

研究成果

抑制 SARS 冠狀病毒藥物之開發及後續發展

翁啟惠 (基因體研究中心特聘研究員兼主任)

許多新興或捲土重來的流行性疾病儼然已成為威脅人類生命健康的迫切問題，例如流行性感冒、禽流感、C 型肝炎病毒、腸病毒、登革熱、愛滋病、結核病，及具有抗藥性的病菌 (VRE, MRSA)。尤以民國 91 年與 92 年間所爆發的嚴重急性呼吸系統症候群 (SARS)，導致 700 多人死亡，更是引發全球性的恐慌。由於 SARS 是由一種變異的冠狀病毒 (coronavirus) 感染所引起的疾病，醫療界對於這種新興病毒所造成的病症，並沒有任何有效的藥物治療，因此更加深民眾的不安。

為加速找出對抗 SARS 病毒的治療藥物，本中心及其他院內外的研究人員，立即組成研究團隊，希望能在最短時間內找到抗 SARS 藥物，同時也藉此建立藥物開發系統。首先採取的策略是收集並合成各種小分子，並建立快速藥物篩選方法 (圖 1)，該工作係與國防大學預醫所詹家琮博士合作，在生物安全第三等級的實驗室中操作，利用顯微鏡觀察細胞是否因 SARS 病毒感染而造成病變現象，來決定所測試的分子是否具有抑制 SARS 病毒的活性。從中遴選出化合物並進行數種實驗，例如透過對感染的抑制、對病毒特有病原產量之降低、減低特定酶的活性及功能、及對宿主細胞是否有毒性，以確認初選得來的 SARS 抑制劑的真實活性。

在與方俊民教授及其他化學生物相關研究同仁合作下，篩選了大約一萬個化合物後，找到 15 種有效對抗 SARS 的小分子，其中包括數種用在保健食品之天然物及已經過臨床試驗的藥物，如降血壓藥物 (蛇根鹼、Reserpine)、抗發炎消腫用藥 (愛新、Aescin、Flogencyl)，及抗寄生蟲劑 (纈氨酸素、Valinomycin)。由於這些藥物有些已經在人體使用多年，可以直接進一步經過人體臨床試驗，來證實其對 SARS 病患治療的臨床效果及安全性，或是進行結構修飾，以開發更有效的抗 SARS 新藥。

在藥物開發過程中，研究團隊也針對 SARS 病毒的特定標的：蛋白質水解酶 (3CL^{pro})，進行結構分析 (由生化所王惠鈞所長主持) 化學生物團隊並設計合成了超過 5,000 個抑制劑。且與林俊宏博士合作研發出一套以組合化學方式在微盤中同時合成高達 96 至 384 種化合物的方法，這種方法不但可大幅度加快化合物的製備速度，又可以在不經純化下，直接以微盤中的合成物來進行篩選，大大加快藥物研發的步調 (圖 2)。在活性篩選方面，與生物化學研究所梁博煌博士合作，利用基因重組方法製備此種蛋白酶，並研發出以螢光共振能量轉移機制 (FRET) 快速測試病毒蛋白酶抑制分子活性的方法。經由高通量的篩選過程，高活性的抑制劑已在四類化合物中找到，其中至少有一類已證實可以抑制 SARS 病毒生長，並且對人類細胞毫無毒性。這些新發現的抑制分子，大部分與 SARS 蛋白質水解酶形成非共價之結合體，但有些化合物是自殺性抑制劑，其作用機制是在進入 SARS 蛋白質水解酶的活性部位時，會與該酵素形成一非共價鍵的中間體，因而產生不可逆抑制，達到抑制病毒複製所必需的蛋白質水解酶的活性。

另一研究方向是瞭解 SARS 病毒的致病機制。由國防大學的陳振漢醫師及本院化學研究所的陳玉如副研究員所設計的以 SARS 患者血漿為研究材料，利用新興的蛋白體學技術，以二維電泳的方式，分離患者血漿中的蛋白質，分析患者與正常人的血漿蛋白圖譜差異，找出在 SARS 患者血漿中表現變異的蛋白質，並利用質譜儀技術，鑑定出這些蛋白質的身分，以期找出 SARS 相關之致病機轉。在分析了 40 個血漿樣本後，發現共有 38 個血漿蛋白質在 SARS 患者中有明顯的表現差異，其中大部分表現增加的蛋白質屬於一種稱為「急性期蛋白」的血漿蛋白，另外一些則為具有抗氧化作用蛋白、蛋白運送、蛋白酶及抑制蛋白等，並發現了一個較特殊的抗氧化蛋白

質—Peroxi-redoxin II，或稱為 Natural Killer Enhancing Factor B，其與溶血現象有密切的關聯性，且可透過 T 淋巴細胞分泌。這些蛋白質大多都與急性發炎反應有關，表示 SARS 的致病機制，可能是透過引發產生嚴重的急性發炎反應以及在肺部所產生的氧傷害，造成 SARS 患者之急性嚴重病情，該研究對未來在 SARS 的診斷及治療計畫的擬定，提供一重要方向。此外，細胞與個體生物學研究所游正博所長及幹細胞研究團隊也發現 SARS 病毒專門侵襲肺部幹細胞，對 SARS 病毒之致病機制有根本的瞭解。

另外在發現的抑制劑中，有一化合物 TL-3 同時能抑制愛滋病及 SARS 病毒之蛋白水解酶，此化合物和蛋白水解酶結合後之詳細構造，正由生化所王惠鈞所長的結構生物學實驗室研究中，將來有機會從結構之角度，將此抑制劑最佳化。又透過與生技中心的合作，TL-3 已完成 GMP 規格的量產與動物安全及毒理、藥理試驗，將可申請新藥臨床試驗許可 (IND)，以進入人體試驗。

基因體中心在對抗 SARS 病毒來襲的研究中，已對新藥開發建立了基礎，藉此機會逐漸建立強大的化合物資料庫，並發展多種快速活性試驗及藥物篩選的方法和以結構為主的藥物設計。同時，也建立三級生物安全實驗室，將來基因體中心可依此模式與其他單位合作，進行其他新藥研發工作，並借重國內臨床醫學研究生技中心之動物實驗與 GMP 規格之設備，以及工研院的技術開發，建立整個新藥研發之大環境，持續開創及扶植新創公司，發展新產品，以期進入國際市場。

參考資料

1. Wu CY, et. al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 10012-10017.
2. Chen JH, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 17039-17044.
3. Chang CF, et. al., *Chem. Biol.* **2004**, *11*, 1301-1306.
4. Shie JJ, et. al., *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4469-4473.

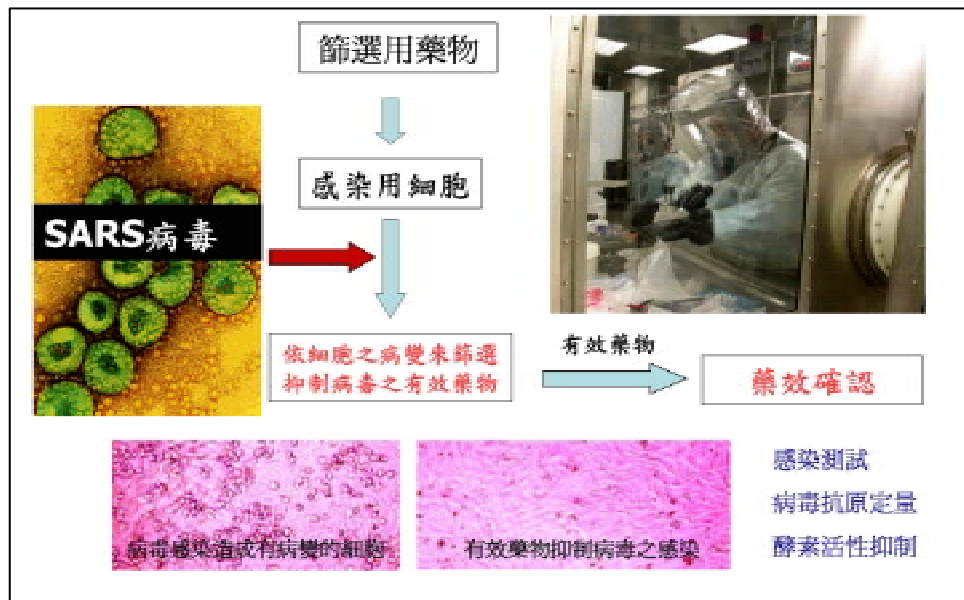


圖 1 抗 SARS 藥物篩選之技術平台。

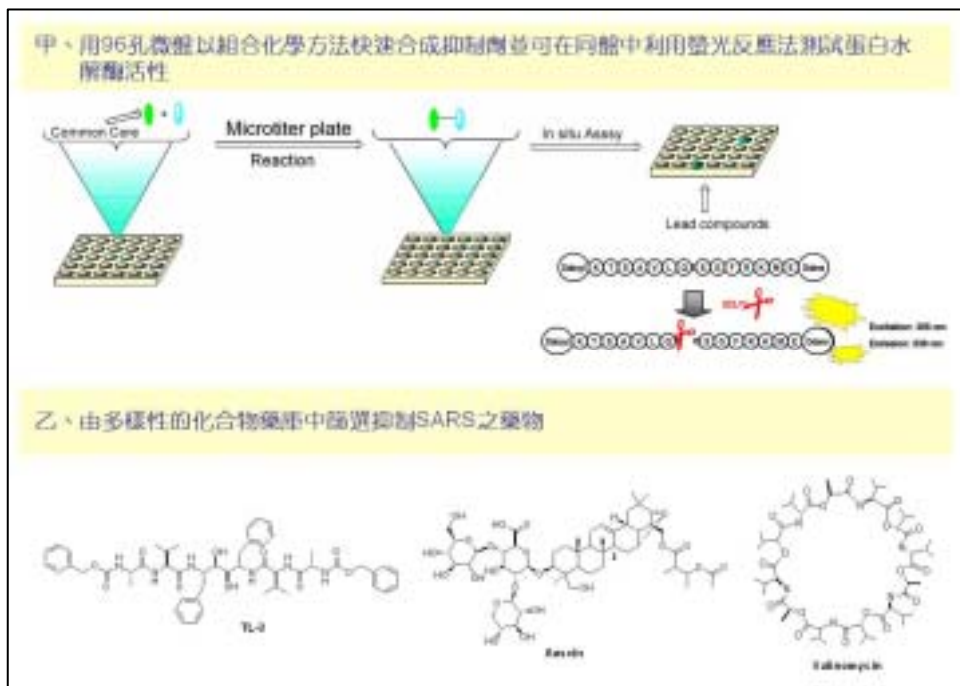


圖 2 (甲) SARS 蛋白水解酶的抑制劑篩選方法及快速活性試驗；(乙) 以病毒活性試驗篩選出之藥物。