

PRESS RELEASE

2023年7月12日

国立大学法人 東京大学国際高等研究所 新世代感染症センター

国立大学法人 東京大学医科学研究所

国立研究開発法人 国立国際医療研究センター

ニルマトレルビル耐性新型コロナウイルスの性状解析

発表のポイント

- ◆新型コロナウイルス感染症に対する経口治療薬ニルマトレルビルに対し感受性低下を示す変異ウイルスを2種類作製しました。
- ◆作製した耐性ウイルスの培養細胞およびハムスターにおける増殖性・病原性は、野生型ウイルスに比べ若干低下していました。
- ◆耐性ウイルスはハムスター間における伝播能を維持していました。
- ◆ハムスターにおける野生型ウイルスとの共感染実験において、耐性ウイルスが野生型ウイルスよりも良く増えることはありませんでした。

発表内容

東京大学国際高等研究所新世代感染症センター 河岡義裕機構長らの研究グループは、経口新型コロナウイルス感染症治療薬ニルマトレルビル（リトナビルと合わせて製品名パキロビッド®パックとして販売（注））に対する感受性を低下させるアミノ酸変異を導入した SARS-CoV-2 を作出し、その性状を解析しました。

現在市販されている新型コロナウイルス感染症に対する治療薬は、ウイルスのS蛋白質を標的とする薬剤、ウイルスのRNAポリメラーゼを阻害する薬剤、ならびにウイルスのプロテアーゼを阻害する薬剤の3種類に大別されます。これらの薬剤に対する感受性を低下させるアミノ酸変異は、臨床分離株を用いた研究や精製蛋白質を用いた研究により検証が行われ、感受性低下を示すアミノ酸変異が多数報告されています。今回、ウイルスのプロテアーゼである3CLpro (nsp5) を標的とした治療薬であるニルマトレルビルに対して、感受性低下を示すことが知られているアミノ酸変異の中から、2または3つのアミノ酸変異を持つ2種類の変異ウイルスの性状を解析し、ニルマトレルビル耐性ウイルスの増殖性や病原性、ならびにヒトの間で流行する可能性があるのかを検討しました。

はじめに、ニルマトレルビルに対し感受性低下を示すことが報告されているアミノ酸変異から、ウイルスの増殖性を著しく低下させなかったL50F/E166VおよびL50F/E166A/L167Fを選び、これらの変異をnsp5に導入した耐性ウイルスを2種類作製しました。これらのウイルスの培養細胞における増殖性は、アミノ酸変異を持たない野生型ウイルスよりも低下していることが明らかとなりました（図1）。

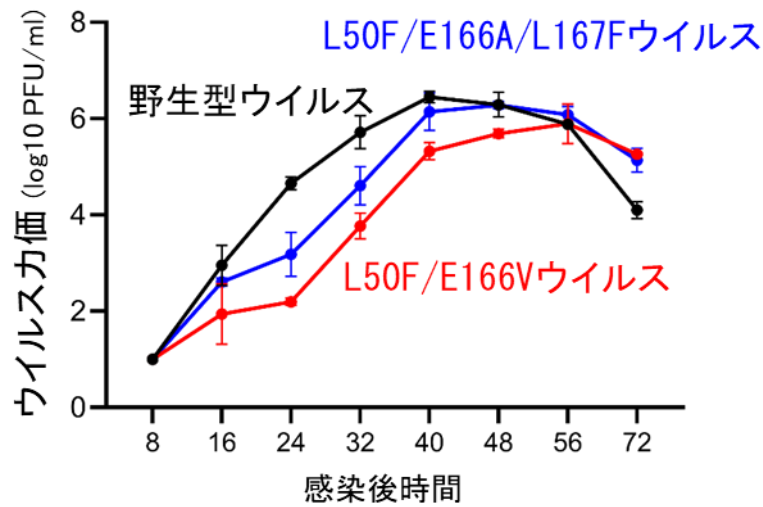


図1 2種類のニルマトレルビル耐性ウイルスの培養細胞における増殖性

各ウイルスを培養細胞に感染させ、各時間経過後にサンプルを採取し、サンプルに含まれる感染性ウイルス量を測定した。

次に、2種類の耐性ウイルスのハムスターにおける病原性を、野生型ウイルスと比較しました（図2）。2種類の耐性ウイルスを感染させたハムスターでは、野生型ウイルスを感染させたハムスターよりも体重減少は少なく、野生型ウイルスを感染させたハムスターでみられたほどの呼吸機能の低下は認められませんでした。さらに、感染3日後の肺におけるウイルスカ価を比較したところ、2種類の耐性ウイルスのウイルスカ価は、野生型ウイルスよりも低い値を示しました。以上の結果から、2種類の耐性ウイルスのハムスターにおける病原性は若干低下していることが明らかとなりました。

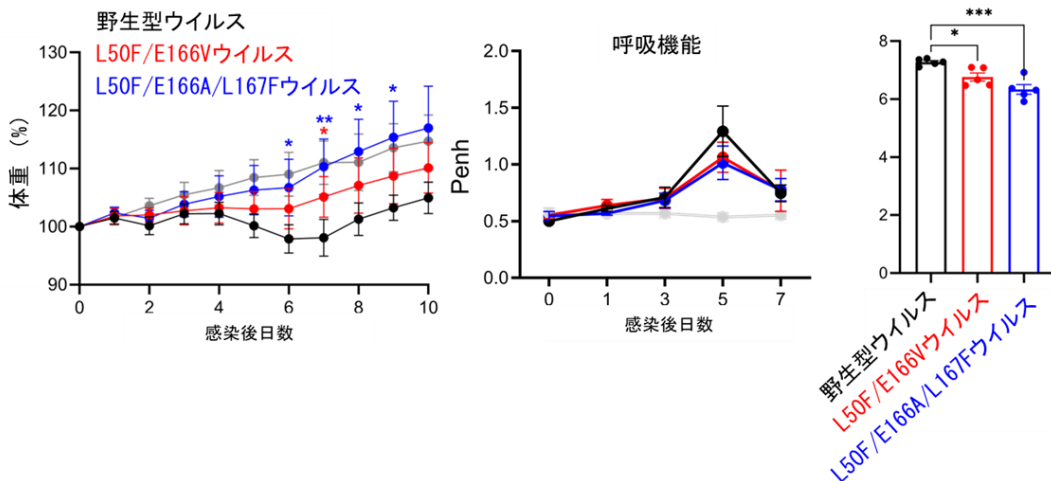


図2 2種類のニルマトレルビル耐性ウイルスのハムスターにおける病原性

各ウイルスをハムスターに感染させ、体重（左）と呼吸機能（中）を測定した。感染3日後のハムスターの肺におけるウイルスカ価を測定した。

さらに、2種類の耐性ウイルスがハムスター間の伝播能を維持しているかを検討しました（図3）。まず、それぞれのウイルスをハムスターに経鼻感染させ、感染1日後、二重メッシュで区切られた隣のケージに非感染ハムスターを導入しました。導入3日後に、非感染ハムスターの

肺および鼻甲介におけるウイルスカ価を測定し、ウイルス伝播が起きたかを確認しました。その結果、野生型ウイルスは5ペア中5ペアで伝播していましたが、2種類の耐性ウイルスは5ペア中3ペアもしくは5ペア中4ペアにおいてウイルスの伝播が確認されました。よって、2種類の耐性ウイルスの伝播能は、野生型ウイルスよりも若干低下しているものの、完全には失っていないことが明らかとなりました。

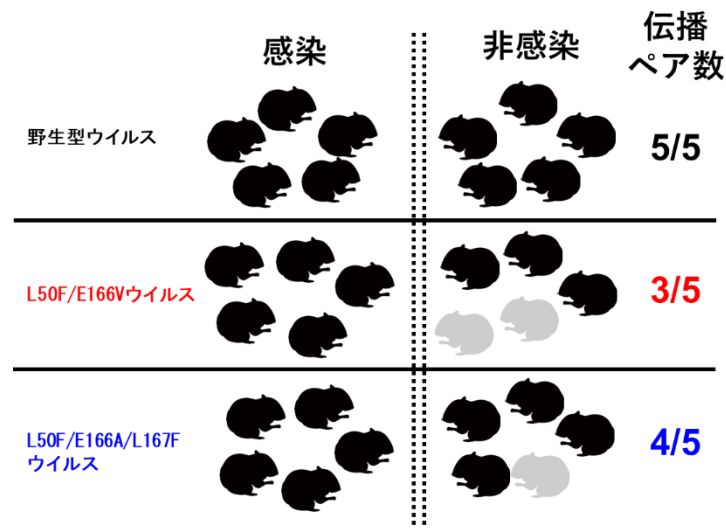


図3 2種類のニルマトレルビル耐性ウイルスのハムスターにおける伝播能

各ウイルスをハムスターに感染させた。感染1日後にメッシュで区切られた隣のケージに非感染ハムスターを入れた。同居3日後のハムスターの肺および鼻甲介におけるウイルスカ価を測定し、ウイルス伝播が起きたかを検討した。各ウイルス5ペアの試験を行った。

最後に、野生型ウイルスと耐性ウイルスを1対1の割合で混ぜてハムスターに感染させ、どちらのウイルスが優勢になるかを検討しました(図4)。どちらの耐性ウイルスを競合感染させた場合であっても、ハムスターの鼻甲介と肺において野生型ウイルスが優勢となることが明らかとなりました。

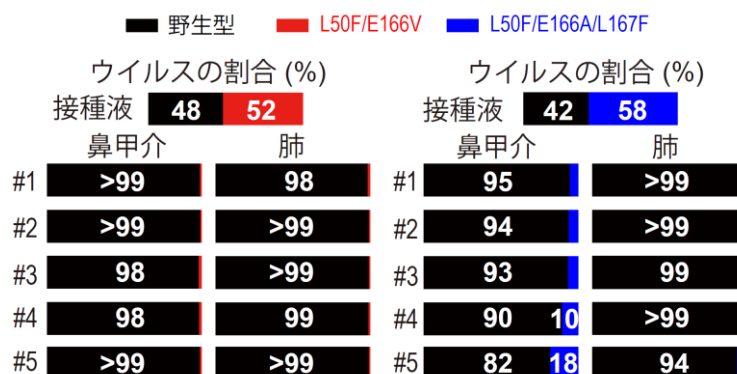


図4 野生型ウイルスとニルマトレルビル耐性ウイルスの競合感染試験

野生型ウイルスと耐性ウイルスを1対1で混合し、5匹のハムスターに感染させた。感染4日後に鼻甲介および肺におけるウイルス存在比をディーブシークエンスにて測定した。

以上の結果から、今回用いた2種類の耐性ウイルスは野生型ウイルスよりも優勢になりにくい可能性が示されました。この知見は、今後のニルマトレルビルによる治療方針やニルマトレルビル耐性ウイルスに対する流行対策を講じる際に、有用な知見をもたらしました。

本研究は7月4日、国際学術誌「Nature Communications」（オンライン版）に公表されました。

発表者

東京大学国際高等研究所 新世代感染症センター 機構長

河岡 義裕（特任教授）

〈東京大学医科学研究所 ウイルス感染部門/

国立国際医療研究センター 研究所 国際ウイルス感染症研究センター長〉

論文情報

〈雑誌〉 Nature Communications（7月4日オンライン版）

〈題名〉 In vitro and in vivo characterization of SARS-CoV-2 strains resistant to nirmatrelvir

〈著者〉 Maki Kiso*, Yuri Furusawa, Ryuta Uraki, Masaki Imai, Seiya Yamayoshi ¶, and Yoshihiro Kawaoka ¶

*:筆頭著者 ¶:責任著者

〈DOI〉 10.1038/s41467-023-39704-x

〈URL〉 <https://doi.org/10.1038/s41467-023-39704-x>

研究助成

本研究は、東京大学、国立国際医療研究センター、ウィスコンシン大学マディソン校が共同で実施し、新興・再興感染症研究基盤創生事業（中国拠点を基軸とした新興・再興および輸入感染症制御に向けた基盤研究）ならびに、ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点の形成事業（ワクチン開発のための世界トップレベル研究開発拠点群 東京フラッグシップキャンパス（東京大学新世代感染症センター））の支援により行われました。

用語解説

（注）ニルマトレルビル

ファイザー社がニルマトレルビルとリトナビルの合剤“パキロビッドパック”として販売する新型コロナウイルス感染症治療薬。経口投与することで、重症化や入院を抑制することが報告されている。

問合せ先

〈研究に関する問合せ〉

東京大学国際高等研究所 新世代感染症センター

特任教授 河岡 義裕（かわおか よしひろ）

https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/imsut/jp/lab/dstngprof/page_00174.html

〈報道に関する問合せ〉

東京大学新世代感染症センター（広報）

<https://www.utopia.u-tokyo.ac.jp/>

東京大学医科学研究所 プロジェクトコーディネーター室（広報）

<https://www.ims.u-tokyo.ac.jp/>

国立国際医療研究センター 企画戦略局 広報企画室

<https://www.ncgm.go.jp/>