

学位授与番号：甲 950 号

氏 名：松本喜弘

学位の種類：博士（医学）

学位授与日付：平成 25 年 10 月 23 日

学位論文名：

グリチルリチンの C 型肝炎ウイルスに対する抗ウイルス作用の解析

主論文名：

Antiviral Activity of Glycyrrhizin against Hepatitis C Virus in Vitro.

（グリチルリチンの C 型肝炎ウイルスに対する抗ウイルス作用の解析）

学位審査委員長：堀誠治教授

学位審査委員：坪田昭人教授、高木一郎教授

論文要旨

論文提出者名	松本 喜弘 指導教授名 田尻 久雄
<p data-bbox="226 533 414 573">主論文題名</p> <p data-bbox="290 609 1300 647">Antiviral Activity of Glycyrrhizin against Hepatitis C Virus in Vitro</p> <p data-bbox="255 701 1254 741">(グリチルリチンのC型肝炎ウイルスに対する抗ウイルス作用の解析)</p> <p data-bbox="450 750 1074 788">雑誌名 PLOS ONE, 8巻, e 68992, 2013年</p> <p data-bbox="220 848 1366 1644">GLは本邦において、慢性C型肝炎患者に対し、血清トランスフェラーゼの低下や組織学的変化の抑制のために使用されている。今まで多くのウイルスで増殖抑制作用が報告されているGLではあるが、HCVに対する抗HCV作用は明らかにされていない。そこで、ウイルス細胞培養系を使ってGLの抗HCV作用を検証したところ、培養上清中のウイルス産生抑制効果を見出した。次に、ウイルス生活環のどのステップを阻害しているかをHCVシュードタイプウイルス、HCVサブゲノムレプリコン細胞、そしてHCV感染細胞で解析した。その結果、ウイルスの初期過程、複製には大きな影響を及ぼさなかったが、感染細胞培養上清中の感染性粒子を抑制し、細胞内感染性粒子を増加させた。また、共焦点免疫蛍光顕微鏡と電子顕微鏡では、GLを添加することでHCV構成の場であると考えられている小胞体に接し増殖した脂肪滴の大きさは増大し、脂肪滴辺縁にはHCVコア抗原と高密度沈着物が顕著に認められた。以上の結果よりGLはHCVの感染性粒子の放出を抑制すると考えられた。さらに、GLの抗HCV効果のメカニズムを検証するために、GLの主作用であるPLA2G1Bを阻害したところ、GLと同様の抗HCV作用が認められた。このことはGLの抗HCV作用はPLA2G1Bの阻害効果によるものと考えられた。現在、慢性C型肝炎患者に対してはペグインターフェロンとリバビリンの併用療法が中心に行われている。本研究において、インターフェロン（IFN）とGLの併用はIFN単独に比べ抗HCV作用の増強効果があることが確認できた。これらの結果は、GLが感染性粒子放出を抑制する新規抗HCV薬として期待できることを示唆した。</p>	

論文審査の結果の要旨

松本喜弘氏提出の大学院博士課程修了論文は、“グリチルリチンの C 型肝炎ウイルスに対する抗ウイルス作用の解析”と題するもので、PLOS ONE に 2013 年 7 月にオンラインで掲載された同氏の論文 “Antiviral Activity of Glycyrrhizin against Hepatitis C Virus In Vitro” をもとに作成されています。本研究は、消化器・肝臓内科 田尻久雄教授のご指導のもと、国立感染症研究所ウイルス第 2 部の脇田隆字部長ならびに柏崎英樹室長のご指導・ご助言により実施されたものです。

審査委員会は、2013 年 10 月 7 日、坪田昭人教授、高木一郎教授を審査委員として、田尻久雄教授はじめ関係各位の同席のもと、公開で開催されました。冒頭、松本氏から研究概要の発表があり、その後、質疑が行われました。その内容と審査の経過を報告いたします。

C 型肝炎ウイルス (HCV) は、肝炎・肝硬変・肝癌をおこすウイルスとして、臨床上問題となっています。グリチルリチン (GL) は、多くのウイルスで増殖抑制作用が知られているが、HCV に関する治験はありません。そこで、ウイルス細胞培養系を用いて、*in vitro* で GL の抗 HCV 作用を検討しました。培養上清中のウイルス量を指標にすると、GL 添加により HCV 量が低下することが分かりました。そこで、HCV 生活環のどこに作用しているかを、HCV シュードタイプウイルス、HCV サブゲノムレプリコン細胞、HCV 感染細胞を用いて検討しました。HCV 生活環の個々の段階を検討したところ、GL は、HCV の初期過程・複製には大きな影響を及ぼしませんでした。培養上清中の感染粒子の抑制・細胞内感染粒子の増大を認めました。細胞内でウイルス増殖の場と考えられている小胞体に接し増殖した脂肪滴の大きさは増し、HCV コア抗原と高密度沈着物が顕著に認められました。これらの成績から、GL は HCV 感染粒子の放出を抑制することが分かりました。さらに、GL の主作用である PLA2G1B を阻害したところ、同様の抗 HCV 作用が認められました。また、GL とインターフェロンの併用により、インターフェロン単独に比べて抗 HCV 効果の増強効果のあることも見出しました。そこで、松本氏は、GL に抗 HCV 作用のあること、そして、それは、細胞からの放出を抑制するためであると結論いたしました。

松本氏の発表に続いて、審査委員である坪田教授、高木教授から多くの質問が、また、出席者からも質問がありました。培養液中の GL 濃度と臨床上考えられる GL 濃度の差について、HCV シュードタイプウイルスにより抑制効果に違いがあるようだがその原因は何か？エンベロープによる違いによるのか？臨床 (*in vivo*) と今回の *In vitro* 研究との相違点はどこか？今後の臨床応用の展望はどうか？など多くの質問がなされ、松本氏は自身の研究成績ならびに多くの報告例を用いて、大変的確に回答いたしました。

その後、坪田教授・高木教授と慎重に審議した結果、松本氏提出の論文は、大学院博士課程修了論文として価値あるものと評価いたしました。