

ウイルス性脳炎における組織破壊誘導シグナル分子の研究

Investigation of tissue destruction signals on viral encephalitis

課題番号 16390112

平成16年度～平成17年度科学研究費補助金

(基盤研究(B)) 研究成果報告書

京都大学図書



1060666499

附属図書館

年 6月

小柳義夫

京都大学 ウイルス研究所 教授

目次

はしがき	-----	1
研究組織	-----	2
研究経費	-----	3
研究成果の概要	-----	4
研究発表リスト		
欧文報告書	-----	11
和文報告書	-----	12
口頭発表（国際学会を含む）	-----	12
業績（論文）		
欧文	-----	17
和文	-----	73

ウイルス性脳炎における組織破壊誘導シグナル分子の研究

「はしがき」

本研究は、これまでその分子病態成立過程の詳細が不明であるウイルス感染による組織破壊メカニズムの解明を目的に行われた。対象としたウイルスはヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) と単純ヘルペスウイルス 1 型 (HSV-1) であり、特に最も解明が遅れている中枢神経系組織に対する組織破壊シグナル分子を中心に解析を行った。HIV-1 は神経細胞に感染しないにもかかわらず、神経細胞へアポトーシスを誘導し組織破壊に陥らせる。一方、HSV-1 は神経細胞へ感染し、その細胞を破壊し組織破壊を誘導する。しかし、いずれの場合にも最終的には神経細胞の破壊が中心となりその組織が破壊されることがこれら脳炎の発症機序であると考えられている。これら死に至らせる組織破壊誘導シグナル分子の同定、そして、その分子に対する阻害分子の解明から、新たな治療法への発展をめざす。

本研究は以下研究者の協力により遂行が可能となったものであり、ここに深く感謝する。HSV-1 株の分与は東京大学医科学研究所川口寧助教授、脳海馬スライス培養の確立は東北大学生命科学研究科八尾寛教授、CD4 抑制因子産生細胞の分与は琉球大学医学部田中勇悦教授、そして、共同研究者の京都大学ウイルス研究所三浦義治助手、大学院生北山裕子さん、安藤良徳君に感謝します。

「研究組織」

研究代表者：

小柳 義夫

京都大学・ウイルス研究所・教授

「研究経費」
 交付決定額(配分額) (金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 16 年度	9,100,000	0	9,100,000
平成 17 年度	5,900,000	0	5,900,000
計	15,000,000	0	15,000,000

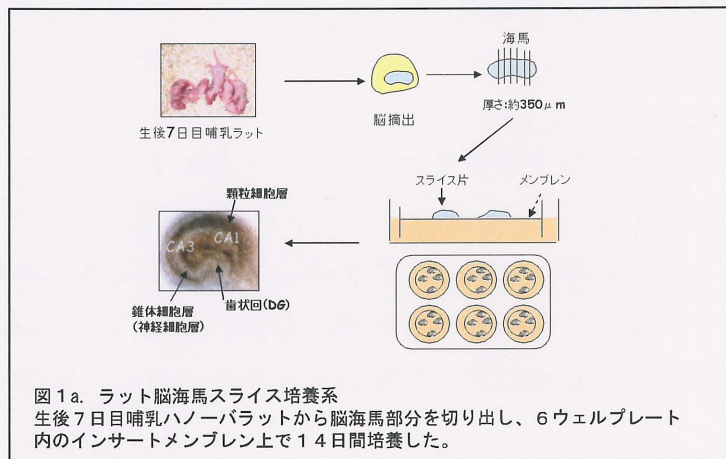
「研究成果の概要」

課題名：ウイルス性脳炎における組織破壊誘導シグナル分子の研究

本研究の成果をその内容にしたがって、3項目に分け、以下に概略する。

1. 脳組織培養系を用いた組織破壊メカニズムの解析

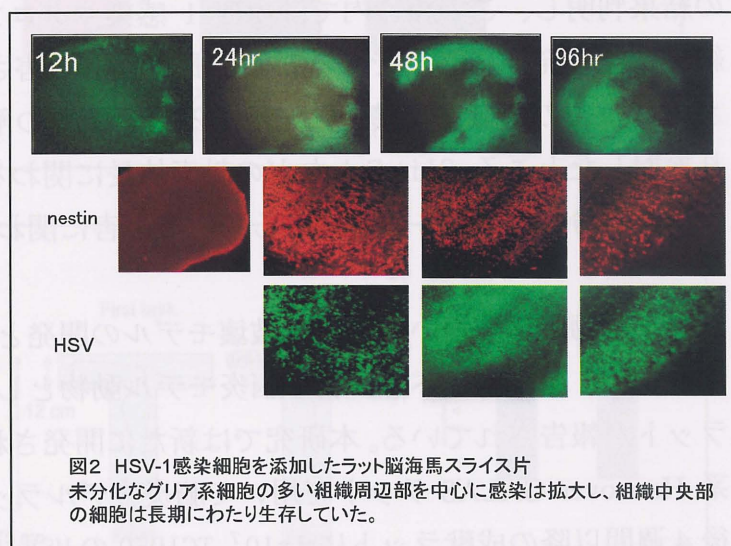
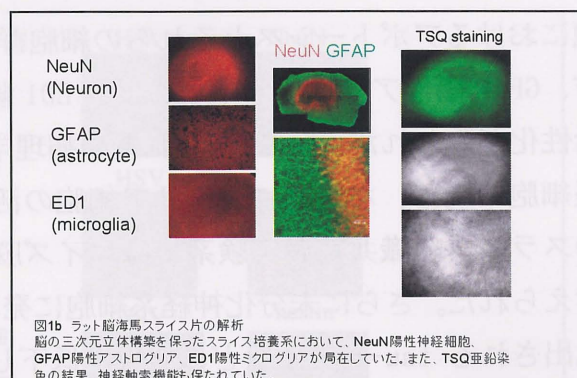
研究代表者らは本研究期間内にラット脳海馬組織スライス培養系を確立した。この培養系は生体における脳の構成細胞である神経細胞、アストログリア、オリゴデンドログリア、ミクログリア、そして、神経幹細胞も含んだ脳組織の構成細胞が3次元レベルに再構築されることが特徴である。さらに、この組織内では特記すべきこととして、神経細胞はその軸索を伸長して組織内でシナプス形成によりネットワークを構築し、近年パッチクランプ法などの電気生理学的解析によく使用される培養系である。すなわち、中枢神経系という複雑なネットワーク構築を再現している。この組織培養系を用いて単純ヘルペスウイルス1型 (HSV-1) およびヒト免疫不全ウイルス1型 (HIV-1) の脳炎組織モデル系として確立し、その分子病理学的変化を中心に解析した。



方法は生後7日目の

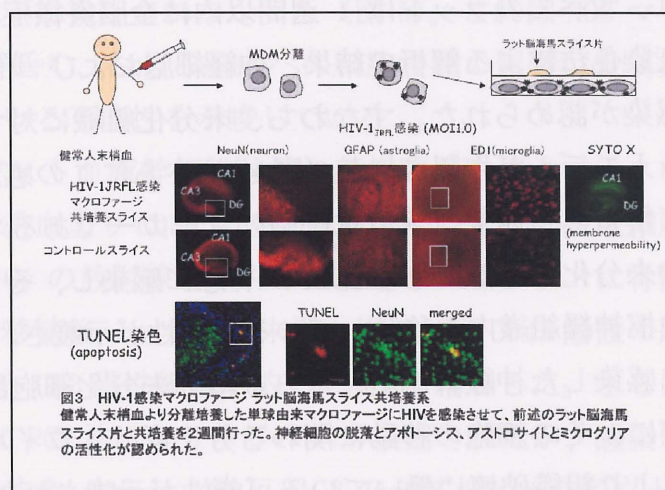
哺乳 Wister Hannover GALAS ラットの脳より脳海馬を分離し、それをさらに McIlwain ティッシュチョッパーにて海馬溝に垂直に厚さ $350\mu\text{m}$ にスライスした。これをあらかじめ準備しておいた6ウェル培養プレート内のインサートメンブレン (Millicell-CM:PICM03050, Millipore) 上に1ウェルあたり4-5片の密度で培養した (図1a)。免疫染色法による解析の結果、NeuN 陽性神経細胞、GFAP 陽性アストログリア、ED1 陽性ミクログリアが生体内の海馬組織と同じように局在し、TSQ 亜鉛染色の結果、その神経細胞の軸索機能も保たれていることが判明した (図1b)。

この脳海馬片に HSV-1 感染細胞を添加すると、ネスチン陽性の未分化なグリア細胞が多く局在する辺縁部を中心に感染が拡大した (図 2)。このことから従来報告されてきた神経細胞内での感染伝播に加えて、未分化なグリア系細胞も感染伝播に重要な細胞群であると示唆された。またこの脳海馬片においては感染 3 週後においても中央部に存在する一部の神経細胞はその細胞の生存が確認され、HSV-1 感染による細胞破壊に対して抵抗性を示す神経細胞群が存在することが明らかになった。その後のマイクロアレイ



解析、ならびに、免疫染色解析の結果をあわせると、グリア前駆細胞に発現する成長因子、および、神経細胞に発現するアポトーシス抑制因子が、この組織破壊過程に関与している可能性が考えられた。

次にこの脳海馬スライス片と HIV-1 感染マクロファージを共培養して解析した。方法は健常人の末梢血より単球由来マクロファージを分離培養し、ここに MOI1 でマクロファージ指向性ウイルスである HIV-1_{JRFL} を感染させてメンブレンを隔てて 2 週間共培養を行った (図 3)。この共培養したスライス片では、神経グリア再構築反応が特異的に阻害され、NeuN 陽性神経細

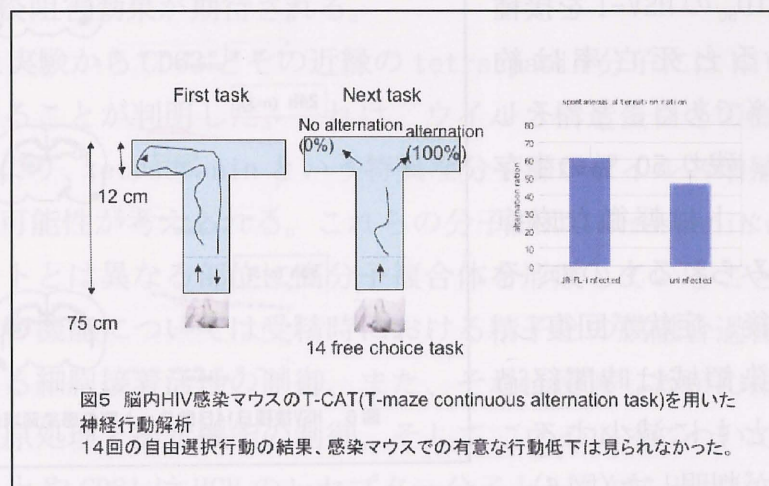
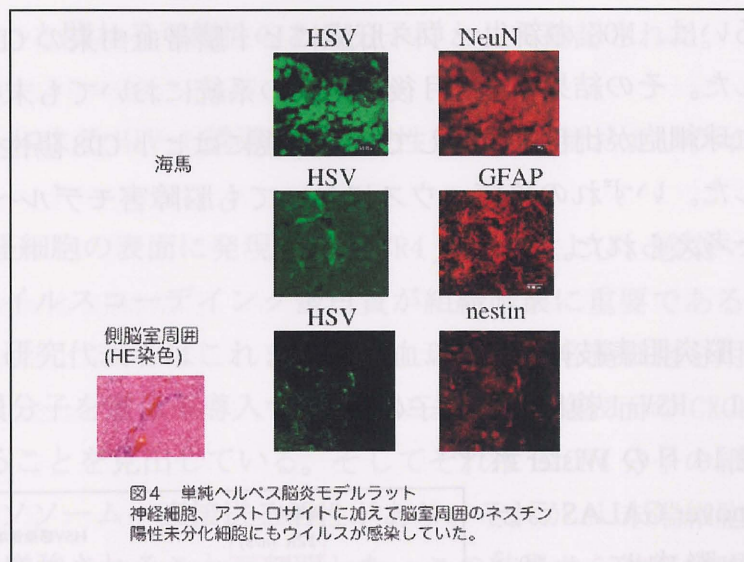


胞におけるアポトーシスとそれらの細胞群の高度の脱落が見られた (図 3)。一方、GFAP 陽性アストロサイトおよび ED1 陽性ミクログリアなどのグリア細胞の活性化がみられた (図 3)。これらの病理学的変化は、エイズ脳症にみられる神経細胞の脱落、ならびに、グリア細胞の活性化像ときわめて類似しており、このスライス組織共培養実験系ではエイズ脳症の病態の一部が反映されていると考えられた。さらに未分化神経系細胞に発現する beta-3-tubulin や軸索突起に見出される tau-1 分子などの発現が低下していることが免疫染色法による解析の結果判明し、この組織内では HIV-1 感染マクロファージとの共存により神経細胞機能の発揮に必須である軸索伸長過程も阻害されていることがわかった。さらに、この組織に特異的に発現する遺伝子群の解析をマイクロアレイ法により検討したところ、Slit Eph などの軸索伸長に関わる分子群が有意に増加して、これらの分子が HIV-1 感染による脳組織障害に関わっている可能性を見出した。

2. 小動物生体を用いた脳組織破壊モデルの開発と解析

これまで、単純ヘルペスによる脳炎モデル動物として、マウス、ウサギ、Lewis ラットが報告されている。本研究では新たに開発された小型ラットである Wister 系 Hannover GALAS ラットを用いて脳炎モデルラットの作製を試みた。まず生後 4 週間以降の成獣ラットに 1×10^7 TCID₅₀ の HSV-1 を経鼻接種すると、脳内での潜伏感染は確認できたものの、臨床的経過観察の限り脳炎発症には至らなかった (結果示さず)。また同様に同量のウイルスを脳内接種した場合も潜伏感染は成立するものの、脳炎発症には至らなかった。次に生後 5 日の哺乳ラットに経鼻腔接種した場合、および、生後 10 日までの哺乳ラットに脳内接種した場合は、すべてのラットは 1 週間以内に全脳炎様症状を呈して死亡した。さらに免疫染色法による解析の結果、神経細胞および一部のアストロサイトに HSV-1 の感染が認められた。すなわち、未分化組織に対する新規の単純ヘルペス脳炎ラットモデルが作製された (図 4)。さらにこの感染ラットの脳を経時的に回収して解析した結果、未分化細胞のマーカーであるネスチンが発現した神経幹細胞や未分化細胞群にも HSV-1 が有意に感染し、そして、感染細胞が分化とともに中枢神経組織内を移動している可能性が示唆された。これらの事実より、HSV-1 に感染した神経幹細胞、ならびに、未分化細胞群内における、分化増殖、ならびに、その細胞の移動に関わる分子群は、ウイルス複製を強力に増強することにより組織破壊に働いている可能性が示唆された。

次にこの研究期間内で改良を加えている脳内 HIV-1 感染細胞浸潤マウスの神経行動学的解析を T-CAT 試験を用いて行った。方法はヒト健常人の末梢血より分離した白血球を我々が開発した免疫不全マウスである NOG マウス (IL2 common γ chain-knockout non obese diabetic/Shi-*scid* mouse) の腹腔に移植後、HIV 脳症患者より分離した HIV-1 株である HIV-1_{JRFL} を接種し、その後 LPS を腹腔内投与し HIV-1 感染



を脳内まで播種させ、3-8日後に行動解析を行った。その結果、HIV-1 感染マウスでは有意な神経学的行動低下は検出されなかった (図 5)。これは NOG マウスは元来より食餌探索行動能が低く、むしろ脳内への細胞浸潤の影響は食餌探索行動を誘発する方向に働いている可能性を示唆している。

次に、本研究期間内においてヒト血液幹細胞移植の新規脳炎モデルマウスの開発を目指した。方法はヒト臍帯血より CD34 陽性の血液幹細胞を自動磁気細胞分離装置を用いて分離し、2.4 Gy の放射線を照射した前述の NOG マウスに骨髓移植実験を行った。その結果、移植後一ヶ月では末梢血中にヒト CD45 陽性の細胞群が出現し、3ヶ月後にはヒト CD3 陽性細胞が約 20 %まで増加した。さらに HIV-1 を接種すると、2週間後に PCR 法によりウイルスが検出されたが、感染細胞数はきわめて少数であった。また common γ 鎖と RAG2 のダブルノックアウト、

あるいは、NOG の新生マウス肝臓にヒト臍帯血由来の CD34 陽性血液幹細胞を移植した。その結果、1 ヶ月後いずれの系統においても末梢血中にヒト CD45 陽性白血球細胞が出現し、そして3 ヶ月後にはヒト CD3 陽性 T 細胞が約 20 % まで増加した。いずれの移植マウスにおいても脳障害モデルへと発展する可能性があると考えられた。

3. 脳炎阻害技術の開発

3-1 HSV-1 複製阻害因子の探索

生後 14 日の Wister 系

Hannover GALAS ラット

の脳内に 1×10^7

TCID₅₀ の HSV-1 を接種

すると死亡率は約

50 % であること、そして、

残り 50 % の生存

ラットは軽微な麻痺

はみられるものの、その

後、症状が回復し、

感染領域は時間経過

とともに減少すること

が判明した(図 6)。

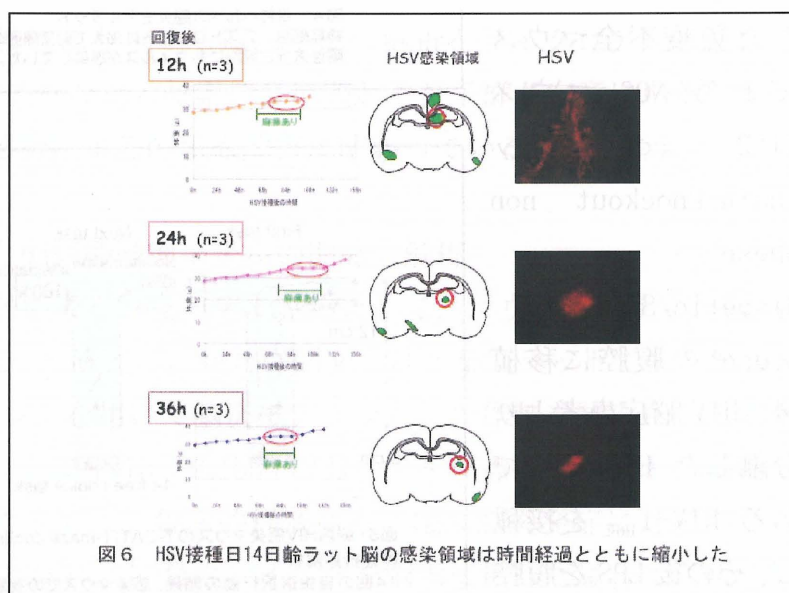


図 6 HSV接種日14日齢ラット脳の感染領域は時間経過とともに縮小した

この回復ラット脳では、免疫染色法により HSV-1 抗原、ならびに ICP27 陽性細胞は脳組織中では認められないながら、PCR により ICP0 陽性細胞が存在することが確認され、HSV-1 の複製が抑制されるとともに脳内において潜伏感染が誘導されていることが判明した。そして、この回復ラットの脳を回収し、マイクロアレイ法によってその組織における発現遺伝子解析を行った結果、回復ラット脳組織において、複数の実験において共通して 290 個の遺伝子の発現上昇が確認された。その中には、IFN 関連遺伝子群や MHC class1 関連遺伝子群や補体関連遺伝子群などが含まれていた。そして、RNA-PCR 法に確認実験から、APOBEC1, Prostaglandin D2 synthase2, Adenosine A3 receptor, Palmitoyl-protein thioesterase2, STAT1, Peptidyl-prolyl isomerase C associated protein, TLR4 などの遺伝子については、その発現亢進が確認され、ウイルス感染拡大に抑制

的に作用し、潜伏感染へと関わる可能性のある分子群として確認された。

3-2 CD63 遺伝子導入による HIV-1 誘導性細胞変性効果の抑制およびウイルス複製の抑制

HIV 脳症において、神経細胞の表面に発現する CXCR4 分子、および、感染マクロファージが産生するウイルスコーディング蛋白質が組織破壊に重要である可能性が指摘されている。研究代表者はこれまでに白血球および培養細胞を用いて CD63 分子の N 末端欠損分子を遺伝子導入することにより、細胞表面の CXCR4 が down regulation されることを見出している。そしてそれは CXCR4 分子の細胞膜への輸送を阻止し、リソソームへ直接送る活性があり、それが N 末端細胞外領域の欠損により強力に増強されることが判明した。この結果から神経細胞への同遺伝子導入による脳炎阻害効果が期待される。

また培養細胞を用いた実験から CD63 とその近縁の tetraspanin 分子には HIV-1 粒子放出抑制活性があることが判明した。これは、ウイルス構造蛋白との直接結合も証明されることより、tetraspanin という特異な分子群がウイルス増殖に直接的に関与している可能性が考えられる。これらの分子群は tetraspanin web という細胞膜上でラフトとは異なる部位に高分子複合体を形成していることがよく知られており、その機能については受精時における精子との膜融合過程、接着分子との会合による細胞接着活性の制御、また、それに関連したがん細胞の転移活性の修飾、抗原処理と提示機能の制御、そして、ウイルスについても HTLV 感染に関与することや CD81 は HCV のレセプター分子として知られている。このように tetraspanin 遺伝子導入によるウイルス複製抑制をヒトマクロファージ細胞に応用することにより、脳内マクロファージが産生するウイルスコーディング蛋白質の産生抑制ならびに脳症発症の抑制へつながると考えられる。

3-3 CD4 陽性 T 細胞由来のウイルス複製抑制因子

腹腔内にヒト末梢血を移植した免疫不全マウス (CB17-*scid/scid*) マウスにさらに脾臓内に HIV-1 抗原を処理暴露した樹状細胞を移植すると、液性の HIV-1 抑制因子が産生されることが知られている。このマウスからヒト CD4 陽性 T 細胞を回収して HTLV-I を用いて不死化させ、樹立した細胞株においても抗 HIV-1 因子産生能があることが判明している。この細胞をマイクロアレイにて解析した結果、3,719 個の遺伝子が有意に変動していた。さらに培養上清にて活性を持

つ因子およびヘパリンと結合しない因子を中心に抽出したところ、granulysin, prostasin, spondin1, PFC など 58 個の遺伝子が候補遺伝子として同定された。これらはエイズ脳症の脳内においてもウイルス複製に対して抑制的に働いている可能性があり、脳炎阻害因子として重要である可能性があると考えられる。

「研究発表リスト」

「欧文報告書」

1. Feng J, Misu T, Fujihara K, Misawa N, Koyanagi Y, Shiga Y, Takeda A, Sato S, Takase S, Kohnosu T, Saito H, Itoyama Y. Th1/Th2 balance and HTLV-I proviral load in HAM/TSP patients treated with interferon- α . *J. Neuroimmunol.* 51: 189-194, 2004.
2. Ebina H, Aoki J, Hatta S, Yoshida T, Koyanagi Y. Role of Nup98 in nuclear entry of human immunodeficiency virus type 1 cDNA. *Microbes & Infection* 6: 715-724, 2004.
3. Maeda K, Nakata H, Koh Y, Miyakawa T, Ogata H, Takaoka Y, Shibayama S, Sagawa K, Fukushima D, Moravsek J, Koyanagi Y, Mitsuya H. Spirodiketopiperazine-based CCR5 inhibitor which preserves CC-Chemokine/CCR5 interactions and exerts potent activity against R5 human immunodeficiency virus type 1 in vitro. *J. Virol.* 78: 8654-8662, 2004.
4. Kawano Y, Yoshida T, Hieda K, Aoki J, Miyoshi H, Koyanagi Y. A lentiviral cDNA library employing lambda recombination used to clone an inhibitor of human immunodeficiency virus type 1-induced cell death. *J. Virol.* 78: 11352-11359, 2004.
5. Kamada M, Li RY, Hashimoto M, Kakuda M, Okada H, Koyanagi Y, Ishizuka T, Yawo H. Intrinsic and spontaneous neurogenesis in the postnatal slice culture of rat hippocampus. *Eur. J. Neurosci.* 20: 2499-2508, 2004.
6. Nakata H, Maeda K, Miyakawa T, Shibayama S, Matsuo M, Takaoka Y, Ito M, Koyanagi Y, Mitsuya H. Potent Anti-R5-human immunodeficiency virus type 1 effects of a CCR5 antagonist, AK602/ONO4128/GW873140, in a novel human peripheral blood mononuclear cell nonobese diabetic-SCID, interleukin 2 receptor γ -chain-knocked-out AIDS mouse model. *J. Virol.* 79: 2087-2096, 2005.
7. Miura Y, Koyanagi Y. Death ligand-mediated apoptosis in HIV infection. *Rev. Med. Virol.* 15: 169-178, 2005.
8. Matsuura-Sawada R, Murakami T, Ozawa Y, Nabeshima H, Akahira J, Sato Y, Koyanagi Y, Ito M, Terada Y, Okamura K. Reproduction of menstrual changes in transplanted human endometrial tissue. *Hum. Reprod.* 20:1477-1484, 2005.

9. Baba S, Takahashi K, Noguchi S, Takaku H, Koyanagi Y, Naoki Yamamoto N, Kawai G. Solution RNA structures of the HIV-1 dimerization initiation site in the kissing-loop and extended-duplex dimmers. *J. Biochem.*, 138:583-592, 2005.
10. Munakata Y, Saito-Ito T, Kumura-Ishii K, Huang J, Koder T, Ishii T, Hirabayashi Y, Koyanagi Y, Sasaki T. Ku80 autoantigen as a cellular coreceptor for human parvovirus B19 infection. *Blood*. 106:3449-3456, 2005.
11. Eda Y, Murakami T, Ami Y, Nakasone T, Takizawa M, Someya K, Kaizu M, Izumi Y, Yoshino N, Matsushita S, Higuchi H, Matsui H, Shinohara K, Takeuchi H, Koyanagi Y, Yamamoto N, Honda M. Anti-V3 humanized antibody KD-247 effectively suppresses ex vivo generation of human immunodeficiency virus type 1 and affords sterile protection of monkeys against a heterologous simian/human immunodeficiency virus infection. *J. Virol.* 80:5563-5570, 2006.

「和文報告書」

1. 三浦義治、小柳義夫. HIV脳症. 臨床神経 45:887-889, 2005.
2. 小柳義夫. HIV感染を制御する細胞性因子. 実験医学 23:2566-2573, 2005.
3. 小柳義夫. HIV感染増殖とその宿主性因子の概略：細胞へ侵入者の軌跡. ウィルス 55:251-258, 2005.
4. 三浦義治、北山裕子、安藤良徳、小柳義夫 脳と神経,2006 (印刷中)

口頭発表 (国際学会を含む)

1. Kawano Y, Yoshida T, Hieda K, Aoki J, Koyanagi Y. A cDNA library-expressing lentivirus vector system to identify inhibitor gene for human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-induced cell death. Retroviruses Meeting, Cold Spring Harbor, New York, 2004.
2. Aoki J, Koyanagi Y. Stable inhibition of CXCR4 with siRNA-expressing lentivirus vector. Retroviruses Meeting, Cold Spring Harbor, New York, 2004.

3. 芳田剛、河野祐治、稗田訓子、青木淳、三浦義治、小柳義夫. cDNA ライブラリ発現レンチウイルスベクターによる HIV 抑制因子の単離 第 52 回日本ウイルス学会、横浜、2004.
4. 稗田訓子、芳田剛、青木淳、三浦義治、河野祐治、田中勇悦、小柳義夫. 生細胞における HIV コレセプター分子の解析. 第 52 回日本ウイルス学会、横浜、2004.
5. 三浦義治、小柳義夫. エイズ脳症で起こる神経細胞死には TRAIL 分子が関与する. 第 52 回日本ウイルス学会、横浜、2004.
6. 岡田広司 三浦義治 川口寧 西山幸廣 小柳義夫. 中枢神経組織スライス培養系を用いた単純ヘルペスウイルス 1 型の感染様式の解析. 第 52 回日本ウイルス学会、横浜、2004.
7. Koyanagi Y, Aoki J, Yoshida T, Ebina H. Role of Nup98 in nuclear entry of human immunodeficiency virus type 1 cDNA. 第 18 回日本エイズ学会、静岡、2004.
8. 青木淳、蝦名博貴、小柳義夫. HIV 増殖関連細胞因子の siRNA 発現レンチウイルスベクターによる解析. 第 27 回日本分子生物学会、神戸、2004.
9. 芳田剛、稗田訓子、河野祐治、青木淳、小柳義夫. ゲートウェイ法による効率的 cDNA ライブラリの組換え反応を利用した発現レンチウイルスベクター: HIV 抵抗性遺伝子の単離. 第 27 回日本分子生物学会、神戸、2004.
10. Koyanagi Y, Kawano Y, Yoshida T, Jun Aoki. A cDNA library-expressing lentivirus vector system used to clone an inhibitor for HIV-1-induced cell death. 第 18 回日本エイズ学会、静岡、2004.
11. Miura Y, Aoki J, Kitayama H, Okada H, Sano K, Kawaguchi Y, Koyonagi Y. Persistent and productive replication of herpes simplex virus type 1 in neural stem cells. 30th International Herpesvirus Workshop, Turku, Finland, 2005.
12. Miura Y, Aoki J, Kitayama H, Okada H, Sano K, Kawaguchi Y, Koyonagi Y. Preferential infection of herpes simplex virus type 1 in neural stem cells. 12th International conference on immunobiology and prophylaxis of human herpesvirus infections, Osaka, 2005.
13. 三浦義治、小柳義夫. HIV encephalopathy. 第 46 回日本神経学会総会、鹿児島、2005.

14. 三浦義治、北山裕子、三沢尚子、岡田広司、青木淳、小柳義夫. 実験小動物を用いたエイズ脳症の研究. 第19回近畿エイズ研究会学術集会、京都、2005.
15. 三浦義治、青木淳、北山裕子、佐野浩一、川口寧、小柳義夫. 神経幹細胞における単純ヘルペスウイルス感染動態の解析. 第20回ヘルペスウイルス研究会、名古屋、2005.
16. 三浦義治、北山裕子、小柳義夫. HIV 感染マクロファージによる中枢神経系未分化細胞群の障害. 第10回日本感染症学会、東京、2005.
17. 三浦義治、青木淳、北山裕子、佐野浩一、川口寧、小柳義夫. 神経幹細胞は単純ヘルペスウイルス1型感染細胞として重要である. 第10回日本感染症学会、東京、2005.
18. 三浦義治、青木淳、北山裕子、佐野浩一、川口寧、小柳義夫. 神経幹細胞は単純ヘルペスウイルス1型感染細胞として重要である. 第53回日本ウイルス学会、横浜、2005.
19. 三浦義治、北山裕子、小柳義夫. HIV 脳症における中枢神経系未分化細胞群関与の検討. 第19回日本エイズ学会、熊本、2005.
20. 北山裕子、三浦義治、小柳義夫. ラット脳海馬スライス培養系を用いたエイズ脳症の病態解析. 第19回近畿エイズ研究会学術集会、京都、2005.
21. 北山裕子、三浦義治、川口寧、小柳義夫. 中枢神経系組織内において抗 HSV 効果を発揮する宿主因子の網羅的解析. 第20回ヘルペスウイルス研究会、名古屋、2005.
22. 北山裕子、三浦義治、小柳義夫. HIV 感染マクロファージによる中枢神経系未分化細胞群への障害. 第53回日本ウイルス学会、横浜、2005.
23. 北山裕子、三浦義治、川口寧、小柳義夫. 中枢神経組織内における抗 HSV 因子の探索. 第53回日本ウイルス学会、横浜、2005.
24. 北山裕子、三浦義治、安藤良徳、小柳義夫. HIV 感染マクロファージによる神経細胞の軸索伸張障害メカニズムの解析. 第2回京都大学ウイルス研究所学術交流会 京都、2005.
25. 青木淳、小柳義夫. CXCR4 を標的とした siRNA 発現レンチウイルスベクターを用いた悪性腫瘍の遺伝子治療. 第64回日本癌学会、札幌、2005.
26. 青木淳、佐藤佳、佐野浩一、大黒恵理子、小柳義夫. CD63 過剰発現による HIV-1 粒子の感染性抑制. 第53回日本ウイルス学会、横浜、2005.
27. 青木淳、佐藤佳、大黒恵理子、佐野浩一、小柳義夫. テトラスパニン分子に

- よる HIV-1 粒子の感染性抑制. 第 19 回日本エイズ学会、熊本、2005.
28. 芳田剛、河野祐治、青木淳、三浦義治、田中勇悦、小柳義夫. 抗 HIV 因子の単離 : CXCR4 細胞膜移行阻害分子の同定. 第 53 回日本ウイルス学会、横浜、2005.
29. 芳田剛、河野祐治、青木淳、三浦義治、田中勇悦、小柳義夫. 特定の細胞膜表面分子に対する細胞膜移行阻止因子の単離 : CXCR4 発現阻止因子. 第 28 回日本分子生物学会、福岡、2005.
30. Yoshida T, Hieda K, Kawano Y, Aoki J, Misawa N, Miura Y, Tanaka Y, Koyanagi Y., A truncated form of CD63-deletion mutant blocks X4-HIV-1 entry through dislocalization of CXCR4. Retroviruses Meeting, Cold Spring Harbor, New York, 2005.
31. Aoki J, Koyanagi Y. Suppression of HIV-1 release through CD63-overexpressed plasma membrane. Retroviruses Meeting, Cold Spring Harbor, New York, 2005.
32. 安藤良徳. 芳田剛. 小柳義夫. 生細胞における CXCR4 分子のイメージング解析. 第 53 回日本ウイルス学会、横浜、2005.
33. 芳田剛、河野祐治、青木淳、三浦義治、田中勇悦、小柳義夫. 抗 HIV 因子の単離 : CXCR4 細胞膜移行阻害分子の同定. 第 53 回日本ウイルス学会、横浜、2005.
34. 中田浩智、前田賢次、宮川寿一、河野祐治、柴山史郎、高岡義和、小柳義夫、満屋裕明. 第 19 回日本エイズ学会、熊本、2005..
35. 星野重樹、志村まり、田口崇、小柳義夫、石坂幸人. HIV-1 潜伏感染細胞からのウイルス再産生における Vpr の機能. 第 28 回日本分子生物学会、福岡、2005.

出版物

なし