

令和元年6月6日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15705

研究課題名(和文) HIV持続感染に伴う慢性炎症の維持機構の解明

研究課題名(英文) Analysis of inflammatory mechanisms associated with HIV

研究代表者

石坂 彩 (Ishizaka, Aya)

東京大学・医科学研究所・特任研究員

研究者番号：70746859

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究ではHIV感染者における残存感染細胞の性状解析を目的に、ウイルス由来の短鎖RNAを発現するT細胞サブセットの同定を試みた。抗レトロウイルス療法を2年以上施行し、血漿中HIV RNA量が1年以上にわたって検出感度未満であるにもかかわらず短鎖RNAが検出されている患者5名の末梢血から、フローサイトメトリーを使用して各CD4+ T細胞サブセットを解析したところ、短鎖RNAの発現が検出された主なサブセットはcentral memory、early-differentiatedおよびintermediate-differentiated effector memory CD4+ T細胞であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在の抗HIV療法ではHIV感染症は根治せず、患者体内では慢性的に炎症状態が続いている。我々のこれまでの解析から、HIV由来の短鎖RNAと慢性的な免疫の活性化との相関が明らかとなっている。本研究の成果と感染細胞内のプロウイルスの存在比を総合的に考察することで、ウイルスの転写の起きやすいサブセットの同定につながる。これらの解析から得られる知見は、残存感染細胞の持続的な転写活性化および慢性的な免疫賦活化が成立する分子基盤の理解に貢献する。

研究成果の概要(英文)：In our previous study, we identified that short intracellular HIV-1 RNA (short transcripts, STs) is a biomarker of residual immune activation. In this study, we investigated which CD4+ T cell subsets are responsible for the expression of STs. We examined various CD4+ T cell subsets in peripheral blood from five patients who are STs-positive despite of suppressive antiretroviral therapy (ART) for two years. The main subsets which contribute to the expression of STs were central memory, early-differentiated and intermediate-differentiated effector memory CD4+ T cells.

研究分野：ウイルス学

キーワード：HIV 潜伏感染 慢性炎症

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

現在の抗 HIV 療法では HIV 感染症は根治せず、患者体内では慢性的に炎症状態が続いている。我々はこれまでに HIV 由来の短鎖 RNA (short transcript, ST) を指標に残存ウイルスの転写活性を検出する独自の方法を考案した (特願 2012-013087、PCT/JP2013/051389)。この方法論を用いて患者の末梢血から残存ウイルスの転写活性を定量すると、治療により血漿 HIV RNA 量が検出限界未満となった患者の一部で ST が強く検出された。これらの患者では血漿中のウイルス量の制御が免疫力の指標である CD4 値の回復に結びつきにくい傾向があった (図 1)。また、残存感染細胞の転写と CD8⁺ T 細胞の活性化は強く相関していることが明らかとなった (Ishizaka *et al.*, J. Virol., 2016、図 2)。

この観察は残存ウイルスの持続的な転写・複製と慢性炎症の相互促進の可能性を示唆しており、この悪循環を成立させる体内環境の解明は病態理解を深める上で不可欠である。本研究では患者の体内環境を精査することで、HIV の持続感染および慢性炎症が成立する分子基盤の理解を試みた。

2. 研究の目的

本研究では、抗 HIV 療法下において残存 HIV LTR の転写を活性化する細胞内環境を明らかにすることを試みた。これまでの研究成果から、ST の発現と持続的な免疫の活性化の間に強い相関があることがわかっている。そこで本研究では ST を発現する責任細胞を同定し、治療後も残存ウイルスの転写活性を保持している感染細胞の性状解析を行った。本解析を通じて転写の起きやすいサブセットの同定を行い、残存感染細胞の再活性化の分子機構やそれを制御するための分子基盤づくりのための基礎的知見を得ることを目的とし

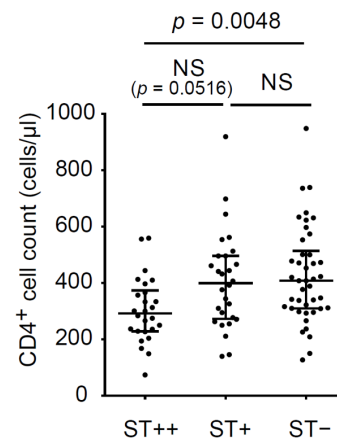


図 1: 治療開始後、血漿 HIV RNA が <50 copies/ml となった患者の PBMC から ST を検出した。ST++ の患者は、低 CD4⁺ 値を示す傾向があった。

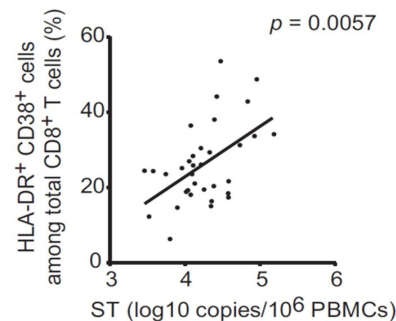


図 2: ST の発現量は CD8⁺ T 細胞の活性化と強く相関していた。

た。

3. 研究の方法

治療後もウイルスの微弱な転写活性化が起きている感染細胞の性状解析を目的に、短鎖 RNA の発現責任 T 細胞サブセットの同定を試みた。抗レトロウイルス療法を 2 年以上施行し、血漿中 HIV RNA 量が 1 年以上にわたって検出感度未満であるにもかかわらず短鎖 RNA が検出されている患者 5 名から末梢血を採取し、末梢血単核球 (PBMCs) を精製した。次に、フローサイトメトリーを使用して CD4⁺ T 細胞を naïve (CCR7⁺ CD45RA⁺), central memory (CCR7⁺ CD45RA⁻), early-differentiated effector memory (CCR7⁻ CD45RA⁻ CD27⁺ CD28⁺), intermediate-differentiated effector memory (CCR7⁻ CD45RA⁻ CD27⁻ CD28⁺), late-differentiated effector memory (CCR7⁻ CD45RA⁻ CD27⁻ CD28⁻) の各サブセットに分画した。各細胞サブセットから低分子 RNA を抽出し、ST の発現量を測定した (図 3)。

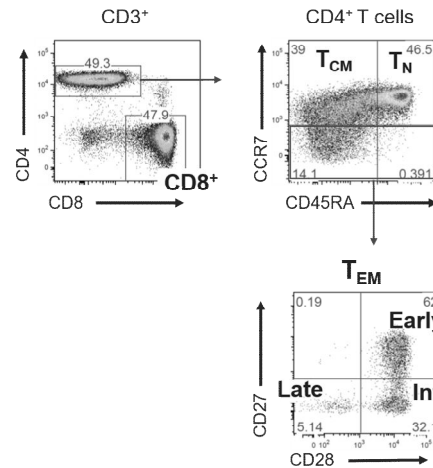


図3: 各種CD4⁺ T細胞サブセット分取のためのゲーティングストラテジー

4. 研究成果

患者ごとの個人差があったものの、各 CD4⁺ T 細胞サブセットについて解析に十分な細胞数を分取することができた。各 CD4⁺ T 細胞サブセットから抽出した低分子 RNA から ST の発現量を定量したところ、ST を主に発現しているサブセットは central memory、early-differentiated および intermediate-differentiated effector memory CD4⁺ T 細胞であった。細胞あたりの ST の発現量も上記の順に多くなっており、ST の発現量が転写の起きやすい細胞内環境を反映していると示唆された。

今後は感染細胞内のプロウイルスの存在比との考察から、残存感染細胞の特定と、ウイルスの転写の起きやすいサブセットの同定を行う。これらの解析から得られる知見は、残存感染細胞の持続的な転写活性化および慢性的な免疫賦活化が成立する分子基盤の理解につながり、残存感染細胞の制御、制圧の分子基盤づくりに貢献するものとなる。

5 . 主な発表論文等

(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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

石坂彩、古賀道子、佐藤秀憲、菊地正、安達英輔、鯉淵智彦、四柳宏、清野宏、立川(川名)愛、水谷壮利「Short transcript を指標とした残存感染細胞の性状解析」第 32 回日本エイズ学会学術集会、2018 年 12 月 4 日、大阪国際会議場 (大阪府大阪市)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

出願年 :

国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :

権利者 :

種類 :

番号 :

取得年 :

国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2)研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。