

## 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 水越 文徳

ネコ免疫不全ウイルス(FIV)感染症は、世界中で高い感染率を示し、それに対する有効な治療法はなく、小動物臨床において重要な感染症の一つとされている。そこで、FIV 感染症に対する新しい治療法の開発を目的とし、以下の研究を行った。

### 第一章：FIV 感染における新しく開発された CXCR4 アンタゴニストの抑制効果

FIV は、CXC-chemokine receptor 4 (CXCR4)を介して宿主細胞に侵入する。これまでに優れた抗ウイルス効果を有する CXCR4 アンタゴニストが開発されてきたが、未だ実用化には至っていない。近年、開発された T140 誘導体(TN14003、TE14011)は、ネコ血清中で非常に優れた安定性を示した。本章では、これらの T140 誘導体の抗 FIV 効果を検討した。まず、これら T140 誘導体で CXCR4 発現ネコリンパ腫由来細胞株を処理した後、抗 CXCR4 抗体を用いたフローサイトメトリー解析を行った結果、抗 CXCR4 抗体の結合が阻害された。また、CXCR4 発現 HeLa 細胞と FIV 持続感染 CRFK 細胞を共培養すると合胞体を形成するが、T140 誘導体の添加によりその形成が阻害された。次に、CXCR4 発現ネコリンパ系細胞株に T140 誘導体の存在下で FIV を感染させたところ、用量依存的に培養上清中の逆転写酵素活性の低下が認められた。本章の結果より、新しく開発された T140 誘導体がネコの培養細胞系において効率良く抗ウイルス効果を示すことが明らかとなった。

### 第二章：FIV のエンベロープ糖蛋白の gp41 を標的にした膜融合阻害剤の抗ウイルス活性

HIV が標的細胞に侵入する際には、エンベロープタンパク質の gp41 が細胞膜に挿入され、3本の gp41 の N 末端 heptad repeat 1(HR1)領域と C 末端 HR2 領域が 6-helix bundle を形成し、ウイルスと標的細胞の膜融合が成立する。HIV の HR2 由来のペプチド C34 は、HR1 領域に結合し、6-helix bundle 構造の形成を阻害することで、優れた抗 HIV 活性をもつが、溶媒中の安定性がないために臨床応用には至らなかった。その後、グルタミンとリジンで salt bridge を形成させて水溶性を高める XEEXXKK コンセプトの応用で、その水溶性と安定性が増すことが示された。本章では、FIV gp41 の HR1 領域と HR2 領域の配列を

基に作製した FIV-C35 と FIV-N36、XEEXXKK コンセプトを基に作製した FIV-C35EK1、FIV-C35EK2 と FIV-C35EK3 の抗 FIV 活性を検討した。CXCR4 発現 HeLa 細胞と FIV 持続感染 CRFK 細胞の共培養系に FIV-C35 または FIV-C35EK1 を添加した場合、合胞体形成が阻害された。また、FIV-C35 または FIV-C35EK1 の存在下で FIV 感受性のネコリンパ系細胞株 (MYA-1) に FIV を感染させたところ、用量依存的に培養上清中の逆転写酵素活性の低下が認められた。一方、gp41 の HR1 配列由来の FIV-N36 と相互作用面と予想される部位の領域においてグルタミンとリジンを置換した FIV-C35EK2 および FIV-C35EK3 は抗 FIV 活性を示さなかった。本章の結果から、新たに開発された膜融合阻害剤のうちで強力な抗ウイルス活性を示すペプチドを同定することができた。

### 第三章：FIV 感染ネコの末梢血単球由来 DC の性状の検討

DC はナイーブ T 細胞に作用を刺激できる唯一の抗原提示細胞 (APC) である。本章では、FIV 感染症における DC 免疫療法の確立に向け、FIV 感染ネコおよび非感染ネコにおける末梢血単球由来 DC の比較検討を行った。無症候期の FIV 感染猫および非感染猫の末梢血単球を、組換えネコ IL-4、GM-CSF および非働化自己血漿を加えた培養液で培養し、形態、表面抗原、食作用および混合リンパ球反応 (MLR) について性状を評価した。感染猫および非感染猫の単球由来付着細胞は、樹状突起を呈し、DC に特徴的な形態を示した。これら細胞は、APC に特徴的な表面形質を示し、マンノース受容体に依存するデキストラン捕食能を持ち、MLR 誘導能を示したことから、DC に分化していることが示された。これらの結果より、FIV 感染猫でも非感染猫と同様に単球の DC への分化誘導が可能であることが示された。

本研究は、CXCR4 アンタゴニストおよび膜融合阻害剤の新しい抗ウイルス薬が優れた抗 FIV 効果を発揮すること、また FIV 感染症における DC 細胞免疫療法が抗ウイルス療法としての有用性を有することを示したものであり、学問上および臨床応用上価値あるものであり、審査委員一同は博士 (獣医学) の学位を授与するに値するものと判断した。