

T細胞の活性化刺激とHIV感染制御

研究分担者 田中勇悦 琉球大学 大学院医学研究科 免疫学講座 教授

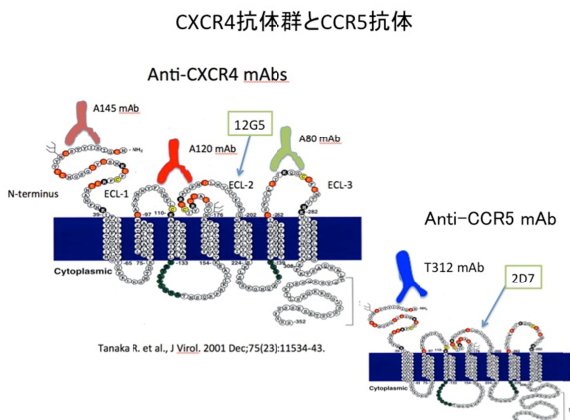
研究要旨: HIV co-receptor 修飾を介する HIV 感染制御法について詳しく検討する目的で、静止期の末梢血単核球(PBMC)に対して固相化した anti-CXCR4 および CCR5mAb によるそれぞれの受容体の架橋が、活性化 PBMC の R5 HIV-1 感染にどのような影響を与えるかを検討した。感染後、用いた CXCR4 抗体 4 種類全てと anti-CCR5 抗体の T312 は陰性コントロール抗体と比較して R5 HIV-1 の感染を顕著に抑制した。抑制のメカニズムは間接的であり、新鮮単核球からの CCR5 結合性 ケモカインの産生誘導が考えられた。以上のことから、末梢 T細胞活性化に付随して起きる HIV-1 の感染拡大を制御する新たな方法として抗体を使った新鮮 PBMC の HIV-1 主要 co-receptor の架橋が候補として挙げられる。

A. 研究目的

我々は、OX40L や抗 CXCR4 単クローン抗体 (mAb) A120 が活性化 PBMC において R5 HIV-1 感染を強力に抑制することを既に報告した。その主なメカニズムは、ケモカインの誘導である。今回、HIV co-receptor 修飾を介する HIV 感染制御法についてさらに詳しく検討する目的で、静止期 PBMC への固相化した anti-CXCR4 および CCR5mAb による作用が活性化 PBMC の R5 HIV-1 感染にどのような影響を与えるかを検討した。

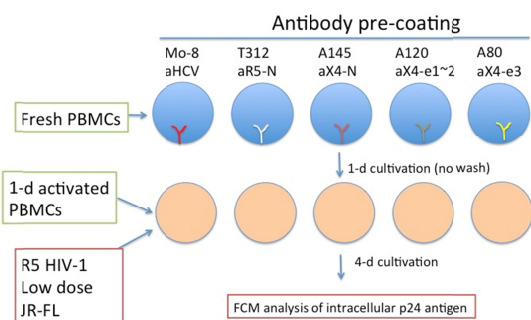
B. 研究方法

用いた mAb は全てラット由来の IgG であり、それぞれの認識エピトープを以下の図に示す。



正常人由来の新鮮 PBMC を、mAb を固相化したウエルで 1 日培養し、別に他のウエルで固相化 anti-CD3 抗体で 1 日刺激培養した自家新鮮 PBMC と混合し、その系に低 m.o.i. の R5 HIV-1JR-FL を添加して培養した。各々の抗体の R5 HIV-1 の感染に対する効果を HIV-1 core p24 を検出するフローサイトメトリーと ELISA で比較検討した。その概要を以下に示す。なお、ラット IgG コントロールとして、anti-HCV IgG mAb 抗体を用いた。

Stimulation of fresh PBMCs with anti-CCR5 or CXCR4 mAbs



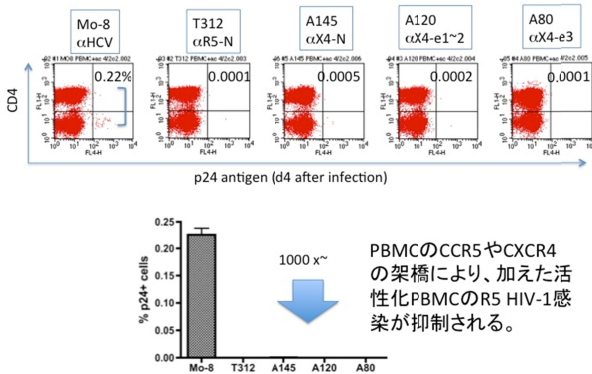
(倫理面への配慮)

健康人の PBMC を使用する実験は倫理委員会で承認され、また、抗体を産生する遺伝子組換え生物等使用実験と動物実験も琉大で承認されている。

C. 研究結果

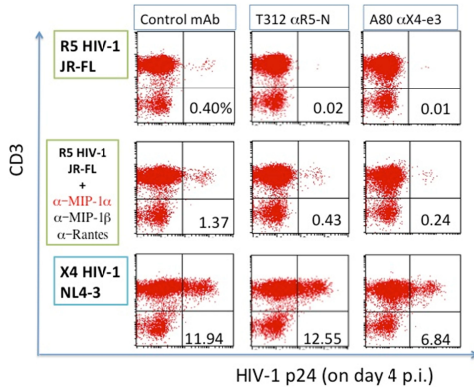
(1) 静止期の PBMC をプレートに固相化した CCR5 抗体の一種類と CXCR4 抗体 4 種類全で処理すると、陰性コントロール抗体処理と比較して、処理されたウエルに加えた活性化 PBMC における R5 HIV-1 の感染を著明に抑制した。

Inhibition of HIV-1 infection of PBMCs by pre-stimulation with anti-R5 or X4 mAb



この抑制の系に R5 HIV-1 抑制に関与するケモカインケモカイン 3 種に対する中和抗体を添加することにより、抑制が解除された。

Effect of pre-cross-linking of CCR5 and CXCR4 on infection of PBMCs with R5 and X4-HIV-1



したがって、直接 R5 HIV-1 のケモカイン受容体中和サイトに結合しない抗体でも、静止期の PBMC の CCR5 や CXCR4 を架橋することによりケモカインが産生され、結果として R5 HIV-1 感染を抑制することが可能であることが明らかとなった。

D. 考察

今回の実験により新鮮 PBMC の CCR5 または CXCR4 をそれぞれ T312 または A80 で架橋培養した場合に、共存する活性化 PBMC に対す

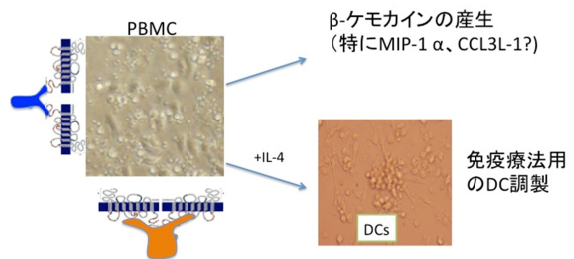
る R5 HIV-1 感染が最も強く抑制されることが明らかとなった。T312 は R5 HIV-1 感染を立体的に阻害することはなく、また A80 は anti-CXCR4 であり長期刺激培養した PBMC では HIV-1 感染を促進させることから、抑制のメカニズムは間接的であり、新鮮単核球からの CCR5 結合性ケモカインの産生誘導と考えられた。

E. 結論

静止期における PBMC の細胞表面 CCR5 や CXCR4 を抗体によって架橋することにより、活性化 PBMC の HIV-1 抑制ケモカイン産生が産生され、HIV-1 感染拡大を阻止する。付け足しであるが、この架橋によって単球の接着性が促進し、IL-4 存在下、樹状細胞への分化起きる。

まとめ

末梢新鮮PBMCのCCR5やCXCR4を単クローン抗体でエピトープ依存性に架橋することによりβケモカインが産生され、マクロファージや活性化CD4⁺T細胞がR5 HIV-1感染に抵抗する。



F. 健康危険情報なし

G. 研究発表

1. 論文発表なし (論文作成中)
2. 学会発表
 - (1) 田中勇悦, 田中礼子: HIV-1 co-receptor (CXCR4, CCR5) 架橋を介した R5 HIV-1 感染制御. 第 28 回日本エイズ学会学術集会・総会, 大阪(12.3-5, 2014)

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得: なし
2. 実用新案登録: なし