

- 3 - 7, 2012.
- (2) Zafrul Hasan, J. Carlson, H. Gatanaga, A. Le, C. Brumme, S. Oka, Z. Brumme, Takamasa Ueno. HLA class I-mediated sequence polymorphism in HIV-1 accessory protein Vpu. The 13th KUMAMOTO AIDS Seminar and GCOE Joint International Symposium, Hotel Nikko Kumamoto and Aso Resort Grandvrio Hotel, Kumamoto, Japan. October 24-26, 2012.
 - (3) Chihiro Motozono, John S. Bridgeman, Masaaki Miyazawa, Andrew K. Sewell and Takamasa Ueno. The impact of a single amino acid difference in CDR3 α on TCR $\alpha\beta$ cross-reactivity、ワークショップ 32 ヒト免疫、第 41 回日本免疫学会総会・学術集会、神戸、兵庫、2012 年 12 月 5~7 日
 - (4) Chihiro Motozono, John J. Miles Zafrul Hasan Hiroyuki Gatanaga, Meribe Stanley. C, Shinichi Oka, Masaaki Miyazawa, Andrew K. Sewell, and Takamasa Ueno. HIV-1 immune escape and cross-reactivity profiles of virus-specific cytotoxic T lymphocytes, YIS-A Session II, 13th Kumamoto AIDS Seminar Global COE Joint International Symposium, Aso Resort GRANDVRIO, Kumamoto, Japan, October 24-26, 2012
 - (5) 本園千尋、John J. Miles、宮澤正顯、上野貴将、Andrew K. Sewell: HLA-B35 拘束性 HIV 特異的 TCR は野生型抗原に高い特異性を有する、学術賞ならびに学術奨励賞候補口演、第 21 回組織適合性学会大会、明治大学、東京、2012 年 9 月 15~17 日
 - (6) 緒方陽子、Philip Mwimanzhi、徳永美知代、Tristan Markle、三浦聡之、Bruce Walker、Zabrina Brumme、Mark Brockman、上野貴将 : Nef のウイルスレセプター発現低下機能と病態、第 14 回白馬シンポジウム in 京都、京都市国際交流会館、2012 年 6 月 7 日 - 6 月 8 日
 - (7) 上野貴将 : HIV-1 Nef の遺伝子多型性と機能的可塑性、第 14 回白馬シンポジウム in 京都、京都市国際交流会館、2012 年 6 月 7 日 - 6 月 8 日
 - (8) 上野貴将、Mwimanzhi Philip、Markle Tristan、緒方陽子、徳永美知代、Mahiti Macdonald、三浦聡之、Pereyra Florencia、Walker Bruce、Brumme Zabrina、Brockman Mark : Genetic and functional analyses of HIV-1 Nef in elite controllers.第 60 回日本ウイルス学会学術集会、グランキューブ大阪 (大阪国際会議場)、2012 年 11 月 13 日 - 11 月 15 日
 - (9) 緒方陽子、Philip Mwimanzhi、李小光、徳永美知代、Tristan Markle、三浦聡之、Bruce Walker、Zabrina Brumme、Mark Brockman、上野貴将 : Nef のウイルスレセプター発現低下機能と病態、第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会、慶應義塾大学日吉キャンパス、2012 年 11 月 24 日 - 11 月 26 日
 - (10) T. Ueno. Functional impairment of HIV-1 Nef in elite controllers and its correlation with immune-mediated selective pressure. 13th Kumamoto AIDS Seminar Global COE Joint International Symposium, Kumamoto, Japan. October 24th - October 26th, 2012.
 - (11) M. Mahiti, P. Mwimanzhi, Y. Ogata, M. Tokunaga, B. Walker, Z. Brumme, M. Brockman, T. Ueno. Modulation of HIV-1 Nef-mediated HLA class I down-regulation activity during disease progression. 13th Kumamoto AIDS seminar Aso Resort Grandiovrio Hotel, Kumamoto, Japan 24th -26th October, 2012.
 - (12) X. Kuang, A Le, P Mwimanzhi, T Markle, R Danroth, T Ueno, T Miura, B Walker, Z Brumme, M Brockman, and the Acute HIV and International HIV Controllers study group. Reduced HIV-1 Nef Function in Acute/Early Individuals who become Viremic Controllers. 20th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI), Georgia World Congress Center, Atlanta, USA. March 3-6, 2013
- H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし

慢性的免疫活性化制御因子の機能解析

研究分担者 小柳 義夫 京都大学ウイルス研究所 教授
研究協力者 佐藤 佳 京都大学ウイルス研究所 助教
研究協力者 三沢 尚子 京都大学ウイルス研究所 技術補佐員

研究要旨： HIV 感染者体内に生じる免疫活性化は、その感染者の病態悪化、ならびに、ウイルス持続感染に関わる主要因と考えられている。しかし、その成立要因の解明は進んでいない。本研究は、制御性 T 細胞への HIV-1 の効率的な感染増殖とそれによる細胞障害が起き、免疫活性化が誘導されること、そして、その細胞障害には、Vpr というウイルス性因子が関与し、感染細胞を G2M 期へ停止させ、それに続くアポトーシスを生じさせることがわかった。Vpr の生体内における役割をはじめて明らかにした。

A. 研究目的

HIV 感染者においてその病態の悪化を引き起こす慢性的免疫活性化のメカニズムを明らかにする。これにより、HIV 病態の進行を阻止する新規治療戦略基盤を確立する。免疫反応の中止的役割を担う CD4⁺T 細胞は、胸腺で作られ、末梢に循環するナイーブ T 細胞 (Tn)、その細胞がリンパ組織等で外来抗原に暴露されて、即効性に反応するようにプログラムされたメモリー細胞 (Tm)、そして、その免疫反応に抑制的に働く制御性 T 細胞 (Treg) から構成される。特に、Tm と Treg は初感染ならびに持続感染に関与する CCR5 指向性 HIV-1 (R5 HIV-1) の標的細胞であり、感染により細胞障害をうけることは知られている。しかし、その障害の程度ならびに個体内における動態、そして、生体内における活性化の有無については、解析可能なモデル動物が開発されていなかったために、多くは不明である。本研究は、HIV 感染時の免疫活性化制御因子について、HIV-1 感染ヒト化マウスという動物モデルを始点にして、免疫活性化におけるウイルス性因子の寄与を分子生物学的解明まで進展させるのが目的である。

B. 研究方法

ヒト血液幹細胞移植 NOG マウス (ヒト化マウス) への CCR5 指向性 HIV-1 株 (JR-CSF 株) の野生型ならびに Vpr 欠損ウイルスをマウスの腹腔から接種後、感染後経時的 (7 日目、14 日目、21 日目) に眼窩静脈から採血を行い、CD3⁺CD4⁺ の

Tn (CD45R0⁻), Tm (CD45R0⁺), Treg (FOXP3⁺) の細胞数ならびに、上記採取日に加え 2 日目、4 日目に採血を行い血漿ウイルス RNA を測定した。さらに適時解剖し、脾細胞の細胞周期やアポトーシス関連分子について、flow cytometry 法によりその発現量を測定した。ヒト化マウスの作製はこれまで報告者らが独自に開発した方法に準じた (Virology 394:64-72, 2009, J. Virol. 84:9546-9556, 2010, Vaccine, 28S2:B68-B74, 2010, Blood 117:5663-5673, 2011)。

(倫理面への配慮)

ヒト由来の試料として提供者の同意のもとに採取を行い、その利益ならびに人権保護の取り扱いに十分配慮した。京都大学の医の倫理委員会承認済みである。実験動物に対する動物愛護上の配慮を考慮した実験計画は京都大学動物委員会承認済みである。組換え DNA 実験についても、P3 レベルの物理的封じ込めの必要な大臣確認実験も含め承認済みである。

C. 研究結果

1) Treg 分画の特異的細胞枯渇

ヒト化マウスに野生型 HIV-1 はきわめて効率よく感染し、感染後 4-7 日目に高ウイルス血症が検出された (図 1a)。感染後 14 日以降には Tn や Tm などの他の細胞分画に比べ、Treg の急速な細胞枯渇がみられた (図 1b)。一方、Vpr 欠損ウイルスでは、Treg 分画の減少はみられなかった (図 1b 右下パネル)。これらの細胞障害レベルは、血

中ウイルス量にも反映し、野生型 HIV-1 の血中 HIV-1 コピー数の増加のスピードは Vpr 欠損ウイルスのそれに比べて早かった(図 1 a)。Vpr 有無の差異によるウイルス感染効率を比較するために、Treg の細胞枯渇が起きる前であるウイルス接種後 7 日目に解剖し、マウスの脾臓を採取し、ウイルス産生細胞の指標となる HIV-1 抗原 p24 陽性細胞率ならびに p24 抗原の輝度(Mean fluorescent intensity, MFI)を測定したところ、野生型 HIV-1 では明らかに、Tn や Tm などの他の細胞分画に比べ、Treg での陽性率ならびに MFI が高く、一方、Vpr 欠損ウイルスではそれらは観察できなかった(図 1 c)。これらの事実から、生体内の Treg ではウイルスは効率よく複製増殖していることがわかった。

2) Treg 枯渇による T 細胞の活性化

次にヒト化マウス内における Treg 枯渇による生体内免疫環境へ影響を解析した。ここでは HIV 感染による直接の影響を排除するために CD4 以外の CD8⁺ T 細胞の活性化程度を解析した。CD38 分子は活性化 T 細胞においてその発現量が増加するので、活性化マーカーとして使った。T 細胞上の CD38 分子の発現量を比較したところ、野生型 HIV-1 感染マウスでは明らかに CD38 発現量が増加していたが、Vpr 欠損ウイルスのそれでは非感染マウスのそれと同じであり、増加していなかった(図 2a)。

これまで、Vpr 蛋白質はその導入細胞において、G2M 期において細胞周期を停止させ、それに続くアポトーシスを誘導することが知られている。そこで野生型 HIV-1 と Vpr 欠損ウイルス感染マウスのウイルス産生細胞(p24⁺)と非産生細胞(p24⁻)における細胞周期異常とアポトーシスの有無を検討した。Hoechst 染色により DNA を染色し、細胞周期を判定する方法、ならびに、活性化型 caspase 3 (cas3)陽性率からアポトーシスを flow cytometry 法により測定した。その結果、Vpr を有する野生型ウイルスでは、Tm ならびに Treg において p24⁺のウイルス感染細胞において、高率に G2M 期の停止が起き、それに続くアポトーシスが生じていた(図 2b)。

D. 考察

HIV-1 感染モデル動物の解析により、感染個体内では Vpr 依存性に Treg 優位のウイルス感染が

起きること、そして、その結果 Treg の細胞破壊が起き、感染個体内での免疫活性化が起きることがわかった。これまで不明であった Treg がどのように HIV-1 感染者において感染者の病態形成に関与するのか、明らかになった。そして、ウイルス感染個体内における Vpr の関与について、はじめて明らかになったことはきわめて重要である。

Vpr による Treg の破壊過程にどのような介在分子が関与し、免疫活性化が起きるか、その分子機序の解析により、Treg 保護を基盤にした治療デザインの可否を検討する必要がある。

E. 結論

Vpr による Treg の効率的破壊とこの細胞枯渇による免疫活性化現象を見いだした。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Watanabe, T., Urano, E., Miyauchi, K., Ichikawa, R., Hamatake, M., Misawa, N., Sato, K., Ebina, H., Koyanagi, Y. and Komano J.: The hematopoietic cell-specific Rho GTPase inhibitor ARHGDI/D4GDI limits HIV-1 replication. AIDS Res. Hum. Retroviruses, 28:913-922, 2012
- 2) Sato, K., Misawa, N., Fukuhara, M., Iwami, S., An, D.S., Ito, M. and Koyanagi, Y.: Vpu augments the initial burst phase of HIV-1 propagation and downregulates BST2 and CD4 in humanized mice. J. Virol. 86:5000-5013, 2012

2. 学会発表

- 1) Sato, K., Misawa, N., Satou, Y., Matsuoka, M., Ito, M. and Koyanagi, Y.: Induction of immune activation by the depletion of regulatory CD4⁺ T cell during acute HIV-1 infection in humanized mouse model. 19th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI), Seattle, March, 2012.
- 2) Koyanagi, Y.: Overview of infection model of humanized mice. 1st Samsung Humanized Mice Symposium, Seoul, April, 2012.

3) Sato, K., Misawa, N., Satou, Y., Matsuoka, M., Ito, M. and Koyanagi, Y.:Positive contribution of HIV-1 Vpu for viral propagation *in vivo*. Retroviruses Meeting Cold Spring Harbor, poster, New York, USA, May, 2012

4) 小柳義夫. レトロウイルス感染におけるエフェクター分子, 北海道大学遺伝子制御研究所研究集会「感染と癌 -感染癌のエフェクター分子とその標的-」, 札幌. 2012年9月.

5) 佐藤佳、三沢尚子、佐藤賢文、松岡雅雄、伊藤守、小柳義夫. Vpr の制御性 T 細胞特異的な消耗促進作用による生体内 HIV-1 増殖亢進,

第 60 回日本ウイルス学会学術集会, 大阪. 2012 年 11 月.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし

図 1

図1a マウス血漿中のウイルスRNA量

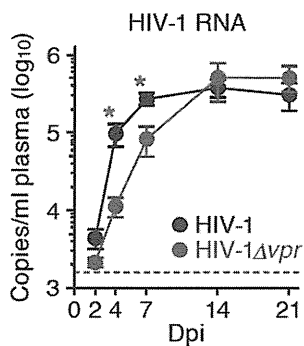


図1b 末梢血中の各分画の細胞数

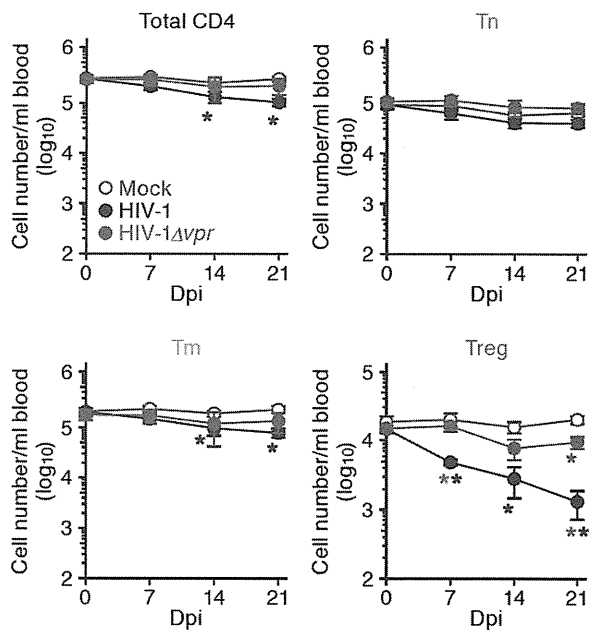


図1c 脾細胞中の各分画のHIV-1 p24発現量

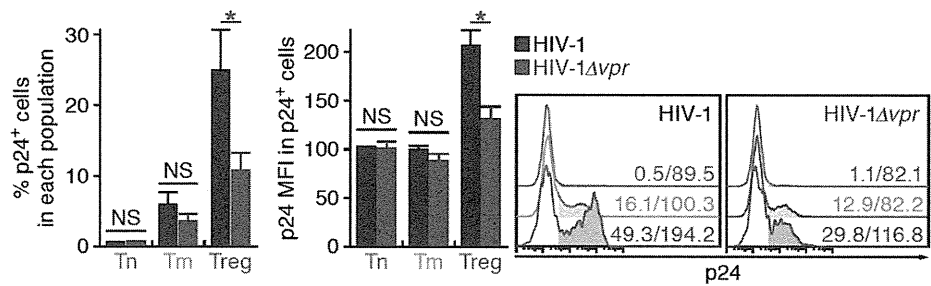


図2a T細胞活性化レベル

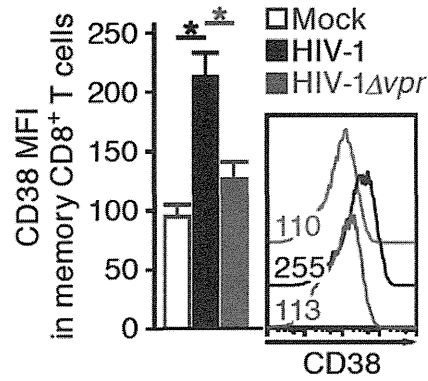
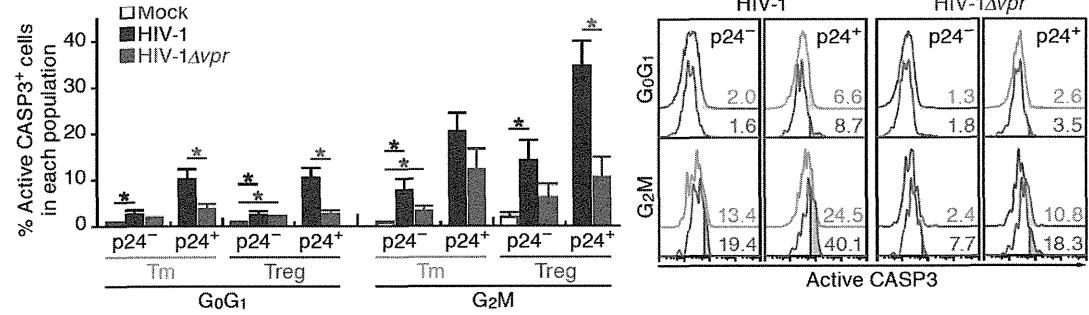


図2b 脾細胞中の各分画の細胞周期とアポトーシス



T 細胞の活性化刺激と HIV 感染制御

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 教授

研究要旨：T細胞の補助刺激分子である OX40 は、活性化により誘導され、リガンドの OX40L と反応することにより、T細胞のサイトカイン産生を促進し、またT細胞の寿命を延ばす役割がある。我々は、活性化した末梢血単核球(PBMCs)を組換え OX40L で刺激すると CCR5 結合性 β ケモカインの産生が促進され、その結果 R5 HIV-1 の感染が抑制されることを報告した。このように OX40/OX40L を介するT細胞の活性化はワクチンの効果を増強し、かつ R5 HIV-1 感染を抑制することから、将来臨床の場での応用が期待される。しかし今のところ、十分な量を調製する OX40L リソースがない。そこで今回我々は、HTLV-I でトランスフォーム (HTLV-I⁺) したT細胞株が OX40L を構成的に発現することに注目した。HTLV-I⁺ T細胞株は OX40 も OX40L も同時に発現するが、それぞれの結合能を調べると OX40L だけが活性を持っていた。また、HTLV-I⁺ T細胞株との混合培養により、活性化した自家末梢血単核球 (PBMCs) への R5 HIV-1 感染が OX40L 依存的に抑制されることを見出した。種々のドナーにおいて HTLV-I⁺ T細胞株は容易に樹立できることから、HTLV-I⁺ T細胞株が自家 OX40L のリソースとして利用できる可能性が示唆された。

A. 研究目的

腫瘍壊死因子 (TNF) 受容体ファミリーである OX40 は活性化T細胞に誘導され、その特異的リガンドである OX40L と反応することにより、免疫T細胞を補助刺激 (co-stimulation) する。その結果、T細胞ではサイトカイン産生促進やT細胞の長期の生存が促される。我々は、活性化した末梢血単核球 (PBMC) を組換え OX40L で刺激することにより、CCR5 結合性 β ケモカインである MIP-1 α 、MIP-1 β および RANTES の産生が促進され、CCR5 指向性 (R5) HIV-1 感染を制御することを報告した。しかし現在のところ、OX40L のリソースとして適当なものがない。そこで我々は、HTLV-I⁺ T細胞株が OX40L を大量に発現することに注目し、HTLV-I⁺ T細胞株の OX40L が機能的であるかどうか、そして R5 HIV-1 の感染を抑制できるかどうかを本年度の研究で検討した。

B. 研究方法

HTLV-I⁺ T細胞株として、既存の MT-2 細胞、HTLV-I 感染ドナーから樹立した IL-2 依存性 T細胞株 (ILT) および HTLV-I⁺ T細胞株との混合

培養で新たに樹立したT細胞株を用いた。OX40L または OX40 を安定に発現する遺伝子導入 CEM 細胞をコントロールとして用いた。ビオチン化組換え OX40L および OX40 は市販品を購入し、PE-streptavidin と合わせて FCM 解析に用いた。ウェスタンブロットには細胞表面をビオチン化した後の細胞可溶性抗原を用いた。HIV-1 感染では、OKT-3 抗体で1日活性化したPBMCにR5またはX4 HIV-1を感染させ、OX40Lを発現する自家 HTLV-I 不死化細胞 (予め4% PFAで固定したもの) と混合培養し p24 産生を p24 ELISA や p24 染色 FCM でモニターした。

(倫理面への配慮)

健常人の PBMC 使用実験は倫理委員会で承認され、また、遺伝子組換え生物等使用実験と動物実験も琉大で承認されている。

C. 研究結果

(1) HTLV-I 感染T細胞株は、調べた全ての株において OX40L と OX40 を細胞表面に発現するが、ビオチン化組換え OX40L および OX40 の結合性には大きな差があり、OX40L のみが活性をもつことが分かった。

(2) ウェスタンブロットでは、活性化 PBMC の native OX40 と HTLV-I⁺T 細胞の OX40 の分子量には差が認められなかった。

(3) 抗 OX40 単クローン抗体の中で、OX40L の結合を阻害するブロッキング抗体は HTLV-I⁺T 細胞には結合しないことから、HTLV-I⁺T 細胞株の OX40 分子には OX40L の結合サイトに何らかの修飾が起きていることが示唆された。

(4) HTLV-I⁺T 細胞株が発現する OX40L は、組換え OX40L と同様に、活性化自家 PBMC の R5 HIV-1 の感染を強く抑制した。しかし、X4 HIV-1 感染は全く阻害しなかった。

(5) HTLV-I⁺T 細胞株による R5 HIV-1 感染抑制は、OX40L 中和抗体 (5A8) あるいは 3 種類の CCR5 結合 β ケモカイン中和抗体の混合液を加えることにより解除された。

D. 考察

HTLV-I⁺T 細胞株が Tax の働きにより機能的 OX40L を発現することに着目し、新たに樹立した自家 HTLV-I⁺T 細胞株が OX40L のリソースとして使えないかを検討した。in vitro の系であるが、パラフォルムアルデヒド (PFA) で不活化した自家 HTLV-I⁺T 細胞株が OX40L を介する刺激を T 細胞に入れることにより、T 細胞からの β ケモカインの産生を誘導し、R5 HIV-1 を選択的に抑制することを明らかにした。OX40L の OX40 刺激活性は、モノマーよりもオリゴマーの方が優れることが報告されているが、HTLV-I⁺T 細胞

株表面に発現した OX40L はより密度が高く配置されることが推測されることから、さらに高い T 細胞刺激活性を有するものと期待できる。また、OX40L はワクチンによる T 細胞免疫を促進する活性があるので、今後のエイズ予防戦略への候補としてさらに研究を進めたい。

E. 結論

HTLV-I で不死化した自家 T 細胞株は細胞表面に大量の機能的 OX40L を発現し、その OX40L による活性化 T 細胞への刺激は、 β ケモカイン産生を促進させ R5 HIV-1 感染を抑制する。(下図を参照)

G. 研究発表

1. 論文発表
なし (投稿準備中)

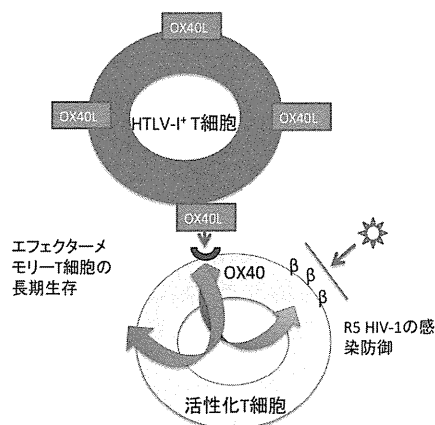
2. 学会発表

- 1) 田中勇悦、高橋良明、田中礼子 HTLV-I 感染自家 T 細胞株による CCR5 指向性 HIV-1 感染制御 : Tax が誘導する免疫亢進性 OX40 リガンドの応用 第 26 回日本エイズ学会学術集会・総会 横浜 (2012. 11. 24)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 : 琉球大学の知財本部を通して近日中に特許出願をする予定である。
2. 実用新案登録 : なし

図 3 HTLV-I 感染自家 T 細胞の OX40L を介する免疫促進と R5 HIV-1 感染制御



Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

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
無し							

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
Terahara, K., Ishige, M., Ikeno, S., Mitsuki, Y-y, Okada, S., Kobayashi, K. and <u>Tsunetsugu-Yokota, Y.</u>	Expansion of activated memory CD4 ⁺ T cells affects infectivity of CCR5-tropic HIV-1 in humanized NOD/SCID/JAK3 ^{null} mice .	PLoS One	8	e53495	2013
Mitsuki, Y-Y., Terahara, K., Shibusawa, K., Yamamoto, T., Tsuchiya, T., Ishige, M., Kobayashi, K., Morikawa, Y., Nakayama, T., Takeda, M., Yanagi, Y., and <u>Tsunetsugu-Yokota, Y.</u>	HIV-1 infection Ex Vivo accelerates measles virus infection by upregulating signaling lymphocytic activation molecule (SLAM) in CD4 ⁺ T cells.	J. Virol.	86	7227-7234	2012
<u>Tsunetsugu-Yokota, Y.</u> and Terahara, K.	Receptor usage and the pathogenesis in acute and chronic virus infections.	Front. Microbiol.	3	289	2012
<u>Tokunaga, K.</u>	HIV-1 Vpu and BST-2/tetherin: Enemies at the Gates.	Current HIV Res.	10	275-276	2012
Arias, J.F., Iwabu, Y., and <u>Tokunaga, K.</u>	Sites of action of HIV-1 Vpu in BST-2/tetherin downregulation.	Current HIV Res.	10	283-291	2012

Arias, J.F., Koyama, T., Kinomoto, M., and <u>Tokunaga, K.</u>	Retroelements versus APOBEC3 family members: No great escape from the magnificent seven.	Front. Microbiol.	3	275	2012
Zheng, Y.-H., Jeang, K.-T., and <u>Tokunaga, K.</u>	Host Restriction Factors in Retroviral Infection: Promises in Virus-Host Interaction.	Retrovirology	9	112	2012
Yamagishi, M., <u>Watanabe, T.</u>	New Paradigm of T cell Signaling: Learning from Malignancies (Review Article)	J. Clin. Cell. Immunol.	S12(007)	doi:10.4172/2155-9899	2012
Yamagishi, M., <u>Watanabe, T.</u>	Molecular Hallmarks of Adult T Cell Leukemia (Review Article)	Front. Microbiol.	3(334)	doi: 10.3389/fmicb.2012.00334	2012
Nakano, K., <u>Watanabe, T.</u>	HTLV-1 Rex: the courier of viral messages, making use of the host vehicle	Front. Microbiol	3(330)	doi: 10.3389/fmicb.2012.00330	2012
Kobayashi-Ishihara, M., Yamagishi, M., Hara, T., Matsuda, Y., Takahashi, R., Miyake, A., Nakano, K., Yamochi, T., Ishida, T., <u>Watanabe, T.</u>	HIV-1-encoded antisense RNA suppresses viral replication for a prolonged period	Retrovirology	9(38)	doi:10.1186/1742-4690-9-38	2012
Nomura, S., Hosoya, N., Brumme, ZL., Brockman, MA., Kikuchi, T., Koga, M., Nakamura, H., Koibuchi, T., Fujii, T., Carlson, JM., Heckerman, D., <u>Kawana-Tachikawa, A.</u> , Iwamoto, A., Miura, T.	Significant Reductions in Gag-protease Mediated HIV-1 Replication Capacity during the Course of the Epidemic in Japan.	J. Virol.	87	1465-1476	2013

Kikuchi, T., Iwatsuki-Horimoto, K., Adachi, E., Koga, M., Nakamura, H., Hosoya, N., <u>Kawana-Tachikawa,</u> <u>A.</u> , Koibuchi, T., Miura, T., Fujii, T., Kawaoka, Y., Iwamoto, A.	Improved neutralizing antibody response in the second season after a single dose of pandemic (H1N1) 2009 influenza vaccine in HIV-1-positive adults.	Vaccine	30	3819-3823	2012
Watanabe, T., Urano, E., Miyauchi, K., Ichikawa, R., Hamatake, M., Misawa, N., Sato, K., Ebina, H., <u>Koyanagi, Y.</u> and Komano, J.	The hematopoietic cell-specific Rho GTPase inhibitor ARHGDIB/D4GDI limits HIV-1 replication.	AIDS Res. Hum. Retro.	28	913-922	2012
Sato, K., Misawa, N., Fukuhara, M., Iwami, S., An, D.S., Ito, M. and <u>Koyanagi, Y.</u>	Vpu augments the initial burst phase of HIV-1 propagation and downregulates BST2 and CD4 in humanized mice.	J. Virol.	86	5000-5013	2012
Nomura, T., <u>Yamamoto,</u> <u>H.</u> , Shiino, T., Takahashi, N., Nakane, T., Iwamoto, N., Ishii, H., Tsukamoto, T., Kawada, M., Matsuoka, S., Takeda, A., Terahara, K., <u>Tsunetsugu-Yokota, Y.</u> , Iwata-Yoshikawa, N., Hasegawa, H., Sata, T., Naruse, TK., 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
Iwami, S., Holder, B.P., Beauchemin, C.A., Morita, S., Tada, T., Sato, K., <u>Igarashi, T.</u> , and Miura, T.	Quantification system for the viral dynamics of a highly pathogenic simian/human immunodeficiency virus based on an in vitro experiment and a mathematical model	Retrovirology	9	18	2012

Fujita, Y., Otsuki, H., Watanabe, Y., Yasui, M., Kobayashi, T., Miura, T., and <u>Igarashi, T.</u>	Generation of a replication-competent chimeric simian-human immunodeficiency virus carrying env from subtype C clinical isolate through intracellular homologous recombination	Virology	436	100-111	2013
Takahashi, N., Nomura, T., Takahara, Y., Yamamoto, H., Shiino, T., Takeda, A., Inoue, M., Iida, A., Hara, H., Shu, T., Hasegawa, M., Sakawaki, H., Miura, T., <u>Igarashi, T.</u> , Koyanagi, Y., Naruse, T.K., Kimura, A., and Matano, T.	A novel protective MHC-I haplotype not associated with dominant Gag-specific CD8 ⁺ T-cell responses in SIVmac239 infection of Burmese rhesus macaques	PLoS ONE	8	E54300	2013
Hasan, Z., Carlson, J., Gatanaga, H., Le, A., Brumme, C., Oka, S., Brumme, Z., <u>Ueno, T.</u>	Minor contribution of HLA class I-associated selective pressure to the variability of HIV-1 accessory protein Vpu	Biochem. Biophys. Res. Comm.	421	291-295	2012
Mwimanzi, P., Markle, T., <u>Ueno, T.</u> , Brockman, M.	HLA class I down-regulation by HIV-1 Nef: What might we learn from natural sequence variants?	Viruses	4	1711-1730	2012
Mwimanzi, P., Markle, T., Martin, E., Ogata, Y., Kuang, X., Tokunaga, M., Mahiti, M., Pereyra, F., Miura, T., Walker, B., Brumme, Z., Brockman, M., <u>Ueno, T.</u>	Attenuation of multiple Nef functions in HIV-1 elite controllers.	Retrovirology	10	1	2013

