

機関番号：82603

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2007～2010

課題番号：19790347

研究課題名 (和文) 擬似粒子を用いたポリオ後症候群モデルマウスの作製

研究課題名 (英文) Development of a mouse model for post-polio-like syndrome by using pseudo poliovirus

研究代表者

有田 峰太郎 (ARITA MINETARO)

国立感染症研究所ウイルス第二部第二室・主任研究官

研究者番号：70356244

研究成果の概要 (和文)：

ポリオウイルス (PV) 擬似粒子を用いてPVレセプター発現マウス (TgPVR21 マウス) に残存性ポリオ様麻痺を生じさせる条件を確立し、残存性ポリオ様麻痺を長期間生じさせたマウスについて解析した。また、ポリオ後症候群の発症に関与する宿主遺伝子群を同定することを目的とし、PVの複製を阻害する化合物の探索を行った。結果、 4.1×10^6 感染単位以上のポリオウイルス擬似粒子を脊髄内に接種した場合、ほぼ全てのマウスが重篤な残存性ポリオ様麻痺を呈した。このマウスを運動負荷の有無で6ヶ月間飼育したが、誘導されたポリオ様麻痺と運動負荷を原因とする異常を確認することができなかった。PV複製を阻害する化合物として、GW5074 (Raf-1阻害剤) を同定し、GW5074と協調的に働くキナーゼ阻害剤としてMEK1/2阻害剤、EGFR阻害剤、PI3K阻害剤を同定した。GW5074に対する耐性変異を同定し、阻害機構が不明である既知の抗ピコルナウイルス化合物enviroximeに対する耐性変異と同じ変異であることを見出した。さらに、GW5074が宿主のphosphatidylinositol 4-kinase III beta (PI4KB)の活性を阻害することによりPVの複製を阻害することを見出し、PI4KBがenviroxime様化合物のエンテロウイルス複製阻害活性の標的の一つであることを明らかにした。

研究成果の概要 (英文)：

We established a mouse model that shows residual poliomyelitis-like paralysis by using poliovirus (PV) pseudovirus infection in PV receptor-expressing mouse (TgPVR21), and analyzed a long-term effect of paralysis in the mice. To identify possible host factor required for post-polio syndrome, we searched for anti-PV compounds that inhibit replication process of PV. TgPVR21 mice showed severe residual poliomyelitis-like paralysis after inoculation with PV pseudovirus of more than 4.1×10^6 infectious units. After 6 months with/without exercise stress, we could not identify post-polio like symptom that could be attributable to the paralysis and exercise stress. We identified GW5074 (Raf-1 inhibitor) as PV replication inhibitor, and several kinase inhibitors, including MEK1/2 inhibitors, EGFR inhibitor, PI3K inhibitor, that could cooperatively act with GW5074 to inhibit PV replication. We found that the viral resistance determinant to GW5074 was a similar mutation to an anti-picornavirus compound enviroxime with unknown inhibitory mechanism. Moreover, we identified phosphatidylinositol 4-kinase III beta (PI4KB) as the target of GW5074 for its anti-PV activity, and indicated that PI4KB is a target of enviroxime-like compounds for its anti-PV activity.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 19 年度	600,000	0	600,000
平成 20 年度	800,000	0	800,000
平成 21 年度	1,100,000	0	1,100,000
平成 22 年度	500,000	0	500,000
年度			
総計	3,000,000	0	3,000,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：基礎医学・ウイルス学

キーワード：病原性

1. 研究開始当初の背景

小児麻痺は、ポリオウイルス（PV）感染により生じる重篤な弛緩性麻痺であるが、リハビリテーションによりある程度の回復を示しうる。しかし、初感染から数十年後に、疲労、筋肉痛、筋力低下を示す疾患を発症する。疾患の発症に初感染時のPVによる持続感染が必要とされるかについては明らかにされておらず、残存神経細胞の神経末端の多用に伴う退行変性による機能的な疾患である可能性が示唆されている。この疾患は、ポリオ後症候群と呼ばれている。ポリオ後症候群の分子もしくは遺伝子レベルの定義および治療方法は確立されていない。現在、世界的にPVの根絶計画が進行している段階であり、現在の小児麻痺患者は、ポリオワクチンが導入される以前のPV流行時に発生した患者およびワクチン導入後のワクチン由来PV感染による患者から成る。小児麻痺の届出が義務付けられた1947年以降、現在までにおよそ37,200の小児麻痺症例が日本国内で報告されているが、このうち98%以上が1961年までに報告されたものであり、1947年以前の症例を推計すると、90,000人以上がポリオ後症候群を発症する可能性がある。届出をしていない症例を含めると、現在およそ10万症例という推測もなされている（ポリオの会）。本研究では、ポリオ後症候群のモデルマウスの開発を目的とした技術開発および解析を行う。

2. 研究の目的

ポリオ後症候群のモデルマウスを作製し、ポリオ後症候群発症の指標となる分子および遺伝子を同定する。

3. 研究の方法

PV 擬似粒子を PV レセプター発現マウス TgPVR21 に脊髄内接種し、残存性ポリオ様麻痺を生じさせる。麻痺を生じたマウスに、トレッドミルによる運動負荷を与え、マウスにポリオ後症候群様の症状が誘導されるか観察

を行う。PV の複製を阻害する化合物を同定するために、擬似ウイルスの感染を阻害する化合物を探索した。

4. 研究成果

PV擬似粒子を用いてPVレセプター発現マウス（TgPVR21 マウス）に残存性ポリオ様麻痺を生じさせる条件を確立し、残存性ポリオ様麻痺を長期間生じさせたマウスについて解析した。結果、 4.1×10^6 感染単位以上のポリオウイルス擬似粒子を脊髄内に接種した場合、ほぼ全てのマウスが重篤な残存性ポリオ様麻痺を呈した。このマウスを運動負荷の有無で6ヶ月間飼育したが、誘導されたポリオ様麻痺と運動負荷を原因とする異常を確認することができなかった。

ポリオ後症候群の発症に関与する宿主遺伝子群を同定することを目的とし、PV の複製を阻害する化合物の探索を行った。PV 複製を阻害する化合物として、GW5074（Raf-1 阻害剤）を同定し、GW5074 と協調的に働くキナーゼ阻害剤としてMEK1/2 阻害剤、EGFR 阻害剤、PI3K 阻害剤を同定した。GW5074 に対する耐性変異を同定し、阻害機構が不明である既知の抗ピコルナウイルス化合物 enviroxime に対する耐性変異と同じ変異であることを見出した。さらに、GW5074 が宿主の phosphatidylinositol 4-kinase III beta (PI4KB)の活性を阻害することにより PV の複製を阻害することを見出し、PI4KB が enviroxime 様化合物のエンテロウイルス複製阻害活性の標的の一つであることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① M. Arita, T. Wakita, and H. Shimizu. Characterization of pharmacologically active compounds that inhibit poliovirus and enterovirus 71 infectivity. *Journal of General Virology* **89**: 2518-2530, 2008, 査読あり
- ② M. Arita, T. Wakita, and H. Shimizu. Cellular kinase inhibitors that suppress enterovirus replication have a conserved target in viral protein 3A similar to that of enviroxime. *Journal of General Virology* **90**: 1869-1879, 2009, 査読あり

[学会発表] (計4件)

- ① 有田峰太郎、脇田隆宇、清水博之、「エンテロウイルス擬似粒子を用いた抗エンテロウイルス薬の探索」、2007. 10. 22, 第55回日本ウイルス学会総会 (札幌)
- ② 有田峰太郎、脇田隆宇、清水博之、「GW5074のエンテロウイルス複製阻害活性に関する解析」、2008. 10. 28, 第56回日本ウイルス学会総会 (岡山)
- ③ Minetaro Arita. Characterization of cellular kinase inhibitors that suppress poliovirus and enterovirus 71 replication. 2009.9.9. THE 25th NAITO CONFERENCE (Sapporo, Hokkaido, Japan)
- ④ 有田峰太郎、脇田隆宇、清水博之「細胞のキナーゼ阻害剤の持つエンテロウイルス複製阻害機構に関する解析」、2009. 10. 25, 第57回日本ウイルス学会総会 (東京)

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有田 峰太郎 (ARITA MINETARO)

国立感染症研究所ウイルス第二部第二室・主任研究官 (研究者番号：70356244)

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし