

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： エイズ治療を目指した HIV 免疫の研究
2. 研究開発代表者： 滝口 雅文（熊本大学エイズ学研究センター）
3. 研究開発の成果

免疫系による免疫逃避ウイルスや潜伏感染ウイルスを排除する方法のための基盤的研究を行い、以下のような成果が得られた。

### 1) HIV-1 をコントロールする細胞傷害性T細胞(CTL)の解析

13種類の CTL エピトープに対するT細胞が、日本人の感染者では HIV-1 をコントロールすることを明らかにした。HIV-1 感染者から誘導し、これら13種類の CTL クローンを樹立し、これらの CTL クローンは、すべて HIV-1 感染細胞を認識できることを明らかにした。8種類のエピトープは変異が無く保存された部位であり、4種類は変異が一部の患者のウイルスに見られたが、CTL により認識が可能な交叉エピトープであることが分かり、この12種類のCTLは免疫治療に使う事が有効と考えられた。

### 2) 臨床検体由来 HIV を広範囲に中和する抗体に関する研究

抗 HIV 中和単クローン抗体産生 B 細胞から、V3 抗体6種類、CD4-induced 抗体 6 種類、CD4 binding site 抗体1種類の組換え抗体を作成した。遺伝子解析の結果、抗体の標的エピトープと使用遺伝子との強い関連が示唆された。より効率的な単クローン抗体分離のため、抗 HIV-1 抗体発現 B 細胞を標識するためのプローブの開発も行った。6人の日本人患者から env 遺伝子をクローニングし、Env タンパク質の発現とシュードウイルスの感染性を確認した。

### 3) CTL 逃避変異が薬剤感受性に与える影響の解析

世界各地における rilpivirine 耐性変異である逆転写酵素 E138A/G/K/R の頻度を調べた。この変異は HLA-B\*18 拘束性 CTL からの逃避変異であるため、その頻度が HLA-B\*18 の分布と相関するかを調べた。耐性変異 E138A/G/K/R の頻度を地域で平均すると、アジアは 1.3%、北米・中米は 3.1%、欧州は 4.7%、アフリカは 5.2%であり、欧州とアフリカはそれぞれアジアと北米・中米よりも有意に E138A/G/K/R の頻度が高かった。欧州とアフリカは、HLA-B\*18 が多い地域と報告されており、HLA-B\*18 陰性の感染者にもこの変異が拮がっていると推察された。

### 4) HIV-1 潜伏感染細胞からの感染拡大の阻止法確立の研究

青色蛍光タンパク質(BFP)をコードする複製可能な HIV-1 を、ヒト T 細胞株である Jurkat 細胞に導入し、HIV-1 潜伏感染細胞を数クローン樹立した。これを用いて、HIV 非感染細胞との細胞間感染の評価系を構築した。種々の細胞活性化試薬の潜伏感染活性化能を、上記評価系を用いて評価した。プロウイルス活性化能を有する数種類の化合物で本細胞を刺激したところ、特異的に BFP の発現を誘導する化合物を確認した。

### 5) 新規 HIV-1 潜伏感染細胞 fibrocyte の解析とその排除法の開発

培養系及び HIV 慢性感染者末梢血の2方向の解析から、分離後 fibrocytes に組込 HIV ゲノムを認め、HIV 遺伝子・蛋白質発現及びウイルス粒子産生を認める等、fibrocytes が HIV 標的細胞である事を発見した。更に ART 治療後の HIV 慢性感染者検体の HIV ゲノム解析から、この細胞に HIV が潜伏感染する可能性を見出した。

### 6) 潜伏感染細胞の免疫細胞による排除に関する研究

HIV 潜伏感染細胞活性化に必要なアジュバント製剤スクリーニング系樹立の基礎となる、ヒト CD4T 細胞を作製する実験系を確立した。具体的には、ヒト PBMC から CD4 陽性細胞を分離、抗 CD3+CD28 抗体で刺激後に Bcl2 発現レンチウイルスベクターを感染させ、その後培養と細胞の純化をおこない、最終的にほぼ全ての細胞が bcl2 陽性となった。また作製した細胞の表現系を解析したところ CD69 発現は一部残るものの、CD25 や HLA-DR の発現は陰性となり、長期間培養することが可能な休止期 CD4T 細胞を樹立することが出来た。