

厚生省

平成11年度

HIV 感染/AIDS の感染病態と
その生体防御に関する研究班

研究報告書

平成12年3月

主任研究者 倉田 毅

(国立感染症研究所副所長)

HIV 感染/AIDS の感染病態とその生体防御に関する研究班

研究者名	分担	所属	役職
倉田 毅	班長	国立感染症研究所	副所長
岡 慎一	班員	国立国際医療センターエイズ治療・研究開発センター	部長
生田 和良	班員	大阪大学微生物病研究所免疫・生体防御研究部門	教授
高橋 秀実	班員	日本医科大学医学部微生物学免疫学教室	教授
宮沢 正顕	班員	近畿大学医学部免疫学教室	教授
松下 修三	班員	熊本大学エイズ学研究センター病態制御分野	教授
向井 隼三郎	班員	国立感染症研究所筑波医学実験用霊長類センター	主任研究官
佐多 徹太郎	班員	国立感染症研究所エイズ研究センター	室長
横田 恭子	班員	国立感染症研究所免疫部	室長
小柳 義夫	班員	東北大学大学院医学系研究科生体防御学講座	教授
滝口 雅文	班員	熊本大学エイズ学研究センターウイルス制御分野	教授
高橋 秀宗	班員	国立感染症研究所感染病理部	室長
俣野 哲朗	班員	国立感染症研究所エイズ研究センター	主任研究官
田沼 靖一	研究協力者	東京理科大学薬学部生化学教室	教授
天野 富美夫	研究協力者	国立感染症研究所細胞化学部	主任研究官
山岡 昇司	研究協力者	東京医科歯科大学医学部微生物学教室	助教授
神奈木 真理	研究協力者	東京医科歯科大学医学系研究科免疫治療学講座	教授

目次

I. 総合研究報告書	
1. 総合研究報告書（平成9年度～11年度）	1
主任研究者：倉田 毅（国立感染症研究所副所長）	
II. 総括研究報告書	
2. 総括研究報告書（平成11年度）	5
主任研究者：倉田 毅（国立感染症研究所副所長）	
III. 分担研究報告書	
3. Magic 5を用いたPhenotypic resistance assay法の確立と臨床的意義	9
分担研究者：岡 慎一（国立国際医療センターエイズ治療・研究開発センター部長）	
4. CD4 ⁺ T細胞サブセット間のT-tropic、M-tropic HIV-1に対する感受性の違い	18
分担研究者：生田 和良（大阪大学微生物病研究所ウイルス免疫分野教授）	
5. HIV由来浮遊抗原ペプチドによる特異的CTLのキラー活性抑制とそれに伴う T細胞活性化因子の産生・放出	25
分担研究者：高橋 秀実（日本医科大学医学部微生物学免疫学教室教授）	
6. HIV感染成立に関与する宿主因子の解析	30
分担研究者：高橋 秀宗（国立感染症研究所感染病理部室長）	
7. HIVクワシスピーシスと免疫応答	33
分担研究者：松下 修三（熊本大学エイズ学研究センター病態制御分野教授）	
8. CTLによるHIV-1の認識と排除に関する研究	35
分担研究者：滝口 雅文（熊本大学エイズ学研究センターウイルス制御分野教授）	
9. レトロウイルスgag抗原上の感染防御性及び非防御性CD4陽性T細胞エピトープ	38
分担研究者：宮澤 正顕（近畿大学医学部免疫学教室教授）	
10. ヘルパーT細胞、MacrophageにおけるM-tropic、T-tropic HIV-1 strainの増殖性	43
研究協力者：山岡 昇司（東京医科歯科大学医学部微生物学教室助教授）	
11. SIVgag蛋白を封入した人工糖質リポソームによるサル免疫とそのワクチン効果に 関する研究	55
分担研究者：向井 鏡三郎（国立感染症研究所筑波医学実験用霊長類センター主任研究官）	
12. 限局的複製を誘導するエイズDNAワクチンに関する研究／マカクサルSIV感染 モデルにおける検討	61
分担研究者：俣野 哲朗（国立感染症研究所エイズ研究センター主任研究官）	
13. 天然物を用いたHIV遺伝子発現の抑制	64
研究協力者：田沼 靖一（東京理科大学薬学部生化学教室教授）	
14. アラキドン酸修飾したヒト単球U937細胞株のHIV-1感染性	70
研究協力者：天野 富美夫（国立感染症研究所細胞化学部主任研究官）	
15. HIV-1持続感染細胞に対する宿主免疫	76
研究協力者：神奈木 真理（東京医科歯科大学医学系研究科免疫治療学講座教授）	
16. 粘膜を介した抗HIV免疫反応の誘導とその感染防御効果に関する研究	79
分担研究者：横田 恭子（国立感染症研究所免疫部感染免疫室長）	
17. 急性感染期におけるHIV-1感染による免疫破壊機構	87
分担研究者：小柳 義夫（東北大学大学院医学系研究科生体防御学講座教授）	
18. エイズカポジ肉腫とヒトヘルペスウイルス8に関する研究	92
分担研究者：佐多 徹太郎（国立感染症研究所エイズ研究センター室長）	
IV. 業績一覧（1997-2000）	97

I. 総合研究報告

1. HIV 感染/AIDS の感染病態とその生体防御に関する研究班

総合研究報告書（平成 9～11 年度）

主任研究者 倉田 毅（国立感染症研究所副所長）

研究要旨 ヒト感染個体内での HIV 伝播の機序を明らかにし、HIV 遺伝子変異と病態進行過程を詳細に解析し、体内でのウイルス及びその成分による細胞死の機序とそれを制御する生体防御機構との関係を明らかにし、それをさらにサルのエイズ発症系のモデルを用いて、ヒトでは得られない各種病態解析を行なう。それらの成果をもとに感染防御ワクチン及び発症阻止治療薬等の開発に資する。そのために次の諸点について研究を実施した。1) 感染ヒト個体内での HIV の遺伝子変異、細胞死、宿主反応及び病態の進行について 2) 非人類霊長類でのエイズ発症モデルとワクチンによる感染防御系の開発 3) HIV 感染下での細胞障害性 T 細胞の役割と免疫反応及びワクチンを目指した生体防御機序の解析 4) ヒトの HIV 感染ウィンドウ期の診断を迅速に尿、血清、唾液等を用いる方法の確立。

分担研究者

平成 9-11 年

岡 慎一： 国立国際医療センター
生田 和良： 大阪大微生物病研究所
ウイルス免疫分野
高橋 秀実： 日本医大免疫学微生物学教室
宮沢 正顕： 近畿大医学部免疫学教室
松下 修三： 熊本大エイズ学研究センター
病態制御分野

平成 9-10 年

石川 栄治： 宮崎医大生化学第 1 講座
(平成 11 年 3 月退官)

【以下は班編成変更のため移動があった分担研究者】

平成 9 年

塩田 達雄 東大医科研感染症研究部
竹森 利忠 国立感染研免疫部

平成 10-11 年

向井 鎌三郎： 国立感染研筑波医学実験用
霊長類センター
佐多 徹太郎： 国立感染研エイズ研究センター
横田 恭子： 国立感染研免疫部
小柳 義夫： 東北大学院生体防御学
滝口 雅文： 熊本大エイズ学研究センター
ウイルス制御分野

平成 11 年

高橋 秀宗： 国立感染研感染病理部
俣野 哲朗： 国立感染研エイズ研究センター

研究協力者

平成 9 年 10 名 平成 10 年 6 名
平成 11 年 4 名

A. 研究目的

有効なワクチンや抗 HIV 療法を開発するためには、HIV 感染者体内でのウイルスの分布、体内伝播の機序と HIV 感染個体内における quasispecies を調べ、それらの増殖を阻止する液性、細胞性免疫反応を明らかにし、その誘導法を確立し、また HIV の遺伝子変異と再活性化の機序を明らかにし、病態進行過程を詳細に解析し、体内での細胞死、それらを制御する生体防御機構との関係を明らかにする必要がある。また遺伝子変異を凌駕する細胞障害性 T 細胞機能の活性化・増強機序を賦活・持続するワクチン、物質の開発を目指す。またエイズ治療を目的とした遺伝子治療に関する基礎研究を行う。上記の問題を解決していくために人の症例での病態の検討と同時に非人類霊長類発症系を用いて感染発症機序の解析とその制御法の開発を行なう必要がある。これらの研究から、医療上の感染の防止、HIV 感染防御、エイズ進行防止に対する有効な手段が提供される。

B. 研究方法

次の大きな研究項目を実施した。

1) 感染個体でのウイルス (HIV) の遺伝子変異、細胞死、宿主反応等病態の進行について;

HIV 感染/AIDS の経過中における体内ウイルス遺伝子変異はこのウイルスに対するワクチン開発、発症防止剤等の開発においてきわめて重要な点である。このグループでは体内ウイルスを迅速効率に分離する系をつくり、体内での HIV 遺伝子の状態を把握し、耐性株発生機序、あるいは HIV-quasispecies から中和抗体をのがれる機序、細胞死の機序、ウイルスゲノム複製におけ

る宿主因子の調節機構等を明らかにする。またヘルパー T 細胞、マクロファージにおける M-tropic、T-tropic 株の増殖性を検討する。さらに HIV/AIDS 宿主における病態病理像と臓器における遺伝子変異について解析する。

2) 感染初期のウインドウ期を短縮する超高感度迅速診断系の開発:

免疫複合体転移測定法により種々のパネル血清により感染初期の診断を迅速化する系を確立すると共に、遅れている HIV-2 の高感度遺伝子検出系を開発する。

3) 非人類霊長類でのエイズ発症モデルとワクチンによる感染制御系の開発:

ヒトの HIV-1 発症病態に対応する SIV 感染モデル (特に脳炎) をつくり、遺伝子変異と病態につき明らかにし、その系を用いたワクチン接種による SIV 感染防御を試みる。

4) HIV 感染下での細胞障害性 T 細胞の役割と免疫反応およびワクチンを目指した生体防御機序の解析:

すでに同定したヒトの HIV-1 CTL エピトープに加え、新たなエピトープの同定を試みる。またヘルパー T 細胞を含むペプチドワクチン免疫マウスでの CTL 活性試験を行うとともにさらに HIV 由来抗原ペプチドによる特異的キラー活性抑制と、T 細胞活性化因子の産生・放出をみる。また粘膜を介した HIV 免疫反応の誘導を感染防御効果の検討をする。

(倫理面への配慮)

人体検体を用いる場合は主治医が患者の同意を機関毎に得ている。また動物実験は、機関毎の委員会の承認のもとに実施されている。

C. 研究結果および考察

1) 感染個体でのウイルス (HIV) の遺伝子変異、細胞死、宿主反応等病態の進行について:

Magic5 細胞を用い M-および T-tropic ウイルスを迅速容易に分離し、15 時間で耐性結果が得られる系を確立した (岡)。また健常者の PBMC から CD4T 細胞を得、粒子吸着させるとアポトーシス誘導エフェクター活性を獲得し、CCR5 の発現は CD38-分画に高く、かつ M-tropic ウイルスは 200 倍以上のウイルス産生能を示した。また IL-2 誘導 Th1 細胞あるいはマクロファージに M-tropic あるいは T-tropic HIV-1 を感染させると侵入効率と増殖効率に違いがあり、宿主細胞因子がウイルス増殖性に関与することが示された。これは病態進行を

CD38+/-細胞率を指標に予測しうるとともに M-から T-tropic ウイルスへのシフトの機構の解明につながると考えられる (生田、山岡)。患者でみると、急性感染者から分離されるウイルスは Th1 細胞とマクロファージに効率よく増殖するウイルスが大部分であった。またウイルス遺伝子の解析から HIV-1 抗体陰性あるいは陽転者においても、変異効率は極めて高いことが判明した (小柳)。HIV クワシスピーシスの急激な変化と中和抗体からのエスケープの機序の解析から、また中和領域の gp120 抗原ペプチドの免疫実験 (マウス) から中和のエピトープを選んで免疫することにより変異株の中和も可能である (松下)。HIV-1 のエントリーをバイパスできるヒトとサル細胞を使用し感染成立過程を解析した結果、逆転写において宿主因子による感染成立の制御機構があることが明かとなった。感染成立に決定的に必要な因子探索がこの系を用いて可能になったと考える (高橋)。HIV-1 持続感染 T 細胞株の HIV-1 産生は AC 由来 CD8 細胞により抑制された (神奈木)。アラキドン酸修飾により、ヒト単球細胞膜表面の HIV-1 感染レセプターである CD4 および CXCR4 の発現を低下させウイルスと細胞の結合およびウイルス産生量を低下させることがわかった。この点から発症予防剤の開発や宿主要因としての膜脂質の関与の解析の展開が期待される (天野)。エイズ剖検脳内の HIV-1envC2x3 領域の塩基配列をみると脳症、非脳症脳で、他の臓器由来クローン (M-tropic が多い) と異なる集団形成 (T-tropic) がみられ、感染早期に脳内で感染しているウイルスには病態進行と一致しない隔絶したクローンの存在が示唆された。また HIV 感染宿主以外ではみられない視神経に CMV 感染が生じ、重篤な視力障害を生じていることが明らかになった。エイズにおけるカポジ肉腫には腫瘍細胞である紡錘型細胞と内皮細胞の核内に HHV8 の潜伏感染時にあらわれる ORF73 蛋白が多量に出現していることがわかった。また感染者の血清診断 ELISA 系と HHV8 関連蛋白を組織中に検出する系を確立した (佐多、倉田)。

2) 感染初期のウインドウ期を短縮する超高感度迅速診断系の開発:

高感度免疫複合体転移測定法により、血清で抗 p17IgG、IgM が HIV-1p24 抗原、RNA より早く検出される。また HIV-2gp36 合成ペプチド抗原ではこの方法で高感度に検出される。また尿、唾液等でも測定可能で

ある（石川）。

3) 非人類霊長類でのエイズ発症モデルとワクチンによる感染制御系の開発：

SIVgag 蛋白抗原をリボゾームに封入したものをサルに免疫（皮下注射）し、SIV を接種したところ血中ウイルス量は免疫群、非免疫群に差が見られず、感染阻止はできなかった（向井）。SIV とマウスフレンドウイルスとのキメラ SIV (FMSIV) DNA と FMLV レセプター発現 DNA を DNA ワクチンとしてサルに接種したところ限局的 FMSIV 複製の誘導がみられた。この方法の改良により有効かつ安全な方法となりうる可能性がある（俣野）。

4) HIV 感染下での細胞障害性 T 細胞の役割と免疫反応、およびワクチンを目指した生体防御機序の解析：

HIV ペプチド抗原処理によりキラー活性が低下した CTL の培養上清中には大量の様々なサイトカインが含まれており、それらは未刺激の CTL やヘルパー T 細胞を活性化しうることが明らかになり、かつキラー T 細胞にもヘルパー機能が存在発揮されることを証明した。こうしたウイルス産物による CTL 破壊を防ぎ機能低下を速やかに改善させる方策が必要である（高橋）。HLA-B*3501 拘束性 HIV-1 CTL エピトープペプチドの夫々の 4 量体（テトラマー）結合アピシンは、夫々エピトープに特異的 CTL クローンに特異的に結合した。これにより多種類のエピトープに対する CD8+ T 細胞を定量的に解析できる方法が確立された（滝口）。HIV-1gag 発現ベクター DNA を筋肉内に注射し、鼻粘膜に蛋白抗原を CT と共に追加免疫することにより得られる CTL

活性、抗体は上昇し、全身性の DNA 免疫により粘膜面の CTL 活性の増強が可能である（横田）。レトロウイルス gag 抗原上の感染防御性および非防御性 CD4 陽性 T 細胞エピトープの解析から強い CD4T リンパ球活性と IL-4 産生誘導能を有する 57-86 (コア構造) は全く感染防御能を示さないことは Th1 タイプの反応が感染抵抗性に、Th2 タイプ反応が病態の進行に関連することと一致する（宮沢）。

天然物からの HIV 遺伝子発現抑制をみるために HIV プロモーター領域 500-bp ミルシフェラーゼ遺伝子上流に組込んだ発現ベクターを作製し、このプラスミドをヒト T 細胞株 Jurkat にトランスフェクトし、種々の天然化合物を培地に添加することにより抑制効果をみるのが可能となった（田沼）。

E. 結論

当班の研究はヒト宿主レベル、あるいはサルモデル系での病態解析を通して、その成果を用いて感染防御系の確立を目指すものである。この 3 年間で感染者のウイルス遺伝子変異の機序、非感染細胞が破壊される機序、細胞障害性の機序等の研究が推進され、またサルの病態モデルも確立され、今後これらを総合してワクチン開発への応用の発展が期待されるが、まだ時間が必要である。米国なみとはいかなくても（約 3000 億円）研究費（基礎・応用）と研究人口を増やし、より総合的に取り組む必要がある。

F. 研究発表

業績一覧参照

II. 総括研究報告

2. HIV 感染/AIDS の感染病態とその生体防御に関する研究班

平成 11 年度総括研究報告書

主任研究者 倉田 毅 (国立感染症研究所副所長)

研究要旨 ヒト感染個体内での HIV 伝播の機序を明らかにし、HIV 遺伝子変異と病態進行過程を詳細に解析し、体内でのウイルス及びその成分による細胞死の機序とそれを制御する生体防御機構との関係を明らかにし、それをさらにサルエイズ発症系のモデルを用いて、ヒトでは得られない各種病態解析を行なう。それらの成果をもとに感染防御ワクチン及び発症阻止治療薬等の開発に資する。そのために次の諸点について研究を実施した。1) 感染ヒト個体内での HIV の遺伝子変異、細胞死、宿主反応及び病態の進行について 2) 非人類霊長類でのエイズ発症モデルとワクチンによる感染防御系の開発 3) HIV 感染下での細胞障害性 T 細胞の役割と免疫反応及びワクチンを目指した生体防御機序の解析。

分担研究者

岡 慎一： 国立国際医療センター
生田 和良： 大阪大学微生物病研究所
ウイルス免疫分野
高橋 秀実： 日本医大免疫学微生物学教室
宮沢 正顕： 近畿大医学部免疫学教室
松下 修三： 熊本大エイズ学研究センター
病態制御分野
向井 鏡三郎： 国立感染研筑波医学実験用霊長類
センター
佐多 徹太郎： 国立感染研エイズ研究センター
横田 恭子： 国立感染研免疫部
小柳 義夫： 東北大学大学院生体防御学
滝口 雅文： 熊本大エイズ学研究センター
ウイルス制御分野
高橋 秀宗： 国立感染研感染病理部
俣野 哲朗： 国立感染研エイズ研究センター

以上 12 名 (他 研究協力者 4 名)

A. 研究目的

有効なワクチンや抗 HIV 療法を開発するためには、HIV 感染者体内でのウイルスの分布、体内伝播の機序と HIV 感染個体内における quasispecies を調べ、それらの増殖を阻止する液性、細胞性免疫反応を明らかにし、その誘導法を確立する、また HIV の遺伝子変異と再活性化の機序を明らかにし、病態進行過程を詳細に解析し、体内での細胞死、それらを制御する生体防御機構との関係を明らかにする必要がある。遺伝子変異を凌駕する細胞障害性 T 細胞機能の活性化・増強機序を賦活・持続するワクチン、物質の開発を目指す。またエイズ治療を目的とした遺伝子治療に関する基礎研究を行う。

上記の問題を解決していくために人の症例での病態の検討と同時に非人類霊長類発症系を用いて感染発症機序の解析とその制御法の開発を行なう必要がある。これらの研究から、医療上の感染の防止、HIV 感染防御、エイズ進行防止に対する有効な手段が提供される。

B. 研究方法

次の大きな研究項目について実施した。

- 1) 感染個体での HIV の遺伝子変異、細胞死、宿主反応及び病態の進行について：
急性感染期における HIV-1 感染による免疫破壊機構を明らかにし、HIV 感染/AIDS の経過中における体内ウイルス遺伝子変異は、ワクチン開発、発症防止剤等の開発においてきわめて重要な点である。このグループでは体内ウイルスを迅速、効率よく分離する系をつくり、体内での HIV 遺伝子の状態を把握し、耐性株発生機序、HIV-quasispecies から中和抗体を逃れる機序、病態新興の理解のために CD^{4+}/CD^{8+} の HIV 感染比について検討する。さらに HIV のヘルパー T 細胞、マクロファージにおける M-tropic、T-tropic 株の増殖性をみる。またエイズに合併するカポジ肉腫と新しいヘルペスウイルス 8 の DNA の関連について明らかにする。
- 2) 非人類霊長類でのエイズ発症モデルとワクチンによる感染防御系の開発：
SIV 感染サル発症系を用い、SIVgag 蛋白、及び SIV とマウスフレンドウイルスのキメラ DNA を用いて感染阻止系の開発を試みる。
- 3) HIV 感染下での細胞障害性 T 細胞の役割と免疫反応及びワクチンを目指した生体防御機序の解析：
すでに同定したヒトの HIV-1 CTL エピトープに加え新たなエピトープの同定を試みる。

またヘルパーT細胞を含むペプチドワクチン免疫マウスでのCTL活性試験を行うと共にHIV由来抗原ペプチドによる特異的キラー活性抑制とT細胞活性化因子の産出・放出をみる。また粘膜を介したHIV免疫反応の誘導と感染防御効果の検討を行う。

(倫理面への配慮)

ヒトの検体を用いる場合には主治医が感染者／患者の同意を機関毎に得ている。また動物実験は機関毎の委員会の承認のもとに実施されている。

C&D. 研究結果と考察

1) 感染個体でのウイルス(HIV)の遺伝子変異、細胞死、宿主反応等病態の進行について:

Magic5細胞を用いM-およびT-tropicウイルスを迅速容易に分離し、15時間で耐性結果が得られる系を確立した(岡)。また健康者のPBMCからCD4T細胞を得、粒子吸着させるとアポトーシス誘導エフェクター活性を獲得し、CCR5の発現はCD38+分画に高く、かつM-tropicウイルスは200倍以上のウイルス産生能を示した。またIL-2誘導Th1細胞あるいはマクロファージにM-tropicあるいはT-tropic HIV-1を感染させると侵入効率と増殖効率に違いがあり、宿主細胞因子がウイルス増殖性に関与することが示された。これは病態進行をCD38+/-細胞率を指標に予測しようとするとともにM-からT-tropicウイルスへのシフトの機構の解明につながると考えられる(生田、山岡)。患者でみると、急性感染者から分離されるウイルスはTh1細胞とマクロファージに効率よく増殖するウイルスが大部分であった。またウイルス遺伝子の解析からHIV-1抗体陰性あるいは陽転者においても、変異効率は極めて高いことが判明した(小柳)。HIVクワシスピーシスの急激な変化と中和抗体からのエスケープの機序の解析から、また中和領域のgp120抗原ペプチドの免役実験(マウス)から中和のエピトープを選んで免疫することにより変異株の中和も可能である(松下)。HIV-1持続感染T細胞株のHIV-1産生はAC由来CD8細胞により抑制された(神奈木)。アラキドン酸修飾により、ヒト単球細胞膜表面のHIV-1感染レセプターであるCD4およびCXCR4の発現を低下させウイルスと細胞の結合およびウイルス産生量を低下させることがわかった。この点から発症予防剤の開発や宿主要因としての膜脂質の関与の解析の展開が期待さ

れる(天野)。エイズにおけるカポジ肉腫には腫瘍細胞である紡錘型細胞と内皮細胞の核内にHHV8の潜伏感染時にあらわれるORF73蛋白が多量に出現していることがわかった。また感染者の血清診断ELISA系とHHV8関連蛋白を組織中に検出する系を確立した(佐多、倉田)。

2) 非人類霊長類でのエイズ発症モデルとワクチンによる感染制御系の開発:

SIVgag蛋白抗原をリポソームに封入したものをサルに免疫(皮下注射)し、SIVを接種したところ血中ウイルス量は免疫群、非免疫群に差が見られず、感染阻止はできなかった(向井)。SIVとマウスフレンドウイルスとのキメラSIV(FMSIV)DNAとFMLVレセプター発現DNAをDNAワクチンとしてサルに接種したところ限局的FMSIV複製の誘導がみられた。この方法の改良により有効かつ安全な方法となりうる可能性がある(俣野)。

3) HIV感染下での細胞障害性T細胞の役割と免疫反応、およびワクチンを目指した生体防御機序の解析:

HIVペプチド抗原処理によりキラー活性が低下したCTLの培養上清中には大量の様々なサイトカインが含まれており、それらは未刺激のCTLやヘルパーT細胞を活性化しうることが明らかになり、かつキラーT細胞にもヘルパー機能が存在発揮されることを証明した。こうしたウイルス産物によるCTL破壊を防ぎ機能低下を速やかに改善させる方策が必要である(高橋)。HLA-B*3501拘束性HIV-1CTLエピトープペプチドの夫々の4量体(テトラマー)結合アピシンは、夫々エピトープに特異的CTLクローンに特異的に結合した。これにより多種類のエピトープに対するCD8+T細胞を定量的に解析できる方法が確立された(滝口)。HIV-1gag発現ベクターDNAを筋肉内に注射し、鼻粘膜に蛋白抗原をCTと共に追加免疫することにより得られるCTL活性、抗体は上昇し、全身性のDNA免疫により粘膜面のCTL活性の増強が可能である(横田)。レトロウイルスgag抗原上の感染防御性および非防御性CD4陽性T細胞エピトープの解析から強いCD4Tリンパ球活性能とIL-4産生誘導能を有する57-86(コア構造)は全く感染防御能を示さないことはTh1タイプの反応が感染抵抗性に、Th2タイプ反応が病態の進行に関連することと一致する(宮沢)。

天然物からのHIV遺伝子発現抑制をみるためにHIVプロモーター領域500-bpミルシ

フェラーゼ遺伝子上流に組込んだ発現ベクターを作製し、このプラスミドをヒト T 細胞株 Jurkat にトランスフェクトし、種々の天然化合物を培地に添加することにより抑制効果をみるのが可能となった（田沼）。

E. 結論

当班の研究は、ヒト宿主レベルあるいは動物モデル（サル）での免疫不全ウイルス感染による病態解明を通してその成果を感染防御ワクチン、感染者の発症阻止剤等の開発へ役立てることである。この 3 年間で感染者の体内のウイルス遺伝子の変異の機序、非感染細胞が破壊される機序、細胞障害性機序等の研究が推進され、またサルのエイズ病態モデルも確立され、今後これらを総合してワクチン開発への応用の発展が期待される。HIV 感染ではヒトが健常で生存しうるための免疫能を担う重要な細胞群が破壊されることが最も重要である。さらに体内に入った後次々と遺伝子の変異を起こしていくウイルスについて、ワクチンの開発に成功したことは世界的にも全くないことから、ワクチン開発は容易ではない。世界的にも現在用いられている薬剤を除き感染防御方法もない以上基礎・臨床あらゆる角度から研究を行う必要がある。

F. 研究発表

業績一覧参照

III. 分担研究報告

