

1. 研究開発課題名：細胞内脂質合成を標的とした抗高病原性ウイルス療法の分子基盤

2. 研究開発代表者：浦田 秀造

3. 研究開発の成果：

本研究は細胞内脂質合成に関わる細胞内酵素 Site 1 protease (S1P)/SKI-1 が異なるヒト病原性ウイルスに対する抗ウイルスの標的となり得るか評価することを目的とし開始した。研究対象ウイルスはアレナウイルス科ルジヨウイルス (研究代表者：浦田秀造担当)、フラビウイルス科デングウイルス (研究分担者：早坂大輔担当)、及びブニヤウイルス科クリミア・コンゴ出血熱ウイルス (研究分担者：黒崎陽平担当)である。いずれのウイルスも有効な治療法が確立されておらず、その開発は喫緊の課題となっている。ルジヨウイルス及びクリミア・コンゴ出血熱ウイルスはそのヒトへの病原性の高さからバイオセーフティーレベル (BSL)-4 病原体となっている。

ルジヨウイルス (アレナウイルス科): ルジヨウイルス表面糖タンパク質 (GPC)発現プラスミドを作製し、BSL-2 でルジヨウイルス GPC の解析が行える実験系を確立した。この実験系を用いて、ルジヨウイルス GPC の開裂アミノ酸配列を同定し、またこの開裂はウイルスが出芽する細胞表面までの輸送に関与しないものの、GP (C)のウイルス粒子内への取り込みに必須であることを明らかとした。S1P/SKI-1 阻害低分子化合物 (PF-429242)を用いてルジヨウイルス GPC の開裂が S1P/SKI-1 依存的であることを明らかとし、南アフリカ共和国国立伝染病研究所 (NICD)の BSL-4 施設にて感染性ルジヨウイルスを用い、PF-429242 がルジヨウイルスの細胞内増殖を顕著に抑制することを見出した。この一連の研究結果は *Journal of Virology* に掲載された (Urata et al., *J. Virol.*, vol.90 (6), 3257-61, 2016)。

デングウイルス (フラビウイルス科): デングウイルスはその増殖過程において細胞内の油滴 (Lipid Droplet, LD)を利用することが報告されており、その一方で S1P/SKI-1 が油滴の形成に重要であることも報告されていた。我々は HeLa 細胞においてデングウイルスの全ての血清型 (1~4 型)が PF-429242 の添加によりその増殖が有意に抑制されることを見出した。この阻害効果は HeLa 細胞のみならず、HepG2 細胞、HEK293 細胞、LLC-MK2 細胞でも観察された (デングウイルス 2 型のみ解析した)。HeLa 細胞において、PF-429242 の継続的添加による薬剤耐性ウイルスの出現の有無を検証した結果、5 回の継代では PF-429242 非感受性ウイルスは出現しなかった。これらの研究結果は *Viruses* に掲載された (Uchida et al., *Viruses*, vol.8 (2), E46, 2016)。

クリミア・コンゴ出血熱ウイルス (ブニヤウイルス科): クリミア・コンゴ出血熱ウイルスは BSL-4 病原体であるため、BSL-2 で使用可能なモデルウイルスであるハザラウイルス及び表面糖タンパク質 (G)発現プラスミドの作製・使用により解析を進めた。その結果、PF-429242 がハザラウイルスの増殖を顕著に抑制すること、G の開裂を阻害することを見出した。S1P/SKI-1 酵素活性欠損 CHO-K1 細胞株 (SRD12B)を用いて G の開裂における S1P/SKI-1 の関与も明らかとした。

一連の研究結果より、S1P/SKI-1 は本研究において対象としたヒト高病原性ウイルスの抗ウイルス標的となり得ることが強く示唆された。