

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

（総括）研究報告書

重症のインフルエンザによる肺炎・脳症の診断・治療に関する研究：

新規診断・治療に関する提案と検証

研究代表者 木戸 博 徳島大学疾患酵素学研究センター・特任教授

研究要旨

インフルエンザ重症化(肺炎、脳症)発症機序の解明、早期に重症化診断するためのバイオマーカー、Flu Alarmin の検索、重症化治療薬の検索、の3課題について昨年に続いて解析が行われ、それぞれの課題で大きな進展があった。中でもインフルエンザの重症化機序については、これまで提唱してきた「インフルエンザ サイトカイン プロテアーゼ (Trypsin, MMP-9)」サイクルに共役する「体内代謝障害 サイトカイン」サイクルが新たに証明され、治療標的酵素が発見されると共に治療薬が明らかになってきた。

1)重症化機序:インフルエンザウイルスの体内増殖は、「インフルエンザ サイトカイン プロテアーゼ」サイクルによるが、このサイクルのサイトカインを介して共役している「体内代謝障害 サイトカイン」サイクルが、インフルエンザ増殖と重症化に伴う代謝破綻を制御していることを明らかにした。体内代謝障害の中でも、生命活動に直結しているエネルギー代謝(糖代謝と脂質代謝)が重要で、中でも Pyruvate Dehydrogenase と Pyruvate Dehydrogenase Kinase 4 (PDK4) がサイトカインと密接に関係している事を見出した。PDK4 がサイトカインストームの治療薬の創薬ターゲット分子として注目される。さらに「インフルエンザ サイトカイン プロテアーゼ」サイクルの中で、感染で増加する Trypsinogen と共に、Enterokinase (EK: EK-v1, EK-v2) も増加して、速やかに活性型 Trypsin に変換していることが証明された。以上から、サイクルのプロテアーゼ群は、Trypsin, MMP-9, EK であることが判明した。一方、高病原性鳥インフルエンザウイルスは、季節性インフルエンザとは全く異なる宿主の Trypsin 型プロテアーゼで増殖が制御されているが、高病原性鳥インフルエンザ H5N1 ウイルスの Hemagglutinin (HA) 分解シグナル、RKKR、KKKR 配列を認識する酵素として TMPRSS13/MSPL と Furin を見出している。本研究では、TMPRSS13/MSPL の KO マウスでは、KKKR 配列を持つ H5N1 ウイルスの増殖が強く抑制され、RKKR 配列 H5N1 ウイルスの増殖は軽度障害に留まることを明らかにし、TMPRSS13/MSPL と Furin が H5N1 ウイルス感染に係わることを証明した。

2)インフルエンザ感染重症化に伴う Flu Alarmin として乳酸/ATP 比が検討され、ICU 入室した感染症重症化患者の予後予測因子、さらに重症患者の変化を簡便に経時的、客観的に捉えるスコアとしての有用性が確認された。インフルエンザ脳症を代表とする急性脳症では、乳酸/ATP 比が熱性痙攣重責症例に比較して有意に増加して、鑑別

診断に有用であることを明らかにした。また感染性疾患による急性脳症では、PDK4が増加してPDH活性が急速に低下して乳酸が増加してATPレベルが低下するが、その程度はミトコンドリア病のPyruvate Dehydrogenase Complex (PDC) 欠損症に匹敵して、両者間の有意差は見られなかった。従って、熱不安定性 Carnitine Palmitoyltransferase II (CPT II) 遺伝子多型を持つインフルエンザ脳症の場合、後天性のCPT IIとPDCが重なった状態として、重篤なエネルギー危機状態であることが判明した。Flu Alarminとして、インフルエンザウイルス感染センサーのRIG-1が候補になることを見出した。

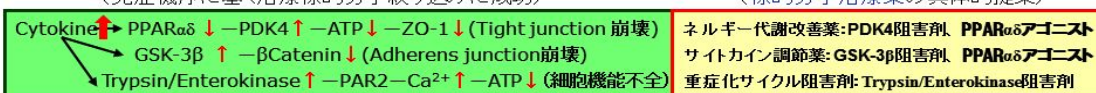
3)重症化治療薬の検索では、PDK4が重症化の創薬ターゲット分子であることを発見したことから、スクリーニングが開始され、既存薬のなかから副作用の強いDichloroacetateに代わって副作用の報告の無いDiisopropylamine dichloroacetateが検証され、極めて強い治療効果を動物実験で証明した。PDK4阻害剤であるが、サイトカインストームの治療薬、ウイルス増殖の抑制作用を示した。熱不安定性CPT II遺伝子多型を持つインフルエンザ脳症の治療薬としてPPARを介してCPT IIの転写を促進するBezafibrateを提唱していたが、患者の繊維芽細胞を用いた詳細な解析から、高熱下に低下したβ酸化を回復させることを明らかにした。また、感染と共に増加するサイトカインの中で、IL-1βとTNFがβ酸化を低下させ、IFNγとIL-6は影響が少ないことが判明した。さらに、血管内皮細胞の透過性亢進を抑制するターゲット分子として、GSK-3βが候補に挙がり阻害剤の検索を開始した。

インフルエンザ感染による血管内皮細胞障害/多臓器不全の早期診断と治療薬

サイトカインが誘導する多臓器不全の発症機序と治療標的分子/治療薬の提案

(発症機序に基づく治療標的分子絞り込みに成功)

(標的分子治療薬の具体的提案)



早期診断
 血液で測定可能な Flu Alarmin:
 1) Lactate/ATP
 2) PDK4
 その他の候補 (IL-1β, TNF-α, trypsin, MMP-9, RIG-1)

