HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the efficacy of anti-influenza drug baloxavir marboxil against animal-derived influenza viruses [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	谷口, 恵一
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	乙第7206号
Issue Date	2024-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/92538
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Keiichi_Taniguchi_review.pdf, 審査の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

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：谷口　恵一

審査委員

主査	教授	迫田　義博
副査	特別招へい教授	喜田　宏
副査	教授	澤　洋文
副査	准教授	磯田　典和

学位論文題名

Studies on the efficacy of anti-influenza drug baloxavir marboxil against animal-derived influenza viruses
（動物由来インフルエンザウイルスに対する抗インフルエンザ薬バロキサビル マルボキシルの有効性に関する研究）

インフルエンザの世界的大流行や、鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染に備え、広域な有効性を示す治療薬が必要である。バロキサビルマルボキシル（BXM）は、季節性インフルエンザの治療を目的に製造承認された低分子化合物であり、様々なインフルエンザウイルスに対して有効性を示す。しかし、*in vivo* での動物由来ウイルスに対する BXM の有効性に関する情報は少なく、治療法を拡充するための知見の収集が必要である。また、BXM の活性化体であるバロキサビル酸（BXA）に対する感受性の低下に PA 蛋白質のアミノ酸 38 位のイソロイシン（PA/I38）の変異が関与すると臨床現場で報告されている。しかし、動物由来ウイルスにおけるこれらの変異に関する報告は限られており、野外ウイルスにおける PA 蛋白質のアミノ酸多型の知見も少ない。そこで本研究では、様々な動物由来ウイルスを用いて、BXM の有効性に関する *in vitro* 及び *in vivo* の試験を実施した。

第I章では、H5 及び H7 亜型の鳥インフルエンザウイルスに対する BXM の有効性を検証した。その結果、近年国内で分離された鳥インフルエンザウイルスとノイラミニダーゼ阻害薬に対する耐性変異を導入した A/Hong Kong/483/1997（H5N1）（HK483）株及び A/Anhui/1/2013（H7N9）（Anhui1）株の増殖が BXA により阻害された。またその阻害活性は、BXA と異なる作用機序を有するノイラミニダーゼ阻害薬であるオセルタミビルやファビピラビルのそれらよりも高かった。次に、野生型の HK483 株及び Anhui1 株をマウスに経鼻感染させ、感染直後より BXM あるいはリン酸オセルタミビル（OSP）を 5 mg/kg あるいは 50 mg/kg の用量で 1 日 2 回 5 日間経口投与した。その結果、OSP に比べ、BXM は感染翌日の肺内ウイルス増殖を有意に抑制した。なお、肺から回収されたウイルスの PA 蛋白質にはアミノ酸置

換は認められなかった。また BXM 投与によって、ウイルス感染に伴う肺組織の炎症が抑制され、致死抑制効果も確認された。HK483 株をマウスに感染させると、脳や腎臓からもウイルスが回収されたが、BXM 投与によってそれらが抑制された。また HK483 株あるいは Anhui1 株の感染 24、48 時間後から BXM を投与した場合でも、致死抑制効果が認められた。さらに、HK483 株感染マウスに BXM と OSP（それぞれ 5 mg/kg、10 mg/kg を 1 日 2 回 5 日間）を併用投与することで、各化合物を単剤で投与するよりも優れた致死抑制効果が認められた。以上より、BXM は H5 及び H7 亜型の鳥インフルエンザウイルス感染時の治療に有用であることが示された。

第II章では、PA/I38 に変異を有する動物由来ウイルスの性状解析のため、PA/I38F、PA/I38M、PA/I38T 変異を導入した組換え HK483 株をそれぞれ作出し、これらウイルスの BXA 感受性と培養細胞における増殖性を調べた。また世界各地で鳥とブタから分離されたウイルス株の BXA 感受性と、PA 蛋白質のアミノ酸多型を解析した。その結果、各変異体の BXA 感受性が野生型 HK483 株のそれより 15 倍から 48 倍低下した。また各変異体の細胞における増殖が野生型株のそれより低下し、PA/I38T 変異株で特に顕著であった。なお、これらのウイルスのオセルタミビル及びファビピラビルに対する感受性は、野生型株のそれらと同程度であった。次に、世界各地で分離された 28 株の鳥とブタ由来分離株の BXA 感受性を調べたところ、いずれの株も BXA によりウイルスの増殖が抑制された。また、過去に分離された A 型インフルエンザウイルス株に認められる PA 蛋白質上のアミノ酸多型をデータベースで確認したところ、99%以上の株で PA/I38 が保存されている一方、PA/A20T、PA/Y24H、PA/A37S 等の多型が全株の 1%以上に認められた。なお、今回評価した株の一部に上記多型を認めたが、いずれも BXA の感受性に変化がなかった。以上の結果から、動物由来インフルエンザウイルスにおいても、PA/I38 が BXA の耐性変異マーカーとして有用であることが示された。

本研究から、動物由来インフルエンザウイルスのヒトへの感染が確認された際の治療薬として BXM が有用であることが示された。また、PA/I38 変異が動物由来ウイルスに導入された場合のウイルスの増殖性や、世界各地で分離される動物由来ウイルスの BXA 感受性が明らかとなった。これらの知見が、将来発生しうるインフルエンザの世界的大流行への備えとして活用されると期待される。

よって、審査委員一同は、上記学位論文提出者 谷口 恵一 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。