

ウイルス持続感染による生体防御機構の破綻と その免疫治療法の開発

研究代表者：神奈木 真理（東京医科歯科大学医歯学総合研究科）

研究の概要

本研究では、レトロウイルス感染症によってひきおこされる腫瘍、免疫不全、自己免疫等の生体内での病態形成機序とその分子メカニズムを解明し、究極的にはウイルスを抑制し免疫不均衡を矯正する免疫治療法の開発をめざした。従って、生体内解析を可能にするための動物モデル開発、宿主側の免疫応答およびウイルスによる細胞内シグナル修飾の解析とを当面の目標とした。研究組織は 7 研究グループからなる。研究対象となったレトロウイルスは、成人 T 細胞白血病 (Adult T cell leukemia, ATL) の原因ウイルスであるヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型 (HTLV-I)、後天性免疫不全症候群(AIDS)の原因ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス 1 型 (HIV-1)、マウス赤白血病の原因ウイルスであるフレンド白血病ウイルス (F-MuLV) である。

成果として、HTLV-I による T 細胞リンパ腫瘍の新規ラットモデルの確立、それを用いた生体レベルでの抗腫瘍免疫の解析、およびその結果得られた免疫抗原によるワクチン試作、さらにその抗腫瘍効果を確認するところまで到達した。HIV-1 感染症に関しては、hu-PBL-SCID 系を用いて生体内で HIV-1 が感染増殖するモデルを確立し、生体内での HIV-1 親和性の偏りと Th1 サブセットとの関係を明らかにし、薬剤や中和抗体等の生体レベルでの抗 HIV 効果を検定できることを示した。また、HIV-1 に対する宿主免疫、HTLV-I、F-MuLV による腫瘍化の分子メカニズムについて解析が進んだ。本シンポジウムでは、このうち HTLV-I の腫瘍ラットモデル、HIV-1 感染 hu-PBL-SCID マウスモデル、F-MuLV 白血病マウスモデルについて得られた研究成果について発表する。

(1) ヒト T 細胞白血病ウイルス (HTLV-I) の腫瘍化機序と抗腫瘍ワクチン

東京医科歯科大学大学院 医歯学総合研究科
免疫治療学分野 神奈木 真理

HTLV-I は試験管内で T 細胞を不死化し、生体レベルでも予後不良の T 細胞腫瘍性疾患、成人 T 細胞白血病 (ATL) をおこす。しかし、ATL の発症は一部の感染者に限られ、また感染から発症までに数十年を要する。このような生体での ATL の発症メカニズムを解明し、治療法を開発するためには動物モデルが必要である。しかし、これまで HTLV-I 感染による T 細胞腫瘍を発症する適当な動物モデルが無かった。従って、我々は HTLV-I 腫瘍発症モデルの作成を当初の目標として試みた。

まず、試験管内で HTLV-I 感染し増殖性を獲得したラット T 細胞株 FPM1 を樹立し、これを腫瘍細胞として用い、T 細胞免疫の欠損した同系のヌードラット (nu/nu) に接種した。予想に反して生体内腫瘍増殖はおこらなかったが、この細胞株を nu/nu の生体で継代することにより得たサブクローン FPM1-V1AX は、nu/nu に致死性 T 細胞リンパ腫をおこした。同系免疫正常ラット (nu/+) ではいづれの細胞株も腫瘍をおこさず、長期間観察しても増殖可能な腫瘍への進化は認められなかった。これは、HTLV-I 感染細胞の生体内腫瘍化には試験管内の T 細胞不死化だけでは不十分で付加的变化が必要であること、宿主の免疫低下はこの進化過程を助長することを示唆している。

腫瘍退縮をおこした nu/+ 個体からは、腫瘍細胞を特異的に傷害する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 活性が検出され、その主な認識抗原は HTLV-I Tax であることが分かった。さらに詳細な解析の結果、CTL の主要認識エピトープを同定した。この CTL エピトープ

部位のペプチドを免疫原としてワクチン接種した動物の T 細胞を移入することにより、FPM1-V1AX を接種した nu/nu の致死性リンパ腫増殖は回避された。Tax cDNA を含む DNA ワクチンによっても同様の抗腫瘍効果が認められた。これらのことから、Tax を標的とする T 細胞性免疫が HTLV-I 感染細胞増殖を生体内で抑制することが分かった。

ATL 患者では HTLV-I 特異的免疫低下が指摘されている。我々は、ラットを用いた別の実験系で、HTLV-I 感染条件が宿主の液性・細胞性免疫応答に影響し、ある条件下では免疫応答の極めて低い HTLV-I 持続感染が成立することを見いだしている。これは、ヒトにおいて抗腫瘍免疫能の低い集団が存在する理由の一部を説明するものである。上記ヌードラットを用いた一連の研究結果は、HTLV-I に対する免疫応答の低い個体では感染細胞集団の増殖制御が不十分であり、ワクチンによる細胞性免疫強化が発症予防的意義を持つ可能性を示している。本実験系は、現在のところ HTLV-I 腫瘍に対する抗腫瘍免疫効果を検定することのできる唯一のシステムとして、今後 ATL の予防治療方法の開発に有用である。

(2) ヒト末梢血単核球移植スキッドマウス(hu-PBL-SCID)を用いた HIV-1 感染モデルの確立と HIV-1 感染免疫応答の誘導

琉球大学医学部附属沖縄・アジア医学研究センター
感染免疫学研究分野 田中 勇悦

SCID マウスにヒト PBMC を腹腔内(i.p.)移植し、ヒト T 細胞を生着させたキメラマウス、hu-PBL-SCID マウスに、HIV-1 感染をさせ HIV-1 の感染病態をシュミレーションする動物モデルを確立した。この系においてはマクロファージ指向性 HIV-1(R5 HIV-1)が増殖し、著明な CD4+T 細胞の枯渇をひき起こす。移植する PBMC から CD14+単球を除去すると R5 HIV-1 ウイルスの増殖が著明に低下する。これは、単球が R5 HIV-1 の初感染成立に重要な役割を果たすこと、つまり、このタイプのマクロファージ依存性を示唆している。一方、感染後期の患者で優位に分離される病原性の高い T 細胞株指向性 HIV-1 (X4 HIV-1) は、hu-PBL-SCID マウスでは増殖が非常に低い。その原因の一つはキメラマウス体内ではヒト CD4+T 細胞の CXCR4 の発現性が弱いことが判明した。CXCR4 の発現を促進するヒト IL-4 をマウスに投与することにより、X4 HIV-1 を増殖させることができた。一方、より少ない数の PBMC 移植で hu-PBL-SCID マウス作製を可能とし、また GVHD によるマウスの死亡を低減させる方法として、PBMC のマウス脾臓への直接移植を試みた。この方法を使うと、従来の 1000 万個 PBMC/マウス i.p.接種と比べ、300 万個 PBMC/マウス接種でも十分な T 細胞の生着がみられ、GVHD が回避できた。これらのマウスでは、i.p.接種した R5 HIV-1 が増殖した。このように、より少ない PBMC サンプルの移植によって同じドナー由来の PBMC をもつ同ロットの hu-PBL-SCID マウスを多数作製できることから、HIV-1 の病態解析や種々の抗ウイルス剤の評価が容易となった。

さらに、hu-PBL-SCID-spl マウスには、もう一つの利点があった。それは、脾臓内に限局したヒト PBMC を外来抗原で免疫することにより免疫応答を誘導できることある。HIV-1 に対する免疫応答をこのマウス個体で誘導できれば、HIV-1 潜伏感染モデルとしてのこの実験系の利用価値はさらに高まると考えられる。免疫応答を惹起する機能が高い抗原提示細胞である樹状細胞(DC)を *in vitro* で誘導成熟させ、外来抗原でパルス後、PBMC と同時に脾臓に移植することにより、ヒト型液性免疫応答との細胞性免疫応答が誘導された。不活化 HIV-1 パルス成熟 DC で免疫した hu-PBL-SCID マウスは、R5-HIV-1 感染に抵抗性を示した。これらのマウスにおける HIV-1 免疫による HIV-1 感染防御誘導は世界でも初めての観察であり、防御応答の誘導機構、免疫エフェクターの同定は、今後の検討課題である。