

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 細 谷 紀 彰

本研究はヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV) 感染症に対する樹状細胞 (DC) を用いた細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 誘導型の免疫遺伝子治療を目指し、CTL を活性化するための抗原を検討する情報として、日本人で頻度の高い HLA-A24 に注目し、HIV 感染者個体内で CTL の標的となっているウイルスの HLA-A24 拘束性 CTL エピトープのアミノ酸配列を中心に、日本人感染者の中で流行している HIV の特徴を解析した。さらに、DC へ抗原のデリバリーシステムを検討するために、センダイウイルス (SeV) ベクター及び、アデノウイルス (AdV) ベクターを用いて DC への遺伝子導入と、HIV 特異的免疫の誘導について解析を行い、下記の結果を得ている。

1. 日本人 HIV 感染者における HLA-A24 拘束性エピトープのアミノ酸配列を解析した結果、gag28-9、env584-11、nef138-10 エピトープにおいて HLA-A24 陽性者に特異的な変異が明らかとなった。CTL エピトープ内のアミノ酸にバリエーションは少なく、ある特定のアミノ酸への変異であることが示された。gag263-10、gag296-11 エピトープに特徴的なアミノ酸変異はみられなかった。HLA-A24 拘束性 CTL エピトープのアミノ酸配列に変異がみられるものとみられないものが存在することから CTL による選択圧は CTL エピトープによって違いがあると考えられた。
2. HLA-A24 陽性者において CTL エピトープの変異を経時的に調べると、いずれの変異も変化なく保持されたままであった。一方、HLA-A24 陰性者では nef138-10 エピトープに HLA-A24 陽性者で高頻度に見られた変異 (Y2F) が標準株のアミノ酸へと置き換わる変異 (復帰変異) がみられた。このことは Y2F が HLA-A24 による選択圧下でアドバンテージを持つ変異であり、これらの変異を持つウイルスは HLA-A24 陽性 HIV 感染者個体内で安定であることが示唆された。また、日本人の国内性感染群において HLA-A24 陰性者でも Y2F の出現頻度が高く、Y2F

の変異をもつウイルスが、HLA-A24 陽性の頻度が高いという日本の特殊な遺伝的背景のもとで、日本国内で流行していると考えられた。

3. DC への遺伝子導入効率と細胞毒性を SeV ベクター及び、AdV ベクターを用いて解析した。SeV ベクターは DC へ MOI = 2 で感染を行い 24 時間後が細胞毒性も弱く、発現効率が最適であった。SeV ベクターは低い MOI でも効率よく遺伝子導入可能であった。第一世代型 SeV ベクター及び、第二世代型 dF-SeV ベクターでは導入効率、細胞毒性に差は見られなかった。AdV ベクターは DC へ MOI = 1000 で感染を行い 48 時間後が細胞毒性も弱く、発現効率が最適であった。AdV ベクターは MOI をあげれば効率よく感染が行え、細胞毒性も SeV ベクターに比べ弱かった。
4. HIV Gag タンパク質及び、Env タンパク質発現 SeV ベクター、AdV ベクターを用いて DC に HIV タンパク質を効率よく発現させることが可能であることが示された。
5. ウイルスベクター導入 DC の細胞表面マーカーの変化を調べ、ウイルスベクターを導入することによる DC への影響を解析した。SeV ベクター、AdV ベクター共に DC の maturation を誘導する傾向があることが明らかとなった。
6. HIV 感染者由来 DC を用いて HIV 特異的免疫の誘導を IFN- γ の ELISPOT を用いて解析した。SeV ベクター感染 DC、AdV ベクター感染 DC を用いて HIV 特異的免疫を誘導可能であることが示された。

以上、本論分は HIV 感染者個体内の HLA-A24 拘束性 CTL エピトープの配列が明らかとなると共に、日本人における HIV の特有の進化が明らかとなった。また、SeV ベクター、AdV ベクターを用いて DC に効率よく遺伝子導入可能であり、HIV 特異的免疫の誘導が可能であることが明らかとなった。今後 HIV 感染症に対する研究と治療への応用が期待され、日本人 HIV 感染者に対し DC を用いた CTL 誘導型の免疫遺伝子治療を行う場合において重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。