



東南アジア原産薬用・食用植物からの抗デングウイルス活性物質の探索 Investigation of anti-dengue agents derived from traditional medical herbs and food plants in Southeast Asia

左 一八 Kazuya I.P.I. HIDARI 薬学研究科薬学専攻牛化学教室 准教授 Associate Professor, Department of Biochemistry, Division of Pharmaceutical Sciences, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka



Profile

2007年 静岡県立大学大学院薬学研究科准教授 1998年 静岡県立大学大学院薬学研究科助手 オクラホマ大学医学部博士研究員

1992年 理化学研究所博士研究員 1992年 東京大学大学院医学系研究科博士課程修了

1986年 静岡薬科大学薬学科卒業

2007 Associate Professor, Graduate School of Pharmaceutical Sciences, University of Shizuoka Research Associate, Graduate School of Pharmaceutical

Research Associate, Graduate School of Harmaceutical Sciences, University of Shizuoka Postdoctoral fellow, Department of Cardiovascular Biology, Oklahoma University, Oklahoma 1995 1992 Postdoctoral fellow, Laboratory for Glycobiology,

Frontier Research Program RIKEN Ph.D., Graduate School of Medicine, University of Tokyo Graduate from Shizuoka College of Pharmacy

Contact

T E L 054-264-5720

+81-54-264-5720

hidari@u-shizuoka-ken.ac.jp URL http://w3pharm.u-shizuoka-ken ac.jp/biochem/intro e.html

■ 序論

感染初期におけるウイルスと受容体などの宿主側因子との相互 作用の解明は、ウイルス感染による病態形成を理解するうえで必須 である。デングウイルス感染症は、蚊などの節足動物をはじめとする 自然宿主動物からヒトへとウイルスが異種間感染することで引き起こ される。これまでウイルス感染に関わる宿主側因子の実体、そのウイ ルス感染における機能、ウイルス異種間感染機構、さらには病態形 成の分子機構は十分に解明されていない。ウイルス感染時、宿主側 因子に作用する抗ウイルス剤は臨床応用されていない。このように宿 主側因子に作用して感染細胞内においてウイルス増殖を制御でき る抗ウイルス剤のリードとなる有用物質を、安全性の確立している既 存の生薬および食用キノコから探索・同定することで、宿主側因子を 標的とする新規抗ウイルス化合物の創出が可能になる。

■ 成果

本研究は、タイ国・chulalongkorn大学薬学部ならびにマレーシ ア·Malava大学食用キノコ研究所の協力研究者と連携を構築し、 協力研究者らが有する東南アジア原産生薬・キノコ資源を活用する ことにより、グローバル再興感染症の原因病原体であるデングウイル スに対する阻害物質を探索することで、以下の2つの研究成果を得 た。

- (1)タイ原産薬用植物からの抗デングウイルス剤の探索:タイ国内に おいて生薬として用いられているタイ原産薬用植物の抽出物、 および単離物質について、研究代表者が有するウイルス増殖 アッセイを用いてデングウイルス感染抑制効果を評価した。36種 類の薬用植物からの抽出液について、10 ug/mlの濃度で抗デ ングウイルス活性を探索した結果、7種類の植物抽出液に非常 に高い阻害活性を見出した(図1)。
- (2)マレーシア原産キノコからの抗デングウイルス剤の探索:マレーシ アマラヤ大学キノコ研究所が所有するマレーシア原産キノコか らの抽出物について、ウイルス増殖アッセイを用いてデングウイル ス感染抑制効果を評価した。16種類の食用キノコについて、水 を用いた4通りの抽出液を調製し、1 mg/mlの濃度で抗デングウ イルス活性および細胞毒性を探索した結果、3種類のキノコの抽 出液に高い阻害活性を見出した(図2)。

■ 展望

タイ原産薬用植物およびマレーシア原産キノコからの抗デングウイ ルス活性物質中には、熱に対する安定性の異なる高分子多糖類や 低分子化合物が含まれていることが明らかとなりつつある。さらなる 単離、性状解析を進めることにより、世界的流行・拡大を続けるウイル ス感染症の制御に有用な物質的な基盤が確立できる。

Introduction

Dengue virus infection is caused by cross-species infection between natural hosts, such as mosquitoes and other arthropods, and animals, including humans. Host factors involved in infection by this virus, their function in viral infection, mechanisms of infection, and even the molecular mechanisms of pathogenesis are not fully understood. So far, no antiviral agents that act on host factors are clinically available, Identification of substances in established medicinal herbs and edible mushrooms that could be developed into antiviral drugs that can control viral replication by acting on host factors would create new types of antiviral compounds.

Results

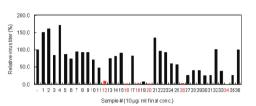
This study on utilizing resources derived from medicinal herbs and mushrooms in Southeast Asia involved partnership and cooperative research by the Faculty of Pharmacy, University of Chulalongkorn, and the Mushroom Research Institute, University of Malava.

One project investigated anti-dengue agents derived from medicinal plants in Thailand: Using a proliferation assay, we evaluated inhibitory effects on dengue virus infection of substances isolated from indigenous Thai medicinal plant extracts that are used as herbal medicine in Thailand. By assessing extracts (10 µg/mL) from 36 different medicinal plants for anti-dengue virus activity, we identified seven extracts with very high inhibitory activity (Figure 1).

In the second study, we used a proliferation assay to evaluate the ability of potential anti-dengue agents derived from edible mushrooms in Malaysia to inhibit viral replication. The mushrooms are owned by the Mushroom Research Institute of Malaysia, University of Malaya. We identified three mushroom extracts that strongly inhibit anti-dengue virus at a concentration of I mg/mL (Figure 2).

Perspectives

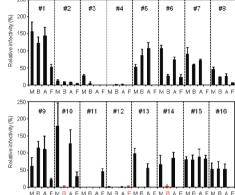
It is becoming clear that the anti-dengue agents derived from medicinal plants in Thailand and edible mushrooms in Malaysia contain a polysaccharide polymer and low-molecular compounds with differing biochemical and physicochemical properties. Further characterization will be required before they can be used for the control of dengue virus infection.



タイ薬用植物抽出物によるデングウイルス増殖抑制効果

Vero細胞にデングウイルスを感染させた後、細胞を48時間培養した。この時、試験化合 物を最終濃度10μg/mlとなるように培養液中に加えた。培養終了後に培養上清中のウィ ルス量をフォーカスアッセイで調べた。赤い番号の試料、高い阻害活性を示した試料。

Inhibitory activity of Thai medicinal herbs on dengue virus propagation. We infected Vero cells with dengue virus, and then cultured them for 48 hours in the presence of a final concentration of 10 µg/mL of the substances under investigation. We used a focus-forming assay to determine virus titers. Samples with red numbers are active substances



マレーシア食用キノコ抽出物によるデングウイルス増殖抑制効果

Vero細胞にデングウイルスを感染させた後、細胞を48時間培養した。この時、抽出物を最 終濃度1 mg/mlとなるように培養液中に加えた。培養終了後に培養上清中のウイルス量 をフォーカスアッセイで調べた。赤い番号の試料、細胞毒性を示さずに、高い阻害活性を 示した試料。

M, microwave; B, boiled water; A, autoclave; F, fresh water.

Inhibitory activity of Malaysian mushroom extracts on dengue virus propagation. We infected Vero cells with dengue virus, and then cultured them for 48 hours in the presence of a final concentration I mg/mL of the substances under investigation. We used a focus-forming assay to determine virus titers. Samples with red numbers are active substances without cytotoxicity, A. autoclave; B. boiled water; F. fresh water; M.

■ 代表的な発表論文と研究業績 / Major Publications and Achievements

- I. D. Kato, S. Era, I. Watanabe, M. Arihara, N. Sugiura, K. Kimata, Y. Suzuki, K. Morita, K.I.P.I. Hidari (correspondence), T. Suzuki: Antiviral activity of chondroitin sulphate E targeting dengue virus envelope protein. Antiviral Res. 88, 236-243 (2010)
- 2. M. Ogata, K.I.P.J. Hidari, W. Kozaki, T. Murata, J. Hiratake, E.Y. Park, T. Suzuki, T. Usui: Molecular design of spacer-N-linked sialoglycopolypeptide as polymeric inhibitors against influenza virus infection. Biomacromolecules 10, 1894-1903 (2009)
- 3. K.I.P.J. Hidari, K. Oyama, G. Ito, M. Nakayama, M. Inai, S. Goto, Y. Kanai, K. Watanabe, K. Yoshida, T. Furuta, T. Kan, T. Suzuki: Identification and characterization of flavonoids as sialyltransferase inhibitors, Biochem, Biothys, Res. Commun. 382, 609-613 (2009)
- 4. K.I.P.I. Hidari, M. Ogata, T. Murata, S. Shimada, W. Kozaki, E.Y. Park, T. Suzuki, T. Usui: Chemoenzymatic synthesis of sialoglycopolypeptides as glycomimetics to block infection by avian and human influenza viruses. Bioconjugate Chem. 20, 538-549 (2009)
- 5. K.I.P.I. Hidari, T. Murata, K. Yoshida, Y. Takahashi, Y. Minamijima, Y. Miwa, S. Adachi, M. Ogata, T. Usui, Y. Suzuki, T. Suzuki: Chemoenzymatic synthesis, characterization, and application of glycopolymers carrying lactosamine repeats as entry inhibitors against influenza virus infection. Glycobiology 18, 779-788 (2008)
- 6. K.I.P.J. Hidari, N. Takahashi, M. Arihara, M. Nagaoka, K. Morita, T. Suzuki: Structure and anti-dengue virus activity of sulfated polysaccharide from a marine alga. Biochem. Biophys. Res. Commun. 376, 91-95 (2008)

62 63