

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名： 次世代生命基盤技術を用いた B 型肝炎制圧のための創薬研究
2. 研究開発代表者： 小嶋聡一 国立研究開発法人理化学研究所
3. 研究開発の成果

B型肝炎(HBV)では、核酸アナログ製剤を服用しても cccDNA が残りウイルスを完全排除できず、耐性ウイルス出現が問題である。その克服を目指し、理研小嶋を代表として、慈恵医大松浦、感染研相崎を中心に、大規模化合物探索研究を実施。脇田班を始めとする本事業の他研究班と密に連携し、本事業高速大量化合物探索を使命として、理研の生命基盤技術を駆使し自作ならびに他班から導入した探索系を高速大量化(平成 24-25 年度)し探索(平成 25-26 年度)、ヒット化合物を得たら最適化し、リード化合物を取得する(平成 27-28 年度)。

機能的コアタンパク阻害抗ウイルス剤については、前年度までに *in vitro* 複製評価系を構築、21 万化合物から取得した抗 HBV 活性を示す 8 種類のヒット化合物のうち最も高活性の 1 種類について合成展開し、 $IC_{50}$  が約 50 nM で抗ウイルス活性を示す CBT-078 を取得。先行開発化合物との差別化を目指し、PET プローブ化。HBV ゲノム高発現マウス並びにキメラマウスで薬効を確認した。侵入阻害抗ウイルス剤については、前年度までに疑似ウイルスを用い取得した約 3 万化合物から、低細胞毒性で抗 HBV 活性をする 6 化合物を得、その中に NTCP トランスポーター活性を阻害しない化合物を認めた。抗 HBV 活性を発揮するために NTCP 以外の受容体との結合を阻害している可能性が期待され、構造活性相関研究により活性に重要な部位を同定、この情報を元に化合物固定化ビーズを作製、NTCP 以外の HBV の肝細胞表面への結合に関与する新規宿主因子の同定を試みている。cccDNA 形成阻害抗ウイルス剤については、抗 HBV 活性(cccDNA 量抑制活性)を示す、溶解性、肝臓滞留性を大幅に改善した新規イミダゾ[1,2-a][1,8]ナフチリジン骨格分子 CDM-3032 を合成、キメラマウスでの薬効試験を開始した。ビオチン化誘導体 CDM-3046 を用いて IFN 受容体結合サイトが IFN と異なることを見出し、この情報からインシリコ探索により 500 万化合物から低毒性で強い抗 HBV 活性(HBV DNA/cccDNA 量抑制活性) ( $IC_{50}$ ~10 nM 以下)を示す別骨格の新規 iCDM を取得、キメラマウスでの薬効を確認した。これらの成果は期待通りにマイルストーンを達成した。

臨床検体由来核酸アナログ耐性ウイルスをエピゾーマルに発現する細胞系を開発、上記化合物の評価を開始した。動物実験で薬効を確認した化合物は、急性毒性解析とともに、一般毒性試験に加えて毒性アレイ評価系を活用、安全性・毒性評価を実施した。その他のスクリーニングに関しては、前年度までに約 3 万化合物から取得したほとんど細胞毒性を示さず、抗 HBV 活性を示す 3 種類の HBV コアプロモーター阻害化合物群のうち、COPIN151 が低毒性で抗ウイルス活性( $IC_{50}$ ~100 nM)を発現することを確認。特異性を検討するとともに固定化カラムにより標的蛋白質同定を開始した。等温核酸増幅法(SmartAmp 法)による高感度簡易 HBV DNA 検出法を確立した。MICA 誘導化合物のスクリーニング系を加藤班から導入し、スクリーニングを開始した。

今後、構造活性相関研究、ADMET 研究、ヒト肝細胞移植キメラマウスを用いた有効性評価、PET を含む動態解析を進め、iCDM, CBT-078, CDM と開発順位をつけて最終年度までに順次リード化合物を得て特許申請、GLP 基準の非臨床試験を実施、パートナー企業を探し、松浦が中心となり、事業終了後すぐの医師主導/企業主導臨床試験に向け候補化合物選定⇒前臨床試験⇒医師主導型臨床試験申請までの工程を検討する。トランスクリプトーム解析、網羅的定量プロテオミクス、薬剤結合部位解析法を駆使して候補化合物の標的タンパク質と標的部位・作用機構を明らかにする。