

MEK/ERK signaling cascade を介する HIV 脱殻過程の分子制御に関する研究

創薬・生命薬科学専攻 環境分子保健学分野 堂地赴生

HIV 感染症は世界三大疾患の一つであり、HIV 感染症の制圧は国際的な公衆衛生の向上に不可欠である。多剤併用療法 cART の導入により HIV 感染症の生命予後は劇的に改善したが、未だ HIV を体内から完全に排除することはできない。結果として、薬剤耐性ウイルスの出現、治療の長期化による副作用などの問題が生じている。私は HIV タンパク質を標的とした既存の治療戦略からあえて逸脱し、HIV 複製にとって必須の宿主-HIV タンパク質間の相互作用を阻害する新規抗 HIV 剤の開発を試みている。これまでに私の所属している研究室では感染過程に必須な HIV capsid (CA) core の崩壊(脱殻)に CA の 16 番目の Ser 残基 (Ser¹⁶)特異的なリン酸化が関与し、細胞性因子 peptidyl-prolyl *cis-trans* isomerase Pin1 と相互作用し脱殻することを明らかとしている。しかしながら、CA Ser¹⁶ をリン酸化する kinase は明らかとなっていなかった。本研究では、CA Ser¹⁶ をリン酸化する kinase の同定、kinase を標的とした新規抗 HIV 剤の探索に取り組んだ。

1. HIV CA Ser¹⁶ 特異的なリン酸化機構の解明

これまでに私の所属している研究室は、CA Ser¹⁶ のリン酸化は HIV 粒子内で生じることを報告している。そこで HIV 出芽後の HIV PR による Pr55 の Processing 過程に注目し、CA Ser¹⁶ のリン酸化機構を検討した。その結果、HIV 粒子内において HIV CA リン酸化 Ser¹⁶ は Pr55 の intermediates で生じることが分かった。さらに、*in vitro* kinase assay により、CA Ser¹⁶ 特異的リン酸化を担う kinase が ERK2 であることを同定した。CA Ser¹⁶ のリン酸化は HIV 粒子内で生じることから、ERK2 は HIV 粒子内に取込まれる必要がある。そこで、CD45 depletion による HIV 粒子の精製法及び電子顕微鏡法を用いることで、実際に HIV 粒子内に ERK2 が取込まれることを確認した。次に、ERK2 knockdown による HIV 感染初期過程における影響を検討したところ、ERK2 knockdown により逆転写及び組込み過程が低下した。

2. ERK2-HIV CA 相互作用を標的とした脱殻阻害剤の開発

ERK2 による CA Ser¹⁶ リン酸化機構が創薬ターゲットとなりうると考え、ERK2 阻害剤を用いた HIV 感染初期過程への影響を検討した。ERK2 阻害剤 sc-222229 を HIV 持続感染細胞に処理し、得られた HIV 粒子に関して検討を行ったところ、粒子内 CA Ser¹⁶ のリン酸化が低下し、逆転写及び組込み過程が低下した。HIV 感染性の低下は、CA Ser¹⁶ の Pin1 依存的な脱殻過程が抑制されることに起因すると考え、*in vitro* uncoating assay を行い、ERK2 阻害剤処理により Pin1 依存的な脱殻過程が低下することを明らかにした。

本研究から、HIV 粒子内に取込まれた ERK2 が Pr55 の processing 過程でリン酸化を生じ、ERK2 の取込みを抑制することで、ウイルス粒子内の CA Ser¹⁶ リン酸化量が減少し、Pin1 依存的な脱殻が抑制されることを見出した。さらに、ERK2 阻害剤を用いることで、ウイルス粒子内の ERK2 signaling cascade が制御する HIV 感染を低下することができた。これらの知見は ERK2 signaling cascade 介した脱殻機構を阻害する新規抗 HIV 剤の開発に繋がり、国内外の公衆衛生向上に寄与できると考えられる。