

2000/034 ~ 1050/

創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業

平成12年度

エイズ医薬品等開発研究

研究報告書

財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

平成12年度

エイズ医薬品等開発研究

研究報告書

目 次

課題番号

第1分野 抗エイズウイルス薬、エイズ不随症状に対する治療薬の開発に関する研究

10101	国内未承認エイズ治療薬等を用いたHIV感染症治療薬及びHIV感染症至適治療法の開発に係る応用研究	福武 勝幸	……	1
10102	エイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究	棚元 憲一	……	13
10103	HIV第二受容体拮抗剤を基盤分子とする戦略的抗エイズ剤の創製と実用化	藤井 信孝	……	16
10104	HIVインテグラーゼおよび複製を制御する蛋白質を標的とする抗ウイルス剤の開発	藤原 民雄	……	22
10105	アポトーシス抑制作用を有する新規抗エイズ薬の開発	吉野公一郎	……	28
10106	細胞性因子を標的にした抗HIV薬の開発研究	金岡 昌治	……	35
10107	カリニ肺炎のゲノム創薬研究	西村 暹	……	46
10108	逆転写酵素阻害剤の併用療法に関する研究	湯浅 聡	……	51
10109	難薬剤耐性且つ多機能を指向した抗エイズ薬の開発及び抗CCR5-CXCR4キメラ環状テトラデカペプチド抗体による感染防御	加藤 英夫	……	61
10110	遺伝子発現制御機能を持つ亜鉛サイクレン錯体による抗エイズ薬の研究	山本 直彦	……	72
10111	HIV-1の細胞侵入機構の解析による抗エイズウイルス薬の開発	鈴木 達夫	……	77
10113	新規クロニング翻訳調節蛋白やIL-15、IL-16、CD26阻害剤によるエイズおよびエイズ付随症状の治療・診断研究	岩倉洋一郎	……	88

第2分野 エイズワクチン等エイズ発症防止薬の開発に関する研究

10201	HIV日本人株及び東南アジア株に対するワクチンの開発とAIDS予防法に関する研究	小室 勝利	……	99
10202	HIV-1vpr遺伝子を用いたHIV感染細胞のアポトーシスによる排除技術の開発	森田 裕	……	115
10204	HIVによる免疫機能不全を治療・予防する新規ワクチンの開発	金子有太郎	……	121

第3分野 抗エイズ薬開発のための基盤技術の開発等に関する研究

10301	エイズ治療薬開発のための評価スクリーニング系の開発	永井 美之	……	133
10303	HIVの病原性遺伝子Nefを標的とした抗AIDS薬開発のための基盤研究	松田 道行	……	144

第1分野

抗エイズウイルス薬、エイズ不随症状
に対する治療薬の開発に関する研究

エイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究

所属 国立医薬品食品衛生研究所
主任研究者 部長 棚元憲一

要旨

今年度は参加企業5社、及び2大学から提出されたエイズ医薬品候補物質合計385サンプルを得てマイクロプレート法や巨細胞形成抑制法で抗エイズウイルス活性を試験した。これらのうち、5サンプルにおいてマイクロプレート法で活性が認められた。一方、これらのサンプルは巨細胞形成抑制法では顕著な活性を示さなかった。

1. 研究組織

- (1) 北海道立衛生研究所
田村 正秀、伊木 繁雄
- (2) 京都府保健環境研究所
前田 知穂、石崎 徹
- (3) 東京都立衛生研究所
関根 大正
- (4) 神奈川県衛生研究所
益川 邦彦、斉藤 隆行
- (5) 愛知県衛生研究所
鈴木 康元、森下 高行
- (6) 大阪府立公衆衛生研究所
大竹 徹、川畑 拓也、森 治代、小島 洋子、大石 功
- (7) 神戸市環境保健研究所
秋吉 京子、須賀 知子
- (8) 大分県環境研究センター
小野 哲郎
- (9) 横浜市衛生研究所
野口 有三
- (10) 福岡県保健環境研究所
加藤 元博、千々和勝己
- (11) 東京大学医学部
牛島 廣治
- (12) 国立医薬品食品衛生研究所
棚元憲一、三瀬勝利

2. 研究目的

現在までに幾つかのエイズウイルスに対する医薬品が開発されてきたが、その数は限定されており、かつこれらの効力や副作用にも問題が多いなど、未だに決定的な薬剤は得られていない。わが国の医薬品メーカーの新薬開発能力は優れたものがあり、多くの潜在的な抗エイズウイルス薬の存在の可能性がある一方、日本国内ではエイズ患者数が少ないことから企業レベルでの採算の問題もあって、エイズ医薬品開発は困難な状況にある。従ってこのような研究は国、公共機関がリードして行われなければならない。本研究では、企業・大学等から提供される合成化学物質や生薬抽出物について、国立医薬品食品衛生研究所、東京大学医学部及び10地方衛生研究所から成る研究班で、エイズウイルス増殖抑制を指標にして、産学官の力を結集してスクリーニング研究を行うものである。併せて、より効率的でかつ迅速なスクリーニング法の開発研究や、効果

が認められた化合物についてその詳細な作用メカニズムの検討、臨床分離株への応用等の研究を進展させる。なお、特許などの関係で、詳細な研究を公表することは参加企業側の要請とヒューマンサイエンス振興財団との話し合いにより、さし控えることになっている。このため、本研究成果の発表についても、抗 HIV 活性陽性物質の化学名は言うに及ばず、サンプル提出企業名も伏せてある。そのような経緯から、きわめて限定された結論のみを紹介することになる。

3. 研究方法

各年度ごとに、ほぼ以下に箇条書きに従った研究方法により、エイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究をなっている。

- (1) 参加企業がすでに合成している、もしくは、左記の期間に合成した医薬品の中で、エイズ医薬品候補として有望と思われるものを各社で選考する。これら医薬品の特性を調べた後、希望する活性測定条件を記して、原則として1件につき2サンプルが国立医薬品食品衛生研究所に送付される（希少サンプルの場合は1サンプルでも可）。
- (2) 班会議を開催し、牛島教授の指導の下に各10地研エイズウイルス研究担当者のためのウイルス取り扱い法と、スクリーニングに関する討論会を行い、技術と実験方法の統一を計る。
- (3) 国立医薬品食品衛生研究所に送付された化学物質等は集結後、通し番号をうつ。製品名は伏せたまま、等分されそれぞれ10地方衛研のいずれかに送付、抗 HIV 活性等がテストされる。陽性対照としては AZT(3'-azido-3'-deoxythymidine)やデキストラン硫酸を使用する。
- (4) HIV ウイルスを使用したエイズ医薬品候補物質のスクリーニング研究を行う。被検サンプル数のうち判定の難しいものは牛島研で重複してテストし、総合判定を行う。抗 HIV 活性は、MT-4 細胞の HIV 感染による細胞障害性の抑制を指標としたマイクロプレート法を用いて判定を行い、これで活性が認められたサンプルに関しては、生細胞数測定法や巨細胞形成抑制法により、抗 HIV 活性の確認を行う。また被検物質によっては、逆転写酵素活性阻害も試験する。試験成績は国立医薬品食品衛生研究所を経て、ヒューマンサイエンス振興財団から提出企業に報告される。各地方衛研で使用される細胞やウイルスの分与やチェックは定期的に牛島研でなされる。
- (5) 地方衛研で得られた実験結果は、国立医薬品食品衛生研究所で集計され、牛島研のデータと共に、製品名をマスクした形で、各研究機関の担当者の意見を聞く。有望と考えられたものや、結果があいまいなものは、再度ウイルス試験が担当研究機関や牛島研で行われ、最終判定が国立医薬品食品衛生研究所で行われた班会議でなされる。また牛島研ではアンケート調査や文献調査をもとに、新しいスクリーニング法の導入を検討している。

4. 研究成果

本年度は企業5社、及び2大学から合計385サンプルのスクリーニング申し込みがあった。これらのサンプルをマイクロプレート法で抗エイズウイルス活性のスクリーニングを行った結果、表1に示すように5サンプルにおいて抑制活性が認められた。そのうち比較的活性が強い3検体はいずれも核酸誘導体、及び不飽和糖であった。これらの陽性サンプルについて、Molt-4 細胞を用いた巨細胞形成抑制活性を調べたところ、いずれも抑制効果を示さなかった。

Table 1. Screening of anti HIV drugs tested with microplate method.

Number	Effective doses (µg/ml)	Minimum cytotoxicity doses (µg/ml)	Chemicals
001167	3.1-12.5	≥25	合成品
001267	20-80	>80	合成品
001363	10	>10	合成品 (核酸誘導体)
001364	10	>10	合成品 (核酸誘導体)
001377	5	≥10	合成品 (不飽和糖)

新しいエイズ医薬品スクリーニング法の開発の一環として、感染ウイルスを用いずに細胞側の CD4 分子と coreceptor を発現する HeLaT4 細胞とウイルス側の gp120 分子を発現する HeLaKS386 細胞を用いた巨細胞形成抑制試験による疑似感染モデルを作成し、T-tropic HIV 感染に対する抗ウイルス薬スクリーニングにこの方法が有用であることを見出した。また、サイトカイン産生増強により AIDS 発症を抑制する薬剤のスクリーニング法の開発を行い、成果を得た。

5. 考察

企業 5 社、及び 2 大学から寄せられた合計 385 サンプルのマイクロプレート法によるスクリーニングの結果、5 サンプルにおいて陽性反応が見られた。しかしいずれも巨細胞形成抑制法では顕著な活性を示さなかった。スクリーニング以外にも本研究班では感染性ウイルスを用いず、しかも感染実験における巨細胞抑制試験の状況を再現する実験系の確立を計った。これらの新方法は、実用性とより広範なスクリーニングという意味において非常に有用な方法として期待される。

本研究はヒューマンサイエンス振興財団のエイズ医薬品開発研究が開始された当初から、主要な研究の一つとして現在まで継続されてきた。これまですでに 3,000 に及ぶ試料についてスクリーニング研究が行われている。その中には約 50 種の候補物質が見出され、さらにそれらの作用について詳細な検討が行われてきた。日本国内ではエイズ患者数自体少ないことから企業レベルでは採算がとれないこともあって、エイズ医薬品開発は困難な状況にあると思われる。このような研究は国、公共機関がリードすべきであることは言うまでもない。本研究のように国立の研究機関、及び地方衛研が協力してエイズ医薬品のスクリーニングを行っている例は諸外国ではない。これは日本における地方衛研のレベルの高さを証明するものであり、本研究のベースはそこにあると思われる。

本研究は、特許などの関係で詳細な内容を公表することは、参加企業・研究機関側の要請とヒューマンサイエンス振興財団との話し合いにより差し控えることとなっている。このため、本研究成果の発表についても、きわめて限定された結論のみしか紹介できない。しかし、国内のエイズ患者数が少ないにもかかわらず、例年多くの企業、研究機関から多数のスクリーニングに応募があることは、エイズ医薬品のスクリーニング研究に対する関心の高さと、本研究の必要性を示しているものと思われる。

6. 結論

企業 5 社、及び 2 大学から寄せられた合計 385 サンプルについて抗 HIV 活性をスクリーニングした。活性測定はマイクロプレート法を主とし、巨細胞形成抑制法などを確認のために使用した。これらのうち、5 サンプルにおいてマイクロプレート法で活性が認められたが、いずれも巨細胞形成抑制法で顕著な活性を示さなかった。新スクリーニング方法の開発研究として、巨細胞形成の細胞融合をリポーターアッセイによって測定する方法、およびサイトカイン産生増強により AIDS 発症を抑制する薬剤のスクリーニング法の開発を行い、成果を得た。

7. 研究発表

1) 論文発表

①Yagyu, F., Ikeda, Y., Masuda, M., Wongkhomthong, SA. and Ushijima, H.: A Study of HIV-1 subtypes in Thailand. Mahidol Journal, 7: 13-17 (2000).

②Yagyu, F., Ikeda, Y., Ariyoshi, K., Sugiura, W., Wongkhomthong, SA., Masuda, M., and Ushijima, H.: Differentiation of subtype B and E of human immunodeficiency virus type 1 by polymerase chain reaction using novel *env* gene primers. J. Virol. Method (submitted).

8. 知的所有権の取得状況

本研究の成果をもとにして、特許取得などがなされる可能性があるが、我々には通知されないことになっている。

平成12年度

エイズ医薬品等開発研究
研究報告書

平成13年11月30日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号

共同ビル（小伝馬町駅前）4F

電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社

