

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

エイズの流行とウイルス変異に関する研究

研究分担者 俣野 哲朗 国立感染症研究所エイズ研究センター長

研究要旨

HIV 感染症は世界三大感染症の一つであり、その克服は国際的最重要課題の一つである。細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) 反応は HIV 複製抑制に中心的な役割を担っており、CTL 逃避変異を有するウイルスの選択は感染病態に大きく影響しうる。この CTL 逃避変異を反映する HLA 関連 HIV 変異の動向把握は、HIV 感染症のコントロールに重要である。各 HLA アレル頻度は人種間で大きく異なるため、世界各地域の流行 HIV 株の HLA 関連変異同定が必要であり、特にインドはアジアの HIV 感染流行地域の一つとして重要な対象地域である。そこで本研究では、インド国立コレラ腸管感染症研究所 (NICED) との共同研究で、HLA 関連 HIV 変異同定に向け、インド国 HIV 感染者の HLA 遺伝子型同定法を確立し、解析を開始した。解析結果では、HLA-A、HLA-B および HLA-C 各々について、比較的頻度の高いアレルが見いだされた。今後、これらの HLA アレルに相関する HIV ゲノム変異同定に結びつくことが期待される。

A. 研究目的

世界三大感染症の一つである HIV 感染症は、宿主免疫によるウイルス複製抑制が困難で慢性持続感染を呈し、エイズ発症に至る致死感染症である。その克服は国際的最重要課題の一つであり、HIV 変異の伝播状況の把握は HIV 感染症のコントロールに結びつく基盤情報となる。特に HIV ゲノム塩基配列の解析研究は以下のように進められてきた。

(1) 1980年代からの主に env 領域の解析に基づく多様性に関する研究：各種サブタイプが同定され、HIV の各地域への経時的な伝播についての知見が得られてきている。

(2) 1990年代後半の抗レトロウイルス薬治療導入以降の主に pol 領域の解析に基づく薬剤耐性変異に関する研究：逆転写酵素阻害剤やプロテアーゼ阻害剤等の抗レトロウイルス薬に対する耐性変異の同定が進められてきた。

(3) 近年の主に gag 領域の解析に基づく HLA 関連変異に関する研究：HIV 感染病態に最も影響の大きい宿主因子として知られている HLA (クラス I) の遺伝子型を各々の HIV 感染者について決定し、HIV ゲノム変異の解析結果とあわせて HLA 関連変異を同定するものである。細胞傷害性 T リンパ球 (CTL) の標的抗原エピトープの提示に関与する HLA 分子の遺伝子型の違いは、CTL 標的の違いに直結するので、HLA 関連変異は CTL 逃避変異を反映するものとして、その解析研究が進められている。特に最近、Gag 抗原特異的 CTL の有効性が示唆されていることから、gag 領域の解析が先行している。

本研究はこの(3)の HLA 関連変異に着目するものである。CTL 反応は HIV 複製抑制に中心的な役割を担っており、CTL 逃避変異を有するウイルスの選択は感染病態に大きく影響しうる。近年、抗 HIV 薬投与により HIV 複製のコントロールが可能となっ

たが、その複製抑制には CTL 反応が不可欠であることも知られている。この CTL 逃避変異を反映する HLA 関連 HIV 変異の動向把握は、HIV 感染症のコントロールに極めて重要である。各 HLA アレルの頻度は人種間で大きく異なっているため、世界各地における流行 HIV 株の HLA 関連変異を同定することが必要であり、特にインドはアジアにおける HIV 感染流行地域の一つとして重要な対象地域である。そこで本研究では、インド国立コレラ腸管感染症研究所 (NICED) の Sekhar Chakrabarti 博士との共同研究で、インド国 HIV 感染者における HLA 遺伝子型同定と HIV ゲノム gag 変異同定を進め、HLA 関連変異同定に結びつけることとした。平成 24 年度はインド国 HIV 感染者の HLA 遺伝子型解析結果から、頻度の高い HLA アレルを検索した。

## B. 研究方法

インド国の HIV 感染者由来の末梢血リンパ球より抽出されたゲノム DNA (インド NICED より供給) を用い、HLA タイピング (遺伝子型決定) を行った。

### (倫理面への配慮)

ヒトサンプルを用いる研究については、ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針に従い進めることとし、所属機関である国立感染症研究所の倫理委員会に申請し承認済みである。また、インドの共同研究者から所属機関である NICED の倫理委員会に申請し承認済みである。

## C. 研究結果

インド国の HIV 感染者 14 名の末梢血リンパ球より得られた DNA を用い、東京医科歯科大学難治疾患研究所の木村先生・成瀬先生の協力のもと HLA-A、HLA-B、HLA-C 遺伝子型を同定し、頻度別に表にまとめた(表 1)。HLA-A\*11:01/02、HLA-A\*33:03、HLA-B\*44:03、HLA-C\*07:01、HLA-C\*15:02 が、比較的頻度の高いアレルとして見出された。

## D. 考察

本研究では、インド国 HIV 感染者の HLA-A、HLA-B および HLA-C 各々について、比較的頻度の高いアレルが見いだされた。今後、これらの HLA アレルに相関する HIV ゲノム変異同定に結びつけることが期待される。

HIV 流行地域では、HIV 感染者集団における HLA 関連変異蓄積の可能性が示唆されている。HLA 関連変異の蓄積は、CTL による抑制がよりかかりにくい感染病態に結びつき、薬剤による治療効果に影響を及ぼす可能性も危惧される。したがって、本研究のようなアジア HIV 流行地域における HLA 関連変異情報の収集は、日本を含むアジア地域の HIV 感染症の制圧に貢献するものである。

## E. 結論

インド NICED との共同研究で、インド国 HIV 感染者における HLA 関連変異同定に結びつけるべく、HLA 遺伝子型同定を行った。その結果、いくつかの比較的頻度の高い HLA アレルが見出された。

## F. 研究発表

### 1 論文発表

- (1) Nomura T, Yamamoto H, Shiino T, Takahashi N, Nakane T, Iwamoto N, Ishii H, Tsukamoto T, Kawada M, Matsuoka S, Takeda A, Terahara K, Tsunetsugu-Yokota Y, Iwata-Yoshikawa N, Hasegawa H, Sata T, Naruse TK, Kimura A, Matano T. Association of major histocompatibility complex class I haplotypes with disease progression after simian immunodeficiency virus challenge in Burmese rhesus macaques. *J Virol* 86:6481-6490, 2012.
- (2) Nomura T, Matano T. Association of MHC-I genotypes with disease progression in HIV/SIV infections. *Front Microbio* 3:234, 2012.

(3) Takahashi N, Nomura T, Takahara Y, Yamamoto H, Shiino T, Takeda A, Inoue M, Iida A, Hara H, Shu T, Hasegawa M, Sakawaki H, Miura T, Igarashi T, Koyanagi Y, Naruse TK, Kimura A, Matano T. A novel protective MHC-I haplotype not associated with dominant Gag-specific CD8+ T-cell responses in SIVmac239 infection of Burmese rhesus macaques. PLoS ONE 8:e54300, 2013.

## 2 学会発表

(1) Takahara Y, Nakamura M, Matsuoka S, Sakawaki H, Miura T, Igarashi T, Koyanagi Y, Naruse T, Kimura A, Matano T. Impact of therapeutic vaccination on CTL immunodominance and viral suppression in SIV-infected rhesus macaques under HAART. The XIXth International AIDS Conference, Washington, DC, USA, 7/26/2012.

(2) Matano T. Stable viral control in the presence of silent proviruses in a macaque AIDS model. The 13th Kumamoto AIDS Seminar, Kumamoto, Japan, 10/24/2012 .

(3) 野村拓志、山本浩之、明里宏文、俣野哲朗 . SIV複製抑制マカクサルにおける CTL 逃避変異体の選択による複製抑制破綻機構の解析 . 第 60 回日本ウイルス学会学術集会、大阪、11/14/2012 .

(4) 高橋尚史、山本浩之、成瀬妙子、木村彰方、俣野哲朗 .サルエイズモデルにおける Nef 抗原特異的細胞傷害性 T リンパ球反応が関与するウイルス複製制御機序に関する研究 . 第 26 回日本エイズ学会学術集会、東京、11/24/2012 .

## G. 知的財産権の出願・登録状況

無し。

表1 . インド人 HIV 感染者における HLA アレル頻度

HLA-A	frequencies
A*01:01	3
A*02:03	1
A*03:01	1
A*11:01	1
A*11:01/02	6
A*24:02	3
A*31:01	3
A*33:01	1
A*33:03	5
A*68:01	4

  

HLA-B	frequencies
B*07:02	3
B*13:01	1
B*15:32	1
B*27:07	1
B*37:01	1
B*39:01	1
B*40:06	4
B*44:03	6
B*48:04	1
B*51:01	1
B*52:01	3
B*55:01/03	1
B*57:01	2
B*58:01	2

  

HLA-C	frequencies
C*01:02	1
C*03:02	2
C*04:03	1
C*06:02	3
C*07:01	7
C*07:02	4
C*18:01	1
C*12:02	1
C*12:03	2
C*15:02	5
C*16:02	1