

課題番号 : 25指108
研究課題名 : DNA損傷によって増加するマクロファージへのHIV-1感染機序の解明と応用
主任研究者名 : 石坂幸人
分担研究者名 : なし
キーワード : HIV-1、インテグラーゼ、マクロファージ、DNA 損傷、新規抗エイズ薬
研究成果 :

1: インテグラーゼの DNA 損傷部へのリクルートメントに関与する宿主細胞側因子の同定 [背景]

先行研究で、HIV-1 インテグラーゼが不活化された状態でも、低い頻度ながら感染性を示すことや、このインテグラーゼ活性非依存的なウィルス感染は特に静止マクロファージにおいて、DNA 損傷で促進されることが報告された。また、HIV-1 プロウィルス DNA は DNA 二重鎖切断(DSB:DNA double-strands break)部位へ挿入されることも明らかとなっている (Koyama *et al.* 2013)。本研究では、DSB 誘導活性を示す HIV 蛋白質である Vpr が、どのような機序で静止マクロファージへのウィルス感染に関与するのかについて、DSB 誘導機序から理解する。

[結果]

(A) インテグラーゼは Vpr、および宿主因子 Mre11 依存的に DSB 部位へとリクルートされるインテグラーゼの DSB 部位へのリクルート機構を明らかにするために、ChIP (クロマチン免疫沈降) 法と FRAP (Fluorescence recovery after photo-bleaching) 法による解析を行った。 ChIP 法では *DABI* 遺伝子および rDNA 中に認識配列を有する、15 塩基認識のホーミングエンドヌクレアーゼである *I-Ppo1* を用いて DSB を導入した。*I-Ppo1* 発現アデノウィルス感染後、*DABI* 遺伝子座へのインテグラーゼの集積を解析した結果、DSB 導入部位近傍への明らかなインテグラーゼのリクルートを認めた。FRAP 法では Micro-irradiation (μ -IR) により局所に DSB トラックを形成し、当該領域へのインテグラーゼタンパクのリクルートを評価した。その結果、インテグラーゼの DSB 部位への迅速なリクルートが Vpr 依存的に観察された。また、インテグラーゼのリクルートにおいて上流で機能する Vpr 自身の DSB 部位へのリクルートは、DSB シグナル伝達経路の阻害剤として ATM および、DNA-PKcs 阻害剤を処理した場合でも、同様に観察されたことから、Vpr、およびインテグラーゼの DSB 部位へのリクルートはより上流の DSB センサータンパク群に依存することが予想された。次に DSB センサータンパクの 1 つである Mre11 欠損患者 (Ataxia telangiectasia like disorder: ATLD) 由来線維芽細胞を用いて同様の解析を行った。その結果、ATLD 細胞においては Vpr の DSB 部位へのリクルートは観察されないが、Mre11 の相補によって、同現象が回復することが明らかとなった。さらに *in vitro*、および *in vivo* において Mre11 と Vpr が相互作用したことから、Mre11 との相互作用を介して Vpr 依存的にインテグラーゼが DSB 部位へとリクルートされることが予想される。

(B) Vpr の DSB 部位への集積はプロウィルス末端 DNA の保護に寄与する

Vpr の DSB 部位への集積の生物学的意義を明らかにするために、Vpr 野生型、および欠損型のインテグラーゼ不活型 HIV-1 の DSB 部位への挿入形状について解析を行った。その結果、Vpr 欠損型ウィルスでは挿入プロウィルス DNA の末端配列の欠失塩基長が Vpr 野生型のものと比較して明らかに大きくなることが示され、Vpr がプロウィルス DNA 挿入過程において DNA 末端の保護に寄与していることが示唆された。Mre11 は DSB 修復過程において機能するヌクレアーゼであることから、Vpr は Mre11 と相互作用することによりその酵素活性を抑制する可能性が示唆される。これらのことから、Vpr は Mre11 による分解標的となるプロウィルス DNA 末端を細胞ゲノム DNA への挿入過程において保護する機能を持つことが提起される。

(C) Mre11 は新規の HIV1-感染抑制因子である。

Mre11 の HIV 感染における機能を明らかにするために、ATLD、および Mre11 相補細胞において HIV 感染効率の解析を行った。その結果、Mre11 存在下において HIV 感染効率は顕著に抑制されたことから、Mre11 は新規の HIV 感染抑制因子であることが示された。しかしながら、Mre11 による HIV 感染抑制能は Vpr 発現の有無に影響されなかった。このことから Vpr は DSB

部位へのプロウイルス DNA 挿入において特異的に機能する可能性が考えられる。Mre11 活性の Vpr による制御機構、および完全長のプロウイルス DNA 挿入における役割を明らかにするために今後のさらなる研究が必要である。

2 : HIV-1 感染による DSB 誘導分子機序の解明

[背景]

Vpr は染色体 DNA 上に DNA 二重鎖切断 (DSB) を生成し、また細胞周期の G2/M チェックポイントの活性化を誘導することで、ウイルス感染において機能すると考えられている。しかしながら、Vpr の誘導する DNA 損傷応答 (DNA damage response: DDR) の分子機序についてはほとんどわかっていない。Vpr 自身には核酸分解活性が存在しないことから、Vpr 誘導性の DSB は細胞側の宿主因子に依存していると考えられる。本研究課題において Vpr 結合因子として新たに Topoisomerase1 (Topo1) を同定した。Topo1 は dsDNA のトポロジ変化を誘導する酵素であり、Topo1 は Vpr の持つ dsDNA 弛緩活性と機能的に関連し、DSB を誘導することが明らかとなった。さらに、Topo1 を介した Vpr 誘導性 DSB の HIV 感染における重要性を明らかにした。

[結果]

(A) Vpr は Super-coiled DNA の弛緩を誘導し、RPA の結合を可能とする

Vpr が DSB を誘導する分子機序を明らかにするために、super-coiled DNA (scDNA) に対して Vpr がどのような作用、即ち構造変化を誘導するのかを明らかにするために原子間力顕微鏡による観察を行った。その結果、リコンビナント Vpr (rVpr) は DNA 鎖の弛緩反応を誘導するインターカレーターであるクロロキンと同様に、scDNA の弛緩を誘導した。さらに定量的解析のために表面粗度の root mean square (RMS) について解析を行ったところ、rVpr はクロロキンと同様に、表面粗度 RMS 値の顕著な減少を誘導することが示された (図 1)。閉環型 dsDNA 内での局所的な dsDNA の弛緩は同分子内における Negative super coil の形成を誘導するが、Topo1 はこのような Negative super-coil を解消する活性を持つ。実際に、rVpr が Negative super-coil を誘導するのかを明らかにするために、Topo1 存在下において、scDNA を Vpr と反応させたところ、顕著な Topoisomerase 種の増加を認めた (図 2)。さらに、rVpr を直鎖状 dsDNA に反応させると一本鎖結合タンパクである RPA70 の同 DNA 上への結合を誘導したことから、Vpr は dsDNA に対する unwinding する活性を有するものと考えられる (図 3)。RPA70 の染色体 DNA 上での集積は ATR を介した DDR 経路の活性化を誘導することから、*in vitro* で観察されたこれらの現象は Vpr 誘導性 G2/M チェックポイント活性化の分子基盤をなすと考えられる。次に *In vitro* で確認された現象が細胞内においても同様に再現されるのか確認するために、LacO 反復配列を導入した U2OS 細胞株において LacR-Vpr を発現することにより、Vpr が集積した LacO 領域に生じるクロマチン DNA の変化を解析した。その結果、Vpr を LacO 領域に集積させることにより、LacO 領域内に DSB が誘導されることが明らかになった (図 4A, B)。さらに同領域では Negative super-coil の蓄積、RPA70 の結合量の増加が観察され、Vpr によるクロマチン DNA 弛緩反応が惹起されていることが強く示唆される (図 5)。また Vpr 発現下ではクロマチン DNA 上への Topo1 の共有結合体の形成も促進される。これらのことから、Vpr はクロマチン DNA を弛緩させることで RPA70 の結合を促進することにより、ATR を介した DDR 経路の活性化を誘導し、その一方で局所的 dsDNA の弛緩によって近傍領域において生成される Negative super-coil は Topo1 へのクロマチン上へのリクルート、および DNA との共有結合体産生を誘導し DSB の発生を導くことが提起される。

(B) LacR-Vpr は LacO 領域への HIV-1 挿入を誘導する

Vpr 誘導性の DSB が実際にプロウイルス DNA 挿入に寄与するのかを明らかにするために、LacR-Vpr 発現下においてインテグラーゼ不活型 Vpr 欠損 HIV-1 が LacO 領域へと挿入されるのか解析した。その結果 LacR-Vpr をウイルス感染時に発現させた場合にはプロウイルス DNA の LacO 領域への挿入が顕著に増加することが明らかになった (図 6)。一方で、Vpr に変異 (Q65R, R77Q, R80A, Ct4RA) を導入した LacR-Vpr を発現させた場合では LacO 領域へのプロウ

ウイルス挿入は大幅に減少した。Vpr 変異体 Q65R、R80A は Vpr 誘導性ユビキチン化反応に不全を示し、R77Q は Topo1 結合性に欠損、および Ct4RA は DNA 結合性が失われており、これらの機能が Vpr を介した DSB 部位へのプロウイルス挿入には重要であることが示唆される。さらに ATM、および DNA-PKcs の阻害剤処理によっても LacO 領域へのプロウイルス挿入は抑制された。以上のことから、Vpr 誘導性の DSB はプロウイルス DNA の挿入標的を形成し、細胞の DDR 経路を活性化することによって形成した DSB 部位へのプロウイルス挿入を促進していることが提起される。

(C) Topo1 の Vpr 誘導性 DSB 形成、およびウイルス感染における役割

Vpr 誘導性 DSB における Topo1 の役割を明らかにするために、テトラサイクリン誘導性プロモーターによる発現制御下にある野生型 Vpr (Vpr-Wt)、および4つの変異型 Vpr (Q65R, R77Q, R80A, Ct4RA) の導入細胞株を作成した。Vpr-Wt の発現は DSB 応答の指標である H2AX のリン酸化と G2/M チェックポイントの活性化を高度に誘導した。対照的にこのような DDR 誘導は Vpr-Q65R、R80A 変異体においては検出されなかった。また以前の本研究室からの報告と一致して DNA 結合性を欠いた Ct4RA 変異体においても DDR 経路の活性化は全く検出されなかった。一方で、Topo1 との結合に欠損を持つ R77Q は部分的な DDR 経路の活性化を示した。Vpr の R77Q 変異は HIV 感染患者における Long term non-progressor から分離されたウイルス中に見出される Vpr の変異であり、R77Q の変異は *in vitro* における Topo1 と Vpr の結合性を減弱させることを明らかにしている。これらのことから、Vpr と Topo1 の相互作用は DSB 誘導、および DDR 経路を効率よく活性化するために機能していることが示唆される。さらに Vpr と Topo1 の機能的相互作用のウイルス感染における役割を明らかにするために、単球由来マクロファージ細胞株において Topo1 発現抑制下におけるウイルス感染効率を測定した。その結果、Topo1 の発現抑制、および Topo1 機能に関連した因子の発現抑制も同様にウイルス感染効率を顕著に減少させた(図 7)。一方で Vpr 欠損 HIV-1 ウイルスの感染時には Topo1、および Topo1 関連因子はウイルス感染効率に寄与しないことから、Topo1 のウイルス感染における役割は Vpr に依存したものであることが示唆される。これと一致して、Topo1、および Topo1 関連因子の発現抑制による rVpr 誘導性の DSB も抑制されることが確認された。これらの結果は Topo1 が Vpr 誘導性 DSB、および Vpr によるウイルス感染効率の昂進に機能していることを示唆している。

(D) Vpr による DNA 二重鎖切断、および DNA 損傷応答誘導経路の概要とウイルス学的重要性

本研究において Vpr 誘導性 DSB および DDR は少なくとも以下の5つのステップから構成されることを明らかにした。

- ① Vpr の結合による dsDNA 弛緩反応。
- ② dsDNA の弛緩により生成された ssDNA 領域への RPA の結合による ATR の活性化、および G2/M チェックポイントの活性化。
- ③ 局所における dsDNA の弛緩を介した近傍における negative super-coil の生成と同構造の Topo1 による解消、および、持続的な Topo1-DNA の共有結合体の形成。
- ④ Topo1-DNA 共有結合体の DNA 損傷修復因子群 (TDP1, DDB1/VprBP, SLX4, XPG など) による除去。
- ⑤ Topo1 共有結合体除去後の“きれいな”DSB 部位へのプロウイルス DNA 挿入。

本研究により明らかにした HIV、および宿主因子、あるいは DDR 経路の重要性は細胞種や細胞周期の分布により影響されることが予想される。しかしながら、本機構において最上流に位置する Vpr による DNA 鎖の unwinding 反応は、Vpr による DSB および DDR 誘導における起点となる本質的な分子機構であると考えられる。また Vpr を介した DSB、および DDR は静止期マクロファージへの感染において正の制御因子として機能することから、本研究で明らかにした Vpr の作用分子機序は新規の抗 HIV 薬の開発標的となることが期待される。

Subject No. : 25A108
Title : The mechanism of DNA damage induced HIV-1 infection and its application
Researchers : Yukihito Ishizaka
Key words : HIV-1, Integrase, Macrophage, DNA damage, novel AIDS drug
Abstract : We previously reported that infection of human immunodeficiency (HIV) type-1 causes DNA double strand break (DSB), and HIV integrates in the DSB sites without catalytic activity of HIV integrase (IN). In the current study, we clarified modes of the recruitment of HIV-1 to the DSB sites and HIV-associated DSB.

1. Identification of cellular factor(s) involved in HIV integration into the DSB site.

[Background] My laboratory previously reported that proviral DNA integrated at sites of DNA double strand break (DSB), implying that the cellular machinery recruits HIV DNA to the DSB sites. Here, we aimed to clarify the mechanism.

[Results]

a. IN is recruited to DSB sites depending on cellular factor X

We first found the recruitment of IN to DSB sites by using two experimental approaches, ChIP assay and FRAP assay. In the ChIP assay, we used I-*Ppo* I enzyme, a rare-cutting enzyme that recognizes nucleotide sequence of 15 base pairs and is present in *DAB1* locus and ribosomal DNA. After expression of I-*Ppo* I by adenovirus infection, we tested whether ectopically expressed IN protein was accumulated on *DAB1* locus, which contains I-*Ppo* I recognition site. Next, in FRAP assay, we checked whether IN was accumulated at micro-irradiation (μ -IR) created DSB tracks. Interestingly, both experiments gave positive results suggesting that IN was accumulated at DSB sites in a manner dependent on a viral protein A of HIV-1. Moreover, the recruitment of the A protein to the DSB tract was observed even under the presence of inhibitors of ATM and DNA-PKcs, the central factors of DSB signaling, implying that the DSB sensor proteins are involved in the early response of A/IN proteins to the DSB sites.

Next, we performed μ -IR experiments in a patient derived cell line, in which a component of the DSB sensor complex is deficient (Δ X cells). Interestingly, recruitment of IN and A to μ -IR created DSB sites was completely abolished in the Δ X cell, whereas it was restored by complementation of X gene product in the Δ X cells. Furthermore, both *in vitro* and *in vivo* experiments revealed that X and A proteins are physically interacted. These observations suggested that protein A recruits IN to the DSB sites in a dependent of X protein.

b. Functional relevance of the recruitment of protein A to the DSB sites

We compared data of nucleotide sequence of the proviral DNA-ends after infection with two types of IN-activity defective HIV-1 viruses that were proficient or deficient of protein A. Interestingly, the proviral DNA-ends sequence from A deficient virus was susceptible to larger deletion compared to that of proficient virus. Data implied that A protein protected viral DNA-ends during the integration process. Given that X and A proteins are physically associated, and protein X is a nuclease that functions in DSB repair by non-homologous end-joining (NHEJ), data suggested that protein A negatively regulates the nuclease activity of X protein: viral protein A protects the ends of the proviral DNA during integration of viral DNA into the host genome.

c. Protein X is a novel restriction factor of HIV-1 integration

Finally, we tested the inhibitory effect of X protein on the HIV-1 infection. Several independent analyses of HIV integration rate revealed that X protein inhibited HIV-1 infection, implying that X protein is a novel restriction factor against HIV-1 infection. Notably, the X-mediated suppression

Researchers には、分担研究者を記載する。

of viral infection was not rescued by A protein. As the possible explanation, X protein is involved in the multiple steps of viral infection, whereas A protein selectively functions at the integration step of proviral DNA at DSB sites where nuclease activity of protein X has pivotal role for NHEJ-dependent integration of viral DNA. Further study is required for clarifying the possible regulatory mechanism of protein X activity by protein A, and the actual importance in the successful proviral integrations.

2. Mode of HIV-1 associated DSB

[Background] Vpr induces DSB on chromosomal DNA, and cell-cycle arrest at G2/M phase that is a proposed important function of Vpr for viral infection. However, the molecular mechanism of Vpr-induced DNA damage response (DDR) remained unknown. Because Vpr protein itself has no nuclease activity, it is plausible that Vpr-induced DSB depends on the cellular machinery(s). Here we identified Topoisomerase1 (Topo1), which induces the topological changes on dsDNA, as a novel Vpr associating factor. We found that Vpr is physically and functionally associated with Topo1. Here we clarified the fine mechanism of Vpr-induced DSB and roles of Topo1 in viral integration.

[Results]

a. Recombinant Vpr relaxes super-coiled DNA and recruits RPA

By using the atomic force microscopy (AFM), we first examined whether the Vpr altered structure of the super-coiled plasmid DNA (pDNA). The pDNA was incubated with a recombinant Vpr protein (rVpr) or chloroquine, an intercalator that induces DNA-relaxation, and was subjected to the AFM analysis for measuring roughness of root mean square (RMS) of the pDNA under the liquid conditions. When compared to untreated pDNA, both molecules decreased the roughness of RMS, suggesting that rVpr possessed similar activity of chloroquine and relaxed pDNA. It has been well proposed that relaxation of the closed circular dsDNA induces the negative supercoiling within the same molecule. To demonstrate that rVpr actually formed negative super-coiling, which is targeted and relieved by Topo1, pDNA was incubated with rVpr in the presence of Topo1, and resulting topoisomers were checked by gel electrophoresis. After incubation of pDNA, we observed the increase of topoisomers, suggesting that rVpr generated negative super-coils on pDNA. Moreover, addition of rVpr to linear dsDNA promoted loading of RPA70, a single-strand DNA binding protein, further supporting an idea that rVpr unwound the dsDNA. Because RPA70, when loaded onto chromosome DNA, activates the ATR-dependent DNA damage response and G2/M checkpoint, these data well explain the mechanism of Vpr-induced G2/M arrest.

To demonstrate that Vpr exerts similar effects *in vivo*, we used a subline of a human osteosarcoma cell line, which possessed multiple copies of LacO-repeats in the short arm of chromosome 1. When Cherry-LacR-Vpr was expressed in the cell line, Vpr could be forcedly accumulated at the site of the LacO-repeats and induced DSB in the corresponding regions. By using this system, we also tested whether RPA70 was loaded to the LacO-repeats, and observed that the expression of Cherry-LacR-Vpr promoted loading of RPA70 onto the chromatin, concomitantly with DNA relaxation and covalent binding of Topo1 to the chromosomal DNA.

These data suggested that Vpr generated negatively super-coiled DNA by unwinding dsDNA and then mobilized Topo1 to the chromatin.

b. LacR-Vpr expression induced integration of HIV-1 in the LacO-repeats

To demonstrate the role of Vpr-induced DSB for proviral integration, we next examined the viral integration to the LacO repeats by using the IN- and Vpr-defective HIV. We observed that proviral DNA was inserted into the LacO repeats, when Cherry-LacR-Vpr was expressed at the time of viral infection. In contrast, integration of proviral DNA at LacO repeats was markedly impaired,

when mutant forms of Cherry-LacR-Vpr, which possessed Vpr mutations of Q65R and R80A (Vpr-dependent ubiquitination defective mutant), R77Q (Vpr/ Topo1 interaction disrupted mutant), and Ct4RA (DNA binding activity diminished mutant), were co-expressed. Additionally, the experiments using inhibitors revealed that the integration to the DSB sites required DDR-related molecules that included ATM and DNA-PKcs. Data suggested that Vpr-induced DSB positively regulates the viral infection through creating the viral DNA integration target sites and provoking cellular DDR.

c. Role of Topo1 in Vpr-induced DSB and viral infection

To clarify the role of Topo1 in the Vpr-induced DDR, we established multiple cell lines, in which the expression of wild type (WT) Vpr or mutants of Vpr can be tightly controlled under the tetracycline inducible promoter. In these cell lines, WT Vpr expression induced massive H2AX phosphorylation and cell-cycle arrest at G2/M phase. In contrast, such a DDR was abolished in the cells that were expressed with Q65R and R80A mutants of Vpr. Additionally, no DDR was observed by expression of the Ct4RA mutant, consistent with a previous work (Shimura *et al*, *FASEB J*, 1999). On the other hand, Topo1-binding deficient mutant (R77Q) presented partial activation of these DSB signaling pathway.

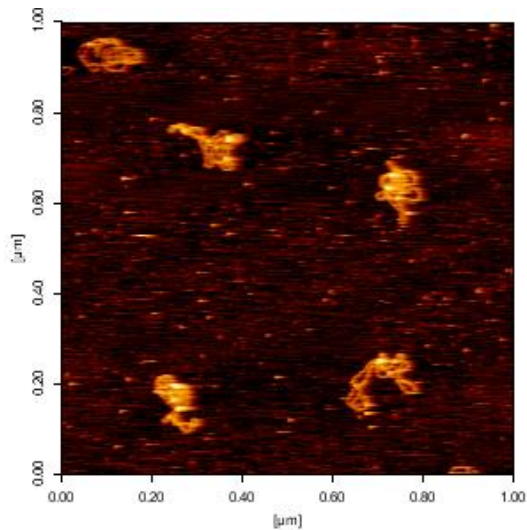
To investigate the role of Topo1-Vpr interaction on HIV infection, we analyzed the viral infectivity in monocyte-derived macrophage cell line under decreased expression of endogenous Topo1 expression. By downregulation of Topo1 or Topo1-related factors by siRNA, the viral infectivity was significantly reduced. In contrast, the efficiency of viral infection by HIV without Vpr was not largely affected by the downregulation of Topo1 and Topo1-related factors. Well consistently, rVpr-induced DSB was also suppressed by the downregulation of Topo1 or Topo1-related factors. These data indicate that Topo1 is positively involved in Vpr-induced DSB and DSB-induced upregulation of viral infection.

d. Vpr-R77Q mutant found in long-term non-progressor less induces DSB and DDR signals

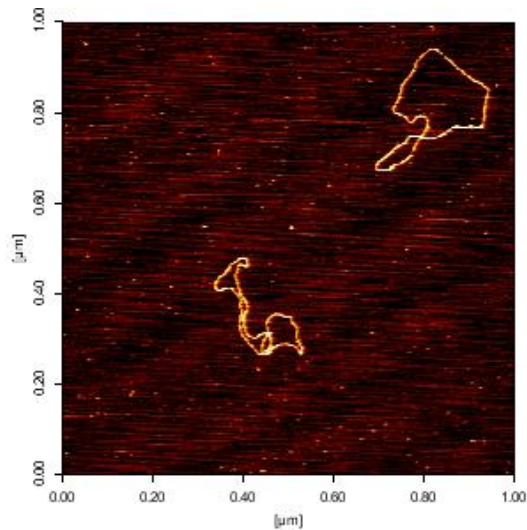
By analyzing the mode of association between Vpr and Topo1, we identified that Vpr-R77Q mutant, the mutation of which was identified in viruses from long-term non-progressors of HIV-positive patients, did not bind to Topo1 *in vitro*. Moreover, expression of Vpr-R77Q less induced DSB and DDR signals, compared to WT Vpr, supporting our idea that the association of Vpr/Topo1 is required for the efficient DSB induction and DDR signaling.

Altogether, our current experiments suggest that the Vpr-induced DSB and DDR could be composed of at least five steps: (a) relaxation of DNA by direct Vpr association, (b) RPA70 binding to generated ssDNA region followed by ATR activation and G2/M checkpoint activation, (c) Topo1 recruitment and covalent binding to DNA, (d) removal of DNA bound Topo1 through various cellular repair factors (including TDP1, DDB1/VprBP, SLX4, and XPG), (e) integration of proviral DNA to “cleaned up”-DSB ends. Although functions of involved factors and magnitude of DDR can be varied from cell to cell and/or state of cell cycle, we would propose that DNA unwinding activity is the pivotal function of Vpr for induction of both DDR and DSB that is a positive factor for viral infection into resting macrophages, the activity of which is the possible target of novel anti-HIV drugs.

Buffer



Chlq (5mM)



Vpr (0.5uM)

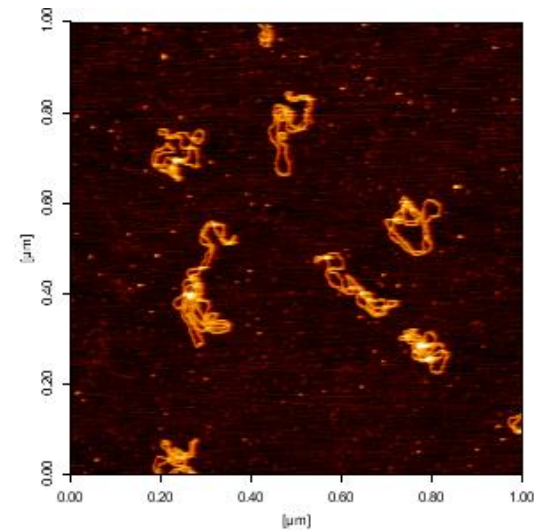
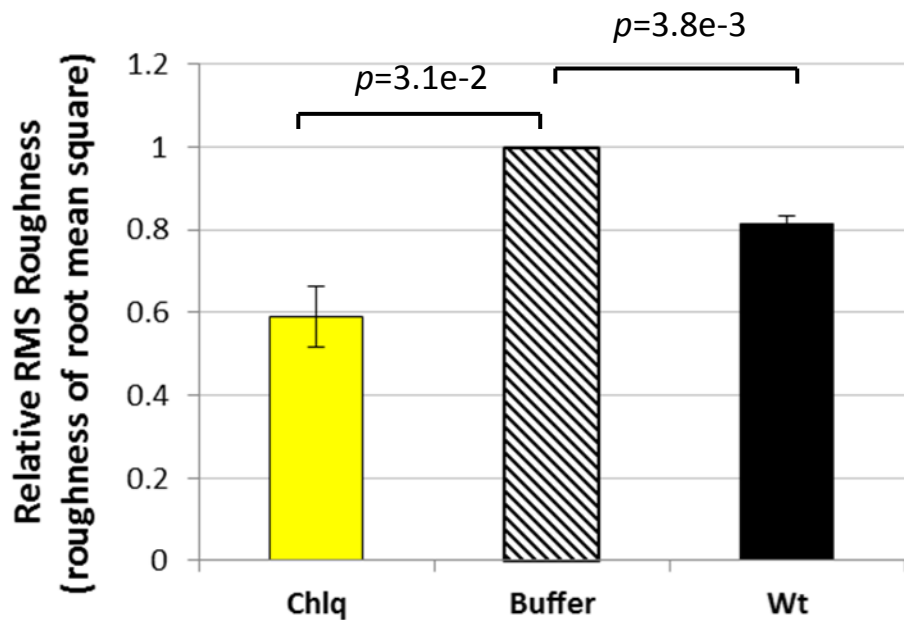


図1 原子間力顕微鏡による
Vpr誘導性のDNA構造変化の解析



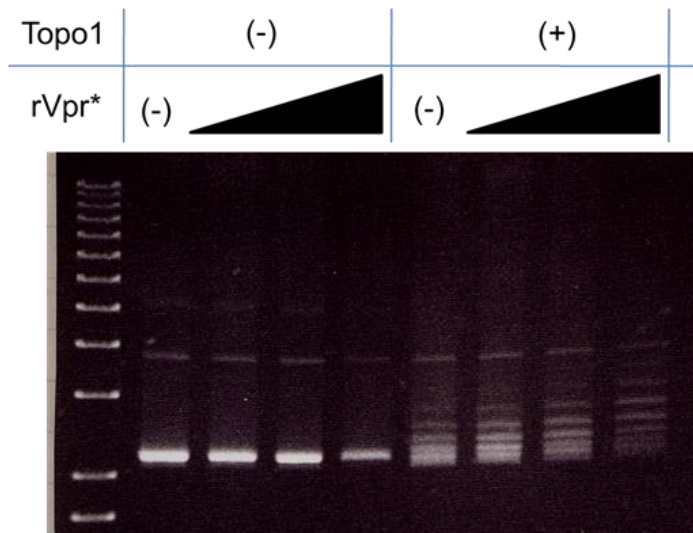


図2 rVprによるscDNAの弛緩誘導 (Super Coiling assay)

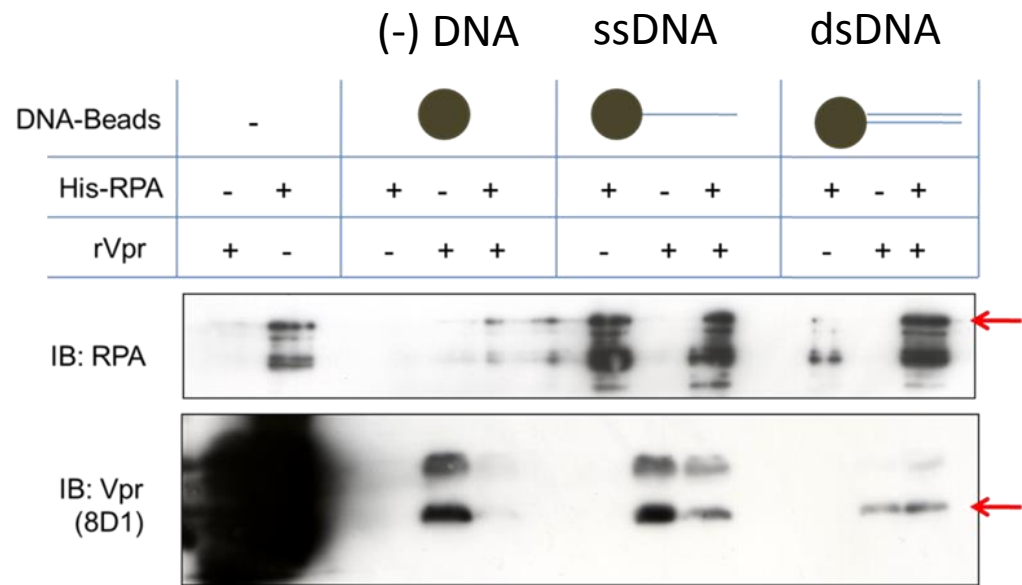


図3 VprはdsDNAの解離を誘導し RPA70の結合を誘導する

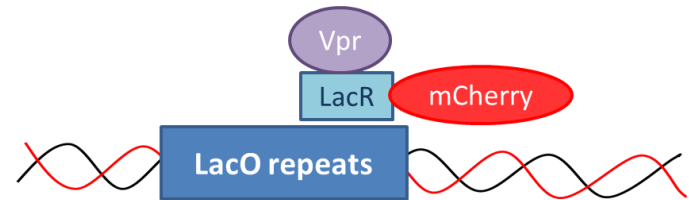
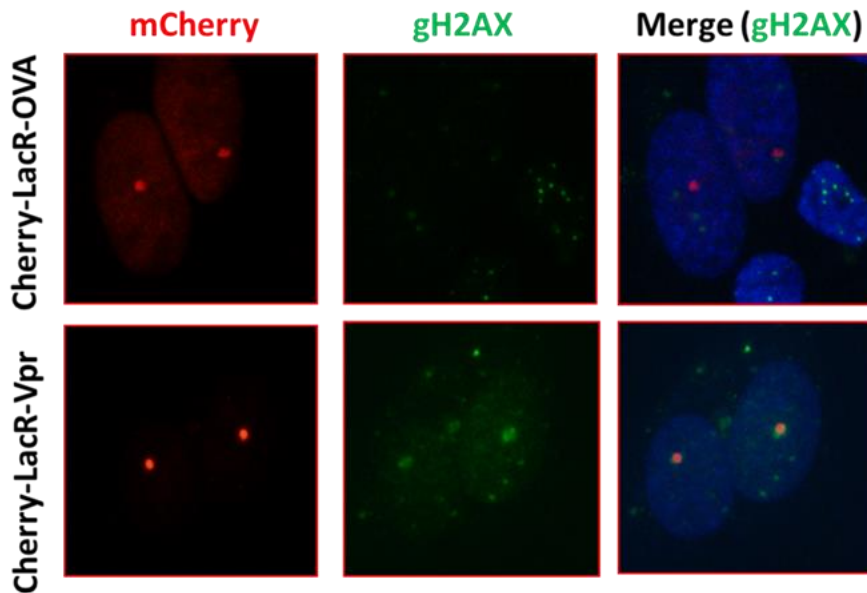


図4-A Cherry-LacR-VprはLacOリピート上に DSBを誘導する(免疫染色)

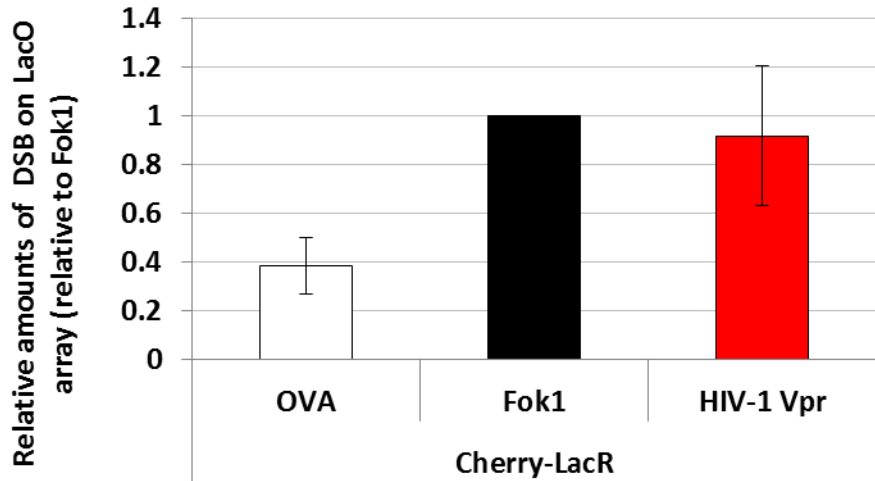
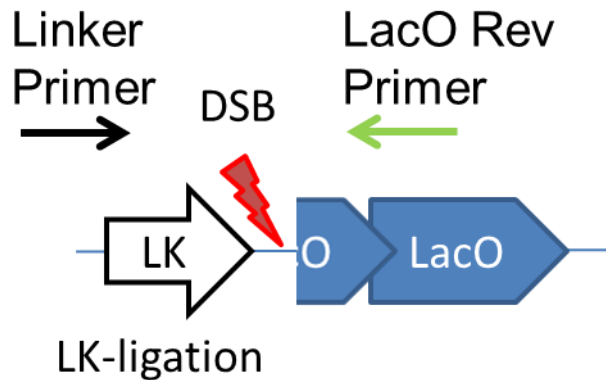


図4-B Cherry-LacR-VprはLacOリピート上にDSBを誘導する(Ligation mediated-PCR)

(Primer binding sites on LacO reporter construct)

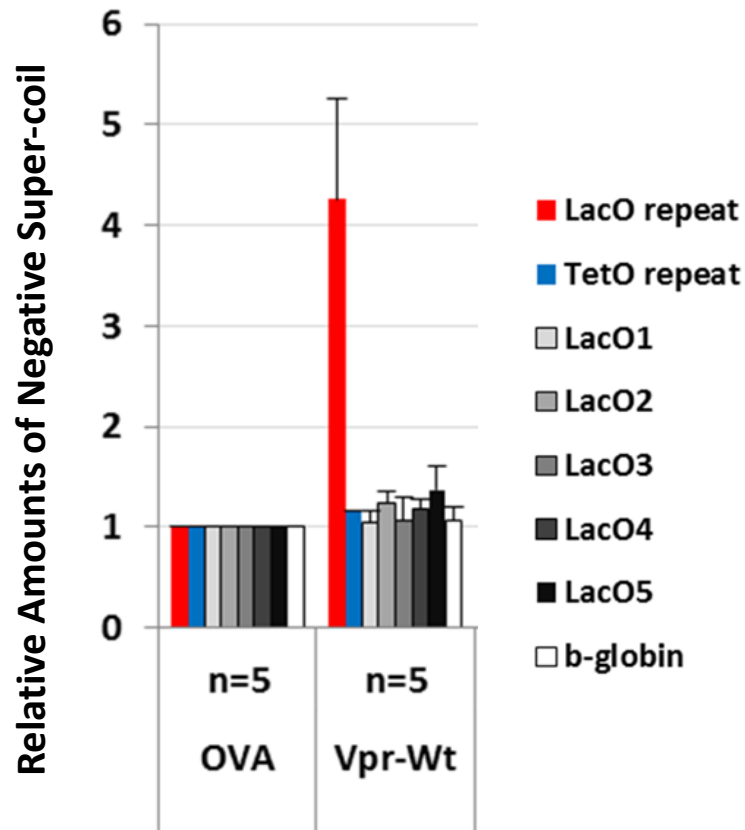
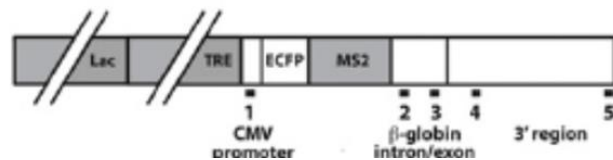
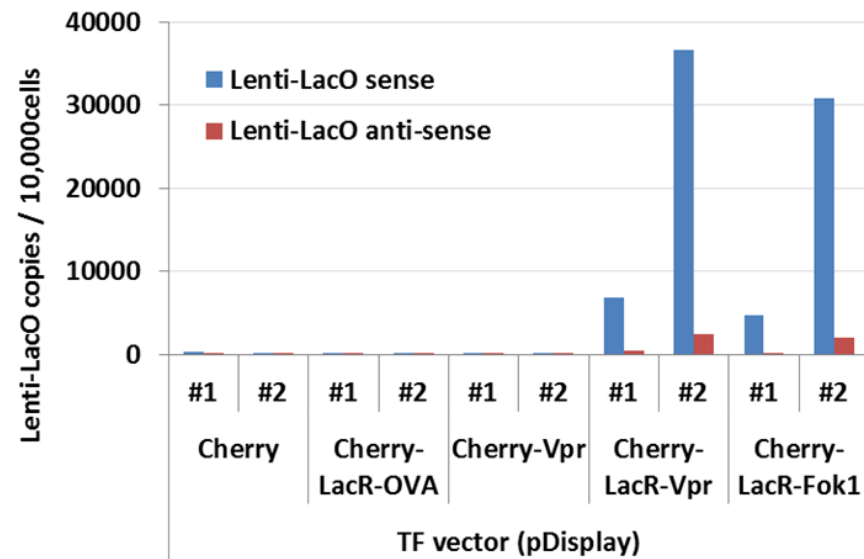
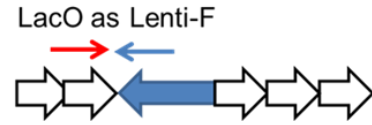


図5 LacR-VprはLacOリピート上にNegative Super-coilを誘導する

Sense-integration



Anti-Sense-integration



** $p=4.3e-2$

* $p=8.6e-4$

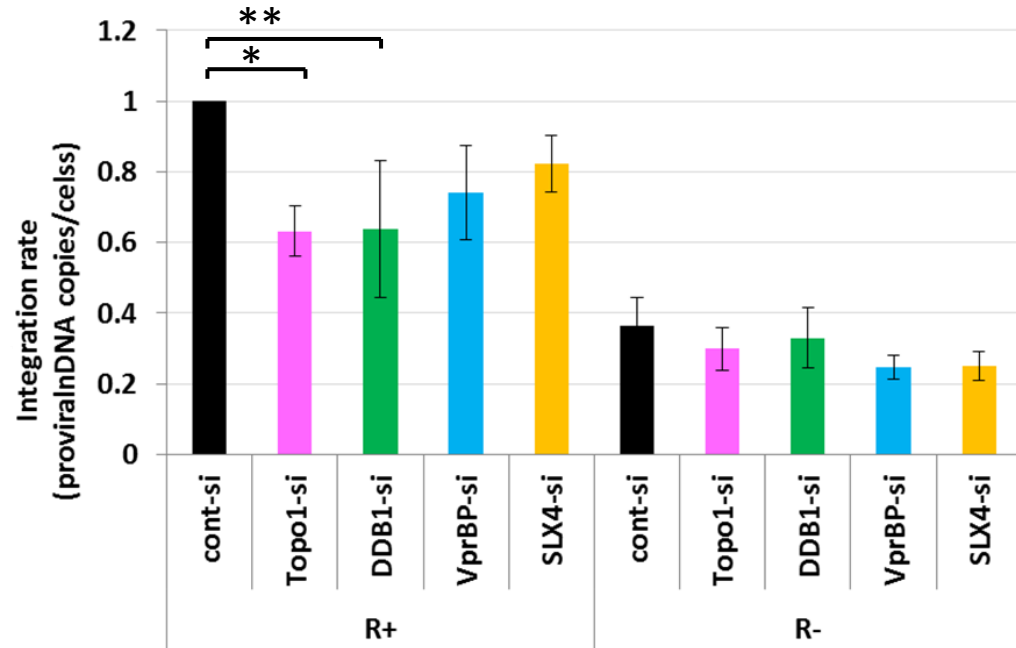


図7 Topo1、およびTopo1関連因子の発現抑制はVpr野生型HIV-1(R+)の感染効率を減少させる

図6 LacR-Vpr発現下において、HIV-1プロウイルスDNAはLacO領域に挿入される。

研究発表及び特許取得報告について

課題番号：25指108

研究課題名：DNA損傷によって増加するマクロファージへのHIV-1感染機序の解明と応用

主任研究者名：石坂幸人

論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
Viral protein R of human immunodeficiency virus type-1 induces retrotransposition and upregulates glutamate synthesis by the signal transducer and activator of transcription 1 signaling pathway.	Doi A, Iijima K, Kano S, Ishizaka Y.	Microbiol Immunol.	59(7):398-409	2015
Morphine and Fentanyl Citrate Induce Retrotransposition of Long Interspersed Element-1.	Okudaira N, Ishizaka Y, Nishio H, Hiroshi Sakagami.	In vivo	30(2):113-8	2016
Retrotransposition of long interspersed nucleotide element-1 is associated with colitis but not tumors in a murine colitic cancer model.	tsubo T, Okamura T, Hagi T, Ishizaka Y, Kawamura T, Dohi T.	PLoS ONE	10(2):e0116072	2015
Evaluation of Thermo-triggered Drug Release in Intramuscular-transplanted Tumors using Thermosensitive Polymer-modified Liposomes and MRI.	Kokuryo D, Nakashima S, Ozaki F, Yuba E, Chuang KH, Aoshima S, Ishizaka Y, Saga T, Kono K, Aoki I.	Nanomedicine	11(1):229-38	2015
Retrotransposition of long interspersed element 1 induced by methamphetamine or cocaine.	Okudaira N, Ishizaka Y, Nishio H.	J. Biol. Chem	289(37):25476-85	2014
Identification of novel autoantibodies to GABA(B) receptors in patients with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus.	Tsuchiya H, Haga S, Takahashi Y, Kano T, Ishizaka Y, Mimori A	Rheumatology (Oxford).	53(7):1219-28	2014
Novel ACE2 activator reduces monocrotaline-induced pulmonary hypertension by suppressing the JAK/STAT and TGF-β cascades with restored caveolin-1 expression.	Haga S, Tsuchiya H, Hirai T, Hamano T, Mimori A, Ishizaka Y.	Exp Lung Res.	41(1):21-31	2015

学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
膠原病血管病態における抗ACE2抗体のACE2阻害作用：Ang(1-7)定量による方法	高橋裕子, 芳賀しおり, 石坂幸人, 三森明夫	第59回日本リウマチ学会総会	名古屋	2015年4月
DNA methylation profiling can classify HIV-associated lymphomas.	Akihiro Matsunaga, Mari Shimura, Shotaro Hagiwara, Shin-ichi Oka, Yukihito Ishizaka.	3rd International Conference on HIV/AIDS, STD & STIs,	Atlanta, USA	Nov 30-Dec 2, 2015

研究発表及び特許取得報告について

HIV関連リンパ腫のエピジェネティクス解析	松永章弘、志村まり、柳川泰昭、岡慎一、石坂幸人、萩原槲太郎	第17回白馬シンポジウム	鳥取	2015年6月
PhIP処理特異的なLINE-1新規挿入スクリーニングと乳がん発症への関与	上野 美華子, 奥平 准之, 石坂 幸人	第74回日本癌学会学術総会	名古屋	2015年9月
DNA methylation profiling can classify HIV-associated lymphomas	松永章弘、志村まり、石坂幸人	第74回日本癌学会学術総会	名古屋	2015年10月

その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

特許取得状況について ※出願申請中のものは()記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。
 ※主任研究者が班全員分の内容を記載のこと。