抗ウイルス剤の研究開発

町田治彦*

ワクチンの発達により、多くのウイルス病を封じ込めることに成功したと思っただけ、エイズがはやり出し人々はウイルス病の恐ろしさを改めて知った。我々は公衆衛生学的な予防とともに、エイズのみならず他のウイルス病も含め、化学療法によるその治療を考えなければならなくなった。ヒトの細胞の中でしか増殖しないこの微小な病原体を、どうしたら細胞に悪影響を与えずに叩くことができるだろうか。

ウイルスとウイルス性疾患

エイズの爆発的流行とそれによる社会的不安の惹起によって、ウイルス病の恐ろしさが再認識され、エイズとの闘いに科学的知識が結集されている。抗ウイルス剤研究においても、従来、化学療法の一分野として基礎医学と薬学の一部の関係者の間で進められていたこの分野の研究に周辺領域の科学の参加が促されることとなった。

抗ウイルス剤の研究にはウイルスおよびウイルス病を理解することが必須である。ウイルスとはDNA か RNA のいずれかを遺伝子としてもち、この遺伝子と構成成分である構造蛋白質（糖蛋白質を含む）とからのみなる微小の生命体である。ウイルスの一部には機能蛋白質としてのいくつかの酵素を粒子中に持つものや、細胞成分である外被膜（エンベロープ）に包まれているものもあるが、自らはエネルギー供給系や蛋白質の合成系であるリボゾームをもたない完全寄生性の生物である。すなわち、絶対に宿主細胞の中でしか増殖できない。このことが選択性の高い抗ウイルス剤（細胞に悪い影響を与えずに選択的にウイルスの増殖を抑える）の開発を困難にする原因となっている。

ウイルスに起因する病気には身近なものが多い。インフルエンザ、鼻かぜ、ヘルペスなどのほか、小児科領域の病気として、はしか、風疹、お

たふくかぜ、水ぼうそう、三日ばしかなど日常生活でみられる（common な）病気として我々がとらえているものが少なくない。このうち、小児科領域の病気として挙げたものは、いったん病気にかかるると終生免疫が獲得されるため、よほどのことがない限り大人になってから再びかかることのない病気である。また、ウイルス性疾患には病気としては軽いものが多い。もちろん、エイズのように死亡率の高い病気もあるが、それはウイルス病全体としてはごく一部であって、大半のウイルス病はかぜを筆頭にあまり重篤ではない。そのため、ごく最近まではウイルス病はがん患者などでの併発など、一部の患者において特に注意が払われてはいたものの、common な病気であることを理由に一般にはあまり恐れられることなく、したがって抗ウイルス剤の必要性もあまり高くなかった。しかし、抗生物質の発達で細菌性の感染症

略号一覧

〔ウイルス名〕

CMV：サイトメガロウイルス
DHBV：アヒルB型肝炎ウイルス
HBV：B型肝炎ウイルス
HIV：ヒト免疫不全ウイルス（エイズウイルス）
HSV-1：1型単純ヘルペス
HSV-2：2型単純ヘルペス
VZV：水痘-帯状疱疹ウイルス

〔薬剤名（主なもの）〕

BVDU：プロモビニールデオキシウリジン
BVアラU：プロモビニールアラビノシルウラシル
IDU：5-ヨードデオキシウリジン（イドクスウリジン）
PFA：ホスホノメ酸
TFT：トリフロロチミジン（トリフルウリジン）

Antiviral Chemotherapy

* Haruhiko MACHIDA, ヤマサ醤油(株)研究開発本部生物研究室

表 1 ■ ウイルス感染に働く免疫機構

- 1. 非特異的防御機構
 - 1) ムコ蛋白質
 - 2) マクロファージ
 - 3) ナチュラルキラー細胞
 - 4) インターフェロン
- 2. 特異的防御機構*
 - 1) 特異的中和抗体
 - 2) 補体依存性細胞障害 (CDC)
 - 3) 細胞障害性T細胞
 - 4) 抗体依存性細胞媒介性細胞障害 (ADCC)
 - 5) 遅延型過敏反応

* 1, 2): 液性免疫, 3, 4, 5): 細胞性免疫. 1, 2, 4): 免疫グロブリンが関与

が強力に抑えられるようになった結果, 病原体としてのウイルスを無視できなくなっている。病原微生物界の一部で細菌からウイルスへの菌叢の交代が行なわれつつあるといっても過言ではない。

ウイルスの感染に対してヒトは表 1 に示すような様々な生体防御機構を備えている。その免疫機構は、本質的には一般の抗原に対するものと変わらないが、免疫応答はウイルス単独に対してのみならず、ウイルス感染細胞に対しても強く働く。ウイルス感染細胞の破壊と除去という一種の自殺的行為によって、生体はウイルスの増殖を中断させ、自らの生命をウイルスから守る機能を有している。この免疫機構は生体とウイルスのあらゆるかわりあい (interaction) に対して応答する。すなわち、初感染に対しては主に非特異的防御機構の働きによって発症を阻止する。また、発症した場合にはインターフェロンおよび特異的免疫反応が主体となって病気の進展を抑え、生体を回復の方向へ導く。再感染のときは非特異的および特異的免疫機構の両方が働き、発症を阻止する。

このように、ウイルス感染および発症に対する生体防御機構が備わっている状況においては、抗ウイルス剤の役割はウイルスを殺すことではなく、ウイルスの増殖を抑えることにある。実際に本稿で述べる抗ウイルス剤は、市販のもの、開発中のものを問わず、すべてウイルス増殖阻止物質であって、殺ウイルス剤ではない。抗ウイルス剤の作用はウイルスの増殖を抑えることによって症状の軽減と早期回復を促すものであり、ウイルス病の治癒の主体はあくまで生体防御機構である。

表 2 ■ 抗ウイルス活性物質

- 1. 抗ウイルス性化学療法剤 (○)
- 2. 抗ウイルス性抗生物質
- 3. 殺ウイルス剤
- 4. 抗体 (イムノグロブリン) (○)
- 5. インターフェロン (△)
- 6. ワクチン (○)
- 7. インターフェロン誘発剤
- 8. 免疫賦活剤 (△)
- 9. サイトカイン
- 10. トランスファクター

○: 治療および予防に臨床で広く使用されている重要なもの, △: 臨床で一部の疾患に用いられているもの

抗ウイルス剤のターゲット

抗ウイルス作用を有するものとして、表 2 に示すような化学療法剤、中和抗体、インターフェロンなどの他、ワクチン、免疫賦活剤などの生体防御機構を利用した宿主主在性のものがある。これら抗ウイルス活性物質のうち、抗ウイルス性化学療法剤を一般に抗ウイルス剤と呼んでいる。なお、最近認可されたイソプレノシンのような免疫賦活作用を有するものや、インターフェロンも抗ウイルス剤として扱う場合もある。抗ウイルス剤の研究開発を行なう上で一番重要なことは、どのようなウイルス性疾患に抗ウイルス剤が必要かを把握することである。終生免疫が獲得される病気に対しては、ワクチンが絶対的に有効である。たとえば、ポリオワクチンの開発によって、今ではポリオという病気はほとんど耳になくなった。その昔、猛威をふるった天然痘は、ジェンナーのワクチンの研究以来、これを武器に人類は天然痘と戦い続け、とうとうそれを撲滅するに至った。このようなワクチンが有効なウイルス性疾患に対しては、抗ウイルス剤はほとんど必要とされない。抗ウイルス剤の対象となる疾患は次の通りである。

1) 死亡率が高い、またはがんへの移行の恐れのある疾患

エイズ、B型肝炎、ヘルペス性脳炎、新生児ヘルペス、がんやエイズ、臓器移植患者など免疫不全患者における各種ヘルペス性疾患などがこれに相当する。エイズはリンパ球が破壊され、免疫能

が極端に低下するため、普通なら発症しない日和見感染によって死に至る不治の病である。潜伏期間が長く、潜在感染者も多い。感染力が強く死亡率がきわめて高いので現代の黒死病とも呼ばれ、現在では最も恐れられている感染症である。B型肝炎は、最近ワクチンが完成し、母子感染を防ぐ見通しが立った。しかし、B型肝炎ウイルスの既感染者は依然として多く、発症すれば慢性肝炎、肝硬変、さらには肝がんへの移行の恐れもある。ヘルペス性脳炎は各種ヘルペス性疾患の中で唯一死亡率の高い病気である。また、ヘルペスウイルス群による病気は通常はそれほど重篤ではないが、免疫能、特に細胞性免疫能が低下している状態では病気の進展を抑えることができず、しばしば重篤な状態に陥る。新生児ヘルペスも重篤な全身性感染症である。

2) ワクチンがない、またはワクチンが不完全な疾患

各種ヘルペス性疾患、エイズ、鼻かぜ、インフルエンザ、ラッサ熱などの風土病があげられる。HSV に対するワクチンは現在広く研究されている⁽¹⁾が、未だ実用化されていない。ヘルペスウイルス群の中では唯一、生ワクチンが使われているのは水痘(水ぼうそう)であるが、普及度はあまり大きくない。鼻かぜの主な病因ウイルスであるライノウイルスには 100 以上の抗原型を異にする型(セロタイプ)があり、理論的にはヒトは一生のうち 100 回以上鼻かぜをひく機会をもっている。これらに有効な単一のワクチンの開発は現在では不可能に近い。インフルエンザウイルスは毎年、大なり小なり変異したウイルス株が流行するため、ワクチンを使用する頃には別のタイプのウイルスが流行している可能性が大きい。今年のように流行するウイルス株の予測が当たったとしても、その効果は完全とはいえない。また、ワクチンの接種率を毎年高率に保つことは容易なことではない。各種の風土病は病原ウイルス自体の研究が進んでいないものもあり、ワクチンの開発に至っていない。

3) 再発性のウイルス性疾患

各種ヘルペス性疾患には再発性のものが多い。

これは初感染時に脊髄や神経節にウイルスが潜伏感染するためである。ヘルペスウイルスに対するヒトの免疫防御機構は主として細胞性免疫によっている。潜伏感染しているヘルペスウイルスが神経細胞にそって増殖を始めたときに、たまたま細胞性免疫能が疲労や薬剤の影響などで低下していると再発(回帰発症)という形で発病する。単純疱疹のように再発が恒常化しやすいものと、水痘と同じ VZV に起因し、水痘の再発型である帯状疱疹のように、大半が一生に一度の再発で終わるものがある。ワクチンは感染防御には有効な手段ではあるが、再発型の病気に対してはあまり有効ではない。特に帯状疱疹のように発症が予測できない疾患に対してはワクチンは適用できない。このような疾患に対しては抗ウイルス剤の適用が必要である。

抗ウイルス剤の検索法

1. *In vitro* 活性検定法

抗ウイルス剤の検索手順は一般の薬剤の場合と同様に、① セルフリー系(酵素レベル)、② *in vitro* 系(細胞レベル)、③ *in vivo* 系(実験動物レベル)の順によることが可能だが、組織培養技術が発達した今日では、①を省略して *in vitro* 系から始めるほうが好ましい。特にスクレオンド誘導体のように感染細胞内で活性化を受けて抗ウイルス活性をもつ(後述)場合には、酵素レベルの検索では活性は見つからない。また *in vitro* 試験では細胞に対する毒性も同時に調べることができ、選択性の高い薬剤を検索するのに早道である。

In vitro の試験で一番問題となるのは、ウイルスと宿主細胞の組合せである。ウイルスの中には宿主領域の狭いものが多く、多くのヒトのウイルスに対してはヒト由来の細胞を用いなければならない。CMV、VZV、HBV、HIV などがある。CMV や VZV は樹立細胞株では増殖しないため、ヒト胎児肺細胞がよく用いられる。HIV に対してはいくつかのリンパ系細胞が用いられる。HBV に対してはウイルスの増殖細胞系が確立されておらず、薬剤の直接の増殖阻止効果をみることは不可能である。そのモデルとしてアヒル

表 3 ■ *In vitro* 抗ウイルス活性測定法

- 1. CPE 抑制法
[ED₅₀]
変法：ミクロ色素取り込み法
- 2. プラーク減少法
[PD₅₀]
変法：ELISA 法
- 3. ウイルスイーールド減少法
[ID₉₀, ID₉₉]
- 4. プラーク阻止円法（ペーパーディスク法）

の肝細胞を培養して DHBV を用いたり⁽²⁾、HBV をトランスフォームした HBV 持続産生細胞における HBV-DNA 複製の阻害を測定する試みがなされている。なお、以下に述べる実験系のいずれにおいても、ウイルス増殖を容易に観察できる系が好ましいのは当然である。

表 3 に単層培養系での抗ウイルス活性測定法を示す。CPE 抑制法はウイルスの感染によって起こる細胞変性効果（CPE）に対する薬剤の影響を調べる方法で、CPE の程度を半分以下に抑える濃度（ED₅₀）を最小有効濃度とする。CPE の程度を色素取り込み量に置き替えて、これを光学機械的に測定する方法もあるが、一般的に ED₅₀ 値は高めに測定される。HIV などのようにリンパ系の細胞を用いる系では、トリパンブルー染色による死細胞百分率を測定することによって、この方法に準じた検索が可能である。なお、薬剤の毒性と区別するために、ウイルス非感染の薬剤対照を置く必要がある。

プラーク減少法は、アガロースやメチルセルロース存在下でプラークを形成させ、プラーク数が対照の 50% に減少する薬剤濃度（PD₅₀）を最小有効濃度とするもので、薬剤間の効果比較やウイルス株の感受性試験を用いられる。プラークやフォーカスの観察が困難な系では、ELISA 法や蛍光抗体法などによってウイルス増殖部位の観察が可能である。今までウイルス増殖の確認が困難であった DHBV 感染系で、蛍光抗体法によってウイルス抗原を検出することにより、薬剤の抗 DHBV 効果を測定する方法が最近報告された⁽²⁾。

ウイルスイーールド減少法は一定時間後のウイルス増殖量を比較するもので、ウイルス増殖に対する薬剤の効果を最も直接的に測定できる系であ

る。しかし、二重のアッセイを行わなければならないという手間がある。ウイルス増殖量のばらつきやウイルス量のアッセイの精度のため、90% 阻止（ID₉₀）や 99% 阻止（ID₉₉）濃度を有効濃度とすべきである。ウイルス量を培養細胞系で測定できない HBV に対しても、最近ではドットハイブリダイゼーション法で HBV-DNA 量を測定することが可能である。

プラーク阻止円法は抗ウイルス性抗生物質のスクリーニングと活性物質の分離・精製には用いられるが、濃度が自由に設定できる化学合成品の場合には用いられない。

2. *In vivo* 活性検定法

In vivo の系では、感染が起きても発症しなければ治療実験として成立せず、発症する場合でも薬効が確認される程度のもでなければならなため、ウイルスと宿主動物の組合せはさらに難しい。HSV は比較的宿主領域が広いので種々の実験動物において感染モデルが成立する（表 4）。VZV や CMV は各動物固有のウイルスが用いられる。ヘルペスウイルス以外では、HBV がチンパンジーで発症を起こすこと、HIV 類似のウイルスとしてサル免疫不全ウイルス感染系がサルにあることが知られているが、いずれも一般の治療実験に供することは難しい。B型肝炎について、ウッドチャック（北米産の野生の大型リス）とアヒルでヒトの HBV と類似のウイルスが感染する。動物の入手の容易さから、今後はアヒルが

表 4 ■ 実験動物におけるヘルペスウイルス感染モデル

ウイルス	接種部位	使用動物	致死性
HSV	脳	マウス	◎
	角膜	マウス、ウサギ	×, ×
	皮膚	無毛マウス、モルモット	◎, ×
	顔面	マウス	○
	膣	マウス、モルモット	◎, △
	全身	マウス、ハムスター	◎, ○
	耳、足	マウス	×
VZV*	サル	マウス	×
		尾静脈	△
VZV*	サル	サル	△
CMV*	全身	マウス、モルモット	◎

* サル水痘ウイルスおよびマウス CMV またはモルモット CMV

表 5 ■ 潜伏感染と再活性化のみられる主な動物モデル⁽⁵⁾

初感染部位(動物)	潜伏の場	誘発の刺激
角膜(ウサギ)	三叉神経節	紫外線照射 ステロイド投与(全身, 局所)
側腹部皮膚(無毛マウス)	脊髄後根神経節	全身ステロイド投与
側腹部皮膚(マウス)	脊髄後根神経節	脱毛
耳介皮膚(マウス)	脊髄後根神経節	紫外線照射 セロファンテープで脱毛 プロスタグランジン投与(局所) アンフェタミン投与(全身)
外陰(モルモット)	脊髄後根神経節	(自然誘発)
足趾(モルモット)	脊髄後根神経節	(自然誘発)

実験モデルとして広く用いられるようになるであろう。フェレット（欧州原産のイタチの一種）はヒトのインフルエンザウイルスによく感染するが、入手と飼育が容易でないため、マウスに馴化したインフルエンザウイルスを用いるのが一般的である。その他、マウスに感染・発症をひき起こす RNA ウイルスでは、一次的な感染モデルとしてしばしばマウスが用いられる。

In vivo の系で次に問題となるのは、いかに臨床（ヒトの病気）に近い実験モデルになりうるかである。特に宿主の代謝系が関与する代謝拮抗剤の評価に関しては注意を要する。アシクロビルがマウスの CMV 感染系に有効であっても、ヒトの CMV に対しては効果をほとんど示さないのがそのよい例である。このことは *in vitro* の系についてもあてはまる。また、ウイルスの接種部位によってもウイルス病の発症の様子が異なるので、臨床に近い症状を起こす接種法を行なうのが望ましい。さらに、臨床においては各種の検査や患者の反応から症状の改善を容易に知り、薬の効果を判断することができるが、実験動物ではそれは容易ではない。したがって、動物実験においては、どのような症状を観察し、それをいかに定量化して効果判定の指標とするかも重要な問題である。死亡率や生存日数を基準に効果を判定するのは容易であるが、ヒトのウイルス病で致死的なものは現在では稀であり、単に“死亡”のみを指標にしたのでは臨床効果との間に隔たりが生じる場合がある。

今まで述べてきた実験系はいずれもヒトの初感染に相当する系であり、ヘルペスの回帰発症の場合と比較すると臨床における症状の展開とは異なることが当然予想される。HSV の再活性化のモデルとして表 5 に示したような系が知られている⁽⁸⁾が、これらの方法で回帰発症させた系を薬効の評価系として用いるには、発症の程度の均一性やヒトと動物の免疫系の差などいくつかの難しい点がある。この回帰発症の問題も含めて、臨床に近い実験モデルを組み立てることは容易なことではない。しかし、そのようなモデルが得られない場合でも、いずれかの動物実験系で抗ウイルス効果を確認することは抗ウイルス剤の研究開発上、必須の一過程である。筆者が HSV-マウスの系で得た経験であるが、薬効の強さを左右する要因として、①ウイルス株の病原性の強さ、②薬剤の投与経路と投与間隔、③ウイルスの感染経路、④マウスの系統や週齢などが挙げられ、いずれの実験においてもこれらの点にも留意する必要がある。

抗ウイルス剤の現状

現在アメリカで認可されている抗ウイルス剤の化学構造式を図 1 に示す。日本では抗ウイルス性化学療法剤の範疇では IDU、アラ A（アラビノシルアデニン）、アシクロビルおよびアジドチミジンの 4 種が認可されている。また、表 6 に世界中で使用されている抗ウイルス剤とその対象疾患を筆者の知り得る範囲で示した。古典的な抗インフルエンザ剤であるアマンタジンとリマンタジンおよび PFA を除き、すべて核酸の誘導体である。また、抗ヘルペス剤が多くを占め、現在使用されている抗ウイルス剤の多くは核酸の誘導体で抗ヘルペス剤であるといっても過言ではないが、その数はそれほど多くない。その上、注射薬や経口剤のような一般の薬として並べうる抗ウイルス剤はごくわずかである。

アシクロビルは世界で初めての副作用のきわめて少ない全身投与可能な抗ウイルス剤で、グアニン塩基を有する非環状ヌクレオシド誘導体である。各種 1 型および 2 型単純ヘルペス感染症に有効で、静注、内服および軟膏の各剤型で広く使用

されている。VZV 感染症に対しては日米では免疫不全患者における静注のみの使用が認可されている。アシクロビルはその選択性の高さと作用機序の合理性からまさに理想的な抗ヘルペス剤であるが、ヘルペスウイルス群感染症に対して必ずしもオールマイティーとはいえない。ガンシクロビルはヒドロキシメチル基を 2 個有するアシクロビル類縁体で、CMV 感染症に対しても強い効果を示す。臓器移植後やエイズなど免疫状態が悪化しているときに発症するこの感染症に対して臨床効果が認められ、欧州では既に認可されている。

アジドチミジンはエイズ症状の進行を抑え、延命効果が認められているが、この薬剤単独では治療効果はない。また、長期間投与例で骨髄抑制や好中球減少などの副作用が報告されている。その改善策としてインターフェロンやチミジンなどとの併用療法も検討されている。リバビリンは RNA ウイルス、DNA ウイルスの両方に活性を示す広範囲抗ウイルス剤として知られ、RS ウイルス感染症に対して適用が許可されている。ラッサ熱、A 型肝炎などの風土病的なウイルス性疾患にも効果を示し、発展途上国では臨床で使用されている。なお、アメリカではインフルエンザへの適用拡大が計画されている。

抗ウイルス剤の作用機序

1. 抗ウイルス剤の作用点と活性化

宿主細胞、すなわち生体に悪い影響（副作用）を示さずにウイルスの増殖を抑える、これが抗ウ

図 1 ■ 米国で認可されている抗ウイルス剤

表 6 ■ 現在使用されている抗ウイルス剤

薬剤	剤型	対象疾患	市場
アマンタジン	内服	インフルエンザ	欧, 米
リマンタジン	内服	インフルエンザ	欧州の一部
IDU	点眼液 眼軟膏 外用	ヘルペス性角膜炎 ヘルペス性角膜炎 帯状疱疹, 単純ヘルペス	全世界 欧州 欧州の一部
IDC	点眼液	ヘルペス性角膜炎	欧州の一部
TFT	点眼液	ヘルペス性角膜炎	欧, 米
EDU	点眼液	ヘルペス性角膜炎	欧州の一部
PFA	外用	単純ヘルペス	欧州の一部
アラA	静注	ヘルペス性脳炎, 単純ヘルペス*, 帯状疱疹*	全世界
アラ AMP	眼軟膏	ヘルペス性角膜炎	欧, 米
リバピリン	静注	単純ヘルペス	欧州の一部他
アシクロビル	エアロゾル 内服	RS ウイルス感染症* ヘルペス, RNA ウイルス群	欧, 米 開発途上国
	静注	ヘルペス性脳炎, 水痘*, 単純ヘルペス*, 帯状疱疹*	全世界
	眼軟膏	ヘルペス性角膜炎	全世界
	外用	単純ヘルペス	欧, 米
	内服	単純ヘルペス, 同予防*	全世界
	内服	帯状疱疹	欧州
ガンシクロビル	静注	CMV 感染症*	欧州の一部
アジドチミジン	内服	エイズ	全世界

* 免疫不全状態の患者が重篤な疾患に限られる。EDU: 5-エチルデオキシウリジン

イルス剤の命題である。ウイルスの増殖過程のうち、増殖に必須でかつ特異的な反応や過程が抗ウイルス剤の作用点となりうる。しかし、ウイルスの蛋白質は細胞の蛋白質の合成系で合成され、一部のウイルスの粒子の熟成段階にみられるエンベロープの生成は核膜など細胞の膜成分を利用して行なわれる。これらの過程は細胞の生命活動を共有するものであり、細胞の機能を損なわずにこれを特異的に阻害することはきわめて困難である。

表 7 ■ ウイルス感染による細胞内酵素活性の上昇

- ①ウイルス粒子が酵素を保有
ノイラミニダーゼ (インフルエンザ), 逆転写酵素 (エイズウイルス)
- ②ウイルス遺伝子の encoded 酵素
TK (ヘルペス), DNA ポリメラーゼ (DNA ウイルス)
- ③宿主細胞由来酵素活性の上昇
TK (サイトメガロウイルス)

TK: チミジンキナーゼ

一方、酵素学的見地から、ウイルス感染後の種々の酵素の出現や細胞内酵素レベルの変化も注目される。これは主にウイルス感染によってウイルスの増殖に都合のよいように代謝系が変化するため、表 7 に示したようにウイルス粒子自身に含まれるものと、感染後に発現またはレベル上昇するものがある。この他にもウイルスの遺伝子にコードされ、感染細胞中で合成される酵素が数多く報告されている^(4,5)。

現在の抗ウイルス剤の大半はヌクレオシド誘導体で、ウイルス遺伝子 (核酸) の複製に作用点をもつ核酸代謝拮抗剤である。ウイルスの核酸はウイルスの核酸合成酵素や逆転写酵素によって合成されるので、抗ウイルス性ヌクレオシド誘導体も 3 リン酸化体の型で阻害作用を発揮するのが一般的である。しかし、ヌクレオシド三リン酸はそのままではほとんど細胞に取り込まれないので、抗ウイルス剤としてはヌクレオシドの形のものが用いられる。このヌクレオシド誘導体は、感染細胞内でキナーゼの作用を受けリン酸化されてはじめて抗ウイルス作用を発現する。このリン酸化の段階がヌクレオシド抗ウイルス剤の活性化段階であ

る (図 2)。ヘルペスウイルス群のうち、HSV-1, HSV-2, VZV および EB ウイルスは感染細胞内でウイルス独自のチミジンキナーゼ (v-TK) を誘導する。この v-TK は細胞の TK と異なり、基質特異性が低く、多くのチミジン誘導体や非環状グアノシン類をリン酸化する。

2. 抗ヘルペス剤

IDU や TFT は v-TK と細胞の TK の両方によって酸化される。アシクロビルのように選択性の高い化合物は v-TK によってのみリン酸化され、細胞のキナーゼ類によってはリン酸されない。このことが高い選択性、すなわち副作用の少ないことに反映している。ガンシクロビルも同様の機序によってリン酸化されると考えられているが、v-TK を発現しない CMV に対しても強い活性を示すので、細胞のキナーゼ (恐らく dGuo キナーゼ) によっても多少リン酸化されると考えられる。アラAは細胞のキナーゼによってリン酸化されるので、このレベルでの選択性は低い。v-TK はチミジル酸キナーゼ活性をも併わせもっている。IDU や TFT の一リン酸化体は v-TK によっても二リン酸化体となりうる。ヌクレオシド誘導体の二リン酸化体はすべて細胞のヌクレオシド二リン酸キナーゼの作用によって三リン酸化体となる。

三リン酸化ヌクレオシド誘導体は表 8 に示すような種々の様式によってウイルスの DNA 合成を阻害する。このうち、4 と 5 は理論的には可能

図 2 ■ ヌクレオシド抗ウイルス剤のリン酸化

関連酵素: キナーゼ-1=Ado-キナーゼ, キナーゼ-2=dAMP キナーゼ, キナーゼ-3=dTMP キナーゼ, キナーゼ-4=GMP キナーゼ, キナーゼ-5=AMP キナーゼ, キナーゼ-6=ヌクレオシド二リン酸キナーゼ, v-TK*=v-TK が dTMP キナーゼ活性を併わせもつ。

表 8 ■ ウイルス DNA 合成阻害の作用様式

1. DNA ポリメラーゼに対する dXTP との拮抗による直接阻害
アラ A, PFA, BVDU, BV アラ U など
2. チェーンターミネーターとしての作用による DNA 鎖延長の阻止
アシクロビル, アジドチミジンなど
3. DNA 鎖への取り込みによる鋳型活性の低下
IDU, TFT, BVDU など
4. DNA ポリメラーゼの不活化
5. 鋳型 DNA の不活化

だが、既存のヌクレオシド抗ウイルス剤についてこれらの作用をもつことは立証されていない。なお、アラ A 三リン酸とアシクロビル三リン酸は細胞の DNA 合成酵素よりも HSV の DNA 合成酵素をより強く阻害する。PFA はピロリン酸誘導体の 1 つで、この薬剤自身がウイルス DNA の合成を直接、選択的に阻害する。したがって、キナーゼによるリン酸化は必要としない。

この他にも DNA 合成の直接阻害ではないが、ヌクレオシド誘導体は核酸合成の素材を作る代謝系を阻害することによって、間接的にウイルス核酸合成に対して抑制的に働く場合がある。たとえば、TFT ーリン酸はチミジル酸合成酵素を阻害し、TFT 二リン酸の生成を促す。アラ A は S-アデノシルホモシステインヒドラーゼを阻害し、S-アデノシルホモシステインを蓄積させ、その結果としてウイルス mRNA のキャッピングを阻害する。アラ A 三リン酸はリボヌクレオチドリダクターゼ、ターミナルデオキシヌクレオチドトランスフェラーゼ、mRNA のポリアデニレーションなどに対しても阻害活性を示す^(6,7)。

3. 抗 RNA ウイルス剤

アマンタジンとリマンタジンは、インフルエンザウイルスの増殖の初期の段階、すなわち脱殻ないし初期蛋白質の合成を阻害するといわれているが、詳細は不明である。最近、ウイルスの後期蛋白質の 1 つに障害を起こさせることによって、インフルエンザウイルス粒子の組立て (assembly) 阻害を起こすことも報告されている。リバビリンはアラ A と同様に複数の作用点をもつ⁽⁷⁾。リバビリンのリン酸化は細胞のキナーゼによって行なわれるので選択性は比較的低い。リバビリン三リン

酸はアミノカルボニル基の分子内のローテーションによって ATP および GTP 両方の類縁体となり、ウイルスの RNA 合成酵素の基質として ATP と GTP 両方の拮抗阻害剤として働く。さらに、グアニルトランスフェラーゼやメチルトランスフェラーゼを阻害することによって、ウイルス mRNA のキャッピング構造の形成を阻止することが知られている。また、リバビリンーリン酸は IMP デヒドロゲナーゼを強く阻害することによってウイルス RNA の合成を抑制する。

4. 抗 HIV 剤

アジドチミジンも抗ヘルペス剤と同様、リン酸化による活性化が必要で、そのリン酸化は細胞のキナーゼの作用によって行なわれる (図 2)。アジドチミジン三リン酸は細胞の DNA ポリメラーゼ α にはほとんど作用せず、HIV の逆転写酵素による HIV の DNA 合成を特異的に阻害す

図 3 ■ チェーンターミネーターとしてのアシクロビルおよびアジドチミジンによるウイルス DNA 合成阻害

表 9 ■ 開発中または開発が期待されるヌクレオシド抗ウイルス剤

	化合物	塩基	効果
非環状ヌクレオシド	2'-nor-cGMP	グアニン	抗 CMV
	(<i>RS</i>)-2 HM-HBG	グアニン	抗 VZV
	デンシクロビル (BWA 515 U)	2-アミノプリン	易経口吸収
	BWA 134 U	2,6-ジアミノプリン	〃
	BRL 42810	2-アミノプリン	〃
	HOE 602	2-アミノプリン	〃, 抗 CMV
チミジン誘導体	BVアラU	} プロモビニールウラシル	} 抗 VZV, 抗 HSV-1
	BVDU		
	FEAU	エチルウラシル	抗 HSV
	CEDU	クロロエチルウラシル	抗 HSV
ホスホニルメトキシアルキルヌクレオシド	(<i>S</i>)-HPMPC	シトシン	抗 CMV
	(<i>S</i>)-HPMPA	アデニン	抗 CMV
	(<i>S</i>)-HPMPG	グアニン	抗 CMV
	PMEA	アデニン	抗 HIV
4 員環糖ヌクレオシド	オキセタノシンG	グアニン	抗 CMV, 抗 HBV
	オキセタノシンH	ヒポキサンチン	抗 HIV
ジデオキシ糖ヌクレオシド	DDC	シトシン	抗 HIV
	DDA, DDI	アデニン, ヒポキサンチン	抗 HIV
	DHT, DHC	チミン, シトシン	抗 HIV
	カルボビル	グアニン	抗 HIV

図 4 ■ 新しい抗ウイルス剤

る⁽⁸⁾。糖の 3' 位の水酸基がアジド基に置換されているため、アシクロビルと同様に DNA 鎖のチェーンターミネーターとして DNA 合成を阻害する (図 3)。

抗ウイルス剤研究の展開

1. 抗ヘルペス剤

現在の抗ヘルペス剤は、当然のことながらアシクロビルにない特徴をもつ薬剤の研究開発が行なわれている。その方向性として次の 3 つが挙げられる。① CMV に有効な薬剤、② VZV に対し強い効果を示す薬剤、③経口吸収のよい薬剤、である。表 9 に示すように、ガンシクロビルの類縁体として、2'-nor-cGMP や HOE 602 などが抗 CMV 剤として研究されているが、現在最も注目を浴びている抗 CMV 剤は (S)-HPMPC などのホスホニルメトキシアルキルヌクレオシド⁽⁹⁾とオキセタノシン G⁽¹⁰⁾ (図 4) である。前者は、アルキル基の末端の炭素に酸素を介さずにリン酸が結合しており、リン酸がはずれることなく容易に感染細胞に取り込まれるので、v-TK の作用を受けずに三リン酸化体となる。そのため CMV や TK 欠損の HSV の変異株に対しても抗ウイルス活性を示す。オキセタノシン G は抗ウイルス性抗生物質、オキセタノシン A の誘導体で、強い抗 CMV 活性と高い選択性を示す。ガンシクロビルをはじめとする抗 CMV 剤は細胞のキナーゼによってリン酸化されるので、アシクロビルにみられるような高い選択性をもたせることは難しい。今後の開発においては、選択性、すなわち副作用の少なさがポイントとなる。

BVアラU と BVDU は最も開発が進んでいるチミジン誘導体で、細胞に対する増殖抑制活性が著しく低い上に HSV-1 と水痘や帯状疱疹の病因ウイルスである VZV に対して強い作用をもつ。アシクロビルおよびその類縁体とは対照的に VZV の v-TK に対してきわめて高い親和性を持ち、VZV に対してアシクロビルの数百倍から 2,000 倍の強い活性を有する。特に、1980 年に筆者らの研究所で初めて合成されたアラビノシルウラシル誘導体である BVアラU は VZV に対す

る PD₅₀ 値が 1 ng/ml 以下で、治療係数 (宿主細胞の増殖を 50% 阻害する濃度をウイルスのプラーク形成を 50% 阻止する濃度で除した値) は約 100 万という驚異的な値を示す⁽¹¹⁾。消化管吸収がきわめてよく、経口投与によっても十分血中濃度が上がり、感染動物における抗ウイルス効果がよく発揮される。また、マウスに対する毒性もきわめて低い。臨床試験においても帯状疱疹に対する治療効果が認められ、今後の展開が大いに期待されている。BVDU はベルギーで点眼薬としてヘルペス性角膜炎の治療に用いられ、免疫不全患者に発生した帯状疱疹に対して効果が認められたと報告されている。しかし、動物での長期安全性試験において弱い発がん性が認められ、開発は中断している。

消化管吸収の優れたアシクロビル前駆体として、1980 年代前半に BWA 515 U (デシクロビル) や BWA 134 U が報告された。グアニンの代わりに 2-アミノプリンまたは 2,6-ジアミノプリンを塩基としてもつもので、いずれも体内でキサンチンオキシダーゼやアデニルデアミナーゼによってアシクロビルに変化する。特にデシクロビルは、服用後の血中アシクロビル濃度がアシクロビル服用後の血中濃度の 10 倍以上になることが示された。最近では、非環状グアニン誘導体として、BRL 42810 と HOE 602 (図 4) が経口投与で動物レベルで有効性を示し、内服用抗ヘルペス剤として臨床試験に入ると報告され、注目を浴びている。いずれも 2-アミノプリンを塩基としている点はデシクロビルと同じであるが、糖鎖をアセチル基やイソプロピル基などで修飾されているので、消化管吸収が一層よくなっている。

2. 抗 HIV 剤

現在、世界中で最も注目を集めている抗ウイルス剤研究は、もちろん、抗 HIV 剤についてである。抗生物質や酸性多糖など、逆転写酵素以外に作用点をもつと考えられるものもいくつか研究されているが⁽¹²⁾、臨床応用への道はかなり遠い。一方、アジドチミジンに端を発した 2',3'-ジデオキシヌクレオシド誘導体とその類縁化合物の研究が

かなり進んでいる^(8,13)。DDC, DDA, DDI などのジデオキシリボースを有するもの、DHI (D 4 T), DHC (D 4 C) などジデオキシジデヒドロリボースを有するもの、そのカルボサイクリック体(カルボビル)などの他、3'-アジド-, 3'-シアノ-, 3'-フルオロ-2', 3'-ジデオキシリボースを含むヌクレオシド誘導体が数多く合成され、抗 HIV 活性が確認されている。また、オキセタノシン誘導体の一つであるオキセタノシン H (塩基としてヒポキサンチンを有する)にも抗 HIV 活性が報告されている。これらの化合物の作用機序はすべてアジドチミジンと同じと考えられる。この種の抗エイズ薬は長期間の服用が必要とされるので、副作用のごく少ない薬剤の開発が望まれる。選択的抗 HIV 剤の条件は、HIV 感染細胞内でのリン酸化のされやすさと三リン酸化体の逆転写酵素に対する選択的な阻害作用にある。DDC と DDI はすでに臨床試験が行なわれている。その他の化合物も臨床試験に向けて開発が進められている。副作用に問題がなければ、これらのヌクレオシド誘導体の中からアジドチミジンをしのぐ抗エイズ薬が生まれる可能性がある。

3. その他の抗ウイルス剤

アラAが抗 HBV 活性を示すことが報告されてからすでに久しいが、臨床応用への道は遠い。長期間投与における副作用と体内でのデアミネーションによる不活化が問題視されている。抗 CMV 活性をもつオキセタノシンGがHBVに対してもアラAより強い抗ウイルス作用をもつことが昨年報告された。HBV に対する有効な選択的抗ウイルス剤が見つかっていない現在、この薬剤の抗HBV 剤としての今後の開発が期待される。なお、HBV は粒子中にスーパーコイル状の2本鎖(一部1本鎖)DNA とともに DNA 合成酵素を含んでいるが、この他、DNA の複製の過程において、mRNA を鋳型として逆転写酵素によって $\ominus$ 鎖DNA が合成されることが知られている⁽¹⁴⁾。この逆転写の過程を特異的に抑えることができれば、抗 HIV 剤の場合と同様に、HBV に対する選択的抗ウイルス剤を見つけることが可能である。

抗 RNA ウイルス剤としては広範囲の抗ウイルススペクトルを示す S-アデノシルホモシステインヒドラーゼ阻害剤の研究が盛んに行なわれており、また、カルコン誘導体、イソキサゾール誘導体、ベンズイミダゾール誘導体などの新しい化合物がライノウイルスなどピコルナウイルスの増殖を低濃度で阻止することが示されている^(15~17)。本稿では触れなかったが、このような新しい作用機序をもつこれらの化合物をどのように臨床応用に結びつけるかが今後の研究課題である。

文献

- 1) 城野洋一郎：臨床とウイルス，17，19 (1989)。
- 2) 横田智之，紺野謙治，森 修一，茂田士郎：第 36 回日本ウイルス学会総会演説抄録，1988，p. 168。
- 3) 森 良一，皆川洋子：臨床成人病，12，2005 (1988)。
- 4) E. Helgstrand & B. Öberg: "Antibiotics and Chemotherapy, Vol. 27 Virus Chemotherapy", S. Karger, 1980, p. 22。
- 5) 西山幸廣：ウイルス，37，55 (1987)。
- 6) W. H. Prusoff, M. Zucker, W. R. Mancin, M. J. Otto, T.-S. Lin & J.-J. Lee: *Antiviral Res.*, Suppl. 1, 1 (1985)。
- 7) R. K. Robins: *C & E News*, Jan. 27, 28 (1986)。
- 8) 満屋裕明，S. Broder：日本臨牀，1987，別冊，253 (1987)。
- 9) 佐久間孝，東 匡伸：日本臨牀，47，384 (1989)。
- 10) Y. Nishiyama, N. Yamamoto, K. Takahashi & N. Shimada: *Antimicrob. Agents Chemother.*, 32, 1053 (1988)。
- 11) H. Machida: *Antimicrob. Agents Chemother.*, 29, 524 (1986)。
- 12) 伊藤正彦，山本直樹：薬学雑誌，108，83 (1988)。
- 13) E. DeClercq: 2nd International Conference on Antiviral Research, 1988。
- 14) 岡本宏明，真弓 忠：免疫薬理，6，141 (1988)。
- 15) S. J. Sperber & F. G. Hayden: *Antimicrob. Agents Chemother.*, 32, 409 (1988)。
- 16) S. M. Roberts: "Antiviral Drug Development", Plenum Press, 1988, p. 37。
- 17) G. J. Galasso: "Antiviral Drug Development", Plenum Press, 1988, p. 275。