

|          |                                                                                                                                                                                                                          |
|----------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 氏 名      | みやざき やす ゆき<br>宮 崎 恭 行                                                                                                                                                                                                    |
| 学位(専攻分野) | 博士 (人間・環境学)                                                                                                                                                                                                              |
| 学位記番号    | 人 博 第 144 号                                                                                                                                                                                                              |
| 学位授与の日付  | 平成 14 年 3 月 25 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   | Analyses of sensitivity to antibody-mediated neutralization and induction of neutralizing antibodies to HIV-1 Env by simian/human immunodeficiency virus-macaque model<br>(SHIV-サルモデルを用いた HIV-1 Env の中和抗体の感受性と誘導能に関する解析) |
| 論文調査委員   | (主 査)<br>教授・速水正憲 教授 津田謹輔 教授 松村道一 助教授 三浦智行                                                                                                                                                                                |

### 論 文 内 容 の 要 旨

ヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1) は、後天性免疫不全症候群 (AIDS) の原因ウイルスである。現在、米国をはじめとする先進諸国において、様々な抗 HIV-1 薬の開発が積極的に行われており、これらの抗 HIV-1 薬をいくつか併用する多剤併用療法 (HAART) により AIDS による死亡増加率は低下する傾向にある。しかし、死亡者数そのものは依然として増加し続けており、薬剤療法についても患者の精神的経済的負担や薬剤耐性ウイルスの出現による薬剤療法の不効化の問題からも効果的なワクチンの開発が望まれている状況には変わりがない。ワクチン開発には、動物を用いた実験感染系が不可欠であるが、HIV は宿主域が狭く、適当な実験感染系がない。本研究では、アカゲサルに感染する HIV-1 に非常に類似したサル免疫不全ウイルス (SIV) と HIV-1 (*env* 領域を含む) を組み合わせた HIV-1/SIVmac キメラウイルス (SHIV)-サルモデルを用いて個体レベルでの抗体誘導と HIV-1 Env の糖鎖の機能の解析を行った。

HIV-1 は非常に多様であり、特に外皮タンパクをコードする *env* 領域には変異が多く見られ、HIV の抗原性を多様している。この HIV-1 の多様な抗原性はワクチン開発における大きな障害となっている。このため、HIV-1 抗原の多様性に対応出来る抗体を誘導できるようなワクチンが必要とされている。第一部では、SHIV に感染したサルに誘導された中和抗体について、その量的、質的变化を明らかにし、HIV-1 抗原の多様性に対応出来る抗体が誘導される機序についての解析を行った。感染初期に誘導された抗体は接種ウイルス特異的であったが、接種後 1 年で親株以外の HIV-1 株に対する中和活性が検出され始め、約 2 年後以降には低い値ではあるが、複数の HIV-1 株に対する中和活性が見られた。これらの結果は、SHIV 接種サルが長期の持続感染後に交差中和活性を有する抗体を誘導したことを示している。このような広い交差中和能は、現在ワクチンとして考えられているペプチドや不活化ウイルス等による免疫では、必ずしも獲得されず、感染による免疫の結果得られたと考えられ、生ワクチンの有用性を示している。また、広い交差中和能を有する抗体を誘導したサルから再分離されたウイルスは、そのサル自身の血清による中和に抵抗性を示した。また、この再分離ウイルスを新たに接種したサルの血清でもこのウイルスは中和されなかった。これらのことは広い交差中和能を獲得した個体において、中和抗体に抵抗性を有するウイルスが出現する危険性を示唆している。

HIV-1 の Env は非常に多くの糖鎖が結合しており、ウイルスの増殖調節や、抗体からの認識阻害、抗体生成の阻害などの役割があると考えられている。第二部では、Env の糖鎖の機能について、HIV-1/SIVmac キメラウイルス (SHIV) を用いて解析を行った。その結果、V3 領域の糖鎖を欠損したウイルスが親株に比べ著しく増殖能が低下し、中和感受性が上昇した。さらに V1、V2 領域と同時に V3 領域の糖鎖を欠損させると、飛躍的に中和感受性が上昇した。これらの結果から、V3 領域の糖鎖がウイルス増殖能、被中和能のどちらにも重要であり、V1、V2 領域は V3 領域の糖鎖と相乗的に働くことが示された。SHIV は免疫系の主要な標的となっている Env が HIV-1 であり、HIV-1 の Env がウイルス増殖や免疫応答などに及ぼす影響を個体レベルで解析することができる。V3 領域の糖鎖は重要な機能を有していたため、サルに V3 領域

の糖鎖欠損株を接種したところ、*in vitro*で見られた糖鎖欠損による増殖能への影響が個体レベルでも見られた。しかし、誘導された抗体は糖鎖欠損による影響は見られなかった。

効果的な抗体誘導機構の解明にはさらに研究を進める必要があり、本研究で得られた、また構築された種々の SHIV は増殖能、中和感受性、抗体誘導能における特色がそれぞれ個体レベルで明らかにされており、これらの SHIV 接種サル血清と合わせて今後の研究材料として役立つものと期待される。また、SHIV-サルモデルが効果的な免疫誘導機構の解明に役立つことが示され、今後のワクチン開発にとって有用と考えられる。

## 論文審査の結果の要旨

申請者は HIV-1 に対する中和抗体を誘導できる効果的なワクチンを開発するための基礎情報を得ることを目的とし、サルに感染する HIV-1 に非常に類似したサル免疫不全ウイルス (SIV) と HIV-1 (*env* 領域を含む) を組み合わせた HIV-1/SIVmac キメラウイルス (SHIV) によるサル感染モデル系を用いて 2 つの実験研究を行った。第一部では、SHIV のサル感染実験により HIV-1 抗原の多様性に対応出来る抗体誘導の機序について解析を行った。HIV-1 *Env* を有する SHIV の接種により、広い交差中和能を有する抗体が 3 頭中 1 頭で長期持続感染後に誘導された。そのサルから再分離されたウイルスは、そのサル自身の血清による中和に抵抗性を示した。これらのことは広い交差中和能を獲得した個体において、中和抗体に抵抗性を有するウイルスが出現する危険性を示唆している。第二部では、*Env* の糖鎖の機能について、HIV-1/SIVmac キメラウイルス (SHIV) を用いて解析を行った。その結果、V3 領域の糖鎖欠損は増殖能および中和抗体に対する感受性の両方に著しく影響を及ぼした。また他の領域の糖鎖と相乗的に働くことを示した。このように V3 領域の糖鎖は重要な機能を有していたが、この領域の糖鎖を欠損した SHIV を接種したサルでは、糖鎖欠損による中和抗体誘導への影響は見られなかった。

現在、米国をはじめとする先進諸国において、様々な抗 HIV-1 薬の開発が積極的に行われており、それらの抗 HIV-1 薬を用いた多剤併用療法 (HAART) により AIDS による死亡増加率は低下する傾向にある。しかし、HAART の精神的・経済的負担は無視できないものがあり、また、薬剤耐性ウイルスの出現の問題からも効果的なワクチンの開発が望まれている状況に変わりはない。HIV-1 は抗原性が非常に多様であり、このことがワクチン開発における大きな障害となっている。このため、HIV-1 抗原の多様性に対応出来る抗体を誘導することができるワクチンの開発が必要であり、第一部において明らかにした交差中和能の誘導の機序や、中和抵抗性を有するウイルスの出現の問題はワクチンにおける有用性と問題点を示唆しており重要である。また、ウイルスの糖鎖はウイルスの増殖調節や、抗体からの認識阻害、抗体生成の阻害などの重要な役割があると考えられており、第二部で明らかになった結果は効果的なワクチンを開発するための基礎情報として重要である。効果的な抗体誘導機構の解明にはさらに研究を進める必要があり、本研究で得られた、また構築された種々の SHIV は増殖能、中和感受性、抗体誘導能における特色がそれぞれ個体レベルで明らかにされており、これらの SHIV を接種したサルの血清と合わせて今後の研究材料として役立つものと期待される。また、SHIV-サルモデルが効果的な免疫誘導機構の解明に役立つことが示され、今後のワクチン開発にとって有用と考えられる。こうした情報は従来数多く行われてきた遺伝子レベル、培養細胞レベルのみからでは得られないものであり、さらに個体レベルでの感染実験を合わせて統合的に解析を行った本研究の特色ある成果であると言える。本学位申請論文では AIDS ウイルスの中和抗体に対する感受性と中和抗体の誘導について新たに得られた結果をもとに従来の定説を論理的かつ慎重に検証し、その上で進展させている。さらに、本論文の成果は HIV-1 に対する生体側の防御機構の解明に重要な知見をもたらすのみならず、個体レベルでの病原性の解明するうえでも重要な情報になるとと思われる。本論文の内容に関して、すでに第一部に関する論文が国際学術誌 (AIDS Research and Human Retroviruses 誌) に受理されており、本論文の価値は当該分野の研究者にも高く評価されている。本論文は、人間と環境の問題を総合的に考察し、現在人類の直面している困難な諸問題の根本的解決に資する創造的研究を目指して創設された人間・環境学専攻自然環境論講座にふさわしい内容を備えたものと言える。

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14年1月24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。