

(別紙様式第3号)

## 論 文 要 旨

論 文 題 目

Identification of an unique CXCR4 epitope whose ligation inhibits infection by both CXCR4 and CCR5 tropic human immunodeficiency type-I viruses

(ケモカイン受容体 CXCR4 の架橋による CXCR4 および CCR5 指向性 HIV-1 の感染  
阻害に関与するエピトープの同定)

氏名 足立 哲也



論文要旨

【目的】HIV-1はCD4分子とケモカイン受容体(主にCCR5とCXCR4)を介して細胞に感染する。これらの受容体を標的とする低分子化合物や抗体がHIV-1の予防・治療薬として開発されている。本研究では、CXCR4の種々のエピトープに対する単クローン抗体群がCXCR4指向性(X4)とCCR5指向性(R5)HIV-1の感染にどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることを目的とした。

【方法】健常人末梢血単核球(PBMC)を抗ヒトCD3/CD28抗体で活性化し、低い感染量のHIV-1を感染させ、抗CXCR4単クローン抗体(CXCR4の細胞外ループ(ECL-)1とECL-2を認識するA120、ECL-3を認識するA80、N末領を認識するA145)、または対照抗体を加えて培養した。HIV-1の感染は、培養上清中に産生されるHIV-1p24のELISA定量および細胞内p24のフローサイトメトリー(FCM)でモニターした。

【結果】X4 HIV-1の増殖はA120が最も強い抑

論文要旨

制活性を示した。驚くべきことに、A120はR5 HIV-1の増殖も最も強く抑制した。FCM解析で、A120は感染PBMC培養内での新たなHIV-1感染を抑制することが示唆された。A120はHIV-1やHTLV-I産生細胞株からのウイルス産生には影響しなかった。また、エンドトキシンの影響はなかった。CCR5結合βケモカイン(MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、RANTES)に対する中和抗体を添加するとA120によるR5 HIV-1抑制は、抗MIP-1 $\alpha$ 抗体で有意に解除された。A120添加によりβケモカインの産生が促進され、CD4陽性T細胞上のCCR5の発現が抑制された。A120は調べた全てのクレードのHIV-1株の感染を抑制した。

[考察] CXCR4のエピトープ特異的架橋により、活性化PBMCでのX4、R5 HIV-1両者の感染が強く抑制されることを初めて見いだした。X4 HIV-1は受容体の直接ブロック、R5 HIV-1の感染抑制は主にMIP-1 $\alpha$ 産生によるCCR5の発現抑制によることが示唆された。




論文要旨

CXCR4 架橋が CXCR4 のホモ、あるいはヘテロ重合を引き起こすのか、またどのようなメカニズムで  $\beta$  ケモカインの産生を誘導するのかは、今後の研究課題である。

[結論] CXCR4 の ECL-1/ELC-2 上の高次構造エピトープを介して架橋することにより、活性化 PBMC における  $\beta$  ケモカイン産生が促進され、X4 HIV-1 のみならず、R5 HIV-1 の感染が抑制されることが明らかとなった。ヒト化した A120 は、エイズ予防・治療薬としての可能性が期待される。

(別紙様式第7号)

## 論文審査結果の要旨

報告番号	課程博 * 第 号	氏名	足立 哲也
論文審査委員	審査日	平成 24 年 2 月 27 日	
	主査教授	鈴木敏彦 	
	副査教授	渡部久真 	
	副査教授	上野 博 	
(論文題目)			
<p style="text-align: center;">Identification of an unique epitope whose ligation inhibits infection by both CXCR4 and CCR5 tropic human immunodeficiency type-1 viruses</p> <p style="text-align: center;">ケモカイン受容体 CXCR4 の架橋による CXCR4 および CCR5 指向性 HIV-1 の感染阻害に関与するエピトープの同定</p>			
(論文審査結果の要旨)			
<p>上記の論文に関して、研究に至る背景と目的、研究内容、研究成果の意義、学術的水準等につき慎重かつ公正に検討し、以下のような審査結果を得た。</p>			
<p><b>研究の背景と目的</b> : HIV-1 は CD4 分子とケモカイン受容体(主に CCR5 と CXCR4)を介して細胞に感染する。これらの受容体を標的とする低分子化合物や抗体が HIV-1 の予防・治療薬として開発されている。本研究では、活性化したヒト末梢単核球(PBMC)において、CXCR4 の種々のエピトープに対する単クロン抗体群が CXCR4 指向性(X4)と CCR5 指向性(R5)HIV-1 の感染にどのような影響を及ぼすのかを明らかにすることを目的とした。</p>			
<p><b>研究内容</b> :</p> <p>「方法」 健常人 PBMC を抗ヒト CD3/CD28 抗体で1日活性化し、低い感染量の HIV-1 を感染させ、洗浄後に、抗 CXCR4 単クロン抗体 (CXCR4 の細胞外ループ(ECL)1 と ECL-2 を認識する A120 抗体、ECL-3 を認識する A80 抗体、N 末領を認識する A145 抗体)、または対照抗体を加えて培養した。HIV-1 の感染は、培養上清中に産生される HIV-1p24 の ELISA 定量および細胞内 p24 染色のフローサイトメトリーでモニターした。</p> <p>「結果」 活性化 PBMC における X4 HIV-1 の増殖は抗 CXCR4 抗体の添加で抑制され、A120 抗体が最も強い抑制活性を示した。驚くべきことに、抗 CXCR4 抗体は R5 HIV-1 の増殖も抑制した。中でも A120 抗体が最も強い抑制活性を示したので、その抑制機序をより詳しく検討した。フローサイトメトリーでの感染細胞の頻度の比較により、A120 抗体は感染 PBMC 培養内での新たな HIV-1 感染を抑制することが示唆された。A120 抗体は HIV-1 や HTLV-I 産生細胞株からのウイルス産生には影響しなかった。また、エンドトキシンの影響はなかった。R5 HIV-1 の感染を抑制する CCR5 結合 <math>\beta</math> ケモカイン(MIP-1<math>\alpha</math>、MIP-1<math>\beta</math>、RANTES)に対する中和抗体を添加すると A120 抗体による R5 HIV-1 抑制は、抗 MIP-1<math>\alpha</math> 抗体で有意に解除された。A120 抗体添加により <math>\beta</math> ケモカインの産生が促進され、CD4 陽性 T 細胞上の CCR5 の発現が抑制された。A120 抗体は調べた全てのクレードの HIV-1 株の感染を抑制した。</p>			

### 研究成果の意義と学術的水準：

本研究で、CXCR4 の ECL-1/ECL-2 領域の高次構造を認識する A120 抗体を作用させると、活性化 PBMC での X4 HIV-1 感染のみならず、R5 HIV-1 の感染も強く抑制されることを初めて見いだした。R5 HIV-1 の感染抑制は主に MIP-1 $\alpha$  産生による CCR5 の発現抑制によることが示唆された。また他のメカニズムとしてエピトープ特異的 CXCR4 架橋が CXCR4 のホモ重合、あるいは CXCR4-CCR5 のヘテロ重合を引き起こすことも考えられた。

以上の成果は、HIV-1 感染における CXCR4 の新たな機能を明らかにしたと同時に、ヒト化した A120 抗体を用いた抗体治療法が、新たにエイズ予防・治療に寄与することを示唆するものであり、学術水準は国際的に高く評価できる。

以上により、本論文は学位授与に値するものであると判断した。

- 備考
- 1 用紙の規格は、A4 とし縦にして左横書きとすること。
  - 2 要旨は800字～1200字以内にまとめること。
  - 3 \*印は記入しないこと。