

健康文化

抗凝固薬：ヘパリンから合成 Xa 阻害薬へ

小嶋 哲人

今回は、最近私が執筆依頼をうけた抗血栓薬の創薬についての総説からの抜粋を紹介します。

ヒトは、原始の時代から飢餓と怪我との戦いの中で生き延びてきました。狩猟などで怪我をした場合にはすみやかな止血が必要で、さもなければ出血死をしてしまうか、強い貧血を起こして狩猟もままならず生きて行けなくなるため、おそらく長い進化の過程で止血血栓形成に働く血液凝固因子の前駆体が合目的に大過剰の準備がされるようになったものと考えられます。人生 50 年と言われた時代には、このすみやかな止血、すなわち易血栓形成は非常に有利な体質でした。しかし、平均寿命が 80 歳である現代の超高齢社会においては、加齢にともなう動脈硬化や易血栓傾向の増加のために、かえって血栓症という厄介な病気の原因となってしまっている現実があります。

血栓症は、古くは古代彫刻に見られる静脈瘤像や、13 世紀の書物に静脈切開術や蛭による治療が描かれるなど、過去の記録をみても古くからよく知られた疾患です。その治療において、20 世紀初頭に偶然発見されたヘパリンやワルファリンは画期的な治療薬で今でも抗血栓薬の主角を担っています。しかし、両者はともに選択的ではなく多くの凝固因子に作用するため、それぞれ使用上の制限があることもよく知られています。21 世紀の時代は、こうした問題点を解決すべく抗血栓薬剤の有効性と安全性の向上を目的に、構造が均一で、かつ血液凝固過程で特定のターゲットに狙いを絞った新しい抗血栓薬の計画的設計による合成が主流となると思われます。

ヘパリン

ヘパリンの歴史は、1916 年に医学生 J. McLean が偶然に犬の肝臓からの抗凝固成分を単離して始まりました。その 20 年後、J.E. Jorpes がヘパリンはウロン酸およびグルコサミンの単位を繰り返すことで構成された高硫酸化グリコサミノグリカンであることを同定しましたが、糖鎖の長さだけでなく糖鎖の単位構造が異なる分子の雑多な混合物です。その発見から 50 年以上の後、R.D. Rosenberg と P.S. Damus はヘパリンの作用機作の解明に成功しました。すなわち、ヘパリンは生理的血液凝固のブレーキ・アンチトロンビンのブレー

キブスターとして機能することによる間接的な抗凝固作用をもっています。

ヘパリンの作用機作は、内在性セリンプロテアーゼ阻害分子であるアンチトロンビンに結合することにより、その立体構造変化に伴うアンチトロンビン依存性の活性化凝固因子阻害反応を加速誘導するものです。ただし、このメカニズムはアンチトロンビン親和性5単糖・ペンタサッカライドの存在に依存し、いわゆるこのアンチトロンビン高親和性構造をもつ約30-50%のヘパリン製剤成分だけが阻害誘導効果を示します。ヘパリン-アンチトロンビン複合体は、血液凝固セリン酵素であるトロンビン、Xa、IXa、XIa、およびXIIaを不活化します。これらのうち、トロンビンとXaが最も阻害を受け、ヒトではトロンビンはXaより約十倍敏感にヘパリン-アンチトロンビン複合体による阻害を受けます。アンチトロンビン依存性のトロンビン阻害ならびにXa阻害は、ヘパリンの抗凝固作用に最も重要とされています。

ワルファリン

一方、ワルファリンの開発は、1920年代、カナダのアルバータで新しいウシの病気として報告されたスイートクローバー病に端を発しています。スイートクローバーは、やせた土地でも気象条件に左右されることなく栽培ができ収穫量が安定していたため、当時、牛や羊の飼料として盛んに用いられていました。ところが、スイートクローバーの使用量が増えるとともに、これを食べた若い元気だった牛が、外傷時や外科手術、特に去勢手術や角切除後に出血が止まらなくなり、次々と死亡するという奇妙な病気が起こりました。その後、米国ノースダコダ州のウシにも同様な疾患がみられ、当初は新たな伝染病と考えられ一大騒動に発展しました。しかし、やがてその原因がサイロに貯蔵されていた腐ったスイートクローバーによることが明らかにされました。そして、ウィスコンシン大学の生化学者 Link は、腐敗したスイートクローバーから出血性惹起物質・ジクマロールの抽出・精製に成功し、これが病気の原因であることを明らかにしました。ワルファリンは、このジクマロールをもとに、より作用の強い誘導体として1948年、Linkらにより合成されたもので、**Wisconsin Alumni Research Foundation**の頭文字に、クマリン(coumarin)系薬物の語尾arinをつけ、**warfarin** ワルファリンと名付けられました。

クマリン系化合物であるワルファリンは、活性化ビタミンK(還元型ビタミンK)と構造がよく似ており、肝臓でのビタミンKの作用を拮抗的に阻害し、ビタミンK欠乏状態にします。ビタミンK依存性凝固因子は、合成の最終段階で還元型ビタミンKおよびビタミンK依存性カルボキシラーゼの存在下で、その凝固因子前駆体分子のアミノ末端側にあるグルタミン酸(Glu)残基が、 γ -カルボキシグルタミン酸(Gla)残基に変換され、正常な機能をもった糖蛋白となります。ビタミンK依存性凝固因子のプロトロンビン、VII因子、IX因

子、X因子は、この Gla 残基をもつことにより Ca^{2+} と結合することが可能となり、血液中で凝血作用を発現することができます。ワルファリンはこのビタミン K 代謝サイクルでのビタミン K 依存性エポキシドレダクターゼとビタミン K キノンレダクターゼの両酵素活性を非可逆的に強く阻害し、その結果として凝固活性を有しない (Glu 残基のままの) 凝固因子 (PIVKA-Protein Induced by Vitamin K Absence or antagonist) を増加させることにより抗凝血作用、抗血栓作用を表します。

低分子ヘパリン

Andersson らは、ゲルろ過によって作り出した短い糖鎖のヘパリン分子が APTT を延長しないが、まだ十分な抗 Xa 活性を示すことを発見しました。そして、短鎖ヘパリンは出血性リスクを減らすという仮説が動物実験で確認され、低分子ヘパリンの開発へと導かれました。低分子ヘパリンの弱い抗トロンビン作用は、Xa ならびにトロンビンのアンチトロンビン依存性不活性化機構の違いの結果で、Xa 阻害のためにはヘパリンのアンチトロンビンへの結合で十分であるが、トロンビン阻害には 17 個以上の糖鎖をもつヘパリン分子とだけ可能なアンチトロンビンとトロンビンの両者への結合を必要とします。

現在のところ、低分子ヘパリンは未分画ヘパリンと比べ、一般に血漿蛋白への非特異的結合が少なく、血小板との相互作用もかなり弱いものです。また、皮下投与された低分子ヘパリンはほぼ完全に生体内利用され、未分画ヘパリンと比較して半減期は 2 倍長く、用量に依存せず、主に腎臓から排泄されます。この比較的予測可能な用量応答性やより長い半減期のため、低分子ヘパリンによる静脈血栓塞栓症 (Venous thromboembolism: VTE) の予防のためには 1 日 1 回の皮下投与で十分であり、腎不全、過体重、妊娠の患者と小児使用を除いては検査モニタリングが不必要です。

低分子ヘパリンは多くの利点をもつにもかかわらず未分画ヘパリンのいくつかの問題点を解決できていません。実際、低分子ヘパリンは未分画ヘパリンと同様に不均一な構成成分をもち、標的が一つでなく多数です。ヘパリンの大きな欠点に、動物材料由来でプリオンやブタウイルスのような病原体汚染の危険性を完全には排除できないことがあり、ウシ海綿状脳症 (BSE) 問題に直面してウシ由来ヘパリンはヨーロッパではもはや臨床使用できず、ブタ・ヘパリンに完全に置き換えられています。

フォンダパリナックスの開発

1983 年、すてに Choay らのグループはヘパリンに存在するアンチトロンビン結合配列 5 単糖・ペエンタサッカライドの合成に成功していました。続いて、大規模な一連のオリゴ糖類の *in vitro* 活性がテストされ、1988 年に「フォンダパリナックス」と命名された

SR90107A が作り出されました。7300 人以上の患者のハイリスク整形外科手術でのフォンダパリナックスの効果と安全性を評価する大規模第 III 相臨床試験結果に基づいて、フォンダパリナックスは米国、ヨーロッパでの保健当局に、大腿骨頭骨折、主要な膝または股関節置換術などの下肢の整形外科大手術を行う患者での VTE 防止にそれぞれ承認されました。

フォンダパリナックスは初めての合成抗 Xa 薬、すなわち Xa の選択的阻害薬です。完全合成で、化学的に均一なフォンダパリナックスは、高親和性をもってアンチトロンビンと結合してその構造変化をもたらし、結果として Xa-アンチトロンビン複合体形成を約 340 倍加速します。一旦 Xa がアンチトロンビンと共有結合すると、フォンダパリナックスは解放され、次のアンチトロンビンの Xa への結合を触媒することができます。これらの反応は、外因系および内因系凝固活性化反応産物である Xa の活性阻害、すなわち血液凝固反応の中心段階を阻害するため、トロンビンには直接作用がないがトロンビン生成を効率よく抑制します。また、完全化学合成によるフォンダパリナックス合成は、潜在的な生物学的汚染の危険も排除できます。低分子ヘパリンが多様な分子の混合物で種々の凝固因子の効果を阻害することとは対照的に、フォンダパリナックスはバッチ毎の違いがない構造的に単一の化学化合物で、唯一 Xa を阻害します。抗 Xa 活性測定の標準化が困難なため低分子ヘパリン投薬において問題となる用量設定は、固定用量 (2.5 mg) として予防投与されるフォンダパリナックスでは問題となりません。

おわりに

現在、血栓症治療に使われているヘパリンやワルファリンは複数の血液凝固因子を抑制する作用機序をもっています。とくに前者は、不均一な動物由来多糖類ですが、その欠点にもかかわらず VTE 疾患の治療法や予防法は確立されたものとなっている。フォンダパリナックスは初めての合成選択的 Xa 阻害薬で、また、合理的に設計された最初の炭水化物薬剤でもあり、新薬開発における炭水化物がもつ潜在的能力の存在を示すものです。この合成特異的 Xa 阻害薬の臨床試験の優れた結果は、Xa 活性の阻止が抗血栓治療戦略の重要観点であることをはっきりと示すもので、現在さらに低分子で経口可能な合成 Xa 阻害薬の開発が盛んに行われており、すみやかな臨床応用が期待されています。

(名古屋大学医学部教授・保健学科検査技術科学専攻)