

エイズ医薬品候補スクリーニング研究

VII. 1994 年度報告

大貫菜穂美^{*1}・風間 公夫^{*1}・貞増 健志^{*1}・関根 大正^{*1}・太田 健爾^{*1}
 工藤 泰雄^{*1}・小林 伸好^{*2}・野口 有三^{*2}・松山 雅子^{*3}・秋吉 京子^{*3}
 野呂 新一^{*4}・沢田 春美^{*4}・木村 浩男^{*4}・山田 明^{*5}・石崎 徹^{*5}
 神村 紀子^{*5}・吉田 幸雄^{*5}・小野 哲郎^{*6}・橘 宣洋^{*6}・森下 隆行^{*7}
 小林 慎一^{*7}・三宅 恭司^{*7}・石原 祐弼^{*7}・石川 直久^{*7}・斉藤 隆行^{*8}
 衛藤 繁雄^{*8}・大竹 徹^{*9}・森 治代^{*9}・森本 素子^{*9}
 上羽 昇^{*9}・千々和勝巳^{*10}・森 良一^{*10}・三瀬 勝利
 牛島 廣治^{*11}・高橋 啓明^{*11}・国貞 孝夫^{*11}・森次 保雄^{*11}

Preliminary Screening for Antiviral AIDS Drugs.

VII. Report for fiscal year 1994

Nahomi Ohmuki^{*1}, Kimio Kazama^{*1}, Takeshi Sadamasu^{*1}, Hiromasa Sekine^{*1},
 Kenji Ohta^{*1}, Yasuo Kudoh^{*1}, Nobuyoshi Kobayashi^{*2}, Yuzo Noguchi^{*2},
 Masako Matsuyama^{*3}, Kyouko Akiyoshi^{*3}, Shinichi Noro^{*4}, Harumi Sawada^{*4},
 Hiroo Kimura^{*4}, Akira Yamada^{*5}, Tohru Ishizaki^{*5}, Noriko Kamimura^{*5},
 Yukio Yoshida^{*5}, Tetsuo Ono^{*6}, Nobuyoshi Tachibana^{*6}, Takayuki Morishita^{*7},
 Shinichi Kobayashi^{*7}, Takeshi Miyake^{*7}, Yuichi Ishiwaru^{*7}, Naohisa Ishikawa^{*7},
 Takayuki Saito^{*8}, Shigeo Etoh^{*8}, Tohru Ohtake^{*9}, Haruyo Mori^{*9},
 Motoko Morimoto^{*9}, Noboru Ueba^{*9}, Katsumi Chijiwa^{*10},
 Ryouichi Mori^{*10}, Katsutoshi Mise, Hiroshi Ushijima^{*11},
 Keimei Takahashi^{*11}, Takao Kunisada^{*11} and Yasuo Moritugu^{*11}

Preliminary screening of antiviral AIDS drugs has been carried out using three different *in vitro* assay systems. Among 246 samples of different origin tested, six were shown to inhibit the growth of HIV *in vitro*. Two of the positive samples have hopeful signs, as the ranges of effective doses are wider than those of most of positive samples which had been found by us.

Keywords : AIDS, anti-HIV drugs, HIV-1, AZT, microplate method.

(Received May 31, 1996)

はじめに

日本におけるエイズ患者の数は米国やアフリカの流行地ほどではないにしても、血友病患者を中心にかなりの数の患者が報告されている。AZTやddIなどのエイズ医薬品が開発されているが、効力や副作用などの問題がある。長期服用により薬剤耐性の問題も出ている。HIVの迅速検出法の考案とともに、効力の高い、副作用の少ないエイズ医薬品の開発が待望されている¹⁻³⁾。

エイズ治療薬の開発を目的として、昭和63年度より、厚生省とヒューマンサイエンス振興財団が中心となって、エイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究班が発足した。この班では医薬品関連企業から提供される化学合成物や生薬抽出物などについて、国立衛生試験所、国立予防衛生研究所、北海道立衛生研究所など10地方衛生研究所よりなる研究班で、候補物質のスクリーニング研究を行ってきた。これまで、千に近い提供物質から約20のHIVの増殖を抑制する物質を見いだしている。そのうちいくつかの物がエイズ医薬品候補物質として、別の班で研究されている。この中で医薬品となった物は、現在の所残念ながら存在しないが、エイズの治療の困難さを思うと、やむを得ないところもある。

平成6年度は例年になく多い246サンプルが提供され、

^{*1} 東京都立衛生研究所, ^{*2} 横浜市衛生研究所, ^{*3} 神戸市環境保健研究所, ^{*4} 北海道立衛生研究所, ^{*5} 京都府衛生公害研究所, ^{*6} 大分県環境研究センター, ^{*7} 愛知県衛生研究所, ^{*8} 神奈川県衛生研究所, ^{*9} 大阪府公衆衛生研究所, ^{*10} 福岡県保健環境研究所, ^{*11} 国立予防衛生研究所

Table 1. Screening of anti HIV drugs tested in fiscal year 1994

Number	Effective doses ($\mu\text{g/ml}$)	Minimum cytotoxicity doses ($\mu\text{g/ml}$)	Chemicals
940001	3.13~100	200 or more	New chemical
940002	6.25~12.5	25 or more	Antibiotics
940008	6.25~12.5	25 or more	Antibiotics
940032	12.5	25 or more	Extract of medicinal plant
940034	6.25	12.5 or more	Extract of medicinal plant
940042	6.25~500	1000 or more	Extract of medicinal plant

Number of samples tested was 246.

Table 2. Anti-HIV activities of sample No. 940001 with microplate assay method

Tube no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	UC	IC
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	100	50	25	12.5	6.3	3.1	1.6	0.8	0.4	0.2		
3 days incubation Cytotoxicity	G	G	G	G	G	G					G	
CPE	—	—	—	—	—	—	+	++	++	++	—	++
6 days incubation Cytotoxicity	G	G	G	G	G	G					G	
CPE	—	—	—	—	—	—	+	++	++	++	—	++

UC, uninfected control; IC, infected control; CPE, cytopathogenic effects; G, cells grew well as in UC; —, CPE was not observed; +, CPE was partially observed; ++, CPE was observed as in IC.

Table 3. Anti-HIV activities of sample No. 940042 with microplate assay method

Tube no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	UC	IC
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	1000	500	250	125	62.5	31.3	15.6	7.8	3.9	2.0		
3 days incubation Cytotoxicity	G	G	G	G	G						G	
CPE	—	—	—	—	—	+	+	++	++	++	—	++
6 days incubation Cytotoxicity	F	G	G	G	G						G	
CPE	—	—	—	—	—	+	++	++	++	++	—	++

UC, IC, CPE, G, —, +, and ++, same as described in the legend to Table 2; F, growth of cells was partially inhibited by the chemical added.

このうち6サンプルがHIVの増殖を *in vitro* で抑制した。このうち2サンプルは有効濃度域が比較的広がったところから候補物質となり得ると考えている。

実験方法

医薬品候補物質の第一次スクリーニング法として、本班では終始一貫してマイクロプレート法 (microplate method) を採用している。この方法の詳細は文献⁴⁾に記載された通りであるが、MT-4細胞のHIV-1感染による細胞障害性の抑制を指標としている。マイクロプレート法で陽性となった物は、生細胞数測定法または巨細胞形成抑制法⁴⁾で抗HIV活性を確認している。

結 果

マイクロプレート法で試験されたサンプル数は246であり、これらは参加企業9社より提供されたものである。6サンプルが抗HIV活性を示した (Table 1)。比較的有効

濃度域の広がった940001と940042のマイクロプレート法の生データをTable 2とTable 3に示す。940001は巨細胞形成抑制法でも抗HIV活性陽性であった (Table 4)。940001はコロミン酸誘導体であり、940042は生薬抽出物である。企業の特許に触れるので、具体的な化学物質名は記載できない。

考 察

Table 1に要約されているように、本年度は6サンプルに抗HIV活性陽性の物が見いだされた。例年になく⁵⁻⁸⁾有望な物が多かった。いずれもこれまで抗HIV活性が試されていない物と想像される (被検サンプル名は我々には伏せられることが多い)。このうち940001と940042は有効濃度域の広さから、十分に候補物質となり得ると予想される。940002と940008もこの研究が「アリアドネの糸」となり、有望な誘導体が合成されることを期待したい。

Table 4. Anti-HIV activities of sample No. 940001 with multinucleated giant cell formation inhibition assay

Tube no.	1	2	3	4	5	6	UC	FC
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	100	50	25	12.5	6.3	3.1		
Cytotoxicity	G	G					G	
Giant cells	—	—	+	+	+	++	—	++

UC, unfused control; FC, fused control; G, growth of cells was observed as in UC; —, giant cells were not observed at all; +, formation of giant cells was partially inhibited by the chemical added; ++, multinucleated giant cells were formed as in FC.

文 献

- 1) Bridge, T. P., Mirsky, A. F. and Goodwin, F. K.: "*Psychological, neuropsychiatric, and substance abuse aspects of AIDS*". Raven Press, New York (1988)
- 2) Dalgleish, A. G. and Weis, R. A.: "*AIDS and New Viruses*". Academic Press, London (1990)
- 3) Ehrlich, G. D. and Greenberg, S. J.: "*PCR-based Diagnostics in Infectious Disease*". Blackwell Scientific Publications, Boston (1994)
- 4) 三木隆他 34 名: エイズ医薬品候補スクリーニング研究, I. 1988 年度報告, 衛生試験, **108**, 128~131 (1990)
- 5) 野呂新一他 35 名: エイズ医薬品候補スクリーニング研究, II. 1989 年度報告, 衛生試験, **109**, 107~110 (1991)
- 6) 大竹徹他 40 名: エイズ医薬品候補スクリーニング研究, III. 1990 年度報告, 衛生試験, **110**, 88~91 (1992)
- 7) 小林伸好他 37 名: エイズ医薬品候補スクリーニング研究, IV. 1991 年度報告, 衛生試験, **111**, 100~102 (1993)
- 8) 関根大正他 36 名: エイズ医薬品候補スクリーニング研究, V. 1992 年度報告, 衛生試験, **112**, 130~133 (1994)