

200932001A

平成21年度 厚生労働科学研究費補助金
エイズ対策研究事業
課題番号 H19- エイズ- 一般- 001

薬剤耐性 HIV の発生機序とその制御方法 に関する研究

総括・分担研究報告書

平成22年3月

研究代表者 佐藤 裕徳
(国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター・室長)

平成21年度 厚生労働科学研究費補助金
エイズ対策研究事業
課題番号 H19- エイズ- 一般- 001

薬剤耐性 HIV の発生機序とその制御方法 に関する研究

総括・分担研究報告書

平成22年3月

研究代表者 佐藤 裕徳
(国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター・室長)

研究組織

研究者名	分担	所属	役職
佐藤 裕徳	研究代表者	国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター	室長
潟永 博之	研究分担者	国立国際医療センター・エイズ治療研究開発センター	室長
村上 努	研究分担者	国立感染症研究所・エイズ研究センター	室長
西澤 雅子	研究分担者	国立感染症研究所・エイズ研究センター	研究官
遊佐 敬介	研究分担者	国立医薬品食品衛生研究所・生物薬品部ウイルス安全性研究室	室長
上野 貴将	研究分担者	熊本大学・エイズ学研究センター	准教授
足立 昭夫	研究分担者	徳島大学大学院・ヘルスバイオサイエンス研究部	教授
高折 晃史	研究分担者	京都大学医学研究科 血液・腫瘍内科学	講師
増田 貴夫	研究分担者	東京医科歯科大学大学院・医歯学総合研究科	准教授
岡本 尚	研究分担者	名古屋市立大学大学院・医学研究科細胞分子生物学	教授
間 陽子	研究分担者	理化学研究所・分子ウイルス学特別研究ユニット	リーダー
森川 裕子	研究分担者	北里大学・生命科学研究所	教授
櫻木 淳一	研究協力者	大阪大学微生物病研究所・ウイルス感染分野	助教
三隅 将吾	研究協力者	熊本大学大学院 医学薬学研究部薬学生化学分野	准教授
駒野 淳	研究協力者	国立感染症研究所・エイズ研究センター	主任研究官

目 次

I. 総括研究報告書	1
研究代表者：佐藤 裕徳 (国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター)	
II. 分担研究報告書	
1. <i>In silico</i> 構造解析の薬剤耐性研究と複製研究への応用.....	7
研究代表者：佐藤 裕徳 (国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター)	
柱 1. 薬剤耐性 HIV の発生機序に関する研究	
2. HIV 遺伝的多型を考慮した耐性変異パターン予測法の研究.....	11
研究分担者：湯永 博之 (国立国際医療センター・エイズ治療研究開発センター)	
3. CXCR4 阻害剤耐性 HIV-1 の誘導と解析.....	15
研究分担者：村上 努 (国立感染症研究所・エイズ研究センター)	
4. Atazanavir と Lopinavir 治療における耐性変異パターン予測法の研究.....	19
研究分担者：西澤 雅子 (国立感染症研究所・エイズ研究センター)	
5. 治療薬変更を考慮した耐性変異パターン予測の研究.....	23
研究分担者：遊佐 敬介 (国立医薬品食品衛生研究所・生物薬品部ウイルス安全性研究室)	
6. ヒト免疫系の遺伝的多型を考慮した耐性変異パターン予測法の研究.....	27
研究分担者：上野 貴将 (熊本大学・エイズ学研究センター)	
柱 2. HIV 感染・増殖制御の研究	
7. HIV 種特異性と動物モデルの研究.....	33
研究分担者：足立 昭夫 (徳島大学大学院・ヘルスバイオサイエンス研究部)	
8. APOBEC3G の調節過程を標的とする新たな HIV 複製制御法の研究.....	37
研究分担者：高折 晃史 (京都大学大学院・医学研究科・血液・腫瘍内科学)	
9. HIV ゲノムの逆転写および組み込み過程の新規制御機構.....	41
研究分担者：増田 貴夫 (東京医科歯科大学大学院・免疫治療学分野)	
10. Histone H3 Lys9 (H3K9) ジメチル化酵素 G9a による HIV 潜伏感染の維持機構.....	45
研究分担者：岡本 尚 (名古屋市立大学大学院・医学研究科・細胞分子生物学)	
11. HIV-1 Vpr 機能の調節過程を標的とする新たな HIV-1 制御法の研究.....	51
研究分担者：間 陽子 (理化学研究所・分子ウイルス学特別研究ユニット)	
12. HIV CA を標的とするアセンブリー阻害剤.....	55
研究分担者：森川 裕子 (北里大附生命科学研究所・ウイルス感染制御学教室)	

III. 協力研究報告書

1. HIV ゲノム二量体化と組換えに関する解析.....	59
研究協力者：櫻木 淳一 (大阪大学微生物病研究所 ウイルス感染制御分野)	
2. HIV 脱殻過程に関する研究.....	63
研究協力者：三隅 将吾 (熊本大学大学院・医学薬学研究部・薬学生化学分野)	
3. 薬剤耐性 HIV の制御方法における新規薬剤標的としての SEC14L1a C 末ドメイン の評価.....	67
研究協力者：駒野 淳 (国立感染症研究所・エイズ研究センター)	
IV. 業績一覧 (2009)	73

I. 総括研究報告書

研究課題：薬剤耐性 HIV の発生機序とその制御方法に関する研究

課題番号：H19- エイズ- 一般- 001

研究代表者：佐藤裕徳（国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター 室長）

研究分担者：瀧永博之（国立国際医療センターエイズ治療・研究開発センター 室長）、遊佐敬介（国立医薬品食品衛生研究所 室長）、上野貴将（熊本大学エイズ学研究センター 准教授）、村上努（国立感染症研究所エイズ研究センター 室長）、西澤雅子（国立感染症研究所エイズ研究センター 研究官）、増田貴夫（東京医科歯科大学大学院医歯学総合研究科 准教授）、岡本尚（名古屋市立大学医学研究科 教授）、高折晃史（京都大学大学院医学研究科 講師）、足立昭夫（徳島大学大学院ヘルスバイオサイエンス研究部 教授）、間陽子（理化学研究所 ユニットリーダー）、森川裕子（北里大学北里生命科学研究所 教授）

研究要旨：引き続き12名の研究者で薬剤耐性 HIV の発生機序とその制御方法に関する情報を収集した。研究代表者は、*in silico* 立体構造解析の技術を用いて HIV-1 の NNRTI 耐性度を予測するシステムをつくり、変異 HIV-1 の NNRTI 耐性度と耐性発現機構を明らかにした。変異やリン酸化による蛋白質立体構造の変化を特定し、分担研究や国内外の HIV 増殖研究に役立てた。研究分担者は、耐性誘導実験により、耐性変異の種類と発生様式（HIV 遺伝的多型による耐性獲得、CXCR4 阻害剤への耐性獲得、Atazanavir と Lopinavir への耐性獲得、治療薬変更後に生じる耐性変異、薬剤治療と CTL 逃避など）に関する新情報を収集した。また、HIV の増殖制御機構を解析し、HIV のサルへの適応進化、APOBEC3G の機能調節、HIV ゲノムの逆転写と転写の制御、HIV-1 Vpr の機能調節、HIV CA の機能調節などに関する新知見を収集した。本研究により、薬剤耐性 HIV の検出、耐性発生機序の理解、抗 HIV 薬開発、HIV/HIV/AIDS 動物モデルの構築に不可欠の基盤情報を得た。

1. 研究目的

薬剤耐性 HIV の発生と蔓延は、多剤併用療法（highly active anti-retroviral therapy: HAART）の効果を減弱させる。本研究では、先端技術を取り入れて、薬剤耐性 HIV の発生機序と増殖制御方法に関する情報を収集する。得られる成果は薬剤耐性 HIV の監視と制御の情報基盤となる。

2. 研究方法

研究代表者は、HIV 遺伝子の塩基配列と蛋白質立体構造をバイオインフォマティクス的手法を用いて解析し、HIV の薬剤耐性と増殖の研究に応用する。研究分担者は、2つの研究項目（柱1. 薬剤耐性 HIV の発生機構の研究、柱2. 薬剤耐性 HIV の制御の研究）について情報の収集と解析を行なう。

研究代表者（佐藤）

in silico 構造解析の手法を用いて、薬剤耐性度の迅速予測法をつくる。変異による HIV の表現形の変化を支える蛋白質構造を特

定する。次世代シーケンサーを用いて感染者の HIV 変異集団（準種）を包括的に解析する系を作る。

研究分担者（11名）

1. 柱1では、耐性誘導実験や感染者体内の HIV の遺伝子解析等で新たな耐性変異の情報を収集する。耐性 HIV の発生機序を明らかにする。薬剤耐性 HIV の検出、治療薬選択の最適化、新たな治療薬の設計等の研究基盤をつくる。（瀧永、西澤、村上、遊佐、上野）。

2. 柱2では、最新の手法で HIV 増殖の分子機構を明らかにする。HIV/AIDS のサルモデルを構築する。耐性 HIV の感染・増殖を阻害する新たな抗 HIV 薬の開発と評価の研究基盤をつくる。（足立、増田、岡本、高折、間、森川）。

（倫理面への配慮）

ヒト由来臨床材料を使う研究は、関連機関の倫理審査会の承認を得て、提供者本人に十分な説明を行い、承諾を得た上で行った。動

物実験は、研究機関の倫理審査会の審議を受け、承認を得て行った。組換え DNA 実験は、実験を実施する研究機関の承認を得て行った。

3. 研究結果

研究代表者 (佐藤)

(1) 薬剤耐性予測: 薬剤耐性 HIV の多くは、ゲノム変異により薬剤標的分子 (逆転写酵素とプロテアーゼ) の構造が変化し、薬剤親和性が低下して発生すると推察される。そこで、瀧永らと共同で、ウイルスの変異情報を基に RT の構造変化を解析し、薬剤親和性の変化を計算することで NNRTI 耐性度を予測する *in silico* 耐性予測法の構築を試みた。耐性変異の公共データベースより、NNRTI 耐性変異と耐性度の情報を収集した。種々の変異について個別に RT/NNRTI 複合体構造モデルを作り、野生株複合体との結合エネルギーの差を求めた。結合エネルギー差の予測値は、データベースに記載されたウイルスの NNRTI 耐性度と逆相関することを見出した。この相関図を用いれば、任意の変異について逆転写酵素/NNRTI 複合体の結合エネルギーを求めることにより、NNRTI 耐性度を迅速に予測できる。

(2) NNRTI 耐性発現機構の解析: 国立国際医療センターの瀧永らは、未治療 HIV-1 の RT 配列に V106I と V179D 変異が頻出すること、両変異が同時に生じると第 1 世代 NNRTI (EFZ、NVP) の耐性が発現すること、第 2 世代 NNRTI (ETV) には耐性を付与しないことを見つけた (本研究報告書「柱 1-2. HIV 遺伝的多型を考慮した耐性変異パターン予測法の研究」の項参照)。この現象の分子機序を調べた。V106I/V179D 変異により、EFZ と NVP への静電的および物理的反発力が昂進して RT 親和性が低下すること、ETV は、変異に応じて自身の構造を変化させて RT 親和性を維持することを見出した。薬剤構造の柔軟性はウイルス変異に対処するための有力な物性であることが判明した。

(3) HIV 増殖の分子機構: *In silico* 構造解析を分担研究や国内外の HIV 増殖研究に役立てた。変異による病原体の薬剤感受性、抗原性、感染性、増殖能、病原性などの変化

をもたらす分子構造の変化を速やかに特定した。

(4) 準種解析: 次世代シーケンサー (ロッシュ社 FLX 454) を用い、血液試料より、1 回のシーケンシングで ~3 億塩基のウイルスゲノム情報を取得するシステムを作った。年度内に、感染者の HIV 準種の解析には至らなかった。

研究分担者

1. 薬剤耐性 HIV の発生機構の研究 (柱 1)

(1) HIV 遺伝的多型の組み合わせによる耐性獲得 (瀧永): 未治療感染者体内に出現する変異の組み合わせで耐性が発生することを見出した。逆転写酵素の多型的変異 V106I または V179D は、単独では耐性に関与しない。どちらかの変異を持つ HIV-1 を efavirenz 存在下で増殖させ、耐性を誘導した。V106I を持つ HIV-1 から V179D が、V179D を持つ HIV-1 から V106I が出現した。V106I と V179D の両方を持つ HIV-1 は第 1 世代 NNRTI (efavirenz と nevirapine) に耐性を示した。一方、第 2 世代 NNRTI の etravirine には感受性であった。構造解析により理由を明らかにした。すなわち、etravirine は変異に応じて自身の構造を柔軟に変化させて結合親和性を維持できた。薬剤構造の柔軟性はウイルス変異に対処するための有力な物性と考えられる。

(2) Darunavir 耐性の誘導 (西澤): サルベージ療法用のプロテアーゼ阻害剤 Darunavir は、*in vitro* での耐性誘導が難しく、耐性変異の情報が少ない。M46I, I54V, V82F, L90M 変異を持ち Amprenavir, Lopinavir, Atazanavir 3 剤に耐性を示す HIV 株を用いて Darunavir の耐性誘導を行い、4 剤全てに耐性を示す株を得た。この株は、プロテアーゼ領域に新たに V32I または D30N 変異を持っていた。

(3) CXCR4 阻害剤耐性の誘導 (村上): 経口投与可能で CXCR4 機能を特異的に阻害する活性を持つ KRH3955 の抗 HIV 作用を調べた。CXCR4 の変異導入解析等により、KRH3955 は、AMD3100 とは異なる部位に結合すると推察された。KRH3955 は、HIV-1 の臨床分離株と既知の薬剤耐性株に高い抗ウイルス活性を示した。

(4) 治療薬変更時の HIV 準種 (遊佐): 治療変更前の HIV 感染者由来のプロテアーゼを網羅的にクローニングし、HI ウイルスライブラリーを作った。これを CD4⁺T 細胞に感染させ、プロテアーゼ阻害剤存在下で 1 週間培養して耐性ウイルスを選択した。二例中一例で、実際の治療の結果生じた変異の種類と一致した。治療薬変更前に耐性ウイルスがマイナー準種として存在し、薬剤の選択圧下で優勢になったと推察できる。

(5) 薬剤治療が CTL 逃避変異獲得に及ぼす影響 (上野): 約 100 名の HIV 感染者 (未治療および HAART、経時的) の血漿注の HIV 遺伝子配列を解析した。ウイルス蛋白質で認められた変異、感染者の HLA クラス I アリル、CTL 応答、薬剤投与歴との関連を解析した。薬剤耐性変異として知られている部位と CTL 逃避変異が直接的に重なり合う結果は観察できなかった。薬剤治療の有無で、CTL 逃避変異パターンに大きな差が認められなかったことから、CTL 逃避変異獲得に薬剤治療は影響しないものと考えられた。

2. 薬剤耐性 HIV の制御の研究 (柱 2)

新たな抗 HIV 薬の開発と評価に不可欠な HIV 増殖機構の新知見を収集し、動物モデルの開発を進めた。

(1) HIV 種特異性の発現機構 (足立): HIV-1 は極めて宿主域が狭く、感染・発症動物モデルがない。霊長類の HIV-1 感染モデルの開発と実用化をめざす。昨年度に報告したサル指向性 HIV-1 を試験管内改変または細胞馴化により改良した。Vif とキャプシドの人為的改変により、カニクイザル個体に持続感染する能力を持つウイルス (CXCR4 指向性 MN4-5S) を得た。さらに、キャプシド内に変異をもち増殖能が昂進した CXCR4 指向性 MN4Rh-3、および CCR5 指向性株 MN5Rh-3 を得た。HIV-1 の宿主域を決定する主要なウイルス因子はキャプシドと Vif であることが明確となった。HIV-1 ゲノム改変を行いつつ、MN4Rh-3 のカニクイザルへの感染実験を実施する予定でいる。

(2) APOBEC3G 機能の調節機構 (高折): 細胞の抗ウイルス蛋白質 APOBEC3G (A3G) は、シトシンをウラシルに変換してウイルスゲノム情報を攪乱し、感染性粒子の産生を阻害する。HIV の Vif 蛋白質はヒト A3G に結合し

て分解を促すため、HIV はヒトで増殖できる。しかし、A3G は、Thr32 のリン酸化で Vif 耐性となり、抗ウイルス活性を維持することを見出した。*In silico* 構造解析により、Thr32 リン酸化で Thr32 と Arg24 の側鎖間の静電的引力が増強し、Vif 結合表面の柔軟性が減じることがわかった。即ち、リン酸化による蛋白質表面の柔軟性の低下で Vif 結合能が減弱し、Vif 耐性になると推察された。この知見は、変異導入解析の結果と良く一致した。

(3) HIV ゲノム逆転写の調節機構 (増田): HIV-1 インテグラーゼが宿主蛋白質 Gemin2 との相互作用を介してウイルスゲノムの逆転写反応を促進し、ウイルスの複製を制御することを見出した。Gemin2 は逆転写酵素とウイルス RNA の結合安定性を増強した。インテグラーゼと Gemin2 の結合を阻害するインテグラーゼ配列由来の合成ペプチドは、逆転写反応を濃度依存的に阻害し、HIV-1 複製も抑制した。

(4) HIV ゲノム情報の転写の調節機構 (岡本): HIV の転写は Tat による正の転写制御以外に、宿主由来の複数の転写調節因子によって正負両方向に制御されている。HIV プロウイルス LTR TATA ボックスのすぐ下流に転写因子 AP-4 の結合部位を見いだした。AP-4 は TATA ボックスへの TBP (TFIID) の結合を抑制し HDAC をリクルートすることによって HIV 転写を抑制することを示した。歯周病菌起因菌 *Porphyromonas gingivalis* が HDAC 阻害活性のある酪酸を産生し、複数の HIV 潜伏感染細胞株からの HIV 産生を誘導することを見出した。酪酸は腸内細菌で産生されることから、体内の HIV の増殖の場と推察される消化管で HIV 複製の活性化がおきている可能性がある。

(5) HIV Vpr 機能の調節機構 (間): HIV-1 Vpr が、宿主蛋白質 Imp α との相互作用を介して自身の核移行を促進し、ウイルスの複製を制御することを見出した。Vpr と Imp α の結合能を定量的に測定する ELISA 法を作り、天然化合物ライブラリーの約 2000 種類の化合物に対して結合阻害試験を行い、49 種の結合阻害分子を得た。このうち 1 種は細胞毒性が低く、かつ HIV-1 のマクロファージでの複製を阻害した。これをリード化合物として構造改変を行ない、マクロファージでの HIV-1

複製の IC₅₀ が 1nM の化合物を得ることに成功した。

(6) HIV Gag の輸送と膜集合の調節機構 (森川) : Efavirenz (EFV) には、HIV-1 の成熟を促進する活性がある。この作用機序を解析した。EFV は Pol 前駆体とそのプロセシング産物 (RT, PR-RT, Pol) の二量体化を促進した。FRET 解析により、GagPol 蛋白質の二量体化は主に形質膜でおこること、EFV によりその二量体化が増強することが明らかとなった。EFV は GagPol 蛋白質の二量体化を促進するため、PR の二量体化促進、プロセシング促進につながると推測される。PR や GagPol の二量体化を促進は、非感染性ウイルスの産生につながる。二量体化を促進する化合物にも抗 HIV 活性が期待できる。

研究協力者

HIV ゲノムの二量体化 (櫻木) : HIV ゲノムの二量体化とウイルス粒子成熟の進行は完全には同調しないこと、ゲノム二量体は p2/NC 間の切断で一気安定化することを見いだした。HIV 脱殻機構 (三隅) : HIV キャプシド蛋白質の Ser16 のリン酸化、および細胞のイソメラーゼ Pin1 との相互作用が脱殻を誘導することを示唆した。

HIV 増殖制御法 (駒野) : ヒト SEC14L1a 蛋白質の C 末領域は、HIV エンベロープ蛋白質の粒子への取り込みを阻害することで HIV の複製を阻害することを見いだした。

4. 考察

コンピュータを用いた構造解析は、ウイルスの性質 (薬剤逃避能、感染力、増殖能、細胞指向性、免疫逃避能等) を支える分子構造、並びに変異・修飾による構造変化を迅速に特定する上で極めて有用であることがわかった。自然界で出現する変異ウイルスの表現型 (形と性質) の変化を速やかに把握する際に不可欠の解析手法となると考えている。

現行の薬剤耐性 HIV の検出法には一定の限界がある。HIV 遺伝子の一次配列情報を基に耐性変異を検出する手法 (genotype assay) は、既知の耐性変異しか検出できない。このため体内の HIV のゲノムに絶えず出現する未報告の変異の影響はわから

ない。また、HIV 薬剤感受性を直接測定する手法 (phenotype assay) は、時間、労力、費用がかかる。本研究で、薬剤標的分子の構造情報に基づく予測法を検討した。その結果、未報告の変異による NNRTI 耐性の発生とその分子機序を迅速に予測することができた。NNRTI については、ゲノム情報を入手すれば、任意のウイルスの耐性度を概ね予測できると考えている。現行の薬剤耐性 HIV の検出法を補完するのに役立つ。NNRTI 以外の耐性予測は今後の課題として残された。

5. 自己評価

1) 達成度について

60-90%の達成度。予算減のもと概ね達成された。研究代表者の準種解析、柱1、柱2の分担研究の一部は、到達目標を達成できなかった。研究費の削減が一因となっている。

2) 研究成果の学術的・国際的・社会的意義について

学術的・国際的意義は、欧文論文の報告状況により自明。成果は薬剤耐性の検出、治療薬選択の最適化、新たな治療薬の設計等に役立ち、社会に貢献する。

3) 今後の展望について

本研究で新たに得られた情報 (耐性変異、耐性機構、複製機構等の新発見) は、薬剤耐性の検出、治療薬選択の最適化、新たな治療薬の設計等に役立てる。コンピュータを用いた構造解析は汎用性が高く、疫学やウイルス学研究に応用する。HIV 準種の解析は、今後の課題とする。

6. 結論

未報告の薬剤耐性変異を複数特定した。HIV の NNRTI 耐性度を予測するシステムを作り、HIV の薬剤耐性の発現機構を明らかにした。蛋白質の変異や修飾による構造変化を特定するシステムを作り、ウイルス増殖制御の分子機構を種々特定した。HIV/AIDS のサルモデルの構築が進んだ。血液より、1回のシーケンシングで~300億塩基のウイルスゲノム情報を取得するシステムを作った。HIV の準種解析は、今後の課題として残った。

7. 知的所有権の出願・取得状況 (予定

を含む)

岡本 尚: HIV 増殖抑制剤、特願 2009-254740

間陽子: ①ヒト免疫不全ウイルス感染阻害

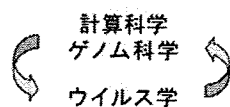
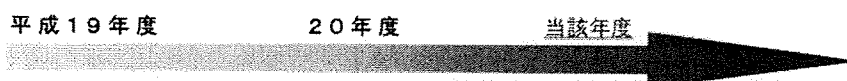
剤およびエイズの治療薬または予防薬、特

願 2008-087297、②Vpr タンパク質の検出方

法及び検出用試薬、特願 2009-158179

薬剤耐性HIVの発生機序とその制御方法に関する研究

研究代表者: 佐藤 裕徳 (国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター)



厚生労働省のエイズ対策研究事業において、薬剤耐性HIVを監視し、制御するための科学的基盤をつくる

研究組織と役割分担

研究代表者:
・研究企画・総括
・境界領域研究
・分担研究支援

研究分担者(11名)
研究協力者(3名)
・柱1. 薬剤耐性研究
・柱2. 複製研究

研究概要

・境界領域研究を実施し、分担研究を支援する。
・蛋白質の立体構造とその変化の情報を比較的短時間に取得する方法を研究し、構造情報を提供する。
・感染者体内のウイルス準種 (HIV変異集団) の実態を包括的に解析するシステムの構築を試みる。

柱1. 耐性変異の種類と発生様式の情報を収集・解析し、耐性ウイルスの発生機序を明らかにすることで、耐性ウイルス監視の基礎を作る。
柱2. 細胞でのHIV複製機構を明らかにし、抗HIV薬開発とHIV/AIDS動物モデル構築を進めることで、耐性ウイルス制御の基礎を作る。

II. 分担研究報告書

厚生労働科学研究費補助金（エイズ対策研究事業）
分担研究報告書

In silico 構造解析の薬剤耐性研究と複製研究への応用

研究分担者 佐藤裕徳（国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター）
研究協力者 大出裕高、横山勝、本村和嗣（同上）
 瀧永博之（国立国際医療センター エイズ治療・研究開発センター）

研究要旨 *In silico* 構造解析の技術を用い、HIV-1 の非核酸系逆転写酵素阻害剤 (NNRTI) への耐性度を予測するシステムを作った。変異 HIV-1 の NNRTI への耐性度と耐性発現の分子機序を明らかにした。変異やリン酸化による蛋白質立体構造の変化を特定し、分担研究や国内外の HIV 増殖研究に役立てた。*In silico* 構造解析を従来の解析技術と組み合わせることで、複製研究を含む幅広い研究分野について解析と効率が飛躍的に向上することを示した。血液試料から 1 回のシーケンシングで ~3 億塩基のウイルスゲノム情報 (約 400 塩基長/リード) を取得するシステムを作った。感染者の HIV 準種の包括的解析には至らず、今後の課題とする。

A. 研究目的

薬剤耐性 HIV の発生と蔓延は、HARRT の効果を減弱させる。科学的根拠に立脚した対策を講じるには、薬剤耐性 HIV に関する情報の収集と解析が不可欠である。研究代表者は、*in silico* 構造解析の技術を用いて、薬剤耐性度の迅速予測法をつくる。変異による HIV の薬剤感受性、感染性、増殖能などの変化をもたらす分子構造の変化を特定する。分担研究を支援する。次世代シーケンサーを用いて感染者の HIV 変異集団 (準種) を包括的に解析する。

B. 研究方法

HIV 遺伝子の塩基配列と蛋白質の立体構造をコンピュータを用いて解析する。

1. 立体構造解析: HIV の薬剤耐性予測法の構築、および変異やリン酸化による蛋白質の立体構造変化の特定には、ホモロジーモデリング法、結合シミュレーション法、分子動力学法などを用いた。解析には、高性能解析用サーバに設置した立体構造解析用ソフトウェア (MOE, Amber など) を用いた。

2. 準種解析: 感染者の臨床試料中に存在する変異ウイルス群 (準種) のゲノム情報の取得には、FLX 454 (ロッシュ社) シーケンシングシステムを用いた。配列の編集と解析には、Web 上で入手できる解析ツールと独自に作製した解析ツールを用いた。

(倫理面への配慮)

ヒト血液を使う研究は、関連機関の倫理審査会の承認を得て、提供者本人に十分な説明を行い、承諾を得た上で行った。動物実験と組換え DNA 実験は行わなかった。

C. 研究結果

1. 立体構造解析

(1) NNRTI 耐性予測法の構築

NNRTI 耐性 HIV の多くは、変異により逆転写酵素 (RT) の構造が変化し、薬剤親和性が低下して発生すると推察される。そこで、ウイルスの変異情報を基に RT の構造変化を解析し、薬剤親和性の変化を計算することで NNRTI 耐性度を予測する *in silico* 耐性予測法の構築を試みた。耐性変異の公共データベース (スタンフォード大 HIV Drug Resistance Database : <http://hivdb.stanford.edu/>) より、NNRTI 耐性変異と耐性度の情報を収集した。種々の変異について個別に RT/NNRTI 複合体構造モデルを作り、野生株複合体との結合エネルギーの差を求めた。結合エネルギー差の予測値は、データベースに記載されたウイルスの NNRTI 耐性度と逆相関することを見出した。この相関直線を用いれば、任意の変異について逆転写酵素/NNRTI 複合体の結合エネルギーを求めることにより、NNRTI 耐性度を迅速に予測できる。

国立国際医療センターの潟永らは、未治療 HIV-1 の RT 配列を解析し、V106I と V179D 変異が頻出すること、両変異が同時に生じると第 1 世代 NNRTI (EFZ、NVP) の耐性が発現すること、第 2 世代 NNRTI (ETV) には耐性を付与しないことを見つけた(本研究報告書「柱 1-2. HIV 遺伝的多型を考慮した耐性変異パターン予測法の研究」の項参照)。上で構築した耐性予測系により、V106I と V179D 変異が組合わさると EFZ と NVP の結合エネルギーが減少すること、一方 ETV では変化は認められないことがわかった(図 1)。

(2) NNRTI 耐性発現機構の解析

上の現象の分子機序を調べた。V106I/V179D 変異により、EFZ と NVP への静電的および物理的反発力が昂進して RT 親和性が低下すること(図 2)、ETV は、変異に応じて自身の構造を変化させて RT 親和性を維持することを見出した。薬剤構造の柔軟性はウイルス変異に対処するための有力な物性であることが判明した。NNRTI の改良に役立つ情報が得られた。

(3) HIV-1 や RNA ウイルスの増殖研究への応用

In silico 構造解析系を用いて、研究分担者や国内外の研究者と共同研究を進めた。(i) 変異による HIV-1 の Trim5 α 感受性変化と関連する CA 二量体安定性の変化(Medical Research Council Laboratories : Matthew Cotton、阪大微研 : 塩田達夫)、(ii) リン酸化や変異による APOBEC の機能制御と関連する分子構造変化(京大)、(iii) 変異による HIV-1 のサル細胞への適応進化と関連する分子構造変化(徳島大 : 足立昭夫)、変異によるカリシウイルスプロテアーゼの基質認識変化と関連する分子構造変化(感染研 : 岡智一郎)、などを特定した。

2. 準種解析

血液試料から 1 回のシーケンシングで ~3 億塩基のウイルスゲノム情報(約 400 塩基長/リード)を取得するシステムを作った。感染者の HIV 準種の検討には至らなかった。

D. 考察

昨年度の報告で、*in silico* 構造解析系は、高い精度と汎用性をもつことを示した。この系を HIV-1 の薬剤耐性研究に応用した。

その結果、逆転写酵素/NNRTI 複合体の結合エネルギーを求めることにより、変異をもつ逆転写酵素の NNRTI 耐性度を迅速に予測する耐性予測法を構築することに成功した。従来の薬剤耐性 HIV 検出法(既知の耐性変異の種類を特定する genotyping 法、感染性ウイルスを用いる薬剤感受性試験)と併用することで、薬剤耐性 HIV の検出感度と迅速性が向上すると期待される。

また、*in silico* 構造解析系を HIV-1 の増殖研究に応用した(研究分担者や国内外の研究者との共同)。変異による分子構造変化を比較的短時間に解析することが可能で、病原体の薬剤感受性、抗原性、感染性、増殖能、病原性などの変化を支える分子構造を速やかに把握するのに役立つことを示した。実験による構造機能解析やウイルスの表現型の解析と併用することで、病原性ウイルスの構造、機能、変異の研究が効率的に進むと期待される。

準種解析研究は、予定通りに進まなかった。血液試料中の HIV ゲノム情報の網羅的収集のめどはついたが、感染者のウイルスの解析に応用して新たな発見をするには至らなかった。主に技術的な問題と資金的な問題に因る。次年度以降の課題としたい。

E. 結論

In silico 構造解析の技術を従来の解析技術と組み合わせることで、HIV-1 の薬剤耐性の分子機序を明らかにし、耐性予測法を構築することができた。さらに複製研究を含む幅広い研究分野について解析と効率が飛躍的に向上することを示した。準種解析法の確立は、今後の課題である。

F. 知的所有権の取得状況

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Onyango C, Leligdowicz A, Yokoyama M, Sato H, Song H, Nakayama EE, Shioda T, de Silva T, Townend J, Jaye A, Whittle H, Rowland-Jones S and Cotton M. HIV-2 Capsids Distinguish High and Low Virus Load Patients in a West African Community Cohort. *Vaccine (in press)*.
- 2) Gatanaga H, Ode H, Hachiya A, Hayashida

T, Sato H, Oka S. Combination of V106I and V179D Polymorphic Mutations in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase Confers Resistance to Efavirenz and Nevirapine but not to Etravirine. **Antimicrob Agents Chemother**. 2010 Feb 1. [Epub ahead of print]

- 3) Yokoyama M, Mori H, Sato H. Allosteric Regulation of HIV-1 Reverse Transcriptase by ATP for Nucleotide Selection. **PLoS One**. 2010 Jan 25;5(1):e8867.
- 4) Oka T, Yokoyama M, Katayama K, Tsunemitsu H, Yamamoto M, Miyashita K, Ogawa S, Motomura K, Mori H, Nakamura H, Wakita T, Takeda N, Sato H. Structural and biological constraints on diversity of regions immediately upstream of cleavage sites in calicivirus precursor proteins. **Virology**. 394:119-29, 2009.
- 5) Sahbandar IN, Takahashi K, Djoerban Z, Firmansyah I, Naganawa S, Motomura K, Sato H, Kitamura K, Pohan HT, Sato S. Current HIV type 1 molecular epidemiology profile and identification of unique recombinant forms in Jakarta, Indonesia. **AIDS Res Hum Retroviruses**. 25:637-46, 2009.
- 6) Kamiyama H, Yoshii H, Tanaka Y, Sato H, Yamamoto N, Kubo Y. Raft localization of CXCR4 is primarily required for X4-tropic human immunodeficiency virus type 1 infection. **Virology**. 386:23-31, 2009.

2. 学会発表等

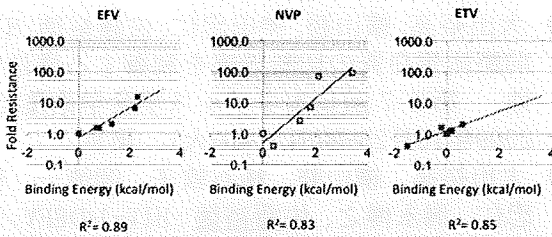
- 1) 大出裕高、横山勝、蜂谷敦子、岡慎一、神田忠仁、瀧永博之、佐藤裕徳 : HIV-1逆転写酵素V106I/V179D変異によるNNRTI活性変化の分子機序. 第23回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009年11月26日(木)~28日(土), 名古屋.
- 2) 大出裕高、横山勝、神田忠仁、佐藤裕徳 : HIV-1前駆体蛋白質切断部位の構造特性と切断効率の関連. 第23回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009年11月26日(木)~28日(土), 名古屋.
- 3) 横山勝、大出裕高、野間口雅子、神田忠仁、足立昭夫、佐藤裕徳 : HIV-1 Env V3ループ構造の安定性を制御するアミノ酸. 第23回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009年11月26日(木)~28日(土), 名古屋.
- 4) 野間口雅子、土肥直哉、藤原佐知、三宅在子、横山勝、大出裕高、佐藤裕徳、足立昭夫 : サル指向性HIV-1の細胞馴化による増殖適応変異の解析. 第23回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009年11月26日(木)~28日(土), 名古屋.
- 5) Ivo N Sah Bandar、高橋清実、本村和嗣、長縄聡、北村勝彦、佐藤裕徳、佐藤成大 : Analysis of near full-length genome sequences of CRF33_01B from Indonesian patients. 第23回日本エイズ学会学術集会・総会, 2009年11月26日(木)~28日(土), 名古屋.
- 6) 大出裕高、横山勝、神田忠仁、佐藤裕徳 : HIV-1前駆体蛋白質の切断効率を制御する構造特性. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日(日-火)、東京.
- 7) 大出裕高、横山勝、蜂谷敦子、岡慎一、神田忠仁、瀧永博之、佐藤裕徳 : HIV-1のEFV/NVP耐性獲得とETVの抗HIV活性維持の分子機序. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日(日-火)、東京.
- 8) 横山勝、大出裕高、野間口雅子、神田忠仁、足立昭夫、佐藤裕徳 : HIV-1 Env V3ループ構造の安定性を制御するアミノ酸. 第57回日本ウイルス学会学術集会ワークショップ, 2009年10月25-27日(日-火)、東京.
- 9) 野間口雅子、土肥直哉、藤原佐知、三宅在子、横山勝、大出裕高、佐藤裕徳、足立昭夫 : HIV-1 Envの1アミノ酸変異による増殖促進機構の解析. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日(日-火)、東京.
- 10) 久保嘉直、吉居廣朗、神山陽香、田中勇悦、佐藤裕徳、山本直樹 : カテプシンB抑制因子によるCD4非依存性HIV-1感染の促進. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日(日-火)、東京.
- 11) 神山陽香、田中勇悦、佐藤裕徳、山本直樹、久保嘉直 : HIV-1感染における標的細胞中のエズリン・リン酸化の重要性. 第57回日本ウイルス学会学術集会, 2009年10月25-27日

(日-火)、東京。

- 12) 本村和嗣、横山勝、大出裕高、中村浩美、守宏美、岡智一郎、片山和彦、神田忠仁、田中智之、武田直和、Norovirus Surveillance Group、佐藤裕徳：ノロウイルスGII/4ゲノムとキャプシド構造の自然界での進化。第57回日本ウイルス学会学術集会、2009年10月25-27日(日-火)、東京。
- 13) 横山勝、岡智一郎、片山和彦、遠矢幸伸、神田忠仁、武田直和、佐藤裕徳：マウスとヒトのノロウイルスの酵素の構造類似性。第57回日本ウイルス学会学術集会、2009年10月25-27日(日-火)、東京。

- 14) Gatanaga H., Ode H., Hachiya A., Hayashida T., Sato H. and Oka S. NNRTI resistance mutations and etravirine. The 10th Kumamoto AIDS Seminar. Kumamoto, Japan, 2009.
- 15) Onyango C, Leligowicz A, Yokoyama M, Sato H, Song H, Nakayama E, Shioda T, Townend T, Jaye A, Whittle H, Rowland-Jones S and Cotton M. HIV-2 Capsids Distinguish Patients with High or Low Virus Loads in a West African Community Cohort. 16th HIV Dynamics and Evolution, April 4-7 2009, Oxford, UK.

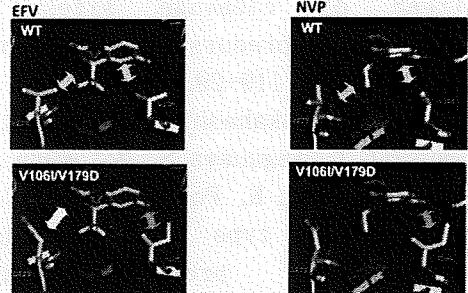
モデルの妥当性の検証



「予測モデルより算出した結合親和性」と「耐性度」の間に相関あり

EFV/NVP耐性を支える分子構造

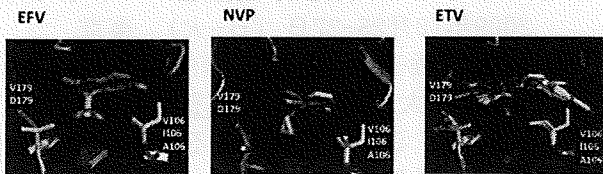
変異による静電的反発力と立体障害の相乗効果



凡骨(疎水的相互作用の消失)、
+立体障害

疎水的相互作用の低下+立体障害

なぜV106I/V179Dでも、ETVは非耐性か？

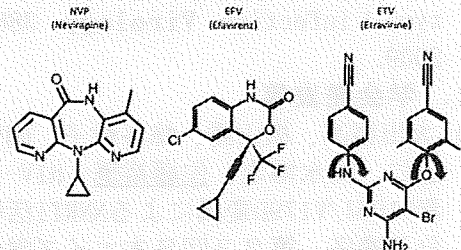


106、179のアミノ酸が変異しても
NVP、EFVの構造は、ほとんど変化しない

106、179のアミノ酸変異に伴いETVの構造・結合配置
が変化し、親和性を保つ

白: WT、黄: V106A、緑: V106I、オレンジ: V179D、紫: V106A/V179D、シアン: V106I/V179D

ETVの可塑性を支える分子構造



分担研究報告書

HIV 遺伝的多型を考慮した耐性変異パターン予測法の研究

分担研究者 瀧永博之 国立国際医療センター エイズ治療・研究開発センター 治療開発室長
研究協力者 蜂谷敦子 国立国際医療センター エイズ治療・研究開発センター 臨床検査技師
林田庸総 国立国際医療センター エイズ治療・研究開発センター リサーチレジデント
大出裕高 国立感染症研究所病原体ゲノム解析センター
佐藤裕徳 国立感染症研究所病原体ゲノム解析センター

研究要旨 逆転写酵素の多型的変異である V106I (106 番目のアミノ酸が Val から Ile に置換した変異) と V179D は、それぞれ単独では有意な薬剤耐性をもたらさないが、組み合わせると efavirenz (EFV)・nevirapine (NVP) に耐性をもたらすことが去年までの研究でわかっていたが、新規の非核酸系逆転写酵素阻害薬である etravirine (ETR) には耐性をもたらさないことが今年度明らかとなった。EFV・NVP と HIV-1 逆転写酵素の結合様式をコンピューターモデリングにより解析したところ、V106I は立体障害をもたらし、V179D は電気的な反発をもたらすため、両者の共存により協調的に働き、EFV・NVP に対して高度な耐性が生じていたが、ETR はフレキシブルな構造を持ち、HIV-1 逆転写酵素の変異に応じた結合を可能にしていると考えられた。

A. 研究目的

HIV-1 の遺伝子を調べる薬剤耐性検査 (genotypic assay) は、既知の薬剤耐性変異の有無で判定されるが、未知の耐性変異に対しては無力である。genotypic assay の臨床応用性を高めるためには、未知の耐性変異の同定が必要である。一方、患者体内の HIV-1 は、たとえ未治療であっても、それぞれ固有の変異 (多型的変異) を持ち、通常、それ自身は直接薬剤耐性を齎すことはない。しかし、そこから生じ得る耐性変異の発現パターンには、多型的変異が関与し、未知の耐性変異が生じる可能性が考えられる。

B. 研究方法

昨年度までの研究で、未治療患者にも比較的良好に認められる逆転写酵素の多型的変異、179 番目のアミノ酸を Val から Asp に置換する変異 (V179D) を持つ HIV-1 から、非核酸系逆転写酵素阻害薬 (NNRTI) である efavirenz (EFV) に対する高度耐性 HIV-1 を誘導したところ、3 回中 2 回の実験で、別の多型的変異である V106I が生じた。V106I を持つ HIV-1 から EFV 高度耐性 HIV-1 を誘導したところ、3 回中 1

回の実験で、V179D が生じた。組み換え HIV-1 の解析により、V106I と V179D はそれぞれ単独では有意な薬剤耐性をもたらさないが、両方を組み合わせることにより、EFV・nevirapine (NVP) に高度耐性となった。今年度は、これらの HIV-1 の新規の非核酸系逆転写酵素阻害薬である etravirine (ETR) に対する感受性を解析する。

C. 研究結果

EFV に対する耐性誘導実験と同じく、NL4-3 株をベースとして、V106I、V179D と、その両方の変異を持つ組換え HIV-1 を作成した。逆転写酵素の 106 番目のアミノ酸は、wild-type が V で、I は未治療患者にも比較的良好に見られる多型的変異であるが、A は NNRTI である NVP に高度耐性をもたらすよく知られた変異であるため、reference として、V106A を持つ組換え HIV-1、V106A と V179D の両方を持つ組換え HIV-1 を作成した。薬剤感受性検査には、MAGIC-5 細胞を用いた。

V106I のみ、V179D のみを持つ HIV-1 は、EFV・NVP に対して有意な耐性を示さなかつ

たが、同様に、ETR に対しても感受性であった。V106A のみを持つ HIV-1 は、EFV に感受性、NVP に耐性であったが、ETR には感受性であった。V106I と V179D の両方、V106A と V179D の両方を持つ HIV-1 は、EFV・NVP の両方に耐性であるが、ETR には感受性であった。すなわち 5 種類の mutant HIV-1 を作成したが、いずれも ETR に対しては感受性であった。

D. 考察

EFV・NVP・ETR と wild-type と 5 種類の mutant HIV-1 逆転写酵素の結合様式をコンピューターモデリングにより解析したところ、EFV・NVP は NNRTI 結合ポケットの中でほぼ一定の位置から動くことができないが、ETR はフレキシブルな構造を持つため、NNRTI 結合ポケット内で変異に応じて結合様式を変え、逆転写酵素との結合を保ち続け、耐性になりにくいことがわかった。

E. 結論

逆転写酵素の 2 つの多型的変異である V106I と V179D の組み合わせは、EFV・NVP に対して高度な耐性を賦与するが、ETR に対しては感受性のままであった。これは、ETR がフレキシブルな構造を持ち、逆転写酵素の変異に応じて結合様式を変えることができるためと思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kawashima Y, Pfafferott K, Frater J, Matthews P, Payne R, Addo M, Gatanaga H, Fujiwara M, Hachiya A, Koizumi H, Kuse N, Oka S, Duda A, Prendergast A, Crawford H, Leslie A, Brumme Z, Brumme C, Allen T, Brander C, Kaslow R, Tang J, Hunter E, Allen S, Mulenga J, Branch S, Roach T, John M, Mallal S, Ogwu A, Shapiro R, Prado JG, Fidler S, Weber J, Pybus OG, Klenerman P, Ndung'u T, Phillips R, Heckerman D, Harrigan PR, Walker BD, Takiguchi M, Goulder P. Adaptation of HIV-1 to human leukocyte antigen class I. *Nature* 458: 641-645, 2009.
- 2) Hachiya A, Shimane K, Sarafianos SG,

Kodama EN, Sakagami Y, Negishi F, Koizumi H, Gatanaga H, Matsuoka M, Takiguchi M, Oka S. Clinical relevance of substitutions in the connection subdomain and RNase H domain of HIV-1 reverse transcriptase from a cohort of antiretroviral treatment-naïve patients. *Antiviral Res.* 82: 115-121, 2009.

- 3) Davaalkham J, Unenchimeg P, Baigalmaa Ch, Oyunbileg B, Tsuchiya K, Hachiya A, Gatanaga H, Nyamkhuu D, Oka S. High-risk status of HIV-1 infection in the very low epidemic country, Mongolia, 2007. *Int. J. STD AIDS* 20: 391-394, 2009.
 - 4) Honda H, Gatanaga H, Matsumura J, Kamimura M, Goto K, Tsukada K, Honda M, Teruya K, Kikuchi Y, Oka S. Favorable use of non-boosted fosamprenavir in patients treated with warfarin. *Int. J. STD AIDS* 20: 441, 2009.
 - 5) Watanabe T, Yasuoka A, Honda H, Tanuma J, Yazaki H, Tsukada K, Honda M, Teruya K, Gatanaga H, Kikuchi Y, Oka S. Serum (1→3) β -D-glucan as a non-invasive useful adjunctive diagnostic marker for Pneumocystis pneumonia in patients with human immunodeficiency virus. *Clin. Infect. Dis.* 49: 1128-1131, 2009.
 - 6) Tsukada K, Teruya K, Tasato D, Gatanaga H, Kikuchi Y, Oka S. Raltegravir-associated perihepatitis and peritonitis: a single case report. *AIDS* 24: 160-161, 2010.
 - 7) Watanabe K, Honda M, Watanabe T, Tsukada K, Teruya K, Kikuchi Y, Oka S, Gatanaga H. Emergence of raltegravir-resistant HIV-1 in the central nervous system. *Int. J. STD AIDS* (in press)
- ##### 2. 学会発表
- 1) 湯永博之. HIV 感染症における tailor-made 治療はどこまで来たか? 日本感染症学会総会 2009 年 4 月

- 2) 井田節子、渡邊珠代、瀧永博之、岡慎一. CTL からの逃避と病状の進行—感染から 20 年を経て急激に病状が進行した患者の解析— 日本感染症学会総会 2009 年 4 月
- 3) 渡辺恒二、照屋勝治、本田美和子、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. BCG ワクチン皮内誤接種により形成された皮膚潰瘍を抗結核薬とステロイド全身投与により治療した 1 例 日本感染症学会総会 2009 年 4 月
- 4) 田里大輔、矢崎博久、本田美和子、照屋勝治、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. 多彩な皮膚症状が繰り返し出現した急性 HIV 感染症の 1 例 日本感染症学会総会 2009 年 4 月
- 5) 瀧永博之. HIV/AIDS 治療からみた、疾病のコントロール 日本エイズ学会 2009 年 11 月
- 6) 瀧永博之. インテグラーゼ阻害薬 (raltegravir) の臨床現場における実際と今後の問題 日本エイズ学会 2009 年 11 月
- 7) 瀧永博之. Darunavir を中心とした新規薬剤の使用経験 日本エイズ学会 2009 年 11 月
- 8) 服部純子、瀧永博之、吉田繁、千葉仁志、小池隆夫、佐々木悟、伊藤俊広、内田和江、原孝、佐藤武幸、上田敦久、石ヶ坪良明、近藤真規子、今井光信、長島真美、貞升健志、古賀一郎、太田康男、山元泰之、福武勝幸、田中理恵、加藤真吾、宮崎菜穂子、藤井毅、岩本愛吉、西澤雅子、仲宗根正、巽正志、椎野禎一郎、林田庸総、岡慎一、伊部史朗、藤崎誠一郎、金田次弘、横幕能行、濱口元洋、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、渡辺香奈子、渡辺大、矢倉裕輝、白阪琢磨、桑原健、小島洋子、森治代、中桐逸博、高田昇、木村昭郎、南留美、山本政弘、松下修三、藤田次郎、健山正男、堀成美、杉浦互. 2003-2008 年の新規 HIV/AIDS 診断症例における薬剤耐性頻度の動向 日本エイズ学会 2009 年 11 月
- 9) Davaalkham Jagdagsuren、土屋亮人、瀧永博之、岡慎一. Two clusters of HIV-1 subtype B infection in Mongolia 日本エイズ学会 2009 年 11 月
- 10) 塚田訓久、照屋勝治、水島大輔、中村春香、青木孝弘、西島健、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、本田元人、田沼順子、矢崎博久、本田美和子、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. Raltegravir を含む多剤併用療法の効果と有害事象 日本エイズ学会 2009 年 11 月
- 11) 渡邊珠代、安岡彰、水島大輔、中村春香、西島健、青木孝弘、柳沢邦雄、渡辺恒二、本田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、本田美和子、瀧永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一. 当院における HAART 時代の HIV 日和見合併症の動向 日本エイズ学会 2009 年 11 月
- 12) 青木孝弘、西島健、中村春香、柳沢邦雄、渡辺恒二、水島大輔、渡邊珠代、本田元人、塚田訓久、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、照屋勝治、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. ニューモシスチス肺炎 108 例の治療の検討 日本エイズ学会 2009 年 11 月
- 13) 照屋勝治、水島大輔、西島健、中村春香、青木孝弘、渡辺恒二、柳沢邦雄、渡邊珠代、塚田訓久、本田元人、矢崎博久、田沼順子、本田美和子、瀧永博之、菊池嘉、岡慎一. 当科における HIV 合併ノカルジア症の臨床的検討 日本エイズ学会 2009 年 11 月
- 14) 本田美和子、水島大輔、中村春香、西島健、青木孝弘、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、本田元人、塚田訓久、田沼順子、矢崎博久、瀧永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一. 当院における女性 HIV 感染者の傾向とその背景についての報告 日本エイズ学会 2009 年 11 月
- 15) 田沼順子、水島大輔、中村春香、青木孝弘、西島健、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、本田元人、塚田訓久、矢崎博久、本田美和子、瀧永博之、照屋勝治、菊池嘉、岡慎一. HBe 抗原陽性 HIV 感染者に対する HAART の抗 HBV 効果について 日本エイズ学会 2009 年 11 月
- 16) 渡辺恒二、水島大輔、中村春香、青木孝弘、西島健、柳沢邦雄、渡邊珠代、本

田元人、塚田訓久、田沼順子、矢崎博久、
本田美和子、潟永博之、照屋勝治、平林
義弘、菊池嘉、岡慎一。 当院で経験し
た赤痢アメーバ症の臨床症状と治療に
ついての検討 日本エイズ学会 2009
年 11 月

1 7) 村越勇人、潟永博之、小柳円、岡慎一、
滝口雅文。 慢性 HIV-1 感染者における
HIV-1 pol 特異的 CD8T 細胞による
HIV-1 のコントロール 日本エイズ学
会 2009 年 11 月

1 8) 久世望、川島夕佳、潟永博之、岡慎一、
滝口雅文。 HLA-B*5101 拘束性 CTL
による HIV-1 逃避変異体の選択 日本
エイズ学会 2009 年 11 月

1 9) 矢崎博久、水島大輔、中村春香、青木
孝弘、西島健、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡
邊珠代、本田元人、田沼順子、塚田訓久、
本田美和子、潟永博之、照屋勝治、菊池
嘉、岡慎一。 当院での初回治療で使用
された抗 HIV 薬の変遷と DRV 投与者
の経過について 日本エイズ学会
2009 年 11 月

2 0) 本田元人、水島大輔、中村春香、青木
孝弘、西島健、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡
邊珠代、塚田訓久、矢崎博久、田沼順子、
本田美和子、潟永博之、照屋勝治、菊池
嘉、岡慎一。 HIV 感染者における高血
圧症 日本エイズ学会 2009 年 11 月

2 1) 小澤あかね、池田和子、島田恵、大金
美和、武田謙治、山田由紀、石垣今日子、
八鍬類子、伊藤紅、徐廷美、三枝政行、
芳田玲子、潟永博之、菊池嘉、岡慎一。
HIV/AIDS 患者の治療を支える医療保
障制度の活用及び自立支援に向けての
実態調査 日本エイズ学会 2009 年 11
月

2 2) 柳沢邦雄、田沼順子、水島大輔、中村
春香、青木孝弘、西島健、渡辺恒二、渡
邊珠代、本田元人、矢崎博久、塚田訓久、
本田美和子、照屋勝治、潟永博之、菊池
嘉、岡慎一、萩原將太郎。 当科で経験
した AIDS 関連悪性リンパ腫 56 例にお
ける神経系病変の検討 日本エイズ学
会 2009 年 11 月

2 3) 西島健、水島大輔、中村春香、青木孝
弘、柳沢邦雄、渡辺恒二、渡邊珠代、本
田元人、矢崎博久、田沼順子、塚田訓久、
本田美和子、潟永博之、照屋勝治、菊池
嘉、岡慎一。 日本人患者における
Tenofovir disoproxil fumarate による
腎機能障害 日本エイズ学会 2009 年
11 月

G. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含
む。）

なし。