

(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関

国際事務局

(43) 国際公開日

2021年11月4日(04.11.2021)



(10) 国際公開番号

WO 2021/221111 A1

(51) 国際特許分類:

A61K 45/00 (2006.01)	A61K 31/4439 (2006.01)
A61K 31/138 (2006.01)	A61K 31/4535 (2006.01)
A61K 31/41 (2006.01)	A61K 31/496 (2006.01)

(21) 国際出願番号 :

PCT/JP2021/017002

(22) 国際出願日 : 2021年4月28日(28.04.2021)

(25) 国際出願の言語 : 日本語

(26) 国際公開の言語 : 日本語

(30) 優先権データ :

63/017,677	2020年4月30日(30.04.2020) US
63/124,098	2020年12月11日(11.12.2020) US

(71) 出願人: 国立大学法人京都大学 (KYOTO UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町36番地1 Kyoto (JP). 国立大学法人長崎大学 (NAGASAKI UNIVERSITY) [JP/JP]; 〒8528521 長崎県長崎市文教町1-14 Nagasaki (JP).

(72) 発明者: 井上治久 (INOUE Haruhisa); 〒6068501

京都府京都市左京区吉田本町36番地1 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP). 今村恵子 (IMAMURA Keiko); 〒6068501 京都府京都市左京区吉田本町36番地1 国立大学法人京都大学内 Kyoto (JP). 安田二朗 (YASUDA Jiro); 〒8528521 長崎県長崎市文教町1-14 国立大学法人長崎大学 知的財産室 Nagasaki (JP). 櫻井康晃 (SAKURAI Yasuteru); 〒8528521 長崎県長崎市文教町1-14 国立大学法人長崎大学 知的財産室 Nagasaki (JP).

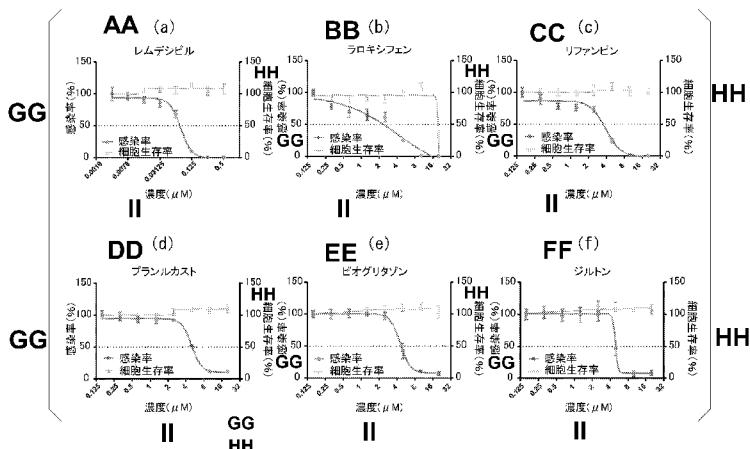
(74) 代理人: 棚井澄雄, 外 (TANAI Sumio et al.); 〒1006620 東京都千代田区丸の内一丁目9番2号 Tokyo (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN,

(54) Title: PROPHYLACTIC OR THERAPEUTIC AGENT FOR RNA VIRUS-RELATED DISEASES

(54) 発明の名称: RNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤

[図8]



AA	Remdesivir
BB	Raloxifene
CC	Rifampin
DD	Pranlukast
EE	Pioglitazone
FF	Zileuton
GG	Rate of infection
HH	Concentration
II	Cell viability

(57) Abstract: This prophylactic or therapeutic agent for RNA virus-related diseases contains, as an active ingredient, at least one compound selected from the group consisting of a selective estrogen receptor modulator, an anti-tuberculous drug, a CysLT1 receptor antagonist, a peroxisom proliferator-activated receptor γ (PPAR γ) agonist, an arachidonate 5-lipoxygenase (5-LOX) inhibitor, a derivative thereof, a pharmaceutically acceptable salt thereof, and a pharmaceutically acceptable solvate thereof.



HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, IT, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

- (84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能) : ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類 :

- 国際調査報告（条約第21条(3)）
- 明細書の別個の部分として表した配列リスト
(規則5.2(a))

(57) 要約 : 選択的エストロゲン受容体モジュレーター、抗結核薬、CysLT1受容体アンタゴニスト、Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR γ) アゴニスト、Arachidonate 5-Lipoxygenase (5-LOX) 阻害剤、これらの誘導体、薬学的に許容されるこれらの塩及び薬学的に許容されるこれらの溶媒和物からなる群より選択される少なくとも一種の化合物を有効成分とする、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

明細書

発明の名称：RNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤

技術分野

[0001] 本発明は、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤に関する。本願は、2020年4月30日に米国に仮出願された米国特許出願第63/017,677号明細書、及び、2020年12月11日に米国に仮出願された米国特許出願第63/124,098号明細書に基づき優先権を主張し、それらの内容をここに援用する。

背景技術

[0002] 重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2（SARS-CoV-2）の出現は、ヒトからヒトへの効率的な感染と高い病原性のためにパンデミックを引き起こし、公衆衛生上の脅威となっている（例えば、非特許文献1を参照）。SARS-CoV-2は、コロナウイルス科に属するウイルスであり、一本鎖のポジティブセンスRNAゲノムを持つエンベロープウイルスである。

[0003] 重症急性呼吸器症候群（SARS）や中東呼吸器症候群（MERS）等の新興ウイルス疾患の原因ウイルスもコロナウイルス科に属する。また、致死率の高いエボラウイルス病やマールブルグウイルス病の原因ウイルスは、一本鎖のネガティブセンスRNAゲノムを持つエンベロープウイルスであるフィロウイルス科に属している。

先行技術文献

非特許文献

[0004] 非特許文献1：R. T. Gandhi, et al., Mild or Moderate Covid-19, N Engl J Med, 383, 1757-1766, 2020.

発明の概要

発明が解決しようとする課題

[0005] コロナウイルスやフィロウイルスの他にも、多くのRNAウイルスが新興

・再興感染症の脅威となっており、RNAウイルス関連疾患の予防薬又は治療薬を見つけることは非常に重要である。本発明は、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療薬を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0006] 本発明は以下の態様を含む。

[1] 選択的エストロゲン受容体モジュレーター、抗結核薬、CysLT1受容体アンタゴニスト、Peroxisome Proliferator-Activated Receptor γ (PPAR γ) アゴニスト、Arachidonate 5-lipoxygenase (5-LOX) 阻害剤、これらの誘導体、薬学的に許容されるこれらの塩及び薬学的に許容されるこれらの溶媒和物からなる群より選択される少なくとも一種の化合物を有効成分とする、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[2] 前記選択的エストロゲン受容体モジュレーターが、ラロキシフェン、タモキシフェン、トレミフェン又はクロミフェンである、[1]に記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[3] 前記タモキシフェンが、タモキシフェンクエン酸塩の形態である、[2]に記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[4] 前記トレミフェンが、トレミフェンクエン酸塩の形態である、[2]に記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[5] 前記抗結核薬が、リファンピンである、[1]に記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[6] 前記CysLT1受容体アンタゴニストが、プランルカストである、[1]に記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[7] 前記PPAR γ アゴニストが、ピオグリタゾンである、[1]に記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[8] 前記5-LOX阻害剤が、ジルトンである、[1]に記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[9] 前記RNAウイルスが、コロナウイルス科、フィロウイルス科及びパ

ラミクソウイルス科からなる群より選択される科に属する少なくとも1種のウイルスである、[1]～[8]のいずれかに記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[10] 前記RNAウイルスが、SERS-CoV-2、エボラウイルス及びセンダイウイルスからなる群より選択される少なくとも1種のウイルスである、[9]に記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[11] ラロキシフェン及びピオグリタゾンを有効成分とする、[1]～[10]のいずれかに記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[12] レムデシビルを更に含み、ラロキシフェン及びレムデシビルを有効成分とする、[1]～[10]のいずれかに記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[13] レムデシビルを更に含み、ピオグリタゾン及びレムデシビルを有効成分とする、[1]～[10]のいずれかに記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[14] [1]～[13]のいずれかに記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤の有効量を、それを必要とする対象に投与する工程を含む、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療方法。

[15] ラロキシフェン及びピオグリタゾンの有効量を、それを必要とする対象に投与する工程を含む、[14]に記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療方法。

[16] ラロキシフェン及びレムデシビルの有効量を、それを必要とする対象に投与する工程を含む、[14]に記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療方法。

[17] ピオグリタゾン及びレムデシビルの有効量を、それを必要とする対象に投与する工程を含む、[14]に記載のRNAウイルス関連疾患の予防又は治療方法。

発明の効果

[0007] 本発明によれば、RNAウイルスに対する広域スペクトル薬を提供するこ

とができる。

図面の簡単な説明

[0008] [図1]図1は、実験例1で作製したセンダイウイルス（S e V）のゲノム構造を示す模式図である。

[図2]図2は、実験例1で作製したヒト人工多能性幹細胞（i P S C）のカリオタイプ解析の結果を示す写真である。

[図3]図3は、実験例1で行った化合物スクリーニングのタイムラインを示す模式図である。

[図4]図4は、実験例1で行った化合物スクリーニングの概要を示す模式図である。

[図5]図5は、実験例1における第一回目のスクリーニング結果を示すグラフである。

[図6]図6は、実験例1における第一回目のスクリーニング結果を示すグラフである。

[図7]図7（a）及び（b）は、実験例2における定量的R T – P C Rの結果を示すグラフである。

[図8]図8（a）～（f）は、実験例2において評価した、各薬剤のS e V感染に対する用量依存性を示すグラフである。

[図9]図9（a）～（f）は、実験例3において評価した、各薬剤のエボラウイルス様粒子（エボラ t r V L P）感染に対する用量依存性を示すグラフである。

[図10]図10（a）～（f）は、実験例4において評価した、各薬剤のS A R S – C o V – 2 感染に対する用量依存性を示すグラフである。

[図11]図11は、実験例4において評価した、ラロキシフェンとレムデシビルの併用のS A R S – C o V – 2 感染に対する用量反応マトリクスと3次元シナジーマップである。

[図12]図12は、実験例4において評価した、ラロキシフェンとピオグリタゾンの併用のS A R S – C o V – 2 感染に対する用量反応マトリクスと3次

元シナジーマップである。

[図13]図13は、実験例4において評価した、ピオグリタゾンとレムデシビルの併用のSARS-CoV-2感染に対する用量反応マトリクスと3次元シナジーマップである。

[図14]図14(a)～(c)は、それぞれ、実験例5において評価した、タモキシフェン、トレミフェン及びクロミフェンのエボラEbVLP感染に対する用量依存性を示すグラフである。

[図15]図15(a)～(c)は、それぞれ、実験例5において評価した、タモキシフェン、トレミフェン及びクロミフェンのSARS-CoV-2感染に対する用量依存性を示すグラフである。

[図16]図16は、実験例6で作製したシードタイプ小胞性口内炎ウイルス(VSV)の構造を示す模式図である。

[図17]図17(a)～(c)は、それぞれ、実験例6において評価した、ラロキシフェン、トレミフェン及びクロミフェンのシードタイプVSV感染に対する用量依存性を示すグラフである。

[図18]図18は、実験例6で示された、選択的エストロゲン受容体モジュレーター(SERM)の抗ウイルス効果のメカニズム(一部)を示す模式図である。

発明を実施するための形態

[0009] [RNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤]

1 実施形態において、本発明は、選択的エストロゲン受容体モジュレーター、抗結核薬、CysLT1受容体アンタゴニスト、PPARγアゴニスト、5-LOX阻害剤、これらの誘導体、薬学的に許容されるこれらの塩及び薬学的に許容されるこれらの溶媒和物からなる群より選択される少なくとも一種の化合物を有効成分とする、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤を提供する。

[0010] 本実施形態の予防又は治療剤は、RNAウイルスの細胞への感染を抑制することにより、RNAウイルス関連疾患を予防又は治療することができる。

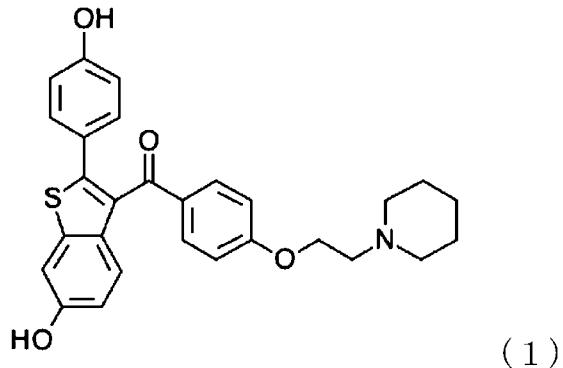
R N Aウイルス関連疾患としては、R N Aウイルスの感染に起因する疾患が挙げられ、具体的には、新型コロナウイルス感染症（C O V I D – 1 9）、重症急性呼吸器症候群（S A R S）、中東呼吸器症候群（M E R S）、普通感冒、エボラ出血熱、マールブルグ病、幼児急性気道感染症、ムンプス（流行性耳下腺炎）、幼児急性気道感染症、麻疹、亜急性硬化性全脳炎、ヘンドラウイルス感染症、ニパウイルス感染症、ニューカッスル病（結膜炎）、乳幼児上気道感染症（感冒）等が挙げられる。

- [0011] 実施例において後述するように、発明者らは、センダイウイルス（S e V）とヒト人工多能性幹細胞（i P S C）を用いた化合物スクリーニングシステムを構築し、アメリカ食品医薬品局（F D A）承認薬物ライブラリーをスクリーニングした。その結果、S e Vの感染を抑制し、細胞毒性の低い化合物として、選択的エストロゲン受容体モジュレーター、抗結核薬、C y s L T 1受容体アンタゴニスト、P P A R γアゴニスト、5 – L O X阻害剤に属する化合物を特定した。さらに、選択したヒット化合物の抗ウイルス効果をエボラウイルス（E B O V）とS A R S – C o V – 2で評価し、本発明を完成させた。
- [0012] S e Vは、パラミクソウイルス科パラミクソウイルス亜科のレスピロウイルス属に属する一本鎖のネガティブセンスR N Aウイルスである。S e Vは、日本の仙台で発見されたマウスパラインフルエンザウイルス1型で、自然に呼吸器粘膜で複製される。遺伝子操作により組換え弱毒型が作られており、標的遺伝子を持つS e Vはヒトの遺伝子治療に用いられている。
- [0013] ヒトi P S Cは疾患モデルや創薬に広く用いられており、未分化なi P S C自体も化合物スクリーニングに有用である。ヒトi P S Cは、ヒト遺伝子を保有し、正常な核型と無限の自己再生能力を持つという利点を有する。
- [0014] 本実施形態の予防又は治療剤において、選択的エストロゲン受容体モジュレーターとしては、ラロキシフェン（C A S番号：8 4 4 4 9 – 9 0 – 1）、タモキシフェン（C A S番号：1 0 5 4 0 – 2 9 – 1）、トレミフェン（C A S番号：8 9 7 7 8 – 2 6 – 7）、クロミフェン（C A S番号：9 1 1

－45－5) 等が挙げられる。

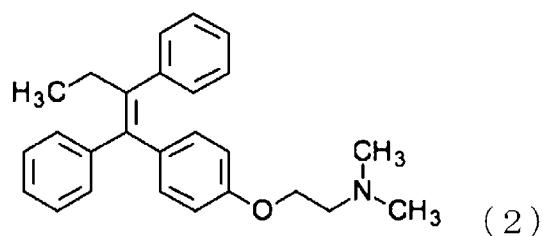
[0015] ラロキシフェンの化学式を下記式(1)に示す。

[化1]



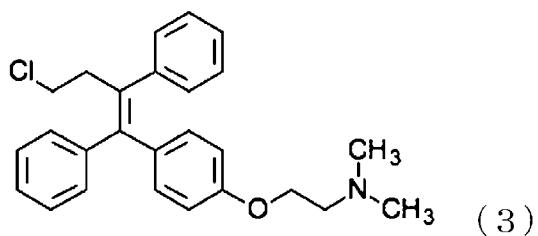
[0016] タモキシフェンの化学式を下記式(2)に示す。

[化2]



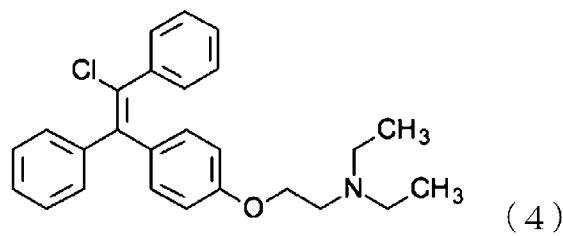
[0017] トレミフェンの化学式を下記式(3)に示す。

[化3]



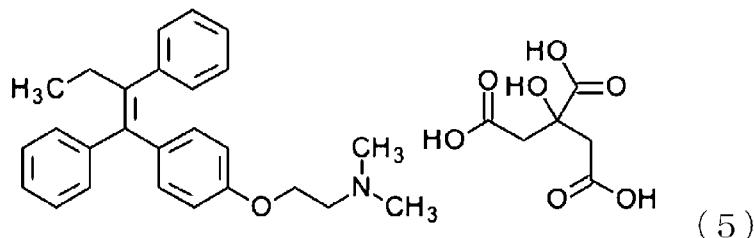
[0018] クロミフェンの化学式を下記式(4)に示す。

[化4]



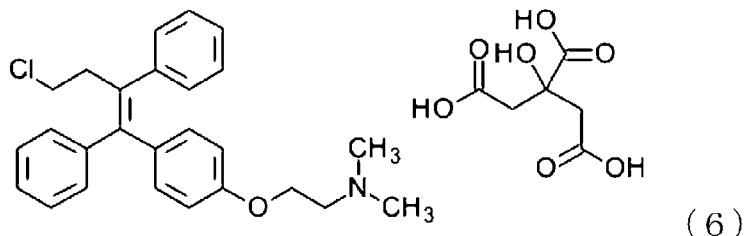
[0019] タモキシフェンは、タモキシフェンクエン酸塩（C A S番号：5 4 9 6 5 – 2 4 – 1）の形態であることが好ましい。タモキシフェンクエン酸塩の化学式を下記式（5）に示す。

[化5]



[0020] トレミフェンは、トレミフェンクエン酸塩（C A S番号：8 9 7 7 8 – 2 7 – 8）の形態であることが好ましい。トレミフェンクエン酸塩の化学式を下記式（6）に示す。

[化6]

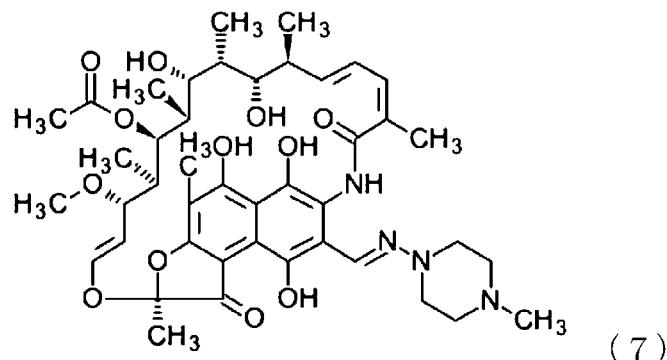


[0021] 実施例において後述するように、発明者らは、選択的エストロゲン受容体モジュレーターが、ネガティブセンスRNAウイルスとポジティブセンスRNAウイルスの両方にまたがる非常に異なるファミリーに属するS e V、E B O V、S A R S – C o V – 2の感染を阻害することを見出した。したがって、選択的エストロゲン受容体モジュレーターは、広域的なRNAウイルス阻害剤の一例である。また、実施例において後述するように、発明者らは、選択的エストロゲン受容体モジュレーターが、ウイルスのスパイクタンパク質を介した宿主細胞へのウイルス侵入を阻害することで、RNAウイルスの感染を抑制することを明らかにした。

[0022] 本実施形態の予防又は治療剤において、抗結核薬としては、リファンピン（C A S番号：1 3 2 9 2 – 4 6 – 1）が挙げられる。リファンピンの化学

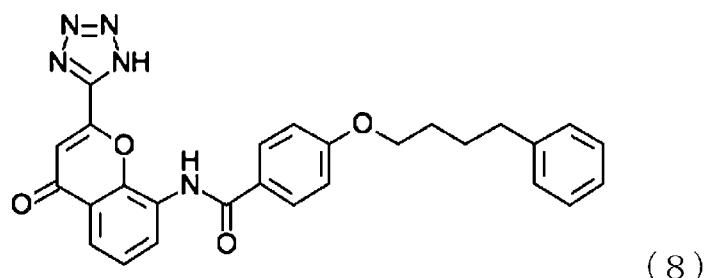
式を下記式（7）に示す。

[化7]



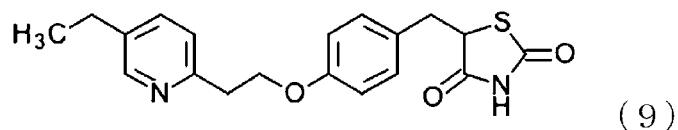
[0023] 本実施形態の予防又は治療剤において、CysLT1受容体アンタゴニストとしては、プランルカスト（CAS番号：103177-37-3）が挙げられる。プランルカストの化学式を下記式（8）に示す。

[化8]



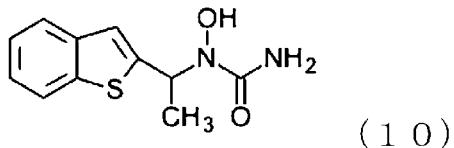
[0024] 本実施形態の予防又は治療剤において、PPARγアゴニストとしては、ピオグリタゾン（CAS番号：111025-46-8）が挙げられる。ピオグリタゾンの化学式を下記式（9）に示す。

[化9]



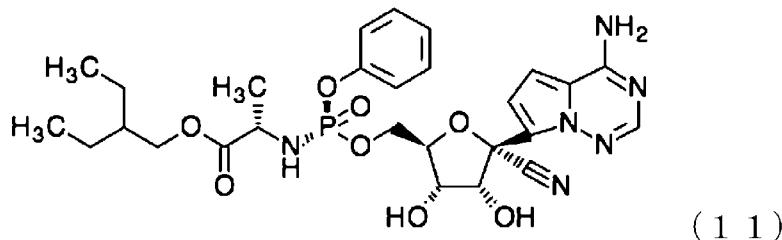
[0025] 本実施形態の予防又は治療剤において、5-LOX阻害剤としては、ジルトン（CAS番号：111406-87-2）が挙げられる。ジルトンの化学式を下記式（10）に示す。

[化10]



- [0026] 本実施形態の予防又は治療剤において、RNAウイルスとしては、コロナウイルス科、フィロウイルス科及びパラミクソウイルス科からなる群より選択される科に属する少なくとも1種のウイルスが挙げられる。
- [0027] コロナウイルス科に属するウイルスとしては重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2（S E R S – C o V – 2）が挙げられる。フィロウイルス科に属するウイルスとしては、エボラウイルスが挙げられる。パラミクソウイルス科に属するウイルスとしては、センダイウイルスが挙げられる。
- [0028] 本実施形態の予防又は治療剤は、ラロキシフェンを有効成分として含むものであってもよい。また、本実施形態の予防又は治療剤は、ラロキシフェンに加え、ピオグリタゾン又はレムデシビルを更に有効成分として含むものであってもよい。
- [0029] すなわち、本実施形態の予防又は治療剤は、ラロキシフェン及びピオグリタゾンを有効成分とするものであってもよい。実施例において後述するよう発明者らは、ラロキシフェン及びピオグリタゾンの併用が、相乗的にRNAウイルス感染を抑制することを明らかにした。
- [0030] あるいは、本実施形態の予防又は治療剤は、ラロキシフェン及びレムデシビルを有効成分とするものであってもよい。実施例において後述するよう発明者らは、ラロキシフェン及びレムデシビルの併用が、相乗的にRNAウイルス感染を抑制することを明らかにした。レムデシビル（C A S番号：1809249-37-3）の化学式を下記式（11）に示す。

[化11]



- [0031] また、本実施形態の予防又は治療剤は、ピオグリタゾン及びレムデシビルを有効成分として含むものであってもよい。実施例において後述するように、発明者らは、ピオグリタゾン及びレムデシビルの併用が、相乗的にRNAウイルス感染を抑制することを明らかにした。
- [0032] 本明細書において、「有効成分として含む」とは、主要な活性成分として含むという意味であり、効果を奏する程度に含有するという意味である。ここでいう「効果」とは、対象とするRNAウイルス関連疾患に対する予防又は治療効果を指し、ある態様においては、対象とするウイルスに対する感染抑制効果であってもよい。
- [0033] 本実施形態の予防又は治療剤において、薬学的に許容される塩としては、例えば、無機酸塩、アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩、金属塩、アンモニウム塩、有機アミン付加塩、アミノ酸付加塩等が挙げられる。より具体的には、例えば、塩酸塩、硫酸塩、臭化水素酸塩、硝酸塩、リン酸塩等の無機酸塩；酢酸塩、メシル酸塩、コハク酸塩、マレイン酸塩、フマル酸塩、クエン酸塩、酒石酸塩等の有機酸塩；ナトリウム塩、カリウム塩等のアルカリ金属塩；マグネシウム塩、カルシウム塩等のアルカリ土類金属塩；アルミニウム塩、亜鉛塩等の金属塩；アンモニウム塩、テトラメチルアンモニウム塩等のアンモニウム塩；モルホリン、ピペリジン等の有機アミン付加塩；グリシン、フェニルアラニン、リジン、アスパラギン酸、グルタミン酸等のアミノ酸付加塩等が挙げられる。また、薬学的に許容される溶媒和物としては、例えば、水和物、有機溶媒和物等が挙げられる。
- [0034] 本実施形態の予防又は治療剤は、上述した化合物と、薬学的に許容される担体とを含む医薬組成物として製剤化されていることが好ましい。医薬組成

物は、例えば、液剤、散剤、顆粒剤、錠剤、カプセル剤等の形態で経口的に、あるいは、注射剤、坐剤、皮膚外用剤等の形態で非経口的に投与することができる。皮膚外用剤としては、より具体的には、軟膏剤、貼付剤等の剤型が挙げられる。

[0035] 薬学的に許容される担体としては、通常医薬組成物の製剤に用いられるものを特に制限なく用いることができる。より具体的には、例えば、ゼラチン、コーンスターク、トラガントガム、アラビアゴム等の結合剤；デンプン、結晶性セルロース等の賦形剤；アルギン酸等の膨化剤；水、エタノール、グリセリン等の注射剤用溶剤；ゴム系粘着剤、シリコーン系粘着剤等の粘着剤等が挙げられる。

[0036] 医薬組成物は添加剤を含んでいてもよい。添加剤としては、ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム等の潤滑剤；ショ糖、乳糖、サッカリン、マルチトール等の甘味剤；ペパーミント、アカモノ油等の香味剤；ベンジルアルコール、フェノール等の安定剤；リン酸塩、酢酸ナトリウム等の緩衝剤；安息香酸ベンジル、ベンジルアルコール等の溶解補助剤；アスコルビン酸等の酸化防止剤；パラオキシ安息香酸エステル類（パラベン）、塩化ベンザルコニウム、クロロブタノール、クレゾール等の防腐剤等が挙げられる。

[0037] 医薬組成物の投与量は、患者の症状、体重、年齢、性別等によって異なり、一概には決定できないが、経口投与の場合には、例えば、投与単位形態あたり $0.1 \sim 100 \text{ mg} / \text{kg}$ 体重の有効成分（上述した化合物）を1日1回又は2～4回程度に分けて投与すればよい。また、注射剤の場合には、例えば、投与単位形態あたり $0.01 \sim 50 \text{ mg}$ の有効成分を投与すればよい。

[0038] [R N A ウィルス関連疾患の予防又は治療方法]

1 実施形態において、本発明は、上述したR N A ウィルス関連疾患の予防又は治療剤の有効量を、それを必要とする対象に投与する工程を含む、R N A ウィルス関連疾患の予防又は治療方法を提供する。

- [0039] 本明細書において、「有効量」の予防又は治療剤とは、有効成分（化合物）を有効量含む剤ということができる。ここで、剤又は化合物の「有効量」とは、処置された対象に予防又は治療効果をもたらすのに必要とされる剤又は化合物の量を指し、より具体的には、対象とするRNAウイルス関連疾患に関連する少なくとも1つ以上の症状を阻止、遅延、又は最小限にするために十分な量であってよい。
- [0040] ある態様において化合物の「有効量」とは、化合物単独で、又は他の化合物ないしは他の処置を組み合わせて、対象とするRNAウイルス関連疾患に関連する1つ以上の症状を阻止、遅延、又は最小限にするために十分な量であってよい。
- [0041] 剤又は化合物の有効量は、当業者によって認識されるように、対象とするRNAウイルス関連疾患、投与経路、賦形剤の使用、及び他の治療処置との併用に応じて変化し得る。
- [0042] 本実施形態の予防又は治療方法は、ラロキシフェン及びピオグリタゾンの有効量を、それを必要とする対象に投与する工程を含むものであってよい。
- [0043] あるいは、本実施形態の予防又は治療方法は、ラロキシフェン及びレムデシビルの有効量を、それを必要とする対象に投与する工程を含むものであってよい。
- [0044] あるいは、本実施形態の予防又は治療方法は、ピオグリタゾン及びレムデシビルの有効量を、それを必要とする対象に投与する工程を含むものであってよい。
- [0045] [その他の実施形態]
- 1 実施形態において、本発明は、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療のための、選択的エストロゲン受容体モジュレーター、抗結核薬、CysLT1受容体アンタゴニスト、PPAR γ アゴニスト、5-LOX阻害剤、これらの誘導体、薬学的に許容されるこれらの塩及び薬学的に許容されるこれらの溶媒和物からなる群より選択される少なくとも一種の化合物を提供する

。

- [0046] 選択的エストロゲン受容体モジュレーター、抗結核薬、Cyt1受容体アンタゴニスト、PPAR γ アゴニスト、5-LOX阻害剤、これらの誘導体、薬学的に許容されるこれらの塩及び薬学的に許容されるこれらの溶媒和物については、上述したものと同様である。
- [0047] 1実施形態において、本発明は、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療のための医薬組成物であって、ラロキシフェン及びピオグリタゾンを有効成分として含有する医薬組成物を提供する。
- [0048] 1実施形態において、本発明は、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療のための医薬組成物であって、ラロキシフェン及びレムデシビルを有効成分として含有する医薬組成物を提供する。
- [0049] 1実施形態において、本発明は、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療のための医薬組成物であって、ピオグリタゾン及びレムデシビルを有効成分として含有する医薬組成物を提供する。
- [0050] 1実施形態において、本発明は、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤の製造のための、選択的エストロゲン受容体モジュレーター、抗結核薬、Cyt1受容体アンタゴニスト、PPAR γ アゴニスト、5-LOX阻害剤、これらの誘導体、薬学的に許容されるこれらの塩及び薬学的に許容されるこれらの溶媒和物からなる群より選択される少なくとも一種の化合物の使用を提供する。
- [0051] 1実施形態において、本発明は、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤の製造のための、ラロキシフェン及びピオグリタゾンの使用を提供する。
- [0052] 1実施形態において、本発明は、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤の製造のための、ラロキシフェン及びレムデシビルの使用を提供する。
- [0053] 1実施形態において、本発明は、RNAウイルス関連疾患の予防又は治療剤の製造のための、ピオグリタゾン及びレムデシビルの使用を提供する。
- ## 実施例
- [0054] 次に実施例を示して本発明を更に詳細に説明するが、本発明は以下の実施

例に限定されるものではない。

[0055] [材料及び方法]

(i P S 細胞の作製)

ヒト i P S C は、既報のエピソーマルベクター (S o × 2、K I f 4、O c t 3/4、L-M y c、L i n 28、p 53-s h R N A) を用いて末梢血単核細胞 (P B M C) から作製し、S t e m F i t (味の素社) 培地を用いたフィーダーフリー培養系で培養した。i P S C のカリオタイプ解析は L S I メディエンス社で行った。

[0056] (化合物)

ハイスループットスクリーニングには、アメリカ食品医薬品局 (F D A) 承認薬物ライブラリー (エンゾライフサイエンス社) を使用した。R N A 定量アッセイに使用した化合物は S e l l e c k C h e m i c a l s 社より購入した。

[0057] (センダイウイルスとヒト i P S 細胞を使用した化合物スクリーニング)

ハイスループット化合物スクリーニングのために、ヒト i P S C を T r y p L E E x p r e s s (サーモフィッシュャーサイエンティフィック社) で単細胞に解離し、 $10 \mu M$ Y-27632 (ナカライトスク社) を含有する S t e m F i t を用いて i M a t r i x でコーティングした 96 ウエルプレートに播種した。24 時間後、培地を、化合物を含む新鮮な S t e m F i t に交換し、3 時間インキュベートした。続いて、i P S C を、E G F P 遺伝子を有するセンダイウイルス (S e V) に暴露した。感染の多重度 (M O I) は 1 と推定した。

[0058] 48 時間インキュベートした後、細胞を P B S で 2 回洗浄し、次いで 4 % パラホルムアルデヒド (P F A) 中、室温で 10 分間固定した。4' 6-ジアミノ-2-フェニルインドール (D A P I) (サーモフィッシュャーサイエンティフィック社) を核の標識に使用した。細胞画像は、I N C E L L A n a l y z e r 6 0 0 0 (G E ヘルスケア社) 又は I N C E L L A n a l y z e r 2 0 0 0 (G E ヘルスケア社) を用いて取得し、E G F P

陽性細胞数を IN CELL Developer ツールボックスソフトウェア 1. 92 (GEヘルスケア社) を用いて定量化した。

[0059] (定量的 RT-PCR)

ヒト iPSC を StemFit (味の素社) 中で Matrigel × コートした 24 ウェルプレートに播種し、 SEM に暴露した。細胞を PBS で 2 回洗浄した後、培養したヒト iPSC の全 RNA を miRNeasy Mini キット (キヤゲン社) を用いて抽出した。続いて、 500 ng の RNA を ReverTra Ace (東洋紡社) を用いて逆転写した。オリゴ dT を用いた逆転写により mRNA レベルを測定し、ランダムプライマーを用いた逆転写によりウイルスゲノム RNA レベルを測定した。定量 PCR 解析は、 SYBR Premix Ex Taq II (タカラバイオ社) と Step One Plus システム (サーモフィッシューサイエンティフィック社) を用いて行った。ウイルスゲノム RNA を検出するための PCR プライマーは、 NP 遺伝子と P 遺伝子の間に設計した。使用したプライマーの塩基配列を下記表 1 に示す。

[0060] [表1]

プライマー名	配列(5'から 3')	配列番号
EGFP_F	GGACGACGGCAACTACAAGA	1
EGFP_R	TTGTACTCCAGCTTGTGCC	2
GAPDH_F	TCCACTGGCGTCTTCACC	3
GAPDH_R	GGCAGAGATGATGACCCTTT	4

[0061] (細胞株)

293T 細胞、 Hu h 7 細胞及び Vero E 6 細胞 (北海道大学、高田礼人博士より提供) を、 10% ウシ胎児血清 (FBS) 及び 1% ペニシリソ / ストレプトマイシン溶液を添加したダルベッコ改変イーグル培地 (DMEM) で維持した。

[0062] (エボラ t r VLP の产生と感染アッセイ)

化合物の抗エボラウイルス活性を評価するために、 GFP レポーターを発現するエボラ t r VLP を、 293T 細胞を用いて作製した (T. Hoenen, et

. al., Modeling the lifecycle of Ebola virus under biosafety level 2 conditions with virus-like particles containing tetracistronic minigenomes. J Vis Exp, 52381, 2014.)。EBOV-NP、EBOV-VP35、EBOV-VP30、EBOV-L、T7-ポリメラーゼをコードするpCAGGS発現プラスミド、及び、EBOV-GP、EBOV-VP40、EBOV-VP24、GFPレポーター遺伝子をコードするtrVLPテトラリストロニックミニゲノムの発現プラスミドを、リン酸カルシウム法を用いて293T細胞にトランスフェクトした。トランスフェクションの1日後、培養上清を新鮮な培地と交換した。さらに3日後、上清を回収し、2,000×gで15分間遠心分離により清澄化して、エボラtrVLPを得た。当該エボラtrVLPは−80°Cで保存した。

[0063] 前記エボラtrVLPの力価を増加させるために、エボラtrVLPを以下のように2～3回継代した。EBOV-NP、EBOV-VP35、EBOV-VP30、EBOV-L及び宿主因子Tim-1をコードするpCAGGS発現プラスミドを、293T細胞にリン酸カルシウム法を用いてトランスフェクトした。トランスフェクションの1日後、前記細胞にtrVLPを1日間暴露し、さらに3日間培養した後、培養上清を回収して高力価エボラtrVLPを得た。本願実験例では、当該高力価エボラtrVLPを使用した。

[0064] 化合物の抗ウイルス活性を評価するために、TransIT-LT1トランスフェクション試薬(Mirus社)を用いて、EBOV-NP、EBOV-VP35、EBOV-VP30及びEBOV-LをコードするpCAGGS発現プラスミドをHuH7細胞にトランスフェクションした。トランスフェクションの2日後に、細胞を適当な濃度の各化合物で前処理し、継代したtrVLPに暴露して、化合物の存在下で2日間インキュベートした。

[0065] 続いて、trVLPに暴露した細胞を10%ホルマリンで一晩固定した後、核染色のためにHoechst33342色素で染色し、4×レンズを備えたCytation 5イメージングプレートリーダー(BioTek

Instruments社)で画像化した。細胞核及び感染細胞の計数は、Cell Profiler画像解析ソフトウェア(米国Broad研究所)及びカスタマイズされた解析パイプラインを用いて行った。

[0066] (SARS-CoV-2の増殖及び感染アッセイ)

日本人患者から分離したSARS-CoV-2株(アクセスション番号: EPI-1SL-481251、GISAID)をVero E6細胞で増殖させた。感染から4日後に培養上清を回収し、2,000×g、15分間の遠心分離により清澄化し、使用するまで-80°Cで保存した。

[0067] 化合物の抗ウイルス活性を評価するために、Vero E6細胞を96ウェルプレートに播種し、適切な濃度の各化合物の存在下で1時間インキュベートした。次いで、細胞にMOI 0.002のSARS-CoV-2を暴露し、化合物の存在下、37°Cでインキュベートした。2日後、4%PFAを用いて一晩固定した。

[0068] SARS-CoV-2に感染した細胞は、一次抗体としてウサギ抗SARS-CoV N抗体、二次抗体としてAlexa Fluor 488標識ヤギ抗ウサギ IgG抗体を用いた蛍光免疫染色により検出した。総細胞数の検出は、Hoechst 33342色素を用いた核染色により行った。総細胞数(Hoechst 33342陽性細胞数)に対するSARS-CoV-2感染細胞数(Alexa Fluor 488陽性細胞数)の割合を、SARS-CoV-2感染率(%)として算出した。

[0069] 細胞は、4×レンズを備えたCytation 5イメージングプレートリーダーで画像化した。細胞核及び感染細胞のカウントは、Cell Profiler画像解析ソフトウェア及びカスタマイズされた解析パイプラインを用いて行った。複製能力のあるSARS-CoV-2を用いたすべての実験は、長崎大学のバイオセーフティーレベル3(BSL3)の研究室で行った。

[0070] (薬剤の組み合わせ分析)

薬剤併用の有効性を調べるために、Synergy Finder (<https://>

/synergyfinder.fimm.fi/) を用いて、ラロキシフェンと、レムデシビル又はピオグリタゾンの各用量の組み合わせについて、各薬剤単独と比較してウイルス感染に対する阻害率（%）を算出した。化合物の組み合わせに対するシナジースコアは、Zero Interaction Potency (ZIP) モデルを用いて算出した。シナジースコアが (i) - 10 未満の場合、2つの薬剤間の相互作用は拮抗的である可能性が高く、(ii) - 10 から 10 までの場合、2つの薬剤間の相互作用は相加的である可能性が高く、(iii) 10 より大きい場合、2つの薬剤間の相互作用は相乗的である可能性が高い、と判断される。

[0071] (シードタイプ VSV の產生と感染アッセイ)

薬剤の作用機序を解析するために、SARS-CoV-2 スパイクタンパク質又は SARS-CoV スパイク蛋白質で擬型化され、且つ、VSV-G 遺伝子がホタルルシフェラーゼレポーター遺伝子で置換された小胞性口内炎ウイルス (VSV)（それぞれ、VSVΔG-SARS2-S、VSVΔG-SARS-S と呼ぶ場合がある）を作製した。

[0072] C 末端を 19 アミノ酸残基欠失させたコドン最適化 SARS-CoV-2 S 遺伝子と、C 末端を 19 アミノ酸残基欠失させたコドン最適化 SARS-CoV-S 遺伝子を合成し、In-Fusion HD（クロントック社）を用いて pCAGGS 発現プラスミドに挿入した。前記 SARS-CoV-2 S 遺伝子又は SARS-CoV-S 遺伝子をコードする pCAGGS プラスミドを、293T 細胞にリン酸カルシウム法でトランスフェクションした。トランスフェクションの 1 日後、VSV-G 遺伝子をホタルルシフェラーゼレポーター遺伝子で置換した組換え VSV（以降、VSVΔG-VSV-G と呼ぶ場合がある）を前記細胞に 1 時間感染させた。感染 1 日後に上清を採取し、2,000 × g で 15 分間遠心分離して清澄化して、VSVΔG-SARS2-S 又は VSVΔG-SARS-S を得た。使用するまで -80°C で保存した。

[0073] 感染させたウイルスのコンタミネーションに対するコントロールとして、

エンベロープ上にVSV糖タンパク質（G）を有するVSV（以降、VSV-Gと呼ぶ場合がある）を製造した。G遺伝子をコードするpCAGGSプラスミドを293T細胞にトランスフェクトし、VSVΔG-VSV-Gに1時間暴露し、その1日後に培養上清を採取してVSV-Gを得た。

[0074] シュードタイプVSV感染に対する化合物の効果を評価するために、Vero E6細胞を96ウェルプレートに播種し、適切な濃度の各化合物の存在下で1時間インキュベートした。続いて、細胞を各シュードタイプVSVに暴露し、化合物の存在下、37°Cでインキュベートした。20時間後、細胞を溶解し、Spectramax iD5マイクロプレートリーダー（モレキュラーデバイス社）を用いてルシフェラーゼ活性を測定した。

[0075] (統計解析)

結果は、統計的有意性を決定するために、ダネットのポストホック検定に続いて、一方向ANOVAを用いて分析された。 $p < 0.05$ の差を有意とみなした。解析は、Windows用のGraphPad Prismソフトウェアバージョン8.0 (GraphPad Software社) を使用して行った。

[0076] [実験例1]

(ヒトiPS細胞とSeVを用いた抗RNAウイルス薬のスクリーニング)
RNAウイルスに対する治療薬を同定するための化合物スクリーニングを、センダイウイルス（SeV）及びヒトiPSCを用いて実施した。

[0077] SeVゲノムは3'リーダー配列と5'トレーラー配列を含み、ヌクレオカプシド（N）、ホスホプロテイン（P）、マトリックス（M）、融合（F）、ヘマグルチニン-ノイラミニダーゼ（HN）、ラージポリメラーゼ（L）の順に転写される6つの遺伝子をコードしている。

[0078] 他の細胞に感染し得る子孫ウイルスを產生する能力を排除するために、F遺伝子を除去し、ウイルスゲノムRNAの3'領域にEGFP遺伝子を有するSeVを作製した。図1は、作製したSeVのゲノム構造を示す模式図である。

- [0079] また、健常者からヒト iPSCを作製した。図2は、作製したiPSCのカリオタイプ解析の結果を示す写真である。このiPSCにSeVを感染させ、EGFP陽性iPSCの数を測定することでウイルスの複製を測定するアッセイ系を構築した。
- [0080] 図3は化合物スクリーニングのタイムラインを示す模式図である。図4は化合物スクリーニングの概要を示す模式図である。96ウェルプレートにiPSCを播種し、24時間後に $10\ \mu M$ の化合物を添加して3時間インキュベートした後、SeVに暴露した。ウイルス感染から48時間後にEGFP陽性細胞数を定量し、陰性対象（化合物非添加）よりもEGFP陽性細胞数が減少する結果となった化合物を抽出した。また、DAP-1陽性細胞数（総細胞数）も定量し、陰性対象よりも大幅に減少する結果となった化合物は細胞毒性が強いものとして除外した。そして、EGFP陽性細胞数の少ない上位30化合物をヒット化合物とした。
- [0081] 図5、図6は、第一回目のスクリーニング結果を示すグラフである。約500種類の化合物を評価した。図5、図6中、白四角はネガティブコントロール（DMSO）を示す。白丸はヒット化合物のうち、ラロキシフェン、リファンピン、プランルカスト、ジルトン、ピオグリタゾンを示す。下記表2にヒット化合物のリストを示す。表2中、スコアはEGFP陽性細胞数（バッチ間での補正值）を示す。
- [0082]

[表2]

番号	薬剤	作用機序	スコア
1	ラロキシフェン塩酸塩	ER α アゴニスト/ER β アゴニスト	57. 97
2	ドブタミン塩酸塩	β 1アゴニスト/ β 2アゴニスト	69. 56
3	リファンピン	RNAポリメラーゼ阻害剤	75. 36
4	クロルブロマジン塩酸塩	DAアンタゴニスト	75. 36
5	アリピプロラゾール	5HTアゴニスト/Dアゴニスト	86. 95
6	スリンダク	COX-1阻害剤	127. 53
7	ケチアビンフル酸塩	5HT-2アンタゴニスト/D2アンタゴニスト	133. 33
8	フェロジビン	L-Ca ²⁺ チャネルプロッカー	133. 33
9	トンベリドン	D2アンタゴニスト/D3アンタゴニスト	139. 13
10	ザフィルカスト	CyCLT1アンタゴニスト	156. 52
11	プロランカスト	CyCLT1アンタゴニスト	162. 31
12	フェノキシベンザミン塩酸塩	α アンタゴニスト	162. 31
13	ピオグリタゾン	PPAR γ アゴニスト	173. 91
14	ジアゾキド	ATP>Kアクトベーター	173. 91
15	ピリラミンレイン酸塩	H1アンタゴニスト	185. 50
16	ニコランジル	K+チャネルアクトベーター	185. 50
17	マブロチリン塩酸塩	NE取り込み阻害剤	191. 30
18	アミトリプチリン塩酸塩	SNRI	192. 61
19	セチリジンニ塩酸塩	H1アゴニスト	202. 89
20	ロフェコキシブ	COX-2阻害剤	202. 89
21	グリベンクラミド	ATP>Kプロッカー	202. 89
22	プロスタグランジンE2	プロスタグランジン	208. 69
23	セレコキシブ	COX-2阻害剤	208. 69
24	イフェンプロジル酒石酸塩	NMDAアンタゴニスト	214. 49
25	ナフトピジル	α 1アンタゴニスト	214. 49
26	ジルトン	5-LOX阻害剤	214. 49
27	チオリダジン塩酸塩	Dアンタゴニスト	217. 78
28	(+)-ブタクラモール塩酸塩	Dアンタゴニスト	226. 08
29	ミノキシジル	ATP>K+チャネルアクトベーター	226. 08
30	プロメタジン塩酸塩	H1アンタゴニスト	231. 88

[0083] [実験例2]

(FDA承認薬によるウイルス複製の阻害)

ヒット化合物の中から、心血管循環や中枢神経系への影響が少ない薬剤を選択し、次の解析に向けて、選択的エストロゲン受容体モジュレーター(SERM)であるラロキシフェン、抗結核薬であるリファンピン、CyLT

1アンタゴニストであるプランルカスト、PPAR γ アゴニストであるピオグリタゾン、5-LOX阻害剤であるジルトンのターゲットの異なる5つの薬剤に焦点を当てた。

- [0084] 24ウェルプレートにiPSCを播種し、10 μ Mの各化合物で3時間インキュベートした後、SeVを感染させた。ウイルス感染から24時間後、iPSCからRNAを抽出し、定量的RT-PCR法を用いてEGFPのmRNA量を定量した。
- [0085] 図7(a)に、ラロキシフェン、リファンピン、プランルカスト、ピオグリタゾン又はジルトンを添加した細胞(いずれも10 μ M、n=3)、図7(b)に、COVID-19への適用がFDAに承認されたRNA依存性RNAPリメラーゼ阻害剤であるレムデシビルを添加した細胞(1 μ M、n=3)の測定結果を示す。図7(a)及び(b)中、「ベヒクル」はネガティブコントロールであるDMSOの存在下における結果を示す。また、グラフは平均±標準誤差を示し、「*」はp<0.005で有意差が存在することを示す。
- [0086] まず、図7(b)に示されるように、レムデシビルを添加した細胞では、EGFPのmRNAは実質的に検出されなかった。これにより、前記iPSCとSeVを用いたアッセイ系では、RNA依存性RNAPリメラーゼに対する薬剤の影響が感度よく検出できることが示された。次に、図7(a)より、ラロキシフェン、リファンピン、プランルカスト、ピオグリタゾン又はジルトンの添加によっても、EGFPのmRNA量が有意且つ大幅に減少した。この結果は、これらのヒット化合物がウイルスのRNA合成活性又はその上流のウイルスライフサイクルのステップを阻害し得ることを示すものである。
- [0087] 続いて、これらの薬剤のSeV感染に対する用量依存性を評価した。図8(a)～(f)は、それぞれ、レムデシビル、ラロキシフェン、リファンピン、プランルカスト、ピオグリタゾン及びジルトンの用量依存性を示すグラフである。

[0088] その結果、レムデシビルは、 IC_{50} 値 $0.077\ \mu\text{M}$ でS e Vの感染率を低下させた。これにより、本アッセイ系が薬剤のRNAウイルス感染抑制効果の評価系として有用であることが示された。また、ラロキシフェン、リファンピン、プランルカスト、ピオグリタゾン、ジルトンは、それぞれ、 $4.3\ \mu\text{M}$ 、 $3.9\ \mu\text{M}$ 、 $5.0\ \mu\text{M}$ 、 $4.9\ \mu\text{M}$ 、 $4.5\ \mu\text{M}$ の IC_{50} 値を示し、用量依存的にS e Vの感染率を低下させることが明らかとなった。

[0089] よって、レムデシビルと同様にラロキシフェン、リファンピン、プランルカスト、ピオグリタゾン、ジルトンも、RNAウイルスの1種であるセンダイウイルスの細胞への感染を効果的に抑制できることが示された。

[0090] [実験例3]

(エボラウイルスライフサイクルモデリングシステムを用いた化合物の評価)

選択した化合物の抗ウイルス活性を評価するために、野生型ウイルスとは異なり、バイオセーフティーレベル4（B S L 4）実験室を必要としない、転写及び複製能力のあるウイルス様粒子（t r V L P）システムを用いて抗エボラウイルス活性を評価した。

[0091] 様々な濃度の各化合物の存在下で、ヒト肝臓由来のH u h 7細胞を、G F Pレポーターを発現するエボラ t r V L Pに暴露し、感染細胞数及び細胞生存率を測定した。

[0092] 図9（a）～（f）は、それぞれ、レムデシビル、ラロキシフェン、リファンピン、プランルカスト、ピオグリタゾン及びジルトンの用量依存性を示すグラフである。その結果、エボラウイルス感染症の治療薬として開発されたヌクレオチドアナログであるレムデシビルは、エボラ t r V L P感染を強力に阻害し、 IC_{50} 値は $0.12\ \mu\text{M}$ であり、本アッセイ系の妥当性が示された。

[0093] また、ラロキシフェンもエボラ t r V L Pの感染率を用量依存的に低下させ、 IC_{50} 値は $0.88\ \mu\text{M}$ であった。さらに、感染阻害活性と細胞毒性の間に有意な乖離が認められたことから、特異的な抗ウイルス効果があること

が示された。これに対し、リファンピン、プランルカスト、ピオグリタゾン、ジルトンは、有意な抗ウイルス活性を示さなかった。

[0094] 以上の結果より、ラロキシフェンがエボラウイルス感染症の予防または治療薬になり得ることが示された。

[0095] [実験例4]

(S A R S – C o V – 2に対する化合物の評価)

選択した化合物の抗ウイルス活性をS A R S – C o V – 2を用いて評価した。様々な濃度の各化合物の存在下で、V e r o E 6細胞を野生型S A R S – C o V – 2に暴露し、その後、免疫染色法を用いて感染細胞数を定量し、細胞生存率を決定した。

[0096] 図10 (a) ~ (f) は、それぞれ、レムデシビル、ラロキシフェン、リファンピン、プランルカスト、ピオグリタゾン及びジルトンの用量依存性を示すグラフである。その結果、C O V I D – 1 9への適用がF D Aに承認されたレムデシビルは0. 8 9 μMのI C₅₀値でS A R S – C o V – 2の感染率を減少させた。

[0097] 図10 (b) に示される通り、ラロキシフェンは、7. 1 μMのI C₅₀値でS A R S – C o V – 2の感染率を用量依存的に低下させた。また、ピオグリタゾンは、高濃度でウイルス感染を部分的に抑制した。これに対し、リファンピン及びプランルカストは、S A R S – C o V – 2の感染率を低下させる傾向が認められたが有意性はなく、ジルトンは有意な抗ウイルス活性を示さなかった。

[0098] 以上の結果より、ラロキシフェン及びピオグリタゾンが、S A R S – C o V – 2感染症の予防または治療薬になり得ることが示された。

[0099] 続いて、SynergyFinderを用いて、ラロキシフェンとレムデシビル、ラロキシフェンとピオグリタゾン、及び、ピオグリタゾンとレムデシビルの併用効果を検討した (Janevski A, Giri AK and Aittokallio T (2020) SynergyFinder 2.0: visual analytics of multi-drug combination synergies. Nucleic Acids Res 48, W488–W493, 2020.)。

- [0100] ラロキシフェンとレムデシビル、ラロキシフェンとピオグリタゾン、ピオグリタゾンとレムデシビルの、2種類ずつの化合物の組み合わせのそれぞれについて、様々な濃度の各化合物の存在下で、Vero E6細胞を野生型SARS-CoV-2に暴露し、その後、免疫染色法を用いて感染細胞数を定量し、細胞生存率を決定し併用効果を検討した。
- [0101] 図11はラロキシフェンとレムデシビルの併用についての用量反応マトリクスと3次元シナジーマップである。シナジースコアが(i) -10未満の場合、2つの薬剤間の相互作用は拮抗的である可能性が高く、(ii) -10から10までの場合、2つの薬剤間の相互作用は相加的である可能性が高く、(iii) 10より大きい場合、2つの薬剤間の相互作用は相乗的である可能性が高いことを表す。
- [0102] その結果、ラロキシフェンとレムデシビルは特定濃度で相乗的な抗ウイルス効果を示すことが明らかとなった。ZTPシナジースコアは6.91であり、最も高いシナジースコアは30.09であった。
- [0103] 図12はラロキシフェンとピオグリタゾンの併用についての用量反応マトリクスと3次元シナジーマップである。その結果、ラロキシフェンとピオグリタゾンもまた、特定濃度において相乗的な抗ウイルス効果を示すことが明らかとなった。ZTPシナジースコアは4.49であり、最も高いシナジースコアは12.42であった。
- [0104] 図13はピオグリタゾンとレムデシビルの併用についての用量反応マトリクスと3次元シナジーマップである。その結果、ピオグリタゾンとレムデシビルもまた、特定濃度において相乗的な抗ウイルス効果を示すことが明らかとなった。ZTPシナジースコアは8.85であり、最も高いシナジースコアは30.42であった。
- [0105] 以上の結果より、ラロキシフェンとレムデシビル、ラロキシフェンとピオグリタゾン、ピオグリタゾンとレムデシビルを、それぞれ併用すると、相乗効果が生じて非常に高い抗ウイルス効果を発揮することが強く示唆された。
- [0106] [実験例5]

(SARS-CoV-2感染に対するSERMの効果)

前述した通り、前記選択した化合物の中で、ラロキシフェンはエボラウイルスとSARS-CoV-2の両方に対して抗ウイルス活性を示した。ラロキシフェンは、FDAが承認した癌治療薬の一種であり、選択的エストロゲン受容体モジュレーター（SERM）の一種である。

- [0107] そこで、まず、trVL Pシステムを用いて、ラロキシフェン以外のSERMである、タモキシフェン、トレミフェン、クロミフェンがエボラtrVL P感染を阻害するか否かを検討した。様々な濃度の各化合物の存在下で、ヒト肝臓由来のHu h 7細胞を、GFPレポーターを発現するエボラtrVL Pに暴露し、感染細胞数及び細胞生存率を測定した。図14(a)～(c)は、それぞれ、タモキシフェン、トレミフェン、クロミフェンの用量依存性を示すグラフである。その結果、タモキシフェン、トレミフェン、クロミフェンはいずれも、エボラtrVL P感染を阻害することが確認された。
- [0108] 続いて、タモキシフェン、トレミフェン、クロミフェンの抗ウイルス活性をSARS-CoV-2を用いて評価した。様々な濃度の各化合物の存在下で、Vero E6細胞を野生型SARS-CoV-2に暴露し、その後、免疫染色法を用いて感染細胞数を定量し、細胞生存率を決定した。
- [0109] 図15(a)～(c)は、それぞれ、タモキシフェン、トレミフェン、クロミフェンの用量依存性を示すグラフである。その結果、タモキシフェン、トレミフェン、クロミフェンは、それぞれ10.9 μM、10.0 μM、6.7 μMのIC₅₀値で、Vero E6細胞におけるSARS-CoV-2感染を抑制する効果を示すことが明らかとなった。
- [0110] 以上の結果より、ラロキシフェン、タモキシフェン、トレミフェン、クロミフェンはいずれも、SARS-CoV-2感染症の予防又は治療薬になり得ることが示された。さらに、SERMがSARS-CoV-2感染症の予防又は治療薬になり得ることが強く示唆された。
- [0111] [実験例6]
(SERMの抗ウイルス効果のメカニズムの解析)

S E R Mの抗ウイルス効果のメカニズムを解析した。S A R S - C o V - 2等のコロナウイルスは、脂質二重層と外膜タンパク質からなるエンベロープ（外膜）で、ウイルスゲノムR N Aを含むウイルスコアが囲まれている。S A R S - C o V - 2は、前記外膜タンパク質の1種であるスパイクタンパク質が宿主細胞の細胞膜上の受容体に結合し、1) エンドサイトーシスにより細胞内に侵入した後、エンベロープとエンドソーム膜が融合してウイルスゲノムが細胞内に放出、又は、2) スパイクタンパク質が細胞膜上に存在する宿主プロテアーゼにより活性化され、エンベロープと細胞膜が融合することで、ウイルスゲノムが細胞内に放出されて、感染が成立する。

[0112] そこで、ルシフェラーゼ遺伝子を有し、さらにスパイクタンパク質として、S A R S - C o V - 2のスパイクタンパク質を有するシュードタイプ小胞性口内炎ウイルス（V S V Δ G - S A R S 2 - S）又はS A R S - C o Vのスパイクタンパク質を有するシュードタイプ小胞性口内炎ウイルス（V S V Δ G - S A R S - S）を作製し（図16）、S E R Mが前記シュードタイプV S Vの宿主細胞への侵入を阻害するかどうかを検討した。また、比較のために、ルシフェラーゼ遺伝子を有し、エンベロープ上にV S V糖タンパク質（G）を有する小胞性口内炎ウイルス（V S V - G）を用いて同様の検討を行った。

[0113] 図17（a）～（c）は、V e r o E 6細胞を、ラロキシフェン、トレミフェン又はクロミフェンの存在下で1時間インキュベートした後、前記シュードタイプV S Vに暴露し、細胞溶解後のルシフェラーゼ活性を測定した結果を表す。横軸は各薬剤の処理濃度、縦軸は薬剤非処理群で得られたルシフェラーゼ活性に対する相対値をそれぞれ表している。図17（a）～（c）に示される通り、ラロキシフェン、トレミフェン、クロミフェンは、V S V Δ G - S A R S 2 - Sの感染をそれぞれ、3. 9 μM、5. 3 μM、4. 4 μMのI C₅₀値で阻害した。また、ラロキシフェン、トレミフェン、クロミフェンは、S A R S - C o Vスパイクタンパク質（S A R S - C o V - S）を有するシュードタイプV S Vの感染を、それぞれ、4. 1 μM、7. 3 μ

M、5. 8 μMのIC₅₀値で阻害した。しかしながら、VSV-Gに対しては感染阻害効果が認められなかった。

- [0114] よって、小胞性口内炎ウイルスは本来、ラロキシフェン、トレミフェン、クロミフェンのいずれによっても宿主細胞への侵入が抑制されないが、当該エンベロープ上にSARS-CoV-2又はSARS-CoV-2のスパイクタンパクが発現すると、前記薬剤によって宿主細胞への侵入が効果的に抑制されるようになることが示された。
- [0115] 以上の結果から、SERMは病原性コロナウイルスのウイルススパイクタンパク質を介した宿主細胞への侵入を抑制することで、抗ウイルス効果を発揮していることが示唆された。図18はSERMの抗ウイルス効果のメカニズム（一部）を示す模式図である。SERMは、ウイルス粒子を含むエンドソーム内のイオン恒常性を破壊し、ウイルスコアを宿主細胞の細胞質に放出するための膜融合を阻害する可能性が考えられる。
- [0116] 下記表3は、各化合物のウイルスへの効果をまとめたものである。表3中、「+」はウイルス感染を抑制したこと、「-」はウイルス感染を抑制しなかったこと、「N. S.」は感染抑制傾向が見られたが有意性はなかったこと（Not Significant）、「N. D.」は試験していないこと（Not Determined）をそれぞれ示す。
- [0117]

[表3]

ウイルス		化合物							
		ラロキシ フェン	リファン ピン	プラン ルカスト	ジルトン	ピオグリ タゾン	タモキシフェン	トレミフェン	クロミフェン
一本鎖ポジティブセンス RNA ウィルス									
コロナ ウイルス科	SARS-CoV	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	SARS-CoV-2	+	N.S.	N.S.	-	+	+	+	+
	MERS-CoV	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
ラビ ウイルス科	デングウイルス	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	ジカウイルス	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	C型肝炎 ウイルス	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
一本鎖ネガティブセンス RNA ウィルス									
パラミクソ ウイルス科	センダイウイルス	+	+	+	+	+	N.D.	N.D.	N.D.
フィロ ウイルス科	エボラウイルス	+	-	-	-	-	+	+	+
オルソミクソ ウイルス科	インフルエンザ ウイルス	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.

産業上の利用可能性

[0118] 本発明によれば、RNA ウィルス関連疾患の予防又は治療薬を提供することができる。

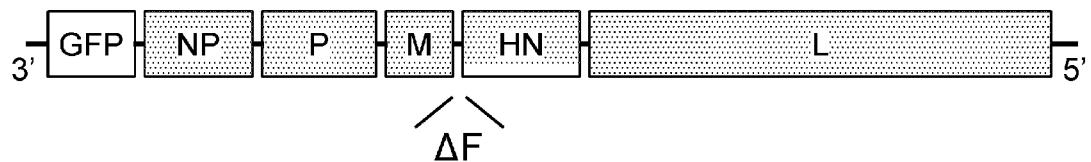
請求の範囲

- [請求項1] 選択的エストロゲン受容体モジュレーター、抗結核薬、C y s L T 1受容体アンタゴニスト、P e r o x i s o m e P r o l i f e r a t o r - A c t i v a t e d R e c e p t o r γ (PPAR γ) アゴニスト、A r a c h i d o n a t e 5 - l i p o x y g e n a s e (5-L O X) 阻害剤、これらの誘導体、薬学的に許容されるこれらの塩及び薬学的に許容されるこれらの溶媒和物からなる群より選択される少なくとも一種の化合物を有効成分とする、R N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。
- [請求項2] 前記選択的エストロゲン受容体モジュレーターが、ラロキシフェン、タモキシフェン、トレミフェン又はクロミフェンである、請求項1に記載のR N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。
- [請求項3] 前記タモキシフェンが、タモキシフェンクエン酸塩の形態である、請求項2に記載のR N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。
- [請求項4] 前記トレミフェンが、トレミフェンクエン酸塩の形態である、請求項2に記載のR N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。
- [請求項5] 前記抗結核薬が、リファンピンである、請求項1に記載のR N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。
- [請求項6] 前記C y s L T 1受容体アンタゴニストが、プランルカストである、請求項1に記載のR N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。
- [請求項7] 前記P P A R γ アゴニストが、ピオグリタゾンである、請求項1に記載のR N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。
- [請求項8] 前記5-L O X阻害剤が、ジルトンである、請求項1に記載のR N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。
- [請求項9] 前記R N Aウイルスが、コロナウイルス科、フィロウイルス科及びパラミクソウイルス科からなる群より選択される科に属する少なくとも1種のウイルスである、請求項1～8のいずれか一項に記載のR N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

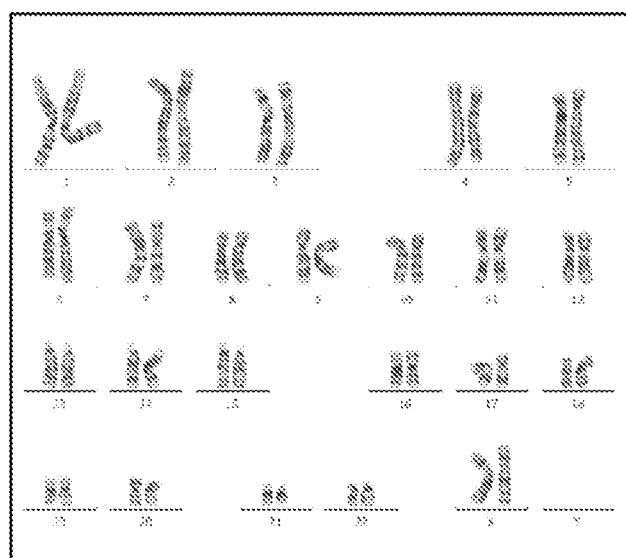
- [請求項10] 前記R N Aウイルスが、重症急性呼吸器症候群コロナウイルス2（S E R S – C o V – 2）、エボラウイルス及びセンダイウイルスからなる群より選択される少なくとも1種のウイルスである、請求項9に記載のR N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。
- [請求項11] ラロキシフェン及びピオグリタゾンを有効成分とする、請求項1～10のいずれか一項に記載のR N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。
- [請求項12] レムデシビルを更に含み、ラロキシフェン及びレムデシビルを有効成分とする、請求項1～10のいずれか一項に記載のR N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。
- [請求項13] レムデシビルを更に含み、ピオグリタゾン及びレムデシビルを有効成分とする、請求項1～10のいずれか一項に記載のR N Aウイルス関連疾患の予防又は治療剤。

[図1]

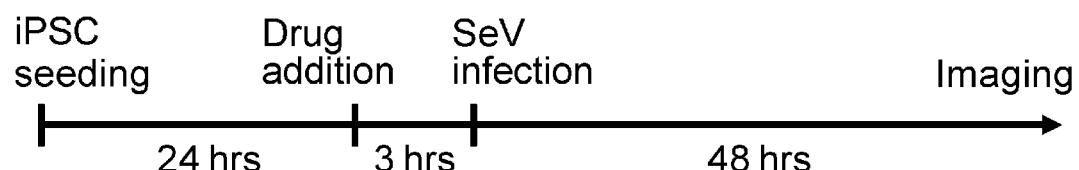
SeV_EGFP



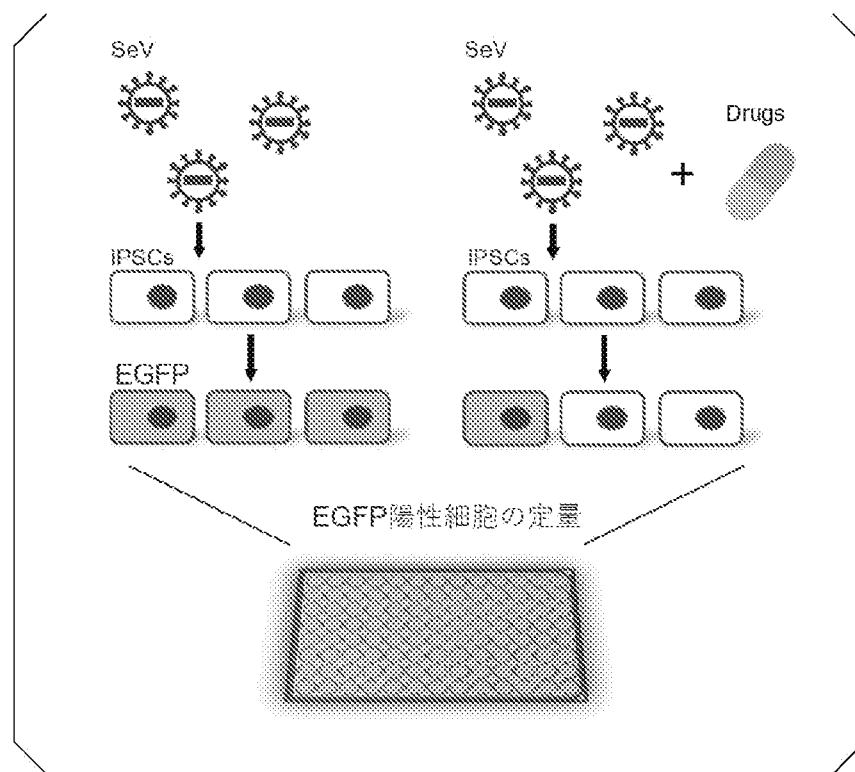
[図2]



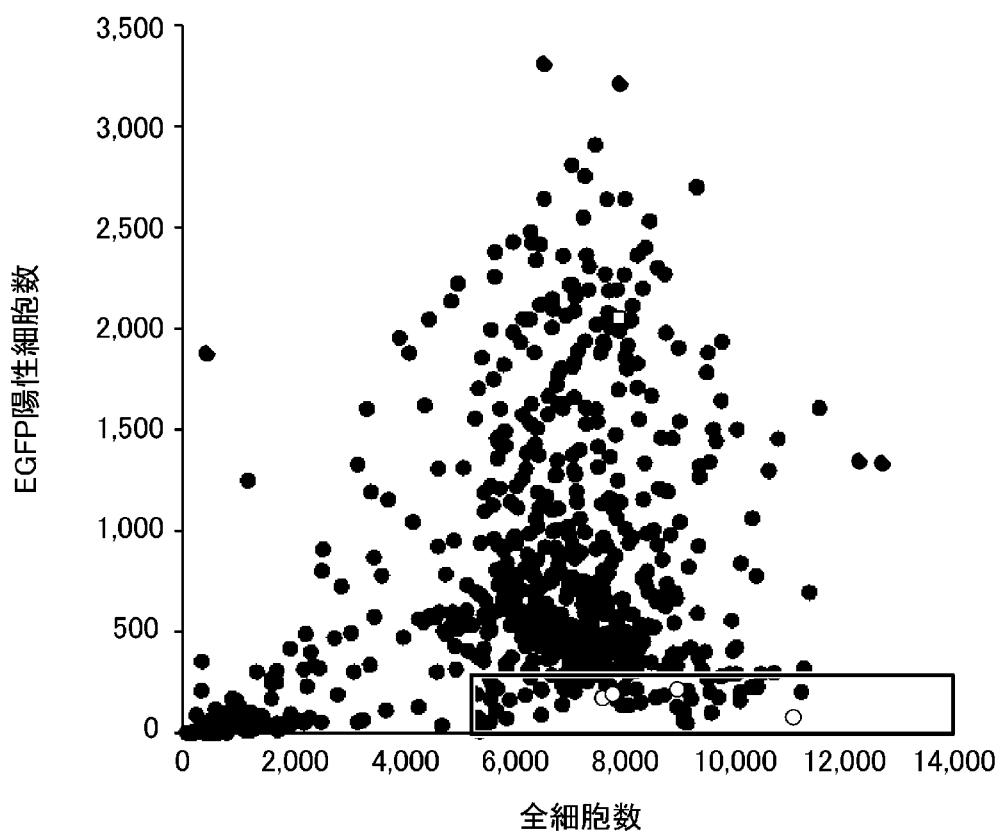
[図3]



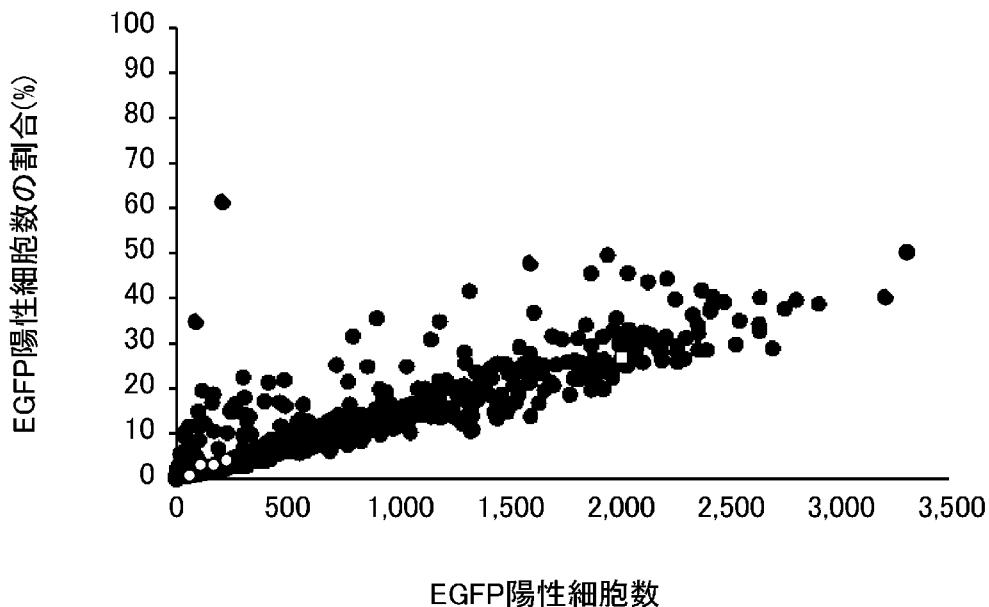
[図4]



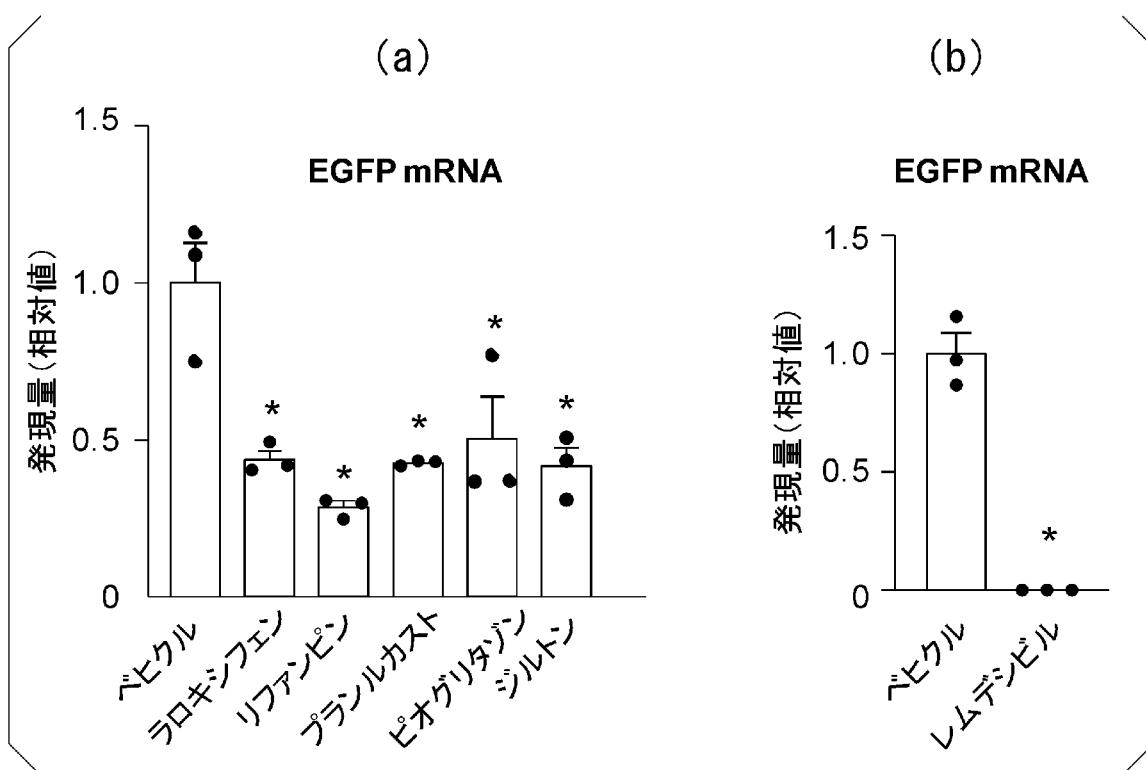
[図5]



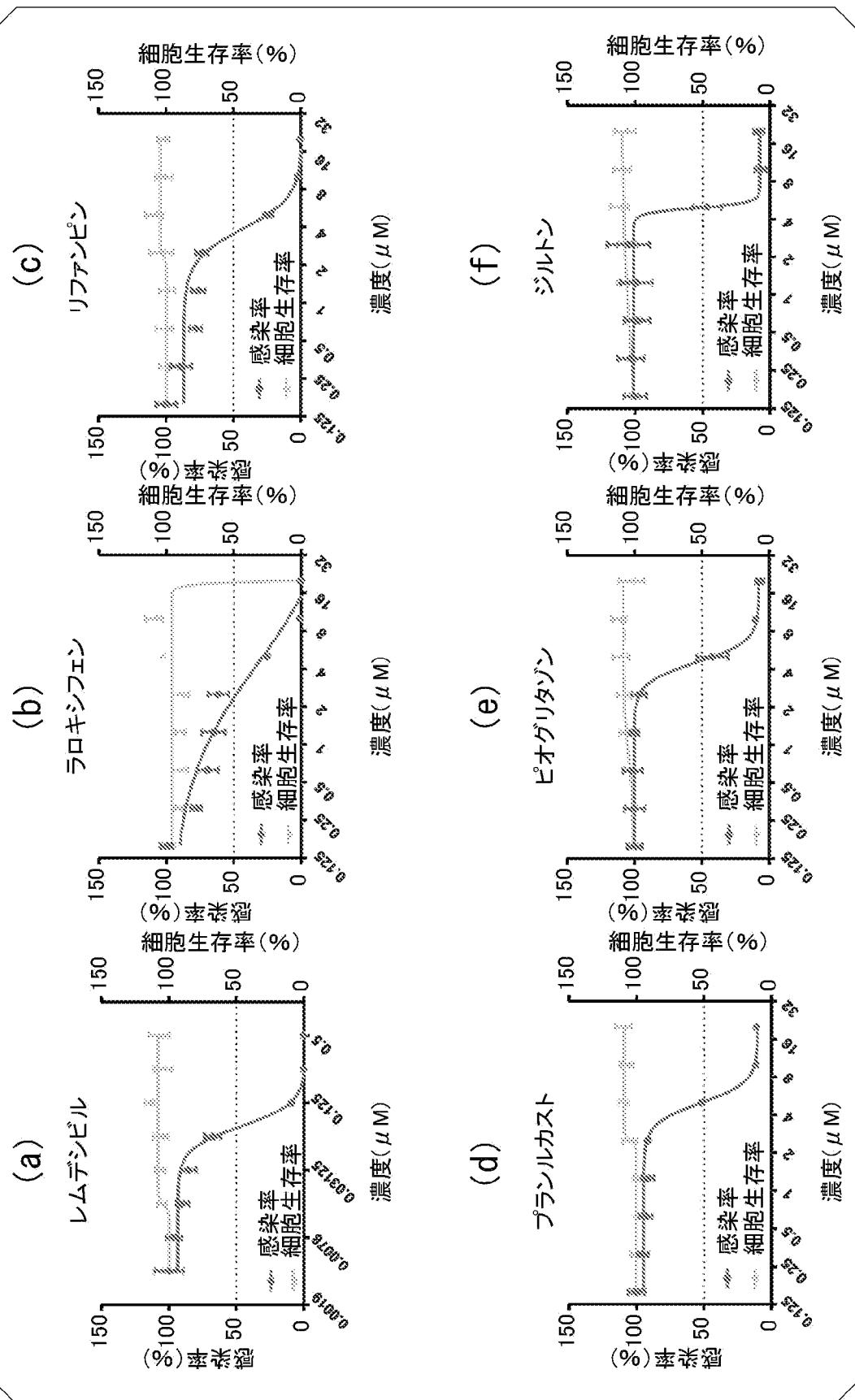
[図6]



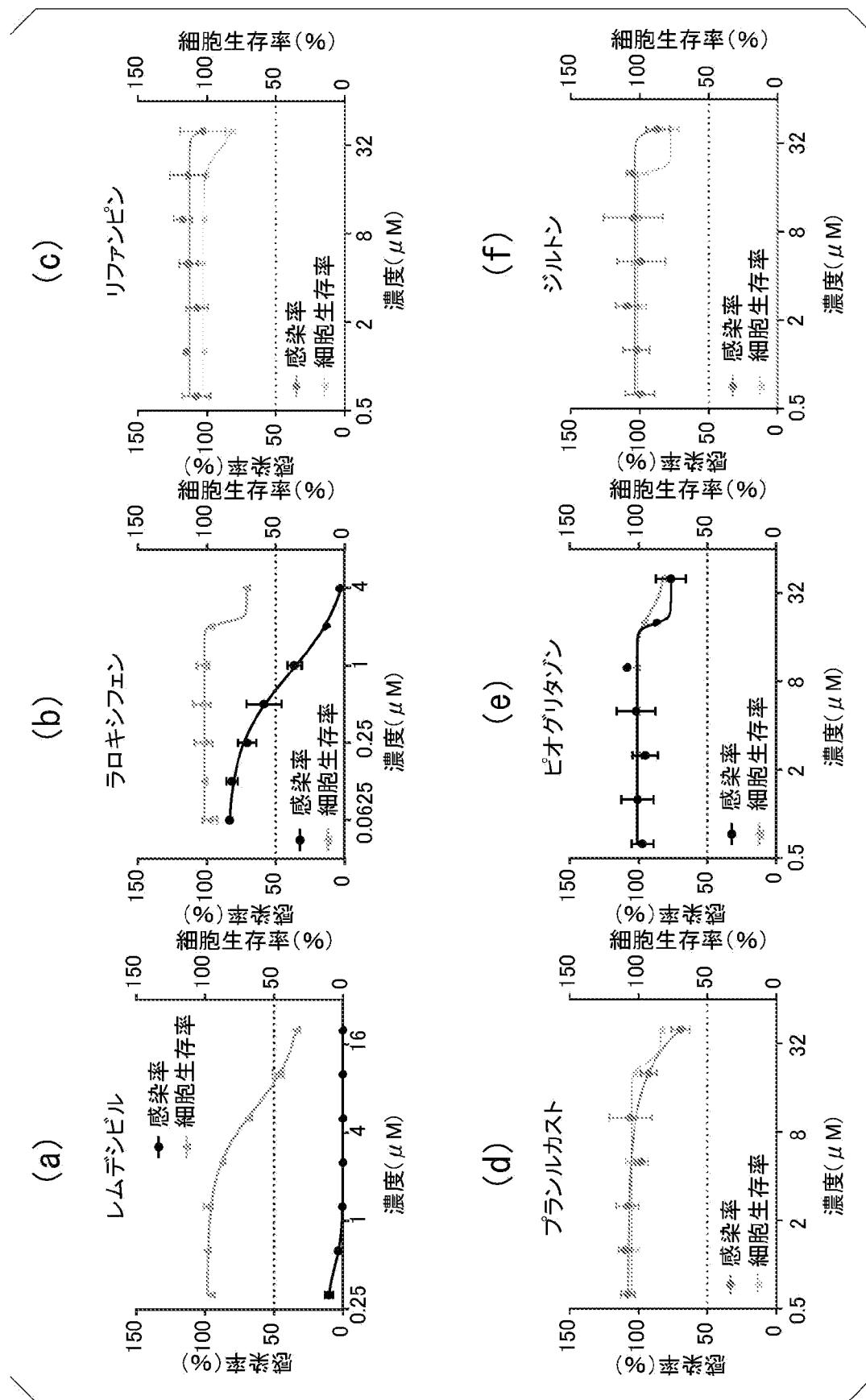
[図7]



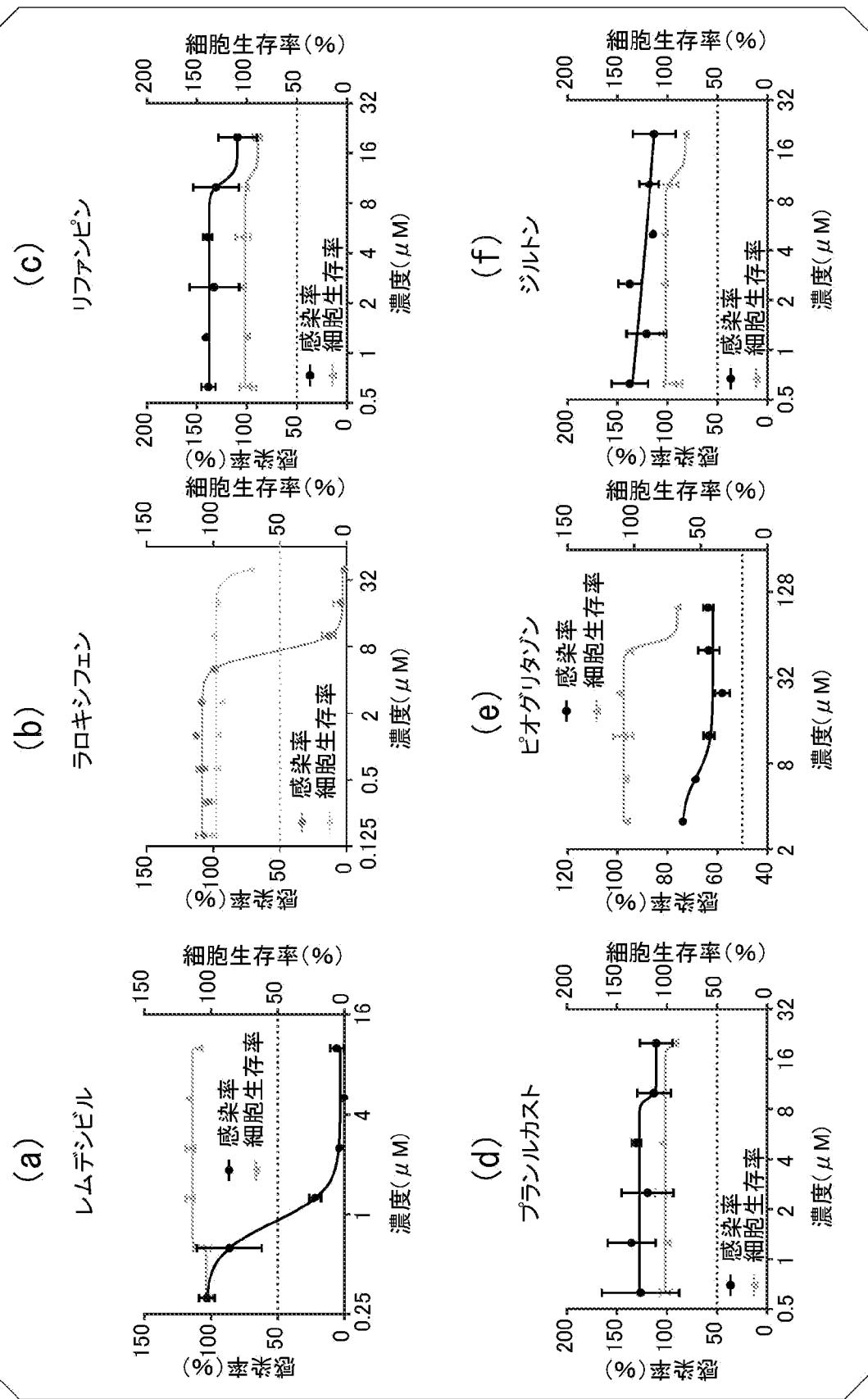
[図8]



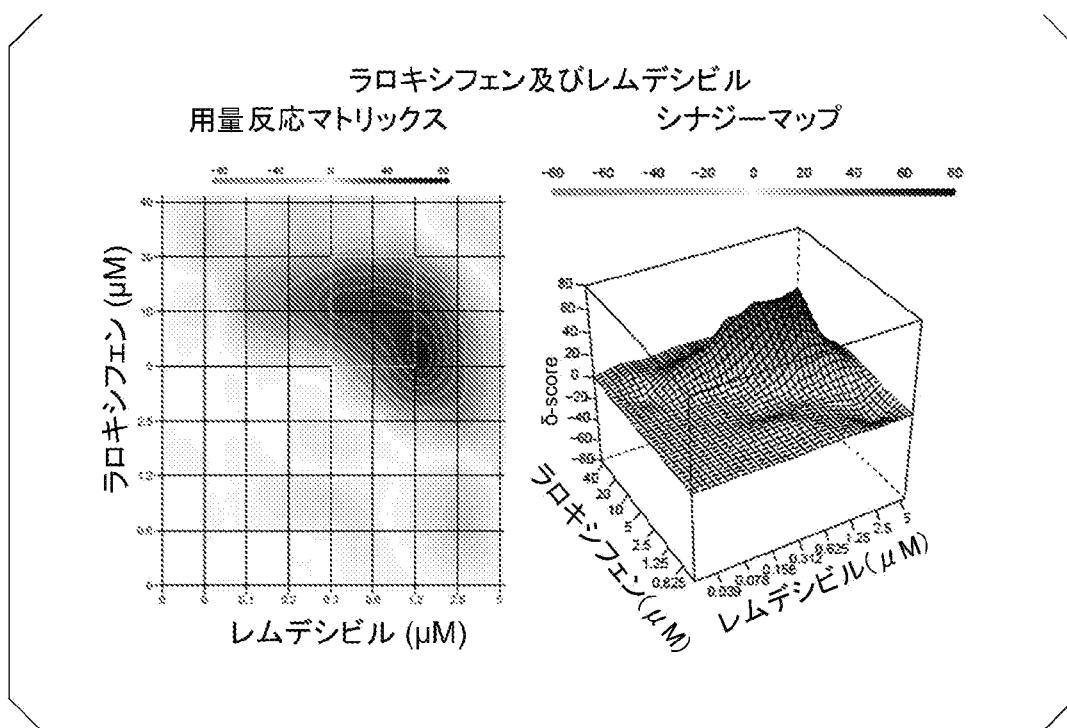
[図9]



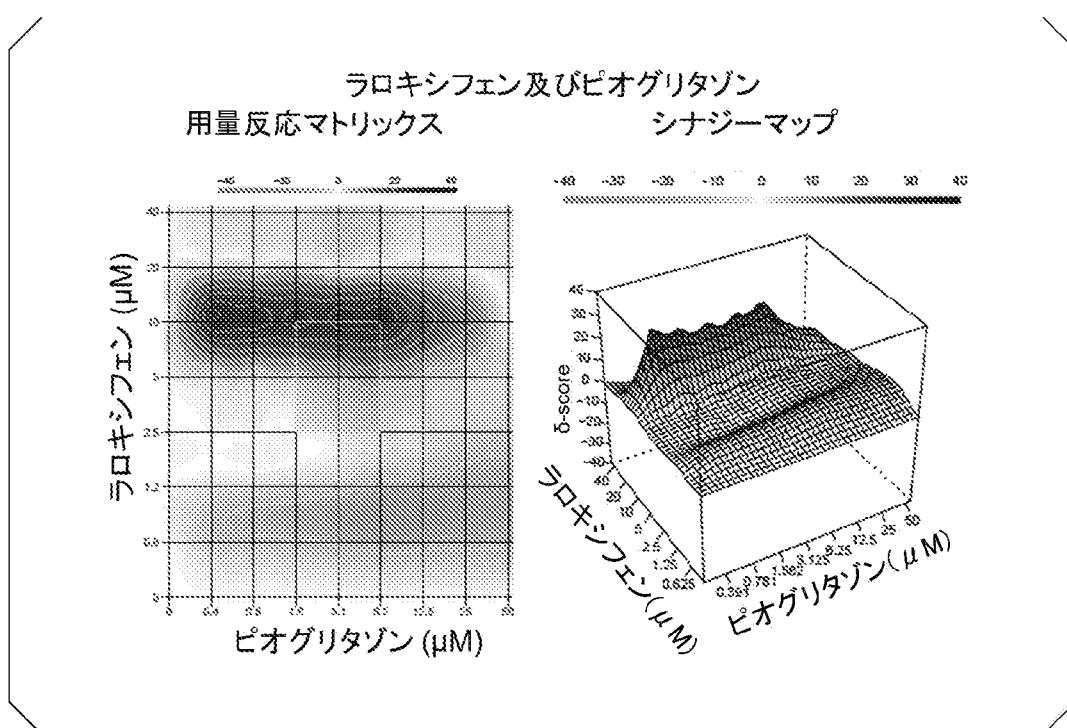
[図10]



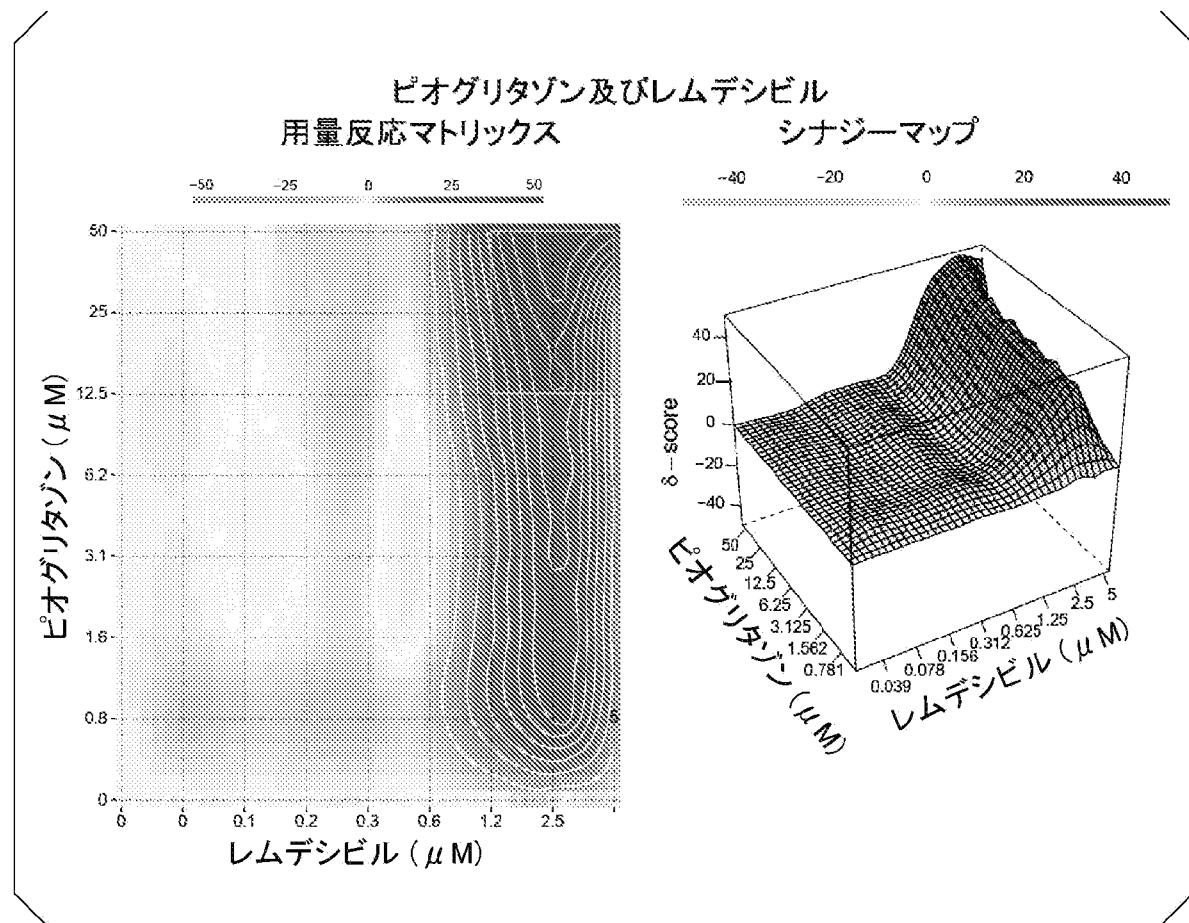
[図11]



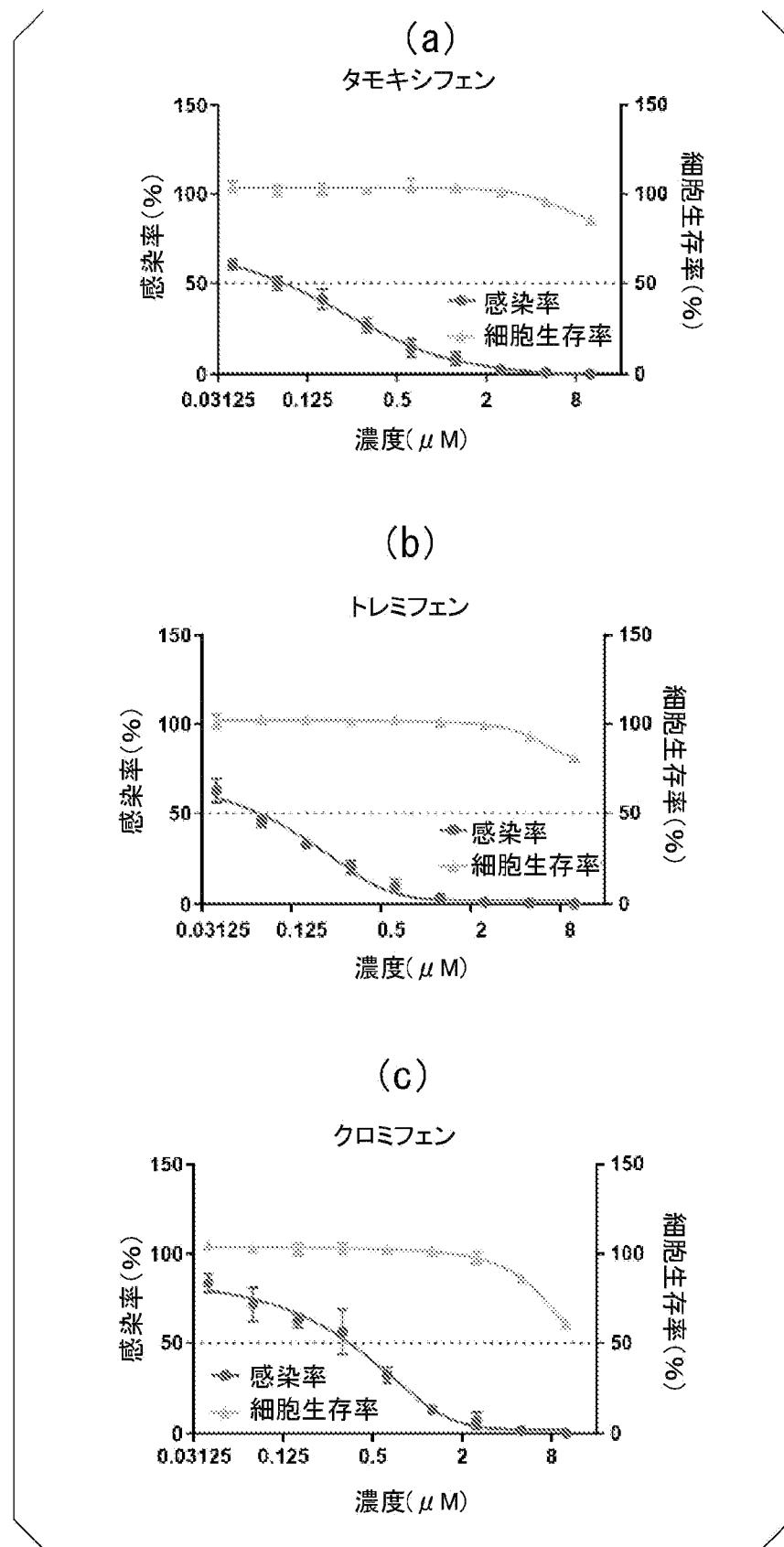
[図12]



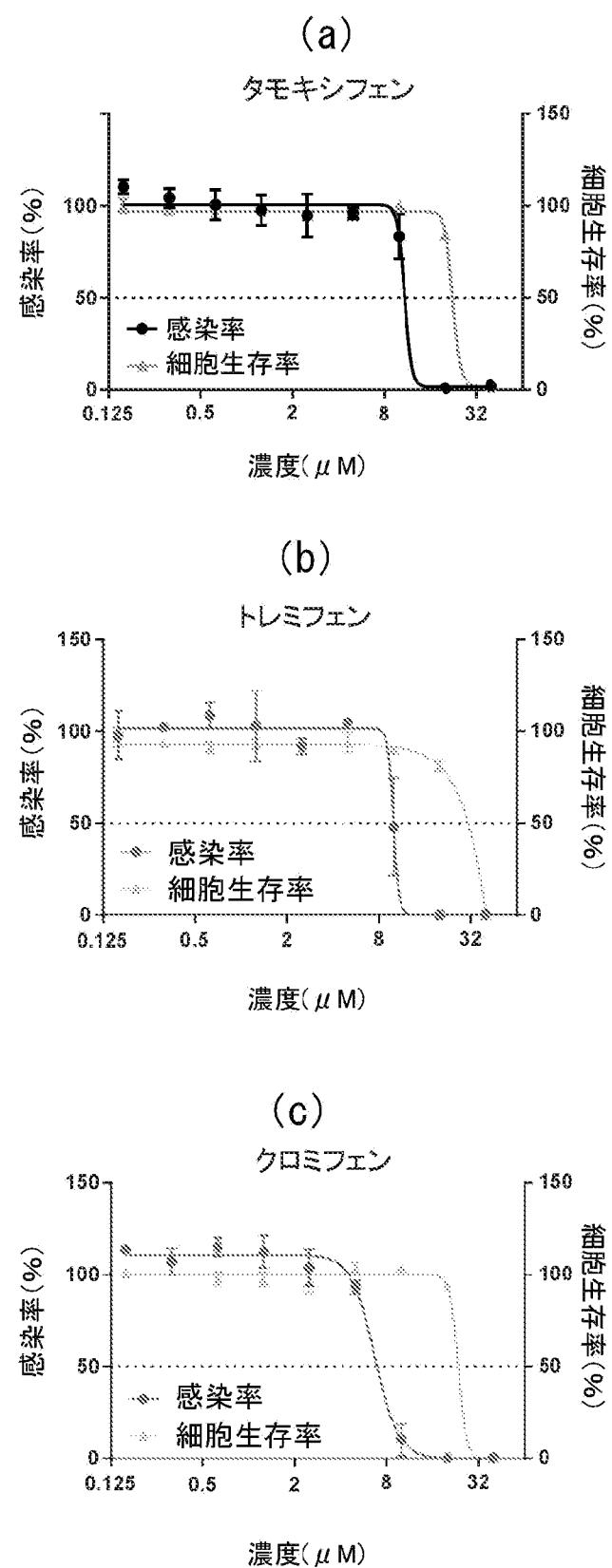
[図13]



[図14]

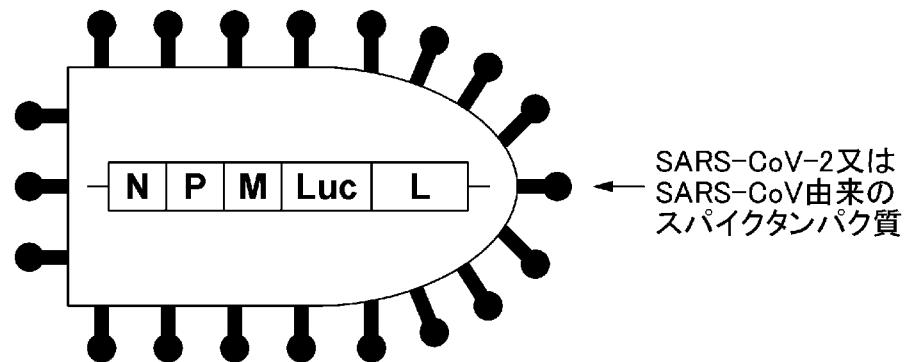


[図15]

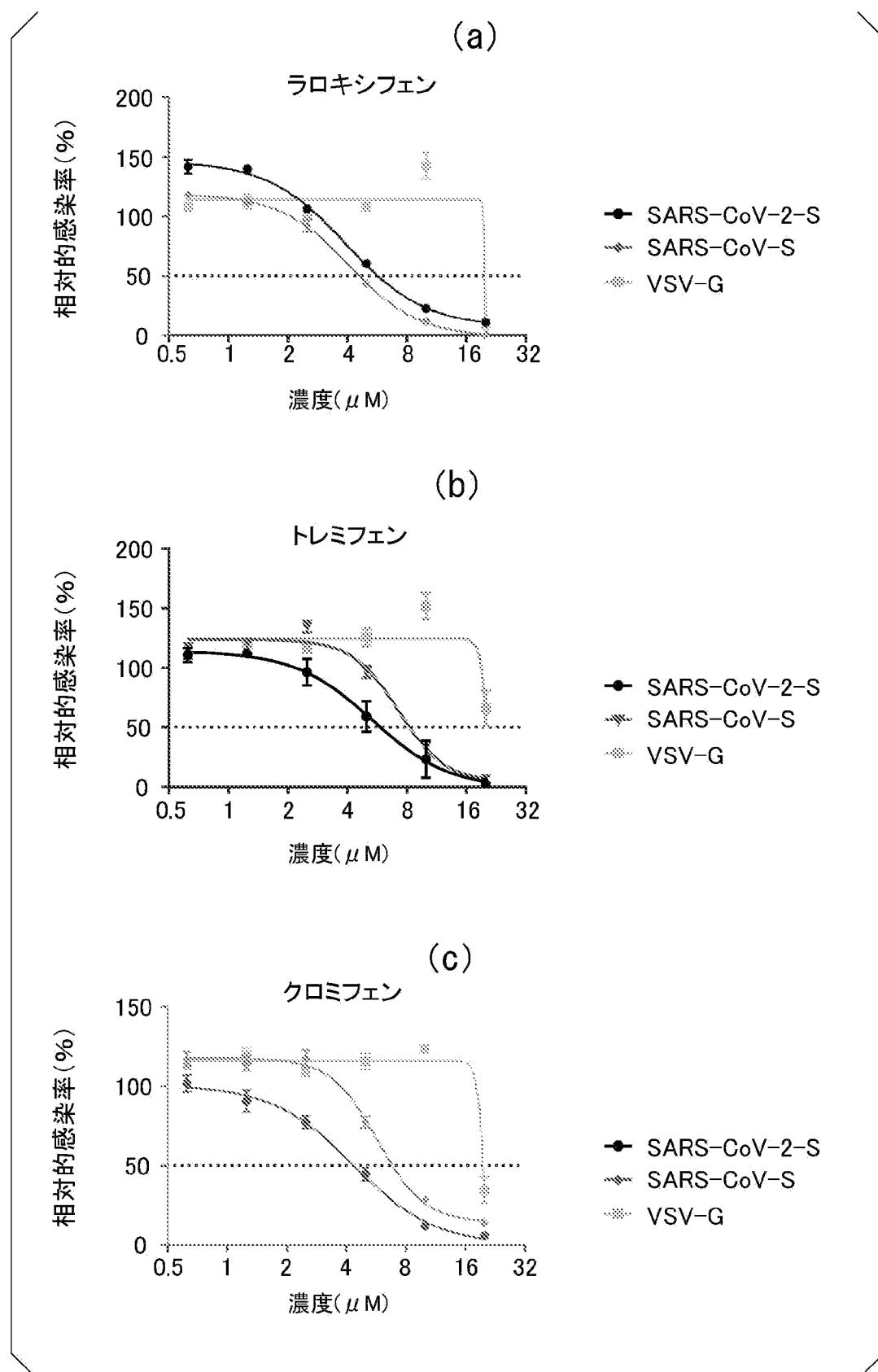


[図16]

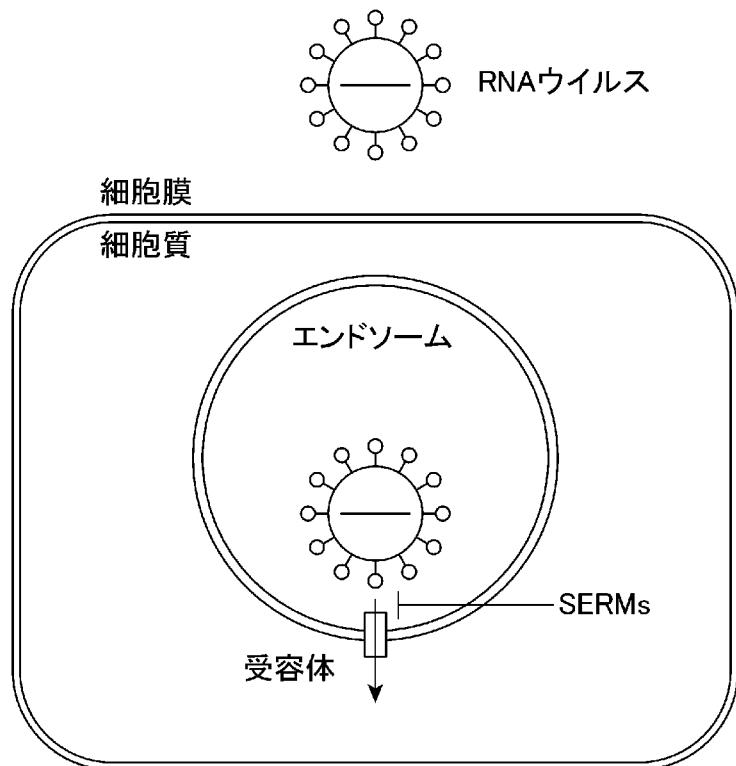
VSV由来のウイルスコア



[図17]



[図18]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/017002

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl. A61K45/00 (2006.01)i, A61K31/138 (2006.01)i, A61K31/41 (2006.01)i, A61K31/4439 (2006.01)i, A61K31/4535 (2006.01)i, A61K31/496 (2006.01)i
FI: A61K45/00, A61K31/4535, A61K31/138, A61K31/496, A61K31/41, A61K31/4439

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl. A61K45/00, A61K31/138, A61K31/41, A61K31/4439, A61K31/4535, A61K31/496

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan	1922–1996
Published unexamined utility model applications of Japan	1971–2021
Registered utility model specifications of Japan	1996–2021
Published registered utility model applications of Japan	1994–2021

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

JSTPlus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII),
CAplus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	MONTOYA, C. M., Repurposing estrogen receptor antagonists for the treatment of infectious disease, mBio, 2018, vol. 9, no. 6, article no. e02272-18, particularly, abstract, p. 4, l. 9 to p. 5, l. 2, table 1	1–4, 9–10 11–12
X	WO 2007/77893 A1 (NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION TOKYO MEDICAL AND DENTAL UNIVERSITY) 12 July 2007 (2007-07-12), claims, example 1	1, 5
X	JP 7-507770 A (U.S. BIOSCIENCE, INC.) 31 August 1995 (1995-08-31), claims, example 8	1, 5, 9–10
X	JP 2016-175866 A (YAMAGUCHI UNIVERSITY) 06 October 2016 (2016-10-06), claims, example 4	1, 6, 9–10



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	"&" document member of the same patent family
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search
08 June 2021

Date of mailing of the international search report
15 June 2021

Name and mailing address of the ISA/
Japan Patent Office
3-4-3, Kasumigaseki, Chiyoda-ku,
Tokyo 100-8915, Japan

Authorized officer

Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2021/017002

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2013-508282 A (GEMMUS PHARMA, INC.) 07 March 2013 (2013-03-07), claims, paragraph [0034]	1, 7, 9-10
X Y	GOMEZ, D. et al., PPAR γ agonists as an anti-inflammatory treatment inhibiting rotavirus infection of small intestinal villi, PPAR Research, 2016, vol. 2016, article ID 4049373, particularly, abstract, fig 1	1, 7, 9-10 11, 13
X	WELLIVER, R. C. et al., Zileuton reduces respiratory illness and lung inflammation, during respiratory syncytial virus infection, in mice, The Journal of Infectious Diseases, 2003, vol. 187, no. 11, pp. 1773-1779, particularly, abstract, fig. 1-6, p. 1776, right column, ll 5-11	1, 8-10
Y	LO, K. M. et al., GS-5734 and its parent nucleoside analog inhibit filo-, pneumo-, and paramyxoviruses, Scientific Reports, 2017, vol. 7, article no. 43395, particularly, abstract, table 1, fig. 2	12-13
P, X	IMAMURA, K. et al., iPSC screening for drug repurposing identifies anti-RNA virus agents modulating host cell susceptibility, FEBS Open Bio, 06 April 2021, vol. 11, pp. 1452-1464, particularly, abstract, fig. 1-5	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2021/017002

WO 2007/77893 A1 12 July 2007 KR 10-2008-0081351 A
claims, example 1
CN 101351206 A

JP 7-507770 A 31 August 1995 US 5491135 A
claims, example 8
WO 1993/018763 A1
EP 660710 A1

JP 2016-175866 A 06 October 2016 (Family: none)

JP 2013-508282 A 07 March 2013 US 2012/0190637 A1
claims, paragraph [0034]
WO 2011/047048 A1
EP 2488168 A1

国際調査報告

国際出願番号

PCT/JP2021/017002

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（IPC））

A61K 45/00(2006.01)i; A61K 31/138(2006.01)i; A61K 31/41(2006.01)i; A61K 31/4439(2006.01)i;
 A61K 31/4535(2006.01)i; A61K 31/496(2006.01)i
 FI: A61K45/00; A61K31/4535; A61K31/138; A61K31/496; A61K31/41; A61K31/4439

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（IPC））

A61K45/00; A61K31/138; A61K31/41; A61K31/4439; A61K31/4535; A61K31/496

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	1922 - 1996年
日本国公開実用新案公報	1971 - 2021年
日本国実用新案登録公報	1996 - 2021年
日本国登録実用新案公報	1994 - 2021年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

JSTplus/JMEDPlus/JST7580 (JDreamIII); CPlus/REGISTRY/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS (STN)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	MONTOYA, C. Marihiah, Repurposing Estrogen Receptor Antagonists for the Treatment of Infectious Disease, <i>mBio</i> , 2018, Vol.9, No.6, Article No. e02272-18 特に、Abstract, 第4頁第9行－第5頁第2行, Table 1	1-4, 9-10
		11-12
X	WO 2007/77893 A1 (国立大学法人 東京医科歯科大学) 12.07.2007 (2007-07-12) 特許請求の範囲, 実施例1	1, 5
X	JP 7-507770 A (ユー. エス. バイオサイエンス, インコーポレーテッド) 31.08.1995 (1995-08-31) 特許請求の範囲, 実施例8	1, 5, 9-10
X	JP 2016-175866 A (国立大学法人山口大学) 06.10.2016 (2016-10-06) 特許請求の範囲, 実施例4	1, 6, 9-10
X	JP 2013-508282 A (ジェンムス ファーマ インコーポレイティド) 07.03.2013 (2013-03-07) 特許請求の範囲, [0034]	1, 7, 9-10

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

- * 引用文献のカテゴリー
- “A” 時に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- “E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- “L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
- “0” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- “P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献

- “T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- “X” 特に関連のある文献であつて、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- “Y” 特に関連のある文献であつて、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- “&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日 08.06.2021	国際調査報告の発送日 15.06.2021
名称及びあて先 日本国特許庁(ISA/JP) 〒100-8915 日本国 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	権限のある職員（特許序審査官） 石井 裕美子 4U 3402 電話番号 03-3581-1101 内線 3452

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求項の番号
X	GOMEZ, D. et al., PPAR γ Agonists as an Anti-Inflammatory Treatment Inhibiting Rotavirus Infection of Small Intestinal Villi, PPAR Research, 2016, Vol.2016, Article ID 4049373 特に、Abstract, Fig 1	1, 7, 9-10
		11, 13
X	WELLIVER, R.C. et al., Zileuton Reduces Respiratory Illness and Lung Inflammation, during Respiratory Syncytial Virus Infection, in Mice, The Journal of Infectious Diseases, 2003, Vol.187, No.11, pp.1773-1779 特に、Abstract, Figs 1-6, 第1776頁右欄第5-11行	1, 8-10
Y	LO, K.M. et al., GS-5734 and its parent nucleoside analog inhibit Filo-, Pneumo-, and Paramyxoviruses, Scientific Reports, 2017, Vol.7, Article No.43395 特に、Abstract, Table 1, Fig 2	12-13
P, X	IMAMURA, K. et al., iPSC screening for drug repurposing identifies anti-RNA virus agents modulating host cell susceptibility, FEBS Open Bio, 2021.04.06, Vol.11, pp.1452-1464 特に、Abstract, Figs 1-5	1-13

第 I 欄 ヌクレオチド又はアミノ酸配列（第 1 ページの 1. c の続き）

1. この国際出願で開示されたヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下の配列表に基づき国際調査を行った。
 - a. 出願時における国際出願の一部を構成する配列表
 - 附属書C/ST.25テキストファイル形式
 - 紙形式又はイメージファイル形式
 - b. 国際出願とともに、PCT 規則13の3.1(a)に基づき国際調査のためにのみ提出された、附属書C/ST.25テキストファイル形式の配列表
 - c. 国際出願日後に、国際調査のためにのみ提出された配列表
 - 附属書C/ST.25テキストファイル形式(PCT 規則13の3.1(a))
 - 紙形式又はイメージファイル形式 (PCT 規則13の3.1(b)及びPCT 実施細則第713号)
2. さらに、複数の版の配列表又は配列表の写しが提出され、変更後の配列表又は追加の写しに記載された情報が、出願時における配列表と同一である旨、又は出願時における国際出願の開示の範囲を超えない旨の陳述書の提出があった。
3. 補足意見：

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号

PCT/JP2021/017002

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO 2007/77893 A1	12.07.2007	KR 10-2008-0081351 A 特許請求の範囲, 実施例 1 CN 101351206 A	
JP 7-507770 A	31.08.1995	US 5491135 A Claims, Example 8 WO 1993/018763 A1 EP 660710 A1	
JP 2016-175866 A	06.10.2016	(ファミリーなし)	
JP 2013-508282 A	07.03.2013	US 2012/0190637 A1 Claims, [0034] WO 2011/047048 A1 EP 2488168 A1	