

令和 4 年 6 月 21 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19H03146

研究課題名(和文) 霊長類エイズモデルによるウイルスリザーバー傷害治療に関する研究

研究課題名(英文) Study of virus reservoir injury treatment on primate AIDS model

研究代表者

三浦 智行 (Miura, Tomoyuki)

京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・准教授

研究者番号：40202337

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,400,000円

研究成果の概要(和文)：抗CD4抗体投与によりアカゲザルの全身のCD4陽性T細胞(HIVのリザーバーとして重要と考えられている)を減少させ、多剤併用療法中断後のリザーバーからのウイルスリバウンドに与える影響を調べた。その結果、全身のCD4陽性T細胞を減少させてもウイルスリバウンドへの抑制効果は殆どないことがわかったが、3頭中1頭でリバウンド後にウイルス抑制効果が認められた。HIV感染症の新規治療法を考える上で興味深い知見である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エイズ治療研究において機能的治癒に向けた研究は現在最も先端的な研究分野である。本研究計画はサルエイズモデルを用いた実験感染であるため、リザーバー傷害によるコンセプトを実証的に検証する事が出来る。本研究計画を推進した結果、cART下でプロウイルス保有細胞を傷害する事がHIV感染症の機能的治癒につながるか、または実際上の効果が無いか分かる。このとは機能的治癒に向けた戦略策定の上で研究リソースをより正しい方向に集中する助けとなるため、結果がコンセプトの肯定はもちろんであるが否定であってもHIV感染症制御に貢献出来る。

研究成果の概要(英文)：We examined the impact of the reduction of systemic CD4-positive T cells, which is considered to be important as a reservoir of HIV, in rhesus monkeys by anti-CD4 antibody administration against virus rebound from reservoir after combined anti-retrovirus therapy interruption. In the result, it was clarified that the effect of systemic CD4-positive T cell reduction for suppressing the viral rebound was little, but viral suppression effect after the rebound was observed in one of three monkeys examined. This is an interesting finding in considering a new treatment of HIV infection.

研究分野：ウイルス学

キーワード：多剤併用療法 機能的治癒 動物モデル 感染症 アカゲザル

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

HIV 感染症の制御に関してワクチンは未だに開発されていないものの、治療に関しては3剤以上の抗 HIV 薬を服用する「多剤併用療法 (cART)」が開発され絶大な効果が上がっている。しかし、一端服薬を止めると体内のウイルス量は速やかに治療開始前のレベルに復元し(リバウンド)病態が進行する。従って生涯にわたる服薬が必要であるが、長期服薬に伴って薬剤耐性変異体ウイルスの出現、薬の副作用および経済的負担の増加と言った様々な問題が派生する。更に「臨床的に」治療が成功している感染者においてもウイルス感染に対する生体反応である炎症が完全に沈静化する事は無く、そのために起こる心筋炎の様な問題も顕在化している。これらの問題の根本にはウイルスリザーバーの存在がある。HIV は自らの RNA ゲノムを DNA に逆転写し宿主細胞ゲノム中に組み込むため(プロウイルス)体内からのウイルスの完全な排除は非常に難しい。そこで現在、HIV 感染症治療の現実的到達目標として、治療なしでウイルス複製を検出限界以下に抑制した状態、所謂「機能的治癒」が掲げられている。

応募者は cART に抵抗するウイルスリザーバーを同定する目的で、サル免疫不全ウイルス(SIV) /アカゲザルエイズモデルに長期間適用可能な cART レジメンを確立した。SIV 感染サルに同 cART を適用した所、治療下 HIV 感染者で見られるのと同様の血中ウイルス減衰を伴う検出限界以下のウイルス抑制を達成した。cART 中断によるウイルスリバウンド時の検索により、リンパ節濾胞に存在する CD3 陽性細胞(即ち T 細胞、さらに T 細胞のうち CD8 陽性細胞はウイルスに感受性がないため CD4 陽性 T 細胞)にウイルス抗原が検出された事から、主にリンパ節に存在する CD4 陽性 T 細胞がウイルスリバウンドの源となっている事が示唆された。また、1年間にわたる長期治療で血中ウイルス量が検出限界以下に抑制された個体でも全身検索からリンパ節でウイルス RNA が発現している事、そのウイルス RNA は遺伝子解析の結果、治療期間中に複製した証拠が無い場合、治療開始以前に成立したプロウイルスからの発現である事が示唆された。即ち、ウイルスリザーバーはプロウイルスを保有する CD4 陽性 T 細胞と考えられた。

以上、応募者のこれ迄得た知見に基づき、機能的治癒を達成するためにはリバウンドの源であるプロウイルス保有 CD4 陽性 T 細胞を傷害して可能な限り減少させる事が必要であると考えに至った。上述の通り、応募者は HIV 感染者における cART を良く再現するサルモデルを確立しているため、何らかの方法でリザーバーサイズを縮小出来れば応募者の仮説を検証出来ると考え、本研究課題を計画した。すなわち本研究課題の核心をなす学問的問いは「ウイルスリザーバーを傷害することによりエイズの機能的治癒を誘導できるか？」である。

2. 研究の目的

HIV リザーバーであるプロウイルス保有細胞を傷害することのウイルス制御および HIV 感染症機能的治癒への効果を検証するため、cART 適用下の SIV 感染サルに対して抗 CD4 抗体を投与することによって全身の CD4 陽性 T 細胞を選択的に除去する。この処理の後、cART を中断し、その後のウイルス制御を、血中ウイルス量を中心に cART のみ受けた群のウイルス制御と比較し、リザーバー傷害の効果を総合的に考察することによって、ウイルスリザーバーの傷害は HIV 感染症の機能的治癒に向けた治療戦略になりうるか検証することを目的とした。

3. 研究の方法

我々のグループはすでにサルへの経口投与による cART (朝食: 150mg AZT / 75mg 3TC / 200mg LPV / 50mg RTV、夕食: 150mg AZT / 75mg 3TC / 200mg LPV / 50mg RTV / 150mg TDF) を確立し、こ

のレジメンで 1 年以上に渡りウイルス複製を抑制することを証明している。インド産アカゲザルを 4 頭準備し、3 頭を cART 治療+抗体投与群に、1 頭を抗体投与単独群に設定した。これら 4 頭に SIVmac239 を 2000TCID₅₀ 静脈内接種した。血中ウイルス量がセットポイントに移行後 cART 治療を開始し、血中ウイルス量が検出限界以下に抑制後、抗 CD4 抗体を 40mg/kg の濃度で週 1 回、計 8 回投与した。CD4⁺T 細胞の推移は末梢血、リンパ節、直腸で観察し、フローサイトメトリーでその頻度を測定した。cART 治療+抗体投与群は枯渇した末梢血中の CD4⁺T 細胞が十分回復した後、cART を中断し、ウイルスリバウンドの動態を観察した。

4 . 研究成果

HIV 感染症の機能的治癒達成には、ウイルスを保持する組織および細胞（ウイルスリザーバー）を排除する必要がある。多剤併用療法下でウイルスリザーバーを傷害することで、治療中断後のウイルス制御の可能性をサルエイズモデルにより検証する事を本研究の目的とした。

4 頭のアカゲザルに SIVmac239 感染させると、感染 2 週後に血中ウイルス量は 10^6 ~ 10^7 コピー/ml のピークに達し、感染 10 週後には 10^4 ~ 10^6 コピー/ml のセットポイントに移行した。その後、cART 治療+抗体投与群の 3 頭に対し cART 治療を開始すると、3 頭中 2 頭で血中ウイルス量が感染 20 週後に検出限界以下に抑制され、残り 1 頭は 10^3 コピー/ml まで減少した。血中ウイルス量が十分に減少したため、感染 21 週後から抗 CD4 抗体の投与を開始した。計 8 回投与後、末梢血中の CD4⁺T 細胞は枯渇し、リンパ節中と直腸中の CD4⁺T 細胞は抗体投与前と比較し、それぞれ 75~89%、85~98%減少した。すなわち、抗 CD4 抗体投与により全身の CD4⁺T 細胞サイズが減少したと考えられた。しかしながら、抗体投与単独群の血中ウイルス量は末梢血、リンパ節、直腸中の CD4⁺T 細胞がほぼ枯渇したにもかかわらず、血中ウイルス量に大きな変化はなかった。cART 治療+抗体投与群の 3 頭は末梢血中の CD4⁺T 細胞の回復後、cART を中断し、ウイルスリバウンドの動態を評価した。その結果、3 頭とも cART 中断後すぐにウイルスリバウンドが起こった。従って CD4⁺T 細胞の減少だけではウイルスリバウンドには影響がないことが明らかとなった。しかし、3 頭中 1 頭はウイルスリバウンドが一過的であり、血中ウイルス量は検出限界付近を推移し、抗体投与によりウイルス抑制効果が示唆された。今後、投与方法の検討によるウイルス抑制効果の改善が期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Kobayakawa Takuya, Tsuji Kohei, Konno Kiju, Himeno Ai, Masuda Ami, Yang Tingting, Takahashi Kohei, Ishida Yusuke, Ohashi Nami, Kuwata Takeo, Matsumoto Kaho, Yoshimura Kazuhisa, Sakawaki Hiromi, Miura Tomoyuki, Harada Shigeyoshi, Matsushita Shuzo, Tamamura Hirokazu	4. 巻 64
2. 論文標題 Hybrids of Small-Molecule CD4 Mimics with Polyethylene Glycol Units as HIV Entry Inhibitors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 1481 ~ 1496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jmedchem.0c01153	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------