

# 論文審査の結果の要旨

氏名 清水晃尚

本研究は HLA-A24 拘束性 HIV Nef138-10 <RYPLTFGWCF> エピトープに注目し、その野生型と変異型エピトープに対して特異性の異なる 3 種類の TCR 分子を用いることで *in vitro* での分子間相互作用を検討し、ウイルスのエスケープ機構を分子レベルで明らかにした。

本論文は 4 つの章から構成されている。第 1 章と第 4 章はそれぞれ序論と総括であり、第 2 章と第 3 章が本研究の結果に該当するものである。第 2 章は日本人 HIV 感染者において高頻度に検出される 2F 変異の Nef138-10(2F) エピトープ、続く第 3 章は低頻度に検出される 6L 変異の Nef138-10(6L) エピトープについて記述されている。

まず第 2 章では HIV 患者由来の 3 種類の TCR (wt TCR、2F TCR、dual TCR) と 2 種類の pHLA (A24/N138-10(wt)、A24/N138-10(2F)) タンパク質の発現、巻き戻し、および精製をおこなった。そしてピアコアを使用した分子間相互作用解析をおこない、作製した TCR と pHLA 分子が CTL クローンを用いた細胞レベルでの実験結果を反映していることを確認した。また精製したタンパク質を用いて結晶化を行い、TCR-pHLA 複合体を含む計 9 種類野のタンパク質結晶が得られ、そのすべてについて構造を決定し解析をおこなった。その結果 Nef138-10(2F) エピトープの 2 番目のフェニルアラニンが HLA-A24 との相互作用が Nef138-10(wt) のチロシンの場合と異なることで、間接的に TCR との相互作用に影響を及ぼす変異であることが示唆された。

次に第 3 章では HLA-A24 陽性 HIV 感染者の一部で確認される Nef138-10(6L) について第 2 章と同様の実験をおこない、新たに A24/N138-10(6L) と、その TCR との複合体構造が得られた。その結果 Nef138-10(6L) エピトープの 6 番目のロイシンは TCR との相互作用に影響を及ぼす変異であり、6L 変異体ウイルスは CTL による選択圧から逃れたエスケープウイルスである可能性が示唆された。

以上より本研究は抗原特異性の異なる 3 種類の CTL クローン由来の TCR 分子と、野生型または変異型 Nef138-10 エピトープが提示された HLA-A24 との分子間相互作用解析および結晶構造解析をおこなうことで、HIV のエスケープ機構の解明を試みた。また HLA と TCR の複合体の中で、HLA-A24 と TCR の複合体構造は初の報告例である。

なお、本研究で用いられた臨床データの収集や検体の採取は医科学研究所感染免疫内科の臨床グループ、細胞傷害性 T 細胞クローンの樹立は立川愛准教授、HIV の塩基配列データは朱大勇博士と韓忠勇博士との共同研究によるものであるが、タンパク質の発現、精製と結晶化、ピアコアを用いた分子間相互作用解析は論文提出者が一人で行ったものである。また X 線結晶構造解析では共同研究として分子細胞生物学研究所の深井周也准教授、山形敦史助教、佐藤裕介助教にタンパク質結晶の X 線回折データの測定をおこなっていただいたが、構造の決定から解析に至るまでは論文提出者が主体となっておこなったもので、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 1,135 文字)