Session 1　基礎 Up-to-date

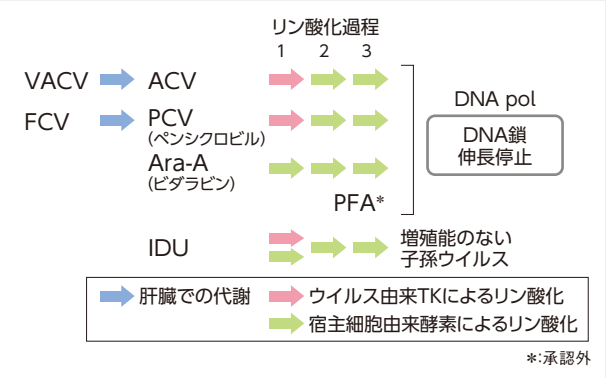
抗ウイルス薬の作用機序から見た特性の違い

錫谷 達夫 先生　福島県立医科大学 微生物学 教授

抗ヘルペスウイルス薬の作用機序と特性

現在、臨床で使用されている抗ヘルペスウイルス薬は全てウイルスDNA合成阻害薬である。ウイルスDNAポリメラーゼ（DNA pol）を直接阻害するホスカルネットナトリウム水和物（PFA）*と、DNA鎖へ取り込まれることでDNA合成を阻害するイドクスウリジン（IDU）**、ファムシクロビル（FCV）、バラシクロビル塩酸塩（VACV）、アシクロビル（ACV）などの2種類に分類される。IDU、FCV、VACV、ACVは、作用発現のためにウイルス感染細胞内でチミジンキナーゼ（TK）によるリン酸化を必要とする（図1）[1]。

*:承認外　**:国内では2009年8月に販売中止



腰塚哲朗 他. 日本臨牀. 70(4)558(2012)より一部改変

図1　抗ヘルペスウイルス薬の作用機序

DNA鎖へ取り込まれDNA合成を阻害する薬剤

イドクスウリジン

チミジン誘導体であるIDUはウイルス感染細胞内でTKによりリン酸化されて3リン酸化体となった後、デオキシチミジン3リン酸（dTTP）の代わりにDNA鎖に取り込まれてDNA合成を阻害する。IDUは宿主のTKでもリン酸化されるため感染細胞への選択性が低く、全身投与には適さないが、海外では水溶性が高いことから点眼薬として使用されている。なお、IDUは突然変異により薬剤耐性ウイルスを誘導しやすく、眼科領域でACVに交叉耐性を持つウイルスが報告されている[2]。一方、国内の眼科用剤にはACVがあるが、水溶性が低いため、軟膏剤として上市されている。今後は服薬コンプライアンスも考慮して、感染細胞への高い選択性を有し、眼科用剤に適した水溶性の高い抗ヘルペスウイルス薬の開発が期待される。

ファムシクロビル、バラシクロビル塩酸塩、アシクロビル

FCVやVACVは生体内でペンシクロビル（PCV）、ACVにそれぞれ代謝される。その後、ウイルス感染細胞内に移行し、ウイルスのTKによって1リン酸化された後、宿主細胞内キナーゼによって3リン酸化体となる。これら薬剤の最初のリン酸化はウイルス由来のTKにより起こるため、感染細胞への選択性が高い。3リン酸化体となった後は感染細胞内でDNA polの基質の一つであるデオキシグアノシン3リン酸（dGTP）と競合拮抗してDNA鎖に取り込まれ、DNA合成を阻害する。

PCVはウイルスのTKに対する親和性が高いため、感染細胞内へ移行後、速やかにリン酸化される。TKに対する阻害定数（Ki値）はACVが173 μMであるのに対し、PCVは1.5 μMである[3]。また、本来の基質であるチミジンのミカエリス定数（Km値）は0.8 μMであり、PCVは自然の基質と同程度に高率でリン酸化されると考えられる[4]。一方、DNA polに対する親和性はPCVよりもACVの方が高い。

PCV3リン酸化体は感染細胞内に高濃度で存在し、感染細胞内での半減期も長い（表1）[3]。つまり、PCVは作用部位である感染細胞内へ速やかに移行し、高濃度で長時間安定して感染細胞内に存在することで持続的な抗ウイルス作用を示すと考えられる。

表1　PCVとACVの酵素への親和性および3リン酸化体の単純ヘルペスウイルス1型（HSV-1）感染細胞内濃度・半減期

	TK (Ki)	DNA pol (Ki)	感染細胞内3リン酸化体濃度	感染細胞内3リン酸化体半減期（hr）
PCV	1.5	200	625	10
ACV	173	1.0	2.2	0.3

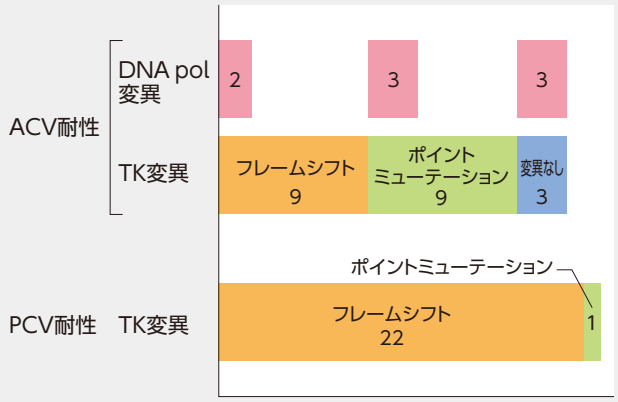
Kiおよび細胞内濃度の単位はμM

白木公康 他. 日本臨牀. 58(4)939(2000)より抜粋

薬剤耐性化のメカニズムと頻度

正常細胞では、デオキシアデノシン3リン酸（dATP）、dGTP、デオキシシチジン3リン酸（dCTP）、dTTPのバランスが厳密に保たれている。このバランスが崩れるとDNA複製時にエラーが生じ、突然変異が起こりやすくなる。HSV-1感染6時間後の細胞内dATP、dGTP、dCTP量は正常細胞の約2.5～3倍、dTTPは約9倍と、dTTPが著明に増加していることが明らかとなっている[5]。HSV-1のDNAを構成する塩基の約7割がグアニンとシトシンであるのに、チミンの元となるdTTPが顕著に増加していることは興味深い。

ヘルペスウイルスの薬剤耐性化はTK変異あるいはDNA pol変異により認められる。これらの変異はDNA polがゲノム複製時に起こすエラーによって生じるため、非常に稀である。また、IDU以外の抗ヘルペスウイルス薬に明らかな変異原性はなく、抗ヘルペスウイルス薬が耐性ウイルスを誘導することは少ない。エラーの頻度を考えてみると、DNAウイルスのDNA polは1億～1000億個のヌクレオチドの伸長につき1回であり、RNAウイルスのRNA polの1000～100万に1回と比べて低い。仮にHSV-1のDNA polのエラーを1億ヌクレオチドに1回とした場合、ゲノムは152,000塩基対からなるので、ゲノム650回程の複製で1回エラーが生じると考えられる。DNA polによるエラーはゲノムDNA全体に同様の頻度で起こるのではなく、特に集中して起こる部分（いわゆるhot spot）が存在し、HSV-1ではTK遺伝子が該当する。体内で自然に耐性ウイルスが出現する頻度に関しては、ACV治療前の単純ヘルペス脳炎患者の検体中に存在する耐性ウイルス量が、成人で2.9～10.4 pfu/10^4 pfu、新生児で4.5～50.0 pfu/10^4 pfuであったとの報告がある[6]。一方、薬剤存在下での耐性化変異の特徴を検討するため、ACVとPCVで薬剤濃度を治療中の患者の血中濃度まで徐々に上げながらHSV-1の継代培養を繰り返し、発生した耐性HSV-1にどのような突然変異が起きたかを調べた[7]。その結果、ACV存在下で生じた突然変異21株のうちTK変異ではフレームシフトが9株、ポイントミューテーションが9株、変異なしが3株で、DNA pol変異は8株に認められた。PCV存在下で生じた突然変異23株では全てTK変異で、フレームシフトが22株、ポイントミューテーションが1株であった。DNA pol変異は認められなかった（図2）。ACVとPCVの結果の違いについては、ウイルス感染細胞内での3リン酸化体濃度が異なることが原因かもしれない。



Suzutani T et al. Antimicrob Agents Chemother. 47(5)1707(2003)より作図

図2 ACV、PCV存在下で起こる突然変異

薬剤耐性ウイルスの病原性

一般に薬剤耐性ウイルスの病原性は低く、免疫能が正常であれば臨床上問題となることはないといわれている。実験的にその病原性を確認するため、マウス脳内にHSV-1野生株およびその株から分離したTK欠損株を接種して生存率を観察した[8]。生後4週目のマウスは野生株を10 pfu接種すると全て脳炎で死亡したが、TK欠損株を10^6 pfu接種しても何の症状も示さなかった。しかし、生後3日目の幼若マウスでは、TK欠損株も野生株と同様に病原性を示した。この結果には宿主細胞内のTK活性が影響していると考えられる。生後1週目までのマウスは中枢神経細胞の分裂が盛んであり、DNA合成のために宿主細胞のTK代謝が行われている。そのためTK欠損株でも宿主のTKを代用することでウイルスのDNA複製が可能になる。マウス脳内のTKおよびチミジル酸合成酵素の活性を測定した試験でも、生後1週目までは高い酵素活性が認められたが、細胞分裂を停止した生後2週目以降は非常に低い活性しか認められなかった[8]。中枢神経細胞の分裂が少なくなるとウイルスDNAの複製にウイルス自体のTKが必要なため、TK欠損株は病原性を示さないと考えられる。これらのことから、新生児ヘルペスに対しては薬剤耐性ウイルスも病原性を示す可能性があると考えられる。また、成人の脳内ではTK欠損株は増殖できないが、細胞分裂が盛んな皮膚や粘膜では増殖できる可能性がある。

今後、TKやDNA pol以外の作用点を持ち、薬剤耐性ウイルスにも使用できる抗ヘルペスウイルス薬の開発が望まれる。

1) 腰塚哲朗 他. 日本臨牀. 70(4)558(2012)
2) Yao YF et al. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 234(Suppl1) S126(1996)
3) 白木公康 他. 日本臨牀. 58(4)939(2000)
4) Chen MS et al. J Biol Chem. 253(5)1325(1978)
5) Cheng YC et al. Biochim Biophys Acta. 390(3)253(1975)
6) Parris DS et al. Antimicrob Agents Chemother. 22(1)71(1982)
7) Suzutani T et al. Antimicrob Agents Chemother. 47(5)1707(2003)
8) Suzutani T et al. Microbiol Immunol. 39(10)787(1995)