

(別紙様式第3号)

## 論 文 要 旨

論 文 題 目

Suppression of CCR5 - Tropic HIV Type 1 Infection by OX40 Stimulation  
via Enhanced Production of  $\beta$ - Chemokines

(OX40 刺激による  $\beta$  ケモカインの産生促進を介する CCR5 指向性 HIV-1 感染の抑制)

氏 名 田中礼子 

【目的】 OX40 は活性化 CD4 陽性 T 細胞に一過性に発現する TNF 受容体スーパーファミリーに属する膜表面糖蛋白抗原である。OX40 に特異的に結合するリガンドは、OX40L (gp34) であり、その結合は T 細胞に共刺激 (co-stimulation) を与える。我々はこれまで OX40L による OX40 刺激が CXCR4 指向性 HIV-1 (X4 HIV-1) の潜伏感染細胞株を NF- $\kappa$ B を介して刺激し、ウイルスの複製を促進することを報告した。本研究では、ヒトからヒトに感染する HIV-1 である CCR5 指向性 HIV-1 (R5 HIV-1) 感染に対して、OX40 刺激がどのような効果を示すのかを明らかにすることを目的とした。

【方法】 健常人由来の新鮮末梢血単核球 (PBMC) を固相化 anti-CD3 抗体と可溶性 anti-CD28 抗体を用いて一日刺激培養し、R5 HIV-1 として JR-FL 株を multiplicity of infection 0.005 ~ 0.01 で 2 時間感染させた。X4 HIV-1 として NL-4-3 株を用いた。感染細胞を洗浄後、OX40L 発現細胞や組換え OX40L (R&D 社) を添加して培養した。HIV-1 の増

殖は培養上清中の HIV-1 gag p24 抗原を ELISA で定量することによりモニターした。種々のサイトカイン産生の定量は市販の ELISA キットで行った。OX40-OX40L 結合の中和は当研究室の

anti-OX40L や anti-OX40 単クローン抗体で、ケモカインの中和は市販の単クローン抗体を用いた。

【結果】 p24 産生を指標とすると、活性化新鮮 PBMC における R5 HIV-1 感染増殖は、OX40L の添加により濃度依存的に抑制された。また、R5 HIV-1 による合胞体 (syncytium) 形成も有意に抑制された。この阻害効果は、OX40-OX40L の結合を阻害する単クローン抗体で解除された。同様な阻害解除効果は、CCR5 の特異的リガンドである MIP-1  $\alpha$ 、MIP-1  $\beta$  および RANTES に対する中和単クローン抗体混合液の添加でも観察された。一方、X4 HIV-1 の感染増殖は OX40 刺激ではむしろ促進された。活性化 PBMC を OX40 刺激することにより、より高い濃度の MIP-1  $\alpha$ 、MIP-1  $\beta$ 、RANTES を産生した。Flow cytometry で調べると、OX40 刺激により PBMC 中の CD4 陽性細胞上の

CCR5 抗原発現は未刺激細胞と比較して、発現が減弱され、CXCR4は発現が増強された。



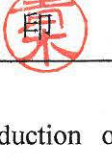
【考察】本研究により新たに発見された事実は、活性化PBMCへのOX40共刺激は、R5 HIV-1の感染をCCR5結合性βケモカインの産生を介して抑制することである。これまでCD3とCD28を同時に強力に架橋刺激する抗体結合磁石ビーズ法により、今回と同様なR5 HIV-1感染抑制の報告はあるが、OX40刺激はT細胞の主刺激後にこのようなR5 HIV-1感染抑制に関与すると考えられる。OX40刺激がワクチン効果を促進する機能もあることから、将来OX40のワクチン戦略あるいはエイズ治療への寄与が期待される。

【結論】本研究によって、OX40刺激が活性化PBMCにおけるR5 HIV-1の感染をCCR5リガンド産生依存的なdown-modulationを介して抑制するという新たな役割を担うことが初めて明らかにされた。

平成 22 年 12 月 14 日

(別紙様式第 7 号)

論 文 審 査 結 果 の 要 旨

報告番号	* 課程博 論文博	第 号	氏名	田中 礼子
論文審査委員	審査日	平成 22 年 12 月 14 日		
	主査教授	松崎 吾朗		
	副査教授	鈴木 敏彦		
副査教授	青木 瑞一			
(論文題目)				
Suppression of CCR5-tropic HIV type 1 infection by OX40 stimulation via enhanced production of $\beta$ -chemokines.(OX40 刺激による $\beta$ ケモカイン産生促進を介する CCR5 指向性 HIV-1 感染の抑制)				
(論文審査結果の要旨)				
1. 研究の背景と目的： OX40 は活性化 CD4 <sup>+</sup> T 細胞が一過性に発現する TNF 受容体スーパーファミリーに属する膜蛋白であり、CD40L を結合して T 細胞に共刺激を与える。本研究は、活性化 CD4 <sup>+</sup> T 細胞の CCR5 指向性 HIV-1 (R5-HIV-1) 感染に対する OX40 刺激の効果を明らかにすることを目的とした。				
2. 研究結果： 抗 CD3+CD28 抗体で T 細胞を刺激した健常人由来新鮮末梢単核球に R5-HIV-1 を感染させた後に、OX40L 発現細胞または組換え OX40L とともに培養することにより OX40 を介した刺激を導入し、HIV-1 gag p24 の発現を指標に HIV-1 の増殖を検討した。その結果、OX40 刺激は R5-HIV-1 の増殖を抑制することが明らかとなった。また R5-HIV-1 による合胞体形成も OX40 刺激により抑制された。この抑制効果は CCR5 のリガンドである $\beta$ ケモカイン (MIP-1 $\alpha$ 、MIP-1 $\beta$ 、RANTES) に対する中和抗体混合液の添加で解除され、また OX40 刺激はこれらの $\beta$ ケモカインの産生を増強した。一方、CXCR4 指向性 HIV-1 の感染増殖は OX40 刺激により抑制されなかった。				
3. 研究の意義と学術的水準： 以上の結果から、活性化 CD4 <sup>+</sup> T 細胞の OX40 を介した刺激は R5-HIV-1 感染に対し抑制効果があることが始めて明らかとなった。OX40 にはワクチン効果を促進する機能もあることから、OX40 刺激の応用が新しいワクチンあるいは AIDS 治療に寄与すること示唆されるため、本研究は今後の HIV-1 感染予防と治療にとって重要な基盤的研究である。				
以上の結果から、本論文は学位授与に十分値するものと判断した。				

備考 1 用紙の企画は A4 とし縦にして左横書きとすること。

2 要旨は 800~1200 字以内にまとめること。