

抗 Dengue ウイルス薬の探索研究

申請代表者	田 雨時	大阪大学大学院情報科学研究科 (現 大阪大学大学院薬学研究科)	特任助教
所外共同研究者	高木 達也	大阪大学大学院薬学研究科	教授
所外共同研究者	川下理日人	大阪大学大学院薬学研究科 (現 近畿大学理工学部)	助教
所外共同研究者	松田 仁志	大阪大学大学院薬学研究科	大学院生

■背景・目的

ウイルス感染症は、医学、薬学、公衆衛生学などにおいては重要な研究課題である。ウイルス感染による死亡者数は、年々増加している。ウイルスの変異等は、しばしば、新型致死ウイルスの出現を誘発するため、高病原性ウイルスの出現を危惧しながら研究しているのが現状である。本研究では、世界中で流行している Dengue ウイルスに注目した。WHO の推定によると Dengue ウイルスは毎年約 5000 万人に感染し、時に、Dengue ウイルス感染に伴う Dengue ショックや Dengue 出血熱などの重篤な臨床症状を引き起こすため、感染者が重篤化するリスクを低下させる、有効な治療薬の同定が求められている。Dengue ウイルスの治療薬探索は様々な角度より行われているが、本報告書を書く時点で Dengue ウイルスの治療薬の承認は報告例がない。本申請課題は、生薬成分から Dengue ウイルスの NS2B/NS3 プロテアーゼ阻害能を見出し、評価することを目的とした。

■結果・考察

富山大学 和漢医薬学総合研究所より提供して頂いた 3 種類の試料セット (A) 生薬由来化合物 96 種類、B) 生薬エキス 120 種類及び C) 漢方方剤エキス 42 種類) を当研究グループが樹立した Dengue ウイルス NS2B/NS3 プロテアーゼ阻害能の評価系で評価した。

本評価系は NS2B/NS3 複合体と基質を反応する系であり、阻害剤がない場合または阻害活性を有する化合物が存在しない場合、基質が切断され、波長 440 nm の蛍光を発する。対象化合物と反応系を混合することによる蛍光光度の減少が観測できれば、阻害活性を有すると判断できる簡便な方法である (詳細の説明は研究計画書と活性試験結果に参照)。上記の試料を 0.03 mg/mL となるように、調整した後、反応系と混合し、試料の阻害活性を評価した。

阻害能について、ネガティブコントロールを 100、ポジティブコントロールを 0 と定義する場合、75 以下を示す試料の数は 2 (試料セット A: Aconitine, Atractylenolide III)、67 (試料セット B)、0 (試料セット C) であり、50 以下を示す試料の数は 0 (試料セット A)、26 (試料セット B)、0 (試料セット C) であった。

生薬含有化合物に関しては、全体的に活性を示していなかったが、Aconitine の阻害能は 55、Atractylenolide III の阻害能は 64 であり、ポジティブコントロールの半分弱程度の阻害活性を有すると示した。50 以下を示す試料は 26 種類もあり、生薬含有成分の相加 / 相乗効果による阻害活性の増大があったと考えられる。一方、漢方方剤エキスに関しては、すべての試料で活性を示さなかった。本研究手法は簡便ではあるが、以下の限界があるため、結果のさらなる分析が必要である：1. 細胞

毒性を評価していない。2. In vitro の実験系である。3. DENV-2 型由来のプロテアーゼしか検討していない。4. 試料成分自体が波長 440 nm の付近の蛍光を発するまたは蛍光を遮蔽する場合、結果は偽陰性、偽陽性となる可能性がある。今後、ウイルスにおける阻害効果や細胞毒性の評価を追加し、更なる検討が必要である。

■結論

本プロジェクトは、生薬成分のデングウイルス NS2B/NS3 プロテアーゼ阻害活性の有無に焦点をあて、検討を行った。生薬由来化合物中、2種類が弱阻害活性を示した。また、生薬エキスに関しては、複数種が本評価系において、阻害活性を示し、有効成分の相加 / 相乗効果の可能性が示唆された。本研究は、生薬及びその成分が抗デングウイルス活性を有することを基礎的に立証したが、更なる検討により、抗デング薬の開発につなげたい。