

201226011A

厚生労働科学研究費補助金エイズ研究対策事業

# HIV-1感染・発症靈長類モデル研究： 宿主内因性及び獲得免疫解析に基づく 前臨床評価システムの最適化

平成24年度総括・分担研究報告書

研究代表者 **明里 宏文**

京都大学靈長類研究所・教授

平成25(2013)年3月

HIV-1 感染・発症靈長類モデル研究：  
宿主内因性及び獲得免疫解析に基づく  
前臨床評価システムの最適化

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 明里 宏文  
京都大学靈長類研究所 教授

平成25年3月(2013年)



HIV-1 感染・発症霊長類モデル研究：  
宿主内因性及び獲得免疫解析に基づく前臨床評価システムの最適化

研究代表者

明里 宏文 京都大学霊長類研究所 教授

研究分担者

足立 昭夫 徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授

高折 晃史 京都大学大学院医学研究科 教授

中山 英美 大阪大学微生物病研究所 准教授

松岡 佐織 国立感染症研究所エイズ研究センター 研究員

研究協力者

俣野 哲朗 国立感染症研究所エイズ研究センター センター長

保富 康宏 医薬基盤研究所霊長類医科学研究センター センター長

# 目次

## 総括研究報告書

### HIV-1 感染・発症霊長類モデル研究：宿主内因性及び獲得免疫解析に基づく 前臨床評価システムの最適化 .....6

研究代表者 明里 宏文 (京都大学霊長類研究所 教授)  
 研究分担者 足立 昭夫 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授)  
 高折 晃史 (京都大学医学研究科 教授)  
 中山 英美 (大阪大学微生物病研究所 准教授)  
 松岡 佐織 (国立感染症研究所エイズ研究センター 研究員)

## 分担研究報告書

### サル指向性HIV-1のサル類評価検証研究..... 14

研究分担者 明里 宏文 (京都大学霊長類研究所)  
 研究協力者 齊藤 暁 (京都大学霊長類研究所)

### サル病原性HIV-1クローンの構築 ..... 18

研究分担者 足立 昭夫 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授)  
 研究協力者 野間口雅子 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 准教授)

### 抗HIV-1 宿主内因性因子に関する解析 .....22

研究分担者 高折 晃史 (京都大学医学研究科 教授)

### Gagと相互作用する感染抵抗性因子を回避するHIV-1最適化・検証研究.....24

研究分担者 中山 英美 (大阪大学微生物病研究所 准教授)

### カニクイサルを用いたサル指向性HIV-1株の評価実験 .....28

研究分担者 松岡 佐織 (国立感染症研究所 エイズ研究センター 研究員)  
 研究協力者 高橋 尚史 (国立感染症研究所 エイズ研究センター 研究生)

### 研究成果の刊行に関する一覧 .....33

## 総括研究報告書

# HIV-1 感染・発症霊長類モデル研究： 宿主内因性及び獲得免疫解析に基づく 前臨床評価システムの最適化

研究代表者 明里 宏文（京都大学霊長類研究所 教授）

研究分担者 足立 昭夫（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授）

高折 晃史（京都大学医学研究科 教授）

中山 英美（大阪大学微生物病研究所 准教授）

松岡 佐織（国立感染症研究所エイズ研究センター 研究員）

## 研究要旨

抗エイズ薬開発やワクチン開発研究において、その安全性・有効性を評価する上で実験用サル類を用いたトランスレーショナルリサーチは不可欠である。本研究では我々が報告したカニクイザル個体で増殖可能なサル指向性HIV-1（HIV-1mt）クローンを基礎に、宿主内因性及び獲得免疫の基礎的解析に基づき、急性・慢性HIV-1感染霊長類モデルの前臨床評価システムとしての最適化を目指す。今年度は、ワクチン開発・評価研究において重要となるR5指向性Envを持つHIV-1mtの作出、評価を重点課題として取り組んだ。まず、サル個体で高い増殖能と病原性を獲得したR5指向性SHIV-MK38株由来env領域を細胞内相同組換えにて置換したHIV-1mt MN38株を得た。HIV-1mt MN38はカニクイザルへの感染実験の結果、これまでのHIV-1mtクローン中で最も優れた増殖性を有することが示された。またこれと平行して、アカゲザル細胞での効率良いHIV-1増殖に寄与する遺伝子領域の解明とそれに基づく新規HIV-1mtの構築に成功した。これらの成果は、前臨床評価システムとして実用的なHIV-1感染サルモデルの実現に向け大きな進展であると考えられた。

## A. 研究目的

新規抗HIV-1薬やワクチン開発、有効性評価研究において、実験用サル類を用いた前臨床試験は今や不可欠である。しかしHIV-1は実験用サル類に感染発症しないことから、これまでSIVおよびSHIV/マカクザル感染発症モデルが汎用されてきた。一方HIV-1特異的でSIV、SHIVモデルでは評価困難な新規薬剤や予防治療ワクチンの前臨床評価研究を目的として、実用的なHIV-1感染霊長類モデルの開発が求められてきた。当該研究課題では、サル類におけるHIV-1感染および病態発現の制御に寄与する宿主内因性及び獲得免疫の基礎的解析に基づき、慢性エイズを発症する病原性HIV-1感染霊長類モデルを確立し急性・慢性HIV-1感染霊長類モデルの前臨床評価システムとしての最適

化を目指すものである。平成24年度は、これまでの成果を踏まえ、ワクチン開発・評価研究において重要となるR5指向性Envを持つHIV-1mtの作出、評価を重点課題として取り組んだ。またこれと平行して、宿主内因性抗ウイルス免疫因子（以下、宿主免疫因子）と関連ウイルス側因子の機能的解析を行い、宿主因子によるウイルス制御機能をより効率良く回避可能なHIV-1mt樹立に寄与する基盤情報集積を目指した。

## B. 研究方法

本研究チームで同定済みのHIV-1宿主域を規定する宿主内因性免疫因子に関して、その機能ドメインや作用機序解析を進めるとともに、関連ウイルス遺伝子（gag-CA, vif, vpu等）との相互作用を

規定する領域の分子構造生物学的検討を進める。この結果を基に、サル末梢血Tリンパ球での増殖能が向上した改良型HIV-1mtを構築し、実験用サル類における増殖能および免疫応答を評価する。

#### (倫理面への配慮)

本研究では改正動愛法に基づいた動物福祉規程にのっとり、実験動物の飼育・実験・解剖作業を行う。また実験実施機関において実験動物委員会による承認を得た。また用いた組換え生物等については、第二種使用等拡散防止措置確認申請承認(大臣確認)済みである。

### C. 研究結果

#### 1. サル馴化型R5指向性envを有するHIV-1mtの構築及び*in vitro*での評価実験

カニクイザルPBMCを用いてMN5Rh-3の感染実験を行ったところ、X4指向性HIV-1mtクローンであるMN4Rh-3と比較して増殖効率が低かった。そこで、より増殖効率の高いR5指向性HIV-1mtの作成を目指し、サル個体で高い増殖能と病原性を獲得したR5指向性SHIV-MK38株よりenv領域をPCR増幅した。これをMN4Rh-3バックボーンとともにR5発現C8166細胞にトランスフェクションし、細胞内相同組換えにてenv組み換えウイルスであるHIV-1mt MN38株を得た。本ウイルス株のenv配列を確認したところ、SHIV-MK38と同様なheterogeneityが認められた。またMN38株はR5発現細胞でのみ増殖しX4発現細胞では増殖しなかったことから、R5指向性を保持していることが確認された。そこで、カニクイザル個体由来PBMCを用いてMN38株の感染実験を行ったところ、MN5Rh-3と比較し優れた増殖能を示した。

#### 2. カニクイザルにおけるR5指向性HIV-1mt感染実験：

次にカニクイザル個体におけるR5指向性HIV-1mtの増殖能を検討するためサル接種実験を行った。前年度までの研究により、カニクイザルのTRIM5 $\alpha$ 遺伝子にはcyclophilin A (CypA) 遺伝子配列が挿入された変異型アリル (TRIMCyp) が高頻度で存在すること、TRIMCypアリル保有カニクイザル個体ではTRIM5 $\alpha$ アリル個体と比較してHIV-1mt感染における血中ウイルス量が約50倍高いことを明らかにした。そこで本実験では

TRIMCypアリル保有カニクイザルを用いることとした。MN5Rh-3感染における血中ウイルスRNA量のピーク値は平均約 $7 \times 10^3$  copies/mlであったのに対し、MN38感染では平均約 $4 \times 10^4$  copies/mlと6倍程度高い値を示した。このことから、MN38が有するEnvはサル個体でのウイルス増殖においてMN5Rh-3 Envと比較し優位である事が示された。現在までに、MN38感染ザルへのCD8特異抗体投与によりCD8陽性T細胞を除去したところウイルス再活性化が見られており、引き続きウイルス動態及びゲノム馴化変異について解析を行っている。

#### 3. アカゲザル馴化HIV-1mtの構築及び*in vitro*での評価実験

細胞馴化およびホモロジーモデリング法による構造解析の情報も加味した遺伝子工学的手法による部位特異的変異導入により、MN4Rh-3のGag-CAを改変しMN4/LSDQを作製した。さらに抗サルTetherin活性を持つVpuの構築を目指し、上述のMN4/LSDQにSIVgsn VpuのTM領域を挿入したMN4/LSDQgtuを作成した。MN4/LSDQgtuはカニクイザルおよびアカゲザルPBMCにおいて、調べたHIV-1mt中最も効率良く増殖し、SIVmac239並みの増殖性を示す場合があった。特に、アカゲザルPBMCでその傾向が顕著であった。

#### 4. 抗HIV-1宿主内因性因子に関する解析

- ・ TRIM5/CA：昨年度TRIMCyp遺伝子を両染色体に持つカニクイザル個体を選ぶことで一定の増殖が得られたものの、HIV-1mtの増殖はSIVmac239の増殖には及ばなかった。そこで本年度はカプシドに導入する変異の最適化を試みた。CypAとの結合を妨げるとの報告のある変異を導入したが、TRIMCypから回避しているウイルスは得られなかった。CypAとの結合が弱まっていると考えられるにも拘らず、TRIMCypから回避できない理由として、CypAとは異なりTRIMCypはB-box2とCoiled-coilドメインを介して多量体の格子を形成して結合力を上昇させていることが考えられた。多様な変異導入ウイルスライブラリーをTRIMCyp発現細胞で選択することにより馴化ウイルス作出を試みている。
- ・ CBF $\beta$ , TP53/Vif：VifはTP53のSer<sup>15</sup>、Ser<sup>20</sup>、Ser<sup>37</sup>およびSer<sup>46</sup>のリン酸化を増強することを



することを見出した。さらに、これらのセリン残基をアラニンに置換した変異体の解析により、Ser<sup>15</sup>のリン酸化がVifの誘導するG2停止やウイルス感染の増強に必須であることを示した。また、AMPK阻害剤によりVifによるTP53のSer<sup>15</sup>のリン酸化が抑制されることや、VifによりAMPKのT<sup>172</sup>のリン酸化が誘導されることを見出した。また、VifのE88A/W89A変異体はCBFβと結合しないことを見出した。さらに、この変異体はCEM-SS細胞では野生株と同様の感染性を示すが、APOBEC3を発現するCEM細胞では複製能が低下していることを確認した。これらの結果を踏まえ、今後HIV-1とSIV由来Vifの機能的互換性を分子構造科学的観点から探っていきたい。

#### D. 考察

本研究課題の最終目標は、HIV-1自体を標的としたワクチンや新規抗HIV薬の有効性評価が可能となる実用的なHIV-1感染霊長類モデルの開発である。今年度までの研究により、R5指向性HIV-1mtによるカニクイザル急性感染モデルを世界で初めて確立することに成功した。特に臨床分離株である89.6をベースとしたサル馴化型R5指向性Envに置換したHIV-1 MN38株が、SF162由来Envを持つMN5Rh-3と比較しサル個体にて優れた増殖能を示したことは特筆すべき成果である。しかし慢性エイズを発症する病原性HIV-1感染霊長類モデルの確立に関しては、更なる宿主免疫因子からの回避、最適化などが来年度以降の課題として残されている。

これまでにSIV感染モデルでは主としてアカゲザルが使用されてきた。アカゲザルはMHCなどの解析も進んでいるなど研究リソースも充実しておりモデル動物として優れている。本研究において、TRIM5とBST-2/tetherinに強い抵抗性を示し、アカゲザル細胞で非常に効率良く増殖するHIV-1mtであるMN4/LSDQgtuの構築に成功した。今後は同クローンのアカゲザルにおける増殖能に焦点を当て検証を進めていく。

#### E. 結論

ワクチン開発・評価研究において重要となるR5指向性Envを持つHIV-1mtの作出、評価を重点課題として取り組み、その結果R5指向性HIV-1mtに

よるカニクイザル感染モデル確立に成功したことから、今年度の主たる目標は達成したと考えられる。今年度の研究成果を踏まえ、本研究課題期間内に病原性を伴う持続感染HIV-1mtクローン確立および実用的なHIV-1感染霊長類モデル開発を推進する。これらの成果は、前臨床評価システムとして実用的なHIV-1感染サルモデルの実現に向け大きな進展であると考えられた。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

研究代表者：明里宏文

- 1) Saito A, Nomaguchi M, Kono K, Iwatani Y, Yokoyama M, Yasutomi Y, Sato H, Shioda T, Sugiura W, Matano T, Adachi A, Nakayama EE, Akari H: *TRIM5* genotypes in cynomolgus monkeys primarily influence inter-individual diversity in susceptibility to monkey-tropic human immunodeficiency virus type 1. *Journal of General Virology*, in press.
- 2) Nomaguchi M, Doi N, Fujiwara S, Saito A, Akari H, Nakayama EE, Shioda T, Yokoyama M, Sato H, Adachi A: Systemic biological analysis of the mutations in two distinct HIV-1mt genomes occurred during replication in macaque cells. *Microbes and Infection*, in press.
- 3) Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Saito A, Akari H, Yasutomi Y, Matano T, Sato H, Adachi A: Gag-CA Q110D mutation elicits TRIM5-independent enhancement of HIV-1mt replication in macaque cells. *Microbes and Infection* 15, 56-65, 2013.
- 4) Saito A, Kawamoto Y, Higashino A, Yoshida T, Ikoma T, Suzaki Y, Ami Y, Shioda T, Nakayama EE, Akari H: Allele Frequency of Antiretroviral Host Factor TRIMCyp in Wild-caught Cynomolgus Macaques (*Macaca fascicularis*). *Frontiers in Microbiology* 3, 314, 2012.
- 5) Ohtani H, Naruse TK, Iwasaki Y, Akari H, Ishida T, Matano T, Kimura A: Lineage-specific evolution of T-cell immunoglobulin and mucin domain 1 gene in the primates. *Immunogenetics* 64, 669-678, 2012.
- 6) Iijima S, Lee Y-J, Ode H, Arold ST, Kimura N, Yokoyama M, Sato H, Tanaka Y, Strebel K, Akari H: A non-canonical mu-1A-binding motif in the N-terminus of HIV-1 Nef determines its activity to

down-regulate MHC-I in T lymphocytes. *Journal of Virology* 86, 3944-51, 2012.

### 研究分担者

#### 足立昭夫

- 1) Saito A, Nomaguchi M, Kono K, Iwatani Y, Yokoyama M, Yasutomi Y, Sato H, Shioda T, Sugiura W, Matano T, Adachi A, Nakayama EE, Akari H: TRIM genotypes in cynomolgus monkeys primarily influence inter-individual diversity in susceptibility to monkey-tropic human immunodeficiency virus type 1. *Journal of General Virology*, in press.
- 2) Nomaguchi M, Doi N, Fujiwara S, Saito A, Akari H, Nakayama EE, Shioda T, Yokoyama M, Sato H, Adachi A: Systemic biological analysis of the mutations in two distinct HIV-1mt genomes occurred during replication in macaque cells. *Microbes and Infection*, in press.
- 3) Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Saito A, Doi H, Yasutomi Y, Matano T, Sato H, Adachi A: Gag-CA Q110D mutation elicits TRIM5-independent enhancement of HIV-1mt replication in macaque cells. *Microbes and Infection* 15, 56-65, 2013.
- 4) Miyakawa K, Sawasaki T, Matsunaga S, Tokarev A, Quinn G, Kimura H, Nomaguchi M, Adachi A, Yamamoto N, Guatelli J, Ryo A: Interferon-induced SCYL2 limits release of HIV-1 by triggering PP2A-mediated dephosphorylation of the viral protein Vpu. *Science Signaling* 5, ra73, 2012.
- 5) Fujita M, Nomaguchi M, Adachi A, Otsuka M: SAMHD1-dependent and -independent functions of HIV-2/SIV Vpx protein. *Frontiers in Microbiology* 3, 297, 2012.
- 6) Nomaguchi M, Fujita M, Miyazaki Y, Adachi A: Viral tropism. *Frontiers in Microbiology* 3, 281, 2012.
- 7) Nomaguchi M, Doi N, Matsumoto Y, Sakai Y, Fujiwara S, Adachi A: Species tropism of HIV-1 modulated by viral accessory proteins. *Frontiers in Microbiology* 3, 267, 2012.

#### 高折晃史

- 1) Shinohara M, Io K, Shindo K, Matsui M, Sakamoto T, Tada K, Kobayashi M, Kadowaki N, Takaori-Kondo A: APOBEC3B can impair genomic stability by inducing base substitutions in genomic DNA in human cells. *Scientific Reports* 2, 806, 2012.
- 2) Fujita H, Kitawaki T, Sato T, Maeda T, Kamihira

S, Takaori-Kondo A, Kadowaki N: The tyrosine kinase inhibitor dasatinib suppresses cytokine production by plasmacytoid dendritic cells by targeting endosomal transport of CpG DNA. *European Journal of Immunology* 43, 94-104, 2012.

- 3) Chonabayashi K, Hishizawa M, Kawamata S, Nagai Y, Ohno T, Ishikawa T, Uchiyama T, Takaori-Kondo A: Direct binding of Grb2 has an important role in the development of myeloproliferative disease induced by ETV6/FLT3. *Leukemia*, doi: 10.1038.leu/2012.333, 2012.
- 4) Furukawa A, Okamura H, Morishita R, Matsunaga S, Kobayashi N, Ikegami T, Kodaki T, Takaori-Kondo A, Ryo A, Nagata T, Katahira M: NMR study of xenotropic murine leukemia virus-related virus protease in a complex with amprenavir. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 425, 284-9, 2012.
- 5) Matsunaga S, Sawasaki T, Ode H, Morishita R, Furukawa A, Sakuma R, Sugiura W, Sato H, Katahira M, Takaori-Kondo A, Yamamoto N, Ryo A: Molecular and enzymatic characterization of XMRV protease by a cell-free proteolytic analysis. *Journal of Proteomics* 75, 4863-73, 2012.
- 6) Takaori-Kondo A, Shindo K: HIV-1 Vif: a guardian of the virus that opens up a new era in the research field of restriction factors. *Frontiers in Microbiology* 4, 34, 2013.

#### 中山英美

- 1) Nomaguchi M, Doi N, Fujiwara S, Saito A, Akari H, Nakayama EE, Shioda T, Yokoyama M, Sato H, Adachi A: Systemic biological analysis of the mutations in two distinct HIV-1mt genome occurred during replication in macaque cells. *Microbes and Infection* in press.
- 2) Nakayama EE, Nakajima T, Kaur G, Mimaya JJ, Terunuma H, Mehra N, Kimura A, Shioda T: A naturally occurring single amino acid substitution in human TRIM5 $\alpha$  linker region affects its anti-HIV-1 activity and susceptibility to HIV-1 infection. *AIDS Research and Human Retroviruses* in press.
- 3) Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Saito A, Akari H, Yasutomi Y, Matano T, Sato H, Adachi A: Gag-CA Q110D mutation elicits TRIM5-independent enhancement of HIV-1mt replication in macaque cells. *Microbes and Infection* 15, 56-65, 2013.
- 4) Miyamoto T, Nakayama EE, Yokoyama M, Ibe S, Takehara S, Kono K, Yokomaku Y, Pizzato M, Luban J, Sugiura W, Sato H, Shioda T: The car-

- boxyl-terminus of human immunodeficiency virus type 2 circulating recombinant form 01\_AB capsid protein affects sensitivity to human TRIM5 $\alpha$ . PLOS ONE 7, e47757, 2012
- 5) Saito A, Kawamoto Y, Higashino A, Yoshida T, Ikoma T, Suzaki Y, Ami Y, Shioda T, Nakayama EE, Akari H: Allele Frequency of Antiretroviral Host Factor TRIMCyp in Wild-caught Cynomolgus Macaques (*Macaca fascicularis*). *Frontiers in Microbiology* 3, 314, 2012
  - 6) Likanonsakul S, Rattanatham T, Feangvad S, Uttayamakul S, Prasithsirikul W, Srisopha S, Nitiyanontakij R, Tengtrakulcharoen P, Tarkowski M, Riva A, Nakayama EE, Shioda T: Polymorphisms in Fas gene is associated with HIV-related lipodystrophy in Thai patients. *AIDS Research and Human Retroviruses* 29, 142-150, 2013.
  - 7) Bozek K, Nakayama EE, Kono K, Shioda T: Electrostatic potential of human immunodeficiency virus type 2 and rhesus macaque simian immunodeficiency virus capsid proteins. *Frontiers in Microbiology* 3, 206, 2012.
- 松岡佐織
- 1) Nomura T, Yamamoto H, Shiino T, Takahashi N, Nakane T, Iwamoto N, Ishii H, Tsukamoto T, Kawada M, Matsuoka S, Takeda A, Terahara K, Tsunetsugu-Yokota Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Sata T, Naruse TK, 1) Kimura A, Matano T: Association of major histocompatibility complex class I haplotypes with disease progression after simian immunodeficiency virus challenge in Burmese rhesus macaques. *J Virol.* 86, 6481-6490, 2012.
  - 2) Ishii H, Kawada M, Tsukamoto T, Yamamoto H, Matsuoka S, Shiino T, Takeda A, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, Naruse TK, Kimura A, Takiguchi M, Matano T: Impact of vaccination on cytotoxic T lymphocyte immunodominance and cooperation against simian immunodeficiency virus replication in rhesus macaques. *OJ Virol.* 86, 738-745, 2012.
2. 学会発表
- 明里宏文
- 1) Akatsuki Saito, Ken Kono, Masako Nomaguchi, Masaru Yokoyama, Yasuhiro Yasutomi, Tetsuro Matano, Hironori Sato, Tatsuo Shioda, Akio Adachi, Hirofumi Akari, Emi E Nakayama: Genetic Diversity of *TRIM5* Gene and HIV-1 Susceptibility in Cynomolgus Macaque (*Macaca fascicularis*). Cold Spring Harbor meeting on Retroviruses, May21-26,2012, New York.
  - 2) 齊藤 暁、河野 健、中山英美、日柳章彦、保富康宏、塩田達雄、吉田友教、東濃篤徳、生駒智子、川本 芳、鳥居隆三、明里宏文：レトロウイルス感受性を規定するカニクイザル *TRIM5* 遺伝子型の地理的多様性 第59回日本実験動物学会総会（別府）平成24年5月24-26日
  - 3) 明里宏文：ヒト免疫不全ウイルスによるMHC-1発現制御機構の分子構造学的解析 第21回日本組織適合性学会大会シンポジウム（東京）平成24年9月16日
  - 4) 齊藤 暁、河野 健、中山英美、塩田達雄、川本 芳、鳥居隆三、吉田友教、東濃篤徳、鈴木紗織、保富康宏、明里宏文：マカク属サル *TRIM5* 遺伝子における種間および種内の多様性 第60回日本ウイルス学会学術集会（大阪）平成24年11月13-15日
  - 5) 三浦未知、田邊順子、菅田謙治、Zhao Tiejun、齊藤暁、安永純一郎、明里宏文、松岡雅雄：サルT細胞白血病ウイルス1型のウイルス学的解析と病原性 第60回日本ウイルス学会学術集会（大阪）平成24年11月13-15日
  - 6) 野村拓志、山本浩之、明里宏文、俣野哲朗：SIV複製抑制マカクサルにおけるCTL逃避変異体の選択による複製抑制破壊機構の解析 第60回日本ウイルス学会学術集会（大阪）平成24年11月13-15日
  - 7) 齊藤 暁、河野 健、中山英美、日柳章彦、保富康宏、塩田達雄、吉田友教、東濃篤徳、川本 芳、鳥居隆三、明里宏文：アジアに生息するマカク属サルで認められる *TRIM5* 遺伝子の多様性 第60回日本ウイルス学会学術集会（大阪）平成24年11月13-15日
- 足立昭夫
- 1) 宮崎恭行、三宅在子、野間口雅子、内山恒夫、足立昭夫：*in vitro*再構築系を用いたHIV-2 CAアセンブリーの安定性に関する解析 第60回日本ウイルス学会 2012年11月13日、大阪
  - 2) 土肥直哉、藤原佐知、酒井遥介、松本 唯、足立昭夫、野間口雅子：R5-tropic HIV-1mt NL-DT562のEnv適応変異による増殖促進機構の解析 第60回日本ウイルス学会 2012年11月13日 大阪
  - 3) 三宅在子、藤野悠那、古賀涼子、川村宗吾、大出裕高、岩谷靖雅、野間口雅子、足立昭夫、大塚雅巳、藤田美歌子、宮崎恭行：Vpx発現におけるC末端ポリプロリンモチーフの機能の解析 第60回日本ウイルス学会 2012年11月

14日 大阪

- 4) 藤田美歌子、野間口雅子、古賀涼子、藤野悠那、大塚雅巳、足立昭夫：SAMHD1非依存的なHIV-2 Vpxの機能 第60回日本ウイルス学会 2012年11月14日 大阪
- 5) 野間口雅子、三宅在子、土肥直哉、藤原佐知、宮崎恭行、足立昭夫：HIV-1インテグラーゼC末端領域の1塩基置換によるウイルス複製制御機構の解析 第60回日本ウイルス学会 2012年11月14日 大阪
- 6) 藤野悠那、三宅在子、古賀涼子、川村宗吾、大出裕高、岩谷靖雅、野間口雅子、足立昭夫、大塚雅巳、宮崎恭行、藤田美歌子：HIV-2 Vpx富プロリン領域の機能 第26回日本エイズ学会 2012年11月24日 横浜

#### 高折晃史

- 1) Io K, Matsui Y, Shindo K, Izumi T, Matsui M, Shinohara M, Takaori-Kondo A: HIV-1 Vif induces serine phosphorylation of p53 likely through proteasomal degradation of cellular targets. Cold Spring Harbor Meeting on Retroviruses 2012
- 2) 松井佑亮、新堂啓祐、永田佳代子、永井雄也、井尾克宏、篠原正信、多田浩平、阪本貴士、小林正行、高折晃史：BiFC法（蛍光蛋白再構成法）によるHIV-1 VifとCBFβの相互作用解析 第26回日本エイズ学会
- 3) 井尾克宏、新堂啓祐、泉泰輔、西澤正俊、松井道志、篠原正信、阪本貴士、多田浩平、松井佑亮、丸山 互、小林正行、高折晃史：Vifはp53のリン酸化を介してHIV-1の感染性を増強する 第26回日本エイズ学会

#### 中山英美

- 1) E Nakayama, T Nakajima, G Kaur, H Terunuma, J-I Mimaya, H Ohtani, N Mehra, A Kimura, Tatsuo Shioda: A Naturally Occurring Single Amino Acid Substitution in Human TRIM5α Linker Region Affects Its Anti-HIV-1 Activity and Susceptibility to HIV-1 Infection. Cold Spring Harbor Laboratory (Retroviruses). 2012. May 21-26, 2012, NY (USA).
- 2) Emi Nakayama, Toshiaki Nakajima, Gurbinder Kaur, Jun-ich Mimaya, Hiroshi Terunuma, Narinder Mehra, Akinori Kimura, Tatsuo Shioda: A naturally occurring single amino acid substitution in human TRIM5α linker region affects its anti-HIV-1 activity and susceptibility to HIV-1 infection. 第11回あわじしま感染症・免疫フォーラム 2012年9月11-14日 淡路島
- 3) 中山英美、中島敏晶、Gurbinder Kaur、三間屋

純一、照沼 裕、Narinder Mehra、木村彰方、塩田達雄：ヒトTRIM5αリンカー領域の多型の抗HIV-1活性に及ぼす影響 第26回エイズ学会学術集会・総会 2012年11月24-26日 横浜

#### 松岡佐織

- 1) Y. Takahata, S. Matsuoka, H. Sakawaki, T. Miura, T. Igarashi, Y. Koyanagi, A. Kimura, and T. Matano: Impact of therapeutic vaccination on CTL dominance and viral suppression in SIV-infected macaque under HAART. The 19<sup>th</sup> International AIDS Congress, Washington DC, US, 20,21/7/2012.
- 2) 石井 洋、野村 拓、高橋尚史、高原悠佑、松岡佐織、俣野哲朗：SIV感染アカゲザルにおける各ウイルスタンパク抗原特異的CTL反応の網羅的解析 第60回日本ウイルス学会学術集会 大阪 2012/11/13-15
- 3) 栗原京子、石井 洋、松岡佐織、上野貴将、滝口雅文、俣野哲朗：ビルマ産アカゲサルエイズモデルにおける細胞傷害性Tリンパ球のT細胞受容体遺伝子の同定 第60回日本ウイルス学会学術集会 大阪 2012/11/13-15
- 4) 中村 碧、高原悠佑、松岡佐織、阪脇廣美、三浦智行、小柳義夫、成瀬妙子、木村彰方、俣野哲朗：サルエイズモデルにおける抗HIV薬投与下のCTL誘導治療ワクチン接種効果の解析 第26回日本エイズ学会学術集会 横浜 2012/11

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし



## 分担研究報告書

# サル指向性HIV-1のサル類評価検証研究

研究分担者 明里 宏文（京都大学霊長類研究所）

研究協力者 齊藤 暁（京都大学霊長類研究所）

## 研究要旨

昨年度、我々はカニクイザルにおけるサル指向性HIV-1（HIV-1mt）の感受性に関する個体差が主として TRIM5 遺伝子型に起因するものであること、TRIMCyp homozygote での血中ウイルスRNA量は TRIM5 $\alpha$  homozygote と比較して顕著に高いことを明らかにした。この成果から、今後のHIV-1mt感染霊長類モデルによる前臨床評価システム開発に大きく貢献すると考えられた。そこで今年度は、ワクチン開発・評価研究において重要となるR5指向性Envを持つHIV-1mtの作出、評価に取り組んだ。まず、サル個体で高い増殖能と病原性を獲得したR5指向性SHIV-MK38株由来env領域を細胞内相同組換えにて置換したHIV-1mt MN38株を得た。HIV-1mt MN38はカニクイザル個体由来PBMCにおいて優れた増殖能を示すことが確認されたため、TRIMCypアリル保有カニクイザルへの感染実験を行った。その結果、急性期における血中ウイルスRNA量は約 $4 \times 10^4$  copies/mlとこれまでのHIV-1mtクローン中で最も優れた増殖性を有することが示された。現在個体内馴化を目指し、ウイルス個体間継代を進めている。

## A. 研究目的

本研究では、サル細胞での馴化により構築された新規サル指向性HIV-1（以後、HIV-1mtとする）について、カニクイザル末梢血単核球（PBMC）および個体における増殖レベルを評価し、実用的な抗HIV-1新規薬剤およびワクチンの前臨床システムとしてのHIV-1霊長類感染モデルの最適化を進めることを目的としている。

昨年度、我々はカニクイザルにおけるサル指向性HIV-1（HIV-1mt）の感受性に関する個体差が主として TRIM5 遺伝子型に起因するものであること、TRIMCyp homozygote での血中ウイルスRNA量は TRIM5 $\alpha$  homozygote と比較して顕著に高いことを明らかにした。これらの結果は今後のHIV-1mt感染霊長類モデルによる前臨床評価システム開発に向け、重要な知見であると考えられた。そこで今年度は、ワクチン開発・評価研究において重要となるR5指向性Envを持つHIV-1mtの作出、評価に取り組んだ。

## B. 研究方法

- ・ R5指向性HIV-1mtの構築：MN5Rh-3は、昨年度までに構築した馴化型X4指向性HIV-1mtクローン（MN4Rh-3）を基に、SF162由来R5指向性env遺伝子に置換し、さらにサル細胞株での長期継代により得られた馴化変異を導入することにより得られたクローンである（徳島大学・足立博士より分与）。他方、サル個体で病原性を獲得したR5指向性SHIV-MK38株（SHIV-89.6のEnv V3領域へのアミノ酸置換変異によりR5指向性を導入したクローン由来再分離株：京都大学ウイルス研究所・三浦博士より分与）よりenv領域をPCR増幅し、MN4Rh-3バックボーンに細胞内相同組換え法にて挿入することによりHIV-1mt MN38株を得た。
- ・ カニクイザルにおける *in vitro*, *in vivo* 感染実験：TRIMCypアリル保有カニクイザル由来PBMCを用いてMN5Rh-3及びMN38の増殖能を評価した。この結果を基に、MN5Rh-3及びMN38それぞれ10ng p24CA相当のウイルスを同アリル保有カニクイザル（各3頭）に経静脈接種し、経時的に血中ウイルス量の推移を検討した。

(倫理面への配慮)

医薬基盤研究所および京都大学霊長類研究所の動物実験倫理規定に従い、動物実験委員会の承認を受けて実施した。また用いた組換え生物等については、第二種使用等拡散防止措置確認申請承認(大臣確認)済みである。

C. 研究結果

1. サル馴化型R5指向性envを有するHIV-1mtの構築及び*in vitro*での評価実験

カニクイザルPBMCを用いてMN5Rh-3の感染実験を行ったところ、X4指向性HIV-1mtクローンであるMN4Rh-3と比較して増殖効率が低かった。そこで、より増殖効率の高いR5指向性HIV-1mtの作成を目指し、サル個体で高い増殖能と病原性を獲得したR5指向性SHIV-MK38株よりenv領域をPCR増幅した。これをMN4Rh-3バックボーンとともにR5発現C8166細胞にトランスフェクションし、細胞内相同組換えにてenv組み換えウイルスであるHIV-1mt MN38株を得た。本ウイルス株のenv配列を確認したところ、SHIV-MK38と同様なheterogeneityが認められた。またMN38株はR5発現細胞でのみ増殖しX4発現細胞では増殖しなかったことから、R5指向性を保持していることが確認された。そこで、カニクイザル個体由来PBMCを用いてMN38株の感染実験を行ったところ、MN5Rh-3と比較し優れた増殖能を示した(図1)。

2. カニクイザルにおけるR5指向性HIV-1mt感染実験：

次にカニクイザル個体におけるR5指向性HIV-1mtの増殖能を検討するためサル接種実験を行った。前年度までの研究により、カニクイザルのTRIM5α遺伝子にはcyclophilin A遺伝子配列が挿入された変異型アリル(TRIM-Cyp)が高頻度で存在すること、TRIM-Cypアリル保有カニクイザル個体ではTRIM5αアリル個体と比較してHIV-1mt感染における血中ウイルス量が約50倍高いことを明らかにした。そこで本実験ではTRIM-Cypアリル保有カニクイザルを用いることとした。MN5Rh-3及びMN38接種カニクイザル(各3頭)における血中ウイルスRNA量の動態を図2に示す。MN5Rh-3感染における血中ウイルスRNA量のピーク値は平均約 $7 \times 10^3$  copies/mlであったのに対し、MN38感染では平均約 $4 \times 10^4$  copies/mlと

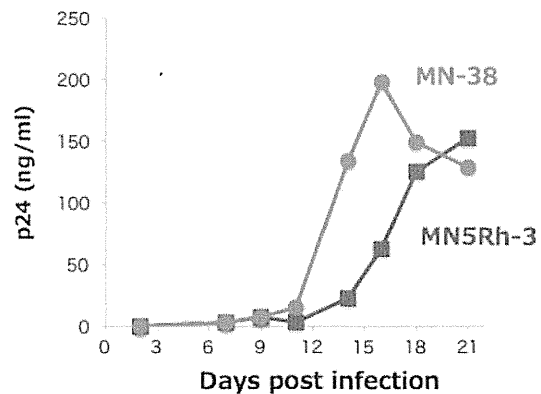


図1 カニクイザルPBMCにおけるR5指向性HIV-1の増殖動態

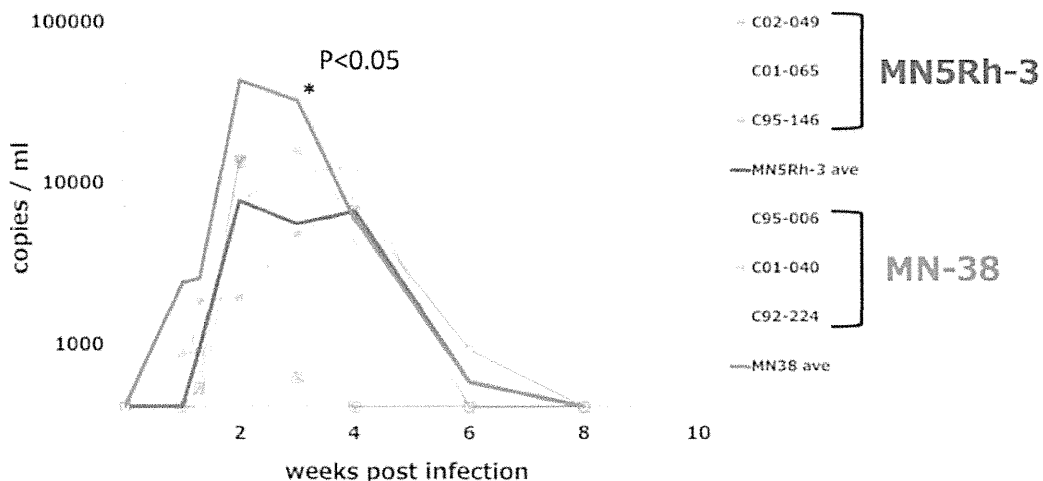


図2 カニクイザル個体におけるR5指向性HIV-1の増殖動態



6倍程度高い値を示した。このことから、MN38が有するEnvはサル個体でのウイルス増殖においてMN5Rh-3 Envと比較し優位である事が示された。一方、どちらのウイルス感染ザルにおいても感染後8週で血中ウイルスRNAは検出限界以下となった。そこで、現在MN38感染ザルへのCD8特異抗体投与によりCD8陽性T細胞を除去し、ウイルス再活性化を誘導しているところである。予備的結果では、良好なウイルス再活性化が認められていることから、サル個体間のウイルス継代により個体内馴化を目指している。

#### D. 考察

本研究課題の最終目標は、HIV-1自体を標的としたワクチンや新規抗HIV薬の有効性評価が可能となる実用的なHIV-1感染霊長類モデルの開発である。今年度までの研究により、R5指向性HIV-1mtによるカニクイザル急性感染モデルを世界で初めて確立することに成功した。特に臨床分離株である89.6をベースとしたサル馴化型R5指向性Envに置換したHIV-1 MN38株が、SF162由来Envを持つMN5Rh-3と比較しサル個体にて優れた増殖能を示したことは特筆すべき成果である。しかし反面、予想に反しMN5Rh-3およびMN38感染による長期持続感染は生じていないことから、どちらのウイルスも宿主免疫からの回避機構が不十分であるものと推察される。この対策として、①TRIM-Cypからの回避の最適化、②Tetherinからの回避能の付与、③NefによるMHC-1発現抑制機能の最適化、等が考えられる。来年度はこれらの項目についてさらに検証を進める。またこれと平行して、MN38感染ザルからの個体間継代による個体内馴化を行う。これらにより、持続感染能や病原性を獲得したR5指向性HIV-1mtの確立を目指す。

#### E. 結論

ワクチン開発・評価研究において重要となるR5指向性Envを持つHIV-1mtの作出、評価を重点課題として取り組み、その結果R5指向性HIV-1mtによるカニクイザル感染モデル確立に成功したことから、今年度の主たる目標は達成したと考えられる。しかし慢性エイズを発症する病原性HIV-1感染霊長類モデルの確立に関しては、更なる宿主免疫因子からの回避、最適化などが来年度以降の課

題として残されている。今年度の研究成果を踏まえ、本研究課題期間内に病原性を伴う持続感染HIV-1mtクローン確立および実用的なHIV-1感染霊長類モデル開発を推進する。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Saito A, Nomaguchi M, Kono K, Iwatani Y, Yokoyama M, Yasutomi Y, Sato H, Shioda T, Sugiura W, Matano T, Adachi A, Nakayama EE, Akari H: *TRIM5* genotypes in cynomolgus monkeys primarily influence inter- individual diversity in susceptibility to monkey-tropic human immunodeficiency virus type 1. *Journal of General Virology*, in press.
- 2) Nomaguchi M, Doi N, Fujiwara S, Saito A, Akari H, Nakayama EE, Shioda T, Yokoyama M, Sato H, Adachi A: Systemic biological analysis of the mutations in two distinct HIV-1mt genomes occurred during replication in macaque cells. *Microbes and Infection*, in press.
- 3) Nomaguchi M, Yokoyama M, Kono K, Nakayama EE, Shioda T, Saito A, Akari H, Yasutomi Y, Matano T, Sato H, Adachi A: Gag-CA Q110D mutation elicits TRIM5-independent enhancement of HIV-1mt replication in macaque cells. *Microbes and Infection* 15, 56-65, 2013.
- 4) Saito A, Kawamoto Y, Higashino A, Yoshida T, Ikoma T, Suzuki Y, Ami Y, Shioda T, Nakayama EE, Akari H: Allele Frequency of Antiretroviral Host Factor TRIMCyp in Wild-caught Cynomolgus Macaques (*Macaca fascicularis*). *Frontiers in Microbiology* 3, 314, 2012.
- 5) Ohtani H, Naruse TK, Iwasaki Y, Akari H, Ishida T, Matano T, Kimura A: Lineage-specific evolution of T-cell immunoglobulin and mucin domain 1 gene in the primates. *Immunogenetics* 64, 669-678, 2012.
- 6) Iijima S, Lee Y-J, Ode H, Arold ST, Kimura N, Yokoyama M, Sato H, Tanaka Y, Strebel K, Akari H: A non-canonical mu-1A-binding motif in the N-terminus of HIV-1 Nef determines its activity to down-regulate MHC-I in T lymphocytes. *Journal of Virology* 86, 3944-51, 2012.
- 7) Saito A, Kono K, Nomaguchi M, Yasutomi Y, Adachi A, Shioda T, Akari H, Nakayama EE: Geographic, genetic and functional diversity of antiretroviral host factor TRIMCyp in Cynomolgus macaque (*Macaca fascicularis*). *Journal of General Virology* 93, 594-602, 2012.

## 2. 学会発表等

- 1) Akatsuki Saito, Ken Kono, Masako Nomaguchi, Masaru Yokoyama, Yasuhiro Yasutomi, Tetsuro Matano, Hironori Sato, Tatsuo Shioda, Akio Adachi, Hirofumi Akari, Emi E Nakayama: Genetic Diversity of *TRIM5* Gene and HIV-1 Susceptibility in *Cynomolgus* Macaque (*Macaca fascicularis*). Cold Spring Harbor meeting on Retroviruses, May21-26,2012, New York.
- 2) 齊藤 暁、河野 健、中山英美、日柳章彦、保富康宏、塩田達雄、吉田友教、東濃篤徳、生駒智子、川本 芳、鳥居隆三、明里宏文：レトロウイルス感受性を規定するカニクイザル *TRIM5* 遺伝子型の地理的多様性 第59回日本実験動物学会総会（別府）平成24年5月24－26日
- 3) 明里宏文：ヒト免疫不全ウイルスによる MHC-1 発現制御機構の分子構造学的解析 第21回日本組織適合性学会大会シンポジウム（東京）平成24年9月16日
- 4) 齊藤 暁、河野 健、中山英美、塩田達雄、川本 芳、鳥居隆三、吉田友教、東濃篤徳、鈴木紗織、保富康宏、明里宏文：マカク属サル *TRIM5* 遺伝子における種間および種内の多様性 第60回日本ウイルス学会学術集会（大阪）平成24年11月13－15日
- 5) 三浦未知、田邊順子、菅田謙治、Zhao Tiejun、齊藤暁、安永純一郎、明里宏文、松岡雅雄：サルT細胞白血病ウイルス1型のウイルス学的解析と病原性 第60回日本ウイルス学会学術集会（大阪）平成24年11月13－15日
- 6) 野村拓志、山本浩之、明里宏文、俣野哲朗：SIV複製抑制マカクサルにおけるCTL逃避変異体の選択による複製抑制破綻機構の解析 第60回日本ウイルス学会学術集会（大阪）平成24年11月13－15日
- 7) 齊藤 暁、河野 健、中山英美、日柳章彦、保富康宏、塩田達雄、吉田友教、東濃篤徳、川本 芳、鳥居隆三、明里宏文：アジアに生息するマカク属サルで認められる *TRIM5* 遺伝子の多様性 第60回日本ウイルス学会学術集会（大阪）平成24年11月13－15日

## G. 知的所有権の取得状況

特になし

## サル病原性HIV-1 クローンの構築

研究分担者 足立 昭夫 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授)

研究協力者 野間口雅子 (徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 准教授)

### 研究要旨

我々は、HIV-1の病原性発現機構の実験的解析を目指し、サル個体で効率良く増殖するマカクザル指向性HIV-1 (HIV-1mt) の構築に取り組んでいる。サル細胞においてHIV-1の増殖を強く抑制する主要な因子は、サルAPOBEC3G/FおよびサルTRIM5 $\alpha$ である。これまでに、*vif*遺伝子をSIVmacのものに置換してサルAPOBEC3G/Fの抗ウイルス作用を完全に回避し、*gag*遺伝子のキャプシド (CA) コーディング領域を改変することでサルTRIM5 $\alpha$ の効果を回避するHIV-1mtクローン (MN4/LSDQ : X4ウイルスおよびMN5/LSDQ : R5ウイルス) を作製した。さらに、MN4/LSDQおよびMN5/LSDQの*vpu*遺伝子を改変し、サルBST-2/tetherin不活性化能を持つMN4/LSDQgtuおよびMN5/LSDQgtuを構築した。本年度は、主としてMN4/LSDQgtuとMN5/LSDQgtuのカニクイザルやアカゲザル由来末梢血単核細胞 (PBMC) における増殖能を比較検討した。また、MN4/LSDQgtu、そのゲノム中央領域変異体およびアクセサリー遺伝子変異体を構築し、それらの増殖特性を調べた。

サルPBMCでのウイルス増殖特性はこれまでのカニクイザル由来HSC-F細胞やアカゲザル由来M1.3S細胞での感染実験の結果を良く再現していた。しかし、改変*Vpu*の効果はアカゲザルPBMCでは顕著であったのに対し、カニクイザルPBMCでは明らかでなかった。MN4/LSDQgtuはアカゲザルPBMCにおいてSIVmac239と比肩できるレベルまで増殖する場合があった。MN5/LSDQgtuはMN4/LSDQgtuに比較し極めて増殖効率が悪かった。また、MN4/LSDQgtuゲノム中央領域変異体 (各種*vpr/vpx*遺伝子を持つ) は全てのクローンがMN4/LSDQgtuに比較し増殖能が劣った (M1.3S細胞)。注目すべきことに、MN4/LSDQgtuの*vpr*変異体は親株や他のアクセサリー遺伝子変異体 (*vif*変異体を除く) に比べ増殖効率が悪く、HIV-1 *Vpr*はサル細胞においてウイルス複製に貢献していることが示唆された。総じて、MN4/LSDQgtuはHIV-1感染サルモデル (アカゲザル) の確立に大きく貢献すると期待される。

### A. 研究目的

HIV-1は宿主域が狭く、適切な感染・発症動物モデルが存在しない。HIV-1の病原性発現機構の解明や新規抗エイズ戦略構築には、実験用霊長類であるマカクザル (カニクイザルやアカゲザル) に感染・増殖できエイズを発症させるサル病原性HIV-1の構築が不可欠である。マカクザル指向性ウイルス (HIV-1mt) から病原性ウイルスを構築することが本研究の目的である。

プロトタイプHIV-1mt (NL-DT5R : Proc Natl Acad Sci USA 103:16959-16964, 2006; J Virol 81:11549-11552, 2007; Rev Med Virol 18:261-275, 2008) の増殖効率向上を目指し、種々のゲノム改変を加えた結果、サル細胞で

の増殖効率が飛躍的に向上したMN4/LSDQgtu (X4ウイルス) およびMN5/LSDQgtu (R5ウイルス) の構築に成功した (Retrovirology 6:70, 2009; Microbes Infect 13:58-64, 2011; HIV-Host Interactions, pp. 325-384, 2011; Microbes Infect

15:56-65, 2013; *Microbes Infect*, in press, 2013; *J Gen Virol*, in press, 2013:未発表データ（投稿準備中）。

本年度は、MN4/LSDQgtu、MN5/LSDQgtuおよびその変異体のサルPBMCでの増殖能を中心に解析を進めた。

## B. 研究方法

1. ウイルスゲノムの改変とシーケンスの確認は定法に従った。
2. ウイルスストックの調製は、ヒト293T細胞へのトランスフェクション(リン酸カルシウム法)により行った。感染実験にはカニクイザル由来HSC-F細胞、アカゲザル由来M1.3S細胞(*Front Microbiol* 2:115, 2011)、カニクイザルPBMC及びアカゲザルPBMCを用いた。ウイルス感染実験は全てIL-2存在下で行った。サルPBMCへのウイルス感染はspinoculation法(*J Virol* 74:10074-10080, 2004)を用いて行った。ウイルス量は培養上清中の逆転写酵素(RT)活性により測定した。

### (倫理面への配慮)

ヒト由来臨床材料を使用する研究や動物実験は行なわない。組換えDNA実験は徳島大学遺伝子組換え実験安全管理委員会(委員長：足立昭夫)の承認を得て行なう。「キメラゲノムによるHIV-1の分子遺伝学的研究」をする間に執る拡散防止措置

については文部科学大臣の確認が得られている(21受文科振第935号)。

## C. 研究結果

1. MN4/LSDQgtuはカニクイザルおよびアカゲザルPBMCにおいて、調べたHIV-1mt中最も効率良く増殖し、SIVmac239並みの増殖性を示す場合があった。特に、アカゲザルPBMCでその傾向が顕著であった(図1 TRIM5ホモ個体由来PBMC)。MN5/LSDQgtuはMN4/LSDQgtuより著しく増殖能が劣った。
2. TRIM5Cypを持つカニクイザルおよびアカゲザル個体由来PBMCにおいては、MN4/LSDQとMN4Rh-3は同様の増殖性を示した。TRIM5ホモ個体由来PBMCではMN4Rh-3の増殖能は著しく劣っていた(図1)。
3. 改変Vpu(=gtu)はアカゲザルPBMCで明瞭な効果を示したが(図1)、カニクイザルPBMCでは、僅かな差しか認められなかった。カニクイザルとアカゲザルのBST-2/tetherinにはアミノ酸配列や抗ウイルス活性に大きな差がないことから、PBMCでの発現レベルに違いがあるのかもしれない。
4. TRIM5とBST-2/tetherinのウイルス抑制効果はPBMC感染実験の結果から明らかであるが、これらだけでウイルス増殖性が決まっていなかったこともまた明らかになった。

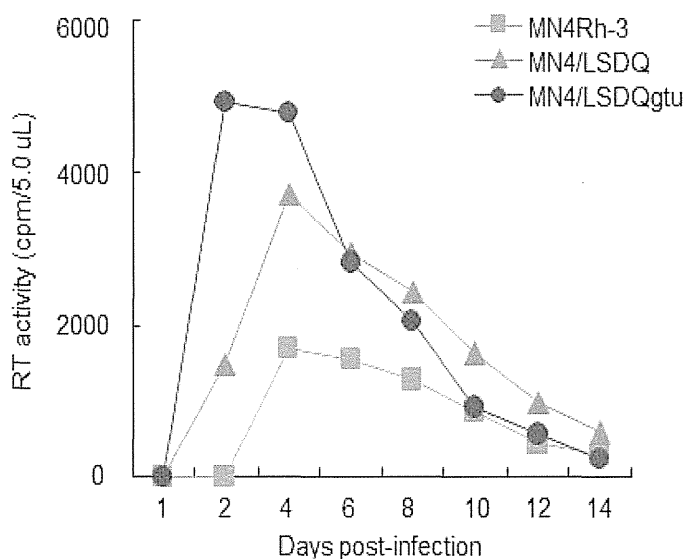


図1 アカゲザルPBMCでの増殖特性