

(甲)

学位論文抄録

強力な抗 HIV-1V3 抗体からの逃避過程で挿入される V2 領域の糖鎖が保存されるメカニズム

(Mechanism of maintaining a N-linked glycosylation site in V2 region under pressure of a potent anti-V3 neutralizing antibody in vitro)

畑田 万紀子

熊本大学大学院医学教育部博士課程病態制御学専攻病態制御学

指導教員

松下 修三 教授

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻病態制御学

学位論文抄録

(目的)ヒト免疫不全ウイルスタイプ 1 (Human Immunodeficiency Virus type 1: HIV-1) の慢性感染症例では、エンベロープ領域の特定の変異や糖鎖 (glycan) 挿入が、経過とともに蓄積していくことが知られている。一方、生体内で HIV-1 は感染後、急速に抗体抵抗性ウイルスへと変化し増殖を続ける。そのため、これらの変異や挿入の蓄積が、宿主免疫反応からの逃避の結果引き起こされるのではないかと考え、*in vitro* 中和抗体逃避ウイルス誘導実験により検証を試みた。

(方法)T 細胞株の PM1/CCR5 細胞に、CCR5 指向性 (R5)ウイルス HIV-1_{BaL} を感染させ、KD-247 の濃度を段階的に上げることで KD-247 抵抗性ウイルスを誘導した。得られた耐性ウイルスのエンベロープタンパク (Env) gp120 領域のシーケンスを行い、中和逃避に関与する変異部位を同定した。また、これらの変異を持つ組み換えウイルスを作製し、中和感受性や複製能に与える影響を調べた。

(結果)KD-247 からの中和逃避において、抗体が比較的低濃度のときは、Env V3 の 319 番目に alanine を持つウイルスが予め存在したレポーターから選択され増殖した。しかし、抗体が高濃度になると中和エピトープ部位である V3-tip に変異 (R315K) を持つウイルスが出現した。その後、より高濃度の抗体存在下で培養を続けると、V3-tip 変異とともに V2 領域に糖鎖付加部位 (PNGS) の挿入変異が出現し蓄積した。Env 耐性変異組換えウイルスを作製し、中和感受性及び増殖動態を比較検討した結果、R315K や V2 の PNGS 挿入は、単独では増殖能の低下を招いた。また、PNGS 挿入だけでは耐性度も非常に低かった。ところが、増殖能低下を引き起こす 2 つの耐性変異が同時に存在しても、C2 (240S) や V3 (F317L) 変異を伴うことにより、野生株と同等の増殖能を示すことがわかった。また、これら全ての耐性変異を持つウイルスに新たに C4 (K421R) 変異が加わることで、抗体非存在下で長期間培養を続けても耐性変異が維持された。

(考察)V2 の PNGS 挿入は、単独では抗 V3 抗体に対して中和抵抗性を示さなかったが、高濃度の中和抗体存在下では V3 変異と同時に存在することで高度耐性能を付与することがわかった。また、V3-tip や V2 の PNGS 挿入変異は、単独ではウイルスの増殖能を低下させるが、増殖能を回復させる変異がその都度付加されることで、中和抵抗性変異を持ったまま感染が継続され、抗体非存在下でも維持される。

(結論)我々の結果は、免疫反応によるウイルス抑制状態が持続する *in vivo* において、HIV-1 が複製能と耐性のバランスをとりながらエンベロープ領域の特定の変異や挿入を獲得し、それらを維持したまま、感染を継続していくことを示唆している。