

令和 3 年 5 月 26 日現在

機関番号：12602

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22488

研究課題名(和文) HIV感染症・エイズの根治を目指した潜伏感染を標的とする新規治療法の開発

研究課題名(英文) Development of new therapies targeting latent infection for a radical cure of HIV infectious diseases and AIDS

研究代表者

玉村 啓和 (Tamamura, Hirokazu)

東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・教授

研究者番号：80217182

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：タンパク質リン酸化酵素C (PKC) 活性化剤であり、HIV潜伏感染再活性化作用(Kick作用)を有するジアシルグリセロールラクトン誘導体(DAG-lactone)等を合成した。また、蛍光共鳴エネルギー移動(FRET)を基盤としたPKC結合活性の簡便な評価法を確立した。この評価法を活用し、新規の有用なKick作用を有するPKC活性化剤を創出した。

さらに、DAG-lactone誘導体とプロテアーゼ阻害剤ritonavirのconjugate化合物を創製した。これは、薬物が到達した細胞内でKick作用によりHIVを産生させ、その場でプロテアーゼ阻害剤により死滅させる次世代の治療薬候補品である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在の抗ウイルス療法では感染者の体内からHIVが完全に排除されることはなく、潜伏感染細胞の存在が問題である。このような状況下、HIV感染者がもつ潜伏感染細胞を活性化させて治療する方法(Kick & Kill)が治癒を目指す治療法として期待されている。そこで、申請者の開発したDAG-lactone誘導体は腫瘍プロモーター活性を持たないPKC活性化剤であり、これを用いて、潜伏感染細胞からHIVを再活性化し(Kick)、抗HIV剤で新規感染を阻害する(Kill)ことは合理的である。さらに、ハイブリッド分子は、PKC活性化剤と抗HIV剤が同一細胞に作用するので学術的及び社会的意義が高い。

研究成果の概要(英文)：Diacylglycerol (DAG)-lactone derivatives, which are activators of protein kinase C (PKC) and HIV latency-reversing agents (compounds with kick function), were developed. In addition, a simple evaluation method for PKC ligands based on fluorescence resonance energy transfer (FRET) was established. Using this method novel useful PKC activators with kick function were developed.

Furthermore, conjugate compounds of a DAG-lactone derivative and an HIV-1 protease inhibitor, ritonavir, were developed. These conjugate compounds are candidate drugs for next generation therapy, which produce HIV-1 by kick function of a DAG-lactone derivative and kill HIV-1 by the protease inhibitor in the same cells.

研究分野：創薬化学

キーワード：タンパク質リン酸化酵素C HIV潜伏感染再活性化作用 kick and kill ジアシルグリセロールラクトン 蛍光共鳴エネルギー移動 プロテアーゼ阻害剤 conjugate化合物

1. 研究開始当初の背景

後天性免疫不全症候群、エイズ(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)を引き起こす免疫不全ウイルス(HIV)の発見から30年以上が経過した現在、多くの抗HIV剤が開発され、HIV感染症・AIDSの治療は飛躍的に進歩した。しかし、いずれの抗ウイルス療法をもってしても感染者の体内からHIVが完全に排除されることはなく、完治には至らない。すなわち、治癒に至る治療法が見つかっていない。HIV感染症・エイズを根治できない主な原因として、細胞内に潜伏し、新たなHIV粒子をほとんど外に排出しないHIV潜伏感染細胞が存在することがあげられる。最近、HIV感染者がもつ潜伏感染細胞の減少・駆除を目的として免疫賦活剤を用いて潜伏感染細胞を活性化させて治療する方法(Kick & Kill)が治癒を目指す治療法として期待されている。この場合、免疫賦活剤のみでは感染細胞から産生したウイルスを阻害できないために抗HIV剤との併用が必須となる。しかし、現在までに、抗HIV剤と免疫賦活剤の併用における有用な組み合わせが決まっておらず、ウイルス複製の抑制と潜伏感染細胞の減少を同時に評価できるアッセイ系も報告されていない。

2. 研究の目的

最近、タンパク質リン酸化酵素C(PKC)の活性化剤であるインゲノール誘導体 PEP005 が潜伏感染細胞からのHIVの再活性化作用を有することが報告された。この再活性化作用は、PKCの活性化によりNF-kappaBが活性化され、プロウイルスDNAの転写が亢進し、新しいウイルス粒子が出芽してくることによる。申請者は、以前からPKC活性化剤を探索しており、PKCの天然リガンドであるジアシルグリセロール(DAG)の環化誘導体であるDAG-lactoneのシリーズが高いPKC活性化作用を有することを見出している。DAG-lactone誘導体は天然のDAGの構造を基にしているため、フォルボールエステルのような腫瘍プロモーター活性を持たないというメリットがある。また、研究協力者の前田は、潜伏感染状態のモデル細胞系を用いて残存ウイルスDNA減少(潜伏感染細胞の再活性化)とウイルス産生抑制(新規感染ブロック)を並行して検定する評価系の構築に成功している。そこで、本評価系を用いて、DAG-lactone誘導体 YOK058E と各種抗HIV剤(HIVプロテアーゼ阻害剤 darunavir、HIVインテグラーゼ阻害剤 dolutegravir、逆転写酵素阻害剤 tenofovir)との併用を検討したところ、YOK058E はいずれも併用効果(潜伏感染細胞の再活性化と新規感染ブロック、すなわち Kick & Kill)が見られた。しかし、生体への応用を考えた場合、潜伏感染細胞からのウイルスの放出は危険であり、PKC活性化剤と抗HIV剤が同一細胞に作用し、潜伏感染細胞でウイルスDNAを転写させると同時に新ウイルス粒子の形成を阻害することが望ましいと考えられる。そこで、本研究では、PKC活性化剤と抗HIV剤とのハイブリッド分子を創製し、潜伏感染細胞に作用し、細胞内で2剤が解離し、ウイルスDNAを転写させると同時に抗ウイルス作用でブロックすることを考えた。ハイブリッド形成させる3種の抗HIV剤では、翻訳後に作用するプロテアーゼ阻害剤が有効と思われる、これらの比較も行う。

3. 研究の方法

1. DAG-lactoneとHIVプロテアーゼ阻害剤とのハイブリッド分子の創製

潜伏感染細胞からのHIVの再活性化作用の検定試験において最も良い結果を与えたDAG-lactone誘導体 YOK058E と HIVプロテアーゼ阻害剤である darunavir とのハイブリッド分子を合成する。YOK058Eのgamma-lactone環のgamma位から延びている一級ヒドロキシ基上にリンカーを導入し、darunavirのヒドロキシエチルアミン部位の二級ヒドロキシ基上にリンカーを導入する。両者を繋ぐリンカーはグルタルイミド形成により解離する構造を有する。得られたハイブリッド分子に関して、細胞質中の条件下で、ハイブリッド分子を構成する各薬剤の遊離速度を解析する。また、抗HIV活性およびHIV慢性感染細胞系を用いた潜伏感染細胞除去能を評価する。当初の計画通りに有用なハイブリッド分子が得られない場合は、他のプロテアーゼ阻害剤の検討や、リンカーの長さや種類、架橋部位を変えた化合物を合成する。

2. DAG-lactoneとHIVインテグラーゼ阻害剤あるいは逆転写酵素阻害剤とのハイブリッド分子の創製

上述の1.と同様に、DAG-lactone誘導体 YOK058E と HIVインテグラーゼ阻害剤である dolutegravir、あるいは逆転写酵素阻害剤である tenofovir とのハイブリッド分子を合成し、2剤の遊離速度解析および生物活性試験を行う。また、計画通りに行かない場合の検討も同様に行う。上述のプロテアーゼ阻害剤とのハイブリッド分子と効果を比較、検討する。

研究体制については、ハイブリッド分子の合成、各構成薬剤の遊離速度解析、それぞれにおいて研究代表者の下に研究協力者を1名ずつ、代表者の研究室の小早川助教と野村准教授を配置し、各テーマ2名ずつの大学院生を置き、研究の効率的な推進を図る。なお、抗HIV活性試験および潜伏感染細胞除去能の試験については、それぞれ他機関の研究協力者に依頼するが、常時、連絡を取り合っている。

4. 研究成果

PKC 活性化剤であり、Kick 作用を有する DAG-lactone 等を合成した。また、蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を基盤とした PKC 結合活性の簡便な評価法を確立した。この評価法を活用し、新規の有用な Kick 作用を有する PKC 活性化剤を創出した。さらに、DAG-lactone 誘導体とプロテアーゼ阻害剤 ritonavir の conjugate 化合物を創製した。これは、薬物が到達した細胞内で Kick 作用により HIV を産生させ、その場でプロテアーゼ阻害剤により死滅させる次世代の治療薬候補品である。

現在の抗ウイルス療法では感染者の体内から HIV が完全に排除されることはなく、潜伏感染細胞の存在が問題である。このような状況下、HIV 感染者がもつ潜伏感染細胞を活性化させて治療する方法(Kick & Kill)が治癒を目指す治療法として期待されている。そこで、申請者の開発した DAG-lactone 誘導体は腫瘍プロモーター活性を持たない PKC 活性化剤であり、これを用いて、潜伏感染細胞から HIV を再活性化し(Kick)、抗 HIV 剤で新規感染を阻害する(Kill)ことは合理的である。さらに、ハイブリッド分子は、PKC 活性化剤と抗 HIV 剤が同一細胞に作用するので学術的及び社会的意義が高いと考えられる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計12件（うち査読付論文 12件／うち国際共著 6件／うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Matsuda Kouki, Kobayakawa Takuya, Tsuchiya Kiyoto, Hattori Shin-ichiro, Nomura Wataru, Gatanaga Hiroyuki, Yoshimura Kazuhisa, Oka Shinichi, Endo Yasuyuki, Tamamura Hirokazu, Mitsuya Hiroaki, Maeda Kenji	4. 巻 294
2. 論文標題 Benzolactam-related compounds promote apoptosis of HIV-infected human cells via protein kinase C γ -induced HIV latency reversal	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Biological Chemistry	6. 最初と最後の頁 116 ~ 129
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1074/jbc.RA118.005798	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Matsuda Kouki, Kobayakawa Takuya, Kariya Ryusho, Tsuchiya Kiyoto, Ryu Shoraku, Tsuji Kohei, Ishii Takahiro, Gatanaga Hiroyuki, Yoshimura Kazuhisa, Okada Seiji, Hamada Akinobu, Mitsuya Hiroaki, Tamamura Hirokazu, Maeda Kenji	4. 巻 12
2. 論文標題 A Therapeutic Strategy to Combat HIV-1 Latently Infected Cells With a Combination of Latency-Reversing Agents Containing DAG-Lactone PKC Activators	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Frontiers in Microbiology	6. 最初と最後の頁 636276 ~ 636276
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fmicb.2021.636276	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する
1. 著者名 Kobayakawa Takuya, Yokoyama Masaru, Tsuji Kohei, Fujino Masayuki, Kurakami Masaki, Boku Sayaka, Nakayama Miyuki, Kaneko Moemi, Ohashi Nami, Kotani Osamu, Murakami Tsutomu, Sato Hironori, Tamamura Hirokazu	4. 巻 11
2. 論文標題 Small-Molecule Anti-HIV-1 Agents Based on HIV-1 Capsid Proteins	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Biomolecules	6. 最初と最後の頁 208 ~ 208
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/biom11020208	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kobayakawa Takuya, Tsuji Kohei, Konno Kiju, Himeno Ai, Masuda Ami, Yang Tingting, Takahashi Kohei, Ishida Yusuke, Ohashi Nami, Kuwata Takeo, Matsumoto Kaho, Yoshimura Kazuhisa, Sakawaki Hiromi, Miura Tomoyuki, Harada Shigeyoshi, Matsushita Shuzo, Tamamura Hirokazu	4. 巻 64
2. 論文標題 Hybrids of Small-Molecule CD4 Mimics with Polyethylene Glycol Units as HIV Entry Inhibitors	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 1481 ~ 1496
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.jmedchem.0c01153	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsuji Kohei, Wang Rongyi, Kobayakawa Takuya, Owusu Kofi Baffour-Awuah, Fujino Masayuki, Kaneko Moemi, Yamamoto Naoki, Murakami Tsutomu, Tamamura Hirokazu	4. 巻 30
2. 論文標題 Potent leads based on CA-19L, an anti-HIV active HIV-1 capsid fragment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 115923 ~ 115923
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2020.115923	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kobayakawa Takuya, Ebihara Kento, Tsuji Kohei, Kawada Takuma, Fujino Masayuki, Honda Yuzuna, Ohashi Nami, Murakami Tsutomu, Tamamura Hirokazu	4. 巻 28
2. 論文標題 Bivalent HIV-1 fusion inhibitors based on peptidomimetics	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 115812 ~ 115812
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2020.115812	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kobayakawa Takuya, Takano Hikaru, Ishii Takahiro, Tsuji Kohei, Ohashi Nami, Nomura Wataru, Furuta Toshiaki, Tamamura Hirokazu	4. 巻 18
2. 論文標題 Synthesis of hydrophilic caged DAG-lactones for chemical biology applications	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 4217 ~ 4223
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0ob00807a	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsuji Kohei, Owusu Kofi Baffour-Awuah, Kobayakawa Takuya, Wang Rongyi, Fujino Masayuki, Kaneko Moemi, Yamamoto Naoki, Murakami Tsutomu, Tamamura Hirokazu	4. 巻 28
2. 論文標題 Exploratory studies on CA-15L, an anti-HIV active HIV-1 capsid fragment	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 115488 ~ 115488
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2020.115488	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kobayakawa Takuya, Ebihara Kento, Honda Yuzuna, Fujino Masayuki, Nomura Wataru, Yamamoto Naoki, Murakami Tsutomu, Tamamura Hirokazu	4. 巻 20
2. 論文標題 Dimeric C34 Derivatives Linked through Disulfide Bridges as New HIV 1 Fusion Inhibitors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ChemBioChem	6. 最初と最後の頁 2101 ~ 2108
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/cbic.201900187	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sakyiamah Maxwell M., Nomura Wataru, Kobayakawa Takuya, Tamamura Hirokazu	4. 巻 30
2. 論文標題 Development of a NanoBRET-Based Sensitive Screening Method for CXCR4 Ligands	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioconjugate Chemistry	6. 最初と最後の頁 1442 ~ 1450
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.bioconjchem.9b00182	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Sakyiamah Maxwell M., Kobayakawa Takuya, Fujino Masayuki, Konno Makoto, Narumi Tetsuo, Tanaka Tomohiro, Nomura Wataru, Yamamoto Naoki, Murakami Tsutomu, Tamamura Hirokazu	4. 巻 27
2. 論文標題 Design, synthesis and biological evaluation of low molecular weight CXCR4 ligands	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 1130 ~ 1138
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2019.02.013	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Kobayakawa Takuya, Konno Kiju, Ohashi Nami, Takahashi Kohei, Masuda Ami, Yoshimura Kazuhisa, Harada Shigeyoshi, Tamamura Hirokazu	4. 巻 29
2. 論文標題 Soluble-type small-molecule CD4 mimics as HIV entry inhibitors	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 719 ~ 723
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmcl.2019.01.011	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 前田 賢次, 松田 幸樹, Mohammad Saiful Islam, 服部 真一郎, 土屋 亮人, 湯永 博之, 玉村 啓和, 吉村 和久, 岡 慎一, 満屋 裕明, 佐藤 賢文
2. 発表標題 HIVリザーバー細胞を標的とする新規治療法開発に向けた研究
3. 学会等名 第29回抗ウイルス療法学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松田 幸樹, 小早川 拓也, 土屋 亮人, 服部 真一郎, 湯永 博之, 吉村 和久, 岡 慎一, 遠藤 泰之, 玉村 啓和, 満屋 裕明, 前田 賢次
2. 発表標題 HIV潜伏感染再活性化を介してリザーバー細胞にアポトーシスを誘導するPKC活性化剤の同定
3. 学会等名 第67回 日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松田 幸樹, 服部 真一郎, 土屋 亮人, 小早川 拓也, 湯永 博之, 吉村 和久, 岡 慎一, 遠藤 泰之, 玉村 啓和, 満屋 裕明, 前田 賢次
2. 発表標題 HIV再活性化に伴うアポトーシス誘導能を用いたHIVリザーバー除去に資する新たな Shock & Kill療法の可能性
3. 学会等名 第33回日本エイズ学会学術集会・総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 42.石井 貴大, 小早川 拓也, 松田 幸樹, 吉村 和久, 辻 耕平, 満屋 裕明, 前田 賢次, 玉村 啓和
2. 発表標題 HIV感染症の根治へ向けたプロテインキナーゼC活性化剤の創製
3. 学会等名 日本薬学会第140年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関