



Title	Discovery of a novel antiviral agent for chikungunya virus [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	和田, 雄治
Citation	北海道大学. 博士(獣医学) 甲第13073号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	http://hdl.handle.net/2115/70470
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	theses (doctoral - abstract and summary of review)
Additional Information	There are other files related to this item in HUSCAP. Check the above URL.
File Information	Yuji_WADA_abstract.pdf (論文内容の要旨)



[Instructions for use](#)

学位論文内容の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：和田 雄治

学位論文題名

Discovery of a novel antiviral agent for chikungunya virus

(新規抗チクングニアウイルス化合物の探索と解析)

チクングニア熱（CHIKF）は、トガウイルス科アルファウイルス属に属するチクングニアウイルス（CHIKV）の感染により惹起される蚊媒介性の人獣共通感染症である。2004年から現在まで続く CHIKF の流行は世界中の広範な地域（アフリカ、アジア、欧州、中南米等）で発生しており、甚大な数の感染例が報告されている。CHIKF の主症状として発熱、発疹、関節痛があげられる。特に、激しい痛みを伴い長期間（数ヶ月から数年以上）持続する関節痛は最も特徴的であり、重症例ではリウマチ様関節炎に移行する事が報告されている。この様に、CHIKF は世界中の罹患者の **quality of life** 及び経済活動に大きな被害を及ぼし、再興感染症として注目を集めている。

しかしながら、CHIKF に有効な予防法や治療法は依然として確立されていない。特に、治療薬の開発研究は途上段階にあり、抗 CHIKV 活性を有する化合物・成分等の報告は一定数存在するが、殆どの場合でその作用機序が解析されていない。そ

ここで、本研究では、**CHIKF** 治療薬の開発に寄与する知見を獲得する事を目的として、**CHIKF** 治療薬の候補と成り得る新規抗 **CHIKV** 化合物の探索とその作用機序の解明を試みた。

第一章では、**CHIKV** 感染による細胞障害を指標とする細胞生存性試験により、化合物ライブラリーのスクリーニングを実施した。本スクリーニングにより、複数の **CHIKV** 株の感染を低濃度 (EC_{50} : 0.54 - 0.98 μ M) で阻害するベンゾイミダゾール系化合物である **Compound-A** を見出した。更に、**Compound-A** は、**CHIKV** と同じトガウイルス科アルファウイルス属に属するシンドビスウイルスの感染を阻害するが、フラビウイルス科フラビウイルス属に属するデングウイルスの感染は阻害しない事が明らかとなった。以上の結果から、**Compound-A** の抗ウイルス活性はアルファウイルス特異的である可能性が示唆された。また、**Compound-A** と非常に類似した化学構造を有する化合物を解析した結果、**Compound-A** が有する抗 **CHIKV** 活性には末端の 2-Pyrrolidone 構造が必須である事を明らかとした。

第二章では、**Compound-A** 耐性 **CHIKV** を用いて、**Compound-A** の抗 **CHIKV** 活性作用機序の解明を試みた。始めに、野生型 **CHIKV** を **Compound-A** 存在下で複数回継代培養する事により **Compound-A** 耐性 **CHIKV** クローン (**res-CHIKV-1**) を分離し、全ゲノム配列を解析した。続いて、**res-CHIKV-1** が有するアミノ酸変異を単独、もしくは組み合わせで導入した遺伝子組換え **CHIKV** を作出し、**Compound-A** が有する抗 **CHIKV** 活性に対する感受性の変化を解析した。その結果、**Compound-A** は非構造タンパク質 (nsP) 4 に位置する M2295 を標的として抗 **CHIKV** 活性を示

す事が明らかとなった。一般的に、アルファウイルスの nsP4 は RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RdRp) として機能する事が知られている。Compound-A が RdRp の機能を阻害する可能性を調査する為に、CHIKV レプリコンを作出し、Compound-A 存在下における CHIKV のゲノム複製効率を評価した。その結果、Compound-A は M2295 を標的として CHIKV のゲノム複製を阻害する事が明らかとなり、Compound-A は RdRp 阻害剤として作用する可能性が示唆された。更に、種々の RNA ウイルスのアミノ酸配列を解析した結果、M2295 は RdRp の機能的モチーフである Motif B 内に位置し、アルファウイルスで広範に保存されている事が明らかとなった。本解析により得られた結果は、Compound-A がアルファウイルス特異的に抗ウイルス活性を示す可能性、及び RdRp 阻害剤として作用する可能性を支持するものである。また、Compound-A と同様のベンゾイミダゾール骨格を有する他の化合物の抗 CHIKV 活性を解析した結果、M2295 を標的とする抗 CHIKV 活性は Compound-A に特異的な性質である事が明らかとなった。これより、ベンゾイミダゾール骨格は Compound-A の抗 CHIKV 活性に必須ではない可能性が示唆された。

