CHARACTERIZATION OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS TYPE 1 CRF01_AE *ENV* GENES DERIVED FROM RECENTLY INFECTED THAI INDIVIDUALS

NITHINART CHAITAVEEP 5236057 SIIM/D

Ph.D. (IMMUNOLOGY)

THESIS ADVISORY COMMITTEE: KOVIT PATTANAPANYASAT, Ph.D., MASANORI KAMEOKA, Ph.D., PATTAMA EKPO, Ph.D., THIPPAWAN CHEUNCHITRA, Ph.D.

ABSTRACT

Transmitted/founder virus (T/F) is responsible for the establishment of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection and induces primary anti-HIV-1 immune responses; therefore, it is important to study the viral HIV-1 population in an effort to understand the early phases of HIV-1 infection. We amplified HIV-1 *env* genes from sera derived from recently infected Thai individuals, and established an envelope of glycoproteins (Env)-recombinant viruses. Generated Env-recombinant viruses were tested for their neutralization susceptibility to neutralizing human monoclonal antibodies (NHMAbs) and entry inhibitors, as well as being subjected to genotypic analysis. Most recombinant viruses were susceptible to neutralization by NHMAbs to Env gp41, whereas approximately one-third of the recombinant viruses were susceptible to a NHMAb against the CD4 binding site of gp120. In addition, all *env* genes were classified into CRF01_AE genes and showed low genetic divergence. These results provide information for understanding the immunological and genetic characteristics of CRF01_AE Env that were derived from recently infected Thai individuals.

Fourteen Env-recombinant viruses were constructed to study phenotypic and genotypic *env* gene characterizations. There were thirteen R5-tropism, whereas one was X4R5-tropism that were susceptible to neutralization by 4E10, 2F5 and IgG1 b12; they were 100% (14/14), 64% (9/14) and 35% (5/14), respectively. However, all fourteen Env-recombinant viruses were resistant to 2G12. Additionally, the amino acid residues and potential N-linked glycosylation sites on V1/V2 have an inverse significant correlation with IC50 of 4E10, *p* value 0.012 and 0.029, respectively. In contrast, no correlation was found in IC50 of 2F5 and IgG1 b12. However, T/F viruses were moderately susceptible to IgG1 b12 which is potentially a CD4 binding site which induces the high levels of neutralization susceptibility. Early Env clones show varying neutralization susceptibility to specific viral entry whereas the length of V1/V2 amino acids is negatively significant correlation with TAK-779 susceptibility of the recombinant viruses, *p* value 0.048. Early *env* are classified into CRF01_AE *env* which show relatively low divergence compared to chronically CRF01_AE Env clones that infected Thai individuals. Finally, this study is the first report on the subtype CRF01_AE T/F Env-recombinant viruses that provide a valuable tool for understanding immunological and antigenic characterizations in early phases of HIV-1 infection.

KEY WORDS: TRANSMITTED/FOUNDER VIRUS/ RECENT HIV-1 INFECTION/ ENV-RECOMBINANT VIRUS/ VIRAL ENTRY/BED-ELISA

122 pages

การศึกษาลักษณะยีนเปลือกหุ้มภายนอก (Envelope genes) ของเชื้อไวรัสเอชไอวี-1 ในพลทหารกองประจำการกองทัพบกที่ติดเชื้อใหม่ และศึกษาความไวในการนิวทรอลไลเซชั่นของไวรัสที่มียีนเปลือกหุ้มภายนอก (Env-recombinant) ที่สร้างขึ้น
CHARACTERIZATION OF HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS TYPE 1 CRF01_AE *ENV* GENES DERIVED FROM RECENTLY INFECTED THAI INDIVIDUALS

นิธินาถ ชายทวีป 5236057 SIIM/D

ปร.ด. (วิทยาภูมิคุ้มกัน)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ : โกวิท พัฒนาปัญญาสัตย์, Ph.D., MASANORI KAMEOKA, Ph.D., ปัทมา เอกโพธิ์, Ph.D., ทิพย์วรรณ ชื่นจิตร, Ph.D.

บทคัดย่อ

เชื้อเอชไอวี-1 เป็นสาเหตุของโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง (AIDS) และไม่มีวัคซีนในการป้องกันการติดเชื้อเหมือนไวรัสชนิดอื่น ทำให้ไวรัส เอชไอวี-1 ยังเป็นปัญหาสาธารณสุขต่อประเทศต่างๆทั่วโลก ถึงแม้ว่าประสิทธิภาพของยารักษามีความสามารถสูง แต่ยังคงมีราคาแพง ทำให้เกิดการสูญเสียต่อภาวะเศรษฐกิจของประเทศเหล่านั้น เชื้อเอชไอวี-1 เป็นเชื้อที่ยีนมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลาของการติดเชื้อ ดังนั้นการศึกษาและเข้าใจอย่างชัดเจนระหว่างปฏิกิริยาของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายต่อการติดเชื้อเอช ไอ วี-1ในระยะเริ่มแรกจะเป็นโอกาสในการหลีกเลี่ยงยีนที่มีการเปลี่ยนแปลงไปจากยีนต้นแบบ การศึกษานี้ได้นำซีรั่มจากทหารกองประจำการที่พบว่า ติดเชื้อเอชไอวี-1 และตรวจเพิ่มเติมโดยวิธี BED ELISA ซึ่งวินิจฉัยว่าเป็นผู้ที่ติดเชื้อใหม่ซึ่งติดเชื้อมาไม่เกิน 127 วัน นำมาศึกษาลักษณะยีนเปลือกหุ้มภายนอก (*env* gene) โดยสร้างไวรัสที่มียีนเปลือกหุ้มภายนอกของผู้ติดเชื้อใหม่ และศึกษาความสามารถของไวรัสที่เราสร้างขึ้นโดยวิธีนิวทรอลไลเซชั่นต่อโมโนโคลนอลแอนติบอดิ และยาต่าง ๆ ที่มีความสามารถในการยับยั้งการเข้าสู่เซลล์เป้าหมายของเชื้อเอชไอวี-1 ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน

ไวรัส 14 ไวรัสที่มียีนเปลือกหุ้มภายนอกที่สร้างขึ้นประกอบด้วย13ไวรัสเป็นไวรัส R5-tropism และ 1 ตัว เป็นไวรัส R5X4-tropism ไวรัสทั้งหมดเป็นชนิดซับไทป์ CRF01_AE และเมื่อนำมาศึกษาความไวต่อโมโนโคนอลแอนติบอดิ โดยวิธี neutralization assay พบว่า 100% (14/14), 64% (9/14) และ 35% (5/14) สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัสเมื่อใช้โมโนคลอนอลแอนติบอดิ 4E10, 2F5 และ IgG1 b12 ตามลำดับ แต่ไวรัสทั้งหมดสามารถแบ่งตัวได้ดีเมื่อใช้โมโนโคลนอลแอนติบอดิ 2G12 และเมื่อนำมาศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะของยีนเปลือกหุ้มภายนอกกับความสามารถของโมโนโคลนอลแอนติบอดิต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส พบว่า การเรียงตัวความยาวของจำนวนโปรตีนของยีนเปลือกหุ้มภายนอกของผู้ติดเชื้อใหม่และจำนวนของ PNLG sites บนส่วนของ V1/V2 มีความสัมพันธ์ในทางตรงกันข้ามกับการเพิ่มจำนวนของไวรัสเมื่อใช้โมโนโคลนอล 4E10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value= 0.012, 0.029 ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังพบว่าไวรัส 14 ตัวแสดงถึงความแตกต่างความสามารถของยาที่ใช้ในการยับยั้งการเข้าสู่เซลล์ของเชื้อเอชไอวี-1 ได้อย่างหลากหลาย และการเรียงตัวความยาวของจำนวนโปรตีนบนส่วนยีนเปลือกหุ้มภายนอกส่วน V1/V2 มีความสัมพันธ์ในทางเดียวกันกับการเพิ่มจำนวนของไวรัสเมื่อใช้ยายับยั้งการเข้าสู่เซลล์ของไวรัส R5 tropism (TAK-779) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value = 0.048) ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงลักษณะยีนเปลือกหุ้มภายนอกของเชื้อเอชไอวี-1 เกิดขึ้นตลอดเวลาของการติดเชื้อเอชไอวี-1 และวิธีที่ใช้ในการศึกษานี้สามารถทำให้ทราบลักษณะโปรตีนบนส่วน *env* ได้ชัดเจนยิ่งขึ้นเพื่อนำไปสู่การพัฒนาวัคซีนและยารักษาโรคต่อไป และสิ่งสำคัญมากที่สุดคือการศึกษานี้เป็นรายงานฉบับแรกของการศึกษาลักษณะ *env* ของผู้ที่ติดเชื้อใหม่ของซับไทป์ CRF01_AE ที่ระบาดมากที่สุดในประเทศไทย

122 หน้า