

真菌に対する活性がフルコナゾールよりも優れるイトラコナゾールに関しても、適応の承認を検討すべきであると思われる。

現在の日本における抗真菌薬の現状では、コクシジオイデス症、プラストマイセス症及びヒストプラズマ症などの輸入真菌症に対して、確実な効果が期待できる治療薬はアムホテリシンB注射剤のみであり、突発的な発症に対して十分な対応が可能であるか、懸念されるところは大きい。それゆえ、強い抗真菌活性を有し十分に安全な新規抗真菌薬が早急に開発されることが望まれる。

国外、特にアメリカにおいては HIV 感染者数が200万人と言われており、エイズ発症患者も極めて多い。また、各種臓器の移植手術も一般に普及しており、免疫抑制剤の投与されている免疫不全患者が多く、さらに、癌化学療法においてもインフォームドコンセントが定着していることにより、患者の免疫状態の限度一杯まで徹底した制ガン剤治療が行われることが多い。それゆえ、欧米においては免疫不全患者に好発する真菌症例が比較的多く得られ、新規抗真菌薬の開発研究は順調に進められている。しかしながら、国内ではエイズ発症患者は年間で300名程度と少なく、また臓器移植も極めて例数が少ないことから、新規抗真菌薬の開発研究の進行速度は極めて遅くならざるを得ない。必然的に、国外において開発されつつある新規抗真菌薬を国内に導入することを考えなければならないし、日本オリジンの抗真菌薬であっても国外における臨床成績を基にしてブリッジング試験を経て国内へ逆輸入せざるを得ない状況である。

世界の新規抗真菌薬の殆どは、最も反響が大きいと考えられているアメリカ微生物学会が主催する「抗微生物薬と化学療法に関する学際的会議」(ICAAC)の年次会議で発表されるので、1991年～2000年の10年間にわたる ICAAC における抗真菌薬部門の発表を全面的に検索したところ、8品目のアゾール系抗真菌薬と3品目のエキノカンジン系抗生物質が、現在の段階では最も期待しうる新規物質であると考えられた。何れも、既存の抗真菌薬に対して低感受性もしくは耐性の真菌に対する優れた活性が特徴とされており、そのうちの数品目については、既に臨床試験において有効性と安全性が評価されている。

しかしながら、本研究の主要な対象であるコクシジオイデス属や、類似の風土病を起炎するプラストマイセス属やヒストプラズマ属は、実験室的に取扱うことが危険であるためか、予測したほどは多くの検討が行われておらず、各々の新規抗真菌薬の適応可能性に関するデータは殆ど得られなかったが、ポリコナゾールとポサコナゾールに関しては、ヒストプラズマ属及びプラストマイセス属に対する試験管内活性として優れた成績が報告されており、その他の抗真菌薬についての検討が行われることが望まれた。

一方、アムホテリシンBがコクシジオイデス症、プラストマイセス症及びヒストプラズマ症に対して有効でありながら、その腎毒性や溶血性などの副作用のために臨床適応が制限されている状況を打破するような、同系統で低毒性のポリエンマクロライド系抗生物質が数品目発表されている。何れの品目も、まだ開発の初期段階ではあるが、予測されないような不都合な副作用が認められない限りは、順調に臨床試験が進み、アスペルギルス属やムコール属などの通常の糸状真菌全身感染症に加えて、本研究の主要な対象である輸入真菌症に対しても臨床適応が試みられることと期待される。

## E. 結論

現在、国内においては30成分の抗真菌薬からなる36製剤が供給されているが、その大多数は浅在性真菌症である白癬や黒色真菌症を対象疾患とするものであり、深在性真菌症に適応が承認されているものであっても、その主要な対象はカンジダ属及びクリプトコッカス属であり、突発的な発生が懸念されている輸入真菌症としてのコクシジオイデス症、プラストマイセス症及びヒストプラズマ症に対して有効性が期待できる治療薬は、アムホテリシンB注射剤が唯一である

既存の抗真菌薬に低感受性又は耐性の真菌症に対する新規抗真菌薬の開発が世界的規模で行われており、幾つかの品目については、広範な検討が行われるならば、それら輸入真菌症の治療薬となると期待されるものも見受けられる。今後とも、新規抗真菌薬の開発状況を十分に把握する必要があると思われる。

平成 12 年度厚生科学研究費補助金(新興・再興感染症研究事業)  
「輸入真菌症等真菌症の診断・治療法の開発と発生動向調査に関する研究」

研究調査協力：

「わが国における抗真菌薬の現状と将来に関する資料文献収集及び分析」

研究協力者 山口英世 帝京大学医真菌研究センター所長

## I. 目的

過去 20 年間に *Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Cryptococcus neoformans*, 接合菌などの病原真菌に起因する深在性真菌症は確実に増加の一途を辿ってきた。また近年国際間の人的・物的交流が盛んになったことに伴って、海外の特定地域で流行しているコクシジオイデス症その他の深在性真菌症の国内での罹患者数も増加する傾向にあり、輸入真菌症として新たな問題をひき起こしている。加えて、*Fusarium* spp., *Trichosporon* spp., *Pseudallescheria boydii* その他の真菌による新興真菌症や fluconazole 耐性 *Candida albicans* の感染もますます多くみられるようになった。これらの真菌はしばしば既存の抗真菌薬に耐性を示すことから、治療上の問題をより大きくしている。

こうした状況のなかにあって、真菌症患者の治療法の改善が益々重要な課題となりつつある。その現実的な対応策としては、既存薬の特性を十分に理解して最大の有効性を発揮するような薬剤と用法の選択が第一に考えられる。しかし既存薬の臨床的有用性に限界があることを考えると、既存薬を上回るかまた

はそれを補う特性をもつ新しい抗真菌薬または新しい製剤の早急な開発と臨床への導入が不可欠である。

この報告書では、現在わが国で深在性真菌症の治療に使用されている 5 つの抗真菌薬の作用メカニズムおよび耐性機序を中心とする特性、ならびに国内で臨床試験段階に入っている開発中の新規抗真菌薬の特性についてこれまで得られている知見をまとめる。

## II. 開発の歴史からみた抗真菌薬の展望

深在性真菌症に対する本格的な化学療法が行われるようになったのは、1950 年代から 1960 年代にかけて多数のポリエンマクロライド系 polyene macrolides (ポリエン系 polyenes) 抗生物質が発見されたことに端を発する。ポリエン系抗生物質は、一般に広域でしかも強力な(殺菌的)抗真菌活性を示すというすぐれた生物学的特性をもつ反面、動物(ヒト)細胞に対する毒性もまた強いことが大きな欠点である。そのため、抗真菌薬として有望視された nystatin, natamycin (pimaricin), trichomycin などの候補物質は局所療法に使用されるにと

どまり、全身療法薬（注射剤）として唯一実用化に成功したのが amphotericin B(AMPH)である。しかし AMPH が臨床に導入された当時は、深在性真菌症の発生頻度が低く、治療の必要性に関する理解や認識も乏しかったために、AMPH の使用はごく限られていた。わが国では 1970 年代に入ると、悪性腫瘍その他の重篤な疾患に対する医療の進歩によって多数の易感染患者が生み出された。それに伴って深在性真菌症の発生率が劇的に上昇し、AMPH が汎用されるに至ったのである。

確かに AMPH は、きわめて有効性の高い薬剤であり、ポリエーテル系抗生物質のなかでは最も毒性が低い。それでも臨床的には安全性に問題があり、十分な用量の投与に耐えられない症例が少なくないことなどの理由から、AMPH の適用はかなり制約される<sup>1, 2)</sup>。また AMPH は大量の輸液とともに数時間以上かけて点滴静注する必要があることや、AMPH 経口剤（シロップ剤）は腸管からの吸収がほとんど期待できないことなどの用法上の非利便性も相まって、あらたな抗真菌薬へのニーズが高まる結果となった。

第 2 の抗真菌薬として登場した flucytosine (5-FU, FC) は、国内では 1970 年代末に臨床導入された。5-FU の利点は経口投与で腸管から良好に吸収されることにあるが、抗真菌スペクトルが狭く、有効菌種は *Candida* spp., *Cryptococcus neoformans* など比較的少数に限られる。しかもこれらの感受性菌種の間でも耐性化が容易に起こるといった問題も加わって、現在ではクリプトコッカス髄膜炎やカンジダ血症の治療にもっぱら AMPH との併用が行

われるに過ぎない<sup>3)</sup>。

抗真菌化学療法の新しい時代は、アゾール系薬剤 azoles の出現によって幕を開けた<sup>4, 5)</sup>。当初開発されたのは clotrimazole をはじめとする種々のイミダゾール系薬剤 imidazoles であるが、いずれも薬物動態（経口投与で腸管吸収不良）や安全性（ヒトのチトクローム酵素との親和性による肝毒性その他の毒性）に関する理由から、大多数は局所療法としてしか実用化されなかった。例外は miconazole (MIC) であり、注射剤としての開発にも成功し<sup>6, 7)</sup>、海外では 1970 年代後半に、国内では 1980 年代半ばに上市された<sup>8)</sup>。やがて欧米では注射剤の安全性などが問題となって MCZ 注射剤はほとんど使用されなくなったが、わが国ではさほど懸念がないとしてまだまだかなり広く使われている。

アゾール系抗真菌薬開発のブレイクスルーとなったイミダゾール系化合物は ketoconazole (KCZ) である。この系統の化合物としては例外的に腸管吸収が良好なことから、経口薬として開発が進められ、広い抗真菌スペクトルと AMPH や 5-FU に勝る安全性をもつとして、欧米では 1970 年代に臨床導入された<sup>9)</sup>。しかしその後、薬物動態、有効性、安全性のいずれもが問題視されるようになった結果、後述のトリアゾール系薬剤が上市されてからは、KCZ は補助的な薬剤としてしか使用されていない。一方、わが国では、臨床開発中に問題となった安全性（とくに肝毒性）上の理由から、実用化には至らなかった。

KCZ に代って登場した経口アゾール系抗

真菌薬は、fluconazole (FLCZ) と itraconazole (ITCZ) である。いずれもトリアゾール系 triazoles に属し、国内ではそれぞれ 1989 年および 1993 年に上市された。両薬剤とも安全性や有効性の点で KCZ を上回るとされ、とくに FLCZ は良好な薬物動態に加えて注射剤も使用可能なこと、また ITCZ は *Aspergillus* spp. その他の糸状菌や二形性真菌を含む広い抗真菌スペクトルをもつことがすぐれた特徴である<sup>9-11)</sup>。

このように、国内ではこれまで次の 3 クラス 5 薬剤が承認され、いずれも深在性真菌症のマネジメントに使用されている。(i) AMPH (注射)、(ii) 5-FC (経口)、(iii) MCZ (注射)、(iv) FLCZ (経口・注射)、(v) ITCZ (経口) (表 1)。なかでも AMPH は最も古い薬剤でありながら、信頼できる高い有効性と適応範囲の広さから、今尚抗真菌薬の"gold standard" と見なされる。一方、FLCZ と ITCZ を中心とするアゾール系薬剤は、安全性や使用上の利便性が利点となって最も多く使用されている。現在の抗真菌化学療法的主流を担うのは、ポリエン系(AMPH) とアゾール系の 2 クラスの薬剤である。

しかしこれらの既存抗真菌薬の効果は、生体防御能の低下した易感染患者に発症する急性進行性の重篤な深在性真菌症(例、侵襲性肺アスペルギルス症)や、新たに出現した病原真菌 emerging fungal pathogens または耐性真菌に起因する真菌症に対しては不十分と考えられ、より有用性の高い新しい薬剤の早急な開発が望まれる。現在、国内では既存薬(AMPH、ITCZ)の新規製剤、新規アゾール系

薬剤、および新規の化学的・生物学的特性をもつ薬剤について臨床試験が進められている<sup>12)</sup>。

作用メカニズム(耐性機序を含む)を中心とする各薬剤の特徴に関しては幾つかの総説<sup>13-21)</sup>に述べられている。

既存薬剤の作用メカニズムの特色は、5-FC を除くと、いずれも真菌細胞膜の主要ステロールとして知られるエルゴステロールに関係している点にある。真菌におけるエルゴステロールは、動物(ヒト)細胞でのコレステロールと同様に、様々な細胞機能に関与するが、とりわけ細胞膜の流動性や構築に不可欠な成分であり、また様々な膜結合酵素の活性制御にも重要な役割を果たす。言い換えれば、既存抗真菌薬を代表するポリエン系とアゾール系の薬剤の作用メカニズムは、細胞膜ステロールの機能または生合成を阻害することによって真菌細胞膜に障害を与えることにある<sup>19)</sup>。

### III. 既存抗真菌薬の特徴

#### 1. ポリエン系: amphotericin B (AMPH)

分子内にエステル結合またはラクトン結合によって閉環されたマクロライド環をもち、しかもマクロライド環に 4~7 個の共役二重結合を含む化合物はポリエンマクロライド系またはポリエン系と総称される。この共役二重結合を含む疎水性領域に対峙して OH 基に富む親水性領域が同じラクトン環内に存在する結果、分子全体は両親媒性を呈する(図 1)。

ポリエーテル系薬剤の作用メカニズムは、この特徴的な構造に由来する物理化学的特性に依存する。薬剤は細胞膜内に挿入されて疎水性領域で膜のエルゴステロールと特異的に結合することによって膜を不安定化する。AMPHのように大きなラクトン環をもつポリエーテル系薬剤の場合には、8分子が集まって、各々親水性領域が内側に来るような立体配位をとるために、膜貫通性のチャンネルが形成され、この薬剤チャンネルを通して細胞成分とくに $K^+$ の放出が起こると考えられている<sup>22)</sup>。この仮説の是非は別としても、薬剤と接触した真菌細胞においては、速やかに膜透過性が亢進し、 $K^+$ その他の必須成分が大量に放出されて細胞死に至る<sup>24)</sup>。とくに $K^+$ 放出は、膜内のプロトン勾配を破壊して細胞外から $H^+$ を流入させ、それによる細胞内pHの低下が細胞内環境の劣悪化をもたらす。

ポリエーテル系化合物は、エルゴステロールのみならず、動物（ヒト）細胞膜の構成ステロールであるコレステロールに対しても多少とも親和性を有し、その程度に応じて細胞毒性を示す。AMPHの臨床的有用性は、ポリエーテル系化合物のなかでもコレステロールに比してエルゴステロールとの親和性がとくに高いこと、したがって動物に対する毒性が比較的低いことで説明される。それでもAMPHと膜コレステロールとのある程度の相互作用は避けられず、これによって本薬剤の腎毒性や急性副作用症状（悪寒、発熱、呼吸困難、血圧低下など）が引き起こされると考えられる。またAMPHは免疫修飾作用を示し、とくにマクロファージを活性化してTNF過剰産生

を増強することが知られている<sup>24)</sup>。AMPHの毒性の少なくとも一部はTNF過剰産生によることが推測される。

ポリエーテル系化合物の通性として、AMPHは両親媒性の物質であるが、水のなかでは容易に分子凝集を起こして不溶性となる。この凝集を防ぐために界面活性剤としてデオキシコール酸を加えて複合体化した製剤（ファンギゾンイ）をグルコース溶液に懸濁したものが注射剤として使用される。この懸濁液中のAMPHの単量体と凝集体の割合もまた本薬剤のコレステロール親和性（したがって毒性）に影響を与える<sup>25)</sup>。

AMPHが40年もの長い年月にわたって使用され続けてきたにもかかわらず、耐性は未だにまれであり、臨床的にも問題となっていない。臨床検体から分離される耐性株の多くは自然耐性（一次耐性）菌であり、*Candida lusitanae*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii* などの non-*albicans* *Candida*, *Trichosporon* spp., *Pseudallescheria boydii*, 一部の黒色真菌その他の真菌にみられる<sup>26-28)</sup>。獲得耐性（二次耐性）菌はさらにまれと考えられるが、*C. albicans*<sup>22, 29, 30)</sup>, *C. tropicalis*<sup>31)</sup>, *Cr. neoformans*<sup>32)</sup>などで報告されている。こうした耐性菌の出現は、一次耐性株の選択によるとする説<sup>33)</sup>が一般的であるが、これに対して一部の研究者は突然変異説を主張している<sup>34)</sup>。多くの耐性株は、ステロールの量的または質的な変化を伴っており、それによるポリエーテル系薬剤結合能の低下が耐性化に関与すると考えられる<sup>35)</sup>。

## 2. フロロピリミジン系：flucytosine(5-Fc,FC)

5-Fluorocytosineともよばれるflucytosineは、もともとは5-fluorouracil(5-FU)などと同様に抗癌作用を狙って合成されたピリミジン類似構造をもつ代謝拮抗物質の1つである(図2)。*C. albicans*など5-Fc感性的真菌細胞は、細胞膜に局在するcytosine permeaseによって5-Fcを細胞内へ取り込む。細胞内の5-Fcはcytosine deaminaseによる脱アミノ反応を受けて5-FUとなり、ピリミジン再利用経路上の酵素によって5-FUのリン酸体(ヌクレオチド)へ変換される(図2)。この過程で産生される代謝物の1つである5-fluoro-deoxyuridine-5'-monophosphate(5-FdUMP)は、チミジン酸合成酵素活性を阻害する結果、DNA合成阻害(したがって核分裂阻害)をひき起こす。一方、5-FUの別の代謝物である5-fluorouridine-5'-triphosphate(5-FUTP)は、正常基質(5-UTP)の代りにRNAポリメラーゼ反応によってRNAへ取り込まれて異常なRNAが生成される。その結果、コドンの読み誤りmiscodingが起り、正常なタンパク質後合成が阻害される<sup>15, 36)</sup>。したがって5-FcはDNA, RNA, タンパク質といったすべての高分子物質の合成阻害をひき起こすことになる。

真菌と異なり、動物(ヒト)細胞ではcytosine deaminaseを欠くかまたはきわめて活性が低いことが5-Fcの選択毒性を説明する<sup>13, 37)</sup>。しかし5-Fcがヒト腸管内の細菌によって細胞毒性物質である5-FUへ変換されると、生体に対して毒性を示すことになり、しかもこ

の毒性はAMPHによる腎障害があればさらに増強される<sup>38)</sup>。

5-Fc耐性は、一次耐性、二次耐性ともに抗真菌薬としては際立って起りやすい。一次耐性株は、*Aspergillus* spp. その他の糸状菌に多くみられるだけでなく、本来感性和される酵母菌種にも少なからず含まれている。酵母における高度一次耐性検出頻度は、*C. krusei*, *C. tropicalis*などのnon-*albicans* *Candida*でも高く(20%)、*Cr. neoformans*では比較低い(2%)。*C. albicans*については、高度耐性を示す臨床分離株は少ないものの(4~6%)、中等度耐性の分離株は全体の1/3を占める<sup>39, 40)</sup>。二次耐性株の出現率はさらに高く、*C. albicans*や*Cr. neoformans*でも30%を超すといわれる<sup>37)</sup>。耐性獲得はとくに5-Fc単独投与の場合に起りやすく、耐性の程度と頻度は生体内濃度に逆比例するという。このような理由から5-FcはふつうAMPHやFLCZ、とくに前者と併用される。

*C. albicans* その他の*Candida* spp.の一次耐性は、cytosine deaminase欠損による場合が多い<sup>37)</sup>。一方、二次耐性は5-FUを5-fluorouridine-5'-monophosphate(5-FUMP)へ変換する酵素であるuracil phosphoribosyl transferase(UPRTase)による活性低下に主として起因する<sup>13, 41-43)</sup>。また*Cr. neoformans*の二次耐性は、ふつうUPRTaseまたはcytosine deaminaseの欠損による<sup>41)</sup>。

## 3. アゾール系：miconazole(MCZ), fluconazole(FLCZ), itraconazole(ITCZ)

### 3.1. アゾール系薬剤の種類と化学構造および構造活性相関

図 3 に深在性真菌症の治療に世界的に広く使用されている 4 種のアゾール系抗真菌剤の化学構造を示す。このうち miconazole (MCZ) と ketoconazole (KCZ) は、分子内にイミダゾール環（窒素原子を 2 個含むヘテロ 5 員環）を、また fluconazole (FLCZ) と itraconazole (ITCZ) はトリアゾール環（窒素原子を 3 個含むヘテロ 5 員環）を持つところから、それぞれイミダゾール系およびトリアゾール系と呼ばれてきた。なお、国内では KCZ は外用剤としてのみ、また MCZ は内用剤のほか外用剤としても使用される。そのほか外用剤のみのイミダゾール系抗真菌剤（例、clotrimazole, bifonazole) が多数ある。

イミダゾール環、トリアゾール環とも、(i) 1 位の窒素原子(N1)に置換基が結合していること、(ii) 他の窒素原子が非置換性であること、(iii) 弱塩基物質であることなど、が共通している。そのためかイミダゾール系、トリアゾール系の各薬剤は、抗菌スペクトル、作用機序など有効性に関与する生物学的特性のみならず副作用の面でも類似しており、このような理由から両系薬剤は一括してアゾール系と総称されるようになった。

大多数のアゾール系薬剤は、極性の低い脂溶性化合物であり、したがって水に溶けにくい。しかし FLCZ のみは例外的に極性が高く、良好な水溶性を示す。FLCZ を最も脂溶性の高い ITCZ と比較すると、log P はそれぞれ 8.71mg/ml と <1μg/ml というように極立った対照性を示す。ITCZ が経口剤しかないのに

対して（現在注射剤の開発が進められている 12)）、FLCZ は経口剤のほか注射剤も製剤化されていること、またきわめてすぐれた体内動態を示すこと理由は、こうした FLCZ の物理学的特性にもある。

アゾール系薬剤のなかでは、*in vitro* 抗真菌活性、とくに *Aspergillus spp.* などの糸状菌に対する活性は、ITCZ が最も強いのに対して FLCZ が最も弱い。同様の傾向は抗 *Candida* 活性についてもみられる。これは前出の薬剤の脂溶性に由来していると考えられる（後述）。

アゾール系薬剤のなかで N1 置換基の構造が最も似ているのは、1,3-dioxolane 環を共通に持つ KCZ と ITCZ である。両剤の比較から、N1 以外は非置換性のトリアゾール環と適度の脂溶性 N1-置換基をもつことが *in vitro* および *in vivo* ですぐれた抗真菌活性を発揮するための必要条件であることが示唆される。

### 3.2. 作用メカニズムと選択毒性

アゾール系薬剤とくにトリアゾール系の FLCZ や ITCZ については、真菌におけるエルゴステロール生合成経路上の key enzyme であるチトクローム P-450 依存性ステロール 14α-脱メチル化酵素(P45014DM) が一次的な作用標的と考えられている<sup>44, 45)</sup>。

真菌のエルゴステロール合成系は、小胞体に主に局在し、図 4 に示すように、その代謝経路は次の 3 つの区分に大別される。(1) 真菌細胞と動物細胞に共通し、アセチル-CoA から 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) とメバロン酸を経てスクアレンに至る

過程、(2) スクアレンがラノステロールに変換される過程、および(3) ラノステロールから最終産物エルゴステロールが生成される過程である。ラノステロールは、大多数の真菌では一旦 C-24 位がアルキル化されて 24 $\beta$ -methylenedihydrolanosterol (eburicol)へと変換される。この eburicol またはラノステロール自身が P45014DM の基質となり、14 $\alpha$ 位のメチル基の脱メチル化反応(モノオキシゲナーゼ反応)が起こる。

P45014DM は、多数あるアイソザイムの 1 つであり、ヘムタンパク質(鉄・ポルフィリン含有タンパク質)としての構造を持つ。ヘム鉄の部分では鉄イオンが共役結合部位でシステインの SH 基を介してポリペプチド鎖(アポタンパク質)と結合している。基質結合部位はこのアポタンパク質中に存在する。P45014DM による 14 $\alpha$ -脱メチル反応が正常に進行する条件下では、基質が P45014DM の活性中心に結合すると、鉄イオンの還元(Fe<sup>+++</sup>→Fe<sup>++</sup>)が起こり、残りの共役結合部位に O<sub>2</sub> が入り、基質の CH<sub>3</sub> 基を酸化的に除去する。

アゾール系薬剤が P45014DM 分子と接近すると、前者の立体障害のない窒素原子(イミダゾール環の 3 位またはトリアゾール環の 4 位の窒素原始)が後者の共役結合でヘム鉄イオンと結合する。その結果、P45014DM が不活化されて基質(eburicol またはラノステロール)の 14 $\alpha$ -脱メチル化反応は進まなくなる<sup>47)</sup>。

アゾール系抗真菌薬による 14 $\alpha$ -脱メチル化反応の障害は、アゾール環の非立体障害性

窒素原子のヘム鉄イオンへの結合に起因するだけではない。アゾール環の N1-置換基(薬剤分子の非リカンド部分)とアポタンパク質部分との相互作用(おらく活性中心の非極性アミノ酸残基との結合)のほうが薬剤の抗真菌活性により大きく関与すると考えられる。この相互作用の強さを決めるのは N1-置換基の構造であり、アゾール環の非立体障害性窒素原子がヘム鉄イオンに結合した状態で P45014DM の活性中心を構成する空間構造によく適合する薬剤ほど、強力な障害活性を示す。つまりアゾール系薬剤間にみられる抗真菌活性の違いは、薬剤分子の N1-置換基の構造に由来するといえよう。P45014DM とアゾール系薬剤の相互作用のメカニズムについては幾つもの総説<sup>47-56)</sup>に詳しく述べられている。

P45014DM 依存性 14 $\alpha$ -脱メチル化反応障害によってエルゴステロール生合成が停止すると、細胞からエルゴステロールが失われる一方、ラノステロール、eburicol などの 14 $\alpha$ -メチルステロールの細胞内蓄積が起こる<sup>47-48)</sup>。エルゴステロールは真菌細胞膜の不可欠な成分であり、14 $\alpha$ -メチルステロールはその代替えにならないばかりかむしろ細胞膜に対して障害的に働く<sup>57)</sup>。したがってエルゴステロールの喪失と 14 $\alpha$ -メチルステロールの蓄積は、細胞膜障害を介して真菌の発育や形態形成を阻止する結果となる。主要な影響としては、エルゴステロール欠乏による細胞分裂阻害(エルゴステロールは細胞分裂過程の制御因子として働く)<sup>57, 58)</sup>、細胞膜流動性の変化による膜透過性の亢進や膜結合性の様々



な酵素活性への影響、などがあげられる。そうした酵素の例として最も代表的なのが、真菌の形態形成に重要な役割をもつ細胞壁成分として知られるキチンの合成酵素である<sup>46, 47, 50)</sup>。この酵素活性は、細胞膜のエルゴステロール含量が大きい場合には抑制され、小さいと増強される。このように、エルゴステロール合成阻害によってもたらされる複合的作用機序に基づいてアゾール系薬剤は抗真菌活性を発揮すると考えられる。

真菌の P45014DM に限らず、P450 ファミリーに属する酵素は、動物（ヒト）細胞にも多数存在し、重要な生理学的役割を担っている（後述）。したがってアゾール系化合物が抗真菌薬として有用であるためには、P450 に対する高い選択性、つまり真菌の P45014DM に対して特異的に親和性をもつことが要求される。事実、KCZ 以降のアゾール系薬剤は、いずれもこの条件を満たしている<sup>48, 51)</sup>。

真菌 P45014DM に対して高い選択性を示すか否かは、アゾール系薬剤の分子構造、とくにアゾール環の N1-置換基の立体構造に基づく動物（ヒト）細胞の P450 酵素のアポタンパク質との親和性の程度によって決定される<sup>51, 60)</sup>。真菌と動物細胞とでは P450 アポタンパク質の構造はかなり異なっており、例えば *C. albicans* の P45014DM と大多数の動物由来 P450 酵素のアミノ酸相同性は 24% 以下に過ぎない<sup>61)</sup>。したがって両者の酵素活性中心の構造にもかなりの相違があるはずであり、これが選択毒性を決める重要な要因になると推測される。

### 3.3. 耐性機序<sup>18-20, 22, 26, 31, 37, 46, 62)</sup>

イミダゾール系、トリアゾール系を問わず、アゾール系薬剤に関しては、一般に耐性獲得が起こり難いと考えられてきた。事実、国内外で抗真菌薬として最も多く使用されている FLCZ に関しても、臨床開発当初から問題視されたのは、むしろ *Aspergillus* spp. その他の糸状菌や特定の *Candida* spp. (*C. krusei*, *C. glabrata*) の低感受性（一次耐性）にあった。しかし、FLCZ の臨床導入から数年を経ずして、本薬剤の反復投与を受けた AIDS 患者の口腔咽頭カンジダ症(OPC)病巣から FLCZ に耐性化した *C. albicans* 株が高頻度に検出されるようになったのである。現在、OPC をも晩期 AIDS 患者での FLCZ 耐性 *C. albicans* の出現率は 30% 以上にも及んでおり、しかも耐性株の多くは ITCZ その他のアゾール系薬剤にも交叉耐性を示す。さらに慢性粘膜皮膚カンジダ症または深在性カンジダ症を発症した非 AIDS 患者についても *C. albicans* 耐性株の分離例が報告され、そうした耐性株の蔓延が一時期大いに危惧された。最近の疫学調査によれば、幸いにもこの懸念は今のところ現実とはなっていない。

こうした状況を背景に、アゾール系薬剤耐性の *C. albicans* その他の *Candida* spp. の臨床分離株または実験的作出株を用いて、耐性機序に関する生化学的・分子生物学的研究が盛んに行われてきた。その結果、表 2 に示すように、少なくとも 5 つの生化学的メカニズムが見出されている。このなかでは (5)、すな

わち ABC(ATP-binding cassette)タイプおよび MFS(major facilitator superfamily)タイプのトランスポーターによるエネルギー依存的排出ポンプが実際の臨床分離株の耐性に最も大きく関与していると考えられる。しかしこれを含めて、いずれの耐性機序も単独で高度耐性を説明するには不十分である。最近の臨床分離株の詳細な解析からは、同一菌株に複数の耐性機序の存在がしばしば見出されること、しかもそれを段階的に獲得して高度耐性に至ることが示されている。

#### 3.4. 宿主 P450 酵素に対する作用—副作用および他の薬物との相互作用の観点から—

動物（ヒト）の種々の組織細胞の小胞体やミトコンドリア内膜には、多数の分子種の P450 酵素が存在している。これらの P450 酵素は、多種多様な外来性物質（薬物を含む）や内因性物質（例、ステロイド、胆汁酸、脂肪酸、ロイコトリエン）の C-N 結合、C-O 結合、C-C 結合などを酸化的に切断してその代謝・解毒に重要な役割を演じている。

真菌 P45014DM との構造的類似性から、これらの動物 P450 酵素は、アゾール系薬剤の標的分子選択性が不十分であったり、高用量または中毒量の投与がなされた場合には、阻害作用を受けて有害な副作用を呈する可能性がある。実際、KCZ については、動物 P450 酵素に対しても明らかな阻害作用を示すことが見出されており本薬剤の副作用である肝機能障害やステロイドホルモン異常はそのためと考えられる。しかし KCZ にくらべると、その後開発されたアゾール系薬剤の障害作

用はかなり低くなっている。

肝などに存在する P450 酵素が種々の外来性物質の代謝に重要な役割を果していることから、アゾール系薬剤が P450 酵素依存性の薬物（アゾール系薬剤自身も含まれる）代謝に阻害的な影響を与えることは当然予測される場所である。その薬物がアゾール系薬剤と併用されている医薬品の場合には、代謝が阻害されて薬物相互作用が引き起こされる。とくに問題となるのは、ヒトの薬物代謝における中心的な役割を担う特定の P450 酵素 (CYP3A4) がアゾール系薬剤に高い親和性をもつことである。その結果、cyclosporin, phenytoin, warfarin, rifampicin など様々な併用医薬品の代謝が阻害されて血中濃度の上昇や AUC の増大を来す<sup>64)</sup>。

#### IV. 既存抗真菌薬による治療法の有用性と限界

深在性真菌症のマネジメントの中心となるのは、いうまでもなく抗真菌薬による化学療法である。しかしこの抗真菌化学療法は、抗細菌化学療法にくらべて絶えず遅れをとってきた。その最大の理由は、真菌が動物（ヒト）細胞と同様に真核細胞からなる生物（真核生物）であるために、ヒトに対して毒性のない抗真菌物質の探索や合成がきわめて困難なことにある。これが事実であることは、1956年に米国で発見された amphotericin B (AMPH)<sup>65)</sup> の注射用製剤が（わが国では1960年代初頭から臨床に導入）世界各国において今なお大多数の深在性真菌症とくに侵襲型の

重篤な病型を発症した場合の治療薬の” gold standard” とされていることから如実にうかがわれる。無論、AMPH 以後も新しいクラスの抗真菌薬の研究・開発が進められてきた。その結果、国内では 1970 年代の末から 1990 年代の初めにかけて、フロロピリミジン系の flucytosine (=5-fluorocytosine, 5-FC)、イミダゾール系の miconazole (MCZ)、トリアゾール系の fluconazole (FLCZ) と itraconazole (ITCZ) が順次承認されて臨床使用されるようになった (表 1)。そのほか諸外国では、1980 年代初頭に経口イミダゾール系薬剤 ketoconazole が、また 1990 年代に入ってから後で述べる幾つかの AMPH 脂質担体制剤が実用化されている。

このように抗真菌薬の種類 (クラス) と数は幾分増えたものの、いずれの既存薬も抗菌スペクトル、抗菌力、安全性、薬物動態、薬剤間相互作用などのいずれかに問題をかかえてきた。そうした問題点を多少とも改善すべく、様々な用法上の工夫がなされている。例えば、高リスク患者に対する予防投与、preemptive therapy, empirical therapy などの早期療法、AMPH 毒性軽減のためのステロイド剤投与、カリウム塩補給、24 時間持続点滴注入、アゾール系薬剤の有効性増大ための高用量療法、抗菌スペクトルの拡大や安全性向上を狙った複数抗真菌薬の併用、的確な感受性試験に基づく最適抗真菌薬および用量・用法の選択などがそれである。しかしいずれの場合も、改善度には限界があり、より根本的な問題解決策が臨床的有用性のより高い新規抗真菌薬 (既存薬の新規製剤を含む) の開発

と実用化にあることはいうまでもない<sup>11, 66, 67)</sup>。

## V. 新規抗真菌薬開発の現状

上述の状況を背景に、益々高まる臨床的ニーズに応えるべく、現在国内外では様々なクラス (基本構造) またはタイプ (剤型) の新しい抗真菌薬の候補化合物の探索研究と開発が精力的に進められている<sup>11, 17, 68-72)</sup>。そのなかでわが国および (または) 欧米において臨床試験第 I 相から第 III 相までのいずれかの段階に入っている候補薬剤が 12 剤ほどあり (表 3)、これらは次の 3 クラスに大別される。

(i) トリアゾール系 triazoles (6 剤)、(ii) ポリエン系脂質担体制剤 lipid-vehicle polyenes (3 剤)、(iii) リポペプチド系 lipopeptides (カンジン系 candins) (3 剤)。

大多数の薬剤については海外での開発が先行しているが、NS-718 のように国内で独自に開発されている薬剤の例もある。以下にわが国で臨床試験が進行中の薬剤を中心に、それらの特徴などを述べる。なお海外を含めた世界的な開発の現状については、最近は発表された総説<sup>73)</sup> にまとめられている。

### 1. トリアゾール系

既存の 2 つのトリアゾール系抗真菌薬 FLCZ と ITCZ の特性をさらに改良することを目的として多くの製薬企業が多数の新規誘導体の探索と研究・開発を行ってきた。現在臨床試験段階に入っているものも幾つかあり (表 3)、そのなかで国内での臨床開発が最も進んでいるのは UK-292,663 である。その

ほかにも ITCZ の新規製剤として JK1211 および ITR-IV が、また新規化合物としては UK-109,496 (voriconazole) および SCH-56592(posaconazole)がある。

UK-292, 663 (図 5) は、FLCZ のリン酸化プロドラッグであり、体内に入るとホスファターゼによって速やかに FLCZ とリン酸とに分解される。FLCZ 自身もトリアゾール系抗真菌化合物としては異例の高い溶解性 (4mg/ml) をもつが、それでも静脈内投与に際しては大量の輸液とともに点滴注入する必要がある。UK-292,663 の開発戦略は、溶解性をさらに高めて静脈内投与時の輸液量を減らすことにあり、これによって用法上の利便性のみならず循環系への負担の軽減による安全性の向上もはかれる利点がある。実際、本化合物の溶解性は約 100mg/ml と高く、静脈内ポーラス (1 ショット) 投与も可能となった。

ITCZ は、FLCZ よりも抗真菌活性が強く、抗真菌スペクトルも広いという利点をもつところから、FLCZ が無効とされる肺アスペルギルス症などの糸状菌による感染症にも有効である。しかし ITCZ は脂溶性が高いために、注射用製剤はなく、経口剤 (カプセル剤) のみで使用されてきた。その経口剤についても、腸管からの吸収率が不足であること、とくに低酸症の患者や急性白血病などの重篤な基礎疾患をもつ患者では著しく吸収が不良であることが欠点となって本剤の臨床的有用性を大きく制約している。JK1211 は、この欠点を克服することを目的に創薬された経口用の ITCZ 可溶化製剤であり、溶液化には 40%ヒ

ドロキシプロピル-β-サイクロデキストリン (HP-β-CD) が用いられている。その結果、腸管吸収が改善されたばかりか、プロトンポンプ阻害剤の影響も受けることなく、骨髄移植後のハイリスク患者においても良好な体内動態が得られるようになった (74, 75)。空腹時に経口投与した場合には、従来のカプセル剤とくらべて、AUC および C<sub>max</sub> はいずれも 30% 程度増加すると報告されている<sup>76, 77)</sup>。この可溶化製剤の出現によって、経口投与による適用拡大がはかられるものと考えられる。さらに静注用の ITCZ の HP-β-CD 製剤 (ITR-IV) も開発され、侵襲型アスペルギルス症をはじめとする重篤な真菌症の治療における有用性が期待されている<sup>78)</sup>。しかし可溶化製剤とはいえ、有効成分である ITCZ の薬物代謝、安全性、薬物間相互作用、耐性獲得などに関する特性はカプセル剤と基本的には変わらないようである。

以上の 2 薬剤とは別に、新規の化学構造をもついわば第 2 世代のトリアゾール系抗真菌薬の候補が幾つか臨床開発されている<sup>69, 71, 73, 79)</sup>。国内で臨床試験実施中の voriconazole は FLCZ タイプ、posaconazole (SCH 56592) ITCZ タイプの化学構造をもつ (図 5) しかし、いずれも脂溶性化合物であり、長所・短所を含めて多少とも ITCZ と似た特性をもつ。長所としては、FLCZ とくらべて、抗真菌スペクトルが広いこと、FLCZ 耐性 *C. albicans* に対してもある程度の活性を示すこと、*C. glabrata* や *C. krusei* などの FLCZ 低感受性酵母菌種に対しても活性であること、*Aspergillus* spp. その他の糸状菌に対する活性も比較的強いこと

などがあげられる。海外での開発が先行している voriconazole は、*Candida* spp., *Aspergillus* spp., *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium* spp., 二形性真菌などを含む広範囲の病原真菌に対して FLCZ の 10~100 倍も強い *in vitro* 活性をもち<sup>80-94)</sup>、幾つかのアスペルギルス症動物モデルにおいてもすぐれた治療効果が確認されている<sup>95, 96)</sup>。また欧米での第Ⅱ相臨床試験において咽頭カンジダ症、食道カンジダ症、侵襲型アスペルギルス症などに対する有効性を示す成績が得られている<sup>79)</sup>。一方、posaconazole については、*in vitro* 活性、*in vivo* 活性その他の前臨床試験データが集積されており、接合菌、黒色真菌、皮膚糸状菌、emerging fungal pathogen などを含めて voriconazole 以上に幅広い抗真菌スペクトルをもつことが報告されている<sup>79, 97-103)</sup>。本薬剤の臨床試験に関する成績の報告はまだみられないが、FLCZ や ITCZ が奏効しない侵襲性真菌症への適用が期待される。

そのほか、国内外で臨床試験が行われ、現在開発が中断しているトリアゾール系化合物として M-16354 (ZD 0870) がある。本化合物を ITCZ とくらべると、*Aspergillus* spp. に対する *in vitro* 活性は幾分弱い<sup>104)</sup>が、*Candida* spp. とくに *C. tropicalis* や *C. parapsilosis* または FLCZ 耐性 *C. albicans* に対してはかなり強力な活性を示す<sup>104)</sup>。これまで行われた AIDS 患者の口腔咽頭カンジダ症に対するパイロット臨床試験から、本剤治療の有効性が認められている<sup>105)</sup>。さらに欧米では、ravuconazole (ER-30364; BMS-207147)、TAK-187 といったトリアゾール系脂溶性化合物の臨床

開発も進められている。

## 2. AMPH の脂質担体制剤

AMPH の注射用通常製剤 (デオキシコール酸複合体、Fungizone®) の毒性軽減と有効性増大を目標とする新規製剤の開発が以前から行われてきた。この条件を満すとして有望視されたのが AMPH の脂体担体制剤である。欧米諸国では次の 3 つのタイプの製剤がすでに臨床開発を終えて上市されている。(i) 単層リポソームタイプ (AmBisome®)、(ii) 脂質複合体タイプ (Abelcet®)、(iii) コロイド分散タイプ (Ampocil®)。Table 2 に示すように、各製剤には、脂質組成、AMPH 含量、粒子サイズ、薬物動態などの点で特徴的な相違がみられる。しかしいずれの製剤も AMPH 通常製剤にくらべて毒性が低く、高用量の投与が可能であることが従来の動物実験や臨床試験から確かめられている<sup>106, 107)</sup>。問題はその有効性であり、各製剤とくに AmBisome® の治療、empirical therapy および予防投与における有用性の評価を目的として Fungizone® との比較臨床試験が現在も欧米で行われており、その成績を最近の報告<sup>108-111)</sup>にみることができる。AmBisome®については、わが国でも臨床試験が進行中であり (開発コード: SM-26000)、とくに侵襲性アスペルギルス症などの重篤な深在性真菌症に対してどの程度の有効性が得られるかが注目される。

これらの製剤とは別に、わが国び製薬企業が独自に開発したユニークな AMPH 脂質担体制剤の臨床試験も数年前から進められてい

る。NS-718 とよばれるこの製剤は、ダイズ油と精製卵黄レシチンからなる脂質微粒子 (lipid nanosphere) 中に AMPH 溶液を封入して注射用に製剤化したものである。NS-718 の最大の特徴は、他の脂質担体制剤にくらべて粒子サイズが小さいこと (25~50nm 径) にある<sup>112)</sup>。そのため本製剤は、AMPH の通常製剤や他の脂質担体制剤とことなり、肝臓などの網内系に捕捉されず、したがって血中濃度が比較的長時間維持される。この理由から、NS-718 については低用量療法が可能となり、それによって毒性軽減がはかられるという利点をもつ。事実、ラットの侵襲型肺アスペルギルス症モデルおよびマウスの肺クリプトコッカス症モデルを用いた *in vivo* 実験において、本製剤は AMPH の従来製剤およびリポソーム製剤と同等以上の治療効果を示した<sup>113, 114)</sup>。現在、各種深在性真菌症を対象として国内で行われている臨床試験の結果が待たれる。

### 3. リポペプチド系 (カンジン系)

$\beta$ -グルカンは、接合菌を除くすべての真菌の細胞壁に豊富に存在し、キチンおよびマンナン蛋白質とともに真菌細胞壁の主要な高分子構成成分としてその強固でしかもダイナミックな構造を維持するのに不可欠な役割を果たしている。グルコースのホモ重合体である  $\beta$ -グルカンは、グリコシド結合様式をことにする 2 つのタイプの重合体、すなわち (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -グルカンと (1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -グルカン、が混在する。(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -結合残基からなるらせ

ん状にからまった 3 本のコイル鎖がロープ様の微細線維を形成し、その処々に (1 $\rightarrow$ 6)- $\beta$ -結合側鎖が生じている。このコイル鎖が規則的に集合して高次構造をつくると、細胞壁を保持するのに十分な強度が与えられる。グルコースの重合反応を触媒して (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -グルカンを合成する酵素は、(1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -glucan synthase とよばれる。この酵素は細胞膜に結合し、大小 2 つの機能的サブユニットからなる。前者 (210kDa) は、

FKS1 遺伝子がコードする細胞膜に組み込まれた catalytic subunit であり、UDP-グルコースからグルコースをグルカン微細線維へ取り込む。これに対して、小さいサブユニット (27kDa) は、ROH1 によってコードされる soluble regulatory subunit であり、GTPase 活性をもち、catalytic subunit と結合してこれを活性化する。

このように (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -glucan synthase は、真菌の細胞壁新生したがって真菌の発育に不可欠な酵素であるところから、もしこの活性が阻害されるならば、真菌は致命的な影響 (殺菌的作用) を受けることになる。さらに (1 $\rightarrow$ 3)- $\beta$ -glucan synthase が真菌のみに存在する (ヒトに存在しない) ことを考え併せると、本酵素はきわめて選択性の高い抗真菌作用標的とみなされる。そうした特異的作用メカニズムをもつ抗真菌物質が抗真菌薬の有望な開発候補として待望されてきたのは当然といえよう。

1970 年代から 1980 年代にかけて、海外では echinocandin 群、pneumocandin 群、mulundocandin 群などの *Candida* に対して強

力な殺菌作用を示す抗生物質が次々に見出された。これらの抗真菌抗生物質は、いずれも脂溶性側鎖をもつ環状ペプチドである点、ならびに(1→3)-β-glucan synthase を非競合的に阻害して細胞壁を障害する点で共通している。しかし抗真菌スペクトルが狭いこと、脂溶性が高いこと、薬物動態が不良なこと、溶血活性や細胞毒性が比較的強いことなどが開発を困難にした。僅かに echinocandin B の半合成誘導体である cilofugin が米国で第Ⅱ相臨床試験まで進んだが、担体として用いた PEG の毒性などが原因となって臨床開発が断念された。

それにもかかわらず、米国の 2 つの製薬企業は、その後も薬理学的特性が改善された多数の半合成誘導体の探索と研究開発を続けた結果、最近 2 つの水溶性誘導体が開発候補として導入された。1 つは echinocandin B 由来の VER-002 (LY303,366)、もう 1 つは pneumocandin Bo 由来の caspofungin (L-743,872; MK0991)である(図 6)。いずれも米国において臨床試験が進められており<sup>115)</sup>、<sup>116)</sup>。両薬剤の特性は幾つかの総説<sup>115-119)</sup>に詳しく述べられている。

一方、国内の製薬企業は、環状ペプチドコアに硫酸基が結合した特徴的な水溶性リポペプチド系抗生物質を幾つも発見し、その 1 つ FK901,379 の半合成誘導体 FK463(図 6)を開発候補として選んだ。FK463 は、FLCZ 耐性 *C. albicans* を含む各種 *Candida* spp. や *Aspergillus* spp. に対してすぐれた *in vitro* ならびに *in vivo* 活性を示し<sup>120-124)</sup>、数年前から国内外で臨床試験が行われている。これまで

の成績から安全性に関してはとくに問題がないようであり<sup>116)</sup>、その有効性に関心が集まっている。

おわりに

現在臨床試験が進められている抗真菌薬候補の 1 つでも 2 つでも開発に成功して実用に供されるならば、深在性真菌症患者のマネジメントに貢献することは確かである。しかし、残念ながら、いずれの薬剤も臨床的有用性にはかなりの限界があり、抗真菌化学療法が完成の域に達するには程遠い状況にあるといわざるを得ない。今後に残された最大の課題は、画期的にすぐれた抗真菌薬を開発するための新しい潜在的な作用標的の探索である。これに加えて、免疫療法その他の新たな治療戦略へのアプローチもまた重要と考えられる。

文献

1. Cheng JT, Witty RT, Robinson RR et al : Amphotericin B nephrotoxicity : increased renal resistance and tubule permeability. *Kidney Int* 22 : 626-633, 1982.
2. Gallis HA, Drew RH, Pickard WW : Amphotericin B : 30 years of clinical experience. *Rev Infect Dis* 12 : 308-329, 1990.
3. Francis P, Walsh TJ : Evolving role of flucytosine in immunocompromised patients : new insights into safety, pharmacokinetics, and

- antifungal therapy. *Rev Infect Dis* 15 : 1003-1018, 1992.
4. 山口英世 : 抗真菌化学療法 of 展望. アゾール系抗真菌剤. *微生物* 4 : 24-35, 1988.
  5. 内田勝久, 山口英世 : Azole 抗真菌剤. *感染炎症免疫* 19 : 1-13, 1989.
  6. Stevens DA : Miconazole in the treatment of systemic fungal infections. *Am Rev Respir Dis* 116 : 801-805, 1977.
  7. Heel RC, Brogden RN, et al : Miconazole : a preliminary review of its therapeutic efficacy in systemic fungal infections. *Drugs* 19 : 7-30, 1980.
  8. 山口英世 : ミコナゾール. *現代医療* 19 : 841-846, 1987.
  9. Como JA, Dismukes WE : Oral azole drugs as systemic antifungal therapy. *N Engl J Med* 330 : 263-272, 1994.
  10. 山口英世 : イトラコナゾール. *現代医療* 26 : 2767-2774, 1994.
  11. 山口英世 : 抗真菌化学療法の進歩と課題. *Pharma Medica* 13 : 53-61, 1995.
  12. 山口英世 : 深在性真菌症治療の新たな展開. *真菌誌* 41 : 221-228, 2000.
  13. Vanden Bossche H, Willemsens G, Marichal P : Anti-*Candida* drugs-the biochemical basis for their activity. *Crit Rev Microbiol* 15 : 57-72, 1987.
  14. 山口英世 : 抗真菌剤の作用機作に関する研究. *真菌誌* 31 : 1-15, 1990.
  15. Polak A : Mode of action studies. In : *Handbook of Experimental Pharmacology*. Vol. 96. *Chemotherapy of Fungal Diseases* (Ryley JF, ed ), p.153-182, Springer-Verlag, Berlin, 1990.
  16. Georgopapadakou NH, Walsh TJ : Antifungal agents : chemotherapeutic targets and immunologic strategies. *Antimicrob Agents Chemother* 40: 279-291, 1996.
  17. St. Georgiev V : Fungal cell envelope and mode of action of antimycotic agents. In : *Infectious Diseases in Immunocompromised Hosts*, p. 741-761, CRC Press, Boca Raton, 1998.
  18. White TC, Marr KA, Bowden RA : Clinical , cellular, and molecular factors that contribute to antifungal resistance. *Clin Microbiol Rev* 11 : 382-402, 1998.
  19. 山口英世 : 抗真菌薬の耐性機構. *真菌誌* 40 : 199-208, 1999.
  20. Ghannoum MA, Rice CB : Antifungal agents : mode of action, mechanisms of resistance, and



- correlation of these mechanisms with bacterial resistance. Clin Microbiol Rev 12 : 501-517, 1999.
21. 西山彌生、山口英世：現在の抗真菌薬と作用機序. 化学療法の領域 16 : 19-26, 2000.
22. Vanden Bossche H, Marichal P, Odds FC : Molecular mechanisms of drug resistance in fungi. Trends Microbiol 2 : 393-400, 1994.
23. Bolard J, Milhaud J : Interaction of the anti-*Candida* amphotericin B (and other polyene antibiotics) with lipids. In : Lipids of Pathogenic Fungi (Prasad R, Ghannoum M, eds), p.253-274, CRC Press, Boca Raton, 1996.
24. Yamaguchi H, Abe S, Tokuda Y : Immunomodulating activity of antifungal drugs. In : Immunomodulating Drugs (St. Georgiev V, Yamaguchi H, eds), Ann N Y Acad Sci 685, 447-457, 1993.
25. Brajtburg J, Gruda T, Kobayashi GS : Amphotericin B : studies focused on improving its therapeutic efficacy. In : Recent Progress in Antifungal Chemotherapy (Yamaguchi H, Kobayashi GS, Takahashi H, eds), p. 65-75, Marcel Dekker, New York, 1992.
26. Martins MD, Rex JH : Resistance to antifungal agents in the critical care setting : problems and perspectives. New Horizons 4: 338-344, 1996.
27. Alexander BD, Perfect JR : Antifungal resistance trends towards the year 2000 : Implications for therapy and new approaches. Drugs 54 : 657-678, 1997.
28. Broughton MC, Bard M, Lees ND : Polyene resistance in ergosterol producing strains of *Candida albicans*. Mycoses 34 : 75-83, 1991.
29. Haynes MP, Chong PL, Buckley HR, et al : Fluorescence studies on the molecular action of amphotericin B on susceptible and resistant fungal cells. Biochemistry 35 : 7983-7992, 1996.
30. Nolte FS, Parkinson T, Falconer DJ, et al : Isolation and characterization of fluconazole- and amphotericin B- resistant *Candida albicans* from blood of two patients with leukemia. Antimicrob Agents Chemother 41 : 196-199, 1997.
31. Marichal P, Vanden Bossche H : Mechanisms of resistance to azole antifungals. Acta Biochim Pol 42 : 509-516, 1995.
32. Kelly SL, Lamb DC, Taylor M, et al : Resistance to amphotericin B associated with defective sterol  $\delta 8 \rightarrow 7$  isomerase in a *Cryptococcus neoformans* strain from an AIDS patient. FEMS Microbiol Lett 122 : 39-42, 1994.
33. Fryberg M : Sterol biosynthesis in antibiotic-

- resistant yeast : nystatin. Arch Biochem Biophys 160: 83-89, 1974.
34. Arther MA, Winner HI : Development of resistance by *Candida* species to polyene antibiotics *in vitro*. J Med Microbiol 4 : 505-517, 1971.
35. Hamilton-Miller JMT : Chemistry and biology of the polyene macrolide antibiotics. Bacteriol Rev 37 : 166-196, 1973.
36. Diasio RB, Bennett JB, Myers CE : Mode of action of 5-fluorocytosine. Biochem Pharmacol 27 : 703-707, 1978.
37. Vanden Bossche H, Warnock DW, Dupont B, et al : Mechanism and clinical impact of antifungal drug resistance. J Med Vet Mycol 32 : 189-202, 1994.
38. Viviani MA : Flucytosine-what is its future ? J Antimicrob Chemother 35 : 241-244, 1995.
39. Stiller R, Bennett J, Scholer J, et al : Susceptibility to 5-fluorocytosine and prevalence of serotype in 402 *Candida albicans* isolates from the United States. Antimicrob Agents Chemother 22 : 482-487, 1982.
40. Defever k, Whelan W, Rogers A, et al : *Candida albicans* resistance to 5-fluorocytosine : frequency of partially resistant strains among clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother 22 : 810-815, 1982.
41. Whelan WL : The genetic basis of resistance to 5-fluorocytosine in *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. Crit Rev Microbiol 15 : 45-56, 1987.
42. Fasoli M, Kerridge D : Isolation and characterization of fluoropyrimidine-resistant mutants in two *Candida* species. Ann NY Acad Sci 544 : 260-263, 1988.
43. Kerridge D, Fasoli M, Wayman FJ : Drug resistance in *Candida albicans* and *Candida glabrata*. Ann NY Acad Sci 544 : 245-259, 1988.
44. Vanden Bossche H : Importance and role of sterols in fungal membranes. In : Biochemistry of Cell Walls and Membranes in Fungi (Kuhn PJ, Trinci AP, Jung MJ, et al, eds), p.135-157, Springer-Verlag, Berlin, 1990.
45. Köler W : Antifungal agents with target sites in sterol function and biosynthesis. In : Target Sites of Fungicidal Action (K 嗟 ler W, ed), p.119-206, CRC Press, Boca Raton, 1992.
46. Joseph-Horne T, Hollomon DW : Molecular mechanisms of azole resistance in fungi. FEMS Microbiol Lett 149 : 141-149, 1997.
47. Vanden Bossche H : Biochemical targets for

- antifungal azole derivatives : hypothesis on the mode of action. In : Current Topics in Medical Mycology. Vol. 1 (McGinnis MR, ed), p.313-351, Springer-Verlag, New York, 1985.
48. Vanden Bossche H, Bellens D, Cools W, et al : Cytochrome P-450 : target for itraconazole. Drug Dev Res 8 : 287-298, 1986.
49. Marriott MS, Richardson K : The discovery and mode of action of fluconazole. In : Recent Trends in the Discovery, Development and Evaluation of Antifungal Agents (Fromtling RA, ed), p.81-92, JR Prous Science Publishers, Barcelona, 1987.
50. Shaw JTB, Tarbit MH, Troke PF : Cytochrome P-450 mediated sterol synthesis and metabolism : difference in sensitivity to fluconazole and other azoles. *ibid.*, p.125-139, 1987.
51. Vanden Bossche H : Mode of action of pyridine, pyrimidine and azole antifungals. In : Sterol Biosynthesis Inhibitors. Pharmaceutical and Agrochemical Aspects (Berg D, Plempel M, eds), p.79-119, Ellis Horwood, Chichester, 1988.
52. Yoshida Y : Cytochrome P450 of fungi : primary target for azole antifungal agents. In : Current Topics in Medical Mycology, Vol.2 (McGinnis MR, ed), p.388-418, Springer-Verlag, New York, 1988.
53. Yoshida Y, Aoyama Y : Sterol 14 alpha-demethylase and its inhibition structural considerations on interaction of azole antifungal agents with lanosterol 14 alpha-demethylase (P-450(14DM)) of yeast. Biochem Soc Trans 19 : 778-782, 1991.
54. Hitchcock CA : Cytochrome P-450-dependent 14 alpha-sterol demethylase of *Candida albicans* and its interaction with azole antifungals. Biochem Soc Trans 19 : 782-787, 1991.
55. Vanden Bossche H : Ergosterol biosynthesis inhibitors. In : *Candida albicans* (Prasad R, ed.), p.239-257, Springer-Verlag, Berlin, 1991.
56. 山口英世 : アゾール系抗真菌剤. 日本薬剤師会雑誌 49 : 1829-1837, 1997.
57. Parks LW, Lorenz RT, Casey WM : Functions for sterols in yeast membranes. In : Emerging Targets in Antibacterial and Antifungal Chemotherapy (Sutcliffe J, Georgopapadakou, eds), p.393-409, Chapman & Hall, New York, 1992.
58. Nes DW, Janssen GG, Crumley FG, et al : The structural requirements of sterols for membrane function in *Saccharomyces cerevisiae*. Arch Biochem Biophys 300: 724-733, 1993.
59. Barrett-Bee K, Newbould L, Pinder P :

- Biochemical changes associated with the antifungal action of the triazole ICI 153,066 on *Candida albicans* and *Trichophyton quinckeanum*. FEMS Microbiol Lett 79: 127-132, 1991.
601. Richardson K, Cooper K, Marriott MS, et al : Design and evaluation of a systemically active agent, fluconazole. In :Antifungal Drugs (St. Georgiev V, ed), p.4-11, New York Acad Sci, New York, 1988.
61. Vanden Bossche H, Marichal P, Gorrens J, et al : Biochemical approaches to selective antifungal activity. Focus on azole antifungals. Mycoses 32 (suppl 1) : 35-52, 1989.
62. Denning DW, Baily CG, Hood SV : Azole resistance in *Candida*. Clin Microbiol Infect Dis 16 : 261-280, 1997.
63. Vanden Bossche H, Willemsens G, Bellens D, et al : From 14  $\alpha$ -demethylase inhibitors in fungal cells to androgen and oestrogen biosynthesis inhibitors in mammalian cell. Biochem Soc Trans 18 : 10-13, 1990.
64. Lomaestro BM, Piatek MA : Update on drug interactions with azole antifungal agents. Ann Pharmacother 32 : 915-928, 1988.
65. Gold W, Stout HA, Pagano JF, et al : Amphotericins A and B, antifungal antibiotics produced by Streptomyces. I *in vitro* studies, In Antibiot Ann, p.579-586, 1955-1956.
66. 山口英世 : 抗真菌剤の作用機作と開発. 化学療法の領域, 2 : 1 579-1590, 1986.
67. 山口英世 : 深在性真菌症に対する化学療法の現状と将来. 病体生理誌 30 : 38-47, 1996.
68. 山口英世 : 抗真菌剤開発の現状. 検査と技術. 24 : 239-241, 1996.
69. 山口英世 : 7.真菌症の治療 2) 新しい抗真菌薬. 真菌症のすべて-最新知見からの現状と展望-, (伊藤章 編), p.257-274, 医薬ジャーナル社, 1997.
70. 山口英世 : 抗真菌薬の開発. 第 18 回メディシナルケミストリーシンポジウム/第 7 回日本薬学会医薬化学部会年会講演要旨集, p.25-27, 1998.
71. Viviani MA, DeMarie S, Graybill JR, Yamaguchi H, et al : New approaches to antifungal chemotherapy. Med Mycol 36 (suppl 1) : 194-206, 1998.
72. 山口英世 : 新しい抗真菌薬のターゲット. 第 1 回千葉真菌症研究会記録集, p.51-71, 千葉真菌症研究会, 1998.
73. Walsh TJ, Viviani MA, Aratoon E, et al : New targets and delivery systems for antifungal