

学位論文抄録

細胞膜流動性を標的とした新規抗 HIV-1 薬の探索
(The screening of novel anti-HIV-1 agents targeting on cell membrane fluidity)

松田幸樹

熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻エイズ先端研究者育成コース

指導教員

岡田 誠治 教授
熊本大学大学院医学教育部博士課程エイズ学Ⅲ

学位論文抄録

【目的】 HIV-1 は宿主細胞のレセプターである CD4 とケモカインレセプターである CXCR4/CCR5 を介して細胞内に侵入することで感染する。現在は多剤併用抗レトロウイルス療法 (cART) が HIV-1 感染症治療に導入され、先進諸国では AIDS による死亡率が顕著に低下し、患者の予後は飛躍的に改善された。しかし、HIV-1 は突然変異を起こしやすく薬剤耐性ウイルスを誘導してしまう。この薬剤耐性の出現に対して、侵入のステップを標的とした薬剤開発が突破口となりうる可能性がある。近年、細胞膜の流動性の変化が HIV-1 感染に影響を及ぼすことが報告されており、ウイルスの細胞侵入における細胞膜の役割が注目されている。2008 年にケモカインレセプター CCR5 を標的としたウイルス侵入阻害薬であるマラビロクが本邦でも認可され、さらなるウイルス侵入阻害剤の開発が進んでいる。HIV-1 感染症において、cART 導入以降 AIDS 発症を抑制し患者の予後は改善されたが、薬剤耐性ウイルスの出現が効果的な治療の妨げとなっている。なぜなら、現在臨床で用いられている cART は主にウイルス側を標的としており、唯一、ウイルス侵入阻害薬として宿主細胞の受容体である CCR5 を標的としたマラビロクが認可されている。しかし、マラビロクは R5 指向性 HIV-1 にのみ効果的で X4 指向性 HIV-1 には有効ではないという弱点がある。したがって、これまでの薬剤とは作用機序の異なる薬剤の開発が必須となっている。このウイルス侵入を制御することができれば、その後のウイルス複製に至るまでの全てのイベントを止めることが可能である。そこで本研究では、HIV-1 感染の最初のステップであるウイルス侵入過程に着目し、宿主細胞の細胞膜をターゲットとした新たな治療薬の探索を目的とした。第 1 章では既に臨床で用いられており、安全性が確立されている Cefaranthin (CEP) の抗 HIV-1 効果を検討した。第 2 章では細胞膜流動性に影響を与えることが報告されている人口脂質膜 Hybrid liposome (HL) を用いて HIV-1 感染症に与える影響を検討した。第 3 章では白血病細胞に効果を示すことが報告されている新規抗腫瘍薬 GUT-70 の抗 HIV-1 効果を検討した。

【方法】 蛍光偏光解消法により各薬剤の細胞膜流動性に与える影響を検討した。次に HIV-1 エンベロープ蛋白 (Env) を発現させた細胞株 (293T Env-GFP) と対照となる T 細胞株 (TZM-bl) を共培養し、合胞体形成における各薬剤の効果を蛍光顕微鏡観察により検討した。また、HIV-1 エンベロープ蛋白 (Env) を発現した T 細胞株 (Jurkat_{HXBc2}, Jurkat_{522FY}) と対照となる T 細胞株 (MOLT4) を蛍光色素 (PKH26, 67) で各々染色後、共培養し、細胞融合における各薬剤の効果をフローサイトメトリー解析と蛍光顕微鏡観察により検討した。さらに、フローサイトメトリーを用いた細胞内 p24 (Gag 蛋白) 染色法と p24 ELISA、Real-time PCR 法により、HIV-1 感染及びウイルス産生における効果を検討した。

【結果】 第 1 章では、CEP が細胞膜流動性を低下させ、CEP 前処理により HIV-1 感染及び細胞融合が濃度依存的に抑制されることが明らかになった。第 2 章では、HL が細胞膜流動性を亢進させ、HIV-1 感染及び細胞融合を促進させることが明らかになった。第 3 章では、GUT-70 が細胞膜流動性を低下させ、HIV-1 受容体の発現を低下させることで HIV-1 感染及び細胞融合を抑制することが明らかになった。

【考察】 これらの 3 つの薬剤による HIV-1 感染に対する効果をまとめると、細胞膜流動性を低下させる CEP 及び GUT-70 は顕著に HIV-1 の細胞内侵入を抑制し、細胞膜流動性を増加させる HL は HIV-1 の細胞内侵入を促すことが示唆された。

【結論】 本研究は宿主細胞膜を標的とした新たな治療アプローチの可能性を示し、ウイルス側を標的とした既存の抗 HIV-1 薬による薬剤耐性ウイルスの出現という問題を克服する。