



HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---------------------|--|
| Title | Studies on development of novel therapeutic agent against RNA virus infection [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review] |
| Author(s) | 登, 治謙 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(感染症学) |
| Dissertation Number | 乙第7179号 |
| Issue Date | 2023-03-23 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/89970 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | Haruaki_Nobori_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：登 治謙

| | | | | |
|------|----|------|----|----|
| 審査委員 | 主査 | 教授 | 澤 | 洋文 |
| | 副査 | 教授 | 迫田 | 義博 |
| | 副査 | 客員教授 | 佐藤 | 彰彦 |
| | 副査 | 准教授 | 大場 | 靖子 |

学位論文題名

Studies on development of novel therapeutic agent against RNA virus infection

(RNA ウイルス感染症に対する新規治療薬の開発に関する研究)

これまで様々なウイルス感染症が世界中で発生、流行している。感染症を引き起こすウイルスとして、熱帯及び亜熱帯地域における最も深刻な感染症の1つであるデング熱及びデング出血熱の原因であるデングウイルス (DENV) や、世界的な流行が国際社会の公衆衛生において非常に深刻な問題となっている新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の病原体である、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2) などがあるが、感染症のコントロールのため、新規抗ウイルス薬の開発が望まれている。

本研究は新規抗ウイルス薬の開発に寄与する知見を獲得することを目的として、DENV を対象として、創薬初期段階である抗ウイルス薬候補のシーズの探索を実施し、また、SARS-CoV-2 を対象として、COVID-19 治療薬候補のエンシトレルビルについて、創薬後期段階であるマウス感染モデルを用いた *in vivo* での薬効評価を実施した。

第 I 章では、抗 DENV 薬候補のシーズ探索を実施した。DENV 2 型 (DENV2) 感染 BHK-21 細胞における細胞障害を指標とした評価により、約 7,000 個の化合物をスクリーニングした結果、抗 DENV2 活性を持つ新規化合物として、ベンズイミダゾール骨格を有する化合物 B 及び、キノロン骨格を有する化合物 X 並びに化合物 Y を見出した。化合物 B、化合物 X、化合物 Y は DENV2 に対して薬剤の有効性の指標である 50%効果濃度 (EC₅₀) が 1.32、3.88、9.19 μM の抗ウイルス活性を示した。さらに、化合物存在下で DENV2 を継代することにより化合物耐性ウイルスを取得し、ウイルスゲノムに数ヶ所のアミノ酸変異が確認された。リバーシジェネテイクス法を用いて、これらのアミノ酸置換ウイルスを作製し、化合物に対する感受

性の変化を評価した。その結果、化合物 B は、DENV2 の膜タンパク質である非構造タンパク質 4A (NS4A) の C87S の変異が、また、化合物 X 並びに化合物 Y は、NS5 のメチルトランスフェラーゼドメインの V130A の変異が、それぞれの化合物に対する感受性低下に寄与することが明らかとなった。

第 II 章では、北海道大学と塩野義製薬の共同研究において見出された SARS-CoV-2 の 3C 様プロテアーゼ阻害剤である COVID-19 治療薬候補のエンシトレルビルの *in vivo* での薬効を評価した。臨床現場での治療薬投与タイミングを考慮し、SARS-CoV-2 の経鼻接種から一定時間後にエンシトレルビル投与を開始した。ウイルスは SARS-CoV-2 ガンマ株及びマウスに対して高病原性を示す SARS-CoV-2 マウス馴化株 (MA-P10) を用いた。その結果、エンシトレルビルを感染 24 時間後から投与することにより、感染マウスの肺内ウイルス力価、ウイルス RNA 量共に、用量依存的に減少させ、本効果が、生存率の改善、体重減少の抑制、肺病変の減少、及び炎症性サイトカイン/ケモカインの産生抑制と相関していることを明らかにした。

以上より、第 I 章では DENV2 感染細胞の細胞生存率を指標とした化合物スクリーニングにより抗 DENV 活性を有する新規化合物及びその標的部位を同定し、複数の新規メカニズムを有する抗ウイルス薬候補のシーズを見出した。今回見出された抗 DENV 活性を有する新規化合物の抗ウイルス活性は μM レベルであり、更なる抗ウイルス活性の向上が必要と考えられるが、今後、当該候補化合物の構造を最適化し、第 II 章で実施したマウス感染モデルで得られた知識・技術を活用して *in vivo* 感染モデルを構築し、*in vivo* での薬効を示す抗ウイルス薬候補を選抜することが期待される。第 II 章では COVID-19 治療薬候補のエンシトレルビルを対象として、マウス感染モデルを用いた *in vivo* における薬効を確認した。本研究で得られた結果により、エンシトレルビルが臨床においても抗ウイルス活性を示し、かつ COVID-19 症状を改善する治療効果を発揮することが期待され、COVID-19 治療薬として臨床開発のステージに進むことが可能になった。更にエンシトレルビルは 2022 年 11 月に日本において COVID-19 に係る治療薬として緊急承認を得られており、本研究成果は COVID-19 治療薬の創製に大きく貢献したと思われる。

本研究で示した抗ウイルス薬候補のシーズ探索手法や *in vivo* における薬効評価方法を他のウイルスに応用することで、様々なウイルスに対する抗ウイルス薬の開発も期待される。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 登 治謙 氏が博士 (感染症学) の学位を授与されるに十分な資格を有するものと認めた。