

令和 元年 6 月 10 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16H05039

研究課題名(和文)猫伝染性腹膜炎の治療法・予防法の確立 - 基礎的開発から臨床試験の実施まで -

研究課題名(英文) Establishment of treatment and prevention methods for feline infectious peritonitis -from the basics to the practical use-

研究代表者

宝達 勉 (Hohdatsu, Tsutomu)

北里大学・獣医学部・教授

研究者番号：00129264

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,200,000円

研究成果の概要(和文)：猫伝染性腹膜炎(FIP)はネコ科動物の致死性ウイルス感染症である。未だにFIPに対する有効な治療方法は報告されていない。我々は抗FIPV薬の検討と共に、新たに同定した抗FIPV薬を猫に投与して、FIPV感染に対する影響を調べた。その結果、細胞内コレステロールの輸送阻害薬であるU18666Aが野外に多く存在するI型FIPVの増殖を強力に抑制することを発見した。また、U18666Aを投与した猫においてFIP発症が抑制または遅延する可能性を確認した。さらに、獣医臨床で抗真菌薬として一般的に使用されているイトラコナゾールがU18666Aと同様の抗ウイルス作用を示すことを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

研究成果の概要にも示した通り、猫の致死性ウイルス感染症であるFIPに対して確立した治療法は存在しない。本研究において、研究者らはU18666Aという非常に優れた抗FIPV薬の候補を発見した。U18666Aの抗ウイルス作用については、単にウイルスの増殖を抑制するという点だけではなく、NPC1タンパク質がその抑制効果に重要であることも確認することが出来た。また、実際に獣医臨床で使用されている薬剤のうち、抗真菌薬のイトラコナゾールがU18666Aと同様の作用を持つことを発見した。これらの発見は、これまでほとんど解明されていないI型FIPVの感染・増殖メカニズムを理解する上で重要な内容と考えられる。

研究成果の概要(英文)：Feline infectious peritonitis (FIP) is a fatal viral infection in Felidae. There has not been reported any effective treatment for FIP. Based on the study of anti-FIPV drugs, we administered newly identified anti-FIPV drugs to cats and examined the effects on FIPV infection. As the result, U18666A, an inhibitor of intracellular cholesterol transport, strongly inhibited the growth of Type I FIPV that is dominant in the field. In addition, the possibility of suppressing or delaying the onset of FIP in cats treated with U18666A was confirmed. Furthermore, it was discovered that itraconazole, which is generally used as an antifungal agent in veterinary medicine, shows the same antiviral effect as U18666A.

研究分野：動物感染症学、獣医ウイルス学

キーワード：コロナウイルス 猫伝染性腹膜炎 FIP 治療 猫 イトラコナゾール コレステロール

## 1. 研究開始当初の背景

猫伝染性腹膜炎 (FIP) はネコ科動物の致死性コロナウイルス感染症である。FIP は猫の死因の上位に位置しており、特に1歳以下の幼猫ではFIPを発症すると高い確率で死亡する。現在、FIPの発症を予防する有効な予防薬は存在しない。また、獣医臨床においてFIPを治療する方法も確立されていない。病原体である猫伝染性腹膜炎ウイルス (FIPV) は血清学的にI型とII型の2つに分けられる。このうち、野外ではI型FIPVが圧倒的に多く、この事実を踏まえるとI型FIPVを標的とした治療薬が開発されることが望ましい。我々の研究グループは長年に渡りFIP治療薬の同定または開発を試みてきた。これまで、抗FIPV薬を複数同定してきた (Takano and Hohdatsu et al., 2013. Antiviral Res など)。また、強い炎症性疾患でもあるFIPの治療を目的として、病態悪化因子の一つであるネコTNF- $\alpha$ に対する分子標的薬(抗ネコTNF抗体)も開発した (Doki and Hohdatsu et al., 2013. Res Vet Sci など)。

## 2. 研究の目的

これまで我々が実施してきたFIP治療薬の開発・同定に関する研究、FIPの病態悪化機序に関する研究、およびFIPVの増殖機構に関する研究を踏まえて、より効果的なFIP治療薬の同定を試みる。また、同定した薬剤を実際にFIP発症猫に投与することで治療に有効か否かを明らかにする。さらに、獣医臨床で用いられている薬剤の中でFIPVの増殖を強力に抑制するものを同定する。

## 3. 研究の方法

- (1) 抗FIPV薬の新規同定 以前、我々はI型FIPVがコレステロールに依存して増殖することを明らかにした (Takano et al., 2016. Arch Virol)。この結果を踏まえ、コレステロール合成およびコレステロール輸送を抑制する薬剤の中から抗FIPV薬となる候補を選定する。
- (2) FIP発症猫に対する抗FIPV薬の治療効果の検討 1)の実験で同定した薬剤を実験的に作出したFIP発症猫に投与することで治療効果が得られるか否かを検討する。今回は薬剤の抗FIPV効果を正確に把握できるように、FIPVを接種直後から薬剤を投与し、その効果について臨床所見、血液生化学検査の数値、体内におけるウイルス産生などを指標にして判断する。
- (3) イトラコナゾールの抗ウイルス効果の検討 抗真菌薬であるイトラコナゾールは獣医臨床で一般的に用いられる薬剤である。1)の実験において、イトラコナゾールが抗ウイルス効果を示す可能性が示唆された。この結果を踏まえ、実際にイトラコナゾールがFIPVの増殖を抑制できるか否かについて検討する。

## 4. 研究成果

- (1) 抗FIPV薬の新規同定 コレステロールの生合成および輸送を抑制する薬

剤の中から抗ウイルス作用を示す薬剤を選定した。スクリーニング試験において、U18666A が強力な抗ウイルス作用を示すことが明らかとなった。この結果を踏まえ、U18666A が FIPV に対して抗ウイルス効果を示すか否かを詳細に検討した。U18666A は細胞内のコレステロールを凝集するとともに、I 型 FIPV の増殖を強力に抑制した。驚くべきことに、U18666A による抗ウイルス効果は、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDACi) である Vorinostat の作用によって消失した。HDACi は U18666A による Niemann-Pick C1(NPC1)の機能不全を回復することが報告されている。この事実と本研究の結果を踏まえると、I 型 FIPV は、エボラウイルスと同様に細胞内侵入に際して NPC1 を利用する可能性が示唆された。

- (2) FIP 発症猫に対する抗 FIPV 薬の治療効果の検討 1)の実験で抗 FIPV 薬として同定した U18666A を SPF 猫に皮下投与し、同時に I 型 FIPV を腹腔内投与した。その結果、U18666A を投与しない群では 5 頭中 2 頭が FIP を発症したのに対し、U18666A を投与した群では 5 頭全てにおいて FIP 発症が認められなかった。その他の結果については現在解析しているところである(論文投稿準備中)。
- (3) イトラコナゾールの抗ウイルス効果の検討 1)、2)の結果から、U18666A は FIP の治療薬として応用できる可能性が強く示唆された。しかし、U18666A は動物薬として認可されておらず、実際に獣医臨床で応用するためには猫における薬物動態や安全性試験をそれぞれの国の基準に従って行う必要がある。即ち、U18666A は将来的に FIP 治療薬として応用できるが、現時点において直ちに獣医臨床に応用することは困難である。そこで我々は、1)の実験において比較的高い抗ウイルス効果を示したイトラコナゾールに着目した。イトラコナゾールは獣医臨床において抗真菌薬として一般的に用いられている。本研究で研究代表者らはイトラコナゾールが I 型 FIPV の増殖を抑制することを確認した。また、イトラコナゾールはウイルス感染後の細胞に対しても抗ウイルス作用が認められた。即ち、イトラコナゾールは FIP の治療薬として応用できる可能性が示唆された。

## 5 . 主な発表論文等

- (1) Takano T, Akiyama M, Doki T, Hohdatsu T. 2019. Antiviral activity of itraconazole against type I feline coronavirus infection. *Veterinary research* 50(1) 5. 査読有
- (2) Doki T, Yabe M, Takano T, Hohdatsu T. 2018. Differential induction of type I interferon by type I and type II feline coronaviruses in vitro. *Research in veterinary science* 120 57-62. 査読有
- (3) Takano T, Endoh M, Fukatsu H, Sakurada H, Doki T, Hohdatsu T. The cholesterol transport inhibitor U18666A inhibits type I feline coronavirus infection. 2017.

Antiviral research 145 96-102. 査読有

- (4) Takano T, Nakaguchi M, Doki T, Hohdatsu T. 2017. Antibody-dependent enhancement of serotype II feline enteric coronavirus infection in primary feline monocytes. Archives of virology 162(11) 3339-3345. 査読有

〔学会発表〕(計9件)

- (1) 高野友美、山田慎二、土岐朋義、宝達勉. 経口感染における I 型猫伝染性腹膜炎ウイルスの抗体介在性感感染増強作用. 第 161 回日本獣医学会学術集会(つくば). 2018 年 9 月.
- (2) 土岐朋義、梅村悠香、伊藤瑞枝、小林晋、笹内綾乃、平野亨、渡部伸一、窪田庄太郎、高野友美、宝達勉. 猫伝染性腹膜炎ウイルス温度感受性変異株の解析. 第 161 回日本獣医学会学術集会(つくば). 2018 年 9 月.
- (3) 秋山美涼、高野友美、土岐朋義、宝達勉. 猫伝染性腹膜炎ウイルスに対するイトラコナゾールの抗ウイルス作用. 第 161 回日本獣医学会学術集会(つくば). 2018 年 9 月.
- (4) 秋山美涼、高野友美、土岐朋義、宝達勉. 猫伝染性腹膜炎ウイルスに対するイトラコナゾールの抗ウイルス作用. 第 31 回北里大学バイオサイエンスフォーラム (相模原). 2018 年 8 月.
- (5) 高野友美、櫻田晴子、遠藤美咲、深津寛昭、里見唯、土岐朋義、宝達勉. U18666A は I 型猫伝染性腹膜炎ウイルスの増殖を抑制する. 第 160 回日本獣医学会学術集会(鹿児島). 2017 年 9 月.
- (6) 土岐朋義、矢部翠、高野友美、宝達勉. ネココロナウイルス感染における株化細胞の IFN 応答性の解析. 第 160 回日本獣医学会学術集会(鹿児島). 2017 年 9 月.
- (7) 高野友美、櫻田晴子、遠藤美咲、深津寛昭、里見唯、土岐朋義、宝達勉. U18666A は I 型猫伝染性腹膜炎ウイルスの増殖を抑制する. 第 30 回北里大学バイオサイエンスフォーラム (十和田). 2017 年 8 月.
- (8) 高野友美、遠藤美咲、深津寛昭、里見唯、小山優、土岐朋義、宝達勉. ネココロナウイルスのコレステロール依存性細胞内侵入機構の解析. 第 159 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月.
- (9) 土岐朋義、高野友美、山口菜乃花、宝達勉. ネコ伝染性腹膜炎の治療薬への応用を目的としたネコ Ig 定常領域付加型 TNF レセプター製剤の作製. 第 159 回日本獣医学会学術集会. 2016 年 9 月.

〔その他〕

第 405 回北里大学獣医学部獣医学科セミナー「コレステロール輸送阻害剤はネコ

「コロナウイルスの増殖を抑制する—猫伝染性腹膜炎の新規治療薬の探索—」

参照：<http://10.0.99.117/vmas/faculty/vm/news/n20180417.html>

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：高野 友美

ローマ字氏名：TAKANO TOMOMI

所属研究機関名：北里大学 獣医学部

部局名：獣医伝染病学研究室

職名：准教授

研究者番号(8桁): 20525018

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：土岐 朋義

ローマ字氏名：DOKI TOMOYOSHI

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。