

スが1つのみの細胞外ドメインで構成されるULBP5分子(切断型ULBP5分子)(図1右)をコードと考えられた。

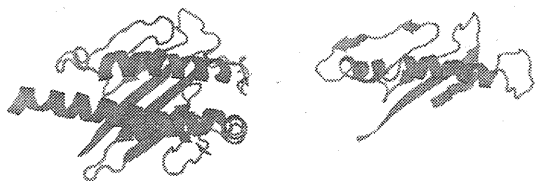


図1 旧世界ザルULBP5.1分子の3D予測構造

ついて、旧世界ザルのULBP5遺伝子の多様性を進化的に考察することを目的として、本研究で得られたアカゲザルおよびカニクイザルのULBP5.1配列およびULBP5.2配列で系統樹を作成したところ、ULBP5.1はULBP5.2から分岐していることが判明した。

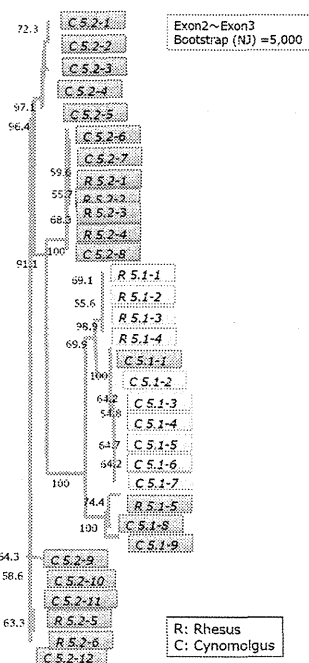


図2 旧世界ザルのULBP5遺伝子群系統樹

また、ULBP5.1、ULBP5.2ともアカゲザルのアリルとカニクイザルのアリルが混在することより、これらの多様性はアカゲザルとカニクイザルが分岐するより以前に成立したものと考えられた。

さらに、ヒトULBP3の結晶構造解析結果をテンプレートとしてアカゲザル、カニクイザルのULBP5.1およびULBP5.2について、それぞれ3Dモデルを作製し、多型部位をマップしたところ、アカゲザルULBP5.1では切断型以外ではNKG2D結合サイトに多型を認めなかつ

た(図3)。一方、カニクイザルULBP5.1では、切断型多型以外に、NKG2Dとの結合サイトである23位にも多様性が認められた(図4)。

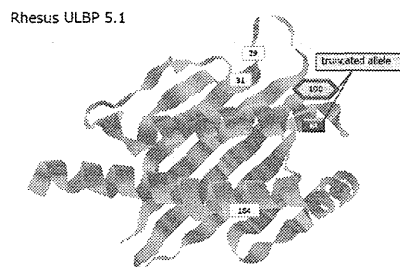


図3 アカゲザルULBP5.1の多型部位

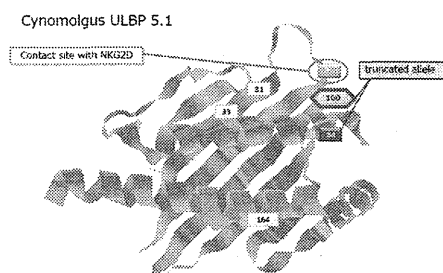


図4 カニクイザルULBP5.1の多型部位

これに対して、ULBP5.2についてみると、アカゲザルではNKG2D結合サイトの170位に多型があった(図5)が、カニクイザルでは多数の多型があるもののNKG2Dの結合サイトには多型を認められなかった(図6)。

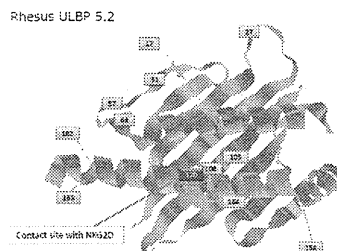


図5 アカゲザルULBP5.2の多型部位

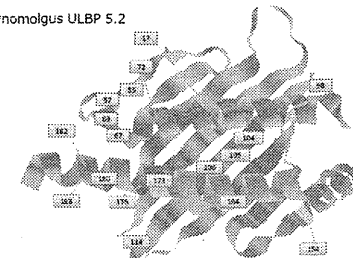


図6 カニクイザルULBP5.2の多型部位

このことから、切断型ULBP5.1を除くと、旧世界ザルではULBP5.1とULBP5.2のいずれ

か一方のみに NKG2D との結合サイトに多様性があることが判明した。

2) NFKBIL1 遺伝子多型と HIV/AIDS との関連の検討: MHC クラス I-クラス III 境界部に存在する NFKBIL1 遺伝子 (IkBL 遺伝子) がコードする IkBL 分子は CLK1 と結合し、その機能を阻害することで、免疫関連遺伝子やインフルエンザウイルスの選択的スプライシングを抑制する。IkBL 遺伝子のプロモーター領域には多型があり、これに依存して発現量が異なることが明らかになっている。そこで、インド人集団を対象として IkBL 遺伝子多型を検討したところ、IkBL*01 アリル頻度が HIV-1 感染者集団に有意に多いことが判明した (0.619 vs. 0.484, OR=1.74, 95%CI=1.17-2.58, p=0.006, 補正 p=0.029、表 2)

表 2 IkBL プロモーター多型と HIV 感染感受性

HLA	patient (2n=176)	control (2=244)	OR	P	Pc
IkBL*01	0.619	0.484	1.74	0.006	0.029
IkBL*02	0.051	0.061	0.82	ns	ns
IkBL*03	0.125	0.131	0.95	ns	ns
IkBL*04	0.000	0.000	-	ns	ns
IkBL*05	0.233	0.311	0.67	ns	ns

IkBL*01 型は発現量が低いことが知られていることから、NFKBIL1 は HIV-1 感染を抑制する機能のあることが推定される。旧世界ザルにも NFKBIL1 遺伝子が存在するため、今後その多型を検索し、SIV 感染との関連を検討する予定である。

2) APOBEC3H 遺伝子多型と HIV/AIDS との関連の検討: 旧世界ザルでは APOBEC3 ファミリー遺伝子群が SIV 感染抵抗性を担っていることが知られている。我々は霊長類における免疫関連遺伝子群の比較ゲノム解析から、APOBEC3 ファミリーは進化速度が速いことを明らかにしていることから、APOBEC3 ファミリーは霊長類における HIV 感染の個体差との関連が示唆される。ヒトでは APOBEC3B 遺伝子の欠損多型が知られているが、我々は日本人、インド人において APOBEC3B 欠損多型は HIV-1 感染感受性との関連を認めないことを報告している。一方、APOBEC3H 遺伝子でもタンパクの安定性に関わる多型 (N15del および G105R) が知られている。ことに、15del アリルと 105G アリルがコードする APOBEC3H タンパクは著しく不安定で活性が低いいため HIV-1 抑制機能が低いと推定されている。そこで、日本人を対

象として検討したところ、HIV-1 感染者集団では 15del ホモ接合頻度の増加 (0.141 vs. 0.086, OR=1.86, 95%CI=1.07-3.24, p=0.026) と 105R ホモ接合頻度の増加 (0.173 vs. 0.109, OR=1.84, 95%CI=1.10-3.08, p=0.018) が観察された。一方、長期未発症者 (LTNP) では 15del ホモ接合頻度の減少 (0.022 vs. 0.086, OR=0.20, 95%CI=0.05-0.86, p=0.017) が観察された (表 3)。このことは 15del が APOBEC3H タンパクの不安定性をもたらすことと合致するが、105R はタンパクの安定性をもたらすことと矛盾している。

表 3 APOBEC3H 多型と HIV/AIDS 感受性

	HIV (n=191)	LTNP (n=93)	Cont (n=421)	HIV vs. Cont			LTNP vs. Cont				
				OR	95%CI	p	OR	95%CI	p		
rs139292 (N15del)	0.322	0.161	0.263	1.33	1.02-1.74	0.035	ns	0.54	0.36-0.82	0.004	0.007
MAF (15del)	0.497	0.699	0.561	reference			reference				
N/N	0.361	0.28	0.354	1.15	0.79-1.67	ns	ns	0.63	0.38-1.04	ns	ns
N/del	0.141	0.022	0.086	1.86	1.07-3.24	0.026	ns	0.20	0.05-0.86	0.017	0.034
del/del											
rs139297 (G105R)	0.367	0.258	0.298	1.36	1.06-1.76	0.017	0.035	0.82	0.57-1.17	ns	ns
MAF (105R)	0.44	0.548	0.513	reference			reference				
G/G	0.387	0.387	0.378	1.2	0.82-1.74	ns	ns	0.96	0.60-1.54	ns	ns
G/R	0.173	0.065	0.109	1.84	1.10-3.08	0.018	0.037	0.55	0.22-1.36	ns	ns
R/R											

N15del と G105R との間には強い連鎖不平衡が成立しており、105R アリルは 15N アリル、15del アリルのいずれとも連鎖することが知られている。そこで、ハプロタイプ頻度を推定し比較したところ、hapC (15del-105R) 頻度は HIV-1 感染患者で増加 (0.322 vs 0.262, OR=1.33, 95%CI=1.02-1.74, p=0.003)、LTNP 群で減少 (0.161 vs. 0.262, OR=0.54, 95%CI=0.36-0.82, p=0.00003) していた。これに対して、hapB (15N-105R) は LTNP 群で増加 (0.097 vs. 0.040, OR=2.55, 95%CI=1.40-4.62, p=0.000008) していたが、HIV-1 感染者での頻度には有意な変化はなかった。一方、hapA (15N-105G) 頻度が HIV-1 感染者集団で減少 (0.634 vs. 0.697, OR=0.75, 95%CI=0.58-0.97, p=0.002) していた (表 4)。

表 4 APOBEC3H ハプロタイプ IkBL と HIV/AIDS 感受性

	HIV (2n=382)	LTNP (2n=186)	Cont (2n=842)	HIV vs. Cont			LTNP vs. Cont		
				OR	95%CI	p	OR	95%CI	p
hapA: hap I (15N - 105G)	0.634	0.742	0.697	0.75	0.58-0.97	0.002	1.25	0.87-1.79	ns
hapB: hap II (15N - 105R)	0.045	0.097	0.040	1.11	0.61-2.01	ns	2.55	1.40-4.62	8E-06
hapC: hap III+IV (15del - 105R)	0.322	0.161	0.262	1.33	1.02-1.74	0.003	0.54	0.36-0.82	3E-05

D. 考察

SIV ワクチン実験には主にアカゲザルが用いられているが、個々の実験個体の免疫遺伝学的背景は必ずしも明らかではない。我々はこれまでにワクチン実験における CTL 免疫応答の個体差を規定する最も重要な遺伝因子である MHC、ことに MHC クラス I について、多数の個体を解析し、実験個体の繁殖集団における MHC クラス I レポートリーおよびハプロタイプ構造の全貌をほぼ明らかにした。

また、CTL 機能およびNK 機能に関わる NKG2D レセプターのリガンド多様性についての解析を進め、昨年までに MIC、ULBP4、ULBP2 の多様性を明らかにした。本年はさらに ULBP5 の多様性を検討した。アカゲザルおよびカニクイザルでは、ヒトと比較して MHC クラス I 遺伝子座の遺伝子重複があり、さらに個々の遺伝子に多様性が大きいことが判明しているが、我々の研究によって、アカゲザルおよびカニクイザルでは ULBP 遺伝子座にも遺伝子重複があること、個々の ULBP 遺伝子の多様性がヒトより遥かに大きいこと、さらには ULBP2 および ULBP5 では NKG2D との結合サイトにも多型が存在することが明らかになった。

興味深いことに、NKG2D との結合サイトにおける多型はアカゲザルでは ULBP2.1 と ULBP5.2、カニクイザルでは ULBP2.2 と ULBP5.1 にのみ認められた。すなわち、アカゲザル、カニクイザルのいずれにおいても重複する ULBP2 および ULBP5 のいずれか一方では NKG2D との結合に多様性が存在することとなる。さらに、ULBP5.1 については、アカゲザル、カニクイザルともに一部のアルルが切断型 ULBP5 分子をコードすると推定されるため、旧世界ザルにおける ULBP の多様性はヒトよりも遥かに大きいことが推定される。今後、アカゲザル実験個体について、ULBP2.1 多型および ULBP5.2 多型と SIV ワクチン後の CTL 誘導性、中和抗体産生性を今後検討することで、ULBP 遺伝子群におけるゲノム多様性の生物学的意義を推定できると考えられる。

さらに、昨年度までに MHC(HLA)領域内にマップされる NFKBIL1 遺伝子 (IkBL 分子) がヒト免疫関連遺伝子やインフルエンザウイルス M 遺伝子のスプライシングを制御することを明らかにしているが、本年の研究によって HIV-1 感染感受性との関連を明らかにしたことから、今後 IkBL による HIV/SIV ウイルス遺伝子のスプライシング制御を検討することで、ウイルス感染における宿主要因を解明する重要な情報を得る。さらに、APOBEC3H 遺伝子多型が HIV-1 感染感受性、AIDS 発症感受性との関連することを解明したことから、アカゲザルにおける SIV 感染感受性制御機構を解明する上では、APOBEC3 ファミリーの多様性の検討も必要であると考えられた。

E. 結論

SIV ワクチンの効率に関わる宿主要因として、NKG2D レセプターのリガンドである ULBP5 の多

様性を検討した。ULBP5 は、アカゲザルおよびカニクイザルで著明な多様性を呈し、NKG2D との結合部位にも多様性が存在した。さらに、切断型 ULBP5 の存在が示された。これとは別に、MHC 領域内に存在する NFKBIL1 多型および APOBEC3H 多型がヒト HIV/AIDS 感受性と関連することを明らかにした。

F. 研究発表

1 論文発表

- (1) Nomura T, Yamamoto H, Takahashi N, Naruse TK, Kimura A, Matano T. Identification of SIV Nef CD8 T cell epitopes restricted by a MHC class I haplotype associated with lower viral loads in a macaque AIDS model. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014; 450(2): 942-947.

2 学会発表

- (1) 木村彰方, IkBL による免疫制御と感染制御, 第 23 回日本組織適合性学会大会, 長崎.
- (2) 成瀬妙子, 飯塚淳次, 明里宏文, 侯野哲朗, 木村彰方, 霊長類における ULBP/RAET1 遺伝子群の進化と特徴, 第 23 回日本組織適合性学会大会, 長崎.
- (3) 成瀬妙子, 飯塚淳次, 明里宏文, 侯野哲朗, 木村彰方, 霊長類における ULBP5/RAET1-G 遺伝子群の進化, 日本人類遺伝学会第 59 回大会, 東京.
- (4) 櫻井大祐, 今橋真弓, 岩谷靖雅, 大谷仁志, 成瀬妙子, 照沼裕, 杉浦互, 木村彰方, APOBEC3H ハプロタイプと HIV-1 感染および AIDS 発症との関連, 日本人類遺伝学会第 59 回大会, 東京.
- (5) 中村碧, 高原悠佑, 松岡佐織, 三浦智行, 小柳義夫, 成瀬妙子, 木村彰方, 侯野哲朗, 抗 HIV 薬投与下の治療ワクチン接種により誘導される CD8 陽性 T 細胞の SIV 複製, 第 28 回日本エイズ学会学術集会, 大阪.

G. 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

該当なし

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
分担研究報告書

各種 HLA クラス I 拘束性 CTL エピトープ候補の網羅的解析

研究分担者 立川 愛

東京大学医科学研究所先端医療研究センター感染症分野 准教授
国立感染症研究所エイズ研究センター 第二室長

研究要旨

OLP マトリックスを用いて CTL の標的部位とその HLA クラス I 拘束性を同定するための手法を検討した。少量の HIV 感染者末梢血単核球を用いて、Gag タンパク質における CTL 標的部位を同定し、CTL エピトープとその HLA 拘束性を絞りこむことが可能であることが示唆された。

A. 研究目的

HIV 感染症の克服には予防ワクチンの開発が必須である。HIV のコントロールには T 細胞による特異的免疫応答が重要であり、予防ワクチンにおいても HIV 特異的細胞傷害性 T リンパ球(CTL)を誘導することが効果的であると考えられ、サル/SIV モデルにおいてその有効性が確認されている。

CTL は、HIV 感染細胞上の HLA クラス I 分子 (HLA-I)により提示される抗原ペプチド (エピトープ)を認識し細胞傷害活性を発揮するため、その効果は宿主の HLA-I 型に依存する。実際に HIV 感染における病態進行と HLA-I 型には関連が見られ、特定の HLA-I を保有する HIV 感染者における病態進行の遅延、あるいは促進が疫学的解析により明らかとなっている。

HLA は最も多様性の高い遺伝子であり、人種間によってその分布は大きく異なる。そのため、HIV に対する T 細胞誘導型予防ワクチンの開発においては地域毎、あるいは人種毎に HLA-I 遺伝子型背景を考慮するべきである。

本研究では、有効な CTL 応答誘導のためのワクチン抗原のデザインを目的とし、CTL 標的部位と、その HLA 拘束性同定のための手法を確立する。昨年度は、CTL エピトープの HLA

クラス I 拘束性を同定するための手法として、既知のエピトープについて、CTL クローンを用いた実験により得られた結果とペプチド結合予測プログラムでの結果について検討を行い、実験データに基づいた評価が重要であることを明らかにした。本年度は、HIV 感染者試料を用いて、CTL 標的部位とその HLA 拘束性の同定手法について検討することとした。HIV コントロールへの寄与が明らかとなっている Gag 特異的 CTL を対象とした。また、エピトープと HLA 拘束性に関する複数の予測ソフトの補助的使用の有用性について検討を行った。

B. 研究方法

対象：

書面にて研究参加の同意が得られた日本人 HIV 感染者 38 名を対象とした。

HLA genotyping：

WAKFLow HLA タイピング試薬（湧永製薬）を用いて、蛍光マイクロビーズアレイシステムにより HLA-A, B, C 遺伝子型の解析を行った。

CTL 標的部位の同定：

凍結保存された HIV 感染者の末梢血単核球を用いて、Interferon- γ ELISpot assay を行った。抗原として、Gag タンパク質全体をカバーするオ

オーバーラップペプチド(OLP) (10 アミノ酸重複し、12-17 アミノ酸からなるペプチド) 115 種類を用いた。

HLA 拘束性予測ソフトによる検討:

実験結果より絞り込まれた HLA について、インターネット上から入手可能な HLA 拘束性予測ソフト HLArestrictor-1.2

(<http://www.cbs.dtu.dk/services/HLArestrictor/>)、

MHC 結合能予測ソフト NetMHC-3.4

(<http://www.cbs.dtu.dk/services/NetMHC/>) を用いて、エピトープ候補の予測を行った。

(倫理面への配慮)

研究対象者には研究目的や不利益、危険性など必要事項に関して文書を用いて説明し、書面でインフォームドコンセントを得た。本研究内容は、東京大学医科学研究所の倫理審査委員会により承認済みである。

C. 研究結果

少量の臨床試料での標的部位の同定を可能にするため、まず Gag タンパク質全体をカバーする 115 種類の OLP でマトリックスを作成し、OLP プールを抗原として ELISpot assay を行った。陽性、陰性対照を含め 24well で標的部位となっている候補 OLP を決定することが可能であった。続いて、個々の候補 OLP を用いて再度 ELISpot assay を行い、最終的に CTL 応答が見られた OLP を CTL 標的部位として同定した。38 名の HIV 感染者において、Gag 内の標的部位は中央値で 2 領域であり、最大で 9 領域が標的部位となっている感染者も存在した。標的となっている箇所のうち、最も多くの感染者で反応の見られた OLP38, 39 について、反応のあった感染者の HLA 遺伝子型を解析したところ、OLP38(EEKAFSPEVIPMFSA)に反応が見られた感染者は、HLA-A*33:03, B*44:03,

Cw*14:02 あるいは Cw*14:03 を有しており、OLP39(SPEVIPMFSALEGEA)に反応が見られた感染者では HLA-A*26:01, A*26:02, A*26:03 のいずれかを有していた (図 A)。これらの結果から、OLP38 には A*33:03, B*44:03, Cw14 いずれかに拘束性のエピトープが、OLP39 には A26 拘束性のエピトープが存在することが強く示唆された。実際に、OLP38,39 領域には、B*44:15 拘束性エピトープと、A*26:03 拘束性エピトープがデータベース上に報告されており、今回の検討で見られた、OLP38 に対する反応は主に HLA-B*44:03 拘束性の、OLP39 に対する反応は主に HLA-A26 拘束性のエピトープに対するものであることが推測される。しかしながら、OLP38 に反応が見られた Pt.6 は B44 を有していないことから、Pt.6 では B44 以外の HLA 拘束性反応が存在すると考えられる。そこで、MHC 結合能、HLA 拘束性予測ソフトを用いて、候補となる HLA(A26, A*33:03, B*44:03, Cw14)の、OLP38,39 領域のペプチド配列におけるエピトープ予測を行った。その結果、A*33:03 と結合する配列は予測上存在せず、A*26:01/26:03/26:03 に拘束性のペプチド EVIPMSAL が、強い結合能を伴い最も高い信頼性でエピトープとして予測された。また、報告のある B*44:15 拘束性の EEKAFSPEV は、B*44:03 との結合能は B*44:15 と比して低かったが、依然エピトープとなる可能性が示唆されていた。また、FSPEVIPM は C*14:02/14:03 と高い結合能が予想され、エピトープとなり得る可能性が示唆された。OLP38 反応者は全員 Cw14 を有しているため、今回見られた OLP38 に対する反応が B*44:03, Cw14 いずれに拘束性の反応であるかは、今回の検討のみでは明らかにできない。しかしながら、予測ソフトを補助的に利用することで、候補となる HLA の絞り込み、最適化ペプチドを用いての詳細な検討

を効率良く行えるであろうと考える。

D. 考察

HLA 遺伝子型を明らかにした HIV 感染者で CTL 標的部位を決定することで、HLA 拘束性とそのエピトープを絞り込むことが可能であることを示した。しかしながら、エピトープと HLA 拘束性を確定するためには、最適化したペプチドを用いての単独 HLA 発現細胞を用いての検討が必要である。

E. 結論

HIV 感染者試料を用いて、HLA 遺伝子型と CTL 標的部位を決定し、さらにエピトープ、HLA 拘束性予測ソフトを補助的に利用することで、CTL エピトープと、その HLA 拘束性の絞り込みが可能であることが示された。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Nakayama-Hosoya K, Ishida T, Youngblood B, Nakamura H, Hosoya N, Koga M, Koibuchi T, Iwamoto A, Kawana-Tachikawa A. Epigenetic repression of interleukin-2 expression in senescent CD4+ T cells during chronic human immunodeficiency virus type-1 infection. *J Infect Dis*. 211:28-39, 2015.
2. Gu L, Kawana-Tachikawa A, Shiino T, Nakamura H, Koga M, Kikuchi T, Adachi E, Koibuchi T, Ishida T, Gao GF, Matsushita M, Sugiura W, Iwamoto A, Hosoya N. Development and Customization of a Color-Coded Microbeads-Based Assay for

Drug Resistance in HIV-1 Reverse Transcriptase. *PLoS One*. 9:e109823, 2014.

3. Han C, Kawana-Tachikawa A, Shimizu A, Zhu D, Nakamura H, Adachi E, Kikuchi T, Koga M, Koibuchi T, Gao GF, Sat Y, Yamagata A, Martin E, Fukai S, Brumme ZL, Iwamoto A. Switching and emergence of CTL epitopes in HIV-1 infection. *Retrovirology*. 11:38, 2014.

2. 学会発表

1. Kawana-Tachikawa A. Disruption of T cell immunity during chronic HIV-1 infection. The 21st East Asia Joint Symposium on Biomedical Research. Seoul, Korea. Jul 2014.
2. Hirao M, Suzuki K, Kawana-Tachikawa A, Nakauchi H, Cooper DA, Kelleher AD, Kaneko S. Proposal of new immune cell source for HIV-1 infection study based on iPSCs and evaluation of impact of viral replication in iPSCs-derived macrophage expressing shRNAs targeting HIV-1 promoter. 20th International AIDS Conference, Melbourne, Australia, Jul 2014
3. Kamori D, 村上知行, Hasan Z, Meribe S, Carlson J, Siarot L, 三浦聡之、立川(川名)愛、岩本愛吉、瀧永博之、岡慎一、間陽子、上野貴将: Effects of natural variability of an immunodominant Vpr region on immunological footprints, clinical outcome and protein functions. 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
4. 細谷(中山)香、石田尚臣、中村仁美、細谷紀彰、古賀道子、鯉淵智彦、岩本愛吉、立川(川名)愛: HIV-1 感染における CD4 陽性 T 細胞の IL2 遺伝子発現低下分子メカニズムの解明. 第 62 回日本ウイルス学

- 会学術集会、横浜、2014年11月
5. Gu L, Han Y, Guan S, Yang F, Zhu T, 合田仁、Cao Y, 立川(川名)愛、細谷紀彰、Gao FG, 岩本愛吉、Li T, 石田尚臣：中国 HIV-1 感染者の未治療検体における副受容体指向性の検査。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
 6. 佐藤秀憲、細谷(中山)香、菊地正、安達英輔、古賀道子、中村仁美、鯉淵智彦、岩本愛吉、立川(川名)愛：HIV 感染者の CD8 陽性 T 細胞における補助刺激分子 OX40 の検討。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
 7. 石坂彩、佐藤秀憲、立川(川名)愛、中村仁美、古賀道子、細谷紀彰、鯉淵智彦、野本明男、岩本愛吉、水谷壮利：HIV-1 残存感染細胞の活性と免疫活性化の相関。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
 8. 和田倭、小林(石原)美栄、寺原和孝、池野翔太、徳永研三、立川(川名)愛、山岸誠、竹山春子、横田(恒次)恭子。恒常的に培養維持された CD4 陽性 T 細胞への HIV-1 の感染とその転写制御機構の解明。第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
 9. 藤田由利子、小野敏明、落合央、立川愛、Leen AM, Heslop HE, 森尾友宏、高橋聡：実臨床応用に向けたウイルス特異的 T 細胞療法の開発。第 6 回血液疾患免疫療法研究会学術集会、京都、2014 年 9 月
 10. 小野敏明、藤田由利子、立川(川名)愛、高橋聡、森尾友宏：臨床応用に向けた多ウイルス特異的 T 細胞培養法の確立とその特性解析。第 42 回日本臨床免疫学会総会、東京、2014 年 9 月
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
国内特許出願（申請中）
出願人：公益財団法人微生物化学研究会、発明者：水谷壮利、石坂彩、立川愛
「免疫状態の判定方法、CD4+T細胞数の増加予測方法、及びCD4+T細胞数の減少予測方法、並びにそれらのためのキット」特願 2014-128028、出願日：2014年6月23日
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし

A)

Pt No	反応性OLP	HLA-A		HLA-B		HLA-C	
1	38	0206	3303	4006	4403	0801	1403
2	38	2402	3303	5201	4403	1202	1403
3	38	2402	3303	4403	5401	0102	1403
4	38	3101	3303	4403	5101	1402	1402
5	38,39	0207	3303	4403	4601	0102	1403
6	38	2402	3101	5101	5201	1202	1402
7	39	2601	2603	702	5201	0702	1202
8	39	2601	3101	4002	4002	0304	0304
9	39	2402	2601	5502	4002	0102	0304
10	38,39	2601	3101	702	5101	0702	1402
11	39	2402	2602	5502	5901	0102	0102
12	39	1101	2601	4002	6701	0304	0702
13	39	2402	2603	702	5101	0702	1502

B)

²⁵ KVVEEKAFSPEVIPMFSA⁵⁰ LSEGATPQ

OLP38 EEKAFSPEVIPMFSA
 OLP39 SPEVIPMFSA LSEGA

既に報告されている エピソード	B*4415 Gag160-9 EEKAFSPEV
	A*2603 Gag167-9 EVIPMFSA L

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
分担研究報告書
universal HLA クラス I 拘束性 CTL 反応と関連変異に関する研究

研究分担者：村越 勇人 熊本大学エイズ学研究センター 研究員

研究要旨

世界中で普遍的にみられる HLA 抗原について、関連している HIV ゲノム変異を明らかにするため、以下の研究を行った。

ルアンダ、ガーナを含むサハラ以南および日本に於いて共通して 5%以上の頻度で見られる HLA (A*02:01, A*33:03, B*07:02, B*35:01, B*44:03, C*03:04, C*04:01) に関連するゲノム変異を明らかにするため、430 人の日本人慢性 HIV-1 感染者のウイルスシーケンスの解析を行い、各 HLA とそれぞれのゲノム変異の関連性について統計解析を行った。

各 HLA における HLA 関連ゲノム変異について調べた結果、Gag 領域では 17 個、Pol 領域では 7 個、Nef 領域では 29 個の HLA 関連ゲノム変異が認められた。

以上のことから、日本人ではこれらの HLA 関連ゲノム変異を跨ぐエピトープを認識する CTL が誘導されている可能性があり、また他地域でも同様の HLA 関連ゲノム変異が蓄積している可能性があることが示唆された。今後は、これらの HLA 関連ゲノム変異を含むエピトープを同定し、それらの変異型エピトープに対する CTL 反応を調べることで、CTL 逃避変異について解析する予定である。

A. 研究目的

世界の HIV 感染は、アフリカサハラ以南に集中しており、70%を占める。アフリカでの感染拡大を抑制するためには、ウイルス増殖抑制能に優れた CTL を誘導する予防エイズワクチンの開発が重要である。この予防ワクチン開発は日本における感染拡大の抑制にも必要である。本研究ではアフリカのルアンダ、ガーナでの T 細胞誘導ワクチン臨床試験に向けた最適化抗原設計を行うため、世界中で普遍的にみられる HLA 抗原に関連している HIV ゲノム変異について調査を行った。

B. 研究方法

ルアンダ、ガーナを含むサハラ以南および日本において、共通して 5%以上の頻度で見られる HLA (A*02:01, A*33:03, B*07:02, B*35:01, B*44:03, C*03:04, C*04:01) を NCBI dbMHC データベースにより選出した。これらの HLA に関連している HIV-1 ゲノム変異を明らかにするため、430 人の日本人無治療慢性 HIV-1 感染者の血漿中のウイルスのアミノ酸シーケンス (Nef, Gag, Pol) を調査した。変異の認められた位置について、

上記の各 HLA アリルと変異の関係を Fisher's exact test を用いて統計解析し、HLA 関連 HIV-1 ゲノム変異を同定した。

(倫理面の配慮)

本研究は、国立国際医療研究センター、エイズ治療・研究開発センターより提出されている末梢血検体について、ヘルシンキ宣言に基づいたインフォームドコンセントを患者から取得し、末梢血の提供を受けており、本人の承諾なく実験に使用・遺伝子解析されることはない。検体提供者は、すべて番号により管理しており、個人情報管理について、検査伝票は鍵のかかる棚に保管し、電子媒体はネットワークに接続されていない個人情報管理専用のパソコンで厳重に管理され、そのパソコンは研究室内でも限られた者しか利用できないようパスワードで使用が制限されている。

本研究内容は熊本大学と国立国際医療研究センターの倫理委員会で承認を受けている。

C. 研究結果

430 人の日本人慢性 HIV-1 感染者の血漿中の HIV-1 Nef, Gag, Pol シーケンスの解析を行った

表 1 各 universal HLA における HLA 関連 HIV ゲノム変異の数

HLA	Gag	Pol	Nef	Total
A*02:01	2	0	2	4
A*33:03	4	1	5	10
B*07:02	4	1	4	9
B*35:01	1	2	5	8
B*44:03	1	2	12	15
C*03:04	4	0	0	4
C*04:01	1	1	1	3

結果、53 個の universal HLA 関連 HIV-1 ゲノム変異を同定した (A*02:01 : 4 個, A*33:03 : 10 個, B*07:02 : 9 個, B*35:01 : 8 個, B*44:03 : 15 個, C*03:04 : 4 個, C*04:01 : 3 個、表 1)。また Gag 領域では 17 個、Pol 領域では 7 個、Nef 領域では 29 個で、Nef 領域において多くの HLA 関連ゲノム変異が出現していることが判明した (表 1、図 1)。Los Alamos Database より、これらの HLA 関連ゲノム変異を含む CTL エピトープについて調査したところ、変異を含む 13 個のエピトープが確認できた。以上の結果、これらのエピトープに含まれるゲノム変異は、これらのエピトープに特異的な CTL によって選択された逃避変異であることが推察された。

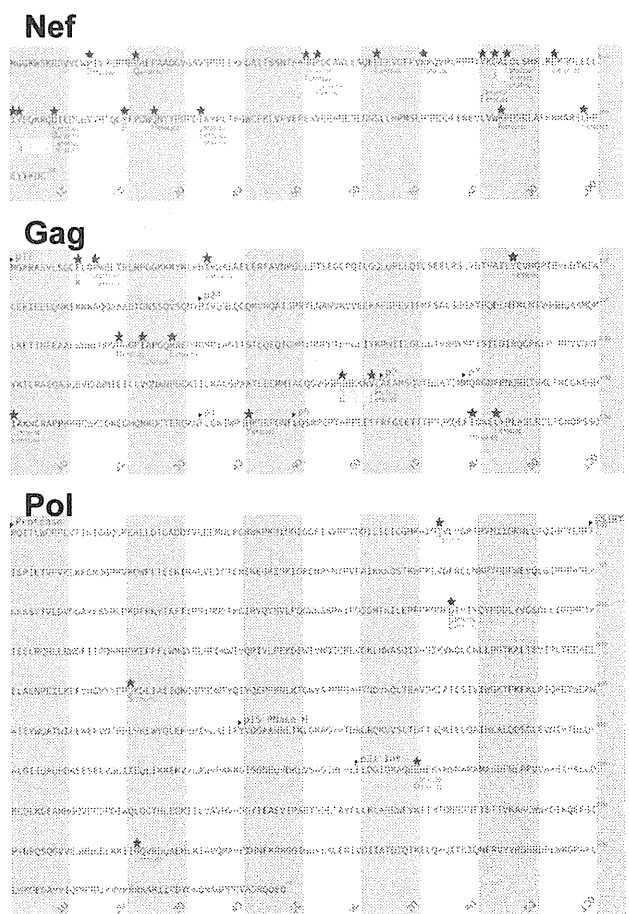
D. 考察

universal HLA について、日本人慢性 HIV-1 感染者で HLA 関連 HIV ゲノム変異が認められたことから、日本人ではこれらのゲノム変異を跨ぐエピトープを認識する CTL が誘導されている可能性があり、また、他地域でも同様の HLA 関連 HIV ゲノム変異が蓄積している可能性があることが示唆された。本研究で同定した 53 個の HLA 関連ゲノム変異のうち、一部の変異は Los Alamos Database にて報告された CTL エピトープに含まれていたが、その他の変異を含むエピトープはまだ報告されておらず、今後それらのエピトープを同定する必要がある。

E. 結論

本研究では、7 種類の universal HLA に関して、

図 1 Gag, Pol, Nef 遺伝子に同定された HLA 関連 HIV ゲノム変異のシーケンス上の位置



HLA 関連ゲノム変異の同定に成功した。今後は、これらの HLA 関連ゲノム変異を含むエピトープを同定し、それらの変異型エピトープに対する CTL 反応を調べることで、CTL 逃避変異について解析する予定である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Rahman MA, Kuse N, Murakoshi H, Chikata T, Gatanaga H, Oka S, and Takiguchi M. Raltegravir and elvitegravir-resistance mutation E92Q affects HLA-B*40:02-restricted HIV-1-specific CTL recognition. *Microbes Infect.* 16(5):434-438, 2014
- 2) Chikata T, Carlson JM, Tamura Y, Borghan MA, Naruto T, Hashimoto M, Murakoshi H, Le AQ, Mallal S, John M, Gatanaga H, Oka S, Brumme ZL, and Takiguchi M. Host-specific adaptation of HIV-1 subtype B in the Japanese population. *J. Virol.* 88(9):4764-4775, 2014

2. 学会発表

- 1) Havato Murakoshi, Tomohiro Akahoshi, Madoka Koyanagi, Takayuki Chikata, and Masafumi Takiguchi, Effective control of HIV-1 by cytotoxic T cells specific for multiple conserved epitopes, 第43回日本免疫学会学術集会（京都）, 2014年12月10-12日
- 2) Tomohiro Akahoshi, Havato Murakoshi, and Masafumi Takiguchi, Conflicting viral selection by HIV-1-specific CTLs, 第43回日本免疫学会学術集会（京都）, 2014年12月10-12日

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1. 特許取得
なし。
2. 実用新案登録
なし。
3. その他
なし。

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業（エイズ対策実用化研究事業）
分担研究者報告書

T細胞誘導エイズワクチン臨床試験に向けた最適化抗原設計に関する研究

分担研究者 松岡佐織 国立感染症研究所 エイズ研究センター 主任研究官

研究要旨

細胞障害性 T 細胞 (CTL) エイズ誘導ワクチン開発において、ウイルスの多様性を考慮した抗原設計が必要である。現在 CTL 誘導を目的としたワクチンの国際共同試験臨床試験としてアフリカ・ガーナを対象とする有効性検証臨床試験の計画が進行中である。本研究はワクチンの抗原設計の基礎情報に結び付けることを目的とし、ガーナ HIV 感染者血液を用いて当該地域に流行する HIV-1 ゲノム解析、及び宿主 HLA クラス I アレルの保有頻度を解析した。その結果 HLA クラス I では A*23:01、B*53:01 が、HIV-1 は組換え型流行株 CRF-02-AG が高頻度に同定された。HIV-1 の流行株、HLA クラス I アレル共に西アフリカを含む比較的限定された地域で見出される遺伝子型であることから、当該地域においては地域特異的な CTL 逃避変異が存在することが推測される。来年度はさらに統計学的手法を用いて CTL 逃避変異の解析を推進する。

A. 研究目的

細胞障害性 T 細胞 (CTL) エイズ誘導ワクチン開発において、ウイルスの多様性を考慮した抗原設計が必要となる。CTL 標的抗原のアミノ配列は宿主 HLA クラス I 拘束性であることから、抗原設計のためにはその集団に蔓延する HIV ゲノム情報と並んで集団を構成する宿主 HLA クラス I タイプの分布情報の把握が重要である。現在 IAVI 主導の国際共同試験臨床試験において有効性検証臨床試験 (I-II 相) はアフリカを対象とする計画が進行中であるが当該地域におけるゲノム情報、HLA 分布に関する大規模調査報告はない。そこで本研究では有効性臨床試験が想定される国の一つであるガーナを対照として、当該地域の地域に蔓延する

HIV ゲノム情報の集積を行い、ワクチン抗原選択の基礎情報に結び付けることを目的とする。本年度は昨年に引き続き検体数を増してウイルスゲノムの多様性を規定する代表的な宿主因子である HLA クラス I アレルの同定を進めるとともに、流行する HIV-1 のサブタイプ同定を行い、当該地域特異的な CTL 逃避変異の可能性について考察する。

B. 研究方法

HLA クラス I アレルの同定：ガーナ、コフォルディア州立病院にて採血された抗 HIV 薬未治療患者血液由来 DNA 検体 355 検体を用いて PCR-rSSO (PCR-Reverse-Sequence Specific Nucleotide) 法にて HLA クラス I アレルのタイピングを行った。

HIV-1 ゲノム解析：HIV 感染者由来血液中 RNA を用いて HIV-Gag 領域の塩基配列を同定し、Neighbor-joining 法を用いた分子系統樹解析によりサブタイプを同定した。

(倫理面への配慮)

本研究はヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針（平成 13 年 3 月 29 日、平成 20 年 12 月 1 日一部改正）に基づき研究計画を作成し、国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理委員会より承認を得た後に実験を開始した。採血提供者には事前に主治医から HIV 感染者に研究目的を十分に文書にて説明を行い、同意を得た。遺伝子解析試料は連結可能匿名化により本邦では個人が特定されない形式（シリアル番号化）で保管した。

C. 結果

(1) HLA タイピング

1 次スクリーニングとして 4 桁表記による HLA クラス I アレルの同定を進めた。結果を図 1 に示す。HLA アレルの候補が 2 種類以上あり判定できない場合には AFND に登録されている情報と比較し、ガーナで検出される可能性の高いアレルを記載した。HLA-A では A*23:01、HLA-B では B*53:01 が高頻度に検出された。

(2) HIV-1 サブタイピング

HIV-1 Gag 領域の塩基配列を基に Neighbor-joining 法を用いた分子系統樹解析を行いサブタイプを同定した。結果を表 1 に示す。塩基配列が同定可能であった 99 例中 55 例 (56%) が組換え型 HIV-1 流行株 CRF_02_AG に分類され、URF (99 例中 25 例、25%) には CRF02/CRF06、CRF02/A3 等が含まれた。

D. 考察

CTL 標的抗原のアミノ酸配列は宿主の HLA クラス I 拘束性である。ウイルスの CTL 逃避変異としては、ペプチド内のアミノ酸置換により HLA クラス I 分子との親和性を低下させる変異、T 細胞レセプターとの親和性を低下させる変異、上記のアミノ酸変異により低下したウイルスの複製能を改良するために生じる二次変異など複数の経路が提唱されている。HIV 感染個体内において HLA クラス I アレルが選択圧として働くのと同様に、集団においても HLA クラス I アレル保有頻度は HIV 流行地域における選択圧の一つとして働く。すなわち、集団レベルで比較した場合、人種構成に応じて異なる CTL 逃避関連変異が選択してくることが推測される。さらにウイルス側の要因を考えた場合、本研究において西アフリカを含む比較的限定された地域で検出される組換え型流行株 CRF_02_AG が高頻度分に検出されたことから本地域において地域特異的な CTL 逃避変異が集団に蓄積されている可能性が示唆された。来年度は統計学的手法を用いて CTL 逃避変異の同定を推進する。本情報はワクチン抗原設計への基礎情報として有用であることが期待される。

E. 結論

ガーナ HIV 感染患者血液を用いて HLA タイピング、HIV-1 サブタイプ解析を行った。西アフリカを含む比較的限定された地域で高頻度に分布する HLA アレル、組換え型流行 HIV-1 が高頻度に検出された。本地域において地域特異的な CTL 逃避変異が集団に選択されている可能性が示唆された。

F. 研究発表

1 論文発表 なし

2 学会発表

(1) 中村碧、高原悠祐、松岡佐織、團塚愛、三浦智行、小柳義夫、成瀬妙子、木村彰方、俣野哲朗. 抗 HIV 薬投薬課の治療ワクチン接種により誘導される CD8 陽性 T 細胞の SIV 複製抑制能の解析. 第 28 回日本エイズ学会学術集会、大阪、2014 年 11 月。

(2) Nakamura M, Takahara Y, Matsuoka S, T. Miura, Y. Koyanagi, T Matano.

Therapeutic vaccine-induced Gag-specific CD8+ T cell under anti-retroviral therapy contribute to viral control in a macaque AIDS model. 20th International AIDS conference, Melbourne, Australia, 20-25 June, 2014.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

1 特許取得 なし

2 実用新案登録 なし

3 その他 なし

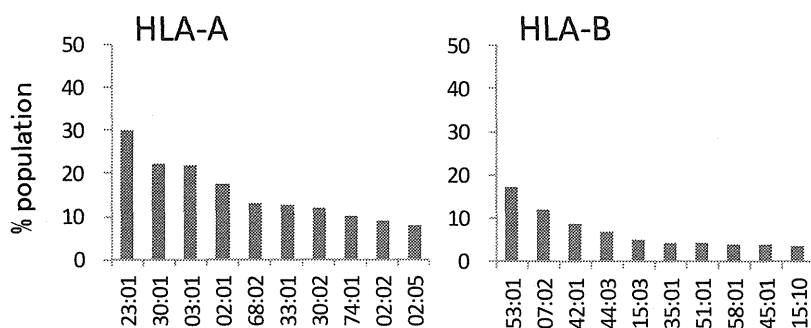


図 1. ガーナ人 HIV 感染者サンプルを用いた HLA クラス I アレル保有頻度

ガーナ人 HIV 感染者 (n=355) に占める HLA クラス I アレル保有頻度を示した。4 桁表記によるアミノ酸置換を伴うサブタイプ同定を進め、判別できないアレルが 2 種類以上ある場合には Loyal Riverpoor and Broadgreen 大学提供の MHC データベース Allele Frequency Net Database; AFND (<http://www.allelefreqencies.net/default.asp>) を基に、ガーナ国内で検出される可能性が高い HLA アレルを記した。

表.1 ガーナにおける HIV 流行株の解析

HIV subtype	%
CRF_02_AG	59
CRF_06	6
A2	6
G1	2
URF	25

HIV-1Gag 領域の塩基配列 (n=99) を基に Neighbor-joining 法にて分子系統樹解析を行い、サブタイプを同定した。

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業（エイズ対策実用化研究事業）
分担研究報告書

経鼻センダイウイルスベクターワクチンの粘膜免疫誘導に関する研究

研究分担者 寺原 和孝 国立感染症研究所 免疫部 主任研究官
研究協力者 石井 洋 国立感染症研究所 エイズ研究センター 研究員

研究要旨：

腸管粘膜におけるウイルス感染・増殖を如何に抑制できるかが新規予防エイズワクチン開発に求められる課題である。本分担研究では、予防エイズワクチンとして開発が進行中のセンダイウイルスをベクターとした Gag 発現ワクチン (SeV-Gag ワクチン) について、腸管粘膜における免疫誘導能を評価することを目的とする。H26 年度は、ワクチン抗原特異的 T 細胞の誘導について、SeV-Gag ワクチン接種サルから調製した腸管由来 T 細胞の他、末梢血・2 次リンパ組織といった全身系由来 T 細胞についても併せて解析した。In vitro の抗原刺激の後、IFN- γ 産生誘導細胞 (すなわちワクチン接種により誘導された抗原特異的細胞) についてフローサイトメトリー解析を行った結果、CD4 陽性 T 細胞、CD8 陽性 T 細胞ともに Gag ならびに SeV 抗原特異的細胞が腸管で誘導されており、他の全身系由来 T 細胞の反応レベルとほぼ同程度であった。以上のことから、SeV-Gag ワクチンは全身系のみならず粘膜系組織に対しても免疫誘導能を有することが明らかとなった。

A. 研究目的

近年の最たる HIV 感染経路は経粘膜であること、また、体内における HIV の主たる増殖の場は感染経路を問わず腸管粘膜であることから、腸管粘膜におけるウイルス感染・増殖を如何に抑制できるかが新規予防エイズワクチン開発に求められる課題である。そこで本分担研究では、予防エイズワクチンとして開発が進行中の Gag 発現センダイウイルス (SeV-Gag) ワクチンの腸管粘膜における免疫誘導効果について、サルモデルを中心に評価することを目的とする。H25 年度はサル腸管 (小腸) から白血球を分取する方法を確立した。そこで H26 年度は、SeV-Gag ワクチン接種サルから同手法により調製した腸管由来 T 細胞とともに、末梢血・リンパ節由来 T 細胞についても併せてワクチン抗原特異的細胞反応の解析を行い、腸管粘膜におけるワクチン誘導効果を評価した。

B. 研究方法

カニクイサルに DNA プライム/SeV-Gag ブーストワクチン接種を行い、4 頭 (C02143, C03048, C03116, C04030) から末梢血、空腸、回腸、扁桃、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節を得た (図 1)。各組織検体から単核細胞を調製し、Gag ペプチドプール混合下の同一個体由来 B lymphoblastoid cell

line (BLCL) あるいは SeV 感染 BLCL と共培養を行った。なお、抗原非存在下での intact な自己 BLCL との共培養を陰性対照とした。その後、フローサイトメトリーにより CD4 陽性 T 細胞および CD8 陽性 T 細胞それぞれの T 細胞集団における IFN- γ 産生誘導を解析した。そして、抗原刺激群から陰性対照群を差し引いた頻度を抗原特異的 T 細胞の頻度として評価した。

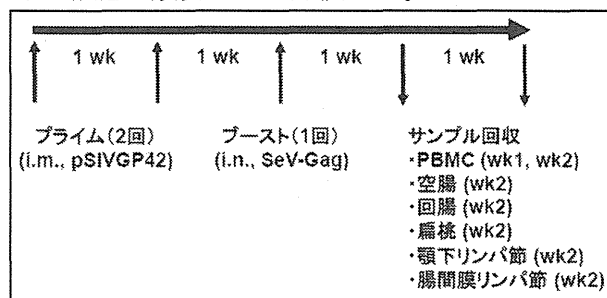


図 1. ワクチン接種ならびにサンプル採取のプロトコール。

(倫理面への配慮)

遺伝子組換え生物等を用いる実験については国立感染症研究所の承認あるいは文部科学大臣の確認を得ている。動物実験については国立感染症研究所および医薬基盤研究所の動物実験委員

会の承認を得てから開始し、動物実験等の実施に関する基本指針を遵守した。

C. 研究結果

1) Gag特異的T細胞の検出

まず、4頭のサルにおけるGag特異的T細胞の誘導について解析を行った（ただし、C03048の扁桃は行わず）。その結果、全身系組織（扁桃、腸間膜リンパ節、顎下リンパ節）のみならず腸管粘膜（空腸、回腸）においてもCD4陽性・CD8陽性それぞれのT細胞集団においてGag特異的T細胞の誘導が確認された（図2）。ただし、空腸と回腸を比較したところ、回腸の方がCD4陽性・CD8陽性両T細胞集団ともにGag特異的T細胞の誘導レベルが低い傾向にあった。

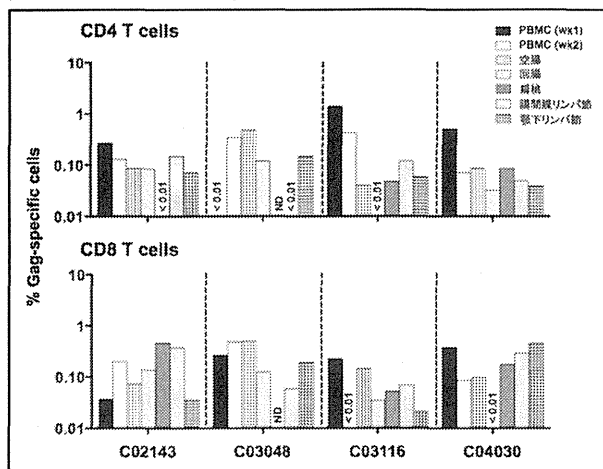


図2. SeV-Gagワクチン接種後のCD4陽性T細胞およびCD8陽性T細胞におけるGag特異的T細胞の頻度。

2) SeV特異的T細胞の検出

続いて、3頭のサル（C03048, C03116, C04030）由来の細胞分画を用いて、ワクチンベクターであるSeV抗原に対して特異的なT細胞が誘導されているのか解析を行った。その結果、C03048ではSeV特異的CD4陽性ならびにCD8陽性T細胞は解析した全ての組織検体で検出された訳ではないものの、PBMC (wk2)と空腸では検出され、他の2頭（C03116, C04030）についてはその他の組織検体においても検出された（図3）。つまり、SeV特異的CD4陽性ならびにCD8陽性T細胞の誘導も、全身系組織のみならず腸管粘膜においても可能であることが確かめられた。なお、空腸よりも回腸の方がCD4陽性・CD8陽性両T細胞集団ともにSeV特異的T細胞の誘導レベルが低く、この違いは前述のGag特異的T細胞と同様であった。

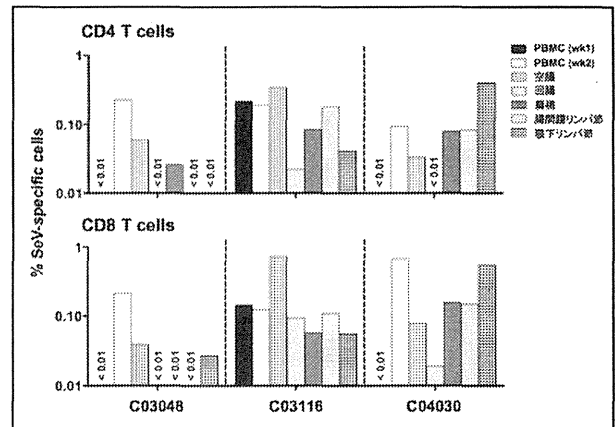


図3. SeV-Gagワクチン接種後のCD4陽性T細胞およびCD8陽性T細胞におけるSeV特異的T細胞の頻度。

D. 考察

これまでのサルエイズモデルでの解析から、SeV-Gag ワクチンは全身レベルでのウイルス複製抑制に効果的であることが示されているものの、腸管等における粘膜系組織への免疫誘導効果については不明であった。粘膜指向性を有するSeVの特性からその可能性は十分予想されていたが、本研究によりそれが明らかになったといえよう。

腸管粘膜におけるワクチン抗原特異的T細胞の誘導レベルとウイルス複製抑制レベルとの関連性を明らかにすることが今後の課題であり、このことは予防ワクチンの更なる最適化のためにも重要であると考えられる。

E. 結論

SeV-Gag ワクチン接種により、全身系組織のみならず腸管粘膜においてもGagならびにSeV抗原特異的細胞がCD4陽性・CD8陽性両T細胞集団で誘導されることを確認した。

F. 研究発表

1 論文発表

(1) [Terahara K.](#), Ishii H., Nomura T., Takahashi N., Takeda A., Shiino T., Tsunetsugu-Yokota Y., [Matano T.](#) Vaccine-induced CD107a⁺ CD4⁺ T cells are resistant to depletion following AIDS virus infection. *J. Virol.* 88: 14232-14240, 2014.

2 学会発表

(1) Ikeno S., [Terahara K.](#), Tsunetsugu-Yokota Y. Induction of human cytokines in humanized mice improves myeloid cell development and antigen-specific antibody production. 第43回日本免疫学会総会・学術集会、京都、2014年12

月

- (2) 寺原和孝、石毛真行、池野翔太、小林（石原）美栄、岡田誠治、横田（恒次）恭子：R5・X4 HIV-1 混在感染ヒト化マウスの感染早期にみられる R5 ウイルス優位性とその要因の検討、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- (3) 池野翔太、寺原和孝、駒瀬勝啓、竹田誠、森川裕子、竹山春子、横田（恒次）恭子：ヒト化マウスの麻疹ウイルスベクター評価系への応用 (3)、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- (4) 和田倭、小林（石原）美栄、寺原和孝、池野翔太、徳永研三、立川（川名）愛、山岸誠、竹山春子、横田（恒次）恭子：恒常的に培養維持された CD4 陽性 T 細胞への HIV-1 の感染とその転写制御機構の解明、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜、2014 年 11 月
- (5) Matano T., Terahara K., Ishii H., Nomura T. Vaccine-induced CD107a⁺ CD4⁺ T-cells are resistant to killing following immunodeficiency virus infection. HIV Research for Prevention, Cape Town, South Africa, Oct 28-31, 2014: AIDS Research and Human Retroviruses. October 2014, 30(S1): A247.
- (6) Yamashita Y., Tanaka T., Oe T., Kawakami K., Oka M., Matsumoto S., Terahara K., Tsunetsugu-Yokota Y., Morimoto K., Ariyoshi K. Unique cytokine profiles of CD4⁺T cell to Acr, HBHA and MDP-1 antigens in different clinical stage of *mycobacterium tuberculosis* infection. The ERS International Congress 2014, Munich, Germany, Sep 6-10, 2014.

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

- 1 特許取得
なし。
- 2 実用新案登録
なし。
- 3 その他
なし。

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takebe Y, Naito Y, Raghwani J, Fearnhill E, Sano T, Kusagawa S, Mbisa J, Zhang H, <u>Matano T</u> , Brown AL, Pybus O, Dunn D, Kondo M.	Inter-continental dispersal of HIV-1 subtype B associated with transmission among men who have sex with men in Japan.	J Virol	88	9864-9876	2014
Nomura T, Yamamoto H, Takahashi N, Naruse TK, <u>Kimura A</u> , <u>Matano T</u> .	Identification of SIV Nef CD8 ⁺ T cell epitopes restricted by a MHC class I haplotype associated with lower viral loads in a macaque AIDS model.	Biochem Biophys Res Commun	450	942-947	2014
<u>Terahara K</u> , Ishii H, Nomura T, Takahashi N, Takeda A, Shiino T, Tsunetsugu-Yokota Y, <u>Matano T</u> .	Vaccine-induced CD107a ⁺ CD4 ⁺ T cells are resistant to depletion following AIDS virus infection.	J Virol	88	14232-14240	2014
Gu L, <u>Kawana-Tachikawa A</u> , Shiino T, Nakamura H, Koga M, Kikuchi T, Adachi E, Koibuchi T, Ishida T, Gao GF, Matsushita M, Sugiura W, Iwamoto A, Hosoya N.	Development and Customization of a Color-Coded Microbeads-Based Assay for Drug Resistance in HIV-1 Reverse Transcriptase.	PLoS One	9	e109823	2014
Han C, <u>Kawana-Tachikawa A</u> , Shimizu A, Zhu D, Nakamura H, Adachi E, Kikuchi T, Koga M, Koibuchi T, Gao GF, Sat Y, Yamagata A, Martin E, Fukai S, Brumme ZL, Iwamoto A.	Switching and emergence of CTL epitopes in HIV-1 infection.	Retrovirology	11	38	2014
Nakayama-Hosoya K, Ishida T, Youngblood B, Nakamura H, Hosoya N, Koga M, Koibuchi T, Iwamoto A, <u>Kawana-Tachikawa A</u> .	Epigenetic repression of interleukin-2 expression in senescent CD4 ⁺ T cells during chronic human immunodeficiency virus type-1 infection.	J Infect Dis	211	28-39	2015

Rahman MA, Kuse N, <u>Murakoshi H</u> , Chikata T, Gatanaga H, Oka S, Takiguchi M.	Raltegravir and elvitegravir- resistance mutation E92Q affects HLA-B*40:02-restricted HIV-1-specific CTL recognition.	Microbes Infect	16	434- 438,	2014
Chikata T, Carlson JM, Tamura Y, Borghan MA, Naruto T, Hashimoto M, <u>Murakoshi H</u> , Le AQ, Mallal S, John M, Gatanaga H, Oka S, Brumme ZL, Takiguchi M.	Host-specific adaptation of HIV-1 subtype B in the Japanese population.	J Virol	88	4764- 4775	2014