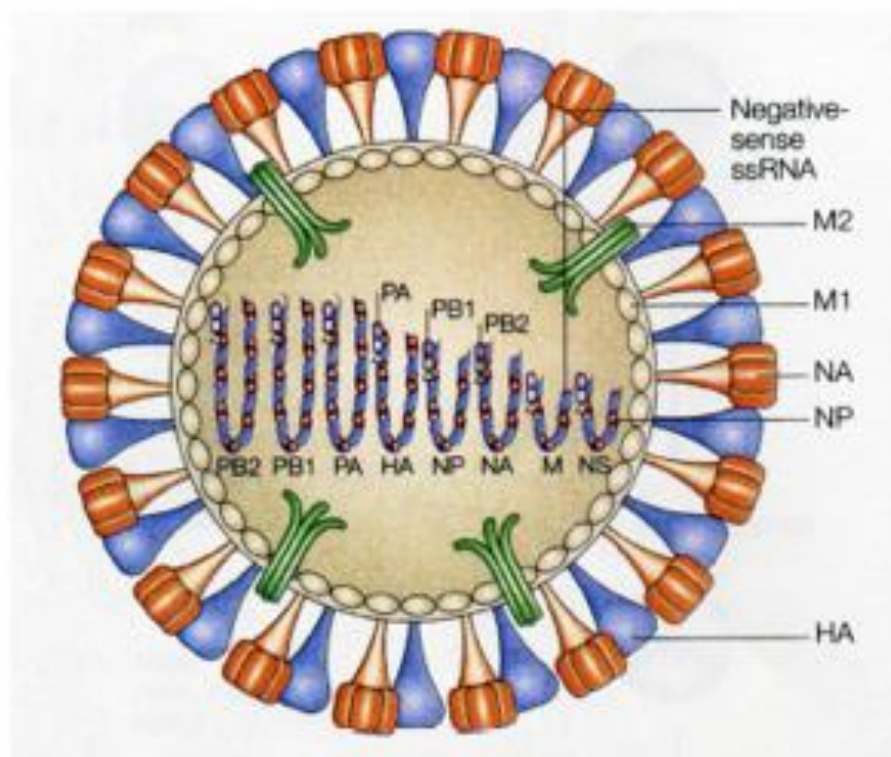


新規多価型ペプチドによるインフルエンザウイルス感染制御

インフルエンザと インフルエンザウイルス



Influenza A virus

Horimoto T., and Kawaoka Y.,
2005, Nature Rev. Microbiology, 3, 591-.

- A型 HA1-19, NA1-9
- B型 同様の糖タンパクをもつが亜型は1種
- C型 HE1

■ パンデミック(H1N1)2009

Pandemic (H1N1)2009

(2009年11月26日15時 更新)

新型インフルエンザの国内外の発生状況・疫学関連情報等を随時更新しています。

新型インフルエンザA (H1N1) の流行状況—更新23

国内の状況

感染症発生動向調査によるインフルエンザの報告は増加傾向にあり、第45週（11月2日から11月8日）の1週間に157,626例で、定点あたりの報告数（1週間の1医療機関当たりへの受診患者数）は32.76で44週（33.28）と比べてやや減少した。

インフルエンザ発生状況



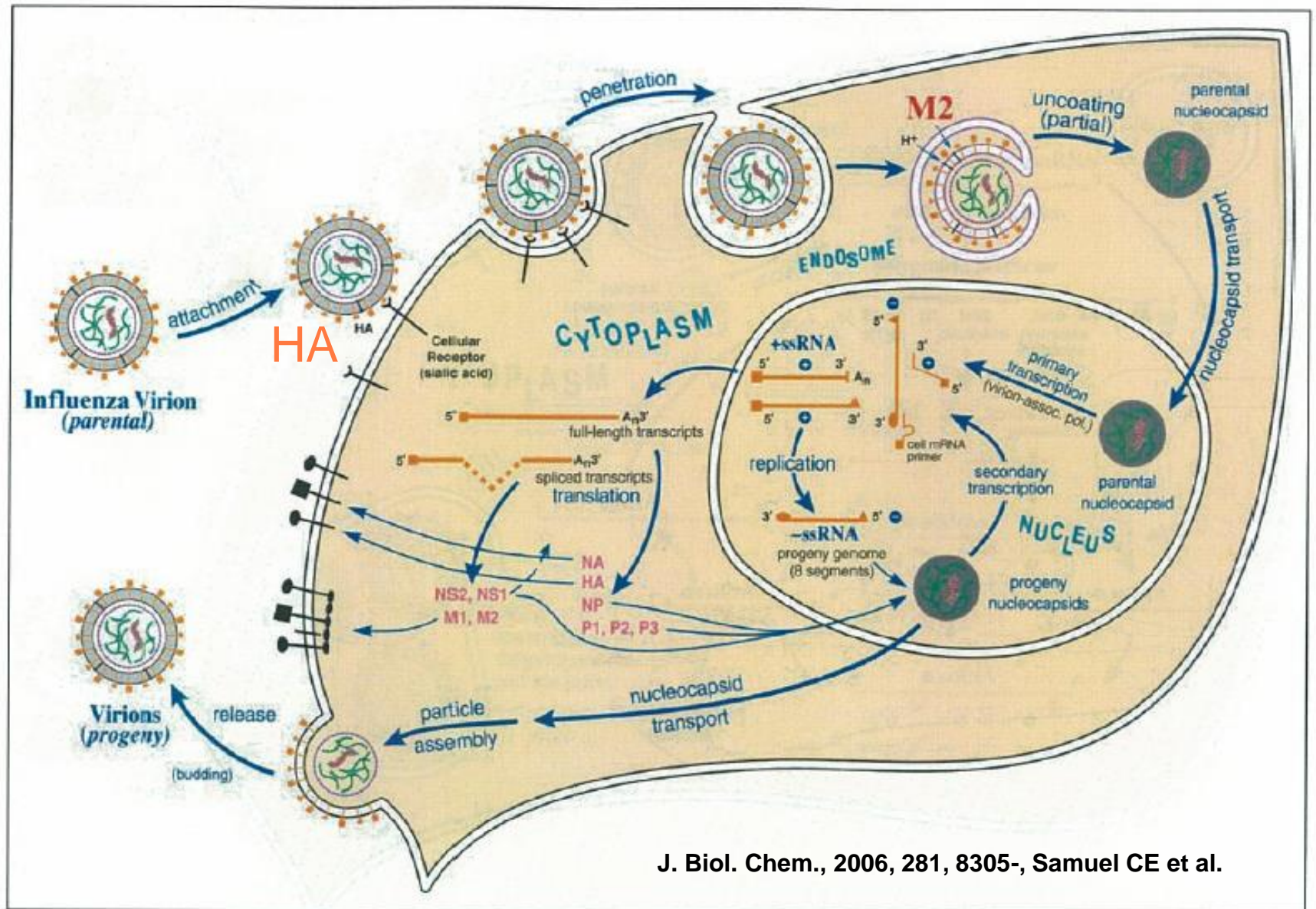
➔ インフルエンザ

➔ 鳥インフルエンザ

➔ インフルエンザ検出情報

➔ インフルエンザ流行
レベルマップ

インフルエンザウイルスの 増殖機構



J. Biol. Chem., 2006, 281, 8305-, Samuel CE et al.

インフルエンザウイルスの複製サイクル

抗インフルエンザ薬

各都道府県衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省健康局結核感染症課長
（公印省略）

（参考）備蓄目標量

抗インフルエンザウイルス薬の備蓄方針等について

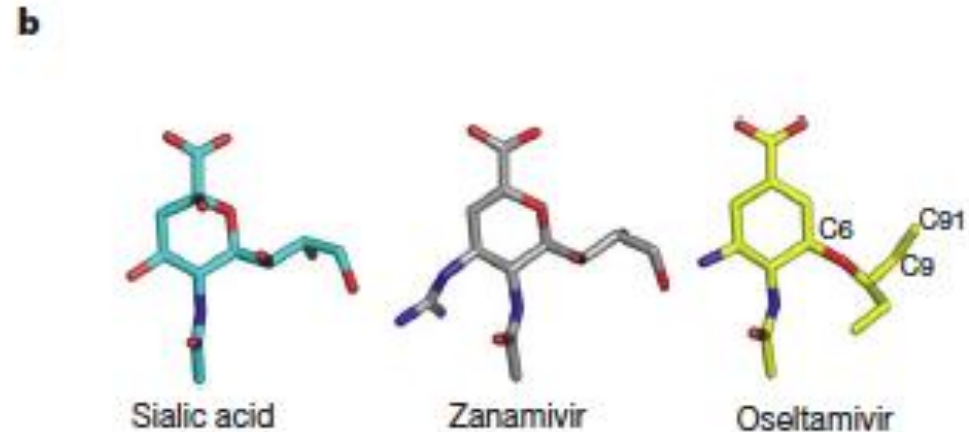
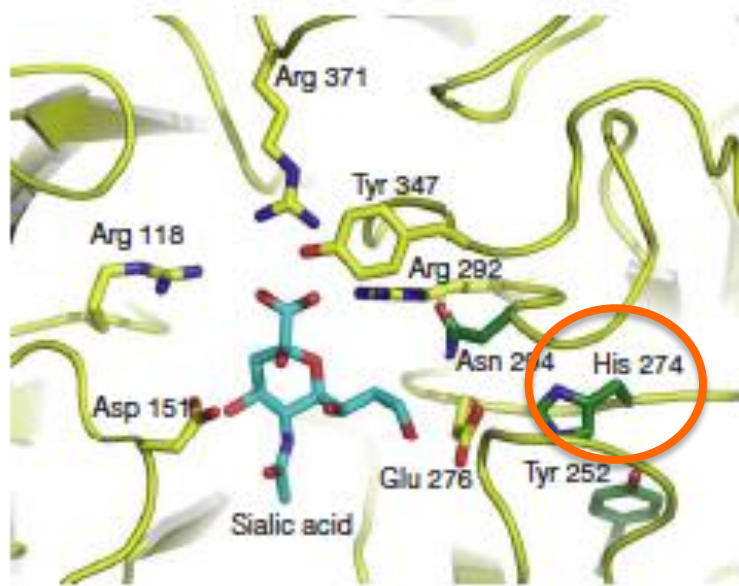
| | タミフル | | リレンザ | イナビル | ラピアクタ | 合計 |
|---------|-------------|------------|-----------|-------------|-----------|-----------|
| | カプセル | ドライシロップ | | | | |
| 国備蓄分 | 508.95 万人分 | 245.05 万人分 | 188.5 万人分 | 848.25 万人分 | 94.25 万人分 | 1,885 万人分 |
| 都道府県備蓄分 | 508.95 万人分 | 245.05 万人分 | 188.5 万人分 | 848.25 万人分 | 94.25 万人分 | 1,885 万人分 |
| 流通備蓄分 | 270 万人分 | 130 万人分 | 100 万人分 | 450 万人分 | 50 万人分 | 1,000 万人分 |
| 合計 | 1,287.9 万人分 | 620.1 万人分 | 477 万人分 | 2,146.5 万人分 | 238.5 万人分 | 4,770 万人分 |

現時点でNA阻害薬は重要な位置づけにある。

Crystal structures of oseltamivir-resistant influenza virus neuraminidase mutants

Patrick J. Collins¹, Lesley F. Haire¹, Yi Pu Lin¹, Junfeng Liu¹, Rupert J. Russell², Philip A. Walker¹, John J. Skehel¹, Stephen R. Martin¹, Alan J. Hay¹ & Steven J. Gamblin¹

Received 14 February; accepted 1 April 2008.
Published online 14 May 2008.

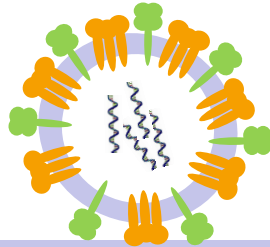
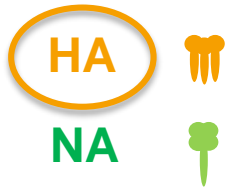


H274Yの変異

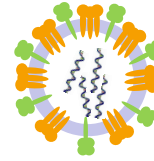
新規抗インフルエンザ薬の 開発

Infection of influenza A virus

Influenza A virus

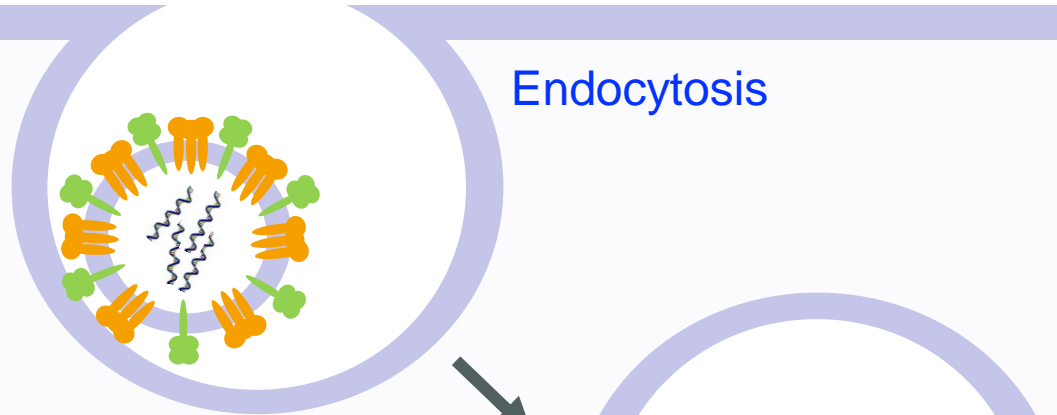


Binding to the target cell

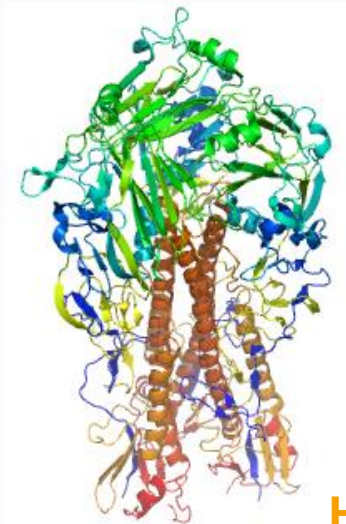


Cytoplasm

Endocytosis



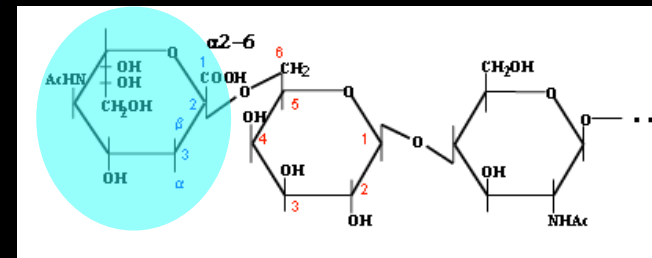
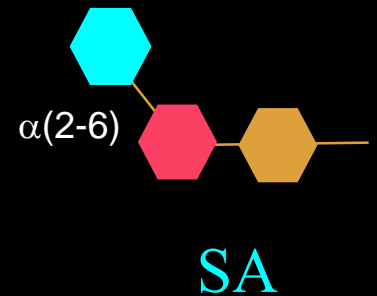
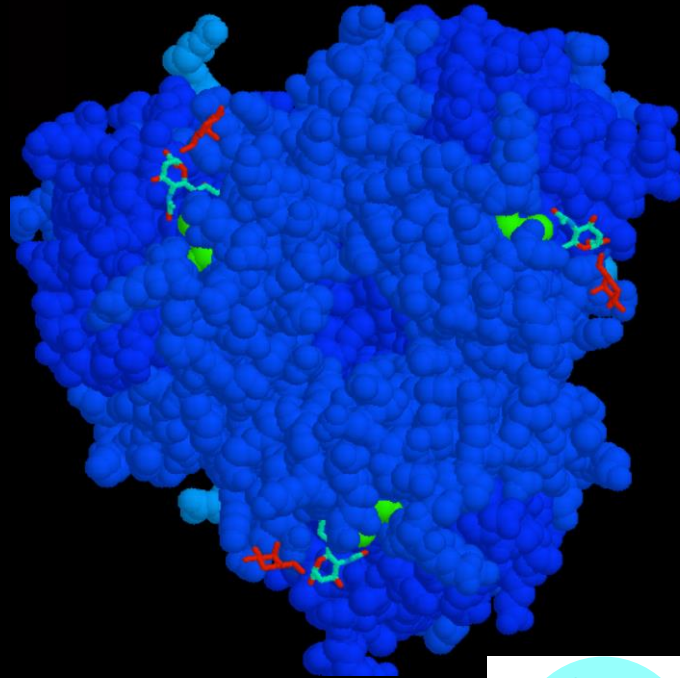
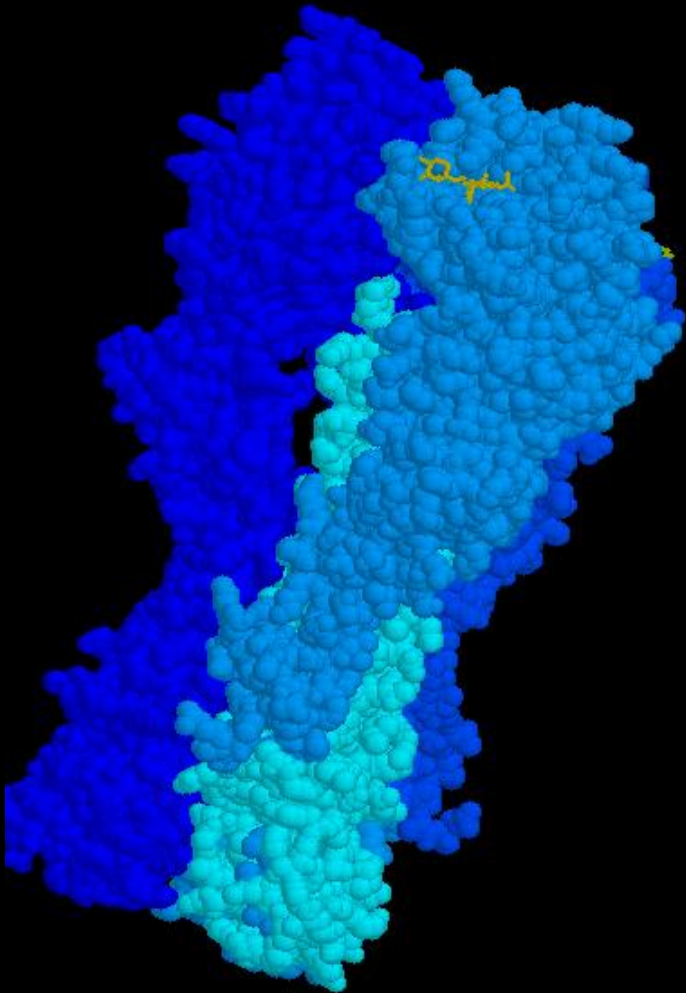
Fusion



HA

HA-trimer

Clustering effect



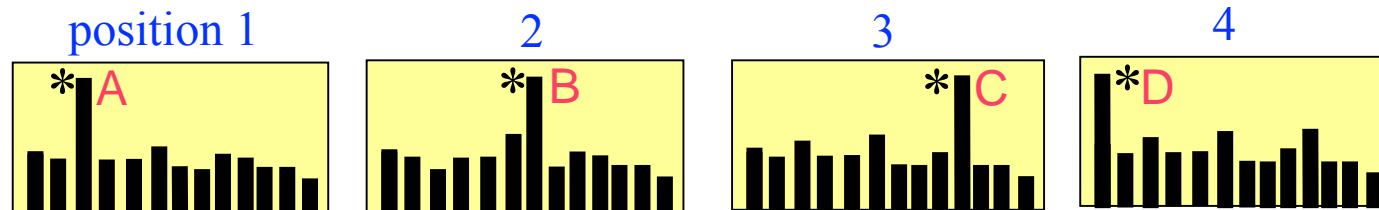
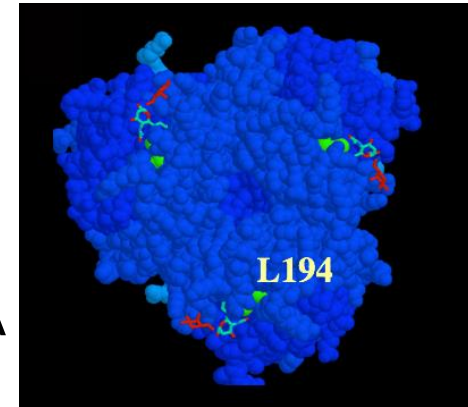
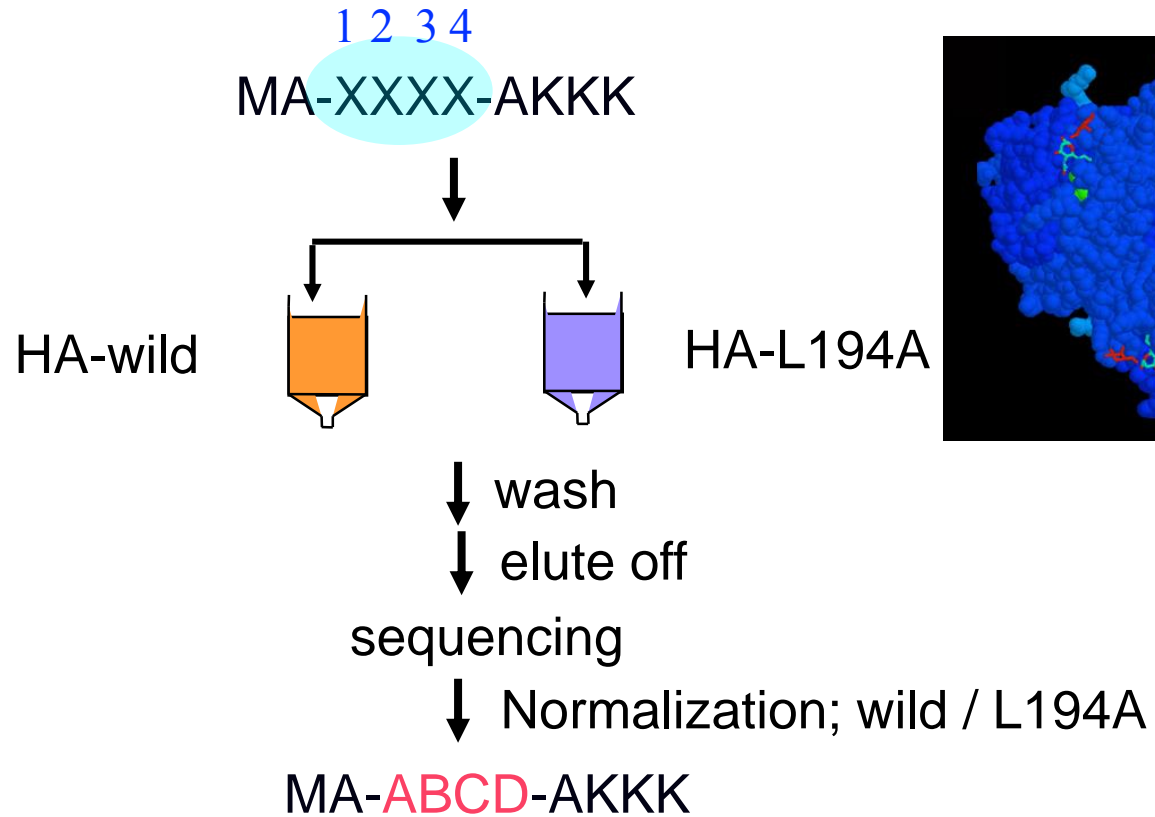
【従来技術の課題】

低分子化合物スクリーニング等の従来技術は、基本的に1:1の相互作用にしか適用できない。このため、クラスター効果を発揮して機能するHAの受容体結合部位を標的として、高親和性阻害剤を同定することは原理的に極めて困難であるし、これまでクラスター効果に基づいてHA阻害分子を単離した例はない。

【目的】

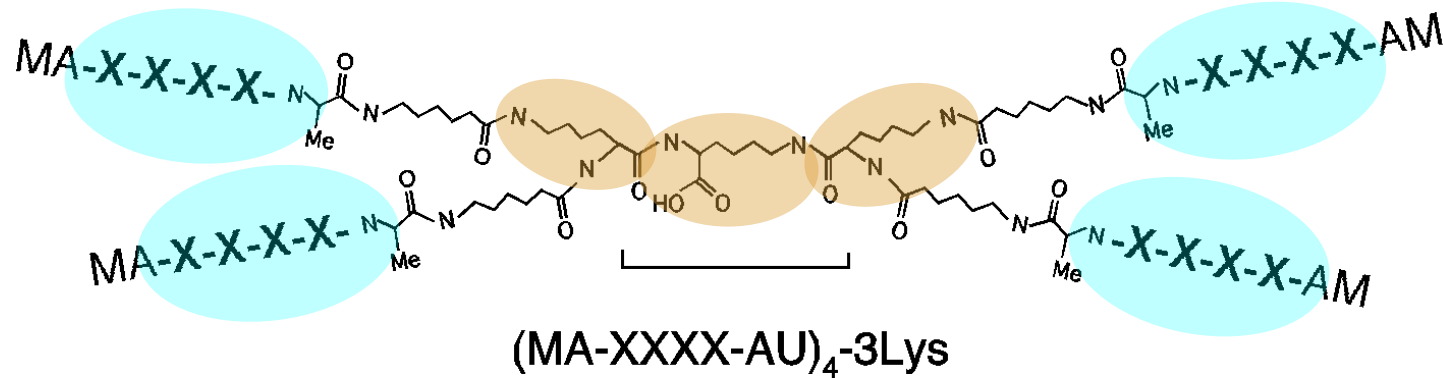
クラスター効果に打ち勝つ分子を同定する新規技術を開発し、HAの受容体結合部位を標的としたHA阻害分子を同定する。

ペプチドライブラリー法の原理

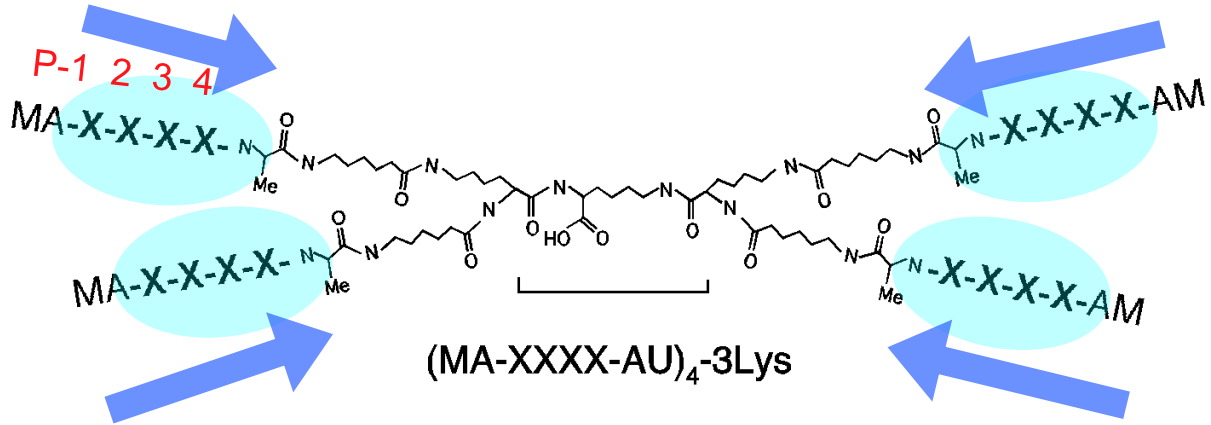


多価型ペプチドライブラリーの構造

MA-XXXX-AKKK



US Patent, No.US 9,103,820 B2, 2015
EP Patent (GB, DE, FR, IT, CH) No.1782820, 2014
China Patent No.ZL200910205690.3, 2013
Japan Patent No. 474443, 2011



HA-wild



HA-L194A

wash

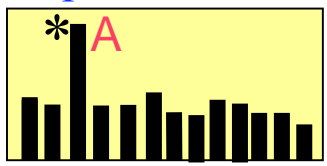
elute off

sequencing

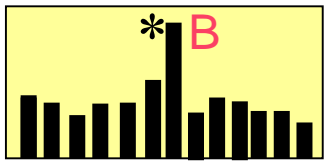
Normalization; wild / L194A

MA-**ABCD**-AKKK

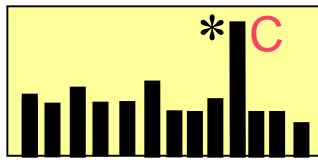
position 1



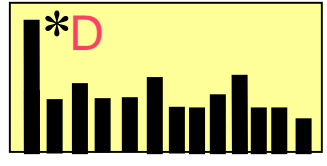
2



3



4



多価型ペプチドライブラリー法によるHA結合モチーフの同定

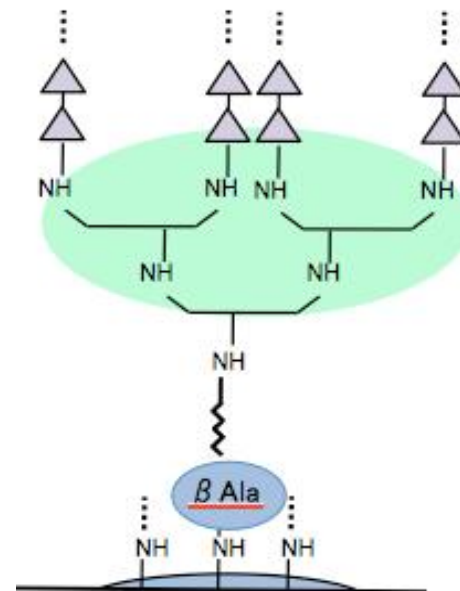
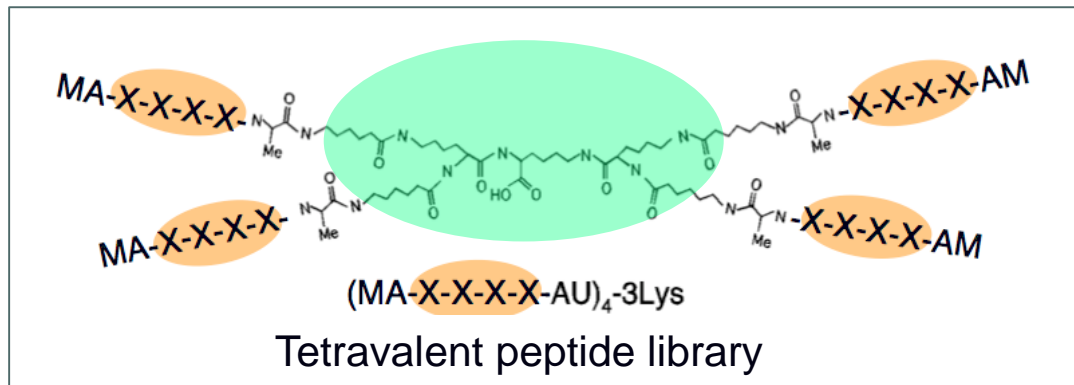
A) 1st screening

| Peptide Library | Position | | | |
|---------------------------------|--------------------|------------------------------|--------------------|----------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| (MA-XXXX-AU) ₄ -3Lys | K(1.3) V/A(1.2) | K(1.3) A(1.22) V(1.16) | A/K(1.2) V(1.1) | A/K(1.24) G(1.16) |

B) 2nd screening

| Peptide Library | Position | | | | | | |
|------------------------------------|------------------|--------------------|-----------------------------|---|-------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 |
| (MA-XXXGXXX-AU) ₄ -3Lys | P(1.1) | R(1.07) | K(1.07) | G | S/Q/K(1.04) | G(1.34) | G(1.54) |
| (MA-XXXKXXX-AU) ₄ -3Lys | H(1.3) | H(1.4) | T(1.6) S(1.3) I(1.27) | K | R(1.23) | R(1.23) | R(1.23) |
| (MA-XXXVXXX-AU) ₄ -3Lys | R(1.4) K(1.2) | R(1.3) H/K(1.1) | R(1.25) K/N(1.1) | V | N(1.25) H(1.2) | H(1.4) D/N(1.25) R(1.15) | H(1.5) D(1.3) N(1.2) R(1.16) |

多価型ペプチドライブラリーシート合成技術

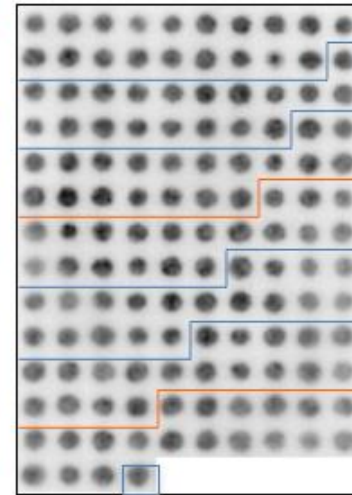
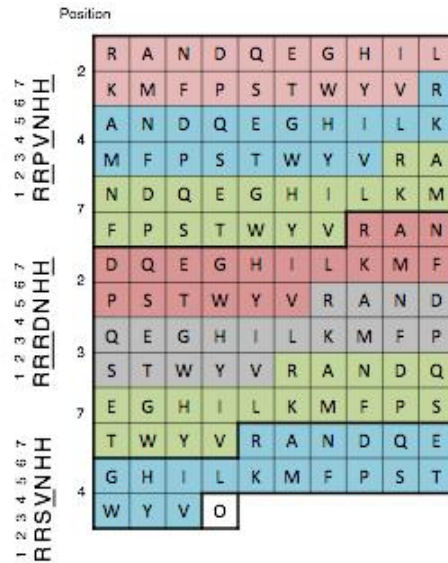
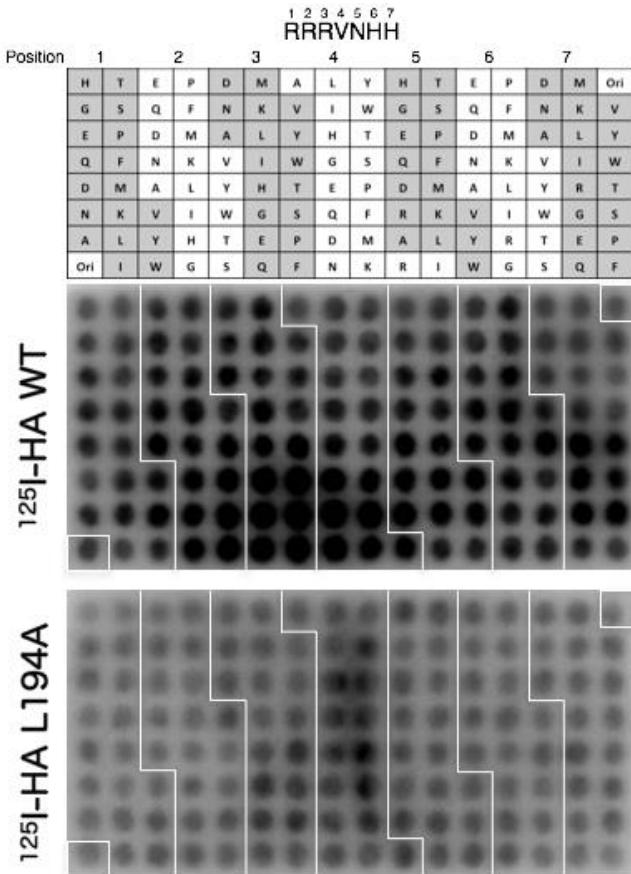


Cellulose membrane

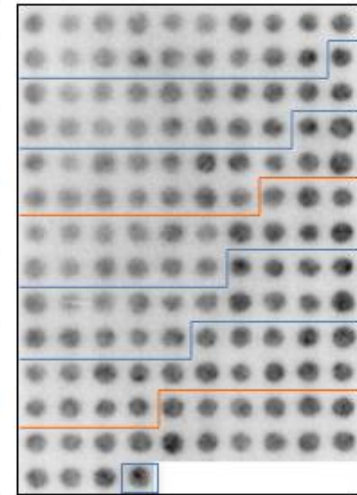


Japan Patent No. 5897178, 2016
Japan Patent No. 57718574, 2015

両技術を組み合わせ、高親和性HA結合化合物を同定した。

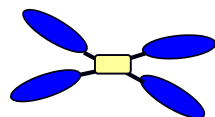


125I-HA WT

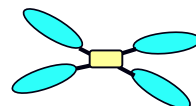


125I-HA L194A

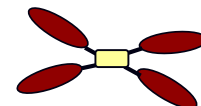
PVF-tet



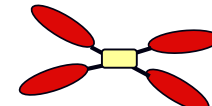
PMH-tet



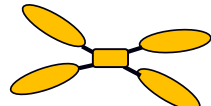
PVN-tet



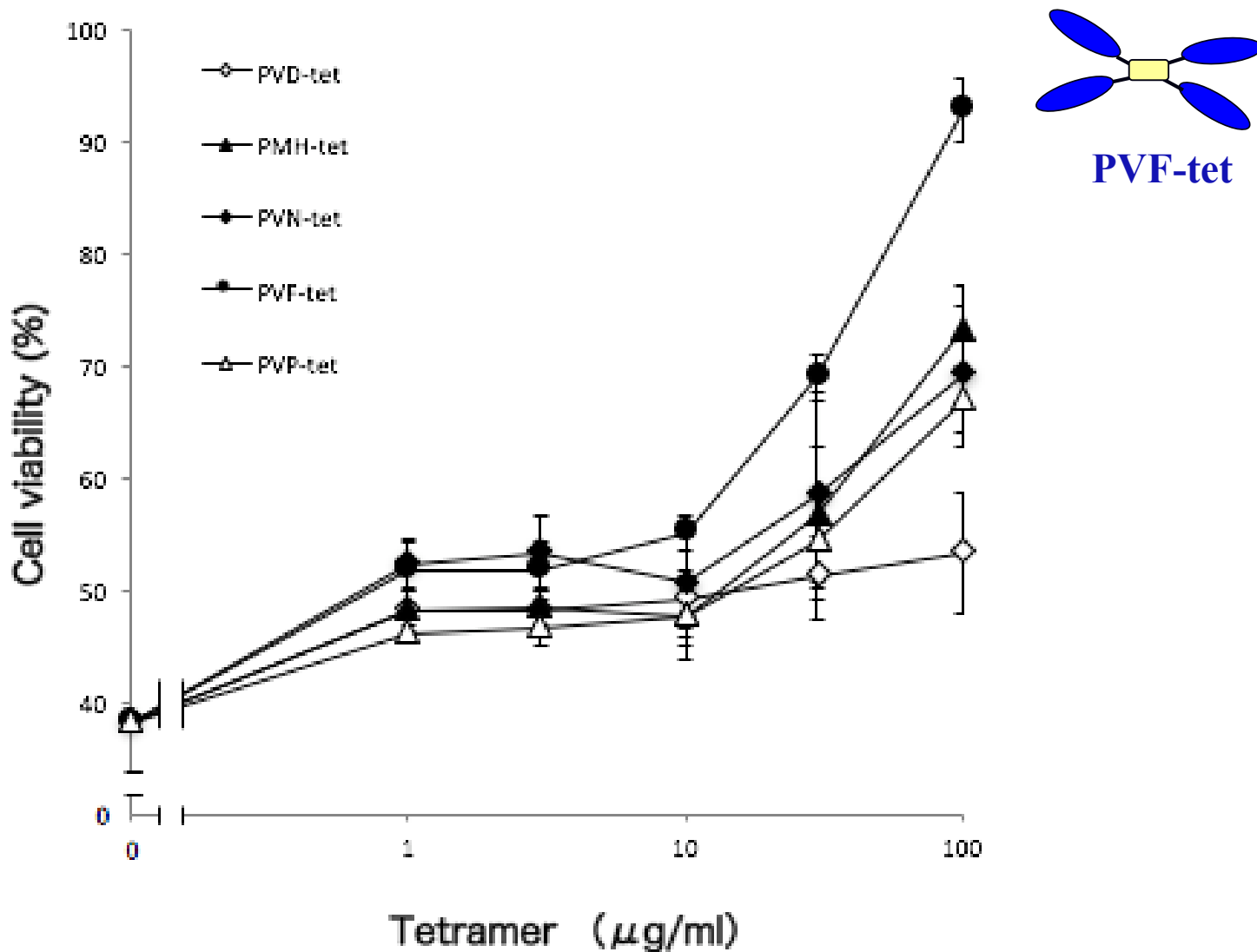
PVD-tet



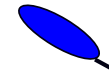
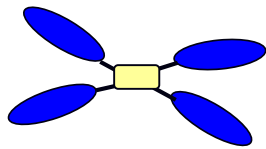
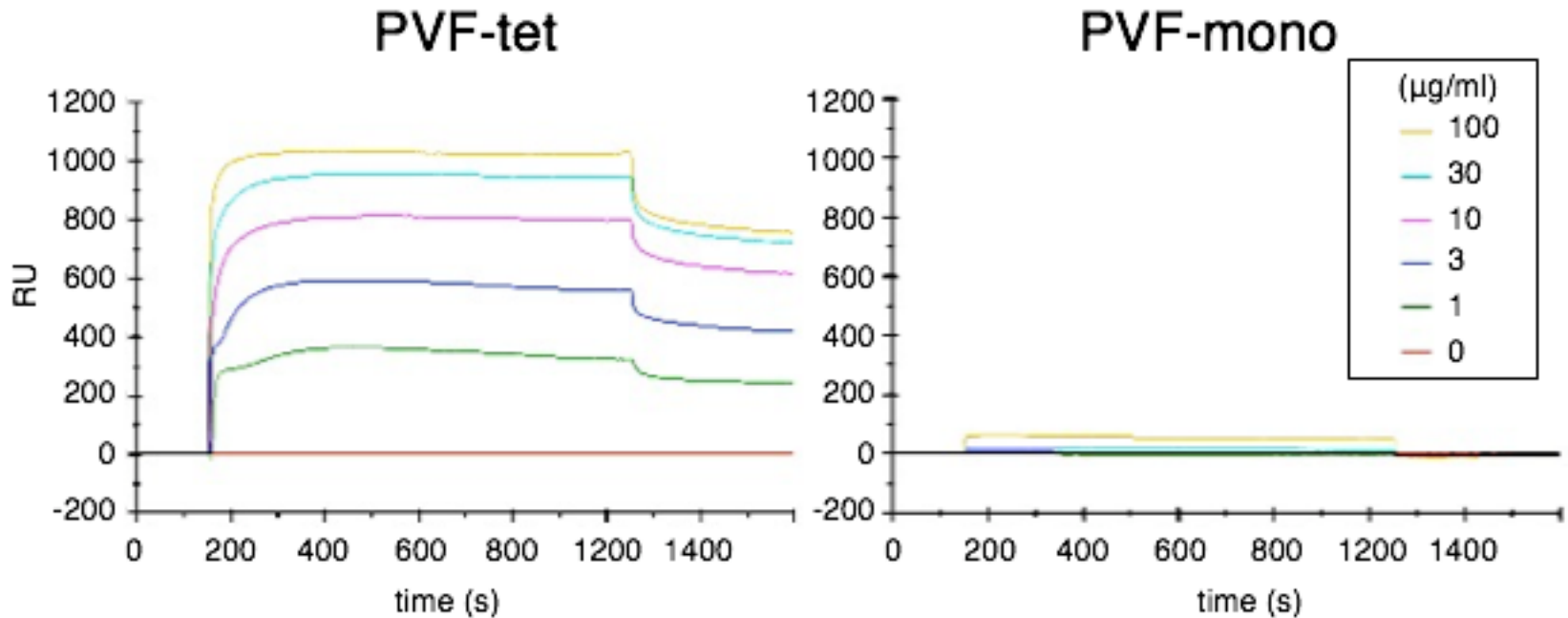
PVP-tet



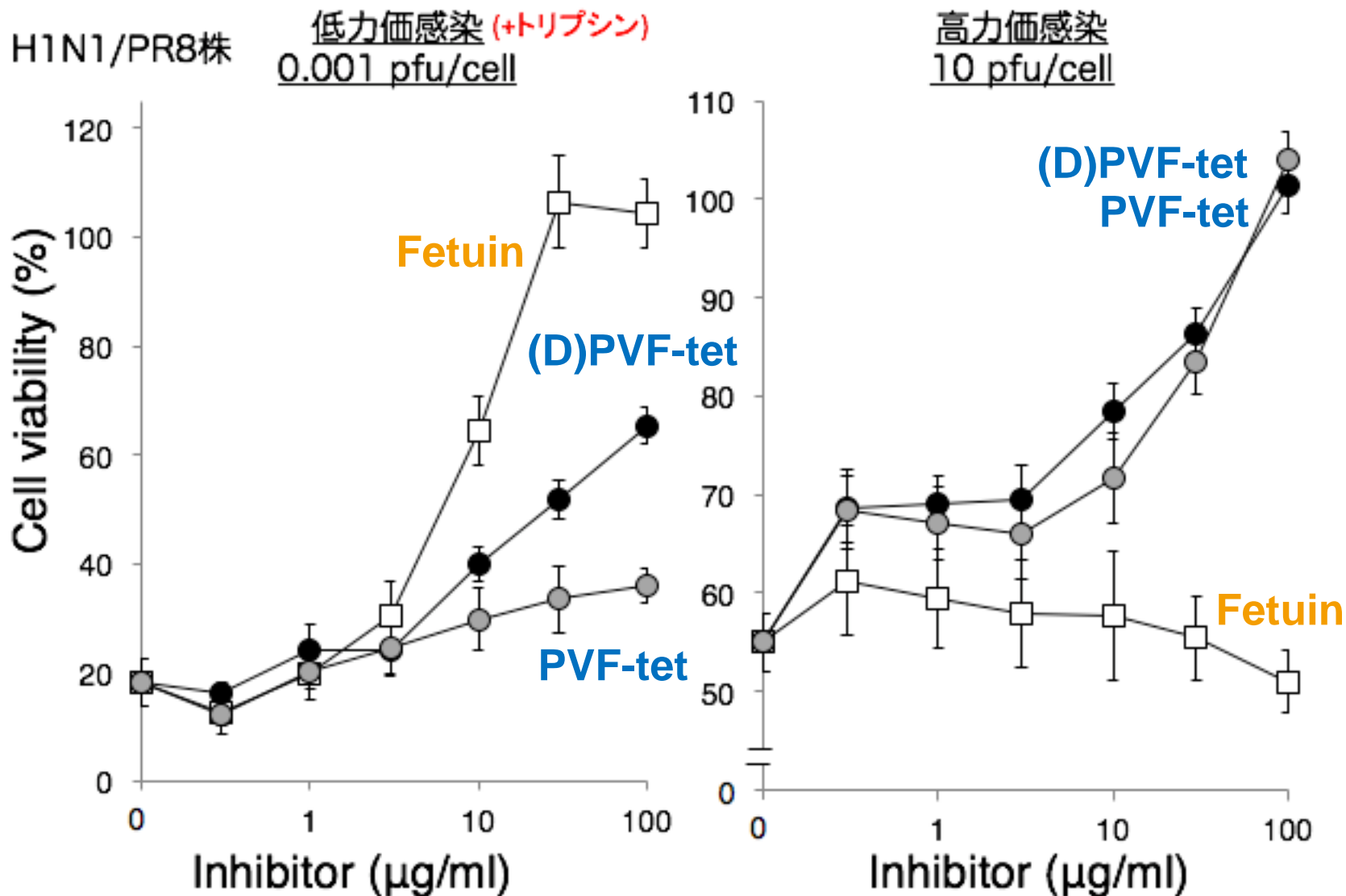
PVF-tetはH1N1-PR8株の細胞毒性を顕著に阻害する。



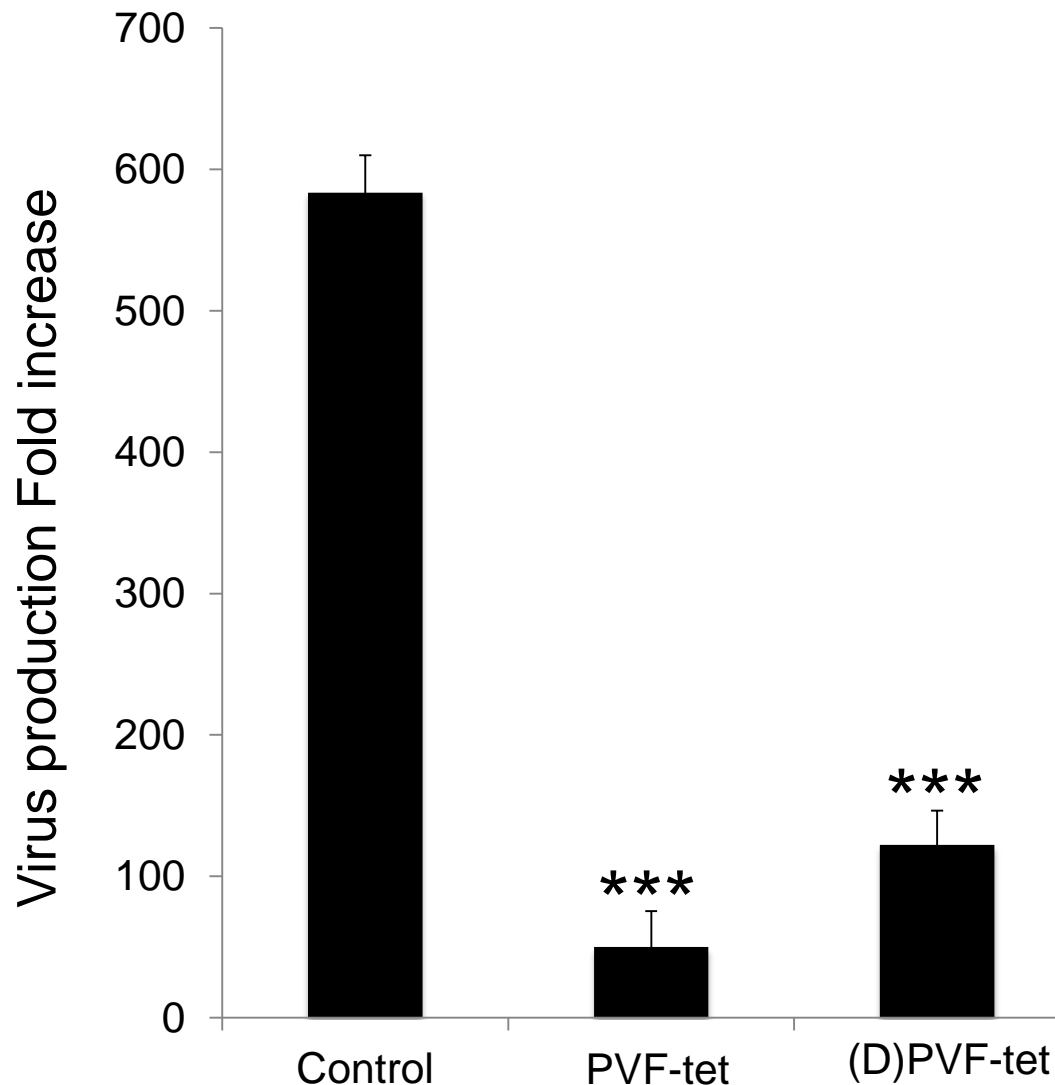
PVF-tetはクラスター効果を発揮し、HAに対して高い結合親和性を示す。



PVF-tetは高力価H1N1-PR8株の細胞毒性も 顕著に阻害する。

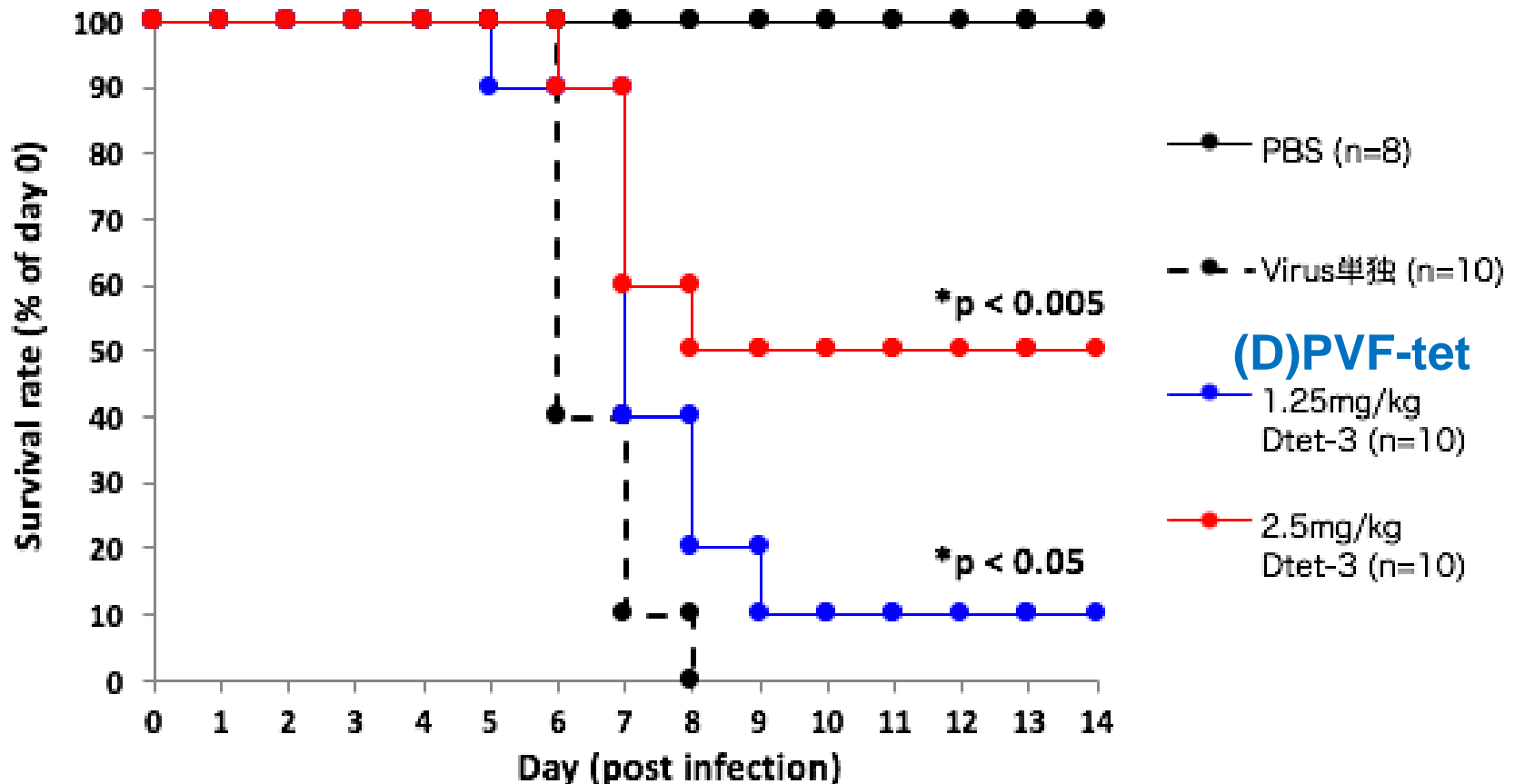


PVF-tetはH1N1-PR8株の増殖を顕著に阻害する。

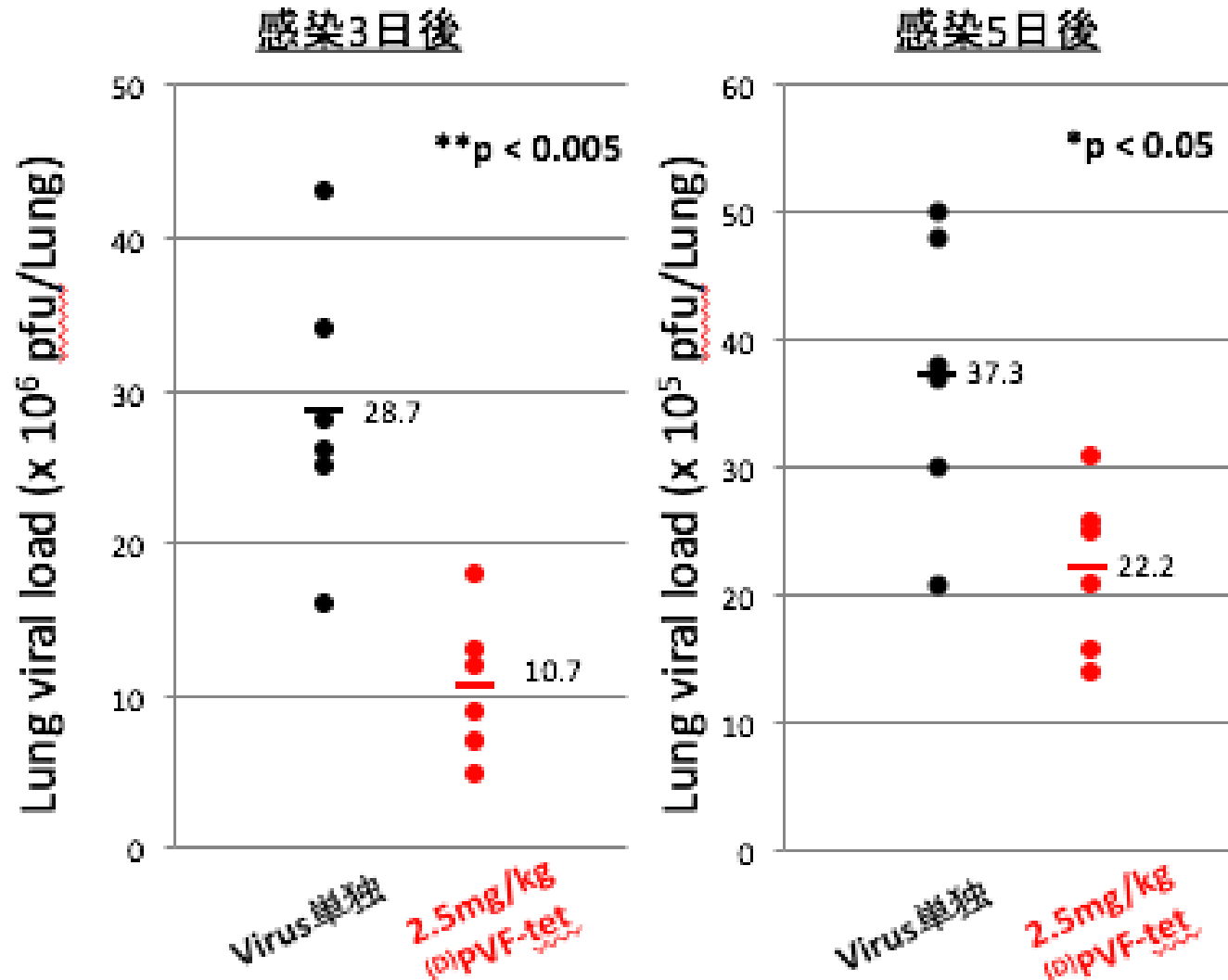


***P<0.001 by Dunnett's test

PVF-tetはH1N1-PR8株感染によるマウスの個体死を、1回の経鼻投与で効率よく阻害する。

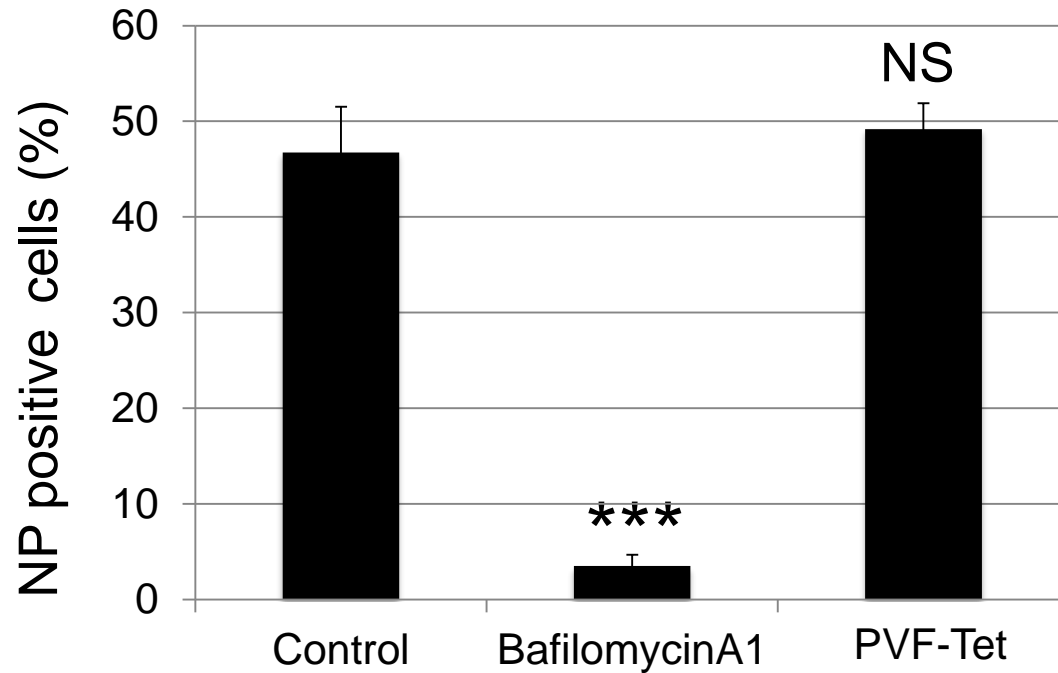


PVF-tetはマウス肺内でのウイルス増殖を阻害する。

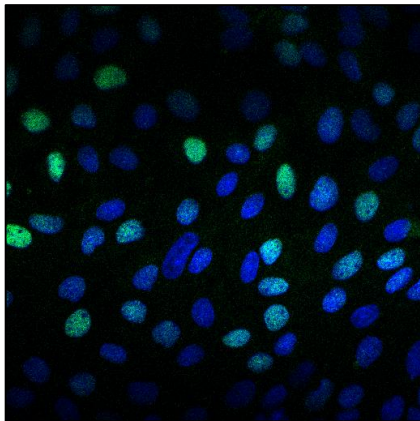


PVF-tet の作用機構

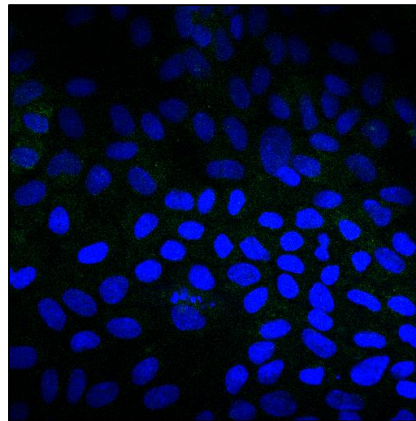
PVF-tetはウイルスの細胞侵入を阻害しない。



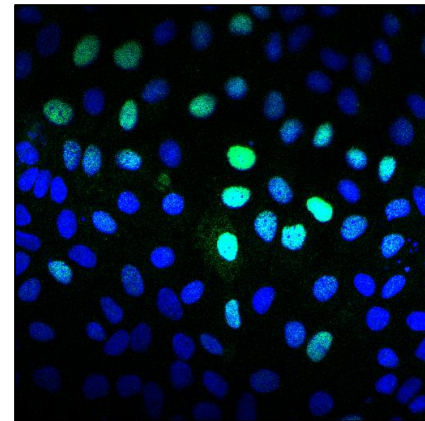
Control



BafilomycinA1

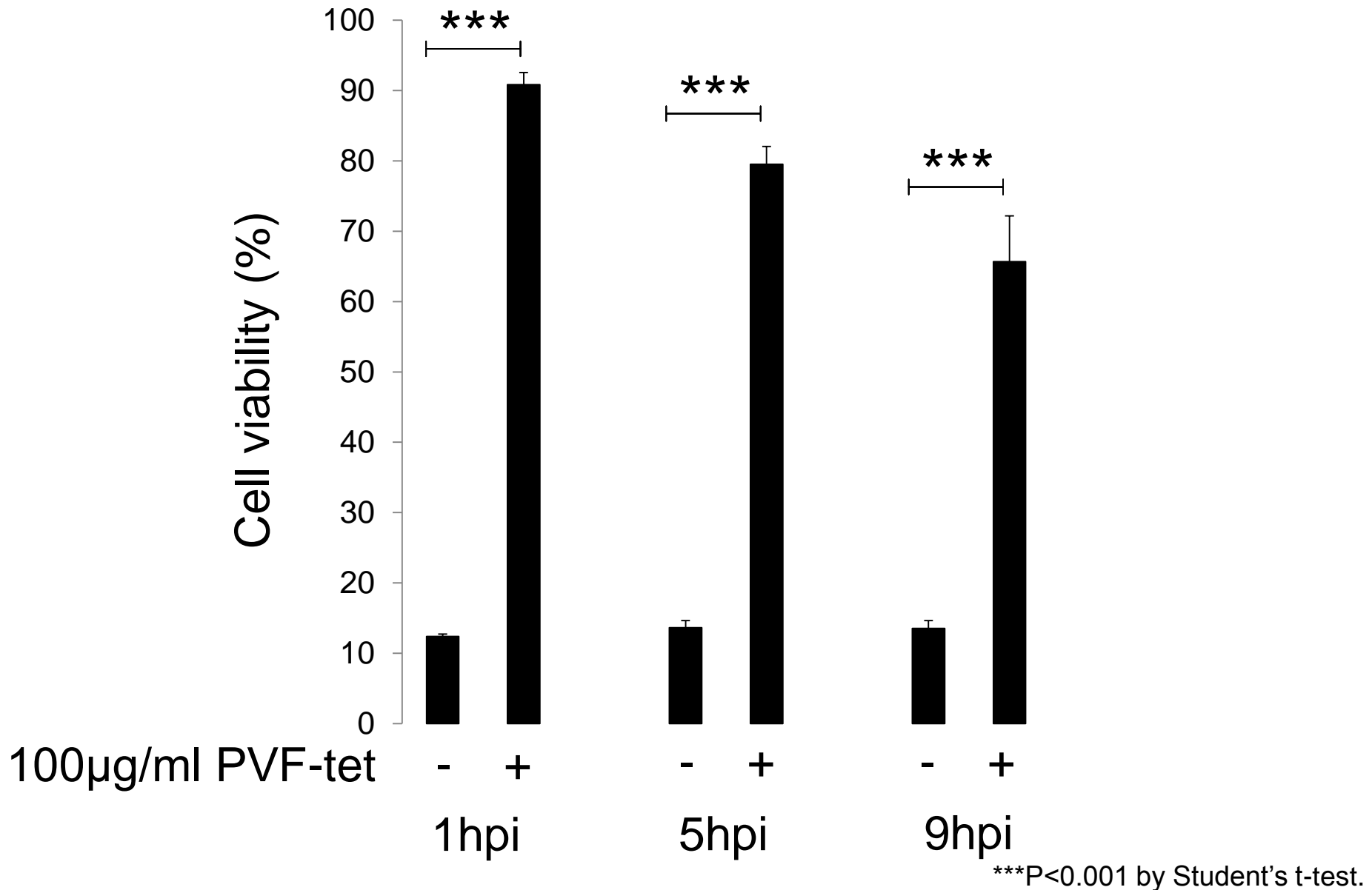


PVF-Tet



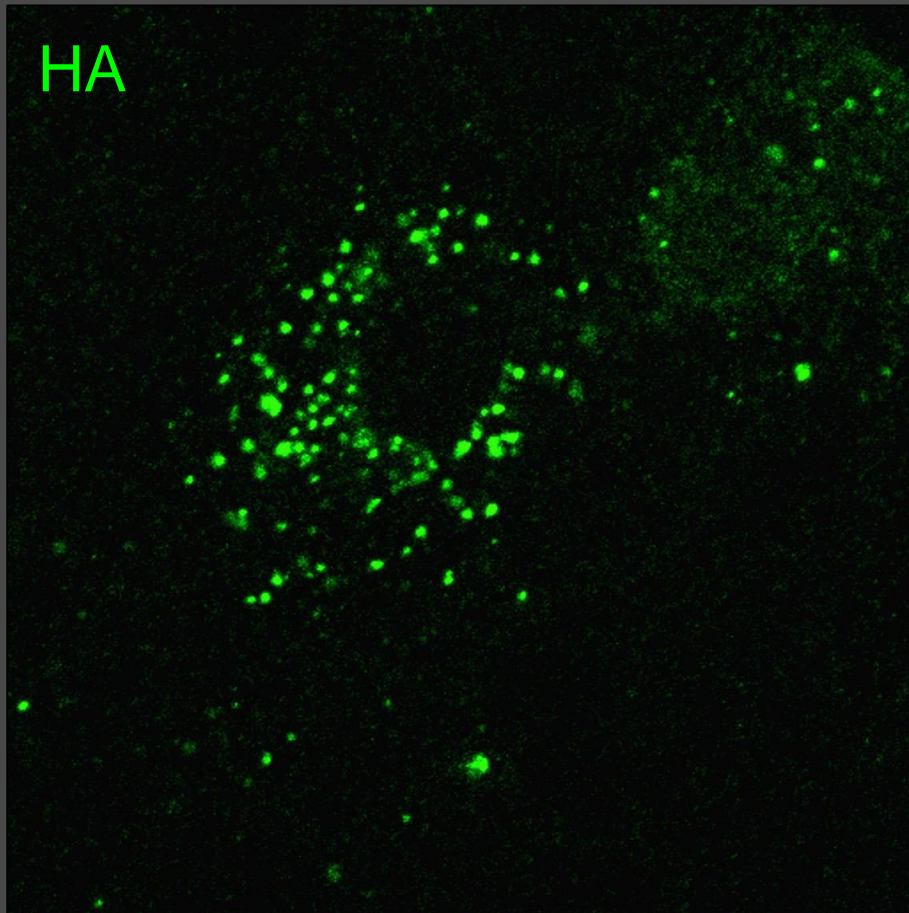
***P<0.001 by Dunnett's test

PVF-tetはウイルス感染後に投与しても毒性を阻害できる。

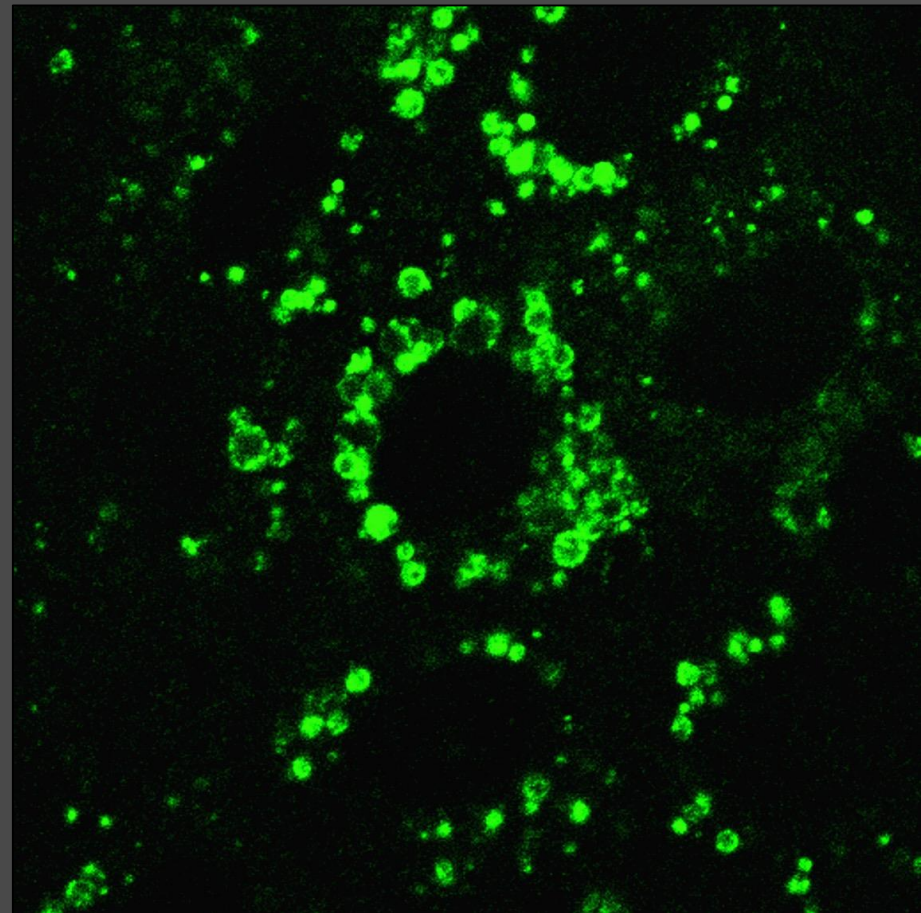


PVF-tetは空胞様構造体にHAを蓄積させる。

untreated



PVF-Tet



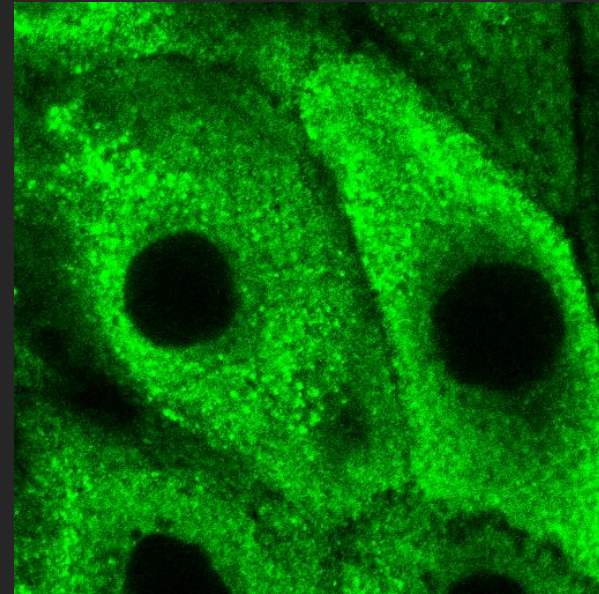
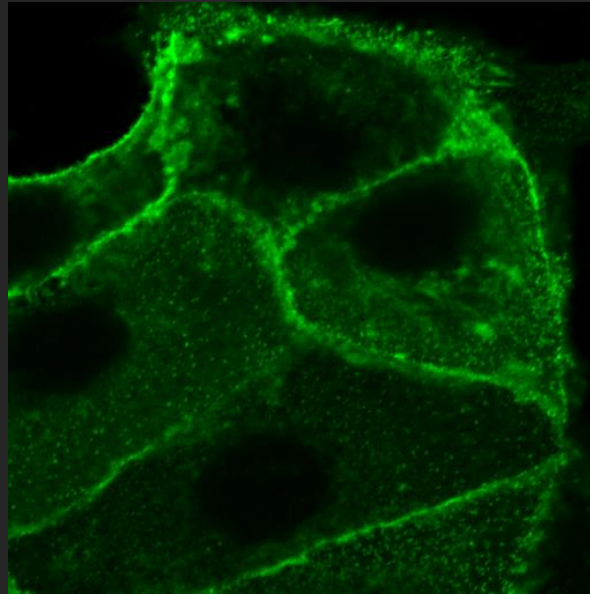
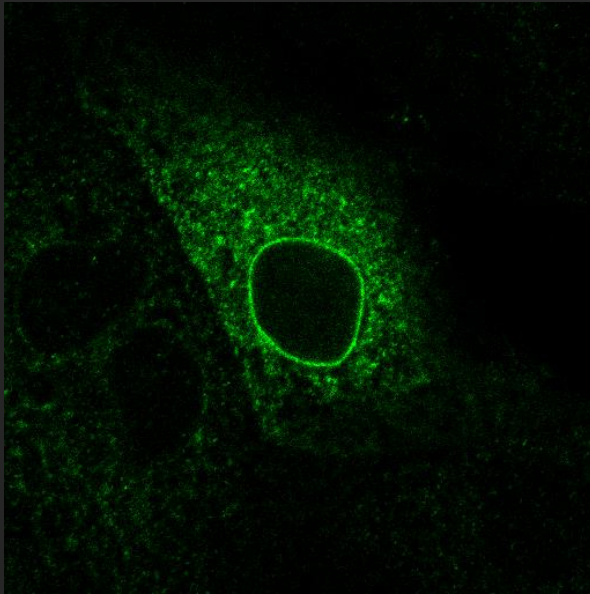
その他のウイルスタンパクには影響しない。

NA

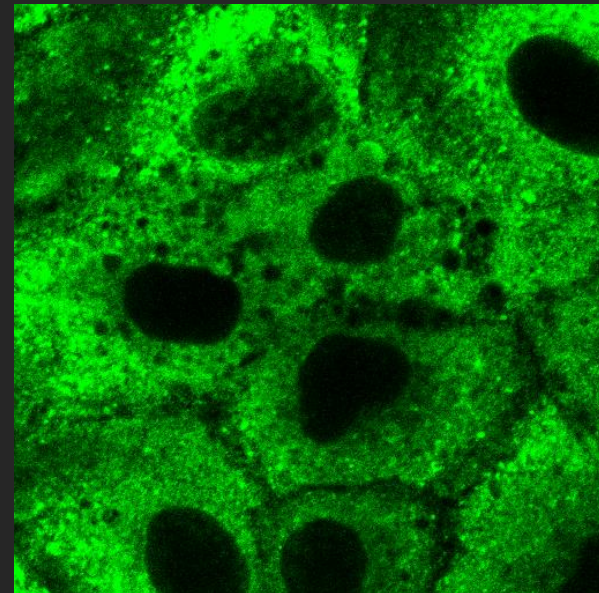
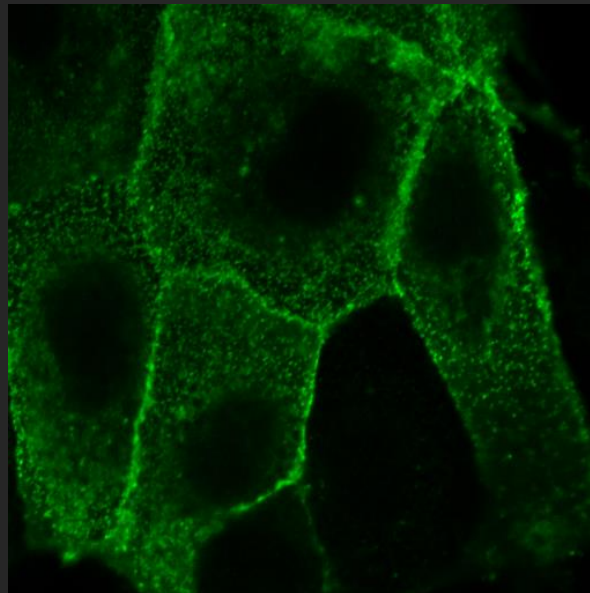
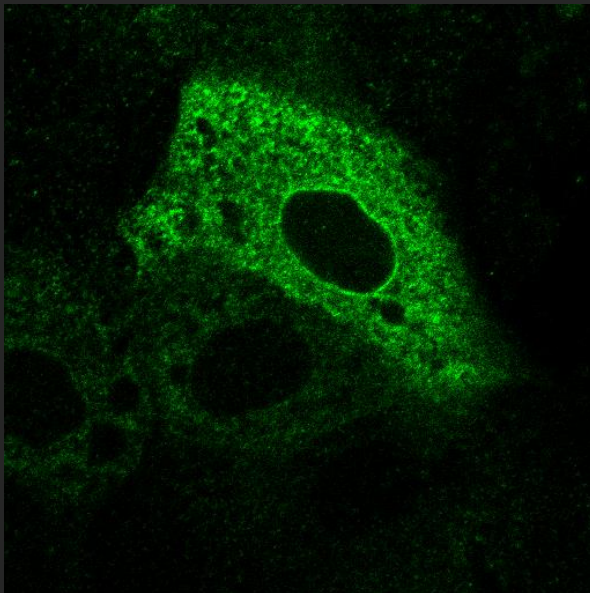
M2

NP

untreated



PVF-Tet



PVF-tetは細胞内でHAと複合体を形成する。

Virus Infected

+ FITC-
PVF-tet

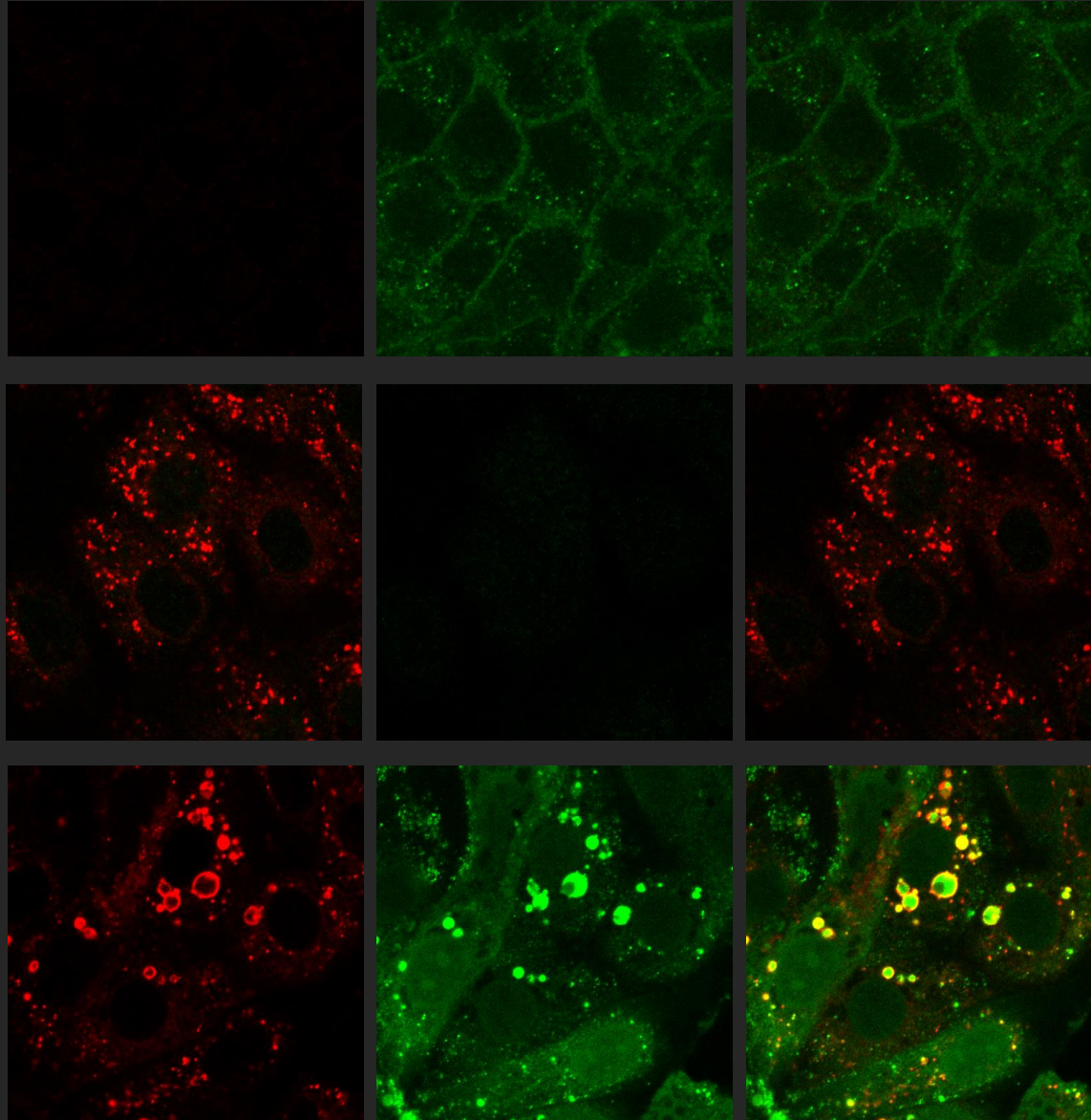
Untreated

+ FITC-
PVF-tet

HA

FITC-PVF-tet

Overlay



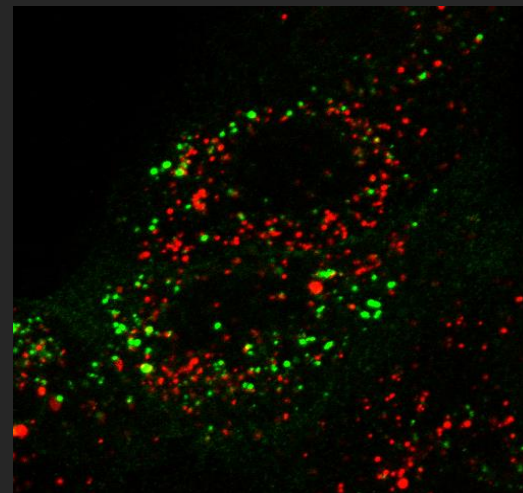
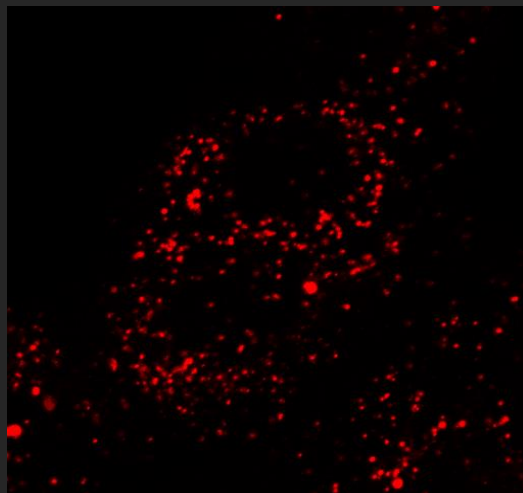
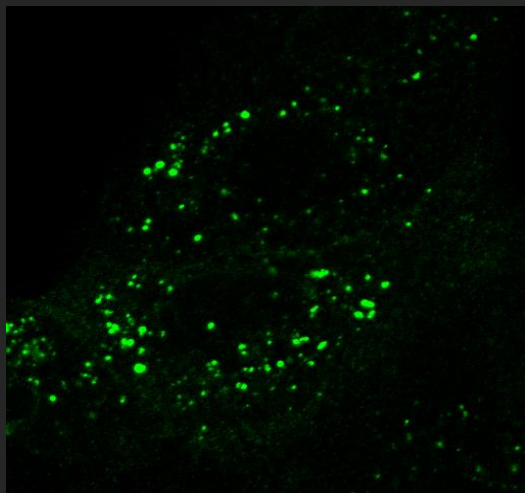
空胞様構造体は強く酸性化されている。

HA

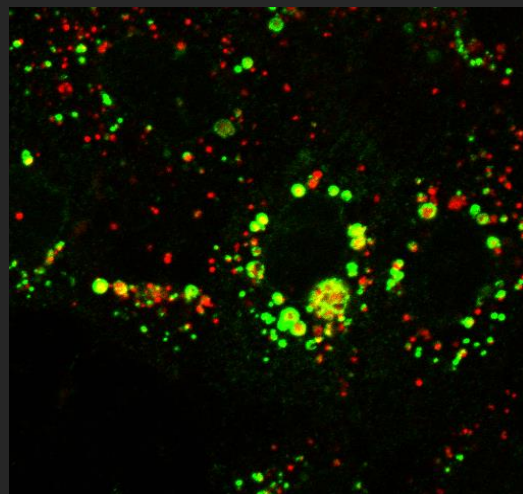
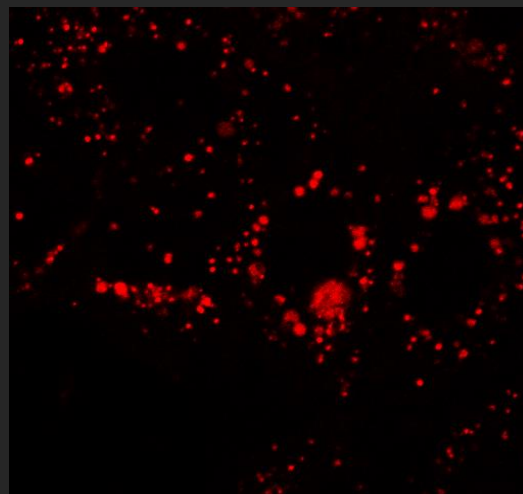
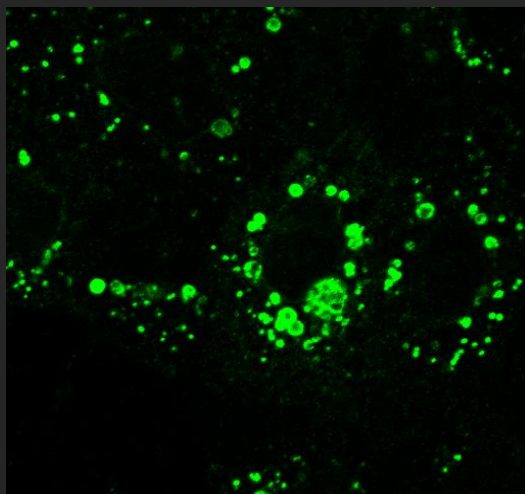
Lysotracker

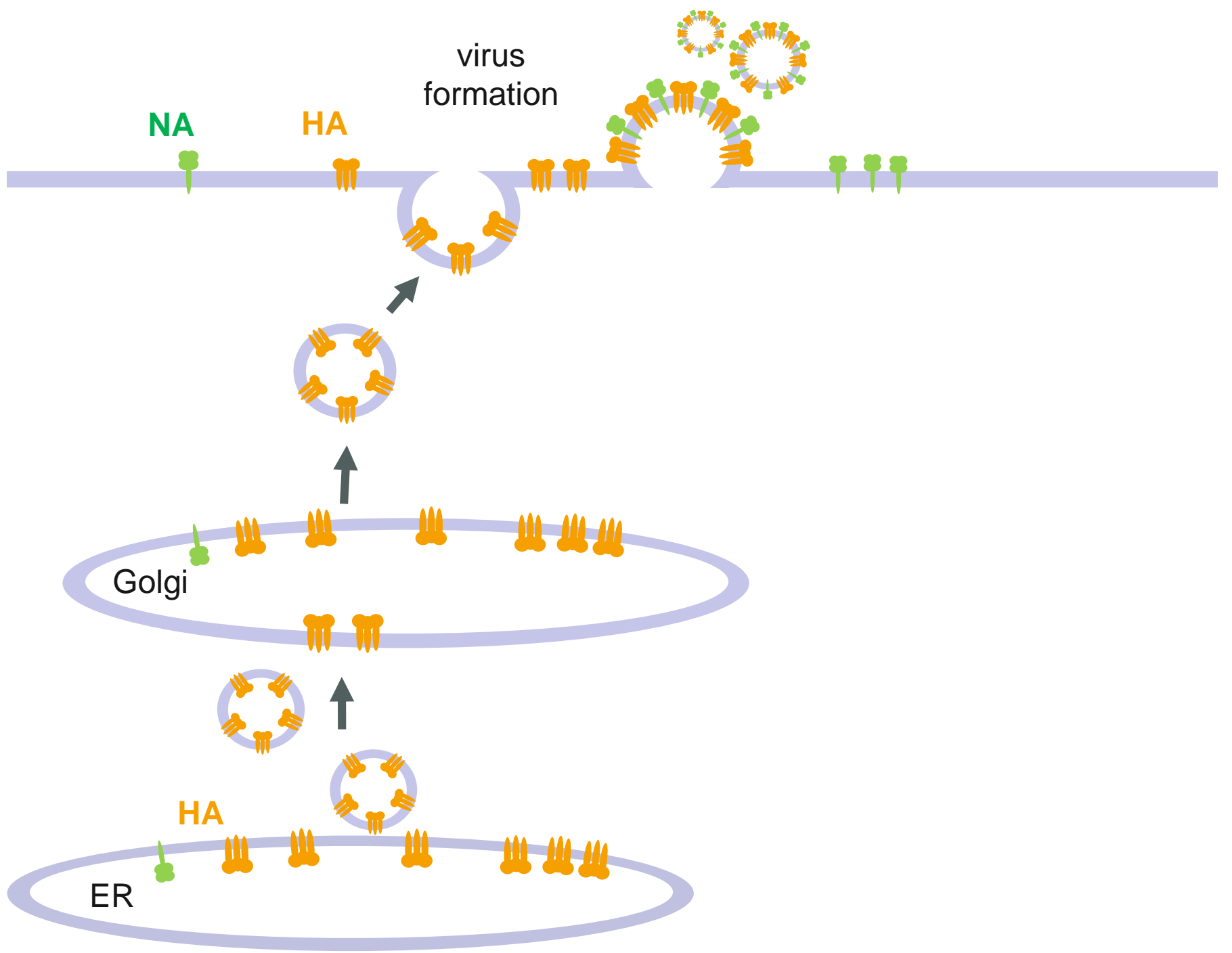
Overlay

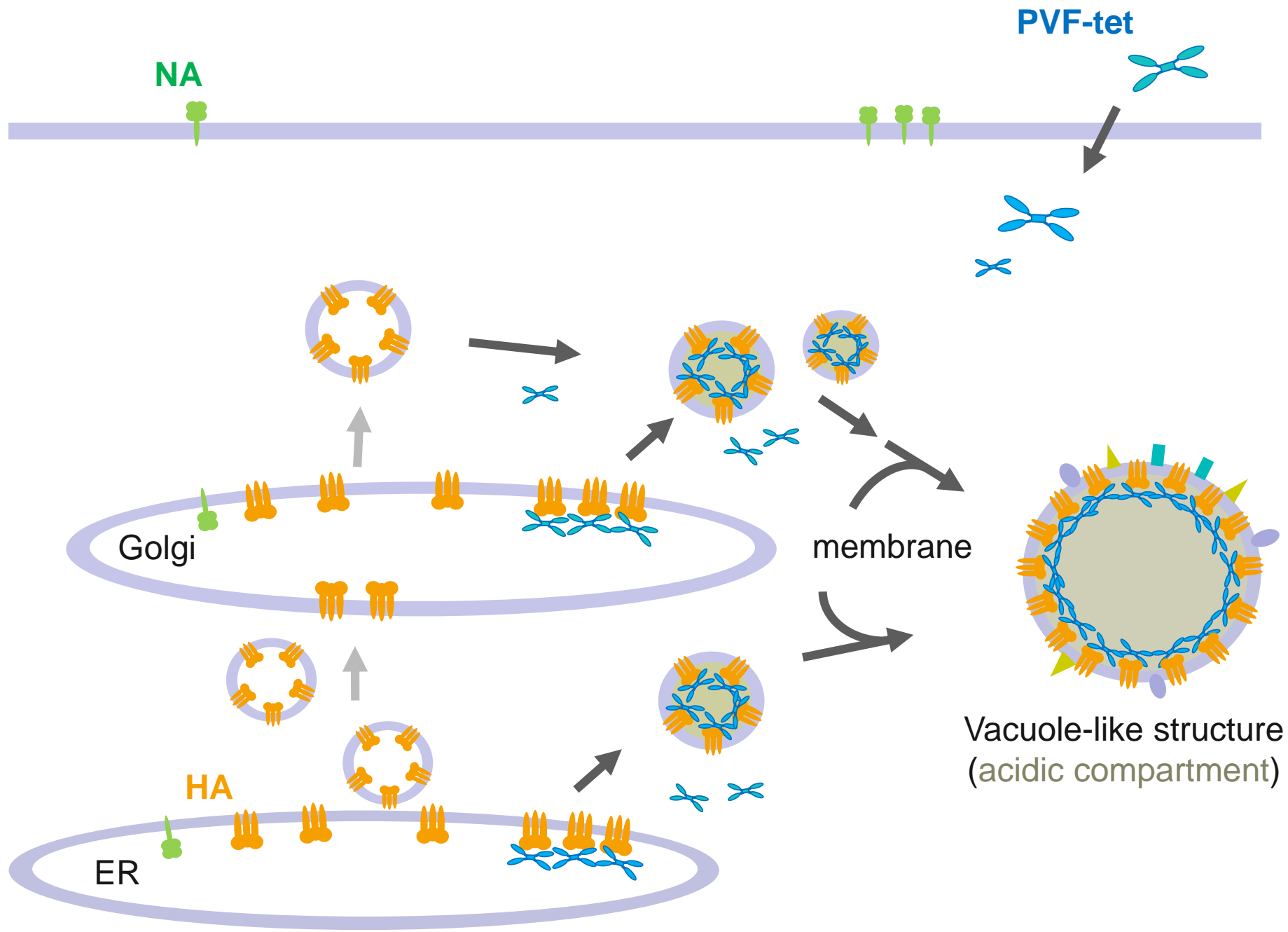
untreated



PVF-Tet





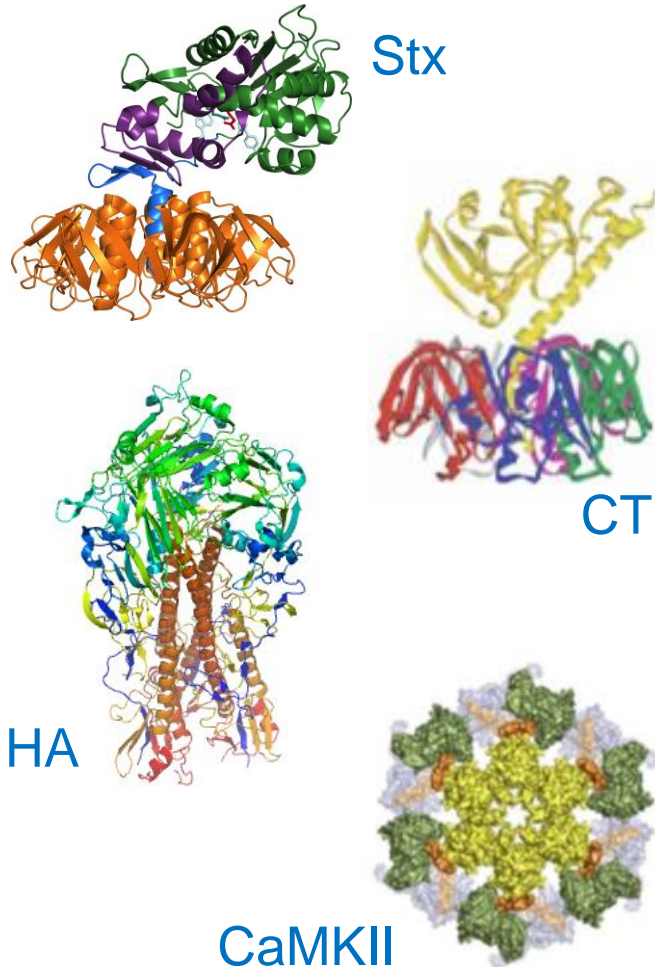


まとめ

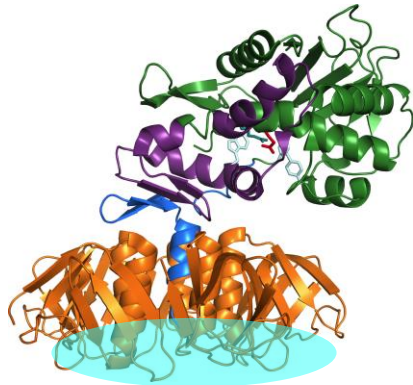
- 1) インフルエンザウイルスのHAを標的とし、細胞ならびに個体レベルで顕著にウイルス増殖を阻害する化合物、PVF-tetを同定した。
- 2) PVF-tetは、細胞が持つ新たな生体防御機構を作動させている可能性があり、今後のメカニズム解明により新規創薬に結びつく可能性がある。

周辺研究の現状と今後の展望

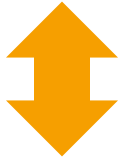
クラスター効果を発揮して機能する分子群

| 対象分野 | 対象疾患 | 標的分子 | |
|------|-----------------|------------------------|---|
| 感染症 | 腸管出血性大腸菌 感染症 | 志賀毒素 (Stx) |  <p>Stx</p> <p>CT</p> <p>HA</p> <p>CaMKII</p> |
| | コレラ | コレラ毒素(CT) | |
| | インフルエンザ | ヘマグルチニン (HA) | |
| 炎症 | 敗血症・炎症性腸 疾患 | CaMKII or CaMKIV | |
| | 骨粗鬆症・関節リウ マチ | | |
| 疼痛 | 神経障害性疼痛 | | |

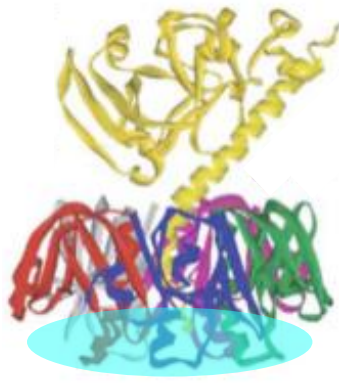
Bacterial and viral pathogenic molecules



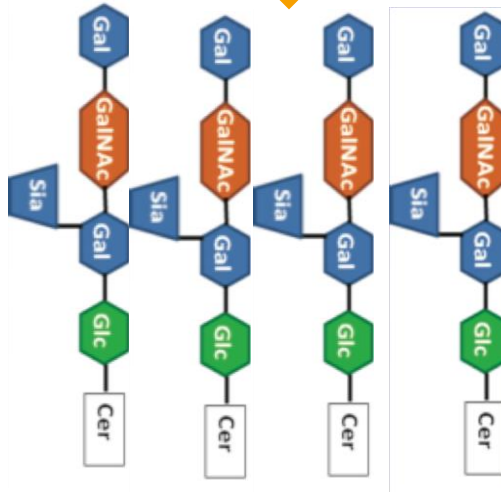
Stx



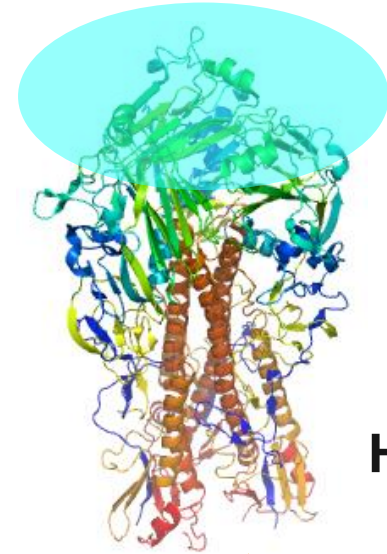
Gb3



CT



GM1



HA



Sia-lac

| 対象分野 | 対象疾患 | 標的分子 | 出願・特許 |
|------|-----------------|------------------------|--|
| 感染症 | 腸管出血性大腸菌 感染症 | 志賀毒素 (Stx) | 特許第5897178号 2016/3/11 US 9,103,820B2 ,2015/8/11 特許第5718574号 2015/3/27 特許第5635779号 2014/10/24 特許第4744443号 2011/5/20 特願2013-13746 |
| | コレラ | コレラ毒素(CT) | 特願2014-128632 特願2014-050828 |
| | インフルエンザ | ヘマグルチニン (HA) | 特願2016-164971 |
| 炎症 | 敗血症・炎症性腸 疾患 | CaMKII or CaMKIV | 特許第5754008号 2015/6/5 |
| | 骨粗鬆症・関節リウ マチ | | |
| 疼痛 | 神経障害性疼痛 | | |

技術的優位性

- 1) クラスター効果を発揮して機能する分子に対する阻害モチーフを直接同定する唯一の手法である。
- 2) クラスター効果を発揮する分子は、増殖因子受容体、サイトカイン受容体、がん転移に関与するレクチン、等非常に多く存在する。
- 3) 一般的にレクチンはクラスター化した糖鎖を認識するので優れた標的である。
- 4) 標的分子が変異した場合(ウイルスタンパクやがん遺伝子産物等)でも、迅速に対応できる。
- 5) モチーフ中の各アミノ酸の重要度が定量化できるため、膜透過性、安定性、機能成熟、のための修飾・改変が容易(人工アミノ酸導入、疎水基導入等)