

ウスの性状を調べた結果、本マウスの中でT細胞（特にCD8+ T細胞）が活性化することが明らかとなり、HTLV-1感染モデルの面白いモデルとして考えることができる。

## F. 健康危険情報

本研究はヒト因子産生 Tg マウスを作製し、その性状を検討するのが目的であり、HTLV-1感染実験は行っていない。したがって、健康に危険と考えられる実験に相当しないと考えられる。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Yahata, T., T. Takanashi, Y. Muguruma, A. A. Ibrahim, H. Matsuzawa, T. Uno, Y. Sheng, M. Onizuka, M. Ito, S. Kato, and K. Ando. 2011. Accumulation of oxidative DNA damage restricts the self-renewal capacity of human hematopoietic stem cells. *Blood* 118:2941-2950.
- 2) Shirakura, Y., Y. Mizuno, L. Wang, N. Imai, C. Amaike, E. Sato, M. Ito, I. Nukaya, J. Mineno, K. Takesako, H. Ikeda, and H. Shiku. 2011. T-cell receptor gene therapy targeting melanoma-associated antigen-A4 inhibits human tumor growth in non-obese diabetic/SCID/gammanull mice. *Cancer Sci* 103:17-25.
- 3) Sato, K., N. Misawa, C. Nie, Y. Satou, D. Iwakiri, M. Matsuoka, R. Takahashi, K. Kuzushima, M. Ito, K. Takada, and Y. Koyanagi. 2011. A novel animal model of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in humanized mice. *Blood* 117:5663-5673.
- 4) Muguruma, Y., H. Matsushita, T. Yahata, S. Yumino, Y. Tanaka, H. Miyachi, Y. Ogawa, H. Kawada, M. Ito, and K. Ando. 2011. Establishment of a xenograft model of human myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 96:543-551.
- 5) Kato, I., A. Niwa, T. Heike, H. Fujino, M. K. Saito, K. Umeda, H. Hiramatsu, M. Ito, M. Morita, Y. Nishinaka, S. Adachi, F. Ishikawa, and T. Nakahata. 2011. Identification of Hepatic Niche Harboring Human Acute Lymphoblastic Leukemic Cells via the SDF-1/CXCR4 Axis. *PLoS One* 6:e27042.
- 6) Hirosawa, T., H. Torikai, M. Yanagisawa, M. Kamei, N. Imahashi, A. Demachi-Okamura, M. Tanimoto, K. Shiraishi, M. Ito, K. Miyamura, K. Shibata, F. Kikkawa, Y. Morishima, T. Takahashi, N. Emi, K. Kuzushima, and Y. Akatsuka. 2011. Mismatched human leukocyte antigen class II-restricted CD8 cytotoxic T cells may mediate selective graft-versus-leukemia effects following allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Cancer Sci* 102:1281-1286.
- 7) Hasegawa, M., K. Kawai, T. Mitsui, K. Taniguchi, M. Monnai, M. Wakui, M. Ito, M. Suematsu, G. Peltz, M. Nakamura, and H. Suemizu. 2011. The reconstituted 'humanized liver' in

TK-NOG mice is mature and functional.  
*Biochem Biophys Res Commun*  
405:405-410.

mouse model. 3<sup>rd</sup> International  
Workshop of Humanized Mice, 28-31,  
Oct. 2011, Pittsburgh, USA.

## 2. 学会発表

- 1) Katano, I., Ito, R., Kamisako, T., Suemizu, H., Ito, M. NK cells predominantly differentiate from human hematopoietic stem cells in NOG mice expressing human interleukin-2. 第40回日本免疫学会. 2011年11月27日~29日. 千葉.
- 2) 小林明日香、谷口智憲、伊藤亮治、片野いくみ、伊藤守、河上裕. ヒトPBMC移入MHCノックアウトNOGマウスにおけるヒト免疫応答の解析. 第40回日本免疫学会. 2011年11月27日~29日. 千葉.
- 3) Ito, M. Development of NOG mouse based immunodeficient mice in CIEA, 3<sup>rd</sup> International Workshop of Humanized Mice, 28-31, Oct. 2011, Pittsburgh, USA.
- 4) Yaguchi, T., Kobayashi, A., Ito, M., Ito, R., Kawakami, Y., Katano, I. Analysis of human immune responses using newly developed murin MHC class I and II-deficient NOG mice by human PBMC inoculation, 3<sup>rd</sup> International Workshop of Humanized Mice, 28-31, Oct. 2011, Pittsburgh, USA.
- 5) Katano, I., Suemizu, H., Sasaki, M., Takahashi, T., Kamisako, T., Ito, M. Generation of novel NOG mouse expressing human interleukin-2 and its characteristics as a humanized

## H. 知的所有権の出願・登録状況

特になし。

## 分担課題

「三部構成免疫賦活複合体（TIPS）の HTLV-I 感染防御ワクチンへの応用」

新川武、琉球大学熱帯生物圏研究センター熱帯感染生物学部門、准教授  
宮田健、琉球大学熱帯生物圏研究センター熱帯感染生物学部門、ポスドク研究員  
松崎吾朗、琉球大学熱帯生物圏研究センター熱帯感染生物学部門、教授

要旨：三部構成免疫賦活複合体（TIPS）は、①抗原、②コイルドコイルコア、③標的リガンドの三部から構成される。平成23年度は HTLV-I 感染に対する防御エピトープ（gp46<sub>180-204</sub>）を搭載した TIPS を構築するため、まず始めに5量体コイルドコイル構造形成タンパク質（COMP）と標的リガンド [B 細胞レセプター（Ig）と結合するプロテイン A 由来の Z ドメイン] を融合タンパク質として大腸菌で発現させた（COMP-Z 融合タンパク質）。この二部構成 COMP-Z 融合分子は、均一性の高い5量体分子を形成し、Ig に対する特異的結合能を有することも確認された。さらに、最終形としての三部構成複合体（gp46<sub>180-204</sub>:COMP-Z）とするための遺伝子融合化も完了させたので、今後、そのタンパク質発現と生化学的解析ならびに感染防御機能の解析を進める。

### A. 研究目的

HTLV-I 感染防御ワクチンを作製する。

換え生物等使用実験安全委員会の承認を得て実施した。

### B. 研究方法

HTLV-I に対する重要な感染防御エピトープとして gp46<sub>180-204</sub> が報告されている（Tanaka et al., 1994）。しかし、エピトープのような低分子量の抗原に対して効果的な免疫を成立させるには、抗原の多量体化による高分子量化や抗原を抗原提示細胞へ運搬するなどの工夫が必要である。今回、我々独自のワクチンプラットフォーム「三部構成免疫賦活複合体（TIPS）」（図1）に HTLV-I の防御抗原、gp46<sub>180-204</sub> を搭載することを計画した。平成23年度は、5量体コイルドコイル構造形成タンパク質である COMP と抗原提示細胞標的化リガンドである Protein A 由来の Z ドメインを融合タンパク質（COMP-Z）として大腸菌で分泌発現させ、その性状ならびに生化学的機能を解析した。なお、全ての遺伝子組換え実験は、琉球大学遺伝子組

### C. 研究結果

タンパク質発現実験では、COMP-Z 融合分子を5量体分子として大腸菌から分泌発現させることに成功した。また、融合体は分泌発現物であるため、大腸菌の培養上清からニッケルアフィニティークロマトグラフィーで簡便に精製可能であった。さらに、その精製産物の Ig 結合能をウエスタンブロット法（WB）で解析した結果、COMP-Z は、マウス、ラットを始めヒトやブタの Ig にも結合することが分かった（図2）。また、COMP-Z をゲル濾過クロマトグラフィーで解析した結果、分子量約 80 kDa の位置にクロマトピークが得られたことから、融合体は均一性の高い5量体として発現していることが確認された（図3）。次に、最終形としての三部構成複合体（gp46<sub>180-204</sub>:COMP-Z）

を発現させるため、その遺伝子融合化も完了させた（図4）。

## D. 考察

HTLV-I 感染防御エピトープ（gp46<sub>180-204</sub>）を搭載するための COMP-Z 融合分子（二部構成複合体）は5量体を形成し、さらに、標的リガンド機能も有するため、当該エピトープのデリバリー分子として機能すると期待される。今後、gp46<sub>180-204</sub>:COMP-Z 融合分子の発現、精製、性状解析、生化学的解析等を実施し、その感染防御機能を検証する。

## E. 結論

gp46<sub>180-204</sub> 搭載型 TIPS を作製するためのデリバリー分子として COMP-Z タンパク質を発現させた。また、その融合タンパク質にさらに gp46<sub>180-204</sub> エピトープを融合させた gp46<sub>180-204</sub>:COMP-Z 遺伝子を構築した。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Miyata T, Harakuni T, Tsuboi T, Sattabongkot J, Ikehara A, Tachibana M, Torii M, Matsuzaki G, and Arakawa T. (2011) Tricomponent immunopotentiating system as a novel molecular design strategy for malaria vaccine development. *Infect. Immun.* 79:4260-4275.

### 2. 学会発表

- 1) 宮田健, 原國哲也, 坪井敬文, Jetsumon Sattabongkot, 橘真由美, 鳥居本美, 松崎吾朗, 新川武. 三部構成免疫賦活システム (TIPs). 第80回日本寄生虫学会大会・第22

回日本臨床寄生虫学会, 2011.7.17-18:東京慈恵会医科大学, 東京都.

- 2) 宮田健. 三部構成免疫賦活システム. 付置研究所間アライアンス・次世代エレクトロニクスグループ (G1) 分科会 (琉球大学ジョイントシンポジウム). 2011.5.11-13: 沖縄コンベンションセンター, 沖縄県.
- 3) 新川武. 組換えワクチンのためのアジュバント開発. 付置研究所間アライアンス・次世代エレクトロニクスグループ (G1) 分科会 (琉球大学ジョイントシンポジウム). 2011.5.11-13: 沖縄コンベンションセンター, 沖縄県.

## H. 知的所有権の出願・登録状況

新川武, 宮田健, 松崎吾朗, 坪井敬文「薬物運搬体並びにこれを利用したアジュバントおよびワクチン」国際出願 PCT/JP2010/51915 (2010.2.10)

## 研究課題

「HTLV-I感染拡大を阻止するワクチンならびに抗体医薬等の開発基盤の確立」

分担課題 三部構成免疫賦活複合体(TIPS)のHTLV-I感染防御ワクチンへの応用

図1 三部構成免疫賦活システム  
Tricomponent Immunopotentiating System (TIPS)

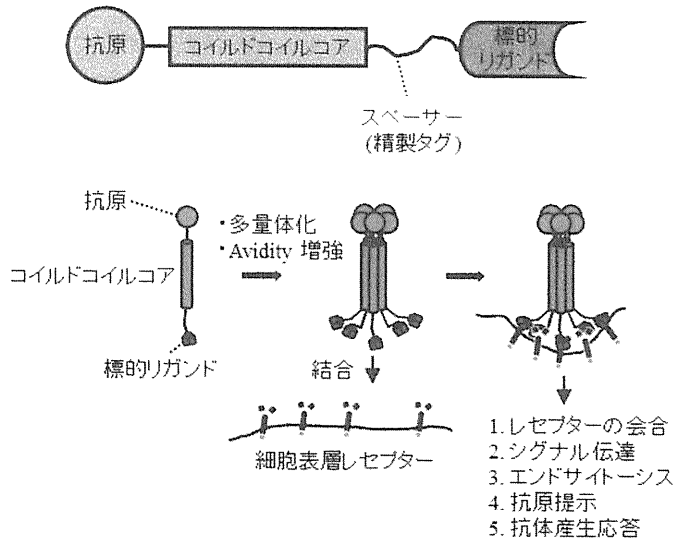


図2 COMP-Zの大腸菌での分泌発現とIg結合能

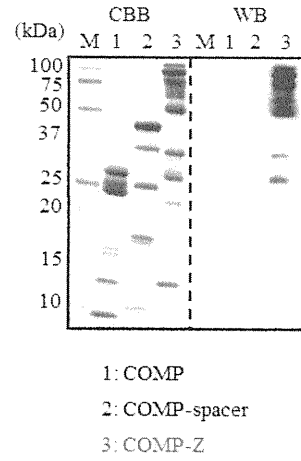


図3 ゲル濾過クロマトグラフィーによる分子量解析

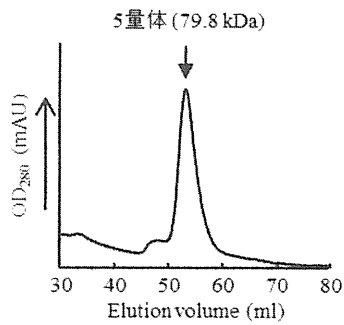
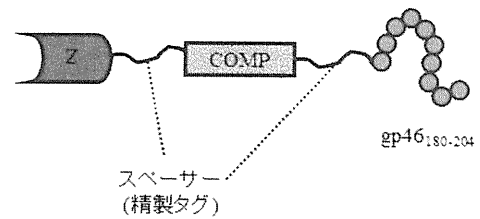


図4 HTLV-I感染防御エピトープ搭載型TIPS  
(gp46<sub>180-204</sub>:COMP-Z)



## 細胞内 HTLV-1 感染抵抗性因子の研究と応用

樋口雅也、新潟大学医歯学系・ウイルス学、准教授

要旨：HTLV-1 Tax1 は感染 T 細胞の不死化およびウイルス遺伝子の発現を促進するトランスフォーミング蛋白である。我々は新規 Tax1 結合蛋白として Ubiquitin Specific Protease 10 (USP10) を同定した。USP10 は、その結合蛋白 G3BP1 とともに、ストレス顆粒形成に必須の分子であることが明らかとなった。Tax1 は USP10 と結合することにより、ストレス顆粒形成を阻害した。したがって、USP10 は HTLV-1 感染の際にストレス顆粒形成を促進し、感染抵抗性因子として作用するが、Tax1 はその作用を阻害することで、ウイルス産生を増大させ、生体内における HTLV-1 感染拡大に寄与している可能性が示唆された。

### A. 研究目的

細胞はウイルスに対して様々な感染抵抗性因子を有しており、一種の自然免疫システムを発動していることが、最近の研究で明らかになりつつある。一方ウイルスは自らがコードするウイルス蛋白によりこれらの因子の機能を阻害し、感染を成立させている。HTLV-1 のもつトランスフォーミング蛋白 Tax1 は、感染細胞の不死化、ウイルス遺伝子の発現を促進する、HTLV-1 感染成立における最重要因子である。我々は Tax1 が結合する細胞内因子の中に HTLV-1 感染抵抗因子が存在すると考え、Tax1 に結合する細胞内因子の網羅的な同定を試みた。本研究は、HTLV-1 に対する細胞内感染抵抗性因子を同定し、その機能を明らかにすることで、感染抵抗性因子活性化の手段の開発と HTLV-1 感染阻止への応用を目的とする。

### B. 研究方法

GST と Tax1 の融合蛋白を大腸菌にて作成、マウス T 細胞株 CTLL-2 の細胞抽出液と反応させ、Tax1 結合蛋白を精製した。ゲルで分離後 CBB 染色を行い、バンドを切り出して、LC-MS/MS による質量分析により蛋白を同定した。

同定された細胞内因子の機能を明らかにするためノックアウトマウスを作成した。ノックアウトマウスより作成した Mouse Embryonic Fibroblast (MEF) および各種細胞株を用いて、in vitro の解析を行った。

### C. 研究結果

HTLV-1 Tax の結合蛋白として Ubiquitin Specific Protease 10 (USP10) を同定した。USP10 はユビキチン化された蛋白からユビキチンを切り離す、脱ユビキチン化酵素の一種である。続いて USP10 結合蛋白を網羅的に検索したところ、G3BP1 が同定された。G3BP1 はストレス顆粒の形成因子であることが示されている。ストレス顆粒とは細胞が様々なストレス（ウイルス感染を含む）に曝された際、蛋白の翻訳を一時停止し、mRNA を一時的に貯蔵あるいは分解するためのシステムであり、細胞のストレス応答システムのひとつである。Usp10 の機能を明らかにするため、Usp10 ノックアウトマウスを作成し、MEF 細胞を樹立した。MEF 細胞を酸化ストレス誘導剤である亜ヒ酸で処理したところ、野生型 MEF 細胞では速やかにストレス顆粒

が形成されたが、ノックアウト MEF 細胞ではその形成能が顕著に低下していた (図 1)。このことから、USP10 は細胞内ストレス顆粒形成に必須の分子であることが明らかとなった。

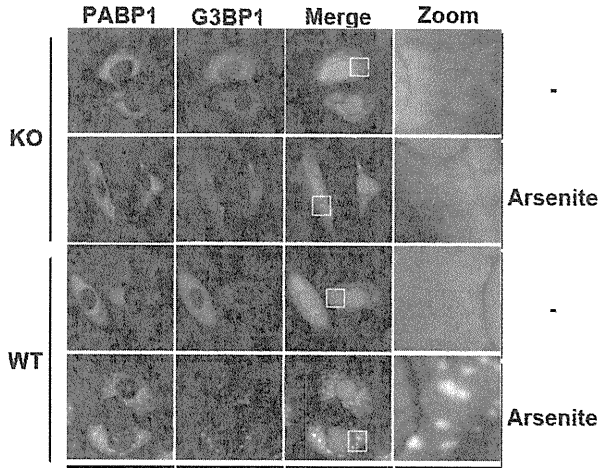


図 1 Usp10 ノックアウト MEF 細胞におけるストレス顆粒形成能の低下。

次に、Tax1 と USP10 の細胞内での結合を免疫沈降実験により確認した。野生型 Tax1 に加えて、Tax703 変異体 (CREB 活性化能無し)、TaxM22 変異体 (NF- $\kappa$ B 活性化能無し) においても結合がみられた。しかしながら 62-353 変異体 (N 末端 61 アミノ酸欠失変異体)、SH1 変異体 (Pro58  $\rightarrow$  Ser)、SH2 変異体 (Leu205  $\rightarrow$  Ala) では、USP10 との結合が認められなかった (図 2)。

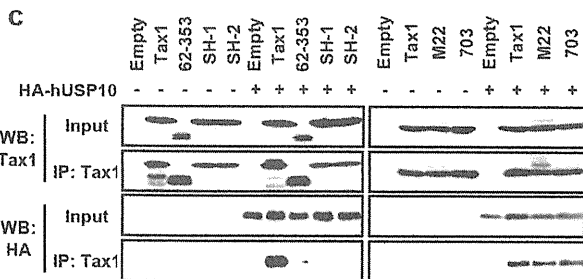


図 2 Tax1 と USP10 の結合。各 Tax 発現ベクターと HA-USP10 発現ベクターを 293T 細胞にトランスフェクション後、抗 Tax 抗体で免疫沈降し、抗 HA 抗体でウェスタンブロットを行った。

この結果、Tax1 と USP10 の結合には、CREB、NF- $\kappa$ B 活性化は必須ではなく、Tax1 の複数の部位が関与していると考えられた。

上記の結果を総合すると、Tax1 と USP10 の結合は、細胞内ストレス顆粒の形成に何らかの影響を与えていることが推察できる。そこで 293T 細胞に Tax1 を発現させ、亜ヒ酸によるストレス顆粒形成を観察したところ、Tax1 発現細胞ではストレス顆粒形成がほとんど見られないことがわかった。このストレス顆粒形成抑制は Tax1 と USP10 との結合に完全に相関していた (図 3)。

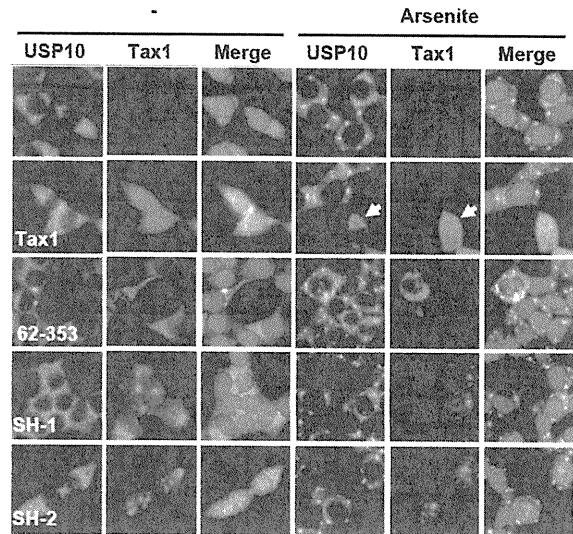


図 3 Tax1 によるストレス顆粒形成阻害。

これらの結果から、Tax1 は USP10 に結合することにより、ストレス顆粒形成を阻害することがわかった。また HTLV-1 感染細胞では非感染細胞に比べストレス顆粒形成能が顕著に低下していた (図 4)。したがって、Tax1 は HTLV-1 感染細胞においても、ストレス顆粒形成を抑制していることが明らかとなった。

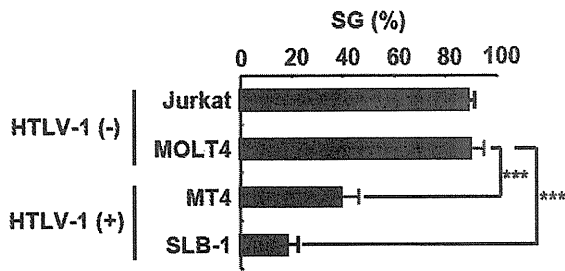


図4 HTLV-1 感染細胞における SG 形成能の低下。

#### D. 考察

本研究で我々は、HTLV-1 Tax1 新規結合蛋白として USP10 を同定した。Usp10 ノックアウト MEF 細胞を使った解析により、USP10 は細胞内ストレス顆粒形成に必須の分子であることが明らかとなった。さらに Tax1 は USP10 と結合することにより、ストレス顆粒形成を阻害すること、HTLV-1 感染細胞では顆粒形成が顕著に低下していることがわかった。

ストレス顆粒は、細胞がウイルス感染を含むさまざまなストレスに曝された際、mRNA からの蛋白合成を一時的にストップし、ストレスから細胞を保護するための、ストレス応答システムである。ウイルス感染が起こった細胞では、このシステムによりウイルス蛋白の合成を阻害し、ウイルスの増殖を抑えようとするが、ウイルスは自らのウイルス蛋白により顆粒形成を阻害し感染を成立させると考えられている。実際に様々なウイルスにおいて、ストレス顆粒形成を阻害するウイルス蛋白が報告されている。HTLV-1 Tax1 はこのような蛋白のひとつであると考えられ、その標的となる USP10 は細胞内 HTLV-1 感染抵抗因子である可能性がある。

#### E. 結論

HTLV-1 Tax1 新規結合蛋白 USP10 はウイルス感染におけるストレス顆粒形成に必須の分子であり、細胞内 HTLV-1 感染抵抗因子であるこ

とが示唆された。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Yoshita M, Higuchi M, Takahashi M, Oie M, Tanaka Y, Fujii M. Activation of mTOR by human T-cell leukemia virus type 1 Tax is important for the transformation of mouse T cells to interleukin-2-independent growth. *Cancer Science* 2012 103: 369-374

##### 2. 学会発表

- 1) Higuchi M, Fujii M. HTLV-1 Tax1 represses the proapoptotic protein Bim, which is crucial for T-cell transformation. 15<sup>th</sup> International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. 2011.6.6. ベルギー ルーベン.
- 2) 樋口雅也, 高橋雅彦, 藤井雅寛. HTLV-1 Tax1 と HTLV-2 Tax2 の違いが病原性に寄与する. 第 70 回日本癌学会学術総会・総会抄録集, 2011.10.3-10.5: 名古屋. 413 (E-3044)

#### H. 知的所有権の出願・登録状況

特になし。



## 皮膚病変組織に浸潤する HTLV-I 感染細胞培養株の樹立と野生型 HTLV-I の分離

栗澤遼子（琉球大学医学部皮膚科、大学院生）

内海大介（琉球大学医学部皮膚科、大学院生）

上里 博（琉球大学医学部皮膚科、教授）

要旨：HTLV-I 感染者は九州・沖縄地方に多いことは周知のことである。今回の研究班のなかで私どもに与えられた課題は「皮膚病変組織に浸潤する HTLV-I 感染細胞培養株の樹立と野生型 HTLV-I の分離」であるが、沖縄県における HTLV-I の感染状況を改めて再度把握するため、2003 年から 2010 年までに琉球大学医学部附属病院受診患者の抗 HTLV-I 抗体の有無を調査した。その結果は、琉球大学医学部附属病院受診患者 13,020 名中 1,749 名（13.43%）が抗体陽性者であった。しかし、その値は他九州地域の長崎大学附属病院で調べられた受診患者 10,342 名中 1,392 名（13.57%）の陽性率とほぼ同じであった。

### A. 研究目的

今回、私どもに与えられた課題は「皮膚病変組織に浸潤する HTLV-I 感染細胞培養株の樹立と野生型 HTLV-I の分離」を目的としている。しかし、その課題に入る前に、ATLL 患者の背景にある沖縄県での HTLV-I 感染状況を具体的に調べることにした。

### B. 研究方法

対象：2003 年から 2010 年までの 7 年間に琉球大学医学部附属病院を受診し、抗 HTLV-I 抗体検査を施行された患者を対象とした。

方法：抗 HTLV-I 抗体はルミパルスプレスト HTLV-I（富士レビオ株式会社）のヒト T 細胞白血球ウイルス 1 抗体キットを使用し、患者血清から抗 HTLV-I 抗体を検出した。

本研究は、琉球大学医学部倫理委員会の承認を得て行い、被検査者である患者の利益ならびに人権保護の取り扱いに十分配慮した。

### C. 研究結果

抗 HTLV-I 抗体の有無の検査を受けた患者は

2003 年から 2010 年までの 7 年間で **13,020** 名であった。その性別は、男性が **6,985** 名、女性が **6,035** 名であった。年齢は 0 歳から 102 歳で全ての年齢層であった（図 1）。各年代の年齢別、性別の HTLV-I 抗体陽性者の割合をみると、HTLV-I 抗体陽性者は 1 歳から 9 歳が 0.35%、10 歳から 19 歳までの HTLV-I 陽性者が 0.85% であった。20 歳から 29 歳では 2.15%、30 歳から 39 歳まで 3.29% の陽性率であり、80～89 歳の陽性率は 22.45%、90 歳以上が 24.02% で最も高かった（図 1）。沖縄県では若年者と超高齢者の陽性率が長崎県と比較して高いという特徴があった（図 2a、2b、2c）。

### D. 考察

沖縄県の抗 HTLV-I 抗体陽性者すなわちキャリアは九州以外の地域より高い。しかし、長崎県と比較すると全体の抗 HTLV-I 抗体陽性率は沖縄県で 13.43%、長崎県の 13.57% と比較して必ずしも沖縄県が高いわけではない。

沖縄県の抗 HTLV-I 抗体陽性者の特徴として、19 歳以下の若年者が長崎県が 0% であるのに対

し、沖縄県では9歳以下が0.35%、10歳から19歳までの抗HTLV-1抗体陽性率が0.88%であった。このことは母乳を介した水平感染あるいは経胎盤での感染の可能性が推測され、産婦人科医あるいは小児科医の感染阻止の指導が必要だと思われる。

### E. 結論

琉球大学医学部附属病院受診患者 13,020 名中 1749 名 (13.43%) が抗体陽性者であった

### F. 健康危険情報

なし

### G. 研究発表

#### 1. 論文発表

1)内海大介, 園崎哲, 宮城拓也, 仲宗根尚子, 山本雄一, 高橋健造, 上里博. 獅子様顔貌を呈した成人 T 細胞白血病/リンパ腫 (ATLL) の 1 例. 西日本皮膚科. 73 (6) : 629, 2011.

#### 2. 学会発表

1)内海大介, 園崎哲, 大平葵, 宮城拓也, 安村涼, 仲宗根尚子, 山本雄一, 高橋健造, 上里博. 獅子様顔貌を呈した成人 T 細胞性白血病/リンパ腫 (ATLL) の 1 例. 第 134 回日本皮膚科学会徳島地方会抄録集, 2011. 1. 29-30:徳島市.

### H. 知的所有権の出願・登録状況

なし

図1. 琉球大学医学部附属病院でHTLV-1抗体検査結果N=13,020名 (2003~2010年までの8年間)

年齢別	総数	女	男	HTLV-1陽性者		HTLV-1陰性		HTLV-1陽性者	
				陽性率(%)	HTLV-1陰性	女	男		
0~9	287	113	174	1	0.35	286	1	0	
10~19	454	218	236	4	0.88	450	2	2	
20~29	837	455	382	18	2.15	819	12	6	
30~39	1215	615	600	40	3.29	1175	26	14	
40~49	1468	701	767	139	9.47	1329	69	80	
50~59	2439	1143	1296	336	13.78	2103	192	144	
60~69	2595	1101	1494	447	17.23	2148	224	223	
70~79	2566	1065	1501	501	19.52	2065	260	241	
80~89	980	503	477	220	22.45	760	127	93	
90~102	179	121	58	43	24.02	136	31	12	
合計	13020	6035	6985	1749	13.43	11271	944	815	

図2a. 琉球大学と長崎大学医学部附属病院の抗HTLV-1抗体陽性者の比較

年齢別	琉球大学(2003-2010)		長崎大学(2000-2007)	
	琉大総数	琉大陽性者数	長崎大総数	長崎大陽性者数
0~9	287	1	63	0
10~19	454	4	155	0
20~29	837	18	588	12
30~39	1215	40	991	37
40~49	1468	139	990	91
50~59	2439	336	1710	236
60~69	2595	447	1961	312
70~79	2566	501	2568	458
80~	1159	177	1316	246
合計	13020	1749	10342	1392

図2b. 琉球大学と長崎大学医学部附属病院の抗HTLV-1抗体陽性者の比較

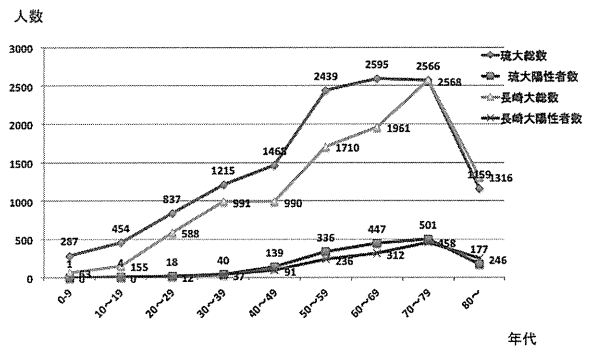


図2c. 琉球大学と長崎大学医学部附属病院の抗HTLV-1抗体陽性者の比較

年齢別	琉球大学(2003-2010)			長崎大学(2000-2007)		
	琉大総数	琉大陽性者数	琉大陽性率	長崎大総数	長崎大陽性者数	長崎大陽性率
0~9	287	1	0.35	63	0	0
10~19	454	4	0.88	155	0	0
20~29	837	18	2.15	588	12	2.04
30~39	1215	40	3.29	991	37	4.07
40~49	1468	139	9.47	990	91	9.19
50~59	2439	336	13.78	1710	236	13.8
60~69	2595	447	17.23	1961	312	15.91
70~79	2566	501	19.52	2568	458	17.83
80~	1159	177	22.69	1316	246	18.69
合計	13020	1749	13.43	10342	1392	13.57

### Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

## 別紙 4

## 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
Saito M	HTLV-1.	Stanley Maloy, Kelly	Encyclopedia of Genetics 2nd Edition	Elsevier	Oxford, UK	2012	in press
新川武、 宮田健	細菌由来タンパク質成分を利用したアジュバント開発の新展開	石井健、山西弘一	アジュバント開発研究の新展開	シーエムシー出版	日本	2011	74-87

## 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
Enose-Akahata Y, Matsuura E, Tanaka Y, Oh U, Jacobson S.	Minocycline modulates antigen-specific CTL activity through inactivation of mononuclear phagocytes in patients with HTLV-I associated neurologic disease.	Retrovirology.	9(1)	16	2012
Lee SJ, Lee JS, Shin MG, Tanaka Y, Park DJ, Kim TJ, Park YW, Lee SS.	Detection of HTLV-1 in the Labial Salivary Glands of Patients with Sjogren's Syndrome: A Distinct Clinical Subgroup?	J Rheumatol.			2012 in press
Yoshita M, Higuchi M, Takahashi M, Oie M, Tanaka Y, Fujii M.	Activation of mTOR by human T-cell leukemia virus type 1 Tax is important for the transformation of mouse T cells to interleukin-2-independent growth.	Cancer Sci.	103(2)	369-374	2012
Kitazono T, Okazaki T, Araya N, Yamano Y, Yamada Y, Nakamura T, Tanaka Y, Inoue M, Ozaki S.	Advantage of higher-avidity CTL specific for Tax against human T-lymphotropic virus-1 infected cells and tumors.	Cell Immunol.	272(1)	11-17	2011

Shibata Y, Tanaka Y, Gohda J, Inoue J.	Activation of the I $\kappa$ B kinase complex by HTLV-1 Tax requires cytosolic factors involved in Tax-induced polyubiquitination.	J Biochem.	150(6)	679-686	2011
Alberti C, Cartier L, Valenzuela MA, Puente J, Tanaka Y, Ramirez E.	Molecular and clinical effects of betamethasone in human T-cell lymphotropic virus type-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis patients.	J Med Virol.	83(9)	1641-1649	2011
Ndhlovu LC, Leal FE, Hasenkrug AM, Jha AR, Carvalho KI, Eccles-James IG, Bruno FR, Vieira RG, York VA, Chew GM, Jones RB, Tanaka Y, Neto WK, Sanabani SS, Ostrowski MA, Segurado AC, Nixon DF, Kallas EG.	HTLV-1 tax specific CD8 <sup>+</sup> T cells express low levels of Tim-3 in HTLV-1 infection: implications for progression to neurological complications.	PLoS Negl Trop Dis.	5(4)	e1030	2011
Belrose G, Gross A, Olindo S, Lezin A, Dueymes M, Komla-Soukha I, Smadja D, Tanaka Y, Willeams L, Mesnard JM, Peloponese JM Jr, Cesaire R.	Effects of valproate on Tax and HBZ expression in HTLV-1 and HAM/TSP T lymphocytes.	Blood	118(9)	2483-2491	2011
Abdelbary NH, Abdullah HM, Matsuzaki T, Hayashi D, Tanaka Y, Takashima H, Izumo S, Kubota R.	Reduced Tim-3 Expression on Human T-lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) Tax-specific Cytotoxic T Lymphocytes in HTLV-I Infection.	J Infect Dis.	203(7)	948-959	2011
Rende F, Cavallari I, Corradin A, Silic-Benusi M, Toulza F, Toffolo GM, Tanaka Y, Jacobson S, Taylor GP, D'Agostino DM, Bangham CR, Ciminale V.	Kinetics and intracellular compartmentalization of HTLV-1 gene expression: nuclear retention of HBZ mRNAs.	Blood	117(18)	4855-4859	2011

Saito M, Bangham CR	Immunopathogenesis of Human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1)-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP): Recent perspectives.	Leukemia Research and Treatment		Article ID 259045	2012
Kannagi M, Hasegawa A, Kinpara S, Shimizu Y, Takamori A, Utsunomiya A.	Double control system for human T cell leukemia virus type 1 by innate and acquired immunity.	Cancer Science	102	670-676	2011
Takamori A, Hasegawa A, Utsunomiya A, Maeda Y, Yamano Y, Shimizu Y, Tamai Y, Sasada A, Zeng N, Choi I, Uike N, Okamura J, Watanabe T, Masuda T, Kannagi M.	Functional impairment of Tax-specific but not CMV-specific CD8+ T-cells in a minor population of asymptomatic HTLV-I-carriers.	Retrovirology	8	100	2011
Choi I, Tanosaki R, Uike N, Utsunomiya A, Tomonaga M, Harada M, Yamanaka T, Kannagi M, Okamura J. on behalf of the ATLL allo-HSCT Study Group.	Long-term outcomes after hematopoietic SCT for adult T-cell leukemia/lymphoma: results of prospective studies.	Bone Marrow Transplantation	46	116-118	2011
Miyata T, Harakuni T, Tsuboi T, Sattabongkot J, Ikehara A, Tachibana M, Torii M, Matsuzaki G, and Arakawa T.	Tricomponent immunopotentiating system as a novel molecular design strategy for malaria vaccine development.	Infection and Immunity	79	4260-4275	2011
Yahata T, Takanashi T, Muguruma Y, Ibrahim AA, Matsuzawa H, Uno T, Sheng Y, Onizuka M, Ito M, Kato S, Ando K.	Accumulation of oxidative DNA damage restricts the self-renewal capacity of human hematopoietic stem cells.	<i>Blood</i>	118	2941-2950	2011
Sato K, Misawa N, Nie C, Satou Y, Iwakiri D, Matsuoka M, Takahashi R, Kuzushima K, Ito M, Takada K, Koyanagi Y.	A novel animal model of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in humanized mice.	Blood	117	5663-5673	2011

Muguruma Y, Matsushita H, Yahata T, Yumino S, Tanaka Y, Miyachi H, Ogawa Y, Kawada H, Ito M, Ando K.	Establishment of a xenograft model of human myelodysplastic syndromes.	<i>Haematologica</i>	96	543	2011
Kato I, Niwa A, Heike T, Fujino H, Saito K, Umeda H, Hiramatsu H, Ito M, Morita M, Nishinaka Y, Adachi S, Ishikawa F, and Nakahata T.	Identification of Hepatic Niche Harboring Human Acute Lymphoblastic Leukemic Cells via the SDF-1/CXCR4 Axis.	<i>PLoS One</i>	6	e27042	2011
Hirosawa T, Torikai H, Yanagisawa M, Kamei M, Imahashi N, Demachi-Okamura A, Tanimoto M, Shiraishi K, Ito M, Miyamura K, Shibata K, Kikkawa F, Morishima Y, Takahashi T, Emi N, Kuzushima K, Akatsuka Y.	Mismatched human leukocyte antigen class II-restricted CD8 cytotoxic T cells may mediate selective graft-versus-leukemia effects following allogeneic hematopoietic cell transplantation.	<i>Cancer Sci</i>	102	1281-1286	2011
Hasegawa M, Kawai K, Mitsui T, Taniguchi K, Monnai M, Wakui M, Ito M, Suematsu M, Peltz G, Nakamura M, Suemizu H.	The reconstituted 'humanized liver' in TK-NOG mice is mature and functional.	<i>Biochem Biophys Res Commun</i>	405	405-410	2011
Shirakura Y, Mizuno Y, Wang L, Imai N, Amaike C, Sato E, Ito M, Nukaya I, Mineno J, Takesako K, Ikeda H, Shiku H.	T-cell receptor gene therapy targeting melanoma-associated antigen-A4 inhibits human tumor growth in non-obese diabetic/SCID $\gamma$ cnull mice.	<i>Cancer Sci.</i>	103	17-25	2012

#### IV. 研究成果の刊行物・別刷



a0005 **HTLV-1**

**M Saito**, University of the Ryukyus, Okinawa, Japan

© 2012 Elsevier Inc. All rights reserved.

This article is a revision of the previous edition article by Dyer, M.J.S., volume 1, pp 979, © 2001, Elsevier Ltd.

**Glossary**

**d0005 Cytotoxic T cell** A cytotoxic T cell belongs to a subgroup of T lymphocytes with CD8 receptor that are antigen-specific and capable of inducing the death of virus-infected somatic or tumor cells.

**d0010 Gliosis** Gliosis is the process of scarring in the central nervous system, caused by a proliferation of astrocytes.

**d0015 Oligoclonal band** Oligoclonal bands are bands of immunoglobulins that are seen when a blood serum (or plasma) or cerebrospinal fluid (CSF) is analyzed by protein electrophoresis. The presence of oligoclonal bands

in CSF but not in blood serum (or plasma) means the production of immunoglobulins in central nervous system, that is, inflammation in the central nervous system.

**Provirus A** provirus is the form of the virus which is capable of being integrated into the chromosome of the host cell. d0020

**Spastic paraparesis** Mild or moderate loss of motor function accompanied by spasticity in the extremities mainly caused by central nervous system (brain and spinal cord) diseases. d0025

**p0030** Human T-lymphotropic virus type-1 (HTLV-1) belongs to the *Deltaretrovirus* genus of the Orthoretrovirinae subfamily and infects 10–20 million people worldwide. HTLV-1 can be transmitted through sexual contact, intravenous drug use, and breastfeeding from mother to child. The infection is endemic in south-west Japan, the Caribbean, sub-Saharan Africa, South America, with smaller foci in Southeast Asia, South Africa, and northeastern Iran. HTLV-1 was initially isolated in 1980 from two T-cell lymphoblastoid cell lines and the blood of a patient originally thought to have a cutaneous T-cell lymphoma. It was the first human retrovirus ever associated with a human cancer. Three years before the isolation of HTLV-1, a Japanese group reported adult T-cell leukemia (ATL), a rare form of leukemia endemic to southwest Japan, as a distinct clinical entity. In 1981, the same group demonstrated that ATL was caused by a new human retrovirus originally termed 'ATLV'. Later, ATL and HTLV have been shown to be identical, and a single name HTLV-1 has been adopted. In the mid-1980s, epidemiological data linked HTLV-1 infection with a chronic progressive neurological disease, which was termed 'tropical spastic paraparesis (TSP)' in the Caribbean and 'HTLV-1 associated myelopathy (HAM)' in Japan. HTLV-1-positive TSP and HAM were subsequently found to be clinically and pathologically identical and the disease was given a single designation as HAM/TSP. HTLV-1 can cause other chronic inflammatory diseases such as uveitis, arthropathy, pulmonary lymphocytic alveolitis, polymyositis, Sjögren syndrome, and infective dermatitis. Only approximately 2–3% of infected persons develop ATL and another 0.25–4% develop chronic inflammatory diseases, while the majority of infected individuals remain lifelong asymptomatic carriers (ACs). Thus, the viral, host, and environmental risk factors, as well as the host immune response against HTLV-1 infection, appear to regulate in the development of HTLV-1-associated diseases. For over two decades, the investigation of HTLV-1-mediated pathogenesis has focused on Tax, an HTLV-1-encoded viral oncoprotein. Tax activates many cellular genes by binding to groups of transcription factors and coactivators and is necessary and

sufficient for cellular transformation. However, recent reports have identified another regulatory protein, HTLV-1 basic leucine zipper factor (HBZ), that plays a critical role in the development of ATL and HAM/TSP.

**HTLV-1-Associated Diseases****Adult T-cell leukemia**

ATL is a fatal malignancy of mature CD4+ T cells. It arises in only a small proportion of HTLV-1-infected people (1–5% of infected individuals) after long latency periods following primary infection. ATL shows diverse clinical features, but can be divided into four clinical subtypes: smoldering, chronic, lymphoma, and acute. Each subtype is directly correlated with the prognosis of patients: the smoldering and chronic types are indolent, while the acute and lymphoma types are aggressive and characterized by resistance to chemotherapy and poor prognosis. Development of ATL is characterized by infiltration of various tissues with circulating ATL cells, called 'flower cells', which have conspicuous lobulated nuclei. These cells cause further symptoms including lymphadenopathy, lytic bone lesions, skin involvement, hepatosplenomegaly, and hypercalcemia. Laboratory findings of ATL patients typically reveal a marked leukocytosis, hypercalcemia, high serum levels of lactate dehydrogenase (LDH), and a soluble form of interleukin-2 receptor (IL-2R). In cohort studies of HTLV-1 carriers, the risk factors for ATL appeared to include vertical infection (mother to child transmission), male gender, older age, and increasing numbers of abnormal lymphocytes. Since ATL occurs mainly in vertically infected individuals, but not in those who become infected later in life, the impairment of HTLV-1-specific T-cell responses caused by vertical HTLV-1 infection has been suggested as a possible cause of disease development. The HTLV-1-specific cytotoxic T-cell (CTL) responses from ATL patients are significantly lower than that of HAM/TSP patients. However, insufficient HTLV-1-specific T-cell responses might also occur during and after the onset of

ATL. Although ATL has a poor prognosis, recent advances in its treatment have led to significant gains in response rates and survival. Accumulating evidence suggests that allogeneic bone marrow transplantation and allogeneic peripheral blood stem cell transplantation are potent therapies for aggressive ATL (i.e., the acute and lymphoma type). The combination of the antiretroviral agent zidovudine (AZT) and interferon- $\alpha$  is also beneficial for overall survival in smoldering and chronic (i.e., indolent) ATL, although its efficacy has not yet been confirmed in well-designed prospective studies.

p0040 Since the discovery of HTLV-1, the viral transactivator Tax has been viewed as critical for leukemogenesis, due to its pleiotropic effects on both viral and many cellular genes responsible for cell proliferation, genetic instability, dysregulation of the cell cycle, and apoptosis. However, Tax expression is not detected in about 60% of freshly isolated samples from ATL cases. Recently, the expression of another regulatory protein, HBZ, has been reported in association with all ATL cases. This protein, which is encoded in the minus or antisense strand of the virus genome, promotes proliferation of ATL cells and induces T-cell lymphomas in CD4+ T cells by transgenic expression, indicating involvement of HBZ expression in the development of ATL. In addition, among the HTLV-1-encoded viral genes, only the HBZ gene sequence remains intact, unaffected by nonsense mutations and deletion. Thus, HBZ expression is indispensable for proliferation and survival of ATL cells and HTLV-1-infected cells, and Tax expression is not always necessary for the development of ATL.

#### s0015 HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis

p0045 HAM/TSP is a chronic progressive myelopathy characterized by spastic paraparesis, sphincter dysfunction, and mild sensory disturbance in the lower extremities. In addition to neurological symptoms, some HAM/TSP cases also exhibit autoimmune-like disorders, such as uveitis, arthritis, T-lymphocyte alveolitis, polymyositis, and Sjögren syndrome. To date, more than 3000 cases of HAM/TSP have been reported in HTLV-1-endemic areas. Sporadic cases have also been described in nonendemic areas such as the United States and Europe, mainly in immigrants from an HTLV-1-endemic area. The lifetime risk of developing HAM/TSP is different among ethnic groups, ranging between 0.25% and 4%. The annual incidence of HAM/TSP is higher among Jamaican subjects than among Japanese subjects (20 vs. three cases/100 000 population), with a 2 to 3 times higher risk for women in both populations. The period from initial HTLV-1 infection to the onset of HAM/TSP is assumed to range from months to decades, a shorter time than for ATL onset. HAM/TSP occurs both in vertically infected individuals and in those who become infected later in life (i.e., through sexual contact (almost exclusively from male to female), intravenous drug use, contaminated blood transfusions, etc.). The mean age at onset is 43.8 years and, like other autoimmune diseases, the frequency of HAM/TSP is higher in women than in men (the male to female ratio of occurrence is 1:2.3).

p0050 The essential histopathological feature of HAM/TSP is a chronic progressive inflammation in the spinal cord, predominantly at the thoracic level. The loss of myelin sheaths and axons in the lateral, anterior, and posterior columns is

associated with perivascular and parenchymal lymphocytic infiltration, reactive astrocytosis, and fibrillary gliosis. In addition to HTLV-1 antibody positivity, other laboratory findings of HAM/TSP include the presence of atypical lymphocytes (the so-called flower cells) in peripheral blood and cerebrospinal fluid (CSF), a moderate pleocytosis, and raised protein content in CSF. Oligoclonal bands, raised concentrations of inflammatory markers such as neopterin, tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , IL-6 and IFN- $\gamma$ , and an increased intrathecal antibody synthesis specific for HTLV-1 antigens have also been described in CSF of HAM/TSP patients.

A previous population association study in HTLV-1 endemic in southwest Japan revealed that one of the major risk factors is the HTLV-1 proviral load (PVL), as the PVL is significantly higher in HAM/TSP patients than in ACs. A high PVL was also associated with an increased risk of progression to disease. Higher PVL in HAM/TSP patients than in ACs was also observed in other endemic areas such as the Caribbean, South America, and the Middle East. In southwest Japan, an association was suggested between possession of the HLA-class I genes HLA-A\*02 and Cw\*08 and a statistically significant reduction in both PVL and the risk of HAM/TSP. By contrast, possession of HLA-class I HLA-B\*5401 and class II HLA-DRB1\*0101 predisposed patients in the same population to HAM/TSP. Since the function of class I HLA proteins is to present antigenic peptides to CTL, these results imply that individuals with HLA-A\*02 or HLA-Cw\*08 mount a particularly efficient CTL response against HTLV-1, which may be an important determinant of HTLV-1 PVL and the risk of HAM/TSP.

To date, no generally agreed standard treatment regimen p0060 has been established for HAM/TSP, as no treatment for HAM/TSP has proven to be consistently effective and long term. Therefore, current clinical practice for treatment of HAM/TSP is based on case series and open, nonrandomized uncontrolled studies. Although mild to moderate beneficial effects have been reported with corticosteroids, immunosuppressants, high-dose intravenous gammaglobulin, antibiotics (erythromycin and fosfomycin), and vitamin C, the clinical benefits are only transient and limited. The complications of steroid use limit their use particularly in postmenopausal females, who are at higher risk of developing HAM/TSP. Only three randomized placebo-controlled trials have been conducted for HAM/TSP treatment. These studies indicate that IFN- $\alpha$  is an effective therapy, with an acceptable side-effects profile. By contrast, no evidence yet exists of any benefit of zidovudine plus lamivudine for treating HAM/TSP. More clinical trials with adequate power are needed in the future.

#### Other HTLV-1-Associated Diseases s0020

HTLV-1 has been implicated in the pathogenesis of p0065 other inflammatory disorders such as uveitis, arthropathy, infective dermatitis, pulmonary lymphocytic alveolitis, polymyositis, Sjögren syndrome, and autoimmune thyroid diseases, based on the higher HTLV-1 PVL and the higher seroprevalence in patients than in ACs. However, direct evidence for an association between these disorders and HTLV-1 infection is still lacking. Nonetheless, HTLV-1 may be a significant trigger for the development of these autoimmune disorders. AU2

*See also:* Retroviruses (01323)

### Further Reading

[bib0005](#) Blattner WA (ed.) (1990) *Human Retrovirology: HTLV*. New York: Raven Press.

Höllsberg P and Hafler DA (eds.) (1996) *Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I*. New York: Wiley. [bib0010](#)

Sugamura K, Uchiyama T, Matsuoka M, and Kannagi M (eds.) (2003) *Two Decades of Adult T-Cell Leukemia and HTLV-I Research: Gann Monograph on Cancer Research*. Tokyo: Japan Scientific Societies Press. [bib0015](#)



RESEARCH

Open Access

# Minocycline modulates antigen-specific CTL activity through inactivation of mononuclear phagocytes in patients with HTLV-I associated neurologic disease

Yoshimi Enose-Akahata<sup>1</sup>, Eiji Matsuura<sup>1,2</sup>, Yuetsu Tanaka<sup>3</sup>, Unsong Oh<sup>1,4</sup> and Steven Jacobson<sup>1\*</sup>

## Abstract

**Background:** The activation of mononuclear phagocytes (MPs), including monocytes, macrophages and dendritic cells, contributes to central nervous system inflammation in various neurological diseases. In HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP), MPs are reservoirs of HTLV-I, and induce proinflammatory cytokines and excess T cell responses. The virus-infected or activated MPs may play a role in immunoregulation and disease progression in patients with HTLV-I-associated neurological diseases.

**Results:** Phenotypic analysis of CD14<sup>+</sup> monocytes in HAM/TSP patients demonstrated high expression of CX<sub>3</sub>CR1 and HLA-DR in CD14<sup>low</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes, compared to healthy normal donors (NDs) and asymptomatic carriers (ACs), and the production of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in cultured CD14<sup>+</sup> cells of HAM/TSP patients. CD14<sup>+</sup> cells of HAM/TSP patients also showed acceleration of HTLV-I Tax expression in CD4<sup>+</sup> T cells. Minocycline, an inhibitor of activated MPs, decreased TNF- $\alpha$  expression in CD14<sup>+</sup> cells and IL-1 $\beta$  release in PBMCs of HAM/TSP patients. Minocycline significantly inhibited spontaneous lymphoproliferation and degranulation/IFN- $\gamma$  expression in CD8<sup>+</sup> T cells of HAM/TSP patients. Treatment of minocycline also inhibited IFN- $\gamma$  expression in CD8<sup>+</sup> T cells of HAM/TSP patients after Tax11-19 stimulation and downregulated MHC class I expression in CD14<sup>+</sup> cells.

**Conclusion:** These results demonstrate that minocycline directly inhibits the activated MPs and that the downregulation of MP function can modulate CD8<sup>+</sup> T cells function in HAM/TSP patients. It is suggested that activated MPs may be a therapeutic target for clinical intervention in HAM/TSP.

**Keywords:** HTLV-I, HAM/TSP, monocyte, CTL, minocycline

## Background

The human T cell lymphotropic virus I (HTLV-I) infects 20 million people worldwide of which the majority of infected individuals are asymptomatic carriers (AC) of the virus [1]. However, in a small percentage of infected individuals, HTLV-I is the etiologic agent of adult T cell leukemia/lymphoma (ATL) [2] and a chronic, progressive neurological disease termed HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) [3,4]. Patients with HAM/TSP demonstrate high HTLV-

I proviral DNA load, high HTLV-I Tax mRNA load, and high virus-specific immune responses, including increased production of inflammatory cytokines and expansion of Tax-specific CD8<sup>+</sup> T cells [5-9]. A high frequency of CD4<sup>+</sup> T cells is persistently infected and exhibits high expression of Tax protein [10]. These infected cells are responsible for the increased lymphocyte proliferation in patients with HAM/TSP [11]. High frequency of activated CD8<sup>+</sup> T cells in peripheral blood and even higher in cerebrospinal fluid has been reported [12]. In addition to these strong HTLV-I-associated T cell responses, it has been suggested that mononuclear phagocytes (MPs; monocytes, dendritic cells, tissue macrophages and microglia) are also involved in the

\* Correspondence: [JacobsonS@ninds.nih.gov](mailto:JacobsonS@ninds.nih.gov)

<sup>1</sup>Viral Immunology Section, Neuroimmunology Branch, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland 20892 USA

Full list of author information is available at the end of the article