

20130400/A

厚生労働科学研究費補助金

地球規模保健課題推進研究事業

(国際医学協力研究事業)

アジア地域にまん延している疾病に関する研究

平成25年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 岩本愛吉

平成26年 3月

## 目 次

### I. 総括研究報告

アジア地域にまん延している疾病に関する研究 -----1

研究代表者 岩本愛吉（東京大学医科学研究所 教授）

### II. 分担研究報告

1. 研究統括・米側との協議・HIV/AIDSの研究 -----9

東京大学医科学研究所 教授 岩本 愛吉

2. ウイルス感染症の研究・米側との専門協議 -----18

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科 教授 中込 治

3. ウイルス肝炎の研究・米側との専門協議 -----43

東京大学医学系研究科 教授 小池 和彦

4. 急性呼吸器感染症の研究・米側との専門協議 -----50

国立感染症研究所 部長 柴山 恵吾

5. 腸管感染症の研究・米側との専門協議 -----70

京都大学東南アジア研究所 教授 西淵 光昭

6. 抗酸菌感染症の研究・米側との専門協議 -----80

国立感染症研究所 部長 牧野 正彦

7. 寄生虫疾患の研究・米側との専門協議 -----87

長崎大学熱帯学研究所 教授 平山 謙二

8. 肥満関連疾患の研究・米側との専門協議 -----91

京都大学 教授 稲垣 暢也

9. がんの研究・米側との専門協議 -----94

国立がん研究センター 所長 中釜 斉

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 -----105

IV. 研究成果の刊行物・別刷 -----133

厚生労働科学研究費補助金（地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業））  
総括研究報告書

アジア地域にまん延している疾病に関する研究  
研究代表者 岩本 愛吉 東京大学医科学研究所 教授

研究要旨：

平成 25 年度の第 16 回 EID 国際会議を 2014 年 2 月 9～11 日バングラデシュ・ダッカの国際的下痢症等研究機関 ICDDR, B で開催した。コレラ・細菌性腸管感染症部会、急性呼吸器感染症部会（細菌）、結核・ハンセン病部会、寄生虫部会が中心的な役割を果たし、日本から計 51 名が参加した。EID 国際会議に引き続き、参加した部会は日米合同専門部会を開催し、米国やアジアの研究者と情報交換を行った。2 月 11 日、ICDDR, B において日米医学協力委員会を開催し、計画の進捗状況や来年度の開催概要などを議論した。9 つの専門部会が、それぞれの専門分野においてアジアに蔓延する疾病について、米側やアジアの研究者と情報交換し、研究を推進した。

研究分担者 中込 治 長崎大学 教授  
研究分担者 小池和彦 東京大学 教授  
研究分担者 柴山恵吾 国立感染症研究所部長  
研究分担者 西淵光昭 京都大学 教授  
研究分担者 牧野正彦 国立感染症研究所部長  
研究分担者 平山謙二 長崎大学 教授  
研究分担者 稲垣暢也 京都大学 教授  
研究分担者 中釜 斉 がん研究センター所長

鳥インフルエンザウイルスによる人の感染などの新興感染症が次々とアジアで発生し、日本国民やアジアの人々にとって、非常に重要な健康課題となっている。アジア諸国では、経済成長による生活環境の変化に伴い、糖尿病をはじめとする生活習慣病の爆発的な増加が問題となっている。また、アジアには環境要因や遺伝的要因が深く関与している疾病もある。アジア地域に特徴的な新規の環境要因を明らかにすると共に、環境要因によるがんを含む疾病の発生機構を解明し、対策立案に貢献する。

日米の医学研究者が会し、専門分野の交流を推進するのみならず、2015 年には 50 周年を迎える本研究事業の全体像をとりまとめ、さらなる発展の道筋を明確に示す。

A. 研究目的

佐藤栄作総理とリンドンジョンソン大統領が昭和40（1965）年1月13日に発表した日米共同声明、同年6月1日の閣議了解をもとに、日米両国が共同してアジアに蔓延する疾病を対象とする日米医学協力研究事業が開始された。本研究事業においては、第一線の医学研究者がその専門性に基づいて疾病を選択し、研究や対策に関する計画を立案すること、共同研究の成果を日米両政府に報告し、勧告を行うこと等を目的に、日米医学協力委員会が設置された。

重要な対象疾患・領域として、これまでにコレラ、結核・ハンセン病、急性呼吸器感染症、ウイルス感染症、肝炎、エイズ、寄生虫症、栄養・代謝疾患、環境ゲノミクス・疾病の9つの専門部会（結成順不同）が厚生労働省の所管のもとに結成され、それぞれの専門分野において、米国側の研究者との相互討論、国際会議などを通じて研究が推進されてきた。それぞれの専門分野において、アジアの研究者・専門家、若手研究者等を招聘し、基礎的、臨床的、疫学的な研究ネットワークが形成され、その分野の研究発展のみならず、次世代を担う若手医学研究者の育成にも貢献してきた。1990 年代から新たな感染症（新興感染症）が多数出現し、一旦制圧されたかに見えた感染症（再興感染症）がグローバルな規模で増加した。21 世紀以降、急性重症呼吸器症候群（SARS）、H5N1 亜型の高病原性鳥インフルエンザなどアジア発のアウトブレイクがあった。より最近においても、重症熱性血小板減少症候群（SFTS）、H7N9 亜型の

B. 研究方法

日米両国における日米医学協力計画によりアジアで開催され、今年度も開催を予定されている汎太平洋新興感染症国際会議（EID国際会議）について米国側と十分な情報交換や協議を行い、EID会議のテーマに応じた専門部会を中心に、アジアの研究者、若手を巻き込みつつ参加する。2 年後（2015 年）の日米医学協力50周年に向けて、日本側各部会のこれまでの活動や現状等を精査し、米国側との討議を経て、日米医学協力委員会として日米両国政府に新たな日米医学協力のあり方を提言するための準備を行う。栄養・代謝、環境ゲノミクス・疾病、エイズ、肝炎、寄生虫疾患、ウイルス性疾患、結核・ハンセン病、急性呼吸器感染症、コレラ・細菌性腸管感染症の専門部会が、分野ごとに米国の研究者と協力して各分野における基礎的、疫学的、臨床医学的な問題点を明らかにする。必要に応じて、専門部会が米国の研究者を招聘する。

（倫理面への配慮）

ヒトゲノム研究・遺伝子解析研究に相当するものは、その倫理指針に準拠して行う。遺伝子組換え生物等を用いる実験については、研究内容に応じて実施機関または文部科学大臣承認を得る。動物実験については実施機関の動物実験委員会の

承認を得る。臨床材料を用いる検体については、臨床研究に関する倫理指針、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等に従い、実施機関の倫理審査委員会の承認を得て、説明と文書による同意に基づいて行う。海外における共同研究を伴うものは、相手機関あるいは相手国の承認を得る。また、国内実施機関の承認を得る。

### C. 研究結果

今年度は、米国の予算案が上院で否決されたことから、日本側にとっては平成 25 年度途中に米国政府機関施設が一時閉鎖され、影響で EID 国際会議の準備は遅れを生じた。Patrick Brennan 米側日米医学協力委員長との密な協議を通じて準備を進め、米国 NIAID が機能を取り戻すのを待った。平成 25 年度の第 16 回 EID 国際会議は 2014 年 2 月 9～11 日バングラデシュ・ダッカの国際的下痢症等研究機関 ICDDR, B で開催され、コレラ・細菌性腸管感染症部会、急性呼吸器感染症部会（細菌）、結核・ハンセン病部会、寄生虫部会が中心的な役割を果たすこととなった。日本からも、コレラ・腸管感染症部会 21 名、急性呼吸器感染症部会 8 名、寄生虫部会 13 名、結核・ハンセン病部会 4 名、さらに医学協力委員 4 名、厚労省担当者 1 名、計 51 名が参加した。開会式には、Dan W. Mozena 駐バングラデシュ米国大使、佐渡島志郎駐バングラデシュ日本大使も出席の上、挨拶をされた。セッションは、プログラム委員会の尽力で感染症の分子疫学、病原微生物の分子生物学、ワクチン開発などの分野で、様々な病原体に関する講演が各セッションにちりばめられ、実に聞き応えのあるシンポジウムとなった。



2 月 11 日、ダッカにおいて日米医学協力委員会が開催された。米国側は Patrick Brennan 委員長、NIH/NIAID から Gray Handley, Carole Heilman, Gayle Bernabe、日本側は岩本愛吉、高島郁夫、光山正雄、武城英夫の各委員及び厚生労働省から角野敬行主査、鈴木定彦教授が出席した。平成 26 年度の第 17 回 EID 国際会議は、2014 年 1～2 月に台北を第 1 候補として計画することとなった。参加する部会は、シンガポールの第 15 回 EID 国際会議のようにウイルス性疾患中心で、エイズ部会、肝炎部会、急性呼吸器部会（ウイルス）、ウイルス性疾患が中心となる。また、栄養・代謝部会、環境ゲノミクス・疾病部会から参加で

きるようなテーマも考える、免疫部会は分野横断的に参加する、などが話し合われた。



#### 【コレラ・細菌性腸管感染症部会】

腸管感染症関係では、腸管出血性大腸菌が産生する志賀毒素と新しい毒素（SubAB）の構造と機能、コレラ菌、ピロリ菌、多種の腸内細菌に関する、アジアでの環境水や患者内の変動、検査法（血清型別、全ゲノム解析、簡便・迅速遺伝子検査）に関する研究が実施された。特に、西瀝らが開発した魚介類（二枚貝）からの病原性腸炎ビブリオの定量検出法は高感度で、かつ途上国でも実施可能な安定・簡便化が特徴であり（業績 No. 2）、FAO が主催した validation（2013 年 12 月、サンティアゴ）で高い評価を受け、世界標準法の最有力候補になっており、魚介類の貿易摩擦解消に役立つ可能性がある。

#### 【急性呼吸器感染症部会】

今年度は米国側との申し合わせにより、特にマイコプラズマ、肺炎球菌、日和見感染菌など、細菌の薬剤耐性をメインテーマとして研究を遂行した。また、百日咳菌、肺炎球菌に対するワクチンについて検討した。H26 年 2 月 12 日に、ダッカの国際下痢疾患研究センター（ICDDR, B）において日米合同会議を開催し、日米双方の研究者及びベトナム National Institute of Hygiene and Epidemiology (NIHE) の研究者と議論を行った。

#### 【結核・ハンセン病部会】

アジア諸国における結核及びハンセン病の制圧を目指して以下の研究を展開した。まず、ベトナム医療従事者の潜在結核感染状況と遺伝的マーカーの検討を行ったところ、IL-12 受容体  $\beta 2$  鎖遺伝子（*IL12RB2*）プロモーター領域の機能的遺伝的多型が潜在結核感染群と関連していることを見いだした。

ミャンマーで分離された 178 株の多剤耐性結核菌におけるリファンピシン（RIF）ならびにイソニアジド（INH）耐性に係る遺伝子変異の種類と出現頻度を明らかにした。また、結核菌由来ヌクレオチド加リン酸分解酵素の立体構造情報に基づいたインシリコスクリーニングにより選択した化合物の中から、本酵素の活性を阻害する化合物を見出した。

結核発症予防策に関して、長い間ワクチンとして用いられてきた *Mycobacterium bovis* BCG（BCG）は、現在では成人及び高齢者の結核発症

を予防できず、改良型 BCG の開発が不可欠となっている。活動期に発現する結核菌由来の CysO 及び抗酸菌に幅広く存在する major membrane protein (MMP)-II 遺伝子を連結・導入し、改良型の組換え BCG を作製し、免疫活性可能が増大することを見いだした。

ハンセン病早期診断法開発に応用できる新たな菌体成分の同定を目指し、患者血清を解析したところハンセン病患者に特徴的な傾向が認められることを見いだした。培養不能ならい菌の遺伝子診断法として、特殊濾紙を用いた臨床検体を LAMP 法で解析したところ、PCR 法と同等の検出感度を示した。H26 年 2 月 12 日に、ダッカの国際下痢疾患研究センター (ICDDR, B) において、急性呼吸器感染症部会と合同で日米合同会議を開催した。

#### 【寄生虫部会】

アジア地域で問題となっている寄生虫疾患として、マラリア、住血吸虫症、赤痢アメーバ症、クリプトスポリジウム症を対象に、流行地の研究者および関連する米国の研究者と協力して、予防治療に寄与する研究を行った。その結果、三日熱マラリアのクロロキン耐性遺伝子の拡大様式、マラリアワクチンの新たな候補分子、住血吸虫ゲノム内の新たな治療薬標的分子、赤痢アメーバに特異的なミトソーム関連分子、アスコフラノンの抗クリプトスポリジウム活性を発見した。H26 年 2 月 11~12 日に、ダッカの国際下痢疾患研究センター (ICDDR, B) において日米合同会議を開催した。

#### 【ウイルス性疾患部会】

本研究の目的とするところは、新興ウイルス感染症、ウイルス性下痢症、ウイルス性出血熱、狂犬病およびアルボウイルス感染症などのアジアにおいて問題となるウイルス感染症について、疫学、診断法、病原体の性状解明、ワクチン開発などを目的として研究を行った。

重症熱性血小板減少症候群 (severe fever with thrombocytopenia syndrome: SFTS) の原因ウイルス SFTSV を、近縁の Heartland virus や Malsoor virus、Bhanja virus 血清群から識別できるリアルタイム RT-PCR 法を開発した。国内の分子疫学的調査をするための基盤整備を行った。

ベトナム国立衛生疫学研究所と共同し、同国におけるワクチンの有効性評価試験と同時期に流行したロタウイルスの解析を行い、それらが先進国における野生株と大きく変わらないことを示した。

三種類のハンタウイルスの組換え NP 抗原を用いたイムノクロマトグラフィー (ICG) 法を開発した。蚊媒介性フラビウイルスが特異的に発現する NS1' 蛋白質を解析したところ、この蛋白を発現しないウイルス株と比較して鳥細胞での増殖能が優れていた。NS1' 蛋白質が鳥での伝播に役立っている可能性が示唆された。ベトナムにおいて Dengue ウイルスの分子疫学的調査を行ったところ、Dengue 4 型についてはタイ国から侵入した系統が増え始めている事が明らかになった。

#### 【肝炎部会】

日米肝炎が、アジアに特に蔓延する肝炎ウイルスとして B 型と E 型 (HBV, HEV)、将来の感染拡大が懸念される肝炎ウイルスとして C 型 (HCV) を主要標的として定めたことに呼応し、本研究班の今年度の研究活動も主にこの三種の肝炎ウイルスに関するものであった。更に、最近 A 型肝炎についても対象として研究を行っている。B 型肝炎ウイルスに関しては、家族内キャリア集積の現状把握と解析、HBV 培養細胞系の開発と HBV 複製機序の解析、miRNA による HBV 複製制御の機構解析、 Bangladesh における B 型肝炎対策、肝発癌制御の試み等を、E 型肝炎ウイルスについては、Bangladesh における実態解明と対策へ向けた試みを、A 型肝炎についてはアジアにおける流行の実態解明を継続して行なった。アジアのウイルス性肝疾患の制御に資するため、更なる基礎研究、国際医学協力による肝炎対策を進めていく。

#### 【エイズ部会】

日米医学協力米側初代エイズ専門部長かつ前日米医学協力委員長である Ashley Haase 教授 (ミネソタ大学) を 2013 年 9 月に日本に招聘し、日本側のエイズ専門家と情報交換やエイズ部会のあり方等に関して議論を行った。アジアで流行する HIV-1 の補助レセプター指向性を安全かつ簡便に測定できるアッセイ系 DSP-Pheno を開発し、報告した。HIV-1 プロテアーゼ (PR) の二量体化ダイナミクスの解明と DRV の PR 二量体化阻害効果の作用機序を明らかにした。MHC-I ハプロタイプ E 共有サル群で SIV 感染後誘導される CTL エピトープを Nef 領域に同定し、その CTL からの逃避変異を見出した。東南アジア地域に特徴的な HLA B\*35:05 アリールは、HIV-1 の宿主内増殖に対して防御的に機能している。アジア地域における HIV ワクチンに必要な中和エピトープを同定した。単クローン抗体の樹立によって、中和抗体誘導のヒントが得られる。末梢血のウイルス量が検出感度以下となった HAART 治療中の患者の回盲部粘膜内の NKT 細胞が R5 型 HIV の感染の温床となっており、それを近傍の  $\gamma\delta$  型 T 細胞が制御する可能性を見いだした。タイにおける d4T 服用に伴うリポアトロフィーの発症に Fas 遺伝子の多型が関与することを明らかにした。

#### 【栄養・代謝部会】

ベトナムやカンボジアなどの経済成長による生活環境の急激な変化が著しい地域での栄養素摂取調査や肥満や生活習慣病の頻度調査を行うことで、これらのアジア地域の栄養摂取と生活習慣病発症の関係を明らかにすることが可能となる。また経済成長後の日本で得られた生活習慣病の予測因子や薬物の治療効果をこれらの地域で検証することで、欧米人とは異なるアジア人での肥満や生活習慣病の予防法や治療法を確立できる可能性がある。

#### 【環境ゲノミクス・疾病部会】

環境要因では、中国の PM<sub>2.5</sub> による大規模な大気汚染の際には、北京の大気中の粉塵や重金属濃

度、粉塵の変異原性が非常に高かった（2013年日本環境変異原学会公開シンポジウムで発表）。日中では脂質酸化由来DNA付加体profileが異なり、誘発される変異profileも異なる可能性がある。ABAQはマウスモデルで大腸発がん促進作用を示した。遺伝的要因では、肥満・糖尿病関連遺伝子のSNPと膀胱がんリスクに有意な関連を認めた。発がん解析系では、腸管・肺・胆管・膵臓の正常上皮由来3D培養系で、遺伝的再構成による発がんを確認した。

#### D. 考察

2014年2月9～11日バングラデシュ・ダッカにおいて第16回EID国際会議を成功裏に開催することができた。細菌および寄生虫疾患に関する専門部会は、日米合同専門部会を開催し、アジアで蔓延する疾患に関して最新の情報を交換することができた。2月11日、ICDDR,Bにおいて日米医学協力委員会を開催し、Patrick Brennan委員長、米国NIH/NIAIDの事務局と来年度の予定、50周年事業に関してなど和やかな雰囲気の中で、突っ込んだ議論を行うことができた。9つの専門部会が、それぞれの専門分野においてアジアに蔓延する疾病について、米側やアジアの研究者と情報交換し、研究を推進した。

#### E. 結論

米国NIH/NIAIDとの信頼関係が強化され、日米双方で来年度の第17回EID国際会議やその後の展望を切り開くことができた。

#### F. 健康危険情報

該当無し

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表（研究代表者及び分担者のみ記載） 【研究代表者】

- Teeranaipong P, Hosoya N, Kawana-Tachikawa A, Fujii T, Koibuchi T, Nakamura H, Koga M, Kondo N, Gao GF, Hoshino H, Matsuda Z, and Iwamoto A. Development of a Rapid Cell-Fusion-based Phenotypic HIV-1 Tropism Assay. *Journal of the International AIDS Society* 16:18723, 2013.  
<http://www.jiasociety.org/index.php/jias/article/view/18723>.  
<http://dx.doi.org/10.7448/IAS.16.1.18723>.
- Shimizu A, Kawana-Tachikawa A, Yamagata A, Han C, Zhu D, Sato Y, Nakamura H, Koibuchi T, Carlson J, Martin E, Brumme CJ, Shi Y, Gao GF, Brumme ZL, Fukai S, and Iwamoto A. Structure of TCR and antigen complexes at an immunodominant CTL epitope in HIV-1 infection. *Sci. Rep.* 3: 3097, 2013; doi:10.1038/srep03097 (2013).

- Li Y, Han Y, Xie J, Gu L, Li W, Wang H, Lv W, Song X, Li Y, Routy JP, Ishida T, Iwamoto A, and Li T; CACTO810 group. CRF01\_AE subtype is associated with X4 tropism and fast HIV progression in Chinese patients infected through sexual transmission. *AIDS* 28(4):521-30, 2014.

##### 【コレラ・腸管感染症】

- Yingkajorn M, Sermwitayawong N, Palitapongarnpimp P, Nishibuchi M, Robins WP, Mekalanos JJ, Vuddhakul V. *Vibrio parahaemolyticus* and its specific bacteriophages as an indicator in cockles (*Anadara granosa*) for the risk of *V. parahaemolyticus* infection in southern Thailand. *Microb. Ecol.*, in press [2014].
- Tanaka N, Iwade Y, Yamazaki W, Gondaira F, Vddhakul V, Nakaguchi Y, Nishibuchi M. Most-probable-number loop-mediated isothermal amplification-based procedure enhanced with K antigen-specific immunomagnetic separation for quantifying *tdh+* *Vibrio parahaemolyticus* in molluscan shellfish. *J. Food Protect.*, in press [2014].
- Hayashi M, Natori T, Kubota-Hayashi S, Miyata M, Ohkusu K, Kawamoto K, Kurazono H, Makino S, Ezaki T. A new protocol to detect multiple foodborne pathogens with PCR dipstick DNA chromatography after a six-hour enrichment culture in a broad-range food pathogen enrichment broth. *Biomed. Res. Int.* 2013;2013:295050. doi: 10.1155/2013/295050. Epub 2013 Dec 2.
- Hayashi M, Kubota-Hayashi S, Natori T, Mizuno T, Miyata M, Yoshida S, Zhang J, Kawamoto K, Ohkusu K, Makino S, Ezaki T. Use of blood-free enrichment broth in the development of a rapid protocol to detect *Campylobacter* in twenty-five grams of chicken meat. *Int. J. Food Microbiol.* 163(1):41-46, 2013.
- Amran, MY, Fujii J, Satoshi O, Suzuki SO, Kolling GL, Villanueva SYAM, Kainuma M, Kobayashi H, Kameyama H, Yoshida S. Investigation of encephalopathy caused by Shiga toxin 2c-producing *Escherichia coli* infection in mice. *PLoS one* 8:e58959, 2013
- Amran MY, Fujii J, Kolling GL, Villanueva SYAM, Kainuma M, Kobayashi H, Kameyama H, Yoshida S. Proposal for effective treatment of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in mice. *Microb. Pathog.* 65:57-62, 2013.
- Yonezawa H, Osaki T, Hanawa T, Kurata S, Ochiai K, Kamiya S. Impact of *Helicobacter pylori* biofilm formation on

- clarithromycin susceptibility and generation of resistance mutations. *PLoS One*. 2013, 6, e73301.
- 【結核・ハンセン病】
11. Mukai, T., Y. Tsukamoto, Y. Maeda, T. Tamura, and M. Makino. 2014. Efficient Activation of Human T Cells of Both CD4 and CD8 Subsets by Urease Deficient-Recombinant BCG that Produced a Heat Shock Protein 70-*M. tuberculosis*-Derived Major Membrane Protein II Fusion Protein. *Clin. Vaccine Immunol.*, 21: 1-11.
  12. Wang, H., Y. Maeda, Y. Fukutomi, and M. Makino. 2013. An *in vitro* model of *Mycobacterium leprae* induced granuloma formation. *BMC Infectious Diseases*, 13: 279.
- 【寄生虫疾患】
13. OCherif MS, Shuaibu MN, Kodama Y, Helegbe GK, Kikuchi M, Ichinose A, Yanagi T, Sasaki H, Yui K, Tien NH, Karbwang J, Hirayama K. Nanoparticle formulation enhanced protective immunity provoked by PYGPI8p-transamidase related protein (PyTAM) DNA vaccine in Plasmodium yoelii malaria model. *Vaccine*. 2014 Jan 14. pii: S0264-410X(14)00006-1. doi: 10.1016/j.vaccine.2014.01.005. [Epub ahead of print]
  14. OMBanefo EC, Kikuchi M, Huy NT, Shuaibu MN, Cherif MS, Yu C, Wakao M, Suda Y, Hirayama K. Characterization of a Gene Family Encoding SEA (Sea-urchin Sperm Protein, Enterokinase and Agrin)-Domain Proteins with Lectin-Like and Heme-Binding Properties from *Schistosoma japonicum*. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014 Jan 9;8(1):e2644. doi: 10.1371/journal.pntd.0002644. eCollection 2014.
  15. OHuy NT, Shima Y, Maeda A, Men TT, Hirayama K, Hirase A, Miyazawa A, Kamei K. Phospholipid membrane-mediated hemozoin formation: the effects of physical properties and evidence of membrane surrounding hemozoin. *PLoS One*. 2013 Jul 23;8(7):e70025. doi: 10.1371/journal.pone.0070025. Print 2013.
  16. OMBanefo EC, Yu C, Kikuchi M, Shuaibu NM, Boamah D, Kirinoki M, Hayashi N, Chigusa Y, Osada Y, Hamano S, Hirayama K. Origin of a novel protein-coding gene family with similar signal sequence in *Schistosoma japonicum*. *BMC Genomics*. 2012 Jun 20;13(1):260. [Epub ahead of print]
  17. OCherif MS, Shuaibu MN, Kurosaki T, Helegbe GK, Kikuchi M, Yanagi T, Tsuboi T, Sasaki H, Hirayama K. Immunogenicity of novel nanoparticle-coated MSP-1 C-terminus malaria DNA vaccine using different routes of administration. *Vaccine*. 2011 Nov 8;29(48):9038-50. Epub 2011 Sep 20.
- 【急性呼吸器感染症】
18. Wachino J, Matsui M, Tran HH, Suzuki M, Suzuki S, Shibayama K. Evaluation of a Double-Disk Synergy Test with a Common Metallo- $\beta$ -Lactamase Inhibitor, Mercaptoacetate, for Detecting NDM-1-Producing *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter baumannii*. *Jpn J Infect Dis*. 2014;67(1):66-8.
  19. Suzuki M, Suzuki S, Matsui M, Hiraki Y, Kawano F, Shibayama K. A subclass B3 metallo- $\beta$ -lactamase found in *Pseudomonas alcaligenes*. *J Antimicrob Chemother*. 2013 Dec 18.
  20. Suzuki M, Suzuki S, Matsui M, Hiraki Y, Kawano F, Shibayama K. Genome Sequence of a Strain of the Human Pathogenic Bacterium *Pseudomonas alcaligenes* That Caused Bloodstream Infection. *Genome Announc*. 2013 Oct 31;1(5). pii: e00919-13.
  21. Miyaji Y, Otsuka N, Toyozumi-Ajisaka H, Shibayama K, Kamachi K. Genetic analysis of *Bordetella pertussis* isolates from the 2008-2010 pertussis epidemic in Japan. *PLoS One*. 2013 Oct 4;8(10):e77165.
  22. Matsui M, Shibayama K, Tsuji Y, Kamimura H, Karube Y, Yoshida M, Masuda Y, Hiraki Y, Takaki K, Kawano F. Isolation of genetically indistinguishable carbapenem-resistant and -susceptible *Acinetobacter baumannii* Isolates from a single patient. *Antimicrob Agents Chemother*. 2013 Nov;57(11):5781-2.
  23. Suzuki M, Matsui M, Suzuki S, Rimbara E, Asai S, Miyachi H, Takata T, Hiraki Y, Kawano F, Shibayama K. Genome Sequences of Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Strains from Nosocomial Outbreaks in Japan. *Genome Announc*. 2013 Jul 18;1(4). pii: e00476-13.
  24. Matsui M, Suzuki S, Suzuki M, Arakawa Y, Shibayama K. Rapid discrimination of *Acinetobacter baumannii* international clone II lineage by pyrosequencing SNP analyses of bla(OXA-51-like) genes. *J Microbiol Methods*. 2013 Aug;94(2):121-4.
  25. Kimura K, Nishiyama Y, Shimizu S, Wachino J, Matsui M, Suzuki S, Yamane K, Shibayama K, Arakawa Y. Screening for group B streptococci with reduced penicillin susceptibility in clinical isolates

- obtained between 1977 and 2005. *Jpn J Infect Dis.* 2013;66(3):222-5.
26. Kimura K, Matsubara K, Yamamoto G, Shibayama K, Arakawa Y. Active screening of group B streptococci with reduced penicillin susceptibility and altered serotype distribution isolated from pregnant women in Kobe, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2013;66(2):158-60.
  27. Kimura K, Wachino J, Kurokawa H, Matsui M, Suzuki S, Yamane K, Nagano N, Shibayama K, Arakawa Y. High cephalosporin resistance due to amino acid substitutions in PBP1A and PBP2X in a clinical isolate of group B Streptococcus. *J Antimicrob Chemother.* 2013 Jul;68(7):1533-6.
  28. Nagano N, Endoh Y, Nagano Y, Toyama M, Matsui M, Shibayama K, Arakawa Y. First report of OXA-48 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Japan from a patient returned from Southeast Asia. *Jpn J Infect Dis.* 2013;66(1):79-81.
  29. Suzuki S, Matsui M, Suzuki M, Sugita A, Kosuge Y, Kodama N, Ichise Y, Shibayama K. Detection of tripoli metallo- $\beta$ -lactamase 2 (TMB-2), a variant of blaTMB-1, in clinical isolates of *Acinetobacter* spp. in Japan. *J Antimicrob Chemother.* 2013 Jun;68(6):1441-2.
  30. Kimura K, Nagano N, Nagano Y, Wachino J, Shibayama K, Arakawa Y. Ability of the VITEK(R) 2 system to detect group B streptococci with reduced penicillin susceptibility (PRGBS). *J Antimicrob Chemother.* 2013 Jun;68(6):1442-4.
- 【ウイルス感染症】
31. Doan YH, Nakagomi T, Aboudy Y, Silberstein I, Behar-Novat E, Nakagomi O, Shulman LM. Identification by full genome analysis of a bovine rotavirus transmitted directly to, and causing diarrhea in a human child. *J Clin Microbiol* 51(1): 182-189, 2013
  32. ○ Hoa Tran TN, Nakagomi T, Nakagomi O. Evidence for genetic reassortment between human rotaviruses by full genome sequencing of G3P[4] and G2P[4] strains co-circulating in India. *Trop Med Health* 41(1): 13-20, 2013
  33. Nakagomi T, Doan YH, Dove W, Ngwira B, Iturriza-Gómara M, Nakagomi O, Cunliffe NA. G8 rotaviruses with conserved genotype constellations detected in Malawi over 10 years (1997-2007) display frequent gene reassortment among strains co-circulating in humans. *J Gen Virol* 94 (pt 6) : 1273-1295, 2013
  34. Nakagomi T, Kato K, Tsutsumi H, Nakagomi O. The burden of rotavirus gastroenteritis among Japanese children during its peak months: an internet survey. Continued circulation of G12P[6] rotaviruses over 28 months in Nepal: successive replacement of predominant strains. *Jpn J Infect Dis* 66(4): 269-275, 2013
  35. ○ Gauchan P, Nakagomi T, Sherchand JB, Yokoo M, Pandey BD, Cunliffe NA, Nakagomi O. Continued circulation of G12P[6] rotaviruses over 28 months in Nepal: successive replacement of predominant strains. *Trop Med Health* 41(1) : 7-12, 2013
- 【ウイルス肝炎】
36. Nakagawa H, Hikiba Y, Hirata Y, Font-Burgada J, Sakamoto K, Hayakawa Y, Taniguchi K, Umemura A, Kinoshita H, Sakitani K, Nishikawa Y, Hirano K, Ikenoue T, Ijichi H, Dhar D, Shibata W, Akanuma M, Koike K, Karin M, Maeda S. Loss of liver E-cadherin induces sclerosing cholangitis and promotes carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2014 Jan 6. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 24395807.
  37. Uranbileg B, Enooku K, Soroida Y, Ohkawa R, Kudo Y, Nakagawa H, Tateishi R, Yoshida H, Shinzawa S, Moriya K, Ohtomo N, Nishikawa T, Inoue Y, Tomiya T, Kojima S, Matsuura T, Koike K, Yatomi Y, Ikeda H. High ubiquitous mitochondrial creatine kinase expression in hepatocellular carcinoma denotes a poor prognosis with highly malignant potential. *Int J Cancer* 2013 Oct 15. doi: 10.1002/ijc.28547. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 24174293.
  38. ○Yotsuyanagi H, Ito K, Yamada N, Takahashi H, Okuse C, Yasuda K, Suzuki M, Moriya K, Mizokami M, Miyakawa Y, Koike K. High levels of HBV after the onset lead to chronic infection in patients with acute hepatitis B. *Clin Infect Dis* 2013 May 23. [Epub ahead of print] PubMed PMID: 23704123.
  39. He G, Dhar D, Nakagawa H, Font-Burgada J, Ogata H, Jiang Y, Shalpour S, Seki E, Yost SE, Jepsen K, Frazer KA, Harismendy O, Hatziapostolou M, Iliopoulos D, Suetsugu A, Hoffman RM, Tateishi R, Koike K, Karin M. Identification of liver cancer progenitors whose malignant progression depends on autocrine IL-6 signaling. *Cell* 2013;155(2):384-396. doi: 10.1016/j.cell.2013.09.031.
  40. ○Lo PH, Urabe Y, Kumar V, Tanikawa C, Koike K, Kato N, Miki D, Chayama K, Kubo M, Nakamura Y, Matsuda K. Identification of a functional variant in the mica promoter which regulates mica expression



and increases HCV-related hepatocellular carcinoma risk. PLoS One 2013 Apr 11;8(4):e61279. doi: 10.1371/journal.pone.0061279.

【栄養・代謝】

41. Nishimura A, Harashima S, Honda I, Shimizu Y, Harada N, Nagashima K, Hamasaki A, Hosoda K, Inagaki N. Color record in self-monitoring of blood glucose improves glycemic control by better self-management. Diabetes Technology and Therapeutics. (印刷中)
42. Kondo, Y., Harada, N., Sozu, T., Hamasaki, A., Yamane, S., Muraoka, A., Hatrda, T., Shibue, K., Nasteska, D., Joo, E., Sasaki, K., Inagaki, N. A hospital-based cross-sectional study to develop an estimation formula for 2-hours post-challenge plasma glucose for screening impaired glucose tolerance. Diabetes Res. Clin. Pract. 101(2):218-25, 2013
43. Hosokawa M, Hamasaki A, Nagashima K, Harashima S, Toyoda K, Fujita Y, Harada N, Nakahigashi Y, Fujimoto S, Inagaki N. Lack of goal attainment of LDL cholesterol levels in management of type 2 diabetes mellitus. Internal Medicine. 52:2409-2415, 2013
44. Harashima S, Tanaka D, Yamane S, Ogura M, Fujita Y, Murata Y, Seike M, Koizumi T, Aono M, Wang Y, Inagaki N. Efficacy and safety of switching from basal insulin to sitagliptin in Japanese type 2 diabetes patients. Horm Metab Res. 45(3): 231-238, 2013
45. Harashima S, Fukushima T, Sasaki M, Nishi Y, Fujimoto S, Ogura M, Yamane S, Tanaka D, Harada N, Hamasaki A, Nagashima K, Nakahigashi Y, Seino Y, Inagaki N. Self-monitoring of blood glucose (SMBG) improves glycemic control in oral hypoglycemic agents (OHA)-treated type 2 diabetes (SMBG-OHA Study). Diabetes Metab Res Rev. 29(1):77-84, 2013

【環境・ゲノミクス】

46. OTsutsuka Y, Watanabe T, Coulibaly S, Kobayashi S, Nishizaki M, Okazaki M, Hasei T, Wakabayashi K, Nakagama H. *In vivo* genotoxicity of a novel heterocyclic amine, aminobenzoazepinoquinolinone-derivative (ABAQ), produced by the Maillard reaction between glucose and L-tryptophan. Mutat Res, 760:48-55, 2014.
47. OIgarashi M, Hippo Y, Ochiai M, Fukuda H, Nakagama H. AKT is critically involved in cooperation between obesity and the

dietary carcinogen amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-b] (PhIP) toward colon carcinogenesis in rats. Biochem Biophys Res Commun, 443:852-857, 2014.

48. Onuma K, Ochiai M, Orihashi K, Takahashi M, Imai T, Nakagama H, Hippo Y. Genetic reconstitution of tumorigenesis in primary intestinal cells. Proc Natl Acad Sci USA, 110:11127-11132, 2013.
49. Kasuga M, Ueki K, Tajima N, Noda M, Ohashi K, Noto H, Goto A, Ogawa W, Sakai R, Tsugane S, Hamajima N, Nakagama H, Tajima K, Miyazono K, Imai K. Report of the Japan Diabetes Society/Japanese Cancer Association Joint Committee on Diabetes and Cancer. Cancer Sci, 104:965-976, 2013.
50. Okudaira N, Okamura T, Tamura M, Iijima K, Goto M, Matsunaga A, Ochiai M, Nakagama H, Kano S, Fujii-Kuriyama Y, Ishizaka Y. Long interspersed element-1 is differentially regulated by food-borne carcinogens via the aryl hydrocarbon receptor. Oncogene, 32:4903-4912, 2013.
51. Ishino K, Mutoh M, Totsuka Y, Nakagama H. Metabolic syndrome: A novel high-risk state for colorectal cancer. Cancer Lett, 334:56-61, 2013.

2. 学会発表  
該当無し

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得  
該当無し
2. 実用新案登録  
該当無し
3. その他  
該当無し

厚生労働科学研究費補助金地球規模保健課題推進研究事業（国際医学協力研究事業）  
分担研究報告書  
研究統括・米側との協議・HIV/AIDSの研究

「アジア地域にまん延している疾病に関する研究」

研究分担者 岩本 愛吉 東京大学医科学研究所 教授

研究要旨：

日米医学協力米側初代エイズ専門部会長かつ前日米医学協力委員長である Ashley Haase 教授（ミネソタ大学）を 2013 年 9 月に日本に招聘し、日本側のエイズ専門家と情報交換やエイズ部会のあり方等に関して議論を行った。アジアで流行する HIV-1 の補助レセプター指向性を安全かつ簡便に測定できるアッセイ系 DSP-Pheno を開発し、報告した（岩本）。HIV-1 プロテアーゼ（PR）の二量体化ダイナミクスの解明と DRV の PR 二量体化阻害効果の作用機序を明らかにした（満屋）。MHC-I ハプロタイプ E 共有サル群で SIV 感染後誘導される CTL エピトープを Nef 領域に同定し、その CTL からの逃避変異を見出した（俣野）。東南アジア地域に特徴的な HLA B\*35:05 アリールは、HIV-1 の宿主内増殖に対して防御的に機能している（有吉）。アジア地域における HIV ワクチンに必要な中和エピトープを同定した。単クローン抗体の樹立によって、中和抗体誘導のヒントが得られる（松下）。末梢血のウイルス量が検出感度以下となった HAART 治療中の患者の回盲部粘膜内の NKT 細胞が R5 型 HIV の感染の温床となっており、それを近傍の  $\gamma\delta$  型 T 細胞が制御する可能性を見いだした（高橋）。タイにおける d4T 服用に伴うリポアτροφイーの発症に Fas 遺伝子の多型が関与することを明らかにした（塩田）。

A. 研究目的

日米医学協力計画は、日米が共同してアジアに蔓延する疾病に関する研究を行うことを目的に、昭和 40（1965）年 1 月に開始されたものである。エイズ専門部会は昭和 63（1988）年に開催された。その当時と比較すると、日本国内での HIV 流行は一貫して増加傾向にあるばかりか、アジアにおける流行も、流行様式の複雑性を増しながら、拡大しつつある。本研究は、そのような日米医学協力エイズ専門部会の設置目的を踏まえ、日本の専門家が自身の研究を深めながら、米国の研究者との交流を深め、その成果をアジアに還元することにある。

AIDSは、1981年に米国において初めて報告された疾患である。HIVは1983年に発見された。抗HIV薬はこれまでの基礎研究や臨床応用研究により著しく進歩したが、その成果がアジアの途上国において十分行かされているとはいえない。また、HIVに対するワクチンは開発されておらず、HIVに対する免疫応答の研究や動物モデルを用いた研究が極めて重要である。

本研究は、専門分野を異にする日本有数のHIV専門家が介し、個人研究を推進しながら、世界最先端を行く米国の研究者と情報交換し、日米協力関係を基軸として、アジアにおけるHIVの研究、医療の進歩、感染対策、若手研究者の育成等に協力することが特色であり、他に例を見ないわが国の取り組みである。

以上のために平成 25 年度は、日米医学協力米

側初代エイズ専門部会長（かつ前日米医学協力委員長）である Ashley Haase 教授（ミネソタ大学）を招聘し、日本側のエイズ専門家と情報交換やエイズ部会のあり方等に関して議論を行う。CRF01\_AE、CRF07/08\_BC など、アジアで流行する HIV-1 が使用する補助レセプターについては、ほとんど解析されていない。アジアで流行する HIV-1 の補助レセプター指向性を安全かつ簡便に測定するアッセイ系を開発する（岩本）。霊長類エイズモデル・HIV 感染者の解析により、CTL からの逃避が困難な HIV 抗原領域あるいは HIV 複製に重要な抗原領域を同定する（俣野）。アジアで独自に樹立したコホート研究により、HIV に対する感染抵抗性や病態進行遅延に関する臨床疫学的、免疫学的小およびウイルス学的解析を行う（有吉）。アジア地域に多く見られるサブタイプのウイルスに有効なワクチンに必要な中和抗体の反応エピトープを同定し、これに対する抗体反応を明らかにする（松下）。樹状細胞や NKT 細胞などの自然免疫担当細胞が HIV 感染の標的となる可能性を検討するとともに、それらの制御法を探る（高橋）。タイにおける抗 HIV 薬の副作用発症に影響するヒト遺伝子多型の同定を目指す（塩田）。より安全かつ新規の抗 HIV 薬開発が求められており、第 2 世代プロテアーゼ阻害薬の基礎研究により、耐性発現に抵抗（又は発現を阻止）する新規の抗 HIV 薬のデザイン・合成・同定を目指す（満屋）。

## B. 研究方法

CRFAE\_01松田善衛東京大学医科学研究所特任教授の開発したデュアルスプリットプロテイン (DSP) アッセイ系を応用して、感染性ウイルスを使用しないHIV-1の補助レセプター指向性の表現型アッセイ法を樹立する(岩本)。「第二世代」のプロテアーゼ (PR) 阻害剤darunavir (DRV) はPRの酵素活性と二量体化の双方を阻害するが、二量体化阻害の態様については不明な部分が多い。本研究ではPRの二量体化に重要とされるアミノ酸を置換した変異 PR (vPR) を作製、DRVとvPRの相互作用を明らかにするとともにPR二量体化のダイナミクスを明らかにする。種々のvPRを大腸菌で発現、精製、ギ酸で変性 (unfold)、DRV存在下/非存在下でrefoldさせて、PRモノマー単独及びモノマー・DRVコンプレックス生成の態様を質量分析法 (ESI-Mass) により決定する。次いで、PRモノマー及びモノマー・DRVコンプレックスの結晶化をはかってDRVのモノマーへの結合部位等を決定し、そのようなデータを基礎にしながらDRVよりも強力な、耐性発現に抵抗 (又は発現を阻止) する新規の抗HIV薬のデザイン・合成・同定を目指す (満屋)。SIV感染サルにおけるCTL反応と血漿中ウイルス由来ゲノムの塩基配列解析からCTL逃避変異を同定する。同定した変異を有するSIVを作製し、その変異SIVを用いた培養系での感染実験により、その変異がSIV複製能に及ぼす影響を検討する。アジアHIV感染者のCTL逃避変異同定に向けた研究を開始する (俣野)。

北タイランパン総合病院における HIV 感染者コホートにおいて、抗 HIV 薬治療が開始される前の HIV 自然経過が観察される患者群において、ウイルス量と相関のある宿主遺伝子多型 (HLA 等) との相関を解明する。北ベトナムバクマイ病院における HIV 感染者夫婦コホートにおいて、夫婦間 HIV 伝播頻度を調べ、HIV 伝播と相関する臨床疫学的因子 (インデックスケースの感染経路、ウイルス量、CD4 値および他のウイルスとの重複感染等) を解析する (有吉)。HIV-1 は、様々な地域から分離されたウイルスの系統樹解析から多くのサブタイプに分類されているが、これらに対する中和抗体の交差中和活性は、ワクチンや治療法の開発に重要である。本研究では、特にアジアで感染が拡大し、わが国でも分離されている CRF01AE やサブタイプ C のウイルスに対して、感染個体がどのような交差中和活性を示すかを調べるとともに、これらの症例から分離した中和単クローン抗体の交差反応性を検討する (松下)。

HIV の標的が CD4 陽性のヘルパー T 細胞 (Th)、樹状細胞 (DC) ならびにランゲルハンス細胞、NKT 細胞であることを確認する。次に感染細胞制御に関わる細胞群が CD8 陽性群であるという従来からの知見に従い、ヒト末梢血単核球 (PBMo) から CTL を反映する CD8  $\alpha$   $\beta$  陽性細胞群あるいは制御型  $\gamma$   $\delta$  T 細胞および NKT 細胞を反映する CD8  $\alpha$   $\alpha$  陽性細胞群を除去し、それぞれの細胞群の感染制御に関わる細胞群を同定後、その制御メカニズムを明らかにする (高橋)。タイにおいてもジェネリ

ック医薬品である抗レトロウイルス剤 GPOvir (Nevirapine、d4T、3TC の合剤) が普及し、現在、タイ全土で良好な治療成績を示している。d4T はその副作用としてリポアトロフィー等の脂質代謝異常を引き起こすことが知られており、タイでも d4T による高頻度のリポアトロフィーの報告がある。本研究では、タイの HIV 感染者コホートにおいて d4T によるリポアトロフィー発症に影響するヒト遺伝子多型として報告のある Fas 遺伝子プロモーターの-670 位、アポリポプロテイン C3 遺伝子のプロモーターの-455 位、ならびに  $\beta$ 3 アドレナリンレセプターのコドン 64 位を TaqMan 法あるいは restriction fragment length polymorphism 法にて解析する (塩田)。

(倫理面への配慮)

ヒトゲノム研究・遺伝子解析研究に相当するものは、その倫理指針に準拠して行う。遺伝子組換え生物等を用いる実験については、研究内容に応じて実施機関または文部科学大臣承認を得る。動物実験については実施機関の動物実験委員会の承認を得る。臨床材料を用いる検体については、臨床研究に関する倫理指針、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針等に従い、実施機関の倫理審査委員会の承認を得て、説明と文書による同意に基づいて行う。HIV 感染症例由来の血液検体を用いたウイルス分離及び塩基配列同定、中和抗体感受性試験などに関しては、臨床研究に関する倫理指針に従い、学内倫理委員会の承認を得た説明と同意書を用いて同意を得たのちに採血する (臨床研究登録 UMIN000004720 : 松下)。海外における共同研究を伴うものは、相手機関あるいは相手国の承認を得る。また、国内実施機関の承認を得る。

## C. 研究結果 :

2013 年 9 月に開催された第 12 回あわじしま感染症・免疫フォーラムの機会に、米医学協力米側初代エイズ専門部会長かつ前日米医学協力委員長である Ashley Haase 教授 (ミネソタ大学) を日本に招聘し、日本側のエイズ専門家と情報交換やエイズ部会のあり方等に関して議論を行った。

ヒトグリオーマ由来の細胞株 NP-2 に CD4 および補助レセプター (CCR5 または CXCR4 の一方) を発現する細胞に DSP<sub>1-7</sub> を恒常的に発現させ、それぞれ N4R5 または N4X4 細胞株を樹立した。また、DSP<sub>8-11</sub> とアッセイ目的の HIV-1 エンベロープ遺伝子の両者を発現できるベクター pRE11 を作製した。pRE-11 に目的のエンベロープ遺伝子を挿入し、293 細胞にトランスフェクションし、その後 N4R5 または N4X4 と細胞融合させ、ルシフェラーゼ活性および GFP で細胞融合を測定する補助レセプターの表現型アッセイ (DSP-Pheno) を開発し、報告した (岩本)。HIV プロテアーゼ (PR) の二量体化に重要とされる活性中心近傍部位及び末端領域のアミノ酸に変異を導入した種々の変異 PR (vPRs) を作製、vPRs の二量体形成と、DRV の vPR に対する結合特性を質量分析装置により

解析した。結果、darunavir (DRV) は vPRs の単量体 (monomer) 及び二量体 (dimer) の両方に結合する事が明らかとなり、活性中心近傍に変異を有する vPR は二量体形成能を完全に失うが、末端領域に変異を有する vPR は二量体を形成し得る事が明らかとなった (満屋)。MHC-I ハプロタイプ E 共有サル群で SIV 感染後誘導される CTL エピトープを Nef 領域に同定した (Nef45-53)。さらに、Nef の 53 番目のアミノ酸の L から P への置換を生ずる変異が Nef45-53 特異的 CTL からの逃避変異であることを見出した。一方、ベトナムの HIV 感染者検体の HLA-A 遺伝子型の解析を開始した (俣野)。

北タイのランパン HIV 自然経過コホート対象患者 557 名 (女性 300 名、男性 257 名; 年齢中央値 (範囲) 32 歳 (15-63 歳); CD4 細胞中央値 (範囲) 86 cells/ul (0-1191/ul)) の HLA クラス I タイピングをしたところ、全部で 111 のアリール (27 HLA-A, 58 HLA-B, 26 HLA-C アリール) が同定され、そのうち主要な HLA-A アリールは、保有感染者頻度の高い順に HLA-A\*11:01 (58.7%)、A\*24:02 (25.0%)、A\*02:03 (24.4%) であった。主要な HLA-B アリールは、HLA-B\*46:01 (26.6%)、B\*40:01 (20.1%)、B\*13:01 (17.8%) であり、HIV 感染に対して防御的に作用する HLA-B\*57:01 の頻度は、1.4% と低かった。HLA-C アリールについては、HLA-C\*01:02 (31.6%) が最も頻度が高く、次いで C\*07:02 (30.3%)、C\*08:01 (18.3%) であった。対象患者の HIV ウイルス量の中央値 (範囲) は、5.26 log copies/ml (2.60-6.72 log copies/ml) であり、感染者の HLA アリールとの相関を比較したところ、三つのアリールについて、これらの HLA アリールを有する感染者群で有意に HIV ウイルス量が低く、HIV 宿主内増殖に対して防御的な傾向がみられることが判明した: HLA-B\*35:05 ( $p=0.003$ )、HLA-B\*57:01 ( $p=0.044$ )、HLA-A\*24:07 ( $p=0.025$ )。一方、四つのアリールについては、有意に高いウイルス量であることが判明した: HLA-B\*15:04 ( $p=0.038$ )、HLA-B\*56:01 ( $p=0.011$ )、HLA-A\*11:02 ( $p=0.015$ )、HLA-C\*07:02 ( $p=0.018$ ) (有吉)。北ベトナムハノイのバクマイ病院感染症内科外来を受診した 225 名の既婚男性の HIV 感染者を対象に質問票を用いた情報収集を完了した。うち 62 名は結婚前に HIV 感染であることが診断されていること、24 名については、既に抗 HIV 薬治療が開始されている理由で解析から除外し、残りの 163 名の男性について統計解析を行った。その結果、62% の HIV 感染者が抗 HIV 抗体陰性の女性配偶者を有していることが判明、その割合は、インデックスとなる男性に静注麻薬 (IDU) 経歴がある群において、同経歴がない群よりも有意に高かった (70.1% vs 54.7%;  $p=0.042$ )。また、抗 HIV 抗体陰性の女性配偶者を持つ HIV 感染者の方が、HIV 陽性配偶者を持つ HIV 感染者よりも、子供数が有意に多く ( $p=0.04$ )、新たな妊娠を希望する率が低かった (38.4% vs 56.5%;  $p=0.025$ )。一方、夫婦間の性的接触回数やコンドーム使用は、IDU 使用歴や夫

婦間 HIV 伝播と相関しなかった。最後に、IDU 使用歴を含む HIV 伝播様式や妊娠希望の有無に加え、インデックスケースの年齢、臨床病期、抗 HIV 治療薬の使用期間、性病歴をモデルに加えてロジスティック多変量解析を実施したところ、IDU 使用歴とインデックスケースが有症状期にあることが、他の因子とは独立して夫婦間の HIV 非伝播と相関があることが判明した。興味あることに、インデックスケースが HBV に慢性感染している場合、HIV 夫婦間伝播のリスクが有意に上がることも判明した (有吉)。我々は昨年までに、HIV-1 CRF01\_AE 感染症例及び、subtype B 感染症例の血漿から精製した IgG 抗体を用いて、交差中和活性の検討を行い、CRF01\_AE 感染症例の KI-610 と KU-NSI が計 22 種類の pseudovirus の約 48% を中和し、A, B, C, D の pseudovirus に対する cross-subtype 中和活性を確認した。エンベロープに変異を導入した pseudovirus を用いた中和試験から、中和感受性の変化を mutant  $IC_{50}$ /wild-type  $IC_{50}$  で計算した結果、V2 ループ内の N160K (27.1 倍) と I165A (11 倍)、及び、V3 基部の N295A (33.6 倍) と N334A (33.6 倍) の変異が、KI-610 に対する中和抵抗性をもたらした。これらの結果から、V2 及び V3 のエピトープが CRF01\_AE 症例の中和活性に重要であることが示唆された。これらの症例から、メモリー B 細胞を分離して単クローン抗体の分離を試み、数種類の候補抗体を得た。現在、短鎖・長鎖遺伝子をクローニングし、組み換え抗体を作成中である (松下)。末梢血のウイルス量が検出感度以下となった HAART 治療中の患者の回盲部粘膜内の NKT 細胞が R5 型 HIV の感染の温床となっており、それを近傍の  $V\gamma 1V\delta 1$  型 T 細胞が MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、RANTES などの放出を介して制御する可能性を見いだした (高橋)。829 名の HIV 感染者を d4T 服用直後から平均 4.85 年追跡したところ、観察期間中に 148 名がリポアトロフィーを 122 名がリポハイパートロフィーを発症した。上記の 3 つの遺伝子多型を決定してところ、Fas 遺伝子プロモーターの -670 位が A のホモ接合である場合のリポアトロフィー発症危険度が 1.72 ( $P=0.003$ ) を示し、脂肪細胞の細胞死を司る Fas がリポアトロフィー発症に関わる可能性が示唆された (塩田)。

#### D. 考察:

DSP-Pheno アッセイは、感染性ウイルスの作製段階を含まないため安全で、患者血清血漿検体から出発し、5 日間で結果を得ることが出来る表現型アッセイ法である。ジェノタイプアッセイ法と比較することにより、アジアで流行する HIV-1 の補助レセプター指向性の解析研究を推進することが出来る。CCR5 特異的な阻害薬が存在することからアジアにおける HIV 感染症の治療や予防に役立てることが可能となった (岩本)。PR 二量体化阻害能を有する DRV は PR の monomer に対して結合し得るが、二量体化阻害能を持たない saquinavir (SQV) 及び nelfinavir (NFV) は monomer に結合しなかった事から、DRV は PR

monomer に結合する事で PR の二量体形成を阻害している事が示唆された。また、活性中心近傍に変異を有する vPR と末端領域に変異を有する vPR の二量体形成能の違いから、PR の二量体形成が活性中心近傍の相互作用形成に始まり、末端領域の相互作用形成を以て完了する事が示された(満屋)。本研究で同定した Nef45-53 エピトープ特異的 CTL は、比較的選択圧の強い CTL と考えられる。このような CTL の逃避変異に関する情報蓄積は、有効な CTL の標的領域の同定ならびにウイルス各抗原の構造保存性の理解に貢献しうる(俣野)。

北タイで行われた HIV 感染者自然経過コホートにおいては、これまで知られている B\*57:01 に加え、この地域に特徴的な B\*35:05 アリールが、HIV ウイルスの宿主内増殖に対して防御的に機能していることが判明したのは、大変意義がある。HLA-B\*35:05 は PY タイプに属するが、97 番目のアミノ酸残基を Arg (R) とする他の B\*35 アリールとは異なり、グルーブに面する配列に、T94, L95, S97 といった特徴的なアミノ酸を有する。続いて行われた *in silico* による 3 次元構造解析では、S97 がグルーブの可塑性を制御していること、その結果、他の PY タイプよりも  $\alpha$  フェリックス間の距離が短くなっている。このことは、グルーブに結合できるペプチドのバリエーションが少なく、その結果、より強いウイルス特異的な免疫誘導につながる事が考えられる。これらの情報は、アジア地域により適応したエイズワクチンの開発に有用である(有吉)。北ベトナムで実施された HIV 感染夫婦コホート研究において、夫婦間の HIV 伝播の割合が驚くほど低いことが判明した。他の因子を組み入れたロジスティック多変量解析において、他の因子から独立してインデックスケースの IDU 歴が HIV 非伝播と有意に相関する一方で、性的行動様式とは相関しないことから、ベトナムにおける HIV の性的接触を介した伝播効率は、何らかの生物学的な理由で低くなっている可能性が示唆された(有吉)。

アジア地域で感染が拡大している HIV-1 の subtype である、subtype C や CRF01\_AE に対する中和抗体反応はこれまで十分明らかにされていない。平成 25 年度までの研究で、subtype B や C 感染患者での解析結果と同様に、CRF01\_AE 感染においても、cross-subtype 中和抗体の誘導は 10% 程度の症例にしか見られないことが分かった。一方、これらの CRF01\_AE 感染例の中和抗体が V2/V3 領域の変異に感受性であることから、これまでに報告されている cross-subtype 中和抗体と共通した V2 及び V3 のエピトープが CRF01\_AE 症例の中和活性に重要であることが示唆された(松下)。HAART の治療中、末梢血中のウイルスが検出感度以下に抑えられている状態にあっても、回盲部の腸管粘膜組織ではウイルスを複製している細胞、特に CD4 陽性 NKT 細胞が治療中においても HIV を複製していることが確認され、感染 NKT から HIV の産生・放出を近傍の  $V\gamma 1V\delta 1$  型 T 細胞が抑制する可能性を見いだした。このことは、現在の HAART に  $V\gamma 1V\delta 1$  型 T 細胞活性化剤、

あるいは活性化法を併用する手法の開発が重要であることを物語っている(高橋)。Fas 以外の遺伝子多型はリポアトロフィー、リポハイパートロフィーとも関連を見出すことはできなかった。これら 3 つの多型が報告されたヨーロッパではタイではあまり使用されないプロテアーゼ阻害剤が主に使用されているためかと考えられる。Bamrasnaradura 感染症研究所では、現在、この Fas 遺伝子多型解析を、HIV 感染者のリポアトロフィー発症予測検査として取り入れるか否かの検討が行われている(塩田)。

#### E. 結論:

感染性ウイルスの作製を含まない安全かつ簡便な HIV-1 補助レセプター指向性の表現型アッセイ法 (DSP-Pheno) が樹立できた(岩本)。PR は、まず活性中心近傍で相互作用する事で不安定な dimer を形成し、次いで末端領域で相互作用する事で dimer を安定化し、完全な PR dimer を形成する事が明らかとなった。また、DRV は PR monomer の活性中心近傍に結合する事で PR の二量体形成を阻害している事が明らかとなった(満屋)。MHC-I ハプロタイプ E 共有サル群で HIV 感染後誘導される CTL エピトープ (Nef45-53) を同定し、その CTL からの逃避変異 L53P を見出した(俣野)。

東南アジア地域に特徴的な B\*35:05 アリールは、HIV ウイルスの宿主内増殖に対して防御的に機能している。

インデックスケースが IDU を介して感染することが多いベトナムにおいて、HIV の夫婦間伝播効率は低い(有吉)。平成 25 年度までの成果から、アジア地域における有効なワクチンに必要な中和抗体の一つは V2/V3 の糖鎖関連エピトープを認識する抗体である可能性が示された。今後、この特異性の単クローン抗体の分離によって、その前駆 B 細胞の同定が可能となり、中和抗体誘導のヒントが得られる(松下)。HIV 制圧のためには、現在の HAART に  $V\gamma 1V\delta 1$  型 T 細胞を活性化する方法を開発し、それを治療に加えることが重要である(高橋)。タイにおける d4T 服用に伴うリポアトロフィーの発症に Fas 遺伝子の多型が関与することを明らかにした。(塩田)

#### F. 健康危険情報

該当無し。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表:

(岩本)

- 1) OTeeranaipong P, Hosoya N, Kawana-Tachikawa A, Fujii T, Koibuchi T, Nakamura H, Koga M, Kondo N, Gao GF, Hoshino H, Matsuda Z, and Iwamoto A. Development of a Rapid Cell-Fusion-based Phenotypic HIV-1 Tropism Assay. *Journal of the International AIDS Society* 16:18723,

2013.  
<http://www.jiasociety.org/index.php/jias/article/view/18723>.  
<http://dx.doi.org/10.7448/IAS.16.1.18723>.
- 2) OShimizu A, Kawana-Tachikawa A, Yamagata A, Han C, Zhu D, Sato Y, Nakamura H, Koibuchi T, Carlson J, Martin E, Brumme CJ, Shi Y, Gao GF, Brumme ZL, Fukai S, and Iwamoto A. Structure of TCR and antigen complexes at an immunodominant CTL epitope in HIV-1 infection. *Sci. Rep.* 3: 3097, 2013; doi:10.1038/srep03097(2013).
  - 3) Li Y, Han Y, Xie J, Gu L, Li W, Wang H, Lv W, Song X, Li Y, Routy JP, Ishida T, Iwamoto A, and Li T: CACT0810 group. CRF01\_AE subtype is associated with X4 tropism and fast HIV progression in Chinese patients infected through sexual transmission. *AIDS* 28(4):521-30, 2014.
- (満屋)
- 4) Gómez PMS, Amano M, Yashchuk S, Mizuno A, Das D, Ghosh, AK and Mitsuya H, GRL-04810 and GRL-05010, Difluoride-Containing Nonpeptidic HIV-1 Protease Inhibitors (PIs) That Inhibit the Replication of Multi-PI-Resistant HIV-1 In Vitro and Possess Favorable Lipophilicity That May Allow Blood-Brain Barrier Penetration, *Antimicrob. Agents Chemother.* 57, 6110-21, 2013
  - 5) Hachiya A, Reeve AR, Marchand B, Michailadis E, Ong YT, Kirby KA, Leslie MD, Oka S, Kodama EN, Rohan LC, Mitsuya H, Parniak MA, and Sarafianos SG, Evaluation of Combinations of 4' -Ethynyl-2-Fluoro-2' -Deoxyadenosine with Clinically Used Antiretroviral Drugs, *Antimicrob. Agents Chemother.* 57: 4554, 2013
  - 6) Taura M, Kariya R, Kudo E, Goto H, Iwakaki T, Amano M, Suico MA, Kai H, Mitsuya H, and Okada S, Comparative analysis of ER stress response into HIV protease inhibitors: Lopinavir but not darunavir induces potent ER stress response via ROS/JNK pathway, *Free Radical Biology and Medicine*, 65: 778, 2013
  - 7) Yarchoan R, and Mitsuya H, Development of the First AIDS Drugs: AZT and Other Dideoxynucleosides, Springer, "Human Immunodeficiency Virus Reverse Transcriptase", pp1, 2013
  - 8) Amano M, Tojo Y, Gómez PMS, Campbell JR, Das D, Aoki M, Xu CX, Rao KV, Ghosh AK, and Mitsuya H, GRL-0519, a Novel Oxatricyclic Ligand-Containing Nonpeptidic HIV-1 Protease Inhibitor (PI), Potently Suppresses Replication of a Wide Spectrum of Multi-PI-Resistant HIV-1 Variants In Vitro, *Antimicrob. Agents Chemother.* 57: 2036, 2013
  - 9) Feng L, Sharma A, Slaughter A, Jena N, Koh Y, Shkriabai N, Larue RC, Patel PA, Mitsuya H, Kessl JJ, Engelman A, Fuchs JR, and Kvaratskhelia M, The A128T Resistance Mutation Reveals Aberrant Protein Multimerization as the Primary Mechanism of Action of Allosteric HIV-1 Integrase Inhibitors, *J. Biol. Chem.* 288: 15813, 2013
  - 10) Yedidi RS, Maeda K, Fyvie WS, Steffey M, Davis DA, Palmer I, Aoki M, Kaufman JD, Stahl SJ, Garimella H, Das D, Wingfield PT, Ghosh AK, and Mitsuya H, P2' Benzene Carboxylic Acid Moiety Is Associated with Decrease in Cellular Uptake: Evaluation of Novel Nonpeptidic HIV-1 Protease Inhibitors Containing P2 bis-Tetrahydrofuran Moiety, *Antimicrob. Agents Chemother.* 57: 4920, 2013
  - 11) Matsuzawa T, Kawamura T, Ogawa Y, Blauvelt A, Mitsuya H, and Shimada S, Novel nucleoside reverse transcriptase inhibitor (4' -Ethynyl-2-Fluoro-2' -Deoxyadenosine) completely blocks HIV Infection of Langerhans Cells, *Journal of Dermatological Science*, 69: e30, 2013
  - 12) Ghosh A, Partham GL, Martyr CD, Nyalapatla PR, Osswald HL, Agniswamy J, Wang YF, Amano M, Weber IT, Mitsuya H, Highly Potent HIV-1 Protease Inhibitors with Novel Tricyclic P2 Ligands: Design, Synthesis, and Protein-Ligand X-ray Studies, *J. Med. Chem.* 56: 6792, 2013
  - 13) Zhang W, Parniak MA, Mitsuya H, Sarafianos SG, Greabing PW, Rohan LC, Preformulation studies of EFdA, a novel nucleoside reverse transcriptase inhibitor for HIV prevention, *Drug Dev. Ind. Pharm.* (in print)
  - 14) Nishijima T, Gatanaga H, Shimbo T, Komatsu H, Endo T, Horiba M, Koga M, Naito T, Itoda I, Tei M, Fujii T, Takada K, Yamamoto M, Miyakawa T, Tanabe Y, Mitsuya H, and Oka S, Switching Tenofovir/Emtricitabine plus Lopinavir/r to Raltegravir plus Darunavir/r in Patients with Suppressed Viral Load Did Not Result in Improvement of Renal Function but Could Sustain Viral Suppression: A Randomized Multicenter Trial, *Plos One*, 8: e73639, 2013
  - 15) Nishijima T, Takano M, Ishisaka M, Komatsu H, Gatanaga H, Kikuchi Y, Endo T, Horiba M, Kaneda S, Uchiumi H, Koibuchi T, Naito

- T, Yoshida M, Tachikawa Y, Ueda M, Yokomaku Y, Fujii T, Higasa S, Takada K, Yamamoto M, Matsushita S, Taeyama M, Tanabe Y, Mitsuya H, and Oka S, Abacavir/Lamivudine versus Tenofovir/Emtricitabine with Atazanavir/Ritonavir for Treatment-naive Japanese Patients with HIV-1 Infection: A Randomized Multicenter Trial, *Internal Medicine*. 52; 735, 2013.
- (俣野)
- 16) Burwitz BJ, Wu HL, Reed JS, Hammond KB, Newman LP, Bimber BN, Nimiyongskul FA, Leon EJ, Maness NJ, Friedrich TC, Yokoyama M, Sato H, Matano T, O' Connor DH, Sacha JB. Tertiary mutations stabilize CD8<sup>+</sup> T lymphocyte escape-associated compensatory mutations following transmission of simian immunodeficiency virus. *J Virol*, in press.
- 17) Iwamoto N, Takahashi N, Seki S, Nomura T, Yamamoto H, Inoue M, Shu T, Naruse TK, Kimura A, Matano T. Control of SIV replication by vaccine-induced Gag- and Vif-specific CD8<sup>+</sup> T cells. *J Virol* 88:425-433, 2013.
- (有吉)
- 18) OMori, N Wichukchinda, R Miyahara, A Rojanawiwat, P Pathipvanich, T Maekawa, T Miura, P Goulder, M Yasunami, K Ariyoshi, P. Sawanpanyalert. HLA-B\*35:05 is a protective allele with a unique structure amongst HIV-1 CRF01\_AE-infected Thais, where the B\*57 frequency is low. *AIDS*. 2014 (in press)
- 19) P Pathipvanich, N Tsuchiya, A Rojanawiwat, W-P Schmidt, W Auwanit, P Sawanpanyalert, K Ariyoshi. Changing burden of HIV/AIDS to clinical settings in northern Thailand over fifteen years. *Jpn J Infect Dis*. 2013;66 (5) :375-8.
- (松下)
- 20) Hashimoto C, Narumi T, Otsuki H, Hirota Y, Arai H, Yoshimura K, Harada S, Ohashi, N, Nomura W, Miura T, Igarashi T, Matsushita S., Tamamura H. A CD4 mimic as an HIV entry inhibitor: Pharmacokinetics. *Bioorg. Med. Chem*. 21: 7884-7889. 2013.
- 21) Otsuki H, Hishiki T, Miura T, Hashimoto C, Narumi T, Tamamura H, Yoshimura K, Matsushita S, Igarashi T. Generation of a replication-competent simian-human immunodeficiency virus, the neutralization sensitivity of which can be enhanced in the presence of a small-molecule CD4 mimic. *J. Gen. Virol*. 94: 2710-2716. 2013.
- 22) Nishijima T, Takano M, Ishisaka M, Komatsu H, Gatanaga H, Kikuchi Y, Endo T, Horiba M, Kaneda S, Uchiumi H, Koibuchi T, Naito T, Yoshida M, Tachikawa N, Ueda M, Yokomaku Y, Fujii T, Higasa S, Takada K, Yamamoto M, Matsushita S, Tateyama M, Tanabe Y, Mitsuya H, Oka S, behalf of the Epzicom-Truvada study team. Abacavir/Lamivudine versus Tenofovir/Emtricitabine with Atazanavir/Ritonavir for Treatment-naive Japanese Patients with HIV-1 Infection: A Randomized Multicenter Trial. *Internal Medicine*. 52: 735-744. 2013.
- 23) Mind Exchange Working Group (Antinori A, Arendt G, Grant I, Letendre S, Matsushita S, et al.). Assessment, Diagnosis, and Treatment of HIV-Associated Neurocognitive Disorder: A Consensus Report of the Mind Exchange Program. *Clin Infect Dis*. 56(7):1004 -1017. 2013.
- 24) Narumi T., Arai H., Yoshimura K., Harada S., Hirota Y., Ohashi N., Hashimoto C., Nomura W, Matsushita S., Tamamura H. CD4 mimics as HIV entry inhibitors: lead optimization studies of the aromatic substituents. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 21:2518-2526. 2013.
- 25) Kuwata T, Takaki K, Yoshimura K, Enomoto I, Wu F, Ourmanov KI, Hirsch VM, Yokoyama M, Sato H, Matsushita S. Conformational Epitope Consisting of the V3 and V4 Loops as a Target for Potent and Broad Neutralization of Simian Immunodeficiency Viruses. *J. Virol*. 87:5424-5346. 2013.
- 26) Harada S, Yoshimura K, Yamaguchi A, Yusa K, Matsushita S. Impact of antiretroviral pressure on selection of primary HIV-1 envelope sequences in vitro. *J. Gen. Virol*. 94:933-943. 2013.
- 27) Kuwata T, Takaki K, Enomoto I, Kazuhisa Y, Matsushita S. Increased infectivity in human cells and resistance to antibody-mediated neutralization by truncation of the SIV gp41 cytoplasmic tail. *Frontiers in Microbiology/Virology*. 4:1-7. 2013.
- (高橋)
- 28) Harimoto, H., Shimizu, M., Nakagawa, Y., Nakatsuka, K., Wakabayashi, A., Sakamoto, C., and Takahashi, H.: Inactivation of tumor-specific CD8<sup>+</sup> CTLs by tumor-infiltrating tolerogenic dendritic cells. *Immunol. Cell Biol.*, 91(11):545-555, 2013.
- 29) Matsumura, J., Shimizu, M., Omi, K., Nagata, N., Shinya, E., Oka, S., and Takahashi, H.: A possible origin of emerged HIV-1 after interrupting anti-retroviral therapy. *Biomed. Res.*,

- 2014 (in press).
- 30) Omi, K., Shimizu, M., Watanabe, E., Matsumura, J., Takaku, C., Shinya, E., and Takahashi, H.: Inhibition of R5-tropic human immunodeficiency virus type-1 replication in CD4<sup>+</sup> natural killer T cells by gamma-delta T lymphocytes. *Immunology*, 2014 (in press).  
(塩田)
- 31) 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 Res Hum Retroviruses*. 2013;29(1):142-50.
- 32) Nakayama EE, Nakajima T, Kaur G, Mimaya JI, 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 Res Hum Retroviruses*. 2013 Jun;29(6):919-24.
2. 学会発表:  
(岩本)
- 33) Hosoya, N., Teeranaipong, P., Heintz, S., Kashi, Y., Kawana-Tachikawa, A., Kondo, N., Hoshino, H., Matsuda, Z., and Iwamoto, A. 7<sup>th</sup> IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention (IAS 2013). June 30 - July 3, 2013, Kuala Lumpur, Malaysia.  
(満屋)
- 34) 林 宏典, 高宗 暢暁, 青木 学, 三隅 将吾, 満屋 裕明, HIV プロテアーゼ二量体化ダイナミクスとDRVの二量体化阻害機構の解明, 第15回 白馬シンポジウム, 愛知, 2013
- 35) Hironori Hayashi, Nobutoki Takamune, Manabu Aoki, Yasuhiro Koh, Takashi Nirasawa, Shogo Misumi and Hiroaki Mitsuya, The dimerization inhibition mechanism of darunavir and the dynamics of HIV-1 protease dimerization, 第14回熊本エイズセミナー, 熊本, 2013
- 36) 林 宏典, 高宗 暢暁, 青木 学, コウ 康博, 葦澤 崇, 三隅 将吾, 満屋 裕明, HIV プロテアーゼの二量体形成におけるダイナミクスとdarunavirの二量体形成阻害メカニズムの解析, 第23回抗ウイルス療法研究会総会, 東京, 2013
- 37) Hironori Hayashi, Nobutoki Takamune, Manabu Aoki, Yasuhiro Koh, Shogo Misumi and Hiroaki Mitsuya, Binding properties of darunavir to the HIV-1 protease monomer subunit, 第13回熊本エイズセミナー・グローバルCOE合同シンポジウム, 熊本, 2012
- 38) 林 宏典, 高宗 暢暁, 三隅 将吾, 青木 学, 満屋 裕明, HIVプロテアーゼ二量体化機構及びDRVの二量体化阻害メカニズムの解明, 第14回 白馬シンポジウム, 京都, 2012  
(俣野)
- 39) Ishii H, Matsuoka S, Matano T. SIV Env gp120-specific effector memory CD8<sup>+</sup> T-cell frequencies are associated with viral burdens in lymph nodes. The 12th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, Japan, 9/11/2013.
- 40) Matano T. Vif can be a promising CD8 T cell target for HIV/SIV control. The 14th Kumamoto AIDS Seminar, Kumamoto, Japan, 10/29/2013.  
(有吉)
- 41) N Tsuchiya, P Pathipvanich, N Wichukchinda, A Rojanawiwat, W Auwanit, K Ariyoshi, P Sawanpanyalert. B\*3505 but not B\*4001 was a strong predictor of severe side effects causing modifying generic first-line fixed-dose combination antiretroviral drug regimen with stavudine, lamivudine and nevirapine among HIV-infected patients in Thailand. The 11<sup>th</sup> International Congress on AIDS in Asia and the Pacific. 18-22 November 2013, Bangkok, Thailand (Oral presentation).
- 42) K Ruchusatsawat, P Pathipvanich, N Tsuchiya, A Rojanawiwat, J Boon-Long, P Sawanpanyaler, Y Tanaka, K Ariyoshi. Impact of lamivudine (3TC)-containing antiretroviral therapy on HBV infection among HIV-infected patients in Thailand. The 11<sup>th</sup> International Congress on AIDS in Asia and the Pacific. 18-22 November 2013, Bangkok, Thailand (Poster presentation).
- 43) M Yasunami, N Wichukchinda, A Takaki, A Rojanawiwat, P Pathipvanich, P Sawa panyalert, K Ariyoshi. The 11<sup>th</sup> International Congress on AIDS in Asia and the Pacific. 18-22 November 2013, Bangkok, Thailand (Poster presentation).  
(松下)
- 44) Matsushitas S, Yoshimura K, Maeda T, Murakami T. KD-1002 Principal Investigators and The Protocol Team of Quintiles. Passive transfer of neutralizing monoclonal antibody KD-247 reduces plasma viral load in patients chronically infected with HIV-1: a phase-1b clinical study of a humanized monoclonal antibody KD-247 (KD-1002). 7th IAS Conference on HIV Pathogenesis, Treatment and Prevention (IAS 2013) 30 June -3 July 2013, Kuala Lumpur, Malaysia.
- 45) Matsushita S. Passive transfer of neutralizing monoclonal antibody KD-247



- reduces plasma viral load in patients chronically infected with HIV-1: A Phase-1b clinical study of a humanized monoclonal antibody KD-247 (KD-1002). IAS Towards an HIV Cure Symposium. 29th-30th June 2013, Kuala Lumpur, Malaysia.
- 46) Kuwata T, Takaki K, Yoshimura K, Enomoto I, Wu F, Ourmanov I, Hirsch VM, Yokoyama M, Sato H, Matsushita S. Analysis of Env regions important for binding and resistance to B404, a potent neutralizing antibody against SIV. AIDS Vaccine 2013. 7-10 October 2013. Barcelona, Spain.
- 47) Ramirez K, Kuwata T, Maruta Y, Tanaka K, Alam M, Rahman K, Kawanami Y, Enomoto I, Tamamura H, Yoshimura K, Matsushita S. Improving the brodality and potency of neutralizing anti-HIV-1 antibodies with a CD4 mimetic compound. AIDS Vaccine 2013. 7-10 October 2013. Barcelona, Spain.
- 48) Kuwata T, Takaki K, Yoshimura K, Enomoto I, Wu F, Ourmanov I, Hirsch VM, Yokoyama M, Sato H, Matsushita S. Identification of the Env region responsible for the resistance to B404, a potent neutralizing antibody against SIV. 14th Kumamoto AIDS Seminar. 29-31 October 2013, Kumamoto.
- 49) Ramirez K, Kuwata T, Maruta Y, Tanaka K, Alam M, Rahman K, Egami Y, Kawanami Y, Enomoto I, Tamamura H, Yoshimura K, Matsushita S. Can antibodies contribute to controlling infection with transmitted/founder virus? 14th Kumamoto AIDS Seminar. 29-31 October 2013, Kumamoto.
- 50) Tanaka K, Kuwata T, Maruta Y, Ramirez K, Kawanami Y, Enomoto I, Matsushita S. Miniaturization of antibodies against CD4-induced epitope on gp120. 14th Kumamoto AIDS Seminar. 29-31 October 2013, Kumamoto.
- 51) Maruta Y, Kuwata T, Tanaka K, Nakahara Y, Ramirez K, Alam M, Egami Y, Suwa Y, Morioka H, Matsushita S. Post-attachment neutralization as a mechanism of efficient activities of scFv from anti-V3 monoclonal antibody. 14th Kumamoto AIDS Seminar. 29-31 October 2013, Kumamoto.
- 52) Alam M, Kuwata T, Ramirez K, Enomoto I, Maruta Y, Tanaka K, Rahman K, Egami Y, Kawanami Y, Murayama H, Shimura K, Matsuoka M, Matsushita S. Effects of Enfuvirtide resistant mutations on the sensitivity to neutralizing antibodies. 14th Kumamoto AIDS Seminar. 29-31 October 2013, Kumamoto.
- 53) 松下修三, 大類 諭, Post F, Winston J, Hendry B, Gazzard B, Molina J, Liu HC, Piontkowsky D, Cheng AK, Rhee MS, Szwarcberg J. EVG/COBI/FTC/TDF 第 III 相臨床試験における腎機能に関連する安全性の評価 (投与 96 週時点) - アジア人についての層別集計結果を含む - . 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2014 年 11 月 20 日-22 日, 熊本.
- 54) 桑田岳夫. シンポジウム 6-中和抗体と抗 CCR5 阻害薬(Env). 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2014 年 11 月 20 日-22 日, 熊本.
- 55) Ramirez K, Kuwata T, Maruta Y, Tanaka K, Alam M, Kawanami Y, Enomoto I, Tamamura H, Yoshimura K, Matsushita S. Combination of anti-V3 antibodies as a possible strategy for controlling transmitted/founder virus. 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2014 年 11 月 20 日-22 日, 熊本.
- 56) 丸田泰広, 桑田岳夫, 田中和樹, Ramirez K, Alam M, 江上由華, 中原悠介, 諏訪喜昭, 森岡弘志, 松下修三. 抗 V3 抗体の小型化による CD4 結合後の HIV-1 中和活性の増進. 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2014 年 11 月 20 日-22 日, 熊本.
- 57) Alam M, Kuwata T, Ramirez K, Enomoto I, Maruta Y, Tanaka K, Rahman K, Egami Y, Kawanami Y, Murayama H, Shimura K, Matsuoka M, Matsushita S. Enfuvirtide resistant mutation N43Dis associated with the enhanced neutralization by 10E8, a broadly neutralizing antibody against gp120 MPER. 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2014 年 11 月 20 日-22 日, 熊本.
- 58) 田中和樹, 桑田岳夫, 丸田泰広, Ramirez K, 松下修三. gp120 の CD4-induced epitope に結合する中和抗体の小型化とその特性の検討. 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2014 年 11 月 20 日-22 日, 熊本.  
(塩田)
- 59) 武田英里, 河野健, Hulme Amy E., Hope Thomas J., 中山英美, 塩田達雄: 可視化ウイルスをつかった HIV-2 カプシドコアの脱核速度測定法の確立 第 61 回日本ウイルス学会学術集会 2013 年 11 月 10-12 日, 神戸
- 60) 田谷かほる, 中山英美, 塩田達雄: マクロファージ指向性 HIV-1 も、マクロファージおよび単球において SAMHD1 による増殖抑制を受けている. 第 27 回日本エイズ学会学術集会・総会 2013 年 11 月 20-22 日, 熊本
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む.)
1. 特許取得  
該当なし
  2. 実用新案登録  
該当なし
  3. その他

4. 平成24年5月24日に「ランゲルハンス細胞の調製方法」に関し住友ベークライト社と共同特許を出願致し、現在審査中(発明者：高橋秀実) 出願番号(特願2012-118666)

厚生労働科学研究費補助金 地球規模保健課題推進研究事業(国際医学協力研究事業)

分担研究報告書

ウイルス感染症の研究・米側との専門協議

ウイルス感染症の診断、疫学および予防に関する研究

研究分担者 中込 治 (長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座・教授)

研究協力者 有川 二郎 (北海道大学大学院 医学研究科 微生物学講座・教授)

研究協力者 西園 晃 (大分大学 医学部 微生物学講座・教授)

研究協力者 森川 茂 (国立感染症研究所 獣医科学部・部長)

研究協力者 森田 公一 (長崎大学 熱帯医学研究所 ウイルス学分野・教授)

研究要旨

本研究の目的とするところは、新興ウイルス感染症、ウイルス性下痢症、ウイルス性出血熱、狂犬病およびアルボウイルス感染症などのアジアにおいて問題となるウイルス感染症について、(1)精度が高く、迅速・簡便な診断法の開発と評価、(2)疫学調査により、国内外における汚染地の特定とヒトにおける感染状況の解明、(3)病原体の分離と性状の解明、(4)ワクチン開発のための基盤的研究の実施、を目的とする。また米国側同部会員と連携して、アジア諸国の研究機関との共同研究を積極的に推進することにより、国際的な視点からの戦略的防疫体制の確立に寄与することである。

新興ウイルス感染症分野において、SFTS (severe fever with thrombocytopenia syndrome; 重症熱性血小板減少症候群)は、発熱、血小板減少、白血球減少、血中肝酵素上昇などを主徴とする新興ウイルス感染症であり、ブニヤウイルス科フレボウイルス属のSFTSウイルスによるマダニ媒介性ウイルス感染症である。ウイルスは自然界では、マダニ/動物の間で生活環を形成していると考えられる。これまでの研究で、日本にSFTSVが常在していることが明らかになっている。本研究では、SFTSVと近縁なHeartland virusや最近西インドでコウモリから分離された近縁なウイルスであるMalsoor virus、血清学的に交差すると報告されているBhanja virus血清群とを識別できるリアルタイムRT-PCR法を開発した。

ウイルス性下痢症分野においては、国内でのロタウイルスワクチンの普及にともない、ロタウイルスによる疾病負担の変化および分子疫学における影響を評価する分子疫学基盤整備を遂行している。特にワクチンが定期接種導入されれば、大きな影響を受けると想定される遺伝子型G2P[4]株のわが国における変化を全ゲノムレベルで解析し、全世界における進化的変化の現状の中への位置付けを行った。また、ロタウイルスワクチンはアジアの発展途上国でより重要であるが、正確なワクチンの市販後有効性と有効性が劣る原因の究明が急務である。そこで、ベトナム国立衛生疫学研究所と共同で同国におけるワクチンの有効性評価試験と同時期に流行していた野生株の解析を行い、これらが先進国に

おける野生株と大きく変わらないことを示した。

ウイルス性出血熱分野において、ハンタウイルス感染症は、げっ歯類媒介性の人獣共通感染症である。腎症候性出血熱(HFRS)とハンタウイルス肺症候群(HPS)の主に二つ疾病が知られているが、その症状は多岐にわたり、インフルエンザウイルス感染症、レプトスピラ症、B型肝炎などの鑑別が困難な場合もあることが知られている。確実な診断のためには、血清診断および遺伝子診断が必要である。現在では世界各国からの輸入症例が懸念されることから、すべての病原性ハンタウイルス感染症をカバーし、かつ簡便に診断することが必要である。本研究では、ヒトの血清および感染源となる小型げっ歯類の血清について、人へ病原性を有するハンタウイルスの血清型いずれに対しても抗体スクリーニングを行うことを目的とした。信頼度の高い疫学的情報を得るためにも、簡便な診断法が必要である。そのため本研究では迅速で簡便な診断法として、三種類のハンタウイルス組換え NP 抗原を用いたイムノクロマトグラフィー(ICG)法の開発を試みた。

狂犬病は狂犬病ウイルスを原因とする致死性脳炎で、世界では毎年 55,000 人以上が死亡している公衆衛生上最も重要な人獣共通感染症の一つである。狂犬病の死亡率はほぼ 100%で、治療法は未だ確立されていない。治療法の確立のためには、狂犬病ウイルスの増殖機構や病原性発現機構を解明することが重要である。特に、ウイルスが細胞内での増殖に利用している宿主細胞機能の同定は、それを標的とした抗ウイルス薬の開発につながることを期待される。今回、狂犬病ウイルスの細胞での増殖における細胞内消化システム・オートファジーの関与について着目し、研究を行った。結果として、その関与を示唆する一定の結果は得られたが、狂犬病治療法確立に向けて、今後さらに詳細な解析を続ける必要がある。

アルボウイルス感染症分野において、アジアにおいて分離されたアルボウイルス特に、日本脳炎ウイルスとデングウイルスの遺伝子解析を実施した。その結果、日本脳炎ウイルスについては昨年本研究で報告した日本脳炎ウイルスグループの蚊媒介性フラビウイルスが特異的に発現する NS1' 蛋白は鳥細胞でこの蛋白を発現しないウイルス株との共感染において競合的増殖に優位に機能することが示され、この日本脳炎ウイルスのトリでの伝搬に役立っている可能性が示唆された。

デングウイルスについてはベトナムにおいて多数のデングウイルスを分離し分子疫学解析を実施した結果、多くの株はベトナム内で感染を繰り返し変異していることが明らかになるとともに、デング 4 型についてはタイ国から侵入した系統が増え始めている事が明らかになった。またヒト脳脊髄膜炎患者からデングウイルス 2 株が分離され、現在向神経性について解析中である。

さらに、現存する世界で最も古いデングウイルス分離株であるデング 1 型ウイルス望月株(1943 年に長崎で堀田進博士により分離)の遺伝子解析を実施し、この株はエンベロープ蛋白の塩基配列に基づく遺伝子系統解析では遺伝子型 I (GI) に分類されるが、アミノ酸配列に基づくと GI 株とクラスターを形成せず、他のすべての遺伝子型株の上位で分岐した。望月株にはユニークなアミノ酸が比較的多く存在し、デングウイルスの進化上、特