

P-4

4', 5, 7-trihydroxy-3', 5'-dimethoxyflavone (tricin) による HCMV の増殖抑制効果の検討

Anti-Human Cytomegalovirus Activity of 4', 5, 7-trihydroxy-3', 5'-dimethoxyflavone (tricin)

○山田 理恵¹⁾, 阿久澤 和彦¹⁾, 土田 裕三²⁾, 村山 次哉¹⁾

1) 北陸大学薬学部, 2) 株式会社鳳凰堂

We investigated the anti-human cytomegalovirus (HCMV) effect of triclin, isolated from Kumazasa hot water extract, in the human embryonic lungfibroblast (HEL) cells. HCMV is known to induce several cellular signals expression, especially cyclooxygenase-2 (cox-2). Whereas, treatment of HCMV-infected HEL cells with triclin inhibited the cox-2 gene expression in a dose-dependent manner. These results suggest that triclin exhibit anti-HCMV activity by inhibiting of cox-2 gene expression.

【目的】

現在我々は、代替医療薬を中心に抗 HCMV 薬の探索を行っており、防腐作用 (抗菌作用) を含む種々の生理活性をもつクマザサ熱水抽出液の成分の 1 つである triclin に、強いウイルス粒子産生の抑制効果を示すことを報告してきた。HCMV 感染により、宿主細胞側の多くの遺伝子が活性化されることが報告されている。ウイルス感染細胞に対する triclin の作用機序を調べるため、宿主細胞側の遺伝子のスクリーニングを行ったところ、炎症反応に重要な役割を持つことが知られている COX-2 遺伝子の発現に大きな変動が見られた。このため、HCMV 感染細胞における triclin の作用機序と COX-2 の発現について調べた。

【方法】

乾燥クマザサ熱水抽出物から分離・精製した triclin、及び合成した triclin を検体として用いた。ウイルスは Towne 株を用い、単層培養したヒト胎児肺線維芽 (HEL) 細胞に MOI=1 で 1 時間吸着感染後、段階希釈した triclin を含む培養液を加え培養した (triclin 後処理)。また、段階希釈した triclin を含む培地で 1 時間処理した後、単層培養した HEL 細胞に HCMV を MOI=1 で 1 時間吸着感染し (triclin 前処理)、処理タイミングの違いによる増殖抑制効果について、培養液中に産生されるウイルス量をプラークアッセイ法により測定した。また、経時的に感染細胞から total RNA を抽出し、COX-2 遺伝子の発現、及びウイルス遺伝子の発現に対する影響をリアルタイム PCR 法により、またそれぞれの蛋白質の発現についてはウェスタンブロット法により調べた。

【結果・結論】

Triclin によるウイルスの増殖抑制効果は、ウイルス感染後の処理だけでなく、感染前処理した場合にも見られた。また、COX-2 の発現量は、ウイルス感染前、及び感染後のどちらに添加した場合でも triclin 濃度依存的に抑制された。COX-2 はプロスタグランジン (PG) 産生に関わる酵素であるが、COX-2 阻害剤により PG 産生が抑制された結果、HCMV の増殖が抑制されると報告があることから、triclin が COX-2 阻害剤として働き、その後の経路が抑制されたため、HCMV の増殖も抑制された可能性が考えられた。これは、現在使用されている抗 HCMV 薬のガンシクロビルとは異なる作用機序であり、triclin の新たな治療薬としての可能性が示唆される。