

## 原 著

## メタロエンドペプチダーゼ-F の HIV に及ぼす影響

長 縄 聰<sup>1),2)</sup>, 泉 泰 之<sup>2)</sup>, 高橋 清実<sup>3)</sup>, 佐藤 成大<sup>3)</sup>, 藤崎 茂巳<sup>4)</sup>,  
藤崎 恭大<sup>4)</sup>, 三谷 満昭<sup>4)</sup>, 網 康 至<sup>2)</sup>, 中村 正彦<sup>5)</sup>, 本多 三男<sup>2)</sup>,  
仲宗根 正<sup>2)</sup>, 朽久保 修<sup>1)</sup>, 北村 勝彦<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>横浜市立大学医学部公衆衛生学教室

<sup>2)</sup>国立感染症研究所

<sup>3)</sup>岩手医科大学細菌学教室

<sup>4)</sup>酵素医学研究所

<sup>5)</sup>大阪大学蛋白質研究所

**目的:** 消炎酵素製剤として臨床使用されている Pronase の主要成分であるメタロエンドペプチダーゼ-F(Metalloendopeptidase-F, MEP-F) の *in vitro* における HIV-1 感染に対する影響を解析する。

**方法:** HIV-1/LAI 及び AD8 株を種々の濃度の MEP-F で処理し正常ヒト末梢血単核球 (PBMC) PHA 幼若化細胞 (PHA-blast) を標的細胞として中和活性を検討した。更に, MEP-F の存在下で HIV 感染細胞の p24 抗原産生について検討した。また, MEP-F の標的細胞に及ぼす影響について FACS 解析を試みた。

**結果:** HIV-1 を MEP-F で処理することにより正常ヒト PHA-blast に対する感染力の低下が認められた。また, PHA-blast に HIV-1/LAI を感染させ MEP-F 存在下で培養したところ, p24 抗原産生が強く抑制された。更に, PBMC を MEP-F で処理し, HIV-1/LAI を感染させた場合, p24 抗原産生が抑制された。正常ヒト PBMC 表面マーカーに対する MEP-F の影響を FACS で解析すると, MEP-F 処理により CD3 陽性 T 細胞で CD4, CXCR4 発現細胞数の低下が認められた。

**結論:** MEP-F は HIV-1 及び宿主細胞表面のウイルスレセプターに作用し, 抗 HIV-1 作用もたらす可能性が示唆された。

**キーワード:** メタロエンドペプチダーゼ-F, 抗 HIV 作用, 消炎酵素製剤

日本エイズ学会誌 5 : 1-7, 2003

## はじめに

Highly Active Anti-retrovirus Therapy (HAART) の導入は欧米をはじめとした先進国では HIV 診療に画期的な変化をもたらした。その一方で, サハラ砂漠以南アフリカ諸国, 東南アジア地域, 東欧圏などの途上国や経済的, 政治的危機に直面している国々では感染者は治療の恩恵に浴せぬまま HIV は爆発的流行を続けている。こうした現状の中で流行予防の効果的施策の実施が急務である。更に, 薬剤単価が高額でかつ耐性ウイルスの出現が避けられない HAART の持つ負の側面を補う意味において新たな治療法の開発が早急に求められている。

HIV 感染症において, 種々の炎症性刺激は病期の進行に寄与しており, *in vitro* の刺激においてもウイルス感染の増幅や感染細胞からのウイルス産生の増加が明らかとなっている<sup>1-3)</sup>。従って, 抗炎症物質による HIV 産生のコントロールが期待される。本研究では, 藤崎らにより 1963 年に開発され, 慢性副鼻腔炎, 関節炎, 術後及び外傷後の腫脹緩解などに広く臨床使用されている消炎酵素製剤 Pronase の主要成分である Metalloendopeptidase-F (MEP-F) の *in vitro* における HIV に及ぼす影響について検討を試みた。MEP-F は以下の点を勘案し選択した: 1) MEP-F は高純度・高力価の亜鉛結合エンドペプチダーゼで, Pronase 製剤原料から容易に調製できる, 2) 慢性肝炎・肝硬変患者を対象に Pronase の多施設二重盲検プラセボ対照比較試験が行われ, 肝機能及び肝生検像の有意な改善効果が報告されている<sup>4-6)</sup>, 3) MEP-F 製剤の内服により C 型肝炎患者で血中 HCV RNA コピー数の低下と肝機能改善効果が観察されている<sup>7-9)</sup>。

今回の研究では, 正常ヒト末梢血単核球 (PBMC) に MEP-F を作用させると用量に依存して HIV 感染に関与す

著者連絡先: 北村勝彦 (〒236-0004 横浜市金沢区福浦 3-9  
横浜市立大学医学部公衆衛生学教室)  
Fax : 045-787-2609, E-mail : hiko@med.yokohama-u.ac.jp

2002 年 6 月 24 日受付; 2002 年 10 月 15 日受理

る細胞表面マーカー CD4, CXCR4, CCR5 及び CD62L の発現量の低下が認められた。更に、PBMC 及び PHA 幼若化細胞 (PHA-blast) を用いた *in vitro* 感染系で、MEP-F により HIV-1 の産生が抑制されるという興味深い知見が得られたので報告する。

## 材料と方法

1) ウイルス : HIV-1/LAI 株及び AD8 株を用いた<sup>10)</sup>。

2) PBMC 及び PHA-Blast : PBMC は経静脈的に採血した健康人全血よりリンホセパール (IBL Co., Ltd.) を用いて分離した。分離した PBMC を 0.1% Phytohemagglutinin-P (PHA) (DIFCO Co., Ltd.) 含有培養液 (RPMI 1640 : 10% FBS) において 37°C で 3 日間培養して幼若化し、PHA-Blast として実験に供した。

3) MEP-F : MEP-F は Pronase 原末から精製・調製した。本酵素は Zn 結合メタロエンドペプチダーゼで、SDS-PAGE (分子量約 43,000) 及び逆相 HPLC で単一ピークを示す。本試験では  $1.97 \times 10^6$  units/g チロシン力価の標品を用いた。

4) 抗 HIV-1 活性 : PBMC または PHA-Blast 浮遊液 100  $\mu$ l ( $1.5 \sim 2 \times 10^6$  cells) に、HIV-1 ウイルス (LAI または AD 8,100 TCID<sub>50</sub>) 溶液を 100  $\mu$ l 加え、37°C で 1 時間インキュベートした。インキュベーション後、細胞を PBS (-) でよく洗浄し、培養液 (RPMI1640 : 10%FBS, IL-2, ME-2 含有) 1 ml を加え培養を開始した。実験系により下記の処理を施して 37°C で 5 日間培養後、HIV-1p24 抗原量を測定し、対照の p24 抗原量を 100% とした時の割合から ID<sub>50</sub> を算出した。

① HIV-1/LAI または AD8 (100 TCID<sub>50</sub>) 溶液 100  $\mu$ l に MEP-F を添加し 37°C で 1 時間インキュベートした後、PHA-blast に感染させ、細胞を洗浄後、培養液中で培養した。

② PHA-blast に HIV-1/LAI を感染させ、細胞を PBS (-) で洗浄後、MEP-F を添加した培養液中で培養した。

③ PHA-blast に HIV-1/LAI を感染させ、細胞を PBS (-) で洗浄後、MEP-F を添加し 37°C で 1 時間インキュベートし、細胞を洗浄後、培養液中で培養した。

④ PBMC に MEP-F を添加し 37°C で 1 時間インキュベートした後、細胞を PBS (-) で洗浄し、その後 HIV-1/LAI を感染させ、細胞を洗浄後、PHA を含む培養液中で培養した。

5) 正常ヒト PBMC 及び PHA-blast 表面マーカーの FACS 解析 : 正常ヒト PBMC 及び PHA-blast 浮遊液 (10<sup>6</sup> cells/ml PBS) に MEP-F を添加し、37°C で 1 時間インキュベートした。細胞を PBS (-) で洗浄後、FITC, PE もしくは PreCP で標識した抗ヒト CD3, CD4, CD8, CD14, CD 20, CD 21, CD 62 L, CXCR 4 あるいは CCR 5 抗体 (Pharmingen 社, Coulter 社, Becton Dickinson 社) で染

色・固定後、FACS で解析した。

## 結 果

### MEP-F の抗 HIV 作用

今回用いた HIV-1/LAI 株は MOLT-4 細胞<sup>10)</sup> で継代培養し、NP-2 細胞でコレセプターが CXCR4 であり CCR5 を介していないこと (T-tropic) を確認した。この HIV/LAI 株は、正常ヒト PBMC に感染させた後に PHA 幼若化を行った培養系で増殖能 (p24 抗原産生) を示した。また env/V3 領域の遺伝子配列を確認したところ、報告<sup>10)</sup> と比べ変異は無かった (unpublished data)。

4 ロットの PHA-blast を MEP-F 添加培養液中で 4 日間培養後、Alamar Blue (ALM 社) を添加し、琥珀酸テトラゾリウムレダクターゼ活性を指標として細胞障害活性を測定した<sup>11)</sup>。10  $\mu$ g/ml 未満の MEP-F 濃度では PHA-blast への細胞障害作用は認められなかった。

#### 1) HIV の不活化

MEP-F で 1 時間処理した HIV-1/LAI を 3 ロットの PHA-blast に感染させ、5 日間培養後に感染力価を測定した。MEP-F で処理した LAI では感染力の低下が見られた (それぞれ ID<sub>50</sub> = 6920, 5750 及び 1860 ng/ml) (図 1)。ま

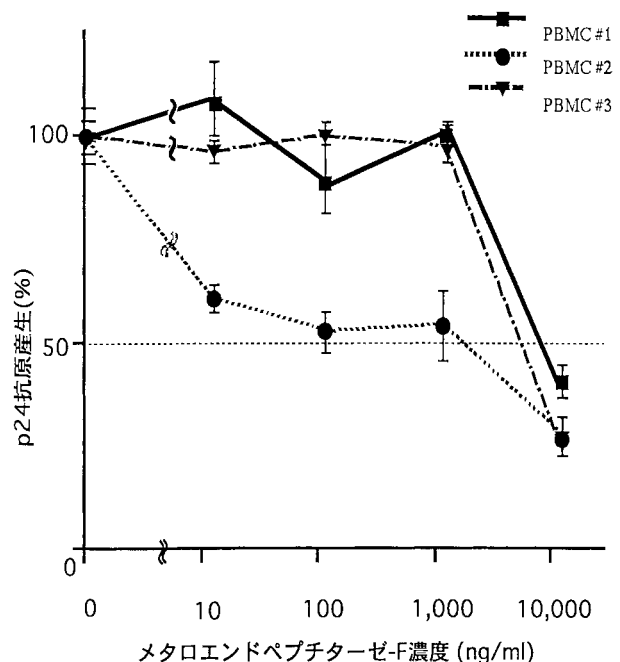


図 1 MEP-F による HIV の不活化 HIV-1/LAI を MEP-F で 1 時間処理した後、3 ロットの PHA-blast に感染させ 5 日間培養した (方法の項参照)。無処理対照ウイルスの p24 抗原産生量に対する割合を表示した。

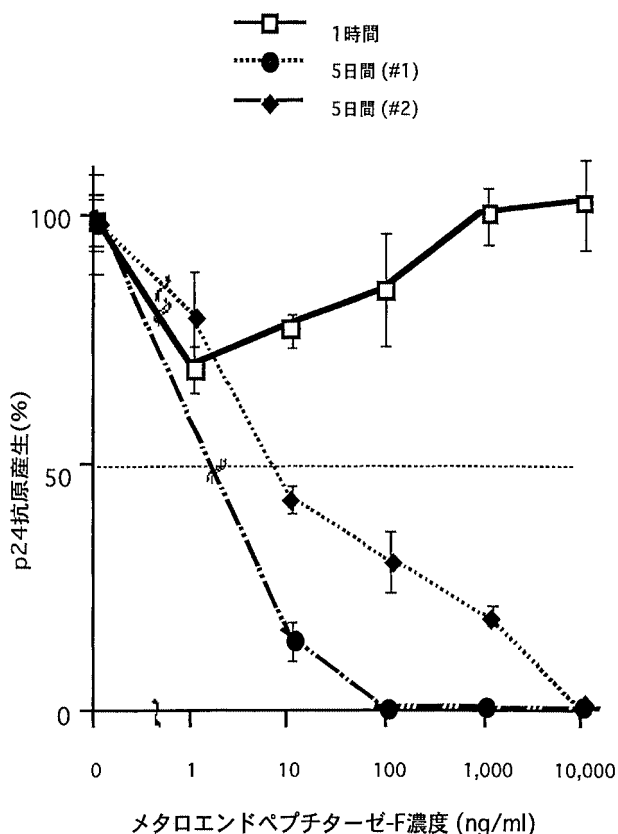


図 2 メタロエンドペプチダーゼ-F による p24 抗原産生量の抑制

HIV-1/LAI 感染 PHA-blast を下記条件下で処理・培養後、p24 抗原産生量を測定した：(1)MEP-F 存在下で 5 日間培養した (PHA-blast #1 および #2)、(2)MEP-F で 1 時間処理後、細胞を洗浄して 5 日間培養した。対照 PHA-blast における p24 抗原産生量に対する割合を表示した。

た、同様に MEP-F で処理した HIV-1/AD8 株 (M-tropic) でも感染力の低下 ( $ID_{50}=6670\sim 10,000$  ng/ml) が認められた。

2) In vitro での HIV-1/LAI(p24) 産生に対する影響

2 ロットの PHA-blast に HIV-1/LAI を感染させた後、MEP-F 添加培養液で 5 日間培養し、p24 産生量を測定した。MEP-F 濃度に依存して p24 産生の抑制が認められ、10 ng/ml でそれぞれ 85% 及び 54% の抑制であった ( $ID_{50}\leq 10$  及び 7.2 ng/ml) (図 2)。

また、HIV-1/LAI 感染 PHA-blast に MEP-F を添加し 1 時間インキュベーション後、細胞を洗浄、培養したところ p24 抗原産生量には影響が見られなかった (図 2)。

PBMC を MEP-F で 1 時間処理し、HIV-1/LAI を感染させ PHA を含む培養液で培養すると、MEP-F 処理により p

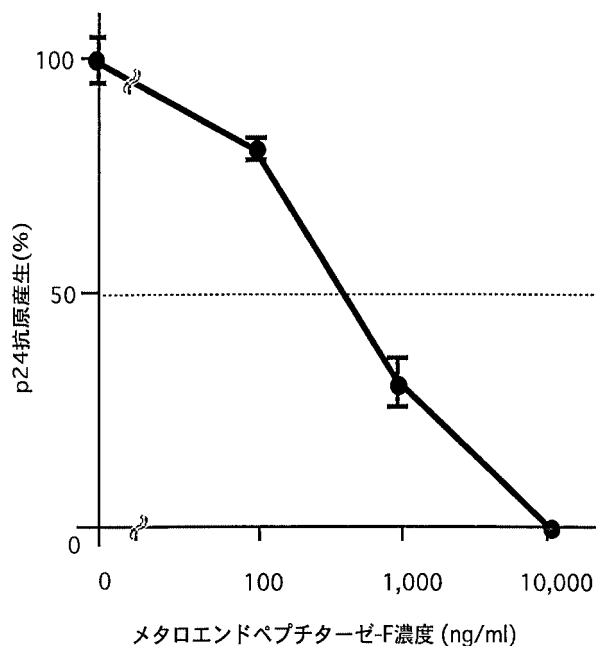


図 3 メタロエンドペプチダーゼ-F による p24 抗原産生量の抑制

PBMC を MEP-F で 1 時間処理後細胞を洗浄し、HIV-1/LAI 株を感染させた後、PHA を含む培養液中で培養した。対照 PBMC の PHA-blast における p24 抗原産生量に対する割合を表示した。

24 抗原産生が抑制された ( $ID_{50}=239$  ng/ml) (図 3)。

一方、PBMC に HIV/AD8 株を感染後、PHA 幼若化を行った同様の培養系では、培養終了後に p24 抗原の産生は認められなかった。

PBMC 及び PHA-blast 細胞表面マーカーに対する影響

正常ヒト PBMC 表面マーカーに対する MEP-F の影響を FACS で解析したところ、MEP-F 処理 (10 µg/ml, 1 時間) により CD3 陽性 T 細胞で CD4, CXCR4 及び CCR5 発現細胞、CD14 陽性 M 細胞で CD4, CD62L, CCR5 及び CD14 発現細胞ならびに CD20 陽性 B 細胞で CD62L 発現細胞数の低下が認められた (図 4)。また、CD3 陽性 CD62L 及び CD20 陽性 CD21 発現細胞数は減少しないが、CD62L 及び CD21 発現量の顕著な低下 (約 1/10) が観察された。一方、CD3, CD8 及び CD20 発現細胞数への MEP-F の影響は検出されなかった。興味深いことに、幾分低濃度の MEP-F (100 ng/ml) で CD14 陽性 CCR5 細胞及び CD3 陽性 CCR5 発現細胞数の低下が認められた (表 1)。

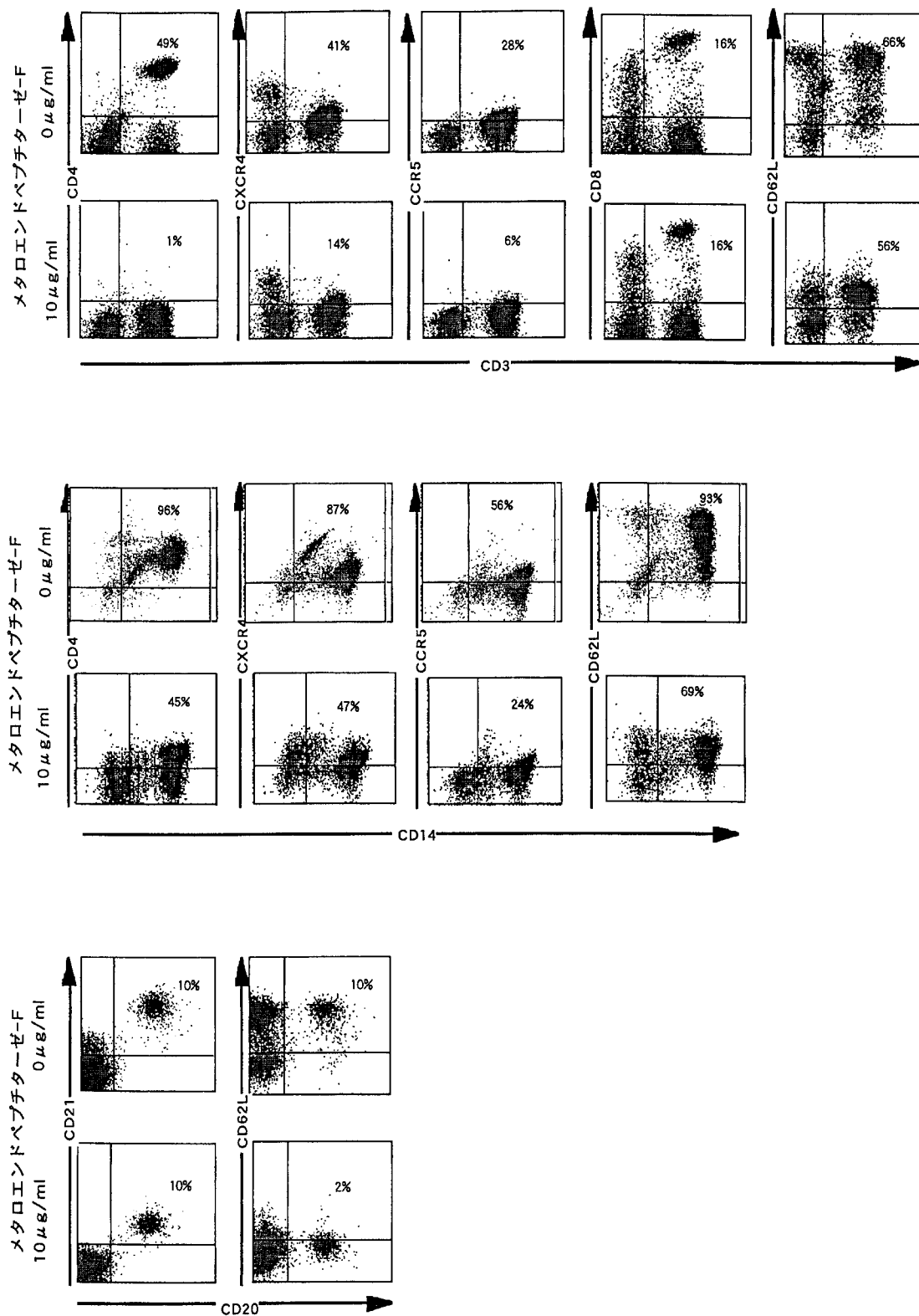


図 4 メタロエンドペプチダーゼ-F 処理における細胞表面マーカーへの影響  
 正常ヒト PBMC を MEP-F (10 μg/ml) で 1 時間処理した後、種々の細胞表面マーカーの発現量を FACS で解析した。

表 1 メタロエンドペプチダーゼ-F 処理による細胞表面マーカーへの影響

MEP-F ( $\mu\text{g/ml}$ )		表面抗原陽性細胞 (%)											
10	T-cell	CD3	67	CD4	1	CD8	16	CD62L	56	CXCR4	14	CCR5	6
1	CD3 (+)		71		52		18		67		42		22
0.1			71		53		17		67		34		18
0.01			72		53		16		68		36		20
0			68		49		16		66		41		28
10	Monocyte	CD14	78	CD4	40	CD62L	69	CXCR4	47	CCR5	24		
1	CD14 (+)		86		83		83		60		37		
0.1			98		97		95		83		40		
0.01			94		92		95		81		50		
0			97		95		93		87		56		
10	B-cell	CD20	11	CD21	10	CD62L	2						
1	CD20 (+)		11		11		10						
0.1			11		11		11						
0.01			11		11		11						
0			11		10		10						

正常ヒト PBMC を種々濃度の MEP-F で 1 時間処理後、各表面抗原陽性細胞数を FACS で解析した。

## 考 察

我々は HIV 感染症をひとつの炎症性疾患としてとらえ宿主の抗炎症免疫能を有効に活用しうる抗 HIV 活性を有する物質の探索を行っているが、今回用いた MEP-F は消炎酵素製剤 Pronase に含まれる Zn 依存性エンドペプチダーゼで、血中で  $\alpha 2$  マクログロブリン ( $\alpha 2\text{MG}$ ) 複合体を形成し biological response modifier (BRM) として肝炎ウイルスに対する宿主の免疫応答能の増強をもたらす可能性が推定されている<sup>9)</sup>。最近、Lee-Huang らはヒト絨毛性ゴナドトロピン (hCG) 製剤中の *in vitro* 抗 HIV-1 活性物質を単離し、lysozyme 及び RNase を同定している<sup>12)</sup>。これら酵素の抗 HIV-1 作用はその加水分解活性に起因するとしても、その作用機序の詳細は不明である。

今回の実験で、正常ヒト PBMC に MEP-F を作用させると高濃度 (10  $\mu\text{g/ml}$ ) で CD4, CXCR4, CCR5 及び CD62L 発現細胞数あるいは発現量の低下が認められた。正常ヒト PBMC 及び PHA-blast を用いた *in vitro* 感染系で、HIV-1 感染に関与するこれら細胞表面マーカーの変化が検出されない低濃度の MEP-F (それぞれ  $\text{ID}_{50}=239 \text{ ng/ml}$  及び  $<10\sim 7.2 \text{ ng/ml}$ ) によって HIV-1/LAI (p24) 産生が抑制された。抗 HIV-1 作用機序として蛋白溶解活性による、1) ウイルス表面上の結合部位 (gp120/41) の破壊、2) 細胞表面上のウイルスレセプター、コレセプター、接着因子の破壊による HIV-1 の宿主細胞への侵入の抑制が考えられる。高濃度の MEP-F による HIV-1 の不活化及び PBMC での CD4, CXCR4, CCR5 及び CD62L 発現量の低下の結

果から、抗 HIV-1 作用の一部にこれら機序の関与が示唆される。しかし、低濃度での抗 HIV-1 作用は説明されない。100 ng/ml で見られた CCR5 発現量の低下は、使用した HIV-1/LAI 株のコレセプターは CXCR4 であることが確認されているので抗 HIV-1 活性に寄与する可能性は低い。低濃度の MEP-F で実際には膜抗原の分子内切断が起こっているが、今回用いた各抗表面マーカー抗体が膜表面に残存する抗原の認識エピトープを検出するために FACS 分析で変化として捕捉されていないことが考えられる。切断膜抗原の分子サイズの確認を含め詳細な検討が今後必要であろう。また、PHA-blast に HIV-1 を感染後、細胞内に侵入しないで膜表面に付着しているウイルスを MEP-F が取り除く結果、侵入ウイルス数が減少し p24 抗原産生が抑制される可能性がある。PHA-blast に HIV-1 を感染後 MEP-F で 1 時間処理した場合の p24 抗原産生は無処置対照と差がなかったため、少なくとも初期感染ではこの可能性は低いと思われる。

MEP-F が宿主細胞表面上の抗原またはレセプターを修飾・刺激し、1) ウイルス侵入のステップを阻害する、2) 細胞内でのウイルス複製を阻害することが考えられる。一般に、細胞表面抗原やレセプターの調節は遺伝子発現レベル及び細胞表面での種々の修飾により行われる。膜抗原の修飾やサイトカインネットワークの制御には Zn 依存性 Matrix metalloproteinases (MMPs) が関与するものと考えられている<sup>13)</sup>。また、Factor Xa は休止期 T 細胞上のプロテアーゼレセプター (EPR-1) を介して T 細胞レセプター/CD3 による活性化を共刺激することが知られている<sup>14)</sup>。MEP-F は MMPs や factor Xa などの内因性プロテアーゼ

と類似的作用によりリンパ球の活性化・機能に何らかの影響を及ぼす可能性が推定される。PBMC中のT細胞はプロテアーゼ- $\alpha$ 2MG複合体レセプターを持たないが、単球・マクロファージはレセプターを介して活性化される可能性がある<sup>15,16</sup>。上記可能性を含めて低濃度MEP-Fの抗HIV-1作用のメカニズムを解明する必要がある。

今後の研究課題としてMEP-Fの*in vivo*での抗HIV-1作用に関心が持たれる。一般に、プロテアーゼは血中阻害因子、主に $\alpha$ 2MGと複合体を形成し、2種類のレセプター(スキャンニング及びシグナル伝達G蛋白共役レセプター)を介して間葉系細胞特にマクロファージ、樹状細胞、リポサイト、平滑筋細胞や滑膜線維芽細胞に作用し、慢性炎症局所で組織修復や病態制御に関わっている<sup>15-17</sup>。MEP-FはBRMとしてサイトカインネットワークの制御や細胞障害活性の亢進など宿主の免疫系をコントロールすることで抗HIV作用を示すことも可能性として否定できない。

HAARTにより、AIDSによる死亡者数の減少が先進国では報告されている。しかし、薬剤耐性ウイルスが出現し、その多くが交叉耐性を示すため、治療抵抗となる症例が増えてきている。しかも耐性を獲得したウイルスが伝播し、初感染にも関わらず耐性ウイルス株を保有する感染者が増加してきている。また、我が国ではHIV感染者のHCV多重感染も大きな問題となっている。今回の*in vitro*実験からHIV酵素を標的としたHAARTとは異なるMEP-Fの抗HIV-1作用が明らかとなり、その作用機序の可能性について論じた。

## 文 献

- 1) Vicenzi E, Biswas P, Mengozzi M, Poli G : Role of pro-inflammatory cytokines and beta-chemokines in controlling HIV replication. *J Leukoc Biol*, 62(1) : 34-40, 1997.
- 2) Montaner LJ, Herbein G, Gordon S : Regulation of macrophage activation and HIV replication. *Adv Exp Med Biol*, 374 : 47-56, 1995.
- 3) Locati M, Murphy PM : Chemokines and chemokine receptors : biology and clinical relevance in inflammation and AIDS. *Annu Rev Med* 50 : 425-440, 1999.
- 4) 小泉岳夫, 鈴木宏, 藤沢洸, 瀧野辰朗, 河田肇, 平山千里, 奥村恂, 谷川久一 : 慢性肝炎に対するPronase投与の有効性について—用量別効果の検討—. *肝胆膵* 12 : 305-314, 1986.
- 5) 平山千里, 鈴木宏, 藤沢洸, 瀧野辰朗, 小泉岳夫, 奥村恂, 谷川久一, 小川暢也 : 多施設二重盲検試験による慢性肝炎に対するPronaseの臨床効果. *肝胆膵* 14 : 991-1000, 1987.
- 6) 太田康幸, 平山千里, 鈴木宏, 藤沢洸, 瀧野辰朗, 小泉岳夫, 奥村恂, 谷川久一, 小川暢也 : 慢性活動性肝炎の肝生検像に及ぼすPronase投与の効果—二重盲検三群比較法による—. *肝胆膵* 15 : 819-831, 1987.
- 7) 藤崎茂巳, 中村正彦, 富岡親憲, 藤崎隆司 : C型肝炎へのメタロエンドペプチダーゼ(MEP)の治療経験. *医学と薬学* 39 : 1179-1185, 1998.
- 8) 藤崎茂巳, 藤崎恭太, 中村正彦 : C型肝炎へのメタロエンドペプチダーゼF(MEP-F)の治療経験—肝機能とTGF- $\beta$ およびIL-6, IL-10, IL-12の挙動—. *医学と薬学* 45 : 625-632, 2001.
- 9) 藤崎茂巳, 藤崎隆司, 吉田淳一, 藤崎恭太, 三谷満昭, 中村正彦, 大岳望 : 慢性肝疾患に対するメタロエンドペプチダーゼ-Fの薬理作用. *Jap J Antibiotics* 53 : 135-156, 2000.
- 10) Potts BJ, Maury W, Martin MA : Replication of HIV-1 in primary monocyte cultures. *Virology* 175 : 456-476, 1990.
- 11) Mosmann T : Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival : Application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods* 65(1-2), 55-63, 1983
- 12) Lee-Huang S, Huang PL, Sun Y, Huang PL, Kung H-F, Bliethe DL, Chen H-C : Lysozyme and RNases as anti-HIV components in  $\beta$ -core preparations of human chorionic gonadotropin. *Proc Natl Acad Sci USA* 96 : 2678-2681, 1999.
- 13) Hooper NM, Karren EH, Turner AJ : Membrane protein secretase. *Biochem J* 321 : 265-279, 1997.
- 14) Trucco M, Stassi G : Educating effector T cells. *Nature* 380 : 284-285, 1996.
- 15) Chu CT, Pizzo SV :  $\alpha$ 2-Macroglobulin, complement, and biologic defense : Antigens, growth factors, microbial proteases, and receptor ligation. *Lab Invest* 71 : 792-812, 1994.
- 16) Misra UK, Pizzo SV : Ligation of the  $\alpha$  2M signaling receptor with receptor-recognized forms of  $\alpha$ 2-Macroglobulin initiates protein and DNA synthesis in macrophages—The effect of intracellular calcium—. *Biochim Biophys Acta* 1401 : 121-128, 1998.
- 17) Misra UK, Gonzalez-Gronow M, Gawdi M, Pizzo SV : Up-regulation of the  $\alpha$ 2-Macroglobulin signaling receptor on rheumatoid synovial fibroblasts. *J Biol Chem* 272 : 497-502, 1997.

## The Effect of Metalloendopeptidase-F on HIV-1

Satoshi NAGANAWA<sup>1,2)</sup>, Yasuyuki IZUMI<sup>2)</sup>, Kiyomi TAKAHASHI<sup>3)</sup>, Shigehiro SATO<sup>3)</sup>,  
Shigemi FUJISAKI<sup>4)</sup>, Yasuhiro FUJISAKI<sup>4)</sup>, Mitsuaki MITANI<sup>4)</sup>, Yasushi AMI<sup>2)</sup>,  
Masahiko NAKAMURA<sup>5)</sup>, Mitsuo HONDA<sup>2)</sup>, Tadashi NAKASONE<sup>2)</sup>,  
Osamu TOCHIKUBO<sup>1)</sup> and Katsuhiko KITAMURA<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> Department of Public Health,

Yokohama City University School of Medicine, Yokohama, Japan

<sup>2)</sup> National Institute of Infectious Disease, Tokyo, Japan

<sup>3)</sup> Department of Bacteriology, Iwate Medical College, Morioka, Japan

<sup>4)</sup> Institute of Enzyme Research, Osaka, Japan

<sup>5)</sup> Institute of Protein Research, Osaka University, Osaka, Japan

**Objective** : To study the effect of Metalloendopeptidase-F (MEP-F), a major active ingredient of the anti-inflammatory drug Pronase, on HIV-1 in vitro.

**Materials and Methods** : HIV-1/LAI and AD8 stock viruses were treated with various concentrations of MEP-F and then incubated in PHA-activated normal human peripheral blood mononuclear cells (PBMC) for 5 days. PBMC or PHA-blast cells were treated with MEP-F either before or after infection with HIV-1. The cells were cultured for 5 days after infection. HIV-1 replication was evaluated by p24 antigen measurement using ELISA.

The effect of MEP-F on cell surface antigens was analyzed by fluorescence-activated cell sorter (FACS).

**Results** : Treatment of HIV-1/LAI and AD8 with MEP-F resulted in a decreased viral infectivity. When PHA-blast cells infected with HIV/LAI were cultured in the presence of MEP-F, a dose-related inhibition of HIV-1p24 production was observed. Furthermore, when PBMC were treated with MEP-F prior to infection with HIV-1/LAI and then cultured in the medium with PHA added, the production of HIV-1 p24 antigen was significantly reduced. FACS analysis of cell-surface markers on MEP-F-treated PBMC revealed a remarkable decline of CD4 and CXCR4 levels expressed on CD3<sup>+</sup> T cells.

**Conclusion** : It is suggested that MEP-F is effective against HIV-1 infection by acting on the surface proteins of both the virus and the host cell.

**Key words** : Metalloendopeptidase-F, anti-HIV effect, anti-inflammatory drug