

[課程一2]

審査の結果の要旨

氏名 齋藤 泉

本研究は後天性免疫不全症候群(AIDS)の原因となるヒト免疫不全ウイルス 1 型 Human Immunodeficiency type 1 (HIV-1) 感染において血中ウイルス量の抑制に関与すると考えられている Gag 特異的 CD8 陽性 T 細胞について、日本人慢性期 HIV-1 感染者における Gag 特異的 CD8 陽性 T 細胞の反応と血中ウイルス量の関係、また Gag における血中ウイルス量のコントロールに関与する部位の特定について調べることを試みたもので、以下の結果を得ている。

1. 68 人の HIV-1 感染者に対し、Gag 特異的 T 細胞応答について解析を行った。限られた臨床材料を用いて Gag 特異的 T 細胞応答を網羅的に解析するため、OLP を用いて matrix を作成した。Matrix を用いて解析を行うことにより、全 115 種類の OLP に対する反応全てを検討するのに比べ、少量の臨床材料で T 細胞反応の反応部位を決定することが可能となった。その結果、Gag の中でも p24 領域に多く応答が見られることが示された。
2. 各感染者における反応部位数と反応性 T 細胞数と、HIV-1 感染症の病態を表す指標である血中ウイルス量 (VL) と CD4 数との関連を調べたところ、反応部位数によって VL に有意差が見られ、反応部位数が多い感染者ほど VL が有意に低いことが示された。一方、反応部位数と CD4 数についても同様の解析を行ったが、有意な違いは認められなかった。各 OLP に対する反応性 T 細胞数の総和と VL、CD4 数の関連を調べたところ、いずれも関連は認められなかった。これらの結果より、VL のコントロールには Gag 特異的 T 細胞の反応部位の数が重要であることが示された。
3. 各 HIV-1 感染者において 3 人以上で T 細胞反応が見られた 10 ヶ所の OLP について、反応者の HLA class I 遺伝子型を解析したところ、多くの場合、これまでに報告されたエピトープの HLA 拘束性と同一の遺伝子型、あるいは血清型を共有する HLA class I 遺伝子型を有していたが、報告のあるエピトープを拘束する HLA class I 遺伝子型をいずれも有していない場合も見られ、まだ明らかとなっていないエピトープが存在していることが示された。
4. 各 OLP における反応者と非反応者で VL に違いがあるかを検討した。前述の 10 か所について検討した結果、OLP-38/39 (Gag の 160 番目から 179 番目のアミノ酸に相当) において反応者で有意に VL が低いことがわかった。本結果から、OLP38/39 に対する T 細胞反応がウイルス抑制効果を有することが示された。
5. HIV gag 領域の遺伝子解析を行い、アミノ酸配列を決定し、日本で流行している HIV-1 の特徴を捉えるため、解析を行った 68 名のアミノ酸配列より gag 全体の consensus 配列を作成し、“cons-JNP” とし、標準的な実験株である HXB2、database 上の subtype B の consensus 配列 (cons-B) と比較した。cons-B と cons-JPN はほとんどのアミノ酸が一致

していたが、5カ所でアミノ酸が異なっていた。特に今回の研究で複数人反応の見られた10カ所の中で OLP-7/8 (Gag の 28 番目から 46 番目のアミノ酸に相当) に属する 30 番目のアミノ酸のリシン(K)からアルギニン(R)への置換は HLA*A:24 拘束性エピトープからのエスケープ変異であり、OLP-50/51 (Gag の 211 番目から 229 番目のアミノ酸に相当) に属する 219 番目のアミノ酸のヒスチジン(H)からグルタミン(Q)への置換は A*24:02、B*52:01、C*12:02 を持つ患者に見られており、いずれも多人種に比べて日本人に多い HLA class I 遺伝子型であることから、日本人集団において特徴的に見られる変異の可能性が示唆された。

6. 前述した各 OLP について全サンプルにおいて各アミノ酸ごとに cons-B と一致した割合を検討したところ、いずれの部位も高度に保存されていたが、中でも OLP-38/39 を含む 4 カ所はほぼ 100%保存されており、変異許容性の低い場所であることが示された。T 細胞反応により生じた変異について検討するため、T 細胞反応が見られた感染者のみに限定して OLP 全体が cons-B と一致した割合を検討したところ、OLP38/39 を含む 3 カ所において反応者の 80%以上で cons-B とアミノ酸配列が完全に一致していた。特に、OLP38/39、46/47(Gag の 193 番目から 210 番目のアミノ酸に相当)は多くの感染者で、強い T 細胞反応が見られているにもかかわらず、アミノ酸配列が高度に保存されていたことから、これらの OLP 内に存在するエピトープに対する T 細胞反応からのエスケープ変異は非常に生じにくいことが示された。

以上、本研究は HIV-1 感染日本人集団における Gag 特異的 CD8 陽性 T 細胞の解析を行い、ウイルス量のコントロールに関わる標的部位を特定した。日本人集団での HIV-1 特異的 CD8 陽性 T 細胞の研究はまだ非常に少なく、ウイルス量コントロールが可能となる領域に対する CD8 陽性 T 細胞反応を誘導することで、日本人における HIV-1 ワクチンの開発に重要な貢献をなすと考えられ、学位の授与に値するものと考えられる。