

厚生労働科学研究費補助金
エイズ対策研究事業

エイズ脳症の発症病態と治療法に
関する研究

平成15年度～平成17年度 総合研究報告書

主任研究者 出雲周二

平成18(2006)年 3月

目 次

I 総合研究報告

HIV 脳症の発症病態と治療法に関する研究

主任研究者 1

鹿児島大学大学院 難治ウイルス病態制御研究センター 出雲周二

資料1 (全国疫学調査データ) 21

資料2 (ワークショップパンフレット) 23

資料3 (ウィーン大学剖検例まとめ) 26

資料4 (駒込病院剖検例まとめ) 30

資料5 (IDO、キノリン酸とエイズ脳症) 32

資料6 (14-3-3蛋白とエイズ脳症) 34

II 研究成果の刊行に関する一覧表 35

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
総合研究報告書

研究課題：HIV 脳症の発症病態と治療法に関する研究
(H-15-エイズ-004)

主任研究者 出雲周二 鹿児島大学難治ウイルス病態制御研究センター 教授

- 研究要旨：HAART の導入により HIV 感染症は長期間コントロールしうる慢性疾患へと変貌している。しかし脳症の治療としては不十分で、さらに本邦では新規感染者は増加の傾向が続いており、HAART による感染者の長期生存と合わせて、HIV 脳症への対応はエイズ対策の中での緊急の課題の一つとなっている。本研究では、平成12-14年度の研究成果をふまえ、「HIV 脳症には独立した二つの神経傷害機構が存在する」という視点で、我国での HAART 導入後の HIV 脳症及び他の神経合併症の詳細な実態と発症機序を明らかにし、病態に則した診断法・治療法の開発を目指して平成15年度より3ヶ年の計画で研究をすすめた。その成果として、1) HAART 治療下で神経合併症の相対的頻度が増しており、今後、神経内科医、感染症科医、臨床心理士、コーディネーター、神経病理医などとの学際的な協力のもと、NeuroAIDS 早期発見の観点から HIV 感染者を長期フォローアップする体制を構築する必要がある、2) エイズ脳症の発症病態として、ヒトにおいても、HIV 脳炎と大脳皮質の変性病態は独立して生じている、3) 大脳皮質の変性病態にはアストロサイトの傷害が重要で、ミクログリアの活性化は神経保護作用と関連している、4) 14-3-3 蛋白はエイズ脳症の神経傷害に抑制的に働く、ことを明らかにした。今後エイズ脳症はエイズ末期の亜急性脳症から緩徐進行・遷延性の認知障害、精神・運動障害へと変貌することが想定され、臨床の現場でのきめ細かい対応が必要である。

分担研究者：

都立駒込病院 内科医長
岸田修二
都立駒込病院 病理科部長
船田伸顕
京都府立医大神経内科 教授
中川正法
国立感染研 主任研究員
森 一泰
鹿児島大学難治ウイルス研 教授
馬場昌範
岐阜大学臨床検査医学 教授
清島 満
徳島大学分子酵素研 教授
木戸 博
熊本大学薬学生化学 助教授
三隅将吾（平成 17 年度）
熊本大学薬学生化学 助手
高宗暢暁（平成 15/16 年度）
熊本大学医療情報経営企画部 教授
宇宿功市郎

A. 研究目的

HAART の導入により HIV 感染症は長期間コントロールしうる慢性疾患へと変貌している。しかし現在の 3 剤併用療法では脳症の治療としては不十分で、さらに本邦では新規感染者は増加の傾向が続いており、HAART による感染者の長期生存と合わせて、HIV 脳症への対応はエイズ対策の中での緊急の課題の一つとなっている。本研究組織は、HIV 脳症の病態の解明と治療法の開発をめざして H12-14 年度の 3 カ年の研究をすすめて、1) HIV 脳症にはエイズの末期に亜急性に進行する脳症と、

HAM と類似の病態による緩徐進行性の神経疾患としての HIV 脳症の独立した二つの神経傷害機構が存在すること、2) 全国疫学調査と HAART 導入前後の剖検例の比較検討により、HAART 導入によりエイズ脳症の病態が「エイズ末期の亜急性致死性脳症」から免疫不全を伴わずに発症する「緩徐進行性神経疾患」へ推移する可能性があること明らかにした。

本研究では、この成果をふまえ、「HIV 脳症には独立した二つの神経傷害機構が存在する」という視点で、1) 我国での HAART 導入後の HIV 脳症及び他の神経合併症の詳細な実態を明らかにする、2) それぞれの病態の発症機序を明らかにし、病態に則した診断法・治療法の開発を目指す、増加が予想される HIV 感染者の将来の神経系病態を予測し、HIV 脳症発症予防の方策を探る、ことを目的としている。

B. 研究方法

本研究の柱として、1) エイズ脳症の臨床病態、特に本邦の神経合併症の動向、2) 剖検例を用いた神経合併症の解析、3) エイズ動物モデルの開発とそれを用いた発症病態の解明、4) *In vitro* の系を用いた中枢神経障害の病態機序の解析、5) 予防・治療の薬剤の開発、6) HIV 脳症発症に関連する内的・外的要因の解析、の研究テーマを設定し、分担研究を行った。

（倫理面への配慮）

本研究は患者試料を用いているが、

各研究機関の承認を得ておこなわれた。また、試料は匿名化し、振当て番号によって取り扱われ、結果の公表に当たっては個人が特定できないよう配慮されている。また、動物実験に際しては動物愛護の精神に沿って、各研究機関の指針に従って適切な疼痛緩和などの方策をおこない実施された。

C. 研究結果

HIV 脳症の臨床病態：

岸田らは、まず全国のエイズ拠点病院 368 施設を対象に 2002 年、2003 年の実態について第 2 次疫学調査を実施した（回答率 52%）。AIDS 患者数 987 名で、神経合併症は 97 名 9.8%にみられ、その比率は以前の調査結果よりも低下していたが、他の HIV 関連疾患の低下傾向よりも緩やかで、相対的な神経合併症の頻度は増加していた。78.3%は神経症状が AIDS の初発であった。HIV 脳症は 14 名で、いずれも HAART 未治療群で発症していた。HAART 治療群では、サイトメガロウイルス脳炎、PML、脳原発悪性リンパ腫が HAART 治療下で CD4 が保たれた低ウイルス量の段階で発症しており、HAART 治療下の神経合併症対策上注目すべき疾患であることが明らかとなった。（資料 1）

この結果をふまえ、AIDS 患者の予後不良因子であったエイズ脳症の HAART 導入前後で臨床的病態の変化を明らかにするため、エイズ脳症と診断された駒込病院症例 39 例について retrospective に予後を調査し、HAART の有無による差を検討した。HIV 痴呆は全 AIDS 患者 513 例の 7.6%、2.3%は

HIV 痴呆が AIDS の初発であった。HIV 痴呆患者は HAART 導入以前には年々増加傾向にあったが、導入以後は数人にとどまっている。HIV 痴呆患者の発症年齢は 45 歳（中間値）と働き盛りの年齢である。HIV 痴呆発症時の CD4(+) リンパ球数は HAART 導入前後とも 20/ μ L 以下と低値であり、HIV-RNA 2.46 \times 10⁵/ml(中央値) と高値を示し、HIV 感染が高度に進行した時期であった。HIV 痴呆の診断において髄液 β 2 マイクログロブリンの上昇（中央値 3.3mg/L）、脳 MRI は約 70%に異常を認め有用な情報を与えた。臨床症状は認知機能障害>行動異常>運動障害>精神症状を高率に認め、HAART 施行者では 9/15 例で何らかの改善を認めた。HIV 痴呆の生命予後は、HIV 痴呆で HAART 施行例中生存 8 名、死亡 6 名、転院 1 名であり、生存期間中間値は 38 ヶ月、HAART なしでは全員死亡（中間値 5 ヶ月）していた。HAART 施行中 HIV 痴呆で死亡者と生存者を比較した場合、死亡者は HAART 中断例や免疫回復不良例であった。HAART により神経症状が軽症化すると共に、一方で症状を持ったまま長期生存する例が多くなっていることが明らかとなった。

中川らは大阪にてワークショップを開催し、関西地区、関東地区、東海地区の NeuroAIDS の動向について詳細に検討した。その結果、1) 先進国ではわが国のみが右肩上がりでエイズが増加している、2) 大阪で初診時エイズ発症が 25%で 14%が死亡しており、初診時すでにエイズを発症してい

る例が増加している、3) 神経合併症として末梢神経障害が増加し、エイズ脳症は10~15%程度である、4) 人口比では関西地区でHIV感染者の増加が目立つ、5) エイズ脳症の病態は未解明な点が多い、6) 神経内科医のNeuroAIDSへの更なる関与が必要である、7) 研究班でモノグラムを作成し啓発活動を行う必要がある、8) HAARTによってエイズ脳症は「treatable dementia」になるのか、9) 海外、とくにアジア諸国との交流が必要であるなどの点が指摘された。今回のワークショップにより、関西地区、東海地区、関東地区のNeuroAIDSの動向に関して、ある程度比較検討を行うことが出来た。その結果、関東地区よりも関西地区においてHIV感染者がより急増していること、神経合併症の初期からの継続的な対応が困難な状況が明らかとなった。結論として、今後、神経内科医、感染症科医、臨床心理士、コーディネーター、神経病理医などとの学際的な協力のもとNeuroAIDS早期発見の観点からHIV感染者を長期フォローアップする体制を構築する必要がある。(資料2)

清島らは、独自に開発したデイスパーザブルカラムを用いたキノリン酸簡易迅速測定法をさらに改良し、蛍光ラベルした補酵素を使用することにより、エイズ脳症の臨床病態を反映するバイオマーカーとしてのキノリン酸の高感度で簡便な定量法を開発した。このHPLC蛍光検出器を用いたキノリン酸測定法の最小感度は、1-5nM程度で健常人の髄液測

定が十分可能であった。また、従来法よりさらに高感度化され簡易に再現性よく定量できることが判明した。エイズ脳症を発症した患者でHAARTほかの治療前後での髄液中キノリン酸を測定し、治療によって脳症が軽快したケースの全例において、脳症に伴って上昇の見られた髄液キノリン酸濃度は治療後に減少していた。したがって、髄液キノリン酸濃度の測定は、エイズ脳症のバイオマーカーとして極めて有用であると思われた。

病理解剖例での神経病理学的解析：

出雲らはウィーン大学の1983年以降の剖検台帳の閲覧より、429例のHIV感染者の剖検例をピックアップし、中から脳に日和見疾患のないエイズ剖検大脳20例を抽出し、前頭葉皮質におけるミクログリアの活性化、astrocyteのグルタミントランスポータEAAT-2の発現、astrocyteの増生、HIV陽性細胞との関連性を検討した。HIV脳炎の病理所見とは独立して、大脳皮質にミクログリアの活性化とEAAT-2の発現低下が生じていること、astrocyteの変性が先行していること、EAAT-2の低下とミクログリアの活性化は相関して生じていることを見出した。また、炎症性サイトカインTNF- α 、IL-1 β は慢性活性化ミクログリアではなく、HIV脳炎を形成するマクロファージに局限して発現していた。サルエイズの検索で示唆された「独立した二つの神経傷害機構」がヒトでも存在することを示す所見であるとともに、大脳皮質でのび慢性ミクログリア活性化は、アストロサ

イトの障害に伴う神経保護作用の低下をミクログリアが代償していることを示唆している。(資料3)

船田らは駒込病院剖検例について検討した(資料4)。HIV脳症は1996年以前には28.3%、1997年以後は20.0%、全体では26.3%の症例にみられ、HAART導入前の欧米からの報告とほぼ同じ頻度であった。しかし、日本人に限定すると1997年で50.0%と高頻度であったが、1998年以後は剖検数が8例と少ないながらも1例(12.5%)に減少していた。また、HIV陽性のmacrophageが進行性多巣性白質脳症の脱髄巣や悪性リンパ腫周囲に多数浸潤する例がみられた。日和見感染については、サイトメガロウイルス脳炎が1996年以前は35.0%、1997年以後は40.0%ともっとも頻度が高く重要な疾患であった。そのほかの感染症では、進行性多巣性白質脳症が1996年以前11.7%、1997年以後10.0%、クリプトコッカス症が1996年以前5.0%、1997年以後15.0%、トキソプラズマ症が1996年以前8.3%、1997年以後15.0%と未だ高頻度に認められた。また、脳を広範におかす単純ヘルペス脳炎やトキソプラズマ症もあり、免疫不全状態にある感染症の特徴と考えられた。脳悪性リンパ腫は1996年以前21.7%、1997年以後30.0%と頻度の高い疾患で、脳に限局するか、脳および他臓器を同時におかす例が多かった。そして検索が可能であった全症例でEB virusの関与が認められた。

HIV感染者の脳におけるグルタミントランスポーターEAAT2発現とミクログリア活性化について免疫組織学的に研

究した。非HIV感染対照群の脳皮質には、HLA-DR陽性の活性化microglia/macrophageおよびGFAP陽性astrocyteは少なく、EAAT2はneuropileにびまん性に陽性となる症例が多かった。脳症未発症のHIV感染例では活性化microglia/macrophage、GFAP陽性astrocyteとも増生は軽度で、EAAT2も対照例と類似した染色性を示した。さらに、脳症例でもHIV陽性microglia/macrophageの浸潤が白質および基底核に主座があり、皮質にはほとんど認められない例では対照と同様な皮質変化を示す傾向があったが、皮質にもHIV陽性細胞が浸潤し、活性化microglia/macrophage、GFAP陽性astrocyteが増生する例ではEAAT2発現は減弱する傾向にあった。

HIV感染者中枢神経系におけるiNOS発現に関する免疫組織学的検討では、iNOS陽性細胞は非HIV対照群に比較してHIV脳症例に多数出現しており、特に白質に目立った。脳症未発症のHIV感染例では、対照例よりも多数のiNOS陽性細胞が出現したが、脳症例よりは軽度の例が多かった。また、iNOS陽性細胞のほとんどはastrocyteであったが、microglia/macrophageにも陽性像が散見された。HIV脳症例では脳実質に活性化したmicroglia/macrophageが多数浸潤しており、HIV、活性化microglia/macrophageの浸潤そしてastrocyteにおけるiNOS発現の間には密な関連が認められた。

動物モデルを用いたHIV脳症の発症機序に関する研究：

出雲、森らはサルエイズモデルで、

大脳皮質の変性病態について T 細胞指向性ウイルス感染サルを用いて検索し、免疫不全に伴ってミクログリアの活性化と astrocyte のアポトーシス、EAAT-2 発現低下が生じており、これらの病変局所にはウイルス感染細胞の浸潤は伴っていないことを明らかにした。ヒト剖検例と一致する結果である。

森らはエイズウイルスの細胞指向性がエイズ発症、脳症や脳炎の発症などの感染後の病態に与える意義を検討することを目的に、細胞指向性の異なる SIV (T 細胞指向性の SIV239、強マクロファージ指向性の MERT、弱マクロファージ指向性の $\Delta 5G$) のサルでの初期感染における各リンパ系組織での感染細胞の分布、リンパ球サブセットの動態を解析した。3 種のウイルスは *in vitro* の細胞指向性は違うにもかかわらず、リンパ系組織における初期感染の標的組織は腸管であり、感染細胞は T 細胞であることが明らかになった。SIV239 感染サルでは様々なリンパ系組織での感染が持続し感染細胞数が多く、CD4+CCR5+細胞の減少も顕著であったが、MERT と $\Delta 5G$ 感染サルでは感染細胞数が SIV239 感染より少なく、組織における CD4+CCR5+細胞も維持されていた。これらの結果は初期感染の制御と関連していると考えられた。

清島らはマウス LP-BM5 ウイルス感染モデルを用いた脳症発症関連因子についての解析した。Probe test 等行動薬理学的指標の結果は、LP-BM5 ウイルス感染により明らかなマウスの記憶障害を示した。脳内キノリン酸、PAF 濃

度、indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO) 活性は、LP-BM5 ウイルス感染により非感染群に比べ有意に上昇した。IDO の阻害剤 1 メチルトリプトファンの投与により、その上昇が有意に抑制された。IDO の主な誘導因子であるインターフェロンガンマの上昇はほとんど見られなかった。

In vitro の系を用いた中枢神経障害の病態機序の解析

清島らはマウスモデルで示されたインターフェロンガンマ非依存性 IDO 誘導の結果をふまえ、炎症性サイトカインによる誘導およびニトロ化による IDO 活性の抑制について検討した。

モノサイト系である THP-1 細胞では TNF- α 、IL-6、IL-1 β 単独処理によって、酵素誘導はほとんど見られない。しかし、これらのサイトカインを同時に加えることで IDO は酵素誘導され、TNF- α 、IL-6、IL-1 β は THP-1 細胞において相乗的に IDO を誘導していることが明らかとなった。さらに、THP-1 細胞を LPS 刺激することにより NF- κ B や p38MAPK 経路が活性化する事が知られているので、LPS による IDO の誘導にこれらの転写活性化経路が関与しているかどうかを検討した。その結果、NF- κ B inhibitor (SN50)、p38MAPK inhibitor (SB202190) は共に THP-1 細胞における LPS による IDO の酵素誘導を抑制しており、LPS による IDO 誘導は NF- κ B と p38MAPK 経路の活性化を介していることが明らかとなった。また、インターフェロンガンマによる IDO 誘導は NF- κ B inhibitor と

p38MAPK inhibitor では抑制されていなかった。また、サイトカインにより誘導された IDO およびリコンビナントタンパクによる解析結果から、IDO は peroxynitrite によりニトロ化による修飾を受け、酵素活性が阻害されることが明らかとなった。2次元 LC/MS/MS システムにより解析した結果、IDO タンパク中の3カ所のチロシン残基でニトロ化が確認された。このことから、IDO はペルオキシナイトライトによりニトロ化され、酵素活性が抑制されることが明らかになった (J. Biochem. Fujigaki & Saito Revised)。IDO はエイズ脳症の指標、治療の標的分子として注目される。(資料5)

馬場らはエイズ脳症の病態におけるアストロサイトの役割を明らかにする目的で、ヒトアストロサイト初代培養細胞と HIV-1 非感染および感染ヒトマクロファージの培養上清を用い、上清がアストロサイトの増殖と遺伝子発現などに与える影響について検討した。

マクロファージの培養上清の添加により、培養5日目より有意なアストロサイトの細胞増殖が認められ、非感染マクロファージよりも感染マクロファージの培養上清においてより顕著であった。HIV-1 感染マクロファージ培養上清を作用させたアストロサイトでは少量のプロウイルス DNA が検出され、HIV-1 感染が確認されたため、マクロファージ培養上清によるアストロサイトの増殖活性化に対する各種 HIV-1 阻害薬の影響について検討したが、何れも、HIV-1 感染および非感染マクロフ

ァージ上清によるアストロサイトの増殖活性化を抑制しなかった。これに対して、抗 SDF-1 α 中和抗体は非感染マクロファージ培養上清によるアストロサイトの増殖活性化を有意に抑制し、MMP 阻害薬 GM6001 は HIV-1 感染および非感染マクロファージ培養上清によるアストロサイトの増殖活性化の両方を有意に抑制した。これらの結果から、HIV 脳症におけるアストログリオーシスの発症に、脳内マクロファージ/ミクログリアより分泌される因子が関与する可能性が示唆された。また、HIV-1 由来の因子がアストロサイトの増殖をさらに活性化する可能性があると考えられた。

さらに、アストロサイトにおける遺伝子発現の変化について、マイクロアレーを用いて解析した。非感染マクロファージ培養上清および HIV-1 感染マクロファージ培養上清を作用させたときに起こる遺伝子発現の動きはそれほど顕著なものではなかったが、感染、非感染に関わらず angiopoietin-like 4 protein (ANGLPT4) 遺伝子発現の明らかな上昇 (5-6 倍)、baculoviral IAP (inhibitor of apoptosis) repeat-containing 3 (BIRC3) 遺伝子の有意な上昇 (1.7-1.9 倍) が認められた。これらの遺伝子産物は細胞死 (apoptosis) に対し negative regulator として働くことが明らかにされており、エイズ脳症におけるアストログリオーシスの発生機序と関連する可能性がある。

木戸らは 14-3-3 蛋白質がエイズ脳症患者の脳脊髄液中に特異的に検出され

ることから、エイズ脳症の脳内病変の進行状況を的確に把握できるマーカーとして提唱してきた。本研究ではさらに、エイズ脳症発症への関与が想定されている HIV gp120 による神経細胞死と 14-3-3 蛋白質の役割、HIV gp120 による脳血管内皮細胞のタイトジャンクション(TJ)構築障害における 14-3-3 蛋白質の役割について解析した。その結果、1) HIV 脳症を引き起こすメカニズムとして最も有力な gp120 による神経細胞死プロセスにおいて、14-3-3 蛋白質は gp120 による Bad の脱リン酸化とそのミトコンドリア移行を抑える事で細胞死に対して抑制的に働いていること、2) ウイルスが脳内に進入する際重要と考えられている脳血管内皮細胞の細胞間接着構造の障害は、gp120 により TJ 構成蛋白質がプロテアソームによって分解される事により引き起こされており、このプロセスで、14-3-3 蛋白質はプロテアソームによる分解を抑えることで gp120 による TJ の破綻に抑制的に働いていることを明らかにした。これらの結果から、HIV 脳症患者の脳脊髄液中での 14-3-3 蛋白質の発現増強が、単に破壊された神経細胞からの漏出ではなく、HIV 脳症の病態に関わる 14-3-3 蛋白質の機能を反映したものと考えられた。また、この 14-3-3 蛋白質の HIV 脳症発症過程における役割には、明確なアイソフォームの特異性(τ/ζ)が認められた。特に 14-3-3 τ は通常脳内での発現は僅かであるが、gp120 に曝される事でその発現が反応性に増強し、HIV 脳症発症に抑制的に機能し

ていた。これは、14-3-3 τ が HIV 脳症の予防、治療に繋がる標的分子としての可能性を示唆している。(資料6)

予防・治療の薬剤の開発：

三隅、高宗らは HIV 脳症の進行を増強する原因の1つとして考えられている細胞外 Tat 及び HIV-1 の複製に必須の翻訳時・後修飾であるミリストイル化を触媒する酵素である human N-myristoyltransferase (hNMT)を標的としたエイズ脳症治療戦略を検討した。

Tat 活性の cystein-rich 領域をミミックしたペプチド抗原を作製し、得られた Tat の cystein-rich 領域に対するコンフォーメーション認識抗体を用いた解析から、亜鉛を結合した cystein-rich 領域が細胞外 Tat のアポトーシス活性に重要であることを見いだした。

また、近年 human N-myristoyltransferase (hNMT)には2つの遺伝子(hNMT1 および hNMT2)が存在し、細胞内で複数の isozymes で存在することが明らかとなった。そこで hNMT isozyme 特異的な機能抑制によって、HIV-1 複製を阻害できるかを検討した。hNMT isozyme 特異的な siRNA を用いた結果、hNMT1 の抑制によって得られたウイルスの感染性が低下していた。前駆体タンパク質 Pr55gag の non-raft 画分への移行により、ウイルスの粒子形成が阻害されたためであると考えられる。また各 hNMT1 シングルノックダウンによる細胞増殖抑制効果は、両 isozyme ダブルノックダウンによるそれよりも低い結果となった。以上の結果から、hNMT isozyme 特異的機能抑

制は低毒性の HIV-1 複製阻害が達成できると期待され、hNMT1 isozyme 特異的阻害剤の開発が重要であると考えられる。

馬場らは HIV-1 の遺伝子発現の過程を標的とし、脳内における HIV-1 のリザーバーである慢性感染ミクログリアにも有効な抗エイズ薬の同定するため、マクロファージ系の HIV-1 慢性感染細胞株 OM-10.1 を用いて、薬剤の抗ウイルス効果を調べた。その結果、新規ナフタレン誘導体の JTK-101 は約 16-80 nM の濃度で、TNF- α 刺激による OM-10.1 細胞からの p24 抗原の産生をほぼ完全に抑制した。一方、JTK-101 の急性感染細胞における抗 HIV-1 効果について検討したところ、慢性感染細胞で認められたような、強力かつ選択的な抗 HIV-1 効果を示さなかった。また、リアルタイム PCR 法を用いて、OM-10.1 細胞における HIV-1 遺伝子の mRNA 発現を測定し、JTK-101 は濃度依存性に HIV-1 mRNA の産生を抑制することより、本薬剤は HIV-1 プロウイルスからの遺伝子発現（転写）の過程を抑制することが明らかとなった。

発症に関わる内的・外的因子の検索：

HAART 導入以後 HIV 脳症の疫学的背景の変化は著しく、HIV 脳症の発症機序が変化してきていることを伺わせる。HIV 脳症は HIV 感染者全てに発症するわけではなく一部に発症するため、発症要因として宿主因子の解析が必須である。宇宿らはレトロウイルス持続感染により起こる HAM 発症宿主因子の解析を行っており、その要因と報告

されている HIV 脳症発症要因の関連を検討した。両疾患で発症危険度を増していると考えられるのは TNF- α -863A allele であったが、SDF-3'+801 AA genotype と IL-10 -592A allele は HAM で危険度を減じ、HIV 脳症では危険度が増すことが推定された。MCP-1 promoter -2578A/G 多型は HAM では発症危険度には関連がなかったが、HIV 脳症の危険度を増していた。

D. 考察

1) 達成度について：

ヒト症例を対象にした臨床的解析に関して、第2次全国疫学調査、ワークショップを実施し、HAART 治療下で HIV 関連疾患が減少する中、患者の長期生存に伴い神経合併症の相対的頻度の増加と診療現場での様々な困難が増している実態を明らかにした。HAART 治療下で免疫不全の進行を伴わずにサイトメガロウイルス脳炎、PML、脳原発悪性リンパ腫が発症しており、HIV 脳症自体は緩徐進行性潜在性の病態をとることを予想しており、神経内科医、精神科医、臨床心理士等のグループによる長期前向き調査体制が必要である。

発症病態についてはウィーン大学剖検例、駒込病院剖検例の解析により、ヒトにおいても HIV 脳炎と大脳皮質の変性病態は独立して生じていることを検証すると共に、発症病態としてアストロサイトの傷害とミクログリアの活性化の関与が重要であることを明らかにした。ミクログリアの活性化が神経保護に働いている可能性は新たな視点で

あり、さらに研究をすすめたい。モデル動物、*in vitro* の解析からは、病態に関与し治療の標的となりうる分子として、iNOS、TNF- α 、Tat の亜鉛結合 cysteine-rich domain、14-3-3 蛋白、インドールアミン 2,3 ジオキシゲナーゼ、*N* ミリス トイル 転 移 酵 素、angiopoietin-like 4 protein、がリストアップされ、治療薬の開発の足がかりを得た。治療薬の開発につなげたい。

2) 研究成果の学際的・国際的・社会的意義について：

本研究組織で行われた研究のほとんどは過去の研究の継続ではなく、新たにスタートしたものであるが、すでにその幾つかが国際誌に掲載され、また多くが投稿ないし投稿準備中である。また、国際神経病理学会、世界神経学会の数少ない口演発表に採択されるなど、関連学会で積極的に発表され、高い評価を受けている。研究協力者の岡本美佳は本年の日本エイズ学会総会にてエイズ脳症の研究で学術賞を受賞、日本神経学会では出雲が教育講演、岸田がシンポジストとして研究成果を報告し、マスコミ報道されるなどエイズ脳症の重要性を社会的にアピールした。

3) 今後の展望について：

HAART によりエイズ脳症を含めた神経合併症を抱えたまま長期生存する状態がすでに始まっており、HIV 感染が社会的に生産活動をになう成人を中心に広がっていることは、今後、エイズ脳症が医療行政のみならず、社会的・経済的にも HIV 感染症対策の最重

要課題となることが想定される。本研究のさらなる推進が必要と思われる。

本研究で得られた知見は、学術的には、HIV 感染の神経傷害機序の解析を通じて、ウイルス学的貢献のみならず、他の難治性神経変性疾患、免疫性疾患の発症機序解明の糸口となる可能性を秘めている。また、ミクログリアやアストロサイトの細胞生物学的研究の発展にも貢献できる。

E. 結論

- HAART 治療下で神経合併症の相対的頻度が増しており、今後、神経内科医、感染症科医、臨床心理士、コーディネーター、神経病理医などとの学際的な協力のもと、NeuroAIDS 早期発見の観点から HIV 感染者を長期フォローアップする体制を構築する必要がある。
- エイズ脳症の発症病態として、ヒトにおいても、HIV 脳炎と大脳皮質の変性病態は独立して生じている。
- 大脳皮質の変性病態にはアストロサイトの傷害が重要で、ミクログリアの活性化は神経保護作用と関連している。
- 14-3-3 蛋白はエイズ脳症の神経傷害に抑制的に働く。

F. 研究発表（誌上発表のみ掲載）

平成 17 年度

1. Furukawa Y, Tara M, Izumo S, Arimura K, Osame M. HTLV-I viral escape and host genetic changes in the development of adult T cell leukemia. *Int J Cancer*. 118:381-7, 2006.
2. Nobuhara Y, Usuku K, Saito M, Izumo S, Arimura K, Bangham CR, Osame M. Genetic variability in the extracellular matrix protein as a determinant of risk for developing HTLV-I-associated neurological disease. *Immunogenetics*. 57:944-52, 2006.
3. Fujigaki H, Saito K, Fujigaki S, Takemura M, Sudo K, Ishiguro H, Seishima M. The signal transducer and activator of transcription 1 α and interferon regulatory factor 1 are not essential for induction of indoleamine 2,3-dioxygenase by lipopolysaccharide: involvement of p38 mitogen-activated protein kinase and nuclear factor κ B pathways, and synergistic effect of several proinflammatory cytokines. *J Biochem*. (In Press)
4. Fujigaki H, Saito K, Lin F, Fujigaki S, Takahashi k, Martin BM, Chen CY, Masuda J, Kowalak J, Takikawa O, Seishima M, Markey SP. Nitration and inactivation of indoleamine 2,3-dioxygenase by peroxynitrite. *J Immunol*. 176: 372-379, 2006.
5. Zhu Y, Saito K, Murakami Y, Asano M, Iwakura Y, Seishima M. Early increase in mRNA levels of pro-inflammatory cytokines and their interaction in the mouse hippocampus after transient global ischemia. *Neurosci Lett*. 393:122-126, 2006.
6. Shiga Y, Wakabayashi H, Miyazawa K, Kido H and Itoyama Y. 14-3-3 Protein levels and isoform patterns in the cerebrospinal fluid of Creutzfeldt-Jakob disease patients in the progressive and terminal stages. *J. Clin. Neurosci*. In press, 2006.
7. Yao D, Kuwajima M, Chen Y, Shiota M, Okumura Y, Yamada H and Kido H. Impaired long-chain fatty acid metabolism in mitochondria causes brain vascular invasion by a non-neurotropic epidemic influenza A virus in the newborn/suckling period: implications for influenza-associated encephalopathy. *Mol. Cell Biochem*. In press, 2006.
8. Izumo S, Xing HQ, Hayakawa H, Kasai T, Budka H. HIV encephalitis and degeneration of the cerebral cortex occur independently in the brain of AIDS patients. *J Neurol Sci* 238: S98, 2005.
9. Xing HQ, Hayakawa H, Kasai T, Budka H, Izumo S. Reduced expression of excitatory amino acid transporter-2 (EAAT-2) and activation of microglia in the cerebral cortex of AIDS patient. *J Neurol Sci* 238: S318, 2005.

10. Matsuzaki T, Saito M, Usuku K, Nose H, Izumo S, Arimura K, Osame M. A prospective uncontrolled trial of fermented milk drink containing viable *Lactobacillus casei* strain Shirota in the treatment of HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Neurol Sci* 237:75-81, 2005.
11. Saito M, Eiraku N, Usuku K, Nobuhara Y, Matsumoto W, Kodama D, Sabouri AH, Izumo S, Arimura K, Osame M. ApaI polymorphism of vitamin D receptor gene is associated with susceptibility to HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis in HTLV-1 infected individuals. *J Neurol Sci.* 232:29-35, 2005.
12. Sabouri AH, Saito M, Usuku K, Bajestan SN, Mahmoudi M, Foroughpour M, Sabouri Z, Abbaspour Z, Goharjoo ME, Khayami E, Hasani A, Izumo S, Arimura K, Farid R, Osame M. Differences in viral and host genetic risk factors for development of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis between Iranian and Japanese HTLV-1-infected individuals. *J Gen Virol.* 86:773-81, 2005.
13. Mori S, Mizoguchi A, Kawabata M, Fukunaga H, Usuku K, Maruyama I, Osame M. Bronchoalveolar lymphocytosis correlates with human T lymphotropic virus type I (HTLV-I) proviral DNA load in HTLV-I carriers. *Thorax.* 60:138-43, 2005.
14. Sabouri AH, Saito M, Usuku K, Bajestan SN, Mahmoudi M, Foroughpour M, Sabouri Z, Abbaspour Z, Goharjoo ME, Khayami E, Hasani A, Izumo S, Arimura K, Farid R, Osame M. Differences in viral and host genetic risk factors for development of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis between Iranian and Japanese HTLV-1-infected individuals. *J Gen Virol.* 86:773-81, 2005.
15. 岸田修二 : HIV 脳症の治療. 日本医事新報 NO. 4250 P.89 2005.
16. 岸田修二 : AIDS 患者に伴う中枢神経日和見感染症 : 診断と治療. *Neuroinfection* 10:24-30, 2005.
17. Yoritaka A, Ohta K, Kishida S: Herpetic lumbosacral radiculoneuropathy in patients with human immunodeficiency virus infection. *Eur Neurol* 53:179-181, 2005.
18. 岸田修二 : HIV 脳症 .*Clinical Neuroscience* 23:788-791, 2005.
19. Murakami Y, Saito K, Hara A, Zhu Y, Sudo K, Niwa M, Fujii H, Wada H, Ishiguro H, Mori H, Seishima M. Increases in TNF- α following transient global cerebral ischemia do not contribute to neuron death in mouse hippocampus. *J. Neurochem,* 93: 1616-1622, 2005.

20. Sudo K, Ymada Y, Moriwaki H, Saito K, Seishima M. Lack of tumor necrosis factor receptor type 1 inhibits liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in mice. *Cytokine*, 29: 236-244, 2005.
21. Miyoshi M, Nadai M, Nitta A, Ueyama J, Shimizu A, Takagi K, Nabeshima T, Takagi K, Saito K, Hasegawa T. Role of tumor necrosis factor- α in down-regulation of hepatic cytochrome P450 and P-glycoprotein by endotoxin. *Eur J Pharmacol.* 507:229-37, 2005.
22. Nakai M, Sudo K, Yamada Y, Kojima Y, Kato T, Saito K, Moriwaki H, Seishima M. The Role of the Tumor Necrosis Factor Receptor in 2,4,6-Trinitrobenzene Sulfonic Acid (TNBS)-Induced Colitis in Mice. *Dig Dis Sci.* 50:1669-76, 2005.
23. Chen Y, Mizuguchi D, Yao D, Ide M, Kuroda Y, Shigematsu Y, Yamaguchi S, Yamaguchi M, Kinoshita M and Kido H. Thermolabile phenotype of carnitine palmitoyltransferase II variations as a predisposing factor for influenza-associated encephalopathy. *FEBS Lett.* 579, 2040-2044, 2005.
24. Mori K, Sugimoto C, Ohgimoto S, Nakayama EE, Shioda T, Kusagawa S, Takebe Y, Kano M, Matano T, Yuasa T, Kitaguchi D, Miyazawa M, Takahashi Y, Yasunami M, Kimura A, Yamamoto N, Suzuki Y, Nagai Y Influence of glycosylation on the efficacy of an Env-based vaccine against simian immunodeficiency virus SIVmac239 in a macaque AIDS model. *J Virol.* 79:10386-96, 2005.
25. Baba M. Cellular factors as targets for anti-HIV-1 chemotherapy. In: Butera ST (Ed), *HIV Chemotherapy: A Critical Review*, pp.241-260. Horizon Scientific Press/Caister Academic Press, Norfolk, UK, 2005.
26. Wang X, Baba M. A role of breast cancer resistance protein (BCRP/ABCG2) in the cellular resistance to HIV-1 nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antiviral Chem. Chemother.* 16: 213-216, 2005.
27. Tanaka H, Haraguchi K, Kumamoto H, Baba M, Cheng Y-C. 4'-Ethinylstavudine (4'-Ed4T) has potent anti- HIV-1 activity with reduced toxicity and shows a unique activity profile against drug-resistant mutants. *Antiviral Chem. Chemother.* 16: 217-221, 2005.
28. Nitanda T, Wang X, Kumamoto H, Haraguchi K, Tanaka H, Cheng Y-C, Baba M. Anti-human immunodeficiency virus type 1 activity and resistance profile of 2',3'-didehydro-3'-deoxy-4'-ethinylthymidine in vitro. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 3355-3360, 2005.
29. Takashima K, Miyake H, Kanzaki N, Tagawa Y, Wang X, Sugihara Y, Iizawa Y, Baba M. Highly potent inhibition of human immunodeficiency virus type 1

- replication by TAK-220, an orally bioavailable small molecule CCR5 antagonist. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 3474-3482, 2005.
30. Okamoto M, Wang X, Baba M. HIV-1-infected macrophages induce astrogliosis by SDF-1 α and matrix metalloproteinases. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 336: 1214-1220, 2005.
31. Baba M, Takashima K, Miyake H, Kanzaki N, Teshima K, Wang X, Shiraishi M, Iizawa Y. TAK-652 inhibits CCR5-mediated HIV-1 infection in vitro and has favorable pharmacokinetics in human. *Antimicrob. Agents Chemother.* 49: 4584- 4591, 2005.
32. Baba M. Recent status of HIV-1 gene expression inhibitors. *Antiviral Res.* in press.
33. Misumi S, Nakayama D, Kusaba M, Iiboshi T, Mukai R, Tachibana K, Nakasone T, Umeda M, Shibata H, Endo M, Takamune N, Shoji S. Effects of Immunization with CCR5-Based Cycloimmunogen on Simian/HIVSF162P3 Challenge. *J. Immunol.* 176, 463-471, 2006.
34. Nakayama D, Misumi S, Mukai R, Tachibana K, Umeda M, Shibata H, Takamune N, Shoji S. Suppression of Multiclade R5 and X4 Human Immunodeficiency Virus Type-1 Infections by a Coreceptor-Based Anti-HIV Strategy. *J. Biochem.* 138, 1-12, 2005.
- 平成 16 年度
1. Furukawa Y, Usuku K, Izumo S, Osame M. Human T cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) p12I is dispensable for HTLV-I transmission and maintenance of infection in vivo. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 20:1092-9, 2004.
 2. Saito M, Nakagawa M, Kaseda S, Matsuzaki T, Jonosono M, Eiraku N, Kubota R, Takenouchi N, Nagai M, Furukawa Y, Usuku K, Izumo S, Osame M. Decreased Human T Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) Provirus Load and Alteration in T Cell Phenotype after Interferon-alpha Therapy for HTLV-I-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. *J Infect Dis.* 189: 29-40, 2004.
 3. 出雲周二. HIV 感染症, AIDS. 痴呆症学 (2). 日本臨床 62 卷 増刊号 1 : p.219-223, 2004.
 4. Kodama D, Saito M, Matsumoto W, Sabouri AH, Izumo S, Arimura K, Usuku K, Bangham CR, Osame M. Longer dinucleotide repeat polymorphism in matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) gene promoter which correlates with higher HTLV-I Tax mediated transcriptional activity influences the risk of HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *J Neuroimmunol.*

- 156:188-94, 2004.
5. 岸田 修二 : HIV 神経合併症 : とくに脳症の臨床像と今後の問題点 < シンポジウム 8-3 > 神経感染症の克服をめざして。臨床神経, 44 : 852-854, 2004.
 6. 岸田修二 : HAART 療法後の HIV 脳症。脳と神経, 56(4):301-10, 2004.
 7. Baba M. Inhibitors of HIV-1 gene expression and transcription. *Curr. Topics Med. Chem.* 4: 871-883, 2004.
 8. 馬場昌範. 抗ウイルス薬研究最近の進歩 : 抗エイズ薬を中心として. *ウイルス* 54:59-66, 2004.
 9. Wang X, Nitanda T, Shi M, Okamoto M, Furukawa T, Sugimoto Y, Akiyama S, Baba M. Induction of cellular resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors by the wild-type breast cancer resistance protein. *Biochem. Pharmacol.* 68: 1363-1370, 2004.
 10. Villinger F, Miller R, Mori K, Mayne AE, Bostik P, Sundstrom JB, Sugimoto C, Ansari AA. IL-15 is superior to IL-2 in the generation of long-lived antigen specific memory CD4 and CD8 T cells in rhesus macaques. *Vaccines*, 22, 3510-3521, 2004.
 11. Matano T, Kobayashi M, Igarashi H, Takeda A, Nakamura H, Kano M, Sugimoto C, Mori K, Iida A, Hirata T, Hasegawa M, Yuasa T, Miyazawa M, Takahashi Y, Yasunami M, Kimura A, O'Connor DH, Watkins DI, Nagai Y. Cytotoxic T Lymphocyte based Control of Simian Immunodeficiency Virus Replication in a Preclinical AIDS Vaccine Trial. *J Exp Med*, 199, 1709-1718, 2004.
 12. Lun WH, Takeda A, Nakamura H, Kano M, Mori K, Sata T, Nagai Y, Matano T. Loss of virus-specific CD4+ T cells with increases in viral loads in the chronic phase after vaccine-based partial control of primary simian immunodeficiency virus replication in macaques. *J Gen Virol*, 85, 1955-1963, 2004.
 13. Ansari AA, Mayne AE, Onlamoon N, Pattanapanyasat K, Mori K, Villinger F. Use of recombinant cytokines for optimized induction of antiviral immunity against SIV in the nonhuman primate model of human AIDS. *Immunol Res*, 29, 1-18, 2004.
 14. Misumi S, Takamune N, Ohtsubo Y, Waniguchi K, and Shoji S. Zn²⁺ binding to cysteine-rich domain of extracellular human Immunodeficiency virus type-1 Tat protein is associated with Tat protein-induced apoptosis. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 20, 297-304, 2004.
 15. Nakajima A, Yamada K, Nagai T, Uchiyama T, Miyamoto Y, Mamiya T, He J, Nitta A, Mizuno M, Tran MH, Seto A, Yoshimura M, Kitaichi K, Hasegawa T, Saito K, Yamada Y, Seishima M, Sekikawa K, Kim HC, Nabeshima T. Role of tumor necrosis factor-alpha in methamphetamine-induced drug dependence and neurotoxicity. *J Neurosci*, 24 : 2212-2225, 2004.

16. Fujigaki H, Takemura M, Takahashi K, Yamada Y, Fujii H, Wada H, Saito K, Ohnishi H, Seishima M. Genotyping of hepatitis C virus by melting curve analysis with SYBR Green I. *Ann Clin Biochem*, 41 (Pt2) : 130-132, 2004.
17. Ohashi H, Saito K, Fujii H, Wada H, Furuta N, Takemura M, Maeda S, Seishima M. Changes in quinolinic acid production and its related enzymes following D-garactosamine and lipopolysaccharide-induced hepatic injury. *Arch Biochem Biophys*, 428: 154-159, 2004.
18. Wu X., Yano M., Washida H and Kido H. The second metal-binding site of 70KDa heat-shock protein is essential for ADP binding, ATP hydrolysis and ATP synthesis. *Biochem. J.* 378, 793-799, 2004.
19. Wojcik C., Yano M and DeMartino G. RNA interference of valosin-containing protein (VCP/97) reveals multiple cellular roles linked to ubiquitin/proteasome-dependent proteolysis. *J. Cell. Sci.* 117, 281-292, 2004.
20. Yano M., Koumoto Y., Kanesaki Y., Wu X and Kido H. 20S proteasome prevents aggregation of heat-denatured proteins without PA700 regulatory subcomplex like a molecular chaperone. *Biomacromolecules.* 5, 1465-1469, 2004.
21. Yao D., Chen Y., Kuwajima M., Shiota M and Kido H. Accumulation of mini-plasmin in the cerebral capillaries causes vascular invasion of the murine brain by a pneumotropic influenza A virus: implication for influenza-associated encephalopathy. *Biol. Chem.* 385, 487-492, 2004.
22. Sabouri AH, Saito M, Lloyd AL, Vine AM, Witkover AW, Furukawa Y, Izumo S, Arimura K, Marshall SE, Usuku K, Bangham CR, Osame M. Polymorphism in the interleukin-10 promoter affects both provirus load and the risk of human T lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Infect Dis.* 190:1279-85, 2004.
23. Saito M, Usuku K, Nobuhara Y, Matsumoto W, Kodama D, Sabouri AH, Izumo S, Arimura K, Osame M. Serum concentration and genetic polymorphism in the 5'-untranslated region of VEGF is not associated with susceptibility to HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in HTLV-I infected individuals. *J Neurol Sci.* 219:157-61, 2004.
24. Misumi S., Morikawa Y., Tomonaga M., Ohkuma K., Takamune N., Shoji S. Blocking of Human Immunodeficiency Virus Type-1 Virion Autolysis by Autologous p2gag Peptide. *Journal of Biochemistry.* 135:447-53, 2004.
25. Saito M, Nakagawa M, Kaseda S, Matsuzaki T, Jonosono M, Eiraku N, Kubota R, Takenouchi N, Nagai M, Furukawa Y, Usuku K, Izumo S, Osame

- M. Decreased Human T Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) Provirus Load and Alteration in T Cell Phenotype after Interferon-alpha Therapy for HTLV-I-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. *J Infect Dis.* 189: 29-40, 2004.
26. 出雲周二. HIV 感染症, AIDS. 痴呆症学 (2). *日本臨床* 62 卷 増刊号1:p.219-223, 2004.
27. Fujigaki H, Takemura M, Takahashi K, Yamada Y, Fujii H, Wada H, Saito K, Ohnishi H, Seishima M. Genotyping of hepatitis C virus by melting curve analysis with SYBR green I. *Ann Clin Biochem*, 41(Pt 2):130-132, 2004.
28. Imamura S, Ishihara Y, Hattori T, Kurasawa O, Matsushita Y, Sugihara Y, Kanzaki N, Iizawa Y, Baba M, Hashiguchi S. CCR5 antagonists as anti-HIV-1 agents. 1. Synthesis and biological evaluation of 5-oxopyrrolidine-3-carboxamide derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* 52: 63-73, 2004.
29. Haraguchi K, Itoh Y, Takeda S, Honma Y, Tabaka H, Nitanda T, Baba M, Dutschman GE, Cheng Y-C. Synthesis and anti-HIV activity of 4'-cyano-2',3'-dideoxy-3'-deoxythymidine. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 23:647-54, 2004.
30. Dutschman GE, Grill SP, Gullen EA, Haraguchi K, Takeda S, Tanaka H, Baba M, Cheng Y-C. A novel 4'-substituted analog with improved anti-HIV activity and decreased cytotoxicity. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48:1640-6, 2004.
31. Miyake A, Akagi T, Enose Y, Ueno M, Kawamura M, Horiuchi R, Hiraishi K, Adachi M, Serizawa T, Narayan O, Akashi M, Baba M, Hayami M. Induction of HIV- specific antibody response and protection against vaginal SHIV transmission by intranasal immunization with inactivated SHIV-capturing nanospheres in macaques. *J. Med. Virol.* 73:368-77, 2004.
32. Baba M. Cellular factors as targets for anti-HIV-1 chemotherapy. In: Butera ST (Ed), *HIV Chemotherapy: A Critical Review*, in press. Horizon Scientific Press/Caister Academic Press, Norfolk, UK, 2004.
33. Misumi S., Takamune N., Ohtsubo Y., Waniguchi K., and Shoji S. Zn²⁺ binding to cysteine-rich domain of extracellular human immunodeficiency virus type-1 Tat protein is associated with Tat protein-induced apoptosis. *AIDS Res. Hum. Retroviruses.* 20, 297-304, 2004.

平成 15 年度

1. Xing HQ, Moritoyo T, Mori K, Tadakuma K, Sugimoto S, Ono F, Hayakawa H, Izumo S. Simian immunodeficiency virus encephalitis in the white matter and degeneration of the cerebral cortex occur independently in

- simian immunodeficiency virus-infected monkey. *J Neurovirol.* 9:508-518, 2003.
2. Hasui K, Takatsuka T, Sakamoto R, Matsushita S, Tsuyama S, Izumo S, Murata F. Double autoimmunostaining with glycine treatment. *J Histochem Cytochem.* 51: 1169-1176, 2003.
 3. Takenouchi N, Yamano Y, Usuku K, Osame M, Izumo S. Usefulness of proviral load measurement for monitoring of disease activity in individual patients with human T-lymphotropic virus type I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Neurovirol.* 9: 29-35, 2003.
 4. Furukawa Y, Kubota R, Eiraku N, Nakagawa M, Usuku K, Izumo S, Osame M. Human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I)-related clinical and laboratory findings for HTLV-I-infected blood donors. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 32: 328-334, 2003.
 5. Kubota R, Furukawa Y, Izumo S, Usuku K, Osame M. Degenerate specificity of HTLV-1-specific CD8+ T cells during viral replication in patients with HTLV-1-associated myelopathy (HAM/TSP). *Blood;* 101: 3074-3081, 2003.
 6. Kiwaki T, Umehara F, Arimura Y, Izumo S, Arimura K, Itoh K, Osame M. The clinical and pathological features of peripheral neuropathy accompanied with HTLV-I associated myelopathy. *J Neurol Sci.* 206: 17-21, 2003.
 7. Furukawa Y, M. Saito, W. Matsumoto, K. Usuku, Y. Tanaka, S. Izumo, M. Osame. Different cytokine production in Tax expressing cells between HTLV-I associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients and asymptomatic HTLV-I carriers. *J Infect Dis.* 187:1116-1125, 2003.
 8. Saito M, Braud V.M, Goon P, Hanon E, Taylor GP, Saito A, Eiraku N, Tanaka Y, Usuku K, Weber JN, Osame M, Bangham CRM. Low frequency of CD94/NKG2A -positive T lymphocytes in HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients but not in asymptomatic carriers. *Blood.* 102:577-584, 2003.
 9. Sabouri AH, Saito M, Matsumoto W, Kodama D, Farid R, Izumo S, Usuku K, Osame M. A C77G point mutation in CD45 exon 4, which is associated with the development of multiple sclerosis and increased susceptibility to HIV-1 infection, is undetectable in Japanese population. *Eur J Neurol.* 10: 737-739, 2003.
 10. Sugimoto C, Tadakuma K, Otani I, Moritoyo T, Akari H, Ono F, Yoshikawa Y, Sata T, Izumo S, Mori K. Nef gene is required for robust productive infection by simian immunodeficiency virus of T-cell-rich paracortex in lymph nodes. *J Virol.* 77: 4169-4180, 2003.
 11. Villinger, F., Mayne A. F., Bostik P,