

厚生労働科学研究研究費補助金

エイズ対策研究事業

HIV-1遺伝子を広域に持つ新規SHIVとサルを用いた
エイズ治療薬開発の研究

平成15年度 総合研究報告書

主任研究者 井戸 栄治

(京都大学ウイルス研究所 助手)

平成16年 (2004年) 3月

目 次

I. 総括研究報告		
HIV-1遺伝子を広域に持つ新規SHIVとサルを用いたエイズ治療薬開発の研究	--	1
井戸 栄治		
(資料) 研究成果発表会用スライド (1)	-----	9
II. 分担研究報告		
HIV-1のプロテアーゼ遺伝子を持つSHIVのin vivo継代に関する研究	-----	14
伊吹 謙太郎		
(資料) 研究成果発表会用スライド (2)	-----	18
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	21
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	22

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

総括研究報告書

HIV-1遺伝子を広域に持つ新規SHIVとサルを用いたエイズ治療薬開発の研究

主任研究者 井戸 栄治 京都大学ウイルス研究所 助手

研究要旨

はじめにHIV-1のプロテアーゼ遺伝子を持つ新規SHIVを作成した。このウイルス(SHIV-pr)は、*in vitro* でサル細胞に感染増殖能があり、アカゲサルに接種すると血中のウイルス量が2週後に $10^3 \sim 10^4$ copies/ml 程度の弱いピークを形成し、その後断続的ながら同程度のウイルス量を血中に産生し続けることが明らかとなった。このウイルス感染サルから *in vivo* 継代することにより、3代目で血中ウイルス量が $10^4 \sim 10^5$ copies/ml 程度と安定に持続感染状態にすることができた。次に SHIV-pr の血中ウイルス量が安定したサルを用いて、プロテアーゼ阻害剤であるカレトラ剤を飲料水に混ぜて4週間経口投与したところ、血中ウイルス量が検出限界の 10^3 copies/ml 以下または同程度にまで減少した。また HIV-1 の遺伝子領域をさらに拡大した新規SHIVによる感染モデル系を確立するため、env 遺伝子領域に加えて pol 遺伝子の逆転写酵素、さらにはインテグラーゼ遺伝子を HIV-1 由来にした新規 SHIV を作成し、そのサル感染実験を行った。その結果、前者はサル細胞への馴化を待たずにそのままでも、後者は約半年間の *in vitro* レベルでのサル細胞への馴化後にサルに感染することが明らかとなった。

分担研究者 伊吹 謙太郎
京都大学ウイルス研究所
助手

A. 研究目的

エイズ治療については、この数年の間に HAART 療法などが開発され、光明が見えたかに思えた。しかし、この療法では確かに延命はできるものの、高価な薬剤を大量に摂取し続けねばならず、副作用の問題や投薬を止めれば新たにウイルスが再増殖し始め、しかも通常の薬剤では抑えることができないという多剤耐性株の出現の問題、さらには治療中の免疫系再構築の間に既存の日和見感染症が悪化するいわゆる免疫再構築症候群などの問題が指摘されている。治療薬自体の開発が押し進められるべきであることは言うまでもないが、種々の治療薬の最適な組み合わせの探索を始めとして、他の抗ウイルス活性物質あるいは免疫システム自体を活性化する薬剤との併用など、従来試みられていない実験的療法の開拓が強く要望されている。しかしながら、人を対象

としてそのような治療効果が保証されない、場合によっては症状増悪のリスクが否定できない実験的治療を安易に試みることは倫理的に許されない。そこで本研究では、先ず、前臨床の基礎研究として、人に近い動物であるサルを用いてエイズ治療法を実験的に開拓する系を確立することを目的とする。次にその系を用いて、種々の薬剤や新たな治療法の効果判定を行い、人のためのより良い治療法を提示することを最終目標とする。

B. 研究方法

人への治療法として提示するためには、薬剤の標的がエイズの病原ウイルス HIV-1 そのものであることが望ましい。ところが HIV-1 は、ヒト以外にはチンパンジーなど一部の例外を除いて、通常の医学実験用のサルには感染しない。そこで我々は、HIV に類似のサルウイルス(SIV)と HIV-1 とのキメラウイルス(SHIV)を作成し、これとサルを用いてエイズの病態を研究してきた。しかし、従来サル感染実験に用いられた SHIV は、主

に env 遺伝子とその周辺付属遺伝子のみが HIV-1 由来で、その他は SIV 由来であるものに限定されていた。これでは人への治療薬の効果判定に適してはいない。なぜなら、市販されているウイルス複製阻害剤の中には、AZT のようにレトロウイルス全般に効く薬剤もあるが、NNRTI のように HIV-1 の pol 遺伝子産物を特異的に標的としているものも多いからである。そこで我々は、pol 遺伝子が HIV-1 由来である新規の SHIV を作成することにした。研究開始初年度は、1) HIV-1 の protease (PR) を持つ SHIV (SHIV-pr) のアカゲザル感染実験と PR 阻害剤の効果判定、2) pol の RT と INT 領域及び env を HIV-1 由来にした SHIV (SHIV-rti/3rn) の作成とサル感染実験に重点を置いて研究を行った。分担研究者伊吹謙太郎博士は、特に 1) の SHIV-pr の in vivo 継代によるウイルスの安定化を担当した。

(倫理面への配慮)

本研究では、治療薬開発にサルを用いている。従って差し当たって人権上の問題は該当しない。実験動物としてサルを使用する点については、動物愛護の配慮を怠ることなく主任研究者の所属する京都大学ウイルス研究所のサルの飼育と使用に関する委員会（通称「霊長類委員会」）に定める規定・指針に則して研究を行っている。

C. 研究結果

1) HIV-1のprotease (PR) を持つSHIV (SHIV-pr) のアカゲザル感染実験とPR阻害剤の効果判定

SHIV-prは、クローン化されたSIVmac239株のゲノムに、HIV-1 NL432株のPR遺伝子を組み込んだウイルスである。このプロウイルスプラスミドを培養細胞にトランスフェクションすると、Gag蛋白質は親株と同じように切断され感染性のウイルスを産生することが分かった。10⁵ TCID₅₀ のSHIV-prをアカゲザルに静脈内接種したところ、血中ウイルス量は接種後2週目で10⁵ copies/ml程度にまで上がり、その後10³~10⁴ copies/mlと低いながら半年以上の長期に渡りウイルスを産生し続けることが明らかとなった。さらにこのサルからウイルスを含む血漿を新た

なサルに継代したところ、ウイルス量も安定して10⁵ copies/ml程度の持続感染状態になることが判った（分担研究報告書参照）。次にこれらのサルにPR阻害薬カレトラ（ロピナビルとリトナビルの混合カプセル）の中身を水に懸濁して4週間毎日経口投与（1カプセル分/日/頭）したところ、試みた3頭いずれも10³ copies/mlあるいはそれ以下に血中ウイルス量が減少した。対照的にSHIV89.6pが感染しているサルの場合、薬剤投与の効果は全く見られなかった（各実験データについては添付する資料を参照のこと）。

2) pol の RT と INT 領域及び env 全体を HIV-1 由来にした SHIV-rti/3rn の作成とサル感染実験

これまでに RT と env 全体を HIV-1 由来にした SHIV-rt/3rn がサルに感染することは、我々がすでに報告している (J Gen Virol, 2003)。今回はより HIV-1 由来の領域を拡大することを目指して、それに加えて pol の インテグラーゼ (INT) の領域も HIV-1 由来にした SHIV (SHIV-rti/3rn) を作成した。しかし、このウイルスは cell line では増殖するものの、アカゲザル PBMC での増殖が微弱で検出限界に近かった。そこでサルの cell line である HSC-F 細胞で約半年間パッセージを繰り返し、再度感染増殖能を調べた結果、アカゲザル PBMC での増殖が良くなっていることが判明した。このサル細胞馴化ウイルスをアカゲザルに接種したところ、ピークのウイルス量は 10⁴~10⁶ copies/ml となり、抗体応答、PCR の成績からサルに感染することが明らかとなった（各実験データについては添付する資料を参照のこと）。

D. 考察

SHIV-pr感染サルのカレトラ投与実験において、ウイルス量が顕著に下がったことは、本SHIVとサルを用いて、PR薬剤の in vivo 評価が現実的に可能であることを示している。一方、SHIV89.6pに対して同薬剤の効果が見られなかったことは、それに含まれているPR阻害剤がHIV-1用に開発されていることから不思議はない。ただし、PR阻害剤はin vitroの実験に関する限り、HIV-2やSIVなどの2型のウイルスにもある程度は効くと言われている。SIVのプロテ

アーゼを持っているSHIV89.6pが何故多少とも反応しなかったのかは不明である。酵素レベルでは阻害されても、ウイルスになると薬剤に対して反応しにくくなるという特質が現れた可能性も考えられる。

なおサルに薬剤を投与する実験は、動物が相手であり、味が苦い、においがするなどの理由により、サルが受けつけないことがあることを学んだ。なるだけ人に近い条件下で薬剤評価を行うために、注射によらず経口投与に限りたいと考えているが、今後薬剤によっては投与方法の改良も必要と考えられた。

SHIV-rti/3rnのサル感染実験でHIV-1由来の領域を一段と拡大できた。馴化の際にどのような変異が起こったのかを解析してみたところ、ゲノム全体で9ヶ所核酸配列が変わっていた。いずれもアミノ酸置換を伴う変異で、その大半(7ヶ所)はenvに生じていた。予測していたintegrase部分には変異はなく、サル細胞種特異性を獲得したというよりは、感染吸着侵入レベルでウイルスの性能がアップしたものと考えられた。

いずれにせよ HIV-1 由来の遺伝子領域を拡大した新規 SHIV が、サル個体内で感染増殖することが分かった点は大きな前進である。現時点では未だ増殖力が弱いものも、今後 in vivo 継代などにより、さらに強いものに改良できるであろう。何よりも、現在世界で使用されているどの SHIV よりも HIV-1 に近いウイルスとサルによる新しい動物モデル系ができたことに意義があると考えている。

E. 結論

まだ研究の第一段階であり、結論を出すのはやや早すぎると思われる。しかし、少なくとも当初計画の実験は比較的順調に進行しており、SHIV-pr がサルに感染することが明らかとなり、薬剤に反応したウイルス動態を見せたことは、本 SHIV とサルの系が開発中の PR 薬剤の評価に有用であることを示している。また INT が HIV-1 由来である SHIV-rti/3rn が同じくサルに感染することが明らかとなったことは、現在開発が進められているインテグラーゼ阻害剤の評価にも使えると同時に、より HIV-1 に近いウイ

ルスとサルによる新しい動物モデル系が完成する道が開けたものと考えられる。

F. 健康危険情報

該当するものはない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Akiyama, H., Ido, E., Akahata, W., Kuwata, T., Miura, T., Hayami, M. Construction and in vivo infection of a new simian/human immunodeficiency virus chimera containing the reverse transcriptase gene and the 3' half of the genomic region of human immunodeficiency virus type 1. *J. Gen. Virol.*, 84(Pt 7):1663-9, 2003.
- 2) Yoshimura, K., Ido, E., Akiyama, H., Kimura, T., Aoki, M., Suzuki, H., Mitsuya, H., Hayami, M., Matsushita, S. The impact of highly active antiretroviral therapy by the oral route on the CD8 subset in monkeys infected chronically with SHIV 89.6P. *J. Virol. Methods.* 112(1-2):121-8, 2003.
- 3) Enose, Y., Miyake, A., Ido, E., Hayami, M. Infection of a chimeric simian and human immunodeficiency virus with CCR5-specific HIV-1 envelope to Rhesus macaques. *J. Vet. Med. Sci.*, 65(2):283-6, 2003.
- 4) Ndembu, N., Habakkuk, Y., Takehisa, J., Takemura, T., Kobayashi, E., Ngansop, C., Songok, E., Miura, T., Ido, E., Hayami, M., Kaptue, L., Ichimura, H. HIV type 1 infection in Pygmy hunter gatherers is from contact with Bantu rather than from nonhuman primates. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.*, 19(5):435-9, 2003.

5) Akahata, W., Ido, E., Hayami, M. Mutational analysis of two zinc-finger motifs in the nucleocapsid protein of simian immunodeficiency virus mac239. *J. Gen. Virol.*, 84(Pt 6):1641-8, 2003.

6) Akahata, W., Ido, E., Akiyama, H., Uesaka, H., Enose, Y., Horiuchi, R., Kuwata, T., Goto, T., Takahashi, H., Hayami, M. DNA vaccination of macaques by a full-genome simian/human immunodeficiency virus type 1 plasmid chimera that produces non-infectious virus particles. *J. Gen. Virol.*, 84(Pt 8):2237-44, 2003.

2. 学会発表

Horiuchi, R., Ido, E., Akahata, W., Enose, Y., Ibudi, K., Miura, T., Goto, T., Takahashi, H., Hayami, M.: DNA vaccination of macaques by full-sized SHIV plasmids that produce non-infectious virus particles. AIDS Vaccine Conference 2003, New York, Sep 18-21, 2003.

Akiyama, H., Ido, E., Ibuki, K., Miura, T., Hayami, M.: Construction and in vivo infection of a novel simian/human immunodeficiency chimeric virus containing the reverse transcriptase, integrase and the 3' half of the genomic region of HIV-1. 21th Annual Symposium on Nonhuman Primate models for AIDS, Seattle, October 22-25, 2003.

秋山尚志、井戸栄治、大倉定之、鈴木元、伊吹謙太郎、石松美沙、三浦智行、速水正憲：HIV-1由来の逆転写酵素、インテグラーゼおよび env を含むゲノムの 3' 側遺伝子を持つ新しい SHIV のサル感染実験、日本ウイルス学会、京都、2003年10月27日-29日

竹村太地郎、井戸栄治、大倉定之、原田礼

忠、NDEMBI Nicase、武久盾、市村宏、山口由美、速水正憲、三浦智行：コンゴ民主共和国に生息するブラックマンガベイ *Cercocebus atterimus* からの SIV の分離と遺伝子解析、日本ウイルス学会、京都、2003年10月27日-29日

デンビニケース、武久盾、竹村太地郎、井戸栄治、小林永治、速水正憲、市村宏：Emergence of new forms of human immunodeficiency virus type 1 in Cameroon, 日本ウイルス学会、京都、2003年10月27日-29日

堀内励生、井戸栄治、赤畑渉、榎瀬良美、伊吹謙太郎、三浦智行、後藤俊幸、高橋秀実、速水正憲：DNA vaccination of macaques by full-sized SHIV plasmids that produce non-infectious virus particles, The 10th East Asian Joint Symposium on Biomedical Research (東アジアシンポジウム)、京都、2003年11月18-19日

石松美沙、井戸栄治、秋山尚志、三浦智行、伊吹謙太郎、速水正憲：サルの SHIV 感染に対する IL-15 投与効果の解析、日本エイズ学会、神戸、2003年11月27日-29日

井戸栄治、竹村太地郎、武久盾、Bikandou Blaise、秋山尚志、池田幹雄、Henri-Joseph Parra、市村宏、速水正憲：コンゴ共和国におけるピグミー族の HIV 保有状況、日本エイズ学会、神戸、2003年11月27日-29日

H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

今のところなし。

HAART療法の目覚ましい成果

HAART療法の新たな問題点

長期服用による副作用

多剤耐性株の出現

免疫再構築症候群

新たな治療法開発の必要性

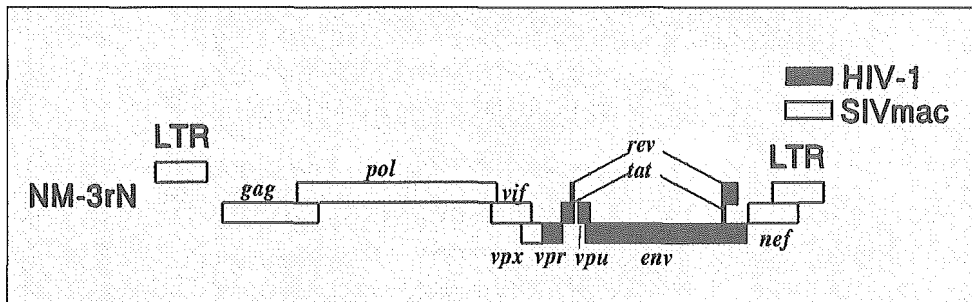
研究目的

人になるだけ近い動物モデル(サル)を用いて
実験的治療薬開発研究が可能な系を確立する

前臨床の基礎研究として、作用機構が全く新しい治療薬の
探索や他の抗ウイルス作用または免疫活性化作用のある薬
剤との併用など、従来倫理的な理由から人には試みられて
いない治療法を開拓する

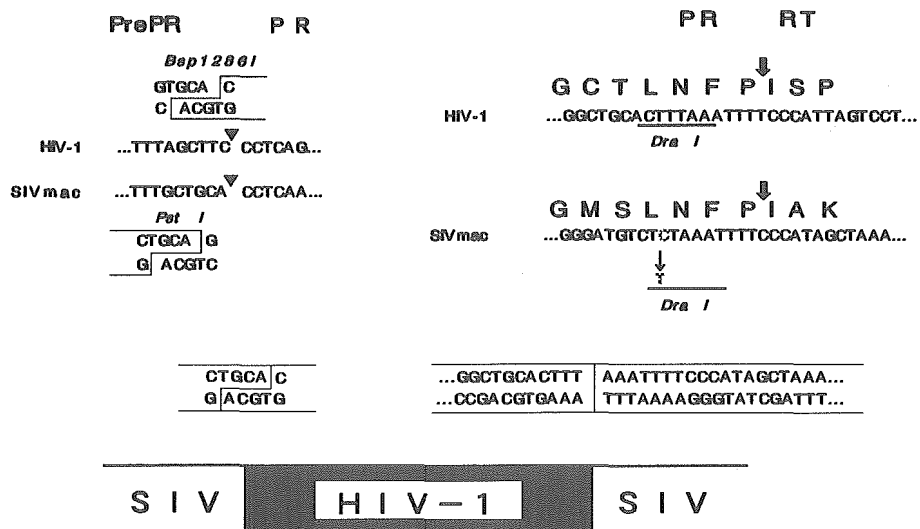
人へのより良い新たな治療法を提示することを目標

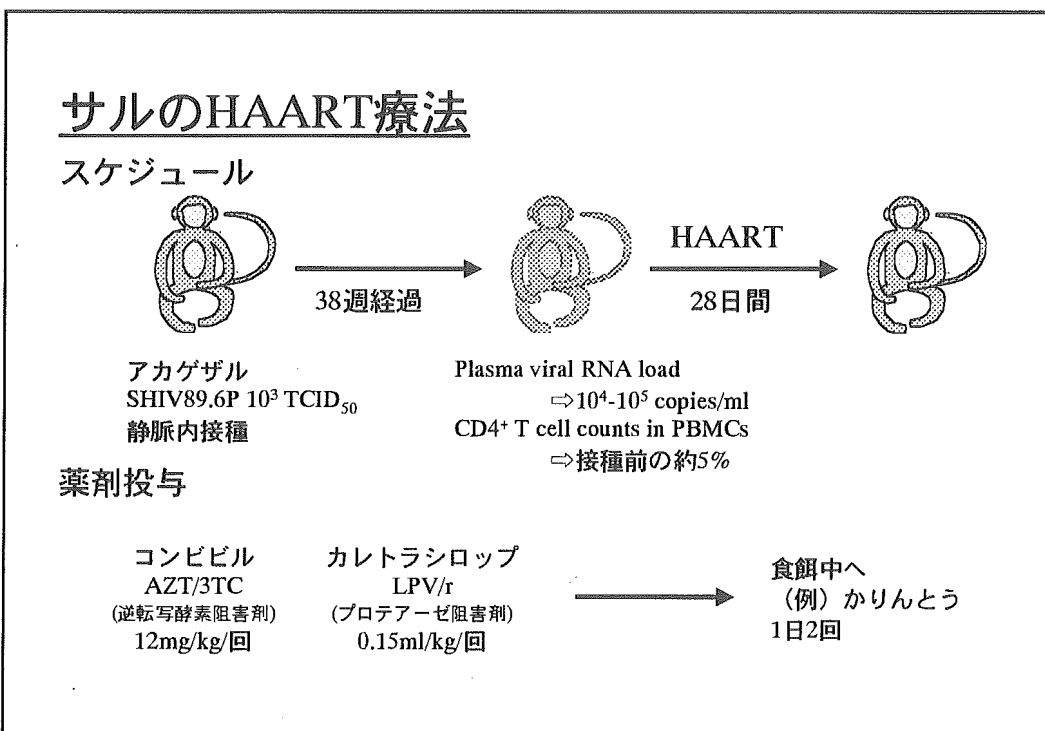
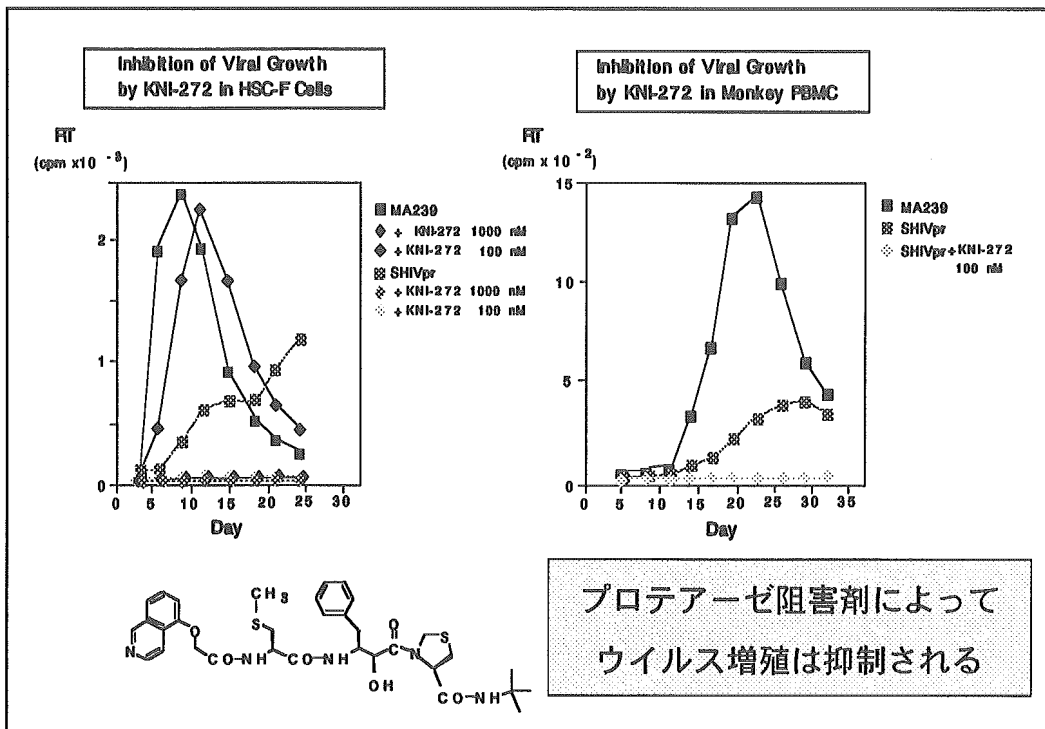
これまで広く使われているサルに感染するHIV-1/SIV
キメラウイルス(SHIV)はウイルスゲノムの3'側だけが
HIV-1由来であった



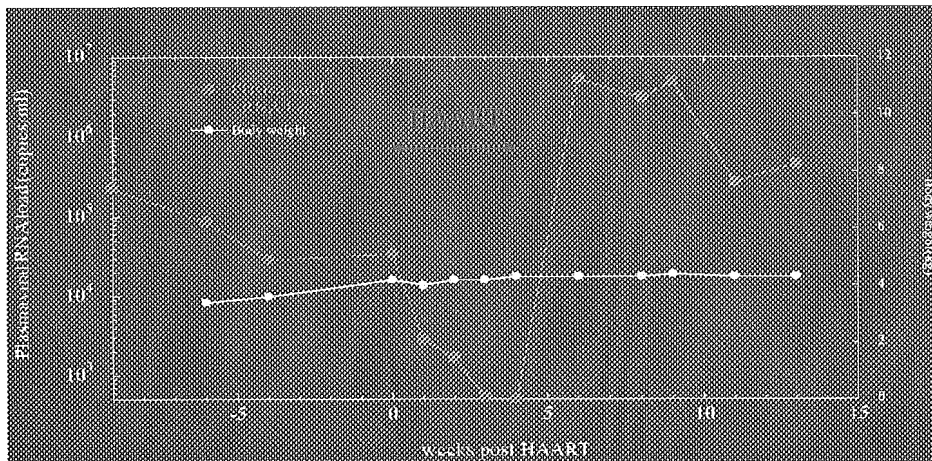
HIV-1用に開発されたウイルス酵素阻害剤である治療薬
の評価には向かない

*pol*領域のプロテアーゼ遺伝子をHIV-1由来にする

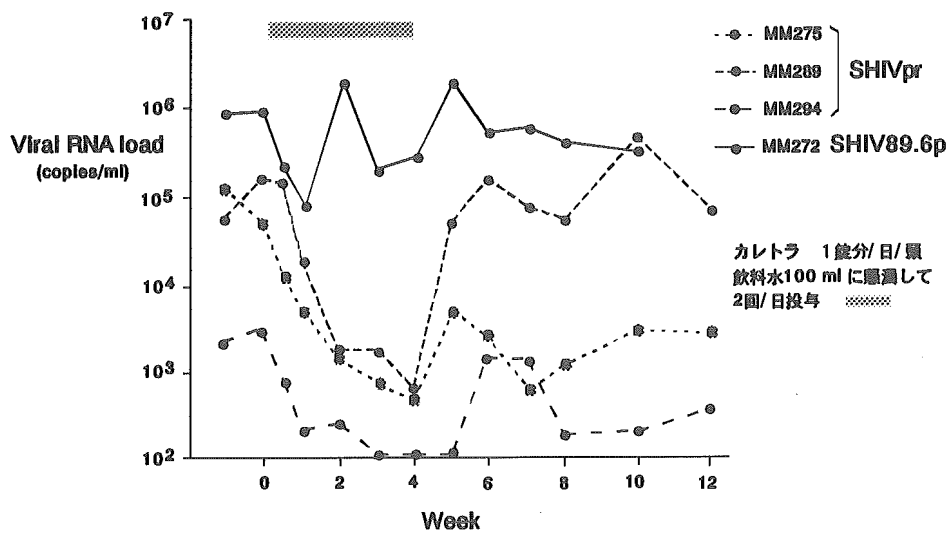




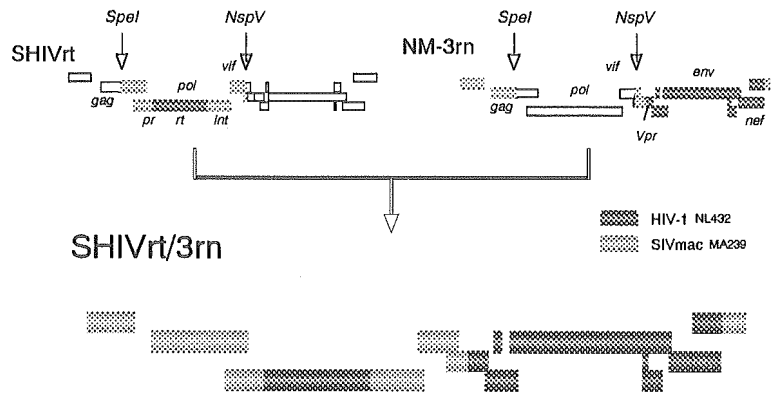
HAART療法により薬剤投与中は血中のウイルス量が検出限界以下に減少した



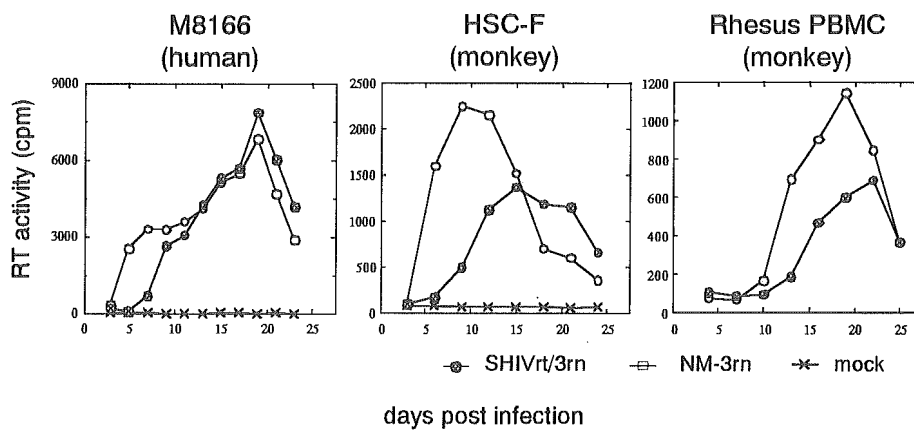
SHIV感染サルのカレトラ経口投与による効果



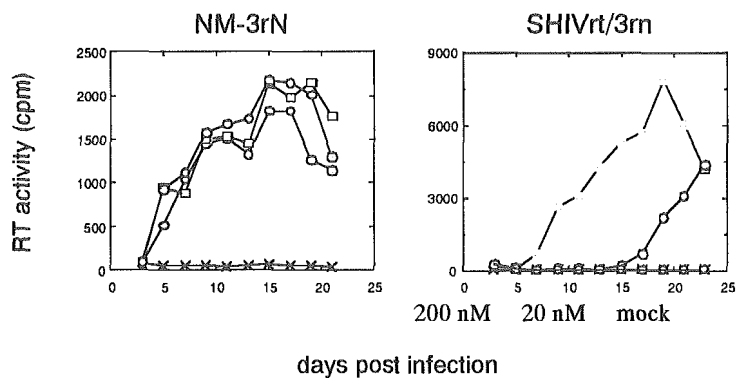
SHIVrt/3rnの作製



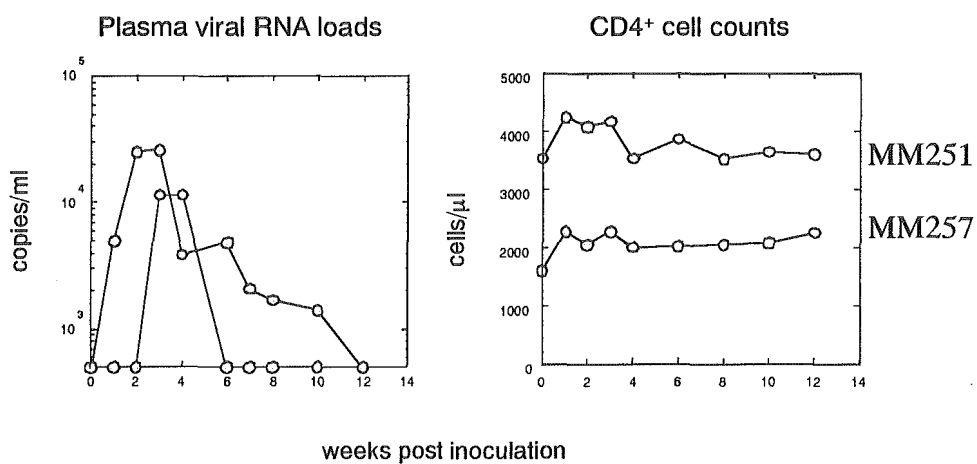
SHIVrt/3rnの *in vitro* における増殖能



MKC-442による増殖抑制効果



SHIVrt/3rnの *in vivo* における増殖能 (1)



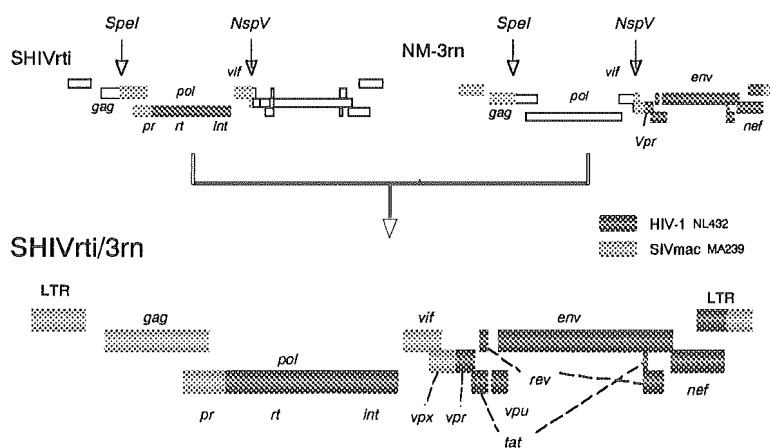
SHIVrti/3rnの *in vivo* における増殖能 (2)

Week	DNA-PCR		Virus Isolation		PA ^a	
	MM251	MM257	MM251	MM257	MM251	MM257
0	-	-	ND ^b	ND	ND	ND
1	-	-	-	-	ND	ND
2	-	-	+	-	<32	<32
3	+	+	+	-	128	128
4	+	+	-	+	512	128
6	+	+	-	-	2048	256
8	+	+	-	-	2048	512
10	+	+	-	-	2048	512
12	+	+	-	-	2048	512
16	+	+	-	-	2048	4096
20	+	+	-	-	4096	4096
26	+	+	-	-	4096	4096
32	+	+	-	-	4096	4096

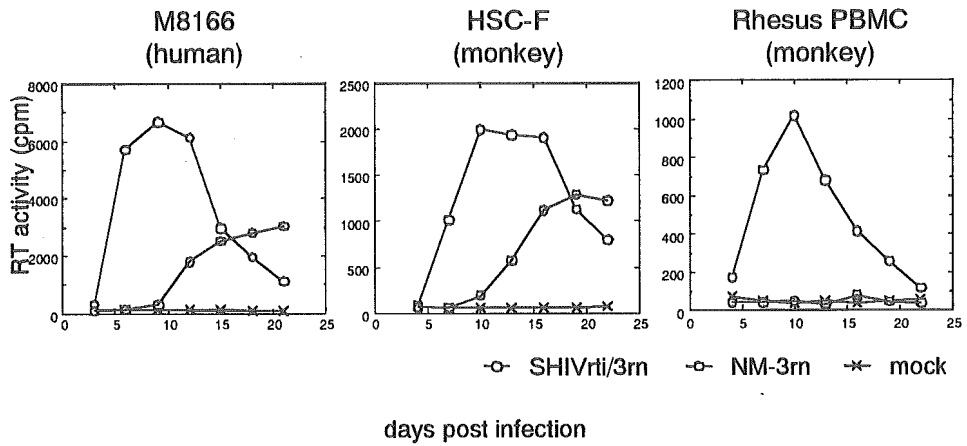
^a Serodia HIV-1/2, Fujirebio

^b Not done

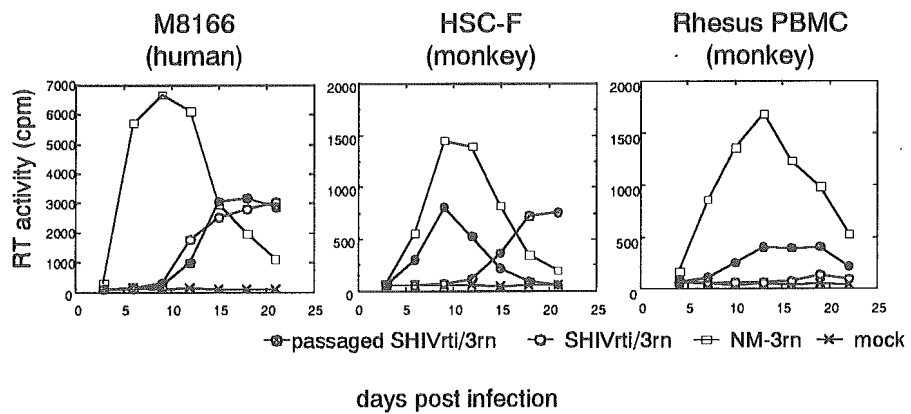
SHIVrti/3rnの作製



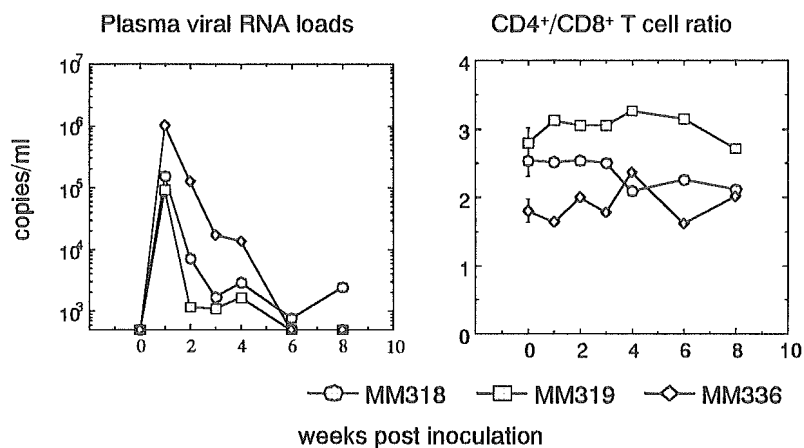
SHIVrti/3rnの *in vitro* における増殖能



SHIVrti/3rnPの *in vitro* における増殖能



SHIVrti/3rnPの *in vivo* における増殖能 (1)



SHIVrti/3rnPの *in vivo* における増殖能 (2)

Week	DNA-PCR			Virus Isolation			Antibody response ^a		
	MM318	MM319	MM336	MM318	MM319	MM336	MM318	MM319	MM336
0	-	-	-	ND ^b	ND	ND	<32	<32	<32
1	+	+	-	-	-	-	<32	<32	<32
2	+	+	-	+	-	-	1024	256	64
3	+	+	-	-	-	-	2048	1024	64
4	+	+	+	-	-	-	8192	8192	256
6	+	+	+	-	-	-	8192	8192	1024
8	+	+	+	-	-	-	8192	4096	1024

^a Genedia HIV-1/2, Fujirebio
^b Not done

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）

分担研究報告書

HIV-1のプロテアーゼ遺伝子を持つSHIVのin vivo継代に関する研究

分担研究者 伊吹 謙太郎 京都大学ウイルス研究所 助手

研究要旨

HIV-1 のプロテアーゼ遺伝子を持つ新規 SHIV は、アカゲサルに接種されると血中のウイルス量が2週後に $10^3 \sim 10^4$ copies/ml 程度の弱いピークを形成し、その後断続的ながら同程度のウイルス量を持続する。このウイルスを固定化するため、初代感染サルからウイルスを含む血漿およびリンパ節細胞をさらに新たなサルに継代し、4代目まで続けた。3代目 (SHIV-pr3) でウイルスの感染能力はかなり増強化され、血中のウイルス量は安定して 10^5 copies/ml 程度に持続感染状態になることが明らかとなった。

A. 研究目的

本研究では、先ず、前臨床の基礎研究として、人に近い動物であるサルを用いてエイズ治療法を実験的に開拓する系を確立することを目的とし、次にその系を用いて、種々の薬剤や新たな治療法の効果判定を行い、人のためのより良い治療法を提示することを最終目標としている。本分担研究者は、この目的達成のため HIV-1 の protease (PR) を持つ SHIV (SHIV-pr) のアカゲザル感染実験を行い、その in vivo 継代によって薬剤評価が安定して行えるように同ウイルスの固定化を計った。

B. 研究方法

SHIV-pr は、クローン化された SIVmac239 株のゲノムに、HIV-1 NL432 株の PR 遺伝子を組み込んだウイルスである。 10^5 TCID₅₀ の SHIV-pr をアカゲザルに静脈内接種したところ、血中ウイルス量は接種後2週目で 10^5 copies/ml 程度にまで上がり、その後は断続的にウイルスが血中に現われた。そこで、この SHIV-pr 感染サルから、ウイルスを含む血漿およびリンパ節細胞をさらに新たなサルに継代した（継代は4代まで）。

(倫理面への配慮)

本研究では、治療薬開発にサルを用いている。従って差し当たって人権上の問題は該当しない。実験動物としてサルを使用する点については、動物愛護の配慮を怠ることなく主任研究者の所属する京都大学ウイルス研究所のサルの飼育と使用に関する委員会（通称「霊長類委員会」）に定める規定・指針に則して研究を行っている。

C. 研究結果

10^5 TCID₅₀ の SHIV-pr をアカゲザルに静脈内接種した初代サルは、 $10^3 \sim 10^4$ copies/ml と低いながら半年以上の長期に渡りウイルスを産生し続けることが明らかとなった。このサルから in vivo 継代したサルは、いずれのサルも接種後の viral RNA load のピークが 10^7 copies/ml 程度まで上がり、一時減少した後、約半年後には再び 10^5 copies/ml 程度の load を安定して維持することが明らかとなった。この感染能力増強化は3代目まで継いだ時に見られたが、4代まで継いだ時はそれ以上の感染力の増強は見られなかった（各データについては添付する資料を参考のこと）。また3代目まで継いだウイルス (SHIV-pr3) を再度アカゲザルに接種すると、安定して 10^5 copies/ml 程度の load の持続感染状態を作れることも明らかとなった（各実験データについては添付する資料を参照のこと）。

D. 考察

SHIV-pr の3代までの in vivo 継代によってウイルスの load が 10^5 copies/ml 程度と安定化できたことは、本ウイルスが抗ウイルス活性のある薬剤の効果を調べる上で、その感染サルを使えるということを意味している。事実総括報告書の方で述べたように、この新規 SHIV の感染しているサルを用いて、プロテアーゼ阻害剤のカレトラ投与

実験を行った結果、薬剤投与群の血中ウイルス量が見事に減少することが観察されている。今後、この薬剤処理したサルウイルスに耐性変異が生じていないか遺伝子解析を行いたいと考えている。

E. 結論

SHIV-pr がサルに感染することが明らかとなり、薬剤に反応したウイルス動態を見せたことは、本 SHIV とサルの系が開発中の PR 薬剤の評価に有用であることを示している。

F. 健康危険情報

該当するものはない。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Shimada, T., Suzuki, H., Motohara, M., Kuwata, T., Ibuki, K., Ui, M., Iida, T., Fukumoto, M., Miura, T., Hayami, M.: Comparative histopathological studies in the early stages of acute pathogenic and nonpathogenic SHIV-infected lymphoid organs. *Virology*, 306:334-46, 2003.
- 2) Iida, T., Kuwata, T., Ui, M., Suzuki, H., Miura, T., Ibuki, K., Takahashi, H., Imanishi, J., Hayami, M., Kita, M.: Augmentation of antigen-specific cytokine responses in the early phase of infection with a live-attenuated simian/human immunodeficiency chimeric virus expressing IFN-g. *Arch. Virol.*, in press.

2. 学会発表

- Miyake, A., Ibuki, K., Enose, Y., Hayami, M.: Virological and immunological analysis of early phase of rectal infection of pathogenic SHIV in macaques, U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program, Okinawa, March 5-7, 2003.
- Kozyrev L. I., Miura, T., Sakai, K., Takahashi, E., Shinohara, K., Suzuki, H., Ibuki, K., Hayami, M.: Comparative analysis of acute pathogenic and less pathogenic SHIV molecular clone, U.S.-Japan Cooperative Medical Science

Program, Okinawa, March 5-7, 2003.

Hayami, M., Ibuki, K., Miyake, A., Horiuchi, R., Saitou, N., Suzuki, H., Nakasone, T., Honda, M., Miura, T.: Analysis of gut-associated lymphoid tissues (GALT) at early phase of acute pathogenic SHIV intrarectal infection in macaques. The Awaji International Forum on Infection and immunity, Awajishima, August 25-28, 2003.

Hayami, M., Miyake, A., Ibuki, K., Enose, Y., Suzuki, H., Horiuchi, R., Saito, N., Nakasone, T., Honda, M., Miura, T.: Early virological events in various tissues after intrarectal infection with pathogenic SHIV. The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awajishima, August 25-28, 2003.

Suzuki, H., Suzuki, M., Miyake, A., Ibuki, K., Masuda, K., Minato, N., Kawamoto, H., Nakasone, T., Honda, M., Miura, T., Hayami, M.: The effects of pathogenic SHIV infection on the thymus and intrathymic T cell progenitor in rhesus monkeys. The Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awajishima, August 25-28, 2003.

Horiuchi, R., Ido, E., Akahata, W., Enose, Y., Ibuki, K., Miura, T., Goto, T., Takahashi, H., Hayami, M.: DNA vaccination of macaques by full-sized SHIV plasmids that produce non-infectious virus particles. AIDS Vaccine Conference 2003, New York, Sep 18-21, 2003.

Hayami, M., Miura, T., Ibuki, K., Kozyrev I.: Development of ANTI-HIV-1 attenuated vaccines using gene-modified SHIV having HIV-1env. 11th International Conference "AIDS, Cancer and related Problems", St. Petersburg, October 6-10, 2003.

Kozyrev I., Miura, T., Sakai, K., Takahashi, E., Shinohara, K., Suzuki, H., Boltovets, P., Ibuki, K., Hayami, M.: Comparative analysis of acute pathogenic and less pathogenic molecular of SHIV. 11th International Conference "AIDS, Cancer and related Problems", St. Petersburg, October 6-10, 2003.

Kozyrev L. I., Miura, T., Sakai, K., Takahashi, E., Shinohara, K., Suzuki, H., Ibuki, K.,

- Hayami, M.: Comparative analysis of acute pathogenic and less pathogenic SHIV molecular clones. 21th Annual Symposium on Nonhuman Primate models for AIDS. Seattle, October 22-25, 2003.
- Suzuki, H., Suzuki, M., Ibuki, K., Masuda, K., Minato, N., Kawamoto, H., Nakasone, T., Honda, M., Hayami, M., Miura, T.: The effects of pathogenic SHIV infection on the thymus and intrathymic T cell progenitor in rhesus monkeys. 21th Annual Symposium on Nonhuman Primate models for AIDS, Seattle, October 22-25, 2003.
- Ibuki, K., Enose, Y., Miyake, A., Suzuki, H., Takahashi, M., Horiuchi, R., Saito, N., Nakasone, Y., Ami, Y., Izumi, Y., Honda, M., Takahashi, H., Miura, T., Hayami, M.: Analysis of viral expansion and immune reaction at early phase of acute pathogenic SHIV intrarectal infection in macaques. 21th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Seattle, October 22-25, 2003.
- Akiyama, H., Ido, E., Ibuki, K., Miura, T., Hayami, M.: Construction and in vivo infection of a novel simian/human immunodeficiency chimeric virus containing the reverse transcriptase, integrase and the 3' half of the genomic region of HIV-1. 21th Annual Symposium on Nonhuman Primate models for AIDS, Seattle, October 22-25, 2003.
- 三浦智行、阪井弘治、篠原克明、高橋栄治、ユウリ・コズレフ、鈴木元、伊吹謙太郎、速水正憲：サル/ヒト免疫不全キメラウイルス強毒・弱毒分子クローンの塩基配列と増殖能との関連、第 135 回日本獣医学会、東京、2003 年 3 月 30 日～4 月 1 日
- 鈴木元、鈴木麻貴子、三宅在子、伊吹謙太郎、増田恭子、伊川友活、河本宏、仲宗根正、本多三男、速水正憲、三浦智行：強毒サル/ヒト免疫不全キメラウイルス感染初期における胸腺組織及び胸腺内 T 前駆細胞の解析、第 136 回日本獣医学会、青森、2003 年 10 月 3 日～5 日
- 伊吹謙太郎、榎瀬良美、三宅在子、鈴木元、高橋めぐみ、堀内励生、齋藤尚紀、仲宗根正、本多三男、高橋秀実、速水正憲、三浦智行：強毒 SHIV の経直腸感染初期における腸管粘膜免疫細胞の動態、第 136 回日本獣医学会、青森、2003 年 10 月 3 日～5 日
- 堀内励生、伊吹謙太郎、榎瀬良美、三宅在子、鈴木元、高橋めぐみ、齋藤尚紀、仲宗根正、本多三男、高橋秀実、速水正憲、三浦智行：強毒 SHIV のアカゲザル経直腸感染初期における腸管粘膜免疫応答の解析、日本ウイルス学会、京都、2003 年 10 月 27 日-29 日
- 秋山尚志、井戸栄治、大倉定之、鈴木元、伊吹謙太郎、石松美沙、三浦智行、速水正憲：HIV-1 由来の逆転写酵素、インテグラーゼおよび env を含むゲノムの 3' 側遺伝子を持つ新しい SHIV のサル感染実験、日本ウイルス学会、京都、2003 年 10 月 27 日-29 日
- 三宅在子、伊吹謙太郎、榎瀬良美、鈴木元、堀内励生、齋藤尚紀、仲宗根正、本多三男、速水正憲、三浦智行：病原性 SHIV の粘膜感染初期におけるウイルス動態の解析、日本ウイルス学会、京都、2003 年 10 月 27 日-29 日
- 宮崎恭行、桑田岳夫、榎瀬良美、風田川妙、伊吹謙太郎、速水正憲：SHIV 持感染サルにおけるマクロファージブロッカー（カラギーナン）投与による影響、日本ウイルス学会、京都、2003 年 10 月 27 日-29 日
- 三浦智行、コズレフユウリ、阪井弘治、篠原克明、高橋栄治、鈴木元、伊吹謙太郎、速水正憲：サル/ヒト免疫不全キメラウイルス感染性クローンにおける塩基置換と病原性との関連、日本ウイルス学会、京都、2003 年 10 月 27 日-29 日
- 濱野章子、石田尚臣、伊吹謙太郎、三浦智行、速水正憲、渡邊俊樹：潜伏化した強毒 SHIV 感染アカゲザル個体を用いた in vivo における SHIV-LTR のメチル化解析、日本ウイルス学会、京都、2003 年 10 月 27 日-29 日
- 堀内励生、井戸栄治、赤畑渉、榎瀬良美、伊吹謙太郎、三浦智行、後藤俊幸、高橋秀実、速水正憲：DNA vaccination of macaques by full-sized SHIV plasmids that produce non-infectious virus particles, The 10th East Asian Joint Symposium on Biomedical Research (東アジアシンポジウム)、京都、2003 年 11 月 18-19 日
- 齋藤尚紀、高橋めぐみ、赤畑渉、清水真澄、日高千鶴乃、新谷英滋、伊吹謙太郎、三浦智行、速水正憲、高橋秀実：SIV/SHIV 接種ザルにおける NKT 細胞の動態解析に向けて：サル CD1d 分子の解析と発現：日本エイズ学会、神戸、2003 年 11 月 27 日-29 日
- 清水佑也、宮崎恭行、鈴木元、伊吹謙太郎、三浦智行、速水正憲、芳賀猛：TNF- α 遺伝

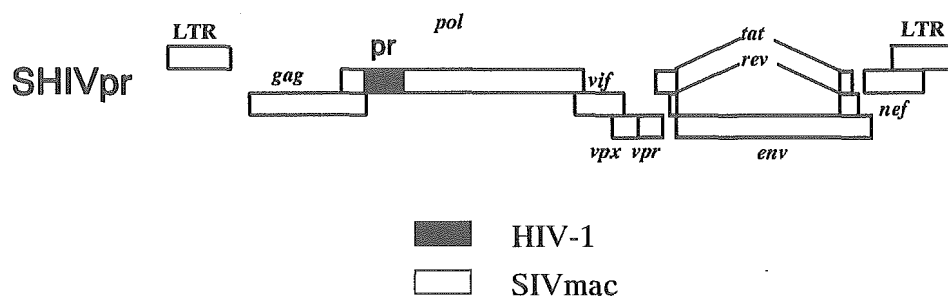
子組み込み SHIV 感染ザルにおける細胞死
と免疫応答、日本エイズ学会、神戸、2003
年 11 月 27 日-29 日

Iouri Kozyrev、阪井弘治、高橋栄治、篠原克
明、鈴木元、伊吹謙太郎、速水正憲：Genetic
analysisi of acute pathogenic and less
pathogenic SHIV molecular clones to
determine the responsive for in vivo
pathogenicity、日本エイズ学会、神戸、2003
年 11 月 27 日-29 日

石松美沙、井戸栄治、秋山尚志、三浦智行、
伊吹謙太郎、速水正憲：サルの SHIV 感染
に対する IL-15 投与効果の解析、日本エイ
ズ学会、神戸、2003 年 11 月 27 日-29 日

H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）
今のところなし。

SHIV-prの遺伝子構造



SHIV-pr接種アカゲザル（初代）におけるウイルス分離とPA抗体価の結果

Week	0	1	2	3	4	6	8	11	15	20	27	31	45	51	
ウイルス分離															
MM236	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	ND
MM239	—	—	+	+	+	+	—	—	—	—	+	—	—	—	
PA抗体価 (Genedia HIV-1/2)															
MM236	<32	<32	<32	32	32	32	256	256	256	256	256	256	256	256	ND
MM239	<32	<32	<32	<32	<32	<32	256	1024	1024	1024	4096	≥16384	≥16384	≥16384	