

新型コロナウイルスの増殖を抑える核酸代謝拮抗薬の発見

～コロナウイルスやフラビウイルス等、広域的抗ウイルス薬としての期待～

ポイント

- ・北大創薬センターの核酸化合物ライブラリーを用いたスクリーニングと最適化研究を実施。
- ・新型コロナウイルスを含む複数のウイルス種に対して強力な抗ウイルス活性を示す HMTU を同定。
- ・コロナウイルスやフラビウイルス等に対する、広域的抗ウイルス治療薬の開発に期待。

概要

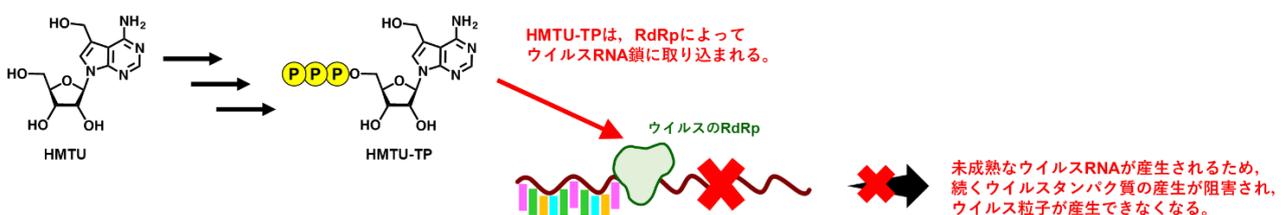
北海道大学大学院薬学研究院の前仲勝実教授、松田彰名誉教授、同大学院薬学研究院博士課程の上村健太郎氏、同人獣共通感染症国際共同研究所の澤洋文教授と佐藤彰彦客員教授らの研究グループは、5-ヒドロキシメチルツベルシジン (HMTU) が新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) に対して強力な抗ウイルス活性を有することを発見しました。

本研究で着目した SARS-CoV-2 やデングウイルス (DENV) *¹ については、これまでに多くのワクチン及び治療薬の開発研究が遂行されてきたにもかかわらず、未だ完全に有効な治療法は確立されていません。そこで研究グループは、新たな治療薬候補の探索を目的として、同大学院薬学研究院創薬科学研究教育センターの化合物ライブラリーを用いたスクリーニングを実施し、抗ウイルス活性を有する核酸代謝拮抗薬*² の同定を試みました。その結果、HMTU が SARS-CoV-2 や DENV を含む、複数のウイルス種に対して強力な抗ウイルス活性を有することを見出しました。

続いて、本化合物の作用メカニズムについて解析した結果、本化合物はウイルスの RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RdRp) *³ により RNA 鎖に取り込まれ、RdRp により媒介されるウイルス RNA の合成伸長を阻害することを見出しました。加えて、ウイルス感染実験の結果から、本化合物はウイルス感染過程の後期におけるウイルス RNA の複製を阻害することで、ウイルスの増殖を強力に抑制することを見出しました。

本研究において、本化合物が新型コロナウイルスをはじめとするヒトコロナウイルスや、ヒトに重篤な疾患を引き起こす DENV、ジカウイルス (ZIKV) *⁴、黄熱ウイルス (YFV) *⁵、日本脳炎ウイルス (JEV) *⁶、ウエストナイルウイルス (WNV) *⁷ 等、幅広いウイルス種に対して強力な抗ウイルス活性を有することを見出しました。これらのウイルスに対する完全に有効かつ安全な治療薬は存在しないため、本研究成果によって、新たな治療薬の開発が進むことが期待されます。

なお、本研究成果は、2021年9月10日(金)公開の iScience 誌にオンライン先行掲載されました。



HMTU はウイルス RNA の合成伸長を阻害することでウイルスの増殖を抑制する

【背景】

近年、世界では様々な新興・再興ウイルス感染症が流行しており、現在パンデミックを引き起こしている新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染症（COVID-19）に関しては、人々の健康のみならず、経済活動にも大きな影響を及ぼしています。また、デング熱等の顧みられない熱帯病についても、完全に有効なワクチンや治療薬は存在せず、公衆衛生学的な問題となっています。

北海道大学大学院薬学研究院の創薬科学研究教育センターは、日本承認薬約 3,000 化合物をはじめ、これまでに本学で合成された様々なタイプの化合物を保有しています。SARS-CoV-2 やデングウイルス（DENV）等の RNA ウイルスは、自身のゲノムを複製する際に RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ（RdRp）を介した核酸合成を行います。この RdRp はウイルスによって形は様々ですが、機能的には似ている部分があります。そのため、ウイルスの RdRp に作用する核酸化合物は、様々なウイルスに対して有効にはたらくことが期待されます。本研究では、創薬科学研究教育センターが保有する、核酸化合物を母核とする化合物ライブラリーに着目し、コロナウイルスやフラビウイルス^{*8} に対する薬効があるかどうかを検討することにしました。

【研究手法】

研究グループは、初期評価として、同薬学研究院創薬科学研究教育センターの核酸化合物を母核とするライブラリーを用いたスクリーニングを実施し、DENV に対して抗ウイルス活性を有する化合物を複数選抜しました。その後、DENV と同属であり、ヒトに重篤な疾患を引き起こすウイルスであるジカウイルス（ZIKV）、黄熱ウイルス（YFV）、日本脳炎ウイルス（JEV）、ウエストナイルウイルス（WNV）を用いた薬効評価を実施し、これらすべてのウイルスに対して強力な抗ウイルス活性を有する化合物を Hit 化合物として選抜しました。COVID-19 流行後は、SARS-CoV-2 やヒトコロナウイルス（OC43 株及び 229E 株）、2002 年から 2003 年に流行した SARS-CoV^{*9} に対しても同様の評価を行い、抗コロナウイルス活性や作用メカニズムを解析しました。

【研究成果】

初期評価として、培養細胞にウイルスを感染させ、ウイルス増殖に伴い出現する細胞変性効果（CPE）^{*10} をウイルス感染の指標とし、各化合物添加による CPE の抑制を測定することで化合物のウイルス増殖阻害活性を評価しました。DENV 感染モデルによる薬効評価から、5-ヒドロキシメチルツベルシジン（HMTU）が強力な抗ウイルス活性を有することを見出しました。続いて、DENV と同属のウイルスに対する薬効評価を実施した結果、HMTU は ZIKV、YFV、JEV、WNV に対しても、強力な抗ウイルス活性を有すると判明しました。

COVID-19 流行と同時に開始したコロナウイルス研究の結果、HMTU はヒトコロナウイルス（OC43 株、229E 株、SARS-CoV）に対する強力な抗ウイルス活性を有し、パンデミックの原因となっている SARS-CoV-2 に対してもウイルスの複製を強力に抑制することを見出しました。コロナウイルスに関しては、qRT-PCR 法を用いたウイルス RNA 定量や子孫ウイルスの感染力価測定、免疫蛍光染色法を用いたウイルスタンパク質の検出も実施し、HMTU がウイルス RNA の複製を阻害することで、それに続くウイルスタンパク質の発現や子孫ウイルスの産生を阻害することもわかりました。

核酸代謝拮抗薬は、細胞に取り込まれた後にリン酸化され、3 リン酸化体となることで抗腫瘍効果や抗ウイルス活性を発揮することが知られています。そこで、HMTU の 3 リン酸化体（HMTU-TP）を合成し、ウイルス RdRp による RNA の合成伸長を阻害するか検討したところ、HMTU-TP は RdRp によって RNA 鎖に取り込まれ、その後の RNA 合成伸長を阻害することを見出しました。また、化合物の添

加タイミングを変えた感染実験により、HMTU は SARS-CoV-2 感染過程の後期において作用し、ウイルス RNA の複製を阻害すると判明しました。

これらの結果から (図 1), HMTU はウイルス RdRp による RNA の合成伸長を阻害することで、ウイルス RNA の複製を抑制し、それに続くウイルスタンパク質や子孫ウイルスの産生を抑制する化合物であることが示唆されました。

【今後への期待】

現在までに、SARS-CoV-2 や DENV 等の新興・再興ウイルス感染症に対する完全に有効かつ安全な治療法は確立されていません。よって、本研究成果は新たな治療薬の開発研究に大いに貢献できると考えられます。一方で、核酸代謝拮抗薬、特にツベルシジン誘導体は細胞に対して強い毒性を示すことが知られており、ツベルシジン誘導体の開発には注意すべき点がいくつか存在します。本研究により見出された HMTU は、試験した細胞においては顕著な毒性は認められていません。今後、さらなる最適化研究により、より高活性かつ安全な化合物へと仕上げることで、新興・再興ウイルス感染症治療薬の開発に貢献できると期待されます。

【謝辞】

本研究は、徳島大学大学院医歯薬学研究部 (薬学域) の南川典昭教授、田良島典子講師ら及びユニバーシティ・カレッジ・ダブリンのウィリアム・ホール教授との共同研究として行われました。

また、本研究は国立研究開発法人日本医療研究開発機構「創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業 JP21am0101093」, 「新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業 JP19fk0108111, JP20fk0108251, JP20fk0108289」及び「新興・再興感染症研究基盤創生事業 JP21wm0225017」, 文部科学省科学研究費助成事業、北海道大学特別経費の支援を受けて実施されました。

論文情報

論文名	5-Hydroxymethyltubercidin Exhibits Potent Antiviral Activity against Flaviviruses and Coronaviruses, including SARS-CoV-2 (5-ヒドロキシメチルツベルシジンが新型コロナウイルス SARS-CoV-2 を含むコロナウイルス及びフラビウイルスに強力な抗ウイルス活性を有することを発見)
著者名	上村健太郎 ^{1,2,3} , 登 治謙 ² , 佐藤彰彦 ^{2,3} , 佐名木孝央 ^{2,3} , 鳥羽晋輔 ^{2,3} , 佐々木道仁 ³ , 村井あきほ ⁴ , 田良島典子 ⁴ , 南川典昭 ⁴ , 大場靖子 ³ , 苅和宏明 ⁵ , William W Hall ^{6,7} , 澤 洋文 ^{3,7,8} , 松田 彰 ¹ , 前仲勝実 ^{1,9} (¹ 北海道大学大学院薬学研究院, ² 塩野義製薬株式会社, ³ 北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所, ⁴ 徳島大学大学院医歯薬学研究部 (薬学域), ⁵ 北海道大学大学院獣医学研究院, ⁶ ユニバーシティ・カレッジ・ダブリン, ⁷ Global Virus Network, ⁸ 北海道大学 One Health Research Center, ⁹ 北海道大学バイオサーフィス創薬グローバルステーション)
雑誌名	iScience (一般科学誌)
DOI	10.1016/j.isci.2021.103120
公表日	2021年9月10日 (金) (オンライン公開)

お問い合わせ先

北海道大学大学院薬学研究院 教授 前仲勝実（まえなかかつみ）

T E L 011-706-3970 F A X 011-706-4986 メール maenaka@pharm.hokudai.ac.jp

北海道大学大学院薬学研究院 名誉教授 松田 彰（まつだあきら）

T E L 011-706-2648 F A X 011-706-4986 メール matuda@pharm.hokudai.ac.jp

U R L <http://convallaria.pharm.hokudai.ac.jp/bunshi/>

AMED 事業に関するお問い合わせ先

日本医療研究開発機構 創薬事業部 医薬品研究開発課

創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業（BINDS）

T E L 03-6870-2219 メール 20-ddlsg-16@amed.go.jp

日本医療研究開発機構 創薬事業部 創薬企画評価課

新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業

T E L 03-6870-2226 メール shinkou-saikou@amed.go.jp

配信元

北海道大学総務企画部広報課（〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目）

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

【参考図】

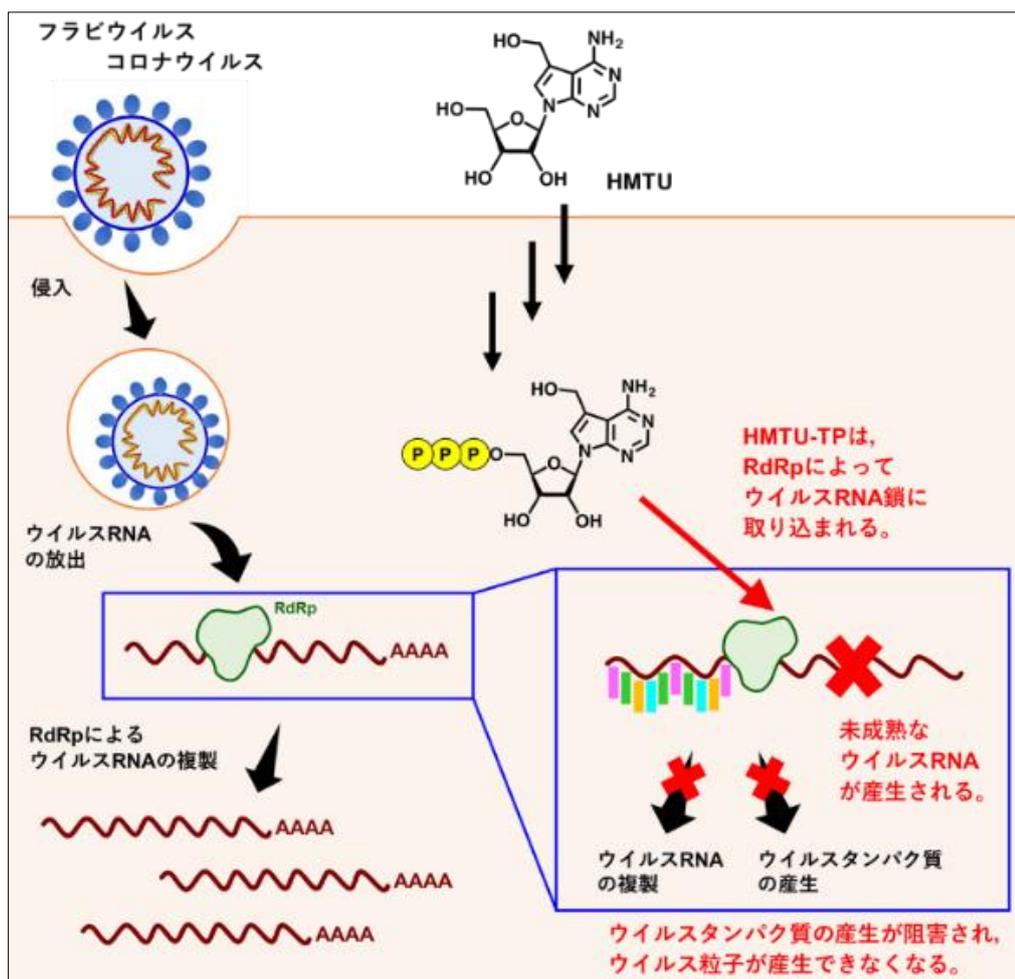


図1. 5-ヒドロキシメチルトツベルシジン（HMTU）のウイルス増殖抑制メカニズム。

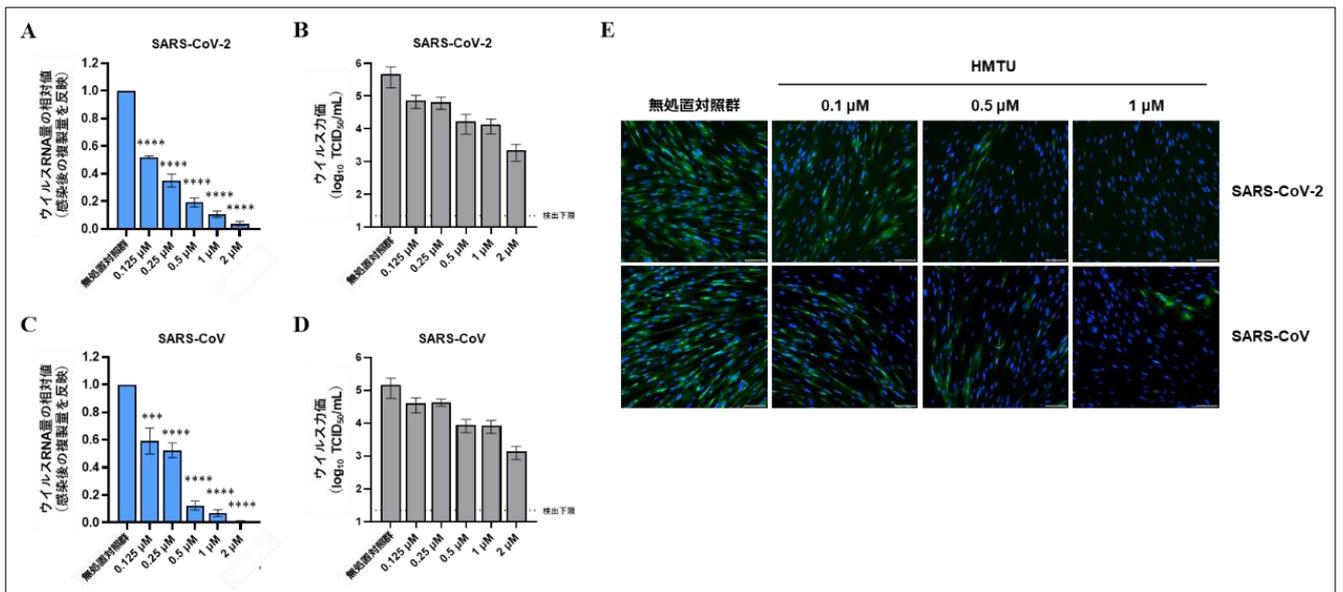


図 2. 5-ヒドロキシメチルツベルシジン (HMTU) の抗コロナウイルス活性。(A) HMTU による SARS-CoV-2 のウイルス RNA 複製抑制。(B) HMTU による SARS-CoV-2 の子孫ウイルス産生抑制。(C) HMTU による SARS-CoV のウイルス RNA 複製抑制。(D) HMTU による SARS-CoV の子孫ウイルス産生抑制。(E) HMTU による SARS-CoV-2 及び SARS-CoV のウイルススパイクタンパク質産生抑制。

【用語解説】

- *1 デングウイルス (DENV) … デング熱やデング出血熱を引き起こすウイルス。
- *2 核酸代謝拮抗薬 … 細胞やウイルス等の DNA または RNA 複製 (核酸代謝) に必要な基質に似た構造をもち、細胞内に取り込まれた後に、活性物質となって DNA または RNA 合成を阻害する。
- *3 RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ (RdRp) … RNA を鋳型に RNA を合成する酵素である。RNA をゲノムにもつ RNA ウイルスにとっては、自身の複製に必須のタンパク質である。
- *4 ジカウイルス (ZIKV) … ジカ熱や小頭症の原因となるウイルス。
- *5 黄熱ウイルス (YFV) … 黄熱病の原因となるウイルス。
- *6 日本脳炎ウイルス (JEV) … ヒトに重篤な急性脳炎 (日本脳炎) を引き起こすウイルス。
- *7 ウエストナイルウイルス (WNV) … ウエストナイル熱の原因となるウイルス。
- *8 フラビウイルス … ウイルス分類上の総称。DENV, ZIKV, YFV, JEV, WNV 等が属する。
- *9 SARS-CoV … 重症急性呼吸器症候群 (SARS) の原因となるウイルス。
- *10 細胞変性効果 (CPE) … ウイルスの侵入によって引き起こされる宿主細胞の形態変化のこと。ウイルス感染により、宿主細胞の形が変化する場合や細胞が死滅する場合がある。