

ケンドラ ライニ サンドラ

論文内容の要旨

主 論 文

The novel therapeutic target and inhibitory effects of PF-429242 against
Zika virus infection

ジカウイルス感染防御に資する新規宿主標的の同定と PF-429242 の抗ウイルス効果

Sandra Kendra Raini, 高松由基, Shyam Prakash Dumre, 浦田秀造,
水上修作, Meng Ling Moi, 早坂大輔, 井上真吾, 森田公一,
Mya Myat Ngwe Tun

Antiviral Research, in press

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科新興感染症病態制御学系専攻
(主任指導教員：森田公一教授)

緒 言

ジカウイルスはフラビウイルス科に属するアルボウイルスであり、再興感染症ウイルスの一つである。このウイルスはアフリカ起源とされており、近年従来の生息地であったアフリカ・アジアに加えて中南米の熱帯地域に侵入して大きな健康被害が発生した。この流行では神経系の症状が顕著であり、とくに妊婦が感染した場合には小頭症の発生が報告されワクチンや抗ウイルス薬の開発は喫緊の課題である。細胞内脂質は SREBPs (sterol regulatory element-binding proteins) によって制御されているがその動態はフラビウイルス感染における病原性の発現と深くかかわっていることが知られている。一方、PF-429242 は SREBPs の標的遺伝子の発現を制御する S1P(site-1 protease)の活性を抑制することが報告されている。本研究では予備実験において PF-429242 がフラビウイルスの一つであるジカウイルスに対して抗ウイルス作用を認めした結果に基づき、その抗ウイルス作用の分子基盤を複数の系統のジカウイルス株を用いて明らかにすることを目的とした。

対象と方法

ジカウイルス株はアフリカ遺伝子型株 (ZIKVMR-766)、およびアジア遺伝子型株 (ZIKVH/PF 2013 and ZIKV PRVABC59) を用いた。細胞は下記のヒト、類人猿、ハムスター由来培養細胞を用いた。HeLa (ヒト子宮癌), SK-N-SH (ヒト神経膠腫), T98G (ヒトグリオブラストーマ), HEPG2 (ヒト肝臓), HEK293 (ヒト腎臓), U-87MG (ヒトグリオブラストーマ), Vero (サル), BHK-21 (ハムスター) 細胞である。細胞毒性試験は MTT 法により CC50 を算出して評価した。ウイルス増殖抑制の評価は溶液中の感染性ウイルス量をプラークアッセイ法、またウイルス遺伝コピー数をリアルタイム RT-PCR 法により実施した。脂質の定量は細胞を BD Cytofix/Cytoperm™ solution で固定したのちトリプシン処理等を行った後、BODIPY 493/503 (4, 4-difluoro-1, 3, 5, 7, 8-pentamethyl-4-bora-3a, 4a-diaza-s-indacene) で染色しフローサイトメーターにより計測した。解析データの有意差の判定には t-検定を用いた。

結 果

PF-429242 は神経細胞由来の培養細胞 (T98G, U-87MG, SK-N-SH) と単核球細胞において効果的にジカウイルスの増殖を抑制し、抗ウイルス薬としての可能性が示唆された。神経系培養細胞においては $12\ \mu\text{M}$ 、単核球細胞では $30\ \mu\text{M}$ の濃度で強いウイルス増殖抑制が確認された。またこのウイルス増殖作用は使用したアフリカ遺伝子型、アジア遺伝子型ウイルスの全てで同様の効果が確認できた。感染細胞における脂質の定量的解析ではジカウイルス感染により、細胞内の脂質生成が増加していることが明らかになった。また培養液へのコレステロール添加実験ではジカウイルスの複製がブロックされた。一方で、培養液にオレイン酸を添加するとジカウイルスの増殖が増加した。そして、脂質合成素材剤であるフェノフィブラートでもジカウイルスの増殖は抑制された。

考 察

本研究結果は脂質代謝を標的とする抗ジカウイルス薬開発の可能性を示唆している。さらに、今回検証した PF-429242 は低毒性、神経系細胞への保護作用があり多くのウイルスに増殖抑制効果が期待されることから、抗ウイルス薬としての実用感化の可能性も今後検討する