

学会印象記

バンコク国際エイズ会議印象記

～トラック A : 基礎科学～

有 吉 紅 也

Koya ARIYOSHI

国立感染症研究所エイズ研究センター・タイ国立衛生研究所 JICA 専門家

まえがき

筆者は、現在タイ国立衛生研究所へ赴任中であり、タイ国内からの参加印象記である。会議が行われた週は、バンコクおよびその隣県は幼稚園も含めたすべての学校が休校となり、いつも遭遇するバンコクの交通渋滞が嘘のような平穏な一週間であった。そして大きな混乱もなく会議を運営・成功させたタイ国の底力に今更ながら敬服する。(実は、学会開催中会場に連れてこられた象による人身事故があったのだがご存知だろうか)

筆者が担当したトラック A「基礎科学」は発表演題全体の約 2 割にしかなかった。貼られていないポスターやキャンセルされた口頭発表が目立った。半数近くの口頭発表が行われなかったセッションもあり、国際エイズ学会における「基礎科学」は盛り上がりには欠けていた。以下、筆者が興味を持った演題と、治療分野については Rapporteur チームによって取り上げられた演題を参考にまとめた。

ウイルス感染

McCutchan らは 3 つのサブタイプ A・C・D が流行するタンザニアで行われたハイリスク群コホート研究 (N=600) において、複数の遺伝子領域をハイブリダイゼーションアッセイによりゲノタイピングし、高い頻度 (28%) で異なるサブタイプに重感染していることを示した。また 6～9 カ月という短い追跡期間中に新たなサブタイプの重感染が確認され、サブタイプ間クロス防御免疫の有効性に疑問を投げかけた。(TuOrA1139) Smith らは、新規感染者 (N=78) の 2 観察点 (平均間隔 313 日) で血漿中 HIV *pol* 領域 RNA シーケンスおよび系統樹解析を行って、「スーパー感染」疑い症例を見つけ、さらにクローニングにより確定診断した。その結果、3 症例について急性感染から 5～13 カ月の時点でスーパー感染が認められた。これらの症例では、ウイルス量の急激な上昇 (+0.8～+2.2 log₁₀) と CD4+リンパ細胞数の低下 (-150～-347/μl) が認められ、スーパー感染が例外なく臨床像を悪化させていることが判明した。うち 2 症例については優位であった薬剤耐性

株がスーパー感染後野生株によって覆われ、残りの一例については、スーパー感染後野生株から薬剤耐性株へシフトしていた。(TuOrB1140) ワシントン大学 McElrath らのグループは暴露されたが抗 HIV 抗体陰性者 (ESN) と ESN が保有する HIV の DNA 塩基配列を 6 年間に渡り追跡している。これまで 92 名の ESN を調べ 12 名について非常に低いレベル (DNA プロウイルスコピー数の平均が 0.05/10⁶ 細胞) で HIV 感染していることを確認、うち 10 名において抗体陽転を観察した。本学会では、これら陽転した者とその長期的パートナーの HIV-1 *env* 塩基配列を比較検討し、陽転者が新たに感染した HIV 株はいずれも長期的パートナーの有する HIV 株からは遺伝的に遠く、別の感染者由来であることが示された。(TuOrA1141)

宿主免疫応答

高ウイルス量感染者にて HIV 特異的 CD4+T 細胞の *in vitro* 増殖反応が低下している要因を調べるために、Connors らは進行型 HIV 感染者 15 名のリンパ細胞を CFSE (carboxyfluorescein succinimidyl ester) でラベルし、HIV 特異的 CD4+T 細胞増殖反応を調べた。ラベルしていない薬剤治療後の CD4+T 細胞を培養中へ加えること



象には不用意に近づかないように (まえがき)

により、非治療・高ウイルス血症時の HIV 特異的 CD4+T 細胞増殖反応が回復すること、逆に非治療時の CD4+T 細胞を治療開始後の細胞に加えても HIV 特異的 CD4+T 細胞増殖反応は阻害されないことを示した。IL-2 を産生する HIV 特異的 CD4+T 細胞がウイルス量の高い感染者で有意に落ちていることから、宿主あるいはウイルス由来の阻害因子が原因ではなく、IL-2 などのサイトカイン産生量低下が細胞増殖反応低下に関与していることを示唆した。(MoOrA1002) IFN γ 産生反応を評価する Elispot では、HIV 慢性感染期の CTL 機能低下を測ることは出来ない。そこで、Altfield らは HIV 急性感染者 (N=18)、進行型慢性 HIV 感染者 (N=10)、進行遅延型慢性 HIV 感染者 (N=6) の末梢血リンパ細胞を抗原刺激し、HIV 抗原特異的 IFN γ 分泌と細胞増殖反応 (CFSE ラベル) を同時に調べた。進行型慢性感染者において CD8+細胞増殖反応は低下していたが、IFN γ 分泌反応は保たれていた。また CD8+細胞増殖反応と CD4+細胞増殖反応との間に強い相関関係が認められた。さらに、CD8+細胞増殖反応低下は、急性期の CD4+細胞を加えることにより回復することが示され、慢性期の CTL 機能低下は、HIV 特異的 CD4+細胞の機能障害に関連すると示唆した。(LbOrA04) Horton は、CTL 誘導型ワクチン (canarypox) を接種された HIV 非感染ボランティア 4 名と HIV 感染者 12 名の HLA A3 拘束性 Gag CTL エピトープ RLRPGGKKK (RK9) 特異的 CTL の機能を比較するため、RK9/A3 tetramer への結合能、IFN γ および TNF α 産生反応、および CFSE ラベルによる細胞増殖反応を調べたところ、非感染ボランティアと急性感染期の感染者との間に機能的差はなかったが、慢性期感染者の CD8+細胞増殖反応が低下していることを報告した。一方 IFN γ および TNF α 産生反応については差は認められなかった。(ThOrA1395)

Watkins らは、SIVmac239 において既知の 3 つのドミナント CTL エピトープ: Gag CM9 (A01), Tat SL8 (A01), Nef IW9 (B17) にそれぞれエスケープ変異を挿入した変異ウイルス “3xSIV” を作成し A01/B17 陽性または陰性のサルへ感染させた。その結果、野生株 SIVmac239 に感染した A01/B17 陽性サル (1 頭) に比べ 3xSIV に感染した A01/B17 陽性サル (4 頭) のエピトープ特異的 CTL (tetramer 結合) 頻度が低かった。しかし、エスケープ変異株に感染したサルのうち 3 頭はドミナントエピトープに対する CTL 活性減少にもかかわらず野生株 SIV に感染したサルに比べウイルス増殖を抑制した。(MoOrA1049) さらに同グループは、感染後に生じる SIV ウイルス進化の方向性を決定付けている主要な因子を詳細に調べるために、十分な数 (35 頭) のマカクサルに SIVmac239 を感染させ、エイズ発症時に全ゲノム解析を行って感染後のウイルスの多様化に

CTL がどの程度関与しているか調べた。Mamu-A*01, -A*02, -B*17 を保有するサルについてはそれぞれの HLA によって拘束された既知の CTL エピトープ領域にアミノ酸変異が集中していること、Env 以外の領域に見られたその他のアミノ酸変異についても、オーバーラッピングペプチド (15-mer) を用いた CTL 実験から、それが別の HLA アリールによって拘束された CTL エピトープ領域内にあることが判明した。CTL 抑制圧が Env 以外の領域におけるウイルス多様化に影響している最も重要な原因であることが確認された。(MoPeA3011)

Goulder らのグループは、B57 または B5801 を有する小児感染者 14 症例をしらべ、うち 12 症例が B57 拘束性 Gag エピトープ TSTLQEQIGW (TW10) からのエスケープ変異体 TSTLQEQIGA または NSTLQEQIGA を持ち、そのうち 8 症例がこれらエスケープ変異体を認識したが、変異体を認識できた成人慢性感染者は 16 症例のうち 2 名のみであった。(MoOrA1053) また、同グループは母子感染した乳幼児に断続的治療中断 (STI) を行い、持続的治療を行った群との比較研究を始めているが、これまでのところ STI を開始した 3 名の乳幼児すべてにおいてウイルス量のリバウンドが観察されたと報告した。(MoOrA1054) Brander らのグループは、60 種以上の HLA クラス I アリールによって拘束された長さが最適化された HIV CTL エピトープ (N=184) と EBV CTL エピトープ (N=91) に対する CTL 反応 (IFN γ Elispot) を HIV 感染者 100 名で調べたところ、HIV 特異的反応の 40% および EBV 反応の 33% が予想された HLA アリールやそのスーパータイプを有していない群であり、最適化された HIV CTL エピトープがスーパータイプで説明の付かない複数の HLA アリールによって拘束されているケースが高頻度にあることが示された (MoPeA3032)。同グループは、B63 (B*1516, B*1517) を保有する感染者が B57/58 によって拘束される CTL エピトープを高頻度に認識すること、また、B*1516 と B*1517 は B58 のスーパータイプであることから、B*1516 と B*1517 とウイルス量との関連を調べ、HIV サブタイプ B と C のどちらにおいても B*1516 と B*1517 を保有する感染者群がそうでないグループに比べてウイルス量が有意に低いことを報告した。同様の傾向が B27 と同じ HLA スーパータイプにある B*1503 についても認められ、CTL 認識エピトープ部位がエイズ進行遅延と関連することが示唆された。(ThOrA1392) 一方で、B58 と HIV-gp41 エピトープ “RAIEAQQHL” を共有認識する Cw3 と Cw15 は臨床的にエイズ進行遅延との関連はない。(ThOrA1393)

中和抗体については、ほとんど口頭演題はなかった。Polonis による中和抗体レクチャーは、ワクチントライアルに向けての中和抗体評価方法標準化に関する話題が中心

であった。(MoSy146)

宿主遺伝子

32 bp 欠損 CCR5 が稀なアジア人において、新たな CCR5 多型が報告された。Capoulade-Metay らは、ESN・非感染コントロール群をベトナムとカンボジアからそれぞれリクルートし、dHPLC とシーケンスによってこれらの対象群の CCR5 領域の変異を調べたところ、これまでに報告のなかった3つを含む5つのヴァリエント {G106R, C269F, S185R, I254T, R223Q} が見つかった。さらにこれらのクローンを U373 細胞にトランスフェクションしてその機能を調べたところ、G106R と C269F の発現、MIP-1 β との結合、さらに細胞融合と Luciferase 活性でみた HIV コリセプター機能のいずれも減少していることが判明した。疫学的データはまだ限られているが、これまでのところ G106R と C269F はすべて非感染者でのみ見ついている。(TuOrA1107)

ワクチン開発

Felber らは、INS を除き、MCP-3 (secretary pathway) を SIV gag/env に fusion させ、さらに beta-catenin peptide (proteasomal pathway) を加えた新しい改良型 DNA ワクチンの若年マカクサルモデルにおける予防および治療ワクチンとしての効果を報告した。この DNA ワクチンは従来のものよりもより広い免疫反応を誘導し、SIVmac251 を粘膜チャレンジした際の予防的ワクチン効果としては、コントロール群に比べてウイルス量が 1log 低下、さらに Stimulation Index, Gag および Env に対する Elispot 結果とウイルス量との間に有意な逆相関関係が見られた。また、従来の DNA ワクチンより高い抗体産生反応も見られた。新生児サルへ 0, 2, 3 週に接種し、その後経口チャレンジした実験でもコントロール群に比べてウイルス量が低い傾向が見られた。興味あることに治療的ワクチン効果として、急性感染後 35 週から 54 週に 20 週間薬剤治療を行い、その間に DNA にて 3 回 (8, 12, 16 週) 接種した群 (N=15) は、薬剤治療中の CTL 活性上昇が見られ、薬剤治療のみを受けた群 (N=16) に比べて治療中断後のウイルス量が有意に低かった。(ThOrA1344, WePeA5680) 本来治療ワクチン候補として開発された“DermaVir”の予防的ワクチン効果に関する研究が Lisiewicz によって発表された。DermaVir は DNA が DC にトラップされやすいように特殊な加工をして粒子状に固めたもので、あらかじめ処置された皮膚領域へ塗ることにより、より効率的に皮下のランゲルハンス細胞に捕らえられ Th1 を誘導する。DermaVir で感作した後 MVA でブーストしたサルにおけるチャレンジ実験 (SHIV 89.6p) では、生存率の上昇・ウイルス量低

下が見られた。(ThOrA1347)

ワクチン抗原にドミナント CTL エピトープが含まれていると、複数のサブドミナントなエピトープに対する CTL 誘導が困難になる。そこで Hanke らは、現在臨床試験に用いられているサブタイプ A CTL ワクチン抗原“HIV A” (p17/p24 gag+連結した CTL エピトープ) の中でマウス (BALB/c) によって認識される3つの CTL エピトープ {免疫応答の優性な順に H (gp120, H-2D^d), G1 (p24, H-2K^d), G2 (p17, H-2K^d)} のうち、最も優位度の高い H エピトープを除いた抗原“HIVAdP 18-I10”を作成した。これを BALB/c マウスへ接種 (DNA+MVA) した場合、次に順位の高い G1 に対する CTL 活性がより強く誘導されることを示した。また、HIVA 抗原と HIVAdP 18-I10 抗原を混合させて接種した場合は、H に対する CTL 活性のみが認められたが、それぞれの抗原を別の部位 (左右後脚) へ接種した場合は、H と G1 の双方の CTL 活性が認められることを示した。さらに、接種量を増やすことによって CTL エピトープ認識を拓げる効果があることを示した。(ThOrA1391)

治療

ウイルスエントリーを阻害する薬剤として、近年、HIV-1 gp41 を標的とし HIV-1 フェージョンを阻害するペプチド、“T20”が、米国で認可されたが、経口投与不可能と生産コストが障害となっている。Jiang らはケミカルライブラリーをスクリーニングし、HIV-1 フェージョンを阻害するいくつかの小分子を同定した (WeOrA1232)。これらの分子は、gp41 の疎水性 Cavity に結合し、gp41 fusion-active core 形成をブロックし、T-20 と同じ作用機序をもつ新たな抗エイズ薬となる可能性がある。その他、細胞膜 HIV-1 レセプタータンパクを標的とするものとして、抗 CCR5 モノクロー抗体“PRO140”の治療効果有効性が SCID マウスモデルにて示された演題 (WeOrA1230)、経口投与可能でフェーズ II 臨床試験まで進行した CCR5 拮抗剤“873140”のクロスサブタイプ抗 HIV 作用を in vitro の実験系にて示した演題 (WeOrA1231)、CXCR4 を介したウイルスエントリーを阻害するタンパクエピトープ模倣剤 (mimetics) “POL2438”の抗ウイルス作用 (WeOrA1307)、CD4 分子の gp120 結合ドメインをターゲットにした低分子“NSC 13778”に関する演題 (WeOrA1308) が Rapporteur チームによって取り上げられた。また、ウイルス粒子成熟化阻害という新しい機序を有する抗エイズ薬として、“PA-457”が紹介された。この薬剤は、CA タンパク (p24) の前駆体 CA-SP1 (p25) へ直接作用し、プロテアーゼ機能阻害を介せずにウイルス粒子の成熟化を阻害する。PA-457 耐性ウイルス株の解析を通じて、この化合物の作用部位を

特定したとする研究成果が発表された。(WeOrA1276) Latent reservoir を標的にする治療方法の開発としては、抗ウイルス作用と免疫活性化作用の双方の性質を有する Pertussis toxin B-oligomer (PTX-B) および、その改良型 PTX, PT-9K/129G のリンパ組織培養を用いた実験結果が注目されていた。(WeOrA1234)

HIV 感染症の病因

Anothony Fauci 博士による特別講義では、HIV 感染症の病因として、HIV ウイルス自体が宿主免疫を活性化し、免疫細胞の活性化自体が HIV 増殖を促進し、増殖した HIV はさらに宿主免疫を活性化するという悪循環が強調して説明された。HIV 感染者では CD4+T リンパ細胞のみならず B リンパ細胞・NK 細胞の異常が活性化された状態にあり、それが免疫細胞の枯渇・機能不全・異常なターンオーバーを来しているとして述べ、HIV 非感染者・薬剤治療前のウイルス血症感染者・薬剤治療後の無ウイルス血症感染者の 3 群間の比較データが示された。ウイルス血症感染者の CD4+T 細胞を培養液のみで培養すると自発的ウイルス粒子産生が見られ、さらに休止期 CD4+T 細胞でウイルス増殖を促進する宿主遺伝子が転写されている様子が DNA マイクロアレイ解析により示された。B リンパ細胞については、ウイルス血症感染者の B リンパ細胞は CD21 発現を失い細胞分化した状態にあり、CD95 (Fas) の発現が上昇し FasL によるアポトーシスが誘導され易い状態にあることが示された。NK 細胞については、ウイルス血症感染者では CD56 陰性 CD16 陽性 NK 細胞の割合が異常に高く、NKp46, NKp30 の Activating NK レセプター発現が低く調整されており、さらには CD95 の発現が高くアポトーシスが誘導されやすいことが示された。最後に、

オリゴメリック gp120 の CD4 および CCR5 分子への結合が様々な細胞内シグナル伝達を介して HIV 増殖を促進すること、なかでも NFAT (Nuclear Factor of Activating T-cell) に注目していた。NFAT の誘導は CD4 へのクロスリンクだけではなく SDF-1 や MIP-1b の CCR5 との結合が組み合わさって誘導される。興味あることに X4 ウイルスではそのような現象は見られないことが示された。

あとがき

今や人類の一大行事となった国際エイズ会議におけるトラック A の役割・意義は何かと考へた。筆者が最後に国際エイズ会議へ参加した 10 年前に比べ、会議内容からサイエンスの割合が減り、それ以外が圧倒的に多くなった。この 10 年間で治療技術は著しく進歩し、やるべき HIV・エイズ対策は増えたが、グローバルな視点から HIV・エイズ問題を抜本的に解決する技術と手段は未だない。このような現状を認識するとき、ワクチンや新しい治療法開発のための基礎情報を生み出す「サイエンス」がもっと注目を浴びてもよいと思う。一方で、「サイエンス」をわかり易く翻訳する工夫もこのような会議では必要なのかも知れない。Rapporteur セッションにてトラック A を担当した D. Purcell (Australia) が下記のようにまとめており、筆者も同意見である。

“The basic science may seem inaccessible.....

BUT for eventual success without most difficult scientific problem, making an effective vaccine, the basic science MUST be fully integrated with, and learn from, all sectors responding to the AIDS epidemic. This meeting is a unique forum for this engagement..... Let's promote track A.”