

## 論文の内容の要旨

論文題目	サルエイズモデルにおける細胞傷害性 T リンパ球の標的抗原と機能に関する研究
氏名	石井 洋

細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) はヒト免疫不全ウイルス (HIV) 複製抑制において中心的な役割を担っている。HIV 自然感染においては、感染後に誘導される CTL によるウイルス複製抑制が不十分であり、結果として慢性的なウイルス血症が持続する。よって CTL による HIV 複製制御を目的とする際には、単にウイルス特異的 CTL を誘導するというのではなく、HIV 複製抑制に対してより効果的な CTL を選択的に誘導することが重要となる。CTL のウイルス複製抑制能は、感染細胞への結合能や傷害能に加え、標的抗原の提示効率が影響されると考えられている。また、感染宿主個体内においては多様な CTL が存在し、個体レベルで相互に影響し合っている可能性が考えられる。これらを踏まえ本研究では、サル免疫不全ウイルス (SIV) 感染サルエイズモデルを用いて、個体内で誘導される CTL 反応の標的抗原と、ウイルス複製抑制に関わる機能との関連性について解析した。

### 1. ワクチンによるウイルス曝露後 CTL 反応への影響の解析

これまでに私の所属する研究室において、SIV の構造タンパクである Gag を主抗原とする DNA プライム・センダイウイルス (SeV) ベクターワクチン接種によって、SIV 複製制御に至るビルマ産アカゲザルの一群を同定してきた。これらのサルは主要組織適合遺伝子複合体クラス I (MHC-I) ハプロタイプ 90-120-Ia を共有しており、Gag

を標的とする 2 つのエピトープ特異的 CTL ( $\text{Gag}_{206-216}$  特異的 CTL、 $\text{Gag}_{241-249}$  特異的 CTL) が SIV 複製制御に重要な役割を担っていることが示唆されてきた。ワクチンによりワクチン抗原特異的 CTL メモリーが誘導されている個体において、SIV 曝露後にはワクチン抗原特異的 CTL 反応だけではなく、その他の SIV 抗原特異的 CTL 反応が誘導されることも考えられる。そこでこの MHC-I ハプロタイプ *90-120-Ia* 共有サル群をモデルとして、ワクチンによる CTL 誘導がウイルス曝露後の CTL 反応や SIV 複製抑制へ与える影響を解析した。

具体的には、非ワクチン接種群 ( $n = 6$ )、Gag タンパク発現 SeV ベクターワクチン接種群 (Gag ワクチン接種群 [ $n = 5$ ]) に加え、CTL エピトープを含むオリゴペプチドと EGFP との融合タンパクである  $\text{Gag}_{202-216}$ -EGFP もしくは  $\text{Gag}_{236-250}$ -EGFP のみを発現するワクチン接種群 ( $\text{Gag}_{202-216}$ -EGFP ワクチン接種群 [ $n = 5$ ]、 $\text{Gag}_{236-250}$ -EGFP ワクチン接種群 [ $n = 6$ ]) の SIV チャレンジ実験の比較解析を行った。その結果、SIV 曝露後急性期において、Gag ワクチン接種群では  $\text{Gag}_{206-216}$  特異的 CTL 反応および  $\text{Gag}_{241-249}$  特異的 CTL 反応双方の効率のよい誘導が見られたが、 $\text{Gag}_{202-216}$ -EGFP ワクチン接種群では  $\text{Gag}_{206-216}$  特異的 CTL 反応が優位に誘導され、 $\text{Gag}_{241-249}$  特異的 CTL 反応誘導の遅延が認められた。またワクチンによって  $\text{Gag}_{206-216}$  特異的 CTL を誘導した個体 (Gag ワクチン接種群および  $\text{Gag}_{202-216}$ -EGFP ワクチン接種群) では、 $\text{Gag}_{206-216}$  特異的 CTL からのエスケープ変異 (Gag L216S) の早期選択が認められ、この変異選択が  $\text{Gag}_{206-216}$  特異的 CTL によるウイルス複製抑制に大きく影響を及ぼすことも示唆された。一方  $\text{Gag}_{236-250}$ -EGFP ワクチン接種群では、SIV 曝露後急性期において  $\text{Gag}_{241-249}$  特異的 CTL 反応が優位に誘導され、 $\text{Gag}_{206-216}$  特異的 CTL 反応誘導の遅延が認められた。この群では  $\text{Gag}_{206-216}$  特異的 CTL からのエスケープ変異選択の遅延も認められ、メモリー由来の  $\text{Gag}_{241-249}$  特異的 CTL (ワクチン抗原特異的 CTL) とナイーブ由来の  $\text{Gag}_{206-216}$  特異的 CTL (非ワクチン抗原特異的 CTL) とが協調的に働いていることが示唆された (図 1)。これらの結果は、多様性に富む HIV に対する CTL 誘導型エイズワクチン開発における、抗原選択の論理基盤となる重要な知見であると考えられる。

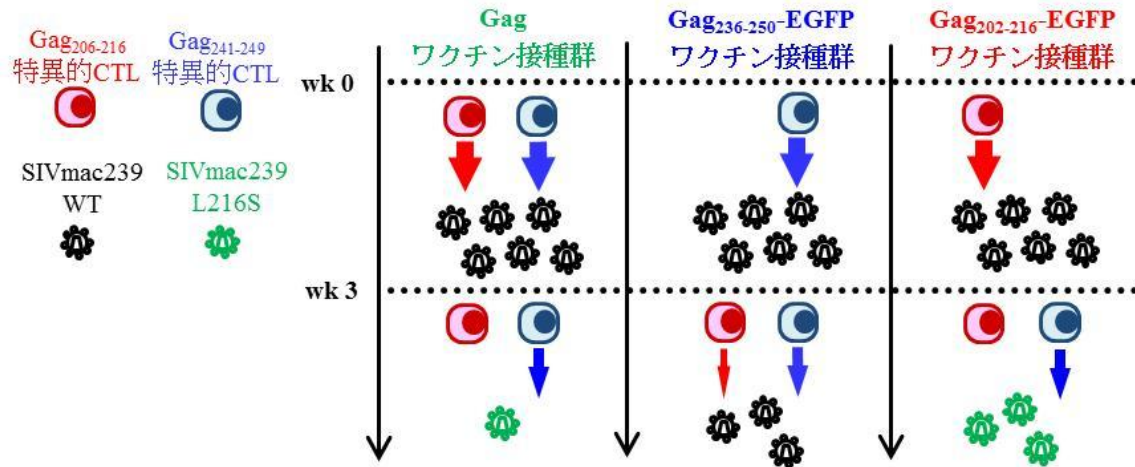


図1 単独エピトープ特異的 CTL 誘導ワクチンによるウイルス曝露後の CTL 反応への影響とエスケープ変異選択によるウイルス複製抑制パターンへの影響

## 2. SIV 感染慢性期における CTL 反応の網羅的解析

宿主個体内において誘導されている CTL の標的抗原と CTL の性質、またそれがウイルス複製制御に及ぼす影響を解析するため、SIV 感染サル 31 頭の感染慢性期サンプルを用いて、特定の MHC-I 拘束性エピトープに依存しない抗原特異的 CTL 反応の網羅的解析を行った。個体内における各抗原特異的 CTL 反応を SIV 複製制御個体と非制御個体との間で比較することによって、CTL 反応とウイルス複製制御との関連性を解析した。また、CTL は分化段階によって様々なメモリーフェノタイプが存在し、フェノタイプによって細胞の自己増殖能や細胞傷害活性、サイトカイン産生能などの機能が異なることが知られている。HIV 感染症においても、持続的な抗原刺激によってウイルス特異的 CTL 中のエフェクター分画の割合が増加することが報告されているが、CTL の標的抗原との関連性については不明である。そこで CTL の機能評価の一つの指標として、各抗原特異的 CTL 集団内におけるセントラルメモリー (CM)、エフェクターメモリー (EM) 分画の割合を解析し、CTL の標的抗原と機能との関連性についても解析した。

PBMC 中における各抗原特異的 CTL 頻度を SIV 複製制御群と非制御群との間で比較した結果、SIV 複製制御群においては Gag 特異的 CTL が、非制御群においては Env の N 末側半分 (Env-N)、Tat、Rev 特異的 CTL が高い頻度を示していた。また、メモリー分画毎に各抗原特異的 CTL 頻度を解析した結果、Gag 特異的 CTL 頻度における差異は主に CM-CTL 頻度の寄与によるものであり、逆に Env-N、Tat、Rev 特異的 CTL 頻度における差異は主に EM-CTL 頻度の寄与によるものであることが示唆された。これらの結果は、CTL の標的抗原およびフェノタイプの違いと、SIV 複製制御・病態進行との関連性を示すものである。本研究は SIV 複製制御に結びつく有効な CTL の標的抗原・フェノタイプの特定に貢献するものであり、HIV 複製制御に結びつく知見であると考えられる。

また興味深いことに、各抗原特異的 CTL 集団内におけるメモリー分画の割合を比較したところ、Env-N 特異的 CTL は他のウイルスタンパク抗原特異的 CTL と比較して有意に EM 分画の割合が高いことが示された (図 2)。今後、これらの機序を詳細に解析することによって、CTL の性質とウイルス複製抑制能との関連性の解明の一助となることが期待される。

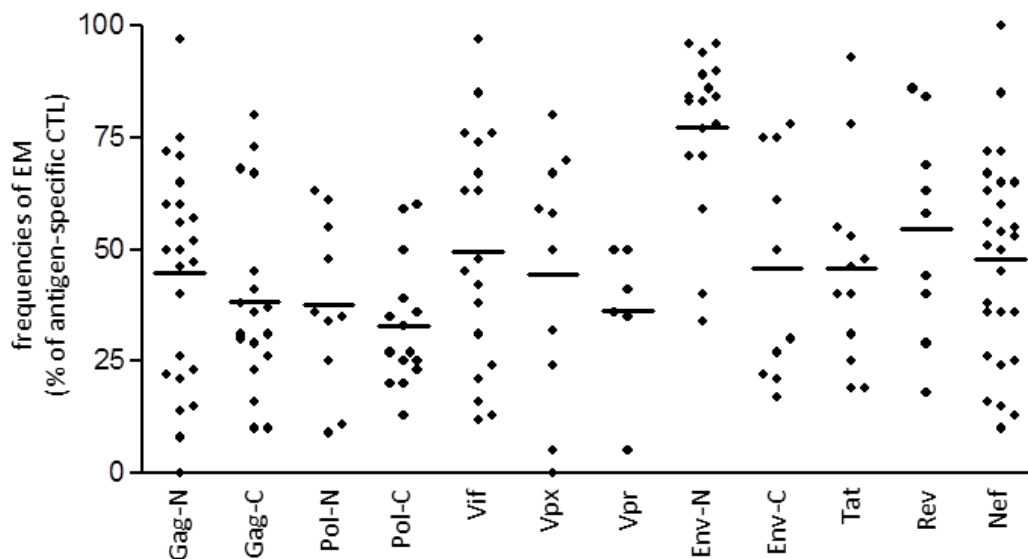


図 2 各抗原特異的 CTL 集団内におけるエフェクターメモリー (EM) 分画の割合