

# 論文内容要旨

*In vitro* Suppression of SARS-CoV-2 Infection by  
Existing Kampo Formulas and Crude Constituent  
Drugs Used for Treatment of Common Cold  
Respiratory Symptoms

(感冒での呼吸器症状の治療に使用される既存漢方薬やそれを構成する生薬による *in vitro* での SARS-CoV-2 ウイルス抑制効果の検証)

Frontiers in Pharmacology, 13: Article 804103  
2022.

主指導教員：伊藤 公訓教授  
(広島大学病院 総合診療医学)  
副指導教員：坂口 剛正教授  
(医系科学研究科 ウイルス学)  
副指導教員：藤井 輝久准教授  
(広島大学病院 病院輸血部)

柿本 聖樹

(医歯薬保健学研究科 医歯薬学専攻)

## 要旨

【背景】 SARS-CoV-2 感染症は収束の兆しがなく、ワクチン接種は加速しているが、変異株に対する有効性など不明な点が多い。また、抗ウイルス作用が期待できる薬剤は少なく、そのほとんどが高価である。そのため新たな抗ウイルス薬の探索は急務である。

そこで、我々は古来より感染症に対しても豊富な使用経験があり、比較的安価である漢方薬に着目した。麻黄湯や柴胡桂枝湯はインフルエンザウイルス感染症に治療薬として認可されており、臨床の有効性や *in vitro* でのウイルス抑制作用が報告をされている。従って、感冒時に使用する漢方薬について、SARS-CoV-2 に対する抗ウイルス作用を検証した。

### 【方法】

SARS-CoV-2 に高感受性を示す VeroE6/TMPRSS2 細胞を用いて、SARS-CoV-2 に対する漢方薬のウイルス抑制効果を検討した。インフルエンザウイルス感染症や感冒に効果があるとされる 8 種類の漢方薬（麻黄湯、小青竜湯、川芎茶調散、升麻葛根湯、葛根湯、補中益気湯、麦門冬湯、柴胡桂枝湯）を選択し、SARS-CoV-2 感染に対する抑制効果を検証した。これらの漢方薬は、50°C、60 分間、細胞培養液に溶解し、不溶性物質を除去したうえで、0.22  $\mu\text{m}$  フィルターで濾過し、漢方抽出液を調整した。

まず、試薬の細胞傷害性について、VeroE6/TMPRSS2 細胞を濃度調整した細胞維持液中で 24 時間培養し、その細胞からの逸脱酵素 LDH を測定し、抽出液の細胞傷害性を検証した。

次に、ウイルス抑制作用の検討として、SARS-CoV-2 を m.o.i (Multiplicity of Infection) 0.05 の条件で VeroE6/TMPRSS2 細胞に 2 時間吸着させ、濃度を調整した漢方抽出液と交換した。感染 24 時間後の培養上清を採取し、その中の感染価を TCID<sub>50</sub> 法で定量した。

更に、ウイルス粒子の直接不活化作用を確認するため、各試薬抽出液とウイルス液を室温で 3 分間インキュベートした後、その溶液の感染価を TCID<sub>50</sub> 法で測定した。無処理対照として、リン酸緩衝生理食塩水を用い、不活化対照としてエタノールを用いた。

有効性が認められた漢方薬については、それらに含まれる 6 種類（マオウ、センキュウ、カンゾウ、オウゴン、サイコ、ジャクヤク）の生薬についても同様の実験を行った。生薬については、m.o.i 0.05 の条件でウイルス抑制作用を検証し、有効性を示した生薬については m.o.i 10 の条件でも評価し、ウイルス抑制メカニズムを検証した。

### 【結果】

漢方薬の細胞傷害性について、麻黄湯、柴胡桂枝湯、葛根湯、升麻葛根湯では 20mg/ml の濃度で 30%以上の細胞毒性を示した。しかし、10mg/ml 以下では、いずれの漢方薬も、明らかな細胞傷害性は示さなかった。

ウイルス抑制効果について、麻黄湯、川芎茶調散の順に、高濃度ほどウイルス阻害作用が示された。一方で、補中益気湯と麦門冬湯はウイルス感染に対する抑制作用は示さなかった。漢方薬の直接不活化作用については、いずれも感染価の低下には至らず、ウイルス粒子への直接不活化作用は認めなかった。

ウイルス抑制作用のあった漢方薬の構成生薬について、それぞれ細胞傷害性を示さない濃度で、ウイルス抑制作用を検証したところ、m.o.i 0.05 と 10 の 2 条件でマオウが最も強いウイルス抑制作用を示し、オウゴン、シャクヤクには弱いウイルス抑制作用が確認された。これらの生薬について、細胞内のウイルス複製を抑制していることが示唆された。カンゾウは m.o.i 0.05 では効果があったが、m.o.i 10 の感染実験ではほとんど阻害効果が示されず、抗ウイルス作用は隣接する非感染細胞へのウイルス拡散の抑制によるものと考えられた。また、マオウとマオウを含む漢方薬のウイルス抑制効果を比較したところ、ウイルス抑制作用はマオウの含有量に依存しておらず、他の生薬成分がマオウの効果を弱めていることが明らかとなった。生薬によるウイルス粒子への不活化作用は、コントロールと比較してマオウが 2.5 Log<sub>10</sub>TCID<sub>50</sub>/ml の感染力価の減少が示され、マオウが直接ウイルス粒子を不活性化している可能性が示唆された。しかし他の生薬は感染力価の低下を示さず、ウイルス粒子を不活性化しないことが示唆された。

#### 【結論】

感冒に用いられる漢方薬とその生薬の抗 SARS-CoV-2 効果を *in vitro* で比較したところ、漢方薬では麻黄、生薬ではマオウに最も強いウイルス抑制効果を有しており、その他の漢方薬や生薬でもウイルス抑制効果が示された。従って、さらなる検証が必要であるが、漢方薬は COVID-19 の治療に貢献する可能性がある。