

氏名	宇井雅博
学位(専攻分野)	博士 (人間・環境学)
学位記番号	人博第85号
学位授与の日付	平成12年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	人間・環境学研究科人間・環境学専攻
学位論文題目	Protection of Macaques Vaccinated with Gene-Deleted HIV-1/SIVmac Chimeric Viruses (SHIV _s) Having HIV-1 Env against a Gene-Intact SHIV: a Potential of Live-Attenuated Vaccines for AIDS (HIV-1 Env を持つ遺伝子欠損 HIV-1/SIVmac キメラウイルスによる SHIV に対する感染防御: ヒトエイズ弱毒生ワクチンとしての可能性)
論文調査委員	(主査) 教授 速水正憲 教授 池永満生 教授 松井正文

論文内容の要旨

後天性免疫不全症候群(エイズ)の原因ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス1型(HIV-1)は全世界で流行しており、その蔓延を阻止するためには安価で有効なワクチンの開発が急務である。しかし、多くの研究がなされているにも関わらず、効果的なワクチンは得られていない。これまでに、HIVに近縁なサル免疫不全ウイルス(SIV)を用いたアカゲザルの実験から、弱毒ウイルスワクチンが最も感染防御に有効であることが示されている。しかし、HIVは変異が激しく、ワクチンウイルスの病原性復帰の可能性があることから、エイズ弱毒生ワクチンは危険視されており、その開発の試みはほとんどなされていない。最近になり、SIVをベースにして、HIV-1遺伝子を持ちサルに感染するHIV-1/SIVキメラウイルス(SHIV)が作成された。このSHIVはヒト細胞でもサル細胞と同様によく増殖することから、サルで効果と安全性を評価できるヒト用エイズ弱毒生ワクチンのベースとなると考えられた。そこで、弱毒化の為にSIVで発症に関与するとされている*nef*, *vpr*, さらに*vpx*遺伝子を欠損した3株のSHIVを作成し、アカゲザルを用いてその免疫誘導能と攻撃接種に対する感染防御効果を検討した。

第1章では、*vpr/nef*もしくは*vpr/nef/vpx*遺伝子を欠損したSHIV(SHIV-drn, SHIV-dxrn)を作成し、サルに接種したところ、SHIV-drnの一時的な増殖がみられたが、SHIV-dxrnの増殖はみられなかった。これらのSHIVの免疫誘導能を調べたところ、SHIV-drn接種ザル4頭全てからウイルス中和抗体、HIV-1 EnvもしくはSIV Gagに対する細胞傷害性リンパ球(CTL)活性が検出された。一方、SHIV-dxrn接種ザルでは4頭中2頭からのみウイルス中和抗体とCTL活性が検出され、SHIV-drnの方が免疫誘導能が高いことが示された。感染防御効果を調べるため、遺伝子を欠損していないSHIV-NM-3 rNによる攻撃接種を行ったところ、SHIV-drn接種ザル4頭中2頭のリンパ球に攻撃ウイルスを全く検出できず、感染を完全に防御したと考えられた。残りのSHIV-drn接種ザル2頭とSHIV-dxrn接種ザル4頭は、攻撃ウイルスの感染を完全に防御できなかったものの、非ワクチン接種ザルに比し攻撃ウイルスの増殖を低く抑え、ある程度の感染抵抗性を示した。このように感染防御効果についてもSHIV-drnの方がSHIV-dxrnより高いことが示された。また特異的免疫であるウイルス中和抗体やCTL活性を持たないサルでも抵抗性を示し、それらのサルで非特異的免疫であるナチュラルキラー(NK)細胞活性が高かったことから、特異的免疫のみではなく非特異的免疫も感染防御に関与した可能性が示唆された。このようにSHIV-drn接種ザルでも完全な防御効果が見られなかったことから、これらの多重遺伝子欠損SHIVは弱毒化され過ぎたと考えられた。

そこで第2章では、免疫誘導能と感染防御効果を高めるため、*nef*遺伝子のみを欠損したSHIV-dnを作成し、4頭のサルに接種した。SHIV-dnのサルにおける増殖は、他の弱毒SIVや弱毒・強毒SHIVと比較して、より低かった。また、病原性

に關与しているとされているリンパ球におけるアポトーシスを解析したところ、病原性の SIVmac 239 を接種したザルではアポトーシスが誘導されていたが、SHIV-dn 接種ザルではアポトーシス誘導は確認されなかった。このように SHIV-dn は、病原性に関連するとされているウイルス増殖能とアポトーシス誘導能が低いことから、非病原性であると考えられた。免疫誘導能については、多重遺伝子欠損 SHIV と接種 1 年後の中和抗体価を比較したところ、SHIV-dn はより高い免疫誘導能を示した。次に SHIV-NM-3 rN を用いて攻撃接種したところ、全 4 頭とも攻撃ウイルスの増殖が確認されず、その感染を完全に防御した。このことから、SHIV-dn が多重遺伝子欠損 SHIV より高い感染防御効果を持つことが示された。

これらの結果から遺伝子欠損 SHIV が HIV-1 Env に対する免疫を誘導し、遺伝子を欠損していない SHIV-NM-3 rN の感染を防御できることが示された。遺伝子欠損数と、ウイルス増殖能、免疫誘導能及び感染防御効果とは強く関連しており、負の相関を示した。また、今回の感染防御実験において、遺伝子欠損 SHIV は、ウイルス中和抗体や CTL 活性などの特異的免疫だけでなく、NK 細胞活性などの非特異的免疫や他の防御機能も誘導し、これらが総合的に働くことにより、感染防御したと考えられた。このように種々の免疫を誘導できることは、この遺伝子欠損 SHIV のような生ワクチンが、他のワクチンよりも高い効果をもたらす理由の一つと考えられる。とりわけ SHIV-dn は、最も高い感染防御効果を示し、非病原性であったことから、エイズ弱毒生ワクチンとして有力な候補であると考えられた。しかし、今後ヒトに応用するためには、より一層の安全性の確認が必要であると考えられる。

論文審査の結果の要旨

後天性免疫不全症候群（エイズ）を起こすヒト免疫不全ウイルス 1 型（HIV-1）の世界的流行を阻止するためには、エイズワクチンが必須であり、その開発が世界的に進められているが、現在のところ有効なワクチンは得られていない。今までのワクチン開発の歴史から弱毒生ワクチンが、最も感染防御効果が高いことが知られているが、HIV-1 では例え弱毒ウイルスが得られたとしても、変異が激しく強毒化する怖れがあることから、生ワクチンは危険視されており、その開発研究は殆ど手つかずの状況であった。また HIV-1 はヒトとチンパンジー以外の動物には感染しないことから、動物実験をできないことが、その開発研究の障害であった。本申請者は、HIV-1 類似のサル免疫不全ウイルス（SIV）をベースに作成された HIV-1/SIVmac キメラウイルス（SHIV）がサルに感染し、しかもヒト細胞で増殖することから、その病原性に関与する遺伝子を欠損することにより弱毒化した SHIV をエイズ弱毒生ワクチンとして用いることができるのではないかの発想を得た。そこで本研究では作成された数種の遺伝子欠損 SHIV のアカゲザルにおける免疫誘導能や感染防御効果を検討し、その有効性と安全性から、この遺伝子欠損 SHIV がエイズ弱毒生ワクチンとしての候補となり得ることを提示している。

第 1 章では、SIV で病原性に関与することが知られている *nef* と *vpr* 遺伝子を欠損した SHIV-drn と、さらに *vpx* 遺伝子を欠損した SHIV-dxrn について検討している。その結果、これらの遺伝子欠損 SHIV は感染防御の標的となる HIV-1 Env に対する免疫を不十分ながらも誘導し、全てのサルで完全には感染防御できなかったが、感染抵抗性を付与していることが明らかとなった。このことは、これらの 2 重・3 重遺伝子欠損 SHIV がある程度のワクチン効果を持つことを示しているが、その低い感染防御能から、過弱毒化の可能性が考えられた。そこで第 2 章では、より高い感染防御効果を期待して、*nef* 遺伝子のみを欠損した SHIV-dn を検討している。その結果、この SHIV-dn は高い免疫誘導能を示し、攻撃接種を完全に防御したことから、高い感染防御効果を持つことが明らかとなった。このように、3 株の遺伝子欠損 SHIV の中で、遺伝子欠損数の一番少ない SHIV-dn のウイルス増殖能、免疫誘導能、感染防御効果が最も高く、遺伝子欠損数が多くなるに従って、それらが低下することが示された。また、今までに感染防御に重要であると報告されているウイルス中和抗体や感染細胞傷害性リンパ球といった特異的免疫だけではなく、ナチュラルキラー細胞などの非特異的免疫やその他の防御機構が複合的に感染防御に寄与することを見出している。このことは特異的免疫のみを誘導することを目標としている現在のワクチン開発研究の問題点を指摘する知見と言える。さらに第 2 章では、SHIV-dn の体内での増殖が他の非病原性ウイルスの増殖よりも低く、また病原性に関与するアポトーシス誘導能が低いことを示し、SHIV-dn の弱毒生ワクチンとしての安全性が高いことを立証している。以上の結果に基づき、本申請者は有効性と安全性の両面から SHIV-dn が弱毒生ワクチンの候補となり得る可能性を提示している。

このように本研究は、世界的に大きな社会問題となっているエイズに対するワクチン開発に資するものである。特に従来、その危険性からタブー視されていた弱毒生ワクチンの可能性を提示したことは、現在、難航しているワクチン開発研究に一

石を投じるものと評価できる。また一方、本研究は単にワクチン開発といった応用研究としての側面のみならず、HIVの強毒・弱毒性すなわち病原性を分子レベルで理解する上で重要な知見を提示しており、基礎研究としてもその成果を評価できる。特に HIV-1 の動物実験が出来ないことから、従来、不可能であった個体レベルの病原性の実験的解明が、HIV-1 遺伝子を持つ SHIV を用いることにより可能となることを示したことは、今後のエイズ研究に資することが大きいと判断できる。本論文の内容に関しては、本申請者を筆頭著者として、既に 2 編の論文が国際学術誌に発表されており、本論文の内容は当該分野の研究者にも評価されている。

本申請者が所属する自然環境論講座のウイルス自然史論の目的の一つは、ウイルスとその環境である宿主との相互作用を明らかにすることであり、本研究は、この目的に沿ったものといえる。

よって、本論文は博士（人間・環境学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成 12 年 1 月 19 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。