

平成 21 年 6 月 19 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19590481  
 研究課題名 (和文) HIV 感染細胞特異的にアポトーシスを誘導するアデノ随伴ウイルス (AAV)  
 研究課題名 (英文) Adeno-associate virus (AAV) induces apoptosis of HIV-infected cells  
 研究代表者  
 島田 勝 (SHIMADA MASARU)  
 横浜市立大学・医学部・准教授  
 研究者番号：40301452

## 研究成果の概要：

現在のエイズ治療の主流である HAART の問題点の一つとして、この治療法に用いられる逆転写酵素阻害剤・プロテアーゼ阻害剤等の薬剤は、HIV の増殖を抑制できるが HIV 感染細胞自体は排除できないことが挙げられる。そこで、本研究ではヘキソンを改変した AAV を使用した HIV 感染細胞特異的アポトーシスを誘導することを目的とした。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2008 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

## 研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：ウイルス学

キーワード：AAV、HIV、アポトーシス

## 1. 研究開始当初の背景

現在の HIV 治療の主流である HAART において用いられている逆転写酵素阻害剤・プロテアーゼ阻害剤といった薬剤は、ウイルスの増殖を抑制する効果があるが感染した細胞自体を排除するものではない。そのため HIV 感染者は、感染した細胞が存在する限り永続的にこれらの薬剤を服用し続けなければならない。

## 2. 研究の目的

アポトーシスを誘導できる抗体依存性 AAV を使用し、HIV 感染細胞だけを排除して、HIV 感染の治癒をすることが目的である。

## 3. 研究の方法

AAV キャプシドの一部を抗体結合ペプチドである protein A に置換し、HIV の LTR の下流にヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子あるいは GFP を含んだ改変型 AAV ベクターを作製する。この改変型 AAV ベクターをヒト CD4 抗体と反応させた後、HIV 感染と未感染ヒト CD4 に感染させる。ガンシクロビル存在下で HIV 感染細胞特異的にアポトーシスを誘導するかを検討する。

## 4. 研究成果

1. 改変型AAVベクター力価は従来のAAVベクターとほぼ同程度で、キャプシドを改変しても、AAVの性質は変化しないことを確認した。
2. リンパ系Jurkat細胞はそのすべての細胞表面にCD3を発現しているが、キャプシド改変したAAVは抗ヒトCD3抗体の存在下においても、Jurkat細胞の30%にのみ感染可能であった。ウイルスとCD3抗体の量を増やすことによって、感染率を増加させることができた。一方、マウスの脾臓リンパ細胞の約50%がCD4陽性T細胞であり、改変したAAVと抗体存在下においてのみCD4+細胞に感染可能であった。更に、抗HIV抗体存在下において、HIV感染細胞に感染が成立した。
3. 以上より、キャプシド改変AAVベクターは抗体存在下において、抗体標的的特異的細胞に感染可能となることが明らかとなった。現在、AAVベクター、抗体量および細胞感染条件を検討し、HIV感染細胞にヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子を発現するAAVベクターを感染させ、ガンシクロビル作用時における感染細胞の減少量を検討している。更に、キャプシド改変型AAVを使用したin vivoでの検討もおこなう予定である。

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 9 件)

著者名 : Abe, S., Okuda, K., Ura, T., Kondo, A., Yoshida, A., Yoshizaki, S., Mizuguchi, H., Klinman, D., Shimada, M.  
論文標題 : Adenovirus type 5 with modified hexons induces robust transgene-specific immune responses in mice with

pre-existing immunity against adenovirus type 5.

雑誌名 : *J. Gene Med.*

発行年 : 2009 年

巻数 : 11 巻

ページ数 : 570-579

著者名 : Shimada, M., Wang, H-B., Kondo, A., Xu, X-P., Yoshida, A., Ura, T., Mizuguchi, H., Klinman, D., Luo, J-L., Bai, H., Okuda, K.

論文標題 : Effect of therapeutic immunization using Ad5/35 and MVA vectors on SIV-infection of rhesus monkeys undergoing anti-retroviral therapy.

雑誌名 : *Gene Ther.*

発行年 : 2009 年

巻数 : 16 巻

ページ数 : 218-228

著者名 : Ura, T., Yoshida, A., K-Q. Xin., Yoshizaki, S., Yashima, S., Abe, S., Mizuguchi, H., Okuda, K.

論文標題 : Designed Recombinant Adenovirus Type 5 Vector Induced Env-specific CD8+ Cytotoxic T lymphocytes and Cross-reactive Neutralizing Antibodies against Human Immunodeficiency Virus Type 1.

雑誌名 : *J. Gene Med*

発行年 : 2009 年

巻数 : 11 巻

ページ数 : 139-149

著者名 : Jounai, N., Takeshita, F., Kobiyama, K., Sawano, A., Miyawaki, A., Shimada, M., Ishii, KJ, Kawai, T., Akira, S., Suzuki, K., Okuda, K.

論文標題 : The Atg5 Atg12 conjugate associates with innate antiviral immune responses.

雑誌名 : *PNAS*

発行年 : 2007 年

巻数 : 104 巻

ページ数 : 4050-4055

著者名 : Someya, K., Shimada, M., Ami, Y., Izumi, Y., Mizuguchi, H., Ohta, S., Yamamoto, N., Honda, M., Okuda, K.

論文標題 : Chimeric adenovirus type 5/35 vector encoding SIV gag and HIV env genes affords protective immunity against the simian/human immunodeficiency virus in monkeys.

雑誌名 : *Virology*

発行年 : 2007 年

巻数 : 367 巻

ページ数 : 390-397

著者名 : Saha, S., Takeshita, F., Matsuda, T., Jounai, N., Kobiyama, K., Matsumoto, T., Sasaki, S., Yoshita, A., Shimada, M., Klinmana, D.M., Uematsu, S., Ishii, KJ, Akira, S., Okuda, K.

論文標題 : Blocking of the TLR5 activation domain hampers protective potential of flagellin DNA vaccine.

雑誌名 : *J. Immunol*

発行年 : 2007 年

巻数 : 179 巻

ページ数 : 1147-1154

著者名 : Shimada, M., Sekimoto, Y., Takahashi, T., Mizuguchi, H., Ichino, M., Yoshida, A. Okuda, K.

論文標題 : Chimeric adenovirus 5/35 vector containing the clade C HIV gag gene induces a cross-reactive immune response against HIV.

雑誌名 : *Vaccine*

発行年 : 2007 年

巻数 : 25 巻

ページ数 : 3809-3815

著者名 : Kojima, Y., Jounai, N., Takeshita, F., Nakazawa, M., Okuda, K., Watabe, S., Shimada, M., Okuda, K.

論文標題 : The degree of apoptosis as an immunostimulant for a DNA vaccine against HIV-1 infection.

雑誌名 : *Vaccine*

発行年 : 2007 年

巻数 : 25 巻

ページ数 : 438-45

著者名 : Matsui, K., Saha, S., saitoh, M., Mizuki, N., Itoh, N., Okada, E., Yashida, A., Shimada, M., Nishio, O., Okuda, K.

論文標題 : Isolation and identification of adenovirus from conjunctival scrapings over a two-year period (between 2001 and 2003) in Yokohama, Japan.

雑誌名 : *J. Med. Virol*

発行年 : 2007 年

巻数 : 79 巻

ページ数 : 200-205

[学会発表] (計 7 件)

発表者名 : 阿部晋也, 井野麻美, 吉田篤司, 島田 勝

発表標題 : 抗 5 型アデノウイルス抗体を有するマウスに対するヘキソン改変 5 型アデノウイルスベクターの有効性。

学会名 : 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学大会合同大会

発表年 : 2008.12

発表場所 : 神戸

発表者名 : 庄司正樹, 浦 剛博, 吉田篤司, 水口裕之, 島田勝, 奥田研爾

発表標題 : HIV 遺伝子搭載アデノウイルスベクターによる免疫誘導能の比較

学会名 : 第 31 回日本分子生物学会年会・第 81 回日本生化学大会合同大会

発表年 : 2008.12

場所 : 神戸

発表者名 : 島田 勝, 浦 剛博, 吉田篤司, 奥田研爾

発表標題 : Effect of therapeutic immunization using Ad5/35 and MVA vectors on SIV-infection of rhesus monkeys undergoing anti-retroviral therapy.

学会名 : 第 38 回日本免疫学会学術集会・総会

発表年 : 2008.12

場所 : 京都

発表者名 : 浦 剛博, 八島さやか, 吉田篤司, 島田 勝, 奥田研爾

発表標題 : Designed recombinant adenovirus type 5 vector induced cross-reactive neutralizing antibodies against HIV-1.

学会名 : 第 38 回日本免疫学会学術集会・総会

発表年 : 2008.12

場所 : 京都

発表者名 : 井野麻美, 阿部晋也, 浦 剛博, 吉崎慎二, 吉田篤司, 島田 勝, 奥田研爾

発表標題 : 抗アデノウイルス抗体誘導マウスにおけるヘキソン改変型アデノウイルスベクターによる免疫誘導能の解析

学会名 : 第 22 回日本エイズ学会学術集会・総会

発表年 : 2008.11

場所 : 大阪

発表者名 : 島田 勝, 阿部晋也, 井野麻美, 吉田篤司, 浦 剛博, 吉崎慎二, 水口裕之, 奥田研爾

発表標題 : 抗5型アデノウイルス抗体を有するスに対するヘキソン改変5型アデノウイルスベクターの有効性の検討

学会名 : 第56回日本ウイルス学会学術集会

発表年：2008.10

場所：岡山

発表者名：庄司正樹，井野麻美，吉田篤司，水口裕之，島田勝，奥田研爾

発表標題：HIV 遺伝子搭載アデノウイルスベクターを基盤とした HIV ワクチン最適化に向けた検討

学会名：第 56 回日本ウイルス学会学術集会

発表年：2008.10

場所：岡山

発表者：島田 勝，井野麻美，吉田篤司，奥田研爾

発表標題：サルでのウイルスベクターワクチンを用いた治療効果の検討

学会名：第 21 回日本エイズ学会

発表年：2007.11

場所：広島

発表者：島田 勝，井野麻美，吉田篤司，奥田研爾

発表標題：サルでのウイルスベクターワクチンを用いた治療効果の検討

学会名：第 55 回日本ウイルス学会

発表年：2007.10

場所：北海道

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

島田 勝 (SHIMADA MASARU)

横浜市立大学・医学部・准教授

研究者番号：40301452

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

なし