

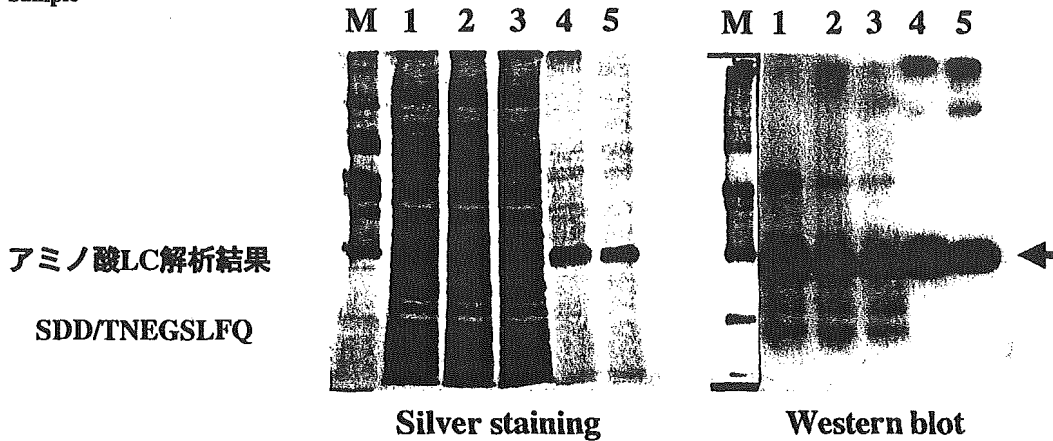
## 9F11 affinity purification

Cell lysate (MT-4)

- ↓ added saturated ammonium sulfate (30%)
- ↓ rotated for 1hr at 4°C
- ↓ centrifuged for 20 min at 15,000 rpm
- ↓ collected the supernatant
- ↓ added saturated ammonium sulfate (60%)
- ↓ rotated for 1hr at 4°C
- ↓ centrifuged for 20 min at 15,000 rpm
- ↓ decanted the supernatant
- ↓ dissolved the precipitate in water

Sample

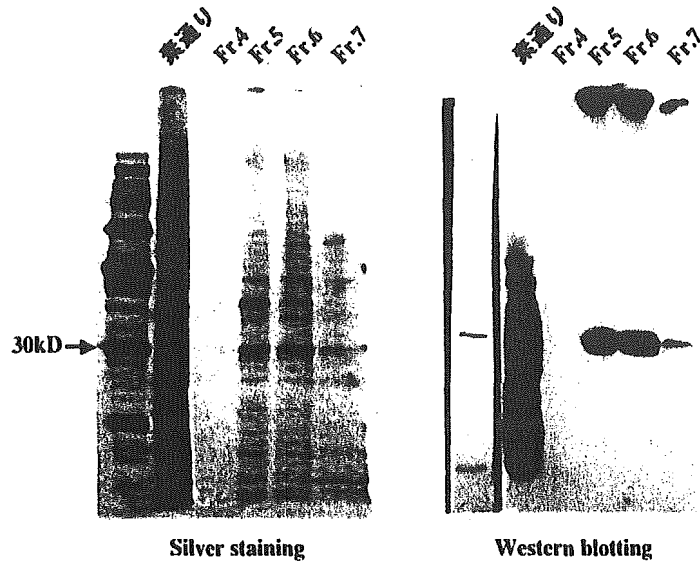
1. 硫酸後
2. pre column処理後
3. 9F11 column未吸着
4. Elution (pH3)
5. Elution (heat)



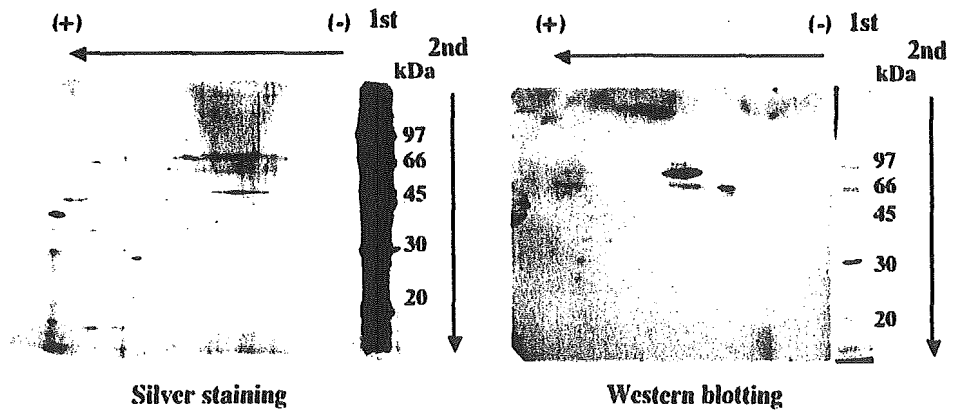
### 9F11抗原のまとめ

- 9F11はHIV感染細胞やATL細胞に特異的に反応性を示す。
- PHAなどで活性化されたリンパ球に抗原誘導される。
- Western Blotで30kDにバンドが検出される。
  
- 遺伝子発現クローニングによりP70が同定された。
- P70は細胞内シグナル伝達に係るタンパク質である。
- 9F11はrecombinant P70に反応性を示す。
- Polyclonal anti-P70抗体は30kDにバンドを示さない。

## Purification of 9F11 Ag by affinity column

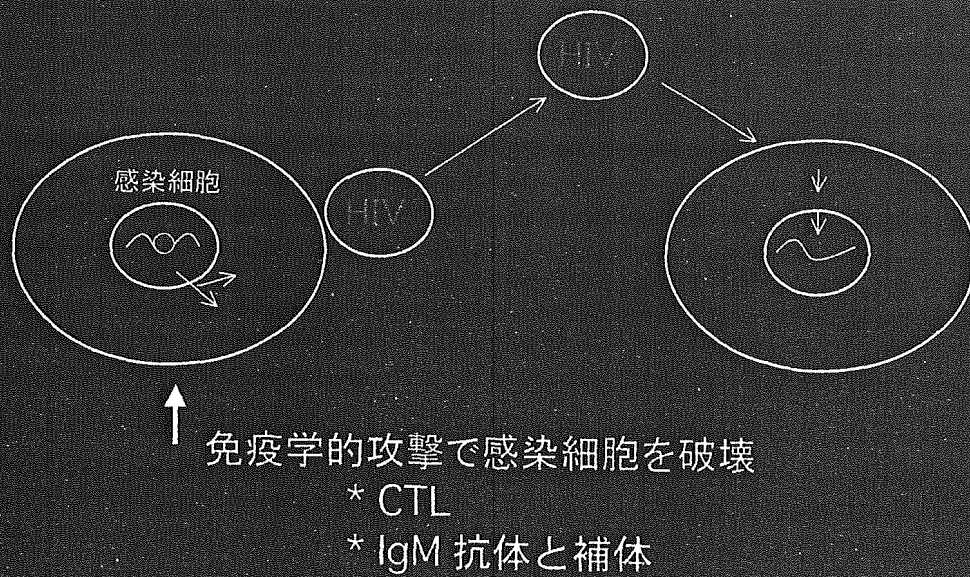


## 2-D electrophoresis of 9F11 Ag

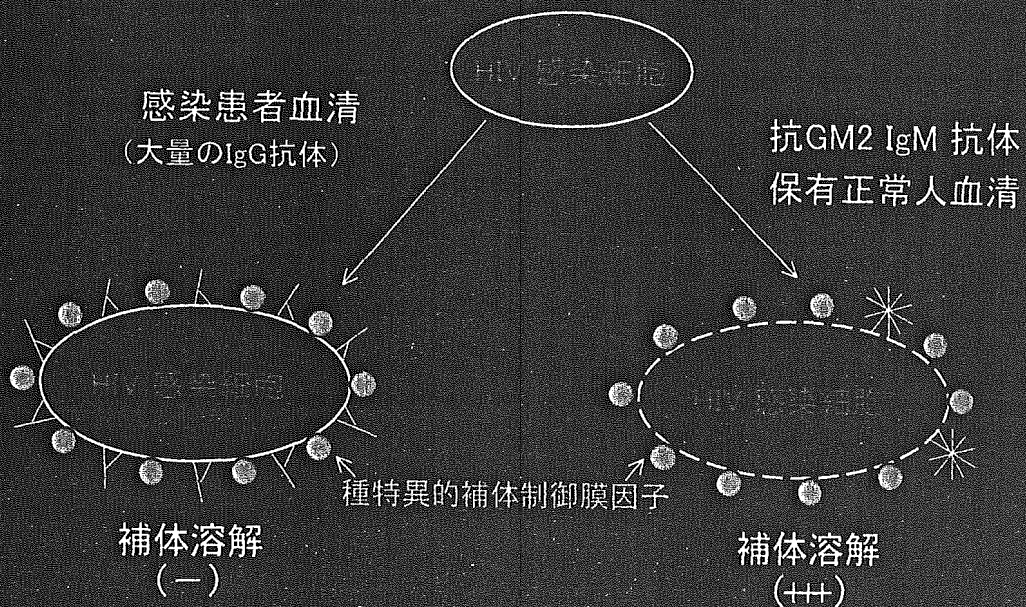


## <研究の目的>

抗HIV化学療法剤は体内での感染拡大は抑制できるが感染細胞は殺せない。

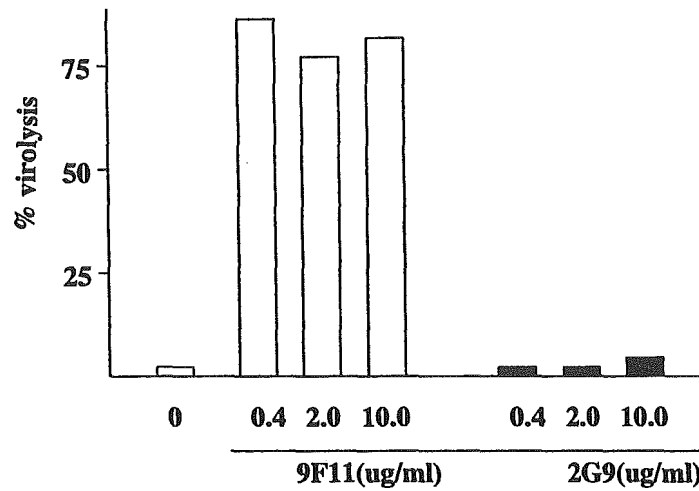


## <研究の背景>

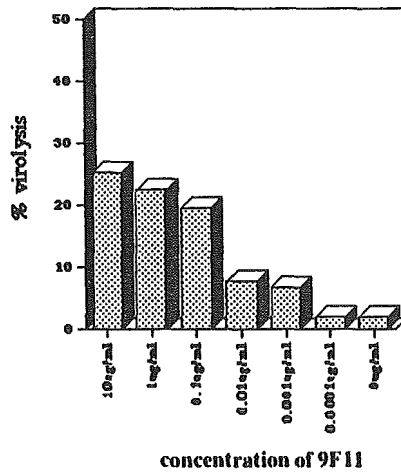


IgM 抗体は種特異的補体制御膜因子の制御に打ち克って補体を活性化し易い。

## Effect of 9F11 on complement dependent HIV-virolysis



HIV-III<sub>B</sub> virions were collected by 1x10<sup>5</sup>g centrifugation of MOLT4/III<sub>B</sub> culture sup. and then incubated with or without each amount of 9F11 or 2G9 with 25% fresh human serum.



**(Method)**

- Culture supernatant of MOLT-4/III<sub>B</sub> (2 ml)
- ↓ centrifuged at 100,000xg for 30 min
- ↓ removed 1.8 ml of the supernatant
- ↓ resuspended in 2 ml of RPMI 1640 medium (HIV-1 preparations)
- ↓ incubated 100 μl of HIV-1 preparations at 37°C for 1 hr with 25% FHS in 9F11 Ab (total 200μl)
- ↓ centrifuged at 100,000xg for 30 min
- ↓ collected 100 μl of the supernatant
- Measured the degree of p24 in the supernatant by a p24 ELISA kit

$$\% \text{ virolysis} = [(A-C) / (B-C)] \times 100$$

- A : p24 in supernatant
- B : Maximum p24 (lysis with 1% Triyon-X)
- C : Spontaneous p24 (incubated in Ab alone)

# 9F11投与SIV感染サルの解析

名古屋市立大学大学院医学研究科

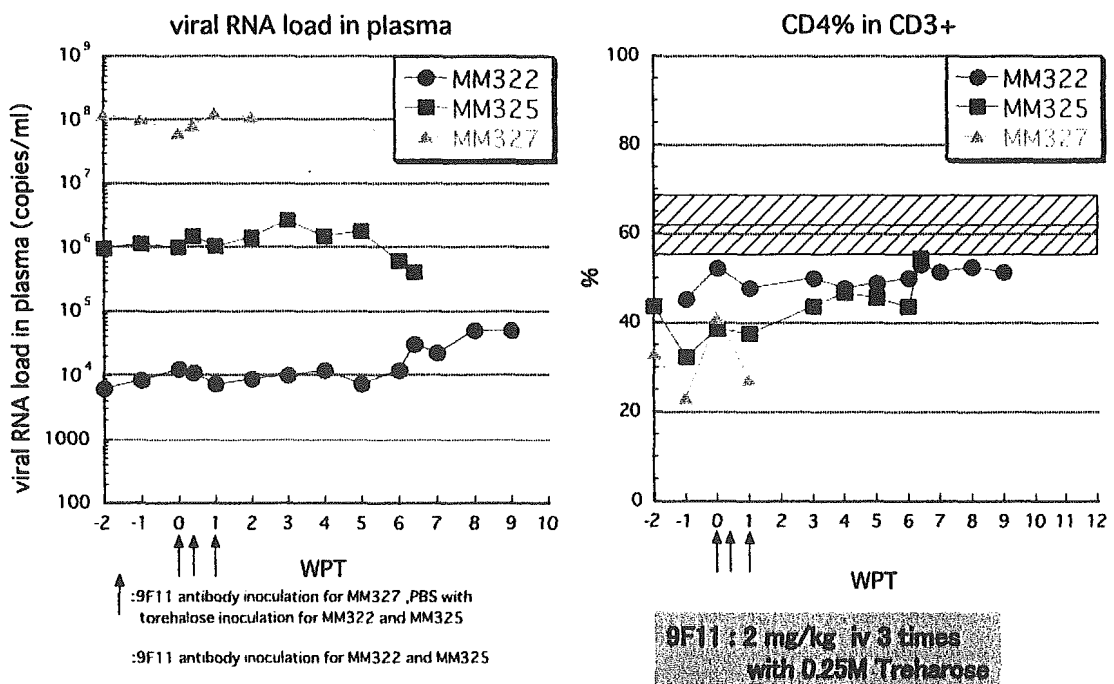
岡田則子、宮本ミズユ

福祉村病院長寿医学研究所

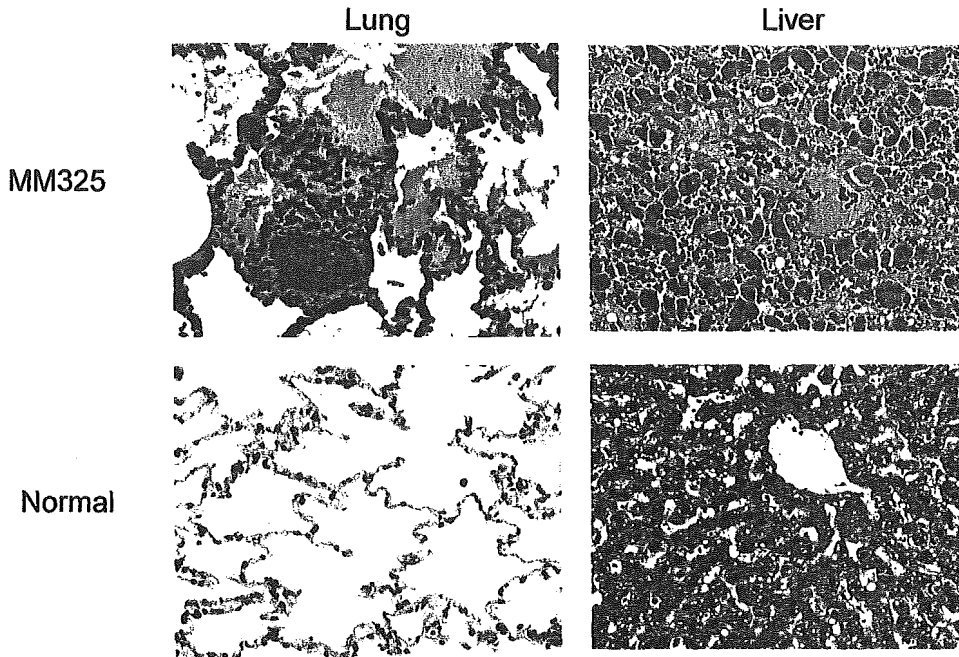
岡田秀親

9F11/SIV

## Administration of 9F11 to SIV-infected Monkey

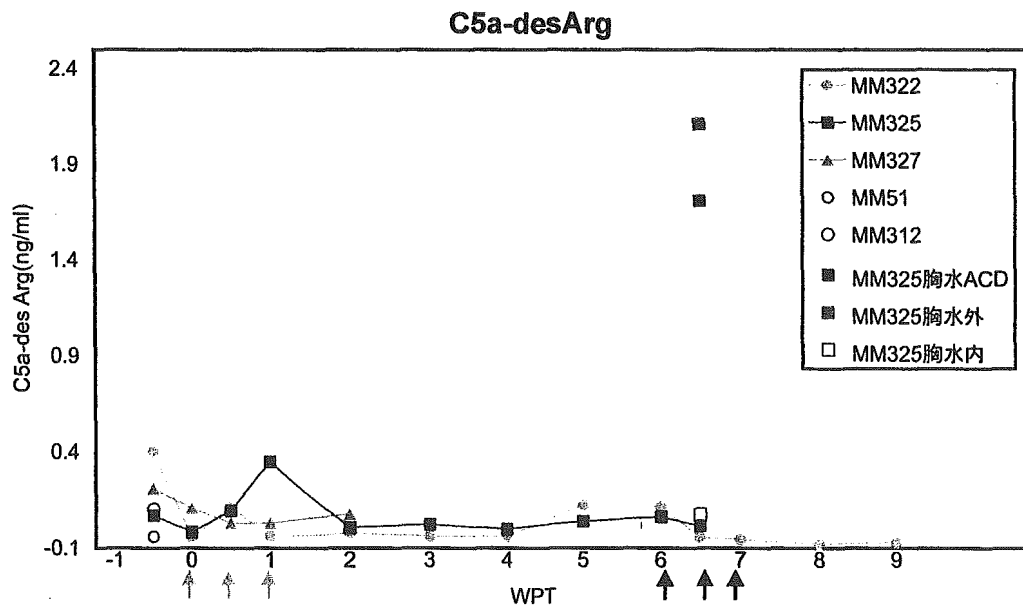


9F11投与後に急死したSIV感染サル(MM325)の組織染色像(HE染色)



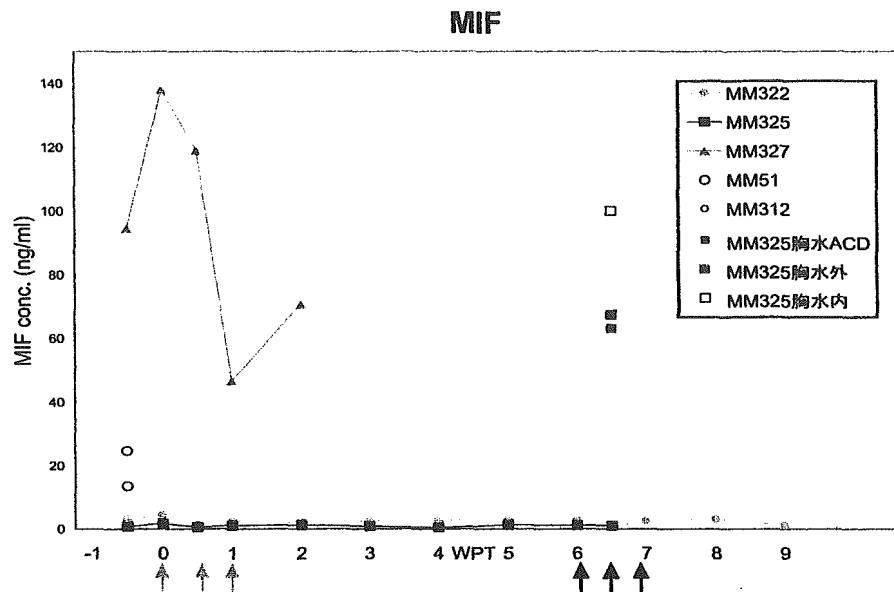
急性心不全によるアナフィラキシーショック特有の強度の鬱血、浮腫が肺および肝臓で観察される。

9F11-SIV感染サルのC5a産生



\* ショック死したサルの胸水中に多量のC5a(1.7~2.2ng/ml)が検出された。

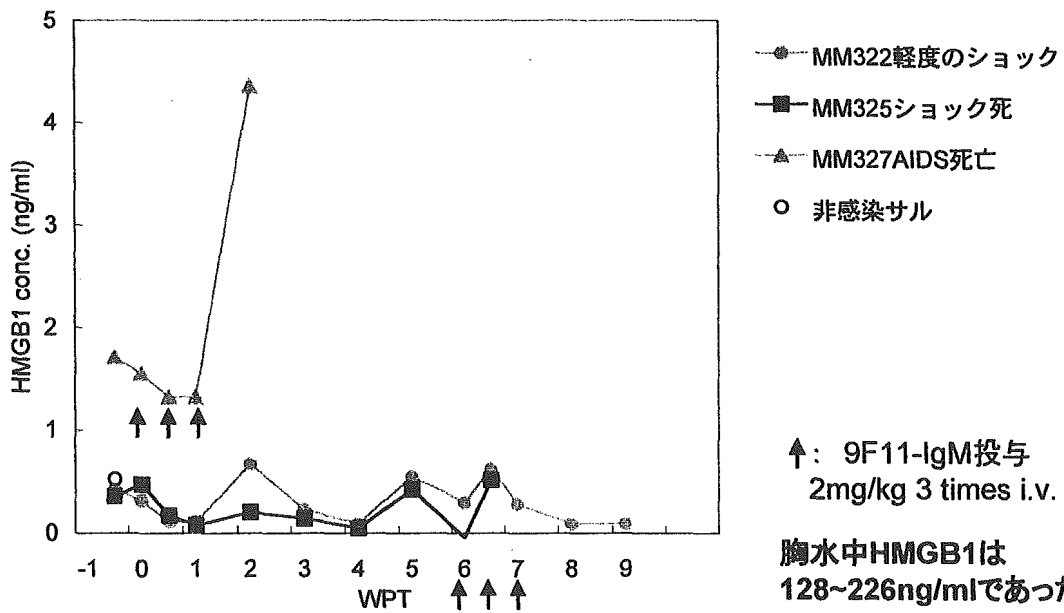
# 9F11-SIV感染サルのMIF産生



- \* ショック死したサルでは多量のMIF(60~100ng/ml)が胸水中に検出された。
- \* AIDS末期のSIV感染サルでは多量のMIF(43~140ng/ml)が血漿中に検出された。

9F11/HMGB1

## HMGB1 level in plasma during 9F11-IgM administration in SIV-infected Monkey



- \* AIDS末期のSIV感染サルの血漿中にはHMGB1(1.2~4.4ng/ml)が検出された。

## 結果のまとめ

•9F11 (ヒトIgMモノクローナル抗体)をSIV感染サルに2 mg/kgにて1Wに3回でi.v.投与した。

•MM327は投与後、1WにAIDSにて死亡した。このサルの血漿中MIFおよびHMGB1は死亡2W以前より高値を示した。C5aは検出されなかった。

•MM325は投与2回目にショック死した。このサルの胸水中のC5a、MIF、HMGB1はいずれも高値を示した。血漿中ではいずれも検出されなかった。

•MM322の血漿中C5a, MIF, HMGB1、いずれも検出されなかった。

**SIV感染末期サルの血漿中MIFおよびHMGB1レベルは高値を示す。**

**SIV感染サルIgMショック死においては、胸水中C5a、MIF、HMGB1が高値を示す。**



## 患者血液中 HIV 感染細胞の排除に関する研究

### —フローサイトメトリーによる HIV-1 感染患者の末梢 T リンパ球における 9F11 抗原発現の解析—

分担研究者 金田次弘 (国立病院機構名古屋医療センター 臨床研究センター)

共同研究者 萩原智子 (国立病院機構名古屋医療センター 臨床研究センター)

矢田啓二 (国立病院機構名古屋医療センター 研究検査科)

土肥名月 (名古屋市立大学大学院分子医学研究所)

岡田則子 (名古屋市立大学大学院分子医学研究所)

#### 研究概要

HIV-1 感染患者および健常人の末梢血リンパ球における 9F11 抗原の発現についてフローサイトメトリーにて解析した。患者 4 例における陽性率は、CD4 陽性 T リンパ球では 10.1~44.5 (平均 28.9) %、CD8 陽性 T リンパ球は 11.9~66. 9 (34.6) %であった。健常人 1 例の陽性率は CD4 陽性 T リンパ球で 5.5%、CD8 陽性 T リンパ球は 13.0%であり、どちらも患者より低い値であった。9F11 抗原は患者検体でその発現が亢進している可能性はあるが、健常人リンパ球の一部にも検出されることより、その特異性は低いと思われる。

#### A. 研究目的

9F11 抗原は HIV-1 持続感染細胞 MOLT4-III B を免疫して得られた抗体であり、9F11 抗原が HIV-1 感染細胞に特異的に発現することが期待されていた。しかし、昨年度の研究で、HIV-1 感染患者 CD4 陽性 T リンパ球の約 12%に 9F11 抗原が発現しており、又、予想に反して、健常人の CD4 陽性 T リンパ球の約 5%にも本抗原が発現していることを報告した。昨年度は免疫組織化学的手法を用いた研究であったので、本年度はフローサイトメトリーを用いてより定量性を高め、かつ、CD8 陽性 T リンパ球での発現も検討した。

#### B. 研究方法

##### 単核細胞分離

Ficoll-Paque Plus (Amersham Bioscience 17-1440-02) を用いて単核細胞を分離し、2% FCS 添加 PBS(-)で洗浄後、細胞懸濁液の濃度を約  $2 \times 10^7$  個/mlにした。

##### ビオチン標識 9F11 抗体の反応

細胞懸濁液 50  $\mu$ l にビオチン標識 9F11 抗

体 8  $\mu$ l、RPE-Cy5 標識抗 CD3 抗体 (DAKO C7067) 10  $\mu$ l を加え、次いで、CD4 解析用には RPE 標識抗 CD4 抗体 (DAKO R0805) を CD8 解析用には RPE 標識 CD8 抗体 (DAKO R0806) を 10  $\mu$ l 加えて冷暗所で 45 分間反応させた。陰性対照は、細胞懸濁液にビオチン標識 9F11 抗体を加えず、RPE-Cy5 標識抗 CD3 抗体と RPE-マウス IgG1 (DAKO X0928) 各 10  $\mu$ l 加えたものとした。

##### 二次抗体の反応

一次抗体とインキュベートした細胞を 2 回洗浄した後、検体および陰性対照に FITC 標識ストレプトアビジン (DAKO F0422) 30  $\mu$ l を加えて、冷暗所で 30 分間反応させた。

##### 固定

2 回洗浄した後、1% PFA 500  $\mu$ l を加え、測定まで冷暗所に保存した。

##### フローサイトメトリー解析

リンパ球分画をゲーティングし、次いで CD3 陽性 T リンパ球をゲーティングした。その領域内で 9F11 (FITC) と CD4 (RPE)、9F11 (FITC) と CD8 (RPE) をそれぞれ解析した。解析には

FACSCalibur フローサイトメーター (BD Biosciences) を用いた。

### C. 研究結果

最初に、9F11 抗体に対する二次抗体である FITC 標識ストレプトアビジンの末梢リンパ球に対する非特異的反応は約 1%であることを確認した。次に、HIV-1 感染患者 4 例と健常人 1 例の T リンパ球について 9F11 抗原の発現を解析した。図 1 と 2 に患者 #1 のフローサイトメリーの結果を示した。この症例では CD4 陽性 T リンパ球の 19%、CD8 陽性 T リンパ球の 26.5% が 9F11 陽性であった。4 例の患者検体の結果を表 1 に示したが、CD4 陽性 T リンパ球のうち 9F11 陽性を示す細胞は 10.1~44.5 (平均 28.9) %、健常人は 5.5% であった。CD8 陽性 T リンパ球では患者で 11.9~66.9 (34.6) %、健常人は 13.0% であった。どちらの場合も患者検体は健常人検体と比較して有意に 9F11 陽性率が高かった(図 3)。

### D. 考察

フローサイトメリーの結果から、9F11 抗原は、約 30% の CD4 陽性 T リンパ球と CD8 陽性 T リンパ球の両者に発現していた。一方、健常人の T リンパ球にも少数ながら発現が認められた。これにより、9F11 抗原は HIV-1 感染により、発現量が増強される抗原である可能性があるが、HIV-1 感染によって特異的に発現が誘導される抗原ではないと思われた。

### E. 研究発表

#### 1. 論文発表

1. New estimation method for highly sensitive quantitation of human immunodeficiency virus type 1 DNA and its application.  
H. Nagai, K. Wada, T. Morishita, M. Utsumi, Y. Nishiyama and T. Kaneda  
J. Virol. Methods 124, 157-165 (2005).

2. HPLCによるプロテアーゼ阻害剤アタザナビル血中濃度測定法の開発。

高橋昌明、吉田昌生、大木 剛、奥村直哉、

鈴木達男、金田次弘

日本病院薬剤師会雑誌、41, 731-734 (2005).

3. カレトラ™投与外来 HIV 感染患者における脂質

異常とロピナビル血中濃度の評価。

高橋昌明、吉田昌生、大木 剛、奥村直哉、

鈴木達男、金田次弘

日本病院薬剤師会雑誌、41, 873-876 (2005).

4. Conventional HPLC Method Used for Simultaneous Determination of the Seven HIV

Protease Inhibitors and Nonnucleoside Reverse Transcription Inhibitor Efavirenz in

Human plasma.

M. Takahashi, M. Yoshida, T. Oki, N. Okumura,

T. Suzuki and T. Kaneda

Biol. Pharm. Bull., 28, 1286-1290 (2005).

5. PNA-In Situ Hybridization Method for Detection of HIV-1 DNA in Virus-Infected Cells and Subsequent Detection of Cellular and Viral Proteins.

T. Hagiwara, J. Hattori and T. Kaneda.

In Situ Hybridization Protocols 3<sup>rd</sup> edition (edited by I. A. Darby),

Humana Press, NJ, pp139-149 (2005).

#### 2. 学会発表

1. 未治療患者に検出された薬剤耐性 HIV-1 のウイルス学的特徴

伊部史朗、澤木 香、金田次弘

第 15 回抗ウイルス化学療法研究会(屋久

- 島)  
(平成 17 年 5 月)。
2. 末梢血 CD4 陽性 T リンパ球の HIV-1 DNA 定量の臨床意義  
金田次弘  
第 11 回東海 HIV 感染症研究会(平成 17 年 7 月)。
  3. HIV-1 薬剤耐性遺伝子検査法に関するアンケート調査  
浅黄 司、金田次弘、伊部史朗、松田昌和、吉田 繁、津畑千佳子、大家正泰、近藤真規子、貞升健志、瀧永博之、正兼亜季、佐藤克彦、秦 眞美、溝上康司、森 治代、南 留美、渡邊香奈子、岡 田清美、杉浦 互  
第 19 回日本エイズ学会総会(平成 17 年 12 月)。
  4. 未治療患者由来プロテアーゼ阻害薬剤耐性 HIV-1 の増殖能解析  
伊部史朗、藤崎誠一郎、藤崎彩恵子、金田次弘  
第 19 回日本エイズ学会総会(平成 17 年 12 月)。
  5. 新規 HIV-1 感染者における薬剤耐性の頻度に関する全国疫学調査  
—2003 年から 2004 年にかけての報告  
杉浦 互、瀧永博之、吉田 繁、千葉仁志、浅黄 司、松田昌和、岡 慎一、近藤真規子、今井光信、貞升健志、長島真美、伊部史朗、金田次弘、濱口元洋、上田幹夫、正兼亜季、大家正義、渡邊香奈子、白坂琢磨、山本善彦、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、健山正男、藤田次郎  
第 19 回日本エイズ学会総会(平成 17 年 12 月)。
  6. プロテアーゼ阻害薬 7 剤とエファビレンツの同  
時血中濃度測定法の開発及びその臨床応用  
高橋昌明、伊部史朗、久高祐一、奥村直哉、鈴木達男、金田次弘  
第 19 回日本エイズ学会総会(平成 17 年 12 月)。
  7. B、CRF01\_AE を含む複数のサブタイプの HIV-1 定量法の確立  
水野善文、永井裕美、加堂真由、渡辺朝子、森下高行、山本直彦、伊部史朗、重見 麗、藤崎誠一郎、稲田頼太郎、金田次弘  
第 19 回日本エイズ学会総会(平成 17 年 12 月)。
  8. HAART 著効例 HIV-1 感染患者における残存 HIV-1 プロウイルス複製レベルの評価  
永井裕美、水野善文、加堂真由、服部純子、濱口元洋、間宮均人、西山幸廣、金田次弘  
第 19 回日本エイズ学会総会(平成 17 年 12 月)。
  9. Persistence of protease inhibitor-resistant HIV-1 in therapy-naïve patients  
T. Kaneda, S. Ibe, K. Sawaki, T. Morishita, U. Shigemi, N. Mamiya and M. Hamaguchi  
2<sup>nd</sup> International Workshop on HIV Persistence during Therapy  
Saint Martin, FWI, December 6-9, 2005

フローサイトメトリーによる HIV-1 感染患者の末梢 T リンパ球における  
9F11 抗原発現の解析

分担研究者 金田次弘 (国立病院機構名古屋医療センター 臨床研究センター)

共同研究者 萩原智子 (国立病院機構名古屋医療センター 臨床研究センター)

矢田啓二 (国立病院機構名古屋医療センター 研究検査科)

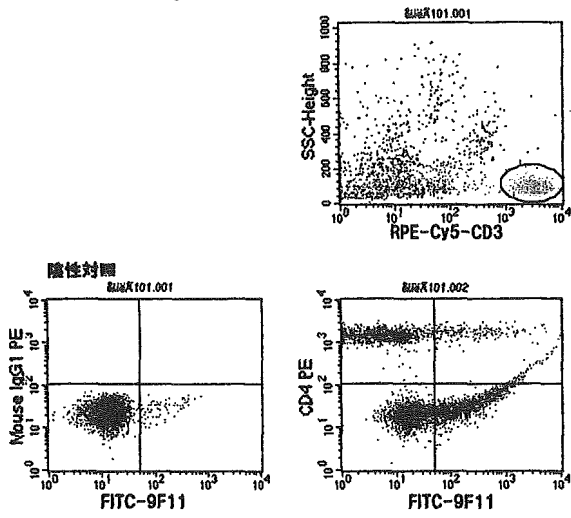
土肥名月 (名古屋市立大学大学院分子医学研究所)

岡田則子 (名古屋市立大学大学院分子医学研究所)

図1 9F11が覆はる患者

CD4陽性Tリンパ球

患者 1)

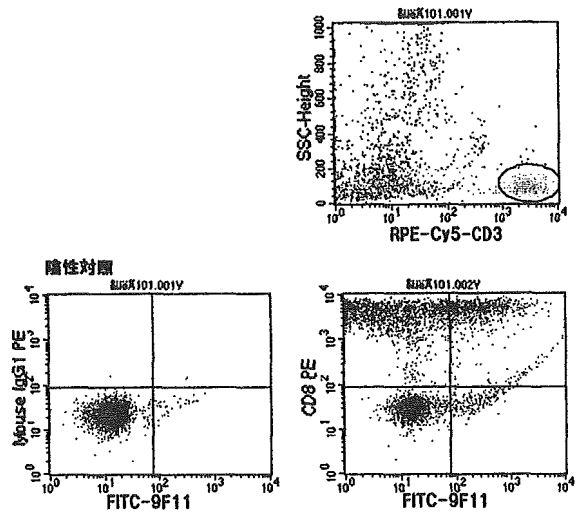


CD3+, CD4+ 1197+280=1477  
 CD3+, CD4+, 9F11+ 280  
 9F11抗陽細胞率 280/1477 19.0%

図2 9F11が覆はる患者

CD8陽性Tリンパ球

患者 1)



CD3+, CD8+ 2185+789=2974  
 CD3+, CD8+, 9F11+ 789  
 9F11抗陽細胞率 789/2974 26.5%

図3 患者と健康者の9F11抗陽性率

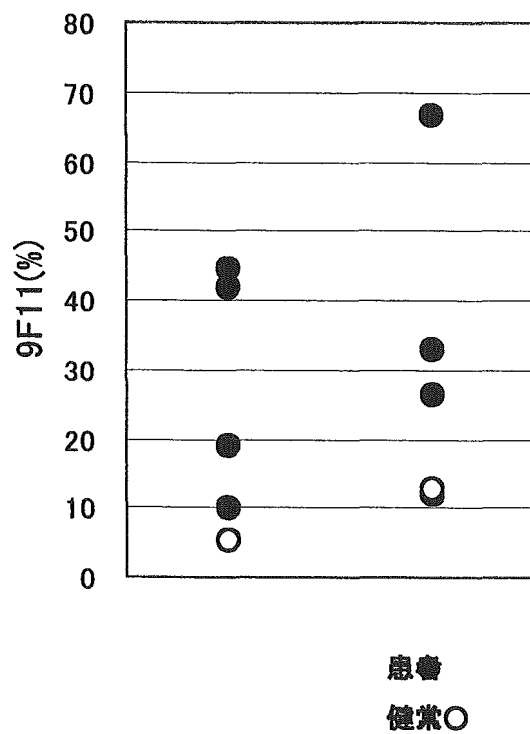


表1 9F11抗陽性 Tリン球率

患者	CD4+		CD8+	
	Tリン球 (%)		Tリン球 (%)	
No.1	19.0		26.5	
No.2	10.1		11.9	
No.3	41.9		33.0	
No.4	44.5		66.9	
平均	28.9		34.6	
健康	5.5		13.0	

分担研究報告書

IgM 抗体依存性の炎症反応の制御

分担研究者 岡田 秀親 福祉村病院長寿研 顧問研究員  
研究協力者 名古屋市立大学大学院医学研究科 岡田 則子  
研究協力者 医学基盤研究所 寺尾 恵治、小野 文子  
研究協力者 京都大学ウイルス研究所 三浦 智行

研究要旨

IgM 抗体による治療法を推進確立するためには、ヒト生体内での IgM 抗体の反応により誘導される連鎖反応系を十分に考慮する必要がある。その最大のポイントとして生体内で IgM 抗体が大量に反応すると補体制御因子群の制御機能をオーバーカムして過度の補体活性化が進行し、その結果として、深刻な炎症病態を惹起する危険性が想定される。そこで、補体反応系での起炎反応の主要因子である C5a アナフィラトキシンを制御するペプチド剤についての検討も行った。カニクイザルを用いて、LPS 投与による致死性炎症反応を誘導し、その後に阻害ペプチドを持続投与する事により救命できることが確認された。IgM 抗体を SIV 感染サルに静脈内投与すると、投与後に死亡するケースが存在し、過剰炎症反応による C5a などの関与が確認された事より、IgM 抗体投与時に、C5a アナフィラトキシン阻害ペプチドを併用することは、IgM 抗体を用いる HIV 治療法確立において重要であると推察された。

A. 研究目的

HIV 感染細胞に反応するヒト IgM 抗体 (9F11 等) は HIV が感染した株化培養細胞に補体と共に働いて細胞障害を起こすことができる。さらにインフォームドコンセントを得た HIV 感染者の末梢血中リンパ球についての *ex vivo* の感染拡大培養系に 9F11 抗体を添加処理する実験系においても、HIV-p24 蛋白の産生が激減し検出限界以下にまで抑制する効果がある事が検証されているので、これらのヒト IgM 抗体をヒトに適用することにより、HIV 感染患者の血液

中に含まれる感染細胞や潜伏感染細胞を障害除去できる可能性が高いと考えられる。しかし、感染細胞やウイルス粒子に 9F11 抗体が反応して補体が大量に活性化されると、生体内においては、C5a アナフィラトキシンなどが大量に生成されるので、その制御法についての検討が必要である。そこで、C5a 阻害ペプチドの開発研究を行い、IgM などの抗体依存性の過度の炎症反応誘導の制御法についての検討も行った。

B. 研究方法

HIV感染患者の末梢血リンパ球（必要に応じCD8陽性細胞は除去しておく）の初代培養などに9F11等と新鮮ヒト血清補体を添加することによる感染リンパ球の排除を検討すると同時に、添加新鮮血清中の活性化補体中間産物であるC5aやサイトカインTNF- $\alpha$ などの培養液中での産生量を検討した。なお、HIV感染患者リンパ球の増殖は、名古屋市立大学分子医学研究所のP3実験施設を用いた。過剰な補体反応による炎症反応増大により生ずる副作用の可能性に対処するため、C5a阻害ペプチドの炎症反応制御効果についてin vitro およびサル等を用いた in vivo 実験系にて検討した。IgM抗体をSIV感染サルに静脈内投与した実験において、投与後に死亡した例が存在し、その組織および血漿などの保存試料について炎症病態の状況を解析した。

#### （倫理面への配慮）

HIV感染患者の末梢血を用いての解析に際しては、国立名古屋病院倫理委員会の承認のもとに、実験目的などを明確に説明して、書面による同意を得た上で患者末梢血の採取を行って実験を実施した。また、医学基盤研究所霊長類医学研究センターの倫理委員会の承認のもとに、詳細な実験計画を検討して、サルを用いた動物実験を行った。

#### C. 研究結果

HIV感染患者の末梢血に9F11及び、補体として新鮮ヒト血清を添加して翌朝まで培養した。抗体を洗浄除去した後、抗CD3で刺激すると共にIL2を添加して10日間培養を行った。9F11を作用させない場合のコ

ントロールでは、殆どの症例でHIVコア蛋白のp24抗原が検出されたが、9F11処理した群では、p24抗原量が大幅に抑制されていた。

この培養上製中のTNF-a量を測定したところ、高い産生量を示した。また、同様にC5a量の測定を行ったが検出限界以下であった。

C5aを阻害する相補性ペプチドPepAを創生できたので、PepAの改良を行いN末のアラニンをアセチル化したAcPepAは安定性が増し、ラットやマウスで炎症抑制作用を示すことがわかった。そこでLPS投与で血圧低下を起こさせたサルにAcPepAを投与するとショックを軽減させる効果があった。また、致死量のLPS投与を行ったサルにLPS投与30分後より、AcPepAを持続投与した結果、7頭のサル全例で救命効果が得られた。これらの致死および救命サルの血漿中のTNF-a, MIF, HMGB1量をELISA測定した結果、いずれも救命サルにおいては低値を示していた。

さらに、IgM抗体投与SIV感染サルにおいて、死亡したケースの血漿、胸水において、同様の検討を行い、胸水中でのC5a, MIF, HMGB1レベルの著明な上昇が認められた。

#### D. 考察

9F11抗原は、HIV感染により発現誘導されて細胞膜上に現れる分子であるが、正常Tリンパ球が抗CD3抗体とIL-2で活性化されても発現する膜抗原であるので、HIV感染患者末梢血リンパ球を9F11と血清補体で処理する場合には、抗CD3抗体での活性化を行う前に行う必要がある。9F11とヒト血清補体の処理で、10日後の培養上



清中の p24 抗原を激減できることがわかった。一方、9F11 は細胞溶解を起こすほどの補体反応を誘起するので、過剰補体反応に起因する強力な炎症反応病態への対応も必要であると想定され、C5a 阻害ペプチド剤 AcPepA は多くの炎症反応実験系において *in vitro* および *in vivo* での抗炎症効果が確認できた。LPS 投与により誘導されるエンドトキシンショックによる致死病態に対しても、AcPepA 投与で明らかな救命効果が得られたことの意義は大きいものと考察される。IgM 抗体投与による HIV 治療をヒトに適用する上で C5a 制御は重要であり、AcPepA などの C5a 阻害剤を併用することにより、安全でより有効な抗 HIV 治療法が確立するものと期待出来る。

#### E. 結論

9F11 ヒト IgM 抗体で HIV 感染患者末梢血を処理してから抗 CD3 抗体と IL-2 で刺激して培養増殖させると HIV 感染細胞を有意に抑制と考えられる。また、IgM 抗体による、強い補体活性化反応誘導により懸念される過剰炎症病態の制御に AcPepA の有用性が示唆された。

#### F. 健康危険情報

9F11 抗原は正常の活性化 T リンパ球などにも発現するので、ヒトに投与する場合には、一時的に免疫抑制作用が現れる可能性がありうる。補体活性化の副作用についての考慮も必要である。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Kimbara, N., Dohi, N., Miyamoto, M., Asai, S., Okada, H. and Okada, N.

Diagnostic surface expression of SWAP-70 on HIV-1 infected cells. *Microbiol. Immunol.* 2006, in press

- 2) Abe, M., Hama, H., Shirakusa, T., Iwasaki, A., Ono, N., Kimura, N., Hugli, T.E., Okada, N., Katsuragi, T. & Okada, H. Contribution of anaphylatoxins to allergic inflammation in human lungs. *Microbiol. Immunol.* 49: 981-986, 2005.
- 3) Okada, N., Yin, S., Asai, S., Kimbara, N., Dohi, N., Hosokawa, M., Wu, X., & Okada, H. Human IgM monoclonal antibodies reactive with HIV-1 infected cells generated using a trans-chromosome mouse. *Microbiol. Immunol.* 49: 447-459, 2005.
- 4) Fujita, E., Farcus, I., Campbell, W., Baranyi, L., Okada, H. & Okada, N. Inactivation of C5a anaphylatoxin by a peptide which is complementary to a region of C5a. *J. Immunol.* 172: 6382-6387, 2004.
- 5) Hosokawa, M., Imai, M., Okada, H. and Okada, N. Inhibition of HIV-1 infection in cells expressing an artificial complementary peptide. *BBRC* 324: 236-240, 2004.
- 6) Fujii, Y., Murase, Y., Otake, K., Yokota, Y., Omoto, S., Uayashi, H., Okada, H., Okada, N., Kawai, M., Okuyama, H., & Imakawa, K. A potential live vector, Foamy virus, directed intra-cellular expression of ovine interferon-tau exhibited the

- resistance to HIV infection. *JVMS*, 66: 115-121, 2004.
- 7) Otake, K., Omoto, S., Yamamoto, T., Okuyama, H., Okada, H., Okada, N., Kawai, M., Saksena, N. K., & Fujii, Y. R. HIV-1 Nef protein in the nucleus induces adipogenesis as well as viral transcription through the peroxisome proliferator-activated receptors. *AIDS*, 18: 1-10, 2004.
- 8) Ohta, R., Kondor, N., Dohi, N., Tomlinson, S., Imai, M., Holers, VM., Okada H., and Okada, N. Mouse Crry/65 neutralized tumor vaccine induces antitumor activity in vivo. *J. Immunol.* 173: 205-13, 2004.
- 9) Asai, S., Sato, T., Tada, T., Miyamoto, T., Kimbara, N., Motoyama, N., Okada, H. & Okada, N. Absence of ProCarboxypeptidase R induces Complement-mediated lethal inflammation in LPS-primed mice. *J. Immunol.* 173:4669-74, 2004.
- H. 知的所有権の出願・取得状況
- ・特許第 3463143 号「糖鎖認識抗体及び HIV 感染症資料剤」（平成 15 年 8 月 22 日）特許権者：岡田秀親；発明者：岡田秀親、岡田則子。
  - ・特願 2003-74316（平成 15 年 3 月 25 日提出）「HIV 感染細胞にアポトーシスを誘導するヒト IgM 抗体及び HIV 感染症治療剤」出願人：岡田秀親、岡田則子；発明者：岡田秀親、岡田則子
  - ・国際出願番号 PCT/JP03/08305（2003 年 6 月 30 日）
  - ・特願 2003-74312（平成 15 年 3 月 25 日提出）「活性化リンパ球を同種補体を介して溶解させるヒト IgM 抗体」出願人：岡田秀親、岡田則子；発明者：岡田秀親、岡田則子
  - ・国際出願番号 PCT/JP03/08306（2003 年 6 月 30 日）

過剰補体反応により誘導される  
炎症反応性ショック制御の研究

福祉村病院長寿医学研究所

岡田秀親

医学基盤研究所 霊長類医科学研究センター

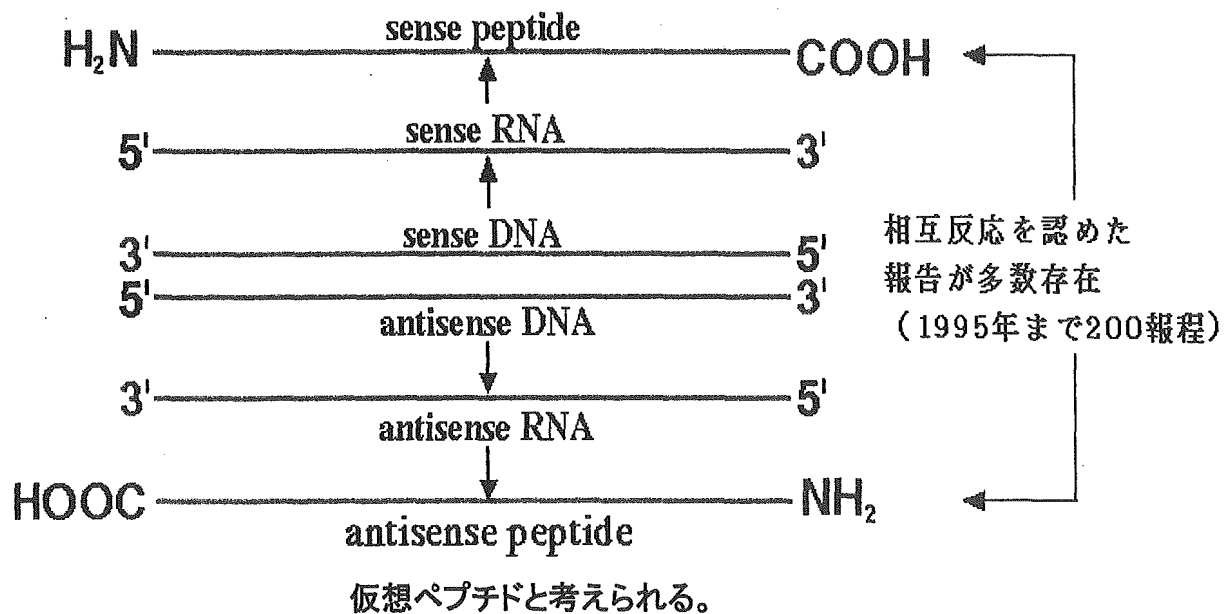
寺尾恵治、小野文子

名古屋市立大学大学院医学研究科

岡田則子、Cambel W、Barannyi L、藤田恵美子

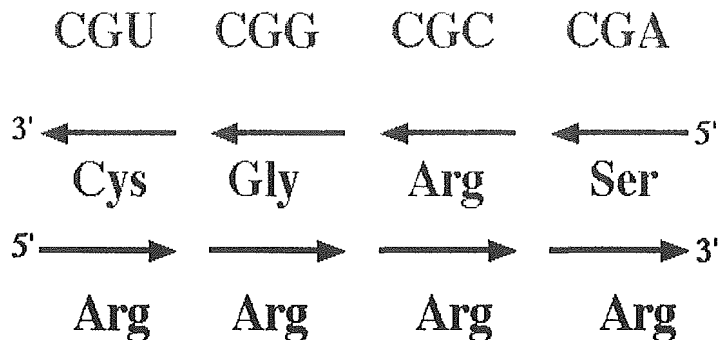
アンチセンスペプチドとは？

## What is antisense peptide?



# アミノ酸のコードン使用とアンチセンスアミノ酸

**Ala**



**antisense amino acid of Ala**

Cys, Gly, Arg, Ser

## 各アミノ酸と対応するアンチセンスアミノ酸

Amino acid	Hydrophobic value+	Possible antisense amino acids		
		H. philic	Medium	H. phobic
<b>Hydrophobic amino acids</b>				
Ile (I)	4.5	N, D, Y	-	-
Val (V)	4.2	N, D, H, Y	-	-
Leu (L)	3.7	K, E, Q	-	-
Phe (F)	2.7	K, E	-	-
Met (M)	1.9	H	-	-
<b>Amino acids with medium hydrophilicity / hydrophobicity</b>				
Trp (W)	-0.9	-	P	-
Arg (R)*	-4.5	-	P, S, T, A	-
Gly (G)	-0.4	-	P, S, T, A	-
Cys (C)	2.5	-	T, A	-
Ser (S)	-0.9	-	G, T, A, R	-
Pro (P)	-1.6	-	G, W, R	-
Ala (A)	1.8	-	G, S, C, R	-
Thr (T)	-0.7	-	G, S, C, R	-
<b>Hydrophilic amino acids</b>				
Gln (Q)	-3.5	-	-	L
Glu (E)	-3.5	-	-	L, F
Lys (K)	-3.9	-	-	L, F
Asn (N)	-3.5	-	-	I, V
Asp (D)	-3.5	-	-	I, V
Tyr (Y)*	1.3	-	-	I, V
His (H)	-3.2	-	-	V, M