

るために DBA/2 マウスはワクチン投与前に BCG で感作して同様に免疫を行った。

3. 特異的抗体の測定：HIVenv gp120 およびインフルエンザウイルス HA に対する特異抗体は ELISA 法にて IgG、IgG1、IgG2a を測定した。

4. ELISPOT アッセイ：HIVenv およびインフルエンザウイルス HA 特異的 ELISPOT アッセイは CD8<sup>+</sup>陽性脾細胞の IFN- $\gamma$  産生にて測定した。

5. HIVenv gp120 特異的 CTL の測定：免疫マウスの脾細胞を HIVenv の CTL エピトープペプチドで刺激培養し、エピトープ特異的細胞傷害活性を <sup>51</sup>Cr 遊離法にて測定した。

6. *in vivo* における抗ウイルス活性の測定：免疫マウスに HIVenv gp120 組み込みリコンビナントワクシニアウイルス (HIVenv/rVV) を投与し、5 日後に卵巣より rVV を Real Time PCR (RTPCR) にて測定した。

7. 倫理面への配慮：本研究はマウスのみを使用する基礎研究でヒトサンプル、情報等は一切用いていない。

### C. 研究結果

1. リコンビナント Ag85B(rAg85B) のタンパクワクチンにおけるワクチン特異抗体の誘導：rAg85B と HIVenv gp120 ワクチンを IFA にて混合し、マウスに皮下接種したところ rAg85B 非添加群および BCG を含んだコンプリートフロイントアジュバント (CFA) と同等の高い抗体を誘導した。この誘導された特異抗体の IgG のサブクラスを調べたところ、Th2 タイプの抗体である IgG1 では CFA、IFA および IFA に Ag85B を加え

たものでは優位な差が認められなかったが、Th1 タイプの抗体である IgG2a では Ag85B により明らかに増強された (Fig. 2)。

2. HIVenv/rVV 投与マウスにおける特異的 CTL の測定：免疫マウスに HIVenv/rVV を投与し、5 日後に脾細胞での CTL の誘導を検討したところ、CFA および IFA に Ag85B を加えたものにおいてのみ高い HIVenv エピトープ特異的 CTL の誘導が認められた (Fig. 3)。同様の免疫マウスの脾細胞の CD8<sup>+</sup>細胞をエピトープペプチドで刺激し、IFN- $\gamma$  産生細胞を ELISPOT にて測定したところ、CFA および IFA に Ag85B を加えたものにおいて高い反応が認められた (Fig. 4)。

3. *in vivo* におけるウイルス抑制効果：免疫マウスに HIVenv/rVV を投与し、5 日後に卵巣における HIVenv/rVV を測定したところ IFA に Ag85B を加えたものを免疫したマウスにおいてウイルス抑制が最も著名であり、つぎに CFA を用いたものであった (Fig. 5)。

4. BCG 感作マウスにおける Ag85B アジュバントの効果：マウスを BCG にて感作し、その後同様にインフルエンザ HA ワクチンを上述のアジュバントを用いて免疫したところ、HA 特異的抗体は BCG 感作にて増強され、その増強効果は Th1 タイプの抗体である IgG2a で著明であった (Fig. 6)。また免疫マウスの脾細胞における HA 特異的 IFN- $\gamma$  の産生を見たところ BCG 感作で著しく増強されていることが認められた (Fig. 7)。

### D. 考察

エイズウイルス感染症に対するワクチン

開発は世界各国で行われているが、未だ実用化されているものは無い。エイズウイルスに対するワクチンでは液性免疫に加え細胞性免疫の誘導が必要であり、そのために細胞性免疫誘導型のワクチン開発が主に行われている。しかしながら細胞性免疫誘導が行われる代表的なワクチンである生ワクチンは過去に nef 遺伝子欠損ウイルス等が考えられてきたが、現在までに安全性が保障されないことから使用はされていない。死菌ワクチンであるリコンビナントタンパクワクチンは分子生物学的技術により精製度の高い蛋白が安全かつ大量に安定して得ることが出来るために B 型肝炎ウイルスワクチンを始め実用的使用が推進されている。エイズウイルスに対しても env タンパクである gp120 のリコンビナントタンパクが作製されており、DNA ワクチン等では誘導が困難な中和抗体も高い活性を持って誘導することが知られている。しかしながらエイズウイルスに対して必要である細胞性免疫の誘導が困難であるために実用化はされていない。本研究で使用した Ag85B アジュバントはワクチン抗原に対する免疫反応を強く Th1 に誘導し、ウイルス感染時に速やかに細胞性免疫を誘導する。このことはワクチン投与個体が実際のウイルスに接した時に感染防御に有効に働くと考えられ、我々の研究でも生体内でのウイルスの産生が細胞性免疫によって抑制されていることで示された。この様に新規ワクチンアジュバントの開発は効果が不十分であるために使用されていない既存のワクチンに対して新たな可能性を提示する。今後他のワクチンと組み合わせることで中和抗体を誘導し、かつ、細胞性免疫の誘導も可能なワクチンの開発に

結び付けるべく研究を推進していく必要が示唆された。

#### E.結論

抗酸菌  $\alpha$  抗原がワクチンのアジュバントとして有効である可能性が示された。

#### F.健康危険情報

なし

#### G.研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Tanaka-Takahashi, Y., Yasunami, M., Naruse, T., Hinohara, K., Matano T., Mori, K., Miyazawa, M., Honda, M., Yasutomi, Y., Nagai, Y. and Kimura, A. Reference strand-mediated conformation analysis (RSCA)-based typing of multiple alleles in the rhesus macaque MHC class I Mamu-A and Mamu-B loci. Electrophoresis in press
- 2) Nishikubo, K., Imanaka-Yoshida, K., Tamaki, S., Hiroe, M., Yoshida, T., Adachi, Y. and Yasutomi, Y. Establishment of a novel animal model of myocarditis by utilizing different immune responses to Bacillus Calmette-Guérin (BCG) in mice. submitted
- 3) Yasuhiro Yasutomi. Chimeric recombinant hepatitis E virus-like particles presenting foreign epitopes as a novel vector of vaccine by oral administration. Holland, CR. and Miyamura, T Eds. Structure-based viral replication. World Scientific Publishing. in press

##### 2. 学会発表

- 1) 松原明弘、唐松克夫、保富康宏：ヘルパーT 細胞(Th)反応調節によるインフルエン

ザウイルス感染の制御. 第54回に本ウイルス学会(名古屋)

2) Matsubara, A., Yasutomi, Y. : Oral administration of DNA vaccine by using virus-like particles derived from HEV. 第36回日本免疫学会(大阪)

3) Naruse, T., Matano, T., Mori, K., Miyazawa, M., Honda, M., Yasutomi, Y., Kimura, A. : Diversity of MHC class I and immune related genes in human and rhesus macaque. 第36回日本免疫学会(大阪)

4) 森如、保富康宏、水谷仁 : Ag85B のマウス反復ハプテン誘発皮膚炎モデルへの効果の検討. 第57回日本アレルギー学会

5) Yasuhiro Yasutomi: Oral administration of

DNA vaccine by using virus-like particles derived from orally transmissible virus. 4<sup>th</sup>

International Gene Therapy Symposium.

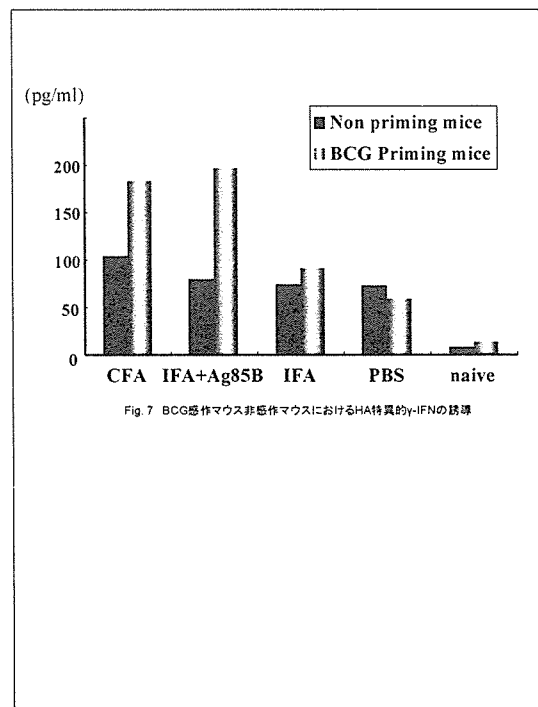
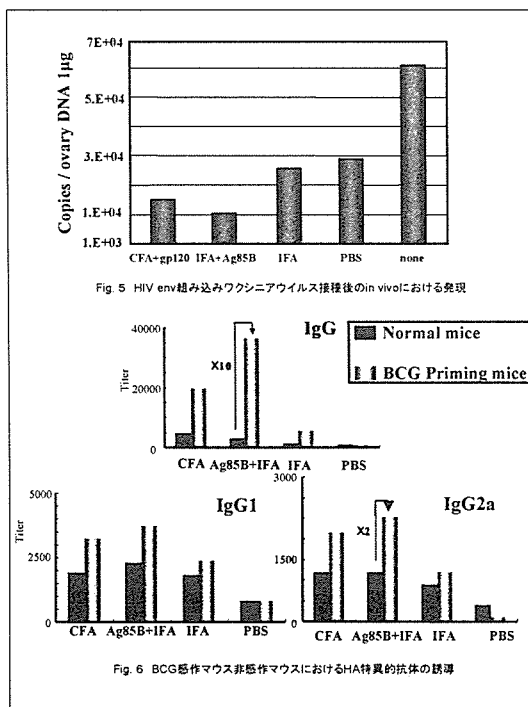
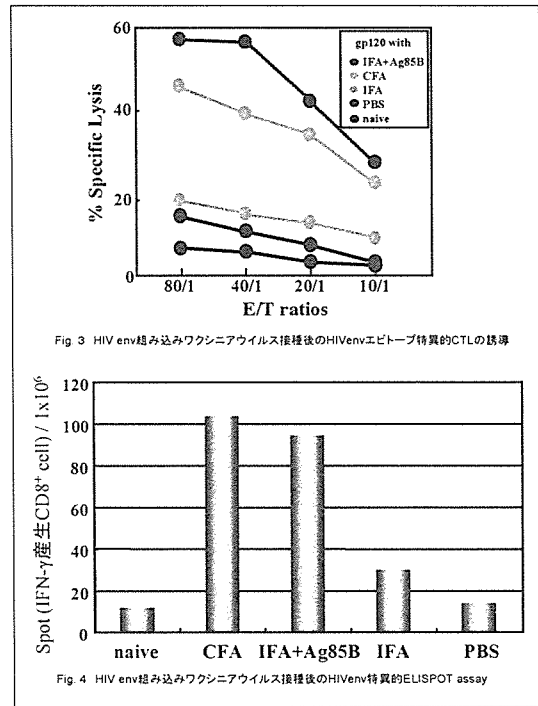
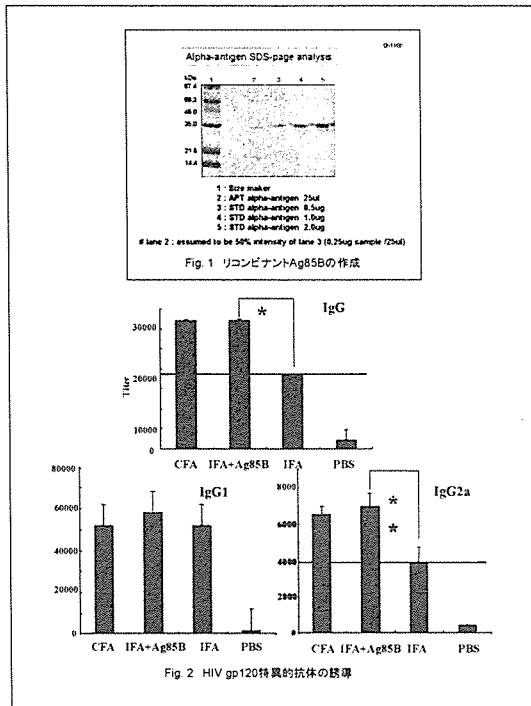
6) 保富康宏 : E型肝炎ウイルス(HEV)のウイルス様中空粒子(VLP)を用いた経口ワクチンの開発. 日本発ワクチン開発シンポジウム.(東京)

H.知的財産権の出願・登録状況

1)  $\alpha$ 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)

2)  $\alpha$ 抗原のアレルギー性疾患治療剤としての利用(出願中、PCT/JP/01459)

3) リポソームワクチンの作製法(出願中、PCT/JP2006/303371)



# 厚生労働省科学研究費補助金（エイズ対策事業） 分担研究報告書

## ワクチンアジュバント開発と動物実験

分担研究者 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

研究要旨 HIV ワクチン実現の為に持続的かつ効率的な粘膜免疫アジュバントおよびドラッグデリバリーシステム（DDS）の検討を行った。主に使用したアジュバント候補はキトサンの誘導體（天然物由来）等である。マウスにおいて OVA あるいは HIV-1 env タンパク質をアジュバント候補と混合し経鼻免疫を行いその抗体反応を解析した。その結果ある種のキトサンが粘膜免疫アジュバントとして知られているコレラ毒素より高い抗体価を示した。キトサンの誘導體のうち、微粒子状キトサンとカチオン化キトサンに高いアジュバント活性を認めた。また今回使用したキトサン関連物質を DNA ワクチンのキャリアーに使用出来るか否か検討しているが、現状では抗体産生能を認めていない。

### A. 研究目的

性行為感染症においてワクチンが存在するのは B 型肝炎のみである。残念ながら HIV 感染を阻止しえるワクチンは未だ存在しない。大多数の HIV 感染は性行為感染とされ、ウイルスの侵入門戸である生殖器粘膜でウイルスが排除されれば感染阻止は可能と考えられている。しかしながら未だ粘膜組織上に感染阻止に有効な CTL および IgA を誘導したという報告は無い。近年、ワクチン開発の分野では DNA を直接個体に接種することで免疫を誘導する DNA ワクチンが脚光を浴びている。しかしながら、そのワクチン候補の抗原あるいは遺伝子配列の特定は未だ無し得ず有効な感染阻止ワクチンの作成にはいたっていない。また、現在の DNA ワクチンでは免疫誘導能が著しく低いため、DNA ワクチン用の免疫誘導アジュバントあるいは標的細胞への DNA のデリバリー（DDS）方法の開発が急務である。本研究では各種アジュバント（キトサン、CT 等）との組合せによる粘膜免疫誘導能の解析を行う。本研究は単に HIV のみならず、種々の感染症に対するワクチンの基盤開発にもつながり、医療分野では HIV 感染症の予防・治療用医薬品の開発以外にも、他のウイルス感染症、細菌・寄生虫に対するワクチン、癌に対する免疫療法剤の開発が考えられる。また、DNA ワクチンの場合には従来型のワクチンと異なり、成分蛋白を大量製造、精製する必要がなくなるため、ワクチン

開発期間の大幅な短縮が図れ、重要疾患に対するワクチンを極めて迅速に提供する事が可能となる。DNA ワクチンの開発は文献的にも世界中で多くの研究者が取り組んでいるものの、安全かつ効果的なアジュバントがない故に実用化に至っていない。アジュバントに関しては実験的には CT（コレラ毒素）が強い活性を示す事が知られているが、人への投与は不可能だと考えられている。

### B. 研究方法

1) マウス: BALB/c マウス♀6-8 週齢およびポリメリックイミュノグロブリンレセプター（pIgR）ノックアウト（KO）マウス（以後 pIgRKO マウス）を用いた。pIgRKO マウスは粘膜上に分泌されるべき IgA が血中に滞留するマウスである。通常、マウスは 1 群 5 匹とした。

2) OVA および HIV-1 タンパク質を用いたキトサンのアジュバント活性の検討: 表 1 に示すようなキトサン誘導體等を作成し使用した。OVA は 5 $\mu$ g/2 $\mu$ l とし HIV-1 env タンパク質は 10 $\mu$ g/10 $\mu$ l として、週 1 回、3 週にわたり免疫を行い経時的に血中および膣洗浄液中の IgG 抗体および IgA 抗体を測定した。pIgRKO マウスに関しては血液のみの採取を行った。

3) 抗体検出: ELISA 法により OVA および HIV-1 env タンパク質特異的 IgG および IgA 抗体を検

出した。

4) 免疫ルートの検討: 経鼻に関してはエーテルを用いた軽麻酔下でマイクロピペットにより鼻腔内へ滴下した。経肺に関してはイソミタール麻酔下でマイクロスプレイヤーを用いて気管より投与した (25  $\mu$ l)。

5) HIV-1 DNA ワクチン候補を用いた抗体産生能の検討: DNA ワクチンの可能性を検討するため SHIV rev+vpv+envgp160 領域発現プラスミッド (env729 pCAGGS-P7) や SHIV envgp160 領域発現プラスミッド (env734 pCAGGS-P7) を HVJenv ベクター (石原産業、大阪) を用いてマウスへの経肺接種における血中の抗体産生能を検討した。DNA 量としては 20  $\mu$ g/head/shot とし週 1 回、3 週にわたり経肺免疫を行った。

(倫理面への配慮)

本研究ではマウスおよびサルを使用するため事前に研究計画を作成し実験手技および動物愛護に関し当研究所動物実験委員会の承認を得ている。

### C. 研究結果

#### 1) OVA を用いたキトサンのアジュバント活性

図 1 (IgG) および図 2 (IgA) に示すように、マイクロパーティクル状のキトサン (CFP) およびカチオン化キトサン (CC) に高いアジュバント活性が認められた。またこれまで粘膜免疫アジュバントとしての効果がよく知られているコレラ毒素 (CT) より高いアジュバント活性が認められた。また 4 回目の免疫によるブースター効果も顕著に認められた。臍洗浄液および糞便において IgA の検出を試みたが (BALB/c)、臍洗浄液ではデータのばらつきが多く、糞便においては抗体は検出されなかった。

#### 2) HIV-1env タンパク質を用いたキトサンのアジュバント活性

先に得られた結果より、CC および CFP を用いて市販されている HIV-1env タンパク質とを混合して経鼻接種を pIgRKO マウスを用いて行った。その結果 IgA に関しては CT よりも抗体産生能は低かったが IgG に関しては CC が CT より高い活性を示した。図 3

#### 3) 免疫ルートの検討

経鼻および経肺の各ルートによる抗体産生能に関して検討した。その結果、現時点では経鼻接種の方が明らかに抗体産生能が高い事が判明した。図 4

#### 4) DNA ワクチン候補とアジュバント候補を用いた抗体産生能

現時点で抗体産生を認めていない。

### D. 考察

粘膜免疫誘導を第一義と考え免疫ルートの検討を昨年まで行った。経膈および経直腸においても抗体の産生は認められたが、群内での個体差が大きかった。これはメスの性周期による膈粘膜の変化によるものや、直腸内の便等による影響によるものと考えられる。一方、経鼻免疫においては、若干の個体差は見られるものの抗体価は大きな差異は見られず、サルやヒトへの応用を考えると最も実際の免疫経路だと考えられた。また最近の報告では経鼻免疫が経膈免疫と同様に膈内への抗体産生を誘導し、さらに気道や肺胞内にも特異的抗体を誘導することが示され、呼吸器感染症と性行為感染症の両方のワクチン開発に経鼻免疫が有効である事が示唆されている。今年度はさらに粘膜上皮面が非常に大きい肺に注目して気管からの肺粘膜への免疫も検討を行った。しかしながら操作の煩雑性もあり、現時点での解析は不十分である。

OVA を抗原としてのキトサンのアジュバント活性の検討においては、幾つかのキトサン誘導体が高いアジュバント活性を示した。現時点で最も有効な誘導体を決定は出来ないが、微粒子およびカチオン化キトサンが CT 同様あるいはそれ以上の抗体産生能を持つ事が示唆された。

HIV-1 DNA ワクチンの検討では、経肺での投与を検討したが、経鼻において HVJenv ベクターを用いた時に env 特異的抗体を検出し、HVJenv ベクターを DDS として使用できる可能性が示唆された昨年と異なり十分な抗体産生は見られなかった。これは気管内へのデバイスの操作等の問題なのかもしれない。

来年度は今回効果の高かったキトサン誘導体を霊長類において投与評価を行いたい。

E. 結 論

今回の研究より、ワクチンアジュバントとしてキトサン誘導体が経鼻免疫による粘膜免疫誘導に有効である可能性が示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

Tran Thien Tuan Huy , Koichi Ishikawa , William Ampofo , Taku Izumi , Akira Nakajima , Justina Ansah, John O. Tetteh , Nicholas Nii-Trebi , Simeon Aidoo , David Ofori-Adjei , Tetsutaro Sata , Hiroshi Ushijima and Kenji Abe  
 Characteristic of hepatitis B virus in Ghana: full length genome sequences indicates the endemicity of genotype E in West Africa. J.Med.Virol. 78 178-184,2006

2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の出願・登録状況

出願準備中:アジュバント活性を有するキトサン関連物質

表 1

| Chitosan & Chitin derivatives |           |  |              |       |            |                                      |
|-------------------------------|-----------|--|--------------|-------|------------|--------------------------------------|
|                               | Character |  |              |       |            |                                      |
|                               | Materials | M.W.                                   | (%)          | D.D.A | Acid Conc. | Adjusted pH Before After             |
| The 1st series                |           |  |              |       |            |                                      |
| ①23HCl                        | FP226     | 100,000                                | 8.7gP        | 100%  | HCl 1%     | 1.82 8.08                            |
| ②23AcOH                       |           |  |              |       | AcOH 1%    | 5.14 8.23                            |
| ③27HCl                        | FP227     | 50,000                                 | 3.5gP        | 100%  | HCl 1%     | 2.08 8.12                            |
| ④27AcOH                       |           |  |              |       | AcOH 1%    | 3.14 8.25                            |
| ⑤A-HCl                        | A         | 200,000~                               | 89gP         | 85%   | HCl 1%     | 1.81 8.82                            |
| ⑥A-AcOH                       |           |  |              |       | AcOH 1%    | 4.82 8.83                            |
| ⑦Wako500-1%                   | Wako500   | 1,000,000                              | 500gP (0.5%) | 80%   | AcOH 1%    | Non-adjustment                       |
| ⑧Wako500-0.1%                 |           |  |              |       | AcOH 0.1%  | Non-adjustment                       |
| The 2nd series                |           |  |              |       |            |                                      |
|                               |           |  |              |       |            | (Preparation method) (Particle size) |
| ①Cetoid chitin A              | Chitin P  | HCl 37°C-D1W, 4°C-Sonicated            |              |       | 1%         | 1~2 μm                               |
| ②Cetoid chitin B              |           | HCl r.t.-D1W, r.t.-Sonicated           |              |       | 1%         | 500nm                                |
| ③Cetoid chitin C              |           | HCl r.t.-D1W, r.t.-Natural aggregation |              |       | 1%         |                                      |
| ④Chitin fine particles        | Chitin P  | Dry grinding-Sonicated                 |              |       | 1%         | 5~50nm                               |
| ⑤Low molecular Chitosan       | K-1       | 100,000 7.5gP                          | 72%          | AcOH  | 1%         | 4.87 8.34                            |
| ⑥23AcOH                       | FP226     | 100,000 8.7gP                          | 100%         | AcOH  | 1%         | 5.14 8.23                            |
| ⑦Chitosan fine particles      |           | Dry grinding-Sonicated                 |              |       | 1%         | 3~20nm                               |
| ⑧Chitosan Tach                | Signa     |  |              |       |            |                                      |

図 1

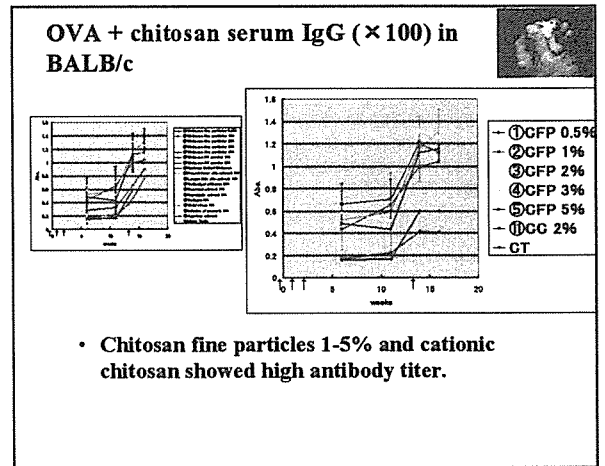


図 2

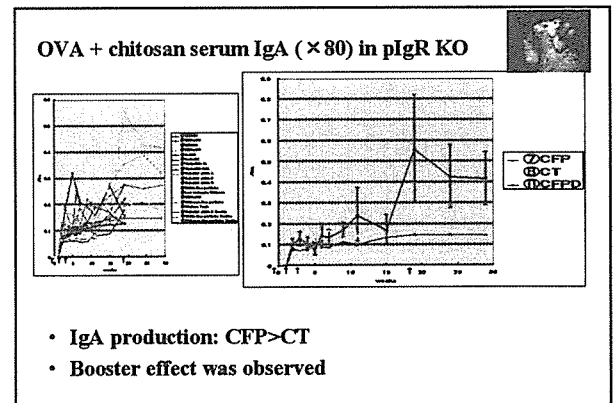
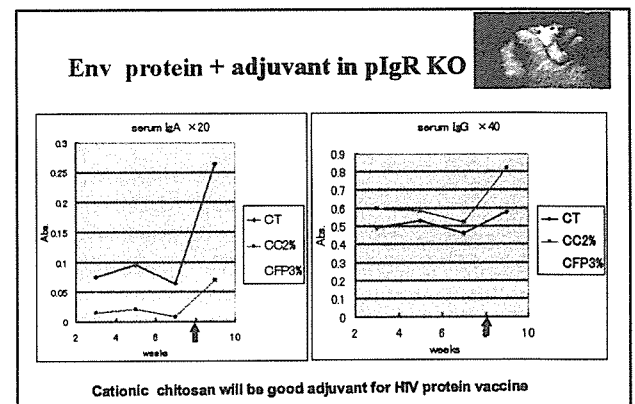
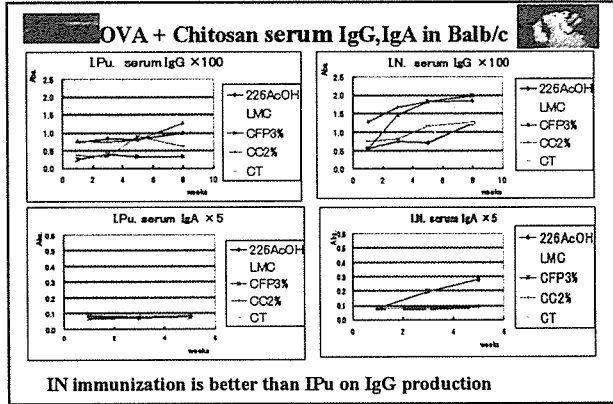


図 3



☒ 4





粘膜組織における HIV 感染樹状細胞の制御に向けて：  
HIV-*nef* 遺伝子が CD1 分子群に及ぼす影響について

分担研究者 高橋 秀実 日本医科大学微生物学免疫学教室 教授  
研究協力者 新谷 英滋 日本医科大学微生物学免疫学教室 講師

研究要旨

粘膜組織における HIV 感染の主要な初期標的であり HIV の reservoir として感染拡大の鍵を握る樹状細胞群を制御することは、HIV 感染制御の最も重要な事項である。一方我々は、これまでの細胞内寄生細菌である結核菌感染樹状細胞制御の研究結果から、結核菌感染樹状細胞は細胞性免疫の主役を演ずるクラス II MHC 分子から提示されたキラーT細胞(CTL)よりも、樹状細胞などの抗原提示細胞群に発現したクラス II MHC 分子に酷似した構造を有し病原体由来の糖脂質抗原を提示する CD1 分子群に拘束された T 細胞群であることを観察してきた。そこでクラス II MHC 分子の発現低下を誘発し CTL からの逃避を促す HIV-1-*nef* 遺伝子が樹状細胞表面の CD1 分子群発現に及ぼす影響を検討したところ、CD1 分子の亜群である結核菌感染制御への関与が見出された CD1b 及び CD1c 分子群は全く影響が認められないものの、CD1a および CD1d の発現を著明に抑制することを見出した。また CD1a 並びに CD1d の発現低下の機序を追跡したところ、HIV-1 の Nef 蛋白と CD1a あるいは CD1d が結合することにより細胞表面から細胞内の後期 endosome 内に送り込まれるためであることを解明した。以上の事実は、HIV 感染樹状細胞制御における CD1a 拘束性T細胞あるいは CD1d 拘束性 NKT 細胞の関与を強く示唆しており、今後はこれら CD1 拘束性T細胞群による HIV 感染樹状細胞制御の実体、及び認識抗原の解明へ向けて検討を重ねる予定である。

A. 研究目的

HIV 感染者に HAART (highly active anti-retroviral therapy) を実施することにより、末梢血中のウイルス量は検出限界以下になり CD4 陽性T細胞数も上昇し、免疫不全病態から回復するものの、HAART 治療の中断により血液中のウイルス量は短期間にもとの状態に戻り、CD4-T細胞数も速やかに減少することが判明してきた。このことは、HAART 療法によって HIV そのものが体内から消失したのではなく、体内のどこかにウイルスが潜伏した形で保存されていることを示している。我々は粘膜免疫を反映すると考えられる母乳細胞の研究等から、HIV の潜伏先が粘膜中の細胞群、特に DC-SIGN を発現し HIV を捕捉するとともに自らも HIV 感受性を有する樹状細胞こそが、真の HIV-reservoir であり、この粘膜組織における HIV 感染樹状細胞の制御こそが、ワクチン開発を含めた感染制御の鍵を握るものとの立場から研究を進めてきた。その中で、結核菌感染樹状細胞が細胞性免疫の主役を演ずるクラス II MHC 分子から提示された CTL

よりも、クラス II MHC 分子に酷似した構造を有し病原体由来の糖脂質抗原を提示する CD1 分子群に拘束された T 細胞群であることを観察してきた。一方、クラス II MHC 分子の発現低下を誘発し CTL からの逃避を促す HIV-1-*nef* 遺伝子の存在が知られており、*nef* 遺伝子の欠損した SIV (SIV-dncf) を免疫することによって、免疫されたサルが感染抵抗性を獲得することも知られている。以上の知見に基づき、HIV-1 の *nef* 遺伝子が樹状細胞表面の CD1 分子群の発現に及ぼす影響を検討するとともに、CD1b 分子拘束性T細胞群による HIV 感染樹状細胞制御への方策を見出すことが、本研究の主たる目的である。

B. 研究方法

- 1) 健常人ヒト末梢血(PBMC)より CD14 陽性細胞を purify し、それに 50 ng/ml の GM-CSF と 20 ng/ml の IL-4 を添加後 1 週間培養することによって CD1 分子陽性の樹状細胞群を得た。
- 2) 図 1 に示すよう、Nef 遺伝子が欠損し且

つ感染細胞が同定出来るよう、Nef 遺伝子を欠損させ env の中へ EGFP 遺伝子を導入した HIV (HIV-EGFP/Nef(-)) および EGFP 遺伝子のみを導入した HIV (HIV-EGFP/Nef(+)) を作成し、さらに感染効率を上げるため env 遺伝子を VSV-G で pseudotype 化したウイルスを構築することにより、Nef 遺伝子がヒト樹状細胞上の CD1 分子群に及ぼす影響を検討した。

3) 樹立樹状細胞及び新たに作成したヒト CD1a-d 遺伝子を発現させた B 細胞株 (JY) に、上記の Nef 遺伝子の発現した HIV と Nef 欠損型 HIV を感染させ、MHC 分子、CD1 分子群の発現を Flowcytometry を用いて追跡した。

4) Nef 遺伝子と CD1 分子との相互作用、ならびにそれら結合物の細胞内局在を共焦点レーザー顕微鏡を用いて観察するため、Nef 遺伝子に赤い発色剤である DSRed2 を結合した遺伝子を作成した。

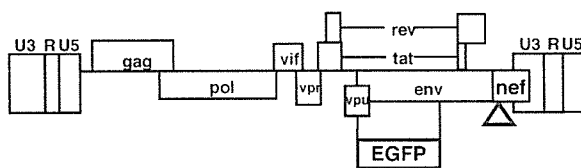


図1 感染に用いた Nef 欠損型 HIV の構造

### C. 研究結果

1) Nef 遺伝子の発現した HIV と Nef 欠損型 HIV の効果を確認する目的で、樹立した樹状細胞にこれら 2 種類の HIV を感染させ、まず既知の結果であるクラス I MHC 分子の発現に及ぼす影響を検討したところ、HIV-1-nef の存在により樹状細胞表面のクラス I MHC 分子 (HLA-a, b, c) の発現が著明に低下した (図 2)。

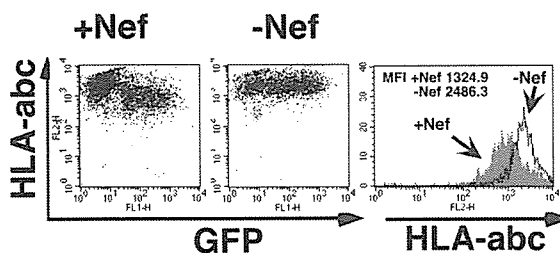


図2 HIV-1-nef による樹状細胞上のクラス I MHC 分子の発現低下

2) 次に樹状細胞に HIV-EGFP/Nef(-)あるいは HIV-EGFP/Nef(+)) を感染させた場合の CD1

分子群に対する影響を追跡したところ、CD1b 及び CD1c 分子の発現に対する影響は全く認められなかったが、CD1a 分子の著明な発現低下が観察された (図 3)。また以上の結果は、B 細胞芽球由来の JY 細胞に CD1a, CD1b, CD1c 分子を発現させた細胞群を用いて確認することができた (図 4)。

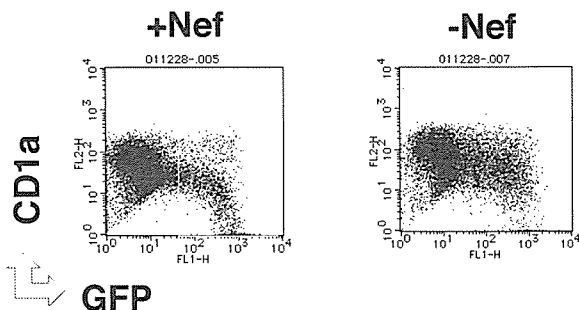


図3 HIV-1-nef による樹状細胞表面の CD1a 分子の発現低下

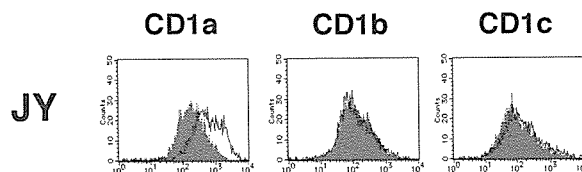


図4 HIV-1-nef による CD1 分子発現 JY 細胞上の CD1a 分子の発現低下

3) なお、樹状細胞における CD1d 分子の発現レベルが低いため nef 遺伝子の影響を、恒常的に CD1d 分子を発現している Jurkat 細胞を用いて観察したところ明らかな発現低下が観察された (図 5)。以上から、HIV-1-nef 遺伝子の存在によりウイルス由来のペプチド抗原を提示するクラス I MHC 分子のみならず、糖脂質抗原を提示する CD1a 及び CD1d 分子の発現が低下することが明らかとなった。

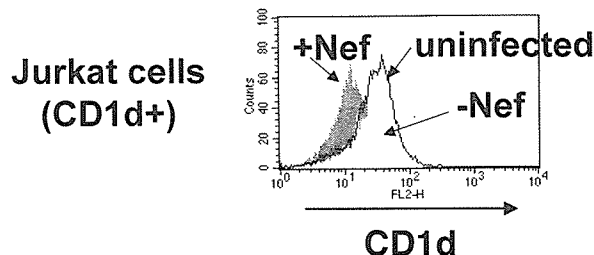


図5 HIV-1-nef による Jurkat 細胞上の CD1d 分子の発現低下

4) そこで、こうした発現低下が誘導される機序を探る目的で、nef 遺伝子に DSRed2 遺伝子を結合した遺伝子を作成し、それを CD1a 発

現 JY 細胞に作用させることによって細胞内 nef と CD1a 分子との存在部位とを共焦点レーザー顕微鏡を用いて追跡したところ、後期 endosome 内に nef と CD1a 分子との共局在化が認められた (図 6)。また、同様の方法により CD1d 分子と nef 遺伝子との細胞内局在化も観察することができた (図 7)。

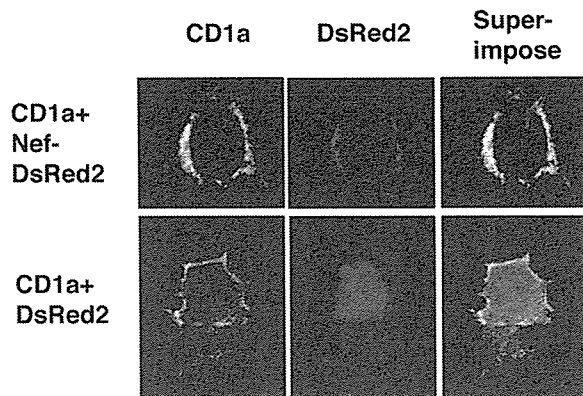


図 6 CD1a 分子と Nef 分子の細胞内局在

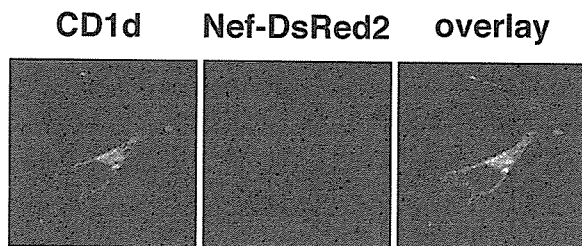


図 7 CD1d 分子と Nef 分子の細胞内局在

#### D. 考察

以上の結果は、粘膜組織における HIV 感染の主要な初期標的であり HIV の reservoir として感染拡大の鍵を握る樹状細胞群の制御には、予想通り従来のクラス II MHC 分子から提示された CTL のみならず、クラス II MHC 分子に酷似した構造を有し病原体由来の糖脂質抗原を提示する CD1 分子群に拘束された T 細胞群の存在が大きく関与することが示唆している。この際 HIV-1-nef 遺伝子の存在により CD1 分子の重群である結核菌感染制御への関与が見出された CD1b 及び CD1c 分子群よりも、CD1a および CD1d の発現が著明に抑制されたことから、CD1a 分子拘束性 T 細胞あるいは CD1d 拘束性の NKT 細胞が HIV 感染樹状細胞の制御に関与することを物語っている (図 8)。

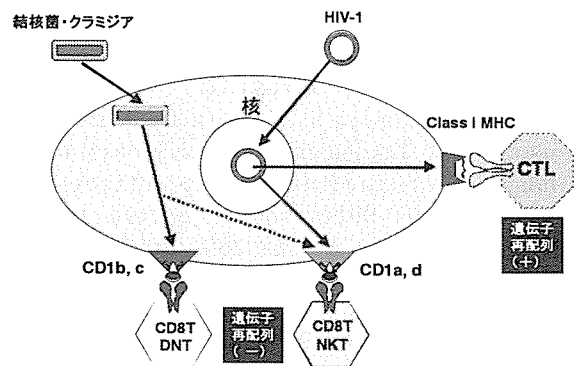


図 8 樹状細胞における細胞内寄生細菌群と HIV-1 に対する抗原提示分子ならびに制御 T 細胞との関係 (高橋仮説)

果たして HIV 感染樹状細胞が結核菌の場合とは異なり、従来の MHC 分子に拘束された獲得免疫系の T 細胞群によって制御を受けているのか、はたまた同様に CD1 分子群によって制御を受けている NKT 細胞のような自然免疫系の T 細胞群によって制御を受けているのか、それとも両者の協力により制御を受けているのか、その結果は不明であるが、今後は少なくとも従来の CTL に加え、こうした CD1 分子によって規定された T 細胞群による制御の可能性も考慮すべきと考えられる。粘膜組織における HIV 感染の主たる標的が粘膜内の樹状細胞であるならば、粘膜局所の防衛を担うこうした CD1 分子群によって活性化する  $\alpha\beta$  型 T 細胞群を活性化することは、 $\gamma\delta$  型の T 細胞群の活性化と相まって新たな HIV 感染制御への視点を提示するものと期待される。

#### E. 結論

HIV-1-nef の作用を検討した結果、HIV 感染樹状細胞においてクラス II MHC 分子のみならず CD1a 及び CD1d 分子の発現低下が認められた。この結果は、HIV 感染樹状細胞の制御には従来の MHC 拘束性ペプチド抗原特異的 T 細胞のみならず、糖脂質抗原特異的 CD1a 拘束性 T 細胞あるいは CD1d 拘束性 NKT 細胞の関与が強く示唆される結果を得た。今後はこれら CD1 拘束性 T 細胞群による HIV 感染樹状細胞制御の実体、及び認識抗原の解明へ向けて検討を重ねる予定である。

## F. 論文発表

1. Yamanishi S., Iizumi T., Watanabe E., Shimizu M., Kamiya S., Nagata K., Kumagai Y., Fukunaga Y., Takahashi, H.: Implications for induction of autoimmunity via activation of B-1 cells by Helicobacter pylori urease. *Infect. Immun.*, 74:248-256, 2006.
2. Wakabayashi A., Utsuyama M., Hosoda T., Sato K., Takahashi H., Hirokawa K. Induction of immunological tolerance by oral, but not intravenous and intraportal, administration of ovalbumin and the difference between young and old mice. *J. Nutr. Health Aging*, 10:183-191, 2006.
3. Watanabe Y., Watari E., Matsunaga I., Hiromatsu K., Dascher C.D., Kawashima T., Norose Y., Simizu K., Takahashi, H., Yano I., Sugita M.: BCG vaccine elicits both T-cell mediated and humoral immune responses directed against mycobacterial lipid components. *Vaccine*, 24: 5700-5707, 2006.
4. Wakabayashi A, Kumagai Y, Watari E, Shimizu M, Utsuyama M, Hirokawa K, Takahashi H. Importance of gastrointestinal ingestion and macromolecular antigens in the vein for oral tolerance induction. *Immunology*, 119:167-177, 2006.
5. Nakagawa Y., Kikuchi H., Takahashi H. Molecular analysis of TCR and peptide/MHC interaction using P18-II0-derived peptides with a single D-amino acid substitution. *Biophysical J.*, 2007 (in press).
6. Takahashi M., Watari E., Shinya E., Shimizu T., Takahashi H. Suppression of virus replication via down-modulation of mitochondrial short chain enoyl-CoA hydratase in human glioblastoma cells. *Antiviral Res.*, 2006 (revised).
7. Wakabayashi A., Nakagawa Y., Shimizu M., Moriya K., Nishiyama Y., Takahashi H. Suppression of Already Established Tumor Growing through Activated Mucosal CTLs Induced by Oral Administration of Tumor Antigen with Cholera Toxin. *Cancer Res.*, 2006 (submitting).
8. Saito N., Shinya E., Shimizu M., Owaki A., Watanabe E., Takahashi M., Hidaka C., Ibuki K., Miura T., Hayami M., Takahashi H. Invariant T-cell receptor mediated functional cross-reactivity of natural killer T cells to species-specific CD1d among primates and rodents. *J. Virol.*, 2007 (submitting).
9. 高橋秀実: 癌の免疫療法: 丸山ワクチンの作用機序に関する一考察. *日本医科大学医会誌*, 2:1-2, 2006.
10. 高橋秀実: 免疫システムの新たな実態: 基本免疫と獲得免疫. *日本感染症学会雑誌*, 80(5):463-468, 2006.
11. 新谷英滋、大脇敦子、高橋秀実: DsRed2を用いたエイズウイルス nef 遺伝子産物と脂質抗原提示分子 CD1a 相互作用の解析. *日本医科大学医会誌*, 2:134-135, 2006.
12. 高橋秀実: 体表面に配置された自然免疫システムと体内を循環する獲得免疫システム. *炎症と免疫*, 14:449-450, 2006.
13. 高橋秀実: 粘膜組織における HIV の拡散と制御. *炎症と免疫*, 14:479-485, 2006.
14. 飯泉匡、熊谷善博、高橋秀実: Helicobacter pylori 由来 urease の酵素活性を増強させる特異的抗体. *臨床免疫・アレルギー科*, 46:205-207, 2006.
15. 新谷英滋、高橋秀実: ヒト免疫不全ウイルス Nef による免疫抑制の機序. *臨床免疫・アレルギー科*, 46:222-226, 2006.
16. 高橋秀実: HIV-1 と nef. *炎症と免疫*, 14:816-821, 2006.
17. 高橋秀実: 持続感染症としての未病. *未病医学入門 (日本未病システム学会編)*, pp.108-112, 2006.
18. 山西慎吾、神谷茂、高橋秀実: ピロリ菌ウレアーゼによる B-1 細胞活性化作用と自己免疫疾患誘導の可能性. *日本ヘリコバクター学会誌*, 2007 (印刷中).

## G. 学会発表

1. 山西慎吾、神谷茂、高橋秀実: ピロリ菌ウレアーゼによる B-1 細胞活性化作用と自己免疫疾患誘導の可能性.  
第12回日本ヘリコバクター学会  
2006年6月22-23(神戸).
2. 古賀実芳、日高千鶴乃、廣田薫、平馬直樹、高橋秀実: 玉屏風散の合方が奏功した3例.  
第57回日本東洋医学会学術総会  
2006年6月23-25日(大阪).

3. 高橋秀実、日高千鶴乃、廣田薫、古賀実芳、平馬直樹：ウイルス感染症における解表作用の意義に対する一考察。  
第 57 回日本東洋医学会学術総会  
2006 年 6 月 23-25 日（大阪）。
4. 日高千鶴乃、古賀実芳、廣田薫、平馬直樹、高橋秀実：腸管ペーチェット病に対する発熱、下血に対し生薬治療を試みた一例。  
第 57 回日本東洋医学会学術総会  
2006 年 6 月 23-25 日（大阪）。
5. 高橋秀実、山西慎吾、飯泉匡、坂本長逸：ピロリ菌ウレアーゼによる B-1 細胞活性化を介した自己免疫疾患誘導。  
第 48 回日本消化器病学会大会  
2006 年 10 月 11-14 日（札幌）。
6. 山西慎吾、高橋秀実：ピロリ菌ウレアーゼによる B-1 細胞活性化作用と自己免疫疾患誘導の可能性。  
多摩小児アレルギー臨床懇話会  
2006 年 10 月 14 日（多摩）。
7. 高橋秀実：HIV 感染細胞の制御をめざしたワクチンの開発。  
第 10 回日本ワクチン学会学術集会  
2006 年 10 月 21-22 日（大阪）。
8. 高橋めぐみ、渡理英二、新谷英滋、高橋秀実：麻疹ウイルス変異株の持続感染に関与する宿主因子・その 2。  
第 54 回日本ウイルス学会総会。  
2006 年 11 月 19-21 日（名古屋）。
9. 渡理英二、高橋めぐみ、高橋秀実：Nordihydroguaiaretic acid (NDGA) の麻疹ウイルス感染グリオーマ細胞におけるウイルス増殖とサイトカイン産生。  
第 54 回日本ウイルス学会総会。  
2006 年 11 月 19-21 日（名古屋）。
10. 齊藤尚紀、高橋めぐみ、清水真澄、伊吹謙太郎、速水正憲、三浦智行、高橋秀実：SIV/SHIV 感受性 IL-2 independent アカゲザル細胞株“MT-1L2I”の樹立とその性状解析。  
第 20 回日本エイズ学会学術集会  
2006 年 11 月 30 日-12 月 2 日（東京）。
11. 新谷英滋、清水真澄、大脇敦子、渡邊恵理、日高千鶴乃、高橋秀実：HIV-1 Nef down-regulates lipid antigen presentation by CD1a on immature dendritic cells: implications for the lipid antigen as AIDS vaccine candidates。  
第 20 回日本エイズ学会学術集会  
2006 年 11 月 30 日-12 月 2 日（東京）。
12. 日高千鶴乃、渡邊恵理、清水真澄、山西慎吾、新谷英滋、高橋秀実：NKT 細胞による X4-type HIV-1 の感染拡大。  
第 20 回日本エイズ学会学術集会  
2006 年 11 月 30 日-12 月 2 日（東京）。
13. Takahashi, H.: CD1d-NKT system and HIV. Japan-US Cooperative Medical Science Program: The 19th Joint Scientific Meeting of AIDS.  
December 6-7, 2006 (Kagoshima).
14. 高橋秀実：脂質と粘膜免疫。  
第 12 回癒しの療法研究会  
2006 年 12 月 16 日（東京）。
15. Nakagawa Y., Shimizu M., Noorose Y., Higuchi T., Takahashi M., Takahashi H.: Effect of antigenic peptide on CD8+ HIV-1 gp160-specific CTLs in vivo.  
第 35 回日本免疫学会総会  
2005 年 12 月 13 日-15 日（横浜）。
16. Yamanishi S., Watanabe E., Shimizu M., Kobayashi F., Takeuchi H., Iizumi T, Kumagai Y., Takahashi H.: Activation of B-1 cells by *Helicobacter pylori* urease: implications for induction of autoimmunity via *Helicobacter pylori* infection.  
第 36 回日本免疫学会総会  
2006 年 12 月 11 日-13 日（大阪）。
17. Kumagai Y., Yamanishi S., Iizumi T, Norose Y., Watanabe E., Fukunaga Y., Takahashi H.: Local immune response to *H. pylori* infection in murine lymph nodes adjacent to the stomach.  
第 36 回日本免疫学会総会  
2006 年 12 月 11 日-13 日（大阪）。
18. Katakura T., Katsuhisa N., Shimizu M., Harimoto H., Atsukawa M., Tamura H, Takahashi H., Sakamoto C.: Ribavirin interfered the inhibitory activity of human CD4+CD25+ T-regulatory lymphocytes mainly in a cytokine dependent manner.  
第 36 回日本免疫学会総会  
2006 年 12 月 11 日-13 日（大阪）。
19. Hidaka C., Watanabe E., Shimizu M., Yamanishi S., Negishi Y., Komiya N., Shinya E., Takahashi H.: Expansion of T-cell tropic X4-type HIV-1 infection via CD4+ positive NKT cells.  
第 36 回日本免疫学会総会  
2006 年 12 月 11 日-13 日（大阪）。
20. Wakabayashi A., Kumagai Y., Watari E.,

Shimizu M., Moriya K., Utsuyama M., Hirokawa K., Takahashi H.: Importance of gastrointestinal ingestion and macromolecular antigens in the vein for oral tolerance induction.

第36回日本免疫学会総会

2006年12月11日-13日(大阪)。

21. Shinya E., Owaki A., Shimizu M., Watanabe E., Yagi Y., Hidaka C., Takahashi H.: Hiv-1 Nef down-regulates both CD1a and CD1d surface expression in immature dendritic cells.

第36回日本免疫学会総会

2006年12月11日-13日(大阪)。

22. 高橋秀実: 漢方と免疫。

第7回東京大学実践漢方セミナー

2007年2月7日(東京)。

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

本年度は特にございません。

### 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  | 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      |
|---------------------------|---|--------------------------|------------------------------------|------------------------------|-------|------|----------|
| <u>Tamamura H.</u> et al. | Synthesis and Biological Evaluation of Peptidomimetic Analogs of the CXCR4 Antagonist FC131   | Wakamiya T.              | Peptide Science 2005               | The Japanese Peptide Society | Osaka | 2006 | 61-62    |
| <u>Tamamura H.</u> et al. | Development of the chemokine receptor CXCR4 antagonists as multi-pharmaceutical agents involving a new class of low molecular weight antagonists. | Ishida H, Mihara H.      | Peptide Science 2006               | The Japanese Peptide Society | Osaka | 2006 | 279      |
| <u>Tamamura H.</u> et al. | Development of chemical probes for the chemokine receptor CXCR4 involving radiolabeled T140 analogs.  | Ishida H, Mihara H.      | Peptide Science 2006               | The Japanese Peptide Society | Osaka | 2006 | 254      |
| <u>Yasutomi Y.</u>        | Chimeric recombinant hepatitis E virus-like particles presenting foreign epitopes as a novel vector of vaccine by oral administration.            | Holland CR & Miyamura T. | Structure-based viral replication. | World Scientific Publishing  | USA   | 2007 | in press |
| 高橋秀実                      | 持続感染症としての未病   | 日本未病システム学会編              | 未病医学入門                             | 金芳堂                          | 京都    | 2006 | 108-112  |

## 雑誌

| 発表者氏名   | 論文タイトル  | 発表誌名  | 巻名  | ページ    | 出版年  |
|---|---|-------|-----|--------|------|
| 山本 直樹   |   |       |     |        |      |
| Watanabe S, Terashima K, Ohta S, Horibata S, Yajima M, Shiozawa Y, Dewan MZ, Yu Z, Ito M, Morio T, Shimizu N, | Hematopoietic stem cell-engrafted NOD/SCID/IL2R $\gamma$ null mice develop human lymphoid | Blood | 109 | 212-8. | 2007 |



|   |  |                           |     |          |      |
|---|--|---------------------------|-----|----------|------|
| Honda M, <u>Yamamoto N.</u>   | system and induce long-lasting HIV-1 infection with specific humoral immune responses.   |                           |     |          |      |
| Yamamoto M, Okamoto T, Takeda K, Sato S, Sanjo H, Uematsu S, Saitoh T, <u>Yamamoto N</u> , Sakurai H, Ishii KJ, Yamaoka S, Kawai T, Matsuura Y, Takeuchi O, Akira S.                          | Key function for the Ubc13 E2 ubiquitin-conjugating enzyme in immune receptor signaling.   | Nat Immunol.              | 7   | 962-70   | 2006 |
| Yamamoto T, Miyoshi H, Yamamoto N, <u>Yamamoto N</u> , Inoue JI, Tsunetsugu-Yokota Y.   | Lentivirus vectors expressing short hairpin RNAs against the U3-overlapping region of HIV nef inhibit HIV replication and infectivity in primary macrophages.  | Blood.                    |     | in press | 2006 |
| Fukuhara T, Hosoya T, Shimizu S, Sumi K, Oshiro T, Yoshinaka Y, Suzuki M, <u>Yamamoto N</u> , Herzenberg LA, Herzenberg LA, Hagiwara M.   | Utilization of host SR protein kinases and RNA-splicing machinery during viral replication.  | Proc Natl Acad Sci U S A. | 103 | 11329-33 | 2006 |
| Saitoh T, Tun-Kyi A, Ryo A, Yamamoto M, Finn G, Fujita T, Akira S, Yamamoto N, Lu KP, Yamaoka S.  | Negative regulation of interferon-regulatory factor 3-dependent innate antiviral response by the prolyl isomerase Pin1.  | Nat Immunol.              | 7   | 598-605. | 2006 |
| Eda Y, Murakami T, Ami Y, Nakasone T, Takizawa M, Someya K, Kaizu M, Izumi Y, Yoshino N, Matsushita S, Higuchi H, Matsui H, Shinohara K, Takeuchi H, Koyanagi Y, <u>Yamamoto N</u> , Honda M. | Anti-V3 humanized antibody KD-247 effectively suppresses ex vivo generation of human immunodeficiency virus type 1 and affords sterile protection of monkeys against a heterologous simian/human immunodeficiency virus infection. | J Virol                   | 80  | 5563-70  | 2006 |
| Someya K, Ami Y, Nakasone T, Izumi Y, Matsuo K, Horibata S, Xin KQ, Yamamoto H, Okuda K, <u>Yamamoto N</u> , Honda M.   | Induction of positive cellular and humoral immune responses by a prime-boost vaccine encoded with simian immunodeficiency virus gag/pol.   | J Immunol.                | 176 | 1784-95  | 2006 |
| Ami Y, Izumi Y, Matsuo K, Someya K, Kanekiyo M, Horibata S, Yoshino N, Sakai K, Shinohara K, Matsumoto S, Yamada T, Yamazaki S, <u>Yamamoto N</u> , Honda M.                                  | Priming-boosting vaccination with recombinant Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guerin and a nonreplicating vaccinia virus recombinant leads to long-lasting and effective immunity.   | J Virol.                  | 79  | 12871-9. | 2005 |
| 俣野 哲朗   |  |                           |     |          |      |
| Kawada M, Tsukamoto T, Yamamoto H, Takeda A, Igarashi H, Watkins DI, <u>Matao</u>   | Long-term control of simian immunodeficiency virus replication with central  | J Virol                   |     | in press | 2007 |

|   |  |  |       |          |      |  |
|---|--|--|-------|----------|------|--|
| T.  | memory CD4 <sup>+</sup> T-cell preservation after non-sterile protection by a cytotoxic T lymphocyte-based vaccine.  |  |       |          |      |  |
| Yamamoto H, Kawada M, Tsukamoto T, Takeda A, Igarashi H, Miyazawa M, Naruse T, Yasunami M, Kimura A, <u>Matano T</u> .                      | Vaccine-based long-term stable control of simian-human immunodeficiency virus 89.6PD replication in rhesus macaques.   | J Gen Virol  | 88    | 652-9    | 2007 |  |
| Tanaka-Takahashi Y, Yasunami M, Naruse T, Hinohara K, <u>Matano T</u> , Mori K, Miyazawa M, Honda M, Yasutomi Y, Nagai Y, Kimura A.         | Reference strand-mediated conformation analysis (RSCA) – based typing of multiple alleles in the rhesus macaques MHC class I Mamu-A and I Mamu-B loci.   | Electrophoresis  |       | in press | 2007 |  |
| 志田 壽利   |  |  |       |          |      |  |
| Kitabatake M, Inoue S, Yasui F, Yokochi S, Arai M, Morita K, <u>Shida H</u> , Kidokoro M, Murai F, Le MQ, Mizuno K, Matsushima K, Kohara M. | SARS-CoV spike protein-expressing recombinant vaccinia virus efficiently induces neutralizing antibodies in rabbits pre-immunized with vaccinia virus.   | Vaccine  | 25    | 630-7    | 2007 |  |
| Zhang X, Hakata Y, Tanaka Y, <u>Shida H</u> .   | CRM1, an RNA transporter, is a major species-specific restriction factor of human T cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) in rat cells. Microbes and Infection.  | Microbes and Infection                                 | 8     | 851-9    | 2006 |  |
| 庄司 省三   |  |  |       |          |      |  |
| 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/HIVSF162P3 Challenge  | J. Immunol   | 176   | 463-71   | 2006 |  |
| Misumi S, Takamune N, <u>Shoji S</u> .  | 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 | 2006 |  |
| 玉村 啓和   |  |  |       |          |      |  |
| Niida A, Wang Z, Tomita K, Oishi S, <u>Tamamura H</u> , Otaka A, Navenot JM, Broach JR, Peiper SC, Fujii N.                                 | Design and synthesis of downsized metastin (45–54) analogs with maintenance of high GPR54 agonistic activity.  | Bioorg. Med. Chem. Lett.                               | 16(1) | 134-7    | 2006 |  |

|  |  |  |        |         |      |
|--|--|--|--------|---------|------|
| <u>Tamamura H</u> , Tsutsumi H.  | Specific probes for chemokine receptors.   | Chem. Biol.                              | 13 (1) | 8-10    | 2006 |
| Oishi S, Miyamoto K, Niida A, Yamamoto M, Ajito K, Tamamura H, Otaka A, Kuroda Y, Asai A, Fujii N.   | Application of tri- and tetrasubstituted alkene dipeptide mimetics to conformational studies of cyclic RGD peptides.   | Tetrahedron                              | 62     | 1416-24 | 2006 |
| Kasyanov A, <u>Tamamura H</u> , Fujii N, Xiong H.  | HIV-1 gp120 enhances giant depolarizing potentials via chemokine receptor CXCR4 in neonatal rat hippocampus.   | Eur. J. Neuroscience                     | 23     | 1120-8  | 2006 |
| Hanaoka H, Mukai T, <u>Tamamura H</u> , Mori T, Ishino S, Ogawa K, Iida Y, Doi R, Fujii N, Saji H.   | A radiolabeled CXCR4 inhibitor for tumor imaging.  | Nucl. Med. Biol.                         | 33(4)  | 489-94  | 2006 |
| Menu E, Asosingh K, Indraccolo S, De Raeve H, Van Riet I, Van Valckenborgh E, Van de Broek I, Fujii N, <u>Tamamura H</u> , Van Camp B, Vanderkerken K. | The involvement of stromal derived factor 1 $\alpha$ in homing and progression of multiple myeloma in the 5TMM model.  | Haematologica/<br>the Hematology Journal | 91(5)  | 605-12  | 2006 |
| <u>Tamamura H</u> , Ojida A, Ogawa T, Tsutsumi H, Masuno H, Nakashima H, Yamamoto N, Hamachi I, Fujii N.   | Identification of a new class of low molecular weight antagonists against the chemokine receptor CXCR4 having the dipicolylamine-zinc(ii) complex structure.   | J. Med. Chem.                            | 49(11) | 3412-5  | 2006 |
| <u>Tamamura H</u> , Tsutsumi H, Fujii N.   | The chemokine receptor CXCR4 as a therapeutic target for several diseases.   | Mini-Review. Med. Chem.                  | 6      | 989-95  | 2006 |
| <u>Tamamura H</u> , Tsutsumi H, Masuno H, Mizokami S, Hiramatsu K, Wang Z, Trent JO, Nakashima H, Yamamoto N, Peiper SC, Fujii N.                      | Development of a linear type of low molecular weight CXCR4 antagonists based on T140 analogs.  | Org. Biomol. Chem.                       | 4      | 2354-7  | 2006 |
| Niida A, Tanigaki H, Inokuchi E, Sasaki Y, Oishi S, Ohno H, <u>Tamamura H</u> , Wang Z, Peiper SC, Kitaura K, Otaka A, Fujii N.                        | Stereoselective synthesis of 3,6-disubstituted-3,6-dihydropyridin-2-ones as potential diketopiperazine mimetics using organocopper-mediated anti-S(N) <sup>2</sup> ' reactions and their use in the preparation of low-molecule CXCR4 antagonists. | J. Org. Chem.                            | 71(10) | 3942-51 | 2006 |
| <u>Tamamura H</u> , Tsutsumi H, Masuno H, Fujii N.   | Development of low molecular weight CXCR4 antagonists by exploratory structural tuning of cyclic tetra- and pentapeptide-scaffolds towards the treatment of HIV infection, cancer metastasis and   | Curr. Med. Chem.                         | 14     | 93-102  | 2007 |

|  |  |                                |       |          |      |
|--|--|--------------------------------|-------|----------|------|
|  | rheumatoid arthritis.  |                                |       |          |      |
| Tsutsumi H, <u>Tamamura H</u> , Fujii N.   | Inhibitors of the chemokine receptor CXCR4. Chemotherapy of AIDS, metastatic cancer, leukemia and rheumatoid arthritis.  | Lett. Drug Design Discovery    | 4     | 20-6     | 2007 |
| Ueda S, Oishi S, Wang ZX, Araki T, <u>Tamamura H</u> , Cluzeau J, Ohno H, Kusano S, Nakashima H, Trent JO, Peiper SC, Fujii N.                 | Structure-Activity Relationships of Cyclic Peptide-Based Chemokine Receptor CXCR4 Antagonists: Disclosing the Importance of Side-Chain and Backbone Functionalities. | J. Med. Chem.                  | 50(2) | 192-8    | 2007 |
| Tsutsumi H, Tanaka T, Ohashi N, Masuno H, <u>Tamamura H</u> , Hiramatsu K, Araki T, Ueda S, Oishi S, Fujii N.                                  | The therapeutic potential of the chemokine receptor CXCR4 antagonists as multi-functional agents.  | Biopolymers                    |       | in press | 2006 |
| Kubonishi S, Kikuchi T, Yamaguchi S, <u>Tamamura H</u> , Fujii N, Watanabe T, Arenzana-Seisdedos F, Ikeda K, Matsui T, Tanimoto M, Katayama Y. | Rapid hematopoietic progenitor mobilization by sulfated colominic acid.  | Biochem. Biophys. Res. Commun. |       | in press | 2007 |
| Berchiche YA, Chow KY, Lagane B, Leduc M, Percherancier Y, Fujii N, <u>Tamamura H</u> , Bachelier F, Heveker N.                                | Direct assessment of CXCR4 mutant conformations reveals complex link between receptor structure and galphai activation.  | J. Biol. Chem. (Commun.)       | 282   | 5111-5   | 2007 |
| <u>玉村啓和</u>  | 抗ウイルス薬・抗 AIDS (HIV) 薬  | BIO Clinica                    | 21(3) | 224-30   | 2006 |
| <b>森 一泰</b>  |  |                                |       |          |      |
| Pereira LE, Villinger F, Onlamoon N, Bryan P, Cardona A, Pattanapanyasat K, <u>Mori K</u> , Hagen S, Picker L, Ansari AA.                      | SIV infection influences the level and function of Tregs in SIV-infected rhesus macaques but not SIV-infected sooty mangabeys.                                       | J. Virol.                      |       | in press | 2007 |
| Ansari AA, Pereira LE, Mayne AE, Onlamoon N, Pattanapanyasat K, <u>Mori K</u> , Villinger F.   | The role of disease stage, plasma viral load and regulatory T cells (Tregs) on autoantibody production in SIV-infected non-human primates.                           | J. Autoimmunity.               |       | in press | 2007 |
| Tanaka-Takahashi Y, Yasunami M, Naruse T, Hinohara K, Matano T, <u>Mori K</u> , Miyazawa M, Honda M, Yasutomi Y, Nagai Y, Kimura A.            | Reference strand-mediated conformation analysis (RSCA) – based typing of multiple alleles in the rhesus macaques MHC class I Mamu-A and I Mamu-B loci.               | Electrophoresis                |       | in press | 2007 |
| <b>三浦 智行</b>   |  |                                |       |          |      |
| Kuwata T, Kodama M, Sato A, Suzuki H, Miyazaki Y, <u>Miura T</u> , Hayami M.   | Contribution of monocytes to viral replication in macaques during acute infection with   | AIDS Res. Hum.                 |       | in press | 2007 |