

## 論文の内容の要旨

### 論文題目

サルエイズモデルにおける MHC-I ハプロタイプと病態進行の相関  
および潜伏感染動態に関する研究

野村 拓志

ヒト免疫不全ウイルス (HIV) による HIV 感染者数は今日でも増加傾向にある。抗 HIV 薬剤による治療が行われるようになったことで、AIDS の発症の遅延が可能となったが、持続感染症である HIV 感染症の病態の進行を抑えるためには抗 HIV 薬を服用し続ける必要がある。現段階において有効な予防エイズワクチンは実用化されていないが、HIV 感染時の血中ウイルス量を減少させ、AIDS 発症までの期間を延長する予防ワクチンの開発により、HIV 感染リスクを軽減し、集団中の伝播を抑制できると考えられる。

HIV 感染症およびサル免疫不全ウイルス (SIV) 感染症においては、感染急性期に有効な中和抗体応答は認められず、ウイルスは排除されずに慢性持続感染が成立し、最終的に宿主は AIDS 発症に至る。一方でウイルス特異的 CTL 応答は、一定のウイルス複製制御への寄与を示し、血中ウイルス量は急性期のピークからセットポイント期の水準までに抑制される。ウイルスの構造タンパク質である Gag に対する CTL はウイルス複製制御に大きく関わる事が示されている。CTL の反応性は MHC-I の遺伝子型に大きく影響される。MHC-I の遺伝子型と HIV-1 の病態進行の関連が報告されている。同様に、SIV 感染アカゲザルエイズモデルにおいても、MHC-I 遺伝子型と病態進行が相関することが報告されている。しかし、MHC-I をハプロタイプレベルでの共有する群を用いた解析は殆ど行われておらず、所属研究室では共有群の樹立が進められていた。

そこで私は、SIV に感染した MHC-I ハプロタイプ *90-120-Ia* (A, 6 頭)、*90-010-Ie* (E, 6 頭)、*90-120-Ib* (B, 4 頭) または *90-088-Ij* (J, 4 頭) をそれぞれ共有するミャンマーおよびラオス起源の 4 つのビルマ産アカゲサル群の比較解析を行った (第一章)。

血漿中ウイルス RNA 量、IFN- $\gamma$  産生 SIV 抗原特異的 CTL レベル、血漿中ウイルス RNA の遺伝子配列を継時的に解析した結果、多くの個体はセットポイント期に高い持続的なウイルス血症を呈し、4 年以内にエイズ発症に至った。A 共有群の 6 頭中 2 頭は一時血漿中ウイルス RNA 量を検出限界以下まで抑制した。他群では、全ての個体が高いセットポイント期の血中ウイルス量を示した。特に J 共有群では、長期の経過観察を行った 4 個体のうち 3 個体が 1 年以内の早期に AIDS 発症に至った。感染急性期においては各群間の血中ウイルス量に有意な差は認められなかったが、セットポイント期では、A 共有群では低く、J 共有群では高く、E・B 共有群では中間の値をとる傾向がみられた。感染後 6 ヶ月における多群検定では、A 共有群は J 共有群より有意に低い値を示した。病態の進行を示す指標である CD4 陽性 T 細胞数の減少についても A 共有群で減少が小さく、J 共有群で減少が大きかった。感染早期である感染後 3 ヶ月および感染慢性期である感染後 1 年の CTL 応答を評価したところ、A 共有群は Gag 特異的 CTL 応答を示した。A・E・

B 共有群は Nef 特異的 CTL 応答を示した。SIV 全抗原に対する特異的 CTL 応答の和に各群間で有意な差はみられなかったが、A 共有群は他群に対し高い Gag 特異的 CTL 応答を示した。続いて感染後 1 年の血漿中ウイルス RNA からウイルスゲノムを増幅し、アミノ酸置換変異体数を解析比較した。SIV 全タンパクにおけるアミノ酸変異数に大きな差は認められなかったが、A 共有群は他群に対し Gag におけるアミノ酸変異数が多かった。これらの結果から A 共有群は、SIV 感染に対して Gag 特異的 CTL 応答が強い複製抑制圧を示していることが示唆された。

本研究は、ビルマ産アカゲザル SIV 感染エイズモデルにおける病態進行が MHC-I ハプロタイプの遺伝子型に相関することが示すものである。A 共有個体群は強い Gag 特異的 CTL 応答を示し、セットポイント期の血中ウイルス量が低く、病態進行が遅かった。一方で、J 共有個体群はセットポイント期の血中ウイルス量が高く、病態進行が早い傾向が認められた。これらから、MHC-I ハプロタイプ共有ビルマ産アカゲザル群 SIV 感染モデルは、CTL 応答が AIDS 発症に及ぼす影響等の解明に貢献しうることに加え、ワクチン等の評価モデルとしても有用であると考えられる。

A 共有群は Gag および Nef 特異的 CTL 応答を強く示し、他群よりもセットポイント期のウイルス量が少ない傾向がある。所属研究室で開発中の Gag 発現センダイウイルスベクターを用いた CTL 誘導型予防エイズワクチンを接種した A 共有群は、強い Gag 特異的 CTL 応答を示し、特に優位に誘導される Gag ドミナントエピトープである Gag<sub>206-216</sub>、Gag<sub>241-249</sub> および Gag<sub>367-381</sub> に対する CTL 応答はウイルス複製制御に強く寄与すると考えられている。多くの個体は感染後、血中ウイルス量を検出限界未満に抑制するが、過去の研究によると、感染慢性期に CTL 逃避変異体を選択され増殖することで、最終的に AIDS を発症する個体が存在する。このように複製制御個体間においても CTL 逃避変異の蓄積による病態進行の可能性のあるものの、その進行に関与する要因は不明である。

そこで私は、長期間にわたって SIV 複製を制御している A 共有群 (11 頭) における感染慢性期のウイルスゲノムの検出・解析を試みた (第二章)。さらに、ウイルス特異的 CTL 応答を経時的に解析し、その遷移とウイルスゲノム変異解析結果との関連を検討した。

SIV 複製制御個体由来の CD4 陽性 T 細胞から得られたプロウイルスの gag 塩基配列を解析したところ、変異が認められないグループ I (6 個体) と、CTL 逃避変異を含む数多くの変異が認められるグループ II (5 個体) に二分された。各 SIV 抗原特異的 CTL 応答の評価を行った結果、感染後早期では両群ともに Gag および Nef 特異的 CTL が優位であり、グループ I では感染後 2 年でもこの傾向は変わらなかった。しかしグループ II では感染からの時間の経過に従い、Gag 特異的 CTL 応答が消退する傾向がみられた一方で、Gag および Nef 以外の抗原特異的 CTL 応答が認められた。感染後 2 年以降の経過観察により、グループ II の 4 個体において CTL 逃避変異体による血中ウイルス量の再出現がみられたが、グループ I ではみられなかった。これらの結果から、グループ I の複製制御状態はグループ II と比較してより安定であると考えられた。

本研究は、MHC-I ハプロタイプ A 共有 SIV 複製制御個体において、プロウイルスゲノムにおける変異蓄積と、CTL 応答パターンの変化が関連することを示し、変異蓄積が認められないグループ I はより安定した複製制御状態にある事が示唆された。HIV または SIV 感染症におけるウイルスの完全な排除は、将来的な治療の最終目標である。低レベルのウイルス複製の持続を減少させ、CTL 逃避変異の蓄積を抑制し、宿主の CTL 応答の有効性を保持させることは、ウイルスの完全な排除あるいは機能的排除の実現に必要な課題である。このような SIV 複製制御個体におけるウイ

ルス逃避変異の選択・増殖および宿主免疫応答のメカニズムの解明は、HIV 感染症の治癒を目指した治療法や、AIDS 発症の完全な防御を目標とした CTL 誘導型予防エイズワクチンの開発の前進に寄与すると考えられる。