

200830004B

厚生労働科学研究費補助金

エイズ対策研究事業

HIVの感染予防に関する研究

平成18年度～20年度 総合研究報告書

研究代表者 山本 直樹

平成21年3月

目 次

- I. 総合研究報告書
 - HIVの感染予防に関する研究 . . . 1
山本 直樹 (国立感染症研究所 エイズ研究センター長)
- II. 研究成果の刊行に関する一覧表 . . . 11
- III. 研究成果の刊行物・別刷 (抜粋) . . . 29

1. 総合研究報告書

HIVの感染予防に関する研究

研究代表者 山本 直樹 国立感染症研究所エイズ研究センター長

研究要旨：

本研究では、すでに発病予防効果が確認されている BCG と Sendai virus ベクターによる CTL 誘導型のプライム・ブーストワクチン研究のさらなる推進を行った。さらに真の感染予防ワクチンの開発を目指すため、新たな方法論を導入することにより、免疫原のデザイン、新規ベクター開発、感染防御免疫、小動物モデル、HIV の多様性、粘膜局所でおこる超早期の感染機序などの問題に総合的に迫り、細胞性免疫と中和抗体、さらには自然免疫まで駆使したワクチンの開発研究を行った。

研究分担者

- 俣野哲朗（東京大学医科学研究所 教授）
志田壽利（北海道大学遺伝子病制御研究所 教授）
庄司省三（熊本大学 名誉教授）
玉村啓和（東京医科歯科大学生体材料工学研究所 教授）
森 一泰（国立感染症研究所エイズ研究センター 主任研究官）
三浦智行（京都大学ウイルス研究所 准教授）
保富康宏（医薬基盤研究所霊長類医学研究センター センター長）
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）
高橋秀実（日本医科大学微生物学免疫学教室 教授）
網 康至（国立感染症研究所動物管理室 主任研究官）

A. 研究目的

1981年に米国に突如出現したエイズであるが、そのわずか2年後には原因がTリンパ球に強い親和性を有するヒトレトロウイルス HIV-1 であることがわかった。その後非常に短い期間に HIV 感染症は、だれも予測できない規模でパンデミック化した、歴史的な感染症となった。2008現在の世界中の HIV 感染者の数は推計約3200万人であり、これまでに既に約6000万人の人が感染したと予想されている。エイズは初め先進国の男性に偏った病気と考えられていたが、程なくアフリカを起源とする、主に発展途上にある国々で男女間の性交渉により感染拡大しているウイルスであることが明らかになった。HIV はきわめ

てユニークなウイルスである。その理由は、ウイルスの標的が免疫細胞であること、性行為を中心とした粘膜からの感染が主であること、圧倒的な変異の速度を有し、結果として世界各地での多様なウイルスが存在すること、細胞へ進入後速やかに起こる宿主染色体へのウイルス遺伝子の組込み、感染しても基本的に無症状であること、さらにそのあとの長い無症候性・慢性感染状態、感染の拡大の大部分が貧しい、したがって既知の予防法の普及もままならない発展途上国であるという事実を集約される。

包括的なエイズ対策の中で、エイズワクチンの開発は根本的な解決法であり、不可欠である。本研究班ではほとんどの班員がサルの実験を必要とすることから、班員が総合的に協力しながら、それぞれ以下の独自の研究を行う点に特色と独創性がある：BCG/DIsあるいはBCG/Adプライムブーストワクチンの免疫原性増強のため、BCGにおけるGagおよびEnv抗原の新たな分泌発現系を検討し、抗原発現レベルの向上、抗原発現の最適化による接種量の軽減を行い実用性の評価などについて小動物での評価を行う（山本・網）。同じくDNA/SendaiVは候補ワクチンの中で慢性エイズモデルで発症抑制効果のあった唯一のワクチンであり、その実用化を目指す（俣野）。創薬化学の手法により、より有用性の高いgp41三量体提示型抗原分子と生体側のコレセプターの細胞外ループ提示型人工抗原分子、gp120の中和エピトープ提示型環状ペプチドを作製し、抗体誘導を行う。また、CD4ミミックを作製し、gp120のコンフォメーション変化を誘起し、抗体への反応

性を向上させる(玉村)。コレセプターに対する抗体とエンペロープタンパク質に対する抗体を誘導する腸管粘膜免疫を目指しており、HIV-1感染初期に粘膜組織でウイルスを迎撃つ防御免疫系を構築する点が独創的であり、免疫型 microbicide としての性質を有する(庄司)。独自の nef 欠失 SHIV、d-5G の長期感染における病原性の解析から糖鎖修飾とエイズウイルスの病原性との関係を明らかにし、糖鎖修飾をターゲットとする免疫機能回復のための治療法の開発、糖鎖修飾欠失変異による生ワクチン作製の基礎データとする。(森、三浦)。現在広く用いられている MVA ベクターには多くの問題があるがこれと異なり、今回用いる m8Δ株は独自で、安全性と免疫原性において各段に優れた効果が期待できる(志田)。キトサンや抗酸菌蛋白 Ag85B を用いたアジュバント効果を含めた免疫調節剤としての利用は分担研究者独自のものであり、ヒトでの使用に耐えるものを目指す(保富、石川)。粘膜組織におけるウイルス感染を制御するため、樹状細胞、NKT 細胞、そして DPT 細胞を感染制御の標的とし、これら細胞内におけるエイズウイルスの動態を明らかにするとともに、その制御法の開発をめざす(高橋)。

B. 研究方法

分担研究者は 11 名という多数かつその研究方法は多岐にわたり、しかも膨大であるので、ここでは以下に各研究者のそれを項目のみあげるに留める。詳細については個別の研究報告を参照されたい。

俣野

- ・ DNA/SeV-Gag ワクチン接種アカゲザルへの SIVmac239 チャレンジ実験
- ・ SIVmac239 感染 MHC-I ハプロタイプ 90120-1a 陽性サル
- ・ CTL エスケープ gag 変異
- ・ SIV 変異株 SIVmac239Gag216S244E および SIVmac239Gag216S244E247L312V373T
- ・ 血漿中ウイルス量定量
- ・ 末梢血中 CD4 陽性 T リンパ球数・セントラル・

メモリー (CD95 陽性 CD28 陽性) CD4 陽性 T リンパ球数

- ・ 測定等の解析
- ・ 抗原特異的インターフェロン γ (IFN- γ) 誘導測定

山本

- ・ 改変型 Env 抗原発現ベクターの構築
- ・ DNA ワクチン
- ・ BCG 由来 hsp60 プロモーター
- ・ *Mycobacterium kansasii* 由来 antigen 85B のプロモーターと分泌シグナル
- ・ *Mycobacterium smegmatis* 由来 SP2 プロモーター
- ・ *Mycobacterium fortuitum* 由来 blaF 分泌シグナル
- ・ BCG への遺伝子導入
- ・ rBCG のウエスタンブロット解析
- ・ 抗 Env C25 マウスモノクローナル抗体

網

- ・ カニクイザルの免疫
- ・ SIVmac239 (nef+) の攻撃試験
- ・ effector memory / naive memory CD4(+) 細胞比
- ・ plasma 中のウイルス RNA コピー数
- ・ SIVgag に対する免疫応答
- ・ マルチエピトープ rDIs の構築のための抗原
- ・ gp145 Δ CFI (gp145)
- ・ マルチエピトープ rDIs (rDIs/gp140-SIVgag) の作製
- ・ ELISA 抗体価の経時的解析

志田

- ・ 組み換えワクシニア株
- ・ SIV Gag の発現
- ・ SIV Gag の ELISPOT

庄司

- ・ アカゲザルへの TGDK 及び poliovirus の投与と組織切片の採取
- ・ アカゲザル回腸組織切片の TGDK の取り込みの検証
- ・ アカゲザル回腸切片の EDS 解析
- ・ Senju vaccine の調製

- ・ HIV-1 粘膜ワクチンのアカゲザルへの経口免疫及び採取したサンプルの調整
- ・ ELISA
- ・ in vitro における SIVmac239 の感染阻害効果の検討

玉村

- ・ gp41 のヘリカル領域の合成ペプチド (N および C 端側) 3 量体の合成と抗体誘導
- ・ gp120 の CD4 binding/コレセプター-binding 領域を抗原として抗体誘導の検討
- ・ コレセプター CXCR4 の細胞外ループ (Ecl1-Ecl3 & N 端) を基にした抗原分子作製&抗体誘導
- ・ CD4 mimic 誘導体の合成と抗 HIV 活性の評価および中和抗体等との併用効果

森

- ・ ミャンマー、ラオス原産の育成アカゲザル
- ・ SIV 感染
- ・ ウイルス
- ・ 血しょうウイルス RNA 量の測定
- ・ フローサイトメトリーによる免疫細胞の細胞表面抗原の解析
- ・ T 細胞パネル
- ・ SIV 感染細胞のフローサイトメトリー解析
- ・ 免疫組織学的解析

三浦

- ・ nef 欠失 SHIV 弱毒生ワクチン接種
- ・ 腸管や深部リンパ系組織におけるウイルス動態と免疫細胞動態を経時的解析
- ・ 新規ワクチンのデザイン (遺伝子構成や発現プロモーター)
- ・ 投与方法 (デリバリー法やアジュバント)
- ・ サル感染実験
- ・ 深部標的組織における感染防御効果

保富

- ・ タンパクワクチンに対するアジュバント効果の測定
- ・ 特異的抗体の測定
- ・ ELISPOT アッセイ
- ・ HIVenv gp120 特異的 CTL の測定
- ・ in vivo における抗ウイルス活性の測定

石川

- ・ マウス
- ・ カチオン化度による抗体産生能
- ・ 抗体検出
- ・ 免疫ルートの検討
- ・ 精製 HIV-1env タンパク質を用いた抗体産生能および中和活性の検討
- ・ カニクイサルを用いた経鼻免疫実験

高橋

- ・ EGFP 遺伝子を導入した HIV (HIV-EGFP/Nef(-)) の作成
- ・ HIV-gp120 蛋白
- ・ コレラトキシン(CT)
- ・ H-2Kb/OVA-tetrame
- ・ 母乳マクロファージ (BrMMΦ) と末梢血単核球 (PBMo) の単離

(倫理面への配慮)

全ての動物実験は、倫理面も含めて、所属施設および医薬基盤研究所の動物実験委員会の審査をうけ、その承認を得てから医薬基盤研究所霊長類医科学研究センターにて開始した。用いた組換え生物等については、第二種使用等拡散防止措置確認申請承認 (大臣確認) 済みである。

C. 研究結果

1. プライムブーストワクチン

ワクチン接種サルへの SIV チャレンジ後の長期解析では、SIV 複製制御が認められたサルにおいては、セットポイント期以降 3 年間にわたってウイルス血症は検出されず、セントラルメモリー CD4 陽性 T リンパ球数も維持され、長期間にわたって SIV 複製制御が維持されていた。SIV 複製制御が維持されたサルのうち、90120-1a 陰性サル 2 頭の CTL の解析では、感染初期に高値を示した Gag 特異的 CTL レベルが減少したものの、SIV 特異的 CTL レベルは維持され、SIV 由来の non-Gag 特異的 CTL が感染後に誘導され優位となったと考えられた。

90120-1a 陰性ナイーブサルへの SIV 変異株感染実験では、4 頭のうち 2 頭では持続感染が成立せ

ず、SIV 変異株の複製能低下が示唆された。ワクチン接種 90120-1a 陽性サルへの SIV 野生株あるいは変異株のチャレンジ実験では、SIV 野生株の複製は全頭で制御されたが、SIV 変異株の複製は全頭で制御不能で持続感染が成立した。SIV 変異株チャレンジでは、Gag 特異的 CTL の 2 次反応は認められず、SIV 由来の non-Gag 特異的 CTL が感染後に誘導され優位となっていく傾向が認められた。(俣野)

改変型 env gp140 および gp145 遺伝子を組み込んだ rBCG をプライミングに用い、同じ遺伝子を組み込んだ rAd5 (組換えアデノウイルス 5 型) でブーストするワクチンレジメンのマウスでの免疫誘導能の評価試験を行った結果、rBCG/rAd5 系は有意に HIV Env 特異的細胞性免疫を誘導できるが、DNA ワクチン (3 回接種) /rAd5 系と比較して確実に優れているとは言えなかった。PA9 テトラマー (IGPGRAFYA) を用いると DNA/rAd5 の反応性が高くピークは 14 日目ごろだが、PI10 テトラマー (IGPGRAFYT1) では BCG/rAd5 の方が高く、応答のピークが 4 日目と早かった。さらに DNA/rAd5 系と rBCG/rAd5 系で誘導される CD8 陽性キラー T 細胞のサブポピュレーションが異なっていた。Gag の分泌と高発現については、Ag85B シグナルに繋ぐことにより BCG からの分泌発現が可能であることが判った。Gag 発現を最適化するため、上記 Tat 分泌系 (blaF シグナル) や新たに構築した高コピー変異型 pSOR246 プラスミド (コピー数が pS0246 の 3-5 倍) を用いて抗酸菌での発現を調べたところ、いずれの場合も Ag85B シグナルを用いた場合より発現レベルの有意な上昇が認められた。(山本)

血漿中のウイルスコピー数は、その peak 値を示す接種 2 週間後において、対照群に比べてワクチン群では 3 頭中 1 頭が有意に低値を示し、接種 12 週間後では、全頭が約 1/100 の値を示した。解剖時では、下顎リンパ節、そ径リンパ節において effector memory / naive memory CD4(+) T 細胞比が明らかに高かった。構築した 3 種の rDIs は、Western blotting 法によって発現が確認された。また *in vitro* の解析で、これらの rDIs は CEF 細

胞でのみ複製し、哺乳類細胞での複製は確認されなかった。構築した rDIs/gp140-SIVgag および rDIs/gp145、rDIs/SIVgag を免疫したサルは、抗体誘導能に差が確認されるものの、2 回目の免疫後に抗 HIV Env ELISA 抗体価の上昇が認められた。(網)

2. ベクター開発

安全で免疫原性の高いアフリカ型 HIV ワクチンを作成する為に、我々の開発したワクチニア m8Δ株と高発現プロモーター pSFJ1-10 を用いた組み換えワクチニア (RVV) を作成することを試みた。まず、m8Δ をベースにした簡便な組み換えウイルスの作製法を開発した。次いで、SIVgag を発現する m8ΔSIVGag を作成し、増殖能欠損ワクチニア DIsSIVgag と免疫原性をマウスにおいて比較した。前者が約 10 倍高頻度の抗 Gag CTL を誘導した。又、Gag と CD40Lm を共発現する m8Δ組み換体を作成して、m8ΔSIVGag と比較したところ逆に抗 Gag CTL 誘導能が低下した。しかし、この現象には深い意味があると考えている。(志田)

3. 免疫原デザイン

HIV-1 外被糖タンパク質 (ENV) に対する抗体と HIV-1 セカンドレセプター CCR5 に対する自己抗体を粘膜組織及び全身性に誘導する、経口型の HIV-1 defense vaccine (Senju vaccine) の開発を行った。本研究期間内に主として霊長類 M 細胞標的分子 TGDK の創製、TGDK を含む複数のコンポーネントからなる Senju vaccine のパイプライン合成法の確立、Senju vaccine の粘膜免疫・全身免疫誘導能の評価、及び誘導された抗体のウイルス中和活性の評価を行った。その結果、Senju vaccine の免疫抗原特異的な粘膜免疫・全身免疫誘導能が確認され、そのウイルス中和活性が確認された。(庄司)

これまでエイズワクチンの創製研究で取りあげられなかった以下の 4 種をターゲットとして設定し、創薬化学、有機合成化学のテクニックを巧みに用い人工抗原分子を作製し、その評価を行った。1) HIV が標的細胞へ侵入するときの HIV 表面蛋白 gp41 の立体構造変化をターゲットとして設定し、gp41 のヘリカル領域の断片ペプチド (N

および C 端側)に親水性領域を付与した形で化学合成し、膜融合の中間体構造である 3 量体を形成するようにアッセムブリーし抗原分子を作製した。N 端側のヘリカル領域の 3 量体ペプチドについては実際マウスに免疫し、中和抗体が誘導できていること、およびその血清に抗 HIV 活性があることを確認した。2) 長期未発症の HIV 感染者で高く保存されている HIV 表面蛋白 gp120 の CD4 binding/コレセプター-binding 領域をターゲットとし、効率的にエピトープを提示できるように構造固定化した環状ペプチドミメチクを作製した。マウスやウサギに免疫したが、効率よく抗体誘導されなかった。また、ファージディスプレイライブラリーからの *in vitro* アフィニティー選択による特異的抗体を創出した。3) 標的細胞側のコレセプター CXCR4 の N 端領域および 3 種の細胞外ループに親水性領域を付与したペプチドを合成し、人工テンプレート上に構築した分子を作製した。マウスに免疫し、抗体誘導を行った。4) HIV 侵入の際に最初に結合する宿主細胞の CD4 の小分子 mimic の細胞毒性を軽減した誘導体を合成した。HIV 侵入の動的超分子機構において構造変化を誘起することや、併用により抗 V3 抗体の中和活性を増強する効果があることを知見として得た。(玉村)

4. 弱毒生ワクチン

糖鎖欠失ウイルス (d-5G) は生ワクチンとして MHC 等の遺伝的性質が異なる宿主に対してもサブタイプの異なる SIV 感染に対する防御効果を同様に誘導した。この結果は、糖鎖欠失ウイルスが HIV ワクチン開発に必要なとされる感染防御免疫の解明のための重要な生ワクチンであることが示された。糖鎖修飾の減少によりウイルスが低病原性を獲得する原因は、糖鎖修飾の減少がウイルスの感染組織・細胞指向性を変化させたためであった。病原性の野生株は 2 次リンパ組織に存在する central memory CD4+T 細胞に感染・増殖していたが、糖鎖欠失ウイルスは腸管粘膜組織 effector memory CD4+T 細胞に感染していた。CD4+T 細胞サブセットに対する細胞指向性はウイルスの病原性を決定していた。エイズウイルスの病原性は

central memory CD4+T 細胞指向性と密接に関連することが示唆された。(森)

nef 遺伝子欠失弱毒 SHIV 接種後、早期に強毒 SHIV を攻撃接種し、腸管や全身の深部リンパ系組織におけるウイルス感染と免疫細胞の動態について詳細に解析を行なった結果、ウイルス感染に対して脆弱な腸管において感染初期からウイルス増殖やメモリー-CD4 陽性 T 細胞減少を抑制しうる免疫を誘導すること、また、免疫細胞の過度の活性化制御機構を解明することが、より有効なエイズワクチン開発に重要であることが示唆された。また、nef 遺伝子欠失部位に RANTES 遺伝子を組み込むことにより免疫誘導能とウイルス抑制効果が増強された。(三浦)

5. アジュバントと自然免疫

Th1 反応を誘導する抗酸菌の分泌抗原 Ag85B を用い副作用のない新規のアジュバント開発を行った。Ag85B をアジュバントとして有効に利用するためにリコンビナントタンパクを作製した。このリコンビナント Ag85B を HIVenv gp120 ワクチンに対しアジュバントとして使用したところ、ワクチン特異的な免疫反応、特に Th1 タイプの免疫反応が強く誘導された。さらにリコンビナント Ag85B 混合 gp120 ワクチン免疫マウスに HIVenv gp120 組み込みワクシニアウイルスを投与したところ著明なウイルス抑制効果が *in vivo* で認められ、その効果は細胞性免疫に関連していることが示された。また、これら誘導された Th1 を主体とする免疫反応は BCG の感作により著しく増強された。本研究では Ag85B は通常細胞性免疫の誘導が困難なリコンビナントワクチンにおいてウイルス暴露後に有効な細胞性免疫の誘導が期待できるワクチンアジュバントになりうることを示された。(保富)

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の検討を行った。アジュバントの条件とされる安全性、有効性、コストの内、安全性とコストをクリアしていると考えられるキトサン関連物質のアジュバント活性を各種キトサンを試料として検討した。また免疫ルートも併せて検討した。その結果、キトサン微粒子と

カチオン化キトサンがアジュバント候補として同定された。免疫経路では経鼻投与が最も安定した結果を示した。さらに HIV-1env 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結果、env タンパク質に対する抗体の中和活性を認めるデータを得た。またカニクイサルを使用したキトサン物質投与基礎検討においても副作用を認めず、カチオン化キトサンおよびキトサン微粒子に個体差があるものの経鼻投与によるアジュバント活性を抗体産生能により確認した。(石川)

HIV 感染樹状細胞の制御においては、クラス I MHC 分子拘束性の CTL のみならず CD1a, CD1d 分子拘束性のキラーT細胞の活性化が重要であること、その様なキラーT細胞群を、粘膜アジュバントであるコレラトキシンとウイルス抗原を適切な間隔において経口投与することによって、粘膜内において活性化させることができること、そして、粘膜樹状細胞による HIV の感染伝播を樹状細胞上の TLR3 を Poly(I:C)によって刺激したり、その結果放出される インターフェロン群によって制御できることを見出した。(高橋)

D. 考察

これまでの基礎研究の結果は、エイズワクチンの開発が一筋縄ではいかないこと、しかし成果は部分的ではあれ着実に上がっていることを示している。本研究班では、これまでになかったアプローチでワクチン開発のため、総力戦を展開している。とくに粘膜局所でおこるきわめて早期に起こる HIV の感染に対応可能な、理想的な免疫原とベクターのデザイン、細胞性免疫と同時に多彩な HIV の感染を中和できる HIV 感染予防に必要なとされる抗体を十分な強さと持続性をもって誘導する方法、さらには非特異的といわれる免疫機構の活用、などの問題を試験管と *in vivo* の系を用いて探り、真の感染予防ワクチンの開発を目指すものである。以下、各分担項目ごとに考察を加える。

1. プライムブーストワクチン

DNA/SeV-Gag ワクチン接種 90120-1a 陽性サル群は、SIVmac239 複製を制御できることが示され

ていたが、本研究により、CTL エスケープ gag 変異を有する SIV 変異株の複製を制御できないことが示された。この gag 変異により SIV 変異株の複製能は低下するにもかかわらず、その複製が制御できなくなることから、このエスケープ変異選択に関与した Gag 特異的 CTL が、ワクチン接種 90120-1a 陽性サルにおける感染初期の SIV 野生株の複製制御に中心的役割を担っていることが明らかとなった。SIV 慢性持続感染サルエイズモデルにおいて、このような SIV 複製抑制機序を示したワクチン効果の報告は初めてであり、本研究の結果は、エイズワクチン開発において極めて重要な成果である。(俣野)

rBCG ベクターに対する現在のところの評価は、DNA ワクチンを完全には凌駕できなかった Env 発現株のマウス実験の結果から、可もなく不可もなく言うところである。人で機能するのが確実な BCG ベクターと、マウスの実験ではすばらしい結果が出るが人では免疫原性が弱いことが明白になった DNA ワクチンを、マウスの実験と比較するのは BCG には極めて不利な状況だが、サルの実験へステップアップするためにマウスのデータで判断されるのが通例という世界なので、この段階を突破するためには今取り組んでいるように BCG のコンストラクトをグレードアップさせること、なるべく BCG の効果が positive に出るマウスの strain を使うことが重要と思われる。現在は、BCG-sensitive な Balb/c マウスを用いているが、BCG-resistant な DBA/2 マウスを用いた方が、細胞性免疫誘導能が高いという示唆もあるので、その検討も急いで行わなければならない。また改良型の Env 高発現型 BCG コンストラクトのテトラマーアッセイでの評価を進める。(山本)

rDIs/gp140-SIVgag 免疫群と rDIs/gp145、rDIs/SIVgag 免疫群において抗 HIV Env ELISA 抗体価の上昇が認められたことは、安全性の高いワクシニアウイルス DIs を用いた液性免疫誘導型を加えたマルチエピソードワクチンの可能性を示唆するものと考えられる。(網)

2. ベクター開発

m8Δ株の欠点は組み換え能が低く、RVV 作成効

率が非常に悪い事であった。この点を克服する為に、*in vitro* ligation によって RVV を作製する新しい方法を開発する事ができた。増殖型 m8ΔSIVgag と増殖能欠損型 rDIs/PSFJ/SIVgag の抗 Gag CTL 誘導能をマウスで比較したところ、m8ΔSIVgag の方が1桁多くの IFN- γ 産生細胞を誘導する事が分かった。既に、チンパンジーにおける C 型肝炎ウイルスの感染制御が増殖能欠損型ワクシニア/アデノベクターではなし得ず、増殖型ワクシニア WR ワクチンでしか成就できなかった事が報告されている。又、抗体の affinity maturation が増殖型ワクチン接種によって引き起こされる事が報告されている。これらの結果は、増殖型 m8Δワクシニアワクチンが増殖能欠損型の MVA や NYVAC ワクチンよりもヒトでより強力な抗 HIV 免疫を誘導する事を期待させる。(志田)

3. 免疫原デザイン

本研究は、HIV-1 初発感染防御機構である粘膜免疫システムと、万一、ウイルスが体内に侵入した際の防御機構である全身系免疫システムの両免疫システムに抗原特異的免疫応答が誘導できる新規 HIV-1 粘膜ワクチンを開発することを目的とした。本研究で新規霊長類 M 細胞標的分子 TGDK が開発された。TGDK はエイズワクチンのみならず、広く感染症や免疫性疾患の治療のための粘膜免疫誘導型ワクチンに広く応用できると考えられる。さらに TGDK を結合した Senju vaccine を経口投与することにより、免疫抗原特異的な粘膜免疫・全身免疫誘導が確認され、誘導された抗体のウイルス中和活性が確認された。今後、Senju vaccine で免疫誘導されたサル SIV 経膈チャレンジに対する感染防止効果の評価を行う必要がある。(庄司)

4種のターゲットは革新的、斬新なアイデアに基づいている。創薬化学・ペプチド合成の技術を用い、抗原分子等を順調に合成した。(玉村)

4. 弱毒生ワクチン

糖鎖欠失変異が異なる3種の5糖鎖欠失変異株はいずれも同様の生ワクチンとしての性質を示した。ワクチン効果はウイルスタンパクにおいて10-30%の相違を持つサブタイプが異なる SIV に

対しても感染防御を示したことから HIV-1 に対する感染防御の解明のモデルとして期待される。糖鎖欠失変異によるウイルスの低病原性は異なる CD4+T 細胞サブセットに感染するためであった。2次リンパ組織の central memory CD4+T 細胞感染と病原性の関連性が明らかとなった。(森)

感染後早期からウイルス増殖を抑制し、且つ、全身のメモリーCD4 陽性 T 細胞の減少を防ぎ、ウイルス感染に対して脆弱な腸管においてもウイルス増殖・細胞傷害を抑制しうる免疫を誘導することがエイズ病態進行を防御する有効なワクチンに必要と考えられる。また、免疫誘導機構(アクセル)だけでなく、免疫細胞の過度の活性化を制御する機構(ブレーキ)を解明することも、より有効なエイズワクチン開発に重要と考えられた。

サル個体において SHIV-RANTES は SHIV 特異的な細胞性免疫応答を増幅し、攻撃接種後においても強い二次免疫応答を誘導することが明らかとなった。攻撃接種後の深部リンパ系組織におけるプロウイルス量が SHIV-NI 免疫群と比較して低く抑制される傾向が示されたことから、RANTES は HIV ワクチン効果の増強に有効である可能性が示唆された。(三浦)

5. アジュバントと自然免疫

Ag85B のワクチン効果は BCG で感作されている個体ではその効果はより著明であることが確認された。世界中の多くの国で結核ワクチンとして BCG が用いられ、多数のヒトが抗酸菌感作を受けていることから Ag85B のワクチン増強効果は現実的なアジュバントとして使用されうると考えられる。さらに分担研究者も含む多くの研究者が HIV 遺伝子組み込み BCG ワクチンを検討しており、この HIV 遺伝子組み込み BCG ワクチンと本研究での手法を組み合わせることにより、さらに効果的なワクチンが期待される。この様に本研究で行った Ag85B を用いた新規ワクチンアジュバント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示し、さらに他のワクチンとの組み合わせの可能性も示した。(保富)

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、カチオン化度が高いほど抗体産生が高い傾向が認められたが、今後さらに詳細な検討が必要である。アジュバントの条件とされる安全性、価格、有効性を現時点はクリアできると考えている。

精製 HIV-1 env タンパク質とカチオン化キトサンを用いた中和活性試験では、gp160 に対する抗体が認められ、その抗体を含む血清に中和活性が認められた。こんごさらに細胞性免疫の解析をマウスで行う予定である。(石川)

本研究班で得られた結果は、HIV 感染樹状細胞の制御には従来のクラス I MHC 分子に拘束された蛋白ペプチド抗原特異的なキラー T 細胞のみならず、CD1 分子によって提示された HIV 関連糖脂質抗原を認識するキラー T 細胞群によっても制御されることを示唆している。また、こうした粘膜内における感染細胞制御には、血液中や脾臓などのリンパ臓器における T 細胞群ではなく、粘膜内における T 細胞群を適切な粘膜アジュバントを用い選択的に活性化させることが重要であることを見出した。さらには、こうした樹状細胞を介した HIV 感染伝播を制御するためには、樹状細胞に発現している TLR を Poly(I:C)などにより選択的に刺激することの意義を見出した。現在、これら樹状細胞群が生菌 BCG により活性化され、NKT 細胞や $\gamma\delta$ 型 T 細胞を含めた局所免疫の活性化を誘発することを見出す (Cancer Immunol Immunother, 2009, in press)、とともに DEC-205 陽性樹状細胞の選択的活性化による体内応答制御法の開発に取り組んでいる (論文投稿中)。(高橋)

rBCG/opt-SIVgag を用いた rBCG/rDIs プライム-ブーストワクチンでは、SIV-マカク属サル感染系において、感染 1 2 週間では、他の現在有効と考えられている候補ワクチンと比べてもほぼ同様のウイルス量抑制効果を示したと考えられる。effector memory CD4(+) T 細胞の減少抑制効果についても、体表リンパ節において対照群に比べて有意に高く、その局所における effector memory CD4(+) T 細胞の減少を低減させていたものと考えられる。

以上の研究が理想のエイズワクチン開発と、最終的なエイズ・パンデミーの根本的な制圧に大きな力を発揮することが期待される。

E. 結論

本研究では、長期の HIV/SIV 複製制御維持機序として、ワクチン誘導 CTL により感染初期のウイルス複製が制御されれば、感染後にウイルス複製抑制能を有する CTL が新たに誘導される可能性を示した。また、エイズ発症阻止に結びつくデータとして、CTL 誘導予防エイズワクチン接種が、長期間のセントラルメモリー CD4 陽性 T リンパ球の維持に結びつく可能性を明らかにした。

また、Gag 特異的 CTL により SIV 複製能を低下させることができる可能性を個体レベルにて示した。この結果は、ワクチンによる Gag 特異的 CTL 誘導の合理性を支持するものである。

さらに、DNA/SeV-Gag ワクチンで SIV 複製制御効果が認められた 90120-1a 陽性サル群において、そのワクチン効果に、Gag 特異的 CTL が中心的役割を果たしていることを明らかにした。(俣野)

BCG のコンストラクトの発現と免疫原性をグレードアップさせたが、いまだ不十分である。さらに、なるべく BCG の効果が positive に出るマウスの strain を使った実験を行う。さらに改良型の Env 高発現型 BCG コンストラクトのテトラマーアッセイでの評価を進めるとともに東京株の有用性を明らかにするために、AERAS 株と同等の LLO 発現型 BCG の構築と、それを用いた Gag または Env 発現株の構築を急ぎ行う必要があると考える。(山本)

m8 Δ をベースにした組み換えウイルスの簡便な作製法を開発した。次いで、増殖型 m8 Δ SIVgag と増殖能欠損型 rDIs/PSFJ/SIVgag の抗 Gag CTL 誘導能をマウスで比較したところ、m8 Δ SIVgag の方が 1 桁多くの IFN- γ 産生細胞を誘導した。CD40Lm 共発現ワクシニアは CTL 誘導能が低かった。しかし、この現象は深い意味を持つと考える。(志田)

霊長類 M 細胞標的分子 TGDK が創製された。この TGDK と各種免疫抗原を共有結合した Senju

vaccine をアカゲザルに経口投与することにより、抗原特異的粘膜免疫・全身性免疫が誘導されることが確認された。(庄司)

ここで得られた成果は今後の抗 HIV 抗体・エイズワクチン療法の研究において、重要な知見となると思われる。(玉村)

糖鎖修飾変異 SIV の HIV ワクチン研究における高い有用性が明らかとなった。糖鎖修飾の減少が SIV の組織・細胞指向性の変化させ、d-5G の低病原性、生ワクチンの性質を与えることが推測された。(森)

ウイルス感染に対して脆弱な腸管においても感染初期からウイルス増殖やメモリーCD4 陽性 T 細胞減少を抑制しうる免疫を誘導すること、また、免疫細胞の過度の活性化制御機構を解明することが、より有効なエイズワクチン開発に重要と考えられた。また、RANTES はエイズワクチンにおける免疫アジュバントの候補となりうる。(三浦)

抗酸菌分泌タンパク Ag85B 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。(保富)

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による粘膜免疫誘導が効である可能性が示された。(石川)

HIV 感染の新たな場である粘膜組織における主たる標的はそこに棲息する樹状細胞群であり、感染樹状細胞群の制御には従来のような方策よりも、CD1 分子によって拘束された T 細胞群の活性化のみならず粘膜における CTL を効率よく誘導し、樹状細胞に発現している TLR 等を介した樹状細胞そのものを制御する方策を加味しなければならない。(高橋)

蛋白発現量を高めた rBCG/opt-SIVGag と rDIs-SIVGag による細胞性免疫誘導を目的としたプライム-ブースト型ワクチンは、SIVmac239 による攻撃試験で、対照群に比べて血漿中のウイルス量を有意に低減させることが可能であった。改変 HIVenv および SIVgag を挿入したマルチエピートプ発現 rDIs を作製し、サル動物モデルにおいて抗 HIVenv 抗体価の上昇を確認した。(網)

F. 健康危険情報

特記すべきことなし

G. 研究発表

研究成果の刊行に関する一覧表を参照のこと

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

庄司省三

- 1) TGDK (M 細胞標的分子) (特許:PCT/JP2006/321720)
- 2) 腸管免疫賦活剤 (国際公開番号: WO2007/052641 A1)
- 3) ワクチン剤 (特開 2008-231343)

玉村啓和

- 1) 新規 CXCR4 拮抗剤及びその用途 (国際出願番号: PCT/JP2006/326069)
- 2) 標的物質の検出方法、並びに、これに用いるタグ、DNA、ベクター、プローブ及び検出キット (特許出願番号: CT/JP2008/055399)

保富康宏

- 1) α 抗原のワクチンにおけるアジュバント剤としての利用 (出願中、特開: 2002-114708)
- 2) α 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)

石川晃一

- 1) 免疫アジュバント① (特願 2007-192362)
- 2) 免疫アジュバント② (特願 2007-192363)
- 3) IgA 抗体測定方法 (特願 2007-192364)

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

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
山本直樹							
Koyanagi Y, Tanaka Y, Ito M, <u>Yamamoto</u> N.	Humanized mice for human retrovirus infection.	Eds. Nomura, Watanabe, and Habu	Curr Top Microbiol Immunol 324, vol.34	Springer- Verlag		2008	138- 148
玉村啓和							
<u>H.</u> <u>Tamamura</u> , et al.	Synthesis and Biological Evaluation of Peptidomimetic Analogues of the CXCR4 Antagonist FC131	T. Wakamiya	Peptide Science 2005	The Japanese Peptide Society	Osaka	2006	61-62
<u>H.</u> <u>Tamamura</u> , et al.	Development of the chemokine receptor CXCR4 antagonists as multi-pharmaceutical agents involving a new class of low molecular weight antagonists.	H. Ishida, H. Mihara	Peptide Science 2006	The Japanese Peptide Society	Osaka	2006	279
<u>H.</u> <u>Tamamura</u> , et al.	Development of chemical probes for the chemokine receptor CXCR4 involving radiolabeled T140 analogs.	H. Ishida, H. Mihara	Peptide Science 2006	The Japanese Peptide Society	Osaka	2006	254
<u>H.</u> <u>Tamamura</u> , et al.	Identification of Sequential Motifs Relevant to Inhibitory Activity against HIV Integrase.	Saburo Amimoto and Shin Ono	Peptide Science 2007	The Japanese peptide Society	Osaka	2008	335- 336
<u>H.</u> <u>Tamamura</u> , et al.	Development of Peptide Tools for Fluorescence Imaging of Proteins in Living Cells.	Saburo Amimoto and Shin Ono	Peptide Science 2007	The Japanese peptide Society	Osaka	2008	95-96
<u>H.</u> <u>Tamamura</u> , et al.	Identification of Sequential Motifs Relevant to Inhibitory Activity against HIV Integrase.		4th International PeptideSym posium, Oct21- 25, 2007		Cairn, Austra lia		in press

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
H. Tamamura, et al.	Chemical Synthesis of a PKC C1b Domain by a Peptide Ligation Method and Expression of the Protein in E. coli and Their Application.		4th International Peptide Symposium, Oct 21-25, 2007		Cairn, Australia		in press.
保富康宏							
Yasutomi, Y.	Chimeric recombinant hepatitis E virus-like particles presenting foreign epitopes as a novel vector of vaccine by oral administration.	Holland, CR., and Miyamura, T.	Structure-based study of viral replication.				
高橋秀実							
高橋秀実	特異免疫およびその賦活法に関する基本原理	林英生、岩本愛吉、神谷茂、高橋秀実	ブラック微生物学	丸善出版	東京	2007. 1.31	495-533
高橋秀実	書籍全体	矢田純一、高橋秀実	リップスコット・イラストレイテッド免疫学	丸善出版	東京	2009. 1.10	1-353

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
山本直樹					
Yamamoto M, Okamoto T, Takeda K, Sato S, Sanjo H, Uematsu S, Saitoh T, Yamamoto N, 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(9)	962-970	2006
Yamamoto T, Miyoshi H, Yamamoto N, Yamamoto N, 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	108 (10)	3305-3312	2006
Fukuhara T, Hosoya T, Shimizu S, Sumi K, Oshiro T, Yoshinaka Y, Suzuki M, Yamamoto N, Herzberg LA, Herzberg LA, Hagiwara M.	Utilization of host SR protein kinases and RNA-splicing machinery during viral replication.	Proc Natl Acad Sci USA	103 (30)	11329-11333	2006

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Saitoh T, Tun-Kyi A, Ryo A, Yamamoto M, Finn G, Fujita T, Akira S, <u>Yamamoto N</u> , Lu KP, Yamaoka S.	Negative regulation of interferon-regulatory factor 3-dependent innate antiviral response by the prolyl isomerase Pin1.	Nat Immunol	7(6)	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(11)	5563-5570	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(3)	1784-1795	2006
Watanabe S, Terashima K, Ohta S, Horibata S, Yajima M, Shiozawa Y, Dewan MZ, Yu Z, Ito M, Morio T, Shimizu N, Honda M, <u>Yamamoto N</u> .	Hematopoietic stem cell-engrafted NOD/SCID/IL2R $\{\gamma\}$ null mice develop human lymphoid system and induce long-lasting HIV-1 infection with specific humoral immune responses.	Blood	109	212-218	2007
Watanabe S, Ohta S, Yajima M, Terashima K, Ito M, Mugishima H, Fujiwara S, Shimizu K, Honda M, Shimizu N, <u>Yamamoto N</u> .	Humanized NOD/SCID/IL2R γ (null) mice transplanted with hematopoietic stem cells under nonmyeloablative conditions show prolonged life spans and allow detailed analysis of human immunodeficiency virus type 1 pathogenesis.	J Virol	81	13259-13264	2007
Tsurutani N, Yasuda J, <u>Yamamoto N</u> , Choi BI, Kadoki M, Iwakura Y.	Nuclear import of the preintegration complex is blocked upon infection by human immunodeficiency virus type 1 in mouse cells.	J Virol	81	677-688	2007
Kubo Y, Yokoyama M, Yoshii H, Mitani C, Tominaga C, Tanaka Y, Sato H, <u>Yamamoto N</u> .	Inhibitory role of CXCR4 glycan in CD4-independent X4-tropic human immunodeficiency virus type 1 infection and its abrogation in CD4-dependent infection.	J Gen Virol	88	3139-3144	2007
Someya K, Xin KQ, Ami Y, Izumi Y, Mizuguchi H, Ohta S, <u>Yamamoto N</u> , Honda M, Okuda K.	Chimeric adenovirus type 5/35 vector encoding SIV gag and HIV env genes affords protective immunity against the simian/human immunodeficiency virus in monkeys.	Virology	367	390-397	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shimizu S, Urano E, Futahashi Y, Miyauchi K, Isogai M, Matsuda Z, Nohtomi K, Onogi T, Takebe Y, <u>Yamamoto N</u> , Komano J.	Inhibiting lentiviral replication by HEXIM1, a cellular negative regulator of the CDK9/cyclin T complex.	AIDS	21	575-582	2007
Ryo A, Tsurutani N, Ohba K, Kimura R, Komano J, Nishi M, Soeda H, Hattori S, Perrem K, Yamamoto M, Chiba J, Mimaya JI, Yoshimura K, Matsushita S, Honda M, Yoshimura A, Sawasaki T, Aoki I, Morikawa Y, <u>Yamamoto N</u> .	SOCS1 is an inducible host factor during HIV-1 infection and regulates the intracellular trafficking and stability of HIV-1 Gag.	Proc Natl Acad Sci USA	105	294-299	2008
Yoshino N, Kanekiyo M, Hagiwara Y, Okamura T, Someya K, Matsuo K, Ami Y, Sato S, <u>Yamamoto N</u> , Honda M.	Mucosal administration of completely non-replicative vaccinia virus recombinant Dairén I strain elicits effective mucosal and systemic immunity.	Scand J Immunol	68(5)	476-483	2008
Dewan MZ, Takamatsu N, Hidaka T, Hatakeyama K, Nakahata S, Fujisawa J, Katano H, <u>Yamamoto N</u> , Morishita K.	Critical role of TSLC1 expression in the growth and organ-infiltration of adult T-cell leukemia cells in vivo.	J Virol	82(23)	11958-11963	2008
Tanaka T, Tsutsumi H, Nomura W, Tanabe Y, Ohashi N, Esaka A, Ochiai C, Sato J, Itotani K, Murakami T, Ohba K, <u>Yamamoto N</u> , Fujii N, Tamamura H.	Structure-activity relationship study of CXCR4 antagonists bearing the cyclic pentapeptide scaffold: identification of the new pharmacophore.	Org Biomol Chem	6(23)	4374-4377	2008
Saitoh T, Fujita N, Jang MH, Uematsu S, Yang BG, Satoh T, Omori H, Noda T, <u>Yamamoto N</u> , Komatsu M, Tanaka K, Kawai T, Tsujimura T, Takeuchi O, Yoshimori T, Akira S.	Loss of Atg16L1, an autophagy regulator, enhances endotoxin-induced IL-1 β production	Nature	456 (7219)	264-268	2008
Yajima M, Imadome KI, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, Ito M, Shimizu N, Honda M, <u>Yamamoto N</u> , Fujiwara S.	A New Humanized Mouse Model of Epstein-Barr Virus Infection That Reproduces Persistent Infection, Lymphoproliferative Disorder, and Cell-Mediated and Humoral Immune Responses.	J Infect Dis	198(5)	673-682	2008
Haga S, Yamamoto N, Nakai-Murakami C, Osawa Y, Tokunaga K, Sata T, <u>Yamamoto N</u> , Sasazuki T, Ishizaka Y.	Modulation of TNF-alpha-converting enzyme by the spike protein of SARS-CoV and ACE2 induces TNF-alpha production and facilitates viral entry.	Proc Natl Acad Sci USA	105 (22)	7809-7814	2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kubo Y, Yoshii H, Kamiyama H, Tominaga C, Tanaka Y, Sato H, Yamamoto N.	Ezrin, Radixin, and Moesin (ERM) proteins function as pleiotropic regulators of human immunodeficiency virus type 1 infection.	Virology	375(1)	130-140	2008
Saitoh Y, Yamamoto N, Dewan MZ, Sugimoto H, Martinez Bruyn VJ, Iwasaki Y, Matsubara K, Qi X, Saitoh T, Imoto I, Inazawa J, Utsunomiya A, Watanabe T, Masuda T, Yamamoto N, Yamaoka S.	Overexpressed NF-kappaB-inducing kinase contributes to the tumorigenesis of adult T-cell leukemia and Hodgkin Reed-Sternberg cells.	Blood	111 (10)	5118-5129	2008
Takahashi Y, Tanaka R, Yamamoto N, Tanaka Y.	Enhancement of OX40-Induced Apoptosis by TNF Coactivation in OX40-Expressing T Cell Lines in Vitro Leading to Decreased Targets for HIV Type 1 Production.	AIDS Res Hum Retroviruses	24(3)	423-435	2008
Urano E, Shimizu S, Futahashi Y, Hamatake M, Morikawa Y, Takahashi N, Fukazawa H, Yamamoto N, Komano J.	Cyclin K/CPR4 inhibits primate lentiviral replication by inactivating Tat/positive transcription elongation factor b-dependent long terminal repeat transcription.	AIDS	22(9)	1081-1083	2008
Terunuma H, Deng X, Dewan MZ, Fujimoto S, Yamamoto N.	Potential role of NK cells in the induction of immune responses: Implications for NK cell-based immunotherapy for cancers and viral infections.	International Reviews of Immunology	27(3)	93-110	2008
Okuma K, Tanaka R, Ogura T, Ito M, Kumakura S, Yanaka M, Nishizawa M, Sugiura W, Yamamoto N, Tanaka Y.	Interleukin-4-Transgenic hu-PBL-SCID Mice: A Model for the Screening of Antiviral Drugs and Immunotherapeutic Agents against X4 HIV-1 Viruses.	J Infect Dis	197(1)	134-141	2008
Sugimoto C, Nakayama EE, Shioda T, Villinger F, Ansari AA, Yamamoto N, Suzuki Y, Nagai Y, Mori K.	Impact of glycosylation on antigenicity of simian immunodeficiency virus SIV239: induction of rapid V1/V2-specific non-neutralizing antibody and delayed neutralizing antibody following infection with an attenuated deglycosylated mutant.	J Gen Virol	89 (Pt 2)	554-566	2008
俣野哲朗					
Yamamoto H, Kawada M, Tsukamoto T, Takeda A, Igarashi H, Miyazawa M, Naruse T, Yasunami M, Kimura A, Matano T	Vaccine-based long-term stable control of simian-human immunodeficiency virus 89.6PD replication in rhesus macaques.	J Gen Virol	88	652-659	2007

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kawada M, Tsukamoto T, Yamamoto H, Takeda A, Igarashi H, Watkins DI, <u>Matano T</u>	Long-term control of simian immunodeficiency virus replication with central memory CD4 ⁺ T-cell preservation after non-sterile protection by a cytotoxic T lymphocyte-based vaccine.	J Virol	81	5202-5211	2007
Yamamoto H, Kawada M, Takeda A, Igarashi H, <u>Matano T</u>	Post-infection immunodeficiency virus control by neutralizing antibodies.	PLoS ONE	2	e540	2007
Tsukamoto T, Yuasa M, Yamamoto H, Kawada M, Takeda A, Igarashi H, <u>Matano T</u>	Induction of CD8 ⁺ cells able to suppress CCR5-tropic simian immunodeficiency virus SIVmac239 replication by controlled infection of CXCR4-tropic simian-human immunodeficiency virus in vaccinated rhesus macaques.	J Virol	81	11640-11649	2007
Moriya C, Igarashi H, Takeda A, Tsukamoto T, Kawada M, Yamamoto H, Inoue M, Iida A, Shu T, Hasegawa M, Nagai Y, <u>Matano T</u>	Abrogation of AIDS vaccine-induced cytotoxic T lymphocyte efficacy in vivo due to a change in viral epitope flanking sequences.	Microbes Infect	10	285-292	2008
Seki S, Kawada M, Takeda A, Igarashi H, Sata T, <u>Matano T</u>	Transmission of simian immunodeficiency virus carrying multiple cytotoxic-T-lymphocyte escape mutations with diminished replicative ability can result in AIDS progression in rhesus macaques.	J Virol	82	5093-5098	2008
Tsukamoto T, Dohki S, Ueno T, Kawada M, Takeda A, Yasunami M, Naruse T, Kimura A, Takiguchi M, <u>Matano T</u>	Determination of a major histocompatibility complex class I restricting simian immunodeficiency virus Gag241-249 epitope.	AIDS	22	993-994	2008
Moriya C, Horiba S, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, <u>Matano T</u>	Antigen-specific T-cell induction by vaccination with a recombinant Sendai virus vector even in the presence of vector-specific neutralizing antibodies in rhesus macaques.	Biochem Biophys Res Commun	371	850-854	2008
Kawada M, Tsukamoto T, Yamamoto H, Iwamoto N, Kurihara K, Takeda A, Moriya C, Takeuchi H, Akari H, <u>Matano T</u>	Gag-specific cytotoxic T lymphocyte-based control of primary simian immunodeficiency virus replication in a vaccine trial.	J Virol	82	10199-10206	2008

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takeda A, Igarashi H, Kawada M, Tsukamoto T, Yamamoto H, Inoue M, Iida A, Shu T, Hasegawa M, <u>Matano T</u>	Evaluation of the immunogenicity of replication-competent V-knocked-out and replication-defective F-deleted Sendai virus vector-based vaccines in macaques.	Vaccine	26	6839-6843	2008
志田壽利					
Zhang, X, Hakata, Y, Tanaka, Y, and <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. <i>Microbes and Infection</i>	Microbes and Infection	8	851-859	2006
Masahiro Kitabatake, Shingo Inoue, Fumihiko Yasui, Shoji Yokochi, Masaaki, Arai, Kouichi Morita, <u>Hisatoshi Shida</u> , Minoru Kidokoro, Fukashi Murai, Mai, Quynh Le, Kouji Matsushima, and Michinori Kohara	SARS-CoV spike protein-expressing recombinant vaccinia virus efficiently induces neutralizing antibodies in rabbits pre-immunized with vaccinia virus.	Vaccine	25	630-637	2007
Ryo Takayanagi, Takashi Ohashi, Eizaburo Yamashita, Yohei Kurosaki, Kumiko Tanaka, Yoshiyuki Hakata, Yasumasa Komoda, Satoru Ikeda, Yasuko Tsunetsugu-Yokota, Yuetsu Tanaka, <u>Hisatoshi Shida</u>	Enhanced Replication of Human T-cell Leukemia Virus Type 1 in T Cells from Transgenic Rats Expressing Human CRM1 That Is Regulated in a Natural Manner	J Virol	81	5908-5918	2007
Takashi Ohashi, Mika Nagai, Hiroyuki Okada, Ryo Takayanagi and <u>Hisatoshi Shida</u>	Activation and Detection of HTLV-I Tax-specific CTLs by Epitope expressing Single-Chain Trimers of MHC Class I in a rat model.	Retrovirology	5	90	2008
Fumihiko Yasui, Chieko Kai, Masahiro Kitabatake, Shingo Inoue, Misako Yoneda, Shoji Yokochi, Ryoichi Kase, Satoshi Sekiguchi, Kouichi Morita, Tsunekazu Hishima, Hidenori Suzuki, Katsuo Karamatsu, Yasuhiro Yasutomi, <u>Hisatoshi Shida</u> , Minoru Kidokoro, Kyosuke Mizuno, Kouji Matsushima, Michinori Kohara	Prior immunization with SARS-CoV nucleocapsid protein causes severe pneumonia in mice infected with SARS-CoV.	J Immunol	181	6337-6348	2008