

論文審査の結果の要旨

氏名 韓 忠勇

本論文は6章立てで、第1章研究背景と目的、第2章材料と方法、第3章結果、第4章考察、第5章謝辞、第6章参考文献で構成されている。第1章では、疾患としての後天性免疫不全症候群（AIDS）の原因ウイルスであるヒト免疫不全ウイルス1型（HIV-1）についての基礎的な知見が述べられている。HIV-1感染細胞において、ウイルス由来の蛋白質がどのようにしてプロセッシングを受け、感染細胞表面のHLAクラスI分子上に8～11アミノ酸からなるペプチド（エピトープ）として発現されるメカニズムが記述されている。宿主の主要な防御機能である細胞傷害性T細胞（CTL）はT細胞受容体（TCR）によってエピトープを認識し、攻撃を加える。しかし、変異性の高いHIV-1は、突然変異によってCTLの攻撃を逃れ、エスケープ変異体として増殖し続ける。このため、HIV-1の主要な感染標的であり、免疫の司令塔ともいえるCD4陽性細胞が減少し、発症へと至ることがAIDSの基本的な感染病態であることを良く理解し、記述している。本研究の目的は、日本人を含む東アジアの民族に多いHLA-A24分子によって発現されるとして過去に報告された主要なエピトープについて、患者個体の中で主に反応するエピトープを同定し、HIV-1の増殖と宿主反応の相互作用を解析することを目的とした。

第2章の材料と方法では、医科学研究所附属病院に通院するHLA-A24陽性HIV-1患者の46名の概要が書かれ、研究倫理的な配慮がなされたことが明記されている。患者の固体内で増殖するHIV-1のエピトープ部位の配列を同定した方法や、研究に用いた分子生物学的手法（PCR解析や遺伝子配列決定の方法、遺伝子発現ベクターの作製など）、免疫学的手法（細胞培養やIFN- γ ELISpot assay、CTL反応の解析、T2-A24 stabilization assayなど）、統計学的手法等が詳しく記されている。

第3章の結果においては、46名のHIV-1感染者のPBMCを用いてIFN- γ ELISpot assayを行った結果、Nef134-10に対する免疫応答の頻度が46人中37人（80.4%）と最も高く、Nef126-10は46人中23人（50.0%）と2番目に高いという結果を得た。高い免疫応答が見られたNef126-10とNef134-10は二つの重複したエピトープとして存在していることに着目した。血漿中のウイルスからNef126-10、Nef134-10周辺のアミノ酸配列を同定し、Nefタンパク質の135番目のアミノ酸がチロシンからフェニルアラニンに変わった変異（Y135F）ウイルスが観察された（Nef135F）。135番目のアミノ酸が野生型のチロシンであったのは（Nef135Y）46人中8人だけであった（8/46=17.4%）。また、半数以上のHIV-1感染者でNef135Fに伴って133番目のアミノ酸がイソロイシン（Nef133I）からトレオニン（Nef133T）に変異した（I133T）配列が見られた。IFN- γ ELISpot assayによって、Nef135Y配列を持つ8人全員においてNef134-10に対する免疫応答がある一方、Nef126-10に対する免疫応答は全く見られないことが明らかになった。すなわち、Y135FがNef126-10特異的免疫応答の有無と強く関連していた。T2-A24 stabilization assayによって、Y135FはNef126-10のHLA-A24に対する結合親和性を著しく高めることを明らかにした。ついで、感染者末梢血単核球から樹立されたNef126-10特異的CTLクローンを用いて、Y135FによってCTLがNef126-10を強く認識出来るようになっていることを発見した。以上は

合成ペプチドを用いた実験であるが、発現ベクターに Nef 遺伝子の一部を発現するミニジーンを組み込み、Nef126-10, Nef134-10 の抗原提示を評価した実験により、Y135F 変異は細胞内蛋白質のプロセッシングに変化を来し、Nef134-10 の抗原提示が著しく減少する一方、Nef126-10 が新たに抗原として提示されることを発見した。この結果は、アミノ酸変異による「エピトープスイッチング」が起きていることをはじめて示したものである。臨床経過中に Nef135Y から Nef135F へのアミノ酸配列変化が経時的に観察された HIV-1 感染者の保存検体を用いて、エピトープスイッチングが HIV-1 感染者の臨床経過の中で起きていることも確認した。

I133T の Nef126-10 特異的免疫応答への影響を調べるために、異なるウイルスアミノ酸配列を呈する HIV-1 感染者において Nef126-10(8I10F) と Nef126-10(8T10F) に対する免疫応答を比較した。その結果、I133T は異なる CTL 集団を誘導していることが明らかになった。46 人の HIV-1 感染者のうち、Nef133T/135F 配列を持ち、Nef126-10(8I10F) と Nef126-10(8T10F) を認識する CTL が存在する 9 人を対象に functional avidity assay を実施した。その結果、Nef126-10(8I10F) に対する functional avidity が Nef126-10(8T10F) に比べて有意に高い事が明らかとなった。ペプチドと HLA-A24 との複合体の結晶構造解析により、Nef126-10(8I10F) と Nef126-10(8T10F) のイソロイシンとトレオニンはペプチド結合溝から突出しており、TCR との結合に関与する可能性が示唆された。

第 4 章においては、上記の結果に基づき詳しい考察が記載され、ワクチン開発の際に役立ちうる点を示唆している。本研究は、医科学研究所附属病院で診療を行う感染免疫内科の医師一同、感染症分野の立川愛准教授、清水晃尚氏、東京大学放射光携研究機構生命科学部門構造生物学研究室の深井周也准教授、山形敦史助教等との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1978 字