

# 松田幸樹氏の学位論文審査の要旨

## 論文題目

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)

多剤併用抗レトロウイルス療法 (cART) の導入により、HIV-1 感染によるエイズ発症は劇的に減少した。一方、HIV-1 は変異を起こしやすく、cART 下での薬剤耐性ウイルスの出現が臨床上の課題となっている。その為、HIV-1 の受容体の一つ CCR5 を標的にした、マラビロク等の侵入阻害薬が開発されてきた。しかし、マラビロクは侵入過程において CCR5 とは異なる受容体 CXCR4 を利用する HIV-1 には有効ではなく、更なる研究開発が必要となっている。

そこで本研究では、HIV-1 感染の最初の過程であるウイルス侵入に着目し、特に、宿主細胞の細胞膜流動性を標的とした新たな治療薬の探索を目的とした。具体的には、cepharanthine (アルカロイド製剤)、hybrid liposome (人工脂質膜) 及び GUT-70 (三環系クマリン構造を有する天然有機化合物) の3種類について、それらの HIV-1 感染/複製と細胞膜流動性に及ぼす効果、並びに2つの効果の間の関連を解析した。

HIV-1 複製は末梢血単核球等を用い、ELISA やフローサイトメトリー法等で評価され、細胞融合は T 細胞株 Jurkat 等を用い、蛍光顕微鏡での観察等で評価された。細胞膜流動性の変化は T 細胞株 MOLT4 等を用い、蛍光偏光解消法で評価された。

まず、cepharanthine について解析した所、細胞毒性を示さない濃度 (1~5  $\mu\text{g/ml}$ ) に於いて、産生 HIV-1 量の減少が認められ、実際、HIV-1 感染による細胞同士の合胞体・融合形成を阻害した。そして、cepharanthine は細胞膜流動性を有意に低下させた。GUT-70 についても同様の結果が得られた。つまり、GUT-70 は HIV-1 感染を抑制し、細胞膜流動性を低下させた。GUT-70 については実際に、HIV-1 受容体の細胞表面における発現を低下させる事も確認された。

一方で、hybrid liposome は上述の薬剤とは正反対の結果を示した。細胞毒性を示さない濃度 (100  $\mu\text{M}$ ) に於いて、cepharanthine や GUT-70 とは異なり、産生 HIV-1 量の増加及び HIV-1 感染による細胞同士の合胞体・融合形成の促進が認められ、一方では細胞膜流動性の亢進が認められた。更に、hybrid liposome は脂質ラフトのクラスター形成も促進した。

以上の結果から、細胞膜を低下させる薬剤 (cepharanthine 及び GUT-70) は HIV-1 感染を抑制し、一方、細胞膜流動性を亢進させる薬剤 (hybrid liposome) は HIV-1 感染を促進する事が明らかとなり、標的細胞の細胞膜流動性と HIV-1 感染効率が関連する可能性が示された。

審査の過程に於いては、(1) 細胞膜流動性の生理的意義、制御メカニズム、NF- $\kappa$ B 経路活性化との関連、測定法の原理、(2) hybrid liposome が細胞膜流動性を亢進する機序、がん細胞 apoptosis 誘導能との関連、脂質ラフト (リン脂質) のクラスター形成変化との関連、(3) 用いた薬剤が HIV-1 の吸着・侵入のどちらに影響を与えたか、(4) GUT-70 が抑制する HIV-1 感染過程、ウイルス株により効果が異なる理由、HIV-1 受容体の細胞表面発現を抑制する理由、(5) 細胞膜流動性変化の HIV-1 感染以外の細胞機能に及ぼす影響、HIV-1 複製と感染細胞融合の関係について、(6) 細胞膜流動性を低下させる薬剤の、抗 HIV-1 薬としての応用における課題、等について質疑がなされたが、申請者からは概ね適切な回答や考察がなされた。

本研究は、3種類の異なる作用機序の薬剤を用いて、HIV-1 標的細胞の細胞膜流動性と HIV-1 感染効率が関連する可能性を示したものである。将来的に宿主細胞の細胞膜の流動性を標的にした治療のアプローチにつながる可能性も考えられ、学位論文に相応しいと判断された。

審査委員長 エイズ学 IV 担当教授

鈴木 伸也