

厚生労働科学研究費補助金 エイズ対策研究事業

研究課題：HIV 増殖・変異の制御に関する研究 課題番号：H16-エイズ-004

分担研究報告書

分担研究者：駒野 淳（国立感染症研究所 エイズ研究センター 第3室 主任研究官）

分担研究課題 挿入変異を伴う多剤耐性 HIV-1(CRF01\_AE)NH3 株における薬剤耐性亢進のメカニズム-薬剤耐性獲得における RNase H 活性の関与

## 研究要旨

日本で分離されるウイルス株の中で2番目に多い CRF01\_AE において、抗レトロウイルス剤にて治療されていた患者由来の薬剤耐性ウイルスを対象とした研究を行い、NRTI 耐性を誘導するポリマーゼドメインへの挿入変異・点変異によって RNA/DNA 依存性 DNA 合成活性だけでなく RNase H 活性も減少することが明らかとなった。非 RNase H ドメインへの薬剤耐性変異にて RNase H 活性が低下するというのは初の報告である。さらに薬剤耐性変異は template switch 活性を増強させることも明らかとなった。これらを総合すると、逆転写酵素のポリマーゼ活性低下が nucleotide excision の増強をもたらし、その結果変異率が低下するというメカニズムが推された。生体では変異率の低下は著しい選択圧となる。そのなかで11アミノ酸というまれにみる長い挿入変異をもつ組換えウイルス産生能の高いウイルスが生体内で選択されたと考えられる。Strand transfer 活性は新たな治療標的として重要な位置を占める可能性が示唆された。

### A. 研究目的

多剤併用療法が導入されてエイズ患者の予後は画期的に改善した。しかし、根治療法は存在せず終生治療を継続する必要がある。そのため薬剤耐性ウイルスの出現は治療上の大きな問題である。耐性機序の理解は最適な治療戦略開発に資することが期待される。我々は11アミノ酸の挿入変異を持つ抗 NRTI 多剤耐性 HIV-1(CRF01\_AE)を分離同定した(Sato ら, J Virol 2001)。この挿入変異は単独で弱い 3TC 耐性を持つが、複数の TAM が存在すると AZT 耐性を増強し、さらに d4T、ddI、ddC 耐性を与える。我々は精製逆転写酵素 (RT) を用いた酵素活性の解析を通じて薬剤耐性増強メカニズムの解明を試みた。またこれを通じて耐性制御の方策について考察した。

### B. 研究方法

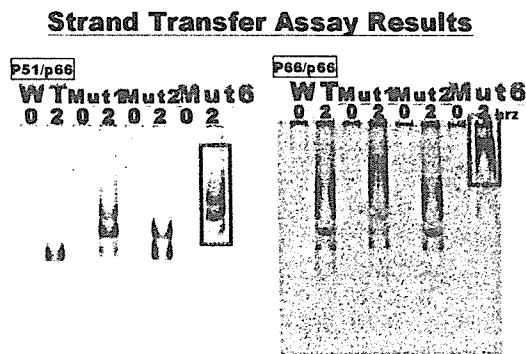
野生型、挿入変異、TAM (M41L, L210W, T215Y)、その両者を有する臨床分離株由来の RT をそれぞれ大腸菌に発現させて精製し、合成核酸を基質として DNA および RNA 依存性 DNA polymerase 活性、RNase H 活性、基質認識効率、strand transfer 活性について検索した。また、野生型と薬剤耐性ウイルスの複製効率、耐性の強さ、変異率を相互に比較検討した。  
(倫理面への配慮)

該当なし。

### C. 研究結果

臨床分離株由来の RT は野生型に対して DNA および RNA 依存性 DNA polymerase 活性、RNase H 活性がそれぞれ 3.1 倍、1.5 倍、1.6 倍に減弱し、基質認識効率も 66%に低下していた。逆

に strand transfer 活性は顕著に増大していた (下図参照、赤枠)。



挿入変異単独ではいずれの酵素活性も変化させることができないが、他の変異と同調して酵素活性を大きく左右することが判明した。一方、薬剤耐性ウイルスの複製効率は野生型と同等であった。

#### D. 考察

耐性の増強は、polymerase 活性低下に基づく nucleotide excision による chain terminator 除去効率上昇のためと推測された。ウイルス複製を阻害しないためには、RT の持つ酵素活性が協調的に低下することが重要と考えられる。当薬剤耐性ウイルスは NNRTI 感受性を保持しており、NRTI+NNRTI 併用療法の重要性が示唆された。本例は polymerase 活性中心の変異が RNase H 活性に影響することを示した初の例である。nucleotide excision 活性増強による RT の fidelity 上昇は、生体内におけるウイルス多様化に負の影響を及ぼす。strand transfer 活性の増加は、組み替えウイルス発生頻度を増大させることによってウイルスが生体内で多様化する能力を維持しようとする HIV-1 の免疫逃避戦略かもしれない。Strand transfer 活性は新たな治療標的として重要な位置を占めると思われる。

#### E. 結論

逆転写酵素の持つすべての酵素学的特性を解析する実験系を樹立し、NRTI 耐性 CRF01\_AE ウイルス株由来の精製酵素を解析したところ、(1) catalytic site への薬剤耐性変異が RNase H 活性に対して負に影響する事、(2) polymerase 活性と RNase H 活性が parallel に変動すること、(3) strand transfer 活性が増強する事、(4) これらが協調して in vivo におけるウイルス survival に重要な影響を及ぼすことが示唆された。

#### F. 健康危険情報

特記すべきことなし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Futahashi Y, \*[Komano J](#), Urano E, Aoki T, Hamatake M, Miyauchi K, Yoshida T, Koyanagi Y, Matsuda Z, Yamamoto N. Separate elements are required for ligand-dependent and -independent internalization of metastatic potentiator CXCR4. *Cancer Science*. 2006. In press.
- 2) Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyachi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y, Yamamoto N, [Komano J](#). Inhibiting lentiviral replication by HEXIM1, a cellular inhibitor of cdk9/cyclinT complex. *AIDS*. 2006. In press.
- 3) Miyauchi K, \*[Komano J](#), Myint L, Futahashi Y, Urano E, Matsuda Z, Chiba T, Miura H, Sugiura W, Yamamoto N. Rapid propagation of low-fitness drug resistant mutants of human immunodeficiency virus type 1 by a

streptococcal metabolite sparsomycin. Antivir Chem Chemother. 2006;17(4): 167-174

4) Miyauchi K, Curran R, Matthews E, Komano J, Hoshino T, Engelman DM, \*Matsuda Z. Mutations of conserved glycine residues within the membrane-spanning domain of human immunodeficiency virus type 1 gp41 can inhibit membrane fusion and incorporation of Env onto virions. Jpn J Infect Dis. 2006 Apr;59(2):77-84.

## 2. 学会発表 (抜粋)

1) Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y, Yamamoto N, Komano J. Inhibiting HIV-1 replication by HEXIM1, a cellular inhibitor of cdk9/cyclinT complex (P-TEFb). May 23-27, 2006. CSH Meeting on Retroviruses, Cold Spring Harbor, NY

2) Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y, Yamamoto N, Komano J. Inhibiting HIV-1 replication by HEXIM1, a cellular inhibitor of cdk9/cyclinT complex (P-TEFb), Poster, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress in conjunction with 79th Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society and 29th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. Jun 18-23, 2006. Kyoto, Japan.

3) Miyauchi K, Curran R, Mathews E, Komano J, Murakami T, Yamamoto N, Engelman DM, \*Matsuda Z. Alteration of intracellular transport of the envelope protein of HIV-1 by a shift in a helical phase within its

membrane-spanning domain. 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology and 11th FAOBMB Congress in conjunction with 79th Annual Meeting of the Japanese Biochemical Society and 29th Annual Meeting of the Molecular Biology Society of Japan. Jun 18-23, 2006. Kyoto, Japan.

4) Komano J. Characterization of neutralizing antibodies found in long-term non-progressors of Japanese hemophiliacs. 3<sup>rd</sup> Taiwan-Japan Symposium on HIV/AIDS. Sep 7-9, 2006. Center for Disease Control Department of Health, Taiwan, R.O.C.

5) Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y, Yamamoto N, Komano J. Inhibiting HIV-1 replication by HEXIM1, a cellular inhibitor of CDK9/Cyclin T complex (P-TEFb). 7<sup>th</sup> AIDS Seminar in Kumamoto, Kumamoto. Sep 21-22, 2006. Japan.

6) Komano J, Futahashi Y, Isogai M, Hamatake M, Matsuda Z, Shiino T, Takebe Y, Sato H, Yamamoto N. Drug Resistance Mutations in the Polymerase Catalytic Domain Negatively Affect the RNase H Activity of HIV-1 Reverse Transcriptase. 7<sup>th</sup> Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance. 2006 Nov 12-15. Chantilly VA, USA

7) Murakami T, Yasutomi E, Ablan S, Miyakawa K, Komano J, Matsuda Z, Freed EO, Yamamoto N. Detailed analyses of HIV-1 matrix mutants: Effects on an early stage of infection. 7<sup>th</sup> Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance. 2006 Nov 12-15. Chantilly VA, USA

- 8) 青木徹, 貝の瀬由成, 二橋悠子, 清水佐紀, 松田善衛, 山本直樹, 駒野淳. HIV-1 GagN 末端のミリスチン酸化非依存的な分子集合・出芽および VLP の性質に関する解析. 第 5 4 回日本ウイルス学会学術集会. Nov 19-21, 2006. 名古屋
- 9) 濱武牧子, 浦野恵美子, 花房忠次, 加藤真吾, Tee Kok Keng, 武部豊, 山本直樹, 駒野淳. AIDS 長期未発症の HIV 感染血友病患者における高力価中和抗体の存在とその病期進行への寄与に関する解析. 第 5 4 回日本ウイルス学会学術集会. Nov 19-21, 2006. 名古屋
- 10) 駒野淳, 二橋悠子, 磯貝まや, 濱武牧子, 松田善衛, 佐藤裕徳, 椎野貞一郎, 武部豊, 山本直樹. 挿入変異を伴う多剤耐性 HIV-1(CRF01\_AE)における薬剤耐性亢進のメカニズム—薬剤耐性獲得における RNase H 活性の関与. 第 5 4 回日本ウイルス学会学術集会. Nov 19-21, 2006. 名古屋
- 11) 駒野淳, 姉崎裕介, 二橋悠子, 磯貝まや, 藤義秀, 星野忠次, 武部豊, 山本直樹. HIV-1 の逆転写酵素が持つ RNase H 活性に対する特異的阻害剤の開発. 第 5 4 回日本ウイルス学会学術集会. Nov 19-21, 2006. 名古屋
- 12) Komano J. Myristoylation independent assembly, transport, and VLP formation of HIV-1 Gag. 第 2 0 回日本エイズ学会学術集会. Nov 30-Dec 2, 2006. 東京
- 13) 駒野淳, 姉崎裕介, 二橋悠子, 磯貝まや, 武部豊, 山本直樹. HIV-1 の逆転写酵素に内在する RNase H 活性阻害薬の開発 (1) —小分子化合物ライブラリーからのスクリーニング. 第 2 0 回日本エイズ学会学術集会. Nov 30-Dec 2, 2006. 東京
- 14) 濱武牧子, 浦野恵美子, 花房忠次, 加藤真吾, Tee Kok Keng, 武部豊, 山本直樹, 駒野淳. 血友病患者におけるエイズ長期未発症症例における高力価中和抗体の存在と標的部位の同定. 第 2 0 回日本エイズ学会学術集会. Nov 30-Dec 2, 2006. 東京
- 15) 駒野淳, 二橋悠子, 磯貝まや, 濱武牧子, 松田善衛, 佐藤裕徳, 椎野貞一郎, 武部豊, 山本直樹. HIV-1 逆転写酵素 polymerase active site への薬剤耐性変異が誘導する RNase H 活性の低下と耐性亢進への寄与. 第 2 0 回日本エイズ学会学術集会. Nov 30-Dec 2, 2006. 東京
- 16) Jun Komano. Broadly reactive strong neutralizing antibody against HIV-1 in long-term survivors of HIV-1-infected haemophiliacs. The US-Japan Cooperative Medical Science Program 19th Joing Meeting of AIDS Panel. Dec 6-7, 2006. Kagoshima, Japan

H. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 薬剤耐性変異獲得 HIV-1 プロテアーゼの増殖適応能の結晶構造学的解析研究

分担研究者 西澤雅子 国立感染症研究所 エイズ研究センター

研究協力者 柿澤淳子 国立感染症研究所 エイズ研究センター

### 研究要旨

HIV-1 CRF01\_AE(subtype E)プロテアーゼの結晶構造解析する事を目的とし、CRF01\_AE プロテアーゼ遺伝子を *E.coli* にトランスフォームしタンパクを精製・解析した。25 番目のアスパラギン酸をアスパラギンに置換した D25N 変異体のプロテアーゼの結晶構造解析を行い Subtype B のプロテアーゼ構造と比較検討した。また NFV 投薬により L10F、N88S の変異が挿入されたと思われる臨床検体由来のプロテアーゼ遺伝子をクローニングし、D25N 変異の代わりに Q7K を導入し、自己分解能を抑制しつつプロテアーゼ活性を持つ活性型プロテアーゼの精製を行った。

### A. 研究目的

現在臨床で行われている多剤併用療法 (HAART) は HIV 感染症治療で大きな効果を上げてきた。この HIV 感染症治療で用いられている抗 HIV 薬剤は、欧米で感染の主流となっている Subtype B の逆転写酵素やプロテアーゼの情報や構造を元に設計され使用されているが、東アジアで流行の主流である CRF01\_AE や中国・インドで広まっている Subtype C と言った non-B type の HIV の逆転写酵素やプロテアーゼの特徴は考慮されていない。また抗 HIV 薬剤に対する薬剤耐性ウイルスの研究もそのほとんどが Subtype B に関するものである。現在日本における HIV 流行の主流は欧米と同様 Subtype

B だがタイなど東南アジアにおける HIV 感染症

例の主流の CRF01\_AE (Subtype E) による HIV 感染例が増加傾向にある。これまでに、Subtype B と CRF01\_AE ではプロテアーゼ阻害剤である NFV に対する薬剤耐性獲得に差異があることが報告されているが、これは Subtype B と CRF01\_AE の薬剤標的酵素の構造学的差異を示唆している。そこで我々は CRF01\_AE のプロテアーゼを精製して結晶構造解析を行い、Subtype B の構造と比較検討した。

### B. 研究方法

#### 1) プロテアーゼ変異体の構築

自己分解活性を抑制するため D25N 変異を導入した Subtype B の分子クローン HXB2 の D25N

変異体と CRF01\_AE の分子クローンである NH-1 に D25N 変異を導入した D25N 変異体を作製した。また CRF01\_AE で NFV 投与履歴のある臨床症例を 1 症例選択しそのプロテアーゼ領域をクローニングした。このように NFV 投与前の野生型プロテアーゼ(L10L/N88N)、NFV 投与によって経時的に N88S を持ったプロテアーゼ(L10L/N88S)及びL10FとN88S両方を持ったプロテアーゼ(L10F/N88S)を合計 3 ポイント選択しクローニングした。なおこの臨床症例のプロテアーゼはプロテアーゼ活性を保ったまま自己分解能を減弱させるため、7 番目のグルタミンをリジンに置換した。

#### 2) 発現ベクターの構築

構築した HXB2 と NH-1 のプロテアーゼ遺伝子及び臨床検体由来のプロテアーゼ遺伝子 (L10L/N88N、L10L/N88S、L10F/N88S) を pET-11a の T7 プロモーターの下流に組み込んだ発現ベクターを作製した。

#### 3) プロテアーゼタンパクの発現

大腸菌での発現を高めるためヒトの codon usage に適応させた *E. coli* (Rosetta)を使用した。*E. coli* にトランスフォーム後 IPTG の存在下で 3 時間誘導をかけてプロテアーゼタンパクを強発現させた。

#### 4) プロテアーゼタンパク回収・精製

IPTG による発現誘導後 *E. coli* を回収し French press を用いて菌体を破碎し封入体内のプロテアーゼタンパクを回収した。回収した粗精製産物は 2 M urea と酢酸で可溶化した。可溶化したプロテアーゼ粗精製物は、G-75 Sephadex を充填した 5 cm x 100cm column に添加しゲルろ過による分離精製を行った。

#### 5) プロテアーゼの結晶構造解析

採取したサンプルはリフォールディングした後限外濾過して濃縮し、共同研究者である Massachusetts Univ. の Dr. Schiffer へプロテアーゼサンプルを送付しハンギング・ドロップ法による結晶化結晶構造解析を解像度 2.5 Å で行った。

### C. 研究結果

精製した HXB2 の D25N 変異体と NH-1 の D25N 変異体のプロテアーゼ結晶構造解析を行い構造の比較を行った。その結果 Subtype B と CRF01\_AE でアミノ酸が異なっている 20 番目のアルギニン (Subtype B ではリジン) と 35 番目のアスパラギン酸 (Subtype B ではグルタミン) の間で Subtype B には無い水素結合が存在する事が明らかになった (図 1)。またプロテアーゼの基質である p1-p6 のペプチドを組み込んだ構造解析の結果、プロテアーゼと基質ペプチドの

間に Subtype B とは異なる位置に 3 箇所水素結合が存在する事が示された(図 2)。

#### D. 考察

Subtype B と CRF01\_AE ではプロテアーゼ内部の水素結合に差異がある事が明らかになった。また基質である gag の p1-p6 ペプチドとプロテアーゼとの間の水素結合の部位が CRF01\_AE では Subtype B と比較して 3 箇所異なっていた事から、*in vivo* においてもプロテアーゼと gag の切断部位との結合様式が Subtype B と CRF01\_AE では異なる可能性が示唆された。実際に薬剤耐性プロファイルが Subtype B と CRF01\_AE で異なる NFV についてはまだ検討途中であるがこれらの Subtype 間で結合強度や結合様式に差異がある可能性が示唆された。

#### E. 結論

Subtype B の分子クローンである HXB2 の D25N プロテアーゼと CRF01\_AE の分子クローンである NH-1 の D25N プロテアーゼの結晶構造解析を行った結果 CRF01\_AE では 20 番目のアルギニンと 35 番目のアスパラギン酸の間で Subtype B では見られない水素結合が存在する事が明らかになった。またプロテアーゼの基質である p1-p6 ペプチドとプロテアーゼとの結合を解析

した結果 CRF01\_AE では Subtype B とは異なる位置に 3 箇所水素結合する部位が存在する事が示された。

#### F. 研究危険情報

該当事項なし

#### G. 研究発表

##### 1)論文発表

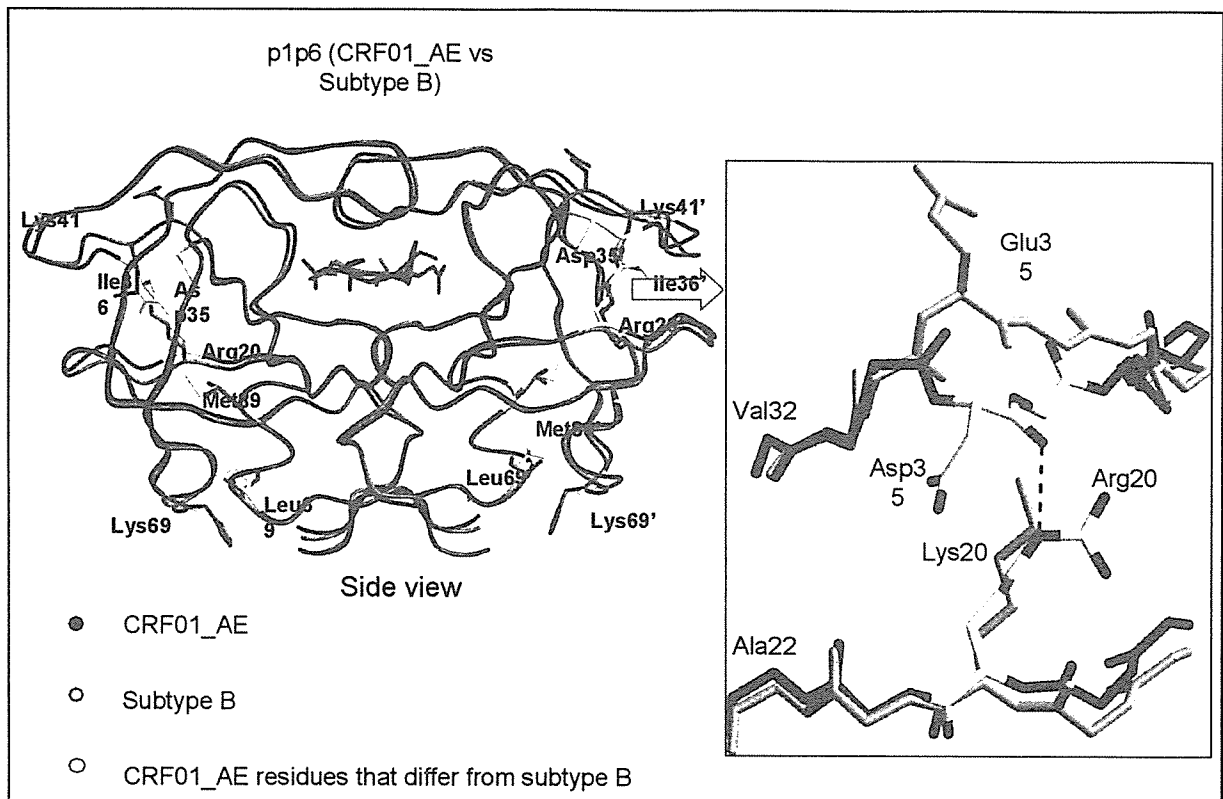
Chiba-Mizutani T, Miura H, Matsuda M, Matsuda Z, Yokomaku Y, Miyauchi K, Nishizawa M, Yamamoto N, Sugiura W. New T-Cell-Based Lines with Two Luciferases for Accurately Evaluating Susceptibility to HIV-1 Drugs. J Clin Microbiol. 2006 in press.

##### 2)学会発表

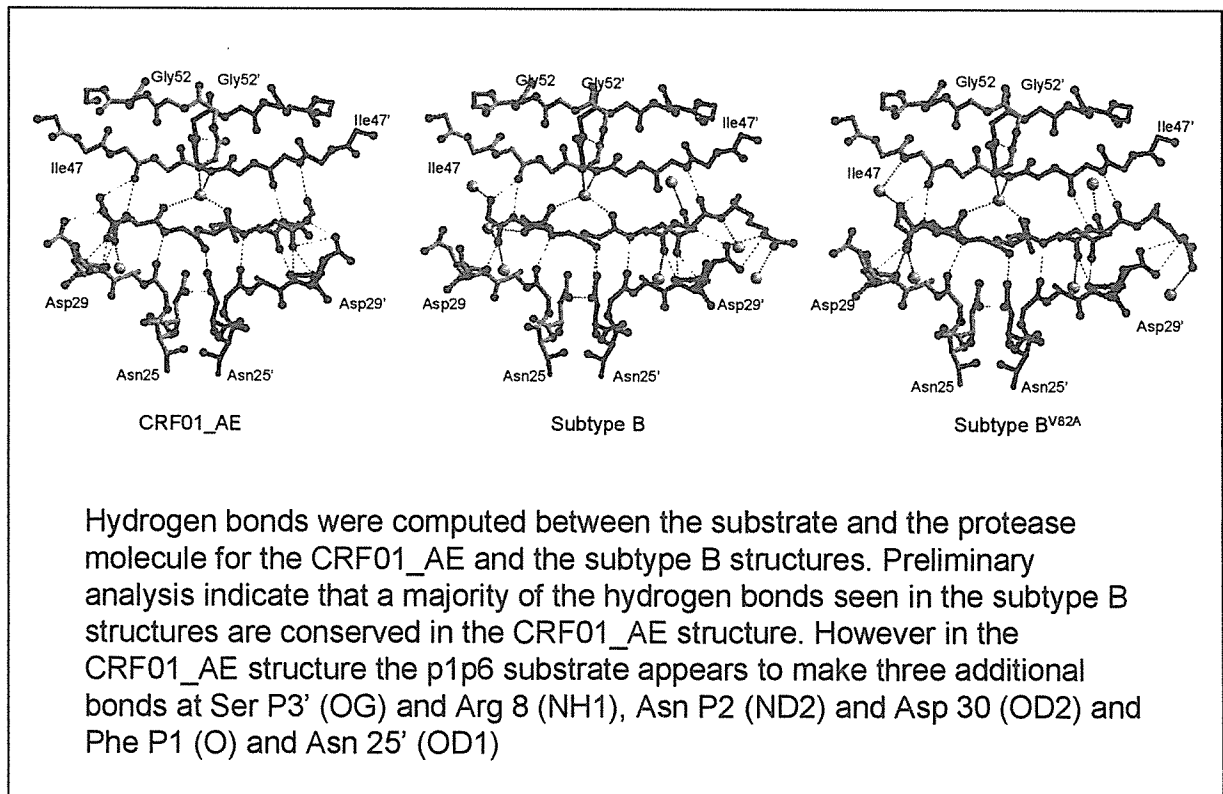
R.M. Bandaranayake, M. Prabu-Jeyabalan, J. Kakizawa, W. Sugiura, and C.A. Schiffer. Structural Analysis of HIV-1 CRF01\_AE Protease in Complex with the Substrate p1-p6. 7th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance. 2006 年 11 月

##### 3)特許の出願

なし



☒ 1



☒ 2



### III. 業績一覽 (2006)

## 研究成果の刊行に関する一覧表

### 書籍

著者氏名	論文 タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
足立昭夫 鎌田和弥 藤田美歌子	シクロフィリン と HIV-1	シクロスポリ ン学術国際シ ンポジウム	免疫の進化 シクロスポリ ン 20年の軌跡	医薬ジャー ナル社	大阪	2006	206-214
岡本 尚	ELL	田村隆明 山本雅之	転写因子・転写制御 キーワードブック	羊土社	東京	2006	92-93
岡本 尚	DSIF	田村隆明 山本雅之	転写因子・転写制御 キーワードブック	羊土社	東京	2006	86-87
岡本 尚	NELF	田村隆明 山本雅之	転写因子・転写制御 キーワードブック	羊土社	東京	2006	145
岡本 尚	エロンゲーター	田村隆明 山本雅之	転写因子・転写制御 キーワードブック	羊土社	東京	2006	248
岡本 尚	S II	田村隆明 山本雅之	転写因子・転写制御 キーワードブック	羊土社	東京	2006	183
岡本 尚	エロンギン	田村隆明 山本雅之	転写因子・転写制御 キーワードブック	羊土社	東京	2006	246-247
岡本 尚	P-TEFb	田村隆明 山本雅之	転写因子・転写制御 キーワードブック	羊土社	東京	2006	167-168
岡本 尚	CSB	田村隆明 山本雅之	転写因子・転写制御 キーワードブック	羊土社	東京	2006	75-76

### 雑誌

発表者氏名	論文タイトル	発表誌名	巻号	ページ	出版年
佐藤裕徳					
Matsuoka-Aizawa S, Gatanaga H, <b>Sato H</b> , Koike K, Kimura S, Oka S.	Cooperative contribution of gag substitutions to nelfinavir-dependent enhancement of precursor cleavage and replication of human immunodeficiency virus type-1.	Antiviral Res.	70	51-59	2006
原田信志					
<b>Harada, S.</b> , Yokomizo, K., Monde, K., Maeda, Y. and Yusa, K.	A broad antiviral neutral glycolipid, fattiviracin FV-8, is a membrane fluidity modulator.	Cell. Microbiol.	9	196-203	2007
服部俊夫					
Zhang, J., and <b>Hattori, T.</b>	Small RNA molecules as therapeutic genes for viral infectious diseases.	In Journal of Pharmacology and Toxicology Academic Press.			In press
服部俊夫、巽浩一郎、岩垣博己、佐久間光江	ウイルス感染とバイオデフェンス	M e b i o 別冊	24	16-21	2007

Guio, H., Okayama, H., Ashino, Y., Saitoh, H., Xiao, P., Miki, M., Yoshijara, N., Nakanowatari, S., and <b>Hattori, T.</b>	Method for efficient storing and transport of sputum specimens for molecular testing of tuberculosis.	The Int J Tb Lung Dis.	10	906-910	2006
Di Li, Hong-Xi Gu, Shu-Yun Zhang, Zhao-Hua Zhong, Min Zhuang, and <b>Hattori, T.</b>	YMDD mutations and genotypes of HBV in Northern China.	J J Infectious Diseases.	59	42-45	2006
Usami, O., Xiao, P., Hong Ling, H., and <b>Hattori, T.</b>	Competitive Study of Monoclonal Antibodies Against the HIV-1 Gp41 Core Structure.	Microbiol. Immunol.	50	131-134	2006
<b>服部俊夫</b> , 芦野有悟, 宇佐美修, 古田里佳	H I V の感染と増殖のメカニズム	診断と治療	94	2208-2212	2006
村上 努					
<b>Murakami T.</b> , and Yamamoto N.	AIDS: How Do We Overcome This Social or Biodisaster (Review)?	The Journal of Disaster Research			In press
増田貴夫					
Nishitsuji, H., Kohara, M., Kannagi, M., and <b>Masuda, T.</b>	Effective suppression of human immunodeficiency virus type 1 through a combination of short- or long-hairpin RNAs targeting essential sequences for retroviral integration.	J. Virol.	80	7658-7666	2006
Komori, K., Hasegawa, A., Kurihara, K., Honda, T., Yokozeki, H., <b>Masuda, T.</b> , and Kannagi, M.	Reduction of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) proviral loads in rats orally infected with HTLV-1 by reimmunization with HTLV-1-infected cells.	J. Virol.	80	7375-7381	2006
Hamamoto, S., Nishitsuji, H., Amagasa, T., Kannagi, M., and <b>Masuda, T.</b>	Identification of a Novel Human Immunodeficiency Virus Type 1 Integrase Interactor, Gemin2, That Facilitates Efficient Viral cDNA Synthesis In Vivo.	J. Virol.	80	5670-5677	2006
Nomura, Y., <b>Masuda, T.</b> , and Kawai, G.	Structural Analysis of a Mutant of the HIV-1 Integrase Zinc Finger Domain That Forms a Single Conformation.	J. Biochem.	139	753-759	2006
Kurihara, K., Shimizu, Y., Takamori, Y., Harashima, N., Noji, M., <b>Masuda, T.</b> , Utsunomiya, A., Okamura, J., and Kannagi, M.	Human T-cell leukemia virus type-I (HTLV-I)-specific T-cell responses detected using three-divided glutathione-S-transferase (GST)-Tax fusion proteins.	J. Immunol. Methods.	313	61-73	2006
Kubo, M., Nishitsuji, H., Kurihara, K., Hayashi, T., <b>Masuda, T.</b> , and Kannagi, M.	Suppression of human immunodeficiency virus type 1 replication by arginine deiminase of Mycoplasma arginini.	J. Gen. Virol.	87	1589-1593	2006
<b>増田貴夫</b>	HIV-1 ゲノム動態に関与する新規宿主因子群とその制御	ウイルス	56	41-50	2006

間 陽子					
Hashizume C., Kuramitsu M., Zhang X., Kurosawaa., Kamata M., <b>Aida Y.</b>	Human immunodeficiency virus type 1 Vpr interacts with spliceosomal protein SAP145 to mediate cellular pre-mRNA splicing inhibition.	Microbes Infect			In press
Nitahara-Kasahara Y., Kamata M., Yamamoto T., Zhang X., Miyamoto Y., Muneta K., Iijima S., Yoneda Y., Tsunetsugu-Yokota Y., <b>Aida Y.</b>	A novel nuclear import of Vpr promoted by Importin-a is crucial for HIV-1 replication in macrophages.	J. Virol.			In press
Azuma A., Matsuo A., Suzuki T., Kurosawa T., Zhang X., <b>Aida Y.</b>	Human immunodeficiency virus type 1 Vpr induces cell cycle arrest at the G <sub>1</sub> phase and apoptosis via disruption of mitochondrial function in rodent cells.	Microbes Infect.	8	670-679	2006
生田和良					
Warachit, J., Iwabu, Y., Li, Y.-G., Li, G.-M., Isarangkura, P., Ibrahim, M.S., Balachandra, K., Tsuji, S., <b>Ikuta, K.</b>	Aberrant life cycle of human immunodeficiency virus type 1 CRF15_01B-like clinical isolates from Thailand in human CD4+ T-cell lines.	Microbes Infect.			In press
Iwabu, Y., Goto, T., Tsuji, S., Warachit, J., Li, G.M., Shoji, S., Kameoka, M., and <b>Ikuta, K.</b>	Superinfection of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) to cell clone persistently infected with defective virus induces production of highly cytopathogenic HIV-1.	Microbes Infect.	8	1773-1782	2006
岡本 尚					
<b>Okamoto, T.</b> , Sanda, T., and Asamitsu, K.	NF- $\kappa$ B signaling and carcinogenesis.	Curr. Pharm. Des.			In press
Hamano, T., Matsuo, K., Hibi, Y., Victoriano, A-F, B., Takahashi, N., Mabuchi, Y., Soji, T., Irie, S., Sawanpanyalert, P., Yanai, H., Hara, T., Yamazaki, S., Yamamoto, N., and <b>Okamoto, T.</b>	A single-nucleotide synonymous mutation in the gag gene controlling human immunodeficiency virus type 1 virion production.	J Virol.	81	1528-1533	2007
Kanazawa, S., Ota, S., Sekine, C., Tada, T., Otsuka, T., <b>Okamoto, T.</b> , and Sonderstrup, G., Peterlin, B.M.	Aberrant MHC class II expression in mouse joints leads to arthritis with extra-articular manifestations similar to rheumatoid arthritis.	Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.	39	14465-14470	2006
<b>Okamoto, T.</b>	NF- $\kappa$ B and rheumatic diseases.	Curr. Drug Targets Immune Endocr. Metabol. Disord.	6	359-372	2006
Imai, K., and <b>Okamoto, T.</b>	Transcriptional repression of human immunodeficiency virus type 1 by AP-4.	J. Biol. Chem.	281	12495-12506	2006
Katagiri, D., Hayashi, H., Victoriano, A-F, B., <b>Okamoto, T.</b> , and Onozaki, K.	Estrogen Stimulates Transcription and Replication of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1).	Int. Immunopharmacol.	6	171-181	2006

Sanda, T., Asamitsu, K., Ogura, H., Iida, S., Utsunomiya, A., Ueda, R., and <b>Okamoto, T.</b>	Induction of cell death in adult T-cell leukemia cells by a novel I $\kappa$ B kinase inhibitor.	Leukemia	20	590-598	2006
Victoriano, A-F. B., Asamitsu, K., Hibi, Y., Imai, K., Barzaga, N. G., and <b>Okamoto, T.</b>	Inhibition of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Replication in Latently Infected Cells by a Novel IKK Inhibitor.	Antivir. Chem. Chemother.	50	547-555	2006
Inoue, Y., Itoh, Y., Abe, K., <b>Okamoto, T.</b> , Daitoku, H., Fukamizu, A., Onozaki, K., and Hayashi, H.	Smad 3 is acetylated by p300/CBP to regulate its transcriptional activity.	Oncogene		Advance online publication	2006
森川裕子					
Sakuragi, S., Sakuragi, J., <b>Morikawa, Y.</b> , and Shioda, T.	Development of a rapid and convenient method for the quantitation of HIV-1 budding.	Microbes Infect.	8	1875-1881	2006
森川裕子	酵母を用いた動物ウイルスの研究	ウイルス	56	9-16	2006
三隅将吾					
<b>Misumi, S.</b> , Takamune, N., and Shoji S.	Immunoreactive cycloimmunogen design based on conformational epitopes derived from human immunodeficiency virus type 1 coreceptors: cyclic dodecapeptides mimic undecapeptidyl arches of extracellular loop-2 in chemokine receptor and inhibit human immunodeficiency virus type 1 infection.	Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets			In press
<b>Misumi, S.</b> , Nakayama, D., Kusaba, M., Iiboshi, T., Mukai, R., Tachibana, K., Nakasone, T., Umeda, M., Shibata, H., Endo, M., Takamune, N., and Shoji, S.	Effects of Immunization with CCR5-Based Cycloimmunogen on Simian/HIVSF162P3 Challenge.	J. Immunol.	176	463-471	2006
明里宏文					
Shirakawa, K., Takaori-Kondo, A., Kobayashi, M., Tomonaga, M., Izumi, T., Fukunaga, K., Sasada, A., Abudu, A., Miyauchi, Y., <b>Akari, H.</b> , Iwai, K., and Uchiyama, T.	Ubiquitination of APOBEC3 proteins by the Vif-Cullin5-ElonginB-ElonginC complex.	Virology	344	263-266	2006
増田道明					
Matsuda, N., Tanaka, H., Yamazaki, S., Suzuki, J.I., Tanaka, K., Yamada, T., and <b>Masuda, M.</b>	HIV-1 Vpr induces G2 cell cycle arrest in fission yeast associated with Rad24/14-3-3-dependent, Chk1/Cds1-independent Wee1 upregulation.	Microbes Infect.	8	2736-2744	2006
足立昭夫					
Kamada, K., Igarashi, T., Martin M.A., Khamsri, B., Hacho, K., Yamashita, T., Fujita, M., Uchiyama, T., and <b>Adachi, A.</b>	Generation of HIV-1 derivatives that productively infect macaque monkey lymphoid cells.	Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.	103	16959-16964	2006

Khamsri, B., Fujita, M., Kamada, K., Piroozmand, A., Yamashita, T., Uchiyama, T., and <b>Adachi, A.</b>	Effects of lysine to arginine mutations in HIV-1 Vif on its expression and viral infectivity.	Int. J. Mol. Med.	18	679-683	2006
Piroozmand, A., Khamsri, B., Fujita, M., <b>Adachi, A.</b> , and Uchiyama, T.	Morphological study on biologically distinct vpx/vpr mutants of HIV-2.	J. Med. Invest.	53	271-276	2006
Kamada, K., Yoshida, A., Khamsri, B., Piroozmand, A., Yamashita, T., Uchiyama, T., Fujita, M., and <b>Adachi, A.</b>	Construction of gag-chimeric viruses between HIV-1 and SIVmac that are capable of productive multi-cycle infection.	Microbes Infect.	8	1075-1081	2006
Khamsri, B., Murao, F., Yoshida, A., Sakurai, A., Uchiyama, T., Shirai, H., Matsuo, Y., Fujita, M., and <b>Adachi, A.</b>	Comparative study on the structure and cytopathogenic activity of HIV Vpx/Vpr proteins.	Microbes Infect.	8	10-15	2006
高折晃史					
Noguchi, C., Hiraga, N., Mori, N., Tsuge, M., Imamura, M., Takahashi, S., Fujimoto, Y., Ochi, H., Abe, H., Maekawa, T., Yatsuji, H., Shirakawa, K., <b>Takaori-Kondo, A.</b> , and Chayama, K.	Dual Effect of APOBEC3G on Hepatitis B Virus.	J. Gen. Virol.			In press
Aierken Abudu, <b>Takaori-Kondo, A.</b> , Izumi, T., Shirakawa, K., Kobayashi, M., Sasada, A., Fukunaga, K., and Uchiyama, T.	Murine retrovirus escapes from murine APOBEC3 via 2 distinct novel mechanisms.	Curr. Biol.	16	1565-1570	2006
<b>Takaori-Kondo, A.</b>	APOBEC Family Proteins: Novel Antiviral Innate Immunity.	Int. J. Hematol.	83	213-216	2006
Tanaka, Y., Marusawa, H., Seno, H., Matsumoto, Y., Ueda, Y., Kodama, Y., Endo, Y., Yamauchi, J., Matsumoto, T., <b>Takaori-Kondo, A.</b> , Ikai, I., and Chiba, T.	Anti-viral protein APOBEC3G is induced by Interferon- $\alpha$ Stimulation in Human Hepatocytes.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	341	314-319	2006
Shirakawa, K., <b>Takaori-Kondo, A.</b> , Kobayashi, M., Tomonaga, M., Izumi, T., Fukunaga, K., Sasada, A., Aierkin Abudu, Miyauchi, Y., Akari, H., Iwai, K., and Uchiyama, T.	Ubiquitination of APOBEC3 proteins by the Vif-Cullin5-ElonginB-ElonginC complex.	Virology	344	263-266	2006
高折晃史	HIV-1 とユビキチン	蛋白質核酸酵素増刊	51	1433-1436	2006
高折晃史	HIV-1 の対宿主戦略	感染・炎症・免疫	36	106-111	2006
櫻木淳一					
Ohishi M., T. Shioda, and <b>J. I. Sakuragi.</b>	Retro-transduction of virus pseudotyped with glycoprotein of vesicular stomatitis virus.	Virology			In press
Sakuragi, S., <b>Sakuragi, J. I.</b> , Morikawa, Y., and Shioa, T.	Development of a rapid and convenient method for the quantification of HIV-1 budding.	Microbes Infect.	8	1875-1881	2006

高橋秀宗						
Maeda, M., Sawa, H., Tobiume, M., Tokunaga, K., Hasegawa, H., Ichinohe, T., Sata, T., Moriyama, M., Hall, W.W., Kurata, K., and <b>Takahashi, H.</b>	Tristetraprolin inhibits HIV-1 production by binding to genomic RNA.	Microbes Infect.	8	2647-2656	2006	
Hasegawa, H., Sawa, H., Lewis, M.J., Orba, Y., Sheehy, N., Yamamoto, Y., Ichinohe, T., Tsunetsugu-Yokota, Y. Katano, H., <b>Takahashi, H.</b> , Matsuda, J., Sata, T., Kurata, T., Nagashima, K., and Hall, W.W.	Thymus-derived leukemia-lymphoma in mice transgenic for the Tax gene of human T-lymphotropic virus type I.	Nat. Med.	12	466-472	2006	
<b>Takahashi, H.</b> , Maeda, M., Sawa, H., Hasegawa, H., Moriyama, M., Sata, T., Hall, W.W., and Kurata, T.	Dicer and positive charge of proteins decrease the stability of RNA containing the AU-rich element of GM-CSF.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	340	807-814	2006	
駒野 淳						
Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y, Yamamoto N, <b>Komano, J.</b>	Inhibiting lentiviral replication by HEXIM1, a cellular inhibitor of cdk9/cyclinT complex.	AIDS				In press
Futahashi Y, <b>Komano, J.</b> , Urano E, Aoki T, Hamatake M, Miyauchi K, Yoshida T, Koyanagi Y, Matsuda Z, Yamamoto N.	Separate elements are required for ligand-dependent and -independent internalization of metastatic potentiator CXCR4.	Cancer Science				In press
Miyauchi, K., <b>Komano, J.</b> , Myint, L., Futahashi, Y., Urano, E., Matsuda, Z., Chiba, T., Miura, H., Sugiura, W., and Yamamoto, N.	Rapid propagation of low-fitness drug-resistant mutants of human immunodeficiency virus type 1 by a streptococcal metabolite sparsomycin.	Antivir. Chem. Chemother.	17	167-174	2006	
Miyauchi, K., Curran, R., Matthews, E., <b>Komano, J.</b> , Hoshino, T., Engelman, DM., and Matsuda, Z.	Mutations of conserved glycine residues within the membrane-spanning domain of human immunodeficiency virus type 1 gp41 can inhibit membrane fusion and incorporation of Env onto virions.	Jpn. J. Infect. Dis.	59	77-84	2006	
西澤雅子						
Chiba-Mizutani T, Miura H, Matsuda M, Matsuda Z, Yokomaku Y, Miyauchi K, <b>Nishizawa M.</b> , Yamamoto N, Sugiura W.	New T-Cell-Based Lines with Two Luciferases for Accurately Evaluating Susceptibility to HIV-1 Drugs.	J Clin Microbiol.				In press