

- 貞升健志、古賀一郎、太田康男、山元泰之、福武勝幸、加藤真吾、藤井毅、岩本愛吉、西澤雅子、仲宗根正、岡慎一、伊部史朗、横幕能行、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、渡辺香奈子、渡邊大、白阪琢磨、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、杉浦互。新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性HIVの動向。第25回日本エイズ学会学術集会、2011年11月30-12月2日、東京。
- 4) 古賀一郎、吉野友祐、北沢貴利、太田康男。HIV感染症患者の骨折頻度の解明と今後の課題。第86回日本感染症学会学術講演会。2012年4月25-26日、長崎。
- 5) 古賀一郎、妹尾和憲、吉野友祐、北沢貴利、太田康男。日本人男性HIV感染者における骨密度低下の頻度とハイリスク群の同定。第26回日本エイズ学会学術集会、2012年11月24-26日、横浜。
- 6) 古賀一郎、妹尾和憲、吉野友祐、北沢貴利、太田康男。Key drugにmaravirocとprotease inhibitorを併用した6例の使用成績。第26回日本エイズ学会学術集会、2012年11月24-26日、横浜。
- 7) 服部純子、渦永博之、渡邊大、長島真美、貞升健志、近藤真規子、南留美、吉田繁、森治代、内田和江、椎野禎一郎、加藤真吾、千葉仁志、佐藤典宏、伊藤俊広、佐藤武幸、上田敦久、石ヶ坪良明、古賀一郎、太田康男、山元泰之、福武勝幸、古賀道子、岩本愛吉、西澤雅子、岡慎一、伊部史朗、松田昌和、林田庸総、横幕能行、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、白阪琢磨、小島洋子、藤井輝久、高田昇、山本政弘、松下修三、藤田次郎、健山正男、杉浦互。新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性HIVの動向。第26回日本エイズ学会学術集会、2012年11月24-26日、横浜。
- 8) Ichiro Koga, Kazunori Seo, Yusuke Yoshino, Takatoshi Kitazawa, Yasuo Ota. Prevalence and risk factors for osteopenia and osteoporosis in male Japanese HIV patients. 2nd Joint Meeting of the International Bone and Mineral society and The Japanese Society for Bone and Mineral Research, 28 May-1 June. 2013, Kobe, Japan.
- 9) 古賀一郎、妹尾和憲、吉野友祐、北沢貴利、太田康男。Key drugにmaravirocとdarunavirを併用した症例とdarunavirのみの使用例の投与開始後12ヶ月の治療効果の比較。第27回日本エイズ学会学術集会、2013年11月20-22日、熊本。
- 10) 古賀一郎、妹尾和憲、吉野友祐、北沢貴利、太田康男。日本人男性HIV感染症患者における25-hydroxyvitamin Dの評価と1,25-dihydroxyvitamin Dとの相関。第27回日本エイズ学会学術集会、2013年11月20-22日、熊本。
- 11) 古賀一郎、妹尾和憲、吉野友祐、北沢貴利、太田康男。回日本エイズ学会学術集会、2013年11月20-22日、熊本。
- 12) 服部純子、蜂谷敦子、渦永博之、渡邊大、長島真美、貞升健志、近藤真規子、南留美、吉田繁、森治代、内田和江、椎野禎一郎、加藤真吾、千葉仁志、伊藤俊広、佐藤武幸、上田敦久、石ヶ坪良明、古賀一郎、太田康男、山元泰之、福武勝幸、古賀道子、岩本愛吉、西澤雅子、岡慎一、松田昌和、林田庸総、横幕能行、上田幹夫、大家正義、田邊嘉也、白阪琢磨、小島洋子、藤井輝久、高田昇、高田清式、山本政弘、松下修三、藤田次郎、健山正男、杉浦互。新規HIV/AIDS診断症例における薬剤耐性HIVの動向。第27回日本エイズ学会学術集会、2013年11月20-22日、熊本。

## H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
なし
2. 実用新案登録  
なし
3. その他  
なし

## 抗HIV薬の耐性メカニズムの研究

研究分担者

**杉浦 互** (独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター  
感染・免疫研究部 部長

研究協力者

**松岡 和弘** (独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター  
感染・免疫研究部 流動研究員

**根本 理子** (独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター  
感染・免疫研究部 流動研究員

**伊部史朗** (独) 国立病院機構名古屋医療センター臨床研究センター  
感染・免疫研究部 流動研究員

### 研究要旨

抗HIV薬耐性獲得機序を理解するために (a) RT阻害剤耐性を評価できる新規 *in vitro* アッセイを構築しNNRTI耐性変異を持つ臨床検体11例の評価を行い、新規アッセイの有用性を確認した。(b) HIV-2 CRF01\_AB感染症例からウイルスを分離、クローン化し、*in vitro* で主要な抗HIV薬に対する薬剤感受性を評価した。さらに、抗HIV療法を開始したHIV-2 CRF01\_AB感染症例の臨床経過をモニタリングし、治療下において実施した遺伝子型薬剤耐性検査により、薬剤耐性ウイルスの出現を確認した。また、新たにHIV-2感染が疑われた28症例の精査を実施し、一例の新規HIV-2感染症例を同定した。さらに (c) インテグラーゼ (IN) 遺伝子の多様性の解析とそのIN阻害剤感受性に及ぼす影響を明らかにするために、INの活性中心近傍に多数の変異を持つ3症例を対象にIN耐性変異を人為的に導入し、IN活性中心近傍の変異がウイルスの増殖能力に影響する事を明らかにした。

### A. 研究目的

抗HIV薬耐性は近年の優れた薬剤の登場により以前ほどは問題にはなくなっているが、それでも治療に難渋するレベルの薬剤耐性症例が治療を受けている患者の2%程度見られる。また、薬剤耐性HIVによる新たな感染が新規にHIV/AIDSと診断される症例の10%を占めており、初回治療を導入する際の薬剤耐性検査の重要性が増している。また、本邦でHIV/AIDS症例が始めて確認されてからおよそ30年、抗HIV療法が導入されてからおよそ20年が経ち、宿主免疫による流行株の選択・淘汰そして抗HIV薬による選択等の影響を受けて感受性株あるいは野性株とされるウイルスは変貌しつつある。それに伴い、かつては薬剤耐性変異では無かったものの、反対に薬剤耐性変異とされていたものが再評価されつつある。また、インテグラーゼ (IN) を標的とした新たな薬剤 (integrase strand transfer inhibitor: INSTI) も登場してきており、INSTI耐性機序を理解を更新していくことが求められる。本研究では酵素

学的技術を応用した新しい逆転写酵素阻害剤の薬剤耐性検査技術の実用化、INSTIラルテグラビル (RAL) の薬剤耐性獲得機序の解明、さらに近年日本でも報告が散見されるHIV-2感染症例の薬剤耐性の解析、新たにHIV-2の感染が疑われた症例の精査を行った。

### B. 研究方法

#### a. HIV-1 臨床分離株を用いたNNRTIに対する交差耐性変異に関する酵素学的な解析

HIV-1逆転写酵素 (RT) のDNA polymerase活性の新規検出系Cell-free Phenotypic Assay (CFPA) の開発を進めてきた (図1)。薬剤耐性RTの場合、RT活性が阻害されないためDIG標識プライマーに結合したacceptor beadsと取り込まれたbiotin標識のdUTPに結合したdonor beadsとの間でエナジートランスファーによって発光シグナルが検出される。一方で、薬剤感受性RTでは、RT阻害剤を添加するとDIG及び

ビオチン標識されたcDNAを合成できないため、発光シグナルは検出されない。11種類のHIV感染性分子クローン及び、31種類のHIV-1臨床分離株より、*in vitro* 転写の鋳型DNAを調製した。RTの発現にはコムギ無細胞蛋白質合成系を用いた。そして、薬剤感受性はCFPAを活用して、Efavirenz [EFV]、Etravirine[ETR]、Ralpivirine[RPV] に対する薬剤耐性を比較した。精査解析には、酵素学的な手法 [DNA-dependent DNA polymerase 活性 (DdDp assay)、RNA-dependent DNA polymerase 活性 (RdDp assay)] とウイルス学的な手法[phenotypic assay]を用いた。

**b. HIV-2 薬剤耐性の解析およびHIV-2 感染疑い症例の精査**

HIV-2 CRF01\_AB 感染症例からウイルスを分離し、クローン化した後に、R5-MaRBLE細胞を利用して主要な19種類の抗HIV薬に対する薬剤感受性を評価した。また、抗HIV療法を開始したHIV-2 CRF01\_AB感染症例について、ウイルス学的治療効

果と免疫学的治療効果を詳細にモニタリングした。ウイルス学的治療効果は、血漿中のHIV-2 RNA量を定量RT-PCR法にて測定することにより評価した。免疫学的治療効果は、CD4陽性T細胞数を測定することにより評価した。加えて、抗HIV療法中に血漿HIV-2 RNA量が再上昇した場合には、薬剤耐性ウイルスの出現を疑い、遺伝子型薬剤耐性検査を実施すると共に、検出されたアミノ酸変異が薬剤感受性に与える影響を組換えウイルスを作成して調べた。

ウエスタンブロット法により新たにHIV-1/HIV-2の重複感染が疑われた22症例とHIV-2の単独感染が疑われた6症例について、血清学的精査および遺伝子学的精査を実施した。HIV-1/2重複感染疑義症例は全てHIV-1感染が確定済みである症例を対象とした。血清学的精査は、ゼラチン粒子凝集法のセロディアHIV-1/2とイムノブロット法のペプチラブ1,2を用いた。遺伝子学的精査は、定量RT-PCR法に基づく血漿中のHIV-2 RNA検出法および末梢血単核球DNAからのHIV-2遺伝子検出法を用いた。

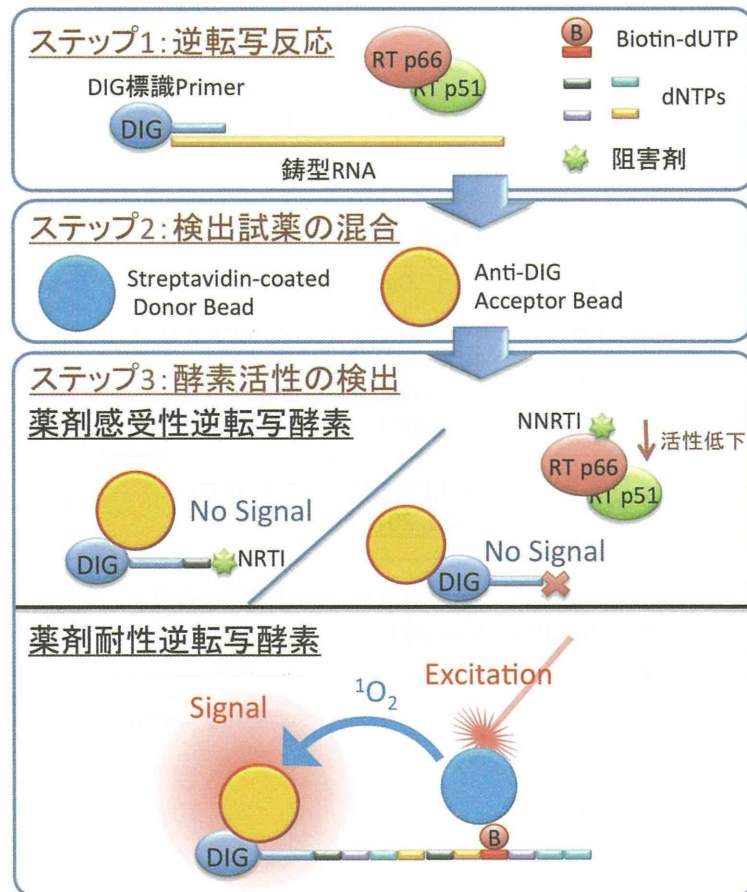


図1 AlphaScreenを用いたRTのDNAポリメラーゼ活性の検出法

## c. IN遺伝子の多様性の解析と

## そのウイルス抑制効果に対する効果の評価

INの有する遺伝的多様性がその後のRALの治療効果に及ぼす影響について理解するために、IN内に複数の変異を（特に活性中心近傍に）獲得している多剤耐性3症例（表1）から増幅したIN配列に6種類のRAL耐性変異（Y143C, Q148K/R/H, N155H, G140S+Q148H）を導入したリコンビナント・ウイルスを作成しそれぞれの増殖性、RAL感受性を評価した。感受性の評価にはsingle round assayとmultiple replication assayの二つの異なる方法を用いた。Single round assayでは10 $\mu$ M～0.1nMのRAL存在下に各ウイルスを293T細胞で発現させ、それらの培養上清をMAGIC-5細胞に加え2日間培養し、X-gal染色を行い、ブルー細胞を数えIC<sub>50</sub>を算出した。一方multiple replication assayでは薬剤のウイルスを同時に添加し、7日間にルシフェラーゼを用いて評価を行った。遺伝子配列を元に分子モデリングを行い、各々のIN活性中心部構造を解析した。

## (倫理面への配慮)

本研究で行われている薬剤耐性検査および解析は名古屋医療センター研究倫理委員会において承認を受けている。

## C. 研究結果

## a. HIV-1 臨床分離株を用いたNNRTIに対する交差耐性変異に関する酵素学的な解析

HIV感染性分子クローンを用いたCFPAでの評価実験では、薬剤感受性検査の結果と比較検討を行ったところ、3TC、EFV、ETR、RPVの全てにおいて高い相関を示した（3TC:R<sup>2</sup>=0.93, EFV:R<sup>2</sup>=0.91, RPV:R<sup>2</sup>=0.90, ETR:R<sup>2</sup>=0.95）（図2）。そして、31症例の臨床検体由来RTについて、非核酸系逆転写酵素阻害剤（NNRTI:EFV, ETR, RPV）を中心に薬剤耐性を評価した結果、25症例については既知の薬剤耐性レベルと概ね一致した。残り6症例の臨床検体由来のK103NをもつRT（K103N RT）は、RPVに対して低い耐性を示した。一般的に、ETRとRPVはK103N RTに対して薬剤感受性を示すことが報告されている。この6症例は、RPVに対して低い耐性を示すグループ（4症例）とRPV感受性のグループ（2症例）に分類することができた。さらに、RPVに対して低い耐性を示すグループは、共通の変異（K103N, I135L, V179I, G196E, Q197K, T286A, A288G）を保持していた（図3）。精査解析の結果、これらK103N RTはDdDp assayではRPVに対して薬剤耐性を示す一方でRdDp assayとphenotypic assayではRPVに対して薬剤感受性が観察された。

表1 3症例におけるインテグラーゼ領域の遺伝的多様性

I D [変異数]	N-terminal (1-49)	Catalytic core (50-212)	C-terminal (213-288)
SHIN 1 [22]	10E, 11D, 25E, 31I	101I, 119G, 122I, 123S, 124T, 125A, 127K, 157Q*, 160Q, 176L 187K, <u>201I</u>	215N, 221S, 222K, 232D, 256E, 269K
SHIN 2 [11]	10E, 24G	101I, 123S, 124T, 127K, 157Q*, 160Q, <u>201I</u> , 205S	232D
SHIN 3 [17]	6E, 10E, 14R, 22I, 28M, 31I, 32I, 35Q	<u>72I</u> , 101I, 123S, 124T, 127K, <u>156N</u> , 200L, <u>201I</u> ,	232D

\*: RALによる薬剤耐性に関連した変異  
\_: その他のINインヒビターによる変異

**b. HIV-2薬剤耐性の解析およびHIV-2感染疑い症例の精査**

HIV-2 CRF01\_AB症例のウイルスクローンを用いた薬剤感受性試験の結果、HIV-2 CRF01\_ABは非核酸系逆転写酵素阻害薬3種（エファビレンツ、エトラビルン、ネビラピン）およびプロテアーゼ阻害薬3種（アンプレナビル、アタザナビル、ダルナビル）に自然耐性を示した。一方で、HIV-2 CRF01\_ABに対してもHIV-1実験株NL4-3とほぼ同等の効果を示す有効な薬剤を同定することができた。上記結果に

基づき、HIV-2 CRF01\_AB感染症例に対する有効な薬剤を用いて多剤併用療法を開始した。初回治療であるアバカビル/ラミブジン+ロピナビル/リトナビルは著効し、治療開始後1.6ヶ月間に、血漿HIV-2 RNA量は $2.6 \times 10^4$  copies/mlから検出限度（40 copies/ml）以下まで速やかに減少し、その後も15.6ヶ月目まで検出限度以下を維持した。しかし、18.7および21.9ヶ月目に低レベルながら連続した血漿HIV-2 RNA量の再上昇（250および310 copies/ml）を認め、遺伝子型薬剤耐性検査により、プロテアーゼ内にR70K変異、逆転写酵素内にM184V、D192N、

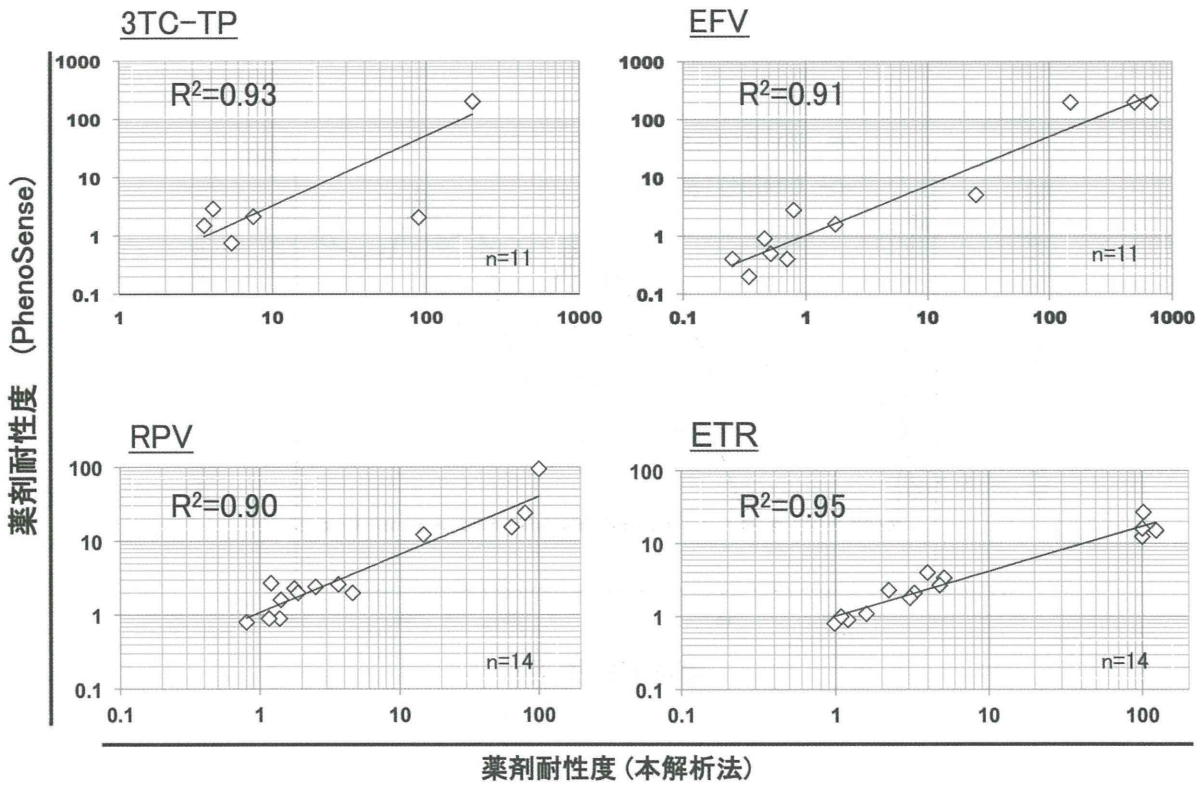


図2 本解析法とPhenoSenseの薬剤耐性度は有意な相関を示す

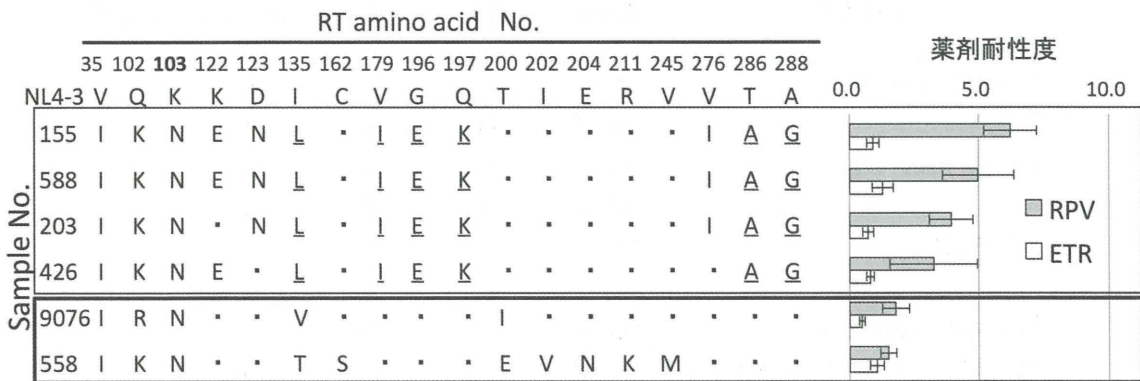


図3 臨床検体由来K103N RTは2グループに分けることができる

R200K、D345N変異の誘導が確認された。薬剤感受性試験により、ラミブジン高度耐性化 (>5031.4倍) と共にエムトリシタビンへの高度交差耐性化 (>6153.8倍)、アバカビルへの中度耐性化 (6.2倍) を認める一方、ロピナビルの有効性 (2.1倍) の保持が確認された。この薬剤耐性ウイルスに対してテノフォビルの有効性 (0.7倍) が確認できたことから、薬剤変更を試みたが副作用により維持できず、インテグラーゼ阻害薬ラルテグラビル (4.3倍) の追加により、23.1ヶ月目から最新の59ヶ月目まで5年弱にわたり、再度、血漿HIV-2 RNA量を検出限度以下に抑制することに成功している。これに加えて、治療開始前に100 cells/μL程度にまで減少していたCD4陽性T細胞数は、最新の59ヶ月目には500 cells/μL

程度にまで回復している (図4)。

本研究で精査を行った22症例のHIV-1/HIV-2重複感染疑義症例のうち、21症例がウエスタンブロットでHIV-2陽性を示し、16症例がセロディア1,2においてHIV-2陽性を示した。一方、ペプチラブ1,2、遺伝子学的精査の結果は全てHIV-2陰性を示した (表2)。ウエスタンブロットにおいてHIV-2陽性となった症例では主にHIV-2のgp105, p26, Polタンパク質に対する抗体が検出された。6症例のHIV-2単独感染疑義症例の精査解析の結果、1症例のみ血清学的精査、遺伝子学的精査ともにHIV-2陽性を示した。HIV-2陽性検体から増幅したenv, gag, pol遺伝子の系統樹解析から、HIV-2 groupBに属するウイルスに感染していることが示された。

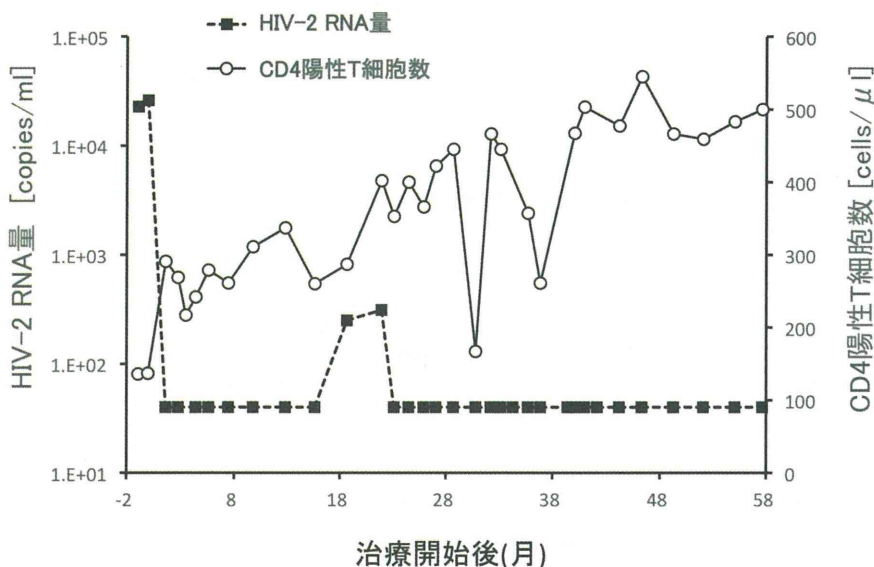


図4 HIV-2 CRF01\_AB感染症例の臨床経過

表2 HIV-1/HIV-2重複感染疑義症例の精査結果

精査方法	感染型	陽性	陰性	判定保留/疑陽性	未確認
ウエスタンブロット	HIV-1	21	0	0	1
	HIV-2	21	0	1	-
セロディアHIV-1/2	HIV-1	22	0	0	-
	HIV-2	16	6	0	-
ペプチラブ1,2	HIV-1	21	0	1	-
	HIV-2	0	20	2	-
血漿 HIV-2 RNA 定量	HIV-2	0	22	0	-
PBMC DNAの HIV-2遺伝子の検出	HIV-2	0	22	0	-

c. IN阻害剤の耐性機構の解析

作製した3症例7種類のウイルス株、合計28株についてRAL感受性とRCの評価をおこなった。その結果、Single round assayとmultiple replication assayともに結果はよく合致した。いずれのアッセイにおいても活性中心近傍の多様性変異のRAL感受性への影響は殆ど観察されなかった(図5)。一方増殖能力については症例ごとに差が認められた。

図6に示すようにSHIN-1は明らかに野性株、SHIN-2、SHIN-3よりも優れたRCを呈した。これらの株はインテグラーゼ以外の領域は共通する事からインテグラーゼにおける多様性変異が直接に影響しているものと考えられた。尚、MDSによるシミュレーションでも活性中心近傍の多様性変異による結合エネルギーの差は認められず、*in vitro*の結果を支持するものであった(表3)。

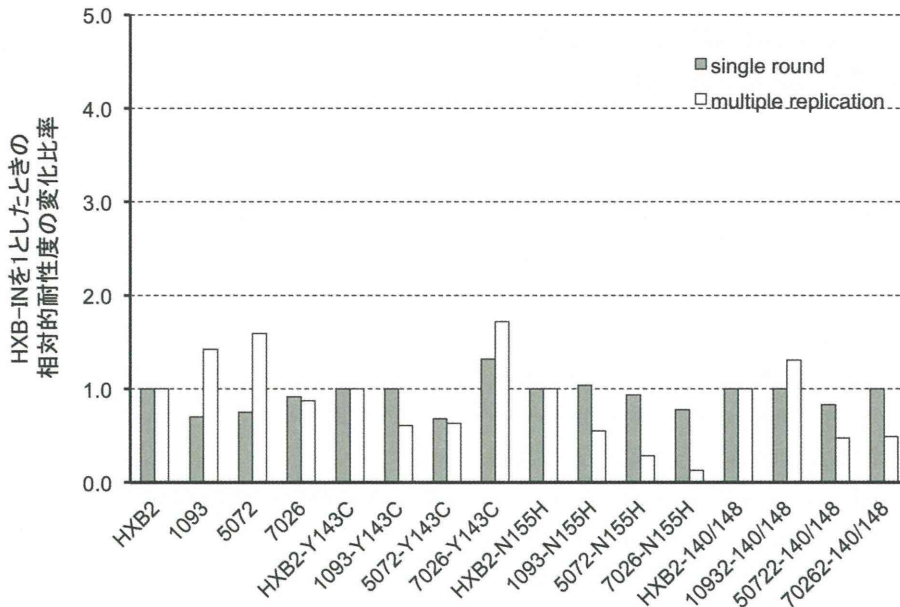
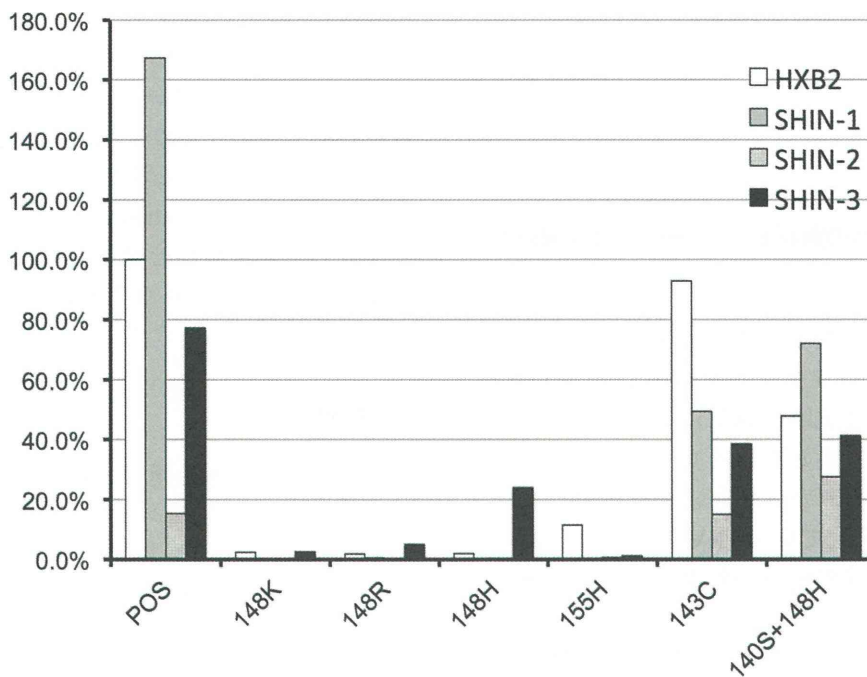


図5 活性中心部近傍の多様性がRAL 耐性変異に及ぼす影響



HXB2: WT>Y143C>G140S+Q148H>>N155H  
 SHIN-1: WT>G140S+Q148H>Y143C>>N155H  
 SHIN-2: G140S+Q148H>Y143C=HXB2>N155H  
 SHIN-3: WT>G140S+Q148H>Y143C>Q148H>N155H

図6 RAL 耐性変異をINに組み込んだクローンの増殖能の比較

表3 RAL耐性INとRALの結合エネルギーの変化

	WT	148H	155H	140S/148H	143C
HXB2	-	+31.5	+35.6	+36.6	+4.4
SHIN-1	-	+36.8	+37.9	+43.5	+3.8
SHIN-2	-	+33.9	+37.7	+37.3	+5.1

数値が高いほどRAL-Mg<sup>2+</sup>-INの親和性は低下している

## D. 考察

### a. HIV-1 臨床分離株を用いたNNRTIに対する交差耐性変異に関する酵素学的な解析

本研究で構築に成功したCFPAでは、コムギ無細胞系を用いることで、生化学的な解析に十分量のRTを簡便・迅速に合成することができる。さらに、未精製RTのまま酵素活性を検出することにも成功しており、従来の *in vitro* アッセイ系と比較してより簡便かつ短時間で薬剤耐性を評価することができると考えられる。また、近年新たに登場してきたRPV及びETRは、構造学的な研究からNNRTI結合ポケット内で同様の結合様式であることが明らかになっている。一方で、RPVとETRの薬剤耐性変異パターンが異なることが報告されてきており、それらの耐性メカニズムは明らかになっていない。本研究により、薬剤耐性変異の組み合わせによってはDdDp活性とRdDp活性で、これらNNRTIの薬剤感受性が異なる可能性が考えられた。このことは、RNAとDNAの鋳型の違いでRTとNNRTIの結合様式が異なる可能性が強く示唆された。今後より詳細な解析を行い、そのメカニズムを追求していくことを計画している。

### b. HIV-2 薬剤耐性の解析およびHIV-2感染疑い症例の精査

本研究により、未解明であったHIV-2 CRF01\_AB株の薬剤感受性プロファイルを得ることができた。さらに、薬剤感受性試験の結果に基づいて薬剤を選択することにより、良好なウイルス学的および免疫学的治療効果が得られた。現在、薬剤耐性プロファイルの情報が不足しているHIV-2感染症においては、薬剤感受性試験の実施が効果的な治療を継続するために必須であると思われる。

HIV-1/HIV-2重複感染が疑われた22症例は、血清学的精査および遺伝子学的精査の結果から、全てHIV-1の単独感染であることが示唆された。上記症例においては、抗HIV-1抗体がHIV-2タンパク質に

交差反応した可能性が示唆された。一方で、ウイルスタンパク質の合成ペプチドを利用したイムノプロット法や遺伝子学的精査法はHIV-1/HIV-2感染を識別する方法として有用であることが示された。今後、抗HIV-1抗体が交差反応するHIV-2抗原のエピトープを特定した上で、血清学的精査方法のさらなる改良の必要性があると考えられた。本研究で同定した一例の新規HIV-2感染症例の治療方針を決定する上で、前年度までの研究から得られたHIV-2の薬剤感受性プロファイルおよび既に抗HIV療法を行っているHIV-2 CRF01\_ABの臨床経験を有効に活用していく予定である。

### c. IN阻害剤の耐性機構の解析

インテグラーゼ内のY143C、Q140S+G140HそしてN155Hと変異はRAL耐性主要変異の典型例であり、今回の感受性の結果は従来の知見とよく合致したものであった。Q140S+G140Hは耐性度がいずれの症例においても高いが、比較してみるとサンプル間で数倍の開きが認められ、これが獲得されている自然変異の影響なのか、あるいは単に検査のばらつきなのか今後の検証が必要と思われる。これまではランダムに検体を選びRAL耐性変異を組み込んできたが、耐性獲得のpathwayの理解には既にRAL治療に失敗して薬剤耐性を獲得した症例について、遡る形で研究を進めていくことが望ましいと考えられた。

## E. 結論

コムギ無細胞系を用いた新規逆転写酵素阻害剤耐性検査法の妥当性について既存の感受性検査法、遺伝子学的検査評価アルゴリズムとの比較検討を行い、高い一致率を示す事を確認した。HIV-2 CRF01\_ABのウイルスクローンを用いた解析から、主要な抗HIV薬に対する薬剤感受性プロファイルを得た。さらにHIV-2の薬剤耐性症例の解析を行い、責任変異を確認した。また、HIV-2感染が疑われた28症例の精査を実施し、HIV-2単独感染疑義症例の



うち、一例がHIV-2 groupBに属するウイルスに感染していることを示した。IN阻害剤耐性に近傍の多様性が及ぼす影響について解析し、薬剤耐性レベルよりもウイルス増殖能力にお影響する事を明らかにした。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

#### 欧文

- 1) Ayumi Kudoh, Shoukichi Takahama, Tatsuya Sawasaki, Hirotaka Ode, Masaru Yokoyama, Akiko Okayama, Akiyo Ishikawa, Kei Miyakawa, Satoko Matsunaga, Hirokazu Kimura, Wataru Sugiura, Hironori Sato, Hisashi Hirano, Shigeo Ohno, Naoki Yamamoto and Akihide Ryo. The phosphorylation of HIV-1 Gag by atypical protein kinase C facilitates viral infectivity by promoting Vpr incorporation into virions. *Retrovirology*. 11(1):9. 2014.
- 2) Nishizawa M, Hattori J, Shiino T, Matano T, Heneine W, Johnson JA, Sugiura W. Highly-Sensitive Allele-Specific PCR Testing Identifies a Greater Prevalence of Transmitted HIV Drug Resistance in Japan. *PLoS One*. 8(12):e83150. 2013.
- 3) Shibata M, Takahashi M, Yoshino M, Kuwahara T, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W. Development and application of a simple LC-MS method for the determination of plasma rilpivirine (TMC-278) concentrations. *The journal of medical investigation : JMI*. 60(1-2):35-40. 2013.
- 4) Saito A, Nomaguchi M, Kono K, Iwatani Y, Yokoyama M, Yasutomi Y, Sato H, Shioda T, Sugiura W, Matano T, Adachi A, Nakayama EE, Akari H. TRIM5 genotypes in cynomolgus monkeys primarily influence inter-individual diversity in susceptibility to monkey-tropic human immunodeficiency virus type 1. *The Journal of general virology*. 94(Pt 6):1318-1324. 2013.
- 5) Nii-Trebi NI, Ibe S, Barnor JS, Ishikawa K, Brandful JA, Ofori SB, Yamaoka S, Ampofo WK, Sugiura W. HIV-1 Drug-Resistance Surveillance among Treatment-Experienced and -Naïve Patients after the Implementation of Antiretroviral Therapy in Ghana. *PloS one*. 8(8):e71972. 2013.
- 6) Katano H, Yokomaku Y, Fukumoto H, Kanno T, Nakayama T, Shingae A, Sugiura W, Ichikawa S, Yasuoka A. Seroprevalence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus among men who have sex with men in Japan. *Journal of medical virology*. 85(6):1046-1052. 2013.
- 7) Jahanbakhsh F, Ibe S, Hattori J, Monavari SH, Matsuda M, Maejima M, Iwatani Y, Memarnejadian A, Keyvani H, Azadmanesh K, Sugiura W. Molecular epidemiology of HIV type 1 infection in Iran: genomic evidence of CRF35\_AD predominance and CRF01\_AE infection among individuals associated with injection drug use. *AIDS research and human retroviruses*. 29(1):198-203. 2013.
- 8) Jahanbakhsh F, Hattori J, Matsuda M, Ibe S, Monavari SH, Memarnejadian A, Aghasadeghi MR, Mostafavi E, Mohraz M, Jabbari H, Kamali K, Keyvani H, Azadmanesh K, Sugiura W. Prevalence of transmitted HIV drug resistance in Iran between 2010 and 2011. *PloS one*. 8(4):e61864. 2013.
- 9) Gatanaga H, Murakoshi H, Hachiya A, Hayashida T, Chikata T, Ode H, Tsuchiya K, Sugiura W, Takiguchi M, Oka S. Naturally Selected Rilpivirine-Resistant HIV-1 Variants by Host Cellular Immunity. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 57(7):1051-1055. 2013.
- 10) Tsuzuki T, Iwase H, Shimada M, Hirashima N, Hibino Y, Ryuge N, Saito M, Tamaki D, Kamiya A, Yokoi M, Yokomaku Y, Fujisaki S, Sugiura W, Goto H. Clinical evaluation of peginterferon alpha plus ribavirin for patients co-infected with HIV and HCV at Nagoya Medical Center. *Nihon Shokakibyo Gakkai zasshi = The Japanese journal of gastroenterology*. 109(7):1186-1196. 2012.
- 11) Ode H, Nakashima M, Kitamura S, Sugiura W, Sato H. Molecular dynamics simulation in virus research. *Frontiers in microbiology*. 3:258. 2012.
- 12) Miyamoto T, Nakayama EE, Yokoyama M, Ibe S, Takehara S, Kono K, Yokomaku Y, Pizzato M, Luban J, Sugiura W, Sato H, Shioda T. The carboxyl-terminus of human immunodeficiency virus type 2 circulating recombinant form 01\_AB capsid protein affects sensitivity to human TRIM5alpha. *PloS one*. 7(10):e47757. 2012.
- 13) Matsunaga S, Sawasaki T, Ode H, Morishita R, Furukawa A, Sakuma R, Sugiura W, Sato H, Katahira M, Takaori-Kondo A, Yamamoto N, Ryo A. Molecular and enzymatic characterization of XMRV protease by a cell-free proteolytic analysis. *Journal of proteomics*. 75(15):4863-4873. 2012.
- 14) Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Imahashi M, Naganawa Y, Kurosawa T, Yokomaku Y, Yamane T, Watanabe N, Suzuki A, Sugiura W, Iwatani Y. The APOBEC3C crystal structure and the interface for HIV-1 Vif binding. *Nature structural & molecular biology*. 19(10):1005-1010. 2012.
- 15) Hirano A, Ikemura K, Takahashi M, Shibata M, Amioka K, Nomura T, Yokomaku Y, Sugiura W. Short communication: lack of correlation between UGT1A1\*6, \*28 genotypes, and plasma raltegravir concentrations in Japanese HIV type 1-infected patients. *AIDS research and human retroviruses*. 28(8):776-779. 2012.

- 16) Bunupuradah T, Imahashi M, Iampornsint T, Matsuoka K, Iwatani Y, Puthanakit T, Ananworanich J, Sophonphan J, Mahanontharit A, Naoe T, Vonthanak S, Phanuphak P, Sugiura W. Association of APOBEC3G genotypes and CD4 decline in Thai and Cambodian HIV-infected children with moderate immune deficiency. *AIDS research and therapy*. 9(1):34. 2012.
- 17) Yotsumoto M, Shinozawa K, Yamamoto Y, Sugiura W, Miura T, Fukutake K. Mutations to the probe of Cobas TaqMan HIV-1 ver. 1.0 assay causing undetectable viral load in a patient with acute HIV-1 infection. *Journal of infection and chemotherapy : official journal of the Japan Society of Chemotherapy*. 17(6):863-865. 2011.
- 18) Yoshida I, Sugiura W, Shibata J, Ren F, Yang Z, Tanaka H. Change of positive selection pressure on HIV-1 envelope gene inferred by early and recent samples. *PloS one*. 6(4):e18630. 2011.
- 19) Shibata J, Sugiura W, Ode H, Iwatani Y, Sato H, Tsang H, Matsuda M, Hasegawa N, Ren F, Tanaka H. Within-host co-evolution of Gag P453L and protease D30N/N88D demonstrates virological advantage in a highly protease inhibitor-exposed HIV-1 case. *Antiviral research*. 90(1):33-41. 2011.
- 20) Ibe S, Sugiura W. Clinical significance of HIV reverse-transcriptase inhibitor-resistance mutations. *Future microbiology*. 6(3):295-315. 2011.
- 21) Fujisaki S, Yokomaku Y, Shiino T, Koibuchi T, Hattori J, Ibe S, Iwatani Y, Iwamoto A, Shirasaka T, Hamaguchi M, Sugiura W. Outbreak of infections by hepatitis B virus genotype A and transmission of genetic drug resistance in patients coinfecting with HIV-1 in Japan. *Journal of clinical microbiology*. 49(3):1017-1024. 2011.
- 和文
- 1) 福山由美、市川誠一、大林由美子、杉浦 互、横幕能行. 愛知県におけるエイズ診療拠点病院初診患者の受診遅れと検査遅れに関連する要因. *日本エイズ学会誌*, 15(2):119-127. 2013.
- 2) 平野 淳、高橋昌明、柴田雅章、野村敏治、横幕能行、杉浦 互. 結核を合併した日本人HIV感染症例に対するラルテグラビルカリウムとリファンピシン併用に関する検討. *日本エイズ学会誌*, 15(1):36-39. 2013.
- 3) 都築智之、岩瀬弘明、島田昌明、平嶋 昇、日比野祐介、龍華庸光、齋藤雅之、玉置 大、神谷麻子、横井美咲、横幕能行、藤崎誠一郎、杉浦 互、後藤秀実. 当院におけるHIV、Hcv重複感染症例に対するペグインターフェロン、リバビリン併用療法の治療成績. *日本消化器病学会雑誌*, 109(7):1186-1196. 2012.
- 4) 渡邊綱正、横幕能行、杉浦 互、田中靖人. HIV合併HBV感染例において核酸アナログ add-on ペグインターフェロン併用療法によるHBs抗原セロコンバージョンの可能性. *肝臓*, 53(2):PA678. 2012.
- 5) 渡邊綱正、横幕能行、今村淳治、杉浦 互、田中靖人. HIV合併HBV感染例に対するペグインターフェロン治療. *日本エイズ学会誌*, 14(4):P404. 2012.
- 6) 渡邊綱正、杉浦 互、田中靖人. B型肝炎診療「ウイルス増殖と免疫反応から」HIV治療に伴うB型肝炎免疫再構築症候群の検討. *肝臓*, 53(3):PA95. 2012.
2. 学会発表
- 海外
- 1) Sugiura W. HIV Drug Resistance. Korea, Sep 24-25, 2013.
- 2) Shiino T, Sadamasu K, Nagashima M, Hattori J, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W. Nationwide HIV-1 transmission dynamics estimated by molecular evolutionary analysis in Japan. 8th International Workshop on HIV Transmission-Principles of Intervention. Barcelona, Spain, Oct 4-5, 2013.
- 3) Kitamura S, Ode H, Nakashima M, Imahashi M, Naganawa Y, Kurosawa T, Yokomaku Y, Yamane T, Watanabe N, Suzuki A, Sugiura W, & Iwatani Y. Crystal structure of human APOBEC3C and HIV-1 Vif-binding interface. American Crystallographic Association Annual Meeting. Hawaii, USA, July 20-24, 2013.
- 4) Imahashi M, Izumi T, Imamura J, Matsuoka K, Koyanagi Y, Takaori-Kondo A, Yokomaku Y, Naoe T, Sugiura W, Iwatani Y. A population-based matched-cohort study on insertion/deletion polymorphism of the APOBEC3B gene and risk of HIV-1. 7th IAS Conference on HIV Pathogenesis. Treatment and Prevention. Kuala Lumpur, Malaysia, June 30-July 3, 2013.
- 5) Hattori J, Gatanaga H, Kondo M, Sadamasu K, Kato S, Mori H, Minami R, Uchida K, Yokomaku Y, Sugiura W. Japanese Drug Resistance HIV-1 Surveillance Network. Comparison of patient characteristics and trends of transmitted drug resistant HIV between recent and long-term infection among treatment-naïve HIV-1-infected populations in Japan. 7th IAS Conference on HIV Pathogenesis. Treatment and Prevention. Kuala Lumpur, Malaysia, June 30-July 3, 2013.
- 6) Shiino T, Sadamasu K, Hattori J, Nagashima M, Iwatani Y, Yokomaku Y, Sugiura W. Molecular phylogenetic analysis of drug resistance transmissions in HIV-1 subtype B in Japan. International Workshop on HIV & Hepatitis Virus Drug Resistance and Curative Strategies. Toronto, Canada, June 4-8, 2013.
- 7) Matsuoka K, Tanabe F, Shigemi U, Hattori J, Ode H, Masaoka T, Morishita R, Sawasaki T, Yokomaku