

厚生労働科学研究費補助金

政策創薬総合研究事業

ゲノム情報を用いたエイズワクチン  
開発と発症阻止に関する基礎的研究

平成18年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 塩田 達雄

平成19（2007）年3月

# 目 次

I. 総括研究報告	
ゲノム情報を用いたエイズワクチン開発と発症阻止に関する基礎的研究	1
大阪大学微生物病研究所・教授・塩田達雄	
II. 分担研究報告	
1. ゲノム情報を用いたエイズ発症阻止に関する研究	13
大阪大学微生物病研究所・教授・塩田達雄	
2. エイズワクチン開発とエイズ発症阻止に関する基礎的研究	20
東京大学医科学研究所・教授・岩本愛吉	
3. 母子感染に関わるHIVおよび宿主側因子に関する研究	24
金沢大学大学院医学系研究科・教授・市村宏	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	29
IV. 研究成果の刊行物・別刷	34

ゲノム情報を用いたエイズワクチン開発と発症阻止に関する基礎的研究

主任研究者 塩田 達雄（大阪大学微生物病研究所教授）

研究要旨

HIV-1 感染症に関わる宿主因子について検討し、以下の知見を得た。(1)昨年度までのゲノムワイドスキャン解析と二次スクリーニングから病態進行の個人差と相関することが示唆された一塩基多型について、198 名の HIV-1 感染者集団を用いて CD4 陽性細胞数や血中 HIV-1 量の個人差と関連するか否かの検討を行ったところ、一箇所の多型が一次および二次スクリーニングと同様の傾向を示した。(2) タイ国 Bamrasnaradura 感染症研究所において、generic 医薬品 GPOvir の服用を開始した HIV-1 感染者コホートを樹立した。今後、日本人 HIV-1 感染者において見出された治療開始後の CD4 陽性細胞数の回復速度の個人差と相関する遺伝子多型が、タイ国においても同じ傾向を示すか否かの検討を行う。(3) CTL 賦活化を目的としたワクチン開発の基礎的検討として TAP 阻害分子の ICP-47 とエピトープ融合 $\beta$ 2m を用いた抗原提示増強を試みた。ICP47 とエピトープ融合 $\beta$ 2m を共発現させることで TAP による内在タンパク質由来のペプチド輸送を阻害し、目的のエピトープを効率良く提示させることに成功した。(4) IL7 は T 細胞の増殖を促すサイトカインで、HIV-1 感染者では血中の IL7 濃度は CD4 陽性 T 細胞数と逆相関し、その多型は治療開始後の CD4 陽性細胞数の回復速度に影響する可能性がある。我々は、IL7 の 5'非翻訳領域内の 3 塩基を欠失する多型が IL7 の翻訳効率を変化させることを見出した。(5)ケニアにおける HIV 母子感染と感染児の病態進行速度並びに日本の血友病患者の病態進行速度に影響を及ぼす種々の宿主因子の検討を行っている。本年度は前者について、母子感染による HIV-1 薬剤耐性株の伝播とその後の治療に及ぼす影響について検討した。その結果、母子感染したと考えられる逆転写酵素阻害剤耐性関連変異を持ったウイルス株が逆転写酵素阻害剤未使用下でも長期間存在すること、そして抗 HIV 療法の予後を知るうえで、血中ウイルスのマイナー集団の検討が必要であることが示唆された。

分担研究者

岩本愛吉・東京大学医科学研究所・教授

市村 宏・金沢大学大学院医学研究科・教授

A. 研究目的

エイズの病態ならびに進行速度は感染者ごとに大きく異なり、感染後急激に CD4 陽性細胞数の減少をみる感染者から 10 年以上発症しない感染者まで様々である。また、HIV-1 感染感受性自体にも個人差が存在する。本研

究は、多数の HIV-1 感染者および非感染者について、HIV-1 の生活環に関わる様々な宿主因子の遺伝的多型を検討し、病態進行や HIV-1 感染感受性の違いを決定する宿主側の因子を明らかにすることを目的とする。また抗 HIV 薬の有効性や副作用を決定する宿主因子の同定やワクチン開発のための基礎的検討も重要な課題である。本年度は以下の 5 点を具体的な研究目的とした。

(1)昨年度までに、病態進行の緩慢な 51 名と

病態進行の速やかな 53 名の HIV-1 感染者の遺伝子多型について、Affymetrix 社製 Gene Chip Human Mapping 10K Array を利用したゲノムワイドスキャンを行って約一万箇所の一塩基多型を網羅的に検討し、両群間での多型の頻度の差が危険率 0.01 未満で認められる多型を 92 箇所認めた。そして、これら 92 箇所の多型が、上記 104 名の HIV-1 感染者とは重複しない 120 名 HIV-1 感染者集団でも病態進行に関して同様の傾向が認められるか否か、を検討し、候補遺伝子多型を 4 箇所まで絞り込んだ。そこで本年度は、これらの候補遺伝子多型が、これまで解析した 224 名の HIV-1 感染者とは重複しない HIV-1 感染者集団においても病態進行と関連するか否かを明らかにすることを目的とした。

(2) 昨年度までに、HIV プロテアーゼ阻害剤ネルフィナビルを含む 3 剤複合療法を開始し、血清中の HIV-1 量を検出限界以下に抑制できた HIV-1 感染者 52 名について同様にゲノムワイドスキャンを行い、CD4 陽性細胞数の回復速度と強く相関する一箇所の候補遺伝子多型を見出した。本年度は、この遺伝子多型がタイにおいて generic 医薬品 GPOvir の服用を開始した HIV-1 感染者においても CD4 陽性細胞の回復速度と相関するか否かを明らかにすることを目的とした。

(3) HIV 感染症においてウイルスのコントロールには HIV 特異的な細胞性免疫応答が重要であることが明らかになってきており、ワクチン戦略として細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の賦活化が有効であると考えられる。そこで本研究では目的の抗原ペプチドを効率良く提

示するシステムの構築を目的とした。抗原ペプチドは TAP と呼ばれるアミノ酸トランスポーターを介して粗面小胞体 (ER) へ輸送され、ER で MHC クラス I 分子と複合体を形成することで抗原提示される。MHC クラス I 分子は多様に富む重鎖、 $\beta$  2 ミクログロブリン ( $\beta$ 2m)、抗原ペプチドの 3 者で安定な複合体を形成しており、TAP 欠損細胞株などでは ER へペプチドが供給されないため細胞表面に MHC クラス I 分子にほとんど存在しないことが知られている。単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) 由来のタンパク質、ICP47 は TAP によるペプチドの輸送を阻害する分子として知られ、ICP47 を発現した細胞では細胞表面の MHC クラス I 分子量が低下する。

一方で  $\beta$  2 ミクログロブリン ( $\beta$ 2m) の N 末端にリンカーを介してエピトープを融合させることで TAP 非依存的にエピトープを MHC クラス I 分子に提示させることができることが知られている。本研究では TAP 阻害分子である ICP47 とエピトープ融合  $\beta$ 2m とを同一細胞内に共発現させることで目的のエピトープを高効率に提示させることを目的とし、in vitro での検討を行った。

(4) IL7 は T 細胞の増殖を促すサイトカインで、HIV-1 感染者では血中の IL7 濃度は CD4 陽性 T 細胞数と逆相関し、治療開始後 CD4 陽性細胞数が回復するにつれ、正常値近くまで低下する。従って、その多型は治療開始後の CD4 陽性細胞数の回復速度に影響する可能性がある。本年度は、IL7 の 5' 非翻訳領域内に IL7 の発現量を変化させる遺伝子多型が存在するか否かを明らかにすることを目的とし

た。

(5) 逆転写酵素阻害剤 (RTI) とプロテアーゼ阻害剤 (PI) による強力な多剤併用療法が臨床の場に導入され、先進諸国においてはエイズによる死亡数は激減した。しかし、これらの抗レトロウイルス剤 (ARV) に対する耐性ウイルスが出現し、治療効果の消失やエイズ患者の予後不良という新たな問題が生じている。さらにこれらの薬剤耐性ウイルスは性的接触や母子感染などで伝播し、HIV 初感染・未治療者においても、薬剤耐性ウイルスの存在が明らかとなってきた。HIV-1 薬剤耐性株の出現は、WHO の 3 by 5 イニシアチブなどにより ARV がアフリカなどの開発途上国へ積極的に導入され始めている現在、非常に重要な問題となってきた。今回の研究では、母子感染による HIV-1 薬剤耐性株の伝播とその後のエイズ治療に及ぼす薬剤耐性株の影響を明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

(1) 性的接触で HIV-1 に感染し、2000 年時点で未治療時に血中の CD4 陽性 T 細胞数が 200 個/μl 未満でありかつ HIV-1 量が 150,000 コピー以上の 102 名、および CD4 陽性 T 細胞数が 200 個/μl 以上でありかつ HIV-1 量が 50,000 以下の 96 名の HIV-1 感染者について、リアルタイム PCR を利用した一塩基多型遺伝子型決定法を用いて昨年度までに明らかにした候補遺伝子多型を決定し、両群間での多型頻度を比較した。

(2) 2007 年 3 月 10 日までに、タイ国 Bamrasnaradura 感染症研究所において

generic 医薬品 GPOvir の服用を開始した HIV-1 感染者 144 名に遺伝子解析研究参加への同意を得て、検査用に採血された血液の残部を凍結保存し、そこからゲノム DNA を抽出した。そして治療開始前後の CD4 数や HIV-1 量、治療薬変更の有無等の臨床データを整理したデータベースを構築した。

(3) ウイルスベクターとしてセンダイウイルス (SeV) を用い、エピトープとして日本人に高頻度に見られる HLA-A24 に提示される Immunodominant な Nef タンパク質由来の CTL エピトープ、Nef138-10 (RYPLTFGWCF) を β2m に融合させて SeV で発現させた (N-β2m/SeV)。また、ICP47 を発現する SeV (ICP47/SeV)、またその両者を発現する SeV (<N-β2m+ICP47>/SeV) を作製した。細胞は HLA-A24、B7 陽性の T 細胞株、KWN-T4 を用い、各 SeV を m.o.i. 10 で KWN-T4 に感染させ 18 時間後にクエン酸バッファー (pH3.3) にて細胞を処理し、6 時間後に抗 HLA 抗体にて細胞表面染色を行った。染色には抗 HLA クラス I 抗体 W6/32、抗 HLA-A24 抗体 A11.1M、抗 HLA-B7 抗体 BB7.1 を用いフローサイトメーターにて解析を行った。また、HIV-Gag を発現する Gag/SeV と、ICP47/SeV あるいは <N-β2m+ICP47>/SeV を重感染させ、上記方法で酸処理を行った細胞を標的細胞とし、Nef138-10 特異的 CTL、HIV-Gag 特異的 CTL をエフェクター細胞として <sup>51</sup>Cr release assay を行った。

(4) HIV-1 非感染者 55 名および HIV-1 感染者 99 名のゲノム DNA から、PCR 法にて IL7 遺伝

子の5'側非翻訳領域1470塩基ならびに第一エクソンと第一イントロンの一部を含む1658塩基を含む部分を増幅し、ABIのDNAシーケンサーにてその全塩基配列を決定した。得られたIL7のプロモーター領域を、IL7の開始コドンがホタルのルシフェラーゼ遺伝子のオープンリーディングフレームに合うように結合したプラスミドベクターを構築し、U937細胞ならびにJurkat細胞にトランスフェクションして、細胞内のルシフェラーゼ活性を測定した。

(5) ケニアにおいて抗レトロウイルス療法 (ART)を受けている HIV 感染小児 55 例 (平均治療期間: 23.3 ヶ月) のうち治療抵抗性を示した 12 例 (男児 8 名、女児 4 名; 平均年齢 7.4 歳、2004 年 8 月現在) を対象とした。これらの児は誕生日までに N 孤児院に入所し、生後 18 ヶ月の時点で HIV 抗体の存在が確認されており、これまでに ART の治療歴はない。これらの児から経時的に採取された血漿中のウイルス遺伝子を RT-PCR で増幅し、クローニングした後、塩基配列を決定し、サブタイプの決定と逆転写酵素阻害剤 (RTI) 耐性関連アミノ酸変異の解析を行った。

(倫理面への配慮)

HIV-1 感染者ならびに非感染者の検体を使用するにあたって、検体の提供者には遺伝子解析を行うことを含めて十分に説明を行い、書面による同意を得られた場合のみを解析の対象とし、検体は匿名化して個人情報が特定できないようにして扱った。また各研究は、大阪大学研究倫理審査委員会、東京大学医科学研究所倫理審査委員会ならびに金沢大学ヒト

ゲノム・遺伝子解析研究倫理委員会の承認を得てある。また、タイ国 Bamrasnaradura 感染症研究所における遺伝子解析は 2007 年に同研究所が所属するタイ国疾病管理局の倫理委員会の承認を得た。ケニアにおける研究は、ケニア中央医学研究所 (KEMRI, Kenya Medical Research Institute) の研究審査委員会および倫理審査委員会の承認を受けている。

### C. 研究結果

(1) 昨年度までに、病態進行の緩慢な 51 名と病態進行の速やかな 53 名の HIV-1 感染者の遺伝子多型について、Affymetrix 社製 Gene Chip Human Mapping 10K Array を利用したゲノムワイドスキャンを行って約一万箇所の一塩基多型を網羅的に検討し、両群間での多型の頻度の差をカイ二乗検定で検定したところ、危険率 0.01 未満の差が認められる多型を 92 箇所認めた。そして、これら 92 箇所が多型が、上記 104 名の HIV-1 感染者とは重複しない 120 名の HIV-1 感染者集団でも病態進行に関して同様の傾向が認められるか否か、を検討し、候補遺伝子多型を 4 箇所まで絞り込んだ。そこで本年度は、これらの候補遺伝子多型を、これまで解析した 224 名の HIV-1 感染者とは重複しない 198 名の HIV-1 感染者集団においても CD4 数や HIV-1 量と関連するか否かを検討した。その結果、候補遺伝子多型の一箇所について、CD4 陽性 T 細胞数が 200 個/ $\mu$ l 未満で HIV-1 量が 150,000 コピー以上の病態が進行した HIV-1 感染者 102 名では 24 名(23.5%)にこの多型が検出された。

一方 CD4 陽性 T 細胞数が 200 個/ $\mu$ l 以上で HIV-1 量が 50,000 以下の病態が進行していない HIV-1 感染者 96 名中ではより多い 33 名(33.4%)にその多型が検出され(P=0.09)、昨年度までに解析した 224 名の HIV-1 感染者と同じ傾向を示した。

(2) 昨年度までに、HIV プロテアーゼ阻害剤 ネルフィナビルを含む 3 剤複合療法を開始し、血清中の HIV-1 量を検出限界以下に抑制できた HIV-1 感染者 52 名について同様にゲノムワイドスクランを行い、CD4 陽性細胞数の回復速度と強く相関する一箇所の候補遺伝子多型を見出した。本年度は、この遺伝子多型が他の抗 HIV-1 療法を開始した HIV-1 感染者においても CD4 陽性細胞の回復速度と相関するか否かを明らかにするために、タイ国 Bamrasnaradura 感染症研究所において generic 医薬品 GPOvir の服用を開始した HIV-1 感染者 144 名に遺伝子解析研究参加への同意を得た。臨床データを整理した結果、69 名を、臨床データが不十分である、以前に別な抗 HIV-1 薬の投与を受けていた、治療開始後も血中に HIV-1 が検出された等、の理由で研究対象外とした。残りの 75 名中、治療開始後 1 年間で CD4 陽性細胞数が 150 個/ $\mu$ l 以上回復した感染者は 54 名、100-150 個/ $\mu$ l だった者は 14 名、100 個/ $\mu$ l 未満だった者は 7 名であった。対象外とした HIV-1 感染者においても CD4 陽性細胞は良く回復しており、GPOvir による治療効果は非常に良好であることが明らかになった。

(3) まず、TAP 阻害分子である ICP47 による細胞表面 HLA クラス I 分子の発現低下を

確認するため、ICP47/SeV 感染細胞の HLA クラス I 分子を染色し、フローサイトメーターにて解析した。その結果、ICP47/SeV 感染細胞は野生型 SeV 感染細胞と比べて HLA クラス I 分子量が低下していた。この結果から ICP47/SeV 感染細胞において ICP47 による TAP 阻害効果により細胞内タンパク質を提示する MHC クラス I 分子の細胞表面発現量が低下していることが明らかとなった。

次に ICP47 と、Nef138 と $\beta$ 2m の融合タンパク質である N- $\beta$ 2m とを共発現する SeV、<N- $\beta$ 2m +ICP47>/SeV を感染した HLA-A24, B7 陽性の KWN-T4 細胞について同様の解析を行った。ICP47 の発現によって細胞内タンパク質由来の抗原ペプチドの提示は低下するが、N- $\beta$ 2m と結合した HLA-A24 分子のみが細胞表面での発現が見られると予想されるため、HLA-B7 抗体 (BB7.1) と抗 HLA-A24 抗体 (A11.1M) とを用いて「細胞内タンパク質由来抗原を提示する MHC クラス I 分子」と「Nef138- $\beta$ 2m を提示する HLA-A24 分子」を染め分けることとした。その結果、ICP47/SeV を感染した細胞では HLA-A24、HLA-B7 ともに発現が低下していたのに対して、<N- $\beta$ 2m +ICP47>/SeV を感染した細胞では HLA-B7 は低下したまま HLA-A24 のみ発現が回復していた。従って、<N- $\beta$ 2m +ICP47>/SeV 感染細胞表面では Nef138 を提示する HLA-A24 分子が高頻度に存在していることが示唆された。

実際に<N- $\beta$ 2m +ICP47>/SeV 感染細胞において、Nef138-10 のみが効率良く提示されているかを確認するため、細胞内発現タンパ

ク質由来ペプチドの CTL による認識と、Nef138-10 の CTL による認識について検討を行った。<N-β2m +ICP47>/SeV と HIV-Gag 発現 SeV を重感染させた細胞を標的細胞とし、Nef138 特異的 CTL と Gag 特異的 CTL による細胞傷害性試験を行ったところ、Gag と N-β2m を発現する細胞は Nef138-CTL、Gag-CTL の双方に認識されたのに対して、ICP47、N-β2m、Gag の 3 者を発現する細胞は Nef138-CTL にのみ認識された。この結果から、<N-β2m +ICP47>/SeV 感染細胞において目的の Nef138-10 を提示する HLA クラス I 分子が効率良く存在しているのに対して細胞内タンパク質由来のペプチドの提示は抑制されていることが示唆された。

(4) HIV-1 非感染者 55 名および HIV-1 感染者 99 名のゲノム DNA から、IL7 遺伝子の 5' 側非翻訳領域 1470 塩基ならびに第一エクソンと第一イントロンの一部を含む 1658 塩基を含む部分を増幅し、その全塩基配列を決定した。その結果、IL7 の翻訳開始部位から上流に数えて 27 番目から 29 番目の 3 塩基 ATC が欠失する多型が解析した 154 名中 2 名において認められた。この ATC は IL7 の開始コドン上流に複数存在する ATG の一つに隣接しており、ATC の欠失によりその ATG 周辺の配列が atcATGa から gtcATGa に変化する。ATG 周辺の配列、特にこの ATG の上流 3 番目の a から g に変化した部位はその ATG からの翻訳効率に影響することから、IL7 の本来の翻訳開始コドンまでの非翻訳領域をルシフェレースのオープンリーディングフレームに結合したプラスミドを作成し、こ

の欠失が、ルシフェレースの発現に及ぼす影響を検討した。その結果、この 3 塩基の欠失により、IL7 の本来の翻訳開始コドンからのルシフェレースの発現が増強されることが明らかになった。

(5) 児に感染している HIV-1 のサブタイプ (RT 領域) は、A1 (7 例)、C (1 例)、D (3 例) と CRF02\_AG (1 例) であった。ART 抵抗性を示した 4 例は A1 (2 例) と D (2 例) であった。一方、ART 抵抗性を示した 12 例中 4 例 (33.3%) で治療開始前に主要な RTI 耐性関連遺伝子変異が認められた。3 例の児 (5, 6, 7 歳) では、K103N が治療前から存在しており、治療後も持続して存在した。1 例の児 (1 歳) では、Y181C が治療前に認められたが、治療開始後に消失した。また、1 例の児では K103N の変異を持つウイルス株がマイナー集団として存続し (1/5 クローン)、治療後、メジャー集団 (7/7 クローン) になるのが観察された。

#### D. 考察

(1) 昨年度までに、HIV-1 感染者 104 名の DNA チップを利用したゲノムワイドスキャンに引き続き、これら 104 名の感染者とは重複しない 120 名の感染者を対象とした二次スクリーニングから、4 箇所の遺伝子多型が病態進行の個人差と相関する遺伝子多型の候補として考えられた。今年度は、そのうちの 1 箇所が、統計学的有意差には至らないものの (P=0.09)、全く独立な 198 名の HIV-1 感染者集団において治療前の CD4 陽性細胞数ならびに HIV-1 量と相関することが明らかになった。現在、こ



れら198名のHIV-1感染者集団の時間経過を追った臨床データの整理を行っており、病態進行速度そのものとの間にも相関関係があるか否かを検討する予定である。

この遺伝子多型は、ヒトゲノム上で遺伝子として知られる領域の外に位置しており、近傍の遺伝子中にこの多型と連鎖不平衡にある多型が存在するか否かを現在、検討している。

(2) 抗 HIV 薬の有効性の個人差を決定する宿主因子の検索も本研究の重要な課題である。しかし抗 HIV-1 薬の有効性には、HIV-1 側の耐性変異の有無が大きく関わるため解析は容易ではない。そこで、抗 HIV-1 治療により血清中の HIV-1 量を検出限界以下に抑制できた感染者を対象を絞り、CD4 陽性細胞の回復速度の違いに関わる宿主因子の探索を行ってきた。その結果、昨年度までに CD4 陽性細胞の回復の速い群と緩慢な群とで危険率 0.000002 で違いを示す遺伝子多型が 1 箇所認められた。今年度は、この多型が他の抗 HIV-1 療法によっても HIV-1 感染者の CD4 陽性細胞の回復速度と相関するか否かを明らかにするために、generic 医薬品の抗 HIV-1 薬 GPOvir が最近急速に普及したタイ国において治療を開始した HIV-1 感染者のコホートの樹立を試みた。タイ国内での倫理審査に予想以上の時間を要したため、2007 年 3 月 10 日時点で 75 名の研究対象者からの検体を得るに留まっているが、限られた数の感染者の治療開始前後の CD4 陽性細胞と HIV-1 量の変動を解析した結果、GPOvir による治療効果は非常に良好であることが明らかになった。現在、研究対象者の数を増やすとともに遺伝

子解析を進めている。

(3) 本研究により TAP 阻害分子とエプिटープ融合 $\beta$ 2m を共発現させることで目的のエプिटープを高効率に抗原提示させることができることが明らかになった。エプिटープ融合 $\beta$ 2m の MHC クラス I 分子への結合能はエプिटープ単独よりも高いことが明らかになっているため、MHC クラス I への結合能が低いエプिटープに関しては $\beta$ 2m と融合することでより安定に抗原提示されると考えられる。HIV や腫瘍由来のエプिटープの中には結合能が低いものが多いことも知られているため、エプिटープ融合 $\beta$ 2m を用いることで抗原提示量を上昇させることができる。さらに ICP47 と同時に発現させることで、ベクター由来の抗原の提示を阻害することでより CTL への提示効率を高めることが可能である。本システムを用いて樹状細胞などのプロフェッショナル抗原提示細胞に目的のエプिटープを高効率に発現させることができれば、誘導され得なかった新たな CTL をプライミングできるかもしれない。In vivo での効果を明らかにするためには動物モデルを使ったさらなる検討が必要と考えられる。

(4) IL7 の 5'側非翻訳領域内の本来の開始コドンより上流にある ATG に隣接する ATC が欠失する多型により、本来の ATG からの遺伝子発現が増強されることが明らかになった。翻訳開始コドン近傍の多型によって遺伝子発現量に変化する例としては、annexin V、BRACA1、androgen receptor、および CD40 などが知られているが、これらはいずれも本来の翻訳開始コドン近傍の多型による影響で

あり、本来の開始コドンよりも上流にある ATG 近傍の多型によって遺伝子発現量が変化するものとしてはこの IL7 が初めての例になる。

(5) 母子感染したと考えられる RTI 耐性関連変異を持ったウイルス株が RTI 未使用下でも長期間存在すること、母子感染した RTI 耐性関連変異株がその後の ART の成否に影響を及ぼすこと、そして血中ウイルスのマイナー集団の検討が ART の予後を知るうえで必要である可能性が示唆された。

#### E. 結論

(1)ゲノムワイドスキャンから病態進行の個人差と相関することが示唆された一塩基多型について、大規模なHIV-1感染者集団を用いてCD4陽性細胞数や血中HIV-1量の個人差と関連するか否かの検討を行ったところ、一箇所の多型が一次および二次スクリーニングと同様の傾向を示した。

(2) 抗HIV-1療法によるCD4陽性細胞数の回復速度と相関する遺伝子多型を探索するためにタイ国において、generic医薬品GPOvirの服用を開始したHIV-1感染者コホートを樹立した。

(3) 本研究で有用性が明らかになった TAP 阻害分子とエピトープ融合β2m を用いた抗原提示増強法は「CTL 誘導型 HIV ワクチン」の開発への応用が期待される。

(4) T 細胞の増殖を促すサイトカインである IL7 の遺伝子の 5'非翻訳領域内の 3 塩基を欠失する多型が IL7 の翻訳効率を変化させることを見出した。

(5)母子感染したと考えられる RTI 耐性関連変異を持ったウイルス株が RTI 未使用下でも長期間存在すること、そして ART の予後を知るうえで、血中ウイルスのマイナー集団の検討が必要であることが示唆された。

F. 健康危険情報  
該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Wichukchinda, N, Nakayama, EE, Rojanawiwat, A, Pathipvanich, P, Auwanit, W, Vongsheree, S, Ariyoshi, K, Sawanpanyalert, P, and Shioda, T. Protective Effects of *IL-4 -589T* and *RANTES -28G* on HIV-1 disease progression in infected Thai females. AIDS. , 20: 189-196, 2006.

Song, H, Nakayama, EE, and Shioda, T. Effects of human interleukin 7 on HIV-1 replication in monocyte-derived human macrophages. AIDS., 20: 937-939, 2006.

Nakayama, EE, Maegawa, H, and Shioda, T. A dominant-negative effect of cynomolgus monkey tripartite motif protein TRIM5 $\alpha$  on anti-simian immunodeficiency virus SIVmac activity of an African green monkey orthologue. Virology. , 350: 158-163, 2006.

- Sakuragi S, Sakuragi J, Morikawa Y, Shioda T. Development of a rapid and convenient method for the quantification of HIV-1 budding. *Microbes Infect.*, 8: 1875-1881, 2006
- Shioda T, Nakayama EE. Human genetic polymorphisms affecting HIV-1 diseases. *Int J Hematol.*, 84:12-17, 2006.
- Song, H, Nakayama, EE, Likanonsakul, S, Wasi, C, Iwamoto A, and Shioda T. A three-base-deletion polymorphism in the upstream non-coding region of human interleukin 7 (IL-7) gene could enhance levels of IL-7 expression. *International Journal of Immunogenetics*. In press, 2007.
- Nuanjun Wichukchinda, Archawin Rojanawiwat, Yoshihiro Kitamura, Emi E Nakayama, Panita Pathipvanich, Wattana Auwanit, Pathom Sawanpanyalert, Aikichi Iwamoto, Tatsuo Shioda, and Koya Ariyoshi. The polymorphisms in *DC-SIGNR* affect the susceptibility to HIV-1 infection. *AIDS Res. Hum. Retrovir.* In press, 2007
- Raphael Lwembe, Washington Ochieng, Annie Panikulam, Charles O. Mongoina, Mary Owens, Yusuke Koizumi, Seiji Kageyama, Naohiko Yamamoto, Tatsuo Shioda, Rachel Musoke, Angel D'Agostino, Elijah M. Songok, Hiroshi Ichimura. ANTI-RETROVIRAL DRUG RESISTANCE-ASSOCIATED MUTATIONS AMONG NON-SUBTYPE B HIV-1-INFECTED KENYAN CHILDREN WITH TREATMENT FAILURE. *J. Med. Virol.* In press, 2007.
- Masahisa Ohishi, Tatsuo Shioda, and Jun-ichi Sakuragi. Retro-transduction by virus pseudotyped with glycoprotein of vesicular stomatitis virus. *Virology*. In press, 2007.
- Yusuke KOIZUMI, Seiji KAGEYAMA, Yoshihide FUJIYAMA, Michiko MIYASHITA, Raphael LWEMBE, Keiki OGINO, Tatsuo SHIODA, Hiroshi ICHIMURA. RANTES -28G delays and DC-SIGN -139C enhances AIDS progression in HIV-1-infected Japanese hemophiliacs. *AIDS Research and Human Retroviruses*. In press, 2007.
- Maeda, T., Fujii, T., Matsumura, T., Endo, T., Odawara, T., Itoh, D., Inoue, Y., Ohkubo, T., Iwamoto, A., and Nakamura, T. AIDS-related cerebral toxoplasmosis with hyperintense foci on T1-weighted MR images: A case report. *Journal of Infection* 53:e167-e170, 2006.

Shinoe, T., Wanaka, A., Nikaido, T., Kakuta, Y., Masunaga, A., Shimizu, J., Duyckaerts, C., Imaizumi, K., Iwamoto, A., and Kanazawa, I. The pro-apoptotic human BH3-only peptide harakiri is expressed in cryptococcus-infected perivascular macrophages in HIV-1 encephalitis patients. *Neuroscience Letters* 393:102-107, 2006.

Hoshino, S., Sun, B., Konishi, M., Shimura, M., Segawa, T., Hagiwara, Y., Koyanagi, Y., Iwamoto, A., Mimaya, J., Terunuma, H., Kano, S., and Ishizaka, Y. Vpr in plasma of HIV-1-positive patients is correlated with the HIV-1 RNA titers. In press. *AIDS Research and Human Retroviruses*.

Takahashi, H., Yotsuyanaggi, H., Yasuda, K., Koibuchi, T., Suzuki, M., Kato, T., Nakamura, T., Iwamoto, A., Nishioka, K., Iino, S., Koike, K., and Itoh, F. Molecular epidemiology of hepatitis A virus in the Metropolitan Area in Japan. *J. Gastroenterology*. In press.

Fujii, T., Nakamura T, Iwamoto A. Pneumocystis pneumonia in patients with HIV infection - Clinical manifestations, laboratory findings and radiological features -. *J Infect*

*Chemother.* 2006, in press.

Maeda, T., Oyaizu, N., Endo, T., Odawara, T., Nakamura, T., Iwamoto, A., Fujii, T. Pneumocystis jiroveci pneumonia in an AIDS patient: Unusual manifestation of multiple nodules with multiloculated cavities. *European Journal of Radiology*, In Press.

Koizumi Y, Ndembi N, Miyashita M, Lwembe R, Kageyama S, Mbanya D, Kaptue L, Fujiyama Y, Ichimura H.: Emergence of ART-resistance associated primary mutations among drug-naïve HIV-1-infected individuals in rural western Cameroon. *J Acq Immun Def Synd* 43(1):15-22, 2006.

Kageyama S, Agdamag DM, Alesna ET, Leano PS, Herdia AM, Abellanos-Tac-An IP, Jereza LD, Yamamura J, and Ichimura H.: A Natural inter-genotypic (2b/1b) recombinant of hepatitis C virus in the Philippines. *J Med Virol* 78(11):1423-8, 2006.

Ndembi N, Abraha A, Mbanya D, Pilch H, Ichimura H, Kaptue L, Arts EJ and Salata R.: Primary Antiretroviral Resistance and Molecular Characterization of HIV-1 among Acutely Non-B infected Patients in Yaounde, Cameroon. *J Acq Immun Def*

*Synd* (in press).

## 2. 学会発表

Huanliang Liu, Emi E. Nakayama, Ioannis Theodorou, Yoshiyuki Nagai, Sirirat Likanonsakul, Chantapong Wasi, Patrice Debre, Aikichi Iwamoto and Tatsuo Shioda. Polymorphisms in CCR5 chemokine receptor gene in Japan. The 6th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Japan, 平成 18 年 9 月。

中山英美、塩田達雄。アフリカミドリザル由来 TRIM5alpha の SIVmac 感染阻害能に対するカニクイザル由来 TRIM5alpha のドミナントネガティブ効果。第 54 回日本ウイルス学会学術集会、名古屋、平成 18 年 11 月。

Song, H, Nakayama, EE, Likanonsakul, S, Wasi, C, Iwamoto A, and Shioda T. A three-base-deletion polymorphism in the upstream non-coding region of human interleukin 7 (IL-7) gene could enhance levels of IL-7 expression.第 54 回日本ウイルス学会学術集会、名古屋、平成 18 年 11 月。

櫻木淳一、塩田達雄。HIV-1 サブタイプ間組換え体生成機構の解析。第 54 回日本ウイルス学会学術集会、名古屋、平成 18 年 11 月。

大石真久、櫻木淳一、塩田達雄。水疱性口内

炎ウイルス(VSV)の糖タンパク質を用いたシールドタイピングに潜む問題点。第 54 回日本ウイルス学会学術集会、名古屋、平成 18 年 11 月。

Huanliang Liu, Emi E. Nakayama, Ioannis Theodorou, Yoshiyuki Nagai, Sirirat Likanonsakul, Chantapong Wasi, Patrice Debre, Aikichi Iwamoto and Tatsuo Shioda. Polymorphisms in CCR5 chemokine receptor gene in Japan.第 20 回日本エイズ学会学術集会、東京、平成 18 年 12 月。

櫻木淳一・塩田達雄。ウイルスゲノムの二量体化の感染初期過程に及ぼす影響。第 20 回日本エイズ学会学術集会、東京、平成 18 年 12 月。

渡邊紗也香、立川（川名）愛、小田原隆、中村哲也、岩本愛吉『HIV 伝播が確認された感染者間における HIV の遺伝子解析』日本エイズ学会。平成 18 年 11 月。東京。

Drug resistant mutations in children failing antiretroviral therapy in Kenya. E.M.Songok, R.Lwembe, W. Ochieng, S. Kageyama, H. Ichimura. XVI International AIDS Conference, 2006. 8.Tronto, Canada.

途上国における感染症対策と日本。市村宏。国際協力フォーラム in ISHIKAWA.

2006.11. 金沢.

フィリピンで確認された組換え C 型肝炎ウイルス. 景山誠二、谷本朋陽、市村宏. 第 5 4 回日本ウイルス学会学術集会. 2006. 11, 名古屋.

Anti-retroviral drug resistance associated mutations among non-subtype B HIV-1-infected Kenyan children with treatment failure. Raphael Lwembe、山本直彦、塩田達雄、景山誠二、市村宏. 第 5 4 回日本ウイルス学会学術集会. 2006. 11, 名古屋.

フィリピンにおける STI の現状. 宮下宙子、松下香織、アグダマグドロシー、ルエンベラファエル、笹川寿之、景山誠二、市村宏. 第 5 4 回日本ウイルス学会学術集会. 2006. 11, 名古屋.

フィリピンにおける血液媒介感染による HIV 流行の端緒形成の可能性. 景山誠二、市村宏. 第 2 0 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2006, 11, 東京.

アフリカ、ケニアにおける HIV 感染と HPV 感染. 第 2 0 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2006, 12, 東京.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

##### 1. 特許取得

該当なし。

##### 2. 実用新案登録

該当なし

ゲノム情報を用いたエイズ発症阻止に関する研究

主任研究者 塩田 達雄（大阪大学微生物病研究所教授）

研究要旨

HIV-1感染症に関わる宿主因子について検討し、以下の知見を得た。

(1) 昨年度までに104名のHIV-1感染者のゲノムワイドスキャンによりHIV-1感染症の病態進行の個人差と相関する候補遺伝子多型と考えられた92箇所の一塩基多型を、先の104名とは重複しない120名のHIV-1感染者集団で再検討して4箇所の多型に絞り込んだ。今年度、上記の224名とは重複しない198名のHIV-1感染者集団において、4箇所の多型のうち1箇所が同様の傾向を示すことを見出した。

(2) タイ国Bamrasnaradura感染症研究所において、generic医薬品GPOvirの服用を開始したHIV-1感染者コホートを樹立した。今後、日本人HIV-1感染者において見出された治療開始後のCD4陽性細胞数の回復速度の個人差と相関する遺伝子多型が、タイ国においても同じ傾向を示すか否かの検討を行う。

(3) IL7はT細胞の増殖を促すサイトカインで、HIV-1感染者では血中のIL7濃度はCD4陽性T細胞数と逆相関し、その多型は治療開始後のCD4陽性細胞数の回復速度に影響する可能性がある。我々は、IL7の5'非翻訳領域内の3塩基を欠失する多型がIL7の翻訳効率を変化させることを見出した。

A. 研究目的

エイズの病態ならびに進行速度は感染者ごとに大きく異なり、感染後急激にCD4陽性細胞数の減少をみる感染者から10年以上発症しない感染者まで様々である。また、HIV-1感染感受性自体にも個人差が存在する。本研究は、多数のHIV-1感染者および非感染者について、HIV-1の生活環に関わる様々な宿主因子の遺伝的多型を検討し、病態進行やHIV-1感染感受性の違いを決定する宿主側の因子を明らかにすることを目的とする。また抗HIV薬の有効性や副作用の個人差を決定する宿主因子の同定も重要な課題である。本年度は以下の3点を具体的な研究目的とした。

(1) 昨年度までに、病態進行の緩慢な51名と病態進行の速やかな53名のHIV-1感染者の遺伝子多型について、Affymetrix社製Gene Chip Human Mapping 10K Arrayを利用したゲノムワイドスキャンを行って約一万箇所の一塩基多型を網羅的に検討し、両群間での多型の頻度の差をカイ二乗検定で検定したところ、危険率0.01未満の差が認められる多型を92箇所認めた。そして、これら92箇所の多型が、上記104名のHIV-1感染者とは重複しない120名HIV-1感染者集団でも病態進行に関して同様の傾向が認められるか否か、を検討し、候補遺伝子多型を4箇所まで絞り込んだ。そこで本年度は、これらの候補遺伝

子多型が、これまで解析した 224 名の HIV-1 感染者とは重複しない HIV-1 感染者集団においても病態進行と関連するか否かを明らかにすることを目的とした。

(2) 昨年度までに、HIV プロテアーゼ阻害剤ネルフィナビルを含む 3 剤複合療法を開始し、血清中の HIV-1 量を検出限界以下に抑制できた HIV-1 感染者 52 名について同様にゲノムワイドスキャンを行い、CD4 陽性細胞数の回復速度と強く相関する一箇所の候補遺伝子多型を見出した。本年度は、この遺伝子多型がタイにおいて generic 医薬品 GPOvir の服用を開始した HIV-1 感染者においても CD4 陽性細胞の回復速度と相関するか否かを明らかにすることを目的とした。

(3) IL7 は T 細胞の増殖を促すサイトカインで、HIV-1 感染者では血中の IL7 濃度は CD4 陽性 T 細胞数と逆相関し、治療開始後 CD4 陽性細胞数が回復するにつれ、正常値近くまで低下する。従って、その多型は治療開始後の CD4 陽性細胞数の回復速度に影響する可能性がある。本年度は、IL7 の 5' 非翻訳領域内に IL7 の発現量を変化させる遺伝子多型が存在するか否かを明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

(1) 性的接触で HIV-1 に感染し、2000 年時点で未治療時に血中の CD4 陽性 T 細胞数が 200 個/ $\mu$ l 未満でありかつ HIV-1 量が 150,000 コピー以上の 102 名、および CD4 陽性 T 細胞数が 200 個/ $\mu$ l 以上でありかつ HIV-1 量が 50,000 以下の 96 名の HIV-1 感染者について、リアルタイム PCR を利用した一塩基多型遺伝

子型決定法を用いて昨年度までに明らかにした候補遺伝子多型を決定し、両群間での多型頻度を比較した。

(2) 2007 年 3 月 10 日までに、タイ国 Bamrasnaradura 感染症研究所において generic 医薬品 GPOvir の服用を開始した HIV-1 感染者 144 名に遺伝子解析研究参加への同意を得て、検査用に採血された血液の残部を凍結保存し、そこからゲノム DNA を抽出した。そして治療開始前後の CD4 数や HIV-1 量、治療薬変更の有無等の臨床データを整理したデータベースを構築した。

(3) HIV-1 非感染者 55 名および HIV-1 感染者 99 名のゲノム DNA から、PCR 法にて IL7 遺伝子の 5' 側非翻訳領域 1470 塩基ならびに第一エクソンと第一イントロンの一部を含む 1658 塩基を含む部分を増幅し、ABI の DNA シークエンサーにてその全塩基配列を決定した。得られた IL7 のプロモーター領域を、IL7 の開始コドンがホタルのルシフェラーゼ遺伝子のオープンリーディングフレームに合うように結合したプラスミドベクターを構築し、U937 細胞ならびに Jurkat 細胞にトランスフェクションして、細胞内のルシフェラーゼ活性を測定した。

### (倫理面への配慮)

HIV-1 感染者ならびに非感染者の検体を使用するにあたって、検体の提供者には遺伝子解析を行うことを含めて十分に説明を行い、書面による同意を得られた場合のみを解析の対象とし、検体は匿名化して個人情報特定できないようにして扱った。HIV-1 感染者の遺伝子解析は平成 13 年に大阪大学研究倫理審



査委員会の承認を得た。タイ国 Bamrasnaradura 感染症研究所における遺伝子解析は 2007 年に同研究所が所属するタイ国疾病管理局の倫理委員会の承認を得た。

### C. 研究結果

(1) 昨年度までに、病態進行の緩慢な 51 名と病態進行の速やかな 53 名の HIV-1 感染者の遺伝子多型について、Affymetrix 社製 Gene Chip Human Mapping 10K Array を利用したゲノムワイドスキャンを行って約一万箇所の一塩基多型を網羅的に検討し、両群間での多型の頻度の差をカイ二乗検定で検定したところ、危険率 0.01 未満の差が認められる多型を 92 箇所認めた。そして、これら 92 箇所の多型が、上記 104 名の HIV-1 感染者とは重複しない 120 名の HIV-1 感染者集団でも病態進行に関して同様の傾向が認められるか否か、を検討し、候補遺伝子多型を 4 箇所まで絞り込んだ。そこで本年度は、これらの候補遺伝子多型を、これまで解析した 224 名の HIV-1 感染者とは重複しない 198 名の HIV-1 感染者集団においても CD4 数や HIV-1 量と関連するか否かを検討した。その結果、候補遺伝子多型の一箇所について、CD4 陽性 T 細胞数が 200 個/ $\mu$ l 未満で HIV-1 量が 150,000 コピー以上の病態が進行した HIV-1 感染者 102 名では 24 名(23.5%)にこの多型が検出された。一方 CD4 陽性 T 細胞数が 200 個/ $\mu$ l 以上で HIV-1 量が 50,000 以下の病態が進行していない HIV-1 感染者 96 名中ではより多い 33 名(33.4%)にその多型が検出され( $P=0.09$ )、昨年度までに解析した 224 名の HIV-1 感染者

と同じ傾向を示した。

(2) 昨年度までに、HIV プロテアーゼ阻害剤 ネルフィナビルを含む 3 剤複合療法を開始し、血清中の HIV-1 量を検出限界以下に抑制できた HIV-1 感染者 52 名について同様にゲノムワイドスキャンを行い、CD4 陽性細胞数の回復速度と強く相関する一箇所の候補遺伝子多型を見出した。本年度は、この遺伝子多型が他の抗 HIV-1 療法を開始した HIV-1 感染者においても CD4 陽性細胞の回復速度と相関するか否かを明らかにするために、タイ国 Bamrasnaradura 感染症研究所において generic 医薬品 GPOvir の服用を開始した HIV-1 感染者 144 名に遺伝子解析研究参加への同意を得た。臨床データを整理した結果、69 名を、臨床データが不十分である、以前に別な抗 HIV-1 薬の投与を受けていた、治療開始後も血中に HIV-1 が検出された等、の理由で研究対象外とした。残りの 75 名中、治療開始後 1 年間で CD4 陽性細胞数が 150 個/ $\mu$ l 以上回復した感染者は 54 名、100-150 個/ $\mu$ l だった者は 14 名、100 個/ $\mu$ l 未満だった者は 7 名であった。対象外とした HIV-1 感染者においても CD4 陽性細胞は良く回復しており、GPOvir による治療効果は非常に良好であることが明らかになった。

(3) HIV-1 非感染者 55 名および HIV-1 感染者 99 名のゲノム DNA から、IL7 遺伝子の 5' 側非翻訳領域 1470 塩基ならびに第一エクソンと第一イントロンの一部を含む 1658 塩基を含む部分を増幅し、その全塩基配列を決定した。その結果、IL7 の翻訳開始部位から上流に数えて 27 番目から 29 番目の 3 塩基 ATC が欠失す

る多型が解析した154名中2名において認められた。このATCはIL7の開始コドン上流に複数存在するATGの一つに隣接しており、ATCの欠失によりそのATG周辺の配列がatcATGaからgtcATGaに変化する。ATG周辺の配列、特にこのATGの上流3番目のaからgに変化した部位はそのATGからの翻訳効率に影響することから、IL7の本来の翻訳開始コドンまでの非翻訳領域をルシフェレースのオープンリーディングフレームに結合したプラスミドを作成し、この欠失が、ルシフェレースの発現に及ぼす影響を検討した。その結果、この3塩基の欠失により、IL7の本来の翻訳開始コドンからのルシフェレースの発現が増強されることが明らかになった。

#### D. 考察

(1)昨年度までに、HIV-1感染者104名のDNAチップを利用したゲノムワイドスキャンに引き続き、これら104名の感染者とは重複しない120名の感染者を対象とした二次スクリーニングから、4箇所の遺伝子多型が病態進行の個人差と相関する遺伝子多型の候補として考えられた。今年度は、そのうちの1箇所が、統計学的有意差には至らないもの(P=0.09)、全く独立な198名のHIV-1感染者集団において治療前のCD4陽性細胞数ならびにHIV-1量と相関することが明らかになった。現在、これら198名のHIV-1感染者集団の時間経過を追った臨床データの整理を行っており、病態進行速度そのものとの間にも相関関係があるか否かを検討する予定である。

この遺伝子多型は、ヒトゲノム上で遺伝子

として知られる領域の外に位置しており、近傍の遺伝子中にこの多型と連鎖不平衡にある多型が存在するか否かを現在、検討している。

(2) 抗 HIV 薬の有効性の個人差を決定する宿主因子の検索も本研究の重要な課題である。しかし抗 HIV-1 薬の有効性には、HIV-1 側の耐性変異の有無が大きく関わるため解析は容易ではない。そこで、抗 HIV-1 治療により血清中の HIV-1 量を検出限界以下に抑制できた感染者を対象を絞り、CD4 陽性細胞の回復速度の違いに関わる宿主因子の探索を行ってきた。その結果、昨年度までに CD4 陽性細胞の回復の速い群と緩慢な群とで危険率 0.000002 で違いを示す遺伝子多型が 1 箇所認められた。今年度は、この多型が他の抗 HIV-1 療法によっても HIV-1 感染者の CD4 陽性細胞の回復速度と相関するか否かを明らかにするために、generic 医薬品の抗 HIV-1 薬 GPOvir が最近急速に普及したタイ国において治療を開始した HIV-1 感染者のコホートの樹立を試みた。タイ国内での倫理審査に予想以上の時間を要したため、2007 年 3 月 10 日時点で 75 名の研究対象者からの検体を得るに留まっているが、限られた数の感染者の治療開始前後の CD4 陽性細胞と HIV-1 量の変動を解析した結果、GPOvir による治療効果は非常に良好であることが明らかになった。現在、研究対象者の数を増やすとともに遺伝子解析を進めている。

(3) IL7の5'側非翻訳領域内の本来の開始コドンより上流にあるATGに隣接するATCが欠失する多型により、本来のATGからの遺伝子発現が増強されることが明らかになった。

翻訳開始コドン近傍の多型によって遺伝子発現量に変化する例としては、annexin V、BRCA1、androgen receptor、およびCD40などが知られているが、これらはいずれも本来の翻訳開始コドン近傍の多型による影響であり、本来の開始コドンよりも上流にあるATG近傍の多型によって遺伝子発現量に変化するものとしてはこのIL7が初めての例になる。

#### E. 結論

(1)ゲノムワイドスクランから病態進行の個人差と相関することが示唆された一塩基多型について、大規模なHIV-1感染者集団を用いてCD4陽性細胞数や血中HIV-1量の個人差と関連するか否かの検討を行ったところ、一箇所の多型が一次および二次スクリーニングと同様の傾向を示した。

(2) 抗HIV-1療法によるCD4陽性細胞数の回復速度と相関する遺伝子多型を探索するためにタイ国において、generic医薬品GPOvirの服用を開始したHIV-1感染者コホートを樹立した。

(3)T細胞の増殖を促すサイトカインであるIL7の遺伝子の5'非翻訳領域内の3塩基を欠失する多型がIL7の翻訳効率を変化させることを見出した。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Wichukchinda, N, Nakayama, EE, Rojanawiwat, A, Pathipvanich, P, Auwanit, W, Vongsheree, S, Ariyoshi, K, Sawanpanyalert, P, and Shioda, T. Protective Effects of *IL-4 -589T* and *RANTES -28G* on HIV-1 disease progression in infected Thai females. *AIDS.* , 20: 189-196, 2006.

Song, H, Nakayama, EE, and Shioda, T. Effects of human interleukin 7 on HIV-1 replication in monocyte-derived human macrophages. *AIDS.*, 20: 937-939, 2006.

Nakayama, EE, Maegawa, H, and Shioda, T. A dominant-negative effect of cynomolgus monkey tripartite motif protein TRIM5a on anti-simian immunodeficiency virus SIVmac activity of an African green monkey orthologue. *Virology.* , 350: 158-163, 2006.

Sakuragi S, Sakuragi J, Morikawa Y, Shioda T. Development of a rapid and convenient method for the quantification of HIV-1 budding. *Microbes Infect.*, 8: 1875-1881, 2006

Shioda T, Nakayama EE. Human genetic polymorphisms affecting HIV-1 diseases. *Int J Hematol.*, 84:12-17, 2006.

Song, H, Nakayama, EE, Likanonsakul, S,

Wasi, C, Iwamoto A, and Shioda T. A three-base-deletion polymorphism in the upstream non-coding region of human interleukin 7 (IL-7) gene could enhance levels of IL-7 expression. International Journal of Immunogenetics. In press, 2007.

Nuanjun Wichukchinda, Archawin Rojanawiwat, Yoshihiro Kitamura, Emi E Nakayama, Panita Pathipvanich, Wattana Auwanit, Pathom Sawanpanyalert, Aikichi Iwamoto, Tatsuo Shioda, and Koya Ariyoshi. The polymorphisms in *DC-SIGNR* affect the susceptibility to HIV-1 infection. AIDS. Res. Hum. Retrovir. In press, 2007

Raphael Lwembe, Washington Ochieng, Annie Panikulam, Charles O. Mongoina, Mary Owens, Yusuke Koizumi, Seiji Kageyama, Naohiko Yamamoto, Tatsuo Shioda, Rachel Musoke, Angel D'Agostino, Elijah M. Songok, Hiroshi Ichimura. ANTI-RETROVIRAL DRUG RESISTANCE-ASSOCIATED MUTATIONS AMONG NON-SUBTYPE B HIV-1-INFECTED KENYAN CHILDREN WITH TREATMENT FAILURE. J. Med. Virol. In press, 2007.

Retro-transduction by virus pseudotyped with glycoprotein of vesicular stomatitis

virus. Masahisa Ohishi, Tatsuo Shioda, and Jun-ichi Sakuragi. Virology. In press, 2007.

RANTES -28G delays and DC-SIGN -139C enhances AIDS progression in HIV-1-infected Japanese hemophiliacs. Yusuke KOIZUMI, Seiji KAGEYAMA, Yoshihide FUJIYAMA, Michiko MIYASHITA, Raphael LWEMBE, Keiki OGINO, Tatsuo SHIODA, Hiroshi ICHIMURA. AIDS Research and Human Retroviruses. In press, 2007.

## 2. 学会発表

Huanliang Liu, Emi E. Nakayama, Ioannis Theodorou, Yoshiyuki Nagai, Sirirat Likanonsakul, Chantapong Wasi, Patrice Debre, Aikichi Iwamoto and Tatsuo Shioda. Polymorphisms in CCR5 chemokine receptor gene in Japan. The 6th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Japan, 平成 18 年 9 月。

中山英美、塩田達雄。アフリカミドリザル由来 TRIM5alpha の SIVmac 感染阻害能に対するカニクイザル由来 TRIM5alpha のドミナントネガティブ効果。第 54 回日本ウイルス学会学術集会、名古屋、平成 18 年 11 月。

Song, H, Nakayama, EE, Likanonsakul, S, Wasi, C, Iwamoto A, and Shioda T. A