

エイズ医薬品候補スクリーニング研究

VIII. 1995年度報告

森下 高行^{*1}・小林 慎一^{*1}・佐藤 克彦^{*1}・栄 堅司^{*1}・石川 直久^{*1}・小林 伸好^{*2}
 野口 有三^{*2}・秋吉 京子^{*3}・須賀 知子^{*3}・小川 淳^{*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}・岩島 昭夫^{*5}・小野 哲郎^{*6}
 橋 宣洋^{*6}・関根 大正^{*7}・大貫菜穂美^{*7}・風間 公夫^{*7}・貞増 健志^{*7}・太田 健爾^{*7}
 工藤 泰雄^{*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}・千千和勝巳^{*10}・森 良一^{*10}・牛島 廣治^{*11}・森次 保雄^{*11}・
 西尾 治^{*12}・三瀬 勝利

Preliminary Screening for Antiviral AIDS Drugs.

VIII. Report for fiscal year 1995

Takayuki Morishita^{*1}, Shinichi Kobayashi^{*1}, Katsuhiko Sato^{*1}, Kenji Sakae^{*1},
 Naohisa Ishikawa^{*1}, Nobuyoshi Kobayashi^{*2}, Yuzo Noguchi^{*2}, Kyouko Akiyoshi^{*3},
 Tomoko Suga^{*3}, Atsushi Ogawa^{*3}, Shinichi Noro^{*4}, Harumi Sawada^{*4}, Hiroo Kimura^{*4},
 Akira Yamada^{*5}, Tohru Ishizaki^{*5}, Noriko Kamimura^{*5}, Akio Iwashima^{*5}, Tetsuo Ono^{*6},
 Nobuyoshi Tachibana^{*6}, Hiromasa Sekine^{*7}, Nahomi Ohnuki^{*7}, Kimio Kazama^{*7},
 Kenji Sadamasu^{*7}, Kenji Ohta^{*7}, Yasuo Kudoh^{*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}, Hiroshi Ushijima^{*11}, Yasuo Moritugu^{*11}, Osamu Nishio^{*12} and Katsutoshi Mise

Preliminary screening of antiviral AIDS drugs has been carried out using three different *in vitro* assay systems. Among 96 samples of different origin tested, two were shown to inhibit the growth of HIV *in vitro*. One of the positive samples (plant origin) has 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 30, 1997)

はじめに

日本におけるエイズ患者は血友病患者を中心にかなりの数が報告されている。近年三剤併用療法などの導入により、エイズ患者の死亡率が低下していることは喜ばしいことではあるが、効力や副作用などの問題がある。薬剤耐性の問題も解決していない。HIVの迅速検出法の考案と共に、効力の高い副作用の少ない種々の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（現国立感染症研究所）、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、千を超える提供物質から約20数種の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7年度は例年より少ない96サンプルが提供され、このうち2サンプルがHIVの増殖を*in vitro*で抑制した。このうち1サンプル（植物抽出物）は有効濃度域が広がったところから候補物質となり得ると考えている。

*1 愛知県衛生研究所, *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 東京都立衛生研究所, *8 神奈川県衛生研究所, *9 大阪府立公衆衛生研究所, *10 福岡県保健環境研究所, *11 国立予防衛生研究所（現国立感染症研究所）, *12 国立公衆衛生院

Table 1. Screening of anti HIV drugs tested in fiscal year 1995.

Number	Effective doses ($\mu\text{g/ml}$)	Minimum cytotoxicity ($\mu\text{g/ml}$)	Chemicals
950012	15.6 - 500	1,000 or more	Extract of medicinal plant
950013	125 - 500	1,000 or more	Extract of medicinal plant

Number of samples tested was 96.

Table 2. Anti-HIV activities of sample no. 950012 with microplate assay method

Tube no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	UC	IC
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	500	250	125	62.5	31.3	15.6	7.8	3.9	2.0	1.0		
3 days incubation Cytotoxicity	G	G	G	G	G	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. 950013 with microplate assay method

Tube no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	UC	IC
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	500	250	125	62.5	31.3	15.6	7.8	3.9	2.0	1.0		
3 days incubation Cytotoxicity	F	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G	G
CPE	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	+
6 days incubation Cytotoxicity	F	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.

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96であり、これらは参加企業7社より提供されたものである。2サンプルが抗HIV活性を示した (Table 1)。陽性を示した950012と950013のマイクロプレート法の生データを Table 2と Table 3に示す。両者は巨細胞形成抑制法でも抗HIV活性弱陽性であった。両者とも植物抽出物である。企業の特許に触れるので、具体的な植物名は記載できない。

考察

Table 1に示されているように、本年度は2サンプルの抗HIV活性陽性の物が見いだされた。例年より⁵⁻¹⁰⁾有望な物が少なかったが、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 (被検サンプルの詳しい内容は我々には伏せられることが多い)。このうち950012は有効濃度域の広さから、十分に候補物質となり得ると期待される。

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, 衛生試報, **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, 衛生試報, **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, 衛生試報, **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, 衛生試報, **112**, 13~133 (1994)
- 9) 牛島広治他35名：エイズ医薬品候補スクリーニング研究, VI. 1993年度報告, 衛生試報, **114**, 48~49 (1996)
- 10) 大貫菜穂美他36名：エイズ医薬品候補スクリーニング研究, VII. 1994年度報告, 衛生試報, **114**, 50~52 (1996)