

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：新規抗 HIV 治療開発にむけたシード化合物の創製および薬剤耐性機序の解明研究
2. 研究開発代表者：岩谷 靖雅（(独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター）
3. 研究開発の成果

HIV 感染症治療において治療薬剤の進歩により感染者の予後は飛躍的に改善されたが、完全治癒には至っておらず新たな治療薬の開発・改良が求められている。そこで、本研究班では、新規作用機序をもつ抗HIV薬の開発に繋がるシード化合物を輩出するとともに、既存薬に対する薬剤耐性分子機序を解明することにより既存薬の新たな改良策を提示する学術的基盤を構築するために研究を行った。実存の構造データの裏付けと精度の高い構造学データに基づくアプローチを特色とし、4項目の研究開発項目（1と2がシード化合物探索のための創薬研究、3と4が薬剤耐性機序の解明）に取り組んだ。以下、初年度の成果概要を項目ごとに報告する。

### 1) Vif阻害剤の探索研究

HIV-1 Vifについて変異体解析および構造学的解析によりVif機能の新規標的部位を精査し、*in silico* 創薬技術を活用して低分子化合物および候補ペプチドのデザインを進めた。一方で、候補分子のスクリーニング系を構築した。まず、高純度な Vif/CBF-beta/ElonginB/C /Cullin-5 タンパク質の5者複合体およびAPOBEC3CおよびAPOBEC3FのC末側ドメイン、APOBEC3G（完全長）タンパク質を発現・精製し、これまで技術的に困難であったAPOBEC3の試験管内ユビキチン化再構築系を確立した。これにより、Vif阻害剤評価系のプラットフォームを構築することに成功した。

### 2) RNaseH阻害剤の創薬研究

HIV-1の持つRNaseH酵素活性部位に注目し、独自に開発を進めている候補化合物NACME誘導体とRNaseH(RT)の分子結合様式を明らかにし、さらなる合成展開のための基盤を構築するために研究を行った。初年度は、RNaseH阻害剤を評価するハイスループット系により、これまで合成蓄積した化合物の活性再評価を行い、構造活性相関を明らかにした。RNaseHと活性化化合物との共結晶を作出し、X線構造解析より結合様式を明らかにする研究を進めた。標的となるRNaseHについては、発現・精製したタンパク質を高純度で得られるようになった。共結晶を作成する実験を進め、結晶条件の検討を行った。さらに、細胞毒性を考慮する上で、ヒト由来のRNaseH1タンパク質の発現・精製を進め、候補化合物による阻害評価系を作製した。

### 3) CCR5阻害剤への薬剤耐性変異と抗体感受性変化に伴う構造学的拘束性の解明研究

CCR5 阻害薬への耐性と中和抗体感受性の因果関係を明らかにすることを目的として、CCR5 阻害薬 Cenicriviroc (CVC)や中和抗体に耐性をもつウイルスを誘導し、組換えウイルスの解析によって耐性に重要な Env 領域を同定した。その結果、CVC、中和抗体への耐性には Env の V3 が重要で、CVC 耐性には C2-V5 の変異も必要であった。抗体あるいは CVC のどちらかに抵抗性を示すと、他方に感受性になった。CCR5 阻害薬 CVC と中和抗体への耐性が両立し難いことは、CCR5 阻害薬と中和抗体の組み合わせが、耐性株出現の抑制に有効であること可能性を支持する結果が得られた。

### 4) インテグラーゼ阻害剤(INSTI)に対する薬剤耐性出現の構造学的分子機序の解明研究

HIV-1 サブタイプBを対象に、インテグラーゼ領域の遺伝的多型が及ぼすINSTIに対する主要耐性変異への影響について解析した。その結果、主要なINSTI耐性関連変異を有する治療群症例では、S119における多型頻度に顕著な違いが認められた。さらに、感染実験からS119G/P/Tは薬剤耐性に寄与していないが、S119Rは耐性を有意に増強することが明らかになった。耐性ウイルス出現予測システムの強化につながり、INSTIに対する薬剤耐性変異の出現を考慮した創薬研究に貴重な情報のひとつになると考えられる。