

2024 年度 若手・女性研究者奨励金 レポート

研究課題	マウスモデルを用いたアシクロビル脳症発症機序解明と基盤構築
キーワード	①アシクロビル脳症、②CMMG、③マイクロダイアリシス法

研究者の所属・氏名等

フリガナ 氏 名	ヤマザキ ヨシタカ 山崎 喜貴
配付時の所属先・職位等 (令和6年4月1日現在)	昭和大学大学院薬学部毒物学分野 助教
現在の所属先・職位等	昭和医科大学大学院薬学部毒物学分野 助教
プロフィール	私は昭和大学大学院薬学研究科毒物学分野を修了し、同研究室の助教として3年間教鞭を執っています。これまで中毒患者の生体試料を用いた薬物濃度分析や中毒症状・副作用発現時のメカニズムの解明に取り組んできました。特に、中枢毒性がある薬物の中毒時における体内動態の変化について興味を持って研究しています。

1. 研究の概要

アシクロビル(ACV)脳症は、ACVやバラシクロビルなどのヌクレオシド類似体抗ウイルス薬によって起こる副作用の一つだが、その発症に真に寄与する物質や発症機序は特定されていない。これまでACV脳症を発症した症例において、ACVの代謝物である9-Carboxymethoxymethylguanine(CMMG)の血中濃度が高値を示していたことから、CMMGがアシクロビル脳症発症に関与する可能性を見出した。そこで本研究はACV脳症の発症に関わる原因物質やその発症機序を解明するため、マウスモデルを確立し、脳マイクロダイアリシス法による脳内薬物濃度測定と脳内神経伝達物質量の解析を行う。本研究の遂行は、ACV脳症の病態理解を促進し、発症予防を含めた早期介入の臨床応用は社会に貢献するものである。

2. 研究の動機、目的

私の所属研究室では、大学付属病院の薬毒物中毒症例において、投与薬剤およびその代謝物の血中濃度測定を行い、薬毒物中毒症の原因解明を行なっている。薬物中毒症例において、ACV脳症患者の血中ACV濃度の測定を複数例行い、ACVだけでなく、代謝物がACV脳症発症に寄与する可能性も考えられたことから、主代謝物であるCMMGも併せて測定した。その結果、ACVを服用している患者のうち、ACV脳症を発症した患者と発症していない患者を比較して血中ACV濃度は同程度であったにも関わらず、血中CMMG濃度はACV脳症を発症した患者のみ高値を示したことから、CMMGが関与している可能性を見出した。(Eur J Clin Pharmacol. 2022, 78, 527-529)。その後、ACV脳症に関する文献調査を行ったところ、機序解明を目的とした基礎研究の例は存在しなかった。そのため、基礎研究による薬剤性脳症の機序解明により、臨床での新たな薬剤性脳症の予防法や治療法の確立に寄与できるのではないかと考えた。

抗ヘルペスウイルス薬のアシクロビルおよびそのプロドラッグであるバラシクロビルは、今日の単純ヘルペス脳炎や帯状疱疹の治療において広く用いられている。その副作用である精神神経症状(発症頻度:1.09%)は、ACV脳症と称され、呂律困難、振戦、幻視などを伴う意識障害が代表的である。ACV脳症の多くは投与後48時間以内に発症し、高齢者や透析患者を

含む腎機能障害を有する患者で発症しやすいことが知られている(J Intern Med. 1993, 234, 507-11)。ACV 脳症の重篤化は、患者の QOL を低下させるとともに原疾患の治療予後にも大きく影響する。また臨床において単純ヘルペス脳炎と症状が酷似しており、診断に有用なマーカーが存在せず、治療方針が逆行することからその鑑別が問題となる。

体内に吸収されたバラシクロビルは主に肝臓で加水分解され、ACV となる。さらに肝臓のアルコール脱水素酵素、2 型アルデヒド脱水素酵素およびアルデヒドオキシダーゼにより、CMMG および 8-OH ACV へ代謝される。ACV は、ヘルペスウイルス感染細胞のチミジンキナーゼによりリン酸化され、ウイルスの DNA に取り込まれることで宿主細胞の生合成を停止させることで薬効を示す。正常細胞のチミジンキナーゼに対する ACV の親和性はウイルス感染細胞のチミジンキナーゼに対する親和性と比較して 20 倍ほど低いことから ACV 脳症の発症には代謝産物である CMMG または 8-OH ACV の関与が疑われる。

また ACV 脳症は多様な精神神経症状を呈することから、代表的な脳内神経伝達物質であるドーパミン系やセロトニン系、GABA 系に異常をきたしていると考えられ、中枢神経作用薬により脳内神経伝達物質を正常化することで ACV 脳症を改善させる可能性がある。しかし、ACV 脳症発症に関する基礎研究は行われておらず、詳細は明らかでない。そのため、ACV 脳症に特異的な治療は存在せず現在の標準治療は原因薬剤の中止、水分負荷による排泄促進、その他諸症状に対する対症療法が基本となっており、より効果的な治療法や予防法の確立が望まれている。本研究は ACV 脳症の発症に真に寄与する原因物質とその機序を明らかにすることで、効果的な治療法や予防法を確立することを目的とした。

3. 研究の結果

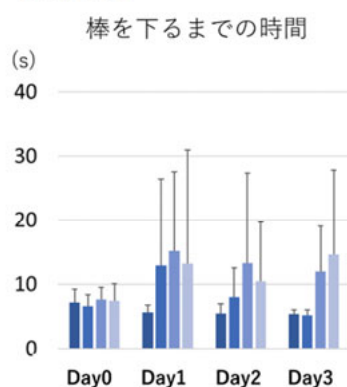
ACV 脳症マウスモデル確立のため、8~9 週齢の ICR 雄性マウスを各群 7~8 匹ずつになるようコントロール(Cont)群、ACV 群、CMMG 群、ACV+CMMG (Comb)群に分け、吸入麻酔下で頭部切開後、頭蓋骨に微小な穴をあけ、第 3 脳室内にそれぞれ薬物を投与した[Fig. 1]。投与 2 時間後から行動試験(棒下りテスト、坂下りテスト、橋渡りテスト)を行い、同時刻で 3 日間(Day1~3)行動試験を実施した。また投与前日(Day0)にも行動試験を実施した。本期間において、死亡例は存在せず、体重について群間に有意差はなかった。

棒下りテストの結果、Day1 では Cont 群と比較して他群では棒を下るまでに要する時間が延長し、さらに Day2 以降も CMMG 群および Comb 群では延長する傾向があった[Fig. 2A]。坂登りテストの結果、有意差はなかったものの CMMG 群や Comb 群で坂登るまでに要する時間が延長する傾向があった[Fig. 2B]。橋渡りテストの結果、橋を渡るのに要する時間に明確な傾向は認められなかった[Fig. 2C]。

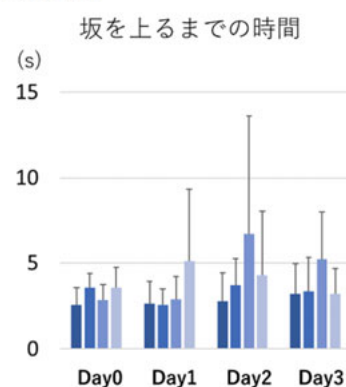


[Fig. 1 マウス第 3 脳室内投与の様子]

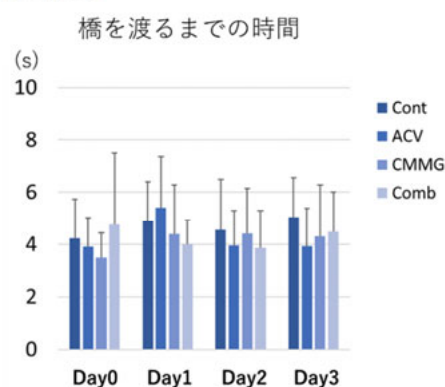
[Fig. 2A]



[Fig. 2B]



[Fig. 2C]



Cont, CMMG:n=7, ACV,Comb : n=8
Kruskal-Wallis followed by Steel

今回ヒトとマウスにおける ACV に対する感受性を考慮し、既報にある ACV 脳症発症時における脳脊髄液中の濃度範囲上限の 10 倍濃い濃度をマウスの第 3 脳室へ投与したが、行動試験において、有意差は認められなかった。個体差はあるものの、棒下りテストや坂登りテストでは CMMG 群や Comb 群で延長傾向にあることから大脳基底核の障害による動作緩慢や協調運動の失調がおきている可能性が示唆された。またバラつきが大きく評価系についても検討の余地があるため、ポジティブコントロールとなるような化合物の探索し、再検討を行う予定である。

4. 研究者としてのこれからの展望

私は研究者として、以下の2点を中心に今後の研究と社会貢献に努めていきたいと考える。

1. 「個別化毒性学」

薬物治療の効果や副作用には個人差が大きいことが知られている。毒性学においても画一的な毒性評価だけでなく、遺伝的背景や生活習慣、併用薬など個々の因子が毒性発現にどのように影響するかを解明することが、より安全で効果的な医薬品の開発と提供に繋がると考える。このため、ゲノム情報やオミックス解析を活用し、個人の生体分子情報から特定薬物に対する毒性の感受性を予測する研究を行いたい。また動物実験の代替として、ヒト臓器を模倣したオルガノイドや臓器チップを活用し、よりヒトの生体に近い環境で、個人の特性を反映させた毒性評価を行いたい。

2. 「中毒時体内動態（トキシコキネティクス）」

トキシコキネティクスは、中毒量の薬物が体内でどのように吸収され、分布し、代謝され、排泄されるかを解明する重要な分野である。トキシコキネティクスは中毒診断の迅速化、効果的な治療戦略の立案、そして予後の予測に不可欠である。また従来のトキシコキネティクス研究は、比較的少数または既知の薬物に焦点を当てられてきた。しかし、実際の中毒症例は複数の薬物や未知の化学物質によるものが少なくない。このため、最新の質量分析計などの分析技術を駆使し、血液や尿などの生体試料から、未知の毒物やその代謝物を網羅的に探索する技術を確認したい。また得られた血中薬物濃度やその代謝物の濃度、患者情報（腎機能や肝機能、併用薬など）の情報を統合し、AIを用いて毒物の体内動態を個別かつ高精度に予測するモデルを構築したい。これにより、予測に基づいた先制的な治療や、中毒症状の悪化を未然に防ぐ個別化医療の実現を目指す。

5. 支援者（寄付企業等や社会一般）等へのメッセージ

この度は多大なるご支援を賜り、心より感謝申し上げます。皆様からの温かいご支援は、私の研究活動にとって大きな推進力となりました。今回、期待した明確な結果を得るには至りませんでしたが、この経験は今後の研究の方向性を深く考察する貴重な機会となり、研究を継続していく決意を新たにいたしました。これからも科学の発展と社会貢献を目指し、より一層精進していきたいと存じます。特に、若手研究者や女性研究者が個々人の能力を最大限に発揮できるような環境を整備していくためにも、引続きご理解とご支援を賜りますよう、何卒よろしくお願い申し上げます。