京都大学	博士（医学）	氏　名	泉　和樹
論文題目	DESIGN OF PEPTIDE-BASED INHIBITORS FOR HIV-1 STRAINS RESISTANT T0 T-20 (T-20 耐性 HIV-1 に対するペプチド基盤阻害薬の設計)		

（論文内容の要旨）

Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) が宿主細胞膜と融合する際、ウイルス膜タンパクである gp120、gp41 が重要な働きをしている。gp120 は宿主細胞の CD4 とケモカイン受容体を認識することにより gp41 の構造変化を促す。gp41 にはα-helix 構造をとる amino-terminal heptad repeat (N-HR)、carboxyl-terminal heptad repeat (C-HR) 領域が存在し、それぞれの 3 量体が 6-helix bundle 構造を形成する。この 6-helix bundle が膜間の距離を密接にすることで細胞とウイルスの融合が起こる。また、gp41 アミノ酸配列由来のペプチドは融合阻害効果を有することが知られている。

gp41 C-HR 由来ペプチドである T-20 は欧米において臨床応用されている融合阻害薬であり HIV-1 感染患者に著効を示すが既に耐性 HIV-1 も出現し大きな問題となっている。T-20 に対して高度耐性を付与する責任変異として N-HR に存在する変異、N43D が挙げられるが、N43D に対する代償変異 S138A は C-HR 領域に同定されている。一方、C-HR 由来ペプチド C34 によって誘導した耐性 HIV-1 の耐性機構解明において、C-HR N126K 変異が N-HR との親和性向上に関与することが明らかになっている。

最初に S138A が代償変異として HIV-1 複製能に及ぼす影響について検討を行った。その結果、S138A は N43D によって減弱した HIV-1 複製速度を著明に改善させることからアラニンへの置換が感染性の維持に合理的な変異であることが明らかになった。さらに、T-20 配列中の S138 を代償変異であるアラニン及び他のアミノ酸に置換したペプチドは gp41 N-HR に対する結合性を変化させると考え、T-20$_{S138X}$ (X; 置換アミノ酸) ペプチドを作製し、それらの抗 HIV-1 活性を Multinuclear activation of β-galactosidase indicator (MAGI) assay により、N-HR との結合能を circular dichroism により検討した。T-20 耐性 HIV-1 に対して T-20$_{S138A}$、T-20$_{S138L}$ ペプチドは若干の感受性低下を示すものの T-20 と比較して感染を効果的に阻害した。N-HR の代表ペプチド N36 と、C-HR を代表するペプチド C34、S138 を置換した C34$_{S138X}$ の親和性を求めると、C34$_{S138A}$、C34$_{S138L}$ は C34 よりも強固な N36 との結合能を示し、N43D を導入した N36 (N36$_{N43D}$) との検討においても同様の結果が得られた。また、N43D と同等の T-20 耐性度を示す V38A を導入した N36$_{V38A}$ においても同様の結果が得られ、これらの融解温度と抗 HIV-1 活性には相関性が認められた。さらに、C34 耐性変異 N126K を導入した C34$_{N126K}$ ペプチドが C34 耐性ウイルスに有効であることも明らかとなった。

C-HR 内のアミノ酸変異を利用した融合阻害ペプチドは、N-HR との結合増強により強力な抗 HIV-1 活性を発揮し有用な治療薬となりうることが示唆された。

（論文審査の結果の要旨）

ヒト免疫不全ウイルス(HIV)gp41 の C 末端 heptad repeat(C-HR)由来ペプチドである T-20 は臨床応用されている融合阻害薬である。しかし、耐性、HIV も出現しており新たな治療薬の開発が望まれている。今回、T-20 に対する耐性変異 S138A、及び他のアミノ酸への置換(S138X)を導入した T-20$_{s138x}$ ペプチドを作製し抗 HIV 活性について検討を行った。

T-20 耐性 HIV に対して T-20$_{s138A}$、T-20$_{s138L}$ は若干の感受性低下を示すものの T-20 と比較し感染を効果的に阻害した。N 末端 HR(N-HR)代表ペプチド N36 と、C-HR 代表ペプチド C34、S138 を置換した C34$_{s138x}$ の親和性を求めると、C34$_{s138A}$、C34$_{s138L}$ は強固な N36 との結合能を示し、V38A、N43D を導入した N36 との検討においても同様の結果が得られた。

これらの融解温度と抗 HIV 活性には相関性が認められた。さらに、C34 耐性変異 Nl26K を導入した C34$_{N126K}$ ペプチドが C34 耐性 HIV に有効であることも明らかにした。

耐性変異を利用した融合阻害ペプチドは、N-HR との結合増強により強力な抗 HIV 活性を発揮し有用な治療薬となりうる。

以上の研究は薬剤耐性変異を応用した薬剤開発を提唱し、AIDS 治療薬への新規薬剤デザインに寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成 21 年 2 月 5 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降