

令和元年6月28日現在

機関番号：33304

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09948

研究課題名(和文) -ヘルペスウイルス感染症の予防と治療に向けたTricinの応用

研究課題名(英文) An applicable study of tricin for prevention and treatment of alphaherpesviral infections diseases

研究代表者

武本 眞清 (Takemoto, Masaya)

北陸大学・薬学部・講師

研究者番号：60379237

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円

研究成果の概要(和文)：水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)や単純ヘルペスウイルス(HSV)などのヘルペスウイルスによる感染症には、急性網膜壊死(ARN)のように、第一選択薬であるacyclovir(ACV)が十分に効かない疾患も存在する。そこで強い抗ウイルス作用をもつフラボノイドであるtricinが、ACVを代替あるいは補助する薬となる可能性を検討した。ARNの発症機序モデルとして、VZVを感染させたヒト網膜Muller細胞株において、IL-8やMMP-13の産生上昇が起きることをまず確認した。そしてACVおよびtricinの抗ウイルス効果・抗炎症効果を同細胞で比較したところ、tricinにより強い作用が見出された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究により、これまでに不明であったARNの発症機序の一端として、ウイルスに感染した網膜Muller細胞から産生されるケモカインやプロテアーゼの関与の可能性が示唆された。またACVでは同細胞でのウイルス増殖を完全に抑制することはできなかった。このことはACV単剤ではARNの進行を止められないことと符合する。さらに天然のフラボノイドであるtricinが、ACVよりも強い抗ウイルス効果・抗炎症効果を網膜Muller細胞で示すことを明らかにした。このことは、現在のARNの治療成績を改善する新たな治療薬候補となる可能性があり、臨床上大きな意義を持つ成果といえる。

研究成果の概要(英文)： Alphaherpesviruses such as varicella-zoster virus (VZV) and herpes simplex virus (HSV) occasionally cause severe infectious diseases like acute retinal necrosis (ARN) for which acyclovir (ACV) is not enough effective. In the present study, I addressed the applicable possibility that a flavonoid, tricin, exhibiting a potent antiviral activity could be an alternative or supportive drug of ACV. I found human retinal Muller cell line as a in vitro model of pathogenesis of ARN in which production of several inflammatory factors including IL-8 and MMP-13 was increased in response to VZV infection. Furthermore, it was demonstrated that tricin showed stronger antiviral and antiinflammatory effects than ACV in the infected cells. These results suggest that tricin could be a promising candidate of an alternative or supportive drug of ACV in the treatment of ARN.

研究分野：ウイルス学

キーワード：水痘帯状疱疹ウイルス 単純ヘルペスウイルス tricin

M1 上清において IL-8 の顕著な上昇を認めた。一方、ARPE-19 からは VZV 感染特異的なケモカイン産生増強は見られなかった (図 1)。

VZV 感染 MIO-M1 上清に対する末梢血顆粒球の遊走：IL-8 受容体 (CXCR1, CXCR2) を発現する好中球 (末梢血顆粒球の 90%) が、実際に VZV 感染 MIO-M1 上清に対して遊走することを確認した。一方、VZV 感染 ARPE-19 や HSV-1 感染 MIO-M1 上清の顆粒球遊走活性は、VZV よりも低かった (図 2, HSV-1 は図なし)。

MIO-M1 細胞における VZV 感染特異的な MMP-13 等の産生上昇：*in vivo* を想定した場合、好中球の浸潤が起きるためには BRB の破壊が前提として必要である。そこで 34 種類のヒトプロテアーゼを Proteome Profiler Human Protease Array Kit (R&D SYSTEMS) を用いて測定したところ、既に BRB の破壊に関与するとの報告のある MMP-1、MMP-3、MMP-9 に加えて、MMP-13 の顕著な上昇が VZV 感染特異的に観察された (図 3)。

上記の実験結果から、VZV 感染に対する炎症性応答は ARPE-19 よりも MIO-M1 の方が強く、ARN においても RPE ではなく Müller 細胞の方が感染応答と炎症誘導の主体としてはたらいっている可能性が強く示唆された。

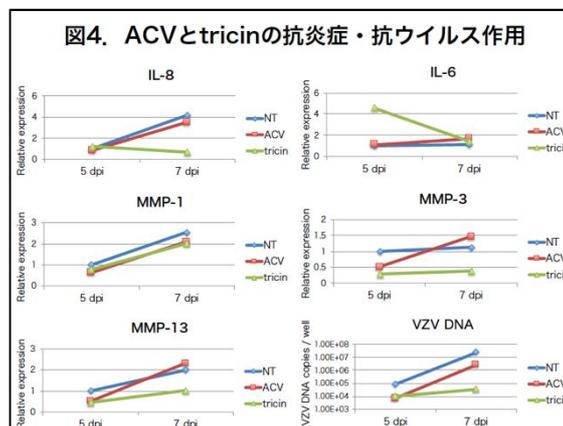
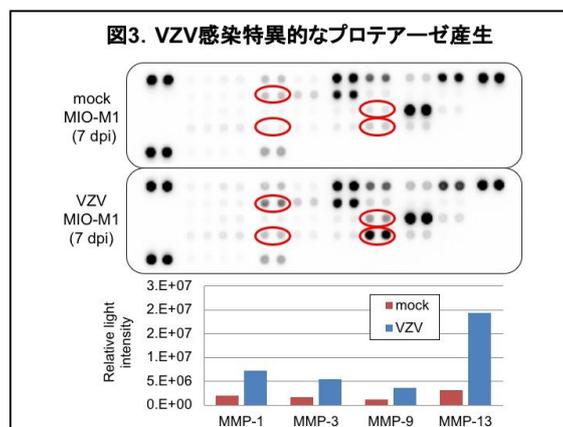
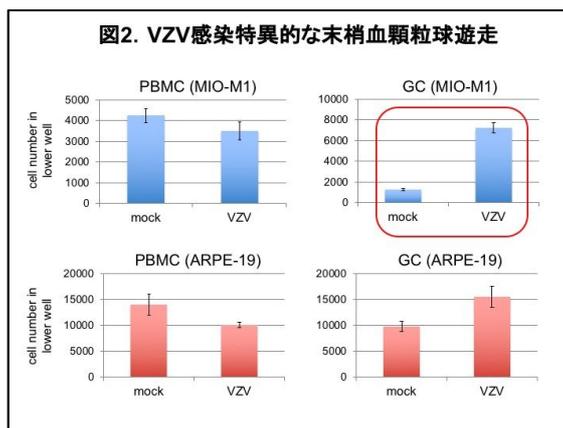
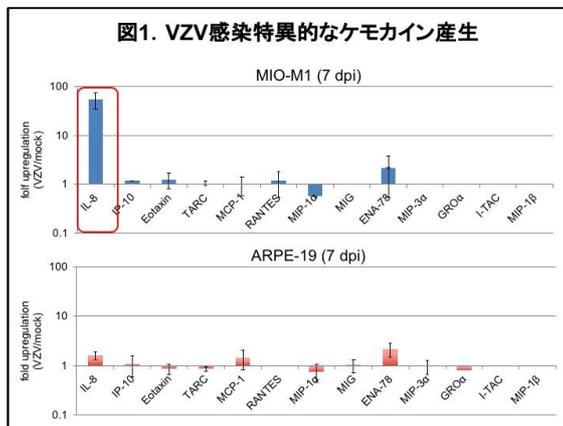
MIO-M1 における triclin の ACV よりも強い抗炎症・抗ウイルス作用：VZV 感染 MIO-M1 細胞に対して、ACV および triclin を終濃度 10 μ M となるように添加し、7 日後に炎症性遺伝子発現を real-time RT-PCR により、VZV DNA を real-time PCR により定量した。ACV では上記因子の発現上昇が抑えられなかったのに対して、triclin では IL-8、MMP-3、MMP-13 の発現上昇が抑えられることが明らかとなった。また VZV DNA 複製に対しても、MIO-M1 では ACV よりも triclin の方が強く抑制するという結果が得られた (図 4)。

本研究結果より、ARN 発症機序として Müller 細胞がウイルス感染標的となり、炎症反応を誘導している可能性が示唆された。さらに MIO-M1 細胞では triclin の抗ウイルス効果は ACV を上回り、炎症性遺伝子発現までも抑制できたことから、triclin は ACV よりも優れた ARN 治療薬候補となる可能性が示された。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

Hidetaka Sadanari, Kazuhiro J. Fujimoto, Yuto Sugihara, Tomoki Ishida, Masaya Takemoto, Tohru Daikoku, Tsugiya Murayama. The anti-human cytomegalovirus drug



tricin inhibits cyclin-dependent kinase 9. FEBS Open Bio. 2018. vol 20. p646-654.
DOI: 10.1002/2211-5463.12398.

Akimasa Itho, Hidetaka Sadanari, Masaya Takemoto, Keiko Matsubara, Tohru Daikoku, Tsugiya Murayama. Tricin inhibits CCL5 induction required for the efficient growth of human cytomegalovirus. Microbiol Immunol. 査読あり. 2018. vol 62. p341-347.
DOI: 10.1111/1348-0421.12590.

Kazuhiro J. Fujimoto, Daiki Nema Masayuki Ninomiya, Mamoru Koketsu, Hidetaka Sadanari, Masaya Takemoto, Tohru Daikoku, Tsugiya Murayama. An in silico-designed flavone derivative, 6-fluoro-4'-hydroxy-3',5'-dimethoxyflavone, has a greater anti-human cytomegalovirus effect than ganciclovir in infected cells. Antiviral Res. 2018. vol 154. p10-16.
DOI: 10.1016/j.antiviral.2018.03.006.

Yumiko Akai, Hidetaka Sadanari, Masaya Takemoto, Noboru Uchide, Tohru Daikoku, Naofumi Mukaida, Tsugiya Murayama. Inhibition of human cytomegalovirus replication by tricrin is associated with depressed CCL2 expression. Antiviral Res. 2017. vol 148. p15-19.
DOI: 10.1016/j.antiviral.2017.09.018.

〔学会発表〕(計3件)

Proinflammatory responses to varicell-zoster virus infection in human retinal cell lines. The 66th Annual Meeting of the Japanese Society for Virology. 2018

武本眞清, 定成秀貴, 大黒徹, 松原京子, 村山次哉. Tricin は単純ヘルペスウイルス 1 型・2 型、ならびに水痘帯状疱疹ウイルスの増殖を抑制する. 第 65 回日本ウイルス学会. 2017

武本眞清, 定成秀貴, 大黒徹, 松原京子, 村山次哉. Tricin は単純ヘルペスウイルスおよび水痘帯状疱疹ウイルスの増殖を抑制する. 日本薬学会第 128 回北陸支部例会. 2016

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

6. 研究組織

(1)研究分担者

なし

(2)研究協力者

なし

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。