

(資料1)

重症化モデル動物実験によるインフルエンザ肺炎・脳症診断・治療に関する研究： 新規診断・治療に関する提案と検証

研究分担者 木戸博 (徳島大学疾患酵素学研究センター 特任教授)
研究協力者 高橋悦久 (徳島大学疾患酵素学研究センター 特任助教)
山根一彦 (徳島大学疾患酵素学研究センター 大学院生)
Irene Lorinda Indalao (徳島大学疾患酵素学研究センター 大学院生)
榎本奈緒子 (徳島大学疾患酵素学研究センター 研究員)

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。そのため、基礎疾患としての体内代謝障害が重症化の発症リスク因子になることが判明した。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。

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。

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。多臓器不全の治療では、血管内皮細胞の Adherens junction の崩壊を引き起こす GSK-3β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。

A. 研究目的

重症インフルエンザ感染による肺炎・脳症・心筋炎の主要な病因は、血管内皮細胞障害による血管透過性亢進と多臓器不全にある。発症機序として、これまでに本研究グループでは“インフルエンザ サイトカイン プロテアーゼ”ウイルス増殖サイクルを見出し、さらに昨年度の研究によりウイルス増殖サイクルと重症化の発症を結びつける“サイトカイン-代謝不全”サイクルを見出した(図1)。この2つのサイクルがサイトカインを介して共役したときに重症化が発症すると考えられることから、早期重症化診断と具体的な治療薬に関する検討を実施した。

小児のインフルエンザ重症化にインフルエンザ脳症がある。この疾患が日本で最初に発見されたことから、従来日本人に特有な疾患として位置付けられてきた。しかし、この疾患の発症リスク因子として、ミトコンドリアの脂肪酸代謝酵素の Carnitine Palmitoyltransferase (CPT II)の熱不安定性 SNP が原因であることを突き止めたことから、日本人に特徴的な疾患では無く、東アジア人種の CPT II SNP を背景とする可能性が考えられた。そこで、中国人でのインフルエ

ンザ脳症の発症と、CPT II SNP を調査した。さらにインフルエンザ脳症は、脳の血管内皮細胞の機能不全が病気の本態であると推定されるため、機能不全になる前に早期に診断して治療に着手する必要がある。そこで、高熱が持続することで障害の起きやすい患者に、診療の現場で熱不安定性 CPT II SNP を調べる方法の開発に取り組んだ。

B. 研究方法

マウスの重症化モデル動物実験では、重症化しやすい離乳期直後の3週齢マウス (C57BL/6CrSlcまたは、BALB/c)雌を用いて実験した。インフルエンザウイルス株によって感染重症化の程度が異なるため、重症化しやすい Influenza A/PR/8/34(H1N1)株を用いた。なお、タミフルと DADA との併用実験では、半数致死量と半数致死量の20倍を示す極めて高濃度のウイルスの経鼻投与で検討した。

DADA より強力な PDK4 阻害剤の検索では、北里大学生命科学研究所の創薬ライブラリーを動員して、北里大学生命科学研究所が共同で実施した。中国のインフルエンザ脳症患者の Fibroblast を用いた熱不安定性 CPT II

SNP の性状解析は、南通医学院との共同研究として実施された。

(倫理面への配慮)

動物実験に当たっては、徳島大学動物実験委員会の承認を得て、動物実験ガイドラインに沿って実施した。

C. 研究結果

①代謝不全に現れるインフルエンザ感染の重症化

インフルエンザ感染後の生体応答として各種サイトカインの誘導が感染2-3日目より生じ、生体防御系としての液性免疫誘導が感染4日目より開始されるが(図2)代謝不全が明らかになる時期は感染7日目前後で、この時期から個体の死亡が出始める。マウスは感染重症化によって、全身各臓器の糖代謝、脂質代謝不全、特に Acetyl-CoA の産生に係わるエネルギー代謝不全と推定され、その標的酵素として、PDH の活性調節因子の影響が推定された(図3)。PDH 活性をリン酸化によってネガティブに調節する Pyruvate dehydrogenase 1-4 (PDK 1-4)と、脱リン酸化によってPDH 活性をポジティブに調節する、Pyruvate Dehydrogenase phosphate phosphatase (PDP)があるが、インフルエンザ感染後 PDK4 の増加が特に著しいことが判明した(図4)。PDK4 は、PDH をリン酸化してPDH 活性の低下を引き起こすと同時に、ミトコンドリアでのATP 産生の低下を引き起こす。図5に示すように、脳を除く肺、心臓、肝臓、筋肉でPDH 活性低下とほぼ平行して各臓器のATP レベルの低下が見られた。

②既存薬中に見いだされた新規 PDK4 阻害剤

以上の結果から、PDK4 阻害剤の検索が実施された。これまで PDK4 阻害剤として知られていた化合物に、副作用はあるものの古くより

しられていた dichloroacetate (DCA)、その他 AZD7545、radicicol 等が知られていた。我々は、従来 PDK4 阻害活性の報告の無かった DCA 誘導体、diisopropylamine dichloroacetate (DADA)に DCA とほぼ同等の PDK4 阻害活性を見出した。

a)インフルエンザ感染重症化に対する DADA の治療効果:図6に示すようにインフルエンザ感染と同時に DADA を1日2回、1日量 50 mg/kg 投与して感染後7日目の各臓器での PDH 活性と ATP レベルを測定した。DADA 投与群では、生理食塩水投与の感染群に比べて、PDH 活性と ATP レベルは非感染群のレベルにまで回復していた。なお脳では、PDH 活性、ATP レベルに DADA は影響しなかった。

b)DADA のサイトカインストーム抑制効果: DADA の投与に伴う肺内の各種サイトカインの変動を調査した。図7に示す如く、感染2日目の TNF- α 、IL-6、IL-1 β 、IL-2、IFN- α 、IFN- β 、IFN- γ はインフルエンザ感染で著明な誘導を引き起こして、サイトカインストーム状態であることが判る。一方 DADA の投与群では各種サイトカインの誘導は抑制されていた。特に、DADA の TNF- α 、IL-6、IL-2、IFN- α 、IFN- γ の抑制効果は著名であった。

c)DADA によるインフルエンザ サイトカイン プロテアーゼサイクルの抑制効果:図7は、初感染部位の肺の2日目、心臓、肝臓、筋肉では感染4日目で、trypsin が誘導され、ピークに至る。この条件下で、trypsin 誘導への DADA の効果を検証した。脳を除くいずれの臓器の trypsin mRNA 量も DADA の投与で有意に減少した。さらに、サイトカインとプロテアーゼレベルが低下した結果、インフルエンザウイルスの増殖抑制が明確となった。

③DADA の生存率改善効果

DADA の PDK4 抑制効果が生存率の改善にどの

ように影響するかを検証した。図 8 に示すように、マウスが感染後 10 日目までに全例死亡する 120 pfu の致死量のウイルス感染でも、DADA の投与により半数のマウスが生存した。

さらに半数致死量の 20 倍量、致死量 120 PFU の 10 倍量の高濃度ウイルス(1200 PFU) を経鼻感染させて DADA の効果を検討した(図 9)。この過酷な感染条件でも DADA 単独で生存率 50%が得られた。またこの条件でヒト治療量のタミフル (10 mg/kg/day) はマウスに対して生存率 70%を示したが、タミフルの量を増やしてもさらなる効果は期待できなかった。この条件下で、タミフルと DADA を併用するとマウスの生存率は 100%を達成した。

④新規 PDK4 阻害剤のスクリーニング

DADA は、PDK4 に対して $IC_{50} = 50.9 \mu\text{M}$ を示し、類似アイソマーの PDK2 には $IC_{50} = 636.0 \mu\text{M}$ を示して、PDK4 に対する高い特異性を示した。これらの値は、従来 PDK 阻害剤として知られていた Dichloroacetate (DCA) の示す $IC_{50} = 57.8 \mu\text{M}$ (PDK4)、 $IC_{50} = 676.0 \mu\text{M}$ (PDK2) とほぼ同等の阻害効果と考えられる。そこで、これまでに報告されている PDK4 の X 線結晶構造解析データから、活性中心の立体構造と ATP 結合部位の構造を参考に、活性中心部位に入りうる化合物のサイズを推定して、Protein Kinase 阻害剤とその類縁体をスクリーニングして、誘導体作成に適したリード化合物をスクリーニングした。毒性が低くより強い PDK4 阻害活性を示す 4 種の化合物が選択されたが、これらの中で、各種誘導体の作成に有利な KIS-012 (Vit K3) を選択して、各種誘導体の作成を実施し、DADA の約 100 倍強力な PDK4 新規阻害剤を数種類見出すことに成功した(図 10)。

中国におけるインフルエンザ脳症のリス

ク因子、熱不安定性 CPT II SNP の再現性の検証

インフルエンザ脳症は日本で発見されたことから、日本人に特有な疾患として位置付けられてきた。しかし、この疾患の発症リスク因子として、ミトコンドリアの脂肪酸代謝酵素の CPT II の熱不安定性 SNP が原因であることを突き止めたことから、東アジア人種に特徴的な疾患の可能性を推定して、詳細な検討を中国で実施した。中国、南通医学院でインフルエンザ脳症と診断された 12 名の患者の白血球から、遺伝子診断でこれまでに日本で報告されていた 3 型の CPT II SNP を確認できた。具体的には、[c.1102 G>A (p.V368I)] (heterozygous)、[c.1102 G>A (p.V368I)] (homozygous)、[c.1055T>G (p.F352C)] (heterozygous)+ [c.1102 G>A (p.V368I)] (homozygous) の 3 型であった。患者のファイブプロブラストを用いて、酵素の熱不安定性、細胞内 Half-life、ミトコンドリアでの β -酸化と ATP 産生量の測定を実施した。その結果、図 11 に示すように、F352C (heterozygous) + V368I (homozygous) では、37 °C では Control の wild type に比較して約 63%に酵素活性は減少し、さらに 41 °C の高熱条件下では、32%に減少した。V368I (homozygous)、V368I (heterozygous) では、37 °C において wild type (WT) に比較して有意な減少は観察されず、41 °C の高熱条件下で僅かに減少して約 82%を示した。以上のことから、F352C (heterozygous) + V368I (homozygous) の熱不安定性 SNP が確認された。さらに、細胞内の蛋白を [^{35}S]-methionine で 2 時間 Pulse ラベルした後、細胞を洗浄して Chase 実験を実施した。図 12 に示すように、WT CPT II は half-life=18 時間を示したが、V368I (homozygous) は 10 時間を、F352C (heterozygous) + V368I (homozygous) の

half-life は4時間を示した。このような状況下における細胞内ミトコンドリアのβ酸化とATP産生レベルを測定した結果を図13に示す。F352C (heterozygous) + V368I (homozygous)では、β酸化とATP産生レベルは共に37 °CでWTの75%を、41 °CでWTの52%を示した。ATPレベルは、40-50%以下で致命的であり、F352C (heterozygous) + V368I (homozygous)のSNPを持つ細胞では41 °Cの条件下では危険な状態にあることが判る。

CPT II SNPの迅速診断

CPT IIの熱不安定性に係わる因子は、F352Cであることから、F352C (heterozygous)、F352C (homozygous)とWTを迅速に外来で判定する方法の開発を検討した。これまでに理化学研究所では、全血を用いてDNAの抽出操作なしに30-40分以内に遺伝子増幅するSMART AMPシステムを開発している。そこで本プロジェクトではこの迅速性と簡易性に注目して、F352Cの遺伝子解析をSMART AMPシステムで検討した。図14に示すように、F352CとF352のhomozygousとheterozygousを30-40分以内に解析が可能であることが確認された。

Flu Alarminの検討

Flu AlarminとしてLactate/ATP比が有用であることがマウスの実験系で確認された。

D. 考察

平成24-26年間の研究により、サイトカインを介して共役する“インフルエンザ サイトカイン プロテアーゼ”サイクルと“サイトカイン 代謝不全”サイクルが、重症化発症の主要な原因であることが確認され、治療薬としてPDK4阻害剤のDADAを介する糖代謝

の改善が、有効であることが確認された。これらを基盤に、抗インフルエンザ薬とDADAの併用効果が検討され、感染早期からの両薬剤の併用で著明な重症化阻止効果を示すことが判明した。

さらに小児のインフルエンザ重症化の代表的疾患であるインフルエンザ脳症において、日本人種に特徴的な疾患といわれていたが、この疾患の発症原因がCPT IIの熱不安定性SNPにあることを、中国人のインフルエンザ脳症患者でも確認することができた。

インフルエンザ脳症は、脳の血管肺皮細胞の血液脳関門が開いてからでは治療が困難になるため、早期の診断が重要である。そこで外来でインフルエンザ脳症のリスク因子の熱不安定性SNP、F352Cを患者の全血で30-40分以内に診断する方法を明らかにしており、今後の医療現場での応用が期待される。

E. 結論

インフルエンザ感染重症化機序として、「インフルエンザ サイトカイン プロテアーゼサイクルにカップルしたサイトカイン-代謝不全サイクル」が見いだされた。このネットワーク機構の中で、インフルエンザ感染による代謝不全を誘導するターゲット分子としてPDK4が明らかになり、PDK4阻害剤として新たにDADAが見いだされた。DADAは、PDK4活性の阻害効果から糖代謝、脂質代謝不全を正常化し、サイトカインストームへの治療効果を示した。

今後PDK4を分子標的としたDADAを超えるより有効で安全な薬剤の開発が期待される。またこのネットワーク機構の中で、抗インフルエンザ薬と糖代謝不全の治療薬のDADAとの併用による著明な治療効果が確認された。

従来インフルエンザ重症化の発症リスク因子として見出していたCPT IIの熱不安定

性 SNP が、中国のインフルエンザ脳症患者でも共通して見いだされたことから、東アジア人種に共通したリスク因子になることを確認し、その迅速診断法を確立した。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Min Yao, Min Cai, Dengfu Yao, Xi Xu, Rongrong Yang, Yuting Li, Yuanyuan Zhang, Hiroshi Kido, Dengbing Yao. Abbreviated half-lives and impaired fuel utilization in carnitine palmitoyltransferase II variant fibroblasts. *PLoS ONE*, 2015; 10(3), e0119936.
- (2) Toshihiro Maekawa, Takashi Kimoto, Dai Mizuno, Yuichi Furukawa, Masayuki Ida, Etsuhisa Takahashi, Takayuki Izumo, Yoshiko Ono, Hiroshi Shibata, Hiroshi Kido. Oral administration of lactobacillus pentosus strain S-PT84 enhances anti-influenza virus specific IgG production in plasma after limited doses of influenza virus vaccination in mice. *J Vaccine Immunol* 2015; 2(1):5.
- (3) Mineyoshi Hiyoshi, Irene L Indalao, Mihiro Yana, Kazuhiko Yamane, Etsuhisa Takahashi, Hiroshi Kido. Influenza A virus infection of vascular endothelial cells induces GSK-3 β -mediated β -catenin degradation in adherens junctions, with a resultant increase in membrane permeability. *Arch Virol* 2015; 160: 225-234.
- (4) Hai-Yan Pan, Hua-Mei Sun, Lu-Jing Xue, Min Pan, Yi-Ping Wang, Hiroshi Kido, Jian-Hua Zhu. Ectopic trypsin in the myocardium promotes dilated cardiomyopathy after influenza A virus infection. *Am J Physiol Circ Physiol* 2014; 307: H922-H932.
- (5) Yamane K, Indalao IL, Yamamoto Y, Hanawa M, Kido H. Diisopropylamine dichloroacetate, a novel pyruvate dehydrogenase kinase 4 inhibitor, as a potential therapeutic agent for multiorgan failure in severe influenza. *PLoS ONE*, 2014; 9(5): e98032.
- (6) Shinahara W, Takahashi E, Sawabuchi T, Arai M, Hirotsu N, Kido H. Immunomodulator clarithromycin enhances mucosal and systemic immune responses and reduces re-infection rate in pediatric patients with influenza treated with antiviral neuraminidase inhibitors: A retrospective analysis., *PLoS ONE*, 2013; 8(7), e70060.
- (7) Shoji M, Takahashi E, Hatakeyama D, Iwai Y, Morita Y, Shirayama R, Echigo N, Kido H, Nakamura S, Mashino T, Okutani T, Kuzuhara T. Anti-Influenza Activity of C60 Fullerene Derivatives, *PLoS ONE*, 2013; 8(6): e66337.
- (8) Chida J, Ono R, Yamane K, Hiyoshi M, Nishimura M, Onodera M, Nakataki E, Matushita M, Kido H. Blood Lactate/ATP Ratio, as an Alarm Index and Real-Time Biomarker in Critical Illness., *PLoS ONE*, 2013; 8(4), e60561.
- (9) Kimoto T, Mizuno D, Takei T, Kunimi T,

- Ono S, Sakai S, Kido H. Intranasal influenza vaccination using a new synthetic mucosal adjuvant SF-10 -Induction of potent local and systemic immunity with balanced Th1 and Th2 responses. *Influenza and Other Resp. Viruses*, 2013; 7(6): 1218-1226. doi:10.1111/irv.12124.
- (10) Chida J, Kido H. Extraction and quantification of adenosine triphosphate in mammalian tissues and cells. *Methods Mol Biol*, 2014; 1098(1): 21-32.
- (11) Takahashi E, Kataoka K, Indalao IL, Konoha K, Fujii K, Chida J, Mizuno D, Fijihashi K, Kido H. Oral clarithromycin enhances airway immunoglobulin A (IgA) immunity through induction of IgA class switching recombination and B-cell-activating factor of the tumor necrosis factor family molecule on mucosal dendritic cells in mice infected with influenza A virus. *J. Virol.* 86(20):10924-10934, 2012.
- (12) Cissé Y, Inoue I, Kido H. Oseltamivir reduces hippocampal abnormal EEG activities after influenza A virus infection in isoflurane-anesthetized rats. *J. Exp. Pharmacol.* 4:69-76, 2012.
- (13) Kubota M, Chida J, Hoshino H, Kashii H, Ozawa H, Koide A, Hoshino A, Koyama A, Mizuno Y, Yamaguchi M, Yao D, Yao M, Kido H. Thermolabile CPT II variants and low blood ATP levels are closely related to severity of acute encephalopathy in Japanese children. *Brain Dev* 34(1):20-27, 2012.
- (14) Fujimoto C, Takeda N, Matsunaga A, Sawada A, Tanaka T, Kimoto T, Shinahara W, Sawabuchi T, Yamaguchi M, Hayama M, Yanagawa H, Yano M, Kido H. Induction and maintenance of anti-influenza antigen-specific nasal secretory IgA levels and serum IgG levels after influenza infection in adults. *Influenza Other Respi Viruses* 6(6):396-403, 2012.
- (15) 木戸博、インフルエンザ感染症の予防と治療に関する新展開 インフルエンザ 2014; 16(2): 5-6.
- (16) 木戸博 インフルエンザ脳症と CPT-II 熱不安定性遺伝子多型 クリニシアン 2014; 61(634): 13-16.
- (17) 木戸博 インフルエンザ感染症の重症化メカニズム J Otolaryngo Head Neck Surgery 2014; 30(11): 1540-1544.
- (18) 木戸博 インフルエンザ感染の重症化機序、肺炎・脳症の最新知見と治療法の提案 都耳鼻会報 2014; 143: 41-46.
- (19) 木戸博、高橋悦久、山根一彦、重症インフルエンザ感染の肺炎・脳症の最新知見と治療提案 日本臨床内科医会会誌 2013; 27(5): 578-583.
- (20) 木戸博 インフルエンザ脳症はここまでわかってきた！ プライマリケアのためのインフルエンザ診療 医薬ジャーナル社 2013: p30-35.
- (21) 木戸博 インフルエンザにおけるマクロライドの有効性の機序 2 : インフルエンザにおける粘膜免疫増強作用と再感染抑制機序 呼吸器内科 2013; 24(4): 384-391.
- (22) 木本貴士、水野大、堺聡子、木戸博 肺サーファクタント由来人工合成粘膜アジュバント SF-10 の感染防御効果と液性・

細胞性免疫誘導効果の検討 日本肺サーファクタント・界面医学会誌 2013; 44: 59-61.

- (23) 木戸博 アジュバント、予防接種 Q & A 小児内科 2013; 45: 60-64.
- (24) 木戸博、高橋悦久、堺聡子 ウイルス性気道感染症における粘膜免疫の重要性 感染と抗菌薬 2013; 16(4): 361-367.
- (25) 木戸博、高橋悦久、山根一彦 インフルエンザの生体防御 感染症内科 2013; 1(6): 544-551.

2. 学会発表

- (1) Indalao IL, Yanmane K, Kido H. PDK4 inhibitor suppresses cytokine storm and multiple organ failure induced by lethal doses of influenza A virus infection through restoration of energy metabolic disorder. 第 87 回日本生化学会大会。平成 26 年 10 月 15 日 - 10 月 18 日 (京都国際会議場)
- (2) Indalao IL, Yanmane K, Kido H. インフルエンザウイルスの体内複製を増強する trypsin の臓器内発現量は「代謝障害 サイトカイン」サイクルの調節下にある: PDK4 阻害剤の有効性 第 19 回日本病態プロテアーゼ学会学術集会。平成 26 年 8 月 8 日 - 8 月 9 日 (千里ライフサイエンスセンター)
- (3) Indalao IL, Takahashi E, Kido H. Studies on the differences in host cellular responses by different influenza virus strains and subtypes. 第 54 回日本生化学会中国・四国支部例会。平成 25 年 5 月 31 日 - 6 月 1 日 (徳島大学)
- (4) 高橋悦久、片岡宏介、Indalao IL、木戸博 インフルエンザ感染時のタミフル服用により低下した気道粘膜 IgA はクラリスロマイシンと併用することによって改善される。第 54 回日本生化学会中国・四国支部例会。平成 25 年 5 月 31 日 - 6 月 1 日 (徳島大学)
- (5) 木戸博 肺サーファクタントの新たな医学応用の可能性 粘膜アジュバントへの応用とワクチン開発 第 12 回肺サーファクタント分子病態研究会 平成 25 年 6 月 22 日 (札幌医科大学)
- (6) 木戸博。粘膜アジュバントとしてのクラリスロマイシンの臨床評価の検討。第 20 回マクロライド新作用研究会 平成 25 年 7 月 19 日 (家の光会館コンベンションホール)
- (7) Indalao IL, Kido H. Activation of trypsin and interferon regulation factor contributes to different disease severity during infection of influenza A virus with different pathogenicity. 第 18 回日本病態プロテアーゼ学会学術集会 平成 25 年 8 月 16 - 17 日
- (8) 山根一彦、山本善一、埴雅明、木戸博。インフルエンザ感染による重症化と多臓器不全の代謝改善を基盤とした新たな治療ターゲットと標的とその治療法の開発: diisopropylamine dichloroacetate (DADA) による energy crisis の回避 第 86 回日本生化学会大会。平成 25 年 9 月 11 - 13 日 (パシフィコ横浜)
- (9) 高橋悦久、片岡宏介、Indalao IL、堺聡子、木戸博。インフルエンザ感染時においてタミフルとクラリスロマイシンの併用で気道粘膜での抗インフルエンザ特異 IgA 抗体の増強が認められた。第 86 回日本生化学会大会。平成 25 年 9 月 11 - 13 日 (パシフィコ横浜)
- (10) Kido H. Critical illness and energy metabolism-Blood lactate/ATP ratio as a real-time alarm index. The 7th Asian Conference on Emergency Medicine. 平成 25 年 10 月 25 日 (東京国際フォーラム)
- (11) 木戸博 新規リアルタイム重症度診断バ

イオマーカー、血液の乳酸/ATP 比 第60回
日本臨床検査医学会学術集会。平成25年10
月31-11月3日(神戸国際会議場)

(12)山根一彦、日吉峰麗、荒木光、榎本奈緒子、
山本善一、埜雅明、木戸博。インフルエンザ感
染による重症化と多臓器不全の新たな治療標
的とその治療法の開発：diisopropylamine
dichloroacetate (DADA)による糖代謝改善を基
盤とした energy crisis の回避。第85回日本生
化学会大会。平成24年12月14 - 16日(福岡
国際会議場)

(13)荒木光、日吉峰麗、山根一彦、榎本奈緒子、
木戸博。I型糖尿病におけるインフルエンザ感
染重症化の解析。第85回日本生化学会大会。
平成24年12月14 - 16日(福岡国際会議場)

(14) 高橋悦久、奥村裕司、Irene Lorinda Indalao、
木葉敬子、木戸博。II型膜結合型セリンプロテ
アーゼのMSPL/TMPRSS13のノックアウト
マウスは高病原性鳥インフルエンザウイルスの
増殖を抑制する。第85回日本生化学会大会。
平成24年12月14 - 16日(福岡国際会議場)

(15)木葉敬子、高橋悦久、片岡宏介、Irene
Lorinda Indalao、木戸博。インフルエンザ感染
時のタミフル服用により低下した気道粘膜 IgA
はクラリスロマイシンと併用することによって改
善される。第85回日本生化学会大会。平成24
年12月14 - 16日(福岡国際会議場)

(16)Irene Lorinda Indalao, Etsuhisa
Takahashi, Keiko Konoha, Hiroshi Kido.
Studies on the differences in the host
cellular responses by different influenza
virus strains and subtypes. 第85回日本生
化学会大会。平成24年12月14 - 16日(福岡
国際会議場)

(17)日吉峰麗、矢野仁康、木戸博。ヒト内皮細胞
に感染したインフルエンザウイルスは、アドレ
ンソジャンクソンの崩壊を誘導する。第85回日
本生化学会大会。平成24年12月14 - 16日

(福岡国際会議場)

(18)小野寺睦雄、中瀧恵実子、千田淳司、今
中秀光、木戸博、西村匡司。ICU入室患者に
おける抹消血アデノシン三リン酸(ATP)と
転帰との関係。本集中医治療医学会総会。平
成24年2月28 - 3月1日(千葉幕張メッセ)

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定も含
む)

(1)PCT/JP2013/007649、出願日2013年12
月26日、発明者：木戸博、山根一彦、
他、PDK4阻害剤及びその利用

(2)特願2013-174874、出願日2013年8月
26日、発明者：木戸博、石田晃彦、他、
血液検体のATP測定方法及びキット

(3)特願2013/24953、出願日2013年7月14
日、発明者：木戸博、田中徹、他、イン
フルエンザウイルス感染症の予防・治療
剤

(4)台湾出願102121622、出願日2013年6
月18日、発明者：木戸博、田中徹、他、
インフルエンザウイルス感染症の予
防・治療剤

(5)PCT/JP2013/003486、出願日2013年6
月3日、発明者：木戸博、田中徹、他、
インフルエンザウイルス感染症の予
防・治療剤

(6)PCT/JP2013/002500、出願日2013年4
月12日、発明者：木戸博、大村智、他、
PDK4阻害剤及びその利用

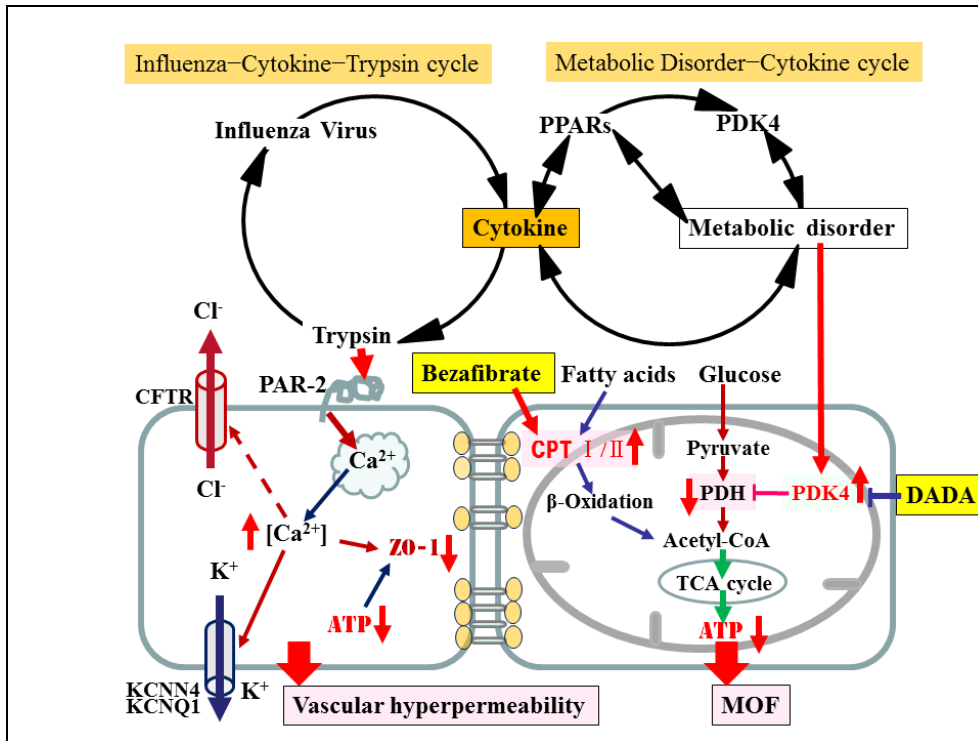


図1. 感染重症化のカスケードを構成する“インフルエンザ サイトカイン プロテアーゼ”サイクルにカップルした“サイトカイン-代謝不全サイクル”、このサイクルとリンクする細胞機能障害

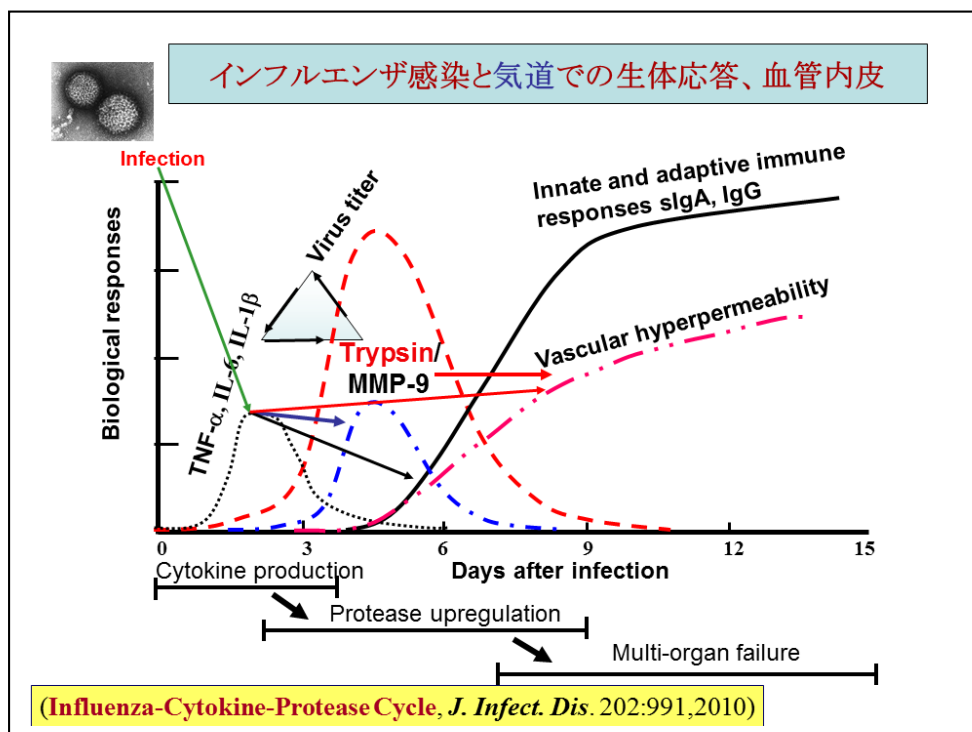


図2. インフルエンザ感染で誘発される気道の応答

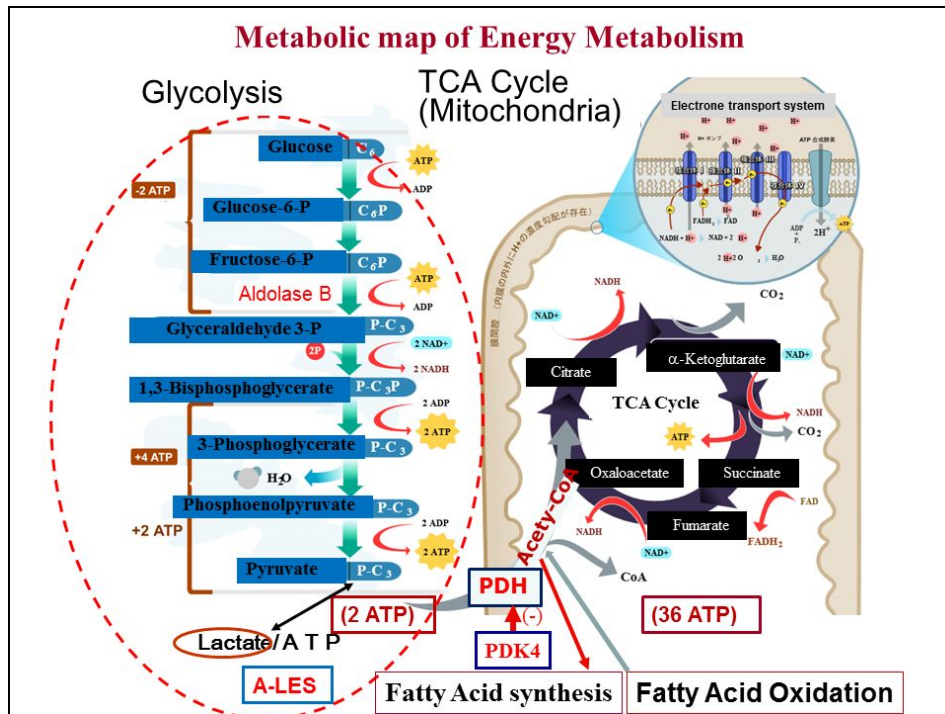


図3. エネルギー産生系とPDH、PDK4

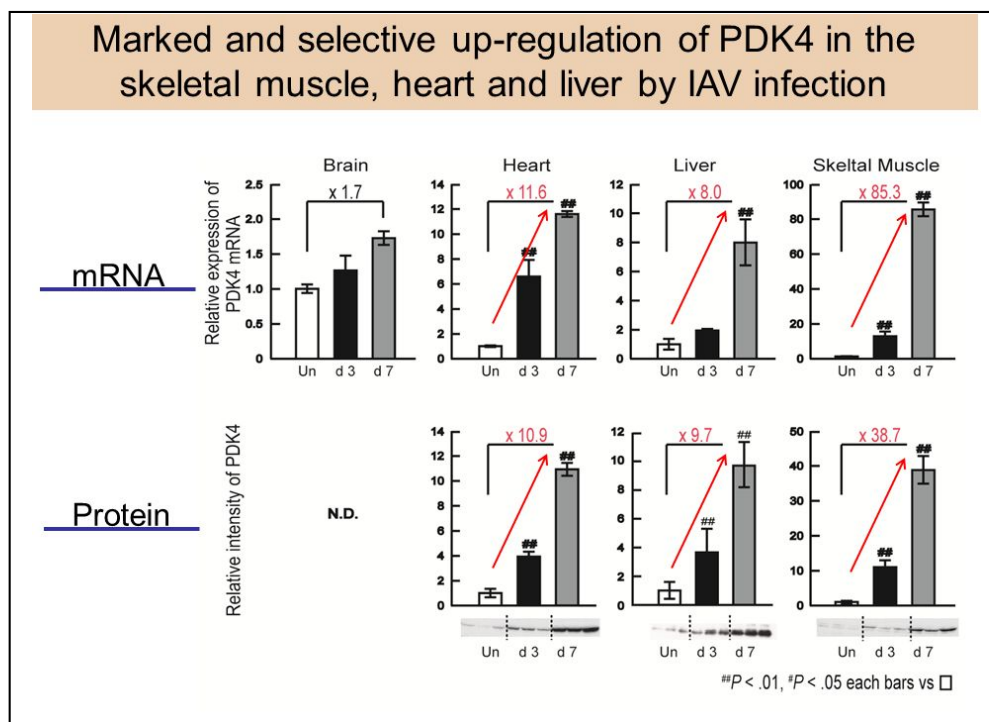


図4. インフルエンザ感染に伴う各種臓器のPDK4の誘導効果

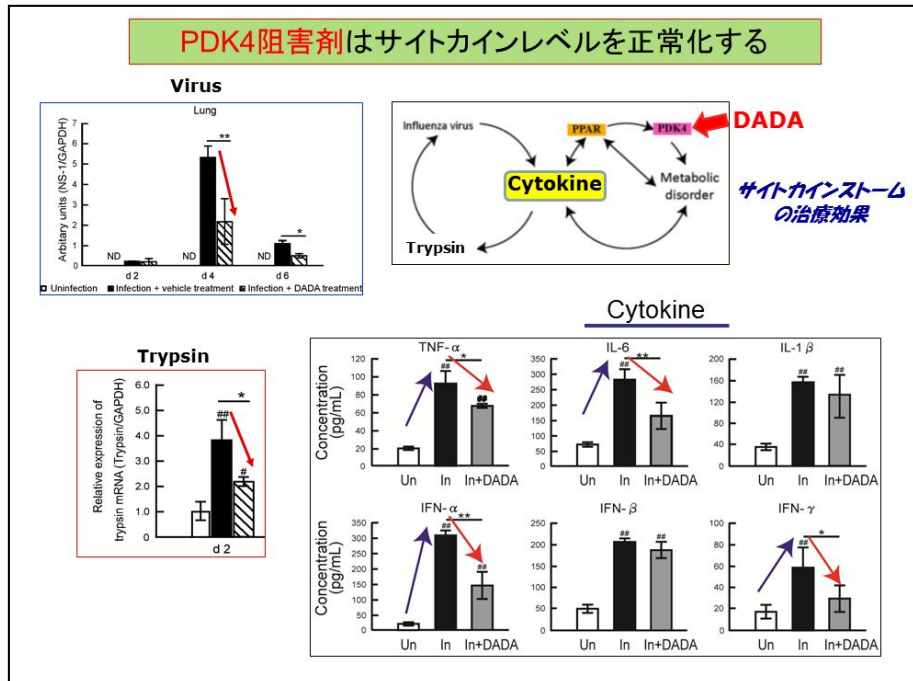


図7. PDK4 阻害剤の“インフルエンザ サイトカイン-プロテアーゼ”サイクルに与える影響

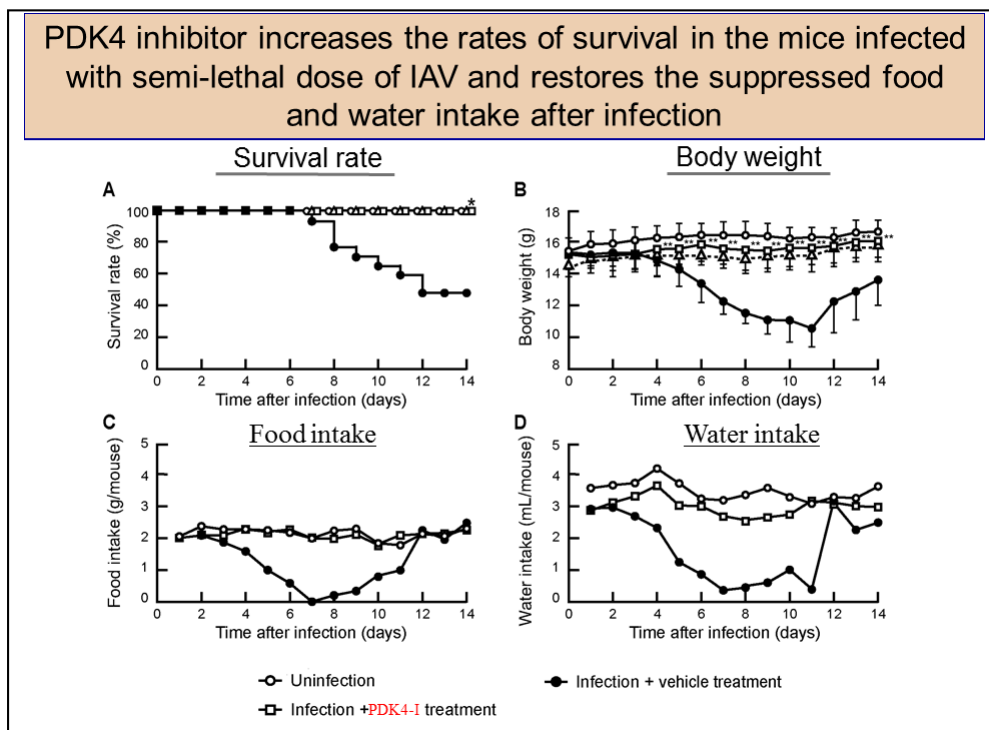


図8. DADA によるインフルエンザ感染マウス生存率への改善効果

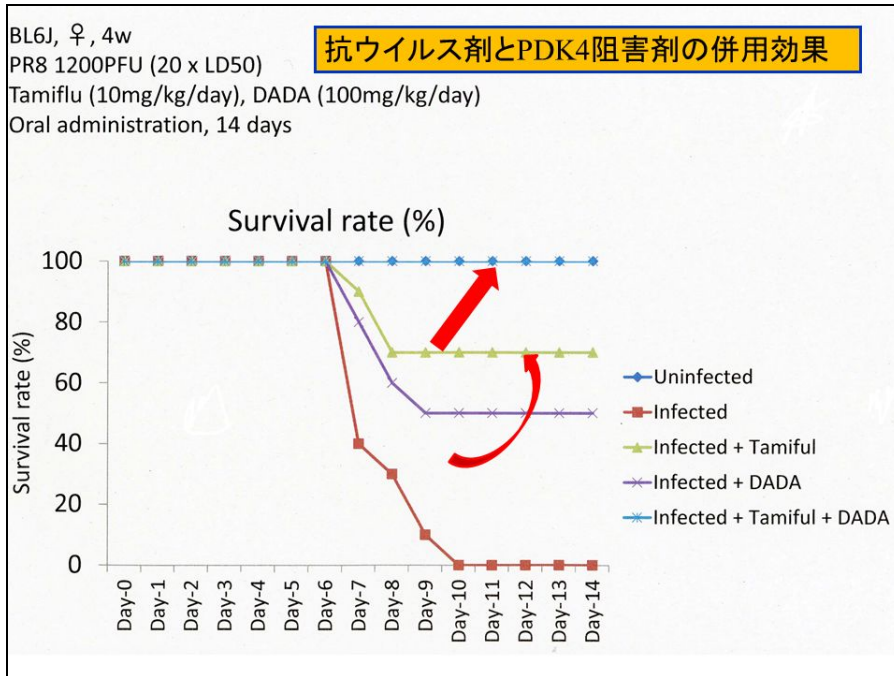


図 9 . 20 × LD50=1200 pfu の高濃度インフルエンザ感染に対する抗インフルエンザ薬 Tamiflu と糖代謝改善薬 DADA の単独効果と併用効果

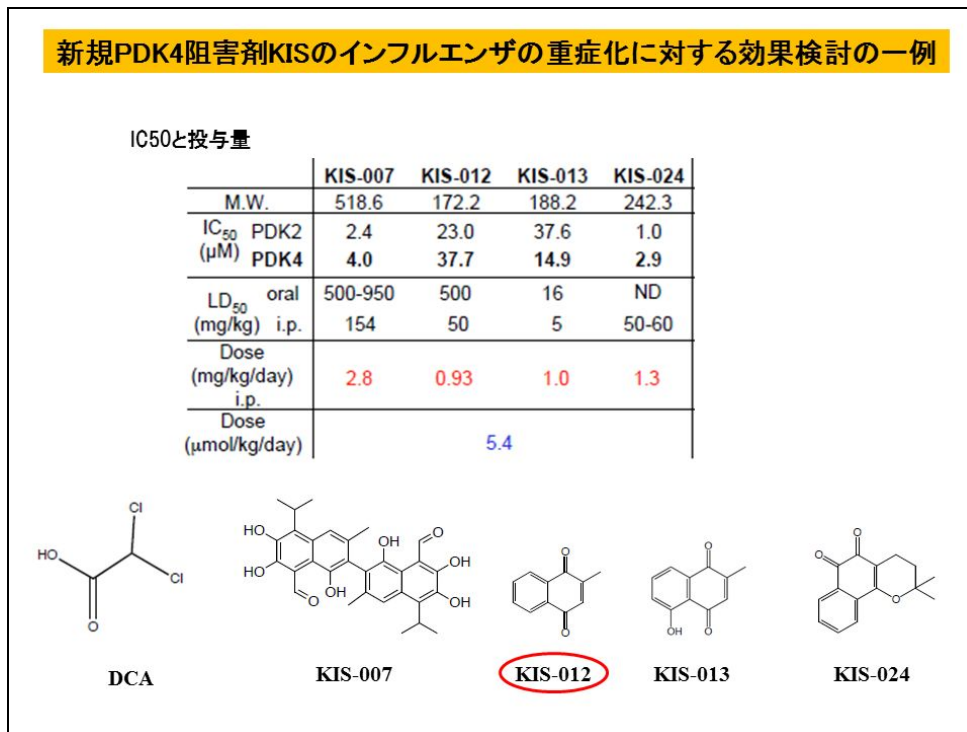


図 10 . PDK4 の活性中心立体構造に結合可能な新規 PDK4 阻害剤開発のためのリード化合物

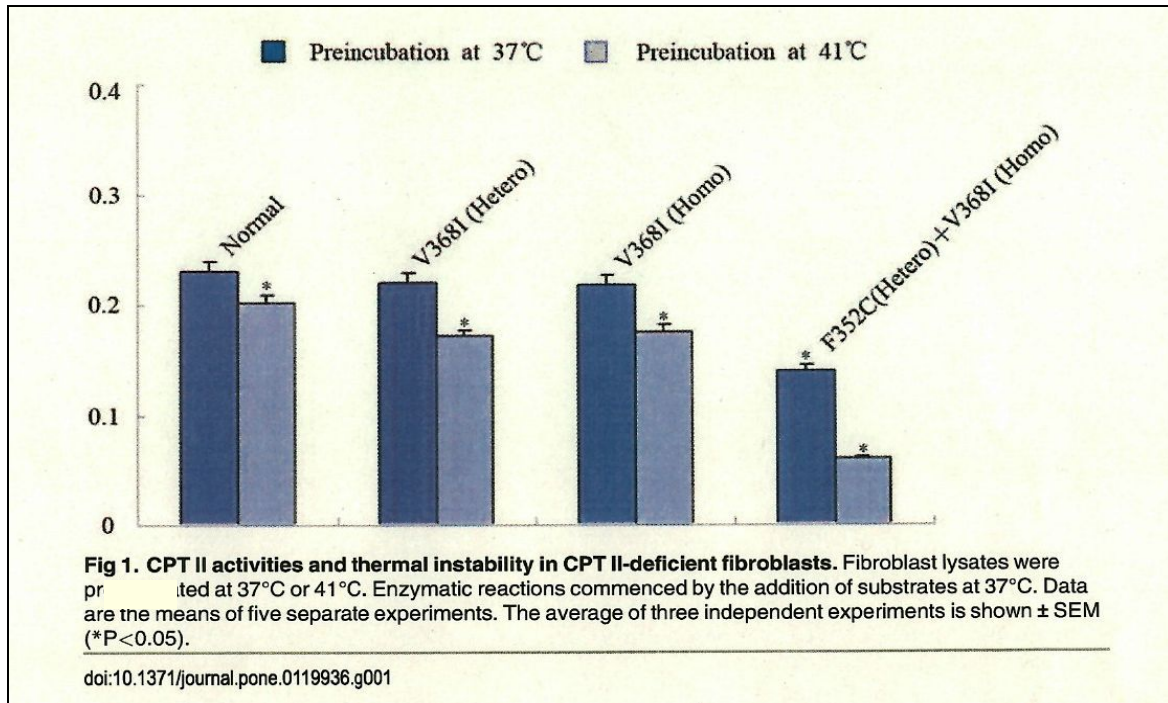


図 11 . 中国のインフルエンザ脳症患者に検出された熱不安定性 CPT II SNP とその熱不安定性

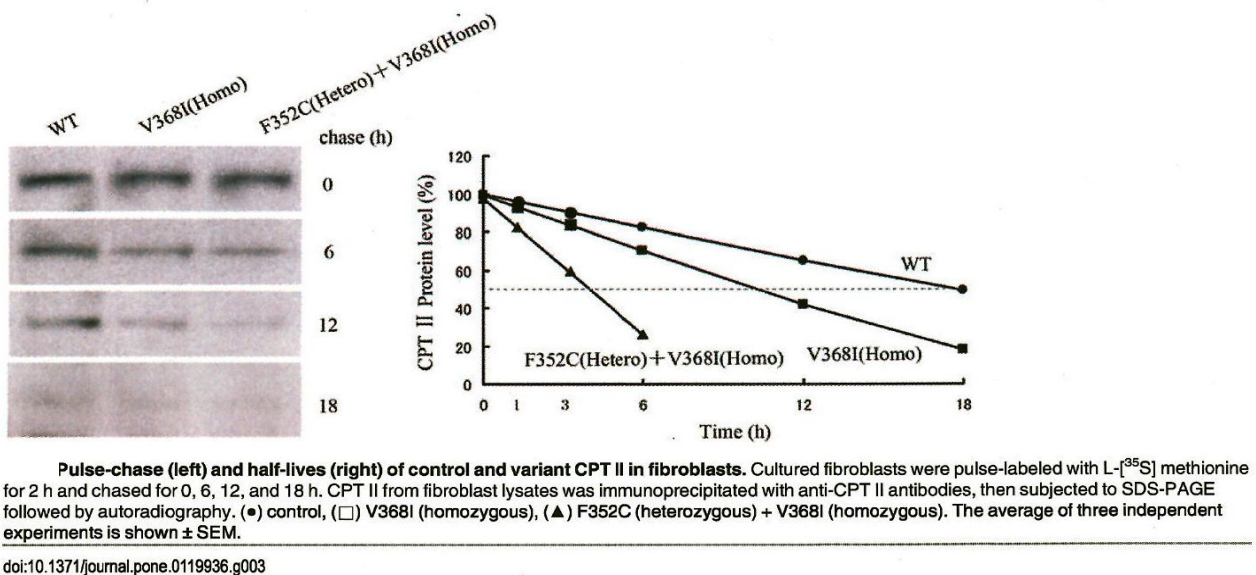


図 12 . WT、中国脳症患者ファイブロプラストにおける熱不安定性 CPT II SNP の Half-life