

平成 21 年 5 月 8 日現在

研究種目：特定領域研究

研究期間：2006～2010

課題番号：18073008

研究課題名（和文）レトロウイルス（HIV、その他）の増殖・生活環および病原性発現機構の研究

研究課題名（英文）Study of replication, life cycle, and pathogenesis of retrovirus (HIV)

研究代表者

小柳 義夫 (KOYANAGI YOSHIO)

京都大学・ウイルス研究所・教授

研究者番号：80215417

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・ウイルス学

キーワード：HIV、動物モデル、MHC、CXCR4、中和抗体、SIV、テトラスパニン

1. 研究計画の概要

- (1) レトロウイルスである HIV の感染制御に関わる細胞性因子の作用機序解明を目的として、分子生物学的解析研究を行う。感染制御因子の標的過程、その分子の細胞内局在、そして細胞内挙動の解析実験を行う。
- (2) HIV 関連細胞性因子の探索実験を行う。特に、膜蛋白質と HIV との関連性について比較解析研究を行う。
- (3) HIV の感染が成立するヒト血液細胞造生マウスモデル（ヒト化マウス）を確立し、生体内におけるウイルス複製過程を明らかにする。
- (4) エイズワクチンの有効性理論の確立のために、サル MHC 遺伝子型を基にしたワクチン接種による SIV 複製制御群と SIV 持続感染成立群の解析実験を行う。
- (5) SIV モデルを使って、個体レベルのウイルス持続感染成立過程におけるそれぞれの免疫システムの解析研究を行い、その意義を明らかにする。
- (6) CTL の機能的意義を明らかにするために、CTL によるウイルス制御能の解析実験を行う。

2. 研究の進捗状況

- (1) cDNA ライブラリ発現レンチウイルスベクターを使って、ウイルス感染抑制活性を有する膜蛋白質としてテトラスパニン分子のひとつである CD63 を見出し、その作用機序を明らかにした。それは、HIV の補受容体である CXCR4 の細胞表面への移行を CD63 が阻害すること、そして、この活性発現には CXCR4 とのゴルジ体における結合が必要であることを示した。次に、多くのテトラスパニン分子はウイルスエンベロープへ移行し、次の標

的細胞とウイルス粒子との膜融合過程を阻害することを示した。すなわち、テトラスパニンは HIV 感染制御因子であることがわかった。

(2) HIV 持続感染ヒト化マウスを使って、生体内では静止期のメモリー T 細胞においてウイルスが産生されることを見出した。

(3) SIV モデルを使って、急性感染期に中和抗体を受動免疫するとセットポイント期のウイルス量が低下することを見出し、HIV 感染初期における中和抗体誘導不全がウイルス慢性持続感染成立に寄与していることを示唆した。

(4) 感染急性期の中和抗体反応が、高レベルの polyfunctional CD4 陽性 T 細胞の誘導に結びつき、その結果 SIV の複製抑制にいたることを明らかにした。この結果は、感染早期の中和抗体反応が機能的に細胞性免疫を誘導し、その結果ウイルス複製制御に結びつく可能性を示しており、また、polyfunctional CD4 陽性 T 細胞レベルと HIV/SIV 複製抑制との相関を初めて示した。

3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している

(理由)

HIV 感染制御に関わる細胞性因子としてテトラスパニンを同定、HIV 持続感染モデルマウスの確立と生体内ウイルス感染細胞の解析、SIV モデルをつかった持続感染時の CTL の機能解析、また、急性感染期における中和抗体の意義と polyfunctional CD4 陽性 T 細胞によるウイルス制御について多くの事実が明らかになり、レトロウイルス複製と病原性の解明を目指した当初の目的は達せられつつ

ある。

4. 今後の研究の推進方策

(1) 試験管内における HIV 感染増殖に影響を及ぼす分子群のさらなる探索とそれぞれの作用機序の分子生物学的解明実験を行う。まず、HIV 感染細胞内ならびに表面に局在する膜蛋白質群 (テトラスパニンやテザリンなど) により形成される細胞由来の高分子複合体のウイルス学的意義を生化学的手法ならびにイメージング技術を用いて明らかにする。

(2) ヒト血液細胞造生マウスを使って、HIV 感染による個体内ヒト細胞群の動態とウイルス感染細胞のそれとの関連性、そして、それらの細胞の細胞周期状態などの細胞内環境をフローサイトメトリ法により明らかにする。

(3) 4つの MHC ハプロタイプ各々を有する霊長類群において、SIV 感染後誘導される CD8 陽性 T 細胞の SIV 複製抑制能を比較解析する。さらに、ワクチン接種した各 MHC ハプロタイプ共有群において誘導される CD8 細胞の SIV 複製抑制能を比較解析し、個体レベルでの SIV 複製抑制との関係を解明する。

(4) SIV 特異的 CTL クローンについて、試験管内アッセイ系を用い、SIV 複製抑制能を比較解析し、CTL のウイルス感染における機能的意義を明らかにする。

5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 30 件)

- ①Sato K, 他 5 名, Koyanagi Y (7 番目). Modulation of human immunodeficiency virus type 1 infectivity through incorporation of tetraspanin proteins. *Journal of Virology* 82: 1021-1033, 2008, 査読有.
- ②Yoshida T, Kawano Y, 他 6 名, Koyanagi Y (9 番目). A CD63 mutant inhibits T-cell tropic HIV-1 entry by disrupting CXCR4 trafficking to the plasma membrane. *Traffic* 9: 540-558, 2008, 査読有.
- ③Kawada M, 他 8 名, Matano, T (10 番). Gag-specific cytotoxic T lymphocyte-based control of primary simian immunodeficiency virus replication in a vaccine trial. *Journal of Virology*. 82:10199-10206, 2008, 査読有.
- ④Kawada M, 他 5 名, Matano T (7 番目). Long-term control of simian immunodeficiency virus replication with central memory CD4⁺ T-cell preservation after non-sterile protection by a

cytotoxic T lymphocyte-based vaccine. *Journal of Virology* 81:5202-5211, 2007, 査読有.

⑤Yamamoto H, 他 3 名, Matano, T (5 番目). Post-infection immunodeficiency virus control by neutralizing antibodies. *PLoS ONE* 2:e540, 2007, 査読有.

[学会発表] (計 43 件)

- ①Koyanagi Y. HIV and AIDS. 日中数理生物学コロキウムシンポジウム、2008年8月4日、岡山.
- ②Koyanagi Y. HIV-1 pathogenesis: productive infection in CD4⁺ effector memory T lymphocytes and CD4⁺ depletion in humanized mice. 第11回京都大学国際シンポジウム、2008年10月11日、上海.
- ③俣野哲朗. エイズ. 第34回日本医学会シンポジウム、2008年7月17日、東京
- ④Matano T, 他 4 名. Induction of functional T-cell responses in neutralizing antibody-triggered SIV control. The 26th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, 2008年12月12日、San Juan, Puerto Rico.

[図書] (計 1 件)

Koyanagi Y, Tanaka Y, Ito M, Yamamoto N, (Nomura T, Watanabe T, Habu S, Eds.), Springer, "Humanized Mice", *Current Topics in Microbiology and Immunology* 324:199(133-148), 2008.