



HOKKAIDO UNIVERSITY

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
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(獣医学)
Dissertation Number	甲第13073号
Issue Date	2018-03-22
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/70470
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Yuji_WADA_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（獣医学）

氏名：和田 雄治

審査委員	主査	教授	澤	洋文
	副査	教授	迫田	義博
	副査	准教授	好井	健太郎
	副査	講師	大場	靖子

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未だ確立されていない。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。最初に、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である nsP4 に位置するアミノ酸残基 (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から、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。

以上の結果から本研究で得られた知見は CHIKF の治療法開発において、基礎的な知見を提供するものと考えられた。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 和田雄治氏の学位論文は、北海道大学大学院獣医学研究科規程第 6 条の規定による本研究科の行う学位論文の審査等に合格と認めた。