

EXPERIMENTAL RESEARCH CENTER FOR INFECTIOUS DISEASES LABORATORY OF PRIMATE MODEL

It has been 25 years since acquired immune deficiency syndrome (AIDS) was first identified, and our knowledge about the disease and the causative agent, human immunodeficiency virus (HIV-1), has grown enormously. Unfortunately, however, we have not yet developed an effective prophylactic measure or a thorough therapeutic intervention, and AIDS remains top priority among global public health agenda.

To develop preventive or therapeutic measures for AIDS, we need experimental model systems for HIV-1 infection. From the beginning of the epidemics, HIV-1 has been known for its narrow host range. To overcome the narrow host range of HIV-1 and develop a dependable animal model for AIDS, our laboratory, first in the world, engineered chimeric simian-human immunodeficiency virus (SHIV), that carries HIV-1 derived *tat*, *rev*, *vpu* and *env* genes in the background of simian immunodeficiency virus, a closely related virus to HIV-1. Since then, SHIV/macaque model has been further developed and there are currently several SHIV strains available in the field and some of them cause acute disease followed by AIDS-like clinical manifestations.

We had been pursuing the following subjects in the past,

1. Development and improvement of SHIV/macaque models,
2. SHIV-induced pathogenesis,
3. Development of novel vaccines and evaluation using SHIV/macaque system,
4. Analysis of live-attenuated vaccine induced protective mechanism.

Recently, we are focusing on the subjects 2. and 4.

1) Loss of naïve cells accompanies memory CD4⁺ T cell depletion during longterm progression to AIDS in SIV infected macaques: Nishimura, Y., Igarashi, T., Buckler-White, A., Buckler, C., Imamichi, H., Goeken, R.M., Lee, W.R., Lafont, B.A., Byrum, R., Lane, H.C., Hirsch, V.M., and Martin, M.A.

Human immunodeficiency virus and simian immunodeficiency virus (SIV) induce a slow progressive disease, characterized by the massive loss of memory CD4⁺ T cells during the acute infection followed by a recovery phase in which virus replication is partially controlled. However, because the initial injury is so severe and virus production persists, the immune system eventually

collapses and a symptomatic fatal disease invariably occurs. We have assessed CD4⁺ T-cell dynamics and disease progression in 12 SIV-infected rhesus monkeys for nearly 2 years. Three macaques exhibiting a rapid progressor phenotype experienced rapid and irreversible loss of memory, but not naïve, CD4⁺ T lymphocytes from peripheral blood and secondary lymphoid tissues and died within the first 6 months of virus inoculation. In contrast, SIV-infected conventional progressor animals sustained marked but incomplete depletions of memory CD4⁺ T cells and continuous activation/proliferation of this T-lymphocyte subset. This was associated with a profound loss of naïve CD4⁺ T cells from peripheral blood and secondary lymphoid tissues, which declined at rates that correlated with disease progression. These data suggest that the persistent loss of memory CD4⁺ T cells, which are being eliminated by direct virus killing and activation-induced cell death, requires the continuous differentiation of naïve into memory CD4⁺ T cells. This unrelenting replenishment process eventually leads to the exhaustion of the naïve CD4⁺ T-cell pool and the development of disease.

2) Although macrophage-tropic simian/human immunodeficiency viruses can exhibit a range of pathogenic phenotypes, a majority of isolates induce no clinical disease in immunocompetent macaques: Igarashi, T., Donau, O.K., Imamichi, H., Nishimura, Y., Theodore, T.S., Iyengar, R., Erb, C., Buckler-White, A., Buckler, C.E., and Martin, M.A.

Unlike prototypical lentiviruses like visna and caprine arthritis-encephalitis viruses, which are mainly macrophage tropic (M-tropic), primate lentiviruses primarily target CD4⁺ T lymphocytes. We previously reported that during the late phase of highly pathogenic chimeric simian/human immunodeficiency virus (SHIV) infections of rhesus macaques, when CD4⁺ T cells have been systemically eliminated, high levels of viremia are maintained from productively infected macrophages. The availability of several different M-tropic SHIVs from such late-stage immunocompromised animals provided the opportunity to assess whether they might contribute to the immune deficiency induced by their T-cell-tropic parental viruses or possibly cause a distinct disease based on their capacity to infect macrophages. Pairs of rhesus monkeys were therefore inoculated intravenously with six different M-tropic SHIV preparations, and their plasma viral RNA loads, circulating lymphocyte subset numbers, and eventual disease outcomes were monitored. Only one of these six M-tropic SHIVs induced any disease; the disease phenotype observed was the typical rapid, complete, and irreversible depletion of CD4⁺ T cells induced by pathogenic SHIVs. An analysis of two asymptomatic monkeys, previously inoculated with an M-tropic SHIV

recovered directly from alveolar macrophages, revealed that this inoculum targeted alveolar macrophages *in vivo*, compared to a T-cell-tropic virus, yet no clinical disease occurred. Although one isolate did, in fact, induce the prototypical rapid, irreversible, and complete loss of CD4⁺ T cells, indicating that M-tropism and pathogenicity may not be inversely related, the majority of M-tropic SHIVs induced no clinical disease in immunocompetent macaques.

3) Human immunodeficiency virus type 1 derivative with 7% simian immunodeficiency virus genetic content is able to establish infections in pig-tailed macaques: Igarashi, T., Iyengar, R., Byrum, R.A., Buckler-White, A., Dewar, R.L., Buckler, C.E., Lane, H.C., Kamada, K., Adachi, A., and Martin M.A.

A human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) derivative (HIV_{NL-DT5R}) containing sequences encoding a 7-amino-acid segment of CA and the entire *vif* gene from simian immunodeficiency virus (SIV) was previously shown to establish spreading infections in cultured macaque peripheral blood mononuclear cells. To assess its replicative and disease-inducing properties *in vivo*, HIV_{NL-DT5R} was inoculated into pig-tailed macaques. HIV_{NL-DT5R} generated plasma viremia in all five of the monkeys and elicited humoral responses against all of the HIV-1 structural proteins but did not cause CD4⁺ T-lymphocyte depletion or clinical disease. Additional adaptation will be required to optimize infectivity *in vivo*.

4) Construction of a novel SHIV having an HIV-1-derived protease gene and its infection to rhesus macaques: a useful tool for *in vivo* efficacy tests of protease inhibitors: Ishimatsu, M., Suzuki, H., Akiyama, H., Miura, T., Hayami, M., and Ido, E.

We generated a novel SHIV (termed SHIV-pr) that possesses the HIV-1-derived protease (PR) gene in the corresponding position in the SIV_{mac} genome. SHIV-pr is replication-competent in human and monkey CD4⁺ T lymphoid cell lines as well as rhesus macaque PBMCs. The viral growth of SHIV-pr was completely blocked in the presence of a peptide-analog PR inhibitor at the tissue culture level. When SHIV-pr was intravenously inoculated into two rhesus macaques, it resulted in a weak but long-lasting persistent infection in one monkey, whereas the infection of another was only temporary. To enhance the viral growth competence by adaptation, we then passaged the virus *in vivo* from a monkey up to the fourth generation. The initial peak values of plasma viral loads as well as the setpoint values increased generation by generation and reached

those of a parental virus SIVmac. When a medication using the content of Kaletra capsule (a mixture of two PR inhibitors, lopinavir and ritonavir) was orally given to three SHIV-pr-infected monkeys for 4 weeks, plasma viral loads dropped to near or below the detection limit and quickly rebounded after the cessation of medication. The results suggest that SHIV-pr can be used to evaluate PR inhibitors using monkeys.

5) Contribution of monocytes to viral replication in macaques during acute infection with simian immunodeficiency virus: Kuwata, T., Kodama, M., Sato, A., Suzuki, H., Miyazaki, Y., Miura, T., and Hayami, M.

Monocytes are known as an alternative target for HIV/SIV infection, but the contribution of monocytes to viral spread in a host is unclear. In this study, CD14⁺ monocytes were monitored in 6 macaques until six weeks postinfection (wpi) with SIVmac239 to evaluate their contribution to viral load. The monocyte count in blood significantly increased with peak viremia at 2 wpi and the expression level of CD14 on monocytes significantly decreased at 1–2 wpi, though the number of CD4⁺ T cells was stable in these macaques. The number of CD14⁺ monocytes and the expression level of CD14 on monocytes at 2 wpi were also significantly related to the extent of viremia in plasma. An increased number of monocytes at 2 wpi was associated with a lower postacute viral load, suggesting that monocytes have a role in suppressing the virus. The lower expression level of CD14 in monocytes at 2 wpi was associated with a higher viral load and greater degree of infection of monocytes. This correlation suggests that monocytes with a low level of CD14 may be more susceptible to SIV and may enhance viral replication. The analysis of monocytes in persistently infected macaques revealed that the expression level of CD14 was also significantly low during persistent infection compared with naive macaques, though the monocyte count was within the normal range. Monocytes may suppress viruses, perhaps by their immune function, during acute infection. However, infection of monocytes may increase the viral load and spread viruses in a host.

6) A genetically engineered live-attenuated simian–human immunodeficiency virus that co-expresses the RANTES gene improves the magnitude of cellular immunity in rhesus macaques: Shimizu, Y., Inaba, K., Kaneyasu, K., Ibuki, K., Himeno, A., Okoba, M., Goto, Y., Hayami, M., Miura, T., and Haga, T.

Regulated-on-activation-normal-T-cell-expressed-and-secreted (RANTES), a CC-chemokine, enhances antigen-specific T helper (Th) type-1 responses against HIV-1. To evaluate the adjuvant effects of RANTES against HIV vaccine candidate in SHIV-macaque models, we genetically engineered a live-attenuated SHIV to express the RANTES gene (SHIV-RANTES) and characterized the virus's properties in vivo. After the vaccination, the plasma viral loads were same in the SHIV-RANTES-inoculated monkeys and the parental *nef*-deleted SHIV (SHIV-NI)-inoculated monkeys. SHIV-RANTES provided some immunity in monkeys by remarkably increasing the antigen-specific CD4⁺ Th cellproliferative response and by inducing an antigen-specific IFN- ELISpot response. The magnitude of the immunity in SHIV-RANTES immunized animals, however, failed to afford greater protection against a heterologous pathogenic SHIV (SHIV-C2/1) challenge compared to control SHIV-NI-immunized animals. SHIV-RANTES immunized monkeys, elicited robust cellular CD4⁺ Th responses and IFN- ELISpot responses after SHIV-C2/1 challenge. These findings suggest that the chemokine RANTES can augment vaccine-elicited, HIV-specific CD4⁺ T cell responses.

LIST OF PUBLICATIONS

Experimental Research Center for Infectious Diseases

Laboratory of Primate Model

Nishimura, Y., Igarashi, T., Buckler-White, A., Buckler, C., Imamichi, H., Goeken, R.M., Lee, W.R., Lafont, B.A., Byrum, R., Lane, H.C., et al. (2007) Loss of naive cells accompanies memory CD4⁺ T-cell depletion during long-term progression to AIDS in Simian immunodeficiency virus-infected macaques. *J. Virol.*, 81, 893-902.

Igarashi, T., Donau, O.K., Imamichi, H., Nishimura, Y., Theodore, T.S., Iyengar, R., Erb, C., Buckler-White, A., Buckler, C.E., and Martin, M.A. (2007) Although macrophage-tropic simian/human immunodeficiency viruses can exhibit a range of pathogenic phenotypes, a majority of isolates induce no clinical disease in immunocompetent macaques. *J. Virol.*, 81, 10669-10679.

Igarashi, T., Iyengar, R., Byrum, R.A., Buckler-White, A., Dewar, R.L., Buckler, C.E., Lane, H.C., Kamada, K., Adachi, A., and Martin, M.A. (2007) Human immunodeficiency virus type 1 derivative with 7% simian immunodeficiency virus genetic content is able to establish infections in pig-tailed macaques. *J. Virol.*, 81, 11549-11552.

Ishimatsu, M., Suzuki, H., Akiyama, H., Miura, T., Hayami, M., and Ido, E. (2007) Construction of a novel SHIV having an HIV-1-derived protease gene and its infection to rhesus macaques: a useful tool for in vivo efficacy tests of protease inhibitors. *Microbes Infect.*, 9, 475-482.

Kuwata, T., Kodama, M., Sato, A., Suzuki, H., Miyazaki, Y., Miura, T., and Hayami, M. (2007) Contribution of monocytes to viral replication in macaques during acute infection with simian immunodeficiency virus. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 23, 372-380.

Shimizu, Y., Inaba, K., Kaneyasu, K., Ibuki, K., Himeno, A., Okoba, M., Goto, Y., Hayami, M., Miura, T., and Haga, T. (2007) A genetically engineered live-attenuated simian-human immunodeficiency virus that co-expresses the RANTES gene improves the magnitude of cellular immunity in rhesus macaques. *Virology*, 361, 68-79.

Ibuki, K., Inaba, K., Fukazawa, Y., Matsuyama, M., Hayami, M., Miura, T.: Virological and immunological analysis of systemic lymphoid tissues in SHIV-infected monkeys. 25th annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Monterey, U.S.A., Sep. 10-13, 2007

Saito, N., Takahashi, M., Shinya, E., Akahata, W., Shimizu, M., Owaki, A., Watanabe, E., Hidaka, C., Kaneko, A., Ibuki, K., Hayami, M., Miura, T., Takahashi, H.: Studies on CD1d-NKT system conserved among species: Importance of primate models for human disease analysis. 25th annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Monterey, U.S.A., Sep. 10-13, 2007

Matsuda, K., Ibuki, K., Inaba, K., Matsuyama, M., Hirai, K., Yamaguchi-Kabata, Y., Hayami, M., Miura, T.: Construction and in vivo analysis of R5 single tropic virus that shares the same genetic backbone with dual tropic SHIV-KS661. 25th annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, Monterey, U.S.A., Sep. 10-13, 2007.

Ibuki, K., Inaba, K., Fukazawa, Y., Matsuyama, M., Hayami, M., Miura, T.: Virological and immunological analysis of systemic lymphoid tissues in SHIV-infected monkeys. US-Japan Cooperative Medical Science Program: 20th Joint Meeting of the AIDS Panels, Monterey, CA, U.S.A., Sep. 13-14, 2007

三浦智行、稲葉一寿、深澤嘉伯、松山めぐみ、伊吹謙太郎、速水正憲：～エイズの標的組織は小腸である～霊長類エイズモデルの全身深部組織解析から見えてきたこと、第143回日本獣医学会学術集会、2007年4月3日-5日、つくば

松田健太、伊吹謙太郎、稲葉一寿、松山めぐみ、平井郁、山口由美、速水正憲、三浦智行：Dual tropic SHIV-KS661 をバックボーンとした R5 single tropic ウイルスの作成と *in vivo* 解析、第55回日本ウイルス学会学術集会、2007年10月21日-23日、札幌

姫野愛、赤木隆美、伊吹謙太郎、松山めぐみ、平井郁、堀池麻里子、宇都倫史、王欣、馬場昌範、明石満、三浦智行：抗原固定化生分解性ナノ粒子ワクチンのサル免疫実験および SHIV 攻撃接種による感染防御能の評価、第55回日本ウイルス学会学術集会、2007年10月21日-23日、札幌

井戸栄治、石松美沙、三浦智行：プロテアーゼ、逆転写酵素、およびインテグラーゼの各遺伝子が HIV-1 由来である SHIV-prti のサルにおける *in vivo* 継代、第21回日本エイズ学会学術集会、2007年11月28日-30日、広島

石松美沙、鈴木元、秋山尚志、三浦智行、速水正憲、井戸栄治：SIVmac に HIV-1 のプロテアーゼ遺伝子を組み込んだ SHIV-pr の *in vivo* 継代によって生じた遺伝子変異の解析、第21回日本エイズ学会学術集会、2007年11月28日-30日、広島

2007年3月に元原麻貴子、齊藤尚紀、石松美沙が博士(人間・環境学)を取得した。元原は福井大学医学部に学士入学し、齊藤は当教室の、石松は新興・再興感染症研究センター複製基盤解析チームのポストドクとなった。4月に堀池麻里子が本学人間・環境学研究科修士課程に入学、松田健太が同博士課程に進学した。11月に五十嵐樹彦が教授に着任した。12月にポストドクの齊藤がタカラバイオ株式会社に就職した。

当研究室の主要研究課題はヒトのレトロウイルス(HIVとHTLV)の感染を分子・培養細胞・感染個体レベルで総合的に解析することにより、これらウイルスの病原性を解明し、これらウイルスによって引き起こされる疾患の治療と予防の方策を開発することを目的としている。2007年の研究の進展は以下のとおりである。

1)長期にわたる感染の末エイズに至ったSIV感染サルではメモリーCD4陽性細胞の著減にナイーブ細胞の消失が伴って認められる

ヒト免疫不全ウイルスおよびサル免疫不全ウイルス(SIV)は、メモリーCD4陽性T細胞が大量に失われる急性期とその後に続くウイルス増殖をある程度抑える回復期を特徴とする漸進性の病態を引き起こす事が知られている。しかし急性感染期にウイルスが宿主に与える傷害があまりに大きいのとウイルス複製が持続する為に、最終的に免疫系は破綻し症候性かつ致死性の病態が例外無く起こる。我々は12頭のSIV感染アカゲザルのCD4陽性T細胞の動態と病態進行を約2年にわたり検索した。12頭のうちrapid progressor表現型を呈した3頭は末梢血および2次リンパ組織からナイーブではなくメモリーCD4陽性T細胞を迅速かつ非可逆的に失い、感染後6ヶ月以内に斃死した。これに対し、通常の病態進行を呈した感染サルでは著しいものの不完全なメモリーCD4陽性T細胞の減少およびこの細胞サブセットの活性化と増殖が持続的に観察された。これらにともなって末梢血および2次リンパ組織からのナイーブCD4陽性T細胞の著しい減少が認められ、病態の進行に伴って更に減少した。これらの結果はウイルス感染による直接的な細胞死と細胞活性化の結果起こる最終的な細胞死で持続的にメモリーCD4陽性T細胞が失われる事でナイーブCD4陽性T細胞からメモリーCD4陽性T細胞への持続的な分化が促される事を示唆している。この間断のない補充過程が最終的にナイーブCD4陽性T細胞プールの疲弊および病態の進行を引き起こす。

2)マクロファージ指向性SHIVは広範な病態を誘導しうるものの、大多数の株は免疫系の正常なサルに臨床症状を起こさない。

ビスナヤヤギ関節炎・脳炎ウイルスといった主としてマクロファージ指向性のプロトタイプレンチウイルスと異なり、霊長類レンチウイルスは一義的にCD4陽性T細胞を標的とする。我々は高病原性SHIVのアカゲザルへの感染後期にはCD4陽性T細胞が全身性に失われ、代わって感染したマクロファージから放出されるウイルスによって高レベルのウイルス血症が維持される事を以前に報告している。感染末期の免疫不全を呈したサルから分離された数株のマクロファージ指向性SHIV

を用いて、これらのマクロファージ指向性ウイルスが親株である T 細胞指向性ウイルスが引き起こす免疫不全症へ何らかの役割を果たしているか、またはそれらウイルスのマクロファージ指向性に基ついた独自の病態を引き起こすかを検索した。6 株のマクロファージ指向性 SHIV をそれぞれ 2 頭のサルに静脈内接種し、血漿中ウイルス RNA 負荷、末梢血リンパ球サブセット数、および最終的な病態の誘導を観察した所、一株のみが迅速、完全、かつ非可逆的な CD4 陽性 T 細胞の著減を特徴とする高病原性 SHIV の病態を誘導した。感染サルの肺胞マクロファージから直接分離されたマクロファージ指向性 SHIV を接種された無症候のサルを解析した所、このウイルスは体内でも T 細胞指向性のウイルスと比べ肺胞マクロファージに嗜好性を示すものの臨床的な病態は誘導しない事が示された。6 株中 1 株が典型的な高病原性 SHIV の病態を引き起こしたのでウイルスのマクロファージ指向性と病原性は逆相関しているとは結論出来ないものの、大多数のマクロファージ指向性 SHIV は正常な免疫系を持つサルに臨床症状を引き起こさない。

3) 全ゲノムの 7% が SIV である HIV-1 はブタオザルに感染出来る

我々は以前にキャプシド中の 7 アミノ酸分節および全 *vif* 配列が SIV 由来である HIV-1 誘導體 HIV-1 NL-DT5R がサル末梢血単核細胞で子孫ウイルス粒子産生を伴って感染する事を報告した。HIV-1 NL-DT5R の個体レベルでの複製能および病原性を検討する目的で、このウイルスをブタオザルに接種した。HIV-1 NL-DT5R は接種した 5 頭全てにウイルス血症と HIV-1 の全ての構造タンパクに対する抗体応答を誘導したが、CD4 陽性 T 細胞の減少および臨床的な病態を誘導しなかった。個体における感染性を至適化するため更に馴化する必要がある。

4) HIV-1 由来プロテアーゼ遺伝子を有する新規 SHIV の構築とそのアカゲサル感染実験: プロテアーゼ阻害薬の生体内評価のための有効なツール

従来の SIV/SHIV・サルの系は、HIV-1 の動物モデルとして種々の貴重な情報をもたらして来た。ところが HIV-1 を標的として開発されたウイルス酵素阻害剤の内、特に PR 阻害剤は、SIV の同酵素に対して HIV に対する効果よりは劣るため、動物モデルにおける PR 阻害剤の評価は困難であると考えられていた。当研究室において作製された SHIV-pr は SIV の PR 遺伝子領域のみが HIV-1 由来の新規 SHIV であり、PR 阻害剤の評価が可能であろうと思われた。in vivo 継代により増殖能を増大した SHIV-pr を接種したアカゲサルでは、持続的かつ安定な血中ウイルス量を示していることから、これらの感染サル中のウイルスが PR 阻害剤に対してどのように反応するかを検討した。SHIV-pr が持続感染しているアカゲサル 3 頭に、PR 阻害剤であるカレトラ錠 (LPV/RTV) をそれぞれの摂取量が約 12mg/3mg/kg/day になるよう飲料水に混ぜ 4 週間投与した。また処理前後に採取した血漿からウイルス RNA を抽出し、遺伝子解析を行った。カレトラ投与中、いずれのサルの血中ウイルス量も急速に減少し、投与終了時点では殆ど検出限界レベルにまで到達した。また、投与終了後血中ウイルス量は急速に投与前のレベルまで復帰した。薬剤投与したサル個体から得られたウイルスの PR 遺伝子領域 (99 アミノ酸残基) には、作製時と比べてアミノ酸変異を伴う変異も含め合計 10 ヶ所程度の変異が見られたが、投与前後だけを比較すると 1 頭では全く変化がなく、他のサルでもマイナーな変異に留まり、投与サル個体間で共通の変異は生じていなかった。カレトラ投与によって SHIV-pr が

著しく増殖抑制されたことにより、このモデル系が HIV-1 用に開発された PR 阻害剤の in vivo 評価系として極めて有用であると考えられた。また遺伝子解析において、カレトラ処理前後でサル間に共通の変異は見られなかったことから、4 週間の同剤投与によりウイルスの耐性変異体を誘発することはないと考えられた。なお、この実験に使われた SHIV-pr の PR 領域には in vivo 継代によって固定されたと考えられるアミノ酸変異が 3 ヶ所存在しており、これらの変異が個体内でのウイルス増殖能向上に関わっている可能性が示唆された。

5) SIV 感染サルの感染初期における単球のウイルス複製への影響

単球は HIV/SIV 感染の標的となりうることが知られているが、感染宿主内におけるウイルス伝播への単球の影響についてはよくわかっていない。この研究では単球のウイルス量に与える影響を評価するために、6 頭の SIVmac239 感染サルについてウイルス接種後 6 週にわたって血液中の CD14 マーカー陽性単球をモニターした。感染 2 週後のウイルス血漿のピークと共に血中単球数は有意に増加し、単球の CD14 発現レベルは感染 1 ~ 2 週後に有意に減少したが、これらのサルでは CD4 陽性 T 細胞数の有意な変化は認められなかった。さらに感染 2 週後の CD14 陽性単球数と単球の CD14 発現レベルは、血液中のウイルス量と有意な相関関係が認められた。すなわち感染 2 週後における単球数の増加は、その後のウイルス量低下と有意に相関し、単球がウイルス増殖抑制に働くことを示唆した。感染 2 週後の CD14 発現レベルの低下は、血中ウイルス量の増加および単球感染率の上昇と相関した。この相関は、CD14 発現レベルの低い単球は SIV 感受性がより高く、ウイルス複製を増強することを示唆している。SIV に持続感染しているサルにおける単球解析の結果から、持続感染サルの血液中単球数は正常範囲内であるが、CD14 発現レベルは非感染サルと比較して有意に低下していることが明らかとなった。単球はその免疫機能により感染初期にウイルス増殖を抑制しうるが、単球へのウイルス感染により、感染宿主におけるウイルス量の増加と感染拡大を引き起こすのであろう。

6) RANTES 遺伝子を組み込んだ弱毒 SHIV 感染により感染サルの細胞性免疫応答は増強される

HIV-1/SIV キメラウイルス (SHIV) は HIV-1 に対する免疫を誘導し、サルでの評価が可能のため HIV-1 に対するワクチン開発のモデルとして研究が行われてきた。ケモカイン RANTES は、感染初期に優位な R5 型 HIV-1 の感染を競合的に阻害する。さらに免疫担当細胞の走化活性等により、免疫増強効果が期待できる。今回、RANTES により増殖が抑制されない IX4 型の SHIV に RANTES 遺伝子を組み込んだ SHIV-RANTES を作成し、その免疫誘導能および防御効果を調べ、RANTES の HIV-1 ワクチンアジュバントとしての効果をサル個体レベルにて検討した。SHIV-RANTES を 4 頭、コントロールとして RANTES を組み込まない SHIV (SHIV-NI) を 5 頭のアカゲザルに 10^5 TCID₅₀ 静脈内接種し、経時的に CD4 陽性細胞数、ウイルス量の推移を調べた。また、単経リンパ節のバイオプシーを行い感染局所での RANTES 発現を調べた。免疫応答として抗原特異的 T 細胞増殖活性、および IFN- γ 産生細胞数について検討した。また、免疫 8 週目に抗原性の異なる SHIV (SHIV-C2/1) を攻撃接種し、その防御効果を検討した。免疫期間中、両群共に CD4 陽性細胞数の変動は認められず、ウイルスロードの推移に接種群による差は認められなかった。SHIV-RANTES 免疫群では感染局所での RANTES-mRNA の発現量が上昇すると

もに、CCR5 発現が減少する傾向が認められた。SHIV-RANTES接種群ではより強い抗原特異的なT細胞増殖活性およびIFN- γ 産生細胞の増加が認められた。SHIV-C2/1 の攻撃接種では両群で感染抑制を認めた。特にSHIV-RANTES免疫群では抗原特異的なT細胞増殖反応やIFN- γ 産生細胞の誘導が強く、さらに剖検時、各リンパ組織における攻撃ウイルスのプロウイルス量が低い傾向が認められた。サル個体においてSHIV-RANTESはSHIV特異的な細胞性免疫応答を増幅し、さらに攻撃接種後に強い二次免疫応答を誘導したことから、RANTESはHIV-1 ワクチン効果の増強に有効であることが示唆された。