

機関番号：82603

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20390131

研究課題名（和文） 限局複製型生ワクチンのエイズウイルス複製抑制効果の解析

研究課題名（英文） Analysis of efficacy of a vaccine inducing confined avirulent virus replication against immunodeficiency virus infection

研究代表者

俣野 哲朗（MATANO TETSURO）

国立感染症研究所・エイズ研究センター・センター長

研究者番号：00270653

研究成果の概要（和文）：安全性を確保した有効な予防エイズワクチン候補として我々が考案した限局複製型生ワクチンを用いたエイズモデルにおける解析から、予防ワクチン接種によって、HIV/SIV 曝露後にはワクチン抗原特異的細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) 反応が優位に誘導され、非ワクチン抗原特異的 CTL 反応の誘導が遅延することが明らかとなった。この CTL 優位性に関する成果は、CTL 誘導エイズワクチンの抗原選択に重要な情報を提供するものである。

研究成果の概要（英文）：We analyzed the effect of a prophylactic AIDS vaccine inducing confined replication of an avirulent virus on cytotoxic T lymphocyte (CTL) responses in macaques after simian immunodeficiency virus (SIV) challenge. Our analysis revealed that prophylactic vaccination results in dominant induction of vaccine antigen-specific CTL responses post-viral exposure but delays SIV non-vaccine antigen-specific CTL responses. These results imply a significant influence of prophylactic vaccination on CTL immunodominance post-viral exposure, providing insights into antigen design in development of a CTL-inducing AIDS vaccine.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2009年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2010年度	2,900,000	632,885	3,532,885
年度			
年度			
総計	15,300,000	4,352,885	19,652,885

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：ウイルス・感染症・ワクチン・HIV・エイズ・細胞傷害性 T リンパ球

1. 研究開始当初の背景

(1) ヒト免疫不全ウイルス (HIV) 感染症では、適応免疫が誘導されてもウイルス複製が充分制御されず慢性持続感染が成立してしまうことが大きな特徴である。したがって、HIV 感染症克服の切り札とされる予防エイズワクチン開発においては、持続感染成立阻止に結びつく免疫機序を明らかにし、誘導する方法を検討する必要がある。

(2) ワクチンによって HIV 曝露後に自然感染時より有効な細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) 反応誘導に結びつけることは重要な戦略の一つである。予防エイズワクチン開発研究においては、唯一、弱毒化生ワクチンで、サル免疫不全ウイルス (SIV) 感染エイズモデルでの十分な持続感染成立阻止効果が報告されているが、安全性は確立されておらず臨床応用の見込みはない。

2. 研究の目的

(1) 安全性を確保した有効な予防エイズワクチン候補として我々が考案した限局複製型生ワクチンの効果を検証する目的で、サルエイズモデルにおいて誘導免疫およびSIV複製抑制能の解析を行った。

(2) このワクチンによって誘導されるSIV抗原特異的CTLメモリーの効果を知る目的で、SIVチャレンジ後のワクチン抗原特異的CTL反応とワクチン非抗原特異的CTL反応とを比較検討した。

3. 研究の方法

(1) 限局複製型生ワクチンは、SIV分子クローンDNAのenv領域を、ヒト細胞にレセプターを有しないフレンドマウス白血病ウイルス(FMLV)env遺伝子に組換えたFMSIV DNAと、FMLVレセプター(mCAT1)発現DNAとを共接種するもので、FMLVレセプター発現DNAが取り込まれた細胞に限局したFMSIV複製を期待するものである。本研究では、アカゲサル4頭に、このワクチン接種を1ヶ月間隔で計3回を行い、その後にSIVmac239を静注(チャレンジ)して、CTL反応の解析およびウイルス量定量を行った。

(2) 特に、SIV各抗原特異的CTL反応の解析を行い、ワクチン抗原特異的CTL反応とワクチン非抗原特異的CTL反応とを比較検討するとともに、ウイルスゲノムの塩基配列解析を行った。

4. 研究成果

(1) この1カ月間隔の計3回のワクチン接種では、1週間隔で接種した時ほどのワクチンウイルスの複製、CTL誘導、SIV防御効果が認められず、本ワクチンの効果にはワクチンウイルスの複製が必須であることが確認できた。SIVチャレンジ実験では、2頭で高い血漿中ウイルス量が維持されたものの、残り2頭の血漿中ウイルス量は比較的低値を示し、そのうちの1頭では約半年で検出限界以下となった。いずれにおいてもSIVチャレンジ後、SIVワクチン抗原(Gag・Pol・Vif・Vpx)特異的CTL反応の迅速な誘導が認められた。

(2) ワクチン接種群では、SIV感染急性期にワクチン抗原特異的CTLの優位な反応が認められ、興味深いことに、SIV非ワクチン抗原特異的CTL反応の誘導が遅れる傾向が認められた(図1)。感染急性期の血漿中ウイルスゲノムの塩基配列解析もこの結果を反映し、ワクチン抗原コード領域の変異選択が先行する傾向を示した(表1)。これらの結果は、予防ワ

クチン接種によって、HIV/SIV曝露後のCTL反応の優位性のパターンが変化することを示すものであり、CTL誘導ワクチンの抗原選択に重要な情報を提供するものである。

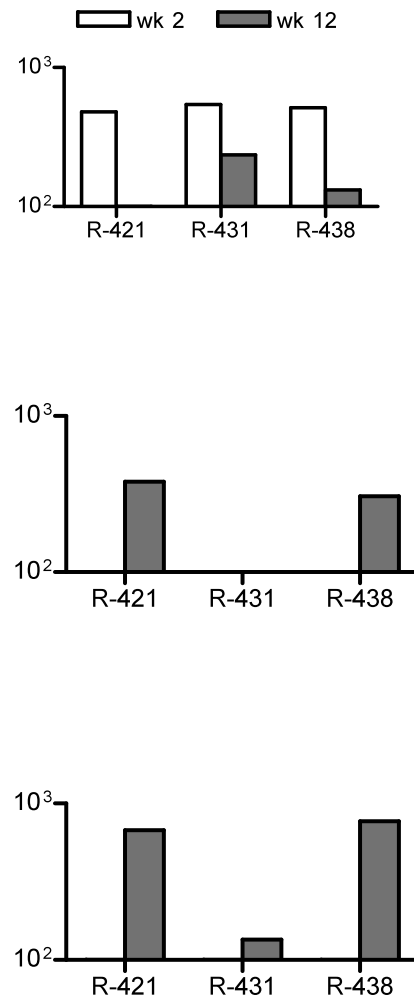


図1 ワクチン接種サルSIVチャレンジ後のワクチン抗原特異的CTL反応および非ワクチン抗原特異的CTL反応。上段:第2週および第12週のSIVワクチン抗原(Gag・Pol・Vif・Vpx)特異的CTLレベル。中段・下段:第2週および第12週のSIV非ワクチン抗原(Tat・Rev [中段]、Nef [下段])特異的CTLレベル。縦軸は、PBMC100万個あたりの特異的CTL数。第2週にはワクチン抗原特異的CTLが優位に誘導され、非ワクチン抗原特異的CTL誘導の遅延が認められる。

表1 ワクチン接種サルでのSIVチャレンジ後感染初期に優位となったSIVゲノムのワクチン抗原・非ワクチン抗原コード領域の変異の数(アミノ酸置換を生じる変異数)

	ワクチン抗原コード領域の変異数	非ワクチン抗原コード領域の変異数
第5週		
R-421	1	0
R-431	1	0
R-438	2	1
第12週		
R-421	2	5
R-431	1	2
R-438	2	4

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10件)

- ①Takahara Y, Matano T 他 (20人中20番目・責任著者) Dominant induction of vaccine antigen-specific cytotoxic T lymphocyte responses after simian immunodeficiency virus challenge. *Biochem Biophys Res Commun* 408:615-619, 2011. 査読有
- ②Saito A, Matano T, Akari H 他 (14人中13番目) Improved capacity of a monkey-tropic HIV-1 derivative to replicate in cynomolgus monkeys with minimal modifications. Improved capacity of a monkey-tropic HIV-1 derivative to replicate in cynomolgus monkeys with minimal modifications. *Microbes Infect* 13:58-64, 2011. 査読有
- ③Inagaki N, Matano T 他 (8人中8番目・責任著者) A structural constraint for functional interaction between N-terminal and C-terminal domains in simian immunodeficiency virus capsid proteins. *Retrovirology* 7:90, 2010. 査読有
- ④Iwamoto N, Matano T 他 (7人中7番目・責任著者) Broadening of CD8⁺ cell responses in vaccine-based simian immunodeficiency virus controllers. *AIDS* 24:2777-2787, 2010. 査読有

- ⑤Naruse TK, Matano T, Kimura A 他 (11人中10番目) Diversity of MHC class I genes in Burmese-origin rhesus macaques. *Immunogenetics* 62:601-611, 2010. 査読有
- ⑥Yamamoto H, Matano T (責任著者) Neutralizing antibodies in SIV control: co-impact with T cells. *Vaccine* 28S:B13-B17, 2010. 査読有
- ⑦Tsukamoto T, Matano T 他 (6人中6番目・責任著者) Impact of cytotoxic-T-lymphocyte memory induction without virus-specific CD4⁺ T-cell help on control of a simian immunodeficiency virus challenge in rhesus macaques. *J Virol* 83:9339-9346, 2009. 査読有
- ⑧Yamamoto T, Matano T 他 (9人中9番目・責任著者) Polyfunctional CD4⁺ T-cell induction in neutralizing antibody-triggered control of simian immunodeficiency virus infection. *J Virol* 83:5514-5524, 2009. 査読有
- ⑨Takeda A, Matano T 他 (10人中10番目・責任著者) Evaluation of the immunogenicity of replication-competent V-knocked-out and replication-defective F-deleted Sendai virus vector-based vaccines in macaques. *Vaccine* 26:6839-6843, 2008. 査読有
- ⑩Kawada M, Matano T 他 (10人中10番目・責任著者) Gag-specific cytotoxic T lymphocyte-based control of primary simian immunodeficiency virus replication in a vaccine trial. *J Virol* 82:10199-10206, 2008. 査読有

[学会発表] 15件)

- ①俣野哲朗. エイズワクチン開発: HIV感染症克服への挑戦. 第24回日本エイズ学会学術集会、東京、11/26/2010.
- ②高原悠佑、松岡佐織、石井洋、堀池麻里子、三浦智行、五十嵐樹彦、俣野哲朗. サルエイズモデルにおけるHAART実施前後のCTL反応の比較. 第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島、11/8/2010.
- ③高橋尚史、石井洋、高原悠佑、成瀬妙子、木村彰方、俣野哲朗. 自然感染で優位なGag特異的CTLが誘導されないMHC-Iハプロタイプ共有サル群におけるGag特異的CTL誘導ワクチン効果の解析. 第58回日本ウイルス学会学術集会、徳島、11/8/2010.
- ④Matano T. The effect of prophylactic vaccination on CTL dominancy post-SIV exposure in rhesus macaques. 11th Kumamoto AIDS Seminar, Kumamoto, Japan, 10/7/2010.
- ⑤Iwamoto N, Tsukamoto T, Kawada M, Takeda A, Yamamoto H, Takeuchi H, Matano T. Vaccine-based simian immunodeficiency virus controllers acquire broader CD8⁺ cell responses able to suppress multiple escape

mutant virus replication. 14th International Congress of Immunology, Kobe, Japan, 8/26/2010.

- ⑥ Matano T. Vaccine-based SIV control in a group of Burmese rhesus macaques sharing a MHC class I haplotype. 9th International Veterinary Immunology Symposium, Tokyo, Japan, 8/19/2010.
- ⑦ 俣野哲朗. センダイウイルスベクターを用いたエイズワクチン開発. 第26回日本DDS学会、大阪、6/17/2010.
- ⑧ Matano T. Dynamics of cytotoxic T lymphocyte responses in simian immunodeficiency virus controllers. 2nd Symposium of the IMSUT & RCAST Global COE, Tokyo, Japan, 3/2/2010.
- ⑨ 高原悠佑、武内寛明、石井洋、高橋尚史、三浦智行、五十嵐樹彦、俣野哲朗. ビルマ産アカゲザル SIV 感染により誘導される CTL エピトープの探索. 第57回日本ウイルス学会学術集会、東京、10/26/2009.
- ⑩ Matano T. Immunogenicity of an intranasal Sendai virus vector vaccine. Japan-France Vaccine and Infectious Diseases Workshop, Osaka, Japan, 10/10/2009.
- ⑪ Matano T. Effect of vaccine-induced memory T cells on HIV/SIV replication after virus exposure. The 9th Awaji International Forum on Infection and Immunity, Awaji, Japan, 9/11/2009.
- ⑫ 俣野哲朗. CTL のエイズウイルス複製抑制効果：サルエイズモデルにおける解析. 京都大学ウイルス研究所シンポジウム「霊長類を用いた生命科学研究」、京都、2/18/2009.
- ⑬ Matano T., Yamamoto T, Iwamoto N, Yamamoto H, Kawada M. Induction of functional T-cell responses in neutralizing antibody-triggered SIV control. The 26th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, San Juan, Puerto Rico, 12/12/2008.
- ⑭ 桑野哲矢、川田真幹、塚本徹雄、岩本南、井上誠、飯田章博、朱亜峰、長谷川護、俣野哲朗. サルエイズモデルにおける宿主 MHC 遺伝子多型の細胞性免疫誘導ワクチン効果への影響の解析. 第56回日本ウイルス学会学術集会、岡山、10/28/2008.
- ⑮ Matano T. Impact of vaccine-induced Gag-specific CTL responses on SIV control. The 9th Kumamoto AIDS Seminar, Kumamoto, Japan, 9/19/2008.

[図書] (計2件)

- ① 中根拓、俣野哲朗. エイズワクチン開発の問題点. 次世代ワクチンの産業技術応用 (神谷齊監修、シーエムシー出版) p.145-152, 2010.

- ② 塚本徹雄、俣野哲朗. AIDS. 臨床粘膜免疫学 (清野宏編集、シナジー) p.455-464, 2010.

[その他]

ホームページ等

<http://square.umin.ac.jp/arc/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

俣野 哲朗 (MATANO TETSURO)

国立感染症研究所・エイズ研究センター・センター長

研究者番号：00270653

(2) 研究分担者

研究者番号：

(3) 連携研究者

研究者番号：