

201228001A

厚生労働科学研究費補助金  
B型肝炎創薬実用化等研究事業

B型肝炎ウイルス感染症に対する新規の治療薬の研究・開発

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 満屋 裕明

平成25(2013)年 3月

## 目 次

I. 総括研究報告	
B型肝炎ウイルス感染症に対する新規の治療薬の研究・開発	1
満屋 裕明	
II. 分担研究報告	
1. B型肝炎ウイルス感染に対する新規の治療薬の研究・開発	17
満屋 裕明	
2. PK/PDの解析と毒性評価に関する研究	23
小田切 優樹	
3. 臨床試験データマネージメントに関する研究	31
新保 卓郎	
4. 候補化合物の生体内での抗HBV効果の評価と HBVゲノム変異の動態解析	33
榎本 信幸	
5. 脱硫的スタニル化を基盤とするエキソメチレン部位にフッ素原子が 置換した新規entecavir誘導体の合成研究	37
原口 一広	
6. 逆転写酵素阻害剤等のスクリーニング法開発・耐性ウイルスに対する 効果判定に関する研究	41
児玉 栄一	
7. 新規抗HBV薬の1次・2次評価に関する研究	47
田中 靖人	
8. 前臨床試験並びに第I/IIa相臨床試験に関する研究 ～新規抗HBV感染症治療薬の臨床開発に向けて～	49
伊藤 俊之	
(添付資料1) 治験及び先進医療プロトコール作成ユニット要綱	
(添付資料2) 業務完了報告書	
9. B型肝炎ウイルス感染症に対する新規の治療薬の研究・開発	59
天野 将之	
(資料) 資料名	
10. 肝炎ウイルスのポリメラーゼ・逆転写酵素の結晶構造解析	63
尾曲 克己	
11. HBV逆転写酵素の構造学的研究	67
安武 義晃	
12. 核酸アナログの合成	71
井本 修平	
13. 新規化合物の抗ウイルス活性の評価に関する研究	73
青木 学	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	77
IV. 研究成果の刊行物・別刷	83

# I . 総括研究報告

## B型肝炎ウイルス感染症に対する新規の治療薬の研究・開発

研究代表者 満屋 裕明 熊本大学血液内科学・膠原病内科学・感染免疫診療部 教授

研究要旨：本研究は、現在世界で広く用いられている HBV の核酸系逆転写酵素阻害剤 (RTIs) である entecavir (ETV) 等と同等あるいは更に強力で、かつ耐性プロファイルが ETV 等とは異なり、耐性発現の出現を許さない（又は著しく遅延させる）新規薬剤をデザイン・合成・同定し、臨床開発へと進めようとするものである。本研究ではこれまでに、フルオロビニル型 ETV、アシクロ型 ETV 誘導体、アルケンを有するアシクロ型ヌクレオシド誘導体を合成、91 種類の新規化合物について *in vitro* での抗 HIV-1 活性、抗 HBV 活性、細胞毒性を評価し、既存の薬剤と同等の抗 HBV 活性を有する 2 種類の化合物を見出し、最適化の対象としている。またその作業に必須となる HBV 逆転写酵素 (RT) の構造生物学的解析は未だ十分には理解されていないことから、本研究では、RT を全領域もしくは部分的に発現する大腸菌およびバキュロウイルスによる系の構築を併せて行なっている。RT 活性部位の詳細な構造の情報により新規化合物のデザイン・合成やリード化合物の最適化が容易になるだけでなく、新規化合物の作用機序と耐性出現の詳細なメカニズム解析が可能となると期待される。更に本研究では、HBV-RT を阻害するリード化合物が得られて最適化で一定の成功をみた時点以降は、小動物（肝炎モデルマウス等及びラットやビーグル犬や霊長類）を用い、新規化合物の薬物動態特性を LC-MS/MS を駆使し詳細に明らかにし、また B 型肝炎モデル動物による PK-PD モデリングを行い、前臨床試験・臨床試験へと進める。そのために必要とされる薬剤耐性 HBV 感染キメラマウス 6 種類の作製に成功、また体内動態実験に必要である定量用質量分析計のセットアップを行なっており、更に臨床試験実施体制・実施支援体制や臨床試験データマネジメントの確立・整備に着手している。HBV の耐性発現に抵抗し、発現しても他薬剤との交差耐性を有しない新規薬剤の開発は、HBV 感染症患者の病態コントロールを改善し、その結果患者の QOL 改善と医療・対費用効果の改善にも大きく貢献すると期待される。またそのような新規 HBV 阻害剤が開発・臨床応用されれば、HBV 感染症の診療領域にもたらされるインパクトは日本と世界で極めて高いものとなると強く期待される。

研究分担者

小田切 優樹・崇城大学薬学部・教授

新保 卓郎・国立国際医療研究センター 臨床研究センター 医療情報解析研究・部長

榎本 信幸・山梨大学大学院医学工学総合研究部・教授

原口 一広・昭和大学薬学部・准教授

児玉 栄一・東北大学病院内科感染症科・創薬科学・助教

田中 靖人・名古屋市立大学大学院医学研究科・教授

伊藤 俊之・国立国際医療研究センター 臨床研究支援部・部長

天野 将之・熊本大学血液内科学・膠原病内科学・感染免疫診療部

尾曲 克己・名古屋市立大学大学院医学研究科・助教

安武 義晃・産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門・主任研究員

井本 修平・崇城大学薬学部・講師

青木 学・熊本保健科学大学・講師

## A. 研究目的

B型肝炎ウイルス（HBV）感染者は世界に2~3億人、本邦でも150万人程度存在すると考えられており、そのうち20~30%が急性肝炎を発症、更に数%が持続感染し、慢性肝炎、肝硬変、肝がんへと進展する。一方、B型肝炎に対する治療薬としては、インターフェロンの他、ラミブジン、アデフォビル、エンテカビル（entecavir: ETV）の3剤の核酸アナログ製剤が本邦で承認されており、HBVの持続的な増殖抑制および肝炎の鎮静化や肝発がんの抑制などが報告され一定の成果を上げている。しかし長期投与により耐性ウイルスが出現、治療効果が減弱すると共に、そのような耐性ウイルスが他の治療薬に対する耐性発現を容易にするなど

治療上の大きな問題となっている。本研究では、現在世界で広く用いられているHBVの核酸系逆転写酵素阻害剤（NRTIs）であるETV等と同等あるいは更に強力で、かつ耐性プロフィールがETV等とは異なり、耐性発現の出現を許さない（又は著しく遅延させる）新規薬剤をデザイン・合成・同定し、臨床開発へと進めることを目的とする。

新規抗ウイルス剤の開発において、human immunodeficiency virus（HIV）では十分な感染増殖を支持する培養細胞を用いた測定系が確立されており、多数の薬剤が開発されている。またhepatitis C virus（HCV）においてもレプリコンアッセイ法の確立が有用な薬剤の開発に繋がっている。しかしHBVでは、high-throughputの薬剤評価系が確立されておらず、新規抗HBV剤の開発において大きな障壁の一つとなっている。そこで本研究では従来用いられているHBVを強制発現させた肝癌細胞株HepG2.2.15細胞による測定系を更に改善、もしくは全く新しいhigh-throughputの抗HBV剤スクリーニングシステムの開発を平行して行なう。また新規抗HBV剤の開発を困難にしているもう一つの問題として、未だHBVの逆転写酵素（RT）の結晶構造が得られていないことが上げられるが、結晶構造解析等の構造生物学的手法を駆使したHBV-RT活性部位の微細構造解析を本研究において併せて進める。新規に合成される化合物の抗HBV活性の評価データと構造生物学解析より得られる知見を基に、更に継続して化合物をデザイン・合成すると共にリード化合物の最適化を加速させる。

*In vitro*における最適化で一定の成功をみた場合は、各遺伝子型のHBVおよび薬剤耐性HBV変異株を感染させたモデルマウスにて検討を行なうと共に、小動物（ラットやビーグル

犬や霊長類)での前臨床試験段階での検討を進める。また本研究では、製薬企業への早期導出を前提に初期開発を進めるが、最も有望な化合物については要に応じて GMP レベルの bulk を得て Phase 1、或は Phase 2a の実施を視野に入れた開発・研究を進める。

## B. 研究方法

### 1. 新規化合物の合成 (原口、井本)

#### ①フルオロビニル型 entecavir の合成

Entecavir (ENT) は 2'-デオキシグアノシンの糖部分がシクロペンタンに置き換わった誘導体で、同環の二重結合が欠落した化合物は抗 HBV 活性が減弱する事から同環上の二重結合と HBV 逆転写酵素との相互作用が重要であると考えられる。そこで本研究では、脱硫酸的スタニル化を鍵反応として利用し、フルオロビニル型 ENT を合成した。

#### ②アシクロ型 entecavir 誘導体の合成

Entecavir (ETV) の開環型誘導体 (2:MEP series) を合成した。

#### ③アルケンを有するアシクロ型ヌクレオシド誘導体の合成

Adefovir の構造を参考として、アルケン構造を有するシンプルな構造のヌクレオシド誘導体(ZBT/EBT series)を合成した。

### 2. 新規化合物の抗 HIV-1 活性、抗 HBV 活性の評価および測定系の改善検討

(満屋、田中、児玉、天野、青木)

①新規化合物の抗 HIV-1 活性の評価：逆転写酵素は HBV がウイルス RNA から cDNA を合成するために必須の酵素であり、またレトロウイルスである HIV も逆転写酵素を有する。これら 2 つの逆転写酵素は互いに相同性がある事が知られているが、事実、抗 HIV 剤として使用されてきた 3TC (ラミブジ

ン) が抗 HBV 逆転写酵素阻害活性を有することが分かり、抗 HBV 剤として臨床で使用されている。このことから抗 HBV 逆転写酵素阻害活性と抗 HIV 逆転写酵素阻害活性は一定の相関があると考えられている。また HIV と HBV の重感染例では両活性の情報は治療を行なう上で必須である。化合物の活性評価に関して、抗 HIV 剤においては MTT assay によるハイスループットの測定系が既に存在することから、まず HIV に対する活性を測定し、ある程度の活性を示す化合物について抗 HBV 活性を測定する。方法は、ヒト由来 CD4 陽性 T 細胞株である MT-2 細胞と実験室野生 HIV-1 株である HIV-1<sub>LAI</sub> を用いた MTT assay により行なった。新規化合物を段階希釈し、次いで  $2 \times 10^4$ /ml の MT-2 細胞と 100 TCID<sub>50</sub> の HIV-1<sub>LAI</sub> を添加した。一週間培養後、MTT 試薬を添加し、570 nm の吸光度を測定し、EC<sub>50</sub> 値を算出した。

②化合物の細胞毒性の検討：細胞は MT-2 細胞およびヒト肝癌由来の細胞株である Huh-7 細胞を用い、MTT assay にて評価を行なった。新規化合物を段階希釈し、次いで各細胞を添加、培養した。MTT 試薬を添加し、570 nm の吸光度を測定し、CC<sub>50</sub> 値を算出した。

③新規化合物の抗 HBV 活性の評価：10%FCS 加 DMEM にて新規化合物を段階希釈し、持続的に HBV を産生する HepG2.2.15 細胞を  $1 \times 10^5$ /ml で播種した。培養後、上清中の HBV DNA を抽出・精製し、real-time PCR 法で検出した。

④BSA を用いた培養：FCS を用いた培養では細胞が十分に増えるものの、十分な HBV DNA の検出ができなかったことから、FCS を 0.1% BSA に変更し、培養上清を DNA 抽出なしに直接定量 PCR ができるかを検討した。

### 3. HBV 逆転写酵素の構造生物学的解析(尾曲、

安武)

現在までに、HBV の逆転写酵素 (RT) を高純度・高濃度に単離する方法は開発されておらず、HBV RT 領域をバキュロウイルスもしくは大腸菌に組み込み、これらを用いて、高純度高濃度の蛋白質を作製・精製する。

① *Rhodococcus erythropolis* による HBV-Pol 全長の発現：HBV-Pol 遺伝子を PCR で増幅後に *Rhodococcus erythropolis* 用発現プラスミド pTip-QC2 に挿入し発現を解析した。

② 蛋白質発現領域の探索：HBV RT の活性部位を保持できるように、モデル構造と構造安定性予測の解析から構造形成に必須と考えられる発現領域を決定した。RT 領域以外に、RNase 活性領域を含めた RT-RNase 領域も発現領域に選定した。全領域を大腸菌発現系で発現させることができず、発現領域をフラグメント化して、それらをバキュロウイルス、大腸菌発現系に導入した。

③ 大腸菌発現系：HBV RT が含まれる P 遺伝子全領域に加え、RT 領域、RNase 領域とそれらの組み合わせた RT-RNase 領域を持つ蛋白質の発現系を 21 種類構築し、蛋白質の発現を SDS-PAGE で確認した。

④ バキュロウイルス発現系：HBV RT の遺伝子をもつ 4 種のバキュロウイルスを作製した。このリコンビナントウイルスには、逆転写酵素を含む P 遺伝子領域と、逆転写活性を有する RT 領域、RNAase 活性を有する RNase 領域、その両方を含む RT-RNase 領域を組み込んだ。

#### 4. 薬剤耐性 HBV 感染キメラマウスの作製 (田中)

1.24 倍長 HBV 複製モデルの野生株について、薬剤耐性変異株 7 種類：エンテカビル耐性 4 種類 (genotype Ae: 1 種類、genotype Bj: 1 種

類、genotype Ce: 2 種類)、ラミブジン耐性 1 種類 (genotype Ce)、アデホビル耐性 1 種類 (genotype Ce)、ラミブジン+アデホビル耐性 1 種類 (genotype Ce) を作成し、これを Huh-7 細胞に transfection して得られたウイルス粒子を含む培養上清をヒト肝細胞キメラマウスに接種した。

#### 5. 候補化合物の前臨床、臨床試験に関するシステムの構築・整備と生体内での評価 (小田切、伊藤、新保、榎本)

① PK/PD の解析と毒性評価：体内動態実験に必要な定量用質量分析計 Xevo G2 TOF システムのセットアップと新規化合物中にその一部が含有されると推定される化合物 X (グアノシン 5' -リン酸) の測定条件設定を行った。

② 臨床試験実施体制並びに実施支援体制の確立・整備：臨床試験プロトコール作成支援体制として、治験及び先進医療プロトコール作成ユニットの設置並びに試験的運用を行なった。また多施設共同試験実施体制の構築のため、国立国際医療研究センター臨床研究センター中央事務局の設置並びに試験的運用並びにコーディネーター部門の整備を行なった。

③ 臨床試験データマネージメントに関して：過去 12 年間にデータマネージメントを実施した、または現在実施中の 44 研究について、データマネージメントの内容と特徴を分析し、今後の取り組みについて検討を行った。

④ HBV 治療の現状と HBV 変異体の動態解析：核酸アナログを投与した症例において、臨床的ウイルス反応性、ならびに核酸アナログ投与後の発癌リスクについて検討した。また核酸アナログ未投与 HBV 感染症例における HBV ゲノムの核酸アナログ自然耐性変異の有無について、次世代シーケンサーを用いた deep sequence

により検討した。

### (倫理面への配慮)

遺伝子組み換え実験については学内委員会の審査を得た。ヒト肝細胞については米国での倫理審査通過済みのものを輸入した。開発中の化合物の臨床試験導入に際しては、まず動物実験などでその安全性を十分に確認する。また必要最小限数の動物使用となるように配慮する。さらに医学部・大学内の該当する IRB で倫理面での適合性について許可を申請、認可された後で試験を開始する。他方で臨床応用に必要な検討事項についても検討して、同時に大手製薬企業へのライセンス化を図る。

## C. 研究結果および D. 考察

### 1. 新規化合物の合成およびその抗 HIV-1 活性、抗 HBV 活性、細胞毒性の評価

①新規に合成されたヌクレオシド誘導体 67 種類 (分子量: 239.2-455.3) について、MT-2 細胞を標的細胞とした MTT assay 法により野生株 (HIV-1<sub>LAI</sub>) に対する抗 HIV-1 活性を評価した結果、67 化合物中 23 化合物が野生 HIV-1 株に対し 1  $\mu$ M 未満の EC<sub>50</sub> 値を有し、実測値は EC<sub>50</sub>: 0.0001-0.9104  $\mu$ M であった。また同方法を用いてヒト T 細胞由来の細胞株である MT-2 細胞およびヒト肝癌由来の細胞株である Huh-7 細胞に対する細胞毒性を評価した。67 化合物中 52 化合物は MT-2 細胞に対して CC<sub>50</sub> (50% cytotoxicity concentration: 50% 細胞毒性濃度) 値が 100  $\mu$ M を超え、明らかな細胞毒性を示さなかった。また検討した 37 化合物中 24 化合物は Huh-7 細胞に対して明らかな細胞毒性を示さなかった。これら新規の核酸アナログ候補化合物のうち、その化学構造特性や抗 HIV-1 活性、細胞毒性を考慮した上で 15 化合物を選択し抗

HBV 活性を検討した結果、2 つの化合物において既存の薬剤と同程度の抗 HBV 活性を確認した。②またエキソメチレン部位にフッ素原子が置換した新規 ETV 誘導体の 15 化合物のうち、8 化合物について抗 HBV 活性評価を終了したが、明らかな HBV DNA 合成阻害活性を認めなかった。③アシクロ型 ETV 誘導体およびアルケンを有するアシクロ型ヌクレオシド誘導体の 9 化合物についても同様に解析し、抗 HIV-1 活性について 1 種類が 24  $\mu$ M の EC<sub>50</sub> 値を示した (残り 8 種類はいずれも 100  $\mu$ M 以上)。またこの一連の化合物の細胞毒性は 100  $\mu$ M では認められなかった。抗 HBV 活性については、有意な活性は見られなかった。以上のデータは、HIV と HBV の RT の活性部位の構造が互いに類似しているものの、微細な部分においては可成り異なる可能性があり、X 線結晶構造解析などの詳細な解析が待たれる。

④抗 HBV 活性の測定系の改善を目的とし、BSA を FBS の代わりに用いた培養において、PCR 反応液に加える培養上清を反応液の 10% 容量まで増加させたが、PCR 効率ほとんど変化せず、この方法により DNA 抽出を簡便化することが出来た。

### 2. HBV 逆転写酵素の構造生物学的解析

① HBV-Pol 全長の発現結果: *Rhodococcus erythropolis* 細胞を利用した場合、HBV-Pol の全長蛋白質の発現は認められなかった。②大腸菌を用いて N 末端にヒスタグを融合させた場合には *R. erythropolis* の場合同様に全く発現を検出できなかったが、C 末端にヒスタグ、および N と C の両方にヒスタグを付加させた場合には、HBV-Pol と考えられる蛋白質を微量ながら検出することができた。発現全量と不溶化蛋白質の量をより詳細に解析した結果、細胞の沈殿の中に多くの HBV-Pol が存在することを確認した。



③HBV RT の遺伝子をもつ4種のバキュロウイルス（逆転写酵素を含むP遺伝子領域、逆転写活性を有するRT領域、RNAase活性を有するRNase領域、その両方を含むRT-RNase領域）を作製した。

### 3. 薬剤耐性HBV感染キメラマウスの作製

1.24倍長HBV複製モデルの野生株について、薬剤耐性変異株7種類：エンテカビル耐性4種類（genotype Ae: 1種類、genotype Bj: 1種類、genotype Ce: 2種類）、ラミブジン耐性1種類（genotype Ce）、アデホビル耐性1種類（genotype Ce）、ラミブジン+アデホビル耐性1種類（genotype Ce）を作成し、これをHuh-7細胞にtransfectionして得られたウイルス粒子を含む培養上清をヒト肝細胞キメラマウスに接種した。キメラマウスに接種したHBV薬剤耐性変異株の培養上清7種類のうち、現在までに6種類の感染を確認した。

### 4. 前臨床、臨床試験に関するシステムの構築・整備と生体内での評価

①PK/PDの解析と毒性評価：検討した測定条件によりグアノシン5'-リン酸の類似体と2つの推定類似体由来（分解物または代謝物）のピークが検出され、定量用質量分析計Xevo G2 TOFシステムのセットアップが成功した。

②臨床試験プロトコール作成支援体制：国立国際医療研究センター臨床研究センター内に、臨床医、生物統計家、データセンター長やメディカルライター等をメンバーとして組織横断的に構成されるプロトコール作成ユニットを設置した。

③臨床試験データマネージメントに関して：多施設共同研究は全研究の95%、前向き研究は

41%、ランダム化比較試験は34%を占めた。目標症例数別では100症例未満の研究（14%）から1万症例以上の研究（16%）と研究規模は多様であった。

④HBV治療の現状とHBV変異体の動態解析：

(1)山梨大学通院中の396例のHBV患者に対して、HCC発症は80症例に認められた。核酸アナログ投与によるウイルス消失率は1年目から4年目まで階段状に上昇するが4年で94%に達して以降プラトーとなった。HCC発症率は、核酸アナログ投与開始後、毎年10-30%に新たに認め、5年以上経過しても20-30%に認め、肝発癌抑制効果を核酸アナログが有するのかわらかではなかった。一方、核酸アナログ投与後HBc関連抗原の低下する症例では発癌率が低下する可能性を明らかとした。

(2)ラミブジン(L180M、M204V/I)、エンテカビル(L180M or M204V/I + T184A or S202G or M250V)、アデフォビル(A181T、N236T)における自然耐性変異の有無をdeep sequenceにて検討した。それぞれの変異部位における各アンプルリコンにおいて1049から2488のリードが得られたが、特に活性中心であるM204V/Iに加えM250IはHCC群で55%、inactive群で42%の症例に1%弱の比率ではあるものの有意な変異型の混在を認めた。これらの部位に比べると頻度は少ないが他の領域A181T(45%、16%)、T184A(9%、25%)、S202G(45%、25%)、N236T(0%、8%)(各々HCC群、inactive群)にも1%弱の混在比率で耐性変異を認めた。

### E. 結論

新規化合物91種類について抗HIV-1活性、抗HBV活性、細胞毒性を評価し、既存の薬剤と同程度の抗HBV活性を示す2種類の化合物を同定した。またHBV RTのX線結晶構造解析

のためのタンパク質発現系の構築を前進させている。今後も新規化合物のデザイン・合成・同定を継続しつつ、結晶構造解析学等を駆使しながら、野性株と薬剤耐性変異株の HBV RT における薬剤開発に必須な活性部位の微細構造を世界に先駆けて発信する。抗 HBV 剤の開発において、ハイスループット・スクリーニングはこれまで行われておらず一つの障壁となっていたが、従来法の改良や全く新しい方法による測定系の開発により、新規の逆転写酵素阻害剤の開発を容易にすると共に新規の薬剤標的の同定やその開発に有用であると期待される。また、耐性変異を有する HBV クローンを用いることで、見出された薬剤がこれまでの薬剤と交差耐性を有するか判定が可能となり、これにより交差耐性のない有効な併用療法が期待できる。また医薬品候補化合物獲得後の前臨床試験並びに第 I/IIa 相臨床試験などの臨床開発が円滑に実施できるよう準備も整いつつある。

HBV の耐性発現に抵抗し、発現しても他薬剤との交差耐性を有しない新規薬剤の開発は、HBV 感染症患者の病態コントロールを改善し、その結果患者の QOL 改善と医療・対費用効果の改善にも大きく貢献すると期待される。そのような新規 HBV 阻害剤が開発・臨床応用されれば、HBV 感染症の診療領域にもたらされるインパクトは日本と世界で極めて高いものとなると高く期待される。

## F. 健康危険情報

特になし

## G. 研究発表

### 1) 論文発表

研究代表者

満屋 裕明 :

1. Amano M, Tojo Y, Salcedo-Gómez PM, Campbell JR, Das D, Aoki M, Xu CX, Rao KV, Ghosh AK, **Mitsuya H**. GRL-0519, A Novel Oxatricyclic-Ligand-Containing Nonpeptidic HIV-1 Protease Inhibitor (PI), Potently Suppresses The Replication of a Wide Spectrum of Multi-PI-Resistant HIV-1 Variants In Vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 57(5):2036-46. 2013.
2. Aoki M, Danish ML, Aoki-Ogata H, Amano H, Ide K, Koh Y, **Mitsuya H**. Loss of protease dimerization inhibition activity of tipranavir (TPV) is associated with HIV-1 acquisition of resistance to TPV. *J. Virol.* 86(24):13384-13396. 2012.
3. Ghosh AK, Chapsal BD, Steffey M, Agniswamy J, Wang YF, Amano M, Weber IT, **Mitsuya H**. Substituent effects on P2-cyclopentyltetrahydrofuran-yl urethanes: Design, synthesis, and X-ray studies of potent HIV-1 protease inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* 22(6): 2308-2311. 2012.
4. Yarchoan, R. and **Mitsuya, H**. (2012) Development of the first AIDS drugs: AZT and other dideoxynucleosides. In Human Immuno deficiency Virus Reverse Transcriptase (ed. S.DeGrice) Springer 2012 (in press)
5. Ghosh AK, Anderson DD, Weber IT, **Mitsuya H**. (2012) Enhancing protein backbone binding--a fruitful concept for combating drug-resistant HIV. *Angew Chem Int Ed Engl.* 51(8): 1778-802
6. Michailidis E, Singh K, Ryan EM, Hachiya A, Ong YT, Kirby KA, Marchand B, Kodama EN, **Mitsuya H**, Parniak MA, Sarafianos SG. Effect of translocation defective reverse transcriptase

- inhibitors on the activity of n348i, a connection subdomain drug resistant HIV-1 reverse transcriptase mutant. *Cell. Mol. Biol.* 58:187-95. 2012.
7. Ndongwe TP, Adedeji AO, Michailidis E, Ong YT, Hachiya A, Marchand B, Ryan EM, Rai DK, Kirby KA, Whatley AS, Burke DH, Johnson M, Ding S, Zheng YM, Liu SL, Kodama E, Delviks-Frankenberry KA, Pathak VK, **Mitsuya H**, Parniak MA, Singh K, Sarafianos SG. Biochemical, inhibition and inhibitor resistance studies of xenotropic murine leukemia virus-related virus reverse transcriptase. *Nucleic Acids Res.* 40:345-59. 2012.
  8. Sohl, C.D., Singh, K., Kasiviswanathan, R., Copeland, W.C., **Mitsuya, H.**, Sarafianos, S.G., Anderson, K.S. Mechanism of interaction of human mitochondrial DNA polymerase  $\gamma$  with the novel nucleoside reverse transcriptase inhibitor 4'-ethynyl-2'-fluoro-2'-deoxyadenosine indicates a low potential for host toxicity. *Antimicrob Agents Chemother.* 56:1630-4. 2012.
  9. Murphey-Corb, M., Rajakuma, P., Michael., H., Nyaundi, J., Didier, P.J., Reeve, A.B., **Mitsuya, H.**, Sarafianos, S.G., and Parniak MA. Response of simian immunodeficiency virus to the novel nucleoside reverse transcriptase inhibitor 4'-ethynyl-2'-fluoro-2'-deoxyadenosine in vitro and in vivo. *Antimicrob Agents Chemother.* 56:4707-12. 2012.
  10. Maeda, K., Das, D. Nakata, H., and Mitsuya, H. CCR5 inhibitors: emergence, success, and challenges. *Expert Opin Emerging Drugs* 17:135-45. 2012.
  11. Sohl, C.D., Kasiviswanathan, R., Kim, J., Pradere, U., Schinazi, R.F., Copeland, W.C., Mitsuya, H., Baba, M., Anderson, K.S. Balancing antiviral potency and host toxicity: identifying a nucleotide inhibitor with an optimal kinetic phenotype for HIV-1 reverse transcriptase. *Mol Pharmacol.* 82:125-33. 2012.
- 研究分担者  
小田切 優樹 :
1. Tanaka R, Watanabe H, Kodama A, Chuang VT, Ishima Y, Hamasaki K, Tanaka KI, Mizushima T, **Otagiri M**, Maruyama T. Long-acting human serum albumin- thioredoxin fusion protein suppresses bleomycin-induced pulmonary fibrosis progression. *J Pharmacol Exp Ther.* (2013) *in press*
  2. Ishima Y, Shinagawa T, Yoneshige S, Kragh-Hansen U, Ohya Y, Inomata Y, Kai T, **Otagiri M**, Maruyama T. UW solution improved with high anti-apoptotic activity by S-nitrosated human serum albumin. *Nitric Oxide.* (2013) *in press*
  3. Minomo A, Ishima Y, Chuang VT, Suwa Y, Kragh-Hansen U, Narisoko T, Morioka H, Maruyama T, **Otagiri M**. Albumin domain II mutant with high bilirubin binding affinity has a great potential as serum bilirubin excretion enhancer for hyperbilirubinemia treatment. *Biochim Biophys Acta.* (2013) 1830:2917-23.
  4. Watanabe H, Miyamoto Y, Honda D, Tanaka H, Wu Q, Endo M, Noguchi T, Kadowaki D, Ishima Y, Kotani S, Nakajima M, Kataoka K, Kim-Mitsuyama S, Tanaka M, Fukagawa M, **Otagiri M**, Maruyama T. p-Cresyl sulfate causes renal tubular cell damage by inducing oxidative stress by activation of NADPH oxidase. *Kidney Int.* (2013) *in press*

5. Nishi K, Kobayashi M, Nishii R, Shikano N, Takamura N, Kuga N, Yamasaki K, Nagamachi S, Tamura S, **Otagiri M**, Kawai K. Pharmacokinetic Alteration of (99m)Tc-MAG3 using Serum Protein Binding Displacement Method. *Nucl Med Biol.* (2013) *in press*
6. Kodama A, Watanabe H, Tanaka R, Tanaka H, Chuang VT, Miyamoto Y, Wu Q, Endo M, Hamasaki K, Ishima Y, Fukagawa M, **Otagiri M**, Maruyama T. A human serum albumin-thioredoxin fusion protein prevents experimental contrast-induced nephropathy. *Kidney Int.* (2013) *in press*
7. Ogaki S, Taguchi K, Watanabe H, **Otagiri M**, Maruyama T. Carbon monoxide-bound red blood cells protect red blood cell transfusion-induced hepatic cytochrome P450 impairment in hemorrhagic-shock rats. *Drug Metab Dispos.* (2013) 41:141-8.
8. Kadowaki D, Sumikawa S, Arimizu K, Taguchi K, Kitamura K, Ishitsuka Y, Narita Y, Irie T, Chuang VT, Maruyama T, **Otagiri M**, Hirata S. Effect of acetaminophen on the progression of renal damage in adenine induced renal failure model rats. *Life Sci.* (2012) 91:1304-8.
9. Taguchi K, Watanabe H, Sakai H, Horinouchi H, Kobayashi K, Maruyama T, **Otagiri M**. A Fourteen-Day Observation and Pharmacokinetic Evaluation after a Massive Intravenous Infusion of Hemoglobin- Vesicles (Artificial Oxygen Carriers) in Cynomolgus Monkeys. *J Drug Metab Toxicol.*, (2012) 3, 1000128
10. Ishima Y, Hara M, Kragh-Hansen U, Inoue A, Suenaga A, Kai T, Watanabe H, **Otagiri M**, Maruyama T. Elucidation of the therapeutic enhancer mechanism of poly-S-nitrosated human serum albumin against multidrug-resistant tumor in animal models. *J Control Release.* (2012) 164:1-7.
11. Watanabe K, Ishima Y, Akaike T, Sawa T, Kuroda T, Ogawa W, Watanabe H, Suenaga A, Kai T, **Otagiri M**, Maruyama T. S-nitrosated  $\alpha$ -1-acid glycoprotein kills drug-resistant bacteria and aids survival in sepsis. *FASEB J.* (2013) 27:391-8.
12. Kaga M, Li H, Ohta H, Taguchi K, Ogaki S, Izumi H, Inagaki M, Tsuchiya S, Okamura K, **Otagiri M**, Sakai H, Yaegashi N. Liposome-encapsulated hemoglobin (hemoglobin-vesicle) is not transferred from mother to fetus at the late stage of pregnancy in the rat model. *Life Sci.* (2012) 91:420-8.
13. Miyamoto Y, Iwao Y, Mera K, Watanabe H, Kadowaki D, Ishima Y, Chuang VT, Sato K, **Otagiri M**, Maruyama T. A uremic toxin, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionate induces cell damage to proximal tubular cells via the generation of a radical intermediate. *Biochem Pharmacol.* (2012) 84:1207-14.
14. Komori H, Watanabe H, Shuto T, Kodama A, Maeda H, Watanabe K, Kai H, **Otagiri M**, Maruyama T.  $\alpha$ (1)-Acid glycoprotein up-regulates CD163 via TLR4/CD14 protein pathway: possible protection against hemolysis-induced oxidative stress. *J Biol Chem.* (2012) 287:30688-700.
15. Kaneko K, Chuang VT, Ito T, Suenaga A, Watanabe H, Maruyama T, **Otagiri M**. Arginine 485 of human serum albumin interacts with the benzophenone moiety of ketoprofen in the

- binding pocket of subdomain III A and III B. *Pharmazie*. (2012) 67:414-8.
16. Taguchi K, Chuang VT, Maruyama T, **Otagiri M**. Pharmaceutical aspects of the recombinant human serum albumin dimer: structural characteristics, biological properties, and medical applications. *J Pharm Sci*. (2012) 101:3033-46.
  17. Watanabe H, Noguchi T, Miyamoto Y, Kadowaki D, Kotani S, Nakajima M, Miyamura S, Ishima Y, **Otagiri M**, Maruyama T. Interaction between two sulfate-conjugated uremic toxins, p-cresyl sulfate and indoxyl sulfate, during binding with human serum albumin. *Drug Metab Dispos*. (2012) 40:1423-8.
  18. Ishima Y, Hoshino H, Shinagawa T, Watanabe K, Akaike T, Sawa T, Kragh-Hansen U, Kai T, Watanabe H, Maruyama T, **Otagiri M**. S-guanylation of human serum albumin is a unique posttranslational modification and results in a novel class of antibacterial agents. *J Pharm Sci*. (2012) 101:3222-9.
  19. Iwao Y, Ishima Y, Yamada J, Noguchi T, Kragh-Hansen U, Mera K, Honda D, Suenaga A, Maruyama T, **Otagiri M**. Quantitative evaluation of the role of cysteine and methionine residues in the antioxidant activity of human serum albumin using recombinant mutants. *IUBMB Life*. (2012) 64:450-4.
  20. Komori H, Nishi K, Uehara N, Watanabe H, Shuto T, Suenaga A, Maruyama T, **Otagiri M**. Characterization of hepatic cellular uptake of  $\alpha$ 1-acid glycoprotein (AGP), part 2: involvement of hemoglobin  $\beta$ -chain on plasma membranes in the uptake of human AGP by liver parenchymal cells. *J Pharm Sci*. (2012) 101:1607-15.
  21. Ishima Y, Chen D, Fang J, Maeda H, Minomo A, Kragh-Hansen U, Kai T, Maruyama T, **Otagiri M**. S-Nitrosated human serum albumin dimer is not only a novel anti-tumor drug but also a potentiator for anti-tumor drugs with augmented EPR effects. *Bioconjug Chem*. (2012) 23:264-71.
  22. Nishi K, Komori H, Kikuchi M, Uehara N, Fukunaga N, Matsumoto K, Watanabe H, Nakajou K, Misumi S, Suenaga A, Maruyama T, **Otagiri M**. Characterization of the hepatic cellular uptake of  $\alpha$ (1) -acid glycoprotein (AGP), part 1: a peptide moiety of human AGP is recognized by the hemoglobin  $\beta$ -chain on mouse liver parenchymal cells. *J Pharm Sci*. (2012) 101:1599-606.
- 新保 卓郎 :
1. **Shimbo T**, Miyaki K, Song Y, Masaki N, Study Group Developing Nationwide Database of Hepatitis Japan. The effectiveness and tolerability of combined treatment with peginterferon alpha-2a or alpha-2b and ribavirin in the treatment of patients with chronic hepatitis C: Results based on the nationwide hepatitis registry in Japan. *Value in Health* 2012; 15(7): A326
- 榎本 信幸 :
1. Komase K, Maekawa S, Miura M, Sueki R, Kadokura M, Shindo H, Shindo K, Amemiya F, Nakayama Y, Inoue T, Sakamoto M, Yamashita A, Moriishi K, **Enomoto N**. The serum RANTES level influences the response to pegylated-interferon and ribavirin therapy in chronic hepatitis C. *Hepatology Res*. 2012, in press.
  2. Sueki R, Maekawa S, Miura M, Kadokura M,

- Komase K, Shindo H, Kanayama A, Ohmori T, Shindo K, Amemiya F, Nakayama Y, Uetake T, Inoue T, Sakamoto M, **Enomoto N**. Correlation between pretreatment viral sequences and the emergence of lamivudine resistance in hepatitis B virus infection. *J Med Virol*. 2012 Sep;84(9):1360-8.
3. Fujimoto Y, Salam KA, Furuta A, Matsuda Y, Fujita O, Tani H, Ikeda M, Kato N, Sakamoto N, Maekawa S, **Enomoto N**, de Voogd NJ, Nakakoshi M, Tsubuki M, Sekiguchi Y, Tsuneda S, Akimitsu N, Noda N, Yamashita A, Tanaka J, Moriishi K. Inhibition of Both Protease and Helicase Activities of Hepatitis C Virus NS3 by an Ethyl Acetate Extract of Marine Sponge *Amphimedon* sp. *PLoS One*. 2012;7(11):e48685.
  4. Shindo H, Maekawa S, Komase K, Miura M, Kadokura M, Sueki R, Komatsu N, Shindo K, Amemiya F, Nakayama Y, Inoue T, Sakamoto M, Yamashita A, Moriishi K, **Enomoto N**. IL-28B (IFN- $\lambda$ 3) and IFN- $\alpha$  synergistically inhibit HCV replication. *J Viral Hepatitis*. 2012, in press.
  5. Maekawa S, Sakamoto M, Miura M, Kadokura M, Sueki R, Komase K, Shindo H, Komatsu N, Shindo K, Kanayama A, Ohmori T, Amemiya F, Takano S, Yamaguchi T, Nakayama Y, Kitamura T, Inoue T, Okada S, **Enomoto N**. Comprehensive analysis for viral elements and IL28B polymorphisms in response to peginterferon plus ribavirin therapy in hcv-1b infection. *Hepatology*. 2012 May 10.
  6. Yamashita A, Salam KA, Furuta A, Matsuda Y, Fujita O, Tani H, Fujita Y, Fujimoto Y, Ikeda M, Kato N, Sakamoto N, Maekawa S, **Enomoto N**, Nakakoshi M, Tsubuki M, Sekiguchi Y, Tsuneda S, Akimitsu N, Noda N, Tanaka J, Moriishi K. Inhibition of hepatitis C virus replication and viral helicase by ethyl acetate extract of the marine feather star *Alloeocomatella polycladia*. *Mar Drugs*. 2012 Apr;10(4):744-61.
- 原口 一広 :
1. Kumamoto, H.; Kawahigashi, S.; Wakabayashi, H.; Nakano, T.; Miyaike, T.; Kitagawa, Y.; Abe, H.; Ito, M.; **Haraguchi, K.**; Tanaka, H. "Tuning Efficiency of the 4-*Exo-trig* Cyclization by Electronic Effect: Ring-Closure of 3,3-Difluoro-4-pentenyl Carbon Radicals and Synthesis of *gem*-Difluorocyclobutane Nucleoside ", *Chem. Commun.* 2012, 48, 10993-10995.
  2. **Haraguch, K.**; Takeda, S; Kubota, Y; Kumamoto, H; Tanaka, H; Hamasaki, T; Baba, M; Paintsil, E; Cheng, Y.-C. "From the chemistry of epoxy-sugar nucleosides to the discovery of anti-HIV agent Festinavir", *Current Pharmaceutical Design*, 2013, 19, 1880-1897.
- 児玉 栄一 :
1. Tanyaradzwa P. Ndongwe, Adeyemi O. Adedeji, Eleftherios Michailidis, Yee Tsuey Ong, Atsuko Hachiya, Bruno Marchand, Emily M. Ryan, Devendra K. Rai, Karen A. Kirby, Angela S. Whatley, Donald H. Burke, Marc Johnson, Shilei Ding, Yi-Min Zheng, Shan-Lu Liu, **Ei-Ichi Kodama**, Krista A. Delviks-Frankenberry, Vinay K. Pathak, Hiroaki Mitsuya, Michael A. Parniak, Kamalendra Singh, Stefan G. Sarafianos. Biochemical, inhibition, and inhibitor resistance studies of xenotropic murine leukemia virus-related virus reverse transcriptase. *Nucleic Acids Research* 40:345-359, 2012
  2. Ryo Masuda, Shinya Oishi, Noriko Tanahara,

- Hiroaki Ohno, Akira Hirasawa, Gozoh Tsujimoto, **Eiichi Kodama**, Masao Matsuoka and Nobutaka Fujii. Development and application of fluorescent SDF-1 derivatives. *Future Medicinal Chemistry* 4:837-844, 2012
3. Xiaoguang Li, Hua Qian, Fusako Miyamoto, Takeshi Naito, Kumi Kawaji, Kazumi Kajiwara, Toshio Hattori, Masao Matsuoka, Kentaro Watanabe, Shinya Oishi, Nobutaka Fujii, **Eiichi N. Kodama**. A simple, rapid, and sensitive system for the evaluation of anti-viral drugs in rats. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 424:257-261 2012
  4. Atsuko Hachiya, Bruno Marchand, Karen A. Kirby, Eleftherios Michailidis, Xiongying Tu, Krzysztof Palczewski, Yee Tsuey Ong, Daniel T. Griffin, Matthew M. Schuckmann, Junko Tanuma, Shinichi Oka, Kamalendra Singh, **Eiichi N. Kodama** and Stefan G. Sarafianos. HIV-1 reverse transcriptase (RT) polymorphism 172K, suppresses the effect of clinically relevant drug resistance mutations to both nucleoside and nonnucleoside RT inhibitors. *Journal of Biological Chemistry* 287:29988-29999, 2012
  5. Michailidis E, Singh K, Ryan EM, Hachiya A, Ong YT, Kirby KA, Marchand B, **Kodama EN**, Mitsuya H, Parniak MA, Sarafianos SG. Effect of translocation defective reverse transcriptase inhibitors on the activity of n348i, a connection subdomain drug resistant hiv-1 reverse transcriptase mutant. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 58:187-195, 2012
  6. Kazuki Izumi, Kumi Kawaji, Fusako Miyamoto, Kazuki Shimane, Kazuya Shimura, Yasuko Sakagami, Toshio Hattori, Kentaro Watanabe, Shinya Oishi, Nobutaka Fujii, Masao Matsuoka, Mitsuo Kaku, Stefan G. Sarafianos, and **Eiichi N. Kodama**. Mechanism of Resistance to S138A Substituted Enfuvirtide and its Application to Peptide Design. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology* 45:908-915, 2013.
  7. Fusako Miyamoto and **Eiichi N Kodama**.. Development of small molecule HIV-1 fusion inhibitors: linking Biology to Chemistry. *Current Pharmaceutical Design*, in press 2013
  8. **児玉栄一**、宮本総子 新しい抗ウイルス剤開発の考え方 臨床と微生物 40:51-55, 2013
- 田中 靖人 :
1. Sakamoto T, **Tanaka Y**, Kani S, Sugiyama M, Watanabe T, Iijima S, Murakami S, Matsuura K, Kusakabe A, Shinkai N, Sugauchi F, Mizokami M. Mechanism of the Dependence of Hepatitis B Virus Genotype G on Co-infection with Other Genotypes for Viral Replication. *J Viral Hepat*, 2013;20:e27-e36.
  2. Rawal RK, Singh US, Chavre SN, Wang J, Sugiyama M, Hung W, Govindarajan R, Korba B, **Tanaka Y**, Chu CK. 2'-Fluoro-6'-methylene-carbocyclic adenosine phosphoramidate (FMCAP) prodrug: In vitro anti-HBV activity against the lamivudine-entecavir resistant triple mutant and its mechanism of action. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013;23(2):503-6.

3. Sunbul M, Sugiyama M, Kurbanov F, Leblebicioglu H, Khan A, Elkady A, **Tanaka Y**, Mizokami M. Specific mutations of basal core promoter are associated with chronic liver disease in hepatitis B virus subgenotype D1 prevalent in Turkey. *Microbiol Immunol*, 2012 in press.
4. Ragheb M, Elkady A, **Tanaka Y**, Murakami S, Attia FM, Hassan AA, Hassan MF, Shedid MM, Abdel Reheem HB, Khan A, Mizokami M. Multiple intra-familial transmission patterns of hepatitis B virus genotype D in north-eastern Egypt. *J Med Virol*, 2012;84(4):587-95.
5. 新海登, 田中靖人, 杉山真也, 溝上雅史. 【B型肝炎の抗ウイルス療法の進歩と耐性】核酸アナログ耐性変異パターン解析とその対策. *消化器内科*. 2012;54(5):582-585.

天野 将之 :

1. **Amano M**, Tojo Y, Salcedo-Gómez PM, Campbell JR, Das D, Aoki M, Xu CX, Rao KV, Ghosh AK, Mitsuya H. GRL-0519, A Novel Oxatricyclic-Ligand-Containing Nonpeptidic HIV-1 Protease Inhibitor (PI), Potently Suppresses The Replication of a Wide Spectrum of Multi-PI-Resistant HIV-1 Variants In Vitro. *Antimicrob Agents Chemother*. 57(5):2036-46. 2013.
2. Aoki M, Danish ML, Aoki-Ogata H, **Amano H**, Ide K, Koh Y, Mitsuya H. Loss of protease dimerization inhibition activity of tipranavir (TPV) is associated with HIV-1 acquisition of resistance to TPV. *J. Virol*. 86(24):13384-13396. 2012.
3. Ghosh AK, Chapsal BD, Steffey M, Agniswamy J, Wang YF, **Amano M**, Weber IT, Mitsuya H.

Substituent effects on P2-cyclopentyltetrahydrofuranyl urethanes: Design, synthesis, and X-ray studies of potent HIV-1 protease inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett*. 22(6): 2308-2311. 2012.

青木 学 :

1. **Aoki M**, Danish ML, Aoki-Ogata H, Amano H, Ide K, Koh Y, Mitsuya H. Loss of protease dimerization inhibition activity of tipranavir (TPV) is associated with HIV-1 acquisition of resistance to TPV. *J. Virol*. 86(24):13384-13396. 2012.
2. Amano M, Tojo Y, Salcedo-Gómez PM, Campbell JR, Das D, **Aoki M**, Xu CX, Rao KV, Ghosh AK, Mitsuya H. GRL-0519, A Novel Oxatricyclic-Ligand-Containing Nonpeptidic HIV-1 Protease Inhibitor (PI), Potently Suppresses The Replication of a Wide Spectrum of Multi-PI-Resistant HIV-1 Variants In Vitro. *Antimicrob Agents Chemother*. 57(5):2036-46. 2013.
- 2) 学会発表 (国際学会のみ記載)  
研究代表者  
満屋 裕明 :  
1. M Amano, Y Tojo, M Aoki, S G. Pedro-Miguel, J R. Campbell, A K. Ghosh, **H Mitsuya**. A Novel Oxatricyclic-Ligand-Containing Nonpeptidic Protease Inhibitor (PI) GRL-0519A Potent Against Multi-PI-Resistant HIV In Vitro. 25<sup>th</sup> International Conference on Antiviral Research (ICAR). April 16-19, 2012, Sapporo, Japan  
2. **Hiroaki Mitsuya**. 4'-Ethylnyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine (EFdA), a Translocation Defective Reverse Transcriptase Inhibitor with



Highly Potent Activity against Diverse Multi-Drug-Resistant HIV-1 Variants. HIV DART 2012; Frontiers in Drug Development for Antiretroviral Therapies. December 4-7, 2012, San Diego, CA, USA.

3. **Hiroaki Mitsuya**. Structure Guided Development of AIDS Therapeutics: Successes, Challenges, and Opportunities. 25<sup>th</sup> International Conference on Antiviral Research (ICAR). April 16-19, 2012, Sapporo, Japan.
4. Hiroto Nakata, D Das, K Maeda, K V. Rao, A K. Ghosh, **H Mitsuya**. GRL-007: a Novel Small Molecule CCR5 Antagonist Potent Against a Wide Spectrum of HIV-1. 25<sup>th</sup> International Conference on Antiviral Research (ICAR). April 16-19, 2012, Sapporo, Japan.
5. M Aoki, H Hayashi, H Aoki-Ogata, C D. Martyr, A K. Ghosh, **H Mitsuya**. GRL-01511A: a Novel HIV-1 Protease Inhibitor Potent Against Multi-PI-Resistant HIV-1s. 25<sup>th</sup> International Conference on Antiviral Research (ICAR). April 16-19, 2012, Sapporo, Japan.

研究分担者

小田切 優樹 :

1. Watanabe H, Honda D, Miyamoto Y, Noguchi T, Kadowaki D, Ishima Y, Tanaka M, Tanaka H, Fukagawa M, **Otagiri M**, Maruyama T. p-Cresyl sulfate causes renal tubular cell damage by inducing oxidative stress through the activation of NADPH oxidase. (49th ERA-EDTA Congress, Paris 2012. 2012/5/24-27)
2. Miyamoto Y, Iwao Y, Mera K, Watanabe H, Kadowaki D, Ishima Y, Chuang VTG, Sato K, **Otagiri M**, Maruyama T. A uremic toxin, 3-carboxy-4-methyl-5-propyl-2-furanpropionate

accumulates in proximal tubular cells and induces cell damage through increasing oxidative stress. (49th ERA-EDTA Congress, Paris 2012. 2012/5/24-27)

3. **Otagiri M**, Ishima Y, Maruyama T, Chuang VTG. Human serum albumin as a nanomedicine carrier. (Nanoformulation 2012. 2012/5/28-6/1)
4. **Otagiri M**. The potential of albumin for use as a nanomedicine carrier. (Montreal 2012 international forum on environment and medicine. 2012/7/24-25)

児玉 栄一 :

1. Masahiro Watanabe, Koichi Hashimoto, Yusaku Abe, **Eiichi Kodama**, Ryota Nabika, Shinya Oishi, Nobutaka Fujii, Mitsuaki Hosoya. A novel peptide derived from measles virus fusion protein inhibits the replication of subacute sclerosing panencephalitis (SSPE) virus in vitro and in vivo. 25<sup>th</sup> International Conference on Antiviral Research. Sapporo, Japan, April 16 – 19, 2012
2. Atsuko Hachiya, Bruno Marchand, Eleftherios Michailidis, **Eiichi N Kodama**, Michael A Parniak, Hiroaki Mitsuya, Shinichi Oka, Stefan G Sarafianos. The Combination of 4'-Ethynyl-2-Fluoro-2'-Deoxyadenosine with Rilpivirine Shows Synergistic Anti-HIV-1 Activity In Vitro. 25<sup>th</sup> International Conference on Antiviral Research. Sapporo, Japan, April 16 – 19, 2012
3. Eleftherios Michailidis, Jordan Wilkins, Emily M. Ryan, Atsuko Hachiya, **Eiichi N. Kodama**, Hiroaki Mitsuya, Michael A. Parniak, Stefan G.

Sarafianos. Effect of 4'- and 2-NRTI Substitutions on the Inhibition Mechanism of HIV Reverse Transcriptase and Toxicity. 25th International Conference on Antiviral Research. Sapporo, Japan, April 16 – 19, 2012

4. Fusako Miyamoto, Kumi Kawaji, Toshio Hattori, Hiroaki Mitsuya, Stefan G. Sarafianos, **Eiichi N. Kodama**. Sustained Activity of 4'-Ethylnyl Nucleosides to Variants with M184V Mutation in HIV-1 Reverse Transcriptase. 25th International Conference on Antiviral Research. Sapporo, Japan, April 16 – 19, 2012

田中 靖人 :

1. Sugiyama M, **Tanaka Y**, Nakanishi M, Mizokami M. The influence of specific mutations observed in core promoter region of HBV genotype D1 on viral replication. 2012 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. Sept. 22-25, 2012. Oxford, England
2. Watanabe T, Iijima S, Murakami S, Iio E, Shinkai N, Matsuura K, Yokomaku Y, Imamura J, Sugiura W, **Tanaka Y**. Immune restoration Hepatitis B associated with anti-retroviral therapy for human immunodeficiency virus. 2012 International Meeting on Molecular Biology of Hepatitis B Viruses. Sept. 22-25, 2012. Oxford, England.

天野 将之 :

1. **M Amano**, Y Tojo, M Aoki, S G. Pedro-Miguel, J R. Campbell, A K. Ghosh, H Mitsuya. A Novel Oxatricyclic-Ligand- Containing Nonpeptidic Protease Inhibitor (PI) GRL-0519A Potent Against Multi-PI-Resistant HIV In Vitro. 25<sup>th</sup> International Conference on Antiviral Research

(ICAR). April 16-19, 2012, Sapporo, Japan

青木 学 :

1. **M Aoki**, H Hayashi, H Aoki-Ogata, C D. Martyr, A K. Ghosh, H Mitsuya. GRL-01511A: a Novel HIV-1 Protease Inhibitor Potent Against Multi-PI-Resistant HIV-1s. 25<sup>th</sup> International Conference on Antiviral Research (ICAR). April 16-19, 2012, Sapporo, Japan.

H. 知的所有権の出願・登録状況

1) 特許取得

- (1) The Name of the Patent: Fitness assay and associated methods

Date of Issuance: December 30, 2008

US Patent Number: 7,470,506

Erickson; John W. (Frederick, MD), Gulnik; Sergei V. (Frederick, MD), **Mitsuya; Hiroaki** (Chevy Chase, MD), Ghosh; Arun K. (River Forest, IL)

Assignee: The United States of America as represented by the Department of Health and Human Services (Washington, DC) and Board of Trustees of the University of Illinois.

Appl. No.: 09/720,276

Filed: June 23, 1999

PCT Filed: June 23, 1999

PCT No.: PCT/US99/14119

371(c)(1),(2),(4) Date: March 07, 2001

PCT Pub. No.: WO99/67417

PCT Pub. Date: December 29, 1999

- (2) The Name of the Patent: 4'-C-substituted-2-halo-adenosine derivative

Date of Issuance: March 4, 2008

US Patent Number: 7,470,506

Erickson; Satoru Kohgo, Kashima-gun (JP);

Hiroshi Ohrui, Sendai (JP); Eiichi Kodama,  
Kyoto (JP); Masao Matsuoka, Otsu (JP);  
**Hiroaki Mitsuya**, Kumamoto (JP)

Assignee: Yamasa Corporation, Chiba (JP)

Appl. No.: 11/087,588

Filed: March 24, 2005

(3) The Name of the Patent: CCR5 modulators for  
treating HIVUSPTO Application No.: 61/315,669.

Arun K. Ghosh (West Lafayette, IN), **Hiroaki  
Mitsuya** (Chevy Chase, MD), Assignee: Purdue  
Research Foundation, PCT Filed: March 18, 2011

## 2) 実用新案登録

該当なし

## Ⅱ. 分担研究報告