

研究助成 2021 – 感染症領域 –
研究成果報告書（最終） <概要>

所 属	慶應義塾大学・薬学部
氏 名	横川 真梨子
研 究 テーマ	B型肝炎ウイルスの肝細胞特異的感染機構解明と立体構造に基づく創薬

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 概要の構成は自由とするが、研究目的、研究手法、研究成果などを、1 ページにまとめること。
 (図表、写真などの貼付を含む)

【背景・目的】

B型肝炎ウイルス (HBV) の持続感染は肝硬変や肝癌などの重篤な疾患に進行するリスクがある。既存薬のインターフェロンや核酸アナログでは、重い副作用、投与中断後の再発、薬剤耐性などが問題となっており、新たな作用点を持つ治療薬の創製が待たれている。HBV は、外殻膜上の表面抗原タンパク質の preS1 領域が肝細胞上の Na⁺/胆汁酸共輸送体 (NTCP) に結合することにより肝細胞特異的に宿主細胞に侵入する。したがって、preS1 と NTCP の相互作用は抗 HBV 薬の標的として有望である。そこで本研究は、この HBV の肝細胞侵入機構に着目し、preS1 または NTCP に結合し、preS1 と NTCP のタンパク質-タンパク質相互作用 (protein-protein interaction, PPI) を阻害する抗 HBV 薬を探索・創製することを目的とした。

【方法】

NTCP と preS1 を大量に調製し、複合体構造の解析を試みた。PreS1 に結合して HBV の感染を阻害することが報告されている化合物と preS1 との直接の相互作用を、等温滴定型カロリメトリー (ITC) や NMR などにより解析した。

【結果・考察】

2022 年に異なる 3 つの研究グループからクライオ電子顕微鏡による NTCP の立体構造が相次いで発表され、2023 年 3 月の薬学会においては preS1 と NTCP の複合体構造が報告され、論文投稿中であるとの情報を得た。そのため、我々が立体構造を決定することはできなかったが、複合体構造を報告したグループとの共同研究により、PPI 阻害化合物の探索を進めている。

PreS1 に結合する PPI 阻害化合物である oolonghomobisflavan C (OHBF-C) と preS1 の相互作用を解析した。10 μM の preS1 溶液に 1 当量の OHBF-C を添加すると沈殿が生じ、その沈殿には preS1 と OHBF-C が含まれていたことから、preS1 と OHBF-C が直接結合することを確認した。ITC 解析の結果、2 相性のアイソサームが得られ、1 分子の preS1 に対して約 9 分子の OHBF-C が結合することが示唆された。PreS1 上の OHBF-C 結合部位を明らかにするため、preS1 を 5 個の領域に分割した部分ペプチドと OHBF-C の相互作用を NMR により解析した。各部分ペプチドの側鎖 NMR シグナルの帰属を行い、それぞれの部分ペプチドに対して 4 当量の OHBF-C を添加した際の NMR スペクトル変化を調べた結果、一部のペプチドにおいて沈殿が生じ、全てのペプチドにおいて NMR スペクトルに変化が観測されたことから、preS1 の全領域にわたって OHBF-C が結合することが分かった。一方、OHBF-C の部分構造である EGCG を用いた場合には、40 当量を添加しても沈殿を形成せずに 4 当量の OHBF-C を添加した時と同様のスペクトル変化が観測された。NMR シグナルの変化が観測された PreS1 のアミノ酸残基は、HBV の感染に重要な L11-P15 の領域を含み、主に疎水性残基であった。以上の結果から、OHBF-C は preS1 の疎水性残基を中心に複数の部位に結合し、1 分子の OHBF-C が 2 分子の preS1 と結合することにより preS1 の分子間を架橋した結果、沈殿したと考えられる。OHBF-C は preS1 の L11-P15 に結合して HBV の感染を阻害することが示唆された。

研究助成 2021 – 感染症領域 –

研究成果報告書（最終）＜発表実績/予定一覧＞

所	属	慶應義塾大学・薬学部
氏	名	横川 真梨子

1. 論文発表実績

- 研究助成報告として広報資料に掲載される点を留意すること。
- 掲載年次順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。
- 著者名、論文名、掲載誌名、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）、査読の有無について記入する。
なお、著者名は省略せず、全てを記入し、自分の名前に下線を引く。
- 国内外雑誌を問わない。
- 印刷中は in press と記入、投稿中の論文はその旨を記載すること。なお学会のアブストラクトは含めない。
- 欄が足りない場合は、増やして記入すること。

1	
2	
3	
4	
5	
6	
7	
8	
9	
10	
11	

2. 学会発表実績		
<ul style="list-style-type: none"> ● 発表年順（新しいものから）に記入すること。ただし、本研究助成金交付後のものに限る。 ● 発表学会名、発表者名、演題を記入する。 ● 国内外を問わない。 ● 欄が足りない場合は、増やして記入すること。 		
	発表時期	発表学会名、発表者名、演題
1	2023年3月28日	日本薬学会第 143 年会、石場智彬, 横川真梨子, 横田旭美, 大澤匡範、Oolonghomobisflavan C による B 型肝炎ウイルス阻害機構の解明
2		
3		
4		
5		
6		
3. 投稿、発表予定		
	投稿/発表時期	雑誌名、学会名等
1		
2		
3		
4		
5		
6		