

論文の内容の要旨

論文題目 サルエイズモデルにおいて誘導される抗体交差性に関する研究

氏名 佐野 雅人

ヒト免疫不全ウイルス（human immunodeficiency virus, HIV）感染症では、感染初期に中和抗体誘導効率が悪いことが特徴の一つである。しかし、一部の感染者の慢性期に多様な HIV にある程度交差しうる広域交差性中和抗体が誘導されることも知られている。このような広域交差性中和抗体の誘導機序の解明は抗体誘導ワクチン開発という視点においても重要である。本研究では、広域交差性中和抗体誘導機序の解明に向け、その誘導モデルの構築を目的とした。

HIV/SIV は CD4 陽性 T 細胞を主な標的として感染する。感染後数週間で細胞傷害性 T 細胞反応が誘導され、ウイルス増殖はある程度抑えられるものの、ウイルス血症は持続し、数年間の経過をへて、最終的には CD4 陽性 T 細胞の減少を伴い、後天性免疫不全症候群（acquired immunodeficiency syndrome, AIDS）発症に至る。現在、抗 HIV 薬を用いた治療（antiretroviral therapy, ART）によりウイルス血症をコントロールし、AIDS 発症抑制が可能となっているが、体内から HIV を排除することは困難で、感染者は生涯にわたって抗 HIV 薬治療を受ける必要がある。

感染者の一部で慢性期に誘導される広域交差中和抗体については、それらの分離ならびに標的エピトープの同定が進展しているが、それらの誘導にはいたっておらず、この広域交差性中和抗体誘導機序の解明は重要課題である。しかし、HIV 感染者を対象とする研究では、感染初期の解析が困難であること、抗原となる HIV 株の多様性のため抗原に関する共通情報入手が困難であることなどの理由により、その誘導機序の解明は難航している。

そこで本研究では、サル免疫不全ウイルス（simian immunodeficiency virus, SIV）感染サルエイズモデルにおける広域交差性中和抗体誘導系を確立し、その誘導過程を解析することを計画した。近年、米国 NIH の研究グループから、SIVsmH635FC 感染サルにおいて広域交差性中和抗体が誘導される可能性を示す報告がなされた。SIVsmH635FC は、中和抗体抵抗性株である SIVsmE543-3 に感染し比較的早期に AIDS

様症状を呈したアカゲザルから分離された株である。報告では、SIVsmH635FC 接種サル 4 頭全てにおいて、感染後半年程度で広域交差性中和抗体 B404 の誘導が認められたが、その誘導機序は不明であった。本研究では、この SIVsmH635FC 感染系が広域交差性中和抗体誘導モデルになりうるかを検証する目的で、アカゲサル 6 頭を用い SIVsmH635FC 感染実験を行うこととした。SIVsm は宿主因子 TRIM5 α の遺伝子型によって感受性が異なることをふまえ、SIVsm 感受性である TRIM5 α Q/Q と抵抗性である TRIM5 α TFP/Q および Cyp/Q を有するサルをそれぞれ 2 頭ずつ計 6 頭のアカゲザルを用い、SIVsmH635FC 経静脈感染実験を行った。SIVsmH635FC 接種後、経時的に血漿中ウイルス量（ウイルス RNA コピー数）を測定した。6 頭のうち、TRIM Cyp/Q 遺伝子型を有する 2 頭（#1980、#2008）ではセットポイント期以降のウイルス血症は確認できなかったが、残りの 4 頭は慢性持続感染を呈した。なお、6 頭のうち#1967 の 1 頭については、末梢血 CD4 陽性 T 細胞頻度が、感染後 20 週目に 1.5 %と低下し、ほぼ AIDS 発症と考えられたことから、21 週目に安楽殺とした。

SIVsmH635FC 感染ザルの血漿について接種株である SIVsmH635FC、中和抗体感受性株である SIVmac316、中和抗体抵抗性株である SIVsmE543-3 に対する中和活性を調べた。6 頭中#1964、#1978、#1994、#2008 の 4 頭においては、SIVsmH635FC に対する中和抗体誘導が検出され、経過とともにその中和活性の上昇が認められた。これら 4 頭では、SIVmac316 および SIVsmE543-3 に対する中和抗体反応の誘導も認められた。一方、早期に病態が進展した#1967 と持続感染が確認できなかった#1980 では、効率よい中和抗体誘導が認められなかった。

中和抗体誘導が認められた 4 頭のうち 2 頭は感染後 1 年で安楽殺としたが、残りの 2 頭（#1964、#2008）および効率よい中和抗体誘導が認められなかった 1 頭（#1980）には、感染後 1 年目に別の SIV 株 SIVsmH805 24w-3 を接種（重感染）し、その 5 週後に安楽殺とした。重感染前後の中和活性の比較では、#1964 において抗 SIVsmE543-3 中和活性の若干の上昇が重感染後にみられたが、明確な差異は認められなかった。

一方、SIV 接種後のウイルス env 遺伝子の変化を把握するため、慢性持続感染を呈した 4 頭について、感染後半年および 1 年の血漿由来のウイルス env 領域の塩基配列を解析した。このうち効率よい中和抗体誘導がみられた 3 頭（#1964、#1978、#1994）においては、env 可変領域においてアミノ酸置換にいたる変異が蓄積されており、いくつかの共通の変異が確認された。一方、早期の病態進行を示し中和抗体誘導が認め

られなかった#1967においては、変異選択がほとんど認められなかった。さらに、アカゲザル#1964と#1978については、感染後22週目のPBMCからSIVを分離することができたため、各タイムポイントの血漿を用い、これらのPBMC由来のSIVに対する中和活性を調べた。#1964では、感染初期（第6週・第13週）の血漿による中和反応に対し、野生型SIVsmH635FCと比べて第22週PBMC由来SIVは低感受性を示したが、その後の血漿に対しては感受性の上昇が認められた。この結果は、感染初期に誘導された中和抗体によりウイルスが逃避する方向で変異し、その後、この変異ウイルスに対し交差性を有する中和抗体が誘導されていることを反映していると考えられた。一方、#1978については、野生型SIVsmH635FCと第22週PBMC由来SIVとの中和感受性の差異が明確でなかった。

また、先行研究のSIVsmH635FC感染実験において同定されたB404 (VH3-33) -like抗体が本実験で用いたアカゲザルにおいて誘導されているかを検討するために、中和抗体誘導を示した4頭（#1964、#1978、#1994、#2008）の感染前、感染後13週、50週の血液を用い、次世代シーケンサーによるB細胞受容体(BCR)重鎖可変部cDNAの塩基配列の解析を試みた。しかし、VH3-33のCDR3について解析したが、B404-like抗体に共通に確認されるCDR3アミノ酸配列は見出されなかった。さらに、感染後13週、50週のVH3-33配列のフレームワーク領域における進化系統を解析するために得られた配列からCDR3を除外し系統樹解析を行ったが、抗体遺伝子の進化経路は同定されなかった。

以上、SIVsmH635FC感染では、当初期待したB404抗体のconsistentな誘導は認められなかったが、慢性持続感染が成立し、かつ早期発症にいたらないサルでは、高頻度に広域交差性中和反応が誘導されることが示された。このSIVsmH635FC感染系は、広域交差性中和抗体誘導モデルの一つとして有用であると考えられる。