

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：HIV 感染症治癒を目指した iPS 細胞由来 T 細胞による新規免疫細胞療法に関する研究

2. 研究開発代表者：立川 愛 (国立感染症研究所)

3. 研究開発の成果

HIV 感染症治癒を目指した新規治療戦略において、HIV 特異的 CTL は HIV 潜伏感染細胞排除を達成し得るエフェクターであるが、HIV 感染者の T 細胞は老化状態にあり、機能低下に陥っていることが明らかとなっている。本研究開発課題は iPS 細胞技術で再生した HIV 特異的 CTL による新規免疫細胞療法を提案し、その基礎を確立することを目的とする。臨床応用を見据えた免疫細胞療法の開発では、霊長類を用いた個体レベルでの検証は、有意義かつ重要である。本研究では、細胞性免疫応答の解析系が整ったアカゲザルでのサルエイズモデルを用いて移植実験を行い、iPS 細胞に由来する T 細胞を用いた免疫細胞療法の有効性について検証する。

初年度である本年度は、サルでの移植実験実施に向けて基盤整備を行った。実験に用いるアカゲザル集団での MHC クラス I 遺伝子の構造と発現性について解析を行うとともに、当該サルの有する MHC クラス I ハプロタイプに拘束性の複数の SIV エピトープについて、逃避変異ウイルスに対する交差反応性について検討を行うことで、移植実験で使用する SIV 特異的 CTL の標的とするエピトープを選定した。

HIV 感染者あるいは SIV 感染サル試料から HIV/SIV 特異的 CTL クローンを樹立し、ヒト T 細胞からの iPS(T-iPS)細胞作製技術と再分化誘導技術を基に、HIV/SIV 特異的 CTL クローンからの T-iPS 細胞の樹立法を確立した。これらの T-iPS 細胞から T 細胞への再分化法の技術開発を行い、T-iPSC 由来 T 細胞を作製した。試験管内での検討で、作製した T-iPSC 由来 T 細胞が高い増殖能と CTL 機能を有していることがわかった。HIV 特異的 T-iPSC 由来 T 細胞については、次年度 HIV 感染ヒト化マウスモデルでの検討を行う。さらに、移植細胞の追跡やイメージング解析に必要なマーカー遺伝子の導入について検討を行い、T-iPSC 由来 T 細胞への高率な遺伝子導入を達成し、サルへの移植実験に使用可能な高品質の T-iPSC 由来 T 細胞の作製に成功した。並行して、サルへの T-iPSC 由来 T 細胞移植実験のプロトコルを策定し、移植後の解析に必要な体制を整えた。本研究で提案する免疫細胞療法は cART との併用を念頭においているため、SIV 感染サルでの多剤併用療法(cART)による治療モデル系の構築も進めており、血中ウイルス量を検出限界以下に抑制可能な治療レジメンを決定した。これらの検討結果を踏まえ、次年度初頭よりアカゲザルへの T-iPSC 由来 T 細胞移植実験を開始する。

サル個体への移植実験では、移植後の T-iPSC 由来 T 細胞の体内動態を明らかにするため、PET イメージングによる解析を予定している。サルでの PET イメージング解析を可能とするリポーター遺伝子と PET プローブを選定し、その標識合成法について検討を進めている。また、潜伏感染細胞排除効果の検証のため、HIV 潜伏感染細胞の定量系の開発を行い、感染細胞中の転写産物である短鎖 RNA を用いた高感度検出系を作出した。

HIV 特異的 CTL 応答は標的部位や HLA クラス I (HLA-I)拘束性により抗 HIV 効果が異なり、対象とするエピトープの選定が重要であるため、サル個体での検証と並行し、HIV 潜伏感染細胞排除に有効な HIV 特異的 CTL の探索を行う。CTL による抗原認識に影響を与える要因として、Nef の HLA-I 分子の発現低下活性に注目した HIV 感染者由来の Nef の機能解析、また再活性化された潜伏感染細胞での抗原提示動態の解析を進めている。