

21. エイズ研究センター

センター長 山本直樹

概要

UNAIDSの報告によると2002年末には世界の累積HIV感染者数は4200万人となった。そして2010年までの今後7年間でさらに4500万人以上増えると予想されている。このうちの大多数は言うまでもなく、経済的理由により、多剤併用療法の恩恵に浴し得ない発展途上国の人々である。この厳しい現実を目の当たりにして、先進諸国の一員としてのわが国の役割は益々増大している。

アジアでは、これまでの東南・南アジア地域の大流行に加え、中国を中心とする東アジア地域での流行の拡大が現実のものとなってきた。またわが国は先進国の中では例外的に感染者数の増加傾向に歯止めがかからないという大きな問題に直面している。中でも若年感染者の増加は看過できない問題となっている。また、近年、献血者にHIV陽性者が増加している。わが国においても、新規HIV患者の拡大の抑制と患者・感染者の予後とQOLの向上をはかることが切実に求められている。

新しい抗HIV剤が次々に開発、認可され、特に、いくつかの逆転写酵素阻害剤とプロテアーゼ阻害剤の多剤併用によるHAARTの効果には著しいものがある。しかし、多剤併用をもって、体内からウイルスを完全に駆逐することは今のところ不可能であり、ヨーロッパでは未治療患者の中ですでに10%をこえる耐性ウイルスが検出されたとの観察もなされている。当センターでは血中ウイルスRNA量の定量や薬剤耐性ウイルス株の検出など治療効果判定に必須の研究を医療現場との協力で活発に行っている。

エイズ研究センターは1988年発足以来15年が経過した。この間、多数の臨床サンプルの解析を行い、感染者の病態診断、治療効果の判定や抗エイズ薬の臨床試行に寄与してきた。さらに、ウイルスの解析、疫学的情報の収集と解析、病態の解明、診断法の開発、新しい予防治療法の開発、エイズの病態と発症機構の解析や動物モデルの開発等の研究を行っている。特にHIVライフサイクルにかかわる宿主側因子の同定の試みが活発になされている。一方、組換えウイルスベクターやDNAワクチンなどの分子生物学的手法を応用した新規細胞性免疫誘導型エイズワクチンの開発研究およびHIV感染防御免疫機構の解析をマカクサルエイズモデルにより検討中である。特に、リコンビナントBCG-HIVワクチン及び安全性に優れたリコンビナントワクチニアDisワクチン、センダイウイルスベクターとDNAワクチンの併用免疫法という2種のコンビネーションレジメンは、マカクサル実験において良

好な細胞性免疫の誘導と感染防御効果を示している。前者に関しては、タイ国との共同研究が進行中である。また、独特の糖鎖変異ウイルスを用いた弱毒生ワクチンの開発研究も行われている。これらのサル感染モデル系を用いることにより新しいコンセプトでのワクチン開発研究をはじめ、病態の解析、種々の抗ウイルス薬の評価が可能となった。また、タイに続いて、近年流行の急速な拡大が憂慮されているミャンマー、カンボジア、ベトナム、中国などアジア各国におけるHIV流行株に関する解析も進められ、貴重な成果を挙げている。

当センターはまた、業務活動の一環として、HIV体外診断薬の検定、依頼検査を行うと共に世界各国のエイズ関連技術者や医療従事者・保健行政の職員を対象としたエイズ対策の国際研修や国内の地方衛生研究所関係者の診断技術講習会を継続して開催している。国際協力事業団(JICA)のエイズプロジェクト等にも積極的に協力し、平成10年発足の「タイNH機能向上プロジェクト」と「ザンビア国エイズ及び結核対策プロジェクト」を推進している。このように、当センターの活動は一層国際的な展開をみせている(表1)。一方、厚生労働省、文部科学省、HS財団等の研究費による班研究等にも多数参加した(表2)。

人事では、ウイスコンシン大学、駒野淳博士が研究員として第3室に採用(平成14年4月1日付)、扇本真治主任研究官が神戸大学に出向(4月1日付)、俣野哲朗助教授(東京大学)が併任(4月1日付)、竹田誠研究員(第2研究グループ)が退職(7月1日付)、エイズ予防財団レジデント、草川茂博士が主任研究官へ就任(7月1日付)、巽正志主任研究官(獣医科学部)が併任(9月1日付)、また、有吉紅也主任研究官がタイ王国国立衛生研究所に派遣された(9月27日付)。さらに、明里宏文主任研究官(筑波医学実験用霊長類センター)の併任が認められた(11月1日付)。

当センターの運営に当たっては倉田毅副所長、佐多徹太郎感染病理部長、岡部信彦感染症情報センター長、竹森利忠免疫部長、小室勝利血液・安全性研究部長、寺尾恵治筑波医学実験用霊長類センター長等多くの方の協力を得た。

研究の場に関しては改善はみられたものの、研究スペースの確保と統合は依然として最重要課題のひとつとなっている。

エイズ研究センター

表 1 . 国際協力への参加状況

所 属	氏 名	期 間	要 請 先	要 件 ・ 目 的
センター	長 山 本		JICA	ザンビア国エイズ及び結核対策プロジェクト（国内委員会委員長）
			JICA	タイ NIH 機能向上プロジェクト（国内委員会委員）
第一研究	本 多	H14.4-H15.3	JST	研修生受け入れ：タイ国
グル・ プ		H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師
		H15.2.5-6	JST	タイエイズプロジェクトの最終シンポジウム出席
		H15.3.5-7	日米医学協力研究会	第 15 回日米エイズ会議出席
	仲宗根	H14.4-H15.3	JST	研修生受け入れ：タイ国
		H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師
		H15.2.5-6	JST	タイエイズプロジェクトの最終シンポジウム出席
		H15.3.5-7	日米医学協力研究会	第 15 回日米エイズ会議出席
第二研究	杉 浦	H15.1.13-18	JICA	タイ NIH 機能向上プロジェクト短期専門家
グループ		H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師
		H15.1.14-3.19	JICA	第 15 回臨床感染症学研修講師
		H15.2.17-4.12	JICA	研修生受入
	阪 井	H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師
	有 吉	H14.9-H16.2	JICA	タイ NIH 機能向上プロジェクト長期専門家
	横 幕	H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師
第一室	武 部	H14.6.26-29	文部科学省	基盤研究(A-2) 海外学術研究に基づく共同研究 第 4 回日中ウイルス学会に出席（中国昆明）
		H14.8.6-13	文部科学省	基盤研究(A-2) アジア型 HIV-1 ヴァリアントのウイルス学的解析に関する共同研究のため（米国）
		H14.9.8-18	文部科学省	基盤研究(A-2) 2002 年ヒトウイルス学研究所国際会議出席及び米国における共同研究者との研究打合せのため（米国）
		H14.10.31-11.4	文部科学省	基盤研究(A-2) The Sino-US Conference on Research and Training in AIDS-Related Areas (NIH-中国 CDC 共催)への出席および研究発表（中国）
		H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師
		H15.2.9-17	厚生労働省	エイズ対策研究事業 第 10 回国際レトロウイルス・日和見感染症会議出席と米国における共同研究者との研究打合せのため（米国）
		H15.3.5-7	日米医学協力研究会	第 15 回日米エイズ会議出席（沖縄）
		H15.3.16-21	エイズ予防財団	海外委託研究事業に基づく共同研究 タイ・ミャンマーにおけるエイズ流行とその背景にある宿主要因に関する分子疫学的調査研究のため（タイ・ミャンマー）
	椎 野	H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師
	草 川	H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師
第二室	吉 原	H14.4.15-23	WHO	オーストラリア精度管理会議出席
		H14.7.5-6	JICA	ワクチン予防対策集団研修コース講師
		H14.7.24	JICA	ベトナムエイズ対策技術研修講師
		H14.8.12-13	JICA	HIV/ATL 集団研修コース講師
		H14.8.22-23	JICA	HIV/ATL 集団研修コース講師 実習
		H14.10.8-18	JICA	エジプト感染症対策技術研修コース短期専門家
		H14.11.11	JICA	感染症対策技術研修コース講師
		H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師
		H15.1.9-2.4	JICA	カンボディア国結核対策プロジェクト短期専門家
		H15.2.14	JICA	臨床感染症集団研修コース講師
		H15.2.17-18	JICA	ナイジェリアエイズ対策集団研修コース講師
	鈴 木	H14.8.22-23	JICA	HIV/ATL 集団研修コース講師 実習
		H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コ・ ス講師

エイズ研究センター

所 属	氏 名	期 間	要 請 先	要 件 ・ 目 的
第三室	松 田	H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師
		H15.3.17-21	JICA	タイ NIH 機能向上プログラム短期専門家 HIV/AIDS 研究(レトロウイルス学研究) HIV の分子生物学講師
	森	H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師
	石 川	H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師
		H14.7.25	JICA	ベトナムエイズ対策技術研修講師
		H14.10.28	エイズ予防財団	アジア地域エイズ専門家研修講師
		H15.2.12	JICA,国際医療センター	第 15 回臨床感染症学研修分子疫学入門講師
	駒 野	H15.1.14-2.21	JICA	第 10 回エイズのウイルス感染診断検査技術コース講師

表 2 . 厚生労働科学研究等への参加状況

所 属	氏 名	要 請 機 関	課 題
センター	長 山 本	厚生労働省 HS 財団	エイズ対策研究事業「エイズ対策研究事業の企画と評価に関する研究」主任研究者 創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業・エイズ医薬品等開発研究・国際研究グラ ント「細胞性免疫誘導型プライムブーストエイズワクチンの臨床評価系の確立」主 任研究者
		文部科学省	特定領域研究(C)「感染の成立と宿主応答の分子基盤」(研究代表者:永井美之 富山 県衛生研究所)
第一研究 グループ	本 多	JST	アジア、太平洋地域型国際共同研究事業「日-タイ共同クレイド E 型エイズワクチン研 究プロジェクト」代表研究者
		厚生労働省	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業「HIV 構造遺伝子と HIV 制御遺伝子のコンビ ネーションワクチンの開発に関する研究」主任研究者
		厚生労働省	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業「エイズ治療薬開発のためのサル評価スク リーニング系の開発とその応用」(主任研究者:永井美之 富山県衛生研究所)
		JST	研究情報データベース化支援事業「HIV 感染症統合データベースの構築」アドバイザリ ー委員(代表研究者:仲宗根正)
		HS 財団	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業・創薬等ヒューマンサイエンス研究:第 5 分野健康保持増進・予防医薬品の開発に関する研究「レクチン機能を利用した血管 における生体防御システムの解明と創薬への応用」(主任研究者:若宮伸隆 旭川 医科大)
		HS 財団	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業・エイズ医薬品等開発研究・国際研究グラ ント「リコンビナントタイプ HIV ワクチンの標的集団の解析とパイロットプロダク ションの可能性の検討」(主任研究者:仲宗根正)
		厚生労働省	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業「小動物モデルを用いた抗エイズ薬評価ス クリーニング系の開発」(主任研究者:辻本元 東京大学)
		JST	研究情報データベース化支援事業「HIV 感染症統合データベースの構築」代表研究者
		HS 財団	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業・エイズ医薬品等開発研究・国際研究グラ ント「リコンビナントタイプ HIV ワクチンの標的集団の解析とパイロットプロダク ションの可能性の検討」主任研究者
		JST	アジア、太平洋地域型国際共同研究事業「日-タイ共同クレイド E 型エイズワクチン研 究プロジェクト」(代表研究者:本多三男)
厚生労働省	エイズ対策研究事業「日本の HIV-1 の遺伝子・分子生物学的解析(集団的解析)」(主 任研究者:佐藤裕徳)		
厚生労働省	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業「HIV 構造遺伝子と HIV 制御遺伝子のコンビ ネーションワクチンの開発に関する研究」(主任研究者:本多三男)		
第二研究 グループ	杉 浦	医薬品機構	「テーラーメイド治療を目指した HIV 治療法の開発」(主任研究者:岡慎一 国立国際 医療センター)
		厚生労働省	エイズ対策研究事業「薬剤耐性のモニタリングに関する技術開発研究」主任研究者
		厚生労働省	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業「HIV-1 の遺伝子発現とウイルス増殖を制御 する新たな治療薬開発のための研究」主任研究者
		厚生労働省	エイズ対策研究事業「HIV の検査法と検査体制を確立するための研究」(主任研究者: 今井光信 神奈川県衛生研究所)

エイズ研究センター

所 属	氏 名	要 請 機 関	課 題
	阪 井	厚生労働省	エイズ対策研究事業「HIV 感染予防に関する研究」(主任研究者:竹森利忠 免疫部)
	有 吉	厚生労働省	エイズ対策研究事業「東アジア及び太平洋沿岸地域における HIV 感染症の疫学に関する研究」(主任研究者:武部豊)
		HS 財団	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業・エイズ医薬品等開発研究・国際研究グラント「HIV 特異的免疫療法開発に関する基礎的研究」(主任研究者:岩本愛吉 東京大学医科学研究所先端医療研究センター)
	横 幕	厚生労働省	エイズ対策研究事業「HIV 及びその関連ウイルスの増殖機構及び増殖制御に関する研究」(主任研究者:佐藤裕徳 遺伝子解析室)
		HS 財団	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業・エイズ医薬品等開発研究・国際研究グラント「HIV 特異的免疫療法開発に関する基礎的研究」(主任研究者:岩本愛吉 東京大学医科学研究所先端医療研究センター)
第一室	武 部	厚生労働省	エイズ対策研究事業「東アジア及び太平洋沿岸地域における HIV 感染症の疫学に関する研究」主任研究者
		文部科学省	基盤研究(A)(2)「アジアにおけるエイズ流行とその背景にある宿主要因に関する分子疫学的調査研究」研究代表者
		HS 財団	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業・エイズ医薬品等開発研究・国際研究グラント「HIV 亜種解析による HIV ワクチンの開発」(研究代表者:石川晃一)
第二室	吉 原	厚生労働省	エイズ対策研究事業「HIV の検査法と検査体制を確立するための研究」(主任研究者:今井光信 神奈川県衛生研究所)
		厚生労働省	医薬安全研究事業「医療用具関係の国際ハーモナイゼーションに関する研究」(主任研究者:土屋利江 国立医薬品食品衛生研究所)
		厚生労働省	国際医療協力研究委託事業「特殊感染症等の疫病情報の収集システムの構築及び活用に関する調査研究」(主任研究者:蟻田功 国際保健医療交流センター)
		厚生労働省	エイズ対策研究事業「HIV 感染症に関する臨床研究」(主任研究者:石川信克 財団法人結核予防会結核研究所)
第三室	松 田	厚生労働省	エイズ対策研究事業「HIV およびその関連ウイルスの増殖機構および増殖制御に関する研究」(主任研究者:佐藤裕徳 遺伝子解析室)
		JST	重点研究支援事業「プロテオーム解析(プロテオミクス)による感染症の研究」(総括責任者:西島正弘 細胞化学部)
		厚生労働省	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業「HIV-1 の遺伝子発現とウイルス増殖を制御する新たな治療薬開発のための研究」(主任研究者:杉浦互)
	森	厚生労働省	エイズ対策研究事業「HIV 感染予防に関する研究」(主任研究者:竹森忠利 免疫部)
		厚生労働省	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業「エイズ治療開発のためのサル評価スクリーニング系の開発とその応用」(主任研究者:永井美之 富山衛生研究所)
		HS 財団	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業・エイズ医薬品等開発研究・国際研究グラント「ヘルパーT細胞活性化を誘導するエイズワクチンの開発」主任研究者
		HS 財団	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業・エイズ医薬品等開発研究・国際研究グラント「HIV 抵抗性を決定する新規宿主遺伝子の同定によるワクチン戦略の開発」(主任研究者:宮澤正顯 近畿大学医学部)
	石 川	HS 財団	創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業・エイズ医薬品等開発研究・国際研究グラント「HIV 亜種解析による HIV ワクチンの開発」主任研究者
	駒 野	厚生労働省	エイズ対策研究事業「HIV 及びその関連ウイルスの増殖機構及び増殖制御に関する研究」(主任研究者:佐藤裕徳 遺伝子解析室)

研究業績

I. エイズワクチンの開発

1. プロトタイプワクチンの開発

Whole Gag を標的にした HIV 候補ワクチンは SIV のホモロークで病原性ウイルスの感染を防御し、400 日以上にわたって検出限界以下にコントロールされていることからウイルス血症の再発を長期にわたって抑えることが可能なレジメンであることが示唆された。本年度の研究では rBCG プライミング rDIs ブースターによるレジメンが HIV-1 clade E gag の免疫によるヒトへの投与可能量とルートで免疫誘導が十分に起こりうることをマウス及びサルを用いた実験で明らかにされた。さらに、サル41匹を用いた安全性、免疫原性、環境汚染に関するその有用性が明らかにされた。現在、タイのワクチン開発グループを中心にしたタイ国 FDA へのシードロットアプロバルの申請書類を作成中である。

rDIs/SIVgag 皮内接種による細胞性免疫誘導とウイルス感染防御効果の解析

弱毒化ワクシニア DIs 株をベクターとして、Simian immunodeficiency virus (SIV)の構造遺伝子 gag を発現する組み替えワクチン (rDIs/SIVgag) を構築し、その有用性を解析した。

rDIs/SIVgag を 10^6 及び 10^7 PFU/monkey でカニクイザルに 2 回皮内接種し、Gag 特異的免疫誘導の評価として、リンパ球増殖試験、IFN-gamma ELISPOT アッセイ、Flow cytometry を利用した細胞内 IFN-gamma 染色による解析を行った。結果、rDIs/SIVgag ワクチンは、2 回接種により有意な免疫誘導が認められた。キメラウイルス SHIV C2/1 の経直腸感染に対する防御効果を解析したところ、免疫群では CD4 陽性 T リンパ球減少及び血漿中ウイルス RNA コピー数増加を抑制することが認められ、同時に高い細胞性免疫の誘導が認められた。

[泉泰之、網康至 (動物管理室)、仲宗根正、松尾和浩、染谷健二、山本直樹、本多三男]

BCG をベクターに用いたエイズワクチンの開発

SIV gag 全遺伝子を組み込んだ組み換え型 BCG (rBCG-SIV Gag) の免疫誘導能の解析

rBCG-SIV Gag の免疫誘導能についてモルモットを用いて解析した。0.1 mg 皮内接種 1 回または 80 mg 経口投与 2 回のいずれかで免疫したところ、両免疫群で PPD および Gag p27 に対する DTH 反応が観察された。Gag に対する DTH 反応は免疫 50 週後でも安定して誘導された。免疫後 20 週目に細胞増殖試験を行なったところ、両群由来の PBMC で PPD、Gag 特異的な反応が検出された。免疫後 50

週目に抗原特異的な IFN γ の発現亢進を real-time RT-PCR 法を用いて解析した。その結果、両群から分離した PBMC および脾臓細胞で PPD、Gag 特異的な IFN γ の発現亢進が検出された。しかしながら、両群の iEL, LPL においては、それらの反応は認められなかった。また、両群共に PPD、Gag 特異的な血清 IgG 抗体価が高く維持されていた。これらの結果は、rBCG-SIV Gag はウイルス抗原特異的な細胞性および液性免疫反応を長期にわたり誘導・維持できることを示す。この候補ワクチンの粘膜免疫誘導能は、今後更に検討が必要である。

[川原守、本多三男]

HIV-1 subtypeB 由来 Gag 蛋白質を発現する組み換えワクシニアウイルス DIs 株 (rDIs-gagB) によるサルでの免疫誘導能の解析

rDIs-gagB の免疫誘導能をカニクイザルを用いて詳細に解析した。 10^6 pfu を 2 回 i.v. 投与した後、Gag 特異的細胞性免疫誘導を調べた所、リンパ球増殖反応、Cr リリースによる CTL 反応、IFN- ELISPOT 反応のいずれも陽性で、ELISPOT 陽性細胞数は、防御免疫に必要なレベルまで達していた。今後、AIDS 治療ワクチンへの応用を視野に入れ、env, pol 遺伝子の導入を検討する。

[松尾和浩、泉泰之、浜野隆一、網康至 (動物管理室)、本多三男]

サブタイプ E 型 HIVgag を発現するリコンビナント DIs の細胞性免疫誘導及び安全性の評価

BCG 及び弱毒化ワクシニア DIs 株をベクターとして、クレイド E 型 HIVgag を発現する組み替えワクチン (rBCG/SIVgag 及び rDIs/SIVgag) を構築し、その有用性及び安全性についてカニクイザルを用いて解析した。

rBCG/HIVgagE (oral 80mg または i.d. 0.1mg ~ 10mg) で priming し、rDIs/HIVgagE (10^7 PFU) で boost した。IFN- γ ELISPOT により解析した結果、コントロール群と比較して、有意な Gag 特異的細胞性免疫誘導が認められた。詳細な解析は引き続き解析中である。

また、この組み換えワクチンを過剰量 (rBCG/HIVgagE; oral-800mg, i.d.-50mg, rDIs/HIVgagE; i.d.- 10^8 PFU) 接種したが、顕著な血液学的、病理学的変化は認められず、安全性の見通しが立った。

[泉泰之、本多三男]

HIV-1 由来 gp120、gp41 を発現する組み換えワクシニアウイルス DIs 株の構築

HIV-1 由来の envelope をターゲットとした候補ワクチンの一つとして、gp120、gp41 を各々発現する組み換えワクシニアウイルス DIs (rDIs) 株の構築を検討した。PCR で増

幅した gp120、gp41 遺伝子を DIs 組み換え用ベクターにクローニングし、rDIs-LacZ 感染 chick embryo fibroblast (CEF) 初代培養細胞にトランスフェクション後、X-gal 含有寒天培地上で組み換えウイルスを選択した。クローニングしたウイルスについて CEF での発現を現在確認中であり、発現株が得られ次第マウスでの免疫応答を解析する予定である。

[堀端重男、松尾和浩、本多三男]

二種類の HIV 抗原を同時に発現する組み換えワクシニアウイルス DIs 株の構築

様々な HLA ハプロタイプで抗原提示可能な CTL エピトープをワクシニアウイルス DIs 株に組み込むためには単一のプラスミドに複数の抗原発現ユニットを導入することが必要となる。今回、SIVmac 由来の Gag 抗原と HIV-1 由来の gp120、gp41 抗原を Gag-gp120、Gag-gp41、gp120-gp41 という組み合わせでその両方の遺伝子を単一の DIs 組み換え用ベクターにクローニングし、DIs 株での発現を検討した。Gag 抗原については感染細胞上において発現が確認できたが、二種類の抗原を組み込んだ場合の抗原の発現強度、抗原の発現に関して現在検討中である。

[堀端重男、松尾和浩、本多三男]

リコンビナントワクシニアウイルスワクチン (rDIs-SIVgag-pol) によるマウスでの経鼻免疫による免疫能の検討

天然痘ワクチンは従来皮内接種で行われてきており、rDIs-SIVgag-pol も皮内接種により全身性免疫が誘導できることが既に確認されている。しかし、HIV 感染の8割以上が性交感染であり、この感染経路の最大の防御となる粘膜面に対し rDIs-SIVgag-pol が有効であるかどうかは検討されていない。そこで、rDIs-SIVgag-pol によるマウスでの経鼻免疫による免疫能の検討を行った。rDIs-SIVgag-pol を鼻腔に免疫したマウスでは、全身性の免疫のみならず腸管、膣等に抗体産生が見られた。また、腸管上皮細胞間リンパ球で顕著な細胞障害性リンパ球が確認された。さらに、従来の皮内免疫方法と比較して有意に SIVgag 特異的免疫が誘導されていた。

[吉野直人、兼清優、染谷健二、松尾和浩、山本直樹、本多三男]

リコンビナントワクシニアウイルスワクチン (rDIs-SIVgag-pol) によるマウスでの経口免疫による免疫能の検討

rDIs-SIVgag-pol をマウスで経鼻免疫したところ、顕著な SIVgag 特異的免疫が誘導されていたため、この免疫方法と比較するため rDIs-SIVgag-pol によるマウスでの経口免疫による免疫能の検討を行った。rDIs-SIVgag-pol を鼻腔に免疫したマウスでは、全身性の免疫のみならず腸管、膣等に抗体産生が見られ、SIVgag 特異的ヘルパー機能も確認

できたが、いずれも同用量での経鼻免疫を行った場合と比較して特異的免疫誘導能は低かった。

[吉野直人、兼清優、染谷健二、松尾和浩、山本直樹、本多三男]

リコンビナントワクシニアウイルスワクチン (rDIs-SIVgag-pol) によるマウスでの経鼻免疫でのコレラトキシンアジュバントの有効性の検討

rDIs-SIVgag-pol をマウスで経鼻免疫したところ、顕著な SIVgag 特異的免疫が誘導されていた。この免疫能をさらに高めることを目的として、代表的な粘膜アジュバントであるコレラトキシンを用い rDIs-SIVgag-pol によるマウスでの経鼻免疫でのコレラトキシンアジュバントの有効性の検討を行った。rDIs-SIVgag-pol とコレラトキシンを併用した群では、rDIs-SIVgag-pol 単独接種群と比較して特異的抗体産生能は差がなかった。また、SIVgag 特異的ヘルパー機能は逆に rDIs-SIVgag-pol 単独接種群よりもコレラトキシンを併用した群で低かった。これは、コレラトキシンにより抗 rDIs 免疫が誘導されウイルスベクター自体が排除されたためであると推測する。

[吉野直人、兼清優、染谷健二、松尾和浩、萩原由加利 (北里研究所)、駒瀬勝啓 (北里研究所)、山本直樹、本多三男]

リコンビナントワクシニアウイルスワクチン (rDIs-SIVgag-pol) によるマウスでの経口免疫での BCG のアジュバント効果の検討

rDIs-SIVgag-pol をマウスで経口免疫したところ、SIVgag 特異的免疫が誘導されていた。この免疫能をさらに高めることを目的として、BCG の経口アジュバント効果の検討を行った。rDIs-SIVgag-pol と BCG を併用した群では、rDIs-SIVgag-pol 単独接種群と比較して血清中の特異的抗体産生能は差がなかったが、糞抽出液中の特異的抗体産生能は逆に rDIs-SIVgag-pol 単独接種群よりも BCG を併用した群で低かった。これは、BCG により抗 rDIs 免疫が誘導されウイルスベクター自体が排除されたためであると推測する。

[吉野直人、兼清優、染谷健二、松尾和浩、山本直樹、本多三男]

リコンビナントワクシニアウイルスワクチン (rDIs-SIVgag-pol) によるマウスでの経皮免疫による免疫能の検討

経皮免疫は近年、粘膜免疫を誘導する免疫方法として注目されている。しかし、これらの検討は蛋白質を抗原とした研究に限定されている。そこで、ライブウイルスベクターである rDIs-SIVgag-pol によるマウスでの経皮免疫による免疫能の検討を行った。rDIs-SIVgag-pol を経皮免疫したマウスでは、腸管、膣等に抗体産生が見られ、これらの抗体価は経鼻免疫を行ったときのマウスと同等であ

った。本研究は、アジュバントを使用せずライブウイルスベクターで顕著に特異的粘膜免疫を誘導できた世界初の成功例である。

[吉野直人、兼清優、染谷健二、松尾和浩、山本直樹、本多三男]

2. 第2世代ワクチンの開発

液性免疫志向型ワクチンの開発を V3 領域の連続免疫法により cross reactive な高力価の抗体が誘導されることを明らかにし、現在、中和能の解析中である。さらに細胞性免疫志向型ワクチンの改良を試み rBCG ワクチンがコドンの至適化によって外来性抗原の発現が増強し、免疫誘導が増強されることを明らかにした。今後の BCG をベースにしたリコンビナントワクチンの開発が急速に進むものと期待される。

組換え BCG-HIV ワクチンのコドン至適化による Low-dose 免疫法の確立

従来行われてきた組換え BCG-HIV ワクチン開発では、HIV 特異的免疫応答を誘導するのに、通常の抗結核ワクチンの 10・100 倍の投与量が必要とされてきた。そこで組換え BCG の外来抗原発現を増強させることで Low-dose 免疫による特異的免疫応答の誘導が可能か検討した。コドン改変 HIV 遺伝子を導入した組換え BCG では約 40 倍の発現増強がみられ、またマウスに免疫したところ抗結核ワクチンの場合と同等の Low-dose 免疫によって HIV 抗原特異的なリンパ球増殖応答、IFN-g 産生細胞誘導、および抗体誘導が可能であることを確認した。このコドン至適化組換え BCG ワクチンの開発は、今まで不可能とされてきた Low-dose 免疫法を確立するとともに、HIV ワクチンとしての有用性を飛躍的に高めるものであると考えられる。
[兼清優、松尾和浩、濱武牧子、山本直樹、本多三男]

HIV-1 Gag 及び V3 epitope を発現する組み換え BCG の中和抗体誘導能

CTL と中和抗体の両方を誘導できるワクチン開発を目指して、HIV subtypeE の whole Gag 抗原と V3 エピトプ (E12:12mer)- α 抗原融合蛋白質の両方を発現する単一の組み換え BCG 株 0.1mg をマウスに接種し、抗原発現、中和抗体産生能を、E12 単独発現 BCG 株と比較した。抗原発現レベル、菌の生育速度、血清 IgG の 92TH022 株中和活性とも、ほぼ同等であり、この手法で複数の抗原に対する免疫応答が得られることが示唆された。

[松尾和浩、浜野隆一、Duanthanorm Thawaranantha (NIH・Thai)、Kruavon Balachandra (NIH・Thai)、Nathanun Phoosri (NIH・Thai)、Napasawan Boonsathorn (NIH・Thai)、本多三男]

HIV-1 subtypeE の感染性分子クローンの確立

HIV-1 subtypeE のコンセンサスに極めて近い配列を持つ 92TH022 をベースに、gag p17 領域を種々の臨床株由来の

配列と置換することにより、MAGIC5 細胞に感染性を持つ分子クローンを得た。ただ、PBMC での感染性は低く、改良を検討中である。

[松尾和浩、浜野隆一、阪井弘治、本多三男]

SIV gag pol 遺伝子を組み込んだ複製欠損型ワクチニアウイルス DIs 株のウイルス学的、免疫学特性の解析

HIV 候補ワクチンとして開発が進められている複製欠損型ワクチニアウイルス DIs 株をベースとした組み換えワクチニアウイルスのウイルス学的特性の解析を行った。SIV の gag-pol 遺伝子を組み込んだワクチニアウイルス DIs 株 (rDIs-SIVgagpol) の哺乳類細胞に対する感受性と挿入遺伝子産物の発現を確認するために BHK-21 及び RK-13 細胞を用いて経時的な感染価測定と蛍光抗体法ならびに ELISA による遺伝子産物の発現を調べた。その結果、rDIs-SIVgagpol はこれら細胞株で増殖できないが、外来遺伝子産物は発現させることが確認できた。組み換えによるウイルス粒子形成の影響を確認するため、培養に用いる鶏胚細胞に rDIs-SIVgagpol を感染させて電子顕微鏡による観察をおこなったところ、ワクチニアウイルス特有の形態と大きさのウイルス粒子が確認できた。さらに、マウスを用いた免疫原性の確認をおこなったところ、挿入遺伝子産物である SIV 抗原に特異的な細胞性免疫応答が誘導されていることが確認できた。

[染谷健二、泉泰之、松尾和浩、本多三男]

DNA プライム / rDIs ブーストワクチネーションで誘導された免疫能の評価

SIV gagpol 遺伝子をコードする DNA ワクチンと SIVgagpol 遺伝子を挿入した組み換えワクチニアウイルス DIs 株 (rDIs-SIVgagpol) を用いたプライム / ブーストワクチネーションによりカニクイサルに誘導された免疫能の解析を行った。DNA ワクチンまたは rDIs-SIVgagpol を単独接種した場合に比べ、プライム / ブーストワクチネーションで誘導される免疫応答は有意に強いことが確認できた。さらに病原性 SHIV チャレンジによる防御反応もそれぞれのワクチン単独接種に比べて有意に強いことが CD4⁺T 細胞数及び血漿中のウイルス量の解析から明らかとなった。

[染谷健二、網康至 (動物管理室)、泉泰之、忻克勤 (横浜市立大学)、奥田研爾 (横浜市立大学)、山本博 (富山医科薬科大学)、上坂浩実 (富山医科薬科大学)、仲宗根正、本多三男]

非ヒト霊長類モデルにおける C4/V3 ペプチドの連続免疫法による免疫誘導

近年、HIV 感染における主要な感染防御免疫として液性免疫の重要性が明らかになり、ウイルス中和抗体を誘導するワクチン開発の妥当性も明らかとなった。しかし従来の液性免疫指向型ワクチンではウイルスを広範に中和する抗体を誘導することは困難であり、新たな液性免

疫指向型ワクチンの開発が期待されている。本研究では交差反応性のウイルス中和抗体を誘導することを目的として、非ヒト霊長類モデルにおいて、ヘテロ C4/V3 ペプチドの連続免疫による免疫誘導の検討を行った。結果、免疫 4 週目以降いずれのサルにおいても血清中抗 V3 IgG 抗体が上昇し、複数の V3 に対して強い交差結合性を示した。また免疫 36 週目においても交差性抗 V3 抗体価は高いレベルで維持された。このことから C4/V3 液性免疫指向型ワクチンの有用性が明らかとなり、感染防御実験の結果が期待される。

[兼清優、吉野直人、網康至（動物管理室）、矢野明（科学院）、西澤俊樹（科学院）、山本直樹、本多三男]

C4/V3 リポペプチドワクチンの作製および免疫誘導能の評価

C4/V3 ペプチドの連続免疫することによって顕著な交差性抗 V3 結合抗体が誘導されることから、この免疫ストラテジーを応用したアジュバントフリーのワクチン開発を検討した。ペプチド自身の抗原性を増強させ、さらなるアジュバントの添加を必要としないことを目的として、ペプチド末端にパルミチン酸を付加した C4/V3 リポペプチドを作製した。作製したリポペプチドをマウスに免疫したところ、腹腔、皮下投与のいずれの群においてもリポペプチド単独での特異的抗体誘導は低く、アジュバントを併用した群においてもパルミチン酸非付加ペプチドの場合と比較して同等であった。これは付加した脂肪酸が単一のパルミチン酸であったため十分なアジュバント効果が得られなかったものと推測される。

[兼清優、吉野直人、矢野明（科学院）、西澤俊樹（科学院）、西島正弘（細胞化学部）、山本直樹、本多三男]

II. 抗エイズ候補物質の開発

中和抗体を能動免疫によって *in vivo* で機能するレベルまで上昇させることは現在のところ不可能であるので受動免疫による中和抗体療法を検討した。これまで中和抗体としての抗 V3 抗体は型特异的であり、HIV のような変異性に富むウイルスの制御に関しては臨床応用が不可能であった。これらの課題に関して多くの研究室で cross reactive な抗体の産生の試みがなされている。しかし、現在のところその抗体を産生することができるのは化血研で開発された Sequential Immunization による方法のみである。この方法によって免疫された動物より得られるモノクローナル抗体遺伝子をヒト型化して臨床応用を目的とした受動免疫用の中和抗体が化血研で開発された。その防御免疫能を *in vitro* 及び *in vivo* で解析し、以下に示すように広範な primary isolate の中和能を有することが明らかとなった。さらにサルによる評価で病原性ウイルスの感染を完全に防御した。これらの結果から現在米国で Phase IB Trial を行う準備が完了しつつある。

1. HIV-1 の接着、侵入機構の解析

目的：現在まで、GPGR に対する m-Ab、KD-247 が T-tropic のみならず、中和されにくいとされる M-tropic の primary isolate も中和可能であることが分かった。この Ab を用いた場合、virus の接着をどの程度阻止できるか、またどの程度の時間で virus は細胞に接着するかを検討した。方法：virus を Ab の存在下、または非存在下で細胞に 10 ~ 60 分間感染させ、その後 virus を洗浄除去してから、一方は細胞を 3%トリプシンで破壊し P24 を測定し、もう一方はさらに 1 週間培養を続け上清中の P24 を ELISA で測定した。結果：細胞上の P24 値は、Ab の有無とは無関係であった。侵入に関しては、培養 1 週間後の P24 値は Ab 存在下の方が非存在下の場合よりも 20-60 分の感染時間では 95%以上、10 分では 90%低下した。これらの結果より、Ab は free の virus と結合し、その複合体は細胞に接着はするが侵入はしないか、または virus が細胞に非特異的に過結合するため、Ab が free の virus を阻害することを目隠ししている可能性が示された。

[滝澤万里、村上利夫（化学及び血清療法研究所）、前田敏宏（化学及び血清療法研究所）、本多三男]

2. *In vitro* における mAb-KD-247 の抑制機序

KD-247 は HIV の env 内 V3 領域内の GPGR エピトプを認識するモノクローナル抗体である。昨年度に続き、この KD-247 の virus 抑制効果を検討した。Virus が細胞に接着後、侵入する前に KD247 を加えた場合の抑制効果を、TCLA、Primary isolate virus(Pi)、また tropism の違いにより比較した。細胞が virus との接着のみで侵入が起こらないように、反応は 4 で行った。用いた virus は、JRCSF(R5,Pi)、92Th014(R5,Pi)、MNP(X4,Pi)、MN(X4,TCLA)および PAS(R5,TCLA) の 5 種類であった。結果は、virus が細胞に接着する前に KD-247 を加えた場合に比べ、接着後に加えた方が、やや低いもののすべての virus で中和効果が認められた。TCLA、Primary isolate virus(Pi)、および tropism による違いは見られなかった。これらの結果から、KD-247 は free の virus に結合するだけでなく、細胞表面に接着した virus にも結合し、感染を阻害することが示唆された。

[滝澤万里、村上利夫（化学及び血清療法研究所）、前田敏宏（化学及び血清療法研究所）、本多三男]

3. Subtype B HIV-1 感染に対して中和能をもつ KD-247 モノクローナル抗体に対するエスケープウイルス出現 ; *in vitro* 解析系の構築

KD-247 モノクローナル抗体は、Subtype B HIV-1 に対して優れた感染中和能を有し、エンベロープ V3 配列中のクラウン領域を認識する事がこれまで明かされている。こ

の一方で、SHIV 感染サルに対してこの中和抗体を静脈投与すると、数日以内にエプトープ中のアミノ酸配列が変化したエスケープミュータントウイルスが出現して大勢になる事を我々は見出した。この様なエスケープミュータントの出現様式に対する単純な *in vitro* 解析系の構築を目指した。エプトープにマッチしたアミノ酸配列を持ち初期感染ウイルスの特徴を兼ね備える JR-CSF 株を、中和抗体存在下で毎週植え継ぎ 10 週間に渡り培養した。ウイルス投与量が少ない程、また存在抗体量が多い程、ウイルス産生は抑えられた。今後は、各時点のストックウイルスの配列及びコレセプター使用形質を解析し、中和抗体に対するエスケープの様式を解析したい。

[海津雅彦、網康至（動物管理室）、滝澤万里、阪井弘治、村上利夫（化学及び血清療法研究所）、江田康幸（化学及び血清療法研究所）、前田敏宏（化学及び血清療法研究所）、原敬志、仲宗根正、泉泰之、本多三男]

4 . BCG 投与の NK 機能に与える影響

我々は、現在までにモルモットの細胞表面抗原の解析を行ってきた。昨年度は、抗体を用いて lymphocyte、monocyte、granulocyte、eosinophil、および kurloff cell を含む集団について、各々の集団 5 種類に分画できることを報告した。今年度は、これらの細胞集団を sorting し、その機能を解析した。Kurloff cell を含む集団は NK 機能を有し、CD4⁺、CD8⁺、B-lymphocyte では機能は見られなかった。また、BCG 投与の影響を調べたところ、5mg IV または 0.1mg ID の投与条件で、NK 活性は対照と比較し 2 倍に上昇した。これら 2 つの条件の間には有意な差は見られなかった。以上より、通常結核ワクチンに使用されている BCG の投与条件 (0.1mg ID) では、十分な免疫効果が得られているものと考えられた。

[滝澤万里、松尾和浩、服部真一郎、本多三男]

5 . MBP (Mannose Binding Protein) の HIV-1 に対する抑制効果 1

目的：HIV の外被や PBMC の表面には多数の mannose 分子が存在する。そこで我々は、MBP を用いて mannose を block することで HIV-1 を抑制できるか検討した。方法：HIV-1 (M-tropic, Primary isolate/92Th016, JRCSF) と target cell (PBMC ならびに GOHST) を予め MBP と反応させてから両者を混合し、洗浄後 MBP を添加し、1 週間の培養後、PBMC に関しては上清中の P24 を ELISA で、また GOHST は GFP の陽性細胞率を FACS により測定した。結果：PBMC を用いた場合、MBP は濃度依存的に 92Th016 ならびに JRCSF を抑制したが、GOHST の場合は全く効果が認められなかった。target cell による抑制効果の違いについては、今後の検討課題である。

[滝澤万里、岸雄一郎（扶桑薬品工業）、本多三男]

6 . MBP (Mannose Binding Protein) の HIV-1 に対する抑制効果 2

目的：mannose が virus ならびに PBMC(target cell)の両者に存在することにより、両者とも予め MBP と結合させることで、MBP に HIV-1 を抑制する効果があることが分かった。さらに、MBP の作用機構を明らかにするために、virus の PBMC 感染前後における MBP の作用を調べた。方法：virus あるいは PBMC のどちらか一方を MBP でもう一方を medium で pre-incubation した後、両者を混合する。virus を PBMC に感染させた後に MBP を添加し、virus を洗浄除去後、再び MBP を添加し MBP 存在下で 1 週間培養を行い、上清中の P24 を測定した。結果：virus ならびに target cell の両方に MBP を加えた場合と、virus のみに加えた場合とでは MBP の効果を差が見られず、target cell のみに加えた場合に効果は低下した。また、virus 感染後に加えた場合は抑制効果が見られなかった。以上の結果から、virus の mannose を block した方が target cell の mannose を block するより効果的で、感染後では MBP に効果がないことが示唆された。
[滝澤万里、岸雄一郎（扶桑薬品工業）、本多三男]

III . HIV 感染動物モデルの開発に関する研究

1 . HIV/AIDS ワクチン開発：候補ワクチン rBCG/rDIs のブライム/ブースト法によるサルエイズモデルでの効果

我々が開発した候補ワクチン rBCG-gag と rDIs-gag の生体での防御免疫能を明らかにするため、SHIV/サル経粘膜感染エイズ発症モデルを用いて評価した。rBCG-SIVgag (10mg, 皮下接種) と rDIs-SIVgag (10⁶pfu, 静脈接種) を用い、それぞれ単独群 (カニクイサル各 2 頭、計 4 頭)、rDIs プライム/rBCG ブースト群 (3 頭)、rBCG プライム/rDIs ブースト群 (3 頭) に接種した。後 2 群ではプライム後 47 週目にブーストした。ブースト後 7 週目に SHIV-C2/1 KS661C (2000TCID₅₀、経直腸) を攻撃接種した。その後、経時的に末梢血 CD4 細胞数と血漿ウイルス量を測定し、Naive& Vector Control 群 (3 頭) と比較検討した。

コントロール群では感染後 2 週目にウイルス量がピークに達し、4 週目以後高い Set-point viremia を持続した。末梢血 CD4 細胞数も 2 週目以後ほぼ 0 まで消失し、以後回復しなかった。感染半年後 3 頭中 1 頭が、感染 8 ヶ月後さらに 1 頭が AIDS を発症した。rBCG 単独 & rDIs 単独群でもコントロール群と同等の Viremia と CD4 細胞数消失が観察された。rDIs 単独のうち 1 頭は感染半年後に AIDS を発症した。rDIs プライム/rBCG ブースト群では、2 頭にコントロール群と同等の Viremia と CD4 細胞数消失が観察されたが、残り 1 頭では同等の Viremia を呈するにも関わらず、感染 10 週目以後 CD4 細胞の中等度回復 (300 ~ 800/μl) が見られた。この 1 頭は観察期間中 AIDS を発症しなかった。

一方で先の2頭は、感染後8ヶ月と10ヶ月で相次いでAIDSを発症した。rBCG プライム/rDIs ブースト群では、コントロール群と比較して若干低い Peak viremia を呈した後、2頭は血漿中からウイルスが消失(検出感度以下)した。この2頭は感染後のCD4消失が一過性で、感染10週目以後300~900/ μ l を維持し、感染1年9ヶ月後の現在までAIDSを発症していない。残り1頭は、コントロール群と同等の Set-point viremia とCD4細胞消失が観察されたが、感染後1年5ヶ月までAIDSを発症しなかった。rBCG プライム/rDIs ブースト群と他群(失血死症例を除外)について、生存曲線で比べると明らかにrBCG プライム/rDIs ブースト群に延命効果が確認された。

以上より、完全防御は得られなかったが、rBCG プライム/rDIs ブースト群において血漿中ウイルスの消失、末梢血CD4細胞の維持および生存率の改善が確認されたことから、同群には明らかに感染抑制効果が認められた。[仲宗根正、泉泰之、松尾和浩、染谷健二、兼清優、浜野隆一、堀端重男、吉野直人、原敬志、滝澤万理、川原守、海津雅彦、浜武牧子、阪井弘治、山本直樹、本多三男、科学技術振興事業団、網康至(動物管理室)、篠原克明(バイオセーフティ管理室)]

2. サルAIDSモデルにおける感染進行と血中IL-18レベルとの相関解析

AIDS ワクチン開発のためには、AIDS ウイルスの感染初期に起こる現象を多角的に知る必要がある。その一環として、種々の Simian/human immunodeficiency virus (SHIV) を感染させたサル AIDS モデル(合計9頭)において感染初期の血中レベルが大きく変動する様なサイトカイン等をスクリーニングした。この結果、IL-18がプライマリーパイレミアと同期して一過性にレベル上昇する事を見出した。この一過性上昇は、感染の病原性が高い程ピーク値が高い傾向にあった。この結果は、サンプリング難のため知見に乏しいヒトの HIV 初期感染に新視点を提供する。IL-18の病態への影響(あるいは単なる副産物か)が当面の検討課題であるが、将来的にはIL-18を標的にしたAIDS ワクチン開発も検討対象になるかもしれない。

[海津雅彦、網康至(動物管理室)、仲宗根正、佐々木裕子(細菌第二部)、泉泰之、佐藤裕徳(遺伝子解析室)、高橋栄治(バイオセーフティ管理室)、阪井弘治、篠原克明(バイオセーフティ管理室)、中西憲司(兵庫医科大学)、本多三男]

IV. 日本および他の諸国における臨床ウイルス株の分離とその病態解析

HIV ワクチン開発の方向性のモニタリングに update な野生株の遺伝子学及び生物学的な解析は必須事項となっている。本研究室では日本における HIV 感染の解析を過去16年にわたって行っており、さらにタイ国との共同研究

により野生株の解析10年間にわたって行ってきた。これらの臨床検体についてはすべて現地サイドにおける倫理委員会の承認を得て研究を行っている。

1. わが国における HIV 抗体陽性者からのウイルス分離とその特性解析

1988年より HIV 抗体陽性者からのウイルス分離を行っており、今年度の検体数は148検体(hemophilia: 121検体・その他の感染: 27検体、陽性検体: 26)で2003年6月時点で3854検体(hemophilia: 2717検体・その他の感染: 1137検体、陽性検体: 824)に達した。これらのサンプルは血漿成分、細胞成分、それらDNA/RNAおよび分離臨床株として、レトロスペクティブな解析のためにセットで保管されており、国内の研究者の要望に応じて分与されている。その結果は抗エイズワクチンの開発および感染者の治療指針の確立のための資料として役立てられている。[仲宗根正、滝澤万里、染谷健二、海津雅彦、川原守、原敬志、吉野直人、泉泰之、本多三男]

2. 日本伝播 HIV-1 集団の遺伝子・分子生物学的解析及び分子力学的構造解析

日本に蔓延している HIV に適したワクチン開発への基礎データ蓄積を最終目的とし、日本の HIV について集団としての進化の動向を明らかにする。今年度は日本伝播 HIV の蛋白構造系統樹解析を試み、蛋白構造学的集団変異の傾向を検討した。

具体的には、まず統合計算化学システム MOE で動作する蛋白構造系統樹解析ソフトを開発した。次に変異原性の高さから進化研究に適しているとされる V3 部に着目し、同ソフトを用いて各種蛋白構造系統樹解析を行い次の結果を得た。

蛋白構造系統樹解析ソフトを開発した。

日本の HIV-1 Subtype B 集団は10年ほどの時間を経ても、その構造学的多様性は決まった傾向を持たずに推移していることが示唆された。

蛋白構造系統樹解析法がウイルス進化を構造学的に追究できる新たな手法となり得る可能性が示唆された。

しかしながら、本手法の信頼性について今後の十分な検証が必要である。

[仲宗根正、原敬志、本多三男]

3. HIV-1 subtype C virus molecular clone の full genome sequence の解析

我が研究グループは clade E ワクチンの構築の礎を生かし、アフリカにおいて最も dominant な clade C をターゲットとしたワクチンを構築するため、Zambia の HIV 感染者より分離された virus の infectious な molecular clone を作成し、後の

動物を用いたワクチンの評価系に応用したいと考えている。またこの clone の full genome sequence を primer walking 法により解析することにより、HIV の genome のどの部位が感染性に関与しているのかを検討している。現在までに HIV 感染者 4 人から分離された 5 つの infectious clone の全塩基配列を明らかにしており、今後更なる人数の HIV 感染者における HIV genome を解析することにより、clade C ワクチン開発に大きく貢献できると考える。

[原敬志、巽正志（獣医科学部）、本多三男]

4. タイ北部地域における HIV 陽性患者検体の解析

タイ国 HIV 垂直感染における防御因子としての IL-16
タイ国北部地域の HIV 陽性患者コホートにおいて、母子感染検体を検索し、母親・臍帯血の IL-16 level は垂直感染成立グループよりも非成立グループの方が有意に低い結果となった。このことから、IL-16 が HIV の垂直感染の防御因子と成りうる可能性が示唆された。in vitro で IL-16 がウイルス増殖にどのように関与しているのかを検討した。IL-16 を前処理した PHS-blast に CBMC より分離した母親由来の HIV を感作し、37 で 2 週間培養し、培養上清中の p24 抗原量を測定したところ IL-16 は濃度依存的に HIV の増殖を抑制する結果となった。このことから、IL-16 は垂直感染 HIV 防御の因子の 1 つである可能性が示唆された。

[原敬志、仲宗根正、浜野隆一、早川智（日大・医学部）、Tawee Chotpitayasonndh（Queen Sirikit National Institute of Child Health）、Pajit Warachit（NIH・Thai）、本多三男]

タイ北部地域における HIV 陽性患者検体の解析

タイ北部地域における HIV 陽性、陰性麻薬常習者(Drug User; DU)および性感染患者(Heterosexual; HS)の解析を継続して行った。今年度(4月~11月)の HIV-1 陽性検体数は 105 検体 (follow up 含む) であった。それぞれの検体に対して臨床学および遺伝学的 (CD4&8 counts, viral load, p24 antigen ELISA, western blotting, virus isolation, env-V3, tat and gag p17 region sequence) 解析を行った。env-V3, gag p17 region の解析から同地域の subtype は DU で 88%、HS で 97% が CRF01_AE であり、その他として subtype B' および B が確認され、CRF01_AE が predominant である事が示唆された。また同地域における新規感染は HS で 1 人のみであった。新規感染率が更に低下して来ており HIV/AIDS ワクチン治験の cohort 地設定に関しては周辺国を含めて考慮する必要がある。

[浜野隆一、Pathom Sawanpanyalert (NIH・Thai)、Pajit Warachit (NIH・Thai)、野内英樹（結核研究所）、松尾和浩、原敬志、Sompong Sapsutthipas (JST)、本多三男]

5. 母子感染解析

HIV 陽性の、母親 40 人、さい帯血 40 人および乳幼児 61

人 (follow up 含む) における臨床学的および細胞表面マーカーの解析を行った。anti-retrovirus drug (AZT およびネビラピン) 使用により母子感染率は前年度の約 7% より更に低下し乳幼児の mortality も同様に低下した。また、幼児の細胞表面抗原解析において、CD8+CD28-, CD38+, CD95+ cell で mean 3 months の HIV-1 陽性児と陰性児との間に有意差が見られた。

[浜野隆一、Tawee Chotpitayasonndh (Queen Sirikit National Institute of Child Health)、Naris Waranawat (Queen Sirikit National Institute of Child Health)、Pajit Warachit (NIH・Thai)、Warunee Punpanich (Rajavithi Hospital)、Wirnol Siriwasin (Rajavithi Hospital)、松尾和浩、仲宗根正、原敬志、Sompong Sapsutthipas (JST)、Jurairat Promjai (JST)、本多三男]

6. 細胞性免疫の解析

上記 DU を対象とした vaccine strain gag overlapping peptides に対する細胞性免疫の解析を ELISPOT assay を用いて行った。HIV-1 seropositive DU は、20 人中 3 人 (15%) が反応を示さなかったが 85% は良好な反応性を示した。HLA 解析は現在解析中で CTL epitope の同定には現段階では至っていない。また、15 HIV-1 seronegative DUs についても 10 DUs (67%) で同様に反応を示す症例があり HIV-1 抵抗性を持つ DU の存在が示唆された。同様に HIV-1 陽性母親から産まれた生後平均 16 ヶ月の 30 HIV-1 seronegative infants についても 19 infants (63%) において gag peptides に対して反応を示した。これらの反応を示す DU および infants は過去に HIV-1 に expose したことが示唆される。

[浜野隆一、Tawee Chotpitayasonndh (Queen Sirikit National Institute of Child Health)、Naris Waranawat (Queen Sirikit National Institute of Child Health)、Pathom Sawanpanyalert (NIH・Thai)、Pajit Warachit (NIH・Thai)、野内英樹（結核研究所）、松尾和浩、原敬志、Sompong Sapsutthipas (JST)、Jurairat Promjai (JST)、本多三男]

V. HIV 感染症統合データベースの開発

エイズワクチン開発に重要な情報をデータベース(DB)化して公開(一部制限)し、HIV 関連研究者に活用してもらうことを目的として HIV 感染症統合データベース(略名: HIV-DB、URL: <https://aids.nih.go.jp>) を構築した。

本 DB では、国立感染症研究所・エイズ研究センターにおいて 1989 年から解析中の日本およびタイ国 HIV 感染者からのウイルス分離結果、遺伝子配列、蛋白構造情報などのウイルス遺伝子生物学的情報に加えて、臨床データを時系列に管理・検索可能となる統合 DB を構築し WEB 上で提供する。

DB 内容は、平成 15 年 3 月末現在、DDBJ の HIV 遺伝子 DB (82,447 件) に加えて、提供 HIV 感染者 572、ウイルス分離解析数 3217、C2V3 遺伝子解析数 361、V3 部蛋白構造解

析数 269(PDB 形式)、対応臨床データ(生年、性別、CD4 細胞数、ウイルス量、薬剤履歴、その他)からなる。主機能は、DDBJ の HIV 遺伝子データに対する遺伝子同源性検索、遺伝子系統樹解析、genosubtyping、独自の division 作成機能、V3 部蛋白 3 次元構造の閲覧機能、臨床データ検索機能である。

本 DB は、研究情報データベース化事業の 1 つとして国立感染症研究所と科学技術振興事業団と共同で開発され、平成 14 年 10 月に WEB 公開された。

[仲宗根正、原敬志、染谷健二、本多三男、科学技術振興事業団]

VI. 薬剤耐性 HIV の遺伝子解析

今日、抗 HIV-1 治療薬剤はヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤(NRTI)が 6 種類、非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤(NNRTI)3 種類、プロテアーゼ阻害剤(PI)6 種類の合計 15 種類の薬剤がある。AIDS による死亡率は Highly Active Anti-Retroviral Therapy (HAART)の導入により顕著に低下した。一方で、治療薬剤の持続的な使用により薬剤に反応しなくなる薬剤耐性ウイルスの出現が NRTI、NNRTI、PI いずれにも報告され、治療を進めるうえで大きな障害として浮上して来ている。薬剤耐性変異ウイルスを検出することは適切な治療を進めるうえで重要かつ緊急な研究課題であり、我々は平成 8 年度より研究を開始し 6 年を経過している。当初 10 施設の協力で開始した追跡調査も平成 14 年度は 63 施設になり、解析を行った検体は 2002 年 12 月の時点で累積 4850 検体、995 症例である。1996 年以来薬剤耐性症例は増加の傾向が続いており、更なる追跡調査が必要と思われる。

[杉浦 互、松田昌和、千葉智子、岡野愛子、山田兼雄(聖マリアンナ医)]

VII. 血中および細胞内における抗 HIV 薬剤濃度のモニタリング研究

治療薬剤が適切に服用されているか判断するために抗 HIV 薬剤の血中濃度測定的重要性が言われている。この研究では生体内における治療薬剤の動態をより詳しく理解するために、薬剤が作用する起点となる感染細胞内における薬剤の濃度測定とその動態についての解析を試みた。平成 14 年度は細胞内濃度測定技術の確立と基本的な情報を得るためにプロテアーゼ阻害剤の濃度を HPB-M(a)、MT-2、CEM 細胞株を用いた in vitro 実験を行った。細胞数、薬剤濃度、培養温度などの各種パラメーターを変えて測定を行いその影響を探った。その結果プロテアーゼ阻害剤の細胞内薬剤濃度はあるレベルまでは添加薬剤量濃度依存的に増加し、その後プラトーに達することが明らかになった。プラトー到達までの時間は短く、2-5 分以内であった。また細胞内においてプロテアーゼ阻害剤濃度

は添加した薬剤濃度よりも数十-数百倍高い濃度で維持されており、何らかの濃縮機構が働いていることが示唆された。細胞内薬剤濃度の臨床的意義および濃縮メカニズムおよび薬剤排泄メカニズムについて解析を行っている。

[岡野愛子、杉浦 互、加藤真吾(慶応大学)、田中理恵(慶応大学)]

VIII. ウイルスの増殖活性が低下したプロテアーゼ阻害剤耐性 HIV-1 の病態解析

平成 13 年度に我々は、プロテアーゼ阻害剤耐性を獲得し、ウイルス増殖能力が低下したウイルスにおいて、プロテアーゼの基質である gag に集積されてくる切断部位変異(cleavage site mutation CSM)と CSM 以外の部位に集積してくる変異(non-CSM)が共同してウイルスの増殖能力の回復に作用することを明らかにした。平成 14 年度はウイルスの増殖能力の低下が宿主細胞内での粒子形成にどのような影響を及ぼしているかを形態学的、組織学的に解析した。その結果、増殖能力の低下したウイルスでは細胞内における gag タンパクの輸送が障害されていることが明らかになった。

[Lay Myint、松田昌和、千葉智子、松田善衛、駒野 淳、杉浦 互]

IX. 相同組み換えによる患者由来ウイルス再構築のためのベクターの作成

患者生体内のウイルスの性質や薬剤感受性などを把握するためにはウイルスを回収することが不可欠である。採血後数日経ってしまったような条件の良い血液検体からもウイルスを効率よく回収するために、相同組み換えを利用したウイルス再構築技術の開発を行った。わが国ではサブタイプ B と CRF01_AE が多いことから、それぞれについてベクターを作成した。サブタイプ B 用のベクターは HXB2 を基本骨格に、pol 遺伝子を欠損させたもの(HRV3)と pol 遺伝子に加えて、gag の p6 から p24 までも併せて欠損させたもの(HRV5)を作成した。CRF01_AE 用のベクターは NH1 株を元にサブタイプ B 同様に HRV3E と HRV5E を作成した。HRV3、HRV5、HRV3E そして HRV5E それぞれについて遺伝子導入後逆転写酵素活性ピーク達成までの日数の比較を行った。ベクターの元となった親株同士を比較すると HXB2 の 9.1 日に対し NH1 は 16.5 日と NH1 において 7.4 日の遅延が認められた($p < 0.0001$)。相同組み換えになると HXB2 ベクターの場合 HRV3 で 18.4 日、HRV5 で 16.4 日目にピークが観察され、親株 HXB2 より約 1 週間の遅延が認められた。NH1 ベクターの場合も HRV3E で 23.9 日 HRV5E では 24.3 日と親株 NH1 より約 1 週間の遅延が認められた。相同組み換えでの遅延は相同組み換え効率に依存するものと考えら得る。NH1 ベクターの

場合、親株自体の増殖が遅いこともありウイルス回収まで4週間近く必要とするものもあり、今後より迅速に回収するための改良が必要と考えられた。またウイルス回収率の点においてもサブタイプB感染症例からのHXB2ベクターによる回収率に比してサブタイプE感染症例からのNH1ベクターによる回収率は低くこの点においても更なる改良が必要と考えられた。

[松田昌和、千葉智子、杉浦 互]

X. HIV-1 感染力価を迅速に測定するT細胞系のレポーター細胞株の樹立と実用化

感染性のウイルスを用いて薬剤感受性検査を行うには、感度の高い感染宿主細胞が必須である。我々は平成13年度までにヒトT細胞由来の細胞株HPB-M(a)細胞にLTR制御のレポーター遺伝子(EGFP、RFP、firefly luciferase)を組み込み、HIV-1の発現量を定量する新たな細胞株の樹立に成功した。光を発する細胞数はウイルスの感染力価との相関を示し、またfirefly luciferaseを組み込んだ細胞で産生されたluciferase活性はp24抗原量で評価したウイルス量と相関した。平成14年度は測定精度を高めるために細胞数の補正ができるようにLTRで制御されていないレポーター遺伝子(renilla luciferase)を組み込んだ。その結果より再現性の高いデータを得ることができるようになった。

[千葉智子、滝沢真理、松田昌和、松田善衛、本多三男、杉浦 互]

XI. AZT 耐性 CRF01_AE(サブタイプE)HIV-1 ウイルスの簡便検出法の開発

AZTは、母子感染予防などの目的で、近年発展途上国においても広く用いられるようになり、将来AZT耐性株の流行が憂慮される。平成13年度までに変異分離型PCR(MS-PCR)の原理を応用、東南アジアに流行するCRF01_AEのAZT耐性変異であるM41LおよびK70R変異を特異的かつ簡便・敏速に検出するPCR法を開発したが、平成14年度は同じ手法を用いて新たに3TC耐性変異M184Vを検出する方法を確立した。この方法では患者血漿中耐性変異株の割合が10%程度であっても検出可能であり、また従来のシーケンス法と高い一致率を示した。今後耐性株の流行モニタリングに寄与することが期待される。

[レイ・ミント、有吉紅也、松田昌和、千葉智子、杉浦 互、シリバン・センアローン(タイ国立衛生研究所)、パニータ・パチバニッチ(タイ、ランパン県病院)]

XII. AZT 耐性 CRF01_AE(サブタイプE)HIV-1 ウイルスの薬剤耐性変異の解析

HIV感染者の90%以上が生活する発展途上国ではサブ

タイプBは必ずしも主流な流行株ではなく、むしろそれ以外のサブタイプが流行の大半を占めている。発展途上国では抗HIV薬剤は経済的な理由からほとんど使用されていなかった。しかしながら近年generic medicineの使用が認められ、薬剤治療が行われるようになると、発展途上国においても薬剤耐性ウイルスの問題が浮上してきた。今まで薬剤耐性研究はサブタイプBを中心に行われてきたが、サブタイプBの研究を中心に得られてきた薬剤耐性に関する知見がそのままnon-Bにも当てはめることができるのか明確ではない。この研究ではnon-Bにおける薬剤耐性の理解を深めるために、わが国でnon-Bとして最も多いサブタイプEの薬剤耐性変異パターンをサブタイプBのパターンと比較解析した。その結果サブタイプEではnelfinavirに対する耐性変異が異なっていることが明らかになった。サブタイプBではD30N変異を獲得することが多いのに対してEではD30Nを取る確率は低く、代わりにN88Sが獲得されることが明らかになった。

[有吉紅也、松田昌和、千葉智子、三浦秀佳、建石幸子、杉浦 互]

XIII. 薬剤耐性 HIV-1 の分子進化解析

薬剤耐性変異が生体内でどのように選択進化していくか解明することは薬剤耐性の病態を理解するうえで重要である。共同研究者の田中 博らは同一個体から採取したウイルスの連続サンプルから、HIVなどの病原性ウイルスの宿主内での進化プロセスを推測できる新しい計算方法「Sequential-linking アルゴリズム」を開発した。この方法では中立進化的な分子系統樹解析法と異なり、宿主との相互作用による正の淘汰進化の効果(多様化及び加速進化)を評価でき、ウイルス進化によく認められる準種の絶滅や復帰変異も扱えることが可能である。この方法をプロテアーゼ耐性変異の進化解析に適応した結果、HIV-1配列の間の系統関係を示しただけではなく、薬剤耐性の宿主内進化、薬剤治療との相関、治療により正の淘汰進化が働いた箇所の同定が可能であった。

[杉浦 互、松田昌和、千葉智子、柿澤淳子、田中 博(東京医科歯科情報)、任 鳳蓉(東京医科歯科情報)]

XIV. 新たな HIV-1 感染症治療薬剤の開発

薬剤耐性を獲得したために治療困難に陥った症例を救済するためには新たな治療薬剤、あるいは今までとはまったく異なる作用機序をもつ薬剤を開発する必要がある。この研究では既存のプロテアーゼ阻害剤に対して耐性を獲得したウイルスを標的にして感受性のある阻害物質、あるいは増殖能力の低下したウイルスを選択できるような阻害物質の開発と、新たに遺伝子組み込み酵素を標的にしたウイルス阻害物質の開発を目指し、合成化合物ライブラリーのスクリーニングを行なった。平成14年度は

エイズ研究センター

12000 個の化合物ライブラリーについてプロテアーゼ阻害剤、インテグラーゼ阻害剤、ケモカインレセプター阻害剤の探索が終了した。その結果プロテアーゼ阻害剤、インテグラーゼ阻害剤、そして侵入阻害剤それぞれ 13、24、10 個の合計 47 個の候補物質を見出した。

[巖 華、杉浦 互、松田善衛、横幕能行、田中晴雄（北里大学）、千葉治美（北里大学）、野村伸彦（富山化学工業株式会社総合研究所）]

XV. 抗 HIV-1 薬剤の動態に関する宿主因子多型の解析

薬剤の吸収代謝には種々の代謝酵素、膜タンパク分子が関与している。近年ヒトゲノム解析の進展に伴い、これらのたんぱく質をコードする遺伝子の特定部位に点変異が存在し（single nucleotide polymorphism: SNP）、特定の点変異と特定の薬剤の薬効が密接に関連していることが明らかになりつつある。この研究ではプロテアーゼ阻害剤の吸収に関与するとされている MDR-1 (p-glycoprotein) の SNP と薬剤濃度、そして治療効果との関連を明らかにすることを目的とする。平成 14 年度は健康人 25 名および同意の取れた感染者 32 名について MDR-1 イントロン内の 3 箇所の SNP 解析を終了した。

[柿澤淳子、守谷研二、杉浦 互、北村義浩（東大医科学研究所）]

XVI. マカクザルに異なった病態を惹起する病原性 SHIV の比較解析

SHIV-89.6P clone64 (Clone64) ウイルスは、接種ザルに強度のウイルス血症を起こすにも拘わらず、強毒性 SHIV-C2/1 とは異なり、感染初期の CD4 陽性細胞の減少は一過性に止まり、3 年以上の経過観察でもエイズ様症状は引き起こさない。本研究では、昨年度に引き続き、Clone64 が惹起する特異的病態の原因となるウイルス側の遺伝的要因を明らかにするために、SHIV-C2/1 との組換えウイルスを作製し、培養細胞における性状解析を行った。その結果、単位ウイルス抗原量当りの感染価を数十倍増強させる変異が env 領域に存在することが特定された。これとは独立に、ウイルス産生量をやや増強させる変異がゲノム 5'半分に存在することが示唆された。

[阪井弘治、篠原克明（バイオセーフティ管理室）、高橋栄治（バイオセーフティ管理室）、Iouri L. Kozyrev（京都大学ウイルス研究所）、三浦智行（京都大学ウイルス研究所）]

XVII. Nevirapin および 3TC 耐性 CRF01_AEHIV-1 ウイルスの簡便検出法の開発

タイ政府が生産を開始したジェネリック薬 GPOvir (d4T/3TC/Nevirapin 合剤)の普及に伴い、Nevirapine, 3TC に対

する耐性 HIV-1 株の流行が憂慮される。そこで、変異分離型 PCR (MS-PCR)の原理を応用、Nevirapine 耐性変異 K103V および 3TC 耐性変異 M184V を特異的かつ簡便・敏速に検出する PCR 法の開発を試みている。この方法は、従来のシーケンス法と比べ安価で、高度な機材を要しないことから、今後発展途上国における耐性株の流行モニタリングに寄与することが期待される。

[レイ・ミント、有吉紅也、松田昌和、杉浦 互、シリバン・センアローン（タイ国立衛生研究所）、ワタナ・オウワニット（タイ国立衛生研究所）]

XVIII. 北タイにおける HIV コホート研究の開発

平成 12 年 7 月より、国際協力事業団の協力を得、タイ政府保健省との共同で、タイ北部ランパン県病院に、HIV 感染者並びに配偶者対象にコホート研究を立ち上げた。平成 14 年 10 月時点で、計 862 名が参加、92%以上の追跡率を維持され、また、患者検体が分離・保存されている。同研究は、HIV 伝播・エイズ進行に影響する遺伝子・免疫因子探求などの基礎研究や日和見感染研究に役立っており、同時にタイ国内研究者育成につながっている。

[有吉紅也、パトム・サワンパンヤラート（タイ国立衛生研究所）、パニータ・パチパニッチ（タイ、ランパン県病院）]

XIX. サルモデルによる HIV-1 Nef 蛋白の機能解析研究

HIV-1 のアクセサリー蛋白の一つである Nef は、MHC クラス I 分子および CD4 分子の細胞表面への発現抑制（downregulation）や、T リンパ球の活性化などの作用があり、HIV-1 の病原性に深く関わるとされている。Nef の病原性に与える影響を検討することを目的として、Nef と変異 Nef を発現する組換え SeV を作製し、マカクザルに接種し、病原性に影響を与える因子、特に MHC クラス I 分子の downregulation に対する作用の解析および抗原特異的細胞性免疫反応の解析を行っている。

[狩野宗英、中村浩美、武田明子、俣野哲朗]

XX. タイ流行株臨床検体由来 gag-pol 発現 CTL 標的細胞パネル作成の試み

本研究では新規に gag-pol 発現 HIV-1 vector 系を構築し、タイ人感染者由来 gag-pol 発現 CTL 標的細胞作成を行った。北タイランパン県病院 HIV 感染者コホート中の感染者 45 名の末梢血由来 DNA より gag-pol を含む領域を PCR 法で増幅し 135 クローンの HIV-1 発現ベクターを得た。このうち、異なる患者由来の 6 クローンで B-LCL での標的細胞作成に成功した。新規方法により臨床検体由来 gag-pol 発現ベクター作成が飛躍的に容易となった。今後、タイ臨床株由来 gag-pol 遺伝子発現 CTL 標的細胞パネルを作成し、タ

イ流行株のCTLエピト-ブ抗原発現効率の詳細な検討を行う予定である。

[横幕能行、松田善衛、有吉紅也]

XXI. HIV-1 遺伝子組換えの特異点: *in vivo* 組換え点の微細マッピング

遺伝子組換えは HIV-1 が高度のゲノム多様性を生み出す重要な要因である。しかし遺伝子組換えが、現実のフィールド株のゲノム上のどのような領域で、どのような特異性によって起こっているかは、ほとんど明らかにされていない。そこで、我々は、分布する HIV-1 株の 10-30% が組換えウイルスであるミャンマーをフィールドとして選び、フィールド株のゲノム上の組換え点の分布のマッピングによって、組換え点周辺の遺伝子配列上の特徴、組換えのホットスポットの探索を行った。その結果、組換えウイルス 10 株の *gag*-RT (2.6-kb) 領域に 2-5 個の組換え点 が同定された。Overall の組換え構造はウイルス株毎に異なるが、組換え点の詳細なマッピングの結果、組換え点のあるものは相互に共有されていることが明らかになった。組換え点の一部は、さらに中国で見いだされる組換え型流行株 (CRF) と同一であり、過去の共通の組換え現象によって生み出された可能性が示唆された。また組換え点の近傍では、Homopolymeric tract (HPT) が他の領域に比べ、1.5 倍高い頻度で検出された。HPT は逆転写反応の減速 (pausing) ・鋳型乗り換えを引き起こすことが知られているが、このような遺伝子配列が、実際のフィールド株においても組換えを誘導するホットスポットとなっている可能性が示唆される。また *gag* p17-p24 間や protease-RT 間のようなタンパク質の機能的ドメインの境界部に組換え点が見いだされることも多いことから、遺伝子組換えによるウイルスの fitness の低下を回避するような選択圧がかかっていることが推測された。

[横田侑子、上原理恵子、今村裕子、草川 茂、武部 豊]

XXII. HIV-1 サブタイプ B' の起源に関する進化学的解析

HIV-1 サブタイプ B' は、タイで最初に見いだされたアジア地域に特異的なサブタイプ B ヴァリアントである。B' は主に注射薬物乱用者ネットワークを介して急速に伝播し、また中国に分布する 2 種の組換え型流行株の構成要素ともなっている重要なウイルス株である。その由来はほとんど明らかにされていない。そこでわれわれは、タイ、ミャンマー、中国で分離した B' 7 株の全塩基配列を決定し、そのゲノム上および進化学的特徴について解析を行い、その起源について考察した。サブタイプ B' は、欧米型サブタイプ B 株とは異なるクラスターを形成され、ゲノムの多くの領域は欧米型のサブタイプ B と明確に区別される。系統樹上の分枝長および SRDT (single rate-dated

tip) 法により、B' の起源は 1980 年代後半 [1988 年 (86-89)] と推定された。プロトタイプの B' の V3 ループは、欧米型サブタイプ B では見られない GPGQ モチーフをもっており、group M の祖先型の特徴を備えていると考えられた。また中国の FPD 間のアウトブレイクが B' の強いファウンダー効果によって形成されていることを明らかにした。

[武部 豊、今村 裕子、本村和嗣、楊 栄閣、草川 茂]

XXIII. 組換えウイルス出現の前駆期としての HIV-1 共感染

組換えウイルスの生成に先立って、異なる系統のウイルスが個体に共感染している時期の存在が予測される。そこでわれわれは、組換えウイルスが絶えず新生しているミャンマー中部からの HIV-1 感染者の血漿中のウイルス種を HIV-1 ゲノムの様々な領域を増幅することによって解析し、その結果、5% 程度の頻度で、複数の系統の異なるウイルス配列が検出される例が見いだされることを明らかにした。すなわち、この地域の感染者には異なる系統の複数のウイルスに同時に感染しているケースが相当数あり、新しい組換えウイルスの出現に関して nascent な状態にあることを示した。共感染が頻繁に検出できることは、宿主免疫応答が、HIV-1 の重複感染を抑制できないことを暗示するもので、ワクチン開発の困難さを示唆するものと考えられる。

[草川茂、Kay Thi Aye、今村 裕子、本村和嗣、Min Thwe (ミャンマー保健省エイズ対策プログラム)、Hla Htut Lwin (ミャンマー保健省エイズ対策プログラム)、Myint Zaw (ミャンマー保健省エイズ対策プログラム)、武部豊]

XXIV. HIV-1 CRF08_BC 感染性分子クローンの樹立とその性状の解析

CRF08_BC は中国における急速な HIV 流行拡大の原因になっている重要なウイルス株の一つであるが、これまで、そのウイルス学および免疫学的解析はほとんどなされていない。そこで、我々は雲南省東部において分離されたウイルスから PCR 法を用いて CRF08_BC の感染性分子クローンを樹立し、その性状について解析を行なった。分離された CRF08_BC の感染性分子クローン 00CN-HH040.NX22 は PHA 刺激 PBMC で増殖能を示し、コレセプターとして CCR5 を利用する。env 蛋白に対する血清学的交差性について検討したところ、CRF08_BC とサブタイプ C との間では交差性が認められたものの、サブタイプ B との間では検出感度が悪く、交差性が低いことが示唆された。00CN-HH040.NX22 は、今後 HIV-1 流行の拡大が危惧される中国におけるサブタイプ特異的な検査試薬や将来のワクチン開発にとって有用なクローンであると考えられる。

[草川 茂、楊 栄閣、武部 豊]

エイズ研究センター

XXV. SH3モチーフを介するタンパク質間相互作用に対する新規阻害剤 (USC15A) の抗HIV-1 効果に関する解析

USC15A は、抗腫瘍効果をもつ低分子化合物として見いだされた新規物質で、その作用機序が、SH3 (sarc 相同) モチーフおよびポリプロリン・モチーフを介するタンパク質間相互作用の阻害によることが明らかにされている。一方、エイズ発症に重要な役割をもつと考えられる HIV-1 Nef タンパク質は、SH3 モチーフ (PxxP) をもち、細胞内シグナル伝達系との相互作用を介して、ウイルス増殖に有利な細胞内環境を作り出している可能性が推測されている。そこでわれわれは、USC15A の HIV-1 増殖に対する影響を調べ、その抗ウイルス剤としての可能性を検討した。その結果、USC15A は高濃度では細胞毒性を示すが、5-10 μ M の濃度で MT2 および C8166 細胞での HIV-1 増殖を 80%以上阻害した。細胞毒性を示す濃度では、MT2 細胞特有の clumping (細胞凝集) の性質が失われ、細胞が大型化する傾向が見いだされた。NL432nef(+) 株と NL432nef(-) 株の MT2 細胞での増殖に対する阻害効果には差異は認められなかった。細胞の形態変化や細胞の凝集性に影響を与えることから、細胞骨格系への影響が疑われる。USC15A は細胞毒性を示す薬剤濃度と生物学的効果が認められる濃度の幅が狭いが、ウイルス複製機構を解析する有用な研究試薬として用いることができる可能性が示された。これをリード化合物として HIV-1 により選択性が高く、より低濃度で活性を示す薬剤の開発が期待される。USC15A の HIV-1 増殖阻害機構の詳細を現在検討中である。

[草川茂、Sreenath V. Sharma、中野洋文 (協発発酵東京研究所)、上原至雅 (生物活性物質部) 武部豊]

XXVI. HIVRNA 定量のコントロールサーベイと評価

HIV ウイルス量測定法のアンプリコア HIV-1 モニターの測定精度を明らかにし、施設間での測定値を是正する目的でコントロールサーベイを 1999 年から 1 年に 1 回実施している。今年度の参加施設は標準法が 28 施設、高感度法が 28 施設、そのうち 2 法採用が 19 施設であった。当キット使用のほぼ全施設が参加したことになる。標準法および高感度法について各々 9 サンプルを配布した。全サンプルが目標値範囲内であった施設は標準法で 9 施設、高感度法で 4 施設であり、2 法とも正確な回答は 2 施設しかなかった。標準法や高感度法の測定範囲を理解していない施設が多数見られた。1 施設が陰性検体にコンタミをした。アンケート調査から、作業エリアの区分けや作業前後の消毒は実行されているが、機器のメンテナンスの不徹底がわかった。4 分の 3 の施設が測定時に何らかのトラブルを経験しており、主なトラブルは QS 吸光度の不良や機器の作動不良であった。

[吉原なみ子、福嶋浩一、坂本優子、井土美由紀 (ロシュ・ダイアグノスティック株式会社)、林邦彦 (ロシュ・ダイアグノスティック株式会社)]

XXVII. アフリカ地域における感染症サーベイランスの実態および研究協力の推進とその評価

アフリカのセンチネルサイトであるセイシェルとマダガスカルを訪問し、現地の実態調査を行った。感染症に関するセミナーを開催すると共にそれぞれの国で輸血感染症の講義および実技指導した。保健省、病院、研究所、学校を視察し、研究協力の可能性について討議した。マダガスカルには 2000 年に血液伝播ウイルスの 5 種類 (HIV, HTLV-I, HBV, HCV, Syphilis)、500 検体分の検査キット (セロディア) を供与した。初回供血者を対象にした検査が実施されており、同一検体を日本の検査結果と比較し、検査の精度および感度を検討した。今年度も同様な方法で供血者の感染症マーカーに関する実施計画するためにマダガスカルには 5 種のキットを各 500 検体分、セイシェルには HTLV-I の感染率が高いとの報告があるので HTLV-I のキットのみを 500 検体分供与し、共同研究を実施することになった。

[吉原なみ子、坂本優子、蟻田功 (国際保健医療交流センター)]

XXVIII. カンボディア国の結核患者における HIV 感染率調査

カンボディア国の 2002 年 1 月に新規登録された全結核患者を対象に HIV 検査を実施した。対象は男性 1196 名、女性 1057 名、不明 14 名の計 2267 名であった。年齢分布は 20 歳代が 13%、30 歳代、40 歳代、50 歳代が各々約 20%、50 歳代が 15%であった。カンボディア国の全国規模調査はまだ実施されることがなく、予防対策に貴重な資料である。現地で凝集法およびイムノクロマトの手動法での HIV 陽性率は約 10.2%であった。これらの検体を日本に持ち帰り、高感度法により、HIV 抗体、HBs 抗原、HCV 抗体、HTLV-1 と梅毒の検査および HIV 陽性者のサブタイプを解析中である。

[吉原なみ子、坂本優子]

XXIX. 生分解性ポリマーを用いたバイオヒト皮膚モデルにおける HIV-1 検出法の検討

生分解性ポリマーとヒト皮膚繊維芽細胞からヒト皮膚モデルを作成し、バイオ皮膚モデル製品の HIV 汚染時における細胞動態および HIV-1 検出法について検討した。5 種類のヒト皮膚モデルはポアサイズの大きいポリマーを用いた方が増殖能が良かった。OM10.1 又は MT-4 による感染細胞接種実験では、3 日目より増殖能が次第に低下し、6 日目には感染細胞未接種群よりも増殖能が低下した。

HIV-1 p24 抗原量は徐々に増加し、3日目まで OM10.1 の増殖と相関した。以上より生分解性ポリマーによるヒト皮膚モデルは、HIV-1 の検出に応用できるが、ポリマーの種類及び構造の違いにより増殖能に影響を与えるのでその点を考慮すべきであると思われた。

[鈴木寿子、土屋利江(国立医薬品食品衛生研究所)、吉原なみ子]

XXX.WHO Reference Panelによる精度管理

National Serology Reference Laboratory (NRL) の Quality Assessment Program による精度管理に参加した。NRL より 10 検体のパネル血清が配布され、当室ではこれを通常行われている方法で検査した。スクリーニング検査は Genscreen HIV-1/2 (ELISA)、Genedia HIV-1/2 MIXT PA (PA)、DAINASCREEEN HIV-1/2 (ICA) を用い、確認には LAV BLOT I(Western Blot)を用いて検査した結果、HIV-1 陽性が 6 検体、陰性は 4 検体であった。この結果は NRL の結果とも一致していた。

[福嶋浩一、吉原なみ子]

XXXI.タンザニアにおける輸血関連ウイルス検査の精度調査

2002 年にタンザニアの血液センターに集められた初回献血者 271 例の血漿において輸血関連ウイルスの感染状況の調査を行ったところ、HBsAg : 28 例(10.3%)、TP : 37 例(13.7%)、HCV : 2 例 (0.7%)、HIV-1/2 : 26 例(9.6%)、HTLV-1 : 2 例(0.7%)となった。

同検体は事前に現地でも検査が行われていたが、現地の検査は偽陽性および偽陰性が非常に多く、安全な血液の供給のためには感度・精度の高い検査法の導入、技術指導、精度管理の必要性が強く示唆された。

[坂本優子、吉原なみ子]

XXXII. 依頼検査

1. 診断薬(キット)実施状況 4キット
2. HIV 感染確認 1検体

XXXIII. HIV-1 トランスメンブレンタンパク質の構造・機能関連

HIV-1 エンベロープタンパク質のサブユニットである gp41 は膜融合に必須である。膜融合の過程は完全には明らかにされていないが、融合に際しては細胞外部分の構造変化(コイルドコイル形成)が重要でありその機構に基づいた阻害剤の開発も行われている。一方膜融合への細胞質内部分の寄与も示唆されているが膜貫通部分の寄与についてはインフルエンザウイルス等の他のウイルス

については研究が進められているが、HIV-1 については不明な点が多い。HIV-1gp41 の膜貫通部分には各クレード間でよく保存されたヘリックス-ヘリックス間相互作用モチーフと推定される GXXXG 配列が存在する。VSV-G タンパク質ではその膜融合能を低下させるグリシンに対する変異を導入しても HIV においては膜融合能の低下はみられず、gp41 膜貫通部分の変異に対する可塑性が示唆された。しかし膜貫通部分を GpA などの異種膜貫通部分と置換すると膜融合能の著明な低下がみられ、可塑性が無限ではないことが示唆された。現在異種膜貫通部分置換体において膜融合過程のどの部分が阻害されているか解析を進めている。これらの解析により HIV-1 における膜融合の分子過程が明らかにされ新たな阻害剤の開発につながる可能性がある。

[宮内浩典、駒野淳、横幕能行、杉浦互、松田善衛]

XXXIV. VLP-ELISA 法を用いた新規 HIV-1 プロテアーゼ阻害剤のスクリーニング

HIV に対する化学療法は一定の成果を収めているものの、その有効性を減弱させる薬剤耐性変異株の出現が感染者の予後を悪化させている。従って新規薬剤の開発が重要である。われわれはわれわれの研究室で開発された迅速プロテアーゼ表現型解析法(VLP-ELISA法)を用いて新たな抗 HIV 活性を持つ候補薬剤の探索を行っている。現在までに約一万種の候補化合物の一次スクリーニングを終え、二次スクリーニングを行っている。

[横幕能行、杉浦 互、松田善衛]

XXXV. プロテオーム解析(プロテオミクス)による HIV-1 感染および AIDS 発症に關与する宿主因子の解析

近年 2 次元電気泳動法と質量分析法を組み合わせたプロテオミクスの手法が進歩した。われわれはプロテオミクスの手法を適用して HIV 感染および AIDS 発症に關与する宿主タンパク質の同定を試みている。いくつかの HIV-1 ウイルスタンパク質(Vif, Vpr)と相互作用する宿主因子の検索、同定を目指して、免疫沈降用のタグを付加したそれぞれのタンパク質を恒常的に発現する T 細胞株を数種類確立した。今後それぞれのタンパク質と相互作用をする宿主因子を免疫共沈降後の質量分析によって同定することを計画している。これらの宿主因子の同定はそれぞれの遺伝子の働きをさらに深く理解することに寄与するだけでなく、新たなウイルス増殖阻害手段の開発に役立つと考えられる。

[宮内浩典、駒野淳、清水佐紀、山本直樹、松田善衛]

XXXVI. ヒト免疫不全ウイルス(HIV-1)複製初期過程の分子機序の解明

細胞内に侵入する病原微生物の一部は、Arp2/3 複合体を活性化することにより、感染を拡大させることが知られている。Arp2/3 複合体は細胞膜直下に存在する密なアクチン網の一部を構成しており、細胞の運動や endocytosis など、形態変化に伴うアクチン細胞骨格の再構成を制御している。我々は、Arp2/3 複合体の活性を阻害することにより、HIV-1 感染の効率が低下することを見出した。これは、HIV-1 が効率良く細胞に感染を成立させるためには、アクチン新生鎖合成を伴う細胞骨格の再構成が重要であることを示唆するものである。

[駒野淳、宮内浩典、松田善衛]

XXXVII. 感染における Nef 遺伝子の役割

SIVmac239 は感染によりアカゲザルに感染後 3 年以内に AIDS を発症させる。ところが Nef 遺伝子欠失変異 SIV は感染後 5 年においても AIDS 症状は観察されなかった。Nef 遺伝子の役割を知るために、主要な感染組織であるリンパ節での感染様式の解析を行った。初期感染ピーク時のリンパ節における感染細胞の同定と分布を病理学的手法により解析した。野生株ウイルス感染は Nef 遺伝子欠失変異 SIV 感染と比べウイルス感染量は数十倍高いが、リンパ節においても感染細胞数は同様に異なった。この違いは感染細胞の分布の違いによることであることが分かった。野生株ウイルス感染では感染細胞の約 80% は T 細胞領域である傍皮質領域に見られたが、Nef 遺伝子欠失変異ウイルス感染では T 細胞領域の CD4 T 細胞での感染が顕著に少なかった。T 細胞領域の CD4 陽性細胞は免疫活性化に必要なことから、エイズウイルス感染が免疫機能障害を起こす理由も Nef 遺伝子 のよる T 細胞領域 CD4 T 細胞感染によると推測された。Nef 遺伝子の in vivo 感染での役割はエイズウイルスが T 細胞領域 CD4+ T 細胞感染増殖を可能とすることであると推測された。

[杉本智恵、森 一泰]

XXXVIII. Env エイズワクチンへの糖鎖欠失変異の効果

エイズウイルスの膜表面のスパイクタンパク(Env)は多数の糖鎖に覆われている。この構造は感染宿主がウイルスに対する有効な免疫誘導の障害の原因となっていると考えられている。Env はワクチン抗原として重要なことから、糖鎖を減少させることにより有効なワクチン抗原となりうるのではないかと考え、病原性が低下した 5 個の糖鎖を欠失した変異ウイルスΔ5G の Env の防御免疫誘導能をアカゲザルを用いて調べた。比較のために野生型の Env 免疫と vector control 免疫を用いた。免疫法は DNA-prime/vaccinia-boost 法により行った。免疫による細胞性免疫、中和抗体誘導を調べた。Env 特異的 T 細胞の誘導では野生型 Env は変異 Env と比べて約 2 倍高かった。中和抗体についてはチャレンジウイルス SIVmac239、Δ5G に対

する中和抗体は検出されなかったが、中和されやすいマクロファージ指向性 SIV の中和抗体価において野生型 Env は約 6 倍高かった。SIVmac239 感染に対する効果は野生型 Env 免疫群ではすべてのサルにおいて初期感染後の感染制御が見られたのに対しΔ5G Env 免疫群では vector control 免疫群と同様の持続感染が見られた。チャレンジウイルスが SIVmac239 であったのでΔ5G に対する効果を現在調べている。現時点では糖鎖の減少は免疫の認識に対してむしろ negative に働く可能性が示唆された。

[杉本智恵、森 一泰]

XXXIX. 糖鎖欠失 SIV の新規 attenuated virus としての性質

我々が作製した Env 糖鎖欠失 SIV、Δ5G はアカゲザルに接種するとその感染が制御される。Env 糖鎖欠失はこれまでの SIV/HIV 研究では中和抗体誘導の性質を与えることが示されている。しかしながら、Δ5G 感染ザルで明らかに中和抗体が誘導されたのは 5 頭中 2 頭のみで、残りの 3 頭については細胞性免疫が優位であった。すなわち Δ5G 感染では糖鎖欠失に対して特定の免疫誘導が起きるのではないことが示された。しかしながら SIVmac239 チャレンジ感染を行ったすべての Δ5G 感染ザルはその感染を防御し、それに付随して急激な CTL の誘導が見られた。これらの結果から Δ5G は新しいカテゴリーに属す attenuated virus として機能しているのではないかと考えられた。そこで Δ5G 感染の attenuated virus としての性質を最も詳細な研究が行われている attenuated virus である Δnef 感染と比較した。peak viremia は Δ5G 感染が Δnef 感染より 10 倍高かった。慢性感染期の plasma viral load は Δnef が 10^4 レベルまでの感染を繰り返していた反面 Δ5G は検出限界以下であり、PBMC 中の viral DNA 検出でも同様の結果が示された。さらに慢性感染期の免疫誘導の解析では Δnef で Δ5G より高いウイルス特異的 T 細胞誘導が認められた。慢性感染期に持続している高い細胞性免疫活性は Δnef 感染における免疫系の傷害と関連している可能性が示唆された。実際、Δnef 感染では naive CD4+ T 細胞の減少が見られている。このように Δ5G における糖鎖欠失は live attenuated vaccine strain の条件になるかもしれない。

[杉本智恵、森 一泰]

XL. マイクロサテライト多型によるアカゲザル MHC ハプロタイプ解析

MHC 遺伝子型が統一されたアカゲザルを使うことはウイルス感染防御に有効な CTL エピトープや HTL エピトープを解析する上で極めて有用である。しかし、アカゲザル MHC と感染病態との関連についてはまだわかっていないことが多く、エイズモデルとして有用な MHC-typed サルを生産するためには MHC 遺伝子型の解析と宿主免疫応答の解析の両面から行わなければならない。アカゲザル

エイズ研究センター

MHC 遺伝子型の詳細な解析は共同研究として近畿大・医ならびに東京医歯大・難治研のグループで行われているが、サル動物実験を行う上で MHC ハプロタイプを簡便に判定することも必要である。そこで PCR と自動シーケンサーによるフラグメント解析を利用したアカゲザルのマイクロサテライト多型検出法を確立した。ヒトでは多数のマイクロサテライト多型が明らかにされており、それらを検出するための PCR プライマー情報もデータベース化されている。その中から MHC 領域に存在するマイクロサテライトマーカーに注目し、アカゲザルでも PCR で反応するマーカーを 5 つ選び出した。その 5 つのマーカーについてアカゲザルにおける多型を調べた結果、3 つのマーカー (class II 領域の D6S291、D6S1560、class I 領域の C1.2_A) がアレル特異性を示すことが明らかになった。この 3 つのマイクロサテライト多型の組み合わせにより子が親のどちらの MHC アレルを受け継いでいるかを判別することが可能になった。

[杉本智恵、森 一泰]

XLII. 共通 MHC ハプロタイプを持つ SIV 感染アカゲザルに誘導されたウイルス特異的 T 細胞エピトープと感染病態との関係

同じ種オスを父または祖父に持つアカゲザルがこれまでにいった様々な SIV 感染実験に使用されている。この中である 1 頭の種オスザル (R90-120) の子は SIV 感染を制御する傾向が見られた。そこでこれまでに感染実験に用いた R90-120 の子 9 頭に注目し、MHC ハプロタイプ解析と誘導された SIV 特異的 CTL および HTL エピトープの解析を行った。まず、DGGE による Mamu-DRB ハプロタイプ解析の結果、R90-120 は DRB*w2002/DRB*w2501 を持つハプロタイプ (便宜上 A ハプロタイプとする) と DRB1*1007 をもつハプロタイプ (便宜上 B ハプロタイプとする) を保有していることが明らかになった。そして子のうちの 7 頭は A ハプロタイプ、2 頭は B ハプロタイプを受け継いでいることが明らかになった。SIVmac239 感染を自然に制御した 2 頭のサルと delta nef 感染ザルの 1 頭は A ハプロタイプを持ち、非常に似通った HTL エピトープパターンを示した。また同じく A ハプロタイプを持つ感染後早期治療ザル 2 頭は同じ CTL エピトープを認識した。これら A ハプロタイプを持つ感染制御ザルによって認識されたエピトープの共通性から、A ハプロタイプは感染防御に関連する MHC を持つことが示唆された。A ハプロタイプを持つサルが今後繁殖を検討している MHC-typed サルの候補として挙げられた。

[杉本智恵、森 一泰]

XLIII. アフリカにおける HIVs の分子疫学および血液由来感染症の研究

アフリカの HIV-1 蔓延株とくにガーナにおける HIV-1 亜種の検討を続けており、これまでの結果、中央部および東部の検体に関してはサブタイプ A が主要株であり、また、サブタイプ D や G も検出されることを明らかにした。また HIV 感染者における性感染症 (STDs) 罹患率や免疫能に関する報告もしてきた。さらに西アフリカを中心に存在する HIV-2 についても高感度検出法を報告するとともに血清診断と遺伝子診断の関係を報告してきた。今年度は北部ガーナの検体の解析および詳細な検討を行いガーナにおける HIV-1 サブタイプはその殆どが A/G 組み換体であることが判明した。これら研究の過程で、アフリカにおける肝炎ウイルスの存在も明らかになり、G 型肝炎および TTV の遺伝子解析を行い報告するとともに健常者での高 C 型肝炎罹患率も判明してきた。そこで本年度は B 型肝炎に注目して、そのサブタイプ解析を進行中であるが、現時点で数種類のサブタイプが検出されている。[石川晃一 (エイズセンター、ガーナ野口記念医学研究所)、ガーナ野口研究所、アントワープ熱帯医学研究所、リスボン熱帯衛生医学研究所、佐多徹太郎 (感染病理部)、阿部賢治 (感染病理部)]

XLIII. HIV 母子感染介入プロジェクト

サブサハラアフリカにおける HIV の爆発的増加は男女間での性交渉によるものがメインである。近年 HIV 感染妊婦からの HIV 感染児の増加が大きな問題となっており、UNAIDS を始めとする多くの援助機関がこの母子感染介入プログラムを支援しだしているところである。しかしながらガーナにおいては未だ計画すらなく対策の遅れが危惧されていた。そこで、これまで我々が行なった妊婦の血清疫学のデータ等を元にして、ネビラピン (抗 HIV 薬) を用いた HIV 母子感染介入プロジェクトを作成しパイロットスタディーを行ないつつある。(UNAIDS および EU からのファンド)

[石川晃一、野口記念医学研究所]

XLIV. HIV サブタイプ A 型および他のサブタイプの分離、HIV 亜種解析による HIV ワクチンの開発

これまでの解析によりガーナでの主たる HIV サブタイプは HIV-1 サブタイプ A であることが我々の解析で明らかになっている。しかしながらその感染性クローンは未だ得られておらず、他のサブタイプとの比較等が出来ていない。そこでガーナ由来のサブタイプ A の感染性分子クローンを作成することを目的として 10 検体の PBMC より定法に従い分離を試みた。その結果予想に反し A/G リコンビナントのクローンが分離され、これに関しては現在詳細な解析を行なっている。また引き続きサブタイプ A のクローンも分離も試みている。また昨年度に続き各種サブタイプのアクセサリー遺伝子機能の解析を目的とし

て各 HIV-1 サブタイプの vif 発現ベクターを構築してサブタイプ間での差異を検討している。これまでに10数種類の vif 発現ベクターの構築を行っているが、サブタイプ間での顕著な違いは検出されていない。

[石川晃一、徳永研三(感染病理)野口記念医学研究所、巽正志(獣医科学部)、武部豊]

発表業績一覧

I. 誌上発表

1. 欧文発表

- 1) Ishii K, Ueda Y, Matsuo K, Matsuura Y, Kitamura T, Kato K, Izumi Y, Someya K, Ohsu T, Honda M, Miyamura T: Structural analysis of vaccinia virus Dls strain: Application as a new replication-deficient viral vector. *Virology* 302: 433-44, 2002.
- 2) Senpuku H, Asano T, Matin K, Salam MA, Tsuha Y, Horibata S, Shimazu Y, Soeno Y, Aoba T, Sata T, Hanada N, Honda M: Effects of human interleukin-18 and interleukin-12 treatment on human lymphocyte engraftment in NOD-scid mouse. *Immunology* 107: 232-42, 2002.
- 3) Yamamoto S, Yamamoto T, Nojima Y, Uemori K, Phalen S, McMurray DN, Kuramoto E, Iho S, Takauji R, Sato Y, Yamada T, Ohara N, Matsumoto S, Goto Y, Matsuo K, Tokunaga T: Discovery of immunostimulatory CpG-DNA and its application to tuberculosis vaccine development. *Jpn J Infect Dis* 55:37-44, 2002.
- 4) Balachandra K, Matsuo K, Sutthent R, Hoisanka N, Boonsarthorn N, Sawanpanyalert P, Warachit P, Yamazaki S, Honda M: Characteristic of HIV-1 in V3 loop region based on seroreactivity and amino acid sequence in Thailand. *Asian Pacific J Allergy Immunol* 20:93-98, 2002.
- 5) Kawahara M, Matsuo K, Nakasone T, Hiroi T, Kiyono H, Matsumoto S, Yamada T, Yamamoto N, Honda M: Combined intrarectal/intradermal inoculation of recombinant *Mycobacterium bacillus calmette-guérin* (BCG) induces enhanced immune responses against the inserted HIV-1 V3 antigen. *Vaccine* 21: 158-66, 2002.
- 6) Kawahara M, Nakasone T, Honda M: Dynamics of Gamma Interferon, Interleukin-12 (IL-12), IL-10, and transforming growth factor beta mRNA expression in primary *Mycobacterium bovis* BCG infection in guinea pigs measured by a real-time fluorogenic reverse transcription-PCR Assay. *Infect Immun* 70: 6614-20, 2002.
- 7) Kawahara M, Hashimoto A, Toida I, Honda M: Oral recombinant *Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin* (BCG) expressing HIV-1 antigen as a freeze-dried vaccine induces a long-term HIV-specific mucosal and systemic immunity. *Clin Immunol* 105: 326-331, 2002.
- 8) Naganawa S, Sato S, Nossik D, Takahashi K, Hara T, Tochikubo O, Kitamura K, Honda M, Nakasone T: First report of CRF03_AB recombinant HIV type 1 in injecting drug users in Ukraine. *AIDS Res Hum Retrov* 18: 1145-9, 2002.
- 9) Nakasone T, Sakai K, Ami Y, Izumi Y, Takahashi E, Sasaki Y, Takizawa M, Suzuki Y, Shinohara K, Honda M: Genetic and biological characterization of a highly pathogenic molecular clone, SHIV-C2/1 KS661. *J Med Primatol* 31: 252, 2002.
- 10) Sakae G, Hiroi T, Nakagawa Y, Someya K, Iwatani K, Sawa Y, Takahashi H, Honda M, Kunisawa J, Kiyono H: HIV mucosal vaccine: nasal immunization with gp160-encapsulated hemagglutinating virus of Japan-liposome induces antigen-specific CTLs and neutralizing antibody responses. *J Immunol* 170: 495-502, 2003.
- 11) Tsunetsugu-Yokota Y, Tamura H, Tachibana M, Ogata K, Honda M, Takemori T: Selective expansion of perforin-positive CD8+ T cells by immature dendritic cells infected with live *Bacillus Calmette-Guérin* mycobacteria. *J Leuk Biol* 72: 115-124, 2002.
- 12) Nakao R, Hanada N, Asano T, Hara T, Salam Md A, Matin K, Shimazu Y, Nakasone T, Horibata S, Aoba T, Honda M, Amagasa T, Senpuku H: Assessment of oral transmission using cell-free human immunodeficiency virus-1 in mice reconstituted with human peripheral blood leucocyte. *Immunology* 109: 271-282, 2003.
- 13) Kaizu M, Sato H, Ami Y, Izumi Y, Nakasone T, Tomita Y, Someya K, Takebe Y, Kitamura K, Tochikubo O, Honda M: Infection of macaques with an R5-tropic SHIV bearing a chimeric envelope carrying subtype E V3 loop among subtype B framework. *Arch Virol* 148: 973-988, 2003.
- 14) Sugiura W, Matsuda Z, Yokomaku Y, Hertogs K, Larder B, Oishi T, Okano A, Shiino T, Tatsumi M, Matsuda M, Abumi H, Takata N, Shirahata S, Yamada K, Yoshikura H, Nagai Y: Interference between D30N and L90M in selection and development of protease inhibitor resistant human immunodeficiency virus type-1. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 708-715, 2002.
- 15) Yagyu F, Ikeda Y, Ariyoshi K, Sugiura W, Wongkhomthong SA, Matsuda M, Ushijima H: Differentiation of subtype B and E of human immunodeficiency virus type 1 by polymerase chain reaction using novel env gene primers. *J Virol Methods* 101: 11-20, 2002.
- 16) Okano A, Matsuda M, Chiba T, Moriya K, Yamada K, Sugiura W: Discordant movement of CD4-positive T-cell count in HIV-1 infected patients with HARRT failure. *Jpn J Infect Dis* 55: 62-65, 2002.
- 17) Myint L, Ariyoshi K, Yan H, Frater AJ, Auwanit W, Pathipvanith P, Yamada K, Matsuda M, Chiba T, Fujita K, McClure M, Weber JN, Sugiura W: Mutagenically separated PCR assay for rapid detection of M41L and K70R zidovudine resistance mutations in CRF01_AE (subtype E) human immunodeficiency virus type 1. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 3861-3868, 2002.
- 18) Kobayashi N, Taguchi-Nakamura H, Goto M, Nakamura T,

- Nakamura K, Sugiura W, Iwamoto A, Kitamura Y: Polymorphisms and haplotypes of the CD209L gene and their association with the clinical courses of HIV-positive Japanese patients. *Jpn J Infect Dis* 55: 131-133, 2002.
- 19) Myint L, Matsuda M, Matsuda Z, Yokomaku Y, Chiba T, Okano A, Sugiura W: HIV-1 Gag cleavage site mutations and non-cleavage site mutations are closely related in viral fitness recovery process. *Antiviral Ther* 7: S63, 2002.
 - 20) Ariyoshi K, Matsuda M, Miura H, Yamada K, Hellmann NS, and Sugiura W: Unique drug resistant mutation patterns found in HIV-1 CRF01_AE (subtype E) with antiretroviral treatment failure. *Antiviral Ther* 7: S150, 2002.
 - 21) Saijo M, Qing T, Niikura M, Maeda A, Ikegami T, Sakai K, Prehaud C, Kurane I, Morikawa S: Immunofluorescence technique using HeLa cells expressing recombinant nucleoprotein for detection of immunoglobulin G antibodies to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *J Clin Microbiol* 40: 372-375, 2002.
 - 22) Fujita M, Sakurai A, Yoshida A, Miyaura M, Koyama AH, Sakai K, Adachi A: Amino acid residues 88 and 89 in the central hydrophilic region of human immunodeficiency virus type 1 Vif are critical for viral infectivity by enhancing the steady-state expression of Vif. *J Virol* 77: 1626-1632, 2003.
 - 23) Pathipvanich P, Ariyoshi K, Rojanawiwat A, Wongchoosie S, Yingseree P, Yoshiike K, Warachit P, Sawanpanyalert P: Survival benefit from non-highly active antiretroviral therapy in a resource-constrained setting. *J Acquir Immune Defic Syndr* 32: 157-160, 2003.
 - 24) Berry N, Jaffar S, Van Der Loeff MS, Ariyoshi K, Harding E, N'Gom PT, Dias F, Wilkins A, Ricard D, Aaby P, Tedder R, Whittle H: Low level viremia and high CD4% predict normal survival in a cohort of HIV type-2-infected villagers. *AIDS Res Hum Retrov* 18: 1167-1173, 2002.
 - 25) Schim van der Loeff MF, Jaffar S, Aveika AA, Sabally S, Corrah T, Harding E, Alabi A, Bayang A, Ariyoshi K, Whittle HC: Mortality of HIV-1, HIV-2 and HIV-1/HIV-2 dually infected patients in a clinic-based cohort in The Gambia. *AIDS* 16: 1775-1783, 2002.
 - 26) Ariyoshi K, Promadej N, Ruxruntham K, Sutthent R. Toward improved evaluation of cytotoxic T-lymphocyte (CTL)-inducing HIV vaccines in Thailand. *AIDS Res Hum Retrov* 18: 737-739, 2002
 - 27) Holmgren B, Andersson S, Harding E, van der Loeff MS, Vastrup P, Aaby P, Ariyoshi K, Whittle H: Increased prevalence of HTLV-1 among HIV-2-infected women but not HIV-2-infected men in rural Guinea-Bissau. *J Acquir Immune Defic Syndr* 30: 342-350, 2002.
 - 28) Frater AJ, Dunn DT, Beardall AJ, Ariyoshi K, Clarke JR, McClure MO, Weber JN: Comparative response of African HIV-1-infected individuals to highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 16: 1139-1146, 2002.
 - 29) Kano M, Matano T, Kato A, Shioda T, Nagai Y: Induction of HIV-1-specific neutralizing antibodies in mice vaccinated with a recombinant Sendai virus vector. *Jpn J Infect Dis* 55: 59-60, 2002.
 - 30) Matano T, Kano M, Takeda A, Nakamura H, Nomura N, Furuta Y, Shioda T, Nagai Y: No significant enhancement of protection by Tat-expressing Sendai viral vector-booster in a macaque AIDS model. *AIDS* 17: 1392-1394,
 - 31) Hashimoto K, Ono N, Tatsuo H, Minagawa H, Takeda M, Takeuchi K, Yanagi Y: SLAM (CD150)-independent measles virus entry as revealed by recombinant virus expressing green fluorescent protein. *J Virol* 76: 6743-6749, 2002.
 - 32) Takeuchi K, Takeda M, Miyajima N, Kobune F, Tanabayashi K, Tashiro M: Recombinant wild-type and edmonston strain measles viruses bearing heterologous H proteins: role of H protein in cell fusion and host cell specificity. *J Virol* 76: 4891-4900, 2002.
 - 33) Kusagawa S, Sato H, Tomita Y, Tatsumi M, Kato K, Motomura K, Yang R, Nohtomi K, Takebe Y: Isolation and characterization of replication-competent molecular DNA clone of CRF01_AE with different coreceptor usages. *AIDS Res Hum Retrov* 18: 115-122, 2002.
 - 34) Zhang C, Yang R, Xia X, Tan S, Dai J, Zhang Z, Peng Z, Wei T, Liu H, Pu D, Luo J, Takebe Y, Ben K: High prevalence of HIV-1 and HCV coinfection among injecting drug users in the southeast region of Yunnan, China. *J Acquir Immune Defic Syndr* 29: 191-196, 2002.
 - 35) Fukuda K, Tomiyama H, Wasi C, Matsuda T, Kuasagawa S, Sato H, Oka S, Takebe Y, Takiguchi M: Cytotoxic T cell recognition of HIV-1 cross-clade and clade-specific epitopes in HIV-1-infected Thais and Japanese patients. *AIDS* 16: 701-711, 2002.
 - 36) Murakami Y, Fukasawa H, Kobatake T, Yamagoe S, Takebe Y, Tobiume M, Matsuda M, Uehara Y: A mammalian two-hybrid screening system for inhibitors of interaction between HIV Nef and the cellular tyrosine kinase Hck. *Antiviral Res* 55: 161-168, 2002.
 - 37) Yang R, Xia X, Kusagawa S, Zhang C, Ben K, Takebe Y: On-going generation of multiple forms of HIV-1 intersubtype recombinants in Yunnan province of China. *AIDS* 16: 1401-1407, 2002.
 - 38) Yoshihara N: Genotype, serotype, and phylogenetic characterization of the complete genome sequence of hepatitis B virus isolates from Malawian chronic carriers of the virus. *J Med Virol* 69: 33-40, 2003.
 - 39) Iga M, Matsuda Z, Okayama A, Sugiura W, Hashida S, Morishita K, Nagai Y, Tsubouchi H: Rapid phenotypic assay for human immunodeficiency virus type 1 protease using in vitro translation. *J Virol Methods* 106: 25-37, 2002.
 - 40) Sugimoto C, Tadakuma K, Otani I, Moritoyo T, Akari H, Ono F, Yoshikawa Y, Sata T, Izumo S, Mori K: *Nef* gene is required for robust productive infection of simian immunodeficiency virus in T-cell-rich paracortex in lymph nodes. *J Virol* 77: 4169-4180, 2003.
 - 41) Villinger F, Mayne AF, Bostik P, Mori K, Jensen PE, Ahmed R,

- Ansari A: Evidence for antibody mediated enhancement of SIVgag antigen processing and cross presentation in SIV infected rhesus macaques. *J Virol* 77: 10-24, 2003.
- 42) Barnor JS, M-Kurosaki N, Yamaguchi K, Kobayasi H, Ishikawa K, Osei-Kwasi M, Ampofo WK, Ofori-Adjei D, Inagaki Y, Yamamoto N, Takaku H: Down regulation of human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) expression by Vif antisense RNA expression vectors in transfected cells. *Nucleic Acids Res Supl (Oxford Univ Press)* No.2: 123-124, 2002.
- 43) Ampofo W, Nii-Trebi N, Ansah J, Abe K, Naito H, Aidoo S, Nuvor V, Brandful J, Yamamoto N, Ofori-Adjei D, Ishikawa K: Prevalence of blood-borne infectious diseases in blood donors in Ghana. *J Clin Microbiol* 40: 3523-3525, 2002.
- 44) Begum N, Horiuchi S, Tanaka Y, Yamamoto N, Ichiyama K, Yamamoto N: New approach for generation of neutralizing antibody against human T-cell leukaemia virus type-I (HTLV-I) using phage clones. *Vaccine* 20: 1281-1289, 2002.
- 45) Chinanonwait N, Miura H, Yamamoto N, Yamaoka S: A recessive mutant cell line with a constitutive I κ B kinase activity. *FEBS Lett* 531: 553-560, 2002.
- 46) Ikenoya M, Hidaka H, Hosoya T, Suzuki M, Yamamoto N, Sasaki Y: Inhibition of rho-kinase-induced myristoylated alanine-rich C kinase substrate (MARCKS) phosphorylation in human neuronal cells by H-1152, a novel and specific Rho-kinase inhibitor. *J Neurochem* 81: 9-16, 2002.
- 47) Mori N, Sato H, Hayashibara T, Senba M, Hayashi T, Yamada Y, Kamihira S, Ikeda S, Yamasaki Y, Morikawa S, Tomonaga M, Geleziunas R, Yamamoto N: Human T-cell leukemia virus type I Tax transactivates the matrix metalloproteinase-9 gene: potential role in mediating adult T-cell leukemia invasiveness. *Blood* 99: 1341-1349, 2002.
- 48) Mori N, Yamada Y, Ikeda S, Yamasaki Y, Tsukasaki K, Tanaka Y, Tomonaga M, Yamamoto N, Fujii M: Bay 11-7082 inhibits transcription factor NF- κ B and induces apoptosis of HTLV-I-infected T-cell lines and primary adult T-cell leukemia cells. *Blood* 100: 1828-1834, 2002.
- 49) Mori N, Fujii M, Hinz M, Nakayama K, Yamada Y, Ikeda S, Yamasaki Y, Kashanchi F, Tanaka Y, Tomonaga M, Yamamoto N: Activation of cyclin D1 and D2 promoters by human T-cell leukemia virus type I tax protein is associated with IL-2-independent growth of T cells. *Int J Cancer* 99: 378-385, 2002.
- 50) Nishiyama Y, Murakami T, Shikama S, Kurita K, Yamamoto N: Anti-HIV-1 peptides derived from partial amino acid sequences of CC-Chemokine RANTES. *Bioorg Med Chem* 10: 4113-4117, 2002.
- 51) Nitta T, Igarashi K, Yamamoto N: Polyamine depletion induces apoptosis through mitochondria-mediated pathway. *Exp Cell Res* 276: 120-128, 2002.
- 52) Owen SM, Rudolph D, Schols D, Fujii N, Yamamoto N, Lal RB: Susceptibility of diverse primary HIV isolates with varying co-receptor specificity's to CXCR4 antagonistic compounds. *J Med Virol* 68: 147-155, 2002.
- 53) Saitoh T, Nakano H, Yamamoto N, Yamaoka S: Lymphotoxin-beta receptor mediates NEMO-independent NF- κ B activation. *FEBS Lett* 532: 45-51, 2002.
- 54) Tamamura H, Hiramatsu K, Miyamoto K, Omagari A, Oishi S, Nakashima H, Yamamoto N, Kuroda Y, Nakagawa T, Otaka A, Fujii N: Synthesis and evaluation of pseudopeptide analogues of a specific CXCR4 inhibitor, T140: The insertion of an (E)-alkene dipeptide isostere into the metal⁺-turn moiety. *Bioorg Med Chem Lett* 12: 923-928, 2002.
- 55) Tamamura H, Omagari A, Hiramatsu K, Oishi S, Habashita H, Kanamoto T, Gotoh K, Yamamoto N, Nakashima H, Otaka A, Fujii N: Certification of the critical importance of L-3-(2-naphthyl)alanine at position 3 of a specific CXCR4 inhibitor, T140, leads to an exploratory performance of its downsizing study. *Bioorg Med Chem* 10: 1417-1426, 2002.

2. 和文発表

- 1) 長縄聡, 泉泰之, 高橋清実, 佐藤成大, 藤崎茂巳, 藤崎恭大, 三谷満昭, 網康至, 中村正彦, 本多三男, 仲宗根正, 栃久保修, 北村勝彦: メタロエンドペプチダーゼ-F の HIV に及ぼす影響. *日本エイズ学会誌*. 5: 1-7, 2003.
- 2) 富田康浩, 横山勝, 仲宗根正, 永井美之, 佐藤裕徳: SIV Gp120 コアの機能領域に付加する糖鎖の役割. *日本エイズ学会誌*. 5: 89-91, 2003.
- 3) 本多三男: エイズワクチン. *化学と薬学の教室*. 14: 33-40, 2003.
- 4) 杉浦 互: HIV のゲノムと薬剤耐性. *現代医療*. 34(5): 153-159, 2002.
- 5) 杉浦 互: HIV 診断技術と薬物治療の発展. *ウイルス*. 52: 83-87, 2002.
- 6) 武部 豊: HIV 感染症の分子疫学: 原理とその応用. 特集「HIV/AIDS 研究の進歩」, 東京, 日本臨床社, 60(4): 652-661, 2002.
- 7) 武部 豊: ゲノム情報に基づく HIV の分子疫学. 「微生物ゲノム情報と医学・基礎と臨床」. 東京, 現代医療社, 基礎. *現代医療*. 34 (5): 1047-1059, 2002.
- 8) 武部 豊: HIV 感染症への分子疫学的アプローチ. 「HIV 感染症の基礎と臨床」. 東京, 医薬ジャーナル社, 化学療法の領域. 18 (4): 503-511, 2002.
- 9) 武部 豊: 感染症の話「エイズ(ヒト後天性免疫不全症候群)」(改訂版). *Japan IDWR (Infectious Diseases Weekly Report) 感染症週報* [厚生省ホームページ (<http://www.mhw.go.jp>)] 2002.
- 10) 武部 豊: HIV のサブタイプ「HIV Q & A」(岡慎一編) 東京, 医薬ジャーナル社, pp. 17-19, 2002.

エイズ研究センター

- 11) 吉原なみ子：IDD NEES . HIV 検査の展望と課題. デイ
ドベーリング (株) , NO.4 , 2002.
- 12) 吉原なみ子：総合臨床. HIV:HIV- 1 核酸増幅定量法.
永井書店, 52 (1): 125-129, 2003.
- 13) 吉原なみ子：Vita.HIV 感染症の初期診断からステージ
診断まで . ビー・エム・エル, 2003.

II. 学会発表

1. 国際学会

- 1) Kitamura K, Naganawa S, Sato S, Nossik D, Takahashi K, Hara T, Tochikubo O, Honda M, Nakasone T: Novel gag A/env B recombinant HIV-1 in injecting drug users in Krimskii Peninsula, Ukraine. The 14th International AIDS Conference, July 7-12, 2002, Barcelona, Spain.
- 2) Matsuo K, Nakasone T, Izumi Y, Ami Y, Ohsu T, Hamano T, Yamamoto N, Yamazaki S, Honda M: SIV Gag-expressing recombinant BCG-prime and recombinant vaccinia virus DIs strain-boost regimen evokes protective immune response in monkey. The 14th International AIDS Conference, July 7-12, 2002 Barcelona, Spain.
- 3) Nakasone T, Ami Y, Matsuo K, Izumi Y, Someya K, Nagai Y, Yamamoto N, Honda M: Priming with rBCG/SIV-gag and boosting with rDIs/SIV-gag partially protected monkeys from mucosal SHIV infection. The 12th International Viruses Congress, July 28-31, 2002, Paris, France.
- 4) Honda M, Yamazaki S, Warachit P, Chotpitayasunondh T, Yamamoto N, Thai-Japan AIDS Vaccine Project: Challenges to developing an HIV vaccine, new born baby as a final target. 1st Asian Congress of Pediatric Infectious Diseases, Nov. 10-13, 2002, Thailand.
- 5) Kaizu M: Infection of Macaques with an R5-tropic SHIV bearing a chimeric envelope carrying subtype E V3 loop among subtype B framework. International Symposium on "Research and Development of Recombinant BCG and Vaccinia Virus- Based HIV Vaccine", Feb. 5-6, 2003, Tokyo, Japan.
- 6) Kanekiyo M: Optimization of codon usage confers vigorous expression in recombinant *Mycobacterium bovis* BCG vaccine. International Symposium on "Research and Development of Recombinant BCG and Vaccinia Virus- Based HIV Vaccine", Feb. 5-6, 2003, Tokyo, Japan.
- 7) Izumi Y: Protective efficacy of attenuated vaccinia virus DIs-vector vaccine against SHIV/AIDS model. International Symposium on "Research and Development of Recombinant BCG and Vaccinia Virus- Based HIV Vaccine", Feb. 5-6, 2003, Tokyo, Japan.
- 8) Takizawa M: Neutralization effect against HIV-1 subtype E. International Symposium on "Research and Development of Recombinant BCG and Vaccinia Virus- Based HIV Vaccine", Feb. 5-6, 2003, Tokyo, Japan.
- 9) Takizawa M: Identification and characterization of novel SSC^{large}MIL4^{negative} T lymphocyte in guinea pig. International Symposium on "Research and Development of Recombinant BCG and Vaccinia Virus- Based HIV Vaccine", Feb. 5-6, 2003, Tokyo, Japan.
- 10) Honda M: Preclinic studies to determine the immunogenicity, efficacy and safety of HIV vaccine candidate. International Symposium on "Research and Development of Recombinant BCG and Vaccinia Virus- Based HIV Vaccine", Feb. 5-6, 2003, Tokyo, Japan.
- 11) Nakasone T: Prime-boost vaccination with recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette Guérin and vaccinia strain DIs elicits protective immunity against pathogenic SHIV infection in macaques. International Symposium on "Research and Development of Recombinant BCG and Vaccinia Virus- Based HIV Vaccine", Feb. 5-6, 2003, Tokyo, Japan.
- 12) Honda M, Nakasone T, Izumi Y, Matsuo K, Ami Y, Someya K, Kanekiyo M, Hamano T, Horibata S, Yoshino N, Hara T, Takizawa M, Kawahara M, Kaizu M, Hamatake M, Sakai K, Shinohara K, Yamazaki S, Yamamoto N: Vaccine efficacy and safety of recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin (BCG) and replication-deficient vaccinia virus DIs- based HIV vaccine. 15th Joint Meeting of AIDS Panels, Japan-US CMSP, Mar. 5-7, 2003, Okinawa, Japan.
- 13) Nakasone T: Priming with rBCG/SIV-gag and boosting with rDIs/SIV-gag partially protected monkeys from mucosal SHIV infection. 15th Joint Meeting of AIDS Panels, Japan-US CMSP, Mar. 5-7, 2003, Okinawa, Japan.
- 14) Murakami T, Maeda T, Mizokami H, Honda M, Matsushita S: Development of a Pseudo-Phenotyping Method for the Humanized Anti-HIV-1 Monoclonal Antibody KD-247. 15th Joint Meeting of AIDS Panels, Japan-US CMSP, Mar. 5-7, 2003, Okinawa, Japan.
- 15) Myint L, Matsuda M, Matsuda Z, Yokomaku Y, Chiba T, Okano A, Yamada K, Sugiura W: HIV-1 gag cleavage site mutations and non-cleavage site mutations are closely related in viral fitness recovery process. XI International HIV Drug Resistance Workshop. Jul.2-5, 2002, Seville-Spain.
- 16) Ariyoshi K, Matsuda M, Miura H, Yamada K, Hellmann NS, Sugiura W: Unique Drug Resistant Mutation Patterns Found in HIV-1 CRF01_AE(subtype E) with Anti- Retroviral Treatment Failure. XI International HIV Drug Resistance Workshop. Jul.2-5, 2002, Seville-Spain.
- 17) Sugiura W, Ren F, Matsuda M, Chiba T, Kakizawa M, Tanaka H: Sequential linking analyses of within-host drug resistance evolution by reconstructing the seriral phylogenetic tree of HIV-1 protease under HAART. Third HIV DRP Symposium Antiviral Drug Resistance. Dec.8-11, 2002, Virginia, USA.
- 18) Alabi SA, Blanchard T, Ariyoshi K, Berry N, and Whittle H. Potential use of an in-house viral load assay for therapeutic

エイズ研究センター

- vaccine efficacy in resource poor settings. Keystone 2003 Symposium on HIV Pathogenesis and Vaccine, Mar. 28 – Apr. 04, 2003, Banff, Canada.
- 19) Hansmann A, Schim van der Loeff MS, Kaye S, Aveika A, Sarge-Njue R, O Donovan D, Ariyoshi K, Alabi A, Milligan P, Whittle HC. Plasma viral load and CD4% also predict mortality in HIV-2 infection. Cohort study with 8 years follow-up in West-Africa. XIV International AIDS Conference, Jul.7-12, 2002, Barcelona, Spain.
 - 20) Matsuoka S, Sato H, Hachiya A, Tsuchiya K, Takebe Y, Kimura S, Oka S: Nelfinavir (NFV) can potentiate the infectivity and replication of HIV-1 whose fitness is otherwise compromised upon the acquisition of Gag p17 in association with protease mutations conferring NFV resistance. ICAAC, June 2002, San Diego, USA.
 - 21) Yang R, Xia X, Kusagawa S, Zhang C, Ben K, Takebe Y: Ongoing generation of multiple forms of HIV-1 intersubtype recombinants in China's Yunnan province. 4th Japan-China Virology Meeting, June 27-28, 2002, Kunming, China.
 - 22) Takebe Y, Yang R, Xia X, Kusagawa S, Zhang C, Ben K: Molecular epidemiology of HIV in Yunnan province of China . 2002 International Meeting of the Institute of Human Virology, Sept. 9-13, 2002, Baltimore, USA.
 - 23) Takebe Y. Yunnan province: "Melting Pot" that generate multiple forms of HIV-1 intersubtype recombinants. Sino-US Conference on Research and Training in AIDS-Related Area (Cosponsored by Chinese CDC and US NIH.) Nov 1-3, 2002, Beijing, China.
 - 24) Takebe Y: Intertwined epidemic in the Asia and Pacific - From the molecular epidemiological viewpoints. 第16回日本エイズ学会国際シンポジウム "AIDS in Asia - Its epidemiological and social dimensions" 2002年11月28日, 名古屋, 日本.
 - 25) Takebe Y, Yang R, Kusagawa S: A new class of HIV-1 recombinants comprised of two circulating recombinant forms, CRF07_BC and CRF08_BC, in China. XVth Joint Scientific Meeting of the AIDS Panels, U.S.-Japan Cooperative Medical Science Program, Mar. 5-7, 2003, Okinawa, Japan.
 - 26) Sugimoto C, Ohgimoto S, Kusakawa S, Takebe Y, Shioda T, Nagai Y, Mori K: DNA prime-vaccinia boost immunization of deglycosylated Env protein induced less protective immunity against SIVmac239 than wt Env in rhesus macaques. 20th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Sept. 2002, Monterey, USA.
 - 27) Sugimoto C, Yasutomi Y, Ohgimoto S, Shioda T, Yamanoto N, Nagai Y, Mori K: Implication of deglycosylation of Env in pathogenicity of SIVmac239. 20th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Sept. 2002, Monterey, USA.
 - 28) Ansari A, Mayne AF, Bostik P, Mori K, Ahmed R, Jensen P E, Villinger F: CD4+ T cell mediated and antibody mediated enhancement of SIVgag antigen processing and cross presentation in SIV infected rhesus macaques. 20th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Sept. 2002, Monterey, USA.
 - 29) Nii-Trebi N, Ampofo W, Aido S, Yankey F, Nuvor S, Obeng E, Atakorah M, Nerquaye-Tetteh J, Ishikawa K Ofori-Adjei D: Voluntary counseling and testing services in Ghana. XIV International AIDS Conference, July 7 -12, 2002, Barcelona, Spain.
 - 30) Ugly-Kwame E, Kumi W, Brandful J, Ishikawa K: Prevalence of HIV-related opportunistic diseases among Ghanaian HIV/AIDS patients. XIV International AIDS Conference, July 7 -12, 2002, Barcelona, Spain.
 - 31) Yamamoto N, Nakasone T, Izumi Y, Matsuo K, Ami Y, Yamazaki S, Honda M: Prime-boost vaccination with recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guérin and vaccinia strain DIs elicits protective immunity against pathogenic SHIV infection in macaques. 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb. 10-14, 2003, Boston, USA.
- ## 2. 国内学会
- 1) 滝澤万里, 芳賀伸治, 千葉丈, 浅野敏彦, 本多三男: フローサイトメーターによるモルモットの新しいMIL4-CT7+白血球分画の同定. 第12回日本サイトメトリー学会, 2002年8月2-3日, 愛知医科大学.
 - 2) 富田康浩, 横山勝, 仲宗根正, 永井美之, 佐藤裕徳: SIV Gp120 コアの機能領域に付加する糖鎖の役割. 第50回日本ウイルス学会総会, 2002年10月16-18日, 札幌.
 - 3) 仲宗根正, 染谷健二, 原敬志, 本多三男: HIV 感染症統合データベースの開発. 第39回情報科学技術研究集会, 2002年11月14-15日, 東京.
 - 4) 本多三男, 仲宗根正, 松尾和浩, 網康至, 泉康之, 染谷健二, 滝澤万里, 浜野隆一, 海津雅彦, 川原守, 原敬志, 吉野直人, 篠原克明, 佐々木裕子, 高橋栄治, 阪井弘治, 堀端重男, 兼清優, 浜武牧子, 山崎修道, 山本直樹: HIV ワクチンの実用化に向けて: サルからヒトへ. 第16回日本エイズ学会総会, シンポジウム, 2002年11月28-30日, 名古屋.
 - 5) 仲宗根正, 染谷健二, 原敬志, 本多三男: HIV 感染症統合データベースの開発. 第16回日本エイズ学会総会, 2002年11月28-30日, 名古屋.
 - 6) 滝澤万里, 村上利夫, 江田康幸, 前田敏宏, 原敬志, 本多三男: Primary isolate に対するヒトモノクローナル抗体のKD247の中和効果. 第16回日本エイズ学会総会, 2002年11月28-30日, 名古屋.
 - 7) 海津雅彦, 網康至, 泉康之, 佐藤裕徳, 武部豊, 染谷健二, 仲宗根正, 本多三男: エンペロープ V3 ループ領域の入れ替えが SHIV に与えた in vitro および in vivo におけるコレセプター使用への影響. 第16回日本エイズ学会総会, 2002年11月28-30日, 名古屋.
 - 8) 泉泰之, 網康至, 仲宗根正, 松尾和浩, 染谷健二, 山本直樹, 本多三男: 弱毒化ワクシニア Dis ベクタ

- 一のエイズワクチンへの応用、DIs/SIVgag の皮内接種による細胞性免疫誘導．第16回日本エイズ学会総会，2002年11月28-30日，名古屋．
- 9) 田中陽子，染谷健二，泉泰之，堀端重男，本多三男，山本直樹，木村和子：ワクシニア DIs 株をベースにした組換え型 HIV ワクチンの免疫誘導能の特性 1．小動物における非活性化 HIV-1 gag 特異的 CTL の誘導．第16回日本エイズ学会総会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 10) 染谷健二，忻克勤，網康至，泉泰之，仲宗根正，山本直樹，奥田研爾，本多三男：Non human primate を用いた DNA prime/recombinant vaccinia virus boost vaccine regimen の評価．第16回日本エイズ学会総会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 11) 兼清優，松尾和浩，濱武牧子，長谷川篤彦，山本直樹，本多三男：組換え BCG における外来遺伝子の使用コドン最適化の有用性の評価．第16回日本エイズ学会総会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 12) 長縄聡，泉泰之，高橋清実，佐藤成大，藤崎茂巳，藤崎恭大，三谷満昭，網康至，中村正彦，本多三男，仲宗根正，栃久保修，北村勝彦：メタロエンドペプチダーゼム F の HIV に及ぼす影響．第16回日本エイズ学会総会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 13) 村上利夫，網康至，吉野直人，滝澤万里，仲宗根正，江田康幸，本多三男，前田敏宏：ヒト化抗 HIV-1 V3-tip モノクローナル抗体 (KD-247) 投与による SHIV-C2/1 接種サルリンパ組織における CD4 陽性細胞の維持．第16回日本エイズ学会総会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 14) 富田康浩，横山勝，仲宗根正，永井美之，佐藤裕徳：SIV Gp120 コアの機能領域に付加する糖鎖の役割．第16回日本エイズ学会総会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 15) 兼清優，濱武牧子，本多三男：Sequential Immunization を応用した HIV-1 Env C4-V3 ペプチドによる交差反応性抗体の誘導．第32回日本免疫学会総会，2002年12月4-6日，東京．
 - 16) 原敬志，仲宗根正，浜野隆一，Tawee Chotpitayasunondh，Paijit Warachit，本多三男：HIV 垂直感染における防御因子としての IL-16．第32回日本免疫学会総会，2002年12月4-6日，東京．
 - 17) 仲宗根正，染谷健二，原敬志，池尾一穂，五條堀孝，本多三男：HIV 感染症統合データベースの開発．2003年情報学シンポジウム，2003年1月16-17日，東京．
 - 18) 杉浦 互：薬剤耐性 HIV-1 における gag の関与と薬剤耐性検査におけるその意義．第5回白馬シンポジウム-最新エイズ研究 2002-，2002年7月25-27日，白馬．
 - 19) 杉浦 互，松田昌和，千葉智子，岡野愛子，守谷研二，山田兼雄，山本直樹：多剤併用療法の導入による抗 HIV-1 薬剤耐性変異の動向．第50回日本ウイルス学会，2002年10月16-18日，札幌．
 - 20) 杉浦 互：プロテアーゼ阻害剤耐性 HIV-1 で見られるプロテアーゼ領域外変異とその働き．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 21) 松田昌和，千葉智子，岡野愛子，守谷研二，富田康浩，佐藤裕徳，杉浦 互：相同組換えによる患者由来 CRF01_AE の再構築とその解析．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 22) 千葉智子，滝澤万里，松田昌和，松田善衛，横幕能行，岡野愛子，守谷研二，山田兼雄，本多三男，杉浦 互：ヒト T 細胞株を用いた新たな HIV-1 薬剤感受性検査法の確立の試み．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 23) 田中理恵，松田昌和，杉浦 互，花房秀次，根岸昌功，加藤真吾：ジェノタイプ法とフェノタイプ法による抗レトロウイルス薬に対する HIV-1 の薬剤感受性検査結果の比較．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 24) 岡野愛子，松田昌和，千葉智子，守谷研二，山田兼雄，杉浦 互：多剤併用療法導入後の本邦における抗 HIV-1 薬剤耐性変異の動向．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 25) 須藤弘二，西澤雅子，嶋 貴子，近藤真規子，向出雅一，蜂谷敦子，岡 慎一，加藤真吾，伊藤 章，宇宿秀三，野口有三，相楽裕子，杉浦 互，今井光信：同一患者検体を用いた薬剤耐性感受性検査結果の比較．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 26) 林 公一，戸谷良三，喜多恒和，稲葉憲之，井村総一，大場 悟，葛西建郎，北村勝彦，杉浦 互，高野政志，谷口晴記，外川正生，早川 智，塚原優己，箕浦茂樹，保田仁介，和田裕一，大久保秀夫，長縄聡，吉野直人：HIV 母子感染予防の臨床的研究 (1) この3年間における妊婦 HIV 抗体検査率の動向について．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 27) 和田裕一，戸谷良三，喜多恒和，稲葉憲之，井村総一，大場 悟，葛西建郎，北村勝彦，杉浦 互，高野政志，谷口晴記，塚原優己，外川正生，早川 智，林 公一，箕浦茂樹，保田仁介，大久保秀夫，長縄聡，吉野直人：HIV 母子感染予防の臨床的研究 (2) 産婦人科領域からの全国調査成績．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
 - 28) 外川正生，戸谷良三，喜多恒和，稲葉憲之，井村総一，大場 悟，葛西建郎，北村勝彦，杉浦 互，高野政志，谷口晴記，塚原優己，林 公一，箕浦茂樹，保田仁介，和田裕一，大久保秀夫，長縄聡，吉野直人，早川 智：HIV 母子感染予防の臨床的研究 (3)

エイズ研究センター

- 小児科領域からの全国調査．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
- 29) 塚原優己，戸谷良三，喜多恒和，稲葉憲之，井村総一，大場 悟，葛西建郎，北村勝彦，杉浦 互，高野政志，谷口晴記，外川正生，早川 智，林 公一，箕浦茂樹，保田仁介，大久保秀夫，長繩 聡，吉野直人：HIV 母子感染予防の臨床的研究(4) HIV 母子感染予防対策の普及を目的としたマニュアルの改訂．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
- 30) 谷口晴記，戸谷良三，喜多恒和，稲葉憲之，井村総一，大場 悟，葛西建郎，北村勝彦，杉浦 互，高野政志，塚原優己，外川正生，早川 智，林 公一，箕浦茂樹，保田仁介，和田裕一，大久保秀夫，長繩聡，吉野直人：HIV 母子感染予防の臨床的研究(5) 公開講座参加者へのアンケート結果の解析．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
- 31) 千葉智子，杉浦 互：Phenotype Analysisの現状と将来．第16回日本エイズ学会学術集会シンポジウム 3，2002年11月28-30日，名古屋
- 32) 任 鳳容，杉浦 互，萩島創一，田中 博：同一宿主からの連続サンプルより HIV-1 の継続的な進化解析．第25回日本分子生物学会，2002年12月11-14日，横浜．
- 33) 榎瀬良美，山本俊郎，宇賀神秀樹，横山京子，鈴木元，桑田岳夫，阪井弘治，高橋栄治，篠原克明，三浦智行，喜多正和，速水正憲：弱毒 SHIV 感染免疫ザルにおける早期の強毒ウイルス攻撃接種に対する防御効果．第50回日本ウイルス学会学術集会・総会，2002年10月16-18日，札幌．
- 34) 喜多正和，榎瀬良美，宇賀神秀樹，横山京子，鈴木元，桑田岳夫，三浦智行，阪井弘治，高橋栄治，篠原克明，山本俊郎，今西二郎，速水正憲：IFN- γ 遺伝子組込み弱毒 SHIV のワクチン効果．第16回日本エイズ学会学術集会・総会，2002年11月28-30日，名古屋．
- 35) Pathipvanich Panita, 有吉紅也：Collaborative Activities on HIV/AIDS between Day Care Center, Lampang Hospital and the JICA-NIH Project．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
- 36) Rojanawiwat A, Ariyoshi K, Pathipvanich P, Yoshiike K, Sawanpanyalert P：Lack of association between the concordance of HIV-1 infection and HIV-1 RNA viral load in HIV-1 affected couples in Thailand. 第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
- 37) 横幕能行，三浦秀佳，有吉紅也，松田善衛：Non-Clade B HIV-1 の臨床検体由来 gag-pol 発現標的細胞作成系の確立．第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
- 38) Ruchusatsawat N, Nakayama E, Rojanawiwat A, Pathipvanich P, Auwanit W, Vongsheree S, Yoshiike K, Ariyoshi K, Shioda T, Sawanpanyalert P: Study of Genetic Mechanisms of AIDS Pathogenesis in Thailand. 第16回日本エイズ学会学術集会，2002年11月28-30日，名古屋．
- 39) 横幕能行，三浦秀佳，富山宏子，川名愛，滝口雅文，岩本愛吉，松田善衛，有吉紅也：HIV-1 の CTL epitope 及び周辺領域のアミノ酸変異が特異的 CTL の認識および抗原提示機構に与える影響の解析．第50回日本ウイルス学会学術集会，2002年10月16-18日，札幌．
- 40) 狩野宗英，中村浩美，武田明子，加藤篤，須崎百合子，網康至，永井美之，俣野哲朗：Gag 発現組換えセンダイウイルスベクターワクチンのマカクサルエイズモデルによる解析．第50回日本ウイルス学会，2002年10月16-18日，札幌．
- 41) 倫文輝，狩野宗英，中村浩美，武田明子，森一泰，佐多徹太郎，永井美之，俣野哲朗：Loss of AIDS vaccine-based viremia-control without loss of virus-specific CD8+ T cells in macaque preclinical trials. 第50回日本ウイルス学会，2002年10月16-18日，札幌
- 42) 横幕能行，三浦秀佳，松田善衛，有吉紅也：HIV-1 はどのようにして特異的CTLから逃避するのか？第5回日本レトロウイルス研究会夏期セミナー，2002年9月，豊橋．
- 43) 草川 茂，武部 豊：ポリプロリンモチーフ(PXXP)を介する蛋白質間相互作用に対する新規阻害剤UCS15Aの抗HIV-1効果．第50回日本ウイルス学会，2002年10月16-18日，札幌．
- 44) 草川 茂，今村裕子，安岡 彰，岡 慎一，武部豊：国内で初めて分離された HIV-2 臨床分離株の解析．第50回日本ウイルス学会，2002年10月16-18日，札幌．
- 45) 武部 豊，楊 栄閣，草川 茂：組換え型流行株(CRF)間の遺伝子組換えによる新しいクラスの HIV-1 組換え株(Inter-CRF Recombinants)の分離とその解析．第50回日本ウイルス学会，2002年10月16-18日，札幌．
- 46) Takebe, Y. (2002). Intertwined epidemic in the Asia and Pacific: from the molecular epidemiological view points. 第16回日本エイズ学会，2002年11月28-30日，名古屋．
- 47) 松岡佐織，蜂谷敦子，土屋亮人，佐藤裕徳，武部豊，岡 慎一：NFV 存在下において感染効率の上昇が認められた薬剤耐性株の解析．第16回日本エイズ学会，2002年11月28-30日，名古屋．
- 48) 楊 栄閣，草川 茂，Kunlong Ben, 武部 豊：HIV-1 組換え型流行株(CRF)間の新規組換えウイルスの分離とその解析．第16回日本エイズ学会，2002年11月28-30日，名古屋．
- 49) 巽 正志，草川 茂，武部 豊，松田道行：HIV-1 subtype A 感染性クローンの樹立．第16回日本エイズ

エイズ研究センター

- 学会, 2002年11月28-30日, 名古屋.
- 50) 加藤佳代子, 大川 淳, 武部 豊: CXCR4 利用能をもつ HIV-1 サブタイプ C 株の解析. 第 16 回日本エイズ学会, 2002年11月28-30日, 名古屋.
- 51) 武部 豊: アジアにおけるエイズ・クライシス. 第 10 回静岡エイズ・シンポジウム, 2003年2月8日, 静岡.
- 52) 武部 豊: アジアにおけるエイズ感染爆発の危機. 微生物学研究所 感染症フォーラム 21「プリオン病と新興再興感染症」, 2003年2月18日, 大阪.
- 53) 吉原なみ子, 福嶋浩一, 今井光信, 伊沢明子, 吉田繁, 有山巖, 杉本和敏, 野尻治, 池谷宏造, 葦原義久, 和山行正, 林邦彦: 第三回アンプリコア HIV-1 モニターv1.5 コントロールサーベイ. 第 16 回日本エイズ学会総会, 2002年11月28-30日, 名古屋.
- 54) 鈴木寿子, 土屋利江, 吉原なみ子: 細胞組織医療機器製品での HIV-1 の検出法の検討(その2): 多孔質体を足場としたヒト皮膚モデルでの HIV-1 感染細胞の動態. 第 24 回日本バイオマテリアル学会大会, 2002年11月, 東京.
- 55) 鈴木寿子, 土屋利江, 吉原なみ子: 生分解性ポリマーを用いたバイオヒト皮膚モデルにおける HIV-1 検出法の検討. 第 16 回日本エイズ学会総会, 2002年11月28-30日, 名古屋.
- 56) 坂本優子, 永井慎也, 高浜洋一, 浜口行雄, 小野崎郁史, 吉原なみ子: カンボディアの結核患者における HIV-1 分子疫学. 第 16 回日本エイズ学会総会, 2002年11月28-30日, 名古屋.
- 57) 駒野 淳: Inhibiting functions of EBNA-1 induces apoptosis in EBV-positive normal and Burkitt's lymphoma cells. 東京医科歯科大学特別セミナー, 2002年4月23日, 東京.
- 58) 駒野 淳: Possible involvement of cytoskeleton in the HIV-1's life cycle? 第 5 回日本レトロウイルス研究会「夏期セミナー」, 2002年9月6-8日, 豊橋.
- 59) 駒野 淳: Toward the understanding of the post-entry process of HIV-1: an active actin cytoskeletal reorganization supports viral entry. 学友会シンポジウム「HIV 複製素過程研究の先端」, 2002年11月26日, 東京.
- 60) 宮内浩典, 横幕能行, 駒野淳, 杉浦互, 松田善衛: HIV-1 gp41 膜貫通領域の GXXXG モチーフに関する研究. 第 50 回日本ウイルス学会, 2002年10月16-18日, 札幌.
- 61) 杉本智恵, 保富康宏, 扇本真治, 永井美之, 森 一泰: Nef 遺伝子欠損変異 SIV はリンパ節において B 細胞領域であるリンパ濾胞の CD4+ T 細胞に感染していた. 第 50 回日本ウイルス学会, 2002年10月16-18日, 札幌.
- 62) 森 一泰, 杉本智恵, 保富康宏, 草川茂, 武部豊, 中山英美, 塩田達雄, 永井美之: Env エイズワクチンへの糖鎖変異の効果. 第 16 回日本エイズ学会, 2002年11月28-30日, 名古屋.
- 63) 杉本智恵, 保富康宏, 塩田達雄, 永井美之, 森 一泰: 糖鎖欠損変異 SIV 感染ザルに誘導された抗 Env 抗体エピトープの解析. 第 16 回日本エイズ学会, 2002年11月28-30日, 名古屋.
- 64) 高村史記, 森 一泰, 武部豊, 草川茂, 永井美之, 保富康宏: サル免疫不全ウイルス糖鎖欠損エンベロープ蛋白の免疫誘導能の解析. 第 16 回日本エイズ学会, 2002年11月28-30日, 名古屋.
- 65) Xin Hui Qui, 森 一泰, 森豊隆志, 多田隈圭, 早川仁, 出雲周二: エイズ脳症における大脳白質病変と皮質病変の比較 = サルエイズモデルを用いた神経病理学解析. 第 16 回日本エイズ学会, 2002年11月28-30日, 名古屋.
- 66) Barnor Jacob S, M-Kurosaki Naoko, Yamaguchi Kazuya, Kobayashi Hiroki, Ishikawa Koichi, Osei-Kwasi Mubarak, Ampofo William K, Ofori-Adjei David, Inagaki Yoshio, Yamamoto Naoki, Takaku Hiroshi: Down regulation of human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) expression by Vif antisense RNA expression vectors in transfected cells. 第 29 回核酸化学シンポジウム. 2002年11月20-22日, 京都.
- 67) 山岡昇司, 山本直樹: Genetic Screens for Cellular Factors Required for the HIV-1 Replication. 第 2 回あわじしま感染症・免疫フォーラム, 2002年8月24-27日, 兵庫.
- 68) 山岡昇司, 新田剛, 山本直樹: LMP1 膜貫通ドメインの NF-kappa B 依存性細胞死誘導における重要性. 第 50 回日本ウイルス学会 2002年10月16-18日, 札幌.
- 69) 三浦英靖, 前田道之, 山本直樹, 山岡昇司: HTLV-I 感染細胞における I B kinase 活性化機構 第 50 回日本ウイルス学会, 2002年10月16-18日, 札幌.
- 70) Nurjahan Begum, 齊藤達哉, 山岡昇司, 山本直樹: Functional Analyses of a Variant Cell Line Resistant to HIV-1 Infection. 第 16 回日本エイズ学会 2002年11月28-30日, 名古屋.
- 71) Chinanonwait Netnaphis, 三浦英靖, 山本直樹, 山岡昇司: A recessive mutant cell line with a constitutive I kappa B kinase activity. 第 25 回日本分子生物学会 2002年12月11-14日, 横浜.
- 72) 千葉章子, 齊藤達哉, 山本直樹, 山岡昇司: NEMO は繊維芽細胞における PKC を介した NF-B の活性化に必要である. 第 25 回日本分子生物学会, 2002年12月11-14日, 横浜.
- 73) 齊藤直人, 山本直樹, 山岡昇司: LMP1 CTAR1 による NEMO 非依存的 NF-kappaB 活性化第 25 回日本分子生物学会, 2002年12月11-14日, 横浜.
- 74) 齊藤達哉, 中野裕康, 山本直樹, 山岡昇司: Lymphotoxin-beta Receptor による NEMO 非依存的な NF-kappaB 活性化機構の解析. 第 25 回日本分子生物学会, 2002年12月11-14日, 横浜.