

200908004B

厚生労働科学研究費補助金  
創薬基盤推進研究事業

宿主側及びウイルス側要因からみた  
H I V感染症の病態解明と  
新規医薬品・診断薬品の開発による  
エイズ発症防止の研究

平成19～21年度 総合研究報告書

研究代表者 岩本愛吉

平成22年3月

## 目 次

### I. 総合研究報告

宿主側及びウイルス側要因からみた HIV 感染症の病態解明と  
新規医薬品・診断薬品の開発によるエイズ発症防止の研究----- 1

研究代表者 岩本愛吉（東京大学医科学研究所 教授）

### ・分担研究報告

1. HIV 感染症の病態進行を左右する宿主因子の探索に関する研究 ----- 13

大阪大学微生物病研究所 教授 塩田達雄

2. 中和抗体によるエイズ発症阻止の研究 ----- 21

熊本大学エイズ学研究センター 教授 松下修三

3. 非 B 型 HIV-1 感染小児のエイズ発症に影響を及ぼす因子に関する研究 ----- 27

金沢大学大学院医学系研究科 教授 市村 宏

II. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 31

III. 研究成果の刊行物・別刷 ----- 45

宿主側及びウイルス側要因からみた HIV 感染症の病態解明と  
新規医薬品・診断薬品の開発によるエイズ発症防止の研究

研究代表者 岩本 愛吉 東京大学医科学研究所教授

研究要旨

タイのHIV感染者コホート研究により、NVPによる薬疹とHLA-Cの相関ならびにリポアトロフィー発症へのFas遺伝子の関与が示された。ケニアのHIV感染小児のコホート研究により、薬剤耐性HIVの母子感染と治療上の問題、HIVサブタイプによって薬剤耐性遺伝子変異の出現パターンが異なりうること、小児でもHIVのコレセプター使用が病態進行の影響を受けること、長期未発症小児で*nef*遺伝子に高率な変異が認められること、等が明らかとなった。途上国のHIV感染の拡大と治療状況の変遷に応じて、持続的かつ状況に即した共同研究が必要であり、そのことにより科学技術外交に大きく寄与できる可能性がある。ENV蛋白質の3量体構造によって中和抗体のエピトープが遮蔽されていることが多い。NBD化合物の研究は、ENV3量体の構造に影響を与え中和抗体の活性を高めることが分かった。CTLエピトープに対する単クローン抗体の樹立により、CTLの機能を抗原提示の側から解析する可能性が示された。試験管内で精製した抗原とTCR蛋白質により、CTLの抗原認識を再現できた。結晶構造解析によって、抗原とTCRの相互作用の観点からHIVのエスケープ機構を解明する基盤ができた。

分担研究者

塩田達雄 大阪大学微生物病研究所・教授  
松下修三 熊本大学エイズ学研究センター  
教授  
市村 宏 金沢大学大学院・教授

A. 研究目的

疾患としてのAIDSが報告されて4半世紀が過ぎたが、まだ有効なワクチンは開発されていない。先進工業国においては抗レトロウイルス療法（ART）が普及し、HIV感染者の予後は著しく改善したが、薬剤耐性や長期服用による毒性が大きな問題である。ARTは高価で途上国では負担が大きい一方、薬剤耐性も大きな問題となりつつある。以上から、国際的な立場に立って、新たな治療標的の発見、ワクチンや免疫療

法の開発に直結する研究を推進することが急務である。本研究は（1）網羅的ゲノム解析を用いた感染病態に関与する宿主因子の解明、（2）ケニアやタイ、日本などの臨床現場と直結した国際的なウイルスと宿主の研究、（3）抗HIV効果のある細胞性及び液性免疫の詳細な解析とその応用を特徴とする。以下、より具体的にのべる。

21世紀に入り、世界基金やPEPFAR等の支援により、様々な問題を内包しつつ途上国での抗HIV療法が現実のものとなっている。タイのHIV感染者コホートの研究により、HIV感染の病態進行や抗ウイルス療法（ART）に対する副反応に関与する個人差を解析する（塩田）。欧米で流行するサブタイプ以外については情報が少なく、途上国（ケニア）の小児に焦点を当て

た HIV の薬剤耐性や病態研究を行う（市村）。HIV に対する中和抗体の臨床応用を目指し、広範囲の HIV に対して交差的に中和活性を持つ抗体を樹立するとともに、その反応性を増強する低分子化合物、NBD-556 とその関連物質の基本的性質と効果を明らかにする（松下）。感染個体内でウイルス増殖抑制を示す細胞傷害性 T 細胞（CTL）の抗原認識と HIV の逃避メカニズムについて詳細な解析を行う（岩本）。

## B. 研究方法

臨床面で正確にフォローされているタイ及び日本の感染者コホートについて、ネビラピン（NVP）を含む抗ウイルス療法と薬疹の有無と HLA-C 遺伝子の多型、リポアトロフィーの有無と Fas 遺伝子の多型、病態進行に差のある症例群の包括的遺伝子多型解析を、Affymetrix 社の DNA チップを用いて行った（塩田）。ケニア国ナイロビ市で治療を受けている小児 HIV 感染者約 100 名についてウイルスの解析を行った（市村）。臨床分離株や耐性誘導株を用いて、小分子化合物の中和抗体作用に及ぼす影響や生化学的性状を検討した（松下）。CTL の抗原認識を詳細に解析するため、抗原提示側の分子（HLA Class I 分子 +  $\beta$ 2 ミクログロブリン + ペプチド）を大腸菌や動物細胞を用いて大量調整し、構造解析を行うとともに抗体分離のための抗原に用いた。ヒト由来の B 細胞を用いて作製された抗体ファージライブラリーを用いて、*in vitro* で作製された CTL エピトープを抗原として、パンニングや ELISA により特異的な単鎖抗体を単離し、その後ヒト型の抗体分子に組換え、その性質を解析した（岩本）。

（倫理面への配慮）

検体の提供者には遺伝子解析を行うことを含めて十分に説明を行い、書面による同意を得られた場合のみを解析の対象とし、検体は匿名化して個人情報特定できないようにした。該当する研究は所属研究機関及び相手国機関の承認

を受けている。

## C. 研究結果

NVP 服用継続中の感染者の *HLA-Cw\*04* の頻度は 7.5%、NVP で薬疹を呈した感染者では 20.5% であり、統計学的な有意差が検出された ( $p=0.009$ )。今後 *HLA-Cw\*04* を持つ感染者に対する NVP の投与には考慮が必要である。また、リポアトロフィーを呈さずに d4T の服用が継続できた感染者では、Fas-670 の A アリルの頻度が 0.40、リポアトロフィーを発症した感染者では 0.48 であった ( $p=0.0168$ ) ことから、弱い相関ながらリポアトロフィーの発症に Fas が何らかの形で関与していることが考えられた（塩田）。

垂直感染した薬剤耐性 HIV-1 が、現実に児の ART の失敗に直結すること、非 B サブタイプ HIV-1 はサブタイプ B とは異なる薬剤耐性遺伝子変異の出現パターンを取り得ること、HIV-1 感染児における R5 ウイルスから X4 ウイルスへの変換は、ART ではなく病態進行の影響を受けていること、長期未発症の感染小児では *nef* 遺伝子の活性ドメインに有意に高率な変異が認められることを明らかにし、主に小児エイズ発症に影響を及ぼすウイルス側要因を明らかにした（市村）。

エントリーインヒビターとして報告された NBD-556 という化合物が、HIV-1gp120 の CD4 結合部位に作用して ENV 3 量体の立体構造を変化させ、中和抗体の反応性を増強することを見出した。NBD-556 に耐性のウイルスを誘導し、sCD4 の耐性ウイルスと比較した結果、NBD-556 耐性変異は、gp120 が CD4 に結合する部位に集中していることが分かった。耐性変異を持つ pseudovirus を用いて gp120 と NBD556 の結合に重要なアミノ酸を同定した。NBD-556 により V3 抗体の臨床分離株に対する中和活性は相乗的に増強された。これらの結果から、NBD 化合物が抗体の併用薬として非常に有望な HIV の

ENV 構造変化誘導物質であることが分かった (松下)。HIV Nef タンパク質由来抗原ペプチド (Nef138-10) を提示した HLA-A\*2402 分子 (CTL エピトープ) を特異的に認識する単鎖抗体を基にして完全ヒト型単クローン抗体を樹立した。しかし、アフィニティーは T 細胞受容体のレベルであり、抗原ペプチドをパルスした細胞は特異的に染色できたが、HIV 感染細胞の染色はできなかった。HIV をうまくコントロールしている感染者群 (低血中ウイルス量群) とうまくコントロールできていない感染者群 (高血中ウイルス量群) の末梢血単核球 (PBMC) をオーバーラッピングペプチドあるいは PHA で刺激し、誘導される mRNA やサイトカインについて検討したところ、低血中ウイルス群の PBMC は PHA 刺激による  $\beta$  ケモカインの産生量が有意に高いことがわかった。一方、オーバーラッピングペプチドによる刺激では再現性ある結果が得られなかった。CTL エピトープとそれに対する特異的 CTL の TCR を蛋白質レベルで精製し、相互作用をビアコアで解析した。HLA-A24/Nef138-10(2F) に対する C1-28TCR の乖離定数は、それぞれ  $1.26 \pm 0.03 \mu\text{M}$ 、 $0.941 \pm 0.07 \mu\text{M}$  であった。一方、S19-2TCR の解離定数は、それぞれ  $0.782 \pm 0.02 \mu\text{M}$ 、 $26.1 \pm 4.1 \mu\text{M}$  であった (岩本)。

#### D. 考察

途上国で使用頻度の高い NVP が、HLA-Cw\*04 を持つ感染者で薬疹が多かったを示し、NVP を含む治療の安全性を高めることができた。薬物副作用のゲノム解析については、多型がより多く解析できる Illumina 社のチップを用いた解析を今後行う予定である。薬物副作用のゲノム解析は、コホートの設立から論文発表まで完結できた。一方、病態進行速度と関連する遺伝子多型については、膨大なデータを解析する必要があり、引き続き解析する必要がある (塩田)。国際協力により、途上国でも ART が普及するよ

うになってきた。しかし、治療に使用できる薬剤は限られており、薬剤耐性や副作用の研究がますます重要になると思われる。計画した研究をほぼ達成できたが、ケニアの臨床検体を日本で解析することの困難さがあった (市村)。タイやケニアなどの途上国で得られた臨床検体を共同して解析することにより、技術供与に貢献したのみならず、科学技術外交にも貢献した (塩田・市村)。

NBD の誘導体が、抗体療法の補助薬として臨床応用できる可能性を示した。NBD 化合物の開発は、新たな中和抗体療法の開発のみならず、中和抗体誘導型ワクチンの開発にもインパクトを与えると考えられる。一方、耐性化などの問題点も明らかになり、臨床応用のためには、これらを克服する誘導体の探索が必要である。今回の結果をもとに、現在 10 以上の NBD 誘導体を合成している。今後、臨床応用を目指し、より低濃度で、強力に中和抗体の感受性を増強する誘導体を探索し、最適化していくことが必要である (松下)。

HIV 由来の CTL エピトープに対する特異的単クローン抗体を初めて樹立できた。ただし、アフィニティーが十分ではなく、CTL に対する抗原提示を詳細に解析するためにはさらにアフィニティーの高い抗体を樹立する必要がある。試験管内で精製した抗原と TCR により CTL の抗原認識を再現できたことから、結晶構造解析により HIV のエスケープ機構の解析する基盤ができた (岩本)。

#### E. 結論

NVP による薬疹と HLA-C の相関ならびにリポアトロフィー発症への Fas 遺伝子の関与が示された (塩田)。途上国の HIV 感染の拡大と治療状況の変遷に応じて、持続的勝つ状況に即応した共同研究が必要であり、そのことにより科学技術外交に大きく寄与できる可能性がある (市村)。中和抗体の多くが臨床分離株に有効でな



い理由の一つは、ENVの3量体構造による中和エピトープの遮蔽である。NBD化合物の研究は、抗体療法の改善ばかりでなく、ワクチン開発にも示唆を与える可能性がある（松下）。HIVのコントロールに重要なCTLの機能を抗原提示の側から解析する可能性が示された。また、ウイルスをよくコントロールできる感染者とそうでない感染者の解析からHIV感染における細胞性免疫の役割について新しい展望が開ける可能性がある。試験管内で精製した抗原とTCRによりCTLの抗原認識を再現できたことから、構造解析によりHIVのエスケープ機構の解析する基盤ができた（岩本）。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Song, H, Nakayama, EE, Likanonsakul, S, Wasi, C, Iwamoto A, and Shioda T. A three-base-deletion polymorphism in the upstream non-coding region of human interleukin 7 (IL-7) gene could enhance levels of IL-7 expression. International Journal of Immunogenetics. 2007;34:107-13.
- 2) Wichukchinda, N., Rojanawiwat, A., Kitamura, Y., Nakayama, EE., Pathipvanich, P., Auwanit, W., Sawanpanyalert, P., Iwamoto, A., Shioda, T. and Ariyoshi, K. The polymorphisms in *DC-SIGNR* affect the susceptibility to HIV-1 infection. AIDS. Res. Hum. Retrovir. 2007;23:686-92.
- 3) Lwembe, R., Ochieng, W., Panikulam, A., Mongoina, C., Palakudy, T., Koizumi, Y., Kageyama, S., Yamamoto, N., Shioda, T., Musoke, R., Owens, M., Songok, EM., Okoth, FA. And Ichimura, H. Anti-Retroviral Drug Resistance-Associated Mutations Among Non-subtype B HIV-1-Infected Kenyan Children With Treatment Failure. J. Med. Virol. 2007;79:865-72.
- 4) Ohishi, M., Shioda, T. and Sakuragi, J. Retro-transduction by virus pseudotyped with glycoprotein of vesicular stomatitis virus. Virology. 2007;362:131-8.
- 5) Koizumi, Y., Kageyama, S., Fujiyama, Y., Miyashita, M., Lwembe, R., Ogino, K., Shioda, T. and Ichimura, H. RANTES -28G delays and DC-SIGN -139C enhances AIDS progression in HIV-1-infected Japanese hemophiliacs. AIDS Research and Human Retroviruses. 2007;23:713-9.
- 6) Nakayama EE, Carpentier W, Costagliola D, Shioda T, Iwamoto A, Debre P, Yoshimura K, Autran B, Matsushita S, Theodorou I. Wild type and H43Y variant of human TRIM5alpha show similar anti-human immunodeficiency virus type 1 activity both in vivo and in vitro. Immunogenetics. 2007 ;59:511-5.
- 7) Song H, Nakayama EE, Yokoyama M, Sato H, Levy JA, Shioda T. A single amino acid of the human immunodeficiency virus type 2 capsid affects its replication in the presence of cynomolgus monkey and human TRIM5alphas. J Virol. 2007;81:7280-5.
- 8) Sakuragi J, Sakuragi S, Shioda T. Minimal region sufficient for genome dimerization in the human immunodeficiency virus type 1 virion and its potential roles in the early stages of viral replication. J Virol.

- 2007;81:7985-92.
- 9) Koh Y, Matsumi S, Das D, Amano M, Davis DA, Li J, Leschenko S, Baldrige A, Shioda T, Yarchoan R, Ghosh AK, Mitsuya H. Potent inhibition of HIV-1 replication by novel non-peptidyl small molecule inhibitors of protease dimerization. *J Biol Chem.* 2007;282:28709-20.
  - 10) Liu H, Nakayama EE, Theodorou I, Nagai Y, Likanonsakul S, Wasi C, Debre P, Iwamoto A, Shioda T. Polymorphisms in CCR5 chemokine receptor gene in Japan. *Int J Immunogenet.* 2007;34:325-335.
  - 11) Louisirirochanakul S, Sutthent R, Wasi C, Chuenchitra T, Nitayaphan S, Brown AE, Polonis VR, Nakayama EE, Shioda T, Liu H, Takebe Y. Host Genetic Analysis of HIV-1 Subtype CRF01\_AE(E)-Infected Thai Patients with Different Rates of Disease Progression. *AIDS Research and Human Retroviruses.* 2007;23:1605-1607
  - 12) 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 SIV239 Mutant. *Journal of General Virology.* 2008;89:554-66.
  - 13) Hosoya N, Miura T, Kawana-Tachikawa A, Koibuchi T, Shioda T, Odawara T, Nakamura T, Kitamura Y, Kano M, Kato A, Hasegawa M, Nagai Y, Iwamoto A. Comparison between Sendai virus and Adenovirus vectors to transduce HIV-1 genes into human dendritic cells. *Journal of Medical Virology.* 2008;80:373-82.
  - 14) Wichukchinda N, Nakayama EE, Rojanawiwat A, Pathipvanich P, Auwanit W, Vongsheree S, Ariyoshi K, Sawanpanyalert P, Shioda T. Effects of CCR2 and CCR5 polymorphisms on HIV-1 infection in Thai females. *Journal of AIDS.* 2008;47:293-97.
  - 15) Kono K, Song H, Shingai Y, Shioda T, Nakayama EE. Comparison of anti-viral activity of rhesus monkey and cynomolgus monkey TRIM5alphas against human immunodeficiency virus type 2 infection. *Virology.* 2008;373(2):447-56.
  - 16) Sakuragi J, Sakuragi S, Ohishi M, Shioda T. A rapid recombination assay of HIV-1 using murine CD52 as a novel biomarker. *Microbes Infect.* 2008; 10(4):396-404.
  - 17) Nakayama EE, Shingai Y, Kono K, Shioda T. TRIM5alpha-independent anti-human immunodeficiency virus type 1 activity mediated by cyclophilin A in Old World monkey cells. *Virology.* 2008; 375(2):514-20.
  - 18) Kono K, Bozek K, Domingues FS, Shioda T, Nakayama EE. Impact of a single amino acid in the variable region 2 of the old world monkey TRIM5a SPRY (B30. 2) domain on anti-human immunodeficiency virus type 2 activity. *Virology* 388(1):160-8, 2009.
  - 19) Kuroishi A, Saito A, Shingai Y, Shioda T, Nomaguchi M, Adachi A, Akari H, Nakayama EE. Modification of a loop sequence between alpha-helices 6 and 7 of virus capsid (CA) protein in a human

- immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) derivative that has simian immunodeficiency virus (SIVmac239) vif and CA alpha-helices 4 and 5 loop improves replication in cynomolgus monkey cells. *Retrovirology* 6:70, 2009.
- 20) Nakajima T, Nakayama EE, Kaur G, Terunuma H, Mimaya JI, Ohtani H, Mehra N, Shioda T, Kimura A. Impact of novel TRIM5alpha variants, Gly110Arg and G176del, on the anti-HIV-1 activity and the susceptibility to HIV-1 infection. *AIDS* 3(16):2091-100, 2009.
- 21) Likanonsakul S, Rattanatham T, Feangvad S, Uttayamakul S, Prasithsirikul W, Tunthanathip P, Nakayama EE, Shioda T. HLA-Cw\*04 allele associated with nevirapine-induced rash in HIV-infected Thai patients. *AIDS Research and Therapy* 6(1):22, 2009.
- 22) Onyango CO, Leligdowicz A, Yokoyama M, Sato H, Song H, Nakayama EE, Shioda T, Silva T, Townend J, Jaye A, Whittle H, Rowland-Jones S, Cotton M. HIV-2 Capsids Distinguish High and Low Virus Load Patients in a West African Community Cohort. *Vaccine* 2009. in press.
- 23) Nakayama EE, Shioda T. Anti-retroviral activity of TRIM5 (alpha). *Reviews in Medical Virology*. 2009. in press.
- 24) Maegawa H, Miyamoto T, Sakuragi J, Shioda T, Nakayama EE. Contribution of RING domain to retrovirus restriction by TRIM5  $\alpha$  depends on combination of host and Virus. *Virology* 2010. in press.
- 25) Lwembe R, Ichimura H, et al.: Anti retroviral drug resistance-associated mutations among non-subtype B HIV-1 infected Kenyan children with treatment failure. *J Med Virol* 79(7):865-72, 2007.
- 26) Koizumi Y, Ichimura H, et al.: *RANTES* -28G delays and *DC-SIGN* -139C enhances AIDS progression in HIV-1-infected Japanese hemophiliacs. *AIDS Res Hum Retroviruses* 23(5):713-9, 2007.
- 27) Ndembu N, Ichimura H, et al.: Molecular Characterization of HIV-1 and HIV-2 in Yaounde, Cameroon: Evidence of Major Drug Resistance Mutations in Newly Diagnosed non-B Infected Patients. *J Clin Microbiol*, 46(1):177-84, 2008.
- 28) Kageyama S, Ichimura H, et al.: HIV-2 amino acid substitutions in Gag and Env occurred simultaneously with viral load upsurge in a drug-naïve patient. *J Infect Chemother* 14(2): 151-155, 2008.
- 29) Yamada R, Ichimura H, et al.: Human papillomavirus infection and cervical abnormality in Nairobi, Kenya, an area with high prevalence of human immunodeficiency virus infection. *J Med Virol* 80(5):847-55, 2008.
- 30) Kiptoo M, Ichimura H, et al.: Prevalence of nevirapine-associated resistance mutations after single dose prophylactic treatment among antenatal clinic attendees in North Rift Kenya. *AIDS Res Hum Retroviruses* 24(12): 1555-1559, 2008.
- 31) Khamadi SA, Ichimura H, et al.: HIV type 1 genetic diversity in Moyale, Mandera, and Turkana based on env-C2-V3 sequences. *AIDS Res Hum Retroviruses* 24(12): 1561-1564, 2008.
- 32) Lwembe R, Ichimura H, et al.: Changes in the HIV-1 envelope gene from



- non-subtype B HIV-1-infected children in Kenya. *AIDS Res Hum Retroviruses* 25(2):141-147, 2009.
- 33) Ishizaki A, Ichimura H, et al. : Profile of HIV-1 infection and genotypic resistance mutations to antiretroviral drugs in treatment-naïve HIV-1-infected individuals in Hai Phong, Viet Nam. *AIDS Res Hum Retroviruses* 25(2):175-182, 2009.
- 34) Miyashita M, Ichimura H, et al. : High-risk HPV types for uterine abnormal cervixes of female commercial sex workers in the Philippines. *J Med Virol* 81(3):545-551, 2009.
- 35) Hosaka N, Ichimura H, et al. : Rapid Detection of Human Immunodeficiency Virus Type 1 group M by a Reverse Transcription-Loop-Mediated Isothermal Amplification Assay. *J Virol Methods* 157(2):195-199, 2009.
- 36) Mwangi J, Ichimura H, et al. : Molecular Genetic Diversity of Hepatitis B Virus in Kenya. *Intervirology* 51(6):417-421, 2009.
- 37) Kageyama S, Ichimura H, et al. : Tracking the entry routes of hepatitis C virus as a surrogate of HIV in an HIV-low prevalence country, the Philippines. *J Med Virol* 81(7):1157-62, 2009.
- 38) Lihana RW, Ichimura H, et al. : HIV-1 subtype diversity and drug resistance among HIV-1-infected Kenyan patients initiating antiretroviral therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 25(12):1211-1217, 2009.
- 39) Agdamag DM, Ichimura H, et al. : Prediction of Response to Pegylated Interferon Treatment of Chronic Hepatitis B in the Philippines. *J Med Virol* 82(2): 213-219, 2010.
- 40) Phan TTC, Ichimura H, et al. : Characterization of HIV-1 Genotypes and Drug Resistance Mutations among Drug-Naïve HIV-1-Infected Patients in Northern Vietnam. *AIDS Res Hum Retroviruses* (in press).
- 41) Tanimoto T, Ichimura H, et al. : Multiple routes of hepatitis C virus transmission among injection drug users in Hai Phong, Northern Vietnam. *J Med Virol* (in press).
- 42) Shibata J, Yoshimura K, Honda A, Koito A, Murakami T & Matsushita S. : Impact of V2 mutations for escape from a potent neutralizing anti-V3 monoclonal antibody during in vitro selection of a primary HIV-1 isolate. *J. Virol* 81:3757-3768, 2007
- 43) Gatanaga H, Hayashida T, Tsuchiya K, Yoshino M, Kuwahara T, Tsukada H, Fujimoto K, Sato I, Ueda M, Horiba M, Hamaguchi M, Yamamoto M, Takata N, Kimura A, Koike T, Gejyo F, Matsushita M, Shirasaka T, Kimura S, Oka S. : Successful efavirenz dose reduction in HIV-1-infected individuals with cytochrome P450 2B6\*6 and \*26. *Clinical Infectious Diseases.*, 45: 1230-1237, 2007.
- 44) 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., Morikawa, Y., and Yamamoto, N. SOCS1 is an inducible host factor during HIV-1 infection the

- intracellular trafficking and stability of HIV-1 Gag. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 105:294-299, 2008.
- 45) Ikeda, T., Ohsugi, T., Kimura, T., Matsushita, S., Maeda, Y., Harada, S., Koito, A. The anti-retroviral potency of APOBEC1 deaminase from small animal species. *Nucleic Acids Research*, 36(21): 6859-6871, 2008.
- 46) Yamada, Y., Ochiai, C., Yoshimura, K., Tanaka, T., Ohashi, N., Narumi T., Nomura, W., Harada, S., Matsushita, S., Tamamura, H. CD4 mimics targeting the mechanism of HIV entry. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 20: 354-358, 2010.
- 47) Makiko Hatada, Kazuhisa Yoshimura, Shigeyoshi Harada, Yoko Kawanami, Junji Shibata and Shuzo Matsushita : HIV-1 evasion of a neutralizing anti-V3 antibody involves acquisition of a potential glycosylation site in V2. *J. Gen. Virol.* 2010 (in press)
- 48) Hoshino, S., Sun, B., Konishi, M., Shimura, M., Segawa, T. Hagiwara, Y., Koyanagi, Y., Iwamoto, A., Mimaya, J., Terunuma, H., Kano, S., and Ishizaka, Y. Vpr in plasma of HIV-1-positive patients is correlated with the HIV-1 RNA titers. *AIDS Research and Human Retroviruses* 23:391-397, 2007.
- 49) Komuro, I., Sunazuka, T., Akagawa, K. S., Yokota, Y., Iwamoto, A., and Omura, S. Erythromycin derivatives inhibit HIV-1 replication in macrophages through modulation of MAPK activity to induce small isoforms of C/EBPbeta. *Proc. Natl. Acad. USA.* 105: 12509-12514, 2008.
- 50) Hou, W, Aoki, C, Yu, L, Wen, X, Xue, Y, Gao, B, Liu, W, Gao, GF, Iwamoto, A, and Kitamura, Y. A recombinant replication-competent hepatitis C virus expressing Azami-Green, a bright green-emitting fluorescent protein, suitable for visualization of infected cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 377: 7-11, 2008.
- 51) Zong, L., Chen, Y., Peng, H., Gao, F., Iwamoto, A., and Gao, GF. Rhesus macaque: a tight homodimeric CD8alpha/alpha. *Proteins: Structure, Function and Bioinformatics* 75: 241-244, 2009.
- 52) Kondo, N., Ebihara, A., Ru, H., Kuramitsu, S., Iwamoto, A., Rao, Z., and Matsuda, Z. Thermus thermophilus-derived protein tags that aid in preparation of insoluble viral proteins. *Anal Biochem*, 385: 278-285, 2009.
- 53) Mizukoshi, F., Yamamoto, T., Mitsuki, Y., Terahara, K., Kawana-Tachikawa, A., Kobayashi, K., Iwamoto, A., Morikawa, Y. Tsunetsugu-Yokota, Y. Activation of HIV-1 Gag-specific CD8+ T cells by yeast-derived VLP-pulsed dendritic cells is influenced by the level of mannose on the VLP antigen. *Microbes and Infection* 11: 191-197, 2009.
- 54) Miyazaki, E., Kawana-Tachikawa, A., Tomizawa, M., Nunoya, J., Odawara, T., Fujii, T., Shi, Y., Gao, G.F., and Iwamoto, A. Highly restricted TCR repertoire in the CD8-positive T cell response against an HIV-1 epitope with a stereotypic amino acid substitution. *AIDS* 23:651-660, 2009.
- 55) Nunoya, J., Nakashima, T.,

- Kawana-Tachikawa, A., Kiyotani, K., Ito, Y., Sugimura, K., and Iwamoto, A. Generation of recombinant monoclonal antibodies against an immunodominant HLA-A\*2402-restricted HIV-1 CTL epitope. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 25:897-904, 2009.
- 56) Wang, J., Kondo, N., Long, Y., Iwamoto, A., and Matsuda, Z. Monitoring of HIV-1 envelope-mediated membrane fusion using modified split green fluorescent proteins. *J. Virol. Methods*. 161:216-222, 2009.
- 57) Koga, M., Kawana-Tachikawa, A., Heckerman, D., Odawara, T., Nakamura, H., Koibuchi, T., Fujii, T., Miura, T., and Iwamoto, A. Transition of impact of HLA class I allele expression on HIV-1 plasma virus loads at a population level over time. *Microbiol. Immunol.* 2010. in press
- 58) Zhu, D., Kawana-Tachikawa, A., Iwamoto, A., and Kitamura, Y. Influence of polymorphism in dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin-related (DC-SIGNR) gene on HIV-1 trans-infection. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010. in press.
- 59) Kondo, N., Miyauchi, K., Meng, F., Iwamoto, A. and Matsuda, Z. Conformational changes of the HIV-1 envelope protein during membrane fusion were inhibited by the replacement of its membrane-spanning domain. *J. Biol. Chem.*, 2010. in press
- 年度のみ記載した。
- 1) Tatsuo Shioda A single amino acid of the human immunodeficiency virus type 2 capsid affects its replication in the presence of TRIM5 $\alpha$ . The 21<sup>st</sup> Retroviral Pathogenesis Workshop 2009年9月14日 Il Ciocco Hotel and Resort (イタリア)
- 2) 中山英美、前川彦一郎、宮本直、塩田達雄 HIV感染抑制因子 TRIM5 $\alpha$ の感染抑制機構の解析 第57回日本ウイルス学会学術集会 2009年10月25日 都市センターホテル (東京都)
- 3) 河野健、塩田達雄、中山英美 旧世界ザル抗HIV因子 TRIM5 $\alpha$ の種決定領域の解析 第57回日本ウイルス学会学術集会 2009年10月26日 都市センターホテル (東京都)
- 4) 黒石歩、齊藤暁、塩田達雄、野間口雅子、足立昭夫、明里宏文、中山英美 サル指向性 HIV-1 のサル細胞でのウイルス増殖におけるカプシド $\alpha$ -ヘリックス6-7間のループの重要性 第57回日本ウイルス学会学術集会 2009年10月26日 都市センターホテル (東京都)
- 5) 宮本直、塩田達雄、中山英美 HIV-2カプシドの1アミノ酸変異がもたらすウイルス増殖への影響 第57回日本ウイルス学会学術集会 2009年10月26日 都市センターホテル (東京都)
- 6) 櫻木淳一、大石真久、中野隆史、櫻木小百合、佐野浩一、塩田達雄 HIV-1ゲノム二量体化と粒子成熟ステップの相関 第57回日本ウイルス学会学術集会 2009年10月27日 都市センターホテル(東京都)
- 7) 櫻木淳一、大石真久、中野隆史、櫻木小百合、佐野浩一、塩田達雄 HIV-1ゲノム二量体化と粒子成熟ステップの相関 第23回日本エイズ学会学術集会・総会 200

## 2. 学会発表

平成19, 20年度の学会発表を省略し、平成21

- 9年11月26日 名古屋国際会議場(愛知県)
- 8) 黒石 歩、齊藤 暁、新開泰宏、塩田達雄、野間口雅子、足立昭夫、明里宏文、中山英美 サル指向性 HIV-1 のサル細胞でのウイルス増殖におけるカプシド $\alpha$ -ヘリックス6-7 間のループの重要性 第23回日本エイズ学会学術集会・総会 2009年11月26日 名古屋国際会議場(愛知県)
  - 9) 中山英美、前川彦一郎、宮本 直、塩田達雄 HIV 感染抑制因子 TRIM5 $\alpha$  の感染抑制機構の解析 第23回日本エイズ学会学術集会・総会 2009年11月28日 名古屋国際会議場(愛知県)
  - 10) 宮本 直、塩田達雄、中山英美 HIV-2 カプシドの1 アミノ酸変異がもたらすウイルス増殖への影響 第23回日本エイズ学会学術集会・総会 2009年11月28日 名古屋国際会議場(愛知県)
  - 11) HIV-1 subtype diversity and drug resistance among HIV-1-infected Kenyan patients initiating antiretroviral therapy. Lihana R, 市村宏、他. 第23回日本エイズ学会学術集会. 2009. 11, 名古屋.
  - 12) Genotypic resistance mutations to antiretrovirals among treatment-naïve HIV-1-infected individuals in Northern Vietman. Pham TTC, 市村 宏、他. 第23回日本エイズ学会学術集会. 2009. 11, 名古屋.
  - 13) Non-B Subtype HIV-1 Drug Resistance-associated Mutations among Vertically-infected Kenyan Children on ART. Ichimura H. et al., 5th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention 19-22 July 2009, Cape Town, South Africa.
  - 14) 松下修三: HIV-1 に対する中和単クローン抗体の治療応用に向けた基礎研究. 第9回日本蛋白質化学学会 2009. 5. 20-22. 熊本.
  - 15) 畑田万紀子、吉村和久、原田恵嘉、松下修三: 抗 HIV-1V3 抗体からの逃避過程で挿入される V2 領域の糖鎖が保存されるメカニズム-HIV-1 の進化における耐性度と増殖能のバランスに関する考察- 第57回日本ウイルス学会学術集会. 2009. 10. 25-27 東京.
  - 16) 松下修三: エンベロープの進化と中和抗体. シンポジウム HIV 細胞侵入とその防御機構. 第23回日本エイズ学会学術集会・総会. 2009. 11. 26-28 名古屋.
  - 17) 吉村和久: ケモカインレセプター阻害剤の臨床的研究-臨床分離株を用いたマラビロック耐性誘導-. 第23回日本エイズ学会学術集会・総会. 2009. 11. 26-28 名古屋.
  - 18) 原田 恵嘉, 吉村和久, 松下修三: 最近分離した7種の臨床 HIV-1 株を用いた in vitro ラルテグラビル耐性ウイルス誘導. 第23回日本エイズ学会学術集会・総会. 2009. 11. 26-28 名古屋.
  - 19) 石川哲也, 畑田万紀子, 原田 恵嘉, 吉村和久, 松下修三: 実験室 HIV-1 R5 株を用いた in vitro CCR5 阻害薬 (maraviroc) 耐性ウイルス誘導の試み第23回日本エイズ学会学術集会・総会. 2009. 11. 26-28 名古屋.
  - 20) Matsushita S, Narahara C, Morizono M, Nishida Y, Honda -Shibata A, Harada S., Yoshimura, K.,.: Polyclonal antibody response against gp120 including antibodies to V3, CD4bs and CD4i epitopes account or broad neutralization. 5th Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. 2009. 7. 19-22, Cape Town, South Africa.

- 21) Harada S, Yoshimura K., and Matsushita S.: Generation of an integrase inhibitor raltegravir resistant variants using recent primary isolates, X4, R5 and dual/mix HIV-1. 10th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium. 2009.9.28-29, Kumamoto
- 22) Yoshimura K., Harada S, Hatada M. and Matsushita S.: In vitro induction of HIV-1 resistant to a CCR5 antagonist maraviroc. 10th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium. 2009.9.28-29, Kumamoto
- 23) Ishikawa T., Yoshimura K., Hatada M. Harada S, and Matsushita S.: Mutations in gp120 of R5 HIV-1 laboratory isolate induced by the in vitro selection of maraviroc confer highly sensitive to anti-V3 monoclonal antibody. 10th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium. 2009.9.28-29, Kumamoto
- 24) Hatada M. Yoshimura K., Harada S, and Matsushita S.: Mechanism of maintaining a glycan-insertion in HIV-1 gp120 V2 region under pressure of a potent neutralizing antibody in vitro. 10th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium. 2009.9.28-29, Kumamoto.
- 25) Matsushita S. Narahara C, Nishida Y, Honda A., Harada S., Yoshimura K.: Mechanism of maintaining a glycan-insertion in HIV-1 gp120 V2 region under pressure of a potent neutralizing antibody in vitro. 10th Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium. 2009.9.28-29, Kumamoto.
- 26) Yoshimura K, Matsushita S: In vitro induction of HIV-1 resistant to a CCR5. Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium- Satellite Symposium. 2009.9.30, Aso, Kumamoto.
- 27) Matsushita S: Accumulation of multiple functional mutations in HIV-1 gp120 is involved in the development of neutralization escape under pressure of neutralizing antibody in vitro. Kumamoto AIDS Seminar GCOE Joint International Symposium- Satellite Symposium, 2009.9.30, Aso, Kumamoto.
- 28) Narahara C, Hatada M, Harada S., Yoshimura K., Matsushita S.: A primary R5 isolate undergoes different escape pathway during in vitro selection with low or high concentration of an anti-V3 monoclonal antibody. AIDS Vaccine 2009, 2009.10.19-22, Paris.
- 29) Koga, M., Kawana-Tachikawa, A., Heckerman, D., Odawara, T., Nakamura, H., Koibuchi, T., Fujii, T., Miura, T., and Iwamoto, A. The impacts of HLA class I alleles on HIV-1 plasma viral loads in a unique population with a narrow spectrum of HLA, and their changes at the population level over time. 5<sup>th</sup> IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. July 19-22, 2009. Cape Town, South Africa.
- 30) Kawana-Tachikawa, A., Nakayama, K., Odawara, T., Fujii, T., and Iwamoto, A. Importance of Gag-specific cellular immunity to control HIV in Japanese population. 5<sup>th</sup> IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention.

July 19-22, 2009. Cape Town, South  
Africa.

1. 特許取得  
なし

2. 実用新案登録

H. 知的所有権の出願・登録状況

なし



## HIV 感染症の病態進行を左右する宿主因子の探索

研究分担者 塩田 達雄 (大阪大学微生物病研究所教授)

### 研究要旨

HIV感染症に関わる宿主因子について検討し、以下の知見を得た。

(1) 日本人HIV-1感染者のうち未治療でも病態進行が著しく緩慢な感染者群と標準的な進行経過を示した感染者群の238,306カ所の一塩基多型を検討した。そして両群間で $P=0.01$ 以下の有意差を示した多型のうち、タンパク質のアミノ酸の置換を伴うものあるいはアミノ酸の置換を伴うものと強い連鎖不平衡にあるものについて、独立した感染者群でも同様の傾向が認められるか否かの検討を行った。その結果、リンフォトキシン $\alpha$ の13番目のアルギニンをシステインに置換する多型が有意に病態進行の遅延と関連していた。

(2) タイにおいて抗レトロウイルス剤Nevirapineを含む3剤併用療法を開始したHIV-1感染者の中で、Nevirapineによる薬疹のためNevirapine投与を中断した39名と、薬疹を起こさず投与を継続できた60名のHLA-Cの遺伝子型を決定したところ、HLA-Cw\*04が薬疹発症と強く関連していることが明らかになった( $P=0.009$ )。

(3) タイにおいて3剤併用療法を開始後リポアτροφイーあるいはリポディストロフィーを発症した270名のHIV-1感染者と性別、初回治療時の処方ならびに観察期間を一致させた270名の未発症者のFas-670の遺伝子多型を検討したところ、Aアリルの頻度( $P=0.0168$ )およびAAのホモ接合者の数( $P=0.0119$ )は発症者で有意に多く、Fas遺伝子の多型がリポアτροφイーあるいはリポディストロフィー発症に関わることが示唆された。

### A. 研究目的

エイズの病態ならびに進行速度は感染者ごとに大きく異なり、感染後急激にCD4陽性細胞数の減少をみる感染者から10年以上発症しない感染者まで様々である。また、HIV-1感染感受性自体にも個人差が存在する。本研究は、多数のHIV-1感染者および非感染者について、HIV-1の生活環に関わる様々な宿主因子の遺伝的多

型を検討し、病態進行やHIV-1感染感受性の違いを決定する宿主側の因子を明らかにすることを目的とする。また抗HIV薬の有効性や副作用の個人差を決定する宿主因子の同定も重要な課題である。以下の3点を具体的な研究目的とした。

(1) Affymetrix社のSNPアレイを用い、日本人HIV-1感染者のうち未治療でも病態進行が著しく緩慢な感染者群と標準的な進行経過を示した感

染者群の 238,306 カ所の一塩基多型の頻度を比較検討し、HIV-1 感染症に関わる新たな宿主遺伝子多型を見出すことを目的とした。

(2) 抗レトロウイルス剤 Nevirapine は強力な逆転写酵素阻害剤であるが、薬疹や肝機能障害等の薬物過敏症を副作用として引き起こす。Nevirapine を含む 3 剤併用療法が広く普及しているタイにおいて、感染者の HLA-C の遺伝子型が Nevirapine による薬疹発症に影響するか否かを明らかにすることを目的とした。

(3) 抗レトロウイルス剤の副作用の一つであるリポアτροφイーあるいはリポディストロフィー発症に関わる因子を明らかにすることを目的とした。

## B. 研究方法

(1) 日本人 HIV-1 感染者の中で、未治療でも病態進行が著しく緩慢な感染者 30 名と標準的な進行経過を示した感染者 28 名について、Affymetrix 社の SNP アレイ GeneChip Human Mapping 250K Sty Array を用いて 238,306 カ所の一塩基多型を検討した。そして両群間で  $P=0.002$  以下の有意差を示した多型のうち、タンパク質のアミノ酸の置換を伴うものあるいはアミノ酸の置換を伴うものと強い連鎖不平衡にあるものについて、独立した感染者群(未治療で CD4 陽性細胞数が  $500$  個/ $\mu\text{l}$  を超える感染者 27 名と 100 個未満の感染者 52 名でも同様の傾向が認められるか否かの検討を Real time PCR を用いた TaqMan 法を行った。

(2) タイにおいて Nevirapine を含む 3 剤併用療法を開始した HIV-1 感染者の中で、Nevirapine による薬疹のため Nevirapine 投与の中断を余儀なくされた 39 名と、薬疹を起こさず投与を継続できた感染者のうち中断した 39 名と性別、年齢、治療歴の

一致する 60 名の HLA-C の遺伝子型を、ワクナガ MPH-2 HLA タイピング試薬 HLA-C を用いて決定した。

(3) タイにおいて 3 剤の抗レトロウイルス剤併用療法を開始した HIV-1 感染者 800 名を retrospective に追跡し、リポアτροφイーあるいはリポディストロフィー発症の有無を調査した。Fas-670 の遺伝子多型は、制限酵素切断断片の電気泳動パターンが多型を解析することにより、決定した。

(倫理面への配慮)

HIV-1 感染者ならびに非感染者の検体を使用するにあたって、検体の提供者には遺伝子解析を行うことを含めて十分に説明を行い、書面による同意を得られた場合のみを解析の対象とし、検体は匿名化して個人情報特定できないようにして扱った。HIV-1 感染者の遺伝子解析は平成 13 年に大阪大学研究倫理審査委員会の承認を得た。

## C. 研究結果

(1) 緩慢な進行経過を示した感染者 30 名と標準的な進行経過を示した感染者 28 名について、Affymetrix 社の SNP アレイを用いて 238,306 カ所の一塩基多型を検討した。その結果、平均 99.22% の一塩基多型について遺伝子型が決定でき、45,825 カ所の一塩基多型については、多型を認めなかったため、192,481 箇所の一塩基多型について 2 群間で比較を行った。そして  $P=0.002$  以下の有意差で両群間での違いを認めた 180 カ所について、タンパク質のアミノ酸の置換を伴うものあるいはアミノ酸の置換を伴うものと強い連鎖不平衡にあるものを検索したところ、10 カ所の一塩基多型が残り、これら 10 カ所について独立した感染

者群で再検討を行った。その結果、リンフトキシン $\alpha$ の13番目のアルギニンをシステインに置換する多型が、SNPアレイを行った感染者群(P=0.0016)と同様に、独立した感染者群においても有意に病態進行の遅延と関連していた(P=0.026)。

(2) タイにおいてNevirapineを含む3剤併用療法を開始したHIV-1感染者の中で、Nevirapineによる薬疹のためNevirapine投与の中断を余儀なくされた39名と、薬疹を起こさず投与を継続できた感染者のうち中断した39名と性別、年齢、治療歴の一致する60名のHLA-Cの遺伝子型を決定した。その結果、薬疹のためNevirapine投与の中断を余儀なくされた39名では、Cw\*01は12(頻度0.154)、Cw\*03は4(0.052)、Cw\*04は16(0.201)、Cw\*05は2(0.026)、Cw\*06は8(0.103)、Cw\*07は19(0.244)、Cw\*08は9(0.115)、Cw\*12は6(0.077)、Cw\*15は2(0.026)認められ、Cw\*02、Cw\*09、Cw\*10、Cw\*11、Cw\*13およびCw\*14は認められなかった。一方、薬疹を起こさず投与を継続できた60名では、Cw\*01は12(0.100)、Cw\*03は20(0.167)、Cw\*04は9(0.075)、Cw\*05は3(0.025)、Cw\*06は9(0.075)、Cw\*07は39(0.350)、Cw\*08は15(0.125)、Cw\*12は8(0.067)、Cw\*14は3(0.025)、Cw\*15は2(0.017)認められ、薬疹群と同様、Cw\*02、Cw\*09、Cw\*10、Cw\*11およびCw\*13は認められなかった。薬疹群と対照群を比較すると、Cw\*03は薬疹群で少なく(薬疹群0.051、対照群0.167、P=0.01)、Cw\*04は薬疹群で有意に多かった(薬疹群0.205、対照群0.075、P=0.009)。

(3) タイにおいて非核酸系逆転写酵素阻害剤nevirapineあるいはeffavirenzを中心とした3剤の

抗レトロウイルス剤併用療法を開始した HIV-1 感染者 800 名を retrospective に追跡し、リポアτροφイーあるいはリポディストロフィー発症の有無を調査した。治療開始後平均 4.8 年の観察期間中、270 名がリポアτροφイーあるいはリポディストロフィーを発症し、発症者は発症まで治療開始後平均 3.0 年を要していた。また 100 person-year あたりの発症頻度は 6.86 回であった。

リポアτροφイーあるいはリポディストロフィー発症を end point とした種々の因子の影響を Kaplan-Meyer 法で検討したところ、女性は男性に比してリポアτροφイーあるいはリポディストロフィーを発症しやすく(P<0.0001)、また初回治療時に核酸系逆転写酵素阻害剤 D4T を含む処方を受けた感染者は、D4T を含まない処方を受けた感染者と比して発症しやすい(P<0.0012)ことが明らかになった。一方、感染者の年齢、治療開始時の C4 陽性 T 細胞数、ならびにステロイド剤使用歴の有無は、リポアτροφイーあるいはリポディストロフィー発症には影響しなかった。欧米でも女性や D4T の使用はリポアτροφイーあるいはリポディストロフィー発症頻度を増やすことが報告されており、タイにおいても同様であることが確認された。Cox のハザードモデルにより計算される相対危険度(Hazard ratio)は、女性においては 1.66、初回治療時に D4T を含む処方を受けた感染者においては 1.73 であり、それぞれで補正しても相対危険度は変化せず、性別と D4T は全く独立にリポアτροφイーあるいはリポディストロフィー発症に影響することが確認された。

270 名の発症者と性別、初回治療時の処方ならびに観察期間を一致させた 270 名の未発症者の Fas -670 の遺伝子多型を検討したところ、A アリル

の頻度は、発症者においては 0.48、未発症者においては0.40であり、危険率0.0168を持って発症者で多かった。また、AA のホモ接合者の数は発症者では70名、未発症者では46名であり危険率0.0119を持って発症者で多かった。従って Fas 遺伝子の多型がリポアトロフィーあるいはリポディストロフィー発症に関わることが示唆された。

#### D. 考察

(1) 網羅的手法により、リンフォトキシン $\alpha$ の13番目のアルギニンをシステインに置換する多型が、日本人HIV-1感染者において有意に病態進行の遅延と相関することが明らかになった。リンフォトキシン $\alpha$ はHIV-1のLTRからの転写を増強する作用が報告されており、この多型は、リンフォトキシン $\alpha$ の発現量に影響する可能性がまず考えられる。しかしリンフォトキシン $\alpha$ 遺伝子の存在する染色体6番の領域には多数の遺伝子が存在しており、HIV-1感染症の病態進行の個人差と真に相関する他の遺伝子上の多型との間の連鎖不平衡を観察している可能性もある。現在、リンフォトキシン $\alpha$ その他の遺伝子を含む広い領域でこの一塩基多型と連なる連鎖不平衡の広がり具合を検討している。

(2) タイにおいてNevirapineを含む3剤併用療法を開始したHIV-1感染者の中で、Nevirapineによる薬疹を起こした39名と薬疹を起こさなかった60名のHLA-Cの遺伝子型を決定したところ、HLA-Cw\*04が薬疹発症と強く相関していることが明らかになった( $P=0.009$ )。この結果は、今後、タイにおける薬疹発症予防に貢献できる可能性がある。

特定のHLAと相関する薬疹は、原因薬剤あるいは

はその代謝産物とそのHLAによって提示されるため、と考えられている。薬疹を含めたNevirapine過敏症のHIV-1感染者については、2006年にイタリア人HIV-1感染者でHLA-B\*08-Cw\*08との相関(Littera et al. AIDS, 20:1621-1626, 2006)、2007年には日本人HIV-1感染者でHLA Cw08との相関(Gatanaga et al. AIDS, 21:264-265, 2007)が報告されている。本研究では、薬疹群、対照群間でHLA-Cw\*08の頻度に差が無くこれらの報告の結果を確認できなかった。本研究ではNevirapine過敏症のうち明白に判定できる薬疹に焦点を絞って解析した点が上記の報告とは異なっている。従って本研究の結果は、薬疹と肝機能障害その他の過敏症症状の発症機序が異なることを示唆するのかも知れない。あるいは国により過敏症と相関するHLAが異なるとすると、薬疹の発症機序はNevirapineあるいはその代謝産物が当該HLAによって提示されるためではなく、Nevirapineによってプロセッシングが影響される環境中の何らかの因子が当該HLAによって提示されるためかも知れない。

(3) タイにおいて3剤の抗レトロウイルス剤の併用療法を開始したHIV-1感染者800名について、抗レトロウイルス剤の副作用であるリポアトロフィーあるいはリポディストロフィーの発症頻度を調査したところ、観察期間中に270名がリポアトロフィーあるいはリポディストロフィーを発症し、100 person-yearあたりの発症頻度は6.86回であった。この頻度はイタリアのLipoCoNaコホートにおける発症頻度7.1と同程度であり、抗レトロウイルス剤は人種を越えて同様にリポアトロフィーあるいはリポディストロフィーを引き起こすことが示唆された。

270名の発症者と270名の未発症者のFas -670の遺伝子多型を検討したところ、Aアレルの頻度およびAAのホモ接合者の数は発症者で有意に多く、Fas遺伝子の多型がリポアトロフィーあるいはリポディストロフィー発症に関わることが示唆された。Fasはアポトーシスを引き起こす遺伝子であり、もし、Fas -670の多型が細胞のアポトーシス感受性に直接影響するのなら、その効果は脂質代謝に関わる細胞種においてより顕著に認められるのかもしれない。

#### E. 結論

- (1) 網羅的手法により、日本人HIV-1感染者においてリンフォキシン $\alpha$ の13番目のアルギニンをシステインに置換する多型が、有意に病態進行の遅延と相関することが明らかになった。
- (2) タイにおいてNevirapineを含む3剤併用療法を開始したHIV-1感染者の中で、Nevirapineによる薬疹を起こした39名と薬疹を起こさなかった60名のHLA-Cの遺伝子型を決定したところ、HLA-Cw\*04が薬疹発症と強く相関していることが明らかになった。
- (3) タイにおいて3剤の抗レトロウイルス剤の併用療法を開始し、リポアトロフィーあるいはリポディストロフィーを発症した270名のHIV-1感染者と270名の未発症者のFas -670の遺伝子多型を検討したところ、Aアレルの頻度およびAAのホモ接合者の数ともに発症者群で有意に多く、Fas遺伝子の多型がリポアトロフィーあるいはリポディストロフィー発症に関わることが示唆された。

#### F. 健康危険情報

該当なし。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Song, H, Nakayama, EE, Likanonsakul, S, Wasi, C, Iwamoto A, and Shioda T. A three-base-deletion polymorphism in the upstream non-coding region of human interleukin 7 (IL-7) gene could enhance levels of IL-7 expression. *International Journal of Immunogenetics*. 2007;34:107-13.

Wichukchinda, N., Rojanawiwat, A., Kitamura, Y., Nakayama, EE., Pathipvanich, P., Auwanit, W., Sawanpanyalert, P., Iwamoto, A., Shioda, T. and Ariyoshi, K. The polymorphisms in *DC-SIGNR* affect the susceptibility to HIV-1 infection. *AIDS. Res. Hum. Retrovir.* 2007;23:686-92.

Lwembe, R., Ochieng, W., Panikulam, A., Mongoina, C., Palakudy, T., Koizumi, Y., Kageyama, S., Yamamoto, N., Shioda, T., Musoke, R., Owens, M., Songok, EM., Okoth,FA. And Ichimura, H. Anti-Retroviral Drug Resistance-Associated Mutations Among Non-subtype B HIV-1-Infected Kenyan Children With Treatment Failure. *J. Med. Virol.* 2007;79:865-72.

Ohishi, M., Shioda, T. and Sakuragi, J. Retro-transduction by virus pseudotyped with glycoprotein of vesicular stomatitis virus. *Virology*. 2007;362:131-8.

- Koizumi, Y., Kageyama, S., Fujiyama, Y., Miyashita, M., Lwembe, R., Ogino, K., Shioda, T. and Ichimura, H. RANTES -28G delays and DC-SIGN -139C enhances AIDS progression in HIV-1-infected Japanese hemophiliacs. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2007;23:713-9.
- Nakayama EE, Carpentier W, Costagliola D, Shioda T, Iwamoto A, Debre P, Yoshimura K, Autran B, Matsushita S, Theodorou I. Wild type and H43Y variant of human TRIM5alpha show similar anti-human immunodeficiency virus type 1 activity both in vivo and in vitro. *Immunogenetics*. 2007 ;59:511-5.
- Song H, Nakayama EE, Yokoyama M, Sato H, Levy JA, Shioda T. A single amino acid of the human immunodeficiency virus type 2 capsid affects its replication in the presence of cynomolgus monkey and human TRIM5alphas. *J Virol*. 2007;81:7280-5.
- Sakuragi J, Sakuragi S, Shioda T. Minimal region sufficient for genome dimerization in the human immunodeficiency virus type 1 virion and its potential roles in the early stages of viral replication. *J Virol*. 2007;81:7985-92.
- Koh Y, Matsumi S, Das D, Amano M, Davis DA, Li J, Leschenko S, Baldridge A, Shioda T, Yarchoan R, Ghosh AK, Mitsuya H. Potent inhibition of HIV-1 replication by novel non-peptidyl small molecule inhibitors of protease dimerization. *J Biol Chem*. 2007;282:28709-20.
- Liu H, Nakayama EE, Theodorou I, Nagai Y, Likanonsakul S, Wasi C, Debre P, Iwamoto A, Shioda T. Polymorphisms in CCR5 chemokine receptor gene in Japan. *Int J Immunogenet*. 2007;34:325-335.
- Louisirirothanakul S, Sutthent R, Wasi C, Chuenchitra T, Nitayaphan S, Brown AE, Polonis VR, Nakayama EE, Shioda T, Liu H, Takebe Y. Host Genetic Analysis of HIV-1 Subtype CRF01\_AE(E)-Infected Thai Patients with Different Rates of Disease Progression. *AIDS Research and Human Retroviruses*. 2007;23:1605-1607
- 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 SIV239 Mutant. *Journal of General Virology*. 2008;89:554-66.
- Hosoya N, Miura T, Kawana-Tachikawa A, Koibuchi T, Shioda T, Odawara T, Nakamura T, Kitamura Y, Kano M, Kato A, Hasegawa M,