

# 宿主性因子に学ぶ新規抗 HIV 治療戦略開発 -GAPDH による逆転写プライマー取込み阻害-

熊本大学薬学教育部博士後期課程 2 年 岸本 直樹

現在 30 種類を超える抗 HIV 薬が開発され、多剤併用療法の導入により、HIV 感染者の死亡率は大幅に減少した。しかしながら既存薬の多くは、ウイルス性タンパク質を標的としており、HIV 逆転写酵素の精度の低さに起因する薬剤耐性の問題を克服できておらず、また根治療法も確立されていない。このことは、患者は一生薬を続けねばならないという問題だけではなく、医療費や副作用の問題につながり、薬剤耐性を克服する根治療法の確立が求められている。

興味深いことに近年、HIV 複製を制御する宿主性タンパク質が多数同定されている。複製を正に制御する因子としては CD4 や CCR5、CXCR4 などが、負に制御する因子としては APOBEC3G などが有名である。そこで未知の HIV 複製制御因子の探索を試み、HIV 粒子を構成するタンパク質の網羅的な解析によって、多数の宿主性タンパク質を同定し、その中で glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) に着目した。

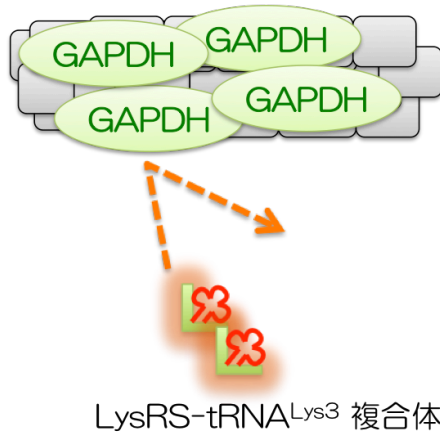
GAPDH は解糖系酵素やハウスキーピングとして有名であるが、多機能タンパク質を示す moonlighting protein として再度注目されているタンパク質である。細胞内ではアポトーシスや転写制御に関わることを報告され、ウイルス学の領域でも A 型や C 型肝炎ウイルスの RNA に結合し感染を阻害することが報告されている。これだけの多機能性を持っていながら HIV 複製制御の報告はされていなかった。

そこでまず、GAPDH が関与する複製ステップの同定を試みた。GAPDH 特異的 siRNA を用い、細胞毒性が無くウイルス産生量等にも影響を与えないレベルでウイルス産生細胞内 GAPDH を減少させることで、ウイルス粒子内に取込まれる GAPDH の量のみを減少させたウイルスを作製した。作製したウイルスの複製効率について各ステップについて検討したところ、逆転写過程以降が増強されており、GAPDH は逆転写過程に関わるという知見を得た。HIV はレトロウイルスに属し、複製の必須ステップとして逆転写反応を要する。この過程は非常に興味深く、プライマーとしてウイルス産生細胞内の tRNA<sup>Lys3</sup> をウイルス粒子内に持込み、ウイルス粒子内で HIV 自身の逆転写酵素によって反応が開始される。GAPDH は HIV 逆転写酵素活性そのものには影響を与えないことを確認したため、GAPDH の取込みを減少させたウイルスの粒子内 tRNA<sup>Lys3</sup> を検出したところ、その増加が見られた。一方で GAPDH の取込み量を増加させたウイルスを作製し同様の検討を行ったところ、ウイルス粒子内 tRNA<sup>Lys3</sup> の量が減少していた。これらの検討により、GAPDH は tRNA<sup>Lys3</sup> の取込みを競合的に阻害することが示された。

さらにこの機構を詳細に解析するため、ウイルス粒子内への tRNA<sup>Lys3</sup> 取込みに関与する因子と GAPDH の関係を調べた。ウイルス粒子内への tRNA<sup>Lys3</sup> 取込み過程の概略を示すが、tRNA<sup>Lys3</sup> は、ウイルス産生細胞内において Lysyl-tRNA synthetase (LysRS) と複合体を形成し、LysRS とウイルス前駆体タンパク質の相互作用を介しウイルス粒子内へ取込まれる。LysRS のウイルス粒子内への取込み量を調べたところ、tRNA<sup>Lys3</sup> 同様、GAPDH の取込み量が減少すると LysRS の取込み量は増加し、GAPDH の取込み量が増加すると LysRS の取込み量は減少していた。さらに、GAPDH とウイルス前駆体タンパク質は相互作用していた。

以上の知見より GAPDH は、ウイルス前駆体タンパク質と相互作用することにより、LysRS-tRNA<sup>Lys3</sup> 複合体とウイルス前駆体タンパク質の相互作用を阻害する負の HIV 複製制御因子である可能性が示された。本知見を新規 HIV 治療戦略に応用するためには、更なる解析によるエビデンスの蓄積が求められるが、これまでに、ウイルス粒子内への tRNA<sup>Lys3</sup> 取込みを阻害する因子についての報告はなく、本研究は HIV 逆転写反応の開始そのものを阻害する新規治療戦略につながると考えられる。今後は、より詳細な GAPDH の持つ tRNA<sup>Lys3</sup> 取込み阻害機構を明らかにしつつ、逆転写反応開始阻害剤の実現につながる研究を行いたい。

#### HIV前駆体タンパク質



#### GAPDHによるtRNA<sup>Lys3</sup>取込み阻害機構

HIV複製において必須となる逆転写反応は、HIV前駆体タンパク質とLysRS-tRNA<sup>Lys3</sup>複合体との相互作用によってウイルス粒子内へ取込まれるtRNA<sup>Lys3</sup>がプライマーとして用いられる。本研究では、GAPDHはウイルス前駆体タンパク質と相互作用することで、ウイルス前駆体タンパク質とLysRS-tRNA<sup>Lys3</sup>複合体の相互作用を阻害することを見出した。

- 1) **Naoki Kishimoto**, Ayano Onitsuka, Keishi Kido, Nobutoki Takamune, Shozo Shoji and Shogo Misumi: Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase negatively regulates human immunodeficiency virus type 1 infection. *Retrovirology*, 9(107), 1-12 (2012)
- 2) **Naoki Kishimoto**, Ayano Onitsuka, Yukihiko Sugimoto, Nobutoki Takamune, Shozo Shoji and Shogo Misumi: Human tRNA<sup>Lys3</sup> incorporation into HIV-1 virions was suppressed by glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase. *The Journal of AIDS Research*, 15, 158-163 (2013)