

## インフルエンザウイルスタンパク質の計算科学的解析

五十嵐 学

**Antiviral Drugs Targeting Influenza Virus Surface Proteins:  
A Computational Structural Biology Approach**

Manabu Igarashi

*Division of Global Epidemiology, Hokkaido University Research Center for Zoonosis Control;  
Kita-20, Nishi-10, Kita-ku, Sapporo 001-0020, Japan.*

(Received May 21, 2015)

For the prevention and control of infectious viral diseases, vaccines and antiviral drugs targeting viral proteins are of great importance. Amino acid substitutions in viral proteins occasionally cause the emergence of antibody-escape and drug-resistant mutants. With regard to this, we have studied the proteins of several viruses, especially the influenza A virus, by using techniques of computational chemistry and biology such as molecular modeling, molecular docking, and molecular dynamics simulations. Influenza A virus is a zoonotic pathogen that is transmitted from animals to humans. This virus has two surface glycoproteins, hemagglutinin (HA) and neuraminidase (NA). The HA of influenza viruses plays a key role in the initiation of viral infection. And HA is also the major target of antibodies that neutralize viral infectivity. Some amino acid substitutions in the antigenic epitope on HA could decrease the interaction between HA and antibodies, leading to the generation of antigenic variants with novel antigenic structures of HA. In addition, HA protein seems to be a favorable target for anti-influenza drugs, but effective HA inhibitors have not been developed due to the emergence of drug-resistant viruses with amino acid substitutions on the HA. To understand how amino acid substitutions affect changes in drug susceptibility, we have been computationally analyzing the three-dimensional structures of influenza virus proteins. In this paper, we review the results obtained through our current analysis.

**Key words**—influenza virus; molecular dynamics; docking; homology modeling; anti-influenza drug; monoclonal antibody

**1. はじめに**

人獣共通感染症とは、人と動物の両方に感染する病原体によって生じる感染症のことである。近年、インフルエンザ、デング熱、エボラウイルス病など、人獣共通感染症が世界各地で発生し、人類の脅威となっている。人獣共通感染症を制御するためには、自然界における病原体の存続メカニズムを明らかにするような生態系レベルの視点から、病原性や宿主域を決定する因子を明らかにするような分子レベルの視点まで、病原体を包括的に研究する必要がある。われわれは、バイオインフォマティクス、計算化学、分子進化学手法等を組み合わせた計算科学

的アプローチにより、病原体及び宿主タンパク質の構造・機能を、原子・分子及び遺伝子レベルで理解することを目指している。このような知見は、ワクチンや予防・治療薬の開発に役立つものと期待される。本稿では、われわれが計算科学的手法を用いて行った、インフルエンザウイルスの表面糖タンパク質に関する最近の研究成果について概説する。

**2. インフルエンザウイルスの表面糖タンパク質**

A型インフルエンザウイルスは、人を含む哺乳動物及び鳥に広く感染する人獣共通感染症病原体である。ウイルスの粒子表面には2種類の糖タンパク質ヘマグルチニン (hemagglutinin; HA) とノイラミニダーゼ (neuraminidase; NA) が存在し、抗原性の違いにより HA は 16 種類 (H1–H16)、NA は 9 種類 (N1–N9) の血清型に分類される。<sup>1,2)</sup> この HA と NA の組み合わせにより、A型インフルエンザウイルスは理論的に 144 種類の型に分けられる

北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター国際疫学部門 (〒001-0020 札幌市北区北 20 条西 10 丁目)

e-mail: igarashi@czc.hokudai.ac.jp

本総説は、日本薬学会第 134 年会シンポジウム S11 で発表した内容を中心に記述したものである。

(H1N1–H16N9). すべての亜型はインフルエンザウイルスの自然宿主である野生の水禽類が保持している。これらのウイルスがアヒルやニワトリ等の家禽やブタ等の家畜に伝播・流行を繰り返すうちに、ヒト–ヒト間で十分伝播する能力を獲得し、インフルエンザのパンデミック（世界的大流行）が起きると考えられている。人類は前世期からこれまで、4度のインフルエンザ・パンデミックを経験している（1918年 H1N1：スペインかぜ、1957年 H2N2：アジアかぜ、1968年 H3N2：香港かぜ、2009年 H1N1：パンデミック 2009H1N1）。<sup>3-5)</sup> 一方で、近年 H5N1, H9N2, H7N7, H7N9 等、家禽で流行しているウイルスが直接ヒトに伝播し、死亡者を出した例も多数報告されている。<sup>4,6-9)</sup> 自然界に存在するどの亜型のウイルスも、種の壁を越えて、ヒトの間でインフルエンザの流行を引き起こす可能性がある。したがって、どのような亜型のウイルスの出現・流行に対しても、対応可能な予防・治療法が望まれる。

### 3. 抗インフルエンザウイルス薬と薬剤耐性

パンデミックを起したインフルエンザウイルスはその後、抗原性を少しずつ変化させながら、季節性インフルエンザとしてヒトの間で毎年流行を繰り返す。わが国では、これまでに抗インフルエンザ薬として、M2 イオンチャンネル阻害剤（アマンタジン）、NA 阻害剤（オセルタミビル、ザナミビル、ペラミビル、ラニナミビル）が認可されている。<sup>10,11)</sup> しかしながら、現在流行している季節性インフルエンザウイルスのほとんどはアマンタジン耐性であり、ニワトリで流行している高病原性鳥インフルエンザウイルス H5N1 株も既にアマンタジン耐性を獲得していることが報告されている。また、現在最も治療に使用されている NA 阻害薬オセルタミビル（商品名：タミフル）でも季節性インフルエンザにおける耐性株の出現が問題となっており、タミフル耐性を示す H5N1 ウイルスについても確認例が報告されている。<sup>12,13)</sup>

2007–2008 年ベトナムにおいて、家禽及び人から分離された H5N1 ウイルスで、NA の 117 番目のアミノ酸が Ile から Val に置換している変異（NA-I117V）が見つかった。<sup>13)</sup> NA はシアリダーゼ活性を有するが、タミフルはこの酵素活性サイトに結合し、その機能を阻害する。われわれは *in vivo* 及び *in vitro* の実験によって、この NA-I117V がウイル

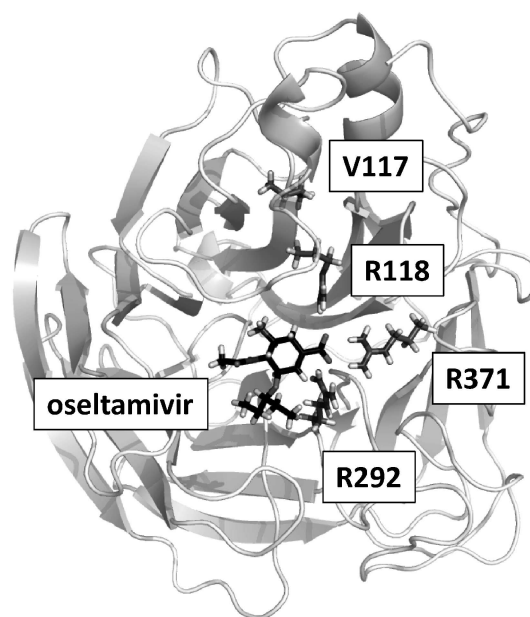


Fig. 1. The Structure of the wt NA in Complex with Oseltamivir

スのタミフル感受性を低下させることを明らかにした。一方で、野生型の NA (wt NA) とタミフルとの共結晶構造を調べると、117 番目の残基はタミフルと直接結合する位置にないことが判明した (Fig. 1)。そこで、われわれは NA-I117V によるタミフル感受性低下の分子メカニズムを明らかにするため、NA とタミフルの複合体構造に対して 10 ns の分子動力学 (molecular dynamics; MD) シミュレーションを行った。その結果、NA-I117V はタミフルと直接相互作用する 118 番目の Arg 残基の向きに影響を及ぼし、118 番目の Arg 残基とタミフルとの水素結合を消失させた。このような機序で NA とタミフルとの相互作用が弱くなり、結果としてウイルスのタミフル感受性が低下すると考えられる (Fig. 2)。このようなタミフルの感受性を低下させる変異は、薬剤の選択圧により生じるだけでなく、ウイルスの流行に伴い偶然生じる場合がある。<sup>14)</sup> パンデミックウイルスの出現に備え、薬剤感受性・耐性に関連する変異を定義しておくこと、またそのような変異を持つウイルスがどのように分布しているかを地球規模で監視することは重要である。

### 4. HA タンパク質を標的とした薬剤

ごく最近 (2014 年)、RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ阻害剤（ファビピラビル）が抗インフルエンザウイルス薬として承認された。HIV 感染症の

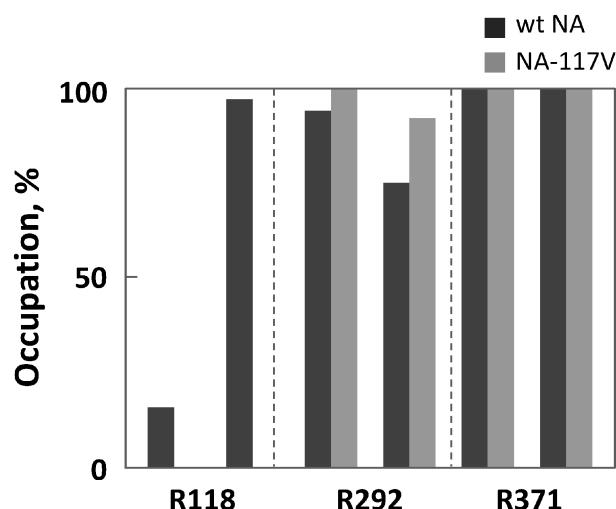


Fig. 2. Percentage Occupation Pattern of Hydrogen Bonds between Oseltamivir and Residues of NA (shown in Fig. 1) for wt and I117V NA

HAART 療法で明らかなように薬剤耐性ウイルスが出現しやすい易変異性 RNA ウイルスの感染症に対抗するためには、異なる作用点を標的とした薬剤を複数準備しておくことが理想である。<sup>15)</sup> ここでは、HA を標的とした薬剤の研究について述べる。

HA はウイルス感染において、①宿主細胞表面にある糖鎖レセプターと結合する、②宿主細胞のエンドソーム膜とウイルス膜を融合させる、という 2 つの機能を持つ。したがって、これらの HA の機能を阻害する化合物があれば、抗インフルエンザ薬の候補となる可能性がある。これまで、糖鎖レセプターと HA の結合を阻害する化合物 (Cyanovirin-N, trisphenol-sialyllactose) や膜融合を阻害する化合物 (TBHQ, BMY-27709, CL-385319, *N*-carboxamide) が報告されている。<sup>16-20)</sup> しかしながら、これらの化合物はある特定の亜型にしか効果がないため、臨床使用には適していない。現状において承認されている抗 HA 薬は、いまだ存在していない。以下、HA 阻害剤に関連するわれわれの研究について、2 つほど述べたい。

**4-1. HA 亜型間交差反応性抗体** HA はホモ 3 量体構造をとり、立体構造上、球状頭部ドメイン (globular head domain) とステムドメイン (stem domain) に分けられる (Fig. 3)。<sup>21)</sup> 球状頭部ドメイン及びステムドメインはそれぞれ、レセプター結合及び膜融合に関する機能を担っている。また、HA は粒子表面に豊富に存在するため、宿主抗体の

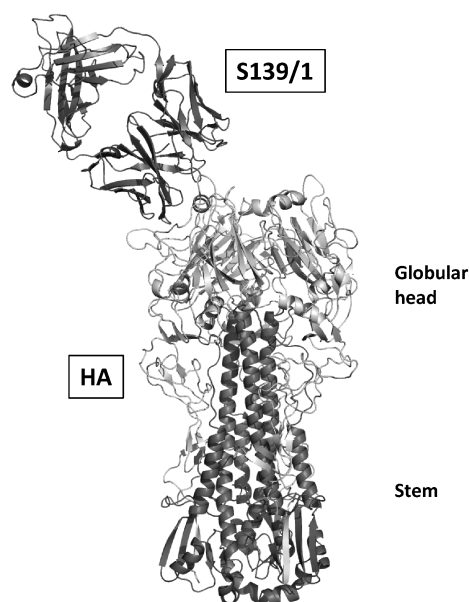


Fig. 3. Crystal Structure of S139/1 Fab in Complex with H3 HA (PDB code: 4GMS)

Table 1. Summary of Broadly Neutralizing Antibodies against Influenza Virus<sup>27)</sup>

| Location | Neutralizing antibodies | Neutralizing breadth                  |
|----------|-------------------------|---------------------------------------|
| Head     | C05                     | H1, H2, H3, H9                        |
|          | S139/1                  | H1, H2, H3, H13, H16                  |
| Stem     | 39.29                   | H1, H2, H3                            |
|          | C179                    | H1, H2, H5, H6, H9 (Group 1)          |
|          | CR6261                  | H1, H2, H5, H9 (Group 1)              |
|          | CR8020                  | H3, H7, H10 (Group 2)                 |
|          | CR9114                  | H1, H2, H5, H6, H8, H9, H12 (Group 1) |
|          |                         | H3, H4, H7, H10 (Group 2)             |
|          | F10                     | H1, H2, H5, H6, H8, H9, H11 (Group 1) |
|          | FI6v3                   | H1, H3, H5, H7                        |

最も主要なターゲットとなっている。しかしながら、ある HA 亜型に対する抗血清は他の HA 亜型にはほとんど反応しない。そのため、これまで亜型間で共通する抗体結合領域 (エピトープ) はほとんど存在しないと考えられてきた。しかしながら最近、幅広い HA 亜型を認識する抗 HA 抗体が相ついで報告されている (Table 1)。<sup>22-28)</sup> このような亜型間交差反応性を示す抗体は、抗体医薬として新型インフルエンザ発生時の治療に、また共通エピトープは万能ワクチン設計や抗 HA 薬の標的として応用できる可能性がある。

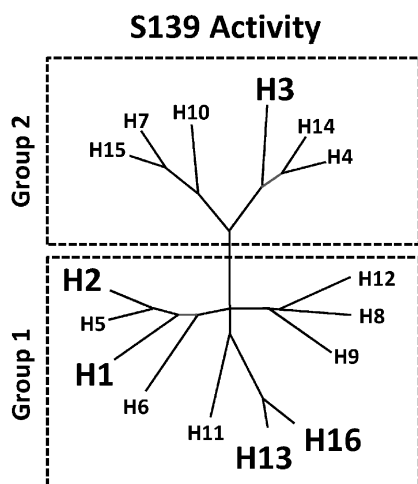


Fig. 4. Phylogenetic Tree with HA Subtypes Neutralized by S139/1

筆者らのグループは、進化系統学に異なる HA 亜型を認識するモノクローナル抗体 S139/1 を作出し、報告した.<sup>28)</sup> この抗体は、A/Aichi/2/1968 (H3N2) 株を用いて作出され、H1, H2, H3, H13 及び H16 亜型のウイルス株に対して、HI 活性及び中和活性を示す (Fig. 4). エスケープ変異の位置とホモロジーモデリング法による構造解析から、この抗体のエピトープは HA の球状頭部ドメインにあるレセプター結合領域近傍にあることが示唆された。その後、H3 HA (A/Victoria/3/1975 株) と S139/1 との共結晶構造が解かれ、S139/1 はレセプター結合領域を覆うように結合していることが明らかとなった (Fig. 3).<sup>29)</sup> われわれは、様々な亜型に結合する S139/1 の分子認識機構をさらに詳細に理解することを目的とし、この共結晶構造を基に HA と S139/1 との分子間相互作用を計算科学的手法により解析した。

具体的には Table 2 に示す 8 つの亜型の HA と S139/1 との複合体構造に対して、20 ns の MD 計算を行った (MD 計算の詳細な条件は Table 3 に示す)。wt 以外の計算の初期構造は、ホモロジーモデリング法により構築した。その後 MD 計算の結果を用いて、MM/GBSA 法により結合自由エネルギーを計算した。Figure 5 に示すように S139/1 により中和される株の HA は S139/1 と強く結合し、中和されない株では S139/1 との結合が弱いという結果が得られた。すなわち得られた結合自由エネルギーは、実験結果を定性的によく再現することを示して

Table 2. Neutralization Breadth of Influenza HA Strains by S139/1<sup>29)</sup>

| Abbreviation | Strain names                            | Neutralization |
|--------------|---|----------------|
| wt           | A/Victoria/3/1975 (H3N2)                | ○              |
| PR8          | A/Puerto Rico/8/1934 (H1N1)             | ×              |
| H1pdm        | A/California/04/2009 (H1N1)             | ×              |
| Adachi       | A/Adachi/2/1957 (H2N2)                  | ○              |
| Aichi        | A/Aichi/2/1968 (H3N2)                   | ○              |
| H6           | A/turkey/Massachusetts/3740/1965 (H6N2) | ×              |
| H9           | A/swine/Hong Kong/10/1998 (H9N2)        | ×              |
| H13          | A/gull/Maryland/704/1977 (H13N6)        | ○              |

Table 3. General Parameters for Molecular Dynamics Simulations in This Study

|                 |         |
|-----------------|---------|
| MD program      | AMBER12 |
| Force Field     | FF99SB  |
| Simulation time | 20.0 ns |
| Temperature     | 310 K   |
| Ensemble        | NPT     |
| Time step       | 2 fs    |
| Solvent         | TIP3P   |
| Cutoff          | 10 Å    |
| PME             | on      |

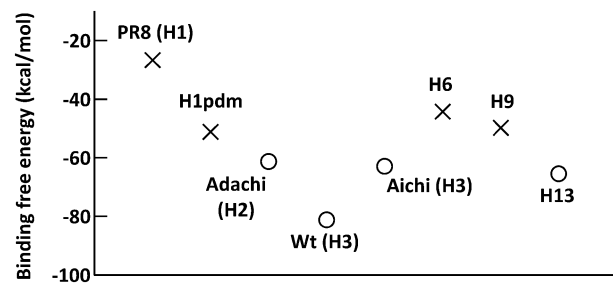


Fig. 5. Calculated Binding Free Energies of S139/1 to Different HAs

(○) and (×) denote the virus strains that were neutralized and not neutralized by S139/1, respectively.

いる。現在、残基間レベルでの相互作用解析 (decomposition 解析) を行い、より詳細に S139/1 の分子認識機構を調べている。

**4-2. スタキフリン** スタキフリンは塩野義製薬のグループにより単離された天然化合物である。スタキフリンは、H1 及び H2 亜型のインフルエンザウイルスに対して増殖抑制効果を示すが、H3 亜型のウイルスに対して増殖抑制効果を示さな

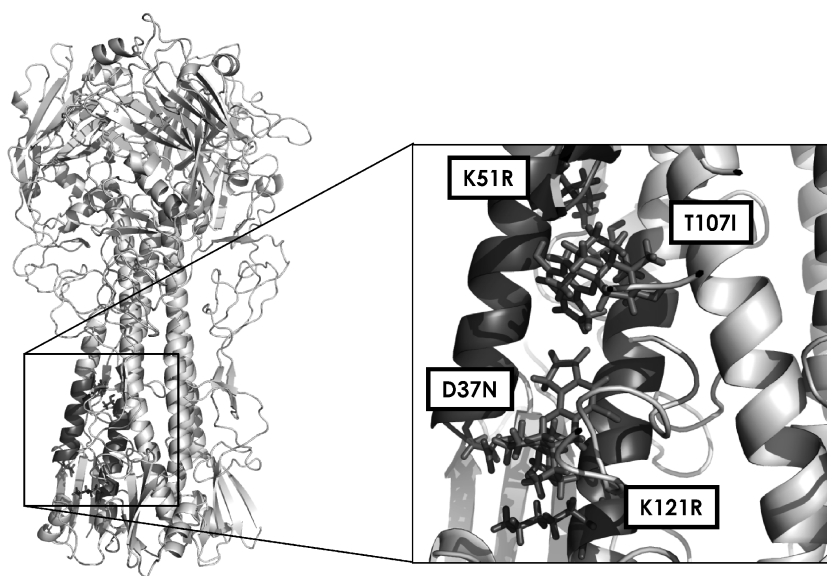


Fig. 6. The Predicted Docking Model of Stachyflin with the H5 HA

い.<sup>30-33)</sup> われわれは、H1, H2, H3 亜型以外のウイルス（つまり H4-H16 亜型）に対するスタキフリンの抑制効果を調べた。<sup>34)</sup> その結果、スタキフリンは H5 及び H6 亜型のウイルスに対しても増殖抑制効果を示すことが明らかになった。一方阻害メカニズムについて、スタキフリンが HA の膜融合機能を阻害することは知られているが、分子論的阻害機構の詳細は明らかではない。そこでわれわれは、様々な亜型の HA の立体構造をホモロジーモデリング法により構築し、それらの構造に対してスタキフリンのドッキングシミュレーションを行った（Fig. 6）。その結果、HA のステムドメインに D37, K51, T107, K121 のアミノ酸残基で構成される cavity が存在し、この空隙にスタキフリンが結合していることが予測された。この cavity を構成する残基はスタキフリン感受性株と非感受性株で異なることも確認できた。Yanagita らは、H1 亜型の HA に対してスタキフリンのドッキングシミュレーションを行った。<sup>35)</sup> われわれが予測した結合構造は、彼らが予測したものと類似していた。彼らは、さらにスタキフリンのファーマコフォアモデルを用いて、*in silico* スクリーニングを行い、HA 阻害剤の候補化合物についても報告している。今後も HA を標的とした薬剤の開発に向け、更なる研究が望まれる。

## 5. おわりに

薬剤・ワクチンを用いた感染症のコントロールに

おいて、病原体を原子・分子レベルの視点で理解することは極めて重要である。本稿では計算科学的手法を用いた研究について紹介したが、これらはすべてフィールド研究や実験科学的研究との共同研究である。はじめに述べたように、人獣共通感染症をコントロールするためには、様々な生物学的階層での研究が必要である。計算科学、実験科学、生態学等、様々な階層での研究が有機的につながり、感染症研究が発展していくことを切に願う。

**謝辞** 本稿に記述した研究は、東京大学医科学研究所の河岡義裕教授、北海道大学人獣共通感染症リサーチセンターの喜田 宏教授、高田礼人教授を始め、数多くの方々と共同研究です。誌面の都合上、全員のお名前を挙げることはできませんが、共同研究に携わって下さったすべての皆様に、心から感謝申し上げます。

**利益相反** 開示すべき利益相反はない。

## REFERENCES

- 1) Fouchier R. A. M., Munster V., Wallensten A., Bestebroer T. M., Herfst S., Smith D., Rimmelzwaan G. F., Olsen B., Osterhaus A. D. M. E., *J. Virol.*, **79**, 2814-2822 (2005).
- 2) Webster R. G., Bean W. J., Gorman O. T.,

- Chambers T. M., Kawaoka Y., *Microbiol. Rev.*, **56**, 152–179 (1992).
- 3) Garten R. J., Davis C. T., Russell C. A., Shu B., Lindstrom S., Balish A., Sessions W. M., Xu X., Skepner E., Deyde V., Okomo-Adhiambo M., Gubareva L., Barnes J., Smith C. B., Emery S. L., Hillman M. J., Rivaller P., Smagala J., de Graaf M., Burke D. F., Fouchier R. A., Pappas C., Alpuche-Aranda C. M., Lopez-Gatell H., Olivera H., Lopez I., Myers C. A., Faix D., Blair P. J., Yu C., Keene K. M., Dotson P. D. Jr., Boxrud D., Sambol A. R., Abid S. H., St. George K., Bannerman T., Moore A. L., Stringer D. J., Blevins P., Demmler-Harrison G. J., Ginsberg M., Kriner P., Waterman S., Smole S., Guevara H. F., Belongia E. A., Clark P. A., Beatrice S. T., Donis R., Katz J., Finelli L., Bridges C. B., Shaw M., Jernigan D. B., Uyeki T. M., Smith D. J., Klimov A. I., Cox N. J., *Science*, **325**, 197–201 (2009).
- 4) Horimoto T., Kawaoka Y., *Nat. Rev. Microbiol.*, **3**, 591–600 (2005).
- 5) Kilbourne E. D., *J. Infect. Dis.*, **176** (Suppl. 1), S29–S31 (1997).
- 6) Fouchier R. A. M., Schneeberger P. M., Rozendaal F. W., Broekman J. M., Kemink S. A. G., Munstert V., Kuiken T., Rimmelzwaan G. F., Schutten M., van Doornum G. J. J., Koch G., Bosman A., Koopmans M., Osterhaus A. D. M. E., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 1356–1361 (2004).
- 7) Gao R. B., Cao B., Hu Y. W., Feng Z. J., Wang D. Y., Hu W. F., Chen J., Jie Z. J., Qiu H. B., Xu K., Xu X. W., Lu H. Z., Zhu W. F., Gao Z. C., Xiang N. J., Shen Y. Z., He Z. B., Gu Y., Zhang Z. Y., Yang Y., Zhao X., Zhou L., Li X. D., Zou S. M., Zhang Y., Li X. Y., Yang L., Guo J. F., Dong J., Li Q., Dong L. B., Zhu Y., Bai T., Wang S. W., Hao P., Yang W. Z., Zhang Y. P., Han J., Yu H. J., Li D. X., Gao G. F., Wu G. Z., Wang Y., Yuan Z. H., Shu Y. L., *New Engl. J. Med.*, **368**, 1888–1897 (2013).
- 8) Peiris M., Yuen K. Y., Leung C. W., Chan K. H., Ip P. L. S., Lai R. W. M., Orr W. K., Shortridge K. F., *Lancet*, **354**, 916–917 (1999).
- 9) Subbarao K., Klimov A., Katz J., Regnery H., Lim W., Hall H., Perdue M., Swayne D., Bender C., Huang J., Hemphill M., Rowe T., Shaw M., Xu X. Y., Fukuda K., Cox N., *Science*, **279**, 393–396 (1998).
- 10) Hay A. J., Wolstenholme A. J., Skehel J. J., Smith M. H., *EMBO J.*, **4**, 3021–3024 (1985).
- 11) Moscona A., *Annu. Rev. Med.*, **59**, 397–413 (2008).
- 12) Le Q. M., Kiso M., Someya K., Sakai Y. T., Nguyen T. H., Nguyen K. H. L., Pham N. D., Ngyen H. H., Yamada S., Muramoto Y., Horimoto T., Takada A., Goto H., Suzuki T., Suzuki Y., Kawaoka Y., *Nature*, **438**, 754–754 (2005).
- 13) Takano R., Kiso M., Igarashi M., Le Q. M., Sekijima M., Ito K., Takada A., Kawaoka Y., *J. Infect. Dis.*, **207**, 89–97 (2013).
- 14) Rameix-Welti M. A., Agou F., Buchy P., Mardy S., Aubin J. T., Veron M., van der Werf S., Naffakh N., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **50**, 3809–3815 (2006).
- 15) Finzi D., Hermankova M., Pierson T., Caruth L. M., Buck C., Chaisson R. E., Quinn T. C., Chadwick K., Margolick J., Brookmeyer R., Gallant J., Markowitz M., Ho D. D., Richman D. D., Siliciano R. F., *Science*, **278**, 1295–1300 (1997).
- 16) Feng F., Miura N., Isoda N., Sakoda Y., Okamatsu M., Kida H., Nishimura S. I., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **20**, 3772–3776 (2010).
- 17) Luo G. X., Torri A., Harte W. E., Danetz S., Cianci C., Tiley L., Day S., Mullaney D., Yu K. L., Ouellet C., Dextraze P., Meanwell N., Colonno R., Krystal M., *J. Virol.*, **71**, 4062–4070 (1997).
- 18) O’Keefe B. R., Smee D. F., Turpin J. A., Saucedo C. J., Gustafson K. R., Mori T., Blakeslee D., Buckheit R., Boyd M. R., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **47**, 2518–2525 (2003).
- 19) Plotch S. J., O’Hara B., Morin J., Palant O., LaRocque J., Bloom J. D., Lang S. A., DiGrandi M. J., Bradley M., Nilakantan R., Gluzman Y., *J. Virol.*, **73**, 140–151 (1999).
- 20) Vanderlinden E., Goktas F., Cesur Z., Froeyen M., Reed M. L., Russell C. J., Cesur N., Naesens L., *J. Virol.*, **84**, 4277–4288 (2010).
- 21) Wilson I. A., Skehel J. J., Wiley D. C., Na-

- ture, **289**, 366–373 (1981).
- 22) Corti D., Voss J., Gamblin S. J., Codoni G., Macagno A., Jarrossay D., Vachieri S. G., Pinna D., Minola A., Vanzetta F., Silacci C., Fernandez-Rodriguez B. M., Agatic G., Bianchi S., Giacchetto-Sasselli I., Calder L., Salustio F., Collins P., Haire L. F., Temperton N., Langedijk J. P., Skehel J. J., Lanzavecchia A., *Science*, **333**, 850–856 (2011).
- 23) Ekiertand D. C., Wilson I. A., *Curr. Opin. Virol.*, **2**, 134–141 (2012).
- 24) Nakamura G., Chai N., Park S., Chiang N., Lin Z., Chiu H., Fong R., Yan D., Kim J., Zhang J., Lee W. P., Estevez A., Coons M., Xu M., Lupardus P., Balazs M., Swem L. R., *Cell Host Microbe*, **14**, 93–103 (2013).
- 25) Sakabe S., Iwatsuki-Horimoto K., Horimoto T., Nidom C. A., Le M., Takano R., Kubota-Koketsu R., Okuno Y., Ozawa M., Kawaoka Y., *Antiviral Res.*, **88**, 249–255 (2010).
- 26) Sui J., Hwang W. C., Perez S., Wei G., Aird D., Chen L. M., Santelli E., Stec B., Cadwell G., Ali M., Wan H., Murakami A., Yamanuru A., Han T., Cox N. J., Bankston L. A., Donis R. O., Liddington R. C., Marasco W. A., *Nat. Struct. Mol. Biol.*, **16**, 265–273 (2009).
- 27) Sun J., Kudahl U. J., Simon C., Cao Z., Reinherz E. L., Brusica V., *Front. Immunol.*, **5**, 38 (2014).
- 28) Yoshida R., Igarashi M., Ozaki H., Kishida N., Tomabeche D., Kida H., Ito K., Takada A., *Plos Pathog.*, **5**, e1000350 (2009).
- 29) Lee P. S., Yoshida R., Ekiert D. C., Sakai N., Suzuki Y., Takada A., Wilson I. A., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **109**, 17040–17045 (2012).
- 30) Yagi S., Ono J., Yoshimoto J., Sugita K., Hattori N., Fujioka T., Fujiwara T., Sugimoto H., Hirano K., Hashimoto N., *Pharm. Res.*, **16**, 1041–1046 (1999).
- 31) Yoshimoto J., Kakui M., Iwasaki H., Fujiwara T., Sugimoto H., Hattori N., *Arch. Virol.*, **144**, 865–878 (1999).
- 32) Yoshimoto J., Kakui M., Iwasaki H., Sugimoto H., Fujiwara T., Hattori N., *Microbiol. Immunol.*, **44**, 677–685 (2000).
- 33) Yoshimoto J., Yagi S., Ono J., Sugita K., Hattori N., Fujioka T., Fujiwara T., Sugimoto H., Hashimoto N., *J. Pharm. Pharmacol.*, **52**, 1247–1255 (2000).
- 34) Motohashi Y., Igarashi M., Okamatsu M., Noshi T., Sakoda Y., Yamamoto N., Ito K., Yoshida R., Kida H., *Virol. J.*, **10**, 118 (2013).
- 35) Yanagita H., Yamamoto N., Fuji H., Liu X. L., Ogata M., Yokota M., Takaku H., Hasegawa H., Odagiri T., Tashiro M., Hoshino T., *ACS Chem. Biol.*, **7**, 552–562 (2012).