

令和 3 年 6 月 24 日現在

機関番号：82603

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16679

研究課題名（和文）サルエイズモデルを用いた長期ウイルス複製制御群に関わる主要CTLの交差反応性解析

研究課題名（英文）Analysis of cross-reactivity of dominant SIV-specific CD8+ T cells associate with viral control in SIV infected Burmese rhesus macaque.

研究代表者

野村 拓志（Nomura, Takushi）

国立感染症研究所・エイズ研究センター・主任研究官

研究者番号：80711001

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）：MHC-Iハプロタイプ90-120-1a共有SIV複製制御サルにおいて、エピトープ特異的CD8陽性T細胞の交差反応性を解析した。SIV長期複製制御サルはCTL逃避変異の選択がすすんでおらず複製制御の状態がよいN群と、CTL逃避変異の選択が緩徐ながら進行し一部の個体で複製制御が破綻するM群に区分される。N群の多くでは感染後に広範な反応性を示す主要CTLがみられたのに対し、M群ではみられなかった。このようなCTLドミナンスがN群における安定した持続複製制御維持と、M群における複製制御下での逃避変異蓄積の原因となる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

本研究では世界的に前例のないCTL依存的な長期SIV複製制御個体を用い、複製制御維持に必要なCTL反応の性質と、CTL依存的な複製制御下での低レベルのウイルス複製および変異選択の性質を部分的に解明した。これらは長期SIV複製制御維持にかかわるウイルス特異的CTL反応と体内ウイルス排除への新たな有用な知見であり、基礎研究として将来的なHIV感染症の制圧に寄与する成果である。

研究成果の概要（英文）：We analyzed cross-reactivity of epitope-specific CD8+ T cells in MHC-I haplotype 90-120-1a+ rhesus macaques controlled SIV. Long term SIV controllers were divided into two groups. Group N showed sustained viral control without accumulation of CTL escape mutations, and group M showed unstable viral control with accumulation of CTL escape mutations. Almost all animals in Group N showed cross-reactive SIV-specific CD8+ T cells post infection, whereas animals in Group M did not. We suggest that such CTL dominance may be responsible for the maintenance of sustained viral control in the Group N and the accumulation of escape mutations in Group M.

研究分野：感染病態学

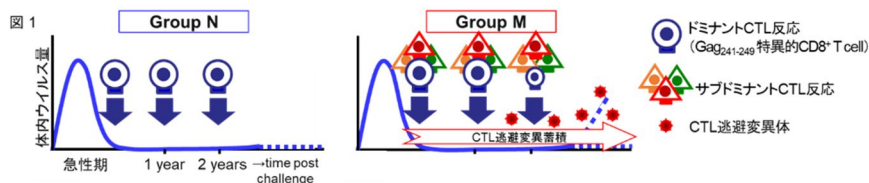
キーワード：SIV HIV CTL 複製制御 サルエイズモデル 交差反応性 免疫ドミナンス

1. 研究開始当初の背景

全世界での HIV 感染者数は研究開始当初の直前の 2017 年には 3690 万人と推定されており、増加傾向である。新規感染者数は減少傾向であるが、同年約 180 万人が新規に HIV に感染したと試算されている。わが国では新規感染者数の報告数は 1000 名程度と、人口比率でみるとアフリカなどの流行地と比較すると少ないものの、新規感染者は 2007 年以降 1000 人前後を推移しており、新規感染者の減少している他の多くの先進諸国とは異なり予断を許さない状況といえる。抗レトロウイルス薬治療(ART)下も HIV は Latent Reservoir として持続感染するために体内から完全に排除することはできず、病態の進行を抑えるためには ART を一生涯続ける必要がある。HIV の完治を目指した一般的な治療や、予防ワクチンは現在までに実用化されておらず、その確立が望まれる。また、HIV 感染者からのウイルスの完全な排除には薬剤だけでは不十分であり、宿主の免疫応答つまり細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 応答を有効に惹起する必要があるとの議論がなされており、所属研究室で開発中の CTL 誘導型予防エイズワクチンにより誘導されたウイルス特異的 CTL 反応と体内ウイルス排除の機構のより詳細な解析は、完治を目指した治療法の開発に向けた基礎知見となりうる。

2. 研究の目的

本研究ではサル免疫不全ウイルス (SIV) 複製制御個体における病態を決定する宿主側の因子として、PBMC 中の SIV 特異的 CD8 陽性 T 細胞反応動態の頻度の詳細な経時的解析を行い、長期複製制御維持に必要な CTL 反応の性質を解明することを目的とした。アカゲザルにおけるサル免疫不全ウイルス感染症によるサルエイズモデルは、ヒトの HIV 感染症と近似性の高い病態を示す動物モデルである。申請者は以前の研究において、SIVmac239 感染 MHC-I ハプロタイプ 90-120-1a 共有ビルマ産アカゲサル群を用い、CTL による複製制御維持機構を解析した (Nomura T. et al., PLoS Pathog 11:e1005247, 2015.)。その結果、長期複製制御群はその複製制御の性状から 2 つのグループに分けられた。グループ N では感染後 2 年にわたり CTL 反応の標的に大きな変化はなく、CTL 逃避変異ウイルスは検出されず、ドミナント CTL 反応が複製制御維持に寄与し続けており安定した複製制御を維持していると考えられた。もう一方のグループ M では感染後 2 年で CTL 逃避変異の蓄積が認められるとともに感染後 4 か月より CTL 反応標的の広範化がみられ、感染後 2 年の時点ではサブドミナント CTL 反応が複製制御維持に主な役割を果たしているものの、複製制御の質はグループ N に劣り、より長期の観察により実際にグループ M の一部の個体では複製制御の破綻が認められた (図 1 に模式図)。複製制御群における CTL 標的の広範化は CTL 逃避変異蓄積さらにはウイルス複製制御破綻の前兆であることが示され、逆に CTL 反応標的の変化がない個体群は永続的ウイルス複製制御モデルと考えられた。SIV 感染 MHC-I ハプロタイプ 90-120-1a 共有ビルマ産アカゲサルの複製制御状態がグループ N とグループ M に分かれる要因はいまだ不明であり、より詳細な解析を行うことで、長期 SIV 複製制御維持にかかわるウイルス特異的 CTL 反応と体内ウイルス排除への新たな有用な知見が得られると考えられる。



3. 研究の方法

SIV 感染サル体内において選択される CTL 逃避変異には複数の段階があり、その最初の段階における逃避変異は CTL からの認識を逃避するものの MHC-I への結合能は失わない場合があることが知られている。MHC-I ハプロタイプ 90-120-1a を構成する MHC-I アレルのひとつである Mamu-A1*065:01 に拘束される CTL エピトープとして、Gag₂₄₁₋₂₄₉ と Nef₁₉₃₋₂₀₃ が存在する。とくに Gag₂₄₁₋₂₄₉ 特異的 CD8 陽性 T 細胞反応は、MHC-I ハプロタイプ 90-120-1a 共有個体においてウイルス複製制御に最も重要な役割を果たすドミナント CTL 反応であると考えられている。SIV 感染サル体内において Mamu-A1*065:01 に拘束される CTL エピトープには逃避変異が選択されるが、その最初の段階における逃避変異は CTL からの認識を逃避するものの MHC-I への結合能は失わない。所属研究室では Gag₂₄₁₋₂₄₉ 野生型または Gag₂₄₁₋₂₄₉ 変異型エピトープ-Mamu-A1*065:01 tetramer を保有しており、SIV 感染 MHC-I ハプロタイプ 90-120-1a 共有サルにおいて Gag₂₄₁₋₂₄₉ 特異的 CD8 陽性 T 細胞が野生型エピトープと変異型エピトープのいずれを優位に認識するか、または野生型および変異型エピトープの両方に対し交差反応性を示すか解析することが可能である (図 2)。MHC-I ハプロタイプ 90-120-1a 共有長期 SIV 複製制御サル群のグループ N とグループ M は、申請者が見出した、世界でも他に例を見ない HIV/SIV 複製制御下における複製制御状態の差異を示す群である。本研究ではこの二つの長期 SIV 複製制御サル群の凍結検体を用い、Gag₂₄₁₋₂₄₉ ドミナントエピトープ特異的 CD8 陽性 T 細胞の交差反応性解析を行うことで、これまでに知られていない

複製制御下でのドミナントエピトープ特異的 CD8 陽性 T 細胞の詳細な誘導動態を経時的に解析した。

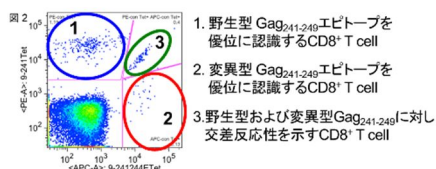


図 2 Gag₂₄₁₋₂₄₉ エピトープ-Mamu-A1*065:01 tetramer を用いたサル PBMC 中の Gag₂₄₁₋₂₄₉ 特異的 CD8 陽性 T 細胞の染色図例

4. 研究成果

本研究では、SIV 複製制御個体における病態を決定する宿主側の因子として PBMC 中の SIV 特異的 CTL の頻度の詳細な経時的解析を行い長期複製制御維持に関わるドミナント CTL 反応の性質を解明することを試みた。実施前に予想された結果とそこから導き出される考察は以下である。

(A)過去の研究によりグループ N は感染後長期にわたり CTL 反応の標的に大きな変化はなく、ドミナント CTL 反応により安定した複製制御を維持していると考えられることから、体内での変異体の増殖は限られており、野生型エピトープを優位に認識する CD8 陽性 T 細胞のみが誘導される。一方でグループ M ではサブドミナント CTL の誘導動態と同様に、エピトープ単位において変異体を認識する CD8 陽性 T 細胞の誘導つまり広範化がみられる。

(B)グループ N においても体内に増殖能をもつプロウイルスゲノム、つまり機能的な Latent Reservoir が検出限界未満でごく少量存在していることが過去の解析により示唆されている。このようなウイルス複製を制御するためにサブドミナント CTL 反応ではなくより複製制御に効果的なエピトープ特異的な CTL 反応の広範化がグループ N では生じるのに対し、グループ M ではこれが生じないか、サブドミナント CTL 反応の広範化よりも遅れて生じる。

解析の結果、実施前の予想の(B)に近い主要 CTL の誘導動態が確認された。N 群の過半数では感染後に広範な反応性を示す主要 CTL がみられたのに対し、M 群ではみられなかった。このような CTL ドミナンスが N 群における安定した持続複製制御維持と M 群における複製制御下での逃避変異蓄積の原因となる可能性が示唆された。

現段階における予防エイズワクチンの効果の目標は、HIV の完全な感染防御ではなく、HIV 感染時の血中ウイルス量を減少させるとともに AIDS 発症までの期間を延長し、集団中の HIV の伝播を抑制することであり、所属研究室で開発中の CTL 誘導型予防エイズワクチンは有効性が期待されている。このような作製が困難な予防エイズワクチンの開発に際し得られるであろう免疫学的知見は、他の感染症や疾病の理解のためにも有益である。本研究では基礎研究として、世界的に前例のない CTL 依存的な長期 SIV 複製制御個体において複製制御維持に必要な CTL 反応の性質と、CTL 依存的な複製制御下での低レベルのウイルス複製および変異選択の性質を部分的に解明した。これらは将来的な HIV 感染症の制圧に寄与する成果である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Nakamura-Hoshi Midori, Takahara Yusuke, Matsuoka Saori, Ishii Hiroshi, Seki Sayuri, Nomura Takushi, Yamamoto Hiroyuki, Sakawaki Hiromi, Miura Tomoyuki, Tokusumi Tsuyoshi, Shu Tsugumine, Matano Tetsuro	4. 巻 10
2. 論文標題 Therapeutic vaccine-mediated Gag-specific CD8+ T-cell induction under anti-retroviral therapy augments anti-virus efficacy of CD8+ cells in simian immunodeficiency virus-infected macaques	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 11394
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-68267-w	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 Hau Trang Thi Thu, Nakamura-Hoshi Midori, Kanno Yoshiaki, Nomura Takushi, Nishizawa Masako, Seki Sayuri, Ishii Hiroshi, Kawana-Tachikawa Ai, Hall William W., Nguyen Thi Lan Anh, Matano Tetsuro, Yamamoto Hiroyuki	4. 巻 512
2. 論文標題 CD8+ T cell-based strong selective pressure on multiple simian immunodeficiency virus targets in macaques possessing a protective MHC class I haplotype	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biochemical and Biophysical Research Communications	6. 最初と最後の頁 213-217
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.bbrc.2019.03.003	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 -
1. 著者名 Ishii Hiroshi, Terahara Kazutaka, Nomura Takushi, Takeda Akiko, Okazaki Midori, Yamamoto Hiroyuki, Tokusumi Tsuyoshi, Shu Tsugumine, Matano Tetsuro	4. 巻 94
2. 論文標題 A Novel Immunogen Selectively Eliciting CD8+ T Cells but Not CD4+ T Cells Targeting Immunodeficiency Virus Antigens	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Virology	6. 最初と最後の頁 e01876-19
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/JVI.01876-19	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 -

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 野村拓志
2. 発表標題 サルエイズモデルにおける組織リザーバー解析
3. 学会等名 第34回日本エイズ学会学術集会（招待講演）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takushi Nomura
2. 発表標題 Contribution of vaccine-induced mutant epitope-crossreactive CD8+ T cells to stable control of SIVmac239 replication
3. 学会等名 The 37th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS（国際学会）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takushi Nomura
2. 発表標題 Efficacy of vaccine-induced crossreactive CD8+ T cells targeting a Gag epitope against SIVmac239 challenge
3. 学会等名 The 67th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 野村拓志
2. 発表標題 ワクチン誘導Gag241-249エピトープ特異的 CD8陽性T細胞の交差反応性が SIV感染に与える影響の解析
3. 学会等名 第33回日本エイズ学会学術集会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 野村拓志	4. 発行年 2021年
2. 出版社 実験動物情報交流会	5. 総ページ数 6
3. 書名 オベリスク Vol.26,2, P12-17 「サルを用いたSARS-CoV-2感染症研究」	

〔産業財産権〕

〔その他〕

Publications, Matano Research Group http://square.umin.ac.jp/arc/Matano_Research_Group_JP/Publications.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
---------	---------