

2009J2047A

厚生労働科学研究費補助金

エイズ対策研究事業

高感度薬剤耐性HIV検出法を用いた微小集族薬剤耐性HIVの動態と
HAART治療効果との相関についての研究
課題番号：H21-エイズ-若手-019

平成21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 西澤 雅子
(国立感染症研究所 エイズ研究センター)

平成21(2010)年 5月

目 次

I. 総括研究報告

高感度薬剤耐性HIV検出法を用いた微小集族薬剤耐性HIVの動態とHAART治療効果との 相関についての研究.....	1
---	---

研究代表者：西澤 雅子

II. 分担研究報告

薬剤耐性HIV症例の臨床的解析に関する研究.....	7
----------------------------	---

研究分担者：杉浦 亙

III. 研究成果の刊行に関する一覧表.....	11
--------------------------	----

I. 総括研究報告

高感度薬剤耐性 HIV 検出法を用いた微小集族薬剤耐性 HIV の動態と
HAART 治療効果との相関についての研究

研究代表者 西澤 雅子（国立感染症研究所 エイズ研究センター）

研究分担者 杉浦 互（（独）名古屋医療センター 臨床研究センター 感染・免疫部長）

研究協力者 服部 純子（（独）名古屋医療センター 臨床研究センター 感染・免疫部）

研究要旨 HIV は患者血中で多様性(quasi-species)を維持しながら患者血中に存在するが、その quasi-species 中に僅かな比率で存在する薬剤耐性 HIV (minority population の薬剤耐性 HIV) が薬剤治療に影響を及ぼす可能性が示唆されている。従来薬剤耐性検査で用いられているダイレクトシーケンス法ではこのような minority population の薬剤耐性 HIV の検出が難しいことから、定量 PCR の手法を応用した高感度薬剤耐性 HIV 検査法を用い、HAART 療法を受けている患者血中に存在する minority population の薬剤耐性 HIV の検出を試みた。その結果、HAART 治療を受け多剤耐性を獲得した患者検体 13 例を解析した結果、3 例から従来法では検出できなかった minority population の薬剤耐性 HIV を検出した。また、この 3 例とは別の 3 症例について長期にわたる解析を行った結果、3 症例中 2 症例から、ダイレクトシーケンス法では検出できなかった薬剤耐性変異を検出した。

A. 研究目的

抗 HIV 薬剤の投与を受けている HIV/AIDS 患者血中では quasi-species の一部に微小集族 (minority population) として薬剤耐性 HIV が潜在している可能性が知られている。しかし一般的な薬剤耐性検査に用いられているダイレクトシーケンス法では、血中に 20%以下の比率で存在する薬剤耐性 HIV を検出する事は困難である。近年になって検出技術の進歩とともに、この minority population として存在する薬剤耐性 HIV が HAART による薬剤耐性の選択と治療の転機に影響を及ぼしている可能性が示唆されるようになった。本研究では 20%以下の比率で存在する薬剤耐

性 HIV を検出可能な高感度薬剤耐性 HIV 検出法を用いて HAART を受けている患者検体からの微小な薬剤耐性 HIV 検出を試み、至適治療を進める上での臨床的有用性について検討する。

B. 研究方法

高感度薬剤耐性 HIV 検出法（高感度法）は米国 CDC で開発された定量 PCR を応用した定性的検出法を用いた。検出する耐性変異としてサブタイプ B では核酸系逆転写酵素阻害剤(NRTI)に対する耐性変異 M41L, K65R, K70R, M184V, T215F/Y、非核酸系逆転写酵素阻害剤に対する耐性変異 K103N, Y181C の計 8 変異を対象とした。

尚、CRF01_AE では、K65R を除く 7 変異を検査対象とした。高感度薬剤耐性 HIV 検出法の概略であるが、標的耐性変異毎に特異的な primer と probe を構築し定量 PCR を行い、これを薬剤耐性特異的反応とする。また逆転写酵素遺伝子内の比較的保存された領域 (HXB2 での nt 番号 258~420) を増幅する primer と probe を構築し定量 PCR を行い、これを共通反応 (内部コントロール) とした。薬剤耐性特異的反応と共通反応それぞれについて、増幅 cycle が閾値を越えた cycle 数 (Ct 値) を算出した。共通反応の Ct 値と、薬剤耐性特異的反応の Ct 値の差を計算し、これを Δ Ct 値とした。この Δ Ct 値が予め計算・設定した Cut off 値よりも小さい場合には薬剤耐性陽性、Cut off 値よりも大きい場合には薬剤耐性陰性と判定した。解析対象はとして、国立感染症研究所で薬剤耐性検査を実施した患者検体の中から、ダイレクトシーケンシング法 (通常法) で複数のクラスの抗 HIV 薬剤にたいする耐性変異が複数確認され多剤耐性と判定された 13 症例 (サブタイプ B 10 症例、CRF01_AE 3 症例) を選択した。この症例の中からダイレクトシーケンスによる遺伝子解析で多剤耐性と判定された採血ポイントを 1 点選択し、このポイントについて高感度法を実施して minority population の薬剤耐性 HIV が検出されるか解析を行い、通常法の結果と比較検討を行った。

(倫理面への配慮)

本研究では感染者血清を使用するため、国立感染症研究所の医学研究倫理審査委員会へ倫理審査を申請しその承認を得た。また薬剤耐性変異を組み込んだベクターの作製で組換え DNA 実験を行うので、組換え DNA 実験安全委員会に実験申請を行いその許可を得た。

C. 研究結果

多剤耐性症例と判定された 13 サンプルを高感度法を用いて微小集族薬剤耐性変異の検出を行った結果、サブタイプ B 10 サンプル中 2 サンプル

から通常法では検出できない微小集族として存在していた T215Y を、CRF01_AE 3 サンプル中 1 サンプルから K70R を検出した (図 1)。選択したサブタイプ B 10 症例のうちの 3 症例は長期間にわたって HAART 療法を受け、薬剤耐性検査を複数回実施している症例であった (症例 T-10-B : 35 回、症例 T-7-B : 32 回、サンプル T-9-B : 15 回)。この 3 症例の各薬剤耐性検査ポイントについて高感度法を行い minority population の薬剤耐性 HIV の経時的動向について解析を行った。その結果、症例 T-9-B では通常法の結果と高感度法の結果は一致したが、症例 T-10-B と T-7-B では乖離が認められ、高感度法のみで検出される minority population として薬剤耐性 HIV が存在していた (図 2、図 3)。症例 T-10-B では通常法では検出されなかった K103N が NVP 投与開始後に検出された。また症例 T-7-B では、NVP 投与期間中に Y181C が通常法で検出されていたが、その後 NVP の投与中止に伴い Y181C は通常法では検出されなくなり一見速やかに消失したように見えていた。しかし高感度法ではその後も Y181C は minority population として 1 年以上に渡って存在し続けていたことが確認された。

D. 考察

多剤耐性を獲得した 13 サンプルについて高感度法で minority population の薬剤耐性の有無を解析した。その結果、高感度法のみで薬剤耐性が検出される事例が 3 サンプル観察された。反対に通常法でのみ検出された耐性変異は無かった。通常法での minority population の薬剤耐性 HIV の検出の限界は electropherogram の精度から major population に対して 20%程度とされており、今回見いだされた minority population はそれ以下の比率で存在していたと思われる。minority population の薬剤耐性 HIV の検出率は $3/13=23\%$ であり、約 1/4 の割合で薬剤耐性 HIV を見逃している可能性が危惧される。経時的なサ

ンプルの解析では、薬剤変更により通常法で薬剤耐性変異が消失したような症例でもその後も長期間に渡り minority population に薬剤耐性 HIV が持続して存在していることが高感度法による解析から確認された。今回の解析は限定的であり、minority population に見いだした薬剤耐性変異がその後の治療の経過にどのように影響を及ぼしたかまでは明らかにできなかったが、今回の結果は、過去の投与薬剤によって選択・誘導された薬剤耐性変異株が長期に渡って minority population として存在することを立証した。また 2 回目以降の HAART レジメの変更に際しては、それ以前の治療による耐性 HIV の存在を高感度法で確認する必要性を示唆している。その是非については今後の研究で明らかにしていきたい。

E. 結論

定量 PCR を応用した高感度薬剤耐性 HIV 検査法による NRTI、NNRTI 耐性変異検出系をサブタイプ B と CRF01_AE について確立した。多剤耐性症例の 13 サンプルについて通常法と高感度法の両方で薬剤耐性変異の検出を行い、高感度法の薬剤耐性検出頻度が通常法よりも高い事を確認した。また長期に渡って HAART 治療を行っていた 3 症例中 2 症例から、通常のダイレクトシーケンス法では検出できない微小集族薬剤耐性 HIV が 2 カ月～1 年以上に渡って患者血中に存在していた事が明らかになった。高感度法の臨床的有用性の評価は今後の課題である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

研究代表者

西澤 雅子

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1)西澤雅子、Jeffery A. Johnson、Walid Heneine、山本直樹、杉浦 互. 高感度薬剤耐性 HIV 検出法を用いた微小集族薬剤耐性 HIV の検出と存在比率に関する研究. 第 23 回日本エイズ学会、2009、名古屋.

2)服部純子、湯永博之、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、渡邊 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. 第 23 回日本エイズ学会、2009、名古屋.

3)鈴木寿子、服部純子、村田大悟、三浦秀佳、伊部史朗、藤野真之、西澤雅子、山本直樹、杉浦 互. インテグラーゼ阻害剤耐性化機序の分子生物学的解析. 第 23 回日本エイズ学会、2009、名古屋.

研究分担者

杉浦 互

1. 論文発表

1) Matsuyama S, Aydan A, Ode H, Hata M, Sugiura W, Hoshino T. Structural and Energetic Analysis on the Complexes of Clinically-isolated Subtype C HIV-1 Proteases and Approved Inhibitors by Molecular Dynamics Simulation. The Journal of Physical Chemistry. B. 2010. 114(1):521-530

2)Land S, Cunningham P, Zhou J, Frost K,

Katzenstein D, Kantor R, Chen YM, Oka S, DeLong A, Sayer D, Smith J, Dax EM, Law M; TAQAS Laboratory Network. TREAT Asia Quality Assessment Scheme (TAQAS) to standardize the outcome of HIV genotypic resistance testing in a group of Asian laboratories. *J Virol Methods*. 2009 Aug;159(2):185-93.

3) Hasegawa N, Sugiura W, Shibata J, Matsuda M, Ren F, Tanaka H. Inferring within-patient HIV-1 evolutionary dynamics under anti-HIV therapy using serial virus samples with vSPA. *BMC Bioinformatics*. 2009 Oct 29;10(1):360.

4) Iwatani Y, Chan DS, Liu L, Yoshii H, Shibata J, Yamamoto N, Levin JG, Gronenborn AM, Sugiura W. HIV-1 Vif-mediated ubiquitination/degradation of APOBEC3G involves four critical lysine residues in its C-terminal domain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Nov 17;106(46):19539-44.

2. 学会発表

1) M Fujino, H Miura, J Hattori, S Ibe, S Fujisaki, M Matsuda, M Nishizawa, Y Iwatani and W Sugiura. Mechanism of darunavir resistance acquisition in multi-protease inhibitor resistant HIV-1. XVIII international HIV Drug Resistance Workshop, June 9-13 2009,

Fort Myers, Florida

2) J Shibata, F Ren, Y Iwatani, H Tsang, M Matsuda, N Hasegawa, H Tanaka, and W Sugiura. Within-Host Coevolution of Gag P453L and Protease D30N/N88D Demonstrates virological Advantage in a Highly Protease Inhibitor-Exposed HIV-1 Case, 10th Annual symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov15-18 2009, Richmond, VA

3) Y Iwatani, DS.B.Chan, L Liu, H Yoshii, J Shibata, JG. Levin, A M.Gronenborn, and W Sugiura. Fourlysine Residues In The Apobec3g C-Terminal Domain Are Critical For Hiv-1 Vif-Mediated Ubiquitination/Degradation. 10th Annual symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov15-18 2009, Richmond, VA

4) T Masaoka, T Sawasaki, W Sugiura, Y Endo, M Tatsumi, N Yamamoto, and A Ryo. Development Of Method For Testing Hiv-1 Rptease Drug-Resistance Based On Cell-Free Protein Production System. 10th Annual symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov15-18 2009, Richmond, VA

H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）なし。

治療患者検体からの 微小な耐性変異の検出結果

SampleID	Subtype	採血日	M41L		K70R		K103N		Y181C		M184V		T215Y		T215F	
			bulk	real-time	bulk	real-time	bulk	real-time	bulk	real-time	bulk	real-time	bulk	real-time	bulk	real-time
T-1-B	B	2002/1/16	M41L	+	K70R	+	WT	-	WT	-	WT	-	WT	-	T215F	+
T-2-B	B	2002/3/20	M41L	+	WT	-	WT	-	WT	-	M184V	+	WT	+	T215F	+
T-3-B	B	2003/3/13	M41L	+	WT	-	WT	-	WT	-	WT	-	T215Y	+	WT	-
T-4-B	B	2003/4/14	M41L	+	WT	-	K103N	+	Y181C	+	WT	-	T215Y	+	WT	-
T-5-B	B	2003/1/14	M41L	+	WT	-	WT	-	WT	-	M184V	+	T215Y	+	WT	-
T-6-B	B	2004/1/22	M41L	+	K70R	+	WT	-	WT	-	M184V	+	WT	-	T215F	+
T-7-B	B	2004/4/2	M41L	+	WT	-	WT	-	WT	-	M184V	+	T215Y	+	WT	-
T-8-B	B	2005/2/1	WT	-	K70R	+	K103N	+	WT	-	M184V	+	WT	+	WT	-
T-9-B	B	2005/2/15	WT	-	WT	-	K103N	+	Y181C	+	M184V	+	T215Y	+	WT	-
T-10-B	B	2005/5/25	M41L	+	WT	-	WT	-	Y181C	+	M184V	+	T215Y	+	WT	-
T-1-AE	AE	2000.08.29	M41L	+	WT	+	WT	-	WT	-	WT	-	T215Y	+	WT	-
T-2-AE	AE	2002.02.04	WT	-	K70R	+	WT	-	WT	-	M184V	+	WT	-	WT	-
T-3-AE	AE	2003.02.10	WT	-	WT	-	K103N	+	WT	-	WT	-	WT	-	WT	-

Subtype Bの2検体、CRF01_AEの1検体から
遺伝子検査では検出されなかった耐性変異T215YとK70Rをそれぞれ検出した。

図 1

T-7-B患者検体からの微小な薬剤耐性HIV検出

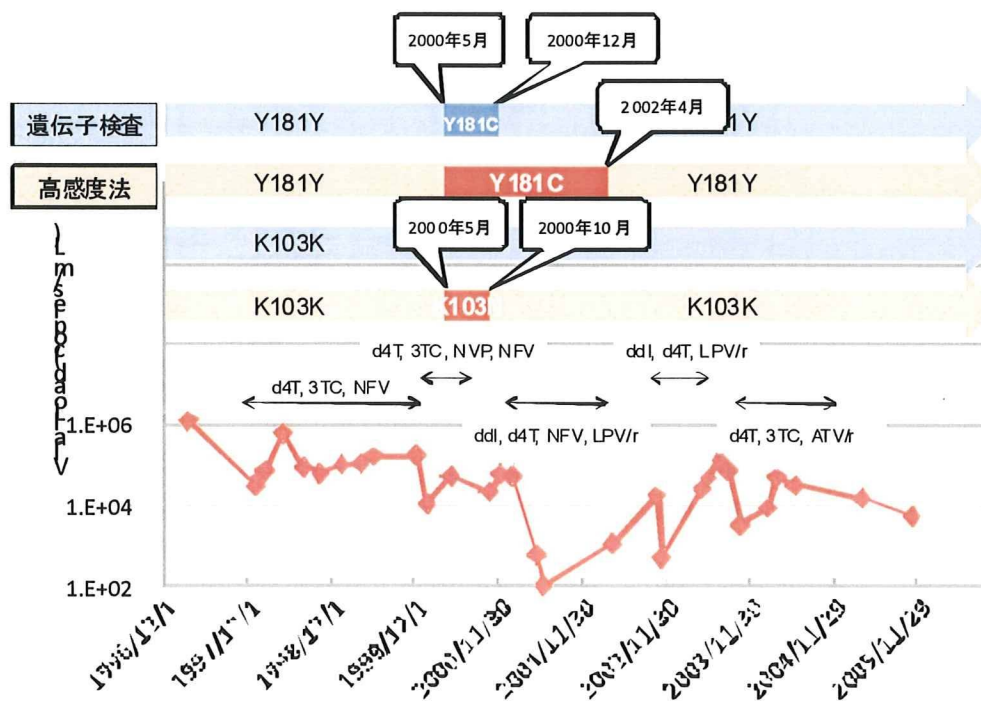


図 2

T-10-B患者検体からの微少な薬剤耐性HIV検出

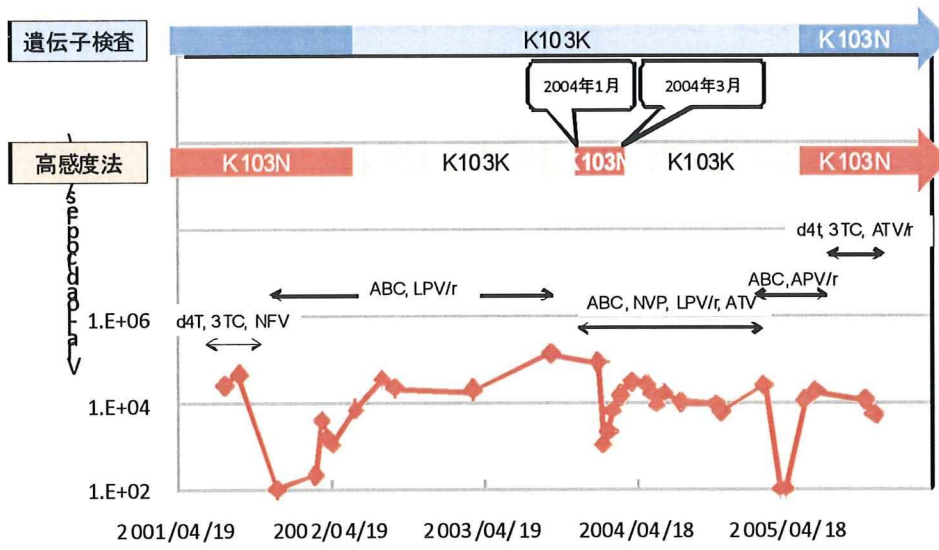


図 3

II. 分担研究報告

薬剤耐性HIV症例の臨床的解析に関する研究

研究分担者 杉浦 互（独）名古屋医療センター 臨床研究センター 感染・免疫部長）

研究協力者 服部 純子（独）名古屋医療センター 臨床研究センター 感染・免疫部）

研究要旨 薬剤耐性HIVの出現は、HIV感染症治療の大きな妨げとなってきた。通常HIVの薬剤耐性検査では、HIVの逆転写酵素とプロテアーゼをコードする遺伝子領域をダイレクトシーケンス法で解析して薬剤耐性変異を検出してきた。しかし近年になって、ダイレクトシーケンス法では検出できない20%以下の微少な比率で患者血漿中に存在する微少集族薬剤耐性HIVが、HAARTの効果を減弱させる可能性が示唆されるようになった。これまでに国立感染症研究所エイズ研究センターで薬剤耐性検査を行った症例の中から、HAART治療を行い、かつ治療中に薬剤耐性変異が確認された症例を13症例選択し、HAART治療の履歴と血中ウイルス量の変化及びダイレクトシーケンスで解析した薬剤耐性変異の経時変化について調査した。

A. 研究目的

患者血中に微少な割合で存在する minority populationの薬剤耐性HIVがHAARTに悪影響を及ぼす可能性について報告されているが、K103NやY181Cなど限られた薬剤耐性変異についてのみ報告されている。国立感染症研究所で薬剤耐性を行ってきた患者検体は、血中ウイルス量やCD4数、投与薬剤履歴などの情報も保管されており、ダイレクトシーケンス法で解析した薬剤耐性変異の情報も合わせてデータベース化された貴重なサンプルである。これらの患者サンプルの中から長期間に渡ってHAARTを継続しながら薬剤耐性検査を行っており、かつ治療途中で

HAARTの変更と薬剤耐性変異の経時的変化の起こっている患者検体を抽出し、高感度法による minority populationの薬剤耐性HIVの解析用に提供する。

B. 研究方法

国立感染症研究所エイズ研究センターで5回以上薬剤耐性検査を行っている症例で、なおかつHAARTレジメの変更があった症例をデータベース上から検索した。検索対象は1996年11月～2008年3月までに採血し薬剤耐性検査を行った検体とした。

（倫理面への配慮）

本研究では感染者血清を使用するため、国立感染症研究所の医学研究倫理審査委員会へ倫理審査を申請しその承認を得た。

C. 研究結果

国立感染症研究所エイズ研究センターで管理されているデータベースに登録された約1500症例の中から、5回以上薬剤耐性検査を行い、なおかつ治療中にHAARTレジメの変更があった検体について検索した結果、126症例を解析対象として選択することができた。その中から経過観察中に複数の薬剤耐性変異が逆転写酵素遺伝子領域内に蓄積し、Stanford大学のウェブサイト上で公開されている薬剤耐性アルゴリズムで解析した結果、多剤耐性となったポイントがある症例を13症例選択した(図1)。またこの13症例の中から、3年以上に渡って経時的に薬剤耐性検査を行っており、なおかつ薬剤耐性変異のパターンに変化が見られた症例を3症例選択した。これらの3症例についてはHAARTの詳細なレジメと治療履歴、各採血ポイントのダイレクトシーケンスによる薬剤耐性変異の経時変化も合わせて解析した結果、この3症例は逆転写酵素阻害剤(NRTI)・非核酸系逆転写酵素阻害剤(NNRTI)に対する耐性変異が投与薬剤に伴って変化していた。

D. 考察

今回多剤耐性症例として選択した13症例は、3年以上HAARTを継続している症例が8症例含まれていた。HAARTのレジメ変更後に薬剤耐性変異のパターンに変化がある症例は、今回解析対象とした3症例以外にも4症例あり、今後高感度法による解析が必要と思われる。今回選択した症例は、

採血の間隔が3カ月以上空いているものが多く、薬剤変更後のminority populationの薬剤耐性変異のパターンの変化を解析するには時間経過が長すぎると思われた。今後は薬剤変更後に行った採血が2週間～1か月程度の短い期間で採血を行っている症例を選択し、minority populationの薬剤耐性変異をさらに解析する。

E. 結論

5回以上薬剤耐性検査を行い、なおかつ治療中にHAARTレジメの変更があった検体126症例を、高感度法による微小集族薬剤耐性検査の解析対象として抽出する事ができた。またこの中から多剤耐性症例として確認できた13症例のサンプルの、HAARTレジメの履歴と薬剤耐性変異の経時変化について調べ、3年以上に渡って薬剤耐性検査を行い、HAARTレジメの治療履歴と薬剤耐性変異のパターンに変化が見られた3症例を同定できた。

F. 健康危険情報

総括研究報告書に記載

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Matsuyama S, Shimizu A, Ode, H, Hata M, Sugiura W, Hoshino T. Structural and Energetic Analysis on the Complexes of Clinically-isolated Subtype C HIV-1 Proteases and Approved Inhibitors by Molecular Dynamics Simulation. The Journal of Physical Chemistry. B. 2010. 114(1):521-530
- 2) Land S, Cunningham P, Zhou J, Frost K, Katzenstein D, Kantor R, Chen YM, Oka S, DeLong A, Sayer D, Smith J, Dax EM, Law M;

TAQAS Laboratory Network. TREAT Asia Quality Assessment Scheme (TAQAS) to standardize the outcome of HIV genotypic resistance testing in a group of Asian laboratories. *J Virol Methods*. 2009 Aug;159(2):185-93.

3) Hasegawa N, Sugiura W, Shibata J, Matsuda M, Ren F, Tanaka H. Inferring within-patient HIV-1 evolutionary dynamics under anti-HIV therapy using serial virus samples with vSPA. *BMC Bioinformatics*. 2009 Oct 29;10(1):360.

4) Iwatani Y, Chan DS, Liu L, Yoshii H, Shibata J, Yamamoto N, Levin JG, Gronenborn AM, Sugiura W. HIV-1 Vif-mediated ubiquitination/degradation of APOBEC3G involves four critical lysine residues in its C-terminal domain. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009 Nov 17;106(46):19539-44. Epub 2009 Nov 3.

2. 学会発表

1) M Fujino, H Miura, J Hattori, S Ibe, S Fujisaki, M Matsuda, M Nishizawa, Y Iwatani and W Sugiura. Mechanism of darunavir resistance acquisition in multi-protease inhibitor resistant HIV-1. XVIII international HIV Drug Resistance Workshop, June 9-13

2009, Fort Myers, Florida

2) J Shibata, F Ren, Y Iwatani, H Tsang, M Matsuda, N Hasegawa, H Tanaka, and W Sugiura. Within-Host Coevolution of Gag P453L and Protease D30N/N88D Demonstrates virological Advantage in a Highly Protease Inhibitor-Exposed HIV-1 Case, 10th Annual symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov15-18 2009, Richmond, VA

3) Y Iwatani, DS.B.Chan, L Liu, H Yoshii, J Shibata, JG. Levin, A M.Gronenborn, and W Sugiura. Fourlysine Residues In The Apobec3g C-Terminal Domain Are Critical For Hiv-1 Vif-Mediated Ubiquitination/Degradation. 10th Annual symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov15-18 2009, Richmond, VA

4) T Masaoka, T Sawasaki, W Sugiura, Y Endo, M Tatsumi, N Yamamoto, and A Ryo. Development Of Method For Testing Hiv-1 Rprotease Drug-Resistance Based On Cell-Free Protein Production System. 10th Annual symposium on Antiviral Drug Resistance, Nov15-18 2009, Richmond, VA

H. 知的所有権の出願・取得状況（予定を含む）
なし

表 1 多剤耐性症例サンプルのダイレクトシーケンス解析による薬剤耐性一覧

Sample ID	Subtype	採血日	M41	K70	K103	Y181	M184	T215	T215
T-1-B	B	2002/1/16	M41L	K70R	WT	WT	WT	WT	T215F
T-2-B	B	2002/3/20	M41L	WT	WT	WT	M184V	WT	T215F
T-3-B	B	2003/3/13	M41L	WT	WT	WT	WT	T215Y	WT
T-4-B	B	2003/4/14	M41L	WT	K103N	Y181C	WT	T215Y	WT
T-5-B	B	2003/11/4	M41L	WT	WT	WT	M184V	T215Y	WT
T-6-B	B	2004/1/22	M41L	K70R	WT	WT	M184V	WT	T215F
T-7-B	B	2004/4/2	M41L	WT	WT	WT	M184V	T215Y	WT
T-8-B	B	2005/2/1	WT	K70R	K103N	WT	M184V	WT	WT
T-9-B	B	2005/2/15	WT	WT	K103N	Y181C	M184V	T215Y	WT
T-10-B	B	2005/5/25	M41L	WT	WT	Y181C	M184V	T215Y	WT
T-1-AE	AE	2000.08.29	M41L	WT	WT	WT	WT	T215Y	WT
T-2-AE	AE	2002.02.04	WT	K70R	WT	WT	M184V	WT	WT
T-3-AE	AE	2003.02.10	WT	WT	K103N	WT	WT	WT	WT

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レイアウト

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

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
Matsuyama S, Shimizu A, Ode, H, Hata M, Sugiura W, Hoshino T.	Structural and Energetic Analysis on the Complexes of Clinically-isolated Subtype C HIV-1 Proteases and Approved Inhibitors by Molecular Dynamics Simulation.	The journal of physical chemistry. B	114	521-530	2010
Land S, Cunningham P, Zhou J, Frost K, Katzenstein D, Kantor R, Chen YM, Oka S, DeLong A, Sayer D, Smith J, Dax EM, Law M;	TREAT Asia Quality Assessment Scheme (TAQAS) to standardize the outcome of HIV genotypic resistance testing in a group of Asian laboratories.	J Virol Methods	159	185-93	2009
Hasegawa N, Sugiura W, Shibata J, Matsuda M, Ren F, Tanaka H.	Inferring within-patient HIV-1 evolutionary dynamics under anti-HIV therapy using serial virus samples with vSPA. BMC Bioinformatics.	BMC Bioinformatic	10	360	2009

Iwatani Y, Chan DS, Liu L, Yoshii H, Shibata J, Yamamoto N, Levin JG, Gronenborn AM, Sugiura W.	HIV-1 Vif-mediated ubiquitination/degradation of APOBEC3G involves four critical lysine residues in its C-terminal domain.	Proc Natl Acad Sci USA.	106	19539-19544	2009
---	--	-------------------------	-----	-------------	------

