

第17回日本エイズ学会 ECC 山口メモリアルエイズ研究奨励賞受賞研究

日本人 HIV-1 感染者における細胞傷害性 T 細胞に関する研究

Study on HIV-1-Specific Cytotoxic T Lymphocytes in
HIV-1-Infected Japanese Individuals

村越 勇人

Hayato MURAKOSHI

熊本大学エイズ学研究センター滝口プロジェクト研究室

Takiguchi Project Laboratory, Center for AIDS Research, Kumamoto University

日本エイズ学会誌 19: 137-143, 2017

はじめに

HIV 特異的細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte : CTL) は、体内に侵入した HIV-1 の増殖抑制に密接に関わりがあることが知られている。以前の報告では、体内での HIV-1 特異的 CTL の数と血漿中 HIV-1 ウイルス量の間で負の相関が認められており¹⁾、さらに、長期エイズ未発症者では、エイズ発症が早くにみられる感染者よりも HIV-1 感染細胞に対して CTL が強く反応することが示されている²⁾。したがって、HIV-1 特異的 CTL は、HIV-1 増殖をコントロールする免疫応答において重要な役割を果たしていると考えられる。本研究では、日本人 HIV-1 感染者 401 人の HIV-1 特異的 CTL を網羅的に解析することで、HIV-1 増殖抑制に関与する CTL の同定を試み、HIV-1 増殖抑制に関与した 13 個のエピトープ特異的 CTL を見つけ出すことに成功した³⁾。さらに、これらのなかで 12 個は変異性の低い領域に含まれるか、または変異があっても交差反応を示すことから、これらはエイズワクチンおよびエイズの免疫治療に有用であることを明らかにした³⁾。また最近、予後が悪いとされる HLA-B*35:01 陽性感染者の CTL およびウイルス変異の関係について解析を行い、HLA-B*35:01 拘束性 CTL の HIV-1 増殖抑制機能が、別の HLA 拘束性 CTL によって選択された 1 つのエピトープ内変異によって減弱されることを証明し、これまで明らかとなっていなかった HLA-B*35:01 陽性感染者におけるエイズ発症進行メカニズムの解明に成功した。本稿では、これらの成果について概説する。

著者連絡先：村越勇人 (〒162-8655 東京都新宿区戸山 1-21-1 国立国際医療研究センター研究所 熊本大学エイズ学研究センター東京連携ラボ)

2017 年 6 月 7 日受付

1. HIV 特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) による HIV 増殖抑制

体内に HIV が侵入すると、まず樹状細胞のような抗原提示細胞に感染する。感染した抗原提示細胞は human leukocyte antigen (HLA) クラス II 分子に HIV 蛋白の断片 (ペプチド) を結合させ、CD4 陽性ヘルパー T 細胞に抗原提示する。認識した CD4 陽性ヘルパー T 細胞は、CD8 陽性 T 細胞が抗原提示細胞上の抗原を認識するさいに、抗原提示細胞の補助刺激活性を上昇させることで、CD8 陽性 T 細胞を活性化させ、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) に分化させる。その後、CTL は HIV 感染細胞を見つけ出し、感染細胞の表面上にある HLA クラス I 分子に結合したウイルスのペプチド断片 (エピトープ) を CTL 表面にある T 細胞受容体によって認識する (図 1)。CTL は HLA クラス I 分子とエピトープの複合体を認識すると、感染細胞に向けて、グランザイム、パーフォリン、ならびに interferon- γ (IFN- γ)、tumor necrosis factor- α (TNF- α) などのサイトカインを分泌し、感染細胞を殺す (図 1)。このように、CTL が HIV の増殖の場である感染細胞を殺すことによって、体内での HIV の増殖は抑制されている。

2. 日本人 HIV-1 感染者にみられる HIV-1 増殖抑制能を有した CTL の同定

HIV-1 増殖抑制における CTL の役割は、多くの研究者によって証明されている。エイズ発症が遅い人の HIV-1 特異的 CTL の機能を解析した結果、エイズ発症が遅い人の CTL は、発症が早い人と比べ、HIV-1 感染 CD4 陽性 T 細胞における HIV-1 増殖を効果的に抑制していることが示された^{2,4)}。また、急性感染時、HIV-1 特異的 CTL が出現すると急激な HIV-1 ウイルス量の低下が認められた^{5,6)}。以上の結果から、HIV-1 特異的 CTL は、体内での HIV-1 増殖抑制

において重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

近年は、強い HIV-1 増殖抑制能を有する CTL を同定するため、HIV-1 の全領域を網羅した HIV-1 オーバーラップペプチドを用い、CTL の大規模なコホート解析が広く行われている⁷⁻¹²⁾。約 600 人の南アフリカ HIV-1 感染者を対象とした CTL 解析では、CTL が反応している Gag タンパク領域のペプチド数とウイルス量との間に有意な負の相関が認められたのに対し、他の領域では有意な相関が認められなかった⁷⁾。また、米国のコホートの CTL 解析では、エイズ進行が遅い集団における Gag タンパク特異的 CD8T 細胞の頻度が、進行が早い集団よりも有意に高いことが示された¹¹⁾。以上の結果から、Gag 特異的 CTL は、アフリカ人

および白人の感染者における HIV 増殖抑制に対して強く影響していることが明らかとなった。一方、われわれは約 400 人の無治療日本人慢性 HIV 感染者を対象に、Gag, Pol, Nef 領域を網羅した約 850 個の 11 アミノ酸オーバーラップペプチドを用い、CTL 反応を解析した結果、Gag 領域だけでなく Pol 領域においても CTL が反応しているペプチド数がウイルス量と有意に負の相関、CD4T 細胞数と有意に正の相関することが認められた (図 2)³⁾。したがって、日本人感染者では Gag 特異的 CTL だけでなく Pol 特異的 CTL も HIV 増殖抑制において重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

3. HLA-B*52:01 拘束性および HLA-B*67:01 拘束性 CTL による HIV-1 コントロール

最近、われわれは HLA-B*57 および HLA-B*27 をもつ人がほとんどみられない日本人 HIV-1 感染者 (約 500 人) において、HLA とエイズ進行の関係について解析した。その結果、日本人に比較的多く認められる HLA である HLA-B*67:01 ならびに HLA-B*52:01-C*12:02 ハプロタイプが、低いウイルス量ならびに高い CD4T 細胞数と有意に相関することを見つけ出し、これらの HLA は日本人 HIV-1 感染者のエイズ発症遅延と強く関係していることを明らかにした¹³⁾。以上の結果から、これらの HLA 拘束性 CTL は、日本人 HIV-1 感染者において HIV-1 増殖抑制と関連していると考えられた。そこでわれわれは、HIV-1 オーバーラップペプチドを用い、日本人 HIV-1 感染者から HIV-1 増殖抑制に関与した CTL の同定を試みた結果、HIV-1 コ

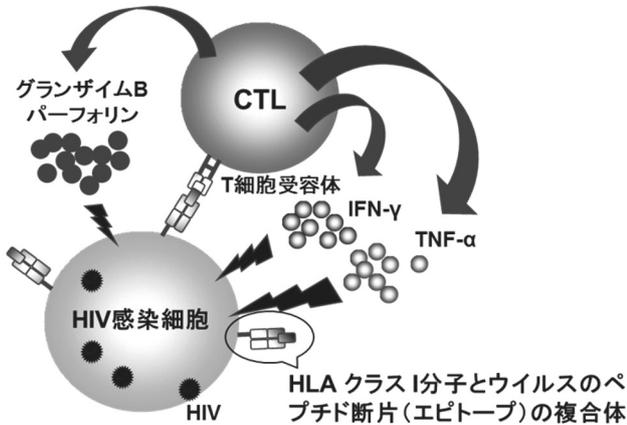


図 1 HIV 特異的 CTL による HIV 感染細胞の認識と HIV の排除

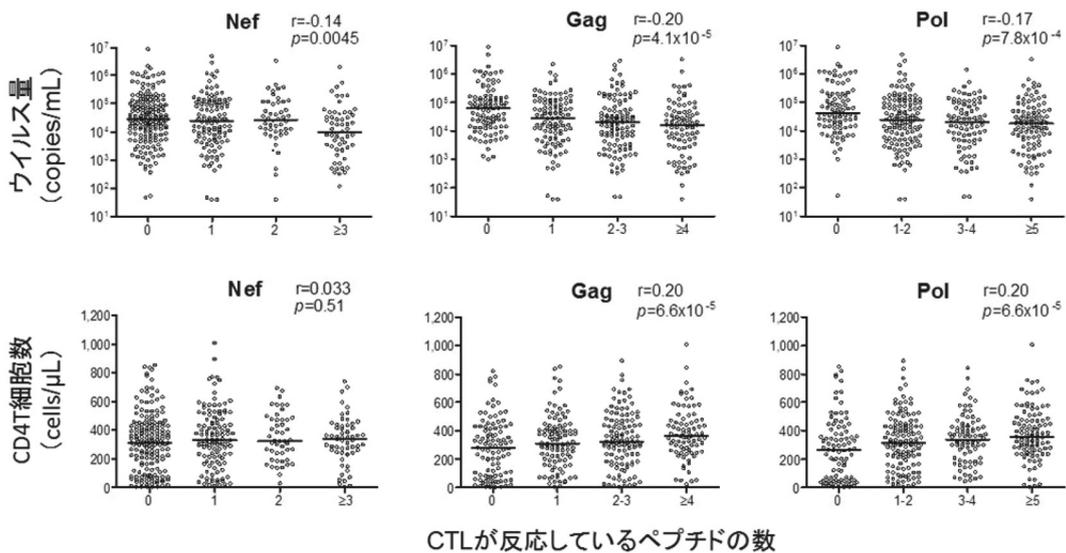


図 2 CTL が反応しているペプチドの数と血漿中ウイルス量または CD4T 細胞数の関係 文献 3 より。

ントロールに関係している 18 種類のエピトープ候補を見つけ出した。さらに、これらのエピトープ特異的 CTL 反応とウイルス量または CD4T 細胞数の関係を解析したところ、13 種類の CTL が低いウイルス量および高い CD4T 細胞数と強く相関していることが示された (表 1)。以上の結果、13 種類の HIV-1 増殖抑制能を持つエピトープ特異的 CTL の同定に成功した。非常に興味深いことに、13 種類のエピトープのうち、5 種類は HLA-B*52:01 拘束性、3 種類は HLA-B*67:01 拘束性エピトープであることが判明した。また、HLA-B*52:01 拘束性ならびに HLA-B*67:01 拘束性 CTL 反応の breadth と total magnitude は、血漿中ウイルス量と強い負の相関を示し (図 3)、これらの HLA 拘束性 CTL は日本人 HIV-1 感染者における HIV-1 増殖抑制に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。以上の結果は、日本人 HIV-1 感染者における HLA-B*67:01 ならびに HLA-B*52:01-C*12:02 ハプロタイプとエイズ発症遅延のメカニズム解明にきわめて有用な知見である。

4. 変異性の低い領域を標的とした CTL

HIV は体内で増殖する過程において、逆転写酵素による翻訳ミスが数千個に 1 個の頻度で起き、変異ウイルスが高頻度で出現する。

もし変異ウイルスが CTL によって認識されるエピトープ部分にアミノ酸変異を持つ場合、変異ウイルスが感染した細胞が CTL によって認識されなくなることがある。その

ため、変異 HIV が感染した細胞は排除されずに体内で増殖し、この CTL から逃避した変異 HIV が体内で優位になっていく¹⁴⁻¹⁶⁾。実際、白人において認められる HLA-B*27 拘

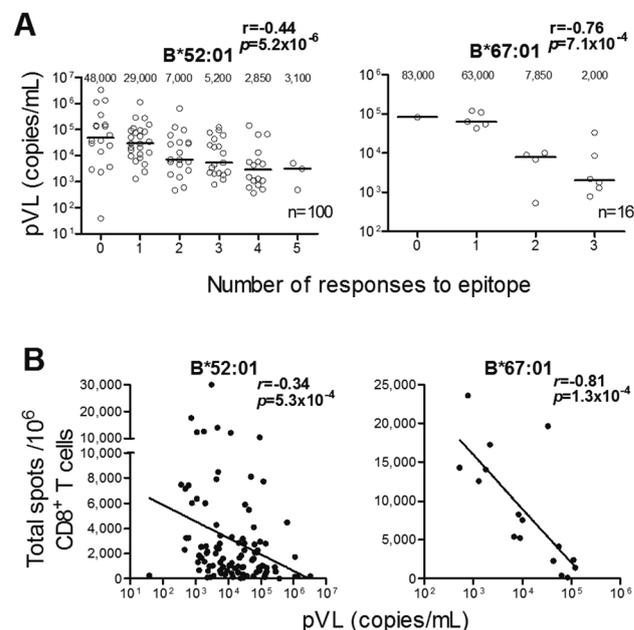


図 3 HLA-B*52:01 拘束性または HLA-B*67:01 拘束性 CTL 反応の breadth (A) および total magnitude (B) と血漿中ウイルス量 (pVL) の関係 文献 3 より。

表 1 日本人感染者でみられる HIV-1 増殖抑制能を有するエピトープ特異的 CTL

エピトープ	シーケンス	HLA 拘束性	ウイルス量 (copies/mL)		CD4T 細胞数 (cells/ μ L)		p 値 ^a	
			陽性反応者	陰性反応者	陽性反応者	陰性反応者	ウイルス量	CD4T 細胞数
Nef TY11	TQGYFPDWQNY	B*15:01	3,400	25,000	386	321	0.22	0.38
Gag EM11	EGATPQDLNTM	B*67:01	2,200	25,000	440	321	0.011	0.025
		C*08:01	29,000	25,000	451	322	0.86	0.36
Gag TL9	TPQDLNTML	B*67:01	8,900	25,000	440	319	0.11	6.5 × 10⁻³
Gag MI8	MQMLKETI	B*52:01	5,350	27,000	437	313	3.3 × 10⁻⁴	4.9 × 10⁻⁴
Gag QA11	QMLKETINEEA	B*52:01	3,100	26,500	432	321	4.2 × 10⁻⁵	0.044
Gag RI8	RMYSPTSI	B*52:01	10,650	27,000	446	309	2.1 × 10⁻³	3.2 × 10⁻⁷
Gag YL9	YVDRFYKTL	C*03:04	2,885	25,000	303	322	0.079	0.79
Gag WV8	WMTETLLV	B*52:01	4,700	28,000	446	309	1.0 × 10⁻⁶	8.7 × 10⁻⁷
Gag NL11	NPDCCKTILKAL	B*67:01	2,200	25,500	440	321	2.4 × 10⁻³	0.02
Gag GM9	GPAATLEEM	B*67:01	780	25,000	693	322	0.14	0.11
Gag AA9	ATLEEMMTA	A*02:06	8,650	27,000	437	314	0.019	6.6 × 10⁻⁴
Gag KL9	KELYPLASL	B*40:02	20,000	25,000	480	321	0.68	0.017
Pol SV9	SQIYAGIKV	A*02:06	15,000	27,000	392	313	0.04	4.6 × 10⁻³
Pol SI8	SQYALGH	B*52:01	5,000	28,000	456	310	1.3 × 10⁻⁵	2.5 × 10⁻⁶
Pol LA9	LEGKILVA	B*40:06	4,150	27,000	437	321	5.6 × 10⁻⁴	0.078
Pol IT10	IEAEVIPAET	B*40:06	13,000	26,500	353	321	4.5 × 10⁻³	0.19
Pol GI8	GERIVDII	B*40:02	14,000	28,000	405	317	0.021	5.5 × 10⁻³
Pol TL8	TDIQTREL	B*40:02	7,200	25,000	478	322	0.11	0.17

^a陽性反応者と陰性反応者の間でのウイルス量または CD4T 細胞数の差を統計解析。太字は HIV-1 増殖抑制と関与しているエピトープ。文献 3 より。

束性エピトープ Gag KK10 (KRWILGLNK) 特異的 CTL は、強力な HIV 増殖抑制能を有するが、wild type のウイルスがなくなると、この CTL の認識ができない R264K 逃避変異ウイルス（エピトープ内の 2 番目の Arginine が Lysine に変異したウイルス）が選択され、体内で優位になっていく^{14,16,17)}。また、R264K 逃避変異ウイルスに感染している人は、wild type に感染している人に比べ、明らかにウイルス量が高くなっていることが示され、この変異によってエイズ発症が早まることが明らかとなった^{14,16,17)}。そのため、近年多くの研究者が、変異性の低い領域をもとにしたエイズワクチンの開発について報告しており、実際にそのようなワクチンを接種した動物、人において、HIV 増殖抑制能を有する CTL の誘導が認められている^{18~22)}。そこでわれわれは、発見した 13 種類のエピトープについて、HIV-1 サブタイプ B 感染者におけるエピトープ内変異の頻度を

解析した。その結果、9 種類のエピトープのアミノ酸配列は、85% 以上の HIV-1 サブタイプ B 感染者で保存されていることが判明した（表 2）。また、比較的高頻度に変異が認められた 4 種類のエピトープ（Gag RI8, Pol SV9, Pol LA9, Pol GI8）について、変異ペプチドに対する CTL 反応を ELISPOT assay 法によって解析したところ、Gag RI8 を除いた 3 種類のエピトープについては、変異ペプチドに対する cross-reactivity が認められた（図 4）。以上の結果、本研究で見つけ出した 12 種類のエピトープは、エイズワクチンの抗原の候補としてきわめて有用であると考えられた。最近、Oxford 大学の Tomas Hanke 教授らとわれわれの共同研究において、HIV-1 の変異性が少ない部分をもとにデザインした T 細胞ワクチン (tHIVconsvX) を開発し、このワクチンに対する CTL 反応が HIV-1 感染者での HIV-1 増殖抑制と強く相関することを示すことで、このワクチン

表 2 HIV-1 サブタイプ B 感染者における 13 種類のエピトープ領域のアミノ酸シーケンス

HLA	エピトープ	シーケンス	頻度 (%)	
			サブタイプ B ^a	日本人感染者
B*52:01	Gag MI8	MQMLKETI	89.8	93.2
	Gag QA11	QMLKETINEEA	86.2	88.5
	Gag RI8	RMYSPTSI	62.9	68.2
		---- V --	21.3	12.7
		---- S --	4.3	8.7
	Gag WV8	WMTETLLV	95.9	97
Pol SI8	SQYALGII	91.5	92.7	
B*67:01	Gag EM11	EGATPQDLNTM	92.1	95.7
	Gag TL9	TPQDLNTML	93	96
	Gag NL11	NPDCKTILKAL	87.3	97.9
	Gag AA9	ATLEEMMTA	89.3	89.5
A*02:06	Pol SV9	SQIYAGIKV	43.8	20.6
		---- P ----	37.5	47.7
		---- P --- I	2.4	14.8
		---- S ----	3.7	9.4
B*40:06	Pol LA9	LEGKIILVA	50.7	73.8
		---- V ----	35.6	15.3
	Pol IT10	IEAEVIPAET	84.5	85.3
B*40:02	Pol GI8	GERIVDII	53.4	38.5
		---- I ---	37.7	43.7
		----- M -	2.4	8.3

^a Los Alamos database 参照。太字は変異性が高いエピトープ。文献 3 より。

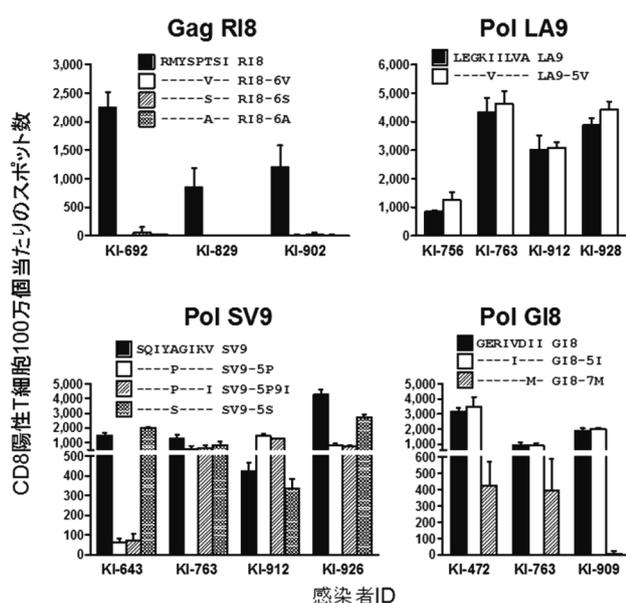


図 4 変異ペプチドに対する CTL の反応 (ELISPOT assay によって評価) 文献 3 より。

の有用性を明らかにした²³⁾。非常に興味深いことに、われわれが発見した 13 種類のエピトープのうち 10 種類がこのワクチンに含まれており、これら 10 種類のエピトープは、有望なワクチン抗原であることが強く示唆された。現在、この結果に基づき、日本人 HIV-1 感染者における新たな HIV-1 増殖抑制能を有する CTL の同定を進めている。

5. 日本人 HIV-1 感染者における HLA-B*35:01 とエイズ発症進行の関係のメカニズム

日本人サブタイプ B HIV-1 感染者の約 15% の割合を占める HLA-B*35:01 陽性感染者は、他の HLA を持つ感染者と比較して、有意に血漿中ウイルス量 (pVL) が高く、CD4T 細胞数が少ないことが明らかとなった¹³⁾。以上の結果から、HIV-1 サブタイプ B 感染者では、HLA-B*35:01 がエイズ発症進行と強く関係していることが示され、B*35:01 陽性感染者において HIV-1 増殖抑制能を有する CTL が十分に誘導されていないことが推察された。したがって、日本人 B*35:01 陽性感染者における CTL の解析を行い、エイズ発症進行のメカニズムを明らかにすることは、エイズ治療ワクチンの開発やエイズの病態解析に対して重要な知見を与えるものと考えられる。

約 60 名の HLA-B*35:01 陽性日本人サブタイプ B 感染者において、エピトープ特異的 CTL 反応と pVL との関係解析したところ、4 つのエピトープ (Gag NY9, Pol VY10, Nef RY11, Nef YF9) 特異的 CTL 反応は、低い pVL と有意

に相関していることが判明した。これら 4 つのエピトープ領域について、HLA-B*35:01 関連ゲノム変異の有無について解析した結果、1 つのエピトープで HLA-B*35:01 関連ゲノム変異が認められた²⁴⁾。しかし、その変異を持つ人と持たない人の中で pVL に差は認められず、この変異はエピトープ特異的 CTL 応答に影響していないと考えられた。さらに今度は、4 つのエピトープ領域について、HLA-B*35:01 以外の HLA 関連ゲノム変異を解析したところ、3 つのエピトープで 4 つの HLA 関連ゲノム変異が認められた。そのうち Nef YF9 エピトープ上の HLA-A*24:02 拘束性 CTL によって選択された Y135F 変異だけが日本人感染者で蓄積していることが判明した²⁴⁾。さらに、YF9 特異的 CTL クローンを作製し、Y135F 変異の CTL 機能への影響を解析した結果、Y135F 変異は CTL による抗原ペプチドの認識を減弱させることが判明した。さらに、Y135F 変異は *in vitro* での YF9 特異的 CTL のウイルス増殖抑制能を有意に低下させることが明らかとなり、HLA-B*35:01 陽性感染者において Y135F 変異ウイルスは YF9 特異的 CTL によって排除されにくいと考えられた。さらに、YF9 特異的 CTL による HIV-1 コントロールの減弱されるメカニズムを解明するため、YF9 特異的 CTL と Y135F 変異について longitudinal analysis を行った。その結果、変異が出現する前は、wild-type 特異的および cross-reactive CTL が誘導され、変異が出現すると、wild-type 特異的 CTL が消失し、Y135F 変異特異的 CTL が新たに誘導されることが判明した。さらに、wild-type 特異的、cross-reactive、または Y135F 変異特異的 CTL の頻度と pVL の関係について解析した結果、wild-type 特異的 CTL の頻度は pVL と有意な負の相関を示したのに対し、変異特異的 CTL は相関を示さなかった。以上の結果、wild-type 特異的 CTL は HIV-1 増殖を抑制できるが、変異特異的 CTL は HIV-1 増殖を抑制できないと考えられた。したがって、変異の出現後、Y135F 変異特異的 CTL が誘導されるが、この T 細胞の HIV-1 増殖抑制能が弱いため、血漿中ウイルス量が上昇してしまうことが推察された。以上の結果は、B*35:01 陽性感染者におけるエイズ発症進行のメカニズムの解明にきわめて重要な知見となった。

おわりに

以上、近年の研究から、HIV 特異的 CTL は体内での HIV 増殖抑制に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。しかしながら、HIV 増殖抑制能を有する CTL が誘導されると、それから逃避する変異ウイルスが選択されてしまい、そのような逃避変異ウイルスは、次々に感染が広がるにつれ、免疫から逃避しやすいウイルスに進化したものが蓄積されていくことが明らかとなっている²⁵⁾。そういっ

た背景の中で、近年、変異性が少ないところを狙ったワクチンの開発が急速に進んでおり、このようなワクチンは HIV 感染を防ぐことができる免疫を誘導できると考えられる。今後は、変異性の低い領域を狙ったワクチンの臨床試験が進み、HIV に対する予防ならびに治療効果が期待される場所である。

謝辞

平成 28 年度 ECC 山口メモリアルエイズ研究奨励賞の受賞にあたり、熊本大学エイズ学研究センターで 10 年以上にわたってご指導とご鞭撻を賜わり、また本賞にご推薦いただいた滝口雅文教授に厚く御礼申し上げます。また、本研究を遂行するため、実験やデータ解析のサポートをしていただいた熊本大学エイズ学研究センター滝口プロジェクト研究室の多くのスタッフに深く感謝いたします。

HIV-1 感染者の検体および臨床情報を提供して下さった国立国際医療研究センターエイズ治療・研究開発センターの岡慎一先生、瀧永博之先生に心より御礼申し上げます。

本研究に対し、多くのアドバイスをしてくださった University of Oxford の Sarah L Rowland-Jones 教授、Tomas Hanke 教授に深謝いたします。

利益相反: この論文にかんし利益相反に相当する事項はない。

文 献

- 1) Ogg GS, Jin X, Bonhoeffer S, Dunbar PR, Nowak MA, Monard S, Segal JP, Cao Y, Rowland-Jones SL, Cerundolo V, Hurley A, Markowitz M, Ho DD, Nixon DF, McMichael AJ : Quantitation of HIV-1-specific cytotoxic T lymphocytes and plasma load of viral RNA. *Science* 279 : 2103-2106, 1998.
- 2) Klein MR, van Baalen CA, Holwerda AM, Kerkhof Garde SR, Bende RJ, Keet IP, Eeftinck-Schattenkerk JK, Osterhaus AD, Schuitemaker H, Miedema F : Kinetics of Gag-specific cytotoxic T lymphocyte responses during the clinical course of HIV-1 infection : a longitudinal analysis of rapid progressors and long-term asymptomatics. *J Exp Med* 181 : 1365-1372, 1995.
- 3) Murakoshi H, Akahoshi T, Koyanagi M, Chikata T, Naruto T, Maruyama R, Tamura Y, Ishizuka N, Gatanaga H, Oka S, Takiguchi M : Clinical control of HIV-1 by cytotoxic T cells specific for multiple conserved epitopes. *J Virol* 89 : 5330-5339, 2015.
- 4) Sáez-Cirión A, Lacabaratz C, Lambotte O, Versmisse P, Urrutia A, Boufassa F, Barré-Sinoussi F, Delfraissy JF, Sinet M, Pancino G, Venet A ; Agence Nationale de Recherches sur le Sida EP36 HIV Controllers Study Group : HIV controllers exhibit potent CD8 T cell capacity to suppress HIV infection *ex vivo* and peculiar cytotoxic T lymphocyte activation phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA* 104 : 6776-6781, 2007.
- 5) Koup RA, Safrit JT, Cao Y, Andrews CA, McLeod G, Borkowsky W, Farthing C, Ho DD : Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J Virol* 68 : 4650-4655, 1994.
- 6) Borrow P, Lewicki H, Hahn BH, Shaw GM, Oldstone MB : Virus-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 68 : 6103-6110, 1994.
- 7) Kiepiela P, Ngumbela K, Thobakgale C, Ramduth D, Honeyborne I, Moodley E, Reddy S, de Pierres C, Mncube Z, Mkhwanazi N, Bishop K, van der Stok M, Nair K, Khan N, Crawford H, Payne R, Leslie A, Prado J, Prendergast A, Frater J, McCarthy N, Brander C, Learn GH, Nickle D, Rousseau C, Coovadia H, Mullins JI, Heckerman D, Walker BD, Goulder P : CD8+ T cell responses to different HIV proteins have discordant associations with viral load. *Nat Med* 13 : 46-53, 2007.
- 8) Zuñiga R, Lucchetti A, Galvan P, Sanchez S, Sanchez C, Hernandez A, Sanchez H, Frahm N, Linde CH, Hewitt HS, Hildebrand W, Altfeld M, Allen TM, Walker BD, Korber BT, Leitner T, Sanchez J, Brander C : Relative dominance of Gag p24-specific cytotoxic T lymphocytes is associated with human immunodeficiency virus control. *J Virol* 80 : 3122-3125, 2006.
- 9) Edwards BH, Bansal A, Sabbaj S, Bakari J, Mulligan MJ, Goepfert PA : Magnitude of functional CD8+ T-cell responses to the gag protein of human immunodeficiency virus type 1 correlates inversely with viral load in plasma. *J Virol* 76 : 2298-2305, 2002.
- 10) Novitsky VA, Gilbert PB, Shea K, McLane MF, Rybak N, Klein I, Thior I, Ndung'u T, Lee TH, Essex ME : Interactive association of proviral load and IFN- γ -secreting T cell responses in HIV-1C infection. *Virology* 349 : 142-155, 2006.
- 11) Addo MM, Yu XG, Rathod A, Cohen D, Eldridge RL, Strick D, Johnston MN, Corcoran C, Wurcel AG, Fitzpatrick CA, Feeney ME, Rodriguez WR, Basgoz N, Draenert R, Stone DR, Brander C, Goulder PJ, Rosenberg ES, Altfeld

- M, Walker BD : Comprehensive epitope analysis of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific T-cell responses directed against the entire expressed HIV-1 genome demonstrate broadly directed responses, but no correlation to viral load. *J Virol* 77 : 2081–2092, 2003.
- 12) Emu B, Sinclair E, Hatano H, Ferre A, Shacklett B, Martin JN, McCune JM, Deeks SG : HLA class I-restricted T-cell responses may contribute to the control of human immunodeficiency virus infection, but such responses are not always necessary for long-term virus control. *J Virol* 82 : 5398–5407, 2008.
 - 13) Naruto T, Gatanaga H, Nelson G, Sakai K, Carrington M, Oka S, Takiguchi M : HLA class I-mediated control of HIV-1 in the Japanese population, in which the protective HLA-B*57 and HLA-B*27 alleles are absent. *J Virol* 86 : 10870–10872, 2012.
 - 14) Goulder PJ, Phillips RE, Colbert RA, McAdam S, Ogg G, Nowak MA, Giangrande P, Luzzi G, Morgan B, Edwards A, McMichael AJ, Rowland-Jones S : Late escape from an immunodominant cytotoxic T-lymphocyte response associated with progression to AIDS. *Nat Med* 3 : 212–217, 1997.
 - 15) Borrow P, Lewicki H, Wei X, Horwitz MS, Pfeffer N, Meyers H, Nelson JA, Gairin JE, Hahn BH, Oldstone MB, Shaw GM : Antiviral pressure exerted by HIV-specific cytotoxic T lymphocytes (CTLs) during primary infection demonstrated by rapid selection of CTL escape virus. *Nat Med* 3 : 205–211, 1997.
 - 16) Ammaranond P, Zaunders J, Satchell C, van Bockel D, Cooper DA, Kelleher AD : A new variant cytotoxic T lymphocyte escape mutation in HLA-B27-positive individuals infected with HIV type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses* 21 : 395–397, 2005.
 - 17) Feeney ME, Tang Y, Roosevelt KA, Leslie AJ, McIntosh K, Karthas N, Walker BD, Goulder PJ : Immune escape precedes breakthrough human immunodeficiency virus type 1 viremia and broadening of the cytotoxic T-lymphocyte response in an HLA-B27-positive long-term-nonprogressing child. *J Virol* 78 : 8927–8930, 2004.
 - 18) Borthwick N, Ahmed T, Ondondo B, Hayes P, Rose A, Ebrahimsa U, Hayton EJ, Black A, Bridgeman A, Rosario M, Hill AV, Berrie E, Moyle S, Frahm N, Cox J, Colloca S, Nicosia A, Gilmour J, McMichael AJ, Dorrell L, Hanke T : Vaccine-elicited human T cells recognizing conserved protein regions inhibit HIV-1. *Mol Ther* 22 : 464–475, 2014.
 - 19) Létourneau S, Im EJ, Mashishi T, Brereton C, Bridgeman A, Yang H, Dorrell L, Dong T, Korber B, McMichael AJ, Hanke T : Design and pre-clinical evaluation of a universal HIV-1 vaccine. *PLoS One* 2 : e984, 2007.
 - 20) Knudsen ML, Mbewe-Mvula A, Rosario M, Johansson DX, Kakoulidou M, Bridgeman A, Reyes-Sandoval A, Nicosia A, Ljungberg K, Hanke T, Liljeström P : Superior induction of T cell responses to conserved HIV-1 regions by electroporated alphavirus replicon DNA compared to that with conventional plasmid DNA vaccine. *J Virol* 86 : 4082–4090, 2012.
 - 21) Rosario M, Borthwick N, Stewart-Jones GB, Mbewe-Mvula A, Bridgeman A, Colloca S, Montefiori D, McMichael AJ, Nicosia A, Quakkelaar ED, Drijfhout JW, Melief CJ, Hanke T : Prime-boost regimens with adjuvanted synthetic long peptides elicit T cells and antibodies to conserved regions of HIV-1 in macaques. *AIDS* 26 : 275–284, 2012.
 - 22) Rosario M, Bridgeman A, Quakkelaar ED, Quigley MF, Hill BJ, Knudsen ML, Ammendola V, Ljungberg K, Borthwick N, Im EJ, McMichael AJ, Drijfhout JW, Greenaway HY, Venturi V, Douek DC, Colloca S, Liljeström P, Nicosia A, Price DA, Melief CJ, Hanke T : Long peptides induce polyfunctional T cells against conserved regions of HIV-1 with superior breadth to single-gene vaccines in macaques. *Eur J Immunol* 40 : 1973–1984, 2010.
 - 23) Ondondo B, Murakoshi H, Clutton G, Abdul-Jawad S, Wee EG, Gatanaga H, Oka S, McMichael AJ, Takiguchi M, Korber B, Hanke T : Novel conserved-region T-cell mosaic vaccine with high global HIV-1 coverage is recognized by protective responses in untreated infection. *Mol Ther* 24 : 832–842, 2016.
 - 24) Chikata T, Carlson JM, Tamura Y, Borghan MA, Naruto T, Hashimoto M, Murakoshi H, Le AQ, Mallal S, John M, Gatanaga H, Oka S, Brumme ZL, Takiguchi M : Host-specific adaptation of HIV-1 subtype B in the Japanese population. *J Virol* 88 : 4764–4775, 2014.
 - 25) Kawashima Y, Pfafferoth K, Frater J, Matthews P, Payne R, Addo M, Gatanaga H, Fujiwara M, Hachiya A, Koizumi H, Kuse N, Oka S, Duda A, Prendergast A, Crawford H, Leslie A, Brumme Z, Brumme C, Allen T, Brander C, Kaslow R, Tang J, Hunter E, Allen S, Mulenga J, Branch S, Roach T, John M, Mallal S, Ogwu A, Shapiro R, Prado JG, Fidler S, Weber J, Pybus OG, Klenerman P, Ndung'u T, Phillips R, Heckerman D, Harrigan PR, Walker BD, Takiguchi M, Goulder P : Adaptation of HIV to human leukocyte antigen class I. *Nature* 458 : 641–645, 2009.