

HIV-1 脱殻過程に関する薬学生化学的基礎研究

生命薬科学専攻 生命・環境科学講座 薬学生化学分野 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、多くの薬剤がウイルス性タンパク質を標的としているため、HIV-1 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、治療効果の低下も問題となっている。したがって、多くの治療薬が使用できるようになった現在も、常に新しい薬剤開発に対する要求は続いている。最近、細胞性タンパク質である CCR5 を標的とした抗 HIV 剤が臨床で用いられるようになったが、このことは、細胞性因子が薬剤耐性ウイルスの問題を克服する新規の抗 HIV-1 剤の標的となり得ることを示唆している。そこで本研究では、細胞性因子を標的とした薬剤開発に焦点を当て、HIV-1 感染に関与する新規の細胞性因子を見出すために、HIV-1 ライフサイクルの各ステップのうち、最も解明が遅れている脱殻過程に注目した。最近の研究で、HIV-1 の脱殻には何らかの細胞性因子が要求されることが示唆されたが、本研究において、HIV-1 の脱殻には、カプシド(CA)タンパク質と細胞性タンパク質であるペプチジルプロリルイソメラーゼ Pin1 の相互作用が必要であることを明らかにした。したがって、脱殻過程は新規抗 HIV 剤開発のための標的となり得る。

1. 感染性 HIV-1 粒子由来 CA タンパク質の翻訳後修飾とそのウイルス学的意義
感染性 HIV-1 粒子を試料として、二次元電気泳動と質量分析によって CA タンパク質を詳細に解析した結果、HIV-1 の CA コアは等電点の異なるいくつかの CA isoform (pI 6.70, 6.80, 6.91, and 6.95)から構成されていることが分かった。また、そのうちの 1 つの isoform (pI 6.70)が Ser₁₆-Pro₁₇ モチーフの Ser₁₆ において特異的にリン酸化を受けていることを明らかにした。このモチーフの変異ウイルス HIV-1 S16A/P17A は、脱殻過程に障害があり、逆転写反応が進まず感染性をほとんど有しなかった。したがって、リン酸化 Ser₁₆-Pro₁₇ モチーフは HIV-1 の脱殻過程において機能していることが分かった。

2. HIV-1 の脱殻に關与する細胞性因子 Pin1 の同定と Pin1 依存性脱殻過程の分子機構

HIV-1 CA タンパク質のリン酸化部位の配列的特徴から、Pin1 の關与が考えられたため、GST-Pin1 pulldown assay によって Pin1 と CA コアの相互作用を、siRNA による Pin1 ノックダウン細胞への感染実験によって Pin1 の HIV-1 感染への寄与を検討した。その結果、Pin1 はリン酸化 Ser₁₆-Pro₁₇ モチーフを介して CA コアと相互作用し、脱殻過程において機能することで HIV-1 感染の成立に寄与していることが分かった。さらに、HIV-1 粒子から精製した CA コアと組換え Pin1 を用いた *in vitro* uncoating assay によって、Pin1 がリン酸化 Ser₁₆-Pro₁₇ モチーフを介して CA コアに直接結合し、*cis-trans* 異性化反応を触媒することによって、脱殻を引き起こしていることを明らかにした。

3. AIDS 治療薬開発への応用:サル免疫不全ウイルス(simian immunodeficiency virus, SIV)の脱殻過程における Pin1 の役割

SIV において、CA タンパク質の Ser₁₆-Pro₁₇ モチーフは HIV-1 と同様に高度に保存されており、SIV 粒子から精製した CA コアと組換え Pin1 を用いた *in vitro* uncoating assay の結果、SIV の CA コアも Pin1 依存的に脱殻することが分かった。しかしながら、Pin1 ノックダウン細胞や Pin1 阻害剤を処理した細胞への SIV 感染は促進され、Pin1 過剰発現細胞への感染は抑制された。これらの結果は、HIV-1 感染と SIV 感染の脱殻メカニズムは完全には同じではなく、脱殻過程を標的とした抗 HIV 剤の評価は、現在、ワクチンや抗 HIV 剤の評価に用いられている AIDS 霊長類モデルでは困難であることを示唆している。

本研究により、HIV-1 の脱殻には、CA コアのリン酸化とそのリン酸化を介した Pin1 との相互作用が要求されることが明らかになった。したがって、Ser₁₆ をリン酸化するリン酸化酵素や Pin1 は、新規の抗 HIV 剤の標的となり得る。また、本研究は、HIV-1 感染と SIV 感染における脱殻メカニズムの違いを初めて示唆するものであり、脱殻過程を標的とした薬剤開発における HIV を用いた AIDS 霊長類モデルの構築の重要性を示している。