epithelial Cell Lines.	Virology	288	109-118	2001
Zhu HY, Merata T, Goshima F, Takakuwa H, Koshizuka T, Yamauchi Y, Nishiyama Y	Identification and characterization of the UL24 gene product of herpes simplex virus type 2.	Virus Genes	22	321-327	2001

著者氏名	論文タイトル名	発表誌名	刊名	ページ	出版年
Hoshi S, et al	Cis-Elements Involved in Expression of Unspliced RNA in Moloney Murine Leukemia Virus.	BBRC	in press		2002
Thawaranantha D, Chimabutra K, Balachandra K, Warachit P, Pantuwatana S, Tanaka-Taya K, Inagi R, Kurata T, Yamanishi K	Genetic variations of human herpesvirus 7 by analysis of glycoproteins B and H and R2-repeat regions.	J Med Virol	66	370-377	2002
Inagaki-Ohara K, Iwasaki T, Watanabe D, Kurata T, Nishiyama Y	Effect of the deletion of US2 and US3 from herpes simplex virus type 2 on immune responses in the murine vagina following intravaginal infection.	Vaccine	20	98-104	2002
Yoshikawa T, Asano Y, Ihira M, Suzuki K, Ohashi M, Suga S, Kuto K, Horibe K, Kojima S, Kato K, Matsuyama T, Nishiyama Y	Human herpesvirus 6 viremia in bone marrow transplant recipients:clinical features and risk factors.	J Inf Dis	in press		
Yoshikawa T, Asano Y, Akimoto S, Ozaki T, Iwasaki T, Kurata T, Goshima F, Nishiyama Y	Latent infection of human herpesvirus 6 in astrocytoma cell line and alteration of cytokine synthesis.	J Med virol	in press		
Nishiyama Y, Murata T	Antiapoptotic protein kinase of herpes simplex virus.	Trends Microbiol	in press		