

## 20. エイズ研究センター

### センター長 山本直樹

#### 概要

エイズ/HIV の感染拡大はとどまるところを知らず、その矛先は当初の欧米やアフリカから次第に最大の人口と地域を有するアジアにも及んできた。我が国でも今後の感染拡大は大いに憂慮すべき状況にある。

平成11年10月にいわゆるエイズ予防指針が策定され、わが国のエイズ対策の抜本的見直しと新方針が打ち出された。爾来、当センターはわが国のエイズ対策研究のための中核としての役割を果たしてきた。活動は大きく、施策的なものとワクチン開発や HIV 感染症の特効薬開発という研究要素の強いものに分けられるが、いずれもわが国における HIV 感染者やエイズ患者の QOL の向上、新規感染拡大の防止を第一の、そしてその成果を国際誌上で発信することで世界のエイズ、HIV 問題に貢献することを最大の目標に置いてきた。

HIV の感染予防研究に関しては、とくに BCG 及びその増殖性において2種の異なるワクシニアウイルスをそのベクターとして用いた prime/boost ワクチンに力を注ぐほか、ユニークな糖鎖変異ウイルスによる効果的な生ワクチンを用いて、防御免疫のパラメーターを探り、臨床応用可能なワクチン開発の道を強力に探っている。また HIV の多様性に対応可能な中和抗体の誘導の研究さらには粘膜免疫の誘導の研究に力を傾注している。一方、治療の面からは、HAART の効果には目覚しいものがあり、感染者に大きな希望を与えている。しかし、そのコスト、慢性毒性、さらには薬剤耐性の獲得による治療困難症例の増加が大きな問題となっている。このため耐性の起こりにくい薬剤開発にも力を注いでおり、今までにないような作用機序、とくに宿主因子を標的とした新たな抗 HIV 薬の開発が待望されている。さらに HAART をもってしても、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、感染予防のためのワクチン研究とともに、感染固体からのその根絶に向けた研究も重要である。一方、アジア、とくに中国やインドがエイズ/HIV の感染拡大において中心の場となりつつある現状で、すでに高い評価を受けている当センターのアジアの分子疫学研究を推し進めてきた。

HIV 感染及び診断検査については、方法の標準化とその精度管理において、これまでどおりわが国の中心的役割を果たすことになる。センター独特のウイルス分子クローンはその目的に大きな力となっている。また、感染者の治療については、直接あるいは間接的に感染者に還元できるような研究を推進している。その大きな柱の一つとして HAART を受けている患者の薬剤耐性モニタリングと耐性発現を抑える治療法の研究を行っている。

当センターはまた、国際協力機構(JICA)のアジアやアフリカにおけるエイズプロジェクト等にも積極的に協力してきた。また、JICA との協力によりアジア、アフリカ諸国等からの研修員を対象に HIV 診断技術講習を実施しており、多数の研修員を指導してきた。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。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ており、我が国エイズ研究の中核となっている。

人事では、草川 茂主任研究官と藤野真之研究員が休職(平成21年4月1日付、期間は平成24年3月31日まで)し、任期付研究員として西真由子(4月1日付、任期は平成22年3月31日まで)と、竹村太地郎(10月1日付、任期は平成24年9月30日まで)が採用された。石川晃一主任研究官は平成21年1月1日より休職中である(平成22年3月31日まで)。また、椎野禎一郎主任研究官が感染症情報センターに配置換(エイズ研究センターに併任)(5月1日付)、梁 明秀第1研究グループ長が横浜市立大学教授として転出した(7月31日付)。平成22年3月31日には武部 豊第1室長が定年退官、平成13年8月1日よりセンター長をつとめた山本直樹が退職した。

当センターの運営に当たっては宮村達男所長、渡邊治雄副所長、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、濱口 功血液・安全性研究部長、佐藤裕徳病原体ゲノム解析研究センター第2室長、保富康宏医薬基盤研究所室長類医科学研究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第3室の村山から戸山への移転などで多少の改善がみられたものの、研究スペースの確保

と統合は悲願のままだけ達成されておらず、依然として最重要課題のひとつとなっている。

## 業績 調査・研究

### I. エイズワクチンの開発

#### 1. 組換え BCG ベクターを用いたエイズワクチン開発

##### (1) コドン至適化組換え BCG と組換えワクシニア DIs のプライムブーストワクチンの SIV 感染防御能評価

コドン至適化を施して抗原発現が約 10 倍増強された rBCG-SIVgag をプライミングに用い、同じ抗原を発現する rVaccinia DIs で 2 回ブーストしたサルは、2 回目のブーストから 3 年後の SIVmac 239 high dose 経粘膜チャレンジに対して顕著な recall response を示し、少なくとも 3 年間はメモリー T 細胞を維持できることが判った。この群のサルは、ナイーブコントロールと比較してセットポイントでの血中ウイルス量は 100 倍弱程度抑制され、リンパ節での effector memory T 細胞の loss も抑制されていたことから、これまでに例を見ない長期間のワクチン効果が確認できた。

[網 康至(動物管理室)、兼清 優(米国 NIH)、松尾和浩、本多三男(米国 NIH)、山本直樹]

##### (2) 組換え BCG における HIV-1 Gag 抗原発現の最適化

コドン至適化は BCG ベクターの免疫原性を高めるのに有効な方法だが、発現レベルが BCG 菌体にストレスがかかるまでに上昇してしまうと、プラスミドを排除してしまう傾向にある。昨年度開発した多コピー変異プラスミドを用いると、BCG においてコドン至適化に匹敵する Gag 発現増強効果が得られる上に、菌体内でプラスミドも安定に保持されていることがわかった。さらに分泌発現型のコンストラクトでは、菌体外への Gag 分泌量が野生型では生育がプラトーに達すると速やかに減少するのに対して、変異型プラスミドでは一定の分泌量を維持しており、Gag 抗原が安定に分泌されることが明らかになった。このベクターは、実用化上極めて有用なツールになるものと期待される。今後、得られた Gag 高発現株の in vivo での免疫原性評価を行う。

[横溝香里、堀端重男、松尾和浩、山本直樹]

##### (3) BCG における HIV-1 Env 高発現系確立の検討

これまでの HIV-1 env 遺伝子の BCG での発現の検討から、gp160 や gp140 型を安定に可溶性蛋白質として発現させることは難しいが、Tat 分泌シグナル blaF 遺伝子につないだ gp120 遺伝子は、分泌はされないものの BCG

菌体内で安定して発現することが明らかとなっている。今回 gp120 遺伝子を alpha 抗原遺伝子及び mpb64 遺伝子由来の Sec 分泌シグナルにつないで BCG に導入し、Env 抗原の発現及び安定性の比較・検討を行った。その結果、mpb64 分泌シグナル遺伝子に繋いだ場合は gp120 抗原発現株を得られず、alpha 抗原分泌シグナルにつないだ場合は発現株が得られたものの、7H9 液体培地で再培養を行うと gp120 抗原の発現が減弱してしまい、blaF シグナルに勝るコンストラクトは得られなかった。分泌シグナルの選択が重要と考えられるので、今後は BCG 由来の Tat 分泌シグナルを標的として gp120 遺伝子をつなぎ、菌体外に Env 抗原を分泌する株の作製を目指す。

[堀端重男、横溝香里、松尾和浩、山本直樹]

#### 2. 多様な HIV に有効なエイズワクチンが誘導する防御免疫

主要 HIV-1 には 10 種類以上のサブタイプ、組み換えウイルスが存在し、感染地域では複数のサブタイプ、組み換えウイルスが流行している。ワクチン開発研究の課題のひとつは、これらの異なるサブタイプに対し有効な防御免疫を解明することである。我々は、その候補として、糖鎖修飾変異生ワクチンが誘導した防御免疫について、サブタイプが異なる SIVsmE543 チャレンジ感染を行ったアカゲザル 11 頭について解析した。チャレンジ感染後 2 週間後に約半数の個体でワクチンウイルスまたはチャレンジウイルスの一過性の増殖が見られたが、感染後 4 週から 10 週までは、すべてのサルにおいて血中ウイルス量は検出限界以下に抑制された。しかし慢性期において感染制御は二つのパターンに分かれた。7 頭では 80 週以上の期間で感染制御は維持されたが、4 頭では感染後 40 週間後にウイルス感染が上昇した。3 頭ではワクチンウイルスとチャレンジウイルスとの組み換えウイルスが、1 頭ではチャレンジウイルス由来の変異ウイルスが増殖していた。これらの変異ウイルスの共通する性質として gp120 はチャレンジウイルス由来であり、感染後 60 週以降ではほとんどの感染ウイルスにおいて N 型糖鎖の増加が確認された。感染制御した 7 頭に誘導された防御免疫を調べるために CD8 抗体を投与し CD8+細胞を一時的に消失させた。その結果、2 頭では SIV 感染の上昇はなく、チャレンジ感染がウイルス接種直後に防御されていたことが確認された。残り 5 頭では CD8+細胞の消失と同時に一過性の高いウイルス増殖が起こった。これらの結果から、慢性期では CD8+細胞が感染制御において重要な役割を果たしていることが明らかとなった。その役割のひとつとして組み換えウイルス出現の原因となる重感染

の抑制に働いていることが推測された。

[渡辺 哲、森 一泰]

### 3. 三次元構造をとった HIV-1 envelope の部分ペプチドを用いた中和抗体の誘導

長年の研究にもかかわらず HIV-1 vaccine は未だに開発されていない。近年の研究の進歩により HIV-1 感染を効率良く抑制する抗体は HIV-1 の envelope タンパク質の立体構造を認識していることが発見された。HIV-1 の envelope タンパク質はウイルス上では三量体を形成することが分かっている。そこで我々は HIV-1 envelope の部分ペプチドに 3 量体構造をとらせ、それを免疫原とすることで、立体構造認識中和抗体の誘導をこころみた。

合成された三量体ペプチドと単量体ペプチドをマウスに免疫するとそれぞれを認識する抗体が誘導された。誘導された抗体の中和活性を調べたところ、三量体を免疫原として導入したマウスより得られた血清は単量体を免疫原として導入したマウスより得られた血清よりも強い HIV-1 中和活性を示した。以上のように我々は新たな三量体構造をとる免疫原を使用するワクチンの有用性を示した。今後、このコンセプトを用いたワクチンの開発が期待される。

[中原 徹(東京医科歯科大学)、野村 渉(東京医科歯科大学)、大庭賢二、村上 努、玉村啓和(東京医科歯科大学)、山本直樹]

## II. HIV 感染症の薬剤耐性と治療に関する研究

### 1. 数珠多クローン遺伝子高速解析法の開発及び潜在的薬剤耐性 HIV 発掘調査

未治療 HIV 感染者の中にも存在が予想されている薬剤耐性 HIV、すなわち潜在的薬剤耐性 HIV 発掘調査を目的として、平成 20 年度までに、耐性遺伝子超高感度定量法を開発した。この方法は絶対的定量法ではなく演繹的定量法であり、そのためいくつかの課題がある。この課題を克服するには、演繹的定量結果を絶対的定量結果で検証する必要がある。既存の絶対的定量法である多クローン遺伝子解析法での検証は、膨大な時間と費用を要する。まずその効率化のための数珠多クローン遺伝子高速解析法の理論設計を行った。本法は職務発明として認定された(感染研発第 6 9-4 号:平成 22 年 2 月 18 日)。特許出願準備中のため概略は割愛する。この方法により、現時点では既存の多クローン遺伝子解析法に比較して 10 倍の効率化が達成されている。今後、この絶対的定量法を用いて最初の目的である検証を行うと同時に、本法自体が潜在的薬剤耐性 HIV 発掘調査の主流となる可能

性について検討する。

[仲宗根正、武田 哲、阪井弘治]

### 2. 酵素活性を指標とした HIV プロテアーゼ薬剤耐性新規検査法の開発

我々は、分子相互作用を高速検出できるアルファスクリーン法とコムギ無細胞翻訳系を組み合わせることで、HIV プロテアーゼ(PR)が基質を切断する活性に基づいて PI 耐性を迅速に評価できる新規検査法(CF 法)の開発を試みた。まず、無細胞合成した NL4-3 PR と薬剤耐性 PR について、4 種の PI(indinavir, atazanavir, amprenavir, darunavir)による活性阻害を測定し、ウエスタンブロット法により解析した基質切断パターンと比較した。CF 法によって得られた IC<sub>50</sub> がウエスタンブロット法による解析結果とよく一致し、さらにそれらが GT 法と良く一致することを確認した。また 25 検体について従来の検査法との比較解析を行った結果、CF 法と PS 法が最もよく一致し (52%)、続いて CF 法と GT 法 (49%)、PS 法と G 法 (39%) の順であった。

[正岡崇志(名古屋医療センター、エイズ予防財団リサーチレジデント)、杉浦 互、澤崎達也(愛媛大学)、松永智子(愛媛大学)、遠藤弥重太(愛媛大学)、巽 正志、山本直樹、梁 明秀]

### 3. 抗 HIV-1 療法を受けている HIV/AIDS 患者の薬剤耐性モニタリング

我々は平成 8 年度より適切な抗 HIV-1 治療実現のための支援事業として、薬剤耐性 HIV-1 検査を実施してきた。薬剤耐性遺伝子検査の結果は約 3 週間で主治医に報告され、治療薬剤選択の指標として活用されてきた。解析を行った検体は平成 22 年 3 月の時点で累積 8295 検体に達している。尚、平成 18 年度からは薬剤耐性遺伝子検査が保険収載されたため、検査は民間の検査会社にゆだねられることになり、我々のところで実施する検体は、精査を目的とするもの、経済的な理由により検査が困難なもの、そして次項に述べる疫学調査を目的としたものに限られるようになった。このため平成 18 年度以降は保険収載前と比較して解析検体数は大幅に減少した。保険収載により検査へのアクセスが容易になったのとは反対に薬剤耐性 HIV の遺伝子情報の収集は困難となった。この点を補うために平成 19 年度より新たにアンケート調査を主体とする情報収集を開始し、わが国における薬剤耐性 HIV の状況把握を開始した。平成 21 年度は各地の拠点病院等における抗 HIV 療法の現状と薬剤耐性に関するアンケート調査を実施した。調査を依頼した 377 施設

中、回答を得た 211 施設(回収率 56%)における通院症例数は 9040 名、総服薬症例数 6296 名(通院症例数の 69%)、そのうち新規 ARV 使用症例数は 280 症例(通院症例数の 4.4%)だった。この 280 症例における新規 ARV の使用理由は、副作用による変更が 125 症例(新規 ARV 症例中 44.6%)、ウイルス学的失敗による変更が MDR 群で 97 症例(34.6%)、その他の理由による変更 31 症例(11.1%)、初回使用 24 症例(8.6%)、不明 3 症例であった。

[杉浦 互、宮崎菜穂子、三浦秀佳、山本直樹、服部純子(名古屋医療センター)、岩谷靖雅(名古屋医療センター)]

#### 4. 新規 HIV/AIDS 診断患者の動向調査

HAART が普及した今日、HIV/AIDS に新たに感染し、治療前にもかかわらず既に薬剤耐性を獲得している症例が世界各国で報告されており、その頻度は 10-20%ともいわれている。日本では新規 HIV 感染者数およびエイズ患者数報告数が年々記録を更新する勢いで増加しており、また治療を受けている患者数も増加を続けている。このことから本邦においても新規 HIV/AIDS 診断確定未治療患者への薬剤耐性 HIV の拡大が大きな関心をもたれている。我々は 2003 年から 2009 年にかけて全国の治療拠点病院、衛生研究所等の協力のもとに新規 HIV/AIDS 診断患者を対象に耐性検査を実施した。薬剤耐性検査ではプロテアーゼおよび逆転写酵素領域を、サブタイピングでは *env* C2/V3 領域を RT-PCR にて増幅し、その配列解析を行った。対象症例は 2003 年：273 例、2004 年：306 例、2005 年：429 例、2006 年：457 例、2007 年：482 例、2008 年：626 例、2009 年：617 例であった。いずれの年においても調査対象となった症例は 30-40 歳代の男性が中心で (>90%)、感染経路は同性間性的接触が 65-72%を占めていた。サブタイプは、いずれの年も 70%以上が B であり、次いで CRF\_01AE であった。また少数ながらサブタイプ A、C、AG、G も観察された。薬剤耐性症例の頻度は 2003 年：5.9%、2004 年：5.4%、2005 年：8.0%、2006 年：7.0%、2007 年：9.9%、2008 年：8.3%、2009 年：8.6%であった。クラス別に見るとスクレオシド系逆転写酵素阻害剤耐性の頻度は 2003 年：4.0%、2004 年：4.0%、2005 年：5.0%、2006 年：5.2%、2007 年：5.7%、2008 年：3.7%、2009 年：3.5%であった。非スクレオシド系逆転写酵素阻害剤では 2003 年：0.4%、2004 年：0.7%、2005 年：0.5%、2006 年：0.7%、2007 年：0.8%、2008 年：1.3%、2009 年：0.7%、同プロテアーゼ阻害剤では 2003 年：1.5%、2004 年：0.7%、2005 年：2.6%、2006 年：1.6%、2007 年：3.3%、2008 年：3.8%、2009 年：4.3%であった。

[杉浦 互、鈴木寿子、三浦秀佳、西澤雅子、山本直樹、服部純子(名古屋医療センター)、岩谷靖雅(名古屋医療センター)、松田昌和(三菱化学メディエンス株式会社)]

#### 5. CRF01\_AE (サブタイプ E) のプロテアーゼの結晶構造解析と数値モデル解析

従来の薬剤耐性研究はサブタイプ B を中心に行われてきたが、これにより得られてきた薬剤耐性に関する知見がそのまま non-B サブタイプにも当てはめることができるのか明確ではない。我々はいままでに CRF01\_AE ではネルフィナビルに対する耐性変異が異なっておりサブタイプ B で主に観察される D30N を取る確率は低く、代わりに N88S が獲得されることを明らかにしてきた。CRF01\_AE では D30N が獲得されないのかそのメカニズムを構造科学的に明らかにするために平成 21 年度は活性型のプロテアーゼの結晶構造解析に取り組んだ。HXB2, NH1, NH1- L10F, NH1- N88S, NH1- L10F/N88S 各々のプロテアーゼの精製を行い、nelfinavir もしくは darunavir と結合させて結晶化を行った。その結果 NH1 ではいずれの薬剤に対しても薬剤の結合が HXB2 と比して弱いが明らかになった。この結合力の違いが獲得する薬剤耐性変異の違いに繋がっていると考えられた。[杉浦 互、岩谷靖雅(名古屋医療センター)、セリア・シッファー(Univ. Massachusetts)]

#### 6. タイ流行株 HIV-1 (CRF01\_AE) における薬剤耐性変異獲得機序に関する研究

タイ政府が生産開始したジェネリック薬 GPOvir (d4T/3TC/nevirapine 合剤)の普及に伴い、耐性 HIV-1 株の流行が憂慮される。我々は、タイ流行株の GPOvir 耐性変異頻度に関するデータをタイ国 NIH と共同で平成 16 年から 17 年にかけてランパンコホートで回収された GPOvir 脱落症例 64 例について Gag, protease, RT 全域の遺伝子配列解析を行い、薬剤耐性遺伝子の獲得パターンについて解析を行った。対象症例中には初回治療症例だけでなく過去に NRTI 単剤投与などの治療履歴をもつ既治療症例が含まれていたが、既知症例では初回治療症例に比して高い頻度で耐性変異が観察された。また観察された耐性変異のパターンも既治療症例では過去に暴露した AZT による耐性変異を呈する事が多かったのにたいして初回治療症例では AZT 関連変異は殆ど観察されなかった。

[シリパン・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)、パニータ・パチバニッチ(ランパン病院)、吉田レイミント(長崎大学熱

帯医学研究所)、有吉紅也(長崎大学熱帯医学研究所)、松田昌和(三菱化学メディエンス株式会社)、杉浦 互]

#### 7. インテグラーゼ阻害剤耐性化機序の分子生物学的解析

多剤耐性を獲得した HIV/AIDS 症例ではインテグラーゼ (IN) 領域の遺伝的多様性が高い傾向にある。これらの多様性が IN 阻害剤ラルテグラビル (RAL) の効果および RAL 耐性獲得に及ぼす影響について検討した。多剤耐性 3 症例 (SHIN-1~3) について HXB 2 の IN と置換して組み換えウイルスを、さらに RAL 耐性変異 148K, 148R, 148H, 155H, 148K+155H を導入し耐性クローンを作成した。クローンの感染性と増殖能は MT-2 細胞、薬剤感受性は R5MaRBLE 細胞を用いて評価した。MT2 感染実験において耐性クローンはいずれも野生株よりも増殖能力の低下が認められた。RAL に対する感受性は HXB2、SHIN-2 の耐性クローンでは野生株より 14~72、14~190 倍の IC<sub>50</sub> 値を示した。以上より SHIN-2 株が有する IN 領域の遺伝的多様性は RAL の耐性レベルを引き上げる方向に働くことが示唆された。

[鈴木寿子、服部純子(名古屋医療センター)、村田大吾(名古屋医療センター)、三浦秀佳、伊部史朗(名古屋医療センター)、藤野真之、西澤雅子、山本直樹、杉浦 互]

#### 8. 高感度薬剤耐性検査法を用いた新規未治療患者における微小集族薬剤耐性 HIV 検出の試み

定量 PCR を応用した高感度薬剤耐性検査法(高感度法)を用いて新規未治療 HIV/AIDS 症例中の微小集族 (minority population) 薬剤耐性変異の検出を試みた。逆転写酵素阻害剤耐性変異の M41L、K65R、K70R、K103N、Y181C、M184V、T215Y/F の 8 変異 (CRF01\_AE では K65R を除く 7 変異) を解析対象とした。国立病院機構名古屋医療センターで 2009 年 1 月~12 月までに回収された新規未治療 HIV/AIDS 症例 98 例 (Subtype B 93 症例、CRF01\_AE 5 症例) を解析した結果、ダイレクトシーケンス法(従来法)では検出できなかった minority population として患者血漿中に存在する K65R、K70R、K103N、T215L を 1 例ずつ検出した。薬剤耐性変異の検出率は従来法のみで薬剤耐性検査を行った場合の 5.4% から 9.7% に上昇した。T215L の定量 PCR amplicon のシーケンスを解析した結果、T215L にリンクした薬剤耐性変異は認められなかった。

[西澤雅子、服部純子(名古屋医療センター)、Jeffrey Johnson(米国疾病対策局)、Walid Heneine(米国疾病対策局)、杉浦 互]

#### 9. 高感度薬剤耐性 HIV 検出法を用いた微小集族薬剤耐性 HIV の動態と HAART 治療効果との相関についての研究

薬剤治療を受け、多剤耐性に陥った HIV/AIDS 症例のサンプル中に minority population として存在する薬剤耐性変異を高感度法によって解析した。ダイレクトシーケンス法(従来法)で複数のクラスの抗 HIV 薬剤にたいする耐性変異が複数確認され多剤耐性と判定された 13 サンプル(サブタイプ B 10 サンプル、CRF01\_AE 3 サンプル)について、minority population の薬剤耐性 HIV の検出を試みた。その結果サブタイプ B 10 サンプル中 2 サンプルから従来法では検出できない minority population として存在していた T215Y を、CRF01\_AE 3 サンプル中 1 サンプルから K70R を検出した。また 1 年以上の長期に渡って HAART を受けていた HIV/AIDS 3 症例について、各薬剤耐性検査ポイントの解析を行い minority population の薬剤耐性 HIV の経時的動向について調査した。その結果、3 症例中 2 症例から高感度法のみで検出される minority population の薬剤耐性 HIV (Y181C、K103N) が検出された。うち 1 症例では Y181C が minority population として 1 年以上存在していた。

[西澤雅子、Jeffrey Johnson(米国疾病対策局)、Walid Heneine(米国疾病対策局)、杉浦 互]

#### 10. HIV-1 の逆転写酵素が持つ RNase H 活性に対する特異的阻害剤の開発

HIV-1 が持つ酵素の中で阻害剤が開発されていない唯一の酵素活性として、逆転写酵素に内在する RNase H 活性がある。我々は HIV-1 の逆転写酵素が持つ RNase H 活性を特異的に阻害する小分子化合物の開発を試み、これまでに RNase H 活性を特異的に阻害する小分子化合物の基本化学構造として 5-Nitro-furan-2-carboxylic acid carbamoylmethyl ester (NACME) を同定した。電算機的解析を行ったところ、NACME 誘導体が RNase H の活性中心に位置する保存されたヒスチジン 593 残基、2 つのマグネシウムイオン、セリン 499 残基の側鎖水酸基、グルタミン 475 残基のアミド基に配位することにより酵素活性を阻害すると推測された。中でもセリンとグルタミン残基との相互作用による薬剤-酵素相互作用の安定化はこれまでに報告されている RNase H 阻害剤と異なることから、NACME 誘導体を改変することにより優れた RNase H 阻害剤を開発し次世代抗エイズ薬として供する事ができるかもしれない。

[駒野 淳、浦野恵美子、市川玲子、村上 努、柳田浩志(千

葉大学)、松元輝礁(千葉大学)、星野忠次(千葉大学)、山本直樹]

#### 11. HIV-1複製抑制能を有する健常人由来CD4反応性IgMクローンの分離

CD4分子を認識する自己反応性抗体が健常人の約0.5%やHIV-1感染者の10-30%に検出されることが報告されている。CD4はHIV-1受容体であるため、CD4反応性抗体はHIV-1感染を抑制し、HIV-1感染抵抗性やHIV-1感染症の病期遅延に関与すると考えられている。しかし、ヒト由来CD4反応性抗体クローンによるHIV-1複製抑制能はこれまで検証されていない。我々はHIV-1非感染健常人ドナーの末梢血単核球からEBVで不死化したB-LCLを樹立し、その中からCD4反応性IgMクローンを分離した。末梢血B細胞に占めるCD4反応性抗体産生細胞の占める割合は約0.0013%(1/7.7x10<sup>5</sup>)であった。遺伝子解析の結果、抗体はいずれもIgMクラスで、VHとVL遺伝子はそれぞれ生殖細胞のVH3-33/L6, VH3-33/L12, VH4-4/L12に相当し、いずれも体細胞超変異を伴っていた。H0538-213クローンは末梢血単核球におけるHIV-1 JR-FL株の複製を1-2.5 $\mu$ g/mlで抑制した。(本研究はヒト由来CD4反応性抗体をクローニングしたと同時に、IgM抗体クローンが抗HIV-1活性を持つことを実証した世界初の報告でもある。)ヒトCD4反応性自然抗体の一部がHIV-1感染抵抗性およびHIV-1感染症の病期進行を規定する要因となる可能性が示唆された。H0538-213によるHIV-1感染阻害機構を明らかにすることによりウイルス侵入時における未知のウイルス-宿主相互作用を明らかにできる可能性がある。健常人由来CD4反応性抗体はHIV-1感染症の治療用抗体医薬としても有用かもしれない。

[駒野 淳、浦野恵美子、濱武牧子、前田史子(東海大学)、長塚靖子(理化学研究所)、竹腰正隆(東海大学)]

#### 12. エイズウイルスのコレセプターCXCRの細胞表面発現制御に関する研究

HIV-1の細胞侵入を媒介する受容体はCD4とCXCR4またはCCR5である。我々はCXCR4の細胞表面発現がどのように制御されているかを遺伝的に解析した。CXCR4のC末端細胞質側ドメインのC末端側から10番目までのアミノ酸を欠落させることにより、細胞表面に発現するCXCR4のレベルが増大することを見出した。しかし、6番目のアミノ酸を欠落させても細胞表面の発現レベルは野生型と同様であった。さらに10番目までのアミノ酸欠損により、CXCR4のhomotypic相互作用が減弱した。恒常的細胞表面レベルだけでなく、リガント依存的な細胞表

面レベルの減少効率も低下した。この現象はT細胞を用いた一過性の発現システム及び、恒常的な発現システムにて同様に観察された。近年、免疫学的異常を示す遺伝性疾患として知られるWHIM症候群の原因がCXCR4の細胞質側ドメインの欠落であることがわかってきた。WHIM症候群のリンパ球はCXCR4のリガンドに対する反応性が昂進しており、細胞表面のCXCR4レベルも増加していることが報告されている。我々の研究により、WHIM形質を規定している遺伝的要素がCXCR4のC末端の特定の4アミノ酸であることが示唆された。この遺伝子的要素が機能するメカニズムを明らかにすれば、HIV感染症だけでなく、WHIM症候群の治療法を開発することも可能になるかもしれない。

[駒野 淳、宮内浩典、浦野恵美子、二橋悠子、青木 徹、濱武牧子、山本直樹]

#### 13. 経口投与可能な CXCR4 阻害剤の研究・開発

CXCR4 は HIV-1 の主要なコレセプターの一つであり、そのアンタゴニストは新しい作用機序を有する抗 HIV-1 剤の候補として期待されている。私達は、新規 CXCR4 アンタゴニスト KRH-3955 が経口投与可能で、in vitro、hu-PBL-SCID マウスモデルの両方で高い抗 HIV-1 活性を示すことを見出した。平成 21 年度は、CXCR4 阻害剤 KRH-3955 を用いて異なる Donor からの PBMC への感染防御活性の比較、その持続的阻害活性について検討した。また、平成 18 年秋に開始した KRH-3955 と KRH-3148 を用いた PM1/CCR5-NL4-3 の感染系による薬剤耐性誘導実験はそれぞれ培養開始時の約 5 倍、約 3.5 倍の薬剤耐性ウイルスが得られており、それらの Env 領域に蓄積された変異を解析中である。

[村上 努、竹村太地郎、富田香織、熊倉 成(クレハ)、山崎 徹(クレハ)、前田洋助(熊本大学)、山本直樹]

#### 14. HIV-1 マトリックスタンパク質 (MA) を標的としたペプチド阻害剤の開発

HIV-1 Gag 蛋白質の構成成分であるマトリックス蛋白質 (MA) の部分ペプチドに細胞膜透過性を付与して細胞内に導入することにより、HIV-1 のウイルス蛋白質同士やウイルス蛋白質と宿主因子の相互作用に影響を与え、その結果 HIV-1 の複製を阻害できるか否かを検討した。HIV-1NL4-3 の MA 全長の 132 アミノ酸について、5 残基ずつオーバーラップさせながら 15 残基の部分ペプチドライブラリーを設計した。細胞膜透過性を付与するため、膜透過性配列であるオクタアルギニン配列を各ペプチドの C 末端に付加した。コントロールペプチドとして

C末端のシステインをキャッピングした部分ペプチドライブラリーも同時に作製した。これら計26種の部分ペプチドライブラリーについて細胞毒性(MTT試験)と抗HIV-1活性(MTT試験または培養上清中のHIV-1CA(p24)ELISA)を評価した。X4HIV-1であるNL4-3をMT-4細胞に感染させる試験、R5HIV-1であるNL(AD8)またはJR-CSFをPM1/CCR5細胞に感染させる試験の両方においてmicro Mのオーダーでウイルス複製を顕著に阻害する部分ペプチドを見出した。現在、ウイルス複製阻害の作用機序を解析中である。また、細胞膜透過性を付与したペプチドが実際に細胞内に導入されたか否かもペプチドに蛍光色素を付加して検証予定である。今後は、活性を示した配列を基にペプチドライブラリーを再構築し、より高活性なペプチドの構築を目指したい。

[村上 努、小森谷真央(東京医科歯科大学)、野村 渉(東京医科歯科大学)、鳴海哲夫(東京医科歯科大学)、玉村啓和(東京医科歯科大学)、山本直樹]

### III. HIVの分子疫学ならびにウイルス学的研究

#### 1. 我が国におけるMSM流行の比較分子疫学

わが国における新規感染者の70%近くが同性間性接触(MSM)によるものと推定され、わが国におけるHIV-1感染症拡大の最も重要な動因となっている。われわれは、わが国におけるMSM流行が世界とりわけ近隣アジア地域の流行と比較して、どのような特徴と差異があるのかに関して、分子疫学的視点からの分析を試みた。その結果、わが国におけるMSM流行は基本的に欧米由来のHIV-1サブタイプBによるものであるが、このような特徴は予測に反して、アジアの多くの先進工業国とも異なり、1980年代に欧米のMSM感染者から流入したと推定されるサブタイプBが、わが国においては依然として強いファウンダーとなって流行が進行していることが見出された。同様な特徴をもつのは近隣では韓国のみで、その他の地域では、地域(の異性間感染者)の流行を大きく反映する形となっている。今後、ボーダーレス化がさらに進む現在、わが国においても流行像が急変する可能性がありうると考えられる。

[長谷彩希、上西理恵、廖華南、草川 茂、武部 豊、高山義浩(長野県エイズ拠点病院ネットワーク)、四本美保子(長野県エイズ拠点病院ネットワーク)、高橋 央(長野県エイズ拠点病院ネットワーク)、斎藤 博(長野県エイズ拠点病院ネットワーク)、人見重美(筑波大学附属病院感染症科)、Chin-Yih Ou (Global AIDS Program-China, 米国CDC-北京)]

#### 2. アジアにおける第4のCRF01\_AEおよびサブタイプB'間の新規組換え型流行株(circulating recombinant form, CRF)の同定とその解析

HIV-1サブタイプB'とCRF01\_AEは、タイを中心とする東南アジア地域の流行形成に重要な役割をもっている。両ウイルスは90年代初め以来、20年近くにわたってこれら地域に流布しており、両ウイルス間の組換えによる3種の組換え型流行株(CRF) [CRF15\_01B, CRF34\_01B (タイ) および CRF33\_01B (マレーシア)]が見出されている。われわれは、マラヤ大学エイズ研究COE (CERiA)との共同研究によって、マレーシア東部のIDUから得た検体から新しいタイプのCRF48\_01Bを見出した。CRF48\_01Bは、先に同定されていたCRF33\_01Bと極めて近縁な組換え構造をもち、組換え点の1個を共有しており、また系統関係および共通祖先年代(time of the most recent common ancestor, tMRCA) (CRF33\_01B~1993; CRF48\_01B~2001)の解析から、CRF48\_01BはCRF33\_01Bを直接の祖先とする第2世代のCRFであることが推論された。このようなancestor-progenitor関係がさまざまな角度から確認されたのはじめての例と考えられる。われわれの解析結果は、またマレーシアがミャンマー、中国雲南省西部地域と並んで、サブタイプ間の様々な組換えウイルスが新生している新たなgeographic recombination hotspotであることを示唆する。

[Yue Li, Kok Keng Tee、廖華南、上西理恵、長谷彩希、Xiaojie Li、草川 茂、Adeeba Kamarulzamen(マラヤ大学医学部)、武部 豊]

#### 3. HIV-1サブタイプB'の起源とその伝播の時間的・空間的ダイナミクスに関する研究

HIV-1サブタイプB'は東南アジア地域の経血液流行の原因ウイルスとして重要なサブタイプBの地域ヴァリエントである。B'はタイついで近隣の東南アジア諸国の注射薬物乱用者(IDU)に流布するウイルス株として見出されたが、ついで1990年代はじめから中頃に起こった中国内陸部のプラズマ供血経験者(FPD)間の爆発的エイズ流行の引き金となったことが明らかにされている。われわれは、最新のデータ解析技術を用いて、東南・東アジア地域におけるサブタイプB'播種の集団別特徴に関する解析を行った結果、FPD間に流布するB'流行株(B'-FPD)は、東南アジア地域のIDU流行形成に係ったB'流行株(B'-IDU)とは明確に区別されるクラスターを作り、共通祖先年代はそれぞれ1991年、1985年と推定されることを明らかにした。このことは、FPD流行は、先行する東南アジア地域のIDU

間の流行株に起源をもつことを強く示唆するものである。ある流行株が、異なる地域の異なる（あるいは同一の）リスク集団に播種する場合、複数種のウイルス株が時間を違えて多重に新しい集団に流入することが期待されるが、現実にはほとんど単一種のウイルスが流行のファウンディング株となる場合が多い。B'-FPD 播種は、そのような典型的な例と考えられる。その選択が、単に偶然（疫学的因子）によるのか、生物学的要因（例えば感染性の違いによる選択）によるのかは、今後の解析課題の一つである。[Yue Li, 上西理恵、長谷彩希、Kok Keng Tee、廖 華南、Xiaojie Li、Oliver Pybus(英国オックスフォード大学)、武部 豊]

#### IV. HIV-1 感染性クローン樹立法ならびに各種研究技術の確立

##### 1. HIV-1 CRF33\_01B 感染性分子クローンの樹立

これまでアジアに地域において見出されたCRF01\_AEとサブタイプB'の間の遺伝子組換えによって生じた4種の組換え型流行株 (CRF)の中で、様々な集団内に極めて広範に播種していることが明確に証明されているのは、われわれが2005年にマレーシアで見出したCRF33\_01Bのみであり、その意味で重要性が高い。われわれは、CRF33\_01B分離株を出発材料としてはじめて感染性分子クローンを樹立することに成功した。マレーシアはこの他、多様な組み換え株が新生しつつあることが見出されており、新規の研究ツールの整備・拡充を目指して、系統的な感染性クローンの分離・樹立を進めている。[Kok Keng Tee、草川 茂、長谷彩希、上西理恵、廖 華南、Xiaojie Li、Adeeba Kamarulzamen (マラヤ大学医学部)、武部 豊]

##### 2. 感染性クローンの樹立と方法論の改良

著しい多様性を示す HIV-1 において分離ウイルスから迅速に感染性分子クローンを樹立することを目的に方法論の改良を引き続き試みている。HIV-1 全長ゲノム増幅に用いる PCR 酵素及び Primer 設計をさらに考慮したところ従来よりも迅速に多数の感染性分子クローンを樹立することが可能になった。本年度はこの方法論をセンター第2研究グループで収集している薬剤耐性ウイルス、日赤から感染研 HIV パネル作成のため提供を受けた献血陽性検体由来分離ウイルス及び BBI 社より購入した HIV Subtype Infectivity Panel (PRD320)由来ウイルスに応用して感染性分子クローンを樹立した。

[巽 正志]

##### (1) In-Fusion 酵素による One-Step HIV-1 Cloning Strategy

の改良

当室では現在 HIV-1 ゲノムを上流、下流に区分し One Cut 制限酵素サイトを含む Primer で増幅した後繋ぎ合わせる Half & Half 戦略による「HIV Trapping System」を用いて感染性分子クローンを樹立している。しかしながらこの戦略は One -Cut 制限酵素を見出す過程で難儀する検体も希ながら存在する。より効率的で汎用性のある樹立法を確立するため制限酵素による繋ぎ合わせを必要としない方法論として Vaccinia Virus 由来の相同組換え酵素を用いた In-Fusion Cloning 系の感染性分子クローン作成への応用を試みている。この酵素は Vector と組込む Insert に 15 塩基の相同性を認識して末端同士を結合する。HIV-1 の PBS 領域と 3'LTR の PolyA Signal 下流領域の塩基配列は多くの HIV-1 Group M で保存されている。これらの特徴を利用して作成したい HIV-1 の subtype/CRF が判明すれば、現在まで作成した感染性分子クローンから同じ subtype/CRF のクローンを選別し、Vector 側を pMT1/pMT4 の Not I サイト側を含む Primer と PBS 側で 5'LTR を含む Vector 片を用意し、標的の HIV-1 プロウィルスを 15 塩基配列が重複した PBS 領域配列と PolyA 下流領域と Vector Not I サイト領域を含んだ Primer Set で増幅し、両者を相同組換え酵素存在下で反応させる事で全長 HIV-1 クローンを樹立する方法論である。昨年度はその樹立効率は実用にはまだ低かったが、Primer 設計の改善と組換え酵素の安定性が向上したことにより樹立効率が向上した。今後さらに Primer 設計などの実験条件を精査し、HIV-2/SIV にも応用を目指す。

[巽 正志]

##### (2) 邦人感染者由来薬剤耐性ウイルス subtype B 感染性分子クローンの樹立と解析

昨年度まで本邦で流行している主要なウイルス株である HIV-1 subtype B と CRF01\_AE 組換体の Naïve ウイルス由来感染性分子クローンの標準株を整備した。本年度は様々な薬剤耐性プロファイルを呈する耐性ウイルスの感染性分子クローンを整備する目的で、治療中の患者由来で典型的な各種薬剤耐性プロファイルを呈する薬剤耐性ウイルスから引続き標準株クローン樹立を継続している。特に新しいプロテアーゼ阻害剤として治療に用いられつつある Darnavir に対する耐性ウイルス株を含めて感染性分子クローンを作成している。これらのクローンは薬剤耐性 subtype B の解析と耐性試験標準化に有用であることが期待される。

[平野梨恵、西澤雅子、杉浦 互、巽 正志]



(3) 未整備の subtype/CRF HIV 感染性分子クローンの樹立と解析

これまで第2室では国内で流通する HIV 感染診断キットの性能試験に資するため、著しい多様性を呈する HIV-1 グループ M の様々な subtype/CRF ウイルスの感染性分子クローンを整備してきた。国内外で流行する主要な subtype/CRF ウイルスに関しては薬剤耐性ウイルスも含めて複数クローンの樹立が成功しほぼ整備出来た状況であるが、国際交流が益々盛んになるにつれて現在では流行する HIV-1 ウイルスに国境はない。そこで未だ整備されていない subtype/CRF ウイルスの感染性分子クローンを樹立するため、欧米先進国において第4世代抗原・抗体同時測定系 HIV 感染診断キットの抗原検出性能試験に subtype/CRF の抗原標準株として頻繁に用いられているウイルス株を含む Boston Biomedica Inc. の HIV Subtype Infectivity Panel PRD320 を購入し、未だ整備されていない subtype/CRF と欧米で標準株として用いられているウイルス由来の感染性分子クローンパネルを整備することを一昨年度から開始した。PRD320 Panel member 20 株のウイルス全てについて感染性分子クローンを樹立した。全ゲノムの塩基配列決定によりその帰属を確認したところ、subtype A 2 クローン、subtype B 4 クローン、subtype C 4 クローン、subtype D 4 クローン、subtype F 4 クローン、subtype G 2 クローン、CRF01\_AE 4 クローン、CRF02\_AG 4 クローン、グループ O 4 クローン及び HIV-2 2 クローンが樹立された。

[竹川奈穂、武田 哲、巽 正志]

(4) PRD320 Panel における標記 subtype/CRF と異なる組換体の検出

subtype/CRF の標準株として用いられている PRD320 Panel のウイルス 20 株について全て感染性分子クローンを樹立したが、このうち3株のウイルスは標記の subtype/CRF と異なることが示された。PRD320-02 の Ghana 由来 I\_2496 株は subtype A ではなく subtype A1 と subtype G のユニークな組換体であり、現在ガーナを含む西及び中央アフリカで蔓延する CRF02\_AG とは異なる Breakpoint を示していた。このウイルス株は流行早期に分離されていることから当地では流行早期に既に様々な subtype A と subtype G の間で組換体ウイルスが生成していたことを示している。

次に PRD320-15 の Zaire 由来 BCF-DIOUM 株は subtype G ではなく subtype A1, C, G, K, 及び J の Mosaic 構造を示し CRF06\_cpx の K 領域に C が組み込まれたユニークなゲノム構造を示していた。最後に PRD320-17 の Zaire 由

来 BCF-KITA 株は数少ない subtype H の参照株として用いられてきたが、そのゲノム構造は subtype A1, C, G, H 及び J の複雑な Mosaic 構造を示し、subtype H に帰属する領域は僅かに vpu から env C1/V1 領域と env C3/V4 領域のみであった。これらのウイルス株も流行早期に Zaire で分離されていることから当地では予想以上に様々な subtype/CRF が混在流行して組換体ウイルスの生成の Hot-spot であったことが示された。

[竹川奈穂、巽 正志]

3. 亜鉛フィンガー—LEDGF 融合タンパクを用いた L V ベクターの配列特異的挿入法の開発の試み

レンチウイルス (LV) ベクターは、分裂細胞および非分裂細胞に対して高効率な遺伝子導入が可能であるが、その遺伝子発現には染色体への挿入が不可欠である。我々は LEDGF の IN 結合ドメイン (IBD) と塩基配列特異的な DNA 結合ドメインである亜鉛フィンガー (ZFP) の融合タンパク質を作製することで染色体の標的配列特異的に LV ベクターを挿入し、かつターゲット遺伝子をノックアウト可能な手法の開発を試みた。今回は CCR5 遺伝子を認識する ZFP と IBD の複合タンパク質を作製した。高感度分子間結合解析システムであるアルファスクリーン法を使用した解析系を新規に構築し、上記解析系で結合活性を検討した結果、標的配列で signal/background (S/B) 比約 50 と強い結合がみられ、一塩基置換したオリゴ DNA においてはバックグラウンドとほぼ同程度のシグナルが検出されるにとどまった。次に核移行シグナルを付与した IBD-ZFP を培養細胞で発現させ、HIV IN との核内での共局在を蛍光抗体染色で確認した。本手法を応用し、HIV ゲノムを宿主染色体の致死遺伝子を標的として挿入させるなど、新規抗 HIV 療法として発展させることも可能であると考えられる。

[近藤麻美(横浜市立大学)、山本直樹、梁 明秀]

V. HIV ライフサイクルと宿主因子の研究

1. 包括的キノーム解析による HIV-1 Vpu のリン酸化調節機構の解明

今回我々は、HIV-1 の効率的な粒子産生に關与するウイルスタンパク質 Vpu について包括的キノーム解析を行い、Vpu のリン酸化の調節、および BST-2/Tetherin 依存的なウイルス粒子産生に關与する新規宿主因子の探索を行った。ヒトタンパク質キナーゼ約 400 種類を無細胞蛋白質合成系にて同時に作製し、Vpu との相互作用の有無を蛍光で検出可能な一次スクリーニング系を新規に確立した。一次スクリーニングの結果、Vpu と結合親和性を

もつ宿主キナーゼ 45 種類を同定した。二次スクリーニングにより、HIV-1 の複製を負に制御しうるキナーゼ A を同定した。Vpu とキナーゼ A は、細胞内の核近傍で共局在し、*in vitro* で直接的に結合した。また、キナーゼ A を過剰発現したウイルス感染細胞では、Vpu が核近傍の CD63 陽性の構造体に蓄積し、ウイルス粒子の産生が顕著に減少した。以上により、キナーゼ A は Vpu の機能的リン酸化を阻害し、BST-2/Tetherin を介した抗ウイルス活性を亢進させると考えられる。

[宮川 敬、澤崎達也(愛媛大学)、松永智子(愛媛大学)、山本直樹、梁 明秀]

## 2. HIV-1 Gag を遺伝的改変に根ざしたレンチウイルスベクターの改良

レトロウイルス Gag タンパク質のミリストイル化は Gag の細胞膜 targeting・Gag 集合・細胞表面への輸送・budding・感染初期過程に重要な機能を持つ。我々は Gag 本来のミリストイル化シグナルを失活させ、N 末端にくつつかの異なる細胞膜移行シグナルタンパク質を融合させた。異種のタンパク質や Gag の N 末端に由来するミリストイル化シグナルを Gag の N 末端に融合させて、本来ミリストイル基が付加される位置よりも 22 アミノ酸上流部位にミリストイル化を受ける改変を施すと、ウイルスベクターの産生効率が最大 10 倍に増加した。改変型の Gag は分子間の相互作用が強くなっていることが BRET 解析により明らかになった。ウイルスプロテアーゼによる Gag の限定分解が亢進していることから Gag 間の相互作用が強くなったことが示される。一方、ウイルス粒子内の Gag-pol の取り込み効率は野生型とほぼ同じであり、ウイルス出芽における VPS4 依存性にも変化がなかった。以上よりミリストイル化の部位を変化させることにより、Gag 間の相互作用を強め、出芽と成熟効率を上げることを通じてレンチウイルスによる遺伝子導入効率を増大させることが示された。レンチウイルスベクターはヒト遺伝子治療に今後広く使用されることが期待される。ウイルスベクターの工業的産生に際し、ウイルスベクターの産生量を増大させる本技術は、治療にかかる費用と時間を大幅に減らすために役立つと期待される。

[駒野 淳、青木 徹、浦野恵美子、二橋悠子、濱武牧子、清水佐紀、村上 努、山本直樹、玉村啓和(東京医科歯科大学)]

## 3. T 細胞における HIV-1 抵抗性遺伝子のスクリーニング - SEC14L1a C 末端ドメインの同定とその機能解析

HIV-1 複製は多くの宿主-ウイルス相互作用のうえに

成立している。HIV-1 複製を制御する宿主因子の同定と作用機序の解明はウイルス学・細胞生物学的観点からも意義深い。我々はこれまでに T 細胞を用いた HIV-1 抵抗性遺伝子の機能的スクリーニング系を樹立し、HIV-1 複製制御メカニズムに関する解析を行ってきた。我々は hPBL と RK13 細胞 cDNA ライブラリーからウイルス複製後過程を標的とする新たな宿主因子として SEC14-like 1a (SEC14L1a) の C 末端側を同定した。MT-4 と SupT1 細胞に C 末領域 (CTD1, aa642-715) を恒常的に発現させると HIV-1 複製抵抗性が再現された。SEC14L1a の C 末端領域に存在する GOLD ドメイン全領域を含む変異体 CTD2 (aa493-715) も HIV-1 複製抵抗性を示したが、全長 (FL) は抗ウイルス活性を示さなかった。FL, CTD1, 2 の発現は HIV-1 の感染初期過程及び LTR 転写に影響を与えなかった。FL はウイルス産生効率を低下させたが CTD1, 2 はウイルス産生効率を低下させなかった。CTD1, 2 はウイルス様粒子への Env 取り込み効率を減少させたが FL は増大させた。以上より、SEC14L1a CTD1, 2 はウイルス粒子への Env 取り込み効率を低下させることにより HIV-1 増殖を阻害することが示唆された。一方、FL が HIV-1 増殖に対する影響を示さなかった原因はウイルス産生抑制能とウイルス粒子への Env 取り込み増加による相殺効果と推測される。SEC14L1a による HIV-1 複製制御メカニズムの解明は宿主-ウイルス相互作用の理解を深めるだけでなく新たな抗 HIV-1 戦略の開発にも役立つと期待される。

[駒野 淳、浦野恵美子、市川玲子、森川裕子(北里大学)、山本直樹、芳田 剛(京都大学)、小柳義夫(京都大学)]

## 4. Rab 蛋白質とそのエフェクター蛋白質の HIV-1 粒子形成における役割

HIV-1 の粒子形成に関与する宿主因子に関して最近その出芽・放出に ESCRT 蛋白質複合体が関与することが明らかになり、その詳細が解明されつつある。一方、Gag 蛋白質のウイルス形成部位への輸送がどのような宿主因子によって制御されているかについては不明な点が多い。そこで我々は細胞内小胞輸送を担う Rab 蛋白質に着目し、本発表では主に Rab7 とそのエフェクター蛋白質の HIV-1 粒子形成における役割について検討した結果を報告する。

Rab7 とそのエフェクター蛋白質の一つ Rab7-interacting protein (RILP) を HeLa または 293T 細胞で過剰発現させた条件下で同時に細胞に導入した pNL4-3 の細胞内発現量やウイルス放出量をウエスタン・ブロッティングによって解析した。放出されたウイルス量はまた p24ELISA 法により、その感染価は TZM-bl 細胞を標

的細胞として測定した。Rab7 と RILP のドミナントネガティブ (DN) 変異体を過剰発現させると、細胞内ウイルス蛋白質レベルとウイルス放出量 (感染価) の増加が HeLa、293T 細胞のどちらにおいても観察されたが、このウイルス蛋白質レベルの増加は Gag 蛋白質と比較して Env 蛋白質でより顕著であった。これらの DN 変異体の過剰発現が Tat に依存した HIV-1LTR からの転写・翻訳の活性化を通してウイルス蛋白質レベルの増加に寄与している可能性は低いと考えられた。また、Gag 蛋白質の免疫沈降によって弱いながら RILP の共沈が観察され、これらの蛋白質間の物理的相互作用が示唆された。以上の結果は、Rab7 とそのエフェクター蛋白質 RILP が HIV-1 粒子形成に関与していることを示唆している。現在、内因性の Rab7 または RILP のノックダウンや Rab5 の HIV-1 粒子形成への影響を検討中である。

[村上 努、竹村太地郎、富田香織、伯川冬美、駒野 淳、山本直樹]

## VI. HIV 感染動物モデルの開発に関する研究

### 1. サル・エイズモデルを用いた抗HIV候補薬のスクリーニング

ヒト/HIV感染症の動物モデルとしてこれまでに確立したサル・エイズモデルを用いて治療候補薬剤のスクリーニングを行っている。過去2年にわたり検討してきた候補薬剤の最終評価を行った。HIV予防ワクチン戦略の次善の戦略としてPrEP (pre-exposure prophylaxis)が近年急速に検討されているが、本実験では、単回の事前内服により数週間の感染予防効果が期待できる実用的な薬剤開発を目指して、候補薬剤のサル・エイズモデルによる評価を行った。方法として感染予防内服候補薬剤としてCXCR4拮抗剤KRH-3955を、陽性対照薬剤としてFTC/TDFを、評価系としてSHIV-KS661c/サル感染発症モデル系を用いた。感染陽性対照群、候補薬剤前日投与群、候補薬剤2週間前投与群、対照薬剤前日及び直前投与群、対照薬剤2週間前投与群、以上5群(各群3頭、薬剤は全て経口投与)に対してSHIV-KS661cを経直腸的に攻撃接種した。血中CD4細胞数と血中ウイルス量、攻撃接種3ヶ月以降の各種リンパ組織中のCD4細胞数を検討することにより、各薬剤の感染予防内服効果を評価した。その結果、KRH-3955前日投与群では感染防御は達成されなかったが全頭で血中CD4細胞消失を防いだ。2週間前投与では1頭のみでCD4細胞消失を防いだ。対照群に比べて、前日投与及び2週間前投与のいずれの群でも、各種リンパ組織中CD4細胞数が有意に保持されていた。興味深いことに、FTC/TDF前日及び直前投与群の2頭において完全な

感染防御が達成された。以上、KRH-3955は単回の2週間前投与で感染防御は達成できなかったが体内の総CD4細胞消失を防いだ。小動物モデルにおける同等以上の効果(既報)を併せて考慮すると、KRH-3955はweekly PrEPの有望な候補薬剤と考えられる。これまでの臨床試験の結果から単剤でのPrEPは効果的ではないことが示唆されている。FTC/TDFの予想外の効果を勘案すると、KRH-3955とFTC/TDFを含めた複数薬剤によるPrEPの必要性が示唆された。いわゆるHAARP (Highly Active Anti-Retrovirus Prevention)である。

[仲宗根正、熊倉 成(クレハ)、村上 努、山本直樹]

### 2. Cell-associated virus経粘膜感染によるサル・エイズモデル開発 (ウイルス曝露非感染モデル)

ウイルス曝露非感染サルモデルの重要性は次のようにまとめられる。人類の中にはHIVに濃厚に曝露されるも感染しないヒトが存在する。いわゆるウイルス曝露非感染者である。彼らは理想的な抗HIV免疫を獲得していると考えられているため、特にその粘膜免疫の解析はワクチン開発の重要課題となっている。しかしながら、症例の発掘が困難であり、なおかつ粘膜面の解析にはサンプリング量・回数ともに制限が大きい。また、チャレンジ実験が不可能なことから、その症例が真に抗HIV免疫を獲得しているのかという確認も不可能である。ウイルス曝露非感染サルモデルはそれらの問題を解決し、HIV防御免疫本態の詳細情報を提供すると考えられる。昨年度に得られたウイルス曝露非感染サルモデルと思われる2頭に加えて、今年度新たに1頭を得ることができた。今年度は、この3頭について頻回のウイルス低量曝露と攻撃曝露を再度繰り返したが、2頭でCD4細胞数が保持された。すなわち感染防御免疫あるいは発症予防免疫等が誘導されている可能性を再確認した。現在、その防御免疫について解析中である。

[仲宗根正、梁 明秀、山本直樹]

### 3. 長期感染における糖鎖欠失変異SIVの病原性

HIVの病原性の本質は持続性の慢性感染と高い変異性にある。慢性感染において多様な変異ウイルスの産生と宿主免疫、抗ウイルス治療薬に抵抗性のウイルスの選択的増殖が起こり、免疫細胞の減少等により免疫機能不全に陥る。我々はSIVエイズ動物モデルを用いてエイズウイルスの糖鎖修飾の減少は、慢性期におけるウイルス感染を顕著に減少させることを報告した。本研究では糖鎖変異ウイルスの長期感染でのウイルス変異、宿主応答の解析を行い、糖鎖修飾のエイズウイルスの病原性への影

響の機序について解析した。SIVmac239 gp120 の 5 カ所の N 型糖鎖付加部位を欠失した変異株：Δ5G に感染した 5 頭アカゲザルについて、10 年間のウイルス感染と獲得免疫について解析した。Δ5G 感染の特徴を確認するために野生株 SIVmac239 感染、低病原性変異株 Nef 遺伝子欠損株感染と比較した。血中ウイルス RNA 量の測定によりウイルス感染について調べた。Δ5G のウイルス増殖性感染は初期感染期に限局され、感染後 20 週以降では、血中ウイルス量はほぼ検出限界以下であった。末梢単核球のウイルス DNA 量は初期感染後減少を続け、感染後 200 週には  $10^6$  細胞当たり 10 コピー以下となった。50 週頃からウイルスゲノムには、休止コドンに伴う多数の G → A 変異 SIV が検出され、感染後 200 週までには大勢を占めるようになっていた。対照的に SIVmac239 感染、Nef 遺伝子変異株感染では獲得免疫に対するエスケープ変異等がほとんどであり defective なウイルスゲノムは極めて頻度は低かった。ウイルス結合抗体測定による液性免疫、ELISPOT による細胞性免疫の解析からは Δ5G 感染では獲得免疫が経時的に低下していた。対照的に SIVmac239 感染、Nef 遺伝子変異株感染では獲得免疫は高いレベルが維持されていた。これらの結果は、Δ5G 感染は SIVmac239 感染、Nef 遺伝子変異株感染とは異なり、慢性期においてウイルス複製が非常に低レベルに抑制されていたことを示す。

[佐藤洋隆、森 一泰]

## VII. その他

### 1. iPS 細胞のレトロウイルス研究への応用

#### (1) ヒト腎上皮細胞からの iPS 細胞の作製

エイズの遺伝子治療において、患者より採取した HIV の標的細胞の前駆幹細胞に遺伝子操作により HIV 抵抗性を付与し患者体内に戻す方法は、HIV 非感染幹細胞の量的確保等の技術的な困難を伴っている。ところが、2007 年に京都大学の山中らによってヒト体細胞からの人工多能性幹細胞(Induced Pluripotent Stem Cells, iPS 細胞)の作製法が開発されたことにより、患者の HIV 非感染体細胞を初期化・遺伝子操作した幹細胞を大量調製できる可能性が開けてきた。

本研究では、iPS 細胞作製技術の確立と併せてその遺伝子操作法を開発するために、まず、ヒト腎上皮初代培養細胞からの iPS 細胞樹立を試みた。その結果、形態的にヒト皮膚線維芽細胞由来の iPS 細胞に酷似した複数の細胞株の樹立に成功した。それらの細胞株はアルカリホスファターゼ染色陽性であること、免疫蛍光染色により未分化細胞特異的抗原が検出できること、また、RT-PCR

により未分化細胞特異的遺伝子の発現が検出できることより、その未分化性が確認できた。更に、免疫不全マウスを用いたテラトーマ形成実験により *in vivo* での 3 胚葉への分化能が、また、培養細胞で *in vitro* での分化能が確認され、多能性を有する iPS 細胞であることが証明できた。[阪井弘治、武田 哲、梁 明秀、山本直樹、網 康至(動物管理室)、須崎百合子(動物管理室)、松村隆紀(首都大学東京)、宮本寛治(首都大学東京)]

#### (2) iPS 細胞を用いたマウスモデルの開発

NOD/SCID/gamma(c)(null)マウス (NOG マウス) は、ヒト造血幹細胞の生着に優れ、ヒト T、B、NK、DC 細胞などの増殖分化も認められることから理想的な HIV-1 感染マウスモデル系として貢献できると期待される。今回我々は、昨年度大量培養に成功した iPS 細胞を NOG マウスに移植することによりヒト造血幹細胞を移植した場合と同様に、マウスモデルを構築できるかどうかの検討を行った。現在、iPS 細胞をフィーダー細胞と共に静注により移植を行ったところであり、今後経時的に採血を行い、上記のようなヒトの細胞の増殖分化が認められるかどうか検討する。また、移植する細胞の数、フィーダー細胞の有無、移植経路、また、iPS 細胞を *in vitro* にてヒト造血幹細胞まで分化させた後に移植するなど、条件検討を行っていく予定である。

[武田 哲、渡辺 哲、西澤雅子、山本直樹]

#### (3) iPS 細胞からヒト造血幹細胞への分化

NOG マウスにヒト造血幹細胞を移植することによりヒト T、B、NK、DC 細胞などの増殖分化も認められる。iPS 細胞もヒト造血幹細胞へ *in vitro* で分化させることができれば、HIV-1 感染マウスモデル系の構築が可能となる。そのため、ES 細胞では報告のあるヒト造血幹細胞への分化プロトコルを用い、iPS 細胞もヒト造血幹細胞へ分化させることが可能かどうか検討を行った。iPS 細胞をコンプレント状態にした OP9 フィーダー細胞上で約 2 週間程度培養した後、CD34+細胞 isolation kit を用い AUTO MACS により CD34+細胞を回収した。Anti-CD34 抗体により染色し FACS により解析を行ったところ、CD34+細胞が確認された。今後再現性の確認を行い、十分量の CD34+細胞が回収できた場合、マウスに移植し HIV-1 感染マウスモデルの構築を試みる予定である。

[武田 哲、山本直樹]

#### (4) HIV-1 抵抗性遺伝子を導入した iPS 細胞の樹立

iPS 細胞はその名の通り、多能性を持っており免疫系

の細胞へも分化が可能である。HIV 感染の治療には免疫系の再構築が重要であるが、現行の HAART ではこれを期待することは難しい。そのため、HIV 感染者・エイズ患者の HIV 非感染の自己組織より iPS 細胞を樹立する。つぎに、iPS 細胞の遺伝子を改変、あるいは新規遺伝子を導入することで HIV に対する抵抗性を付与し、感染者・患者に自家移植することを最終目的として実験を開始した。今回は変異型 APOBEC3G 遺伝子の導入を行うために、レトロウイルスベクター、レンチウイルスベクターの作製を開始した。今後、iPS 細胞に変異型 APOBEC3G 遺伝子を導入し、HIV-1 の感染する細胞に分化させ感染実験を行い、実際に HIV-1 に対して抵抗性を示すかどうか確認する予定である。

[武田 哲、山本直樹]

#### (5) HIV-1 感染抵抗性多能性幹細胞作製の試み

iPS 細胞を利用した新規のエイズ予防法および治療法の開発を行うため、HIV-1 感染に対する抵抗性を獲得した多能性幹細胞の創出を試みた。ヒト胎児肺線維芽細胞からレトロウイルスベクターを用いて Oct3/4、Sox2、Klf4、c-MYC の 4 因子を導入し、複数の iPS コロニーを得た。このうち、アルカリフォスファターゼ染色陽性かつ形態学的に ES 細胞に類似したクローンについては、免疫不全マウスに移入し、テラトーマの作製を確認した。次にこれらの iPS 細胞にエレクトロポレーション法を用いて HIV 感染抵抗性遺伝子組み込んだ iPS 細胞を樹立した。今後はこれらの細胞の血球系細胞への分化誘導能や抗 HIV 活性について検討を行う予定である。

[西真由子、阿久津英憲(国立成育医療センター研究所)、梅澤明弘(国立成育医療センター研究所)、梁 明秀、山本直樹]

#### (6) コムギ無細胞タンパク質合成系を用いた新たな iPS 細胞誘導の試み

iPS 細胞を利用した新規のエイズ予防法および治療法の開発を行うため、遺伝子導入に依らない新規の iPS 細胞作製法の開発を試みた。コムギ無細胞タンパク質合成系を用い、C 末にアルギニン 11 個付加したリプログラミングタンパク質を合成後、 $1 \times 10^6$  個の神経幹細胞およびヒト胎児肺線維芽細胞に 1 日おきに 3 回添加した。その後、ES 培地にて培養し、iPS 様コロニーを単離した。これらのクローンは Nanog や OCT4 などの後期リプログラミングマーカーの発現はみられなかったが、FGF-4 陽性 ES 様コロニーの形成と単離に成功した。これらの結果は遺伝子導入に依らない新たな iPS 細胞作製法の可能

性を示唆するものである。今後さらなる検討を行う予定である。

[西真由子、阿久津英憲(国立成育医療センター研究所)、梅澤明弘(国立成育医療センター研究所)、梁 明秀、山本直樹]

2. エイズおよびエイズ関連疾患に対する創薬シーズ探索  
わが国の HIV 感染血友病患者では HCV 共感染率は 97% を超えている。1996 年に HAART が導入されて以来、血友病患者の死亡率は激減しているが、近年共感染した HCV による重篤な肝障害により死亡数が急増している。そこで、われわれは、エイズおよびエイズ関連疾患に対する創薬シーズ探索の一環として HIV-1、HCV の双方に活性をもつ生物活性物質の探索を進め、その結果、4 種のヒットを見出した。うち 2 種は分子量 500 未満の低分子量化合物であり、残り 2 種は分子量約 10,000 前後のペプチド性分子であった。共に HIV-1、HCV 双方に対して low あるいは sub-nM の強力な抗ウイルス活性を示した。後者はマンノース特異糖鎖結合タンパク質であり、高度の糖鎖修飾を受けているウイルスエンベロープタンパク質を標的として、ウイルス感染の最初期過程である吸着段階の阻害剤であることが明らかにされた。一方前者の作用機構は現時点では明確ではないが、ウイルスエントリー及び後期過程に標的とするものと推定される。現在、作用機構の詳細の解析と創薬展開に向けた前臨床研究が進行中である。

[上西理恵、長谷彩希、Yue Li、土浦貴代、廖 華南、加藤佳代子、武部 豊、Kirk Gustafson(米国がん研究所(NCI-Frederick))、James B. McMahon(NCI-Frederick)、Barry G. O'Keefe(NCI-Frederick)、鈴木哲朗(ウイルス第二部)、鈴木亮介(ウイルス第二部)、脇田隆宇(ウイルス第二部)]

#### 3. 新型インフルエンザ対応に関する研究

##### (1) インフルエンザ A/H1N1pdm を認識するヒトモノクローナル抗体の作出と医用応用

エイズウイルスに対するヒトモノクローナル中和抗体作出に関する技術を応用して、2009 年度に世界的流行を見せたインフルエンザ A/H1N1pdm (ブタ由来、新型インフルエンザ) に対して診断及び治療に応用できる可能性のあるヒトモノクローナル抗体の作出を行った。新型インフルエンザ感染既往のある健康な日本人ボランティアから末梢血単核球を分離し持続的かつ安定に A/H1N1pdm 抗原に反応する抗体を産生したクローンを 10 個樹立した。10 検体のうち特異的に A/H1N1pdm 抗原

に反応する検体は6個、A/H1N1pdm以外の季節性インフルエンザウイルス抗原にも反応する検体が4個あった。A/H1N1pdm抗原に反応する2検体のハイブリドマクローンについてさらに詳細な検討を加えたところ、Baculovirus/Sf9系で発現させ精製したA/California/04/2009(H1N1)由来リコンビナントHA1を認識したことから、ウイルス表面のHA分子と反応していた事が示唆された。抗体の中にはインフルエンザA/H1N1pdmに結合するだけでなく、ウイルス感染能力を無力化する抗体(中和抗体)も存在する事が明らかとなり、迅速検査・診断法の開発だけでなく、抗体医薬による治療への応用も期待できる。今後タミフル耐性問題などで新規治療法の社会的要請が高まった際に社会への高い貢献が期待できる。本技術はインフルエンザウイルス感染症だけにとどまらず、今後勃興すると危惧される種々の感染症に対応するための基幹技術として応用可能である。本技術の潜在的問題点を洗い出し、新興再興感染症勃興に際して迅速な対応がとれるように研究手法の更なる改善を進める。

[駒野 淳、久原基樹(医学生物学研究所)、山本正雅(奥羽大学)]

#### 4. エイズリンパ腫の予防法開発に関する研究

HIV-1感染者やエイズ患者における死因の上位に位置するエイズリンパ腫の約半数がEBV陽性であるため、リンパ腫の原因となるエプスタイン-バーウイルス(EBV)に対して特異的な分子治療標的の同定はHIV感染者の予後を改善するために非常に重要である。潜伏感染細胞でのEBVゲノム維持にはウイルスタンパク質EBNA1が必須である。EBNA1はEBVゲノムのoriPに結合して、EBVゲノム複製を誘導し娘細胞に分配させると同時に、Wプロモーターを活性化して癌化に密接に関与する転写活性化因子EBNA1/-2/-3s/-LPなどを発現させる。dominant-negative EBNA1(dnE1)は核移行シグナルとDNA結合/二量体化ドメインのみをコードしたEBNA1変異体である。dnE1は潜伏感染を樹立した腫瘍細胞に導入すると細胞増殖を抑制することが知られている。しかし、dnE1が新規EBV感染に与える影響は解析されていない。そこで我々は、EBV陰性細胞への野生型EBV新規感染におけるdnE1の作用について解析した。GFP-dnE1(GD)とGFPを恒常的に発現するEBV陰性B-ALL細胞にEBV B95-8株を感染させた。感染細胞から経時的にDNAとRNAを抽出した。EBVゲノムの維持効率を定量するためにBamHI W反復配列を標的としたリアルタイムPCR、悪性形質に関わる遺伝子の発現を定量

するためにWプロモーター由来転写産物を標的としたリアルタイムRT-PCRを行った。その結果、GDとGFP発現細胞において同程度のEBVゲノムが検出され、同等の効率でゲノム脱落が観察された。以上より、本実験系ではdnE1は新規EBV感染を抑止せず、感染後2週間までモニタリングしてもEBVゲノムの脱落も促進できないことが判明した。しかし、Wプロモーター由来転写産物はGFP発現細胞にてより多く検出されたことから、dnE1によりWプロモーター活性化が抑制されていることが示唆された。以上を総合すると、dnE1は新規野生型EBV感染に際し、悪性形質に関与する主なEBV遺伝子発現を阻害することが示唆された。EBNA1転写阻害剤は免疫抑制患者における日和見B細胞腫瘍を予防するために有効かもしれない。

[駒野 淳、刈屋佑美、浦野恵美子、濱武牧子、吉山裕規(北海道大学)、清水則夫(東京医科歯科大学)]

## 品質管理に関する業務

### I. 行政検査

#### 1. 体外診断薬承認前試験

本年度は2件の体外診断薬の承認前試験を行った。

[巽 正志]

### II. HIV感染診断のための標準品整備

#### 1. 日赤献血由来陽性検体からなる国内感染者HIV感染研パネル整備

国内で市販されるHIV感染診断キットの公的性能試験を第2室は担っている。現在診断キットの性能試験に用いている陽性検体の多くはHIV-1流行初期の米国血液銀行より入手した血漿を供試している。HIV感染診断キットの性能も技術革新により年々改良され、現在では第1次スクリーニング試験として抗原・抗体同時測定系が推奨され、ウインドウ期を短縮するためHIV-1 p24 gag抗原検出感度が更に改良された診断キットが欧米先進国において既に市場に導入されている。感染者増加が続く本邦においては、感度と特異性に優れたHIV感染診断キットの早期の導入は感染者の早期発見と適切な治療の開始のみならず、感染者の増加に歯止めをかけるため第1義的に重要であるが、これまで国内感染者検体入手が個人情報保護の側面から困難であったため承認前試験申請に遅延をきたす例が多かった。この現状を改善するため日赤より2004年度から2006年度に互るHIV陽性84検体と陰性50検体の譲渡を受けた。これらの検体は全て当室で分子遺伝学的特性付けを行い、また現在HIV感染診断キットを販売している主要な数社の協力を得て全検体

の特性を検討した上で選別し、陽性 80 検体及び陰性 20 検体からなる感染研公的 HIV-1 パネルとして整備した。またパネル運営委員会規程など公正な運営に必要なシステムを構築した。診断キットメーカーからなる臨床診断薬協会を通じた説明会などを開催し平成 22 年度内の運営実用化に向けて努めている。

[竹川奈穂、巽 正志、山本直樹、水落利明(血液・安全性研究部)、百瀬俊也(日赤血液事業本部中央研究所)、柚木久雄(日赤血液事業本部中央研究所)、日野 学(日赤血液事業本部中央研究所)、田所憲治(日赤血液事業本部中央研究所)]

## 2. 国内感染者由来感染研 HIV 標準パネルの特性付け

HIV 感染診断キット及び HIV-1 RNA 定量測定キットの性能も技術革新により多様性に富む様々な HIV-1/2 株に対応すべく年々改良されている。特に HIV-1 RNA 定量測定キットはキットにより HIV-1 ゲノムの標的領域が異なることから、国内感染者由来感染研 HIV 標準パネルの全ゲノムの配列決定を試みている。今年度はパネル構成全検体の p24 gag 領域の塩基配列を決定し系統樹解析をしたところ、既にパネル整備時に行った p17 gag 及び env C2/V3 領域の系統樹解析と相同な成績が得られた。解析した p24 gag 領域は国内で広く用いられている HIV-1 RNA 定量測定キットの標的領域であることから感染研 HIV 標準パネルの標準品としての価値を高めるものと考えられる。今後は更に他のゲノム領域についても配列決定を進める予定である。

[内山知佳、竹川奈穂、巽 正志]

## 3. 各種 subtype/CRF 感染性分子クローンを用いた抗原・抗体同時測定系の感度試験用標準パネルの作成

現在、本邦では HIV-1/2 感染診断の 1 次スクリーニング検査は、各保健所などで導入されている即日検査に用いられるイムノクロマト法を除いて、ウインドウ期をより短縮するため第 4 世代抗原・抗体同時測定系が導入されている。各社より各種の検査キットが市販されているが、抗体出現前の抗原陽性期を如何に感度良く検出できるかは Seroconversion Panel を購入して対応しているが、この Panel を構成する HIV-1 の subtype は限られており、その数量もまた限度があるなど、その標準抗原が国内外で依然として整備されていない状況である。我々がこれまで樹立してきた各種 subtype/CRF 感染性分子クローンが、これら抗原・抗体同時測定系における抗原検出の感度試験標準パネルとなりうるか、国内で市販されている検査キットを販売している検査会社の協力を得てその感度測

定を行なっている。サーベイにおいて subtype/CRF 数を増やし、希釈抗原濃度も各診断キットが公称する感度 10 pg/mL 前後に振り、欧州で HIV-1 抗原測定のリファレンス標準とされる Innostest による測定も行なった。その結果 Innostest による抗原検出は全ての感染性分子クローンで設定抗原濃度 10 pg/mL まで検出していた。この成績は当室が整備した subtype/CRF 感染性分子クローンが偏ったウイルスからなる可能性を否定するものであった。各種抗原抗体同時測定診断キットでこれらのパネルを測定したところ、診断キットにより subtype/CRF により検出感度が大きく異なることが改めて確認された。100 pg/mL の p24 gag 濃度で幾つかのクローンが検出出来ないキットについて、その責任抗原領域を分子モデリングと検出感度の相関を各クローンの p24 gag アミノ酸配列の比較をもとに解析を行ったところ、p24 gag 分子の E71D 及び H87Q 部位のアミノ酸変異により当該キットの用いている抗原補足もしくは検出抗体の結合活性が低くなることが推測された。今後はこれらの部位特異的変異を組み合わせた感染性分子クローンを構築し、更に解析する。

[竹川奈穂、藤本浩文(放射能管理室)、浜本いつき、巽 正志]

## 4. 各種 subtype/CRF 感染性分子クローン由来大腸菌発現 p24 gag 抗原発現の試み

上記のように各種 subtype/CRF 感染性分子クローンを用いた抗原・抗体同時測定系の感度試験用標準パネルの可能性の目処は立ちつつあるが、これらの抗原濃度はある抗原測定系で計測した濃度であることから検出感度はあくまでも相対的な評価になる。また感染性分子クローンの発現により得られたウイルスを溶解処理してその感染性を除去しても配布に当たり取扱いは安全上配慮を要することから、大腸菌における HIV-1 p24 gag タンパク抗原の発現と精製を試みている。複数の感染性分子クローンを鑄型に HisTag を付加した p24 gag を発現精製して複数の p24 gag 検出 ELISA 測定系で解析検討をしている。今後は主要な subtype/CRF の p24 gag 精製抗原パネルを整備し、第四世代抗原・抗体同時測定系の抗原感度比較試験における標準となるべく進めていく。

[平野梨恵、永井美智、巽 正志]

## 5. WHO 主催 HIV-2 RNA 標準品作成への参加

本年度 WHO 主催の HIV-2 RNA 定量測定用国際標準品作成のため 14 カ国 31 機関の研究室が 2 標準品候補品 (HIV-2 CAM2 株、HIV-2 ROD 株) を測定することにな

り、当室も参加し In-House Real-Time RT-PCR で測定報告した。各国からの測定値がまとめられ 2009 年 10 月 19 日から 23 日に開催された Expert Committee on Biological Standard で討議され文書 WHO/BS/09.2118 として公開された。今後改めて国際標準単位を取り決めることとなった。

[巽 正志、水澤佐衛子(血液・安全性研究部)]

## 国際協力関係業務

### I. 平成 21 年度 JICE/JICA とエイズ研究センター共催による JICE 研修員受入事業「診断とモニタリングのための HIV 感染検査マネジメント」(平成 21 年 6 月 15 日 -7 月 14 日)

現在世界的に拡大を続けている HIV-1 感染、AIDS 発症の予防のためには、HIV-1 の蔓延状況の正確な把握が欠かせない。このためには確固とした診断技術に基づいた HIV-1 感染診断が必須である。近年 HIV-1 の感染診断は従来の感染の有無のみを判断する血清学的診断に加えて、感染ウイルスの質、量を知ることができる PCR 法に基づいた診断法が重視されるようになってきている。しかし、現在感染の中心となっている第三世界では必ずしもこれらの診断技術が確立されていないのが現状である。これらの状況に対応するため当センターでは JICA との共催により第三世界の研修員を対象に HIV-1 の感染診断のための技術講習コースを毎年 1 回開催している。過去 3 フェーズ (各フェーズ 5 年) に渡って血清診断を中心とした研修を行ってきた。第 3 フェーズでは、近年の核酸に基づいた診断技術への需要に答えて「HIV 感染者のケアとマネジメントのための高度診断技術」と名称を改め PCR や塩基配列解析などを含めた研修を行った。そして平成 20 年度から (各フェーズ 3 年) は、途上国のナショナルレファレンスラボ (またはそれに準ずる組織) に HIV 感染・エイズの診断とモニタリングに必要な理論的背景知識およびそれらの検査技術の普及を図るため、「診断とモニタリングのための HIV 感染検査マネジメント」というコース名で研修を開始した。平成 21 年度は新型インフルエンザ発生の影響で例年より規模を縮小しての実施となったが、ボツワナ、カメルーン、中国、ミャンマー、ナイジェリア、セネガル、南アフリカ、ジンバブエの 8 カ国 8 名の研修員を対象に 4 週間半にわたって村山庁舎研修棟を中心として技術研修を行った。研修内容は診断に必要な関連分野の講義、診断技術実習、施設訪問等を組み合わせたもので、実習は 4 名ずつ 2 班に分けて行った。

[村上 努、梁 明秀、仲宗根正、西真由子、杉浦 互、鈴

木寿子、西澤雅子、武部 豊、椎野禎一郎、巽 正志、阪井弘治、武田 哲、森 一泰、駒野 淳、山本直樹、杉山和良 (バイオセーフティ管理室)、横田恭子 (免疫部)、岡部信彦 (感染症情報センター)、俣野哲朗 (東京大学医科学研究所)、Jintana Ngamvithayapong-Yanai (財団法人結核予防会結核研究所)、若杉なおみ (早稲田大学)、畢 秀瓊 (国立国際医療センター)、増田道明 (獨協医科大学)、小柳義夫 (京都大学ウイルス研究所)、内田茂治 (東京都赤十字血液センター)]

### II. その他

1. 平成 21 年度 JICE/JICA と熊本医療センター共催による「AIDS の予防及び対策」コース 講師 (平成 22 年 3 月 4 日) [駒野 淳]
2. 平成 21 年度 JICE/JICA と熊本医療センター共催による「AIDS の予防及び対策」コース 講師 (平成 22 年 3 月 15 日) [武部 豊]
3. 日本学術振興会 論博研究者受入 (平成 21 年 9 月 13 日 -10 月 9 日) [杉浦 互]
4. 日本学術振興会 論博研究者受入 (平成 22 年 1 月 18 日 -1 月 21 日) [杉浦 互]

## 研修業務

1. 厚生労働省による HIV 検査法、検査体制研究班による研修会「第 20 回 HIV-1,2 技術研修会」(平成 21 年 10 月 7-9 日) [杉浦 互]
2. 医師卒後臨床研修プログラム 講師「エイズの現状と問題点」(平成 21 年 12 月 16 日) [武部 豊]

## 発表業績一覧

### I. 誌上発表

1. 欧文発表
  - 1) Jeong SJ, Ryo A, Yamamoto N: The prolyl isomerase Pin1 stabilizes the human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) Tax oncoprotein and promotes malignant transformation. *Biochem Biophys Res Commun* 381(2): 294-299, 2009.
  - 2) Nishi M, Ryo A, Tsurutani N, Ohba K, Sawasaki T, Morishita R, Perrem K, Aoki I, Morikawa Y, Yamamoto N: Requirement for microtubule integrity in the SOCS1-mediated intracellular dynamics of HIV-1 Gag.



- FEBS Lett 583(8): 1243-1250, 2009.
- 3) Ohba K, Ryo A, Dewan MD, Nishi M, Naito T, Qi X, Inagaki Y, Okamoto T, Terashima K, Yamamoto N: Follicular dendritic cells activate HIV-1 replication in monocytes/macrophages through a juxtacrine mechanism mediated by P-selectin glycoprotein ligand-1. *J Immunol* 183(1): 524-532, 2009.
  - 4) Murakami T, Eda Y, Nakasone T, Ami Y, Someya K, Yoshino N, Kaizu M, Izumi Y, Matsui H, Shinohara K, Yamamoto N, Honda M: Postinfection passive transfer of KD-247 protects against simian/human immunodeficiency virus-induced CD4<sup>+</sup> T-cell loss in macaque lymphoid tissue. *AIDS* 23(12): 1485-1494, 2009.
  - 5) Zhou W, Yang Q, Low CB, Karthik BC, Wang Y, Ryo A, Yao SQ, Yang D, Liou YC: Pin1 catalyzes conformational changes of Thr-187 in p27Kip1 and mediates its stability through a polyubiquitination process. *J Biol Chem* 284(36): 23980-23988, 2009.
  - 6) Miyakawa K, Ryo A, Murakami T, Ohba K, Yamaoka S, Fukuda M, Guatelli J, Yamamoto N: BCA2/Rabring7 promotes tetherin-dependent HIV-1 restriction. *PLoS Pathog* 5(12): e1000700, 2009.
  - 7) Ryo A, Wulf G, Lee TH, Lu KP: Pinning down HER2-ER crosstalk in SMRT regulation. *Trends Biochem Sci* 34(4): 162-165, 2009.
  - 8) Honda M, Wang R, Kong WP, Kanekiyo M, Akahata W, Xu L, Matsuo K, Natarajan K, Robinson H, Asher TE, Price DA, Douek DC, Margulies DH, Nabel GJ: Different vaccine vectors delivering the same antigen elicit CD8<sup>+</sup> T cell responses with distinct clonotype and epitope specificity. *J Immunol* 183: 2425-2434, 2009.
  - 9) Promkhatkaew D, Matsuo K, Pinyosukhee N, Thongdeejaroen W, Leang-Aramgul P, Sawanpanyalert P, Warachit P: Prime-boost vaccination using recombinant *Mycobacterium bovis* BCG and recombinant vaccinia virus DIs harboring HIV-1 CRF01\_AE gag in mice: influence of immunization routes. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 40: 273-281, 2009.
  - 10) Land S, Cunningham P, Zhou J, Frost K, Katzenstein D, Kantor R, Chen YM, Oka S, DeLong A, Sayer D, Smith J, Dax EM, Law M; TAQAS Laboratory Network. TREAT Asia Quality Assessment Scheme (TAQAS) to standardize the outcome of HIV genotypic resistance testing in a group of Asian laboratories. *J Virol Methods* 159(2): 185-193, 2009.
  - 11) Hasegawa N, Sugiura W, Shibata J, Matsuda M, Ren F, Tanaka H: Inferring within-patient HIV-1 evolutionary dynamics under anti-HIV therapy using serial virus samples with vSPA. *BMC Bioinformatics* 10(1): 360, 2009.
  - 12) Iwatani Y, Chan DS, Liu L, Yoshii H, Shibata J, Yamamoto N, Levin JG, Gronenborn AM, Sugiura W: HIV-1 Vif-mediated ubiquitination/degradation of APOBEC3G involves four critical lysine residues in its C-terminal domain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106(46): 19539-19544, 2009.
  - 13) Fujisaki S, Yokomaku Y, Hattori J, Ibe S, Utsumi M, Hamaguchi M, Iwatani Y, Sugiura W: Molecular epidemiology of HBV-HIV-1 coinfection in Japan. *Antivir Ther* 14 Suppl 1: A67, 2009.
  - 14) Hattori J, Yoshida S, Ito T, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Kato S, Tanabe Y, Ueda M, Shirasaka T, Mori H, Minami R, Sugiura W, the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Net Work: Increasing prevalence of drug-resistance mutations among treatment-naïve HIV-infected patients in Japan from 2003 to 2008. *Antivir Ther* 14 Suppl 1: A78, 2009.
  - 15) Fujino M, Miura H, Hattori J, Ibe S, Fujisaki S, Matsuda M, Nishizawa M, Iwatani Y, Sugiura W: Mechanism of darunavir resistance acquisition in multi-protease inhibitor resistant HIV-1. *Antivir Ther* 14 Suppl 1: A113, 2009.
  - 16) Kondo M, Sudo K, Tanaka R, Sano T, Sagara H, Iwamuro S, Takebe Y, Imai M, Kato S: Quantitation of HIV-1 group M proviral DNA using TaqMan MGB real-time PCR. *J Virol Methods* 157 (2): 141-146, 2009.
  - 17) Tee KK, Takebe Y, Kamarulzaman A: Emerging and re-emerging viruses in Malaysia, 1997-2007. *Int J Infect Dis* 13(3): 307-318, 2009.
  - 18) Tee KK, Pybus OG, Parker J, Ng KP, Kamarulzaman A, Takebe Y: Estimating the date of origin of an HIV-1 circulating recombinant form. *Virology* 387 (1): 229-234, 2009.
  - 19) Tanaka R, Tsujii H, Yamada T, Kajimoto T, Amano F, Hasegawa J, Hamashima Y, Node M, Katoh K, Takebe Y: Novel 3alpha-methoxyserrat-14-en-21beta-ol (PJ-1) and 3beta-methoxyserrat-14-en-21beta-ol (PJ-2)-curcumin, kojic acid, quercetin, and baicalein conjugates as HIV agents. *Bioorg Med Chem* 17(14): 5238-5246, 2009.

- 20) Liao H, Tee KK, Hase S, Uenishi R, Li XJ, Kusagawa S, Thang PH, Hien NT, Pybus OG, Takebe Y: Phylogenetic analysis of the dissemination of HIV-1 CRF01\_AE in Vietnam. *Virology* 391: 51-56, 2009.
- 21) Delviks-Frankenberry KA, Nikolenko GN, Maldarelli F, Hase S, Takebe Y, Pathak VK: Subtype-specific differences in the HIV-1 reverse transcriptase connection subdomain of CRF01\_AE are associated with higher levels of resistance to 3'-azido-3'-deoxythymidine. *J Virol* 83(17): 8502-8513, 2009.
- 22) Hassan R, Suzu S, Hiyoshi M, Takahashi-Makise N, Ueno T, Agatsuma T, Akari H, Komano J, Takebe Y, Motoyoshi K, Okada S: Dys-regulated activation of a src tyrosine kinase Hck at the golgi disturbs N-glycosylation of a cytokine receptor Fms. *J Cell Physiol* 221(2): 458-468, 2009.
- 23) Tee KK, Kusagawa S, Li XJ, Onogi N, Isogai M, Hase S, Uenishi R, Liao H, Kamarulzaman A, Takebe Y: Isolation and characterization of a replication-competent molecular clone of a HIV-1 circulating recombinant form (CRF33\_01B). *PLoS One* 4(8): e6666, 2009.
- 24) Murakami T, Kumakura S, Yamazaki T, Tanaka R, Hamatake M, Okuma K, Huang W, Toma J, Komano J, Yanaka M, Tanaka Y, Yamamoto N: The novel CXCR4 antagonist KRH-3955 is an orally bioavailable and extremely potent inhibitor of human immunodeficiency virus type 1 infection: comparative studies with AMD3100. *Antimicrob Agents Chemother* 53(7): 2940-2948, 2009.
- 25) Fuji H, Urano E, Futahashi Y, Hamatake M, Tatsumi J, Hoshino T, Morikawa Y, Yamamoto N, Komano J: Derivatives of 5-nitro-furan-2-carboxylic acid carbamoylmethyl ester inhibit RNase H activity associated with HIV-1 reverse transcriptase. *J Med Chem* 52(5): 1380-1387, 2009.
- 26) Hamatake M, Aoki T, Futahashi Y, Urano E, Yamamoto N, Komano J: Ligand-independent higher-order multimerization of CXCR4, a G-protein-coupled chemokine receptor involved in targeted metastasis. *Cancer Sci* 100(1): 95-102, 2009.
- 27) Iwasaki Y, Akari H, Murakami T, Kumakura S, Dewan Z, Yanaka M, Yamamoto N: Efficient inhibition of SDF-1 $\alpha$ -mediated chemotaxis and HIV-1 infection by novel CXCR4 antagonists. *Cancer Sci* 100: 778-781, 2009.
- 28) Pereira LE, Onlamoon N, Wang X, Wang R, Li J, Reimann KA, Villinger F, Pattanapanyasat K, Mori K, Ansari AA: Preliminary in vivo efficacy studies of a recombinant rhesus anti-alpha(4)beta(7) monoclonal antibody. *Cell Immunol* 259: 165-176, 2009.
- 29) Nonaka M, Uota S, Saitoh Y, Takahashi M, Sugimoto H, Amet T, Arai A, Miura O, Yamamoto N, Yamaoka S: Role for protein geranylgeranylation in adult T-cell leukemia cell survival. *Exp Cell Res* 315(2): 141-150, 2009.
- 30) Barnor JS, Habu Y, Yamamoto N, Miyano-Kurosaki N, Ishikawa K, Yamamoto N, Takaku H: Inhibition of HIV-1 replication by long-term treatment with a chimeric RNA containing shRNA and TAR decoy RNA. *Antiviral Res* 83: 156-164, 2009.
- 31) Ono Y, Terashima K, Liu A, Yokoyama M, Yokoshima K, Mizukami M, Watanabe K, Mochimaru Y, Furusaka T, Shimizu N, Yamamoto N, Ishiwata T, Sugisaki Y, Yagi T, Naito Z: Follicular dendritic cell sarcoma with microtubuloreticular structure and virus-like particle production in vitro. *Pathol Int* 59(5): 332-344, 2009.
- 32) Kamiyama H, Yoshii H, Tanaka Y, Sato H, Yamamoto N, Kubo Y: Raft localization of CXCR4 is primarily required for X4-tropic human immunodeficiency virus type 1 infection. *Virology* 386(1): 23-31, 2009.
- 33) Kobayashi S, Wada A, Shibasaki S, Annaka M, Higuchi H, Adachi K, Mori N, Ishikawa T, Masuda Y, Watanabe H, Yamamoto N, Yamaoka S, Inamatsu T: Spread of a large plasmid carrying the cpe gene and the tcp locus amongst *Clostridium perfringens* isolates from nosocomial outbreaks and sporadic cases of gastroenteritis in a geriatric hospital. *Epidemiol Infect* 137(1): 108-113, 2009.
- 34) Suzuki H, Kidokoro M, Fofana IB, Ohashi T, Okamura T, Matsuo K, Yamamoto N, Shida H: Immunogenicity of newly constructed attenuated vaccinia strain LC16m8Delta that expresses SIV Gag protein. *Vaccine* 27: 966-971, 2009.
- 35) Yajima M, Imadome K, Nakagawa A, Watanabe S, Terashima K, Nakamura H, Ito M, Shimizu N, Honda M, Yamamoto N, Fujiwara S: T-cell-mediated control of Epstein-Barr virus infection in humanized mice. *J Infect Dis* 200(10): 1611-5, 2009.
- 36) Tomita M, Dewan MZ, Yamamoto N, Kikuchi A, Mori N: Epstein-Barr virus-encoded latent membrane protein 1

- activates beta-catenin signaling in B lymphocytes. *Cancer Sci* 100(5): 807-812, 2009.
- 37) Dewan MZ, Takada M, Terunuma H, Deng X, Ahmed S, Yamamoto N, Toi M. Natural killer activity of peripheral-blood mononuclear cells in breast cancer patients. *Biomed Pharmacother* 63(9): 703-706, 2009.
- 38) Dewan MZ, Tomita M, Katano H, Yamamoto N, Ahmed S, Yamamoto M, Sata T, Mori N, Yamamoto N. An HIV protease inhibitor, ritonavir targets the nuclear factor-kappaB and inhibits the tumor growth and infiltration of EBV-positive lymphoblastoid B cells. *Int J Cancer* 124(3): 622-629, 2009.
- 39) Tsutsumi H, Nomura W, Abe S, Mino T, Masuda A, Ohashi N, Tanaka T, Ohba K, Yamamoto N, Akiyoshi K, Tamamura H: Fluorogenically active leucine zipper peptides as tag-probe pairs for protein imaging in living cells. *Angew Chem Int Ed Engl* 48(48): 9164-9166, 2009.
- 40) Saitoh T, Fujita N, Hayashi T, Takahara K, Satoh T, Lee H, Matsunaga K, Kageyama S, Omori H, Noda T, Yamamoto N, Kawai T, Ishii K, Takeuchi O, Yoshimori T, Akira S: Atg9a controls dsDNA-driven dynamic translocation of STING and the innate immune response. *Proc Natl Acad Sci USA* 106(49): 20842-20846, 2009.
- 41) Matsuyama S, Aydan A, Ode H, Hata M, Sugiura W, Hoshino T: Structural and energetic analysis on the complexes of clinically isolated subtype C HIV-1 proteases and approved inhibitors by molecular dynamics simulation. *J Phys Chem B* 114(1): 521-530, 2010.
- 42) Nakahara T, Nomura W, Ohba K, Ohya A, Tanaka T, Hashimoto C, Narumi T, Murakami T, Yamamoto N, Tamamura H: Remodeling of dynamic structures of HIV-1 envelope proteins leads to synthetic antigen molecules inducing neutralizing antibodies. *Bioconjugate Chem*, 21(4): 709-714, 2010.
- 43) Tee KK, Lam TT, Chan YF, Bible JM, Kamarulzaman A, Tong CY, Takebe Y, Pybus OG: Evolutionary genetics of human enterovirus 71: origin, population dynamics, natural selection, and seasonal periodicity of the VP1 gene. *J Virol*, 84(7): 3339-3350, 2010.
- 44) Han X, Dai D, Zhao B, Liu J, Ding H, Zhang M, Hu Q, Lu C, Goldin M, Takebe Y, Zhang L, Shang H: Genetic and epidemiologic characterization of HIV-1 infection In Liaoning Province, China. *J Acquir Immune Defic Syndr* 53 Suppl 1: S27-33, 2010.
- 45) Haga S, Nagata N, Okamura T, Yamamoto N, Sata T, Yamamoto N, Sasazuki T, Ishizaka Y: TACE antagonists blocking ACE2 shedding caused by the spike protein of SARS-CoV are candidate antiviral compounds. *Antiviral Res* 85(3): 551-555, 2010.
- 46) Li Y, Tee KK, Liao H, Hase S, Uenishi R, Li X-J, Tsuchiura T, Yang R, Govindasamy S, Yong YK, Tan HY, Pybus OG, Kamarulzaman A, Takebe Y: Identification of a novel second-generation circulating recombinant form (CRF48\_01B) in Malaysia: a descendant of the previously identified CRF33\_01B. *J Acquir Immune Defic Syndr*, in press.
- 47) Li Y, Uenishi R, Hase S, Liao H, Li X-J, Tsuchiura T, Tee KK, Yang R, Pybus OG, Takebe Y: Explosive HIV-1 subtype B' epidemics in Asia driven by geographic and risk group founder events. *Virology*, in press.
- 48) Naruse TK, Chen Z, Yanagida R, Yamashita T, Saito Y, Mori K, Akari H, Yasutomi Y, Miyazawa M, Matano T, Kimura A: Diversity of MHC class I genes in Burmese-origin rhesus macaques. *Immunogenetics*, in press.
- 49) Takada M, Terunuma H, Deng X, Dewan MZ, Saji S, Kuroi K, Yamamoto N, Toi M: Refractory lung metastasis from breast cancer treated with multidisciplinary therapy including an immunological approach. *Breast Cancer*, in press.

## 2. 和文発表

- 1) 小杉伊三夫, 梁 明秀: 幹細胞とウイルス感染症. *医学のあゆみ*. 229(9): 720-725, 2009. 医歯薬出版(株).
- 2) 服部純子, 杉浦 互: 特集 エイズの現状; 社会的影響への考察も含めて, 薬剤耐性の現状. *Pharma Medica*. 27(4): 39-43, 2009. (株)メディカルレビュー社.
- 3) 杉浦 互: エイズ (後天性免疫不全症候群). 六訂版家庭医学大全科. (株)法研. 2009.
- 4) 杉浦 互: 特集 HIV 感染症 流行の現状と最新の治療, 日本における薬剤耐性 HIV の現状と対策. *日本内科学会雑誌*. 98(11): 2788-2793, 2009.
- 5) 宮崎菜穂子, 松下修三, 藤井 毅, 杉浦 互: 抗 HIV 療法を受けている患者における薬剤耐性 HIV の現状と問題点. *日本エイズ学会誌*. 11(2): 146-151, 2009.
- 6) 武部 豊: エイズワクチンの開発動向: アデノウイルスワクチン国際臨床試験頓挫の波紋とその意味. *PHARM STAGE* 8(10): 1-6, 2009.

- 7) 村上 努 : HIV複製を制御する宿主因子の探索. 日本エイズ学会誌. 11(3): 205-209, 2009.
  - 8) 山本直樹 : これからのHIV/AIDSの治療について. 臨床とウイルス. 37(5): 393-398, 2009.
  - 9) 山本直樹 : 概念と定義. (満屋裕明編) 最新医学別冊 新しい診断と治療のABC 65, HIV感染症とAIDS, 大阪, 最新医学社, p9-p17, 2010.
  - 10) 長谷彩希, 上西理恵, 武部 豊 : HIV 感染症と AIDS の疫学: 世界と日本. (満屋裕明編) 最新医学別冊 新しい診断と治療の ABC 65, HIV 感染症と AIDS, 大阪, 最新医学社, p18-p33, 2010.
  - 11) 上西理恵, 長谷彩希, 武部 豊 : 特集 抗ウイルス薬物療法の現状と今後の展望, 肝炎治療薬, C 型肝炎治療: 新規抗 HCV 薬の開発. 医薬ジャーナル. 46 (2): 109-123, 2010.
  - 12) 浜本いつき, 山本直樹 : 特集 HIV/AIDS, HIV/AIDS 基礎研究の進歩. 日本臨床. 68(3): 383-388, 2010.
  - 13) 武部 豊, 長谷彩希, 上西理恵 : 特集 HIV/AIDS, HIV ワクチン開発の最新動向—開発への道程にはだかる根幹的課題— 日本臨床. 68(3): 525-535, 2010.
- II. 学会発表**
1. 国際学会
    - 1) Watanabe S, Yajima M, Imadome K, Terashima K, Ito M, Shimizu K, Shimizu N, Fujiwara S, Yamamoto N: Study of HIV and EBV infection in the humanized NOD/SCID/IL2R $\gamma$ -/(NOG) mice system. 2nd International Workshop on Humanized Mice 2009. Apr. 3-6, 2009, Amsterdam, Netherlands.
    - 2) Murakami T, Miyakawa K, Bucci C, Komano J, Yamamoto N: Role of Rab7 and its effector protein in HIV-1 assembly. CSHL Meeting on Retroviruses, May 18-23, 2009, Cold Spring Harbor, NY, USA.
    - 3) Urano E, Okunaga H, Morikawa Y, Komano J: Inhibition of HIV-1 replication by the co-chaperone DnaJ/Hsp40 protein family. CSHL Meeting on Retroviruses, May 18-23, 2009, Cold Spring Harbor, NY, USA.
    - 4) Fujisaki S, Yokomaku Y, Hattori J, Ibe S, Utsumi M, Hamaguchi M, Iwatani Y, Sugiura W: Molecular epidemiology of HBV-HIV-1 coinfection in Japan. 18th International HIV Drug Resistance Workshop, Jun. 9-13, 2009, Fort Myers, Florida, USA.
    - 5) Hattori J, Yoshida S, Ito T, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Kato S, Tanabe Y, Ueda M, Shirasaka T, Mori H, Minami R, Sugiura W, the Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Net Work: Increasing prevalence of drug-resistance mutations among treatment-naïve HIV-infected patients in Japan from 2003 to 2008. 18th International HIV Drug Resistance Workshop, Jun. 9-13, 2009, Fort Myers, Florida, USA.
    - 6) Fujino M, Miura H, Hattori J, Ibe S, Fujisaki S, Matsuda M, Nishizawa M, Iwatani Y, Sugiura W: Mechanism of darunavir resistance acquisition in multi-protease inhibitor resistant HIV-1. 18th International HIV Drug Resistance Workshop, Jun. 9-13, 2009, Fort Myers, Florida, USA.
    - 7) Yamamoto N, Ryo A: Basic and Translational studies on the human retrovirus infection by HIV-1 and HTLV-I. 2nd Annual World Summit of Antivirals, Jul. 18-20, 2009, Beijing, China.
    - 8) Tee KK, Pybus OG, Parker J, Ng KP, Kamarulzaman A, Takebe Y: Estimating the “date of birth” of an HIV-1 CRF. IAS 2009, Jul. 19-22, 2009, Cape Town, South Africa.
    - 9) Miyakawa K, Ryo A, Ohba K, Nishi M, Murakami T, Guatelli J, Yamamoto N: Identification of a tetherin-interacting protein that restricts HIV-1 particle production. 9th Awaji International Forum on Infection and Immunity. Sep. 8-11, 2009, Hyogo.
    - 10) Takebe Y, Li Y, Tee KK, Liao H, Hase S, Uenishi R, Pybus OP, Lemey P: Visualization of the space-time process of the HIV-1 expansion and recombination in Asia: its biological implications. 9th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Sep. 8-11, 2009, Hyogo.
    - 11) Ohba K, Ryo A, Yamamoto N: HIV-1 protease cleaves forkhead box P3 (Foxp3): A possible mechanism of autoimmune condition induced in HIV-1-infected individuals. 4th Asian Congress on Autoimmunity. Sep. 11-13, 2009, Singapore.
    - 12) Takahama S, Sawasaki T, Okayama A, Akagi T, Endo Y, Yamamoto N, Ryo A: Atypical protein kinase C positively regulates the Vpr incorporation into HIV-1 particles by phosphorylating Gag p6. 10th Kumamoto AIDS Seminar, Sep. 28-29, 2009, Kumamoto.
    - 13) Sugiura W, Japanese Drug resistant HIV surveillance network: Characterization and the pattern of antiretroviral resistance among HIV-1-infected patients in Japan: update from nationwide surveillance. 10th Kumamoto AIDS Seminar, Sep. 28-29, 2009, Kumamoto.

- 14) Takebe Y, Uenishi R, Hase S, Liao H, Gustafson K, McMahon JB, O'Keefe BG: Potent inhibition of HCV entry by newly identified carbohydrate binding proteins. 6th International Symposium on Hepatitis C Virus and Related Viruses, Oct. 3-7, 2009, Nice, France.
  - 15) Mori K, Sugimoto C, Shiino T, Kimura A, Miyazawa M, Hirsch V, Yamamoto N, Nagai Y: Long-term control of heterologous challenge infection in rhesus macaques vaccinated with live attenuated deglycosylated SIV by CD8+ cells mediated response. 27th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS. Oct. 28-31, 2009, Boston, USA.
  - 16) Shibata J, Ren F, Iwatani Y, Tsang H, Matsuda M, Hasegawa N, Tanaka H, Sugiura W: Within-host coevolution of Gag P453L and protease D30N/N88D demonstrates virological advantage in a highly protease inhibitor-exposed HIV-1 case. 10th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov.15-18, 2009, Richmond, Virginia, USA.
  - 17) Iwatani Y, Chan D, Liu L, Yoshii H, Shibata J, Levin J, Gronenborn A, Sugiura W: Four lysine residues in APOBEC3G C-terminal domain are critical for HIV-1 Vif mediated ubiquitination/degradation. 10th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov.15-18, 2009, Richmond, Virginia, USA.
  - 18) Masaoka T, Sawasaki T, Sugiura W, Endo Y, Tatsumi M, Yamamoto N, Ryo A: Development of methods for testing HIV-1 protease drug resistance based on cell-free protein production system. 10th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov.15-18, 2009, Richmond, Virginia, USA.
  - 19) Takebe Y, Li Y, Liao H, Hase S, Uenishi R: Unusual evolutionary characteristics of CRF15\_01B: Evidence for preferred configuration of HIV-1 recombination. 10th Annual Symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov. 15-18, 2009, Richmond, Virginia, USA.
  - 20) Uenishi R, Hase S, Li Y, Liao H, Gustafson K, McMahon JB, O'Keefe BG, Suzuki T, Wakita T, Takebe, Y: Identification of novel HCV entry inhibitors using HCVcc assay as a primary screening platform. HepDART 2009, Dec. 6-10, 2009, Hawaii, USA.
  - 21) Takebe Y: Identification of novel HCV entry inhibitor. COBRE seminar at University of Hawaii, Dec.11, 2009, Hawaii, USA.
  - 22) Miyakawa K, Ryo A, Murakami T, Guatelli J, Yamamoto N: BCA2/Rabring7 Promotes Tetherin-Dependent HIV-1 Restriction. 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb. 16-19, 2010, San Francisco, USA.
  - 23) Iwatani Y, Chan D, Liu L, Yoshii H, Shibata J, Levin J, Gronenborn A, Sugiura W: Structure-guided mutagenesis of APOBEC3G reveals critical lysine residues for HIV-1 Vif-mediated ubiquitination/degradation. 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb. 16-19, 2010, San Francisco, USA.
  - 24) Masaoka T, Sawasaki T, Matsunaga S, Sugiura W, Endo Y, Tatsumi M, Yamamoto N, Ryo A: Novel high-throughput HIV-1 protease-resistance phenotypic assay using cell-free protein production system. 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb. 16-19, 2010, San Francisco, USA.
  - 25) Ibe S, Yokomaku Y, Shiino T, Tanaka R, Hattori J, Fujisaki S, Iwatani Y, Kato S, Hamaguchi M, Sugiura W: HIV-2 CRF01\_AB: first circulating recombinant form of HIV-2. 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Feb. 16-19, 2010, San Francisco, USA.
2. 国内学会
    - 1) 梁 明秀, 山本直樹: HIV-1産生を制御するtetherin相互作用蛋白の同定. 特定領域研究「感染現象のマトリックス」縦糸研究会, 2009年5月20-21日, 愛知.
    - 2) 梁 明秀: HIV-1 Gag タンパク質の細胞内ダイナミクス関連因子の同定とその制御機構の解明.第9回日本蛋白質科学会年会, 2009年5月20-22日, 熊本.
    - 3) 宮川 敬, 梁 明秀, 山本直樹: 宿主蛋白質 BCA2/Rabring7 は tetherin と協調して HIV-1 粒子産生を抑制する.第19回抗ウイルス療法研究会, 2009年6月4-5日, 東京.
    - 4) 梁 明秀: The peptidyl-prolyl isomerase Pin1: A novel post-phosphorylation modifier in development and diseases. 先端融合領域イノベーション創出拠点の形成翻訳後修飾プロテオミクス医療研究拠点の形成第1回公開シンポジウム「分析技術の発達により見えてきた蛋白質の翻訳後修飾とその異常」, 2009年6月19日, 神奈川.
    - 5) 駒野 淳: ゲノムワイドなエイズウイルス複製制御因子の探索. エイズとエイズリンパ腫治療の最前線, 2009エイズリンパ腫シンポジウム, 2009年7月25日, 東京.

- 6) 梁 明秀: ペプチジルプロリルイソメラーゼ Pin1: 疾患や分化を司る新しいリン酸化後修飾因子. 日本ヒトプロテオーム機構(JHUPO)第7回大会, 2009年7月27-28日, 東京.
- 7) 山本直樹: ウイルスのライフサイクル(ターンオーバー)とプロテアーゼ. 第14回日本病態プロテアーゼ学会, 2009年8月21-22日, 大阪.
- 8) Liao H, Tee KK, Li Y, Hase S, Uenishi R, Pybus OP, Takebe Y: The space-time process of HIV-1 CRF01\_AE dispersal in Asia. 50th Annual Meeting of the Japanese Society of Tropical Medicine, Oct. 22-23, 2009, Okinawa.
- 9) 岩谷靖雅, 吉居廣朗, 柴田潤子, 杉浦 互: APOBEC3Gのユビキチン化部位と抗レトロウイルス作用. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日, 東京.
- 10) 吉居廣朗, 岩谷靖雅, 杉浦 互: 抗レトロウイルス宿主因子 APOBEC3 ファミリーの発現調節に関する研究. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日, 東京.
- 11) 藤崎誠一郎, 横幕能行, 服部純子, 伊部史朗, 内海 眞, 濱口元洋, 岩谷靖雅, 杉浦 互: HIV/HBV 重複感染者における HBV genotype 解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日, 東京.
- 12) 武部 豊, 上西理恵, 長谷彩希, 廖 華南, Kirk Gustafson, James B Macmahon, Barry G O'Keefe: 新規マンノース特異糖鎖結合タンパク質による nM オーダーの強力な HCV/HIV-1 エントリー阻害. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日, 東京.
- 13) 武部 豊, 廖 華南, Kok Keng Tee, 上西理恵, 長谷彩希, Oliver Pybus, Philippe Lemey: CRF01\_AE 世界伝播の時間的・空間的ダイナミックスの可視化: Bayesian phylogeography-分子疫学研究の新しい解析ツール. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日, 東京.
- 14) Yue Li, 武部 豊: 第2世代の組換え型流行株 CRF46\_01B の同定とその分子進化的特性. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日, 東京.
- 15) 松原明弘, 高村史記, 加藤翔太, 草川 茂, 武部 豊, 森 一泰, 永井美之, 保富康宏. SIV mac239 Env gp120 アスパラギン結合型糖鎖の宿主免疫応答に対する影響. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日, 東京.
- 16) 浦野恵美子, 市川玲子, 森川裕子, 芳田 剛, 小柳義夫, 駒野 淳: T細胞におけるHIV-1抵抗性遺伝子のスクリーニング-SEC14L1a C末端ドメインの同定とその機能解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日, 東京.
- 17) 濱武牧子, 駒野 淳, 前田史子, 長塚靖子, 竹腰正隆: HIV-1複製抑制能を有する健常人由来CD4反応性IgM抗体クローンの分離: HIV-1に対するnatural humoral resistance. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日, 東京.
- 18) 滝澤万里, 草川 茂, 北村克彦, 長縄 聡, 村上利夫, 本多三男, 山本直樹, 駒野 淳: Diversified HIV-1を利用した中和抗体KD-247感受性を規定するEnv アミノ酸残基の網羅的解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日, 東京.
- 19) 村上 努, 呉 鴻規, 富田香織, 伯川冬美, 駒野 淳, 千葉 丈, 山本直樹: HIV-1粒子形成におけるRab7とそのエフェクタータンパク質の役割. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日, 東京.
- 20) 森 一泰, 杉本智恵, 横田恭子, 鈴木康夫, 山本直樹, 永井美之: 糖鎖修飾による組織・細胞指向性はエイズウイルスの病原性・感染防御免疫誘導を決定する. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日, 東京.
- 21) 神山陽香, 吉居廣朗, 田中勇悦, 佐藤裕徳, 山本直樹, 久保嘉直. HIV-1感染における標的細胞中のエズリン・リン酸化の重要性. 第57回日本ウイルス学会学術集会. 2009年10月25-27日, 東京.
- 22) 久保嘉直, 吉居廣朗, 神山陽香, 田中勇悦, 佐藤裕徳, 山本直樹. カテプシン B 抑制因子による CD4 非依存性 HIV-1 感染の促進. 第57回日本ウイルス学会学術集会. 2009年10月25-27日, 東京.
- 23) 今留謙一, 矢島美彩子, 川野布由子, 清水則夫, 中村浩幸, 渡辺 哲, 寺嶋一夫, 山本直樹, 藤原成悦: EBウイルス関連T/NKリンパ増殖性疾患モデルマウスの作製と解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会. 2009年10月25-27日, 東京.
- 24) 清水一史, 渡辺 哲, 佐々木裕, 芝田敏克, 井口晃史, 下平義隆, 田中寅彦, 黒田和道, 清水則夫, 山本直樹, 山本樹生. 重度免疫不全NOGマウスにおけるインフルエンザウイルス感染: 強毒変異ウイルスの出現. 第57回日本ウイルス学会学術集会. 2009年10月25-27日, 東京.
- 25) 矢島美彩子, 今留謙一, 渡辺 哲, 寺嶋一夫, 中村浩幸, 清水則夫, 山本直樹, 藤原成悦. EBV感染ヒト化NOGマウスモデルにおけるT細胞応答. 第57回日

- 本ウイルス学会学術集会. 2009年10月25-27日, 東京.
- 26) 高濱正吉, 澤崎達也, 岡山明子, 赤木達也, 遠藤弥重太, 山本直樹, 梁 明秀: 細胞極性制御キナーゼ aPKC による HIV-1 Gag のリン酸化及びその生理的意義. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 27) 正岡崇志, 梁 明秀, 巽 正志, 杉浦 互, 松永智子, 森下 了, 澤崎達也, 山本直樹: 酵素活性を指標とした新規の HIV プロテアーゼ阻害剤耐性検査法の基盤技術の開発. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 28) 星野忠次, 藍壇 愛, 原田壮一郎, 杉浦 互: ウイルス酵素の構造変形に関する系統解析. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 29) 柴田潤子, 杉浦 互, 岩谷靖雅, Hsinyi Tsang, 松田昌和, 長谷川直樹, 任 鳳蓉, 田中 博: 宿主内 HIV-1 の共進化変異の解析: Protease 阻害剤耐性変異 D30N/N88D と p1/p6 切断領域の P453L 変異の相互干渉の意義. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 30) 鈴木寿子, 服部純子, 村田大吾, 三浦秀佳, 伊部史朗, 藤野真之, 西澤雅子, 山本直樹, 杉浦 互: インテグラーゼ阻害剤耐性化機序の分子生物学的解析. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 31) 服部純子, 瀧永博之, 吉田 繁, 千葉仁志, 小池隆夫, 佐々木悟, 伊藤俊広, 内田和江, 原 孝, 佐藤武幸, 上田敦久, 石ヶ坪良明, 近藤真規子, 今井光信, 長島真美, 貞升健志, 古賀一郎, 太田康男, 山元泰之, 福武勝幸, 田中理恵, 加藤真吾, 宮崎菜穂子, 藤井 毅, 岩本愛吉, 西澤雅子, 仲宗根正, 巽 正志, 椎野禎一郎, 林田庸総, 岡 慎一, 伊部史朗, 藤崎誠一郎, 金田次弘, 横幕能行, 濱口元洋, 上田幹夫, 大家正泰, 田邊嘉也, 渡邊香奈子, 渡邊 大, 矢倉裕輝, 白阪琢磨, 栗原 健, 小島洋子, 森 治代, 中桐逸博, 高田 昇, 木村昭郎, 南 留美, 山本政弘, 松下修三, 藤田次郎, 健山正男, 堀 成美, 杉浦 互: 2003-2008 年の新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性頻度の動向. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 32) 須藤弘二, 杉浦 互, 加藤真吾: PCR-MS 法を用いた新規感染者血漿中の薬剤耐性微小集団の定量. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 33) 重見 麗, 服部純子, 保坂真澄, 伊部史朗, 藤崎誠一郎, 横幕能行, 濱口元洋, 内海 眞, 岩谷靖雅, 杉浦 互: BED アッセイを用いた名古屋医療センターにおける新規 HIV 感染者の動向調査. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 34) 椎野禎一郎, 貞升健志, 長島真美, 服部純子, 杉浦 互: 国内感染者集団の大規模塩基配列データから推測される HIV 集団サイズの経時的変化. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 35) 藤崎誠一郎, 横幕能行, 服部純子, 伊部史朗, 内海 眞, 濱口元洋, 岩谷靖雅, 杉浦 互: HIV/HBV 重複感染者における HBV genotype 解析および薬剤耐性アミノ酸変異の検出. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 36) 伊部史朗, 横幕能行, 椎野禎一郎, 田中理恵, 服部純子, 藤崎誠一郎, 岩谷靖雅, 間宮均人, 内海 眞, 加藤真吾, 濱口元洋, 杉浦 互: 日本における HIV-2 感染症の分子疫学的解析. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 37) 宮崎菜穂子, 松下修三, 藤井 毅, 岩本愛吉, 杉浦 互: 多剤耐性症例治療を目的とした新規抗 HIV 薬使用症例に対する緊急全国調査. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 38) 石川晃一, 山本典生, 杉浦 互, 服部純子, 山岡昇司: ガーナにおける抗レトロウイルス治療 (ART) 中 HIV 感染者のウイルス定量と薬剤耐性解析. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 39) 西澤雅子, Jeffery Johnson, Walid Heneine, 山本直樹, 杉浦 互: 高感度薬剤耐性 HIV 検出法を用いた微小集族薬剤耐性 HIV の検出と存在比率に関する研究. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 40) 横幕能行, 大出裕高, 藤崎彩恵子, 伊部史朗, 藤崎誠一郎, 服部純子, 濱口元洋, 杉浦 互: HIV プロテアーゼ阻害剤耐性関連変異蓄積症例の薬剤感受性評価に対する VLP ELISA 法およびコンピューターシミュレーション法の有用性の検討. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
  - 41) 岩谷靖雅, 吉居廣朗, 柴田潤子, 杉浦 互: Vif 依存的な APOBEC3G のユビキチン化部位と抗ウイルス作用. 第 23 回日本エイズ学会学術集会. 2009 年 11

- 月 26-28 日, 名古屋
- 42) 吉居廣朗, 岩谷靖雅, 杉浦 互: 抗 HIV-1 宿主因子 APOBEC3 ファミリーの発現調節に関する研究. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
- 43) 武部 豊, Li Yue, 長谷彩希, 上西理恵, 廖 華南, Tee Kok Keng: CRF15\_01B の起源を巡る謎: HIV-1 組換えの preferred configuration. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
- 44) 駒野 淳: オーミクス解析手法が次世代エイズ治療・予防法開発に与えるインパクト. シンポジウム: これからの HIV 研究の進むべき方向. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
- 45) 村上 努, 呉 鴻規, 富田香織, 伯川冬美, 駒野 淳, 千葉 丈, 山本直樹: Rab 蛋白質とそのエフェクター蛋白質の HIV-1 粒子形成における役割 (Rab7 を中心に). 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
- 46) 浦野恵美子, 倉持紀子, 供田 洋, 武部 豊, 駒野 淳, 森川裕子: 酵母の膜結合 Gag-Gag 反応系で同定された HIV-1 Gag アセンブリー阻害剤. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
- 47) 森 一泰, 杉本智恵, 渡辺 哲, 佐藤洋隆, 成瀬妙子, 椎野禎一郎, 宮澤正顯, 木村彰方, 山本直樹, 永井美之: 感染を防御する宿主応答の解析 2. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
- 48) 森 一泰, 杉本智恵, 佐藤洋隆, 渡辺 哲, 山本直樹, 永井美之: 長期感染における糖鎖欠失変異 SIV の病原性. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
- 49) 松原明弘, 高村史記, 草川 茂, 武部 豊, 森 一泰, 永井美之, 保富康宏. SIVmac239 Env gp120 アスパラギン結合型糖鎖の宿主免疫応答に対する影響. 第 23 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009 年 11 月 26-28 日, 名古屋.
- 50) 上原大輔, 坂本真衣子, 吉川治孝, 泉川圭一, 早川俊哉, 駒野 淳, 高橋信弘: Proteomic search for the function of HIV-1 Rev protein in human cells. 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009 年 12 月 9-12 日, 横浜.
- 51) 青木 徹, 清水佐紀, 浦野恵美子, 濱武牧子, 寺嶋一夫, 玉村啓和, 村上 努, 山本直樹, 駒野 淳: Development of 5th generation lentiviral vector. 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009 年 12 月 9-12 日, 横浜.
- 52) 浦野恵美子, 市川玲子, 森川裕子, 芳田 剛, 小柳義夫, 駒野 淳: SEC14-like 1a carboxy-terminal domain negatively regulates the infectivity of human immunodeficiency virus replication. 第 32 回日本分子生物学会年会, 2009 年 12 月 9-12 日, 横浜.