

58. 構造機能的アプローチによる HIV 複製メカニズムの基本原理解明

国立国際医療研究センター研究所ウイルス構造機能研究部 テニユアトラック
部長

町田 晋一

概要

多剤併用療法（cART）により HIV 感染の制御は可能となったが、ウイルスの完全排除には至らず、新規作用機序に基づく治療戦略の確立が求められている。本研究では、HIV-1 粒子を用いた無細胞複製系を構築し、クライオ電子顕微鏡解析およびナノポアシーケンスを統合することで、キャプシド内部で進行する逆転写過程の解析を試みた。その結果、逆転写が時間依存的に進行することを高効率で再現するとともに、プラス鎖合成が不連続的に進行する新たなモデルを提唱した。さらに、インテグレーション部位選択の中心的役割を果たす宿主因子 CPSF6 がキャプシド格子に沿って結合しつつ逆転写を許容することを示し、キャプシドの核内動態との機能的関連を示唆した。また、キャプシド阻害剤 Lenacapavir が格子曲率を平坦化させ、逆転写酵素の内包不全を引き起こすことで感染性粒子形成を阻害する機構を明らかにした。これらの成果は、HIV 複製の統合理解と創薬基盤の確立に寄与することが期待される。

背景および目的

cART により HIV 感染者のエイズ発症は大きく抑制可能となったが、ウイルスの完全排除には至らず、ワクチンも未だ実現していない。このため感染者は生涯にわたり抗 HIV 薬の継続的投与を必要とする。さらに、治療効果の維持には高い服薬率が求められ、副作用や長期投与による負担も大きい。また、薬剤耐性ウイルスが高頻度で出現することから、既存薬とは異なる作用機序を持つ新規抗 HIV 薬の開発が不可欠である。そのためには、HIV 複製サイクルの各過程を分子レベルで精密に理解する必要がある。HIV では、ゲノム RNA が円錐形キャプシド内で逆転写され、その後キャプシドの崩壊とともにウイルス DNA が宿主クロマチンへと統合されるが、これら一連の反応がどのように連続的かつ協調的に進行するかについては未解明な点が多い。特に、従来の細胞生物学的解析により個々の因子の挙動は明らかになってきたものの、キャプシド内部で進行する複製ダイナミクスの統合的理解には至っていない。そこで本研究では、無細胞 HIV-1 複製系を構築し、クライオ電子顕微鏡による構造解析と生化学的解析を統合することで、キャプシド内で進行する逆転写からコア崩壊、核内移行に至る連続的過程を包括的に可視化・解明し、新規治療戦略の創出に資する基盤の確立を目指した。

方法

HIV 複製反応を連続的かつ機能的条件下で再現するため、HIV-1 粒子を用いた無細胞複製システムを試験管内に構築した。特にキャプシド内で進行する逆転写反応に着目し、反応効率および再現性を向上させた無細胞逆転写系を確立した。これにより、逆転写反応の進行を時間分解的に追跡可能とした。さらに、ナノポアロングリードシーケンス解析を用いて逆転写産物を網羅的かつ長鎖レベルで解析し、反応中間体の構造的特徴を評価した。加えて、逆転写の場となるキャプシド複合体についてクライオ電子顕微鏡による構造解析を行い、その構造変化

と機能との関連を統合的に解析した。これらの手法を組み合わせることで、キャプシド内部で進行する HIV-1 複製過程の動態を解明することを目指した。

結果および考察

本研究では、精製 HIV-1 粒子を用いた無細胞逆転写反応系を確立した。本系において、逆転写産物は時間依存的に増加し、細胞内感染時と同様の時間順序で高効率に進行することを確認した。また、逆転写阻害剤 Nevirapine (NVP) の添加により反応産物はバックグラウンドレベルまで低下し、本系が特異的な逆転写反応を再現していることが示された。さらに、本解析系とナノポアロングリードシーケンスを組み合わせることで、従来モデルとは異なり、DNA 複製のラギング鎖合成に類似した不連続的なプラス鎖合成が生じることを示唆する新規モデルを見出した。この知見は、感染細胞においても同様に観察されており (Wang et al., bioRxiv)、HIV 逆転写機構の再定義につながる可能性がある。これらの結果は、APOBEC3G などの宿主防御機構からの逃避や、ウイルスゲノムの安定維持機構の理解に重要な示唆を与えることが期待される。

加えて、キャプシド結合型宿主因子 CPSF6 とキャプシド複合体のクライオ電子顕微鏡構造を決定した。その結果、CPSF6 がキャプシド格子の平坦軸に沿って連続的に結合することを明らかにした。さらに、無細胞逆転写系を用いた解析により、CPSF6 が結合したキャプシド内においても逆転写反応が進行可能であることを示した。以上より、CPSF6 はキャプシド構造を保持したまま逆転写を伴う核内移行過程に関与し、最終的なインテグレーション部位選択に寄与する分子基盤の一端を担うことが示唆された。

また、本研究で確立した解析手法を応用し、first-in-class のキャプシド阻害剤 Lenacapavir (LEN) による感染性 HIV-1 粒子形成阻害機構の解明を行った。具体的には、LEN 存在下でウイルス様粒子を調製し、そのキャプシド構造をクライオ電子顕微鏡により解析した。その結果、LEN 存在下ではキャプシドが本来の円錐形構造を形成できず、曲率の低い平坦な格子状構造へと偏ることが明らかとなり、機能的キャプシド形成が阻害される分子基盤を示した。さらに、生化学的解析により、LEN 存在下で形成された粒子では逆転写酵素のキャプシド内への適切な内包が障害されることを見出し、その結果として感染性を有するウイルス粒子の形成が著しく低下することを明らかにした。これらの結果は、LEN がキャプシド構造の幾何学的制御を攪乱することで、ウイルス成熟および感染性獲得過程を阻害する新たな作用機序を示すものである (Tanaka et al., BioRxiv)。

(完)

発表論文

- 1) Tanaka H, Morita R, Oka T, Kita S, Sasaki M, Maenaka K, Machida S (*責任著者)
Structural basis of lenacapavir-induced HIV-1 capsid disruption during virion maturation.
BioRxiv, 2026
- 2) Tanaka H, Dias JD, Jay B, Kita S, Sasaki M, Takeda H, Kishimoto N, Sasaki S, Misumi S, Mizokami M, Neuveut C, Sumikama T, Shibata M, Maenaka K, Machida S (*責任著者)
Structural basis of the hepatitis B virus x protein in complex with DDB1.
Proc Natl Acad Sci USA, 122, e2421325122 (2025)
- 3) Jahan C, Bonnet-Madin L, Machida S, Sobhian B, Thenin-Houssier S, Benkirane M.
Unintegrated HIV-1 DNA recruits cGAS via its histone-binding domain to escape innate immunity.
Proc Natl Acad Sci USA, 122, e2424465122 (2025)
- 4) Takada S, Gallo S, Silva S, Tanaka H, Pincheira O, Zúñiga J, Villarroel M, Hidalgo X, Melo-Tanner J, Suzuki H, Machida S, Takahashi H, Miyake N. A Novel AGR2 Variant Causing Aberrant Monomer-Dimer Equilibrium Leading to Severe Respiratory and Digestive Symptoms.
Journal of clinical immunology 45, 55-55 (2024)

引用文献

- 1) Wang W, Artiles KL, Machida S, Benkirane M, Jain M, Fire AZ.
Combined direct/indirect detection allows identification of DNA termini in diverse sequencing datasets and supports a multiple-initiation-site model for HIV plus-strand synthesis.
BioRxiv (2023)