

新規概念による HIV ワクチンの創製および抗エイズ薬の開発

2. HIV 侵入の動的超分子機構を模倣した立体構造特異的人工抗原分子の創製

東京医歯大生材研 野村 渉、中原 徹、橋本 知恵、相馬 晃、田中 智博、鳴海 哲夫、○玉村 啓和
シンガポール大 Yong Loo Lin 医学科 大庭 賢二、山本 直樹

第 36 回反応と合成の進歩シンポジウム. 愛知, 2010 年 11 月 1-2 日.

【はじめに】

毎年種々の抗 AIDS 薬が開発され、数種の逆転写酵素阻害剤やプロテアーゼ阻害剤を組み合わせて使用する多剤併用療法(HAART)が AIDS の治療に効果的であり、薬を飲み続ければ AIDS は死なない病のようになってきた。しかし、一生投薬を続ける必要があり、高額な治療費を要し、耐性ウイルスの出現等の問題もある。AIDS の問題が深刻な発展途上国では、高額な治療を受けることが難しいことから、以前一旦は開発を断念した HIV ワクチンの開発に再度目が向けられている。我々は新しい作用点である感染の初期過程の膜融合に注目し、HIV ワクチンを開発することを目指した。

【方法・結果】

膜融合は HIV 側と宿主細胞側の表面蛋白質が複雑に相互作用する動的超分子機構を介して成立する。

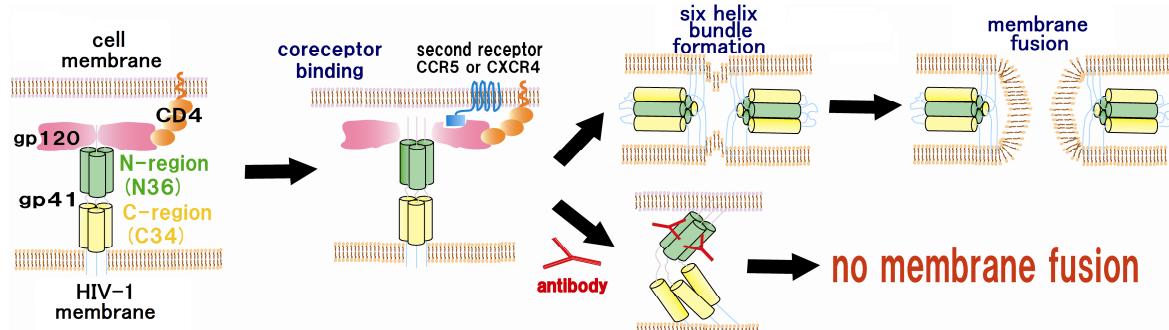
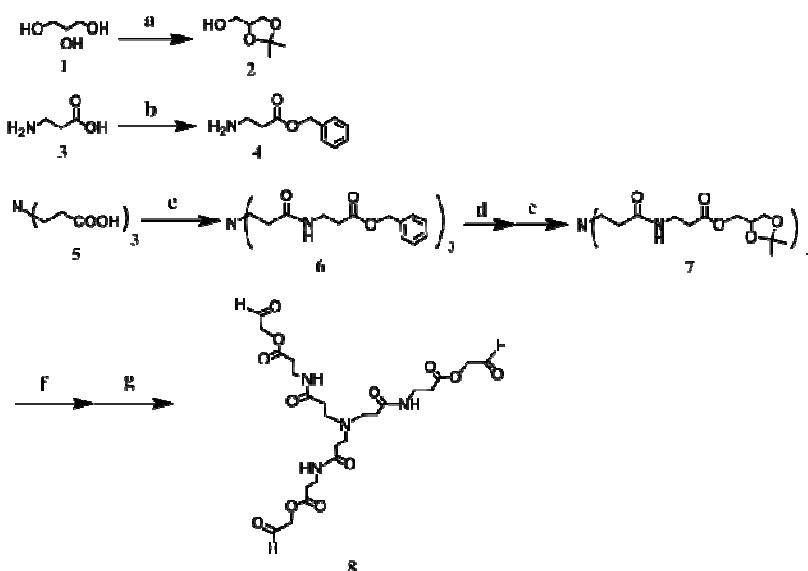


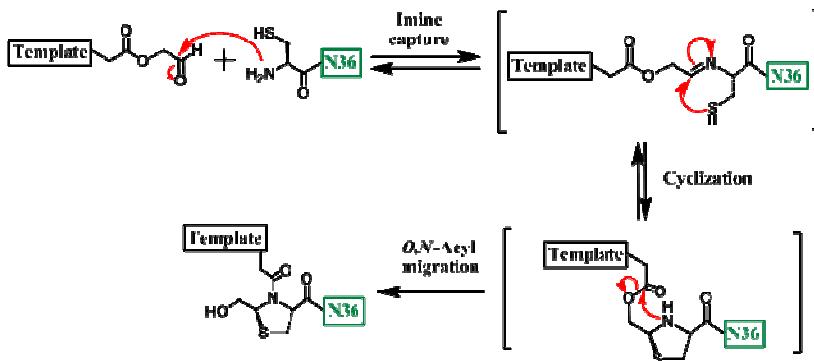
Figure 1. Membrane fusion and its inhibition by antibodies recognizing the trimeric form of N36.



Scheme 1. Synthesis of the equivalently-branched template 8. (a) acetone, I_2 ; (b) $Bn-OH$, $TsOH-H_2O$, toluene; (c) 4, EDCI-HCl, HOBT- H_2O , NEt_3 , DMF; (d) 10% Pd/C , H_2 , $MeOH$; (e) 2, EDCI-HCl, DMAP, CH_2Cl_2 ; (f) 80% TFA aq; (g) $NaIO_4$, H_2O , $MeOH$.

HIV-gp41 の helix 領域にある N36 3 量体構造は感染初期過程の膜融合で重要な働きをする。そこで、N36 の 3 量体構造を特異的に認識する抗体を誘導するための抗原分子を合成すれば、誘導された抗体により膜融合及び感染を阻害することができる(図 1)。そのため、抗原分子として N36 の 3 量体を化学合成した。まず、3 量体構造をとりやすいように 3 本の全く等価なリンカーを持つ低分子の C3 対称 template を合成した(Scheme 1)。さらに、固相法により合成した N36

由来のペプチドの N 末端 Cys と template の glycoaldehyde ester を thiazolidine ligation (Scheme 2)¹ によって template 上に全く等価な 3 量体



Scheme 2. The reaction mechanisms of thiazolidine ligation utilized for assembly of N36 peptides on the template.

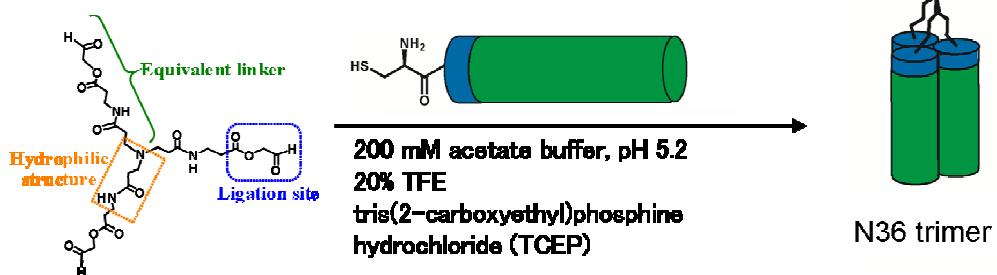


Figure 2. Conjugation of three N36 peptides using thiazolidine ligation to construct the trimeric form of N36.

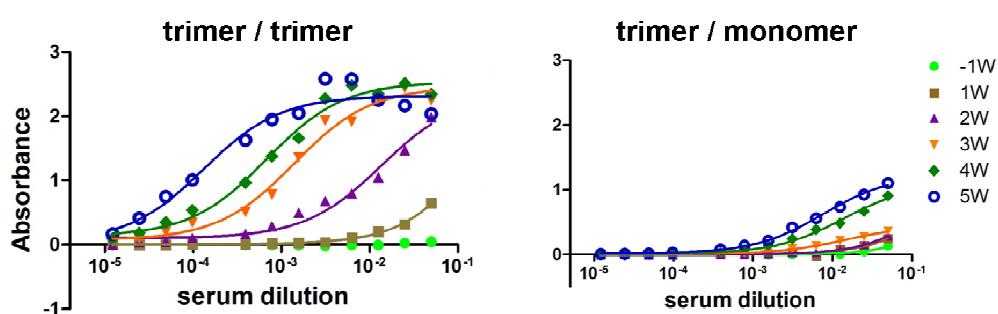


Figure 3. Serum titers of antibodies produced by the N36 trimeric antigen against the N36 trimer (left) and against the N36 monomer (right).

この血清は単量体免疫から得られた血清よりも高い中和活性(抗 HIV 活性)を示した。²

【考察】

独自に合成した 3 本の等価なリンカーを持つ低分子の C3 対称 template 上に全く等価な 3 量体ペプチドを集積した HIV 抗原分子を合成することに成功した。また、最近になって HIV-1 感染者のメモリー B 細胞から得られた抗体が抗原構造認識能を有し、強い中和活性を有することが Burton らによって報告された³ことからも立体構造特異的抗体を誘導する抗原分子デザインは HIV ワクチンとして有効であると考えられる。

【参考文献】

- 1) Liu, C. F., Tam, J. P. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 6584-6588 (1994); Tam, J. P., Miao, Z. *J. Am. Chem. Soc.* **121**, 9013-9022 (1999)
- 2) Nakahara, T. et al. *Bioconjugate Chem.* **21**, 709-714 (2010)
- 3) Walker, L. M. et al. *Science* **326**, 285-289 (2009)

ペプチドを集積した抗原分子を合成することに成功した(Figure 2)。合成した人工抗原分子の CD スペクトル測定を行った。その結果、3 量体では単量体よりも α -ヘリックス性が増加することが明かになり、新規低分子テンプレート上での N36 3 量体構造の形成が示唆された。また、C34 と混合させると α -ヘリックス性が増加した。C34 3 量体は膜融合過程において N36 3 量体と相互作用し 6 量体を形成することが知られており、合成した抗原分子は天然の構造を反映していることが示された。マ

ウスを用いた免疫実験では抗体誘導

が確認された。3 量体型抗原から得られた血清では N36 単量体よりも N36 3 量体に対する抗体価が高いことから、3 量体構造を特異的に認識する抗体が誘導されていることが示された(Figure 3)。さらに、