

発現および酵素活性の強さと特異性に関してはバイオアッセイによる検証が不可欠であるため、場合によっては ZFN 自体の再合成や標的配列の再スクリーニングを必要とする。この意味では ZFN 技術自体にはさらに経験の積み重ねによる改良が必要であると思われる。対照として使用している CCR5 に対する酵素活性よりも優れた候補分子を得る事は将来の臨床応用という観点からは非常に望ましいと考える。酵母における MEL1 アッセイはほ乳類細胞における発現およびゲノム毒性を完全に反映するものではないため、今後はヒト細胞系における候補分子の活性検証と安全性評価を進める必要がある。

合成された ZFN は哺乳類細胞で良好な発現が確認された。核移行に関して予想通りの挙動を示した。酵母細胞において ZFN1 と ZFN2 または ZFN3 と ZFN4 の組み合わせで標的部位特異的に変異導入する ZFN 活性を示すことは前年度に示されていたが、ヒト細胞で 2 種類の ZFN ペア共に同様の活性が検出されたことは大きな意義がある。特に LTR 活性を阻害する活性が検出されたこと、標的部位に特異的に変異を導入する活性が認められた事は、当該分子に特異性の高い治療分子活性があることを示している。プロウイルスを不可逆的に損傷することが技術的に可能であることが示された。このような技術は世界的にも報告例がなく、独自性の高い治療法として応用が期待される。

抗体工学的に作出された mscFv は哺乳類細胞の細胞表面に良好な発現をみせ、CD4 分子に対する親和性も維持されていることが竹腰分担研究者により確認された。ヒトモノクローナル抗体を scFv 化して哺乳類細胞の表面に発現させたのは世界で初である。

生化学的な検討によると、抗原と抗体親和性が Kd 値で  $10^7$  程度と生体分子の特異的な相互作用レベルと比較するとやや低かった。これは Fab と scFv で同等の活性であった。Fab においては HIV-1 複製阻害活性という明確な生物活性が認められているにもかかわらず (Hamatake et al. Eur J Immunol 2010)、本実験では生物学的活性が認められなかった。この背景は Fab 抗体では大腸菌に由来するのに対し、mscFv 抗体分子は哺乳類細胞で合成されて、ER-golgi 系を経由すること、innate structural instability に関連があると思われる。しかし、細胞間の相互作用を安定化できなくとも、ウイルスベクター被覆においてはウイルス粒子—細胞間の相互作用を安定化させることが出来る可能性もある。今後はレトロ・レンチウイルスベクター被覆を物理的に検証したうえで、mscFv 被覆ウイルスベクターによる CD4 陽性 T 細胞への反応性向上を評価したい。

プロウイルスを不可逆的に損傷する分子も、ヒトモノクローナル抗体によるベクター被覆も世界的に例のない独自の技術である。これを統合して有用性を示すことにより、独自性の高い治療法として応用が期待される。

## E. 結論

ZFN はヒト細胞において HTLV-1 LTR 機能を阻害し、ATL 細胞において標的部位特異的に変異を導入することが確認付けられた。新規治療分子として期待される不可逆的なウイルスゲノム破壊活性が世界で初めて証明された。今後の新規治療法開発の基盤として有用と考えられる。一方、哺乳類細胞の細胞間相互作用系にて、細胞膜アンカー型ヒト CD4 反応性モノクローナル抗体 HO538-213 由来 scFv の発現を

達成したが、有意な生物学的活性は検出感度限界以下であった。今後、親和性を向上させたクローンで技術検証を実施する必要がある。

## F. 健康危機情報

総括研究報告書を参照。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Kurata T, Kanbayashi D H, Kinoshita H, Arai S, Matsui Y, Fukumura K, Matsumoto H, Odaira F, Murata A, Konishi M, Yamamoto K, Nakano R, Ohara T, Otsuru E, Komano J, Kase T, Takahashi K. Late onset of vaccine-associated measles in an adult with severe clinical symptoms: a case report. *Am J Med*. In press.
2. Takeda S, Kanbayashi D, Kurata T, Yoshiyama H, Komano J. Enhanced susceptibility of B lymphoma cells to measles virus by EBV type III latency that up-regulates CD150/SLAM. *Cancer Sci*. In press.
3. Kawabuchi-Kurata T, Misaki T, Suehiro Y, Komano J, Kase T, Takahashi K. Longitudinal study on respiratory viral co-infections in 0- to 2-year-old infants with or without clinical manifestations. *Jpn J Infect Dis*. In press.
4. Urano E, Morikawa Y, Komano J. Novel role of HSP40/DNAJ in the regulation of HIV-1 replication. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 64(2): 154-62.2013
5. Hiroi S, Morikawa S, Takahashi K, Komano J, Kase T. Molecular epidemiology of human adenoviruses d associated with epidemic keratoconjunctivitis in Osaka, Japan, 2001-2010. *Jpn J Infect Dis*. 66(5) 436-8. 2013
6. Nomura W, Aikawa H, Ohashi N, Urano E, Métifiot M, Fujino M, Maddali K, Ozaki T, Nozue A, Narumi T, Hashimoto C, Tanaka T, Pommier Y, Yamamoto N, Komano JA, Murakami T, Tamamura H. Cell-Permeable Stapled Peptides Based on HIV-1 Integrase Inhibitors Derived from HIV-1 Gene Products. *ACS Chem Biol*. 8(10) 2235-44. 2013
7. Lee H, Komano J, Saitoh Y, Yamaoka S, Kozaki T, Misawa T, Takahama M, Satoh T, Takeuchi O, Yamamoto N, Matsuura Y, Saitoh T, Akira S. Zinc-finger antiviral protein mediates retinoic acid inducible gene I-like receptor-independent antiviral response to murine leukemia virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 110(30) 12379-84. 2013
8. Tanaka A, Takeda S, Kariya R, Matsuda K, Urano E, Okada S, Komano J. A novel therapeutic molecule against HTLV-1 infection targeting provirus. *Leukemia*. 27(8) 1621-7.2013
9. Kojima Y, Kawahata T, Mori H, Furubayashi K, Taniguchi Y, Iwasa A, Taniguchi K, Kimura H, Komano J. Prevalence and epidemiological traits of HIV infections in populations with high-risk behaviours as revealed by genetic analysis of HBV. *Epidemiol Infect*. 141(11) 2410-7. 2013
10. Zhang X, Sobue T, Isshiki M, Makino S, Inoue M, Kato K, Shioda T, Ohashi T, Komano J, Hanabusa H, Shida H\*. Both humoral and cellular immunities to HIV-1 envelope 1 glycoprotein are elicited by combined immunization with Sendai virus and replication-competent Vaccinia virus vectors and are boosted by CD40Lm. *PLOS ONE*. 2012;7(12): e51633. doi: 10.1371/journal.pone.0051633.
11. Miyauchi K, Urano E, Takeda S, Murakami T, Okada Y, Cheng K, Yin H, Kubo M, Komano J\*. Toll-like receptor (TLR) 3 as a potential sensor of retroviral

- infection in human cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012 Jul 19;12(1):109-116.
12. Urano E, Miyauchi K, Ichikawa R, Futahashi Y, Komano J\*. Regulation of Cyclin T1 expression and function by an alternative splice variant that skips exon 7 and contains a premature termination codon. *Gene.* 2012 Aug 15;505(1):1-8.
  13. Saitoh T, Komano J, Saitoh Y, Misawa T, Takahama M, Kozaki T, Uehata T, Iwasaki H, Omori H, Yamaoka S, Yamamoto N, Akira S\*. Neutrophil extracellular traps mediate a host defense response to human immunodeficiency virus-1. *Cell Host Microbe.* 2012 Jul 19;12(1):109-116.
  14. Yanagita H, Fudo S, Urano E, Ichikawa R, Ogata M, Yokota M, Murakami T, Wu H, Chiba J, Komano J, Hoshino T\*. Structural modulation study of inhibitory compounds for RNase H activity of HIV-1 reverse transcriptase. *Chem Pharm. Bull (Tokyo).* 2012;60(6):764-771.
  15. Hashimoto C, Nomura W, Ohya A, Urano E, Miyauchi E, Narumi T, Aikawa H, Komano JA, Yamamoto N, Tamamura H\*. Evaluation of a synthetic C34 trimer of HIV-1 gp41 as AIDS vaccines. *Bioorg Med Chem.* 2012 May 15;20(10):3287-3291.
  16. Miyauchi K, Urano E, Takizawa M, Ichikawa R, Komano J\*. Therapeutic potential of HIV protease-activable CASP3. *Scientific Reports.* 2012;2:359.
  17. Takizawa M, Miyauchi K, Urano E, Kusagawa S, Kitamura K, Naganawa S, Murakami T, Honda M, Yamamoto N, Komano J\*. Regulation of the susceptibility of HIV-1 to a neutralizing antibody KD-247 by non-epitope mutations distant from its epitope. *AIDS.* 2011. Nov;25(18):2209-2216.
  18. Nomura W, Hashimoto C, Ohya A, Miyauchi K, Urano E, Tanaka T, Narumi T, Nakahara T, Komano J, Yamamoto N, Tamamura H. Synthetic C34 Trimer of HIV-1 gp41 Shows Significant Increase of Inhibition Potency. *ChemMedChem.* 2012. Apr;7(4): 546.
  19. Watanabe T, Urano E, Miyauchi K, Ichikawa R, Hamatake M, Misawa N, Sato K, Ebina H, Koyanagi Y, Komano J\*. The hematopoietic cell-specific Rho GTPase inhibitor ARHGDI/D4GDI limits HIV-1 replication. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2012. Aug;28(8): 913-922.
  20. Imadome K, Yajima M, Arai A, Nakagawa-Nakagawa A, Kawano F, Ichikawa S, Shimizu N, Yamamoto N, Morio T, Ohga S, Nakamura H, Ito M, Miura O, Komano J, Fujiwara S\*. CD4-positive T cells have a critical role in the proliferation of EBV-infected T and NK cells. *PLOS Pathog.* 2011. Oct;7(10) e1002326.
  21. Urano E, Kuramochi N, Tomoda H, Takebe Y, Miyauchi K, Komano J\*, Morikawa Y\*. A Novel Postentry Inhibitor of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Replication Screened by Yeast Membrane-associated Two-hybrid System.

*Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Sep;55(9):4251-60.

22. Aoki T, Miyauchi K, Urano E, Ichikawa R, Komano J\*. Protein transduction by pseudotyped lentivirus-like nanoparticles. *Gene Therapy.* 2011 Sep;18(9):936-41.
  23. Miyauchi K, Urano E, Yoshiyama H, Komano J\*. Cytokine signatures of transformed B cells with distinct EBV latencies as a potential diagnostic tool for B cell lymphoma. *Cancer Sci.* 2011 Jun;102(6):1236-41.
  24. Yanagita H, Urano E, Matsumoto K, Ichikawa R, Takaesu Y, Ogata M, Murakami T, Wu H, Chiba J, Komano J, Hoshino T. Structural and biochemical study on the inhibitory activity of derivatives of 5-nitro-furan-2-carboxylic acid for RNase H function of HIV-1 reverse transcriptase. *Bioorg Med Chem.* 2011; 19, 816-25.
  25. 駒野 淳. 止まらないエイズウイルス流行の拡大. 中央論評、2012. 278: 130-137
2. 学会発表  
(国際学会)
1. K Miyauchi, E Urano, S Takeda, T Murakami, Y Okada, K Cheng, H Yin, M Kubo, J Komano. Toll-like receptor (TLR) 3 as a potential sensor of retroviral infection in human cells. CSHL meeting on Retroviruses. 2012年5月21-26日. Cold Spring Harbor, NY, USA
  2. Emiko Urano, Kosuke Miyauchi, Reiko Ichikawa, Mari Takizawa, Jun Komano. HIV-1 protease-activable CASP3 as a therapeutic gene against HIV-1 infection. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, Sapporo
  3. Tadashi Watanabe, Emiko Urano, Kosuke Miyauchi, Reiko Ichikawa, Makiko Hamatake, Kei Sato, Hirotaka Ebina, Yoshio koranagi, Jun Komano. The hematopoietic cell-specific Rho GTPase inhibitor ARHGDI/D4GDI limits HIV-1 replication. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, Sapporo
  4. Ken-ichi Imadome, misako Yajima, Ayako Arai, Atsuko Nakazawa, Norio Shimizu, Naoki Yamamoto, Tomohiro Morio, Shouichi Ohga, Mamoru Ito, Jun Komano, Shigeyoshi Fujiwara. Novel mouse xenograft models of CAEBV and EBV-HLH reveals a critical role of CD4+ T cells in the proliferation of EBV-infected T and NK cells. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, Sapporo
  5. Hiroshi Yanagita, Tyuji Hoshino, Masakazu Ogata, Emiko Urano, Reiko Ichikawa, Tsutomu Murakami, Jun Komano. Development of the compounds inhibiting RNase H enzymatic activity of HIV-1 reverse transcriptase. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, Sapporo
  6. Kosuke Miyauchi, Emiko Urano, Jun Komano. Induction of innate anti-viral response by XMRV infection. IUMS 2011 The Unlimited World of Microbes XV International Congress of Virology, Sep 13, 2011, Sapporo
  7. Jun Komano. Inhibition of leukemic cell growth and HIV-1 propagation by HIV-1 protease-activable CASP3. CSHL meeting on

Retroviruses, May 23-28, 2011, CSHL meeting on Retroviruses, NY

(国内学会)

1. 駒野 淳. Regulation of P-TEFb complex-dependent transcription by a novel alternative splice variant of Cyclin T1. 第 27 回近畿エイズ研究会学術集会. 2013 年 6 月 1 日. 大阪
2. 駒野 淳. バイオセーフティに関する最近の話題・大阪府における風しん流行状況について. 大阪府立母子保健総合医療センター研究所. 2013 年 7 月 25 日. 大阪
3. 駒野 淳、武田 哲、田中 淳、岡田 誠治. Inhibition of ATL tumorigenicity by ZFN targeting HTLV-1 provirus. 第 71 回日本癌学会学術総会. 2013 年 10 月 3-5 日. 横浜
4. 駒野 淳、倉田貴子、上林大起、西村公志、大平文人、松井陽子、福村和美、松本治子、高橋和郎、廣川秀徹、吉田英樹、塩見正司、信田真里、宮浦徹、東野博彦、内野清子、田中智. 大阪府における風疹流行の現状と疫学解析. 第 71 回日本癌学会学術総会. 2013 年 10 月 3-5 日. 横浜
5. 加瀬哲男、倉田貴子、上林大起、永井沙織、西村公志、大平文人、松井陽子、福村和美、松本治子、高橋和郎、駒野 淳、玉井圭. 大阪府における風疹の流行状況と先天性風疹症候群患児への支援体制について. 第 45 回日本小児感染症学会総会・学術集会. 2013 年 10 月 26-27 日. 札幌
6. 左近直美、萬谷雅宣、中田恵子、上林大起、駒野 淳、加瀬哲男. 自然感染における小児のノロウイルス再感染. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 2013 年 11 月 12 日. 神戸
7. 武田 哲、上林大起、倉田貴子、吉山裕規、駒野 淳. Epetin-Barr virus III 型潜伏感染による Measles virus 感染感受性増強メカニズムの解析. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 2013 年 11 月 12 日. 神戸
8. 上林 大起、倉田 貴子、加瀬 哲男、駒野 淳. 風疹ウイルス感染 High-throughput モニタリングシステムの確立と中和抗体価測定への応用. 第 61 回日本ウイルス学会学術集会. 2013 年 11 月 12 日. 神戸
9. 駒野 淳. 風疹の地域流行がもたらす多面的な影響と検査・研究の最前線. 平成 25 年度厚生労働省地域保健総合推進事業全国疫学情報ネットワーク構築会議. 2013 年 11 月 19 日. 東京
10. 小島洋子、川畑拓也、森 治代、駒野 淳、古林敬一、谷口 恭、岩佐 厚、谷口幸一、木村博子. 大阪府内の性感染症関連診療所受診者における HIV・HBV・梅毒の疫学調査と HIV 検査勧奨の効果. 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
11. 森 治代、小島洋子、川畑拓也、駒野 淳、松浦基夫、大田加与、大成功一、藤本卓司. 高ウイルス血症と急激な CD4 数の減少を呈する HIV-1 感染初期症例の地域的集積とそのウイルス学的解析. 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
12. 上林大起、倉田貴子、高橋和郎、駒野 淳、加瀬哲男. 先天性風疹症候群 (CRS) および関連症例について. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会. 2013 年 12 月 1 日. 津
13. 加瀬哲男、倉田貴子、上林大起、高橋和郎、駒野 淳. 麻しんにおける家族内 2 次発生について. 第 17 回日本ワクチン学会学術集会. 2013 年 12 月 1 日. 津
14. 山吉麻子、岸本恭介、林里依、駒野 淳、小柳義夫、小堀哲生、村上章. Development of novel transcriptional suppressors induced by non-coding RNA, 7SK. 第 36 回日本分子生物学会年会. 2013 年 12 月 3 日. 神戸
15. 中 田 恵 子 、 駒 野 淳 . Beta-glucocerebrosidase/GBA1 confers the resistance to enterovirus 71, a causative agent for Hand-foot-mouth disease. 第 36 回日本分子生物学会年会. 2013 年 12 月 4 日. 神戸
16. 斉藤達哉、Lee Hanna、児崎達哉、三澤拓馬、高濱充寛、佐藤荘、竹内理、斉藤愛記、山岡昇司、山本直樹、松浦善治、駒野 淳、審良静夫. RNA ウイルスに対する感染防御応答にお

- ける Zinc-finger antiviral protein の役割. 第 36 回日本分子生物学会年会. 2013 年 12 月 4 日. 神戸
17. 駒野 淳. 風疹流行により顕在化した発疹性疾患サーベイランスの諸問題. 第 27 回公衆衛生情報研究協議会研究会. 2013 年 1 月 24 日. 和光
18. 駒野 淳. 大阪府における風疹の流行状況～Laboratory examination 強化と感染性ウイルス可視化の試み. 大阪小児科医会感染症サーベイランスモニター会. 2014 年 3 月 9 日. 大阪
19. 駒野 淳, 浦野 恵美子, 宮内 浩典, 市川 玲子, 滝沢 真理. 安全な細胞内免疫を可能にする治療分子の開発に関する研究. 第 26 回近畿エイズ研究会・学術集会. 2012 年 7 月 7 日. 神戸
20. 山吉 麻子, 岸本 恭介, 林 里依, 駒野 淳, 小柳義夫, 小堀哲生, 村上 章. Non-coding RNA(7SK)の転写抑制機能を模倣した RNA モチーフの探索. 第 58 回高分子研究発表会. 2012 年 7 月 13 日. 神戸
21. 浦野 恵美子, 木村 雄一, 駒野 淳. P-TEFb 複合体機能調節因子群による HTLV-1 転写制御メカニズムの解析. 第 5 回 HTLV-1 研究会. 2012 年 8 月 25-26 日. 東京
22. 駒野 淳, 田中 淳, 武田 哲. Proliferative inhibition of ATL-derived and HTLV-1-transformed human T cells by an artificial restriction endonuclease. 第 5 回 HTLV-1 研究会. 2012 年 8 月 25-26 日. 東京
23. J Komano, A Tanaka, S Takeda, R Ichikawa, E Urano. A novel therapeutic molecule that irreversibly disrupts the HTLV-1 provirus. 第 71 回日本癌学会学術総会. 2012 年 9 月 19-21 日. 札幌
24. 武田 哲, 駒野 淳. 再生医療による HIV/AIDS 遺伝子細胞治療法の開発に向けた技術基盤の構築. 第 59 回日本ウイルス学会学術集会. 2012 年 11 月 13-15 日. 大阪
25. 駒野 淳, 田中 淳, 武田 哲. HTLV-1 プロウイルスを物理的に傷害する人工酵素の開発. 第 59 回日本ウイルス学会学術集会. 2012 年 11 月 13-15 日. 大阪
26. 武田 哲, 田中 淳, 駒野 淳. プロウイルスの物理的障害による HTLV-1 感染細胞増殖の抑制. 第 59 回日本ウイルス学会学術集会. 2012 年 11 月 13-15 日. 大阪
27. 小島 洋子, 川畑 拓也, 森 治代, 駒野 淳, 谷口 恭, 井戸田 一朗. HBV 感染者における新規 Ae/G リコンビナント HBV の解析. 第 59 回日本ウイルス学会学術集会. 2012 年 11 月 13-15 日. 大阪
28. 松田 剛, 今留 謙一, 矢島 美彩子, 落合 央, 望月 雅司, 川野 布由子, 山田 千尋, 今井 由美, 濱崎 霞, 浅田 恵理子, 原口 摩耶, 千葉 祐規乃, 清水 則夫, 駒野 淳, 山本 直樹, 藤原 成悦. ヒト化マウスを用いた EB ウイルス関連リンパ増殖性疾患に対する免疫細胞治療のモデル実験. 第 59 回日本ウイルス学会学術集会. 2012 年 11 月 13-15 日. 大阪
29. 駒野 淳, 浦野 恵美子. DNA J/HSP40 Co-chaperone family による HIV-1 複製抑制メカニズムの解析. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2012 年 11 月 24-26 日. 横浜
30. 張 險峰, 祖父江 友芳, 一色 真央, 牧野 俊一, 井上 誠, 加藤 和則, 塩田 達夫, 大橋 貴, 駒野 淳, 花房 秀次, 志田 壽利. 弱毒ワクシニアプライム-センダイウイルスブーストエイズワクチン法の免疫評価および hCD40Lm アジュバント効果の検討. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2012 年 11 月 24-26 日. 横浜

31. 相川 春夫, 松本 大地, 野末 愛美, 浦野 恵美子, Mathieu Metifiot, Maddali Kasthuraiah, 野村 渉, 鳴海 哲夫, 駒野 淳, 村上 努, Pommier Yves, 山本 直樹, 玉村 啓和. ペプチドミメティック型インテグラーゼ阻害剤の構造活性相関研究. 第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会. 2012 年 11 月 24-26 日. 横浜
32. 駒野 淳, 武田 哲, 田中 淳. Therapeutic potential of an artificial endonuclease against HTLV-1 infection. 第 35 回日本分子生物学会年会. 2012 年 12 月 11-14 日. 福岡
33. Emiko Urano, Kosuke Miyauchi, Mari Takizawa, Reiko Ichikawa, Jun Komano. Therapeutic potential of CASP3 engineered to be activated by HIV-1 protease. 第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 13 日、横浜
34. 齊藤達哉、駒野淳、斎藤愛記、山岡昇司、山本直樹. 好中球は Neutrophil extracellular traps により Human immunodeficiency virus-1 を排除する。第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 13 日、横浜
35. Jun Komano, Kosuke Miyauchi, Emiko Urano, Yoshiaki Okada, Cheng Kui, Yin Hang. Activation of TRL3-mediated innate immune response by retroviral infection in human cells. 第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 13 日、横浜
36. 齊藤達哉、駒野淳、斎藤愛記、山岡昇司、山本直樹、審良静男. Zinc finger antiviral protein はガンマレトロウイルスに対する感染防御応答を制御する。第 34 回日本分子生物学会年会、2011 年 12 月 13 日、横浜
37. 柳田浩志、横田瑞穂、尾瀨将一、浦野恵美子、市川玲子、村上努、駒野淳、星野忠次. HIV-1 逆転写酵素 RNase H 活性阻害剤の開発。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、2011 年 12 月 2 日、東京
38. 浦野恵美子、宮内浩典、滝澤万里、市川玲子、駒野淳. HIV プロテアーゼ活性型 CAPS3 による HIV 複製抑制。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、2011 年 11 月 30 日、東京
39. 尾崎太郎、浦野恵美子、鳴海哲夫、野村渉、Maddali Kasthuraiah, Pommier Yves、山本直樹、駒野淳、玉村啓和. Vpr 由来インテグラーゼ阻害剤の構造活性相関。第 25 回日本エイズ学会学術集会・総会、2011 年 11 月 30 日、東京
40. 招待講演 Jun Komano. Cytokine signatures of transformed B cells with distinct EBV latencies as a potential diagnostic tool for B cell lymphoma. シンポジウム「ガン・免疫・代謝研究を加速する Multiplex Assay とその応用」、2011 年 6 月 7 日、東京
41. Chie Hashimoto, Wataru Nomura, Aki Ohya, Kosuke Miyauchi, Tetsuo Narumi, Jun Komano, Naoki Yamamoto, Hirokazu Tamamura. Synthesis of Trimeric Peptide Based on Gp41-C34 and its Anti-HIV effects (HIV 外被タンパク質 gp41-C34 3 量体の合成とその抗 HIV 作用). 日本ケミカルバイオロジー学会 第 6 回年会、2011 年 5 月 23-25 日、東京

## H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）

1. 特許取得

特記すべきことなし

2. 実用新案登録

特記すべきことなし

3. その他

特記すべきことなし

図1. MEL1 assayによる治療分子候補選抜

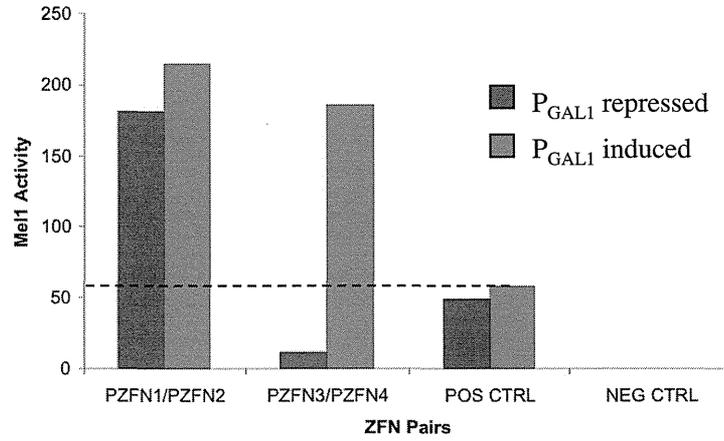


図2. Intracellular distribution and inhibitory function on HTLV-1 LTR of ZFN

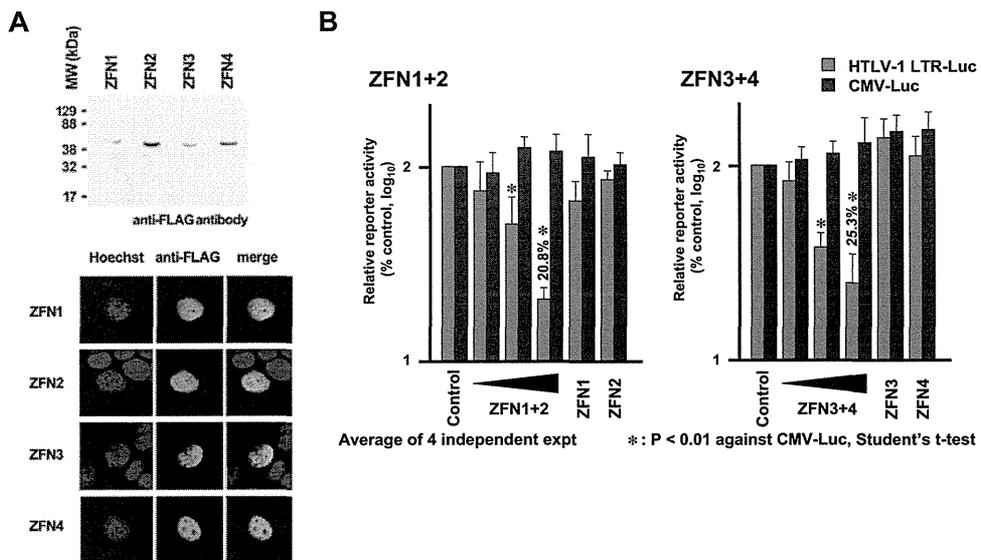
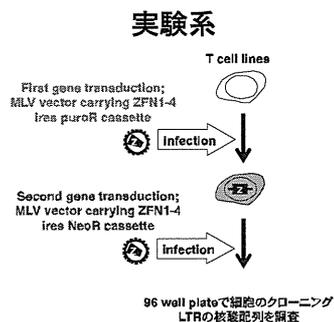


図 3. Detection of site-specific mutations in HTLV-1 LTR generated by ZFNs in an ATL cell line S1T



**結果**

Modification of S1T proviral LTR by ZFN1+2			
	Clone # examined	No mutations	targeted mutations
ZFN1+1	1	1	0
ZFN1+2	9	6	3
ZFN2+1	7	4	3
ZFN2+2	1	1	0

Modification of S1T proviral LTR by ZFN3+4			
	Clone # examined	No mutations	targeted mutations
ZFN3+3	3	3	0
ZFN3+4	12	8	4
ZFN4+3	6	1	5
ZFN4+4	2	2	0

Frequency of mutations introduced by heterologous ZFN pair was significantly frequent than the heterologous ZFN pair (0.029 by Pearson's exact test).

図 4. Mutations in HTLV-1 LTR generated by ZFN in an ATL cell line S1T

**ZFN1/2**

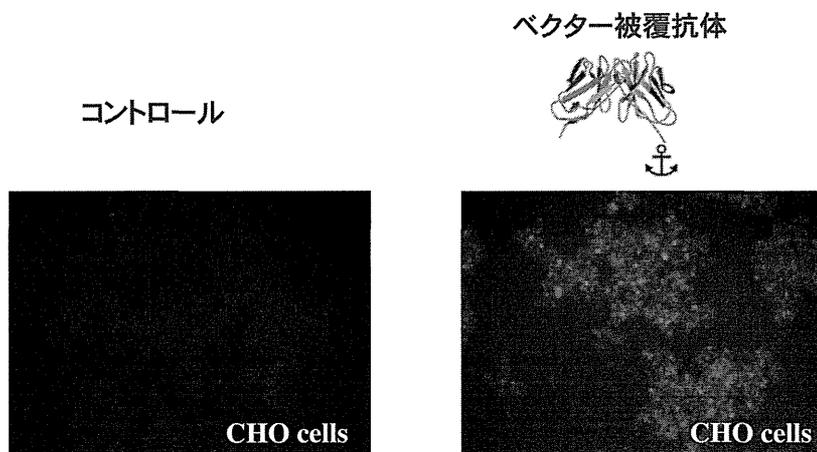
	501 (D13784 numbering)	Modifications
HTLV-1 LTR WT	cgctcccttggagccctaccctagactcagccggctctccacgctttgacctgacccctgcttget	
ZFN1+2 clone f-1	cgctcccttggagccctaccctagactcagccggc-----acgctttgacctgacccctgcttget	5 bp deletion
ZFN1+2 clone a-1	cgctcccttggagccctaccctagactcagcc-----acgctttgacctgcttget	8 bp deletion + 1 mutation
ZFN1+2 clone b-3	cgctcccttggagccctaccctagactcagccggctc-----tgacctgacccctgcttget	9 bp deletion
ZFN2+1 clone b-2	cgctcccttggagccctaccctagactcagcc---tcctccacgctttgacctgacccctgcttget	3 bp deletion
ZFN2+1 clone b-4	cgctcccttggagccctaccctagactca-----gacctgacccctgcttget	18 bp deletion
ZFN2+1 clone b-1	cgctcccttggagccctacc-----acgctttgacctgacccctgcttget	19 bp deletion

**ZFN3/4**

	621 (D13784 numbering)	Modifications
HTLV-1 LTR WT	aaagtTCCACCCCTTCCCTT---TCATTCACGACTGACTGCCGGCTtggcccaagcgccaa	
ZFN3+4 clone c-1	aaagtTCCACCCCTTCCCTTCAATTCACGACTGACTGCCGGCTtggcccaagcgccaa	2 bp insertion + 1 mutation
ZFN3+4 clone b-2	aaagtTCCACCCCTTCCCTE---TC---CAGGACTGACTGCCGGCTtggcccaagcgccaa	3 bp deletion
ZFN3+4 clone b-1	aaagtTCCACCCCTT-----GACTGACTGCCGGCTtggcccaagcgccaa	16 bp deletion
ZFN3+4 clone a-1	aaagt-----GCGGCTtggcccaagcgccaa	32 bp deletion
ZFN4+3 clone a-1	aaagtTCCACCCCTTCCCTT---TCATTCACGACTGACTGCCGGCTtggcccaagcgccaa	4 bp deletion
ZFN4+3 clone a-2	aaagtTCCACCCCTTCCCTT---T-----ACTGCCGGCTtggcccaagcgccaa	12 bp deletion
ZFN4+3 clone b-1	aaagtTCCACCCCTTCCCTE-----GACTGCCGGCTtggcccaagcgccaa	14 bp deletion
ZFN4+3 clone c-2	aaagtTCCACCCCTTCCCTE---T-----TGGGCTtggcccaagcgccaa	16 bp deletion + 1 mutation
ZFN4+3 clone c-1	aaagtTCCACCCCTTCC-----aa	38 bp deletion

## 図5. 治療分子デリバリーの基盤技術構築

ヒト抗体をscFv化して細胞膜に発現  
局在させる技術開発に成功(世界初)



分担研究課題：成人 T 細胞白血病のマウスモデルによる治療分子の評価

研究分担者 岡田 誠治 熊本大学・エイズ学研究センター 教授

**研究要旨** 成人 T 細胞性白血病(ATL)は、腫瘍ウイルスである HTLV-1 感染を原因とする極めて予後不良の悪性腫瘍である。現時点では根本的治療法がないため、新たな治療法の開発が望まれている。本研究では、高度免疫不全マウスに ATL 細胞株を移植することで ATL マウスモデルを作成し、新規治療分子として期待される LTR 認識 ZFN について ATL 細胞 ED の腫瘍形成に対する治療効果を *in vivo* で評価した。レトロウイルスベクターで ZFN1+2 を導入した ED 細胞は対照となる ZFN2+2 細胞と比較して有意に腫瘍形成が抑制された。これは ZFN が ATL の治療分子として有用である事を示唆している。また、本実験系は ATL の抗腫瘍作用を評価する実験系としての有用性が期待される。

## A. 研究目的

成人 T 細胞性白血病 (Adult T cell leukemia/lymphoma: ATL)は、腫瘍ウイルスである Human T-lymphotropic virus-1 (HTLV-1)感染を原因とする極めて予後不良の悪性腫瘍である。現時点では根本的治療法がないため、感染予防・発症予防と新たな治療法の開発が望まれている。

本研究の目的は、成人 T 細胞性白血病(Adult T cell leukemia: ATL)のマウスモデルを作成し、治療分子の治療効果を経時的・定量的に解析する系を樹立し、ATL の病態解析と新規治療法の開発に供することである。特に、本研究班で開発した HTLV-1 LTR を特異的に認識する Zinc Finger Nuclease (ZFN)の *in vivo* における有効性について検討した。

## B. 研究方法

治療効果の *in vivo* 解析に適した様々な高度免

疫不全マウスを樹立した。これらのマウスに蛍光色素等を遺伝子導入したATL細胞株を移植して、ATLモデルマウスを作成し、ATLの病態解析及び治療薬の経時的・定量的な評価系を樹立した。本系を用いて、新規治療分子として期待されるLTR認識ZFN、及び様々な治療薬候補の *in vivo* における有効性の検証を行った。

(倫理面への配慮)

免疫不全マウスの作成及び移植実験等の動物実験は、熊本大学動物実験委員会の承認を得た上で「熊本大学動物実験指針」に従い実施した。動物実験は、「熊本大学動物実験指針」を遵守し、極力動物の苦痛軽減に配慮して行っている。動物実験における実験処置に対する倫理基準では、カテゴリー B (動物に対してほとんど不快感を与えないと思われる実験) レベルの実験であり、解析時には「動物の処分方法に関する指針」を遵守して、頸椎脱臼により安楽死

させた。

## C. 研究結果

### 1) mCherry 発現 ATL 細胞株の樹立

ATL 細胞株 MT-2, MT4 に mCherry 発現ベクターを遺伝子導入し、更に赤色の強い細胞をフローサイトメトリーを用いて分取し、mCherry を強く発現する MT-2, MT4 細胞株を樹立した。

### 2) 高度免疫不全マウスへの ATL 細胞株移植系の樹立

MT-2 mCherry を高度免疫不全マウスである NOD/Scid/Jak3 欠損マウス (NOJ マウス) 腹腔内に移植したところ、マウス腹腔内での生着が認められた。蛍光イメージングを用いることで腹腔内の腫瘍量を定量的に解析することが可能であった本マウスに NF-kappaB 阻害薬である cepharanthine (CEP) を投与したところ腫瘍量の減少が認められた。本マウスは ATL に対する新規治療薬候補の有効性と副作用を評価するのに有用な系であると考えられる(投稿準備中)。

MT-4 細胞を Balb/c Rag-2Jak3 二重欠損(Balb/c RJ)マウス脾臓に移植したところ脾臓と肝臓への MT-4 細胞の生着が認められた。本マウスに Hybrid liposomes (HLs) を投与する事で、MT-4 腫瘍量の減少が確認された(Nano Bulletin, 2012)。

新規無毛高度免疫不全マウス(Balb/c Nude Rag2/Jak3 二重欠損マウス : Nude R/J マウス)に ATL 細胞株、ST1, TLOm1, EB- を皮下移植したところ、いずれの細胞株もマウス皮下で腫瘍を形成した。

### 3) ATL 移植マウスを用いた治療評価系の構築と ZEN の有効性の検討

Nude R/J マウス皮下にレトロウイルスベクターで ZFN1+2 を導入した ED<sup>ZFN2/ZFN1</sup> 細胞と対照となる ZFN2+2 を導入した ED<sup>ZFN2/ZFN2</sup> 細胞を  $2 \times 10^5$  個移植した。6 週間後の腫瘍の大きさ

と重さを計測したところ ED<sup>ZFN2/ZFN1</sup> 細胞移植群において有意に腫瘍形成が抑制された。これは、ZFN が ATL の治療分子として有用であることを示唆している (図 1 参照)。

## D. 考察

赤色蛍光を遺伝子導入した ATL 細胞株(MT-2, MT-4)を高度免疫不全マウスに移植し、蛍光イメージング装置により腫瘍量を定量的に解析する事に成功した。また、新たに開発した無毛高度免疫不全マウス(Nude RJ)マウス皮下に遺伝子導入した ATL 細胞を移植することで、ATL に対する遺伝子治療のマウスモデルを樹立した。

ヒトの様々な疾患の解析には、マウス等の小動物を使ったモデルが有用である。そのため、様々な免疫不全マウスにヒトの正常細胞や腫瘍細胞を移植する試みがなされてきた。近年、遺伝子改変マウスを用いることで高度免疫不全マウスの樹立が可能となり、ヒト細胞が生着可能なマウスが樹立されている。今回、私達が樹立した高度免疫不全マウス (NOJ マウス・Balb/c RJ マウス・Nude RJ マウス) に ATL 細胞株が生着可能であることが示された。今後、新鮮 ATL 細胞が生着可能かどうかを検証し、患者さん毎のいわゆるオーダーメイド医療に応用可能かどうかを確認したい。

本年度の研究で、ATL マウスモデルを用いた治療薬の評価系が樹立され、本系を用いて新規治療分子として期待される LTR 認識 ZFN の in vivo における評価を行った。ATL マウスモデルは、研究班の目指す HTLV-1 プロウイルスゲノム特異的 DNA 破壊酵素を潜伏感染細胞に送達してウイルスを不可逆的に不活化することによる ATL 治療の検証に大きく貢献することが期待される。

## E. 結論

高度免疫不全マウスに ATL 細胞株を移植することで ATL のマウスモデルを樹立した。本マウスモデルは、ATL に対する新規治療薬候補の有効性と副作用を評価するのに有用な系であると考えられる。

## F. 健康危機情報

総括研究報告書を参照。

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1. Endo M, Yamamoto Y, Nakano M, Matsuda T, Odagiri H, Horiguchi H, Miyata K, Kadomatsu T, Motokawa I, Okada S, Iwase H, Oike Y. Serum ANGPTL2 Levels Reflect Clinical Features of Breast Cancer Patients: Implications for The Pathogenesis of Breast Cancer Metastasis. *Int J Biol Markers* in press
2. Kojima Y, Hagiwara S, Uehira T, Ajisawa A, Kitanaka A, Tanuma J, Okada S, Nagai H. Clinical Outcomes of AIDS-related Burkitt Lymphoma: A Multi-Institution in Japan. *Jpn J Clin Oncol* in press
3. Puthdee N, \*Vaeteewoottacharn K, Seubwai W, Wonkchalee O, Keawkong W, Juasook A, Pinloar S, Pairojkul C, Wongkham C, Okada S, Boonmars T, Wongkham S. Establishment of an Allo-Transplantable Hamster Cholangiocarcinoma Cell Line and Its Application for In Vivo Screening of Anti-cancer Drugs. *Korean J Parasitol* 51(6):711-717, 2013
4. Ota Y, Hishima T, Mochizuki M, Kodama Y, Moritani S, Oyaizu N, Mine S, Ajisawa A, Tanuma J, Uehira T, Hagiwara S, Yajima K, Koizumi Y, Shirasaka T, Kojima Y, Nagai H, Yokomaku Y, Shiozawa Y, Koibuchi T, Iwamoto A, Oka S, Hasegawa H, Okada S, \*Katano H. Classification of AIDS-related lymphoma cases between 1987 and 2012 in Japan based on the WHO Classification of Lymphomas, fourth edition. *Cancer Med* in press
5. Vaeteewoottacharn K, Michai M, Srikoon P, Hattori S, Kariya R, Matsuda K, Wongkuham S, and \*Okada S. Potent reactive oxygen species JNK-p38 activation by sodium salicylate potentiates death of primary effusion lymphoma cells. *Anticancer Res* in press
6. \*Suzuki K, Hattori S, Marks K, Ahlenstiel C, Maeda Y, Ishida T, Millington M, Boyd M, Symonds G, Cooper DA, Okada S, and Kelleher AD. Promoter targeting shRNA suppresses HIV-1 infection in vivo through transcriptional gene silencing. *Molecular Therapy-Nucleic Acids* 2:e137, 2013
7. Motoyama K, Onodera R, Okamatsu A, Higashi T, Kariya R, Okada S, and \*Arima H. Potential use of the complex of doxorubicin with folate-conjugated methyl- $\beta$ -cyclodextrin for tumor-selective cancer chemotherapy. *J Drug Target* in press
8. Chen J, Zhao R, Semba U, Oda M, Suzuki T, Toba K, Hattori S, Okada S, and \*Yamamoto T. Involvement of cross-linked ribosomal protein S19 oligomers and C5a receptor in definitive erythropoiesis. *Exp Mol Pathol* 95(3):364-375, 2013
9. Kariya R, Taura M, Suzu S, Kai H, Katano, and

- \*Okada S. HIV protease inhibitor Lopinavir induces apoptosis of primary effusion lymphoma cells via suppression of NF- $\kappa$ B pathway. *Cancer Lett* 342(1):52-59, 2014
10. Taura M, Kariya R, Kudo E, Goto H, Iwawaki T, Amano M, Suico MA, Kai H, Mitsuya H, and \*Okada S. Comparative analysis of ER stress response by HIV protease inhibitors: Lopinavir but not Darunavir induces potent ER stress response via ROS/JNK pathway. *Free Radic Biol Med* 65C:778-788, 2013
  11. Srikoon P, Kariya R, Kudo E, Goto H, Vaeteewoottacharn K, Taura M, Wongkham S, and \*Okada S. Diethyldithiocarbamate suppress NF- $\kappa$ B dependent metastatic pathway in cholangiocarcinoma cell line. *Asian Pac J Cancer Prev* 14(7);4441-4446, 2013
  12. Vaeteewoottacharn K, Kariya R, Matsuda K, Taura M, Wongkham C, Wongkham S, and \*Okada S. Perturbation of proteasome function by bortezomib leading to ER stress induced apoptotic cell death in cholangiocarcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 139(9);1551-1562, 2013
  13. Silsirivanit A, Araki N, Wongkham C, Vaeteewoottacharn K, Pairojkul C, Kuwahara K, Narimatsu Y, Sawaki H, Narimatsu H, Okada S, Sakaguchi N, Wongkham S. CA-S27: A novel Lewis A associated carbohydrate epitope is diagnostic and prognostic for cholangiocarcinoma. *Cancer Sci* 104(10):1278-1284, 2013
  14. Onodera R, Motoyama K, Okamoto A, Higashi T, Kariya R, Okada S, and Arima H. Involvement of cholesterol depletion from lipid rafts in apoptosis induced by methyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Int J Pharm* 452(1-2):116-123, 2013
  15. Ohsugi T, Ishida T, Shimasaki T, Okada S, and Umezawa K. p53 dysfunction precedes the activation of nuclear factor- $\kappa$ B during disease progression in mice expressing Tax, a human T-cell leukemia virus type 1 oncoprotein. *Carcinogenesis* 34(9):2129-2136, 2013
  16. Goto H, Kojima Y, Nagai H, and \*Okada S. Establishment of a CD4-positive cell line from an AIDS-related primary effusion lymphoma. *Int J Hematol*, 97(5);624-633, 2013
  17. Nakamura T, Aizawa T, Kariya R, Okada S, Demura M, Kawano K, Makabe K, and \*Kuwajima K. Molecular mechanisms of the cytotoxicity of HAMLET and other protein-oleic acid complexes. *J Biol Chem* 288(20):14408-14416, 2013
  18. Suzu I, Goto H, Hiwataishi N, Hattori S, Rotjanapan K, Leeannansaksiri W, and \*Okada S. Antioxidant and Antityrosinase Activity of *Cissus quadrangularis* Extract. *Nat Prod Commun* 8(5):629-630, 2013
  19. Tanaka A, Takeda S, Kariya R, Matsuda K, Urano E, Okada S, and \*Komano J. A novel therapeutic molecule against HTLV-1 infection targeting provirus. *Leukemia* 27(8);1621-1627, 2013
  20. Goto H, Matsuda K, Srikoon P, Kariya R, Hattori S, Taura M, Katano H, and \*Okada S. Potent antitumor activity of zoledronic acid-induced V $\gamma$ 9V $\delta$ 2 T cells against primary effusion lymphoma. *Cancer Lett* 331(2):174-182, 2013

21. Kudo E, Taura M, Matsuda K, Shimamoto M, Kariya R, Goto H, Hattori S, Kimura S, and \*Okada S. Inhibition of HIV-1 replication by a tricyclic coumarin GUT-70 in acutely and chronically infected cells. *Bioorg Med Chem Lett* 23(1):606-609, 2013
22. Uthaisar K, Sebwai W, Srikoon P, Vaeteewoottacharn K, Sawanyawisuth K, \*Okada S, and \*Wongkham S. Cepharanthine suppresses metastatic potential of human cholangiocarcinoma cell lines. *Asian Pac J Cancer Prev* 13(Suppl):149-154, 2012
23. Tsuruoka N, Arima M, Okada S, Sakamoto A, Hatano M, Arguni E, O-Wang J, Jing-Hua Y, Sekiya S, Shozu M, and \*Tokuhisa T. ADAR1 induces adenosine-targeted DNA mutations in senescent Bcl6-deficient cells. *J Bio Chem* 288(2):826-836, 2013
24. Terahara K, Ishige M, Ikeno S, Mitsuki Y, Okada S, Kobayashi K, and \*Tsunetsugu-Yokota, Y. Evaluation of a Humanized NOD/SCID/JAK3<sup>null</sup> Mouse Model: Expansion of CD4<sup>+</sup> T cells with an Activated Memory Phenotype Affects Infectivity of CCR5-Tropic HIV-1 *in vivo*. *ProS ONE* 8(1):e53495, 2013
25. Yuki H, Ueno S, Tatetsu H, Kawano Y, Niiro H, Iino T, Hata H, Okada S, Watanabe T, Akashi K, Mitsuya H, and \*Okuno Y. PU.1 is a potent tumor suppressor in classical Hodgkin lymphoma cells. *Blood* 121(6):962-970, 2013
26. Komizu Y, Yukihara M, Ichihara H, Matsumoto Y, Okada S, and \*Ueoka R. Therapeutic effects of hybrid liposomes for mouse model of adult T-cell leukemia/lymphoma *in vivo*. *Nano Bulletin* 1(1):120105, 2012
27. \*Hagiwara S, Yotsumoto M, Odawara T, Ajisawa A, Uehira T, Nagai H, Tanuma J, and Okada S. Non-AIDS-defining hematological malignancies in HIV-infected patients: an epidemiological study in Japan. *AIDS* 27(2):279-283, 2013
28. Michai M, Goto H, Hattori S, Vaeteewoottacharn K, Wongkham C, Wongkham S, and \*Okada S. Soluble CD30: a possible serum tumor marker for primary effusion lymphoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 13(10):4939-4941, 2012
29. Khaenam P, Niibori A, Okada S, Jearanaikoon P, Araki N, and \*Limpaiboon T. Contribution of RIZ1 in proliferation and migration of liver fluke-related cholangiocarcinoma cell line. *Asian Pac J Cancer Prev* 13(8):4007-4011, 2012
30. \*Yotsumoto M, Hagiwara S, Ajisawa A, Tanuma J, Uehira T, Nagai H, Fujikawa Y, Maeda S, Kitano K, Arima N, Uno K, Iwai T, Hongo I, Ota Y, Fukutake K, Okada S. Clinical characteristics of human immunodeficiency virus-associated Hodgkin lymphoma patients in Japan. *Int J Hematol* 96(2):247-253, 2012
31. Mitsuki Y, Terahara K, Shibusawa K, Yamamoto T, Tsuchiya T, Mizukoshi F, Ishige M, Okada S, Kobayashi K, Morikawa Y, Nakayama T, Takeda M, Yanagi Y, and \*Tsunetsugu-Yokota Y. HIV-1 infection *in vivo* accelerates measles virus infection by upregulating signaling lymphocytic activation molecule (SLAM) in CD4<sup>+</sup> T cells. *J Virol*

- 86(13):7227-7234, 2012
32. Taura M, Suico MA, Koyama K, Komatsu K, Miyakita R, Matsumoto C, Kudo E, Kariya R, Goto H, Kitajima S, Takahashi C, Shuto T, Nakao M, \*Okada S, and \*Kai H. Rb/E2F1 regulate innate immune receptor Toll-like receptor 3 in epithelial cells. *Mol Cell Biol* 32(8):1581-1590, 2012
  33. Chihara T, Hashimoto M, Osman A, Hiyoshi-Yoshidomi Y, Suzu I, Chutiwitoonchai N, Hiyoshi M, Okada S, \*Suzu S. HIV-1 Proteins Preferentially Activate Anti-Inflammatory M2-Type Macrophages. *J Immunol* 188(8):3620-3627, 2012
  34. Endo M, Nakano M, Kadomatsu T, Fukuhara S, Kuroda H, Mikami S, Hato T, Aoi J, Horiguchi H, Miyata K, Odagiri H, Matsuda T, Harada M, Horio H, Hishima T, Nomori H, Ito T, Yamamoto Y, Minami T, Okada S, Takahashi T, Mochizuki N, Iwase H, and \*Oike Y. Tumor cell-derived angiopoietin-like protein ANGPTL2 is a critical driver of metastasis *Cancer Res* 72(7):1784-1794, 2012
  35. Tanimoto S, Sakai S, Kudo E, Okada S, Matsunuma S, Takahashi D, and \*Toshima K. Target-selective photo-degradation of HIV-1 protease and inhibition of HIV-1 replication in living cells by designed fullerene-sugar hybrids. *Chemistry- An Asian Journal* 7(5):911-914, 2012
  36. Goto H, Kariya R, Shimamoto M, Kudo E, Taura M, Katano H, and \*Okada S. The antitumor effect of berberine against primary effusion lymphoma via inhibition of NF- $\kappa$ B pathway. *Cancer Sci* 103(4):775-781, 2012
  37. Phimsen S, Kuwahara K, Nakaya T, Ohta K, Suda T, Rezano A, Kitabatake M, Vaeteewoottacharn K, Okada S, Tone S, and \*Sakaguchi N. Selective cell death of p53-insufficient cancer cells is induced by knockdown of the mRNA export molecule GANP. *Apoptosis* 17(7):679-690, 2012
  38. Hiyoshi M, Takahashi-Makise N, Y. Yoshidomi Y, Chutiwitoonchai N, Chihara T, Okada M, Nakamura N, Okada S, and \*Suzu S. HIV-1 Nef Perturbs the Function, Structure, and Signaling of the Golgi through the Src Kinase Hck. *J Cell Physiol* 227(3):1090-1097, 2012
  39. Xi Y, Watanabe S, Hino Y, Sakamoto C, Nakatsu Y, Okada S, and \*Nakao M. Hmg1 is differentially expressed and mediates transcriptional silencing of the *Cd4/Cd8* loci in T cell lineages and leukemic cells. *Cancer Sci* 103(3):439-447, 2012
  40. Sugihara E, Shimizu T, Kojima K, Onishi N, Kai K, Ishizawa J, Nagata K, Hashimoto N, Honda H, Kanno M, Miwa M, Okada S, Andreeff M and \*Saya H. Ink4a and Arf are crucial factors in the determination of the cell of origin and the therapeutic sensitivity of Myc-induced mouse lymphoid tumor. *Oncogene* 31(23):2849-2861, 2012
  41. Matsuno T, Kariya R, Yano S, Morino-Koga S, Taura M, Suico MA, Shimauchi Y, Matsuyama S, Okamoto Y, Shuto T, \*Kai H, and \*Okada S. Diethylthiocarbamate induces apoptosis in HHV-8-infected primary effusion lymphoma cells via inhibition of the NF- $\kappa$ B

- pathway. *Int J Oncol* 40(4):1071-1078, 2012
42. Kasama Y, Satoh M, Saito M, Okada S, Kai C, and K \*Tsukiyama-Kohara. Evaluation of a recombinant measles virus as the expression vector of hepatitis C virus envelope proteins. *World J Vaccines* 1:98-103,2011
  43. Chutiwitoonchai N, Hiyoshi M, Mwimanzi P, Ueno T, Adachi A, Ode H, Sato H, Fackler OT, Okada S, and \*Suzu S. The Identification of a Small Molecule Compound that Reduces HIV-1 Nef-mediated Viral Infectivity Enhancement. *ProS ONE* 6(11):e27696, 2011
  44. Komizu Y, Yukihara M, Kariya R, Goto K, \*Okada S and \*Ueoka R. Selective accumulation of hybrid liposomes into adult T-cell leukemia cells along with induction of apoptosis. *Bioorg Med Chem Lett* 21(13):3962-3965, 2011
  45. Ono A, Hattori S, Kariya R, Iwanaga S, Taura M, Harada H, Suzu S, and \*Okada S. Comparative study of human hematopoietic cell engraftment into Balb/c and C57BL/6 strain of Rag-2/Jak3 double-deficient mice. *J Biomed Biotechnol* 2011;539748, 2011
2. 学会発表  
(国際学会)
    1. Hiroki Goto, Ryusho Kariya, Kouki Matsuda, Eriko Kudo, Seiji Okada. Targeting CD47-SIRPA for the controlling malignanteffusion in primary effusion lymphoma. International Society for Hematology and Stem Cells 42<sup>nd</sup> Annual Scientific Meeting, The Imperial Riding School Renaissance Hotel, Vienna, Austria, 22-25 August 2013.
    2. Hiroki Goto, Eriko Kudo, Kouki Matsuda, Ryusho Kariya, Manabu Taura, Seiji Okada. Evaluation of Targeting CD47-SIRPa using primary effusion lymphoma xenograft mouse model. 2013 ASH Annual Meeting and Exposition Ernest N. Morial Convention Center, New Orleans, U.S., December 7-10 2013
    3. Manabu Taura, Eriko Kudo, Hiroki Goto, Seiji Okada. The role of HIV-1 restriction factor Murr1 in HIV-1 latently infected cells. 2013 ASCB Annual Meeting Ernest N. Morial Convention Center, New Orleans, U.S., December 14-18 2013
    4. Kulthida Vaeteewoottacharn, Ryusho Kariya, Sawako Fujikawa, Sopit Wongkham, Seiji Okada Inhibitor of CD47 signaling alleviates tumor growth and metastasis of cholangiocarcinoma. The 4<sup>th</sup> International Symposium on Carcinogenic Viral Infection, Immunity, and Cancer Keio Plaza Hotel Sapporo, Sapporo, February 10-11 2014
    5. Kouki Matsuda, Shinihiro Hattori, Ryusho Kariya, Eriko Kudo, Hiroki Goto, Manabu Taura, Seiji Okada. Inhibition of HIV-1 entry by a tricyclic coumarin GUT-70. Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology.HIV Pathogenesis Virus vs. Host (X4), Fairmont Banff Springs, Banff, Alberta, Canada March 9-14 2014
    6. Ryusho Kariya, Kouki Matsuda, Shinichiro Hattori, Masako Shimamoto, Hiroki Goto, Manabu Taura, Takashi Nakamura, Kunihiro Kuwajima, and Seiji Okada. HAMLET and BAMLET induces cell death of primary effusion lymphoma. 41st Annual Scientific

- Meeting of the Society for Hematology and Stem Cells. 23-26 Aug. 2012. Hotel Okura, Amsterdam.
7. Kouki Matsuda, Shinichiro Hattori, Ryusho Kariya, Hiroki Goto, Pattaravadee Srikoon, and Seiji Okada. The anti-HIV-1 infection effects of the biscoclaurine alkaloid cepharanthine. 13th Federation of Asian and Oceanian Biochemists and Molecular Biologists (FAOBMB) Congress of Biochemistry and Molecular Biology. Bangkok, 25-29 Nov. 2012 (2012 JBS YSP-Travel Fellowship)
  8. Kulthida Vaeteewoottacharn, Ryusho Kariya, Kouki Matsuda, Chaisiri Wongkham, Sopit Wongkham and Seiji Okada. Bortezomib, a proteasome inhibitor, induces apoptotic and autophagic cell deaths of cholangiocarcinoma. Molecular Medicine Conference 2012, Bangkok, Thailand, 19-22 Dec. 2012
  9. Ryusho Kariya, Kouki Matsuda, Shinichiro Hattori, Masako Shimamoto, Takashi Murakami, Kunihiko Kuwajima, and Seiji Okada. HAMLET and BAMLET Induces Cell Death of Primary Effusion Lymphoma. Molecular Medicine Conference 2012. Alternative strategies against cancer and inflammation. Bangkok, Thailand, 19-22 Dec. 2012 (Oral Presentation Award).
  10. Ryusho Kariya, Masako Shimamoto, Shinichiro Hattori, Kouki Matsuda, Manabu Taura, Shinya Suzu, Hirofumi Kai, and Seiji Okada. HIV protease inhibitors inhibits the growth of primary effusion lymphoma and induces apoptosis. 40th Annual Scientific Meeting of the Society for Hematology and Stem Cells. 25-28 Aug. 2011. Vancouver, Canada.
  11. Shotaro Hagiwara, Mihoko Yotsumoto, and Seiji Okada. Non-AIDS-Defining Hematologic Malignancies in HIV-Infected Patients: A Nationwide Epidemiologic Study in Japan. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2011; **118**: 2183.
  12. Hiromichi Yuki, Shikiko Ueno, Hiroaki Niino, Hiro Tatetsu, Hiroyuki Hata, Toshiki Watanabe, Seiji Okada, Koichi Akashi, Hiroaki Mitsuya, and Yutaka Okuno. PU.1-Induced Growth Arrest and Apoptosis in Classical Hodgkin Lymphoma Cells. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2011; **118**: 2628.
  13. Hideyuki Yamamoto, Shotaro Hagiwara, Yuki Kojima, Asako Uehira, Atsushi Ajisawa, Akira Kitanaka, Junko Tanuma, Seiji Okada, and Hirokazu Nagai. Rituximab Did Not Improve Clinical Outcomes In AIDS-Related Burkitt Lymphoma. Blood (ASH Annual Meeting Abstracts), Nov 2011; **118**: 1629.
  14. Ryusho Kariya, Masako Shimamoto, Shinichiro Hattori, Kouki Matsuda, Manabu Taura, Shinya Suzu, Hirofumi Kai, Harutaka Katano and Seiji Okada. HIV protease inhibitors inhibits the growth of primary effusion lymphoma and induces apoptosis. Mahidol International Conference on Infections and Cancers 2012. 6-8 Feb., 2012. The Landmark Bangkok Hotel, Bangkok, Thailand.
  15. Masako Shimamoto, Ryusho Kariya, Kouki

Matsuda, Manabu Taura, Koichi Hamada, and Seiji Okada. Inhibition of cell lycle progression by proton pump inhibitor in primary effusion lymphoma. Mahidol International Conference on Infections and Cancers 2012. 6-8 Feb., 2012. The Landmark Bangkok Hotel, Bangkok, Thailand.

(国内学会)

1. 松田幸樹、服部真一郎、刈谷龍昇、古水雄志、工藤恵理子、木村晋也、上岡隆一、岡田誠治. 三環系クマリン GUT-70 による HIV-1 侵入抑制効果. 第 23 回日本サイトメトリー学会、日本医科大学、東京、2013 年 6 月 22-23 日
2. Hiroki Goto, Ryusho Kariya, Kouki Matuda, Eriko Kudo, Kazuhiro Kuwahara, Harutaka Katano, Seiji Okada. Targeting CD47-SIRPA for the controlling malignant effusion in primary effusion lymphoma. 原発性滲出性リンパ腫の体液貯留形成に対する CD47-SIRPA を標的とした治療. 第 75 回日本血液学会集会 ロイトン札幌、さっぽろ芸文館、札幌市教育文化会館、札幌、2013 年 10 月 11-13 日
3. 工藤恵理子、田浦学、後藤裕樹、岡田誠治. HIV-1 抑制因子 Murr1 は HIV-1 潜伏感染細胞において Toll-like Receptor シグナルを抑制する. 第 61 回日本ウイルス学会、神戸国際会議場、神戸、2013 年 11 月 10-12 日
4. 後藤裕樹、田浦学、工藤恵理子、松田幸樹、刈谷龍昇、片野晴隆、岡田誠治. IL-6 を介した Primary effusion lymphoma の体液貯留形成. 第 61 回日本ウイルス学会、神戸国際会議場、神戸、2013 年 11 月 10-12 日
5. 後藤裕樹、田浦学、工藤恵理子、松田幸樹、刈谷龍昇、片野晴隆、岡田誠治. Primary effusion lymphoma の体液貯留形成における IL-6 の役割 第 27 回日本エイズ学会、熊本市市民会館崇城大学ホール・熊本市国際交流会館、熊本、2013 年 11 月 20-22 日
6. 刈谷龍昇、松田幸樹、中村敬、古水雄志、鈴木元、桑島邦博、上岡龍一、岡田誠治. HAMLET/BAMLET の原発性滲出性悪性リンパ腫に対する抗腫瘍効果. 第 27 回日本エイズ学会、熊本市市民会館崇城大学ホール・熊本市国際交流会館、熊本、2013 年 11 月 20-22 日
7. 松田幸樹、服部真一郎、刈谷龍昇、古水雄志、工藤恵理子、後藤裕樹、田浦学、木村晋也、上岡龍一、岡田誠治. 三環系クマリン化合物 GUT-70 の HIV-1 侵入抑制効果. 第 27 回日本エイズ学会、熊本市市民会館崇城大学ホール・熊本市国際交流会館、熊本、2013 年 11 月 20-22 日
8. 工藤恵理子、田浦学、松田幸樹、嶋本雅子、刈谷龍昇、後藤裕樹、服部真一郎、木村晋也、岡田誠治. 新規天然有機化合物(GUT-70) による HIV-1 増殖抑制効果. 第 27 回日本エイズ学会、熊本市市民会館崇城大学ホール・熊本市国際交流会館、熊本、2013 年 11 月 20-22 日
9. 田浦学、工藤恵理子、後藤裕樹、岡田誠治. HIV-1 潜伏感染細胞における HIV-1 抑制因子 Murr1 の役割. 第 27 回日本エイズ学会、熊本市市民会館崇城大学ホール・熊本市国際交流会館、熊本、2013 年 11 月 20-22 日
10. Manabu Taura, Eriko Kudo, Seiji Okada. The role of HIV-1 restriction factor Murr1 in HIV-1 latently infected cells. 第 42 回日本免疫学会、幕張メッセ、千葉、2013 年 12 月 11-13 日
11. 松田幸樹、刈谷龍昇、服部真一郎、古水雄志、