

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏名 久保 淑

インフルエンザは世界で年間 25～50 万人の死者が出ている感染症である。さらに、新型ウイルス出現によるパンデミック発生、高病原性ウイルスの発生、ワクチンの限界を考えると抗ウイルス薬の必要性は非常に高い。

インフルエンザウイルスの膜上にはヘマグルチニン (HA) とノイラミニダーゼ (NA) があり、細胞への吸着・侵入と感染の拡大に重要な働きをする。ウイルスは HA を介して細胞上の糖鎖末端シアル酸を受容体として認識し細胞に吸着する。エンドサイトーシスにより細胞内に取り込まれると、HA の高次構造がエンドソーム内の酸性により変化し、ウイルス膜とエンドソーム膜の膜融合を惹起し、ウイルス内部は細胞質へ開口する。ウイルスゲノムは細胞質に放出され、核へと移動し、ゲノム RNA の鋳型となる相補的 RNA (cRNA) とウイルスタンパク質を作るための mRNA に転写される。mRNA からウイルスタンパク質が作られるが、膜タンパク質である HA と NA は Golgi 体を通して細胞膜へと移動する。ウイルスのゲノム RNA やタンパク質の各コンポーネントは細胞膜で会合し、子ウイルスが出芽する。子ウイルスは親ウイルス同様に HA を膜表面に有しているため、細胞膜あるいはウイルス膜の糖鎖末端シアル酸に結合し、ウイルス凝集体を形成する。そこに NA が働き、末端シアル酸が切断されると HA はもはや結合することができなくなり、子ウイルスは凝集体から遊離し次の感染へと向かう。

NA を阻害するとウイルスの感染拡大が阻害されるため、抗インフルエンザ薬となる。NA 阻害剤としては、現在までにリン酸オセルタミビル (以下、オセルタミビルと称す。タミフル[®])、ザナミビル (リレンザ[®])、ペラミビル (ラピアクタ[®])、ラニナミビルオクタン酸エステル (CS-8958 ; イナビル[®]) が国内で承認されている。オセルタミビルは経口吸収性を高めるためにプロドラッグ化されており、体内ではオセルタミビル活性体として働く。いずれの薬剤もそれぞれにその用法に特長があり、オセルタミビルは経口剤、ザナミビルは吸入剤で、いずれも 1 日 2 回 5 日間の投与が治療に必要である。ペラミビルは単回の薬剤であるが、静注が必要である。

本研究において久保は、抗インフルエンザ薬として、先行薬であるオセルタミビルやザナミビルにはない新しい特長を持つ新規 NA 阻害剤を見出すことを目標として探索を開始した。その結果、新規 NA 阻害薬ラニナミビルと動物において長期作用を示すそのプロドラッグ体 CS-8958 を発見した。さらに、CS-8958 が長期作用を示す理由を提示し、本薬剤がウイルス感染標的細胞で長時間貯留する機構を明らかにした。以下に研究の概要を示す。

①新規 NA 阻害剤ラニナミビルの発見： 久保は、ザナミビルを元化合物として合成した種々化合物から NA 阻害活性を指標に探索を行ない、新規 NA 阻害剤ラニナミビルを見出した。ラニナミビルはヒトで流行中の A 型ウイルスである H1N1 亜型 (ソ連型)、H1N1pdm09 亜型 (2009 年のパンデミックウイルス)、H3N2 亜型 (香港型) 及び B 型ウイルス、加えて NA の既知の全血清亜型 (N1～N9 型) および高病原性 H5N1 トリインフルエンザウイルスの各 NA に対し、ラニナミビルは他の先行薬と比べて同等に強い阻害活性を有することを示した。また、種々のオセルタミビル耐性ウイルスの NA に対しても活性を維持していた。

②プロドラッグ化による長期作用性の付与： ラニナミビルは他剤と同様に強い NA 阻害活性を有していたが、先行他剤に比べ優れた特長を有する化合物とは言えなかった。そこで久保は、先行薬が 1 日 2 回 5 日間の反復投薬が必要な点に着目し、単回投与で有効な化合物であれば治療薬として大きなメリットがあると考えた。そこでラニナミビルをプロドラッグ化することにより、長期作用型、即ち単回投与でも有効な化合物とすることができないかと考えた。その結果、ラニナミビルの 9 位水酸基に各種鎖長の脂肪酸を付加したプロドラッグ体が鎖長に依存した延命効果を与えることを明らかにした。特にオクタン酸付加体 (CS-8958) 投与では感染 20 日後でも 50-70% のマウスが生存し、鎖長はそれより長くても短くても延命効果は減弱することを明らかにした。

③CS-8958 の動物感染モデル系での評価： 久保は、CS-8958 について種々の薬効評価を行なった。評

価はマウス、フェレット、モルモットに種々のインフルエンザウイルスを感染させ、動物の延命効果あるいは動物の肺懸濁液または鼻洗浄液中のウイルス量を測定することにより行なった。ウイルスとしてはA型ウイルスのH1N1、H1N1pdm09、H3N2、オセルタミビル耐性H1N1の各亜型およびB型ウイルスを使用した。その結果、例えばH1N1pdm09ウイルス感染マウスモデルにおいて、CS-8958を単回経鼻投与はオセルタミビル反復投与より有意なウイルス産生抑制効果を示すことを見出した。また、他の各種ウイルス動物感染モデルにおいても、CS-8958は単回投与で有効であることを示した。

④CS-8958の長期作用性の理由： CS-8958をマウスに経鼻投与すると、活性代謝物ラニナミビルに速やかに変換し、ラニナミビルとして長い半減期で肺中に長期残存することが長期作用性の説明となっている。それに加えて、久保はラニナミビルのNAへ安定に結合性することを明らかにし、この性質も長期作用性に関与していると考えられた。

⑤CS-8958が肺で長時間残留する機構の解明： CS-8958はその9位に付加したオクタン酸が投与後速やかに切断され、活性体ラニナミビルに代謝される。久保は、放射標識したCS-8958を経鼻投与後の気道洗浄液への放射活性の回収が少ないこと、肺のマイクロオートラジオグラフィで放射活性が細胞内に観察されること、ラニナミビル投与では長時間貯留性が見られないことから、CS-8958は細胞内で切断され、細胞内に活性体として貯留すると想定した。そこで、残留機構の解明を試みた。その結果、CS-8958はオクタン酸付加によりもたらされた脂溶性を利用して、気道上皮細胞に侵入すること、侵入した細胞内でER/Golgiに移行し、その内腔側に活性中心を持つCES3と出会い切断されること、生じた活性体ラニナミビルは水溶性が高く、ER/Golgiの膜構造体内にトラップされ貯留するようになること、を明らかにした。一方、インフルエンザウイルスのNAは膜タンパク質であり、ER/Golgiの内腔側にその活性中心を向けた状態で、糖鎖修飾や多量体形成の成熟過程を経る。NAはそのためER/Golgi内でラニナミビルと結合が可能で、安定な結合体として細胞膜に移動し、その結合状態でウイルス粒子形成を行ない、効率良くウイルスNAを阻害できるのではないかと考えられた。

本研究において、新規NA阻害剤ラニナミビルを発見し、さらにそのオクタン酸付加プロドラッグ体CS-8958が長期作用型の性質を獲得することを見出した。CS-8958は単回で治療が完結する吸入剤イナビル®（10歳以上40mg、10歳未満20mg）として2010年10月に上市された。従って、本研究は医学薬学領域において極めて重要な研究であり、博士（薬学）に充分値するものと判断した。