

果、影響は認められず、逆に 2G12-gp120 結合を AH が阻害することが明らかとなった。この結果は、2G12 は上記の 3 部位の糖鎖にのみ結合するが、AH は gp120 上のすべての高マンノース型糖鎖と結合でき、2G12 が存在しても AH は 2G12 の結合部位以外の高マンノース型糖鎖に結合することを示すものである。

3) 患者分離 HIV 株に対する AH の抗 HIV 活性

表 2 に示すように、実験室株及び糖鎖数の多い(17-20)患者分離株には、その耐性マーカには関係なく強い活性を示すが、糖鎖数の少ない(14-16)患者分離株には弱いか、ほとんど活性を示さなかった。この結果は、すでに明らかになっている AH の 3 つのセグメントのすべてに gp120 上の高マンノース型糖鎖が結合した場合にのみ強い選択的な親和性を示すことと考え合わせると大変重要である。ここで、試験した HIV 株の gp120 上の糖鎖数は測定されているが、高マンノース型糖鎖数は不明である。高マンノース型糖鎖数が明らかになれば、抗 HIV 活性との対応がさらに明確になるであろう。最近、糖鎖に結合する抗 HIV 剤に耐性な株では糖鎖がまばらになっており、gp120 蛋白質がむき出しになっている部分が多いことから抗原性が高まり、しかも免疫原性も高まるという仮説が出され、新しい HIV/AIDS 対策の観点からも、また AH の抗 HIV 薬としての開発においても新しい方向を示すものとして注目される。

4) 高活性変異体の調製

3) で述べたように、AH は T-及び M-指向

性に関係なく、また逆転写酵素阻害剤やプロテアーゼ阻害剤に対する耐性株に対してその耐性マーカに関係なく活性を示すが、糖鎖数の少ない(14-16)患者分離株には、ほとんど活性を示さないことが明らかとなった。そこで、これらの糖鎖数の少ない株に対しても活性を示す AH 変異体の調製を目的として、糖鎖結合部位を増やした AH 2 量体の調製を試みた。AH を 2 量体とするうえで、黄色ブドウ球菌蛋白質 A 由来の fragment B をリンカーとした AH 2 量体 (AH dimer/FB) と Ricin B 鎖の配列をリンカーとした AH 2 量体 (AH dimer/RTB-L) の 2 種類を調製した。これらの変異体の合胞体形成阻害活性を測定した結果、AH dimer/FB では 2 倍に、AH dimer/RTB-L では 4 倍に活性が上昇した(表 3)。2 種類の変異体で活性上昇の程度が異なっていたが、各 2 量体の AH 部分の立体的配置により糖鎖への結合のし易さが異なり、合胞体形成阻害活性が異なると推定された。これらの高活性変異体の患者分離株に対する活性測定を急がなければならない。

5) AH 前駆体の発現とその解析

PCR で増幅させた種々の長さの AH 遺伝子を放線菌 *S. lividans* に形質転換し、AH 前駆体蛋白質生産の有無を調べた。その結果、AH の発現には DNA 塩基配列 254 番目から 1252 番目までの 998 bp が必要であることが明らかになった(図 6)。AH 構造遺伝子の下流に存在する、DNA 塩基配列 1145 番目から 1252 番目の間にはヘアピン構造が存在し、これが転写終結領域であると考えられた。また、AH 構造遺伝子の上流部分の塩基配列を詳細に検討した結果、AH 構造遺伝子の 302 bp から 262 bp 上流の間にプロモーター領域が存在し、261 番

目の'A'から転写が開始されると予想された。

6) MPA の作用機構の解析

MPA は合胞体形成に依存したβ-ガラクトシダーゼ活性の上昇を 3.1 μM でほぼ完全に阻害した (図 7)。また、タンパク質レベルでもβ-ガラクトシダーゼと gp120 の発現を同様に阻害した。一方、いずれの阻害もグアノシンを添加することにより回復した。従って、MPA は IMPDH を阻害することで gp120 の発現を抑制し、その結果それを介した合胞体形成が阻害されたと考えられる。従って、MPA の抗 HIV 作用においても、その作用メカニズムの一つとして gp120 のようにウイルスの接着・侵入に関与し、なおかつ発現量が多い蛋白質を減少させることが含まれることが示唆された。

E. 結論

AH は、その 3 つのセグメントに gp120 上の 3 つの高マンノース型糖鎖が結合することにより、強い親和性と高い選択性を示す。しかし、その特徴故に糖鎖数の少ない患者分離 HIV 株に対する活性が弱いことが明らかとなった。本研究で得られた高活性 2 量体が低糖鎖株に対して高い抗 HIV 活性を示すことが期待され、その活性測定を急がなければならない。

F. 健康危険情報

該当無し

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) A. Takahashi, J. Inokoshi, H. Chiba, S. Omura and H. Tanaka.

Essential regions for antiviral activities of actinohivin, a sugar-binding anti-human immunodeficiency virus protein from an actinomycete. *Arch. Biochem. Biophys.* 2005, **437**, :233-240.

(2) H. Ui, S. Asanuma, H. Chiba, A. Takahashi, Y. Yamaguchi, R. Masuma, S. Omura and H. Tanaka. Mycophenolic acid inhibits syncytium formation accompanied by reduction of gp120 expression. *J. Antibiot.* 2005, **58**, 514-518.

2. 学会発表

(1) H. Tanaka, H. Chiba, J. inokoshi, A. Takahashi and S. Omura. The anti-HIV protein actinohivin that blocks viral entry to cells binds to high-mannose type sugar chains of gp120 specifically like an antibody. KEYSTONE SYMPOSIA (Banff, Alberta, Canada) 2005. 4. 9-15

(2) Haruo Tanaka. "Actinohivin, a promising anti-HIV protein of microbial origin" Max Tishler Memorial Symposium (Tokyo, Japan) 2005. 7. 12

(3) H. Tanaka, H. Chiba, J. inokoshi, A. Takahashi, S. Omura. The anti-HIV protein actinohivin that blocks viral entry to cells by its specific binding to high-mannose type sugar chains of gp120 through cluster effects as lectin. Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (Washington, DC, USA) 2005. 12. 16-19

(4) 猪腰淳嗣、高橋淳、供田洋、大村智、田中晴雄. アクチノヒビン遺伝子の転写領域の解析と放線菌を宿主とした発現系の確立. 日本薬学会第 126 年会 (仙台) 2006.3.28-30

(5) 高橋淳、猪腰淳嗣、大村智、田中晴雄. 抗 HIV 蛋白質アクチノヒビンの高活性変異体

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

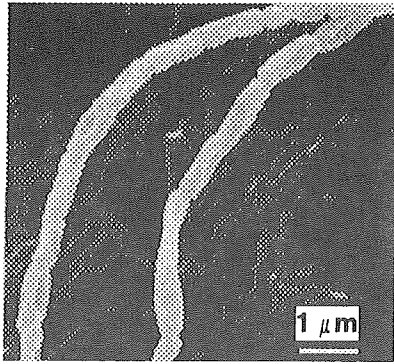
1. 特許取得

PCT/IP2005/021981

抗 HIV 薬、これを構成するポリペプチド、ポリペプチドをコードする遺伝子、抗 HIV 薬の製造方法。 発明者：田中晴雄、猪腰淳嗣、大村智、
出願人：北里学園

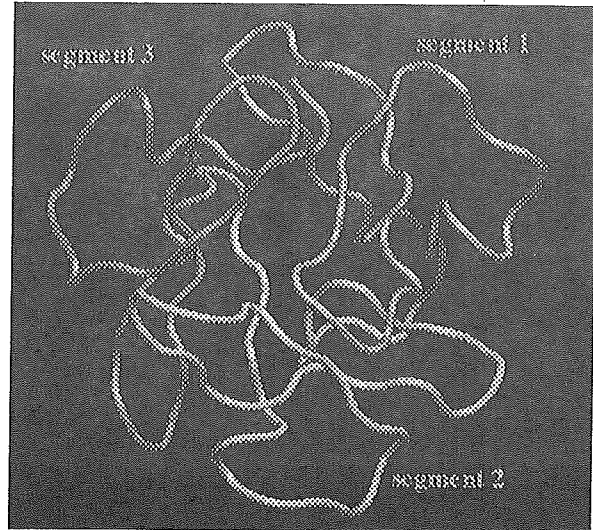
2. 実用新案登録

該当無し



Longispora albida gen. nov., sp. nov.

1- 38 ASVTIRNAQIGKLLDSNYNGNVYTL PANGGNVORWIGP
 (Seg.1)
 39- 76 GDGTVRNAQIGKCLDSNYDGA VYTL PONGGGSYOKWLFY
 (Seg.2)
 77-114 SNGYIQNVETIGRWLDSNYNGNVYTL PANGGNVOKWYITG
 (Seg.3)



| Anti-HIV activity | |
|------------------------|-----------------------|
| Virus strain | IC ₅₀ (nM) |
| T-tropic HIV-1 | |
| IIB | 2 |
| NL4-3 | 16 |
| O18A (Primary isolate) | 110 |
| M-tropic HIV-1 | |
| JR-CFS | 38 |
| HIV-2 | |
| ROD | 14 |
| EHO | 3.7 |

図 1. アクチノヒピン (AH) の生産菌、構造、推定立体構造(FAMS による) 並びに抗 HIV 活性

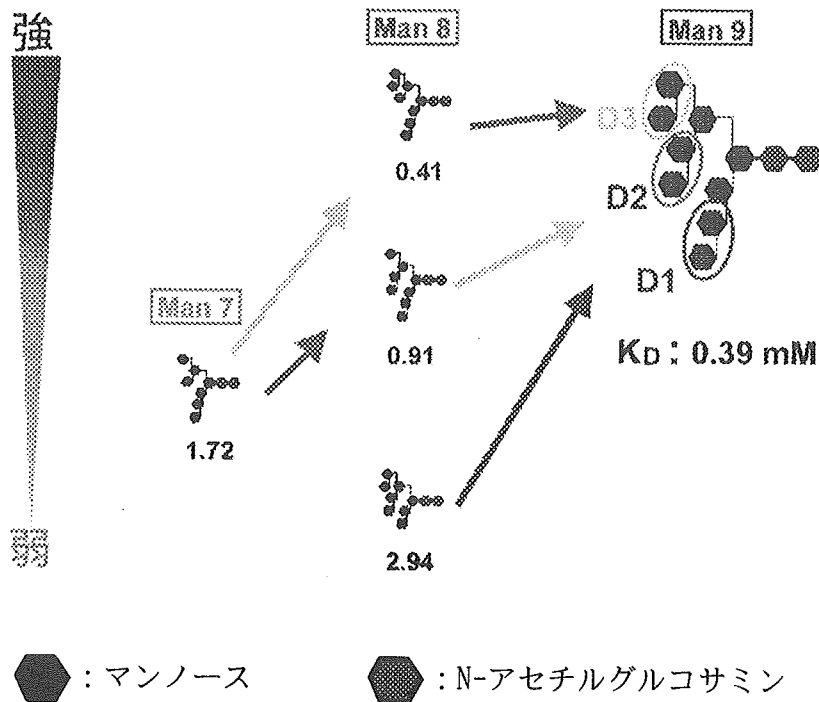


図 2. AHの各種高マンノース型糖鎖に対する親和性 (フロンタルアフィニティー・クロマトグラフィーによる。糖鎖解析センターの平林博士及び久野博士との共同研究)

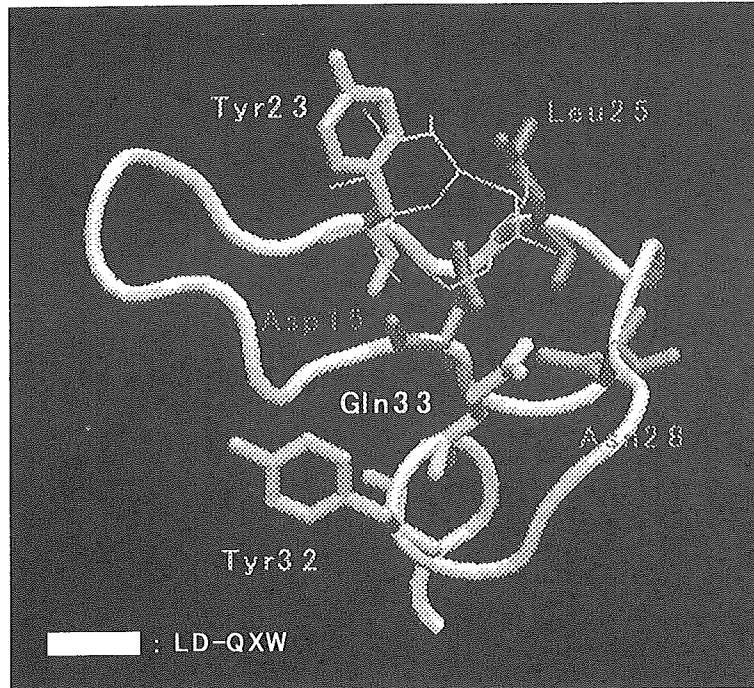


図 3. AH のセグメント 1 と $\alpha(1-2)$ マンノピオースとのドッキングモデル

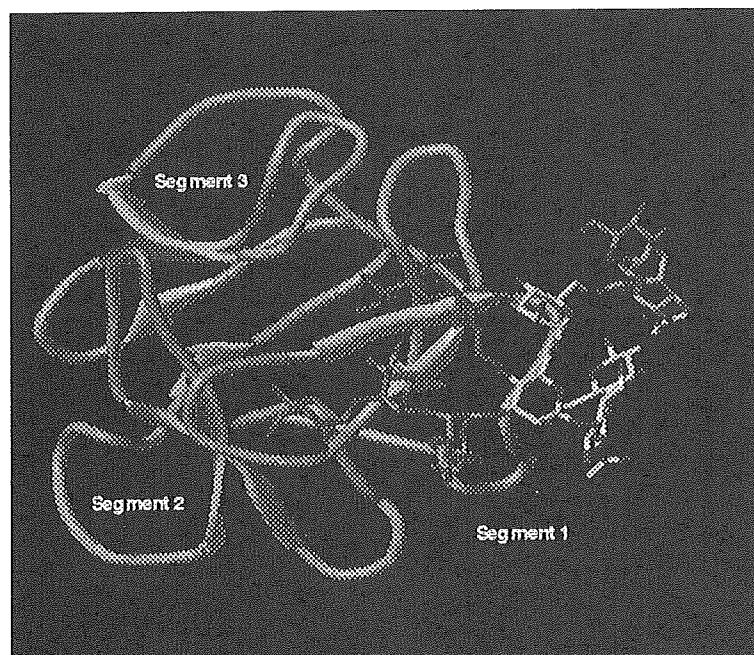
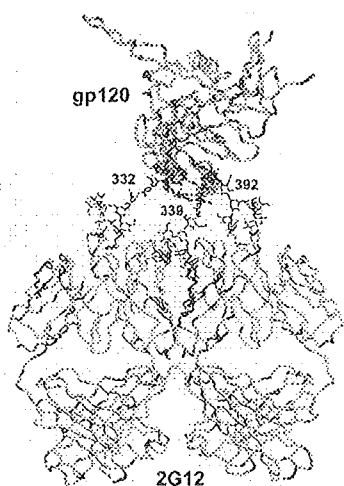


図 4. AH と高マンノース型糖鎖複合体の三次元構造
(北里大・薬 広野教授との共同研究)

(1) Antibody 2G12

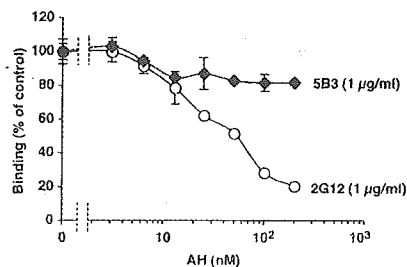


D. A. Calarese et al. Science vol. 300, 2003 p2065-71

2G12 recognizes the sugar chains at N295, N332 and N392 on gp120.

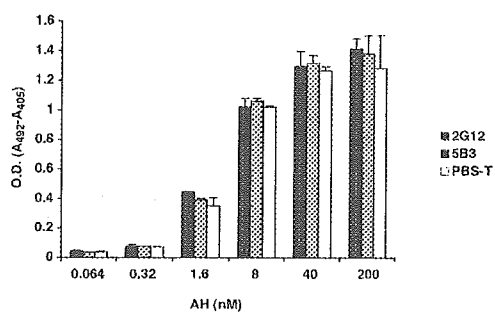
2G12 was obtained from Dr. Hermann Kalinger through the NIH AIDS Research and Reference Program, Division of AIDS, NIAID, NIH.

(2) Effect of AH on gp120-2G12 binding



Antibody 5B3 recognizes N-terminal C1 region of gp120. The result shows that AH binds to sugar chains recognized by 2G12

(3) Effect of 2G12 on gp120-AH binding



AH-binding was not inhibited by these antibodies, indicating that AH also binds other sugar chains than those that 2G12 recognizes.

図 5. HIV の糖鎖認識抗体 2G12 の AH-gp120 結合に対する影響

表 1. AH とシアノピリン-N(CV-N)の糖鎖と糖蛋白質に対する親和性の比較 (gp120 に対する選択性は CV-N より AH の方がはるかに高い)

| | Man α (1-2) Man | Man 9 | βNase B | gp120 |
|------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| AH | ^a 5.8×10^{-4} | ^a 3.9×10^{-4} | — | ^c 3.4×10^{-8} |
| CV-N | ^b 1.5×10^{-6} | ^b 6.7×10^{-9} | ^c 3.0×10^{-8} | ^c 1.7×10^{-8} |

a: determined by FAC b: colorimetry c: biosensor iAsys

(K_D: M)

表 2. 患者分離 HIV 株に対する AH の抗 HIV 活性

Table 1. Against lab strains

| laboratory strain | IC ₅₀ (μM) |
|-------------------|-----------------------|
| NL432 | 0.064 |
| NL432 | 0.067 |
| BaL | 0.035 |
| IIIB | 0.026 |

Table 2. Against clinical

| subtyp | ACC | Resistant | IC ₅₀ (μM) | fold resistance |
|--------|-----|------------|-----------------------|-----------------|
| B | 158 | RTI/NNRTI/ | 0.01 ↓ | 0.16 ↓ |
| | 182 | NNRTI/P | 0.068 | 1.09 |
| | 242 | RTI/NNRTI/ | 0.7 | 10.9 |
| | 307 | sensitive | 0.84 | 13.1 |
| | 37 | NNRT | 10 ↑ | 161 ↑ |
| A | 251 | RTI | 0.028 | 0.45 |
| | 214 | sensitive | 0.056 | 0.87 |
| | 36 | sensitive | 10 ↑ | 161 ↑ |

Table 3. Anti-HIV activities and number of sugar chains

| subtype | ACC No | IC ₅₀ (μM) | fold resistance | number of N-gly 6785-7745(gp120) |
|---------|--------|-----------------------|-----------------|----------------------------------|
| B | 37 | 10 ↑ | 161 ↑ | 14 |
| B | 307 | 0.84 | 13.1 | 15 |
| AE | 36 | 10 ↑ | 161 ↑ | 16 |
| B | BaL | 0.035 | - | 17 |
| AE | 214 | 0.056 | 0.87 | 17 |
| AE | 251 | 0.028 | 0.45 | 17 |
| B | NL | 0.064 | - | 18 |
| B | IIIB | 0.026 | - | 18 |
| B | 182 | 0.068 | 1.09 | 18 |
| B | 242 | 0.7 | 10.9 | 19 |
| B | 158 | 0.01 ↓ | 0.16 ↓ | 20 |

Table 4. Antiviral activities against various viruses

| Virus (strains) | Cells for propagation | Virus assay | IC ₅₀ (μM) |
|-----------------------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|
| EIV (Petaluma, Aomori-2) | PBL | ELISA | 1 ↑ |
| Influenza A (A/PH/8/34, H1N1) | MDCK | CPE | 10 ↑ |
| Influenza A (Guizhou/54/89, H3N2) | MDCK | CPE | 10 ↑ |
| Influenza B (Ibaraki/2/85) | MDCK | CPE | 10 ↑ |
| HSV | HeLa | Plaque | 1 ↑ |
| HSV-1 | 293 | Reporter gene | 1.5 |
| Adenovirus (Type5) | 293 | Reporter gene | 10 ↑ |

表 3. AH 2 量体の合胞体形成阻害活性

| Protein | IC ₅₀ (μM) |
|--------------------|-----------------------|
| His-AH | 0.55 ± 0.02 |
| His-AH dimer/FB | 0.27 ± 0.01 |
| His-AH dimer/RTB-L | 0.12 ± 0.01 |

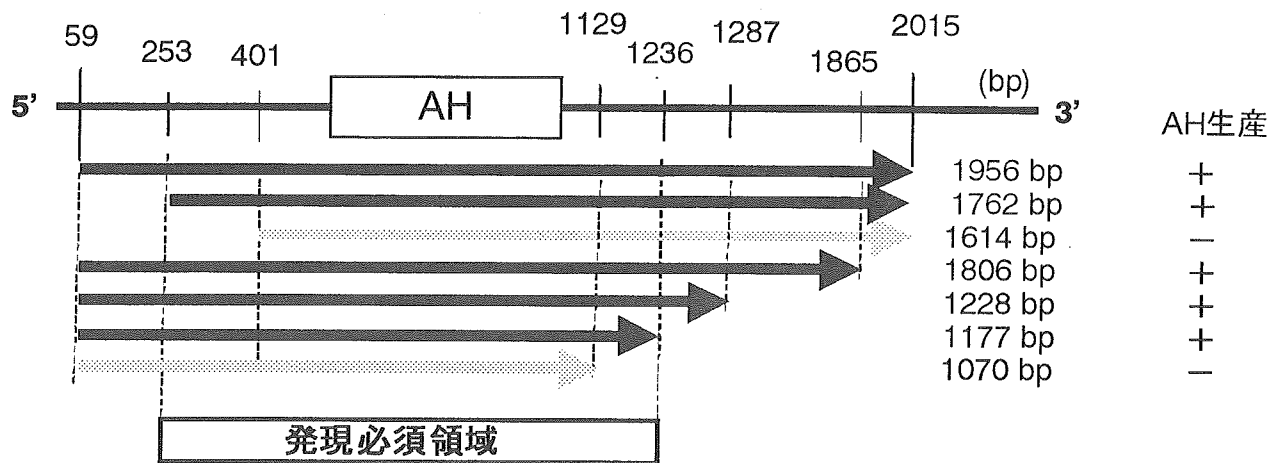


図 6. AH 発現に必要な AH 遺伝子領域

(A) None

(B) MPA (3.1 μ M)

(C) MPA (3.1 μ M)

+ guanosine (353 μ M)

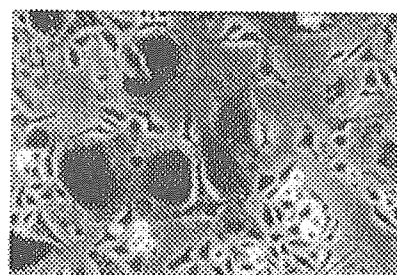
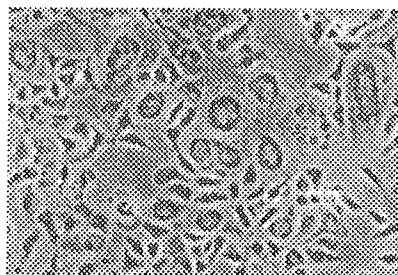
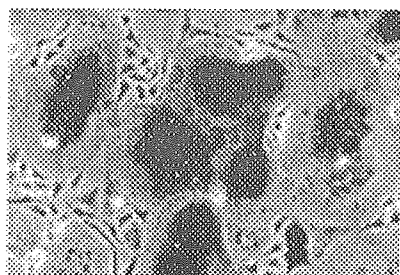


図 7. MPA による合胞体形成阻害とグアノシンによる回復

HeLa/T-env/Tat 細胞と HeLa/CD4/LacZ 細胞を混合培養することにより生じた合胞体の β -ガラクトシダーゼ活性を X-gal で染色した。

「hu-PBL-SCID マウス系での薬剤の抗 HIV-1 活性の評価」

分担研究者 田中勇悦 琉球大学・医学部・免疫学分野 教授

研究要旨：多剤耐性 HIV-1 株の制御を目的に、ウイルス感染阻害剤である CXCR4、CCR5 アンタゴニスト、および田中らの R5 HIV-1 抑制性 CD4 因子の感染抑制効果を検討した。活性化 PBMC を標的とした感染系におけるウイルス p24 の産生で見ると、調べた CCR5 指向性 HIV-1 の 11 株全ては薬剤感受性コントロール HIV-1 株 JR-CSF と比較して増殖能が低かった。そのうち 4 株の感染は CCR5 アンタゴニストまたは R5 HIV-1 抑制 CD4 因子で 50% 以上阻害された。

A. 研究目的

多剤耐性 HIV-1 に対する新たな治療薬開発の候補として、エイズの臨床病態に重要と言われる CXCR4 と CCR5 をコレセプターとして使用する 2 群の HIV-1 株の侵入を阻害するアンタゴニスト剤、および田中らが見つけている R5 HIV-1 抑制性 CD4 因子が挙げられる。これらウイルス感染阻害剤の多剤耐性 HIV-1 に対する効果はこれまで検討されていなかった。そこで平成 17 年度の研究では、hu-PBL-SCID マウスを用いる *in vivo* での評価に先駆けて、これらの治療薬候補の活性を *in vitro* の活性化 PBMC の感染系において評価することを目的とした。

B. 研究方法（倫理面への配慮）

用いた多剤耐性 HIV-1 株 11 株は、国立感染症研究所の杉浦博士、西澤博士らより供与された。ウイルスの受領においては機関間の感染性微生物の取り扱いに関する規程に従った。標準 HIV-1 には、JR-CSF (R5) と NL4-3 (X4) の分子クローン株を使用した。正常ドナーの PBMC を anti-CD3/anti-CD28 抗体コートビーズと 1:1 の比率で混合し、20 U/ml IL-2 を含む 5% FCS-RPMI 培地で 3 日間刺激培養した細胞群を

標的細胞とした。CXCR4 アンタゴニストは株式会社クレハ生物医学研究所から供与された T-1636 (10 μ M)、CCR5 アンタゴニストは SCH-C (10 μ M)、CD4 因子は HTLV-I トランスフォーム細胞である TM#8 細胞 (Tanaka et al. 未発表) の培養上清を 10% 濃度で用いた。96 well plate に播いた標的細胞 25 万個/100 μ l/well に種々の阻害剤を添加し、1 時間反応後、ウイルスを 1000 TCID₅₀ U 感染させ 2 時間培養した。3 回洗浄後、20 U/ml IL-2 培地で 5 日間培養し、培養上清の p24 を ELISA で測定し、感染抑制の度合いを検討した。

この内容を含む動物実験計画は、琉球大学の動物実験倫理委員会で審査され、許可されている。また供血者には十分な説明をして了解を得た上で協力をいただいた。

C. 研究結果

今回、調べたのは CCR5 を使うと推定される 11 の多剤耐性株である。感染価をそろえて活性化 PBMC に感染させた。CXCR4 アンタゴニスト、CCR5 アンタゴニスト、CD4 因子の前処理の効果を p24 産生で比較すると 11 株中 4 株が CCR5

アンタゴニストおよび CD4 因子の抑制感受性を示した。

コントロールに用いた JR-CSF および NL4-3 株は感染 5 日目で 10-20 ng/ml まで p24 値が上昇したが、耐性株の増殖は全てその半分以下であり、一般的に耐性株は感染・増殖性が低いことが示唆された。

CCR5 アンタゴニストおよび CD4 因子の抑制感受性を示した 4 株では、これらの両方の抑制因子による相乗効果は見られなかった。

CCR5 アンタゴニスト非感受性株は、CXCR4 も同時に使う dual tropic である可能性があったので、CXCR4 アンタゴニストと CCR5 アンタゴニストを併用したが、どのウイルスの感染も完全に抑制されることはなかった。

D. 考察：

今回の実験で、調べた 11 株の薬剤耐性 HIV-1 は、CXCR4 は使用せず、うち 4 株のみが CCR5 をある程度利用することが明らかとなった。CCR5 の利用性と CD4 因子に対する感受性は相関していた。11 株のウイルスが CXCR4 および CCR5 以外どの coreceptor を使用するのかを今後検討する必要があるが、これらのウイルスは CCR5 と CXCR4 の使用性が低いことから、臨床的に人へ感染する可能性は低く、また感染者体内で病原性促進にかかわる可能性はある程度低いと考えられる。つまり、これらのウイルスに対しては、感染個体での異常な増殖性を抑制することが主の治療法につながり、CXCR4 および CCR5 アンタゴニスト以外の治療薬または免疫療法を開発する必要があると考えられる。免疫療法の効果に関して不明であるが、これらのウイルスの免疫原性について樹状細胞を用いた hu-PBL-SCID マウス免疫システムで検討したい。

E. 結論

多剤耐性 HIV-1 に対しては、CXCR4 および CCR5 アンタゴニストおよび CD4 因子は期待されたほど効果を示さないことが活性化 PBMC の感染系において明らかとなった。hu-PBL-SCID マウスを用いる in vivo での評価も必要であるが、今後、他の薬剤の開発、および免疫応答による制御を検討することがあると考える

F. 健康危険情報

HIV-1 の感染実験、ウイルスの保管は全て琉球大学医学部で定める感染微生物取り扱い安全管理委員会の規定に基づき、P3 実験施設で行われている。

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) Nimura F, Zhang L, Okuma K, Tanaka R, Sunakawa H, Yamamoto N, and Tanaka Y. Cross-linking cell surface chemokine receptors leads to isolation, activation and differentiation of monocytes into potent DC's. *Exp. Biol. Med.*, 2006, in press.

2. 学会発表

(1) 大隈和, 田中勇悦: サルエイズウイルス感染細胞を特異的に攻撃する新規組換え VSV. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 2005. 11. 20: 横浜.

(2) 芳田剛, 河野祐治, 青木淳, 三浦義治, 田中勇悦, 小柳義夫: 抗 HIV 因子の単離: CXCR4 細胞膜移行阻害分子の同定. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 2005. 11. 20: 横浜

(3) 久保嘉直, 吉居廣郎, 田中勇悦, 佐藤裕徳, 山本直樹: HIV-1 の細胞内侵入におけ

るエズリンの関与. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 2005. 11. 20: 横浜

AIDS 発症遅延要因. 第 19 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2005.12.3: 熊本

- (4) 山下篤哉, 照沼裕, とう学文, 金浩範, MUNKANTA Muwansa, 葛西宏威, 加藤伊陽子, 田中勇悦, 山本直樹, 伊藤正彦: HIV-1 感染長期未発症者由来 CD 8 陽性 T 細胞株の産生する抗 HIV-1 液性因子. 第 53 回日本ウイルス学会学術集会, 2005. 11. 20: 横浜
- (5) 張陰峰, 田中勇悦, 間陽子: Regulation of HIV-1 viron protein expression by Vpr. 第 19 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2005.12.1: 熊本
- (6) 大隈和, 吉田篤司, 田中礼子, 田中勇悦: エイズウイルス感染細胞を標的とし攻撃する新規組換えウイルスベクター. 第 19 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2005.12.2: 熊本
- (7) 吉田篤司, 大隈和, 田中礼子, 山本直樹, 田中勇悦: 不活化 HIV-1 感作樹状細胞免疫と CXCR4 アンタゴニスト投与による R5 および X4 HIV-1 感染防御. 第 19 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2005.12.3: 熊本
- (8) 田中勇悦, 吉田篤司, 大隈和, 田中礼子, 山本直樹: HIV-1 感染防御を目的とする単球のマニピュレーション: 単球の CXCR4, CCR5 架橋を介する HIV-1 受容体の発現抑制と HIV-1 免疫誘導樹状細胞の分化培養. 第 19 回日本エイズ学会学術集会・総会, 2005.12.3: 熊本
- (9) 山下篤哉, 照沼裕, とう学文, 高嶋能文, 花房秀次, 岡慎一, 酒井道生, 白幡聡, 藤井輝久, 石川正明, 高橋義博, 池田柊一, 三浦琢磨, 松田重三, 田中勇悦, 葛西宏威, 加藤伊陽子, 山本直樹, 三間屋純一, 伊藤正彦: T 細胞由来抗 HIV-1 液性因子からみた HIV-1 感染長期未発症者の

H. 知的所有権の出願・取得状況
なし

厚生労働科学研究費補助金（創薬等ヒューマンサイエンス総合研究事業）
分担研究報告書

化合物ライブラリーの供給及び合成、体内動態、代謝、安全性試験の実施

分担研究者 野村 伸彦
富山化学工業株式会社 総合研究所 主幹研究員

研究要旨

約 12000 検体の低分子化合物ライブラリーの評価から得られたヒット化合物（抗 HIV-1 活性： $IC_{50}=0.1 \mu M$ ）の誘導体を合成し抗 HIV 活性の評価を行った。誘導体 101 化合物について検討した結果、置換基の種類と阻害活性に相関が認められると共に優れた活性を示す化合物を見出した（ $IC_{50}:0.0002 \mu M$ ）。今後、更に検討を重ね、新規薬剤としての可能性を見極めていく。

A. 研究目的

これまでに、約 12000 検体の低分子化合物ライブラリーの評価から抗 HIV-1 活性を示すヒット化合物（ $IC_{50}:0.1 \mu M$ ）を見出している。今後、新たな誘導体を合成評価することによって新規薬剤としての可能性を見極めていく。

B. 研究方法

低分子化合物ライブラリーの評価から得られた抗 HIV 活性を有するヒット化合物の誘導体 73 化合物を合成した。また、類縁化合物として購入品又は化合物ライブラリーから 28 化合物を選択した。

上記の化合物に関しては、既に報告しているヒト T 細胞株 HPB-M(a) レポーター細胞を宿主とした HIV-1(HXB2) に対する阻害活性（抗 HIV-1 活性）を指標に化合物の評価を行った。（倫理面への配慮）特になし

C. 研究結果

101 個の誘導体化合物の評価を行った。その結果、母核に関する誘導体 12 化合物に関しては、2 化合物で活性が向上した。また、5 箇所の置換基を変換した誘導体（各々、28, 21, 22, 10, 8 化合物）を合成評価したところ、それぞれ 8, 3, 7, 2, 1, 2 化合物において抗 HIV 活性の向上が確認された。これらの化合物の抗 HIV 活性は、 $0.01 < IC_{50} < 0.1 \mu M$:14 化合物、 $0.001 < IC_{50} < 0.01 \mu M$:6 化合物、 $IC_{50} < 0.001 \mu M$:3 化合物であった。

最も強い抗 HIV 活性を示した化合物の IC_{50} は $0.0002 \mu M$ であった。同化合物は $1 \mu M$ でも

も明確な細胞毒性を示さなかった。

D. 考察

これまでの検討の結果、構造と活性の相関について、幾つかの知見を蓄積できた。今後、合成された誘導体の経口吸収性や体内動態を確認していくと共に、各種安全性試験を実施する予定である。

E. 結論

低分子化合物ライブラリーを評価して得られたヒット化合物から新たに誘導体を合成し、抗 HIV 活性が 500 倍優れた化合物を見出した。今後、類縁化合物の合成並びに評価を進め、新規薬剤としての可能性を見極めていく。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

Yan *et al.* A novel small molecular weight compound with a carbazole structure that demonstrates potent human immunodeficiency virus type-1 integrase inhibitory activity. *Antivir Chem Chemother.* 2005;16: 363-73.

H. 知的財産権の出願・登録状況

特許出願中

III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

| 著者氏名 | 論文タイトル名 | 書籍全体の 編集者名 | 書 籍 名 | 出版社名 | 出版地 | 出版年 | ページ |
|------|-----------------------------|---------------|--------------|------|-----|------|---------|
| 木村廣光 | 免疫寛容とキメリ ズム—過去、現在、 未来 | | 臨床免疫学 (上) | 日本臨床 | 東京 | 2005 | 638-646 |
| | | | | | | | |

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|--|--|--|----|---------|------|
| Hua Yan, Tomoko Chiba Mizutani, Nobuhiko Nomura, Tadakazu Takakura, Yoshihiro Kitamura, Hideka Miura, Masako. Nishizawa, Masashi Tatsumi, Naoki Yamamoto, <u>Wataru Sugiura.</u> | A novel small molecular weight compound with a carbazole structure that demonstrates potent human immunodeficiency virus type-1 integrase inhibitory activity. | Antiviral Chemistry & Chemotherapy | 16 | 363-373 | 2005 |
| T Ueda, L Myint, M Nishizawa, M Matsuda, <u>W</u> <u>Sugiura.</u> | Analysis of interference and co-evolution between protease inhibitor resistant mutations and gag mutations. | Antiviral Therapy | 10 | s116 | 2005 |
| N Hasegawa, <u>W</u> <u>Sugiura,</u> M Matsuda, K Mogushi, H Tanaka, F Ren. | Inference of evolutionary forces driving HIV-1 drug-resistance acquisition under HAART using longitudinal HIV-1 protease gene samples. | Antiviral Therapy | 10 | s114 | 2005 |

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|--|---|---------------|-----|-----------|------|
| Miyauchi K, Komano J, Yokomaku Y, <u>Sugiura W</u> , Yamamoto N, Matsuda Z. | Role of the specific amino acid sequence of the membrane-spanning domain of human immunodeficiency virus type 1 in membrane fusion. | J. Virol. | 79 | 4720-4729 | 2005 |
| K. Shiomi, R. Matsui, M. Isozaki, H. Chiba, T. Sugai, Y. Yamaguchi, R. Masuma, H. Tomoda, T. Chiba, H. Yan, Y. Kitamura, <u>W</u> . <u>Sugiura, S</u> . Omura, H. Tanaka. | Fungal phenalenones inhibit HIV-1 integrase. | J. Antibiot. | 58 | 65-68 | 2005 |
| Hirota Ode, Masami Ota, Saburo Neya, Msayuki Hata, <u>Wataru Sugiura</u> , and Tyuji Hoshino. | Resistant Mechanism against Nelfinavir of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Proteases. | J Phys Chem B | 109 | 564-574 | 2005 |

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|--|---|---|-------|---------|------|
| Joke Snoeck, Rami Kantor, Robert W. Shafer, Kristel Van Laethem, Koen Deforche, Ana Patricia Carvalho, Brian Wynhoven, Marcel A. Soares, Patricia Cane, John Clarke, Candice Pillay, Sunee Sirivichayakul, Koya Ariyoshi, Africa Holguin , Hagit Rudich, Rosangela Rodrigues, Maria Belen Bouzas, Francoise Brun -Vezinet, Caroline Reid, Pedro Cahn, Luis Fernando Brigido, Zehava Grossman, Vincent Soriano, <u>Wataru Sugiura</u> , Praphan Phanuphak, Lynn Morris, Jonathan Weber, Deenan Pillay, Amilcar Tanuri, Richard P.Harrigan, Ricardo Camacho, Jonathan M.Schapiro, David Katzenstein, and Anne-Mieke Vandamme. | Discordances between Interpretation Algorithms for Genotypic of Human Immunodeficiency Virus Are Subtype Dependent. | Antimicrobial Agents and Chemotherapy | 50(2) | 694-701 | 2006 |

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|--|--|---|----|---------|------|
| Rami Kantor, David A. Katzenstein, Brad Efron, Ana Patricia Carvalho, Brian Wynhoven, Patricia Cane, John Clarke, Sunee Sirivichayakul, Marcelo A. Soares, Joke Snoeck, Candice Pillay, Hagit Rudich, Rosangela Rodrigues, Africa Holguin, Koya Ariyoshi, Maria Belen Bouzas, Pedro Cahn, <u>Wataru Sugiura</u> , Vincent Soriano, Luis F. Brigido, Zehava Grossman, Lynn Morris, Anne-Mieke Vandamme, Amilcar Tanuri, Praphan Phanuphak, Jonathan N. Weber, Deenan Pillay, P. Richard Harrigan, Ricardo Camacho, Jonathan M. Schapiro, Robert W. Shafer. | Impact of HIV-1 Subtype and Antiretroviral Therapy on Protease and Reverse Transcriptase Genotype: Results of a Global Collaboration. | Results of a Global Collaboration PLoS Medicine. | 2 | 325-337 | 2005 |
| 杉浦 互 | 抗 HIV-1 薬剤の現状と薬剤 開発の新たな展開 | ウイルス | 55 | 85-94 | 2005 |
| 西澤雅子、杉浦 互 | HIV-1 の薬剤耐性について の最近の知見 | BIO Clinica | 20 | 8 | 2005 |

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|--|------------------------------------|-----|---------|------|
| 杉浦 互 | 新規感染者における薬剤耐性 HIV 拡散の危機~Alert for Outbreak of Drug Resisitance HIV-1 Newly Infected Population~ | 日本エイズ学会誌 | 7 | 117-120 | 2005 |
| 杉浦 互、瀧永博之、田宮貞宏、松田昌和、松見信太郎、蜂谷敦子、John Coffin、満屋裕明 | シンポジウム7.「薬剤耐性の知見、基礎から臨床へ」を終えて | 日本エイズ学会誌 | 7 | 3 | 2005 |
| Shirakawa K, Takaori-Kondo A, Kobayashi M, Tomonaga M, Izumi T, Fukunaga K, Sasada A, Abudu A, Miyauchi Y, Akari H, Iwai K, Uchiyama T | Ubiquitination of APOBEC3proteins by the Vif-Cullin5-ElonginB-ElonginC complex. | Virology | 344 | 263-266 | 2006 |
| Hua Yan, Tomoko Chiba Mizutani, Nobuhiko Nomura, Tadakazu Takakura, Yoshihiro Kitamura, Hideka Miura, Masako. Nishizawa, Masashi Tatsumi, Naoki Yamamoto, Wataru Sugiura. | A novel small molecular weight compound with a carbazole structure that demonstrates potent human immunodeficiency virus type-1 integrase inhibitory activity. | Antiviral Chemistry & Chemotherapy | 16 | 363-373 | 2005 |
| K. Shiomi, R. Matsui, M. Isozaki, H. Chiba, T. Sugai, Y. Yamaguchi, R. Masuma, H. Tomoda, T. Chiba, H. Yan, Y. Kitamura, W. Sugiura, S. Omura, H. Tanaka. | Fungal phenalenones inhibit HIV-1 integrase. | J. Antibiot. | 58 | 65-68 | 2005 |

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|---|------------------------|-------|-----------|------|
| Funeshima N, Fujino M, Kitazawa Y, Hara Y, Hayakawa K, Okuyama T, <u>Kimura H</u> , Li XK | Inhibition of allogeneic T-cell responses by dendritic cells expressing transduced indoleamine 2,3-dioxygenase. | Journal Gene Medicine | 7(5) | 565-75 | 2005 |
| Satoh E, Yan H, Miyagi T, Li XK, Sugiura W, Yamamoto N, Teramoto K, Arie S, <u>Kimura H</u> . | Studies on the most efficient vector systems for gene transduction into dendritic cells. | Transplant Proceeding. | 37(1) | 12-14 | 2005 |
| Katayama H, Hattori Y, Ogata K, Yan H, Satoh E, Teramoto K, Arie S, Kamide R, Nakagawa H, <u>Kimura H</u> . | Phenotype and functional identity of GM-CSF-independent dendritic cells generated by long-term propagation of DC progenitor cells in bone marrow cells and skin Langerhans cells. | Transplant Proceeding. | 37(1) | 17-19 | 2005 |
| Satoh E, Hara Y, Fuji N, Li XK, Teramoto K, Arie S, <u>Kimura H</u> . | Comparison of the vector systems for gene transduction into rat dendritic cells and peritoneal exudate cells. | Transplant Proceeding. | 37(4) | 1953-6 | 2005 |
| Satoh E, Hattori Y, Guo Li XK, Teramoto K, Arie S, <u>Kimura H</u> . | Immuosuppressive effect of long term-term drainage of thoracic duct on immunological memory in adult thymectomized rats. | Transplant Proceeding | 37 | 1947-48 | 2005 |
| Miyauchi K, Komano J, Yokomaku Y, <u>Sugiura W</u> , Yamamoto N, Matsuda Z. | Role of the specific amino acid sequence of the membrane-spanning domain of human immunodeficiency virus type 1 in membrane fusion. | J. Virol. | 79 | 4720-4729 | 2005 |
| <u>Komano J</u> , Futahashi Y, Urano E, Miyauchi K, Murakami T, Matsuda Z, Yamamoto N. | The Interaction of HIV-1 with the Host Factors. | Jpn. J Infect Dis. | 58(3) | 125-30 | 2005 |

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|--|------------------------------------|----------|-----------|------|
| 山本直樹、松田善衛、村上努、駒野淳 | AIDS の新たな治療標的を求めて:HIV-1 の宿主因子 | 実験医学 | 23(13) | 2068-2073 | 2005 |
| Nimura F, Zhang L, Okuma K, Tanaka R, Sunakawa H, Yamamoto N, and <u>Tanaka Y.</u> | Cross-linking cell surface chemokine receptors leads to isolation, activation and differentiation of monocytes into potent DC's. | Exp. Biol. Med. | In press | | 2006 |
| A. Takahashi, J. Inokoshi, H. Chiba, S. Omura and <u>H. Tanaka.</u> | Essential regions for antiviral activities of actinohivin, a sugar-binding anti-human immunodeficiency virus protein from an actinomycete. | Arch. Biochem. Biophys. | 437 | 233-240 | 2005 |
| H. Ui, S. Asanuma, H. Chiba, A. Takahashi, Y. Yamaguchi, R. Masuma, S. Omura and <u>H. Tanaka.</u> | Mycophenolic acid inhibits syncytium formation accompanied by reduction of gp120 expression. | J. Antibiot. | 58 | 514-518 | 2005 |
| Hua Yan, Tomoko Chiba Mizutani, <u>Nobuhiko Nomura,</u> Tadakazu Takakura, Yoshihiro Kitamura, Hideka Miura, Masako Nishizawa, Masashi Tatsumi, Naoki Yamamoto, Wataru Sugiura. | A novel small molecular weight compound with a carbazole structure that demonstrates potent human immunodeficiency virus type-1 integrase inhibitory activity. | Antiviral Chemistry & Chemotherapy | 16 | 363-373 | 2005 |