

[課程-2]

審査の結果の要旨

氏名 岩本 南

本研究では、HIV 複製制御に結びつく免疫機序の解明に向け、サル免疫不全ウイルス (SIV) 感染サルエイズモデルにおける細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) 反応の解析を行った。まず、DNA プライム/センダイウイルスベクターブーストワクチン接種による Gag 抗原特異的 CTL 誘導によって、SIVmac239 チャレンジ後 1 年以上の長期 SIV 複製制御に至った主要組織適合遺伝子複合体 (MHC) クラス I ハプロタイプ 90-120-Ia 共有アカゲザル群において、SIV 複製制御維持に関わる免疫応答の解析を行い、下記の結果を得た。

1. ワクチン接種・SIV チャレンジ後 SIV 複製制御に至った 90-120-Ia 共有サルの慢性期に、90-120-Ia 共有群の SIV 複製制御に中心的役割を果たすことが判明している 3 つの Gag エピトープ (Gag₂₀₆₋₂₁₆、Gag₂₄₁₋₂₄₉、Gag₃₇₃₋₃₈₀) 特異的 CTL からの逃避変異を有する変異 SIV (SIV-G64723mt) を用いたスーパーチャレンジ実験を行った結果、変異 SIV の複製が制御されることが明らかとなった。ワクチン接種後の変異 SIV チャレンジ実験では複製制御に至らないことから、これらの長期 SIV 複製制御群では、野生型 SIV チャレンジ後に変異 SIV 複製制御能を獲得したと考えられた。
2. SIV チャレンジ後に獲得した変異 SIV 複製制御能に関する知見を得るため、ワクチン接種後からスーパーチャレンジ後までの CD8 陽性細胞の SIVmac239 および SIV-G64723mt に対する複製抑制能を *in vitro* viral suppression assay により経時的に解析した。なお、いずれの個体においても SIV 特異的中和抗体誘導は認められなかった。ワクチン接種後の CD8 陽性細胞は、SIVmac239 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。しかし、SIV チャレンジ後の CD8 陽性細胞は SIVmac239 および SIV-G64723mt 双方に対して高い SIV 複製抑制能を示した。このことから、SIVmac239 チャレンジ後に誘導された SIV 特異的 CTL 応答が SIV-G64723mt 複製制御に関与したことが示唆された。
3. SIV チャレンジ後の SIV 特異的 CTL 応答を解析した結果、SIV チャレンジ後早期から Gag のみならず、複数の SIV 抗原特異的 CTL が誘導されていた。そこで、*in vitro* の CD8 陽性細胞の SIV 複製抑制能と SIV 特異的 CTL レベルの相関解析を行った結果、SIVmac239 複製抑制能は Gag₂₀₆₋₂₁₆・₂₄₁₋₂₄₉ エピトープ、Vif、Nef 特異的 CTL レベルと相関が認められ、SIV-G64723mt 複製抑制能は Vif 特異的 CTL レベルと相関が認められた。

これらの結果は、長期 SIV 複製制御群における細胞性免疫応答のダイナミクスを示すものであり、さらに、CD8 陽性細胞の SIV 複製抑制能と特定の SIV 抗原特異的 CTL 反応との相関を明らかにした点でも重要である。

これらの結果から、これまで指摘されてきた Gag 抗原特異的 CTL の有効性のみならず、Vif および Nef 抗原特異的 CTL の有効性が示唆されたことから、ワクチンによるこれらの抗原特異的 CTL メモリー誘導が SIV 複製制御に結びつくかどうかを検討することとした。本実験では、元来 Gag 特異的 CTL 反応が優位に誘導される MHC-I ハプロタイプ 90-120-Ia 共有群とは異なり、ワクチン非接種では SIV チャレンジ後に Gag 特異的 CTL 反応が優位に誘導されず Nef 特異的 CTL 反応が優位に誘導される MHC クラス I ハプロタイプ 90-010-Ie 共有アカゲザル群を用いて解析を行うこととした。ワクチンによる Gag、Vif、Nef 特異的 CTL 誘導が *in vivo* の SIV 複製に与える影響の解析を行い、下記の結果を得た。

4. Gag ワクチン接種群では、5 頭中 3 頭で SIV 複製制御に至り、SIV 複製制御個体では、SIV 感染急性期に Gag 特異的 CTL が高頻度で誘導されていた。このことから、MHC クラス I ハプロタイプ 90-010-Ie 共有アカゲザル群においてもワクチン接種による SIV 感染急性期の効率の良い Gag 特異的 CTL 誘導が初期 SIV 複製制御に有効であることが示唆された。
5. Vif/Nef ワクチン接種群では、6 頭中 3 頭で SIV 複製制御に至り、特に SIV 感染急性期に Vif 特異的 CTL が優位に誘導された個体で SIV 複製制御に至った。興味深いことに、感染急性期の Vif 特異的 CTL レベルと Nef 特異的 CTL レベルの比は、感染後 6 ヶ月および 1 年の血漿中ウイルス量と顕著な逆相関を示した。この結果から、ワクチンによる CTL メモリー誘導が SIV 曝露後急性期の優位な Vif 特異的 CTL 誘導に結びつけば SIV 複製制御に至る可能性が示された。

これらの結果は、MHC-I ハプロタイプ 90-120-Ia 共有群および 90-010-Ie 共有群の解析で得られたものであり、Gag 特異的 CTL・Vif 特異的 CTL の有効性が特定の MHC-I ハプロタイプ由来の MHC-I 拘束性エピトープ特異的 CTL 反応に限局するものでなく、一般論として適応できる可能性が高いと考えている。

以上、本論文は、protective allele を持たないアカゲザル群において、予防ワクチン接種が、SIV 曝露後急性期の Gag または Vif 特異的 CTL 反応の優位な誘導に結びつけば、SIV 複製制御に至りうることを示した。特に、感染急性期の優位な Vif 特異的 CTL 反応が SIV 複製制御に貢献しうることを示した初めての報告である。これらの結果から、HIV 曝露後急性期の優位な Gag および Vif 特異的 CTL 反応誘導に結びつくワクチン戦略の合理性が示唆された。このように本論文は、HIV 複製制御に結びつく免疫機序の解明に資するものであることに加え、CTL 誘導型予防エイズワクチン開発における抗原選択において有用かつ重要な情報を提供するものであり、学位授与に値するものである。