

- 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.
- 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.
- Kono K, Song H, Shingai Y, Shioda T, Nakayama EE. Comparison of anti-viral activity of rhesus monkey and cynomolgus monkey TRIM5alpha against human immunodeficiency virus type 2 infection. *Virology*. 2008;373(2):447-56.
- 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.
- 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.
- 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*. 2009; 388(1):160-8.
- 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*. 2009; 6:70.
- 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*. 2009; 23(16);2091-100
- 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*. 2009;6(1);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

Nakayama EE, Shioda T. Anti-retroviral activity of TRIM5 (alpha). Reviews in Medical Virology. 2009. in press

Maegawa H, Miyamoto T, Sakuragi J, Shioda T, Nakayama EE. Contribution of RING domain to retrovirus restriction by TRIM5 α depends on combination of host and Virus. Virology 2010. in press

2. 学会発表
省略

H. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

1. 厚生労働科学研究費補助金（創薬基盤推進研究事業）
（総合）研究報告書

中和抗体によるエイズ発症阻止の研究

研究分担者 松下修三 熊本大学エイズ学研究センター 教授

研究要旨：

平成 19-21 年度の本研究班で、我々は HIV-1 エンベロープの立体構造を変化させて、中和抗体の感受性を増強させる化合物の検索を行った。その結果、分子量 350 前後の低分子化合物中(NBD compounds)に sCD4 に似た立体構造変化を引き起こす、NBD-556 を見いだした。そして、NBD-556 が治療用抗 HIV-1 抗体 KD-247 の抗ウイルス効果を著しく増強することを証明した。また、この低分子化合物が CD4 cavity に結合し gp120 の立体構造変化を誘起していることを in vitro 耐性誘導による耐性変異部位を比較することで証明した。また、KD-247 のみならず、我々の研究室で樹立した CD4i 抗体の中和活性も NBD-556 の添加により著しく増強することがわかった。興味深いことに、感染者から分離したウイルスに対する同時期の血清 IgG による中和が NBD-556 存在下では著しく増強されることが確認できた。このことは、既に存在している血清中の抗体の中和能を NBD のような低分子化合物により単独でも増強できる可能性を示唆しており、HIV 治療に新たな方向性を示しうる発見と言える。

A. 研究目的

In vivo に存在する HIV-1 に対する中和抗体の多くは、エンベロープに反応エピトープが保存されているにもかかわらず、中和能がほとんど見られない。これは、エンベロープが三量体を形成しその立体構造によりエピトープを遮蔽しているためと考えられている。この立体遮蔽を解除し中和抗体が中和エピトープに到達可能となれば、既に体内に存在する多くの抗体でウイルスを中和できるようになる。このような化合物を開発することは、ウイルスの中和抗体からの逃避メカニズムを知る上でも重要なツールになる。また、今後臨床使用が予定されている、治療用抗 HIV-1 抗体 KD-247 との併用薬剤としても有望となる。このように HIV-1 のエンベロープに立体構造変化を起こさせる低分子化合物を見つけ、それをリードコンパウンドとして、ウイルスがより中和抗体感受性となるような化合物を合成することで、新たな HIV 治療の方向性を見いだすことを目的としている。

B. 研究方法

東京医科歯科大学生体材料工学研究所機能分子部門分子認識分野の玉村啓和教授との共同研究で HIV-1 のエンベロープに立体構造変化を起こさせる低分子化合物およびその誘導体の合成を行い、抗ウイルス効果と抗体の反応性の変化を MTT

assay と FACS で解析した。PM1/CCR5 細胞に NBD-556 または sCD4 存在下で IIIB ウイルスを感染させ、NBD-556 は 50mM (21 passage)、sCD4 は 20mg/ml (5 passage) まで培養を続け、耐性ウイルスを誘導した。また、耐性変異アミノ酸を持った pseudovirus を作製し、NBD-556 と sCD4 に対する感受性を野生株のエンベロープを持つものと比較検討した。広範囲ウイルス中和抗体 KD-247(抗 V3 抗体)や当研究室で樹立した 4E9C (CD4i 抗体)を用いて、この抗体の中和感受性の増強効果を確認した。また、感染症例(Pt. 3)からウイルスと血清 IgG を分離精製し、中和実験に用いた。

(倫理面での配慮)

研究の倫理的妥当性は熊本大学医学部先進医療審査会、倫理委員会にて承認されている。

C. 研究結果

N-(4-Chlorophenyl)-*N'*-(2, 2, 6, 6-tetramethylpiperidin-4-yl)-oxalamide (NBD-556) は、HIV-1 のエンベロープに存在する CD4 結合部位に、CD4 と競合的に結合することで、ウイルスの侵入を阻害する侵入阻害剤として報告されているが、ウイルス感染阻害効果は従来のものに比べるとそれほど強くない (IC_{50} : 5-30mM)。ただし、今まで報告されたことのない程強い、CD4 結合時に見られるような gp120 立体構造変化誘導能を持つ

ことが、熱力学的変化の測定により確認されている (Schon A, *Biochemistry*, 45:10973-80, 2006)。このことは、FACS解析でNBD-556がsCD4と同様にCD4i抗体の結合を増強することで確認した。また、NBD-556が、gp120のどの部位と結合しているかを知るために、我々が新規に樹立したin vitro耐性誘導システムを用いて、この化合物に耐性のウイルスをとり、sCD4の耐性ウイルスとシーケンスを比較検討した。その結果、それぞれの耐性誘導で得られた変異部位を比較すると、NBD-556は50mM存在下でEnvのC3領域(S375N)とC4領域(A433T)に変異がみられた。一方、sCD4による耐性誘導では、経過中gp120に7つの変異が確認でき(F211G、P212L、V255E、N280K、S375N、G380R、G431E)、最終的に20mM存在下でV255E、G380R、G431Eの3つが残った。それぞれの変異部位をgp120の3次元結晶解析図上にプロットすると、NBD-556とsCD4の変異部位がそれぞれの結合部位を取り巻くように位置していることがわかった。このことは、この化合物がCD4結合サイト近辺に特異的に結合し、ウイルスの侵入を阻害し、かつ、立体構造変化を起こしていることを意味している。

一般的に、HIV感染症例においては、血中のウイルスに対する同時期の抗体には、ほとんど中和活性が見られないことが知られている。実際、今回使用した臨床分離ウイルスのHIV-1_{pt.3}も同時期の血清IgGが200 μ g/ml存在していても中和されなかった。しかし、NBD-556が1 μ Mでも存在すると、血清IgG 200 μ g/mlで50%近いウイルス感染の抑制が見られ、2 μ Mでは70%以上の抑制が認められた。NBD-556が4 μ M存在すれば、血清IgGが20 μ g/mlでも50%以上の抑制が見られるようになった。このことは、ウイルスと同時期に存在する血中の抗体は、中和エピトープが変異しているために中和できなくなっているのではなく、エンベロープの三量体構造の中にエピトープが隠されているためであることを示している。次に、同じウイルスを使って、広範囲ウイルス中和単クローン抗体KD-247(抗V3抗体)や当研究室で樹立した4E9C(CD4i抗体)を用いて、抗体の中和感受性のNBD-556による増強効果を調べた。その結果、NBD-556非存在下では、100 μ g/mlまで濃度を上げて全く中和しなかった両抗体が、NBD-556を5 μ M加えただけで、IC₅₀がそれぞれKD-247は10 μ g/ml、4E9Cは20 μ g/mlと中和するようになった。このように、CD4i抗体や抗V3抗体が血中に存在している場合、NBD-556のようなエ

ンベロープの立体構造変化を誘発するような化合物を加えるだけで、それまで中和抵抗性であったウイルスを感受性に変えることが可能となることが示された。

D. 考察

分子量350前後の低分子化合物中にsCD4に似た立体構造変化を引き起こすものが存在し、しかも抗V3中和抗体やCD4i抗体等の抗ウイルス効果を増強する機能を持つことを証明した。このような低分子化合物NBD-556は、in vitroの耐性誘導の結果、CD4の結合部位に近い場所に結合しており、そのためCD4結合時と非常に類似した構造変化をgp120に誘導することが確認できた。また、感染症例から分離したウイルスと血清IgGの中和実験から、実際の感染症例でもNBD-556が血中抗体の中和感受性を増強する可能性が期待できることが示唆された。このことは、このようなエンベロープに立体構造変化を誘導する化合物が侵入阻害剤だけでなく、既存の血中抗体の中和感受性を増強するのみならず、治療用の抗HIV抗体の増強をも可能性とすることを意味している。現在20以上のNBD誘導体を今回の結果をもとに合成している。今後、これらの中からより低濃度で、強力に中和抗体の感受性を増強し、細胞毒性も低いものを追求していく努力を続けていく。

E. 結論

低分子化合物NBD-556がgp120の立体構造を大きく変化させ、中和抗体の反応性を増強することを証明した。NBD-556存在下では血清IgGで同時期のウイルスを中和できるようになり、免疫増強作用を持つ低分子化合物として、新しい働きの抗HIV治療の道を開くものとして、今後期待が持てる。また、抗体だけでなく、その他の侵入阻害剤との組み合わせも今後検討していくことが必要となるであろう。

F. 健康危険情報:なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. 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
2. Nakayama E.E., 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 TRIM5 α show similar anti-human immunodeficiency virus type 1 activity both in vivo and in vitro. *Immunogenetics* 59:511-515, 2007.
3. 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.
 4. 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.
 5. 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.
 6. 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.
 7. 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)
2. 学会発表
(国内学会)
1. 松下修三、西田吉辰、柴田潤二、畑田万紀子、吉村和久、：長期非進行症例 (LTNP) における交叉中和のメカニズムの研究 I; 中和単クローン抗体の作成と解析. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2007. 11. 28-11. 30. 広島.
 2. 西田吉辰、柴田潤二、吉村和久、松下修三: 長期非進行症例 (LTNP) における交叉中和のメカニズムの研究 II; 中和単クローン抗体の subtype B panel に対する交差中和活性. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2007. 11. 28-11. 30. 広島.
 3. 畑田万紀子、吉村和久、柴田潤二、松下修三: 強力な抗 HIV-1 gp120-V3 抗体 KD-247 に対する HIV-1BaL の中和逃避のメカニズム解析. 第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2007. 11. 28-11. 30. 広島.
 4. 柴田潤二、吉村和久、松下修三: 中和抗体高度抵抗性ウイルスを感受性にする変異は gp120 三量体構造に影響を与える。第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2007. 11. 28-11. 30. 広島.
 5. 吉村和久、柴田潤二、畑田万紀子、山田裕子、増野弘幸、玉村啓和、松下修三: CD4 mimic small compound と anti-HIV monoclonal antibody のウイルス中和における相乗効果。第 21 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2007. 11. 28-11. 30. 広島.
 6. 吉村和久、原田恵嘉、畑田万紀子、増野弘幸、玉村啓和、松下修三: CD4 mimic small compound の in vitro 耐性誘導による結合部位の予測. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2008. 11. 26-11. 28. 大阪
 7. 畑田万紀子、吉村和久、石川哲也、原田恵嘉、松下修三: V2 領域の N-glycosylation site 挿入が抗 V3 中和抗体エスケープに及ぼす影響. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2008. 11. 26-11. 28. 大阪
 8. 檜原知里、吉村和久、畑田万紀子、原田恵嘉、松下修三: 中和抗体高感受性 R5 臨床分離株の抗 V3 抗体による in vitro 中和逃避ウイルス誘導. 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2008. 11. 26-11. 28. 大阪
 9. 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.
 10. 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.
 11. 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.
 12. 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.
 13. 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 回に本エイズ学会学術集会・総会。
2009. 11. 26-28 名古屋。

14. 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 回に本エイズ学会学術集会・総会。 2009. 11. 26-28 名古屋。

(国際学会)

1. Matsushita S., Ikeda, T, Shibata J., Honda A., Koito K, Yoshimura. Persistence of proviral DNA and the integration sites of HIV-1 in patients on prolonged and effective HAART. 4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. Sydney, Australia. June. 22-25, 2007.
2. Yoshimura, K., Shibata, J., Honda A., Tamamura, H., Matsushita S.: A potent neutralizing anti-V3 monoclonal antibody, KD-247 shows favorable synergism with other antiretrovirals, sCD4 and CD4 mimic small compound in vitro. 4th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. Sydney, Australia. June. 22-25, 2007.
3. Nishida, Y., Shibata, J., Kazuhisa, Y., and Matsushita, S.: Broad neutralization against the HIV-1 subtype B panel of reference strains by human monoclonal antibodies established from an HIV-1 infected long-term non-progressor. 8th AIDS Seminar in Kumamoto. Sep 13-14, 2007. Aso, Kumamoto.
4. Shibata J, Yoshimura K, Matsushita S. :The single mutation in V2 domain affects quaternary structure of trimer gp120 and dramatically increases the sensitivity of primary human immunodeficiency virus type 1 isolates to neutralizing antibodies. 8th AIDS Seminar in Kumamoto. Sep 13-14, 2007. Aso, Kumamoto.
5. Hatada, M., Yoshimura K, Shibata J, Matsushita S. HIV-1BaL mutants escaping neutralization from a potent neutralizing anti-V3 monoclonal antibody KD-247. 8th AIDS Seminar in Kumamoto. Sep 13-14, 2007. Aso, Kumamoto.
6. Yoshimura, K., Shibata, J., Honda A., Tamamura, H., Matsushita S.: A potent neutralizing anti-V3 monoclonal antibody, KD-247 shows favorable synergism with other antiretrovirals, sCD4 and CD4 mimic small compound in vitro. 8th AIDS Seminar in Kumamoto. Sep 13-14, 2007. Aso, Kumamoto.
7. Matsushita S. : Development of broadly reactive neutralizing monoclonal antibody KD-247: implications for passive immunotherapy. Tentative Program for the 3rd Japan-Germany HIV/AIDS Symposium. Nov. 26, 2007. Hiroshima.
8. Matsushita S., Nishida, Y., Shibata J., Honda A., Yoshimura, K: Broad cross-neutralization mediated by combination of anti-V3 and CD4 binding site antibodies in an HIV-1 infected patient with long-term non-progressive disease. 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic infections. Feb. 3-6, 2008, Boston, USA
9. Yoshimura, K, Shibata J., Honda, A., Yamada, Y., Masuno, H., Tamamura, H., Matsushita S.: In vitro induction of human immunodeficiency virus type 1 variants resistant to a low-molecular CD4 mimic compound, N-(4-Chlorophenyl)-N'-(2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-yl)-oxalamide (NBD-556). 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic infections. Feb. 3-6, 2008, Boston, USA.
10. Yoshimura, K, Hatada, M., Harada S., Shibata J., Masuno, H., Tamamura, H., Matsushita S.: In vitro induction of human immunodeficiency virus type 1 variants resistant to a low-molecular CD4 mimic compound. 9th Kumamoto AIDS Seminar. Sep. 18-19, 2008, Aso, Kumamoto.
11. Hatada, M., Yoshimura, K, Ishikawa T., Harada S., Matsushita S.: The impact of an N-linked glycosylation site insertion in HIV-1 gp120 region to escape from a potent neutralization anti-V3 monoclonal antibody. 9th Kumamoto AIDS Seminar. Sep. 18-19, 2008, Aso, Kumamoto.
12. Narahara C., Yoshimura, K, Hatada, M., Harada S., Matsushita S.: Different mutation in HIV-1 gp120 V3-tip region for escape from a potent neutralizing anti-V3 monoclonal antibody during in vitro selection with low or high concentration of the Mab. 9th Kumamoto AIDS Seminar. Sep. 18-19, 2008, Aso, Kumamoto.
13. Yoshimura, K, Harada S., Hatada, M., Matsushita S.: Mutations in V4 and C4 regions of the HIV-1 CRF-BC envelope induced by the in vitro selection of Maraviroc Confer cross-resistance to other CCR5 inhibitors. 16th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI 2009). 2009.2.8-11, Montreal, Canada.
14. 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 for broad neutralization. 5th Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. 2009.7.19-22, Cape Town, South Africa.
15. 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
16. 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
 17. 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
 18. 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.
 19. 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.
 20. 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.
 21. 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.
 22. 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.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）；
なし

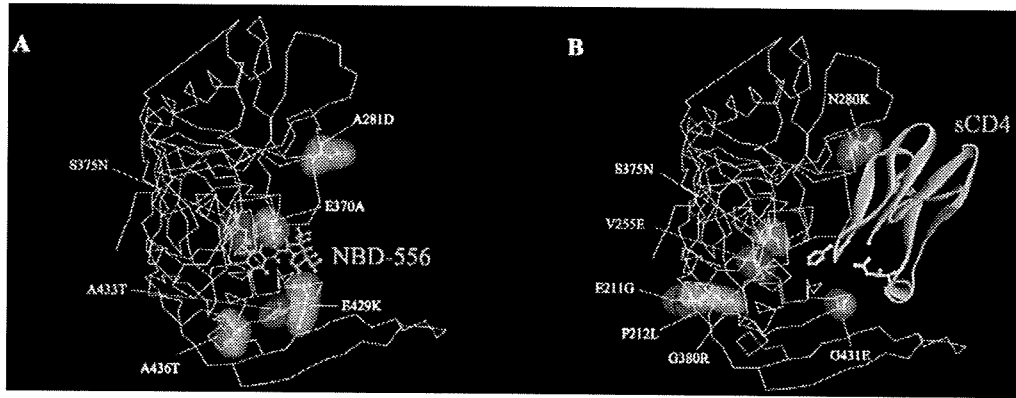


図-1 NBD-556(A)と sCD4(B)の耐性誘導の結果認められたアミノ酸変異部位。赤字は、最終的に dominant となった変異部位。両者とも CD4 cavity 内側に沿って変異部位が並んでいることがわかる。

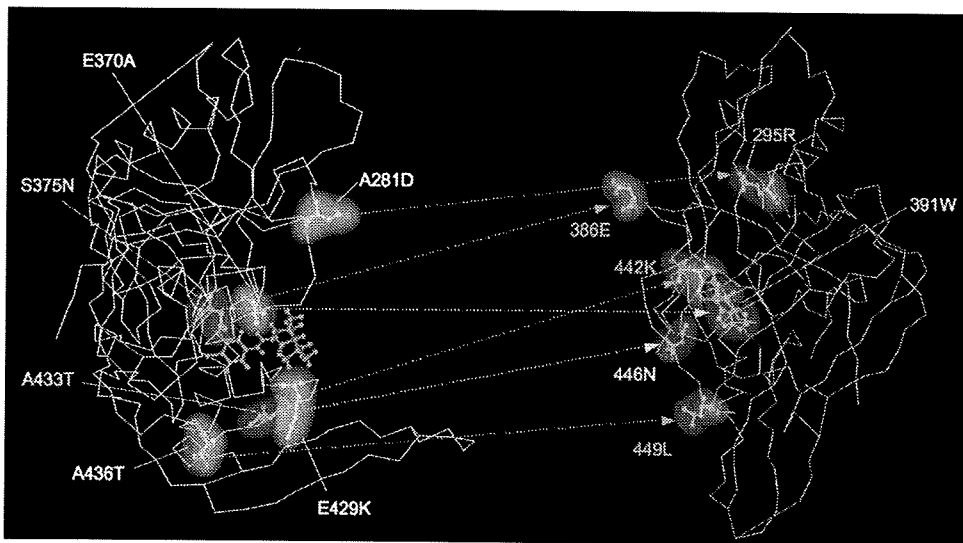


図-2 HIV-1 gp120 の NBD-556 耐性変異部位の、gp120-CD4 結合状態(左側)と非結合状態(右側、SIV の Core 構造を使用)時との比較。非結合状態の時は変異部位が CD4 結合部位のある側面に集中していることがわかる。

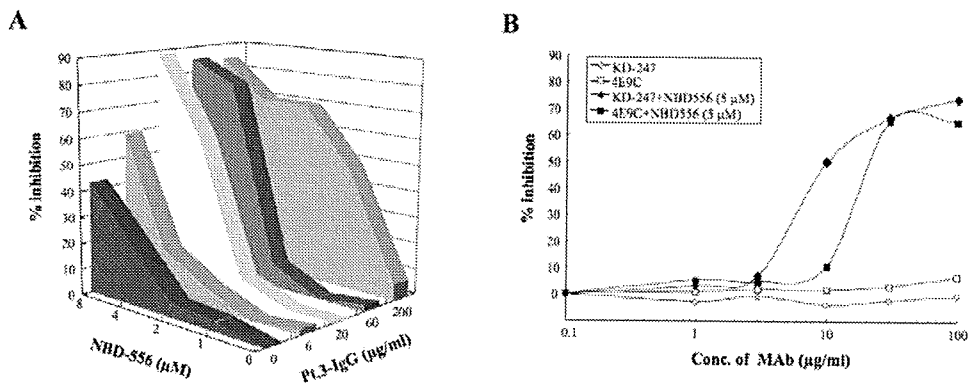


図-3 NBD-556 による中和活性増強効果。(A) 感染症例(Pt.3)から精製した血清 IgG が、同時期に同じ症例から分離したウイルス(HIV-1_{Pt.3})に対し、NBD-556を加えることで中和できるようになった。(B) KD-247(anti-V3 MAb)と 4E9C(CD4i MAb)は、NBD-556 を 5μM 加えることにより、臨床分離ウイルスを中和できるようになった。

厚生労働科学研究費補助金（創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）
（総合）研究報告書

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

研究分担者 市村 宏 金沢大学大学院医学系研究科・教授
研究協力者 R. ルエンベ、R. リハナ 同上 ・大学院生

研究要旨

分担研究者らは、ヒト免疫不全ウイルス (HIV) が蔓延しているサハラ砂漠以南アフリカの国の一つ、ケニアにおいて HIV 感染児を追跡調査している。本研究では、(1) 薬剤耐性 HIV-1 の母子感染と治療への影響、(2) サブタイプ B 以外の HIV-1 薬剤耐性変異の種類ならびにその出現パターン、(3) ART の小児エイズ発症過程への影響、(4) 小児エイズ発症に影響を及ぼす宿主因子、の解明を目的とした。ケニア国ナイロビ市で医療チームの管理のもとで長期間追跡調査している HIV 感染小児約 100 名を対象とした。(1) 母体の薬剤耐性 HIV が児に伝播し、児の初期 ART 失敗の要因となり得ること、(2) 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変異の出現パターンを取り得ること、(3) HIV 感染児では、ウイルスの CCR5 から CXCR4 へのコレセプター使用の変更に抗レトロウイルス療法ではなく、病態促進に関与する因子に影響を受けていること、また、エイズ長期未発症群（生後 10 年以上未治療・正常 CD4⁺T 細胞数、5 名）/遅発症群（生後 10 年間 ART 不要、36 名）の HIV では、早期発症群（生後 5 年以内に ART 開始、34 名）の HIV に比較し、*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、(4) エイズ長期未発症群/遅発症群では早期発症群に比較し、HLA クラス I の A74 と B72 が高率に認められること、などが明らかとなった。また、途上国用に HIV 感染の迅速核酸診断法を開発した。

A. 研究目的

途上国においても薬剤耐性 HIV が大きな問題となってきた。サブタイプ B 以外の HIV 母子感染児における薬剤耐性ウイルスの特徴が判明すれば、世界の小児エイズに対する予防・治療戦略上重要なデータとなる。本研究では、(1) 薬剤耐性 HIV-1 の母子感染と抗レトロウイルス療法 (ART) への影響、(2) サブタイプ B 以外の HIV-1 薬剤耐性変異の種類ならびにその出現パターン、(3) ART の小児エイズ発症過程への影響、(4) 小児エイズ発症に影響を及ぼす宿主因子、の解明を目的とした。

B. 研究方法

本研究の対象となる HIV 感染小児約 100 名は、ケニア国ナイロビ市で医療チームの管理のもとで生活している。定期的な血中ウイルス量や CD4⁺T リンパ球数などのデータとともに血漿検体が 2001 年より凍結保存されている。これらの経時的に採取された血漿中の HIV-1 遺伝子 (*pol*-RT, *env*-V3, *nef*) を RT-PCR で増幅し、直接またはクローニング後、塩基配列およびアミノ酸配列を決定した。それぞれ、ウイルスの薬剤耐性関連遺伝子変異の有無とその種類、予想されるコレセプター使用の CCR5 から CXCR4 への変化、*nef* 遺伝子の活性ドメインにおける変異を解析した。また、末梢血リンパ球からゲノム DNA を抽出し、SBT

(sequence based typing)法を用いて HLA 型を決定した。

倫理面への配慮

本研究はケニア国の医学研究に関する研究審査委員会および倫理審査委員会と金沢大学医学部の倫理委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

(1) 薬剤耐性 HIV の母子感染

児の初期抗レトロウイルス治療 (ART) 失敗 16 例中 4 例では ART 開始前から HIV が薬剤耐性を保有していたことから、HIV 感染母体の薬剤耐性 HIV が児に伝播し、児の初期 ART 失敗の要因となり得ることが明らかとなった(論文 12, 17, 論文投稿中)。

(2) 初期抗レトロウイルス治療と非 B サブタイプ HIV-1 の薬剤耐性変異の出現

初期 ART を行った児 80 例中 12 例 (15%) が治療開始 24 ヶ月以内に治療失敗を経験した。なお、上記の ART 開始前から薬剤耐性変異を有していた 4 例は除いた。これらの非 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が明らかとなった(論文 17, 論文投稿中)。

また、ART を受けるために来院した ART 未治療 (自称) HIV 感染者 (ケニア人) に多重薬剤耐性変異を持つウイルスが見つかり、ART 開始前の薬剤耐性検査の重要性が示唆された (論文 4)。

(3) 抗レトロウイルス治療と HIV-1 のコレセプタースイッチ

小児エイズ発症過程と治療の影響 HIV 感染児では、ウイルスの CCR5 から CXCR4 へのコレセプター使用の変更は抗レトロウイルス療法ではなく、病態促進に関与する因子に影響を受けていることが明らかとなった (論文 10)。

(4) エイズ発症に影響を及ぼす因子

エイズ長期未発症群 (生後 10 年以上未治療・正常 CD4⁺T 細胞数、5 名) / 遅発症群 (生後 10 年間 ART 不要、36 名) の HIV では、

早期発症群 (生後 5 年以内に ART 開始、34 名) の HIV に比較し、*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が明らかとなった(論文作成中)。また、エイズ長期未発症群/遅発症群では早期発症群に比較し、HLA クラス I の A74 が高率に認められること (P=0.036)、そしてエイズ長期未発症群/遅発症群では、早期/通常発症群に比較し B72 が高率に認められること (P<0.01) が明らかとなった(詳細は検討中)。

(5) その他

LAMP 法を用いて、途上国用に HIV 感染の迅速核酸診断法を開発した (論文 7)。

D. まとめ

非サブタイプ B 型 HIV-1 が主に流行しているケニアにおいて、小児エイズ発症ならびに ART に影響を及ぼす種々のウイルス側因子を明らかにした。これまでの HIV 感染児の追跡調査で見つかった、エイズ長期未発症群/遅発症群と早期発症群において、宿主側因子の検討を今後進めていく予定である。

E. 研究発表

1. 論文発表

(1) 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).

(2) 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).

(3) 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.

(4) 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.

(5) 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.

(6) Mwangi J, Ichimura H, et al.: Molecular Genetic Diversity of Hepatitis B Virus in Kenya. *Intervirology* 51(6):417-421, 2009.

(7) 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.

(8) 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.

(9) 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.

(10) 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.

(11) 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.

(12) 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.

(13) 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.

(14) 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.

(15) 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.

(16) 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.

(17) 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.

(18) 市村宏 : ヒト免疫不全ウイルス. 臨床と微生物 37(2), 2010 (発行予定).

(19) 市村宏 : HIV 検査. 小児科診療 71(1):131-136, 2008.

2. 学会発表

・ 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.

・ 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.

・ 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.

・ Non-B Subtype HIV-1 Drug-resistance Mutations among Vertically-infected Children on ART. リハナ RW、市村宏、他. 第 22 回日本エイズ学会学術集会. 2008. 11, 大阪.

・ *RANTES* -28G delays and *DC-SIGN* -139C enhances AIDS progression in HIV-1-infected Japanese hemophiliacs. H. Ichimura, et al. The 4th IAS conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. 2007. 7. Sydney.

・ Analysis of HIV-1 from 54 antiretroviral-naïve people in rural western Cameroon detected mutations conferring resistance to protease inhibitors to reverse transcriptase inhibitors (RTIs). N. Ndembu, Y. Koizumi, H. Ichimura, L. Kaptue. . The 4th IAS conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention. 2007. 7. Sydney.

・ ケニア・ナイロビの HIV 多発地域における HPV 感染と子宮頸部異常. 笹川寿之、市村宏. 第 55 回日本ウイルス学会学術集会. 2007. 10, 札幌.

・ Changes in the HIV-1 envelope gene from children in Kenya. R. Lwembe, H. Ichimura, et al. 第 21 回日本エイズ学会学術集会. 2007. 11, 広島.

・ 非 B サブタイプ HIV-1 の薬剤耐性遺伝子解析. 市村宏. 第 10 回白馬シンポジウム. 2008. 2. 金沢.

F. 知的財産権の出願・登録状況

特に予定なし。

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

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
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
Wichukchinda, N., Kitamura, Y., Rojanawiwat, A., Nakayama, E.E., Song, H., Pathipvanich, P., Auwanit, W., Sawanpanyalert, P., Iwamoto, A., Shioda, T., and Ariyoshi, K.	The polymorphisms in DC-SIGNR affect susceptibility to HIV-1 infection.	AIDS Research and Human Retroviruses	23	686-692	2007
Song, H., Nakayama, E.E., Likansakul, 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 J. Immuno-genetics	34	107-113	2007

Nakayama, E.E., Carpentier, W., Costagliola, D., Shioda, T., Iwamoto, A., Debre, P., Yoshimura, K., Autran, B., Matsushita, S., and Theodorou, I.	Wild type and H43Y variant of human TRIM5 α show similar anti-human immunodeficiency virus type 1 activity both in vivo and in vitro.	International J. Immuno-genetics	59	511-515	2007
Liu, H., Nakayama, E.E., Theodorou, I., Nagai, Y., Likanonsakul, S., Wasi, C., Debre, P. Iwamoto, A., and Shioda, T.	Polymorphisms in CCR5 chemokine receptor gene in Japan.	International J. Immuno-genetics	34	325-335	2007
Tomonari, A., Tsukada, N., Takahashi, S., Ooi, J., Konuma, T., Kobayashi, T., Fukuno, K., Takasugi, K., Fujii, T., Endo, T., Iwamoto, A., Oyaizu, N., Tojo, A., Asano, S.	Early-onset pulmonary complication showing organizing pneumonia pattern following cord blood transplantation in adults.	Interntl. J. Hematol.	85	364-366	2007
Hosoya, N., Miura, T., Kawana-Tachikawa, A., Shioda, T., Odawara, T., Nakamura, T., Kitamura, Y., Kano, M., Kato, A., Hironaka, T., Hasegawa, M., Nagai, Y., and Iwamoto, A.	Comparison between Sendai virus and Adenovirus vectors in induction of HIV-1 genes into human dendritic cells.	J. Medical Virology	80	373-382	2008
Maeda, T., Oyaizu, N., Endo, T., Odawara, T., Nakamura, T., Iwamoto, A., Fujii, T.	Pneumocystis jiroveci pneumonia in an AIDS patient: Unusual manifestation of multiple nodules with multiloculated cavities.	European Journal of Radiology Extra	61	49-52	2007

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
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
Zong, L., Chen, Y., Peng, H., Gao, F., Iwamoto, A., and Gao, GF.	Rehshus macaque: a tight homodimeric CD8alpha/alpha	Proteins:Structure, Function and Bioinformatics	75	241-4.	2009
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.	<i>Anal Biochem</i>	385	278-85	2009
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
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
Nunoya, J., Nakashima, T., Kawana-Tachikawa, A., Kiyotani, K., Ito, Y., Sugimura, K., and Iwamoto, A.	Generation of recombinant monoclonal antibodies against immunodominant HLA-A*2402-restricted HIV-1 CTL epitope.	AIDS Research and Human Retroviruses	25	897-904	2009

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
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.	in Press		2010
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	in Press		2010

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

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
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.	Int. J. Immunogenet.	34	107-13	2007
Wichukchinda, N., Rojanawiwat, A., Kitamura, Y., Nakayama, EE., Pathipvanich, P., Auwanit, W., Sawanpanyalert , P., Iwamoto, A., Shioda, T. and Ariyoshi, K.	The polymorphisms in <i>DC-SIGNR</i> affect the susceptibility to HIV-1 infection.	AIDS. Res. Hum. Retrovir.	23	686-92	2007
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-ASSOCIATE D MUTATIONS AMONG NON-SUBTYPE B HIV-1-INFECTED KENYAN CHILDREN WITH TREATMENT FAILURE.	J. Med. Virol.	79	865-72	2007

Ohishi, M., Shioda, T. and Sakuragi, J.	Retro-transduction by virus pseudotyped with glycoprotein of vesicular stomatitis virus.	Virology.	362	131-8	2007
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 Res. Hum. Retrovir.	23	713-9	2007
Nakayama, EE., Carpentier, W., Costagliola, D., Shioda, T., Iwamoto, A., Debre, P., Yoshimura, K., Autran, B., Matsushita, S. and 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.	Immunogeneti cs.	59	511-5	2007
Song, H., Nakayama, EE., Yokoyama, M., Sato, H., Levy, JA. and 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.	81	7280-5	2007
Sakuragi, J., Sakuragi, S. and 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.	81	7985-92	2007
Koh, Y., Matsumi, S., Das, D., Amano, M., Davis, DA., Li, J., Leschenko, S., Baldrige, A., Shioda, T., Yarchoan, R., Ghosh, AK. and Mitsuya, H.	Potent inhibition of HIV-1 replication by novel non-peptidyl small molecule inhibitors of protease dimerization.	J. Biol. Chem.	282	28709-20	2007

Liu, H., Nakayama, EE., Theodorou, I., Nagai, Y., Likanonsakul, S., Wasi, C., Debre, P., Iwamoto, A. and Shioda, T.	Polymorphisms in CCR5 chemokine receptor gene in Japan.	Int. J. Immunogenet.	34	325-335	2007
Louisirirotchanakul, S., Sutthent, R., Wasi, C., Chuenchitra, T., Nitayaphan, S., Brown, AE., Polonis, VR., Nakayama, EE., Shioda, T., Liu, H. and Takebe, Y.	Host Genetic Analysis of HIV-1 Subtype CRF01_AE(E)-Infected Thai Patients with Different Rates of Disease Progression.	AIDS Res. Hum. Retrovir.	23	1605-1607	2007
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.	373(2)	447-56	2008
Sakuragi J, Sakuragi S, Ohishi M, Shioda T.	A rapid recombination assay of HIV-1 using murine CD52 as a novel biomarker.	Microbes Infect.	10(4)	396-404	2008
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.	375(2)	514-20	2008
Maegawa H, Nakayama EE, Kuroishi A, Shioda T.	Silencing of tripartite motif protein (TRIM) 5alpha mediated anti-HIV-1 activity by truncated mutant of TRIM5alpha.	J Virol Methods.	151(2)	249-56	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 SIV239 Mutant.	Journal of General Virology.	89(Pt 2)	554-66	2008
Hosoya N, Miura T, Kawana-Tachika wa 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.	80	373-82	2008
Wichukchinda N, Nakayama EE, Rojanawiat 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.	47	293-97	2008
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
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.	Retrovirolog y	6	70	2009