

令和 5 年 6 月 26 日現在

機関番号：82603

研究種目：国際共同研究加速基金（国際共同研究強化(B)）

研究期間：2018～2022

課題番号：18KK0232

研究課題名（和文）高病原性ブニヤウイルス感染症の治療法の開発

研究課題名（英文）Development of therapeutics against highly pathogenic bunyavirus infection

研究代表者

下島 昌幸（Shimajima, Masayuki）

国立感染症研究所・ウイルス第一部・室長

研究者番号：10422411

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 14,000,000円

研究成果の概要（和文）：SFTS/CCHF/RVFはいずれもブニヤウイルスによるヒトの感染症で、致死率は10%以上と高い。治療法開発のため、日本でも毎年患者発生が認められるSFTSを中心に研究を進め、次の成果を得た。SFTSウイルスの感染機構の解明法を開発、SFTSウイルスの病原因子の同定と関連する宿主因子の同定、阻害剤等を用いたSFTSウイルスによる炎症性サイトカインの誘導機構の解明、SFTS/CCHFウイルスのエンベロープ蛋白質に対する単クローン抗体あるいはナノボディの作製と動物モデルでの治療効果の検証。これらの作用機序は異なるものなので、併用により重症例の治療あるいは重症化の阻止が可能であると考えられる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

SFTSについて治療効果の高い治療用抗ウイルス抗体の作製戦略、感染拡大を抑制する宿主標的候補分子決定、および過剰な炎症を抑制する標的候補決定という3本柱が得られた。感染阻害と炎症抑制、（本研究では検討できなかったが）核酸アナログによるゲノム複製阻害はそれぞれ作用機序が全く異なるので、これらの併用によりSFTSの特に重症例の治療や重症化阻止が期待できると考えられた。SFTSの研究で得られた戦略が今後CCHFやRVFなど他の高病原性ブニヤウイルス感染症の治療開発を助けるものと考えている。

研究成果の概要（英文）：SFTS/CCHF/RVF are infectious diseases with high case fatality rates. To develop therapeutics against these diseases, we studied mainly on SFTS, which is reported in Japan annually, and obtained following achievement:

Establishment of an efficient functional screening of SFTS virus receptors, identification of virulent factors and related host factors, molecular elucidation of mechanisms in induction of cytokine storm upon SFTS virus infection, preparation of therapeutic monoclonal antibodies/nanobodies against SFTS/CCHF viral envelopes and their evaluation in animal models. Mechanisms of actions of these therapeutic candidates or targets are distinct with each other, their combination use will be useful in therapy of severe patients or prevention of disease worsening in SFTS/CCHF/RVF.

研究分野：ウイルス学

キーワード：高病原性ブニヤウイルス感染症 治療 抗体 炎症メカニズム 病原因子 併用

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ブニヤウイルスは分節化された RNA ゲノム構成や ambisense な遺伝子コード、複雑なウイルス糖蛋白質、巨大な RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ等により特徴づけられ、最近の分類学ではブニヤウイルス目としてまとめられている。クリミア・コンゴ出血熱 (CCHF) ウイルスや重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) ウイルス、リフトバレー熱 (RVF) ウイルスがこのブニヤウイルスに含まれる。

CCHF はアフリカ大陸からヨーロッパ南部、中東、西アジアにかけ広範囲に認められ、一方 SFTS は中国・韓国・日本で数年前に発生が確認された新興感染症である。いずれも毎年 1,000 人程度の患者発生数ではあるが致死率が 10%~40%と非常に高い。RVF はアフリカ大陸からアラビア半島にかけ発生し、家畜に死亡や流産の流行を引き起こすため経済的損失が大きい。家畜での流行に際しヒトへも伝播し、多くは軽症であるが出血症状を示し死亡させる場合もある。いずれの感染症でも死亡に際し血液凝固異常や高ウイルス/高炎症性サイトカイン血症が頻繁に認められている。マダニや蚊に媒介されるため病原体が根絶されることはない。承認された治療法は無く、核酸類似体のリバビリンやアピガンが動物実験や臨床研究で投与されることはあるが、投与が遅れた場合の効果は期待できない。増殖機構や病原性機構等に不明点は多く、他に特異的な治療法の選択肢はない。

2. 研究の目的

高病原性ブニヤウイルス感染症の効果的な治療がブニヤウイルスの増殖機構および宿主の炎症反応を解析して各疾患の治療標的を見出し、治療用素材を開発し、単独、併用あるいは核酸類似体と組み合わせることで実現できないか？

3. 研究の方法

3 - 1 ブニヤウイルスの感染に関わる宿主因子が複数報告されているが、これらの分子の発現分布等を考慮すると他に真のウイルス受容体が存在するはずである。そこで代表者らは開発済みの手法とウイルスの性状を組み合わせ、cDNA library から高効率に受容体 cDNA を単離する方法を確立する。

3 - 2 CCHF/SFTS/RVF 患者の特に死亡例においては、経過途中から過剰な炎症反応が認められている。また、既に SFTS の動物モデル (マウスおよびサル) を用いて死亡個体の過剰な炎症反応を確認している。適度な炎症は生体防御として必要であり、ステロイドで炎症全般を抑制することは逆効果と考えられるが、培養細胞やマウスモデルにおける炎症反応の関与を遺伝子欠損や阻害剤等を用い明らかにする。

3 - 3 ウイルスに対する特異的な抗血清あるいは単クローン抗体 mAb の患者への投与はこれまでもブニヤウイルス以外の高病原性ウイルス感染症で行なわれている。SFTS の動物モデルでは治療における抗血清の有効性が示されている。抗血清より mAb のほうが効果が高いとする報告もある。そこで、ブニヤウイルスあるいは精製蛋白質 (特にウイルス表面 GP 蛋白質) を用いて mAb あるいは Nanobody を作製し、ウイルスに対する中和活性や動物モデルでの治療効果を検討する。可能であれば核酸類似体との併用効果を調べる。

4. 研究成果

1、 SFTS ウイルスが培養細胞に感染しても軽度の細胞障害効果を示すことを利用し、SFTS ウイルスをベクターとした新規の機能的受容体探索手法を確立した。SFTS ウイルスのエンベロープ蛋白質と組み合わせ、肝臓から調製された cDNA library のスクリーニングを行ない、繰り返し配列数が異なる DC-SIGNR 分子を同定することができた。他のウイルスに由来するエンベロープ蛋白質でも感染性は認められるものの力価が低く、エンベロープ蛋白質の一部改変あるいはベクター自身の再調整 (エンベロープ蛋白質の由来のウイルスを用いる等) が他のウイルスで応用する場合に必要と考えられる。Shimojima et al., Scientific Reports 2020 で発表。

2、 SFTS ウイルスを培養細胞で継代することにより、マウスモデルでの病原性が低下する変異ウイルスが得られた。変異ウイルスの解析から、エンベロープ蛋白質への変異が関与し、関与しうる細胞側因子を複数同定した (ウイルス感染に関わることが知られていなかった新規分子も含む)。これらの細胞側因子が SFTS ウイルスが病原性を示すキーで、治療の標的となると考えられた。抗血清も作製した。未発表。

3、 SFTS ウイルスの自然免疫応答への関与機構を調べた。細胞の自然免疫関連分子の TBK1 による NF- κ B の抑制作用を SFTS ウイルスの NSs 蛋白質が阻害することを示し、これにより NF- κ B によるサイトカインの過剰産生が起こることを示した。マウスモデルにおいても NF- κ B 阻害剤による炎症性サイトカイン誘導の阻害を確認している。Khalil et al., Mol Cell Biol. 2021 で発表。

4、 SFTS ウイルスの GP 蛋白質 (翻訳後 Gn と Gc に分かれる) あるいは CCHF ウイルスの Gn

蛋白質に対するヒトあるいはマウス mAb を作製し、その結合性、中和活性を確認した。加えて SFTS ウイルスの Gn/Gc 蛋白質、CCHF ウイルスの Gc 蛋白質に対する nanobody を作製し、その結合性、中和活性を確認した。ヒトあるいはマウス mAb のいくつかは SFTS ウイルスに対し中和活性を示したが、マウスモデルで治療効果を示すものは SFTS ウイルスの Gn 蛋白質に対する中和抗体のみであった。より効率的な治療用抗体の作製に役立つ情報となった。Shimojima et al., *Viruses* 2022 で発表。SFTS ウイルスの Gn/Gc 蛋白質、CCHF ウイルスの Gc 蛋白質に対する nanobody が得られ、このうち Gc 蛋白質に対するもののいくつかのみが SFTS/CCHF ウイルスのエンベロープ蛋白質を外套した VSV に対し強い中和活性を示した。SFTS/CCHF のマウスモデルでは治療効果は認められていないが、中和活性の高さから bispecific 化等により治療用効果が出せる可能性がある。未発表。

これらのことから、特に SFTS については治療効果の高い治療用抗ウイルス抗体の作製戦略、感染拡大を抑制する宿主標的候補分子決定、および過剰な炎症を抑制する標的候補決定という 3 本柱が得られた。治療用抗体と感染拡大抑制標的は重複する部分であるが、個別に阻害した方が大きな効果が出ると予想される。また、これら感染阻害と炎症抑制、(本研究では検討できなかったが)核酸アナログによるゲノム複製阻害はそれぞれ作用機序が全く異なるので、併用により SFTS の特に重症例の治療や重症化阻止が期待できると考えられた。感染に関わる分子をエンベロープ蛋白質としてもつ組換え VSV も可能で治療用素材となりうる。SFTS 以外のブニヤウイルスについては候補となる標的、抗体、nanobody 等は得られなかった。しかし SFTS の研究で得られた戦略が今後 CCHF や RVF など他の高病原性ブニヤウイルス感染症の治療開発を助けるものと考えている。

関連する成果については Sugimoto et al., *Ticks Tick Borne Dis.* 2022 および Tsukamoto et al., *Science* 2023 で発表。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Sugimoto S, Suda Y, Nagata N, Fukushi S, Yoshikawa T, Kurosu T, Mizutani T, Saijo M, Shimojima M.	4. 巻 13(1)
2. 論文標題 Characterization of Keterah orthonaviruses and evaluation of therapeutic candidates against Keterah orthonaviruses infectious disease.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Ticks Tick Borne Dis.	6. 最初と最後の頁 101834
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.ttbdis.2021.101834.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shimojima M, Sugimoto S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Kurosu T, Saijo M.	4. 巻 10(1)
2. 論文標題 Efficient functional screening of a cellular cDNA library to identify severe fever with thrombocytopenia syndrome virus entry factors.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Sci Rep	6. 最初と最後の頁 5996
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-62876-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Sugimoto S, Suda Y, Yoshikawa T, Kurosu T, Mizutani T, Saijo M, Shimojima M.	4. 巻 9(18)
2. 論文標題 Terminal Genome Sequences of the Soft Tick Bunyavirus	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbiol Resour Announc	6. 最初と最後の頁 e00126-20
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1128/MRA.00126-20	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Kanai Y, Kawagishi T, Sakai Y, Nouda R, Shimojima M, Saijo M, Matsuura Y, Kobayashi T.	4. 巻 15
2. 論文標題 Cell-cell fusion induced by reovirus FAST proteins enhances replication and pathogenicity of non-enveloped dsRNA viruses.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 PLoS Pathog.	6. 最初と最後の頁 e1007675
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1371/journal.ppat.1007675.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Khalil Jumana, Yamada Shintaro, Tsukamoto Yuta, Abe Hiroto, Shimojima Masayuki, Kato Hiroki, Fujita Takashi	4. 巻 41
2. 論文標題 The Nonstructural Protein NSs of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus Causes a Cytokine Storm through the Hyperactivation of NF- κ B	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Molecular and Cellular Biology	6. 最初と最後の頁 e00542-20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1128/MCB.00542-20	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shimojima Masayuki, Sugimoto Satoko, Umekita Kunihiko, Onodera Taishi, Sano Kaori, Tani Hideki, Takamatsu Yuki, Yoshikawa Tomoki, Kurosu Takeshi, Suzuki Tadaki, Takahashi Yoshimasa, Ebihara Hideki, Saijo Masayuki	4. 巻 14
2. 論文標題 Neutralizing mAbs against SFTS Virus Gn Protein Show Strong Therapeutic Effects in an SFTS Animal Model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Viruses	6. 最初と最後の頁 1665 ~ 1665
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/v14081665	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tsukamoto Yuta et al.	4. 巻 379
2. 論文標題 Inhibition of cellular RNA methyltransferase abrogates influenza virus capping and replication	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 586 ~ 591
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.add0875	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 下島 昌幸, 米満 研三, 網 康至, 杉元 聡子, 高松 由基, 吉河 智城, 黒須 剛, 西條 政幸
2. 発表標題 SFTSウイルスの新規病原因子の同定
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 杉元 聡子, 黒須 剛, 吉河 智城, 高松 由基, 大場 真己, 大松 勉, 水谷 哲也, 西條 政幸, 下島 昌幸
2. 発表標題 ケテラオルソナイロウイルス感染症に対するファビピラビルの有効性
3. 学会等名 第68回日本ウイルス学会学術集会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 2. Shimojima M, Sugimoto S, Taniguchi S, Yoshikawa T, Kurosu T, Saijo M.
2. 発表標題 A novel functional screening method to identify severe fever with thrombocytopenia syndrome virus entry factors from cDNA library.
3. 学会等名 The 67th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 1. Sugimoto S, Suda Y, Kurosu T, Yoshikawa T, Oba M, Omatsu T, Horimoto T, Mizutani T, Saijo M, Shimojima M.
2. 発表標題 Characterization of Soft tick bunyavirus isolated from ticks in Japan.
3. 学会等名 The 67th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology.
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 下島昌幸
2. 発表標題 重症熱性血小板減少症候群ウイルスの最新の知見
3. 学会等名 第71回日本衛生動物学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 下島昌幸、西條政幸	4. 発行年 2021年
2. 出版社 羊土社	5. 総ページ数 4
3. 書名 パンデミック時代の感染症研究	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藤田 尚志 (Fujita Takashi) (10156870)	京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・客員教授 (14301)	
研究分担者	渡辺 俊平 (Shumpei Watanabe) (10621401)	岡山理科大学・獣医学部・准教授 (35302)	
研究分担者	呉 成旭 (Oh Seong-Wook) (30817416)	京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・研究員 (14301)	
研究分担者	竹内 文彦 (Fumihiko Takeuchi) (20852437)	京都大学・ウイルス・再生医科学研究所・研究員 (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------