

厚生労働科学研究費補助金
エイズ対策研究事業

HIV 感染予防に関する研究班

平成15～17年度 総合研究報告書

平成18年 3 月

主任研究者

佐多 徹太郎

(国立感染症研究所)

平成17年度エイズ対策研究事業
「HIV感染予防に関する研究」班
班員名簿

佐多徹太郎	国立感染症研究所・感染病理部	部長
俣野 哲朗	東京大学大学院・医学系研究科・微生物学講座	助教授
三浦 智行	京都大学ウイルス研究所・感染症モデル研究センター 霊長類モデル研究領域	助教授
本多 三男	国立感染症研究所・エイズ研究センター 第1研究グループ	グループ長
森 一泰	国立感染症研究所エイズ研究センター (独立行政法人医薬基盤研究所・霊長類医科学研究センター)	主任研究官
庄司 省三	熊本大学大学院・医学薬学研究部・薬学生化学分野	教授
石川 晃一	国立感染症研究所・エイズ研究センター	主任研究官
保富 康宏	三重大学医学部・生体防御医学講座	助教授
神奈木真理	東京医科歯科大学大学院・医歯学総合研究科 免疫治療学研究室	教授
牧野 正彦	国立感染症研究所ハンセン病研究センター 病原微生物部	部長
横田 恭子	国立感染症研究所・免疫部	第1室長
横幕 能行	独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター 第1内科（臨床研究部）	
中島 典子	国立感染症研究所・感染病理部	主任研究官
高橋 秀実	日本医科大学・微生物学免疫学教室	教授

目 次

I. HIV 感染予防に関する研究 総合研究報告書（平成 15-17 年度）	1
主任研究者：佐多 徹太郎（国立感染症研究所感染病理部）	
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	9

I. 総合研究報告書

HIV 感染予防に関する研究

主任研究者 佐多 徹太郎 国立感染症研究所感染病理部 部長

研究要旨 エイズ克服には HIV 感染の予防に優るものはなく、なかでもワクチン開発が最重要課題である。本研究班では、1) サルを用いた有効かつ安全なワクチン開発研究、2) ワクチン免疫による防御機構の解明、そして 3) いまだあきらかとなっていない HIV 感染病態の解析を 3 本柱として研究を行った。組換え BCG ワクチンのコドン至適化と DIs ワクチンをブーストワクチンとする基礎的コンセプトを確立することができた。DNA プライム・SeV ブーストワクチン接種サルに SIVmac239 チャレンジ後、3 頭ではウイルス複製制御が維持されており、セットポイント期以降 1 年までの濃縮血漿を用いた解析でもウイルスは検出されなかった。強毒 SHIV と弱毒株の違いとして gp41 の変異が感染力価を 40 倍上昇させた。また感染後の病態から腸管粘膜の CD4 T 細胞が標的と考えられた。弱毒株感染のサルではウイルス量が少ない状態で新たな感染を防御することができた。Δ5G 感染ザルにおいて Δ5Genv 遺伝子に新たな変異は検出されなかった。新たに作成した M 細胞を標的とする化合物が経口投与で小腸粘膜内にとりこまれた。α 抗原蛋白は HIVenv gp120 蛋白に対し強い抗体誘導と Th1 タイプのサイトカインの産生を誘導した。経鼻免疫では低分子のキトサンおよび HVJ env ベクターがアジュバントとして有望と考えられた。自然免疫系の解析を目的とした実験系で Nef 発現が NK 細胞の INFγ 産生を著しく低下させた。ほか、ワクチン開発研究、感染防御機構や病態解明に役立つ成果が得られ、HIV 感染予防としてさらなる発展が期待される。

分担研究者：

俣野哲朗（東京大学医科学研究所 教授）、
三浦智行（京都大学ウイルス研究所感染症モデル研究センター 助教授）、
本多三男（国立感染症研究所エイズ研究センター 室長）、
森 一泰（国立感染症研究所エイズ研究センター 主任研究官）、
庄司省三（熊本大学大学院医学薬学研究部 教授）、
石川晃一（国立感染症研究所エイズ研究センター 主任研究官）、
保富康宏（三重大学医学部 助教授）、
神奈木真理（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 教授）、
牧野正彦（国立感染症研究所ハンセン病研究センター 部長）、
横田恭子（国立感染症研究所免疫部 室長）、
横幕能行（独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター 第一内科兼臨床研究部）、
中島典子（国立感染症研究所感染病理部 主任研究官）、
高橋秀美（日本医科大学医学部微生物免疫学 教授）

A. 研究目的

HAART の開発により HIV 感染者の予後は改善されたが、コンプライアンスやコストそして薬剤耐性などの問題があるため、エイズ克服には HIV 感染の予防に優るものはなく、なかでもワクチン開発が最重要課題である。一方で防御免疫機構やいまだ明らかではない HIV 感染病態の解明はワクチン開発のみならず HIV 感染予防にとって重要な課題である。本研究班ではわが国のサルを用いたエイズワクチン研究者や HIV 感染防御免疫機構や HIV 感染病態研究者による HIV 感染予防を目的とした研究を推進することにより、ヒトでの実用化に耐えるワクチンの開発研究を行うことを目的とする。

B. 研究方法

1) サルを用いた有効かつ安全なワクチン開発研究: タイ型ワクチン投与サルにおける細胞性及び液性免疫の確認と防御免疫に最小必要量の検討を行なった。組換え MVA ワクチンと組

換え DI5 ワクチンについて抗原発現、培養細胞のホストレンジ、免疫原性、安全性を比較検討した。組換え BCG ワクチンと組換え DI5 ワクチンについて至適化を行い、サルを用いて検討し、さらにワクチン抗原の製造や評価に関する基準を検討した(本多)。DNA プライム・SeV ブーストワクチン接種サルに SIVmac239 チャレンジ後、血漿中ウイルス量、ウイルスゲノム塩基配列、ウイルス特異的 CTL レベル等を測定した。感染初期の SIV 複製制御が認められたサルを対象として、感染慢性期の CTL 解析を行なった。さらにセットポイント期にウイルス量が検出限界以下のサンプルについては、血漿を濃縮しウイルス定量を行った(俣野)。弱毒生ワクチン株のサルにおける安全性の確認実験、各種サイトカイン挿入 SHIV や HIV-1 Env の糖鎖欠損 SHIV および半生 DNA ワクチンの改良による感染性・免疫誘導能・感染防御能について調べた。強毒及び弱毒 SHIV 分子クローンについて塩基配列の違いと病原性との関係を調べた。種々の組換え SHIV を用い、サルにおける病原性、感染制御に重要な免疫機構および非感染性粒子を産生する半生 DNA ワクチンの効果を検討した(三浦)。Env vaccine をもとにその他の遺伝子を加えたワクチン、 $\Delta 5G$ を template とした糖鎖欠失変異ウイルスおよび抗原性の異なるチャレンジウイルスを作成し、防御効果を検討した。Env ワクチン接種 SIV 感染ザルへの SIVmac239 のチャレンジ感染後の解析と $\Delta 5G$ と関連の変異ウイルスと SIVmac239 の細胞指向性、co-receptor usage、中和抗体感受性について調べた。 $\Delta 5G$ 感染ザル、nef 遺伝子欠損 SIV 感染ザル、SIV239 感染を長期に抑制したサル、SHIV-RT 感染後早期治療ザルに SIVmac239 をチャレンジ感染し、血中ウイルス RNA 量、env 遺伝子の塩基配列を調べ、感染防御効果を検討した(森)。HIV-1 coreceptor の特殊立体構造 peptide (Cyclic dodecapeptide-multiple-antigen peptide conjugate: cDDR5-MAP)の構築と単クローン抗体の作出そして抗 HIV 活性やケモタキシス活性を調べた。環状ペプチドをサル 3 頭の腹腔内に 2 回免疫し、血清中の HIV-1 効果を調べた。また免疫サルにウイルスを challenge した。粘膜ワクチン開発として新たに粘膜 M 細胞を介する標的分子の化学合成を行い、小腸粘膜内に取り込まれるかどうかの検討を行った(庄司)。マウスで粘膜免疫アジュバントの有用性を検討し、またカニクイサル 6 頭を用い、HIV の DNA ワクチン候補として HVJ env ベクターと

HIV-1env 発現プラスミッドを経鼻投与し、SHIV の攻撃接種によりワクチン効果を検討した(石川)。

2) ワクチン免疫による防御機構の解明: アジュバント開発として抗酸菌 α 抗原遺伝子とエイズウイルス DNA ワクチンをマウスに混合接種し抗体産生や CTL 誘導能を検討した。酵母菌でのリコンビナント α 抗原蛋白の作成を試みた。抗酸菌の分泌 α 抗原の Ag85B 遺伝子を使い、大腸菌でのリコンビナント蛋白の作成を試み、アジュバント効果を比較した(保富)。HIV-1 抑制シグナルを伝える CD4 陽性 T 細胞上の表面分子を検索し、これを介した HIV-1 抑制機序を調べた。CD28 ファミリー分子 (CD28 と ICOS) を介する HIV-1 複製抑制効果についてさらに詳しく解析した(神奈木)。DC-SIGN 発現を HIV および抗酸菌のリガンドを用いてブロックしたとき病原体の樹状細胞内侵入に及ぼす影響を FACS で検討した。各種抗酸菌の GFP 発現菌株を作成し、DC-SIGN 安定発現細胞株および非発現親株を感染させ、菌体の細胞内移行性、細胞内増殖性の解析を行った。病原性との関連が指摘されている *M. avium* の菌体糖脂質 GPL の合成系を解析し、また *M. smegmatis* を用い GPL 合成系に關与する代謝酵素のノックアウト株を作製し *M. avium* の相同酵素遺伝子を導入しその性状を解析した(牧野)。種々の HIV のワクチン候補を用いて樹状細胞と T 細胞の相互作用を阻害あるいは修飾する T 細胞の活性化能や誘導サイトカイン等を細胞レベルおよび DNA アレイで解析した。ウイルス抗原を提示する樹状細胞と T 細胞の共培養の系において抗原特異的な T 細胞反応の経過を増殖と IFN- γ 産生を指標に解析した。種々の抗原刺激に反応する抗原特異的 T 細胞を HLA の制限なく解析するため IFN- γ プロモーター活性を検出する組換えレンチウイルスベクターシステムを構築し、Jurkat 細胞あるいは末梢血単核細胞 (PBMC) に感染させ、感染効率と IFN promoter 活性を測定した(横田)。CTL 逃避機構の解明を目的として、多くの臨床検体由来の gag-pol を組込む HIV-1 ベクターを用いて標的細胞を作製した。gag-pol 迅速クローニングシステムを使用し、gag の塩基配列を解析した。env 発現系の開発を目的として Gateway system を改変して tat, rev, env, vpu を含む領域を簡便にクローニング可能なシステム構築した。臨床検体由来の HIV-1 遺伝子のうち gag(-pro)領域を移動可能な新規 HIV-1

vector を作成し、新規 CTL epitope 同定法を検討した（横幕）。

3) いまだあきらかとなっていない HIV 感染病態の解析：HGV 全長 DNA クローンを作製し、HGV による HIV 感染抑制効果を検討した（佐多）。HIV 脳炎の病態解明を目的とし in vitro で分化させたサル神経幹細胞培養系について、SIV ないし SHIV に対する感受性および神経幹細胞への感染性に影響を及ぼす因子を解析した。細胞向性の異なる SIV クローンを作製し、ニューロンやグリアに直接及ぼす影響について調べた。サル胎児脳由来ミクログリアとニューロン・グリア培養系における SIV の感染性を比較し、ミクログリアを添加した影響を調べた（中島）。HIV 感染防御に関与する小腸上皮内リンパ球の役割を検討する目的で CTL-TCR 発現遺伝子改変マウスの粘膜組織における TCR 発現細胞を解明し、TCR の認識抗原発現組み換えワクチニアウイルスの接種による TCR 発現細胞の動態を探った。出産後 6-10 日のヒト初乳を入手し、その中に含まれる細胞群を解析し、母乳感染の主体である R5 型 HIV-1 に対する感受性等を追跡した。サル小腸粘膜組織由来の CD8 α 陽性で CD4 陽性の double positive 細胞株を不死化させた。また、NKT 細胞へ抗原を提示する CD1d 分子の種族的な特性を遺伝的に追跡した（高橋）。

（倫理面への配慮）

健常人の末梢血単核球や感染者の検体の利用に関しては研究倫理委員会の承認を受け、インフォームドコンセントを得た上で提供を受けた。動物実験は、各施設の動物実験委員会の審査を受け、その承認を得た。研究の実施にあたっては、動物愛護の精神で動物に与える苦痛の軽減と排除に勤めた。

C. 研究結果

1) サルを用いた有効かつ安全なワクチン開発研究：HIV-1 CRF01_AE Gag 遺伝子を組込んだ組換え BCG ワクチンと組換え DIs ワクチンを作成し検討したところ、ヒトへの投与可能量 0.1mg BCG と 107pfu DIs で抗原特異的 γ インターフェロン産生 T 細胞の数が 400~600 ELISpot 検出された。DIs ウイルスベクターはほ乳類細胞では増殖しないが外来性遺伝子の発現は充分に行え、MVA ワクチンよりも安全であることを明らかにした。組換え BCG ワクチンのコドン最適化と DIs ワクチンのブーストワクチンの基礎的なコンセプトを確立する

ことができ、より低容量での効果が期待された。ワクチン接種後の感染実験後 3 頭中 2 頭で末梢の CD4 陽性 T 細胞が保たれ、血中ウイルス量も検出されなかった。Gag のワクチンで攻撃感染後に env の中和抗体が上昇した（本多）。SIVmac239 攻撃感染後のセットポイント期以降、血漿中ウイルス量が検出下限以下となったサルが 5 頭いた。うち 2 頭では約 1 年でウイルス血症の再出現がみられた。チャレンジ後 5 週目の血漿由来 SIV genome の gag 領域塩基配列の解析では、5 頭においてのみ、各々 1 つの CTL エスケープ変異が dominant となっており、そのエピトープ特異的 CTL が wild-type SIV の迅速な排除に中心的役割を果たしたことが明らかとなった。残り 3 頭ではウイルス複製制御が維持されており、セットポイント期以降 1 年までの濃縮血漿を用いた解析でもウイルスは検出されなかった（俣野）。弱毒生ワクチン元株をサルで 5 代個体継代行ったが強毒化しなかった。nef 欠失弱毒 SHIV 接種によりワクチン接種後 4 週で強毒 SHIV 攻撃接種に対してある程度の防御効果が誘導された。nef 欠失部位へのインターフェロン γ 遺伝子組込みにより、攻撃接種ウイルスに対して増殖抑制ないし増幅の両面が明らかとなった。インターロイキン 2 遺伝子を挿入した SHIV 半生 DNA ワクチンは強毒 SHIV 攻撃接種に対してある程度の感染防御効果があることを示した。強毒及び弱毒 SHIV の塩基配列上の違いは 16 カ所であるが M8166 細胞での検討から、そのうちの primer binding site や逆転写酵素の変異はウイルス産生量を 2-3 倍上昇させ、また gp41 の変異は感染力価を 40 倍上昇させることがわかった。またこれらウイルスによる感染初期における胸腺、腸管と深部リンパ系組織におけるウイルス動態と CD4 陽性 T 細胞に対する障害性の違いについて明らかにし、幼若な T 細胞に対する障害性と分化増殖能の障害が病原性発現に重要であることを明らかにした。半生 DNA ワクチンの投与方法として坐薬を用いたところ細胞性免疫が誘導されたが、液性免疫は誘導されず、感染防御効果はみられなかった（三浦）。アカゲザル 4 頭に SIVmac239 Env または 5 本の糖鎖を欠く Δ 5G-Env を抗原として DNA ワクチンによる prime 免疫、組み換え vaccinia による boost 免疫をおこない、8 週後、各 2 頭に SIVmac239 と Δ 5G を静脈内接種した。初期感染のピークは SIVmac239 感染では非免疫ザル感染に比べて約 1/10 低下し、 Δ 5G 感染では 1/10-1/100 に低下したが、抑制効果の差はみら

れなかった。セットポイントにおける抑制効果については SIVmac239 感染に対して、Wt-Env ワクチン群は血中ウイルス量が 1/10 低かったが、 Δ 5G 感染に対しては両ワクチン群に差はみられなかった。SIVmac239 長期非発症ザル、DNA ワクチンによる感染制御サルの解析から、生ワクチンによる強い防御免疫は感染制御との関連性が見いだされ、また Δ 5G のどの糖鎖欠失変異がウイルスの細胞指向性、中和抗体感受性に変化を与えることを明らかにした。チャレンジ前のサルでは血中ウイルス量が検出限界前後 (100 copy/ml) で感染は制御されていた。SIVmac239 を静脈内接種後血漿ウイルス量の増加は観察されなかった。増加した 1 頭では SIV 抗体価が非常に低かった。ウイルス量が少ない状態では新たな感染を防御することができた。 Δ 5G 感染ザルにおける Δ 5Genv 遺伝子の変異は低く、新たな変異は検出されなかった (森)。cDDR5-MAP 抗原は細胞表面の native CCR5 を認識する特殊抗体を誘導し、さらに non-clade B HIV-1 R5 ウイルス対しても感染防止効果を示すことが明らかになった。免疫後 4~6 週目から抗体価の上昇が認められ、11 週目にウイルスを攻撃感染した結果、免疫サルの血中ウイルス量はコントロールに較べて 2log~3log の感染防御効果が認められた。免疫血清は X4 ウイルスに対しては効果がなかった。新たに作成した M 細胞を標的とする化合物は小腸 M 細胞を標的とし、粘膜内に移動することを明らかにした (庄司)。経鼻免疫では低分子のキトサンおよび HVJ env ベクターがマウスで高い抗体価を示し、アジュバントとして有望と考えられた (石川)。

2) ワクチン免疫による防御機構の解明: DNA 導入により HIVenv 抗原と α 抗原の発現は同一組織にみられた。 α 抗原添加群では IL-4 産生が低下し IFN- γ が増加を示し、また CTL が誘導され、BCG の感作でより明らかとなった。免疫マウスに HIVenv 組み込みワクシニアウイルスを接種したところ、 α 抗原遺伝子添加・BCG 感作群でウイルスをコントロールしていることが示された。酵母菌でのリコンビナント α 抗原蛋白の作成はコドン改変を行うことで成功した。ユビキチン結合蛋白として発現精製できたリコンビナント α 抗原蛋白は HIVenv gp120 蛋白に対し非常に強い抗体の誘導と Th1 タイプのサイトカインの産生が認められた (保富)。HIV-1 抑制シグナルを伝える CD4 陽性 T 細胞上の表面分子として、CD28 ファミリー分

子として知られている CD28, CTLA-4, ICOS, PD1 について解析を行った。ヒト CD28 と ICOS に対するモノクローナル抗体が R5 あるいは X4 HIV-1 株の急性感染に引き続くウイルス産生を有意に抑制し、細胞増殖抑制や細胞毒性を示さなかった。ICOS を介する HIV-1 抑制は抗体添加でも可溶性ナチュラルリガンド (B7h-Fc) 添加でも再現することができた。抑制ステップはウイルス複製初期であるが、HIV-1 レセプター発現変化によるものではない。また、ICOS 下流の HIV-1 抑制につながるシグナルは少なくとも NF κ B 経路を介することが分かった。可溶性 CTLA-4 には量依存的な HIV-1 複製抑制が認められたが、マクロファージを介した細胞増殖抑制を伴う HIV-1 抑制であった。自然免疫系の解析を目的とした実験系で Nef 発現が NK 細胞の IFN γ 産生を著しく低下させ、Nef の病原性との関わりが示唆された (神奈木)。DC-SIGN 変異発現細胞株を樹立し GFP 標識 BCG 菌を感染させると感染し、細胞内ライゾゾームまで侵入していた。末梢血由来の DC を BCG 菌で刺激すると活性化した。またらい菌でパルスすると自己の T 細胞を活性化した。菌膜に存在する MMP-II と DC-SIGN が結合することが示唆された。*M. avium* 代謝遺伝子を各ノックアウト株に導入したところ、合成初期は *M. smegmatis* と共通の経路を用い、後期は *M. avium* 特異的経路が働き、病原性に関与する GPL が形成されることが明らかになった。DC-SIGN には結合しなかった (牧野)。樹状細胞を成熟化させる活性を有する Yeast VLP とウイルスベクターを組み合わせるにより、T 細胞の *in vitro* でプライミングが可能であることが明らかとなった。樹状細胞と T 細胞の共培養系において抗原特異的な反応を幅広く解析できる IFN- γ 活性検出レンチウイルスベクターを構築し、その実用化の可能性を示した。Jurkat 細胞でプロモーターの活性を検出できた。IFN- γ プロモーター活性化に伴う β -lactamase の活性測定は FACS の多重染色解析にも利用可能で、新しい抗原特異的 T 細胞活性化の評価系ができた (横田)。臨床検体由来 gag-pol を効率よく感染性クローンにクローン化する方法を確立し、実際にタイ流行株を 6 クローン樹立した。92 クローンで gag のほぼ全長の解析が終了し、P24 中に CTL に認識される 15 mer の peptide が複数確認された。新しい CTL epitope を gag 上に同定した。1 ステップで env 発現ベクターにクローニング可能なプラスミド pFG01 を構築し、組み換えた HIV-1

は感染性と増殖性を共にもっていた。InFusion システムを用いて gag, pro 等遺伝子を簡易に移動できる construct の作成に成功した。患者の PBMC から抽出した RNA を用いると効率良く感染性クローンが得られることが判明し、約 20 クローンの CTL 標的細胞を作製した(横幕)。

3) いまだあきらかとなっていない HIV 感染病態の解析: HGV 5' UTR (ゲノタイプ 3 型) の IRES 活性は HCV 5' UTR に比べて 100 倍程度低いことが判明した。PCR によるエラーを修復した HGV 複製中間体であるマイナス鎖 RNA を細胞内および上清中で検出し、さらに培養上清中にも RNA ウイルスを検出した(佐多)。HIV 脳症の動物モデルである SIV 脳症の病態を解析できる *in vitro* の培養系をサル胎児脳由来の神経幹細胞を用いて確立した。マクロファージ向性 SIV の中でも神経向性の SIV17E/Fr の感染性が最も高く、EGFP 遺伝子を挿入したクローンを感染させると GFP 陽性細胞は SIVp27 抗原陽性で経時的に増加した。アストロサイトのほかニューロンでも GFP 陽性細胞が認められた。サル神経幹細胞に種々の SIV クローンを感染させたところ、神経向性の SIV17E-Fr が高い感染性を示し培養上清中に感染性ウイルスが検出された。SIV17E-Fr Δ nef-GFP を感染させると GFP 陽性細胞はアストロサイトやニューロンであった。神経向性はエントリーの段階で決定され、env の表面糖タンパク質に規定されていた。脳由来の培養ミクログリアを SIV 感染 BPC 由来ニューロン・グリア培養系に添加すると培養上清中の SIV gag 蛋白量が増大した。またミクログリアには β ケモカインが誘導された。エイズ脳症の *in vitro* モデルができた(中島)。H-2Dd/P18-I10 テトラマーを用いて、特異的 CTL を発現した細胞数を解析したところ、未免疫 Tg-RT1 の脾臓や腸管膜リンパ節 (MLN) における T 細胞は全て $\alpha\beta$ 型 TCR を発現しているのに対し、粘膜免疫を反映する IEL は CD8 $\alpha\alpha$ と CD8 $\alpha\alpha$ 型双方からなる $\gamma\delta$ TCR T 細胞と CD8 $\alpha\alpha$ 型 $\gamma\delta$ TCR 発現 T 細胞によって構成されることが判明した。初乳中の細胞の主体は CD4+CD14+ のマクロファージ型細胞であり、同時に DC-SIGN を発現し、その発現は IL-4 の添加により増強した。そしてこの DC-SIGN 発現細胞は DC-SIGN を介して R5 型 HIV-1 を捕捉・保持することにより感染伝播の主役を演ずることを見出した。胃酸条件下でも感染力が残ることが判明した。サル小腸粘膜内に棲息する

CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 CD4 陽性の T 細胞群の方がウイルスの複製能が高く、感染初期から複製が開始されていた。小腸粘膜内の double positive T 細胞がウイルス感染を拡大していると考えられた。また CD1d 分子の種族的な特性を解明した(高橋)。

D. 考 察

組換え BCG および DIs ワクチンの臨床試行の可能性について検討できる段階にきた。ワクチンの実用化のためには臨床医学的、及び社会的な検討に基づく共同研究が必須である。一時的にも中和抗体が誘導できたので、今後の工夫が必要である。チャレンジ後のセットポイント期の血漿中ウイルス量を、血漿濃縮による感度の高い方法によっても検出されない程度に抑制することができれば、長期の SIV 複製制御維持・エイズ発症阻止につながることを示唆された。今後さらに長期のウイルス複製制御維持に必要な機序を解析し、ウイルス多様性に対する効果を検討する必要がある。SHIV 感染による CD4 陽性 T 細胞の増殖分化障害および小腸での CD4T 細胞の減少枯渇が明らかとなり、小腸の CD4 陽性 T 細胞が感染の標的であることが示唆され、また CD8 $\alpha\alpha$ 陽性 CD4 陽性の T 細胞群のウイルス感受性が高いことがわかり、エイズの病原性解明に向けて極めて重要な知見が得られた。自己抗体型ワクチンとして粘膜免疫ワクチン開発が必要と考えられるので、新たに作製された小腸 M 細胞を標的とする化合物が機能することが明らかとなった。今後の研究の発展が期待される。またアジュバントの開発や検討により、ワクチン開発の基盤が形成されつつある。またサルを用いた有効性ととも、安全性や安定性についても検討していくことが必要である。さらに基礎的な感染制御機構の解明およびその解析法の開発が進み、ワクチンの有効性を評価する方法ができつつある。いまだ明らかではない HIV 感染の病態について一部を明らかにすることができた。

E. 結 論

組換え BCG ワクチンと DIs ワクチンのプライムブーストワクチンの基礎的なコンセプトを確立し、実用化への道を開くことができた。ワクチン接種により血漿中ウイルス量を極めて低い値に低下させることがエイズ発症阻止に結びつくことを示した。腸管や深部リンパ系組織における詳細なウイルス感染動態と免疫細胞動態の実験解析基盤を確立できた。

F. 健康危険情報
とくになし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kinomoto M, Yokoyama M, Sato H, Kojima A, Kurata T, Ikuta K, Sata T, Tokunaga K: Amino acid 36 in HIV-1 gp41 ectodomain controls fusogenic activity: Implications for the molecular mechanism of viral escape from a fusion inhibitor. *J Virol* 79:5996-6004, 2005.
- 2) Kinomoto M, Appiah-Opong R, Brandful JAM, Yokoyama M, Nii-Trebi N, Ugly-Kwame E, Sato H, Ofori-Adjei D, Kurata T, Barre-Sinoussi F, Sata T, Tokunaga K: HIV-1 proteases from drug-naïve West African patients are differentially less susceptible to protease inhibitors. *Clin Infect Dis* 41:243-251, 2005.
- 3) Kobayashi M, Igarashi H, Takeda A, Kato M, Matano T: Reversion in vivo after inoculation of a molecular proviral DNA clone of simian immunodeficiency virus with a cytotoxic-T-lymphocyte escape mutation. *J Virol* 79:11529-11532, 2005.
- 4) Kato M, Igarashi H, Takeda A, Sasaki Y, Nakamura H, Kano M, Sata T, Iida A, Hasegawa M, Horie S, Higashihara E, Nagai Y, Matano T: Induction of Gag-specific T-cell responses by therapeutic immunization with a Gag-expressing Sendai virus vector in macaques chronically infected with simian-human immunodeficiency virus. *Vaccine* 23:3166-3173, 2005.
- 5) 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.
- 6) Lun W-H, 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.
- 7) Miyake A, Ibuki K, Enose Y, Suzuki Y, Horiuchi R, Motohara M, Saito N, Nakasone T, Honda M, Watanabe T, Miura T, Hayami M: Rapid dissemination of a pathogenic simian/human immunodeficiency virus to systemic organs and active replication in lymphoid tissues following intrarectal infection. *J Gen Virol*. (in press)
- 8) Horiuchi R, Akahata W, Kuwata T, Enose Y, Ido E, Suzuki H, Miyake A, Saito N, Ibuki K, Goto T, Miura T, Hayami M: DNA vaccination of macaques by a full-genome SHIV plasmid that has an IL-2 gene and Produces non-infectious virus particles. *Vaccine*. (in press)
- 9) Shimizu Y, Miyazaki Y, Ibuki K, Suzuki H, Kaneyasu K, Goto Y, Hayami M, Miura T, Haga T: Induction of immune response in macaque monkeys infected with simian-human immunodeficiency virus having the TNF-alpha gene at an early stage of infection. *Virology*. (in press)
- 10) Miyake A, Ibuki K, Suzuki H, Horiuchi R, Saito N, Motohara M, Hayami M, Miura T: Early virological events in various tissues of newborn monkeys after intrarectal infection with pathogenic simian human immunodeficiency virus. *J Med Primatol* 34:294-302, 2005.
- 11) Enose Y, Kita M, Yamamoto T, Suzuki H, Miyake A, Horiuchi R, Ibuki K, Kaneyasu K, Kuwata T, Takahashi E, Sakai K, Shinohara K, Miura T, Hayami H: Protective effects of nef-deleted SHIV or that having IFN-gamma against disease induced with a pathogenic virus early after vaccination. *Arch Virol* 149:1705-1720, 2004.
- 12) 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-gamma. *Arch Virol* 149:743-757, 2004.
- 13) Kawahara M, Matsuo K, Honda M: Intradermal and oral immunization with recombinant Mycobacterium bovis BCG expressing the simian immunodeficiency virus Gag protein induces long-lasting, antigen-specific immune responses in guinea pigs. *Clin Immunol*, 2005. (in press)
- 14) Someya K, Ami Y, Nakasone T, Izumi Y, Matsuo K, Horibata S, Xin KQ, Yamamoto H, Okuda K, Yamamoto N, Honda M: Induction of positive cellular and humoral

- immune responses by a prime-boost vaccine encoded with simian immunodeficiency virus gag/pol. *J Immunol*, 2005. (in press)
- 15) Someya K, Cecilia D, Ami Y, Nakasone T, Matsuo K, Burda S, Yamamoto H, Yoshino N, Kaizu M, Ando S, Okuda K, Zolla-Pazner S, Yamazaki S, Yamamoto N, Honda M: Vaccination of rhesus macaques with recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin Env V3 elicits neutralizing antibody-mediated protection against simian-human immunodeficiency virus with a homologous but not a heterologous V3 motif. *J Virol* 79:1452-1462, 2005.
 - 16) Kanekiyo M, Matsuo K, Hamatake M, Hamano T, Ohsu T, Matsumoto S, Yamada T, Yamazaki S, Hasegawa A, Yamamoto N, Honda M: Mycobacterial codon optimization enhances antigen expression and virus-specific immune responses in recombinant bacille Calmette-Guérin expressing the human immunodeficiency virus type 1Gag. *J Virol* 79:8716-8723, 2005.
 - 17) Ami Y, Izumi Y, Matsuo K, Someya K, Kenekiyo M, Horibata S, Yoshino N, Sakai K, Shinohara K, Yamazaki S, Yamamoto N, Honda M: Vaccination with Recombinant *Mycobacterium bovis* Bacillus Calmette-Guérin and a Non-replicating Vaccinia Virus Recombinant Leads to Long-lasting and Effective Immunity. *J Virol* 79:12871-12879, 2005.
 - 18) Someya K, Xin K Q, Matsuo K, Okuda K, Yamamoto N, Honda M: A consecutive prime-boost vaccination of mice with simian immunodeficiency virus (SIV) gag/pol DNA and recombinant vaccinia virus strain D1s elicits effective anti-SIV immunity. *J Virol* 78:9842-9853, 2004.
 - 19) Mori K, Sugimoto C, Ohgimoto S, Shioda T, Kusagawa S, Takebe Y, Kano M, Matano T, Yuasa T, Kitagawa 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 SIVmac239 in a macaque AIDS model. *J Virol* 79:10386-10396, 2005.
 - 20) 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/Human Immunodeficiency Virus SF162P3 Challenge. *J Immunol*. (in press)
 - 21) 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* 138:1-2, 2005.
 - 22) Barnor JS, Kurosaki N, Yamaguchi K, Sakamoto A, Ishikawa K, Inagaki Y, Yamamoto N, Osei-Kwasi, Ofori-Adjei D, Takaku H: Intracellular expression of anti sense RNA transcripts complementary to the human immunodeficiency virus type-1 vif gene inhibits viral replication in infected T-lymphoblastoid cells. *Biochem Biophys Res Commun* 320:544-550, 2004.
 - 23) Takamura S, Matsuo K, Takebe Y, Yasutomi Y: Ag85B of mycobacteria elicits effective CTL responses through activation of robust Th1 immunity as a novel adjuvant in DNA vaccine. *J Immunol* 175:2541-2547, 2005.
 - 24) Zhou X, Kubo M, Nishitsuji H, Kurihara K, Ikeda T, Ohashi T, Azuma M, Masuda T, Kannagi M: Inducible co-stimulator (ICOS)-mediated suppression of human immunodeficiency virus type 1-replication in CD4+ T lymphocytes. *Virology* 325:252-263, 2004.
 - 25) Emori Y, Ikeda T, Ohashi T, Masuda T, Kurimoto T, Takei M, Kannagi M: Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by Z-100, an immunomodulator extracted from human type tubercle bacilli, in macrophages. *J Gen Virol* 85:2603-2613, 2004.
 - 26) Kimura H, Maeda Y, Takeshita F, Takaoka LE, Matsuoka M, Makino M: Upregulation of T-cell-stimulating activity of mycobacteria-infected macrophages. *Scand J Immunol* 60:278-286, 2004.
 - 27) Yamashita Y, Maeda Y, Takeshita F, Brennan PJ, Makino M: Role of the polypeptide region of 33 kDa mycobacterial lipoprotein for efficient IL-12 production. *Cell Immunol* 229:13-20, 2004.
 - 28) Iijima S, Nitahara-Kasahara Y, Kimata K, Zhuang WZ, Kamata M, Isogai M, Miwa M, Tsunetsugu-Yokota Y, Aida Y: Nuclear localization of Vpr is crucial for the efficient replication of HIV-1 in primary CD4+ T cells. *Virology* 327:249-261, 2004.
 - 29) Yokomaku Y, Miura H, Tomiyama H, Kawana-Tachikawa A, Takiguchi M, Kojima

- A, Nagai Y, Iwamoto A, Matsuda Z, Ariyoshi K: Impaired processing and presentation of cytotoxic-T-lymphocyte (CTL) epitopes are major escape mechanisms from CTL immune pressure in human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 78:1324-1332, 2004.
- 30) Richard Lu, Nakajima N, Hofmann W, Benkirane M, The-Jeang K, Sodroski J, Engelman A: Simian virus 40-based replication of catalytically inactive human immunodeficiency virus type 1 integrase mutants in nonpermissive T cells and monocyte-derived. *J Virol* 78:658-668, 2004.
- 31) Satomi M, Shimizu M, Shinya E, Watari E, Owaki A, Hidaka C, Ichikawa M, Takeshita T, Takahashi H: Transmission of macrophage-tropic HIV-1 by breast milk macrophages via DC-SIGN. *J Infect Dis* 191:174-181, 2005.
- 32) Shinya E, Owaki A, Shimizu M, Takeuchi J, Kawashima T, Hidaka C, Satomi M, Watari E, Sugita M, Takahashi H: Endogenously expressed HIV-1 *nef* down-regulates antigen-presenting molecules, not only class I MHC but also CD1a, in immature dendritic cells. *Virology* 326:79-89, 2004.
- 33) Fujimoto C, Nakagawa Y, Ohara K, Takahashi H: Polyribonucleosinic polyribocytidylic acid [poly(I:C)]/TLR3 signaling allows class I processing of exogenous protein and induction of HIV-specific CD8+ cytotoxic T lymphocytes. *Int Immunol* 16:55-63, 2004.
- 34) Hidaka C, Norose Y, Makagawa Y, Shimizu M, Takahashi M, Owaki A, Nohtomi K, Toda M, Kusagawa S, Sakaguchi M, Kudo S, Takebe Y, Takahashi H: Dermal dendritic cells sensitized with plasmid DNA encoding immunostimulatory sequence by gene gun efficiently prime murine HIV-1-specific CD8+ cytotoxic T lymphocytes. *Biomed Res* 25:83-91, 2004.
- 35) Kuribayashi H, Wakabayashi A, Shimizu M, Kaneko H, Norose Y, Nakagawa Y, Wang J, Kumagai Y, Margulies DH, Takahashi H: Resistance to viral infection by intraepithelial lymphocytes in HIV-1 P18-I10-specific T-cell receptor transgenic mice. *Biochem Biophys Res Commun* 316:356-363, 2004.
2. 学会発表
各分担研究者の報告書参照。
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)
1. 特許取得
- 1) 庄司ほか: 出願番号: 2005-317905 出願日: 2005.11.01、腸管免疫賦活剤、発明者: 庄司省三、三隅将吾、中山大介、出願人: 国立大学法人熊本大学
- 2) 俣野: 特許出願: DNA ワクチン、出願番号 2000-291792、 公開番号 2001-169784.
- 3) 保富: α 抗原のワクチンにおけるアジュバント剤としての利用 (出願中、特開 2002-114708)
- 4) 保富: DNA ワクチンに対するアジュバント剤(日本 特願 2000-307674)
- 5) 保富: α 抗原または α 抗原遺伝子の新規医薬用途 (国際出願番号: PCT/JP02/01459)
- 6) 本多「プライムブーストワクチン法」特願 2004-341283
- 7) 三浦: 発明の名称: 「アポトーシス誘導物質を含む医薬組成物」出願番号: 特願 2004-298188 (平成 16 年 10 月 12 日出願) 出願人: (独) 理化学研究所 (発明者持分 20%を理化学研究所に承継)
2. 実用新案登録
登録なし
3. その他
なし

II. 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

	発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
1	Kinomoto M, Yokoyama M, Sato H, Kojima A, Kurata T, Ikuta K, <u>Sata T</u> , Tokunaga K	Amino acid 36 in HIV-1 gp41 ectodomain controls fusogenic activity: Implications for the molecular mechanism of viral escape from a fusion inhibitor.	J Virol	79	5996-6004	2005
2	Kinomoto M, Appiah-Opong R, Brandful JAM, Yokoyama M, Nii-Trebi N, Ugly-Kwame E, Sato H, Ofori-Adjei D, Kurata T, Barre-Sinoussi F, <u>Sata T</u> , Tokunaga K	HIV-1 proteases from drug-naïve West African patients are differentially less susceptible to protease inhibitors.	Clin Infect Dis	41	243-251	2005
3	Kobayashi M, Igarashi H, Takeda A, Kato M, <u>Matano T</u>	Reversion in vivo after inoculation of a molecular proviral DNA clone of simian immunodeficiency virus with a cytotoxic-T-lymphocyte escape mutation.	J Virol	79	11529-11532	2005
4	Kato M, Igarashi H, Takeda A, Sasaki Y, Nakamura H, Kano M, Sata T, Iida A, Hasegawa M, Horie S, Higashihara E, Nagai Y, <u>Matano T</u>	Induction of Gag-specific T-cell responses by therapeutic immunization with a Gag-expressing Sendai virus vector in macaques chronically infected with simian-human immunodeficiency virus.	Vaccine	23	3166-3173	2005
5	<u>Matano T</u> , 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
6	Lun W-H, 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

7	Miyake A, Ibuki K, Enose Y, Suzuki Y, Horiuchi R, Motohara M, Saito N, Nakasone T, Honda M, Watanabe T, <u>Miura T</u> , Hayami M	Rapid dissemination of a pathogenic simian/human immunodeficiency virus to systemic organs and active replication in lymphoid tissues following intrarectal infection.	J Gen Virol		in press	
8	Horiuchi R, Akahata W, Kuwata T, Enose Y, Ido E, Suzuki H, Miyake A, Saito N, Ibuki K, Goto T, <u>Miura T</u> , Hayami M	DNA vaccination of macaques by a full-genome SHIV plasmid that has an IL-2 gene and Produces non-infectious virus particles.	Vaccine		in press	
9	Shimizu Y, Miyazaki Y, Ibuki K, Suzuki H, Kaneyasu K, Goto Y, Hayami M, <u>Miura T</u> , Haga T	Induction of immune response in macaque monkeys infected with simian-human immunodeficiency virus having the TNF-alpha gene at an early stage of infection.	Virology		in press	
10	Miyake A, Ibuki K, Suzuki H, Horiuchi R, Saito N, Motohara M, Hayami M, <u>Miura T</u>	Early virological events in various tissues of newborn monkeys after intrarectal infection with pathogenic simian human immunodeficiency virus.	J Med Primatol	34	294-302	2005
11	Enose Y, Kita M, Yamamoto T, Suzuki H, Miyake A, Horiuchi R, Ibuki K, Kaneyasu K, Kuwata T, Takahashi E, Sakai K, Shinohara K, <u>Miura T</u> , Hayami H	Protective effects of nef-deleted SHIV or that having IFN-gamma against disease induced with a pathogenic virus early after vaccination.	Arch Virol	149	1705-1720	2004
12	Iida T, Kuwata T, Ui M, Suzuki H, <u>Miura T</u> , 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-gamma.	Arch Virol	149	743-757	2004
13	Kawahara M, Matsuo K, <u>Honda M</u>	Intradermal and oral immunization with recombinant Mycobacterium bovis BCG expressing the simian immunodeficiency virus Gag protein induces long-lasting, antigen-specific immune responses in guinea pigs.	Clin Immunol		in press	2005
14	Someya K, Ami Y, Nakasone T, Izumi Y, Matsuo K, Horibata S, Xin KQ, Yamamoto H, Okuda K, Yamamoto N, Honda M	Induction of positive cellular and humoral immune responses by a prime-boost vaccine encoded with simian immunodeficiency virus gag/pol.	J Immunol		in press	2005

15	Someya K, Cecilia D, Ami Y, Nakasone T, Matsuo K, Burda S, Yamamoto H, Yoshino N, Kaizu M, Ando S, Okuda K, Zolla-Pazner S, Yamazaki S, Yamamoto N, <u>Honda M</u>	Vaccination of rhesus macaques with recombinant Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin Env V3 elicits neutralizing antibody-mediated protection against simian-human immunodeficiency virus with a homologous but not a heterologous V3 motif.	J Virol	79	1452-1462	2005
16	Kanekiyo M, Matsuo K, Hamatake M, Hamano T, Ohsu T, Matsumoto S, Yamada T, Yamazaki S, Hasegawa A, Yamamoto N, <u>Honda M</u>	Mycobacterial codon optimization enhances antigen expression and virus-specific immune responses in recombinant bacille Calmette-Guérin expressing the human immunodeficiency virus type 1Gag.	J Virol	79	8716-8723	2005
17	Ami Y, Izumi Y, Matsuo K, Someya K, Kenekiyo M, Horibata S, Yoshino N, Sakai K, Shinohara K, Yamazaki S, Yamamoto N, <u>Honda M</u>	Vaccination with Recombinant Mycobacterium bovis Bacillus Calmette-Guérin and a Non-replicating Vaccinia Virus Recombinant Leads to Long-lasting and Effective Immunity.	J Virol	79	12871-12879	2005
18	Someya K, Xin K Q, Matsuo K, Okuda K, Yamamoto N, <u>Honda M</u>	A consecutive prime-boost vaccination of mice with simian immunodeficiency virus (SIV) gag/pol DNA and recombinant vaccinia virus strain DIs elicits effective anti-SIV immunity.	J Virol	78	9842-9853	2004
19	<u>Mori K</u> , Sugimoto C, Ohgimoto S, Shioda T, Kusagawa S, Takebe Y, Kano M, Matano T, Yuasa T, Kitagawa 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 SIVmac239 in a macaque AIDS model.	J Virol	79	10386-10396	2005
20	Misumi S, Nakayama D, Kusaba M, Iiboshi T, Mukai R, Tachibana K, Nakasone T, Umeda M, Shibata H, Endo M, Takamune N, <u>Shoji S</u>	Effects of Immunization with CCR5-Based Cycloimmunogen on Simian/Human Immunodeficiency Virus SF162P3 Challenge.	J Immunol		in press	
21	Nakayama D, Misumi S, Mukai R, Tachibana K, Umeda M, Shibata H, Takamune N, <u>Shoji S</u>	Suppression of Multiclade R5 and X4 Human Immunodeficiency Virus Type-1 Infections by a Coreceptor-Based Anti-HIV Strategy.	J Biochem	138	1-2	2005

22	Barnor JS, Kurosaki N, Yamaguchi K, Sakamoto A, <u>Ishikawa K</u> , Inagaki Y, Yamamoto N, Osei-Kwasi, Ofori-Adjei D, Takaku H	Intracellular expression of anti sense RNA transcripts complementary to the human immunodeficiency virus type-1 vif gene inhibits viral replication in infected T-lymphoblastoid cells.	Biochem Biophys Res Commun	320	544-550	2004
23	Takamura S, Matsuo K, Takebe Y, <u>Yasutomi Y</u>	Ag85B of mycobacteria elicits effective CTL responses through activation of robust Th1 immunity as a novel adjuvant in DNA vaccine.	J Immunol	175	2541-2547	2005
24	Zhou X, Kubo M, Nishitsuji H, Kurihara K, Ikeda T, Ohashi T, Azuma M, Masuda T, <u>Kannagi M</u>	Inducible co-stimulator (ICOS)-mediated suppression of human immunodeficiency virus type 1-replication in CD4+ T lymphocytes.	Virology	325	252-263	2004
25	Emori Y, Ikeda T, Ohashi T, Masuda T, Kurimoto T, Takei M, <u>Kannagi M</u>	Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by Z-100, an immunomodulator extracted from human type tubercle bacilli, in macrophages.	J Gen Virol	85	2603-2613	2004
26	Kimura H, Maeda Y, Takeshita F, Takaoka LE, Matsuoka M, <u>Makino M</u>	Upregulation of T-cell-stimulating activity of mycobacteria-infected macrophages.	Scand J Immunol	60	278-286	2004
27	Yamashita Y, Maeda Y, Takeshita F, Brennan PJ, <u>Makino M</u>	Role of the polypeptide region of 33 kDa mycobacterial lipoprotein for efficient IL-12 production.	Cell Immunol	229	13-20	2004
28	Iijima S, Nitahara-Kasahara Y, Kimata K, Zhuang WZ, Kamata M, Isogai M, Miwa M, <u>Tsunetsugu-Yokota Y</u> , Aida Y	Nuclear localization of Vpr is crucial for the efficient replication of HIV-1 in primary CD4+ T cells.	Virology	327	249-261	2004
29	<u>Yokomaku Y</u> , Miura H, Tomiyama H, Kawana-Tachikawa A, Takiguchi M, Kojima A, Nagai Y, Iwamoto A, Matsuda Z, Ariyoshi K	Impaired processing and presentation of cytotoxic-T-lymphocyte (CTL) epitopes are major escape mechanisms from CTL immune pressure in human immunodeficiency virus type 1 infection.	J Virol	78	1324-1332	2004
30	Richard Lu, <u>Nakajima N</u> , Hofmann W, Benkirane M, The-Jeang K, Sodroski J, Engelman A	Simain virus 40-based replication of catalytically inactive human immunodeficiency virus type 1 integrase mutants in nonpermissive T cells and monocyte-derived.	J Virol	78	658-668	2004

31	Satomi M, Shimizu M, Shinya E, Watari E, Owaki A, Hidaka C, Ichikawa M, Takeshita T, <u>Takahashi H</u>	Transmission of macrophage-tropic HIV-1 by breast milk macrophages via DC-SIGN.	J Infect Dis	191	174-181	2005
32	Shinya E, Owaki A, Shimizu M, Takeuchi J, Kawashima T, Hidaka C, Satomi M, Watari E, Sugita M, <u>Takahashi H</u>	Endogenously expressed HIV-1 nef down-regulates antigen-presenting molecules, not only class I MHC but also CD1a, in immature dendritic cells.	Virology	326	79-89	2004
33	Fujimoto C, Nakagawa Y, Ohara K, <u>Takahashi H</u>	Polyriboinosinic polyribocytidylic acid [poly(I:C)]/TLR3 signaling allows class I processing of exogenous protein and induction of HIV-specific CD8 ⁺ cytotoxic T lymphocytes.	Int Immunol	16	55-63	2004
34	Hidaka C, Norose Y, Makagawa Y, Shimizu M, Takahashi M, Owaki A, Nohtomi K, Toda M, Kusagawa S, Sakaguchi M, Kudo S, Takebe Y, <u>Takahashi H</u>	Dermal dendritic cells sensitized with plasmid DNA encoding immunostimulatory sequence by gene gun efficiently prime murine HIV-1-specific CD8 ⁺ cytotoxic T lymphocytes.	Biomed Res	25	83-91	2004
35	Kuribayashi H, Wakabayashi A, Shimizu M, Kaneko H, Norose Y, Nakagawa Y, Wang J, Kumagai Y, Margulies DH, <u>Takahashi H</u>	Resistance to viral infection by intraepithelial lymphocytes in HIV-1 P18-I10-specific T-cell receptor transgenic mice.	Biochem Biophys Res Commun	316	356-363	2004