

MAKAU JULIANN NZEMBI 論文内容の要旨

主 論 文

Identification of small molecule inhibitors for influenza a virus using *in silico* and *in vitro* approaches

インシリコ及びインビトロスクリーニングによるA型インフルエンザウイルスの増殖阻害活性をもつ低分子化合物の同定

Juliann Nzembi Makau, 渡邊健、石川岳志、水田賢志、濱田剛、
小林信之、西田教行

PLOS ONE • 12 卷 3 号、e0173582 2017 年

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：西田教行教授)

緒 言

インフルエンザ感染による死者は日本で年間約1万人といわれ、その制圧は重要な課題である。インフルエンザウイルスはRNAをゲノムとするウイルスであり変異体の出現が早いため、複数の新規抗インフルエンザ薬を開発する必要がある。インフルエンザウイルス特異的薬剤としてノイラミニダーゼ阻害作用を持つ抗ウイルス薬が治療に用いられているが、すでに耐性ウイルスの出現が報告されており問題となっている。また、ウイルスRNAポリメラーゼ阻害剤ファビピラビル(アビガン)が上市されたが、耐性化を避けるために現在は使われておらず、将来予測される新型インフルエンザの大流行に備える戦略が取られている。本研究では迅速なインフルエンザ薬の開発を目指し、新しい創薬アプローチとしてIn silicoスクリーニングによりインフルエンザウイルスのNP蛋白特異的阻害剤の探索を行い、さらに抗ウイルス活性について培養細胞を用いて検討を行った。

対象と方法

標的部位の選定：データベースでアミノ酸配列を調べ、インフルエンザウイルスの増殖に必須なウイルス蛋白質の中で、蛋白質立体構造が判明しており、かつ変異の少ない領域を探索した。

一次スクリーニング：長崎大学で開発されたスーパーコンピューターDEGIMA-II とドッキングプログラムNagasaki University Docking Engine (NUDE) を用いて、インフ

ルエンザウイルスの核蛋白質 (NP) を標的としたスクリーニングを実行した。約 1 万化合物から構成される独自の化合物ライブラリを用いた。

二次スクリーニング：インシリコスクリーニングで選択した上位 2000 化合物について、イヌ腎臓由来 MDCK 細胞にインフルエンザウイルスを感染、ウイルス感染による細胞死の抑制を指標として抗ウイルス活性を示す化合物を探索した。陽性対照にはオセルタミビルを用いた。

作用機序および作用部位の検討：大腸菌組換え NP 蛋白質と標的化合物の直接結合を表面プラズモン共鳴法 (SPR) により評価し、また標的化合物との結合に重要なアミノ酸残基はフラグメント分子軌道法 (FMO) により計算を行った。

結 果

スクリーニングの結果複数の抗ウイルス活性をもつ化合物を得、化合物の構造による分類を行い、抗ウイルス薬開発に適した構造や分子量をもつ化合物を選別した結果、キノリノン骨格に着目した。キノリノン骨格をもつ化合物の中で、NUD-1 は最も高い抗ウイルス活性を示し、50% 阻害濃度 (IC50) = 1.8 μM であった。NUD-1 の NP 蛋白質への結合は用量依存的であった。NUD-1 はウイルス感染の 6-9 時間後に最も高い抗ウイルス効果を示した。さらに NUD-1 の抗ウイルス効果は H1N1 および H3N2 亜型の実験室株だけでなく 2009 年より流行した新型インフルエンザ H1N1pdm 株に対しても有効であった。FMO 計算により、NP の 339 番目のグルタミン酸が NUD-1 との結合に最も重要であることが示唆された。

考 察

インフルエンザウイルス粒子構成蛋白質のうち、ウイルス増殖に必須でかつ変異が少ない核蛋白質 (NP) を標的蛋白質と定めた。NP 蛋白質は 3 量体構造をとり、ウイルスゲノム RNA やポリメラーゼとともに転写・複製複合体 (RNP) を形成する。NUD-1 は NP 蛋白質の標的部位に結合することで、NP-NP 蛋白質相互作用を阻害、結果としてウイルス遺伝子の転写複製を抑制することで抗ウイルス効果を示すものと考えられた。NUD-1 の抗ウイルス活性は、ウイルスの亜型によらず同程度であること、およびその標的部位のアミノ酸配列は高度に保存されている事から、新たな作用機序を持った抗インフルエンザ薬開発のリード化合物として期待される。

(1538 字)

(備考) ※日本語に限る。2000 字以内で記述。A4 版。