

# 論文審査の結果の要旨

申請者氏名 柏 瀬 裕 人

後天性免疫不全症候群（AIDS）の病原体であるヒト免疫不全ウイルス（HIV）の同定以来、HIV感染に対する化学療法剤の研究が精力的になされ、現在では核酸系逆転写酵素阻害剤6剤（本邦では5剤）、非核酸系逆転写酵素阻害剤3剤（本邦では1剤）、HIVプロテアーゼ阻害剤5剤が既に上市されている。特に複数の薬剤を併用するHAART（highly active antiretroviral therapy）の導入以降、先進国ではAIDS関連疾患患者数及びAIDSによる死亡者数は激減していることが報告されている。しかしながら、①HAARTに要する費用が高価なため、発展途上国に住む大多数の患者（全体の約95%）が治療を受けられないこと、②薬剤耐性ウイルスの出現、副作用、治療薬の服薬習慣遵守が困難なこと等が原因で治療効果が上がらない症例が多いこと、③現行の治療法では体内からのウイルス排除はできないこと等、現行の治療法には限界がある。このような背景から、新しい作用機作を有するかあるいは薬剤耐性ウイルスに対しても効果があり、安全で且つ安価な治療薬の開発が待望されている。

キノロン系化合物は抗生物質として広く使用されているが、最近、ある種のキノロン系抗生物質が抗HIV活性を併せ持つことが報告され、安価で新しいタイプの抗HIV剤として利用できる可能性が示された。これらの報告を受け、著者は、三井株式会社の有する化合物ライブラリーのうち、キノロン系化合物の抗HIV活性を調べた。本スクリーニングにより、アリルピペラジニルフルオロキノロン的一种であるR-71762がHIV増殖阻害剤として選択できた。本化合物は、急性感染細胞及び持続感染細胞のいずれにおいてもHIV増殖を阻害した。

次に、R-71762誘導体の抗HIV活性について検討することにより、キノロン環の7位ピペラジン窒素のアリル基による修飾が抗HIV活性発現に重要であることを明らかにした。また、これら誘導体のうちいくつかの化合物は、新化合物であるR-71762よりも強い抗HIV活性を有していた。これらの化合物は、①全て持続感染細胞においてHIVの増殖を阻害したこと、②HIVプロテアーゼ阻害活性を有しないことから、HIVゲノムの宿主染色体上への組み込み以降に作用点を有し、且つ現在上市されている逆転写酵素阻害剤及びHIVプロテアーゼ阻害剤とは作用機作が異なる、新しいタイプの抗HIV剤であることが示唆された。

抗HIVアリルピペラジニルフルオロキノロン剤の生体内薬効を、FIV/ネコ感染モデル系を用いて評価することを目指し、まず、評価に用いるウイルス定量系を確立する目的で、FIV p24抗原に対するモノクローナル抗体（mAb）を作製した。作成したmAbのうち、F2710抗体が、FIV株間で非常に良く保存されている7アミノ酸配列SFIDRLFを認識することを明らかとした。このF2710抗体とウサギ抗p24ポリクローナル抗体を用いて、直線性良好にFIVp24抗原を定量できるサンドイッチ酵素結合免疫

固相アッセイ (ELISA) を確立した。

本ELISA系を用いて、抗HIVアリルピペラジニルフルオロキノロン剤の抗FIV活性を調べた結果、これらの化合物はFIV持続感染細胞においてもウイルス増殖を阻害することが明らかとなり、FIVに対する抗ウイルス活性が確認できた。また、これらの薬剤が抗FIV活性を発揮するためには、①キノロン環の3位のカルボキシル基が未修飾であること、②キノロン環の7位に結合させたピペラジンの4位が芳香族で修飾されていること、が構造上必須であることが明らかとなった。これらの構造は抗HIV活性にも必須であり、抗HIV・抗FIV両活性を発揮する際の薬剤の標的分子が共通である可能性が示唆された。

さらに、化合物群のうちの一つ、R-91650の作用機作を、FIVを用いて検討した結果、R-91650は、①急性感染系及び持続感染系の双方でFIV増殖を阻害すること、②持続感染細胞内外のp24蛋白レベルを減少させること、③FIV mRNAの細胞内蓄積を特異的且つ用量依存的に阻害すること、④抗ウイルス活性を示す濃度ではFIVのプロモーター活性を阻害しないこと、が明らかとなった。これらの結果から、R-91650はFIVプロモーターの転写開始以降の段階に作用してFIV増殖を阻害する、新しいタイプの薬剤であることが示唆された。

以上本論文は、一部のキノロン系化合物群が抗HIV・FIV剤の候補となる可能性を指摘したもので、学術上、応用上貢献するところが少なくない。よって審査委員一同は本論文が博士（獣医学）論文として価値あるものと認めた。