

第24回シスメックス血液学セミナー / 質疑応答

3. HIV-1 感染症と化学療法

満屋 裕明

【司会】 満屋先生どうもありがとうございました。

先生は最先端の創薬、特に今は国際的にも大きな研究プロジェクトになっています。その最先端の分子設計のお話をして頂きました。

名古屋の方から質問があるようです。

【名古屋会場】 名古屋会場です。直接質問されますのでお願いします。

【質問者】 先程HIV感染者の初期の多剤併用療法について問題点のお話がありましたが、針刺し事故等の場合の予防的投薬について、多剤併用が問題があるのかどうかお伺いしたいと思います。

【満屋】 針刺し事故はなかなか感染が成立しないということがわかっていまして、1,000例集めてみますと、その中で大体3例から4例に感染が成立するという事実がデータであります。ですから、本来的には二重盲検の偽薬を設けた臨床試験が必要となるわけですが、もうそのような正式な臨床試験が不可能となっています。なぜなら、必ず抗ウイルス効果が期待できるわけですから、プラシーボを投与することはできないということがあるからです。ですから今のご質問には、まず間違いなく多剤併用療法の方がいいだろうと思います。1剤よりも2剤の方が強い抗ウイルス活性が見込めるわけですから、その方がいいと思いますが、実際に3剤、4剤を服用する方がどれくらいおられるかについては承知しておりません。

しかし、3剤、4剤の投与は、かなり大量のウイルスに暴露されたという事実が確認されないかぎり必要ないのではないかと個人的には思います。しかし、これは臨床試験のデータがありませんから、将来にわたってもはっき

りとした確証はつかめないのではないかと思います。要は、どのようなかたちでどれほどの量のウイルスが体内に入ったかということをよく勘案して、その治療、あるいは感染の予防に努めることが最良ということぐらいしかお答えができません。

【司会】 東京の方でご質問があるようです。

【質問者】 原有のプロテアーゼ阻害剤として、基質と類似の化学構造を有するペプチド性化合物だけ用いられており、すばらしい治療効果を上げていますが、一方でそれによって副作用、薬剤耐性などが出現しております。それを解決する一つの手段として、作用部位がまったく異なり、生物活性が高い非ペプチドの化合物が考えられますけれども、そのような化合物の研究開発は米国などで行われていますでしょうか。

【満屋】 これはすでにそのような非ペプチド系のプロテアーゼ阻害剤がありまして、例えばアンプリナーベルも非ペプチド性です。当然ながら、そういった非ペプチド性のプロテアーゼ阻害剤の開発は今も続けられております。しかし、その活性そのものを見ますと、ペプチド性の、例えば、サキナビルやリトナビルに比べて、今のところ非常に強いわけではありませんし、また副作用のプロフィールも非常に似通ったものです。しかし、確かに今ペプチド性よりも非ペプチド性の方に重点が移っているのは事実です。

【司会】 よろしいでしょうか。神戸会場で質問があるようです。河先生。

【神戸会場・河】 HIV感染がもはや慢性の感染症としてとらえられることができるという、非常に満屋先生の力強いお言葉があり、たいへん感銘を受けました。今日、抗ウイルス剤について非常に詳しくお話しいただきまし

たけれども、お触れにならなかった治療法の可能性についてお聞きしたいと思います。

HIV感染後早期に亡くなっていた時代に、数年たっても発症しないグループがあるということに、免疫学的に非常に興味を持たれた時期があったと思います。そういう細胞療法というのでしょうか、免疫療法の可能性については現在どのように考えておられるのかということ。もう1つは、私門外漢ですので突飛なことをお伺いしますが、このHIV感染に抑制的に図るようなウイルスか何か、人体にはあまり毒のないようなウイルスで抑えるようなアプローチはどなたかやっておられるのでしょうか。この2点についてお願いします。

【満屋】 免疫療法は、日本で免疫増強剤、免疫賦活剤といったものがもてはやされた時代がありますけれども、アメリカでは、FDAはほとんどそういったものを認めません。今、臨床で用いられておりますのはIL2とインターフェロンくらいで、そのほかに実際にその効果が認められているものは、免疫賦活、免疫療法というものの以外は、私は個人的にはないのではないかと考えております。また、先程お見せしましたように、エイズの患者に対する不用意な免疫賦活がどのような副作用をもたらすのかということがまだまだわかっておりませんから、十分な用心が必要ではないかと思えます。

それから、HIVの感染についていわば「毒をもって毒を制す」といったような、ほかのウイルスを重複感染させたらHIV-Iの増殖をある程度ブロックできるような方法があるのではないかということは、確かにごく初期にHIV-Iが原因物質、病原体であるということがわかり、かなり考えられました。一つはレコンビナントのHIV-Iが使われましたが、実はこれはレトロウイルスの特徴で、*in vitro*で使っても、相同組換が起こってしまい、あっという間に元の木阿弥という訳です。もう1つ

は両方の一番いいところだけを取って、つまりモザイク状のウイルスを作って一番増殖活性、増殖度の高いウイルスが出現してしまうという問題があります。

また同様に、HIV- というものがありますし、SIV、サルには免疫は起こすけれどもヒトには起こさないのではないかというウイルスを入れたら、もしかしたらこれもHIV- の増殖をある程度弱くすることができるのではないかという希望もありました。しかし、これも先ほどと同じ理由でほとんど否定されているのではないかと思います。よろしいでしょうか。

【司会】 河先生よろしいですか。

【神戸会場・河】 はい。どうもありがとうございました。

【司会】 東京会場の方から2つ質問があります。

【質問】 JE-2147についてです。プロテアーゼ阻害剤としての基質特異性が低下して、他の必要なプロテアーゼも阻害するということは考えられますか。

【司会】 これはおそらく、「基質特異性が低下しているので、他の必要なプロテアーゼを阻害するということは考えられますか」ということでしょうか。

【満屋】 基質特異性そのものは低下していないと思います。というのは、基質というのはプロテアーゼの基質ですから、たんぱくのひもです。そのたんぱくのひもに対する基質特異性は低下していなくて、そうであるがゆえにこのたんぱくに非常に似ているJE-2147を認識するわけです。もしかしたら、JE-2147に対する耐性株の基質特異性なのではないでしょうか。その場合は、基質特異性そのものは低下していませんけれども、その酵素活性そのものは低下しております。そうしたミューテーションが起きますと、はさみのあちらこちらにいわばこぶができるようなものですから、酵素活性そのものは少し落ちますけれども、基質

特異性が変わるかどうかについての詳細なデータはありません。しかし、基質特異性が変わるというのは、まずないのではないかと思います。よろしいでしょうか。

【質問】 プロテアーゼ阻害剤が高血糖をもたらすメカニズムは今現在どのように考えられているでしょうか。

【満屋】 高血糖を起こすメカニズムについては、私は存じません。ほとんどわかっていないのではないかと思います。

【司会】 よろしいですか、ご質問された方。よろしいようですね。それでは、私の方から1つ質問してよろしいですか。

HIVに対しては、ワクチンのことも変異するからなかなかできないと言われていますが、いわゆるプロテアーゼ阻害剤にしても逆転写酵素阻害剤にしても、そういったものに対する変異は出ているわけですね。その違いというのは、もちろん活性域が違うので部位も違うでしょうけれども、その出方はワクチンの場合と差があるのでしょうか。

【満屋】 具体的にこのアミノ酸の置換、すなわち塩基の置換、つまり突然変異が起こるのは、逆転写酵素によってRNAからDNAへと変換されるときに起こると考えられております。その場合は、まず均等に起こるのではないかと考えられております。たしかアデニンからTが一番多かったのではないかと思いますけれども、少なくともその場所は選ばない。実はこの逆転写酵素といいますのは、いわばおんぼろコピーマシンで、コピーするときに、いったん植字工がゲーテンベルグの活字を一個一個入れてプリントして、どうせ間違いがありますから、その間違いがどこにあるか確認する校正係がない、これが逆転写酵素であるわけです。つまり、ぼろのコピーマシンですから、コピーするときに必ず間違い。下手な鉄砲打ちが百打せば当たると言いますが、百くらいではなくて、1日に10の10乗とか10の12乗ぐらい打つわけです。つま

り、10万回の100万倍。ですから、これは非常にたくさんのミューテーションが起こります。その中でだめなものはそこで消えていきますけれども、かなりたくさん数がありますから、その中で少しだけいいものがたくさん積み重なってきます。それとホモロガスコンピネーションといいまして、さらにモザイク状にいいところだけをとっかえひっかえということもあります。

それで、この酵素と基質の関係を利用したプロテアーゼ阻害剤、または逆転写酵素阻害剤でも、そこからうまくすり抜けるようなアミノ酸の置換を起こすわけですから、非常に巧妙にできている。それを考えると、このウイルスに感染して、我々の免疫応答能がまず間違いなく発動しているわけです。しかし、結局そのウイルスが増殖を続けるかぎり、ランダムに自分でミューテーションを導入してこの免疫応答能からすり抜ける。だからこそ、このウイルスが我々を悩ましているのです。すなわち、我々はまず変わらないということを生存の前提にしているわけですが、このウイルスは、我々に取りつくときに、変わるということを生存の前提にしているわけです。そういうことから考えると、このワクチンが非常に難しいのではないかと思います。

私が最初、逆転写酵素阻害剤の一連のジデオキシヌクレオシド誘導体について検討した時、入手できるすべての動物のレトロウイルスの逆転写酵素をブロックするだろうかということ、ヤギやウシやマウスなどのレトロウイルスの増殖系を利用してそれを確かめたところ、すべてブロックしたわけです。その時すでに、それぞれの動物とヒトのレトロウイルスの逆転写酵素を構造している遺伝子は非常にホモロジーが高いということが報告されておりました。ですから、このジデオキシヌクレオシド誘導体というのは、同じ部分をねらっているわけですから、その同じ部分は

変わることができないだろうと思っていました。しかし、たったの2年で臨床的にもの見事にうちくだかれ、今も多剤併用であろうがなんであろうが、このウイルスがミュートーションを続けてかいくくっているということを考えますと、本当にワクチンが可能であ

るかどうか、この命題に対する答えはまだありませんし、非常に難しいのではないかと思います。

【司会】 わかりました。少し時間をオーバーしましたが、満屋先生どうもありがとうございました（拍手）。

【後日ご回答をいただいた質問】

【質問】 化学療法が進みHIV感染者が長期間生存できるようになり2次癌として悪性リンパ腫が起こるとお話されましたが、この場合に起こりうる癌の種類とその発生メカニズムをお教えてください。

【回答】 AIDSに伴ってしばしば起こる悪性腫瘍として、まず悪性リンパ腫、Kaposi肉腫、浸潤性子宮頸癌などがあげられます。これらは免疫不全、免疫抑制状態に発症する訳ですから、特に日和見腫瘍と呼ばれます。これらの悪性腫瘍の発生メカニズムは必ずしも明らかではありません。ただ、日和見悪性リンパ腫の発生にはEpstein-Barr virus (EBV)の感染が関連しているようで、免疫不全状態ではEBVに特異的な細胞障害性Tリンパ球(CTL)が機能しないため、そのような免疫反応を逃れた細胞が勝手に増殖してそのうちに遺伝子異常が多くなると悪性リンパ腫が発生すると考えられています。つまりAIDS患者の免疫不全の状態がEBVによる不死化細胞の増殖を可能にしているといえます。AIDSで見られる悪性リンパ腫の中にはEBV以外にHHV-8 (human herpes virus-8)感染に関連したリンパ腫も知られてきています。また、Kaposi肉腫の場合、HHV-8が病因であるとする考えがありますが、その機序は不明です。AIDS患者で見られる子宮頸癌や直腸癌にはヒトパピローマウイルス感染が関連していることがわかっています。以前はHIV-1感染者は早いうちに死亡していましたが、最近長期間生存するよ

うになってこのような“日和見悪性腫瘍”の発生が大きな問題となってきているのです。免疫の働きを十分に回復させるような治療法の開発が求められています。

【質問】 HCVではインターフェロン療法が盛んに行われていますが、HIVでは効果はないのでしょうか。

【回答】 AIDS関連疾患であるKaposi肉腫に対してインターフェロンをAZTなどの抗ウイルス薬と併用することで効果を認めたという報告はあります。多くの臨床試験が行われたのですが、残念ながらHIVそのものに効果があるとの証拠は得られておらず、現時点では標準的なHIV感染症の治療には使用されていません。

【質問】 HAART治療を行ってもHIVが潜伏感染したLatent veservoirを排除することはできないと思うのですが、このような潜伏しているHIVをtargetにした治療薬開発の現状はどうなっているのでしょうか。(このような治療薬ができれば長期服用の必要性などもなくなると思うのですが。)

【回答】 おっしゃるようにHIVが潜伏感染した細胞のみを身体から排除することは不可能です。有効なHAART療法でも依然として感染細胞が長期にわたって残ることが知られています。一時、HAART療法に加えてIL-2を投与することで感染細胞が検出されなくなった症例が報告されて注目されましたが、その後の検討ではやはり残存することが判明して

います。現在のところ極めて有効な抗ウイルス療法が可能になって体内での再感染を完全に抑制しても、残存する潜伏感染細胞が全て消滅するのに60年近くかかるとのデータが示されています。ですから現段階ではウイルスを体内から完全に排除するという意味での“治癒”は不可能と考えられています。

【質問】 逆転写酵素阻害剤、プロテアーゼ阻害剤に対する耐性ウイルスはどのようにしてこのような薬から逃れているのでしょうか。例えば、ヌクレオシド系逆転写酵素阻害剤であれば耐性ウイルスは逆転写の際にDNAの合成を途中で止めるこのような薬を取り込まなくなるのでしょうか。または、薬が取り込まれてもそれを切り出すのでしょうか。または、別の機構があるのでしょうか。ご教授いただきたくお願いいたします。

【回答】 抗HIV-1剤に対する耐性のメカニズムは少し難しいかもしれませんが、3つに分けて説明しましょう。

まず、ヌクレオシド系逆転写酵素阻害薬 (NRTIs) に対する耐性発現の機序ですが、X線結晶解析によって、incoming dNTP (次に組み込まれる三リン酸化されたヌクレオシド) と逆転写酵素 (RT)、鋳型、プライマーの共結晶が可能となって、dNTPのRT活性部位での挙動の解析が進んでいます。NRTIs に対して耐性を付与するアミノ酸置換は、その多くがdNTPが結合する部位 (dNTP結合部位) には位置せず、酵素が鋳型、プライマーと相互作用を起こすfingerサブドメイン全体に散在して、いずれも鋳型、プライマーの位置あるいはそのRT活性部位との相互関係に微妙な変化を引き起こすと考えられています。その結果、RTの基質であるdNTPとNRTIsの三リン酸体 (ddNTP) をより厳密に認識し、後者を酵素反応から排除して耐性を発現するものと推測されます。3TCに対する耐性発現のメカニズムがその典型です。

お尋ねのAZTに対する耐性発現は少し違

った機序で起こるようです。HIV-1のRTは伸長するプロウイルス鎖に組み込まれたAZTを“除去”してDNA合成を続けるようなのです。この“除去”反応には2つの機序が考えられています。一つは二リン酸除去反応 (pyrophospholysis) と呼ばれるもので、細胞内に存在する二リン酸 (PPi) が加えられてプロウイルスDNAからAZT-リン酸 (MP) がAZT-TPとして除去される機序です。もう一つはジヌクレオシドポリリン酸化体 (dinucleoside polyphosphate) の形成を通じたもので、やはり細胞質の存在するNTPとすでに組み込まれたAZT-MPが反応、N-P-P-P-AZTとしてDNA鎖から除去されるという機序です。このような機序はAZTに対する耐性獲得に特有なもののようなのです。このことはAZTの場合はウイルスが高度のAZT耐性を獲得しても、他のNRTIsに対する交差耐性がほとんど見られない事実と関連しているようです。

次に、非ヌクレオシド系逆転写酵素阻害薬 (NNRTIs) に対する耐性発現のメカニズムですが、X線結晶解析によって、ほとんどのNNRTIs耐性に関連した変異がNNRTIsと結合するアミノ酸に起こることが示されています。たとえば、Leu100, Lys103, Val106, Tyr181, 及びGly190はNVP (nevirapine) がRTと結合するアミノ酸ですが、NVP耐性HIV-1ではこの全てのアミノ酸に置換が起こります。こうしたアミノ酸の置換がNNRTIsとRTとの結合を減弱させているのは間違いのないようです。NNRTIsのRT活性阻害の機序はいまだ不明ですが、このNNRTIs結合部位にNNRTIsが結合することで可動性に富むRT活性中心部位が“rigid (硬直した状態)”となって酵素活性が結果的に阻害されると推定されます。

最後にプロテアーゼ阻害薬 (PIs) に対する耐性発現のメカニズムですが、PIsに対する薬剤耐性の発現には複数の機序が関与してい

るようです。最も重要な機序は、活性部位のアミノ酸置換によってプロテアーゼそのものがPIsからの結合を逃れて耐性を獲得するというものです。プロテアーゼの活性部位でない領域（非活性部位）のアミノ酸置換も耐性発現に関与することが報告されています。このような複数の変異の組み合わせは、相加、相乗、または補正的な効果をもたらすと思われる。プロテアーゼは構造的に活性中心部付近にPIの側鎖が入り込んで強固な結合を形成するいくつかの“サブサイト”を持っていて、それぞれのPIで観察される特異性は、PIとサブサイトのアミノ酸側鎖との間で形成される結合パターンに依存していると考えられています。このような特異性を規定するサブサイトのアミノ酸置換は、当然そのPIに特異的な耐性を発現します。活性部位のアミノ酸置換によって基質に対する特異性が低下したり失われたりしますと、これを代償するために、基質であるGagまたはGag-Pol複合タンパク前駆体の切断部位が切れやすくなるようなアミノ酸置換が起きて結果的にHIV-1タンパクの成熟を可能にしたりもします。実際に、活性部位変異と関連したp1/p6またはp7/p1 Gag複合タンパクの切断部位での変異の出現とそうした変異の付加が基質の“切断されやすさ”に関連していることが報告されています。

とにかくHIV-1は柔軟な病原体で、酵素の活性部位の構造をその活性を温存したままで変容させるのですから、本当に厄介な、手強いウイルスといえます。

【質問】 当院では、針刺し事故後の抗ウイルス剤の服用は2時間以内に行うとマニュアル化されています。服用までの時間の制約はあるのでしょうか。

【回答】 HIVの曝露事故時に感染を完全に予防する方法は確立されているとは言えません。実験的な治療は倫理上不可能ですし、またウイルス曝露の様態、量、事故者側の因子（例え

ば皮膚に生傷があるかないかなど）などが様々だからです。しかし米国のCenters for Disease Control and Prevention (CDC)が1998年に発表したガイドインに基づいて説明しますと、針刺し事故時の抗ウイルス薬の予防投与は事故後1～2時間以内に開始したほうが良いとされています。もちろん早ければ早いほど良い訳です。ですから曝露があつて状況があまりはっきりしない時は初回投与をできるだけ早く行うのが肝要と思います。はっきりしてから投与を継続するかどうかを決めれば良いのですから。これは、少しでも早く服用を開始することでHIVがリンパ球に侵入してDNAに組み込まれないようにするために、動物実験でこの時間内に投与を開始すると感染率を5分の1に減少させ得たというデータに基づいています。動物実験のデータでは、24～36時間以降に予防投与を開始しても有効性は乏しいとされますが、感染を予防できなくとも感染の初期に治療を始めることは患者にとって有益と考えられていますので、感染の危険性が高い場合には曝露後時間が経過していても抗薬を投与したほうが良いと思います。

【質問】 HIV-1のreverse transcriptaseが非常にエラーを起こしやすいことが、ウイルスが耐性を獲得する最大の理由と考えられますが、どうしてそのようにエラーを起こしやすいのでしょうか。

【回答】 HIVの宿主であるヒトから大腸菌に至るまで、DNAをゲノムとして持つすべての生物のDNA複製酵素は、エキソヌクレアーゼ活性を併せ持っています。この活性はもし間違った塩基を取り込んだ場合には直ちにその塩基を切断除去してもう一度DNA合成をやり直させることになるのですが、HIVの逆転写酵素はそのような活性を持っていません。HIV-1の逆転写酵素はいわば間違いを犯しやすいコピー機と言えます。その上にHIV-1は非常に早い速度で感染、増殖を繰り返します

から、コピーする機会、つまり“間違いを犯す”機会が著しく多くなる訳です。そのためにHIV-1は“変幻自在”のウイルスとなって私達の免疫応答という防御システムをかい潜って体内で感染、増殖を続けるのです。