

SeV を用いた系では細胞内で複合体形成が行われるため、簡単に効率よく MHC class I 分子を得ることができる。さらに 2 分子で複合体形成されていることを考えると、従来の系で作製不可能であった MHC class I テトラマーの作製も可能になるかもしれない。

2) $\beta 2m$ と融合した状態のエピトープは細胞膜表面で MHC class I 分子上に提示され、特異的 CD8T 細胞に認識され得ることが明らかになった。特に MHC class I 分子との結合能の低いエピトープに関して、ペプチドの状態よりも安定性が増すことも期待される。

3) US6 発現 SeV を用いることによって細胞表面の MHC class I 分子(大部分は TAP 依存性に輸送された抗原ペプチドを提示している)を減少させることができ、さらに同時に Nef138- $\beta 2m$ を発現させることによって HLA-A24 分子の細胞表面への発現を回復できることがわかった。これは US6 により TAP 依存性の粗面小胞体 (ER) へのペプチド輸送が阻害された結果内因性の抗原ペプチドが MHC class I と複合体を形成できなくなり、その一方で Nef138- $\beta 2m$ は TAP 非依存性に ER に存在し MHC class I と複合体を形成することが可能であることを示唆している。ウイルスベクターによる遺伝子導入を考えた場合、この US6-エピトープ融合 $\beta 2m$ 共発現系はベクター由来の抗原提示を抑えることによって目的の CD8T 細胞のみを効率よく活性化することが可能であるので、目的のエピトープ融合 $\beta 2m$ と US6 の共発現ベクターは有用であると考えられる。

E. 結論

本研究によって開発された MHC class I への単一抗原提示法は HIV 感染において免疫付活化療法として有用であると考えられる。STI との併用によって抗 HIV 薬に頼らずに AIDS 発症を阻止することができれば、抗 HIV 薬を使用できない感染者に有用なだけでなく、HIV 感染者の様々な負担を軽減することがきるかもしれない。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Takahashi, T., Hitani, A., Yamada, H., Nakamura, T., and Iwamoto, A. Desensitization to fluconazole in an AIDS patient. *Annals Pharmacotherapy* 35:642-643, 2001.
2. Ikegawa, M., Yuan, J., Matsumoto, K., Herrmann, S., Iwamoto, A., Nakamura, T., Matsusita, S., Kimura, T., Honjo, T., and Tashiro, K. Elevated plasma stromal cell-derived factor 1 protein level in the progression of HIV type 1 infection/AIDS. *AIDS Research and Human Retroviruses* 17:587-595, 2001.
3. Koibuchi, T., Hitani, A., Nakamura, T., Nojiri, N., Nakajima, K., Jyuji, T., and Iwamoto, A. Predominance fo

- genotype A HBV in HBV-HIV-1 dually positive population as compared to HIV-1-negative counterpart in Japan. *J. Med. Virol.* 64:435-440,2001.
4. Shioda, T., Nakayama, E.E., Tanaka, Y., Xin, X., Liu, H., Kawana-Tachikawa, A., Kato, A., Sakai, Y., Nagai, Y., and Iwamoto, A. Naturally occurring deletional mutation in the C-terminal cytoplasmic tail of CCR5 affects surface trafficking of CC5. *J. Virol.* 75:3462-3468, 2001..
 5. Watanabe, N., Tomizawa, M., Tachikawa-Kawana, A., Goto, M., Ajisawa, A., Nakamura, T., and Iwamoto, A. Quantitative and qualitative abnormalities in HIV-1-specific T cells. *AIDS* 15:711-715, 2001.
 6. Outbreak of Ebola hemorrhagic fever – Uganda, August 2000 – January 2001. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 50:73-77, 2001.
 7. Xin, X., Nakamura, K., Liu, H., Nakayama, E.E., Goto, M., Nagai, Y., Kitamura, Y., Shioda, T., and Iwamoto, A. Novel polymorphisms in human macrophage inflammatory protein -1 alpha (MIP-1 α) gene. *Genes and Immunity* 2:156-158, 2001.
 8. Taguchi, H., Takahashi, T., Goto, M., Nakamura, T., and Iwamoto, A. Acute parvovirus B19 infection during anti-retroviral therapy. *J. Infect. Chemother.* 7:110-112, 2001.
 9. Yamada, H., Kotaki, H., Nakamura, T., and Iwamoto, A. Simultaneous determination of the HIV protease inhibitors indinavir, amprenavir, saquinavir, ritonavir and nelfinavir in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr.* 755:85-89, 2001.
 10. Komuro, I., Keicho, N., Iwamoto, A., and Akagawa, K.S. Human alveolar macrophages and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor-induced monocyte-derived macrophages are resistant to H₂O₂ via their high basal and inducible levels of catalase activity. *J. Biol. Chem.* 276:24360-24364, 2001.
 11. Endo, T., Takahashi, T., Suzuki, M., Minamoto, F., Goto, M., Okuzumi, K., Oyaizu, N., Nakamura, T., Iwamoto, A. Mycobacterium haemophilum infection in a Japanese patient with AIDS: a case report. *J. Infect. Chemother.* 7:186-190, 2001.
 12. Sakuragi, J., Iwamoto, A., and Shioda, T. Dissociation of genome dimerization from packaging functions and virion maturation of human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol.*

- 76:959-967, 2002.
13. Nakayama, E.E., Meyer, L., Iwamoto, A., Persoz, A., Nagai, Y., Rouzioux, C., Delfraissy, J.-F., SEROCO Study Group, Debre, P., McIlroy, D., Theodorou, I., and Shioda, T. Protective effect of IL4-589T polymorphism on HIV-1 disease progression: Relationship with viral load. *J. Infect. Dis.* In Press.
 14. Nakamura, H., Nakamura, T., Suzuki, M., Minamoto, F., Oyaizu, N., Shiba, T., Miyaji, M., and Iwamoto, A. A case of disseminated coccidioidomycosis with intra- and para-vertebral abscesses. *J. Infect. Chem.* In Press.
2. 学会発表
 1. Miura, T., Hosoya, N., Kawana-Tachikawa, A., Shioda, T., Kitamura, Y., Nakamura, T., Nagai, Y., and Iwamoto, A. Comparison between adenovirus and Sendai virus vectors in inducing HIV-1 genes into human dendritic cells. Second International Conference on Vaccine Development and Immunotherapy. San Juan, Puerto Rico. May 22-25, 2001.
 2. Nakayama, E.E., Meyer, L., Iwamoto, A., Persoz, A., Nagai, Y., Rouzioux, C., Delfraissy, J.-F., for the SEROCO Study Group, Debre, P., McIlroy, D., Theodorou, I., and Shioda, T. Protective effect of IL4-589T polymorphism on HIV-1 disease progression: Relationship with viral load. 9th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Seattle, U.S.A. Feb. 24-28, 2002
 - H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
 1. 特許取得
 2. 実用新案登録
 3. その他
 - 特許出願
 1. エピトープ結合 $\beta 2m$ をコードする哺乳動物細胞感染性ウイルスベクターおよびその利用
 2. TAP 活性の阻害により MHC class I による外来エピトープの提示を増強する方法

図 1

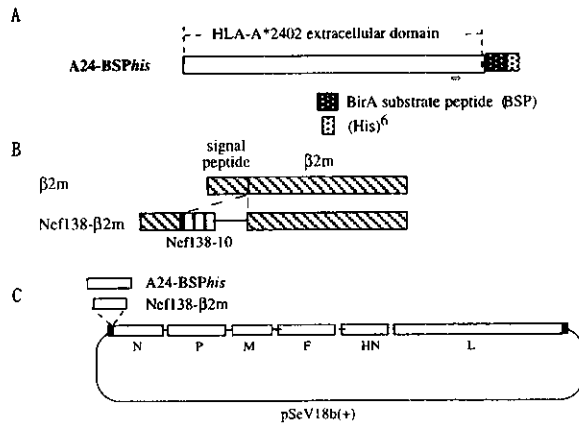


図 2

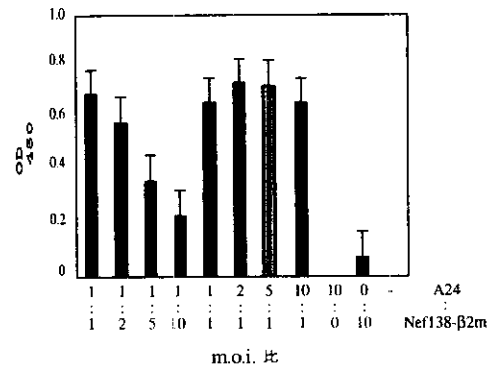


図 3

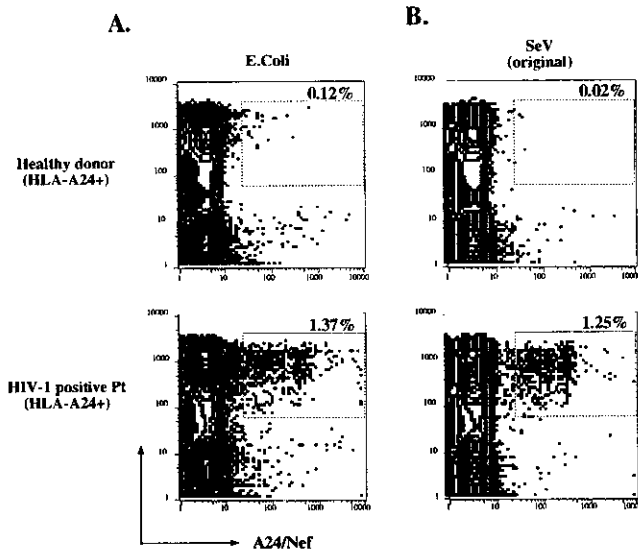
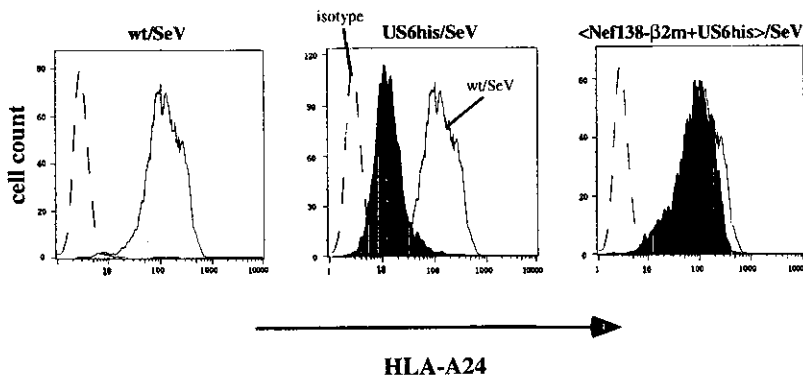


図 5



厚生科学研究費補助金(エイズ対策研究事業)

分担研究報告書

HIV 感染症の病態とヒトゲノム多型性に関する研究

分担研究者 塩田 達雄 (大阪大学微生物病研究所教授)

要旨	ヨーロッパおよびアメリカの
HIV-1 感染者のコホートにおいて AIDS 発症の遅延と相関するが HIV-1 感染感受性には影響しないことが報告されている CCR2 64I の多型を日本人 HIV-1 感染者 423 名と非感染者 288 名について検討した。その結果、この多型のホモ接合体が非感染者では 11.8%検出されたのに対し、感染者、特に性交渉によって感染した HIV-1 感染者では 3.9%しか検出されず、この多型のホモ接合体は性交渉による HIV-1 感染に対しても抵抗性を付与する可能性が示された。また、タイ国マヒドン大学病院産婦人科の妊婦検診を受診した HIV-1 感染者のうち、その配偶者が HIV-1 陰性である Discordant couple 22 組においてこの多型の有無を検討した結果、discordant couple の HIV-1 非感染者は、その配偶者らの集団、あるいは一般の HIV-1 非感染者の集団よりも、有意に高い頻度で CCR2 64I 変異のホモ接合体が存在していた。これらの結果から、アジア人においては CCR2 64I のホモ接合体が AIDS 病態進行の遅延のみならず、HIV-1 感染抵抗性とも関連することが明らかとなった。	

A. 研究目的

HIV 感染症の病態進行は感染者ごとに大きく異なる。また、HIV-1 感染感受性自体にも個人差が存在する。本研究は病態進行や HIV-1 感染感受性の違いを決定する宿主側の因子を明らかにすることを目的とする。このような因子が明らかにできれば、各 HIV-1 感染者の予後予測に役立つだけでなく、その因子を標的とした新しい HIV-1 制御の戦略を提示できると考えている。本年度はヨーロッパおよびアメリカの HIV-1 感染者のコホートにおいて AIDS 発症の遅延とは相関するが、HIV-1 感染感受性には影響しないことが報告されている CCR2 の多型 CCR2 64I を日本ならびにタイの HIV 感染者ならびに非感染者において検討し、アジア人種においてもこの多型が HIV-1 感染症に影響するか否か、を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

日本人 HIV-1 感染者 423 名と非感染者 288 名について CCR2 の遺伝子型を polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism 法で決定した。また、タイ国マヒドン大学病院産婦人科の妊婦検診を受診した HIV-1 感染者のうち、その配偶者が HIV-1 陰性である Discordant couple 22 組においてもこの多型の有無を検討した。

(倫理面への配慮)

HIV-1 感染者ならびに非感染者の検体を使用するにあたって、検体の提供者には遺伝子解析を行うことを含めて十分に説明を行い、書面による同意を得られた場合のみを解析の対象とし、検体は匿名化して個人情報特定できないようにして扱った。

C. 研究結果

アメリカあるいはヨーロッパにおいて、ケモカインレセプターCCR2 の 64 番目のアミノ酸がバリン(V)からイソロイシン(I)に置換した多型 CCR2 64I が約 10%の頻度で認められる(ホモ接合体の頻度は1%)。これらの地域のコホート研究においては、この多型を持つ HIV-1 感染者では AIDS 発症が遅延することが報告されている。また、HIV-1 感染者と非感染者で比較するとこの多型の頻度には差がないことから、この多型は CCR5delta32 とは異なり、HIV-1 感染成立には影響しないと考えられている。我々は、日本人 HIV-1 感染者 423 名と非感染者 288 名の CCR2 64I の頻度を検討した。その結果、感染者ではこの多型のホモ接合体の頻度は 6.6%であるのに対し非感染者では 11.8%に達し、感染者においてはこの多型のホモ接合体の頻度が有意に少ないことが明らかになった。感染経路別に見ると、血友病の HIV-1 感染者ではこの多型のホモ接合体の頻度は 9.8%で、非感染者と有意な差は認められなかったが、性交渉によって感染したと考えられる HIV-1 感染者では 3.9%であり、この多型が HIV-1 感染に対しても抵抗性を付与する可能性が示された。更に詳しくこの多型が HIV-1 感染成立に関わるか否かを検討するために、タイ国マヒドン大学病院産婦人科の妊婦検診を受診した HIV-1 感染者のうち、その配偶者が HIV-1 陰性である Discordant couple 22 組においてこの多型の有無を検討した。その結果、配偶者が HIV-1 に感染していて子供を設けるような接触があるにもかかわらず HIV-1 に感染しなかった人の集団には、その配偶者らの集団、あるいは一般の HIV-1 非感染者の集団よりも、有意に高い頻度で CCR2 64I 変異のホモ接合体が存在していた。これらの結果から、アジア

人においては CCR2 64I のホモ接合体が HIV-1 感染抵抗性と関連することが明らかとなった。

D. 考察

CCR2 64I は、アメリカおよびヨーロッパの HIV-1 感染者のコホート研究では、AIDS 病態進行の遅延と明らかに相関するが、HIV-1 感染感受性には影響しない、とされている。今回、筆者らの研究結果によって、この多型のホモ接合体がアジア人においては HIV-1 感染抵抗性と相関することが明らかになった。この多型の効果がアジア人種と欧米人とで異なる理由は今のところ不明であるが、アジア人では欧米人よりもこの多型の頻度が高いことと、アジア人には、欧米人において HIV-1 感染抵抗性を付与することが示されている CCR5 のコーディング領域の多型(CCR5 delta 32 や CCR5 m303)が存在しないことが関係しているかも知れない。

一方、試験管内の実験では、CCR2 をコレセプターとして使用する HIV-1 株の数は限られている。また、64 番目のアミノ酸がバリンからイソロイシンに変化しても HIV-1 のコレセプターとしての活性は変わらないため、この多型が AIDS 病態進行の遅延や HIV-1 感染抵抗性と相関する機構も今のところ不明である。現在、CCR2 の変化により HIV-1 の主要なコレセプターである CCR5 の発現が影響されるか否かを検討している。

E. 結論

アジア人においては CCR2 の 64 番目のアミノ酸がバリン(V)からイソロイシン(I)に置換した多型 CCR2 64I のホモ接合体が、AIDS 病態進行の遅延のみならず、HIV-1 感染抵抗性とも関連するこ

とが明らかとなった。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

① Duplication of the Primary Encapsidation and Dimer Linkage Region of HIV-1 RNA Results in the Appearance of Monomeric RNA in Virus Particles. Jun-ichi Sakuragi, Tatsuo Shioda, and Antonito Panganiban. *J. Virol.* 75, 2557-2565, 2001.

② Naturally occurring deletional mutation in the C-terminal cytoplasmic tail of CCR5 affects surface trafficking of CCR5. Tatsuo Shioda, Emi E. Nakayama, Yuetsu Tanaka, Xiaomi Xin, Huanliang Liu, Ai Kawana-Tachikawa, Atsushi Kato, Yuko Sakai, Yoshiyuki Nagai, and Aikichi Iwamoto. *J. Virol.* 75, 3462-3468, 2001.

③ Solid-phase synthesis of peptides having difficult sequences: Synthesis of peptides related to HIV-V3 region for immunological studies. Kiyoshi Nokihara, Saya Shimizu, Ruediger Pipkorn, Tadashi Yasuhara, and Tatsuo Shioda. *Peptide Science.* 13-16, 2001.

④ A quintuple deglycosylation mutant of SIVmac239 in rhesus macaques. Robust primary replication, tightly contained chronic infection and elicitation of potent immunity against the

parental wild type strain. Kazuyasu Mori, Yasuhiro Yasutomi, Shinji Ohgimoto, Tadashi Nakasone, Shiki Takamura, Tatsuo Shioda, and Yoshiyuki Nagai. *J. Virol.* 75, 4023-4028, 2001.

⑤ Novel polymorphisms in human macrophage inflammatory protein -1 alpha (MIP-1 α) gene. Xiaomi Xin, Koichiro Nakamura, Huanling Liu, Emi E. Nakayama, Mieko Goto, Yoshiyuki Nagai, Yoshihiro Kitamura, Tatsuo Shioda, and Aikichi Iwamoto. *Genes and Immunity.* 2, 156-158, 2001.

⑥ Dissociation of genomic dimerization from packaging functions and virion maturation of human immunodeficiency virus type 1. Jun-ichi Sakuragi, Aikichi Iwamoto, and Tatsuo Shioda. *J. Virol.* 76, 959-967, 2002.

⑦ Genetic analysis of HIV-1 discordant couples in Thailand: Association of CCR2 64I homozygosity with HIV-1 negative status. Suda Louisirotnchanakul, Huanliang Liu, Anuvat Roongpisuthipong, Emi E. Nakayama, Yutaka Takebe, Tatsuo Shioda and Chantapong Wasi. *J. AIDS.* 29, 314-315, 2002.

⑧ Protective effect of IL4 -589T polymorphism on HIV-1 disease progression: Relationship with viral load. Emi E. Nakayama, Laurence Meyer, Aikichi Iwamoto, Anne Persoz, Yoshiyuki Nagai, Christine Rouzioux, Jean-Francois Delfraissy, SEROCO Study Group, Patrice Debre, Dorian

Mellroy, Ioannis Theodorou and Tatsuo Shioda.
J. Infectious Diseases. In press.

2. 学会発表

① HIV-1 感染症の病態進行と IL4 遺伝子多型。
中山英美、永井美之、岩本愛吉、塩田達雄。第
49 回日本ウイルス学会学術集会(大阪)。
1A-11。

② HIV-1 粒子内 RNA のパッケージングおよび
二量体化に関する解析。櫻木淳一、塩田達雄。
第 49 回日本ウイルス学会学術集会(大阪)。
3A-33。

③ HIV 感染症に関わる宿主因子。塩田達雄。
第 15 回日本エイズ学会学術集会(東京)。シン
ポジウム、S4-1。

④ 日本人 HIV-1 感染及び発症関連遺伝子-ケ
モカインレセプターの遺伝子多型についての検
討。Xue-Wen Deng, 照沼 裕、Handemal Ray,
花房秀次、瀧、正志、葛西宏威、山下篤哉、塩

田達雄、伊藤正彦、三間屋純一。第 15 回日本
エイズ学会学術集会(東京)。192P。

⑤ HIV-1 ゲノム二量体化及びパッケージングに
関する解析。櫻木淳一、塩田達雄。第 24 回日本
分子生物学会年会(横浜)。3P-154。

⑥ **Protective effect of IL4 -589T polymorphism
on HIV-1 disease progression: Relationship with
viral load.** Emi E. Nakayama, Laurence Meyer,
Aikichi Iwamoto, Anne Persoz, Yoshiyuki Nagai,
Christine Rouzioux, Jean-Francois Delfraissy,
SEROCCO Study Group, Patrice Debre, Dorian
Mellroy, Ioannis Theodorou and Tatsuo Shioda.
9 th International Conference on Retrovirues and
Opportunistic Infections (Seattle, USA). 324-W.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし

長期未発症者でのヒトゲノム多型を含む宿主側とウイルス側の発症遅延要因に関する研究

分担研究者 照沼 裕 山梨医科大学微生物学講座・講師

研究要旨

日本の HIV-1 感染血友病患者の中には 16 年以上未治療で無症状という長期未発症者が確認されている。しかし、この長期未発症、HIV-1 感染者での発症遅延・阻止がどのような要因によるのかは解明されていない。我々は長期未発症を誘導するために重要な宿主側とウイルス側の発症遅延要因を明らかにするために、DNA microarray を使った mRNA の発現パターン、ヒトゲノム多型性、感染している HIV-1 の性状などを長期未発症者とそのコントロール群で比較検討している。

A. 研究目的

日本の HIV-1 感染血友病患者の中には 16 年以上未治療で無症状という長期未発症者が確認されている。しかし、この長期未発症者での発症遅延・阻止がどのような要因によるのかは解明されていない。本研究では、これらの長期未発症者を他群と比較することで、長期未発症を誘導するために重要な宿主側の因子やウイルス側の因子を明らかにすることを目的としている。

B. 研究方法

上記の研究目的のために HIV-1 感染長期未発症者・HIV-1 感染発症血友病患者・HIV-1 感染非血友病患者・HIV-1 非感染血友病患者・HIV-1 非感染非血友病健康者の間で以下の 3 点について比較検討を進めている。長期未発症者での既知の宿主発症遅延

連ゲノム多型性の解析：これまでに宿主の発症遅延に関わる遺伝子として報告されている CCR5 のプロモーター領域の点変異と翻訳領域の $\Delta 32$ 、CCD2 の 64I、SDF-1 の 3'A、RANTES -28G、IL-4-589T などのゲノム多型について、日本の長期未発症者での頻度を検討する。その重要性が確認されたゲノム多型についてはその発症遅延のメカニズムを in vitro の系にて検討する。未知の宿主発症遅延因子の DNA microarray による検索：未知の宿主の発症遅延因子を検討するために、末梢血単核球を分離培養し、mRNA を抽出して、発現している遺伝子を DNA microarray で検討している。さらに、絞り込まれた遺伝子について mRNA の発現を質的・量的に検討し、その遺伝子発現の調節領域について DNA の遺伝子解析を行い、発症遅延に関わる未知の宿主因子とそのヒトゲノ

ム多型性について検討する。長期未発症者に感染している HIV-1 の性状の解析：長期未発症者とその感染者比較群で HIV-1 感染病態について以下のような手法によって解析を進めている。HIV-1 の培養分離率、血漿中の HIV-1 RNA の定量（ロッシュのアンプリコアモニター）、血漿中の RT 活性の定量、末梢血単核球での HIV-1 の逆転写中間体である RNA-DNA hybrid の定量、競合的定量 PCR による HIV-1 プロウイルス量、PNA プローブを用いた in situ hybridization 法による末梢血 CD4 陽性 T リンパ球の HIV-1 プロウイルス陽性率。

（倫理面への配慮）

昨年度、ミレニアム・プロジェクトに対して厚生省より出された「遺伝子解析研究に付随する倫理問題等に対応するための指針」に準じ、研究計画の承認を受けた。しかし、平成 13 年 3 月末の文部科学省、厚生労働省、経済産業省から三省合同で出された「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」が出されたため、それに準じて再度、倫理審査委員会での審査とそれに基づく学長からの研究計画の承認を受けた。さらに、検体を採取する施設でも倫理委員会の承認を受けた上で、血液提供者からインフォームドコンセントを得て採血している。また、患者名の匿名化を徹底して研究を進めている。

C. 研究結果

上記のような手続きで研究計画の承認を受けた後、決められた手続きに従って検体を採取し、下記の解析をおこなっている。

長期未発症者での既知の宿主発症遅延関連ゲノム多型性の解析：これまで我々は CCR2-64I/CCR5-59653T の遺伝子多型が HIV 感染日本人血友病患者の発症阻止に関連していることを報告してきた。本年度は CCR2-64I/CCR5-59653T の HIV 感染への関与と、CCR5 の P1 haplotype のホモ接合体の感染・発症への関与の可能性について検討した。検討対象は HIV-1 に感染した日本の血友病患者で、現在のところ、長期未発症者 9 例（A 群）、3 年前までは長期未発症であったが検討時には CD4 数が 200-400 になっている 8 例（B 群）、CD4 数は 400 以上で抗 HIV 剤を使用している 9 例（C 群）、CD4 数が 200-400 で抗 HIV 剤を使用している 10 例（D 群）、HIV-1 抗体陰性の血友病 11 例（E 群）及び健康人 29 例（F 群）である。これらの群での CCR2-64I/CCR5-59653T 出現率は A 群 78%、B 群 63%、C 群 44%、D 群 40%、E 群 73%、F 群 31% であり、健常者と比べて、長期未発症者と HIV-1 抗体陰性の血友病で有意に高かった。CCR5-delta32、m303 は認められなかった。発症促進因子と考えられている CCR5 の P1 haplotype のホモ接合体の出現率は A 群 44%、B 群 17%、C 群 29%、D 群 22%、E 群 18%、F 群 38% でその効果は不明であった。

未知の宿主発症遅延因子の DNA microarray による検索：現在、患者の負担を減らすために、少量の血液から T リンパ球を増やし、mRNA を抽出し、DNA microarray で mRNA の発現パターンを解析（東大医科研の渡辺慎哉先生と共同研究）する手法を検討中である。これまでに予備実験として抗 CD3 抗体や

PHAで刺激増殖させたT細胞、58検体を調整し、DNA microarrayでの解析がおこなわれた。さらに、長期未発症者を含む検体から Herpesvirus saimiriによる不死化T細胞約200株を解析サンプルとして調整中である。

長期未発症者に感染している HIV-1 の性状の解析：これまでの我々の研究では長期未発症者の多くが数千コピー/ml の血漿 HIV-1 RNA 量を示している。これらの長期未発症者での HIV-1 の性状と感染病態について、研究方法で述べた手法によって解析を進めている。

D. 考察

日本人では、CCR2-64I/CCR5-59653T が HIV-1 長期未発症者だけではなく、HIV-1 抗体陰性の血友病症例でも有意に高く認めたことからこれらの遺伝子は HIV-1 の発症阻止だけでなく感染阻止にも関連している可能性が示唆された。現在、さらに症例数を増やすとともに、その発症遅延や感染阻止のメカニズムについて in vitro においても検討している。

この研究は感染時期や人種が均一な 16 年以上未治療で無症候という貴重な検体を対象としており、方法も DNA microarray などを使い、これまでに試されていない方法を試みる。従って、この研究から未知の発症遅延因子を解明することでエイズの発症を阻止する新たな治療法や検査法の開発につながる事が期待される。

E. 結論

日本人では、CCR2-64I/CCR5-59653T が

HIV-1 長期未発症者だけではなく、HIV-1 抗体陰性の血友病症例でも有意に高く認めたことからこれらの遺伝子は HIV-1 の発症阻止だけでなく感染阻止にも関連している可能性が示唆された。

現在、長期未発症者での DNA microarray を用いた解析や数千コピー/ml の血漿 HIV-1 RNA 量を示している長期未発症者の HIV-1 の解析を続けている。

F. 健康危険情報

なし。

この研究は、三間屋純一（静岡県立こども病院）、岩本愛吉（東大医科研）、渡辺慎哉（東大医科研）、加藤真吾（慶応大学）、田上尚道（荻窪病院）、金田次弘（国立名古屋病院）、小田原史知（旭化成）、山本直樹（感染研エイズセンター/東京医科歯科大学）、Xue Wen Deng、山下篤哉、葛西宏威、伊藤正彦（以上、山梨医科大学）および検体採取をしてくださっている諸先生との共同研究である。

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Owada, T., Motomura, T., Miyashita-Ogawa, Y., Kawada-Homma, M., Onishi, M., Matondo, P., Terunuma, H., Numazaki, Y., Yamashita, S., Yamamoto, N. : Antibody masking renders HIV-1 resistant to the cationic membrane filtration through alteration of its electrostatic character. *J.*

- Virological Methods* 94: 15-24, 2001.
- 2) Handema, R., Terunuma, H., Kasolo, F., Kasai, H., Sichone, M., Mulundu, G., Deng, X., Ichiyama, K., Mitarai, S., Honda, M., Yamamoto, N., Ito, M.: Emergence of new HIV-1 subtypes other than subtype C among antenatal women in Lusaka, Zambia. *AIDS Research and Human Retroviruses* 17: 759-763, 2001.
 - 3) Dai, J.H., Iwatani, Y., Ishida, T., Terunuma, H., Kasai, H., Iwakura, Y., Fujiwara, H., Ito, M.: Glycyrrhizin enhances IL-12 production in peritoneal macrophages. *Immunology* 103: 235-243, 2001.
 - 4) Cui, S-H., Tanabe, F., Terunuma, H., Iwatani, Y., Numoi, H., agematsu, K., Komiyama, A., Nomura, A., Hara, T., Onodera, T., Iwata, T., Ito, M.: A thiol proteinase inhibitor, E-64-d, corrects the abnormalities in concanavalin A cap formation and the lysosomal enzyme activity in leukocytes from patients with Chediak-Higashi syndrome by reversing the down-regulated protein kinase C activity. *Clinical and Experimental Immunology* 125: 283-290, 2001.
 - 5) 照沼裕 : ザンビアでの JICA の「エイズおよび結核対策プロジェクト」について。 *Confronting HIV* 18: 4, 2001.
- 1) Ray Handema, Hiroshi Terunuma, Francis Kasolo et al.: Emergence of new HIV-1 subtypes other than subtype C among antenatal women. July 2001, Buenos Aires.
 - 2) Ray Handema, 照沼裕, Francis Kasolo 他 : ザンビアにおける HIV-1 サブタイプ C の薬剤耐性変異の遺伝子解析。第 14 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2001 年 11 月, 東京.
 - 3) Xue-Wen Deng, 照沼裕, Ray Handema 他 : 日本血友病患者における HIV-1 感染及び発症関連遺伝子-ケモカインレセプターの遺伝子多型についての検討。第 14 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2001 年 11 月, 東京.
 - 4) Ray Handema, 照沼裕, Francis Kasolo 他 : ザンビアの HIV-1 の分子疫学的解析。第 49 回日本ウイルス学会学術集会・総会, 2001 年 11 月, 大阪.
 - 5) 山下篤哉, 吉田勉, 高橋良明 他 : HTLV-1/II 感染により IL-2 レセプターからのシグナル伝達が恒常的に起こるユニークなヒト T 細胞株の解析-第 2 報。第 31 回日本免疫学会総会・学術集会, 2001 年 12 月, 大阪.
 - 6) Ray Handema, Hiroshi Terunuma, Francis Kasolo et al. : HIV-1 Subtyping in Zambia. 第 42 回日本熱帯医学会大会, 2001 年 8 月, 東京.

2. 学会発表

HIV 感染症の病態に関わる免疫応答の研究

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

研究要旨

有効な抗 HIV 免疫反応の鍵を握る CD8 陽性 T 細胞の機能的分化成熟と感染者の病態との関係を解析することを目的として、感染者の樹状細胞(DC)を抗原提示細胞とし、Gag 特異的記憶 T 細胞の Yeast VLP 抗原に対する反応性について解析した。Yeast VLP はそれ自身 DC を成熟させる効果があり、VLP を取り込んだ DC は成熟化すると同時に、cross-presentation により CD4 および CD8 陽性 T 細胞を活性化しうることが明らかとなった。HIV 感染者の多くはこの抗原に反応し、この系を用いて CD4、CD8 および DC のそれぞれの機能と細胞間の相互作用について評価可能であると考えられた。

A. 研究目的

HIV 感染者には、感染しても長期に未発症の人(LTNP)や進行の遅い人が存在する。これらの感染者では Gag に対するヘルパー活性や細胞傷害性 T 細胞 CTL の活性が高いことが知られている。一方、近年抗ウイルス療法によっても完全にウイルスを排除することが困難であることが明らかとなったことで、個人が本来有する免疫機能を高めてウイルスの増殖を阻止することの重要性が再認識されている。本研究では、HIV 感染の免疫病態形成の重要な鍵を握る CTL の機能的分化成熟が感染者でどのように障害されているのかを明らかにし、有効な抗 HIV 免疫反応を決定する要因とそれを強化誘導する手段を探ることを目的とした。

B. 材料と方法

1. 細胞

HIV 感染者の末梢血単核細胞をファイコールで分離し PBMC を得た。PBMC より抗 CD14 標識磁気ビーズを用いて MACS で単球を分画し、GM-CSF と IL4 の存在下に 7—8 日培養して樹状細胞(DC)を分

化誘導した。CD14 陰性細胞はいったん凍結保存した。CD8 あるいは CD4 陽性 T 細胞は、必要に応じて MACS ビーズを用いて 95%前後に純化した。

2. HIV-1 Gag 抗原

組み換え p24 蛋白は大腸菌の溶解液より抗 p24 単クローン抗体結合 affinity column で精製した（大腸菌および抗体は感染病理部、小島朝人博士および佐多徹太郎博士より供与いただいた）。Yeast 由来 Gag 粒子は北里大学・森川裕子教授より供与いただいた。

細胞表面抗原に対するほとんどの蛍光標識抗体は Coulter-Immunotech 社の製品を用いた。FITC-perforin 抗体は BD-Pharmingen 社より、抗 TLR2 および抗 TLR4 阻害抗体は BioScience 社より、抗 TNF- α 抗体は Boehringer-Roche 株式会社より購入した。

3. FACS 解析

凍結 PBMC は 0.5% BSA/PBS、0.01% NaN₃ (SB)に浮遊させ、細胞表面抗原を染色した後 4% paraformaldehyde で固定し、0.5%サポニン含有 SB で permeabilize した。更に細胞内染色抗体を反応させ、FACScalibur で解析した。

4. エリスロット

PBMC (1×10^5 /well)あるいは DC (1×10^4 /well)と T細胞(1×10^5 /well)を抗原存在下に抗 IFN- γ あるいは抗 IL-10 抗体 (Mabtech)をコートした membrane filter plate (Millipore) 上で培養し、40 時間後に培養上清を除去した。プレートを洗浄後、それぞれに対応するビオチン化抗体を 37 度で 2 時間反応させ、次に HRP 標識した streptavidine を反応させた。AEC 発色後、実体顕微鏡下にスポットを数えた。

(倫理面への配慮)

HIV 感染者の PBMC は、東大医科学研究所の岩本教授が倫理委員会に承認された条件で採取したものを供与いただいた。

C. 研究結果

1. HIV-1 感染者の Gag 応答性

LTNP では Gag p24 に対するヘルパー活性が高いことが知られている。ヘルパー活性は PBMC に p24 を加えた時の細胞増殖で測定される。この反応において同時に産生されるサイトカインとして IL-10 が dominant に存在すれば、抗原提示細胞や CD8 陽性 T 細胞の機能を抑制し、そのことが HIV の免疫病態に関わってくる可能性が高い。そこで組換え p24 蛋白を感染者の PBMC に加え、IL-10 産生細胞数が HIV 感染者の病態によって異なるのかどうかを検討したところ、5 人の HIV 感染者のうち 2 人で IL-10 産生細胞を多く認めた (図 1)。これら 2 人の患者は治療中の進行感染者であった。一方、DC に Gag 発現アデノウイルスベクター (東大医科研・岩本教授より供与) を moi 500 で感染させるた時には IL-10 産生細胞は全く誘導されなかった。更に、同じ 5 人の感染者由来単球から DC を分化させて抗原提示細胞として用い、単球を除去した PBMC を Gag 抗原で刺激すると、IL-10 産生細胞は誘導されずむしろ IFN- γ 産生細胞のみ誘導された (図 2)。ただし、PBMC で IL-10 産生細胞が多く誘導された 2 人は、IFN- γ 産生細胞数が低い傾向にあった (図 1 と図 2 の P1-P5 を比較)。従って HIV 感染者の PBMC には抗原提示が適切に行われないうか、あるいは p24 抗原に

より IL-10 産生に偏るような何らかの要因が存在すると思われる。

2. Yeast VLP による DC の成熟化と感染者の免疫反応の解析

Yeast で作製したウイルス様 Gag 粒子 (VLP: 北里大学・森川裕子教授より供与) を抗原として DC にパルスして T 細胞と共培養し、40 時間後の IFN- γ 産生細胞数をエリスロット法で解析したところ、HIV 感染者 14 人中 11 人が反応することが明らかとなった (図 2)。更に、Yeast VLP は Gag の抗原としてのみならず、それ自身で DC の成熟化を誘導することが明らかとなった (図 3)。これは恐らく Yeast の菌体膜成分が関与していると思われ、対照として調整した Gag を欠く Yeast 培養上清産物でも DC の成熟化、即ち、MHC Class I, Class II, CD83 等の発現増強効果を認めた (図 3 左)。CD83 は代表的な成熟の DC マーカーであり、抗 TLR (Toll-like receptor) 2 抗体および抗 TNF- α 抗体でその発現増強効果が減弱したことから (図 3 右)、Yeast 膜由来成分が TLR2 を介して TNF- α の産生を誘導することが DC 成熟化の要因の一つであると推察された。

Yeast VLP に反応した数人の CD4 と CD8 陽性 T 細胞を分画して Yeast VLP パルスした DC との反応性を解析したところ、IFN- γ を産生するのは主として CD4 陽性細胞であるが、一部 CD8 陽性細胞も活性化されて IFN- γ を産生することが示された (図 4 前列)。従って外来性の抗原である yeast VLP は DC により cross-presentation されて CD4 だけでなく CD8 陽性細胞も活性化することが明らかとなった。抗 HIV 免疫反応の重要な鍵を握る CTL の分化成熟は、CD4 陽性細胞や抗原提示細胞の機能にも依存することが知られている。従って外来性の抗原が CD8 陽性 T 細胞を活性化する cross-presentation の効果は、これらの細胞の総合的な機能を測定するためのよい指標となると考えられる。図 4 は CD8 陽性細胞が強く活性化された未治療感染者の一例である。この症例では Yeast VLP による抗原刺激に対して CD4 よりもむしろ CD8 陽性細胞の反応が強い傾向にあった。興味あることに、CD4 陽性細胞の IFN- γ 産生は DC のみでも

ある程度誘導されたが、培養 5-7 日後のウイルス産生は抗原存在下に DC で刺激した時のみ誘導された。同じことが他の 5 人の症例でも観察された。

D. 考察

IL-10 は抑制性 T 細胞の分化や作用機構に重要な役割を果たしていると考えられている。最近、HIV 感染者では抗原非特異的な IL-10 産生量の増加があり、主な産生細胞は単球分画にあることが指摘されている。このような非特異的に産生される IL-10 が HIV 感染者の病態にどのような役割を果たしているかは明白にされていない。我々は PBMC を p24 抗原で刺激した時に、一部の進行感染者で IL-10 産生細胞が強く誘導されることを観察した。従ってこれらの感染者では PBMC 中での抗原提示が十分でなく、抑制性の免疫調節機構が誘導されやすい要因が存在する可能性が考えられる。しかしながら、DC を分化させて Gag 抗原を加えると一様に IFN- γ 産生細胞が誘導されたことから、このような感染個体においても試験管内で DC を分化させることにより、強力な Th1 反応を誘導することが十分可能であることが示唆された。

進行性 HIV 感染者の CTL が感染細胞に作用して有効なウイルス排除に至らないことは、感染者の免疫病態形成に重要な要因であると考えられる。CD8 陽性細胞が CTL に分化成熟するためには、CD4 陽性細胞によるヘルプと適切な抗原提示が必要であり、これには DC の機能異常も関与している可能性がある。Yeast VLP を抗原として用い、DC による cross-presentation を介した Gag 特異的 CD4 および CD8 陽性 T 細胞の機能について解析することにより、感染者における各細胞分画の相互作用のプロセスを試験管内で詳細に評価することが可能と思われた。

E. 結論

HIV 感染者の病態として IL-10 の産生が関与しているかどうかを検討した。p24 蛋白抗原刺激で一部の感染者は IL-10 を産生する何らかの要因が存在する可能性が示唆されたが、DC を分化させて抗原刺

激をおこなうと強力に Th1 型の免疫反応を誘導するため、この系では生体内の IL-10 産生誘導機構を詳細に解析することはできなかった。

Gag 抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞の分化と機能的成熟化を解析する抗原として、DC によって cross-presentation が行なわれる Yeast VLP は非常に有用であることが明らかとなった。実際に HIV 感染者の中で Yeast VLP に反応する人は高率に認められた。更に、Yeast VLP そのものが DC の成熟化を誘導し、その活性には TLR2 を介して TNF- α が産生されることも一部関与しているらしいことが示された。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Izumi Yoshizawa, Yoko Soda, Toshiaki Mizuochi, Sachiko Yasuda, Tuguo Mizuochi, Tahir A. Rizvi, Toshitada Takemori and Yasuko Tsunetsugu-Yokota: Mucosal Immune response against HIV-1 gag enhanced by DNA immunization, Vaccine 19:2995-3003, 2001.

(2) Yasuko Tsunetsugu-Yokota, Hideto Tamura, Mikiko Tachibana, Kiyoyuki Ogata, Mituso Honda, Toshitada Takemori: Selective expansion of perforin-positive CD8+ T cells by immature dendritic cells infected with Bacillus Calmette-Guerin mycobacteria. J. Leu. Biol., in press, 2002.

2. 学会発表

1) 横田(恒次) 恭子, 磯貝まや、大竹かおり、藤井陽一、竹森利忠。HIV Nef の発現に伴う T 細胞機能分子の変動。第 49 回日本ウイルス学会、大阪、平成 13 年 11 月。

2) 飯島沙幸、ターナ、渡会仁、三輪正直、横田恭子、間陽子。HIV-1 vpr 遺伝子を用いたアポトーシス導入ベクターの構築。第 49 回日本ウイルス学会、大阪、平成 13 年 11 月。

3) 竹尾奈々、村瀬泰規、大本真也、池本敦、奥山治美、大竹かおり、横田恭子、今川和也、横溝祐一、藤井陽一。フォーミーウイルスを用いたヒツジ IFN- λ 発現と抗 HIV-1 活性の検討。第 49 回日本ウ

イルス学会、大阪、平成 13 年 11 月。

4) 小室巖、横田恭子、岩本愛吉、赤川清子。ヒト単球由来マクロファージにおけるマクロファージ指向性 HIV の増殖応答の解析 (3)。第 31 回日本免疫学会、大阪、平成 13 年 12 月。

H. 知的所有権の取得状況

なし

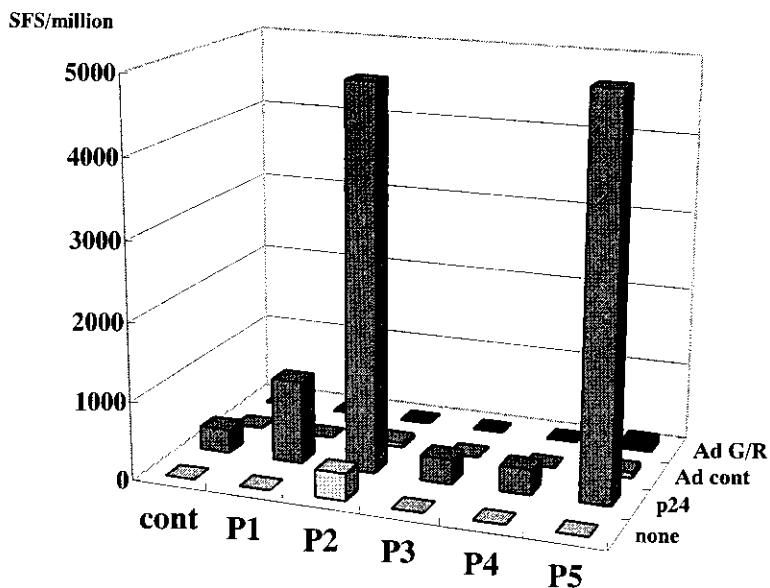


図1 HIV感染者の一部はp24に反応してIL-10を産生する

感染者のPBMCに種々の抗原を加えて培養し、IL-10産生細胞数をエリスポット法で解析した。controlは健常人、P1-P5までが感染者である。P1、P4は未治療でP2、P3、P5は進行感染者である。縦軸は100万個当たりのスポット形成細胞数(SFC)を表す。none(抗原なし)、p24(組み換え蛋白)、Ad cont(アデノベクター)、Ad G/R(Gag/Rev発現アデノベクター)。

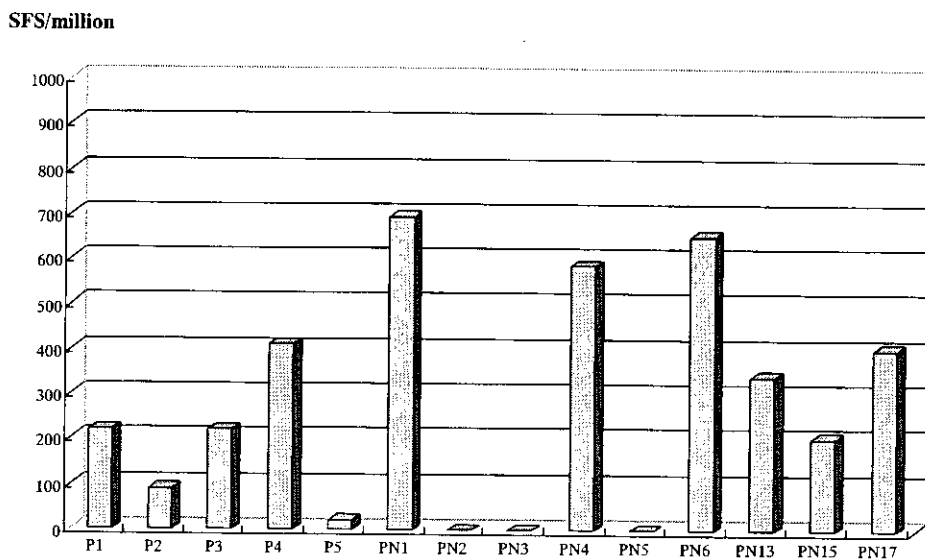


図2 Yeast VLPをパルスしたDCによるIFN- γ 産生誘導

感染者のPBMCより単球由来DCを調整し、Yeast VLPをパルスして刺激後40時間のIFN- γ 産生細胞数をエリスポット法で解析した。縦軸は100万個当たりのスポット形成細胞数(SFC)を表す。P1-P5は図1と同一患者での解析結果である。

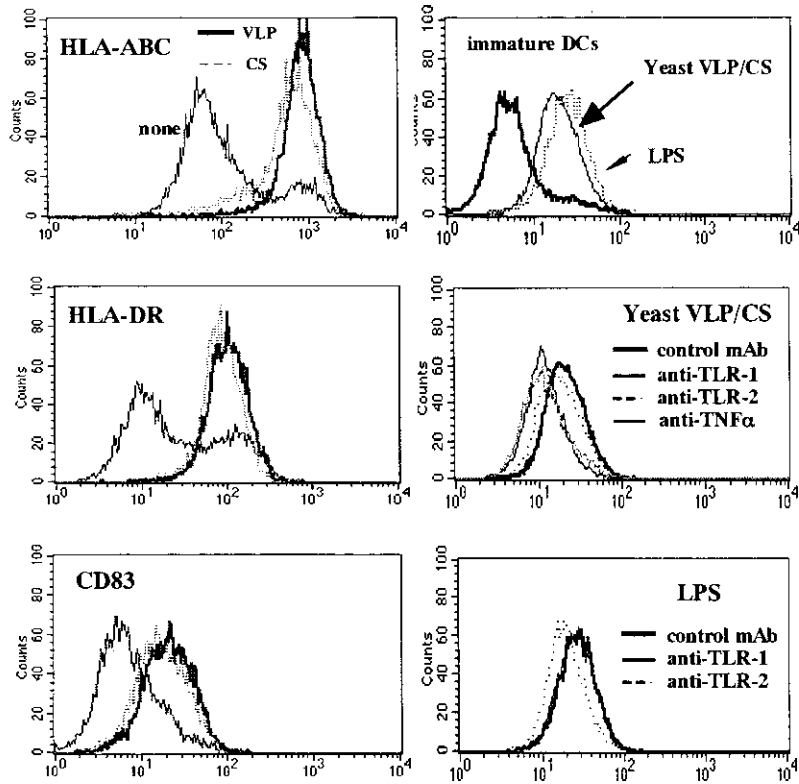


図3 Yeast VLPによるDCの成熟化

単球由来DCにYeast VLPあるいはYeast培養上清(control supernatant: CS)をパルスして2日後のDCの細胞表面抗原を解析した。左はYeast VLPとCSの活性の比較。右ではLPSとYeast VLPの成熟化刺激に対して抗TLR2抗体、抗TLR4抗体、抗TNF- α 抗体の成熟阻止効果を比較した。

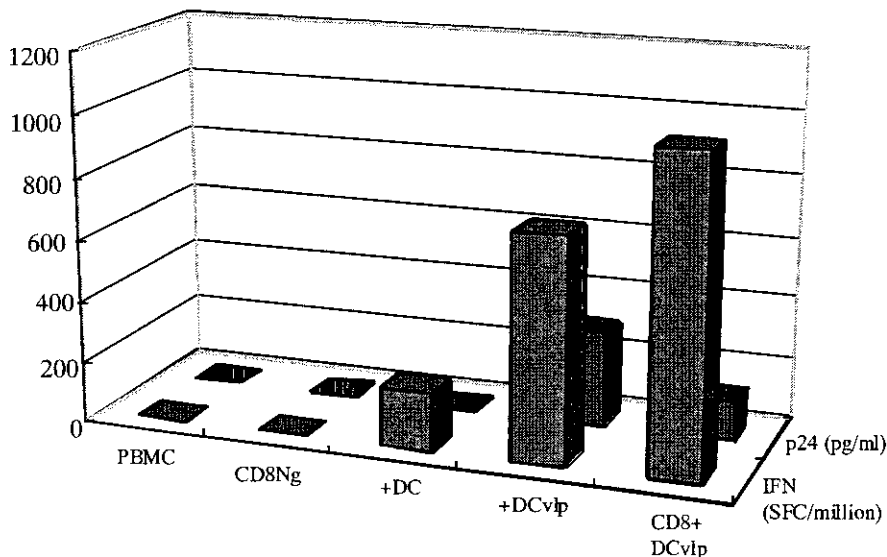


図4 Yeast VLPを取り込んだDCによるcross-priming活性と抗原特異的なウイルス再活性化

単球よりDCを分化させ、残りのPBMCよりCD8陽性T細胞を分画した(右端のカラムCD8+)。更に残りのCD8陰性T細胞(CD4:60%)をそれのみ(CD8Ng)、DCとあるいはYeast VLPをパルスしたDC(DCvlp)と共培養して40時間後にIFN- γ 産生細胞数(前列:SFC/million)を測定した。これらの細胞を更に培養して5-7日目のウイルス産生量をp24 ELISAで測定した(後列:pg/ml)。

厚生科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
分担研究報告書

HIV 感染症の病態と宿主の免疫応答の研究

分担研究者 松下修三 熊本大学エイズ学研究センター 教授

研究要旨 HIV に対する中和エスケープ変異の研究は、これまで実験室株を用いた *in vitro* での解析が行なわれてきたが、*in vivo* でどのような攻防が起こっているかは不明であった。我々は強力な抗ウイルス剤の多剤併用療法(**highly active anti-retroviral therapy; HAART**)にて長期にわたりウイルス血症が抑制された症例で、何らかの原因でウイルスのリバウンドが認められた 3 例を経験した。これらの症例の治療開始時とリバウンド時のウイルスクワシスピースを解析し、さらに自己由来のウイルス株に対する中和抗体活性について検討した。昨年度はおもに症例 1 の検索を報告したが本年度はさらに症例 2 と 3 についても詳しく検索した。

治療前及びリバウンド時の plasma RNA より RT-PCR にて envelope を増幅し、V1-V4 部分をシークエンスし系統樹解析した。3 症例いずれもリバウンドウイルスは区別できるクラスターを形成し、治療前の集団から進化し、*in vivo* で選択されて出現したものと考えられた。治療前とリバウンド時のそれぞれのエンベロープクローンを用いて組み換えウイルスを作成し検討したところ、3 症例ともリバウンドウイルスは自己の中和抗体に対して中和抵抗性となっていた。中和抵抗性を与える責任部位を同定するために、さらにエンベロープの組み換えウイルスを作成した。症例 1 と 2 では gp120 の C3 部分の関与が同定され、症例 3 では V1 部分の関与が示された。症例 1 についてはさらに合成ペプチドを用いて V3 と C3 に対する抗体の反応性を調べたが、これらのリニアペプチドに対する抗体活性はほとんど認められず、むしろ立体構造を認識する抗体の関与が考えられた。

A. 研究目的

HIV は生体内ではお互いに似ているが遺伝子配列の少しずつ異なる集団（準種；クワシスピース）から成り立っている。一方、自己由来のウイルスに対して中和抗体をもつ症例が少数ながら存在しているが、このような症例においても、HAART でウイルス血症の十分な抑制が得られている経過中、様々な理由で HIV-RNA のリバウンドがみられる場合がある。これらのリバウンドウイルスと血漿中の中和抗体の関係を調べることにより、生体内での中和抗体の役割とその免疫学的選択にかかわるエピトープを明らかにできると考えた。この研究はまた中和抗体を用いた治療法の開発や中和抗体の誘導を目指した治療ワクチン開発に重要な示唆を与えるものである。

B. 研究方法

HAART 開始時及びリバウンド時の血漿より RT-PCR にて HIV-gp120 を増幅し、多クローン解析にてアミノ酸配列を決定し系統樹解析を行った。リバウンド前後の gp120 のアミノ酸配列をもつ組み換えウイルスを複数作成し患者血漿から精製した IgG を用いて、MAGI-CCR5 細胞の系でそれぞれのウイルスに対する中和活性を測定した。さらに中和感受性ウイルスと中和抵抗性ウイルスクローンよりリコンビナントエンベロープを製し、中和抵抗性変化に関連する部位を同定した。

（倫理面への配慮）

本研究を行うに当たり各症例には研究の概要

を説明し同意を得た上で採血し、解析した。なお本研究の倫理的・科学的妥当性は熊本大学病院の先進医療審査委員会で審査され、了承されている。

C. 研究結果

HAART 開始時に得られた自己の分離株に対して中和抗体活性が認められ、HAART にて血中ウイルス量を測定感度以下に抑えることのできた症例のうち、臨床経過中にリバウンドの認められた症例が 3 例あった。3 例とも HAART は有効であったが、長期間のウイルスの増殖抑制後にリバウンドが認められた。症例 1 ではリバウンド RNA 量のレベルは高かったが他の 2 例は低かった。いずれの症例も薬剤耐性変異の獲得はなく、HIV-RNA 量はリバウンド前と同様の regimen にて再び測定感度以下となっている。HAART 開始時及びリバウンド時の血漿より RT-PCR にて HIV-gp120 を増幅し、多クローン解析にてアミノ酸配列を決定した。HAART 開始時とリバウンド時のクワシスピーシスの関係を系統樹解析すると 3 症例ともリバウンドウイルスは区別できるクラスターを形成、HAART 開始時のクワシスピーシスの中から選択されて増殖してきた集団と考えられた。このような選択圧のひとつとして中和抗体の重要性を調べるために、各症例について HAART 開始時とリバウンド時の代表株の envelope の V1 から V4 までをクローニングし、SF162 を background としたベクターに組み込み、リコンビナントウイルスを作成し、中和感受性/抵抗性を調べた。症例 1 では、HAART 開始時のウイルス (pMOK10) は 200 μ g/ml の serum IgG を用いると 71% の抑制が得られたのに対し、リバウンドウイルス (rMOK10) では 28% と抵抗性であった。さらに詳細なリコンビナントウイルスを作製し中和感受性/抵抗性を調べた。rMOKV1/2 は V1-V2 の変異を含むがその中和感受性は pMOK10 と同等であった。一方、V3 とその周辺を含む rMOKV3/C3 は

rMOK10 と同等の中和抵抗性を示した。さらに、V3 と C3 のそれぞれがリバウンドウイルス由来である rMOKC3 (C3 のみリバウンド型) と rMOKV3 (V3 のみリバウンド型) を作製した。rMOKV3 でも有意な中和抵抗性が観察されたが、rMOKC3 では rMOK10 と同等の中和抵抗性が観察され、C3 の変化がリバウンドウイルスの中和抵抗性に主要な役割を果たしていると考えられた。症例 2 でも同様の解析を検討したが治療前とリバウンドウイルスの変異がかなり大きいためリコンビナントウイルスの感染性が不十分なクローンがあり、解析は困難であった。そこで、C3 の関与に焦点をあてて、site directed mutagenesis の方法を用いて組み換えウイルスを作製し中和感受性を調べた。その結果、症例 2 でも gp120 の C3 部分の変化が中和抵抗性に有意に関与することがわかった。一方、症例 3 では C3 と V2 の変化をリバウンド型にしても中和抵抗性は得られず、V1 部分の関与が示された。症例 1 についてはさらに合成ペプチドを用いて V3 と C3 に対する抗体の反応性を調べたが、これらのリニアペプチドに対する抗体活性はほとんど認められず、むしろ立体構造を認識する抗体の関与が考えられた。我々はさらに gp120 の C3 の変異がどのような中和エピトープと関連するのか調べるために gp120 の立体構造を認識する抗体について、組み換えウイルスに対する反応性や中和活性を調べている。

D. 考察

以上の結果より、中和抗体存在下ではリバウンドウイルスは HAART 開始時のクワシスピーシスの一部から増殖してくると思われた。また、リバウンドしてきたウイルスは血漿中の中和抗体の選択圧をまぬがれたであろうと考えられ、その中和抵抗性は C3 の変異に関連していた。今後の問題としては C3 の変異が関連する立体構造エピトープがどのようなエピトープであるのかを明らかにすると