

(93)

氏名(生年月日)	ハス 蓮	ヌマ 沼	トモ 智	ヨ 子
本籍				
学位の種類	博士(医学)			
学位授与の番号	乙第1439号			
学位授与の日付	平成6年2月18日			
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当(博士の学位論文提出者)			
学位論文題目	CD4 V3/V4領域に対するモノクローナル抗体の HIV-1感染抑制効果の検討			
論文審査委員	(主査) 教授 出村 博 (副査) 教授 高桑 雄一, 金野 公郎			

論文内容の要旨

目的

Human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) は CD4分子の V1領域と結合し細胞内に侵入することが知られているが, CD4分子の他の領域が HIV-1感染において何等かの役割を担っているかは未だ不明である。本研究において, この分子の V3/V4領域の, HIV-1感染における役割について検討するため, 以下の実験を行った。

方法

1. ヒトリコンビナント可溶性 CD4 (以下 rs CD4) を, BALB/c マウスに免疫し, V1~V4領域の rs CD4 で反応するが, V1~V2領域の rs CD4 とは反応しない 6つのモノクローナル抗体を得た。

2. 各抗体の HIV-1感染抑制試験として, ヒト正常リンパ球に HIV-1を感染させ, 前述の6つのモノクローナル抗体添加培地を加え, 培養後3, 7, 10そして14日の培養上清中の HIVp24抗原量を測定した。AIDS患者のリンパ球でも同様の検討を行った。

3. 各モノクローナル抗体による gp 120と rs CD4との結合阻害性の検討として, CD4陽性細胞にモノクローナル抗体を反応させた後, rgp 120の結合能を ELISA reader で測定した。さらに HIV-1発現 B細胞株に rs CD4を結合させた後, FITC でラベルした抗体の結合能をフローサイトメトリーで測定した。

4. シンシチウム巨細胞形成の阻害試験

CD4陽性細胞に HIV-1 vaccinia を感染させ, さらに各抗体を添加した。翌日, シンシチウム細胞を鏡視下でカウントした。HIV-1感染細胞と CD4陽性細胞の混

合培養の系でも同様の検討をした。

結果

1. 上記の方法にて6つの抗体が得られた。
2. このうち2つは, 正常リンパ球への HIV-1感染および AIDS患者のリンパ球での HIV-1の増殖において明らかな抑制効果が認められた。
3. この2つの抗体は, gp 120と CD4との結合部位でないところを認識していることがわかった。
4. さらにこれらの抗体は明らかなシンシチウム形成の抑制効果を示さなかった。

考察および結論

以上の結果より, CD4 V3/V4領域に対するモノクローナル抗体のうち, あるものは in vitro で HIV-1感染抑制効果が認められることが明らかとなった。これらの抗体は CD4と gp 120の結合を阻害せず, さらに, シンシチウム形成も抑制しなかったことより, HIV-1が CD4陽性細胞に侵入するとき, 既知の結合部位である V1領域だけでなく, V3/V4領域も深く関わっていることが示唆された。

論文審査の要旨

Human immunodeficiency virus type-1 (HIV-1) は CD4分子の V1領域と結合して細胞内に侵入することが知られているが、CD4分子の他の領域が HIV-1の感染においてどのような役割を担っているかは未解明である。本論文では CD4分子の V3/V4領域の役割を検討するためこの領域の CD4と反応する 6つのモノクローナル抗体をつくった。このうち 2つの抗体は正常者および AIDS 患者のリンパ球における HIV-1の増殖を明らかに抑制した。またこれらの抗体は CD4と gp 120の結合を阻害せず、さらにシンシチウム形成も抑制しなかった。以上により HIV-1が CD4陽性細胞に侵入するとき、既知の V1領域のみではなく、V3/V4領域も深く関わっていることを明らかにしたもので学術上価値ある論文である。

主論文公表誌

CD4 V3/V4領域に対するモノクローナル抗体の HIV-1感染抑制効果の検討

東京女子医科大学雑誌 第63巻 第11号
1361-1366頁 (平成5年11月25日発行) 蓮沼智子

副論文公表誌

- 1) Region of the CD4 molecule not involved in virus binding or syncytia formation are required for HIV-1 infection of lymphocytes (リンパ球への HIV-1感染でウイルス結合やシンシチウム形成に関与しない CD4領域). *J Immunol* 148 (6) : 1841-1846 (1992) Hasunuma T, Tsubota H, Watanabe M, Chen ZW, Lord CI, Burkly LC, Daley JF, Letvin NL
- 2) Simian immunodeficiency virus-specific cytotoxic T lymphocytes are present in the AIDS-associated skin rash in rhesus monkeys (サル免疫不全症候群ウイルスによる皮疹患部より得られたウイルス特異的細胞性 T 細胞). *J Immunol* 149 (2) : 728-734 (1992) Yamamoto H, Ringler DJ, Miller MD, Yasutomi Y, Hasunuma T, Letvin NL
- 3) Selective inhibition of cytotoxic T lymphocyte proliferation by Mizoribine (Bredinin), an adenosine analog (アデノシン誘導体であるミゾリビンの細胞性 T 細胞に対する選択的抑制). *Purine and Pyrimidine Metabolism in Man VI, Pt. A* 253A : 455-460 (1989) Hasunuma T, Yamanaka H, Terai C, Miyasaka N, Kamatani N, Nishioka K, Mikanagi K
- 4) Rheumatic manifestation of human leukemia virus infection (ヒト白血病ウイルス感染による関節症状). *Rheum Dis Clin North Am* 19 (2) : 489-503 (1993) Nishioka K, Nakajima T, Hasunuma T, Sato K
- 5) Overgrowth of human synovial cells driven by the human T cell leukemia virus type I tax gene (ヒト T 細胞白血病ウイルス tax 遺伝子によるヒト滑膜細胞の増殖機構). *J Clin Invest* 92 (1) : 186-193 (1993) Nakajima T, Aono H, Hasunuma T, Yamamoto K, Maruyama I, Nosaka T, Hatanaka M, Nishioka K