HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Basic research contributing to the development of treatments for viral infections and antimicrobial resistant bacterial infections
Author(s)	鳥羽, 晋輔
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(感染症学)
Dissertation Number	乙第7239号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.r7239
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99855
Type	doctoral thesis
File Information	Shinsuke_Toba_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学位論文内容の要旨
Abstract of the dissertation

博士の専攻分野の名称：博士（感染症学）　　氏名：鳥羽 晋輔
Name

学位論文題名
The title of the doctoral dissertation

Basic research contributing to the development of treatments for viral infections and antimicrobial resistant bacterial infections

（ウイルス感染症および薬剤耐性細菌感染症の治療法の確立に資する基盤研究）

人類を取り巻く感染症は、ウイルス、細菌などの様々な病原体によって引き起こされる。

ウイルス感染症においては、未だに有効な治療薬が存在しない感染症が存在している。近年、ヒトでの局所的な流行を繰り返しているラッサ熱は有効かつ安全な治療薬が確立されていない疾患の一つである。本感染症は重症化すると消化器出血、脳症、ショックなどの重篤な症状を示し、致死につながることから治療薬の開発が望まれている。また 2019 年以降に世界的な流行が問題となった新型コロナウイルス感染症（COVID-19）等の、新興感染症に対しては、流行が発生した時点で有効な治療薬は存在していない。パンデミックが発生した際には、有効な治療薬の迅速な開発が重要となる。そのため通常の創薬に加えて、既に開発・承認が進められており薬理作用や安全性などの情報が明らかである化合物を用いた、ドラッグリポジショニングの有用性が注目されている。

一方、細菌感染症においては多剤耐性菌の出現が問題となっており、これらは院内感染や日和見感染の原因となる。特に免疫力が低下した易感染状態の症例では日和見感染は大きなリスクとなる。そのため多剤耐性菌に対する治療薬開発は急務である。多剤耐性の獲得には複数の機構が関与している。その中でも多剤排出ポンプは、細菌が細胞外へ薬剤を能動的に排出することにより、複数の薬剤に対して同時に耐性を示す主要な因子として注目されている。多剤排出ポンプに関する研究は、従来の抗菌薬開発とは異なり薬剤感受性の回復といった新たな治療戦略の構築に繋がる可能性がある。また近年、多剤排出ポンプの立体構造解析や阻害剤のスクリーニング技術の進展によって、創薬標的としての有用性が高まっている。

上述の課題に対する研究として、第 1 章ではラッサウイルスを含むブニヤウイルスに対する阻害剤の同定を試みた。ブニヤウイルスの複製にはキャップ依存性エンドヌクレアーゼ（CEN）が必須であることから、本研究では CEN 阻害剤（CENi）

ライブラリーを用いて化合物スクリーニングを実施し、リバビリンに比べて最大1,000 倍の活性を示す化合物を複数同定した。これらの化合物は、ラッサウイルス、リンパ球性脈絡髄膜炎ウイルス（LCMV）、フニンウイルスを含む複数のブニヤウイルスに対して活性を有していた。阻害メカニズムを明らかにするために薬剤耐性ウイルスの選択を実施し、薬剤耐性ウイルスの CEN 領域におけるアミノ酸置換を同定した。さらに LCMV 感染マウスモデルを用いた試験において、同定した化合物治療によって、血液中のウイルス RNA 量が大幅に減少し、感染による血小板減少症や肝機能障害が抑制され、さらにマウスの生存率が向上することが明らかとなった。これらの結果から、CEN 阻害剤がブニヤウイルス感染症の広域治療薬としての可能性を有することが示され、有効かつ安全な治療薬が確立されていない疾患の一つであるラッサ熱の治療薬候補となり得る化合物を見出した。

COVID-19 の原因ウイルスである重症急性呼吸器症候群コロナウイルス 2（SARS-CoV-2）は、2 型膜貫通型セリンプロテアーゼ（TMPRSS2）およびカテプシンプロテアーゼという 2 つの異なる経路で細胞に侵入することが知られている。また S 遺伝子のフーリン切断部位を欠失した SARS-CoV-2 変異株（del2）では、野生株と細胞指向性が異なることが報告されていた。第 2 章では複数の異なる細胞株を用いて、SARS-CoV-2 野生株および del2 変異株に対するプロテアーゼ阻害剤の抗ウイルス活性を評価した。阻害剤にはセリンプロテアーゼ阻害剤として開発されたカモスタットや寄生虫感染症に対する治療薬候補として開発が進められていたカテプシン L 阻害剤である K11777 を含む 4 種類の化合物を用いた。その結果、TMPRSS2 阻害剤であるカモスタットは、野生株に対して強い抗ウイルス活性を示したが、del2 変異株に対しては活性を示さなかった。一方、カテプシン B/L 阻害剤である K11777 は、del2 ウイルスに対して強力な抗ウイルス活性を示した。次に SARS-CoV-2 および SARS-CoV の K11777 耐性変異ウイルスを単離し、これらのウイルスが有する変異がカテプシン L を介した S タンパク質における S2′部位での切断を促進することを明らかにした。最後に、SARS-CoV-2 感染ハムスターモデルにおいて K11777 とカモスタットの併用治療によって、SARS-CoV-2 WK-521 株の感染が強力に阻害されることを示した。本研究結果から SARS-CoV-2 の細胞侵入過程における S2'部位の重要性が明らかとなり、COVID-19 に対する治療戦略として、TMPRSS2 およびカテプシンプロテアーゼを標的とした併用療法の有用性が示唆された。

第 3 章では院内の日和見感染の原因菌として重要な *Serratia marcescens* (*S. marcescens*)に着目し、広範な化合物を基質とすることが知られ、多剤耐性発現において重要な因子である RND 型多剤排出ポンプの機能を評価した。*S. marcescens* Db10 株のゲノムから 8 つの RND 型多剤排出ポンプ遺伝子を同定した。これら 8 つの遺伝子をそれぞれ薬剤感性大腸菌である KAM32 株で発現させた場合、8 つの内 6 つにおいて複数の抗菌薬および消毒薬に対する最小発育阻止濃度（MIC）が上昇した。それらのうち 5 つの遺伝子はベンザルコニウム耐性にも寄与し、これらの RND 型多剤排出ポンプが消毒薬耐性をもたらすことが示唆された。また、臨床分離多剤耐性 *S. marcescens* 株の派生株から RND 型多剤排出ポンプの構成遺伝子である *sdeXY* の欠損株を構築した。本株に対する抗菌薬の MIC 測定結果から、この *sdeXY* 欠損株が広範囲の抗菌薬に感受性を示すことが明らかとなった。本結果から、多剤

耐性 *S. marcescens* においても多剤排出ポンプを阻害することで、耐性を示す抗菌薬の感受性を回復させうることが示唆された。

以上の様に本研究では、いずれもウイルスまたは細菌の複製・維持に必要な分子機構を標的とした研究を行った。第 1 章ではウイルスの複製に必須である酵素である CEN、第 2 章ではウイルスが細胞に侵入する際に必要な酵素である TMPRSS2 およびカテプシンプロテアーゼ、また第 3 章では細菌の多剤耐性に寄与している RND 型多剤排出ポンプを対象とした創薬開発の基盤となる研究を実施した。本研究の新規性は、第 1 章および第 2 章において阻害剤探索から耐性機構解析、さらに *in vivo* における薬効評価までを体系的に行い、それぞれの創薬標的としての有用性を実証した点にある。第 3 章では、*S. marcescens* における RND 型多剤排出ポンプの全体像を明らかにし、主要な RND 型多剤排出ポンプが薬剤耐性に与える影響を解明した点が特徴である。これらの研究によって、対象としたウイルスおよび細菌において未検証であった標的分子について、創薬標的としての有用性を明らかにした。これにより、ウイルスおよび細菌感染症に対する新たな治療戦略の構築に貢献するものであり、今後の感染症対策において基盤となる知見を提供するものである。