

# ペプチド化学を基盤とした抗 HIV 剤の創製

東京医科歯科大学生体材料工学研究所メディシナルケミストリー分野 教授  
玉村 啓和

ペプチドは重要な生体構成分子の一つであり、様々な生理活性を有する。ペプチドを基に創薬展開することができれば、安全性が高く、微量で強力な薬効を有する医薬品の開発が期待できる。しかし、加水分解性や凝集性などが障壁となり、ペプチドを医薬品(とくに経口投与)へ直結させることは困難なこともある。そこでペプチドが有する生理活性や機能を保持したまま、ペプチドの欠点を克服するペプチドミメティックスの活用が期待されている。これまでにペプチドの一次構造や二次構造、さらに高次構造を模倣したペプチドミメティックスが多数開発され、創薬研究において広く用いられている。こういったペプチドおよびペプチド誘導体は分子サイズの、高分子や低分子化合物が有する長所を併せ持ち、さらに、これらが有する短所を補う中分子化合物として創薬の期待が大きい。本講演では著者らが長年行ってきた抗 HIV 剤の創製<sup>1)</sup>において、これらのペプチドミメティックスを積極的に活用した研究内容について紹介したい。

## 1. 環状ペプチド—コレセプターCXCR4 阻害剤の創製

我々は 1989 年ころからカブトガニの血球由来の防御ペプチド polyphemusin の構造活性相関研究を精力的に行い、T22 という 18 残基からなる侵入阻害ペプチドを見出した。のちに、T22 はコレセプターである CXCR4 のアンタゴニストであることが証明され<sup>2)</sup>、構造最適化により 14 残基からなる強力な CXCR4 アンタゴニスト活性を示す T140 を見出した<sup>3)</sup>。その生体内安定性を向上させた T140 誘導体は現在、臨床試験(phase II)中である<sup>4)</sup>。また、T140 のファルマコフォアを環状ペプチド上に再配置することにより、FC131 を創出した(Fig. 1)<sup>5)</sup>。また、これら T140 や FC131 にアルケン型ジペプチドイソスターを導入した誘導体を合成し、一次構造のミメティックス化も行った<sup>6-8)</sup>。

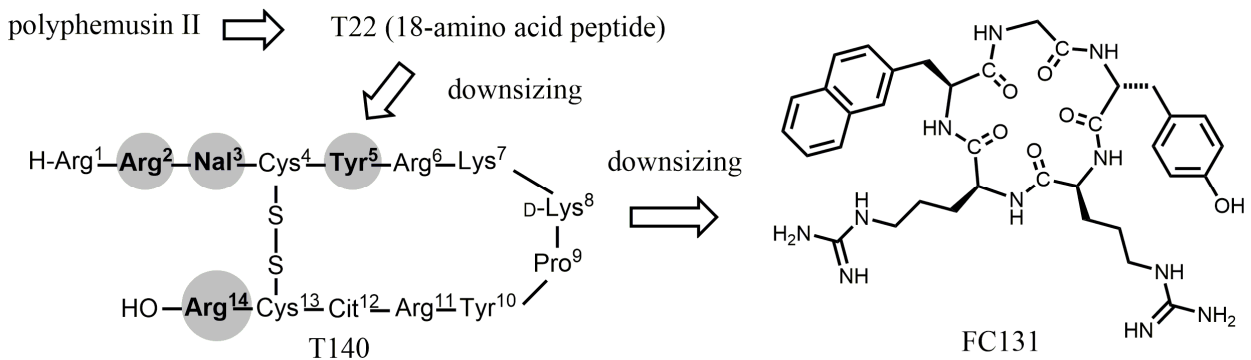


Fig. 1. Development of CXCR4 Antagonists Based on Horseshoe Crab Peptides. Nal = L-3-(2-naphthyl)alanine, Cit = L-citrulline. Ball: indispensable residue of T140.

## 2. 二次構造(ヘリックス)ミメティックス—インテグラーゼ阻害剤の創製

HIV-1 の遺伝子産物由来のペプチドライブラリーから抗 HIV 活性を指標にスクリーニングするという手法を用い、Vpr の部分ペプチドからインテグラーゼ(IN)阻害活性を有する化合物を見出した<sup>9,10)</sup>。この得られた IN 阻害ペプチドに細胞膜透過性を持たせるため、ステイプル化を行った。近年、ペプチドの二次構造を安定化させるステイプルペプチドが報告されている。ステイプルペプチドは、分子内の 2 個のオレフィン部位を Grubbs 触媒による閉環メタセシスにより架橋することで合成することができる(Fig. 2)<sup>11)</sup>。天然のペプチドと比べ、ステイプルペプチドは、ペプチドのヘリックス性、安定性、細胞膜透過性、生体内安定性等の向上が報告されており、新しいペプチド医薬として期待されている。合成したステイプルペプチドは元の直鎖状ペプチドに比べ、ヘリックス性が顕著に向上していた。また、いくつかのステイプルペプチドは細胞膜透過作用を示し、また、高い抗 IN 活性および抗 HIV 活性を示した。このように、ステイプル化という二次構造のミメティック化により、Vpr 由来部分ペプチドのヘリックス性、安定性、細胞膜透過性、抗 HIV 活性等の向上に成功し、有用なインテグラーゼ阻害剤を創出することができた<sup>12)</sup>。

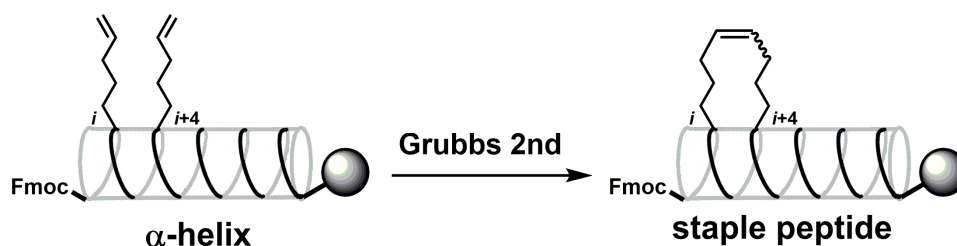


Fig. 2. Ring-closing Metathesis (RCM) on Resins. After RCM, the  $N^\alpha$ -Fmoc group is deprotected, and then deprotection of side-chain protecting groups and cleavage from resins are performed. Ball: Resin.

## 3. 高次構造ミメティックス—ワクチンと膜融合阻害剤

HIV の宿主細胞への侵入の際、gp120(HIV 外被タンパク)—CD4—コレセプターの複合体が形成されると、gp120 の内側に隠れていたホモ三量体の gp41(もうひとつの HIV 外被タンパク)が宿主細胞膜にアンカリングし、その後 gp41 の HR1(NHR, N-region)領域と HR2(CHR, C-region)領域の会合による 6 ヘリックスバンドルの形成を経て、ウイルスと宿主細胞の膜が融合する。この膜融合をターゲットとして、ペプチドミメティックスの合成技術を活用し、新規  $C_3$  対称性テンプレートを用いて、gp41 の HR1 領域と HR2 領域の人工設計型三量体を創製した(Fig. 3)<sup>13-16)</sup>。これらをマウスに免疫すると、gp41 の立体構造を特異的に認識する中和抗体を誘導することができ、ワクチンとして有望であることを示した。また、HR2 領域の三量体に関しては阻害剤としても単量体より活性が飛躍的に上昇することを見出した。このように、三量体化という高次構造のミメティックス化により、gp41 由来の有用な人工抗原分子および膜融合阻害剤を創出することができた。

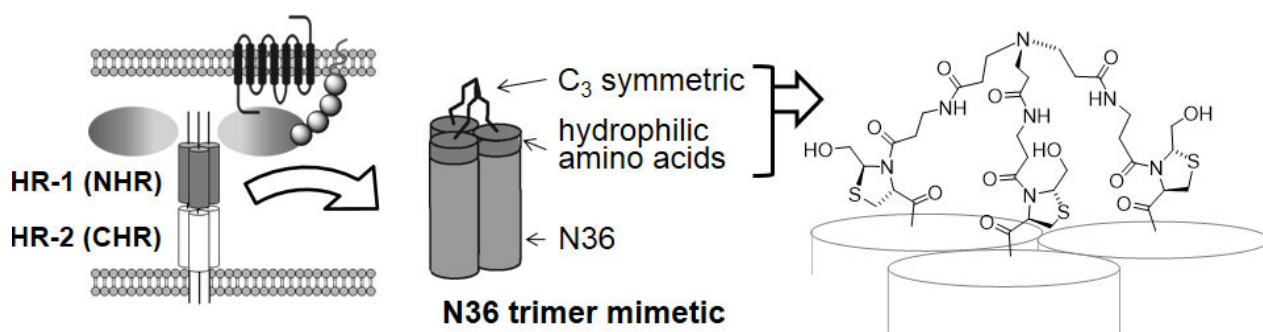


Fig. 3. Development of an Artificial N36 Trimer Mimic Using a C<sub>3</sub>-Symmetric Template.

また我々は、大きな高次構造の必要な部位(gp120—CD4 間の相互作用に関わる部位)だけ抽出して、CD4 ミミックを創製した<sup>17-19)</sup>。この CD4 ミミックは、HIV 侵入阻害剤としての作用を有するとともに、CD4 ミミックによる gp120 の構造変化に伴い、コレセプター結合領域や CD4-induced site を認識する中和抗体の効果を増強する作用を有することも見出した。このように、タンパク質—タンパク質間の相互作用をターゲットとして、高次構造の一部だけをミメティックス化することも可能である。

以上、我々は種々の抗 HIV 剤の創製を行っており、これらはカクテル療法を考えた抗 AIDS 薬の創製に有用であると思われる。ペプチドと医薬品の橋渡しをするペプチドミメティックスは、中分子創薬の研究においてより大きな役割を果たすことを期待したい。

#### 参考文献

1. Hashimoto, C., et al. *Expert Opin. Drug Discov.*, 6(19), 1067-1090 (2011)
2. Murakami, T., et al. *J. Exp. Med.*, 186(8), 1389-1393 (1997)
3. Tamamura, H., et al. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 253(3), 877-882 (1998)
4. Tamamura, H., et al. *Org. Biomol. Chem.*, 1, 3663-3669 (2003)
5. Fujii, N., et al. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 42, 3251-3253 (2003)
6. Tamamura, H., et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 12, 923-928 (2002)
7. Tamamura, H., et al. *J. Med. Chem.*, 48, 3280-3289 (2005)
8. 鳴海哲夫、玉村啓和「生化学」特集号「ペプチド科学と生化学の接点」(日本生化学会 東京)、82 巻、6 号、頁 515-523、2010 年
9. Suzuki, S., et al. *J. Med. Chem.*, 53(14), 5356-5360 (2010)
10. Suzuki, S., et al. *Bioorg. Med. Chem.*, 18(18), 6771-6775 (2010)
11. Schafmeister, C. E., et al. *J. Am. Chem. Soc.*, 122, 5891-5892 (2000)
12. Nomura, W., et al. *ACS Chem. Biol.*, 8(10), 2235-2244 (2013)
13. Nakahara, T., et al. *Bioconjugate Chem.*, 21(4), 709-714 (2010)
14. Nomura, W., et al. *ChemMedChem*, 7(2), 205-208 and 546 (2012)
15. Hashimoto, C., et al. *Bioorg. Med. Chem.*, 20(10), 3287-3291 (2012)
16. Nomura, W., et al. *Bioorg. Med. Chem.*, 21(15), 4452-4458 (2013)
17. Yamada, Y., et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 20(1), 354-358 (2010)
18. Yoshimura, K., et al. *J. Virol.*, 84(15), 7558-7568 (2010)
19. Narumi, T., et al. *Bioorg. Med. Chem.*, 21(9), 2518-2526 (2013)