

II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金

(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)

分担研究報告書

細胞内脂質合成を標的とした抗高病原性ウイルス療法の分子基盤

分担研究課題：細胞内脂質合成を標的とした抗ルジョウイルス療法
の分子基盤

研究分担者：浦田 秀造 (長崎大学熱帯医学研究所 助教)

研究要旨： 本研究は高病原性新型アレナウイルスであるルジョウイルスの細胞内増殖における **S1P/SKI-1** 阻害の影響を検討し、**S1P/SKI-1** 阻害が有効な抗ルジョウイルスとなり得るか評価するものである。昨年度はルジョウイルス **Z** 及び **GPC** 発現プラスミドを作製し、これらを用いることである一定の結果を得た。本年度は引き続き、これらの発現プラスミドを使用し、ルジョウイルス **Z** によるウイルス様粒子 (**VLP**) 産生効率が、同じアレナウイルス科のラッサウイルスやフニンウイルスと比較して低いことを明らかとした。更に、ルジョウイルス **GPC** の **S1P/SKI-1** による開裂が **GPC** の細胞表面膜までの輸送には関与しないことも明らかとした。

A. 研究目的・意義： アレナウイルス科はラッサ熱の原因ウイルスであるラッサウイルスを代表として幾種類
の科はラッサ熱の原因ウイルスである。これらの高病原性ウイルスを含む。これら

ヒト高病原性アレナウイルス感染において①ラッサウイルスに対する感染初期のリバビリン静脈内投与 ②アルゼンチンでのみ認可されているフニンウイルス感染予防のためのフニンウイルス弱毒生ワクチン (Candid#1 株)、が有効であることが示されているが、いずれもアメリカ食品医薬品局 (FDA)の認可はなく、ヒト高病原性アレナウイルスに対する有効なワクチン・抗ウイルス薬の開発は喫緊の課題となっている。更に近年において約 3 年おきに新種のアレナウイルスが報告されている。このことは近い将来、ヒト高病原性アレナウイルスの出現の可能性を示している。実際、2009 年にザンビア・南アフリカ共和国において新型アレナウイルス・ルジョウイルスが同定された。ルジョウイルスはこれまでに感染者は 5 人と少ないが、そのうち 4 名が亡くなったため致死率は 80%となる。その後ルジョウイルスの発生または新種のヒト高病原性アレナウイルスは報告されていないが、いつ・どこでヒト高病原

性新アレナウイルス感染が起きてもおかしくない。アレナウイルスは一本鎖 (-)鎖 RNA を二本 (S セグメント・L セグメント)保有するエンベロープウイルスである (図 1)。アレナウイルス科は系統学的・血清学的に旧世界アレナウイルス、新世界アレナウイルスに分類される。新世界アレナウイルス・旧世界アレナウイルスはその細胞内の生活環はもちろん、増殖機構も大きく異なる。一例をあげるとウイルスの細胞への侵入の際、旧世界アレナウイルスの多くが α -ジストログリカンを受容体として使用するのに対し、新世界アレナウイルスの多くはトランスフェリン受容体 1 を細胞受容体として使用することで細胞内に侵入する。興味深いことにルジョウイルスは系統学的には旧世界・新世界アレナウイルスのどちらにも分類されない新型アレナウイルスとされている。昨年度、我々は本研究において、ルジョウイルス Z がウイルス様粒子 (VLP)を産生し、Z 中の YREL 配列及び PSAP 配列に変異を導

入することで VLP 産生が著しく低下することを発見し、報告した。更に、ルジョウウイルスの表面糖タンパク質 GPC のアミノ酸配列にはその他のアレナウイルス GPC 同様に S1P/SKI-1 による開裂配列を保有し(RKLM)、実際この開裂配列 (RKLM) にアミノ酸変異 (AAAA または RRRR) を導入すること、また S1P/SKI-1 酵素活性阻害低分子化合物 (PF-429242) を使用することで、S1P/SKI-1 がルジョウウイルス GPC の開裂に重要であることを示した。また、この開裂はルジョウウイルス Z によるウイルス様粒子 (VLP) への取り込みに必要であることも見出した。本年はこれらの結果を基に、Z による VLP 産生機構及び GPC の開裂機構の更に詳細な分子機構解析を目的とし、ルジョウウイルス Z による VLP 産生効率及び GPC 開裂の細胞表面膜までの輸送への関与を解析した。

B. 研究方法：1) 昨年度作製したルジョウウイルス Z 発現プラスミドを使

用し、ラッサウイルス Z 発現プラスミド、フニンウイルス Z 発現プラスミド (全て C 末端に FLAG タグ付加) それぞれを 293T 細胞に導入し Z の細胞内発現及び Z によるウイルス様粒子 (VLP) 産生をウェスタン・ブロット (WB) 法 (抗 FLAG 抗体) にて確認した。2) 昨年度作製したルジョウウイルス GPC 発現プラスミド、S1P/SKI-1 開裂アミノ酸部位 (RKLM) のアミノ酸変異体 (AAAA もしくは RRRR) 及び、ネガティブコントロールとして LASV-Z Δ 1 (ミリスチル化欠損のため細胞膜と結合することができないラッサウイルス Z 変異体) を 293T 細胞に導入した。導入 48 時間後に培地をビオチン含有培地に置換し、4 度で 30 分インキュベーションすることで細胞表面タンパク質をビオチン化し、その後培地を除去し、PBS (-) で一度洗浄の後、細胞溶解液を回収した。この一部を用いて Total Cell Lysate を作成した。残りのサンプルはアビジンで沈降後、Total Cell Lysate とともに WB 法のためのサンプルを作成した SDS-PAGE

で展開後、WB 法 (抗 FLAG 抗体)にて各 FLAG 付加タンパク質を検出した。

C. 研究結果：1) 図 3 に示すように、ルジョウウイルス、ラッサウイルス、フニンウイルスの Z は全て細胞内で同等に発現しているにも関わらず、ルジョウウイルス Z のみ極端にその VLP 産生量が低かった。2) Total Cell Lysate においては、WT からは GPC 全長及び開裂後の GP2 が検出され、S1P/SKI-1 開裂部位変異体 (AAAA 及び RRRR)からは主に全長 GPC が検出された。ネガティブコントロールである LASV-ZΔ1 は LUJV GPC よりも高い発現が確認された。一方でアビジン沈降後の Cell surface biotinilated sample からは LASV-ZΔ1 がほとんど検出されなかった。しかし、全ての LUJV GPC (WT 及び変異体)は同等に検出された (図 4)。

D. 考察：ルジョウウイルス Z はその他のアレナウイルス Z と同様に細胞内単独発現で VLP を産生することより、マトリックスタンパク質として機能す

ることを昨年度に明らかとしたが、図 3 の結果からその効率は 293T 細胞においてはラッサウイルス及びフニンウイルスと比較すると著しく低いことが明らかとなった (図 3)。一方、ルジョウウイルス GPC はその開裂に RKLM 配列が重要であることを昨年度明らかとした。本年度の結果より、この開裂は GPC の細胞膜までの輸送には関与しないことが明らかとなった (図 4)。昨年度に GPC の開裂はルジョウウイルス Z による VLP への取り込みにも重要であることを明らかとしたが、これらの実験結果を考慮すると、S1P/SKI-1 による GPC の開裂はウイルス粒子が形成される細胞表面膜での構造等に関与し、結果ウイルス粒子への取り込みに重要であることが示唆された。昨年度に S1P/SKI-1 阻害低分子化合物 PF-429242 によるルジョウウイルス GPC 開裂阻害を示したが、本年度の結果より、PF-429242 のルジョウウイルスに対する作用点は S1P/SKI-1 による GPC 開裂阻害による GPC のウイルス粒子内への取り込みだ

と考えられる。

E. 結論：ルジョウイルス Z による VLP 産生効率 はラッサウイルスやフニンウイルスといった他のアレナウイルス科の Z のものと比較すると低いことが明らかとなった (図 3)。また、ルジョウイルス GPC のウイルス粒子産生部位である細胞表面膜までの輸送には GPC の開裂は関与しないことが明らかとなった (図 4・5)。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

論文発表

なし

学会発表

1. 浦田 秀造、安田 二郎、ルジョウイルス Z 及び GPC による粒子形成・出芽解析、第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜 (2014, 11)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

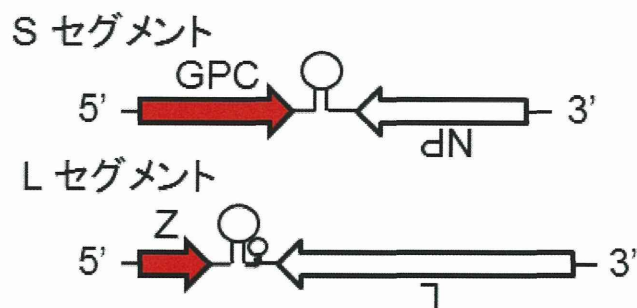


図1 ルジョウイルス (アレナウイルス)ゲノム

Lassa	MGNKQAKAP-----ESKDSPRASLI PDATHLGPOFCCKSCWFENKGLVECNNHYLCL
Lujo	MGQRHSSGSGQP NPKP S DSDHEARRSELHSDASHLGP LNCKSCWKSKKALVKCYDHYLCL
Junin	MGNCGASKSN-QPDSSRVTQPAAEFRVAHSSLYGRYNCKCCWFADTNLITCNDHYLCL
	** : . . : : . . . : : * ** . ** . . * : * :*****
Lassa	NCLTLLSVSNRCPICKMPLPTKLRPSAAPTAFPTGAADSIRPPYPSP
Lujo	NCLSLLMGITPRCPFC KRET PKNLDLAEAPSAFPL-----
Junin	RCHQVMLRNSDLCNICWKPLPTTITVPVEPTAPP-----
	. * : : : * : * ** . . . : : * :*****

図2 ラッサウイルス、ルジョウイルス、及びフニンウイルス Zのアミノ酸配列とLドメインのアミノ酸配列

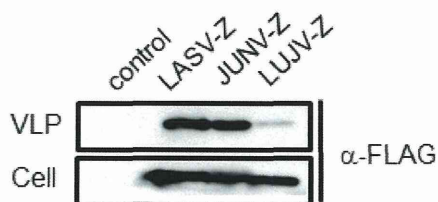


図3 293T細胞におけるラッサウイルス、フニンウイルス、及びルジョウイルス Zによるウイルス様粒子 (VLP) 産生効率の比較

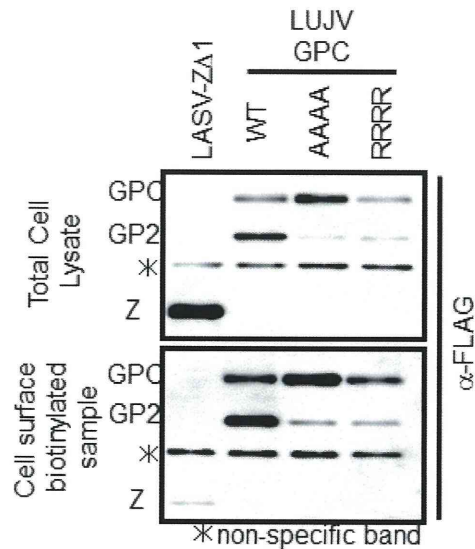


図4 293T細胞にルジヨウウイルス (LUJV) GPCの野生型 (WT)、S1P/SKI-1開裂部位にAAAAもしくはRRRR変異を導入したGPC、そしてネガティブコントロールとして細胞膜に結合しないLASV-ZΔ1を導入し、細胞表面タンパク質をビオチン化した後、アビジンで沈降したサンプルをウェスタン・ブロット法にて検出した。尚、全てのタンパク質はFLAGタグが付加されており、ビオチン化後に回収したTotal Cell Lysate (上段)及びアビジン沈降後に回収したCell surface biotinylated sample (下段)をSDS-PAGEにて展開後抗FLAG抗体によって検出した。

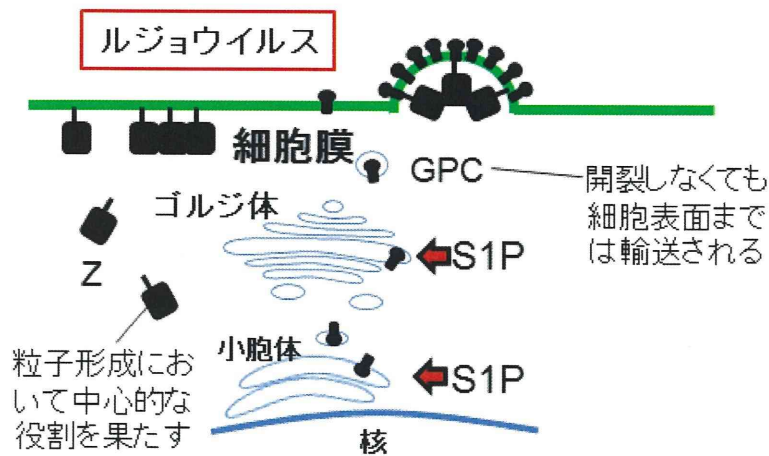


図5 本年度得られた結果の模式図

厚生労働科学研究費補助金
(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)

分担研究報告書

細胞内脂質合成を標的とした抗高病原性ウイルス療法の分子基盤

分担研究課題：細胞内脂質合成を標的とした抗デングウイルス療法の
分子基盤

研究分担者：早坂 大輔 (長崎大学熱帯医学研究所 助教)

研究協力者：内田 玲麻 (長崎大学熱帯医学研究所)

研究要旨:本研究は、脂質合成阻害剤である **PF-429242** のデングウイルス (DENV) 感染に対する抑制効果を検証することを目的とする。本年度は、**DENV** 血清型 1-4 型を用い、**PF-429242** の **DENV** 抑制効果を評価した。また、細胞外脂質の適用によるウイルス感染の回復性を調べた。その結果、**PF-429242** は全ての血清型の **DENV** を有意に抑制した。また、細胞外からコレステロール、脂肪酸を補っても、**DENV** の感染性の回復は認められなかった。以上の結果は、**PF-429242** が抗 **DENV** 薬として有用である事が示された。今後は、細胞内脂質量に非依存的な **DENV** 感染抑制メカニズムに焦点を当て、さらなる解析を進めていく。

A. 研究目的

デング熱/デング出血熱は、フラビウイルス科フラビウイルス属に分類されるデングウイルス (DENV) の感染により引き起こされる、蚊媒介性の熱性・出血性疾患である。WHO の提唱する「顧みられない熱帯病 (NTD)」に挙げられる本ウイルス疾患は、熱帯・亜熱帯地方を中心に年間約 2,000 万人以上が感染し、発展途上国を中心に深刻な社会的・経済的な影響を与えている。患者の多くは、一過性の (古典的) 発熱兆候を示すが (Dengue Fever; DF)、一部の感染者では、より重篤なデング出血熱 (Dengue hemorrhagic fever; DHF)、デングショック症候群 (Dengue shock syndrome; DSS) を示し、適切な治療が行われない場合、致死率は 20% に達する。

DENV はその血清型から、DENV1 から DENV4 まで分けられ、全ての血清型において、上述の DF、DHF、DSS

を起こし得る。また以前より、DENV 感染では、初回感染とは異なる血清型に感染した際、2 回目以降において、より重症化する事が知られており、この現象は、抗体依存性感染増強 (Antibody dependent enhancement; ADE) として説明されてきた。これは、ある血清型に対する抗体が、他の血清型において、感染増強効果を示すというものであり、ワクチン開発をより一層困難なものとしている。また、未だ一般的な実験動物モデルが確立されていないことと相まって、全ての血清型に効果を示すワクチン、抗ウイルス薬の開発には至っていない。

細胞内脂質は、リン脂質、コレステロールやトリグリセリドといった形で、細胞膜、脂質ラフト、脂質滴 (Lipid droplets; LD) 等様々な細胞構造中に存在し、ウイルス-細胞間の結合、複製、ウイルスタンパク質の細胞内局在等に関与する。脂質合成阻害薬として開発

された PF-429242 は、細胞内脂質合成に関わる中核的な転写因子、Sterol Regulatory Element-Binding Proteins (SREBPs) の開裂・活性化を担う S1P/SKI-1 を可逆的、かつ競合的に阻害することで、コレステロール量および脂肪酸合成量を低下させることが知られている。また、これまで Hepatitis C virus (HCV)、Lassa virus、Lymphocytic Choriomeningitis virus や一部の新世界アレナウイルスにおいて、ウイルス感染抑制効果が報告されており、今後の抗ウイルス薬としての応用が期待される。

昨年度、我々は DENV2 感染において、その上清中ウイルス量、ならびに細胞内ウイルス RNA 量を PF-429242 が有意に抑制することを明らかにした。本研究ではこの薬剤のさらなる抗 DENV 効果を検証し、その抑制メカニズムについて解析を行うことで、薬剤の抗 DENV 薬としての有用性を評価し

た。

B. 研究方法

1) ウイルス感染実験

全ての血清型の DENV に対する PF-429242 の感染抑制効果を検証するため、PF-429242 30uM を含む培養上清中で HeLa 細胞に DENV1 strain Hawaii、DENV2 strain 16681、DENV3 strain SLMC50、または DENV4 strain SLMC318 を MOI1 で感染させた。また、他の霊長類由来細胞として、HEK-293、Hep G2、Vero E6、および LLC-MK2 を用いた。全ての実験において、PF-429242 は DENV 感染と同時に適用した。それぞれの感染細胞から、感染 72 または 96 時間後、細胞上清を回収し、ウイルス力価測定用サンプルとした。

2) ウイルス力価測定

培養上清中のウイルスは C6/36 E2 細胞を用いたフォーカス形成試験により、ウイルス力価を測定した。10 倍階段希釈した培養上清は C6/36 E2 細胞

に感染後、4 日目に 4% Paraformaldehyde により固定、1% NP40 による透過処理後、ブロックエースによりブロッキングを行った。感染細胞の染色にはフラビウイルス共通抗 E モノクローナル抗体 (12D11/7E8) および DAB (3,3'-Diaminobenzidine, tetrahydrochloride) を用いた。

感染細胞中のウイルス RNA は DENV2 のコードする非構造蛋白 (NS5) 領域をターゲットとした Real-time RT-PCR により定量した。感染細胞は QIAshredder (QIAGEN) により回収し、RNeasy Mini kit (QIAGEN) により全 RNA を抽出した。抽出 RNA は DENV2 特異的 Reverse プライマー、および Oligo(dT)₁₂₋₁₈ (Invitrogen) を用いて cDNA を作製し、Real-time RT-PCR 用テンプレートとした。全てのサンプルは GAPDH 遺伝子発現量に基づき標準化し、ウイルス RNA コピー数を算出した。

3) 細胞内コレステロール定量

薬剤適用および DENV2 感染による細胞内コレステロールの変化を評価するため、12 ウェルプレートにて、感染実験を行った。感染 24、48、および 72 時間後、細胞を PBS(-)により一回洗浄し、1% polyoxyethylene (10) octyl phenyl ether (Triton X-100) に溶解したものをコレステロール測定用サンプルとした。コレステロールの定量には、Amplex Red Cholesterol Assay kit (Invitrogen)を用い、サンプルと当量の酵素・基質混合物を加え、37°C、遮光下で反応させた。30 分間の反応後、Resorufin の蛍光強度を ARVO MX/Light 1420 Multilabel / Luminescence counter (Perkin Elmer)にて測定した。励起フィルター (Ex) および吸収フィルター (Em) の波長は以下の通りである。
Ex: 485 nm、Em: 590 nm。

4) 細胞内LD定量

薬剤適用およびDENV感染による、

細胞内LD量の変化を評価するため、96ウェルプレートにて、感染実験を行った。感染24、48、および72時間後、4% Paraformaldehydeにより細胞を固定、4,4-Difluoro-1,3,5,7,8-Pentamethyl-4-Bora-3a,4a-Diaza-s-Indacene (BODIPY 493/503)(Molecular Probes)にてLDの染色を行った。また、染色されたLDの蛍光強度の定量には、ARVO MX/Light 1420 Multilabel / Luminescence counter (Perkin Elmer)を用いた (Ex: 485 nm、Em: 515 nm)。

5) 細胞外脂質の適用によるDENV2感染の回復実験

薬剤により減少した細胞内脂質を補うべく、コレステロール (Lifetechnologies) またはオレイン酸 (Sigma) を培地に添加し、DENV2感染の回復性を評価した。なお、細胞外脂質はPF-429242適用と同時に加えた。DENV2感染72時間後に培養上清を回収し、ウイルス力価測定用のサンプル

とした。

C. 研究結果

1) PF-429242は全血清型のDENV2感染を抑制し、種々の細胞においてDENV2感染を抑制する

PF-429242は30 μ Mの濃度において、全ての血清型のDENVを有意に抑制した (図1-A)。また、HeLa細胞以外でも、HEK-293、Hep G2、およびLLC-MK2細胞でDENV2の感染を有意に抑制した (図1-B)。

2) PF-429242はHeLa細胞において、DENV2感染細胞、非感染細胞ともに細胞内脂質量を低下させる

これまで、PF-429242によるコレステロール合成阻害はHuh-7やHep G2で確認されている。今回の実験では、HeLa細胞においてもPF-429242が時間依存的に細胞内コレステロールを減少させる事がわかった (図2-A)。またこのコレステロール阻害はDENV2感染細胞、非感染細胞ともに認められた (図

2-A)。一方、細胞内LD量も感染細胞、非感染細胞ともにPF-429242の適用により減少した(図2-B)。

3) 細胞外からのコレステロール補充でDENVの感染は回復しない

PF-429242適用により細胞内コレステロールが有意に減少していたことから、コレステロールを細胞外から補うことでDENV感染が回復する可能性を検証した。500 µg/mlのコレステロール添加により、細胞内のコレステロール量は95.3%まで回復した (図3-A)。一方、この状態まで細胞内コレステロール量が回復した場合においても、DENV感染の回復は見られなかった (図3-B)。

4) 細胞外からの脂肪酸補充でDENVの感染は回復しない

コレステロール同様、細胞内のLD量も薬剤により有意に減少していたため、脂肪酸の一種であるオレイン酸を用い、細胞内LDの回復を試みた。その結果、

20 µMのオレイン酸の適用により、細胞内LDは107.5%まで回復した (図3-C)。この状態において、上清中ウイルス力価はオレイン酸非添加のものに比べ、わずかに回復したが (1.91倍)、未だ有意なウイルス抑制効果が確認された (図3-D)。

D. 考察

昨年度の結果に加え、今回我々はPF-429242が全ての血清型のDENVに抑制効果をもつことを明らかにした。また、Vero E6細胞を除く4種の霊長類由来細胞において、DENV2の有意な抑制効果が確認された。これは薬剤のウイルス抑制効果が広範的であることを示すものであり、DENVのみならず、黄熱ウイルスやウエストナイルウイルス等、未だ有効な抗ウイルス薬の開発されていないフラビウイルス属のウイルス感染への応用可能性を示唆する。

本研究では、これまで報告されている種々の細胞のように、HeLa細胞にお

いても薬剤適用により、細胞内コレステロール、LDの減少が観察された。一方、これらの脂質を細胞外から補充してもDENV感染の回復が認められなかったことから、単純な脂質量の減少によって抑制効果がもたらされたとは考えにくい。HCV感染では、PF-429242による感染抑制メカニズムとして、ウイルス受容体の一つであるLow density lipoprotein receptorが減少することを示唆する報告がされている。また、PF-429242が標的とするS1P/SKI-Iは脂質合成に関わる中核的な転写因子、SREBPsの開裂・活性化に必要なプロテアーゼであり、障害を受けた場合、細胞内において広範な脂質合成関連酵素の発現低下が起こる。今回、DENV抑制のメカニズムは明らかとならなかったが、細胞内脂質量の量それ自体はあまり関わらないことが示唆された。DENVの抑制メカニズムとして、HCVのように受容体の障害を受けている可

能性や、脂質合成関連酵素の障害が影響する可能性も考えられるが、この解明には更なる研究が必要である。

近年、大規模な化合物ライブラリーからハイスループットスクリーニングを用いた抗DENV薬の探索が盛んに行われているが、これらの未知の化合物を臨床試験まで到達させるには、多くの時間とコストを要する。本研究では、すでに実験動物モデルに応用されている脂質合成阻害剤を対象とするため、今後、同様の手法を用いれば、より低コストでの抗DENV薬の開発が可能になると期待される。

E. 結論

本研究では全ての血清型のDENVに対し、脂質合成阻害薬であるPF-429242が有効である結果が得られた。一方でその抑制メカニズムについては明らかとなっていない。今後は、細胞内脂質量に非依存的なDENV感染

抑制メカニズムに焦点を当て、さらなる解析を進めていくことで、より効果的な薬剤投与方法の開発に繋がると期待される。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Uchida L., Espada-Murao L.A., Takamatsu Y., Okamoto K., Hayasaka D., Yu F., Nabeshima T., Buerano C.C., Morita K.: The dengue virus conceals double-stranded RNA in the intracellular membrane to escape from an interferon response. *Sci. Rep.* 4:7395, 2014
- 2) Tun M.M., Aoki K., Senba M., Buerano C.C., Shirai K., Suzuki R., Morita K., Hayasaka D.: Protective role of TNF- α , IL-10 and IL-2 in mice infected with the Oshima strain of

Tick-borne encephalitis virus. *Sci. Rep.* 4:5344, 2014.

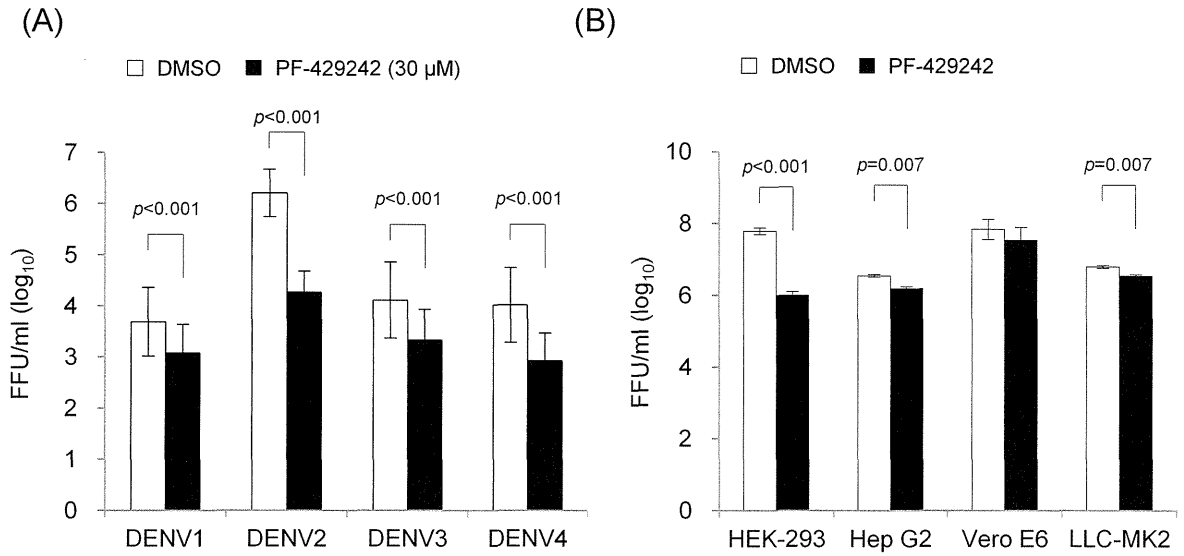
- 3) Aoki K., Shimada S., Simantini D.S., Tun M.M., Buerano C.C., Morita K., Hayasaka D.: Type-I interferon response affects an inoculation dose-independent mortality in mice following Japanese encephalitis virus infection. *Virology* 11:105, 2014.

2. 学会発表

- 1) 内田玲麻、Espada-Murao Lyre Anni、早坂大輔、森田公一：Double stranded-RNA concealing によるデングウイルスの I 型 IFN 誘導回避機構：第 49 回日本脳炎ウイルス生態学研究会、山口（2014, 5）
- 2) Leo Uchida, Lyre Anni Espada-Murao, Yuki Takamatsu Y, Kenta Okamoto, Daisuke Hayasaka, Fuxun Yu, Takeshi Nabeshima, Corazon C. Buerano,

- | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>Kouichi Morita : Dengue virus conceals double-stranded RNA in intracellular membrane to escape from interferon response : The 13 th Awaji International Forum on Infection and Immunity in Nara、Nara (2014.9)</p> | <p>ガ・フラビ・ペスチウイルス研究会、横浜 (2014, 11)</p> |
| <p>3) 内田玲麻、Espada-Murao Lyre Anni、高松由基、岡本健太、早坂大輔、余福勲、鍋島武、森田公一 : Double stranded-RNA concealing によるデングウイルスの I 型 IFN 誘導回避機構 : 第 157 回日本獣医学会学術集会、札幌 (2014,9)</p> | <p>5) 内田玲麻、浦田秀造、高松由基、森田公一、早坂大輔 : 脂質合成阻害薬によるヒト培養細胞におけるデングウイルス感染抑制 : 第 62 回日本ウイルス学会学術集会、横浜 (2014, 11)</p> |
| <p>4) 内田玲麻、浦田秀造、高松由基、森田公一、早坂大輔 : 脂質合成阻害薬によるヒト培養細胞におけるデングウイルス感染抑制 : 第 21 回ト</p> | <p>H. 知的財産権の出願・登録状況</p> <p>なし</p> <p>1. 特許取得</p> <p>なし</p> <p>2. 実用新案登録</p> <p>なし</p> <p>3. その他</p> <p>なし</p> |

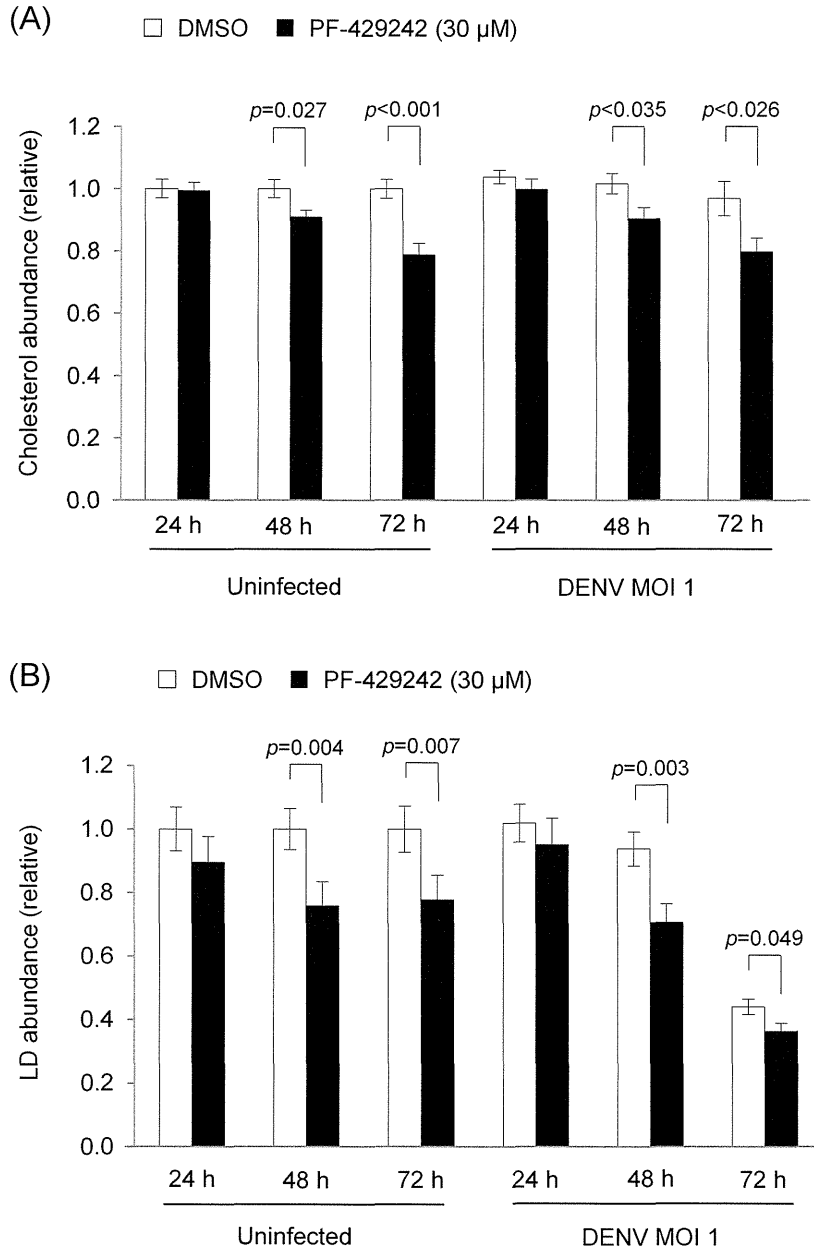
図 1



(A) PF-429242 添加による DEN1-4 感染 HeLa 細胞上清中のウイルス力価の抑制効果

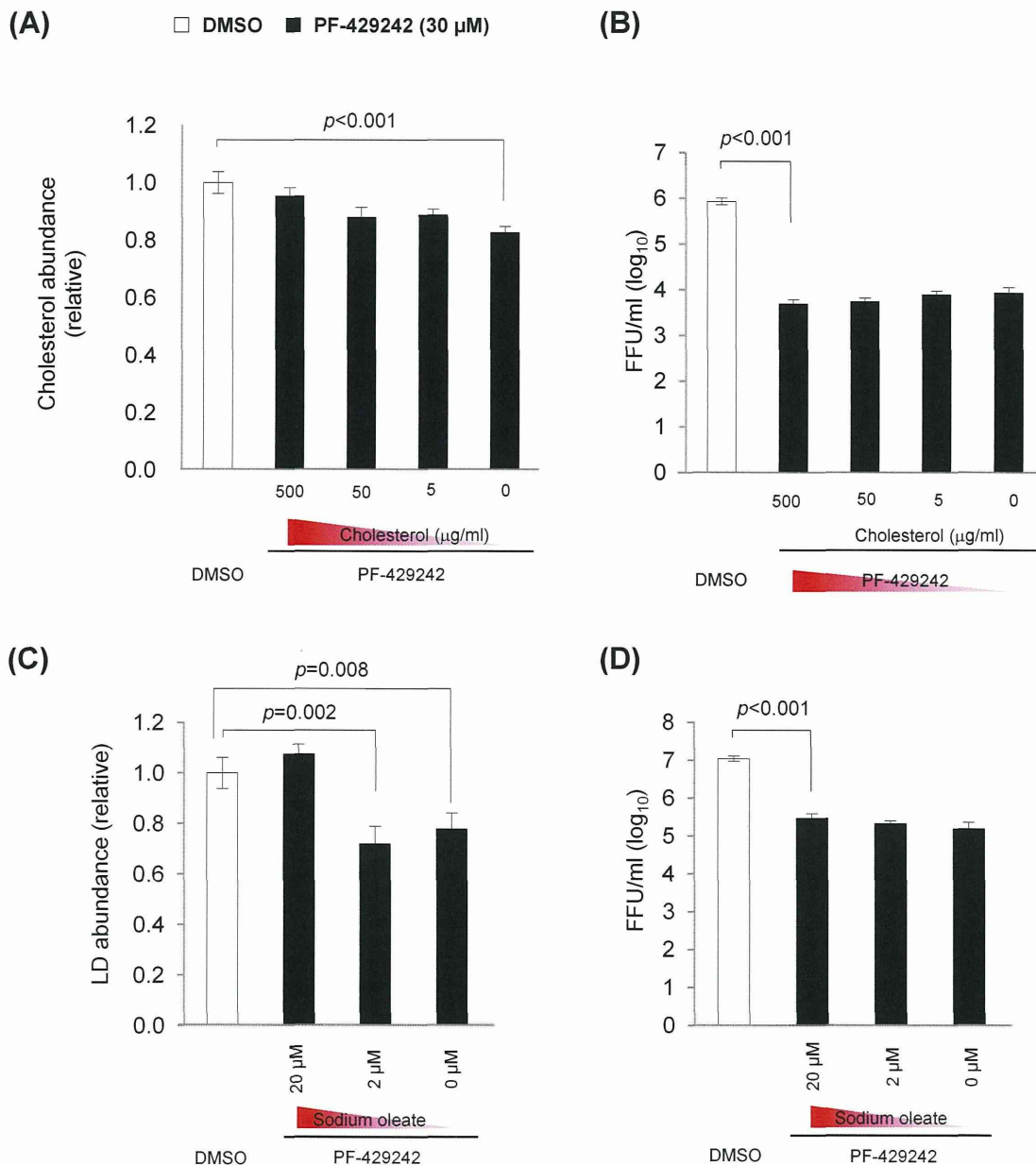
(B) PF-429242 添加による DEN2 感染霊長類由来細胞上清中のウイルス力価の抑制効果

図 2



PF-429242 添加させた DENV2 感染 HeLa 細胞内コレステロール量 (A) および LD 量 (B)

図 3



PF-429242 添加させた DENV2 感染

HeLa 細胞にコレステロールを加え 72 時間培養した細胞内コレステロール量。

(A) Amplex Red Cholesterol Assay kit、(B) 上清中ウイルスカ価、(C) 細胞内 LD 量、(D) 上清中ウイルスカ価