

総 説

Defensin と HIV/AIDS

Defensin and HIV/AIDS

山 本 直 樹

Naoki YAMAMOTO

東京医科歯科大学

Tokyo Medical and Dental University

キーワード : Defensin, HIV/AIDS, CAF, CD8 T cell, T22

日本エイズ学会誌 5 : 42-47, 2003

はじめに

粘膜の表面は、広範な潜在的に脅威となる病原微生物にたえず露されている。しかし、これらに起因する感染症の発生率はそれほど多くはない。このことは、これらの組織中の高度に組織化された有効な防御メカニズムが存在することを示唆している。それらの中で抗菌性ペプチドは、粘膜の組織で数多く発見されており、宿主防御に重要な役割を果たしていると考えられている。腸の defensin や andropin, magainin などのいくつかの粘膜ペプチドはすべて、粘膜の表面で効率のよい生体外の抗菌性活動を中心とする粘膜の生体防御において重要な役割を果たしている^{1,2)}。ほとんどのこれらの粘膜ペプチドは、抗菌性防御の上で、進化的にはより古いメンバーを含んでいる大きな遺伝子群であると考えられる。

最近、defensin が HIV/AIDS と innate および adaptive immunity の研究においてにわかに注目を浴びている。その火付け役となったのが今年の Science の同じ 11 月 1 日号に掲載された Zhang ら (995 ページ)、Biragyn ら (1025 ページ) の 2 つの論文であろう^{3,4)}。図にあるように、defensin は腸の Paneth cell および消化管上皮細胞などとともに、宿主防御に関わる免疫細胞や白血球、中でも好中球やリンパ球、においても存在する一群の抗菌性ペプチドである。最初に Lehrer が報告した時は、ヒト defensin は好中球によって分泌され、自然な抗生物質のように作用して、細菌の壁を壊すことを述べている¹⁾。defensin は他の抗菌性物質と協調して直接微生物の killing に寄与するという証拠がたくさんある。Zhang らの報告は、defensin

著者連絡先 : 山本直樹 (〒113-8519 東京都文京区湯島 1-5-45
東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科ウイルス
制御学分野)

Fax : 03-5803-0124, E-mail : yamamoto.nmb@tmd.ac.jp

2003 年 2 月 2 日受付

が長年のミステリーであったヒトの CD8 T リンパ球から産生される抗 HIV 因子、CD8 T-cell antiviral factor (CAF) の本態にせまるものとして、一方、Biragyn らの報告は本物質が後天性免疫にもかかわるというものである。もっとも後者のグループはここ数年前から同様の研究を行っている⁵⁾。いずれにせよ、これらのことはエイズワクチン開発の上でも defensin が重要である可能性があることを示している。

defensin が抗 HIV 活性をもつことは、すでに 1993 年にわれわれが報告している⁶⁾が、Science の editorial にあるように当時はほとんど注目を集めなかった⁷⁾。ここでは、われわれがなぜ defensin に注目したのかも含め、この生体物質が持つ HIV 感染における意義について考察してみたい。とくに Zhang らが述べているように defensin が本当に CAF としての資格を満足するのかについて考えてみたい。

CAF とは?

CD8 陽性 T リンパ球は、生体内での HIV-1 あるいはサルスの免疫不全ウイルス (SIV) の増殖反応をコントロールするという重大な役割を果たしている⁸⁻¹⁰⁾。一般に初感染後の primary viremia の初期の制御にはウイルス特異的 CD8 T 細胞である cytotoxic T リンパ球 (CTL) の活性が深く関係している。単クローン抗体で CD8 T 細胞を抑制すると、マーカー中の SIV 増殖は劇的に増加する¹¹⁾。さらに、生体内では CTL の重圧から回避するエスケープウイルスが急速に出現することからも CTL の重要性は明白である。したがって CD8 CTL による感染した細胞の直接的 killing はウイルス抑制において一義的に重要である。今回の話はこれと異なり、CD8 T リンパ球によって分泌された可溶性因子が HIV-1 あるいは SIV 増殖の制御に深く関わっているというものである。

17年以上におよぶさまざまな努力にもかかわらず、CAFの実体が何であるかは捉えがたいままであったが、この間、重要な研究も行われていた。とくに、1995年に、Galloの研究グループのCocchiらは、刺激されたCD8 Tリンパ球がRANTESおよびMIP-1 α およびMIP-1 β といった β -ケモカインを分泌することができることを示した¹²⁾。しかしながら、それらの抗ウイルス性活性はウイルスのCCR5要求性HIV-1株(R5-HIV)に対して観察されたが、CXCR4要求性株(X4-HIV)に対しては抑制効果を示さなかった。それに引き続いてBergerらのグループによる、X4-HIVがケモカインレセプターCXCR4をコレセプターとしてその感染に使用すること、CXCR4のnatural ligandはSDF-1であること¹³⁾、同様に数グループからR5-HIVの場合にはCCR5がそのコレセプターであり、本来のリガンドはRANTESおよびMIP-1 α およびMIP-1 β といった β -ケモカインであることも報告された。このようにリガンド-レセプターの関係が確立されるに及んでHIV感染のメカニズムやトロピズムの謎が解明されることになった¹⁴⁻¹⁶⁾。

HIV-1の感染後急性の時期を過ぎると一般に数年から10年余におよぶ臨床的無症状の時期があり、この状態の感染者は無症候性キャリアと呼ばれている。この時期は免疫学的にも安定しており、急性期のそれに比べ血中HIV量は2-3桁も低く、CD4リンパ球の数も安定している。この時期を過ぎるといわゆるエイズ前駆症状、次いでエイズという経過を辿ることになるが、少数の感染者ではそのあとも著明なCD4細胞の減少や血中ウイルス量の増加を起さず長期間を無症状で過ごすいわゆるLong-term non-progressors (LTNP)となり、HIV感染症の大きな謎のひとつとなっていた。AIDSの流行の比較的初期の1986年に、カリフォルニア大学サンフランシスコ分校のJ. Levyは、このミステリーに対する一つの答えを提案した。それは、免疫系細胞がHIV増殖を抑制することができる因子を産生するという仮説であった。彼はそれに対しCD8 T-cell antiviral factor (CAF)と名付けたが、この物質はそのような、HIV-1感染にもかかわらず免疫学的に安定している感染者からのCD8 Tリンパ球を刺激すると、抗HIV活性のある可溶性因子を分泌することから、その存在が知られていた¹⁷⁾。しかしながら、CAFの本態については精力的な研究にもかかわらず長い間捉えがたいままであった。

LevyグループのWalkerらが、HIVにより刺激されたCD8 T細胞から分泌されたCAFについて今から17年前に初めて記述して以来、さまざまなグループからも報告されてきたその性質につきあわせて挙げてみよう¹⁸⁻²⁶⁾。この因子は、CTLの活性と異なり、その抗ウイルス性活性は細

胞破壊をもたらさない。しかも主要組織適合性抗原クラスIあるいは細胞と細胞の接触に依存しない。CAFはHIV特異的でなさそうであり、さらにCD8細胞からのみ産生されているわけでもないようである。活性成分は10kD-20kD以上という分子量で熱耐性、酸性の安定した蛋白質によると考えられている。さらにウイルスのphenotypeあるいはtropismに関係なくCAFがHIV-1増殖を抑える、というものである。

LTNPからのdefensinの同定

昨年末に、Aaron Diamond研究所のHoをリーダーとする研究グループは、HIV-1感染後、LTNPとなった患者4人および15人の正常人コントロールからのCD8 T細胞を刺激し比較を行い、LTNPサンプルの方のみ特異的に見られる一群の分泌された蛋白質のクラスターが見出された³⁾。つまり、LTNPと正常コントロールからのCD8 T細胞上清に刺激に応じて特異的に発現が上昇するピークが現れ、そのピークの質量スペクトルから著しい差のあることが明らかになった。2つあるいは3つのピークのクラスター(分子量3371.9, 3442.5, 3486.5)が刺激された細胞のほうで見つかった。このクラスターは、3人中3人LTNPおよび15人中11人の正常人の刺激CD8 Tリンパ球から検出された。しかし4人のprogressorsからは検出されなかった。さらにMIP-1 α であるとその後確認された7815.0ダルトンのユニークなピークも、2つのLTNPからの刺激されたサンプルに検知された。これら以外にも多くのピークが8-200kDに観察されたが、一貫した違いは見られなかった。とくに8kD以上の分子量の成分でCAF活性と相関するものはなかった。各サンプルは、Ciphergen Biosystems社のProteinChipシステムによって分析された。これらの蛋白質は α -defensin 1, 2, 3と称されるものであった。CAF活性は、ヒト α -defensinに特異的な抗体により中和された。さらに合成の、またはヒト好中球から精製単離された α -defensinは試験管内でHIV-1の増殖を抑制した。さらに同様に特異抗体を用いた結果から、これまで知られていた抗HIV-1の液性因子であるケモカインとは異なる活性であることも判明したため、彼らは α -defensinがCAFと言われてきた活性をよく説明すると考えたのである。なお付録として、Zhangらが用いた新しいプロテインチップシステムについて少し説明を加えた。

Defensinによる未熟な樹状細胞(iDCs)の活性化と細胞性免疫誘導作用

微生物の感染に対抗し、宿主側は、TLRシグナリング・カスケードを活性化し、様々なproinflammatoryサイトカイン、ケモカイン、およびdefensinのような小さな抗菌性

ペプチドを大量に産生させる。進化的に遠縁にあたる病原体に由来したリガンドのパターン認識受容体による固有の免疫の活性化は、特異免疫反応の開始に必須のシグナルである。最近、マウスの系ではあるが β -defensin が、ケモカイン受容体のひとつである CCR6 に結合して、未熟な樹状細胞 (iDCs) を活性化することが判明し、 β -defensin にはそれまで知られていた抗微生物作用のような直接の効果とは別の機能も存在する可能性が報告された^{4,5)}。論文で、Biragyn らは β -defensin およびケモカインを用い、ワクチンとして生体内の iDCs への抗原のデリバリーを目標とした研究の中で、使用される chemoattractant によって生じる免疫反応が異なることを見出した。とくにマウスの β -defensin 2 をベースにしたワクチンは、抗原特異的抗体の反応を誘発したがそれは弱いものであった。ところが、細胞性免疫と抗腫瘍免疫レスポンスはきわめて強力であった。このことから β -defensin 2 が細胞性免疫反応を増大させるという能力は iDCs に対するその特異的な効果の影響である可能性が示唆された。 β -defensin 2 は TLR-4 のための内因性リガンドとして、未熟の DC (iDC) に作用して、costimulatory 分子のアップレギュレーションおよび樹状細胞成熟を引き起こす。このことは生体内で強力な Th1 タイプの免疫反応を引き起こすことにより、種々の病原体や自己抗原に対する免疫監視あるいはがん抗原に β -defensin が重要な役割を果たすことを示唆している。

これらの結果の意味するところは重要で、 β -defensin は受容体 CCR6 を介して iDCs を炎症局所へリクルートすることだけでなく、微生物のパターン認識受容体、TLR-4 によって DC の成熟のためのシグナルを与え活性化することにより、獲得免疫反応にも関わることを意味している。これまではストレスや壊死が起こると Hsp60 や Hsp70 のような heat shock 蛋白が、TLR-4 シグナリングのいわゆる内因性リガンドとして作用すると考えられてきたが、今回の結果から Biragyn らは β -defensin 2 も同様のものと考えられるべきものであることを提案している。今回の発見の意義はこれから解明されていくことになるが、ある種の β -defensin が微生物の攻撃を受けたときに、宿主により強い炎症反応と Th1 レスポンスを生みださせることによりこれらの侵入者を鎮静化させるかもしれないという話は魅力的である。さらに β -defensin 2 のもつアジュバント効果は、有力な細胞性免疫を誘発のために、iDCs を生体内で同時に目標とし、さらにリクルートすることにより、より有効なワクチンおよび免疫療法の開発のために利用される可能性を与えた興味深い研究である。

Defensin は CAF の本態か？

今回、LTNP とそうでない (つまりほっておけば恐らく

普通の感染経過をたどるであろう) 感染者を比較して、両者の間に存在する決め手が defensin であることを決定したことは称賛に値する。その意味からは defensin が本当に CAF の本態であろうがそうでなかろうが問題ではない。そもそも活性化した CD8 細胞の培養液中には非常に多彩な分子が産生されることは想像に難くない。前述のケモカイン類も当然この中に含まれるであろう。もともと精製したのに対して与えられた名前ではないので抗 HIV 活性ひとつをとっても責任分子がひとつしかないと考える方に無理がある。実際、CAF が多くの活性の集まりを見ている可能性が十分にあり、CAF と言われるもののすべてを defensin が説明するかという点については多くの研究者は懐疑的である。Gallo も実験は技術的にはしっかりしているが彼の実験室が defensin をテストした結果からはそれらは CAF の基準を満たさない、と言っているようである⁷⁾。また他の研究グループの中には全く別の要因を CAF の本態であるとした報告も行っている。とくに Chang らは感染者由来の CD8 T 細胞を Herpes virus saimiri によりトランスフォームし、その conditioned medium を解析している。彼らは CAF が HIV-1 LTR 活性化を抑制すること、そのためには IRF-1 が誘導され、その際 STAT1 が必要であることを示した²⁷⁾。これ以前にもインターフェロン、またはその関連因子、さらには種々のサイトカインの抗 HIV-1 活性についてはたくさんの報告がある²⁸⁻³³⁾ が、ここでは紙面の都合上改めて取り上げない。一方、ハーバード大学の Geiben-Lynn ら³⁴⁾ は、HIV-1 感染者由来の活性化された CD8 T 細胞が血清蛋白アンチトロンビン III を修飾し、これがとくに抗 X4 HIV-1 の増殖抑制作用を発揮するというデータを示している。これらのデータから、HIV-1 感染症の進行にアンチトロンビン III が役割を果たすかもしれないことも示唆している。

われわれの研究室の中島 (当時、山口大学、現聖マリアンナ医科大学) は京都大学の藤井教授らのグループと共同で、モルモット、ウサギおよびマウスのアミノ酸配列情報に基づき合成した defensin が HIV 増殖を抑制することをすでに今から 10 年前に示している。当時はヒトの defensin の配列は知られていなかったのでヒトのそれについては調べなかった。なぜそのような実験を行ったかについては、長年にわたり藤井研究室とともに行っているカプトガニの血球細胞中の生体防御ペプチドの説明を必要とするだろう。詳細は参考文献に譲る³⁵⁻³⁷⁾ が、カプトガニに存在するこれらのペプチドは、タキプレッシン (日本産カプトガニ)、ポリフェムシン (アメリカ産) とよばれているが、これらのペプチドが抗 HIV 活性を持っていることを筆者らを含む複数のグループが 1991 年に発表した。しかしなが

ら、これらのペプチドは、抗 HIV 活性を示す濃度のわずか数倍で細胞毒性を示したことから、より選択活性の強い誘導体（つまり抗 HIV 活性が強く、細胞毒性の弱いもの）を求めて多数のペプチドが合成された。その中で T22 と命名されたペプチドが非常に活性が強く、選択毒性にも優れていることがわかった。興味深いことに T22 は X4-HIV にはきわめて強力な抗ウイルス活性を示すのに R5-HIV に対しては全く作用せず当時は非常に不思議に思われていた。しかし、これもその後の Berger らによる HIV のコレセプターの発見に触発され、直ちに確認実験を行い、T22 をはじめとするカプトガニのペプチドが CXCR4 のアンタゴニストであることを世界で初めて見出したことで疑問は氷解したのである³⁸⁾。なお蛇足であるが、このペプチドの特徴は、2本のジスルフィド結合によってβシート-βターン-βシートという比較的堅固な2次構造をとっていることである。そして、多数の誘導体の合成と解析からこの構造が抗 HIV-1 活性発現にとって重要であることを見出した。カプトガニは“生きた化石”と称されるように非常に primitive な生物であるが、カニという名前と違い、むしろ昆虫に近い生物で微生物などに対してはむしろ innate immunity を駆使して太古の昔から生きてきている。この時興味があったのは、それではヒトで似たようなペプチドはないか、ヒトでもこのようなペプチドがエイズの病態に影響を与えているということはないのかということであった。藤井教授に相談すると、早速第一候補がほ乳動物の好中球に豊富に存在する defensin という塩基性の強いペプチドであることを教えていただき、ついでに合成まで依頼したのである。そのような研究経緯（もちろん defensin の物性）からいうと、私自身はいまだに今回の報告で defensin が作用しているのは HIV のコレセプターへの吸着ステップではないかと疑っている。しかもそうなると、defensin は X4-HIV の antagonist ではないかという疑念が出てくる。データをよく見るとなるほど defensin の抗 HIV 効果は R5-HIV に比較すると X4-HIV に対してより強く発現されているようである。もっとも T22 の場合は R5-HIV には全く作用しないので、Zhang らのデータを defensin が両タイプのウイルスを抑制していると解釈するかどうかで結果は大きく変わってくる。論文では、精製物の量が限られているというような理由を付けてその作用機序についてはかなり曖昧にしているが、そのような点に対してもきちんと実験を行い十分答えていないところにフラストレーションの残る論文であった。いずれにせよ本稿が印刷される頃には defensin が HIV ライフサイクルのどのステップを抑制しているかは明らかになっているものと考えられる。

付 録 新しい ProteinChip システムとは？

本法はごく最近、導入された方法であり、HIV 研究でもこれまでに使用されたことはないので、少しだけ説明を加えておく。解析のステップは、1) サンプルの添加、2) 洗浄、3) エネルギー吸収分子 (EAM) 添加、4) 測定、5) タンパク質発現解析という5つの段階がある。

まず、1~数百μl という微量のサンプルを直径2mm のスポットに添加する。ここで大きな2つの利点として、従来のタンパク質解析に比べて非常に少量で解析を行うことができるため、サンプルを大量に調製する必要がないということと測定のためにタンパク質を前もって高純度に精製する必要もないことが挙げられる。これは研究者にとって非常に有利となる。これをインキュベート後、表面を洗浄することにより、チップ表面にアフィニティーの無い物質を除去する。これにより、チップ表面に結合していないタンパク質とともに、目的タンパク質の測定を妨げる塩や界面活性剤等を取り除くことができる。最後に目的タンパク質の測定に必要なエネルギー吸収分子 (EAM) を加えて乾燥させる。

プロテインチップ上のサンプルは、飛行時間型質量分析計により測定する。このためこの方法は Surface-enhanced laser desorption/Ionization (SELDI)-time of flight (TOF)-mass-spectrometry (MS) とよばれている。原理はプロテインチップに UV パルスレーザーを照射することにより、エネルギーを受けてイオン化したタンパク質は一定の電圧で加速され、真空管の反対側にあるイオン検知器へ向かって飛行することにある。この時、イオン検知管に到達するまでの時間は軽い分子ほど早く、重い分子ほど遅いので、飛行時間を計測することによって、物質の質量数を求めることができる。さらに有利なことは、1 サンプルの測定に要する時間は約1分であり、他の方法に比べて非常に短い時間で測定を行うことができることである。さらに、プロテインチップ上に捕捉された多数のタンパク質を同時に測定することが可能なため、タンパク質の発現解析を行うことができるということである。異なるサンプル間のタンパク質発現を直接比較することにより、あるサンプルで特異的に発現しているタンパク質を知ることができるという。つまり、高い解像性、感度、再現性、使いやすさのために Ho たちが本法を採用したと言える。

文 献

- 1) Lehrer RI, Ganz T : Defensin of vertebrate animals. *Curr Opin Immunol* 14 : 96-102, 2002.
- 2) Matsuzaki K : Why and how are peptide-lipid interac-

- tions utilized for self-defense? Magainins and tachyplesins as archetypes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)* 1462 : 1–10, 1999.
- 3) Zhang L, Yu W, He T, Yu J, Caffrey RE, Dalmaso EA, Fu S, Pham T, Mei J, Ho JJ, Zhang W, Lopez P, Ho DD : Contribution of human alpha-defensin 1, 2, and 3 to the anti-HIV-1 activity of CD8 antiviral factor. *Science* 298 : 995–1000, 2002.
 - 4) Biragyn A, Ruffini PA, Leifer CA, Klyushnenkova E, Shakhov A, Chertov O, Shirakawa AK, Farber JM, Segal DM, Oppenheim JJ, Kwak LW : Toll-like receptor 4-dependent activation of dendritic cells by beta-defensin 2. *Science* 298 : 1025–1029, 2002.
 - 5) Yang D, Chertov O, Bykovskaia SN, Chen Q, Buffo MJ, Shogan J, Anderson M, Schroder JM, Wang JM, Howard OM, Oppenheim JJ : Beta-defensins : linking innate and adaptive immunity through dendritic and T cell CCR6. *Science* 286 : 525–528, 1999.
 - 6) Nakashima H, Yamamoto N, Masuda M, Fujii N : Defensins inhibit HIV replication in vitro. *AIDS* 7 : 1129, 1993.
 - 7) Cohen J : AIDS research. Mystery anti-HIV factor unmasked? *Science* 297 : 2188, 2002.
 - 8) Carmichael A, Jin X, Sissons P, Borysiewicz L : Quantitative analysis of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific cytotoxic T lymphocyte (CTL) response at different stages of HIV-1 infection : differential CTL responses to HIV-1 and Epstein-Barr virus in late disease. *J Exp Med* 177 : 249–256, 1993.
 - 9) Walker BD, Plata F : Cytotoxic T lymphocytes against HIV. *AIDS* 4 : 177–184, 1990.
 - 10) Walker BD, Rosenberg ES, Hay CM, Basgoz N, Yang OO : Immune control of HIV-1 replication. *Adv Exp Med Biol* 452 : 159–167, 1998.
 - 11) Kuroda MJ, Schmitz JE, Charini WE, Nickerson CE, Lifton MA, Lord CI, Forman MA, Letvin NL : Emergence of CTL coincides with clearance of virus during primary simian immunodeficiency virus infection in rhesus monkeys. *J Immunol* 162 : 5127–5133, 1999.
 - 12) Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK, Gallo RC, Lusso P : Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science* 270 : 1811–1815, 1995.
 - 13) Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, Berger EA : HIV-1 entry cofactor : functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science* 272 : 872–877, 1996.
 - 14) Dragic T, Litwin V, Allaway GP, Martin SR, Huang Y, Nagashima KA, Cayanan C, Maddon PJ, Koup RA, Moore JP, Paxton WA : HIV-1 entry into CD4+ cells is mediated by the chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature* 381 : 667–673, 1996.
 - 15) Leith JG, Copeland KF, McKay PJ, Richards CD, Rosenthal KL : CD8+ T-cell-mediated suppression of HIV-1 long terminal repeat-driven gene expression is not modulated by the CC chemokines RANTES, macrophage inflammatory protein (MIP)-1 alpha and MIP-1 beta. *AIDS* 11 : 575–580, 1997.
 - 16) Connor R I, Sheridan KE, Ceradini D, Choe S, Landau NR : Change in coreceptor use correlates with disease progression in HIV-1-infected individuals. *J Exp Med* 185 : 621–628, 1997.
 - 17) Walker CM, Moody DJ, Stites DP, Levy JA : CD8+ lymphocytes can control HIV infection in vitro by suppressing virus replication. *Science* 234 : 1563–1566, 1986.
 - 18) Walker CM, Erickson AL, Hsueh FC, Levy JA : Inhibition of human immunodeficiency virus replication in acutely infected CD4+ cells by CD8+ cells involves a noncytotoxic mechanism. *J Virol* 65 : 5921–5927, 1991.
 - 19) Barker E, Bossart KN, Levy JA : Primary CD8+ cells from HIV-infected individuals can suppress productive infection of macrophages independent of beta-chemokines. *Proc Natl Acad Sci USA* 95 : 1725–1729, 1998.
 - 20) Castelli JC, Deeks SG, Shiboski S, Levy JA : Relationship of CD8(+) T cell noncytotoxic anti-HIV response to CD4(+) T cell number in untreated asymptomatic HIV-infected individuals. *Blood* 99 : 4225–4227, 2002.
 - 21) Castro BA, Walker CM, Eichberg JW, Levy JA : Suppression of human immunodeficiency virus replication by CD8+ cells from infected and uninfected chimpanzees. *Cell Immunol* 132 : 246–255, 1991.
 - 22) Le Borgne S, Fevrier M, Callebaut C, Lee SP, Riviere Y : CD8+ cell antiviral factor activity is not restricted to human immunodeficiency virus (HIV)-specific T cells and can block HIV replication after initiation of reverse transcription. *J Virol* 74 : 4456–4464, 2000.
 - 23) Leith JG, Copeland KF, McKay PJ, Bienzle D, Richards CD, Rosenthal KL : T cell-derived suppressive activity : evidence of autocrine noncytolytic control of HIV type 1

- transcription and replication. *AIDS Res Hum Retrovir* 15 : 1553–1561, 1999.
- 24) Walker CM, Levy JA : A diffusible lymphokine produced by CD8+ T lymphocytes suppresses HIV replication. *Immunology* 66 : 628–630, 1989.
 - 25) Moriuchi H, Moriuchi M, Combadiere C, Murphy PM, Fauci AS : CD8+ T-cell-derived soluble factor(s), but not beta-chemokines RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta, suppress HIV-1 replication in monocyte/macrophages. *Proc Natl Acad Sci USA* 93 : 15341–15345, 1996.
 - 26) Tomaras GD, Lacey SF, McDanal CB, Ferrari G, Weinhold KJ, Greenberg ML : CD8+ T cell-mediated suppressive activity inhibits HIV-1 after virus entry with kinetics indicating effects on virus gene expression. *Proc Natl Acad Sci USA* 97 : 3503–3508, 2000.
 - 27) Chang TLY, Mosoian A, Pine R, Klotman ME, Moore JP : A Soluble factor(s) secreted from CD8+ T lymphocytes inhibits human immunodeficiency virus type 1 replication through STAT1 activation. *J Virol* 76 : 569–581, 2002.
 - 28) Koyanagi Y, O'Brien WA, Zhao JQ, Golde DW, Gasson JC, Chen IS : Cytokines alter production of HIV-1 from primary mononuclear phagocytes. *Science* 241 : 1673–1675, 1988.
 - 29) Fu XY, Schindler C, Improtta C, Aebersold C, Darnell RE : The proteins of ISGF-3, the interferon alpha-induced transcriptional activator, define a gene family involved in signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 89 : 7840–7843, 1992.
 - 30) Giavedoni L, Ahmad S, Jones L, Yilma T : Expression of gamma interferon by simian immunodeficiency virus increases attenuation and reduces postchallenge virus load in vaccinated rhesus macaques. *J Virol* 71 : 866–872, 1997.
 - 31) Matsuyama T, Hamamoto Y, Soma G, Mizuno D, Yamamoto N, Kobayashi N : Cytocidal effect of tumor necrosis factor on cells chronically infected with human immunodeficiency virus (HIV) : enhancement of HIV replication. *J Virol* 63 : 2504–2509, 1989.
 - 32) Gendelman HE, Baca LM, Turpin J, Kalter DC, Hansen B, Orenstein JM, Dieffenbach CW, Friedman RM, Meltzer MS : Regulation of HIV replication in infected monocytes by IFN-alpha. Mechanisms for viral restriction. *J Immunol* 145 : 2669–2676, 1990.
 - 33) Matsuyama T, Kobayashi N, Yamamoto N : Cytokines and HIV infection : is AIDS a tumor necrosis factor disease? *AIDS* 5 : 1405–1417, 1991.
 - 34) Geiben-Lynn R, Brown N, Walker BD, Luster AD : Purification of a modified form of bovine antithrombin III as an HIV-1 CD8+ T-cell antiviral factor. *J Biol Chem* 277 : 42352–42357, 2002.
 - 35) Nakashima H, Masuda M, Murakami T, Koyanagi Y, Matsumoto A, Fujii N, Yamamoto N : Anti-human immunodeficiency virus activity of a novel synthetic peptide, T22 ([Tyr-5,12, Lys-7] polyphemusin II) : a possible inhibitor of virus-cell fusion. *Antimicrob Agents Chemother* 36 : 1249–1255, 1992.
 - 36) Fujii N, Tamamura H : Peptide-lead CXCR4 antagonists with high anti-HIV activity. *Curr Opin Investig Drugs* 2 : 1198–1202, 2001.
 - 37) Murakami T, Zhang TY, Koyanagi Y, Tanaka Y, Kim J, Suzuki Y, Minoguchi S, Tamamura H, Waki M, Matsumoto A, Fujii N, Shida H, Hoxie JA, Peiper SC, Yamamoto N : Inhibitory mechanism of the CXCR4 antagonist T22 against human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 73 : 7489–7496, 1999.
 - 38) Murakami T, Nakajima T, Koyanagi Y, Tachibana K, Fujii N, Tamamura H, Yoshida N, Waki M, Matsumoto A, Yoshie O, Kishimoto T, Yamamoto N, Nagasawa T : A small molecule CXCR4 inhibitor that blocks T cell line-tropic HIV-1 infection. *J Exp Med* 186 : 1389–1393, 1997.