

# 抗 Dengue ウイルス薬開発にむけた探索研究

申請代表者	日紫喜隆行	京都大学ウイルス研究所	助教
所外共同研究者	五十嵐樹彦	京都大学ウイルス研究所	教授
所外共同研究者	加藤 文博	京都大学ウイルス研究所	大学院生

## ■背景・目的

Dengue ウイルス (DENV) はフラビウイルス科に属する RNA ウイルスで、蚊によって媒介され年間 1 億人が熱性疾患の Dengue 熱を、50 万人が致死的疾患の Dengue 出血熱を引き起こすと推定されている。東南アジアや中南米などの熱帯地域で大きな流行を繰り返しているが、未だ治療薬やワクチンはなく新規開発が重要な課題とされている。

本研究では抗 DENV 薬開発のための基盤研究として、生薬由来成分を用いて抗 DENV 活性を有する成分の探索と性状解析を行なった。

## ■結果・考察

ウイルスは C6/36 細胞を用いて増やしたものを使用した。生薬由来ライブラリーは本プロジェクトにて提供されたものを（生薬由来化合物 95 種、生薬エキス 120 種）、生薬由来化合物が 10  $\mu$ M、生薬エキスが 100 ng/ $\mu$ l にて使用した。1 次スクリーニングとして、感染性ウイルスを A549 細胞と Huh7.5 細胞に感染させ、抗エンベロープ抗体を用いて検出するフォーカス法を行なった。1 次スクリーニングの結果から 20 種についてフォーカスの消失または減少が認められた。続いて 2 次スクリーニングとして MTT アッセイを行ないそれぞれの細胞に対する細胞毒性を評価した。その結果、20 種のうち 13 種について細胞毒性が低いことが示された。続いて 3 次スクリーニングとして、ウイルスを感染させた A549 細胞に 13 種の化合物をそれぞれ添加し、感染 72 時間後の培養上清中のウイルス力価をプラークアッセイによって解析したところ、8 種が顕著な抗ウイルス活性を示す事が明らかとなった。

現在、それぞれの有効濃度を測定するとともに、Time of addition や我々が独自に構築したレポーターレプリコンの系を用いてウイルス複製のどの過程に作用しているか解析を進めている。また、今回のスクリーニングでは DENV の 4 つある血清型のうち 1 つ（DENV-1 型）を用いているため、全ての血清型の DENV に対する抗ウイルス活性を解析することを計画している。さらに今後、生薬による抗ウイルス機構についてウイルス側・宿主側の両面から詳細な解析を行なっていく予定である。

## ■結論

本プロジェクトによって生薬由来成分中に抗 DENV 活性を示す物質が存在する事が明らかとなった。本研究は生薬の新たな可能性を示唆するとともに、抗 DENV 薬開発の一助になることが期待される。