



熊本大学
Kumamoto University



国立大学法人
東京医科歯科大学
TOKYO MEDICAL AND DENTAL UNIVERSITY



国立大学法人
鹿児島大学
KAGOSHIMA UNIVERSITY

令和6年4月9日

熊本大学
東京医科歯科大学
鹿児島大学

細胞内の HIV ウイルス動態を高精度で可視化する新規感染系を確立
～HIV 感染の治癒を目指した研究の有用なツールになることが期待～

(ポイント)

- タイマー蛍光タンパクを活用した HIV-Tocky システムという新しいウイルス感染系を開発し、HIV が細胞に侵入後のウイルス動態の詳細な可視化に成功しました。
- HIV-Tocky システムを用いた解析によって、ウイルスの潜伏感染細胞が生じる際に、2つのルートが存在し、その2つの群における異なる潜伏の仕組みを特定しました。
- HIV-Tocky システムを用いて作製した感染細胞モデルは、潜伏を標的とする薬剤で処理をした際に、従来のモデルに比べてより鋭敏に薬剤効果を判定できることから、今後の HIV 感染の治癒を目指した研究において有用なツールになる事が期待されます。

(概要説明)

ヒトレトロウイルス学共同研究センター熊本大学キャンパス^{※1}のOmnia Reda研究員、佐藤賢文教授、大学院生命科学研究部微生物学講座 門出和精助教らの研究グループは、東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科の武内寛明教授、ヒトレトロウイルス学共同研究センター鹿児島大学キャンパスの前田賢次教授及び英国インペリアル大学等との共同研究により、タイマー蛍光タンパク^{※2、※3}という時間動態が観察可能な特殊なタンパクを搭載した組み換えウイルスを作製し、HIVが細胞に感染し侵入した後のウイルス動態を詳細に観察することを可能にする新規感染系を確立しました。さらにその新システムを用いて、ウイルスを感染させた細胞の詳細な解析を行ったところ、ウイルスが潜伏する2つのルートを区別することが可能となり、その2つでは潜伏のメカニズムが異なることを明らかにしました。さらに、HIV-Tockyシステムを用いて作製した感染細胞モデルは、潜伏を標的とする薬剤で処理をした際に、従来のモデルに比べてより鋭敏に薬剤効果を判定できることから、今後のHIV感染の治癒を目指した研究において有用なツールになる事が期待されます。

本研究結果は令和6年3月20日(現地時間)に英科学誌「Communications Biology」

に掲載されました。

また、本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）エイズ対策実用化研究事業「革新的核酸解析技術によるHIV潜伏感染機序の解明と克服のための研究」からの支援を受けて行われました。

（説明）

HIV（Human Immunodeficiency Virus）は免疫不全を引き起こすウイルスで、未治療の場合、後天性免疫不全症（エイズ：Acquired Immunodeficiency Syndrome）に進行する可能性があります。HIVの感染は血液、性行為及び母子感染等の経路で広がります。現在、ウイルス複製を抑制する治療法がありますが、未だ完全なHIV感染の治癒方法は見つかっていないため、感染予防策の研究・啓蒙活動や治癒を目指した治療法開発が世界的に進められています。

HIVはレトロウイルス^{*4}に分類されるウイルスであり、感染した細胞に自身のゲノムを組み込む能力を持ちます。このウイルスは感染した免疫系細胞に細胞死を引き起こすことで、エイズを引き起こします。その一方で、感染した細胞が全て細胞死に至るわけではなく、感染後細胞内でウイルス複製が止まって、潜伏感染というウイルス複製が休眠した状態になる細胞もあります。この休眠した細胞のゲノムに組み込まれたウイルスは、通常の抗ウイルス薬や抗ウイルス免疫の効果が及びにくく、そのことが抗ウイルス薬を中止した際のウイルス再活性化の一因となり、HIV感染の治癒を困難にしています（図1）。

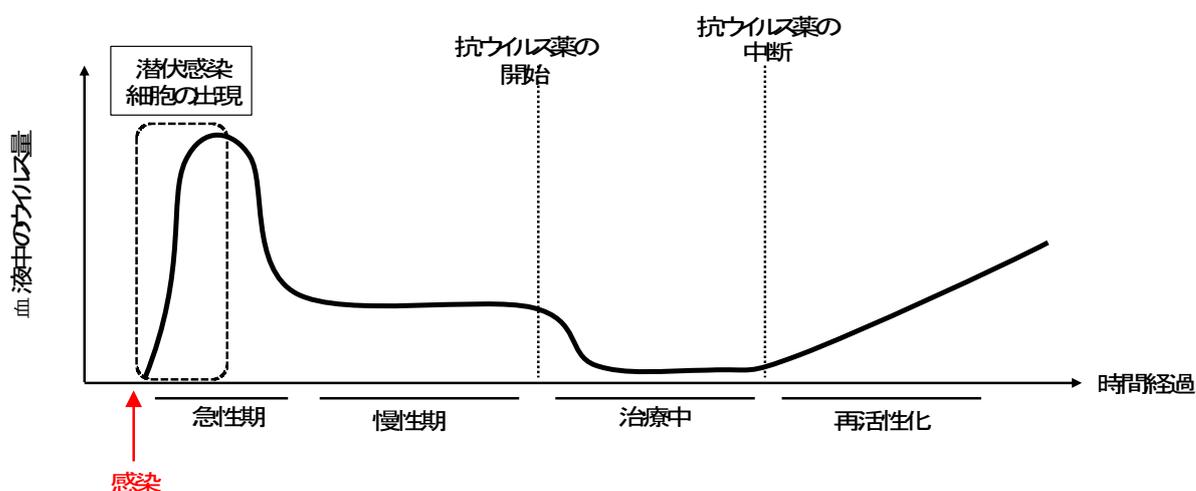


図1：典型的なHIV感染者における血液中ウイルス量の推移を示した図

本グループは、ウイルスの潜伏感染細胞がどのように生まれてくるのかを調べるために、タイマー蛍光タンパクを活用したHIV-Tockyシステムという新しいウイルス感染系の開発に挑戦し、HIVが細胞に感染・侵入した後のウイルスの動態を詳細に可視化することに成功しました。本研究で用いたタイマー蛍光タンパクは細胞内で、最初の4時間は青色に発光し、その後自然に発光が赤色に変化する性質を持ちます。これにより、1細胞レベルで感染細胞内のウイルス動態を評価する事が可能となりました（図2）。

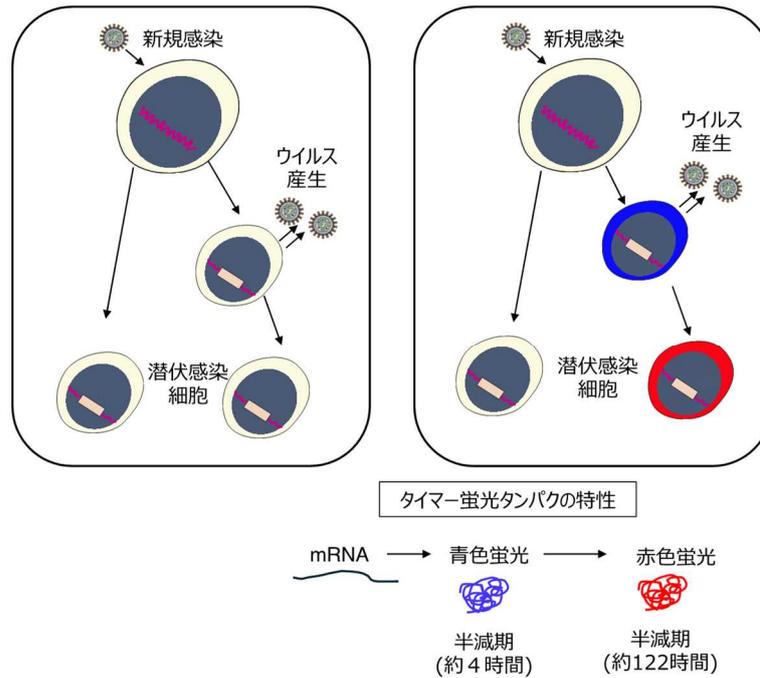


図 2 : HIV-Tocky システムによる 2 つのウイルス潜伏ルートの可視化

左図 : 従来の方法では 2 つの潜伏経路が識別不可能であった。

右図 : タイマー蛍光タンパクの特性により、2 つの潜伏経路識別が可能となった。

実際に、HIV-Tocky システムを用いた解析によって、HIV 潜伏感染細胞が生まれてくる様子を解析したところ、感染後すぐに潜伏化した群と一度ウイルスの増殖が活性化した後には潜伏化した群を区別する事が可能になりました。さらに、その 2 群ではその潜伏メカニズムが異なる仕組みで起こっていることも分かりました (図 3)。

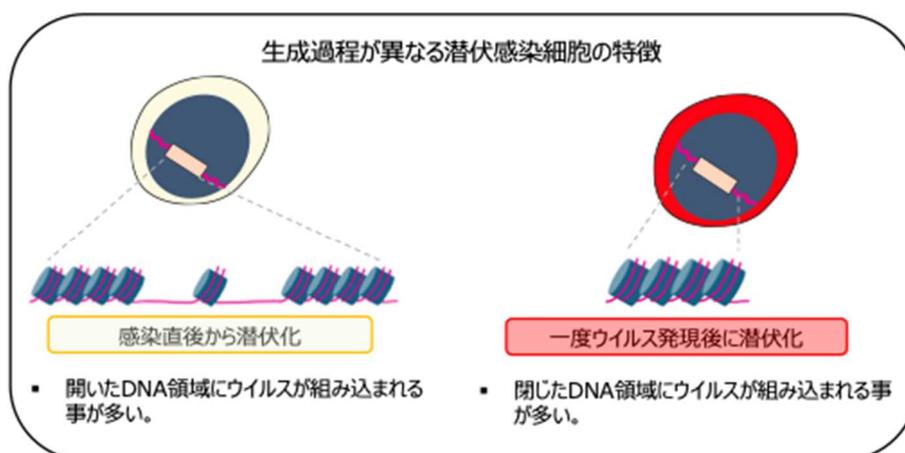


図 3 : 2 つの異なる潜伏ルートで異なる潜伏の仕組み

さらに、HIV-Tocky システムを用いて作製した潜伏感染モデル細胞を 10 種類以上樹立し、それぞれのウイルス全長配列及び組み込み部位情報を解析して決定しました。この細胞モデルは、潜伏を標的とする薬剤効果判定において、従来のモデルと比較し

て、より鋭敏に薬剤効果を判定できることから、今後の HIV 感染の治癒を目指した研究において有用なツールになる事が期待されます（図 4）。

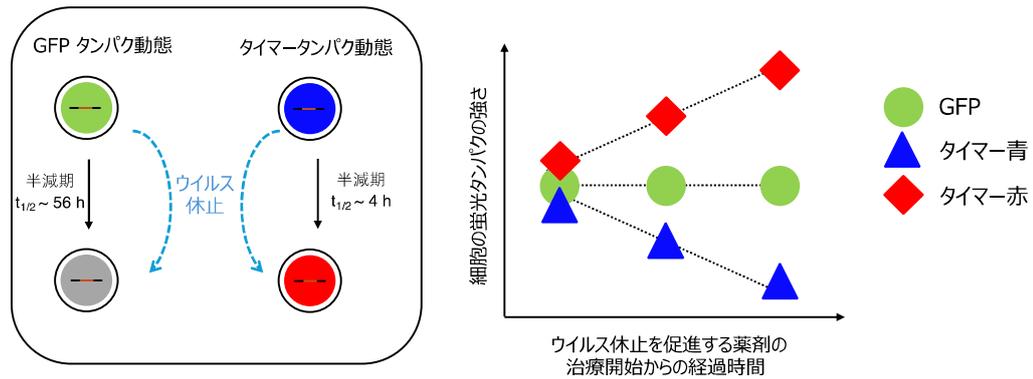


図 4： HIV-Tocky システムを用いた潜伏を標的とした治療薬の評価例（概念図）

左図：従来の方法でよく用いられる蛍光タンパク GFP^{※5}はタンパクの寿命が 56 時間と長いのにに対し、タイマー蛍光タンパクは青色が 4 時間で赤色に変化する。

右図：そのため、LPA(潜伏促進薬)によるウイルスの休止効果を鋭敏に検知可能。

本研究成果は HIV 感染の治癒へ向けた、新たな研究ツールを提案するものであり、現在は治癒が困難である HIV 感染症の問題克服へ向け、一步前進する研究成果と考えられます。

（用語解説）

※ 1： ヒトレトロウイルス学共同研究センター

HTLV-1 やヒト免疫不全ウイルス等の難治性ヒトレトロウイルスの克服を共通目標に、熊本大学と鹿児島大学が大学の枠を越えて 2019 年 4 月に新設した研究センター。

※ 2： 蛍光タンパク

生物学や生物工学等の分野で広く使用されるタンパク質の一種。蛍光タンパク質は、その名のとおり、特定の波長の光を吸収し、それに応じて別の波長の光を放出する性質を持つ。細胞内の化学反応の場所や進行状況等を蛍光顕微鏡等の手法を用いて観察することが可能である。

※ 3： タイマー蛍光タンパク

特定の時間経過後に発光する蛍光が変化する蛍光タンパクの一種。一般的に、このタイプのタンパク質は、生物学的なプロセスや細胞内の出来事の経時的な解析に役立つ。

※ 4： レトロウイルス

逆転写酵素を有し、自らの核酸を逆転写して宿主ゲノムに組み込ませる RNA ウイルス。ヒトに病原性を示すレトロウイルスとして HIV の他にヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV ; Human T-cell Leukemia Virus) が知られている。

※ 5： GFP

GFP (Green Fluorescent Protein; 緑色蛍光タンパク質) は、緑色の蛍光を発するタンパク質であり、広く生物学の研究で利用されている。この GFP は元々、オワンクラゲ

から発見された。

(論文情報)

論文名 : HIV-Tocky system to visualize proviral expression dynamics.

著者 : Omnia Reda, Kazuaki Monde, Kenji Sugata, Akhinur Rahman, Wajihah Sakhor, Samiul Alam Rajib, Sharmin Nahar Sithi, Benjy Jek Yang Tan, Koki Niimura, Chihiro Motozono, Kenji Maeda, Masahiro Ono, Hiroaki Takeuchi & Yorifumi Satou.

掲載誌 : Communications Biology

DOI : 10.1038/s42003-024-06025-8

URL : <https://www.nature.com/articles/s42003-024-06025-8>