

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金 (エイズ対策実用化研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) エイズ対策実用化研究事業
(英語) Research Program on HIV/AIDS

補助事業課題名： (日本語) CD8 陽性 T 細胞誘導 HIV ワクチンの腸管感染防御能に関する研究
(英語) Protective efficacy of a CD8⁺ T cell-inducing HIV vaccine against intestinal mucosal infection

補助事業担当者 (日本語) 寺原 和孝
所属 役職 氏名： (英語) National Institute of Infectious Diseases, Senior Researcher, Kazutaka Terahara

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究課題名： (日本語)
(英語)

補助事業分担者 (日本語)
所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

和文

寺原(補助事業代表者)は、サル直腸生検サンプルから得られる T 細胞について、フローサイトトメトリーによる腸管感染免疫評価系の確立に取り組み、これまで末梢血 T 細胞を対象に確立した 9 種類多重染色パネルに新たに IL-17A, CD28, CD95、PD-1 を加えた 13 種類多重染色機能評価系を確立した。

俣野(補助事業分担者)は、断片連結抗原ワクチン接種サルにおいて SIV 静注チャレンジ後の感染免疫学的解析を行い、ワクチン接種サルにおいて、SIV 感染後急性期の Gag・Vif 抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞反応を確認した。ワクチン接種サル全頭での SIV 複製制御には至らなかったが、一部で SIV 複製制御に至ったことから、長期解析が可能となった。

野村(補助事業分担者)は、肺および腸管等の各種組織由来マクロファージおよび樹状細胞調製法を確立することを主要な目標とした。長期 SIV 感染サルの肺および腸管生検サンプルあるい

は安楽殺時の各組織由来の細胞の 10 種類多重染色解析により、各種組織由来のマクロファージおよび樹状細胞を詳細に分画できた。またセルソーターを用いた、肺および腸組織由来の pDC、mDC およびマクロファージの sorting 法を確立した。

木村（補助事業分担者）は、次世代シーケンサーを用いたアカゲザルの MHC クラス I 領域遺伝子の多様性解析手法の開発に取り組み、改良を重ねることでハプロタイプ a を構成する全アレルを同定することが出来た。また、アカゲザルおよびカニクイザルを対象として、ULBP5 遺伝子の多様性解析を実施した。一方、インド人 HIV 感染者について OAS1 遺伝子の多型を検討し、rs10774671AA 遺伝子型では血中 HIV 量が有意に低値であることを見出した。また、APOBEC3H および NFKBIL1 の多型と HIV 感染感受性との関連を見出した。

松岡（補助事業分担者）は、臨床試験対象候補地域である西アフリカにおける地域最適化 HIV 断片連結抗原を設計、及び臨床試験有効性評価試験の基盤情報に結びつけることを目的に、当該地域における HIV 流行株のゲノム情報、宿主 HIV 感受性関連因子情報の解析を推進した。平成 28 年度はこれまで共同研究を進めてきたガーナ野口記念医学研究所の協力を得て、新たに 100 検体の HIV ゲノム解析を行い、情報を蓄積した。

英文

(Terahara: PI) We aimed to develop a flow cytometry technique that allows to evaluate immune profiling of T cells derived from rectal biopsy specimens of macaques. We modified the flow cytometry technique that had been developed for analyzing immune profiling of T cells from PBMC consisting of 9-color staining panels, and newly developed a 13-color flow cytometry additionally consisting of IL-17A, CD28, CD95 and PD-1 staining panels for intestinal T cells.

(Matano: co-I) We performed an intravenous SIV challenge experiment in macaques immunized with a vaccine expressing tandemly-linked fragments and found induction of Gag- and Vif-specific CD8⁺ T-cell responses in the acute phase post-challenge. Some vaccinated animals showed control of SIV replication, and these SIV controllers can be used for analysis of the mechanism of long-term viral control.

(Nomura: co-I) Establishment of methodologies for sorting of monocyte lineage cells derived from lung and gut tissues of macaques was primary object. Macrophage cell subsets, plasmacytoid and myeloid dendritic cell subsets in tissue samples derived from macaques infected with SIV were detected and sorted by multicolor staining analysis using FACS Aria.

(Kimura: co-I) We have developed a novel method for identification of MHC class I alleles in rhesus macaques based on the next-generation sequencing. By using our method, we could identify Mamu-A and Mamu-B alleles composing of haplotype 'a' including several alleles with very low expression levels. In addition, diversities of ULBP5 genes were analyzed in rhesus macaques and cynomolgus macaques. On the other hand, we found that the OAS1 polymorphisms were associated with viral load in patients with HIV-1 infection. Moreover, polymorphisms in APOBEC3H and NFKBIL1 were associated with the susceptibility to HIV-1 infection.

(Matsuoka: co-I) To develop an optimal vaccine immunogen specific for West African population, it is important to recognize to traits of current epidemic HIV-1 strain in that area. In this study, we collected plasma samples derived from Ghanaian HIV-1 infected individuals in collaboration with Noguchi Memorial Institute for Medical research, Ghana, and conducted sequencing analysis of HIV-1 genome. In 2016, we obtained approximately 100

viral genome sequences, and accumulated in the database.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 3件）

1. Wada Y, Nithichanon A, Nobusawa E, Moise L, Martin W, Yamamoto N, Terahara K, Hagiwara H, Odagiri T, Tashiro M, Lertmemongkolchai G, Takeyama H, Groot AD, Ato M, Takahashi Y. A humanized mouse model identifies key amino acids for low immunogenicity of H7N9 vaccines. *Sci Rep*. 2017, 7(1), 1283.
2. Tsunetsugu-Yokota Y, Kobayashi-Ishihara M, Wada Y, Terahara K, Takeyama H, Kawana-Tachikawa A, Tokunaga K, Yamagishi M, Martinez J.P, Meyerhans A. Homeostatically maintained resting naïve CD4+ T cells resist latent HIV reactivation. *Front Microbiol*. 2016, 7, 1944.
3. Mitsuki Y-y, Yamamoto T, Mizukoshi F, Momota M, Terahara K, Yoshimura K, Harada S, Tsunetsugu-Yokota Y. A novel dual luciferase assay for the simultaneous monitoring of HIV infection and cell viability. *J Virol Methods*. 2016, 231, 25-33.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Kobayashi-Ishihara M, Martinez J.P, Terahara K, Meyerhans A., Tsunetsugu-Yokota Y. Exploring a mechanism of HIV latency in homeostatically maintained CD4+ T cells. 第46回日本免疫学会総会・学術集会、沖縄、2016年12月（ポスター）
2. Nomura T, Yamamoto H, Terahara K, Seki S, Matano T. Analysis of proviral genome sequences in lymph nodes in SIV-infected rhesus macaques. 2nd Kumamoto IRCMS International Symposium and 17th Kumamoto AIDS Seminar、熊本、2016年10-11月（ポスター）
3. Nomura T, Yamamoto H, Terahara K, Seki S, Matano T. Proviral genome sequences in lymph nodes and bone marrows in SIV-infected rhesus macaques. 第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016年10月（口頭）
4. Kobayashi-Ishihara M, Terahara K, Ato M, Tsunetsugu-Yokota Y. Maintenance of HIV latency by HIV-1 encoded antisense RNAs. 第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、2016年10月（口頭）
5. 寺原和孝、岩淵龍太郎、小林-石原美栄、横田-恒次恭子：HIV-1感染初期におけるCD4陽性T細胞の細胞死誘導とcaspase分子群の関連について：ヒト化マウスモデルでの解析、第89回日本生化学会大会、仙台、2016年9月（ポスター）

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし

(4) 特許出願
該当なし

平成 28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名 : (日本語) 感染症実用化研究事業 エイズ対策実用化研究事業
(英語) Research Program on HIV/AIDS

研究開発課題名 : (日本語) CD8 陽性 T 細胞誘導 HIV ワクチンの腸管感染防御能に関する研究
(英語) Protective efficacy of a CD8+ T cell-inducing HIV vaccine against
intestinal mucosal infection

研究開発担当者 (日本語) 木村 彰方

所属 役職 氏名 : (英語) Medical Research Institute Professor Akinori KIMURA

実施期間 : 平成28年 4月 1日 ~ 平成29年 3月 31日

分担研究 (日本語)

開発課題名 : (英語)

研究開発分担者 (日本語)

所属 役職 氏名 : (英語)

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者： 国立感染症研究所・免疫部・寺原和孝 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 2件）

1. Iseda S, Takahashi N, Poplimont H, Nomura T, Seki S, Nakane T, Nakamura M, Shi S, Ishii H, Furukawa S, Harada S, Naruse TK, Kimura A, Matano T, Yamamoto H. Biphasic CD8+ T-cell defense in elite SIV control by acute-phase passive neutralizing antibody immunization. *Journal of Virology* 2016, 90, 6276-90.
2. Ishii H, Matsuoka S, Nomura T, Nakamura M, Shiino T, Sato Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Mizuta K, Sakawaki H, Miura T, Koyanagi Y, Naruse TK, Kimura A, Matano T. Association of lymph-node antigens with lower Gag-specific central memory and higher Env-specific effector-memory CD8+ T-cell frequencies in a macaque AIDS model. *Scientific Reports* 2016, 6, 30153.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. IkBL regulates susceptibility to HIV-1 infection, ポスター, Akinori Kimura, Taeko K. Naruse, Daisuke Sakurai, Jianbo An, Hiroshi Terunuma, Emi E. Nakayama, Tatsuo Shioda, Gaurav Sharma, Narinder Mehra, Gurbinder Kaur. The 13th International Congress of Human Genetics, 2016/4/4, 国際
2. APOBEC3H polymorphisms are associated with susceptibility to HIV-1 infection and development of AIDS in Asian populations. Taeko K. Naruse, Daisuke Sakurai, Hitoshi Ohtani, Hiroshi Terunuma, Yasumasa Iwatani, Wataru Sugiura, Gaurav Sharma, Narinder Mehra, Gurbinder Kaur, Akinori Kimura. The 13th International Congress of Human Genetics, 2016/4/4, 国際
3. HIV-1 ワクチン開発とその課題, 口頭, 志田壽利、加藤誠一、保富康宏、松尾和浩、三浦智行、五十嵐樹彦、張陔峰、井上誠、成瀬妙子、木村彰方. 第25回日本組織適合性学会, 2016/10/24, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

(4) 特許出願

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金 (エイズ対策実用化研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名：(日本語) エイズ対策実用化研究事業
(英語) Research Program on HIV/AIDS

補助事業課題名：(日本語) CD8陽性T細胞誘導HIVワクチンの腸管感染防御能に関する研究
(英語) Protective efficacy of a CD8⁺ T cell-inducing HIV vaccine against intestinal mucosal infection

補助事業担当者 (日本語) 国立感染症研究所エイズ研究センター センター長 俣野 哲朗
所属 役職 氏名：(英語) National Institute of Infectious Diseases, AIDS Research Center, Director, Tetsuro Matano

実施期間：平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

分担研究課題名：(日本語)
(英語)

補助事業分担者 (日本語)
所属 役職 氏名：(英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

補助事業代表者：国立感染症研究所・免疫部・寺原 和孝 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 0件、国際誌 5件)

1. Ishii H, Matsuoka S, Nomura T, Nakamura M, Shiino T, Sato Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Mizuta K, Sakawaki H, Miura T, Koyanagi Y, Naruse TK, Kimura A, Matano T. Association of lymph-node antigens with lower Gag-specific central-memory and higher Env-specific effector-memory CD8⁺ T-cell frequencies in a macaque AIDS

- model. *Sci Rep*, 2016, 6:30153.
2. Tsukamoto T, Yamamoto H, Okada S, Matano T. Recursion-based depletion of human immunodeficiency virus-specific naïve CD4⁺ T cells may facilitate persistent viral replication and chronic viraemia leading to acquired immunodeficiency syndrome. *Med Hypotheses*, 2016, 94:81-85.
 3. Yamamoto H, Iseda S, Nakane T, Nomura T, Takahashi N, Seki S, Nakamura M, Ishii H, Matano T. Augmentation of anti-SIV activity in CD8⁺ cells by neutralizing but not non-neutralizing antibodies in the acute phase. *AIDS*, 2016, 30:2391-2394.
 4. Yamamoto H, Matano T. Patterns of HIV/SIV prevention and control by passive antibody immunization. *Front Microbiol*, 2016, 7:1739.
 5. Nyombayire J, Anzala O, Gazzard B, Karita E, Bergin P, Hayes P, Kopycinski J, Omosa-Manyonyi G, Jackson A, Bizimana J, Farah B, Sayeed E, Parks CL, Inoue M, Hironaka T, Hara H, Shu T, Matano T, Dally L, Barin B, Park H, Gilmour J, Lombardo A, Excler J-L, Fast P, Laufer DS, Cox JH, the S001 Study Team. First-in-human evaluation of the safety and immunogenicity of a replicating intranasally administered Sendai HIV-1 Gag vaccine: induction of potent T-cell or antibody responses in prime-boost regimens. *J Infect Dis*, 2017, 215:95-104.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Analysis of proviral genome sequences in multiple cell subsets in SIV-infected rhesus macaques (Poster). Nomura T, Yamamoto H, Terahara K, Seki S, Matano T. The 34th annual symposium on non-human primate models for AIDS, New Orleans, LA, USA, 10/12/2016. (国外)
2. Proviral genome sequences in lymph nodes and bone marrows in SIV-infected rhesus macaques (Oral). Nomura T, Yamamoto H, Terahara K, Seki S, Matano T. 第64回日本ウイルス学会学術集会、札幌、10/25/2016. (国内)
3. Virus-host immune interaction in SIV infection (Oral). Matano T. The 17th Kumamoto AIDS Seminar, Kumamoto, Japan, 11/1/2016. (国内)
4. サルエイズモデルにおけるウイルス複製の長期制御メカニズム (口頭). 俣野哲朗. 第30回日本エイズ学会学術集会 (シンポジウム)、鹿児島、11/24/2016. (国内)

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当なし。

(4) 特許出願
該当なし。

(様式10)

【16fk0410103j0301】

平成29年5月31日

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金 (エイズ対策実用化研究事業) 成果報告書

基本情報

- 事業名 : (日本語) エイズ対策実用化研究事業
(英語) Research Program on HIV/AIDS
- 補助事業課題名 : (日本語) CD8 陽性 T 細胞誘導 HIV ワクチンの腸管感染防御能に関する研究
(英語) Protective efficacy of a CD8⁺ T cell-inducing HIV vaccine against intestinal mucosal infection
- 補助事業担当者 (日本語) エイズ研究センター 主任研究官 松岡佐織
所属 役職 氏名 : (英語) AIDS Research Center, Senior Researcher, Saori Matsuoka
- 実施期間 : 平成28年4月1日 ~ 平成29年3月31日
- 分担研究課題名 : (日本語)
(英語)
- 補助事業分担者 (日本語)
所属 役職 氏名 : (英語)

I. 成果の概要（総括研究報告）

補助事業代表者：国立感染症研究所・免疫部・寺原和孝 総括研究報告を参照。

II. 成果の外部への発表（1）学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 1件、国際誌 1件）

1. Ishii H, Matsuoka S, Nomura T, Nakamura M, Shiino T, Sato Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Mizuta K, Sakawaki H, Miura T, Koyanagi Y, Naruse TK, Kimura A, Matano T. Association of lymph-node antigens with lower Gag-specific central-memory and higher Env-specific effector-memory CD8+ T-cell frequencies in a macaque AIDS model. Sci. Report. 6: 30153. 2016.
2. 松岡佐織. 都道府県別 HIV 感染発生動向. 病原体検出情報 (IASR) . 37:169, 2016.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Nii-Trebi N, Ishikawa K, Matsuoka S, Takeda S, Bonney E.Y, Ofori S.B., Yoshimura K., Ampofo W.K. and Matano T. Analysis of HLA genotypes in HIV-1-infected Ghanaians. ASLM 2016 Conference. December 3-6, 2016. ポスター、国外。
2. Matsuoka S. HIV-1 epidemiology in Ghana. 7th KOREA-JAPAN joint symposium on HIV/AIDS. January 14, 2017. 口頭、国外。
3. Sano M., Kuwata T, Matsuoka S, Sekizuka T, Akari H, Miura T, and Matano T. Time course for induction of neutralizing antibodies cross-reactive to neutralization-resistant SIVsmE543-3 in neutralization-sensitive SIVsmH635FC. 口頭, 第 64 回日本ウイルス学会 学術集会. 2016 年 10 月、国内。
4. Matsuoka S, Nagashima M., Mori H. Sadamasu T. Estimating the number of HIV-1 infected individuals in Japan. ポスター、第 15 回あわじしま感染免疫フォーラム、2016 年 9 月、国内。
5. 松岡佐織、長島真美、森治代、貞升健志. 日本国内の HIV 感染者数の推定理論に関する研究. 第 30 回日本エイズ学会学術集会. 2016 年 11 月、口頭、国内。
6. 石井洋、城森萌、関砂由里、松岡佐織、俣野哲朗. サルエイズモデルを用いて逃避変異に対し交差反応を示す CTL 応答の解析. 第 30 回日本エイズ学会学術集会. 2016 年 11 月、口頭、国内。

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み 該当なし

(4) 特許出願 該当なし

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) エイズ対策実用化研究事業
(英語) Research Program on HIV/AIDS

研究開発課題名： (日本語) CD8 陽性 T 細胞誘導 HIV ワクチンの腸管感染防御能に関する研究
(英語) Protective efficacy of a CD8+ T cell-inducing HIV vaccine against intestinal mucosal infection

研究開発担当者 (日本語) 野村 拓志

所属 役職 氏名： (英語) Researcher for specified project, Institute of Medical Science, University of Tokyo, Japan

実施期間： 平成28年 4月 1日 ~ 平成31年 3月 31日

分担研究 (日本語) サルエイズモデルにおけるウイルス潜伏細胞に関する研究

開発課題名： (英語) Analysis of latently infected cells in rhesus macaque AIDS model

研究開発分担者 (日本語)

所属 役職 氏名： (英語)

II. 成果の概要 (総括研究報告)

研究開発代表者： 国立感染症研究所 免疫部 寺原和孝 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧 (国内誌 件、国際誌 3 件)

1. Iseda S., Takahashi N, Popliment H., Nomura T, (以下9名) Yamamoto H and Matano T. Biphasic CD8+ T-Cell Defense in Simian Immunodeficiency Virus Control by Acute-Phase Passive Neutralizing Antibody Immunization. J. Virol. 2016. 90, 6276-6290.
2. Ishii H, Matsuoka S, Nomura T, (以下11名) and Matano T. Association of lymph-node antigens with lower Gag-specific central-memory and higher Env-specific effector-memory CD8(+) T-cell frequencies in a macaque AIDS model. Sci. Rep. 2016. 6, 30153.
3. Yamamoto H, Iseda S, Nakane T, Nomura T, Takahashi N, Seki S, Nakamura M, Ishii H,

and Matano T. Augmentation of anti-simian immunodeficiency virus activity in CD8+ cells by neutralizing but not nonneutralizing antibodies in the acute phase. AIDS. 2016 30, 2391-2394.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Analysis of proviral genome sequences in individual cell subsets in SIV-infected rhesus macaques, poster presentation, Takushi Nomura, Hiroyuki Yamamoto, Kazutaka Terahara, Sayuri Seki and Tetsuro Matano, 34th Annual Symposium on Nonhuman Primate, October 12, 2016, USA.
2. Proviral genome sequences in lymph nodes and bone marrows in SIV-infected rhesus macaques, oral presentation, Takushi Nomura, Hiroyuki Yamamoto, Kazutaka Terahara, Sayuri Seki and Tetsuro Matano, The 64th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology, October 25, 2016, Japan
3. Analysis of proviral genome sequences in multiple cell subsets in SIV-infected rhesus macaques, poster presentation, Takushi Nomura, Hiroyuki Yamamoto, Kazutaka Terahara, Sayuri Seki and Tetsuro Matano, 17th Kumamoto AIDS seminar, October 31, 2016, Japan.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
なし

(4) 特許出願
該当なし