

平成13年度

エイズ医薬品等開発研究
重点研究報告書

第1分野

抗エイズウイルス薬、エイズ付随症状
に対する治療薬の開発に関する研究

新規HIV侵入阻害剤の前臨床試験と遺伝子発現制御型の新しい抗HIV剤の開発

所 属：名古屋大学大学院医学研究科
国際保健医療学
研究者：山本 直彦

分担研究者

- (1) 名古屋大学大学院医学研究科 国際保健医療学 山本直彦 助教授
- (2) 東京大学大学院理科系研究科 化学専攻 塩谷光彦 教授
- (3) 大鵬薬品工業株式会社 創薬センター化学研究所 北里健二 所長
- (4) 愛知県衛生研究所 ウイルス部 森下高行 主任研究員
- (5) 国立名古屋病院 臨床研究部、金田次弘 専任研究員
- (6) 大阪府立公衆衛生研究所、大竹徹、主任研究員

要旨

これまでの研究成果により得られた選択性の高い亜鉛錯体について、臨床応用に向けた前臨床試験として、マウスを用いた皮下投与毒性試験を行った。また、我々が独自に開発した技術を用い、細胞内および核内において作用する遺伝子制御型の抗 HIV 剤を開発した。

1. 研究目的

本年度は、過去 3 年間における本研究事業の研究成果によって得られた選択性の高い複核亜鉛サイクレン錯体について、臨床応用に向けた前臨床試験として、小動物における毒性試験を行ない、これらの薬剤の生体内に類似させた *in vitro* の環境における抗ウイルス活性を調べる。さらに、その後、新たに見い出された高い抗 HIV 活性も持つ芳香族ペンダント型亜鉛錯体 (Hiro compounds) について、その作用メカニズムの詳細な検討を行う。また、独自に開発した技術を用い、細胞内および核内において作用する遺伝子制御型の抗 HIV 剤を開発する。

2. 研究方法

I. 選択性の高い亜鉛錯体について臨床応用に向けた前臨床試験

1) マウスを用いた単回皮下投与毒性試験

抗 HIV 効果のみられた複核亜鉛サイクレン錯体の毒性徴候を検索し、また反復投与試験の用量を設定するため、雄マウスに亜鉛バイサイクレンを 30, 100 および 300 mg/kg、亜鉛トリサイクレンを 10, 30 および 100 mg/kg の用量で皮下投与した。投与後、一般状態の観察および体重測定を実施し、投与後 14 日に剖検した。

2) 反復皮下投与毒性試験

亜鉛バイサイクレンの 7.5, 25 および 75mg/kg/day の投与量および亜鉛トリサイクレンの 2.5, 7.5 および 25mg/kg/day の投与量を雄マウスに 10 日間反復皮下投与した。投与期間中、一般状態の観察、体重および摂餌量の測定を実施し、最終投与の翌日に解剖し、血液学検査、血液生化学検査ならびに病理学検査を実施した。

II. 複核亜鉛サイクレン錯体および芳香族ペンダント型亜鉛錯体における抗ウイルス活性試験とその作用機序

1) MT-4 細胞を用いた抗 HIV 活性試験

HTLV-I に持続感染している T-細胞株である MT-4 細胞に、HIV-1 の実験室株である LAI 株、および臨床分離株である KK-1 株を感染させた後、段階希釈した薬剤を含む RPMI-1640 培養液に浮遊させ、96 穴の平底培養プレートにて培養し、5 日目に顕微鏡にて CPE を観察し、トリパンブルー染色法により生細胞数を計測した。

2) 末梢血単核球と臨床分離 HIV-1 株を用いた抗 HIV 活性試験

健常人の末梢血単核球に臨床分離 HIV-1 株 (KK-1) を感染させ、段階希釈した薬剤を含む RPMI-1640 培養液 (20 又は 50% の AB 型ヒト血清および 200U/mL の IL-2 を含む) にて培養した。培養 10 日後に培養液中の HIV コア蛋白量 p24 抗原を測定した。

3) 薬剤の作用点を特定するための time of addition 試験

MT-4 細胞に HIV-1 の LAI 株を 1 時間反応させ、未吸着のウイルスを洗浄後、37 ° C にてインキュベートした。薬剤は 4 ° C での反応時、37 ° C にシフト後、0 分、10 分、20 分、30 分、60 分、120 分後にそれぞれ加えた。反応開始後 12 時間後に細胞を回収し、HIV-1 の gag DNA を PCR 法にて検出した。

III. 新技術を用いた、細胞内および核内において作用する遺伝子制御型抗 HIV 剤の開発

新規亜鉛錯体や亜鉛イオンキャリア分子を合成し、溶液内構造や亜鉛イオン捕捉能について核磁気共鳴スペクトル法や pH 滴定法により検討した。また、新たな人工核酸塩基を設計・合成し、各種 DNA ポリメラーゼへの取り込みを検討し、抗 HIV 活性化化合物の設計にフィードバックさせた。

3. 研究成果

I. 選択性の高い亜鉛錯体について臨床応用に向けた前臨床試験

1) マウスを用いた単回皮下投与毒性試験 (表 1)

亜鉛バイサイクレン :

30 mg/kg 群では、死亡例は認められず、一般状態、体重および剖検所見にも被験物質投与の影響は認められなかった。

100 mg/kg 群では、一般状態の観察で投与日に自発運動低下、不整呼吸、歩行時の振戦および体温低下が認められたが、死亡例は認められず、体重および剖検所見にも被験物質投与の影響は認められなかった。

300 mg/kg 群では、全例が投与後 1 時間以内に死亡し、一般状態の観察では、自発運動低下および不整呼吸が認められた。剖検では被験物質投与の影響は認められなかった。

亜鉛トリサイクレン :

10 mg/kg 群では、死亡例は認められず、一般状態に被験物質投与の影響は認められなかった。投与後の体重は、投与後 1 日に軽度な減少が認められたが、投与 2 日以降は増加に転じた。剖検では被験物質投与の影響は認められなかった。

30 mg/kg 群では、一般状態の観察で投与日に自発運動低下、不整呼吸および歩行時の振戦が認められ、1 例が投与後 1 時間に死亡した。投与後の体重は、投与後 1 または 2 日まで、軽度な減少が認められたが、その後は増加に転じた。剖検では被験物質投与の影響は認められなかった。

100 mg/kg 群では全例がいずれも投与後 1 時間以内に死亡した。剖検では被験物質投与の影響は認められなかった。

以上の結果から、亜鉛バイサイクレンおよび亜鉛トリサイクレンのマウスに対する概略の致死量は、亜鉛バイサイクレンでは 100 から 300 mg/kg、亜鉛トリサイクレンでは 10 から 30 mg/kg と判断された。

2) 反復皮下投与毒性試験 (表 2)

亜鉛トリサイクレン 25 mg/kg 群では投与 1 日に死亡が認められ、また、亜鉛バイサイクレン 75 mg/kg 群では投与 7 日までの間に 2 例が死亡したため、反復投与による毒性を評価するのに必要な例数を確保するため投与量を変更した。

一般状態の観察では、亜鉛バイサイクレン 75-50 mg/kg 群で自発運動の低下および体温低下が観察され、投与 7 日に死亡した 1 例には、加えて振戦および不整呼吸が認められた。亜鉛トリサイクレンの 7.5 および 25-15 mg/kg 群では、自発運動の低下、振戦、流涎および不整呼吸が認められた。

体重測定では、亜鉛トリサイクレン 25-15 mg/kg 群の体重は、軽度ではあるが投与期間を通じ対照群を下回って推移した。亜鉛バイサイクレン投与による影響は認められなかった。

摂餌量の測定では、亜鉛トリサイクレン 25-15 mg/kg 群では、軽度ではあるが摂餌量の低下が認められた。亜鉛バイサイクレン投与による明らかな影響は認められなかった。

血液学検査では、亜鉛バイサイクレンおよび亜鉛トリサイクレンの全投与群で白血球数が高値を示し、加えて亜鉛バイサイクレン 75-50 mg/kg 群では網赤血球率の高値が認められた。

血液生化学検査では、被験物質投与に起因する毒性変化は認められなかった。

器官重量の測定では、亜鉛バイサイクレン 75-50 mg/kg 群ならびに亜鉛トリサイクレンの 7.5 および 25-15 mg/kg 群で脾臓の相対重量が高値を示した。

病理組織検査では、脾臓における髄外造血の程度の増強が亜鉛バイサイクレンおよび亜鉛トリサイクレン T-010830 の全投与群で、肝臓の肝細胞好酸性化が亜鉛バイサイクレン 75-50 mg/kg 群および亜鉛トリサイクレンの 25-15 mg/kg 群で、小葉中心性肝細胞肥大が亜鉛バイサイクレン 25 および 75-50 mg/kg 群で、投与部位の筋線維変性が亜鉛バイサイクレン 75-50 mg/kg 群ならびに亜鉛トリサイクレンの 7.5 および 25-15 mg/kg 群で観察された。

以上のことから、亜鉛バイサイクレン投与群および亜鉛トリサイクレン投与群に共通する変化として、一般状態の観察で自発運動の低下、振戦および不整呼吸が観察され、血液学検査で白血球数の高値が、病理学的検査ではこの白血球数の変化に関連するとも考えられる脾臓の髄外造血の程度増強および相対重量の高値が認められ、加えて投与部位の筋線維変性が認められた。なお、両被験物質の投与量に対する毒性の強さの比較では亜鉛トリサイクレンは亜鉛バイサイクレンの約 5 倍程度と考えられたが、毒性の質の比較では明確な差は無いものと考えられた。

II. 複核亜鉛サイクレン錯体および芳香族ペンダント型亜鉛錯体における抗ウイルス活性試験とその作用機序

1) MT-4 細胞を用いた抗 HIV 活性試験 (Table 1)

MT-4 細胞における臨床分離株 (KK-1) の増殖を抑制する活性は、実験室株 (LAI 株) におけるそれらより 1/10 程度に低下することが判明した。

2) 末梢血単核球と臨床分離 HIV-1 株を用いた抗 HIV 活性試験 (table 2)

正常ヒト血清を 20% 濃度で培養液に加えた末梢血単核球における 2 種の薬剤の臨床分離 HIV-1 株の増殖抑制活性は、前述の臨床分離株の MT-4 細胞における活性とほぼ同様であった。さらに培養液中のヒト血清濃度を 50% に増やしたアッセイにおいても 2 種の薬剤は血清濃度 20% と同程度の抗ウイルス活性を示した。

3) Hiro-02 の作用点を特定するための time of addition 試験 (Table 3)

Hiro-2 の作用点はウイルスの細胞への吸着以降、逆転写反応以前の過程であると考えられ、バイサイクルの作用点とほぼ同時あるいは少し後の時点に作用して抗 HIV 効果を示したものと思われる。

III. 新技術を用いた、細胞内および核内において作用する遺伝子制御型抗 HIV 剤の開発

ナフタレンをスペーサーにもつ新規亜鉛二核錯体の合成に成功した。また、亜鉛サイクレンを側鎖にもつ新規人工アミノ酸の合成に成功し、ペプチドに導入するための合成中間体の調製準備が完了した。また、亜鉛イオンを細胞内に移行することが知られている金属配位子の合成を終了した。

また、逆転写酵素をターゲットとする新規人工核酸ユニットを開発すべく、核酸塩基部分を化学修飾した人工 DNA を種々合成し DNA ポリメラーゼ活性の阻害効果を検討した結果、カテコール基およびフェノール基をもつ人工ヌクレオシドが阻害活性を示すことが見つかった

この他、種々の金属配位子や金属錯体のエイズウイルス増殖抑制作用を検討したが、残念ながらその中からは活性を示すものは見つからなかった。

4. 考察

マウスへの単回および反復皮下投与毒性試験の結果、亜鉛トリサイクレンは、亜鉛バイサイクレンよりも強い毒性を有するものと考えられ、両剤に共通して振戦、流涎を誘発する作用が認められたことから神経系（コリン作動性を含む）への影響を検討することが推奨される。

強力な抗ウイルス活性を示す複核亜鉛サイクレン錯体 (m-Bis(Zn²⁺-cyclen)および芳香族ペンダント型亜鉛サイクレン錯体 (Hiro-02) について臨床応用を想定した抗ウイルス活性試験を行った結果、T細胞株である MT-4 細胞のみならずヒト末梢血単核球においても両薬剤は臨床分離 HIV-1 株の増殖を抑制することが判明した。さらに末梢血単核球の培養液中に正常ヒト血清を加えた検討を行ったところ、血清濃度 20%を 50%に増加しても抗ウイルス活性はほとんど影響を受けないことが分かった。臨床応用における薬剤の有効血中濃度を判定するためには、今回行った 50%ヒト血清を加えた末梢血単核球の培養における臨床分離株 (KK-1) の 90%増殖抑制濃度 (IC90) が有力な情報となると思われる。m-Bis(Zn²⁺-cyclen)および Hiro-02 の IC90 はそれぞれ 3.9mg/mL および 29mg/mL であり、これらの数値は将来行われる薬剤の安全性試験などの基礎データとなる。

芳香族ペンダント型亜鉛サイクレン錯体 (Hiro-02) の作用点を明らかにするために、時間を追ってウイルス増殖過程の各ステップに薬剤 (Hiro-02) を加えるいわゆる time of addition 試験およびこの薬剤に対する耐性分離株による遺伝子解析により、Hiro-02 はウイルスの細胞への侵入過程の時期、そしてバイサイクラムが作用する時点とほぼ同時期か、あるいは少し後に作用することが判明した。

ナフタレンペンダント型亜鉛サイクレン、および芳香族スパーサーをもつ亜鉛二核錯体が強いウイルス侵入阻害作用を示すことが以前の研究で明らかになっていたため、今回はそれに基づいて、ナフタレンをスパーサーとする亜鉛二核錯体を合成した。ウイルス侵入阻害作用において、双方の相乗効果が期待できる。また、サイクレンを側鎖にもつアミノ酸は、天然のペプチドに導入することができるようになったため、核内に取り込まれることが知られているペプチドをキャリアとして核内に移行させることが可能になった。さらに、その構造体に HIV-1 の特異的な塩基配列に対応する peptide nucleic acid (15-20 ベースで特異性が確保できる) をつなぐ事ができれば核内の HIV-1 プロウイルスに結合して機能を発揮することが期待される。逆転写酵素をターゲットとする新規人工核酸ユニットの開発の一環として、今回初めて DNA ポリメラーゼの活性を強く阻害する人工ヌクレオチド三リン酸を見出すことができた。参照化合物との比較で構造活性相関を行うことにより、メカニズムおよび新たな設計指針を得ることができると考えられる。

5. まとめ

複核亜鉛サイクレン錯体におけるマウス皮下投与毒性試験を行った結果、自発運動の低下、振戦および不整呼吸が観察された。致死毒性を認めない最大用量は、亜鉛バイサイクレン 100mg/kg、亜鉛トリサイクレン 10mg/kg であった。

複核亜鉛サイクレン錯体および芳香族ペンダント型亜鉛サイクレン錯体について臨床応用を想定した抗ウイルス活性試験を行った結果、高濃度のヒト血清存在下においても有効であることが示された。さらに、芳香族ペンダント型亜鉛サイクレン錯体の作用メカニズムはウイルスの細胞への侵入過程に作用して抗ウイルス活性を示すことが判明した。

ウイルス侵入阻害作用を有する多核亜鉛サイクレン錯体の再分子設計を行い、ナフタレンをスパーサーにもつ新規亜鉛二核錯体の合成に成功した。次に、遺伝子に直接亜鉛錯体を作用させるべく、亜鉛サイクレンを側鎖にもつ新規人工アミノ酸の合成にも成功した。また、亜鉛イオンを細胞内に移行することが知られている金属配位子の合成を終了した。さらに、逆転写酵素をターゲットとする新規人工核酸ユニットを開発すべく、核酸塩基部分を化学修飾した人工 DNA を種々合成した。

6. 研究発表

研究成果の刊行に関する一覧表参照

7. 知的所有権の取得状況

特になし

表 1

亜鉛バイサイクレン (T-010824) および亜鉛トリサイクレン (T-010830) の

マウスを用いた単回投与毒性試験

供試動物	雄マウス 系統：Crj: CD-1(ICR) 週齢：6週齢 体重：28.9～33.5g (投与時)					
投与方法	投与経路：皮下投与 (背部) 溶媒：(10%DMSOおよび0.4%Tween80) 投与容量：0.1 mL/10 g体重					
観察期間	14日間					
被験物質	T-010824			T-010830		
投与量 (mg/kg)	30	100	300	10	30	100
動物数	5	5	5	3	3	3
死亡数 (死亡時期)	0	0	5 (Day1)	0	1 (Day1)	3 (Day1)
死亡率	0%	0%	100%	0%	33%	100%
一般状態 (発現数)	—	自発運動低下(4) 不整呼吸(2) 振戦(1) 体温低下(1)	自発運動低下(5) 不整呼吸(5)	—	自発運動低下(3) 不整呼吸(3) 振戦(1)	—
体重	—	—	/	Day1に軽度減少, Day2から増加	Day1または2まで軽度減少, 以後増加	/
剖検	—	—	—	—	—	—

—：著変なし

表2

亜鉛バイサイクレン (T-010824) および亜鉛トリサイクレン (T-010830)
のマウスを用いた反復投与毒性試験
(スクリーニング試験)

供試動物	雄マウス 系統 : Crj: CD-1 (ICR) 週齢 : 6 週齢 体重 : 29.1~32.1g (投与開始時)					
投与方法	投与経路 : 皮下投与 (背部)					
	溶媒 : (10%DMSO および 0.4%Tween80)					
	投与容量 : 0.1 mL/10 g 体重					
投与期間	10日間					
被験物質	T-010824			T-010830		
投与量 (mg/kg/day)	7.5	25	75 (Day 1-7) 50 (Day 8-10)	2.5	7.5	25 (Day 1) 15 (Day 2-10)
動物数	5	5	5	5	5	5
死亡数 (死亡時期)	0	0	2 (Day5,7)	0	0	1 (Day1)
死亡率	0%	0%	40%	0%	0%	20%(25 mg/kg)
一般状態 (発現数)	—	—	自発運動低下(4) 振戦(1) 不整呼吸(1) 体温低下(1)	—	流涎(4) 自発運動低下 (1) 振戦(2) 不整呼吸(1)	自発運動低下(5) 振戦(4) 流涎(4) 不整呼吸(1)
体重	—	—	—	—	—	増加抑制/減少
摂餌量	—	—	—	—	—	低下
血液学検査						
WBC	↑	↑	↑	↑	↑	↑
Reticulocyte			↑			
血液生化学検査	—	—	—	—	—	—
器官重量						
脾臓相対重量			↑		↑	↑
剖検	—	—	—	—	—	—
病理組織検査						
脾臓の髓外造血 の程度増強	3	2	4	5	4	4
肝細胞好酸性化	0	0	3	0	0	2
小葉中心性肝細胞 肥大	0	2	1	0	0	0
投与部位の筋線 維変性	0	0	2	0	1	2

— : 著変なし

Table 1 The effects of the compounds on anti-HIV-1 activity in MT-4 cells

Compounds	IC ₅₀ (μ g/mL)		CC ₅₀ (μ g/mL)
	LAI	KK-1	
m-Bis(Zn ²⁺ -cyclen)	0.04	0.47	>1000
Hiro-02	2.0	19.0	330
DS8000	3.3	170	>1000

Table 2 The effects of the compounds on anti-HIV-1 activity in PBM cells

Compounds	IC ₅₀ (μ g/mL)	
	KK-1(20% human serum)	KK-1(50% human serum)
m-Bis(Zn ²⁺ -cyclen)	0.9 (1.5)	2.5 (3.9)
Hiro-02	16 (28)	19(29)

() : IC₉₀

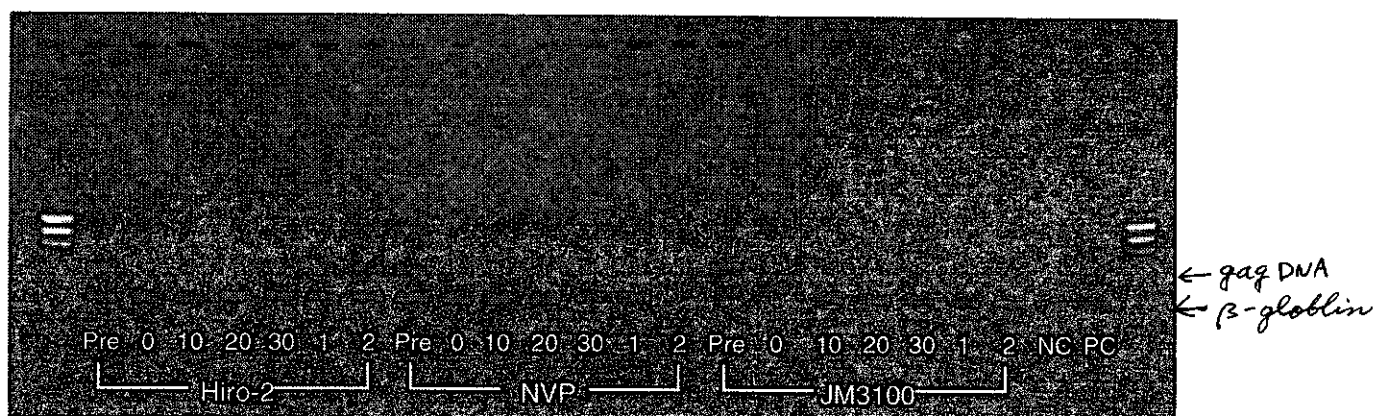


Fig.1

PCR analysis of HIV-1 infected MT-4 cells

6. 研究発表

- (1) An Approach to Metal-Assisted DNA Base Pairing: Novel β -C-Nucleosides with a 2-Aminophenol or a Catechol as the Nucleobase
K. Tanaka, M. Tasaka, H. Cao, and M. Shionoya
Eur. J. Pharm. Sci. **13**, 77-83 (2001).
- (2) Hydrolysis of Phosphodiester with Hydroxo- or Carboxylate-Bridged Dinuclear Ni(II) and Cu(II) Complexes
K. Yamaguchi, F. Akagi, S. Fujinami, M. Suzuki, M. Shionoya, and S. Suzuki
Chem. Commun. 375-376 (2001).
- (3) Synthesis and Crystal Structures of Palladium(II) Complexes of 1,11-Bis(2-pyridylmethyl)-1,4,8,11-tetraazacyclotetradecane-5,7-dione
H. Kurosaki, H. Yoshida, A. Fujimoto, M. Goto, M. Shionoya, E. Kimura, E. Espinosa, J.-M. Barbe, and R. Guilard
J. Chem. Soc., Dalton Trans. 441-447 (2001).
- (4) Novel Nickel(II) Complexes with Diazamesocyclic Ligands Functionalized by Additional Phenol Donor Pendant(s): Synthesis, Characterization, Crystal Structures and Magnetic Properties
X.-H. Bu, M. Du, L. Zhang, D.-Z. Liao, J.-K. Tang, R.-H. Zhang, and M. Shionoya
J. Chem. Soc., Dalton Trans. 593-598 (2001).
- (5) Novel Copper(II) Complexes with Diazamesocyclic Ligands Functionalized by Additional Donor Group(s): Syntheses, Crystal Structures and Magnetic Properties
X.-H. Bu, M. Du, L. Zhang, Z.-L. Shang, R.-H. Zhang, and M. Shionoya
J. Chem. Soc., Dalton Trans. 729-735 (2001).
- (6) Nickel-Mediated Alcoholysis Reaction of Carbon-Nitrogen Triple Bond: Structural Characterization of an Unprecedented Moisture Stable Imido Ester with a Single *E*-Configuration
X.-H. Bu, M. Du, K. Tanaka, M. Shionoya, and M. Shiro
Inorg. Chem. Commun. **4**, 150-152 (2001).
- (7) Novel Diazamesocyclic Ligands Functionalized with Pyridyl Donor Group(s) - Synthesis, Crystal Structures, and Properties of Their Copper(II) Complexes
X.-H. Bu, M. Du, Z.-L. Shang, L. Zhang, Q.-H. Zhao, R.-H. Zhang, M. Shionoya
Eur. J. Inorg. Chem. **4**, 1551-1558 (2001).
- (8) A Palladium-Mediated DNA Base Pair of a β -C-Nucleoside Possessing a 2-Aminophenol as the Nucleobase
M. Tasaka, K. Tanaka, M. Shiro, and M. Shionoya
Supramol. Chem. **13**, 671-675 (2001).
- (9) Novel Box-like Dinuclear or Chain Polymeric Silver(I) Complexes with Polypyridyl Bridging Ligands: Syntheses, Crystal Structures, Spectroscopic and Electrochemical Properties
X.-H. Bu, H. Liu, and M. Du, K. M.-C. Wong, V. W.-W. Yam, and M. Shionoya
Inorg. Chem. **40**, 4143-4149 (2001).
- (10) Novel Crystals as Candidates for Frequency Up-Converted Materials: Syntheses and Crystal Structures of Two Trogers's Bases

X.-H. Bu, M. Du, K. Tanaka, M. Shionoya, and M. Shiro

J. Chem. Res. 243-245 (2001).

(11) Flexible meso-Bis(sulfinyl) Ligands as Building Blocks for Copper(II) Coordination Polymers: Cavity Control by Varying the Chain Length of Ligands

X.-H. Bu, W. Chen, S.-L. Lu, R.-H. Zhang, D.-Z. Liao, W.-M. Bu, M. Shionoya, F. Brisse, and J. Ribas

Angew. Chem. Int. Eng. **40**, 3201-3203 (2001).

(12) Spontaneously Resolved Chiral Interpenetrating 3-D Nets with Two Different Zinc Coordination Polymers

M. Sasa, K. Tanaka, M. Shiro, X.-H. Bu, and M. Shionoya

J. Am. Chem. Soc. **123**, 10750-10751 (2001).

(13) An Extended Network *via* Hydrogen Bond Linkage of Linear Coordination Polymer [Cd(μ -dptz)(NO₃)₂]_∞ (Dptz = 3,6-di-2-pyridyl-1,2,4,5-tetrazine)

M. Du, X.-H. Bu, K. Biradha and M. Shionoya

J. Chem. Res. in press.

(14) New Mononuclear, Cyclic Tetranuclear and 1-D Helical-chain Cu(II) Complexes Formed by Metal-assisted Hydrolysis of 3,6-Di-2-pyridyl-1,2,4,5-tetrazine (DPTZ): Crystal Structures and Magnetic Properties.

X.-H. Bu, H. Liu, M. Du, L. Zhang, Y.-M/ Guo, M. Shionoya, and J. Ribas

Inorg. Chem. in press.

(15) Metal Assisted Rearrangement of 2,2'-Pyridil with M(ClO₄)₂·6H₂O (M = Co^{II}, Ni^{II} and Cu^{II}): Syntheses, Characterization and Crystal Structures.

M. Du, X.-H. Bu, M. Shionoya, and M. Shiro

J. Mol. Struct. **607**, 155-161 (2002).

(16) Toward Nano-Assembly of Metals through Engineered DNAs

K. Tanaka, M. Tasaka, H. Cao, and M. Shionoya

Supramol. Chem. in press.

(17) Synthesis of Nucleic Acid Mimics Designed for Metal-Induced Strand Formation on DNA

A. Hatano, K. Tanaka, M. Shiro, and M. Shionoya

Tetrahedron in press.

(18) A Novel Two- Dimensional Non-interpenetrating Coordination Polymer

[Ag_{2.5}L(NO₃)_{2.5}]_∞ with Three Different Coordination Modes of Ag^I (L = diquinoxalino[2,3-a:2',3'-c]phenazine)

M. Du, X.-H. Bu, K. Biradha, M. Shionoya, *J. Chem. Res.* submitted.

1) Komoto S, Kinomoto M, Ibrahim M S, Zhong Q, Auwanit W, Ayuthaya P I N, Otake T, Mori H, Oishi I, Kurosu T, Takahashi H, Mukai T, Ikuta K: Low or no antibody responses to human immunodeficiency virus type 1 Nef in infected carriers with subtype E, in contrast to sbtype B that showed antibodies preferentially recognizing subtype-specific Nef epitopes, *Vaccine*, **19**, 3019-3032, 2001

2) Ohyama M, Otake T, Morinaga K: Effect of size of man-made and natural mineral fibers on chemiluminescent response in human monocyte-derived macrophages, *Environmental Health Perspectives*, **109**, 1033-1038, 2001

3) Min B S, Kim Y H, Tomiyama M, Nakamura N, Miyashiro H, Otake T, Hattori M: Inhibitory effects of Korean plants on HIV-1 activity. *Phytotherapy Research*, **15**, 481-486, 2001

1. A novel method for detecting HIV-1 by non-radioactive in situ hybridization : application of a peptide nucleic acid probe and catalysed signal amplification.
T. Murakami, K. Yamamoto, T. Hagiwara, M. Kasami, M. Utsumi and T. Kaneda
J. Pathol., 194, 130-135 (2001).

2. Defective HIV-1 provirus found in peripheral T lymphocytes and granulocytes in an AIDS patient imply viral infection of progenitor cells .
T. Kaneda, T. Murakami, T. Hagiwara, J.Hattori, K.Yamamoto, K. Sato, T. Morishita, and M. Utsumi
AIDS, 15, 939-940 (2001).

平成13年度

エイズ医薬品等開発研究
重点研究報告書

平成14年9月10日発行

発行 財団法人 ヒューマンサイエンス振興財団

〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町13番4号
共同ビル（小伝馬町駅前）4F
電話 03(3663)8641 FAX 03(3663)0448

印刷 株式会社 ソーラン社