

## 論文の内容の要旨

### 論文題目

サルエイズモデルにおけるウイルス複製制御に結びつく免疫機序に関する研究

岩本 南

ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) はエンベロープを有するプラス鎖の一本鎖 RNA ウイルスで、レトロウイルス科レンチウイルス属に分類される。HIV のゲノムは大きく分けて Gag、Pol、Vif、Vpr、Vpu、Tat、Rev、Env、Nef という 9 種類のウイルスタンパクをコードしている。HIV-1 は自己のゲノムの逆転写産物を宿主細胞の染色体に組み込むという性質を持っており、慢性持続感染を成立させ、後天性免疫不全症候群 (acquired immunodeficiency syndrome, エイズ) を引き起こす。現在は、抗レトロウイルス薬を組み合わせた多剤併用療法 (Highly Active Anti-Retroviral therapy, HAART) によってウイルス複製を抑制し、エイズ発症を遅延させることが可能になっている。しかし、HIV の感染拡大を防ぐには予防的措置は必要不可欠であり、予防エイズワクチン開発は急務とされている。

HIV-1 に対するワクチンの評価・検討や、HIV 複製抑制機構の解析において HIV-1 感染によってエイズ発症に至る動物モデルが理想的とされるが、そういった動物モデルは現在までに報告されていない。そこで、霊長類動物レンチウイルス感染モデルが最適の評価モデルとされ、主に病原性サル免疫不全ウイルス (Simian Immunodeficiency Virus, SIV) またはサルヒト免疫不全ウイルス (Simian/Human immunodeficiency virus, SHIV) 感染マカクモデルが用いられている。

HIV 感染症においてウイルス複製抑制に有効な免疫としては、主に細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) と中和抗体が挙げられる。HIV/SIV 感染症の病態進行は、ウイルス抗原を CTL に提示する抗原提示分子である主要組織適合遺伝子複合体クラス I (Major histocompatibility complex, MHC-I) の遺伝子型に大きく影響される。HIV/SIV 抗原の中でも特に Gag 特異的 CTL 誘導は HIV/SIV 複製抑制と相関することが報告されてお

り、Gag をワクチン抗原とする予防エイズワクチン開発が進められてきている。

本研究室でも、Gag を抗原とした DNA プライム/Gag 発現センダイウイルスベクターブーストワクチンの検討が行われてきた。中でも MHC-I ハプロタイプ 90-120-Ia 共有アカゲザル群は非ワクチン接種の状態において SIVmac239 チャレンジ後に Gag 特異的 CTL が優位に誘導される群であり、この群に Gag を抗原としたワクチン接種を行うことで、SIV 複製制御に至ることを報告している。このアカゲザル群は、Gag の中に Gag<sub>206-216</sub> (IINEEAADWDL)、Gag<sub>241-249</sub> (SSVDEQIQW)、Gag<sub>373-380</sub> (APVPIPFA) という 3 つの CTL エピトープを有しており、これらのエピトープ特異的 CTL からの認識を低下させるエスケープ変異 (L216S、D244E、A373T) の出現が確認されている。Gag ワクチン群へのエスケープ変異体チャレンジ実験によって 3 つの Gag エピトープ特異的 CTL の初期 SIV 複製制御における重要性が示された。しかし、MHC-I 90-120-Ia 共有 SIV 複製制御群において長期 SIV 複製制御の維持に関わる免疫応答については明らかとなっていない。そこで本研究では、MHC-I 90-120-Ia 共有 SIV 複製制御群の長期 SIV 複製制御機序の解析及びそこから見出された結果を元に新たにワクチン実験を行った。

まず、長期 SIV 複製制御に関わる免疫応答の解析では、初期 SIV 複製制御に関わる CTL 応答と長期 SIV 複製制御維持に関わる CTL 応答の違いを明らかにするため、Gag ワクチン接種後、長期 SIV 複製制御に至った MHC-I 90-120-Ia 共有アカゲザル群 8 頭に対して、3 つの Gag 特異的 CTL からのエスケープ変異 5 つ (GagL216S、GagD244E、GagI247L、GagA312V、GagA373T) を有する SIV-G64723mt のスーパーチャレンジを行った。その結果、SIV 特異的中和抗体の誘導なくして全頭で SIV-G64723mt 複製制御に至った。そこで、Gag ワクチン接種後からスーパーチャレンジ後まで経時的に *in vitro* における CD8 陽性細胞の SIV 複製抑制能の解析に加え、IFN- $\gamma$  産生による SIV 特異的 CTL 応答の解析を行った。まず、*in vitro* における CD8 陽性細胞の SIV 複製抑制能の解析では、SIVmac239 および SIV-G64723mt に対する CD8 陽性細胞の SIV 複製抑制能の解析を行った。SIVmac239 に対してはワクチン接種後の CD8 陽性細胞は高い SIV 複製抑制能を示したが、SIV-G64723mt に対しては複製抑制能を示さなかった。この結果から、SIVmac239 に対する複製抑制では、Gag<sub>206-216</sub>、Gag<sub>241-249</sub>、Gag<sub>367-381</sub> 特異的 CTL が中心的な役割を果たすことが示唆された。SIV チャレンジ後になると、いずれの個体でも SIV-G64723mt に対する複製抑制が認められ、SIV 感染後時間経過に

伴い、SIV-G64723mt に対して高い SIV 複製抑制能を示す傾向が認められた。また、SIVmac239 複製抑制能と SIV-G64723mt 複製抑制能に相関は認められなかった。この結果から、SIV 複製制御群の CD8 陽性細胞は SIV 感染慢性期に SIV-G64723mt に対する複製抑制能を獲得したことが明らかとなった。SIV 特異的 CTL 応答の解析では、ワクチンによって誘導した Gag 特異的 CTL に加え、SIV 感染後には複数の抗原特異的 CTL の誘導が認められた。CD8 陽性細胞による SIV 複製抑制能と SIV 特異的 CTL レベルの相関を解析したところ、SIVmac239 複製抑制能は Gag<sub>206-216</sub> および Gag<sub>241-249</sub> 特異的 CTL レベル、Vif 特異的 CTL レベル、Nef 特異的 CTL レベルと相関が認められた。一方、SIV-G64723mt 複製抑制能は Vif 特異的 CTL レベルのみと相関が認められた。以上の結果から、ワクチン接種長期 SIV 複製制御群の SIVmac239 チャレンジ後の CTL の動態が明らかとなった。この研究は、長期の SIV 複製制御の間に CTL エスケープ変異を有する変異体 SIV を複製抑制可能な CD8 陽性細胞が誘導されることを示唆しており、SIV 複製制御群における広範な CTL 応答誘導機序の解明は、多様性に富んだ HIV に対するワクチン開発に大きく寄与すると考えられる。

次に我々は、この結果をもとに、MHC-I 90-010-Ie 共有アカゲザル群 19 頭において Gag、Vif、Nef のワクチン抗原としての有効性の検討を行った。このうち 8 頭が非ワクチン接種群、5 頭が Gag ワクチン群、6 頭が Vif/Nef ワクチン群である。また、MHC-I 90-010-Ie 共有アカゲザル群は SIV 感染後に Nef 特異的 CTL を優位に誘導する群であるため、Gag および Vif 特異的 CTL が優位に誘導されない群におけるワクチンによる subdominant Gag または Vif 特異的 CTL 誘導が SIV 複製にどのような影響を与えるのかについても解析を行った。SIVmac239 チャレンジの結果、非ワクチン接種群ではいずれの個体も高ウイルス血症を示した。Gag ワクチン群では 5 頭中 3 頭が SIV 複製制御に至り、SIV 複製制御群では SIV 感染急性期に Gag 特異的 CTL が高頻度で誘導されていた。一方、Vif/Nef ワクチン群では 6 頭中 3 頭が血漿中ウイルス量の低下を示した。Vif/Nef ワクチン群でウイルス量の低下を示した個体では、SIV 感染急性期に Vif 特異的 CTL が優位に誘導されており、非 SIV 複製制御個体では Nef 特異的 CTL のみが誘導されていた。SIV 感染後 2 週の Vif または Nef 特異的 CTL レベルと SIV 感染後慢性期の血漿中ウイルス量の相関を解析したところ、Vif 特異的 CTL レベルは血漿中ウイルス量と有意な逆相関を示し、Nef 特異的 CTL レベルは血漿中ウイルス量と有意な相関を示した。また、Vif/Nef ワクチン群においてワクチンによって誘導された

CTL 誘導パターンが SIV 複製制御に与える影響を解析するため、Vif 特異的 CTL レベルと Nef 特異的 CTL レベルの比をとり、SIV 感染後慢性期の血漿中ウイルス量と相関を調べたところ、Vif/Nef CTL 比は SIV 感染後 6 ヶ月および 1 年の血漿中ウイルス量と優位な逆相関を示した。

これらの結果は protective allele を持たないアカゲザル群においてワクチンによる Vif 特異的 CTL 誘導が SIV 複製制御における有効性を初めて報告した点で重要である。また、subdominant CTL をワクチンによって誘導することの妥当性を証明した。

本研究では、長期 SIV 複製制御群における SIV 特異的 CTL の解析を行い、Gag エピトープに加え、Vif および Nef 特異的 CTL 頻度が *in vitro* における CD8 陽性細胞の SIV 複製抑制能と相関することを見出した。この結果をもとに、Gag、Vif、Nef を抗原とした CTL 誘導ワクチン接種実験を行ったところ、ワクチンによる CTL メモリー誘導が SIV 曝露後感染急性期の Gag 特異的 CTL あるいは Vif 特異的 CTL 反応誘導に結びつくことで SIV 複製制御につながる事が明らかとなった。本研究は予防エイズワクチン開発の抗原選択において重要な知見を与えるものである。