

平成10年度厚生科学研究費補助金

エイズ対策研究事業

課題番号 H-10-エイズ-003

HIVの病原性決定因子に関する研究

研究報告書

平成11年3月

主任研究者 田代 啓

(京都大学・遺伝子実験施設・助教授)

目次

I. 平成10年度研究組織	1
II. 総括研究報告書	2-4
1. 総括研究報告書（平成10年度）		
主任研究者：田代 啓	（京都大学・遺伝子実験施設・助教授）	
分担研究者：本庶 佑	（京都大学医学部・医化学Ⅰ・教授）	
III. 業績一覧（1998-1999）	5
IV. 研究成果の刊行物・別刷	6-17

HIVの病原性決定因子に関する研究班

平成10年度研究組織

主任研究者： 田代 啓（京都大学・遺伝子実験施設・助教授）

分担研究者： 本庶 佑（京都大学医学部・医化学Ⅰ・教授）

厚生科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
（総括・分担）研究報告書

HIVの病原性決定因子に関する研究

主任研究者 田代 啓 京大・遺伝子実験施設・助教授

研究要旨

本研究は、*SDF1*遺伝子多型 (3'A / 3'A)によるAIDS発症遅延がどのような分子メカニズムによるのかを解明することを目的としている。AIDS発症遅延のメカニズムが*SDF-1*タンパク質量の差による場合、その差の程度を知ることができれば予後判定や治療に寄与する可能性があるが、これまで体内に生理的に存在する内因性*SDF-1*タンパク質量を測定する系が無かった。そこで、本研究では、*SDF-1*タンパク質量を定量するイムノアッセイ法の樹立を目指して、以下のように実験して重要な結果を得たので報告する。*SDF-1*を強く認識する抗体の作製と、ランタノイド金属Eu³⁺を用いる検出系の条件設定を行った。主たるHIV-1ウイルス感染の場であるヒト胸腺やリンパ節内の*SDF-1*タンパク量測定は、現実には不可能なので、それら局所の*SDF-1*濃度と平衡関係にあり、局所*SDF-1*濃度を反映することが期待できる循環血中の*SDF-1*濃度を測定する系の樹立に成功した。現在、米国NCIのS. O'Brien博士らのグループから送られてきた米国のHIV-1感染者の血液中の*SDF-1*量を測定し、*SDF1*遺伝子系との関連の有無を検討中である。

さらに、本研究では、AIDS発症時期を制御するのが、*SDF1* 遺伝子そのものではなく、その近傍に位置する別の遺伝子である可能性を検討した。

分担研究者：本庶 佑

京都大学大学院医学研究科
・教授・研究科長（医学部長）

A. 研究目的

本研究は、*SDF1*遺伝子多型 (3'A / 3'A)によるAIDS発症遅延がどのような分子メカニズムによるのかを解明することを目的としている。AIDS発症遅延のメカニズムが*SDF-1*タンパク質量の差による場合、その差の程度を知ることができれば予後判定や治療に寄与する可能性があるが、これまで体内に生理的に存在する内因性*SDF-1*タンパク質量を測定する系が無かった。そこで、本研究では、*SDF-1*タンパク質量を定量するイムノアッセイ法の樹立を目指した。

B. 研究方法

内因性*SDF-1*タンパク質量測定系が無かったので、その樹立を行った。まず、抗*SDF-1*抗体を作製し、サンドイッチELISAの樹立を試みたが、感度が不十分で、ヒト血中*SDF-1*濃度の測定には至らなかった。そこで、より強く*SDF-1*を認識する抗体を得るために抗体作製を試みた。一方、ランタノイド金属Eu³⁺を検出系に用いるイムノアッセイ系の導入と条件最適化を行った。また、分担研究者・本庶は、もう一つの可能性として、AIDS発症遅延をもたらしているのは、*SDF1*3'A遺伝子型そのものではなく、その近傍の連関する遺伝子である可能性があるため、それを検討するため、*SDF1*遺伝子座の近傍に別の遺伝子が存在するかどうかを探索した。

C. 研究結果

SDF-1は、ヒトとマウス間で97%のアミノ酸が同一であり、免疫原性が低いタンパク質である。SDF-1に対して高い親和性をもつ抗体は得にくかったが、一連の試みで、イムノアッセイに使える抗体のペアを得ることができた。また、ランタノイド金属Eu³⁺を検出系に用いるイムノアッセイ系の導入と条件最適化を完了した。それらを用いて樹立したイムノアッセイ系によって、内因性血中SDF-1濃度測定が可能になった。我々は、本研究で樹立した測定系により、アメリカのコホートサンプル中のSDF-1タンパク質量を評価中である。また、世界唯一のSDF-1測定系を持つ利点を活かして、HIV感染からAIDによる死亡に至る各病期のSDF-1量の変動や、長期未発症者血中のSDF-1タンパク質量の測定を行っている。

分担研究者・本庶による*SDF1*近傍の別の遺伝子の探索は進行中であり、これまでのところ候補遺伝子は見つかっていない。

D. 考察

主たるHIV-1ウイルス感染の場であるヒト胸腺やリンパ節内のSDF-1タンパク質量測定は、現実には不可能なので、それら局所のSDF-1濃度と平衡関係にあり、局所SDF-1濃度を反映することが期待できる循環血中のSDF-1濃度を測定する系の樹立に成功した。米国NCIのO'Brien博士らは、十分な感度の測定系をもつアメリカ国内の共同研究者を見つけることができず、我々と共同研究を再び開始した。このことから、我々の樹立したSDF-1イムノアッセイ系は、現在のところ世界最高の感度と信頼性をもつと考えられる。

E. 結論

本研究でランタノイド金属Eu³⁺を用いるSDF-1イムノアッセイ法を樹立した。再現性よく循環血液中の生理的内因性サイトカイン濃度を測定できる系は、類例が少なく、今のところ、我々の知る限り、我々の系が世界唯一の実用可能なSDF-1測定系である。我々は、方法の詳細を記述した論文を投稿中であり、また、希望者にマテリアルが入手可能になるよう作業中である。それによって、日本国内のみならず、世界中のHIV-1臨床研究、基礎研究に貢献できると考えられる。実際に、AIDS発症遅延*SDF1*遺伝子多型を見出した米国のコホート研究の推進者であるNCIのO'Brien博士らのグループは、米国内では、SDF-1定量のできる共同研究者を見つけることができず、我々との共同研究が進行中である。

F. 研究発表

1.論文発表
なし

2.総説

・田代 啓・「*SDF1*遺伝子の多型性とHIV-1抵抗性」・免疫Immunology Frontier第8巻第5号・平成10年5月号294-297

・田代 啓、池川雅哉・「*SDF1*遺伝子の多型性とAIDS発症遅延」・最新医学第53巻第9号・平成10年9月号2012-2017

3.学会発表
なし

G. 知的所有権の取得状況

1.特許取得
なし

2.実用新案登録
なし

3.その他
なし

III. 業績一覽(1998-1999)

1. 田代 啓・「SDF1遺伝子の多型性とHIV-1抵抗性」・免疫Immunology Frontier 第8巻 第5号・平成10年5月号 294-297
2. 田代 啓, 池川雅哉・「SDF1遺伝子の多型性とAIDS発症遅延」・最新医学 第53巻 第9号・平成10年9月号 2012-2017

19980518

以降は雑誌/図書等に掲載された論文となりますので、P.5に記述された資料をご参照ください。