

東京医科歯科大学医歯学総合研究科 教授

神奈木 真理

「ウイルス持続感染による免疫均衡の破綻機序と
その免疫治療法の開発」

1. 研究実施の概要

本研究では、レトロウイルス感染症によってひきおこされる腫瘍、免疫不全、自己免疫等の生体内での病態形成機序とその分子メカニズムを解明し、究極的にはウイルスを抑制し免疫不均衡を矯正する免疫治療法の開発をめざした。従って、生体内解析を可能にするための動物モデル開発、宿主側の免疫応答およびウイルスによる細胞内シグナル修飾の解析とを当面の目標とした。研究班は7部門の研究室で構成された。研究対象となったレトロウイルスは、成人T細胞白血病(Adult T cell leukemia, ATL)の原因ウイルスであるヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-1)、後天性免疫不全症候群(AIDS)の原因ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)、マウス赤白血病の原因ウイルスであるフレンド白血病ウイルス(F-MuLV)である。

研究開始直後から感染動物を取り扱うための研究実施体制の整備を行い、東京医科歯科大学の感染動物実験施設においてはHTLV-1腫瘍の小動物モデル開発を、北里大学理学部においてHIV-1感染の小動物モデル開発を行った。研究期間中に、研究グループの移動があった(藤井グループが東京医科歯科大学から新潟大学へ、田中グループが北里大学から琉球大学へ)が、共同研究および動物実験は続行することができた。これらの動物実験と平行して、HIV-1に対する宿主免疫機能解析、ならびに細胞レベルでのHTLV-1発癌メカニズム・HIV-1の感染増殖メカニズム・HIV-1による細胞死メカニズム・F-MuLVの発癌メカニズムの解析を行った。

これらの結果、HTLV-1によるT細胞リンパ腫瘍のラットモデルを新規に確立し、それを用いた生体レベルでの抗腫瘍免疫の解析を行い、その結果得られた免疫抗原によるワクチン試作、さらにその抗腫瘍効果を確認するところまで到達した(神奈木)。これは、今後ATLに対する免疫学的な予防治療法を開発するための重要な道具をもたらした。また、hu-PBL-SCID系を用いたHIV感染系では、生体内でHIV-1が感染増殖するモデルを確立し、生体内でのHIV-1親和性の偏りとTh1型、Th2型細胞との関係を明らかにし、薬剤や中和抗体等の抗HIV効果を生体レベルで検定できることを示した(田中)。試験管内細胞レベルでも、Th細胞サブセットのHIV-1感染感受性がHIVコレセプターの発現パターンと相関することが明らかになった(山本)。HIV-1に対する宿主免疫解析では、ヒトHIV-1感染者のCD8陽性細胞が複数のメカニズムでHIV-1抑制すること、この抑制はTNF α で阻害されること(神奈木)、マウスのHIV-1特異的CTL機能がエピトープ部位のペプチドにより修飾されることが分かった(高橋)。また、HTLV-1によるT細胞不死化の分子メカニズムとして、HTLV-1 Taxによる細胞周期調節蛋白やアポトーシス抑制蛋白の遺伝子発現亢進が関与することが分かり(中村、藤井)。またFLVによるEPOレセプターからの活性化シグナル伝達におけるJAK1, STAT5の役割が示された(井川)。HIV-1の複製メカニズムの中では、HIV-1 integraseがウイルス組み込み以外にも機能を持つことが分かり、その責任領域について解析が進んだ。この中にはウイルス複製に必須の機能が含まれ新たな抗ウイルス治療の標的として注目される(増田)。

A. 神奈木グループ(東京医科歯科大学)

i) HTLV-I 腫瘍動物モデル:

HTLV-I は試験管内で T 細胞を不死化し、生体レベルでも予後不良の T 細胞腫瘍性疾患、成人 T 細胞白血病 (ATL) をおこす。しかし、ATL の発症は一部の感染者に限られ、また感染から発症までに数十年を要する。このような生体での ATL の発症メカニズムを解明し、治療法を開発するためには動物モデルが必要である。しかし、これまで HTLV-I 感染による T 細胞腫瘍を発症する適当な動物モデルが無かった。従って、HTLV-I 腫瘍発症モデルの作成を当面の目標とした。

まず、試験管内で HTLV-I 感染し増殖性を獲得したラット T 細胞株 FPM1 を樹立し、これを腫瘍細胞として用い、T 細胞免疫の欠損した同系のヌードラット (nu/nu) に接種した。しかし、予想に反して生体内腫瘍増殖はおこらなかった。この細胞株を nu/nu の生体で継代することにより得たサブクローン FPM1-V1AX は、nu/nu に致死性 T 細胞リンパ腫をおこした。同系免疫正常ラット (nu/+) ではいずれの細胞株も腫瘍をおこさず、長期間観察しても増殖可能な腫瘍への進化は認められなかった。これは、HTLV-I 感染細胞の生体内腫瘍化には試験管内の T 細胞不死化だけでは不十分で付加的变化が必要であること、宿主の免疫低下はこの進化過程を助長することを示唆している。

腫瘍退縮をおこした nu/+ 個体からは、腫瘍細胞を特異的に傷害する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 活性が検出され、その主な認識抗原は HTLV-I Tax であることが分かった。さらに詳細な解析の結果、CTL の主要認識エピトープを同定した。この CTL エピトープ部位のペプチドを免疫原としてワクチン接種した動物の T 細胞を移入することにより、FPM1-V1AX を接種した nu/nu の致死性リンパ腫増殖は回避された。Tax cDNA を含む DNA ワクチンによっても同様の抗腫瘍効果が認められた。これらのことから、Tax を標的とする T 細胞性免疫が HTLV-I 感染細胞増殖を生体内で抑制することが分かった。

ATL 患者では HTLV-I 特異的免疫低下が指摘されている。我々は、ラットを用いた別の実験系で、HTLV-I 感染条件が宿主の液性・細胞性免疫応答に影響し、ある条件下では免疫応答の極めて低い HTLV-I 持続感染が成立することを見いだしている。これは、ヒトにおいて抗腫瘍免疫能の低い集団が存在する理由の一部を説明するものである。上記ヌードラットを用いた一連の研究結果は、HTLV-I に対する免疫応答の低い個体では感染細胞集団の増殖制御が不十分であり、ワクチンによる細胞性免疫強化が発症予防的意義を持つ可能性を示している。本実験系は、現在のところ HTLV-I 腫瘍に対する抗腫瘍免疫効果を検定することのできる唯一のシステムとして、今後 ATL の予防治療方法の開発に有用である (特許出願済み)。

ii) 宿主 CD8 陽性細胞による HIV-1 抑制機序:

無症候 HIV-1 キャリアの CD8 陽性細胞は、試験管内で HIV 複製を抑制する。我々はこの抑制機序を解析した。この結果、抑制には MHC-I 拘束性と非拘束性の少なくとも 2 種類あること、両者の病期との相関を調べたところ、進行期患者では MHC-I 非拘束性の CD8 依存性 HIV 抑制活性が有意に低いことが分かった。しかし、この抑制の強さは SDF-1 等の既知のケモカインの発現とは相関

しなかった。CD8 細胞による HIV-1 抑制の強さは病期の進行とは逆相関することから、生体内でも HIV-1 産生の抑止力として働くことが示唆される。また、この HIV-1 複製抑制は試験管内で PMA, SEB 等の添加により解除されることが分かり、中和抗体を加えた解析から TNF- α が CD8 陽性細胞の HIV 抑制効果の解除に関与することが分かった。これは、生体内でも TNF- α が増悪因子として働く可能性を示唆しており、病後期に TNF- α が増加することと合致している。

iii) HIV-1 integrase の機能

HIV-1 のウイルス蛋白 integrase はプロウイルスのゲノムへの組み込みを行う酵素であり、HIV-1 複製に不可欠である。この機能解析を行ったところ、integrase が組み込み以前の段階で、既にウイルス複製に重要な機能を持つことが分かり、その一つが核移行であることを証明した。ウイルス複製に必須である integrase アミノ酸配列中の部位を特定し、今後これらの部位が新たな HIV 複製抑制の標的となり得ることを示唆した（特許出願済み）。

B 山本グループ（東京医科歯科大学）

i) hu-PBL-SCID マウスを用いた HIV-1 病原性に関する遺伝子の同定：

田中グループと共同で、SCID マウスにヒト PBL を移植生着させた後 HIV-1 感染を行い、hu-PBL-SCID マウス HIV-1 感染系を確立した。この系を用いて、種々の mutant HIV-1 感染性遺伝子クローンを感染させ、生体内でのウイルス増殖および病原性を調べた。その結果、HIV nef に変異を導入した HIV-1 クローンは Hu-PBL-SCID マウスに対する病原性が低く、このことから、nef が HIV の生体内病原性に重要であることが分かった。

ii) Th1 細胞と Th2 細胞における HIV strain によるウイルス増殖性の差とコレセプターの意義：

マクロファージ指向性 HIV-1 株 (JR-CSF, JR-FL) と T 細胞株指向性 HIV-1 株 (NL4-3) およびそれらの組換えキメラウイルスを作成し、試験管内で分化増殖させた Th1、Th2 細胞に対する感染増殖性を調べた。この結果、これらの親和性がヘルパー細胞サブセットによって異なることを見いだした。即ち、マクロファージ指向性 HIV-1 株は Th1 細胞で、T 細胞株指向性 HIV-1 株は Th2 細胞で選択的に増殖しやすい。さらに、これが HIV-1 envelope の V3 ループにより決定され、T 細胞上の HIV コレセプター (CCR5 と CXCR4) の発現の違いによることが分かった。

iii) Th1 細胞におけるマクロファージ指向性 HIV-1 の増殖効率を決定している機構の解明：

感染後の細胞内における各ステップの HIV-1 特異的 DNA を定量したところ、核への移行効率は JR-CSF (M-tropic) が高いものの、strong-stop DNA から circular form DNA までの絶対量については依然として NL4-3 (T-tropic) のほうが高かった。しかしながら感染後の HIV-1 特異的 full-length RNA をリアルタイム RT-PCR 法によって解析した結果からは、JR-CSF の full-length RNA 産生効率は NL4-3 よりも高く、このことから Th1-type cell における JR-CSF の高い増殖性は、その後期過程で決定されている可能性が強く示唆された。

C 井川グループ(東京医科歯科大学)

Friend ウイルス(マウスレトロウイルス)による標的細胞(赤血球系前駆細胞)の腫瘍化には感染後数日で開始される標的細胞の増殖と、数週間後に開始される種々の遺伝子変異の蓄積の二つの過程がある。

i) Friend ウイルス感染における CFUe の増幅の分子機構

Friend ウイルス感染による細胞増殖の第一段階は、ウイルスが保有する env 表被糖タンパク質由来 gp55 の結合により細胞膜上のエリスロポエチン受容体(EPO-R)から活性化シグナルが伝達されることである。本課題では、この gp55 の EPO-R への結合により、JAK1、STAT5 がリン酸化されることを明らかにした。しかし、gp55/EPO-R のシグナルでは生理的な EPO による刺激による場合と異なり、STAT5 が核内へ移行しておらず、EPO-EPO-R のシグナルが共働し、増殖を誘導することがわかった。

レトロウイルスとサイトカインシグナルの共働シグナルで白血病の初期が誘導されることがデータとして示されたのは初めてのことである(共同研究者:山村康子、松崎朋子)。

ii) Friend ウイルスによる標的細胞増殖の免疫系による制御

Friend ウイルス感染に抵抗する宿主側要因には、Fv-1、Fv-2、Fv-4 などの遺伝子にコードされる。Fv-1 はウイルスの複製に関与し、ウイルス量を増やすと抵抗性が消失し、この Fv-1 指向性はウイルス gag タンパク質 p30 のアミノ酸配列によることが知られている。Fv-4 は内在性レトロウイルスの env 領域の発現により Friend ウイルスの標的細胞膜上の受容体がブロックされることにより、主として野生マウス(m. m. molossinus)の抵抗性に関与し、ヒトレトロウイルス感染の抵抗性を誘導する遺伝子治療のモデルになっている。

Fv-2 による抵抗性に関して本分担研究で解析された。Fv-2 は Friend ウイルス感染性マウスでは Fv-2^{ss} で、抵抗性は Fv-2^{rr} で、感染性がドミナントに遺伝する。Fv-2^{rr} の代表例として C57BL/6 マウス(B6 マウス)があるが、このマウス系からの胸腺欠損ヌードマウスは Fv-2^{rr} であるにもかかわらず、感染で脾腫が起こる(北川ら)。このヌードマウスには T 細胞が欠損していることから、T 細胞系が Friend 白血病の発症に関与することが推測され、以下の実験を行った。すなわち、B6 ヌードマウスにフレンドウイルスを接種後、B6 由来の同ウイルスに感作された全脾細胞、および T 細胞のみを移入することにより Friend 病発症が阻止されることを明らかにし、発症抑制に不可欠な細胞要件を検討した。すなわち、CD4⁺T 細胞、CD8⁺T 細胞のみを B6 ヌードマウスにそれぞれ移入し、Friend 病発症が阻止されるかどうかを検討したところ、どちらの細胞分画でも発症が抑制され、CD4⁺T 細胞に同ウイルスに対する何らかの抗ウイルス免疫応答を有することを示唆した(共同研究者:小柳津直樹、相崎健一、渡辺真由美)。

Fv-2 遺伝子は遺伝子マッピングによりマウスの第 9 番目の染色体にあることがわかり(Friedrich et al. 1997, Leukemia 11:619)、その後、須田らが発見・単離した STK(幹細胞チロシンキナーゼ)遺伝子が同領域にあることが判明し、Paul Ney らは STK クローンを指針にして

truncated form STK (trSTK)の発現が Fv-2^{ss} マウスには存在し、Fv-2^{rr} マウスには欠損していることを示し、その遺伝子導入により Fv-2^{rr} を Fv-2^{ss} に変えることを示した (Persons et al. Nature Genetics 1999, 23:128)。すなわち、Fv-2 遺伝子は trSTK 遺伝子で、gp55 は gp55/EPOR のシグナルを増強しているものと推測される。しかし、Ney らは以前から Fv-2 の機能の証明を免疫機能抑制状態で行っている。

iii) 白血病の表現型が固定した細胞株の分化

Friend ウイルス感染では標的 FCUe 細胞が増殖し、さらに p53 の変異、Spfi-1 その他のオンコジーンの活性化が加わって、白血病フェノタイプが固定される。われわれは、EPO で分化が誘導される Friend 白血病細胞株 (SKT-6) では EPO に応答して Ras-ERK シグナル伝達経路の抑制が起こり、他の方法で同経路を抑制すると赤血球方向への分化が誘導されることを観察した (共同研究者: 松崎朋子)。また、Friend ウイルス gp55 遺伝子を導入したマウスより単離した赤白血病細胞に、分担者らが単離したヒト p53 のホモログ p51/p63 遺伝子からのアイソフォーム p51A (TAp63γ) cDNA を導入して高発現させると、細胞周期停止に作用する p21^{waf1} の発現誘導とともに、ヘモグロビン産生が誘導された。さらに、p51A (TAp63γ) タンパク質は UV 照射や薬剤により DNA 損傷を施すと細胞内に蓄積し、分化誘導に作用した (共同研究者: 加藤伊陽子)。

iv) アポトーシスの誘導と ATP 産生低下

派生してきた成果として、赤血球ピルビン酸キナーゼ (R-PK) と細胞死との関係について新知見が得られた。R-PK 変異マウスから Friend ウイルス接種により樹立した細胞株では顕著な自発的アポトーシスが見られ、これはミトコンドリアの変性に先行することがわかった。このことから、ATP 産生低下によるエネルギー低下がミトコンドリアの変化を伴わない新たなアポトーシス経路を促進することが示唆された (共同研究者: 相崎健一)。

D 中村グループ (東京医科歯科大学)

i) HTLV-I Tax による細胞増殖機序の解析:

HTLV-I Tax は、転写促進因子として細胞側の増殖に関わる多くの遺伝子の発現に影響を与えている。しかし、これらの知見だけでは Tax による T 細胞の異常増殖を説明する分子基盤は充分でない。細胞増殖は細胞周期の G1 から S 期へ移行が必要である。通常この進行は Rb ファミリー蛋白質により抑制されている。増殖因子刺激による Rb のリン酸化により E2F が活性化され、細胞周期が S 期へ進行する。我々は、増殖休止 G0/G1 期のヒト T 細胞株 Kit225 に HTLV-I Tax を強制発現させると、細胞周期が S 期、G2/M 期に進行することを見出した。この細胞周期進行は転写因子 E2F の活性化を伴う。Tax による E2F の活性化機構を詳細に調べたところ、2 通りの経路が関与していることが明らかとなった。1 つは Tax による E2F 遺伝子の直接の発現誘導で、E2F 分子の量が増えることによる。もう一方は、Tax による cyclin-dependent kinases (CDK2、CDK4) の活性化である。これは Tax による、cyclin D2、cyclin E、cdk2、cdk4、cdk6 の各遺伝子の転写促進による蛋白質量の増加と、CDK インヒビターである p19^{INK4d}、p27^{kip1} の蛋白質量の減少によるものであるこ

とが明らかとなった。これらの作用は野生型 Tax と NF- κ B 系路を活性化できる Tax の変異体で認められる。しかし、NF- κ B の活性化だけでは E2F の活性化はみられず、Tax による E2F の活性化、細胞周期の進行にはさらに別の機作が働くことが示唆された。

E 田中グループ(琉球大学、北里大学)

i) hu-PBL-SCID マウスを用いた HIV-1 感染病態の解明

SCID マウスにヒト PBMC を腹腔内(i.p.)移植し、ヒト T 細胞を生着させたキメラマウス、hu-PBL-SCID マウスに、HIV-1 感染をさせ HIV-1 の感染病態をシミュレーションする動物モデルを確立した。この系においてはマクロファージ指向性 HIV-1(R5 HIV-1)が増殖し、著明な CD4+T 細胞の枯渇をひき起こす。移植する PBMC から CD14+ 単球を除去すると R5 HIV-1 ウイルスの増殖が著明に低下する。これは、単球(マクロファージ)が R5 HIV-1 の初感染成立に重要な役割を果たすことを示唆している。一方、感染後期の患者で優位に分離される病原性の高い T 細胞株指向性 HIV-1 (X4 HIV-1)は、hu-PBL-SCID マウスでは増殖性が非常に低い。その原因の一つとして、キメラマウス体内ではヒト CD4+T 細胞の CCR5 の発現は強いが、CXCR4 の発現性は弱いことが分かった。CXCR4 の発現を促進するヒト IL-4 をマウスに投与することにより、X4 HIV-1 を増殖させることができた。一方、より少ない数の PBMC 移植で hu-PBL-SCID マウス作製を可能とし、また GVHD によるマウスの死亡を低減させる方法として、PBMC のマウス脾臓への直接移植を試みた。この方法を使うと、従来の 1000 万個 PBMC/マウス i.p.接種と比べ、300 万個 PBMC/マウス接種でも十分な T 細胞の生着がみられ、GVHD が回避できた。これらのマウスでは、i.p.接種した R5 HIV-1 が増殖する。この方法を使うことによって、同じドナー由来の PBMC をもつ同一ロットの hu-PBL-SCID マウスを多数作製できるため、今後、この系の利用頻度が高まることが期待される。

hu-PBL-SCID-spl マウスには、もう一つの利点があった。それは、脾臓内に限局したヒト PBMC 集団を外來抗原で免疫することにより免疫応答を誘導できることある。HIV-1 に対する免疫応答をこのマウス個体で誘導できれば、ヒト HIV-1 潜伏感染モデルとしてのこの実験系の利用価値はさらに高まると考えられる。免疫応答を惹起する機能が強い抗原提示細胞である樹状細胞(DC)を *in vitro* で誘導成熟させ、外來抗原でパルス後、PBMC と同時に脾臓に移植後、一回の追加免疫をすることにより、ヒト型液性免疫応答との細胞性免疫応答が誘導された。不活化 HIV-1 パルス成熟 DC で免疫した hu-PBL-SCID マウスは、R5-HV-1 感染に抵抗性を示した。これらのマウスにおける HIV-1 免疫による HIV-1 感染防御誘導は世界でも初めての観察であり、防御応答の誘導機構、免疫エフェクターの同定は、今後の検討課題である。

ii) ヒト PBMC の HIV-1 コレセプター発現:

HIV-1 感染における主要な cofactor であるケモカイン受容体 CXCR4 と CCR5 の発現制御や機能を解析する目的で新たな抗 CXCR4 および抗 CCR5 単クローン抗体を作製した。これらの中で T227 抗 CCR5 は、蛍光抗体法のみならず免疫沈降や WB に使用できること、さらに A80 抗 CXCR4 抗体が、活性化

PBMC における X4 HIV-1 と R5 HIV-1 の増殖性と病原性を著明に促進することを見いだした。これらの抗体を用いて、fresh CD4+ T細胞は CXCR4 が優勢であるが、活性化培養に伴い CCR5 優勢に転じ、その後再活性化させると再び CXCR4 優勢となることが分かった。この現象は、hu-PBL-SCID マウスに移植したヒト T細胞でも観察され、このマウスでの R5 HIV-1 の優勢な増殖の一因が示唆された。

iii) 活性化 T細胞における gp34(OX40L)の誘導と HIV-1 の増殖制御：

HTLV-1 感染によって発現誘導される gp34 (OX40L)が、活性化 CD4+T 細胞を特異的 OX40 を介して細胞活性化させて、PBMC においては X4 HIV 複製の増強に働き、逆に R5 HIV-1 の増殖には抑制的に働くことが分かった。

F 藤井グループ(新潟大学)

i) HTLV-I Tax による細胞癌化機序：

細胞の癌化には、細胞増殖の促進と細胞死の抑制の両者のメカニズムが関与すると考えられる。これまで HTLV-I の細胞死抑制あるいは促進機能に関しては相反する報告がある。我々は、HTLV-1Tax が T細胞株 CTLL-2 の細胞増殖を IL-2 依存性から非依存性へ変換することを明らかにした。その際、親株の CTLL-2 では IL-2 除去によりアポトーシスが誘導されるのに対し、Tax を導入した CTLL-2 ではアポトーシスの抑制と細胞周期の IL-2 非依存性の促進が見られた。このアポトーシス抑制および細胞周期の促進には、アポトーシス抑制因子 bcl-x および細胞周期促進因子サイクリン D 1 および D2 の Tax による発現誘導が関与しており、NF-kB を介する経路がその主な役割を担うことが示唆された。実際に、NF-kB の阻害剤は特異的に HTLV-1 感染細胞にアポトーシスを誘導した。従って、NF-kB を介するアポトーシス抑制は HTLV-I による T細胞のトランスフォーメーションに重要な役割を果たしていることが明らかになった。

ii) HTLV-I と HTLV-II の病原性の相違を規定する分子機構

HTLV-II は HTLV-I と同様、試験管内でヒトの T細胞をトランスフォームする。しかしながら、HTLV-II は白血病発症に関与しないことが示唆されている。従って、HTLV-II と HTLV-I の相違点を解析することによって T細胞の不死化以降の白血病発症の分子機構を解明できる。HTLV-II の Tax と HTLV-I の Tax を比較したところ、Tax2 は Tax1 よりも有為にトランスフォーム能(繊維芽細胞株を用いた軟寒天コロニー法)が低いことが明らかになった。従って、トランスフォーミング蛋白の活性の違いが病原性の相違に関与することが示唆された。

iii) ATL 細胞における発癌機構の解析：

生体内 ATL 細胞と試験管内 HTLV-I 不死化細胞株とは相違点がある。その筆頭は Tax の発現レベルが ATL 細胞では極端に低いことである。Tax は白血病細胞の不死化(初期過程)には関与してもその悪性増殖(後期過程)には別のメカニズムの関与が想定される。我々は、ATL 患者の末梢白血球細胞について、種々の転写因子の活性化を調べた。全ての新鮮 ATL 細胞において転写因子 NF-

kB および AP-1 の活性化が観察され、しかもこの活性化は Tax に依存していなかった。即ち、これらの転写因子が白血病発症の後期過程へ関与することが強く示唆された。さらに、NF-kB の阻害剤は、抹消血 ATL 細胞の増殖を特異的に抑制した。ATL は効果的な治療法がない、極めて悪性の白血病であるが、NF-kB の阻害剤は ATL の治療薬として期待できる。

G 高橋グループ(日本医科大学)

i) HIV-1 特異的 CTL のウイルス蛋白による活性抑制機序：

ウイルスや腫瘍特異的な CTL が体内で anergy 状態となる原因の一つとして、これら標的細胞から遊離したエピトープペプチドが CTL 表面の Class I MHC 分子に結合した状態を、自らの T 細胞レセプターが認識した結果である可能性がある。我々は、HIV-1 感染においてそのようなメカニズムを追跡するとともに anergy 状態に陥った CTL の活性化方法を検討した。

マウスに HIV-1 エンベロープ抗原を ISCOM 等の特殊なアジュバントとともに免疫することにより、特異的キラー T 細胞(CTL)を体内誘導することができる。この CTL エピトープ部位のペプチドを直接 CTL に作用させると CTL 活性が著しく減弱する。このメカニズムを詳しく調べたところ、CTL 側の MHC-I 分子へのペプチド結合に引き続いておこる、一時的な anergy 状態であることが判明した。こうした Anergy 状態に陥る際、CTL は IL-2 レセプターβ鎖の発現低下と共に IFN- γ を大量に放出し、周囲の特異的ヘルパー T 細胞および CTL を活性化する一方、自身の IFN- γ レセプターを細胞内に取り込み自らはその影響を受けないように待機する事が分かった。またこうした現象は、エピトープ部分を含む様々な長さの浮遊ペプチドが CTL 上に表出した Class I MHC 分子に結合した後、血清中の蛋白分解酵素を介して最小単位のエピトープペプチドに trimming される結果によっても誘導されることが判明した。さらに、このような anergy 状態の CTL 再活性化には、B7-1 分子のような共刺激因子が必須であることを確認した。

2. 主な研究成果

(1) 論文発表

A. 神奈木グループ (東京医科歯科大学)

1. S. Hanabuchi, T. Ohashi, Y. Koya, H. Kato, A. Hasegawa, F. Takemura, T. Masuda, M. Kannagi. Regression of HTLV-I-lymphomas by peptide-induced T-cell immunity with a newly identified Tax-epitope in rats. J. NCI, in press, 2001.
2. M. Kannagi, T. Ohashi, S. Hanabuchi, H. Kato, Y. Koya, A. Hasegawa, T. Masuda, and T. Yoshiki. Immunological aspects of rat models of HTLV-type 1-infected T lymphoproliferative disease. AIDS Res. Hum. Retroviruses 16: 1737-1740, 2000.
3. T. Ohashi, S. Hanabuchi, H. Kato, H. Tateno, F. Takemura, T. Tsukahara, Y. Koya, A. Hasegawa, T. Masuda, and M. Kannagi. Prevention of adult T cell leukemia-like lymphoproliferative disease in rats by adoptively transferred T cells from a donor immunized with human T cell leukemia virus type 1 Tax-coding DNA vaccine. J. Virol. 74: 9610-9616, 2000.
4. N. Tsurutani, M. Kubo, Y. Maeda, T. Ohashi, N. Yamamoto, M. Kannagi, T. Masuda. Identification of critical amino acid residues in human immunodeficiency virus type 1 IN required for efficient proviral DNA formation at steps prior to integration in dividing and nondividing cells. J. Virol. 74: 4795-4806, 2000.
5. S. Hanabuchi, T. Ohashi, Y. Koya, H. Kato, F. Takemura, K. Hirokawa, T. Yoshiki, H. Yagita, K. Okumura, and M. Kannagi. Development of human T cell leukemia virus type I (HTLV-I)-transformed tumor in rats following suppression of T cell immunity by CD80 and CD86 blockade. J. Virol., 74: 428-435, 2000.
6. T. Tsukahara, M. Kannagi, T. Ohashi, H. Kato, M. Arai, G. Nunez, Y. Iwanaga, N. Yamamoto, K. Ohtani, M. Nakamura, and M. Fujii. Induction of Bcl-xL expression by HTLV-I Tax through NF-kB in apoptosis-resistant T-cell transfectants with Tax. J. Virol., 73: 7981-7987, 1999.
7. T. Ohashi, S. Hanabuchi, H. Kato, Y. Koya, F. Takemura, K. Hirokawa, T. Yoshiki, Y. Tanaka, M. Fujii, and M. Kannagi. Induction of ATL-like lymphoproliferative disease and its inhibition by adoptive immunotherapy in T-cell deficient nude rats inoculated with syngenic HTLV-I-immortalized cells. J. Virol. 73: 6031-6040, 1999.
8. Y. Koya, T. Ohashi, H. Kato, S. Hanabuchi, T. Tsukahara, F. Takemura, K. Etoh, M. Matsuoka, M. Fujii, and M. Kannagi. Establishment of a seronegative HTLV-I-carrier state in rats inoculated with a syngenic HTLV-I-immortalized T cell line preferentially expressing Tax. J. Virol. 73: 6436-6443, 1999.
9. H. Iwanaga, T. Tsukahara, T. Ohashi, Y. Tanaka, M. Arai, M. Nakamura, K. Ohtani, M. Kannagi, N. Yamamoto, and M. Fujii. Human T-cell leukemia virus type 1 Tax protein abrogates interleukin-2 dependence in a mouse T-cell line. J. Virol. 73: 1271-1277, 1999.
10. N. Nakamura, M. Fujii, T. Tsukahara, M. Arai, T. Ohashi, H. Wakao, M. Kannagi, N. Yamamoto. Human T-cell leukemia virus type 1 Tax protein induces the expression of STAT1 and STAT5 genes in T-cells. Oncogene. 18: 2667-2675, 1999.
11. T. Ohashi, M. Kubo, H. Kato, A. Iwamoto, H. Takahashi, M. Fujii, and M. Kannagi. Role of class I major histocompatibility complex-restricted and -unrestricted suppression of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) replication by CD8+ T lymphocytes. J. Gen. Virol. 80: 209-216, 1999.
12. H. Kato, Y. Koya, T. Ohashi, S. Hanabuchi, and M. Kannagi. Lack of immune responses with persistent infection in adult rats by oral administration of HTLV-I. 10th International Congress of Immunology, Monduzzi editore, International Proceedings Division, Edited by G.P. Talwar, Indira Nath, N.K. Ganguly, K.V.S. Rao, pp 1117-1121, 1998.
13. H. Kato, Y. Koya, T. Ohashi, S. Hanabuchi, F. Takemura, M. Fujii, H. Tsujimoto, A. Hasegawa, and M. Kannagi. Oral administration of HTLV-I induces immune unresponsiveness with persistent infection in adult rats. J. Virol. 72:7289-7293, 1998.
14. T. Ohashi, M. Arai, H. Kato, M. Kubo, M. Fujii, N. Yamamoto, A. Iwamoto, M. Kannagi. High SDF-1 expression in HIV-1 carriers does not correlate with CD8+ T cell-mediated suppression of viral replication. Virology. 244: 467-472, 1998.
15. M. Arai, T. Ohashi, T. Tsukahara, T. Murakami, T. Hori, T. Uchiyama, N. Yamamoto, M. Kannagi, M. Fujii. Human T cell leukemia virus type 1 Taxprotein induces the expression of lymphocyte chemoattractant SDF-1/PBSF. Virology. 241: 298-303, 1998.
16. M. Arai, Kannagi M., Matsuoka M., Sato T., Yamamoto N., and Fujii M. Expression of FAP-1 (Fas-associated phosphatase) and resistance to Fas-mediated apoptosis in T-cell lines derived from human T-cell leukemia virus type 1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. AIDS Res. Hum. Retroviruses, 14: 261-267, 1997.
17. M. Kubo, Ohashi T., Fujii M., Oka S., Iwamoto S., Harada S., Kannagi M. Abrogation of in vitro suppression of HIV-1 replication mediated by CD8+ T lymphocytes of asymptomatic HIV-1 carriers by staphylococcal enterotoxin B and phorbol esters through induction of TNF-a. J. Virol. 71: 7560-7566, 1997.
18. M. Kannagi, Nakamura T., Akari H., Kuroda M. J., Fujii M., Oka S., Iwamoto A., Kurata T., Higashi D., and Harada S. Dual phasic suppression of viral replication following de novo human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection in lymphocytes of asymptomatic HIV-1 carriers. Leukemia 11 (suppl 3): 545-547, 1997.

他2件 (F-5、11と重複につき省略)

B. 山本グループ (東京医科歯科大学)

1. Mori N, Morishita M, Tsukazaki T, Giam CZ, Kumatori A, Tanaka Y, Yamamoto N. Human T-cell leukemia virus type I oncoprotein Tax represses Smad-dependent transforming growth factor beta signaling through interaction with CREB-binding protein/p300. *Blood*. 97:2137-44. 2001
2. Miura Y, Misawa N, Maeda N, Inagaki Y, Tanaka Y, Ito M, Kayagaki N, Yamamoto N, Yagita H, Mizusawa H, Koyanagi Y. Critical Contribution of Tumor Necrosis Factor-related Apoptosis-inducing Ligand (TRAIL) to Apoptosis of Human CD4(+) T Cells in HIV-1-infected hu-PBL-NOD-SCID Mice. *J Exp Med*. 193:651-60. 2001.
3. Mori N, Ueda A, Geleziunas R, Wada A, Hirayama T, Yoshimura T, Yamamoto N. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 by helicobacter polori involves NF-kB. *Infect. Immun*. 69 (3): 1280-1286, 2001
4. Ryo A, Kondoh N, Wakatsuki T, Hada A, Yamamoto M, Yamamoto N: A Modified Serial analysis of gene expression that generates longer sequence tags by nonpalindromic cohesive linker ligation. *Anal. Biochem*. 277:160-162, 2000
5. Momoi Y, Ichiyama K, Chowdhury IH, Koyanagi Y, Yamamoto N.: Pertussis toxin enhances human immunodeficiency virus type 1 replication. *AIDS Res. Hum. Retrov.*, 16:373-9, 2000
6. Mori N, Ueda A, Ikeda S, Yamasaki Y, Yamada Y, Tomonaga M, Morikawa S, Geleziunas R, Yoshimura T, Yamamoto N.: Human T-cell leukemia virus type I tax activates transcription of the human monocyte chemoattractant protein-1 gene through two nuclear factor-kappaB sites. *Cancer Res.*, 60: 4939-45, 2000
7. Ryo A, Suzuki Y, Arai M, Kondoh N, Wakatsuki T, Hada A, Shuda M, Tanaka K, Sato C, Yamamoto M, Yamamoto N.: Identification and characterization of differentially expressed mRNAs in HIV type 1-infected human T cells. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 16:995-1005, 2000
8. Y. Suzuki, Y. Koyanagi, Y. Tanaka, N. Murakami, T. Misawa, H. Kimura, H. Shida, J. A. Hoxie, W. A. O' Brien and N. Yamamoto: Determinant in human immunodeficiency virus type 1 for efficient replication under Cytokine-Induced CD4 + T-helper 1 (Th1)-and Th2-Type conditions. *J. Virol.*, 73: 316-324, 1999.
9. K. Ichiyama, H. Akimoto, L. P. Neoh, N. T. Hitokawa, H. Kanemoto, S. Hirose, Y. Kanemoto, N. Yamamoto: HIV type 2 can bind to CD8 molecules but does not infect CD8 + T Cells. *AIDS Res. Hum. Retrov.*, 15(7), 687-688, 1999.
10. Ichiyama K, Ishikawa D, Tanaka Y, Kashiwa T, Koyanagi Y, Handa S, Yamashita A, Fukushi M, Yamamoto N, Taki T (1999) Epitope mapping of rat neutralizing monoclonal antibody against human immunodeficiency virus type-1 by a phage peptide library : comparison with ELISA using synthetic peptide. *Viral Immunology* 12 57-66.
11. T. Murakami, T.Y.Zhang, Y. Koyanagi, Y. Tanaka, J. Kim. Y. Suzuki, S. Minoguchi, H. Tamamura, M. Waki, A. Matsumoto, N. Fujii, H. Shida, J.A. Hoxie, S.C. Peiper and N. Yamamoto: Inhibitory mechanism of the CXCR4 antagonist T22 against human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Virol.*, 73, 7489-7496, 1999
12. N. Mori, Y. Nunokawa, Y. Yamada. S. Ikeda, M. Tomonaga and N. Yamamoto: Expression of human inducible nitric oxide synthase gene in T-cell lines infected with human T-cell leukemia virus type 1 and primary adult T-cell leukemia cells. *Blood*, 94: 2862-2870, 1999
13. M.Fukusi, J.Dixon, T.Kimura, N.Tsurutani, M.J.dixon and N.Yamamoto: Identification and cloning of a novel cellular protein Naf1, Nef-associated factor 1, that increases cell surface CD4 expression. *FEBS Lett*, 441, 353-356, 1998.
14. Y. Zhou, S. Horiuchi, M. Yamamoto and N. Yamamoto: Elevated serum levels of the soluble form of gp130, the IL-6 signal transducer, in HTLV-1 infection and no involvement of alternative splicing for its generation. *Microbiol. Immunol.*, 42, 109-116, 1998.
15. S. Horiuchi, W. Ampofo, Y. Koyanagi, A. Yamashita, M. Waki, A. Matsumoto, M. Yamamoto, N. Yamamoto: High level production of alternatively spliced soluble interleukin-6 receptor in serum of patients with adult T cell leukemia/HTLV-I associated myelopathy. *Immunol.*, 95, 360-369, 1998.
16. M. Fukushi, J. Dixon, T. Kimura, N. Tsurutani, M. J. Dixon and N. Yamamoto: Identification and cloning of a novel cellular protein Naf1, Nef-associated factor 1, that increases cell surface CD4 expression. *FEBS Lett.*, 441, 353-356, 1998.
17. N. Mori, N. Mukaida, D.W. Ballard, K. Matsushima and N. Yamamoto: Human T-cell leukemia virus type I tax transactivates human interleukin 8 gene through acting concurrently on AP-1 and nuclear factor-kB-like sites. *Cancer Res*. 58,3993-4000, 1998
18. N. Mori, Y. Yamada, M. Tomonaga, S. Ikeda and N. Yamamoto: Interleukin-15 simulates the proliferation of peripheral blood leukemic cells from adult T-cell leukemia patients. *Eur. J. Haematol*, 61,278-279, 1998
19. H. Akimoto, H. Kaneko, I. Sekigawa, H. Hashimoto, Y. Kaneko and N. Yamamoto: Binding of HIV-2 envelope glycoprotein to CD8 molecules and related chemokine. *Immunology*, 95:214-218, 1998
20. Y. Koyanagi, Y. Tanaka, J. Kira, M. Ito, K. Hioki, N. Misawa, Y. Kawano, K. Yamasaki, R. Tanaka, Y. Suzuki, Y. Ueyama, E. Terada, T. Tanaka, M. Miyasaka, T. Kobayashi, Y. Kumazawa and N. Yamamoto: Primary viremia and CNS invasion with HIV-1 in a novel hu-PBL-immunodeficient mouse. *J. Virol.*, 71, 2417-2424, 1997.
21. Y. Koyanagi, Y. Tanaka, R. Tanaka, N. Misawa, Y. Kawano, T. Tanaka, M. Miyasaka, M. Ito, Y. Ueyama and N. Yamamoto: High levels of viremia in hu-PBL-NOD-scid with HIV-1 infection. *Leukemia*, 11, 109-112, 1997.
22. K. Horiuchi, Y. Koyanagi, Y. Tanaka, M. Waki, A. Matsumoto, W. Y. Zhou, M. Yamamoto and N.

Yamamoto: Altered interleukin 2 receptor α -chain is expressed in human T-cell lymphotropic virus type-I (HTLV-I) infected T-cell lines and human peripheral blood mononuclear cells of adult T-cell leukemia (ATL) patients through an alternative splicing mechanism. *Immunology*, 91, 28-34, 1997.

23. T. Murakami, T. Nakajima, Y. Koyanagi, K. Tachibana, N. Fujii, H. Tamamura, N. Yoshida, M. Waki, A. Matsumoto, O. Yoshie, T. Kishimoto, N. Yamamoto and T. Nagasawa: A small molecule CXCR4 inhibitor that blocks T cell-line tropic HIV-1 infection. *J. Exp. Med.*, 186, 1389-1393, 1997.
24. Y. Kawano, Y. Tanaka, N. Misawa, R. Tanaka, J. Kira, T. Kimura, M. Fukushi, K. Sano, T. Goto, M. Nakai, T. Kobayashi, N. Yamamoto and Y. Koyanagi: Mutation analysis of HIV-1 accessory genes: Requirement of site in nef gene for HIV-1 replication in activated CD4+ T cells in vitro and in vivo. *J. Virol.*, 71, 8456-8466, 1997.

他 15 件 (A-4, 6, 9, 10, 14, 15, 16, E-1, 7, F-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 と重複につき省略)

C. 井川グループ (東京医科歯科大学)

1. T. Kojima, Y. Ikawa, and I. Katoh. Analysis of molecular interactions of the p53 family p51(p63) gene products in a yeast two-hybrid system: homotypic and heterotypic interactions and association with p53-regulatory factors, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 281 1170-1175, 2001
2. Shinohara, H., Yagita, H., Ikawa, Y., and Oyaizu, N. : Fas drives cell cycle progression in glioma cells via extracellular signal regulated kinase (ERK1/2) activation. *Cancer Res.* 60:1766-1772, 2000
3. I. Katoh, K. Aisaki, S. Kurata, S. Ikawa, and Y. Ikawa. p51A(TAp63 γ), a p53 homolog, accumulates in response to DNA damage for cell regulation. *Oncogene* 19 3126-3130, 2000
4. T. Matsuzaki, K. Aisaki, Y. Yamamura, M. Noda, and Y. Ikawa. Induction of erythroid differentiation by inhibition of Ras/ERK pathway in a Friend Murine leukemia cell line, *Oncogene* 19 1500-1508, 2000
5. S. Ikawa, A. Nakagawara, and Y. Ikawa. p53 family genes: structural comparison, expression and mutation, *Cell Death Differ.* 6 1154-1161, 1999
6. M. Sunahara, T. Shishikura, M. Takahashi, S. Todo, N. Yamamoto, H. Kimura, S. Kato, C. Ishioka, S. Ikawa, Y. Ikawa, and A. Nakagawara. Mutational analysis of p51A/TAp63 γ , a p53 homolog, in non-small cell lung cancer and breast cancer, *Oncogene* 18 3761-3765, 1999
7. Shimada, S. Kato, K. Enjo, M. Osada, Y. Ikawa, K. Kohno, M. Obinata, R. Kanamaru, S. Ikawa, and C. Ishioka. The transcriptional activities of p53 and its homologue p51/p63: similarities and differences, *Cancer Res.* 59 2781-2786, 1999
8. S. Ikawa, M. Obinata, and Y. Ikawa. Human p53-p51(p53-related) fusion protein: a potent BAX transactivator, *Jpn. J. Cancer. Res.* 90 596-599, 1999
9. H. Anzai, M. Nagayoshi, M. Obata, Y. Ikawa, and T. Atsumi. Self-renewal and differentiation of a basic fibroblast growth factor-dependent multipotent hematopoietic cell line derived from embryonic stem cells, *Dev. Growth Differ.* 41 51-58, 1999
10. K. Aisaki, H. Kanno, N. Oyaizu, Y. Hara, S. Miwa, and Y. Ikawa. Apoptotic changes precede mitochondrial dysfunction in red cell-type pyruvate kinase mutant mouse erythroleukemia cell lines, *Jpn. J. Cancer Res.* 90 171-179, 1999
11. M. Osada, M. Ohba, C. Kawahara, C. Ishioka, R. Kanamaru, I. Katoh, Y. Ikawa, Y. Nimura, A. Nakagawara, M. Obinata, and S. Ikawa. Cloning and functional analysis of human p51, which structurally and functionally resembles p53. *Nat. Med.* 4 839-843, 1998
12. S. Tajima, W. Z. Zhuang, M. V. Kato, K. Okada, Y. Ikawa, and Y. Aida. Function and conformation of wild-type p53 protein are influenced by mutations in bovine leukemia virus-induced B-cell lymphosarcoma, *Virology* 243 235-246, 1998
13. Y. Yamamura, H. Senda, Y. Kageyama, T. Matsuzaki, M. Noda, and Y. Ikawa. Erythropoietin and Friend virus gp55 activate different JAK/STAT pathways through the erythropoietin receptor in erythroid cells, *Mol. Cell Biol.* 18 1172-1180, 1998
14. M. V. Kato, H. Sato, M. Nagayoshi, and Y. Ikawa. Upregulation of the elongation factor-1 α gene by p53 in association with death of an erythroleukemic cell line, *Blood* 90 1373-1378, 1998
15. Y. Ikawa. Pathogenesis of Friend leukemia virus, *Leukemia Suppl.* 3 152-154, 1997
16. H. Amanuma, T. Yagawa, N. Watanabe, and Y. Ikawa. Mutational analysis of the structure-function relationship of the leukemogenic membrane glycoprotein (GP55) of Friend spleen focus-forming virus (F-SFFV), *Leukemia Suppl.* 3 160-161, 1997
17. W. Zhuang, S. Tajima, K. Okada, Y. Ikawa, and Y. Aida. Point mutation of p53 tumor suppressor gene in bovine leukemia virus-induced lymphosarcoma, *Leukemia Suppl.* 3 344-346, 1997.
18. M. V. Kato, H. Sato, H. Anzai, M. Nagayoshi, and Y. Ikawa. Up-regulation of cell cycle-associated genes by p53 in apoptosis of an erythroleukemic cell line, *Leukemia Suppl.* 3 389-392, 1997.
19. Y. Yamamura, H. Senda, M. Noda, and Y. Ikawa. Activation of the JAK1/STAT5 pathway by binding of the Friend virus gp55 glycoprotein to the erythropoietin receptor, *Leukemia suppl.* 3 342-344, 1997

D. 中村グループ (東京医科歯科大学)

1. Huang, Y-P, Ohtani, K., Matsumura, Y. & Nakamura, M. Direct trans-activation of the human cyclin D2 gene by the oncogene product Tax of human T-cell leukemia virus type I. *Oncogene.*, 20, 1094-1102, 2001.
2. Iwanaga, R., Ohtani, K., Hayashi, T., Kumamoto, Y. & Nakamura, M. Molecular mechanisms of cell cycle progression induced by the oncoprotein Tax of human T-cell leukemia virus type I. *Oncogene.*, , in press,

2001.

- Ohtani, K., Iwanaga, R., Arai, M., Huang, Y-P., Matsumura, Y. & Nakamura, M. Cell type-specific E2F activation and cell cycle progression induced by the oncogene product Tax of human T-cell leukemia virus type I. *J. Biol. Chem.*, 275, 11154-11163, 2000.
- Iwanaga, R., Ohtani, K. & Nakamura, M. Requirement of cell growth for gene expression induced by the lactose and tetracycline repressor-operator combination system in a human T cell. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 276, 546-552, 2000.
- Higashimura, N., Takasawa, N., Tanaka, Y., Nakamura, M. & Sugamura, K. Induction of OX40, a receptor of gp34, on T cells by trans-acting transcriptional activator, Tax, of human T-cell leukemia virus type I. *Jpn. J. Cancer Res.*, 87, 227-231, 1996.
- Ohtani, K., Iwanaga, R., Nakamura, M., Ikeda, M., Yubata, N., Tsuruga, H. & Nojima, H. Cell growth-regulated expression of mammalian MCM5 and MCM6 genes mediated by the transcription factor E2F. *Oncogene*, 18, 2299-2309, 1999.
- Ohtani, K., Tsujimoto, A., Tsukahara, T., Numata, N., Miura, S., Sugamura, K. & Nakamura, M. Molecular mechanisms of promoter regulation of the gp34 gene that is trans-activated by an oncoprotein Tax of human T-cell leukemia virus type I. *J. Biol. Chem.*, 273, 14119-14129, 1998.
- Ohtani, K., Tsujimoto, A., Ikeda, M. & Nakamura, M. Regulation of cell growth-dependent expression of mammalian CDC6 gene by cell cycle transcription factor E2F. *Oncogene*, 17, 1777-1785, 1998.
- Nakamura, M., Takasawa, N., Ohbo, K., Higashimura, N., Ohtani, K., Tanaka, Y. & Sugamura, K. HTLV-I Tax trans-activation and cell growth signaling. *Leukemia*, 11, 7-9, 1997.

他 3 件 (A-6, 9, E-1 と重複につき省略)

E. 田中グループ (琉球大学)

- Takahashi Y, Tanaka Y., Yamashita A, Koyanagi Y, Nakamura M., and Yamamoto N. : OX40 Stimulation by gp34/OX40 Ligand Enhances Productive HIV-1 Infection. *J. Virol.*, in press.
- Hanon E, Stinchcombe J, Asquith R E, Taylor G P, Tanaka Y., Weber J N, Griffiths G M, Bangham C R M. Fratricide among CD8+ T lymphocytes naturally infected with Human T-cell lymphotropic virus type I. *Immunity* 13:657-664, 2000.
- Morimoto S, Kanno Y, Tanaka Y., Takano Y, Hashimoto H, Jacquot S, Marimoto C, Schlossman F. S, Yagita H, Okumura K, Kobata T. CD134L engagement enhances human B cell Ig production : CD154/CD40, CD70/CD27, and CD134/CD134L interactions coordinately regulate T cell-dependent B cell responses . *J. Immunol.* 164:4097-4104, 2000.
- Ohshima Y, Yang Liang-Peng, Uchiyama T, Tanaka Y., Baum P, Sergerie M, Hermann P, Delespesse G. OX40 costimulation enhances IL-4 expression at priming and promotes the differentiation of naive human CD4+ T cells into highIL-4-producing effectors. *Blood* 92:3338-3345, 1998.
- Ohshima Y, Tanaka Y., Tozawa H, Takahashi Y, Maliszewski C, and Delespesse G. Expression and function of OX40 ligand on human dendritic cells. *J. Immunol.* 159:3838-3848, 1997
- Imura A, Hori T, Imada K, Kawamata S, Tanaka Y., Imamura S, and Uchiyama T. OX40 expressed on fresh leukemic cells from adult T-cell leukemia patients mediates cell adhesion to vascular endothelial cells : implication for the possible involvement of OX40 in leukemic cell infiltration. *Blood* 89:2951-2958, 1997.
- Tanaka Y., Koyanagi Y, Tanaka R, Kumazawa Y, Nishimura T, and Yamamoto N. Productive and lytic infection of human CD4+ type 1 helper T cells with macrophage-tropic human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol.* 71:465-470, 1997.

他 14 件 (A-7, 9, B-1, 2, 8, 10, 11, 20, 21, 22, 24, D-5, 9, F-4 と重複につき省略)

F. 藤井グループ (新潟大学)

- Mori N., Fujii M., Cheng G., Ikeda S., Yamasaki Y., Yamada Y., Tomonaga M., Yamamoto N. Human T-Cell Leukemia Virus Type I Tax Protein Induces the Expression of Anti-apoptotic Gene bcl-xL in Human T-Cells through Nuclear Factor-kB and c-AMP Responsive Element Binding Protein Pathways. *Virus genes*, (in press)
- Iwai K., Mori N., Oie M., Yamamoto N., Fujii M. Human T-cell Leukemia Virus Type 1 Tax Protein Activates Transcription through AP-1-Site by Inducing DNA Binding Activity in T-cells. *Virology*, 279, 38-46 (2001)
- Mori N., Fujii M., Yamamoto N. Aberration in signal transduction pathway in human T-cell leukemia virus type I-infected T cells. *Acta Medica Nagasakiensia*, 45, 1-8 (2000)
- Mori N., Fujii M., Iwai K., Ikeda S., Yamasaki Y., Hata T., Yamada Y., Tanaka Y., Tomonaga M., Yamamoto N. Constitutive activation of transcription factor AP-1 in primary adult T-cell leukemia cells. *Blood*, 95, 3915-3921 (2000)
- Fujii M., Iwai K., Oie M., Fukushi M., Yamamoto N., Kannagi M., Mori N. Activation of oncogenic transcription factor AP-1 in T-cells infected with Human T-cell Leukemia Virus Type 1. *AIDS.Res.Hum.Retro.*, 16, 1603-1606 (2000)
- Mori N., Fujii M., Ikeda S., Yamada Y., Tomonaga M., Ballard D., Yamamoto N. Constitutive activation of NF-kB in primary adult T-cell leukemia cells. *Blood*, 93, 2360-2368 (1999)
- Mori N., Yamamoto N., Fujii M. Activation of Nuclear Factor kappa B transcription factor by human T-cell

- leukemia virus type I. *Acta Med.Biol.*, 47, 85-96 (1999)
8. Santiago F., Clark E., Chong S., Molina C., Mozafari F., Mahieux R., Fujii M., Azimi N., Kashanchi F. Transcriptional Up-Regulation of the Cyclin D2 Gene and Acquisition of New Cyclin-Dependent Kinase Partners in Human T-Cell Leukemia Virus Type 1-Infected Cells. *J Virol*, 73, 9917-9927 (1999)
 9. Matsumoto K., Shibata H., Fujisawa J.I., Inoue H., Hakura A., Tsukahara T., Fujii M. Human T-cell leukemia virus type 1 Tax protein transforms rat fibroblasts via two distinct pathways. *J Virol*, 71, 4445-4451 (1997)
 10. Fujii M., Minamino T., Nomura M., Miyamoto K., Tanaka J., Seiki M. v-Rel activates the proto-oncogene c-jun promoter: a correlation with its transforming activity. *Leukemia*, 11, 402-404 (1997)
 11. S. Kishi, Saijo S., Arai M., Karasawa S., Ueda S., Kannagi M., Iwakura Y., Fujii M., and Yonehara S. Resistance to Fas-mediated apoptosis of peripheral T cells in human T lymphocyte virus type I (HTLV-I) transgenic mice with autoimmune arthropathy. *J. Exp. Med.* 186: 57-64, 1997.

他 11 件 (A-7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18 と重複につき省略)

G. 高橋グループ (日本医科大学)

1. Takahashi, M., Nakagawa, Y., Berzofsky, J.A., Takahashi H.: Counter-regulation of cytolytic activity and cytokine production in human immunodeficiency virus (HIV)-1-specific murine CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes by free antigenic peptide. *Int. Immunol.*, 13: 43-51, 2001. (January)
2. Nakagawa, Y., Takeshita, T., Berzofsky, J.A., Takahashi H.: Analysis of the mechanism for extracellular processing in the presentation of human immunodeficiency virus-1 envelope protein-derived peptide to epitope-specific cytotoxic T lymphocytes. *Immunology*, 101: 76-82, 2000.
3. Akahata, W., Ido, E., Shimada, T., Katsuyama, K., Yamamoto, H., Uesaka, H., Ui, M., Kuwata, T., Takahashi H., Hayami, M.: DNA vaccination of macaques by a full genome HIV-1 plasmid which produces non-infectious virus particles. *Virol.*, 275: 116-124, 2000.
4. Chiaba, M., Takahashi H., Kato, K., Nakagawa, Y., Fukushima, T., Inuma, H., Nerome, K.: Recombinant vaccinia virus expressing an immunodominant epitope of HIV-1 envelope protein within an influenza hemagglutinin cassette predominantly prime epitope-specific CD8⁺ CTL. *Arch. Virol.*, 144: 1469-1485, 1999.
5. Kmiecik, D., Wasik, T.J., Teppler, H., Pientka, J., Hus, S., Takahashi H., Okumura, K., Kaneko, Y., and Kozbor, D.: The effect of deletion of the V3 loop of gp120 on cytotoxic T cell responses and HIV gp120-mediated pathogenesis. *J. Immunol.*, 160: 5676-5683, 1998.
6. Sung-Tae, Y., Abe, E., Okada, Y., Matsuura, Y., Takebe, Y., Ogasawara, K., Takahashi H., and Mizuochi, T.: A polypeptide encoded within the murine AIDS defective virus stimulates primary proliferation of CD8⁺ T cells. *Immunol. Lett.*, 55: 93-98, 1997.
7. Takahashi H., Nakagawa, Y., Leggatt, G., Ishida, Y., Saito, T., Yokomuro, K., and Berzofsky, J.A.: Inactivation of HIV-1 envelope-specific CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes by free antigenic peptide: A self-veto mechanism? *J. Exp. Med.*, 183: 879-889, 1996.
8. Shirai, M., Kurokouchi, K., Pendleton, C.D., Boyd, L.F., Takahashi H., Margulies, D., and Berzofsky, J.: Reciprocal CTL cross-reactivity interactions between two major epitopes with HIV-1 gp160. *J. Immunol.*, 157: 4399-4411, 1996.

他 1 件 (A11 と重複につき省略)

(2) 口頭発表:(国内 170 件以上, 海外 60 件以上)

招待、口頭講演(抜粋)

1. M. Kannagi, S. Hanabuchi, T. Ohashi, A. Hasegawa, and T. Masuda. Host defense mechanisms against HTLV-I-induced T-cell lymphomas in a rat model. 10th International Conference on Human Retrovirology: HTLV and Related Viruses. June 25-29, 2001, Dublin, Ireland.
2. Takashi Ohashi, Shino Hanabuchi, Takao Masuda, and Mari Kannagi. Suppressive effects of HTLV-I Tax-coding vaccine on the development of ATL-like lymphoproliferative disease in a rat model. 12th International Workshop on Retroviral Pathogenesis, October 29 – November 1, 2000, Maryland, USA.
3. M. Kannagi, T. Ohashi, S. Hanabuchi, H. Kato, Y. Koya, and T. Yoshiki. Induction of HTLV-I-infected T-lymphoproliferative disease in animal models and its immunological aspects. Workshop on HTLV Molecular Biology and Pathogenesis, March 17-19, 2000, Virginia, U.S.A.
4. M. Fujii. Interleukin 2 independent growth induced by human T cell leukemia virus type 1 Tax protein in a mouse T cell line. Workshop on HTLV-IMolecular Biology and Pathogenesis, March 17-19, 2000, Virginia, U.S.A.
5. Takahashi H., Norose, Y., Nakagawa, Y., Takahashi, M., Sakaguchi, M., Takebe, Y.: Efficient priming of HIV-specific CD8⁺CTL with dendritic cells presensitized with HIV-DNA plasmid. Japan-US Cooperative Medical Science Program: The 12th Joint Scientific Meeting of AIDS. March 22-24, 2000 (Santa Fe, New Mexico, U.S.A.)
6. T. Masuda, N. Tsurutani, N. Yamamoto, and M. Kannagi. Critical amino acid residue in HIV-1 IN required for efficient proviral formation in monocyte-derived macrophage: implication for nuclear transport function of IN, May, 1999, Cold spring Harbor.
7. M. Kannagi, T. Ohashi, S. Hanabuchi, Y. Koya, H. Kato, F. Takemura, K. Hirokawa, and T. Yoshiki. T-cell

- control of tumor cells in vivo in a rat model system of ATL. Ninth International Conference of Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, April, 1999, Kagoshima.
8. M. Fujii. Critical involvement of human T-cell leukemia virus type 1 Tax protein in IL-2-independent transformation of T cells. Ninth International Conference of Human Retrovirology HTLV and Related Viruses, April, 1999, Kagoshima.
 9. M. Kannagi. Host defense mechanisms against human T cell leukemia virus type I (HTLV-I). 11th International Conference of Women Engineers and Scientists. Makuhari, Chiba, July, 1999.
 10. Tanaka, Y., Tanaka, R., Kumazawa, Y., Koyanagi, Y. and Yamamoto, N. Control of HIV-1 proliferation and pathogenesis with host factors in the hu-PBL-SCID mouse system. 12th World AIDS Conference, Geneva 1998/06/30
 11. Kato, H., Koya, T., Ohashi, T., Hababuchi, S. and Kannagi, M. Lack of immune responses with persistent infection in adult rats by oral administration of HTLV-I. 10th International Congress of Immunology New Delhi India 1998/11/02
 12. Kannagi M., et al. Roles of the MHC-I-restricted and unrestricted CD8+ T cell-mediated suppression of HIV-1 replication. 3rd. International Kyoto Life Science Symposium. (Kyoto) May, 1997.
 13. 神奈木真理. ATLの動物モデルと腫瘍ワクチン. 日本癌学会シンポジウム、京都、2001年4月。
 14. 神奈木真理. ヒトレトロウイルス腫瘍の発症と防御. 科学技術振興事業団公開シンポジウム。東京、2001年1月。
 15. 神奈木真理. HTLV-Iリンパ腫瘍と免疫. 日本癌学会シンポジウム、「感染症と発癌」京都、1999、12月。
 16. 中村正孝. HTLV-I Taxによる細胞増殖制御. 日本癌学会シンポジウム、「感染症と発癌」京都、1999、12月。

ポスター発表 (抜粋)

1. M. Kannagi, S. Hanabuchi, T. Ohashi. In vivo control of HTLV-I-infected tumor development by T cell immunity in a rat model. 11th International Congress of Virology, Sidney, Australia, August, 1999.
2. Nakamura M, Iwanaga R, Huang Y, Ohtani K. Induction of S phase of the cell cycle in human T cells by HTLV-I Tax. XIth International Congress of Virology, Sydney, Australia, 1999.

(3) 特許出願

1. 大橋 貴・神奈木真理、
成人T細胞白血病モデル動物
平成10年11月5日 出願
1999年11月5日 国際出願
2. 増田貴夫・神奈木真理、
インテグラーゼN末端領域に結合する因子を標的とした HIV 阻害剤スクリーニング法
平成11年5月13日 出願
2000年4月25日 国際出願

(4) 受賞等

受賞：研究代表者は2001年6月にダブリンで開催された第10回国際ヒトレトロウイルス学会で「ATLの動物モデルと宿主免疫」について招待講演し、Arwind Diwan 賞を受賞した。
新聞報道：2001年4月6 - 7日に京都で開催したシンポジウム「ATLのウイルス病因発見から20年」に対する共同通信の取材記事で、本研究成果(ATLの動物モデルと腫瘍ワクチン効果)が取り上げられた。

(5) その他特記事項

神奈木グループのATLに対する腫瘍ワクチンの研究は、科学技術振興事業団の平成12年度「権利化試験課題」に採用された(平成14年3月まで)。