

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：HTLV-1 予防ワクチンの開発に関する研究

2. 研究開発代表者：長谷川秀樹（国立感染症研究所 感染病理部）

3. 研究開発の成果

HTLV-1 感染者は国内に約 108 万人以上いると推定され、九州地方に限局していた感染者が関東や関西の大都市圏では増加傾向にあり、全国への拡散傾向が見られている。しかし、HTLV-1 の感染を完全に予防できる方法やワクチンは確立されておらず、HTLV-1 感染および関連疾患を予防するワクチンの開発が急務である。本研究課題では、HTLV-1 感染・発症メカニズムを理解した上で感染防御抗体・細胞傷害性 T 細胞を誘導できるワクチン設計を行い、感染予防または発症予防ワクチン開発を目指す。

HTLV-1 の感染は、ウイルス表面の Env タンパク質に対する中和抗体により阻害されることから、Env タンパク質を主要抗原とする不活化ワクチンが感染予防ワクチンになりうる。哺乳類細胞発現系、細菌発現系ならびに昆虫細胞発現系を用いた組換え Env タンパク質の発現検討から、培養上清へ分泌は少ないものの、昆虫細胞発現系において細胞の不溶画分に非常に高い発現を認めた。そこで、Env タンパク質の発現量が最も多くなる培養条件と可溶化する条件の検討を行った。陽イオン界面活性剤、陰イオン界面活性剤、両性界面活性剤ならびに非イオン界面活性剤に関して、単独あるいは混合使用ならびにそれぞれの濃度等の検討を行うことで、Env タンパク質の発現量を最も多くする培養時間と可溶化効率の最も高い抽出条件を決定した。さらに、この不溶画分からの抽出液に関する Native-PAGE ならびにサイズ排除クロマトグラフィーを用いた解析から、設定した抽出条件で可溶化された Env タンパク質は、三量体構造を保持している可能性が示唆された。

ウイルスベクターを用いた発症予防ワクチンに関する研究では、Tax 発現アデノウイルス (Ad-Tax) ベクターワクチンの Tax 特異的 CD4 陽性 T 細胞誘導能を認めたものの、Tax 特異的 CD8 陽性 T 細胞誘導は認められず、Tax トランスジェニックマウス由来 ATL 細胞排除効果は十分ではなかった。また、エイズワクチンとして臨床研究実施の実績があるベクターを用いて、HTLV-1 Env 抗原発現ベクターを構築した。

ワクチン評価系の作製では、新たな HTLV-1 関連疾患 ATL モデルの作製を目指し、tax 及びプロテアソームサブユニットの遺伝子改変動物を作製し、ATL 発症の経時的変化を検討した。プロテアソーム活性の低下により、tax 発現に有意な変化は認めなかったが、発症までの期間が短縮される傾向が認められた。ATL 細胞に対する細胞性免疫とプロテアソーム発現の関連を検討する目的で、ATL 細胞移入モデルを作製しウイルス特異的 CTL に関する解析を行った。その結果、免疫型プロテアソームの異常により、CTL 応答の減弱が認められることが明らかになった。また、持続感染ヒト化マウスを用いて、ワクチンに使用するアジュバントの選定を行い、ヒト用に改良された低毒性型 polyI:C でも感染予防効果が得られることを明らかにした。

HTLV-1 感染者の血清中抗 HTLV-1 抗体プロファイルを関連疾患発症予測や治療予後判定に応用するために、アルファスクリーン法を用いた新規 HTLV-1 微量抗体検出法を開発した。アルファスクリーン法を用いた抗原抗体反応の検出系は、既法の ELISA 法と比較して SN 比および抗体検出限界感度において 10 倍以上の好成績を示した。

4. その他

なし