

新規抗 HIV/AIDS 治療薬の開発を目指して

熊本大学大学院薬学教育部博士後期課程 3 年 井上 睦美

現在のヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus, HIV) 感染症及び後天性免疫不全症候群 (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) の治療は、3~5 剤の抗 HIV 剤を併用した多剤併用療法 (highly active antiretroviral therapy, HAART) によって行われる。HAART は、血中ウイルス量を検出限界以下まで抑え込み、患者の死亡率を大きく減少させた。しかしながら、多くの抗 HIV 剤がウイルス性タンパク質を標的としているため、HIV が有する易変異性による薬剤耐性ウイルスの出現は避けられず、治療効果の低下が問題となっている。

そこで私は、ウイルス性タンパク質のように変異することのない細胞性因子を標的とした薬剤開発に焦点を当てた。そして、HIV ライフサイクルのうちの脱殻過程に注目した。脱殻過程はウイルスのカプシド (CA) タンパク質の集合体である CA コアが崩壊し、ウイルスゲノムを放出する過程であり、ウイルス粒子内では安定な CA コアが標的細胞内に侵入すると不安定化し、適切なタイミングで崩壊する。つまり、標的細胞内における CA コアのタイミングのよい劇的な安定性の変化から、脱殻過程は何らかの細胞性因子の制御を受けている可能性があると考えたのである。また、HIV 感染に関与する細胞性因子は数多く報告されている一方で、脱殻を引き起こす細胞性因子は見出されていないことから、脱殻過程を解析することによって、新規の創薬ターゲットを発見できるのではないかと考えた。

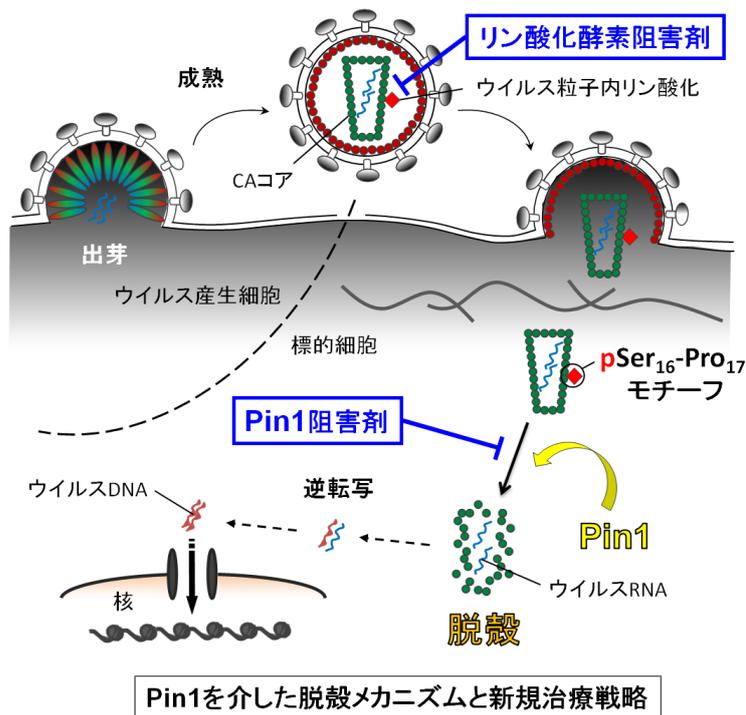
まず初めに取り組んだのは、CA タンパク質の特徴づけである。CA コアはこの CA タンパク質から成る殻の中に逆転写酵素などのウイルス性タンパク質やウイルスゲノムが包まれた構造をとっており、脱殻以前に細胞性因子と相互作用する可能性が高いのは、CA タンパク質であると考えられる。タンパク質の相互作用は、翻訳時・翻訳後修飾によって調節されていることが多いため、CA タンパク質の翻訳時・翻訳後修飾を解析することで、CA コアと相互作用する分子の同定に近づける可能性がある。2次元電気泳動と質量分析を行った結果、CA タンパク質の Ser₁₆ のリン酸化を見出し、さらに変異ウイルスを用いた解析から、その部位でのリン酸化は、HIV の感染性を維持するために重要であることが分かった。

そこで、次に相互作用する分子の探索を行った。変異ウイルスを用いた解析では、Ser₁₆のみを Ala に置換したウイルスでも感染性の低下は見られたが、Ser₁₆に続く Pro₁₇も共に Ala に置換したウイルスが感染性を有していないことが分かった。この S16A/P17A 変異ウイルスは、ウイルスの形態に異常は見られなかったが、脱殻過程に障害があるために、それに続く逆転写過程や組込み過程に進めず、複製できなかった。つまり、リン酸化 Ser₁₆-Pro₁₇モチーフを認識する分子が脱殻過程で機能している可能性が高い。結果として、このリン酸化 Ser₁₆-Pro₁₇モチーフを認識する分子として、ペ

プチジルプロリル *cis-trans* 異性化酵素 Pin1 を見出した。さらに、*in vitro* uncoating assay という Pin1 と CA コアのみを用いた CA コアの崩壊実験や siRNA を用いた Pin1 発現抑制実験等により、実際に Pin1 が脱殻過程において機能し、HIV 感染に必須であることを明らかにした。

次に、創薬の観点から、Pin1 による脱殻がどのようにして引き起こされるのかを、本研究室において作製したリン酸化 Ser₁₆-Pro₁₇ 特異的抗体や Pin1 変異体を用いて解析してみると、HIV は CA タンパク質の Ser₁₆-Pro₁₇ モチーフにおいてリン酸化を受けることにより標的細胞内の Pin1 に認識され、Pin1 の *cis-trans* 異性化酵素活性によって Ser₁₆-Pro₁₇ 間のペプチド結合が異性化することで脱殻することが分かった。このような二重の制御機構を採用することで、適切なタイミングでの脱殻が可能となっていると考えられる。したがって、Ser₁₆ をリン酸化するリン酸化酵素や Pin1 が新規の創薬ターゲットとなり得る。

本研究により、新規の創薬ターゲットを見出すことができた。これまでに脱殻過程を標的とした抗 HIV 剤は開発されておらず、脱殻過程を阻害する薬剤が HIV 感染を完全に阻止するというエビデンスを蓄積するために、さらなる検討が必要ではあるが、本研究が抗 HIV/AIDS 治療薬の開発に進歩をもたらしたことは確かである。今後は、候補薬剤のスクリーニングなど脱殻阻害剤の実現に向けた取り組みを行いたい。



Shogo Misumi*, Mutsumi Inoue*, Takeo Dochi, Naoki Kishimoto, Naomi Hasegawa, Nobutoki Takamune, Shozo Shoji

Uncoating of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Requires Prolyl Isomerase Pin1
J. Biol. Chem., **285**, 25185-25195 (2010)

*These two authors contributed equally to this work.