

学位論文抄録

多剤耐性HIV-1に高い活性を示す
bicyclic ligandを有する新規プロテアーゼ阻害剤の研究
(Novel HIV-1 protease inhibitors, containing bicyclic ligand,
potent against multi-drug-resistant HIV-1)

井手 一彦

熊本大学大学院医学教育部博士課程臨床医科学専攻血液内科学

指導教員

満屋 裕明 教授
熊本大学大学院医学教育部博士課程医学専攻血液内科学

学位論文抄録

[目的] HIV に対する化学療法は長足の進歩を遂げたが、HIV の薬剤耐性獲得への対応が大きな課題であり、耐性獲得に対して高い genetic barrier を有する薬剤の開発が求められている。そのような状況下、多剤耐性 HIV にも高い活性を示すプロテアーゼ阻害剤として Darunavir (DRV) が 2006 年に FDA に認可され、本邦でもファーストラインの治療薬として用いられているが、DRV に対しても耐性を示す HIV が出現し治療抵抗性となる症例が報告されているのも事実である。そこでより有用かつ有効な薬剤開発をめざし、強いプロテアーゼ阻害 (PI) 能を有する四つの新規化合物をデザイン、合成、同定し、既存のプロテアーゼ阻害剤に耐性を示すウイルスに対する抗ウイルス活性及びプロテアーゼ二量体形成阻害 (PDI) 活性を比較検討した。

[方法] MT-2 細胞を用いた MTT assay と PBMC、MT-4 細胞を用いた p24 assay にて抗 HIV 活性を測定、PDI 活性を fluorescence resonance energy transfer (FRET)-based HIV expression system で分析した。多剤耐性 HIV に対して高い抗ウイルス活性を示した二つの新規化合物に関しては、低濃度存在下で野生株 HIV-1_{NL4-3} または複数の多剤耐性 HIV-1 混合株を MT-4 細胞に感染させ、徐々に化合物濃度を高めていくことで耐性ウイルスを誘導し、耐性ウイルスのプロテアーゼ領域に存在するアミノ酸変異を解析した。併せて構造モデリングを行い、それら二つの化合物とプロテアーゼの結合様式を比較検討した。

[結果] 今回同定した四つの新規化合物は野生株である HIV-1_{LAI} に対して強力な活性を示すことを MT-2/MTT assay で確認した。*bis*-tetrahydrofuryl urethane (*bis*-THF) 構造と macrocyclic 構造を有する GRL-0888 は EC₅₀: 5.1 nM, CC₅₀: 34.6 nM で、かつ PDI 活性を示したが、その異性体である GRL-0878 (EC₅₀: 2.3 nM) の PDI 活性は-0888 のそれに比して劣っていた。他方 *bis*-THF 構造とは異なる polycyclic ligand である tetrahydropyrano-tetrahydrofuran (Tp-THF) を有する GRL-1388, -1398 も高い抗ウイルス活性を示し (EC₅₀: 3.6 nM, 0.2 nM)、CC₅₀ は 100 μM 以上、37.8 μM と低毒性であった。いずれの化合物も、複数の多剤耐性臨床分離株に対して高い活性を示したが、特に GRL-1398 は DRV よりも強力であった (EC₅₀: 0.3~4.8 nM)。試験管内耐性誘導実験では RTV、APV と比較して GRL-1388, -1398 に対する HIV-1 の耐性獲得は遅延した。構造モデリングでは Tp-THF がプロテアーゼ酵素活性中心部位 (Asp29, Asp30) の主鎖との間に複数の水素結合を形成していた。

[考察] 同定した四つの新規化合物はいずれも HIV-1_{LAI} に対し高い活性を示し、細胞毒性は既存のプロテアーゼ阻害剤と同等またはそれ以下であったが、GRL-1388, -1398 は多剤耐性臨床分離株に対してもその高い抗ウイルス活性を維持し、特に-1398 の EC₅₀ は野生株、大部分の多剤耐性臨床分離株、DRV 耐性株いずれにおいても DRV の 10 分の 1 程度であったことから、抗 HIV 活性は DRV と同程度またはそれ以上と考えられた。構造モデリングにて、プロテアーゼとの間に形成される水素結合、疎水性相互作用が GRL-1398 で-1388 や DRV よりも多いことが判明し、このことが-1398 の高い抗ウイルス活性に寄与するのではないかと考えられた。

[結論] DRV の *bis*-THF 構造とは異なる新規リガンド Tp-THF や macrocyclic 構造を有するこれら複数の新規化合物は、プロテアーゼ酵素活性阻害と PDI の双方を有していた。今回報告した化合物の解析を進めることは多剤耐性 HIV-1 に有用な薬剤の開発に寄与するものと考えられる。