

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：82603

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K07549

研究課題名（和文）逃避変異HIV-1の排除に向けた新規細胞性免疫の誘導法の研究

研究課題名（英文）Development of a novel approach to induce cellular immune response for elimination of circulating HIV-1

研究代表者

久世 望（Kuse, Nozomi）

国立感染症研究所・治療薬・ワクチン開発研究センター・主任研究官

研究者番号：80710409

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：HIV-1感染者は様々な変異HIV-1に感染しているため流行HIV-1を排除できる交差反応または変異特異的CTL応答の誘導が重要である。そこで日本人が高頻度に持っているHLA拘束性のエピトープを用いて、変異を認識できるCTLがナイーブT細胞から誘導できるか解析を行った。本研究では、STING活性化によりHIV-1感染者では確認できなかった変異抗原を認識できるTCRを持った新規CTLがナイーブT細胞から誘導できることを明らかにできた。以上から、様々な流行HIV-1変異にも応答できるCTLを誘導できるエイズ完治療法やワクチン開発の可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

薬剤治療で長期的にHIV-1を抑制できるようになったが、潜伏HIVまでは完全に排除できない。そのため再活性化させたHIV-1をCTLなどの免疫力で排除するという戦略がエイズ完治療法の一つとして提案されている。一方でHIV-1感染者は様々な変異HIV-1に感染しているため、流行HIV-1を排除できる交差反応または変異特異的CTLの誘導がエイズ完治療法やワクチン開発に重要である。本研究ではSTING活性化により、国内に流行している変異ウイルスも認識できる機能を持ったCTLをナイーブT細胞から新規誘導できた。本研究の成果によって、エイズの完治療法に必要な免疫面での課題を解決できる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：Induction of mutant-specific or cross-recognizing CTLs is critical for elimination of circulating HIV-1 in HIV-1-infected individuals. In this study, we investigated induction of HIV-1-specific CTLs with ability to recognize mutant virus from naive T cells using epitope restricted by HLA alleles, which is high prevalent alleles in Japanese individuals. We showed that HIV-1-specific CTLs carrying TCRs with ability to recognize circulating mutant viruses were elicited from naive T cells with STING activation. The study suggested that approach using STING activation would induce de novo HIV-1-specific CTLs with ability to recognize circulating HIV-1 from naive T cells and may contribute to development of effective T-cell vaccine or a functional cure for HIV-1.

研究分野：感染免疫学、ウイルス学

キーワード：HIV-1 CTL CD8陽性T細胞 逃避変異体 プライミング エピトープ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

HIV-1 特異的 CTL は感染細胞の排除に重要である。最近では、潜伏 HIV-1 を再活性化させ、CTL などの免疫力で HIV-1 を完全に排除するという戦略がエイズ完治療法の一つとして注目されている。しかし cART 治療中に抗原特異的エフェクター細胞の消失・メモリー細胞の機能低下が見られる。そこでエフェクター機能を有した HIV-1 特異的 CTL をナイーブ T 細胞から新規誘導、またはメモリー T 細胞から再活性化させる方法を確立することが必要である。しかし、HIV-1 感染者では様々な変異 HIV-1 に感染している。そのため、機能の強さだけでなく、流行 HIV-1 を排除できる変異に対して交差反応を示すまたは変異特異的 CTL 応答の誘導がエイズ完治療法やワクチン開発に重要である。

2. 研究の目的

先行研究で STING(Stimulator of IFN Genes)リガンド cGAMP(環状ジヌクレオチド)が強い type I IFN の産生によって、HIV-1 非感染者のナイーブ T 細胞から HIV-1 抑制能の強い CTL を誘導できることを示している。そこで本研究では STING 活性化により、国内に流行している変異 HIV-1 を排除できる CTL の誘導がナイーブ T 細胞から可能かどうか明らかにすることを目的としている。STING リガンド cGAMP を用いて HIV-1 特異的 CTL を誘導し、その機能を解析する

3. 研究の方法

(1)日本人 HIV-1 感染者で高頻度に検出される HLA-A*24:02 拘束性 NefRF10(Nef134-143)および HLA-B*52:01 拘束性 GagRI8(Gag275-282)エピトープを対象とし、これらのエピトープの変異ペプチドを合成した。HLA stabilization assay 法を用いて HLA 分子と結合できる変異を選択し、変異特異的または交差反応を示す CTL が誘導できる可能性のある変異エピトープを選択した。

(2)HLA-A*24:02 陽性または HLA-B*52:01 陽性の HIV-1 非感染者の PBMC を STING リガンド cGAMP で刺激を入れてナイーブ T 細胞から HIV-1 特異的 CTL(CD8 陽性 T 細胞)の誘導を行った。各 HLA-ペプチド複合体(テトラマー)を用いてエピトープ特異的 CTL が誘導できているか解析した。

(3)誘導されたエピトープ特異的 T 細胞は変異ペプチドに対するサイトカインの産生能を調べて、誘導された CTL の変異および野生型に対する特異性・認識能を評価した。

4. 研究成果

(1)変異エピトープペプチドと HLA の結合能

HLA-B*52:01 拘束性 GagRI8 エピトープにおいて、日本人 HIV-1 感染者では 6 番目のアミノ酸が I から V, S, A に置換された変異が比較的高頻度に見られる。しかしながら、これらの変異エピトープが HLA-B*52:01 に結合するのことは未解析であった。そこで RMA-S-B*52:01 細胞を用いた HLA stabilization assay 法で、エピトープペプチドと HLA-B*52:01 との結合能を評価した。RI8-6V 変異ペプチドは HLA-B*52:01 に対して野生型ペプチドと同様の結合能を示した。一方で、RI8-6A 変異は結合能がわずかに低下、6S 変異は著しく結合能が低下することが分かった。これらの結果から 6V、6A を認識できる CTL がナイーブ T 細胞から誘導できる可能性が示唆された。

(2)ナイーブ T 細胞からの CTL の誘導

HLA-A*24:02 拘束性 NefRF10 において、日本人に高頻度に見られる NefRF10-2F 変異(エピトープ 2 番目のアミノ酸が Y から F に置換)を認識できる CTL がナイーブ T 細胞から誘導できるか野生型および変異ペプチドを用いて検討を行った。テトラマーで染色を行った結果、野生型ペプチドでは野生型特異的 CTL、変異ペプチドでは変異特異的 CTL が誘導できた。また野生型テトラマーと変異型テトラマーの 2 重染色を行ったところ、野生型ペプチドおよび変異ペプチドを用いた誘導系どちらからも交差反応を示す CTL が誘導できていることが分かった。これらの結果から野生型特異的 CTL だけでなく変異を認識できる RF10-2F 特異的または交差反応を示す CTL がナイーブ T 細胞から野生型特異的 CTL と同様の効率で誘導できることが分かった。

HLA-B*52:01 拘束性 GagRI8 特異的 CTL が STING リガンドを用いてナイーブ T 細胞から誘導できるかは不明だったので、まず野生型ペプチドを用いて CTL が誘導できるか検討を行った。野生型特異的テトラマーで染色した結果、RI8 特異的 CD8 陽性 T 細胞がナイーブ T 細胞から誘導可能であることを確認できた。誘導できた CTL はサイトカインの産生能、HIV-1 増殖抑制能など機能も保持していることも確認できた。6V 変異を認識できる CTL は HIV-1 感染者でも誘導できることが明らかであるため、ナイーブ T 細胞からも 6V 特異的 CTL または交差反応性 CTL が誘導できると考えられる。そこで HIV-1 感染者で誘導が困難な 6A または 6S を認識できる CTL がナイーブ T 細胞から誘導できないか検討を行うことにした。しかしながら 6A、6S 変異ペ

プチドは HLA との結合能が野生型に比べて低下するためテトラマーの作製が困難であった。そこで 6A, 6S を認識できる CTL の同定は誘導された T 細胞の変異ペプチドに対するサイトカインの産生能を解析することによって行うことにした。

(3) 変異に対する CTL 認識能

ナイーブ T 細胞から誘導できた NefRF10-2F 特異的 CTL または交差反応を示す CTL が機能を持っているかどうか誘導された T 細胞のサイトカイン産生能を解析した。RF10-2F 特異的 CTL は野生型より変異ペプチドに対して強く IFN γ の産生を示すことが確認できた。一方で交差反応を示した CTL は野生型と変異ペプチドに対して同程度の IFN γ 産生量が確認された。これらの結果からナイーブ T 細胞から誘導できた変異特異的または交差反応を示す CTL は変異体を効果的に認識し機能を示すことが分かり、変異ウイルス感染細胞を排除できる可能性が示唆された。

ナイーブ T 細胞から誘導できた野生型 RI8 特異的 CTL について、変異ペプチドに対する IFN γ 産生能を解析した。興味深いことに野生型ペプチドで誘導したにも関わらず、HIV-1 感染者ではこれまで検出できなかった 6S 変異に対して強い反応を示す T 細胞が誘導できていることが確認できた。ナイーブ T 細胞はエフェクター T 細胞・メモリー T 細胞よりレパトリーの頻度・多様性が高いため、HIV-1 感染者(エフェクター・メモリー細胞)では確認できなかった変異を認識できる CTL がナイーブ T 細胞から誘導されやすい可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 9件／うち国際共著 8件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Kuse N, Akahoshi T, Takiguchi M	4. 巻 95
2. 論文標題 STING Ligand-Mediated Priming of Functional CD8+ T Cells Specific for HIV-1-Protective Epitopes from Naive T Cells	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e0069921
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/JVI.00699-21	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 該当する
1. 著者名 Zhang Yu, Murakoshi Hayato, Chikata Takayuki, Akahoshi Tomohiro, Tran Giang Van, Nguyen Trung Vu, Gatanaga Hiroyuki, Nguyen Kinh Van, Oka Shinichi, Kuse Nozomi, Takiguchi Masafumi	4. 巻 95
2. 論文標題 Effect of Difference in Consensus Sequence between HIV-1 Subtype A/E and Subtype B Viruses on Elicitation of Gag-Specific CD8+ T Cells and Accumulation of HLA-Associated Escape Mutations	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e02061-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/JVI.02061-20	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 該当する
1. 著者名 Murakoshi Hayato, Chikata Takayuki, Akahoshi Tomohiro, Zou Chengcheng, Borghan Mohamed Ali, Van Tran Giang, Nguyen Trung Vu, Van Nguyen Kinh, Kuse Nozomi, Takiguchi Masafumi	4. 巻 35
2. 論文標題 Critical effect of Pol escape mutations associated with detrimental allele HLA-C*15:05 on clinical outcome in HIV-1 subtype A/E infection	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 AIDS	6. 最初と最後の頁 33～43
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1097/QAD.0000000000002704	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Akahoshi Tomohiro, Gatanaga Hiroyuki, Kuse Nozomi, Chikata Takayuki, Koyanagi Madoka, Ishizuka Naoki, Brumme Chanson J., Murakoshi Hayato, Brumme Zabrina L., Oka Shinichi, Takiguchi Masafumi	4. 巻 16
2. 論文標題 T-cell responses to sequentially emerging viral escape mutants shape long-term HIV-1 population dynamics	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 PLOS Pathogens	6. 最初と最後の頁 e1009177
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.ppat.1009177	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 該当する

1. 著者名 Zhang Yu, Kuse Nozomi, Akahoshi Tomohiro, Chikata Takayuki, Gatanaga Hiroyuki, Oka Shinichi, Murakoshi Hayato, Takiguchi Masafumi	4. 巻 94
2. 論文標題 Role of Escape Mutant-Specific T Cells in Suppression of HIV-1 Replication and Coevolution with HIV-1	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e01151-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/JVI.01151-20	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 該当する

1. 著者名 Papagno Laura, Kuse Nozomi, Lissina Anna, Gostick Emma, Price David A., Appay Victor, Nicoli Francesco	4. 巻 10
2. 論文標題 The TLR9 ligand CpG ODN 2006 is a poor adjuvant for the induction of de novo CD8+ T-cell responses in vitro	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11620
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-020-67704-0	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 該当する

1. 著者名 Zhang Y, Chikata T, Kuse N, Murakoshi H, Gatanaga H, Oka S, Takiguchi M	4. 巻 96
2. 論文標題 Immunological Control of HIV-1 Disease Progression by Rare Protective HLA Allele	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e0124822
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/jvi.01248-22	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 -

1. 著者名 Nguyen HT, Kuse N, Zhang Y, Murakoshi H, Maeda Y, Tamura Y, Maruyama R, Tran GV, Nguyen TV, Nguyen KV, Oka S, Chikata T, Takiguchi M	4. 巻 96
2. 論文標題 Control of HIV-1 Replication by CD8+ T Cells Specific for Two Novel Pol Protective Epitopes in HIV-1 Subtype A/E Infection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e0081122
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/jvi.00811-22	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 該当する

1. 著者名 Chikata T, Paes W, Kuse N, Partridge T, Gatanaga H, Zhang Y, Kuroki K, Maenaka K, Ternette N, Oka S, Borrow P, Takiguchi M	4. 巻 96
2. 論文標題 Impact of Micropolymorphism Outside the Peptide Binding Groove in the Clinically Relevant Allele HLA-C*14 on T Cell Responses in HIV-1 Infection	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e0043222
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/jvi.00432-22	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 該当する

[学会発表] 計3件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Nozomi Kuse, Tomohiro Akahoshi, and Masafumi Takiguchi
2. 発表標題 Functional CD8+ T cells specific for HIV-1 protective epitopes primed with STING ligand
3. 学会等名 The 35th Annual Meeting of the Japanese Society for AIDS Research France-Japan Joint Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 久世望, 赤星智寛, 滝口雅文
2. 発表標題 ナイーブT細胞からのconserved/プロテクティブエピトープ特異的CTLの誘導
3. 学会等名 第34回日本エイズ学会学術集会・総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Nozomi Kuse
2. 発表標題 Effective priming of functional CD8+ T cells specific for HIV protective epitopes from naive T cells
3. 学会等名 Oxford-Kumamoto Universities Joint Annual Symposium (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

熊本大学 ヒトレトロウイルス学共同研究センター 国際先端研究部門 国際連携分野 (滝口研究室)
<https://kumamoto-u-jrchri.jp/takiguchi/default.html>

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
---------	---------