



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Study on chemical compounds for the development of anti-ebolavirus drugs [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	磯野, 真央
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	甲第14550号
Issue Date	2021-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/81659
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Mao_Isono_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（感染症学）

氏名：磯野 真央

審査委員	主査	教授	東	秀明
	副査	教授	高田	礼人
	副査	教授	荻和	宏明
	副査	教授	迫田	義博

学位論文題名

**Study on chemical compounds for the development of anti-ebolavirus drugs
(抗エボラウイルス薬開発に向けた化合物の探索)**

フィロウイルス科に属するエボラウイルスおよびマールブルグウイルスは、ヒトを含む霊長類に高い致死率を伴う出血熱を引き起こす人獣共通感染症病原体の一つである。近年、大規模なエボラウイルス病（EVD）のアウトブレイクがアフリカで報告されている。2013年から2016年にかけて西アフリカで発生したEVDの未曾有の大流行および2018年から2020年のコンゴ民主共和国で発生し史上2番目の規模となった流行の際に、EVDに対する様々な治療薬の臨床試験が行われ、2020年10月に抗体医薬による初めての抗エボラウイルス薬 Inmazeb が承認された。しかし、この抗体医薬品は生産コストが高い上に、使用上の問題から投与できない患者も一定数想定される。また、一種類のエボラウイルス種に対してしか効果が認められないため汎用性が低い。一方、これまでにファビピラビルやレムデシビルに代表される核酸類似体が、エボラウイルスのゲノム複製阻害薬の候補化合物として報告されてきたが、実用化には至っていないため、さらに安価で安全な効果の高いEVD治療薬の開発が求められている。

第一章では、エボラウイルスの表面糖蛋白質（GP）を纏ったシュードタイプウイルスを用いて、既存の化合物ライブラリーからフィロウイルスの細胞侵入を阻害する治療薬候補化合物として見つかったHUP2976の解析を行った。共焦点顕微鏡を用いて、蛍光標識したエボラウイルス様粒子（VLP）の細胞侵入過程（レセプターへの結合、細胞内への取り込み、膜融合）をHUP2976存在下および非存在下で比較した結果、本化合物はウイルス粒子がエンドソーム内に取り込まれた後の膜融合を阻害していることが示唆された。エボラウイルスの膜融合は、エンドソーム内に存在する膜融合レセプターであるNiemann-Pick C1（NPC1）蛋白質とGPの相互作用を介して引き起こされると考えられているが、HUP2976はNPC1とGPの結合を阻害しなかった。次に、増殖性シュードタイプウイルスを用いてエスケープミュータントを選択し、アミノ酸配列を解析したところ、GP分子上の基幹部位に変異が見つかり、

その変異箇所が HUP2976 の作用部位である可能性が示唆された。これらの結果は、HUP2976 はエボラウイルスの GP 分子に直接作用して構造変化を抑制し、エンドソーム膜とウイルスエンベロープの膜融合を阻害することで、エボラウイルスの細胞侵入阻害活性を示すことを示唆している。

第二章では、エボラウイルスの細胞内増殖過程のうち、細胞侵入以外のステップ、すなわちゲノム転写・複製および出芽過程を標的とした新たな治療薬候補化合物の探索を試みた。まず、レポーターとして T7 プロモーターの下流にルシフェラーゼ遺伝子をもつエボラウイルスミニゲノムを供給するプラスミド、エボラウイルスの 7 つの構造蛋白質および T7 ポリメラーゼを発現するプラスミドを細胞に導入し、細胞内に発現したルシフェラーゼおよび培養上清中に産生される VLP 量を検出することによって、エボラウイルスゲノムの転写・複製および出芽を阻害する化合物を同時に評価できる実験系を確立した。この系を用いて、約 20,000 化合物のスクリーニングを行った結果、転写・複製阻害活性を持つ化合物を 11 個および出芽阻害活性を持つ化合物を 12 個見いだした。そのうち、転写・複製および出芽の両方に阻害活性を示したものは 7 個であった。

本研究は、EVD に対する新規治療薬候補化合物を探索することを目的として行った。現在唯一の承認薬である Inmazeb に代表される抗体医薬に比べ、生産コストならびに保管の簡便さや効能成分の安定性などの面で優位である低分子化合物は、EVD が問題となる地域であるアフリカで、より理想的な薬剤であると考えられる。本研究で見つかった化合物の実用化に向けて、選択性、細胞毒性、構造活性相関および生体内での薬物動態等についてさらなる研究が必要であるが、得られた知見は今後の EVD 治療薬の開発に貢献することが期待される。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者磯野真央氏の学位論文は、北海道大学大学院国際感染症学院規程第 10 条の規定による本学院の行う学位論文の審査等に合格と認めた。