

氏 名	徐 又 農
学位(専攻分野)	博 士 (医 学)
学 位 記 番 号	医 博 第 2313 号
学位授与の日付	平 成 13 年 3 月 23 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研 究 科 ・ 専 攻	医 学 研 究 科 内 科 系 専 攻
学 位 論 文 題 目	1. 題目 Marked Increase in Anti-HIV Activity, as well as Inhibitory Activity against HIV Entry Mediated by CXCR4, Linked to Enhancement of the Binding Ability of Tachypleisin Analogs to CXCR4. (Tachypleisin 誘導体における抗 HIV 活性と HIV 侵入の阻害活性の増強は、これらの誘導体の CXCR4 に対する結合活性の上昇に起因する) 徐 又農, 玉村啓和, 新垣理恵子, 中島秀喜, 張 曉燕, 藤井信孝, 内山 卓, 服部峻夫 2. 公表の方法・時期 平成11年3月発行。AIDS Research and Human Retroviruses. 第15巻419—427頁掲載 (主 査) 教 授 速 水 正 憲 教 授 石 本 秋 稔 教 授 松 岡 雅 雄
論文調査委員	

論文内容の要旨

HIV の侵入には CD4 分子と共にケモカイン受容体が必要であり、主にマクロファージに感染する HIV 株 (M-tropic) は CC ケモカイン受容体 CCR5 を、主に T 細胞に感染する株 (T-tropic) は CXC ケモカイン受容体 CXCR4 をその受容体としている。CCR5 の生理的リガンドである CC ケモカイン RANTES, MIP- α , MIP-1 β は CCR5 と結合して M-tropic ウイルスの侵入を阻害する。一方, CXCR4 の生理的リガンドである CXC ケモカイン SDF-1 α は CXCR4 と結合して T-tropic ウイルスの侵入を阻害する。SDF-1 α の結晶構造解析により、逆平行 β シートと表面上に帯電した正電荷が, CXCR4 の負電荷をもつ細胞外ループとの結合に重要な役割を有することが報告されている。これらの知見から、ケモカイン誘導体、低分子ケモカイン受容体アンタゴニスト、ケモカインと類似の構造又は正電荷をもつアゴニストは、HIV 感染症の治療において、有効な薬剤になる可能性が示唆される。

T22 はアメリカ産カブトガニの **polypemusin II** に由来する CXCR4 アンタゴニストであり、強力な抗 HIV 作用を持つ物質である。以前、構造活性相関研究において、T22 の内側の S-S ループを含む四つのアミノ酸残基 (Cys^{8,13}, Tyr^{9,12}) は、T22 の二次構造及び抗 HIV 活性に関与しないこと、また強力な正電荷が T22 の毒性に寄与していることが明らかにされた。これらのことから、T22 を低分子化することによって、薬剤としての有用性を向上させられる可能性が考えられた。

そこで、T22 の活性増強、低分子化を図るために様々な化学修飾（例えば電荷の軽減）を行った低分子アナログ（14残基）を含む6個のT22アナログを合成した。また、コントロールとして2個の天然型ペプチドを合成した。このうち、全ての低分子ペプチド（14残基；TW70, T131, T134, T140）が、他の17或いは18残基のペプチドよりも高い selectivity index (CC50 と EC50 の比率) を示した。特に T134 及び T140 は、MT-4 細胞に対して低い細胞毒性を示したと同時に HIV 感染に対して高い抗ウイルス活性を示した。T22 とそのアナログの感染阻害の様式を明らかにするために、我々は、単周期複製アッセイ（ルシフェラーゼアッセイ）、すなわち異なるエンベロープを有するシュードタイプウイルスを用いて CXCR4 または CCR5 を有する U87 細胞を CD4 を介して感染させる測定系を用いて解析した。全てのアナログが T-tropic 株 HXB-2 (X4) 及び dual-tropic 株 89.6 (R5X4) の CXCR4 を介した感染を抑制したが、M-tropic 株 ADA (R5) 或いは 89.6 の CCR5 を介した感染に対しては全く効果がなかった。さらに T134 (IC₅₀ 2.70nM) 及び T140 (IC₅₀ 0.432nM) による抑制作用は、T22 (C₅₀ 5.05nM) よりも強力だった。T134 及び T140 は、抗 CXCR4 モノクローナル抗体 12G5 のリンパ腫由来 T 細胞株 Sup-T1 への結合を T22 よりも効果的に阻害した。以上より T22 及びそのアナログ T134 及び T140 による抑制作用は、CXCR4 に対する特異的な結合によるものであり T134 及び T140 による抗 HIV 活性

の増強は、これら物質の CXCR4 に対する結合能の強化に起因すると考えられた。以上のことから、これらの物質の解析は非ペプチド化へ向けた薬剤設計に重要な情報を与え、今後 CXCR4 インヒビターの開発、実用化、HIV 感染症の治療に役立つものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

本学位申請者はアメリカ産カプトガニの polyphemusin II に由来する CXCR4 アンタゴニストである T22 とその誘導体の抗 HIV 活性を解析し、その阻害機序に関して検討した。

T22 の活性増強、低分子化を図るために低分子アナログ（14残基）を含む6個の T22 アナログを合成した。全ての低分子ペプチド（TW70, T131, T134, T140）が17或いは18残基のペプチドよりも高い選択係数を示し T134 及び T140は MT-4 細胞に低い細胞毒性を示すと共に HIV に対して高い抗ウイルス活性を示した。全てのアナログが CXCR4 を介した HIV 感染を抑制したが、CCR5 を介した感染には全く効果がなかった。T134 及び T140 による抑制作用は、T22 よりも強力であるとともに抗 CXCR4 モノクローナル抗体の結合を T22 よりも効果的に阻害した。以上より T22 及びそのアナログ T134 及び T140 による抑制作用は、CXCR4 に対する特異的な結合によるものであり T134 及び T140 における抗 HIV 活性の増強は CXCR4 に対する結合能の強化に起因すると考えられた。これら解析は非ペプチド化へ向けた薬剤設計に重要な情報を与え CXCR4 インヒビターの開発、HIV 感染症の治療に役立つものと考えられる。

以上の研究は CXCR4 結合阻害による抗 HIV 剤の作用機序の解明に貢献し今後の抗 HIV 薬開発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。なお本学位申請者は、平成12年12月12日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。