

## 自己評価報告書

平成23年3月31日現在

機関番号：33910

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：2008～2011

課題番号：20390028

研究課題名 (和文) 高病原性トリインフルエンザウイルスの新型ヒトウイルスへの変異機構の  
解明と創薬研究課題名 (英文) Adaptation Mechanism of highly pathogenic avian influenza viruses to  
human type and anti-influenza drug discovery

研究代表者

鈴木 康夫 (SUZUKI YASUO)

中部大学・生命健康科学部・教授

研修者番号：00046278

研究代表者の専門分野：生化学、ウイルス学

科研費の分科・細目：薬学・生物系薬学

キーワード：鳥インフルエンザ、インフルエンザ、パンデミック、創薬、シアル酸、レセプター、ウイルス

## 1. 研究計画の概要

目的：高病原性鳥インフルエンザウイルス（以下 H5N1）が変異してヒト-ヒト間伝播が可能となる変異を事前に予知する技術を開発し、その機構を明らかにするとともに、新型インフルエンザウイルスにも適応可能な抗インフルエンザ剤創製の基盤を創る。内容：(1) 合成シアロ糖鎖ポリマーと抗 H5 抗体を用いる ELISA 技術を応用した鳥およびヒトインフルエンザウイルスのレセプターシアロ糖鎖認識 (Neu5Ac  $\alpha$  2-3Gal or 2-6) 監視技術を開発した。さらに、人工的に赤血球膜のシアロ糖鎖レセプターを改変する技術を考案し、H5N1 ウイルスのヒト型レセプター認識変異の監視を可能とした。これに加えて、イムノクロマト技術による鳥およびヒトインフルエンザウイルスのレセプターシアロ糖鎖識別をより簡便かつ迅速に測定するキットのプロトタイプを開発した。これらより、安価で簡便に鳥→ヒトへのレセプター認識特異性変異を監視できる可能性が拓けた。(2) H5N1 に対して感受性を持つ動物（ブタ、ニワトリなど）の呼吸器や腸管におけるウイルスの受容体 N-結合型シアロ糖鎖解析の技術を開発し、これを応用してブタ（鳥-ヒト間の中間宿主）の気道、肺、および発育鶏卵のしょう尿膜における N-型シアロ糖鎖の精密化学構造解析を可能とした。これらの結果から、ブタは、H5N1 の遺伝子再集合を起こし、新型ウイルスを産生するばかりでなく、ヘマグルチニン (HA) のアミノ酸点変異により、ヒト型レセプター  $\alpha$  2-6 に結合出来る変異を起こし得る可能性を解明した。今後、ブタや家禽から分離される H5N1 のレセプ

ターシアロ糖鎖結合特異性の監視は極めて重要な作業となる。

(3) インフルエンザウイルスの感染性、ウイルスの宿主細胞への吸着、宿主細胞からの出芽過程の阻害を検出できる新アッセイ系を構築し、抗インフルエンザウイルス活性を調べた。その結果、いくつかの天然、合成の新規且つ強力なウイルスシアリダーゼ活性およびヘマグルチニン活性阻害剤、および感染阻害剤を見出した。

## 2. 研究の進捗状況

(1) 今後監視が重要となる H5N1 のヒトへの適応性変異監視機構を明らかに出来る方法論が確立できた。

(2) イムノクロマトを原理とする鳥およびヒトインフルエンザウイルスのレセプターシアロ糖鎖識別監視プロトタイプキットを開発したので、これを地球規模で鳥インフルエンザウイルスのヒトへの適応を監視できるように完成させる。

(3) 1918 年に発生したスペインインフルエンザの病原性発現にウイルスノイラミニダーゼ (NA) スパイクの細胞内エンドソーム・リソソームにおける弱酸性安定性が関わることを発見した。この機構は次期パンデミックインフルエンザウイルスの発生監視技術開発に有用である。

(4) 日本産の梅から古式法により製造される梅肉エキスに存在する新物質ムメラールは、多様な抗インフルエンザウイルス活性を持つことを見出した。本研究は、インフルエンザの予防と古来受け継がれてきた民間食素材

とが密接に関わることを示すものである。  
(5) インフルエンザウイルスのNAやHAスパイクの機能を阻害する新しい分子を合成し、その活性を見出した。その一つは、これまで臨床に使われている4-guanizino-Neu5Ac2en (ザナミビル) に匹敵する強力な抗シアリダーゼ活性を持つことを見出した。

### 3. 現在までの達成度

② おおむね順調に進展している。  
イムノクロマトを原理とする鳥→ヒトへの適応性変異簡易監視キットのプロトタイプの創成や、ウイルスのヘマグルチニンおよびノイラミニダーゼ両者を阻害できる物質 (ムメフラール) を日本古来製法によるウメ肉エキスから見出したなど、付加的な成果も上がっている。

### 4. 今後の研究の推進方策

特に方針に変更はない。これまでの成果を基に、(1) 現在最も高病原性鳥インフルエンザウイルス (H5N1) のヒトへ感染が起きつつあるエジプト分離株の変異機構を解明する。(2) H5N1 ウイルスのヘマグルチニン分子内グリコシル化、ノイラミニダーゼスパイクの長さが H5N1 ウイルスのヒトへの適応性獲得に深く関わることを明らかにする。以上の研究により、本研究の目的の前半 (高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒトへの適応機構の解明) の達成をより高いものにしていく。さらに後半の目的 (インフルエンザ創薬) については、(3) これまで見出した新規なヘマグルチニンおよびノイラミニダーゼ両阻害分子 (ムメフラール) や強い抗シアリダーゼ阻害剤の作用機構を明らかにしていく。また、最終年度まで新しい抗インフルエンザ剤の探索も進める。

### 5. 代表的な研究成果

(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 26 件)

- ① Nongluk Sriwilaijaroen, Yasuo Suzuki (9人中9番): *N*-glycans from porcine trachea and lung: Predominant NeuAc<sub>2</sub>-6Gal could be a selective pressure for influenza variants in favor of human-type receptor. PLoS ONE, 6, issue 2, e-16302 (2011), 査読有
- ② Nongluk Sriwilaijaroen, Yasuo Suzuki (8人中8番): Mumefural and related HMF derivatives from Japanese apricot fruit juice concentrate show multiple inhibitory effects on pandemic influenza A (H1N1) virus. Food Chem., 127, 1-9 (2011), 査読有

- ③ Chairul A. Nidom, Yasuo Suzuki (12人中8番): Influenza A(H5N1) viruses from pigs, Indonesia. Emerg. Infect. Dis., 2010 Oct; [Epub ahead of print] DOI: 10.3201/eid1610.100508, 査読有
- ④ Toshihiko Sawada, Yasuo Suzuki (8人中8番): *Ab initio* base fragment molecular orbital studies of influenza viral hemagglutinin HA1 full-domains in complex with sialoside receptors. J. Mol. Genet. Med., 3, 133-142 (2009), 査読有
- ⑤ Tadanobu Takahashi, Yasuo Suzuki (14人中13番): Sulfatide regulates influenza A virus replication by association with hemagglutinin delivered to the cell surface. J. Virol., 82 (12) 5940-5950 (2008), 査読有

[学会発表] (計 36 件)

- ① Yasuo Suzuki: Mechanism of host range mutation of influenza viruses. (Aug. 26<sup>th</sup>, 2010), Sialoglyco 2010 (13<sup>th</sup> International Congress on Biology and Chemistry of sialic acids), Kongresshotel Potsdam, ポツダム (ドイツ), 2010年8月26日
- ② Yasuo Suzuki: Highly pathogenic avian influenza viruses (H5N1) –Avian H5N1 is now acquiring human receptor specificity and anti-influenza drug discovery-. The 8<sup>th</sup> China-Japan International Conference of Virology, ハルビン(中国), 2010年7月4-7日
- ③ Yasuo Suzuki (11人中1番): Highly pathogenic avian H5N1 viruses that acquire human receptor specificity –Receptor binding profile of H5N1 virus correlated with glycosylation of HA and length of NA stalk - 8<sup>th</sup> Asia Pacific Congress of Medical Virology, Viral Diseases: 香港, 2009年2月24-28日

[図書] (計 1 件)

The fragment Molecular Orbital Method, Chapter 9 CRC Press, (2009)

[その他] (計 7 件)

- ① 新型インフルエンザの行方 日経サイエンス 4月号 18 ページ (2011)
- ② 新型インフルエンザの謎に挑む—予防と監視の請負人— 読売新聞 4月3日 (2009)