

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

平成24年度～26年度にかけて、1) インフルエンザ重症化(肺炎、脳症)の発症機序解明、2) 早期に重症化を診断するためのバイオマーカー、Flu Alarminの検索、3) 重症化治療薬開発についての研究が進められた。重症化機序の全容が解明されると共に、重症化バイオマーカーが明確になり、具体的な治療薬が提案され、大きな成果を挙げることができた。

1) インフルエンザ重症化(肺炎、脳症)発症機序解明では、生体内のインフルエンザウイルス増殖のメカニズムとして、これまでに“インフルエンザ サイトカイン プロテアーゼ (Trypsin, MMP-9)”サイクルを提案していたが、感染重症化はこのサイトカインを介してさらに“体内代謝障害 サイトカイン”サイクルが共役した時に発症することを発見した。従って、基礎疾患としての体内代謝障害が、重症化リスク因子になることが判明した。両サイクルの密接な共役は、代謝不全の治療でサイトカインストームが改善され、さらにウイルス増殖まで抑制されることから証明された。両サイクルが血管内皮細胞で回転すると、肺では肺水腫、脳では脳症、各種臓器で回転すると多臓器不全として表れる。体内代謝障害の中でも、最も主要な代謝がミトコンドリアでのエネルギー代謝で、糖代謝と脂質代謝がこれに深く関与する。糖代謝障害の糖尿病、肥満、先天性脂質代謝障害者が重症化のハイリスク者として挙げられていることの理論的背景が明確になった。

ウイルス増殖サイクルでは、従来提唱してきた“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、さらに Trypsinogen を活性化する Enterokinase も重要で、感染と共に増加することが新たに発見された。

高病原性鳥インフルエンザ H5N1 ウイルスの増殖サイクルについても解析が進んだ。高病原性鳥インフルエンザの増殖は、上記の Trypsin では無く、Hemagglutinin(HA)膜融合領域の RKKR, KKKR 配列を限定分解する TMPRSS13/MSPL が、既知の Furin よりも広範囲に増殖に関与することを発見している。プロジェクトでは TMPRSS13/MSPL の KO マウスを作成することで、KKKR 配列 H5N1 ウイルスは主に TMPRSS13/MSPL が、RKKKR 配列 H5N1 ウイルスは TMPRSS13/MSPL と Furin が増殖に係わっていることを証明することができた。

2) 早期に重症化診断するためのバイオマーカー、Flu Alarmin の検索では、多様な候補因子の中から、インフルエンザ脳症患者、ICU 入室した感染重症化患者を対象にして評価を進めた。その結果、多くの Flu Alarmin 候補因子の中で、サイトカインやシ

グナル伝達物質の場合、多くの影響因子の支配下にあるため、それらの数値の増減で単純に重症化を示すには至らないことが判明した。重症化がエネルギー代謝破綻と密接にリンクしていることから、検討した中で血中 ATP の減少、糖代謝不全時に蓄積される乳酸から、乳酸/ATP 比が最も的確な重症化のリアルタイムバイオマーカーと判定された。インフルエンザ脳症患者では、熱性けいれん重積との鑑別が重要であるが、乳酸/ATP 比はこれを的確に鑑別する。さらに、ICU 入室した重症化患者の予後予測因子として、APACHE II に代わって乳酸/ATP 比が最も優れた予後予測マーカーであることが確認された。またこれまでにインフルエンザ脳症のリスク因子として、熱不安定性 Carnitine Palmitoyltransferase II (CPT II) 遺伝子多型を見出して提案してきたが、中国でも大規模な遺伝子解析と脳症の発症調査が行われ、当初日本人種に特徴的疾患と言われてきたインフルエンザ脳症が東アジア人種に特徴的な疾患として位置付けられた。熱不安定性 CPT II 遺伝子多型を診断する方法として、理化学研究所が開発した SMART AMP を使用して、外来で 30 分以内に診断する方法が確立されて早期治療が可能となった。

3) **重症化治療薬研究**では、目覚ましい進展があった。感染重症化が代謝破綻をきっかけとして発症することから、重症化促進因子が網羅的に検索され、各種サイトカインによって誘導される Pyruvate Dehydrogenase (PDH) kinase 4 (PDK4) が同定された。PDK4 が増加すると、PDH がリン酸化されてミトコンドリアの糖代謝が著しく低下し、ATP クライシスを招く。PDK4 阻害剤の検索から、既存薬中に Diisopropylamine Dichloroacetate (DADA) の阻害効果が新たに同定され、これを発端に DADA の約 100 倍強力な新薬候補が見いだされた。DADA の使用で致死量のウイルス感染でも生存率 100% が証明され、サイトカインストームの改善効果と各種臓器 ATP 量の正常化が確認された。一方小児のインフルエンザ脳症が、エネルギー産生を脂肪酸代謝に依存している血管内皮細胞の ATP クライシスの結果であることが解明された。そのため、熱不安定性 CPT II 遺伝子多型患者では、高熱時に脂肪酸代謝が障害され、脳症が発症すると推定された。治療薬では、CPT II の転写を促進してミトコンドリア機能の正常化と ATP 産生を促す高脂血漿治療薬の Bezafibrate が有効と推定され、脳症患者の繊維芽細胞で Bezafibrate の有効性を立証した。多臓器不全の治療では、DADA や Bezafibrate に加え、血管内皮細胞の Adherens junction の崩壊を引き起こす GSK-3 β の活性化阻害剤が有効であることを発見することができた。今後、GSK-3 β を新たな創薬ターゲット分子として提唱している。