

論文の内容の要旨

論文題目 **Polymorphisms in RANTES and CCR5 affect disease progression and viral transmission in HIV-1 infection**

(RANTES および CCR5 遺伝子の多型性と AIDS 病態進行および HIV-1 伝播との関連に関する研究)

氏 名 劉 煥亮

[目的と意義]

ウイルスの宿主細胞への侵入は、標的細胞表面の特定分子（レセプター）への結合を介する吸着により開始されるが、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）と 2 型の場合は、レセプター CD4 分子のほかに、コレセプターが必要である。1996 年に HIV-1 コレセプターとして株化 T 細胞で増殖する T-cell line tropic virus/X4 virus が使用する CXCR4/Fusin と、マクロファージで増殖する Macrophage tropic virus/R5 virus が使用する CCR5 が同定された。そして、それらのリガンドである α -ケモカイン SDF-1 と β -ケモカイン、RANTES、MIP-1 α 、MIP-1 β がそれぞれ X4 ウイルスと R5 ウイルスの増殖を競合的に阻害することが明らかになった。

HIV-1 コレセプターの発見は細胞レベルでの HIV-1 増殖の理解を大きく進展させたばかりではない。ケモカイン、ケモカインレセプターの遺伝子内に認められる遺伝的多型と HIV-1 感染抵抗性や病態進行速度の多様性との間に一定の相関があることが明らかになってきた。最初に報告された CCR5 のコーデ

イング領域内 32 塩基欠損は、この変異をホモに持つ個体では HIV-1 感染にはほぼ抵抗性を示し、ヘテロに持つ個体では、AIDS 発症が遅延すると報告された。しかしこの変異の頻度は約 10% ほどで白色人種に限られ、アフリカ人や黄色人種には認められない。一方、CCR2 の第 1 膜貫通領域内点変異 (CCR2-64I) と SDF-1 の 3'側非翻訳領域内の点変異は、HIV-1 感染に抵抗性を付与することはないが、ホモあるいはヘテロに持つ個体において AIDS 発症を遅延させる遺伝子変異として報告された。CCR2-64I は CCR5 の 32 塩基欠損とは逆に黄色人種でその頻度が多い。また、CCR5 の第 2 イントロン内点変異 (CCR5-927T) が CCR2-64I と連鎖しており、やはり AIDS 発症を遅延させることが報告された。さらに最近、CCR5 制御領域の P1 と名付けられた haplotype をホモに持つ個体では AIDS の病態進行が加速されると報告された。しかしながら以上の報告はいずれも白色人種を対象に行ったものである。私は日本人 HIV-1 感染者および非感染者集団において、以下の 2 点の解析を行った。

(解析 1) CCR5 に結合する 3 つのリガンド、RANTES、MIP-1 α 、MIP-1 β のうち抗 HIV 作用が最も強いのは RANTES である。また in vitro で培養すると PBMC が産生する RANTES 量は個体によって差が大きいことが知られている。そこで RANTES 遺伝子のプロモーター領域に多型が存在するか否か、またその多型が HIV-1 の感染および AIDS 発症に影響をおよぼすか否かを検討した。

(解析 2) CCR5 遺伝子は約 6Kb の領域に 4 つのエクソンが分布している。プロモーター領域と全てのエクソンを含めた約 8Kb の領域にどのような多型が存在するか、またその多型が HIV-1 の感染および AIDS 発症に影響をおよぼすか否かを検討した。

[材料と方法]

(解析 1) 272 名の HIV-1 感染者と 193 名の非感染者の RANTES 遺伝子制御領域の 907 塩基、非翻訳領域の 68 塩基、および翻訳領域 56 塩基を PCR で増幅し、ABI prism 377 DNA Sequencer にて塩基配列を決定した。

(解析 2) 383 名の HIV-1 感染者と 226 名の非感染者の CCR5 遺伝子第 2 イントロン領域の 687 塩基を PCR で増幅した。また、52 名の HIV-1 感染者と非感染者の CCR5 遺伝子を含む 8,170 塩基を PCR で増幅した。そしてこれらの塩基配列を ABI prism 377 DNA Sequencer にて決定した。

[研究結果および考察]

(解析 1) 日本人 HIV-1 感染者および非感染者の RANTES 遺伝子制御領域の塩基配列を決定した結果、転写開始部位から上流に数えて 403 番目に G あるいは A、28 番目に C あるいは G の 2 箇所の遺伝的多型が検出された。そしてこれらの多型の組み合わせにより 3 つの haplotype に分類された。haplotype I は 403 番目が G で 28 番目が C、haplotype II は 403 番目が A で 28 番目が C、haplotype III は 403 番目が A で 28 番目が G であった。日本人 HIV-1 感染者での haplotype I、II、および III の割合は、64.5%、20.0%、および 15.5%、非感染者では 62.4%、21.0%、および 16.6% であり、感染者、非感染者間で差は認められなかった。

126 例の HIV-1 感染者について未治療期の CD4 陽性細胞の減少速度を計算したところ、haplotype III を持たない個体では平均月に 6.86 個であり、haplotype III をホモあるいはヘテロで持つ個体では平均月に 3.04 個であった ($P=0.008$)。従って、haplotype III を持つ日本人集団においては AIDS 病態の進行速度が遅延する可能性が考えられた。

RANTES 制御領域の変異の日本人以外の人種における頻度を明らかにする目的で、中国、タイ、フランス、西アフリカの HIV-1 感染者と非感染者の RANTES 制御領域の多型を検討した。その結果、haplotype III の割合は、それぞれ 13.3%、7.0%、3.0% および 0.0% であり、いずれも日本人の 17.0% より低い頻度を示した。特にアフリカでは haplotype III が全く検出されず、人種によって HIV-1 感染症の病態進行に影響する遺伝因子の分布に大きな差が存在することが明らかになった。

(解析 2) 日本人 HIV-1 感染者および非感染者の CCR5 遺伝子を含む 8,170 塩基の配列を決定した結果、25 箇所の遺伝的多型が認められた。そしてこれらの遺伝的多型によって日本人の CCR5 遺伝子は主に 12 個の haplotype に分類されることが明らかになった。CCR2-64I と連鎖し、AIDS 発症遅延との相関が既に報告されている CCR5-927T は haplotype 6、7、8、9、10 に存在していた。今回検討した HIV-1 非感染日本人集団では CCR5-927T の頻度が 31.4% を超え、またこの変異をホモに持つ個体の割合も 13.3% に達した。しかし、HIV-1 感染者日本人集団では変異頻度は 25.8% ($P=0.037$)、変異をホモに持つ個体の割合は 7.0% ($P=0.012$) であり、いずれも非感染者集団と比較して有

意に低値を示した。従って、CCR5-927T を持つ日本人集団は HIV-1 感染そのものにもある程度抵抗性を示す可能性が示唆された。

137 例の HIV-1 感染者について未治療期の CD4 陽性細胞の減少速度を計算したところ CCR5-927T を持たない個体では平均月に 5.96 個であり、CCR5-927T をホモあるいはヘテロに持つ個体では平均月に 3.73 個であった(P=0.041)。従って、CCR5-927T を持つ日本人 HIV-1 感染者集団においては AIDS 病態の進行速度が遅延することが示唆された。

CCR5-927T は CCR5 の第 2 イントロンの中にあるので、その変異が HIV-1 感染と AIDS 病態進行を直接抑えることの説明は難しく、むしろ CCR2-64I もしくは同じ遺伝子座にあるほかのまだ同定されていない変異と連鎖があり、そのために HIV-1 感染と AIDS 病態進行が抑えられていると考えられた。今後、その変異はどこにあるのか、また、その変異が病態進行や HIV-1 に対する感受性を決定する機構はどのようなものであるのかを解明していく必要がある。

[結語]

以上のように RANTES haplotype III を持つ日本人集団は AIDS 病態進行が遅延すること、および RANTES 制御領域の遺伝的多型の頻度は人種によって大きく異なること、が明らかになった。また、CCR5-927T を持つ日本人集団は AIDS 病態の進行速度が遅延することだけでなく HIV-1 感染そのものにもある程度抵抗性を示す可能性が初めて示された。