

# ラッサウイルスの増殖を抑える化合物の発見

～広域的なウイルス出血熱の治療薬開発に期待～

## ポイント

- ・ ヒトに重篤な症状を示す新興感染症ウイルスを用いた化合物スクリーニング系を構築。
- ・ ラッサウイルスを含む複数の出血熱ウイルスに対して強力な抗ウイルス活性を示す阻害剤を同定。
- ・ ラッサ熱、南米出血熱等の治療薬のない病気に対する広域的抗ウイルス治療薬の開発に期待。

## 概要

北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所の澤 洋文教授、大場靖子准教授、佐藤彰彦客員教授、鳥羽晋輔客員研究員らの研究グループは、インフルエンザウイルス阻害剤ライブラリーの中から、ブニヤウイルス\*<sup>1</sup>に対して強力な抗ウイルス活性を有する化合物を発見しました。

ラッサウイルス\*<sup>2</sup> (LASV) を含む多くの出血熱ウイルスは、動物からヒトに感染する人獣共通感染症であり、近年、局所的なヒトでの大流行を繰り返しています。本研究で着目した LASV については、これまでにワクチン及び治療薬の開発研究が遂行されてきたにもかかわらず、未だ有効な治療法は確立されていません。

今回、研究グループは多種多様な病原性ウイルスに対する化合物スクリーニング系を構築し、塩野義製薬所有の化合物ライブラリーを用いた、出血熱ウイルスを含めた広域なウイルスに対して抗ウイルス活性を有する化合物のスクリーニングを実施しました。その結果、インフルエンザウイルスのキャップ依存性エンドヌクレアーゼ (CEN) \*<sup>3</sup> 阻害薬の中から、LASV を含む複数のウイルスに対して強力な抗ウイルス活性を示す化合物を同定することができました。ブニヤウイルスは、インフルエンザウイルスと同様に CEN を有しており、薬剤 escape ウイルスの解析から、本化合物はブニヤウイルスの CEN 活性中心に結合することで酵素活性を阻害することが示唆されました。そしてウイルス感染実験の結果から、本化合物は細胞内ウイルス RNA 複製を阻害することで、強力なウイルス増殖阻害活性を示すことを見出しました。ブニヤウイルス感染マウスモデルを用いた実験により、本化合物が感染動物に対して症状改善 (致死抑制効果) を示すことが確認されました。

LASV は感染症法で 1 類に該当するウイルスであることから、BSL4 施設を持つ米国テキサス大学との共同研究を実施し、本化合物が LASV に対して抗ウイルス効果を有することも確認できました。

本研究において、ヒトに重篤な疾患を引き起こす LASV を含むブニヤウイルス属の幅広いウイルスに対して、本化合物が強力な抗ウイルス活性を有することを見出しました。これらのウイルスに対する有効かつ安全な治療薬は存在せず、本研究成果によって新たな治療薬の開発が進むことが期待されます。

なお、本研究成果は 2022 年 8 月 29 日 (月) 公開の Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS) 誌にオンライン掲載されました。

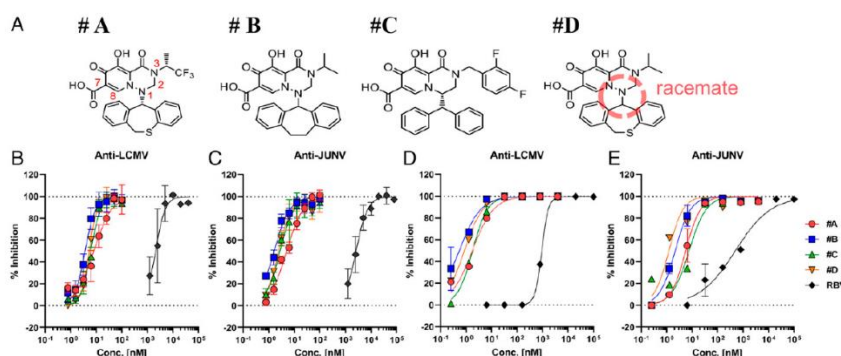


図1 化合物 A-D の化学構造 (A)、MTT 法による化合物 A-D の抗 LCMV 活性と抗 JUNV 活性 (B、C)、RT-qPCR 法による化合物 A-D の抗 LCMV 活性と抗 JUNV 活性 (D、E)

## 【背景】

近年、世界では様々な新興・再興ウイルス感染症が流行しており、その多くは人獣共通感染症です。現在パンデミックを引き起こしている新型コロナウイルス（SARS-CoV-2<sup>\*4</sup>）感染症（COVID-19）のように、これら新興・再興ウイルス感染症の流行は人々の健康のみならず、経済活動にも大きな影響を及ぼします。またエボラ出血熱、ラッサ出血熱、南米出血熱等の熱帯病については、有効なワクチンや治療薬は存在しないものが多数であり、世界的な公衆衛生学上の問題となっています。

北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所と塩野義製薬は、2013年より新興ウイルス感染症薬の研究開発について共同研究を実施しています。これまで、塩野義製薬では抗HIV薬、抗インフルエンザウイルス薬の新規創薬に成功し、多数の化合物を含む抗ウイルス化合物ライブラリーを保有しており、本共同研究において、この化合物ライブラリーから新たな新興感染症ウイルス薬を見出すことを目指しました。2018年には、シオノギ抗ウイルス薬研究部門を設置し、コロナウイルスをはじめ、様々な新興・再興感染症ウイルスに対する化合物の研究開発を展開しています。

## 【研究成果】

初期評価として、培養細胞にウイルスを感染させ、ウイルス増殖に伴い出現する細胞変性効果（CPE）<sup>\*5</sup>を指標として、各化合物のウイルス増殖阻害活性を評価しました。約6000化合物のスクリーニングから、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス<sup>\*6</sup>（LCMV）、フニンウイルス<sup>\*7</sup>（JUNV）に対して、化合物Bが強力な抗ウイルス活性（LCMV：EC<sub>50</sub><sup>\*8</sup> = 4.5 nM、JUNV：EC<sub>50</sub> = 2.4 nM）を有することを見出しました（p.1図）。本化合物は、従来臨床で用いられている対照薬のリバビリン（RBV）に比べ、500-1000倍も強い抗ウイルス活性を示しました。続いて、同属のラッサウイルスに対する薬効評価を実施した結果、化合物BはLASVに対しても強力な抗ウイルス活性を有することを見出しました。

化合物の作用メカニズムを調べるために、薬剤 escape ウイルス取得実験を実施したところ、LCMV、JUNVともCEN活性中心を形成するαヘリックス領域にアミノ変異が見られました。これは、バロキサビル マルボキシルに対する escape インフルエンザウイルスで認められるCEN変異部位と相同する部位であり、この変異を持つインフルエンザウイルス、LCMVの両ウイルスに対して化合物の活性の低下が確認されました。以上の結果から、これらの化合物は、ブニヤウイルスの有するCEN活性中心に結合することで、ウイルスRNA複製を阻害することが示唆されました。

化合物Bについて、LCMV感染マウスでの薬効試験を実施した結果、3 mg/kgで80%の致死抑効果が見られ、10 mg/kg、30 mg/kgでは100%の生存効果が認められました。薬剤投与量依存的な血中ウイルス量の低下が見られており、薬剤によりマウス内ウイルス産生が抑制されることで、ウイルスによる致死改善効果が認められることが証明されました（図1）。

化合物A-Dについて、LCMV、JUNVに強い抗ウイルス効果を示す一方で、抗インフルエンザウイルス薬であるバロキサビル マルボキシルはLCMV、JUNVに抗ウイルス効果が認められませんでした（EC<sub>50</sub> => 1,000 nM）。これは、同じCENでもウイルス種によって、活性中心構造が異なることを示しています。LCMV、JUNVについて、1000化合物以上のインフルエンザウイルスCEN阻害薬を調べたところ、強い抗ウイルス活性には、化合物骨格の7位カルボン酸側鎖が重要であることがわかり、実際に、バロキサビルに7位カルボン酸を導入することでLCMV、JUNVの抗ウイルスが強くなることがわかりました。化合物と酵素のDockingモデル検証（図2）から、LASV、LCMVでは、この7位カルボン酸がCEN活性中心を形成するアミノ酸（R: アルギニン）と相互作用することが推測されております。

## 【今後への期待】

現在、多くの新興・再興ウイルス感染症に対する有効かつ安全な治療法は確立されていません。今回の結果から、インフルエンザウイルスの CEN 阻害剤の中から、CEN を持つブニヤウイルスに有効な化合物が見つかり、CEN 阻害剤が、広域なウイルス感染症への展開できる可能性を示すことができました。本研究結果から、今後、他のブニヤウイルス（クリミアコンゴ出血熱ウイルス、ハンタウイルス、フニンウイルス以外の南米出血熱ウイルス等）に有効な化合物も見出すことができることが期待され、新興・再興ウイルス感染症新規治療薬の開発研究に大いに貢献できることが期待されます。

## 【謝辞】

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構「事業名：地球規模保健課題解決推進のための研究事業 研究開発課題名：広域アレナウイルス感染症治療の候補となる抗ウイルス薬の薬効評価」及び「事業名：新興・再興感染症研究基盤創生事業（海外拠点研究領域）研究開発課題目：ザンビア拠点を活用した人獣共通感染症対策に資する研究と人材育成」の支援を受けて実施されました。

## 論文情報

論文名	Identification of cap-dependent endonuclease inhibitors with broad-spectrum activity against bunyaviruses（ブニヤウイルスに対して、広域な抗ウイルス活性を示すキャップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害剤の同定）
雑誌名	Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America（PNAS） （米国科学アカデミー紀要）
DOI	10.1073/pnas.2206104119
公表日	2022年8月29日（月）（オンライン公開）

## お問い合わせ先

北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所 教授 澤 洋文（さわ ひろふみ）

T E L 011-706-5185 F A X 011-706-7370 メール h-sawa@czc.hokudai.ac.jp

U R L <https://www.czc.hokudai.ac.jp/pathobiol/project/>

北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所 客員教授 佐藤彰彦（さとう あきひこ）

T E L 011-706-9638 F A X 011-706-7370 メール akihiko.sato@shionogi.co.jp

## 配信元

北海道大学社会共創部広報課（〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目）

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

## 【用語解説】

- \*1 ブニヤウイルス…ラッサウイルス、南米出血熱ウイルス等が含まれるウイルス属の総称。
- \*2 ラッサウイルス…-アフリカで流行中のウイルス性出血熱の原因ウイルス。
- \*3 キャップ依存性エンドヌクレアーゼ（CEN）…インフルエンザ、ブニヤウイルスが持つウイルス複製に必須な酵素。
- \*4 SARS-CoV-2 … 新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の原因となるウイルス。
- \*5 細胞変性効果（CPE）… ウイルスの侵入によって引き起こされる宿主細胞の形態変化のことで、ある種のウイルス感染により宿主細胞の形が変化・死滅する。

\*6 リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス (LCMV) …セントルイス脳炎の患者から分離されたウイルス。ヒトに感染するとインフルエンザ様症状を示す。

\*7 フニンウイルス (JUNV) … 南米出血熱の原因ウイルスの一つ。

\*8 EC<sub>50</sub> … ウイルスに対する化合物の薬効指標のこと。EC<sub>50</sub> はウイルスの増殖を 50%抑制する化合物濃度を示す。

### 【参考図】

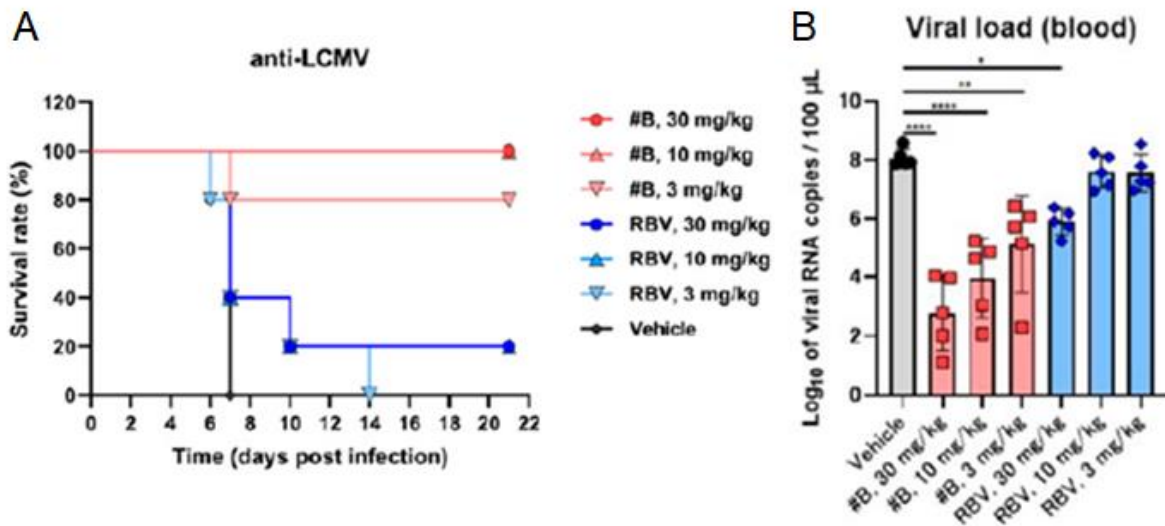


図 1. LCMV 感染マウスモデルを用いた化合物 B の致死抑制 (A)、血中ウイルス増殖抑制 (B)

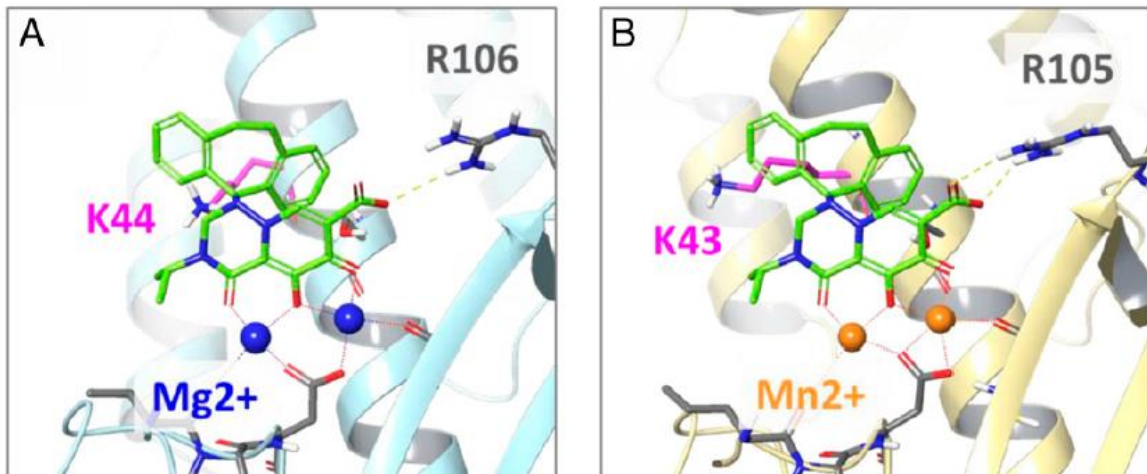


図 2. ラッサウイルスの CEN と化合物 B の Docking モデル (A)、LCMV の CEN と化合物 B の Docking モデル (B)