

### HIV 脱殻過程に関する研究

研究協力者 三隅将吾 熊本大学・大学院医学薬学研究部・薬学生化学 准教授

**研究要旨：** HIV 粒子のプロテオーム解析により、HIV は少なくともウイルス粒子内に複数の capsid (CA) isoform が存在し、一部の isoform のアミノ末端に位置する Ser16 は特異的にリン酸化を受けていることを、alkaline phosphatase を用いた脱リン酸化実験により明らかにした。この Ser16 に変異を導入すると、ウイルスの感染性が著しく低下した。このリン酸化 Ser とその隣にある Pro 残基からなる配列は、peptidyl-prolyl cis-trans isomerase (PPIase) の一つである Pin1 によって特異的に認識され、*in vitro* uncoating assay により Pin1 が CA core の崩壊を促進することを明らかにした。本研究は、タンパク質レベルでウイルス粒子を直接解析することによってはじめて得られる重要な情報である。

#### A. 研究目的

研究は、HIV のライフサイクルにおいていまだ十分明らかにされていない脱殻素過程を明らかにすることであり、得られた結果をもとに脱殻過程を標的とした新しい HIV 制御法の開発に活かすことを目的としている。なお、本研究は、「薬剤耐性 HIV の発生機序とその制御方法に関する基礎研究」（主任研究者：佐藤裕徳先生）の協力研究として行われたものである。

#### B. 研究方法

##### 1) Peptide mass fingerprint (PMF)法および Post source decay (PSD)・MS/MS による蛋白質の同定・解析

タンパク質の同定および翻訳後修飾部位の同定は、酵素消化物の MALDI TOF-MS による質量分析及び、データベース検索とともに、ESI-Q-TOF による酵素消化産物の MS/MS 解析を行った。

##### 2) ウイルス感染価の測定

本実験で用いた WT および変異ウイルスは、MAGIC-5 細胞、種々の T 細胞株を用いた感染実験によりその感染価を評価した。また、siRNA を処理し MAGIC-5 細胞内の Pin の発現を低下させた条件下で、WT ウイルスを感染させその感染価を評価

した。

##### 3) *in vitro* uncoating assay

Dr. Auewarakul *et al.*, (*Virology* 337 (2005) 93-101)の方法を用いて、CA core を調製し、調製した組換え Pin1 を用いて core 崩壊実験を行った。

#### C. 実験結果

##### Ser16 のリン酸化に関して

HIV-1 粒子のプロテオーム解析の結果、JRFL および LAV-1 株共に、ウイルス粒子内に少なくとも 6 種類の CA isoform が存在することを明らかにした。その内、一つの CA isoform のアミノ末端 Ser16 は特異的にリン酸化を受けていることが alkaline phosphatase を用いた脱リン酸化実験により明らかにできた。さらに、本年度作製したリン酸化 Ser16 を含む CA ペプチド抗原に対する抗体を用いた解析から、Ser16 のリン酸化はウイルス出芽後に受けると示唆された。このリン酸化 Ser16 とそれにつづく Pro 残基から構成される phosphorylated Ser-Pro 配列に、CyPA や FK506 結合タンパク質 (FKBP) とは異なるタイプであるパルプリアファミリーに属する PPIase の WW モチー

フが結合し、最終的に PPIase 活性によって CA の構造変化が誘導される可能性が示唆され、siRNA 等を用いてウイルス標的細胞内の Pin1 の発現を低下させると、ウイルスの感染価が低下した。さらに、in vitro uncoating assay によって CA core が組換え Pin1 によって時間依存的に崩壊することをつきとめ、それは Pin1 の酵素活性に依存していることを明らかにした。

#### D. 考察

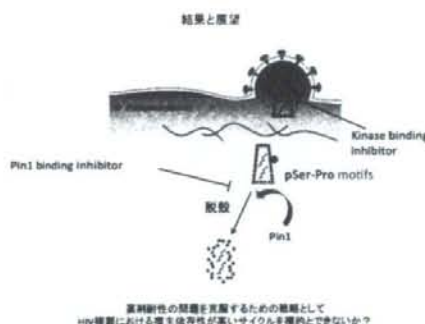
HIV-1 CA isoform のうち、Ser16 が特異的にリン酸化を受けている isoform を同定した。CA のアミノ末端に存在する Ser-Pro 配列の Ser 残基が細胞内の kinase により、ウイルスが出芽後にリン酸化を受けると思われる。次に、ウイルスが標的細胞に侵入すると、この phosphorylated Ser-Pro を特異的に認識する PPIase が CA 六量体のリング内に入り込むことによって Ser-Pro 間の結合の共鳴安定性を効果的に低下させ、最終的にペプチド結合の cis-trans 間の回転バリアを低下させることになり、trans 型のペプチド結合を形成させることになると考えられる。

一般に、X-Pro 配列は、cis 型ペプチド結合を形成する方が安定であると考えられることからすると周辺構造への影響は大きいものと考えられ、CA 六量体の安定性が低下する可能性が示唆される。CA のアミノ末端側 (151 残基付近まで) は六量体の形成には重要なドメインを含んでいることから、PPIase が CA の phosphorylated Ser-Pro 配列へ結合することによって、脱核の際のコアの崩壊のための一つの因子として働いていると示唆された。さらに、CA のアミノ末端側 (151 残基付近まで) の安定性が低下すると必然的に CA のカルボキシル末端の構造の安定性も低下することが予想され、結果的に、六量体リング同士の相互作用が弱くなり最終的に、p24 コアの十分な崩壊が誘

導されるのではないかと考えられる。

#### E. 結論

ウイルス複製過程を明らかにするにはゲノム情報のみでは明らかにできない部分が存在すると思われるので、その際には、タンパク質レベルでウイルス粒子を検討するといった方法が有効な手段になり得ると考えられる。今年度は、実際に CA core を調製し、その崩壊に Pin1 が寄与していることを明らかにできた。現在の抗 HIV 療法は残念ながら根治療法ではなく、耐性ウイルスの出現が常に懸念される。その一方で、ウイルスの複製において宿主依存性の高い脱殻過程を新たな創薬ターゲットとして研究を進めることは、耐性ウイルス出現の問題を克服するための一つの突破口につながるかもしれない。



#### F. 研究発表

##### 論文発表

1. Development of cell-expressed and virion-incorporated CCR5-targeted vaccine. Misumi, S., Eto, A., Mitsumata, R., Yamada, M., Takamune, N., Shoji, S., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008 377: 617-621.
2. Human immunodeficiency virus-induced apoptosis of human breast cancer cells via CXCR4 is mediated by the viral envelope protein but does not require CD4. Endo, M., Inatsu, A., Hashimoto, K., Takamune, N., Shoji, S., Misumi, S. *Curr. HIV Res.* 2008 6:34-42.

3. Role of conformational change in the C-terminus of beta2-microglobulin in dialysis-related amyloidosis. Kim, J., Motomiya, Y., Ueda, M., Nakamura, M., Misumi, Y., Saito, S., Ikemizu, S., Misumi, S., Ota, K., Shinriki, S., Kai, H., Ando, Y. *Ann. Clin. Biochem.* 2008 45:489-495.
4. Nonhuman primate intestinal villous M-like cells: an effective poliovirus entry site. Takahashi, Y., Misumi, S., Muneoka, A., Masuyama, M., Tokado, H., Fukuzaki, K., Takamune, N., Shoji, S. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008 368:501-507.
5. HIV-1 production is specifically associated with human NMT1 long form in human NMT isozymes. Takamune, N., Gota, K., Misumi, S., Tanaka, K., Okinaka, S., Shoji, S. *Microbes Infect.* 2008 10:143-150.

口頭発表

1. HIV-1 カプシドタンパク質の脱殻機構  
三隅将吾、井上睦美、高宗暢暁、庄司省三  
第 56 回日本ウイルス学会抄録集  
p.125
2. プロリルイソメラーゼ Pin1 依存性 HIV 脱殻過程の解析  
井上睦美、三隅将吾、高宗暢暁、庄司省三  
第 22 回日本エイズ学会  
抄録集 p.204

- G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）  
なし。

協力研究報告書：3.新規抗 HIV 薬の標的分子の研究

薬剤耐性 HIV の制御方法における新規薬剤標的としての Bromodomain containing 4(Brd4) C 末端ドメインの評価

研究協力者：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）

**研究要旨** 薬剤耐性 HIV の制御方法には既存の作用機序とは異なる新規薬剤の開発が求められるが、その礎として HIV 複製の分子メカニズムを理解して宿主ウイルス相互作用を明らかにして創薬標的を見いだす必要がある。変異しやすい HIV の特性を考えると、ウイルスそのものを標的とするよりも宿主を標的とした治療方法開発が望ましいと考えられているが、ウイルス複製を抑制する以外に細胞への影響が懸念される。宿主を標的にした創薬を考える上でヒト T 細胞を使用して少なくとも培養細胞レベルでは細胞増殖に明らかな影響を与えず HIV-1 の複製を抑制するものを cDNA ライブラリーから網羅的な解析法にて同定する必要がある。本年度は cDNA ライブラリーからウイルス複製を抑制する活性を持つ遺伝子をスクリーニングしてえられた Brd4 C 末端ドメインが恒常的発現によって細胞増殖に影響せずに HIV-1 複製を抑制する事を証明した。本 phenotype screening 系を使用するとゲノムワイドな新規創薬標的スクリーニングが可能と思われる。

**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な改善をみせた。しかし、根治療法はいまなお存在せず、HIV-1 感染者は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。現実的な対処方法としては、既存の薬剤とは作用機序の異なる新規抗レトロウイルス薬を開発する事である。これにより既存の抗レトロウイルス薬抵抗性のウイルスも抑制する事が出来る可能性があるからである。しかし、ウイルスは変異しやすい性質があるため、薬剤抵抗性ウイルスが発生する危険性を常に持っている。そこで世界的トレンドとして、創薬標的をこれまでのようにウイルスに求めるのではなく、細胞のタンパク質を標的とするという戦略がとられるようになった。実際、CCR5 antagonist をはじめとする宿主因子を標的とする抗レトロウイルス薬は臨床試験にて phase II まで行われている。宿主因子とウイルス因子の相互作用を明らかにし、ウイルス複製のアキレス腱となる宿主-ウイルスタンパク質の相互作用をブロックすることは新世代の抗 HIV-1 戦略の重要な側面を有する事になる。

本研究は、宿主タンパク質の創薬標的をヒト遺伝子ライブラリーから網羅的手法によって phenotype screening することにより、ヒト T

細胞株の細胞増殖には影響しないが HIV-1 複製には負の影響をあたえる遺伝子を同定し、それらの創薬標的としての評価を行う事である。昨年度はコンセプトを評価するために cyclin K 発現がもたらす細胞とウイルス複製への影響を調査した。その結果 cyclin K は HIV-1 複製を負に制御する宿主因子であると同時に細胞増殖に明らかな負の影響を与えないタンパク質であり、創薬標的として価値があることを証明する事が出来た。この成功をうけて、本年度は cDNA ライブラリーから網羅的な HIV-1 抵抗性遺伝子をスクリーニングして抗エイズ薬開発の分子標的を同定するための実験系の開発を行い、Brd4 C 末端ドメインを実験系評価のため解析した。

**B. 研究方法**

ヒト T 細胞株 MT-4 細胞に hPBL 由来の cDNA ライブラリーを lentivirus ベクターにて導入し、GFP 発現を指標に cDNA を安定に発現する細胞を選択して HIV-1(HXB2 株)を感染させた後ウイルス感染耐性となって生存してくる細胞を選択し、それらから DNA を抽出し、PCR によって MLV ベクターにより導入された cDNA を増幅し核酸配列によりこれを同定する (図 1)。この候補遺伝子の中から Brd4 C 末端ドメインを選択し、これをクローニングして GFP と融合タンパク質 GFP-Brd4CTD を作成し、再

び MLV ベクターにて MT-4 細胞に導入した。コントロールとして GFP のみ発現する細胞を用いた。これらの細胞に HIV-1 を感染させ、GFP-Brd4 CTD が HIV-1 耐性遺伝子であるかを評価する。解析手法にはトランスフェクション、ウイルスの作製、細胞培養、ウイルス複製の測定、immunoprecipitation、タンパク質の検出および PCR を用いたがその詳細は Komano et al., Mol Biol Cell 2004 および Shimizu et al., AIDS 2007 に記載されている。

(倫理面への配慮)

特記すべきことなし。

### C. 研究結果

GFP-Brd4 CTD は細胞質にほぼ均一に distribute した (図 1)。transient transfection により HIV-1 LTR-Luciferase または CMV-Luciferase を 293T 細胞に導入し、Tat 存在下/非存在下において GFP-Brd4 CTD を発現させると、Tat 存在下で LTR による転写が特異的に抑制されるが、Tat 非存在下や CMV プロモーターでは luciferase 活性の減弱は観察されず、むしろ増強されることが判明した (図 2)。以上より、GFP-Brd4 CTD が転写レベルで Tat 依存的 LTR 転写を特異的に抑

制する可能性が示唆された。transient transfection により HIV-1 の proviral DNA を 293T 細胞に導入し、同時に GFP-Brd4 CTD を発現させると、著しいウイルス産生減少が検出され、これがウイルス RNA 発現レベルの減少と良く一致した (図 3)。以上の知見をもとにヒト T 細胞株による HIV-1 複製における GFP-Brd4 CTD の役割を解析した。MT-4, Jurkat 細胞に恒常的に GFP-Brd4 CTD を発現する細胞を樹立し、GFP を恒常的に発現する細胞を比較対象として HIV-1 の複製を測定すると、GFP-Brd4 CTD 発現細胞にてウイルス複製が強く抑制された (図 4)。しかし細胞の増殖効率および細胞の形態には影響を与えなかった。ウイルスのレセプターや転写に関わる細胞の制御因子の発現レベルにも影響を与えなかった。これらの細胞にて single round HIV-1 infection を行い Alu-LTR PCR にてウイルスの感染初期過程における GFP-Brd4 CTD の影響を解析すると、ウイルス侵入過程に対して GFP-Brd4 CTD は影響を与えない事も判明した。以上より、GFP-Brd4 CTD は HIV-1 inhibitor であることが示唆された。

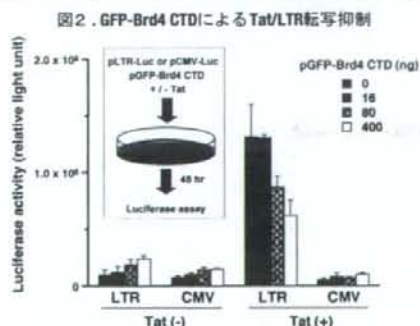
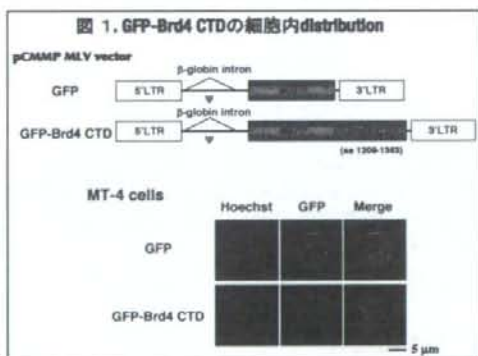
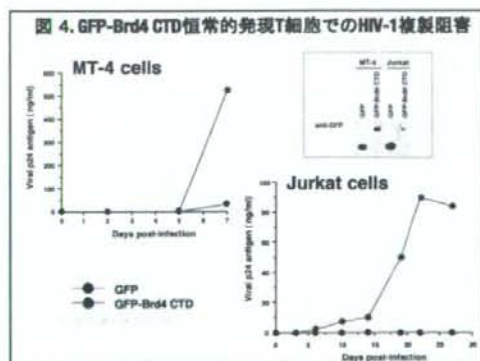


図 3. GFP-Brd4 CTD の転写レベルによる HIV-1 産生抑制

pGFP-Brd4 CTD (ng)	HIV-1 mRNA (copy) <sup>a</sup>	CpA mRNA (copy) <sup>a</sup>	Ratio (HIV-1/CpA)	Normalized (%) <sup>b</sup>	s24 ELISA (%)
0	71,882,969.0	50,903.4	1,411.7	100.0%	100.0%
16	68,380,655.7	33,348.4	2,049.9	145.2%	95.2%
80	42,566,241.8	50,433.7	843.8	59.8%	66.7%
400	14,952,000.0	33,868.0	429.7	30.4%	23.5%

<sup>a</sup> Copy per 100ng total cellular RNA.

<sup>b</sup> Relative reduction of HIV-1 mRNA considering pGFP-Brd4 CTD 0 ng as 100%.



#### D. 考察

我々が樹立した機能的な cDNA スクリーニングにより GFP-Brd4 CTD が HIV-1 複製抵抗性を有する事を例示したが、同様の方法でえられた HSP40B6 も HIV-1 複製抵抗性がある事も明らかとなった。以上の結果より本法がエイズウイルス抵抗性遺伝子を同定するための優れた機能的スクリーニングであることが示された。

Brd4 は細胞の転写に関与するタンパク質であり、cyclin T1 の C 末端側と結合して P-TEFb 複合体の正の制御因子として機能する。Tat は cyclin T1 の cyclin box に続く短いドメインに結合するが、このドメインは Brd4-cyclin T1 結合部位とは異なっている。これを考慮すると、Brd4-CTD は Tat に対するアロステリック inhibitor として機能する可能性が考えられる。GFP-Brd4 CTD が内在性の Brd4 全長を阻害する明らかな dominant-negative 活性を持たず (CMV-luciferase の活性を減弱させなかった事より示唆される)、GFP-Brd4 CTD の発現増強により細胞の増殖効率や形態には明らかな影響を観察しなかったが、複数の細胞株で HIV-1 複製が強く抑制された事から、GFP-Brd4 CTD 様の小分子化合物が潜在的な抗 HIV-1 薬として位置づけられる事が強く示唆された。転写のステップは既存の抗レトロウイルス薬の標的ではないので、既存の薬剤耐性ウイルスに対抗するための新規作用機序を持つ薬剤開発において新たな分子標的を提示する重要な知見であると考えられる。

HIV-1 複製は多くのプロセスからなり、各ステップでこれを制御する宿主因子が存在する。しかし、未だその全貌は明らかになっておらず、精力的な研究が求められている。ウイルス複製を制御する宿主因子の同定とその作用機序の解明はウイルス複製の理解を深めるだけでなく新たな治療を開発する礎となる。本研究によりヒト T 細胞株を使用して特異的にウイルス複製を抑制する遺伝子を同定する実験系が機能する事が証明された。今後はさらに網羅的な解析を行い、薬剤抵抗性ウイルスに対抗できる宿主因子を分子標的とする新規治療薬開発に繋げるよう研究を進展させていきたい。

#### E. 結論

細胞増殖に明らかな影響を与えず HIV-1 の複製を抑制する遺伝子を cDNA ライブラリーから phenotype screening で同定する系を樹立し

た。これにより、GFP-Brd4 CTD による選択的抗 HIV-1 活性を実証した。既存の薬剤抵抗性ウイルスに対抗できる新規治療薬開発のため宿主因子の治療分子標的の同定をさらに進めたい。

#### 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) Fuji H, Urano E, Futahashi Y, Hamatake M, Tatsumi J, Hoshino T, Morikawa Y, Yamamoto N, Komano J. Derivatives of 5-nitro-furan-2-carboxylic acid carbamoylmethyl ester inhibit RNase H activity associated with HIV-1 reverse transcriptase. *J Med Chem* (in press)
- 2) Urano E, Kariya Y, Futahashi Y, Ichikawa R, Hamatake M, Fukazawa H, Morikawa Y, Yoshida T, Koyanagi Y, Yamamoto N, Komano J. Identification of the P-TEFb complex-interacting domain of Brd4 as an inhibitor of HIV-1 replication by functional cDNA library screening in MT-4 cells. *FEBS Lett* (in press)
- 3) Hamatake M, Aoki T, Futahashi Y, Urano E, Yamamoto N, Komano J. Ligand-independent higher-order multimerization of CXCR4, a G-protein-coupled chemokine receptor involved in the targeted metastasis. *Cancer Sci* (in press)
- 4) Urano E, Aoki T, Futahashi Y, Murakami T, Morikawa Y, Yamamoto N, Komano J. Substitution of the myristoylation signal of human immunodeficiency virus type 1 Pr55Gag with the phospholipase C delta 1 pleckstrin homology domain results in infectious pseudovirion production. *J Gen Virol* (in press)
- 5) Emiko Urano, Saki Shimizu, Yuko Futahashi, Makiko Hamatake, Yuko Morikawa, Naoko Takahashi, Hidesuke Fukazawa, Naoki Yamamoto, Jun Komano. Cyclin K/CPR4 inhibits primate lentiviral replication by inactivating Tat/P-TEFb-dependent LTR transcription. *AIDS*. May 31; 22(9):1081-3, 2008.
- 6) Takeshi Yoshida, Yuji Kawano, Kei Sato, Yoshiharu Miura, Yoshinori Ando, Jun Aoki, Jun Komano, Yuetsu Tanaka, Yoshio Koyanagi. A CD63 mutant inhibits T-cell tropic human immunodeficiency virus type 1 entry by disrupting CXCR4 trafficking to the plasma membrane. *Traffic*. Apr; 9(4):540-58 2008.
- 7) Komano J, Hamatake M, and Yamamoto N. Analyses of long-term surviving HIV-infected

Japanese patients with coagulation disorders hint at novel means to prevent and treat HIV/AIDS (review). Challenging practices on HIV/AIDS in Japan 2008, Kashiwazaki ed., JFAP publications, 97-99, 2008

学会発表 (抜粋)

海外

1) Emiko Urano, Yuki Kariya, Yuko Futahashi, Makiko Hamatake, Yuko Morikawa, Takeshi Yoshida, Yoshio Koyanagi, Naoki Yamamoto, and Jun Komano. Identification of the carboxy-terminal domain of bromodomain containing 4 as a specific silencer of HIV-1 replication. CSH Meeting on Retroviruses, May 18-24, 2008, Cold Spring Harbor, NY

2) Toru Aoki, Saki Shimizu, Emiko Urano, Yuko Futahashi, Makiko Hamatake, Kazuo Terashima, Hirokazu Tamamura, Tsutomu Murakami, Yuko Morikawa, Naoki Yamamoto and Jun Komano. Functional substitution of the myristoylation signal of HIV-1 Gag with phospholipase C delta 1 pleckstrin homology domain. CSH Meeting on Retroviruses, May 18-24, 2008, Cold Spring Harbor, NY

国内

1) Emiko Urano, Yumi Kariya, Makiko Hamatake, Hidesuke Fukazawa, Yuko Morikawa, Yoshio Koyanagi, Naoki Yamamoto, Jun Komano. P-TEFb complex-interacting domain of Brd4 inhibits HIV-1 replication through restricting Tat-mediated enhancement of LTR promoter activity. The 8th Awaji International Forum on Infection and Immunity Awaji 2008, 2008年、兵庫

2) 浦野 恵美子, 奥長浩之, 森川裕子, 駒野 淳. DNA J/HSP40 Co-chaperone family による HIV-1 複製抑制. 第 56 回日本ウイルス学会学術集会 2008 年、岡山

3) 駒野 淳, 浦野 恵美子, 刈屋 祐美, 二橋 悠子, 市川 玲子, 濱武 牧子, 深觸 秀輔, 森川 裕子, 芳田 剛, 小柳 義夫, 山本 直樹. T 細胞における HIV-1 抵抗性遺伝子のスクリーニング - Brd4 C 末端ドメインの同定とその機能解析. 第 56 回日本ウイルス学会

学術集会 2008 年、岡山

4) 駒野 淳, 濱武 牧子, 青木 徹, 浦野 恵美子, 二橋 悠子, 山本 直樹. BiFC/BRET による癌転移増強分子 CXCR4 の Ligand 非依存的な多量体形成の解析. 第 67 回日本癌学会学術総会, 2008, 名古屋

5) 村上 努, 大隈 和, 田中礼子, 仲宗根正, 濱武牧子, 駒野 淳, 谷中幹郎, 田中勇悦, 山本直樹. KRH-3955 は経口投与可能な高活性抗 X4 HIV-1 阻害剤である. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008, 大阪

6) 小林明子, 芳田 剛, 駒野 淳, 小柳義夫. レンチウイルスバクターを用いた抗 HIV 因子のスクリーニングとその解析. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2008, 大阪

7) Makiko Hamatake, Yuko Futahashi, Toru Aoki, Naoki Yamamoto, Jun Komano. Detection of ligand-independent higher-order oligomerization state of a G-protein-coupled receptor CXCR4 by BiFC/BRET. BMB2008 (第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会), 2008, 神戸

8) Emiko Urano, Yumi Kariya, Makiko Hamatake, Hidesuke Fukazawa, Yuko Morikawa, Yoshio Koyanagi, Naoki Yamamoto, Jun Komano. P-TEFb complex-interacting domain of Brd4 inhibits HIV-1 replication through restricting Tat-mediated enhancement of LTR promoter activity. BMB2008 (第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学会大会 合同大会), 2008, 神戸

#### 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

#### IV. 業績一覽 (2008)



研究成果の刊行に関する一覧表

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					
Shirakawa K, Takaori-kondo A, Yokoyama M, Izumi T, Matsui M, Io K, Sato T, Sato H, Uchiyama T.	Phosphorylation of APOBEC3G by protein kinase A regulates its interaction with HIV-1 Vif.	Nat. Struc. Mol. Biol.	15	1184-1191	2008
Motomura K, Oka T, Yokoyama M, Nakamura H, Mori H, Ode H, Hansman GS, Katayama K, Kanda T, Tanaka T, Takeda N, Sato H, and the Norovirus Surveillance Group of Japan.	Identification of Monomorphic and Divergent Haplotypes in 2006/2007 Norovirus GII/4 Epidemic Population by Genome-wide Tracing of Evolutionary History.	J.Virol.	82	11247-11262	2008
Naganawa S, Yokoyama M, Shiino T, Suzuki T, Ishigatsubo Y, Ueda A, Shirai A, Takeno M, Hayakawa S, Sato S, Tochikubo O, Kiyoura S, Sawada K, Ikegami T, Kanda T, Kitamura K, Sato H.	Net Positive Charge of HIV-1 CRF01_AE V3 Sequence Regulates Viral Sensitivity to Humoral Immunity.	PLoS ONE	3	e3206	2008
Kubo Y, Yoshii H, Kamiyama H, Tominaga C, Tanaka Y, Sato H, and Yamamoto N.	Ezrin, Radixin, and Moesin (ERM) Proteins Function as Pleiotropic Regulators of Human Immunodeficiency Virus Type 1 infection.	Virology	375	130-140	2008
湯永 博之					
Hachiya A, Kodama E, Sarafianos SG, Schuckmann MM, Sakagami Y, Matsuoka M, Takiguchi M, Gatanaga H, Oka S.	Amino acid mutation N348I in the connection subdomain of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase confers multiclass resistance to nucleoside and non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors.	J. Virol.	82	3261-3270	2008
Hayashida T, Gatanaga H, Tanuma J, Oka S.	Effects of low HIV-1 load and antiretroviral treatment on IgG-captured	AIDS Res. Hum. Retroviruses	24	495-498	2008

	BED-enzyme immunoassay.				
<u>Gatanaga H</u> , Honda H, Oka S.	Pharmacogenetic information derived from analysis of HLA alleles.	Pharmacogenetics	9	207-214	2008
Tanuma J, Fujiwara M, Teruya K, Matusoka S, Yamanaka H, <u>Gatanaga H</u> , Tachikawa N, Kikuchi Y, Takiguchi M, Oka S.	HLA-A*2404-restricted HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and escape mutation after AER with structured treatment interruptions.	Microbes Infect.	10	689-698	2008
村上 努					
Iwasaki Y, Akari H, <u>Murakami T</u> , Kumakura S, Dewan Z, Yanaka M, Yamamoto N.	Efficient inhibition of SDF-1 $\alpha$ -mediated chemotaxis and HIV-1 infection by novel CXCR4 antagonists.	Cancer Sci.			In press
村上 努	HIV の粒子形成のメカニズム—Gag 蛋白に関する最新の知見—	Confronting HIV2009			In press
Urano E, Aoki T, Futahashi Y, <u>Murakami T</u> , Morikawa Y, Yamamoto N, Komano J.	Substitution of the myristoylation signal of human immunodeficiency virus type 1 Pr55 <sup>Gag</sup> with the phospholipase C delta 1 pleckstrin homology domain results in infectious pseudovirion production.	J. Gen. Virol.	89	3144-3149	2008
Tanaka T, Tsutsumi H, Nomura W, Tanabe Y, Ohashi N, Esaka A, Ochiai C, Sato J, Itotani K, <u>Murakami T</u> , Ohba K, Yamamoto N, Fujii N, Tamamura H.	Bearing the cyclic pentapeptide scaffold: identification of the new pharmacophore.	Org. Biomol. Chem.	6	4374-4377	2008
<u>Murakami T</u>	Roles of the interactions between Env and Gag proteins in the HIV-1 replication cycle?	Microbiol. Immunol.	52	287-295	2008
遊佐 敬介					
Harada S, Monde K, Tanaka Y, Kimura T, Maeda Y, <u>Yusa K</u> .	Neutralizing antibodies decrease the envelope fluidity of HIV-1.	Virology	370	142-150	2008
Maeda Y, <u>Yusa K</u> , Harada S.	Altered sensitivity of an R5X4 HIV-1 strain	Antiviral Res.	77	128-135	2008

	89.6 to coreceptor inhibitors by a single amino acid substitution in the V3 region of gp120.				
上野 貴将					
Ueno T, Motozono C, Dohki S, Mwimanzi P, Rauch S, Fackler OT, Oka S, Takiguchi M.	CTL-mediated selective pressure influences dynamic evolution and pathogenic functions of HIV-1 Nef.	J. Immunol.	180	1107-1116	2008
Tsukamoto T, Dohki S, Ueno T, Kawada M, Takeda A, Yasunami M, Naruse T, Kimura A, Takiguchi M, Matano T.	Determination of a major histocompatibility complex class I restricting simian immunodeficiency virus Gag241-249 epitope.	AIDS	22	993-994	2008
足立 昭夫					
Nomaguchi M, Doi N, Kamada K, Adachi A.	Species barrier of HIV-1 and its jumping by virus engineering.	Rev. Med. Virol.	18	261-275	2008
Fujita M, Otsuka M, Miyoshi M, Khamri B, Nomaguchi M, Adachi A.	Vpx is critical for reverse transcription of the human immunodeficiency virus type 2 genome in macrophages.	J. Virol.	82	7752-7756	2008
Yamashita T, Doi N, Adachi A, Nomaguchi M.	Growth ability in simian cells of monkey cell-tropic HIV-1 is greatly affected by downstream region of the <i>vif</i> gene. <i>Journal of Medical Investigation</i> .	J. Med. Invest.	55	236-240	2008
Nomaguchi M, Fujita M, Adachi A.	Role of HIV-1 Vpu protein for virus spread and pathogenesis.	Microbes Infect.	10	960-967	2008
Yamashita T, Kamada K, Hatcho K, Adachi A, Nomaguchi M.	Identification of amino acid residues in HIV-1 Vif critical for binding and exclusion of APOBEC3G/F.	Microbes Infect.	10	1142-1149	2008
Hatcho K, Kamada K, Yamashita T, Adachi A, Nomaguchi M.	Replication potentials of <i>vif</i> variant viruses generated from monkey cell-tropic HIV-1 derivative clones NL-DT5/NL-DT5R.	Microbes Infect.	10	1218-1222	2008

Fujita M, Otsuka M, Nomaguchi M, <u>Adachi A.</u>	Functional region mapping of HIV-2 Vpx protein.	Microbes Infect.	10	1387-1392	2008
Morita D, Katoh K, Harada T, Nakagawa Y, Matsunaga I, Miura T, <u>Adachi A.</u> , Igarashi T, Sugita M.	Trans-species activation of human T cells by rhesus macaque CD1b molecules.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	377	889-893	2008
高折 晃史					
Izumi T, <u>Takaori-kondo A.</u> , Shirakawa K, Higashitsuji H, Itoh K, Io K, Matsui M, Iwai K, Kondoh H, Sato T, Tomonaga M, Ikeda S, Akari H, Koyanagi Y, Fujita J, Uchiyama T.	MDM2 is a novel E3 ligase for HIV-1 Vif.	Retrovirology	6	1	2009
Shirakawa K, <u>Takaori-kondo A.</u> , Yokoyama M, Izumi T, Matsui M, Io K, Sato T, Sato H, Uchiyama T.	Phosphorylation of APOBEC3G by protein kinase A regulates its interaction with HIV-1 Vif.	Nat. Struc. Mol. Biol.	15	1184-1191	2008
Izumi T, Shirakawa K, <u>Takaori-Kondo A.</u>	Cytidine deaminases as a weapon against retroviruses and a new target for antiviral therapy.	Mini-Reviews in Medicinal Chemistry	8	231-238	2008
高折 晃史	APOBEC3 ファミリー蛋白	日本エイズ学会誌	10	19-24	2008
高折 晃史	APOBEC3G による HIV の感染制御	血液フロンティア	18	749-757	2008
増田 貴夫					
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, <u>Masuda T.</u> , 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	5118-5129	2008
増田 貴夫	インテグラーゼと相互作用する宿主因子と HIV-1 複製制御	The Journal of AIDS Research	10	3-9	2008
岡本 尚					
Imai K, Ochiai K. <u>Okamoto T.</u>	Reactivation of latent HIV-1 infection by the periodontopathic bacterium <i>Porphyromonas</i>	J. Immunol.			In press

	<i>gingivalis</i> involves histone modification.				
Teranishi F, Takahashi N, Gao N, Akamo Y, Takeyama H, Manabe T, <u>Okamoto T.</u>	Phosphoinositide 3-kinase inhibitor (wortmannin) inhibits pancreatic cancer cell motility and migration induced by hyaluronan in vitro and peritoneal metastasis in vivo.	Cancer Sci.			In press
Rimando MG, Chua MN, Yuson E d'J, de Castro-Bernas G, <u>Okamoto T.</u>	Prevalence of <i>gstt1</i> , <i>gstm1</i> and <i>nqo1</i> (609C>T) in filipino children with acute lymphoblastic leukemia (ALL).	Bioscience Rep.	28	117-124	2008
Asamitsu K, Yamaguchi T, Nakata K, Hibi Y, Victoriano AFB, Imai K, Onozaki K, Kitade Y, <u>Okamoto T.</u>	Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 replication by blocking I $\kappa$ B kinase with noraristeromycin.	J. Biochem.	144	581-589	2008
Jadlowsky KJ, Huang Y, Nojima M, Geyer M, <u>Okamoto T.</u> , Fujinaga K.	Dominant negative mutant Cyclin T1 proteins inhibit HIV transcription by forming a kinase negative complex with Tat.	J. Gen. Virol.	89	2783-2787	2008
Jadlowsky KJ, Nojima M, Schulte A, Geyer M, <u>Okamoto T.</u> , Fujinaga K.	Dominant negative mutant Cyclin T1 proteins inhibit HIV transcription by specifically degrading Tat.	Retrovirology	5	63-69	2008
Mitsuhashi S, Shima H, Li Y, Tanuma N, <u>Okamoto T.</u> , Kikuchi K, Ubukata M.	Tautomycin suppresses the TNF $\alpha$ /NF- $\kappa$ B pathway via inhibition of IKK activation.	Int. J. Oncol.	33	1027-1035	2008
Mitsuhashi S, Kishimoto T, Uraki Y, <u>Okamoto T.</u> , Ubukata M.	Low molecular weight lignin suppresses activation of NF- $\kappa$ B and HIV-1 promoter.	Bioorg. Med. Chem.	16	2645-2650	2008
Gao N, Asamitsu K, Hibi Y, Ueno T, <u>Okamoto T.</u>	AKIP1 enhances NF- $\kappa$ B-dependent gene expression by promoting the nuclear retention and phosphorylation of p65.	J. Biol. Chem.	283	7834-7843	2008
Tomoda K, Takahashi N, Hibi Y, Asamitsu K, Ishida H, Kondo T, Fujii Y, <u>Okamoto T.</u>	Molecular docking analysis of the protein-protein interaction between	Cancer Sci.	99	615-622	2008

	RelA-associated inhibitor (RAI) and tumor suppressor protein p53 and its inhibitory effect on p53 action.				
Fujimoto K, Chan KH, Takeda K, Lo KF, Leung RH, <u>Okamoto T.</u>	Sensitive and specific enzyme-linked immunosorbent assay using chemiluminescence for detection of severe acute respiratory syndrome viral infection.	J. Clin. Microbiol.	46	302-310	2008
間 陽子					
<u>Aida Y.</u> , Matsuda G.	Role of Vpr in HIV-1 nuclear import; therapeutic implications.	Current HIV-1 Research			In press
Zhang X, <u>Aida Y.</u>	HIV-1 Vpr: a novel role in regulating RNA splicing.	Current HIV-1 Research			In press
Suzuki T, Yamamoto N, Nonaka M, Takeshima S-N, Hashimoto Y, Matsuda G, Matsuyama M, Igarashi T, Miura T, Tanaka R, Kato S, <u>Aida Y.</u>	Inhibition of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) nuclear import via Vpr-Importin $\alpha$ interactions as a novel HIV-1 therapy.	Biochem. Biophys. Res. Commun.			In press
間 陽子	インポーチン $\alpha$ を介したヒト免疫不全ウイルス1型Vprの核移行	生化学			In press
間 陽子	ヒト免疫不全ウイルス1型Vprによるスプライシング制御	生体の科学	59	380-381	2008
森川 裕子					
Ryo A, Tsurutani N, Ohba K, Kimura R, Komano J, Nishi M, Soeda H, Hattori S, Perrem K, Yamamoto M, Chiba J, Mimaya J, Yoshimura K, Matsushita S, Honda M, Yoshimura A, Sawasaki T, Aoki I, <u>Morikawa Y.</u> , Yamamoto N.	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
Yamayoshi S, Noda T, Ebihara H, Goto H, <u>Morikawa Y.</u> , Lukashevich IS,	Ebola virus matrix VP40 protein uses the COPII transport system for its	Cell Host Microbe	3	168-177	2008

Neumann G, Feldmann H, Kawaoka Y.	intracellular transport.				
Urano E, Shimizu S, Futahashi Y, Hamatake M, <u>Morikawa Y</u> , Takahashi N, Fukazawa H, Yamamoto N, Komano J.	Cyclin K/CPR4 inhibits primate lentiviral replication by inactivating Tat/P-TEFb-dependent LTR transcription.	AIDS	22	1081-1083	2008
Kawada S, Goto T, Haraguchi H, Ono A, <u>Morikawa Y</u> .	Dominant negative inhibition of human immunodeficiency virus particle production by the non-myristoylated form of Gag.	J. Virol.	82	4384-4399	2008
Urano E, Aoki T, Futahashi Y, Murakami T, <u>Morikawa Y</u> , Yamamoto N, Komano J.	Substitution of the myristoylation signal of human immunodeficiency virus type 1 Pr55 <sup>Gag</sup> with the phospholipase C delta 1 pleckstrin homology domain results in infectious pseudovirion production.	J. Gen. Virol.	86	3144-3149	2008
Urano E, Kariya Y, Futahashi Y, Ichikawa R, Hamatake M, Fukazawa H, <u>Morikawa Y</u> , Yoshida T, Koyanagi Y, Yamamoto N, Komano J.	Identification of the P-TEFb complex-interacting domain of Brd4 as an inhibitor of HIV-1 replication by functional cDNA library screening in MT-4 cells.	FEBS Let.	582	4053-4058	2008
森川 裕子	HIV 粒子形成機構	日本エイズ学会誌	10	33-40	2008
櫻木 淳一					
<u>Sakuragi J</u> , Sakuragi S, Ohishi M, Shioda T.	A rapid recombination assay of HIV-1 using murine CD52 as a novel biomarker.	Microbes Infect.	10	396-404	2008
三隅 将吾					
<u>Misumi S</u> , Eto A, Mitsumata R, Yamada M, Takamune N, Shoji S.	Development of cell-expressed and virion-incorporated CCR5-targeted vaccine.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	377	617-621	2008
Endo M, Inatsu A, Hashimoto K, Takamune N, Shoji S, <u>Misumi S</u> .	Human immunodeficiency virus-induced apoptosis of human	Curr. HIV Res.	6	34-42	2008

	breast cancer cells via CXCR4 is mediated by the viral envelope protein but does not require CD4.				
Kim J, Motomiya Y, Ueda M, Nakamura M, Misumi Y, Saito S, Ikemizu S, <u>Misumi S</u> , Ota K, Shinriki S, Kai H, Ando Y.	Role of conformational change in the C-terminus of beta2-microglobulin in dialysis-related amyloidosis	Ann. Clin. Biochem.	45	489-495	2008
<u>Misumi S</u> , Muneoka A, Masuyama M, Tokado H, Fukuzaki K, Takamune N, Shoji S.	Nonhuman primate intestinal villous M-like cells: an effective poliovirus entry site.	Biochem. Biophys. Res. Commun.	368	501-507	2008
Takamune N, Gota K, <u>Misumi S</u> , Tanaka K, Okinaka S, Shoji S.	HIV-1 production is specifically associated with human NMT1 long form in human NMT isozymes.	Microbes Infect.	10	143-150	2008
駒野 淳					
Fuji H, Urano E, Futahashi Y, Hamatake M, Tatsumi J, Hoshino T, Morikawa Y, Yamamoto N, <u>Komano J</u> .	Derivatives of 5-nitro-furan-2-carboxylic acid carbamoylmethyl ester inhibit RNase H activity associated with HIV-1 reverse transcriptase.	J Med. Chem.			In press
Hamatake M, Aoki T, Futahashi Y, Urano E, Yamamoto N, <u>Komano J</u> .	Ligand-independent higher-order multimerization of CXCR4, a G-protein-coupled chemokine receptor involved in the targeted metastasis.	Cancer Sci.			In press
Urano E, Kariya Y, Futahashi Y, Ichikawa R, Hamatake M, Fukazawa H, Morikawa Y, Yoshida T, Koyanagi Y, Yamamoto N, <u>Komano J</u> .	Identification of the P-TEFb complex-interacting domain of Brd4 as an inhibitor of HIV-1 replication by functional cDNA library screening in MT-4 cells.	FEBS Let.	582	4053-4058	2008
Urano E, Aoki T, Futahashi Y, Murakami T, Morikawa Y, Yamamoto N, <u>Komano J</u> .	Substitution of the myristoylation signal of human immunodeficiency virus type 1 Pr55Gag with the phospholipase C delta 1 pleckstrin	J Gen Virol.	89	3144-3149	2008



	homology domain results in infectious pseudovirion production.				
Urano E, Shimizu S, Futahashi Y, Hamatake M, Morikawa Y, Takahashi N, Fukazawa H, Yamamoto N, <u>Komano J.</u>	Cyclin K/CPR4 inhibits primate lentiviral replication by inactivating Tat/positive transcription elongation factor b-dependent long terminal repeat transcription.	AIDS	22	1081-1083	2008
Yoshida T, Kawano Y, Sato K, Ando Y, Aoki J, Miura Y, <u>Komano J.</u> , Tanaka Y, Koyanagi Y.	A CD63 mutant inhibits T-cell tropic human immunodeficiency virus type 1 entry by disrupting CXCR4 trafficking to the plasma membrane.	Traffic.	9	540-558	2008