

## 平成 27 年度 全体研究開発報告書

1. 研究開発領域：画期的医薬品等の創出をめざす脂質の生理活性と機能の解明
2. 研究開発課題名：病原体による宿主脂質ハイジャック機序の解明と創薬への応用
3. 研究開発代表者：花田賢太郎（国立感染症研究所 細胞化学部）
4. 研究開発の成果

感染症は人類の大きな脅威であるが、ウイルス感染症の多くには有効な治療薬がない。ヒトに重篤な感染症を引き起こす複数の病原体は、宿主細胞内での脂質輸送を担う脂質輸送タンパク質（lipid transport protein; LTP）をハイジャックすることにより、宿主の脂質を優先的に利用していることが、我々の最近の研究から浮かび上がってきた。そこで本研究開発では、病原体が宿主細胞の脂質を利用する分子メカニズムを解明するとともに、その利用過程を阻害する薬剤を開発することを目指した。

本年度は最終四半期からの研究開始ということも鑑み、本課題内容の二つの柱である「病原体による宿主脂質ハイジャック機序の解明」と「病原体による宿主脂質ハイジャック機序の創薬への応用」とを 28 年度以降に効率よく研究展開できるように様々な準備的実験を行った。

一つ目の柱である「病原体による宿主脂質ハイジャック機序の解明」の成果は以下のとおりである。【1】セラミド輸送タンパク質 CERT、四リン酸アダプタータンパク質 1 (four-phosphate-adaptor protein 1; FAPP1)、オキシステロール結合タンパク質 (oxysterol binding protein; OSBP) の持つプレクストリン相同 (PH) ドメインはホスホイノシチドの中でもホスファチジルイノシトール 4 モノリン酸 (phosphatidylinositol 4-monophosphate; PI4P) を選択的に結合することが知られているが、これら三種類の PH ドメインの中で CERT の PH ドメインのみが偏性細胞内寄生細菌クラミジアの封入体膜タンパク質 IncD に結合することを生化学的に明らかにした。【2】自律複製する C 型肝炎ウイルス (HCV) ゲノムレプリコンを保持する細胞株 (SGR 細胞) の破碎液から浮揚法にて膜分画を得、HCV 複製複合体が含まれていると考えられている膜様ウェブ (membranous web) を電顕観察することができた。【3】風疹ウイルスの感染には細胞のスフィンゴ脂質が主に感染初期に重要な役割を果たすことを明らかとした。【4】Vero 細胞は、アフリカミドリザル腎臓から樹立された不死化細胞であり、多様なウイルスや細菌性毒素に高い感受性を持つことから、微生物学研究に汎用されてきた。ヒトゲノムの編集ツールであるヒト CRISPR ライブラリが Vero 細胞に適用できるか否かを検討するために志賀毒素耐性の獲得を指標としたゲノムワイド変異獲得試験を行う予定であり、本年度はその準備を行った。

一方、二つ目の柱である「病原体による宿主脂質ハイジャック機序の創薬への応用」の成果は以下のとおりである。【5】本研究ユニット外との連携で開発中の新規 CERT 阻害剤候補化合物がスフィンゴミエリン生合成に与える影響を培養細胞レベルにおいて解析し、本化合物がさらなる最適化を行うのに相応しいシード化合物であることを見出した。【6】OSBP の細胞内局在を変化させる活性を持つ化合物をこれまでに同定された抗ポリオウイルス化合物群の中から見出した。この化合物は OSBP を分子ターゲットとする抗ポリオウイルス剤の候補になると期待される。【7】スフィンゴ脂質生合成の初発段階を担う酵素・セリンパルミトイル転移酵素の阻害剤や CERT の阻害剤による処理で風疹ウイルスへの培養細胞の感染が抑制されることを明らかにした。さらに、【8】本研究課題に使用する構造生物学的解析システムを作成するため、試料調製体制の確立、および、開発解析体制の整備を設定した。そして、CERT PH ドメインをモデルとしたテスト実験の結果、NMR を中心とした手法開発に注力すべきであることも分かった。