

図1. 赤毛サル PBMC 中の T 細胞の分化と樹立したモノクローナル抗体 (IgG1) による 2B4 陽性 T 細胞の解析

サル PBMC を CD3/CD4/CD8/CD95/CD28 およびビオチン化した抗サル 2B4 抗体候補/SA-Cy7PE で多重染色し、naïve、central memory (CM)、effector memory (EM) にゲートして解析した。縦軸は 2B4 抗体染色強度で、数値はビオチン化抗体(1 mg/ml)の希釈を示す。

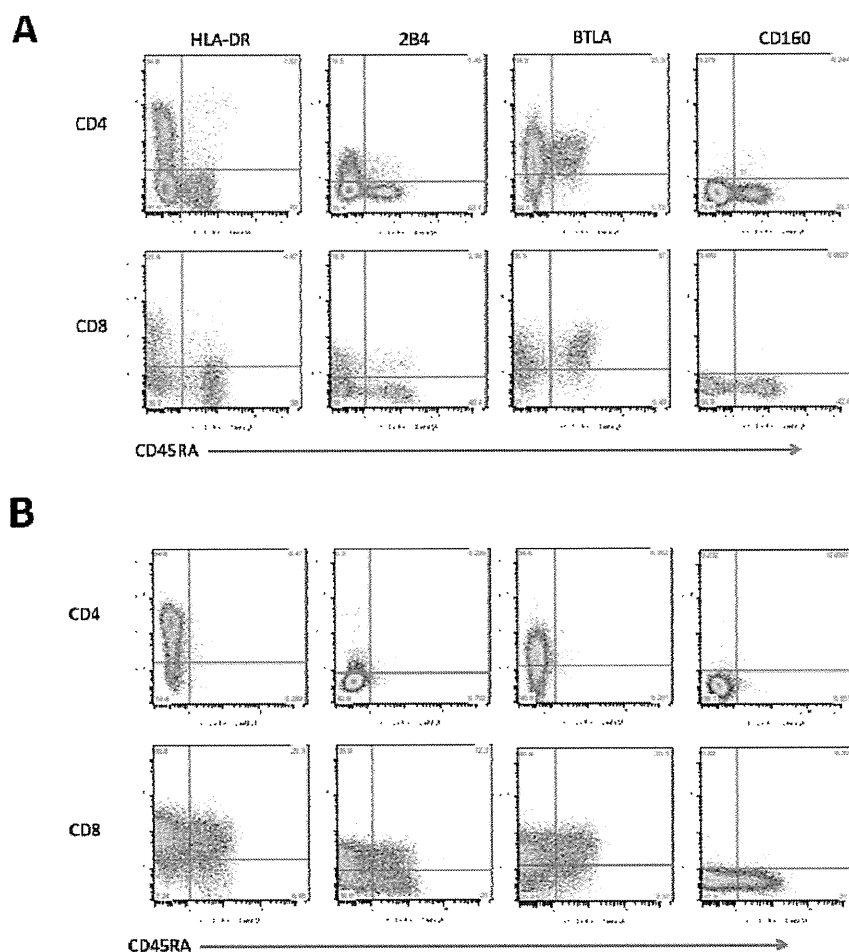


図2. 抗原特異的 T 細胞長期培養による疲弊化分子の発現解析  
 抗 CMV 抗体陽性健常人 PBMC を CMV-infected MRC 細胞 lysate で一度  
 (A) あるいは pp65 peptide (HLA-A24) で数回(B)刺激し、2 週間以上培養  
 した T 細胞の活性化および疲弊化分子の発現を解析した。(B)では、CD4  
 は増殖して全て CD45RA 陰性となっていたが、CD8 は CD45RA 陽性細  
 胞も多く、2B4 の発現 (2 列目) は高かった。どちらの場合でも CD160  
 を発現する細胞はほとんど認められなかったが、BTLA は (A) で naïve、  
 memory とともに高い発現を認めた。

## HAART治療中断により出現するHIVの起源とその制御法の開発

分担研究者 高橋 秀実 日本医科大学微生物学免疫学教室 教授

### 研究要旨

ART 治療により末梢血中のウイルス量は検出感度以下となるものの、治療の中断により速やかに末梢血中にウイルスが出現する。このウイルスの起源を解明するため、ART を実施し末梢血中のウイルス粒子が検出感度以下となり、全く感染細胞が認められなくなった症例における腸管回盲部粘膜組織を採取し、その生検組織中のウイルス感染細胞について検討した。その結果、CD4 陽性 T 細胞ならびに CD11c 陽性樹状細胞の中に多数の p24 抗原陽性細胞が観察された。さらに p24 抗原陽性細胞の実体を解析したところ、その主体は年粘膜自然免疫を担う NKT 様細胞と樹状細胞であった。この事実は、ART 治療によって末梢血中のウイルス量が検出感度以下となっても、腸管粘膜組織における自然免疫担当細胞内における HIV は制御を受けにくいことを示している。次に ART 治療の中断によって出現したウイルスの由来を探るため、まずは未治療群における末梢血由来 HIV-1 の V3 領域の遺伝的解析を進めた。その結果、未治療患者における V3 領域の塩基性アミノ酸の Net Positive Charge は、およそ“5”であるのに対し、治療の中断によって末梢血液中に出現したウイルス粒子 V3 領域の塩基性アミノ酸の Net Positive Charge は、それより高く“7”であった。腸管系では、自然免疫系の樹状細胞や NKT 細胞が HIV-1、とくに塩基性アミノ酸に富む R5-type HIV-1 が感染の標的であり、ART 治療に因ってもこれら細胞群の感染が制御されていなかったことが判明した。以上より、ART 治療の中断によって出現するウイルス群は、恐らく腸管などの粘膜に局在する自然免疫担当細胞群由来のものであることが推察される。エイズ制圧には、新たな抗ウイルス剤の開発によるより強力な ART 治療とともに、粘膜自然免疫担当細胞内における HIV 制御法を開発することが重要である。

### A. 研究目的

様々な抗 HIV 薬の組み合わせによる抗エイズ療法（Anti-retroviral therapy: ART）治療の普及によってエイズによる死亡者は激減し、HIV-1 感染症は最早致命的な感染症ではなく、ウイルス性肝炎のような単なる慢性ウイルス感染症の様相となってきた。しかしながら、慢性肝炎におけるインターフェロンやリバビリンのように、例え有効例であっても治療から解放されることはなく、抗エイズ薬の投与によって完治することもない。また、抗 HIV 薬の長期投与による高脂血症や腎障害、そして悪性リンパ腫や発がんなどの発生も散見されるようになってきた。さらには治療の中断により、いったんは末梢血液中より消失した HIV 粒子が、速やかに増殖することが判明している。

ART 治療の中断によって末梢血中に出現するウイルスの由来は、末梢血細胞内にプロウイルスとして潜伏していたものが再燃してくるのか、はたまた ART 治療により末梢血への出現が押さえ込まれていたウイルスが、治療の中

断によって再度末梢血中に出現してくるのか、その実体は不明である。

こうした疑問に対する解明をすすめるため、報告者らはまず ART 治療中の血液中に認められるプロウイルスの実体を探り、そのトロピズムに強い関連性を有する V3 領域の遺伝子解析を加え、どのようなウイルスが末梢血に潜伏しているのかを調べ、未治療患者の血液中に認められる HIV、あるいは ART 治療を中断した場合に出現したウイルス遺伝子と比較検討した。さらに、インフォームド・コンセントを得た患者の腸管粘膜（回盲部）の生検組織中に認められるウイルスと比較検討した。

### B. 研究方法

HIV 患者を ART 治療実施者と未治療者に分け、インフォームド・コンセントを得た後、それぞれの末梢血ならびに回腸末端粘膜から内視鏡的に採取した生検材料より腸管細胞を分離した。得られた分離細胞を、microbeads を用いてさらに T 細胞の指標である CD3 分子陽性群と

陰性群とに大別し、それらの表面抗原を flow cytometry を用いて解析すると共に、その内部に潜伏するプロウイルス DNA・ウイルス RNA を採取し PCR 法により V3 領域の配列解析を試みた。

### C. 研究結果

1) ART 療法により回復をみた患者の末梢血において、HIV 粒子の存在を示す p24 抗原の存在は確認されなかった。これに対し、HIV 感染後未治療患者においては、ほぼ同数の CD4 陽性 T 細胞をしめすものの、末梢血中の CD4 陽性 T 細胞に p24 抗原陽性細胞を認めた (図 1)。

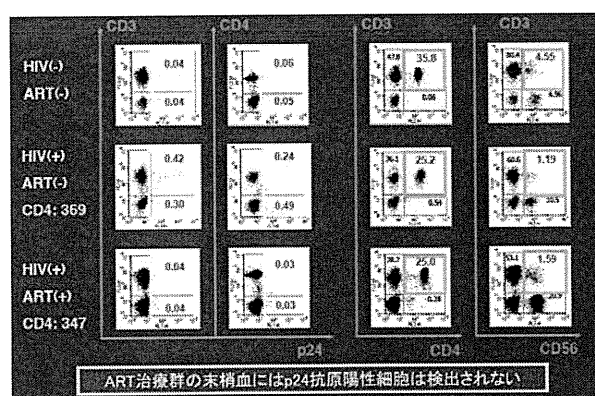


図 1 ART 治療後 CD4 陽性 T 細胞が回復した際の末梢血中の p24 抗原陽性細胞

2) 次に、ART 未治療患者の腸管回盲部より採取した生検組織由来の細胞群において CD4 陽性 T 細胞数は辛うじて保たれている症例であっても、NKT 細胞の著しい減少傾向が認められる。また、p24 抗原陽性細胞も散見されるが、その主体は CD3 陽性 T 細胞群よりも CD11c 陽性の樹状細胞群であった (図 2)。

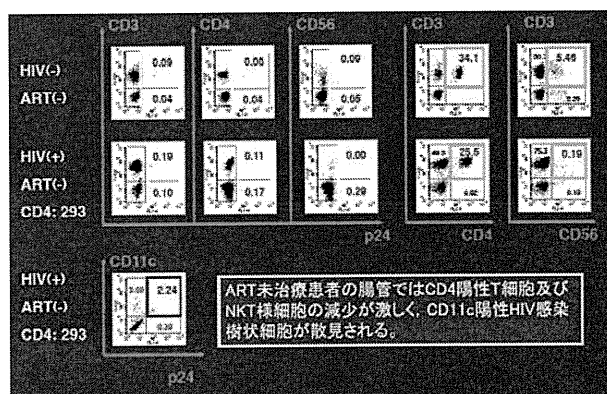


図 2 ART 未治療 HIV 感染症例の腸管回盲部より採取したリンパ球の性状

3) 続いて、ART 治療により末梢血中のウイルス量は検出感度以下となった症例の腸管回盲部より採取した生検組織由来の細胞群を解析したところ、NKT 細胞数の改善は認められたものの、CD4 陽性 T 細胞ならびに CD11c 陽性樹状細胞の中に多数の p24 抗原陽性細胞が観察された (図 3)。このことから、ART 治療により末梢血中のウイルス量が検出感度以下となった場合でも、同一患者における腸管では多数の HIV 感染細胞が認められることが、明らかとなった。

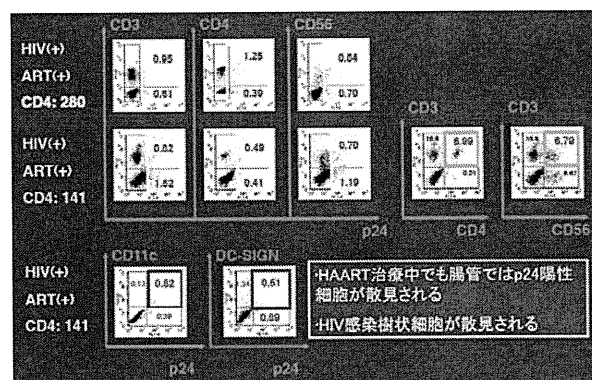


図 3 ART 治療症例の腸管回盲部より採取したリンパ球の性状

4) そこで、ART 療法を施行した HIV 感染者の腸管回盲部において、p24 抗原陽性細胞の実体を解析したところ、その主体は年粘膜自然免疫を担う NKT 様細胞と樹状細胞であった。この事実は、ART 治療によって末梢血中のウイルス量が検出感度以下となっても、腸管粘膜組織における HIV は制御を受けにくいことを示している。

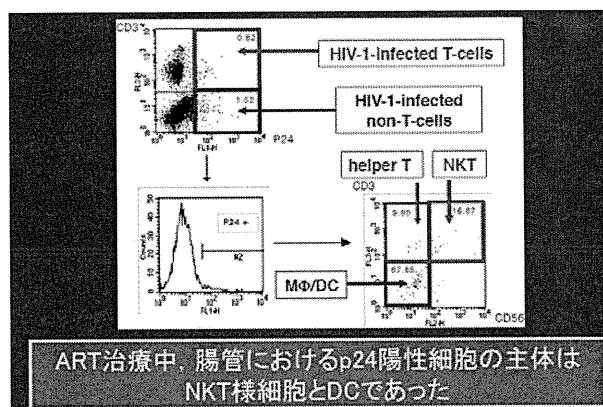


図 4 ART 治療症例の腸管回盲部における p24 抗原陽性細胞群の実体

5) これまでの研究では、末梢血リンパ球にブドウ球菌由来の毒素 (SEB) を添加培養することによって誘導されてくる CD4 陽性 T 細胞の表面には CXCR4 分子が有意に発現してくるのに対し、ヒト末梢血に  $\alpha$ -GalCer を添加培養し、誘導されてくる細胞の中で抗 V $\alpha$ 24 抗体により検知される CD4 陽性 NKT 細胞の表面には CCR5 が有意に発現してくる (図 5)。このことは、末梢血 T 細胞には CXCR4 を用いる X4-type HIV-1 が感染しやすいのに対し、粘膜組織には CCR5 を用いる R5-type HIV-1 が潜伏しやすいことを示している。

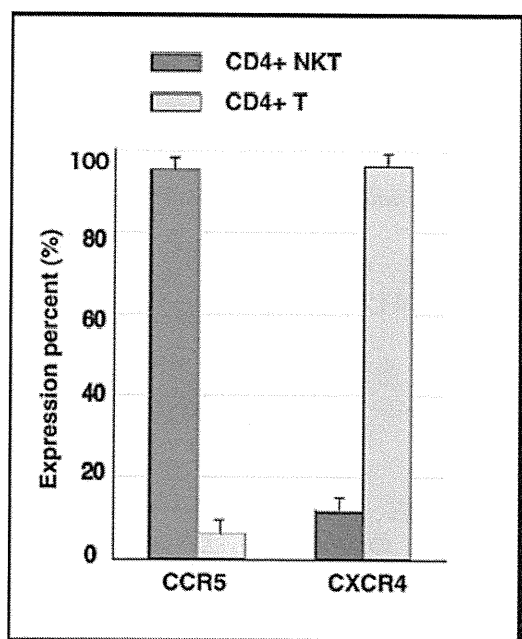


図 5 CD4 陽性 T 細胞と CD4 陽性 NKT 細胞とのケモカインレセプター発現の差違

6) これらケモカインレセプターと接触する HIV-1 の部位は V3 領域である。これまで研究成果を考えると、R5-type HIV-1 の V3 領域には陽性荷電を帯びた塩基性アミノ酸が多く、従って Net Positive Charge の上昇が認められる。事実 ART 未治療患者由来の腸管には、V3 領域の塩基性アミノ酸が多い HIV-1 が散見される。これに対し、未治療患者の血清中に認められる HIV-1 には比較的塩基性アミノ酸の少ない V3 領域を持ったものが主体であった。ところが、ART 療法を中断せざるを得なかった患者において出現してきた HIV-1 の V3 領域を解析したところ、塩基性アミノ酸の増加が認められた (図 6)。このことは、ART 治療の中断によって出現してくるウイルスが、腸管などの粘膜由来のウイルスであることを示唆している。

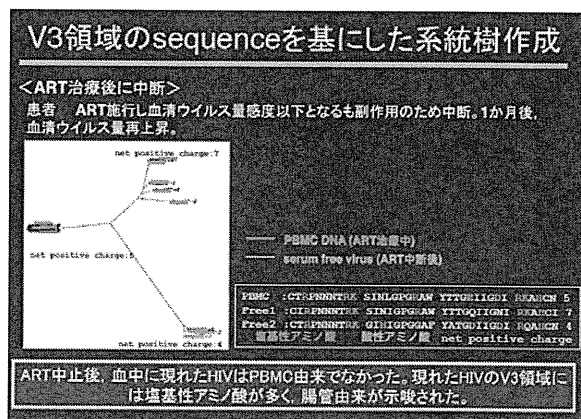


図 6 ART 治療の中断によって末梢血液中出现した HIV-1 の V3 領域の解析

#### D. 考察

ART 治療により末梢血中のウイルス量は検出感度以下となるものの、治療の中断により速やかに末梢血中にウイルスが出現する。このウイルスは、末梢血内のプロウイルス由来のものであるのか、それとも別の部位に由来するものなのであるのか。

この問いに答えるため、まず ART を実施し末梢血中のウイルス粒子が検出感度以下となり、全く感染細胞が認められなくなった症例における腸管回盲部粘膜組織を採取し、その生検組織中のウイルス感染細胞について検討した。その結果、CD4 陽性 T 細胞ならびに CD11c 陽性樹状細胞の中に多数の p24 抗原陽性細胞が観察された。

さらに p24 抗原陽性細胞の実体を解析したところ、その主体は年粘膜自然免疫を担う NKT 様細胞と樹状細胞であった。この事実は、ART 治療によって末梢血中のウイルス量が検出感度以下となっても、腸管粘膜組織における HIV は制御を受けにくいことを示している。

次に ART 治療の中断によって出現したウイルスの由来を探るため、まずは未治療群における末梢血由来 HIV-1 の特性を明らかにするため、V3 領域の遺伝的解析を進めた。その結果、未治療患者における V3 領域の塩基性アミノ酸の Net Positive Charge は、およそ“5”であることが判明した。これに対し、治療の中断によって末梢血液中出现したウイルス粒子 V3 領域の塩基性アミノ酸の Net Positive Charge は、それより高く“7”であった。腸管系では、HIV-1 感染の標的が自然免疫系の樹状細胞や NKT 細胞が主体であり、ART 治療に因っても

これら細胞群の感染が制御されていなかったことを勘案すると、ART 治療の中断によって出現するウイルス群は、恐らく腸管などの粘膜に局在する自然免疫担当細胞群由来のものであることが推察される。

以上より、ART 治療とともに粘膜組織における HIV 制御法を併用することが、エイズ制圧には必須であるものと考えられる。

## E. 結論

ART 療法の開発によりエイズは最早致命的な疾患ではなくなり慢性ウイルス感染症の一つとなってきたが、ART 療法により粘膜に局在する樹状細胞や NKT 細胞などの自然免疫担当細胞群における HIV は制御されていないことが判明した。さらに ART 治療の中断により末梢血中に出現してくるウイルスは、この粘膜組織に由来する可能性が判明した。以上を総合的に考えると、ART 治療とともに粘膜自然免疫担当細胞内における HIV 制御法を開発することが、エイズ制圧には必須であると考えられる。

## F. 論文発表

- 1) Nakagawa, Y., Watari, E., Shimizu, M., and Takahashi, H. One-step simple assay to determine antigen-specific cytotoxic activities by single-color flow cytometry. *Biomedical Res.* 32:159-166, 2011.
- 2) Takahashi, M., Matsumura, J., Inagaki, S., and Takahashi, H. Induction of CD56+ T cells after prolonged activation of T cells in vitro: a possible mechanism for CD4+ T-cell depletion in acquired immune deficiency syndrome patients. *Human Immunol.* 72:783-790, 2011.
- 3) Kobayashi, F., Watanabe, E., Nakagawa, Y., Yamanishi, S., Norose, Y., Fukunaga, Y., and Takahashi, H. Production of Auto-antibodies by Murine B-1a Cells Stimulated with Helicobacter pylori Urease through TLR2 Signaling. *Infect. Immun.* 79:4791-4801, 2011.
- 4) Ohkuni, H., Nagamune, H., Ozaki, N., Tabata, A., Todome, Y., Watanabe, Y., Takahashi, H., Ohkura, K., Kourai, H., Ohtsuka, H., Fischetti, V.A., and Zabriskie, J.B. Characterization of recombinant Streptococcus mitis-derived human platelet aggregation factor. *APMIS*, 120:56-71, 2011.

- 5) Atsukawa, M., Nakatsuka, K., Kobayashi, T., Shimizu, M., Harimoto, H., Takahashi, H., and Sakamoto, C. Ribavirin down-modulates ICOS on CD4(+) T-cells and their interleukin-10 secretion to assist clearance of hepatitis C virus. *J. Gastroenterol. Hepatol.* 26, 2011 (in press).
- 6) Inagaki, S., Takahashi, M., Fukunaga, Y., and Takahashi, H. HLT-1-infected breast milk macrophages inhibit monocyte differentiation to dendritic cells. *Viral Immunol.* 25, 2012 (in press).
- 7) Negishi, Y., Wakabayashi, A., Shimizu, M., Ichikawa, T., Kumagai, Y., Takeshita, T., and Takahashi, H. Disruption of maternal immune balance maintained by innate DC subsets results in spontaneous pregnancy loss in mice. *Immunobiology*, 217, 2012 (in press).
- 8) 高橋秀実：免疫と漢方。からだの科学増刊, 56-61, 2011.
- 9) 村上努、高橋秀実：HIV と闘う宿主防御因子, 日本エイズ学会誌 14 巻号, 2012 (印刷中).
- 10) 新谷英滋、高橋秀実：ヒト免疫不全ウイルス HIV-1 の Nef による樹状細胞 CD1 脂質抗原提示機能の低下. 臨床免疫・アレルギー科, 2012 (印刷中) .

## ◇ 著 書

- 1) Takahashi, H. Co-operation of innate and acquired immunity for controlling tumor cells. In "Melanoma in The Clinic". (Ed. Mandi Murph) Chapter 7: 107-114 (2011. 7 月発刊 (総ページ 310) by INTEC)
- 2) 高橋秀実：第 17 章「免疫応答不全」、微生物学 (メディカル・サイエンス・インターナショナル社編) 2012 (3 月発刊)

## G. 学会発表

- 1) 高橋秀実：日本医科大学における東洋医学教育の現状と展望. KAMPO MEDICAL SYMPOSIUM 2011 (シンポジウム) 2011 年 2 月 5 日 (東京)
- 2) 高橋秀実：ピロリ菌と自己免疫. 第 21 回千駄木 感染・免疫・アレルギー研

- 研究会（特別講演）  
2011年3月1日（東京）。
- 3) 高橋秀実、廣田薫、高久俊、高久千鶴乃、近江恭子、福山耕治、小野頭人、吉永恵美、平馬直樹：自己免疫性肝炎に合併した血小板減少性紫斑病に奏功した東洋医学的治療  
第62回日本東洋医学会学術総会  
2011年6月10-12日（札幌）。
- 4) 高久俊、大藪英一、栗林秀樹、高久千鶴乃、廣田薫、吉永恵美、近江恭子、福山耕治、小野頭人、平馬直樹、高橋秀実：偏頭痛に対して三黄瀉心湯が著効した一例  
第62回日本東洋医学会学術総会  
2011年6月10-12日（札幌）。
- 5) 高久千鶴乃、廣田薫、高久俊、吉永恵美、近江恭子、福山耕治、小野頭人、平馬直樹、高橋秀実：随伴症状を治療することで改善した慢性蕁麻疹の3症例  
第62回日本東洋医学会学術総会  
2011年6月10-12日（札幌）。
- 6) 廣田薫、近江恭子、小野頭人、吉永恵美、福山耕治、高久千鶴乃、高久俊、平馬直樹、高橋秀実：難治性逆流性食道炎を伴い心因的ストレスにより増悪を繰り返した唾液分泌過多症の一例。  
第62回日本東洋医学会学術総会  
2011年6月10-12日（札幌）。
- 7) 近江恭子、福山耕治、小野頭人、吉永恵美、廣田薫、高久俊、高久千鶴乃、平馬直樹、高橋秀実：月経時に必発する頭痛に対して、漢方治療が奏功した一例。  
第62回日本東洋医学会学術総会  
2011年6月10-12日（札幌）。
- 8) 小野頭人、福山耕治、近江恭子、廣田薫、高久千鶴乃、高久俊、平馬直樹、高橋秀実：漢方治療にて呼吸状態が改善した COPD の一例。  
第62回日本東洋医学会学術総会  
2011年6月10-12日（札幌）。
- 9) 高橋秀実：東洋医学入門：免疫と漢方  
平成23年度山形大学講演（特別講演）  
2011年7月27日（東京）。
- 10) Takahashi, H.: Uptake and Dissemination of HIV by Mucosal Innate Cells. Japan-US Cooperative Medical Science Program: The 25th Joint Scientific Meeting of AIDS Panels. September 21-23, 2011 (Atlanta).
- 11) 高橋秀実：丸山ワクチンの作用機序に対する新たな視点  
ガンプロフェッショナル養成プランセミナー  
2011年10月1日（東京）。
- 12) 高橋秀実：漢方医学と最新の免疫学  
東京女子医科大学東洋医学研究所特別講演  
2011年10月20日（東京）。
- 13) Wakabayashi, A., Nakagawa, Y., Shimizu, M., Takahashi, H.: Enhancement of co-stimulatory molecule-expression and cross-presentation of antigens in mucosal DCs after oral administration of antigenic molecules plus cholera toxin.  
第40回日本免疫学会学術集会  
2011年11月27-29日（千葉）。
- 14) Shinya, E., Shimizu, M., Owaki A., Watanabe E., Matsumura, J., Takaku, C., Takahashi, H. : HIV-1 Nef interferes with CD1a lipid antigen presentation via PAK2.  
第40回日本免疫学会学術集会  
2011年11月27-29日（千葉）。
- 15) Takahashi, H. : Control of HIV infection and dissemination at the mucosal compartments.  
第25回日本エイズ学会学術集会（特別講演）  
2011年11月30日-12月2日（東京）。
- 16) 高橋秀実：母乳を介した HIV 感染伝播に関する免疫学。第25回日本エイズ学会学術集会（セミナー）  
2011年11月30日-12月2日（東京）。
- 17) 高橋秀実：感染症と東洋医学  
第25回日本エイズ学会学術集会（ランチョンセミナー）  
2011年11月30日-12月2日（東京）。
- 18) 新谷英滋、清水真澄、大脇敦子、渡邊恵理、松村次郎、高久千鶴乃、高橋秀実：Interaction of HIV-1 Nef and p21-Activated Kinase 2 (PAK2): Nef down-regulates CD1a lipid Ag presentation via PAK2.  
第25回日本エイズ学会学術集会  
2011年11月30日-12月2日（東京）。
- 19) 高久千鶴乃、清水真澄、大脇敦子、渡邊恵理、松村次郎、近江恭子、渡理英二、新谷英滋、高橋秀実：樹状細胞上の CD1d 発現の低下は HIV 感染標的である CD4 陽性 NKT 細胞の誘導率を上昇させる。  
第25回日本エイズ学会学術集会  
2011年11月30日-12月2日（東京）。
- 20) 松村次郎、大脇敦子、清水真澄、秋山純一、新谷英滋、岡慎一、高橋秀実：HIV 患者の

腸管粘膜感染細胞内におけるウイルス核酸  
の実態.

第 25 回日本エイズ学会学術集会  
2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日 (東京) .

- 21) 高橋めぐみ、松村次郎、稲垣真一郎、高橋  
秀実：長期培養の結果誘導された HIV-1 感  
染者由来 CD56+T 細胞の CD4+T 細胞に対す  
る細胞傷害活性.

第 25 回日本エイズ学会学術集会  
2011 年 11 月 30 日-12 月 2 日 (東京) .

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

本年度は特にございません。



## OX40 刺激による R5 HIV-1 抑制：OX40 刺激を補足する CXCR4 架橋

研究分担者：田中勇悦（琉球大学 大学院医学研究科 免疫学講座）

### 研究要旨

ケモカイン受容体を標的とする低分子化合物が HIV 治療薬として開発されている。本研究では、我々が開発した種々のエピトープを認識するラット由来の抗ヒト CXCR4 単クロン抗体群が HIV 感染にどのような影響を与えるのかを検討した。健康人の末梢血単核球 (PBMC) を抗 CD3 /CD28 単クロン抗体で活性化し、低濃度の CCR5 指向性 (R5)、CXCR4 指向性 (X4) または 二重指向性 (X4R5) HIV-1 に感染させ、CXCR4 単クロン抗体の存在下で培養し、ウイルスの感染増殖を p24 抗原測定およびフローサイトメトリーで観察した。調べた 3 種類の抗体の中で、CXCR4 細胞外ループ (ECL) 1 と ECL2 からなる高次構造エピトープに結合する A120 は、驚くべきことに X4、R5、X4R5 ウイルスの感染を強力に抑制した。CXCR4 指向性ウイルスの感染抑制は CXCR4 受容体の ウイルス結合部位への直接遮へいによると推定された。CCR5 指向性ウイルスの感染抑制は A120 による CCR5 結合性  $\beta$ -ケモカイン (中でも MIP-1 $\alpha$  の産生促進により活性化 CD4 陽性 T 細胞上の CCR5 発現が低下するためと推定された。

以上の結果に基づき、赤毛サルと HIV-SIV 合の子 (SHIV) を使った研究をエモリー大学 Ansari 教授と共同で行っている。サルの系でも A120 が、ヒトの場合とほぼ同様なエイズウイルス抑制活性を示す結果が得られており、臨床応用に向けて今後も研究を継続する。

### A. 研究目的

CXCR4 と CCR5 は G タンパク質共役受容体ファミリーに属しており、それらのリガンドはそれぞれ  $\alpha$  ケモカインである SDF-1 と  $\beta$  ケモカインである MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$  と RANTES である。これらケモカイン-受容体の結合は複数の細胞内シグナル系を活性化する。CXCR4 と CCR5 は HIV やサルエイズウイルス (SIV) 感染のコレセプターとして機能する。CXCR4 は細胞外に N 末端 (NT) 領域と細胞外ループ (ECL) 1 と ECL2 と ECL3 を発現しており、SDF-1 または HIV-1 との相互作用にはレセプターの複数の領域が関与している。たとえば、NT と ECL2 領域は SDF-1 結合とシグナル伝達において重要であり、ECL2 とそれに隣接する ECL3 領域は HIV-1 感

染や細胞接着に関与する。CXCR4 変異体の研究では、CXCR4 の HIV-1 コレセプター活性は細胞内シグナル伝達領域から独立していることが明らかとなった。

近年、HIV-1 療法として VIROC と呼ばれるケモカイン受容体を標的とした小分子化合物が開発されその臨床的効果が期待されている。さらにケモカイン受容体に対する単クロン抗体が HIV-1 の感染を阻害することが報告されている。例えばアゴニストでもアンタゴニストでもない抗ヒト CCR2 単クロン抗体は CCR5 と CXCR4 とオリゴマーを形成し、それらの発現を down-modulation することで X4 と R5 HIV-1 両方の感染を阻害する。また、HIV-1gp120 と CCR5 の結合をブロックしない抗 CCR5-N 末単

クローン抗体は CCR5 の二量体化を誘導することで R5 HIV-1 感染を抑制する。

本研究において、我々はこれまでに我々が作製した3種類のラット由来の抗ヒト CXCR4 単クローン抗体が免疫不全ウイルスの感染にどのような影響を及ぼすかを検討することを目的とした。

## B. 研究方法 (ヒトの場合)

健康人由来の新鮮 PBMC を anti-CD3 (OKT-3) を固相したプレート内において抗 CD28 抗体 (可溶性) 存在下で活性化し、翌日、細胞を集めて R5 HIV-1、X4 HIV-1 や X4R5 HIV-1 に低い感染度 (m. o. i.  $\sim$ 0.005、または p24 相当 10 ng) で2時間感染させた。洗浄後、抗ヒト CXCR4 単クローン抗体を加えて 37°C で培養した。HIV-1 の増殖は、培養上清中の p24 抗原を ELISA で測定することによりモニターした。感染細胞数の計測には、細胞内 p24 染色を特異単クローン抗体で染色後、フローサイトメトリー用の細胞計測ビーズを用いた。サイトカインの定量は市販のキットで行った。βケモカインに対する阻止抗体は、市販のものを用いた。

本研究は本学バイオハザード委員会、動物実験委員会、遺伝子組換え生物使用実験安全委員会、臨床研究倫理委員会の承認を得て行った。ヒト細胞材料入手は提供者の同意を得て行いその人の利益ならびに人権保護の取り扱いに十分配慮した。

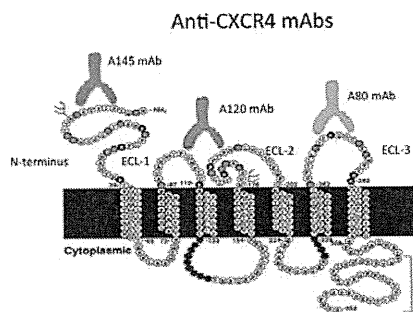
ヒトの場合と同様な手段を用いて、赤毛サルを用いた SHIV 感染を米国エモリー大学で行われた。

## C. 研究結果

HIV-1 感染抑制方法として、ヒト CXCR4 に対する3種類の単クローン抗体の活用を試みた。それぞれ異なるエピトープを認識するラット IgG 抗体であり、A120 抗体は CXCR4 細胞外領

域のループ (ECL) 1 および ECL-2 からなる立体構造依存性エピトープを認識し、A145 抗体は N 末領域を、A80 抗体は ECL-3 領域を認識する。

(次の図を参照)

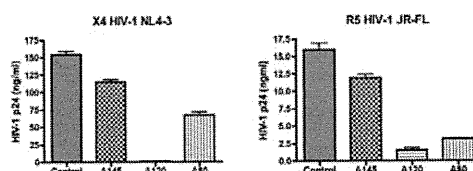


Tanaka R. et al., J Virol. 2001 Dec;75(23):11534-43.

これらの抗体の HIV-1 感染に対する影響を活性化した PBMC で比較検討した。活性化した PBMC を標的細胞としたのは、より生体内に近い感染系であるからであり、活性化 CD4+T 細胞のみならず、R5 HIV-1 に感受性がある単球も含まれる。下図に示す様に、p24 産生でみると用いた抗 CXCR4 単クローン抗体は X4 HIV のみならず R5 HIV-1 の感染増殖を抑制した。

### Inhibition of HIV-1 production in activated PBMCs by anti-CXCR4 mAbs

(4 days after infection)

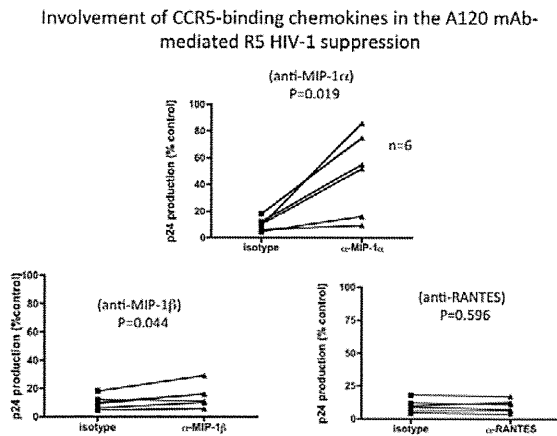


A120 mAb is the most potent among mAb tested.

抑制の程度は A120>A80>A145 であった。X4、R5 HIV-1 感染に対して A120 が最も抑制度が高いので、A120 を選択し R5 HIV-1 抑制の詳細なメカニズムの検討を試みた。A120 は、HIV-1 の p24 産生および感染細胞数の増加を抑制した。従って、A120 は HIV-1 の感染細胞での複製抑制でなく、新たな HIV-1 感染を抑制することが明らか

となった。

既に報告したように、X4 HIV-1 感染抑制は A120 の細胞結合が立体的にウイルスの感染初期段階を抑制することが明らかであるが、R5 HIV-1 の抑制は抗体の直接的な影響とは考えられない。A120 抗体液には細胞毒性はなく、感染細胞からのウイルス産生にも影響せず、またエンドトキシンの混入もなかった。そこで、CCR5 への HIV-1 結合を抑制する  $\beta$  ケモカインの関与を次に調べた。中和能のある抗  $\beta$  ケモカイン単クローン抗体を感染系に加えると、MIP-1 $\alpha$  に対する抗体が A120 の R5 HIV-1 抑制を有意に解除した。MIP-1 $\beta$  抗体も弱い抑制解除効果を示したが、RANTES 抗体は何の効果も示さなかった。(下図)



次に A120 抗体処理が PBMC に対して  $\beta$  ケモカイン産生を促すかを調べた。その結果、A120 抗体により、MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$  が有意に産生増強されることが明らかとなった。RANTES 産生には影響がなかった。さらに、A120 抗体処理すると CD4<sup>+</sup>T 細胞上の CCR5 の発現が抑制された。逆に CXCR4 の発現は増強された。最後に、種々の HIV-1 クレードに属する X4、R5、X4R5 HIV-1 への A120 の感染抑制度を調べた。調べた 17 株の HIV-1 全てに感染抑制活性を示した。

共同研究の結果、ヒトの場合と同様な結果が赤毛サルの PBMC において、X4 (SF33)、

R5 (SF162P3)、X4R5 (89.6P) SHIV 感染でも観察されている。(論文作成中)

#### D. 考察

A120 によるエピトープ特異的 CXCR4 の架橋が、X4 HIV-1 のみならず、種々の R5 HIV-1 の感染に対して CCR5 結合性  $\beta$  ケモカイン産生を介して抑制することを初めて明らかにした。 $\beta$  ケモカインはシスあるいはトランス的に CCR5 のダウンモジュレーションを起こすと考えられ、A120 による CCR4 架橋が CCR5 のホモあるいはヘテロダイマーを形成させ、ウイルスの感染を防御していることも考えられる。

本研究で新たな現象として見いだした CXCR4 抗体による HIV-1 の感染増殖抑制を臨床的に応用するには抗体をヒト化することが必要であり、今後の課題である。ヒトへの応用を目的とした動物実験として、サルを用いた研究が重要である。今回、赤毛サルの感染系でも同様な抑制結果が得られたことから、サル化 A120 抗体を用いた研究の成果が待たれる。

#### E. 結論

ヒトとサルの活性化 PBMC において、CXCR4 分子の特定のエピトープを認識する単クローン抗体による CXCR4 架橋が、R5-と X4-HIV-1 の感染を優位に抑制することから、今後のエイズ阻止への応用が期待される。

#### F. 健康危険情報 (総括へ)

#### G 研究発表 論文発表

- (1) Adachi T, Tanaka R, Kodama A, Saito M, Takahashi Y, Ansari AA, Tanaka Y. Identification of a unique CXCR4 epitope whose ligation inhibits infection by both CXCR4 and CCR5 tropic human

immunodeficiency type-I viruses.  
Retrovirology. 2011 8:84.

#### 学会発表

- (1) 田中勇悦, 児玉晃, 西澤雅子, 杉浦亙, 田中礼子. CXCR4 架橋による CXCR4 および CCR5 親和性 HIV-1 の感染制御. 第 25 回エイズ学会学術集会・総会抄録集, 2011. 11. 30-12. 2: 東京都. 340(164).
  - (2) Tanaka Y. Epitope - specific Ligation of Human CXCR4 Blocks Infection of Activated Peripheral Blood Mononuclear Cells with Both CCR5 - and CXCR4 - tropic HIV - 1. US - Japan AIDS Panel Meeting - BTS - Atlanta. 2011. 9. 22. 米国 ジョージア州 アトランタ.
  - (3) Takahashi Y, Villinger F, Ansari AA, Tanaka Y. Inhibition of X4-, R5- and R5X4-tropic HIV-1 and SHIV by a novel anti-CXCR4 monoclonal antibody in vitro. The 29th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. 2011. 10. 26. 米国 ワシントン州 シアトル.
- H. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)  
A120 単クローン抗体の HIV 抑制効果については、琉球大学の知財部門を通して国内、国外への特許出願中である。

Intrinsic immunity による HIV-1 複製抵抗性に関する研究

分担研究者 駒野 淳 国立感染症研究所 エイズ研究センター 主任研究官

**研究要旨** HIV 感染症の病態を解明し予防や治療法を開発・改善するためには、ウイルスと宿主の相互作用を分子レベルで理解することが必要である。近年ウイルス感染に対する抵抗性を獲得免疫とは異なる次元で捉え直す研究が進んでいる。なかでも Intrinsic immunity は最も注目されている免疫学的要素である。我々は独自に開発したヒト T 細胞を利用した機能的 cDNA ライブラリースクリーニングによりリンパ球系の細胞に選択的に発現する Intrinsic immunity 因子として ARHGDIB を見出した。これは小分子 GTPases の機能を負に制御することを通じてウイルスの侵入を阻害する働きを持つことが明らかとなった。新たな複製制御の作用点として ARHGDIB-小分子 GTPases 軸は有用かもしれない。さらに病態進行マーカーや細胞内ワクチンの治療分子としての応用も期待される。

#### A. 研究目的

HIV-1 感染症を制圧するための基盤となるワクチン開発が成功していない背景には、ウイルス・宿主相関に対する理解がまだまだ不十分であるという現状がある。HIV-1 感染症の病期進行をよりよく理解するためには、獲得免疫の概念を超えた視点で HIV-1 感染と宿主応答メカニズムを分子レベルで解明することが必要である。この観点からみると自然免疫はその重要な研究領域として位置づけられる。自然免疫の中でも細胞レベルで恒常的に発現が見られるウイルス抵抗性因子のことを特に Intrinsic immunity と呼ぶ。APOBEC、SAMHD1 などはこれに含まれる (Lagette et al, Retrovirology 2011; Koning et al, J Virol 2009; Refsland et al, Nucleic Acids Res 2010)。なかでも HIV-1 感染標的として重要なリンパ球系に選択的に存在する Intrinsic immunity 因子は病態理解を越えて治療・予防法を開発する際に重要な標的にな

ることが期待される。しかし、CD4、CCR5 を除いてこのような因子はほとんど同定されていない。この背景には宿主因子・ウイルスの相互作用を解析するためのゲノムワイドな方法がこの目的達成に対して理想的な条件ではなかったことが強く疑われる。我々は T 細胞を基盤にした cDNA ライブラリーの機能的スクリーニングを用いて HIV-1 複製の負の制御因子を分離同定する方法を開発した。これまでに BRD4 や SEC14L1a が持つウイルス複製への影響について報告した (Urano et al, Vaccine 2010; Urano et al, FEBS Lett 2008)。このスクリーニング系を用いてリンパ球系に選択的に発現している HIV-1 に対する Intrinsic immunity 候補を見出した。

小分子 GTPases は多くの機能を持つシグナル分子である (DerMardirossian et al, Trends Cell Biol 2005; Dovas et al, Biochem J 2005; Heasman et al, Mol Cell Biol 2008; Ladwein et al, FEBS Lett 2008)。なかでも RHO ファミリーは代表的な分子で

CDC42、RAC1、RAC2、RHOAなどが属する。RHOタンパク質は複数の制御因子によって活性型と不活性型のサイクルを制御されている。RHOの機能を阻害するメカニズムにはこのサイクルを遅くするか、RHOを破壊するかのどちらかである。代表的な制御因子として、RHOGAP、RHOGDI、RHOGEFが知られる。ARHGDIはRHOの阻害因子として同定されている。その遺伝子ファミリーはA、B、Cの三種類がある。Bは血球系細胞に選択的に発現していることが知られている。ARHGDIの作用機序は次の3つが知られている。RHOタンパク質の膜結合ドメインを覆い隠すことにより、細胞質分画に不活性型のRHOとして保持させる。GEFとRHOの相互作用を阻害することにより、RHOの活性化を阻止する。RHOタンパク質の下流に位置するシグナル分子への相互作用を阻害することによりRHOの機能を阻害する。

これまでRHO、RHO制御因子のRHOGEF、RHOGAPがHIV-1複製を左右することは知られていたが、ARHGDIが直接的にHIV-1複製を制御することについて報告されていない(Pontow et al, *Virology* 2007; Zhang et al, *Cancer Res* 2005; Kolesnitchenko et al, *J Virol* 1997; Brass et al, *Science* 2008; Zhou et al, *Cell Host Microbe* 2008; Simmons et al, *Immunity* 2005; Hodges et al, *Nat Immunol* 2007)。RHOファミリーはウイルスの複製の侵入、転写、ウイルス産生、感染性、などに影響することが知られている。中でもRHOやRAC1はウイルスの侵入を制御することが知られている。

## B. 研究方法

T細胞におけるHIV-1複製系を基盤としてTリンパ球系細胞に由来するcDNAライブラリーからHIV-1抵抗性遺伝子を機能的にスクリーニングし

た。方法は、Urano et al, *FEBS Let* 2008、Urano et al, *Vaccine* 2010、Watanabe et al, *AIDS Res Human Retrovirus in press*に詳述されている。候補遺伝子の中からリンパ球系細胞に特異的かつ恒常的に発現する因子に焦点を当てて、そのウイルス抵抗性メカニズムをウイルス学的手法・細胞遺伝学的手法を用いて解析した。

(倫理面への配慮)

特記すべきことなし。

## C. 研究結果

### 1. ARHGDIBの分離について

過去に報告したT細胞におけるHIV-1複製系を基盤とした機能的cDNAライブラリースクリーニングにのっとりMT4細胞cDNAライブラリーからARHGDIBを1.1%の頻度で同定した(Urano et al, *FEBS Let* 2008)。分離された核酸配列によると、およそ全長のcDNAが回収された。これはPBL由来のcDNAライブラリーからは同定されなかった。ARHGDIBは、血球系に選択的に発現しているタンパク質で、201のアミノ酸からなる(Gene ID 397)。これは代表的な小分子GTPasesであるCDC42、RAC1、RAC2、RHOAに結合する。小分子GTPasesと細胞骨格制御因子はHIVの複製を正に制御することが知られている。そのためARHGDIBがウイルス複製を抑制する活性はGTPasesを抑制するためであると考えた。この遺伝子の抗ウイルス活性を検証するために、遺伝子をクローニングしてMLVベクターpQcX1Pに導入した。これを使って、M8166細胞、MT4細胞にARHGDIBを強制発現したところ、抗HIV-1活性が再現された。これは他にもJurkat細胞、PM1細胞、SupT1細胞でも見られた。さらにMT-4細胞にARHGDIBの発現を抑制するshRNAを導入してもconsistentな活性が検出された。この活性はGTPaseを介するものと考え、以下の研究を行った。

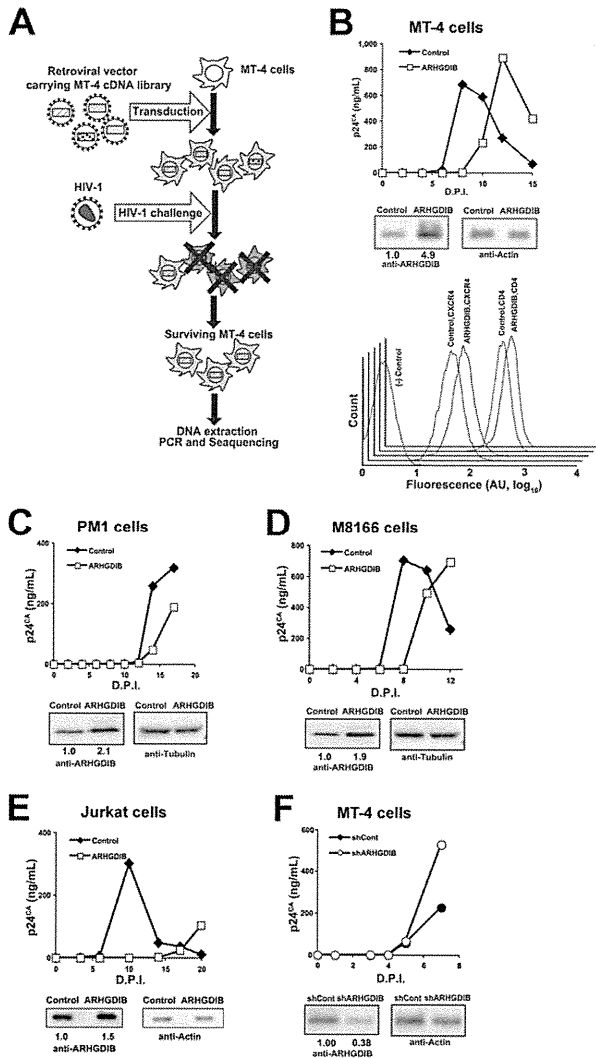


図1. ARHGDI B の分離と抗 HIV-1 活性の検証。(A) MT4 細胞 cDNA ライブラリーからのスクリーニング概要。(B)強制発現系を利用した MT-4 細胞における活性の検証と receptor 発現への影響の解析。(C-E) 強制発現系を利用した多種類のヒト T 細胞株における活性の検証。(F)遺伝子発現抑制系による ARHGDI B の抗 HIV-1 活性の検証。

## 2. タンパク質の解析

多くの T 細胞株では RHO ファミリー分子はすべて発現している。定常的な活性化レベルが最も高い小分子 GTPases が ARHGDI B のエフェクター分子ではないかと考えた。ARHGDI B と相互作用をするのはどの GTPases が最も強いかを評価すると、RAC1 が最も強く相互作用した。次に定常的に最

も活性化レベルの高い小分子 GTPases を検索した。その結果、RHOA が最も高い活性を示した。次に RAC1 が高い活性を示した。一方、CDC42 や RAC2 の活性は定常レベルで極めて低く、ARHGDI B のエフェクターとして機能する可能性は低いと考えられた。以上の結果から ARHGDI B は RHOA と RAC1 に結合して、T 細胞の中で活性を制御することにより抗 HIV-1 活性を顕在化させると考えられる。

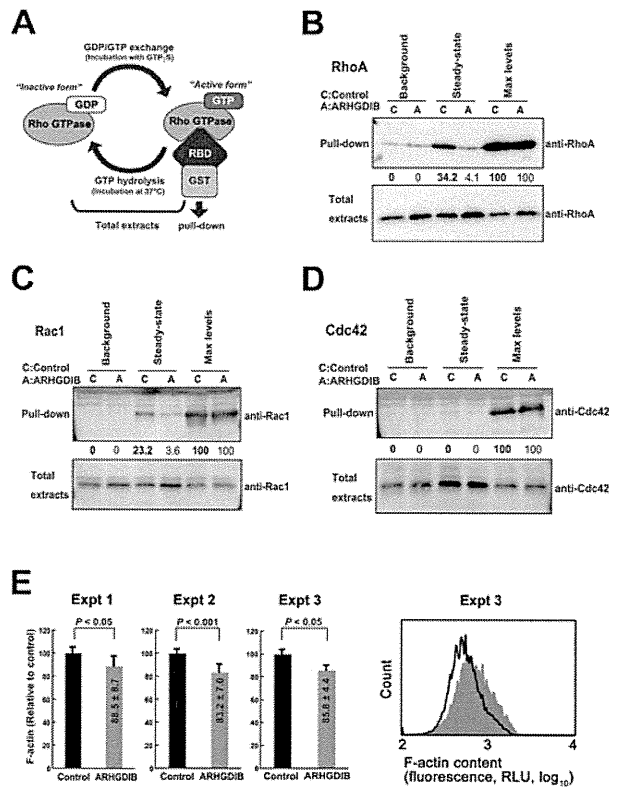


図2. ARHGDI B のエフェクターとなる GTPase 活性の同定と生物活性の表現型に関する解析。(A)GTPase 活性化サイクルとアッセイ系の概要。(B-D)RhoA, Rac1, Cdc42 に関する解析。(E) 蛍光標識付ファロイジンプローブを用いたアクチン重合に与える ARHGDI B の影響に関する解析。

## 3. ウイルス学的検討

T細胞に ARHGDI B 発現プラスミドとプロウイルスをトランスフェクションするとウイルスが産生される。この産生量は ARHGDI B が発現しない対象とほぼ同じであった。これはウイルスの複製

後期課程に対する ARHGDIB の影響が小さいことを示している。一方、レポーター遺伝子を持った複製できないウイルスを感染させると、ARHGDIB 発現細胞に対象よりも低い効率で感染した。以上のことから、感染初期過程に与える影響が優位であることを示している。VSV-G で偽ウイルス化した HIV-1 ベクターの感染効率は低下しないことから ARHGDIB による HIV-1 複製抑制は Env 依存的で侵入において発揮されると考えられた。ウイルスのレセプターである CD4 と CXCR4 は ARHGDIB の発現により左右されなかった。したがってウイルスが細胞に吸着した後、膜融合の効率に最も大きな影響があると思われる。

合を負に制御し、HIV 複製を抑制すると思われる。2つの小分子 GTPases はレセプタークラスターリング・膜融合の効率を正に制御することが知られている(del Real et al, J Exp Med 2004; Iyengar et al, J Virol 1998; Jimenez-Baranda et al, Nat Cell Biol 2007; Malinowsky et al, Virology 2008; Pontow et al, J Virol 2004; Harmon et al, J Virol 2008)。我々の知見はこの報告とよく一致する。ARHGDIB は複数の機能を持っていることからイフェクタータンパク質が今回調査した対象以外にもあることは否定できない。ARHGDIB は細胞骨格の制御因子として知られる VAV1 と Ezrin に結合する。しかし、ウイルス複製制御の作用点として ARHGDIB が有用である蓋然性は高いと思われる。

リンパ球で特異的に発現している宿主因子でウイルス複製を制御するものは、ウイルスのレセプターCD4やCCR5以外ほとんど知られていない。そのため我々の知見は非常に大きな価値を持つと思われる。これは我々の実験系による貢献が大きい。例えば、リンパ球特異的な HIV 複製制御因子を見つけるためには、HeLa 細胞や 293T 細胞に対する siRNA/shRNA 導入実験は適切ではない( Brass et al, Science 2008; Zhou et al, Cell Host Microbe 2008)。なぜなら、リンパ球特異的な遺伝子が発現していないからである。リンパ球由来の cDNA ライブラリーを使えばこの目的は達成できる。ARHGDIB はウイルス複製阻害作用が見逃されてきたのはウイルス遺伝子と直接相互作用しないことが一因かもしれない。これを同定することができた背景には、T 細胞による表現系スクリーニングの貢献が大きいと思われる。

病態の理解を深めるという視点でこの結果をみると、HIV-1 感染症の病期進行に従って ARHGDIB のレベルが高い T 細胞が選択される可能性がある。これは病期進行のマーカースとして応

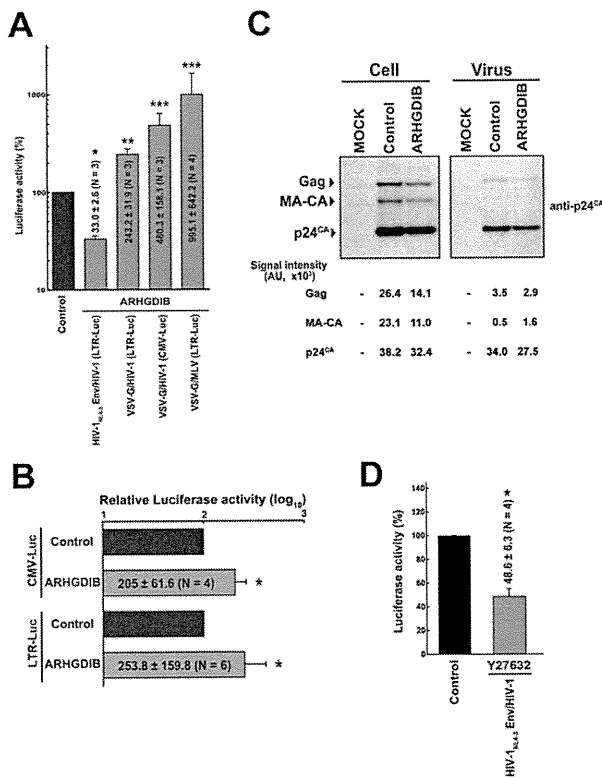


図 3. HIV-1 複製サイクルにおける ARHGDIB の作用点解析。(A)複製初期過程における影響。(B-C)複製後期過程における影響。(D)RhoA シグナル阻害による複製初期過程への影響。

#### D. 考察

ARHGDIB は RHOA・RAC1 に結合してこの結



用可能である。さらに、相対的に ARHGDIB の発現レベルの高いヒトでは HIV-1 感染症の進行は遅いかもかもしれない。治療法開発の視点からみると、ARHGDIB の機能亢進を誘導する方法は有効な抗ウイルス戦略になると思われる。さらに近年進展が著しい細胞内ワクチンの治療分子としての価値もあると期待される。

## E. 結論

リンパ球系に選択的に発現している HIV-1 に対する Intrinsic immunity 分子として ARHGDIB を同定した。これは我々独自のスクリーニング系でしか得られなかった知見として高い独創性がある。HIV-1 感染症の病態理解と新しい治療・予防法開発への貢献が期待される。

## F. 健康危機情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Takizawa M, Miyauchi K, Urano E, Kusagawa S, Kitamura K, Naganawa S, Murakami T, Honda M, Yamamoto N, Komano J\*. Regulation of the susceptibility of HIV-1 to a neutralizing antibody KD-247 by non-epitope mutations distant from its epitope. AIDS. In press.
2. Nomura W, Hashimoto C, Ohya A, Miyauchi K, Urano E, Tanaka T, Narumi T, Nakahara T, Komano J, Yamamoto N, Tamamura H. Synthetic C34 Trimer of HIV-1 gp41 Shows Significant Increase of Inhibition Potency. ChemMedChem. In press.
3. Watanabe T, Urano E, Miyauchi K, Ichikawa ARHGDIBamatake M, Misawa N, Sato K, Ebina H, Koyanagi Y, Komano J\*. The hematopoietic cell-specific Rho GTPase inhibitor ARHGDIBGDIB/D4GDI limits HIV-1 replication. AIDS Res Hum Retroviruses. In press.
4. Imadome K, Yajima M, Arai A, Nakagawa-Nakagawa A, Kawano F, Ichikawa S,

Shimizu N, Yamamoto N, Morio T, Ohga S, Nakamura H, Ito M, Miura O, Komano J, Fujiwara S\*. CD4-positive T cells have a critical role in the proliferation of EBV-infected T and NK cells. PLOS Pathog. In press.

5. Urano E, Kuramochi N, Tomoda H, Takebe Y, Miyauchi K, Komano J\*, Morikawa Y\*. A Novel Postentry Inhibitor of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication Screened by Yeast Membrane-associated Two-hybrid System. Antimicrob Agents Chemother. 2011 Sep;55(9):4251-60.

6. Aoki T, Miyauchi K, Urano E, Ichikawa R, Komano J\*. Protein transduction by pseudotyped lentivirus-like nanoparticles. Gene Therapy. 2011 Sep;18(9):936-41.

7. Miyauchi K, Urano E, Yoshiyama H, Komano J\*. Cytokine signatures of transformed B cells with distinct EBV latencies as a potential diagnostic tool for B cell lymphoma. Cancer Sci. 2011 Jun;102(6):1236-41.

8. Yanagita H, Urano E, Matsumoto K, Ichikawa R, Takaesu Y, Ogata M, Murakami T, Wu H, Chiba J, Komano J, Hoshino T. Structural and biochemical study on the inhibitory activity of derivatives of 5-nitro-furan-2-carboxylic acid for RNase H function of HIV-1 reverse transcriptase. Bioorg Med Chem. 2011; 19, 816-25.

9. 駒野 淳。止まらないエイズウイルス流行の拡大。中央論評、In press

### 2. 学会発表

(国際学会)

1. Emiko Urano, Kosuke Miyauchi, Reiko Ichikawa, Mari Takizawa, Jun Komano. HIV-1 protease-activable CASP3 as a therapeutic gene against HIV-1 infection. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, Sapporo

2. Tadashi Watanabe, Emiko Urano, Kosuke Miyauchi, Reiko Ichikawa, Makiko Hamatake, Kei Sato, Hirota Ebina, Yoshio koranagi, Jun

Komano. The hematopoietic cell-specific Rho GTPase inhibitor ARHGDI/D4GDI limits HIV-1 replication. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, Sapporo

3. Ken-ichi Imadome, Misako Yajima, Ayako Arai, Atsuko Nakazawa, Norio Shimizu, Naoki Yamamoto, Tomohiro Morio, Shouichi Ohga, Mamoru Ito, Jun Komano, Shigeyoshi Fujiwara. Novel mouse xenograft models of CAEBV and EBV-HLH reveals a critical role of CD4+ T cells in the proliferation of EBV-infected T and NK cells. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, Sapporo

4. Hiroshi Yanagita, Tyuji Hoshino, Masakazu Ogata, Emiko Urano, Reiko Ichikawa, Tsutomu Murakami, Jun Komano. Development of the compounds inhibiting RNase H enzymatic activity of HIV-1 reverse transcriptase. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, Sapporo

5. Kosuke Miyauchi, Emiko Urano, Jun Komano. Induction of innate anti-viral response by XMRV infection. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, Sapporo

6. Jun Komano. Inhibition of leukemic cell growth and HIV-1 propagation by HIV-1 protease-activable CASP3. CSHL meeting on Retroviruses, May 23-28, 2011, CSHL meeting on Retroviruses, NY

(国内学会)

1. Emiko Urano, Kosuke Miyauchi, Mari Takizawa, Reiko Ichikawa, Jun Komano.

Therapeutic potential of CASP3 engineered to be activated by HIV-1 protease. 第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日、横浜

2. 齊藤達哉、駒野淳、齋藤愛記、山岡昇司、山本直樹。好中球は Neutrophil extracellular traps により Human immunodeficiency virus-1 を排除する。第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日、横浜

3. Jun Komano, Kosuke Miyauchi, Emiko Urano, Yoshiaki Okada, Cheng Kui, Yin Hang. Activation of TLR3-mediated innate immune response by retroviral infection in human cells. 第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日、横浜

4. 齊藤達哉、駒野淳、齋藤愛記、山岡昇司、山本直樹、審良静男。Zinc finger antiviral protein はガンマレトロウイルスに対する感染防御応答を制御する。第34回日本分子生物学会年会、2011年12月13日、横浜

5. 柳田浩志、横田瑞穂、尾瀨将一、浦野恵美子、市川玲子、村上努、駒野淳、星野忠次。HIV-1 逆転写酵素 RNase H 活性阻害剤の開発。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、2011年12月2日、東京

6. 浦野恵美子、宮内浩典、滝澤万里、市川玲子、駒野淳。HIV プロテアーゼ活性型 CAPS3 による HIV 複製抑制。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、2011年11月30日、東京

7. 尾崎太郎、浦野恵美子、鳴海哲夫、野村涉、Maddali Kasthuraiah、Pommier Yves、山本直樹、駒野淳、玉村啓和。Vpr 由来インテグラーゼ阻害剤の構造活性相関。第25回日本エイズ学会学術集会・総会、2011年11月30日、東京

8. 招待講演 Jun Komano. Cytokine signatures of transformed B cells with distinct EBV latencies as a

potential diagnostic tool for B cell lymphoma. シンポジウム「ガン・免疫・代謝研究を加速する Multiplex Assay とその応用」、2011年6月7日、東京

9. Chie Hashimoto, Wataru Nomura, Aki Ohya, Kosuke Miyauchi, Tetsuo Narumi, Jun Komano, Naoki Yamamoto, Hirokazu Tamamura. Synthesis of Trimeric Peptide Based on Gp41-C34 and its Anti-HIV effects(HIV 外被タンパク質 gp41-C34 3 量体の合成とその抗 HIV 作用). 日本ケミカ

ルバイオロジー学会 第6回年会、2011年5月23-25日、東京

#### H. 知的所有権の出願・取得状況(予定を含む)

1. 特許取得  
特記すべきことなし
2. 実用新案登録  
特記すべきことなし
3. その他  
特記すべきことなし

## 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
Long, Y., Meng, F., Kondo, N., <u>Iwamoto,</u> <u>A.</u> , and Matsuda, Z.	Conserved arginine residue in the membrane-spanning domain of HIV-1 gp41 is required for efficient membrane fusion.	Protein & Cell	2	369-376	2011
Koga, M., Koibuchi, T., Kikuchi, T., Nakamura, H., Miura, T., <u>Iwamoto,</u> <u>A.</u> , and Fujii, T.	Kinetics of serum $\beta$ -D-glucan after <i>Pneumocystis</i> pneumonia treatment in patients with AIDS.	Intern. Med	50	1397-1401	2011
Shi, Y., Qi, J., <u>Iwamoto, A.</u> , and Gao, G.F.	Plasticity of human CD8 $\alpha$ $\alpha$ binding to peptide-HLA-A*240 2.	Mol. Immunol.	48	2198-2202	2011
Nakayama, K., Nakamura, H., Koga, M., Koibuchi, T., Fujii, T., Miura, T., <u>Iwamoto, A.</u> , and Kawana-Tachikawa, A.	Imbalanced Production Of Cytokines By T Cells Assoc iates With The Activation/ Exhaustion Status Of Memory T Cells In Chronic HIV-1 Infection.	AIDS Research and Human Retroviruses	-	in press	2011
Imai, K., Koibuchi, T., Kumagai, T., Maeda, T., Osada, Y., Ohta, N., Koga, M., Nakamura, H., Miura, T., <u>Iwamoto,</u> <u>A.</u> , and Fujii, T.	Cerebral schistosomiasis due to <i>Schistosoma haematobium</i> confirmed by PCR analysis of the brain specimen.	J. Clin. Microbiol.	49	3703-3706	2011
Adachi E, Koibuchi T, Okame M, Sato H, Imai K, Shimizu S, T surita G, Oyaizu N, <u>Iwamoto A</u> , Fujii T.	Case of secondary syphilis presenting with unusual complications: syphilitic proctitis, gastritis and hepatitis.	J. Clin. Microbiol.	49	4394-4396	2011