

医療分野研究成果展開事業/研究成果最適展開支援プログラム (AMED・A-STEP)

平成 28 年度終了課題 事後評価報告書

プロジェクトリーダー (企業責任者)	エーザイ株式会社 筑波研究所長付シニアサイエンティフィックアドバイザー 吉松 賢太郎
研究責任者	国立大学法人筑波大学 医学医療系 感染生物学研究室 助教 川口 敦史
支援タイプ	ハイリスク挑戦タイプ
研究開発実施期間	平成 25 年 12 月 ~ 平成 28 年 11 月
研究開発課題	耐性株が産生されにくい抗インフルエンザ薬の開発

1. 研究開発の目的

毎冬の流行に加えて、鳥インフルエンザの大流行も危惧されているインフルエンザウイルスは社会の脅威となっている。インフルエンザウイルスは変異率が高く、既存の抗インフルエンザ薬では耐性株が容易に出現する。よって、これまでの抗インフルエンザ薬とは異なる作用機序をもち、耐性株が出現しにくい、創薬設計が必要である。本課題では、ウイルス株間で高度に保存されているウイルス RNA ポリメラーゼを標的とした低分子化合物を探索し、変異株が産生されにくい抗インフルエンザ薬を開発する。

2. 研究開発の概要

① 成果

目的：RNA ポリメラーゼのサブユニットの結晶構造解析結果を利用した *in silico* screening で得られていた 2 系統のヒット化合物から、標的タンパクへの結合活性および *in vitro* 抗インフルエンザ活性の向上を行い、*in vivo* で抗インフルエンザウイルス活性を有する化合物を創出する。

実施内容：2 系統のヒット化合物の類縁体および誘導體合計 381 化合物について、標的タンパクへの結合活性および *in vitro* 抗インフルエンザ活性の評価を行い、溶解性の良好な化合物に関しては標的タンパクへの結合親和性の評価と共結晶作製の検討を行った。また、*in vivo* 抗インフルエンザ活性の評価を実施した。標的タンパク上のプロモーター結合部位に対して *in silico* screening を実施し同様に評価した。

達成度：*in vitro* 抗インフルエンザ活性に関しては、目標とした 100 nM には到達出来なかったがヒット化合物に比べ約 10 倍の向上があり、1 μ M で *in vitro* 抗インフルエンザ活性を示す化合物で、弱いながらも *in vivo* 抗インフルエンザ活性が得られた。化合物と標的タンパクとの共結晶を得ることが出来なかったため、複合体の結晶構造解析からの誘導體デザインを行うことは出来なかった。標的タンパクのプロモーター結合部位に結合する化合物はユニークな作用を示すことが明らかとなった。

研究開発目標	達成度
<p>① 標的タンパクと化合物が結合することを確認する。</p> <p>② 標的タンパクと結合する化合物は、標的タンパクの活性を阻害することを確認する。</p> <p>③ 標的タンパクと化合物の複合体の立体構造の解析を行う。</p> <p>④ <i>in vitro</i> で 100nM 以下で抗インフルエンザウイルス活性を示す化合物を得る。</p> <p>⑤ <i>in vivo</i> で有意な抗インフルエンザウイルス効果を示す化合物を得る。</p> <p>⑥ 標的タンパク上の別の結合部位を標的とするヒット化合物を探索する。</p>	<p>① アルファスクリーン系を確立し、また、ITC（等温滴定型カロリメーター）および NMR で化合物が標的タンパクに結合することを確認した。</p> <p>② 標的タンパクとの結合活性がより強い化合物は、標的タンパクの持つ酵素活性をより強く阻害することを確認した。</p> <p>③ アルファスクリーン法で標的タンパクとの結合活性があり、溶解性試験で数十 μM 以上の溶解性を示した化合物を ITC で評価し、標的タンパクと化合物の共結晶作製を種々の条件で検討したが、共結晶を得ることが出来なかった。このため、複合体の立体構造の解析は行えなかった。</p> <p>④ ③が達成できなかったためにラショナルなドラッグデザインは行えず、誘導体合成による構造活性の把握とドッキングシミュレーションによる化合物デザインを進めた。その結果、100nM の目標には至らなかったが、1 μM で活性を示す化合物を得た。ヒット化合物に比べ、10 倍程度の活性向上であった。</p> <p>⑤ 骨格の異なる 3 系統から 1 化合物ずつ選び、急性毒性をチェックした後、<i>in vivo</i> 抗インフルエンザ活性を調べたところ、<i>in vitro</i> 活性の一番強い化合物（上述）で弱いながらも抗インフルエンザ活性が見られた。</p> <p>⑥ 標的タンパク上のプロモーター結合部位を標的とした <i>in silico</i> screening により、高濃度 (30 μM) ながらウイルス増殖によるプラークを完全に抑制する化合物を見出した。</p>

② 今後の展開

本課題で得られ共結晶作製の検討に進めた化合物について、標的タンパクと化合物の複合体の解析に関して新たな方法が利用可能になった場合には、それを試み、その結果を生かして誘導体を合成し活性を向上させる。また、プロモーターの結合部位に結合する化合物については、ユニークなインフルエンザウイルス複製に対する作用を見出すことが出来ている。標的タンパクの立体構造の予測から、共結晶の作製により有利な可能性が示唆されていることから、この化合物の誘導体の合成展開、複合体の構造解析、*in vivo* で有効な化合物の取得を目指し、AMED の ACT-M の支援を受け研究開発を進める。

3. 総合所見

本研究開発課題では、期間中にインフルエンザウイルス RNA ポリメラーゼサブユニット相互作用阻害化合物をデザイン・合成し、相応の化合物を得られたものの、開発リード化合物になり得る抗インフルエンザ活性は得られなかった。しかしながら、新たに抗インフルエンザ薬の標的と成り得る「プロモーターの結合部位」とその阻害リード化合物を見出しており、それをベースにした今後の研究開発が期待される場所である。

※記載の情報は平成29年2月時点の情報です。

以上