

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16年度～18年度 総合研究報告書

主任研究者 塩田 達雄

平成19（2007）年3月

目 次

| | |
|----------------------------------|----|
| I. 総合研究報告 | |
| 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. 研究成果の刊行に関する一覧表 | 20 |
| III. 研究成果の刊行物・別刷 | 27 |

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）

要旨

HIV 感染症の病態進行は感染者毎に大きく異なる。本研究は、エイズ病態進行や HIV 感染感受性の個人差を決定付ける宿主遺伝子多型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。現在までに以下の知見を得た。(1) 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、より大規模な 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) ゲノムワイドスキャンにより HIV プロテアーゼ阻害剤ネルフィナビルを含む 3 剤複合療法による CD4 陽性細胞数の回復速度の個人差と強く相関する 1 箇所の遺伝子多型を見出した。この多型は、近傍の遺伝子のプロモーター部分の多型と強い連鎖不平衡にあった。(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、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。(4) HIV 特異的細胞性免疫を賦活化する治療ワクチンの開発に向けた基盤的研究として、日本人感染者の HIV 遺伝子解析を行い日本で流行している HIV の特性を明らかにした。(5) HIV 特異的細胞性免疫を賦活化する治療ワクチンの開発のためのウイルスベクターの有効性の検討、抗原提示量の測定あるいは抗原提示増強に関する新規技術の開発を行った。(6) 日本の HIV-1 感染血友病患者において、RANTES -28G は AIDS 発症遅延に、そして DC-SIGN -139C は AIDS 発症促進に関連することが示唆された。(7) ケニアにおける HIV 母子感染と感染児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。母子感染による HIV-1 薬剤耐性株の伝搬とその後の治療に及ぼす影響について検討した結果、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

東京大学医科学研究所 教授 岩本愛吉

金沢大学医学系研究科 教授 市村宏

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。またその多型が病態進行や感染感受性に影響する分子機構の解明も目的と

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。本総合報告書においては、3年間の代表的な研究成果について報告する。

B. 研究方法

(1)病態進行が詳細に記載されている HIV-1 感染者104名の末梢血あるいは末梢血単核細胞より常法に従ってゲノムDNAを抽出した。Affymetrix社のプロトコールに従い、ゲノムDNAを部分切断、アダプター付加、PCR増幅、DNase処理、ビオチン標識の後、HIV感染症との関わりが明らかなものから HIV感染症との関連が全く不明なものまで一万箇所以上の一塩基多型のプローブがのっている Gene Chip Human Mapping 10K Arrayに一晩ハイブリダイズさせ、蛍光色素で標識の後、Affymetrix社製のスキャナーでデータを取得し、解析した。二次スクリーニングとして、性的接触で HIV-1に感染し、1999年時点で血中の CD4陽性 T細胞数が $50\text{個}/\mu\text{l}$ 未満の80名および $200\text{個}/\mu\text{l}$ 以上の40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、DNAチップ解析から病態進行の個人差と関連していた92箇所の多型のうち38箇所の多型を決定し、両群間での多型頻度を比較した。二次スクリーニングで残った遺伝子多型を、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 $200\text{個}/\mu\text{l}$ 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 $200\text{個}/\mu\text{l}$ 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、決定し両群間での多型頻度を比較した。

(2) 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(1)と同様の方法でゲノムワイドスキャンを行った。

(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、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。

(4) HLA-A24 陽性 HIV-1 感染者の血漿から HIV ゲノム RNA を含むトータル RNA を抽出し HLA-A24 に提示されることの知られている 5ヶ所のエピトープ (Gag28-9, Gag263-10, Gag296-11, Env584-11, Nef138-10) を含む領域を RT-PCR 法により増幅し、シーケンス反応を行い塩基配列を決定した。複数の塩基配列が混在しているため一義的に決定できなかったサンプルに関してはクローニングを行い 10 クローン前後について同様にアミノ酸配列を決定

した。一部の感染者においては経時的な解析も行った

(5) AdV、SeV ベクターによる遺伝子導入効率と細胞毒性の検討 健康人末梢血単核球 (PBMC) から GM-CSF、IL-4 にて分化させた未熟 DC (imDC) に GFP 遺伝子を発現するアデノウイルス (GFP/AdV) とセンドライウイルス (GFP/SeV) を感染させ、GFP の発現量、細胞毒性を比較した。さらに DC の分化の状態を表す細胞表面マーカーを測定し、AdV、SeV 感染による DC の分化への影響を解析した。また HIV タンパク質を発現する AdV ベクターと SeV ベクターを作製し、HIV-Gag、Env の発現量を検討した。

<HLA-A24/Nef138-10 複合体を認識する単鎖抗体の作製> Nef138-10 を提示する HLA-A24 分子 (A24/Nef138-10) を特異的に認識する抗体の作製には単鎖抗体 (scFv) ファージディスプレイ法を用いた。ヒト B 細胞由来の scFv ファージディスプレイライブラリを用い、A24/Nef138-10 複合体と特異的に結合する scFv をパニング法にて濃縮し、増幅培養を行った。得られた scFv ファージは ELISA にて特異性を検討した。特異性が確認された scFv ファージにおいて G3P タンパク質の代わりに myc タグを付加し scFv を分泌型にした。得られた分泌型 scFv は検出抗体を抗 myc 抗体に変更し上記と同様の ELISA を行った。A24/Nef138-10 に特異性の見られた scFv クローンの多様性は *Bst*OI による消化パターンによって判断した。得られた scFv を用いて Nef138-10 を

パルスした HLA-A24 陽性 B 細胞株 (A24+/LCL) の細胞表面染色を行った。

<TAP 阻害分子とエピトープ融合 β 2 ミクログロブリンを用いた高効率抗原提示法の開発> β 2m と Nef タンパク質由来の HLA-A24 拘束性の Nef138-10 との融合タンパク質 Nef138- β 2 m を発現する SeV (N- β 2m/SeV)、ICP47 を発現する SeV (ICP47/SeV)、またその両者を発現する SeV (<N- β 2m+ICP47>/SeV) を作製した。

各 SeV を HLA-A24、B7 陽性の T 細胞株、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、さらにその 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。そして HIV-Gag を発現する Gag/SeV と、ICP47/SeV あるいは <N- β 2m+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 ^{51}Cr release assay を行った。

(6) 1987 年～1996 年の期間に「HIV-1 感染者の発症予防と治療研究班」を通じて採取され、凍結保存されていた日本の血友病患者 104 名の末梢血単核球 (PBMC) を使用した。CDC の診断基準 (1987 年) に従い、全ての患者を 2 つの群：感染後 10 年以上無治療で AIDS を発症していない群 (AIDS 遅発症群、n=55) と感染後 10 年以内に AIDS を発症した群 (AIDS 発症群、n=49)、

に分類した。検討した遺伝子多型は *SDF-1* 遺伝子の 3'UTR (-801) [*SDF-1* 3A']、*RANTES* のプロモーター領域 (-28, -403)、*RANTES* のイントロン領域 (In1.1C)、*IL-4* のプロモーター領域 (-589)、*DC-SIGN* のプロモーター領域 (-139, -336) である。

(7)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 that 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、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) 病態進行が詳細に記載されている HIV-1 感染者 104 名を、病態進行の速い 53 名と緩慢な 51 名に分けて解析した。病態進行が緩慢な 51 名の中には、プロテアーゼ阻害剤あるいは非核酸系逆転写酵素阻害剤を含む三剤複合療法未経験の血友病患者で CD4 陽性細胞数が 200 個/ μ l を超えるいわゆる non-progressor 症例 25 例が含まれる。今回は、解析の対象となる感染者の多くが血友病患者の男性であるため、Gene Chip Human Mapping 10K Array にのっている 10,204 箇所の一塩基多型のうち、X 染色体上の多型ならびに染色体が明らかでない多型を除いた 9,588 箇所の多型について解析を行った。その結果、多型の頻度の差をカイ二乗検定で検定して、危険率 0.01 未満を示す多型を 92 箇所認めた。長期未発症症例が比較的稀であることから、病態進行の緩慢な群における多型の頻度が病態進行の速い群における頻度よりもアジア人の平均的頻度からかけ離れている多型が真に病態進行に関わると考えられる。そこで、そのような 38 箇所の多型について上記 104 名の感染者とは全く重複しない 120 名の HIV-1 感染者について改めて検討したところ、そのうち 4 箇所がこの 120 名においても病態進行の個人差と関連していた。そこで、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/ μ 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/ μ 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) 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(1)と同様の方法でゲノムワイドスクランニングを行った。治療開始後一年以内に CD4 陽性細胞が 100 個/ μ l 以上回復した感染者 25 名と、治療開始後一年たっても CD4 細胞が 100 個/ μ l 回復できなかった感染者 27 名に分けて解析した。多型の頻度の差をカイ二乗検定で検定した場合、危険率 0.001 未満の差を示す多型が 7 箇所認められた。そのうち一箇所は危険率 0.000002 を示し、これは 1 万回の多重検定補正 (Bonferroni の補正) を行った後でも $P=0.02$ の危険率で有意差が認められたことになる。この多型の近傍 8000 塩基の近傍には、個体内での細胞増殖に関わる癌抑制遺伝子である可能性が示唆されている遺伝子が存在する。そこで、この多型からその遺伝子までの 8000 塩基の領域の多型の有無と連鎖状況を検討したところ、その遺伝子の

プロモーター部分に 5 箇所にわたってこの一塩基多型と強い連鎖不平衡を示す多型が見出された。

(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ズ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、ルシフェレーズ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ズの発現が増強されることが明らかになった。

(4) 解析した 5 ヶ所の CTL エピトープのうち、3 ヶ所 (Gag28-9, Env584-11, Nef138-10) において HLA-A24 陽性 HIV 感染者で高頻度に見られるアミノ酸変異が明らかになった。世界的なデータベース上の HIV サブタイプ B における出現頻度と比

較すると、いずれの変異の出現頻度も日本人 HLA-A24 陽性感染者では出現頻度が高かった。さらに Nef138-10 を含む領域のアミノ酸配列の経時的変化を調べたところ、HLA-A24 陽性 HIV 感染者では Nef138-10 の 2 番目のタイロシンがフェニルアラニンに置換した Nef138(Y2F)の配列が年余に渡って維持されていた。それに対して感染初期には Nef138(Y2F)であった HLA-A24 陰性 HIV 感染者では経過とともに 2 番目の F が標準株の配列と同じ Y に置換されていた。また、HLA-A24 陰性 HIV 感染者における Nef138(Y2F)の出現頻度を感染経路別に解析すると、性感染群において Nef138(Y2F)の出現頻度が血友病群に比べて有意に高かった。

また、Nef138-10 において HLA-A24/B52 陽性の HIV 感染者に特異的に見られる 6 番目の F がロイシンに置換した Nef138(F6L)の配列が見られた。

(5) AdV、SeV ベクターによる遺伝子導入効率と細胞毒性の検討

GFP/AdV、GFP/SeV を感染に用いる m.o.i.を変化させ imDC に感染し GFP の発現量を感染 48 時間後に測定したところ、AdV は MOI=1000 で、GFP/SeV は MOI=2 で感染させた場合に GFP 陽性細胞率が最も高かった。また PI 染色により死細胞数を測定したところ、同条件で AdV は約 10%、SeV は約 40%であった。HIV タンパク質を発現する AdV、SeV を上記条件で imDC に感染し発現量を比較したところ、どちらも高い発現が確認された。

さらに AdV、SeV ベクターの感染の DC への影響を確認したところ、AdV ベクター感染では CD83、MHC class I、MHC class II 分子の発現が著明に増加し成熟 DC とほぼ同等の発現が見られた。一方、SeV ベクター感染では CD86、CD40、MHC class I 分子の増加が見られた。

<HLA-A24/Nef138-10 複合体を認識する単鎖抗体の作製>

scFv ファージディスプレイライブラリを用いて A24/Nef138-10 複合体特異的 scFv を発現するファージをパニング法によって増幅培養し、A24/Nef138-10 複合体と結合する scFv を 80 クローン得た。ELISA にて A24/Nef138-10 複合体との結合能、また異なるエピトープを提示する HLA-A24 分子に対する結合能を調べたところ、16 クローン (20%) が A24/Nef138-10 複合体にのみ結合する「A24/Nef138 特異的な」scFv であった。分泌型にし制限酵素切断パターンによる遺伝子解析を行った結果、最終的に A24/Nef138-10 複合体特異的 scFv として clone3 と clone27 が得られた。そこで、実際に clone3、clone27 を用いて A24/Nef138-10 複合体を提示する細胞を染色したところ、細胞表面で A24/Nef138-10 複合体と結合することのできる scFv を得られた。

<TAP 阻害分子とエピトープ融合 β 2 ミクログロブリンを用いた高効率抗原提示法の開発>

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 18 時間後 (ICP47 の発現が確認された後) に酸処理を行った後、新規の細胞表面発現量を調べたところ、ICP47/SeV 感染細胞は野生型 SeV 感染細胞と比べて HLA クラス I 分子量が低下しており、ICP/SeV 感染細胞において ICP 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 β 2m の融合タンパク質である N- β 2m とを共発現する SeV、<N- β 2m +ICP>/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- β 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、抗 HLA-A24 抗体と抗 HLA-B7 抗体を用いて「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- β 2m を提示する MHC クラス I 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 とともに発現が低下していたのに対して、<N- β 2m +ICP>/SeV を感染した細胞では HLA-B7 は低下したまま HLA-A24 のみが発現が回復していた。さらに <N- β 2m +ICP>/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- β 2m 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- β 2m、Gag の 3 者を発現する細胞は Nef138-CTL にのみ認識されたことから、<N- β 2m +ICP>/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。

(6) *RANTES* -28G の allelic frequency は AIDS 発症群 (0.08) に比較し遅発症群 (0.189) で有意に高いこと ($P=0.037$, $OR=0.37, 95\%CI [0.149, 0.926]$), *DC-SIGN* -139C の allelic frequency は遅発症群 (0.337) に比較し AIDS 発症群 (0.200) で有意に高いこと ($P=0.028$, $OR=2.03, 95\%CI [1.084, 3.804]$), *RANTES* -403A、*RNATES* In1.1C、*SDF-1* 3A'、*IL-4* -589T、*DC-SIGN* -336C の allelic frequency は両群間に有意差は認められないこと、が明らかとなった。

(7) 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) 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) 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が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が変化するものとしてはこの IL7 が初めての例になる。

(4) 本研究では CTL の賦活化を目指した治

療ワクチン開発のための基盤研究を行った。CTL は HLA クラス I 拘束性に抗原を認識するため、遺伝的背景により標的とする部位も全く異なる。本研究ではまず日本人集団で流行している HIV の特性を明らかにし、ワクチンに用いる抗原に関して解析を行った。その結果、一部のエピトープでは HLA-A24 陽性感染者で高頻度に見られる特定のアミノ酸変異があることが明らかになり、これらは CTL による選択圧から逃れた逃避変異体であることが示唆された。また、Nef 由来のエピトープ Nef138-10 では逃避変異体が HLA-A24 陽性感染者体内では維持されるのに対して HLA-A24 陰性感染者体内では消失すること、HLA-A24 陰性感染者においては血友病患者群に比べて性感染群で有意に出現頻度が高いことも明らかになり、HLA-A24 に提示されるエピトープでの逃避変異体が日本人集団で流行していることが示唆された。日本人集団では 6 割以上で HLA-A24 を共通に有しているが、1つの集団において特定の HLA がこれだけ高頻度に存在することは世界的にみても稀である。逃避変異体の流行は日本での HIV 感染の伝播において懸念される問題である。

(5) また、免疫法としてプロフェッショナル抗原提示細胞である樹状細胞を用いての効果的な免疫誘導法の開発を検討した。DC への HIV タンパク質の遺伝子導入を目的として AdV ベクター、SeV ベクターの有用性を検討した。SeV ベクターは低い m.o.i でも効率良い遺伝子導入が可能であり、AdV

ベクターは高い m.o.i を必要とするが細胞毒性は低いことが明らかになった。さらにどちらのベクターも感染によって DC の成熟化を誘導できた。これらの結果から AdV、SeV とともに HIV 感染症に対する免疫遺伝子治療ベクターとして有用であることが示唆された。

効果的なワクチンの開発には高い免疫誘導能を持つ抗原を使用することが重要である。免疫誘導において重要な要因となっている抗原提示量の測定を可能にするため、Nef138-10 を提示する HLA-A24 分子に対する単鎖抗体 (scFv) の作製を試みた。その結果、2 種類 scFv を得、実際に A24/Nef138-10 複合体を提示する細胞を特異的に染色することができた。今後 Nef 発現細胞、あるいは HIV 感染細胞において A24/Nef138-10 複合体の発現量を検討したい。

さらに、TAP 阻害分子とエピトープ融合 $\beta 2m$ を共発現させることで目的のエピト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。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ピト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。

(6)日本の HIV-1 感染血友病患者において、*RANTES* -28G は AIDS 発症遅延に、そして *DC-SIGN* -139C は AIDS 発症促進に関

連することが示唆された。

(7)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) HIV プロテアーゼ阻害剤ネルフィナビルを含む 3 剤複合療法による CD4 陽性細胞数の回復速度と相関する 1 箇所の遺伝子多型が、近傍の遺伝子のプロモーター部分の多型と強い連鎖不平衡にあることを見出した。

(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。

(4)本研究ではワクチン開発において重要な因子である「抗原」に関する基礎的検討を行った。HIV は変化の激しいウイルスであり、地域ごとに流行している HIV は大きく異なっている。本邦における HIV 感染症に対するワクチン開発において、本研究で明らかになった日本で流行している HIV に対

する知見は重要な情報である。

(5)本研究では CTL 賦活化ワクチンの開発に向けて、免疫方法に関して包括的に解析を行った。HIV は容易に CTL の攻撃から逃避することができ、HIV を感染個体から排除できない一因と考えられている。このような CTL からの逃避変異ウイルスの出現に対してはより効果的に抗原を提示させることで CTL の誘導を高めることができるかもしれない。本研究で得られた知見を用いて治療ワクチンを念頭においた効率のよい CTL 誘導システムの開発が期待できる。

(6)日本の HIV-1 感染血友病患者において、*RANTES -28G* は AIDS 発症遅延に、そして *DC-SIGN -139C* は AIDS 発症促進に関連することが示唆された。

(7)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

Nakayama, E. E., Tanaka, Y., Nagai, Y., Iwamoto, A. and Shioda, T. A *CCR2-V64I* polymorphism affects stability of *CCR2A* isoform. *AIDS*. 18: 729-738, 2004.

Yamada, T., Watanabe, N., Nakamura, T and Iwamoto, A. Antibody-dependent cellular cytotoxicity via a humoral immune epitope of Nef protein expressed on the cell surface. *J. Immunology*. 172: 2401-6, 2004.

Furutsuki T, Hosoya N, Kawana-Tachikawa A, Tomizawa M, Odawara T, Goto M, Kitamura Y, Nakamura T, Kelleher AD, Cooper DA, Iwamoto A. Frequent transmission of cytotoxic-T-lymphocyte escape mutants of human immunodeficiency virus type 1 in the highly HLA-A24-positive Japanese population. *J Virol*. 78: 8437-45, 2004.

D Zhu, H Taguchi-Nakamura, M Goto, T Odawara, T Nakamura, H Yamada, H Kotaki, W Sugiura, A Iwamoto & Y Kitamura. Influence of single-nucleotide polymorphisms in the multidrug resistance-1 gene on the cellular export of nelfinavir and its clinical implication for highly active antiretroviral therapy. *Antiviral Therapy* 9:929-35, 2004.

Yokomaku, Y., Miura, H., Tomiyama, H., Kawana-Tachikawa, A., Takiguchi, M., Nagai, Y., Iwamoto, A., Matsuda, Z., and Ariyoshi, K. Impaired epitope processing and presentation as a major

escape mechanism from CTL recognition in HIV-1 infection. *J. Virol*. 78:1324-1332, 2004.

Sakurai, A., Jere, A., Yoshida, A., Yamada, T., Iwamoto, A. Adachi, A., and Fujita, M. Functional analysis of HIV-1 vif genes derived from Japanese long-term non progressors and progressors for AIDS. *Microbes and Infection* 6:799-805, 2004.

Kita K, Ichimura H, et al.: Genetic Diversity of HIV Type 1 in Likasi, Southeast of the Democratic Republic of Congo. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 20(12): 1352-7, 2004.

Ndembi N, Ichimura H, et al.: Genetic Diversity of HIV Type 1 in Rural Eastern Cameroon. *J Acquir Immune Defic Syndr* 37(5):1641-1650, 2004.

Songok EM, Ichimura H, et al.: Active generation and selection for HIV intersubtype A/D recombinant forms in a co-infected patient in Kenya. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 20(2): 255-8, 2004

Nakayama, E. E., Miyoshi, H., Nagai, Y., and Shioda, T. A specific region of 37 amino acid residues in the SPRY (B30.2)

domain of African green monkey TRIM5 α determines species-specific restriction of SIVmac infection. *J. Virol.* 79: 8870-8877, 2005.

Mori, K., Sugimoto, C., Ohgimoto, S., Nakayama, E. E., Shioda, T., Kusagawa, S., Takebe, Y., Kano, M., Matano, T., Yuasa, T., Miyazawa, M., Takahashi, Y., Yasunami, M., Kimura, A., Yamamoto, N., Suzuki, Y., and 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.

Rojanawiwat, A., Miura, T., Thaisri, H., Pathipvanich, P., Umnajsirisuk, S., Koibuchi, T., Vongheree, S., Iwamoto, A., Ariyoshi, K., and Sawanpanyalert, P. Frequent detection of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus but not JC virus DNA in cerebrospinal fluid samples from human immunodeficiency virus-infected patients in northern Thailand. *J. Clin. Microbiol.* 43:3484-3486, 2005.

Tomonari, A., Takahashi, S., Shimohakamada, Y., Ooi, J., Takasugi, K., Ohno, N., Konuma, T., Uchimaru, K., Tojo, A., Odawara, T., Nakamura, T., Iwamoto, A., and Asano, S. Unrelated cord blood transplantation for a human

immunodeficiency virus-1-seropositive patient with acute lymphoblastic leukemia. *Bone Marrow Transplantation* 36:261-262, 2005.

Khamadi SA, Ichimura H, et al.: HIV-1 subtypes in circulation in Northern Kenya. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 21(9):810-4, 2005.

Agdamag DM, Ichimura H, et al.: Rapidly spreading HCV infections from limited sources simulating an AIDS outbreak in the Philippines. *J Med Virol* 77:221-226, 2005.

Kurbanov F, Ichimura H, et al.: A New Subtype (Subgenotype) Ac (A3) of Hepatitis B Virus and Recombination between Genotypes A and E in Cameroon. *J Gen Virol* 86:2047-2056, 2005.

Takemura T, Ichimura H, et al.: A novel SIV from black mangabey (*Lophocebus aterrimus*) in Democratic Republic of Congo. *J Gen Virol* 86:1967-1971, 2005.

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 α 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.

Ide, F., Nakamura, T., Tomizawa, M., Kawana-Tachikawa, A., Odawara, T., Hosoya, N., Iwamoto, A. Peptide-loaded

dendritic-cell vaccination followed by treatment interruption for chronic HIV-1 infection: A phase I trial. *J. Med. Virol.* 78:711-718, 2006.

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.

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.

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.

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. *AIDS Research and Human Retroviruses*. In press.

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.* 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.

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

Nakayama, E. E., Tanaka, Y., Nagai, Y., Iwamoto, A. and Shioda, T. A *CCR2-V64I* polymorphism affects stability of *CCR2A* isoform. The International Congress of AIDS (Bangkok) 2004, WePeA5610.

N. Wichukchinda, E.E. Nakayama, T. Matsumi, A. Rojanawiwat, P. Pathipvanich, W. Auwanit, S. Vongsheree, K. Ariyoshi, T. Shioda, P. Sawanpanyalert. Significant associations of *IL4-589T*, *CCR2-64I*, and *HLA-B* alleles with viral load among HIV-1 infected Thais. The International Congress of AIDS (Bangkok) 2004, WePeA5620.

T Odawara, M Tomizawa, A Kawana-Tachikawa, F Ide, T Furutsuki, N Hosoya, T Nakamura, and A Iwamoto. Sequences of HLA-A24-restricted HIV-1 CTL epitopes among highly HLA-A24 positive Japanese patients and a phase I clinical trial of therapeutic vaccine based on peptides and autologous dendritic cells. XV International AIDS Conference

中山英美、塩田達雄。アフリカミドリザル由来 TRIM5alpha の HIV-1 感染阻害効果。第 52 回日本ウイルス学会学術集会 2004,

3 WSA5, 横浜.

櫻木淳一、塩田達雄。HIV-1 ゲノム二量体化に関する解析。第 52 回日本ウイルス学会学術集会 2004, 2P059, 横浜.

杉本智恵、塩田達雄、中山英美、扇本真治、山本直樹、永井美之、鈴木康夫、森一泰。糖鎖欠失 SIV の弱毒化とウイルス学的性質の変化。第 52 回日本ウイルス学会学術集会 2004, 3WSA2, 横浜.

川名愛、細谷紀彰、加藤篤、塩田達雄、永井美之、岩本愛吉。エピトープ結合β2ミクログロブリンと TAP 阻害タンパク質を用いた HIV-1 特異的 CD8 陽性 T 細胞への効率的な抗原提示法の開発。第 52 回日本ウイルス学会学術集会 2004, 3E02, 横浜.

中山英美、塩田達雄。アフリカミドリザル由来 TRIM5alpha の HIV-1 感染阻害効果。第 18 回日本エイズ学会学術集会 2004, 035, 静岡.

HIV 感染流行予測のための HCV 感染動態の検討。景山誠二、市村宏。第 52 回日本ウイルス学会学術集会, 2004, 11, 横浜.

HIV-2 感染例における血中ウイルス量の増加とその多様性の推移。景山誠二、市村宏。第 18 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2004, 12, 静岡.

HIV-1 subtypes in the northern border region of Kenya. Lwembe R、市村宏、他。第 18 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2004, 12, 静岡.

中央アフリカ地域における HIV-1 の多様性の拡大と新しい組換えウイルス群の出現。原田礼忠、市村宏、他。第 18 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2004, 12, 静岡.

Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP)法を用いた HIV-1 RNA の検出。保坂憲光、市村宏、他。第 18 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2004, 12, 静岡.

Emi E. Nakayama, Hiroyuki Miyoshi, Yoshiyuki Nagai, and Tatsuo Shioda. A specific region of 37 amino acid residues in the SPRY(B30.s) domain of African green monkey TRIM5alpha determines species-specific restriction of SIVmac infection. Seventh International Congress on AIDS in Asia and the Pacific. (Kobe) 2005.

Jun-ichi Sakuragi, Sayuri Sakuragi, and Tatsuo Shioda. Genome dimerization of HIV-1 and its roles for viral replication. The 5th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Awaji, Japan.

中山英美、永井美之、塩田達雄。TRIM5alpha

のレンチウイルス感染阻害効果。第 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜。

中山英美、永井美之、塩田達雄。アフリカミドリザル由来 TRIM5alpha のレンチウイルス感染阻害効果。第 19 回日本エイズ学会学術集会、熊本。

櫻木淳一・塩田達雄。HIV-1 感染初期過程とゲノム二量体化。第 53 回日本ウイルス学会学術集会、横浜。

櫻木淳一、塩田達雄。HIV-1 サブタイプ間ヘテロゲノム二量体化効率の解析。第 19 回日本エイズ学会学術集会、熊本。

櫻木淳一・塩田達雄。HIV-1 感染初期過程へのゲノム二量体化の影響。第 28 回日本分子生物学会年会、博多。

立川 (川名) 愛、渡辺紗也香、富澤麻利子、小川照美、細谷紀彰、小田原隆、中村哲也、岩本愛吉。HIV-1 感染における CTL エスケープ変異体の出現に関する解析。第 53 回日本ウイルス学会学術集会・総会、横浜。

フィリピンにおいて急速に伝播している HCV の解析 (2002 年-2005 年)。景山誠二、市村宏。第 53 回日本ウイルス学会学術集会、2005. 11, 横浜。

血友病患者の HIV/AIDS 病態進行に関する宿主因子の影響。小泉祐介、景山誠二、宮

下宙子、Lwembe R、塩田達雄、藤山佳秀、市村宏。第 53 回日本ウイルス学会学術集会、2005. 11, 横浜。

カメルーン北西部における HIV-1 サブタイプ分布と未治療群内の薬剤耐性株頻度の解析。小泉祐介、宮下宙子、Lwembe RW、Nicaise N、景山誠二、藤山佳秀、市村宏。第 19 回日本エイズ学会学術集会・総会、2005, 12, 熊本。

REVERSE TRANSCRIPTASE
RESISTANCE MUTATIONS IN HIV-1
NON-B STRAINS INFECTING
TREATED CHILDREN IN KENYA. R.
Lwembe, E.M.Songok, M.Miyashita,
Y.Koizumi, S.Kageyama, H.Ichimura.
第 19 回日本エイズ学会学術集会・総会、
2005, 12, 熊本。

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, 2006.9.

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、2006.11, 名古屋。

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、2006.11, 名古屋。

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、2006.11, 名古屋。

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ュー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、2006.11, 名古屋。

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、2006.12, 東京。

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、2006.12, 東京。

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。2006.11, 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54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54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。