

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：新規 C 型肝炎ウイルス侵入阻害剤開発に向けた創薬基盤研究
2. 研究開発代表者： 深澤 征義（国立感染症研究所細胞化学部）
3. 研究開発の成果

本研究は、C型肝炎ウイルス（HCV）感染受容体（Claudin-1、Occludin）に対する独自の抗体作製技術に基づき、優れた genetic barrier と安全性を兼ね備えた宿主感染受容体を標的とする創薬の有用性を提示し、最終的に HCV 侵入阻害剤候補となる低分子の取得を目指すものである。当該年度の主要な目的は、安全かつ有効な創薬標的分子としての HCV 感染受容体の有用性を検証することである。

培養細胞を用いた細胞毒性の検討において、我々が樹立した感染受容体抗体は毒性を全く示さなかった。また、正常マウスを用いた動物安全性試験において、感染受容体抗体は肝毒性、腎毒性を示さず、体重変化を含め全身状態の変化も見られなかった。そこでさらに、ヒト肝キメラマウスを用いた HCV 感染阻止試験を行った結果、用いた感染受容体抗体により、完全に HCV 感染が阻止され、感染受容体が創薬標的となる Proof of Concept（POC）を確立できた。本動物試験においても抗体による毒性は見られなかった。当該成果について、PCT 特許出願もおこなった。以上の結果から、本年度の主目的である「HCV 侵入阻害剤標的としての感染受容体の有用性の検証」は達成された。

感染受容体抗体の性状解析もさらに進めた。これら樹立した抗体は、様々なアプリケーション（イムノブロット、細胞免疫染色、免疫沈降法、細胞 ELISA など）に利用できることがわかった。このことから、樹立したモノクローナル抗体は、HCV の創薬研究のみならず、タイトジャンクション（密着結合）に関わる様々な応用研究（薬物吸収やがんの創薬研究など）・基礎研究（細胞接着機構の研究など）に有用であることが考えられた。

さらに、次年度以降の薬剤スクリーニングに用いるための、1) α スクリーン系による Claudin-1 binder のスクリーニング系、2) 細胞 ELISA を用いた Claudin-1 binder 及び Occludin binder のスクリーニング系も確立した。これらのスクリーニング系を用いた、低分子 Claudin-1 binder/Occludin binder のスクリーニングを前倒して開始した。

創薬スクリーニング資する、感染受容体の立体構造解析に向けて、感染受容体の無細胞タンパク質合成系における発現条件の最適化を行い、安定的に発現させる方法を確立した。また、感染受容体—感染受容体抗体の共結晶解析を行うための抗体の選別も行った。結晶化に適した抗体形状の検討・選別も行った。

HCV 侵入メカニズムの解析・侵入阻害剤の作用メカニズムの解析も進めた。培養細胞 HCV 感染系において、感染受容体抗体の併用により、相乗阻害効果を示す事が明らかとなり、より低抗体濃度での感染阻止が可能になることがわかった。また、宿主細胞を Occludin 抗体で処理すると、抗体の一部が細胞内に取り込まれることがわかった。Occludin 抗体による感染阻害メカニズムとして、細胞表面の Occludin が抗体によりマスクされる効果に加えて、細胞内へ Occludin が取り込まれて侵入因子としての役割を果たせなくなることも考えられた。

4. その他

本成果の一部について、国際特許出願を行った。