

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：中東呼吸器症候群、新興インフルエンザ等に対する新規診断法ならびに革新的治療法の開発研究
2. 研究開発代表者： 竹田 誠（国立感染症研究所 ウイルス第三部）
3. 研究開発の成果

中東呼吸器症候群（MERS）コロナウイルスの核酸検出法について研究を実施した。データベースに登録された流行株について、既存の遺伝子診断法に使用しているプライマー配列にミスマッチがあるか否かを検索したところ、ある種のクレードに属する株が、当該ミスマッチを持つことが明らかになった。ただし、現在、そのミスマッチを持った株の流行は広がっていないと考えられ、現在のウイルス核酸検出法を用いたウイルス検出検査に与える影響は非常に低いと考えられた。

核酸検出法に加えて MERS のウイルスタンパク抗原を検出するシステムを開発した。無細胞系を用いてウイルス抗原を作出し、同抗原を用いて MERS ウイルスを特異的に検出する単クローン抗体の作出に成功した。この抗体を利用して、MERS コロナウイルス抗原を検出できるイムノクロマトを作製することに成功した。

近年、われわれの研究から、呼吸器上皮に発現しているプロテアーゼ TMPRSS2 が、MERS コロナウイルスを含む、様々な呼吸器ウイルスの活性化酵素であることが明らかになっている。TMPRSS2 の新興再興呼吸器ウイルス、特に近年中国でヒト患者発生が続いている H7 亜型 A 型インフルエンザウイルスの増殖や病原性発現における役割について解析した。TMPRSS2 ノックアウトマウスへの病原性評価で、H7 亜型が TMPRSS2 依存的に増殖することが明らかになった。これらの知見を今後、創薬へつなげていきたい。

MERS の血清診断（中和抗体測定）検査法を開発した。TMPRSS2 を発現する株化培養細胞を用いた中和試験法である。TMPRSS2 発現により判定までの期間を 3~4 日ほど短縮することができると考えられた。次に、MERS コロナウイルスのスパイクタンパクを被ったシュードタイプウイルスを作製した。MERS コロナウイルスそのものを使用する場合は、BSL3 施設が必要であるが、本シュードタイプウイルスを用いることにより BSL2 で中和試験ができるようになる。

TMPRSS2 阻害剤の開発（創薬）を目指して、TMPRSS2 の大量精製、結晶化に取り組んだ。大量調製可能な系を確立でき、結晶化の条件を検討中である。今後、創薬研究を行っていく上では、MERS コロナウイルスの動物感染モデルが必要である。これまでに MERS コロナウイルスの増殖を促進すると考えられる特定の遺伝子の発現を変化させたマウスの作出に成功しており、順調に研究が進んでいる。

#### 4. その他

なし